

(19) 日本国特許庁(JP)

(12) 公表特許公報(A)

(11) 特許出願公表番号

特表2017-513882

(P2017-513882A)

(43) 公表日 平成29年6月1日(2017. 6. 1)

(51) Int.Cl.	F I	テーマコード (参考)
A 6 1 K 45/00 (2006.01)	A 6 1 K 45/00	4 C 0 8 4
A 6 1 P 19/08 (2006.01)	A 6 1 P 19/08	4 C 0 8 5
A 6 1 P 17/02 (2006.01)	A 6 1 P 17/02	4 H 0 4 5
A 6 1 K 39/395 (2006.01)	A 6 1 K 39/395 D	
C 0 7 K 16/28 (2006.01)	A 6 1 K 39/395 N	
審査請求 未請求 予備審査請求 未請求 (全 92 頁) 最終頁に続く		

(21) 出願番号	特願2016-564003 (P2016-564003)	(71) 出願人	504389991
(86) (22) 出願日	平成27年4月24日 (2015. 4. 24)		ノバルティス アーゲー
(85) 翻訳文提出日	平成28年12月12日 (2016. 12. 12)		スイス国 バーゼル リヒトシュトラッセル
(86) 国際出願番号	PCT/IB2015/052990		3 5
(87) 国際公開番号	W02015/162590	(74) 代理人	100092783
(87) 国際公開日	平成27年10月29日 (2015. 10. 29)		弁理士 小林 浩
(31) 優先権主張番号	61/983, 565	(74) 代理人	100095360
(32) 優先日	平成26年4月24日 (2014. 4. 24)		弁理士 片山 英二
(33) 優先権主張国	米国 (US)	(74) 代理人	100120134
			弁理士 大森 規雄
		(74) 代理人	100141195
			弁理士 西澤 恵美子
		(74) 代理人	100104282
			弁理士 鈴木 康仁
		最終頁に続く	

(54) 【発明の名称】 股関節部骨折手術後の身体回復を改善または促進する方法

(57) 【要約】

本開示は、治療有効量のミオスタチンアンタゴニスト、例えばミオスタチン結合分子、例えばミオスタチン抗体または A c t R I I 受容体結合分子、ピマグルマブ抗体などの A c t R I I 受容体抗体を利用する、股関節部骨折および必然的大手術が原因の運動性の低下によって誘発される廃用性萎縮がある患者における身体回復を促進 / 改善するための、使用およびレジメンに関する。

【特許請求の範囲】**【請求項 1】**

股関節部骨折および必然的大手術が原因の運動性の低下によって誘発される廃用性萎縮がある患者における身体回復の促進 / 改善において使用するためのミオスタチンアンタゴニスト。

【請求項 2】

前記ミオスタチンアンタゴニストが、手術による股関節部修復の成功および創傷治癒の確認後に投与されるものである、請求項 1 に記載の使用のためのミオスタチンアンタゴニスト。

【請求項 3】

前記ミオスタチンアンタゴニストが、手術の約 7 ~ 42 日後または約 1 ~ 6 週間後に始めて投与されるものである、請求項 1 または 2 に記載の使用のためのミオスタチンアンタゴニスト。

【請求項 4】

前記ミオスタチンアンタゴニストが、患者が歩行補助具有りまたは無しで荷重歩行し、かつ身体的リハビリテーションを開始することができることから前記患者に投与されるものである、請求項 1 から 3 のいずれか一項に記載の使用のためのミオスタチンアンタゴニスト。

【請求項 5】

ミオスタチン受容体結合分子である、請求項 1 から 4 のいずれか一項に記載の使用のためのミオスタチンアンタゴニスト。

【請求項 6】

ActRII 受容体アンタゴニストである、請求項 1 から 5 のいずれか一項に記載の使用のためのミオスタチンアンタゴニスト。

【請求項 7】

抗 ActRII 受容体抗体である、請求項 1 から 6 のいずれか一項に記載の使用のためのミオスタチンアンタゴニスト。

【請求項 8】

前記抗 ActRII 受容体抗体がビマグルマブである、請求項 1 から 7 のいずれか一項に記載の使用のためのミオスタチンアンタゴニスト。

【請求項 9】

前記ミオスタチンアンタゴニストが、それを必要とする患者に約 70 ~ 700 mg の用量で投与されるものである、請求項 8 に記載の使用のためのミオスタチンアンタゴニスト。

【請求項 10】

前記ミオスタチンアンタゴニストが約 70 mg、または約 210 mg または約 700 mg の用量で投与されるものである、請求項 8 または 9 に記載の使用のためのミオスタチンアンタゴニスト。

【請求項 11】

前記ミオスタチンアンタゴニストが静脈内投与されるものである、請求項 1 から 10 のいずれか一項に記載の使用のためのミオスタチンアンタゴニスト。

【請求項 12】

前記ミオスタチンアンタゴニストが 4 週間毎に投与されるものである、請求項 1 から 11 のいずれか一項に記載の使用のためのミオスタチンアンタゴニスト。

【請求項 13】

前記ミオスタチンアンタゴニストが少なくとも 3 カ月間投与されるものである、請求項 1 から 12 のいずれか一項に記載の使用のためのミオスタチンアンタゴニスト。

【請求項 14】

前記ミオスタチンアンタゴニストが約 6 カ月間投与されるものである、請求項 1 から 13 のいずれか一項に記載の使用のためのミオスタチンアンタゴニスト。

10

20

30

40

50

【請求項 15】

前記ミオスタチンアンタゴニストが最大12カ月間投与されるものである、請求項1から14のいずれか一項に記載の使用のためのミオスタチンアンタゴニスト。

【請求項 16】

前記ミオスタチンアンタゴニストが、股関節部骨折および必然的大手術が原因の運動性の低下によって誘発される廃用性萎縮がある患者における身体回復を促進/改善し、それにより、筋成長の促進、筋強度および身体性能の向上、自己運動知覚の改善、自立状態への回復促進、ならびに転倒および転倒損傷のリスクの低減を示すように投与されるものである、請求項1から15のいずれか一項に記載の使用のためのミオスタチンアンタゴニスト。

10

【請求項 17】

股関節部骨折および骨折修復のための必然的大手術が原因の運動性の低下によって誘発される廃用性萎縮がある患者における身体回復を促進/改善する方法であって、ミオスタチンアンタゴニストを投与することを含む方法。

【請求項 18】

ミオスタチンアンタゴニストを、手術による股関節部修復の成功および創傷治癒の確認後に投与することを含む、請求項17に記載の方法。

【請求項 19】

前記ミオスタチンアンタゴニストを手術の約7～42日後または約1～6週間後に投与し始めることを含む、請求項18に記載の方法。

20

【請求項 20】

前記ミオスタチンアンタゴニストを、歩行補助具有りまたは無しで荷重歩行し、かつ身体的リハビリテーションを開始することができる患者に投与し始めることを含む、請求項18から19のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 21】

前記ミオスタチンアンタゴニストがミオスタチン受容体結合分子である、請求項17から20のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 22】

前記ミオスタチンアンタゴニストがA c t R I I 受容体アンタゴニストである、請求項17から21のいずれか一項に記載の方法。

30

【請求項 23】

前記ミオスタチンアンタゴニストが抗A c t R I I 受容体抗体である、請求項17から22のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 24】

前記抗A c t R I I 受容体抗体がビマグルマブである、請求項17から23のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 25】

前記ミオスタチンアンタゴニストを、それを必要とする患者に約70～700mgの用量で投与することを含む、請求項24に記載の方法。

【請求項 26】

前記ミオスタチンアンタゴニストを、それを必要とする患者に約70mgまたは約210mgまたは約700mgの用量で投与することを含む、請求項25に記載の方法。

40

【請求項 27】

前記ミオスタチンアンタゴニストを静脈内投与することを含む、請求項21から26のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 28】

前記ミオスタチンアンタゴニストを4週間毎に投与することを含む、請求項21から27のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 29】

前記ミオスタチンアンタゴニストを少なくとも3カ月間投与することを含む、請求項2

50

1 から 2 8 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 3 0】

前記ミオスタチンアンタゴニストを約 6 カ月間投与することを含む、請求項 2 1 から 2 9 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 3 1】

前記ミオスタチンアンタゴニストを最大 1 2 カ月間投与することを含む、請求項 2 1 から 3 0 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 3 2】

股関節部骨折および必然的大手術が原因の運動性の低下によって誘発される廃用性萎縮がある患者における身体回復の促進 / 改善が、筋成長の促進、筋強度および身体性能の向上、自己運動知覚の改善、自立状態への回復促進、ならびに転倒および転倒損傷のリスクの低減を示す、請求項 2 1 から 3 1 のいずれか一項に記載の方法。

10

【請求項 3 3】

股関節部骨折および必然的大手術が原因の運動性の低下によって誘発される廃用性萎縮がある患者における身体回復の促進 / 改善において使用するためのビマグルマブであって、4 週間毎に約 7 0 ~ 7 0 0 m g の用量で静脈内投与されるものであるビマグルマブ。

【請求項 3 4】

股関節部骨折および必然的大手術が原因の運動性の低下によって誘発される廃用性萎縮がある患者における身体回復の促進 / 改善において使用するためのビマグルマブであって、4 週間毎に約 7 0 m g の用量で静脈内投与されるものであるビマグルマブ。

20

【請求項 3 5】

股関節部骨折および必然的大手術が原因の運動性の低下によって誘発される廃用性萎縮がある患者における身体回復の促進 / 改善において使用するためのビマグルマブであって、4 週間毎に約 2 1 0 m g の用量で静脈内投与されるものであるビマグルマブ。

【請求項 3 6】

股関節部骨折および必然的大手術が原因の運動性の低下によって誘発される廃用性萎縮がある患者における身体回復の促進 / 改善において使用するためのビマグルマブであって、4 週間毎に約 7 0 0 m g の用量で静脈内投与されるものであるビマグルマブ。

【請求項 3 7】

股関節部骨折および必然的大手術が原因の運動性の低下によって誘発される廃用性萎縮がある患者における身体回復を促進 / 改善する方法において使用するための、1 5 0 m g / m l のビマグルマブを含む組成物。

30

【請求項 3 8】

1 5 0 m g / m l のビマグルマブを含む単位剤形。

【請求項 3 9】

溶液で希釈した 1 つまたは複数のバイアル由来の適量のビマグルマブを含む注入用バッグ。

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0 0 0 1】

40

本開示は、ミオスタチンアンタゴニスト、例えばミオスタチン結合分子またはアクチビン受容体 I I B (A c t R I I B) 結合分子、例えば A c t R I I B に対するアンタゴニスト抗体、例えばビマグルマブの分野におけるものである。詳細には本開示は、治療有効量の A c t R I I アンタゴニスト、例えばアクチビン受容体 I I (A c t R I I) 結合分子、例えばビマグルマブ抗体などの抗アクチビン受容体 I I (A c t R I I) 抗体を利用する、股関節部骨折（または股関節部骨折手術）の手術治療後の回復の改善または促進、およびこの徴候のために使用する新規な用量レジメンに関する。

【背景技術】

【0 0 0 2】

ミオスタチンは、形質転換増殖因子 (T G F -) スーパーファミリーの 1 メンバー

50

であり、動物およびヒトにおいてライフサイクルを通じて骨格筋塊をネガティブに制御する分泌型タンパク質である。ミオスタチンはアクチビン受容体 I I 型を介して（主に A c t R I I B を介して）作用し、その示されるシグナル伝達は、タンパク質合成、および筋細胞の分化と増殖の阻害に關与する S m a d 2 / 3 経路を介したものである。ミオスタチンの阻害または遺伝子切除によって筋肉塊および筋力が増大する（Lee et al 2005、Lee and McPherron 2001、Whittemore et al 2003）。

【 0 0 0 3 】

ビマグルマブ（B Y M 3 3 8）は、ミオスタチンまたはアクチビン、その天然物リガンドより高いアフィニティーで、I I 型アクチビン受容体（A c t R I I）と競合的に結合するように開発されたモノクローナル抗体である。ビマグルマブは、A c t R I I のリガンド結合ドメインと結合する完全ヒト抗体（修飾 I g G 1、2 3 4 - 2 3 5 - A l a - A l a、₂）であり、それによって骨格筋増殖の天然阻害剤として作用するミオスタチンとアクチビンを含めた、そのリガンドの結合とその後のシグナル伝達を妨げる。ミオスタチン、形質転換増殖因子（T G F - ）スーパーファミリーの 1 メンバーは、動物およびヒトにおいて骨格筋塊をネガティブに制御する分泌型タンパク質である。ミオスタチンシグナル伝達は A c t R I I で起こり、その示される作用機構は S m a d 2 / 3 経路を介してタンパク質合成および筋細胞の分化と増殖を阻害する。ミオスタチンの阻害または遺伝子切除によって筋肉塊および筋力が増大する（Lee et al 2005; Lee and McPherron 2001; Whittemore et al 2003）。

10

【 0 0 0 4 】

ビマグルマブはヒトおよびマウス A c t R I I B と交差反応性があり、ヒト、カニクイザル、マウスおよびラット骨格筋細胞に有効である。ビマグルマブは静脈内（i . v .）投与用に製剤化されている。

20

【 0 0 0 5 】

ミオスタチン、A c t R I I B 受容体および A c t R I I B 受容体抗体

B Y M 3 3 8 としても知られるビマグルマブは、ミオスタチン、その主要天然物リガンドより高いアフィニティーで、I I 型アクチビン受容体 B（A c t R I I B）と競合的に結合するように開発されたヒトモノクローナル抗体である。ビマグルマブは、その全容が参照により本明細書に組み込まれている W O 2 0 1 0 / 1 2 5 0 0 3 中に開示される。ミオスタチン、形質転換増殖因子（T G F - ）スーパーファミリーの 1 メンバーは、ライフサイクルを通じて、動物およびヒトにおいて骨格筋塊をネガティブに制御する分泌型タンパク質である。ミオスタチンシグナル伝達は A c t R I I B で起こり、その示される作用機構は S m a d 2 / 3 経路を介してタンパク質合成および筋細胞の分化と増殖を阻害する。発生段階の動物およびヒトにおけるミオスタチンの不在は、多くの数と大きさの筋繊維を伴う筋肉亢進表現型をもたらす。産後のミオスタチンレベルの低下は、既存筋繊維の大きさの増大による骨格筋の肥大をもたらす。成人では、ミオスタチンは骨格筋中で産生され、一部が潜在的な不活性複合体として血液中を循環する。

30

【 0 0 0 6 】

骨格筋塊の内在性阻害剤としてのミオスタチンの役割と一致して、ビマグルマブは、不使用とステロイド誘導性萎縮の前臨床ネズミモデル、および健常カニクイザルに関する毒性試験において骨格筋塊を劇的に増大させた。さらに、マウスとラットにおける骨格筋塊の増大は対応する筋力の増大（力の発生）をもたらした。マウスおよびカニクイザルへの静脈内および皮下投与の後、ビマグルマブは標的介在性の薬物消失（T M D D）を伴う一貫した I g G 1 薬物動態（P K）プロファイルを示し充分許容された。

40

【 0 0 0 7 】

最初にヒトにおける 6 用量レベルの分析、一回漸増用量試験は、0 . 1、0 . 3、1、3、1 0 および 3 0 m g / k g のビマグルマブの一回静脈内投与は安全であり、充分許容され、モデル化した前臨床データから予測可能な P K プロファイルを与えることを示唆する。3 ~ 3 0 m g / k g の 4 週間投与で、プラセボに対してベースラインから 2 . 7 ~ 5 . 2 % の大腿筋体積の測定可能な増大をもたらす。

50

【 0 0 0 8 】

運動性および股関節部骨折のリスクを決定する際の体組成の役割

健康な高齢者においてさえ、骨格筋塊の消失によって、筋強度の低下を完全に説明することはできないことは十分立証されている (Frontera et al 2000、Vandervoort 2002)。さらに、筋肉塊の維持または増加でさえ筋強度の消失を必ずしも予防するわけではなく (Goodpaster et al 2006)、筋肉塊単位当たりで骨格筋によって生じる力は年齢が進行すると低減する (Goodpaster et al 2006; Brooks and Faulkner 1994)。これらの事実によって加齢中の筋肉塊維持の重要性が低下するわけではないが、これらの事実は、加齢による運動性の低下を理解し処置対処するために、筋肉組織の消失より重要なことが存在することを強調する。

10

【 0 0 0 9 】

筋肉塊の消失以外に、脂質および他の非収縮性成分による筋肉組織の浸潤もある。新たな証拠は、骨格筋脂質含量は、筋強度および運動機能 (Goodpaster et al 2001; Visser et al 2002)、ならびに高齢男性および女性における将来的運動性消失のリスク増大 (Visser et al 2005) に直接影響を与えることを示唆する。Beavers et al (2013) は、大腿中の筋間脂肪組織 (IMAT) 領域の増加 / 増大、および大腿全体の筋領域の減少は、徒歩速度低下の重要な予想値であることを示した。ベースラインの大腿 IMAT は、男性と女性両方における 1 年間の歩行速度低下を予想する。縦軸方向の分析では、大腿 IMAT と大腿全体の筋肉の変化は単なる体組成の測定値であり、男性と女性両方における歩行速度低下を予想する (図 1)。

20

【 0 0 1 0 】

加齢による筋肉組織の脂肪浸潤、および下肢性能の低下と組み合わさった筋強度の低下は、運動性の消失、転倒、および股関節部骨折を含めた骨格骨折などの結果が増大するリスクをもたらす (Lang et al 2010)。

【 0 0 1 1 】

骨格筋に対する筋間脂肪塊の影響の根底にあるメカニズム

IMAT の増大と徒歩速度低下の間の関連の根底にあるメカニズムは、内分泌性の脂肪組織を含み得る。筋肉における過剰な脂肪蓄積は炎症促進性サイトカインの過剰な分泌と関連し得る (Fantuzzi et al 2005)。慢性炎症は下肢筋強度と関連があり (Visser et al 2002)、おそらく筋線維収縮の障害の結果としての (Pahor and Kritchevsky 1998) 高齢者の身体障害を予測する (Verghese et al 2011)。脂肪過多は、いずれも筋肉の消失および機能低下に寄与し得るインスリン、テストステロンおよび成長ホルモンの同化作用を下方制御する可能性もある (Chevalier et al 2006、Schaap et al 2005、Waters et al 2008)。

30

【 0 0 1 2 】

股関節部骨折後の体組成の変化

臨床試験の所見は、股関節部骨折状態が持続し後に骨折修復の大手術を受ける高齢者対象は、術後運動性制約の悪化が原因の悪循環で、体組成のさらなる急速な変化に曝されることを示す (Wehren et al 2005; D'Adamo et al 2014)。即時または急速に進行する変化には、神経筋衰弱、骨格筋消失 (廃用性萎縮 (disuse atrophy))、脂肪塊の増大および骨消失の加速がある (D'Adamo et al 2014、Fox et al 2000、Daguet et al 2011)。重要なことに、これらの変化は第 10 日ほど早くから明らかとなる可能性があり、手術後約 2 カ月までに最大値に達する可能性がある。

40

【 0 0 1 3 】

まとめると、虚弱性と脆弱性の急性合併症、股関節部骨折は体組成をさらに悪化させ、これが初期における合併症の発生に寄与する。さらに、それは術後機能回復の速度および程度を低下させ、したがってそれにより運動性関連の合併症のリスクが増大する (転倒損傷、骨折、および関連する再入院)。この悪循環の最終結果は、最初の 1 年中の 8.4 ~ 36% の範囲の、股関節部骨折後の患者の危機的死亡率である (Abrahamsen et al 2009)。

50

【 0 0 1 4 】

術後合併症を予防するための初期の必要性

重要なことに、多くの合併症は手術後最初の 6 カ月で生じる傾向があり、一般的運動性の程度を促進および増大させ、運動性関連の合併症、再入院を予防し、この集団内の相当高い死亡率を最終的に低下させることができる対策の必要性が増す。

【 0 0 1 5 】

アンメットメディカルニーズ

抗反応性療法と組み合わせた、食習慣指標（タンパク質、ビタミン D および C a サプリメント）、術後初期可動性および耐性トレーニングを包含する現在のケア標準は最適化するのに相当な余地がある。リハビリテーションにおけるコンプライアンスは限定的であり、現在の薬理的治療（ビスホスホネート、デノスマブ、ビタミン D）の影響は発症において比較的小さく緩慢である。

【 0 0 1 6 】

理想的な薬理作用物質の要件

これらの需要に照らすと、一般的な共通の罹患状態があるこの虚弱集団内で重大な安全上の問題を呈することなく、現在のケア標準の有効性を促進および増進することができる薬理作用物質に関する、明確なアンメットメディカルニーズがある。したがって、理想的な薬剤候補は以下の要件を満たすと思われる：

A．体組成の有害な変化に逆行する点で最大の効果をすぐに得ることができる

B．筋強度および身体性能の向上に変わり得る、臨床学的に有意である筋肉塊変化を誘導することができる

C．骨格筋の脂肪浸潤を実質的に低下させ、それによって筋肉の質を改善し筋強度および運動性を改善することができる

D．計画した 6 カ月の治療の送達を限定する、重大な安全上または忍容性の問題がない

【 0 0 1 7 】

これら 3 要件でビマグルマブを送達する可能性が最も高い証拠

本出願人には、ミオスタチンシグナル伝達を妨げる現在の手法（抗ミオスタチン抗体、可溶性アクチビン受容体 I I B 型、および細胞結合アクチビン I I 型受容体に対する抗体）の中で、アクチビン受容体アンタゴニズムが有効性と安全性の間の最も良いバランスをもたらす（最高ベネフィット／リスク比）、したがって筋間脂肪組織の減少を同時に伴う急速で実質的な筋増大（すなわち、筋肉の質の改善）を誘導することができ、これらはいずれも筋収縮および最終的には運動性の改善に直接貢献する証拠がある。

【 0 0 1 8 】

前臨床試験による証拠

A c t R I I 遮断は筋肉塊の最大の増加を誘導する

本出願人は、循環中にミオスタチンのみを中和する阻害剤（Lach-Trifilieff 2014）と抗体を比較することにより、A c t R I I を介してシグナル伝達する他のリガンドの阻害が、ビマグルマブに誘導された肥大において重要な役割を果たしていたかどうか調査している。この目的のため、ミオスタチン特異的阻害剤であることが実証された、安定状態のミオスタチンプロペプチド（D 7 6 A）を使用した。ビマグルマブとミオスタチンプロペプチドの両方を若年 S C I D マウスに週 1 回 5 週間投与し、ビマグルマブは 1 0 m g / k g で投与し、ミオスタチンプロペプチドは 3 0 m g / k g で投与した。

【 0 0 1 9 】

体重は治療期間を通じて増加し、ビマグルマブ治療のみににおいて有意であった（ミオスタチンプロペプチドに関する 1 5 % に対して 3 6 %）。ミオスタチンプロペプチドによって誘導された 1 5 % の増加は、以前の刊行物（Trendelenburg et al 2009）中に記載されたものと一致し、A c t R I I 抗体は 2 倍を超えて有効であった（図 2、左図）。筋重量は調べた大部分の筋肉において有意に増加し、ビマグルマブを用いてより顕著な増加が実証された（図 2、中央図）。筋肉全体のこの大きな増加は筋線維断面積分布の解析によってさらに裏付けられ、筋線維数ではなく筋線維径を増加することにより、これらの因子が

10

20

30

40

50

作用していたことが実証された（図2、右図）。

【0020】

循環ミオスタチン群の中和に対するアクチビンⅠⅠ型受容体遮断の相当高い有効性は、アクチビンⅠⅠB型受容体を介して筋消失を促進し得る、ミオスタチン以外のリガンドが存在することを明らかに実証する。

【0021】

ミオスタチンシグナル伝達を遮断する第3の手法は、ミオスタチンを含めた、この受容体の考えられる全てのリガンドを循環中に捕捉することができる、可溶性アクチビンⅠⅠB型受容体トラップ/デコイ（A c t R I I B - F c）によるものである。筋肉増大を誘導する点におけるこの手法の有効性は、ビマグルマブの有効性におそらく匹敵する。デュシェンヌ型筋ジストロフィーがある少年においてA c t R I I B - F c（A C E - 031）を用いたフェーズ2試験からの結果は、L B Mの増大およびT M Vと6分間歩行距離の低下減衰を示した（Campbell et al 2012）。しかしながら、健常ボランティアM A D試験およびフェーズ2筋ジストロフィー試験における可逆的鼻血と皮膚毛細血管拡張症の観察は、これらの臨床試験の終了およびこの薬理学的手法の臨床的進展に至った（Smith and Lin 2013）。この後者の手法とビマグルマブの根本的な違いは、それが標的組織（例えば筋肉）における受容体を介したリガンド輸送のみを遮断することであり、循環リガンドがその固有代替受容体に到達し安全性に重要であると思われる効果を発揮する可能性を排除するわけではない（例えば、骨格筋上に位置するA c t R I I Bを介したB M Pのシグナル伝達は遮断され得るが、B M Pはその固有B M P受容体に到達しそれらを介してシグナル伝達することができ、それは作用を妨げるデコイに関するオプションではない）。

【0022】

アクチビン受容体ⅠⅠBトラップは、膜結合A c t R I I Bの遮断によって誘発される増大に匹敵する筋体積の増大を誘発することができ、デュシェンヌ型筋ジストロフィーがある少年においてA c t R I I B - F c（A C E - 031）を用いたフェーズ2試験からの結果は、除脂肪体重の増大および大腿筋体積と6分間歩行距離の低下減衰を示したが（Campbell et al 2012）、健常ボランティアM A D試験およびフェーズ2筋ジストロフィー試験における可逆的鼻血と皮膚毛細血管拡張症の観察は、これらの臨床試験の終了に至った（Smith and Lin 2013）。2手法間の根本的な違いは、A c t R I I B - F cはその受容体の考えられる全てのリガンドを循環中に捕捉および中和し、他の考えられる標的受容体とそれらの結合を妨げる一方で、ビマグルマブは標的組織（例えば筋肉）におけるA c t R I I Bを介したリガンド輸送のみを遮断することである。例えば、A c t R I I Bに結合するB M Pは、それらのB M P受容体を介してシグナル伝達し続ける可能性がある。

【0023】

若年および高齢動物におけるA c t R I I I阻害に対する反応性

動物試験によって、静脈内に20mg/kgでのビマグルマブの一回投与が6カ月齢と21カ月齢のラット両方で2～3週間にわたり体重を有意に増加させ、筋肉の同化作用の促進を示したことを実証した。これはM R Iベースの後脚筋体積の評価によって実際確認し、これによって一回用量のビマグルマブ投与が、6カ月齢と21カ月齢のラット両方で筋肥大を促進したことを実証した（図3）。

【0024】

ビマグルマブの肥大作用はこの化合物の一回投与後2週間顕著であり、この場合対照群に対して13～15%の増加に達した。重要なことに、ビマグルマブに対する最大反応性は6カ月齢と21カ月齢のラットで類似しており、平行設定で比較したとき、高齢動物はA c t R I I I阻害に対して依然同等に反応性があり、若年動物と同じ骨格筋の体積増加が生じる可能性があることを実証した。

【0025】

臨床試験による証拠

健常若年ボランティアにおける廃用性萎縮の逆行：脚全体包帯装着モデル

10

20

30

40

50

本出願人には、ビマグルマブが、2週間片脚に脚全体包帯装着した若年健常ボランティア（平均年齢24才）において、廃用性萎縮関連筋消失の急速な逆行を誘発することができる証拠がある。この固定（すなわち筋肉の不活性化）は、2週間の行程中約5%の急速な筋消失を誘導した。一回静脈内用量のビマグルマブ（30mg/kg）は包帯除去後2週間以内に（包帯装着前の-0.8%まで）大腿筋体積のほぼ完全な回復をもたらし、一方、単に正常な日常動作に戻るにより筋肉塊が回復した群（目標リハビリテーションプログラムなし）に関しては、ベースラインに戻るまで表面上12週間かかった。この観察結果は、再可動化の初期中に骨格筋塊の増大によって反映される、ビマグルマブによるActRII遮断作用の急速な発生を明らかに実証する。

【0026】

さらに正常化まで、大腿筋塊は包帯除去後第2週から第12週まで増大し続け、ビマグルマブを与えなかった群より約5%大きい体積で終了した（図4）。したがって全体として、一回静脈内用量のこの薬剤に対する合計約10%の大腿筋体積の増大を、12週間の観察期間中に証明することができた。

【0027】

サルコペニア患者における筋肉塊の回復

サルコペニアがあり身体虚弱な高齢患者に関して近年実施された試験において、一回用量30mg/kgの静脈内ビマグルマブは大腿筋体積の増大を誘発することができ、これらは廃用性萎縮の実験モデルで見られた筋増大の程度、すなわち8週間でベースラインから8%を超える増大に匹敵した（図5）。この筋肉塊の増大は、大部分の運動性制約患者、6MWD<300で開始した患者（+76メートル、 $p=0.02$ ）における6分間歩行距離（6MWD）の有意な増大に先行した。

【0028】

したがってビマグルマブは、それを廃用性萎縮がある若年対象、または加齢が原因の相当な筋萎縮がある高齢対象に投与したかとは無関係に、同等の反応性を誘導することができた。

【0029】

筋間脂肪組織（IMAT）の著しい減少

65才の年齢までの49人の健常な女性と男性におけるランダムな、6治療の、二重盲検、プラセボ対照、一回漸増用量設計試験において、0.1、0.3、1、3、10、および30mg/kgの一回静脈内用量を互い違いに投与した。この臨床試験では、安全性、忍容性および薬物動態以外に、磁気共鳴画像法により測定した大腿筋体積および筋間脂肪組織に対するビマグルマブの影響も評価した。図6中に示したように、ビマグルマブは筋間脂肪組織の用量依存的減少を誘導した。10mg/kgと30mg/kgの影響は薬剤注射後第10週で同等であり、いずれもベースラインから10%を超える減少であった。

【0030】

ビマグルマブ治療は機能性の有意な改善と関連がある

孤発性封入体筋炎、進行性筋肉変性疾患を有する患者からのデータによって例示されるように、ビマグルマブの一回注射（30mg/kg）によって誘導された（ベースラインから5%を超える）除脂肪体重の急速な増加は身体性能の有意な増大を誘発し得る（図7）。重要なことに、筋量増大後の機能の改善には、完全に成熟状態になり増大した収縮活動をする準備ができる前の骨格筋の構造/機能再構築をおそらく反映する、一定期間のタイムラグが必要である。

【0031】

まとめると、ビマグルマブには、加齢による体組成の変化と股関節部骨折手術後の反応変化（廃用性萎縮）の両方を逆行させることが可能である、有用な薬理作用物質の性質があるようである。本出願人には、この薬剤候補が筋肉消耗性疾患における機能改善を誘発し得ることを論じた一層の証拠もある。したがって、筋肉とIMATの両方に対する比較的急速で顕著な影響によって、ビマグルマブは、股関節部骨折後の回復を促進する革新的

10

20

30

40

50

な手法となる。

【発明の概要】

【発明が解決しようとする課題】

【0032】

股関節部骨折手術を施された患者集団における介入は非常に革新的であり、高度なアンメットメディカルニーズを満たし得る。実際、現在股関節部骨折手術からの回復を改善および／または促進するための治療オプションは存在しない。この目的は、本開示内で提供する方法および用量レジメンによって達成される。

【課題を解決するための手段】

【0033】

したがって本開示の第一の主題は、ミオスタチン結合分子またはA c t R I I 結合分子であってよいミオスタチンアンタゴニストを含む組成物の、股関節部骨折手術からの回復を改善および／または促進するための方法または使用に関する。ミオスタチン結合分子は、例えばミオスタチンに対するアンタゴニスト抗体であってよい。A c t R I I 結合分子は、例えばA c t R I I に対するアンタゴニスト抗体、例えばB Y M 3 3 8 としても知られるピマグルマブであってよい。

【0034】

本明細書中で使用する「ミオスタチンアンタゴニスト」は、（例えば、ミオスタチンとミオスタチン受容体、すなわちA c t R I I の結合を遮断することによって）ミオスタチン機能、発現および／またはシグナル伝達をアンタゴナイズする（例えば低減する、阻害する、低下させる、遅延させる）ことができる分子を指す。アンタゴニストの非制限的な例には、ミオスタチン結合分子およびA c t R I I 受容体結合分子がある。本開示の方法、レジメン、キット、プロセス、使用および組成物の幾つかの実施形態では、ミオスタチンアンタゴニストを利用する。

【0035】

「ミオスタチン結合分子」によって、単独または他の分子との会合状態のいずれかで、ヒトミオスタチン抗原と結合することができる任意の分子を意味する。結合反応は、例えば、その受容体とミオスタチンの結合の阻害を決定するための結合アッセイ、競合アッセイもしくはバイオアッセイ、または無関連な特異性、ただし理想的には同じアイソタイプの抗体、例えば抗C D 2 5 抗体を使用した陰性対照試験を参照する任意の種類の結合アッセイを含めた、標準的な方法（定性的アッセイ）によって示すことができる。ミオスタチン結合分子の非制限的な例には、小分子、ミオスタチン受容体デコイ、およびB細胞もしくはハイブリドーマによって産生されるミオスタチンと結合する抗体、およびキメラ、C D R 移植もしくはヒト抗体またはそれらの任意の断片、例えばF (a b ')₂ およびF a b 断片、ならびに単鎖または単ドメイン抗体がある。ミオスタチン結合分子は、ミオスタチン機能、発現および／またはシグナル伝達をアンタゴナイズする（例えば低減する、阻害する、低下させる、遅延させる）ことが好ましい。本開示の方法、レジメン、キット、プロセス、使用および組成物の幾つかの実施形態では、ミオスタチン結合分子を利用する。

【0036】

「A c t R I I 結合分子」によって、単独または他の分子との会合状態のいずれかで、ヒトA c t R I I 受容体（A c t R I I A および／またはA c t R I I B ）と結合することができる任意の分子を意味する。結合反応は、例えば、A c t R I I 受容体とミオスタチンの結合の阻害を決定するための結合アッセイ、競合アッセイもしくはバイオアッセイ、または無関連な特異性、ただし理想的には同じアイソタイプの抗体、例えば抗C D 2 5 抗体を使用した陰性対照試験を参照する任意の種類の結合アッセイを含めた、標準的な方法（定性的アッセイ）によって示すことができる。A c t R I I 受容体結合分子の非制限的な例には、小分子、ミオスタチンデコイ、およびB細胞またはハイブリドーマによって産生されるA c t R I I 受容体に対する抗体、およびキメラ、C D R 移植もしくはヒト抗体またはそれらの任意の断片、例えばF (a b ')₂ およびF a b 断片、ならびに単鎖ま

10

20

30

40

50

たは単ドメイン抗体がある。A c t R I I 受容体結合分子は、ミオスタチン機能、発現および/またはシグナル伝達をアンタゴナイズする(例えば低減する、阻害する、低下させる、遅延させる)ことが好ましい。本開示の方法、レジメン、キット、プロセス、使用および組成物の幾つかの実施形態では、A c t R I I B 受容体結合分子を利用する。

【0037】

別の実施形態では、組成物は、配列番号181のアミノ酸19~134(配列番号182)からなる結合ドメイン、または(a)配列番号181のアミノ酸78~83(W L D D F N - 配列番号188);(b)配列番号181のアミノ酸76~84(G C W L D D F N C - 配列番号186);(c)配列番号181のアミノ酸75~85(K G C W L D D F N C Y - 配列番号190);(d)配列番号181のアミノ酸52~56(E Q D K R - 配列番号189);(e)配列番号181のアミノ酸49~63(C E G E Q D K R L H C Y A S W - 配列番号187);(f)配列番号181のアミノ酸29~41(C I Y Y N A N W E L E R T - 配列番号191);(g)配列番号181のアミノ酸100~110(Y F C C C E G N F C N - 配列番号192);もしくは(h)配列番号181のアミノ酸78~83(W L D D F N)および配列番号181のアミノ酸52~56(E Q D K R)を含むもしくはこれらからなるエピトープと結合する抗A c t R I I 抗体を含む。

10

【0038】

他のさらなる代替実施形態では、前述の組成物は、A c t R I I A と結合する10倍以上のアフィニティーでA c t R I I B と結合する抗A c t R I I 抗体を含む。

20

【0039】

さらに本開示は、抗A c t R I I B 抗体が配列番号1~14からなる群から選択されるアミノ酸配列を含む重鎖可変領域C D R 1、配列番号15~28からなる群から選択されるアミノ酸配列を含む重鎖可変領域C D R 2、配列番号29~42からなる群から選択されるアミノ酸配列を含む重鎖可変領域C D R 3、配列番号43~56からなる群から選択されるアミノ酸配列を含む軽鎖可変領域C D R 1、配列番号57~70からなる群から選択されるアミノ酸配列を含む軽鎖可変領域C D R 2、および配列番号71~84からなる群から選択されるアミノ酸配列を含む軽鎖可変領域C D R 3を含む組成物に関する。

【0040】

ある特定の実施形態では、本開示は、抗A c t R I I 抗体が(a)配列番号1の重鎖可変領域C D R 1、配列番号15の重鎖可変領域C D R 2、配列番号29の重鎖可変領域C D R 3、配列番号43の軽鎖可変領域C D R 1、配列番号57の軽鎖可変領域C D R 2、および配列番号71の軽鎖可変領域C D R 3、(b)配列番号2の重鎖可変領域C D R 1、配列番号16の重鎖可変領域C D R 2、配列番号30の重鎖可変領域C D R 3、配列番号44の軽鎖可変領域C D R 1、配列番号58の軽鎖可変領域C D R 2、および配列番号72の軽鎖可変領域C D R 3、(c)配列番号3の重鎖可変領域C D R 1、配列番号17の重鎖可変領域C D R 2、配列番号31の重鎖可変領域C D R 3、配列番号45の軽鎖可変領域C D R 1、配列番号59の軽鎖可変領域C D R 2、および配列番号73の軽鎖可変領域C D R 3、(d)配列番号4の重鎖可変領域C D R 1、配列番号18の重鎖可変領域C D R 2、配列番号32の重鎖可変領域C D R 3、配列番号46の軽鎖可変領域C D R 1、配列番号60の軽鎖可変領域C D R 2、および配列番号74の軽鎖可変領域C D R 3、(e)配列番号5の重鎖可変領域C D R 1、配列番号19の重鎖可変領域C D R 2、配列番号33の重鎖可変領域C D R 3、配列番号47の軽鎖可変領域C D R 1、配列番号61の軽鎖可変領域C D R 2、および配列番号75の軽鎖可変領域C D R 3、(f)配列番号6の重鎖可変領域C D R 1、配列番号20の重鎖可変領域C D R 2、配列番号34の重鎖可変領域C D R 3、配列番号48の軽鎖可変領域C D R 1、配列番号62の軽鎖可変領域C D R 2、および配列番号76の軽鎖可変領域C D R 3、(g)配列番号7の重鎖可変領域C D R 1、配列番号21の重鎖可変領域C D R 2、配列番号35の重鎖可変領域C D R 3、配列番号49の軽鎖可変領域C D R 1、配列番号63の軽鎖可変領域C D R 2、および配列番号77の軽鎖可変領域C D R 3、(h)配列番号8の重鎖可変領域C D R 1、配

30

40

50

列番号22の重鎖可変領域CDR2、配列番号36の重鎖可変領域CDR3、配列番号50の軽鎖可変領域CDR1、配列番号64の軽鎖可変領域CDR2、および配列番号78の軽鎖可変領域CDR3、(i)配列番号9の重鎖可変領域CDR1、配列番号23の重鎖可変領域CDR2、配列番号37の重鎖可変領域CDR3、配列番号51の軽鎖可変領域CDR1、配列番号65の軽鎖可変領域CDR2、および配列番号79の軽鎖可変領域CDR3、(j)配列番号10の重鎖可変領域CDR1、配列番号24の重鎖可変領域CDR2、配列番号38の重鎖可変領域CDR3、配列番号52の軽鎖可変領域CDR1、配列番号66の軽鎖可変領域CDR2、および配列番号80の軽鎖可変領域CDR3、(k)配列番号11の重鎖可変領域CDR1、配列番号25の重鎖可変領域CDR2、配列番号39の重鎖可変領域CDR3、配列番号53の軽鎖可変領域CDR1、配列番号67の軽鎖可変領域CDR2、および配列番号81の軽鎖可変領域CDR3、(l)配列番号12の重鎖可変領域CDR1、配列番号26の重鎖可変領域CDR2、配列番号40の重鎖可変領域CDR3、配列番号54の軽鎖可変領域CDR1、配列番号68の軽鎖可変領域CDR2、および配列番号82の軽鎖可変領域CDR3、(m)配列番号13の重鎖可変領域CDR1、配列番号27の重鎖可変領域CDR2、配列番号41の重鎖可変領域CDR3、配列番号55の軽鎖可変領域CDR1、配列番号69の軽鎖可変領域CDR2、および配列番号83の軽鎖可変領域CDR3、または(n)配列番号14の重鎖可変領域CDR1、配列番号28の重鎖可変領域CDR2、配列番号42の重鎖可変領域CDR3、配列番号56の軽鎖可変領域CDR1、配列番号70の軽鎖可変領域CDR2、および配列番号84の軽鎖可変領域CDR3を含む組成物を提供する。

10

20

【0041】

さらに別の実施形態では、前述の抗ActRII抗体は、(i)配列番号146~150および156~160からなる群から選択される少なくとも1つの配列と少なくとも95%の配列同一性を有する完全長重鎖アミノ酸配列、(ii)配列番号141~145および151~155からなる群から選択される少なくとも1つの配列と少なくとも95%の配列同一性を有する完全長軽鎖アミノ酸配列、または(iii)(a)配列番号99の可変重鎖配列および配列番号85の可変軽鎖配列、(b)配列番号100の可変重鎖配列および配列番号86の可変軽鎖配列、(c)配列番号101の可変重鎖配列および配列番号87の可変軽鎖配列、(d)配列番号102の可変重鎖配列および配列番号88の可変軽鎖配列、(e)配列番号103の可変重鎖配列および配列番号89の可変軽鎖配列、(f)配列番号104の可変重鎖配列および配列番号90の可変軽鎖配列、(g)配列番号105の可変重鎖配列および配列番号91の可変軽鎖配列、(h)配列番号106の可変重鎖配列および配列番号92の可変軽鎖配列、(i)配列番号107の可変重鎖配列および配列番号93の可変軽鎖配列、(j)配列番号108の可変重鎖配列および配列番号94の可変軽鎖配列、(k)配列番号109の可変重鎖配列および配列番号95の可変軽鎖配列、(l)配列番号110の可変重鎖配列および配列番号96の可変軽鎖配列、(m)配列番号111の可変重鎖配列および配列番号97の可変軽鎖配列、もしくは(n)配列番号112の可変重鎖配列および配列番号98の可変軽鎖配列を含む。

30

【0042】

ある特定の態様では、本開示は、前に記載した組成物であって、含まれる抗ActRII抗体が(a)配列番号146の重鎖配列および配列番号141の軽鎖配列、(b)配列番号147の重鎖配列および配列番号142の軽鎖配列、(c)配列番号148の重鎖配列および配列番号143の軽鎖配列、(d)配列番号149の重鎖配列および配列番号144の軽鎖配列、(e)配列番号150の重鎖配列および配列番号145の軽鎖配列、(f)配列番号156の重鎖配列および配列番号151の軽鎖配列、(g)配列番号157の重鎖配列および配列番号152の軽鎖配列、(h)配列番号158の重鎖配列および配列番号153の軽鎖配列、(i)配列番号159の重鎖配列および配列番号154の軽鎖配列、または(j)配列番号160の重鎖配列および配列番号155の軽鎖配列を含む組成物に関する。

40

【0043】

50

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

【0044】

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

【図面の簡単な説明】

【0045】

【図1】歩行速度の変化、および大腿筋間脂肪組織面積の変化、および大腿筋面積の変化の間の関連の図である。この図によって示されるように、筋肉塊の増大が最小であり脂肪塊の増大が最大である患者は、歩行/徒歩速度の最大の低下を示した患者である(Beavers et al 2013から採用)。10

【図2】薬理学的ミオスタチン阻害に対する抗A c t R I I抗体治療の有効性の比較の図である。治療剤はビマグルマブ(10mg/kg; ストライプのバー)、ミオスタチンプロペプチドD76A(30mg/kg; 灰色のバー)、またはリン酸緩衝生理食塩水(白色のバー)であった。結果は平均±SEMとして表す(n=9または10)。*、P<0.05、PBSで処置した群との対比。**、P0.01、PBSで処置した群との対比。

【図3】静脈内に20mg/kgで一回用量のIgG1またはビマグルマブを用いて3週間治療した、ラットのMRIにより測定した後脚の筋体積の図である。20

【図4】2週間の脚全体包帯装着中の大腿筋体積の変化、次いで一回用量のビマグルマブ(30mg/kg)有りまたは無しでの自然回復の図である。

【図5】運動機能障害があるサルコペニア対象(歩行速度1.0m/s未満)における、一回または二回用量のビマグルマブ(30mg/kg、静脈内)に対する大腿筋体積の変化の図である。

【図6】一回用量のビマグルマブ(0.1、0.3、1、10、30mg/kg)を与えた健常ボランティアにおける、ベースラインからの筋間脂肪組織の変化の図である。示した結果は平均(SEM)である。

【図7】孤発性封入体筋炎患者においてベースラインからビマグルマブで誘導した除脂肪体重(LBM)、大腿四頭筋筋力(QMT)および6分間歩行距離(6MWD)の変化の図である。LBMの増大(第8週目から第16週目)と第16週で始まる筋力および身体性能の有意な増大の間のタイムラグを記す。30

【図8】BYM338D2201試験設計の図である。

【発明を実施するための形態】

【0046】

定義

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

【0047】

用語「含む(comprising)」は「含む(including)」を意味する。例えば、Xを「含む」組成物(a composition "comprising" X)はXのみからなっても、追加の何か、例えばXおよびYを含んでもよい。40

【0048】

数値xに関する用語「約」は、例えば $x \pm 10\%$ を意味する。

【0049】

用語「廃用性萎縮」は、筋萎縮、または筋消耗に関する別の用語である。廃用性萎縮は、筋肉がもはや通常状態ほど活発ではないときに起こる。筋肉がもはや使用状態ではないとき、それらは徐々に衰弱状態になる。最終的に、筋肉は収縮し始める。幾つかの症例では、筋肉が再度活性化状態になる場合、廃用性萎縮は逆行する可能性がある。50

【 0 0 5 0 】

廃用性萎縮は、長期間にわたる腕の包帯装着などの、固定状態によって引き起こされる可能性がある。人が歩行などのその日常活動の実施を止めた場合、廃用性萎縮がある程度起こる可能性もある。

【 0 0 5 1 】

用語「大手術」は、麻酔および呼吸介助を伴う任意の手術である。本発明の文脈では、大手術は重大な切除（関節の除去および置換）、手術中または手術後合併症（心血管系または循環器系合併症、大量出血、重症感染）のリスクを示す。手術は内固定または関節形成術を含む。

【 0 0 5 2 】

以下の記載は、ミオスタチンアンタゴニスト、例えばミオスタチン結合分子または A c t R I I 結合分子、好ましくは A c t R I I 結合分子、より好ましくは A c t R I I に対するアンタゴニスト抗体、例えばビマグルマブを用いた治療の考えられる影響を評価するための、考えられる前臨床治療レジメンを例示する。

【 0 0 5 3 】

カニクイザルを使用することによって治療を例示するが、記載する実験はサルに限られず、当業者は、他種、特にヒトに適した実験または用量レジメンの設定の仕方を知っている。静脈内注射によりオスとメスのカニクイザルに、3カ月間週に1回 A c t R I I 抗体、例えばビマグルマブを投与することができる。32匹のカニクイザル（16匹/各性別）を4治療群の1つに割り当てることができ（3～5匹の動物/各性別/群）、13週間

10

20

【 0 0 5 4 】

用語「A c t R I I A」および「A c t R I I B」はアクチビン受容体を指す。アクチビンは、少なくとも2つのI型（IとIB）および2つのII型（IIAとIIB、a k a A C V R 2 A と A C V R 2 B）受容体を含む受容体セリンキナーゼのヘテロ二量体複合体を介してシグナル伝達を行う。これらの受容体はいずれも、システイン多量領域を有するリガンド結合細胞外ドメイン、膜貫通型ドメイン、および予想されるセリン/スレオニン特異性を有する細胞質ドメインで構成される膜貫通型タンパク質である。I型受容体はシグナル伝達に必須であり、一方II型受容体はリガンド結合およびI型受容体の発現/動員に必要とされる。I型受容体とII型受容体はリガンド結合後に安定した複合体を形成し、II型受容体によるI型受容体のリン酸化をもたらす。アクチビン受容体IIB（A c t R I I B）はミオスタチンの受容体である。アクチビン受容体IIA（A c t R I I A）もミオスタチンの受容体である。用語A c t R I I BまたはA c t I I B受容体は、配列番号181（A A C 6 4 5 1 5 . 1、G I : 3 7 6 9 4 4 3）において定義されるヒトA c t R I I Bを指す。R & D S y s t e m s（登録商標）、MN、USAによって作製された抗体などの、研究段階のポリクローナルおよびモノクローナル抗A c t R I I B抗体が当技術分野で知られている。当然ながら、他種からA c t R I I Bに対する抗体を産生することが可能であり、抗体を使用してこれらの種における病状を治療することが可能である。

30

40

【 0 0 5 5 】

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

【 0 0 5 6 】

「シグナル伝達活性」は、受容体と増殖因子の結合などのタンパク質-タンパク質相互作用によって一般に開始され、細胞の一部分から細胞の別部分へのシグナル伝達をもたら

50

す生化学上の因果関係を指す。一般に伝達は、シグナル変換を引き起こす一連の反応中の1つまたは複数のタンパク質における1つまたは複数のチロシン、セリン、またはスレオニン残基の特異的リン酸化を含む。最後から二番目のプロセスは、遺伝子発現の変化をもたらす核の事象を典型的に含む。

【0057】

本明細書で使用する用語「抗体」は、完全抗体および任意の抗原結合断片（すなわち、「抗原結合部分」）またはそれらの単鎖を含む。天然に存在する「抗体」は、ジスルフィド結合によって相互結合した少なくとも2つの重鎖（H）と2つの軽鎖（L）を含む糖タンパク質である。それぞれの重鎖は、重鎖可変領域（本明細書では略して V_H ）と重鎖定常領域で構成される。重鎖定常領域は、3ドメイン、 $CH1$ 、 $CH2$ および $CH3$ で構成される。それぞれの軽鎖は、軽鎖可変領域（本明細書では略して V_L ）と軽鎖定常領域で構成される。軽鎖定常領域は1ドメイン、 C_L で構成される。 V_H 領域と V_L 領域は、フレームワーク領域（FR）と呼ばれるより保存的である領域が散在した、相補性決定領域（CDR）と呼ばれる超可変性の領域にさらに細かく分けることができる。それぞれの V_H と V_L は、以下の順： $FR1$ 、 $CDR1$ 、 $FR2$ 、 $CDR2$ 、 $FR3$ 、 $CDR3$ 、 $FR4$ でアミノ末端からカルボキシ末端に配置された3つのCDRおよび4つのFRで構成される。重鎖および軽鎖の可変領域は、抗原と相互作用する結合ドメインを含有する。抗体の定常領域は、免疫系の様々な細胞（例えば、エフェクター細胞）および古典的補体系の第一成分（ $C1q$ ）を含めた、宿主組織または因子と免疫グロブリンの結合を媒介することができる。

10

20

【0058】

本明細書で使用する用語、抗体の「抗原結合部分」（または単に「抗原部分」）は、抗原（例えば、 $ActRIIB$ の一部）と特異的に結合する能力を保持する、抗体の完全長または1つもしくは複数の断片を指す。抗体の抗原結合機能は、完全長抗体の断片によって実施され得ることが示されている。用語、抗体の「抗原結合部分」内に包含される結合断片の例には、Fab断片、 V_L 、 V_H 、 C_L および $CH1$ ドメインからなる一価断片、 $F(ab)_2$ 断片、その各々が同じ抗原と結合しヒンジ領域でジスルフィド架橋によって結合した2つのFab断片を含む二価断片、 V_H および $CH1$ ドメインからなるFd断片、抗体の1アームの V_L および V_H ドメインからなるFv断片、 V_H ドメインからなるdAb断片（Ward et al., 1989 Nature 341:544-546）、および単離相補性決定領域（CDR）がある。

30

【0059】

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

40

【0060】

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

【0061】

用語「交差遮断する」、「交差遮断された」および「交差遮断」は本明細書中で互換的に使用され、標準競合結合アッセイにおける $ActRIIB$ 、特にリガンド結合ドメイン

50

と他の抗体または結合剤の結合に干渉する、抗体または他の結合剤の能力を意味する。

【0062】

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

【0063】

本明細書で使用する用語「ヒト抗体」は、フレームワーク領域とCDR領域の両方がヒト起源の配列に由来する可変領域を有する抗体を含むものとする。さらに、抗体が定常領域を含有する場合、その定常領域も、このようなヒト配列、例えばヒト生殖細胞系列配列、または突然変異型のヒト生殖細胞系列配列、または例えばKnappik, et al.(2000.J Mol Biol 296, 57-86)中に記載されたようなヒトフレームワーク配列分析に由来するコンセンサスフレームワーク配列を含有する抗体に由来する。本開示のヒト抗体は、ヒト配列によってコードされないアミノ酸残基(例えば、in vitroランダムもしくは部位特異的突然変異誘発またはin vivo体細胞突然変異によって導入された突然変異体)を含み得る。しかしながら、本明細書で使用する用語「ヒト抗体」は、マウスなどの別の哺乳動物種の生殖細胞系列由来のCDR配列がヒトフレームワーク配列に移植された抗体は含まないものとする。

【0064】

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

【0065】

本明細書で使用する用語「組換えヒト抗体」は、ヒト免疫グロブリン遺伝子に関してトランスジェニックもしくはトランスクロモソーマルである動物(例えばマウス)から単離された抗体またはそこから調製したハイブリドーマ、ヒト抗体を発現するよう形質転換された宿主細胞から、例えばトランスフェクトーマから単離された抗体、組換え、コンビナトリアルヒト抗体ライブラリーから単離された抗体、および他のDNA配列とヒト免疫グロブリン遺伝子配列の全部または一部のスプライシングを伴う任意の他の手段によって調製、発現、作製または単離された抗体などの、組換え手段によって調製、発現、作製または単離された全てのヒト抗体を含む。このような組換えヒト抗体は、フレームワークおよびCDR領域がヒト生殖細胞系列免疫グロブリン配列に由来する可変領域を有する。しかしながらある特定の実施形態では、このような組換えヒト抗体に、in vitro突然変異誘発(または、ヒトIg配列に関してトランスジェニックな動物を使用するときは、in vivo体細胞突然変異誘発)を施すことができ、したがって、組換え抗体のV_HおよびV_L領域のアミノ酸配列は、ヒト生殖細胞系列V_HおよびV_L配列に由来しそれらと関連する一方で、in vivoでヒト抗体生殖細胞系列レパートリー内に本来存在し得ない配列である。

【0066】

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

【0067】

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

【0068】

本明細書で使用する、「ActRIIBポリペプチドと特異的に結合する」抗体は、約100nM以下、約10nM以下、約1nM以下のK_DでヒトActRIIBポリペプチドと結合する抗体を指すものとする。「ActRIIB以外の抗原と交差反応する」抗体は、約10×10⁻⁹M以下、約5×10⁻⁹M以下、または約2×10⁻⁹M以下のK

10

20

30

40

50

K_D でその抗原と結合する抗体を指すものとする。「特定抗原と交差反応しない」抗体は、約 1.5×10^{-8} M以上の K_D 、または約 $5 \sim 10 \times 10^{-8}$ M、もしくは約 1×10^{-7} M以上の K_D でその抗原と結合する抗体を指すものとする。ある特定の実施形態では、抗原と交差反応しないこのような抗体は、標準的結合アッセイにおいて、これらのタンパク質に対してほぼ検出不能な結合を示す。Biacore（登録商標）システムなどのバイオセンサーシステム、または溶液平衡滴定を使用して K_D を決定することができる。

【0069】

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

【0070】

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

【0071】

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

【0072】

本明細書で使用する用語「 K_{assoc} 」または「 K_a 」は、特定の抗体-抗原相互作用の会合速度を指すものとし、一方本明細書で使用する用語「 K_{diss} 」または「 K_d 」は、特定の抗体-抗原相互作用の解離速度を指すものとする。本明細書で使用する用語「 K_D 」は、 K_d と K_a の比（すなわち K_d / K_a ）から得てモル濃度（M）として表す、解離定数を指すものとする。当技術分野で十分確立した方法を使用して、抗体に関する K_D 値を決定することができる。抗体の K_D を決定するための方法は、Biacore（登録商標）のバイオセンサーシステムなどの表面プラズモン共鳴、または溶液平衡滴定（SET）を使用することによる方法である（Friguet B et al.(1985)J.Immunol Methods;77(2):305-319、および Hanel C et al.(2005)Anal Biochem;339(1):182-184参照）。

【0073】

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

【0074】

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

【0075】

10

20

30

40

50

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

【0076】

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

10

【0077】

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

20

【0078】

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

【0079】

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

【0080】

本明細書で使用する用語「最適化」は、生産細胞または生物、一般に真核生物細胞、例えばピキア酵母（*Pichia*）の細胞、トリコデルマ属（*Trichoderma*）の細胞、チャイニーズハムスター卵巢細胞（CHO）またはヒト細胞において好ましいコドンを使用して、ヌクレオチド配列がアミノ酸配列をコードするように改変されていることを意味する。最適化ヌクレオチド配列を操作処理して、「親」配列としても知られる開始ヌクレオチドによって本来コードされるアミノ酸配列を、完全にまたは可能な限り多く保持する。本明細書の最適化配列はCHO哺乳動物細胞において好ましいコドンを有するように操作処理しているが、しかしながら、他の真核生物細胞におけるこれらの配列の最適化発現も本明細書では想定する。最適化ヌクレオチド配列によってコードされるアミノ酸配列も、最適化状態であると言える。

30

【0081】

ActRII受容体に対する抗体、例えばビマグルマブは、ミオスタチンが受容体と結合するのを妨げ、それによって股関節部骨折手術した患者が回復するのを改善または促進することが可能であることが発見されている。

40

【0082】

したがって一態様では、本開示は、ミオスタチンアンタゴニスト、例えばミオスタチン結合分子またはActRII結合分子、好ましくはActRII結合分子、より好ましくは抗ActRII抗体、例えばビマグルマブ、または使用する前記抗体の抗原結合部分を含む機能性タンパク質を含む組成物を提供する。一実施形態では、ActRII BはヒトActRII Bである。ヒトActRII Bのポリペプチド配列は配列番号181（AAC64515.1、GI:3769443）に示す。一実施形態では、抗体または機能性タンパク質は、ヒトまたはラクダなどの起源を有する哺乳動物に由来する。したがって、

50

開示する組成物中に含まれる抗体はキメラ、ヒトまたはヒト化抗体であってよい。特定の実施形態では、開示する組成物中に含まれる抗 A c t R I I B 抗体は、標的タンパク質 A c t R I I B に特異的であり A c t R I I B または A c t R I I B の断片と結合する、抗原結合領域を有することを特徴とする。

【0083】

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

10

【0084】

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

20

【0085】

一実施形態では本開示は、A c t R I I B のミオスタチン結合領域(すなわち、リガンド結合ドメイン)と特異的に結合する抗体を含む組成物を提供する。このリガンド結合ドメインは配列番号181のアミノ酸19~134からなり、本明細書では配列番号182を割り当てている。リガンド結合ドメインは、幾つかの以下に記載するエピトープを含む。

【0086】

一実施形態では、開示する組成物中に含まれる抗体は、約100nM以下、約10nM以下、約1nM以下の K_D でA c t R I I B と結合する。開示する組成物中に含まれる抗体は、100pM以下(すなわち約100pM、約50pM、約10pM、約2pM、約1pM以下)のアフィニティーでA c t R I I B と結合することが好ましい。一実施形態では、開示する組成物中に含まれる抗体は、約1pMと約10pMの間のアフィニティーでA c t R I I B と結合する。

30

【0087】

一実施形態では、開示する組成物中に含まれる抗体はA c t R I I B 関連タンパク質と交差反応しない、特にヒトA c t R I I A (N P _ 0 0 1 6 0 7 . 1、G I : 4 5 0 1 8 9 7) と交差反応しない。別の実施形態では、本開示の組成物中に含まれる抗体はA c t R I I A と交差反応し、それらがA c t R I I A と結合するのと同等のアフィニティー、または約1、2、3、4または5倍高いアフィニティー、より好ましくは約10倍、さらにより好ましくは約20、30、40または50倍、さらにより好ましくは約100倍のアフィニティーでA c t R I I B と結合する。

40

【0088】

一実施形態では、開示する組成物中に含まれる抗体は、100pM以上(すなわち約250pM、約500pM、約1nM、約5nM以上)のアフィニティーでA c t R I I A と結合する。

【0089】

一実施形態では、開示する組成物中に含まれる抗体はI g G₂ アイソタイプの抗体であ

50

る。

【0090】

別の実施形態では、開示する組成物に含まれる抗体はIgG₁アイソタイプの抗体である。さらなる実施形態では、開示する組成物に含まれる抗体はIgG₁アイソタイプの抗体であり、Fc領域の突然変異により改変されたエフェクター機能を有する。前記改変されたエフェクター機能は、低下したADCCおよびCDC活性であり得る。一実施形態では、前記改変されたエフェクター機能は、抑制されたADCCおよびCDC活性である。

【0091】

別の関連実施形態では、開示する組成物に含まれる抗体は、抗体依存性細胞傷害作用(ADCC)活性またはCDC活性がない完全ヒトまたはヒト化IgG₁抗体であり、配列番号181のアミノ酸19~134からなるActRIIBの領域と結合する。

10

【0092】

別の関連実施形態では、開示する組成物に含まれる抗体は、抗体依存性細胞傷害作用(ADCC)活性またはCDC活性が低下した完全ヒトまたはヒト化IgG₁抗体であり、配列番号181のアミノ酸19~134からなるActRIIBの領域と結合する。

【0093】

さらに本開示は、股関節部骨折および必然的大手術が原因の運動性の低下によって誘発される廃用性萎縮がある患者において身体回復を促進/改善するために使用する、ヒトまたはヒト化抗ActRIIB抗体を含む組成物に関する。

20

【0094】

ある特定の実施形態では、開示する組成物に含まれる抗体は特定重鎖および軽鎖配列に由来する、および/または特定アミノ酸配列を含むCDR領域などの特定構造特徴を含む。本開示は、単離ActRIIB抗体、このような抗体の作製法、このような抗体を含むイムノコンジュゲートおよび多価または多重特異性分子、および抗体、イムノコンジュゲートまたは二重特異性分子を含有する医薬組成物を提供する。

【0095】

別の実施形態では、本開示は、以下の態様に関する：

【0096】

1. 股関節部骨折および必然的大手術が原因の運動性の低下によって誘発される廃用性萎縮がある患者における身体回復の促進/改善において使用するためのミオスタチンアンタゴニスト。

30

【0097】

2. ミオスタチンアンタゴニストが、手術による股関節部修復の成功および創傷治癒の確認後に投与される、態様1に記載の使用のためのミオスタチンアンタゴニスト。

【0098】

3. ミオスタチンアンタゴニストが、歩行補助具有りまたは無しで荷重歩行し身体的リハビリテーションを開始することができる患者に投与される、態様1または2のいずれか一態様に記載の使用のためのミオスタチンアンタゴニスト。

【0099】

4. ミオスタチンアンタゴニストが、手術の約7~42日後または約1~6週間後、好ましくは14~42日後、または約2~6週間後、最大8週間後から投与される、態様1から3のいずれか一態様に記載の使用のためのミオスタチンアンタゴニスト。

40

【0100】

5. ミオスタチンアンタゴニストが、それを必要とする患者に約3~10mg/kgの用量で投与される、態様1から4のいずれか一態様に記載の使用のためのミオスタチンアンタゴニスト。

【0101】

6. 前記ミオスタチンアンタゴニストが、約3または約10mg/体重1kgの用量で投与される、態様5に記載の使用のためのミオスタチンアンタゴニスト。

50

【 0 1 0 2 】

あるいは、ミオスタチンアンタゴニストは約 3、4、5、6、7、8、9、または約 10 mg / 体重 1 kg の用量で投与される。

【 0 1 0 3 】

7. ミオスタチンアンタゴニストが、それを必要とする患者に約 70 ~ 700 mg の用量で投与される、態様 1 から 3 のいずれか一態様に記載の使用のためのミオスタチンアンタゴニスト。

【 0 1 0 4 】

8. 前記ミオスタチンアンタゴニストが約 210 または約 700 mg の用量で投与される、態様 5 に記載の使用のためのミオスタチンアンタゴニスト。

10

【 0 1 0 5 】

あるいは、ミオスタチンアンタゴニストは約 210、280、300、350、400、420、450、490、500、550、560、600、630 または約 700 mg の用量で投与される。

【 0 1 0 6 】

9. 前記ミオスタチンアンタゴニストが静脈内投与される、態様 1 から 8 のいずれか一態様に記載の使用のためのミオスタチンアンタゴニスト。

【 0 1 0 7 】

10. 前記ミオスタチンアンタゴニストが 4 週間毎に投与される、態様 1 から 9 のいずれか一態様に記載の使用のためのミオスタチンアンタゴニスト。

20

【 0 1 0 8 】

あるいは、ミオスタチンアンタゴニストは 8 週間毎に投与することができる。

【 0 1 0 9 】

11. 前記ミオスタチンアンタゴニストが少なくとも 3 カ月間投与される、態様 1 から 10 のいずれか一態様に記載の使用のためのミオスタチンアンタゴニスト。

【 0 1 1 0 】

12. 前記ミオスタチンアンタゴニストが約 6 カ月間投与される、態様 1 から 11 のいずれか一態様に記載の使用のためのミオスタチンアンタゴニスト。

【 0 1 1 1 】

13. 前記ミオスタチンアンタゴニストが最大 12 カ月間投与される、態様 1 から 11 のいずれか一態様に記載の使用のためのミオスタチンアンタゴニスト。

30

【 0 1 1 2 】

ミオスタチンアンタゴニストは、少なくともまたは最大 3、4、5、6、7、8、9、10、11 もしくは 12 カ月間投与されることが好ましい。

【 0 1 1 3 】

14. 前記ミオスタチンが、股関節部骨折および必然的大手術が原因の運動性の低下によって誘発される廃用性萎縮がある患者における身体回復を促進 / 改善し、それにより、筋成長の促進、筋強度および身体性能の向上、自己運動知覚の改善、自立状態への回復促進、ならびに転倒および転倒損傷のリスクの低減を示すように投与される、態様 1 から 13 のいずれか一態様に記載の使用のためのミオスタチンアンタゴニスト。

40

【 0 1 1 4 】

15. 股関節部骨折および骨折修復のための必然的大手術が原因の運動性の低下によって誘発される廃用性萎縮がある患者における身体回復を促進 / 改善する方法であって、ミオスタチンアンタゴニストを投与することを含む方法。

【 0 1 1 5 】

16. ミオスタチンアンタゴニストを、手術による股関節部修復の成功および創傷治癒の確認後に投与することを含む、態様 15 に記載の方法。

【 0 1 1 6 】

17. ミオスタチンアンタゴニストを、手術の約 7 ~ 42 日後または約 1 ~ 6 週間後、好ましくは 14 ~ 42 日後、または約 2 ~ 6 週間後、最大 8 週間後に投与し始めることを

50

含む、態様 16 に記載の方法。

【0117】

18. ミオスタチンアンタゴニストを、歩行補助具有りまたは無しで荷重歩行し身体的リハビリテーションを開始することができる患者に投与し始めることを含む、態様 15 から 17 のいずれか一態様に記載の方法。

【0118】

19. ミオスタチンアンタゴニストを、それを必要とする患者に約 3 ~ 10 mg / kg の用量で投与することを含む、態様 15 から 18 のいずれか一態様に記載の方法。

【0119】

20. ミオスタチンアンタゴニストを、それを必要とする患者に約 3 または約 10 mg / 体重 1 kg の用量で投与することを含む、態様 15 から 19 のいずれか一態様に記載の方法。

【0120】

21. ミオスタチンアンタゴニストを静脈内投与することを含む、態様 15 から 120 のいずれか一態様に記載の方法。

【0121】

22. ミオスタチンアンタゴニストを 4 週間毎に投与することを含む、態様 15 から 21 のいずれか一態様に記載の方法。

【0122】

23. ミオスタチンアンタゴニストを少なくとも 3 カ月間投与することを含む、態様 15 から 22 のいずれか一態様に記載の方法。

【0123】

24. ミオスタチンアンタゴニストを少なくとも 6 カ月間投与することを含む、態様 15 から 23 のいずれか一態様に記載の方法。

【0124】

25. ミオスタチンアンタゴニストを最大 12 カ月間投与することを含む、態様 223 に記載の方法。

【0125】

26. 股関節部骨折および必然的大手術が原因の運動性の低下によって誘発される廃用性萎縮がある患者における身体回復の促進 / 改善が、筋成長の促進、筋強度および身体性能の向上、自己運動知覚の改善、自立状態への回復促進、ならびに転倒および転倒損傷のリスクの低減を示す、態様 15 から 25 のいずれか一態様に記載の方法。

【0126】

27. ミオスタチン受容体結合分子である、態様 1 から 26 のいずれか一態様に記載の使用または方法のためのミオスタチンアンタゴニスト。

【0127】

28. ActRII 受容体アンタゴニストである、態様 1 から 27 のいずれか一態様に記載の使用または方法のためのミオスタチンアンタゴニスト。

【0128】

29. 抗 ActRII 受容体抗体である、態様 1 から 28 のいずれか一態様に記載の使用または方法のためのミオスタチンアンタゴニスト。

【0129】

30. 抗 ActRII 受容体抗体がビマグルマブである、態様 1 から 29 のいずれか一態様に記載の使用または方法のためのミオスタチンアンタゴニスト。

【0130】

31. 配列番号 181 のアミノ酸 19 ~ 134 (配列番号 182) からなる ActRIIB のエピトープと結合する抗 ActRII 抗体である、態様 29 に記載の使用または方法のためのミオスタチンアンタゴニスト。

【0131】

32. 抗 ActRII 抗体が、

10

20

30

40

50

(a) 配列番号 181 のアミノ酸 78 ~ 83 (W L D D F N - 配列番号 188)、
 (b) 配列番号 181 のアミノ酸 76 ~ 84 (G C W L D D F N C - 配列番号 186)、
 、
 (c) 配列番号 181 のアミノ酸 75 ~ 85 (K G C W L D D F N C Y - 配列番号 190)、
 (d) 配列番号 181 のアミノ酸 52 ~ 56 (E Q D K R - 配列番号 189)、
 (e) 配列番号 181 のアミノ酸 49 ~ 63 (C E G E Q D K R L H C Y A S W - 配列番号 187)、
 (f) 配列番号 181 のアミノ酸 29 ~ 41 (C I Y Y N A N W E L E R T - 配列番号 191)、
 (g) 配列番号 181 のアミノ酸 100 ~ 110 (Y F C C C E G N F C N - 配列番号 192)、または
 (h) 配列番号 181 のアミノ酸 78 ~ 83 (W L D D F N) および配列番号 181 のアミノ酸 52 ~ 56 (E Q D K R)
 を含むまたはこれらからなる A c t R I I B のエピトープと結合する、態様 29 から 31 のいずれか一態様に記載の使用または方法のためのミオスタチンアンタゴニスト。

10

【0132】

33. 抗 A c t R I I B 抗体が、
 a) (a) 配列番号 181 のアミノ酸 78 ~ 83 (W L D D F N - 配列番号 188)、
 (b) 配列番号 181 のアミノ酸 76 ~ 84 (G C W L D D F N C - 配列番号 186)、
 、
 (c) 配列番号 181 のアミノ酸 75 ~ 85 (K G C W L D D F N C Y - 配列番号 190)、
 (d) 配列番号 181 のアミノ酸 52 ~ 56 (E Q D K R - 配列番号 189)、
 (e) 配列番号 181 のアミノ酸 49 ~ 63 (C E G E Q D K R L H C Y A S W - 配列番号 187)、
 (f) 配列番号 181 のアミノ酸 29 ~ 41 (C I Y Y N A N W E L E R T - 配列番号 191)、
 (g) 配列番号 181 のアミノ酸 100 ~ 110 (Y F C C C E G N F C N - 配列番号 192)、または
 (h) 配列番号 181 のアミノ酸 78 ~ 83 (W L D D F N) および配列番号 181 のアミノ酸 52 ~ 56 (E Q D K R)
 を含む A c t R I I B のエピトープと結合する抗 A c t R I I B 抗体、
 および b) 配列番号 181 のアミノ酸 78 ~ 83 (W L D D F N - 配列番号 188)、
 (b) 配列番号 181 のアミノ酸 76 ~ 84 (G C W L D D F N C - 配列番号 186)

20

30

、
 (c) 配列番号 181 のアミノ酸 75 ~ 85 (K G C W L D D F N C Y - 配列番号 190)、
 (d) 配列番号 181 のアミノ酸 52 ~ 56 (E Q D K R - 配列番号 189)、
 (e) 配列番号 181 のアミノ酸 49 ~ 63 (C E G E Q D K R L H C Y A S W - 配列番号 187)、
 (f) 配列番号 181 のアミノ酸 29 ~ 41 (C I Y Y N A N W E L E R T - 配列番号 191)、
 (g) 配列番号 181 のアミノ酸 100 ~ 110 (Y F C C C E G N F C N - 配列番号 192)、または
 (h) 配列番号 181 のアミノ酸 78 ~ 83 (W L D D F N) および配列番号 181 のアミノ酸 52 ~ 56 (E Q D K R)

40

を含む A c t R I I B のエピトープと結合する A c t R I I B に対するアンタゴニスト抗体からなる群から選択され、抗体が約 2 p M の K_D を有する、態様 29 から 32 のいずれか一態様に記載の使用のためのミオスタチンアンタゴニスト。

50

【 0 1 3 3 】

34．抗体が、A c t R I I A と結合する 10 倍以上のアフィニティーで A c t R I I B と結合する、態様 29 から 33 のいずれか一態様に記載の使用または方法のためのミオスタチンアンタゴニスト。

【 0 1 3 4 】

35．抗体が、配列番号 1 ～ 14 からなる群から選択されるアミノ酸配列を含む重鎖可変領域 C D R 1、配列番号 15 ～ 28 からなる群から選択されるアミノ酸配列を含む重鎖可変領域 C D R 2、配列番号 29 ～ 42 からなる群から選択されるアミノ酸配列を含む重鎖可変領域 C D R 3、配列番号 43 ～ 56 からなる群から選択されるアミノ酸配列を含む軽鎖可変領域 C D R 1、配列番号 57 ～ 70 からなる群から選択されるアミノ酸配列を含む軽鎖可変領域 C D R 2、および配列番号 71 ～ 84 からなる群から選択されるアミノ酸配列を含む軽鎖可変領域 C D R 3 を含む、態様 29 から 34 のいずれか一態様に記載の使用または方法のためのミオスタチンアンタゴニスト。

10

【 0 1 3 5 】

36．抗体が、

(a) 配列番号 1 の重鎖可変領域 C D R 1、配列番号 15 の重鎖可変領域 C D R 2、配列番号 29 の重鎖可変領域 C D R 3、配列番号 43 の軽鎖可変領域 C D R 1、配列番号 57 の軽鎖可変領域 C D R 2、および配列番号 71 の軽鎖可変領域 C D R 3、

(b) 配列番号 2 の重鎖可変領域 C D R 1、配列番号 16 の重鎖可変領域 C D R 2、配列番号 30 の重鎖可変領域 C D R 3、配列番号 44 の軽鎖可変領域 C D R 1、配列番号 58 の軽鎖可変領域 C D R 2、および配列番号 72 の軽鎖可変領域 C D R 3、

20

(c) 配列番号 3 の重鎖可変領域 C D R 1、配列番号 17 の重鎖可変領域 C D R 2、配列番号 31 の重鎖可変領域 C D R 3、配列番号 45 の軽鎖可変領域 C D R 1、配列番号 59 の軽鎖可変領域 C D R 2、および配列番号 73 の軽鎖可変領域 C D R 3、

(d) 配列番号 4 の重鎖可変領域 C D R 1、配列番号 18 の重鎖可変領域 C D R 2、配列番号 32 の重鎖可変領域 C D R 3、配列番号 46 の軽鎖可変領域 C D R 1、配列番号 60 の軽鎖可変領域 C D R 2、および配列番号 74 の軽鎖可変領域 C D R 3、

(e) 配列番号 5 の重鎖可変領域 C D R 1、配列番号 19 の重鎖可変領域 C D R 2、配列番号 33 の重鎖可変領域 C D R 3、配列番号 47 の軽鎖可変領域 C D R 1、配列番号 61 の軽鎖可変領域 C D R 2、および配列番号 75 の軽鎖可変領域 C D R 3、

30

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

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

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

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

40

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

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

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

50

68の軽鎖可変領域CDR2、および配列番号82の軽鎖可変領域CDR3、

(m) 配列番号13の重鎖可変領域CDR1、配列番号27の重鎖可変領域CDR2、配列番号41の重鎖可変領域CDR3、配列番号55の軽鎖可変領域CDR1、配列番号69の軽鎖可変領域CDR2、および配列番号83の軽鎖可変領域CDR3、または

(n) 配列番号14の重鎖可変領域CDR1、配列番号28の重鎖可変領域CDR2、配列番号42の重鎖可変領域CDR3、配列番号56の軽鎖可変領域CDR1、配列番号70の軽鎖可変領域CDR2、および配列番号84の軽鎖可変領域CDR3

を含む、態様29から35のいずれか一態様に記載の使用または方法のためのミオスタチンアンタゴニスト。

【0136】

37. 抗体が、配列番号146～150および156～160からなる群から選択される少なくとも1つの配列と少なくとも95%の配列同一性を有する完全長重鎖アミノ酸配列を含む、態様29から36のいずれか一態様に記載の使用または方法のためのミオスタチンアンタゴニスト。

【0137】

38. 抗体が、配列番号141～145および151～155からなる群から選択される少なくとも1つの配列と少なくとも95%の配列同一性を有する完全長軽鎖アミノ酸配列を含む、態様29から37のいずれか一態様に記載の使用または方法のためのミオスタチンアンタゴニスト。

【0138】

39. 抗体が、

- (a) 配列番号99の可変重鎖配列と配列番号85の可変軽鎖配列、
- (b) 配列番号100の可変重鎖配列と配列番号86の可変軽鎖配列、
- (c) 配列番号101の可変重鎖配列と配列番号87の可変軽鎖配列、
- (d) 配列番号102の可変重鎖配列と配列番号88の可変軽鎖配列、
- (e) 配列番号103の可変重鎖配列と配列番号89の可変軽鎖配列、
- (f) 配列番号104の可変重鎖配列と配列番号90の可変軽鎖配列、
- (g) 配列番号105の可変重鎖配列と配列番号91の可変軽鎖配列、
- (h) 配列番号106の可変重鎖配列と配列番号92の可変軽鎖配列、
- (i) 配列番号107の可変重鎖配列と配列番号93の可変軽鎖配列、
- (j) 配列番号108の可変重鎖配列と配列番号94の可変軽鎖配列、
- (k) 配列番号109の可変重鎖配列と配列番号95の可変軽鎖配列、
- (l) 配列番号110の可変重鎖配列と配列番号96の可変軽鎖配列、
- (m) 配列番号111の可変重鎖配列と配列番号97の可変軽鎖配列、または
- (n) 配列番号112の可変重鎖配列と配列番号98の可変軽鎖配列

を含む、態様29から38のいずれか一態様に記載の使用または方法のためのミオスタチンアンタゴニスト。

【0139】

40. 抗体が、

- (a) 配列番号146の重鎖配列と配列番号141の軽鎖配列、
- (b) 配列番号147の重鎖配列と配列番号142の軽鎖配列、
- (c) 配列番号148の重鎖配列と配列番号143の軽鎖配列、
- (d) 配列番号149の重鎖配列と配列番号144の軽鎖配列、
- (e) 配列番号150の重鎖配列と配列番号145の軽鎖配列、
- (f) 配列番号156の重鎖配列と配列番号151の軽鎖配列、
- (g) 配列番号157の重鎖配列と配列番号152の軽鎖配列、
- (h) 配列番号158の重鎖配列と配列番号153の軽鎖配列、
- (i) 配列番号159の重鎖配列と配列番号154の軽鎖配列、または
- (j) 配列番号160の重鎖配列と配列番号155の軽鎖配列

を含む、態様29から39のいずれか一態様に記載の使用または方法のためのミオスタ

10

20

30

40

50

チンアンタゴニスト。

【 0 1 4 0 】

4 1 . 前記組成物中に含まれる抗体が、請求項 1 0 の少なくとも 1 つの抗体と A c t R I I B の結合を交差反応遮断する、または A c t R I I B との結合を態様 3 6 の少なくとも 1 つの抗体によって交差反応遮断される、態様 2 9 から 4 0 のいずれか一態様に記載の使用のためのミオスタチンアンタゴニスト。

【 0 1 4 1 】

4 2 . 前記組成物中に含まれる抗体が、F c 領域の突然変異によって改変されたエフェクター機能を有する、態様 2 9 から 4 1 のいずれか一態様に記載の使用のためのミオスタチンアンタゴニスト。

10

【 0 1 4 2 】

4 3 . 前記組成物中に含まれる抗体が、態様 3 9 から 4 0 に記載の抗体によって認識されるエピトープと結合する、態様 2 9 から 4 2 のいずれか一態様に記載の使用のためのミオスタチンアンタゴニスト。

【 0 1 4 3 】

4 4 . 抗体が、p B W 5 2 2 (D S M 2 2 8 7 3) または p B W 5 2 4 (D S M 2 2 8 7 4) によってコードされる、態様 2 9 から 4 3 のいずれか一態様に記載の使用のためのミオスタチンアンタゴニスト。

【 0 1 4 4 】

4 5 . 股関節部骨折および必然的大手術が原因の運動性の低下によって誘発される廃用性萎縮がある患者における身体回復の促進 / 改善において使用するためのビマグルマブであって、4 週間毎に約 3 ~ 1 0 m g / 体重 1 k g の用量で静脈内投与されるビマグルマブ。

20

【 0 1 4 5 】

4 6 . 股関節部骨折および必然的大手術が原因の運動性の低下によって誘発される廃用性萎縮がある患者における身体回復の促進 / 改善において使用するためのビマグルマブであって、4 週間毎に約 3 m g / 体重 1 k g の用量で静脈内投与されるビマグルマブ。

【 0 1 4 6 】

4 7 . 股関節部骨折および必然的大手術が原因の運動性の低下によって誘発される廃用性萎縮がある患者における身体回復の促進 / 改善において使用するためのビマグルマブであって、4 週間毎に約 1 0 m g / 体重 1 k g の用量で静脈内投与されるビマグルマブ。

30

【 0 1 4 7 】

4 8 . 股関節部骨折および必然的大手術が原因の運動性の低下によって誘発される廃用性萎縮がある患者における身体回復を促進 / 改善する方法において使用するための、1 5 0 m g / m l のビマグルマブを含む組成物。

【 0 1 4 8 】

4 9 . 1 5 0 m g / m l のビマグルマブを含む単位剤形。

【 0 1 4 9 】

さらなる実施形態では、単位剤形、すなわちバイアルは、1 0 0 ~ 2 0 0 m g / m l のビマグルマブ、好ましくは 1 0 0 、1 0 5 、1 1 0 、1 1 5 、1 2 0 、1 2 5 、1 3 0 、1 3 5 、1 4 0 、1 4 5 、1 5 0 、1 5 5 、1 6 0 、1 6 5 、1 7 0 、1 7 5 、1 8 0 、1 8 5 、1 9 0 、1 9 5 、2 0 0 m g / m l のビマグルマブを含む。

40

【 0 1 5 0 】

5 0 . 溶液で希釈した 1 つまたは複数のバイアル由来の適量のビマグルマブを含む注入用バッグ。

【 0 1 5 1 】

溶液はデキストロース溶液であることが好ましい。

【 0 1 5 2 】

幾つかのさらなる実施形態では、ミオスタチンアンタゴニスト、好ましくは A c R I I アンタゴニストまたはビマグルマブなどの抗 A c R I I 抗体を、約 1 、2 、3 、4 、5 、

50

5、6、7、8、9または10mg/体重1kgの用量で投与する。

【0153】

本明細書で開示するのは、股関節部骨折および必然的大手術が原因の運動性の低下によって誘発される廃用性萎縮がある患者における身体回復を促進/改善するための医薬品の製造のためのミオスタチンアンタゴニストである。

【0154】

さらなる実施形態では、本明細書で開示する全ての態様は、一態様と他の任意の態様を組み合わせ使用することができる。

【0155】

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

【0156】

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

【0157】

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

【0158】

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

【0159】

陽性対照ウエル（すなわち、同じ抗ActRIIB抗体およびActRIIB、ただし「試験」交差遮断抗体なし）と比較して、試験抗体が60%と100%の間、具体的には70%と100%の間、およびより具体的には80%と100%の間のActRIIBと抗ActRII抗体の結合の低減を引き起こすことができる場合、ELISAアッセイに

10

20

30

40

50

において本開示の抗 A c t R I I B 抗体を交差遮断するとして抗体を定義する。本明細書に引用する交差遮断抗体の例は、M O R 0 8 1 5 9 および M O R 0 8 2 1 3 (W O 2 0 1 0 / 1 2 5 0 0 3 に開示されている) である。したがって本開示は、A c t R I I B との結合に関して M O R 0 8 1 5 9 または M O R 0 8 2 1 3 を交差遮断する抗体を含む組成物を提供する。

【 0 1 6 0 】

組換え抗体

本開示内で使用する組成物中に含まれる抗体、例えばビマグルマブなどの A c t R I I に対するアンタゴニスト抗体は、実施例中に記載したように単離し構造的に特徴付けたヒト組換え抗体を含む。本発明の組成物中に含まれる抗体の V_H アミノ酸配列は、配列番号 9 9 ~ 1 1 2 で示す。本発明の組成物中に含まれる抗体の V_L アミノ酸配列は、それぞれ配列番号 8 5 ~ 9 8 で示す。本発明の組成物中に含まれる抗体の好ましい完全長重鎖アミノ酸配列の例は、配列番号 1 4 6 ~ 1 5 0 および 1 5 6 ~ 1 6 0 で示す。本発明の組成物中に含まれる抗体の好ましい完全長軽鎖アミノ酸配列の例は、それぞれ配列番号 1 4 1 ~ 1 4 5 および 1 5 1 ~ 1 5 5 で示す。本発明の組成物中に含まれる他の抗体は、アミノ酸欠失、挿入または置換によって突然変異しており、前に記載した配列中に示す C D R 領域と少なくとも 6 0、7 0、8 0、9 0、9 5、9 7 または 9 9 % の C D R 領域の同一性を依然として有するアミノ酸を含む。幾つかの実施形態では、それは、前に記載した配列中に示す C D R 領域と比較したとき、C D R 領域中の 1、2、3、4 または 5 個を超えないアミノ酸がアミノ酸欠失、挿入または置換によって突然変異している、突然変異型アミノ酸配列を含む。

10

20

【 0 1 6 1 】

さらに、可変重鎖親ヌクレオチド配列は配列番号 1 2 7 ~ 1 4 0 で示す。可変軽鎖親ヌクレオチド配列は配列番号 1 1 3 ~ 1 2 6 で示す。哺乳動物細胞中での発現に最適化した完全長軽鎖ヌクレオチド配列は、配列番号 1 6 1 ~ 1 6 5 および 1 7 1 ~ 1 7 5 で示す。哺乳動物細胞中での発現に最適化した完全長重鎖ヌクレオチド配列は、配列番号 1 6 6 ~ 1 7 0 および 1 7 6 ~ 1 8 0 で示す。本発明の組成物中に含まれる他の抗体は、突然変異しており前に記載した配列と少なくとも 6 0 % 以上 (すなわち 8 0、9 0、9 5、9 7、9 9 % 以上) の同一性を依然として有するアミノ酸を含むか、そのような核酸によってコードされている。幾つかの実施形態では、それは、前に記載した配列中に示す可変領域と比較したとき、可変領域中の 1、2、3、4 または 5 個を超えないアミノ酸がアミノ酸欠失、挿入または置換によって突然変異している、突然変異型アミノ酸配列を含む。

30

40

【 0 1 6 2 】

これらの抗体の各々は同じエピトープと結合し、同じ親抗体からの子孫であるので、V_H、V_L、完全長軽鎖、および完全長重鎖配列 (ヌクレオチド配列とアミノ酸配列) を「混合および合致」させて、本開示の他の抗 A c t R I I B 結合分子を作製することができる。このような「混合および合致」抗体の A c t R I I B 結合は、前および実施例中に記載した結合アッセイ (例えば E L I S A) を使用して試験することができる。これらの鎖を混合および合致させるとき、特定 V_H / V_L 対からの V_H 配列は構造上類似した V_H 配列で置換しなければならない。同様に、特定完全長重鎖 / 完全長軽鎖対からの完全長重鎖配列は、構造上類似した完全長重鎖配列で置換しなければならない。同様に、特定 V_H / V_L 対からの V_L 配列は、構造上類似した V_L 配列で置換しなければならない。同様に、特定完全長重鎖 / 完全長軽鎖対からの完全長軽鎖配列は、構造上類似した完全長軽鎖配列で置換しなければならない。したがって一態様では、本開示は、配列番号 9 9 ~ 1 1 2 からなる群から選択されるアミノ酸配列を含む重鎖可変領域、および配列番号 8 5 ~ 9 8 からなる群から選択されるアミノ酸配列を含む軽鎖可変領域を有する、組換え抗 A c t R I I 抗体またはその抗原結合領域を含む組成物を提供する。

【 0 1 6 3 】

別の態様では、本開示は、

(i) 配列番号 9 9 ~ 1 1 2 からなる群から選択されるアミノ酸配列を含む完全長重鎖

50

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

(i i) その抗原結合部分を含む機能性タンパク質を含む組成物を提供する。

【 0 1 6 4 】

別の態様では、本開示は、

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

(i i) その抗原結合部分を含む機能性タンパク質を含む組成物を提供する。

【 0 1 6 5 】

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

【 0 1 6 6 】

これらの抗体の各々が A c t R I I と結合可能であること、および抗原結合特異性が主に C D R 1、2 および 3 領域によって与えられることを仮定すると、 V_H C D R 1、2 および 3 配列と V_L C D R 1、2 および 3 配列を「混合および合致」させることが可能である (すなわち、異なる抗体由来の C D R を混合および合致させることが可能であり、 V_H C D R 1、2 および 3 ならびに V_L C D R 1、2 および 3 を含有する各々の抗体が本開示の他の抗 A c t R I I 結合分子を形成する)。このような「混合および合致」型抗体の A c t R I I B 結合は、前および実施例中に記載した結合アッセイ (例えば E L I S A) を使用して試験することができる。 V_H C D R 配列を混合および合致させるとき、特定の V_H 配列由来の C D R 1、C D R 2 および / または C D R 3 配列は、構造上類似した C D R 配列 (複数可) で置換しなければならない。同様に、 V_L C D R 配列を混合および合致させるとき、特定の V_L 配列由来の C D R 1、C D R 2 および / または C D R 3 配列は、構造上類似した C D R 配列 (複数可) で置換しなければならない。モノクローナル抗体に関して本明細書に示す C D R 配列由来の構造上類似した配列で 1 つまたは複数の V_H および / または V_L C D R 領域配列を置換することによって、新規な V_H および V_L 配列を作製することができることは、当業者には容易に明らかとなる。

【 0 1 6 7 】

本開示の組成物中に含まれる抗 A c t R I I 抗体、またはその抗原結合領域は、配列番号 1 ~ 14 からなる群から選択されるアミノ酸配列を含む重鎖可変領域 C D R 1、配列番号 15 ~ 28 からなる群から選択されるアミノ酸配列を含む重鎖可変領域 C D R 2、配列番号 29 ~ 42 からなる群から選択されるアミノ酸配列を含む重鎖可変領域 C D R 3、配列番号 43 ~ 56 からなる群から選択されるアミノ酸配列を含む軽鎖可変領域 C D R 1、配列番号 57 ~ 70 からなる群から選択されるアミノ酸配列を含む軽鎖可変領域 C D R 2

、および配列番号 71 ~ 84 からなる群から選択されるアミノ酸配列を含む軽鎖可変領域 CDR3 を有する。

【0168】

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

【0169】

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

10

【0170】

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

【0171】

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

20

【0172】

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

【0173】

一実施形態では、本発明の組成物中に含まれる抗体は、配列番号 6 の重鎖可変領域 CDR1、配列番号 20 の重鎖可変領域 CDR2、配列番号 34 の重鎖可変領域 CDR3、配列番号 48 の軽鎖可変領域 CDR1、配列番号 62 の軽鎖可変領域 CDR2、および配列番号 76 の軽鎖可変領域 CDR3 を含む。

30

【0174】

一実施形態では、本発明の組成物中に含まれる抗体は、配列番号 7 の重鎖可変領域 CDR1、配列番号 21 の重鎖可変領域 CDR2、配列番号 35 の重鎖可変領域 CDR3、配列番号 49 の軽鎖可変領域 CDR1、配列番号 63 の軽鎖可変領域 CDR2、および配列番号 77 の軽鎖可変領域 CDR3 を含む。

【0175】

一実施形態では、本発明の組成物中に含まれる抗体は、配列番号 8 の重鎖可変領域 CDR1、配列番号 22 の重鎖可変領域 CDR2、配列番号 36 の重鎖可変領域 CDR3、配列番号 50 の軽鎖可変領域 CDR1、配列番号 64 の軽鎖可変領域 CDR2、および配列番号 78 の軽鎖可変領域 CDR3 を含む。

40

【0176】

一実施形態では、本発明の組成物中に含まれる抗体は、配列番号 9 の重鎖可変領域 CDR1、配列番号 23 の重鎖可変領域 CDR2、配列番号 37 の重鎖可変領域 CDR3、配列番号 51 の軽鎖可変領域 CDR1、配列番号 65 の軽鎖可変領域 CDR2、および配列番号 79 の軽鎖可変領域 CDR3 を含む。

【0177】

一実施形態では、本発明の組成物中に含まれる抗体は、配列番号 10 の重鎖可変領域 CDR1、配列番号 24 の重鎖可変領域 CDR2、配列番号 38 の重鎖可変領域 CDR3、

50

配列番号 52 の軽鎖可変領域 CDR1、配列番号 66 の軽鎖可変領域 CDR2、および配列番号 80 の軽鎖可変領域 CDR3 を含む。

【0178】

一実施形態では、本発明の組成物中に含まれる抗体は、配列番号 11 の重鎖可変領域 CDR1、配列番号 25 の重鎖可変領域 CDR2、配列番号 39 の重鎖可変領域 CDR3、配列番号 53 の軽鎖可変領域 CDR1、配列番号 67 の軽鎖可変領域 CDR2、および配列番号 81 の軽鎖可変領域 CDR3 を含む。

【0179】

一実施形態では、本発明の組成物中に含まれる抗体は、配列番号 12 の重鎖可変領域 CDR1、配列番号 26 の重鎖可変領域 CDR2、配列番号 40 の重鎖可変領域 CDR3、配列番号 54 の軽鎖可変領域 CDR1、配列番号 68 の軽鎖可変領域 CDR2、および配列番号 82 の軽鎖可変領域 CDR3 を含む。

【0180】

一実施形態では、本発明の組成物中に含まれる抗体は、配列番号 13 の重鎖可変領域 CDR1、配列番号 27 の重鎖可変領域 CDR2、配列番号 41 の重鎖可変領域 CDR3、配列番号 55 の軽鎖可変領域 CDR1、配列番号 69 の軽鎖可変領域 CDR2、および配列番号 83 の軽鎖可変領域 CDR3 を含む。

【0181】

一実施形態では、本発明の組成物中に含まれる抗体は、配列番号 14 の重鎖可変領域 CDR1、配列番号 28 の重鎖可変領域 CDR2、配列番号 42 の重鎖可変領域 CDR3、配列番号 56 の軽鎖可変領域 CDR1、配列番号 70 の軽鎖可変領域 CDR2、および配列番号 84 の軽鎖可変領域 CDR3 を含む。

【0182】

一実施形態では、本開示は、(a) 配列番号 85 の可変重鎖配列および配列番号 99 の可変軽鎖配列、(b) 配列番号 86 の可変重鎖配列および配列番号 100 の可変軽鎖配列、(c) 配列番号 87 の可変重鎖配列および配列番号 101 の可変軽鎖配列、(d) 配列番号 88 の可変重鎖配列および配列番号 102 の可変軽鎖配列、(e) 配列番号 89 の可変重鎖配列および配列番号 103 の可変軽鎖配列、(f) 配列番号 90 の可変重鎖配列および配列番号 104 の可変軽鎖配列、(g) 配列番号 91 の可変重鎖配列および配列番号 105 の可変軽鎖配列、(h) 配列番号 92 の可変重鎖配列および配列番号 106 の可変軽鎖配列、(i) 配列番号 93 の可変重鎖配列および配列番号 107 の可変軽鎖配列、(j) 配列番号 94 の可変重鎖配列および配列番号 108 の可変軽鎖配列、(k) 配列番号 95 の可変重鎖配列および配列番号 109 の可変軽鎖配列、(l) 配列番号 96 の可変重鎖配列および配列番号 110 の可変軽鎖配列、(m) 配列番号 97 の可変重鎖配列および配列番号 111 の可変軽鎖配列、または (n) 配列番号 98 の可変重鎖配列および配列番号 112 の可変軽鎖配列を含む抗体を含む組成物を提供する。

【0183】

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

【0184】

本明細書で使用するように、ヒト抗体は、ヒト生殖細胞系免疫グロブリン遺伝子を使用するシステムから抗体の可変領域または完全長鎖を得る場合、特定生殖細胞系配列の「産物」であるかまたはそれに「由来する」重鎖もしくは軽鎖可変領域または完全長の重

10

20

30

40

50

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

10

20

【0185】

一実施形態では、本開示の組成物中に含まれる抗体は、（それぞれ寄託番号DSMZ 22873およびDSMZ 22874の下、2009年8月18日にDSMZ、Inhoffenstr. 7B、D-38124 Braunschweig、ドイツにおいて寄託された）pBW522またはpBW524によってコードされる抗体である。

【0186】

相同抗体

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

30

【0187】

例えば、本開示は、重鎖可変領域および軽鎖可変領域を含む、単離組換え抗ActRII B抗体、（またはその抗原結合部分を含む機能性タンパク質）を含む組成物を提供し、重鎖可変領域は配列番号99～112からなる群から選択されるアミノ酸配列と少なくとも80%、または少なくとも90%（好ましくは少なくとも95、97または99%）同一であるアミノ酸配列を含み、軽鎖可変領域は、配列番号85～98からなる群から選択されるアミノ酸配列と少なくとも80%、または少なくとも90%（好ましくは少なくとも95、97または99%）同一であるアミノ酸配列を含み、あるいは組成物は、重鎖可変領域および軽鎖可変領域を含む、組換え抗ActRII B抗体、（またはその抗原結合部分を含む機能性タンパク質）を含み、重鎖可変領域は配列番号99～112からなる群から選択されるアミノ酸配列と比較して、5個を超えないアミノ酸、または4個を超えないアミノ酸、または3個を超えないアミノ酸、または2個を超えないアミノ酸、または1個を超えないアミノ酸変化を含み、軽鎖可変領域は配列番号85～98からなる群から選択されるアミノ酸配列と比較して、5個を超えないアミノ酸、または4個を超えないアミノ酸、または3個を超えないアミノ酸、または2個を超えないアミノ酸、または1個を超えないアミノ酸変化を含み、抗体は、以下の機能性：（i）in vitroもしくはin vivoでのミオスタチン結合の阻害、（ii）Smad依存性経路を介した筋肉分

40

50

化の障害の低下、および／または (i i i) 血液学的変化を誘導しないこと、特に R B C の変化がないことの少なくとも1つを示す。本文脈において、用語「変化」は挿入、欠失および／または置換を指す。

【 0 1 8 8 】

さらなる例では、本開示は、完全長重鎖および完全長軽鎖を含む、単離組換え抗 A c t R I I 抗体、(またはその抗原結合部分を含む機能性タンパク質)を含む組成物を提供し、完全長重鎖は配列番号 1 4 6 ~ 1 5 0 および 1 5 6 ~ 1 6 0 からなる群から選択されるアミノ酸配列と少なくとも 8 0 %、または少なくとも 9 0 % (好ましくは少なくとも 9 5、9 7 または 9 9 %) 同一であるアミノ酸配列を含み、完全長軽鎖は、配列番号 1 4 1 ~ 1 4 5 および 1 5 1 ~ 1 5 5 からなる群から選択されるアミノ酸配列と少なくとも 8 0 %、または少なくとも 9 0 % (好ましくは少なくとも 9 5、9 7 または 9 9 %) 同一であるアミノ酸配列を含み、あるいは組成物は、重鎖可変領域および軽鎖可変領域を含む、組換え抗 A c t R I I 抗体 (またはその抗原結合部分を含む機能性タンパク質) を含み、重鎖可変領域は配列番号 1 4 6 ~ 1 5 0 および 1 5 6 ~ 1 6 0 からなる群から選択されるアミノ酸配列と比較して、5 個を超えないアミノ酸、または 4 個を超えないアミノ酸、または 3 個を超えないアミノ酸、または 2 個を超えないアミノ酸、または 1 個を超えないアミノ酸変化を含み、軽鎖可変領域は配列番号 1 4 1 ~ 1 4 5 および 1 5 1 ~ 1 5 5 からなる群から選択されるアミノ酸配列と比較して、5 個を超えないアミノ酸、または 4 個を超えないアミノ酸、または 3 個を超えないアミノ酸、または 2 個を超えないアミノ酸、または 1 個を超えないアミノ酸変化を含み、抗体は、以下の機能性: (i) i n v i t r o もしくは i n v i v o でのミオスタチン結合の障害、(i i) S m a d 依存性経路を介した筋肉分化の障害の低下、および／または (i i i) 血液学的変化を誘導しないこと、特に R B C の変化がないことの少なくとも1つを示す。このような抗体は、A c t R I I B および／または A c t R I I A のリガンド結合ドメインと結合することが好ましい。本文脈において、用語「変化」は挿入、欠失および／または置換を指す。

10

20

【 0 1 8 9 】

別の例では、本開示は、完全長重鎖および完全長軽鎖を含む、単離組換え抗 A c t R I I 抗体、(またはその抗原結合部分を含む機能性タンパク質)を含む組成物を提供し、完全長重鎖は、配列番号 1 6 6 ~ 1 7 0 および 1 7 6 ~ 1 8 0 からなる群から選択されるヌクレオチド配列と少なくとも 8 0 %、または少なくとも 9 0 % (好ましくは少なくとも 9 5、9 7 または 9 9 %) 同一であるヌクレオチド配列によってコードされ、完全長軽鎖は、配列番号 1 6 1 ~ 1 6 5 および 1 7 1 ~ 1 7 5 からなる群から選択されるヌクレオチド配列と少なくとも 8 0 %、または少なくとも 9 0 % (好ましくは少なくとも 9 5、9 7 または 9 9 %) 同一であるヌクレオチド配列によってコードされる。あるいは組成物は、重鎖可変領域および軽鎖可変領域を含む、組換え抗 A c t R I I B 抗体、(またはその抗原結合部分を含む機能性タンパク質) を含み、重鎖可変領域は配列番号 1 6 6 ~ 1 7 0 および 1 7 6 ~ 1 8 0 からなる群から選択されるアミノ酸配列と比較して、5 個を超えないアミノ酸、または 4 個を超えないアミノ酸、または 3 個を超えないアミノ酸、または 2 個を超えないアミノ酸、または 1 個を超えないアミノ酸変化を含み、軽鎖可変領域は配列番号 1 6 1 ~ 1 6 5 および 1 7 1 ~ 1 7 5 からなる群から選択されるアミノ酸配列と比較して、5 個を超えないアミノ酸、または 4 個を超えないアミノ酸、または 3 個を超えないアミノ酸、または 2 個を超えないアミノ酸、または 1 個を超えないアミノ酸変化を含み、抗体は、以下の機能性: (i) i n v i t r o もしくは i n v i v o でのミオスタチン結合の障害、(i i) S m a d 依存性経路を介した筋肉分化の障害の低下、および／または (i i i) 血液学的変化を誘導しないこと、特に R B C の変化がないことの少なくとも1つを示す。このような抗体は、A c t R I I B のリガンド結合ドメインと結合することが好ましい。本文脈において、用語「変化」は挿入、欠失および／または置換を指す。

30

40

【 0 1 9 0 】

様々な実施形態において、本発明の組成物中に含まれる抗体は、1 つまたは複数の、2 つ以上の、または 3 つの前に論じた機能性を示し得る。抗体は、例えば、ヒト抗体、ヒト

50

化抗体またはキメラ抗体であってよい。抗体は、完全ヒトIgG1抗体であることが好ましい。

【0191】

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

10

【0192】

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

20

【0193】

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

【0194】

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

30

【0195】

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

【0196】

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

40

50

【0197】

保存的修飾を有する抗体

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

10

20

【0198】

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

30

【0199】

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

40

【0200】

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

【0201】

本明細書で使用する用語「保存的配列修飾」は、アミノ酸配列を含有する抗体の結合特

50

性に著しく影響を与えないまたはそれらを改変しない、アミノ酸修飾を指すものとする。このような保存的修飾には、アミノ酸置換、付加および欠失がある。部位特異的突然変異誘発およびPCR媒介突然変異誘発などの、当技術分野で知られている標準的技法によって、本開示の抗体に修飾を導入することができる。

【0202】

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

10

【0203】

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

20

【0204】

したがって、標準的Ac t R I I B結合アッセイにおいて、本開示の他の抗体と交差競合する（例えば、統計学的に有意な様式で結合を競合的に阻害する）それらの能力に基づいて、さらなる抗体を同定することができる。ヒトAc t R I I Bと本発明の組成物中に含まれる抗体の結合を阻害する試験抗体の能力は、その試験抗体がヒトAc t R I I Bとの結合に関して前記抗体と競合することができ、非制限的な理論に従い、このような抗体は、それが競合する抗体と同じヒトAc t R I I B上の同じまたは関連（例えば、構造上類似または空間的に隣接した）エピトープと結合することができることを実証する。ある特定の実施形態では、本発明の組成物中に含まれる抗体と同じヒトAc t R I I AおよびAc t R I I A上のエピトープに結合する抗体は、ヒト組換え抗体である。このようなヒト組換え抗体は、実施例中に記載するように調製および単離することができる。

30

したがって本開示は、配列番号85に示す可変重鎖配列、および配列番号99に示す可変軽鎖配列を有する抗体によって認識されるおよび/または抗体との結合に関して競合するエピトープと結合する抗体を含む、組成物を提供する。

【0205】

したがって本開示は、配列番号86に示す可変重鎖配列、および配列番号100に示す可変軽鎖配列を有する抗体によって認識されるエピトープと結合する抗体を含む組成物を提供する。

40

したがって本開示は、配列番号87に示す可変重鎖配列、および配列番号101に示す可変軽鎖配列を有する抗体によって認識されるエピトープと結合する抗体を含む組成物を提供する。

したがって本開示は、配列番号88に示す可変重鎖配列、および配列番号102に示す可変軽鎖配列を有する抗体によって認識されるエピトープと結合する抗体を含む組成物を提供する。

したがって本開示は、配列番号89に示す可変重鎖配列、および配列番号103に示す

50

可変軽鎖配列を有する抗体によって認識されるエピトープと結合する抗体を含む組成物を提供する。

【0206】

したがって本開示は、配列番号90に示す可変重鎖配列、および配列番号104に示す可変軽鎖配列を有する抗体によって認識されるエピトープと結合する抗体を含む組成物を提供する。

【0207】

したがって本開示は、配列番号91に示す可変重鎖配列、および配列番号105に示す可変軽鎖配列を有する抗体によって認識されるエピトープと結合する抗体を含む組成物を提供する。

10

【0208】

したがって本開示は、配列番号92に示す可変重鎖配列、および配列番号106に示す可変軽鎖配列を有する抗体によって認識されるエピトープと結合する抗体を含む組成物を提供する。

【0209】

したがって本開示は、配列番号93に示す可変重鎖配列、および配列番号107に示す可変軽鎖配列を有する抗体によって認識されるエピトープと結合する抗体を含む組成物を提供する。

【0210】

したがって本開示は、配列番号94に示す可変重鎖配列、および配列番号108に示す可変軽鎖配列を有する抗体によって認識されるエピトープと結合する抗体を含む組成物を提供する。

20

【0211】

したがって本開示は、配列番号95に示す可変重鎖配列、および配列番号109に示す可変軽鎖配列を有する抗体によって認識されるエピトープと結合する抗体を含む組成物を提供する。

【0212】

したがって本開示は、配列番号96に示す可変重鎖配列、および配列番号110に示す可変軽鎖配列を有する抗体によって認識されるエピトープと結合する抗体を含む組成物を提供する。

30

【0213】

したがって本開示は、配列番号97に示す可変重鎖配列、および配列番号111に示す可変軽鎖配列を有する抗体によって認識されるエピトープと結合する抗体を含む組成物を提供する。

【0214】

したがって本開示は、配列番号98に示す可変重鎖配列、および配列番号112に示す可変軽鎖配列を有する抗体によって認識されるエピトープと結合する抗体を含む組成物を提供する。

【0215】

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

40

【0216】

したがって本開示は、配列番号181のアミノ酸78～83(WLDDFN - 配列番号188)を含むエピトープと結合する抗体を含む組成物を提供する。

本開示は、配列番号181のアミノ酸76～84(GCWLDDFNC - 配列番号186)を含むエピトープと結合する抗体を含む組成物も提供する。

【0217】

本開示は、配列番号181のアミノ酸75～85(KGCWLDDFN CY - 配列番号190)を含むエピトープと結合する抗体を含む組成物も提供する。

【0218】

50

本開示は、配列番号 181 のアミノ酸 52 ~ 56 (EQDKR - 配列番号 189) を含むエピトープと結合する抗体を含む組成物も提供する。

本開示は、配列番号 181 のアミノ酸 49 ~ 63 (CEGEQDKRLHCYASW - 配列番号 187) を含むエピトープと結合する抗体を含む組成物も提供する。

【0219】

本開示は、配列番号 181 のアミノ酸 29 ~ 41 (CIYYNANWELERT - 配列番号 191) を含むまたはこれらからなるエピトープと結合する抗体を含む組成物も提供する。

【0220】

本開示は、配列番号 181 のアミノ酸 78 ~ 83 (WLDDFN) からなるエピトープと結合し、(b) 配列番号 181 のアミノ酸 49 ~ 63 () からなるエピトープと結合する抗体を含む組成物も提供する。

10

【0221】

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

【0222】

したがって本開示は、配列番号 181 のアミノ酸 78 ~ 83 (WLDDFN) および配列番号 181 のアミノ酸 52 ~ 56 (EQDKR) を含むまたはこれらからなるエピトープと結合する抗体を含む組成物も提供する。

20

【0223】

操作処理および修飾した抗体

開始物質として本明細書に示す 1 つまたは複数の V_H および / または V_L 配列を有する抗体を使用して、開始抗体から改変された性質を有し得る修飾抗体を操作処理することによって、本発明の組成物中に含まれる抗体をさらに調製することができる。1 つまたは 2 つの可変領域 (すなわち、 V_H および / または V_L) 内、例えば 1 つまたは複数の CDR 領域内、および / または 1 つまたは複数のフレームワーク領域内の 1 つまたは複数の残基を修飾することによって、抗体を操作処理することができる。追加的または代替的に、定常領域 (複数可) 内の残基を修飾し、例えば抗体のエフェクター機能 (複数可) を改変することによって、抗体を操作処理することができる。

【0224】

30

実施することができる 1 タイプの可変領域の操作処理は CDR 移植である。主に 6 つの重鎖および軽鎖相補性決定領域 (CDR) 内に位置するアミノ酸残基を介して、抗体は標的抗原と相互作用する。この理由で、CDR 内のアミノ酸配列は、CDR 外の配列より個々の抗体間でさらに多様である。CDR 配列は大部分の抗体 - 抗原相互作用を担うので、異なる性質を有する異なる抗体由来のフレームワーク配列に移植した特異的天然抗体由来の CDR 配列を含む発現ベクターの構築によって、特異的天然抗体の性質を模倣した組換え抗体を発現させることが可能である (例えば、Riechmann, L. et al., 1998 Nature332: 323-327; Jones, P. et al., 1986 Nature321:522-525; Queen, C. et al., 1989 Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. 86:10029-10033、Winter への米国特許第 5, 225, 539 号、ならびに Queen et al への米国特許第 5, 530, 101 号、同第 5, 585, 089 号、同第 5, 693, 762 号および同第 6, 180, 370 号を参照)。

40

【0225】

したがって、本開示の別の実施形態は、それぞれ配列番号 1 ~ 14 からなる群から選択されるアミノ酸配列を有する CDR 1 配列、配列番号 15 ~ 28 からなる群から選択されるアミノ酸配列を有する CDR 2 配列、配列番号 29 ~ 42 からなる群から選択されるアミノ酸配列を有する CDR 3 配列を含む重鎖可変領域、ならびにそれぞれ配列番号 43 ~ 56 からなる群から選択されるアミノ酸配列を有する CDR 1 配列、配列番号 57 ~ 70 からなる群から選択されるアミノ酸配列を有する CDR 2 配列、および配列番号 71 ~ 84 からなる群から選択されるアミノ酸配列からなる CDR 3 配列を有する軽鎖可変領域を含む、モノクローナル抗 ActRII 抗体、またはその抗原結合部分を含む機能性タンバ

50

ク質を含む組成物に関するものである。したがって、このような抗体はモノクローナル抗体の V_H および V_L CDR 配列を含有し、これらの抗体と異なるフレームワーク配列を依然含有し得る。

【0226】

このようなフレームワーク配列は、生殖細胞系抗体遺伝子配列を含む、公共の DNA データベースまたは公開済みの参照文献から得ることができる。例えば、ヒト重鎖および軽鎖可変領域遺伝子に関する生殖細胞系 DNA 配列は、(www.mrc-cpe.cam.ac.uk/vbase)においてインターネットで利用可能な)「VBase」ヒト生殖細胞系配列データベース中、ならびに Kabat, E.A., et al., [上記]; Tomlinson, I.M., et al., 1992 J. Mol. Biol. 227:776-798; および Cox, J.P.L. et al., 1994 Eur. J. Immunol. 24:827-836 中で見
10
ることができる。本開示の抗体中で使用するためのフレームワーク配列の一例は、本開示の選択抗体によって使用されるフレームワーク配列、例えば本開示のモノクローナル抗体によって使用されるコンセンサス配列および/またはフレームワーク配列と構造上類似した配列である。 V_H の CDR 1、2 および 3 配列、ならびに V_L の CDR 1、2 および 3 配列は、フレームワーク配列が由来する生殖細胞系免疫グロブリン遺伝子で見られるの
と同一の配列を有するフレームワーク領域に移植することができ、または CDR 配列は、
生殖細胞系配列と比較して1つまたは複数の突然変異を含有するフレームワーク領域に
移植することができる。例えば幾つの場合、フレームワーク領域内の残基を突然変異さ
せて、抗体の抗原結合能力を維持または増大させることが有益であることが分かっている
20
(例えば、Queen et al への米国特許第 5,530,101 号、同第 5,585,089 号、同第 5,693,762 号および同第 6,180,370 号を参照)。

【0227】

別タイプの可変領域の修飾は、 V_H および/または V_L の CDR 1、CDR 2 および/または CDR 3 領域内のアミノ酸残基を突然変異させ、それによって「アフィニティ成熟」として知られる、対象とする抗体の1つまたは複数の結合性(例えば、アフィニティ)を改善することである。部位特異的突然変異誘発または PCR 媒介突然変異誘発を実施して突然変異(複数可)を導入することができ、対象とする抗体結合、または他の機能性に対する影響を、本明細書に記載し実施例中に提供する *in vitro* または *in vivo* アッセイにおいて評価することができる。(前に論じたような)保存的修飾を導入
30
することができる。突然変異は、アミノ酸の置換、付加または欠失であってよい。さらに典型的には、CDR 領域内の 1、2、3、4 または 5 個を超えない残基を改変する。

【0228】

したがって、別の実施形態において本開示は、配列番号 1~14 を有する群から選択されるアミノ酸配列または配列番号 1~14 と比較して 1、2、3、4 もしくは 5 個のアミノ酸置換、欠失もしくは付加を有するアミノ酸配列からなる V_H CDR 1 領域、配列番号 15~28 からなる群から選択されるアミノ酸配列または配列番号 15~28 と比較して 1、2、3、4 もしくは 5 個のアミノ酸置換、欠失もしくは付加を有するアミノ酸配列を有する V_H CDR 2 領域を有する重鎖可変領域からなる、単離抗 A c t R I I モノクローナル抗体、またはその抗原結合部分を含む機能性タンパク質を提供する。配列番号 29~42 からなる群から選択されるアミノ酸配列または配列番号 29~42 と比較して 1、2
40
、3、4 もしくは 5 個のアミノ酸置換、欠失もしくは付加を有するアミノ酸配列を有する V_H CDR 3 領域、配列番号 43~56 からなる群から選択されるアミノ酸配列または配列番号 43~56 と比較して 1、2、3、4 もしくは 5 個のアミノ酸置換、欠失もしくは付加を有するアミノ酸配列を有する V_L CDR 1 領域、配列番号 52~70 からなる群から選択されるアミノ酸配列または配列番号 52~70 と比較して 1、2、3、4 もしくは 5 個のアミノ酸置換、欠失もしくは付加を有するアミノ酸配列を有する V_L CDR 2 領域、配列番号 71~84 からなる群から選択されるアミノ酸配列または配列番号 71~84 と比較して 1、2、3、4 もしくは 5 個のアミノ酸置換、欠失もしくは付加を有するアミノ酸配列を有する V_L CDR 3 領域

【0229】

ラクダ抗体

ラマ種（ラマ・パコス（*Lama paccos*）、ラマ・グラマ（*Lama glama*）およびラマ・ビクーニャ（*Lama vicugna*））などの新世界のメンバーを含めた、ラクダおよびヒトコブラクダ科のメンバー（キャメルス・バクトリアノス（*Camelus bactrianus*）およびキャメルス・ドロマデリウス（*Camelus dromaderius*））から得た抗体タンパク質は、大きさ、構造の複雑性およびヒト対象に対する抗原性に関して特徴付けられている。天然で見られるこの哺乳動物科由来のある特定の I g G 抗体は軽鎖を欠いており、したがって他動物由来の抗体に関する 2 本の重鎖と 2 本の軽鎖を有する典型的な 4 本鎖 4 次構造とは構造的に異なる（W O 9 4 / 0 4 6 7 8 参照）。

【 0 2 3 0 】

V_HH として同定した低分子単鎖可変ドメインであるラクダ抗体の領域を遺伝子操作処理によって得て、標的に対する高アフィニティーを有する低分子タンパク質を生成することができ、「ラクダナノボディ」として知られる低分子量抗体由来タンパク質をもたらしすることができる（米国特許第 5, 7 5 9, 8 0 8 号、Stijlemans, B.et al., 2004 J Biol Chem 279:1256-1261;Dumoulin, M.et al., 2003 Nature424:783-788;Pleschberger, M.et al.2003 Bioconjugate Chem14:440-448;Cortez-Retamozo, V.et al.2002 Int J Cancer89:456-62;およびLauwereys, M.et al.1998 EMBO J17:3512-3520参照）。ラクダ抗体および抗体断片の遺伝子操作処理済みライブラリーは、例えば A b l y n x、G h e n t、ベルギーから市販されている。非ヒト起源の他の抗体と同様に、ラクダ抗体のアミノ酸配列を組換えにより改変して、ヒト配列とよりよく似た配列を得ることができる。すなわちナノボディは「ヒト化」することができる。したがって、ヒトに対するラクダ抗体の天然で低い抗原性をさらに低減することができる。

【 0 2 3 1 】

ラクダナノボディはヒト I g G 分子の約 1 0 分の 1 の分子量を有し、このタンパク質はわずか数ナノメートルの物理的直径を有する。大きさが小さいことの 1 つの結果は、より高分子の抗体タンパク質には機能的に不可視の抗原部位と結合するラクダナノボディの能力である。すなわちラクダナノボディは、古典的な免疫学的技法を使用する他の場合には隠れている抗原を検出する試薬として、および潜在的治療剤として有用である。したがって、大きさが小さいことのさらに別の結果は、標的タンパク質の溝または狭い割れ目中の特異的部位との結合の結果として、ラクダナノボディは阻害することができ、したがって、古典的抗体のそれより古典的低分子量薬剤の機能によく似た能力で働くことができることである。

【 0 2 3 2 】

低分子量とコンパクトな大きさは、非常に熱耐性があり、極値 p H およびタンパク質分解消化に対して安定状態であり、抗原性が低いラクダナノボディをさらにもたらし。別の結果は、ラクダナノボディは循環系から組織中に容易に移動し、さらに血液脳関門さえ越えて、神経組織に影響を与える障害を治療することができることである。さらにナノボディは、血液脳関門を越える薬剤輸送を容易にすることができる（U S 2 0 0 4 / 0 1 6 1 7 3 8 参照）。ヒトに対する低い抗原性と組み合わせたこれらの特徴は、多大な治療の可能性を示す。さらにこれらの分子は、大腸菌（*E.coli*）などの原核生物細胞において完全に発現させることが可能であり、バクテリオファージとの融合タンパク質として発現され機能的である。

【 0 2 3 3 】

したがって一実施形態では、本発明は、A c t R I I B に対して高いアフィニティーを有するラクダ抗体またはナノボディを含む組成物に関した。本明細書のある特定の実施形態では、ラクダ抗体またはナノボディはラクダ科動物において自然に産生される、すなわち、他の抗体に関して本明細書に記載する技法を使用して、A c t R I I B またはそのペプチド断片を用いた免疫処置に従い、ラクダ科の動物によって産生される。あるいは、抗 A c t R I I B ラクダナノボディを操作処理する、すなわち、本明細書の実施例中に記載するように標的として A c t R I I B を用いるパンニング手順を使用して、例えばファー

10

20

30

40

50

ジディスプレイし適切に突然変異誘発したラクダナノボディタンパク質のライブラリーからの選択によって産生する。レシピエント対象において45分～2週間の半減期を有するように遺伝子操作処理によって、操作処理したナノボディをさらに調整することができる。具体的実施形態では、例えばWO94/04678中に記載されたように、本開示のヒト抗体の重鎖または軽鎖CDR配列をナノボディまたはシングルドメイン抗体フレームワーク配列に移植することによって、ラクダ抗体またはナノボディが得られる。

【0234】

非抗体足場

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

10

20

【0235】

（i）フィブロネクチン足場

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

30

【0236】

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

【0237】

（ii）アンキリン - Molecular Partners

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

40

【0238】

（iii）マキシボディ / アヴィマー - Avidia

アヴィマーは、LRP-1などのタンパク質を含有する天然A-ドメインに由来する。これらのドメインは本来タンパク質-タンパク質相互作用に使用され、ヒト中では250を超えるタンパク質がA-ドメインに構造上に基づく。アヴィマーは、アミノ酸リンカーを

50

介して結合した数個の異なる「A - ドメイン」モノマー（2～10）からなる。例えばUS 2004/0175756、US 2005/0053973、US 2005/0048512、およびUS 2006/0008844中に記載された方法を使用して、標的抗原と結合することができるアヴィマーを作製することができる。

【0239】

（vi）プロテインA - Affibody

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

10

【0240】

（v）Anticalin - Pieris

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

20

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

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

【0241】

リボカリンファミリーの1タンパク質、ピエリス・ブラシカエ（*Pieris brassicae*）のピリン結合タンパク質（BBP）を使用して、それらの4ループのセットを突然変異誘発することによって、Anticalinが開発された。「Anticalin」について記載する特許出願の一例はWO 1999/16873である。

30

【0242】

（vi）アフィリン - Scil Proteins

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

40

【0243】

AFFILIN（商標）分子は、免疫グロブリンタンパク質とはいかなる構造相同性も示さない。Scil Proteinsは2つのAFFILIN（商標）足場を利用し、その1つはクリスタリン、ヒトの目のレンズ構造タンパク質であり、もう1つは「ユビキチン」スーパーファミリータンパク質である。いずれのヒト足場も非常に小さく、高温安定性を示し、pH変化および変性剤に対して大部分は耐性がある。この高い安定性は、主にタンパク質の膨張したシート構造によるものである。クリスタリン由来タンパク質の例はWO 2001/004144中に記載されており、「ユビキチン様」タンパク質の例はWO 2004/106368中に記載されている。

【0244】

（vii）タンパク質エピトープ模倣体（PEM）

50

P E Mは、タンパク質の - ヘアピン二次構造、タンパク質 - タンパク質相互作用に關与する主要二次構造を模倣した、中程度の大きさの、環状、ペプチド様分子 (M W、 1 ~ 2 k D a) である。

【 0 2 4 5 】

別のフレームワークまたは足場への抗原結合ドメインの移植

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

10

【 0 2 4 6 】

一態様では、本開示の組成物は、開示する抗体の C D R をその上に移植することができる非免疫グロブリン足場を使用して、非免疫グロブリンベースの抗体を含むことができる。それらが配列番号 1 8 1 の標的タンパク質 (好ましくは、配列番号 1 8 2 で示すそのリガンド結合ドメイン) に特異的な結合領域を含む限り、既知または将来の非免疫グロブリンフレームワークおよび足場を利用することができる。このような化合物は、「標的的特異的な結合領域を含むポリペプチド」として本明細書では知られている。非免疫グロブリンフレームワークの例は、以下のセクション (ラクダ抗体および非抗体足場) 中でさらに記載する。

20

【 0 2 4 7 】

フレームワークまたは F c 操作処理

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

30

【 0 2 4 8 】

別型のフレームワーク修飾は、フレームワーク領域内、またはさらに 1 つまたは複数の C D R 領域内の 1 つまたは複数の残基を突然変異させて、T 細胞エпитープを除去し、それによって抗体の潜在的免疫原性を低下させることに関する。この手法は「免疫除去」とも呼ばれ、U S 2 0 0 3 / 0 1 5 3 0 4 3 中にさらに詳細に記載される。

【 0 2 4 9 】

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

40

【 0 2 5 0 】

50

一実施形態では、C H 1 のヒンジ領域を、ヒンジ領域中のシステイン残基の数が変わる、例えば増大または減少するように修飾する。この手法は米国特許第 5 , 6 7 7 , 4 2 5 号中にさらに記載される。C H 1 のヒンジ領域中のシステイン残基の数を変えて、例えば軽鎖および重鎖の構築を容易にする、または抗体の安定性を増大もしくは減少させる。

【 0 2 5 1 】

別の実施形態では、抗体の F c ヒンジ領域を突然変異させて、抗体の生物学的半減期を低下させる。より具体的には、天然 F c ヒンジドメインのスタフィロコッカスプロテイン A (S p A) 結合と比較して、その抗体の S p A 結合が損なわれるように、F c ヒンジ断片の C H 2 - C H 3 ドメイン界面領域中に 1 つまたは複数のアミノ酸突然変異を導入する。この手法は米国特許第 6 , 1 6 5 , 7 4 5 号中でさらに詳細に記載される。

10

【 0 2 5 2 】

別の実施形態では、抗体を修飾してその生物学的半減期を増大させる。様々な手法が考えられる。例えば、米国特許第 6 , 2 7 7 , 3 7 5 号中に記載されたように、1 つまたは複数の以下の突然変異、T 2 5 2 L、T 2 5 4 S、T 2 5 6 F を導入することができる。あるいは、生物学的半減期を増大させるため、米国特許第 5 , 8 6 9 , 0 4 6 号および米国特許第 6 , 1 2 1 , 0 2 2 号中に記載されたように、C H 1 または C L 領域内で抗体を改変して、I g G の F c 領域 C H 2 ドメインの 2 ループから得たサルベージ受容体結合エピトープを含有することができる。

【 0 2 5 3 】

さらに他の実施形態では、少なくとも 1 つのアミノ酸残基を異なるアミノ酸残基で置換して抗体のエフェクター機能を変えることにより、F c 領域を改変する。例えば、抗体はエフェクターリガンドに対して改変されたアフィニティーを有するが親抗体の抗原結合能力を保持するように、1 つまたは複数のアミノ酸を異なるアミノ酸残基で置換することができる。アフィニティーが変わるエフェクターリガンドは、例えば、F c 受容体または補体の C 1 要素であってよい。この手法は、いずれも Winter et al. による米国特許第 5 , 6 2 4 , 8 2 1 号および米国特許第 5 , 6 4 8 , 2 6 0 号中でさらに詳細に記載される。特に、残基 2 3 4 および 2 3 5 を突然変異させることが可能である。特に、これらの突然変異はアラニンへの突然変異であってよい。したがって一実施形態では、本開示の組成物中に含まれる抗体は、アミノ酸 2 3 4 および 2 3 5 の一方または両方で F c 領域の突然変異を有する。別の実施形態では、アミノ酸 2 3 4 および 2 3 5 の一方または両方をアラニンに置換することができる。アミノ酸 2 3 4 と 2 3 5 の両方のアラニンへの置換は、A D C C 活性の低下をもたらす。

20

30

【 0 2 5 4 】

別の実施形態では、記載する抗体のアミノ酸残基から選択される 1 つまたは複数のアミノ酸は、抗体が改変された C 1 q 結合および / または低下したもしくは無効化された補体依存性細胞傷害作用 (C D C) を有するように、異なるアミノ酸残基で置換することができる。この手法は米国特許第 6 , 1 9 4 , 5 5 1 号中でさらに詳細に記載される。

【 0 2 5 5 】

別の実施形態では、記載する抗体の 1 つまたは複数のアミノ酸残基を改変し、それによって補体と結合する抗体の能力を変える。この手法は W O 9 4 / 2 9 3 5 1 中でさらに記載される。

40

【 0 2 5 6 】

さらに別の実施形態では、記載する抗体の F c 領域を修飾して、抗体依存性細胞傷害作用 (A D C C) を媒介する抗体の能力を増大させる、および / または 1 つまたは複数のアミノ酸の修飾によって F c 受容体に対する抗体のアフィニティーを増大させる。この手法は W O 0 0 / 4 2 0 7 2 中でさらに記載される。さらに、F c R 1、F c R I I、F c R I I I および F c R n に関するヒト I g G 1 における結合部位はマッピングされており、結合が改善された変異体が記載されている (Shields, R.L. et al., 2001 J.Biol.Chen. 276:6591-6604 参照)。

【 0 2 5 7 】

50

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

10

【0258】

追加的または代替的に、少量のフコシル残基を有する低フコシル化抗体、または増大した二分GlcNAc構造を有する抗体などの、改変型のグリコシル化を有する抗体を使用することができる。このような改変型グリコシル化パターンは、抗体のADCC能力を増大させることが実証されている。このような炭水化物修飾は、例えば、改変型グリコシル化機構を有する宿主細胞中で抗体を発現させることによって実施することができる。改変型グリコシル化機構を有する細胞は当技術分野で記載されており、その中で開示する組換え抗体を発現させ、それによって改変型グリコシル化を有する抗体を産生する宿主細胞として使用することができる。例えば、Hang et al.によるEP1,176,195は、フコシルトランスフェラーゼをコードする機能的に破壊されたFUT8遺伝子を有する細胞系を記載し、したがって、このような細胞系中で発現される抗体は低フコシル化を示す。したがって一実施形態では、本開示の組成物中に含まれる抗体は、低フコシル化パターンを示す細胞系、例えば、フコシルトランスフェラーゼをコードするFUT8遺伝子の発現に欠陥がある哺乳動物細胞系中での組換え発現によって産生する。WO03/035835は、フコースをAsn(297)連結炭水化物に付ける能力が低下し、さらにその宿主細胞中で発現される抗体の低フコシル化をもたらす、変異体CHO細胞系、Lec13細胞を記載する(Shields, R.L. et al., 2002 J.Biol.Chem.277:26733-26740も参照)。WO99/54342は、糖タンパク質修飾グリコシルトランスフェラーゼ(例えば、(1,4)-NアセチルグルコサミニルトランスフェラーゼIII(GnTIII))を発現するように操作処理した細胞系を記載し、したがって、その操作処理した細胞系において発現される抗体は、抗体のADCC活性の増大をもたらす増大した二分GlcNAc構造を示す(Umana et al., 1999 Nat.Biotech.17:176-180も参照)。あるいは、本開示の組成物中に含まれる抗体は、哺乳動物に似たグリコシル化パターンに操作処理し、グリコシル化パターンとしてフコースを欠く抗体を産生することができる、酵母または繊維状真菌において産生することができる(例えば、EP1297172B1参照)。

20

30

【0259】

本開示によって企図される本明細書における抗体の別の修飾は、ペグ化である。抗体をペグ化して、例えば抗体の生物学的(例えば血清中)半減期を増大させることができる。抗体をペグ化するため、典型的には抗体、またはその断片を、1つまたは複数のポリエチレングリコール(PEG)基が抗体または抗体断片に付いている状態になる条件下で、反応性エステルまたはPEGのアルデヒド誘導体などのPEGと反応させる。反応性PEG分子(または類似の反応性がある水溶性ポリマー)とのアシル化反応またはアルキル化反応によって、ペグ化を実施することができる。本明細書で使用する用語「ポリエチレングリコール」は、モノ(C1~C10)アルコキシ-またはアリーロキシ-ポリエチレングリコールまたはポリエチレングリコール-マレイミドなどの、他のタンパク質を誘導体化するために使用されている任意の型のPEGを包含するものとする。ある特定の実施形態では、ペグ化するために使用する抗体は脱グリコシル化抗体である。タンパク質をペグ化するための方法は当技術分野で知られており、開示する抗体に適用することができる(例えば、EP0154316およびEP0401384参照)。

40

【0260】

50

本開示によって企図される抗体の別の修飾は、生成する分子の半減期を増大させるための、ヒト血清アルブミンまたはその断片などの血清タンパク質と、本開示の組成物中に含まれる抗体の少なくとも抗原結合領域との結合またはタンパク質融合である（例えば、E P 0 3 2 2 0 9 4 参照）。

【0261】

別の可能性は、生成する分子の半減期を増大させるための、ヒト血清アルブミンなどの血清タンパク質と結合可能なタンパク質と、本開示の組成物中に含まれる抗体の少なくとも抗原結合領域との融合である（例えば、E P 0 4 8 6 5 2 5 参照）。

【0262】

改変型抗体を操作処理する方法

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

【0263】

例えば、本開示の組成物中に含まれる抗体の1つまたは複数の C D R 領域、またはその突然変異体を、前に論じたように、知られているフレームワーク領域および/または他の C D R と組換えにより組み合わせ、本開示の組成物中に含まれる別の組換え操作処理型抗 A c t R I I B 抗体を作製することができる。他のタイプの修飾には前のセクションで記載した修飾がある。操作処理法の出発材料は、本明細書で提供する1つもしくは複数の V_H および/もしくは V_L 配列、またはその1つもしくは複数の C D R 領域である。操作処理型抗体を作製するために、本明細書で提供する1つもしくは複数の V_H および/もしくは V_L 配列、またはその1つもしくは複数の C D R 領域を有する抗体を実際調製する（すなわち、タンパク質として発現させる）ことは必ずしも必要ではない。そうではなく、出発材料として配列（複数可）中に含有される情報を使用して、原型配列（複数可）由来の「第二世代の」配列（複数可）を作製し、次いで「第二世代の」配列（複数可）を調製しタンパク質として発現させる。

【0264】

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

【0265】

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

【0266】

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

【0267】

改変型抗体の機能性は、実施例中に述べるアッセイ（例えば E L I S A ）などの、当技

10

20

30

40

50

術分野で利用可能なおよび／または本明細書に記載する標準的なアッセイを使用して評価することができる。

【0268】

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

10

【0269】

本開示の組成物中に含まれる抗体をコードする核酸分子

哺乳動物細胞中での発現に最適化した完全長軽鎖ヌクレオチド配列の例は、配列番号 1 6 1 ~ 1 6 5 および 1 7 1 ~ 1 7 5 で示す。哺乳動物細胞中での発現に最適化した完全長重鎖ヌクレオチド配列の例は、配列番号 1 6 6 ~ 1 7 0 および 1 7 6 ~ 1 8 0 で示す。

【0270】

核酸は完全細胞中、細胞溶解物中に存在する可能性があり、または部分的に精製されたもしくは実質的に純粋な形の核酸であってよい。アルカリ / S D S 処理、C s C l バンディング、カラムクロマトグラフィー、アガロースゲル電気泳動および他の当技術分野でよく知られている技法を含めた、標準的な技法によって、他の細胞要素または他の汚染物質、例えば、他の細胞核酸またはタンパク質から精製除去したとき、核酸は「単離状態」または「実質的に純粋な状態」である。F. Ausubel, et al., ed. 1987 Current Protocols in Molecular Biology, Greene Publishing and Wiley Interscience, New York 参照。標準的な分子生物学の技法を使用して核酸を得ることができる。ハイブリドーマ（例えば、以下でさらに記載するヒト免疫グロブリン遺伝子を有するトランスジェニックマウスから調製したハイブリドーマ）によって発現される抗体用に、ハイブリドーマによって作製した抗体の軽鎖および重鎖をコードする c D N A は、標準的な P C R 増幅または c D N A クローニング技法によって得ることができる。（例えば、ファージディスプレイ技法を使用して）免疫グロブリン遺伝子ライブラリーから得た抗体に関して、抗体をコードする核酸を、ライブラリーのメンバーである様々なファージクローンから回収することができる。

20

30

【0271】

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

40

【0272】

V_H 領域をコードする単離 D N A は、V_H コード D N A を重鎖定常領域（C H 1、C H 2 および C H 3）をコードする別の D N A 分子に作動可能に連結させることによって、完全長重鎖遺伝子に転換することができる。ヒト重鎖定常領域遺伝子の配列は当技術分野で知られており（例えば、Kabat, E.A., et al. [上記] 参照）、これらの領域を包含する D N A 断片は標準的な P C R 増幅によって得ることができる。重鎖定常領域は、I g G 1、I g G 2、I g G 3、I g G 4、I g A、I g E、I g M または I g D 定常領域であってよい。重鎖定常領域は I g G 1 アイソタイプ間で選択することができる。F a b 断片重鎖遺伝子用に、V_H コード D N A を、重鎖 C H 1 定常領域のみをコードする別の D N A 分

50

子に作動可能に連結させることが可能である。

【0273】

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

【0274】

scFv遺伝子を作製するため、V_HおよびV_LコードDNA断片を、V_H配列とV_L配列を隣接単鎖タンパク質として発現することができ、V_L領域とV_H領域が柔軟なリンカーによって接合するように、柔軟なリンカーをコードする、例えばアミノ酸配列（Gly4-Ser）₃をコードする別の断片に作動可能に連結させる（例えば、Bird et al., 1988 Science242:423-426; Huston et al., 1988 Proc.Natl.Acad.Sci.USA85:5879-5883; McCafferty et al., 1990 Nature348:552-554参照）。

10

【0275】

モノクローナル抗体の作製

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

20

【0276】

ハイブリドーマを調製するための動物系はマウス系である。マウスにおけるハイブリドーマ産生は十分確立した手順である。融合用に免疫処置脾臓細胞を単離するための免疫処置プロトコルおよび技法は、当技術分野で知られている。融合パートナー（例えば、マウスミエローマ細胞）および融合手順も知られている。

【0277】

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

30

【0278】

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

40

【0279】

HuMAbマウス（登録商標）（Medarex, Inc.）は、内生μおよび鎖遺伝子座を不活性化する標的突然変異と一緒に、非再編成ヒト重鎖（μおよび）および軽鎖免疫グロブリン配列をコードするヒト免疫グロブリン遺伝子のミニ遺伝子座を含有する（例えば、Lonberg, et al., 1994 Nature368(6474):856-859参照）。したがって、こ

50

のマウスはマウス I g M または の発現の低下を示し、免疫処置に応答して、導入したヒト重鎖および軽鎖導入遺伝子がクラススイッチおよび体細胞突然変異を経て、高アフィニティーヒト I g G モノクローナル抗体が生じる (Lonberg, N. et al., 1994 [上記]; Lonberg, N., 1994 Handbook of Experimental Pharmacology 113:49-101中に総説された、Lonberg, N. and Huszar, D., 1995 Intern.Rev.Immunol.13:65-93、および Harding, F. and Lonberg, N., 1995 Ann.N.Y.Acad.Sci.764:536-546)。HuMAb マウスの調製および使用、ならびにこのようなマウスによって実施されるゲノム修飾は、Taylor, L. et al., 1992 Nucleic Acids Research 20:6287-6295; Chen, J. et al., 1993 International Immunology 5:647-656; Tuailon et al., 1993 Proc.Natl.Acad.Sci.USA 94:3720-3724; Choi et al., 1993 Nature Genetics 4:117-123; Chen, J. et al., 1993 EMBO J. 12:821-830; Tuailon et al., 1994 J.Immunol.152:2912-2920; Taylor, L. et al., 1994 International Immunology 579-591; および Fishwild, D. et al., 1996 Nature Biotechnology 14:845-851 中でさらに詳細に記載され、これら全ての参考文献の内容はその全容が参照として本明細書に具体的に組み込まれる。さらに、米国特許第 5, 545, 806 号、同第 5, 569, 825 号、同第 5, 625, 126 号、同第 5, 633, 425 号、同第 5, 789, 650 号、同第 5, 877, 397 号、同第 5, 661, 016 号、同第 5, 814, 318 号、同第 5, 874, 299 号、同第 5, 770, 429 号、および同第 5, 545, 807 号、ならびに WO 92 / 103918、WO 93 / 12227、WO 94 / 25585、WO 97 / 113852、WO 98 / 24884、WO 99 / 45962、および WO 01 / 14424 を参照。

【0280】

別の実施形態では、本開示の組成物中に含まれるヒト抗体は、ヒト重鎖導入遺伝子およびヒト軽鎖導入染色体を有するマウスなどの、導入遺伝子および導入染色体においてヒト免疫グロブリン配列を有するマウスを使用して産生することができる。「KM マウス」と本明細書で呼ぶこのようなマウスは、WO 02 / 43478 中で詳細に記載される。

【0281】

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

【0282】

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

【0283】

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

【0284】

10

20

30

40

50

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

【0285】

ヒトモノクローナル抗体を産生するハイブリドーマの作製

本開示の組成物中に含まれるヒトモノクローナル抗体を産生するハイブリドーマを作製するため、免疫処置マウスから脾臓細胞および/またはリンパ節細胞を単離し、マウスミエローマ細胞系などの適切な不死化細胞系と融合させることが可能である。生成するハイブリドーマは、抗原特異的抗体の産生に関してスクリーニングすることができる。例えば、免疫処置マウス由来の脾臓細胞リンパ球の単細胞懸濁物は、50%PEGで6分の1の数のP3X63-Ag8.653非分泌マウスミエローマ細胞(ATCC、CRL1580)と融合させることが可能である。細胞は平底マイクロタイタープレート中に約2×145でプレーティングし、次に2週間、20%胎児クローン血清、18%「653」条件付け培地、5%オリゲン(Origen)(IGEN)、4mMのL-グルタミン、1mMのビルビン酸ナトリウム、5mMのHEPES、0:055mMの2-メルカプトエタノール、50単位/mlのペニシリン、50mg/mlのストレプトマイシン、50mg/mlのゲンタマイシンおよび1×HAT(Sigma;HATは融合後24時間で加える)を含有する選択培地中でインキュベートする。約2週間後、HATをHTに置換した培地中で細胞を培養することができる。次いで個々のウェルを、ELISAによりヒトモノクローナルIgMおよびIgG抗体に関してスクリーニングすることができる。広範囲のハイブリドーマ増殖が起こった後、通常10~14日後に培地を観察することができる。抗体分泌ハイブリドーマは再度平板培養し、再度スクリーニングすることができ、ヒトIgGに対して依然陽性である場合、モノクローナル抗体は限界希釈によって少なくとも2回サブクロニングすることができる。次いで安定したサブクローンをin vitroで培養して、特徴付け用の組織培養培地中で少量の抗体を生成することができる。

ヒトモノクローナル抗体を精製するため、選択したハイブリドーマを、モノクローナル抗体精製用の2リットルのスピナーフラスコ中で増殖することができる。上清は濾過し、プロテインA-セファロース(Pharmacia)によるアフィニティークロマトグラフィーの前に濃縮することができる。溶出したIgGはゲル電気泳動および高速液体クロマトグラフィーによって調べ、純度を保証することができる。バッファー溶液はPBSに交換することができ、1.43の消衰係数を使用しOD₂₈₀によって濃度を決定することができる。モノクローナル抗体は等分し、-80℃で保存することができる。

【0286】

モノクローナル抗体を産生するトランスフェクトーマの作製

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

【0287】

例えば、抗体、またはその抗体断片を発現するため、部分的または完全長軽鎖および重鎖をコードするDNAを、標準的な分子生物学の技法(例えば、対象とする抗体を発現するハイブリドーマを使用するPCR増幅またはcDNAクローニング)によって得ることができ、遺伝子が転写および翻訳調節配列に作動可能に連結するように、DNAを発現ベクターに挿入することができる。本文脈では、用語「~に作動可能に連結した」は、ベクター内の転写および翻訳調節配列が、抗体遺伝子の転写および翻訳を制御するそれらの目的とする機能を果たすように、抗体遺伝子がベクター中に連結することを意味するものとする。発現ベクターおよび発現調節配列は、使用する発現宿主細胞と適合性があるように選択する。抗体の軽鎖遺伝子と抗体の重鎖遺伝子は別々のベクターに挿入することができ、またはより典型的には、両方の遺伝子を同じ発現ベクターに挿入する。標準的な方法(

例えば、抗体遺伝子断片上の相補的制限部位とベクターの連結、または制限部位が存在しない場合は平滑末端連結)によって、抗体の遺伝子を発現ベクターに挿入する。本明細書に記載する抗体の軽鎖および重鎖可変領域を使用して、 V_H セグメントがベクター内の C_H セグメント(複数可)に作動可能に連結し V_L セグメントがベクター内の C_L セグメントに作動可能に連結するように、望ましいアイソタイプの重鎖定常領域と軽鎖定常領域を既にコードする発現ベクターにそれらを挿入することによって、任意の抗体アイソタイプの完全長抗体遺伝子を作製することができる。追加的または代替的に、組換え発現ベクターは、宿主細胞からの抗体鎖の分泌を容易にするシグナルペプチドをコードすることができる。シグナルペプチドが抗体鎖遺伝子のアミノ末端とインフレイムで連結するように、抗体鎖遺伝子をベクターにクローニングすることができる。シグナルペプチドは、免疫グロブリンシグナルペプチドまたは異種シグナルペプチド(すなわち、非免疫グロブリンタンパク質由来のシグナルペプチド)であってよい。

10

【0288】

抗体鎖遺伝子以外に、本開示の組換え発現ベクターは、宿主細胞中で抗体鎖遺伝子の発現を調節する制御配列を有する。用語「制御配列」は、抗体鎖遺伝子の転写または翻訳を調節する、プロモーター、エンハンサーおよび他の発現調節エレメント(例えば、ポリ阿德ニル化シグナル)を含むものとする。このような制御配列は、例えばGoeddel(Gene Expression Technology. Methods in Enzymology 185, Academic Press, San Diego, CA1990)中に記載されている。制御配列の選択を含めた発現ベクターの設計は、例えば形質転換する宿主細胞の選択、望ましいタンパク質の発現レベルなどの要因に依存し得ることは当業者によって理解される。哺乳動物宿主細胞発現に関する制御配列には、サイトメガロウイルス(CMV)、サルウイルス40(SV40)、アデノウイルス(例えば、アデノウイルス後期主要プロモーター(AdMLP))、およびポリオーマ由来のプロモーターおよび/またはエンハンサーなどの、哺乳動物細胞中で高レベルのタンパク質発現を誘導するウイルスエレメントがある。あるいは、ユビキチンプロモーターまたはP-グロビンプロモーターなどの、非ウイルス制御配列を使用することができる。他にさらに、SV40初期プロモーター由来の配列とヒトT細胞白血病ウイルス1型の長鎖末端反復単位を含むSRαプロモーター系などの、異なる供給源由来の配列で構成される制御エレメント(Takebe, Y. et al., 1988 Mol. Cell. Biol. 8:466-472)。

20

【0289】

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

30

【0290】

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

40

50

る (Boss, M.A. and Wood, C.R., 1985 Immunology Today6:12-13)。

【0291】

本開示の組成物中に含まれる組換え抗体を発現させるための哺乳動物宿主細胞には、(例えばR.J.Kaufman and P.A.Sharp, 1982 Mol.Biol.159:601-621中に記載されたようなD H F R選択マーカーを使用する、Urlaub and Chasing, 1980 Proc. Natl. Acad. Sci. USA77:4216-4220に記載されたd h f r - C H O細胞を含めた)チャイニーズハムスター卵巣(C H O細胞)、N S Oミエローマ細胞、C O S細胞およびS P 2細胞がある。一実施形態では、宿主細胞はC H O K 1 P D細胞である。特に、N S Oミエローマ細胞を用いる使用に関しては、別の発現系は、W O 8 7 / 0 4 4 6 2、W O 8 9 / 0 1 0 3 6およびE P 3 3 8, 8 4 1中に示されたG S遺伝子発現系である。本開示の組成物中に含まれる組換え抗体を発現させるための哺乳動物宿主細胞は、例えばU S 6, 9 4 6, 2 9 2 B 2中に記載されたような、F U T 8遺伝子発現に欠陥がある哺乳動物細胞系を含む。抗体遺伝子をコードする組換え発現ベクターを哺乳動物宿主細胞に導入するとき、宿主細胞中での抗体の発現、または宿主細胞が増殖する培養培地中への抗体の分泌を可能にするのに十分な時間の間、宿主細胞を培養することによって抗体が産生される。標準的なタンパク質精製法を使用して、培養培地から抗体を回収することができる。

10

【0292】

イムノコンジュゲート

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

20

【0293】

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

30

【0294】

細胞毒素、リンカーの型、および抗体と治療剤を結合させるための方法のさらなる考察に関しては、Saito, G.et al., 2003 Adv. Drug Deliv. Rev. 55:199-215; Trail, P.A. et al., 2003 Cancer Immunol.Immunother.52:328-337; Payne, G. 2003 Cancer Cell 3: 207-212;Allen, T.M., 2002 Nat.Rev.Cancer2:750-763;Pastan, I.and Kreitman, R.J., 2002 Curr.Opin.Investig.Drugs3:1089-1091;Senter, P.D.およびSpringer, C.J., 2001 Adv.Drug Deliv.Rev.53:247-264も参照。

【0295】

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

40

【0296】

50

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

10

【0297】

抗体とこのような治療成分をコンジュゲートさせるための技法はよく知られており、例えば、Amon et al., 「Monoclonal Antibodies For Immunotargeting Of Drugs In Cancer Therapy」、Monoclonal Antibodies And Cancer Therapy, Reisfeld et al.(eds.), pp. 243-56(Alan R. Liss, Inc.1985)中、Hellstrom et al., 「Antibodies For Drug Delivery」、Controlled Drug Delivery (2nd Ed.), Robinson et al. (eds.), pp. 623-53 (Marcel Dekker, Inc. 1987)中、Thorpe, 「Antibody Carriers Of Cytotoxic Agents In Cancer Therapy: A Review」、Monoclonal Antibodies '84:Biological And Clinical Applications, Pinchera et al.(eds.), pp.475-506(1985)中、「Analysis, Results, And Future Prospective Of The Therapeutic Use Of Radiolabeled Antibody In Cancer Therapy」、Monoclonal Antibodies For Cancer Detection And Therapy, Baldwin et al.(eds.), pp.303-16(Academic Press 1985)中、およびThorpe et al., 「The Preparation And Cytotoxic Properties Of Antibody-Toxin Conjugates」、Immunol. Rev., 62:119-58(1982)を参照。

20

【0298】

二重特異性分子

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

30

【0299】

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

40

【0300】

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

【0301】

一実施形態では、開示する組成物の二重特異性分子は、結合特異性として、例えばF a b、F a b'、F (a b')₂、F v、もしくは単鎖F vを含めた、少なくとも1つの抗

50

体、またはその抗体断片を含む。抗体は、軽鎖もしくは重鎖二量体、またはFvなどのそれらの任意の最小断片、またはその全容が参照として本明細書に明確に組み込まれるLadner et al.の米国特許第4,946,778号中に記載された単鎖構築物であってもよい。

【0302】

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

【0303】

本開示の組成物中に含まれる二重特異性分子は、当技術分野で知られている方法を使用して、構成成分の結合特異性をコンジュゲートすることによって調製することができる。例えば、各々の結合特異性の二重特異性分子を別々に生成させ、次いで互いにコンジュゲートさせることが可能である。結合特異性がタンパク質またはペプチドであるとき、様々なカップリングまたは架橋剤を共有結合に使用することができる。架橋剤の例には、プロテインA、カルボジイミド、N-スクシンイミジル-S-アセチル-チオアセテート(SATA)、5,5'-ジチオビス(2-ニトロ安息香酸)(DTNB)、o-フェニレンジマレイミド(OPDM)、N-スクシンイミジル-3-(2-ピリジルジチオ)プロピオネート(SPDP)、およびスルホスクシンイミジル4-(N-マレイミドメチル)シクロヘキサン-1-カルボキシレート(スルホ-SMCC)がある(例えば、Karpovsky et al., 1984 J.Exp.Med.160:1686;Liu, MA et al., 1985 Proc.Natl.Acad.Sci.USA82:8648参照)。他の方法には、Paulus, 1985 Behring Ins.Mitt.No.78, 118-132;Brennan et al., 1985 Science229:81-83)、およびGlennie et al., 1987 J.Immunol.139:2367-2375)中に記載された方法がある。コンジュゲーション剤は、いずれもPierce Chemical Co.(Rockford, IL)から入手可能なSATAとスルホ-SMCCである。

【0304】

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

【0305】

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

【0306】

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

【0307】

多価抗体

別の態様において本開示は、ActRIIBと結合する開示する抗体の少なくとも2つの同一または異なる抗原結合部分を含む、多価抗体を含む組成物に関する。一実施形態で

10

20

30

40

50

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

10

20

30

40

50

【0308】

医薬組成物

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

【0309】

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

【0310】

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

【0311】

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

ンジアミン、プロカインなどの無毒な有機アミン由来の塩がある。

【0312】

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

【0313】

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

【0314】

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

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

【0315】

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

【0316】

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

【0317】

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

【0318】

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

10

【0319】

抗体を含む組成物の投与に関して、抗体用量は、約0.0001～約100mg/宿主体重1kg、およびさらに通常は約0.01～約30mg/宿主体重1kgの範囲である。例えば用量は、約1mg/体重1kg、約3mg/体重1kg、約5mg/体重1kgまたは約10mg/体重1kg、約1～10mg/体重1kgの範囲内、例えば約1、2、3、4、5、6、7、8、9、10mg/体重1kgを、好ましくは4週毎に一回である。このような投与は静脈内に実施することが好ましい。本開示の抗AcctRII抗体、例えばピマグルマブに関する投与レジメンは、約1mg/体重1kgまたは約3mg/体重1kgまたは約10mg/体重1kgで4週毎に一回の静脈内投与を含む。

20

【0320】

さらに、70kgの成人個体の平均体重に基づいた対応する固定用量で、前述の範囲の用量を投与することができる。

例えば用量は、好ましくは4週間毎に1回、約70mg、約210mg、約350mgまたは約500mgまたは約700mg、約70～700mg/kgの範囲内、例えば約70、140、210、280、350、420、490、560、630、700mg/体重1kgである。

30

【0321】

好ましいことに、本開示の組成物は、股関節部骨折および必然的大手術が原因の運動性の低下によって誘発される廃用性萎縮がある患者における身体回復の促進/改善において使用するためのものである。

【0322】

幾つかの方法では、異なる結合特異性を有する2つ以上のモノクローナル抗体が本開示の組成物中に含まれ、したがって同時に投与すると、その場合、投与するそれぞれの抗体の用量は示す範囲内にある。抗体は通常複数回投与する。1回投与間の間隔は、例えば週に1回、1カ月に1回、3カ月毎、6カ月毎または1年に1回であってよい。患者における標的抗原に対する抗体の血中レベルの測定によって示されるように、間隔は不定期であってもよい。用量を調整して幾つかの方法では約1～約1000μg/ml、および幾つかの方法では約25～約300μg/mlの血漿中抗体濃度を得る。例えば、本開示のAcctRII抗体は抗ミオスタチン抗体と同時投与することが可能である。

40

【0323】

用量および頻度は、患者における抗体の半減期に応じて変わる。一般に、ヒト抗体が最も、次にヒト化抗体、キメラ抗体、および非ヒト抗体が長い半減期を示す。投与の用量および頻度は、治療が予防的または療法的であるかどうかに応じて変えることができる。予

50

防用途では、比較的少ない用量を、長時間にわたり比較的低頻度の間隔で投与する。一部の患者には、その生涯の残り期間にわたり治療を施し続ける。療法用途では、疾患の進行が低減もしくは終了するまで、または患者が疾患症状の部分的もしくは完全な改善を示すまで、比較的短い間隔での比較的高用量が時折必要とされる。その後、患者に予防的レジメを施すことができる。

【0324】

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

10

【0325】

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

【0326】

治療用組成物は、当技術分野で知られる医療用デバイスを用いて投与することができる。

20

【0327】

本開示の使用および方法

本開示の組成物および開示する抗体には治療上の有用性がある。それらは孤発性封入体筋炎の治療、または孤発性封入体筋炎に冒された患者の状態の改善、または孤発性封入体筋炎と関連した症状の低減に対して影響があるからである。

【0328】

本明細書で使用する、用語「対象」または「個体」はヒトおよび非ヒト動物を含むものとする。非ヒト動物は、全ての脊椎動物、例えば哺乳動物および非哺乳動物、例えば非ヒト霊長類、ヒツジ、イヌ、ネコ、ウシ、ウマ、ニワトリ、両生類、および爬虫類などを含む。

30

【0329】

したがって、本開示はさらに、本開示の組成物または開示するミオスタチンアンタゴニスト、例えばミオスタチン結合分子または A c t R I I 結合分子、好ましくは A c t R I I 結合分子、より好ましくは A c t R I I に対する抗体、例えばビマグルマブまたは B Y M 3 3 8 が、A c t R I I の機能を阻害、すなわちアンタゴナイズし、それによって股関節部骨折手術からの回復の改善をもたらす治療法に関する。本開示は、治療有効量のミオスタチンアンタゴニスト、例えばミオスタチン結合分子または A c t R I I B 結合分子、好ましくは A c t R I I B 結合分子、より好ましくは A c t R I I B に対するアンタゴニスト抗体、例えばビマグルマブまたは B Y M 3 3 8、または本開示の組成物を患者に投与することを含む、股関節部骨折および必然的大手術が原因の運動性の低下によって誘発される廃用性萎縮がある患者における身体回復を促進 / 改善する方法を提供する。

40

【0330】

本開示の治療方法において使用することができる、ミオスタチンアンタゴニスト、例えばミオスタチン結合分子または A c t R I I 結合分子、好ましくは A c t R I I B 結合分子、より好ましくは A c t R I I B に対するアンタゴニスト抗体、例えばビマグルマブまたは B Y M 3 3 8 の例は、前で詳細に開示または記載したものである。ある特定の実施形態では、A c t R I I 抗体（例えばビマグルマブまたは B Y M 3 3 8）が本明細書で開示する本発明の組成物に含まれる。

【0331】

50

本開示はさらに、股関節部骨折および必然的大手術が原因の運動性の低下によって誘発される廃用性萎縮がある患者における身体回復を促進／改善するための医薬品の製造における、ミオスタチンアンタゴニスト、例えばミオスタチン結合分子またはA c t R I I B結合分子、好ましくはA c t R I I B結合分子、より好ましくはA c t R I I Iに対するアンタゴニスト抗体、例えばB Y M 3 3 8の使用に関する。

【0332】

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

10

【0333】

ミオスタチンアンタゴニスト、例えばミオスタチン結合分子またはA c t R I I I結合分子、好ましくはA c t R I I I結合分子、より好ましくはA c t R I I Iに対するアンタゴニスト抗体、例えばビマグルマブまたはB Y M 3 3 8は、単一活性剤として、例えばアジュバントとして、または他の薬剤、例えばI G F - 1、I G F - 2、またはI G F - 1もしくはI G F - 2の変異体、抗ミオスタチン抗体、ミオスタチンプロペプチド、A c t R I I Bと結合するがそれを活性化しないミオスタチンデコイタンパク質、 α 2アゴニスト、G h r e l i nアゴニスト、S A R M、G Hアゴニスト／模倣体もしくはフォリスタチンと組み合わせて、またはそれらと併用して投与することができる。例えば、本開示のアンタゴニストは、W O 2 0 0 7 / 1 4 6 6 8 9 中に開示されたようにI G F - 1模倣体と併用して使用することができる。

20

【0334】

前述の記載に従い、他のさらなる態様では、本開示は、治療有効量のミオスタチンアンタゴニスト、例えばミオスタチン結合分子またはA c t R I I I結合分子、好ましくはA c t R I I Iもしくは結合分子、より好ましくはA c t R I I Iに対するアンタゴニスト抗体、例えばビマグルマブまたはB Y M 3 3 8、およびI G F - 1、I G F - 2、またはI G F - 1もしくはI G F - 2の変異体、抗ミオスタチン抗体、ミオスタチンプロペプチド、A c t R I I Iと結合するがそれを活性化しないミオスタチンデコイタンパク質、 α 2アゴニスト、G h r e l i nアゴニスト、S A R M、G Hアゴニスト／模倣体もしくはフォリスタチンである少なくとも1つの第二の薬剤物質を例えば同時にまたは順次に共投与することを含む、前に定義した方法または使用を提供する。

30

【0335】

キット

本発明は、ミオスタチンアンタゴニスト、例えばミオスタチン結合分子（例えば、ミオスタチン抗体またはその抗原結合断片、例えばビマグルマブまたはB Y M 3 3 8）またはミオスタチン受容体（すなわち、A c t R I I I B受容体）結合分子（例えば、抗A c t R I I I B抗体またはその抗原結合断片）（例えば、液体もしくは凍結乾燥型）、または（前に記載した）ミオスタチンアンタゴニストを含む医薬組成物を含み得るキットも包含する。さらに、このようなキットは、ミオスタチンアンタゴニストを投与するための手段（例えば、シリンジおよびバイアル、予め充填したシリンジ、予め充填したペン）および使用説明書を含み得る。これらのキットは、例えば封入ミオスタチンアンタゴニスト、例えばB Y M 3 3 8と併用して送達するための（前に記載した）他の治療剤を含有することができる。

40

【0336】

語句「投与するための手段」を使用して、予め充填したシリンジ、バイアルおよびシリンジ、インジェクションペン、オートインジェクター、静脈内点滴用装置およびバッグ、ポンプなどだけには限られないが、これらを含めた、患者に薬剤を全身投与するための任

50

意の利用可能な道具を示す。このようなアイテムを用いて、患者は薬剤を自己投与（すなわち、彼ら自身で薬剤を投与する）することができ、または医師が薬剤を投与することができる。通常キットの各構成成分は個別の容器内に封入されており、全ての様々な容器は使用説明書と共に単一のパッケージ内に存在する。

配列

【 0 3 3 7 】

【表 1 - 1】

表 1:配列表

配列番号	抗体領域	配列
配列番号 1	HCDR1	GYTFTSSYIN
配列番号 2	HCDR1	GYTFTSSYIN
配列番号 3	HCDR1	GYTFTSSYIN
配列番号 4	HCDR1	GYTFTSSYIN
配列番号 5	HCDR1	GYTFTSSYIN
配列番号 6	HCDR1	GYTFTSSYIN
配列番号 7	HCDR1	GYTFTSSYIN
配列番号 8	HCDR1	GYTFTSSYIN
配列番号 9	HCDR1	GYTFTSSYIN
配列番号 10	HCDR1	GYTFTSSYIN
配列番号 11	HCDR1	GYTFTSSYIN
配列番号 12	HCDR1	GYTFTSSYIN
配列番号 13	HCDR1	GYTFTSSYIN
配列番号 14	HCDR1	GYTFTSSYIN
配列番号 15	HCDR2	TINPVSGNTSYAQKFQG
配列番号 16	HCDR2	TINPVSGNTSYAQKFQG
配列番号 17	HCDR2	TINPVSGNTSYAQKFQG
配列番号 18	HCDR2	TINPVSGNTSYAQKFQG
配列番号 19	HCDR2	MINAPIGTTRYAQKFQG
配列番号 20	HCDR2	QINAASGMTRYAQKFQG
配列番号 21	HCDR2	MINAPIGTTRYAQKFQG
配列番号 22	HCDR2	TINPVSGNTRYAQKFQG
配列番号 23	HCDR2	TINPVSGSTSYAQKFQG
配列番号 24	HCDR2	QINAASGMTRYAQKFQG
配列番号 25	HCDR2	NINAAAGITLYAQKFQG
配列番号 26	HCDR2	TINPPTGGTYAQKFQG
配列番号 27	HCDR2	GINPPAGTTSYAQKFQG
配列番号 28	HCDR2	NINPATGHADY AQKFQG
配列番号 29	HCDR3	GGWFDY
配列番号 30	HCDR3	GGWFDY
配列番号 31	HCDR3	GGWFDY
配列番号 32	HCDR3	GGWFDY
配列番号 33	HCDR3	GGWFDY
配列番号 34	HCDR3	GGWFDY
配列番号 35	HCDR3	GGWFDY
配列番号 36	HCDR3	GGWFDY
配列番号 37	HCDR3	GGWFDY
配列番号 38	HCDR3	GGWFDY
配列番号 39	HCDR3	GGWFDY
配列番号 40	HCDR3	GGWFDY
配列番号 41	HCDR3	GGWFDY
配列番号 42	HCDR3	GGWFDY
配列番号 43	LCDR1	TGTSSDVGSYNYVN
配列番号 44	LCDR1	TGTSSDVGSYNYVN
配列番号 45	LCDR1	TGTSSDVGSYNYVN
配列番号 46	LCDR1	TGTSSDVGSYNYVN
配列番号 47	LCDR1	TGTSSDVGSYNYVN
配列番号 48	LCDR1	TGTSSDVGSYNYVN
配列番号 49	LCDR1	TGTSSDVGSYNYVN
配列番号 50	LCDR1	TGTSSDVGSYNYVN
配列番号 51	LCDR1	TGTSSDVGSYNYVN
配列番号 52	LCDR1	TGTSSDVGSYNYVN
配列番号 53	LCDR1	TGTSSDVGSYNYVN
配列番号 54	LCDR1	TGTSSDVGSYNYVN
配列番号 55	LCDR1	TGTSSDVGSYNYVN

【表 1 - 2】

配列番号 56	LCDR1	TGTSSDVGSYNYVN
配列番号 57	LDCR2	LMIYGVSKRPS
配列番号 58	LDCR2	LMIYGVSKRPS
配列番号 59	LDCR2	LMIYGVSKRPS
配列番号 60	LDCR2	LMIYGVSKRPS
配列番号 61	LDCR2	LMIYGVSKRPS
配列番号 62	LDCR2	LMIYGVSKRPS
配列番号 63	LDCR2	LMIYGVSKRPS
配列番号 64	LDCR2	LMIYGVSKRPS
配列番号 65	LDCR2	LMIYGVSKRPS
配列番号 66	LDCR2	LMIYGVSKRPS
配列番号 67	LDCR2	LMIYGVSKRPS
配列番号 68	LDCR2	LMIYGVSKRPS
配列番号 69	LDCR2	LMIYGVSKRPS
配列番号 70	LDCR2	LMIYGVSKRPS
配列番号 71	LCDR3	QAWTSKMAG
配列番号 72	LCDR3	SSYTRMGHP
配列番号 73	LCDR3	ATYGKGVTPP
配列番号 74	LCDR3	GTFAGGSYYG
配列番号 75	LCDR3	QAWTSKMAG
配列番号 76	LCDR3	QAWTSKMAG
配列番号 77	LCDR3	GTFAGGSYYG
配列番号 78	LCDR3	GTFAGGSYYG
配列番号 79	LCDR3	GTFAGGSYYG
配列番号 80	LCDR3	GTFAGGSYYG
配列番号 81	LCDR3	GTFAGGSYYG
配列番号 82	LCDR3	GTFAGGSYYG
配列番号 83	LCDR3	GTFAGGSYYG
配列番号 84	LCDR3	GTFAGGSYYG
配列番号 85	VL	DIALTPASVSGSPGQSITISCTGTSSDVGSYNYVNWYQHPGKAPKLMYGVSKRPSGVSNRFSGSKSGNTASLTISGLQAEDEADYYCQAWTSKMAGVFVGGGTCLTVLGQ
配列番号 86	VL	DIALTPASVSGSPGQSITISCTGTSSDVGSYNYVNWYQHPGKAPKLMYGVSKRPSGVSNRFSGSKSGNTASLTISGLQAEDEADYYCSSYTRMGHPVFVGGGTCLTVLGQ
配列番号 87	VL	DIALTPASVSGSPGQSITISCTGTSSDVGSYNYVNWYQHPGKAPKLMYGVSKRPSGVSNRFSGSKSGNTASLTISGLQAEDEADYYCATYGKGVTPPVFVGGGTCLTVLGQ
配列番号 88	VL	DIALTPASVSGSPGQSITISCTGTSSDVGSYNYVNWYQHPGKAPKLMYGVSKRPSGVSNRFSGSKSGNTASLTISGLQAEDEADYYCGTFAGGSYYGVFVGGGTCLTVLGQ
配列番号 89	VL	DIALTPASVSGSPGQSITISCTGTSSDVGSYNYVNWYQHPGKAPKLMYGVSKRPSGVSNRFSGSKSGNTASLTISGLQAEDEADYYCQAWTSKMAGVFVGGGTCLTVLGQ
配列番号 90	VL	DIALTPASVSGSPGQSITISCTGTSSDVGSYNYVNWYQHPGKAPKLMYGVSKRPSGVSNRFSGSKSGNTASLTISGLQAEDEADYYCQAWTSKMAGVFVGGGTCLTVLGQ
配列番号 91	VL	DIALTPASVSGSPGQSITISCTGTSSDVGSYNYVNWYQHPGKAPKLMYGVSKRPSGVSNRFSGSKSGNTASLTISGLQAEDEADYYCGTFAGGSYYGVFVGGGTCLTVLGQ
配列番号 92	VL	DIALTPASVSGSPGQSITISCTGTSSDVGSYNYVNWYQHPGKAPKLMYGVSKRPSGVSNRFSGSKSGNTASLTISGLQAEDEADYYCGTFAGGSYYGVFVGGGTCLTVLGQ
配列番号 93	VL	DIALTPASVSGSPGQSITISCTGTSSDVGSYNYVNWYQHPGKAPKLMYGVSKRPSGVSNRFSGSKSGNTASLTISGLQAEDEADYYCGTFAGGSYYGVFVGGGTCLTVLGQ
配列番号 94	VL	DIALTPASVSGSPGQSITISCTGTSSDVGSYNYVNWYQHPGKAPKLMYGVSKRPSGVSNRFSGSKSGNTASLTISGLQAEDEADYYCGTFAGGSYYGVFVGGGTCLTVLGQ
配列番号 95	VL	DIALTPASVSGSPGQSITISCTGTSSDVGSYNYVNWYQHPGKAPKLMYGVSKRPSGVSNRFSGSKSGNTASLTISGLQAEDEADYYCGTFAGGSYYGVFVGGGTCLTVLGQ
配列番号 96	VL	DIALTPASVSGSPGQSITISCTGTSSDVGSYNYVNWYQHPGKAPKLMYGVSKRPSGVSNRFSGSKSGNTASLTISGLQAEDEADYYCGTFAGGSYYGVFVGGGTCLTVLGQ
配列番号 97	VL	DIALTPASVSGSPGQSITISCTGTSSDVGSYNYVNWYQHPGKAPKLMYGVSKRPSGVSNRFSGSKSGNTASLTISGLQAEDEADYYCGTFAGGSYYGVFVGGGTCLTVLGQ
配列番号 98	VL	DIALTPASVSGSPGQSITISCTGTSSDVGSYNYVNWYQHPGKAPKLMYGVSKRPSGVSNRFSGSKSGNTASLTISGLQAEDEADYYCGTFAGGSYYGVFVGGGTCLTVLGQ
配列番号 99	VH	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTSSYINWVRQAPGQGLEWMGTINPVSGNTSYA QKFQGRVTMTTRDTSISTAYMELSSLRSEDTAVYYCARGGWFDYWGQGITLVTVSS
配列番号 100	VH	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTSSYINWVRQAPGQGLEWMGTINPVSGNTSYA QKFQGRVTMTTRDTSISTAYMELSSLRSEDTAVYYCARGGWFDYWGQGITLVTVSS

10

20

30

40

【表 1 - 3】

配列番号 101	VH	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSKASGYTFTSSYNWVRQAPGQGLEWMGTINPVSGNTSYA QKFQGRVIMTRDTSISTAYMELSSLRSEDVAVYYCARGGWFDYWGQGILVTVSS
配列番号 102	VII	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSKASGYTFTSSYNWVRQAPGQGLEWMGTINPVSGNTSYA QKFQGRVIMTRDTSISTAYMELSSLRSEDVAVYYCARGGWFDYWGQGILVTVSS
配列番号 103	VH	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSKASGYTFTSSYNWVRQAPGQGLEWMGINAPIGTTRYA QKFQGRVIMTRDTSISTAYMELSSLRSEDVAVYYCARGGWFDYWGQGILVTVSS
配列番号 104	VH	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSKASGYTFTSSYNWVRQAPGQGLEWMGINAASGMTRYA QKFQGRVIMTRDTSISTAYMELSSLRSEDVAVYYCARGGWFDYWGQGILVTVSS
配列番号 105	VH	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSKASGYTFTSSYNWVRQAPGQGLEWMGINAPIGTTRYA QKFQGRVIMTRDTSISTAYMELSSLRSEDVAVYYCARGGWFDYWGQGILVTVSS
配列番号 106	VH	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSKASGYTFTSSYNWVRQAPGQGLEWMGTINPVSGNTRYA QKFQGRVIMTRDTSISTAYMELSSLRSEDVAVYYCARGGWFDYWGQGILVTVSS
配列番号 107	VH	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSKASGYTFTSSYNWVRQAPGQGLEWMGTINPVSGTSY AQ KFQGRVIMTRDTSISTAYMELSSLRSEDVAVYYCARGGWFDYWGQGILVTVSS
配列番号 108	VH	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSKASGYTFTSSYNWVRQAPGQGLEWMGINAASGMTRYA QKFQGRVIMTRDTSISTAYMELSSLRSEDVAVYYCARGGWFDYWGQGILVTVSS
配列番号 109	VH	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSKASGYTFTSSYNWVRQAPGQGLEWMGINAAAGHILYA QKFQGRVIMTRDTSISTAYMELSSLRSEDVAVYYCARGGWFDYWGQGILVTVSS
配列番号 110	VH	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSKASGYTFTSSYNWVRQAPGQGLEWMGTINPPTGGTYA QKFQGRVIMTRDTSISTAYMELSSLRSEDVAVYYCARGGWFDYWGQGILVTVSS
配列番号 111	VH	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSKASGYTFTSSYNWVRQAPGQGLEWMGINPPAGTTSYA QKFQGRVIMTRDTSISTAYMELSSLRSEDVAVYYCARGGWFDYWGQGILVTVSS
配列番号 112	VH	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSKASGYTFTSSYNWVRQAPGQGLEWMGINPAGTHADYA QKFQGRVIMTRDTSISTAYMELSSLRSEDVAVYYCARGGWFDYWGQGILVTVSS
配列番号 113	DNA VL	GATATCGCACTGACCCAGCCAGCTTCAGTGAGCGGCTCACCAGGTCAGAGCATTACCATC TCGTGTACGGGTACTAGCAGCGATGTTGGTCTTATAATTATGTGAATTGGTACCAGCAGC ATCCCGGGAAGGCGCCGAACTTATGATTTATGGTGTCTTAAGCGTCCCTCAGGCGTGA GCAACCGTTTTAGCGGATCCAAAAGCGGCAACACCGCGAGCCTGACCATTAGCGGCCTGC AAGCGGAAGACGAAGCGGATTATTATTGCCAGGCTTGACTTCTAAGATGGCTGGTGTGT TTGGCGGCGGCACGAAGTTAACCCTTCTTGCCAG
配列番号 114	DNA VL	GATATCGCACTGACCCAGCCAGCTTCAGTGAGCGGCTCACCAGGTCAGAGCATTACCATC TCGTGTACGGGTACTAGCAGCGATGTTGGTCTTATAATTATGTGAATTGGTACCAGCAGC ATCCCGGGAAGGCGCCGAACTTATGATTTATGGTGTCTTAAGCGTCCCTCAGGCGTGA GCAACCGTTTTAGCGGATCCAAAAGCGGCAACACCGCGAGCCTGACCATTAGCGGCCTGC AAGCGGAAGACGAAGCGGATTATTATTGCTCTTCTTATACTCGTATGGGTATCCTGTGTT TGGCGGCGGCACGAAGTTAACCCTTCTTGCCAG
配列番号 115	DNA VL	GATATCGCACTGACCCAGCCAGCTTCAGTGAGCGGCTCACCAGGTCAGAGCATTACCATC TCGTGTACGGGTACTAGCAGCGATGTTGGTCTTATAATTATGTGAATTGGTACCAGCAGC ATCCCGGGAAGGCGCCGAACTTATGATTTATGGTGTCTTAAGCGTCCCTCAGGCGTGA GCAACCGTTTTAGCGGATCCAAAAGCGGCAACACCGCGAGCCTGACCATTAGCGGCCTGC AAGCGGAAGACGAAGCGGATTATTATTGCGCTACTTATGGTAAGGGTGTTACTCTCTGT GTTTGGCGGCGGCACGAAGTTAACCCTTCTTGCCAG
配列番号 116	DNA VL	GATATCGCACTGACCCAGCCAGCTTCAGTGAGCGGCTCACCAGGTCAGAGCATTACCATC TCGTGTACGGGTACTAGCAGCGATGTTGGTCTTATAATTATGTGAATTGGTACCAGCAGC ATCCCGGGAAGGCGCCGAACTTATGATTTATGGTGTCTTAAGCGTCCCTCAGGCGTGA GCAACCGTTTTAGCGGATCCAAAAGCGGCAACACCGCGAGCCTGACCATTAGCGGCCTGC AAGCGGAAGACGAAGCGGATTATTATTGCGGTACTTTTGTGGTGGTCTTATTATGGTGT GTTTGGCGGCGGCACGAAGTTAACCCTTCTTGCCAG
配列番号 117	DNA VL	GATATCGCACTGACCCAGCCAGCTTCAGTGAGCGGCTCACCAGGTCAGAGCATTACCATC TCGTGTACGGGTACTAGCAGCGATGTTGGTCTTATAATTATGTGAATTGGTACCAGCAGC ATCCCGGGAAGGCGCCGAACTTATGATTTATGGTGTCTTAAGCGTCCCTCAGGCGTGA GCAACCGTTTTAGCGGATCCAAAAGCGGCAACACCGCGAGCCTGACCATTAGCGGCCTGC AAGCGGAAGACGAAGCGGATTATTATTGCCAGGCTTGACTTCTAAGATGGCTGGTGTGT TTGGCGGCGGCACGAAGTTAACCCTTCTTGCCAG
配列番号 118	DNA VL	GATATCGCACTGACCCAGCCAGCTTCAGTGAGCGGCTCACCAGGTCAGAGCATTACCATC TCGTGTACGGGTACTAGCAGCGATGTTGGTCTTATAATTATGTGAATTGGTACCAGCAGC ATCCCGGGAAGGCGCCGAACTTATGATTTATGGTGTCTTAAGCGTCCCTCAGGCGTGA GCAACCGTTTTAGCGGATCCAAAAGCGGCAACACCGCGAGCCTGACCATTAGCGGCCTGC AAGCGGAAGACGAAGCGGATTATTATTGCCAGGCTTGACTTCTAAGATGGCTGGTGTGT TTGGCGGCGGCACGAAGTTAACCCTTCTTGCCAG
配列番号 119	DNA VL	GATATCGCACTGACCCAGCCAGCTTCAGTGAGCGGCTCACCAGGTCAGAGCATTACCATC TCGTGTACGGGTACTAGCAGCGATGTTGGTCTTATAATTATGTGAATTGGTACCAGCAGC ATCCCGGGAAGGCGCCGAACTTATGATTTATGGTGTCTTAAGCGTCCCTCAGGCGTGA GCAACCGTTTTAGCGGATCCAAAAGCGGCAACACCGCGAGCCTGACCATTAGCGGCCTGC AAGCGGAAGACGAAGCGGATTATTATTGCGGTACTTTTGTGGTGGTCTTATTATGGTGT GTTTGGCGGCGGCACGAAGTTAACCCTTCTTGCCAG
配列番号 120	DNA VL	GATATCGCACTGACCCAGCCAGCTTCAGTGAGCGGCTCACCAGGTCAGAGCATTACCATC TCGTGTACGGGTACTAGCAGCGATGTTGGTCTTATAATTATGTGAATTGGTACCAGCAGC ATCCCGGGAAGGCGCCGAACTTATGATTTATGGTGTCTTAAGCGTCCCTCAGGCGTGA GCAACCGTTTTAGCGGATCCAAAAGCGGCAACACCGCGAGCCTGACCATTAGCGGCCTGC AAGCGGAAGACGAAGCGGATTATTATTGCGGTACTTTTGTGGTGGTCTTATTATGGTGT GTTTGGCGGCGGCACGAAGTTAACCCTTCTTGCCAG

10

20

30

40

【表 1 - 4】

配列番号 121	DNA VL	GATATCGCACTGACCCAGCCAGCTTCAGTGAGCGGCTCACCAGGTCAGAGCATTACCATC TCGTGTACGGGTACTAGCAGCGATGTTGGTTCTTATAATTATGTGAATTGGTACCAGCAGC ATCCCGGGAAGGCGCCGAAACTTATGATTTATGGTGTTCCTAAGCGTCCCTCAGGCGTGA GCAACCGTTTTAGCGGATCCAAAAGCGGCAACACCGCGAGCCTGACCATTAGCGGCCTGC AAGCGGAAGACGAAGCGGATTATTATTGCGGTACTTTTGCTGGTGGTTCTTATTATGGTGT GTTTGGCGGCGGCACGAAGTTAACCGTTCCTTGGCCAG
配列番号 122	DNA VL	GATATCGCACTGACCCAGCCAGCTTCAGTGAGCGGCTCACCAGGTCAGAGCATTACCATC TCGTGTACGGGTACTAGCAGCGATGTTGGTTCTTATAATTATGTGAATTGGTACCAGCAGC ATCCCGGGAAGGCGCCGAAACTTATGATTTATGGTGTTCCTAAGCGTCCCTCAGGCGTGA GCAACCGTTTTAGCGGATCCAAAAGCGGCAACACCGCGAGCCTGACCATTAGCGGCCTGC AAGCGGAAGACGAAGCGGATTATTATTGCGGTACTTTTGCTGGTGGTTCTTATTATGGTGT GTTTGGCGGCGGCACGAAGTTAACCGTTCCTTGGCCAG
配列番号 123	DNA VL	GATATCGCACTGACCCAGCCAGCTTCAGTGAGCGGCTCACCAGGTCAGAGCATTACCATC TCGTGTACGGGTACTAGCAGCGATGTTGGTTCTTATAATTATGTGAATTGGTACCAGCAGC ATCCCGGGAAGGCGCCGAAACTTATGATTTATGGTGTTCCTAAGCGTCCCTCAGGCGTGA GCAACCGTTTTAGCGGATCCAAAAGCGGCAACACCGCGAGCCTGACCATTAGCGGCCTGC AAGCGGAAGACGAAGCGGATTATTATTGCGGTACTTTTGCTGGTGGTTCTTATTATGGTGT GTTTGGCGGCGGCACGAAGTTAACCGTTCCTTGGCCAG
配列番号 124	DNA VL	GATATCGCACTGACCCAGCCAGCTTCAGTGAGCGGCTCACCAGGTCAGAGCATTACCATC TCGTGTACTGGTACTAGCAGCGATGTTGGTTCTTATAATTATGTGAATTGGTACCAGCAGC ATCCCGGGAAGGCGCCGAAACTTATGATTTATGGTGTTCCTAAGCGTCCCTCAGGCGTGA GCAACCGTTTTAGCGGATCCAAAAGCGGCAACACCGCGAGCCTGACCATTAGCGGCCTGC AAGCGGAAGACGAAGCGGATTATTATTGCGGTACTTTTGCTGGTGGTTCTTATTATGGTGT GTTTGGCGGCGGCACGAAGTTAACCGTTCCTTGGCCAG
配列番号 125	DNA VL	GATATCGCACTGACCCAGCCAGCTTCAGTGAGCGGCTCACCAGGTCAGAGCATTACCATC TCGTGTACGGGTACTAGCAGCGATGTTGGTTCTTATAATTATGTGAATTGGTACCAGCAGC ATCCCGGGAAGGCGCCGAAACTTATGATTTATGGTGTTCCTAAGCGTCCCTCAGGCGTGA GCAACCGTTTTAGCGGATCCAAAAGCGGCAACACCGCGAGCCTGACCATTAGCGGCCTGC AAGCGGAAGACGAAGCGGATTATTATTGCGGTACTTTTGCTGGTGGTTCTTATTATGGTGT GTTTGGCGGCGGCACGAAGTTAACCGTTCCTTGGCCAG
配列番号 126	DNA VL	GATATCGCACTGACCCAGCCAGCTTCAGTGAGCGGCTCACCAGGTCAGAGCATTACCATC TCGTGTACGGGTACTAGCAGCGATGTTGGTTCTTATAATTATGTGAATTGGTACCAGCAGC ATCCCGGGAAGGCGCCGAAACTTATGATTTATGGTGTTCCTAAGCGTCCCTCAGGCGTGA GCAACCGTTTTAGCGGATCCAAAAGCGGCAACACCGCGAGCCTGACCATTAGCGGCCTGC AAGCGGAAGACGAAGCGGATTATTATTGCGGTACTTTTGCTGGTGGTTCTTATTATGGTGT GTTTGGCGGCGGCACGAAGTTAACCGTTCCTTGGCCAG
配列番号 127	DNA VH	CAGGTGCAATTGGTTTCAGAGCGGCGCGGAAGTGAAAAAACCGGCGCGAGCGTGAAAGT GAGCTGCAAAGCCTCCGGATATACCTTTACTTCTTCTTATATTAATTGGGTCCGCCAAGCC CCTGGGCAGGGTCTCGAGTGGATGGGCACTATCAATCCGGTTTCTGGCAATACGCTTTACG CGCAGAAGTTTCAGGGCCGGGTGACCATGACCCGTGATACCAGCATTAGCACCGCGTATA TGGAAGTGAAGCAGCCTGCGTAGCGAAGATACGGCCGTGTATTATTGCGCGCGTGGTGGTT GGTTTGATTATTGGGGCCAAGGCACCCTGGTGACGGTTAGCTCA
配列番号 128	DNA VH	CAGGTGCAATTGGTTTCAGAGCGGCGCGGAAGTGAAAAAACCGGCGCGAGCGTGAAAGT GAGCTGCAAAGCCTCCGGATATACCTTTACTTCTTCTTATATTAATTGGGTCCGCCAAGCC CCTGGGCAGGGTCTCGAGTGGATGGGCACTATCAATCCGGTTTCTGGCAATACGCTTTACG CGCAGAAGTTTCAGGGCCGGGTGACCATGACCCGTGATACCAGCATTAGCACCGCGTATA TGGAAGTGAAGCAGCCTGCGTAGCGAAGATACGGCCGTGTATTATTGCGCGCGTGGTGGTT GGTTTGATTATTGGGGCCAAGGCACCCTGGTGACGGTTAGCTCA
配列番号 129	DNA VH	CAGGTGCAATTGGTTTCAGAGCGGCGCGGAAGTGAAAAAACCGGCGCGAGCGTGAAAGT GAGCTGCAAAGCCTCCGGATATACCTTTACTTCTTCTTATATTAATTGGGTCCGCCAAGCC CCTGGGCAGGGTCTCGAGTGGATGGGCACTATCAATCCGGTTTCTGGCAATACGCTTTACG CGCAGAAGTTTCAGGGCCGGGTGACCATGACCCGTGATACCAGCATTAGCACCGCGTATA TGGAAGTGAAGCAGCCTGCGTAGCGAAGATACGGCCGTGTATTATTGCGCGCGTGGTGGTT GGTTTGATTATTGGGGCCAAGGCACCCTGGTGACGGTTAGCTCA
配列番号 130	DNA VH	CAGGTGCAATTGGTTTCAGAGCGGCGCGGAAGTGAAAAAACCGGCGCGAGCGTGAAAGT GAGCTGCAAAGCCTCCGGATATACCTTTACTTCTTCTTATATTAATTGGGTCCGCCAAGCC CCTGGGCAGGGTCTCGAGTGGATGGGCACTATCAATCCGGTTTCTGGCAATACGCTTTACG CGCAGAAGTTTCAGGGCCGGGTGACCATGACCCGTGATACCAGCATTAGCACCGCGTATA TGGAAGTGAAGCAGCCTGCGTAGCGAAGATACGGCCGTGTATTATTGCGCGCGTGGTGGTT GGTTTGATTATTGGGGCCAAGGCACCCTGGTGACGGTTAGCTCA
配列番号 131	DNA VH	CAGGTGCAATTGGTTTCAGAGCGGCGCGGAAGTGAAAAAACCGGCGCGAGCGTGAAAGT GAGCTGCAAAGCCTCCGGATATACCTTTACTTCTTCTTATATTAATTGGGTCCGCCAAGCC CCTGGGCAGGGTCTCGAGTGGATGGGCACTGATTAAATGCTCCTATTGGTACTACTCTGTTATG CTCAGAAGTTTCAGGGTCCGGTGACCATGACCCGTGATACCAGCATTAGCACCGCGTATA TGGAAGTGAAGCAGCCTGCGTAGCGAAGATACGGCCGTGTATTATTGCGCGCGTGGTGGTT GGTTTGATTATTGGGGCCAAGGCACCCTGGTGACGGTTAGCTCA
配列番号 132	DNA VH	CAGGTGCAATTGGTTTCAGAGCGGCGCGGAAGTGAAAAAACCGGCGCGAGCGTGAAAGT GAGCTGCAAAGCCTCCGGATATACCTTTACTTCTTCTTATATTAATTGGGTCCGCCAAGCC CCTGGGCAGGGTCTCGAGTGGATGGGCACTGATTAAATGCTGCTTCTGGTATGACTCGTTATG CTCAGAAGTTTCAGGGTCCGGTGACCATGACCCGTGATACCAGCATTAGCACCGCGTATA TGGAAGTGAAGCAGCCTGCGTAGCGAAGATACGGCCGTGTATTATTGCGCGCGTGGTGGTT GGTTTGATTATTGGGGCCAAGGCACCCTGGTGACGGTTAGCTCA

10

20

30

40

【表 1 - 5】

配列番号 133	DNA VH	CAGGTGCAATTGGTTCAGAGCGGCGCGGAAGTGAAAAAACCGGGCGCGAGCGTGAAAGT GAGCTGCAAAAGCCTCCGGATATACCTTTACTTCTTCTATATTAATTGGGTCCGCCAAGCC CCTGGGCAGGGTCTCGAGTGGATGGGCATGATTAATGCTCCTATTGGTACTACTCGTTATG CTCAGAAAGTTTCAGGGTTCGGGTGACCATGACCCGTGATACCAGCATTAGCACCGCGTATA TGGAAGTGAAGCAGCCTGCGTAGCGAAGATACGGCCGTGTATTATTGCGCGCGTGGTGGTT GGTTTGATTATTGGGGCCAAGGCACCCTGGTGACGGTTAGCTCA
配列番号 134	DNA VH	CAGGTGCAATTGGTTCAGAGCGGCGCGGAAGTGAAAAAACCGGGCGCGAGCGTGAAAGT GAGCTGCAAAAGCCTCCGGATATACCTTTACTTCTTCTATATTAATTGGGTCCGCCAAGCC CCTGGGCAGGGTCTCGAGTGGATGGGCATATCAATCCGGTTTCTGGCAATACGCGTTAC GCGCAGAAGTTTCAGGGCCGGGTGACCATGACCCGTGATACCAGCATTAGCACCGCGTAT ATGGAAGTGAAGCAGCCTGCGTAGCGAAGATACGGCCGTGTATTATTGCGCGCGTGGTGGT TGGTTTGATTATTGGGGCCAAGGCACCCTGGTGACGGTTAGCTCA
配列番号 135	DNA VH	CAGGTGCAATTGGTTCAGAGCGGCGCGGAAGTGAAAAAACCGGGCGCGAGCGTGAAAGT GAGCTGCAAAAGCCTCCGGATATACCTTTACTTCTTCTATATTAATTGGGTCCGCCAAGCC CCTGGGCAGGGTCTCGAGTGGATGGGCATATCAATCCGGTTTCTGGCTCTACGCTTACG CGCAGAAGTTTCAGGGCCGGGTGACCATGACCCGTGATACCAGCATTAGCACCGCGTATA TGGAAGTGAAGCAGCCTGCGTAGCGAAGATACGGCCGTGTATTATTGCGCGCGTGGTGGT GGTTTGATTATTGGGGCCAAGGCACCCTGGTGACGGTTAGCTCA
配列番号 136	DNA VH	CAGGTGCAATTGGTTCAGAGCGGCGCGGAAGTGAAAAAACCGGGCGCGAGCGTGAAAGT GAGCTGCAAAAGCCTCCGGATATACCTTTACTTCTTCTATATTAATTGGGTCCGCCAAGCC CCTGGGCAGGGTCTCGAGTGGATGGGCATATCAATCCGGTTTCTGGCTCTACGCTTACG CTCAGAAGTTTCAGGGTTCGGGTGACCATGACCCGTGATACCAGCATTAGCACCGCGTATA TGGAAGTGAAGCAGCCTGCGTAGCGAAGATACGGCCGTGTATTATTGCGCGCGTGGTGGT GGTTTGATTATTGGGGCCAAGGCACCCTGGTGACGGTTAGCTCA
配列番号 137	DNA VH	CAGGTGCAATTGGTTCAGAGCGGCGCGGAAGTGAAAAAACCGGGCGCGAGCGTGAAAGT GAGCTGCAAAAGCCTCCGGATATACCTTTACTTCTTCTATATTAATTGGGTCCGCCAAGCC CCTGGGCAGGGTCTCGAGTGGATGGGCAATATTAATGCTGCTGCTGGTATTACTCTTTATG CTCAGAAGTTTCAGGGTTCGGGTGACCATGACCCGTGATACCAGCATTAGCACCGCGTATA TGGAAGTGAAGCAGCCTGCGTAGCGAAGATACGGCCGTGTATTATTGCGCGCGTGGTGGT GGTTTGATTATTGGGGCCAAGGCACCCTGGTGACGGTTAGCTCA
配列番号 138	DNA VH	CAGGTGCAATTGGTTCAGAGCGGCGCGGAAGTGAAAAAACCGGGCGCGAGCGTGAAAGT GAGCTGCAAAAGCCTCCGGATATACCTTTACTTCTTCTATATTAATTGGGTCCGCCAAGCC CCTGGGCAGGGTCTCGAGTGGATGGGCATATTAATCCTCTCTACTGGAGGCTATTATATG CTCAGAAGTTTCAGGGTTCGGGTGACCATGACCCGTGATACCAGCATTAGCACCGCGTATA TGGAAGTGAAGCAGCCTGCGTAGCGAAGATACGGCCGTGTATTATTGCGCGCGTGGTGGT GGTTTGATTATTGGGGCCAAGGCACCCTGGTGACGGTTAGCTCA
配列番号 139	DNA VH	CAGGTGCAATTGGTTCAGAGCGGCGCGGAAGTGAAAAAACCGGGCGCGAGCGTGAAAGT GAGCTGCAAAAGCCTCCGGATATACCTTTACTTCTTCTATATTAATTGGGTCCGCCAAGCC CCTGGGCAGGGTCTCGAGTGGATGGGCGGTATTAATCCTCTGCTGCTGCTACTACTTCTTATG CTCAGAAGTTTCAGGGTTCGGGTGACCATGACCCGTGATACCAGCATTAGCACCGCGTATA TGGAAGTGAAGCAGCCTGCGTAGCGAAGATACGGCCGTGTATTATTGCGCGCGTGGTGGT GGTTTGATTATTGGGGCCAAGGCACCCTGGTGACGGTTAGCTCA
配列番号 140	DNA VH	CAGGTGCAATTGGTTCAGAGCGGCGCGGAAGTGAAAAAACCGGGCGCGAGCGTGAAAGT GAGCTGCAAAAGCCTCCGGATATACCTTTACTTCTTCTATATTAATTGGGTCCGCCAAGCC CCTGGGCAGGGTCTCGAGTGGATGGGCAATATTAATCCTGCTACTGGTCACTGCTGATTATG CTCAGAAGTTTCAGGGTTCGGGTGACCATGACCCGTGATACCAGCATTAGCACCGCGTATA TGGAAGTGAAGCAGCCTGCGTAGCGAAGATACGGCCGTGTATTATTGCGCGCGTGGTGGT GGTTTGATTATTGGGGCCAAGGCACCCTGGTGACGGTTAGCTCA
配列番号 141	軽鎖	QSALTQPASVSGSPGQSITISCTGTSSDVGSYNYVNWYQHPGKAPKLMYGVSKRPSGVSNR FSGSKSGNTASLTISGLQAEDEADYYCGTFAGGSYYGVFGGGKTLTVLGQPKAAPSVTLFPSS EELQANKATLVCLISDFYPGAVTVAWKADSSPVKAGVETTTPSKQSNKYAASSYLSLTPEQ WKSHRSYSCQVTHEGSTVEKTVAPTECS
配列番号 142	軽鎖	QSALTQPASVSGSPGQSITISCTGTSSDVGSYNYVNWYQHPGKAPKLMYGVSKRPSGVSNR FSGSKSGNTASLTISGLQAEDEADYYCGTFAGGSYYGVFGGGKTLTVLGQPKAAPSVTLFPSS EELQANKATLVCLISDFYPGAVTVAWKADSSPVKAGVETTTPSKQSNKYAASSYLSLTPEQ WKSHRSYSCQVTHEGSTVEKTVAPTECS
配列番号 143	軽鎖	QSALTQPASVSGSPGQSITISCTGTSSDVGSYNYVNWYQHPGKAPKLMYGVSKRPSGVSNR FSGSKSGNTASLTISGLQAEDEADYYCGTFAGGSYYGVFGGGKTLTVLGQPKAAPSVTLFPSS EELQANKATLVCLISDFYPGAVTVAWKADSSPVKAGVETTTPSKQSNKYAASSYLSLTPEQ WKSHRSYSCQVTHEGSTVEKTVAPTECS
配列番号 144	軽鎖	QSALTQPASVSGSPGQSITISCTGTSSDVGSYNYVNWYQHPGKAPKLMYGVSKRPSGVSNR FSGSKSGNTASLTISGLQAEDEADYYCGTFAGGSYYGVFGGGKTLTVLGQPKAAPSVTLFPSS EELQANKATLVCLISDFYPGAVTVAWKADSSPVKAGVETTTPSKQSNKYAASSYLSLTPEQ WKSHRSYSCQVTHEGSTVEKTVAPTECS
配列番号 145	軽鎖	QSALTQPASVSGSPGQSITISCTGTSSDVGSYNYVNWYQHPGKAPKLMYGVSKRPSGVSNR FSGSKSGNTASLTISGLQAEDEADYYCGTFAGGSYYGVFGGGKTLTVLGQPKAAPSVTLFPSS EELQANKATLVCLISDFYPGAVTVAWKADSSPVKAGVETTTPSKQSNKYAASSYLSLTPEQ WKSHRSYSCQVTHEGSTVEKTVAPTECS

10

20

30

40

【表 1 - 6】

配列番号 146	重鎖	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTSSYNWVRQAPQGQGLEWMGTINPVSGSTSYAQ KFQGRVTMTRDTSISTAYMELSRRLSDDTAVYYCARGGWFDYWGQGLTVTVSSASTKGPSV FPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTV SSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVKPKSCDKTHTCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMI SRTPETVCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWL NGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIA VEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMEALHNHYTQK SLSLSPGK
配列番号 147	重鎖	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTSSYNWVRQAPQGQGLEWMGTINPVSGSTSYAQ KFQGRVTMTRDTSISTAYMELSRRLSDDTAVYYCARGGWFDYWGQGLTVTVSSASTKGPSV FPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTV SSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVKPKSCDKTHTCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMI SRTPETVCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWL LNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDI AVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMEALHNHYTQ KSLSLSPGK
配列番号 148	重鎖	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTSSYNWVRQAPQGQGLEWMGTINPVSGSTSYAQ KFQGRVTMTRDTSISTAYMELSRRLSDDTAVYYCARGGWFDYWGQGLTVTVSSASTKGPSV FPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTV SSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVKPKSCDKTHTCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMI SRTPETVCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWL LNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDI AVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMEALHNHYTQ KSLSLSPGK
配列番号 149	重鎖	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTSSYNWVRQAPQGQGLEWMGTINPVSGSTSYAQ KFQGRVTMTRDTSISTAYMELSRRLSDDTAVYYCARGGWFDYWGQGLTVTVSSASTKGPSV FPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTV SSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVKPKSCDKTHTCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMI SRTPETVCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWL LNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDI AVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMEALHNHYTQ KSLSLSPGK
配列番号 150	重鎖	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTSSYNWVRQAPQGQGLEWMGTINPVSGSTSYAQ KFQGRVTMTRDTSISTAYMELSRRLSDDTAVYYCARGGWFDYWGQGLTVTVSSASTKGPSV FPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTV SSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVKPKSCDKTHTCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMI SRTPETVCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWL LNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDI AVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMEALHNHYTQ KSLSLSPGK
配列番号 151	軽鎖	QSALTQPASVSGSPGQSITISCTGTSSDVGSYNYVNWYQHPGKAPKLMYGVSKRPSGVSNR FSGSKSGNTASLTISGLQAEDEADYYCGTFAGGSYYGVFGGGTKLTVLGQPKAAPSVTLFPPSS EELQANKATLVCLISDFYPGAVTVAWKADSSPVKAGVETTTPSKQSNKYAASSYLSTLPEQ WKSHRSYSCQVTHEGSTVEKTVAPTECS
配列番号 152	軽鎖	QSALTQPASVSGSPGQSITISCTGTSSDVGSYNYVNWYQHPGKAPKLMYGVSKRPSGVSNR FSGSKSGNTASLTISGLQAEDEADYYCGTFAGGSYYGVFGGGTKLTVLGQPKAAPSVTLFPPSS EELQANKATLVCLISDFYPGAVTVAWKADSSPVKAGVETTTPSKQSNKYAASSYLSTLPEQ WKSHRSYSCQVTHEGSTVEKTVAPTECS
配列番号 153	軽鎖	QSALTQPASVSGSPGQSITISCTGTSSDVGSYNYVNWYQHPGKAPKLMYGVSKRPSGVSNR FSGSKSGNTASLTISGLQAEDEADYYCGTFAGGSYYGVFGGGTKLTVLGQPKAAPSVTLFPPSS EELQANKATLVCLISDFYPGAVTVAWKADSSPVKAGVETTTPSKQSNKYAASSYLSTLPEQ WKSHRSYSCQVTHEGSTVEKTVAPTECS
配列番号 154	軽鎖	QSALTQPASVSGSPGQSITISCTGTSSDVGSYNYVNWYQHPGKAPKLMYGVSKRPSGVSNR FSGSKSGNTASLTISGLQAEDEADYYCGTFAGGSYYGVFGGGTKLTVLGQPKAAPSVTLFPPSS EELQANKATLVCLISDFYPGAVTVAWKADSSPVKAGVETTTPSKQSNKYAASSYLSTLPEQ WKSHRSYSCQVTHEGSTVEKTVAPTECS
配列番号 155	軽鎖	QSALTQPASVSGSPGQSITISCTGTSSDVGSYNYVNWYQHPGKAPKLMYGVSKRPSGVSNR FSGSKSGNTASLTISGLQAEDEADYYCGTFAGGSYYGVFGGGTKLTVLGQPKAAPSVTLFPPSS EELQANKATLVCLISDFYPGAVTVAWKADSSPVKAGVETTTPSKQSNKYAASSYLSTLPEQ WKSHRSYSCQVTHEGSTVEKTVAPTECS
配列番号 156	重鎖	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTSSYNWVRQAPQGQGLEWMGTINPVSGSTSYAQ KFQGRVTMTRDTSISTAYMELSRRLSDDTAVYYCARGGWFDYWGQGLTVTVSSASTKGPSV FPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTV SSNFGTQTYTCNVDHKPSNTKVDKTVKCCVECPAPPVAGPSVFLFPPKPKDTLMI SRTPETVCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTFRVSVLTVVHQDWLNGK EYKCKVSNKGLPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEW ESNGQPENNYKTTTPMLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMEALHNHYTQKSLSL SPGK

10

20

30

40

【表 1 - 7】

配列番号 157	重鎖	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTSSYNWVRQAPGQGLEWMGQINAASGMTRYA QKFQGRVTMTRDTSISTAYMELSLRSDDTAVYYCARGGWFDYWGQGLTVTVSSASTKGPS VFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTV PSSNFGTQTYTCNVDPKPSNTKVDKTKVERKCCVECPPCAPPVAGPSVFLFPPKPKDITLMISRT PEVTCVVVDVSHEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTFRVSVLTIVVHQDWLNG KEYKCKVSNKGLPAPIEKTISKTKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVE WESNGQPENNYKTTTPMLDSGDSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMEALHNHYTQKSL SLSPGK
配列番号 158	重鎖	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTSSYNWVRQAPGQGLEWMGNINAAAGITLYA QKFQGRVTMTRDTSISTAYMELSLRSDDTAVYYCARGGWFDYWGQGLTVTVSSASTKGPS VFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTV PSSNFGTQTYTCNVDPKPSNTKVDKTKVERKCCVECPPCAPPVAGPSVFLFPPKPKDITLMISRT PEVTCVVVDVSHEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTFRVSVLTIVVHQDWLNG KEYKCKVSNKGLPAPIEKTISKTKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVE WESNGQPENNYKTTTPMLDSGDSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMEALHNHYTQKSL SLSPGK
配列番号 159	重鎖	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTSSYNWVRQAPGQGLEWMGINPPAGTTSYA QKFQGRVTMTRDTSISTAYMELSLRSDDTAVYYCARGGWFDYWGQGLTVTVSSASTKGPS VFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTV PSSNFGTQTYTCNVDPKPSNTKVDKTKVERKCCVECPPCAPPVAGPSVFLFPPKPKDITLMISRT PEVTCVVVDVSHEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTFRVSVLTIVVHQDWLNG KEYKCKVSNKGLPAPIEKTISKTKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVE WESNGQPENNYKTTTPMLDSGDSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMEALHNHYTQKSL SLSPGK
配列番号 160	重鎖	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTSSYNWVRQAPGQGLEWMGNINPATGHADYA QKFQGRVTMTRDTSISTAYMELSLRSDDTAVYYCARGGWFDYWGQGLTVTVSSASTKGPS VFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTV PSSNFGTQTYTCNVDPKPSNTKVDKTKVERKCCVECPPCAPPVAGPSVFLFPPKPKDITLMISRT PEVTCVVVDVSHEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTFRVSVLTIVVHQDWLNG KEYKCKVSNKGLPAPIEKTISKTKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVE WESNGQPENNYKTTTPMLDSGDSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMEALHNHYTQKSL SLSPGK
配列番号 161	DNA 軽鎖	CAGAGCGCCTGACCCAGCCCGCCAGCGTGTCCGGCAGCCAGGCCAGTCTATCACAATC AGCTGCACCGGCACCTCCAGCGACGTGGGCAGCTACAACCTACGTGAACCTGGTATCAGCAG CACCCCGCAAGGCCCCCAAGCTGATGATCTACGGCGTGAGCAAGAGGCCACAGCGCGCT GTCCAACAGGTTTCAGCGGCAGCAAGAGCGGCAACACCGCCAGCCTGACAATCAGTGGGC TGCAGGCTGAGGACGAGGCCGACTACTACTGCGGCACCTTTGCCGGCGGATCATACTACG GCGTGTTCGGCGGAGGGACCAAGCTGACCGTGCTGGGCCAGCCTAAGGCTGCCCCAGCG TGACCCTGTTCCCCCAGCAGCGAGGAGCTGCAGGCCAACAAAGGCCACCTGGTGTGCC TGATCAGCGACTTCTACCCAGCGCCGTGACCGTGCGCTGGAAGGCCACAGCAGCCCG TGAAGGCCGCGTGAGAGACCACACCCCGAGCAAGCAGAGCAACAACAAGTACGCCGCC AGCAGCTACCTGAGCCTGACCCCGAGCAGTGGAAGAGCCACAGGTCCTACAGCTGCCAG GTGACCCACGAGGGCAGCACCCTGGAAAAGACCGTGCGCCCAACCGAGTGCGAGC
配列番号 162	DNA 軽鎖	CAGAGCGCCTGACCCAGCCCGCCAGCGTGTCCGGCAGCCAGGCCAGTCTATCACAATC AGCTGCACCGGCACCTCCAGCGACGTGGGCAGCTACAACCTACGTGAACCTGGTATCAGCAG CACCCCGCAAGGCCCCCAAGCTGATGATCTACGGCGTGAGCAAGAGGCCACAGCGCGT GTCCAACAGGTTTCAGCGGCAGCAAGAGCGGCAACACCGCCAGCCTGACAATCAGTGGGC TGCAGGCTGAGGACGAGGCCGACTACTACTGCGGCACCTTTGCCGGCGGATCATACTACG GCGTGTTCGGCGGAGGGACCAAGCTGACCGTGCTGGGCCAGCCTAAGGCTGCCCCAGCG TGACCCTGTTCCCCCAGCAGCGAGGAGCTGCAGGCCAACAAAGGCCACCTGGTGTGCC TGATCAGCGACTTCTACCCAGCGCCGTGACCGTGCGCTGGAAGGCCGACAGCAGCCCCG TGAAGGCCGCGTGAGAGACCACACCCCGAGCAAGCAGAGCAACAACAAGTACGCCGCC AGCAGCTACCTGAGCCTGACCCCGAGCAGTGGAAGAGCCACAGGCTACAGCTGCCAG GTGACCCACGAGGGCAGCACCCTGGAAAAGACCGTGCGCCCAACCGAGTGCGAGC
配列番号 163	DNA 軽鎖	CAGAGCGCACTGACCCAGCCAGCTTCACTGAGCGGCTCACCAGGTCAGAGCATTACCATC TCGTGTACGGGTACTAGCAGCGATGTTGGTTCTTATAATTATGTGAATTGGTACCAGCAGC ATCCCGGAAGGCGCCGAAACTTATGATTTATGGTGTCTTAAGCGTCCCTCAGGCGTGA GCAACCGTTTTAGCGGATCCAAAAGCGGCAACACCGCGAGCCTGACCATTAGCGGCCTGC AAGCGGAAGACGAAGCGGATTATTATGCGGTACTTTGCTGGTGTCTTATTATGGTGT GTTTGGCGGCGGCACGAAGTTAACCCTCTAGGTCAGCCCAAGGCTGCCCCCTCGGTAC TCTGTTCCCGCCCTCCTCTGAGGAGCTTCAAGCCAACAAGGCCACACTGGTGTGTCTCATA AGTGACTTCTACCCGGGAGCCGTGACAGTGGCCTGGAAGGCAGATAGCAGCCCCGTCAAG GCGGGAGTGAGACCACACCCCTCCAAACAAGCAACAACAAGTACGCGGCCAGCAG CTATCTGAGCCTGACGCTGAGCAGTGGAAGTCCACAGAAGCTACAGCTGCCAGGTCAC GCATGAAGGGAGCACCCTGGAGAAGACAGTGCCCCCTACAGAATGTTCA

10

20

30

40

【表 1 - 8】

配列番号 164	DNA 軽鎖	CAGAGCGCACTGACCCAGCCAGCTTCAGTGAGCGGCTCACCAGGTCAGAGCATTACCATC TCGTGTACGGGTACTAGCAGCGATGTTGGTTCTTATAATTATGTGAATTGGTACCAGCAGC ATCCCGGGAAGGCGCCGAAACTTATGATTTATGGTGTCTTAAAGCGTCCCTCAGGCGTGA GCAACCGTTTTAGCGGATCCAAAAGCGGCAACACCGCGAGCCTGACCATTAGCGGCCTGC AAGCGGAAGACGAAGCGGATTATTATTGCGGTACTTTTGTGGTGGTTCTTATTATGGTGT GTTTGGCGGCGGCACGAAGTTAACCGTCTAGGTCAGCCCAAGGCTGCCCCCTCGGTAC TCTGTTCCCGCCCTCCTCTGAGGAGCTTCAAGCCAACAAGGCCACACTGGTGTGTCTCATA AGTGACTTCTACCCGGGAGCCGTGACAGTGGCCTGGAAGGCAGATAGCAGCCCCGTCAAG GCGGGAGTGGAGACCACCACACCTCCAAACAAGCAACAACAAGTACGCGGCCAGCAG CTATCTGAGCCTGACGCTGAGCAGTGGAAGTCCACAGAAGCTACAGCTGCCAGGTCAC GCATGAAGGGAGCACCGTGGAGAAGACAGTGGCCCCCTACAGAATGTTCA
配列番号 165	DNA 軽鎖	CAGAGCGCACTGACCCAGCCAGCTTCAGTGAGCGGCTCACCAGGTCAGAGCATTACCATC TCGTGTACGGGTACTAGCAGCGATGTTGGTTCTTATAATTATGTGAATTGGTACCAGCAGC ATCCCGGGAAGGCGCCGAACTTATGATTTATGGTGTCTTAAAGCGTCCCTCAGGCGTGA GCAACCGTTTTAGCGGATCCAAAAGCGGCAACACCGCGAGCCTGACCATTAGCGGCCTGC AAGCGGAAGACGAAGCGGATTATTATTGCGGTACTTTTGTGGTGGTTCTTATTATGGTGT GTTTGGCGGCGGCACGAAGTTAACCGTCTAGGTCAGCCCAAGGCTGCCCCCTCGGTAC TCTGTTCCCGCCCTCCTCTGAGGAGCTTCAAGCCAACAAGGCCACACTGGTGTGTCTCATA AGTGACTTCTACCCGGGAGCCGTGACAGTGGCCTGGAAGGCAGATAGCAGCCCCGTCAAG GCGGGAGTGGAGACCACCACACCTCCAAACAAGCAACAACAAGTACGCGGCCAGCAG CTATCTGAGCCTGACGCTGAGCAGTGGAAGTCCACAGAAGCTACAGCTGCCAGGTCAC GCATGAAGGGAGCACCGTGGAGAAGACAGTGGCCCCCTACAGAATGTTCA
配列番号 166	DNA 重鎖	CAGGTGCAGCTGGTGCAGCGGAGCTGAGGTGAAGAAGCCAGGCGCCAGCGTCAAGGT GTCCTGCAAGGCCAGCGGCTACACCTTCACCAGCAGCTACATCAACTGGGTCCGCCAGGC TCCTGGGCAGGGACTGGAGTGGATGGGCACCATCAACCCCGTGTCCGGCAGCACCAGCTA CGCCAGAAAGTTCAGGGCAGAGTCACCATGACCAGGGACACCAGCATCAGCACCGCCT ACATGGAGCTGTCCAGGCTGAGAAAGCGACGACACCGCCGTGTACTACTGCGCCAGGGGC GGCTGGTTCGACTACTGGGGCCAGGGCACCTGGTGTGACCGTGTCTCAGTACGACCAAG GGCCCCAGCGTGTTCCTTGGCCCCCAGCAGCAAGAGCACCTCCGGCGGCACAGCCGCC CTGGGCTGCCTGGTGAAGGACTACTTCCCCGAGCCCCGTGACCGTGTCTGGAACAGCGGA GCCCTGACCAGCGGCGTGCACACCTTCCCCGCCGTGCTGCAGAGCAGCGGCCTGTACAGC CTGTCCAGCGTGGTGACAGTGCACGAGCAGCCTGGGCACCCAGACCTACATCTGCAAC GTGAACCAACAAGCCAGCAACACCAAGGTGGACAAGAGAGTGGAGCCCAAGAGCTGCGA CAAGACCCACACCTGCCCCCCTGCCCAGCCCCGAAGCTGCAGGCGGCCCTTCCGTGTTT CTGTTCCTCCCCAAGCCCAAGGACACCTGATGATCAGCAGGACCCCCGAGGTGACCTGC GTGGTGGTGGACGTGAGCCACGAGGACCCAGAGGTGAAGTTCAACTGGTACGTGGACGG CGTGGAGGTGCACAACGCCAAGACCAAGCCAGAGAGGAGCAGTACAACAGCACCTACA GGGTGGTGTCCGTGCTGACCGTGTGACACAGGACTGGCTGAACGGCAAAGAATACAAGT GCAAGGTCTCCAACAAGGCCCTGCCTGCCCCATCGAAAAGACCATCAGCAAGGCCAAG GGCCAGCCACGGGAGCCCCAGGTGTACACCTGCCCCCTTCTCGGAGGAGATGACCAAG AACCAGGTGTCCCTGACCTGTCTGGTGAAGGGCTTCTACCCAGCGACATCGCCGTGGAG TGGGAGAGCAACGGCCAGCCGAGAACAACCTACAAGACCACCCCAAGTGTGTCGACAG CGACGGCAGCTTCTTCTGTACAGCAAGCTGACCGTGGACAAGAGCAGGTGGCAGCAGGG CAACGTGTTACAGCTGCAGCGTGATGCACGAGGCCCTGCACAACCACTACACCCAGAAGAG CCTGAGCCTGTACCCGGCAAG
配列番号 167	DNA 重鎖	CAGGTGCAGCTGGTGCAGAGCGGAGCTGAGGTGAAGAAGCCAGGCGCCAGCGTCAAGGT GTCCTGCAAGGCCAGCGGCTACACCTTCACCAGCAGCTACATCAACTGGGTGCGCCAGGC TCCAGGCGAGGGACTGGAGTGGATGGGCCAGATCAACGCCGCCAGCGGCATGACCAGAT ACGCCCAGAAAGTTCAGGGCAGAGTACAATGACCAGGGACACCTCTATCAGCACCGCCT ACATGGAGCTGTCCAGGCTGAGAAGCGACGACACCGCCGTGTACTACTGCGCCAGGGGC GGCTGGTTCGACTACTGGGGCCAGGGCACCTGGTGTGACCGTGTCTCAGTACGACCAAG GGCCCCAGCGTGTTCCTTGGCCCCCAGCAGCAAGAGCACCTCCGGCGGCACAGCCGCC CTGGGCTGCCTGGTGAAGGACTACTTCCCCGAGCCCCGTGACCGTGTCTGGAACAGCGGA GCCCTGACCAGCGGCGTGCACACCTTCCCCGCCGTGCTGCAGAGCAGCGGCCTGTACAGC CTGTCCAGCGTGGTGACAGTGCACGAGCAGCCTGGGCACCCAGACCTACATCTGCAAC GTGAACCAACAAGCCAGCAACACCAAGGTGGACAAGAGAGTGGAGCCCAAGAGCTGCGA CAAGACCCACACCTGCCCCCCTGCCCAGCCCCGAAGCTGACGGCGGCCCTTCCGTGTTT CTGTTCCTCCCCAAGCCCAAGGACACCTGATGATCAGCAGGACCCCCGAGGTGACCTGC GTGGTGGTGGACGTGAGCCACGAGGACCCAGAGGTGAAGTTCAACTGGTACGTGGACGG CGTGGAGGTGCACAACGCCAAGACCAAGCCAGAGAGGAGCAGTACAACAGCACCTACA GGGTGGTGTCCGTGCTGACCGTGTGACACAGGACTGGCTGAACGGCAAAGAATACAAGT GCAAGGTCTCCAACAAGGCCCTGCCTGCCCCATCGAAAAGACCATCAGCAAGGCCAAG GGCCAGCCACGGGAGCCCCAGGTGTACACCTGCCCCCTTCTCGGAGGAGATGACCAAG AACCAGGTGTCCCTGACCTGTCTGGTGAAGGGCTTCTACCCAGCGACATCGCCGTGGAG TGGGAGAGCAACGGCCAGCCGAGAACAACCTACAAGACCACCCCAAGTGTGTCGACAG CGACGGCAGCTTCTTCTGTACAGCAAGCTGACCGTGGACAAGAGCAGGTGGCAGCAGGG CAACGTGTTACAGCTGCAGCGTGATGCACGAGGCCCTGCACAACCACTACACCCAGAAGAG CCTGAGCCTGTACCCGGCAAG

10

20

30

40

【表 1 - 9】

配列番号 168	DNA 重鎖	CAGGTGCAATTGGTTTCAGAGCGGCGCGGAAGTGAAAAAACCGGGCGCGAGCGTGAAAGT GAGCTGCAAAAGCCTCCGGATATACCTTTACTTCTTCTTATATTAATTGGGTCCGCCAAGCC CCTGGGCAGGGTCTCGAGTGGATGGGCAATATTAATGCTGCTGCTGGTATTACTCTTTATG CTCAGAAGTTTCAGGGTCGGGTACCATGACCCGTGATACCAGCATTAGCACCGCGTATA TGGAAGTGAAGCCGCTGCGTAGCGATGATACGGCCGTGTATTATTGCGCGCGTGGTGGTT GGTTTGATTATTGGGGCCAAGGCACCCTGGTGACGGTTAGCTCAGCCTCCACCAAGGGTC CATCGGTCTTCCCCCTGGCACCCCTCTCCAAGAGCACCTCTGGGGGCACAGCGGCCCTGG GCTGCCTGGTCAAGGACTACTTCCCCGAACCGGTGACGGTGTCTGGAAGTCAAGGCGCCC TGACCAGCGCGTGCACACCTTCCCGGTGTCTTACAGTCTCAGGACTCTACTCCCTCAG CAGCGTGGTGACCGTGCCCTCCAGCAGCTTGGGCACCCAGACCTACATCTGCAACGTGAA TCACAAGCCCAGCAACACCAAGGTGGACAAGAGAGTTGAGCCCAATCTTGTGACAAAA CTCACACATGCCACCGTGCCAGCACCTGAAGCAGCGGGGGGACCGTCAGTCTTCTCT TCCCCCAAAACCAAGGACACCCTCATGATCTCCCGGACCCCTGAGGTACATGCGTGG TGGTGGACGTGAGCCACGAAGACCCCTGAGGTCAAGTTCAACTGGTACGTGGACGGCGTGG AGGTGCATAATGCCAAGACAAAGCCGCGGGAGGAGCAGTACAACAGCACGTACCGGGTG GTCAGCGTCTCACCCTCTGCACCAGGACTGGCTGAATGGCAAGGAGTACAAGTGAAG GTCTCCAACAAAGCCCTCCAGCCCCCATCGAGAAAAACCATCTCCAAAGCCAAAGGGCAG CCCCGAGAACCACAGGTGTACACCCTGCCCCATCCCGGGAGGAGATGACCAAGAACCA GGTCAGCCTGACCTGCCTGGTCAAAGGCTTCTATCCAGCGACATCGCCGTGGAGTGGGA GAGCAATGGGCAGCCGGAGAACAACACTACAAGACCACGCCTCCCGTGCTGGACTCCGACG GCTCCTTCTTCTCTACAGCAAGCTCACCCTGGACAAGAGCAGGTGGCAGCAGGGGAACG TCTTCTCATGTCCGTGATGCATGAGGCTCTGCACAACCACTACACGCAGAAGAGCCTCTC CCTGTCTCCGGGTAAA	10
配列番号 169	DNA 重鎖	CAGGTGCAATTGGTTTCAGAGCGGCGCGGAAGTGAAAAAACCGGGCGCGAGCGTGAAAGT GAGCTGCAAAAGCCTCCGGATATACCTTTACTTCTTCTTATATTAATTGGGTCCGCCAAGCC CCTGGGCAGGGTCTCGAGTGGATGGGCGGTATTAATCCTCCTGCTGGTACTACTTCTTATG CTCAGAAGTTTCAGGGTCGGGTACCATGACCCGTGATACCAGCATTAGCACCGCGTATA TGGAAGTGAAGCCGCTGCGTAGCGATGATACGGCCGTGTATTATTGCGCGCGTGGTGGTT GGTTTGATTATTGGGGCCAAGGCACCCTGGTGACGGTTAGCTCAGCCTCCACCAAGGGTC CATCGGTCTTCCCCCTGGCACCCCTCTCCAAGAGCACCTCTGGGGGCACAGCGGCCCTGG GCTGCCTGGTCAAGGACTACTTCCCCGAACCGGTGACGGTGTCTGGAAGTCAAGGCGCCC TGACCAGCGCGTGCACACCTTCCCGGTGTCTTACAGTCTCAGGACTCTACTCCCTCAG CAGCGTGGTGACCGTGCCCTCCAGCAGCTTGGGCACCCAGACCTACATCTGCAACGTGAA TCACAAGCCCAGCAACACCAAGGTGGACAAGAGAGTTGAGCCCAATCTTGTGACAAAA CTCACACATGCCACCGTGCCAGCACCTGAAGCAGCGGGGGGACCGTCAGTCTTCTCT TCCCCCAAAACCAAGGACACCCTCATGATCTCCCGGACCCCTGAGGTACATGCGTGG TGGTGGACGTGAGCCACGAAGACCCCTGAGGTCAAGTTCAACTGGTACGTGGACGGCGTGG AGGTGCATAATGCCAAGACAAAGCCGCGGGAGGAGCAGTACAACAGCACGTACCGGGTG GTCAGCGTCTCACCCTCTGCACCAGGACTGGCTGAATGGCAAGGAGTACAAGTGAAG GTCTCCAACAAAGCCCTCCAGCCCCCATCGAGAAAAACCATCTCCAAAGCCAAAGGGCAG CCCCGAGAACCACAGGTGTACACCCTGCCCCATCCCGGGAGGAGATGACCAAGAACCA GGTCAGCCTGACCTGCCTGGTCAAAGGCTTCTATCCAGCGACATCGCCGTGGAGTGGGA GAGCAATGGGCAGCCGGAGAACAACACTACAAGACCACGCCTCCCGTGCTGGACTCCGACG GCTCCTTCTTCTCTACAGCAAGCTCACCCTGGACAAGAGCAGGTGGCAGCAGGGGAACG TCTTCTCATGTCCGTGATGCATGAGGCTCTGCACAACCACTACACGCAGAAGAGCCTCTC CCTGTCTCCGGGTAAA	20
配列番号 170	DNA 重鎖	CAGGTGCAATTGGTTTCAGAGCGGCGCGGAAGTGAAAAAACCGGGCGCGAGCGTGAAAGT GAGCTGCAAAAGCCTCCGGATATACCTTTACTTCTTCTTATATTAATTGGGTCCGCCAAGCC CCTGGGCAGGGTCTCGAGTGGATGGGCAATATTAATCCTGCTACTGGTCATGCTGATTATG CTCAGAAGTTTCAGGGTCGGGTGACCATGACCCGTGATACCAGCATTAGCACCGCGTATA TGGAAGTGAAGCCGCTGCGTAGCGATGATACGGCCGTGTATTATTGCGCGCGTGGTGGTT GGTTTGATTATTGGGGCCAAGGCACCCTGGTGACGGTTAGCTCAGCCTCCACCAAGGGTC CATCGGTCTTCCCCCTGGCACCCCTCTCCAAGAGCACCTCTGGGGGCACAGCGGCCCTGG GCTGCCTGGTCAAGGACTACTTCCCCGAACCGGTGACGGTGTCTGGAAGTCAAGGCGCCC TGACCAGCGCGTGCACACCTTCCCGGTGTCTTACAGTCTCAGGACTCTACTCCCTCAG CAGCGTGGTGACCGTGCCCTCCAGCAGCTTGGGCACCCAGACCTACATCTGCAACGTGAA TCACAAGCCCAGCAACACCAAGGTGGACAAGAGAGTTGAGCCCAATCTTGTGACAAAA CTCACACATGCCACCGTGCCAGCACCTGAAGCAGCGGGGGGACCGTCAGTCTTCTCT TCCCCCAAAACCAAGGACACCCTCATGATCTCCCGGACCCCTGAGGTACATGCGTGG TGGTGGACGTGAGCCACGAAGACCCCTGAGGTCAAGTTCAACTGGTACGTGGACGGCGTGG AGGTGCATAATGCCAAGACAAAGCCGCGGGAGGAGCAGTACAACAGCACGTACCGGGTG GTCAGCGTCTCACCCTCTGCACCAGGACTGGCTGAATGGCAAGGAGTACAAGTGAAG GTCTCCAACAAAGCCCTCCAGCCCCCATCGAGAAAAACCATCTCCAAAGCCAAAGGGCAG CCCCGAGAACCACAGGTGTACACCCTGCCCCATCCCGGGAGGAGATGACCAAGAACCA GGTCAGCCTGACCTGCCTGGTCAAAGGCTTCTATCCAGCGACATCGCCGTGGAGTGGGA GAGCAATGGGCAGCCGGAGAACAACACTACAAGACCACGCCTCCCGTGCTGGACTCCGACG GCTCCTTCTTCTCTACAGCAAGCTCACCCTGGACAAGAGCAGGTGGCAGCAGGGGAACG TCTTCTCATGTCCGTGATGCATGAGGCTCTGCACAACCACTACACGCAGAAGAGCCTCTC CCTGTCTCCGGGTAAA	30
配列番号 171	DNA 重鎖	CAGGTGCAATTGGTTTCAGAGCGGCGCGGAAGTGAAAAAACCGGGCGCGAGCGTGAAAGT GAGCTGCAAAAGCCTCCGGATATACCTTTACTTCTTCTTATATTAATTGGGTCCGCCAAGCC CCTGGGCAGGGTCTCGAGTGGATGGGCAATATTAATCCTGCTACTGGTCATGCTGATTATG CTCAGAAGTTTCAGGGTCGGGTGACCATGACCCGTGATACCAGCATTAGCACCGCGTATA TGGAAGTGAAGCCGCTGCGTAGCGATGATACGGCCGTGTATTATTGCGCGCGTGGTGGTT GGTTTGATTATTGGGGCCAAGGCACCCTGGTGACGGTTAGCTCAGCCTCCACCAAGGGTC CATCGGTCTTCCCCCTGGCACCCCTCTCCAAGAGCACCTCTGGGGGCACAGCGGCCCTGG GCTGCCTGGTCAAGGACTACTTCCCCGAACCGGTGACGGTGTCTGGAAGTCAAGGCGCCC TGACCAGCGCGTGCACACCTTCCCGGTGTCTTACAGTCTCAGGACTCTACTCCCTCAG CAGCGTGGTGACCGTGCCCTCCAGCAGCTTGGGCACCCAGACCTACATCTGCAACGTGAA TCACAAGCCCAGCAACACCAAGGTGGACAAGAGAGTTGAGCCCAATCTTGTGACAAAA CTCACACATGCCACCGTGCCAGCACCTGAAGCAGCGGGGGGACCGTCAGTCTTCTCT TCCCCCAAAACCAAGGACACCCTCATGATCTCCCGGACCCCTGAGGTACATGCGTGG TGGTGGACGTGAGCCACGAAGACCCCTGAGGTCAAGTTCAACTGGTACGTGGACGGCGTGG AGGTGCATAATGCCAAGACAAAGCCGCGGGAGGAGCAGTACAACAGCACGTACCGGGTG GTCAGCGTCTCACCCTCTGCACCAGGACTGGCTGAATGGCAAGGAGTACAAGTGAAG GTCTCCAACAAAGCCCTCCAGCCCCCATCGAGAAAAACCATCTCCAAAGCCAAAGGGCAG CCCCGAGAACCACAGGTGTACACCCTGCCCCATCCCGGGAGGAGATGACCAAGAACCA GGTCAGCCTGACCTGCCTGGTCAAAGGCTTCTATCCAGCGACATCGCCGTGGAGTGGGA GAGCAATGGGCAGCCGGAGAACAACACTACAAGACCACGCCTCCCGTGCTGGACTCCGACG GCTCCTTCTTCTCTACAGCAAGCTCACCCTGGACAAGAGCAGGTGGCAGCAGGGGAACG TCTTCTCATGTCCGTGATGCATGAGGCTCTGCACAACCACTACACGCAGAAGAGCCTCTC CCTGTCTCCGGGTAAA	40

【表 1 - 10】

配列番号 171	DNA 軽鎖	CAGAGCGCCCTGACCCAGCCCGCCAGCGTGTCGGCAGCCAGGCCAGTCTATCACAATC AGCTGCACCGGCACCTCCAGCGACGTGGGCAGCTACAACTACGTGAAGTGGTATCAGCAG CACCCCGGCAAGGCCCCCAAGCTGATGATCTACGGCGTGAGCAAGAGGCCAGCGGCGT GTCCAACAGGTTTACGCGGCAGCAAGAGCGGCAACACCGCCAGCCTGACAATCAGTGGGC TGCAGGCTGAGGACGAGGCCGACTACTACTGCGGCACCTTTGCCGGCGGATCATACTACG GCGTGTTCGGCGGAGGGACCAAGCTGACCGTGCTGGGCCAGCCTAAGGCTGCCCCAGCG TGACCTGTTCACCCAGCGCGCGTGACCGTGCGCTGGAAGGCCACCTGGTGTGCC TGATCAGCGACTTCTACCCAGGCGCGTGACCGTGCGCTGGAAGGCCAGCAGAGCCCCG TGAAGGCCGGCGTGAGAGCACACCCCGAGCAAGCAGAGCAACAACAAGTACGCCGCC AGCAGCTACCTGAGCCTGACCCCGAGCAGTGGAAGAGCCACAGGTCTACAGCTGCCAG GTGACCCACGAGGGCAGCACCGTGGAAGAGACCGTGCGCCCAACCGAGTGCAGC
配列番号 172	DNA 軽鎖	CAGAGCGCCCTGACCCAGCCCGCCAGCGTGTCGGCAGCCAGGCCAGTCTATCACAATC AGCTGCACCGGCACCTCCAGCGACGTGGGCAGCTACAACTACGTGAAGTGGTATCAGCAG CACCCCGGCAAGGCCCCCAAGCTGATGATCTACGGCGTGAGCAAGAGGCCAGCGGCGT GTCCAACAGGTTTACGCGGCAGCAAGAGCGGCAACACCGCCAGCCTGACAATCAGTGGGC TGCAGGCTGAGGACGAGGCCGACTACTACTGCGGCACCTTTGCCGGCGGATCATACTACG GCGTGTTCGGCGGAGGGACCAAGCTGACCGTGCTGGGCCAGCCTAAGGCTGCCCCAGCG TGACCTGTTCACCCAGCGCGCGTGACCGTGCGCTGGAAGGCCACCTGGTGTGCC TGATCAGCGACTTCTACCCAGGCGCGTGACCGTGCGCTGGAAGGCCAGCAGAGCCCCG TGAAGGCCGGCGTGAGAGCACACCCCGAGCAAGCAGAGCAACAACAAGTACGCCGCC AGCAGCTACCTGAGCCTGACCCCGAGCAGTGGAAGAGCCACAGGTCTACAGCTGCCAG GTGACCCACGAGGGCAGCACCGTGGAAGAGACCGTGCGCCCAACCGAGTGCAGC
配列番号 173	DNA 軽鎖	CAGAGCGCACTGACCCAGCCAGCTTCAGTGAGCGGCTCACCAGGTCAGAGCATTACCATC TCGTGTACGGGTACTAGCAGCGATGTTGGTTCTTATAATTATGTGAATTGGTACCAGCAGC ATCCCGGGAAGGCGCCGAACTTATGATTATGGTGTTCCTAAGCGTCCCTCAGGCGTGA GCAACCGTTTTAGCGGATCCAAAAGCGGCAACACCGCGAGCCTGACCATTAGCGGCCTGC AAGCGGAAGACGAAGCGGATTATTATGCGGTACTTTGCTGGTGGTTCTTATTATGGTGT GTTTGGCGGCGGCACGAAGTTAACCGTCCTAGGTCAGCCCAAGGCTGCCCCCTCGGTAC TCTGTTCCCGCCCTCCTCTGAGGAGCTTCAAGCCAACAAGGCCACACTGGTGTGTCTCATA AGTGACTTCTACCCGGGAGCCGTGACAGTGGCCTGGAAGGCAGATAGCAGCCCCGTCAAG GCGGGAGTGAGAGCACACACCCCTCCAAACAAAGCAACAACAAGTACGCGGCCAGCAG CTATCTGAGCCTGACGCTGAGCAGTGGAAGTCCACAGAAGCTACAGCTGCCAGGTCAC GCATGAAGGGAGCACCGTGGAAGACAGTGGCCCTACAGAATGTTCA
配列番号 174	DNA 軽鎖	CAGAGCGCACTGACCCAGCCAGCTTCAGTGAGCGGCTCACCAGGTCAGAGCATTACCATC TCGTGTACGGGTACTAGCAGCGATGTTGGTTCTTATAATTATGTGAATTGGTACCAGCAGC ATCCCGGGAAGGCGCCGAACTTATGATTTATGGTGTTCCTAAGCGTCCCTCAGGCGTGA GCAACCGTTTTAGCGGATCCAAAAGCGGCAACACCGCGAGCCTGACCATTAGCGGCCTGC AAGCGGAAGACGAAGCGGATTATTATGCGGTACTTTGCTGGTGGTTCTTATTATGGTGT GTTTGGCGGCGGCACGAAGTTAACCGTCCTAGGTCAGCCCAAGGCTGCCCCCTCGGTAC TCTGTTCCCGCCCTCCTCTGAGGAGCTTCAAGCCAACAAGGCCACACTGGTGTGTCTCATA AGTGACTTCTACCCGGGAGCCGTGACAGTGGCCTGGAAGGCAGATAGCAGCCCCGTCAAG GCGGGAGTGAGAGCACACACCCCTCCAAACAAAGCAACAACAAGTACGCGGCCAGCAG CTATCTGAGCCTGACGCTGAGCAGTGGAAGTCCACAGAAGCTACAGCTGCCAGGTCAC GCATGAAGGGAGCACCGTGGAAGACAGTGGCCCTACAGAATGTTCA
配列番号 175	DNA 軽鎖	CAGAGCGCACTGACCCAGCCAGCTTCAGTGAGCGGCTCACCAGGTCAGAGCATTACCATC TCGTGTACGGGTACTAGCAGCGATGTTGGTTCTTATAATTATGTGAATTGGTACCAGCAGC ATCCCGGGAAGGCGCCGAACTTATGATTTATGGTGTTCCTAAGCGTCCCTCAGGCGTGA GCAACCGTTTTAGCGGATCCAAAAGCGGCAACACCGCGAGCCTGACCATTAGCGGCCTGC AAGCGGAAGACGAAGCGGATTATTATGCGGTACTTTGCTGGTGGTTCTTATTATGGTGT GTTTGGCGGCGGCACGAAGTTAACCGTCCTAGGTCAGCCCAAGGCTGCCCCCTCGGTAC TCTGTTCCCGCCCTCCTCTGAGGAGCTTCAAGCCAACAAGGCCACACTGGTGTGTCTCATA AGTGACTTCTACCCGGGAGCCGTGACAGTGGCCTGGAAGGCAGATAGCAGCCCCGTCAAG GCGGGAGTGAGAGCACACACCCCTCCAAACAAAGCAACAACAAGTACGCGGCCAGCAG CTATCTGAGCCTGACGCTGAGCAGTGGAAGTCCACAGAAGCTACAGCTGCCAGGTCAC GCATGAAGGGAGCACCGTGGAAGACAGTGGCCCTACAGAATGTTCA

10

20

30

【表 1 - 1 1】

配列番号 176	DNA 重鎖	CAGGTGCAGCTGGTGCAGAGCGGAGCTGAGGTGAAGAAGCCAGGCGCCAGCGTCAAGGT GTCCTGCAAGGCCAGCGGCTACACCTTCACCAGCAGCTACATCAACTGGGTCCGCCAGGC TCCTGGGCAGGGACTGGAGTGGATGGGCACCATCAACCCCGTGTCCGGCAGCACCAGCTA CGCCCAGAAAGTTCCAGGGCAGAGTCACCATGACCAGGGACACCAGCATCAGCACCGCCT ACATGGAGCTGTCCAGGCTGAGAAGCGACGACACCGCCGTGTACTACTGCGCCAGGGGC GGCTGGTTCGACTACTGGGGCCAGGGCACCCTGGTGACCGTGTCTCAGCTAGCACCAAG GGCCCCAGCGTGTTCCTCCCTGGCCCCCTGCAGCAGAAGCACCAGCGAGAGCACAGCCGCC CTGGGCTGCCTGGTGAAGGACTACTTCCCCGAGCCAGTGACCGTGTCTTGAACAGCGGA GCCCTGACCAGCGGCGTGCACACCTTCCCCGCCGTGCTGCAGAGCAGCGCCTGTACAGC CTGTCCAGCGTGGTGACCGTGCCAGCAGCAACTTCGGCACCCAGACCTACACCTGCAAC GTGGACCACAAGCCCAGCAACACCAAGGTGGACAAGACCGTGGAGAGGAAGTGTGCGT GGAGTGCCCCCTGCCAGCCCCCAGTGCGCCGACCCCTCCGTGTTCCTGTTCCTCCCTCC AAGCCCAAGGACACCCTGATGATCAGCAGGACCCCCGAGGTGACCTGCGTGGTGGTGA CGTGAGCCACGAGGACCCAGAGGTGCAAGTTCAACTGGTACGTGGACGGCGTGGAGGTGC ACAACGCCAAGACCAAGCCCAGAGAGGAACAGTTTAACAGCACCTTCAGGGTGGTGTCC GTGCTGACCGTGGTGCACCAAGGACTGGCTGAACGGCAAAGAGTACAAGTGCAAGGTCTCC AACAAGGGCTGCCAGCCCCATCGAGAAAACCATCAGCAAGACCAAGGGCCAGCCACG GGAGCCCCAGGTGTACACCTGCCCCCCAGCCGGGAGGAAATGACCAAGAACCAGGTGT CCCTGACCTGTCTGGTGAAGGGCTTCTACCCCAGCGACATCGCCGTGGAGTGGGAGAGCA ACGGCCAGCCCCGAGAACAATAAGACCAACCCCCCATGCTGGACAGCGACGGCAGC TTCTTCCTGTACAGCAAGCTGACAGTGGACAAGAGCAGGTGGCAGCAGGGCAACGTGTTC AGCTGCAGCGTGATGCACGAGGCCCTGCACAACCACTACACCCAGAAGAGCCTGAGCCTG TCCCCGGCAAG	10
配列番号 177	DNA 重鎖	CAGGTGCAGCTGGTGCAGAGCGGAGCTGAGGTGAAGAAGCCAGGCGCCAGCGTCAAGGT GTCCTGCAAGGCCAGCGGCTACACCTTCACCAGCAGCTACATCAACTGGGTGCGCCAGGC TCCAGGGCAGGGACTGGAGTGGATGGGCCAGATCAACGCCGCCAGCGGCATGACCAGAT ACGCCCAGAAAGTTCCAGGGCAGAGTCACAATGACCAGGGACACCTCTATCAGCACCGCCT ACATGGAGCTGTCCAGGCTGAGAAGCGACGACACCGCCGTGTACTACTGCGCCAGGGGC GGCTGGTTCGACTACTGGGGCCAGGGCACCCTGGTGACCGTGTCTCAGCTAGCACCAAG GGCCCCAGCGTGTTCCTCCCTGGCCCCCTGCAGCAGAAGCACCAGCGAGAGCACAGCCGCC CTGGGCTGCCTGGTGAAGGACTACTTCCCCGAGCCAGTGACCGTGTCTTGAACAGCGGA GCCCTGACCAGCGGCGTGCACACCTTCCCCGCCGTGCTGCAGAGCAGCGCCTGTACAGC CTGTCCAGCGTGGTGACCGTGCCAGCAGCAACTTCGGCACCCAGACCTACACCTGCAAC GTGGACCACAAGCCCAGCAACACCAAGGTGGACAAGACCGTGGAGAGGAAGTGTGCGT GGAGTGCCCCCTGCCAGCCCCCAGTGCGCCGACCCCTCCGTGTTCCTGTTCCTCCCTCC AAGCCCAAGGACACCCTGATGATCAGCAGGACCCCCGAGGTGACCTGCGTGGTGGTGA CGTGAGCCACGAGGACCCAGAGGTGCAAGTTCAACTGGTACGTGGACGGCGTGGAGGTGC ACAACGCCAAGACCAAGCCCAGAGAGGAACAGTTTAACAGCACCTTCAGGGTGGTGTCC GTGCTGACCGTGGTGCACCAAGGACTGGCTGAACGGCAAAGAGTACAAGTGCAAGGTCTCC AACAAGGGCTGCCAGCCCCATCGAGAAAACCATCAGCAAGACCAAGGGCCAGCCACG GGAGCCCCAGGTGTACACCTGCCCCCCAGCCGGGAGGAAATGACCAAGAACCAGGTGT CCCTGACCTGTCTGGTGAAGGGCTTCTACCCCAGCGACATCGCCGTGGAGTGGGAGAGCA ACGGCCAGCCCCGAGAACAATAAGACCAACCCCCCATGCTGGACAGCGACGGCAGC TTCTTCCTGTACAGCAAGCTGACAGTGGACAAGAGCAGGTGGCAGCAGGGCAACGTGTTC AGCTGCAGCGTGATGCACGAGGCCCTGCACAACCACTACACCCAGAAGAGCCTGAGCCTG TCCCCGGCAAG	20
配列番号 178	DNA 重鎖	CAGGTGCAATTGGTTTCAGAGCGGCGCGGAAGTGAAAAACCGGGCGCGAGCGTGAAAGT GAGCTGCAAAGCCTCCGATATACCTTTACTTCTTCTATATTAATTGGGTCCGCCAAGCC CCTGGGCAGGGTCTCGAGTGGATGGGCAATATTAATGCTGCTGCTGGTATTACTCTTTATG CTCAGAAAGTTTCAGGGTCCGGTCAACATGACCCGTGATACCAGCATTAGCACCGCGTATA TGAACTGAGCCGCCTGCGTAGCGATGATACGGCCGTGTATTATTGCGCGCGTGGTGGTT GGTTTGATTATTGGGGCCAAGGCACCCTGGTGACGGTTAGCTCAGCTTCCACCAAGGGCC CCAGCGTGTTCCTCCCTGGCCCCCTGCAGCAGAAGCACCAGCGAGAGCACAGCCGCCCTGG GCTGCCTGGTGAAGGACTACTTCCCCGAGCCCGTGACCGTGAGCTGGAACAGCGGAGCCC TGACCAGCGCGTGCACACCTTCCCCGCCGTGCTGCAGAGCAGCGGCCCTGTACAGCCTGA GCAGCGTGGTGACCGTGCCAGCAGCAACTTCGGCACCCAGACCTACACCTGCAACGTGG ACCACAAGCCCAGCAACACCAAGGTGGACAAGACCGTGGAGCGGAAGTGTGCTGCTGGAG TGCCCCCCTGCCCTGCCCTCCTGTGGCCGACCCCTCCGTGTTCTGTTCCCCCACAAGCC CAAGGACACCCTGATGATCAGCCGACCCCCGAGGTGACCTGCGTGGTGGTGGACGTGAG CCACGAGGACCCGAGGTGCAAGTTCAACTGGTACGTGGACGGCGTGGAGGTGCAACAG CCAAGACCAAGCCCCGGGAGGAACAGTTCAACAGCACCTTCGGGTGGTGTCCGTGCTGA CCGTGGTGCACCAAGGACTGGCTGAACGGCAAAGAATAAAGTGAAGGTGTCCTCAACAG GGCCTGCCTGCCCATCGAGAAAACCATCAGCAAGACAAAGGGCCAGCCAGGGAAACC CCAGGTGTACACCTGCCCCCCAGCCGGGAGGAAATGACCAAGAACCAGGTGTCCCTGAC CTGTCTGGTGAAGGGCTTCTACCCCAGCGACATCGCCGTGGAGTGGGAGAGCAACGGCCA GCCCCGAGAACAATAAGACCAACCCCCCATGCTGGACAGCGACGGCAGCTTCTTCCT GTACAGCAAGCTGACAGTGGACAAGAGCCGGTGGCAGCAGGGCAACGTGTTCAGCTGCA GCGTGATGCACGAGGCCCTGCACAACCACTACACCCAGAAGAGCCTGAGCCTGTCCCCCG GCAAA	30
配列番号 179	DNA 重鎖	CAGGTGCAATTGGTTTCAGAGCGGCGCGGAAGTGAAAAACCGGGCGCGAGCGTGAAAGT GAGCTGCAAAGCCTCCGATATACCTTTACTTCTTCTATATTAATTGGGTCCGCCAAGCC CCTGGGCAGGGTCTCGAGTGGATGGGCAATATTAATGCTGCTGCTGGTATTACTCTTTATG CTCAGAAAGTTTCAGGGTCCGGTCAACATGACCCGTGATACCAGCATTAGCACCGCGTATA TGAACTGAGCCGCCTGCGTAGCGATGATACGGCCGTGTATTATTGCGCGCGTGGTGGTT GGTTTGATTATTGGGGCCAAGGCACCCTGGTGACGGTTAGCTCAGCTTCCACCAAGGGCC CCAGCGTGTTCCTCCCTGGCCCCCTGCAGCAGAAGCACCAGCGAGAGCACAGCCGCCCTGG GCTGCCTGGTGAAGGACTACTTCCCCGAGCCCGTGACCGTGAGCTGGAACAGCGGAGCCC TGACCAGCGCGTGCACACCTTCCCCGCCGTGCTGCAGAGCAGCGGCCCTGTACAGCCTGA GCAGCGTGGTGACCGTGCCAGCAGCAACTTCGGCACCCAGACCTACACCTGCAACGTGG ACCACAAGCCCAGCAACACCAAGGTGGACAAGACCGTGGAGCGGAAGTGTGCTGCTGGAG TGCCCCCCTGCCCTGCCCTCCTGTGGCCGACCCCTCCGTGTTCTGTTCCCCCACAAGCC CAAGGACACCCTGATGATCAGCCGACCCCCGAGGTGACCTGCGTGGTGGTGGACGTGAG CCACGAGGACCCGAGGTGCAAGTTCAACTGGTACGTGGACGGCGTGGAGGTGCAACAG CCAAGACCAAGCCCCGGGAGGAACAGTTCAACAGCACCTTCGGGTGGTGTCCGTGCTGA CCGTGGTGCACCAAGGACTGGCTGAACGGCAAAGAATAAAGTGAAGGTGTCCTCAACAG GGCCTGCCTGCCCATCGAGAAAACCATCAGCAAGACAAAGGGCCAGCCAGGGAAACC CCAGGTGTACACCTGCCCCCCAGCCGGGAGGAAATGACCAAGAACCAGGTGTCCCTGAC CTGTCTGGTGAAGGGCTTCTACCCCAGCGACATCGCCGTGGAGTGGGAGAGCAACGGCCA GCCCCGAGAACAATAAGACCAACCCCCCATGCTGGACAGCGACGGCAGCTTCTTCCT GTACAGCAAGCTGACAGTGGACAAGAGCCGGTGGCAGCAGGGCAACGTGTTCAGCTGCA GCGTGATGCACGAGGCCCTGCACAACCACTACACCCAGAAGAGCCTGAGCCTGTCCCCCG GCAAA	40

【表 1 - 1 2】

配列番号 179	DNA 重鎖	CAGGTGCAATTGGTTCAGAGCGGCGCGGAAGTGAAAAAACCGGGCGCGAGCGTGAAAGT GAGCTGCAAAGCCTCCGGATATACCTTTACTTCTTCTTATTAATTGGGTCCGCCAAGCC CCTGGGCAGGGTCTCGAGTGGATGGGCGGTATTAATCTCCTGCTGGTACTACTTCTTATG CTCAGAAGTTTCAGGGTCGGGTACCATGACCCGTGATACCAGCATTAGCACCGCGTATA TGGAAGTGAAGCGCCTGCGTAGCGATGATACGGCCGTGTATTATTGCGCGCGTGGTGGTT GGTTTGATTATTGGGGCCAAGGCACCCCTGGTGACGGTTAGCTCAGCTTCCACCAAGGGCC CCAGCGTGTTCCTCCCTGGCCCCCTGCAGCAGAAGCACCAGCGAGAGCACAGCCGCCCTGG GCTGCCTGGTGAAGGACTACTTCCCGAGCCCGTGACCGTGAGCTGGAACAGCGGAGCCCC TGACCAGCGCGGTGCACACCTTCCCGCCGTGCTGCAGAGCAGCGGCCGTGACAGCCTGA GCAGCGTGGTGACCGTGCCAGCAGCAACTTCGGCACCCAGACCTACACCTGCAACGTGG ACCACAAGCCAGCAACACCAAGGTGGACAAGACCGTGAGCGGAAGTGTGCGTGGAG TGCCCCCTGCCCCCTGCCCCCTCTGTGGCCGACCCCTCCGTGTTCTCTGTTCCCCCAAGCC CAAGGACACCTGATGATCAGCCGACCCCGAGGTGACCTGCGTGGTGGTGACGTGAG CCACGAGGACCCCGAGGTGACGTTCAACTGGTACGTGGACGGCGCTGACCAACAG CCAAGACCAAGCCCCGGGAGGAACAGTTCAACAGCACCTTCCGGGTGGTGTCCGTGCTGA CCGTGGTGCACCAAGGACTGGCTGAACGGCAAGAATACAAGTGAAGGTGTCAACAAG GGCCTGCCTGCCCCATCGAGAAAACCATCAGCAAGACAAAGGGCCAGCCAGGGAACC CCAGGTGTACACCCTGCCCCAGCCGGGAGGAAATGACCAAGAACAGGTGTCCCTGAC CTGTCTGGTGAAGGGCTTCTACCCAGCGACATCGCCGTGGAGTGGGAGAGCAACGGCCA GCCCCGAGAACAATAACAAGACACCCCCCATGCTGGACAGCGACGGCAGCTTCTTCT GTACAGCAAGCTGACAGTGGACAAGAGCCGGTGGCAGCAGGGCAACGTGTTACAGTGCA GCGTGATGCACGAGGCCCTGCACAACCACTACACCCAGAAGAGCCTGAGCCTGTCCCCG GCAAA	10
配列番号 180	DNA 重鎖	CAGGTGCAATTGGTTCAGAGCGGCGCGGAAGTGAAAAAACCGGGCGCGAGCGTGAAAGT GAGCTGCAAAGCCTCCGGATATACCTTTACTTCTTCTTATTAATTGGGTCCGCCAAGCC CCTGGGCAGGGTCTCGAGTGGATGGGCAATTAATCTGCTACTGGTATGCTGATTATG CTCAGAAGTTTCAGGGTCGGGTGACCATGACCCGTGATACCAGCATTAGCACCGCGTATA TGGAAGTGAAGCGCCTGCGTAGCGATGATACGGCCGTGTATTATTGCGCGCGTGGTGGTT GGTTTGATTATTGGGGCCAAGGCACCCCTGGTGACGGTTAGCTCAGCTTCCACCAAGGGCC CCAGCGTGTTCCTCCCTGGCCCCCTGCAGCAGAAGCACCAGCGAGAGCACAGCCGCCCTGG GCTGCCTGGTGAAGGACTACTTCCCGAGCCCGTGACCGTGAGCTGGAACAGCGGAGCCCC TGACCAGCGCGGTGCACACCTTCCCGCCGTGCTGCAGAGCAGCGGCCGTGACAGCCTGA GCAGCGTGGTGACCGTGCCAGCAGCAACTTCGGCACCCAGACCTACACCTGCAACGTGG ACCACAAGCCAGCAACACCAAGGTGGACAAGACCGTGAGCGGAAGTGTGCGTGGAG TGCCCCCTGCCCCCTGCCCCCTCTGTGGCCGACCCCTCCGTGTTCTCTGTTCCCCCAAGCC CAAGGACACCTGATGATCAGCCGACCCCGAGGTGACCTGCGTGGTGGTGGACGTGAG CCACGAGGACCCCGAGGTGACGTTCAACTGGTACGTGGACGGCGTGGAGGTGACAACG CCAAGACCAAGCCCCGGGAGGAACAGTTCAACAGCACCTTCCGGGTGGTGTCCGTGCTGA CCGTGGTGCACCAAGGACTGGCTGAACGGCAAGAATACAAGTGAAGGTGTCAACAAG GGCCTGCCTGCCCCATCGAGAAAACCATCAGCAAGACAAAGGGCCAGCCAGGGAACC CCAGGTGTACACCCTGCCCCAGCCGGGAGGAAATGACCAAGAACCAGGTGTCCCTGAC CTGTCTGGTGAAGGGCTTCTACCCAGCGACATCGCCGTGGAGTGGGAGAGCAACGGCCA GCCCCGAGAACAATAACAAGACACCCCCCATGCTGGACAGCGACGGCAGCTTCTTCT GTACAGCAAGCTGACAGTGGACAAGAGCCGGTGGCAGCAGGGCAACGTGTTACAGTGCA GCGTGATGCACGAGGCCCTGCACAACCACTACACCCAGAAGAGCCTGAGCCTGTCCCCG GCAAA	20
配列番号 181	ActRIIB	MTAPWVALALLWGS LCAGSGRGEAETRECIYYNANWELERTNQSGLERCEGEQDKRLHCYA SWRNSSGTIELVKKGCWLDDFNCYDRQECVATEENPQVYFCCCEGNFCNERFTHLPEAGGPE VTYEPPTAPTLLTVLAYSLLPIGGLSLIVLLAFWMYRHRKPPYGHVDIHDPGPPPSPLVGLK PLQLLEIKARGRFVCVWKAQLMNDFAVKIFPLQDKQSWQSEREIFSTPGMKHENLLQFIAAE KRGSNLEVELWLITAFHDKGSLTDYLGKNIITWNE LCHVAETMSRGLSYLHEDVPWCRGEGH KPSIAHRDFKSKNVLLKSDLTAVLADFLAVRFEPGKPPGDTGQVGTTRRYMAPEVLEGAINF QRDAFLRIDMYAMGLVLWELVSRCKAADGPVDEYMLPFEEIEIGQHPSSLEELQEVVVHKKMR PTIKDHWLKHPLGLAQLCVTIEACWDHDAEARLSAGCVERVSLIRRSVNGTSDCLVSLVTSV TNVDLPPKESI	30
配列番号 182	ActRIIB リガンド 結合ドメ イン(ア ミノ酸 19~134)	SGRGEAETRECIYYNANWELERTNQSGLERCEGEQDKRLHCYASWRNSSGTIELVKKGCWLD DFNCYDRQECVATEENPQVYFCCCEGNFCNERFTHLPEAGGPEVTYEPPTAPT	40
配列番号 183	抗体結合 領域	IELVKKGSWLDDFNS	
配列番号 184	抗体結合 領域	VKKGSWLDDFNSYDR	
配列番号 185	抗体結合 領域	GSWLDDFNSYDRQES	
配列番号 186	抗体結合 領域	GCWLDDFNC	

【表 1 - 13】

配列番号 187	抗体結合領域	CEGEQDKRLHCYASW
配列番号 188	抗体結合領域	WLDDFN
配列番号 189	抗体結合領域	EQDKR
配列番号 190	抗体結合領域	KGCWLDDFN
配列番号 191	抗体結合領域	CIYYNANWELERT
配列番号 192	抗体結合領域	YFCCCEGNFCN
配列番号 193	軽 - h/mlgG2a LALA 鎖	DIALTPASVSGSPGQSITISCTGTSSDVGSYNYVNWYQQHPGKAPKLMYGVSKRPSGVSNRFGSGSKSGNTASLTISGLQAEDEADYYCGTFAGGSYYGVFGGGTKLTVLGQPKSTPLTVFPSSSEELKENKATLVCLISNFPSPSGVTVAWKANGTPITQGVDTSNPTKEGNKFMASFLHLTSDQWRS
配列番号 194	重 - h/mlgG2a LALA 鎖	HNSFTCQVTHEGDTVEKSLSPAECLELQVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTSSYINWVRQAPGQGLEWMGTINPVSGSTSYAQKFQGRVTIMTRDTSISTAYMELSSLRSEDTAVYYCARGGWFDYWGQGTITVTVSSAKTTAPSVYPLAPVCGDTTGSSVTLGCLVKGYFPEPVTLTWNSGSLSSGVHTFPAVLQSDLYTLSSSVTVTSSTWPSQSTCNVAHPASSTKVDKKIEPRGPTIKPCPPCKCPAPNAAGGPSVFIFPPKIKDVLMISSLPIVTCVVVDVSEDDPDVQISWFWNNVEVHTAQTQTHREDYNSTLRVVSALPIQHQQDWMSGKEFKCKVNNKDLPAPIERTISKPKGSVRAPQVYVLPPEEEMTKKQVTLTCMVTDFMPEDIYVEWTNNGKTELNYKNTEPVLDSDGSYFMYSKLRVEKKNWVERNSYSCSVVHEGLHNHHTTKSFSRTPGK

10

20

【0350】

開示する方法、治療、レジメン、使用およびキットの幾つかの実施形態は、ミオスタチンアンタゴニスト、例えばミオスタチン結合分子または A c t R I I B 結合分子を利用する。さらなる実施形態では、A c t R I I B 結合分子は A c t R I I B に対するアンタゴニスト抗体である。

【0351】

開示する方法、治療、レジメン、使用およびキットの幾つかの実施形態では、抗 A c t R I I B 抗体は、

a) 配列番号 181 のアミノ酸 78 ~ 83 (WLDDFN - 配列番号 188)、
(b) 配列番号 181 のアミノ酸 76 ~ 84 (GCVLDDFN - 配列番号 186)

30

、
(c) 配列番号 181 のアミノ酸 75 ~ 85 (KGCWLDDFN - 配列番号 190)、

(d) 配列番号 181 のアミノ酸 52 ~ 56 (EQDKR - 配列番号 189)、

(e) 配列番号 181 のアミノ酸 49 ~ 63 (CEGEQDKRLHCYASW - 配列番号 187)、

(f) 配列番号 181 のアミノ酸 29 ~ 41 (CIYYNANWELERT - 配列番号 191)、

(g) 配列番号 181 のアミノ酸 100 ~ 110 (YFCCCEGNFCN - 配列番号 192)、または

40

(h) 配列番号 181 のアミノ酸 78 ~ 83 (WLDDFN) および配列番号 181 のアミノ酸 52 ~ 56 (EQDKR)

を含む A c t R I I B のエピトープと結合する抗 A c t R I I B 抗体、

および b) 配列番号 181 のアミノ酸 78 ~ 83 (WLDDFN - 配列番号 188)、

(b) 配列番号 181 のアミノ酸 76 ~ 84 (GCVLDDFN - 配列番号 186)

、
(c) 配列番号 181 のアミノ酸 75 ~ 85 (KGCWLDDFN - 配列番号 190)、

(d) 配列番号 181 のアミノ酸 52 ~ 56 (EQDKR - 配列番号 189)、

50

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

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

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

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

を含む A c t R I I B のエピトープと結合する A c t R I I B に対するアンタゴニスト抗体からなる群から選択され、抗体は約 2 p M の K_D を有する。

【 0 3 5 2 】

開示する方法、治療、レジメン、使用およびキットの幾つかの実施形態では、A c t R I I B に対するアンタゴニスト抗体はヒト抗体である。

【 0 3 5 3 】

開示する方法、治療、レジメン、使用およびキットの幾つかの実施形態では、抗体はビマグルマブまたは B Y M 3 3 8 である。

【 0 3 5 4 】

本開示の 1 つまたは複数の実施形態の詳細は前に添付した記載事項中に言及する。本明細書中に記載したものと類似または同等の任意の方法および材料を本開示の実践または試験において使用することはできるが、好ましい方法および材料はここで記載する。本開示の他の特徴、目的、および利点は記載事項から、および特許請求の範囲から明らかとなる。明細書および添付の特許請求の範囲内では、文脈が明らかに他のことを示さない限り単数形は複数形を含む。他に定義しない限り、本明細書中で使用する全ての技術用語および科学用語は、本開示が属する技術分野の当業者により一般に理解されているのと同じ意味を有する。本明細書中で引用した全ての特許および刊行物は参照により組み込まれている。本開示の好ましい実施形態をより完全に例示するため以下の実施例を示す。これらの実施例は、添付の特許請求の範囲によって定義する、開示する特許の主題の範囲を制限するものとは決して解釈すべきでない。

【 実施例 】

【 0 3 5 5 】

一般的な方法

A c t R I I B 抗体、(i) 機能アッセイ、(i i) レポーター遺伝子アッセイ (R G A)、(i i i) H E K 2 9 3 T / 1 7 細胞系の培養、(i v) ミオスタチン誘導型ルシフェラーゼレポーター遺伝子アッセイ、(v) 特異性 E L I S A、(v i) A c t R I I B / F c - ミオスタチン結合相互作用 E L I S A、(v i i) h A c t R I I B および h A c t R I I A 発現細胞における F A C S 滴定、(v i i i) 初代ヒト骨格筋細胞との結合、(i x) 表面プラズモン共鳴 (B i a c o r e) を使用する選択した抗ヒト A c t R I I B F a b のアフィニティー決定、(x) C K アッセイ、(x i) 動物モデル、(x i i) 処置プロトコル、(x i i i) 統計解析、(x i i i i) パンニング、(x v) 抗体の同定および特徴付け、(x v i) 第一回アフィニティー成熟由来の抗体の最適化、(x v i i) アフィニティー成熟 F a b (第一回成熟) の I g G 2 転換、(x v i i i) 第二回アフィニティー成熟、(x x) I g G 2 転換および I g G 2 (第二回成熟) の特徴付け、(x x i) i n v i v o マウス試験における抗 A c t R I I B 抗体の特徴付け、(x x i i) S E T によるアフィニティーの確認、(x x i i i) 交差遮断試験および (x x i v) W O 2 0 1 0 / 1 2 5 0 0 3 中に記載されたエピトープマッピングの詳細および技術のような、それらの特徴付けおよびそれらに関連する方法。

【 0 3 5 6 】

試験設計

これはフェーズ I I a / I I b、5 6 週、4 治療群、並行群、無作為化、二重盲検、プラセボ対照の、多数の医療センターでの臨床試験である (図 8)。術後最大 5 週間のスク

10

20

30

40

50

リーニング期間を使用して適性を評価する。ベースライン往診時に、245人の適性患者をプラセボ、ピマグルマブ70mg、ピマグルマブ210mg、またはピマグルマブ700mgのいずれかに2:1:2:2に無作為に分ける。無作為に分けた患者は12カ月間治療し、4週間毎に合計13用量の試験治療薬を与える。全ての患者が24週間の治療を終えた後、評価項目分析を実施して、重要安全策と共に主要および副次的評価項目を評価する。治療期間が終了した後、患者は4週間の治療後フォローアップ期間に入る。最終試験往診（EOS）は、最終用量の試験治療薬を与えた後の8週間である。

【0357】

3つの試験期間がある。

スクリーニング期間、何らかの具体的試験手順を実行する前にインフォームドコンセントを得なければならない。スクリーニング期間は、患者が歩き始め（対象が4メートル歩行速度試験を終了したと定義）、リハビリテーションプログラムに入ることが可能となったらすぐに開始し、これは個々の患者の機能回復が手術の約7日後に始まると予想されることに基づく。スクリーニング期間はその後最大4週間（術後最大35日間）続き得るが、しかしながら、それは可能な限り早く終了して、患者がその機能回復開始時に臨床試験に入ることを確実にしなければならない。

10

【0358】

1) 製造者の説明書に従いX線によって確認される手術固定と関節形成術、および2) 完全な手術による創傷治療として研究者によって評価される骨折修復に関する首尾よい手術介入は、患者の無作為化前に確認しなければならない。

20

【0359】

全ての組み入れ基準に見合い、いずれの除外基準にも見合わないことを確認した後、患者を無作為に分ける。

【0360】

無作為化は、試験薬を用いた治療が個々の患者の「機能ベースライン」直後に開始できるように、スクリーニングの開始後可能な限り早く行わなければならない。

【0361】

無作為化の日時は「第1日」の試験往診日時（ベースライン/無作為化）であり、試験期間全体の往診スケジュールの参照として使用する。

【0362】

30

治療期間：

初回用量の試験治療薬を無作為化の日（第1日）に投与する。往診毎に、投与後PKサンプリング以外の、試験治療薬投与前の全ての評価を実施する。患者には4週間毎に1回13用量を与える。最終用量は第48週往診時に投与し、治療期間は4週間後、第52週往診時に終了する（最終治療）。

【0363】

股関節部骨折に関する局所ケア標準以外に試験治療薬を施し、プロトコールリクエスト型最小要件に適合する必要がある（耐性トレーニングを含めた）局所リハビリテーションプログラムと組み合わせる。

【0364】

40

治療後フォローアップ期間、最終治療往診の終了後、患者は治療後フォローアップ期間に入り、4週間後の第56週（または最終用量の試験治療薬を与えた8週間後）に終了する。

【0365】

試験設計の原理

この試験集団または術後廃用性萎縮の治療に関する考察を示した公開済みの健康機関のガイダンスはない。実際の仮説は、標準リハビリテーションと組み合わせた薬剤誘導型の筋肉塊増大は、ケア標準のみを施した患者と比較して、筋強度と耐性の回復の促進、およびその後の機能性能の改善をもたらす得るということである。身体性能の改善の結果として、転倒および関連損傷/骨折の発生率の低下を予想することができる。

50

【0366】

用量／レジメン、投与経路および治療期間の原理

用量、頻度、投与経路、および治療期間の選択は、3つのフェーズⅠ試験、初回人体投与（FⅠH）臨床試験（CBYM338X2101、パートA）、健常男性ボランティアにおける包帯装着試験（CBYM338X2101、パートB）および健常ボランティアにおける複数用量試験（CBYM338X2102）の結果に基づく。

【0367】

用量および頻度

これらのフェーズⅠ試験において、3mg/kgおよび10mg/kgの用量は健常ボランティアにおけるTMVの増大に有効であり、したがってそれらは股関節部骨折後の患者において有効であると予想される。健常ボランティア（CBYM338X2101およびCBYM338X2102）における結果は、MRIにより測定した大腿筋体積は10mg/kgと30mg/kgの一回用量に関して同等に増大したが、30mg/kgの効果は長く続いたことを示した。月一投与のビマグルマブの3反復で、投薬間隔にわたり10mg/kgの約半分の期間で3mg/kgが完全な受容体占有を引き起こすと考えられるが、健常成人において3mg/kgと10mg/kgでTMVの同等な増大があった。健常ボランティア（CBYM338X2101）において、1mg/kgビマグルマブの一回用量を注入した後、TMVに対する限られた一過性の影響を観察した。したがって1mg/kgの用量は、この試験では無効または最小有効用量であると予想される。

【0368】

この試験は、4週間毎に投与した一定静脈内用量70、210、または700mgのビマグルマブを評価する。前の試験において使用したmg/kg用量に相当する一定用量は患者の平均体重に基づいて計算し、股関節部骨折患者に関する文献（Mak et al 2014）中に報告された70kgに端数処理した患者の平均体重に基づき、同様の計算値を現在の試験に使用した（ 66 ± 12 kg）。したがってこの試験は、一定静脈内用量70（最初は1mg/kg）、210（最初は3mg/kg）、または700mg（最初は10mg/kg）のビマグルマブを評価する。

【0369】

体重ベースの投薬を最初に選択して、各治療群中の全体重の患者にわたる一貫した露出を確実にした。それにもかかわらず、一定または体重ベースの投薬によって、無作為に分けた患者が、前の試験における最高試験用量、すなわち30mg/kgで経験したレベルを超えるCmaxレベルで、ビマグルマブに曝されることは予想されない。

【0370】

4週間毎の投薬頻度は、4週間毎の投薬で10mg/kgと8週間毎の静脈内投薬で30mgの両方で有効性が同じ状態に達した、PK/PD試験からの観察結果に基づく。

【0371】

投与経路

試験薬は30分間にわたり静脈内注入を介して投与し、これは実験BYM338X2107において試験され十分忍容されることを文書化した。

【0372】

治療期間

同化作用物質（イブタモレンメシレート）で治療した股関節部骨折患者における近年の試験は、（3カ月ではなく）6カ月の治療が、Short Physical Performance Batteryおよびその一部である歩行速度スコアにより測定した身体機能を改善する際に有効であったことを示した（Adunsky et al 2011）。LBMの増大は治療の2～3カ月後にその最大値に到達し、機能的ベネフィットは遅れて観察されると予想され、6カ月の治療期間は股関節部骨折患者の機能回復を増大するのに十分であると仮定することが、妥当であると思われる。

【0373】

しかしながら、股関節部骨折の回復には約1年かかるので、特に転倒数を12カ月の間

10

20

30

40

50

に減らすことができる場合、最大12カ月の長期治療の追加的ベネフィットが存在し得る（二次的目的）。二次的股関節部骨折に関する主な危険因子は転倒であり、全ての骨折は90%を超えて転倒後に起こる。65才以上の股関節部骨折患者からのMedicare and Medicaidのデータを使用して、Bischoff-Ferrari et al (2010)は、10.3%は3年以内に二次的股関節部骨折に罹患し、二次的股関節部骨折の51%は一次骨折の6カ月以内に起こり、75%は1年以内に起こったことを報告した。

【0374】

初回投与のタイミング

ビマグルマブの有効性は身体活動に関連するとき最適であると予想され、したがって初回投与のタイミングは理学療法の開始時付近に調整する（すなわち、術後7日間～4週間および最大6週間）。Chudyk et al 2009およびEnglish and Paddon-Jones D 2010によって論評された幾つかの試験は、股関節部骨折の固定手術後の初期歩行は、初期身体機能、自宅への帰還率、合併症および病院への再入院などの患者の予後を改善し得ることを示す。近年の論評は、初期（および好ましくはより集約的な）理学療法の開始は股関節部骨折手術後の初期筋強度消失を克服するのに重要であり（Bandholm and Kehlet 2012）、これが回復過程の重要な予測因子であることも論じている。

10

【0375】

コンパレーターの選択に関する原理

対照作用物質としてのプラセボの選択は、活性型治療剤の特異的および非特異的効果に関する情報を得るのに必要であり、ビマグルマブの有効性を査定し安全性と忍容性を評価する最良の方法となる。

20

【0376】

廃用性萎縮におけるいかなる承認された薬理学的コンパレーター（すなわち「黄金律」または「ケア標準」）も不在の状況で、プラセボをビタミンD（一日当たり最低800IU）と身体リハビリテーション以外に使用する。

【0377】

予想されるベネフィット

健常ボランティアおよびsIBMがある患者において見られたように、股関節部骨折患者には、機能改善および運動性の急速な回復に変わり得る筋肉塊の増大があることが予想される。試験期間を通じて、転倒数が減り二次的股関節部骨折の減少につながる可能性がある。

30

【0378】

集団

組み入れ基準

この試験における組み入れに適した患者は、以下の基準の全てを満たしていなければならない：

1. 無作為化時に65才以上である男性および閉経後の女性。
2. 患者は股関節部骨折の手術治療を受けていなければならない（内側、外側および大転子周囲大腿骨近位部骨折、AO分類31A-C（AO Foundation 2013））。
3. 患者は、無作為化時にホルスタインのミニメンタルステート検査（MMSE）で少なくとも21以上のスコアを有するほどの、精神的水準に達していなければならない。
4. 患者は4m歩行速度試験を終了することができなければならない。手術後最初の7日間中に運動性/すなわち荷重歩行能力が回復した患者は適していない。
5. 患者は、試験に関する要件および手順を理解しそれらに従うことができ、リハビリテーショントレーニングに参加し約56週間参加する意思があることを確約できなければならない。
6. スクリーニング時に、患者は少なくとも35kgの体重がなければならず、 $15 \sim 35 \text{ kg/m}^2$ の範囲内の体格指数（BMI）を有していなければならない。

40

【0379】

除外基準

50

以下の基準のいずれかを満たす患者は、この試験中に組み入れるのに適していない。試験集団が全ての適正患者を表すことを確実にするため、研究者により他の除外基準は施すことができない。

【0380】

整形外科手術歴、筋肉消失と関連がある病状、フィジカルアセスメント（SPPBおよび歩行速度）に干渉する病状、臨床上重大な心臓血管同時罹患、肝臓関連疾患、または懸念を与える他の病状。

【0381】

治療

1. 試験治療薬

ノバルティスは以下の試験薬を供給する：

ビマグルマブ、ラバーストッパーおよびアルミニウム製フリップオフキャップを備えたバイアル、無色のガラス製バイアル中に液体 1 ml 当たり 150 mg の BYM338。

プラセボ、ラバーストッパーおよびアルミニウム製フリップオフキャップを備えたバイアル、無色のガラス製バイアル中に液体 1 ml 当たり BYM338 プラセボ。

【0382】

2. 他の試験治療薬

股関節部骨折後の局所ケア標準療法

（血栓症予防、疼痛管理、カルシウム補充、二次性骨粗しょう症予防などのために）手術前／手術後に患者を管理するための局所ケア標準療法は容認され、全国的または現地ガイドラインに従い使用することができる。

【0383】

プロトコルリクエスト型の他の試験治療

このプロトコルは以下に準拠していることが必要である：

リハビリテーション（最小要件は以下に定義する）

ビタミンD補充（1日当たり最低800国際単位（IU））

【0384】

最小リハビリテーション要件

股関節部骨折後のリハビリテーションは、この指標においてビマグルマブの効果を最大にするための前提条件であると考えられる。特にリハビリテーション行程における耐性トレーニングと強度トレーニングは、筋肥大を誘導するアナボリック化合物と相乗的に作用する可能性がある。標準リハビリテーションプログラムは全患者によって実施され、様々なビマグルマブ用量レジメンの有効性を評価する際の変動を避けることが理想的であると思われる。

【0385】

しかしながら、この試験では、詳細な一回リハビリテーションプロトコルは以下の2つの理由で定義しない：

化合物は、異なるリハビリテーションプログラムを含めた異なる状況で作用しなければならない、かつ

異なるリハビリテーション手法を用いた複数現場全体の一元化は現実的であると思われる。耐性エクササイズプログラムの有意な影響を含めた重要リハビリテーション期に関して、医学界では一般的な合意がある。このプロトコルは、登録した各患者が、エクササイズトレーニングとビマグルマブの相乗作用に基づく、最低限必要なリハビリテーション部分を経ることを確実にする（表1）。プログラムの準拠は、調査チームと共に患者によって記入される電子版エクササイズ準拠書の使用によりモニタリングされる。

【0386】

10

20

30

40

【表 2】

表 1 最小限必要とされるリハビリテーショントレーニング、
10 週間にわたり 1 週間あたり 3 セッション

フェーズ	(およそ の)試験 週間	場所	目的	必須部分	反復数/セット
運動性/歩行 /日常生活 (ADL) トレ ーニング; 初期耐性ト レーニング	1～6	入院患者、リハビリテーションセンターまたは自宅/外来患者、ホームセラピー	安全な移動および歩行 股関節部可動域(ROM) の改善	移動、歩行/バランスおよび ADL トレーニング; (股関節部予防の制約内で)股関節部 ROM 以下のための、耐性エクササイズプログラム(例えば耐性バンド、フリーウェイト、耐性エクササイズマシンなど): • 股関節部屈曲 • 膝部伸張 • 股関節部伸張 • 股関節部外転	4 エクササイズそれぞれを(1 セットで)8～15 反復 (1 セッションで)2～3 セット必要
高度耐性ト レーニング	7～10	外来患者、ホームセラピー	ベースライン歩行/ADL 機能の回復または改善。 下肢強度の改善	股関節部および膝部伸張グループの耐性エクササイズプログラムの進行 歩行/バランストレーニングの継続	耐性エクササイズを(1 セットで)8～15 反復、次第に強度を上げる (1 セッションで)2～3 セット必要

【 0 3 8 7 】

試験に参加するため、現場は最小リハビリテーション処置を行う意志があり、これらを遵守することができない場合、それが特定現場で必要とされる場合、患者は追加

のエクササイズを実施することができる。

【0388】

主要有効性アセスメント

D X A による全身 L B M および a L B M

L B M (除脂肪体重) の変化をモニタリングする臨床的妥当性は、薬剤誘導型の筋肉塊の増大は後の機能改善の前提条件であるという事実にある。テストステロン補充に関する以前の研究は、筋強度および身体機能閾値を高めるためには、L B M および四肢骨格筋塊の改善が必要であることを文書化することによって、既にこれに焦点を当てている (Sattler et al 2011)。この以前の観察と一致して、一回用量のピマグルマブ (30 mg / kg) を与えた s I B M 患者に関する予備データは、薬剤誘導型の L B M の増大 (8 ~ 12 週で平衡状態) に、第 24 週に 6 分間歩行距離 (6 M W D) によって定量化した身体性能の有意な向上が続いたことを示した (図 6 - 1)。さらに、L B M が投薬中止によって減少しベースラインに戻ったとき、機能的ベネフィットも消滅した。したがって、L B M の増大は予想される機能的ベネフィットの臨床的妥当性を反映するものである。

10

【0389】

二重エネルギー X 線吸収測定法は、黄金律の方法、例えばコンピュータ断層撮影法 (C T) および M R I と比較して、臨床および研究設定で安価、短いスキャンタイム、患者に対するより少ない照射露出、およびより広範囲の有用性の利点がある、骨格筋塊を推定するのに奨励される他の方法となる。

20

【0390】

幾つかの試験は、D X A 手法は C T または M R I によって測定された筋肉とほぼ一致する平均全身骨格筋の推定値を与えるが、D X A は全身骨格筋を約 5 % 系統的に過大評価する傾向があることを記録に残した (Wang et al 1996、Chen et al 2007)。これは、全身 L B M を測定するとき、D X A が臓器、体幹の除脂肪塊、皮膚、および脂肪組織中の非脂肪成分も考慮に入れる可能性があるという事実によるものである (Wang et al 1976)。

【0391】

a L B M (脚部および腕部) または脚部 L B M に関する除脂肪塊測定に焦点を当てると、骨格筋塊の推定値をごくわずかに改善することができる (Chen et al 2007)。しかしながら、モニタリング設定で使用すると、高精度で胴体を除去する利点より、四肢を定義する解剖学的目印を使用する際の異なるスキャン間の差から生じる変動が多い可能性がある (Covey et al 2010、Wang et al 1996)。この後者の変動は、薬剤と骨格筋塊の誘導的变化の間の用量反応関係を立証する目的での、多数の医療センターでのフェーズ 2 臨床試験の状況で特に関連がある。

30

【0392】

さらに、全身骨格筋塊を推定するのに全身 L B M が比較的不正確であることは、モニタリング設定においてそれほど問題ではない。薬剤は臓器の除脂肪塊、または脂肪塊の非脂肪成分に対して知られている影響がないからである。サポートとして、B Y M 338 X 2102 試験における本発明者らの観察結果は、全身 L B M の変化率 (D X A) と大腿筋体積の変化率 (M R I) の間の高度な相関関係 ($r = 0.94$) を示した。

40

【0393】

全身 L B M は、薬剤の主な薬力学的影響を定量化し用量反応関係を立証するのに好ましい選択肢であるが、術後リハビリテーション (身体エクササイズ) の主題でもある a L B M 変化の測定およびモニタリングは、どのようにして骨格筋塊の薬剤誘導型変化が、期待される治療の機能的ベネフィットを予測 / 反映するかの研究に関する関心が高まると思われる。

【0394】

Short Physical Performance Battery (S P P B)

Short Physical Performance Battery (S P P B) は、疫学研究および外来患者クリニックでの、地域に居住する高齢者における、その後

50

の身体障害、入院、施設収容、および死亡率を高い確率で予測することが示されている (Guralnik et al 2000; Studenski et al 2003)。同時罹患および自己報告機能状態のレベルと重症度の調節後でさえ身体障害は残る。

【0395】

近年、SPPBを現実的かつ安全に使用して、重大な病状のため入院が認められた急性疾患状態の老人患者の機能状態を評価できること、およびSPPBスコアは重要な短期予後情報を与えることができることが実証されている (Volpato et al 2008)。10未満のSPPBスコアを有する患者は、10以上のSPPBスコアを有する患者より幾つかの他の疾患を示す可能性がより高い。著者らは多重回帰分析において、乏しい下肢機能の有意な独立予測因子は、年齢、糖尿病、脳血管発作、および骨粗しょう症であったことを発見した。

10

【0396】

さらに、病院滞在中および退院後の最初の一週間中、SPPBによる身体性能の一連のアセスメントによって、急性疾患状態の老人患者における将来の健康リスクに関する追加情報を与えることができる。まとめると、SPPBは、幾つかの根底にある生理的障害を反映する、全身健康状態の非特異的ただし高感度の指標として考えることができる。

【0397】

歩行速度

歩行速度は機能改善を評価するためのSPPBの一部として測定される。通常の歩行速度は、高齢者の標準臨床評価に構築されるのに最も適した身体性能測定値の1つを表す。歩行速度は、身体活性レベル、等尺性の下肢筋力の変化、虚弱性および転倒と関連がある (Newman et al 2005、Chandler et al 1998、Cesari et al 2005)。

20

【0398】

歩行速度は、十分立証されている身体性能の尺度であるだけでなく、地域に居住する多様な高齢者集団における将来的身体障害を予測することもでき、短期リハビリテーションを含めた身体活動の変化に応じて身体状態の変化を反映しやすい (Barthuly et al 2012)。低速または低減歩行速度によって測定した乏しい機能性は身体障害、入院および死亡のリスクと関連があり (Studenski et al 2011)、一方で歩行速度の改善は死亡リスクの低減と関連がある (Hardy et al 2007)。これらの理由のため、歩行速度は老人集団における全身健康指標として引用されることが多い。

30

【0399】

転倒および骨折

股関節部骨折患者は骨折後に運動性の実質的低下を経験し、大部分の患者が骨折前の運動性レベルには決して戻らない。これらの患者の多くは、骨折後の時期に運動機能関連事象、特に転倒も経験する (Bischoff-Ferrari et al 2010)。このような虚弱個体では、転倒は、再発性骨折を含めた損傷を引き起こすことが多い。骨折後の時期におけるビマグルマブを用いた治療は筋体積の増大を促進する可能性があり、強度と運動性を改善することができ、これが身体機能の改善およびおそらく運動性関連有害事象の減少をもたらす可能性がある。

40

【0400】

主要安全性アセスメント

この試験における安全性アセスメントは以下のものを含む：

注入部位および過敏症反応を含めた全AEおよびSAEの評価

身体検査

バイタルサイン、身長と体重

研究室での評価

心電図 (ECG)

心臓の寸法、壁厚および収縮性の2D心電図モニタリング

(該当する場合) 手術による合併症および股関節部骨折治癒のX線アセスメント

免疫原性

50

栄養状態

対側性（非罹患状態）股関節部のBMDをモニタリングするためのDEXA

【0401】

参考文献

- Abrahamsen B, van Staa T, Ariely R, Olson M, Cooper C (2009). Excess mortality following hip fracture: a systematic epidemiological review. *Osteoporos Int* ; 20(10):1633-50.
- Adunsky A, Chandler J, Heyden N, et al (2011) MK-0677 (ibutamoren mesylate) for the treatment of patients recovering from hip fracture: a multicenter, randomized, placebo-controlled phase IIb study. *Arch Gerontol Geriatr*; 53:183-9. 10
- Auais MA, Eilayyan O, Mayo NE (2012) Extended exercise rehabilitation after hip fracture improves patients' physical function: a systematic review and meta-analysis. *Phys Ther*; 92:1437-1451.
- Bandholm T and Kehlet H (2012) Physiotherapy exercise after fast-track total hip and knee arthroplasty: time for reconsideration? *Arch Phys Med Rehabil*; 93:1292-4.
- Barthuly AM, Bohannon RW, Gorack W (2012) Gait speed is a responsive measure of physical performance for patients undergoing short-term rehabilitation. *Gait Posture*; 36(1):61-4. 20
- Bischoff-Ferrari HA, Dawson-Hughes B, Platz A, et al (2010) Effect of high-dose cholecalciferol and extended physiotherapy on complications after hip fracture: a randomized controlled trial. *Arch Intern Med*; 170:813-20.
- Beavers KM, Beavers DP, Houston DK, Harris TB, Hue TF, Koster A, Newman AB, Simonsick EM, Studenski SA, Nicklas BJ, Kritchevsky SB. Associations between body composition and gait-speed decline: results from the Health, Aging, and Body Composition study. *Am J Clin Nutr*. 2013;97(3):552-60. 30
- Brooks SV, Faulkner JA. Skeletal muscle weakness in old age: underlying mechanisms. *Med Sci Sports Exerc*. 1994; 26(4):432-9.
- Campbell C, Escolar D, Mah J, et al. A Phase 2, randomized, placebo-controlled, multiple ascending-dose study of ACE-031, a soluble activin receptor Type IIB, in boys with Duchenne muscular dystrophy (DMD). *Neurology* 2012; 78:P04.088.
- Cesari M, Kritchevsky SB, Penninx BW, et al (2005) Prognostic value of usual gait speed in well-functioning older people--results from the Health, Aging and Body Composition Study. *J Am Geriatr Soc*; 53:1675-80. 40
- Chandler JM, Duncan PW, Kochersberger G, Studenski S (1998) Is lower extremity strength gain associated with improvement in physical performance and disability in frail, community-dwelling elders? *Arch Phys Med Rehabil*; 79(1):24-30.
- Chen Z, Wang Z, Lohman T, et al (2007) Dual-energy X-ray absorptiometry is a valid tool for assessing skeletal muscle mass in older women. *J Nutr*; 137(12):2775-80.
- Chevalier S, Gougeon R, Choong N, Lamarche M, Morais JA. Influence of adiposity 50

in the blunted whole-body protein anabolic response to insulin with aging. *J Gerontol A Biol Sci Med Sci* 2006;61:156-64.

Chudyk AM, Jutai JW, Petrella RJ, Speechley M (2009) Systematic review of hip fracture rehabilitation practices in the elderly. *Arch Phys Med Rehabil*; 90:246-62.

Covey MK, Berry JK, Hacker ED (2010) Regional body composition: cross-calibration of DXA scanners--QDR4500W and Discovery Wi. *Obesity (Silver Spring)*;18(3):632-7.

10

D'Adamo CR, Hawkes WG, Miller RR, Jones M, Hochberg M, Yu-Yahiro J, Hebel JR, Magaziner J. Short-term changes in body composition after surgical repair of hip fracture. *Age Ageing*. 2014;43(2):275-80.

Daguet E1, Jolivet E, Bousson V, Boutron C, Dahmen N, Bergot C, Vicaut E, Laredo JD. Fat content of hip muscles: an anteroposterior gradient. *J Bone Joint Surg Am*. 2011;93(20):1897-905.

English KL, Paddon-Jones D (2010) Protecting muscle mass and function in older adults during bed rest. *Curr Opin Clin Nutr Metab Care*; 13(1): 34-39.

20

Frontera WR, Hughes VA, Fielding RA, Fiatarone MA, Evans WJ, Roubenoff R. Aging of skeletal muscle: a 12-yr longitudinal study. *J Appl Physiol*. 2000; 88(4):1321-6.

Fox KM1, Magaziner J, Hawkes WG, Yu-Yahiro J, Hebel JR, Zimmerman SI, Holder L, Michael R. Loss of bone density and lean body mass after hip fracture. *Osteoporos Int*. 2000;11(1):31-5.

Goodpaster BH, Park SW, Harris TB, et al. The loss of skeletal muscle strength, mass, and quality in older adults: the health, aging and body composition study. *J Gerontol A Biol Sci Med Sci*. 2006; 61(10):1059-64.

30

Goodpaster BH, Carlson CL, Visser M, et al. Attenuation of skeletal muscle and strength in the elderly: The Health ABC Study. *J Appl Physiol*. 2001; 90(6):2157-65.

Guralnik JM, Ferrucci L, Pieper CF, et al (2000) Lower extremity function and subsequent disability: consistency across studies, predictive models, and value of gait speed alone compared with the short physical performance battery. *J Gerontol A Biol Sci Med Sci*; 55(4):M221-31.

40

Hardy SE, Perera S, Roumani YF, et al (2007) Improvement in usual gait speed predicts better survival in older adults. *J Am Geriatr Soc*; 55(11):1727-34.

Lach-Trifilieff E1, Minetti GC, Sheppard K, Ibebunjo C, Feige JN, Hartmann S, Brachat S, Rivet H, Koelbing C, Morvan F, Hatakeyama S, Glass DJ. An antibody blocking activin type II receptors induces strong skeletal muscle hypertrophy and protects from atrophy. *Mol Cell Biol*. 2014;34(4):606-18.

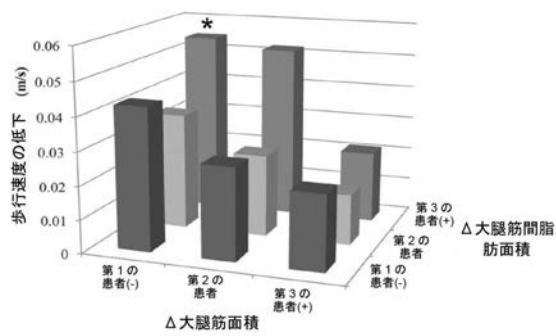
50

- Lang T, Cauley JA, Tylavsky F, Bauer D, Cummings S, Harris TB; Health ABC Study. Computed tomographic measurements of thigh muscle cross-sectional area and attenuation coefficient predict hip fracture: the health, aging, and body composition study. *J Bone Miner Res.* 2010;25(3):513-9.
- Lee SJ, McPherron AC. Regulation of myostatin activity and muscle growth. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2001 Jul 31; 98(16):9306-11.
- Lee SJ, Reed LA, Davies MV, Girgenrath S, Goad ME, Tomkinson KN, Wright JF, Barker C, Ehrmantraut G, Holmstrom J, Trowell B, Gertz B, Jiang MS, Sebald SM, Matzuk M, Li E, Liang LF, Quattlebaum E, Stotish RL, Wolfman NM. Regulation of muscle growth by multiple ligands signaling through activin type II receptors. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2005 Dec 13;102(50):18117-22. 10
- Newman AB, Haggerty CL, Kritchevsky SB, Nevitt MC, Simonsick EM; Health ABC Collaborative Research Group (2003) Walking performance and cardiovascular response: associations with age and morbidity--the Health, Aging and Body Composition Study. *J Gerontol A Biol Sci Med Sci*; 58(8):715-20.
- Pahor M, Kritchevsky S. Research hypotheses on muscle wasting, aging, loss of function and disability. *J Nutr Health Aging* 1998;2: 97-100.
- Sattler F, Bhasin S, He J, et al (2011) Testosterone threshold levels and lean tissue mass targets needed to enhance skeletal muscle strength and function: the HORMA trial. *J Gerontol A Biol Sci Med Sci*; 66:122-9. 20
- Schaap LA, Pluijm SM, Smit JH, van Schoor NM, Visser M, Gooren LJ, Lips P. The association of sex hormone levels with poor mobility, low muscle strength and incidence of falls among older men and women. *Clin Endocrinol (Oxf)* 2005;63:152-60.
- Smith RC, Lin BK. Myostatin inhibitors as therapies for muscle wasting associated with cancer and other disorders. *Curr Opin Support Palliat Care.* 2013; 7(4): 352-360. 30
- Studenski S, Perera S, Wallace D, et al (2003) Physical performance measures in the clinical setting. *J Am Geriatr Soc*; 51(3):314-22.
- Studenski S, Perera S, Patel K, et al (2011) Gait speed and survival in older adults. *JAMA*;305(1):50-8.
- Trendelenburg AU, Meyer A, Rohner D, Boyle J, Hatakeyama S, Glass DJ. Myostatin reduces Akt/TORC1/ p70S6K signaling, inhibiting myoblast differentiation and myotube size. *Am. J. Physiol. Cell Physiol.* 2009;296:C1258-C1270. 40
- Vandervoort AA. Aging of the human neuromuscular system. *Muscle Nerve.* 2002; 25(1):17-25.
- Verghese J, Holtzer R, Oh-Park M, Derby CA, Lipton RB, Wang C. Inflammatory markers and gait speed decline in older adults. *J Gerontol A Biol Sci Med Sci* 2011;66:1083-9. 31.
- Visser M, Kritchevsky SB, Goodpaster BH, et al. Leg muscle mass and composition in relation to lower extremity performance in men and women aged 70 to 79: the health, aging and body composition study. *J Am Geriatr Soc.* 2002;50(5):897-904. 50

- Visser M, Goodpaster BH, Kritchevsky SB, et al. Muscle mass, muscle strength, and muscle fat infiltration as predictors of incident mobility limitations in well-functioning older persons. *J Gerontol A Biol Sci Med Sci*. 2005; 60(3):324-33.
- Visser M, Pahor M, Taaffe DR, Goodpaster BH, Simonsick EM, Newman AB, Nevitt M, Harris TB. Relationship of interleukin-6 and tumor necrosis factor- α with muscle mass and muscle strength in elderly men and women: the Health ABC Study. *J Gerontol A Biol Sci Med Sci* 2002; 57:M326-32.
- Volpato S, Cavalieri M, Guerra G, et al (2008) Performance-based functional assessment in older hospitalized patients: feasibility and clinical correlates. *J Gerontol A Biol Sci Med Sci*;63(12):1393-8. 10
- Wang J, Pierson RN Jr (1976) Disparate hydration of adipose and lean tissue require a new model for body water distribution in man. *J Nutr*; 106:1687-93.
- Wang ZM, Visser M, Ma R, et al (1996) Skeletal muscle mass: evaluation of neutron activation and dual-energy X-ray absorptiometry methods. *J Appl Physiol*; 80:824-31.
- Waters DL, Qualls CR, Dorin RI, Veldhuis JD, Baumgartner RN. Altered growth hormone, cortisol, and leptin secretion in healthy elderly persons with sarcopenia and mixed body composition phenotypes. *J Gerontol A Biol Sci Med Sci* 2008;63:536-41. 20
- Wehren LE¹, Hawkes WG, Hebel JR, Orwig DL, Magaziner J. Bone mineral density, soft tissue body composition, strength, and functioning after hip fracture. *J Gerontol A Biol Sci Med Sci*. 2005;60(1):80-4.
- Whittemore LA, Song K, Li X, Aghajanian J, Davies M, Girgenrath S, Hill JJ, Jalenak M, Kelley P, Knight A, Maylor R, O'Hara D, Pearson A, Quazi A, Ryerson S, Tan XY, Tomkinson KN, Veldman GM, Widom A, Wright JF, Wudyka S, Zhao L, Wolfman NM. Inhibition of myostatin in adult mice increases skeletal muscle mass and strength. *Biochem Biophys Res Commun*. 2003 Jan 24; 300(4):965-71 30

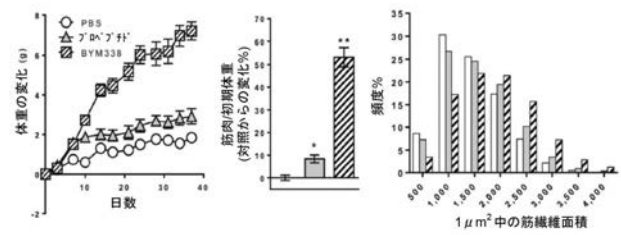
【図 1】

図 1



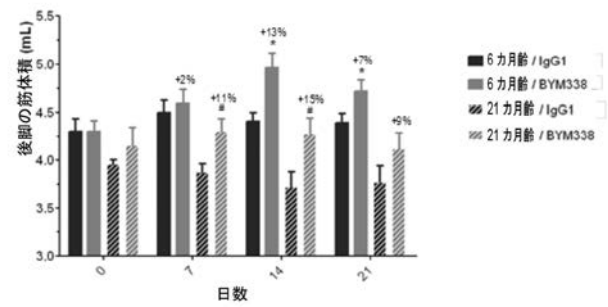
【図 2】

図 2



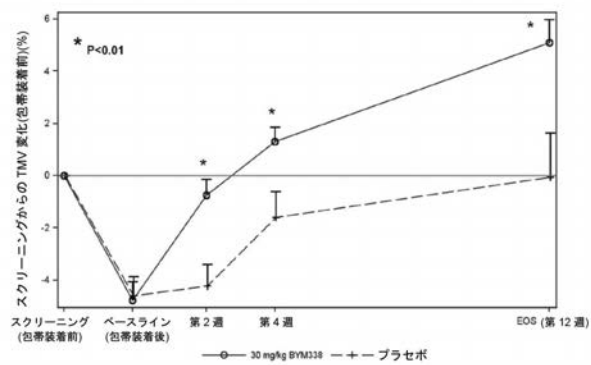
【図 3】

図 3



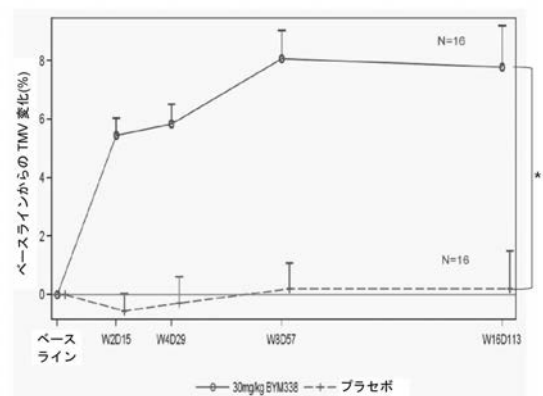
【図 4】

図 4



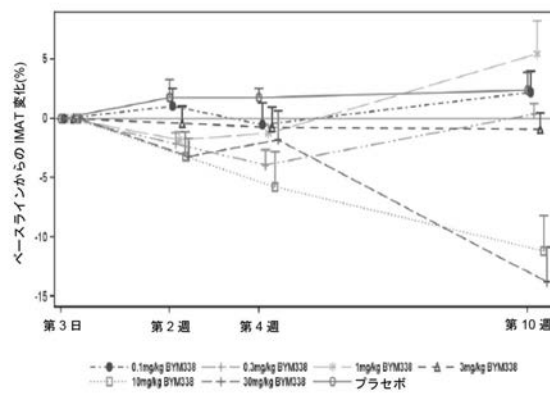
【図 5】

図 5



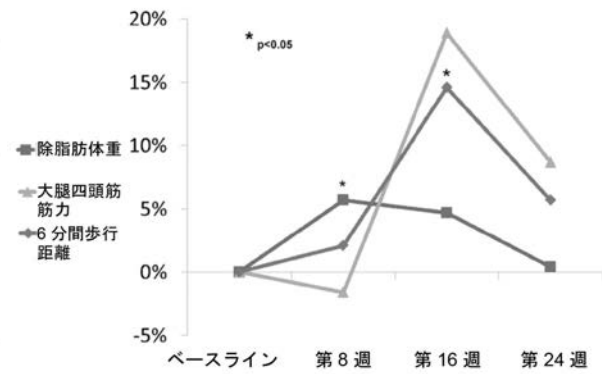
【図 6】

図 6



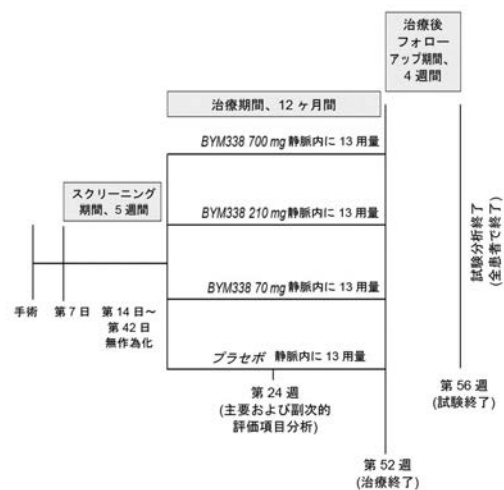
【図 7】

図 7



【図 8】

図 8



【配列表】

2017513882000001.app

【 国際調査報告 】

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No
PCT/IB2015/052990

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER INV. A61K39/00 C07K16/18 C07K16/28 ADD.		
According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC		
B. FIELDS SEARCHED Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols) A61K C07K		
Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched		
Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used) EPO-Internal, BIOSIS, EMBASE, WPI Data		
C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	WO 2010/125003 A1 (NOVARTIS AG [CH]; BERGER CATRIN [DE]; HERRMANN TANJA [DE]; LU CHRIS [C] 4 November 2010 (2010-11-04) cited in the application page 58, line 19 - page 61, line 17; claims 1,45,46	1-32, 38, 39
X	WO 2011/151432 A1 (GLAXO GROUP LTD [GB]; ASHMAN CLAIRE [GB]; ASHMAN STEPHEN [GB]; HAMBLIN) 8 December 2011 (2011-12-08) page 47, line 4 - line 17 ----- -/--	1-39
<input checked="" type="checkbox"/> Further documents are listed in the continuation of Box C. <input checked="" type="checkbox"/> See patent family annex.		
* Special categories of cited documents : "A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance "E" earlier application or patent but published on or after the international filing date "L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified) "O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means "P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed "T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention "X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone "Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art "&" document member of the same patent family		
Date of the actual completion of the international search		Date of mailing of the international search report
15 July 2015		16/09/2015
Name and mailing address of the ISA/ European Patent Office, P.B. 5818 Patentlaan 2 NL - 2280 HV Rijswijk Tel. (+31-70) 340-2040, Fax: (+31-70) 340-3016		Authorized officer
		Marinoni J-C

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No
PCT/IB2015/052990

C(Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	<p>ESTELLE LACH-TRIFILIEFF ET AL: "An Antibody Blocking Activin Type II Receptors Induces Strong Skeletal Muscle Hypertrophy and Protects from Atrophy", MOLECULAR AND CELLULAR BIOLOGY, AMERICAN SOCIETY FOR MICROBIOLOGY, WASHINGTON, US, vol. 34, no. 4, 1 February 2014 (2014-02-01), pages 606-618, XP002732136, ISSN: 0270-7306, DOI: 10.1128/MCB.01307-13 [retrieved on 2013-12-02] abstract</p> <p>-----</p>	1-39
A	<p>WO 2006/083182 A1 (OVITA LTD [NZ]; KAMBADUR RAVI [NZ]; SHARMA MRIDULA [NZ]; HENNEBRY ALEX) 10 August 2006 (2006-08-10) claim 2</p> <p>-----</p>	1-39

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

International application No

PCT/IB2015/052990

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member(s)	Publication date
WO 2010125003 A1	04-11-2010	AR 076402 A1	08-06-2011
		AU 2010243697 A1	20-10-2011
		CA 2758290 A1	04-11-2010
		CN 102753578 A	24-10-2012
		CN 104725512 A	24-06-2015
		CO 6460759 A2	15-06-2012
		CR 20110487 A	07-12-2011
		CU 20110199 A7	21-06-2012
		EA 201101571 A1	30-05-2012
		EC SP11011484 A	30-12-2011
		EP 2424895 A1	07-03-2012
		HN 2011002817 A	25-08-2014
		JP 2012525128 A	22-10-2012
		JP 2014158480 A	04-09-2014
		KR 20120104490 A	21-09-2012
		MA 33279 B1	02-05-2012
		MY 153078 A	31-12-2014
		NZ 595235 A	28-06-2013
		PE 05322012 A1	18-05-2012
		SG 174273 A1	28-10-2011
		SV 2011004043 A	03-01-2012
		TW 201041594 A	01-12-2010
		US 2010272734 A1	28-10-2010
		US 2012237521 A1	20-09-2012
		US 2013344091 A1	26-12-2013
		UY 32583 A	30-11-2010
		WO 2010125003 A1	04-11-2010
WO 2011151432 A1	08-12-2011	AR 081556 A1	03-10-2012
		AU 2011260216 A1	17-01-2013
		CA 2801802 A1	08-12-2011
		CN 103097415 A	08-05-2013
		EA 201291067 A1	28-06-2013
		EP 2576619 A1	10-04-2013
		JP 2013531486 A	08-08-2013
		SG 185715 A1	28-12-2012
		TW 201210612 A	16-03-2012
		US 2013142788 A1	06-06-2013
		UY 33421 A	30-12-2011
		WO 2011151432 A1	08-12-2011
WO 2006083182 A1	10-08-2006	AU 2006211812 A1	10-08-2006
		AU 2006211813 A1	10-08-2006
		CA 2597146 A1	10-08-2006
		CA 2597152 A1	10-08-2006
		CN 101146546 A	19-03-2008
		CN 101146547 A	19-03-2008
		EP 1855709 A1	21-11-2007
		EP 1855710 A1	21-11-2007
		JP 2008530003 A	07-08-2008
		JP 2008530004 A	07-08-2008
		NZ 538097 A	28-07-2006
		US 2008187543 A1	07-08-2008
		US 2009136481 A1	28-05-2009
		WO 2006083182 A1	10-08-2006
		WO 2006083183 A1	10-08-2006

フロントページの続き

(51)Int.Cl.

F I

テーマコード(参考)

C 0 7 K 16/28 Z N A

(81)指定国 AP(BW, 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, 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, CZ, DE, DK, DM, DO, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, GT, HN, HR, HU, ID, IL, IN, IR, IS, JP, KE, KG, KN, KP, KR, KZ, LA, LC, LK, LR, LS, LU, LY, MA, MD, ME, 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, SM, ST, SV, SY, TH, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US

(72)発明者 タンコ, ラスズロ

スイス国 バーゼル ツェーハー 4 0 0 2, ポストファッハ, ノバルティス ファーマ アーゲー内

(72)発明者 パパニコロー, ディミトリス

アメリカ合衆国 ニュージャージー州 0 7 9 3 6 - 1 0 8 0, イースト ハノーバー, ワン ヘルス プラザ, ノバルティス ファーマシューティカルズ コーポレーション内

(72)発明者 ゴールドハン, ヨルグ

スイス国 バーゼル ツェーハー 4 0 0 2, ポストファッハ, ノバルティス ファーマ アーゲー内

F ターム(参考) 4C084 AA17 MA66 NA14 ZA891 ZA892 ZA961 ZA962 ZB051 ZB052 ZB091

ZB092 ZC021 ZC022 ZC031 ZC032

4C085 AA13 AA14 BB07 CC21 DD62 GG01

4H045 AA11 BA10 DA76 EA28 FA74