

(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2020-533301
(P2020-533301A)

(43) 公表日 令和2年11月19日(2020.11.19)

(51) Int.Cl.	F I	テーマコード (参考)
A 6 1 K 38/20 (2006.01)	A 6 1 K 38/20	4 B 0 6 5
A 6 1 P 35/00 (2006.01)	A 6 1 P 35/00	4 C 0 7 6
A 6 1 P 3/00 (2006.01)	A 6 1 P 3/00	4 C 0 8 4
A 6 1 P 31/00 (2006.01)	A 6 1 P 31/00	4 C 0 8 7
A 6 1 K 45/00 (2006.01)	A 6 1 K 45/00	4 H 0 4 5

審査請求 未請求 予備審査請求 未請求 (全 138 頁) 最終頁に続く

(21) 出願番号 特願2020-513648 (P2020-513648)
 (86) (22) 出願日 平成30年9月6日 (2018.9.6)
 (85) 翻訳文提出日 令和2年5月7日 (2020.5.7)
 (86) 国際出願番号 PCT/US2018/049648
 (87) 国際公開番号 W02019/051015
 (87) 国際公開日 平成31年3月14日 (2019.3.14)
 (31) 優先権主張番号 62/652, 279
 (32) 優先日 平成30年4月3日 (2018.4.3)
 (33) 優先権主張国・地域又は機関
 米国 (US)
 (31) 優先権主張番号 62/554, 605
 (32) 優先日 平成29年9月6日 (2017.9.6)
 (33) 優先権主張国・地域又は機関
 米国 (US)

(71) 出願人 593152720
 イェール ユニバーシティー
 Yale University
 アメリカ合衆国 コネチカット 0651
 0, ニュー ヘイブン, ウィットニー
 アベニュー 2
 (74) 代理人 100099759
 弁理士 青木 篤
 (74) 代理人 100123582
 弁理士 三橋 真二
 (74) 代理人 100117019
 弁理士 渡辺 陽一
 (74) 代理人 100141977
 弁理士 中島 勝

最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 インターロイキン-18バリエーションとその利用法

(57) 【要約】

本発明により、治療用途と非治療用途で用いるためIL-18活性の活性化剤を含む組成物と方法が提供される。この活性化剤は、IL-18BPなどの抑制分子の存在下でさえ、IL-18シグナル伝達活性を提供する。

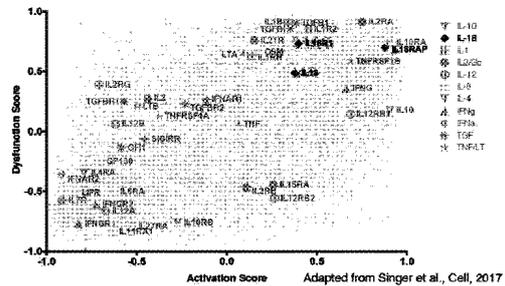


FIG. 1A

【特許請求の範囲】**【請求項 1】**

IL-18バリエーションポリペプチドを含む組成物であって、そのIL-18バリエーションポリペプチドがIL-18受容体（IL-18R）に特異的に結合するとともに、そのIL-18バリエーションポリペプチドがIL-18結合タンパク質（IL-18BP）に対して実質的に減少した結合を示す組成物。

【請求項 2】

前記IL-18バリエーションポリペプチドが、野生型（WT）IL-18に対し少なくとも1個の突然変異を含む、請求項1に記載の組成物。

【請求項 3】

前記WT IL-18が、配列ID番号30のアミノ酸配列を含むヒトIL-18である、請求項2に記載の組成物。 10

【請求項 4】

前記WT IL-18が、配列ID番号31のアミノ酸配列を含むマウスIL-18である、請求項2に記載の組成物。

【請求項 5】

前記IL-18バリエーションポリペプチドが、配列ID番号30に対し、Y1X、L5X、K8X、M51X、K53X、S55X、Q56X、P57X、G59X、M60X、E77X、Q103X、S105X、D110X、N111X、M113X、V153X、およびN155Xからなるグループから選択された少なくとも1個の突然変異を含む、請求項3に記載の組成物。 20

【請求項 6】

前記IL-18バリエーションポリペプチドが、配列ID番号30に対し、Y1H、Y1R、L5H、L5I、L5Y、K8Q、K8R、M51T、M51K、M51D、M51N、M51E、M51R、K53R、K53G、K53S、K53T、S55K、S55R、Q56E、Q56A、Q56R、Q56V、Q56G、Q56K、Q56L、P57L、P57G、P57A、P57K、G59T、G59A、M60K、M60Q、M60R、M60L、E77D、Q103E、Q103K、Q103P、Q103A、Q103R、S105R、S105D、S105K、S105N、S105A、D110H、D110K、D110N、D110Q、D110E、DUOS、D110G、N111H、N111Y、N111D、N111R、N111S、N111G、M113V、M113R、M113T、M113K、V153I、V153T、V153A、N155K、およびN155Hからなるグループから選択された少なくとも1個の突然変異を含む、請求項3に記載の組成物。 30

【請求項 7】

前記IL-18バリエーションポリペプチドが、配列ID番号30に対し、M51X、M60X、S105X、D110X、およびN111Xという突然変異を含む、請求項3に記載の組成物。 30

【請求項 8】

前記IL-18バリエーションポリペプチドが、配列ID番号30に対し、M51X、K53X、Q56X、S105X、およびN111Xという突然変異を含む、請求項3に記載の組成物。

【請求項 9】

前記IL-18バリエーションポリペプチドが、配列ID番号34～59、73～91、191～193のいずれか1つに記載のアミノ酸配列、またはその断片を含む、請求項2に記載の組成物。

【請求項 10】

前記IL-18バリエーションポリペプチドが、配列ID番号31に対し、N1X、M50X、Y51X、K52X、S54X、E55X、V56X、R57X、G58X、L59X、R104X、N109X、およびL151Xからなるグループから選択された少なくとも1個の突然変異を含む、請求項4に記載の組成物。 40

【請求項 11】

前記IL-18バリエーションポリペプチドが、配列ID番号31に対し、N1H、N1Y、M50A、M50S、M50V、M50G、M50T、Y51R、K52V、K52S、K52T、K52G、K52A、S54R、S54K、S54G、S54N、E55R、E55H、E55N、E55D、E55G、V56L、V56M、V56R、V56A、V56S、V56Q、R57G、R57K、G58A、L59K、L59R、L59V、R104K、R104L、R104Q、R104S、N109D、およびL151Vからなるグループから選択された少なくとも1個の突然変異を含む、請求項4に記載の組成物。

【請求項 12】

前記IL-18バリエーションポリペプチドが、配列ID番号60～72のいずれか1つに記載のアミノ酸配列、またはその断片を含む、請求項2に記載の組成物。 50

【請求項 1 3】

請求項1～12のいずれか1項に記載の組成物のIL-18バリエーションポリペプチドをコードする核酸を含む組成物。

【請求項 1 4】

(i) 免疫チェックポイント阻害剤；(ii) PD-L1、PD1、CTLA4、TIM3、TIGIT、LAG3、B7H3、B7H4、VISTA、ICOS、GITR、4-1BB、OX40、およびCD40から選択された1つ以上のタンパク質を抑制する薬剤；(iii) がん細胞オプソニン化剤；(iv) CD19、CD20、CD22、CD24、CD25、CD30、CD33、CD37、CD38、CD44、CD45、CD47、CD51、CD52、CD56、CD62L、CD70、CD74、CD79、CD80、CD96、CD97、CD99、CD123、CD134、CD138、CD152 (CTLA-4)、CD200、CD213A2、CD221、CD248、CD276 (B7-H3)、B7-H4、CD279 (PD-1)、CD274 (PD-L1)、CD319、EGFR、EPCAM、17-1A、HER1、HER2、HER3、CD117、C-Met、HGFR、PDGFRA、AXL、TWEAKR、PTHR2、HAVCR2 (TIM3)、GD2ガングリオシド、MUC1、ムチンCanAg、メソテリン、エンドグリン、ルイス-Y抗原、CEA、CEACAM1、CEACAM5、CA-125、PSMA、BAFF、FGFR2、TAG-72、ゼラチナーゼB、グリピカン3、ネクチン-4、BCMA、CSF1R、SLAMF7、インテグリン_{v₃}、TYRP1、GPNMB、CLDN18.2、FOLR1、CCR4、CXCR4、MICA、C242抗原、DLL3、DLL4、EGFL7、ピメンチン、フィブロネクチンエクストラドメイン-B、TROP-2、LRRC15、FAP、SLITRK6、NOTCH2、NOTCH3、テネイシン-3、STEAP1、およびNRP1から選択された1つ以上の抗原を標的とする薬剤；から選択された1つ以上の薬剤をさらに含む、請求項1～13のいずれか1項に記載の組成物。

10

【請求項 1 5】

疾患または障害の治療または予防を必要としている対象でその疾患または障害を治療または予防する方法であって、その対象に請求項1～14のいずれか1項に記載の組成物を投与することを含む方法。

20

【請求項 1 6】

前記疾患または障害が、がんである、請求項15に記載の方法。

【請求項 1 7】

前記がんが、免疫チェックポイント阻害剤 (ICI) に対して抵抗性のがんである、請求項16に記載の方法。

【請求項 1 8】

前記がんが、MHCクラスIの発現が消えている腫瘍と関係している、請求項16に記載の方法。

30

【請求項 1 9】

前記疾患または障害が、代謝性の疾患または障害である、請求項15に記載の方法。

【請求項 2 0】

前記疾患または障害が、感染性疾患である、請求項15に記載の方法。

【請求項 2 1】

前記IL-18バリエーションポリペプチドと少なくとも1つの他の薬剤を前記対象に投与することを含む、請求項15～20のいずれか1項に記載の方法。

【請求項 2 2】

前記少なくとも1つの他の薬剤が、免疫チェックポイント阻害剤を含む、請求項21に記載の方法。

40

【請求項 2 3】

前記免疫チェックポイント阻害剤が、PD-L1、PD1、CTLA4、TIM3、TIGIT、LAG3、B7H3、B7H4、VISTA、ICOS、GITR、4-1BB、OX40、またはCD40のいずれか、またはこれらの任意の組み合わせを抑制する薬剤である、請求項22に記載の方法。

【請求項 2 4】

前記少なくとも1つの他の薬剤が、がん細胞オプソニン化剤を含む、請求項21に記載の方法。

【請求項 2 5】

前記少なくとも1つの他の薬剤が、CD19、CD20、CD22、CD24、CD25、CD30、CD33、CD37

50

、CD38、CD44、CD45、CD47、CD51、CD52、CD56、CD62L、CD70、CD74、CD79、CD80、CD96、CD97、CD99、CD123、CD134、CD138、CD152 (CTLA-4)、CD200、CD213A2、CD221、CD248、CD276 (B7-H3)、B7-H4、CD279 (PD-1)、CD274 (PD-L1)、CD319、EGFR、EPCAM、17-1A、HER1、HER2、HER3、CD117、C-Met、HGFR、PDGFRA、AXL、TWEAKR、PTHR2、HAVCR2 (TIM3)、GD2ガングリオシド、MUC1、ムチンCanAg、メソテリン、エンドグリン、ルイス-Y抗原、CEA、CEACAMI、CEACAM5、CA-125、PSMA、BAFF、FGFR2、TAG-72、ゼラチナーゼB、グリピカン3、ネクチン-4、BCMA、CSF1R、SLAMF7、インテグリン α_3 、TYRP1、GPNMB、CLDN18.2、FOLR1、CCR4、CXCR4、MICA、C242抗原、DLL3、DLL4、EGFL7、ビメンチン、フィブロネクチンエクストラドメイン-B、TROP-2、LRRRC15、FAP、SLITRK6、NOTCH2、NOTCH3、テネイシン-3、STEAP1、およびNRP1から選択された1つ以上の抗原を標的とする、請求項24に記載の方法。

10

【請求項26】

前記少なくとも1つの他の薬剤が、前記IL-18バリエーションポリペプチドとコンジュゲートされる、請求項21～25のいずれか1項に記載の方法。

【請求項27】

前記少なくとも1つの他の薬剤が、変化したT細胞またはNK細胞である、請求項21に記載の方法。

【請求項28】

前記少なくとも1つの他の薬剤が、腫瘍溶解性ウイルスである、請求項21に記載の方法。

20

【請求項29】

IL-18BP阻害剤またはIL-18BPアンタゴニストを含んでいて、その阻害剤またはアンタゴニストが、IL-18BPが内在性IL-18を中和する能力を抑制する組成物。

【請求項30】

前記阻害剤またはアンタゴニストが、化合物、ポリペプチド、ペプチド、ペプチド模倣体、抗体、リボザイム、小分子化合物、アンチセンス核酸分子からなるグループから選択された少なくとも1つを含む、請求項29に記載の組成物。

【請求項31】

IL-18バリエーションポリペプチドを含んでいて、そのIL-18バリエーションポリペプチドがIL-18結合タンパク質 (IL-18BP) に特異的に結合するとともに、そのIL-18バリエーションポリペプチドがIL-18受容体 (IL-18R) に対して実質的に減少した結合を示す、請求項30に記載の組成物。

30

【請求項32】

前記IL-18バリエーションポリペプチドが、野生型 (WT) IL-18に対し少なくとも1個の突然変異を含む、請求項31に記載の組成物。

【請求項33】

前記WT IL-18が、配列ID番号30のアミノ酸配列を含むヒトIL-18である、請求項32に記載の組成物。

【請求項34】

前記WT IL-18が、配列ID番号31のアミノ酸配列を含むマウスIL-18である、請求項32に記載の組成物。

40

【請求項35】

前記IL-18バリエーションポリペプチドが、配列ID番号30に対し、Y1X、L5X、D17X、E31X、T34X、D35X、S36X、D37X、D40X、N41X、M51X、Q56X、M60X、Q103X、H109X、M113X、およびR131Xからなるグループから選択された少なくとも1個の突然変異を含む、請求項33に記載の組成物。

【請求項36】

前記IL-18バリエーションポリペプチドが、配列ID番号30に対し、Y1D、Y1F、Y1H、Y1L、L5F、L5H、D17A、D17G、D17R、D17H、E31A、E31T、E31G、E31K、E31R、T34A、T34K、T34E、D35S、D35A、D35Y、S36N、S36K、S36R、D37P、D37A、D37R、D37H、D37L、D37V、D40Y、D40S

50

、D40A、N41K、N41S、N41R、M51F、M51L、M51I、Q56H、M60L、M60F、M60I、Q103L、Q103I、H109A、H109P、H109D、M113L、M113I、M113F、およびR131Sからなるグループから選択された少なくとも1個の突然変異を含む、請求項33に記載の組成物。

【請求項37】

前記IL-18バリエーションポリペプチドが、配列ID番号92～125のいずれか1つに記載のアミノ酸配列、またはその断片を含む、請求項33に記載の組成物。

【請求項38】

前記IL-18バリエーションポリペプチドが、配列ID番号30に対し、D17X、E30X、およびQ103Xという突然変異を含む、請求項33に記載の組成物。

【請求項39】

前記IL-18バリエーションポリペプチドが、配列ID番号30に対し、D17X、E30X、D35X、M51X、およびQ103Xという突然変異を含む、請求項33に記載の組成物。

【請求項40】

前記IL-18バリエーションポリペプチドが、配列ID番号31に対し、N1X、L5X、D17X、E30X、T33X、D34X、I35X、D36X、M50X、Q102X、R104、H108X、N109X、M111X、D129X、およびD130Xからなるグループから選択された少なくとも1個の突然変異を含む、請求項34に記載の組成物。

【請求項41】

前記IL-18バリエーションポリペプチドが、配列ID番号31に対し、N1Y、N1D、N1H、N1L、N1F、N1V、N1I、L5Y、L5H、D17Q、D17G、D17A、D17E、D17S、D17N、E30A、E30R、E30K、E30T、E30G、T33G、T33A、T33E、T33R、T33K、D34Y、D34S、D34A、I35T、I35K、I35R、D36V、D36A、D36G、D36H、D36P、D36R、D36L、M50F、M50L、Q102L、Q102I、R104E、R104A、R104P、R104G、R104Q、R104H、H108D、H108A、N109R、N109S、N109T、N109L、M111L、M111I、D129A、D129F、D129V、D129Y、D129S、D130E、D130T、D130G、D130N、D130R、D130S、D130Q、およびD130Hからなるグループから選択された少なくとも1個の突然変異を含む、請求項34に記載の組成物。

【請求項42】

前記IL-18バリエーションポリペプチドが、配列ID番号：126～190のいずれか1つに記載のアミノ酸配列、またはその断片を含む、請求項34に記載の組成物。

【請求項43】

請求項31～42のいずれか1項に記載の組成物のIL-18バリエーションポリペプチドをコードする核酸を含む組成物。

【請求項44】

(i) 免疫チェックポイント阻害剤；(ii) PD-L1、PDI、CTLA4、TIM3、TIGIT、LAG3、B7H3、B7H4、VISTA、ICOS、GITR、4-1BB、OX40、CD40から選択された1つ以上のタンパク質を抑制する薬剤；(iii) がん細胞オプソニン化剤；(iv) CD19、CD20、CD22、CD24、CD25、CD30、CD33、CD37、CD38、CD44、CD45、CD47、CD51、CD52、CD56、CD62L、CD70、CD74、CD79、CD80、CD96、CD97、CD99、CD123、CD134、CD138、CD152 (CTLA-4)、CD200、CD213A2、CD221、CD248、CD276 (B7-H3)、B7-H4、CD279 (PD-1)、CD274 (PD-L1)、CD319、EGFR、EPCAM、17-1A、HER1、HER2、HER3、CD117、C-Met、HGFR、PDGFRA、AXL、TWEAKR、PTHR2、HAVCR2 (TIM3)、GD2ガングリオシド、MUC1、ムチンCanAg、メソテリン、エンドグリン、ルイス-Y抗原、CEA、CEACAM1、CEACAM5、CA-125、PSMA、BAFF、FGFR2、TAG-72、ゼラチナーゼB、グリピカン3、ネクチン-4、BCMA、CSF1R、SLAMF7、インテグリン_{v₃}、TYRP1、GPNMB、CLDN18.2、FOLR1、CCR4、CXCR4、MICA、C242抗原、DLL3、DLL4、EGFL7、ピメンチン、フィブロネクチンエクストラドメイン-B、TROP-2、LRRC15、FAP、SLITRK6、NOTCH2、NOTCH3、テネイシン-3、STEAP1、およびNRP1から選択された1つ以上の抗原を標的とする薬剤；から選択された1つ以上の薬剤をさらに含む、請求項19～43のいずれか1項に記載の組成物。

【請求項45】

疾患または障害を治療または予防を必要としている対象でその疾患または障害を治療ま

10

20

30

40

50

たは予防する方法であって、その対象に請求項29～44のいずれか1項に記載の組成物を投与することを含む方法。

【請求項46】

前記疾患または障害が、がんである、請求項45に記載の方法。

【請求項47】

前記がんが、免疫チェックポイント阻害剤（ICI）に対して抵抗性のがんである、請求項46に記載の方法。

【請求項48】

前記がんが、MHCクラスIの発現が消えている腫瘍と関係している、請求項46に記載の方法。

10

【請求項49】

前記疾患または障害が、代謝性の疾患または障害である、請求項45に記載の方法。

【請求項50】

前記疾患または障害が、感染性疾患である、請求項45に記載の方法。

【請求項51】

前記IL-18BP阻害剤または前記IL-18BPアンタゴニストに加えて少なくとも1つの他の薬剤を前記対象に投与することを含む、請求項45～50のいずれか1項に記載の方法。

【請求項52】

前記少なくとも1つの他の薬剤が、免疫チェックポイント阻害剤を含む、請求項51に記載の方法。

20

【請求項53】

前記免疫チェックポイント阻害剤が、PD-L1、PD1、CTLA4、TIM3、TIGIT、LAG3、B7H3、B7H4、VISTA、ICOS、GITR、4-1BB、OX40、またはCD40のいずれか、またはこれらの任意の組み合わせを抑制する薬剤である、請求項52に記載の方法。

【請求項54】

前記少なくとも1つの他の薬剤が、がん細胞オプソニン化剤を含む、請求項51に記載の方法。

【請求項55】

前記少なくとも1つの他の薬剤が、CD19、CD20、CD22、CD24、CD25、CD30、CD33、CD37、CD38、CD44、CD45、CD47、CD51、CD52、CD56、CD62L、CD70、CD74、CD79、CD80、CD96、CD97、CD99、CD123、CD134、CD138、CD152（CTLA-4）、CD200、CD213A2、CD221、CD248、CD276（B7-H3）、B7-H4、CD279（PD-1）、CD274（PD-L1）、CD319、EGFR、EPCAM、17-1A、HER1、HER2、HER3、CD117、C-Met、HGFR、PDGFRA、AXL、TWEAKR、PTHR2、HAVCR2（TIM3）、GD2ガングリオシド、MUC1、ムチンCanAg、メソテリン、エンドグリン、ルイス-Y抗原、CEA、CEACAM1、CEACAM5、CA-125、PSMA、BAFF、FGFR2、TAG-72、ゼラチナーゼB、グリピカン3、ネクチン-4、BCMA、CSF1R、SLAMF7、インテグリン_{v₃}、TYRP1、GPMB、CLDN18.2、FOLR1、CCR4、CXCR4、MICA、C242抗原、DLL3、DLL4、EGFL7、ピメンチン、フィブロネクチンエクストラドメイン-B、TROP-2、LRRC15、FAP、SLITRK6、NOTCH2、NOTCH3、テネイシン-3、STEAP1、およびNRP1から選択された1つ以上の抗原を標的とする、請求項51に記載の方法。

30

40

【請求項56】

前記阻害剤またはアンタゴニストがIL-18パリアントポリペプチドであり、前記少なくとも1つの他の薬剤が、そのIL-18パリアントポリペプチドとコンジュゲートされる、請求項51～55のいずれか1項に記載の方法。

【請求項57】

前記少なくとも1つの他の薬剤が、変化したT細胞またはNK細胞である、請求項51に記載の方法。

【請求項58】

前記少なくとも1つの他の薬剤が、腫瘍溶解性ウイルスである、請求項51に記載の方法。

50

【発明の詳細な説明】**【背景技術】****【0001】****相互参照**

本出願は、2017年9月6日に出願されたアメリカ合衆国仮特許出願第62/554,605号と、2018年4月3日に出願された第62/652,279号の便益を主張するものであり、それぞれの出願の全体が、参照によって本明細書に組み込まれている。

【0002】

インターロイキン-18(IL-18)は、T細胞、NK細胞、骨髄細胞を刺激する炎症促進性サイトカインである。IL-18は抗腫瘍免疫細胞を刺激する能力を有するため、がんを治療するための免疫療法剤として以前から提案されてきた。しかし、IL-18の臨床効果は限定されている。

10

【発明の概要】**【発明が解決しようとする課題】****【0003】**

そのため、がんやそれ以外の疾患と障害を治療・予防するために効果的なIL-18シグナル伝達活性を提供する組成物と方法が必要とされている。本発明はこの満たされていない必要性に対処する。

【課題を解決するための手段】**【0004】**

一態様において、本開示は、IL-18バリエーションポリペプチドを含む組成物に関する。いくつかの実施態様では、IL-18バリエーションポリペプチドは、IL-18受容体(IL-18R)に特異的に結合するとともに、IL-18結合タンパク質(IL-18BP)に対して実質的に減少した結合を示す。

20

【0005】

いくつかの実施態様では、IL-18バリエーションポリペプチドは、野生型(WT)IL-18に対し少なくとも1個の突然変異を含んでいる。いくつかの実施態様では、WT IL-18は、配列ID番号30のアミノ酸配列を含むヒトIL-18である。いくつかの実施態様では、WT IL-18は、配列ID番号31のアミノ酸配列を含むマウスIL-18である。

【0006】

いくつかの実施態様では、IL-18バリエーションポリペプチドは、配列ID番号30に対し、Y1X、L5X、K8X、M51X、K53X、S55X、Q56X、P57X、G59X、M60X、E77X、Q103X、S105X、D110X、N111X、M113X、V153X、およびN155Xからなるグループから選択された少なくとも1個の突然変異を含んでいる。

30

【0007】

いくつかの実施態様では、IL-18バリエーションポリペプチドは、配列ID番号30に対し、Y1H、Y1R、L5H、L5I、L5Y、K8Q、K8R、M51T、M51K、M51D、M51N、M51E、M51R、K53R、K53G、K53S、K53T、S55K、S55R、Q56E、Q56A、Q56R、Q56V、Q56G、Q56K、Q56L、P57L、P57G、P57A、P57K、G59T、G59A、M60K、M60Q、M60R、M60L、E77D、Q103E、Q103K、Q103P、Q103A、Q103R、S105R、S105D、S105K、S105N、S105A、D110H、D110K、D110N、D110Q、D110E、D110S、D110G、N111H、N111Y、N111D、N111R、N111S、N111G、M113V、M113R、M113T、M113K、V153I、V153T、V153A、N155K、およびN155Hからなるグループから選択された少なくとも1個の突然変異を含んでいる。

40

【0008】

いくつかの実施態様では、IL-18バリエーションポリペプチドは、配列ID番号30に対し、M51X、M60X、S105X、D110X、およびN111Xという変異を含んでいる。

【0009】

いくつかの実施態様では、IL-18バリエーションポリペプチドは、配列ID番号30に対し、M51X、K53X、Q56X、S105X、およびN111Xという変異を含んでいる。

【0010】

50

いくつかの実施態様では、IL-18パリアントポリペプチドは、配列ID番号34～59、73～91、191～193のいずれか1つに記載のアミノ酸配列、またはその断片を含んでいる。

【0011】

いくつかの実施態様では、IL-18パリアントポリペプチドは、配列ID番号31に対し、N1X、M50X、Y51X、K52X、S54X、E55X、V56X、R57X、G58X、L59X、R104X、N109X、およびL151Xからなるグループから選択された少なくとも1個の突然変異を含んでいる。

【0012】

いくつかの実施態様では、IL-18パリアントポリペプチドは、配列ID番号31に対し、N1H、N1Y、M50A、M50S、M50V、M50G、M50T、Y51R、K52V、K52S、K52T、K52G、K52A、S54R、S54K、S54G、S54N、E55R、E55H、E55N、E55D、E55G、V56L、V56M、V56R、V56A、V56S、V56Q、R57G、R57K、G58A、L59K、L59R、L59V、R104K、R104L、R104Q、R104S、N109D、およびL151Vからなるグループから選択された少なくとも1個の突然変異を含んでいる。

10

【0013】

いくつかの実施態様では、IL-18パリアントポリペプチドは、配列ID番号60～72のいずれか1つに記載のアミノ酸配列、またはその断片を含んでいる。

【0014】

1つの態様において、本開示は、IL-18パリアントポリペプチドをコードする核酸を含む組成物に関する。

【0015】

いくつかの実施態様では、この組成物はさらに、(i) 免疫チェックポイント阻害剤；(ii) PD-L1、PD1、CTLA4、TIM3、TIGIT、LAG3、B7H3、B7H4、VISTA、ICOS、GITR、4-1BB、OX40、およびCD40から選択された1つ以上のタンパク質を抑制する薬剤；(iii) がん細胞オプソニン化剤；(iv) CD19、CD20、CD22、CD24、CD25、CD30、CD33、CD37、CD38、CD44、CD45、CD47、CD51、CD52、CD56、CD62L、CD70、CD74、CD79、CD80、CD96、CD97、CD99、CD123、CD134、CD138、CD152 (CTLA-4)、CD200、CD213A2、CD221、CD248、CD276 (B7-H3)、B7-H4、CD279 (PD-1)、CD274 (PD-L1)、CD319、EGFR、EPCAM、17-1A、HER1、HER2、HER3、CD117、C-Met、HGFR、PDGFRA、AXL、TWEAKR、PTHR2、HAVCR2 (TIM3)、GD2ガングリオシド、MUC1、ムチンCanAg、メソテリン、エンドグリン、ルイス-Y抗原、CEA、CEACAM1、CEACAM5、CA-125、PSMA、BAFF、FGFR2、TAG-72、ゼラチナーゼB、グリピカン3、ネクチン-4、BCMA、CSF1R、SLAMF7、インテグリン_{v₃}、TYRP1、GPNMB、CLDN18.2、FOLR1、CCR4、CXCR4、MICA、C242抗原、DLL3、DLL4、EGFL7、ビメンチン、フィブロネクチンエクストラドメイン-B、TROP-2、LRRRC15、FAP、SLITRK6、NOTCH2、NOTCH3、テネイシン-3、STEAP1、およびNRP1から選択された1つ以上の抗原を標的とする薬剤；から選択された1つ以上の薬剤を含んでいる。

20

30

【0016】

1つの態様において、本開示は、疾患または障害の治療または予防を必要としている対象においてその疾患または障害を治療または予防する方法に関するものであり、この方法は、その対象に、IL-18パリアントポリペプチドを含むか、IL-18パリアントポリペプチドをコードする核酸を含む組成物を投与することを含んでいる。

【0017】

いくつかの実施態様では、疾患または障害は、がんである。いくつかの実施態様では、がんは、免疫チェックポイント阻害剤 (ICI) に対して抵抗性のがんである。いくつかの実施態様では、がんは、MHCクラスIの発現が消えている腫瘍と関係している。

40

【0018】

いくつかの実施態様では、疾患または障害は、代謝性の疾患または障害である。いくつかの実施態様では、疾患または障害は、感染性疾患である。

【0019】

いくつかの実施態様では、上記の方法は、IL-18パリアントポリペプチドと少なくとも1つの他の薬剤を対象に投与することを含んでいる。いくつかの実施態様では、その少なくとも1つの他の薬剤は、免疫チェックポイント阻害剤を含んでいる。いくつかの実施態様

50

では、その免疫チェックポイント阻害剤は、PD-L1、PD1、CTLA4、TIM3、TIGIT、LAG3、B7H3、B7H4、VISTA、ICOS、GITR、4-1BB、OX40、またはCD40のいずれか、またはこれらの任意の組み合わせを抑制する薬剤である。いくつかの実施態様では、上記の少なくとも1つの他の薬剤は、がん細胞オプソニン化剤を含んでいる。いくつかの実施態様では、その少なくとも1つの他の薬剤は、CD19、CD20、CD22、CD24、CD25、CD30、CD33、CD37、CD38、CD44、CD45、CD47、CD51、CD52、CD56、CD62L、CD70、CD74、CD79、CD80、CD96、CD97、CD99、CD123、CD134、CD138、CD152 (CTLA-4)、CD200、CD213A2、CD221、CD248、CD276 (B7-H3)、B7-H4、CD279 (PD-1)、CD274 (PD-L1)、CD319、EGFR、EPCAM、17-1A、HER1、HER2、HER3、CD117、C-Met、HGFR、PDGFRA、AXL、TWEAKR、PTHR2、HAVCR2 (TIM3)、GD2ガングリオシド、MUC1、ムチンCanAg、メソテリン、エンドグリン、ルイス-Y抗原、CEA、CEACAM1、CEACAM5、CA-125、PSMA、BAFF、FGFR2、TAG-72、ゼラチナーゼB、グリピカン3、ネクチン-4、BCMA、CSF1R、SLAMF7、インテグリン_{v₃}、TYRP1、GPNMB、CLDN18.2、FOLR1、CCR4、CXCR4、MICA、C242抗原、DLL3、DLL4、EGFL7、ビメンチン、フィブロネクチンエクストラドメイン-B、TROP-2、LRRC15、FAP、SLITRK6、NOTCH2、NOTCH3、テネイシン-3、STEAP1、およびNRP1から選択された1つ以上の抗原を標的とする。いくつかの実施態様では、上記の少なくとも1つの他の薬剤は、IL-18パリアントポリペプチドとコンジュゲートされる。いくつかの実施態様では、その少なくとも1つの他の薬剤は、変化したT細胞またはNK細胞である。いくつかの実施態様では、その少なくとも1つの他の薬剤は、腫瘍溶解性ウイルスである。

10

20

30

40

50

【0020】

1つの態様において、本開示は、IL-18結合タンパク質 (IL-18BP) 阻害剤またはIL-18BPアンタゴニストを含む組成物に関するものであり、この組成物では、その阻害剤またはアンタゴニストが、IL-18BPが内在性IL-18を中和する能力を抑制する。いくつかの実施態様では、その阻害剤またはアンタゴニストは、化合物、ポリペプチド、ペプチド、ペプチド模倣体、抗体、リボザイム、小分子化合物、アンチセンス核酸分子からなるグループから選択された少なくとも1つを含んでいる。

【0021】

いくつかの実施態様では、組成物はIL-18パリアントポリペプチドを含んでいて、このIL-18パリアントポリペプチドはIL-18BPに特異的に結合するとともに、このIL-18パリアントポリペプチドはIL-18受容体 (IL-18R) に対して実質的に減少した結合を示す。

【0022】

いくつかの実施態様では、IL-18パリアントポリペプチドは、野生型 (WT) IL-18に対し少なくとも1個の突然変異を含んでいる。いくつかの実施態様では、WT IL-18は、配列ID番号30のアミノ酸配列を含むヒトIL-18である。いくつかの実施態様では、WT IL-18は、配列ID番号31のアミノ酸配列を含むマウスIL-18である。

【0023】

いくつかの実施態様では、IL-18パリアントポリペプチドは、配列ID番号30に対し、Y1X、L5X、D17X、E31X、T34X、D35X、S36X、D37X、D40X、N41X、M51X、Q56X、M60X、Q103X、H109X、M113X、およびR131Xからなるグループから選択された少なくとも1個の突然変異を含んでいる。

【0024】

いくつかの実施態様では、IL-18パリアントポリペプチドは、配列ID番号30に対し、Y1D、Y1F、Y1H、Y1L、L5F、L5H、D17A、D17G、D17R、D17H、E31A、E31T、E31G、E31K、E31R、T34A、T34K、T34E、D35S、D35A、D35Y、S36N、S36K、S36R、D37P、D37A、D37R、D37H、D37L、D37V、D40Y、D40S、D40A、N41K、N41S、N41R、M51F、M51L、M51I、Q56H、M60L、M60F、M60I、Q103L、Q103I、H109A、H109P、H109D、M113L、M113I、M113F、およびR131Sからなるグループから選択された少なくとも1個の突然変異を含んでいる。

【0025】

いくつかの実施態様では、IL-18パリアントポリペプチドは、配列ID番号92~125のいずれか1つに記載のアミノ酸配列、またはその断片を含んでいる。

【 0 0 2 6 】

いくつかの実施態様では、IL-18パリアントポリペプチドは、配列ID番号30に対し、D17X、E30X、およびQ103Xという突然変異を含んでいる。

【 0 0 2 7 】

いくつかの実施態様では、IL-18パリアントポリペプチドは、配列ID番号30に対し、D17X、E30X、D35X、M51X、およびQ103Xという突然変異を含んでいる。

【 0 0 2 8 】

いくつかの実施態様では、IL-18パリアントポリペプチドは、配列ID番号31に対し、N1X、L5X、D17X、E30X、T33X、D34X、I35X、D36X、M50X、Q102X、R104、H108X、N109X、M111X、D129X、およびD130Xからなるグループから選択された少なくとも1個の突然変異を含んでいる。

10

【 0 0 2 9 】

いくつかの実施態様では、IL-18パリアントポリペプチドは、配列ID番号31に対し、N1Y、N1D、N1H、N1L、N1F、N1V、N1I、L5Y、L5H、D17Q、D17G、D17A、D17E、D17S、D17N、E30A、E30R、E30K、E30T、E30G、T33G、T33A、T33E、T33R、T33K、D34Y、D34S、D34A、I35T、I35K、I35R、D36V、D36A、D36G、D36H、D36P、D36R、D36L、M50F、M50L、Q102L、Q102I、R104E、R104A、R104P、R104G、R104Q、R104H、H108D、H108A、N109R、N109S、N109T、N109I、M111L、M111I、D129A、D129F、D129V、D129Y、D129S、D130E、D130T、D130G、D130N、D130R、D130S、D130Q、およびD130Hからなるグループから選択された少なくとも1個の突然変異を含んでいる。

20

【 0 0 3 0 】

いくつかの実施態様では、IL-18パリアントポリペプチドは、配列ID番号126～190のいずれか1つに記載のアミノ酸配列、またはその断片を含んでいる。

【 0 0 3 1 】

1つの態様において、本開示は、IL-18パリアントポリペプチドをコードする核酸を含む組成物に関する。

【 0 0 3 2 】

1つの態様において、この組成物はさらに、(i)免疫チェックポイント阻害剤；(ii)PD-L1、PDI、CTLA4、TIM3、TIGIT、LAG3、B7H3、B7H4、VISTA、ICOS、GITR、4-1BB、OX40、およびCD40から選択された1つ以上のタンパク質を抑制する薬剤；(iii)がん細胞オプソニン化剤；(iv)CD19、CD20、CD22、CD24、CD25、CD30、CD33、CD37、CD38、CD44、CD45、CD47、CD51、CD52、CD56、CD62L、CD70、CD74、CD79、CD80、CD96、CD97、CD99、CD123、CD134、CD138、CD152 (CTLA-4)、CD200、CD213A2、CD221、CD248、CD276 (B7-H3)、B7-H4、CD279 (PD-1)、CD274 (PD-L1)、CD319、EGFR、EPCAM、17-1A、HER1、HER2、HER3、CD117、C-Met、HGFR、PDGFRA、AXL、TWEAKR、PTHR2、HAVCR2 (TIM3)、GD2ガングリオシド、MUC1、ムチンCanAg、メソテリン、エンドグリン、ルイス-Y抗原、CEA、CEACAM1、CEACAM5、CA-125、PSMA、BAFF、FGFR2、TAG-72、ゼラチナーゼB、グリピカン3、ネクチン-4、BCMA、CSF1R、SLAMF7、インテグリン_{v₃}、TYRP1、GPNMB、CLDN18.2、FOLR1、CCR4、CXCR4、MICA、C242抗原、DLL3、DLL4、EGFL7、ビメンチン、フィブロネクチンエクストラドメイン-B、TROP-2、LRRRC15、FAP、SLITRK6、NOTCH2、NOTCH3、テネイシン-3、STEAP1、およびNRP1から選択された1つ以上の抗原を標的とする薬剤；から選択された1つ以上の薬剤を含んでいる。

30

40

【 0 0 3 3 】

1つの態様において、本開示は、疾患または障害の治療または予防を必要としている対象におけるその疾患または障害を治療または予防する方法に関するものであり、この方法は、その対象に、IL-18結合タンパク質 (IL-18BP) 阻害剤またはIL-18BPアンタゴニストを含む組成物を投与することを含んでいる。

【 0 0 3 4 】

いくつかの実施態様では、疾患または障害は、がんである。いくつかの実施態様では、がんは、免疫チェックポイント阻害剤 (ICI) に対して抵抗性のがんである。いくつかの

50

実施態様では、がんは、MHCクラスIの発現が消えている腫瘍と関係している。

【0035】

いくつかの実施態様では、疾患または障害は、代謝性の疾患または障害である。いくつかの実施態様では、疾患または障害は、感染性疾患である。

【0036】

いくつかの実施態様では、上記の方法は、IL-18BP阻害剤またはIL-18BPアンタゴニストに加えて少なくとも1つの他の薬剤を対象に投与することを含んでいる。いくつかの実施態様では、その少なくとも1つの他の薬剤は、免疫チェックポイント阻害剤を含んでいる。いくつかの実施態様では、その免疫チェックポイント阻害剤は、PD-L1、PD1、CTLA4、TIM3、TIGIT、LAG3、B7H3、B7H4、VISTA、ICOS、GITR、4-1BB、OX40、またはCD40のいずれか、またはこれらの任意の組み合わせを抑制する薬剤である。いくつかの実施態様では、上記の少なくとも1つの他の薬剤は、がん細胞オプソニン化剤を含んでいる。いくつかの実施態様では、その少なくとも1つの他の薬剤は、CD19、CD20、CD22、CD24、CD25、CD30、CD33、CD37、CD38、CD44、CD45、CD47、CD51、CD52、CD56、CD62L、CD70、CD74、CD79、CD80、CD96、CD97、CD99、CD123、CD134、CD138、CD152 (CTLA-4)、CD200、CD213A2、CD221、CD248、CD276 (B7-H3)、B7-H4、CD279 (PD-1)、CD274 (PD-L1)、CD319、EGFR、EPCAM、17-1A、HER1、HER2、HER3、CD117、C-Met、HGFR、PDGFRA、AXL、TWEAKR、PTHR2、HAVCR2 (TIM3)、GD2ガングリオシド、MUC1、ムチンCanAg、メソテリン、エンドグリン、ルイス-Y抗原、CEA、CEACAM1、CEACAM5、CA-125、PSMA、BAFF、FGFR2、TAG-72、ゼラチナーゼB、グリピカン3、ネクチン-4、BCMA、CSF1R、SLAMF7、インテグリン_{v₃}、TYRP1、GPNMB、CLDN18.2、FOLR1、CCR4、CXCR4、MICA、C242抗原、DLL3、DLL4、EGFL7、ビメンチン、フィブロネクチンエクストラドメイン-B、TROP-2、LRRC15、FAP、SLITRK6、NOTCH2、NOTCH3、テネニン-3、STEAP1、およびNRP1から選択された1つ以上の抗原を標的とする。いくつかの実施態様では、上記の阻害剤またはアンタゴニストはIL-18バリエーションポリペプチドであり、上記の少なくとも1つの他の薬剤はそのIL-18バリエーションポリペプチドとコンジュゲートされる。いくつかの実施態様では、その少なくとも1つの他の薬剤は、変化したT細胞またはNK細胞である。いくつかの実施態様では、その少なくとも1つの他の薬剤は、腫瘍溶解性ウイルスである。

10

20

【0037】

本発明の実施態様に関する以下の詳細な記述は、添付の図面と組み合わせて読むことでよりよく理解されよう。本発明は、図面に示されている実施態様の正確な配置と装置に限定されないことを理解すべきである。

30

【図面の簡単な説明】

【0038】

【図1A】図1Aと図1Bは、IL-18経路が腫瘍免疫療法の標的であることを実証する実施例の実験からの結果を示している。(図1A)活性化された腫瘍T細胞プログラムと機能障害の腫瘍T細胞プログラムの両方においてIL-18経路(IL-18とその受容体のサブユニットを含む)が上方調節されていることが、CD8⁺ TILの中のサイトカインと受容体のRNAseq発現分析に見られる。遺伝子には、ナイーブT細胞と比較した「活性化」スコアと「機能障害」スコアが割り当てられている。黄色で強調して示されているのは、IL-18サイトカイン、IL-18R1 (R₁)、IL-18RAP (R₂)である。データは、Singerら (Singer, M.他、2016年、Cell、第166巻: 1500~1511ページ、e1509)からのものを改変した。(図1B) IL-18受容体のサブユニットであるIL-18R₁とIL-18R₂は、慢性的抗原曝露を伴う遺伝子発現プログラムの一部であり、LCMV (左; CD4) またはVSV-OVA (右; CD8) を感染させた後の状態が見られる。データは、ImmGenデータベースに由来する。

40

【図1B】図1Aと図1Bは、IL-18経路が腫瘍免疫療法の標的であることを実証する実施例の実験からの結果を示している。(図1A)活性化された腫瘍T細胞プログラムと機能障害の腫瘍T細胞プログラムの両方においてIL-18経路(IL-18とその受容体のサブユニットを含む)が上方調節されていることが、CD8⁺ TILの中のサイトカインと受容体のRNAseq発現分析に見られる。遺伝子には、ナイーブT細胞と比較した「活性化」スコアと「機能障害

50

」スコアが割り当てられている。黄色で強調して示されているのは、IL-18サイトカイン、IL-18R1 (R)、IL-18RAP (R) である。データは、Singerら (Singer, M.他、2016年、Cell、第166巻：1500～1511ページ、e1509) からのものを改変した。(図1B) IL-18受容体のサブユニットであるIL-18R とIL-18R は、慢性的抗原曝露を伴う遺伝子発現プログラムの一部であり、LCMV (左；CD4) またはVSV-OVA (右；CD8) を感染させた後の状態が見られる。データは、ImmGenデータベースに由来する。

【図2】図2A～図2Cは、IL-18BPが「可溶性免疫療法チェックポイント」の特徴を持つことを実証する実施例の実験からの結果を示している。(図2A) IL-18BPは、インターフェロン- (IFN-) によって駆動されるIL-18のネガティブフィードバックを媒介しており、免疫療法チェックポイントPD-L1によるネガティブフィードバックを想起させる。IL-18 /IFN- /IL-18BPフィードバックループの模式図を示してある。黒色の矢印は刺激を示し、赤色の回路は抑制を示す。(図2B) IL-18BPは、胃がんと乳がんで上方調節されていることが、TCGAデータベースとOncomineデータベースからのデータに見られる。(図2C) (TCGAデータベースからの) 多数の乳がんサンプルと胃がんサンプルにおいてPD-1の発現とIL-18BPの発現が強く相関している。それぞれ $R=0.78$ と 0.65 。

【図3A】図3A～図3Cは、酵母による提示を利用してIL-18BPとは独立なヒトIL-18バリエーションを作製することを示す実施例の実験からの結果を示している。(図3A) IL-18：IL-18BPインターフェイスの残基をランダム化するため構造に基づくライブラリを設計し、酵母提示系に導入した。磁性と蛍光セルソーティングを利用して酵母クローンをIL-18R への結合に関して選択するとともに、IL-18BPに関してカウンターセレクトした。(図3B) IL-18BP抵抗性IL-18バリエーションを生成させるための指向性進化のまとめ。青色の文字は陽性選択の条件を示し、赤色の文字はカウンターセレクトを示す。(図3C) 指向性進化の後に酵母が提示したWT IL-18 (左) またはバリエーション (右) のフローサイトメトリーによる分析。y軸はIL-18BPへの結合を示し、x軸はIL-18R への結合を示す。指向性進化を5ラウンド実施した後に残っているクローンは、IL-18BPよりもIL-18R をはるかに好んだ。

【図3B-C】図3A～図3Cは、酵母による提示を利用してIL-18BPとは独立なヒトIL-18バリエーションを作製することを示す実施例の実験からの結果を示している。(図3A) IL-18：IL-18BPインターフェイスの残基をランダム化するため構造に基づくライブラリを設計し、酵母提示系に導入した。磁性と蛍光セルソーティングを利用して酵母クローンをIL-18R への結合に関して選択するとともに、IL-18BPに関してカウンターセレクトした。(図3B) IL-18BP抵抗性IL-18バリエーションを生成させるための指向性進化のまとめ。青色の文字は陽性選択の条件を示し、赤色の文字はカウンターセレクトを示す。(図3C) 指向性進化の後に酵母が提示したWT IL-18 (左) またはバリエーション (右) のフローサイトメトリーによる分析。y軸はIL-18BPへの結合を示し、x軸はIL-18R への結合を示す。指向性進化を5ラウンド実施した後に残っているクローンは、IL-18BPよりもIL-18R をはるかに好んだ。

【図4】図4は実施例の実験からの結果を示しており、デコイ (おとり) 抵抗性ヒトIL-18 (「DR-IL-18」と表記し、「DR-18」とも呼ぶ) バリエーションの配列がまとめられている。成熟形態の野生型ヒトIL-18における突然変異したそれぞれの位置とそれに対応する残基が、表の上部に示されている。hC4～hE12は、指向性進化で選択した後に得られた配列を表わす。hCS1～hCS4は、選択された配列から求めたコンセンサス配列である。網線の残基は、観察された最もよく保存されている5個の突然変異を表わす。

【図5】図5Aと図5Bは、ヒトDR-IL-18バリエーションの生物物理学的特徴を明らかにする実施例の実験からの結果を示している。(図5A) 酵母が提示するDR-IL-18バリエーションhCS1～hCS4とA8はhIL-18R に、WTヒトIL-18と同等の結合等温線で結合することができる (左)。それとは対照的に、同じバリエーションとhIL-18BPの間には結合がほとんど観察されない (右)。(図5B) 固定化されたピオチニル化ヒトIL-18BPとDR-IL-18バリエーションの間の代表的な表面プラズモン共鳴センサーグラム。組み換えhIL-18 (左) はIL-18BPに極めて大きな親和性 $K_D=2.0$ pMで結合するのに対してhCS1 (右) は大きく減少した結合を示し、はるか

に大きな解離速度と $K_D = 15.2$ nMを持つ。このデータは表6と表7にまとめられている。

【図6】図6Aと図6Bは、ヒトDR-IL-18バリエーションがIL-18BPによって抑制されないことを実証する実施例の実験からの結果を示している。(図6A)組み換えIL-18BPは、酵母が提示するWT IL-18にピオチニル化IL-18R が結合するのを抑制するが、DR-IL-18バリエーションhCS1~hCS4とA8には影響を与えない(左)。それとは対照的に、IL-18BPは、以前に報告されているIL-18 E42A、K89A、E42A/K89Aを効果的に中和する(Kim他、2001年、Proc. Natl. Acad. Sci.、第98巻(6):3304~3309ページ)(右)[KimらのE42とK89はそれぞれ、配列ID番号30のE6とK53である]。ピオチニル化IL-18R は、すべてのサンプルで濃度を100 nMの固定値に維持した。(図6B)WT IL-18と、hCS1、hCS3、hCS4は、IL-18 HEK-Blue レポーター細胞を、同程度の効力と効果で刺激する(左)。野生型IL-18は、このアッセイにおいて組み換えIL-18BPの適用に対する感受性が大きい($IC_{50} = 3$ nM)のに対し、hCS1とhCS3は、IL-18BPの濃度が1 μ Mでさえ、組み換えIL-18BPによる抑制がない(右)。hIL-18は濃度を5 nMの固定値に維持し、hCS1とhCS3は濃度を2.5 nMの固定値に維持した。

10

【図7】図7A~図7Cは、酵母による提示を利用してIL-18BPとは独立な追加のヒトIL-18バリエーション(バージョン2のバリエーション)を作製することを示す実施例の実験からの結果を示している。(図7A)バージョン2.0ライブラリの中でランダム化されたヒトIL-18における位置のまとめ。それぞれの位置について、縮重コドンとコードされるアミノ酸のセットが示されている。(図7B)バージョン2.0のIL-18BP抵抗性DR-IL-18バリエーションを生成させるための指向性進化のまとめ。青色の文字は陽性選択の条件を示し、赤色の文字はカウンターセクションを示す。(図7C)バージョン2.0のDR-IL-18バリエーションの生成進展のフローサイトメトリーによる分析。ラウンド1、ラウンド4、ラウンド6の後に得られた酵母を、250 nMのIL-18BPストレプトアビジン-PE四量体、または100 nMのAlexaFluor647で直接標識したIL-18R で同時に染色した。y軸はIL-18BPへの結合を示し、x軸はIL-18R への結合を示す。指向性進化を6ラウンド実施した後に残っているクローンは、IL-18BPよりもIL-18R をはるかに好んだ。

20

【図8】図8は、実施例の実験からの結果を示しており、バージョン2.0のデコイ抵抗性IL-18(DR-IL-18)バリエーションの配列がまとめられている。成熟形態の野生型ヒトIL-18における変異したそれぞれの位置とそれに対応する残基が、表の上部に示されている。網線は、ラウンド5とラウンド6の両方で得られた再現配列バリエーションを示す。

【図9】図9は、バージョン2.0のヒトDR-IL-18バリエーションの生物物理学的特徴を明らかにする実施例の実験からの結果を示している。(図9A)酵母が提示するバージョン2.9のDR-IL-18バリエーションは、hIL-18R に、WTヒトIL-18と同等の結合等温線で結合することができる。(図9B)それとは対照的に、同じバリエーションとhIL-18BPの間には結合がほとんど観察されない。(図9C)バージョン2.0のDR-IL-18バリエーションの熱安定性の評価を、酵母が提示するバリエーションを15分間かけてある温度範囲を通過させて加熱した後、hIL-18R で染色することによって実施した。バージョン2.0のDR-IL-18バリエーションは、WT IL-18($T_m = 47.6$)よりも熱安定性であるとともに、第一世代コンセンサス配列(hCS1とhCS2に関してそれぞれ $T_m = 50.9$ と 40.2)よりも熱安定性であった。(図9D)第二世代DR-IL-18バリエーションの受容体結合特性と熱安定性のまとめ。NBD = 結合が検出されなかった。N.D. = 値が求まらなかった。

30

40

【図10A-B】図10A~図10Cは、酵母による提示を利用してIL-18BPとは独立なマウスIL-18バリエーションを作製することを示す実施例の実験からの結果を示している。(図10A)IL-18BP抵抗性マウスIL-18バリエーションを生成させるための指向性進化のまとめ。青色の文字は陽性選択の条件を示し、赤色の文字はカウンターセクションを示す。(図10B)指向性進化を5ラウンド実施した後に酵母が提示したマウスIL-18バリエーションのフローサイトメトリーによる分析。y軸はIL-18BPへの結合を示し、x軸はIL-18R への結合を示す。(図10C)デコイ抵抗性マウスIL-18(DR-IL-18)バリエーションの配列のまとめ。成熟形態の野生型マウスIL-18における変異したそれぞれの位置とそれに対応する残基が、表の上部に示されている。mC1~mH3は、指向性進化で選択した後に得られた配列を表わす。mCS1とmCS2は、選択された配列から求めたコンセンサス配列である。網線の残基は、観察された最

50

もよく保存されている5個の突然変異を表わす。

【図10C】図10A～図10Cは、酵母による提示を利用してIL-18BPとは独立なマウスII-18バリエーションを作製することを示す実施例の実験からの結果を示している。(図10A) IL-18BP抵抗性マウスII-18バリエーションを生成させるための指向性進化のまとめ。青色の文字は陽性選択の条件を示し、赤色の文字はカウンターセクションを示す。(図10B) 指向性進化を5ラウンド実施した後に酵母が提示したマウスIL-18バリエーションのフローサイトメトリーによる分析。y軸はIL-18BPへの結合を示し、x軸はIL-18Rへの結合を示す。(図10C) デコイ抵抗性マウスII-18(DR-IL-18)バリエーションの配列のまとめ。成熟形態の野生型マウスIL-18における変異したそれぞれの位置とそれに対応する残基が、表の上部に示されている。mC1～mH3は、指向性進化で選択した後に得られた配列を表わす。mCS1とmCS2は、選択された配列から求めたコンセンサス配列である。網線の残基は、観察された最もよく保存されている5個の突然変異を表わす。

10

【図11】図11Aと図11Bは、マウスDR-IL-18バリエーションの生物物理学的特徴を明らかにする実施例の実験からの結果を示している。(図11A) 酵母が提示するDR-IL-18バリエーションmA7、mB1、mC1、mE8、mCS1、mCS2は、hIL-18Rに、WTヒトIL-18と同等の結合等温線で結合することができる(左)。それとは対照的に、同じバリエーションとhIL-18BPの間には結合がほとんど観察されない(右)。(図11B) 固定化されたmIL-18BPとマウスDR-IL-18バリエーションの間の代表的な表面プラズモン共鳴センサーグラム。組み換えmIL-18(左)はmIL-18BPに極めて大きな親和性 $K_D = 0.8 \text{ pM}$ で結合するのに対し、mCS2(右)は大きく減少した結合を示し、 $10 \mu\text{M}$ を超える K_D 値を持つ。このデータは表8と表9にまとめられている。

20

【図12A-B】図12A～図12Dは、マウスに投与されたDR-IL-18の薬力学を調べる実施例の実験からの結果を示している。(図12A) 研究設計の模式図。マウスにビヒクル(PBS)、mIL-18(1 mg/kg)、DR-IL-18バリエーションmCS2(1 mg/kg)のいずれかを1日に1回、合計7回投与した(注射器で示す)。実験の2日前と、0日目、3日目、6日目に、注射してから5時間後に血液サンプルを採取した。(図12B) 0日目、3日目、6日目の末梢血のCD4細胞、CD8細胞、NK細胞、単球のカウント数。IL-18とmCS2の両方が、NK細胞と単球を3日目までに同程度に増殖させた。それぞれの時点(日)において、左側の棒はPBS、中央の棒はIL-18、右側の棒はmCS2である。(図12C) 末梢血のCD4細胞、CD8細胞、NK細胞の表面におけるCD69の発現。IL-18ではなくmCS2が、CD4細胞とCD8細胞の表面におけるCD69の発現を促進した。IL-18とmCS2の両方が、NK細胞の表面におけるCD69を増加させたが、6日目の時点で明らかなように、mCS2で処置するとCD69の発現は維持されたのに対し、IL-18で処置するとCD69のレベルはベースラインに戻った。それぞれの時点(日)において、左側の棒はPBS、中央の棒はIL-18、右側の棒はmCS2である。(図12D) 血清中のサイトカインのレベルが、インターフェロン- γ (IFN- γ)、MIP-1b、G-CSFについて示されている。mCS2での処置は、mIL-18での処理に対しIFN- γ 、MIP-1b、G-CSFのレベルをより高くした。

30

【図12C-D】図12A～図12Dは、マウスに投与されたDR-IL-18の薬力学を調べる実施例の実験からの結果を示している。(図12A) 研究設計の模式図。マウスにビヒクル(PBS)、mIL-18(1 mg/kg)、DR-IL-18バリエーションmCS2(1 mg/kg)のいずれかを1日に1回、合計7回投与した(注射器で示す)。実験の2日前と、0日目、3日目、6日目に、注射してから5時間後に血液サンプルを採取した。(図12B) 0日目、3日目、6日目の末梢血のCD4細胞、CD8細胞、NK細胞、単球のカウント数。IL-18とmCS2の両方が、NK細胞と単球を3日目までに同程度に増殖させた。それぞれの時点(日)において、左側の棒はPBS、中央の棒はIL-18、右側の棒はmCS2である。(図12C) 末梢血のCD4細胞、CD8細胞、NK細胞の表面におけるCD69の発現。IL-18ではなくmCS2が、CD4細胞とCD8細胞の表面におけるCD69の発現を促進した。IL-18とmCS2の両方が、NK細胞の表面におけるCD69を増加させたが、6日目の時点で明らかなように、mCS2で処置するとCD69の発現は維持されたのに対し、IL-18で処置するとCD69のレベルはベースラインに戻った。それぞれの時点(日)において、左側の棒はPBS、中央の棒はIL-18、右側の棒はmCS2である。(図12D) 血清中のサイトカインのレベルが、インターフェロン- γ (IFN- γ)、MIP-1b、G-CSFについて示されている。mCS2での処置は、mIL-18での処理に対しIFN- γ 、MIP-1b、G-CSFのレベルをより高くした。

40

50

【図13】図13は、DR-IL-18で処理するとマウスで体脂肪組成が減少することを実証する実施例の実験からの結果を示している。0.01 mg/kg、0.1 mg/kg、1 mg/kgいずれかのDR-IL-18バリエーションmCS2、または1 mg/kgのWT mIL-18で3日ごとに処置したマウスで体脂肪組成と除脂肪組成を測定した。mCS2での処置は、全体重に対する割合としての体脂肪を有意に減少させた（上図）。これは、脂肪量の低下または安定として現われ（左図）、除脂肪体重の増加と合致する（右図）。ビヒクルで処置したマウスとmIL-18で処置したマウスは、同じ処置期間に、体脂肪量の増加と、安定な除脂肪体重を示した。

【図14A】図14A～図14Bは、黒色腫モデルにおいてDR-IL-18が有効な免疫治療剤であることを実証する実施例の実験からの結果を示している。（図14A）生理食塩水（対照）、WT IL-18（0.32 mg/kg）、DR-IL-18バリエーションmCS2（0.32 mg/kg）、抗PD1（8 mg/kg）、IL-18 + 抗PD1、mCS2 + 抗PD1のいずれかで週に2回処置したYumme1.7黒色腫を有するマウスでの腫瘍増殖スパイダープロット。（図14B）図11Aと同じ群からの生存曲線。mCS2は単剤療法として有効であり、このモデルで抗PD1と組み合わせると相乗的であった。

10

【図14B】図14A～図14Bは、黒色腫モデルにおいてDR-IL-18が有効な免疫治療剤であることを実証する実施例の実験からの結果を示している。（図14A）生理食塩水（対照）、WT IL-18（0.32 mg/kg）、DR-IL-18バリエーションmCS2（0.32 mg/kg）、抗PD1（8 mg/kg）、IL-18 + 抗PD1、mCS2 + 抗PD1のいずれかで週に2回処置したYumme1.7黒色腫を有するマウスでの腫瘍増殖スパイダープロット。（図14B）図11Aと同じ群からの生存曲線。mCS2は単剤療法として有効であり、このモデルで抗PD1と組み合わせると相乗的であった。

【図15】図15Aと図15Bは、図14の黒色腫モデルにおけるDR-IL-18の有効性が、CD4リンパ球と、CD8リンパ球と、インターフェロン-ガンマに依存することを実証する実験例からの結果を示している。（図15A）生理食塩水（対照）で処置するか、DR-IL-18バリエーション（0.32 mg/kg）だけで処置するか、CD8、CD4、インターフェロン-ガンマ、NK1.1のいずれかに対する除去（depleting）抗体と組み合わせたDR-IL-18バリエーションmCS2（0.32 mg/kg）で処置したYumme1.7黒色腫を有するマウスでの腫瘍増殖スパイダープロット。（図15B）図15Aと同じ群からの生存曲線。

20

【図16】図16は、MC38腫瘍モデルにおけるDR-IL-18の効果が用量に依存することを実証する実施例の実験からの結果を示している。生理食塩水（対照）、1.0 mg/kg のWT IL-18、1.0 mg/kg のmCS2、0.1 mg/kgのmCS、0.01 mg/kgのmCSのいずれかで3日ごとに処置したMC38結腸がん腫瘍を有するマウスからの腫瘍増殖スパイダープロット。WT IL-18は、1 mg/kgでは有効でなかったのに対し、mCSは、0.1 mg/kgで部分的に効果を示し、1.0 mg/kgで最大の効果を示した。

30

【図17】図17は、MC38腫瘍モデルにおいて、単独のDR-IL-18の効果と、DR-IL-18を免疫チェックポイント阻害剤である抗PD1と組み合わせた効果を実証する実施例の実験からの結果を示している。生理食塩水（対照）、0.32 mg/kg のWT IL-18、0.32 mg/kg のDR-IL-18バリエーションmCS2、5 mg/kgの抗PD1、抗PD1とWT IL-18の組み合わせ、抗PD1とmCS2の組み合わせのいずれかで処置したMC38結腸がん腫瘍を有するマウスからの腫瘍増殖スパイダープロット。どの薬剤も週に2回、合計6回まで腹腔内に投与した。

【図18A】図18Aと図18Bは、MC38腫瘍を有するマウスで抗腫瘍機構を調べる実施例の実験からの結果を示している。（図18A）生理食塩水、WT IL-18、DR-IL-18バリエーションmCS2のいずれかで週に2回処置したマウスでの腫瘍免疫表現型解析実験。DR-IL-18での処置により、腫瘍1 mg当たりのCD8細胞とNK細胞の数が増加し（左上の2つのグラフ）、活性化マーカーであるグランザイムBとKLRG1の発現が、CD8細胞とNK細胞の表面で増大した（右上の2つのグラフ）。DR-IL-18での処置は、生理食塩水での処理に対しCD8 : Tregの比を改善しなかったのに対し、WT IL-18はこの比を悪化させた。しかしDR-IL-18での処置は、抑制性骨髄集団（腫瘍関連マクロファージ（TAM）、単球性骨髄と顆粒球性骨髄に由来するサブプレッサ細胞（mMDSCとgMDSC）を含む）に対するCD8細胞の比を増大させた。（図18B）4回目の投与の24時間後に、図18Aと同じマウスから採取した血清サイトカインのLuminexによる測定。DR-IL-18は、WT IL-18での処置に対し二次サイトカイン放出プロファイルを劇的に変化させ、インターフェロン-ガンマ、IL-7、IL-15のレベルが100倍超と顕著に上昇

40

50

した。

【図18B】図18Aと図18Bは、MC38腫瘍を有するマウスで抗腫瘍機構を調べる実施例の実験からの結果を示している。(図18A)生理食塩水、WT IL-18、DR-IL-18バリエーションmCS2のいずれかで週に2回処置したマウスでの腫瘍免疫表現型解析実験。DR-IL-18での処置により、腫瘍1 mg当たりのCD8細胞とNK細胞の数が増加し(左上の2つのグラフ)、活性化マーカーであるグランザイムBとKLRG1の発現が、CD8細胞とNK細胞の表面で増大した(右上の2つのグラフ)。DR-IL-18での処置は、生理食塩水での処理に対しCD8:Tregの比を改善しなかったのに対し、WT IL-18はこの比を悪化させた。しかしDR-IL-18での処置は、抑制性骨髄集団(腫瘍関連マクロファージ(TAM)、単球性骨髄と顆粒球性骨髄に由来するサブレッサ細胞(mMDSCとgMDSC)を含む)に対するCD8細胞の比を増大させた。(図18B)4

10

回目の投与の24時間後に、図18Aと同じマウスから採取した血清サイトカインのLuminexによる測定。DR-IL-18は、WT IL-18での処置に対し二次サイトカイン放出プロファイルを劇的に変化させ、インターフェロン-ガンマ、IL-7、IL-15のレベルが100倍超と顕著に上昇した。

【図19】図19A~図19Cは、MHCクラスIの発現が表面から消えることによって免疫チェックポイント阻害剤に対して抵抗性になる腫瘍をDR-IL-18が有効に治療できることを実証する実施例の実験からの結果を示している。(図19A)生理食塩水、抗PD1+抗CTLA4、DR-IL-18バリエーションmCS2、抗NK1.1抗体でNK細胞を除去したmCS2のいずれかで処置したB2m欠損Yummer1.7腫瘍を有するマウスからの腫瘍増殖スパイダープロット。DR-IL-18は、腫瘍増殖と生存率に関して強い効果を示し(図19B)、抗PD1+抗CTLA4を用いた併用処置に対して

20

さえ完全に抵抗性であるこのモデルにおいて、処置したマウスの60%が治癒した。この効果はNK細胞に依存する。これは抗NK1.1を投与するとmCS2処置の効果が消えるからである。(図19C)B2m欠損Yummer1.7腫瘍から単離されたNK細胞は機能せず、増殖(Ki67染色)の低下と機能(インターフェロン-ガンマの分泌)の低下を示す。しかしDR-IL-18を用いた処置によってこの表現型が逆転し、強力な増殖とサイトカイン分泌が可能になる。

【図20】図20A~図20Cは、酵母による提示を利用してIL-18BPアンタゴニスト(すなわち「デコイ対デコイ」D2D)としてのヒトIL-18バリエーションを作製することを示す実施例の実験からの結果を示している。これらバリエーションは、IL-18BPに結合するがシグナル伝達はしないことにより、内在性IL-18に対するIL-18BPの効果に拮抗する。(図20A)D2Dライブラリの中でランダム化されたヒトIL-18における位置のまとめ。それぞれの位置について、縮重コドンとコードされるアミノ酸のセットが示されている。(図20B)IL-18BPに結合してIL-18BPを中和するがIL-18Rを通じたシグナル伝達はしないD2D IL-18バリエーションを生成させるための指向性進化のまとめ。青色の文字は陽性選択の条件を示し、赤色の文字はカウンターセレクトションを示す。(図20C)D2D hIL-18バリエーションの生成進展のフローサイトメトリーによる分析。ラウンド1~ラウンド4の後に得られた酵母を、1 nMのマウスIL-18BP(左図)、1 nMのヒトIL-18BP(中央の図)、1 μMのIL-18R + 1 μMのIL-18Rのいずれかで染色した。選択されたバリエーションは、選択のラウンドが進むにつれてIL-18BPへの結合が増大したが、IL-18R またはIL-18R への結合は増大しなかった。

30

【図21】図21は、実施例の実験からの結果を示しており、D2DヒトIL-18バリエーションの配列がまとめられている。成熟形態の野生型ヒトIL-18における変異したそれぞれの位置とそれに対応する残基が、表の上部に示されている。

40

【図22】図22A~図22Cは、ヒトデコイ対デコイ(D2D)IL18バリエーションの生物物理学的特徴を明らかにする実施例の実験からの結果を示している。(図22A)酵母が提示するD2D IL18バリエーション5-B02、5-E08、5-F10、5-F02、5-F01、hD2D-CS1、hD2D-CS2、hD2D-CS3は、hIL-18BPに、WTヒトIL-18と同等の等温線で結合することができる。(図22B)それとは対照的に、同じバリエーションとhIL-18Rの間には結合がほとんど観察されない。(図22C)D2D IL18バリエーションの受容体結合特性のまとめ。NBD = 結合が検出されなかった。

【図23】図23は、実施例の実験からの結果を示しており、D2DマウスIL-18バリエーションの配列がまとめられている。成熟形態の野生型マウスIL-18における変異したそれぞれの位置とそれに対応する残基が、表の上部に示されている。

50

【図24】図24は、IL-18R とIL-18BPへの結合に関する第二世代DR-IL-18バリエーションの生物物理学的親和性を表面プラズモン共鳴（SPR）によって測定した結果（センサーグラム）を示している。上の行：示されているIL-18バリエーション（可溶性分析物）のhIL-18R（固定化されたりガンド）に対する代表的なセンサーグラム。下の行：示されているIL-18バリエーションのヒトhIL-18BPに対する代表的なセンサーグラム。x軸は時間（単位は秒）、y軸は反応単位（RU）である。曲線は、異なる濃度（1 nMから開始して2倍に希釈）で観察されたデータの経時変化であり、1:1ラングミュア結合モデルを仮定した最良フィットの曲線が重ねられている。

【図25】図25Aと図25Bは、DR-IL-18がCT26大腸腫瘍モデルに対して有効であることを実証するデータを示している。250,000個のCT26細胞を皮下に移植し、腫瘍が平均で約60 mm³になった7日目に処置を開始した。野生型IL-18とmCS2を0.32 mg/kgの用量で週に2回、合計して5回にわたって投与した。抗PD1は10 mg/kgを同じスケジュールで与えた。（A）腫瘍増殖を示す複数のスパイダープロットの重ね合わせであり、生理食塩水（PBS）で処置したマウスは黒色の線（ ）、野生型IL-18は青色の線（ ）、DR-IL-18（mCS2）はピンク色の線（ ）である。野生型IL-18ではなくDR-IL-18を用いた処置だけが、あるサブセットのマウスで腫瘍の増殖抑制と腫瘍の消失をもたらした。（B）抗PD1、WT IL-18、DR-IL-18（mCS2）で処置したマウスの生存曲線。完全奏効の数を括弧内に示してある。WT IL-18ではなくDR-IL-18を用いると、40%のマウスで生存延長と腫瘍消失に至った。チェックポイント阻害剤である抗PD-1を上回る改善である。

【図26】図26Aと図26Bは、4T1乳がんモデルとB16-F10黒色腫瘍モデルにおけるDR-IL-18の効果を実証するデータを示している。（A）4T1腫瘍を移植したBALB/Cマウスを生理食塩水（PBS；黒色）、WT IL-18（青色）、DR-IL-18バリエーションCS2（ピンク色）のいずれかで処置した後の腫瘍増殖曲線。（B）B16-F10腫瘍を移植したC57BL/6マウスを生理食塩水（PBS；黒色）、WT IL-18（青色）、DR-IL-18バリエーションCS2（ピンク色）のいずれかで処置した後の腫瘍増殖曲線。両方のモデルにおいて、WT IL-18ではなくDR-IL-18だけが、腫瘍の増殖抑制をもたらした。処置は、四角で囲んだ「t」で示してあるように、腫瘍の平均体積が50 mm³を超えた後に実施した。

【図27】図27Aと図27Bは、図19A～図19Cのデータを拡張したデータを示している。示されているのは、免疫チェックポイント阻害剤に対して抵抗性である追加のMHCクラスI欠損腫瘍モデルの治療におけるDR-IL-18の効果を実証するデータである。（A）B2m欠損YUMMER細胞に関して記載されているように、CRISPR/Cas9を媒介とした欠失を利用してB2m欠損MC38細胞を調製した。B2m^{-/-} MC38細胞を皮下に移植した後、腫瘍が平均で約65 mm³になった7日目に処置を開始した。mCS2を0.32 mg/kgの用量で週に2回、5回にわたって投与した。抗PD1と抗CTLA4は8 mg/kgを同じスケジュールで与えた。（B）RMA/Sは、タバシンの中に自発的変異を含有するRNAリンパ腫系のバリエーションである。その結果として抗原ローディングに欠陥が生じるため、MHCクラスIの表面における発現が減少した。それはC57BL/6に先天的であり、免疫チェックポイント阻害剤に対して抵抗性である。マウスの皮下に1,000,000個のRMA/S細胞を移植した後、7日目に処置を開始した。mCS2を0.32 mg/kgの用量で週に2回投与した。抗PD1は8 mg/kgを同じスケジュールで与えた。両方の研究において、DR-IL-18バリエーションmCS2を用いた処置だけが、腫瘍の増殖抑制（B2m^{-/-} MC38）または腫瘍の消失（RMA/S）という形で抗腫瘍効果を示した。

【図28】図28は、抗体依存性細胞障害活性（ADCC）を増強するDR-IL-18バリエーションの効果を実証するデータを示している。CFSEで標識したRaji（B細胞リンパ腫）細胞と単離したヒト末梢血単核細胞（PBMC）を用いた生体外細胞傷害活性の研究。PBMCと標識したRaji細胞を、エフェクタ：標的（E:T）の比を1:10にして25時間インキュベートした。ヒトDR-IL-18バリエーションhCS-1（1 μM）、またはリツキシマブ（10 μg/ml）、またはその両方の薬剤の組み合わせを、指示されているようにしてサンプルに適用した。細胞傷害活性をフローサイトメトリーによって測定し、DAPI陽性になったCFSE細胞の割合として計算した。DR-IL-18は単一の薬剤として腫瘍細胞の殺傷を有意に促進するとともに、治療用抗体リツキシマブによる殺傷を有意に増強した。* 多重比較のためのテューキーの補正を伴う2元配

10

20

30

40

50

置分散分析による $p < 0.05$ 。

【図29A】図29Aと図29Bは、感染性疾患の治療（例えばここでは全身性ワクシニアウイルス感染症の治療）におけるDR-18パリアントの抗ウイルス効果を実証するデータを示している。（A）実験設計スキーム。C57BL/6マウスの腹腔内（IP）に 10^6 PFUのワクシニアウイルス（VACV）を感染させた後、1 mg/kgのWT mIL-18またはmCS2をIPに投与した。感染させてから3日後にマウスを安楽死させ、血中と卵巣内のウイルス力価をRT-PCRによって測定した。（B）感染させてから3日後の時点における処置したマウスの血中と卵巣内のVACVウイルスのコピーの定量。CS2を用いて処置するとウイルス力価は有意な低下を示したのに対し、WT IL-18は有効ではなかった。* $p < 0.05$ 、** $p < 0.01$ 、*** $p < 0.001$ 。

【図29B】図29Aと図29Bは、感染性疾患の治療（例えばここでは全身性ワクシニアウイルス感染症の治療）におけるDR-18パリアントの抗ウイルス効果を実証するデータを示している。（A）実験設計スキーム。C57BL/6マウスの腹腔内（IP）に 10^6 PFUのワクシニアウイルス（VACV）を感染させた後、1 mg/kgのWT mIL-18またはmCS2をIPに投与した。感染させてから3日後にマウスを安楽死させ、血中と卵巣内のウイルス力価をRT-PCRによって測定した。（B）感染させてから3日後の時点における処置したマウスの血中と卵巣内のVACVウイルスのコピーの定量。CS2を用いて処置するとウイルス力価は有意な低下を示したのに対し、WT IL-18は有効ではなかった。* $p < 0.05$ 、** $p < 0.01$ 、*** $p < 0.001$ 。

【図30】図30Aは、第二世代ヒトDR-IL-18パリアントが活性であることを実証するデータを示している。（図30A）WT IL-18と、h6-12、h6-27、h6-29、h6-31は、IL-18 HEK-Blueレポータ細胞を刺激する。h6-12、h6-27、h6-29は、WT IL-18に対し増大した効力を示すのに対し、h6-31はWT IL-18と同等の効力を持つ。したがってこのデータは、調べたすべての第二世代ヒトDR-IL-18パリアントがIL-18Rを通じて活発にシグナル伝達することを実証している。

【発明を実施するための形態】

【0039】

本発明は、IL-18シグナル伝達を誘導または増強するIL-18のパリアントに関する。1つの態様において、本発明は、IL-18受容体（IL-18R）に結合できるがIL-18結合タンパク質（IL-18BP）には結合しないため、IL-18シグナル伝達活性を提供する一方で、IL-18BPによって抑制することはできないIL-18のパリアントに関する。1つの態様において、本発明は、IL-18BPに結合することによってそのIL-18BPが内在性IL-18に結合してその内在性IL-18を抑制するのを阻止し、そのことによってIL-18シグナル伝達活性を提供するIL-18のパリアントに関する。したがって、本発明により、IL-18BPの存在下でさえIL-18シグナル伝達活性を提供する組成物と方法が提供される。

【0040】

さまざまな実施態様では、本発明は、IL-18Rに特異的に結合するとともに、IL-18BPに対して実質的に減少した結合を示すIL-18パリアントポリペプチドまたはその断片である。いくつかの実施態様では、IL-18Rに結合するがIL-18BPには実質的に結合しないIL-18パリアントポリペプチドまたはその断片は、IL-18BPの存在と活性による抑制がないIL-18シグナル伝達活性を提供するのに有用である。さまざまな実施態様では、本発明は、IL-18BPに特異的に結合することでそのIL-18BPによる内在性IL-18の抑制を減らすか阻止するIL-18パリアントポリペプチドまたはその断片に関する。いくつかの実施態様では、IL-18BPに結合するIL-18パリアントポリペプチドまたはその断片は、IL-18BP活性を抑制するのに有用であり、そのことによってIL-18シグナル伝達活性が誘導、または増強、または促進される。

【0041】

いくつかの実施態様では、IL-18パリアントポリペプチドまたはその断片は、疾患または障害の治療と予防に有用である。さまざまな実施態様では、その疾患または障害は、がん、感染性疾患（IL-18BPオルソログをコードするポックスウイルスなど）、代謝性の疾患または障害（肥満と糖尿病が含まれる）、黄斑変性（滲出型黄斑変性、例えば滲出型加齢性黄斑変性、例えばIL-18パリアントを抗血管新生剤として使用することができる。具

体的な一例としていくつかの場合には本発明のIL-18バリエーションポリペプチドが脈絡膜血管新生を減らすことができる)のいずれかである。したがって、いくつかの実施態様では、本発明は、少なくとも1つのIL-18バリエーションポリペプチドまたはその断片を含む組成物である。別の実施態様では、本発明は、少なくとも1つのIL-18バリエーションポリペプチドまたはその断片を投与して疾患または障害を治療または予防する方法であり、疾患または障害の非限定的な例は、がん、感染性疾患、代謝性の疾患または障害、黄斑変性(例えば滲出型黄斑変性、例えば滲出型加齢性黄斑変性)である。

【0042】

さまざまな実施態様では、IL-18バリエーションポリペプチドは、野生型(WT)IL-18ポリペプチドに対し1個の突然変異を含んでいる。いくつかの実施態様では、WT IL-18ペプチドは、配列ID番号30のアミノ酸配列を含んでいる。別の実施態様では、WT IL-18ペプチドは、配列ID番号31のアミノ酸配列を含んでいる。

10

【0043】

いくつかの実施態様では、本発明のIL-18バリエーションポリペプチドは、WT IL-18ポリペプチドに対し減少した結合親和性をIL-18BPに対して示す。いくつかの実施態様では、本発明のIL-18バリエーションポリペプチドは、WT IL-18ポリペプチドに対し増大した結合親和性をIL-18BPに対して示す。いくつかの実施態様では、本発明のIL-18バリエーションポリペプチドは、WT IL-18ポリペプチドと同等な結合親和性をIL-18BPに対して示す。

【0044】

いくつかの実施態様では、IL-18バリエーションポリペプチドは、WT IL-18ポリペプチドに対し増大した結合親和性をIL-18Rに対して示す。いくつかの実施態様では、IL-18バリエーションポリペプチドは、WT IL-18ポリペプチドと同等な結合親和性をIL-18Rに対して示す。いくつかの実施態様では、IL-18バリエーションポリペプチドは、WT IL-18ポリペプチドに対し減少した結合親和性をIL-18Rに対して示す。

20

【0045】

いくつかの実施態様では、IL-18バリエーションポリペプチドは、哺乳動物のIL-18バリエーションポリペプチドである。いくつかの実施態様では、IL-18バリエーションポリペプチドは、ヒトIL-18バリエーションポリペプチドである。いくつかの実施態様では、IL-18バリエーションポリペプチドは、マウスIL-18バリエーションポリペプチドである。

【0046】

さまざまな実施態様では、本発明の組成物と方法は、疾患と障害(がん、感染性疾患、代謝性の疾患と障害など)の治療と予防のための組成物と方法を含んでいる。いくつかの実施態様では、1つの方法は、その方法を必要とする対象に、少なくとも1つのIL-18バリエーションポリペプチドを含む組成物を投与することを含んでいる。いくつかの実施態様では、1つの方法は、その方法を必要とする対象に、少なくとも1つのIL-18バリエーションポリペプチドを含む組成物を投与し、その対象に、追加の薬剤を含む組成物を投与することを含んでいる。

30

【0047】

そのような一実施態様では、追加の薬剤は免疫療法剤を含んでおり、その免疫療法剤は、非限定的な例として、変化したT細胞、キメラ抗原受容体T細胞(CAR-T)、防護された(armored)CAR-T細胞、ウイルス、抗原、ワクチン、抗体、免疫チェックポイント阻害剤、小分子、化学療法剤、幹細胞を含むグループから選択された少なくとも1つを含んでいる。いくつかの実施態様では、少なくとも1つのIL-18バリエーションポリペプチドを含む組成物を、細菌、またはウイルス、または他の病原体の感染前、または感染中、または感染後に、免疫系の活性を増加させるための方法で使用する。いくつかの実施態様では、少なくとも1つのIL-18バリエーションポリペプチドを含む組成物を、インビトロ、または生体内、または生体外で免疫細胞の数および/または活性(例えばT細胞、および/またはNK細胞、および/または骨髄細胞の数および/または活性)を増大させるための方法で使用する。

40

【0048】

定義

50

【0049】

特段の定めが無い限り、本明細書で使用されているあらゆる科学技術用語は、本発明が属する分野の当業者が一般に理解しているのと同じ意味を持つ。本発明を記述し、権利を主張するに当たり、以下の用語を使用する。

【0050】

本明細書で用いられる用語は、個々の実施態様を記述することを目的としており、制限することは意図していないことも理解すべきである。

【0051】

冠詞「1つの」は、本明細書では、この冠詞の文法的対象が、1つであるか、2つ以上（少なくとも1つ）であることを意味する。例えば「1つの要素」は、1つの要素、または2つ以上の要素を意味する。

10

【0052】

本明細書で測定可能な数値（量、時間など）に言及して用いられる「約」は、指定された値から±40%、または±20%、または±10%、または±5%、または±1%、または±0.1%の非限定的な変動が含まれることを意味する。というのもそのような変動は適切なものだからである。

【0053】

「異常な」という用語は、生物、組織、細胞や、その構成要素の文脈で用いられるときには、「正常な」（予想される）それぞれの特徴を示す生物、組織、細胞や、その構成要素とは観察または検出が可能な少なくとも1つの特徴（例えば年齢、治療、時刻など）が異なる生物、組織、細胞や、その構成要素を意味する。1個の細胞、または1つのタイプの組織で正常である特徴、または予想される特徴は、異なる細胞、または異なるタイプの組織では異常である可能性がある。

20

【0054】

「抗体」という用語は、本明細書では、特定のエピトープまたは抗原に特異的に結合することのできる免疫グロブリン分子を意味する。抗体として、天然の供給源または組み換え供給源に由来するインタクトな免疫グロブリンと、インタクトな免疫グロブリンの免疫活性な部分が可能である。本発明の抗体は多彩な形態で存在することができ、その中に含まれるのは、例えば、ポリクローナル抗体、モノクローナル抗体、細胞内抗体（「イントラボディ」）、Fv、Fab、F(ab)₂のほか、一本鎖抗体（scFv）、重鎖抗体（ラクダ抗体など）、合成抗体、キメラ抗体、ヒト化抗体である（Harlow他、1999年、『Using Antibodies: A Laboratory Manual』、Cold Spring Harbor Laboratory Press、ニューヨーク州；Harlow他、1989年、『Antibodies: A Laboratory Manual』、Cold Spring Harbor Laboratory Press、ニューヨーク州；Houston他、1988年、Proc. Natl. Acad. Sci. USA 第85巻：5879～5883ページ；Bird他、1988年、Science第242巻：423～426ページ）。

30

【0055】

「抗体重鎖」は、本明細書では、天然のコンホメーションですべての抗体分子の中に存在する2種類のポリペプチド鎖のうち大きい方を意味する。

【0056】

「抗体軽鎖」は、本明細書では、天然のコンホメーションですべての抗体分子の中に存在する2種類のポリペプチド鎖のうち小さい方を意味する。軽鎖と軽鎖は、2つの主要な抗体軽鎖アイソタイプである。

40

【0057】

「合成抗体」という用語は、本明細書では、組み換えDNA技術を利用して作製する抗体を意味し、その例は、本明細書に記載されているようにバクテリオファージが発現する抗体である。この用語は、抗体のうちで、その抗体をコードして抗体タンパク質を発現するDNA分子を合成するか、その抗体を特定するアミノ酸配列を合成することによって生成したものを意味するとも解釈すべきである。なおそのDNA配列またはアミノ酸配列は、本分野で利用可能な周知の合成DNA技術またはアミノ酸配列技術を利用して得られたものである。

50

【0058】

本明細書では、「イムノアッセイ」は、標的分子に特異的に結合できる抗体を利用してその標的分子を検出して定量するためのあらゆる結合アッセイを意味する。

【0059】

IL-18バリエーションポリペプチドに関して本明細書で用いられる「特異的に結合する」という表現は、特定の受容体（IL-18Rなど）またはIL-18BPを認識してその受容体またはIL-18BPに結合するIL-18バリエーションポリペプチドを意味する。いくつかの場合には、IL-18バリエーションポリペプチドは、IL-18BPへの結合を実質的に減少させた。例えば1つの種からの受容体に特異的に結合するIL-18バリエーションポリペプチドは、1つ以上の種からのその受容体にも結合する可能性がある。しかしそのような種交差活性それ自体が、特異的であるというIL-18バリエーションポリペプチドの分類を変化させることはない。別の一例では、ある受容体に特異的に結合するIL-18バリエーションポリペプチドは、その受容体の異なるアレル形態にも結合する可能性がある。しかし、そのような交差反応性それ自体が、特異的であるというIL-18バリエーションポリペプチドの分類を変化させることはない。いくつかの場合には、「特異的な結合」または「特異的に結合する」という表現は、抗体、タンパク質、ペプチドのいずれかと第2の化学種の相互作用に関して使用することができ、その相互作用が、その化学種の表面の特定の構造（例えば抗原性決定基またはエピトープ）の存在に依存することを意味する。例えばIL-18バリエーションポリペプチドは、タンパク質全般ではなくて1つの特定のタンパク質構造を認識してそのタンパク質構造に結合する。

10

【0060】

「アプリケーション」という用語は、本明細書では、本発明の組成物を対象に投与するための任意の装置を意味し、その非限定的な例に含まれるのは、皮下注射器、ピペット、イオン導入装置、パッチなどである。

20

【0061】

「がん」は、本明細書では、細胞な異常な増殖または分裂を意味する。一般に、がん細胞の増殖および/または生存期間は、その周囲の正常な細胞や組織の増殖および/または生存期間を超えていて、その増殖および/または生存期間と協調していない。がんは、良性、前がん状態、悪性いずれかの可能性がある。がんは多彩な細胞と組織で発生し、その例に含まれるのは、口腔（口、舌、咽頭など）、消化系（例えば食道、胃、小腸、結腸、直腸、肝臓、胆管、胆嚢、膵臓など）、呼吸系（例えば咽頭、肺、気管支など）、骨、関節、皮膚（例えば基底細胞、扁平上皮、髄膜腫など）、乳房、生殖系（例えば子宮、卵巣、前立腺、精巣など）、泌尿器系（例えば膀胱、腎臓、尿管など）、目、神経系（例えば脳など）、内分泌系（例えば甲状腺など）、造血系（例えばリンパ腫、骨髄腫、白血病、急性リンパ球性白血病、慢性リンパ球性白血病、急性骨髄性白血病、慢性骨髄性白血病など）である。

30

【0062】

「コード配列」という用語は、本明細書では、転写および/または翻訳によってmRNAおよび/またはポリペプチドまたはその断片を生成させることのできる核酸またはその相補体、またはその一部の配列を意味する。コード配列には、ゲノムDNAまたは未熟な一次RNA転写産物の中のエキソンが含まれ、それらエキソンが細胞の生化学的装置によって合体して成熟mRNAを提供する。アンチセンス鎖はそのような核酸の相補体であり、コード配列はそこから導出することができる。それとは異なり、「非コード配列」という用語は、本明細書では、核酸またはその相補体の配列、またはその一部であって、生体内でアミノ酸に翻訳されないもの、すなわちtRNAが相互作用してアミノ酸を配置することがない、またはtRNAがアミノ酸を配置しようとしめないものを意味する。非コード配列には、ゲノムDNAまたは未熟な一次RNA転写産物の中のイントロン配列と、遺伝子関連配列（プロモータ、エンハンサ、サイレンサなど）の両方が含まれる。

40

【0063】

本明細書では、「相補的」または「相補性」という用語は、塩基対形成の規則によって関連づけられているポリヌクレオチド（すなわちヌクレオチドの配列）に関して用いられ

50

る。例えば配列「A-G-T」は、配列「T-C-A」と相補的である。相補性は「部分的」であってもよく、その場合には核酸の塩基のうちのほんの数個が塩基対形成の規則に従ってマッチする。あるいは核酸の間に「完全な」または「全面的な」相補性が存在していてもよい。核酸鎖の間の相補性の程度は、核酸鎖の間のハイブリダイゼーションの効率と強さに顕著に影響を与える。これは、増幅反応のほか、核酸間の結合に依存する検出反応において特に重要である。

【0064】

「疾患」は、動物がホメオスタシスを維持することができない健康状態であり、その疾患が改善されない場合には、その動物の健康は悪化し続ける。それに対して動物の「障害」は、その動物がホメオスタシスを維持できるが、その動物の健康状態が、その障害がな

10

【0065】

「有効な量」は、本明細書では、治療上の便益、または予防上の便益、または他の望む便益を提供する量を意味する。

【0066】

「コードする」は、ポリヌクレオチド（遺伝子、cDNA、mRNAなど）の中であって、決められたヌクレオチド配列（すなわちrRNA、tRNA、mRNA）または決められたアミノ酸配列と、そこから生じる生物学的特性を持つ他のポリマーや巨大分子を生物学的プロセスにおいて合成するための鋳型として機能する特定のヌクレオチド配列の固有の特性を意味する。したがって遺伝子がタンパク質をコードしているのは、その遺伝子に対応するmRNAの転写と翻訳によって細胞内または他の生物系の中でそのタンパク質が産生される場合である。コード鎖（そのヌクレオチド配列はmRNA配列と同じであり、通常は配列リストに示される）と、非コード鎖（遺伝子またはcDNAを転写するための鋳型として使用される）の両方を、その遺伝子またはcDNAのタンパク質やそれ以外の産物をコードしていると呼ぶことができる。

20

【0067】

本明細書では、核酸に適用されたときの「断片」という用語は、より大きな核酸の部分配列を意味する。核酸の「断片」は、長さが少なくとも約15個のヌクレオチド；例えば少なくとも約50個～約100個のヌクレオチド；または少なくとも約100個～約500個のヌクレオチド；または少なくとも約500個～約1000個のヌクレオチド；または少なくとも約1000個～約1500個のヌクレオチド；または少なくとも約1500個～約2500個のヌクレオチド；または約2500個のヌクレオチド（と、これらの間の任意の整数値）である。本明細書では、「断片」という用語は、タンパク質、ポリペプチド、ペプチドのいずれかに適用するときには、より大きなタンパク質、ポリペプチド、ペプチドいずれかの部分配列を意味する。タンパク質、ポリペプチド、ペプチドいずれかの「断片」は、長さが少なくとも約5個のアミノ酸；例えば長さが少なくとも約10個のアミノ酸；または少なくとも約20個のアミノ酸；または少なくとも約50個のアミノ酸；または少なくとも約100個のアミノ酸；少なくとも約200個のアミノ酸；または少なくとも約300個のアミノ酸（および、これらの間の任意の整数値）である。

30

40

【0068】

「遺伝子」という用語は、ポリペプチド、または前駆体、またはRNA（例えばmRNA）の産生に必要なコード配列を含む核酸（例えばDNA）配列を意味する。そのポリペプチドは、完全長コード配列によって、またはそのコード配列の任意の部分によってコードすることが、その完全長または断片の望む活性または機能的特性（例えば酵素活性、受容体への結合、シグナル伝達、免疫原性など）を保持している限りは可能である。この用語は、構造遺伝子のコード領域と、このコード領域の5'側と3'側のそれぞれに約2 kb以上の距離で隣接して位置する配列も包含するため、この遺伝子は、完全長mRNAと、この遺伝子の転写特性に影響を与える5'調節配列の長さに対応する。コード領域の5'側に位置していか

50

もmRNAの上に存在する配列は、5'非翻訳配列と呼ばれる。この5'非翻訳配列は、通常は調節配列を含有する。コード領域の3'側すなわち下流に位置してしかもmRNAの上に存在する配列は、3'非翻訳配列と呼ばれる。「遺伝子」という用語は、cDNAとゲノム形態の遺伝子の両方を包含する。ゲノム形態の遺伝子または遺伝子のクローンは、「イントロン」または「介在配列」と呼ばれる非コード領域で中断されたコード領域を含有する。イントロンは、遺伝子のうちで核RNA(hnRNA)に転写されるセグメントである。イントロンは、エンハンサなどの調節エレメントを含有している可能性がある。イントロンは、核または一次転写産物から除去される。すなわち「スプライシングによって除かれる」。したがってイントロンは、メッセンジャーRNA(mRNA)転写産物には存在しない。mRNAは、翻訳の間、産生されるポリペプチドのアミノ酸の配列または順番を指定する機能を有する。

10

【0069】

本明細書において2つ以上の核酸配列またはポリペプチド配列の文脈で用いられる「相同な」、「一致する」、「一致」は、配列が、指定された領域全体で、指定された割合の同じ残基を持つことを意味する。割合の計算は、場合によっては2つの配列をアラインメントさせ、その2つの配列を指定された領域全体で比較し、両方の配列で同じ残基になる位置の数を明らかにして一致した位置の数を取得し、一致した位置の数を、指定された領域内の位置の総数で割り、その結果を100倍することによって実現でき、その結果として配列一致の割合が得られる。2つの配列の長さが異なっていて、すなわちアラインメントによって端部に1つ以上のずれが生じて、比較する指定された領域に1つの配列しか含まれない場合には、その1つだけの配列の残基は計算の分母に含まれるが、分子には含まれない。DNAとRNAを比較するとき、チミン(T)とウラシル(U)は同等であると見なすことができる。一致は、手作業で、またはコンピュータ配列アルゴリズム(BLASTやBLAST2.0など)を用いて実施することができる。

20

【0070】

本明細書では、「使用説明材料」という用語に含まれるのは、キット内の本発明の核酸、および/またはペプチド、および/またはポリペプチド、および/または化合物が、本明細書に記載したさまざまな疾患または障害の同定、または緩和、または治療に役立つことを知らせるのに使用できる刊行物、記録、図表や、他の任意の表現媒体である。場合によっては、またはその代わりに、使用説明材料は、対象の細胞または組織の疾患または障害を同定または緩和する1つ以上の方法を記述することができる。キットの使用説明材料は、例えば本発明の核酸、および/またはポリペプチド、および/または化合物を収容する容器に添付すること、またはその核酸、および/またはポリペプチド、および/または化合物を収容する容器とともに出荷することができる。あるいは使用説明材料は容器とは別に出荷し、受領者が使用説明材料と化合物を連携して用いられるようにすることができる。

30

【0071】

「単離された」は、自然状態から変化しているか、取り出されていることを意味する。例えば生きている動物の体内に正常な文脈で自然に存在している核酸またはペプチドは「単離されている」のではないが、自然状態で共存している材料から部分的に、または完全に分離された同じ核酸またはペプチドは「単離されている」。単離された核酸またはタンパク質は、実質的に精製された形態で存在すること、または非天然環境(例えば宿主細胞)の中に存在することができる。

40

【0072】

「単離された核酸」は、自然の状態で隣接している配列から分離された核酸のセグメントまたは断片(例えば、通常はその断片に隣接している配列(例えばゲノム内に自然状態で存在するその断片に隣接した配列)から取り出されたDNA断片)を意味する。この表現は、自然状態で付随する他の構成要素から実質的に精製された核酸(例えば細胞内で自然に付随するRNA、DNA、タンパク質)にも適用される。したがって、この表現には、例えば、ベクターの中や、自律的に複製されるプラスミドまたはウイルスの中や、原核生物または真核生物のゲノムDNAの中に組み込まれる組み換えDNA、または他の配列とは独立な別の

50

分子（例えばPCRまたは制限酵素消化によって生じるcDNA、またはゲノム断片、またはcDNA断片）として存在する組み換えDNAが含まれる。この表現には、追加のポリペプチド配列をコードするハイブリッド遺伝子の一部である組み換えDNAも含まれる。

【0073】

本明細書で用いられる「標識」という用語は、「標識された」プローブを生成させるためにプローブと直接または間接にコンジュゲートされる検出可能な化合物または組成物を意味する。標識は、それ自体が検出可能であるもの（例えば放射性同位体標識または蛍光標識）か、酵素標識の場合には、検出可能な基質化合物または基質組成物（例えばアビジン-ビオチン）の化学的な変化を触媒することのできるものが可能である。いくつかの場合には、プライマーに標識してPCR産物を検出することができる。

10

【0074】

「調節する」という用語は、本明細書では、mRNA、ポリペプチドの活性および/またはレベルの検出可能な増加または低下を媒介すること、またはポリペプチドの活性および/またはレベルと比較して対象における反応を媒介すること、または治療または化合物の不在下で、および/またはmRNA、ポリペプチドの活性および/またはレベルと比較して対象における反応を媒介すること、または治療していないこと以外は同等な対象における反応を媒介することを意味する。この用語は、元のシグナルまたは反応を活性化すること、および/または抑制すること、および/または別の形で左右することにより、対象（例えばヒト）における有益な治療反応、または予防反応、または他の望む反応を媒介することを包含する。

20

【0075】

「突然変異」、「変異体」、「バリエント」は、本明細書では、参照配列（天然の正常な配列、すなわち「野生型」配列が可能である）と比べた核酸配列またはポリペプチド配列の変化を意味し、その中には転位、欠失、挿入、置換/点変異が含まれる。「変異体」または「バリエント」は、本明細書では、変異を含む核酸またはタンパク質を意味する。

【0076】

「核酸」は、ポリヌクレオチドを意味し、その中には、ポリ-リボヌクレオチドとポリ-デオキシリボヌクレオチドが含まれる。本発明による核酸は、ピリミジン塩基（好ましくはシトシン、チミン、ウラシル）とプリン塩基（好ましくはアデニン、グアニン）の任意のポリマーまたはオリゴマーを含むことができる。（Albert L. Lehninger、『Principles of Biochemistry』の793~800ページ（Worth Pub.社、1982年）を参照されたい（その全体が、あらゆる目的で本明細書に組み込まれている）。実際、本発明では、任意のデオキシリボヌクレオチド、リボヌクレオチド、ペプチド核酸構成要素、その任意の化学的バリエント（これら塩基のメチル化された形態、ヒドロキシメチル化された形態、グルコシル化された形態など）を考慮する。ポリマーまたはオリゴマーは、組成がヘテロでもホモでもよく、天然供給源から単離することや、人工的に、すなわち合成で製造することができる。それに加え、核酸として、DNAまたはRNA、またはこれらの混合物が可能であり、核酸は、一本鎖または二本鎖の形態（ホモ二本鎖、ヘテロ二本鎖、ハイブリッド状態が含まれる）で永続的または一時的に存在することができる。

30

【0077】

「オリゴヌクレオチド」または「ポリヌクレオチド」は、ヌクレオチドの長さが少なくとも2個、好ましくは少なくとも8個、または15個、または25個からであるが、長さが50個、または100個、または1000個、または5000個までの範囲が可能な核酸、すなわち化合物であり、あるポリヌクレオチドに特異的にハイブリダイズする。ポリヌクレオチドには、天然供給源から単離された、または組み換えで産生された、または人工合成されたデオキシリボ核酸（DNA）またはリボ核酸（RNA）またはその模倣体の配列が含まれる。本発明のポリヌクレオチドの別の一例として、ペプチド核酸（PNA）が可能である。（アメリカ合衆国特許第6,156,501号を参照されたい（その全体が参照によって本明細書に組み込まれている））。本発明は、非伝統的な塩基対形成（いくつかのtRNA分子で同定されていて三重螺旋の中に存在すると主張されているHoosteen塩基対形成など）が存在する状況も包含

40

50

する。「ポリヌクレオチド」と「オリゴヌクレオチド」は、本開示では交換可能に用いられる。本明細書の中でヌクレオチド配列がDNA配列（例えばA、T、G、C）によって表わされているとき、そこには、「T」が「U」で置き換えられた対応するRNA配列（例えばA、U、G、C）も含まれることが理解されよう。

【0078】

「患者」、「対象」、「個体」などの用語は本明細書では交換可能に用いられ、任意の動物、またはその細胞であって、生体内であるか、インビトロであるか、インサイチュであるかに関係なく、本明細書に記載の方法を適用できるものを意味する。非限定的ないくつかの実施態様では、患者、または対象、または個体は、ヒトである。

【0079】

本明細書では、「ペプチド」、「ポリペプチド」、「タンパク質」という用語は交換可能に用いられ、ペプチド結合によって共有結合した複数のアミノ酸残基からなる化合物を意味する。タンパク質またはペプチドは少なくとも2個のアミノ酸を含有していなければならず、1つのタンパク質配列またはペプチド配列に含めることのできるアミノ酸の最大数に制限はない。ポリペプチドには、ペプチド結合によって互いに接続された2個以上のアミノ酸を含む任意のペプチドまたはタンパク質が含まれる。本明細書では、この用語は、短い鎖（本分野では例えばペプチド、オリゴペプチド、オリゴマーとも一般に呼ばれる）と、より長い鎖（本分野ではタンパク質と一般に呼ばれ、多くのタイプが存在する）の両方を意味する。「ポリペプチド」には、例えば生物学的に活性な断片、実質的に相同なポリペプチド、オリゴペプチド、ホモ二量体、ヘテロ二量体、ポリペプチドのバリエーション、修飾されたポリペプチド、誘導體、類似体、融合タンパク質が特に含まれる。ポリペプチドには、天然のペプチド、組み換えペプチド、合成ペプチド、ポリペプチド変異体、ポリペプチドバリエーションや、これらの組み合わせが含まれる。

【0080】

本明細書では、「ポリヌクレオチド」は、cDNA、RNA、DNA/RNAハイブリッド、アンチセンスRNA、リボザイム、ゲノムDNA、合形成態、混合されたポリマー（センス鎖とアンチセンス鎖の両方）を包含し、化学的または生化学的に改変して非天然のヌクレオチド塩基、誘導體化されたヌクレオチド塩基、合成ヌクレオチド塩基、半合成ヌクレオチド塩基にすることができる。また、野生型遺伝子または合成遺伝子を改変すること（その非限定的な例に、1個以上のヌクレオチドの欠失、挿入、置換、または他のポリヌクレオチド配列への融合が含まれる）も考慮する。

【0081】

疾患または障害を「予防する」という表現は、本明細書で用いられているときには、対象が経験することになる疾患または障害の少なくとも1つの徴候または症状の重症度または頻度を低減することを意味する。

【0082】

「サンプル」または「生物サンプル」は、本明細書では、対象から単離された生物材料を意味する。生物サンプルは、mRNA、ポリペプチドや、対象の体内の生理学的または病理学的なプロセスに関する他のマーカーを検出するのに適したあらゆる生物材料を含有している可能性があり、生物サンプルには、個体から得られた体液、および/または組織、および/または細胞材料、および/または非細胞材料を含めることができる。

【0083】

本明細書では、「実質的に精製された」は、他の構成要素が本質的に存在しないことを意味する。例えば実質的に精製されたポリペプチドは、天然状態で通常は付随している他の構成要素から分離されたポリペプチドである。

【0084】

本明細書では、「治療」または「治療計画」という用語は、疾患または障害を予防するため、または治療するため、変化させるために行なう活動（例えば薬理学的技術、外科技術、食事技術、他の技術を利用して疾患または障害の少なくとも1つの徴候または症状を減らすことなくすことを目的とした一連の処置）を意味する。治療計画は、処方された用量

10

20

30

40

50

の1つ以上の化合物または手術を含むことができる。治療はたいいていの場合に有益であり、疾患または障害の少なくとも1つの徴候または症状を減らす、または無くすが、いくつかの場合には、治療の効果が、望まない効果または副作用をもたらすことになる。治療の効果は、対象の生理学的状態（例えば年齢、性別、遺伝学、体重、他の疾患の状態など）の影響も受けることになる。

【0085】

「治療に有効な量」という表現は、研究者、獣医、医師、それ以外の臨床関係者が、細胞、組織、臓器、系、対象において求める生物学的反応、生理学的反応、臨床反応、医学的反応を誘導することになる本発明の化合物または組成物の量を意味する。「治療に有効な量」という表現には、投与されたとき、治療中の障害または疾患の1つ以上の徴候または症状の進行を防止するか、ある程度治療するのに十分な化合物または組成物の量が含まれる。治療に有効な量は、化合物または組成物、疾患とその重症度、治療する対象の年齢、体重などによって異なるであろう。

10

【0086】

疾患または障害を「治療する」という表現は、本明細書では、対象が経験する疾患または障害の少なくとも1つの徴候または症状の頻度または重症度を低下させることを意味する。「治療」、「治療している」、「治療する」などの用語は、本明細書では、一般に、望む薬理学的効果および/または生理学的効果を得ることを意味する。効果として、疾患またはその症状を完全または部分的に防止するという意味での予防、および/または疾患の、および/またはその疾患に起因する副作用の部分的または完全な安定化または治癒という意味での治療が可能である。「治療」という用語には、哺乳動物（特にヒト）の疾患の治療が包含される。「治療」に含まれるのは、(a) 疾患または症状になる素質を持つがまだそうとは診断されていない対象で疾患および/または症状が起こるのを予防すること；または(b) その疾患および/または症状を抑制し、例えばその進展を遅延または停止させること（例えば腫瘍の増殖を止める、腫瘍の増殖速度を低下させる、がん細胞の増殖速度をゼロにするなど）；または(c) 疾患の症状を緩和すること、すなわち疾患および/または症状の退行を引き起こすこと（例えば腫瘍のサイズの減少を引き起こす、存在するがん細胞の数を減らすなど）である。治療を必要とする対象に含まれるのは、すでに病気を抱えている対象（例えばがんがある対象、感染症にかかっている対象、代謝性障害がある対象、黄斑変性である対象など）のほか、予防が望ましい対象（例えばがんに対する感受性が大きい対象、感染症になる可能性が大きい対象、がんであることが疑われる対象、感染症にかかっていることが疑われる対象、代謝性疾患の感受性が大きい対象、黄斑変性の感受性が大きい対象など）である。

20

30

【0087】

本明細書では、「野生型」は、天然の供給源から単離された遺伝子または遺伝子産物を意味する。野生型遺伝子は、集団の中で最も多く観察される遺伝子であるため、その遺伝子の「正常な」形態または「野生型」形態と呼ばれる。それとは異なり、「改変された」、「バリエーション」、「変異体」という用語は、野生型の遺伝子または遺伝子産物と比べたときに配列および/または機能特性に変更（すなわち、変化した特徴）がある遺伝子または遺伝子産物を意味する。

40

【0088】

範囲：本開示全体を通じ、本発明のさまざまな側面を範囲の形式で提示することができる。範囲の形式で記述するのは単に便宜上と簡潔さのためであり、本発明の範囲に強い制約を課すと考えるはならないことを理解すべきである。したがって範囲の記述は、具体的に開示されている可能なあらゆる部分的範囲のほか、その範囲内の個々の数値を持つと見なすべきである。例えば1~6などの範囲の記述は、1~3、1~4、1~5、2~4、2~6、3~6などの具体的に開示されている部分的範囲のほか、その範囲内の個々の数値、例えば1、2、2.7、3、4、5、5.3、6を持つと見なすべきである。これは、範囲の幅に関係なく適用される。

【0089】

50

説明

【0090】

いくつかの実施態様では、本発明の組成物と方法は、IL-18活性（IL-18Rを通じたシグナル伝達活性など）の活性化剤を含んでいる。いくつかの実施態様では、その活性化剤はIL-18パリアントポリペプチドである。いくつかの実施態様では、その活性化剤は、IL-18Rに結合できて、そのIL-18Rを通じてシグナルを伝達する分子である。いくつかの実施態様では、その活性化剤は、IL-18BPを抑制することによってIL-18シグナル伝達を促進する分子である。

【0091】

いくつかの実施態様では、本発明は、IL-18Rに特異的に結合するとともに、IL-18BP に対して実質的に減少した結合を示すIL-18パリアントポリペプチド、またはその断片である。いくつかの実施態様では、IL-18R に結合するがIL-18BP には実質的に結合しないIL-18パリアントポリペプチド、またはその断片は、IL-18BPの存在と活性による抑制がないIL-18シグナル伝達活性を提供するのに有用である。

10

【0092】

いくつかの実施態様では、IL-18パリアントポリペプチドは、IL-18BPポリペプチドによる負の調節に対して抵抗性であるか、IL-18BPポリペプチドによる負の調節とは独立である。いくつかの実施態様では、IL-18BPポリペプチドは、IL-18パリアントポリペプチドに実質的に結合することができない。本発明のIL-18パリアントポリペプチドは、WT IL-18ポリペプチドに対し減少した結合親和性をIL-18BPに対して示す。いくつかの実施態様では、IL-18パリアントポリペプチドは、WT IL-18ポリペプチドに対し増大した結合親和性をIL-18Rに対して示す。いくつかの実施態様では、IL-18パリアントポリペプチドは、WT IL-18ポリペプチドと同様の結合親和性をIL-18Rに対して示す。いくつかの実施態様では、IL-18パリアントポリペプチドは、WT IL-18ポリペプチドに対し減少した結合親和性をIL-18Rに対して示す。

20

【0093】

いくつかの実施態様では、本発明により、IL-18BPの発現と活性の一方または両方を抑制するか低下させるIL-18BP阻害剤を含む組成物が提供される。IL-18BPの阻害剤の非限定的な例に含まれるのは、化合物、タンパク質、ペプチド模倣体、抗体、リボザイム、アンチセンス核酸分子である。いくつかの実施態様では、IL-18BPの阻害剤は、IL-18BPに結合することによって、そのIL-18BPが、IL-18とIL-18シグナル伝達を抑制するのを減らすか防止するIL-18パリアントを含んでいる。

30

【0094】

いくつかの実施態様では、IL-18パリアントポリペプチドは、疾患または障害の治療または予防に役立つ。さまざまな実施態様では、その疾患または障害は、がん、または代謝性の疾患または障害（その中に肥満と糖尿病が含まれる）である（例えば本発明の方法は体脂肪を減少させることができる）。そのためいくつかの実施態様では、本発明は、少なくとも1つのIL-18パリアントポリペプチド、またはその断片を含む組成物である。別の実施態様では、本発明は、少なくとも1つのIL-18パリアントポリペプチド、またはその断片を投与して、疾患または障害（その非限定的な例に含まれるのは、がん、または代謝性の疾患または障害である）を治療または予防する方法である。

40

【0095】

いくつかの実施態様では、IL-18パリアントポリペプチドは、IL-18Rに結合するとともに、IL-18BPに対して実質的に減少した結合を示す。いくつかの実施態様では、IL-18Rに結合するとともに、IL-18BPに対して実質的に減少した結合を示すIL-18パリアントポリペプチドは、IL-18BPに対する野生型IL-18の結合親和性の約0.000000000001%～約95%の結合親和性でIL-18BPに結合する。

【0096】

いくつかの実施態様では、IL-18Rに結合するとともに、IL-18BPに対して実質的に減少した結合を示すIL-18パリアントポリペプチドは、IL-18BPに対する野生型IL-18の結合親

50

る。いくつかの実施態様では、IL-18Rに結合するとともに、IL-18BPに対して実質的に減少した結合を示すIL-18パリアントポリペプチドは、IL-18BPに対する野生型IL-18の結合親和性の約3%の結合親和性でIL-18BPに結合する。いくつかの実施態様では、IL-18Rに結合し、IL-18BPに対して実質的に減少した結合を示すIL-18パリアントポリペプチドは、IL-18BPに対する野生型IL-18の結合親和性の約2%の結合親和性でIL-18BPに結合する。いくつかの実施態様では、IL-18Rに結合するとともに、IL-18BPに対して実質的に減少した結合を示すIL-18パリアントポリペプチドは、IL-18BPに対する野生型IL-18の結合親和性の約1%の結合親和性でIL-18BPに結合する。

【0098】

いくつかの実施態様では、IL-18Rに結合するとともに、IL-18BPに対して実質的に減少した結合を示すIL-18パリアントポリペプチドは、IL-18BPに対する野生型IL-18の結合親和性の約0.1%の結合親和性でIL-18BPに結合する。いくつかの実施態様では、IL-18Rに結合するとともに、IL-18BPに対して実質的に減少した結合を示すIL-18パリアントポリペプチドは、IL-18BPに対する野生型IL-18の結合親和性の約0.01%の結合親和性でIL-18BPに結合する。いくつかの実施態様では、IL-18Rに結合するとともに、IL-18BPに対して実質的に減少した結合を示すIL-18パリアントポリペプチドは、IL-18BPに対する野生型IL-18の結合親和性の約0.001%の結合親和性でIL-18BPに結合する。いくつかの実施態様では、IL-18Rに結合するとともに、IL-18BPに対して実質的に減少した結合を示すIL-18パリアントポリペプチドは、IL-18BPに対する野生型IL-18の結合親和性の約0.0001%の結合親和性でIL-18BPに結合する。いくつかの実施態様では、IL-18Rに結合するとともに、IL-18BPに対して実質的に減少した結合を示すIL-18パリアントポリペプチドは、IL-18BPに対する野生型IL-18の結合親和性の約0.00001%の結合親和性でIL-18BPに結合する。いくつかの実施態様では、IL-18Rに結合するとともに、IL-18BPに対して実質的に減少した結合を示すIL-18パリアントポリペプチドは、IL-18BPに対する野生型IL-18の結合親和性の約0.000001%の結合親和性でIL-18BPに結合する。いくつかの実施態様では、IL-18Rに結合するとともに、IL-18BPに対して実質的に減少した結合を示すIL-18パリアントポリペプチドは、IL-18BPに対する野生型IL-18の結合親和性の約0.0000001%の結合親和性でIL-18BPに結合する。いくつかの実施態様では、IL-18Rに結合するとともに、IL-18BPに対して実質的に減少した結合を示すIL-18パリアントポリペプチドは、IL-18BPに対する野生型IL-18の結合親和性の約0.00000001%の結合親和性でIL-18BPに結合する。いくつかの実施態様では、IL-18Rに結合するとともに、IL-18BPに対して実質的に減少した結合を示すIL-18パリアントポリペプチドは、IL-18BPに対する野生型IL-18の結合親和性の約0.000000001%の結合親和性でIL-18BPに結合する。いくつかの実施態様では、IL-18Rに結合するとともに、IL-18BPに対して実質的に減少した結合を示すIL-18パリアントポリペプチドは、IL-18BPに対する野生型IL-18の結合親和性の約0.0000000001%の結合親和性でIL-18BPに結合する。いくつかの実施態様では、IL-18Rに結合するとともに、IL-18BPに対して実質的に減少した結合を示すIL-18パリアントポリペプチドは、IL-18BPに対する野生型IL-18の結合親和性の約0.00000000001%の結合親和性でIL-18BPに結合する。

【0099】

いくつかの実施態様では、IL-18Rに結合するとともに、IL-18BPに対して実質的に減少した結合を示す本発明のIL-18パリアントポリペプチド(DR-IL-18)は、IL-18BPに関する K_D が10 nM以上である(より大きな K_D は、結合親和性がより小さいことを意味する)。いくつかの実施態様では、本発明のDR-IL-18パリアントポリペプチドは、IL-18BPに関する K_D が20 nM以上である(例えば50 nM以上、または100 nM以上、または1 μ M以上)。

【0100】

いくつかの実施態様では、IL-18パリアントポリペプチドは、IL-18Rに結合するとともに、IL-18BPに対して実質的に減少した結合を示す。いくつかの実施態様では、IL-18Rに

10

20

30

40

50

した結合を示す本発明のIL-18パリアントポリペプチド(DR-IL-18)は、IL-18BPに関して3 nMよりも大きい阻害定数(Ki)を持つ(例えば5 nM以上、または10 nM以上、または50 nM以上、または100 nM以上、または500 nM以上、または750 nM以上、または1 μM以上)。いくつかの実施態様では、本発明のDR-IL-18パリアントポリペプチドは、IL-18BPに関して500 nM以上のKiを持つ。いくつかの実施態様では、本発明のDR-IL-18パリアントポリペプチドは、IL-18BPに関して1 μM以上のKiを持つ。

【0105】

いくつかの実施態様では、IL-18Rに結合するとともに、IL-18BPに対して実質的に減少した結合を示す本発明のIL-18パリアントポリペプチド(DR-IL-18)は、IL-18BPに関して200 nMよりも大きいKiを持つ(例えば500 nM以上、または750 nM以上、または1 μM以上)。いくつかの実施態様では、本発明のDR-IL-18パリアントポリペプチドは、IL-18BPに関して1 μM以上のKiを持つ。

10

【0106】

いくつかの実施態様では、IL-18Rに結合するとともに、IL-18BPに対して実質的に減少した結合を示す本発明のIL-18パリアントポリペプチド(DR-IL-18)は、IL-18BPに関する阻害定数(Ki)が、IL-18BPに関する野生型IL-18のKiよりも少なくとも2倍大きい(すなわちIL-18BPに関する本発明のIL-18パリアントポリペプチドのKiは、IL-18BPに関するWT IL-18のKiに対し少なくとも2倍である)。例えばいくつかの場合には、本発明のDR-IL-18パリアントポリペプチドは、IL-18BPに関するKiが、IL-18BPに関する野生型IL-18のKiよりも少なくとも5倍大きい(例えば少なくとも10倍、または少なくとも50倍、または少なくとも100倍、または少なくとも200倍、または少なくとも500倍、または少なくとも1000倍)。

20

【0107】

いくつかの実施態様では、IL-18Rに結合するとともに、IL-18BPに対して実質的に減少した結合を示す本発明のIL-18パリアントポリペプチド(DR-IL-18)は、IL-18BPに関するEC₅₀が、IL-18BPに関する野生型IL-18のEC₅₀よりも少なくとも2倍大きい(すなわちIL-18BPに関する本発明のIL-18パリアントポリペプチドのEC₅₀は、IL-18BPに関するWT IL-18のEC₅₀に対し少なくとも2倍である)。例えばいくつかの場合には、本発明のDR-IL-18パリアントポリペプチドは、IL-18BPに関するEC₅₀が、IL-18BPに関する野生型IL-18のEC₅₀よりも少なくとも5倍大きい(例えば少なくとも10倍、または少なくとも50倍、または少なくとも100倍、または少なくとも200倍、または少なくとも500倍、または少なくとも1000倍)。

30

【0108】

さまざまな実施態様では、IL-18パリアントポリペプチドは、野生型(WT)IL-18ポリペプチドに対し1個の変異を含んでいる。いくつかの実施態様では、WT IL-18ポリペプチドは、配列ID番号30のアミノ酸配列を含んでいる。別の実施態様では、WT IL-18ポリペプチドは、配列ID番号31のアミノ酸配列を含んでいる。特に定めが無い限り、「X」という記号を以下において任意のアミノ酸を表わすのに用いる。

【0109】

さまざまな実施態様では、ヒトIL-18パリアントポリペプチド、またはその断片は、Y1X、L5X、K8X、M51X、K53X、S55X、Q56X、P57X、G59X、M60X、E77X、Q103X、S105X、D110X、N111X、M113X、V153X、およびN155Xからなるグループから選択された少なくとも1個の変異(例えば少なくとも2個、または少なくとも3個、または少なくとも4個、または少なくとも5個、または少なくとも6個の変異)を含み、ここで、Xは任意のアミノ酸を表わす。さまざまな実施態様では、ヒトIL-18パリアントポリペプチド、またはその断片は、Y1X、L5X、K8X、M51X、K53X、S55X、Q56X、P57X、G59X、M60X、E77X、Q103X、S105X、D110X、N111X、M113X、V153X、およびN155Xからなるグループから選択された少なくとも4個の変異を含んでいる。さまざまな実施態様では、ヒトIL-18パリアントポリペプチド、またはその断片は、Y1X、L5X、K8X、M51X、K53X、S55X、Q56X、P57X、G59X、M60X、E77X、Q103X、S105X、D110X、N111X、M113X、V153X、およびN155Xからなるグループから選択された

40

50

少なくとも6個の変異を含んでいる。さまざまな実施態様では、ヒトIL-18バリエーションポリペプチド、またはその断片は、Y1X、L5X、K8X、S55X、Q56X、P57X、G59X、E77X、Q103X、S105X、D110X、N111X、M113X、V153X、およびN155Xからなるグループから選択された少なくとも1個の変異（例えば少なくとも2個、または少なくとも3個、または少なくとも4個、または少なくとも5個、または少なくとも6個の変異）を含んでいる。いくつかの実施態様では、ヒトIL-18バリエーションポリペプチド、またはその断片は、Y1H、Y1R、L5H、L5I、L5Y、K8Q、K8R、M51T、M51K、M51D、M51N、M51E、M51R、K53R、K53G、K53S、K53T、S55K、S55R、Q56E、Q56A、Q56R、Q56V、Q56G、Q56K、Q56L、P57L、P57G、P57A、P57K、G59T、G59A、M60K、M60Q、M60R、M60L、E77D、Q103E、Q103K、Q103P、Q103A、Q103R、S105R、S105D、S105K、S105N、S105A、D110H、D110K、D110N、D110Q、D110E、D110S、D110G、N111H、N111Y、N111D、N111R、N111S、N111G、M113V、M113R、M113T、M113K、V153I、V153T、V153A、N155K、およびN155Hからなるグループから選択された少なくとも1個の変異（例えば少なくとも2個、または少なくとも3個、または少なくとも4個、または少なくとも5個、または少なくとも6個の変異）を含んでいる。いくつかの実施態様では、ヒトIL-18バリエーションポリペプチドは、hCS1（配列ID番号34）、hCS2（配列ID番号35）、hCS3（配列ID番号36）、hCS4（配列ID番号37）、hC4（配列ID番号38）、hA8（配列ID番号39）、hD6（配列ID番号40）、hH12（配列ID番号41）、hB11（配列ID番号42）、hC3（配列ID番号43）、hC2（配列ID番号44）、hG10（配列ID番号45）、hG1（配列ID番号46）、hF1（配列ID番号47）、hD2（配列ID番号48）、hA1（配列ID番号49）、hB3（配列ID番号50）、hB4（配列ID番号51）、hH3（配列ID番号52）、hH5（配列ID番号53）、hH4（配列ID番号54）、hE1（配列ID番号55）、hG2（配列ID番号56）、hB9（配列ID番号57）、hE12（配列ID番号58）、hC5（配列ID番号59）、5-18（配列ID番号73）、5-29（配列ID番号74）、5-8（配列ID番号75）、5-6（配列ID番号76）、5-27（配列ID番号77）、5-20（配列ID番号78）、5-2（配列ID番号79）、5-9（配列ID番号80）、5-42（配列ID番号81）、5-13（配列ID番号82）、5-12（配列ID番号83）、5-1（配列ID番号84）、5-33（配列ID番号85）、5-21（配列ID番号86）、6-31（配列ID番号87）、6-20（配列ID番号88）、6-12（配列ID番号89）、6-27（配列ID番号90）、6-29（配列ID番号91）、5-26（配列ID番号191）、5-17（配列ID番号192）、5-41（配列ID番号193）のいずれか、またはその断片からなるグループから選択された少なくとも1つのIL-18バリエーションポリペプチド、またはその断片を含んでいる。

10

20

30

40

50

【0110】

いくつかの場合には、本発明のDR-IL-18バリエーション、またはその断片は、配列ID番号30に対し、M51X、M60X、S105X、D110X、およびN111Xからなるグループから選択された少なくとも1個の突然変異（例えば少なくとも2個、または少なくとも3個、または少なくとも4個の突然変異）を含んでいる。いくつかの場合には、本発明のDR-IL-18バリエーション、またはその断片は、配列ID番号30に対し、M51X、M60X、S105X、D110X、およびN111Xからなるグループから選択された少なくとも1個の突然変異を含んでいる。いくつかの場合には、本発明のDR-IL-18バリエーション、またはその断片は、配列ID番号30に対し、M51X₁、M60X₂、S105X₃、D110X₄、およびN111X₅からなるグループから選択された少なくとも1個の突然変異（例えば少なくとも2個、または少なくとも3個、または少なくとも4個の突然変異）を含んでいる。ただしX₁は、T、K、D、E、R、またはNのいずれかであり；X₂は、K、Q、L、またはRのいずれかであり；X₃は、R、D、K、A、またはNのいずれかであり；X₄は、H、K、N、Q、E、N、S、またはGのいずれかであり；X₅は、H、D、Y、R、S、またはGのいずれかである。いくつかの場合には、本発明のDR-IL-18バリエーションまたはその断片は、配列ID番号30に対し、M51X₁、M60X₂、S105X₃、D110X₄、N111X₅からなるグループから選択された少なくとも3個の突然変異（例えば少なくとも3個、または少なくとも4個の突然変異）を含んでいる。ただし、X₁は、T、K、D、E、R、またはNのいずれかであり；X₂は、K、Q、L、またはRのいずれかであり；X₃は、R、D、K、A、またはNのいずれかであり；X₄は、H、K、N、Q、E、N、S、またはGのいずれかであり；X₅は、H、D、Y、R、S、またはGのいずれかである。いくつかの場合には、本発明のDR-IL-18バリエーションまたはその断片は、配列ID番号30に対し、M51X₁、M60X₂、S105X₃、D110X₄、およびN111X₅からなるグループから選択され

た少なくとも1個の突然変異（例えば少なくとも2個、または少なくとも3個、または少なくとも4個の突然変異）を含んでいる。ただし X_1 はTまたはKであり； X_2 はKまたはLであり； X_3 は、D、N、またはAのいずれかであり； X_4 は、K、N、S、またはGのいずれかであり； X_5 は、H、Y、G、またはRのいずれかである。

【0111】

いくつかの場合には、本発明のDR-IL-18パリアント、またはその断片は、配列ID番号30に対し、M51X、M60X、S105X、D110X、およびN111Xという突然変異を含んでいる。例えばいくつかの場合には、本発明のDR-IL-18パリアント、またはその断片は、配列ID番号30に対し、M51X₁、M60X₂、S105X₃、D110X₄、およびN111X₅という突然変異を含んでいる。ただし X_1 は、T、K、D、E、R、またはNのいずれかであり； X_2 は、K、Q、L、またはRのいずれかであり； X_3 は、R、D、K、A、またはNのいずれかであり； X_4 は、H、K、N、Q、E、N、S、またはGのいずれかであり； X_5 は、H、D、Y、R、S、またはGのいずれかである。例えばいくつかの場合には、本発明のDR-IL-18パリアントまたはその断片は、配列ID番号30に対し、M51X₁、M60X₂、S105X₃、D110X₄、およびN111X₅という突然変異を含んでいる。ただし X_1 はTまたはKであり； X_2 はKまたはLであり； X_3 は、D、N、またはAのいずれかであり； X_4 は、K、N、S、またはGのいずれかであり； X_5 は、H、Y、G、またはRのいずれかである。言い換えると、いくつかの場合には、本発明のDR-IL-18パリアントまたはその断片は、配列ID番号30に対し、{M51TまたはM51K}；{M60KまたはM60L}；{S105D、S105N、S105Aのいずれか}；{D110K、D110N、D110S、D110Gのいずれか}；{N111H、N111Y、N111R、N111Gのいずれか}という突然変異を含んでいる。

【0112】

いくつかの場合には、本発明のDR-IL-18パリアント、またはその断片は、配列ID番号30に対し、M51X、K53X、Q56X、S105X、およびN111Xからなるグループから選択された少なくとも1個の突然変異（例えば少なくとも2個、または少なくとも3個、または少なくとも4個の突然変異）を含んでいる。いくつかの場合には、本発明のDR-IL-18パリアントまたはその断片は、配列ID番号30に対し、M51X、K53X、Q56X、S105X、およびN111Xからなるグループから選択された少なくとも3個の変異を含んでいる。いくつかの場合には、本発明のDR-IL-18パリアントまたはその断片は、配列ID番号30に対し、M51X₁、K53X₂、Q56X₃、S105X₄、およびN111X₅からなるグループから選択された少なくとも1個の突然変異（例えば少なくとも2個、または少なくとも3個、または少なくとも4個の突然変異）を含んでいる。ただし X_1 は、E、R、またはKのいずれかであり； X_2 は、G、S、またはTのいずれかであり； X_3 は、E、A、R、V、G、K、またはLのいずれかであり； X_4 は、N、S、K、またはGのいずれかであり； X_5 は、R、S、G、またはDのいずれかである。いくつかの場合には、本発明のDR-IL-18パリアントまたはその断片は、配列ID番号30に対し、M51X₁、K53X₂、Q56X₃、S105X₄、およびN111X₅からなるグループから選択された少なくとも3個の突然変異を含んでいる。ただし X_1 は、E、R、またはKのいずれかであり； X_2 は、G、S、またはTのいずれかであり； X_3 は、E、A、R、V、G、K、またはLのいずれかであり； X_4 は、N、S、K、またはGのいずれかであり； X_5 は、R、S、G、またはDのいずれかである。いくつかの場合には、本発明のDR-IL-18パリアント、またはその断片は、配列ID番号30に対し、M51X₁、K53X₂、Q56X₃、S105X₄、およびN111X₅からなるグループから選択された少なくとも1個の変異（例えば少なくとも2個、または少なくとも3個、または少なくとも4個の変異）を含んでいる。ただし X_1 はKであり； X_2 はGまたはSであり； X_3 は、G、R、またはLのいずれかであり； X_4 は、S、N、またはGのいずれかであり； X_5 はGまたはRである。

【0113】

いくつかの場合には、本発明のDR-IL-18パリアント、またはその断片は、配列ID番号30に対し、M51X、K53X、Q56X、S105X、およびN111Xという突然変異を含んでいる。例えばいくつかの場合には、本発明のDR-IL-18パリアントまたはその断片は、配列ID番号30に対し、M51X₁、K53X₂、Q56X₃、S105X₄、およびN111X₅という突然変異を含んでいる。ただし X_1 は、E、R、またはKのいずれかであり； X_2 は、G、S、またはTのいずれかであり； X_3 は、E、A、R、V、G、K、またはLのいずれかであり； X_4 は、N、S、K、またはGのいずれかであり

; X_5 は、R、S、G、Dのいずれかである。いくつかの場合には、本発明のDR-IL-18バリエーションまたはその断片は、配列ID番号30に対し、 $M51X_1$ 、 $K53X_2$ 、 $Q56X_3$ 、 $S105X_4$ 、および $N111X_5$ という変異を含んでいる。ただし X_1 はKであり； X_2 はGまたはSである； X_3 は、G、R、またはLのいずれかであり； X_4 は、S、N、またはGのいずれかであり； X_5 はGまたはRである。言い換えると、いくつかの場合には、本発明のDR-IL-18バリエーションまたはその断片は、配列ID番号30に対し、{M51K}；{K53GまたはK53S}；{Q56G、Q56R、Q56Lのいずれか}；{D110S、D110N、D110Gのいずれか}；{N111RまたはN111G}という変異を含んでいる。

【0114】

いくつかの場合には、本発明のDR-IL-18バリエーションまたはその断片は、配列ID番号30に記載の野生型ヒトIL-18アミノ酸配列と85%以上（例えば90%以上、または92%以上、または93%以上、または94%以上、または95%以上、または96%以上、または97%以上、または98%以上、または99%以上）一致するアミノ酸配列を含んでいる。そのためいくつかの場合には、本発明のDR-IL-18バリエーションまたはその断片は、(i) 配列ID番号30に記載の野生型ヒトIL-18アミノ酸配列と85%以上（例えば90%以上、または92%以上、または93%以上、または94%以上、または95%以上、または96%以上、または97%以上、または98%以上、または99%以上）一致して、(ii) 野生型IL-18（例えばヒトIL-18）に対し少なくとも1個の突然変異（例えば少なくとも2個、または少なくとも3個、または少なくとも4個、または少なくとも5個、または少なくとも6個の変異）を含むアミノ酸配列を含んでいる。

【0115】

いくつかの場合には、本発明のDR-IL-18バリエーション、またはその断片は、配列ID番号34~59、73~91、191~193のいずれか1つに記載のアミノ酸配列と85%以上（例えば90%以上、または92%以上、または93%以上、または94%以上、または95%以上、または96%以上、または97%以上、または98%以上、または99%以上）一致するアミノ酸配列を含んでいる。そのためいくつかの場合には、本発明のDR-IL-18バリエーション、またはその断片は、(i) 配列ID番号34~59、73~91、191~193のいずれか1つに記載のアミノ酸配列と85%以上（例えば90%以上、または92%以上、または93%以上、または94%以上、または95%以上、または96%以上、または97%以上、または98%以上、または99%以上）一致して、(ii) 野生型IL-18（例えばヒトIL-18）に対し少なくとも1個の突然変異（例えば少なくとも2個、または少なくとも3個、または少なくとも4個、または少なくとも5個、または

【0116】

いくつかの場合には、本発明のDR-IL-18バリエーションまたはその断片は、(i) 配列ID番号30に記載の野生型ヒトIL-18アミノ酸配列と85%以上（例えば90%以上、または92%以上、または93%以上、または94%以上、または95%以上、または96%以上、または97%以上、または98%以上、または99%以上）一致して、(ii) 配列ID番号30に対し、Y1X、L5X、K8X、M51X、K53X、S55X、Q56X、P57X、G59X、M60X、E77X、Q103X、S105X、D110X、N111X、M113X、V153X、およびN155Xからなるグループから選択された少なくとも1個の突然変異（例えば少なくとも2個、または少なくとも3個、または少なくとも4個、または少なくとも5個、または少なくとも6個の突然変異）を含むアミノ酸配列を含んでいる。いくつかの場合には、本発明のDR-IL-18バリエーションまたはその断片は、(i) 配列ID番号30に記載の野生型ヒトIL-18アミノ酸配列と85%以上（例えば90%以上、または92%以上、または93%以上、または94%以上、または95%以上、または96%以上、または97%以上、または98%以上、または99%以上）一致して、(ii) 配列ID番号30に対し、Y1X、L5X、K8X、M51X、K53X、S55X、Q56X、P57X、G59X、M60X、E77X、Q103X、S105X、D110X、N111X、M113X、V153X、およびN155Xからなるグループから選択された少なくとも4個の変異を含むアミノ酸配列を含んでいる。いくつかの場合には、本発明のDR-IL-18バリエーションまたはその断片は、(i) 配列ID番号30に記載の野生型ヒトIL-18アミノ酸配列と85%以上（例えば90%以上、または92%以上、または93%以上、または94%以上、または95%以上、または96%以上、または97%以上、または98%以上、または99%以上）一致して、(ii)

) 配列ID番号30に対し、Y1X、L5X、K8X、M51X、K53X、S55X、Q56X、P57X、G59X、M60X、E77X、Q103X、S105X、D110X、N111X、M113X、V153X、およびN155Xからなるグループから選択された少なくとも6個の変異を含むアミノ酸配列を含んでいる。いくつかの場合には、本発明のDR-IL-18バリエーションまたはその断片は、(i) 配列ID番号30に記載の野生型ヒトIL-18アミノ酸配列と85%以上(例えば90%以上、または92%以上、または93%以上、または94%以上、または95%以上、または96%以上、または97%以上、または98%以上、または99%以上)一致していて、(ii) 配列ID番号30に対し、Y1X、L5X、K8X、S55X、Q56X、P57X、G59X、E77X、Q103X、S105X、D110X、N111X、M113X、V153X、およびN155Xからなるグループから選択された少なくとも1個の変異(例えば少なくとも2個、または少なくとも3個、または少なくとも4個、または少なくとも5個、または少なくとも6個の変異)を含むアミノ酸配列を含んでいる。

10

【0117】

いくつかの場合には、本発明のDR-IL-18バリエーションまたはその断片は、(i) 配列ID番号30に記載の野生型ヒトIL-18アミノ酸配列と85%以上(例えば90%以上、または92%以上、または93%以上、または94%以上、または95%以上、または96%以上、または97%以上、または98%以上、または99%以上)一致していて、(ii) 配列ID番号30に対し、M51X、M60X、S105X、D110X、およびN111Xからなるグループから選択された少なくとも1個の突然変異(例えば少なくとも2個、または少なくとも3個、または少なくとも4個の突然変異)を含むアミノ酸配列を含んでいる。いくつかの場合には、本発明のDR-IL-18バリエーションまたはその断片は、(i) 配列ID番号30に記載の野生型ヒトIL-18アミノ酸配列と85%以上(例えば90%以上、または92%以上、または93%以上、または94%以上、または95%以上、または96%以上、または97%以上、または98%以上、または99%以上)一致していて、(ii) 配列ID番号30に対し、M51X₁、M60X₂、S105X₃、D110X₄、およびN111X₅からなるグループから選択された少なくとも1個の突然変異(例えば少なくとも2個、または少なくとも3個、または少なくとも4個の突然変異)を含むアミノ酸配列を含んでいる。ただしX₁は、T、K、D、E、R、またはNのいずれかであり; X₂は、K、Q、L、またはRのいずれかであり; X₃は、R、D、K、A、またはNのいずれかであり; X₄は、H、K、N、Q、E、N、S、またはGのいずれかであり; X₅は、H、D、Y、R、S、またはGのいずれかである。いくつかの場合には、本発明のDR-IL-18バリエーションまたはその断片は、(i) 配列ID番号30に記載の野生型ヒトIL-18アミノ酸配列と85%以上(例えば90%以上、または92%以上、または93%以上、または94%以上、または95%以上、または96%以上、または97%以上、または98%以上、または99%以上)一致していて、(ii) 配列ID番号30に対し、M51X₁、M60X₂、S105X₃、D110X₄、およびN111X₅からなるグループから選択された少なくとも3個の突然変異を含むアミノ酸配列を含んでいる。ただしX₁は、T、K、D、E、R、またはNのいずれかであり; X₂は、K、Q、L、またはRのいずれかであり; X₃は、R、D、K、A、またはNのいずれかであり; X₄は、H、K、N、Q、E、N、S、またはGのいずれかであり; X₅は、H、D、Y、R、S、またはGのいずれかである。いくつかの場合には、本発明のDR-IL-18バリエーションまたはその断片は、(i) 配列ID番号30に記載の野生型ヒトIL-18アミノ酸配列と85%以上(例えば90%以上、または92%以上、または93%以上、または94%以上、または95%以上、または96%以上、または97%以上、または98%以上、または99%以上)一致していて、(ii) 配列ID番号30に対し、M51X₁、M60X₂、S105X₃、D110X₄、N111X₅からなるグループから選択された少なくとも1個の突然変異(例えば少なくとも2個、または少なくとも3個、または少なくとも4個の突然変異)を含むアミノ酸配列を含んでいる。ただしX₁はTまたはKであり; X₂はKまたはLであり; X₃は、D、N、またはAのいずれかであり; X₄は、K、N、S、またはGのいずれかであり; X₅は、H、Y、G、またはR

20

30

40

50

のいずれかである。

【 0 1 1 8 】

いくつかの場合には、本発明のDR-IL-18バリエーションまたはその断片は、(i) 配列ID番号30に記載の野生型ヒトIL-18アミノ酸配列と85%以上(例えば90%以上、または92%以上、または93%以上、または94%以上、または95%以上、または96%以上、または97%以上、または98%以上、または99%以上)一致していて、(ii) 配列ID番号30に対し、M51X、M60X、S105X、D110X、およびN111Xという突然変異を含むアミノ酸配列を含んでいる。

いくつかの場合には、本発明のDR-IL-18バリエーションまたはその断片は、(i) 配列ID番号30に記載の野生型ヒトIL-18アミノ酸配列と85%以上(例えば90%以上、または92%以上、または93%以上、または94%以上、または95%以上、または96%以上、または97%以上、または98%以上、または99%以上)一致していて、(ii) 配列ID番号30に対し、M51X₁、M60X₂、S105X₃、D110X₄、およびN111X₅という突然変異を含むアミノ酸配列を含んでいる。ただしX₁は、T、K、D、E、R、またはNのいずれかであり；X₂は、K、Q、L、またはRのいずれかであり；X₃は、R、D、K、A、またはNのいずれかであり；X₄は、H、K、N、Q、E、N、S、またはGのいずれかであり；X₅は、H、D、Y、R、S、またはGのいずれかである。

いくつかの場合には、本発明のDR-IL-18バリエーションまたはその断片は、(i) 配列ID番号30に記載の野生型ヒトIL-18アミノ酸配列と85%以上(例えば90%以上、または92%以上、または93%以上、または94%以上、または95%以上、または96%以上、または97%以上、または98%以上、または99%以上)一致していて、(ii) 配列ID番号30に対し、M51X₁、M60X₂、S105X₃、D110X₄、およびN111X₅という突然変異を含むアミノ酸配列を含んでいる。ただしX₁はTまたはKであり；X₂はKまたはLであり；X₃は、D、N、またはAのいずれかであり；X₄は、K、N、S、またはGのいずれかであり；X₅は、H、Y、G、またはRのいずれかである。

10

20

【 0 1 1 9 】

いくつかの場合には、本発明のDR-IL-18バリエーションまたはその断片は、(i) 配列ID番号30に記載の野生型ヒトIL-18アミノ酸配列と85%以上(例えば90%以上、または92%以上、または93%以上、または94%以上、または95%以上、または96%以上、または97%以上、または98%以上、または99%以上)一致していて、(ii) 配列ID番号30に対し、M51X、K53X、Q56X、S105X、およびN111Xからなるグループから選択された少なくとも1個の突然変異(例えば少なくとも2個、または少なくとも3個、または少なくとも4個の突然変異)を含むアミノ酸配列を含んでいる。

いくつかの場合には、本発明のDR-IL-18バリエーションまたはその断片は、(i) 配列ID番号30に記載の野生型ヒトIL-18アミノ酸配列と85%以上(例えば90%以上、または92%以上、または93%以上、または94%以上、または95%以上、または96%以上、または97%以上、または98%以上、または99%以上)一致していて、(ii) 配列ID番号30に対し、M51X、K53X、Q56X、S105X、およびN111Xからなるグループから選択された少なくとも3個の突然変異を含むアミノ酸配列を含んでいる。

いくつかの場合には、本発明のDR-IL-18バリエーションまたはその断片は、(i) 配列ID番号30に記載の野生型ヒトIL-18アミノ酸配列と85%以上(例えば90%以上、または92%以上、または93%以上、または94%以上、または95%以上、または96%以上、または97%以上、または98%以上、または99%以上)一致していて、(ii) 配列ID番号30に対し、M51X₁、K53X₂、Q56X₃、S105X₄、N111X₅からなるグループから選択された少なくとも1個の突然変異(例えば少なくとも2個、または少なくとも3個、または少なくとも4個の突然変異)を含むアミノ酸配列を含んでいる。ただしX₁は、E、R、またはKのいずれかであり；X₂は、G、S、またはTのいずれかであり；X₃は、E、A、R、V、G、K、またはLのいずれかであり；X₄は、N、S、K、またはGのいずれかであり；X₅は、R、S、G、またはDのいずれかである。

いくつかの場合には、本発明のDR-IL-18バリエーションまたはその断片は、(i) 配列ID番号30に記載の野生型ヒトIL-18アミノ酸配列と85%以上(例えば90%以上、または92%以上、または93%以上、または94%以上、または95%以上、または96%以上、または97%以上、または98%以上、または99%以上)一致していて、(ii) 配列ID番号30に対し、M51X₁、K53X₂、Q56X₃、S105X₄、およびN111X₅からなるグループから選択された少なくとも3個の突然

30

40

50

変異を含むアミノ酸配列を含んでいる。ただし X_1 は、E、R、またはKのいずれかであり； X_2 は、G、S、またはTのいずれかであり； X_3 は、E、A、R、V、G、K、またはLのいずれかであり； X_4 は、N、S、K、またはGのいずれかであり； X_5 は、R、S、G、またはDのいずれかである。いくつかの場合には、本発明のDR-IL-18パリアントまたはその断片は、(i)配列ID番号30に記載の野生型ヒトIL-18アミノ酸配列と85%以上（例えば90%以上、または92%以上、または93%以上、または94%以上、または95%以上、または96%以上、または97%以上、または98%以上、または99%以上）一致していて、(ii)配列ID番号30に対し、M51 X_1 、K53 X_2 、Q56 X_3 、S105 X_4 、およびN111 X_5 からなるグループから選択された少なくとも1個の突然変異（例えば少なくとも2個、または少なくとも3個、または少なくとも4個の突然変異）を含むアミノ酸配列を含んでいる。ただし X_1 はKであり； X_2 はGまたはSである； X_3 は、G、R、またはLのいずれかであり； X_4 は、S、N、またはGのいずれかであり； X_5 はGまたはRである。

【0120】

いくつかの場合には、本発明のDR-IL-18パリアント、またはその断片は、(i)配列ID番号30に記載の野生型ヒトIL-18アミノ酸配列と85%以上（例えば90%以上、または92%以上、または93%以上、または94%以上、または95%以上、または96%以上、または97%以上、または98%以上、または99%以上）一致していて、(ii)配列ID番号30に対し、M51X、K53X、Q56X、S105X、N111Xという突然変異を含むアミノ酸配列を含んでいる。いくつかの場合には、本発明のDR-IL-18パリアント、またはその断片は、(i)配列ID番号30に記載の野生型ヒトIL-18アミノ酸配列と85%以上（例えば90%以上、または92%以上、または93%以上、または94%以上、または95%以上、または96%以上、または97%以上、または98%以上、または99%以上）一致していて、(ii)配列ID番号30に対し、M51 X_1 、K53 X_2 、Q56 X_3 、S105 X_4 、およびN111 X_5 という突然変異を含むアミノ酸配列を含んでいる。ただし X_1 は、E、R、またはKのいずれかであり； X_2 は、G、S、またはTのいずれかであり； X_3 は、E、A、R、V、G、K、またはLのいずれかであり； X_4 は、N、S、K、またはGのいずれかであり； X_5 は、R、S、G、またはDのいずれかである。いくつかの場合には、本発明のDR-IL-18パリアントまたはその断片は、(i)配列ID番号30に記載の野生型ヒトIL-18アミノ酸配列と85%以上（例えば90%以上、または92%以上、または93%以上、または94%以上、または95%以上、または96%以上、または97%以上、または98%以上、または99%以上）一致していて、(ii)配列ID番号30に対し、M51 X_1 、K53 X_2 、Q56 X_3 、S105 X_4 、およびN111 X_5 という突然変異を含むアミノ酸配列を含んでいる。ただし X_1 はKであり； X_2 はGまたはSである； X_3 は、G、R、またはLのいずれかであり； X_4 は、S、N、またはGのいずれかであり； X_5 はGまたはRである。

【0121】

いくつかの実施態様では、マウスIL-18パリアントポリペプチドは、N1X、M50X、Y51X、K52X、S54X、E55X、V56X、R57X、G58X、L59X、R104X、N109X、およびL151Xからなるグループから選択された少なくとも1個の突然変異（例えば少なくとも2個、または少なくとも3個、または少なくとも4個、または少なくとも5個、または少なくとも6個の突然変異）を含んでいる。ただしXは任意のアミノ酸を表わす。いくつかの実施態様では、マウスIL-18パリアントポリペプチド、またはその断片は、N1H、N1Y、M50A、M50S、M50V、M50G、M50T、Y51R、K52V、K52S、K52T、K52G、K52A、S54R、S54K、S54G、S54N、E55R、E55H、E55N、E55D、E55G、V56L、V56M、V56R、V56A、V56S、V56Q、R57G、R57K、G58A、L59K、L59R、L59V、R104K、R104L、R104Q、R104S、N109D、およびL151Vからなるグループから選択された少なくとも1個の突然変異（例えば少なくとも2個、または少なくとも3個、または少なくとも4個、または少なくとも5個、または少なくとも6個の突然変異）を含んでいる。いくつかの実施態様では、マウスIL-18パリアントポリペプチドは、mCS1（配列ID番号60）、mCS2（配列ID番号61）、mC1（配列ID番号62）、mA12（配列ID番号63）、mE8（配列ID番号64）、mC10（配列ID番号65）、mB7（配列ID番号66）、mB1（配列ID番号67）、mD1（配列ID番号68）、mH7（配列ID番号69）、mA7（配列ID番号70）、mE1（配列ID番号71）、mH3（配列ID番号72）からなるグループから選択された少なくとも1つのパリアント、またはその

断片を含んでいる。

【0122】

いくつかの実施態様では、本発明は、少なくとも1つのIL-18バリエーションポリペプチドをコードする核酸（例えばDNA、cDNA、mRNAなど）である。

【0123】

治療するための抑制組成物と抑制法

【0124】

さまざまな実施態様では、本発明は、IL-18Bの活性またはレベルを低下させることが望ましい疾患または障害を治療または予防するためのIL-18BP抑制組成物とIL-18BP抑制法を含んでいる。このような薬剤の効能は、上記DR-IL-18バリエーションについて詳述した効能に包含される。IL-18Bの活性またはレベルを低下させることが望ましい疾患または障害であって、本発明の組成物と方法を用いて治療または予防することができるものの非限定的な例に含まれるのは、がん、感染性疾患、代謝性の疾患または障害、黄斑変性である。さまざまな実施態様では、治療または予防のための本発明のIL-18BP抑制組成物とIL-18BP抑制法は、IL-18BPポリペプチドの量、IL-18BP mRNAの量、IL-18BP酵素活性の量、IL-18BP基質結合活性の量、またはこれらの組み合わせを減らす。

10

【0125】

当業者は、本明細書に提示されている開示に基づき、IL-18BPのレベル低下がIL-18BPの発現の低下（転写と翻訳の一方または両方を含む）を包含していることを理解するであろう。当業者は、本発明の教示で武装すると、IL-18BPのレベル低下がIL-18BP活性（例えば酵素活性、基質結合活性など）の低下を含んでいることもわかるであろう。したがってIL-18BPのレベルまたは活性の低下の非限定的な例に含まれるのは、転写と翻訳の一方または両方の減少、IL-18BPをコードしている核酸の減少であり、そこにはIL-18BPポリペプチドのあらゆる活性の低下も含まれる。本発明のIL-18BP抑制組成物とIL-18BP抑制法は、IL-18BPを選択的に抑制すること、またはIL-18BPと別の分子の両方を抑制することができる。

20

【0126】

IL-18BPの抑制は、多彩な方法（本明細書に開示されている方法のほか、本分野で知られている方法、または将来開発される方法が含まれる）を利用して評価することができる。すなわち当業者であれば、本明細書に提示されている開示に基づき、IL-18BPのレベルまたは活性の低下を、IL-18BPをコードしている核酸（例えばmRNA）のレベル、生物サンプルの中に存在するIL-18BPポリペプチドのレベル、IL-18BP活性（例えば酵素活性、基質結合活性など）のレベル、またはこれらの組み合わせを評価する方法を利用して容易に評価できることを理解すると考えられる。

30

【0127】

当業者であれば、本明細書に提示されている開示に基づき、本発明が、疾患または障害の治療または予防を必要とする対象の疾患または障害の治療または予防にとって、その対象が別の薬または治療法で治療中であるかどうかに関係なく有用であることを理解すると考えられる。さらに当業者であれば、本明細書に提示されている教示に基づき、本明細書に記載されている組成物と方法によって治療できる疾患または障害に、IL-18BPがある役割を果たして、IL-18BPのレベルまたは活性の低下が治療の好ましい転帰を促進するあらゆる疾患または障害が包含されることを理解すると考えられる。

40

【0128】

IL-18BPのレベルまたは活性（例えば酵素活性、リガンド結合活性など）を低下させる本発明のIL-18BP抑制組成物とIL-18BP抑制法の非限定的な例に含まれるのは、化合物、ポリペプチド、ペプチド、ペプチド模倣体、抗体、リボザイム、小分子化合物、アンチセンス核酸分子（例えばsiRNA、miRNAなど）、またはこれらの組み合わせである。当業者であれば、本明細書に提示されている開示に基づき、IL-18BP抑制組成物に、IL-18BPのレベルまたは活性を低下させる化合物が包含されることを容易に理解すると考えられる。それに加え、IL-18BP抑制組成物には化学的に改変された化合物と誘導体が包含されることが、

50

化学分野の当業者にはよく知られている。

【0129】

IL-18BPのレベルまたは活性（例えば酵素活性、リガンド結合活性など）を低下させる本発明のIL-18BP抑制組成物とIL-18BP抑制法には抗体が含まれる。本発明の抗体には多彩な抗体が含まれ、その例に含まれるのは、ポリクローナル抗体、モノクローナル抗体、細胞内抗体（「イントラボディ」）、Fv、Fab、F(ab)2、一本鎖抗体（scFv）、重鎖抗体（ラクダ抗体など）、合成抗体、キメラ抗体、ヒト化抗体である。いくつかの実施態様では、本発明の抗体は、IL-18BPに特異的に結合する抗体である。

【0130】

いくつかの実施態様では、IL-18BP阻害剤は、IL-18BPに結合するが、IL-18R（例えばIL-18R とIL-18R ）には実質的に結合しないかIL-18Rとは相互作用しないように設計された改変IL-18パリアントを含んでいる。このパリアント（「デコイ対デコイ」（D2D））はIL-18BPへの結合に役立つため、内在的に産生されたIL-18または治療のために導入されたIL-18をIL-18BPが抑制するのを防止する。「デコイ対デコイ」は、本明細書の別の箇所に記載されているのとはほぼ同じ酵母提示選択戦略を利用して作製できると考えられる。だがその選択戦略とは異なり、IL-18BP結合に関する陽性選択と、IL-18R への実質的な結合に関するカウンターセレクションがなされる。

【0131】

さまざまな実施態様では、IL-18BPに結合してそのIL-18BPを抑制するIL-18パリアントポリペプチドは、野生型（WT）IL-18ポリペプチドに対し1個の突然変異を含んでいる。いくつかの実施態様では、WT IL-18ポリペプチドは、配列ID番号30のアミノ酸配列を含んでいる。別の実施態様では、WT IL-18ポリペプチドは、配列ID番号31のアミノ酸配列を含んでいる。

【0132】

さまざまな実施態様では、IL-18BPに結合してそのIL-18BPを抑制するIL-18パリアントポリペプチドは、Y1X、L5X、D17X、E31X、T34X、D35X、S36X、D37X、D40X、N41X、M51X、Q56X、M60X、Q103X、H109X、M113X、およびR131Xからなるグループから選択された少なくとも1個の突然変異（例えば少なくとも2個、または少なくとも3個、または少なくとも4個、または少なくとも5個、または少なくとも6個の突然変異）を含むヒトIL-18パリアントポリペプチドまたはその断片を含んでいる。ただしXは任意のアミノ酸を表わす。いくつかの実施態様では、IL-18BPに結合してそのIL-18BPを抑制するIL-18パリアントポリペプチドは、Y1D、Y1F、Y1H、Y1L、L5F、L5H、D17A、D17G、D17R、D17H、E31A、E31T、E31G、E31K、E31R、T34A、T34K T34E、D35S、D35A、D35Y、S36N、S36K、S36R、D37P、D37A、D37R、D37H、D37L、D37V、D40Y D40S、D40A、N41K、N41S、N41R、M51F、M51L、M51I、Q56H、M60L、M60F、M60I、Q103L、Q103I、H109A、H109P、H109D、M113L、M113I、M113F、およびR131Sからなるグループから選択された少なくとも1個の突然変異（例えば少なくとも2個、または少なくとも3個、または少なくとも4個、または少なくとも5個、または少なくとも6個の突然変異）を含むヒトIL-18パリアントポリペプチド、またはその断片を含んでいる。いくつかの実施態様では、IL-18BPに結合してそのIL-18BPを抑制するIL-18パリアントポリペプチドは、hD2D-5F12（配列ID番号92）、hD2D-5F11（配列ID番号93）、hD2D-5F10（配列ID番号94）、hD2D-5F08（配列ID番号95）、hD2D-5F06（配列ID番号96）、hD2D-5F04（配列ID番号97）、hD2D-5F02（配列ID番号98）、hD2D-5F01（配列ID番号99）、hD2D-5E10（配列ID番号100）、hD2D-5E08（配列ID番号101）、hD2D-5E03（配列ID番号102）、hD2D-5E02（配列ID番号103）、hD2D-5D10（配列ID番号104）、hD2D-5D08（配列ID番号105）、hD2D-5D06（配列ID番号106）、hD2D-5D05（配列ID番号107）、hD2D-5D03（配列ID番号108）、hD2D-5D02（配列ID番号109）、hD2D-5C10（配列ID番号110）、hD2D-5C09（配列ID番号111）、hD2D-5C08（配列ID番号112）、hD2D-5C05（配列ID番号113）、hD2D-5C04（配列ID番号114）、hD2D-5C03（配列ID番号115）、hD2D-5B11（配列ID番号116）、hD2D-5B10（配列ID番号117）、hD2D-5B06（配列ID番号118）、hD2D-5B05（配列ID番号119）、hD2D-5B02（配列ID番号120）、hD2D-5A09（配列ID番号121）、hD2D-5A02（配列ID番号122）、h

D2D-CS1 (配列ID番号123)、hD2D-CS2 (配列ID番号124)、hD2D-CS3 (配列ID番号125)のいずれか、またはその断片からなるグループから選択されたヒトIL-18バリエーションポリペプチドまたはその断片を含んでいる。

【0133】

いくつかの場合には、本発明のD2D-IL-18バリエーションまたはその断片は、配列ID番号30に対し、D17X、E30X、Q103Xからなるグループから選択された少なくとも1個の突然変異(例えば少なくとも2個、または少なくとも3個、または少なくとも4個の突然変異)を含んでいる。いくつかの場合には、本発明のDR-IL-18バリエーションまたはその断片は、配列ID番号30に対し、D17X₁、E30X₂、Q103X₃からなるグループから選択された少なくとも1個の突然変異(例えば少なくとも2個、または少なくとも3個、または少なくとも4個の突然変異)を含んでいる。ただしX₁は、G、H、R、またはAのいずれかであり; X₂は、A、T、G、K、またはRのいずれかであり; X₃はI またはLである。いくつかの場合には、本発明のD2D-IL-18バリエーション、またはその断片は、配列ID番号30に対し、D17G、E30A、(Q103LまたはQ103I)からなるグループから選択された少なくとも1個の突然変異(例えば少なくとも2個、または少なくとも3個、または少なくとも4個の突然変異)を含んでいる。

10

【0134】

いくつかの場合には、本発明のD2D-IL-18バリエーションまたはその断片は、配列ID番号30に対し、D17X、E30X、Q103Xという突然変異を含んでいる。例えばいくつかの場合には、本発明のDR-IL-18バリエーションまたはその断片は、配列ID番号30に対し、D17X₁、E30X₂、Q103X₃という突然変異を含んでいる。ただしX₁は、G、H、R、Aのいずれかであり; X₂は、A、T、G、K、Rのいずれかであり; X₃はI またはLである。いくつかの場合には、本発明のD2D-IL-18バリエーションまたはその断片は、配列ID番号30に対し、D17G、E30A、(Q103LまたはQ103I)という突然変異を含んでいる。

20

【0135】

いくつかの場合には、本発明のD2D-IL-18バリエーション、またはその断片は、配列ID番号30に対し、D17X、E30X、D35X、M51X、およびQ103Xからなるグループから選択された少なくとも1個の突然変異(例えば少なくとも2個、または少なくとも3個、または少なくとも4個の突然変異)を含んでいる。いくつかの場合には、本発明のDR-IL-18バリエーション、またはその断片は、配列ID番号30に対し、D17X₁、E30X₂、D35X₃、M51X₄、およびQ103X₃からなるグループから選択された少なくとも1個の突然変異(例えば少なくとも2個、または少なくとも3個、または少なくとも4個の突然変異)を含んでいる。ただしX₁は、G、H、R、またはAのいずれかであり; X₂は、A、T、G、K、またはRのいずれかであり; X₃はS、A、またはYのいずれかであり; X₄は、F、I、またはLのいずれかであり; X₅はI またはLである。いくつかの場合には、本発明のD2D-IL-18バリエーションまたはその断片は、配列ID番号30に対し、D17G、E30A、D35S、M51F、(Q103LまたはQ103I)からなるグループから選択された少なくとも1個の突然変異(例えば少なくとも2個、または少なくとも3個、または少なくとも4個の突然変異)を含んでいる。

30

【0136】

いくつかの場合には、本発明のD2D-IL-18バリエーション、またはその断片は、配列ID番号30に対し、D17X、E30X、D35X、M51X、およびQ103Xという突然変異を含んでいる。いくつかの場合には、本発明のDR-IL-18バリエーション、またはその断片は、配列ID番号30に対し、D17X₁、E30X₂、D35X₃、M51X₄、およびQ103X₃という突然変異を含んでいる。ただしX₁は、G、H、R、またはAのいずれかであり; X₂は、A、T、G、K、またはRのいずれかであり; X₃はS、A、またはYのいずれかであり; X₄は、F、I、またはLのいずれかであり; X₅はI またはLである。いくつかの場合には、本発明のD2D-IL-18バリエーションまたはその断片は、配列ID番号30に対し、D17G、E30A、D35S、M51F、および(Q103LまたはQ103I)という突然変異を含んでいる。

40

【0137】

いくつかの場合には、本発明のD2D-IL-18バリエーション、またはその断片は、配列ID番号30に記載の野生型ヒトIL-18アミノ酸配列と85%以上(例えば90%以上、または92%以上、

50

または93%以上、または94%以上、または95%以上、または96%以上、または97%以上、または98%以上、または99%以上)一致するアミノ酸配列を含んでいる。そのためいくつかの場合には、本発明のD2D-IL-18パリアント、またはその断片は、(i)配列ID番号30に記載の野生型ヒトIL-18アミノ酸配列と85%以上(例えば90%以上、または92%以上、または93%以上、または94%以上、または95%以上、または96%以上、または97%以上、または98%以上、または99%以上)一致していて、(ii)野生型IL-18(例えばヒトIL-18)に対し少なくとも1個の突然変異(例えば少なくとも2個、または少なくとも3個、または少なくとも4個、または少なくとも5個、または少なくとも6個の突然変異)を含むアミノ酸配列を含んでいる。

【0138】

いくつかの場合には、本発明のD2D-IL-18パリアントまたはその断片は、配列ID番号126~190のいずれか1つに記載のアミノ酸配列と85%以上(例えば90%以上、または92%以上、または93%以上、または94%以上、または95%以上、または96%以上、または97%以上、または98%以上、または99%以上)一致するアミノ酸配列を含んでいる。そのためいくつかの場合には、本発明のD2D-IL-18パリアント、またはその断片は、(i)配列ID番号126~190のいずれか1つに記載のアミノ酸配列と85%以上(例えば90%以上、または92%以上、または93%以上、または94%以上、または95%以上、または96%以上、または97%以上、または98%以上、または99%以上)一致していて、(ii)野生型IL-18(例えばヒトIL-18)に対し少なくとも1個の突然変異(例えば少なくとも2個、または少なくとも3個、または少なくとも4個、または少なくとも5個、または少なくとも6個の突然変異)を含むアミノ酸配列を含んでいる。

【0139】

いくつかの場合には、本発明のD2D-IL-18パリアント、またはその断片は、(i)配列ID番号30に記載の野生型ヒトIL-18アミノ酸配列と85%以上(例えば90%以上、または92%以上、または93%以上、または94%以上、または95%以上、または96%以上、または97%以上、または98%以上、または99%以上)一致していて、(ii)Y1X、L5X、D17X、E31X、T34X、D35X、S36X、D37X、D40X、N41X、M51X、Q56X、M60X、Q103X、H109X、M113X、およびR131Xからなるグループから選択された少なくとも1個の突然変異(例えば少なくとも2個、または少なくとも3個、または少なくとも4個、または少なくとも5個、または少なくとも6個の突然変異)を含むアミノ酸配列を含んでいる。

【0140】

いくつかの場合には、本発明のD2D-IL-18パリアント、またはその断片は、(i)配列ID番号30に記載の野生型ヒトIL-18アミノ酸配列と85%以上(例えば90%以上、または92%以上、または93%以上、または94%以上、または95%以上、または96%以上、または97%以上、または98%以上、または99%以上)一致していて、(ii)配列ID番号30に対し、D17X、E30X、およびQ103Xからなるグループから選択された少なくとも1個の突然変異(例えば少なくとも2個、または少なくとも3個、または少なくとも4個、または少なくとも5個、または少なくとも6個の突然変異)を含むアミノ酸配列を含んでいる。いくつかの場合には、本発明のD2D-IL-18パリアント、またはその断片は、(i)配列ID番号30に記載の野生型ヒトIL-18アミノ酸配列と85%以上(例えば90%以上、または92%以上、または93%以上、または94%以上、または95%以上、または96%以上、または97%以上、または98%以上、または99%以上)一致していて、(ii)配列ID番号30に対し、D17X₁、E30X₂、およびQ103X₃からなるグループから選択された少なくとも1個の突然変異(例えば少なくとも2個、または少なくとも3個、または少なくとも4個、または少なくとも5個、または少なくとも6個の突然変異)を含むアミノ酸配列を含んでいる。ただしX₁は、G、H、R、またはAのいずれかであり；X₂は、A、T、G、K、またはRのいずれかであり；X₃はIまたはLである。いくつかの場合には、本発明のD2D-IL-18パリアント、またはその断片は、(i)配列ID番号30に記載の野生型ヒトIL-18アミノ酸配列と85%以上(例えば90%以上、または92%以上、または93%以上、または94%以上、または95%以上、または96%以上、または97%以上、または98%以上、または99%以上)一致していて、(ii)配列ID番号30に対し、D17X

10

20

30

40

50

、E30X、および(Q103LまたはQ103I)からなるグループから選択された少なくとも1個の突然変異(例えば少なくとも2個、または少なくとも3個、または少なくとも4個、または少なくとも5個、または少なくとも6個の突然変異)を含むアミノ酸配列を含んでいる。

【0141】

いくつかの場合には、本発明のD2D-IL-18バリエーション、またはその断片は、(i)配列ID番号30に記載の野生型ヒトIL-18アミノ酸配列と85%以上(例えば90%以上、または92%以上、または93%以上、または94%以上、または95%以上、または96%以上、または97%以上、または98%以上、または99%以上)一致していて、(ii)配列ID番号30に対し、D17X、E30X、Q103Xという突然変異を含むアミノ酸配列を含んでいる。いくつかの場合には、本発明のD2D-IL-18バリエーションまたはその断片は、(i)配列ID番号30に記載の野生型ヒトIL-18アミノ酸配列と85%以上(例えば90%以上、または92%以上、または93%以上、または94%以上、または95%以上、または96%以上、または97%以上、または98%以上、または99%以上)一致していて、(ii)配列ID番号30に対し、D17X₁、E30X₂、およびQ103X₃という突然変異を含むアミノ酸配列を含んでいる。ただしX₁は、G、H、R、Aのいずれかであり；X₂は、A、T、G、K、またはRのいずれかであり；X₃はIまたはLである。いくつかの場合には、本発明のD2D-IL-18バリエーション、またはその断片は、(i)配列ID番号30に記載の野生型ヒトIL-18アミノ酸配列と85%以上(例えば90%以上、または92%以上、または93%以上、または94%以上、または95%以上、または96%以上、または97%以上、または98%以上、または99%以上)一致していて、(ii)配列ID番号30に対し、D17X、E30X、(Q103LまたはQ103I)という突然変異を含むアミノ酸配列を含んでいる。

10

20

【0142】

いくつかの場合には、本発明のD2D-IL-18バリエーション、またはその断片は、(i)配列ID番号30に記載の野生型ヒトIL-18アミノ酸配列と85%以上(例えば90%以上、または92%以上、または93%以上、または94%以上、または95%以上、または96%以上、または97%以上、または98%以上、または99%以上)一致していて、(ii)配列ID番号30に対し、D17X、E30X、D35X、M51X、およびQ103Xからなるグループから選択された少なくとも1個の突然変異(例えば少なくとも2個、または少なくとも3個、または少なくとも4個、または少なくとも5個、または少なくとも6個の突然変異)を含むアミノ酸配列を含んでいる。いくつかの場合には、本発明のD2D-IL-18バリエーション、またはその断片は、(i)配列ID番号30に記載の野生型ヒトIL-18アミノ酸配列と85%以上(例えば90%以上、または92%以上、または93%以上、または94%以上、または95%以上、または96%以上、または97%以上、または98%以上、または99%以上)一致していて、(ii)配列ID番号30に対し、D17X₁、E30X₂、D35X₃、M51X₄、およびQ103X₃からなるグループから選択された少なくとも1個の突然変異(例えば少なくとも2個、または少なくとも3個、または少なくとも4個、または少なくとも5個、または少なくとも6個の突然変異)を含むアミノ酸配列を含んでいる。ただしX₁は、G、H、R、またはAのいずれかであり；X₂は、A、T、G、K、またはRのいずれかであり；X₃はS、A、またはYのいずれかであり；X₄は、F、I、またはLのいずれかであり；X₅はIまたはLである。いくつかの場合には、本発明のD2D-IL-18バリエーションまたはその断片は、(i)配列ID番号30に記載の野生型ヒトIL-18アミノ酸配列と85%以上(例えば90%以上、または92%以上、または93%以上、または94%以上、または95%以上、または96%以上、または97%以上、または98%以上、または99%以上)一致していて、(ii)配列ID番号30に対し、D17X、E30X、D35X、M51X、および(Q103LまたはQ103I)からなるグループから選択された少なくとも1個の突然変異(例えば少なくとも2個、または少なくとも3個、または少なくとも4個、または少なくとも5個、または少なくとも6個の突然変異)を含むアミノ酸配列を含んでいる。

30

40

【0143】

いくつかの場合には、本発明のD2D-IL-18バリエーション、またはその断片は、(i)配列ID番号30に記載の野生型ヒトIL-18アミノ酸配列と85%以上(例えば90%以上、または92%以上、または93%以上、または94%以上、または95%以上、または96%以上、または97%以上、または98%以上、または99%以上)一致していて、(ii)配列ID番号30に対し、D1

50

7X、E30X、D35X、M51X、およびQ103Xという突然変異を含むアミノ酸配列を含んでいる。いくつかの場合には、本発明のD2D-IL-18バリエーション、またはその断片は、(i) 配列ID番号30に記載の野生型ヒトIL-18アミノ酸配列と85%以上(例えば90%以上、または92%以上、または93%以上、または94%以上、または95%以上、または96%以上、または97%以上、または98%以上、または99%以上)一致していて、(ii) 配列ID番号30に対し、D17X₁、E30X₂、D35X₃、M51X₄、およびQ103X₃という突然変異を含むアミノ酸配列を含んでいる。ただしX₁は、G、H、R、またはAのいずれかであり; X₂は、A、T、G、K、またはRのいずれかであり; X₃はS、A、またはYのいずれかであり; X₄は、F、I、またはLのいずれかであり; X₅はI またはLである。いくつかの場合には、本発明のD2D-IL-18バリエーション、またはその断片は、(i) 配列ID番号30に記載の野生型ヒトIL-18アミノ酸配列と85%以上(例えば90%以上、または92%以上、または93%以上、または94%以上、または95%以上、または96%以上、または97%以上、または98%以上、または99%以上)一致していて、(ii) 配列ID番号30に対し、D17X、E30X、D35X、M51X、および(Q103LまたはQ103I)という突然変異を含むアミノ酸配列を含んでいる。

10

20

30

40

50

【0144】

いくつかの実施態様では、IL-18BPに結合してそのIL-18BPを抑制するIL-18バリエーションポリペプチドは、N1X、L5X、D17X、E30X、T33X、D34X、I35X、D36X、M50X、Q102X、R104、H108X、N109X、M111X、D129X、およびD130Xからなるグループから選択された少なくとも1個の突然変異(例えば少なくとも2個、または少なくとも3個、または少なくとも4個、または少なくとも5個、または少なくとも6個の突然変異)を含むマウスIL-18バリエーションポリペプチドを含んでいる。ただしXは任意のアミノ酸を表わす。いくつかの実施態様では、IL-18BPに結合してそのIL-18BPを抑制するIL-18バリエーションポリペプチドは、N1Y、N1D、N1H、N1L、N1F、N1V、N1I、L5Y、L5H、D17Q、D17G、D17A、D17E、D17S、D17N、E30A、E30R、E30K、E30T、E30G、T33G、T33A、T33E、T33R、T33K、D34Y、D34S、D34A、I35T、I35K、I35R、D36V、D36A、D36G、D36H、D36P、D36R、D36L、M50F、M50L、Q102L、Q102I、R104E、R104A、R104P、R104G、R104Q、R104H、H108D、H108A、N109R、N109S、N109T、N109L、M111L、M111I、D129A、D129F、D129V、D129Y、D129S、D130E、D130T、D130G、D130N、D130R、D130S、D130Q、およびD130Hからなるグループから選択された少なくとも1個の突然変異(例えば少なくとも2個、または少なくとも3個、または少なくとも4個、または少なくとも5個、または少なくとも6個の突然変異)を含むマウスIL-18バリエーションポリペプチドまたはその断片を含んでいる。いくつかの実施態様では、IL-18BPに結合してそのIL-18BPを抑制するIL-18バリエーションポリペプチドは、mD2D-A5(配列ID番号126)、mD2D-A6(配列ID番号127)、mD2D-A7(配列ID番号128)、mD2D-A8(配列ID番号129)、mD2D-A9(配列ID番号130)、mD2D-A11(配列ID番号131)、mD2D-A12(配列ID番号132)、mD2D-B4(配列ID番号133)、mD2D-B7(配列ID番号134)、mD2D-B11(配列ID番号135)、mD2D-B12(配列ID番号136)、mD2D-C1(配列ID番号137)、mD2D-C3(配列ID番号138)、mD2D-C5(配列ID番号139)、mD2D-C6(配列ID番号140)、mD2D-C9(配列ID番号141)、mD2D-C10(配列ID番号142)、mD2D-C11(配列ID番号143)、mD2D-D1(配列ID番号144)、mD2D-D9(配列ID番号145)、mD2D-D12(配列ID番号146)、mD2D-E3(配列ID番号147)、mD2D-E4(配列ID番号148)、mD2D-E5(配列ID番号149)、mD2D-E7(配列ID番号150)、mD2D-E8(配列ID番号151)、mD2D-E9(配列ID番号152)、mD2D-E10(配列ID番号153)、mD2D-E11(配列ID番号154)、mD2D-E12(配列ID番号155)、mD2D-F3(配列ID番号156)、mD2D-F4(配列ID番号157)、mD2D-F5(配列ID番号158)、mD2D-F7(配列ID番号159)、mD2D-F8(配列ID番号160)、mD2D-F9(配列ID番号161)、mD2D-G1(配列ID番号162)、mD2D-G7(配列ID番号163)、mD2D-G9(配列ID番号164)、mD2D-H7(配列ID番号165)、mD2D-E1(配列ID番号166)、mD2D-G8(配列ID番号167)、mD2D-H3(配列ID番号168)、mD2D-A10(配列ID番号169)、mD2D-H1(配列ID番号170)、mD2D-F12(配列ID番号171)、mD2D-G10(配列ID番号172)、mD2D-G12(配列ID番号173)、mD2D-E2(配列ID番号174)、mD2D-G11(配列ID番号175)、mD2D-C4(配列ID番号176)、mD2D-F11(配列ID番号177)、mD2D-C2(配列ID番号178)、mD2D-F10(配列ID番号179)、mD2D-A2(配列ID番号180)、mD2D-F6(配列ID番号181)

)、mD2D-A1 (配列ID番号182)、mD2D-E6 (配列ID番号183)、mD2D-D4 (配列ID番号184)、mD2D-D6 (配列ID番号185)、mD2D-A3 (配列ID番号186)、mD2D-A4 (配列ID番号187)、mD2D-B10 (配列ID番号188)、mD2D-B8 (配列ID番号189)、mD2D-B9 (配列ID番号190)のいずれか、またはその断片からなるグループから選択されたマウスIL-18バリエーションポリペプチドまたはその断片を含んでいる。

【0145】

いくつかの実施態様では、本発明は、少なくとも1つのIL-18バリエーションポリペプチドをコードする核酸(例えばDNA、cDNA、mRNAなど)である。

【0146】

いくつかの実施態様では、IL-18阻害剤は、IL-18BPに結合するとともに、IL-18Rに対して実質的に減少した結合を示すIL-18バリエーションポリペプチドである。いくつかの実施態様では、IL-18BPに結合するとともに、IL-18Rに対して実質的に減少した結合を示すIL-18BP阻害剤は、IL-18Rに対する野生型IL-18の結合親和性の約0.0000000000001%~約95%の結合親和性でIL-18Rに結合する。

【0147】

いくつかの実施態様では、IL-18BPに結合するとともに、IL-18Rに対して実質的に減少した結合を示すIL-18バリエーションポリペプチドは、IL-18Rに対する野生型IL-18の結合親和性の約95%の結合親和性でIL-18Rに結合する。いくつかの実施態様では、IL-18BPに結合するとともに、IL-18Rに対して実質的に減少した結合を示すIL-18バリエーションポリペプチドは、IL-18Rに対する野生型IL-18の結合親和性の約90%の結合親和性でIL-18Rに結合する。いくつかの実施態様では、IL-18BPに結合するとともに、IL-18Rに対して実質的に減少した結合を示すIL-18バリエーションポリペプチドは、IL-18Rに対する野生型IL-18の結合親和性の約85%の結合親和性でIL-18Rに結合する。いくつかの実施態様では、IL-18BPに結合するとともに、IL-18Rに対して実質的に減少した結合を示すIL-18バリエーションポリペプチドは、IL-18Rに対する野生型IL-18の結合親和性の約80%の結合親和性でIL-18Rに結合する。いくつかの実施態様では、IL-18BPに結合するとともに、IL-18Rに対して実質的に減少した結合を示すIL-18バリエーションポリペプチドは、IL-18Rに対する野生型IL-18の結合親和性の約75%の結合親和性でIL-18Rに結合する。いくつかの実施態様では、IL-18BPに結合するとともに、IL-18Rに対して実質的に減少した結合を示すIL-18バリエーションポリペプチドは、IL-18Rに対する野生型IL-18の結合親和性の約70%の結合親和性でIL-18Rに結合する。いくつかの実施態様では、IL-18BPに結合するとともに、IL-18Rに対して実質的に減少した結合を示すIL-18バリエーションポリペプチドは、IL-18Rに対する野生型IL-18の結合親和性の約65%の結合親和性でIL-18Rに結合する。いくつかの実施態様では、IL-18BPに結合するとともに、IL-18Rに対して実質的に減少した結合を示すIL-18バリエーションポリペプチドは、IL-18Rに対する野生型IL-18の結合親和性の約60%の結合親和性でIL-18Rに結合する。いくつかの実施態様では、IL-18BPに結合するとともに、IL-18Rに対して実質的に減少した結合を示すIL-18バリエーションポリペプチドは、IL-18Rに対する野生型IL-18の結合親和性の約55%の結合親和性でIL-18Rに結合する。いくつかの実施態様では、IL-18BPに結合するとともに、IL-18Rに対して実質的に減少した結合を示すIL-18バリエーションポリペプチドは、IL-18Rに対する野生型IL-18の結合親和性の約50%の結合親和性でIL-18Rに結合する。いくつかの実施態様では、IL-18BPに結合するとともに、IL-18Rに対して実質的に減少した結合を示すIL-18バリエーションポリペプチドは、IL-18Rに対する野生型IL-18の結合親和性の約45%の結合親和性でIL-18Rに結合する。いくつかの実施態様では、IL-18BPに結合するとともに、IL-18Rに対して実質的に減少した結合を示すIL-18バリエーションポリペプチドは、IL-18Rに対する野生型IL-18の結合親和性の約40%の結合親和性でIL-18Rに結合する。いくつかの実施態様では、IL-18BPに結合するとともに、IL-18Rに対して実質的に減少した結合を示すIL-18バリエーションポリペプチドは、IL-18Rに対する野生型IL-18の結合親和性の約35%の結合親和性でIL-18Rに結合する。いくつかの実施態様では、IL-18BPに結合するとともに、IL-18Rに対して実質的に減少した結合を示すIL-18バリエーションポリペプチドは、IL-18Rに対する野生型IL-18の結合親和性の約30%の結合親和性でIL-18Rに

10

20

30

40

50

に減少した結合を示すIL-18バリエーションポリペプチドは、IL-18Rに対する野生型IL-18の結合親和性の約0.00000000001%の結合親和性でIL-18Rに結合する。いくつかの実施態様では、IL-18BPに結合するとともに、IL-18Rに対して実質的に減少した結合を示すIL-18バリエーションポリペプチドは、IL-18Rに対する野生型IL-18の結合親和性の約0.00000000001%の結合親和性でIL-18Rに結合する。いくつかの実施態様では、IL-18BPに結合するとともに、IL-18Rに対して実質的に減少した結合を示すIL-18バリエーションポリペプチドは、IL-18Rに対する野生型IL-18の結合親和性の約0.000000000001%の結合親和性でIL-18Rに結合する。

【0150】

さらに、当業者であれば、本開示と本明細書に例示されている方法を教授されると、本明細書に詳述されているように、および/または本分野で知られているように、IL-18BP抑制組成物に、将来発見される阻害剤や、薬理学の分野で周知の基準（例えばIL-18BPを抑制することの生理学的な結果）によって同定できる阻害剤が含まれることを理解すると考えられる。したがって本発明が、本明細書に例示または開示されているどれか特定のIL-18BP抑制組成物に限定されることは決してなく、むしろ本発明は、本分野で知られている抑制組成物や、将来発見される抑制組成物で、当業者が有用であると理解すると考えられるものを包含する。

【0151】

IL-18BP抑制組成物を同定する別の方法と、IL-18BP抑制組成物を製造する別の方法は、当業者によく知られており、その非限定的な例に含まれるのは、天然の供給源（例えばストレプトミセス属の種、シュードモナス属の種、スティロテラ・アウランティウム（*Stylotella aurantium*）など）から阻害剤を取得するという方法である。あるいはIL-18BP阻害剤は、化学的に合成することができる。さらに、当業者であれば、本明細書に提示されている教示に基づき、IL-18BP抑制組成物を組み換え生物から得ることができることを理解すると考えられる。IL-18BP阻害剤を化学的に合成するための組成物と方法、天然の供給源からIL-18BP阻害剤を取得するための組成物と方法は本分野で周知であり、先行技術に記載されている。

【0152】

当業者は、阻害剤を、小分子化合物、タンパク質、抗体、タンパク質をコードする核酸コンストラクト、アンチセンス核酸、アンチセンス核酸をコードする核酸コンストラクトのいずれかとして、またはこれらの組み合わせとして投与できることを理解するであろう。タンパク質、またはタンパク質をコードする核酸コンストラクトを細胞または組織に投与するための多数のベクターと、他の組成物および方法が知られている。したがって本発明には、タンパク質（IL-18BPの阻害剤）、またはタンパク質をコードする核酸を投与する方法が含まれる。（Sambrook他、2012年、『Molecular Cloning: A Laboratory Manual』、Cold Spring Harbor Laboratory、ニューヨーク州；Ausubel他、1997年、『Current Protocols in Molecular Biology』、John Wiley & Sons社、ニューヨーク）。

【0153】

当業者は、それ自体がIL-18BPの量または活性を増大させる分子の量または活性を低下させることが、本発明の組成物と方法においてIL-18BPの量または活性を低下させるのに役立つ可能性があることを理解するであろう。

【0154】

アンチセンスオリゴヌクレオチドは、ある1つのRNA分子の一部と相補的なDNA分子またはRNA分子である。アンチセンスオリゴヌクレオチドは、細胞の中にあると、存在しているRNA分子にハイブリダイズし、遺伝子産物への翻訳を抑制する。アンチセンスオリゴヌクレオチドを用いた遺伝子発現の抑制は本分野でよく知られており（Marcus-Sekura、1988年、Anal. Biochem. 第172巻：289ページ）、細胞の中でアンチセンスオリゴヌクレオチドを発現させる方法（Inoue、アメリカ合衆国特許第5,190,931号）も同様によく知られている。本発明の方法には、アンチセンスオリゴヌクレオチドを利用してIL-18BPの量を減らしたり、IL-18BPの量または活性の増大を引き起こす分子の量を減らしたりすることにより、IL-18BPの量または活性を低下させることが含まれる。

10

20

30

40

50

【0155】

本発明で考慮するのは、当業者に周知の方法によって合成されて細胞に提供されるアンチセンスオリゴヌクレオチドである。一例として、アンチセンスオリゴヌクレオチドは、長さが約10個～約100個、より一般的には約15個～約50個のヌクレオチドとして合成することができる。核酸分子の合成は本分野において周知であり、改変されたアンチセンスオリゴヌクレオチドを合成し、改変されていないアンチセンスオリゴヌクレオチドに対し生物活性を向上させることも同様に周知である（Tullis、1991年、アメリカ合衆国特許第5,023,24号）。

【0156】

同様に、遺伝子の発現は、アンチセンス分子を遺伝子のプロモータまたはそれ以外の調節エレメントにハイブリダイズさせることによって抑制することができ、そのことによってその遺伝子の転写に影響が及ぶ。興味ある遺伝子と相互作用するプロモータまたはそれ以外の調節エレメントを同定する方法は本分野において周知であり、その例には酵母ツーハイブリッドシステムなどの方法が含まれる（BartelとFields編、『The Yeast Two Hybrid System』、Oxford University Press、キャリー、ノースカロライナ州）。

【0157】

あるいは、IL-18BPを発現する遺伝子の抑制、またはIL-18BPのレベルまたは活性を増大させるタンパク質を発現する遺伝子の抑制は、リボザイムを使用して実現することができる。遺伝子発現の抑制にリボザイムを用いることは当業者によく知られている（例えばCech他、1992年、J. Biol. Chem. 第267巻：17479ページ；Hampel他、1989年、Biochemistry 第28巻：4929ページ；Altman他、アメリカ合衆国特許第5,168,053号を参照されたい）。リボザイムは触媒作用のあるRNA分子であり、他の一本鎖RNA分子を切断する能力を有する。リボザイムは配列特異的であることが知られているため、リボザイムを改変して特定のヌクレオチド配列を認識することができ（Cech、1988年、J. Amer. Med. Assn. 第260巻：3030ページ）、そのことによって特定のmRNA分子の選択的な切断が可能になる。当業者は、分子のヌクレオチド配列が与えられると、本開示とその中に組み込まれている参考文献に基づき、特別な実験なしにアンチセンスオリゴヌクレオチドまたはリボザイムを合成できると考えられる。

【0158】

当業者は、IL-18BPの阻害剤を、急性に（例えば短い期間（1日、1週間、1ヶ月など））、または慢性に（例えば長い期間（数ヶ月、1年以上など））投与できることを理解するであろう。当業者は、IL-18BPの阻害剤を単独で、または他の薬剤との任意の組み合わせで投与できることを理解するであろう。さらに、IL-18BP阻害剤を単独で投与できること、または任意の組み合わせで時間的に（同時に、および/または互いに前後して）投与できることを理解するであろう。当業者は、本明細書に提示されている開示に基づき、IL-18BP抑制組成物を用いてそれを必要とする対象の疾患または障害を治療または予防できることと、抑制組成物を単独で、または他の薬剤との任意の組み合わせで用いて治療結果に影響を与えられることを理解するであろう。

【0159】

さまざまな実施態様では、本明細書に記載されている本発明の任意のIL-18BP阻害剤を単独で投与すること、または本明細書に開示されているか本分野で知られている疾患または障害に関係する他の分子の他の阻害剤と組み合わせで投与することができる。

【0160】

当業者は、本明細書に詳述されている方法を含む本開示で武装すると、本発明が、すでに明確にされている疾患または障害の治療に限定されないことを理解するであろう。特に、疾患または障害が対象の損傷箇所に現われている必要はない。実際、疾患または障害は、治療を適用する前には対象で検出される必要がない。すなわち、本発明が便益の可能性を提供する前に顕著な疾患または障害が起こる必要はない。したがって本発明には、対象の疾患または障害を予防する方法が含まれており、その疾患または障害の発症前に、すでに他の箇所で論じたIL-18BP抑制組成物を対象に投与することで、その疾患または障害が

10

20

30

40

50

進行するのを防止することができる。本明細書に記載の予防法には、寛解中の対象を治療して疾患または障害の再発を予防することも含まれる。

【0161】

当業者であれば、本明細書の開示で武装すると、疾患または障害の予防に、その疾患または障害の予防措置として対象にIL-18BP抑制組成物を投与することが包含されることを理解すると考えられる。本明細書の別の箇所により詳しく議論されているように、IL-18BPのレベルまたは活性を低下させる方法には、IL-18BPの活性だけでなく、IL-18BPをコードする核酸の発現（転写と翻訳の一方または両方が含まれる）を低下させる広範な技術が包含される。

【0162】

それに加え、本明細書の別の箇所に開示されているように、当業者であれば、本明細書に提示されている教示で武装すると、本発明には、多彩な疾患、障害、病態を予防する方法が包含されていて、IL-18BPの発現および/または活性を低下させることで、その疾患、障害、病態を緩和、または治療、または予防できること理解すると考えられる。疾患がIL-18BPのレベルまたは活性と関係しているかどうかを評価する方法は本分野で知られている。さらに、本発明には、そのような疾患について将来発見される治療法または予防法が包含される。

【0163】

本発明には、本発明の方法を実施するためのIL-18BPの阻害剤の投与が包含される。当業者であれば、本明細書に提示されている開示に基づき、適切なIL-18BP阻害剤を調製して対象に投与する方法を理解すると考えられる。しかし本発明が特定のどれかの投与方法または治療計画に限定されることはない。

【0164】

サイトカイン阻害剤

【0165】

いくつかの実施態様では、本発明の組成物は、1つ以上のサイトカインの阻害剤を含んでいる。いくつかの実施態様では、1つ以上のサイトカインの阻害剤は、1つ以上のサイトカインの発現と活性の一方または両方を抑制する化合物、タンパク質、ペプチド、ペプチド模倣体、抗体、リボザイム、小分子化合物、アンチセンス核酸分子（例えばsiRNA、miRNAなど）のいずれかを含んでいる。いくつかの実施態様では、阻害剤は、IL-17、IL-5、IL-3の発現と活性の一方または両方を抑制する。いくつかの実施態様では、サイトカイン阻害剤は毒性を低下させる。いくつかの実施態様では、サイトカイン阻害剤は、投与されたIL-18バリエーションポリペプチドまたはIL-18BP阻害剤の効果を増大させる。

【0166】

治療と予防のための組成物と方法

【0167】

さまざまな実施態様では、本発明は、IL-18活性（例えば少なくとも1つのIL-18Rを通じたシグナル伝達活性）の活性化剤を含む組成物と、それを必要とする細胞、組織、臓器、系、対象の中でIL-18活性（例えば少なくとも1つのIL-18Rを通じたシグナル伝達）を増大させる方法を含んでいる。さまざまな実施態様では、治療のためIL-18活性を活性化する本発明の組成物と方法は、IL-18Rシグナル伝達の量と免疫細胞活性の量の一方または両方を増大させる。さまざまな実施態様では、IL-18Rシグナル伝達を増やすことで治療の転帰が改善する可能性がある疾患と障害の非限定的な例に含まれるのは、がん、感染性疾患、黄斑変性、代謝性の疾患または障害である。

【0168】

以下に示すのは、本発明の方法と組成物によって治療または予防することのできるがんの非限定的な例である：急性リンパ芽球性白血病、急性骨髄性白血病、副腎皮質癌、虫垂がん、基底細胞癌、胆管がん、膀胱がん、骨がん、脳と脊髄の腫瘍、脳幹グリオーマ、脳腫瘍、乳がん、気管支腫瘍、パーキットリンパ腫、カルチノイド腫瘍、中枢神経系非定型奇形腫様/ラブドイド腫瘍、中枢神経系胎児性腫瘍、中枢神経系リンパ腫、小脳性星細胞

10

20

30

40

50

腫、大脳性星細胞腫／悪性グリオーマ、子宮頸がん、小児視路グリオーマ、脊索腫、慢性リンパ球性白血病、慢性骨髄性白血病、慢性脊髄増殖性障害、結腸がん、大腸がん、頭蓋咽頭腫、皮膚がん、皮膚T細胞リンパ腫、子宮内膜がん、上衣芽腫、食道がん、ユーイング腫瘍、頭蓋外がん、性腺外胚細胞腫、肝外胆管がん、肝外がん、目がん、菌状息肉症、胆嚢がん、胃がん、消化管がん、消化管カルチノイド腫瘍、消化管間質腫瘍（ジスト）、胚細胞腫瘍、妊娠性がん、妊娠性絨毛腫瘍、膠芽腫、グリオーマ、有毛細胞白血病、頭頸部がん、肝細胞（肝臓）がん、組織球症、ホジキンリンパ腫、下咽頭がん、視床下部と視路のグリオーマ、視床下部腫瘍、眼内（目）がん、眼内黒色腫、腓島細胞腫瘍、カボジ肉腫、腎臓（腎細胞）がん、ランゲルハンス細胞がん、ランゲルハンス細胞組織球症、咽頭がん、白血病、口唇と口腔のがん、肝臓がん、肺がん、リンパ腫、マクログロブリン血症、骨の悪性線維性組織球症と骨肉腫、髄芽腫、髄上皮腫、黒色腫、メルケル細胞癌、中皮腫、原発不明の転移性扁平上皮がん、口がん、多発性内分泌腺腫瘍症候群、多発性骨髄腫、真菌症、骨髄異形成症候群、骨髄異形成／骨髄増殖性疾患、骨髄性白血病、骨髄性白血病、骨髄腫、骨髄増殖性障害、鼻腔と副鼻腔のがん、上咽頭がん、神経芽細胞腫、非ホジキンリンパ腫、非小細胞肺がん、口腔がん、口腔がん、中咽頭がん、骨肉腫と悪性線維性組織球症、骨肉腫と骨の悪性線維性組織球症、卵巣がん、卵巣上皮がん、卵巣胚細胞腫瘍、卵巣低悪性度腫瘍、膵臓がん、乳頭腫症、傍神経節腫、副甲状腺がん、陰茎がん、咽頭がん、褐色細胞腫、中間型松果体実質腫瘍、松果体芽腫とテント上原始神経外胚葉性腫瘍、下垂体腫瘍、形質細胞腫瘍、形質細胞腫瘍／多発性骨髄腫、胸膜肺芽腫、中枢神経系原発がん、中枢神経系原発リンパ腫、前立腺がん、直腸がん、腎細胞（腎臓）がん、腎盂と尿管のがん、第15染色体上のNUT遺伝子が関与する気道癌、網膜芽細胞腫、横紋筋肉腫、唾液腺がん、肉腫、セザリー症候群、皮膚がん（黒色腫）、皮膚がん（非黒色腫）、皮膚癌、小細胞肺がん、小腸がん、軟組織がん、軟組織肉腫、扁平上皮癌、扁平上皮首がん、胃がん、テント上原始神経外胚葉性腫瘍、テント上原始神経外胚葉性腫瘍と松果体芽腫、T細胞リンパ腫、精巣がん、喉がん、胸腺腫と胸腺癌、甲状腺がん、移行上皮がん、腎盂と尿管の移行上皮がん、絨毛腫瘍、尿道がん、子宮がん、子宮肉腫、膣がん、視路と視床下部のグリオーマ、陰門がん、ワルデンシュトレームマクログロブリン血症、ウィルムス腫瘍。

10

20

30

40

50

【0169】

したがって本開示の方法と組成物によって治療または予防することのできるがんの非限定的な例に含まれるのは、固形腫瘍がん、液体がん、血液がん、奇形腫、肉腫、癌腫である。

【0170】

いくつかの実施態様では、本発明の方法は、免疫チェックポイント阻害剤（ICI）に対して抵抗性の腫瘍またはがんの治療または予防に役立つ。免疫チェックポイント阻害剤の非限定的な例に含まれるのは、抗PD1（例えばニボルマブ）、抗CTLA4（例えばイピリムマブ）、抗TIM3、抗TIGIT、抗LAG3、抗B7H3、抗B7H4、抗VISTA、抗ICOS、抗GITR、抗4-1BB、抗OX40、および抗CD40である。免疫チェックポイント阻害剤の標的の非限定的な例に含まれるのは、PD-L1、PD1、CTLA4、TIM3、TIGIT、LAG3、B7H3、B7H4、VISTA、ICOS、GITR、4-1BB、OX40、およびCD40である。したがって免疫チェックポイント阻害剤の例に含まれるのは、PD-L1、PD1、CTLA4、TIM3、TIGIT、LAG3、B7H3、B7H4、VISTA、ICOS、GITR、4-1BB、OX40、またはCD40などのタンパク質を抑制する薬剤である。いくつかの場合には、本発明のIL-18パリアントポリペプチド（例えばDR-IL-18パリアント、D2D-IL-18パリアント）が、免疫チェックポイント阻害剤（PD-L1、PD1、CTLA4、TIM3、TIGIT、LAG3、B7H3、B7H4、VISTA、ICOS、GITR、4-1BB、OX40、またはCD40などを抑制する1つの薬剤、またはその任意の組み合わせ）とともに投与される。

【0171】

融合体／コンジュゲーション

【0172】

いくつかの実施態様では、本開示のIL-18パリアントポリペプチドが別のタンパク質と

融合される。すなわちIL-18バリエーションポリペプチドまたはその断片をフレーム内で第2のポリペプチド（融合パートナー）と融合させることができる。いくつかの実施態様では、第2のポリペプチド（融合パートナー）は、融合タンパク質全体のサイズを大きくすることができるため、例えばその融合タンパク質が循環から急速に排泄されることはないであろう。いくつかの場合には、IL-18バリエーションポリペプチドまたはその断片を第2のポリペプチドに融合させない。

【0173】

いくつかの実施態様では、第2のポリペプチド（IL-18バリエーションポリペプチドまたはその断片の融合パートナー）は、免疫グロブリンFc領域（すなわち抗体Fc配列）の一部または全体である。別の実施態様では、第2のポリペプチドは、Fcに実質的に似た適切な任意のポリペプチドであり、例えばサイズを大きくする、および/または多量体化ドメインを提供する、および/またはIg分子との追加の結合または相互作用を提供する。いくつかの実施態様では、第2のポリペプチドは、ヒト血清アルブミン（HSA）の一部または全体である。いくつかの実施態様では、第2のポリペプチドは、抗体、抗体フラグメント、ラクダ抗体すなわち「ナノボディ」、HSAと結合または相互作用する他の親和性試薬のいずれかの一部または全体である。これら融合タンパク質は、精製と多量体化を容易にし、生体内で延長した半減期を示すことができる。ジスルフィドで連結された多量体構造を有する融合タンパク質は、いくつかの場合には、他の分子とのより効率的な結合や、他の分子のより効率的な中和も可能にする。

10

【0174】

IL-18バリエーションポリペプチド、またはその断片は、異種ポリペプチドに融合されたとき、本発明のIL-18バリエーションポリペプチドの「IL-18バリエーションポリペプチド部分」と呼ぶことができる。いくつかの場合には、「IL-18バリエーションポリペプチド部分」は、長さがアミノ酸100個以上（例えば110個以上、または125個以上、または150個以上、または90個以上、または95個以上、または100個以上、または105個以上、または110個以上、または115個以上、または120個以上、または125個以上、または130個以上、または140個以上、または150個以上）で、完全長IL-18までが可能であり、さらに異種ポリペプチドと融合させることができる。

20

【0175】

いくつかの場合には、IL-18バリエーションポリペプチドのIL-18バリエーションポリペプチド部分は、長さがアミノ酸100個～157個の範囲である（例えばアミノ酸100個～150個、アミノ酸100個～140個、アミノ酸140個～157個、アミノ酸140個～150個、アミノ酸145個～157個、アミノ酸150個～157個）。

30

【0176】

いくつかの実施態様では、第2のポリペプチドはマーカー配列（例えば親和性タグ）であり、その例は、融合したポリペプチドの精製を容易にするペプチドなどである。例えばマーカーのアミノ酸配列として、特にヘキサ-ヒスチジンペプチド（pQEベクター（QIAGEN, Inc.社、9259イートン・アヴェニュー、チャッツワース、カリフォルニア州、91311）の中で提供されるタグなど）が可能であり、その多くが市販されている。例えばGentz他、Proc. Natl. Acad. Sci. USA 第86巻：821～824ページ、1989年に記載されているように、ヘキサ-ヒスチジンは、融合タンパク質を精製するのに便利である。精製に役立つ別のペプチドタグである「HA」タグは、インフルエンザのヘマグルチニンタンパク質に由来するエピトープに対応する。Wilson他、Cell 第37巻：767ページ、1984年。ポリペプチドを取り扱いやすくするためにペプチド部分を付加することは本分野でよく知られており、定型的な技術である。

40

【0177】

多彩な目的で本発明のIL-18バリエーションポリペプチドを改変し、例えば多彩な他のオリゴヌクレオチド、および/またはタンパク質、および/または非タンパク質部分との接合体化/コンジュゲートされることができる。例えば翻訳後に、例えばプレニル化、アセチル化、アミド化、カルボキシル化、グリコシル化、PEG化（ポリエチレングリコール（PEG

50

）ポリマー鎖の共有結合）などによって改変する。このような改変には、グリコシル化の改変も含めることができる。それは例えば、ポリペプチドを合成して処理する間に、またはさらなる処理工程において、そのポリペプチドを、グリコシル化に影響を与える酵素（哺乳動物のグリコシル化酵素または脱グリコシル化酵素）に曝露することにより、そのポリペプチドのグリコシル化パターンを変化させることによる改変である。いくつかの実施態様では、本発明のIL-18バリエーションポリペプチドは、ホスホリル化された1個以上のアミノ酸残基（例えばホスホチロシン、ホスホセリン、ホスホトレオニン）を有する。

【0178】

他のいくつかの実施態様では、本開示のIL-18バリエーションポリペプチドは、タンパク質分解に対する抵抗力を改善するためにさらに改変した試薬、または溶解特性を最適化するためにさらに改変した試薬、または治療剤としてより適切なものにするためにさらに改変した試薬を含んでいる。例えば本開示のバリエーションは、天然のL-アミノ酸以外の残基（例えばD-アミノ酸または非天然の合成アミノ酸）を含有する類似体をさらに含んでいる。数個またはすべてのアミノ酸残基をD-アミノ酸で置換することができる。

10

【0179】

共投与と多重特異性IL-18バリエーションポリペプチド

【0180】

本開示の別の箇所で指摘してあるように、いくつかの場合には、本発明のIL-18バリエーションポリペプチドは、追加の薬剤とともに投与される。「共投与」、「ともに投与する」、「と組み合わせる」という表現には、2つ以上の治療剤（例えば本発明のIL-18バリエーションポリペプチド（DR-IL-18またはD2Dなど）と追加の薬剤の組み合わせ）を同時に投与すること、または併せて投与すること、または特に時間制限なく逐次的に投与することが含まれる。いくつかの実施態様では、これらの薬剤は、細胞内に、または対象の体内に同時に存在するか、生物学的効果または治療効果を同時に及ぼす。いくつかの実施態様では、これらの治療剤は、同じ組成物または単位剤形の中に存在する。別の実施態様では、これらの治療剤は、別々の組成物または複数の単位剤形の中に存在する。いくつかの実施態様では、第1の薬剤を、第2の薬剤を投与するよりも前（例えば5分前、15分前、30分前、45分前、1時間前、2時間前、4時間前、6時間前、12時間前、24時間前、48時間前、72時間前、96時間前、1週間前、2週間前、3週間前、4週間前、5週間前、6週間前、8週間前、12週間前）に、または第2の薬剤を投与するのと同時に、または第2の薬剤を投与した後（例えば5分後、15分後、30分後、45分後、1時間後、2時間後、4時間後、6時間後、12時間後、24時間後、48時間後、72時間後、96時間後、1週間後、2週間後、3週間後、4週間後、5週間後、6週間後、8週間後、12週間後）に投与することができる。

20

30

【0181】

いくつかの場合には、（例えば医薬組成物として製剤化された）本発明のIL-18バリエーション（例えばDR-IL-18バリエーションまたはD2Dバリエーション）は、がん治療薬、または感染症を治療するための治療薬、またはがんに向かう抗体とともに投与される。本開示の1つまたは複数の薬剤の投与に関してのこのような投与には、薬/抗体と併せて（すなわち同時に）投与すること、または薬/抗体の前に投与すること、または薬/抗体の後に投与することが含まれるであろう。当業者であれば、本開示の個々の薬と組成物を投与する適切なタイミング、順番、用量を決定するのに困難はないと考えられる。

40

【0182】

いくつかの実施態様では、治療は、本発明のIL-18バリエーション（例えばDR-IL-18バリエーションまたはD2Dバリエーション）と別の薬剤（例えば免疫刺激剤、慢性感染症を治療する薬剤、細胞毒性剤、抗がん剤など）の組み合わせを投与すること（共投与）によって実現される。使用できる細胞毒性剤のクラスの一例は、化学療法剤である。化学療法剤の非限定的な例に含まれるのは、アルデスロイキン、アルトレタミン、アミフォスチン、アスパラギナーゼ、プレオマイシン、カペシタビン、カルボプラチン、カルムスチン、クラドリピン、シサプリド、シスプラチン、シクロホスファミド、シタラビン、ダカルバジン（DTIC）、ダクチノマイシン、ドセタキセル、ドキソルビシン、ドロナビノール、デュオカルマイ

50

シン、エトポシド、フィルグラスチム、フルダラビン、フルオロウラシル、ゲムシタピン、グラニセトロン、ヒドロキシウレア、イダルビシン、イホスファミド、インターフェロン、イリノテカン、ランソプラゾール、レバミゾール、ロイコボリン、メゲストロール、メスナ、メトトレキサート、メトクロプラミド、マイトマイシン、ミトタン、ミトキサントロン、オメプラゾール、オンダンセトロン、パクリタキセル（タキソール（商標））、ピロカルピン、プロクロルペラジン、リツキシマブ、サブロイン、タモキシフェン、タキソール、トポテカン塩酸塩、トラスツズマブ、ビンブラスチン、ピンクリスチン、およびビノレルビン酒石酸塩である。

【0183】

本発明のIL-18バリエーション（例えばDR-IL-18バリエーションまたはD2Dバリエーション）は製剤にする必要はないが、場合によっては、活性を強化するか治療効果を増大させる1つ以上の薬剤との製剤にされる。いくつかの実施態様では、治療は、本発明のIL-18バリエーション（例えばDR-IL-18バリエーション）と、標的細胞をオプソニン化する薬剤の組み合わせを投与すること（共投与）によって実現される。したがって本明細書では、（a）本発明のIL-18バリエーション（例えばDR-IL-18バリエーション）と（b）標的細胞をオプソニン化する薬剤を含む組成物（とその組成物を用いる方法）も想定される。いくつかの場合には、標的細胞をオプソニン化する薬剤はリツキシマブである。いくつかの場合には、標的細胞をオプソニン化する薬剤はセツキシマブである。

【0184】

「標的細胞をオプソニン化する薬剤」（「オプソニン化剤」）は、標的細胞（例えばがん細胞、細胞内病原体を有する細胞など）に結合することができてその標的細胞をオプソニン化する（例えばファゴサイトーシスおよび/または抗体依存性細胞障害活性（ADCC）を生じさせるために標的細胞に印を付ける）任意の薬剤である。例えばFc領域を持っていて標的細胞（腫瘍細胞などのがん細胞）に結合できる任意の抗体が、標的細胞をオプソニン化する薬剤であると見なされる。いくつかの場合には、標的細胞をオプソニン化する薬剤は、標的細胞（例えば抗腫瘍抗体、抗がん抗体、抗感染抗体など）に結合する抗体である。

【0185】

例えば腫瘍細胞マーカー、および/または放射線、および/または手術、および/またはホルモン遮断に対して選択的な抗体に関しては、Kwon他、Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.、第96巻：15074～15079ページ、1999年を参照されたい。血管新生阻害剤を本発明の方法と組み合わせることもできる。多数の抗体が、がんを治療するため現在臨床で利用されており、他の抗体は、臨床開発のさまざまな段階にある。例えばB細胞悪性腫瘍を治療するための多数の抗原とそれに対応するモノクローナル抗体が存在している。1つの標的抗原はCD20である。リツキシマブは、CD20抗原に向かうキメラ非コンジュゲートモノクローナル抗体である。CD20は、B細胞の活性化、増殖、分化において重要な機能的役割を有する。CD52抗原は、モノクローナル抗体であるアレムツズマブの標的である。アレムツズマブは、慢性リンパ球性白血病の治療が適応である。CD22は多数の抗体の標的であり、化学療法に対して抵抗性の有毛細胞白血病において毒素と組み合わせると有効であることが最近実証された。CD20を標的とする2つの新たなモノクローナル抗体トシツモマブとイブリツモマブが、食品医薬品局（FDA）に申請されている。これらの抗体は放射性同位体とコンジュゲートされる。アレムツズマブ（Campath）は慢性リンパ球性白血病の治療に用いられており、ゲムツズマブ（Mylotarg）は急性骨髄性白血病の治療での用途が見いだされており、イブリツモマブ（Zevalin）は非ホジキンリンパ腫の治療での用途が見いだされており、パニツムマブ（Vectibix）は結腸がんの治療での用途が見いだされている。

【0186】

固形腫瘍で使用されてきたモノクローナル抗体で本開示の方法において有用なものの非限定的な例に含まれるのは、エドレコロマブとトラスツズマブ（ハーセプチン）である。エドレコロマブは、結腸がんと直腸がんに見られる17-1A抗原を標的とし、欧州においてこれらの適応での使用が認可されている。トラスツズマブはHER-2/neu抗原を標的とする

。セツキシマブ（アービタックス）も本開示の方法での使用が興味深い。この抗体はEGF受容体（EGFR）に結合するため、固形腫瘍（結腸がん、頭頸部の扁平上皮癌（SCCHN）が含まれる）の治療で使用されてきた。

【0187】

本発明のIL-18バリエーションポリペプチド（例えばDR-IL-18バリエーションまたはD2D-IL-18バリエーション）は、上記の任意の薬剤（例えば標的細胞をオプソニン化する抗体などの薬剤）と組み合わせることができる。したがっていくつかの場合には、本発明のIL-18バリエーションポリペプチド（例えばDR-IL-18バリエーションまたはD2D-IL-18バリエーション）は、がん細胞（例えば腫瘍細胞）に対して選択的な1つ以上のオプソニン化剤を用いる併用療法で用いられる（共投与される）。いくつかの場合には、本発明のIL-18バリエーションポリペプチド（例えばDR-IL-18バリエーションまたはD2D-IL-18バリエーション）は、（EGFRに結合する）セツキシマブ、（EGFRに結合する）パニツムマブ、（CD20に結合する）リツキシマブ、（HER2に結合する）トラツズマブ、（HER2に結合する）ペルツズマブ、アレムツズマブ（CD52に結合する）、プレツキシマブ（CD30に結合する）、トシツモマブ、イブリツモマブ、ゲムツズマブ、イブリツモマブ、およびエドレコロマブ（17-1Aに結合する）、またはこれらの組み合わせのうちの1つ以上を用いる併用療法で用いられる（共投与される）。

10

【0188】

いくつかの場合には、本発明のIL-18バリエーションポリペプチド（例えばDR-IL-18バリエーションまたはD2D-IL-18バリエーション）は、がん細胞オプソニン化剤と共投与される（オプソニン化剤は抗原結合領域を含んでいて、その抗原結合領域が標的とするのは、例えばCD19、CD20、CD22、CD24、CD25、CD30、CD33、CD37、CD38、CD44、CD45、CD47、CD51、CD52、CD56、CD62L、CD70、CD74、CD79、CD80、CD96、CD97、CD99、CD123、CD134、CD138、CD152（CTLA-4）、CD200、CD213A2、CD221、CD248、CD276（B7-H3）、B7-H4、CD279（PD-1）、CD274（PD-L1）、CD319、EGFR、EPCAM、17-1A、HER1、HER2、HER3、CD117、C-Met、HGFR、PDGFRA、AXL、TWEAKR、PTHR2、HAVCR2（TIM3）、GD2ガングリオシド、MUC1、ムチンCanAg、メソテリン、エンドグリン、ルイス-Y抗原、CEA、CEACAM1、CEACAM5、CA-125、PSMA、BAFF、FGFR2、TAG-72、ゼラチナーゼB、グリピカン3、ネクチン-4、BCMA、CSF1R、SLAMF7、インテグリン α_3 、TYRP1、GPMB、CLDN18.2、FOLR1、CCR4、CXCR4、MICA、C242抗原、DLL3、DLL4、EGFL7、ピメンチン、フィブロネクチンエクストラドメイン-B、TROP-2、LRR C15、FAP、SLITRK6、NOTCH2、NOTCH3、テネイシン-3、STEAP1、またはこれらのいずれか、またはこれらの任意の組み合わせである）。

20

30

【0189】

いくつかの場合には、本発明のIL-18バリエーションポリペプチド（例えばDR-IL-18バリエーションまたはD2D-IL-18バリエーション）は、1つ以上の抗原を標的とする薬剤とともに投与される。その抗原の選択は、CD19、CD20、CD22、CD24、CD25、CD30、CD33、CD38、CD44、CD47、SIRPA、CD52、CD56、CD70、CD96、CD97、CD99、CD123、CD279（PD-1）、CD274（PD-L1）、EGFR、17-1A、HER2、CD117、C-Met、PTHR2、およびHAVCR2（TIM3）からなされる。

【0190】

いくつかの場合には、本発明のIL-18バリエーションポリペプチド（例えばDR-IL-18バリエーションまたはD2D-IL-18バリエーション）は、併用療法において、適切な任意の免疫調節剤（例えば抗CTLA4抗体、抗PD-1抗体、抗PD-L1抗体、TIGIT抗体、TIM3抗体、LAG3抗体、VISTA抗体、B7H3抗体、B7H4抗体、CD40アゴニスト、4-1BB調節剤（例えば4-1BBアゴニスト）、OX-40調節剤（例えばOX-40アゴニスト）、GITR調節剤（例えばGITRアゴニスト）、CD47結合剤（抗CD47抗体や高親和性CD47結合剤など）、SIRPA結合剤（抗SIRPA抗体や高親和性SIRPA結合剤など）、TGF β アンタゴニスト（抗TGF β 抗体など）、サイトカインまたはサイトカインバリエーション（IL-1、IL-2、IL-10、IL-12、IL-15、IL-18、IL-21、IL-33、インターフェロン α 、インターフェロン β 、インターフェロン γ 、TNF、TRAIL、リンホトキシン、LIGHT/TNSF14が含まれる）、Toll様受容体（TLR2、TLR4、TLR5、TLR7、TLR9が含まれる）のアゴニスト、インフラマソームのアゴニスト、STING/cGAS経路のアゴニスト、RIG-I経路のアゴニスト、アデノシン受容体A2aR/A2bRのアンタゴニスト、アリアル炭化水素受

40

50

容体のアンタゴニスト、IDOおよび/またはTDOのアンタゴニスト、または腫瘍溶解性ウイルスとともに用いられる（共投与される）。

【0191】

いくつかの場合には、本発明のIL-18バリエーションポリペプチド（例えばDR-IL-18バリエーションまたはD2D-IL-18バリエーション）は、併用療法において、BTLAおよび/またはCD160の阻害剤とともに用いられる（共投与される）。いくつかの場合には、本発明のIL-18バリエーションポリペプチド（例えばDR-IL-18バリエーションまたはD2D-IL-18バリエーション）は、併用療法において、抗CD47/SIRPA剤（例えば抗CD47、抗SIRPA、高親和性CD47結合剤、高親和性SIRPA結合剤など）とともに用いられる（共投与される）。いくつかの場合には、本発明のIL-18バリエーションポリペプチド（例えばDR-IL-18バリエーションまたはD2D-IL-18バリエーション）は、併用療法において、TIM3および/またはCEACAM1の阻害剤とともに用いられる（共投与される）。

10

【0192】

上に指摘したように、いくつかの場合には、本発明のIL-18バリエーションポリペプチドは別のタンパク質（すなわち「融合パートナー」、「第2のポリペプチド」）に融合される。いくつかの実施態様では、第2のポリペプチド（本発明のIL-18バリエーションポリペプチドにとっての融合パートナー）は、融合タンパク質のIL-18バリエーションポリペプチド部分が結合する標的分子とは異なる標的分子（例えばIL-18Rが結合するバリエーションにとってはIL-18R以外、またはIL-18BPが結合するバリエーションにとってはIL-18BP以外）と特異的に結合する。

20

【0193】

したがっていくつかの実施態様では、本発明のIL-18バリエーションポリペプチドは多重特異性（例えば二重特異性）である。「多重特異性」または「二重特異性」という用語は、第1の標的に対して特異的な少なくとも1つの領域（第1の抗体のリガンドまたはFab）と、第2の標的に対して特異的な少なくとも1つの領域（第2の抗体のリガンドまたはFab）を有することが理由で2つ以上の異なる抗原を認識する薬剤に言及するとき一般に用いられる。二重特異性である薬剤は2つの標的に特異的に結合するため、多重特異性である薬剤の一種である。

【0194】

いくつかの実施態様では、本発明のIL-18バリエーションポリペプチドは多重特異性（二重特異性）であるため、このポリペプチドの第1の領域は、本発明のIL-18バリエーションポリペプチド配列（すなわち第1の領域は、IL-18バリエーションポリペプチドを含んでいる）と、別の標的分子（例えば抗原）に特異的に結合する第2の領域を含んでいる。例えばいくつかの場合には、IL-18バリエーションポリペプチドは、このIL-18バリエーションポリペプチドが結合する標的分子とは異なる標的分子に特異的に結合する第2のポリペプチドに融合される。

30

【0195】

共投与の文脈で上に議論したいずれの薬剤も、本発明のIL-18バリエーションポリペプチドとコンジュゲートされることができる。本明細書では、「共投与」という用語に、このようにコンジュゲートした化合物が包含される。例えば薬剤1を薬剤2と共投与するとき、この用語は、薬剤1と薬剤2が互いにコンジュゲートされていない実施態様を包含するとともに、薬剤1と薬剤2が互いにコンジュゲートにされている実施態様（例えば薬剤1と薬剤2が両方ともタンパク質であり、薬剤1が薬剤2に融合されている場合）も包含する。

40

【0196】

いくつかの場合には、多重特異性IL-18バリエーションポリペプチドの第2の領域は、チェックポイント阻害剤である。いくつかの場合には、多重特異性IL-18バリエーションポリペプチドの第2の領域は、PD-L1、PD1、CTLA4、TIM3、TIGIT、LAG3、B7H3、B7H4、VISTA、ICOS、GITR、4-1BB、OX40、およびCD40から選択された1つ以上のタンパク質を抑制する。

【0197】

いくつかの場合には、多重特異性IL-18バリエーションポリペプチドの第2の領域は、がん細胞オプソニン化剤である。いくつかの場合には、多重特異性IL-18バリエーションポリペプチ

50

ドの第2の領域は、CD19、CD20、CD22、CD24、CD25、CD30、CD33、CD38、CD44、CD47、SIRPA、CD52、CD56、CD70、CD96、CD97、CD99、CD123、CD279 (PD-1)、CD274 (PD-L1)、EGFR、17-1A、HER2、CD117、C-Met、PTHR2、およびHAVCR2 (TIM3) から選択された1つ以上のタンパク質を標的とする。いくつかの場合には、多重特異性IL-18バリエーションポリペプチドの第2の領域は、CD19、CD20、CD22、CD24、CD25、CD30、CD33、CD38、CD44、CD47、SIRPA、CD52、CD56、CD70、CD96、CD97、CD99、CD123、CD279 (PD-1)、CD274 (PD-L1)、EGFR、17-1A、HER2、CD117、C-Met、PTHR2、およびHAVCR2 (TIM3) から選択された1つ以上のタンパク質を標的とするオプソニン化剤である。

【0198】

例えば、いくつかの場合には、多重特異性IL-18バリエーションポリペプチドの第2の領域は、エクトドメイン (例えばPD-1、PD-L1、CD47 (例えば高親和性CD47バリエーション/ポリペプチド)、SIRPA (例えば高親和性SIRPAバリエーション/ポリペプチド) からのエクトドメイン) を含んでいる。いくつかの場合には、多重特異性IL-18バリエーションポリペプチドの第2の領域は、CTLA-4、Lag-3、BTLA、Tim-3、CD244、CD40、CD40L、CD47、SIRPA、PD-1、およびPD-L1から選択された抗原に特異的に結合する。

10

【0199】

いくつかの実施態様では、本発明のIL-18バリエーションポリペプチドは、リンカー (例えばリンカーポリペプチド) を含んでいる。例えばいくつかの実施態様では、本発明のIL-18バリエーションポリペプチドと融合パートナーは、リンカー (例えばリンカーポリペプチド) によって隔てられている。リンカーポリペプチドは、多彩なアミノ酸配列のうちの任意の1つの配列を持つことができる。タンパク質を可撓性のあるリンカーポリペプチド (例えば可撓性リンカーポリペプチド) によって接合することができるが、他の化学的結合が排除されることはない。適切なリンカーに含まれるのは、長さがアミノ酸約6個～約40個、または約6個～約25個のポリペプチドである。これらのリンカーは、リンカーをコードしている合成オリゴヌクレオチドを用いてタンパク質同士をカップルさせることによって作り出すことができる。ある程度可撓性があるペプチドリンカーを用いることができる。連結用ペプチドは、実質的に任意のアミノ酸配列を持つことができるが、リンカーの配列の結果として一般に可撓性のあるペプチドになる場合があることを考えておく。小さなアミノ酸 (グリシン、アラニンなど) を用いることは、可撓性のあるペプチドを作り出すのに有用である。そのような配列を作り出すことは、当業者にとって定型的な作業である。異なるさまざまなリンカーが市販されており、用いるのに適していると考えられる。

20

30

【0200】

いくつかの実施態様では、IL-18バリエーションポリペプチドは、改変された免疫細胞 (例えば、改変されたT細胞受容体を形質導入されたCAR-T細胞、CAR-NK細胞、T細胞、NK細胞) と共投与される。別の実施態様では、IL-18バリエーションポリペプチドは、腫瘍溶解性ウイルスと共投与される。

【0201】

いくつかの実施態様では、IL-18バリエーションポリペプチドをコードする核酸は、改変された (「変えられた」) 免疫細胞 (例えば、改変されたT細胞受容体を形質導入されたCAR-T細胞、CAR-NK細胞、T細胞、NK細胞) の中に含まれる。この場合、改変された細胞 (変えられたT細胞、変えられたNK細胞) は、IL-18バリエーションポリペプチドを分泌すると考えられる。IL-18バリエーションポリペプチドを分泌する能力は、例えば合成NOTCH受容体により、文脈に依存したやり方 (例えば腫瘍微小環境の中でオンにする) で調節することができる。

40

【0202】

いくつかの実施態様では、IL-18バリエーションポリペプチドをコードする核酸は、腫瘍溶解性ウイルスの中に含まれる。この場合、腫瘍溶解性ウイルスが感染した細胞は、IL-18バリエーションポリペプチドを分泌すると考えられる。

【0203】

いくつかの実施態様では、本発明の方法は、表面でのMHCクラスIの発現が消えた腫瘍ま

50

たはがん（例えば、B2m（MHC遺伝子座）が消えた腫瘍や、抗原提示および/または抗原ローディング複合体の他のメンバー（タパシンなど）の中に突然変異を有する腫瘍）の治療または予防に有用である。

【0204】

代謝性の疾患と障害には、代謝と内分泌に関係するさまざまな疾患と障害が含まれる。本発明の方法と組成物によって治療または予防が可能な代謝と内分泌に関係する疾患と障害の非限定的な例に含まれるのは、肥満、糖尿病、前糖尿病、II型糖尿病、若年発症成人型糖尿病（MODY）、高血糖症、代謝症候群、脂質異常症、高グリセリド血症、および高コレステロール血症である。

【0205】

本発明の組成物と方法を用いて治療または予防が可能な他の疾患と障害の非限定的な例に含まれるのは、ウイルス感染症、細菌感染症、寄生虫感染症、低免疫活性である。いくつかの実施態様では、ウイルス感染症は、ポックスウイルス感染症、天然痘ウイルス感染症、伝染性軟属腫感染症、HPV感染症、ウイルスによって起こるイボのうち少なくとも1つである。いくつかの実施態様では、感染症は全身感染症である。いくつかの実施態様では、ウイルス感染症はワクシニアウイルス感染症である。いくつかの実施態様では、ウイルス感染症は全身性ワクシニアウイルス感染症である。いくつかの実施態様では、細菌感染症は敗血症である。いくつかの実施態様では、低免疫活性は好中球減少症であり、それは例えば化学療法によって起こる可能性がある。

【0206】

本発明の組成物と方法を用いて治療または予防が可能な他の疾患と障害の非限定的な例に含まれるのは、黄斑変性である。例えばいくつかの場合には、その疾患または障害は、滲出型黄斑変性であり、いくつかの場合には、その疾患または障害は、滲出型加齢性黄斑変性である。そのようないくつかの場合には、IL-18バリエーションを抗血管新生剤として用いることができる。例えば本発明のIL-18バリエーションポリペプチドは、いくつかの場合には、脈絡膜血管新生を減らす。

【0207】

したがって、本発明は、疾患または障害、またはそれに付随する徴候または症状の治療または予防を目的として、治療に有効な量のIL-18バリエーションポリペプチド、組み換えIL-18バリエーションポリペプチド、活性なIL-18バリエーションポリペプチド断片（例えばIL-18バリエーションペプチドなど）、IL-18バリエーションの発現または活性の活性化剤、少なくとも1つのIL-18バリエーションポリペプチドをコードする核酸（例えばDNA、cDNA、mRNAなど）のいずれかを、それを必要とする細胞、組織、臓器、対象に投与することによって疾患または障害を予防・治療することに関する。

【0208】

いくつかの実施態様では、疾患または障害を治療または予防するため、本発明の組成物が、細胞、組織、臓器、系、対象のいずれかに投与される。いくつかの実施態様では、ヒトIL-18バリエーションポリペプチドが、細胞、組織、臓器、系、対象のいずれかに投与される。いくつかの実施態様では、少なくとも1つのヒトIL-18バリエーションポリペプチドをコードする核酸（例えばDNA、cDNA、mRNAなど）が、細胞、組織、臓器、系、対象のいずれかに投与される。

【0209】

さまざまな実施態様では、ヒトIL-18バリエーションポリペプチド、またはその断片は、Y1X、L5X、K8X、M51X、K53X、S55X、Q56X、P57X、G59X、M60X、E77X、Q103X、S105X、D110X、N111X、M113X、V153X、N155Xからなるグループから選択された少なくとも1個の突然変異（例えば少なくとも2個、少なくとも3個、少なくとも4個、少なくとも5個、少なくとも6個）を含んでいる。ただしXは任意のアミノ酸を表わす。さまざまな実施態様では、ヒトIL-18バリエーションポリペプチドまたはその断片は、Y1X、L5X、K8X、M51X、K53X、S55X、Q56X、P57X、G59X、M60X、E77X、Q103X、S105X、D110X、N111X、M113X、V153X、およびN155Xからなるグループから選択された少なくとも4個の突然変異を含んでいる。ただしXは任

10

20

30

40

50

意のアミノ酸を表わす。さまざまな実施態様では、ヒトIL-18バリエーションポリペプチド、またはその断片は、Y1X、L5X、K8X、M51X、K53X、S55X、Q56X、P57X、G59X、M60X、E77X、Q103X、S105X、D110X、N111X、M113X、V153X、およびN155Xからなるグループから選択された少なくとも6個の突然変異を含んでいる。さまざまな実施態様では、ヒトIL-18バリエーションポリペプチド、またはその断片は、Y1X、L5X、K8X、S55X、Q56X、P57X、G59X、E77X、Q103X、S105X、D110X、N111X、M113X、V153X、およびN155Xからなるグループから選択された少なくとも1個の突然変異（例えば少なくとも2個、少なくとも3個、少なくとも4個、少なくとも5個、少なくとも6個の突然変異）を含んでいる。

【0210】

いくつかの実施態様では、ヒトIL-18バリエーションポリペプチドまたはその断片は、Y1H、Y1R、L5H、L5I、L5Y、K8Q、K8R、M51T、M51K、M51D、M51N、M51E、M51R、K53R、K53G、K53S、K53T、S55K、S55R、Q56E、Q56A、Q56R、Q56V、Q56G、Q56K、Q56L、P57L、P57G、P57A、P57K、G59T、G59A、M60K、M60Q、M60R、M60L、E77D、Q103E、Q103K、Q103P、Q103A、Q103R、S105R、S105D、S105K、S105N、S105A、D110H、D110K、D110N、D110Q、D110E、DUOS、D110G、N111H、N111Y、N111D、N111R、N111S、N111G、M113V、M113R、M113T、M113K、V153I、V153T、V153A、N155K、およびN155Hからなるグループから選択された少なくとも1個の突然変異（例えば少なくとも2個、少なくとも3個、少なくとも4個、少なくとも5個、少なくとも6個の突然変異）を含んでいる。いくつかの実施態様では、ヒトIL-18バリエーションポリペプチドまたはその断片は、hCS1（配列ID番号34）、hCS2（配列ID番号35）、hCS3（配列ID番号36）、hCS4（配列ID番号37）、hC4（配列ID番号38）、hA8（配列ID番号39）、hD6（配列ID番号40）、hH12（配列ID番号41）、hB11（配列ID番号42）、hC3（配列ID番号43）、hC2（配列ID番号44）、hG10（配列ID番号45）、hG1（配列ID番号46）、hF1（配列ID番号47）、hD2（配列ID番号48）、hA1（配列ID番号49）、hB3（配列ID番号50）、hB4（配列ID番号51）、hH3（配列ID番号52）、hH5（配列ID番号53）、hH4（配列ID番号54）、hE1（配列ID番号55）、hG2（配列ID番号56）、hB9（配列ID番号57）、hE12（配列ID番号58）、hC5（配列ID番号59）、5-18（配列ID番号73）、5-29（配列ID番号74）、5-8（配列ID番号75）、5-6（配列ID番号76）、5-27（配列ID番号77）、5-20（配列ID番号78）、5-2（配列ID番号79）、5-9（配列ID番号80）、5-42（配列ID番号81）、5-13（配列ID番号82）、5-12（配列ID番号83）、5-1（配列ID番号84）、5-33（配列ID番号85）、5-21（配列ID番号86）、6-31（配列ID番号87）、6-20（配列ID番号88）、6-12（配列ID番号89）、6-27（配列ID番号90）、6-29（配列ID番号91）、5-26（配列ID番号191）、5-17（配列ID番号192）、5-41（配列ID番号193）、またはその断片からなるグループから選択された少なくとも1つのIL-18バリエーションポリペプチド、またはその断片を含んでいる。

【0211】

いくつかの場合には、本発明のDR-IL-18バリエーションまたはその断片は、配列ID番号30に対し、M51X、M60X、S105X、D110X、N111Xからなるグループから選択された少なくとも1個の突然変異（例えば少なくとも2個、少なくとも3個、少なくとも4個の突然変異）を含んでいる。いくつかの場合には、本発明のDR-IL-18バリエーションまたはその断片は、配列ID番号30に対し、M51X、M60X、S105X、D110X、およびN111Xからなるグループから選択された少なくとも3個の突然変異を含んでいる。いくつかの場合には、本発明のDR-IL-18バリエーションまたはその断片は、配列ID番号30に対し、M51X₁、M60X₂、S105X₃、D110X₄、およびN111X₅からなるグループから選択された少なくとも1個の突然変異（例えば少なくとも2個、または少なくとも3個、または少なくとも4個の突然変異）を含んでいる。ただしX₁は、T、K、D、E、R、またはNのいずれかであり；X₂は、K、Q、L、またはRのいずれかであり；X₃は、R、D、K、A、またはNのいずれかであり；X₄は、H、K、N、Q、E、N、S、またはGのいずれかであり；X₅は、H、D、Y、R、S、またはGのいずれかである。いくつかの場合には、本発明のDR-IL-18バリエーションまたはその断片は、配列ID番号30に対し、M51X₁、M60X₂、S105X₃、D110X₄、およびN111X₅からなるグループから選択された少なくとも3個の突然変異を含んでいる。ただしX₁は、T、K、D、E、R、またはNのいずれかであり；X₂は、K、Q、L、またはRのいずれかであり；X₃は、R、D、K、A、またはNのいずれかであり；X₄は、H、K

、N、Q、E、N、S、またはGのいずれかであり； X_5 は、H、D、Y、R、S、またはGのいずれかである。いくつかの場合には、本発明のDR-IL-18パリアントまたはその断片は、配列ID番号30に対し、 $M51X_1$ 、 $M60X_2$ 、 $S105X_3$ 、 $D110X_4$ 、および $N111X_5$ からなるグループから選択された少なくとも1個の突然変異（例えば少なくとも2個、または少なくとも3個、または少なくとも4個の突然変異）を含んでいる。ただし X_1 はTまたはKであり； X_2 はKまたはLであり； X_3 は、D、N、またはAのいずれかであり； X_4 は、K、N、S、またはGのいずれかであり； X_5 は、H、Y、G、またはRのいずれかである。

【0212】

いくつかの場合には、本発明のDR-IL-18パリアントまたはその断片は、配列ID番号30に対し、 $M51X$ 、 $M60X$ 、 $S105X$ 、 $D110X$ 、および $N111X$ という突然変異を含んでいる。例えばいくつかの場合には、本発明のDR-IL-18パリアントまたはその断片は、配列ID番号30に対し、 $M51X_1$ 、 $M60X_2$ 、 $S105X_3$ 、 $D110X_4$ 、および $N111X_5$ という突然変異を含んでいる。ただし X_1 は、T、K、D、E、R、またはNのいずれかであり； X_2 は、K、Q、L、またはRのいずれかであり； X_3 は、R、D、K、A、またはNのいずれかであり； X_4 は、H、K、N、Q、E、N、S、またはGのいずれかであり； X_5 は、H、D、Y、R、S、またはGのいずれかである。例えばいくつかの場合には、本発明のDR-IL-18パリアントまたはその断片は、配列ID番号30に対し、 $M51X_1$ 、 $M60X_2$ 、 $S105X_3$ 、 $D110X_4$ 、および $N111X_5$ という突然変異を含んでいる。ただし X_1 はTまたはKであり； X_2 はKまたはLであり； X_3 は、D、N、またはAのいずれかであり； X_4 は、K、N、S、またはGのいずれかであり； X_5 は、H、Y、G、またはRのいずれかである。言い換えると、いくつかの場合には、本発明のDR-IL-18パリアントまたはその断片は、配列ID番号30に対し、{ $M51T$ または $M51K$ }；{ $M60K$ または $M60L$ }；{ $S105D$ 、 $S105N$ 、 $S105A$ のいずれか}；{ $D110K$ 、 $D110N$ 、 $D110S$ 、または $D110G$ のいずれか}；{ $N111H$ 、 $N111Y$ 、 $N111R$ 、または $N111G$ のいずれか}という突然変異を含んでいる。

【0213】

いくつかの場合には、本発明のDR-IL-18パリアント、またはその断片は、配列ID番号30に対し、 $M51X$ 、 $K53X$ 、 $Q56X$ 、 $S105X$ 、および $N111X$ からなるグループから選択された少なくとも1個の突然変異（例えば少なくとも2個、または少なくとも3個、または少なくとも4個の突然変異）を含んでいる。いくつかの場合には、本発明のDR-IL-18パリアント、またはその断片は、配列ID番号30に対し、 $M51X$ 、 $K53X$ 、 $Q56X$ 、 $S105X$ 、および $N111X$ からなるグループから選択された少なくとも3個の突然変異を含んでいる。いくつかの場合には、本発明のDR-IL-18パリアント、またはその断片は、配列ID番号30に対し、 $M51X_1$ 、 $K53X_2$ 、 $Q56X_3$ 、 $S105X_4$ 、および $N111X_5$ からなるグループから選択された少なくとも1個の突然変異（例えば少なくとも2個、または少なくとも3個、または少なくとも4個の突然変異）を含んでいる。ただし X_1 は、E、R、またはKのいずれかであり； X_2 は、G、S、またはTのいずれかであり； X_3 は、E、A、R、V、G、K、またはLのいずれかであり； X_4 は、N、S、K、またはGのいずれかであり； X_5 は、R、S、G、またはDのいずれかである。いくつかの場合には、本発明のDR-IL-18パリアント、またはその断片は、配列ID番号30に対し、 $M51X_1$ 、 $K53X_2$ 、 $Q56X_3$ 、 $S105X_4$ 、 $N111X_5$ からなるグループから選択された少なくとも3個の突然変異を含んでいる。ただし X_1 は、E、R、またはKのいずれかであり； X_2 は、G、S、またはTのいずれかであり； X_3 は、E、A、R、V、G、K、またはLのいずれかであり； X_4 は、N、S、K、またはGのいずれかであり； X_5 は、R、S、G、またはDのいずれかである。いくつかの場合には、本発明のDR-IL-18パリアント、またはその断片は、配列ID番号30に対し、 $M51X_1$ 、 $K53X_2$ 、 $Q56X_3$ 、 $S105X_4$ 、および $N111X_5$ からなるグループから選択された少なくとも1個の突然変異（例えば少なくとも2個、または少なくとも3個、または少なくとも4個の突然変異）を含んでいる。ただし X_1 はKであり； X_2 はGまたはSである； X_3 は、G、R、またはLのいずれかであり； X_4 は、S、N、またはGのいずれかであり； X_5 はGまたはRである。

【0214】

いくつかの場合には、本発明のDR-IL-18パリアント、またはその断片は、配列ID番号30に対し、 $M51X$ 、 $K53X$ 、 $Q56X$ 、 $S105X$ 、および $N111X$ という突然変異を含んでいる。例えばいくつかの場合には、本発明のDR-IL-18パリアント、またはその断片は、配列ID番号30に対

10

20

30

40

50

し、M51X₁、K53X₂、Q56X₃、S105X₄、およびN111X₅という突然変異（例えば少なくとも2個、または少なくとも突然変異を含んでいる。ただしX₁は、E、R、またはKのいずれかであり；X₂は、G、S、またはTのいずれかであり；X₃は、E、A、R、V、G、K、またはLのいずれかであり；X₄は、N、S、K、またはGのいずれかであり；X₅は、R、S、G、またはDのいずれかである。いくつかの場合には、本発明のDR-IL-18バリエーション、またはその断片は、配列ID番号30に対し、M51X₁、K53X₂、Q56X₃、S105X₄、N111X₅という突然変異を含んでいる。ただしX₁はKであり；X₂はGまたはSである；X₃は、G、R、またはLのいずれかであり；X₄は、S、N、またはGのいずれかであり；X₅はGまたはRである。言い換えると、いくつかの場合には、本発明のDR-IL-18バリエーション、またはその断片は、配列ID番号30に対し、{M51K}；{K53GまたはK53S}；{Q56G、Q56R、Q56Lのいずれか}；{D110S、D110N、D110Gのいずれか}；{N111RまたはN111G}という突然変異を含んでいる。

10

【0215】

いくつかの場合には、本発明のDR-IL-18バリエーション、またはその断片は、配列ID番号30に記載の野生型ヒトIL-18アミノ酸配列と85%以上（例えば90%以上、または92%以上、または93%以上、または94%以上、または95%以上、または96%以上、または97%以上、または98%以上、または99%以上）一致するアミノ酸配列を含んでいる。そのためいくつかの場合には、本発明のDR-IL-18バリエーションまたはその断片は、(i)配列ID番号30に記載の野生型ヒトIL-18アミノ酸配列と85%以上（例えば90%以上、または92%以上、または93%以上、または94%以上、または95%以上、または96%以上、または97%以上、または98%以上、または99%以上）一致していて、(ii)野生型IL-18（例えばヒトIL-18）に対し少なくとも1個の突然変異（例えば少なくとも2個、または少なくとも3個、または少なくとも4個、または少なくとも5個、または少なくとも6個の突然変異）を含むアミノ酸配列を含んでいる。

20

【0216】

いくつかの場合には、本発明のDR-IL-18バリエーションまたはその断片は、(i)配列ID番号30に記載の野生型ヒトIL-18アミノ酸配列と85%以上（例えば90%以上、または92%以上、または93%以上、または94%以上、または95%以上、または96%以上、または97%以上、または98%以上、または99%以上）一致していて、(ii)配列ID番号30に対し、Y1X、L5X、K8X、M51X、K53X、S55X、Q56X、P57X、G59X、M60X、E77X、Q103X、S105X、D110X、N111X、M113X、V153X、およびN155Xからなるグループから選択された少なくとも1個の突然変異（例えば少なくとも2個、または少なくとも3個、または少なくとも4個、または少なくとも5個、または少なくとも6個の突然変異）を含むアミノ酸配列を含んでいる。いくつかの場合には、本発明のDR-IL-18バリエーション、またはその断片は、(i)配列ID番号30に記載の野生型ヒトIL-18アミノ酸配列と85%以上（例えば90%以上、または92%以上、または93%以上、または94%以上、または95%以上、または96%以上、または97%以上、または98%以上、または99%以上）一致していて、(ii)配列ID番号30に対し、Y1X、L5X、K8X、M51X、K53X、S55X、Q56X、P57X、G59X、M60X、E77X、Q103X、S105X、D110X、N111X、M113X、V153X、およびN155Xからなるグループから選択された少なくとも4個の突然変異を含むアミノ酸配列を含んでいる。いくつかの場合には、本発明のDR-IL-18バリエーションまたはその断片は、(i)配列ID番号30に記載の野生型ヒトIL-18アミノ酸配列と85%以上（例えば90%以上、または92%以上、または93%以上、または94%以上、または95%以上、または96%以上、または97%以上、または98%以上、または99%以上）一致していて、(ii)配列ID番号30に対し、Y1X、L5X、K8X、M51X、K53X、S55X、Q56X、P57X、G59X、M60X、E77X、Q103X、S105X、D110X、N111X、M113X、V153X、およびN155Xからなるグループから選択された少なくとも6個の突然変異を含むアミノ酸配列を含んでいる。いくつかの場合には、本発明のDR-IL-18バリエーション、またはその断片は、(i)配列ID番号30に記載の野生型ヒトIL-18アミノ酸配列と85%以上（例えば90%以上、または92%以上、または93%以上、または94%以上、または95%以上、または96%以上、または97%以上、または98%以上、または99%以上）一致していて、(ii)配列ID番号30に対し、Y1X、L5X、K8X、S55X、Q56X、P57X、G59X、E77X、Q103X、S105X、D110X、N111X、M113X、V153X、およびN15

30

40

50

5Xからなるグループから選択された少なくとも1個の突然変異（例えば少なくとも2個、または少なくとも3個、または少なくとも4個、または少なくとも5個、または少なくとも6個の突然変異）を含むアミノ酸配列を含んでいる。

【0217】

いくつかの場合には、本発明のDR-IL-18バリエーション、またはその断片は、(i) 配列ID番号30に記載の野生型ヒトIL-18アミノ酸配列と85%以上（例えば90%以上、または92%以上、または93%以上、または94%以上、または95%以上、または96%以上、または97%以上、または98%以上、または99%以上）一致して、(ii) 配列ID番号30に対し、M51X、M60X、S105X、D110X、およびN111Xからなるグループから選択された少なくとも1個の突然変異（例えば少なくとも2個、または少なくとも3個、または少なくとも4個の突然変異）を含むアミノ酸配列を含んでいる。いくつかの場合には、本発明のDR-IL-18バリエーション、またはその断片は、(i) 配列ID番号30に記載の野生型ヒトIL-18アミノ酸配列と85%以上（例えば90%以上、または92%以上、または93%以上、または94%以上、または95%以上、または96%以上、または97%以上、または98%以上、または99%以上）一致して、(ii) 配列ID番号30に対し、M51X₁、M60X₂、S105X₃、D110X₄、およびN111X₅からなるグループから選択された少なくとも3個の突然変異（例えば少なくとも3個、または少なくとも4個の突然変異）を含むアミノ酸配列を含んでいる。いくつかの場合には、本発明のDR-IL-18バリエーション、またはその断片は、(i) 配列ID番号30に記載の野生型ヒトIL-18アミノ酸配列と85%以上（例えば90%以上、または92%以上、または93%以上、または94%以上、または95%以上、または96%以上、または97%以上、または98%以上、または99%以上）一致して、(ii) 配列ID番号30に対し、M51X₁、M60X₂、S105X₃、D110X₄、およびN111X₅からなるグループから選択された少なくとも1個の突然変異（例えば少なくとも2個、または少なくとも3個、または少なくとも4個の突然変異）を含むアミノ酸配列を含んでいる。ただしX₁は、T、K、D、E、R、またはNのいずれかであり；X₂は、K、Q、L、またはRのいずれかであり；X₃は、R、D、K、A、またはNのいずれかであり；X₄は、H、K、N、Q、E、N、S、またはGのいずれかであり；X₅は、H、D、Y、R、S、またはGのいずれかである。いくつかの場合には、本発明のDR-IL-18バリエーション、またはその断片は、(i) 配列ID番号30に記載の野生型ヒトIL-18アミノ酸配列と85%以上（例えば90%以上、または92%以上、または93%以上、または94%以上、または95%以上、または96%以上、または97%以上、または98%以上、または99%以上）一致して、(ii) 配列ID番号30に対し、M51X₁、M60X₂、S105X₃、D110X₄、およびN111X₅からなるグループから選択された少なくとも3個の突然変異を含むアミノ酸配列を含んでいる。ただしX₁は、T、K、D、E、R、またはNのいずれかであり；X₂は、K、Q、L、またはRのいずれかであり；X₃は、R、D、K、A、またはNのいずれかであり；X₄は、H、K、N、Q、E、N、S、またはGのいずれかであり；X₅は、H、D、Y、R、S、またはGのいずれかである。いくつかの場合には、本発明のDR-IL-18バリエーション、またはその断片は、(i) 配列ID番号30に記載の野生型ヒトIL-18アミノ酸配列と85%以上（例えば90%以上、または92%以上、または93%以上、または94%以上、または95%以上、または96%以上、または97%以上、または98%以上、または99%以上）一致して、(ii) 配列ID番号30に対し、M51X₁、M60X₂、S105X₃、D110X₄、およびN111X₅からなるグループから選択された少なくとも1個の突然変異（例えば少なくとも2個、または少なくとも3個、または少なくとも4個の突然変異）を含むアミノ酸配列を含んでいる。ただしX₁はTまたはKであり；X₂はKまたはLであり；X₃は、D、N、またはAのいずれかであり；X₄は、K、N、S、またはGのいずれかであり；X₅は、H、Y、G、またはRのいずれかである。

【0218】

いくつかの場合には、本発明のDR-IL-18バリエーション、またはその断片は、(i) 配列ID番号30に記載の野生型ヒトIL-18アミノ酸配列と85%以上（例えば90%以上、または92%以上、または93%以上、または94%以上、または95%以上、または96%以上、または97%以上、または98%以上、または99%以上）一致して、(ii) 配列ID番号30に対し、M51X、M60X、S105X、D110X、N111Xという突然変異を含むアミノ酸配列を含んでいる。いくつかの場合には、本発明のDR-IL-18バリエーション、またはその断片は、(i) 配列ID番号30

10

20

30

40

50

に記載の野生型ヒトIL-18アミノ酸配列と85%以上（例えば90%以上、または92%以上、または93%以上、または94%以上、または95%以上、または96%以上、または97%以上、または98%以上、または99%以上）一致していて、(ii)配列ID番号30に対し、M51X₁、M60X₂、S105X₃、D110X₄、およびN111X₅という突然変異を含むアミノ酸配列を含んでいる。ただしX₁は、T、K、D、E、R、またはNのいずれかであり；X₂は、K、Q、L、またはRのいずれかであり；X₃は、R、D、K、A、またはNのいずれかであり；X₄は、H、K、N、Q、E、N、S、またはGのいずれかであり；X₅は、H、D、Y、R、S、またはGのいずれかである。いくつかの場合には、本発明のDR-IL-18バリエーション、またはその断片は、(i)配列ID番号30に記載の野生型ヒトIL-18アミノ酸配列と85%以上（例えば90%以上、または92%以上、または93%以上、または94%以上、または95%以上、または96%以上、または97%以上、または98%以上、または99%以上）一致していて、(ii)配列ID番号30に対し、M51X₁、M60X₂、S105X₃、D110X₄、およびN111X₅という突然変異を含むアミノ酸配列を含んでいる。ただしX₁はTまたはKであり；X₂はKまたはLであり；X₃は、D、N、またはAのいずれかであり；X₄は、K、N、S、またはGのいずれかであり；X₅は、H、Y、G、またはRのいずれかである。

10

20

30

40

50

【0219】

いくつかの場合には、本発明のDR-IL-18バリエーション、またはその断片は、(i)配列ID番号30に記載の野生型ヒトIL-18アミノ酸配列と85%以上（例えば90%以上、または92%以上、または93%以上、または94%以上、または95%以上、または96%以上、または97%以上、または98%以上、または99%以上）一致していて、(ii)配列ID番号30に対し、M51X₁、K53X₂、Q56X₃、S105X₄、およびN111X₅からなるグループから選択された少なくとも1個の突然変異（例えば少なくとも2個、または少なくとも3個、または少なくとも4個の突然変異）を含むアミノ酸配列を含んでいる。いくつかの場合には、本発明のDR-IL-18バリエーション、またはその断片は、(i)配列ID番号30に記載の野生型ヒトIL-18アミノ酸配列と85%以上（例えば90%以上、または92%以上、または93%以上、または94%以上、または95%以上、または96%以上、または97%以上、または98%以上、または99%以上）一致していて、(ii)配列ID番号30に対し、M51X₁、K53X₂、Q56X₃、S105X₄、およびN111X₅からなるグループから選択された少なくとも3個の突然変異を含むアミノ酸配列を含んでいる。いくつかの場合には、本発明のDR-IL-18バリエーション、またはその断片は、(i)配列ID番号30に記載の野生型ヒトIL-18アミノ酸配列と85%以上（例えば90%以上、または92%以上、または93%以上、または94%以上、または95%以上、または96%以上、または97%以上、または98%以上、または99%以上）一致していて、(ii)配列ID番号30に対し、M51X₁、K53X₂、Q56X₃、S105X₄、およびN111X₅からなるグループから選択された少なくとも3個の突然変異を含むアミノ酸配列を含んでいる。ただしX₁は、E、R、またはKのいずれかであり；X₂は、G、S、またはTのいずれかであり；X₃は、E、A、R、V、G、K、またはLのいずれかであり；X₄は、N、S、K、Gのいずれかであり；X₅は、R、S、G、またはDのいずれかである。いくつかの場合には、本発明のDR-IL-18バリエーション、またはその断片は、(i)配列ID番号30に記載の野生型ヒトIL-18アミノ酸配列と85%以上（例えば90%以上、または92%以上、または93%以上、または94%以上、または95%以上、または96%以上、または97%以上、または98%以上、または99%以上）一致していて、(ii)配列ID番号30に対し、M51X₁、K53X₂、Q56X₃、S105X₄、およびN111X₅からなるグループから選択された少なく

とも1個の突然変異（例えば少なくとも2個、または少なくとも3個、または少なくとも4個の突然変異）を含むアミノ酸配列を含んでいる。ただし X_1 はKであり； X_2 はGまたはSである； X_3 は、G、R、またはLのいずれかであり； X_4 は、S、N、またはGのいずれかであり； X_5 はGまたはRである。

【0220】

いくつかの場合には、本発明のDR-IL-18バリエーション、またはその断片は、(i) 配列ID番号30に記載の野生型ヒトIL-18アミノ酸配列と85%以上（例えば90%以上、または92%以上、または93%以上、または94%以上、または95%以上、または96%以上、または97%以上、または98%以上、または99%以上）一致していて、(ii) 配列ID番号30に対し、M51X₁、K53X、Q56X、S105X、およびN111Xという突然変異を含むアミノ酸配列を含んでいる。いくつかの場合には、本発明のDR-IL-18バリエーション、またはその断片は、(i) 配列ID番号30に記載の野生型ヒトIL-18アミノ酸配列と85%以上（例えば90%以上、または92%以上、または93%以上、または94%以上、または95%以上、または96%以上、または97%以上、または98%以上、または99%以上）一致していて、(ii) 配列ID番号30に対し、M51X₁、K53X₂、Q56X₃、S105X₄、およびN111X₅という突然変異を含むアミノ酸配列を含んでいる。ただし X_1 は、E、R、またはKのいずれかであり； X_2 は、G、S、またはTのいずれかであり； X_3 は、E、A、R、V、G、K、またはLのいずれかであり； X_4 は、N、S、K、またはGのいずれかであり； X_5 は、R、S、G、またはDのいずれかである。いくつかの場合には、本発明のDR-IL-18バリエーション、またはその断片は、(i) 配列ID番号30に記載の野生型ヒトIL-18アミノ酸配列と85%以上（例えば90%以上、または92%以上、または93%以上、または94%以上、または95%以上、または96%以上、または97%以上、または98%以上、または99%以上）一致していて、(ii) 配列ID番号30に対し、M51X₁、K53X₂、Q56X₃、S105X₄、およびN111X₅という突然変異を含むアミノ酸配列を含んでいる。ただし X_1 はKであり； X_2 はGまたはSである； X_3 は、G、R、またはLのいずれかであり； X_4 は、S、N、またはGのいずれかであり； X_5 はGまたはRである。

【0221】

さまざまな実施態様では、IL-18BPに結合してそのIL-18BPを抑制するIL-18バリエーションポリペプチドは、Y1X、L5X、D17X、E31X、T34X、D35X、S36X、D37X、D40X、N41X、M51X、Q56X、M60X、Q103X、H109X、M113X、およびR131Xからなるグループから選択された少なくとも1個の突然変異（例えば少なくとも2個、または少なくとも3個、または少なくとも4個、または少なくとも5個、または少なくとも6個の突然変異）を含むヒトIL-18バリエーションポリペプチドまたはその断片を含んでいる。ただしXは任意のアミノ酸を表わす。いくつかの実施態様では、IL-18BPに結合してそのIL-18BPを抑制するIL-18バリエーションポリペプチドは、Y1D、Y1F、Y1H、Y1L、L5F、L5H、D17A、D17G、D17R、D17H、E31A、E31T、E31G、E31K、E31R、T34A、T34K、T34E、D35S、D35A、D35Y、S36N、S36K、S36R、D37P、D37A、D37R、D37H、D37L、D37V、D40Y、D40S、D40A、N41K、N41S、N41R、M51F、M51L、M51I、Q56H、M60L、M60F、M60I、Q103L、Q103I、H109A、H109P、H109D、M113L、M113I、M113F、およびR131Sからなるグループから選択された少なくとも1個の突然変異（例えば少なくとも2個、または少なくとも3個、または少なくとも4個、または少なくとも5個、または少なくとも6個の突然変異）を含むヒトIL-18バリエーションポリペプチドまたはその断片を含んでいる。いくつかの実施態様では、IL-18BPに結合してそのIL-18BPを抑制するIL-18バリエーションポリペプチドは、hD2D-5F12（配列ID番号92）、hD2D-5F11（配列ID番号93）、hD2D-5F10（配列ID番号94）、hD2D-5F08（配列ID番号95）、hD2D-5F06（配列ID番号96）、hD2D-5F04（配列ID番号97）、hD2D-5F02（配列ID番号98）、hD2D-5F01（配列ID番号99）、hD2D-5E10（配列ID番号100）、hD2D-5E08（配列ID番号101）、hD2D-5E03（配列ID番号102）、hD2D-5E02（配列ID番号103）、hD2D-5D10（配列ID番号104）、hD2D-5D08（配列ID番号105）、hD2D-5D06（配列ID番号106）、hD2D-5D05（配列ID番号107）、hD2D-5D03（配列ID番号108）、hD2D-5D02（配列ID番号109）、hD2D-5C10（配列ID番号110）、hD2D-5C09（配列ID番号111）、hD2D-5C08（配列ID番号112）、hD2D-5C05（配列ID番号113）、hD2D-5C04（配列ID番号114）、hD2D-5C03（配列ID番号115）、hD2D-5B11（配列ID番号116）、hD2D-5B10

(配列ID番号117)、hD2D-5B06(配列ID番号118)、hD2D-5B05(配列ID番号119)、hD2D-5B02(配列ID番号120)、hD2D-5A09(配列ID番号121)、hD2D-5A02(配列ID番号122)、hD2D-CS1(配列ID番号123)、hD2D-CS2(配列ID番号124)、hD2D-CS3(配列ID番号125)、またはその断片からなるグループから選択されたヒトIL-18パリアントポリペプチドまたはその断片を含んでいる。

【0222】

いくつかの場合には、本発明のD2D-IL-18パリアントまたはその断片は、配列ID番号30に対し、D17X、E30X、およびQ103Xからなるグループから選択された少なくとも1個の突然変異(例えば少なくとも2個、または少なくとも3個、または少なくとも4個の突然変異)を含んでいる。いくつかの場合には、本発明のDR-IL-18パリアントまたはその断片は、配列ID番号30に対し、D17X₁、E30X₂、およびQ103X₃からなるグループから選択された少なくとも1個の突然変異(例えば少なくとも2個、または少なくとも3個、または少なくとも4個の突然変異)を含んでいる。ただしX₁は、G、H、R、Aのいずれかであり；X₂は、A、T、G、K、Rのいずれかであり；X₃はIまたはLである。いくつかの場合には、本発明のD2D-IL-18パリアントまたはその断片は、D17G、E30A、および(Q103LまたはQ103I)からなるグループから選択された少なくとも1個の突然変異(例えば少なくとも2個、または少なくとも3個、または少なくとも4個の突然変異)を含んでいる。

10

【0223】

いくつかの場合には、本発明のD2D-IL-18パリアント、またはその断片は、配列ID番号30に対し、D17X、E30X、およびQ103Xという突然変異を含んでいる。例えばいくつかの場合には、本発明のDR-IL-18パリアント、またはその断片は、配列ID番号30に対し、D17X₁、E30X₂、およびQ103X₃という突然変異を含んでいる。ただしX₁は、G、H、R、またはAのいずれかであり；X₂は、A、T、G、K、またはRのいずれかであり；X₃はIまたはLである。いくつかの場合には、本発明のD2D-IL-18パリアントまたはその断片は、D17G、E30A、および(Q103LまたはQ103I)という突然変異を含んでいる。

20

【0224】

いくつかの場合には、本発明のD2D-IL-18パリアント、またはその断片は、配列ID番号30に対し、D17X、E30X、D35X、M51X、およびQ103Xからなるグループから選択された少なくとも1個の突然変異(例えば少なくとも2個、または少なくとも3個、または少なくとも4個の突然変異)を含んでいる。いくつかの場合には、本発明のDR-IL-18パリアントまたはその断片は、配列ID番号30に対し、D17X₁、E30X₂、D35X₃、M51X₄、およびQ103X₃からなるグループから選択された少なくとも1個の突然変異(例えば少なくとも2個、または少なくとも3個、または少なくとも4個の突然変異)を含んでいる。ただしX₁は、G、H、R、またはAのいずれかであり；X₂は、A、T、G、K、またはRのいずれかであり；X₃はS、A、またはYのいずれかであり；X₄は、F、I、またはLのいずれかであり；X₅はIまたはLである。いくつかの場合には、本発明のD2D-IL-18パリアント、またはその断片は、配列ID番号30に対し、D17G、E30A、D35S、M51F、および(Q103LまたはQ103I)からなるグループから選択された少なくとも1個の突然変異(例えば少なくとも2個、または少なくとも3個、または少なくとも4個の突然変異)を含んでいる。

30

【0225】

いくつかの場合には、本発明のD2D-IL-18パリアント、またはその断片は、配列ID番号30に対し、D17X、E30X、D35X、M51X、およびQ103Xという突然変異を含んでいる。いくつかの場合には、本発明のDR-IL-18パリアントまたはその断片は、配列ID番号30に対し、D17X₁、E30X₂、D35X₃、M51X₄、およびQ103X₃という突然変異を含んでいる。ただしX₁は、G、H、R、またはAのいずれかであり；X₂は、A、T、G、K、またはRのいずれかであり；X₃はS、A、Yのいずれかであり；X₄は、F、I、またはLのいずれかであり；X₅はIまたはLである。いくつかの場合には、本発明のD2D-IL-18パリアント、またはその断片は、配列ID番号30に対し、D17G、E30A、D35S、M51F、および(Q103LまたはQ103I)という突然変異を含んでいる。

40

【0226】

50

いくつかの場合には、本発明のD2D-IL-18バリエーション、またはその断片は、配列ID番号30に記載の野生型ヒトIL-18アミノ酸配列と85%以上（例えば90%以上、または92%以上、または93%以上、または94%以上、または95%以上、または96%以上、または97%以上、または98%以上、または99%以上）一致するアミノ酸配列を含んでいる。そのためいくつかの場合には、本発明のD2D-IL-18バリエーションまたはその断片は、(i)配列ID番号30に記載の野生型ヒトIL-18アミノ酸配列と85%以上（例えば90%以上、または92%以上、または93%以上、または94%以上、または95%以上、または96%以上、または97%以上、または98%以上、または99%以上）一致して、(ii)野生型IL-18（例えばヒトIL-18）に対し少なくとも1個の突然変異（例えば少なくとも2個、または少なくとも3個、または少なくとも4個、または少なくとも5個、または少なくとも6個の突然変異）を含むアミノ酸配列を含んでいる。

10

【0227】

いくつかの場合には、本発明のD2D-IL-18バリエーション、またはその断片は、(i)配列ID番号30に記載の野生型ヒトIL-18アミノ酸配列と85%以上（例えば90%以上、または92%以上、または93%以上、または94%以上、または95%以上、または96%以上、または97%以上、または98%以上、または99%以上）一致して、(ii)Y1X、L5X、D17X、E31X、T34X、D35X、S36X、D37X、D40X、N41X、M51X、Q56X、M60X、Q103X、H109X、M113X、およびR131Xからなるグループから選択された少なくとも1個の突然変異（例えば少なくとも2個、または少なくとも3個、または少なくとも4個、または少なくとも5個、または少なくとも6個の突然変異）を含むアミノ酸配列を含んでいる。

20

【0228】

いくつかの場合には、本発明のD2D-IL-18バリエーション、またはその断片は、(i)配列ID番号30に記載の野生型ヒトIL-18アミノ酸配列と85%以上（例えば90%以上、または92%以上、または93%以上、または94%以上、または95%以上、または96%以上、または97%以上、または98%以上、または99%以上）一致して、(ii)配列ID番号30に対し、D17X、E30X、およびQ103Xからなるグループから選択された少なくとも1個の突然変異（例えば少なくとも2個、または少なくとも3個、または少なくとも4個、または少なくとも5個、または少なくとも6個の突然変異）を含むアミノ酸配列を含んでいる。いくつかの場合には、本発明のD2D-IL-18バリエーション、またはその断片は、(i)配列ID番号30に記載の野生型ヒトIL-18アミノ酸配列と85%以上（例えば90%以上、または92%以上、または93%以上、または94%以上、または95%以上、または96%以上、または97%以上、または98%以上、または99%以上）一致して、(ii)配列ID番号30に対し、D17X₁、E30X₂、Q103X₃からなるグループから選択された少なくとも1個の突然変異（例えば少なくとも2個、または少なくとも3個、または少なくとも4個、または少なくとも5個、または少なくとも6個の突然変異）を含むアミノ酸配列を含んでいる。ただしX₁は、G、H、R、Aのいずれかであり；X₂は、A、T、G、K、Rのいずれかであり；X₃はIまたはLである。いくつかの場合には、本発明のD2D-IL-18バリエーション、またはその断片は、(i)配列ID番号30に記載の野生型ヒトIL-18アミノ酸配列と85%以上（例えば90%以上、または92%以上、または93%以上、または94%以上、または95%以上、または96%以上、または97%以上、または98%以上、または99%以上）一致して、(ii)配列ID番号30に対し、D17X、E30X、および(Q103LまたはQ103I)からなるグループから選択された少なくとも1個の突然変異（例えば少なくとも2個、または少なくとも3個、または少なくとも4個、または少なくとも5個、または少なくとも6個の突然変異）を含むアミノ酸配列を含んでいる。

30

40

【0229】

いくつかの場合には、本発明のD2D-IL-18バリエーション、またはその断片は、(i)配列ID番号30に記載の野生型ヒトIL-18アミノ酸配列と85%以上（例えば90%以上、または92%以上、または93%以上、または94%以上、または95%以上、または96%以上、または97%以上、または98%以上、または99%以上）一致して、(ii)配列ID番号30に対し、D17X、E30X、Q103Xという突然変異を含むアミノ酸配列を含んでいる。いくつかの場合には、本発明のD2D-IL-18バリエーション、またはその断片は、(i)配列ID番号30に記載の野生型

50

ヒトIL-18アミノ酸配列と85%以上（例えば90%以上、または92%以上、または93%以上、または94%以上、または95%以上、または96%以上、または97%以上、または98%以上、または99%以上）一致していて、(ii)配列ID番号30に対し、D17X₁、E30X₂、Q103X₃という突然変異を含むアミノ酸配列を含んでいる。ただしX₁は、G、H、R、またはAのいずれかであり；X₂は、A、T、G、K、またはRのいずれかであり；X₃はIまたはLである。いくつかの場合には、本発明のD2D-IL-18パリアント、またはその断片は、(i)配列ID番号30に記載の野生型ヒトIL-18アミノ酸配列と85%以上（例えば90%以上、または92%以上、または93%以上、または94%以上、または95%以上、または96%以上、または97%以上、または98%以上、または99%以上）一致していて、(ii)配列ID番号30に対し、D17X、E30X、および(Q103LまたはQ103I)という突然変異を含むアミノ酸配列を含んでいる。

10

【0230】

いくつかの場合には、本発明のD2D-IL-18パリアント、またはその断片は、(i)配列ID番号30に記載の野生型ヒトIL-18アミノ酸配列と85%以上（例えば90%以上、または92%以上、または93%以上、または94%以上、または95%以上、または96%以上、または97%以上、または98%以上、または99%以上）一致していて、(ii)配列ID番号30に対し、D17X、E30X、D35X、M51X、およびQ103Xからなるグループから選択された少なくとも1個の突然変異（例えば少なくとも2個、または少なくとも3個、または少なくとも4個、または少なくとも5個、または少なくとも6個の突然変異）を含むアミノ酸配列を含んでいる。いくつかの場合には、本発明のD2D-IL-18パリアント、またはその断片は、(i)配列ID番号30に記載の野生型ヒトIL-18アミノ酸配列と85%以上（例えば90%以上、または92%以上、または93%以上、または94%以上、または95%以上、または96%以上、または97%以上、または98%以上、または99%以上）一致していて、(ii)配列ID番号30に対し、D17X₁、E30X₂、D35X₃、M51X₄、およびQ103X₃からなるグループから選択された少なくとも1個の突然変異（例えば少なくとも2個、または少なくとも3個、または少なくとも4個、または少なくとも5個、または少なくとも6個の突然変異）を含むアミノ酸配列を含んでいる。ただしX₁は、G、H、R、またはAのいずれかであり；X₂は、A、T、G、K、またはRのいずれかであり；X₃はS、A、またはYのいずれかであり；X₄は、F、I、またはLのいずれかであり；X₅はIまたはLである。いくつかの場合には、本発明のD2D-IL-18パリアント、またはその断片は、(i)配列ID番号30に記載の野生型ヒトIL-18アミノ酸配列と85%以上（例えば90%以上、または92%以上、または93%以上、または94%以上、または95%以上、または96%以上、または97%以上、または98%以上、または99%以上）一致していて、(ii)配列ID番号30に対し、D17X、E30X、D35X、M51X、および(Q103LまたはQ103I)からなるグループから選択された少なくとも1個の突然変異（例えば少なくとも2個、または少なくとも3個、または少なくとも4個、または少なくとも5個、または少なくとも6個の突然変異）を含むアミノ酸配列を含んでいる。

20

30

【0231】

いくつかの場合には、本発明のD2D-IL-18パリアントまたはその断片は、(i)配列ID番号30に記載の野生型ヒトIL-18アミノ酸配列と85%以上（例えば90%以上、または92%以上、または93%以上、または94%以上、または95%以上、または96%以上、または97%以上、または98%以上、または99%以上）一致していて、(ii)配列ID番号30に対し、D17X、E30X、D35X、M51X、Q103Xという突然変異を含むアミノ酸配列を含んでいる。いくつかの場合には、本発明のD2D-IL-18パリアントまたはその断片は、(i)配列ID番号30に記載の野生型ヒトIL-18アミノ酸配列と85%以上（例えば90%以上、または92%以上、または93%以上、または94%以上、または95%以上、または96%以上、または97%以上、または98%以上、または99%以上）一致していて、(ii)配列ID番号30に対し、D17X₁、E30X₂、D35X₃、M51X₄、およびQ103X₃という突然変異を含むアミノ酸配列を含んでいる。ただしX₁は、G、H、R、またはAのいずれかであり；X₂は、A、T、G、K、またはRのいずれかであり；X₃はS、A、またはYのいずれかであり；X₄は、F、I、またはLのいずれかであり；X₅はIまたはLである。いくつかの場合には、本発明のD2D-IL-18パリアントまたはその断片は、(i)配列ID番号30に記載の野生型ヒトIL-18アミノ酸配列と85%以上（例えば90%以上、

40

50

または92%以上、または93%以上、または94%以上、または95%以上、または96%以上、または97%以上、または98%以上、または99%以上)一致していて、(ii)配列ID番号30に対し、D17X、E30X、D35X、M51X、および(Q103LまたはQ103I)という突然変異を含むアミノ酸配列を含んでいる。

【0232】

いくつかの実施態様では、本発明の組成物は、疾患または障害を治療または予防するため、マウスの細胞、マウスの組織、マウスの臓器、マウスの系、マウス対象のいずれかに投与される。いくつかの実施態様では、マウスIL-18バリエーションポリペプチド、またはその断片が、細胞、組織、臓器、系、対象(例えばヒトの細胞、ヒトの組織、ヒトの臓器、ヒトの系、ヒト対象)のいずれかに投与される。いくつかの実施態様では、少なくとも1つのマウスIL-18バリエーションポリペプチドをコードする核酸(例えばDNA、cDNA、mRNAなど)が、細胞、組織、臓器、系、対象のいずれかに投与される。

10

【0233】

いくつかの実施態様では、マウスIL-18バリエーションポリペプチド、またはその断片は、N1X、M50X、Y51X、K52X、S54X、E55X、V56X、R57X、G58X、L59X、R104X、N109X、およびL151Xからなるグループから選択された少なくとも1個の突然変異(例えば少なくとも2個、または少なくとも3個、または少なくとも4個、または少なくとも5個、または少なくとも6個の突然変異)を含んでいる。ただしXは任意のアミノ酸を表わす。いくつかの実施態様では、マウスIL-18バリエーションポリペプチドまたはその断片は、N1H、N1Y、M50A、M50S、M50V、M50G、M50T、Y51R、K52V、K52S、K52T、K52G、K52A、S54R、S54K、S54G、S54N、E55R、E55H、E55N、E55D、E55G、V56L、V56M、V56R、V56A、V56S、V56Q、R57G、R57K、G58A、L59K、L59R、L59V、R104K、R104L、R104Q、R104S、N109D、およびL151Vからなるグループから選択された少なくとも1個の突然変異(例えば少なくとも2個、または少なくとも3個、または少なくとも4個、または少なくとも5個、または少なくとも6個の突然変異)を含んでいる。いくつかの実施態様では、マウスIL-18バリエーションポリペプチドは、mCS1(配列ID番号60)、mCS2(配列ID番号61)、mC1(配列ID番号62)、mA12(配列ID番号63)、mE8(配列ID番号64)、mC10(配列ID番号65)、mB7(配列ID番号66)、mB1(配列ID番号67)、mD1(配列ID番号68)、mH7(配列ID番号69)、mA7(配列ID番号70)、mE1(配列ID番号71)、mH3(配列ID番号72)からなるグループから選択された少なくとも1つのバリエーション、またはその断片を含んでいる。

20

30

【0234】

いくつかの実施態様では、IL-18BPに結合してそのIL-18BPを抑制するIL-18バリエーションポリペプチドは、N1X、L5X、D17X、E30X、T33X、D34X、I35X、D36X、M50X、Q102X、R104、H108X、N109X、M111X、D129X、およびD130Xからなるグループから選択された少なくとも1個の突然変異(例えば少なくとも2個、または少なくとも3個、または少なくとも4個、または少なくとも5個、または少なくとも6個の突然変異)を含むマウスIL-18バリエーションポリペプチドを含んでいる。ただしXは任意のアミノ酸を表わす。いくつかの実施態様では、IL-18BPに結合してそのIL-18BPを抑制するIL-18バリエーションポリペプチドは、N1Y、N1D、N1H、N1L、N1F、N1V、N1I、L5Y、L5H、D17Q、D17G、D17A、D17E、D17S、D17N、E30A、E30R、E30K、E30T、E30G、T33G、T33A、T33E、T33R、T33K、D34Y、D34S、D34A、I35T、I35K、I35R、D36V、D36A、D36G、D36H、D36P、D36R、D36L、M50F、M50L、Q102L、Q102I、R104E、R104A、R104P、R104G、R104Q、R104H、H108D、H108A、N109R、N109S、N109T、N109L、M111L、M111I、D129A、D129F、D129V、D129Y、D129S、D130E、D130T、D130G、D130N、D130R、D130S、D130Q、およびD130Hからなるグループから選択された少なくとも1個の突然変異(例えば少なくとも2個、または少なくとも3個、または少なくとも4個、または少なくとも5個、または少なくとも6個の突然変異)を含むマウスIL-18バリエーションポリペプチド、またはその断片を含んでいる。いくつかの実施態様では、IL-18BPに結合してそのIL-18BPを抑制するIL-18バリエーションポリペプチドは、mD2D-A5(配列ID番号126)、mD2D-A6(配列ID番号127)、mD2D-A7(配列ID番号128)、mD2D-A8(配列ID番号129)、mD2D-A9(配列ID番号130)、mD2D-A11(配列ID番号131)、mD2D-A12(配列ID番号132)、mD2D-B4(配

40

50

列ID番号133)、mD2D-B7(配列ID番号134)、mD2D-B11(配列ID番号135)、mD2D-B12(配列ID番号136)、mD2D-C1(配列ID番号137)、mD2D-C3(配列ID番号138)、mD2D-C5(配列ID番号139)、mD2D-C6(配列ID番号140)、mD2D-C9(配列ID番号141)、mD2D-C10(配列ID番号142)、mD2D-C11(配列ID番号143)、mD2D-D1(配列ID番号144)、mD2D-D9(配列ID番号145)、mD2D-D12(配列ID番号146)、mD2D-E3(配列ID番号147)、mD2D-E4(配列ID番号148)、mD2D-E5(配列ID番号149)、mD2D-E7(配列ID番号150)、mD2D-E8(配列ID番号151)、mD2D-E9(配列ID番号152)、mD2D-E10(配列ID番号153)、mD2D-E11(配列ID番号154)、mD2D-E12(配列ID番号155)、mD2D-F3(配列ID番号156)、mD2D-F4(配列ID番号157)、mD2D-F5(配列ID番号158)、mD2D-F7(配列ID番号159)、mD2D-F8(配列ID番号160)、mD2D-F9(配列ID番号161)、mD2D-G1(配列ID番号162)、mD2D-G7(配列ID番号163)、mD2D-G9(配列ID番号164)、mD2D-H7(配列ID番号165)、mD2D-E1(配列ID番号166)、mD2D-G8(配列ID番号167)、mD2D-H3(配列ID番号168)、mD2D-A10(配列ID番号169)、mD2D-H1(配列ID番号170)、mD2D-F12(配列ID番号171)、mD2D-G10(配列ID番号172)、mD2D-G12(配列ID番号173)、mD2D-E2(配列ID番号174)、mD2D-G11(配列ID番号175)、mD2D-C4(配列ID番号176)、mD2D-F11(配列ID番号177)、mD2D-C2(配列ID番号178)、mD2D-F10(配列ID番号179)、mD2D-A2(配列ID番号180)、mD2D-F6(配列ID番号181)、mD2D-A1(配列ID番号182)、mD2D-E6(配列ID番号183)、mD2D-D4(配列ID番号184)、mD2D-D6(配列ID番号185)、mD2D-A3(配列ID番号186)、mD2D-A4(配列ID番号187)、mD2D-B10(配列ID番号188)、mD2D-B8(配列ID番号189)、mD2D-B9(配列ID番号190)からなるグループから選択されたマウスIL-18バリエーションポリペプチド、またはその断片を含んでいる。

10

20

【0235】

いくつかの実施態様では、本発明の方法は、本明細書に記載のIL-18バリエーションポリペプチドをコードする単離された核酸分子を、対象、細胞、組織のいずれかに投与することを含んでいる。

【0236】

IL-18Rを通じたIL-18シグナル伝達のレベルの上昇が、IL-18Rへの結合とIL-18Rの活性化に利用できるIL-18またはIL-18バリエーションポリペプチドの量の増加を包含することを当業者は理解するであろう。これは、IL-18のレベルまたは活性化を増大させることによって達成できる。そのやり方の非限定的な例に含まれるのは、IL-18の直接的または間接的な投与、IL-18バリエーションポリペプチドの直接的または間接的な投与、IL-18BPの阻害剤の直接的または間接的な投与のほか、IL-18またはIL-18バリエーションポリペプチドをコードする核酸の転写と翻訳の一方または両方の増大であり、IL-18またはIL-18バリエーションポリペプチドのあらゆる活性の増大も含まれる。

30

【0237】

IL-18シグナル伝達のレベルの上昇(IL-18バリエーションポリペプチドの使用によるレベル上昇が含まれる)は、多彩な方法を利用して評価することができ、その方法に含まれるのは、本明細書に開示されている方法のほか、本分野で知られている方法や、将来開発される方法である。すなわち当業者であれば、本明細書に提示されている開示に基づき、対象から得られた生物サンプルに含まれる、IL-18、IL-18バリエーションポリペプチド、その断片のいずれかをコードする核酸(例えばmRNA)のレベル、および/またはIL-18、IL-18バリエーションポリペプチド、断片ポリペプチドのいずれかのレベル、および/またはIL-18、IL-18バリエーションポリペプチド、その断片のいずれかの活性のレベルを評価する方法を利用して、IL-18シグナル伝達のレベルまたは活性の増大を容易に評価できることを理解すると考えられる。

40

【0238】

当業者であれば、本明細書に提示されている開示に基づき、本発明が、IL-18シグナル伝達活性の増大が有益であると考えられる疾患または障害を全体(例えば全身)または部分(例えば局所、細胞、組織、臓器)で治療中であるか、治療することになる対象にとって有用であることを理解すると考えられる。当業者は、本明細書に提示されている教示に

50

基づき、本明細書に記載の組成物と方法によって治療できる疾患と障害に、IL-18シグナル伝達の増大が生物学、生理学、臨床、治療のいずれかにおける肯定的な帰結を促進するあらゆる疾患または障害が包含されることを理解するであろう。

【0239】

当業者は、IL-18シグナル伝達の直接的な増大に加え、それ自体がIL-18シグナル伝達の量または活性を低下させる分子の量または活性の低下も、IL-18シグナル伝達の活性の増大に役立つ可能性があることがわかるであろう。したがってIL-18活性の活性化剤に、化合物、タンパク質、ペプチド模倣体、抗体、リボザイム、アンチセンス核酸分子を含めることができるが、これらに限定されると考えてはならない。当業者であれば、本明細書に提示されている開示に基づき、IL-18活性の活性化剤に、IL-18シグナル伝達のレベルを上昇させる化合物が包含されることを容易に理解すると考えられる。それに加え、IL-18活性の活性化剤には、それ自体がIL-18シグナル伝達の量または活性を低下させる分子（すなわちIL-18BP）のレベルまたは活性を抑制する化合物が包含される。本発明で考慮するのはIL-18BPアンタゴニストであり、その中（その非限定的な例）に含まれるのは、モノクローナル抗体、IL-18BPを中和する小分子治療剤、IL-18BPに結合するがIL-18Rとは実質的に結合または相互作用しない改変IL-18パリアントである。IL-18BPをこのようにして抑制することにより、産生される内在性IL-18の活性が脱抑制を通じて上昇する。

10

【0240】

当業者は、本発明の教示を備えることによって、IL-18シグナル伝達のレベルの上昇に、IL-18のレベルまたはIL-18の活性（例えば受容体結合活性、受容体シグナル伝達活性など）の増大が含まれることも理解するであろう。したがってIL-18シグナル伝達のレベルまたは活性の増大の非限定的な例に含まれるのは、利用できるIL-18ポリペプチドまたはIL-18パリアントポリペプチドの量の増加、IL-18ポリペプチドまたはIL-18パリアントポリペプチドをコードする核酸の転写と翻訳の一方または両方の増加であり、そこにはIL-18ポリペプチドまたはIL-18パリアントポリペプチドのあらゆる活性の上昇も含まれる。IL-18活性を活性化する本発明の組成物と方法は、IL-18シグナル伝達を選択的に活性化すること、またはIL-18シグナル伝達と、別の分子または経路の両方を活性化することができる。したがって本発明は、IL-18活性の活性化剤、またはIL-18活性ポリペプチドの組み換え活性化剤、またはIL-18活性ポリペプチド断片の活性な活性化剤、またはIL-18シグナル伝達経路構成要素の発現または活性の活性化剤の投与に関する。

20

30

【0241】

さらに、当業者であれば、本開示と、本明細書に例示されている方法を教授されると、IL-18活性の活性化剤に、将来発見されるような活性化剤や、薬理学の分野で周知の基準（例えば本明細書に詳述されている、および/または本分野で知られているように、IL-18シグナル伝達活性化の生理学的な結果）によって同定できる活性化剤が含まれることを理解すると考えられる。したがって本発明が、本明細書に例示または開示されているIL-18活性のどれか特定の活性化剤に限定されることは決してなく、むしろ本発明は、本分野で知られている活性化剤と将来発見される活性化剤で、当業者が有用であると理解すると考えられるものを包含する。

【0242】

IL-18活性の活性化剤を同定する方法と製造する別の方法は当業者によく知られており、その非限定的な例に含まれるのは、天然の供給源（例えばストレプトミセス属の種、シュードモナス属の種、スティロテラ・アウランティウムなど）から活性化剤を取得するというものである。あるいはIL-18活性の活性化剤は、化学的に合成することができる。さらに、当業者は、本明細書に提示されている教示に基づき、IL-18活性の活性化剤を組み換え生物から取得できることを理解すると考えられる。IL-18活性の活性化剤を化学的に合成するための組成物と方法、天然の供給源からIL-18活性の活性化剤を取得するための組成物と方法は本分野で周知であり、先行技術に記載されている。

40

【0243】

当業者は、活性化剤を、小分子化合物、タンパク質、抗体、タンパク質をコードする核

50

酸コンストラクト、アンチセンス核酸、アンチセンス核酸をコードする核酸コンストラクトや、これらの組み合わせとして投与できることを理解するであろう。タンパク質、またはタンパク質をコードする核酸コンストラクトを細胞または組織に投与するための多数のベクターと、他の組成物および方法が知られている。したがって本発明には、ポリペプチド（IL-18シグナル伝達の活性化剤）、またはポリペプチドをコードする核酸を投与する方法が含まれる。（Sambrook他、2012年、『Molecular Cloning: A Laboratory Manual』、Cold Spring Harbor Laboratory、ニューヨーク州；Ausubel他、1997年、『Current Protocols in Molecular Biology』、John Wiley & Sons社、ニューヨーク州）。

【0244】

当業者は、それ自体がIL-18シグナル伝達の量または活性を低下させる分子の量または活性を低下させることが、IL-18シグナル伝達の量または活性の増大（例えばIL-18BPの量または活性の低下）に役立つことを理解するであろう。アンチセンスオリゴヌクレオチドは、ある1つのRNA分子の一部と相補的なRNA分子またはRNA分子である。アンチセンスオリゴヌクレオチドは、細胞の中にあると、存在しているRNA分子にハイブリダイズし、遺伝子産物への翻訳を抑制する。アンチセンスオリゴヌクレオチドを用いた遺伝子発現の抑制は本分野でよく知られており（Marcus-Sekura、1988年、Anal. Biochem. 第172巻：289ページ）、細胞の中でアンチセンスオリゴヌクレオチドを発現させる方法（Inoue、アメリカ合衆国特許第5,190,931号）も同様によく知られている。本発明の方法には、アンチセンスオリゴヌクレオチドを利用してIL-18シグナル伝達の量または活性を低下させる分子の量を減らすことにより、IL-18シグナル伝達の量または活性を増大させることが含まれる。本発明で考慮するのは、当業者に周知の方法によって合成されて細胞に提供されるアンチセンスオリゴヌクレオチドである。一例として、アンチセンスオリゴヌクレオチドは、長さが約10～約100個、より代表的には約15～約50個のヌクレオチドとして合成することができる。核酸分子の合成は本分野において周知であり、改変されたアンチセンスオリゴヌクレオチドを合成して、改変されていないアンチセンスオリゴヌクレオチドに対し生物活性を向上させることも同様に周知である（Tullis、1991年、アメリカ合衆国特許第5,023,243号）。

【0245】

同様に、遺伝子の発現は、アンチセンス分子を遺伝子のプロモータまたはそれ以外の調節エレメントにハイブリダイズさせることによって抑制することができ、そのことによってその遺伝子の転写に影響が及ぶ。興味ある遺伝子と相互作用するプロモータまたはそれ以外の調節エレメントを同定する方法は本分野で周知であり、その例には酵母2ハイブリッド系などの方法が含まれる（BartelとFields編、『The Yeast Two Hybrid System』、Oxford University Press、キャリー、ノースカロライナ州）。

【0246】

あるいはIL-18シグナル伝達のレベルまたは活性を低下させるタンパク質を発現する遺伝子の抑制は、リボザイムを使用して実現することができる。遺伝子発現の抑制にリボザイムを用いることは当業者によく知られている（例えばCech他、1992年、J. Biol. Chem. 第267巻：17479ページ；Hampel他、1989年、Biochemistry 第28巻：4929ページ；Altman他、アメリカ合衆国特許第5,168,053号を参照されたい）。リボザイムは触媒作用のあるRNA分子であり、他の一本鎖RNA分子を切断する能力を有する。リボザイムは配列特異的であることが知られているため、改変して特定のヌクレオチド相列を認識することができ（Cech、1988年、J. Amer. Med. Assn. 第260巻：3030ページ）、そのことによって特定のmRNA分子の選択的な切断が可能になる。当業者は、分子のヌクレオチド配列が与えられると、本明細書の開示とその中に組み込まれている参考文献に基づき、特別な実験なしにアンチセンスオリゴヌクレオチドまたはリボザイムを合成できると考えられる。

【0247】

当業者は、IL-18活性の活性化剤（例えばIL-18バリエーションポリペプチドまたはその断片、またはIL-18バリエーションポリペプチドまたはその断片をコードする核酸（例えばDNA、cDNA、mRNAなど））を単独で、またはその任意の組み合わせで投与できることを理解するで

あろう。

【0248】

当業者は、急性に（例えば短い期間（1日、1週間、1ヶ月など））、または慢性に（例えば長い期間（数ヶ月、1年以上など））投与できることも理解するであろう。さらに、IL-18活性の活性化剤（例えばIL-18バリエーションポリペプチドまたはその断片、またはIL-18バリエーションポリペプチドまたはその断片をコードする核酸（例えばDNA、cDNA、mRNAなど））を単独で投与できること、または任意の組み合わせで時間的に投与できること、すなわちそれら活性化剤を同時に、および/または互いに前後して投与できることを理解するであろう。当業者は、本明細書に提示されている開示に基づき、IL-18活性の活性化剤、またはIL-18活性ポリペプチド断片の活性化剤、またはIL-18活性ポリペプチド断片の組み換え活性化剤、またはIL-18活性ポリペプチド断片の活性化剤を単独で用いるか、IL-18活性の別の活性化剤、またはIL-18活性ポリペプチド断片の別の活性化剤、またはIL-18活性ポリペプチド断片の別の組み合わせ活性化剤、またはIL-18活性ポリペプチド断片の別の活性化剤と任意に組み合わせることで用いることによって治療結果に影響を与えられることを理解するであろう。

10

【0249】

当業者は、本明細書に詳述されている方法を含む本開示で武装すると、本発明が、すでに明確にされている疾患または障害の治療に限定されないことを理解するであろう。特に、疾患または障害が対象の損傷箇所に現われている必要はない。実際、疾患または障害は、治療を適用する前には対象で検出される必要がない。すなわち、本発明が便益の可能性を提供する前に顕著な疾患または障害が起こる必要はない。したがって本発明には、対象の疾患または障害を予防する方法が含まれており、その疾患または障害の発症前に、すでに他の箇所で論じたIL-18活性分子（例えばポリペプチド、ペプチドなど）の活性化剤、またはIL-18活性の活性化剤を対象に投与することで、その疾患または障害が進行するのを防止することができる。

20

【0250】

本発明は、IL-18活性の活性化剤、IL-18活性ポリペプチドの活性化剤、組み換えIL-18シグナル伝達ポリペプチド、活性化IL-18シグナル伝達ポリペプチド断片のいずれかを投与して本発明の方法を実践することを包含する。当業者であれば、本明細書に提示されている開示に基づき、IL-18活性の適切な活性化剤、またはIL-18活性ポリペプチドの活性化剤、組み換えIL-18シグナル伝達ポリペプチド、または活性化IL-18シグナル伝達ポリペプチド断片を製剤にして対象に投与する方法を理解すると考えられる。しかし本発明がどれか特定の投与方法または治療計画に限定されることはない。それが特に当てはまるのは、本明細書に提示されている開示（本分野で認められている疾患モデルを用いて本開示を実践することを含む）を教授された当業者が、またはIL-18活性の活性化剤、IL-18シグナル伝達ポリペプチド、または組み換えIL-18シグナル伝達ポリペプチド、または活性化IL-18シグナル伝達ポリペプチド断片を投与する方法を薬理学の当業者が決定できることを理解していると考えられる場合である。

30

【0251】

いくつかの実施態様では、1つの方法は、この方法を必要とする対象に、少なくとも1つのIL-18バリエーションポリペプチドを含む組成物を投与し、その対象に、追加の薬剤を含む組成物を投与することを含んでいる。そのような1つの実施態様では、追加の薬剤は免疫療法剤を含んでおり、その免疫療法剤には、変化したT細胞、キメラ抗原受容体T細胞（CAR-T）、防護されたCAR-T細胞、ウイルス、抗原、ワクチン、抗体、免疫チェックポイント阻害剤、小分子、化学療法剤、幹細胞を非限定的な例として含むグループから選択された少なくとも1つのものが含まれている。いくつかの実施態様では、免疫系の活性を増大させるための方法において、少なくとも1つのIL-18バリエーションポリペプチドを含む組成物を、細菌、またはウイルス、または他の病原体の感染前、または感染中、または感染後に使用する。いくつかの実施態様では、インビトロ、または生体内、または生体外で免疫細胞の数および/または活性（例えばT細胞、および/またはNK細胞、および/または骨髄細

40

50

胞の数および/または活性)を増大させる方法において、少なくとも1つのIL-18バリエーションポリペプチドを含む組成物を使用する。

【0252】

いくつかの実施態様では、追加の薬剤は1つ以上のサイトカインの阻害剤を含んでいる。いくつかの実施態様では、1つ以上のサイトカインの阻害剤は、1つ以上のサイトカインの発現と活性の一方または両方を抑制する化合物、タンパク質、ペプチド、ペプチド模倣体、抗体、リボザイム、小分子化合物、アンチセンス核酸分子(例えばsiRNA、miRNAなど)を含んでいる。いくつかの実施態様では、阻害剤は、IL-17、IL-5、IL-3いずれかの発現と活性の一方または両方を抑制する。いくつかの実施態様では、サイトカイン阻害剤は毒性を低下させる。いくつかの実施態様では、サイトカイン阻害剤は、投与されたIL-18バリエーションポリペプチドまたはIL-18BP阻害剤の効果を増大させる。

10

【0253】

本明細書では、「医薬的に許容される担体」という用語は、適切なIL-18シグナル伝達調節剤と組み合わせることができる化学的組成物を意味し、組み合わせた後の化学的組成物を用いてその適切なIL-18シグナル伝達調節剤を対象に投与することができる。

【0254】

キット

【0255】

本発明は、本発明の方法で有用なキットにも関する。このようなキットは、本明細書の別の箇所に記載されているどの方法でも有用な構成要素(例えばIL-18活性の活性化剤(IL-18バリエーションポリペプチドおよび/またはIL-18BP阻害剤など)、および/またはIL-18バリエーションポリペプチドまたはIL-18バリエーション核酸を定量的に分析するための材料、および/または使用説明材料が含まれる)のさまざまな組み合わせを含んでいる。例えばいくつかの実施態様では、キットは、生物サンプル中のIL-18バリエーション核酸の定量に役立つ構成要素を含んでいる。別の実施態様では、キットは、生物サンプル中のIL-18バリエーションポリペプチドの定量に役立つ構成要素を含んでいる。さらに別の実施態様では、キットは、生物サンプル中のIL-18バリエーションポリペプチドの活性(例えば酵素活性、リガンド結合活性など)を評価するのに役立つ構成要素を含んでいる。

20

【0256】

さらに別の実施態様では、キットは、治療を必要とする対象に適用される治療の有効性をモニタするためのアッセイの構成要素を含んでおり、そこに含まれるのは、使用説明材料と、対象から得られた生物サンプル中のIL-18シグナル伝達のレベルが治療を適用している間または治療後に変化したかどうかを判断するための構成要素である。さまざまな実施態様では、対象から得られた生物サンプル中のIL-18シグナル伝達のレベルが変化したかどうかを判断するため、IL-18シグナル伝達のレベルを、キットに含有されている少なくとも1つの比較対照(陽性対照、陰性対照、既存(historical)対照、既存基準など)のレベル、または生物サンプル中の別の参照分子のレベルと比較する。いくつかの実施態様では、IL-18シグナル伝達分子と参照分子の比を求めて治療をモニタする参考にする。

30

【0257】

医薬組成物と投与

【0258】

これから記載するように、本明細書の別の箇所に記載されているポリペプチド、ポリペプチド断片、IL-18シグナル伝達のレベルまたは活性の活性化剤、IL-18BPのレベルまたは活性の阻害剤を含む組成物を調製して対象に投与することができる。これから記載するように、非限定的な例として、疾患または障害を治療および/または予防するためのIL-18活性の活性化剤(IL-18バリエーションポリペプチド、組み換えIL-18バリエーションポリペプチド、活性なIL-18バリエーションポリペプチド断片が含まれる)であると同定された組成物を製剤にして対象に投与することができる。これから記載するように、非限定的な例として、疾患または障害を治療および/または予防するための有用なIL-18BP阻害剤(化合物、タ

40

50

ンパク質、ペプチド、ペプチド模倣体、抗体、リボザイム、小分子化合物、アンチセンス核酸分子（例えばsiRNA、miRNAなど）が含まれる）であると同定された組成物を製剤にして対象に投与することができる。

【0259】

本発明には、本明細書に活性成分として開示されていて疾患または障害の治療または予防に役立つ組成物を含む医薬組成物の調製と利用が包含される。このような医薬組成物は、対象に投与するのに適した形態にされた活性成分だけからなること、または活性成分と、医薬的に許容される1つ以上の担体、または1つ以上の追加成分、またはこれらの何らかの組み合わせを含むことができる。活性成分は、本分野で周知のように、生理学的に許容されるエステルまたは塩の形態で（例えば生理学的に許容されるカチオンまたはアニオンとの組み合わせで）医薬組成物の中に存在することができる。さまざまな実施態様では、活性成分は、本明細書の別の箇所に記載されているように、ポリペプチド、ポリペプチド断片、IL-18シグナル伝達のレベルまたは活性の活性化剤、IL-18BPのレベルまたは活性の阻害剤、またはこれらの組み合わせである。

10

【0260】

本明細書では、「医薬的に許容される担体」という用語は、適切なIL-18シグナル伝達調節剤と組み合わせることができる化学的組成物を意味し、組み合わせた後の化学的組成物を用いて適切な調節剤（例えば活性化剤、阻害剤など）を対象に投与することができる。

【0261】

いくつかの実施態様では、医薬組成物は、大きくてゆっくりと代謝される巨大分子を含むことができる。巨大分子の例は、タンパク質、多糖（キトサンなど）、ポリ乳酸、ポリグリコール酸、コポリマー（ラテックス機能化Sephacryl（商標）、寒天、セルロースなど）、アミノ酸重合体、アミノ酸コポリマー、脂質凝集体（油滴、リボソームなど）などである。

20

【0262】

本発明を実施するのに役立つ医薬組成物を投与すると、約0.1 ng/kg/日～100 mg/kg/日以上用量を送達することができる。

【0263】

さまざまな実施態様では、本発明の方法において有用な医薬組成物は、例えば全身に、または非経口で、または局所的に投与することが、例えば経口製剤や吸入製剤（固体またはエアロゾルが含まれる）の形態と、局所製剤や他の同様な製剤によって可能である。このような医薬組成物は、適切な治療用組成物に加え、医薬的に許容される担体と、薬の投与を増強し容易にすることが知られている他の成分を含有することができる。可能な他の製剤（活性成分を含有するナノ粒子、リボソームや、それ以外の調製物、免疫学に基づく系など）を用いてその適切な調節剤を本発明の方法に従って投与することもできる。

30

【0264】

担体は、本発明の薬剤（例えばIL-18バリエーションポリペプチド）を多彩なやり方（直接的な共有結合、リンカー基を介した共有結合、非共有結合）で担持することができる。共有結合する適切な担体に含まれるのは、タンパク質（アルブミンなど）、ペプチド、多糖（アミノデキストランなど）であり、そのそれぞれは、さまざまな部分が付着する複数の部位を有する。担体は、非共有結合（非共有結合またはカプセル化）によってIL-18バリエーションポリペプチドを担持することもできる。担体の性質は、本発明の目的では可溶性または非可溶性であることが可能である。

40

【0265】

許容できる担体、賦形剤、安定剤は、使用する用量と濃度において受領者にとって非毒性であり、その例に含まれるのは、バッファー（リン酸塩、クエン酸塩や、他の有機酸の塩など）；抗酸化剤（アスコルビン酸とメチオニンが含まれる）；保存剤（オクタデシルジメチルベンジルアンモニウムクロリド；塩化ヘキサメトニウム；塩化ベンザルコニウム、塩化ベンゼトニウム；フェノール、ブチルアルコール、ベンジルアルコール；アルキル

50

パラベン（メチルパラベン、プロピルパラベンなど）；カテコール；レゾルシノール；シクロヘキサノール；3-ペンタノール；m-クレゾールなど）；低分子量（約10残基未満）のポリペプチド；タンパク質（血清アルブミン、ゼラチン、免疫グロブリンなど）；親水性ポリマー（ポリビニルピロリドンなど）；アミノ酸（グリシン、グルタミン、アスパラギン、ヒスチジン、アルギニン、リシンなど）；単糖、二糖、それ以外の炭水化物（グルコース、マンノース、デキストリンが含まれる）；キレート剤（EDTAなど）；糖（スクロース、マンニトール、トレハロース、ソルビトールなど）；塩を形成する対イオン（ナトリウムなど）；金属錯体（例えばZn-タンパク質錯体）；および/または非イオン性界面活性剤（TWEEN（商標）、PLURONICS（商標）、ポリエチレングリコール（PEG）など）である。生体内投与に使用される製剤は滅菌されていなければならない。これは、滅菌濾過膜を通過させる濾過によって容易に実現される。

10

【0266】

活性成分は、例えばコアセルベート化技術または界面重合によって調製したマイクロカプセル（それぞれ、例えばヒドロキシメチルセルロース製またはゼラチン製のマイクロカプセルと、ポリ-(メチルメタクリレート)製のマイクロカプセル)の中に、またはコロイド薬送達系（例えばリポソーム、アルブミンマイクロスフェア、マイクロエマルジョン、ナノ粒子、ナノカプセル)の中に、またはマクロエマルジョンの中に捕捉することもできる。このような技術は、『Remington's Pharmaceutical Sciences』第16版、Osol, A. 編（1980年）に開示されている。

【0267】

組成物は、注射可能な溶液または懸濁液として調製することができ；注射する前に液体ビヒクル中の溶液または懸濁液にするのに適した固体形態も調製することができる。調製物は、上述のように、乳化することや、リポソームまたは微粒子（アジュバント効果を增强するためのポリラクチド、ポリグリコリド、コポリマーなど)の中に封止することができる。Langer、Science 第249巻：1527ページ、1990年と、Hanes、Advanced Drug Delivery Reviews 第28巻：97～119ページ、1997年。本発明の薬剤は、活性成分の持続放出またはパルス状放出が可能な製剤にすることができる留置注入物またはインプラント調製物の形態で投与することができる。医薬組成物は一般に、滅菌されていて、実質的に等張性で、アメリカ合衆国食品・医薬品局の適正製造基準（GMP）のあらゆる規則に完全に合致するように製剤化される。

20

30

【0268】

本明細書では、「生理学的に許容される」エステルまたは塩という表現は、医薬組成物の他のどの成分とも適合性があり、この組成物が投与されることになる対象にとって有害でない、エステルまたは塩の形態になった活性成分を意味する。

【0269】

本明細書に記載されている医薬組成物の製剤は、薬理学の分野で現在知られているか今後開発される任意の方法で調製することができる。一般に、このような調製法は、活性成分を担体または1つ以上の他の補助成分と組み合わせた後、必要な場合または望ましい場合にはこの製品を望む単回投与単位または多回投与単位に成形または包装する工程を含んでいる。

40

【0270】

本明細書に提示されている医薬組成物の説明は主に、ヒトへの倫理的な投与に適した医薬組成物に向けられているが、このような組成物は一般にあらゆる種類の動物への投与に適していることを当業者は理解するであろう。ヒトへの投与に適した医薬組成物を改変してさまざまな動物への投与に適した組成物にする方法はよく理解されており、動物薬理学の当業者は、単なる一般的な実験（存在するのであれば）でそのような改変を設計して実施することができる。

【0271】

本発明の方法において有用な医薬組成物は、経口、直腸、膣、非経口、局所、肺、鼻腔内、口腔、静脈内、経皮、病巣内、皮下、筋肉内、眼、髄腔内の投与経路や、知られてい

50

る他の投与経路に適した製剤として調製、または包装、または販売することができる。考えられる他の製剤に含まれるのは、表面に凹凸があるナノ粒子、リポソーム調製物、活性成分を含有する他の調製物と、免疫学に基づく製剤である。

【0272】

本発明の医薬組成物は、1つの単回単位用量として、または複数の単回単位用量として、まとめて調製、または包装、または販売することができる。本明細書では、「単位用量」は、所定量の活性成分を含む離散量の医薬組成物である。活性成分の量は一般に、対象に投与されることになる活性成分の投与量と等しいか、そのような投与量の切りのよい分数（例えばこのような投与量の半分または1/3）と等しい。

【0273】

本発明の医薬組成物に含まれる活性成分、医薬的に許容される担体、任意の追加成分の相対的な量は、治療する対象の素性、サイズ、状態に応じて異なるであろうし、投与されるこの組成物を投与する経路にも依存するであろう。組成物は、例えば0.1%~100%(w/w)の活性成分を含むことができる。

【0274】

本発明の医薬組成物は、活性成分に加え、1つ以上の追加医薬活性成分をさらに含むことができる。

【0275】

本発明の医薬組成物の制御製剤または持続放出製剤は、従来技術を利用して製造することができる。

【0276】

経口投与に適した本発明の医薬組成物の製剤は、分散した固体単位用量の形態で調製、または包装、または販売することができ、その非限定的な例に含まれるのは、錠剤、硬質カプセル、軟質カプセル、カシェ、チローチ、ロゼンジであり、そのそれぞれが、所定量の活性成分を含有している。経口投与に適した他の製剤の非限定的な例に含まれるのは、粉末製剤、顆粒製剤、水性懸濁液、油性懸濁液、水溶液、油溶液、乳剤である。

【0277】

医薬組成物の製造に用いられる医薬的に許容される賦形剤の非限定的な例に含まれるのは、不活性な希釈剤、顆粒化剤、崩壊剤、結合剤、潤滑剤である。既知の分散剤の非限定的な例に含まれるのは、ジャガイモのデンプン、デンプングリコール酸ナトリウムである。既知の表面活性剤の非限定的な例に含まれるのは、ラウリル硫酸ナトリウムである。既知の希釈剤の非限定的な例に含まれるのは、炭酸カルシウム、炭酸ナトリウム、ラクトース、微結晶セルロース、リン酸カルシウム、リン酸水素カルシウム、リン酸ナトリウムである。既知の顆粒化剤と崩壊剤の非限定的な例に含まれるのは、コーンスターチとアルギン酸である。既知の結合剤の非限定的な例に含まれるのは、ゼラチン、アラビアゴム、あらかじめゼラチン化させたコーンスターチ、ポリビニルピロリドン、ヒドロキシプロピルメチルセルロースである。既知の潤滑剤の非限定的な例に含まれるのは、ステアリン酸マグネシウム、ステアリン酸、シリカ、タルクである。

【0278】

本発明の医薬組成物の液体製剤は、液体形態で、または使用前に水やそれ以外の適切なビヒクルを用いて再構成するための乾燥製品の形態で、調製、または包装、または販売することができる。

【0279】

懸濁液は、水性または油性のビヒクルの中に活性成分の懸濁液を実現する従来方法を利用して調製することができる。水性ビヒクルに含まれるのは、例えば水と等張生理食塩水である。油性ビヒクルに含まれるのは、例えばアーモンド油、油性エステル、エチルアルコール、植物油（ピーナツ油、オリーブ油、ゴマ油、ココナツ油、分別植物油など）、鉱物油（液体パラフィンなど）である。懸濁液はさらに1つ以上の追加成分を含むことができ、その非限定的な例に含まれるのは、懸濁剤、分散剤または湿潤剤、乳化剤、粘滑剤、保存剤、バッファー、塩、着香剤、着色剤、甘味剤である。油性懸濁液はさらに増粘剤

10

20

30

40

50

を含むことができる。

【0280】

既知の懸濁剤の非限定的な例に含まれるのは、ソルビトールシロップ、水素添加食用脂肪、アルギン酸ナトリウム、ポリビニルピロリドン、トラガカントゴム、アラビアゴム、セルロース誘導体（カルボキシメチルセルロースナトリウム、メチルセルロース、ヒドロキシプロピルメチルセルロースなど）である。既知の分散剤または湿潤剤の非限定的な例に含まれるのは、天然のホスファチド（レシチンなど）、アルキレン酸化物と脂肪酸の縮合生成物、アルキレン酸化物と長鎖脂肪族アルコールの縮合生成物、アルキレン酸化物と脂肪酸とヘキシトールに由来する部分エステル縮合生成物、キレン酸化物と脂肪酸と無水ヘキシトールに由来する部分エステル縮合生成物（それぞれ、例えばポリステアリン酸オキシエチレン、ヘプタデカエチレンオキシセタノール、ポリモノオレイン酸オキシエチレンソルビトール、ポリモノオレイン酸オキシエチレンソルビタン）である。既知の乳化剤の非限定的な例に含まれるのは、レシチンとアラビアゴムである。既知の保存剤の非限定的な例に含まれるのは、パラ-ヒドロキシ安息香酸メチル、パラ-ヒドロキシ安息香酸エチル、パラ-ヒドロキシ安息香酸n-プロピル、アスコルビン酸、ソルビン酸である。既知の甘味剤に含まれるのは、例えばグリセロール、プロピレングリコール、ソルビトール、スクロース、サッカリンである。油性懸濁液のための既知の増粘剤に含まれるのは、例えば蜜蝋、硬質パラフィン、セチルアルコールである。

10

【0281】

水性溶媒または油性溶媒の中の活性成分の溶液は、懸濁液と実質的に同じやり方で調製できるが、主な違いは、活性成分が溶媒の中に懸濁されているのではなくて溶けていることである。本発明の医薬組成物の溶液は、懸濁液に関して記載した構成要素のそれぞれを含むことができるが、懸濁剤は必ずしも活性成分を溶媒に溶かすのを助けないことを理解されたい。水性溶媒に含まれるのは、例えば水と等張生理食塩水である。油性溶媒に含まれるのは、例えばアーモンド油、油性エステル、エチルアルコール、植物油（ピーナツ油、オリーブ油、ゴマ油、ココナツ油など）、分別植物油、鉱物油（液体パラフィンなど）である。

20

【0282】

本発明の医薬組成物の粉末製剤と顆粒製剤は、既知の方法を利用して調製することができる。このような製剤は、対象に直接投与することや、例えば錠剤を形成したり、カプセルに充填したり、水性または油性のビヒクルを添加して水性または油性の懸濁液または溶液を調製したりするのに用いることができる。これら製剤のそれぞれはさらに、分散剤または湿潤剤、懸濁剤、保存剤のうち1つ以上を含むことができる。追加の賦形剤（充填剤、甘味剤、着香剤、着色剤など）もこれら製剤に含めることができる。

30

【0283】

本発明の医薬組成物は、水中油型乳剤または油中水型乳剤の形態で調製、または包装、または販売することができる。油相として、植物油（オリーブ油、ピーナツ油など）、または鉱物油（液体パラフィンなど）、またはこれらの組み合わせが可能である。このような組成物はさらに1つ以上の乳化剤（例えば天然ゴム（アラビアゴム、トラガカントゴムなど）、天然のホスファチド（ダイズまたはレシチンのホスファチドなど）、脂肪酸とヘキシトール無水物の組み合わせに由来するエステルまたは部分エステル（モノオレイン酸ソルビタンなど）、このような部分エステルとエチレンオキシドの縮合生成物（モノオレイン酸ポリオキシエチレンソルビタンなど））を含むことができる。これら乳剤は、追加成分（例えば甘味剤や着香剤が含まれる）も含有することができる。

40

【0284】

ある材料に化合物を含浸させる方法、またはある材料を化合物で被覆する方法は本分野で知られており、その非限定的な例に含まれるのは、ある表面に化学的組成物を堆積または結合させる方法、ある材料の合成中に（すなわち生理学的に分解可能な材料の場合のように）その材料の構造の中に化学的組成物を組み込む方法、水性または油性の溶液または懸濁液を吸収性材料の中に吸収させた後、乾燥させるか、乾燥させない方法である。

50

【0285】

本明細書では、医薬組成物の「非経口投与」に、対象の組織を物理的に破り、医薬組成物を組織内のその破れを通じて投与することを特徴とする任意の投与経路が含まれる。したがって非経口投与の非限定的な例に含まれるのは、医薬組成物の投与を、組成物の注射によって、外科的切開を通じた組成物の適用によって、組織に侵入する非外科的な傷を通じた組成物の適用によって実現することである。非経口投与で考慮される非限定的な例に特に含まれるのは、皮膚注射、皮下注射、腹腔内注射、静脈内注射、筋肉内注射、嚢内注射、腎臓透析輸液技術である。

【0286】

非経口投与に適した医薬組成物の製剤は、活性成分を、医薬的に許容される担体（滅菌水、無菌等張生理食塩水など）との組み合わせで含んでいる。このような製剤は、ポーラス投与または連続投与に適した形態で調製、または包装、または販売することができる。注射可能な製剤は、単位用量の形態（例えばアンプルや、保存剤を収容した多回用量の容器）で調製、または包装、または販売することができる。非経口投与のための製剤の非限定的な例に含まれるのは、懸濁液、溶液、油性ビヒクル、水性のビヒクルの中の乳剤、ペースト、移植可能な持続放出製剤または生物分解性製剤である。このような製剤は、1つ以上の追加成分をさらに含むことができ、追加成分の非限定的な例に含まれるのは、懸濁剤、安定剤、分散剤である。非経口投与のための製剤のいくつかの実施態様では、活性成分は、適切なビヒクル（例えば滅菌されていて発熱物質を含まない水）を用いて再構成するため乾燥した（すなわち粉末または顆粒の）形態で提供されて、再構成された組成物が非経口投与される。

【0287】

医薬組成物は、滅菌された注射可能な水性または油性の懸濁液または溶液の形態で調製、または包装、または販売することができる。この懸濁液または溶液は、既知の技術に従って調製することができ、活性成分に加え、追加成分（本明細書に記載されている分散剤、湿潤剤、懸濁剤など）を含むことができる。このような滅菌された注射可能な製剤は、非経口投与が可能な非毒性の希釈剤または溶媒（例えば水、1,3-ブタンジオール）を用いて調製することができる。他の許容可能な希釈剤と溶媒の非限定的な例に含まれるのは、リンゲル溶液、等張塩化ナトリウム溶液、不揮発性油（合成モノグリセリド、合成ジグリセリドなど）である。非経口投与が可能な他の有用な製剤に含まれるのは、微結晶の形態になった活性成分を、リポソーム調製物の中に、または生物分解性ポリマー系の構成成分として含む製剤である。持続放出または移植のための組成物は、医薬的に許容されるポリマー材料または疎水性材料（乳剤、イオン交換樹脂、ほとんど溶けないポリマー、ほとんど溶けない塩など）を含むことができる。

【0288】

局所投与に適した製剤の非限定的な例に含まれるのは、液体または半液体の調製物（塗布薬、ローション、水中油型乳剤、油中水型乳剤（クリーム、軟膏、ペーストなど）、溶液、懸濁液など）である。局所投与可能な製剤は、例えば約1%～約10% (w/w)の活性成分を含むことができるが、活性成分の濃度は、溶媒中のその活性成分の溶解度の上限が可能である。局所投与のための製剤は、本明細書に記載されている1つ以上の追加成分をさらに含むことができる。

【0289】

本発明の医薬組成物は、口腔を通じて肺に投与するのに適した製剤の形態で調製、または包装、または販売することができる。このような製剤は、活性成分を含む直径が約0.5～約7ナノメートル（好ましくは約1～約6ナノメートル）の範囲の乾燥粒子を含むことができる。このような組成物は、乾燥粉末の形態にして投与するため、乾燥粉末リザーバを備える装置を利用する（推進剤の流れを乾燥粉末リザーバに向けてその粉末を分散させる）か、自己推進溶媒/粉末分散容器（例えば密封された容器の中で低沸点の推進剤の中に溶かすか懸濁させた活性成分を含む装置）を利用すると好都合である。このような粉末は、重量の少なくとも98%が0.5ナノメートルよりも大きな直径を持ち、数の少なくとも95

10

20

30

40

50

%が7ナノメートル未満の直径を持つ粒子を含んでいることが好ましい。より好ましいのは、重量の少なくとも95%が1ナノメートルよりも大きな直径を持ち、数の少なくとも90%が6ナノメートル未満の直径を持つ粒子を含んでいることである。乾燥粉末組成物は、固体の微粉末希釈剤（糖など）を含むことが好ましく、単位剤形で提供されると便利である。

【0290】

低沸点の推進剤は、一般に、大気圧での沸点が65°F未満の液体推進剤を含んでいる。一般に、推進剤は組成物の50~99.9% (w/w)を占めることができ、活性成分は組成物の0.1~20% (w/w)を占めることができる。推進剤はさらに、追加成分（非イオン性液体、またはアニオン性固体界面活性剤、または固体希釈剤（活性成分を含む粒子と同程度の粒径を持つことが好ましい））を含むことができる。

10

【0291】

肺送達用の製剤にされた本発明の医薬組成物は、活性成分を溶液または懸濁液の液滴の形態で提供することもできる。このような製剤は、活性成分を含んでいて場合によっては滅菌された水性または希アルコール性の溶液または懸濁液として調製、または包装、または販売することができるため、好都合なことに任意の噴霧装置または霧化装置を用いて投与することができる。このような製剤はさらに、1つ以上の追加成分を含むことができ、その非限定的な例に含まれるのは、着香剤（サッカリンナトリウムなど）、揮発油、緩衝剤、界面活性剤、保存剤（ヒドロキシ安息香酸メチルなど）である。この投与経路で提供される液滴は、直径の平均が約0.1~200ナノメートルであることが好ましい。肺送達に有用であるとして本明細書に記載されている製剤は、本発明の医薬組成物の鼻腔内送達にも有用である。鼻腔内投与に適した別の製剤は、活性成分を含んでいて、平均粒径が約0.2~500マイクロメートルの粗粉末である。

20

【0292】

このような製剤は、嗅ぐことによって、すなわち鼻孔の近くに保持した粉末容器から鼻腔を通過させて急激に吸引することによって投与される。鼻腔投与に適した製剤は、例えば活性成分を約0.1% (w/w)という少ない量から100% (w/w)という多い量まで含むことができ、本明細書に記載されている1つ以上の成分をさらに含むことができる。

【0293】

本発明の医薬組成物は、口腔投与に適した製剤の形態で調製、または包装、または販売することができる。このような製剤は、例えば従来の方法を利用して錠剤またはロゼンジの形態にすることができ、例えば0.1~20% (w/w)の活性成分を含有していて、残部には、口内で溶けるか分解する組成物と、場合によっては本明細書に記載の1つ以上の追加成分が含まれている。あるいは口腔投与に適した製剤は、活性成分を含む粉末、またはエアロゾル化または噴霧化された溶液または懸濁液を含むことができる。このような粉末化製剤、またはエアロゾル化製剤、または噴霧化製剤は、分散されたときに平均粒径または液滴径が約0.1~約200ナノメートルの範囲であることが好ましく、本明細書に記載されている1つ以上の成分をさらに含むことができる。

30

【0294】

本発明の医薬組成物は、目への投与に適した製剤の形態で調製、または包装、または販売することができる。このような製剤は、例えば水性または油性の液体担体の中に活性成分を0.1~1.0% (w/w)含有する溶液または懸濁液を含む点眼剤の形態にすることができる。このような点眼剤はさらに、緩衝剤、塩、本明細書に記載の1つ以上の他の追加成分を含むことができる。目に投与できる他の有用な製剤に含まれるのは、微結晶形態の中、またはリポソーム調製物の中に活性成分を含む製剤である。

40

【0295】

本明細書では、「追加成分」の非限定的な例に含まれるのは、賦形剤；界面活性剤；分散剤；不活性な希釈剤；顆粒剤と崩壊剤；結合剤；潤滑剤；甘味剤；着香剤；着色剤；保存剤；生理学的に分解可能な組成物（ゼラチンなど）；水性ビヒクルと水性溶媒；油性ビヒクルと油性溶媒；懸濁剤；分散剤または湿潤剤；乳化剤、粘滑剤；緩衝剤；塩；増粘剤

50

；充填剤；乳化剤；抗酸化剤；抗生剤；抗真菌剤；安定剤；医薬的に許容されるポリマー性材料または疎水性材料のうちの1つ以上である。本発明の医薬組成物に含めることのできる他の「追加成分」は本分野で知られており、例えばGenaro編、1985年、『Remington's Pharmaceutical Sciences』、Mack Publishing Co.社、イーストン、ペンシルヴェニア州に記載されている（その内容は参照によって本明細書に組み込まれている）。

【0296】

典型的には、動物（好ましくはヒト）に投与できる本発明の化合物の用量は、その動物の体重1 kg当たり約0.001 mg～約1000 mgの範囲である。投与する正確な用量は多数の因子に依存して変化し、その非限定的な例に含まれるのは、動物の種類、治療している疾患または障害の種類、動物の年齢、投与経路である。化合物の用量は、動物の体重1 kg当たり約0.1 mg～約10 mgまで変化する。化合物は、1日に数回の頻度で動物に投与すること、またはより少ない頻度（1日に1回、週に1回、2週間に1回、月に1回など）で投与すること、またはさらに少ない頻度（数ヶ月に1回、それどころか年に1回、またはそれ未満）で投与することができる。投与頻度は当業者には明らかであろうが、多数の因子に依存して変化するであろう。そのような因子の非限定的な例に含まれるのは、治療している疾患または障害の種類と重症度、動物の種類と年齢などである。

10

【実施例】

【0297】

実験の実施例

【0298】

実験に関する以下の実施例を参照することによって本発明をさらに詳細に記述する。これら実施例は、説明だけを目的として提示してあるため、特に定めが無い限り限定する意図はない。したがって本発明が以下の実施例に限定されると解釈してはならず、むしろ本発明は、本明細書に提示されている教示の結果として明らかになるあらゆるバリエーションを包含すると解釈すべきである。

20

【0299】

当業者は、より詳しい記述がなくとも、これまでの記述と以下の具体的な実施例を利用して、本発明を実現して利用することと、請求項の方法を実施することができると考えられる。したがって以下の実用性のある実施例は、いかなる意味でも本開示の残部を限定していると解釈してはならない。

30

【0300】

実施例1：IL-18バリエーションポリペプチド

【0301】

IL-18は、T細胞、NK細胞、骨髄細胞を刺激することのできる炎症促進性サイトカインである。IL-18は抗腫瘍免疫細胞を刺激する能力を有するため、がんの免疫療法剤として以前から提案されてきた。本明細書で実証するように、組み換えIL-18療法の治療効果は、天然の内在性可溶性阻害剤IL-18BPが上方調節されることによって大きく制限される。本発明の一部は、IL-18BPとはほぼ完全に独立なヒトIL-18バリエーションとマウスIL-18バリエーション両方の開発に基づいている。これらサイトカインバリエーションは、受容体（IL-18R）とIL-18BPに対して10万倍～100万倍超も変化した選択性を示す。これらバリエーションは、前臨床腫瘍モデルにおいて、単剤療法の場合と、免疫チェックポイント阻害剤（抗PD-1など）との組み合わせの場合の両方で、強力な抗腫瘍活性を有する。追加の用途として、IL-18は非常に明確な抗肥満の役割も有するため、本明細書では、これらバリエーションの投与により、WT IL-18療法に対し体脂肪組成が大きく低下することを実証する。したがってこれらの新規なバリエーションは、腫瘍の免疫療法に加え、内分泌学/代謝/肥満における適応を有する。

40

【0302】

本明細書には、IL-18BPにだけ結合し、IL-18Rに対する結合は存在しないか大きく減少していることによってIL-18BPアンタゴニストとして作用する一群の追加IL-18バリエーションも記載されている。これらのタンパク質を用いてIL-18BPを中和することにより、内在

50

性IL-18の活性を増大させることができると考えられる。

【0303】

これらの実験で用いる材料と方法を以下に記載する。

【0304】

タンパク質の発現と精製

【0305】

ヒトIL-18と、マウスIL-18（アミノ酸1～157）と、そのバリエーションをgBlock（Integrated DNA Technologies社、IDT社）として組み立て、pET28a-smtベクターにクローニングし、大腸菌BL21（DE3）ロゼッタ株の中でN末端sumoタグ付きタンパク質とC末端ヘキサヒスチジンタグ付きタンパク質を発現させた。0.5 mMのIPTGを16℃で20時間にわたって用いてタンパク質の発現を誘導した。最初にNiキレート化樹脂を用いてこれら融合タンパク質を精製した後、sumoプロテアーゼを用いてsumoタグを切断した。次に、逐次的な硫酸アンモニウム切断によってタンパク質を凝集体から分離すると、20%硫酸アンモニウムで凝集体が沈殿し、70%硫酸アンモニウムで標的タンパク質が沈殿した。タンパク質ペレットを再懸濁させ、再びNiキレート化樹脂に適用してsumoタグを除去し、0.1%トリトンX-114を用いた洗浄によって内毒素を除去した。最後に、溶離したタンパク質のバッファーをPD-10カラム（GE Healthcare社）によってPBSに交換した。FPLC（Bio-Rad社）とSEC650カラム（Bio-Rad社）を用いたサイズ排除クロマトグラフィによってタンパク質サンプルの単分散性を調べた。

10

【0306】

ヒトのIL-18R α エクストドメイン（アミノ酸19～329）と、IL-18R β エクストドメイン（アミノ酸15～356）と、IL-18BP（アミノ酸31～194）を、バキュロウイルス発現系を通じて分泌させ、精製した。簡単に述べると、すべてのコンストラクトの配列を、N末端のgp67シグナルペプチドとC末端のAviTag（商標）とヘキサヒスチジンタグを有するpAcBN-BH3ベクター（BD Biosciences社）にクローニングした。SF900 II SFM培地（Invitrogen社）の中で27℃にて培養したツマジロクサヨトウ（Sf9）昆虫細胞にプラスミドコンストラクトをトランスフェクトして高力価の組み換えウイルスを確立した後、それを増幅した。Insect Xpress培地（Lonza社）の中で27℃にて増殖させたイラクサギンウワバ（High-Five）昆虫細胞（Invitrogen社）にウイルスを感染させて組み換えタンパク質を発現させた。感染させた3日後、Ni-NTA（QIAGEN社）アフィニティークロマトグラフィによってタンパク質を抽出し、濃縮し、10 mMのHEPES（pH 7.5）と150 mMのNaClの中で平衡させたSEC650サイジングカラム（Bio-Rad社）を用いて精製して98%超の均一性にした。

20

30

【0307】

Expi293発現系（Thermo Fisher社）を用いてマウスのIL-18R α エクストドメイン（アミノ酸19～329）とIL-18BP（アミノ酸31～194）を分泌タンパク質として産生させた。簡単に述べると、すべてのコンストラクトの配列を、N末端のH7シグナルペプチドとC末端のAviTag（商標）とヘキサヒスチジンタグを有するBacMam発現ベクター-pEZT_D_Luxにクローニングした。ExpiFectamine 293トランスフェクションキット（Thermo Fisher社）を製造者の指示に従って使用し、Expi293発現培地（Thermo Fisher社）の中で37℃にて培養したExpi293細胞にプラスミドをトランスフェクトした。感染させてから3～5日後に細胞を回収した。タンパク質精製手順は、ヒトタンパク質と同じであった。

40

【0308】

タンパク質をビオチニル化するため、すべてのIL-18受容体コンストラクトにC末端ビオチンアクセプタペプチド(AviTag)-GLNDIFEAQKIEWHEを融合させた。タンパク質のビオチニル化は、0.1 mMのBiotin（pH 8.3）と、10 mMのATPと、10 mMの酢酸マグネシウムと、0.5 mMのビオチン（Sigma社）の中で、可溶性BirAリガーゼ酵素を用いて実施した。上述のように、SEC650カラムでのサイズ排除クロマトグラフィによってタンパク質を精製した。

【0309】

酵母によるIL-18の提示

【0310】

50

ヒトとマウスのIL-18遺伝子ブロック (IDT社) を合成し、ベクター-pYALにクローニングし、サッカロミセス・セレビジエEBY100株の表面に提示させた。SDCAA液体培地の中で30にて酵母表面のIL-18の個々のコロニーを一晩増殖させ、20のSGCAA液体培地の中に1日間入れた。酵母の表面におけるIL-18の提示レベルは、抗cMycタグ抗体 (抗myc-PE; Cell Signaling Technologies社) を用いてフローサイトメトリーによって確認した。0.5% BSAと2 mM EDTA (PBE社) を補足した氷上のPBSの中で、ビオチニル化IL-18R (+IL-18R、またはIL-18Rなし) またはビオチニル化IL-18BPを用いて受容体を染色した。すべての分析をSony SA3800フローサイトメータで実施した。

【0311】

ヒトIL-18ライブラリの構築と選択

10

【0312】

第1のヒトデコイ抵抗性IL-18ライブラリのため、hIL-18/hIL-18R/hIL-18R複合体の (Protein Data Bank (PDB ID) コード3OW4) の構造をIL-18/IL-18BP (PDB ID 3F62) の構造にアラインメントすることにより、hIL-18の中にあつてhIL-18RとhIL-18BPに接触する14個の残基 (表1) を相同な位置から同定した。表2に掲載の縮重プライマーを用いたアセンブリPCRを利用してこれら残基をランダム化するライブラリを構築した。ライブラリは、独自のタンパク質配列の理論的多様性が約 1.96×10^{11} 通りであった。pYALベクターと相同なプライマーを用いてPCR産物をさらに増幅し、直線化したpYALとともにEBY100酵母の中に電気穿孔した。得られたライブラリは 2.5×10^8 個の形質転換体含有していた。

20

【0313】

第2のV2.0ヒトデコイ抵抗性IL-18ライブラリのため、hIL-18の中にあつてhIL-18RとhIL-18BPに接触する11個の残基を選択してランダム化すると、バリエーションの理論的多様性は 3.44×10^9 通りであった (図7Aに記載)。縮重プライマーを用いたアセンブリPCRを利用してこれら残基をランダム化するライブラリを構築し、EBY100酵母の中にpYALとともに電気穿孔した。得られたライブラリは、形質転換体の多様性が 6×10^8 通りであった。

【0314】

【表1】

表1: 第1のヒトIL-18ライブラリの設計

残基	コドン	可能性のある残基
1Y	YNT	Y、F、S、C、L、P、H、R
L5	NWT	L、F、I、Y、H、N、V、D
8K	MRA	K、R、R、Q
51M	RNS	M、I、T、N、K、S、R、V、A、D、E、G
53K	ARA	K、R
55S	RRW	S、R、G、G、N、K、D、E
59G	RNA	G、E、A、V、I、T、K、R
60M	VDG	M、K、R、L、Q、R、V、E、G
103Q	VAW	Q、K、E、D、N、H
105S	RRW	S、K、R、N、D、E、G、G
110D	VAW	D、E、K、N、Q、H
111N	NAT	N、D、H、Y
153V	RHT	V、A、D、I、T、N
155N	VAW	N、K、D、E、Q、H

30

40

【0315】

【表2】

表2：第1のヒトIL-18ライブラリアセンブリのプライマー

プライマー	配列 (5' から3' へ)
hIL18Lib1	CATTTTCATTAAGATGCAGTACTTCGCTGTTTTCAATATTTTCTGTTAT TGCTAGC (配列ID番号1)
hIL18Lib2	AATTACGGATGACCGAAAGTYKGGATTCAWNCTTGCCGAAANRTGCTAAA ACGCTAGCAATAACAGAAAATATTGAAAA (配列ID番号2)
hIL18Lib3	ACTTTCGGTCATCCGTAATTTGAACGACCAAGTCCTTTTTATTGACCAGG G (配列ID番号3)
hIL18Lib4	ACTATCCGTCATATCCTCGAATAAGGGACGATTGCCCTGGTCAATAAAAA GGACT (配列ID番号4)
hIL18Lib5	CTTATTGAGGATATGACGGATAGTGATTGCCGTGACAACGCC (配列ID 番号5)
hIL18Lib6	ACTGAGATTGTTACCGCCHBTNYACGGGGTTGWYYATCTYTATASNYAGAG ATGATGAAAATTGTACGAGGGGCGTTGTCACGG (配列ID番号6)
hIL18Lib7	GGCGGTAACAATCTCAGTTAAGTGCGAAAAAATCTCGACACTTCTTGTG AA (配列ID番号7)
hIL18Lib8	GGTTCATTTCTTGAACGAAATGATCTTGTTTTCAAGAAAGTGTCGAGA TT (配列ID番号8)
hIL18Lib9	CATTTTCGTTCAAGGAAATGAACCCGCCGATAATATCAAGGATACAAAAT CAGATATTATTT (配列ID番号9)
hIL18Lib10	TGATGAGCTCTCGAATTGCATCTTATNWTBGTGTCAGGCACWYYACGWT BGAAGAAAATAATATCTGATTTTGTATCCTTGATATTA (配列ID番号10)
hIL18Lib11	ATAAGATGCAATTCGAGAGCTCATCATAAGGTTACTTTTTAGCCTGC G (配列ID番号11)
hIL18Lib12	AATTAACCTAAACAGGTCGCGCTCCTTCTCGCAGGCTAAAAAGTAACCTT (配列ID番号12)
hIL18Lib13	GCGACCTGTTTAAGTTAATTCTTAAGAAAGAAGATGAGTTGGGGGATCG (配列ID 番号13)
hIL18Lib14	CCAGAACCACCGTCCTCWTBCTGADYGGTAAACATGATGCTACGATCCCC CAACTCATCTT (配列ID番号14)
hIL18Lib15	GAGGACGGTGGTTCTGGATCCGAACAAAAGCTTATCTCCGAAGAAGACTT GG (配列ID番号15)
hIL18Lib16	CCACCAGATCCACCACCACCAAGTCTTCTTCGGAGATAAG (配列ID番号 16)

10

20

30

【0316】

両方のライブラリについて、形質転換された酵母を回収し、カザミノ酸を含む液体合成デキストロース (SDCAA) 培地の中で30℃にて増殖させ、1:10に希釈することによってカザミノ酸を含む液体合成ガラクトース (SGCAA) 培地の中で誘導し、20℃にて24時間培養した。適切な数の誘導された酵母を各ラウンドで使用することにより、各工程で予想されるライブラリの多様性の少なくとも10倍がカバーされて10⁸個未満の細胞数にならないようにした。すべての選択工程を、4℃にてPBEバッファー (0.5% BSAと2 mM EDTAを含むPBS) を用いて実施した。第一世代のライブラリについて、各ラウンドの選択試薬が表5に掲載されている。ラウンド1では、抗Cy5/AlexaFluor 647マイクロビーズ (Miltenyi社) とLS MACSカラム (Miltenyi社) を用いて酵母をカウンターセクションし、非特異的結合をしたビーズを除去した。酵母に1 μMのピオチニル化hIL-18R を標識して陽性選択を4℃で1時間実施した後、SA/AlexaFluor 647マイクロビーズとLS MACSカラムを用いて磁性選択を実施した。ラウンド2では、1 μMのピオチニル化IL-18BPを用いたカウンターセクショ

40

50

ンを実施し、陽性選択はラウンド1と同じであった。ラウンド3~5では、酵母を100 nM (ラウンド3~ラウンド4) または10 nM (ラウンド5) のビオチニル化IL-18R と、250 nMのあらかじめ形成されたビオチンキャップ付きhIL-18BP/SA-PE四量体とともにインキュベートすることによって選択を実施した。競合結合の後、酵母を洗浄し、SA/AlexaFluor 647で標識してIL-18R を検出した。AlexaFluor 488が結合した抗cMyc (Cell Signaling Technologies社) で染色することによって提示レベルを求め、(IL-18BP非結合酵母のうちで) 提示を規格化したIL-18R 結合酵母の上位1%を、Sony SA3800セルソーターを用いたFACSによって単離した。各ラウンドの選択の後、回収された酵母をSDCAA培地の中で30 にて一晚増殖させた後、1:10に希釈することによってSGCAA培地の中で20 にて24時間にわたって誘導した。

10

【0317】

図7Bに詳しく記載されている特別な選択工程を利用してV2.0ヒトDR-IL-18ライブラリを同様にして選択した。

【0318】

マウスIL-18ライブラリの構築と選択

【0319】

構築と選択の手続きはヒトIL-18と同様だが、以下の変更がある。ライブラリ構築は、(Phyer2.0によって予測される) インシリコでモデル化されたマウスIL-18 / 受容体複合体構造により教示される。表4に記載のプライマーを用いて13箇所の位置がランダム化のために選択された(表3)。pYALとともに電気穿孔すると、 4×10^8 個の形質転換体のライブラリが得られた。各ラウンドで使用した選択試薬は表5に掲載されている。

20

【0320】

【表3】

表3: マウスIL-18ライブラリの設計

残基	コドン	可能性のある残基
1N	NWT	F、Y、L、H、I、N、V、D
50M	RNS	M、I、T、N、K、S、R、V、A、D、E、G
51Y	NRN	Y、K、R、D、E
52K	VNS	L、P、H、Q、R、I、M、T、N、K、S、V、A、D、E、G
54S	RRW	S、R、G、G、N、K、D、E
55E	VRN	E、K、N、R、S、R、H
56V	VNV	V、S、P、T、A、K、R
57R	RVW	R、D、E、S、T
58G	RNA	G、E、A、V、I、T、K、R
59L	VDR	L、K、R、Q、R、V、E、G
104R	NDH	R、D、E、N、Y、F、I、L、V
109N	NAT	N、D、H、Y
151L	VHY	L、V、A、D、I、T、N

30

40

【0321】

【表4】

表4：マウスIL-18ライブラリアセンブリのプライマー

プライマー	配列 (5' から3' へ)
mIL18lib1	CATTTTCATTAAGATGCAGTTACTTCGCTGTTTTTCAATATTTTCTGTTAT TGCTAGCGTTT (配列ID番号17)
mIL18lib2	TTGTACAGTGAAGTCGGCCAAA WNTGCTAAAACGCTAGCAATAACAGAA AATAT (配列ID番号18)
mIL18lib3	GCCGACTTCACTGTACAACCGCAGTAATACGGAATATAAATGACCAAGTT CTCTTCGTT (配列ID番号19)
mIL18lib4	TTGATCAATATCAGTCATATCCTCGAACACAGGCTGTCTTTTGTCAACGAA GAGA ACTTGGTCATTT (配列ID番号20)
mIL18lib5	GTGTTTCGAGGATATGACTGATATTGATCAAAGTGCCAGTGAACCCAGAC CAGA (配列ID番号21)
mIL18lib6	TCACAGAGAGGGTCACAGCYHBTNYWBYBNBNYBWYYGTCSNBNYNSNYGT ATATTATCAGTCTGGTCTGGGGTTCAC (配列ID番号22)
mIL18lib7	GCTGTGACCCTCTCTGTGAAGGATAGTAAAATGTCTACCCTCTCCTGTAA GAACAAGA (配列ID番号23)
mIL18lib8	GTATATCATCAATATTTTCAGGTGGATCCATTTCTCAAAGGAAATGATCT TGTTCTTACAGGAGAGGG (配列ID番号24)
mIL18lib9	AATGGATCCACCTGAAAATATTGATGATATACAAAGTGATCTCATATTCTT TCAGAAANDHGTTCAGGACACNATAAGATGGAGTTTGAATCTTCACT (配列ID番号25)
mIL18lib10	CCTTTTGGCAAGCAAGAAAGTGTCTTCATACAGTGAAGATTCAA ACTCC ATCTTAT (配列ID番号26)
mIL18lib11	CTTTCTTGCTTGCCAAAAGGAAGATGATGCTTTCAA ACTCATTCTGAAAA AAAGGATGA (配列ID番号27)
mIL18lib12	CCACCACTTTGATGTAAGTTAGTRDBAGTGAA CATTACAGATTTATCCCCA TTTTCATCCTTTTTTTTTCAG AATGAG (配列ID番号28)
mIL18lib13	ACTAACTTACATCAAAGTGGTGGTTCTGGATCCGAACAAAAGCTTATCTC CGAAGAAGA (配列ID番号29)

10

20

30

【0322】

【表5】

表5：ライブラリ選択試薬のまとめ

	ヒトIL-18ライブラリの選択		マウスIL-18ライブラリの選択	
	カウンターセ レクション	陽性選択	カウンターセ レクション	陽性選択
ラウンド1	SA-ビーズの み	1 μ M hIL-18R α -S A-ビーズ	-----	1000 nM IL-18R α -SA-ビーズ
ラウンド2	1 μ M IL-18BP	1 μ M hIL-18R α -S A-ビーズ	-----	1 μ M hIL-18R α
ラウンド3	1 μ M IL-18BP	100 nM hIL-18R α	1 μ M IL-18BP	1 μ M hIL-18R α
ラウンド4	1 μ M IL-18BP	10 nM hIL-18R α	1 μ M IL-18BP	100 nM hIL-18R α
ラウンド5	250 nM IL-18 BP四量体	10 nM hIL-18R α	1 μ M IL-18BP	10 nM hIL-18R α
ラウンド6	-----	-----	250 nM IL-18B P四量体	200 nM hIL-18R α

40

50

【0323】

表面プラズモン共鳴

【0324】

Biacore T100を利用して25℃で実験を実施した。ビオチニル化IL-18R またはビオチニル化IL-18BPをBiacoreビオチン捕獲チップ（シリーズS CAPセンサーチップ、GE Healthcare社）の表面に固定化すると、Rmaxが約50 RU（IL-18R）または約10 RU（IL-18BP）になった。測定は、HEPES緩衝化生理食塩水P⁺バッファー（10 mMのHEPES pH 7.4、150 mMのNaCl、0.005%の界面活性剤P20）の中のIL-18バリエーションの段階希釈液を用いて実施した。再生用バッファー（3/4（v/v）の8 Mグアニジンヒドロクロリドと1/4（v/v）の1 M水酸化ナトリウム）を60秒間注入する操作を3回実施して表面を再生した。マルチチャンネルで同時に実験を実施し、増加する観察結果を探した。1:1ラングミュア結合モデルを利用し、Biacore T100評価ソフトウェアのバージョン2.0を用いてすべてのデータを分析した。

10

【0325】

細胞系

【0326】

HEK-Blue IL-18センサー細胞（InvivoGen社）を、100 µg/mlのノルモシンと、30 µg/mlのプラスチジンと、180 µg/mlのゼオシンと、200 µg/mlのハイグロマイシンを補足した完全培地（10%熱不活化FBSと、2 mMのL-グルタミンと、50 U/mlのペニシリンと、50 µg/mlのストレプトマイシンを含有するDMEM）の中に維持した。YUMMER1.7黒色腫細胞の培養と調製は、以前に報告されているようにして実施した（Wang他、2017年、Pigment Cell Melanoma Res.、第30巻(4):428~435ページ）。

20

【0327】

HEK-Blueサイトカイン活性アッセイ

【0328】

サイトカイン活性を測定するため、平底96ウェルプレートでウェル1つ当たり50,000個のHEK-Blue IL-18センサー細胞を、逐次的に減少する濃度の組み換えヒトIL-18とともに、合計体積200 µlの完全培地の中でインキュベートした。37℃かつ、5%CO₂にて20~24時間にわたってインキュベートした後、30 µlの細胞培養物上清を170 µlのQUANTI-Blue検出培地（InvivoGen社）と混合し、色がピンクから青に変化するのを検出できるようになるまで、37℃かつ、5%CO₂にてインキュベートした（0.5~4時間）。分光測光器を用いて655 nmの波長でアルカリホスファターゼのレベルを定量した。サイトカイン活性は、アッセイにおいて各サイトカインの相対吸光度の値を計算することによって求めた。

30

【0329】

IL-18BP阻害実験に関しては、固定された濃度の組み換えヒトIL-18を、逐次的に減少していく濃度の組み換えヒトIL-18BPとともに4℃にて1時間にわたってあらかじめインキュベートした。その後、このタンパク質混合物をHEK-Blue IL-18センサー細胞に添加し、記載されているようにしてアッセイを実施した。

【0330】

マウス

【0331】

Jackson Laboratory 社からのC57BL/6野生型マウス（6~9週齢）を生体内マウス実験で使用した。実験群は、体重、性別、年齢を一致させた。すべての動物実験を、Yale Institutional Animal Care and Use Committeeからの許可に合致するようにして実施した。

40

【0332】

生体内の薬力学と薬物動態の研究

【0333】

マウス（n=9匹/群）の腹腔内（i.p.）に、1 mg/kgの組み換えIL-18（野生型またはバリエーションmCS2）、またはビヒクル対照としてのPBSを毎日注射した。実験の1日目、4日目、7日目、注射してから5時間後に1つの群につき3匹のマウスを安楽死させ、心臓穿刺によって血液を回収した後、血漿または白血球細胞を分析した（マウスIL-18BPのELISA、マウ

50

スのサイトカインを分析するための、Luminexに基づく多重イムノアッセイのほか、フローサイトメトリーによる免疫表現型解析を参照されたい)。7日間の実験を通じ、齧歯類体温計BIO-TK8851 (Bioseb社)とマウス用のRET 3直腸プローブ (Braintree Scientific Inc.社)を用いて体温を毎日モニタした。体重を毎日モニタした。

【0334】

全血からの血漿調製

【0335】

EDTAで被覆したMicrotainer Plasma Separator Tubes (BD社)を製造者の指示に従って用いて全血から血漿を調製した。血漿サンプルを一旦-20 で凍結させ、分析アッセイで使用した。

10

【0336】

IFN- とIL-18BPのELISA

【0337】

細胞培養物上清に含まれるヒトIFN- のレベルを測定するため、感度が4 pg/mlで検出範囲が7.8~500 pg/mlのヒトIFN- ELISA MAX Delux Set (BioLegend社)を製造者の指示に従って使用した。細胞培養物上清に含まれるヒトIL-18BPを定量するため、感度が7.52 pg/mlで検出範囲が26.6~1,700 pg/mlのQuantikineヒトIL-18BPイムノアッセイ (R&D Systems社)を使用した。感度が0.156 ng/mlで検出範囲が0.156~10 ng/mlのマウスIL-18BP ELISAキット (R&D systems社)を用いて血漿中のマウスIL-18BPのレベルを定量した。サンプルの調製を含むすべてのアッセイを製造者の指示に従って実施した。

20

【0338】

マウスのサイトカインを分析するための、Luminexに基づく多重イムノアッセイ

【0339】

血漿中の多彩なマウスサイトカイン (IFN- とIL-12が含まれる)のレベルを定量するため、Bio-Plex 200 System (Bio-Rad社)を用いてLuminexに基づくBio-Plex Pro多重イムノアッセイ (Bio-Rad社)を実施した。DMEMの中に再構成したBio-Plex Pro Mouse Cytokine Standard 23-Plex (群I)を製造者の指示に従って用いて興味あるサイトカインを分析した。

【0340】

フローサイトメトリーによる免疫表現型解析

30

【0341】

白血球細胞の分析に関しては、EDTAで被覆されていて50 μ lのヘパリン溶液を追加して含有するMicrotainer Plasma Separator Tube (BD社)の中に100 μ lの全血を回収し、何回か反転させながら混合した。ACK Lysing Buffer (VWR社)を添加して室温で3~5分間インキュベートすることによって赤血球細胞を溶解させた。MACSバッファ (2 mM EDTAと2% FBSを含むPBS)を添加した後、白血球細胞を遠心分離 (5分間、400 \times g)によって回収し、上清を吸引した。白血球細胞を冷たいMACSバッファで1回洗浄し、記載されているようにして再度回収した。細胞ペレットを200 μ lのMACSバッファの中に再懸濁させた。このMACSバッファは、10% (v/v)のラット血清 (STEMCELL Technologies Inc.社)と、あとでフローサイトメトリー分析用に染色するための蛍光標識した特異的抗体を含有している。染色を4 にて30分間実施した。そのとき使用した抗体は、CD4-AF700 (BioLegend社)、CD8-APC (BioLegend社)、B220-APC-Cy7 (BioLegend社)、CD11b-PB (BioLegend社)、NK1.1-PE (BioLegend社)、NKp46-PE (BioLegend社)、CD69-FITC (BioLegend社)である。その後、白血球細胞を上に記載されているようにしてMACSバッファで2回洗浄した。最後に、細胞を100 μ lのMACSバッファに再懸濁させ、フローサイトメータ (Sony SA3800)を用いてサンプルを取得した。アリコートで10 μ l採取し、Invitrogen Countess II Automated Cell Counter (Thermo Fisher Scientific社)を用いて細胞をカウントした。FlowJo v10.3ソフトウェアを用いてデータを分析し、前方散乱と側方散乱を利用した細胞のゲーティングにより白血球と単一イベントを探した。

40

【0342】

50

腫瘍治療実験

【0343】

0.5 × 10⁶個のYUMMER1.7細胞をC57BL/6Jマウスの皮下に移植した。移植の7日後に腫瘍が約50 mgになったとき、治療を開始した。マウスを複数の治療コホートに分割した。すなわち、1) ビヒクル(生理食塩水)、2) 抗PD1(ラットクローンRMP1-14、Bio X Cell社、ウエスト・レバノン、ニュー・ハンプシャー、アメリカ合衆国)、3) 野生型IL-18、4) mCS2、5) 野生型IL-18 + 抗PD-1、6) CS2 IL-18 + 抗PD1である。抗PD-1、野生型IL-18、mCS2 IL-18をそれぞれ8 mg/kg、0.32 mg/kg、0.32 mg/kgで腹腔内注射によって週に2回投与した。マウスの臨床毒性の徴候をモニタし、ノギス測定を利用して腫瘍の増殖を週に2回追跡した。最大の寸法での腫瘍の直径が1.5 cmを超えたときにマウスを安楽死させた。これを生存分析のエンドポイントと見なした。

10

【0344】

B2m欠損YUMMER1.7研究を同様にして実施したが、小さな変更を加えた。腫瘍は親株よりもゆっくりと増殖したため、1.0 × 10⁶個の細胞を移植した。治療は、生理食塩水、抗PD-1 + 抗CTLA4、mCS2からなり、上記の研究と同じスケジュールと用量であった。

【0345】

実験の結果を以下に記載する。

【0346】

がん免疫療法の標的としてのIL-18軸

【0347】

免疫療法が介入できる可能性のあるシグナル伝達ノードを同定するため、腫瘍浸潤リンパ球からの単一細胞RNAseqデータを分析してサイトカイン経路構成要素の発現を探した(Singer他、2016年、Cell、第166巻: 1500~1511ページ、e1509)。図1Aからわかるように、IL-18の受容体サブユニット(IL-18R (すなわちIL-18R1)とIL-18R (すなわちIL-18RAP))のほか、IL-18そのものが、活性化されたリンパ球プログラムと機能障害リンパ球プログラムの両方で上方調節された。Immunological Genome(ImmGen社)データベースのさらなる分析から、両方のIL-18受容体サブユニットの発現が、慢性的な抗原曝露の後のCD4細胞とCD8細胞におけるT細胞「枯渇」マーカー(PD-1、Tim3、Lag3、TIGITが含まれる)の発現と相関していることが明らかになった(図1B)。発現のこうした特徴は、免疫療法のパラダイムとして、活性化された腫瘍の内部でT細胞と機能障害/枯渇したT細胞を選択的に刺激するのにIL-18経路を利用できる可能性があることを示唆していた。

20

30

【0348】

IL-18は、T細胞とNK細胞によるインターフェロン-ガンマ(IFN- γ)の放出を強く刺激する能力を有するため、最初は「インターフェロン誘導因子」(IGIF)と名づけられたTh1サイトカインである。IL-18のフィードバック抑制は、IFN- γ によってIL-18BP(IL-18にとっての高親和性分泌デコイ受容体であり、IL-18が対応する受容体に結合してその受容体を活性化させる能力を立体的に阻害する)を誘導することによって実現される(図2A)。特定のどの理論に囚われることも望まないが、この機構は、IFN- γ によるPD-L1の誘導を想起させるものであり、IL-18BPが「可溶性免疫チェックポイント」として作用する可能性があることを示唆している。この仮説に合致するように、TCGAデータベースとOncoPrintデータベースにおいていくつかのタイプのがん(最も顕著なのは乳がん、胃がん、脳がん)でIL-18BPが上方調節されることが見い出された(図2B)。さらに、IL-18BPの発現は、腫瘍内の極めて重要な免疫チェックポイントPD-1の発現と強く相関している(胃がんと乳がんそれぞれr = 0.65と0.78、図2C)。これは、IL-18BPも腫瘍の免疫回避とリンパ球枯渇に寄与している可能性があることを示唆している。

40

【0349】

多数の臨床試験で組み換えIL-18ががん患者に投与されてきた。2 mg/kgという高用量でもよく許容され、強力な薬物動態出力であること(活性化されたCD69⁺ナチュラルキラー(NK)細胞の増殖と、血清IFN- γ レベルの劇的な上昇が含まれる)が見いだされた。しかし黒色腫患者の第II相試験が、効果不足を理由として中止された。これらの臨床試験から

50

報告された薬力学の結果を検討すると、rIL-18の有効性が投与を繰り返すにつれて低下し、末梢NK細胞の活性化/増殖と、サイトカイン（IFN- γ とGM-CSFが含まれる）放出に関してタキフィラキシスが見られることが明らかである。rIL-18の有効性の低下は、IL-18BPの血清レベルの顕著な上昇と同時に起こっており、そのレベルは治療前のレベルの2桁を超え、100 ng/mlを超えることがしばしばある。特定のどの理論に囚われることも望まないが、仮説として、IL-18BPがrIL-18療法の有効性を制限しているため、IL-18BPによる抑制の影響を受けないIL-18バリエーションが有効な腫瘍免疫療法になりうる考えた。それに加え、IL-18BPの阻害剤は、腫瘍免疫療法にとって有効である可能性が大きいであろう。

【0350】

IL-18BPによる抑制に対して抵抗性のIL-18バリエーション（ヒトDR-IL-18バリエーション）の作製

【0351】

IL-18R α /IL-18R β を通じたシグナル伝達が可能だが、IL-18BPによる抑制の影響を受けないIL-18のバリエーションを取得するため、酵母表面での提示を伴う指向性進化を利用した。ヒトIL-18:IL-18R α :IL-18R β （PDB=3WU4）という三要素シグナル伝達複合体の構造を最初に分析し、このシグナル伝達複合体およびIL-18BPとインターフェイスを共有するIL-18の残基を同定した（図3A）。hIL-18:hIL-18BPの構造はまだ明らかになっていないため、IL-18と、IL-18BPのウイルス（エクトメリアウイルス）オルソログの間の関連する複合体を使用した（PDB=3F62）。残基のこのセットをランダム化して所定の代替セットにするコンビナトリアルライブラリ（表1参照）を、縮重オリゴヌクレオチドプライマーとアセンブリPCRを利用して作製した。このライブラリをN末端酵母提示ベクターpYALとともに電気穿孔で酵母の中に入れ、 2.5×10^8 個の形質転換体を有するライブラリを取得した。図3Bにまとめられているように、このライブラリを使用し、磁性と蛍光セルソーティング（FACS）を利用して組み換えhIL-18R α に対する選択とhIL-18BPに対するカウンターセレクションのラウンドを続けて実施することにより、指向性進化を実現した。5ラウンドの選択の後、ライブラリクローンの大半が完全に入れ替わり、WT hIL-18よりもhIL-18BPとhIL-18R α を相対的に好むようになった（図3C）。これらクローンを「DR-hIL-18」バリエーションと名づけた。ここに「DR」は「デコイ抵抗性」を表わす。

【0352】

ラウンド後の5つのプールに由来する96個のクローンのシーケンシングから21個の独自の配列が明らかになったため、それらを分析して4つの「コンセンサス配列」hCS1~hCS4を作り出した（図4）。hIL-18R α とhIL-18BPに対するこれらバリエーションの結合親和性を評価するため、酵母提示サイトカインバリエーションとフローサイトメトリーを利用して、hIL-18R α とhIL-18BPの結合に関する結合等温線を確認した。図5Aからわかるように、DR-hIL-18バリエーションは、野生型IL-18に対するのと同等の親和性でhIL-18R α に結合するが、hIL-18BPへの結合は顕著に減少し、見かけの結合 EC_{50} 値は $1 \mu M$ よりも顕著に大きい。さらにDR-hIL-18バリエーションの受容体結合親和性を特徴づけるため、サイトカインを組み換え発現させ、hIL-18R α とhIL-18BPに関する表面プラズモン共鳴を実施した（代表的なトレースについては図5Bを参照されたい）。これらの結果は表6と表7にまとめられており、DR-hIL-18バリエーションはhIL-18R α に対しhIL-18BPに対する選択性が劇的に低下し、それが数桁程度になることを示している。

【0353】

10

20

30

40

【表 6】

表6：酵母上の結合等温線による、IL-18R α とIL-18BPに対するヒトIL-18バリエーションの結合親和性

IL-18バリエーション	K _D IL-18R α (M)	K _D IL-18BP (M)	K _D の比：IL-18BP/IL-18R α	野生型IL-18に規格化した解離定数の比
hIL-18 WT	2.40E-08	7.08E-09	2.95E-01	1
hA8	5.77E-08	NBD	>3.47E+02	>1.17E+03
hH3	8.38E-08	NBD	>2.39E+02	>8.09E+02
hB9	1.27E-07	NBD	>1.57E+02	>5.34E+02
hCS1	6.44E-08	1.93E-05	3.00E+02	1.02E+03
hCS2	9.15E-08	NBD	>2.19E+02	>7.41E+02
hCS3	1.13E-07	1.16E-05	1.03E+02	3.48E+02
hCS4	1.60E-07	NBD	>1.25E+02	>4.24E+02
6-31	4.1E-08	NBD	4.9E+02	>7.2E+03
6-20	-----	3.4E-07	-----	-----
6-12	1.7E-08	NBD	1.2E+03	>1.7E+04
6-27	4.2E-08	NBD	4.8E+02	>7.0E+03
6-29	3.7E-08	NBD	5.4E+02	>8.0E+03

10

20

NBD：結合が検出されなかった（比の計算では20 μ Mを使用）

-----：数値が求まらなかった

【0354】

【表 7】

表7：SPRによる、IL-18R α とIL-18BPに対するヒトIL-18バリエーションの結合親和性

IL-18バリエーション	K _D IL-18R α (M)	K _D IL-18BP (M)	K _D の比：IL-18BP/IL-18R α	野生型IL-18に規格化した解離定数の比
hIL-18 WT	2.93E-09	1.90E-12	6.48E-04	1
hA8	-----	-----	-----	-----
hH3	-----	-----	-----	-----
hB9	-----	-----	-----	-----
hCS1	8.05E-09	1.94E-08	2.41E+00	3.72E+03
hCS2	1.31E-08	-----	-----	-----
hCS3	8.18E-09	1.86E-08	2.27E+00	3.50E+03
hCS4	4.38E-09	1.83E-07	4.18E+01	6.45E+04

30

40

-----：数値が求まらなかった

【0355】

ヒトDR-IL-18バリエーションの機能の特徴づけ

【0356】

Kimらの以前の報告（Kim他、2001年、Proc Natl Acad Sci USA、第98巻(6)：3304～3309ページ）には、活性が増大していて、抑制がIL-18BP：E42A、K89A、E42A/K89Aによって減少したとされる3つのhIL-18バリエーションが記載されている。これらサイトカインバリエーションを酵母の表面に提示させ、IL-18R α への結合のIL-18BPによる抑制をフローサイトメ

50

トリーによって評価した。図6Aからわかるように、DR-hIL-18バリエーションはhIL-18R の結合がhIL-18BPによる抑制の影響を受けなかったのに対し、KimらのバリエーションはhIL-18BPの中和が野生型hIL-18とほぼ同等であった。これらの結果は、DR-hIL-18バリエーションがIL-18BPとは独立であるのに対し、Kimらのバリエーションは、野生型hIL-18と同様、IL-18BP抑制に非常に敏感であることを示している。

【0357】

細胞の状況でDR-hIL-18がIL-18受容体を通じて生産的なシグナル伝達をできることを確認するため、HEK-blue IL-18レポーター細胞系を用いて濃度-反応実験を実施した。この系では、IL-18Rシグナル伝達は、NF- κ B/AP1プロモーターの下流で分泌されるアルカリホスファターゼ (SEAP) の発現によって読み取られる。IL-18BPが存在しないと、DR-hIL-18バリエーションは、野生型hIL-18と同等なシグナル伝達EC₅₀値を生じさせた。しかしDR-hIL-18バリエーションはhIL-18BPによる抑制を実質的に示さず、1 μ MのIL-18BPでは抑制が検出できなかった (図6B)。これらの研究を合わせると、細胞シグナル伝達の状況において、DR-hIL-18バリエーションは生物学的に活性であり、IL-18BPによる中和の影響を受けないことが確立される。

10

【0358】

IL-18BPによる抑制に対して抵抗性の第二世代ヒトIL-18バリエーション (ヒトv2.0 DR-IL-18バリエーション) の作製と特徴づけ

【0359】

追加の潜在的に増強されたヒトIL-18バリエーションを取得するため、上述のようにして11個の位置でランダム化されたヒトIL-18の第2のライブラリ (図7A) を設計し、酵母を形質転換した。得られた6 \times 10⁸個の形質転換体のライブラリを図7Bに概略が示されているようにして選択すると、選択工程が進むにつれてIL-18BPよりもIL-18R を強く好むようになった (図7C)。5~6ラウンドの選択の後に17個の独自の配列が回収された (図8)。(図9A) ビオチニル化IL-18R を用いた酵母結合等温線によって測定すると、WT IL-18に対しクローン6-12、6-27、6-29、6-31は、IL-18R への結合が同じであるか、いくぶん強かった。(図9B) しかしこれらクローンは、IL-18BPへの結合をまったく確認できなかった。(図9C) 酵母が提示するクローンにある範囲の温度を適用して熱安定性を測定すると、これらクローンはWT IL-18よりも熱安定性が7~13 大きいことがわかった。これらの結果は図9Dにまとめられている。

20

30

【0360】

IL-18BPによる抑制に対して抵抗性のIL-18バリエーション (マウスDR-IL-18バリエーション) の作製

【0361】

IL-18R に対するIL-18の種間交差反応性はヒトとマウスの間では小さいため、マウスでの研究に使用できると考えられるDR-IL-18バリエーションのマウス等価物を作出した。上記のhIL-18におけるのと同様のアプローチで、mIL-18R /mIL-18BP インターフェイス残基の同様のセット (表3) をランダム化するmIL-18バリエーションのコンビナトリアルライブラリを作製すると、4 \times 10⁸個の形質転換体からなるライブラリが得られた。ヒトIL-18ライブラリで実施したのと同様にして、このライブラリで指向性進化を実施した。選択戦略が図10Aにまとめられている。6ラウンドの選択が完了した後に残っているクローンは、ほぼ完全にmIL-18BPよりもmIL-18R を好んだ (図10B)。96個のクローンの分析から、11個の独自の配列が明らかになり、そこから2つのコンセンサス配列mCS1とmCS2が導出された (図10C)。酵母結合等温線と表面プラズモン共鳴の実験から、これらのDR-IL-18クローンは、本明細書に記載のヒトIL-18バリエーションよりもIL-18BPに対する独立性がはるかに大きいことが確認され、mIL-18BP結合KDは1 μ Mよりもはるかに大きく、mIL-18R の結合はWT mIL-18とほぼ同等に留まった (図11A、図11B、表8、表9)。

40

【0362】

【表 8】

表8：酵母上結合等温線による、IL-18R α とIL-18BPに対するマウスIL-18の結合親和性

IL-18バリエーション	K _D IL-18R α (M)	K _D IL-18BP (M)	K _D の比：IL-18BP/IL-18R α	野生型IL-18に規格化した解離定数の比
mIL-18 WT	1.13E-08	2.13E-09	1.88E-01	1
mA7	1.35E-08	NBD	>7.41E+02	>3.93E+03
mB1	1.79E-08	NBD	>5.59E+02	>2.96E+03
mE8	4.20E-08	NBD	>2.38E+02	>1.26E+03
mC1	4.30E-08	NBD	>2.33E+02	>1.23E+03
mCS1	1.07E-08	NBD	>9.35E+02	>4.96E+03
mCS2	1.13E-08	NBD	>8.85E+02	>4.69E+03

10

NBD：結合が検出されなかった（比の計算には10 μ Mを使用）

【0363】

【表 9】

表9：SPRによる、IL-18R α とIL-18BPに対するマウスIL-18バリエーションの結合親和性

IL-18バリエーション	K _D IL-18R α (M)	K _D IL-18BP (M)	K _D の比：IL-18BP/IL-18R α	野生型IL-18に規格化した解離定数の比
mIL-18 WT	6.00E-10	1.10E-12	1.83E-03	1
mA7	2.20E-10	1.39E-05	6.32E+04	3.45E+07
mB1	7.00E-10	1.47E-05	2.10E+04	1.15E+07
mE8	1.69E-09	NBD	>1.78E+04	>9.68E+06
mC1	1.09E-09	2.87E-05	2.63E+04	1.44E+07
mCS1	5.40E-10	3.80E-06	7.04E+03	3.84E+06
mCS2	7.90E-11	1.05E-05	1.33E+05	7.25E+07

20

30

NBD：結合が検出されなかった（比の計算には30 μ Mを使用）

【0364】

DR-IL-18バリエーションの生体内薬力学の研究

【0365】

生体内にDR-IL-18バリエーションを投与することの生物学的効果を評価するため、マウスで薬力学の研究を実施し、野生型mIL-18をmCS2と比較した。最初の研究では、マウスにピヒクル（PBS）、mIL-18（1 mg/kg/日）、mCS2（1 mg/kg/日）のいずれかを合計7回注射して処置した（図12A）。フローサイトメトリーによる末梢血の表現型の分析から、野生型mIL-18とmCS2の両方で、ピヒクル処置に対し末梢NK細胞の数が10倍超増加し、末梢単球のカウント数が5倍超増加することがわかったが、CD4細胞とCD8細胞の合計数は有意な影響を受けなかった（図12B）。CD69によって誘導される細胞活性化の状態を調べると、mCS2処置がmIL-18処置またはピヒクル処置と比べてCD4細胞とCD8細胞の表面におけるCD69を劇的に増加させることが明らかになり、CD4サブセットとCD8サブセットでそれぞれ30%超と50%超の陽性に達した（図12C）。mIL-18とmCS2の両方が末梢NK細胞の表面におけるCD69の発現を刺激して3日目までに20%超の陽性になった一方で、mIL-18については6日目までにCD69のレベルが低下して有意でないレベルになったが、mCS2処置では有意に高い状態が維持された（図12C）。末梢サイトカインのレベルも多重化Luminexパネルで測定した。図12Dからわかるように、mIL-18とmCS2の両方が、ピヒクル処置と比べて血清IFN- γ 、MIP1b、

40

50

G-CSFを上昇させたが、これらサイトカインのそれぞれについてmCS2はmIL-18よりもはるかに高いレベルを6日目までに実現した。というのも投与後にmIL-18はタキフィラキシスを示し、誘導されたサイトカインのレベルがプラトーになるか、減少したからである。

【0366】

体脂肪組成に対するmCS2の効果

【0367】

体脂肪組成に対するDR-IL-18バリエーションの効果の評価するため、1 mg/kgの野生型IL-18、または0.01 mg/kg、0.1 mg/kg、1 mg/kgいずれかのmCS2を腹腔内注射によってC57BL/6マウスに3日ごとに投与した。体脂肪組成と除脂肪組成をエコーMRIによってモニタした。mCS2は試験した全用量（1 mg/kg、0.1 mg/kg、0.01 mg/kg）で12日目までに体脂肪の割合が全体的に顕著に低下したのに対し、ビヒクルとmIL-18で処置したマウスは、体脂肪組成に有意な変化はなかった（図13、上）。具体的には、mCS2で処置したマウスは実験中を通じて全脂肪量のレベルが低下するか安定していた（図13、左下）が、全除脂肪体重は実質的に増加した（図13、右下）。これらの結果は、mCS2と本明細書に開示されている他のバリエーションを用いて体脂肪組成を（肥満、および/または糖尿病、および/または代謝症候群を治療するため）治療で減少させる可能性があることを示している。

10

【0368】

DR-IL-18バリエーションの抗腫瘍効果

【0369】

移植可能な同系YUMMER1.7悪性黒色腫モデルを用いてDR-IL-18（mCS2）の抗腫瘍効果を評価した。YUMMER1.7腫瘍を有するマウスに、WT IL-18とmCS2を0.32 mg/kgの用量にて、抗PD-1抗体（8 mg/kg/q3d）の共投与あり、またはなしで、2週間に1回投与した。マウスとヒトでのその利用に関する以前の報告に合致するように、WT IL-18は、ビヒクル（生理食塩水）と比べて腫瘍増殖または生存に影響を与えず、抗PD-1と組み合わせるときに抗PD-1の効果をほんのわずかに向上させた。しかしmCS2は処置したマウスの27%を単剤療法で治癒させ、別の27%で部分奏効を生じさせた。これは、抗PD-1処置と同等な効果である。mCS2に抗PD-1を組み合わせると、処置したマウスの80%が治癒した（図14Aと図14B）。

20

【0370】

YUMMER1.7腫瘍に対するDR-IL-18の作用機序を明確にするため、CD8、CD4、NK1.1、インターフェロン-ガンマに対する抗体を用いて細胞除去研究を実施した。図15Aと図15Bからわかるように、CD8細胞の除去、またはインターフェロン-ガンマの中和は、DR-IL-18の有効性を完全に消した。CD4細胞の除去は、腫瘍の増殖に関するDR-IL-18の初期活性に影響を与えなかったが、CD4細胞で処置したマウスでは、治療反応が維持されない。これは、抗腫瘍免疫の支援と維持におけるCD4細胞の役割を示唆している。NK細胞の除去は、YUMMER1.7細胞での腫瘍増殖または生存に影響を与えなかった。

30

【0371】

免疫原性MC38大腸腫瘍モデルでDR-IL-18の活性をさらに評価した。用量を見いだす研究を最初に実施し、生理食塩水、WT IL-18（1 mg/kgを週に2回）、ある用量範囲のDR-IL-18（0.01 mg/kg、0.1 mg/kg、1 mg/kgを週に2回）のいずれかを投与した。図16からわかるように、WT IL-18は腫瘍増殖に対して効果がなかったのに対し、DR-IL-18（mCS2）は用量に依存した効果を示し、0.1 mg/kgでは腫瘍増殖が遅延し、1 mg/kgでは腫瘍の退縮が生じた。次にこれらコホートを増殖させ、免疫チェックポイント抑制との相乗性の可能性を評価した。今度もWT IL-18は単剤療法としては効果がなく、抗PD-1の効果増強を示さなかった。それとは対照的に、DR-IL-18は、抗PD-1と同等な、またはそれを上回る強力な単剤療法活性を示したため、これら2つの治療剤を合わせて投与すると、例外的な相乗性を示し、処置したすべてのマウスで完全な退縮が生じた（図17）。

40

【0372】

DR-IL-18の機序をさらに特徴づけるため、生理食塩水、WT IL-18、DR-IL-18（mCS2）のいずれかで処置したマウスからのMC38腫瘍の免疫浸潤に関してフローサイトメトリーでの

50

研究を実施した。DR-IL-18での処置は、生理食塩水またはWT IL-18と比べると、腫瘍1 mg当たりのCD8細胞とNK細胞の浸潤を増加させ、それに加えてエフェクタ細胞の活性化マーカー（グランザイムB、KLRG1など）を上方調節した（図18A、上の行）。他のサイトカイン療法（IL-2やIL-15など）とは異なり、DR-IL-18は、腫瘍内のCD8 : Trgの比を生理食塩水での処置と比べて大きくしない。しかしDR-IL-18での処置は、腫瘍関連マクロファージ（TAM）およびサプレッサ細胞由来の単球性骨髄と顆粒球性骨髄（MDSC）に対するCD8細胞の比を大きくすることにより、より好ましい腫瘍免疫微小環境にする。同じマウスの血清からの二次サイトカイン放出プロファイルも、Luminexアッセイを利用して測定した。図18Bからわかるように、DR-IL-18での処置は、インターフェロン-ガンマ、IL-7、IL-15の全身レベルをWT IL-18での処置と比べて100倍超上昇させた。これらの結果は、まとめて考えると、DR-IL-18が、IL-2での処置、IL-15での処置、WT IL-18での処置とは明確に異なる独自の作用機序を通じて抗腫瘍効果を生じさせていることを示している。

10

【0373】

DR-IL-18療法によって誘導される二次サイトカインのいくつかは、毒性および/または有効性低下に寄与する可能性があることが予測されている。例えばDR-IL-18によって100倍超上方調節されるIL-17は、大腸炎と乾癬につながり、それに加えて顆粒球を刺激し、サプレッサ細胞に由来する免疫抑制性骨髄になる可能性がある。IL-5とIL-13は、やはりDR-IL-18によって上方調節される2型サイトカインであり、アレルギー、喘息の悪化、アナフィラキシーにつながる可能性がある。Th2 T細胞は免疫療法の反応には寄与しないため、免疫抑制性Tregの発達を促進する可能性がある。そのためいくつかの場合には、例えば中和抗体によって望ましくない二次サイトカイン（IL-15、IL-5、IL-13など）を選択的に抑制することにより、DR-IL-18の有効性と安全性を増大させることができると考えられる。

20

【0374】

多くの腫瘍が、初期提示（一次抵抗）のときに、または治療に対する初期反応の後（二次抵抗）に、免疫チェックポイント抑制に対して抵抗性である。チェックポイント阻害剤に対する抵抗性の最大の原因は、MHCクラスIを通じた抗原提示の消失である。表面でのMHCクラスIの消失は、古典的にはNK細胞が媒介する細胞溶解と関係づけられているが、NK細胞がMHC I欠損腫瘍の中で枯渇している可能性がある。NK細胞はIL-18Rを発現することを理由として、そしてMC38でのわれわれの以前の結果は、NK細胞が増殖され、DR-IL-18によって活性化されることを示していることを理由として、NK細胞がMHC I欠損腫瘍を攻撃するのをDR-IL-18が刺激できるかどうか調べた。CRISPR/cas9を用いてYumme1.7細胞系の中のB2mをノックアウトすることで、移植されたB2m欠損YUMMER1.7腫瘍が、通常は親Yumme1.7腫瘍を100%近く治癒させる組み合わせである抗CTLA4と抗PD-1の両方を組み合わせた療法に対してさえ抵抗性であることが見いだされた（図19Aと19B）。しかしDR-IL-18（mCS2）を用いた単剤処置は、NK細胞に依存する形でB2m欠損YUMMER1.7腫瘍の60%を治癒させた。というのも抗NK1.1を用いてNK細胞を除去するとこの効果が消失するからである（図19Aと19B）。MHC I欠損腫瘍の設定でDR-IL-18が腫瘍内NK細胞に及ぼす効果を理解するための実験を行なった。生理食塩水またはDR-IL-18で処置したマウスからのB2m欠損Yumme1.7腫瘍でフローサイトメトリーを利用して免疫表現型を解析する研究を実施した。処置を3回目に実施してから24時間後、マウスを安楽死させ、腫瘍を切除し、細胞懸濁液をPMA/イオノマイシンで4時間にわたって処置した。次に、NK細胞の増殖指数と機能的能力を、Ki67とインターフェロン-ガンマを用いた細胞内フローサイトメトリーによって分析した。図19Cからわかるように、生理食塩水で処置したB2m欠損Yumme1.7腫瘍からのNK細胞は、インターフェロン-ガンマの産生が少なく、Ki67のレベルが低かった。これは、1つの表現型が枯渇していることを示している。それとは対照的に、DR-IL-18で処置した腫瘍からのNK細胞は、インターフェロン-ガンマの産生が多く、Ki67のレベルが高く、大半のNK細胞で両方のマーカーに関して陽性であった。したがってこれらの結果から、DR-IL-18が、免疫チェックポイント阻害に対して抵抗性であるMHCクラスI欠損腫瘍の治療において、NK細胞に依存して有効であることが確立される。

30

40

50

【 0 3 7 5 】

mCS2 DR-IL-18バリエーションの活性が大きく改善されているため、これらの結果から、DR-IL-18は非常に有望な腫瘍免疫療法剤であることが確立されるとともに、IL-18BPがIL-18療法の有効性を大きく制限していることの強力な証拠が提供される。これらの結果から、他の戦略（抗体、および/または小さなタンパク質、および/または小分子を用いたIL-18BPの阻害）によってIL-18療法と他の免疫療法の計画を増強できる可能性があることが予測される。

【 0 3 7 6 】

「デコイ対デコイ」(D2D)、すなわちIL-18BPに特異的に結合するがIL-18Rには結合しないためシグナルを出さないIL-18バリエーションを創出することによってIL-18BPアンタゴニストを作製することを試みた。このような薬剤の潜在的な利点は、IL-18Rシグナル伝達を全身で駆動するのは異なり、IL-18BPを中和して内在性IL-18の活性を増大させるのに役立つと考えられることである。したがってIL-18をIL-18Rが接触する位置でランダム化し(図20A)、酵母が提示するライブラリを、ヒトとマウスのDR-IL-18に関して以前に報告されているようにして調製した。得られた 3.9×10^8 個の形質転換体からなるライブラリを図20Bに示されているようにして3ラウンドにわたって選択して保持されているIL-18BP結合を選択する一方で、IL-18Rに対してカウンターセレクションを実施した。図20Cからわかるように、各ラウンドの選択によってIL-18BP(ヒトとマウス)への結合は富化されたが、IL-18Rへの結合は得られなかった。96個のクローンをシーケンシングすると31通りの独自の配列が得られ、そこから3つのコンセンサス配列hD2D-CS1、hD2D-CS2、hD2D-CS3が導出された(図21)。得られたクローンの生物物理学的特徴づけから、これらクローンは、IL-18BPに対してWT IL-18と似た結合等温線を示す(図22A)が、IL-18Rへの結合は大きく減少している/不在であること(図22B)が示された。これらのデータは図22Cにまとめられている。同じ選択プロセスをマウスIL-18で実施し、 2.0×10^8 個の形質転換体からなるライブラリを作製して選択し、51通りの独自の配列を得た(図23にまとめられている)。

【 0 3 7 7 】

実施例2：第二世代バリエーションの結合親和性測定

【 0 3 7 8 】

表面プラズモン共鳴(SPR)を利用して(IL-18RとIL-18BPに結合する)第二世代DR-IL-18バリエーションの生物物理学的親和性測定を実施した。生成したセンサーグラムに関しては図24を参照されたい。表10は測定された動態のまとめであり、図11は親和性測定のまとめであり、表12は全体のまとめであり、第二世代DR-IL-18バリエーションの解離定数の比に関する結果が含まれている。

【 0 3 7 9 】

10

20

30

【表10】

表10：第二世代hDR-IL-18バリエーションに関するSPRデータのまとめ（動態）

表面リガンド	分析物	ka (1/M秒)	kd (1/秒)	KD (M) 実験2	KD (M) 実験1	%Rmax
hIL-18Ra	hIL-18	5.55E+05	2.97E-03	5.36E-09	5.35E-09	32
hIL-18Ra	6-12	4.95E+05	9.10E-04	1.84E-09	2.24E-09	35
hIL-18Ra	6-27	6.31E+05	2.43E-03	3.85E-09	3.48E-09	35
hIL-18Ra	6-29	5.75E+05	1.19E-03	2.07E-09	2.65E-09	36
hIL-18Ra	6-31	2.18E+05	3.32E-03	1.52E-08	1.94E-08	19
hIL-18BP	hIL-18	5.18E+05	2.23E-07	4.30E-13	6.94E-13	48
hIL-18BP	6-12	弱すぎて測定できず				-1
hIL-18BP	6-27	弱すぎて測定できず				2
hIL-18BP	6-29	弱すぎて測定できず				0
hIL-18BP	6-31	弱すぎて測定できず				-1

10

【0380】

【表11】

表11：第二世代hDR-IL-18バリエーションに関するSPRデータのまとめ（親和性）

サンプル	KD _{見かけ} hIL-18Rα (nM)	KD _{見かけ} hIL-18BP (nM)
hIL-18	5.4、5.4	<0.1
6-12	1.8、2.2	弱すぎる
6-27	3.9、3.5	弱すぎる
6-29	2.1、2.7	弱すぎる
6-31	15.2、19.4	弱すぎる

20

【0381】

30

【表 1 2】

表12：SPR親和性測定のまとめ。IL-18R α とIL-18BPに関する第二世代hDR-IL-18バリエーションのSPR親和性測定のまとめ。IL-18BP：IL-18R α 解離定数の比は、IL-18R α のKDに対するIL-18BPのKDの比を、野生型IL-18の同じ比に規格化した値である。この比がより大きいことは、そのIL-18バリエーションが、野生型IL-18と比べてIL-18BPよりもIL-18R α に多く結合することを示す。*：2回の研究の平均。kは1000倍を意味する。mは1,000,000倍を意味する。

タンパク質	SPR : K _D R α (nM)	SPR : K _D BP (nM)	IL-18BP : IL-18R α 解離定数の比
WT hIL-18	4.1*	0.002	1
hCS1	8.0*	11.8*	3,024
hCS3	9.1*	19.3*	4,348
hCS4	7.7*	121*	32,215
6-12	2.2	>10,000	>9,318,275
6-27	3.5	>10,000	>5,857,201
6-29	2.7	>10,000	>7,592,669
6-31	19.4	>10,000	>1,056,712
WT mIL-18	0.60	0.0011	1
mCS2	0.08	11,000	>75,000,136
A7、B1、C1、E8	0.22~1.7	14k~29k	9.3m~35m

10

20

【0382】

実施例3：がん治療の効果

【0383】

多数の異なるがんモデル（免疫チェックポイント阻害剤に対して抵抗性の大腸腫瘍、乳がん、黒色腫、MHCクラスI欠損腫瘍のモデルが含まれる）を利用してDR-IL-18バリエーションの効果を調べた。結果から、IL-18Rに結合するがIL-18BPには結合しないDR-IL-18バリエーションを用いると広い範囲のがん（調べたがんに限定されない）を治療できることがわかる。

30

【0384】

図25Aと図25B：DR-IL-18がCT26大腸腫瘍モデルに対して有効であることを実証するデータ。250,000個のCT26細胞を皮下に移植し、腫瘍が平均で約60 mm³になった7日目に処置を開始した。野生型IL-18とmCS2を0.32 mg/kgの用量で週に2回、合計して5回にわたって投与した。抗PD1は10 mg/kgを同じスケジュールで与えた。（A）腫瘍増殖を示す複数のスパイダープロットの重ね合わせであり、生理食塩水（PBS）で処置したマウスは黒色の線（ ）、野生型IL-18は青色の線（ ）、DR-IL-18（mCS2）はピンク色の線（ ）である。野生型IL-18ではなくDR-IL-18を用いた処置だけが、あるサブセットのマウスで腫瘍の増殖抑制と腫瘍の消失をもたらした。（B）抗PD1、WT IL-18、DR-IL-18（mCS2）で処置したマウスの生存曲線。完全奏効の数を括弧内に示してある。WT IL-18ではなくDR-IL-18を用いると、40%のマウスで生存延長と腫瘍消失に至った。チェックポイント阻害剤である抗PD-1を上回る改善である。

40

【0385】

図26Aと図26B：4T1乳がんモデルとB16-F10黒色腫モデルにおけるDR-IL-18の効果を実証するデータ。（A）4T1腫瘍を移植したBALB/Cマウスを生理食塩水（PBS；黒色）、WT IL-18（青色）、DR-IL-18バリエーションCS2（ピンク色）のいずれかで処置した後の腫瘍増殖曲線。（B）B16-F10腫瘍を移植したC57BL/6マウスを生理食塩水（PBS；黒色）、WT IL-18（青色）、DR-IL-18バリエーションCS2（ピンク色）のいずれかで処置した後の腫瘍増殖曲線。両方のモデルにおいて、WT IL-18ではなくDR-IL-18だけが、腫瘍の増殖抑制をもたらした。処置は、四角で囲んだ「t」で示してあるように、腫瘍の平均体積が50 mm³を超えた後に

50

実施した。

【0386】

図27Aと図27B：これらのデータは、図19A～図19Cのデータの拡張である。示されているのは、免疫チェックポイント阻害剤に対して抵抗性である追加のMHCクラスI欠損腫瘍モデルの治療におけるDR-IL-18の効果を実証するデータである。(A) B2m欠損YUMMER細胞に関して記載されているように、CRISPR/Cas9を媒介とした欠失を利用してB2m欠損MC38細胞を調製した。B2m^{-/-} MC38細胞を皮下に移植した後、腫瘍が平均で約65 mm³になった7日目に処置を開始した。mCS2を0.32 mg/kgの用量で週に2回、5回にわたって投与した。抗PD1と抗CTLA4は8 mg/kgを同じスケジュールで与えた。(B) RMA/Sは、タバシンの中に自発的突然変異を含有するRNAリンパ腫系のバリエーションである。その結果として抗原ローディングに欠陥が生じるため、MHCクラスIの表面における発現が減少した。それはC57BL/6に先天的であり、免疫チェックポイント阻害剤に対して抵抗性である。マウスの皮下に1,000,000個のRMA/S細胞を移植した後、7日目に処置を開始した。mCS2を0.32 mg/kgの用量で週に2回投与した。抗PD1は8 mg/kgを同じスケジュールで与えた。

10

【0387】

実施例4：併用療法

【0388】

図28：(腫瘍を標的とする抗体などのオプソニン化剤との併用療法をサポートする)抗体依存性細胞障害活性(ADCC)を増強するDR-IL-18バリエーションの効果を実証するデータ。CFSEで標識したRaji(B細胞リンパ腫)細胞と単離したヒト末梢血単核細胞(PBMC)を用いた生体外細胞傷害活性の研究。PBMCと標識したRaji細胞を、エフェクタ：標的(E:T)の比を1:10にして25時間インキュベートした。ヒトDR-IL-18バリエーションhCS-1(1 μM)、またはリツキシマブ(10 μg/ml)、またはその両方の薬剤の組み合わせを、指示されているようにしてサンプルに適用した。細胞傷害活性をフローサイトメトリーによって測定し、DAPI陽性になったCFSE細胞の割合として計算した。* 多重比較のためのテューキーの補正を伴う2元配置分散分析によるp<0.05。

20

【0389】

実施例5：ウイルス感染症に対する効果

【0390】

図29Aと図29B：感染性疾患(例えばウイルス感染症であり、例えば本実施例では、全身性ワクシニアウイルス感染症の治療にmCS2を使用した)を治療するためのDR-18バリエーションの抗ウイルス効果を実証するデータ。(A) 実験設計スキーム。C57BL/6マウスの腹腔内(IP)に10⁶ PFUのワクシニアウイルス(VACV)を感染させた後、1 mg/kgのWT mIL-18またはmCS2をIPに投与した。感染させてから3日後にマウスを安楽死させ、血中と卵巣内のウイルス力価をRT-PCRによって測定した。(B) 感染させてから3日後の時点における処置したマウスの血中と卵巣内のVACVウイルスのコピーの定量。CS2を用いて処置するとウイルス力価は有意な低下を示したのに対し、WT IL-18は有効ではなかった。* p<0.05、** p<0.01、*** p<0.001。

30

【0391】

実施例6：第二世代ヒトDR-IL-18バリエーション

【0392】

図30Aは、第二世代ヒトDR-IL-18バリエーションが活性であることを実証するデータを示している。(図30A) WT IL-18と、h6-12、h6-27、h6-29、h6-31は、IL-18 HEK-Blueレポーター細胞を刺激する。h6-12、h6-27、h6-29は、WT IL-18と比べて増大した効力を示すのに対し、h6-31はWT IL-18と同等の効力を持つ。したがってこのデータは、調べたすべての第二世代ヒトDR-IL-18バリエーションがIL-18Rを通じて活発にシグナル伝達することを実証している。

40

【0393】

野生型IL-18のアミノ酸配列

ヒトインターロイキン-18(成熟形態)

50

YFGKLESKLSVIRNLNDQVLFIDQGNRPLFEDMTDSDCRDNAPRTIFII SMYKDSQPRGMAVTISVKCEKISTLSCENKII
ISFKEMNPPDNIKDTKSDIIFQRSVPGHDNKMQFESSSYEGYFLACEKERDLFKLILKKEDELGDRSIMFTVQNEDE (配列 ID 番号 30)

マウスインターロイキン-18 (成熟形態)

NFGRLHCTTAVIRNINDQVLFVDKRQPVFEDMTDIDQSASEPQTRLII YMYKDSEVRGLAVTILSVKDSKMSTLSCKNKII
SFEEMDPPENIDDIQSDLIFFQKRVPGHNKMEFESSLYEGHFLACQKEDDAFKLILKKKDENGDKSVMFTLTNLHQS (配列 ID 番号 31)

Q14116|IL18_ヒトインターロイキン-18 (切断されていない前駆体)

MAAEPVEDNCINFMAMKFI DNTLYFIAEDDENLESDYFGKLESKLSVIRNLNDQVLFIDQGNRPLFEDMTDSDCRDNAPR
TIFII SMYKDSQPRGMAVTISVKCEKISTLSCENKII SFKEMNPPDNIKDTKSDIIFQRSVPGHDNKMQFESSSYEGYF
LACEKERDLFKLILKKEDELGDRSIMFTVQNEDE (配列 ID 番号 32)

10

P70380|IL18_マウスインターロイキン-18 (切断されていない前駆体)

MAAMSEDSCVNFKEMMFI DNTLYFIP EENGDL ESDNFGRLHCTTAVIRNINDQVLFVDKRQPVFEDMTDIDQSASEPQTR
LII YMYKDSEVRGLAVTILSVKDSKMSTLSCKNKII SFEEMDPPENIDDIQSDLIFFQKRVPGHNKMEFESSLYEGHFLAC
QKEDDAFKLILKKKDENGDKSVMFTLTNLHQS (配列 ID 番号 33)

【 0 3 9 4 】

【表 13 - 1】

第一世代ヒトインターロイキン-18デコイ抵抗性バリエーションのアミノ酸配列

hCS1	YFGKLESKLSVIRNLDQVLFIDQGNRPLFEDMTDSDCRDNAPRTIFIISTYKDSQPRGKA VTISVKCEKISTLSCENKIISFKEMNPPDNIKDTKSDIIFQRDVPGHKHKMQFESSYEGY FLACEKERDLFKLILKKEDELGDRSIMFTVQNE (配列ID番号34)	
hCS2	YFGKLESKLSVIRNLDQVLFIDQGNRPLFEDMTDSDCRDNAPRTIFIISTYKDKQPRAK AVTISVKCEKISTLSCENKIISFKEMNPPDNIKDTKSDIIFQRDVPGHKHKMQFESSYEGY YFLACEKERDLFKLILKKEDELGDRSIMFTIQNE (配列ID番号35)	
hCS3	RFGKLESKLSVIRNLDQVLFIDQGNRPLFEDMTDSDCRDNAPRTIFIISTYKDSQPRGKA VTISVKCEKISTLSCENKIISFKEMNPPDNIKDTKSDIIFQRDVPGHKHKMQFESSYEGY FLACEKERDLFKLILKKEDELGDRSIMFTVQNE (配列ID番号36)	10
hCS4	RFGKLESKLSVIRNLDQVLFIDQGNRPLFEDMTDSDCRDNAPRTIFIISTYRDSQPRGKA VTISVKCEKISTLSCENKIISFKEMNPPDNIKDTKSDIIFQRNVPGHKYKMQFESSYEGY FLACEKERDLFKLILKKEDELGDRSIMFTVQNE (配列ID番号37)	
hC4	YFGKLESQLSVIRNLDQVLFIDQGNRPLFEDMTDSDCRDNAPRTIFIISTYKDKQPRTK AVTISVKCEKISTLSCENKIISFKEMNPPDNIKDTKSDIIFQRRVPGHHNKMVFESSYEGY YFLACEKERDLFKLILKKEDELGDRSIMFTVQKED (配列ID番号38)	
hA8	YFGKLESRLSVIRNLDQVLFIDQGNRPLFEDMTDSDCRDNAPRTIFIISKYKDKQPRAQ AVTISVKCEKISTLSCENKIISFKEMNPPDNIKDTKSDIIFQRDVPGHKHKMQFESSYEGY YFLACEKERDLFKLILKKEDELGDRSIMFTIQNE (配列ID番号39)	
hD6	YFGKLESRLSVIRNLDQVLFIDQGNRPLFEDMTDSDCRDNAPRTIFIISDYKDKQPRAX AVTISVKCEKISTLSCENKIISFKEMNPPDNIKDTKSDIIFQRDVPGHKHKMQFESSYEGY YFLACEKERDLFKLILKKEDELGDRSIMFTIQNE (配列ID番号40)	20
hH12	YFGKHESKLSVIRNLDQVLFIDQGNRPLFEDMTDSDCRDNAPRTIFIISTYRDSQPRGKA VTISVKCEKISTLSCENKIISFKEMNPPDNIKDTKSDIIFQRDVPGHNNKMVFESSYEGY FLACEKERDLFKLILKKEDELGDRSIMFTTQNE (配列ID番号41)	
hB11	YFGKIESKLSVIRNLDQVLFIDQGNRPLFEDMTDSDCRDNAPRTIFIISKYKDKQPRAQA VTISVKCEKISTLSCENKIISFKEMNPPDNIKDTKSDIIFQRKVPGHQHKMQFESSYEGY FLACEKERDLFKLILKKEDELGDRSIMFTVQKED (配列ID番号42)	
hC3	YFGKIESKLSVIRNLDQVLFIDQGNRPLFEDMTDSDCRDNAPRTIFIISTYKDRQPRGKA VTISVKCEKISTLSCENKIISFKEMNPPDNIKDTKSDIIFFERDVPGHHHKMQFESSYEGY FLACEKERDLFKLILKKEDELGDRSIMFTIQNE (配列ID番号43)	30
hC2	YFGKIESKLSVIRNLDQVLFIDQGNRPLFEDMTDSDCRDNAPRTIFIISTYKDKQPRGKA VTISVKCEKISTLSCENKIISFKEMNPPDNIKDTKSDIIFQRDVPGHKHKMQFESSYEGY FLACEKERDLFKLILKKEDELGDRSIMFTTQHED (配列ID番号44)	
hG10	YFGKIESKLSVIRNLDQVLFIDQGNRPLFEDMTDSDCRDNAPRTIFIISTYKDKQPRAKA VTISVKCEKISTLSCENKIISFKEMNPPDNIKDTKSDIIFQRRVPGHHHKMQFESSYEGY FLACEKERDLFKLILKKEDELGDRSIMFTIQKED (配列ID番号45)	
hG1	YFGKIESRLSVIRNLDQVLFIDQGNRPLFEDMTDSDCRDNAPRTIFIISTYKDKQPRGKA VTISVKCEKISTLSCENKIISFKEMNPPDNIKDTKSDIIFQRDVPGHDYKMQFESSYEGY FLACEKERDLFKLILKKEDELGDRSIMFTIQKED (配列ID番号46)	

【表 13 - 2】

hF1	YFGKYESRSLSVIRNLNDQVLFIDQGNRPLFEDMTDSDCRDNAPRTIFIISTYRDSQPRGKA VTISVKCEKISTLSCENK IISFKEMNPPDNIKDTKSDIIFQRDVPGHEHKMQFESSYEGY FLACEKERDL FKLIL KKEDELGDRSIMFTV QKED (配列ID番号47)
hD2	HFGKYESKLSVIRNLNDQVLFIDQGNRPLFEDMTDSDCRDNAPRTIFIISTYRDSQPRGKA VTISVKCEKISTLSCENK IISFKEMNPPDNIKDTKSDIIFQRDVPGHHNKMZFESSYEGY FLACEKERDL FKLIL KKEDELGDRSIMFTV QKED (配列ID番号48)
hA1	RFGKLESKLSVIRNLNDQVLFIDQGNRPLFEDMTDSDCRDNAPRTIFIISTYRDSQPRAKA VTISVKCEKISTLSCENK IISFKEMNPPDNIKDTKSDIIFQRDVPGHQHKMQFESSYEGY FLACEKERDL FKLIL KKEDELGDRSIMFTAQKED (配列ID番号49)
hB3	RFGKLESRSLSVIRNLNDQVLFIDQGNRPLFEDMTDSDCRDNAPRTIFIISDYRDSQPRGRA VTISVKCEKISTLSCENK IISFKEMNPPDNIKDTKSDIIFKRNVPGHK YKMZFESSYEGY FLACEKERDL FKLIL KKEDELGDRSIMFTV QHED (配列ID番号50)
hB4	RFGKLESRSLSVIRNLNDQVLFIDQGNRPLFEDMTDSDCRDNAPRTIFIISNYRDSQPRGQA VTISVKCEKISTLSCENK IISFKEMNPPDNIKDTKSDIIFKRRVPGHNHKMZFESSYEGY FLACEKERDL FKLIL KKEDELGDRSIMFTV QKED (配列ID番号51)
hH3	RFGKLESRSLSVIRNLNDQVLFIDQGNRPLFEDMTDSDCRDNAPRTIFIISTYKDSQPRGKA VTISVKCEKISTLSCENK IISFKEMNPPDNIKDTKSDIIFQRDVPGHKHKMQFESSYEGY FLACEKERDL FKLIL KKEDELGDRSIMFTV QNED (配列ID番号52)
hH5	RFGKHESKLSVIRNLNDQVLFIDQGNRPLFEDMTDSDCRDNA PRTIFIISTYRDSQPRGKA VTISVKCEKISTLSCENK IISFKEMNPPDNIKDTKSDIIFERNVPGHK YKMZFESSYEGY FLACEKERDL FKLIL KKEDELGDRSIMFTV QNED (配列ID番号53)
hH4	RFGKLESRSLSVIRNLNDQVLFIDQGNRPLFEDMTDSDCRDNAPRTIFIISTYRDSQPRAKA VTISVKCEKISTLSCENK IISFKEMNPPDNIKDTKSDIIFERDVPGHQHKMQFESSYEGY FLACEKERDL FKLIL KKEDELGDRSIMFTIQKED (配列ID番号54)
hE1	RFGKLESRSLSVIRNLNDQVLFIDQGNRPLFEDMTDSDCRDNAPRTIFIISTYRDSQPRTKA VTISVKCEKISTLSCENK IISFKEMNPPDNIKDTKSDIIFQRNVPGHHDKMQFESSYEGY FLACEKERDL FKLIL KKEDELGDRSIMFTV QHED (配列ID番号55)
hG2	RFGKLESRSLSVIRNLNDQVLFIDQGNRPLFEDMTDSDCRDNAPRTIFIISTYKDSQPRAKA VTISVKCEKISTLSCENK IISFKEMNPPDNIKDTKSDIIFERDVPGHQHKMQFESSYEGY FLACEKERDL FKLIL KKEDELGDRSIMFTIQKED (配列ID番号56)
hB9	RFGKHESKLSVIRNLNDQVLFIDQGNRPLFEDMTDSDCRDNA PRTIFIISTYRDSQPRGKA VTISVKCEKISTLSCENK IISFKEMNPPDNIKDTKSDIIFERNVPGHK YKMZFESSYEGY FLACEKERDL FKLIL KKEDELGDRSIMFTV QNED (配列ID番号57)
hE12	RFGKYESKLSVIRNLNDQVLFIDQGNRPLFEDMTDSDCRDNAPRTIFIISTYKDSQPRTKA VTISVKCEKISTLSCDNKIISFKEMNPPDNIKDTKSDIIFQRDVPGHKHKMQFESSYEGY FLACEKERDL FKLIL KKEDELGDRSIMFTV QNED (配列ID番号58)
hC5	RFGKLESRSLSVIRNLNDQVLFIDQGNRPLFEDMTDSDCRDNAPRTIFIISTYRDSQPRTKA VTISVKCEKISTLSCENK IISFKEMNPPDNIKDTKSDIIFQRKVPGHNKMZFESSYEGY FLACEKERDL FKLIL KKEDELGDRSIMFTV QKED (配列ID番号59)

10

20

30

40

【 0 3 9 5 】

【表 14 - 1】

第二世代ヒトインターロイキン-18デコイ抵抗性バリエーションのアミノ酸配列

5-18	YFGKLESKLSVIRNLNDQVLFIDQGNRPLFEDMTDSDCRDNAPRTIFIHSEYKDSSELRGRA VTISVKCEKISTLSCENKIISFKEMNPPDNIKDTKSDIIFFPRAVPGHNRKVQFESSSYEGYF LACEKERDLFKLILKKEDELGDRSIMFTVQNEDE (配列ID番号73)	
5-29	YFGKLESKLSVIRNLNDQVLFIDQGNRPLFEDMTDSDCRDNAPRTIFIHSEYKDSAGRGLA VTISVKCEKISTLSCENKIISFKEMNPPDNIKDTKSDIIFFERDVPGHNSKVKQFESSSYEGYF LACEKERDLFKLILKKEDELGDRSIMFTVQNEDE (配列ID番号74)	
5-8	YFGKLESKLSVIRNLNDQVLFIDQGNRPLFEDMTDSDCRDNAPRTIFIHSEYKDSAGRGLA VTISVKCEKISTLSCENKIISFKEMNPPDNIKDTKSDIIFFRSVPGHKRRMQFESSSYEGY FLACEKERDLFKLILKKEDELGDRSIMFTVQNEDE (配列ID番号75)	10
5-6	YFGKLESKLSVIRNLNDQVLFIDQGNRPLFEDMTDSDCRDNAPRTIFIHSEYKDSRGRGLA VTISVKCEKISTLSCENKIISFKEMNPPDNIKDTKSDIIFFERDVPGHNSKRQFESSSYEGYF LACEKERDLFKLILKKEDELGDRSIMFTVQNEDE (配列ID番号76)	
5-27	YFGKLESKLSVIRNLNDQVLFIDQGNRPLFEDMTDSDCRDNAPRTIFIHSEYKDSVPRGLA VTISVKCEKISTLSCENKIISFKEMNPPDNIKDTKSDIIFFARAVPGHSRKTQFESSSYEGYF LACEKERDLFKLILKKEDELGDRSIMFTVQNEDE (配列ID番号77)	
5-20	YFGKLESKLSVIRNLNDQVLFIDQGNRPLFEDMTDSDCRDNAPRTIFIHSEYKDSGARGLA VTISVKCEKISTLSCENKIISFKEMNPPDNIKDTKSDIIFFARAVPGHGRRKTQFESSSYEGY FLACEKERDLFKLILKKEDELGDRSIMFTVQNEDE (配列ID番号78)	
5-2	YFGKLESKLSVIRNLNDQVLFIDQGNRPLFEDMTDSDCRDNAPRTIFIHSEYKDSKARGMA VTISVKCEKISTLSCENKIISFKEMNPPDNIKDTKSDIIFFARDVPGHSSKRQFESSSYEGYF LACEKERDLFKLILKKEDELGDRSIMFTVQNEDE (配列ID番号79)	20
5-9	YFGKLESKLSVIRNLNDQVLFIDQGNRPLFEDMTDSDCRDNAPRTIFIHSEYKDSLARGLA VTISVKCEKISTLSCENKIISFKEMNPPDNIKDTKSDIIFFRDVPGHSRKMQFESSSYEGY FLACEKERDLFKLILKKEDELGDRSIMFTVQNEDE (配列ID番号80)	
5-42	YFGKLESKLSVIRNLNDQVLFIDQGNRPLFEDMTDSDCRDNAPRTIFIHSEYKDSRARGLA VTISVKCEKISTLSCENKIISFKEMNPPDNIKDTKSDIIFFRNVPGHGRRMQFESSSYEGY FLACEKERDLFKLILKKEDELGDRSIMFTVQNEDE (配列ID番号81)	
5-13	YFGKLESKLSVIRNLNDQVLFIDQGNRPLFEDMTDSDCRDNAPRTIFIHSEYKDSRARGLA VTISVKCEKISTLSCENKIISFKEMNPPDNIKDTKSDIIFFARSVPGHGRRKTQFESSSYEGYF LACEKERDLFKLILKKEDELGDRSIMFTVQNEDE (配列ID番号82)	30
5-12	YFGKLESKLSVIRNLNDQVLFIDQGNRPLFEDMTDSDCRDNAPRTIFIHSEYKDSRARGLA VTISVKCEKISTLSCENKIISFKEMNPPDNIKDTKSDIIFFARDVPGHSGKRQFESSSYEGYF LACEKERDLFKLILKKEDELGDRSIMFTVQNEDE (配列ID番号83)	
5-1	YFGKLESKLSVIRNLNDQVLFIDQGNRPLFEDMTDSDCRDNAPRTIFIHSEYKDSRPRGLA VTISVKCEKISTLSCENKIISFKEMNPPDNIKDTKSDIIFFERDVPGHSSKKQFESSSYEGYF LACEKERDLFKLILKKEDELGDRSIMFTVQNEDE (配列ID番号84)	
5-33	YFGKLESKLSVIRNLNDQVLFIDQGNRPLFEDMTDSDCRDNAPRTIFIHSEYKDSRARGMA VTISVKCEKISTLSCENKIISFKEMNPPDNIKDTKSDIIFFERDVPGHNDKRQFESSSYEGY FLACEKERDLFKLILKKEDELGDRSIMFTVQNEDE (配列ID番号85)	

【表 1 4 - 2】

5-21	YFGKLESKLSVIRNLNDQVLFIDQGNRPLFEDMTDSDCRDNAPRTIFIISRYKDSGKRG LA VTISVKCEKISTLSCENKIISFKEMNPPDNIKDTKSDIHFRRSVPGHSRKVQFESSSYEG YF LACEKERDLFKLILKKEDELGDRSIMFTVQ NED (配列ID番号86)
6-31	YFGKLESKLSVIRNLNDQVLFIDQGNRPLFEDMTDSDCRDNAPRTIFIISKYGD SGARGLA VTISVKCEKISTLSCENKIISFKEMNPPDNIKDTKSDIHFERDVPGHSGKVQFESSSYEG YF LACEKERDLFKLILKKEDELGDRSIMFTVQ NED (配列ID番号87)
6-20	YFGKLESKLSVIRNLNDQVLFIDQGNRPLFEDMTDSDCRDNAPRTIFIISKYGDSRPRGMA VTISVKCEKISTLSCENKIISFKEMNPPDNIKDTKSDIHFQRAVPGHNRKMQFESSSYEGY FLACEKERDLFKLILKKEDELGDRSIMFTVQ NED (配列ID番号88)
6-12	YFGKLESKLSVIRNLNDQVLFIDQGNRPLFEDMTDSDCRDNAPRTIFIISKYSDSLARGLA VTISVKCEKISTLSCENKIISFKEMNPPDNIKDTKSDIHFQRDVPGHSRKMQFESSSYEGY FLACEKERDLFKLILKKEDELGDRSIMFTVQ NED (配列ID番号89)
6-27	YFGKLESKLSVIRNLNDQVLFIDQGNRPLFEDMTDSDCRDNAPRTIFIISKYSDSRARGLA VTISVKCEKISTLSCENKIISFKEMNPPDNIKDTKSDIHFARSVPGHGRKTQFESSSYEG YF LACEKERDLFKLILKKEDELGDRSIMFTVQ NED (配列ID番号90)
6-29	YFGKLESKLSVIRNLNDQVLFIDQGNRPLFEDMTDSDCRDNAPRTIFIISKYSDSRARGLA VTISVKCEKISTLSCENKIISFKEMNPPDNIKDTKSDIHFQRNVPGHGRKMQFESSSYEGY FLACEKERDLFKLILKKEDELGDRSIMFTVQ NED (配列ID番号91)
5-26	YFGKLESKLSVIRNLNDQVLFIDQGNRPLFEDMTDSDCRDNAPRTIFIISKYGDSVPRGLA VTISVKCEKISTLSCENKIISFKEMNPPDNIKDTKSDIHFARAVPGHSRKTQFESSSYEG YF LACEKERDLFKLILKKEDELGDRSIMFTVQ NED (配列ID番号191)
5-17	YFGKLESKLSVIRNLNDQVLFIDQGNRPLFEDMTDSDCRDNAPRTIFIISKYSDSRARGLA VTISVKCEKISTLSCENKIISFKEMNPPDNIKDTKSDIHFARSVPGHGRKTQFESSSYEG YF LACEKERDLFKLILKKEDELGDRSIMFTVQ NED (配列ID番号192)
5-41	YFGKLESKLSVIRNLNDQVLFIDQGNRPLFEDMTDSDCRDNAPRTIFIISKYSDSRARGLA VTISVKCEKISTLSCENKIISFKEMNPPDNIKDTKSDIHFARDVPGHSGKRQFESSSYEG YF LACEKERDLFKLILKKEDELGDRSIMFTVQ NED (配列ID番号193)

10

20

【 0 3 9 6 】

30

【表15】

マウスインターロイキン-18デコイ抵抗性バリエーションのアミノ酸配列

mCS1	NFGRLHCTTAVIRNINDQVLFVDKRQPVFEDMTDIDQSASEPQTRLIIYG YADSRV R G K A VTLSVKD SKMSTLSCKNK IISFEEMDPPENIDDIQSDLIFFQKRVP G H N K M E F E S S L Y E G H FLACQKEDDAFKLILKKKDENGDKSVMFTLTNLHQS (配列ID番号60)
mCS2	HFGRLHCTTAVIRNINDQVLFVDKRQPVFEDMTDIDQSASEPQTRLIIYAYGDSRARGKA VTLSVKD SKMSTLSCKNK IISFEEMDPPENIDDIQSDLIFFQKRVP G H N K M E F E S S L Y E G H FLACQKEDDAFKLILKKKDENGDKSVMFTLTNLHQS (配列ID番号61)
mC1	NFGRLHCTTAVIRNINDQVLFVDKRQPVFEDMTDIDQSASEPQTRLIIYAYVDRRLR G K A VTLSVKD SKMSTLSCKNK IISFEEMDPPENIDDIQSDLIFFQKRVP G H N K M E F E S S L Y E G H FLACQKEDDAFKLILKKKDENGDKSVMFTLTNLHQS (配列ID番号62)
mA12	NFGRLHCTTAVIRNINDQVLFVDKRQPVFEDMTDIDQSASEPQTRLIIYSYSDK H M R G K A VTLSVKD SKMSTLSCKNK IISFEEMDPPENIDDIQSDLIFFQKLV P G H N K M E F E S S L Y E G H FLACQKEDDAFKLILKKKDENGDKSVMFTLTNLHQS (配列ID番号63)
mE8	NFGRLHCTTAVIRNINDQVLFVDKRQPVFEDMTDIDQSASEPQTRLIIYV Y T D G R R R R G K A VTLSVKD SKMSTLSCKNK IISFEEMDPPENIDDIQSDLIFFQKRVP G H D K M E F E S S L Y E G H FLACQKEDDAFKLILKKKDENGDKSVMFTLTNLHQS (配列ID番号64)
mC10	HFGRLHCTTAVIRNINDQVLFVDKRQPVFEDMTDIDQSASEPQTRLIIYAYGDSHMRGK AVTLSVKD SKMSTL SCKNK IISFEEMDPPENIDDIQSDLIFFQKQV P G H N K M E F E S S L Y E G HFLACQKEDDAFKLILKKKDENGDKSVMFTVTNLHQS (配列ID番号65)
mE7	HFGRLHCTTAVIRNINDQVLFVDKRQPVFEDMTDIDQSASEPQTRLIIYAYGDSNAGGR AVTLSVKD SKMSTL SCKNK IISFEEMDPPENIDDIQSDLIFFQKRVP G H N K M E F E S S L Y E G HFLACQKEDDAFKLILKKKDENGDKSVMFTLTNLHQS (配列ID番号66)
mE1	HFGRLHCTTAVIRNINDQVLFVDKRQPVFEDMTDIDQSASEPQTRLIIYG Y A D S D A R A K A VTLSVKD SKMSTLSCKNK IISFEEMDPPENIDDIQSDLIFFQKSV P G H N K M E F E S S L Y E G H FLACQKEDDAFKLILKKKDENGDKSVMFTVTNLHQS (配列ID番号67)
mD1	HFGRLHCTTAVIRNINDQVLFVDKRQPVFEDMTDIDQSASEPQTRLIIYG Y S D R G S K G K A VTLSVKD SKMSTLSCKNK IISFEEMDPPENIDDIQSDLIFFQKQV P G H N K M E F E S S L Y E G H FLACQKEDDAFKLILKKKDENGDKSVMFTLTNLHQS (配列ID番号68)
mH7	YFGRLHCTTAVIRNINDQVLFVDKRQPVFEDMTDIDQSASEPQTRLIIYMYADRRRARGK AVTLSVKD SKMSTL SCKNK IISFEEMDPPENIDDIQSDLIFFQKRVP G H D K M E F E S S L Y E G HFLACQKEDDAFKLILKKKDENGDKSVMFTVTNLHQS (配列ID番号69)
mA7	YFGRLHCTTAVIRNINDQVLFVDKRQPVFEDMTDIDQSASEPQTRLIIYAYGDNRV R G K A VTLSVKD SKMSTLSCKNK IISFEEMDPPENIDDIQSDLIFFQKRVP G H N K M E F E S S L Y E G H FLACQKEDDAFKLILKKKDENGDKSVMFTLTNLHQS (配列ID番号70)
mE1	YFGRLHCTTAVIRNINDQVLFVDKRQPVFEDMTDIDQSASEPQTRLIIYGYGDSERGGRA VTLSVKD SKMSTLSCKNK IISFEEMDPPENIDDIQSDLIFFQKRVP G H D K M E F E S S L Y E G H FLACQKEDDAFKLILKKKDENGDKSVMFTLTNLHQS (配列ID番号71)
mH3	YFGRLHCTTAVIRNINDQVLFVDKRQPVFEDMTDIDQSASEPQTRLIIYTRTDGGQKGV AVTLSVKD SKMSTL SCKNK IISFEEMDPPENIDDIQSDLIFFQKRVP G H D K M E F E S S L Y E G HFLACQKEDDAFKLILKKKDENGDKSVMFTLTNLHQS (配列ID番号72)

10

20

30

【0397】

40

【表 16 - 1】

ヒトデコイ対デコイ (D2D) バリエーションのアミノ酸配列

hD2D-5F12	HFGKLESKLSVIRNLNGQVLFIDQGNRPLFKDMTASDCRANAPRTIFIISFYKDSQ PRGMAVTISVKCEKISTLSCENKIISFKEMNPPDNIKDTKSDIIFIRSVPGADNKFQ FESSSYEGYFLACEKERDLFKLILKKEDELGDRSIMFTVQNE D (配列ID番号92)	
hD2D-5F11	DFGKLESKLSVIRNLNDQVLFIDQGNRPLFADMTDNP CRSNAPRTIFIISFYKDSQ PRGIAVTISVKCEKISTLSCENKIISFKEMNPPDNIKDTKSDIIFLRSVPGPDNKM QFESSSYEGYFLACEKERDLFKLILKKEDELGDRSIMFTVQNE D (配列ID番号93)	10
hD2D-5F10	HFGKLESKLSVIRNLNGQVLFIDQGNRPLFADMEASPCRDNAPRTIFIISFYKDSQ PRGLAVTISVKCEKISTLSCENKIISFKEMNPPDNIKDTKSDIIFLRSVPGHDNKM QFESSSYEGYFLACEKERDLFKLILKKEDELGDRSIMFTVQNE D (配列ID番号94)	
hD2D-5F08	LFGKLESKLSVIRNLNGQVLFIDQGNRPLFADMTSSPCRSRAPRTIFIISFYKDSQP RGFAVTISVKCEKISTLSCENKIISFKEMNPPDNIKDTKSDIIFIRSVPGHDNKIQF ESSSYEGYFLACEKERDLFKLILKKEDELGDRSIMFTVQNE D (配列ID番号95)	
hD2D-5F06	HFGKLESKLSVIRNLNDQVLFIDQGNRPLFTDMESKPCRDSAPRTIFIISMYKDSQ PRGIAVTISVKCEKISTLSCENKIISFKEMNPPDNIKDTKSDIIFIRSVPGHDNKFQ FESSSYEGYFLACEKERDLFKLILKKEDELGDRSIMFTVQNE D (配列ID番号96)	20
hD2D-5F04	YFGKLESKLSVIRNLNRQVLFIDQGNRPLFTDMTYKDCRDNAPRTIFIISFYKDSQ PRGF AVTISVKCEKISTLSCENKIISFKEMNPPDNIKDTKSDIIFIRSVPGADNKIQ FESSSYEGYFLACEKERDLFKLILKKEDELGDRSIMFTVQNE D (配列ID番号97)	
hD2D-5F02	HFGKLESKLSVIRNLNGQVLFIDQGNRPLFGDMEASPCRDNAPRTIFIISFYKDSQ PRGMAVTISVKCEKISTLSCENKIISFKEMNPPDNIKDTKSDIIFIRSVPGADNKLQ FESSSYEGYFLACEKERDLFKLILKKEDELGDRSIMFTVQNE D (配列ID番号98)	
hD2D-5F01	HFGKLESKLSVIRNLNGQVLFIDQGNRPLFTDMTSSDCRDKAPRTIFIISFYKDSQ PRGLAVTISVKCEKISTLSCENKIISFKEMNPPDNIKDTKSDIIFLRSVPGPDNKFQ FESSSYEGYFLACEKERDLFKLILKKEDELGDRSIMFTVQNE D (配列ID番号99)	30
hD2D-5E10	HFGKLESKLSVIRNLNGQVLFIDQGNRPLFADMESNRCDAPRTIFIISMYKDSQ PRGF AVTISVKCEKISTLSCENKIISFKEMNPPDNIKDTKSDIIFLRSVPGHDNKIQ FESSSYEGYFLACEKERDLFKLILKKEDELGDRSIMFTVQNE D (配列ID番号100)	

【表 16 - 2】

hD2D-5E08	YFGKLESKLSVIRNLNGQVLFIDQGNRPLFTDMTASPCRDNAPRTIFIISFYKDSQ PRGLAVTISVKCEKISTLS CENKIISFKEMNPPDNIKDTKSDIIFFLRSVPGH DNKI Q FESSSYEGYFLACEKERSLFLKILKKEDELGDRSIMFTVQ NED (配列ID番号101)	
hD2D-5E03	DFGKLESKLSVIRNLNDQVLFIDQGNRPLFADMKSNVCRANAPRTIFIISMYKDSQ PRGMAVTISVKCEKISTLS CENKIISFKEMNPPDNIKDTKSDIIFFLRSVPGPDNKLQ FESSSYEGYFLACEKERDLFLKILKKEDELGDRSIMFTVQ NED (配列ID番号102)	
hD2D-5E02	HFGKLESKLSVIRNLNGQVLFIDQGNRPLFGDMEASPCRACAPRTIFIISIYKDSQP RGFAVTISVKCEKISTLSCENKIISFKEMNPPDNIKDTKSDIIFFLRSVPGH DNKF Q FESSSYEGYFLACEKERSLFLKILKKEDELGDRSIMFTVQ NED (配列ID番号103)	10
hD2D-5D1 0	HFGKLESKLSVIRNLNGQVLFIDQGNRPLFADMASNRCRANAPRTIFIISMYKDSQ PRGFAVTISVKCEKISTLS CENKIISFKEMNPPDNIKDTKSDIIFFLRSVPGPDNKF Q FESSSYEGYFLACEKERDLFLKILKKEDELGDRSIMFTVQ NED (配列ID番号104)	
hD2D-5D0 8	YFGKLESKLSVIRNLNDQVLFIDQGNRPLFADMKAKACRSNAPRTIFIISFYKDSQ PRGFAVTISVKCEKISTLS CENKIISFKEMNPPDNIKDTKSDIIFFLRSVPGADNKI Q FESSSYEGYFLACEKERDLFLKILKKEDELGDRSIMFTVQ NED (配列ID番号105)	20
hD2D-5D0 6	HFGKLESKLSVIRNLNHQVLFIDQGNRPLFTDMADNACRDNAPRTIFIISFYKDSQ PRGLAVTISVKCEKISTLS CENKIISFKEMNPPDNIKDTKSDIIFFLRSVPGDDNKMQ FESSSYEGYFLACEKERDLFLKILKKEDELGDRSIMFTVQ NED (配列ID番号106)	
hD2D-5D0 5	YFGKLESKLSVIRNLNGQVLFIDQGNRPLFTDMKSNL CRSNAPRTIFIISFYKDSQ PRGIAVTISVKCEKISTLS CENKIISFKEMNPPDNIKDTKSDIIFFLRSVPGDDNKI QF ESSSYEGYFLACEKERDLFLKILKKEDELGDRSIMFTVQ NED (配列ID番号107)	
hD2D-5D0 3	HFGKLESKLSVIRNLNGQVLFIDQGNRPLFRDMAASHCRDSAPRTIFIISIYKDSQP RGFAVTISVKCEKISTLSCENKIISFKEMNPPDNIKDTKSDIIFFLRSVPGH DNKI QF ESSSYEGYFLACEKERDLFLKILKKEDELGDRSIMFTVQ NED (配列ID番号108)	30
hD2D-5D0 2	YFGKLESKLSVIRNLNDQVLFIDQGNRPLFADMASNP CRYKAPRTIFIISMYKDSQ PRGLAVTISVKCEKISTLS CENKIISFKEMNPPDNIKDTKSDIIFFLRSVPGADNKL QFESSSYEGYFLACEKERDLFLKILKKEDELGDRSIMFTVQ NED (配列ID番号109)	

【表 16 - 3】

hD2D-5C10	HFGKLESKLSVIRNLNGQVLFIDQGNRPLFTDMASNHCRYNAPRTIFIISMYKDSQ PRGLAVTISVKCEKISTLS CENKIISFKEMNPPDNIKDTKSDIIFLRSVPGADNKIQ FESSSYEGYFLACEKERDLFKLILKKEDELGDRSIMFTVQNE D (配列ID番号110)
hD2D-5C09	HFGKLESKLSVIRNLNGQVLFIDQGNRPLFADMTDNPCRSRAPRTIFIISFYKDSQ PRGMAVTISVKCEKISTLSCENKIISFKEMNPPDNIKDTKSDIIFLRSVPGHDNKF QFESSSYEGYFLACEKERDLFKLILKKEDELGDRSIMFTVQNE D (配列ID番号111)
hD2D-5C08	YFGKLESKLSVIRNLNGQVLFIDQGNRPLFTDMTASHCRSSAPRTIFIISLYKDSQP RGMMAVTISVKCEKISTLSCENKIISFKEMNPPDNIKDTKSDIIFLRSVPGHDNKFQ FESSSYEGYFLACEKERDLFKLILKKEDELGDRSIMFTVQNE D (配列ID番号112)
hD2D-5C05	YFGKLESKLSVIRNLNGQVLFIDQGNRPLFTDMEYRLCRANAPRTIFIISFYKDSH PRGLAVTISVKCEKISTLS CENKIISFKEMNPPDNIKDTKSDIIFLRSVPGDDNKL QFESSSYEGYFLACEKERDLFKLILKKEDELGDRSIMFTVQNE D (配列ID番号113)
hD2D-5C04	YFGKLESKLSVIRNLNGQVLFIDQGNRPLFTDMESSL CRDNAPRTIFIISLYKDSQP RGMMAVTISVKCEKISTLSCENKIISFKEMNPPDNIKDTKSDIIFLRSVPGADNKFQ FESSSYEGYFLACEKERSLFLKILKKEDELGDRSIMFTVQNE D (配列ID番号114)
hD2D-5C03	YFGKLESKLSVIRNLNGQVLFIDQGNRPLFKDMEANDCRSSAPRTIFIISLYKDSQP RGLAVTISVKCEKISTLSCENKIISFKEMNPPDNIKDTKSDIIFLRSVPGADNKMQF ESSSYEGYFLACEKERDLFKLILKKEDELGDRSIMFTVQNE D (配列ID番号115)
hD2D-5B11	DFGKLESKLSVIRNLNDQVLFIDQGNRPLFADMKASACRANAPRTIFIISMYKDSQ PRGLAVTISVKCEKISTLS CENKIISFKEMNPPDNIKDTKSDIIFLRSVPGHDNKF QFESSSYEGYFLACEKERDLFKLILKKEDELGDRSIMFTVQNE D (配列ID番号116)
hD2D-5B10	YFGKLESKLSVIRNLNGQVLFIDQGNRPLFGDMTAKHCRARAPRTIFIISFYKDSQ PRGMAVTISVKCEKISTLSCENKIISFKEMNPPDNIKDTKSDIIFLRSVPGADNKFQ FESSSYEGYFLACEKERDLFKLILKKEDELGDRSIMFTVQNE D (配列ID番号117)
hD2D-5B06	FFGKFESKLSVIRNLNGQVLFIDQGNRPLFTDMESKDCRDRAPRTIFIISFYKDSQ PRGLAVTISVKCEKISTLS CENKIISFKEMNPPDNIKDTKSDIIFLRSVPGHDNKL QFESSSYEGYFLACEKERDLFKLILKKEDELGDRSIMFTVQNE D (配列ID番号118)

10

20

30

【表 16 - 4】

hD2D-5B05	FFGKLESKLSVIRNLNGQVLFIDQGNRPLFADMASNHCRANAPRTIFIISLYKDSQ PRGLAVTISVKCEKISTLS CENKIISPKEMNPPDNIKDTKS DIIFFIRSVPGH DNKM QFESSSYEGYFLACEKERDLFKLILKKEDELGDRSIMFTVQNE D (配列ID番号11 9)	
hD2D-5B02	YFGKLESKLSVIRNLNGQVLFIDQGNRPLFADMTSKRCRDNAPRTIFIISLYKDSQ PRGFAVTISVKCEKISTLS CENKIISPKEMNPPDNIKDTKS DIIFFIRSVPGH DNKIQ FESSSYEGYFLACEKERDLFKLILKKEDELGDRSIMFTVQNE D (配列ID番号120)	
hD2D-5A09	LFGKHESKLSVIRNLNGQVLFIDQGNRPLFGDMESSPCRYNAPRTIFIISFYKDSQ PRGLAVTISVKCEKISTLS CENKIISPKEMNPPDNIKDTKS DIIFFIRSVPGH DNKM QFESSSYEGYFLACEKERDLFKLILKKEDELGDRSIMFTVQNE D (配列ID番号12 1)	10
hD2D-5A02	YFGKLESKLSVIRNLNAQVLFIDQGNRPLFTDMTASPCRSSAPRTIFIISLYKDSQP RGLAVTISVKCEKISTLSCENKIISPKEMNPPDNIKDTKSDIIFFLRSVPGPDNKIQF ESSSYEGYFLACEKERDLFKLILKKEDELGDRSIMFTVQNE D (配列ID番号122)	
hD2D-CS1	YFGKLESKLSVIRNLNGQVLFIDQGNRPLFADMTDSDCRDNAPRTIFIISMYKDSQ PRGMAVTISVKCEKISTLSCENKIISPKEMNPPDNIKDTKSDIIFFLRSVPGH DNKM QFESSSYEGYFLACEKERDLFKLILKKEDELGDRSIMFTVQNE D (配列ID番号12 3)	20
hD2D-CS2	YFGKLESKLSVIRNLNGQVLFIDQGNRPLFADMTSSDCRDNAPRTIFIISFYKDSQ PRGMAVTISVKCEKISTLSCENKIISPKEMNPPDNIKDTKSDIIFFLRSVPGH DNKM QFESSSYEGYFLACEKERDLFKLILKKEDELGDRSIMFTVQNE D (配列ID番号12 4)	
hD2D-CS3	YFGKLESKLSVIRNLNGQVLFIDQGNRPLFADMESSDCRDNAPRTIFIISFYKDSQ PRGLAVTISVKCEKISTLS CENKIISPKEMNPPDNIKDTKS DIIFFLRSVPGH DNKM QFESSSYEGYFLACEKERDLFKLILKKEDELGDRSIMFTVQNE D (配列ID番号12 5)	30

【 0 3 9 8 】

【表 17 - 1】

マウスデコイ対デコイ (D2D) バリエーションのアミノ酸配列

mD2D-A5	YFGRYHCTTAVIRNINQVLFVDKRQPVFADMGYTVQASASEPQTRLIIYMYKDSE VRGLAVTLVSKDSKMSTLSCNKNKISFEEMDPPENIDDIQSDLIFFLKEVPGHRKLE FESSLYEGHFLACQKEDAEFKLILKKKDENGDKSVMFTLTNLHQS (配列ID番号 126)
mD2D-A6	DFGRLHCTTAVIRNINDQVLFVDKRQPVFADMGSIQASASEPQTRLIIYFYKDSEV RGLAVTLVSKDSKMYTLSCNKNKISFEEMDPPENIDDIQSDLIFFLKAVPGDNKIEFE SSLYEGHFLACQKEATAFKLILKKKDENGDKSVMFTLTNLHQS (配列ID番号127)
mD2D-A7	YFGRLHCTTAVIRNINGQVLFVDKRQPVFRDMADTVQASASEPQTRLIIYFYKDSEV RGLAVTLVSKDSKMSTLSCNKNKISFEEMDPPENIDDIQSDLIFFIKPVPGASKMEFE SSLYEGHFLACQKEAGAFKLILKKKDENGDKSVMFTLTNLHQS (配列ID番号12 8)
mD2D-A8	HFGRLHCTTAVIRNINDQVLFVDKRQPVFKDMEYTVQASASEPQTRLIIYMYKDSE VRGLAVTLVSKDSKMSTLSCNKNKISFEEMDPPENIDDIQSDLIFFIKAVPGDRKIEF ESSLYEGHFLACQKEDNAFKLILKKKDENGDKSVMFTLTNLHQS (配列ID番号1 29)
mD2D-A9	YFGRLHCTTAVIRNINAQVLFVDKRQPVFADMADKQASASEPQTRLIIYMYKDSE VRGLAVTLVSKDSKMSTLSCNKNKISFEEMDPPENIDDIQSDLIFFLKPVPGDTKME FESSLYEGHFLACQKEFGAFKLILKKKDENGDKSVMFTLTNLHQS (配列ID番号 130)
mD2D-A1 1	YFGRLHCTTAVIRNINEQVLFVDKRQPVFADMCDRHQSASEPQTRLIIYMYKDSE VRGLAVTLVSKDSKMSTLSCNKNKISFEEMDPPENIDDIQSDLIFFIKPVPGASKLEF ESSLYEGHFLACQKEDDAFKLILKKKDENGDKSVMFTLTNLHQS (配列ID番号1 31)
mD2D-A1 2	HFGRLHCTTAVIRNINDQVLFVDKRQPVFRDMGAIGQASASEPQTRLIIYFYKDSEV RGLAVTLVSKDSKMSTLSCNKNKISFEEMDPPENIDDIQSDLIFFIKPVPGDKLEFE SSLYEGHFLACQKEVDAFKLILKKKDENGDKSVMFTLTNLHQS (配列ID番号13 2)
mD2D-B4	HFGRLHCTTAVIRNINSQVLFVDKRQPVFTDMGSIQASASEPQTRLIIYMYKDSEV RGLAVTLVSKDSKMSTLSCNKNKISFEEMDPPENIDDIQSDLIFFIKGVPGDNKIEFE SSLYEGHFLACQKEDRAFKLILKKKDENGDKSVMFTLTNLHQS (配列ID番号133)
mD2D-B7	YFGRLHCTTAVIRNINSQVLFVDKRQPVFRDMEDTPQASASEPQTRLIIYFYKDSEV RGLAVTLVSKDSKMSTLSCNKNKISFEEMDPPENIDDIQSDLIFFIKRVPGDKLEFE SSLYEGHFLACQKEFEAFKLILKKKDENGDKSVMFTLTNLHQS (配列ID番号134)

10

20

30

【表 17 - 2】

mD2D-B1 1	HFGRLHCTTAVIRNINAQVLFVDKRQPVFGDMTATVQSASEPQTRLIIYFYKDSEV RGLAVTLSVKDSKMSTLSCKNKIISFEEMDPPENIDDIQSDLIFFIKPVPGSKLEFE SSLYEGHFLACQKEDNAFKLILKKKDENGDKSVMFTLTNLHQS (配列ID番号135)
mD2D-B1 2	NFGRLHCTTAVIRNINQVLFVDKRQPVFKDMEYTLQSASEPQTRLIIYFYKDSEV RGLAVTLSVKDSKMSTLSCKNKIISFEEMDPPENIDDIQSDLIFFIKPVPGDNKLEFE SSLYEGHFLACQKEYEAFKLILKKKDENGDKSVMFTLTNLHQS (配列ID番号136)
mD2D-C1	YFGRLHCTTAVIRNINGQVLFVDKRQPVFADMEATRQSASEPQTRLIIYFYKDSEV RGLAVTLSVKDSKMSTLSCKNKIISFEEMDPPENIDDIQSDLIFFIKGVPGANKMEF ESSLYEGHFLACQKEDGAFKLILKKKDENGDNSVMFTLTNLHQS (配列ID番号137)
mD2D-C3	NFGRLHCTTAVIRNINGQVLFVDKRQPVFADMRAILQSASEPQTRLIIYFYKDSEV RGLAVTLSVKDSKMSTLSCKNKIISFEEMDPPENIDDIQSDLIFFIKGVPGDNKLEF ESSLYEGHFLACQKEDRAFKLILKKKDENGDKSVMFTLTNLHQS (配列ID番号138)
mD2D-C5	YFGRLHCTTAVIRNINAQVLFVDKRQPVFADMEATAQSASEPQTRLIIYFYKDSEV RGLAVTLSVKDSKMSTLSCKNKIISFEEMDPPENIDDIQSDLIFFIKGVPGASKMEFE SSLYEGHFLACQKEDGAFKLILKKKDENGDKSVMFTLTNLHQS (配列ID番号139)
mD2D-C6	LFGRLHCTTAVIRNINGQVLFVDKRQPVFADMGATLQSASEPQTRLIIYMYKDSE VRGLAVTLSVKDSKMSTLSCKNKIISFEEMDPPENIDDIQSDLIFFIKPVPGDTKME FESSLYEGHFLACQKEASAFKLILKKKDENGDKSVMFTLTNLHQS (配列ID番号140)
mD2D-C9	NFGRLHCTTAVIRNINGQVLFVDKRQPVFEDMAYTVQSASEPQTRLIIYFYKDSEV RGLAVTLSVKDSKMSTLSCKNKIISFEEMDPPENIDDIQSDLIFFIKGVPGDSKMEFE SSLYEGHFLACQKEYDAFKLILKKKDENGDKSVMFTLTNLHQS (配列ID番号141)
mD2D-C1 0	DFGRLHCTTAVIRNINDQVLFVDKRQPVFKDMESKPPQSASEPQTRLIIYFYKDSEV RGLAVTLSVKDSKMSTLSCKNKIISFEEMDPPENIDDIQSDLIFFIKAVPGASKLEFE SSLYEGHFLACQKEANAFKLILKKKDENGDKSVMFTLTNLHQS (配列ID番号142)
mD2D-C1 1	LFGRLHCTTAVIRNINGQVLFVDKRQPVFADMGDVQSASEPQTRLIIYMYKDSE VRGLAVTLSVKDSKMSTLSCKNKIISFEEMDPPENIDDIQSDLIFFIKPVPGDNKLEF ESSLYEGHFLACQKEDFAFKLILKTKDENGDKSVMFTLTNLHQS (配列ID番号143)

10

20

30

【表 17 - 3】

mD2D-D1	YFGRHHCTTAVIRNINQQVLFVDKRQPVFRDMAATRQSASEPQTRLIHYMYKDSE VRGLAVTLSVKDSKMSTLSCKNKIISFEEMDPPENIDDIQSDLIFFLKGVPKDNKME FESSLYEGHFLACQKEDDAFKLILKKKDENGDKSVMFTLTNLHQS (配列ID番号 144)
mD2D-D9	NFGRLHCTTAVIRNINQQVLFVDKRQPVFTDMESIGQSASEPQTRLIHYFYKDSEV RGLAVTLSVKDSKMSTLSCKNKIISFEEMDPPENIDDIQSDLIFFLKA VPGANKLEF ESSLYEGHFLACQKEDSAFKLILKKKDENGDKSVMFTLTNLHQS (配列ID番号14 5)
mD2D-D1 2	FFGRHHCTTAVIRNINGQVLFVDKRQPVFGDMGDRVQSASEPQTRLIHYMYKDSE VRGLAVTLSVKDSKMSTLSCKNKIISFEEMDPPENIDDIQSDLIFFIKAVPGDSKIEF ESSLYEGHFLACQKEDGAFKLILKKKDENGDKSVMFTLTNLHQS (配列ID番号1 46)
mD2D-E3	VFGRHHCTTAVIRNINGQVLFVDKRQPVFKDMTYIDQSASEPQTRLIHYMYKDSEV RGLAVTLSVKDSKMSTLSCKNKIISFEEMDPPENIDDIQSDLIFFLKA VPGDTKMEF ESSLYEGHFLACQKEAQAFLKILKKKDEIGDKSVMFTLTNLHQS (配列ID番号14 7)
mD2D-E4	NFGRLHCTTAVIRNINGQVLFVDKRQPVFADMTATRQSASEPQTRLIHYMYKDSE VRGLAVTLSVKDSKMSTLSCKNKIISFEEMDPPENIDDIQSDLIFFIKQVPGANKIEF ESSLYEGHFLACQKEFRAFKLILKKKDENGDKSVMFTLTNLHQS (配列ID番号14 8)
mD2D-E5	DFGRLHCTTAVIRNINGQVLFVDKRQPVFGDMAYIGQSASEPQTRLIHYFYKDSEV RGLAVTLSVKDSKMSTLSCKNKIISFEEMDPPENIDDIQSDLIFFIKAVPGHASKIEFES SLYEGHFLACQKESGAFKLILKKKDENGDKSVMFTLTNLHQS (配列ID番号149)
mD2D-E7	YFGRHHCTTAVIRNINDQVLFVDKRQPVFRDMGSIAQSASEPQTRLIHYMYKDSEV RGLAVTLSVKDSKMSTLSCKNKIISFEEMDPPENIDDIQSDLIFFIKPVPGATKLEFE SSLYEGHFLACQKEDGAFKLILKKKDENGDNVSMFTLTNLHQS (配列ID番号15 0)
mD2D-E8	YFGRHHCTTAVIRNINEQVLFVDKRQPVFTDMEAIGQSASEPQTRLIHYFYKDSEV RGLAVTLSVKDSKMSTLSCKNKIISFEEMDPPENIDDIQSDLIFFIKGVPGDRKMEF ESSLYEGHFLACQKEDGAFKLILKKKDENGDKSVMFTLTNLHQS (配列ID番号1 51)
mD2D-E9	FFGRLHCTTAVIRNINQQVLFVDKRQPVFEDMEYRLQSASEPQTRLIHYMYKDSEV RGLAVTLSVKDSKMSTLSCKNKIISFEEMDPPENIDDIQSDLIFFLKPVPGASKLEFE SSLYEGHFLACQKESDAFKLILKKKDENGDKSVMFTLTNLHQS (配列ID番号152)
mD2D-E1 0	NFGRLHCTTAVIRNINQQVLFVDKRQPVFADMEDRLQSASEPQTRLIHYMYKDSEV RGLAVTLSVKDSKMSTLSCKNKIISFEEMDPPENIDDIQSDLIFFLKGVPKDNKMEF ESSLYEGHFLACQKEDHAFKLILKKKDENGDKSVMFTLTNLHQS (配列ID番号1 53)

10

20

30

40

【表 17 - 4】

mD2D-E1 1	YFGRLHCTTAVIRNINAQVLFVDRQPVFRDMGYILQSASEPQTRLIIYLYKDSEVR GLAVTLSVKESKMSTLSCKNKIISFEEMDPPENIDDIQSDLIFFLKVPVPGDTKIEFES SLYEGHFLACQKEDNAFKLILKKKDENGDKSVMFTLTNLHQS (配列ID番号154)	
mD2D-E1 2	YFGRLHCTTAVIRNINDQVLFVDRQPVVFGDMADTAQSASEPQTRLIIYFYKDSEVR RGLAVTLSVKDSKMSTLSCKNKIISFEEMDPPENIDDIQSDLIFFIKVPVPGDSKMEFE SSLYEGHFLACQKEADAFKLILKKKDENGDKSVMFTLTNLHQS (配列ID番号15 5)	
mD2D-F3	DFGRLHCTTAVIRNINGQVLFVDRQPVFEDMAYIAQSASEPQTRLIIYFYKDSEVR RGLAVTLSVKDSKMSTLSCKNKIISFEEMDPPENIDDIQSDLIFFIKVPVPGDSKIEFES SLYEGHFLACQKEADAFKLILKKKDENGDKSVMFTLTNLHQS (配列ID番号156)	10
mD2D-F4	NFGRLHCTTAVIRNINEQVLSVDRQPVFRDMKYILQSASEPQTRLIIYFYKDSEVR GLAVTLSVKDSKMSTLSCKNKIISFEEMDPPENIDDIQSDLIFFLKGVPVPGDNKMEFE SSLYEGHFLACQKEYGAFKLILKKKDENGDKSVMFTLTNLHQS (配列ID番号157)	
mD2D-F5	DFGRLHCTTAVIRNINEQVLFVDRQPVFTDMAYILQSASEPQTRLIIYFYKDSEVR GLAVTLSVKESKMSTLSCKNKIISFEEMDPPENIDDIQSDLIFFIKAVPGDSKLEFES SLYEGHFLACQKEDTAFKLILKKKDENGDKSVMFTLTNLHQS (配列ID番号158)	20
mD2D-F7	DFGRLHCTTAVIRNINQVLFVDRQPVFKDMESTAQSASEPQTRLIIYMYKDSEVR RGLAVTLSVKDSKMSTLSCKNKIISFEEMDPPENIDDIQSDLIFFLKGVPVPGASKLEF ESSLYEGHFLACQKEAGAFKLILKKKDENGDKSVMFTLTNLHQS (配列ID番号1 59)	
mD2D-F8	HFGRLHCTTAVIRNINEQVLFVDRQPVFADMEAIGQSASEPQTRLIIYFYKDSEVR RGLAVTLSVKESKMSTLSCKNKIISFEEMDPPENIDDIQSDLIFFIKGVPGDTKLEFE SSLYAGHFLACQKEDGAFKLILKKKDENGDKSVMFTLTNLHQS (配列ID番号16 0)	
mD2D-F9	IFGRLHCTTAVIRNINEQVLFVDRQPVFKDMRYIVQSASEPQTRLIIYFYKDSEVR GLAVTLSVKDSKMSTLSCKNKIISFEEMDPPENIDDIQSDLIFFIKVPGASKLEFES SLYEGHFLACQKEDAEAFKLILKKKDENGDKSVMFTLTNLHQS (配列ID番号161)	30
mD2D-G1	YFGRLHCTTAVIRNINAQVLFVDRQPVFTDMGYTLQSASEPQTRLIIYLYKDSEVR RGLAVTLSVKDSKMSTLSCKNKIISFEEMDPPENIDDIQSDLIFFIKVPVPGHNKIEFE SSLYEGHFLACQKEDRAFKLILKKKDENGDKSVMFTLTNLHQS (配列ID番号162)	
mD2D-G7	NFGRLHCTTAVIRNINQVLFVDRQPVFRDMASTAQSASEPQTRLIIYMYKDSEVR RGLAVTLSVKDSKMSTLSCKNKIISFEEMDPPENIDDIQSDLIFFIKGVPGANKIEFE SSLYEGHFLACQKEDDAFKLILKKKDENGDKSVMFTLTNLHQS (配列ID番号16 3)	

【表 17 - 5】

mD2D-G9	DFGR LHCTTAVIRNINGQVLFVDKRQPVFEDMKDRAQSASEPQTRLIIYFYKDSEV RGLAVTLSVKDSKMSTLSCKNKIISFEEMDPPENIDDIQSDLIFFLKAVPGHSKMEF ESSLYEGHFLACQKEDAEAFKLILKKKDENGDKSVMFTLTNLHQS (配列ID番号1 64)
mD2D-H7	NFGRLHCTTAVIRNINEQVLFVDKRQPVFADMTDIAQSASEPQTRLIIYMYKDSEV RGLAVTLSVKESKMSTLSCKNKIISFEEMDPPENIDDIQSDLIFFLKVPVPGDKMEFE SSLYEGHFLACQKEYGAFKLILKKKDENGDN SVMFTLTNLHQS (配列ID番号165)
mD2D-E1	YFGRLHCTTAVIRNINEQVLFVDKRQPVFADMTDTLQSASEPQTRLIIYFYKDSEV RGLAVTLSVKDSKMSTLSCKNKIISFEEMDPPENIDDIQSDLIFFLKGVP GDNKMEF ESSLYEGHFLACQKEDTAFKLILKKKDENGDKSVMFTLTNLHQS (配列ID番号1 66)
mD2D-G8	YFGRLHCTTAVIRNINEQVLFVDKRQPVFADMTDTLQSASEPQTRLIIYFYKDSEV RGLAVTLSVKDSKMSTLSCKNKIISFEEMDPPENIDDIQSDLIFFLKGVP GDNKMEF ESSLYEGHFLACQKEDTAFKLILKKKDENGDKSVMFTLTNLHQS (配列ID番号1 67)
mD2D-H3	YFGRLHCTTAVIRNINEQVLFVDKRQPVFADMTDTLQSASEPQTRLIIYFYKDSEV RGLAVTLSVKDSKMSTLSCKNKIISFEEMDPPENIDDIQSDLIFFLKGVP GDNKMEF ESSLYEGHFLACQKEDTAFKLILKKKDENGDKSVMFTLTNLHQS (配列ID番号1 68)
mD2D-A1 0	HFGRLHCTTAVIRNINGQVLFVDKRQPVFKDMKYIVQSASEPQTRLIIYMYKDSEV RGLAVTLSVKDSKMSTLSCKNKIISFEEMDPPENIDDIQSDLIFFLKAVPGHSKIEFE SSLYEGHFLACQKEDSAFKLILKKKDENGDKSVMFTLTNLHQS (配列ID番号169)
mD2D-H1	HFGRLHCTTAVIRNINGQVLFVDKRQPVFKDMKYIVQSASEPQTRLIIYMYKDSEV RGLAVTLSVKDSKMSTLSCKNKIISFEEMDPPENIDDIQSDLIFFLKAVPGHSKIEFE SSLYEGHFLACQKEDSAFKLILKKKDENGDKSVMFTLTNLHQS (配列ID番号170)
mD2D-F1 2	YFGRLHCTTAVIRNINGQVLFVDKRQPVFEDMKAKAQSASEPQTRLIIYFYKDSEV RGLAVTLSVKDSKMSTLSCKNKIISFEEMDPPENIDDIQSDLIFFIKP VPGASKMEFE SSLYEGHFLACQKEDGAFKLILKKKDENGDKSVMFTLTNLHQS (配列ID番号17 1)
mD2D-G1 0	YFGRLHCTTAVIRNINGQVLFVDKRQPVFEDMKAKAQSASEPQTRLIIYFYKDSEV RGLAVTLSVKDSKMSTLSCKNKIISFEEMDPPENIDDIQSDLIFFIKP VPGASKMEFE SSLYEGHFLACQKEDGAFKLILKKKDENGDKSVMFTLTNLHQS (配列ID番号17 2)
mD2D-G1 2	YFGRLHCTTAVIRNINGQVLFVDKRQPVFEDMKAKAQSASEPQTRLIIYFYKDSEV RGLAVTLSVKDSKMSTLSCKNKIISFEEMDPPENIDDIQSDLIFFIKP VPGASKMEFE SSLYEGHFLACQKEDGAFKLILKKKDENGDKSVMFTLTNLHQS (配列ID番号17 3)

10

20

30

40

【表 17 - 6】

mD2D-E2	LFGRLHCTTAVIRNINGQVLFVDRQPVFVFGDMGSIPQSASEPQTRLIIFYKDSEVR GLAVTLSVKDSKMSTLSCKNKIIISFEEMDPPENIDDIQSDLIFFIKHVPGATKMEFES SLYEGHFLACQKEDNAFKLILKKKDENGDKSVMFTLTNLHQS (配列ID番号174)
mD2D-G1 1	LFGRLHCTTAVIRNINGQVLFVDRQPVFVFGDMGSIPQSASEPQTRLIIFYKDSEVR GLAVTLSVKDSKMSTLSCKNKIIISFEEMDPPENIDDIQSDLIFFIKHVPGATKMEFES SLYEGHFLACQKEDNAFKLILKKKDENGDKSVMFTLTNLHQS (配列ID番号175)
mD2D-C4	YFGRLHCTTAVIRNINSQVLFVDRQPVFVTDMA YTVQSASEPQTRLIIFYKDSEV RGLAVTLSVKDSKMSTLSCKNKIIISFEEMDPPENIDDIQSDLIFFIKAVPGDSKLEFE SSLYEGHFLACQKEDNAFKLILKKKDENGDKSVMFTLTNLHQS (配列ID番号176)
mD2D-F1 1	YFGRLHCTTAVIRNINSQVLFVDRQPVFVTDMA YTVQSASEPQTRLIIFYKDSEV RGLAVTLSVKDSKMSTLSCKNKIIISFEEMDPPENIDDIQSDLIFFIKAVPGDSKLEFE SSLYEGHFLACQKEDNAFKLILKKKDENGDKSVMFTLTNLHQS (配列ID番号177)
mD2D-C2	YFGRLHCTTAVIRNINGQVLFVDRQPVFVTDMGARVQSASEPQTRLIIFYKDSEV RGLAVTLSVKDSKMYTLSCKNKIIISFEEMDPPENIDDIQSDLIFFLKPVPGDNKLEF ESSLYEGHFLACQKESGAFKILILKKKDENGDKSVMFTLTNLHQS (配列ID番号178)
mD2D-F1 0	YFGRLHCTTAVIRNINGQVLFVDRQPVFVTDMGARVQSASEPQTRLIIFYKDSEV RGLAVTLSVKDSKMYTLSCKNKIIISFEEMDPPENIDDIQSDLIFFLKPVPGDNKLEF ESSLYEGHFLACQKESGAFKILILKKKDENGDKSVMFTLTNLHQS (配列ID番号179)
mD2D-A2	DFGRLHCTTAVIRNINGQVLFVDRQPVFVFGDMKATGQSASEPQTRLIIFYKDSE VRGLAVTLSVKDSKMSTLSCKNKIIISFEEMDPPENIDDIQSDLIFFIKAVPGANKLEF ESSLYEGHFLACQKEAGAFKILILKKKDENGDKSVMFTLTNLHQS (配列ID番号180)
mD2D-F6	DFGRLHCTTAVIRNINGQVLFVDRQPVFVFGDMKATGQSASEPQTRLIIFYKDSE VRGLAVTLSVKDSKMSTLSCKNKIIISFEEMDPPENIDDIQSDLIFFIKAVPGANKLEF ESSLYEGHFLACQKEAGAFKILILKKKDENGDKSVMFTLTNLHQS (配列ID番号181)
mD2D-A1	DFGRLHCTTAVIRNINSQVLFVDRQPVFRDMGSIHQSASEPQTRLIIFYKDSEVR GLAVTLSVKDSKMSTLSCKNKIIISFEEMDPPENIDDIQSDLIFFLKA VPGANKLEFE SSLYEGHFLACQKEDGAFKILILKKKDENGDKSVMFTLTNLHQS (配列ID番号182)
mD2D-E6	DFGRLHCTTAVIRNINSQVLFVDRQPVFRDMGSIHQSASEPQTRLIIFYKDSEVR GLAVTLSVKDSKMSTLSCKNKIIISFEEMDPPENIDDIQSDLIFFLKA VPGANKLEFE SSLYEGHFLACQKEDGAFKILILKKKDENGDKSVMFTLTNLHQS (配列ID番号183)

10

20

30

40

【表 17 - 7】

mD2D-D4	YFGRLHCTTAVIRNINEQVLFVDKRQPVFKDMKDKLQSASEPQTRLIIYFYKDSEV RGLAVTLSVKDSKMSTLSCKNKIISFEEMDPPENIDDIQSDLIFFLKGVPDGNKLEF ESSLYEGHFLACQKEFGAFKLILKKKDENGDKSVMFTLTNLHQS (配列ID番号1 84)	
mD2D-D6	YFGRLHCTTAVIRNINEQVLFVDKRQPVFKDMKDKLQSASEPQTRLIIYFYKDSEV RGLAVTLSVKDSKMSTLSCKNKIISFEEMDPPENIDDIQSDLIFFLKGVPDGNKLEF ESSLYEGHFLACQKEFGAFKLILKKKDENGDKSVMFTLTNLHQS (配列ID番号1 85)	
mD2D-A3	YFGRLHCTTAVIRNINGQVLFVDKRQPVFADMASTHQSASEPQTRLIIYFYKDSEV RGLAVTLSVKDSKMSTLSCKNKIISFEEMDPPENIDDIQSDLIFFLKGVPGANKIEFE SSLYEGHFLACQKEDDAFKLILKKKDENGDKSVMFTLTNLHQS (配列ID番号18 6)	10
mD2D-A4	YFGRLHCTTAVIRNINGQVLFVDKRQPVFADMASTHQSASEPQTRLIIYFYKDSEV RGLAVTLSVKDSKMSTLSCKNKIISFEEMDPPENIDDIQSDLIFFLKGVPGANKIEFE SSLYEGHFLACQKEDDAFKLILKKKDENGDKSVMFTLTNLHQS (配列ID番号18 7)	
mD2D-B1 0	YFGRLHCTTAVIRNINGQVLFVDKRQPVFADMASTHQSASEPQTRLIIYFYKDSEV RGLAVTLSVKDSKMSTLSCKNKIISFEEMDPPENIDDIQSDLIFFLKGVPGANKIEFE SSLYEGHFLACQKEDDAFKLILKKKDENGDKSVMFTLTNLHQS (配列ID番号18 8)	20
mD2D-B8	YFGRLHCTTAVIRNINSQVLFVDKRQPVFGDMKYIVQSASEPQTRLIIYFYKDSEVR GLAVTLSVKDSKMSTLSCKNKIISFEEMDPPENIDDIQSDLIFFLKGVPDGTKMEFE SSLYEGHFLACQKESGAFKLILKKKDENGDKSVMFTLTNLHQS (配列ID番号189)	
mD2D-B9	YFGRLHCTTAVIRNINSQVLFVDKRQPVFGDMKYIVQSASEPQTRLIIYFYKDSEVR GLAVTLSVKDSKMSTLSCKNKIISFEEMDPPENIDDIQSDLIFFLKGVPDGTKMEFE SSLYEGHFLACQKESGAFKLILKKKDENGDKSVMFTLTNLHQS (配列ID番号190)	

【0399】

本開示の非限定的な代表的側面

30

【0400】

上に説明した本発明の主題のさまざまな側面（実施態様を含む）は、単独で、または1つ以上の他の側面または実施態様との組み合わせで、有益である可能性がある。これまでの記述に限定されることなく、本開示のいくつかの非限定的な側面を以下にセットAとセットBとして提示する。本開示を読んだ当業者には明らかなように、個別に番号を付けたそれぞれの側面のどれを利用してもよいし、個別に番号を付けたそれぞれの側面を、上記の側面、または下記の個別に番号を付けた側面のどれと組み合わせで利用してもよい。それは、側面のそのようなあらゆる組み合わせをサポートするためであり、下に明示的に提示する側面の組み合わせに限定されない。当業者には、本発明の本質または範囲を逸脱することなく、さまざまな変更や改変をなすことが可能であることは明らかであろう。

40

【0401】

セットA

【0402】

1. IL-18バリエーションポリペプチドを含む組成物であって、そのIL-18バリエーションポリペプチドがIL-18受容体（IL-18R）に特異的に結合するとともに、そのIL-18バリエーションポリペプチドがIL-18結合タンパク質（IL-18BP）に対して実質的に減少した結合を示す組成物。

【0403】

2. 前記IL-18バリエーションポリペプチドが、野生型（WT）IL-18に対し少なくとも1個の突然変異を含む、項1に記載の組成物。

50

【 0 4 0 4 】

3. 前記WT IL-18が、配列ID番号30のアミノ酸配列を含むヒトIL-18である、項2に記載の組成物。

【 0 4 0 5 】

4. 前記WT IL-18が、配列ID番号31のアミノ酸配列を含むマウスIL-18である、項2に記載の組成物。

【 0 4 0 6 】

5. 前記IL-18バリエーションポリペプチドが、配列ID番号30に対し、Y1X、L5X、K8X、M51X、K53X、S55X、Q56X、P57X、G59X、M60X、E77X、Q103X、S105X、D110X、N111X、M113X、V153X、N155Xからなるグループから選択された少なくとも1個の突然変異を含む、項3に記載の組成物。

10

【 0 4 0 7 】

6. 前記IL-18バリエーションポリペプチドが、配列ID番号30に対し、Y1H、Y1R、L5H、L5I、L5Y、K8Q、K8R、M51T、M51K、M51D、M51N、M51E、M51R、K53R、K53G、K53S、K53T、S55K、S55R、Q56E、Q56A、Q56R、Q56V、Q56G、Q56K、Q56L、P57L、P57G、P57A、P57K、G59T、G59A、M60K、M60Q、M60R、M60L、E77D、Q103E、Q103K、Q103P、Q103A、Q103R、S105R、S105D、S105K、S105N、S105A、D110H、D110K、D110N、D110Q、D110E、DUOS、D110G、N111H、N111Y、N111D、N111R、N111S、N111G、M113V、M113R、M113T、M113K、V153I、V153T、V153A、N155K、およびN155Hからなるグループから選択された少なくとも1個の突然変異を含む、項3に記載の組成物。

20

【 0 4 0 8 】

7. 前記IL-18バリエーションポリペプチドが、配列ID番号34、配列ID番号35、配列ID番号36、配列ID番号37、配列ID番号38、配列ID番号39、配列ID番号40、配列ID番号41、配列ID番号42、配列ID番号43、配列ID番号44、配列ID番号45、配列ID番号46、配列ID番号47、配列ID番号48、配列ID番号49、配列ID番号50、配列ID番号51、配列ID番号52、配列ID番号53、配列ID番号54、配列ID番号55、配列ID番号56、配列ID番号57、配列ID番号58、配列ID番号59、配列ID番号60、配列ID番号61、配列ID番号62、配列ID番号63、配列ID番号64、配列ID番号65、配列ID番号66、配列ID番号67、配列ID番号68、配列ID番号69、配列ID番号70、配列ID番号71、配列ID番号72、配列ID番号73、配列ID番号74、配列ID番号75、配列ID番号76、配列ID番号77、配列ID番号78、配列ID番号79、配列ID番号80、配列ID番号81、配列ID番号82、配列ID番号83、配列ID番号84、配列ID番号85、配列ID番号86、配列ID番号87、配列ID番号88、配列ID番号89、配列ID番号90、配列ID番号91からなるグループから選択された少なくとも1つのIL-18バリエーションポリペプチドを含む、項2に記載の組成物。

30

【 0 4 0 9 】

8. 前記IL-18バリエーションポリペプチドが、配列ID番号31に対し、N1X、M50X、Y51X、K52X、S54X、E55X、V56X、R57X、G58X、L59X、R104X、N109X、およびL151Xからなるグループから選択された少なくとも1個の突然変異を含む、項4に記載の組成物。

【 0 4 1 0 】

9. 前記IL-18バリエーションポリペプチドが、配列ID番号31に対し、N1H、N1Y、M50A、M50S、M50V、M50G、M50T、Y51R、K52V、K52S、K52T、K52G、K52A、S54R、S54K、S54G、S54N、E55R、E55H、E55N、E55D、E55G、V56L、V56M、V56R、V56A、V56S、V56Q、R57G、R57K、G58A、L59K、L59R、L59V、R104K、R104L、R104Q、R104S、N109D、およびL151Vからなるグループから選択された少なくとも1個の突然変異を含む、項4に記載の組成物。

40

【 0 4 1 1 】

10. 前記IL-18バリエーションポリペプチドが、配列ID番号60、配列ID番号61、配列ID番号62、配列ID番号63、配列ID番号64、配列ID番号65、配列ID番号66、配列ID番号67、配列ID番号68、配列ID番号69、配列ID番号70、配列ID番号71、配列ID番号72からなるグループから選択された少なくとも1つのIL-18バリエーションポリペプチド、またはその断片を含む、項2に記載の組成物。

【 0 4 1 2 】

50

11. 項1~10に記載のIL-18バリエーションポリペプチドの少なくとも1つをコードする核酸を含む組成物。

【0413】

12. 疾患または障害の治療または予防を必要としている対象でその疾患または障害を治療または予防する方法であって、その対象に項1~11に記載の少なくとも1つの組成物を投与することを含む方法。

【0414】

13. 前記疾患または障害が、がんである、項12に記載の方法。

【0415】

14. 前記がんが、免疫チェックポイント阻害剤 (ICI) に対して抵抗性のがんである、項13に記載の方法。

10

【0416】

15. 前記がんが、MHCクラスIの発現が消えている腫瘍と関係している、項13に記載の方法。

【0417】

16. 前記疾患または障害が、代謝性の疾患または障害である、項12に記載の方法。

【0418】

17. 前記疾患または障害が、感染性疾患である、項12に記載の方法。

【0419】

18. 少なくとも1つの他の薬剤を前記対象に投与することをさらに含む、項12に記載の方法。

20

【0420】

19. 前記少なくとも1つの他の薬剤が、1つ以上の二次サイトカインの阻害剤を含む、項18に記載の方法。

【0421】

20. 前記1つ以上の二次サイトカインが、IL-17、IL-5、IL-13からなるグループから選択された少なくとも1つである、項19に記載の方法。

【0422】

21. 1つ以上の二次サイトカインの前記阻害剤が、化合物、ポリペプチド、ペプチド、ペプチド模倣体、抗体、リボザイム、小分子化合物、アンチセンス核酸分子からなるグループから選択された少なくとも1つを含む、項19に記載の方法。

30

【0423】

22. IL-18BP阻害剤またはIL-18BPアンタゴニストを含んでいて、その阻害剤またはアンタゴニストが、IL-18BPが内在性IL-18を中和する能力を抑制する組成物。

【0424】

23. 前記阻害剤または前記アンタゴニストが、化合物、ポリペプチド、ペプチド、ペプチド模倣体、抗体、リボザイム、小分子化合物、アンチセンス核酸分子からなるグループから選択された少なくとも1つを含む、項22に記載の組成物。

【0425】

24. IL-18結合タンパク質 (IL-18BP) に特異的に結合するとともに、IL-18受容体 (IL-18R) に対して実質的に減少した結合を示すIL-18バリエーションポリペプチドを含む、項22に記載の組成物。

40

【0426】

25. 前記IL-18バリエーションポリペプチドが、野生型 (WT) IL-18に対し少なくとも1個の突然変異を含む、項24に記載の組成物。

【0427】

26. 前記WT IL-18が、配列ID番号30のアミノ酸配列を含むヒトIL-18である、項24に記載の組成物。

【0428】

27. 前記WT IL-18が、配列ID番号31のアミノ酸配列を含むマウスIL-18である、項24に

50

記載の組成物。

【 0 4 2 9 】

28. 前記 IL-18バリエーションポリペプチドが、配列 ID 番号30に対し、Y1X、L5X、D17X、E31X、T34X、D35X、S36X、D37X、D40X、N41X、M51X、Q56X、M60X、Q103X、H109X、M113X、およびR131Xからなるグループから選択された少なくとも1個の突然変異を含む、項26に記載の組成物。

【 0 4 3 0 】

29. 前記 IL-18バリエーションポリペプチドが、配列 ID 番号30に対し、Y1D、Y1F、Y1H、Y1L、L5F、L5H、D17A、D17G、D17R、D17H、E31A、E31T、E31G、E31K、E31R、T34A、T34K T34E、D35S、D35A、D35Y、S36N、S36K、S36R、D37P、D37A、D37R、D37H、D37L、D37V、D40Y D40S、D40A、N41K、N41S、N41R、M51F、M51L、M51I、Q56H、M60L、M60F、M60I、Q103L、Q103I、H109A、H109P、H109D、M113L、M113I、M113F、およびR131Sからなるグループから選択された少なくとも1個の突然変異を含む、項26に記載の組成物。

10

【 0 4 3 1 】

30. 前記 IL-18バリエーションポリペプチドが、SEQ ID NO: 92、SEQ ID NO: 93、SEQ ID NO: 94、SEQ ID NO: 95、SEQ ID NO: 96、SEQ ID NO: 97、SEQ ID NO: 98、SEQ ID NO: 99、配列 ID 番号100、配列 ID 番号101、配列 ID 番号102、配列 ID 番号103、配列 ID 番号104、配列 ID 番号105、配列 ID 番号106、配列 ID 番号107、配列 ID 番号108、配列 ID 番号109、配列 ID 番号110、配列 ID 番号111、配列 ID 番号112、配列 ID 番号113、配列 ID 番号114、配列 ID 番号115、配列 ID 番号116、配列 ID 番号117、配列 ID 番号118、配列 ID 番号119、配列 ID 番号120、配列 ID 番号121、配列 ID 番号122、配列 ID 番号123、配列 ID 番号124、配列 ID 番号125からなるグループから選択された少なくとも1つの IL-18バリエーションポリペプチド、またはその断片を含む、項24に記載の組成物。

20

【 0 4 3 2 】

31. 前記 IL-18バリエーションポリペプチドが、配列 ID 番号31に対し、N1X、L5X、D17X、E30X、T33X、D34X、I35X、D36X、M50X、Q102X、R104、H108X、N109X、M111X、D129X、およびD130Xからなるグループから選択された少なくとも1個の突然変異を含む、項27に記載の組成物。

【 0 4 3 3 】

32. 前記 IL-18バリエーションポリペプチドが、配列 ID 番号31に対し、N1Y、N1D、N1H、N1L、N1F、N1V、N1I、L5Y、L5H、D17Q、D17G、D17A、D17E、D17S、D17N、E30A、E30R、E30K、E30T、E30G、T33G、T33A、T33E、T33R、T33K、D34Y、D34S、D34A、I35T、I35K、I35R、D36V、D36A、D36G、D36H、D36P、D36R、D36L、M50F、M50L、Q102L、Q102I、R104E、R104A、R104P、R104G、R104Q、R104H、H108D、H108A、N109R、N109S、N109T、N109I、M111L、M111I、D129A、D129F、D129V、D129Y、D129S、D130E、D130T、D130G、D130N、D130R、D130S、D130Q、およびD130Hからなるグループから選択された少なくとも1個の突然変異を含む、項4に記載の組成物。

30

【 0 4 3 4 】

33. 前記 IL-18バリエーションポリペプチドが、配列 ID 番号126、配列 ID 番号127、配列 ID 番号128、配列 ID 番号129、配列 ID 番号130、配列 ID 番号131、配列 ID 番号132、配列 ID 番号133、配列 ID 番号134、配列 ID 番号135、配列 ID 番号136、配列 ID 番号137、配列 ID 番号138、配列 ID 番号139、配列 ID 番号140、配列 ID 番号141、配列 ID 番号142、配列 ID 番号143、配列 ID 番号144、配列 ID 番号145、配列 ID 番号146、配列 ID 番号147、配列 ID 番号148、配列 ID 番号149、配列 ID 番号150、配列 ID 番号151、配列 ID 番号152、配列 ID 番号153、配列 ID 番号154、配列 ID 番号155、配列 ID 番号156、配列 ID 番号157、配列 ID 番号158、配列 ID 番号159、配列 ID 番号160、配列 ID 番号161、配列 ID 番号162、配列 ID 番号163、配列 ID 番号164、配列 ID 番号165、配列 ID 番号166、配列 ID 番号167、配列 ID 番号168、配列 ID 番号169、配列 ID 番号170、配列 ID 番号171、配列 ID 番号172、配列 ID 番号173、配列 ID 番号174、配列 ID 番号175、配列 ID 番号176、配列 ID 番号177、配列 ID 番号178、配列 ID 番号179、配列 ID 番号180、配列 ID 番号181、配列 ID 番号182、配列 ID 番号183、配列 ID 番号184、配列 ID 番号185、配列 ID 番号186、

40

50

配列ID番号187、配列ID番号188、配列ID番号189、配列ID番号190からなるグループから選択された少なくとも1つのIL-18バリエーションポリペプチド、またはその断片を含む、項2に記載の組成物。

【0435】

34. 項24～33のIL-18バリエーションポリペプチドのうちの少なくとも1つをコードする核酸を含む組成物。

【0436】

35. 疾患または障害の治療または予防を必要としている対象でその疾患または障害を治療または予防する方法であって、その対象に項22～34の少なくとも1つの組成物を投与することを含む方法。

10

【0437】

36. 前記疾患または障害ががんである、項35に記載の方法。

【0438】

37. 前記がんが、免疫チェックポイント阻害剤（ICI）に対して抵抗性のがんである、項36に記載の方法。

【0439】

38. 前記がんが、MHCクラスIの発現が消えている腫瘍と関係している、項36に記載の方法。

【0440】

39. 前記疾患または障害が、代謝性の疾患または障害である、項35に記載の方法。

20

【0441】

40. 前記疾患または障害が、感染性疾患である、項35に記載の方法。

【0442】

41. 少なくとも1つの他の薬剤を前記対象に投与することをさらに含む、項35に記載の方法。

【0443】

42. 前記少なくとも1つの他の薬剤が、1つ以上の二次サイトカインの阻害剤を含む、項41に記載の方法。

【0444】

43. 前記1つ以上の二次サイトカインが、IL-17、IL-5、IL-13からなるグループから選択された少なくとも1つである、項42に記載の方法。

30

【0445】

44. 1つ以上の二次サイトカインの前記阻害剤が、化合物、ポリペプチド、ペプチド、ペプチド模倣体、抗体、リボザイム、小分子化合物、アンチセンス核酸分子からなるグループから選択された少なくとも1つを含む、項42に記載の方法。

【0446】

セットB

【0447】

1. IL-18バリエーションポリペプチドを含む組成物であって、そのIL-18バリエーションポリペプチドがIL-18受容体（IL-18R）に特異的に結合するとともに、そのIL-18バリエーションポリペプチドがIL-18結合タンパク質（IL-18BP）に対して実質的に減少した結合を示す組成物。

40

【0448】

2. 前記IL-18バリエーションポリペプチドが、野生型（WT）IL-18に対し少なくとも1個の突然変異を含む、項1に記載の組成物。

【0449】

3. 前記WT IL-18が、配列ID番号30のアミノ酸配列を含むヒトIL-18である、項2に記載の組成物。

【0450】

4. 前記WT IL-18が、配列ID番号31のアミノ酸配列を含むマウスIL-18である、項2に記

50

載の組成物。

【 0 4 5 1 】

5. 前記 IL-18バリエーションポリペプチドが、配列 ID 番号 30 に対し、Y1X、L5X、K8X、M51X、K53X、S55X、Q56X、P57X、G59X、M60X、E77X、Q103X、S105X、D110X、N111X、M113X、V153X、および N155X からなるグループから選択された少なくとも 1 個の突然変異を含む、項 3 に記載の組成物。

【 0 4 5 2 】

6. 前記 IL-18バリエーションポリペプチドが、配列 ID 番号 30 に対し、Y1H、Y1R、L5H、L5I、L5Y、K8Q、K8R、M51T、M51K、M51D、M51N、M51E、M51R、K53R、K53G、K53S、K53T、S55K、S55R、Q56E、Q56A、Q56R、Q56V、Q56G、Q56K、Q56L、P57L、P57G、P57A、P57K、G59T、G59A、M60K、M60Q、M60R、M60L、E77D、Q103E、Q103K、Q103P、Q103A、Q103R、S105R、S105D、S105K、S105N、S105A、D110H、D110K、D110N、D110Q、D110E、DUOS、D110G、N111H、N111Y、N111D、N111R、N111S、N111G、M113V、M113R、M113T、M113K、V153I、V153T、V153A、N155K、および N155H からなるグループから選択された少なくとも 1 個の突然変異を含む、項 3 に記載の組成物。

10

【 0 4 5 3 】

7. 前記 IL-18バリエーションポリペプチドが、配列 ID 番号 30 に対し、M51X、M60X、S105X、D110X、および N111X という突然変異を含む、項 3 に記載の組成物。

【 0 4 5 4 】

8. 前記 IL-18バリエーションポリペプチドが、配列 ID 番号 30 に対し、M51X、K53X、Q56X、S105X、および N111X という突然変異を含む、項 3 に記載の組成物。

20

【 0 4 5 5 】

9. 前記 IL-18バリエーションポリペプチドが、配列 ID 番号 34 ~ 59、73 ~ 91、191 ~ 193 のいずれか 1 つに記載のアミノ酸配列、またはその断片を含む、項 2 に記載の組成物。

【 0 4 5 6 】

10. 前記 IL-18バリエーションポリペプチドが、配列 ID 番号 31 に対し、N1X、M50X、Y51X、K52X、S54X、E55X、V56X、R57X、G58X、L59X、R104X、N109X、および L151X からなるグループから選択された少なくとも 1 個の突然変異を含む、項 4 に記載の組成物。

【 0 4 5 7 】

11. 前記 IL-18バリエーションポリペプチドが、配列 ID 番号 31 に対し、N1H、N1Y、M50A、M50S、M50V、M50G、M50T、Y51R、K52V、K52S、K52T、K52G、K52A、S54R、S54K、S54G、S54N、E55R、E55H、E55N、E55D、E55G、V56L、V56M、V56R、V56A、V56S、V56Q、R57G、R57K、G58A、L59K、L59R、L59V、R104K、R104L、R104Q、R104S、N109D、および L151V からなるグループから選択された少なくとも 1 個の突然変異を含む、項 4 に記載の組成物。

30

【 0 4 5 8 】

12. 前記 IL-18バリエーションポリペプチドが、配列 ID 番号 60 ~ 72 のいずれか 1 つに記載のアミノ酸配列、またはその断片を含む、項 2 に記載の組成物。

【 0 4 5 9 】

13. 項 1 ~ 12 のいずれか 1 項に記載の組成物の IL-18バリエーションポリペプチドをコードする核酸を含む組成物。

40

【 0 4 6 0 】

14. (i) 免疫チェックポイント阻害剤；(ii) PD-L1、PDI、CTLA4、TIM3、TIGIT、LAG3、B7H3、B7H4、VISTA、ICOS、GITR、4-1BB、OX40、CD40 から選択された 1 つ以上のタンパク質を抑制する薬剤；(iii) がん細胞オプソニン化剤；(iv) CD19、CD20、CD22、CD24、CD25、CD30、CD33、CD37、CD38、CD44、CD45、CD47、CD51、CD52、CD56、CD62L、CD70、CD74、CD79、CD80、CD96、CD97、CD99、CD123、CD134、CD138、CD152 (CTLA-4)、CD200、CD213A2、CD221、CD248、CD276 (B7-H3)、B7-H4、CD279 (PD-1)、CD274 (PD-L1)、CD319、EGFR、EPCAM、17-1A、HER1、HER2、HER3、CD117、C-Met、HGFR、PDGFRA、AXL、TWEAKR、PTHR2、HAVCR2 (TIM3)、GD2 ガングリオシド、MUC1、ムチン CanAg、メソテリン、エンドグリン、ルイス-Y 抗原、CEA、CEACAM1、CEACAM5、CA-125、PSMA、BAFF、FGFR2、TAG-72、

50

ゼラチナーゼB、グリピカン3、ネクチン-4、BCMA、CSF1R、SLAMF7、インテグリン_{v₃}、TYRP1、GPNMB、CLDN18.2、FOLR1、CCR4、CXCR4、MICA、C242抗原、DLL3、DLL4、EGFL7、ビメンチン、フィブロネクチンエクストラドメイン-B、TROP-2、LRRRC15、FAP、SLITRK6、NOTCH2、NOTCH3、テネイシン-3、STEAP1、およびNRP1から選択された1つ以上の抗原を標的とする薬剤；から選択された1つ以上の薬剤をさらに含む、項1～13のいずれか1項に記載の組成物。

【0461】

15．疾患または障害の治療または予防を必要としている対象でその疾患または障害を治療または予防する方法であって、その対象に項1～14のいずれか1項に記載の組成物を投与することを含む方法。

10

【0462】

16．前記疾患または障害が、がんである、項15に記載の方法。

【0463】

17．前記がんが、免疫チェックポイント阻害剤（ICI）に対して抵抗性のがんである、項16に記載の方法。

【0464】

18．前記がんが、MHCクラスIの発現が消えている腫瘍と関係している、項16に記載の方法。

【0465】

19．前記疾患または障害が、代謝性の疾患または障害である、項15に記載の方法。

20

【0466】

20．前記疾患または障害が、感染性疾患である、項15に記載の方法。

【0467】

21．IL-18バリエーションポリペプチドと少なくとも1つの他の薬剤を前記対象に投与することを含む、項15～20のいずれか1項に記載の方法。

【0468】

22．前記少なくとも1つの他の薬剤が、免疫チェックポイント阻害剤を含む、項21に記載の方法。

【0469】

23．前記免疫チェックポイント阻害剤が、PD-L1、PD1、CTLA4、TIM3、TIGIT、LAG3、B7H3、B7H4、VISTA、ICOS、GITR、4-1BB、OX40、またはCD40のいずれか、またはこれらの任意の組み合わせを抑制する薬剤である、項22に記載の方法。

30

【0470】

24．前記少なくとも1つの他の薬剤が、がん細胞オプソニン化剤を含む、項21に記載の方法。

【0471】

25．前記少なくとも1つの他の薬剤が、CD19、CD20、CD22、CD24、CD25、CD30、CD33、CD37、CD38、CD44、CD45、CD47、CD51、CD52、CD56、CD62L、CD70、CD74、CD79、CD80、CD96、CD97、CD99、CD123、CD134、CD138、CD152（CTLA-4）、CD200、CD213A2、CD221、CD248、CD276（B7-H3）、B7-H4、CD279（PD-1）、CD274（PD-L1）、CD319、EGFR、EPCAM、17-1A、HER1、HER2、HER3、CD117、C-Met、HGFR、PDGFRA、AXL、TWEAKR、PTHR2、HAVCR2（TIM3）、GD2ガングリオシド、MUC1、ムチンCanAg、メソテリン、エンドグリン、ルイス-Y抗原、CEA、CEACAM1、CEACAM5、CA-125、PSMA、BAFF、FGFR2、TAG-72、ゼラチナーゼB、グリピカン3、ネクチン-4、BCMA、CSF1R、SLAMF7、インテグリン_{v₃}、TYRP1、GPNMB、CLDN18.2、FOLR1、CCR4、CXCR4、MICA、C242抗原、DLL3、DLL4、EGFL7、ビメンチン、フィブロネクチンエクストラドメイン-B、TROP-2、LRRRC15、FAP、SLITRK6、NOTCH2、NOTCH3、テネイシン-3、STEAP1、およびNRP1から選択された1つ以上の抗原を標的とする、項24に記載の方法。

40

【0472】

26．前記少なくとも1つの他の薬剤が前記IL-18バリエーションポリペプチドとコンジュゲ-

50

トされる、項21～25のいずれか1項に記載の方法。

【0473】

27．前記少なくとも1つの他の薬剤が、変化したT細胞またはNK細胞である、項21に記載の方法。

【0474】

28．前記少なくとも1つの他の薬剤が、腫瘍溶解性ウイルスである、項21に記載の方法。

【0475】

29．IL-18BP阻害剤またはIL-18BPアンタゴニストを含んでいて、その阻害剤またはアンタゴニストが、IL-18BPが内在性IL-18を中和する能力を抑制する組成物。

10

【0476】

30．前記阻害剤またはアンタゴニストが、化合物、ポリペプチド、ペプチド、ペプチド模倣体、抗体、リボザイム、小分子化合物、アンチセンス核酸分子からなるグループから選択された少なくとも1つを含む、項29に記載の組成物。

【0477】

31．IL-18バリエーションポリペプチドを含んでいて、そのIL-18バリエーションポリペプチドが、IL-18結合タンパク質（IL-18BP）に特異的に結合するとともに、そのIL-18バリエーションポリペプチドがIL-18受容体（IL-18R）に対して実質的に減少した結合を示す、項30に記載の組成物。

20

【0478】

32．前記IL-18バリエーションポリペプチドが、野生型（WT）IL-18に対し少なくとも1個の突然変異を含む、項31に記載の組成物。

【0479】

33．前記WT IL-18が、配列ID番号30のアミノ酸配列を含むヒトIL-18である、項32に記載の組成物。

【0480】

34．前記WT IL-18が、配列ID番号31のアミノ酸配列を含むマウスIL-18である、項32に記載の組成物。

【0481】

35．前記IL-18バリエーションポリペプチドが、配列ID番号30に対し、Y1X、L5X、D17X、E31X、T34X、D35X、S36X、D37X、D40X、N41X、M51X、Q56X、M60X、Q103X、H109X、M113X、およびR131Xからなるグループから選択された少なくとも1個の突然変異を含む、項33に記載の組成物。

30

【0482】

36．前記IL-18バリエーションポリペプチドが、配列ID番号30に対し、Y1D、Y1F、Y1H、Y1L、L5F、L5H、D17A、D17G、D17R、D17H、E31A、E31T、E31G、E31K、E31R、T34A、T34K、T34E、D35S、D35A、D35Y、S36N、S36K、S36R、D37P、D37A、D37R、D37H、D37L、D37V、D40Y、D40S、D40A、N41K、N41S、N41R、M51F、M51L、M51I、Q56H、M60L、M60F、M60I、Q103L、Q103I、H109A、H109P、H109D、M113L、M113I、M113F、およびR131Sからなるグループから選択された少なくとも1個の突然変異を含む、項33に記載の組成物。

40

【0483】

37．前記IL-18バリエーションポリペプチドが、配列ID番号92～125のいずれか1つに記載のアミノ酸配列、またはその断片を含む、項33に記載の組成物。

【0484】

38．前記IL-18バリエーションポリペプチドが、配列ID番号30に対し、D17X、E30X、およびQ103Xという突然変異を含む、項33に記載の組成物。

【0485】

39．前記IL-18バリエーションポリペプチドが、配列ID番号30に対し、D17X、E30X、D35X、M51X、およびQ103Xという突然変異を含む、項33に記載の組成物。

【0486】

50

40．前記 IL-18バリエーションポリペプチドが、配列 ID番号31に対し、N1X、L5X、D17X、E30X、T33X、D34X、I35X、D36X、M50X、Q102X、R104、H108X、N109X、M111X、D129X、および D130Xからなるグループから選択された少なくとも1個の突然変異を含む、項34に記載の組成物。

【 0 4 8 7 】

41．前記 IL-18バリエーションポリペプチドが、配列 ID番号31に対し、N1Y、N1D、N1H、N1L、N1F、N1V、N1I、L5Y、L5H、D17Q、D17G、D17A、D17E、D17S、D17N、E30A、E30R、E30K、E30T、E30G、T33G、T33A、T33E、T33R、T33K、D34Y、D34S、D34A、I35T、I35K、I35R、D36V、D36A、D36G、D36H、D36P、D36R、D36L、M50F、M50L、Q102L、Q102I、R104E、R104A、R104P、R104G、R104Q、R104H、H108D、H108 A、N109R、N109S、N109T、N109L M111L、M 111I、D129A、D129F、D129V、D129Y、D129S、D130E、D130T、D130G、D130N、D130R、D130 S、D130Q、およびD130Hからなるグループから選択された少なくとも1個の突然変異を含む、項34に記載の組成物。

【 0 4 8 8 】

42．前記 IL-18バリエーションポリペプチドが、配列 ID番号：126～190のいずれか1つに記載のアミノ酸配列、またはその断片を含む、項34に記載の組成物。

【 0 4 8 9 】

43．項31～42のいずれか1項に記載の組成物の IL-18バリエーションポリペプチドをコードする核酸を含む組成物。

【 0 4 9 0 】

44．(i) 免疫チェックポイント阻害剤；(ii) PD-L1、PDI、CTLA4、TIM3、TIGIT、LAG 3、B7H3、B7H4、VISTA、ICOS、GITR、4-1BB、OX40、CD40から選択された1つ以上のタンパク質を抑制する薬剤；(iii) がん細胞オプソニン化剤；(iv) CD19、CD20、CD22、CD24、CD25、CD30、CD33、CD37、CD38、CD44、CD45、CD47、CD51、CD52、CD56、CD62L、CD70、CD74、CD79、CD80、CD96、CD97、CD99、CD123、CD134、CD138、CD152 (CTLA-4)、CD200、CD213A2、CD221、CD248、CD276 (B7-H3)、B7-H4、CD279 (PD-1)、CD274 (PD-L1)、CD319、EGFR、EPCAM、17-1A、HER1、HER2、HER3、CD117、C-Met、HGFR、PDGFRA、AXL、TWEAKR、PTHR2、HAVCR2 (TIM3)、GD2ガングリオシド、MUC1、ムチンCanAg、メソテリン、エンドグリン、ルイス-Y抗原、CEA、CEACAM1、CEACAM5、CA-125、PSMA、BAFF、FGFR2、TAG-72、ゼラチナーゼB、グリピカン3、ネクチン-4、BCMA、CSF1R、SLAMF7、インテグリン、TYRP1、GPNMB、CLDN18.2、FOLR1、CCR4、CXCR4、MICA、C242抗原、DLL3、DLL4、EGFL7、ピメンチン、フィブロネクチンエクストラドメイン-B、TROP-2、LRRC15、FAP、SLITRK6、NOTCH2、NOTCH3、テネイシン-3、STEAP1、およびNRP1から選択された1つ以上の抗原を標的とする薬剤；から選択された1つ以上の薬剤をさらに含む、項19～43のいずれか1項に記載の組成物。

【 0 4 9 1 】

45．疾患または障害を治療または予防を必要としている対象でその疾患または障害を治療または予防する方法であって、その対象に項29～44のいずれか1項に記載の組成物を投与することを含む方法。

【 0 4 9 2 】

46．前記疾患または障害が、がんである、項45に記載の方法。

【 0 4 9 3 】

47．前記がんが、免疫チェックポイント阻害剤 (ICI) に対して抵抗性のがんである、項46に記載の方法。

【 0 4 9 4 】

48．前記がんが、MHCクラスIの発現が消えている腫瘍と関係している、項46に記載の方法。

【 0 4 9 5 】

49．前記疾患または障害が、代謝性の疾患または障害である、項45に記載の方法。

【 0 4 9 6 】

10

20

30

40

50

50．前記疾患または障害が、感染性疾患である、項45に記載の方法。

【0497】

51．前記IL-18BP阻害剤または前記IL-18BPアンタゴニストに加えて少なくとも1つの他の薬剤を前記対象に投与することを含む、項45～50のいずれか1項に記載の方法。

【0498】

52．前記少なくとも1つの他の薬剤が免疫チェックポイント阻害剤を含む、項51に記載の方法。

【0499】

53．前記免疫チェックポイント阻害剤が、PD-L1、PD1、CTLA4、TIM3、TIGIT、LAG3、B7H3、B7H4、VISTA、ICOS、GITR、4-1BB、OX40、またはCD40のいずれか、またはこれらの任意の組み合わせを抑制する薬剤である、項52に記載の方法。 10

【0500】

54．前記少なくとも1つの他の薬剤が、がん細胞オプソニン化剤を含む、項51に記載の方法。

【0501】

55．前記少なくとも1つの他の薬剤が、CD19、CD20、CD22、CD24、CD25、CD30、CD33、CD37、CD38、CD44、CD45、CD47、CD51、CD52、CD56、CD62L、CD70、CD74、CD79、CD80、CD96、CD97、CD99、CD123、CD134、CD138、CD152 (CTLA-4)、CD200、CD213A2、CD221、CD248、CD276 (B7-H3)、B7-H4、CD279 (PD-1)、CD274 (PD-L1)、CD319、EGFR、EPCAM、17-1A、HER1、HER2、HER3、CD117、C-Met、HGFR、PDGFRA、AXL、TWEAKR、PTHR2、HAVCR2 (TIM3)、GD2ガングリオシド、MUC1、ムチンCanAg、メソテリン、エンドグリン、ルイス-Y抗原、CEA、CEACAM1、CEACAM5、CA-125、PSMA、BAFF、FGFR2、TAG-72、ゼラチナーゼB、グリピカン3、ネクチン-4、BCMA、CSFIR、SLAMF7、インテグリン_{v₃}、TYRP1、GP MB、CLDN18.2、FOLR1、CCR4、CXCR4、MICA、C242抗原、DLL3、DLL4、EGFL7、ビメンチン、フィブロネクチンエクストラドメイン-B、TROP-2、LRRRC15、FAP、SLITRK6、NOTCH2、NOTCH3、テネシシン-3、STEAPI、およびNRP1から選択された1つ以上の抗原を標的とする、項51に記載の方法。 20

【0502】

56．前記少なくとも1つの他の薬剤が前記IL-18バリエーションポリペプチドとコンジュゲートされる、項51～55のいずれか1項に記載の方法。 30

【0503】

57．前記少なくとも1つの他の薬剤が、変化したT細胞またはNK細胞である、項51に記載の方法。

【0504】

58．前記少なくとも1つの他の薬剤が、腫瘍溶解性ウイルスである、項51に記載の方法。

【0505】

本明細書で引用されているあらゆる特許、特許出願、刊行物は、その全体が参照によって本明細書に組み込まれている。本発明を具体的な実施態様を参照して開示してきたが、当業者が本発明の精神と範囲を逸脱することなく本発明の他の実施態様とバリエーションを考案できることは明らかである。添付の請求項は、そのような実施態様と、それと同等なバリエーションをすべて含むと解釈することが想定されている。 40

【図 1 A】

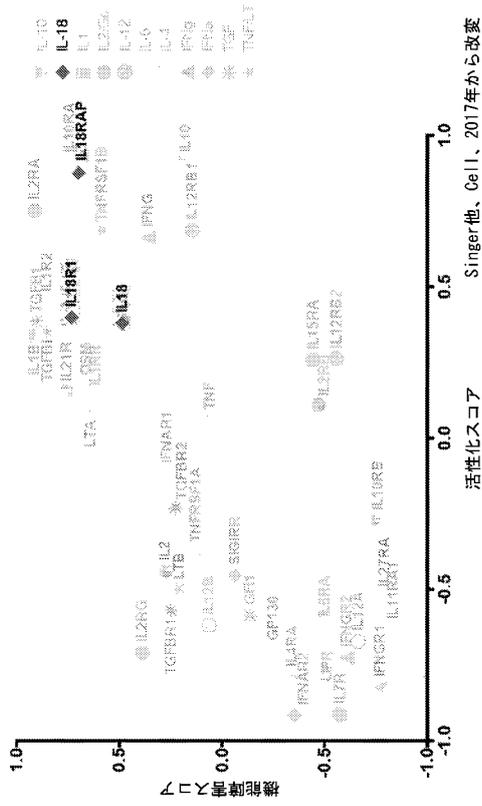


FIG. 1A

【図 1 B】

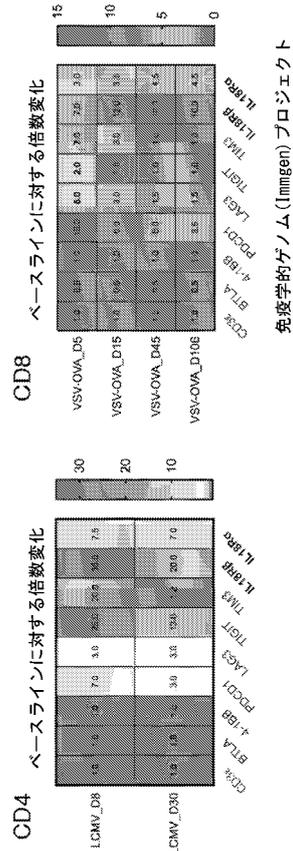


FIG. 1B

免疫学的ゲノム (Immgen) プロジェクト

【図 2】

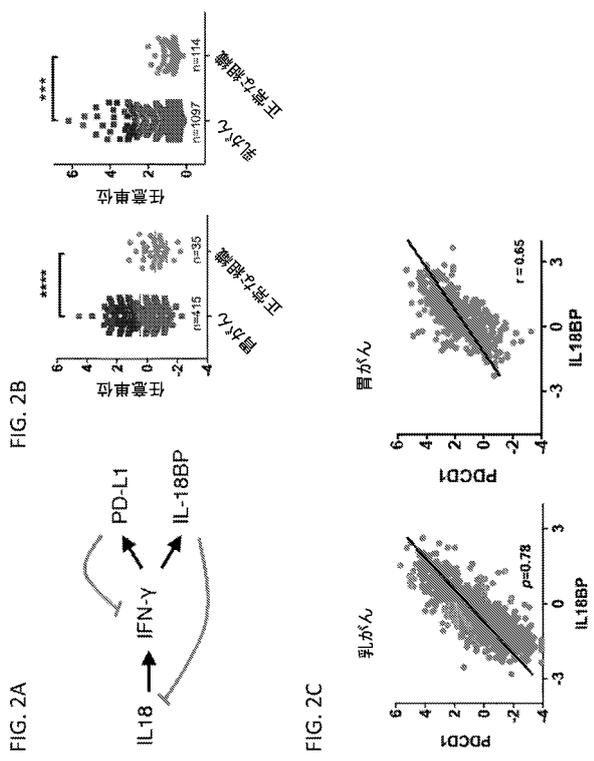


FIG. 2A

FIG. 2B

FIG. 2C

【図 3 A】

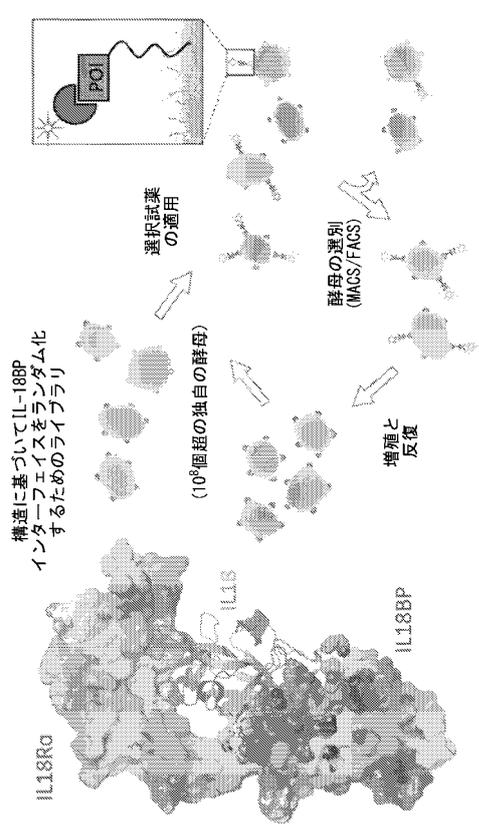
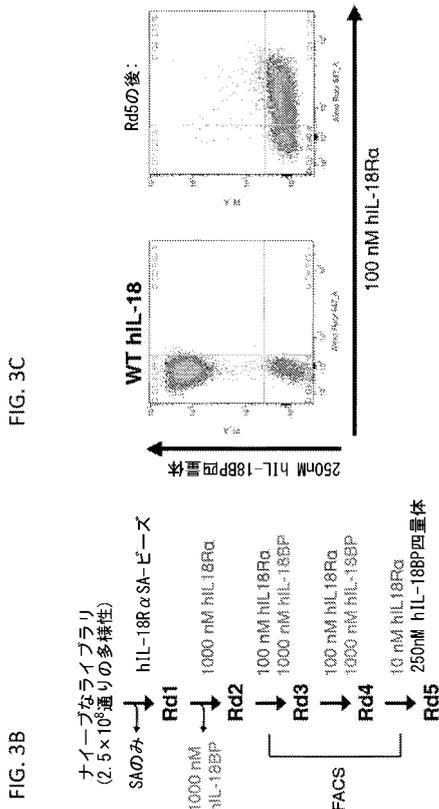


FIG. 3A

【 図 3 B - C 】



【 図 4 】

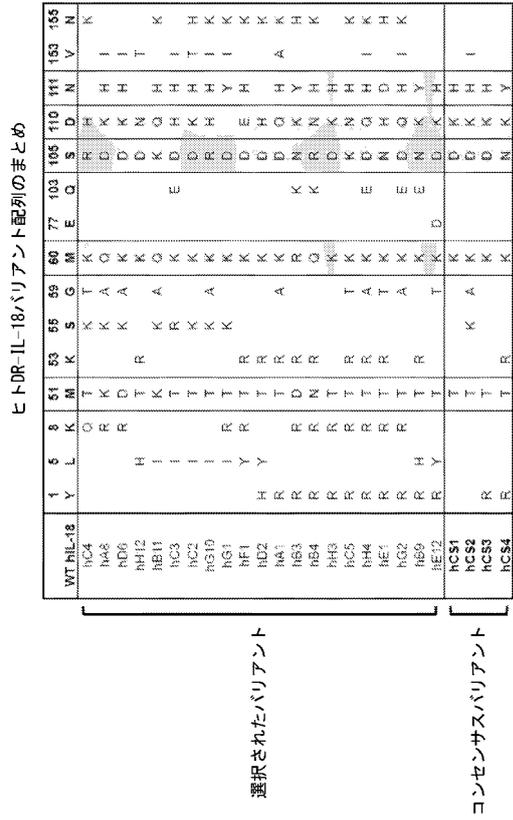
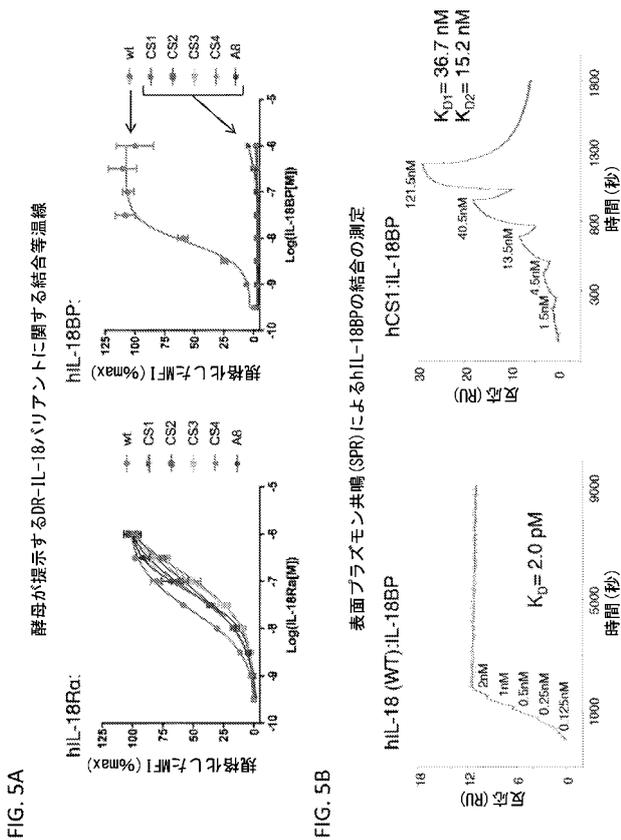


FIG. 4

【 図 5 】



【 図 6 】

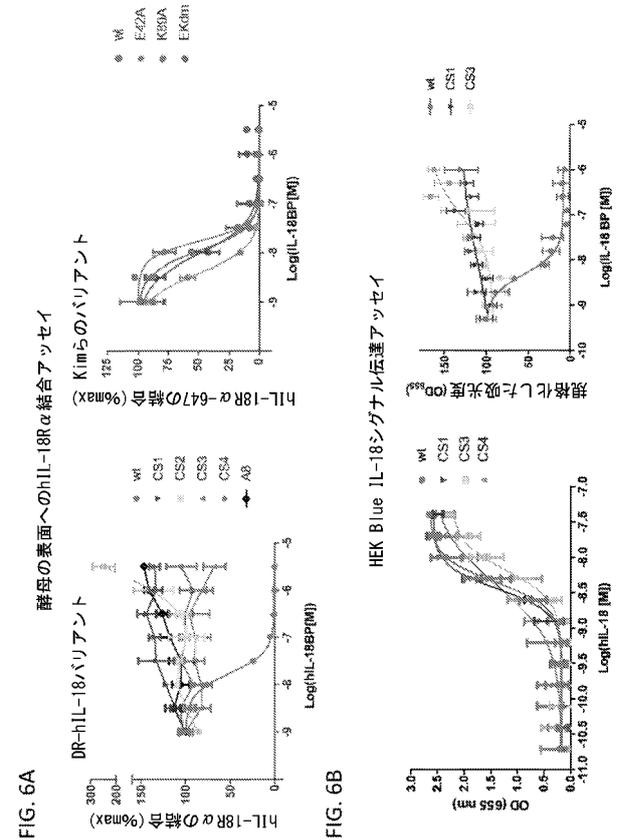


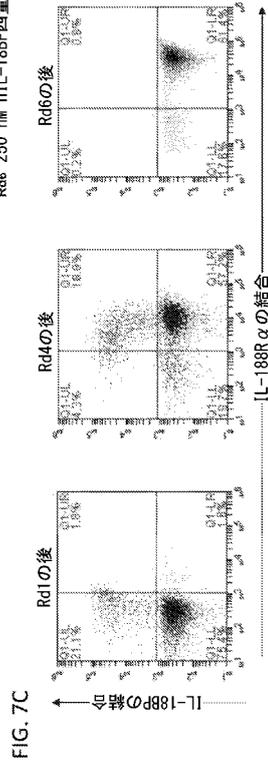
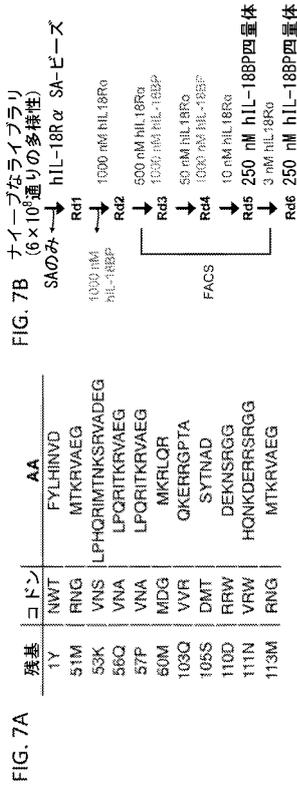
FIG. 5A

FIG. 5B

FIG. 6A

FIG. 6B

【 図 7 】



【 図 9 】

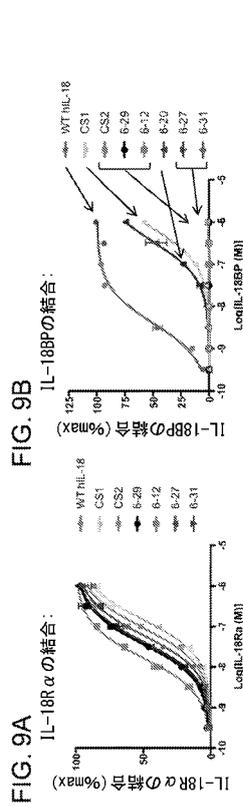


FIG. 9D

バリエーション	IL18Rα (nM)	IL18BP (nM)	Rα:BP比 (WT=規格化)	Tm (°C)
WT IL18	62 nM	2.1 nM	1.0	47.6
hCS1	146 nM	710 nM	140	50.9
hCS2	92 nM	NBD	>3,200	40.2
6-31	41 nM	NBD	>7,200	54.9
6-20	N.D.	340 nM	N.D.	N.D.
6-12	17 nM	NBD	>17,000	60.2
6-27	42 nM	NBD	>7,000	54.3
6-29	37 nM	NBD	>8,000	54.7

【 図 8 】

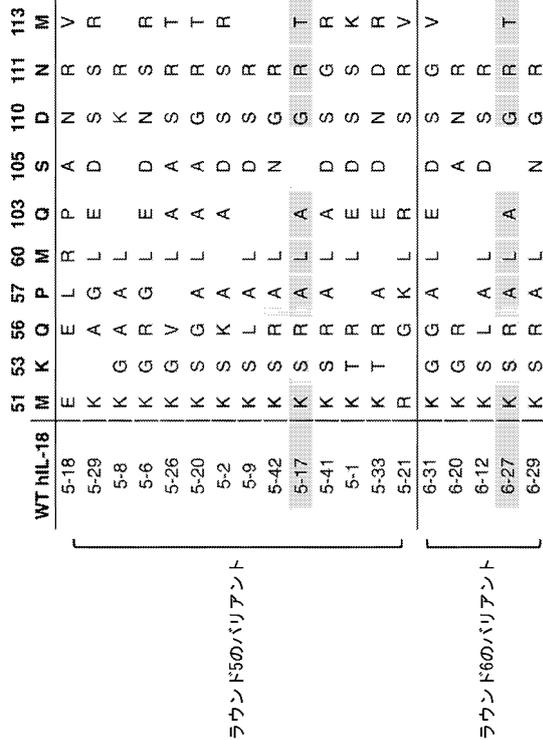


FIG. 8

【 図 10 A - B 】

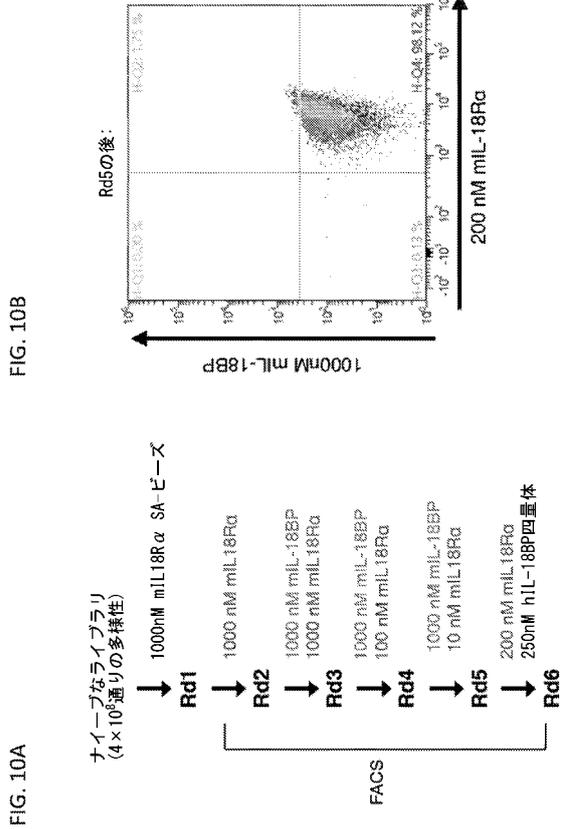


FIG. 10A

【 図 1 0 C 】

FIG. 10C

マウスDR-IL-18バリエーション配列のまとめ

mIL_18	1	50	51	52	54	55	56	57	58	59	104	109	151
mC1	N	M	Y	K	S	E	V	R	G	L	R	N	L
mA12	A	S	R	R	L	K	L	K	K				
mE8	V	T	G	R	R	K	K	D	V				
mC10	H	A	G	H	M	K	Q						
mB7	H	A	G	N	A	G							
mB1	H	G	A	D	A	A	K	S	V				
mD1	H	G	S	R	G	S	K						
mH7	Y	A	R	R	A	K	K	D	V				
mA7	Y	A	G	N	R	K							
mE1	Y	G	G	R	G	R	R	D					
mH3	Y	T	R	T	G	G	Q	K	V	D			
mCS1	G	A	R	R	A	K							
mCS2	H	A	G	R	A	K							

選択されたバリエーション

コンセンサスバリエーション

【 図 1 2 A - B 】

FIG. 12A

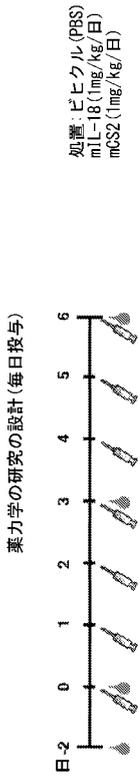
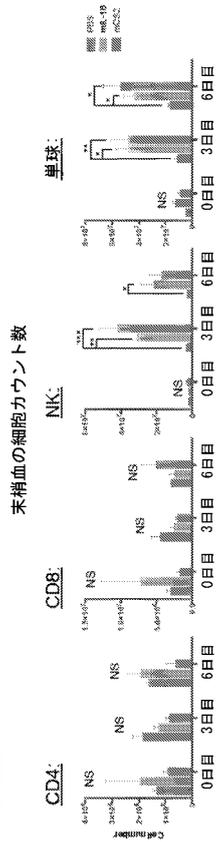
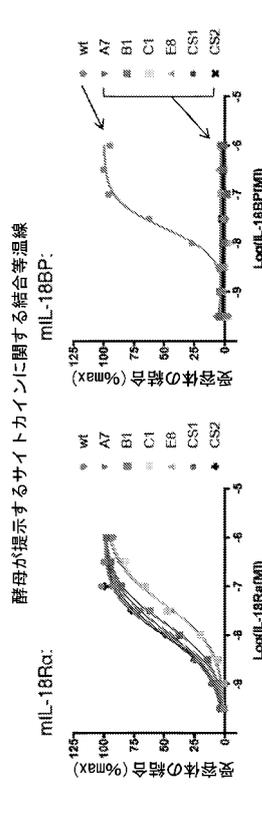


FIG. 12B



【 図 1 1 】

FIG. 11A



【 図 1 2 C - D 】

FIG. 12C

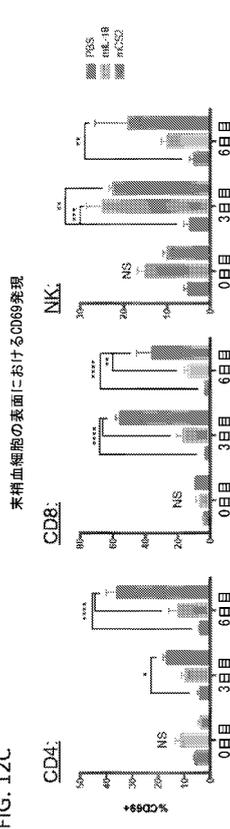


FIG. 12D

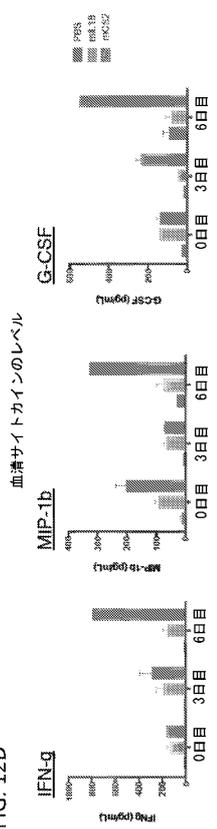
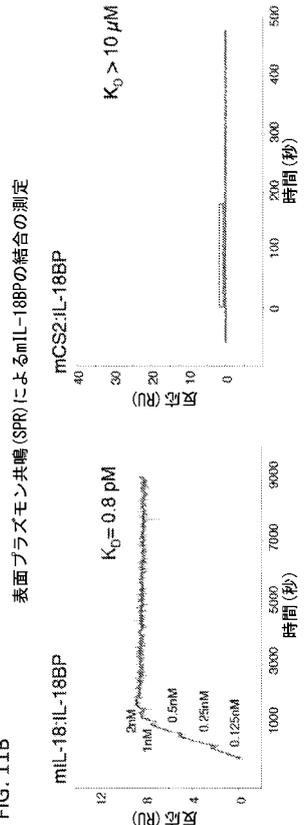


FIG. 11B



【 図 1 3 】

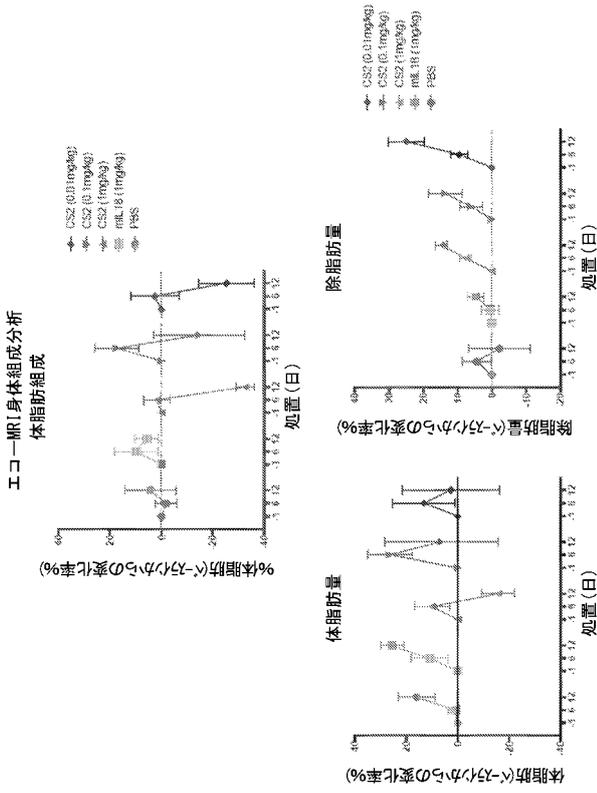


FIG. 13

【 図 1 4 A 】

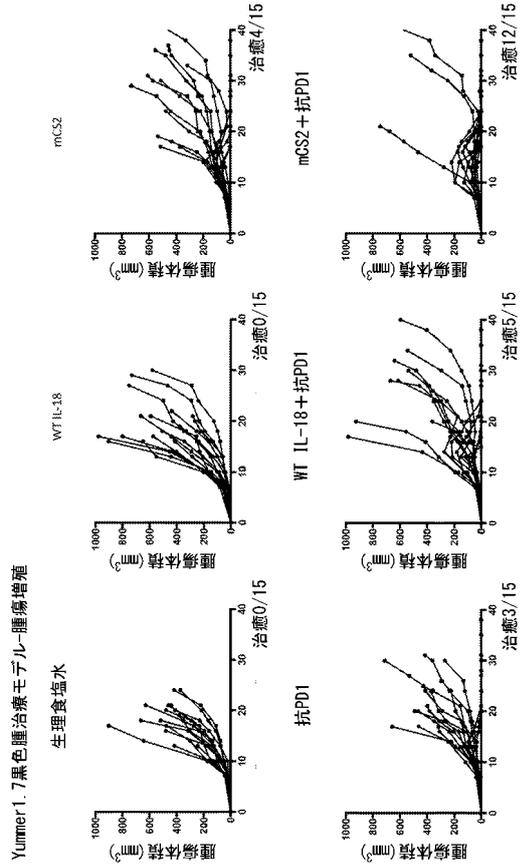


FIG. 14A

【 図 1 4 B 】

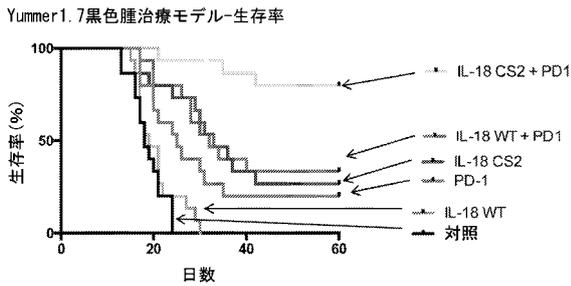


FIG. 14B

【 図 1 5 】

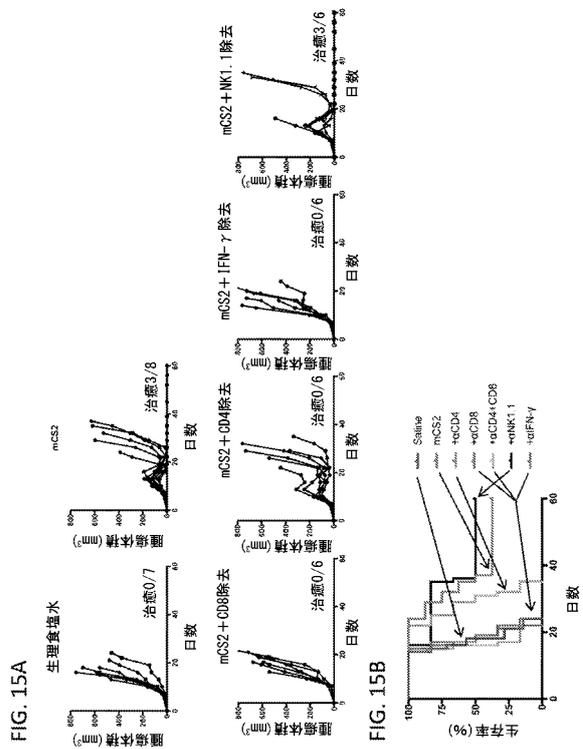


FIG. 15A

FIG. 15B

【 図 1 6 】

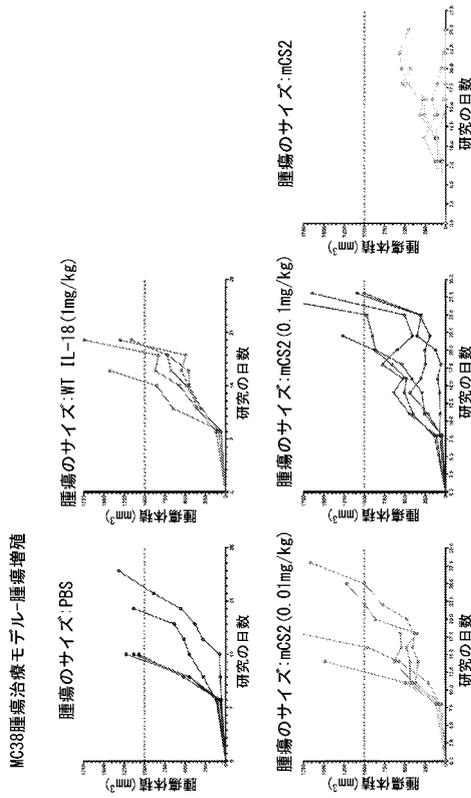


FIG. 16

【 図 1 7 】

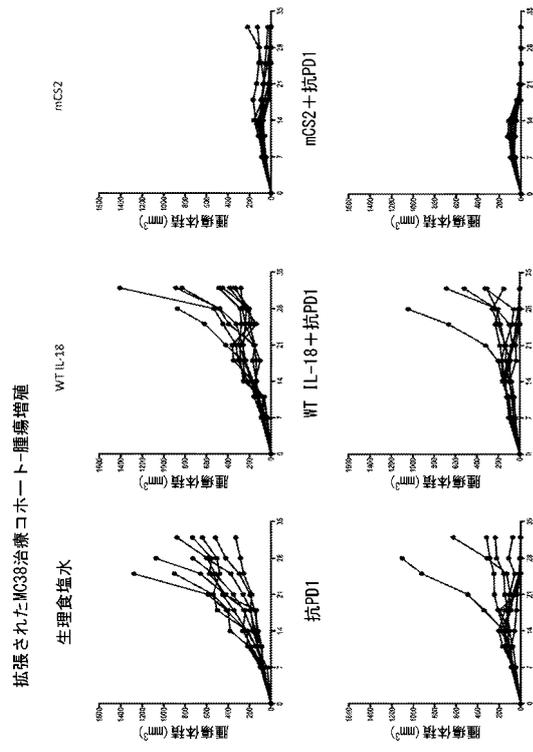


FIG. 17

【 図 1 8 A 】

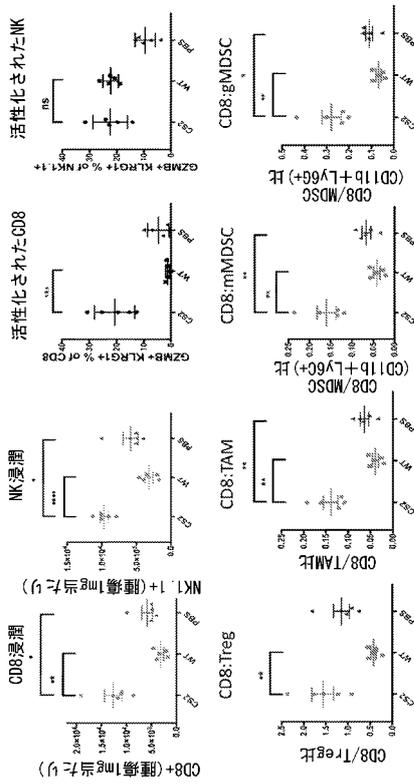


FIG. 18A

【 図 1 8 B 】

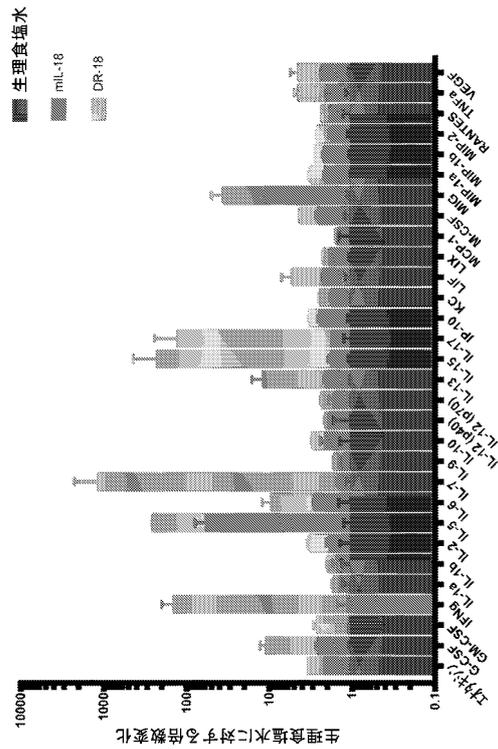
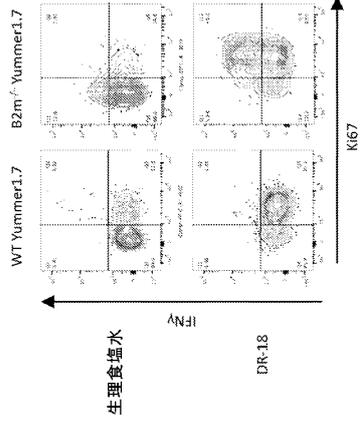
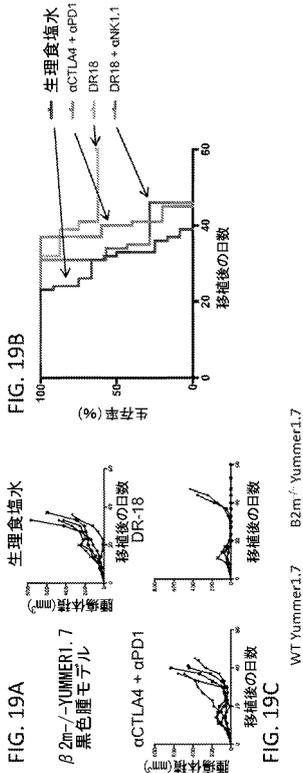
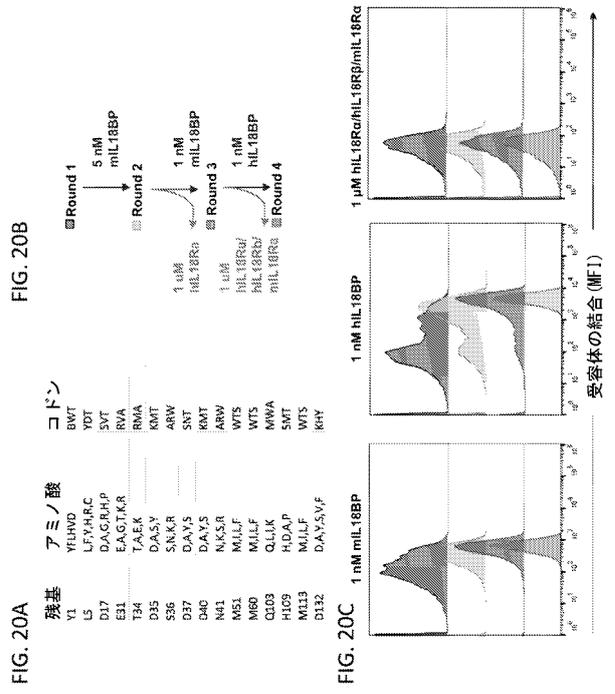


FIG. 18B

【 図 1 9 】



【 図 2 0 】



【 図 2 1 】

WT-IL18	1	5	17	21	24	25	29	37	40	41	51	56	60	103	109	110	131
ND2D-5002	Y	L	D	A	A	K	S	N	P	K	F	L	L	L	A	A	R
ND2D-5008	A	A	K	A	K	A	S	S	L	L	F	L	L	L	A	A	I
ND2D-5A02	A	T	A	S	K	K	A	R	F	L	L	L	L	L	A	A	F
ND2D-5B10	G	G	E	A	A	N	S	S	L	L	L	L	L	L	A	F	S
ND2D-5008	G	T	A	A	H	S	S	L	L	L	L	L	L	L	A	F	S
ND2D-5C04	G	T	E	V	R	L	S	F	F	L	L	L	L	L	A	F	S
ND2D-5005	G	T	E	V	R	L	S	F	F	L	L	L	L	L	A	F	S
ND2D-5F04	G	T	E	V	R	L	S	F	F	L	L	L	L	L	A	F	S
ND2D-5B11	D	A	K	A	N	A	A	A	F	L	L	L	L	L	A	F	S
ND2D-5E03	D	A	K	S	N	V	A	L	L	L	L	L	L	L	A	F	S
ND2D-5B06	F	F	G	T	E	S	K	P	S	R	F	L	L	L	L	A	F
ND2D-5F08	F	F	G	T	E	S	K	P	S	R	F	L	L	L	L	A	F
ND2D-5C09	H	G	A	A	S	N	R	A	F	F	L	L	L	L	L	A	F
ND2D-5F10	H	G	A	A	S	N	R	A	F	F	L	L	L	L	L	A	F
ND2D-5E10	H	G	A	E	A	N	R	S	F	L	L	L	L	L	L	A	F
ND2D-5F02	H	G	K	E	A	P	A	K	I	F	L	L	L	L	L	A	F
ND2D-5F12	H	G	K	E	A	P	A	K	I	F	L	L	L	L	L	A	F
ND2D-5003	H	G	R	A	A	H	S	I	F	L	L	L	L	L	L	A	F
ND2D-5F01	H	G	T	A	S	N	H	Y	F	L	L	L	L	L	L	A	F
ND2D-5C10	H	H	T	A	S	N	H	Y	F	L	L	L	L	L	L	A	F
ND2D-5006	H	H	T	A	S	N	H	Y	F	L	L	L	L	L	L	A	F
ND2D-5F08	L	H	G	E	S	P	Y	F	L	L	L	L	L	L	L	A	F
ND2D-5009	L	H	G	E	S	P	Y	F	L	L	L	L	L	L	L	A	F
ND2D-C52	G	A	E	S	L	L	L	L	L	L	L	L	L	L	L	L	L
ND2D-C58	G	A	E	S	L	L	L	L	L	L	L	L	L	L	L	L	L

FIG. 21

【 図 2 2 】

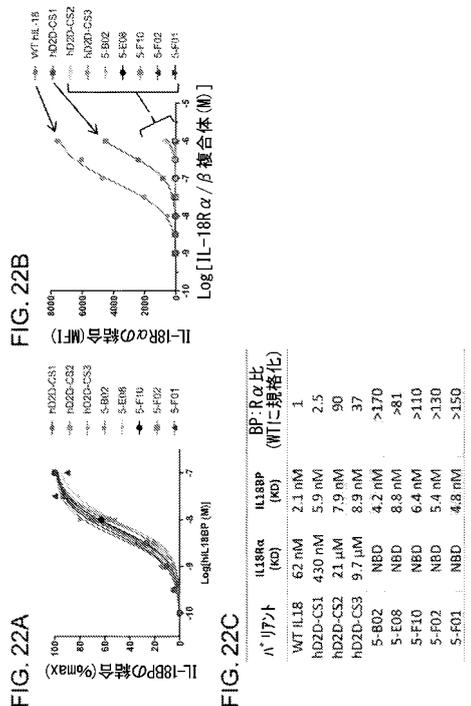


FIG. 22A

FIG. 22B

FIG. 22C

【 図 2 3 】

WT-hIL-18	1	5	17	30	33	34	35	36	50	102	104	108	109	111	129	130
	N	L	D	E	T	D	I	D	M	Q	R	H	N	M	D	D
m02D-05	Y	Y	Q	A	G	Y	T	V	L	E	D	R	R	L	A	T
m02D-06	D	A	G	S	A	F	E	L	A	D	R	I	A	T		
m02D-07	Y	G	R	A	T	V	F	I	P	A	D	S	I	A	G	
m02D-08	H	H	K	E	Y	T	V	I	A	D	D	B	I	A	N	
m02D-09	F	A	A	A	K	G	R	H	L	P	D	T	I	F	G	
m02D-11	Y	E	A	G	R	H	F	I	P	A	D	S	I	A	G	
m02D-12	H	H	R	G	A	G	F	I	P	D	S	L	V	R		
m02D-04	H	S	T	G	S	V	F	I	G	D	S	L	V	R		
m02D-07	Y	S	R	E	T	F	F	I	G	D	S	L	F	E	N	
m02D-08	H	A	G	E	A	T	V	F	I	P	D	S	L	F	E	N
m02D-12	Y	N	K	E	Y	T	L	F	I	P	D	S	L	Y	E	G
m02D-01	Y	G	A	E	A	T	R	F	I	G	A	S	L	A	G	
m02D-03	Y	G	A	R	A	L	F	L	G	D	L	R	G			
m02D-05	Y	A	A	E	A	T	A	F	I	G	A	S	L	A	G	
m02D-06	L	G	A	G	A	T	L	L	P	D	T	I	A	S		
m02D-09	L	G	A	T	T	V	F	I	G	D	S	L	Y			
m02D-10	D	K	E	S	K	P	F	L	A	A	S	L	A	N	E	
m02D-11	L	G	A	G	K	V	I	P	D	L						
m02D-01	Y	H	Q	R	A	A	T	R	L	G	D	L	S			
m02D-09	F	H	Q	T	E	S	G	F	L	A	A	L	I	S		
m02D-02	F	H	G	G	G	R	V	I	A	D	S	I	A	G		
m02D-03	V	H	G	K	Y	A	T	R	L	A	D	T	I	A	Q	R
m02D-04	D	G	G	A	Y	G	F	I	A	S	I	S	G			
m02D-07	Y	Y	R	G	S	A	F	I	P	A	T	L	S	G		
m02D-08	Y	E	T	E	A	G	F	I	G	D	R	S	L	S	G	
m02D-09	F	N	E	Y	R	L	F	L	P	A	D	S	L	A	G	
m02D-10	Y	N	A	E	R	L	L	G	D	S	L	S	H	N		
m02D-11	Y	A	R	G	Y	L	L	L	P	D	T	I	A	G		
m02D-12	Y	G	A	Y	T	A	F	I	P	D	S	I	A	G		
m02D-02	D	G	A	Y	R	A	F	I	P	D	S	I	A	G		
m02D-04	D	E	R	K	Y	L	F	L	G	D	S	L	A	G		
m02D-05	D	E	T	A	Y	L	F	L	A	D	S	L	A	G		
m02D-07	D	N	K	E	S	T	A	F	L	G	A	S	L	A	G	
m02D-08	H	E	A	E	A	G	F	I	G	D	T	L	S	G		
m02D-09	I	E	K	R	Y	V	F	I	E	A	S	L	E	R		
m02D-01	Y	A	T	G	Y	T	L	L	I	P						
m02D-07	Y	N	R	A	S	T	A	I	G	I						
m02D-09	D	G	K	R	A	F	L	A	S	I	E					
m02D-17	E	A	A	T	L	F	L	P	D	I	Y	E				
m02D-01	Y	E	A	A	T	L	F	L	G	D	I	Y	E			
m02D-10	H	G	K	K	Y	V	L	A	A	S	I	S	G			
m02D-12	Y	G	K	K	A	K	A	F	I	P	A	S	I	G		
m02D-02	L	G	G	G	S	P	F	I	H	A	T	S	N			
m02D-04	Y	S	T	A	Y	T	V	F	L	A	D	S	L	A	G	
m02D-02	Y	G	T	G	A	R	V	F	L	P	D	S	L	S	G	
m02D-02	D	G	G	K	A	T	G	F	I	A	A	L	A	G		
m02D-01	D	S	R	G	S	H	F	L	A	A	L	F	G			
m02D-04	Y	E	K	K	K	L	F	L	F	L	G	A	I			
m02D-05	Y	G	A	A	S	T	H	V	F	L	G	A	I			
m02D-09	Y	S	G	K	Y	V	F	L	G	D	T	I	S	G		

FIG. 23

【 図 2 4 】

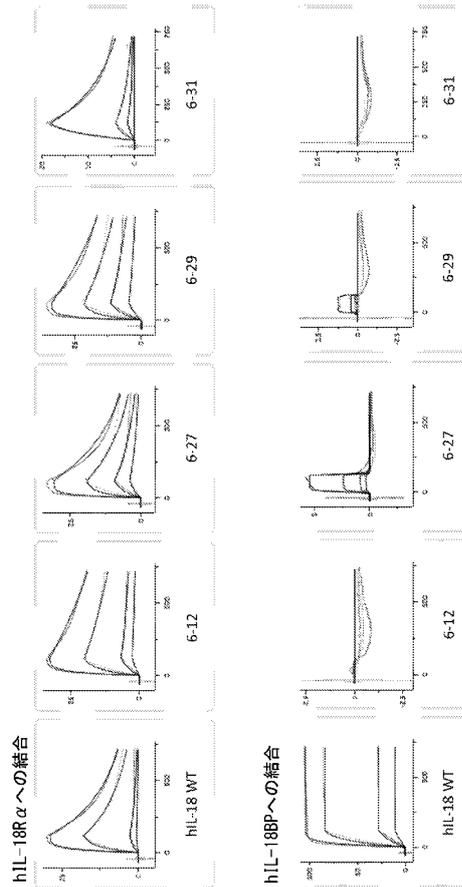


FIG. 24

【 図 2 5 】

FIG. 25A

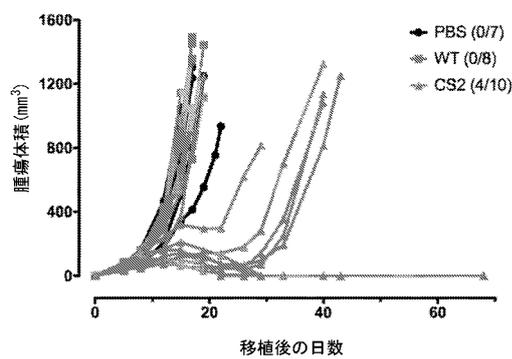
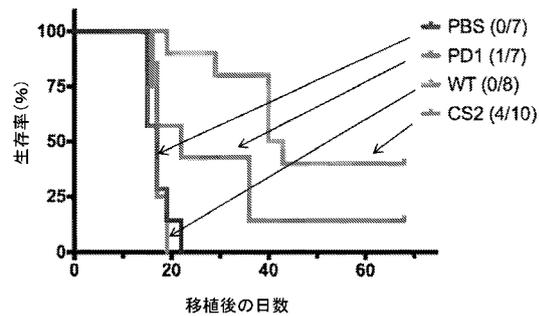


FIG. 25B



【 図 2 6 】

FIG. 26A

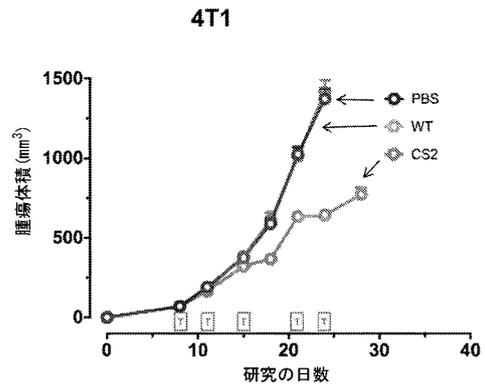
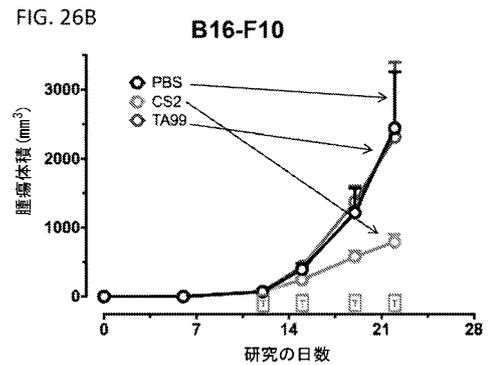
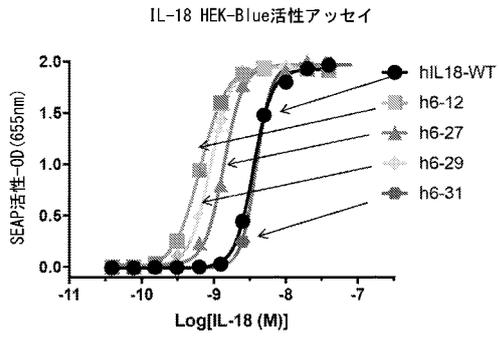


FIG. 26B



【 図 3 0 】

FIG. 30A



【 配 列 表 】

2020533301000001.app

【国際調査報告】

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/US2018/049648

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER IPC(8) - A61K 38/00; A61K 38/20; C07K 14/54; C12N 15/24 (2019.01) CPC - A61K 38/00; A61K 38/20; A61K 47/60; C07K 14/54 (2019.01)		
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) See Search History document		
Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched USPC - 424/85.2; 435/69.52; 530/351 (keyword delimited)		
Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used) See Search History document		
C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	US 2005/0008615 A1 (BAM et al) 13 January 2005 (13.01.2005) entire document	1-3, 5-7, 9, 13, 29-33, 43
A	WO 2002/101049 A2 (ARES TRADING S.A.) 19 December 2002 (19.12.2002) entire document	1-3, 5-7, 9, 13, 29-33, 43
A	US 2014/0112915 A1 (BARDROFF et al) 24 April 2014 (24.04.2014) entire document	1-3, 5-7, 9, 13, 29-33, 43
A	WO 2005/075648 A1 (GIFU UNIVERSITY et al) 18 August 2005 (18.08.2005) entire document	1-3, 5-7, 9, 13, 29-33, 43
A	US 2011/0189131 A1 (ALTAROCCA et al) 04 August 2011 (04.08.2011) entire document	1-3, 5-7, 9, 13, 29-33, 43
A	US 7,279,155 B2 (DINARELLO et al) 09 October 2007 (09.10.2007) entire document	1-3, 5-7, 9, 13, 29-33, 43
<input type="checkbox"/> Further documents are listed in the continuation of Box C. <input 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 04 January 2019	Date of mailing of the international search report 22 JAN 2019	
Name and mailing address of the ISA/US Mail Stop PCT, Attn: ISA/US, Commissioner for Patents P.O. Box 1450, Alexandria, VA 22313-1450 Facsimile No. 571-273-8300	Authorized officer Blaine R. Copenheaver PCT Helpdesk: 571-272-4300 PCT OSP: 571-272-7774	

Form PCT/ISA/210 (second sheet) (January 2015)

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/US2018/049648

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

1. With regard to any nucleotide and/or amino acid sequence disclosed in the international application, the international search was carried out on the basis of a sequence listing:

- a. forming part of the international application as filed:
 in the form of an Annex C/ST.25 text file.
 on paper or in the form of an image file.
- b. furnished together with the international application under PCT Rule 13ter.1(a) for the purposes of international search only in the form of an Annex C/ST.25 text file.
- c. furnished subsequent to the international filing date for the purposes of international search only:
 in the form of an Annex C/ST.25 text file (Rule 13ter.1(a)).
 on paper or in the form of an image file (Rule 13ter.1(b) and Administrative Instructions, Section 713).

2. In addition, in the case that more than one version or copy of a sequence listing has been filed or furnished, the required statements that the information in the subsequent or additional copies is identical to that forming part of the application as filed or does not go beyond the application as filed, as appropriate, were furnished.

3. Additional comments:

SEQ ID NO: 34 was searched.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/US2018/049648

Box No. II Observations where certain claims were found unsearchable (Continuation of item 2 of first sheet)

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

1. Claims Nos.:
because they relate to subject matter not required to be searched by this Authority, namely:

2. Claims Nos.:
because they relate to parts of the international application that do not comply with the prescribed requirements to such an extent that no meaningful international search can be carried out, specifically:

3. Claims Nos.: 14-28, 44-58
because they are dependent claims and are not drafted in accordance with the second and third sentences of Rule 6.4(a).

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

This International Searching Authority found multiple inventions in this international application, as follows:
See extra sheet(s).

1. As all required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers all searchable claims.
2. As all searchable claims could be searched without effort justifying additional fees, this Authority did not invite payment of additional fees.
3. As only some of the required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers only those claims for which fees were paid, specifically claims Nos.:
4. No required additional search fees were timely paid by the applicant. Consequently, this international search report is restricted to the invention first mentioned in the claims; it is covered by claims Nos.:
1-3, 5-7, 9, 13, 29-33, and 43 to the extent that they read on an IL-18 variant polypeptide of SEQ ID NO:34.

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

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/US2018/049648

Continued from Box No. III Observations where unity of invention is lacking

This application contains the following inventions or groups of inventions which are not so linked as to form a single general inventive concept under PCT Rule 13.1. In order for all inventions to be examined, the appropriate additional examination fees need to be paid.

Group I+ claims 1-13 and 29-43 are drawn to IL-18 variant polypeptides, and compositions comprising the same.

The first invention of Group I+ is restricted to an IL-18 variant polypeptide, and compositions comprising the same, wherein the IL-18 variant polypeptide is selected to be SEQ ID NO:34. It is believed that claims 1-3, 5-7, 9, 13, 29-33, and 43 read on this first named invention and thus these claims will be searched without fee to the extent that they read on an IL-18 variant polypeptide of SEQ ID NO:34.

Applicant is invited to elect additional IL-18 variant polypeptides, each with specified SEQ ID NO, to be searched in a specific combination by paying additional fee for each set of election. An exemplary election would be to an IL-18 variant polypeptide, and compositions comprising the same, wherein the IL-18 variant polypeptide is selected to be SEQ ID NO:126. Additional IL-18 variant polypeptides will be searched upon the payment of additional fees. Applicants must specify the claims that read on any additional elected inventions. Applicants must further indicate, if applicable, the claims which read on the first named invention if different than what was indicated above for this group. Failure to clearly identify how any paid additional invention fees are to be applied to the "+" group(s) will result in only the first claimed invention to be searched/examined.

The inventions listed in Groups I+ do not relate to a single general inventive concept under PCT Rule 13.1, because under PCT Rule 13.2 they lack the same or corresponding special technical features for the following reasons:

The Groups I+ formulas do not share a significant structural element responsible for treating or preventing a disease or disorder in a subject, requiring the selection of alternatives for the amino acid sequence of the IL-18 polypeptides, where "the IL-18 variant polypeptide comprises at least one mutation selected from the group consisting of Y1H, Y1R, L5H, L5I, L5Y, K8Q, K8R, M51T, M51K, M51D, M51N, M51E, M51R, K53R, K53G, K53S, K53T, S55K, S55R, Q56E, Q56A, Q56R, Q56V, Q56G, Q56K, Q56L, P57L, P57G, P57A, P57K, G59T, G59A, M60K, M60Q, M60R, M60L, E77D, Q103E, Q103K, Q103P, Q103A, Q103R, S105R, S105D, S105K, S105N, S105A, D110H, D110K, D110N, D110Q, D110E, D110S, D110G, N111H, N111Y, N111D, N111R, N111S, N111G, M113V, M113R, M113T, M113K, V153I, V153T, V153A, N155K, and N155H, relative to SEQ ID NO: 30" and "the IL-18 variant polypeptide comprises at least one mutation selected from the group consisting of N1H, N1Y, M50A, M50S, M50V, M50G, M50T, Y51R, K52V, K52S, K52T, K52G, K52A, S54R, S54K, S54G, S54N, E55R, E55H, E55N, E55D, E55G, V56L, V56M, V56R, V56A, V56S, V56Q, R57G, R57K, G58A, L59K, L59R, L59V, R104K, R104L, R104Q, R104S, N109D, and L151V, relative to SEQ ID NO:31" and "the IL-18 variant polypeptide comprises at least one mutation selected from the group consisting of Y1D, Y1F, Y1H, Y1L, L5F, L5H, D17A, D17G, D17R, D17H, E31A, E31T, E31G, E31K, E31R, T34A, T34K, T34E, D35S, D35A, D35Y, S36N, S36K, S36R, D37P, D37A, D37R, D37H, D37L, D37V, D40Y, D40S, D40A, N41K, N41S, N41R, M51F, M51L, M51I, Q56H, M60L, M60F, M60I, Q103L, Q103I, H109A, H109P, H109D, M113L, M113I, M113F, and R131S, relative to SEQ ID NO:30" and "the IL-18 variant polypeptide comprises at least one mutation selected from the group consisting of N1Y, N1D, N1H, N1L, N1F, N1V, N1I, L5Y, L5H, D17Q, D17G, D17A, D17E, D17S, D17N, E30A, E30R, E30K, E30T, E30G, T33G, T33A, T33E, T33R, T33K, D34Y, D34S, D34A, I35T, I35K, I35R, D36V, D36A, D36G, D36H, D36P, D36R, D36L, M50F, M50L, Q102L, Q102I, R104E, R104A, R104P, R104G, R104Q, R104H, H108D, H108A, N109R, N109S, N109T, N109I, M111L, M111I, D129A, D129F, D129V, D129Y, D129S, D130E, D130T, D130G, D130N, D130R, D130S, D130Q, and D130H, relative to SEQ ID NO:31".

Additionally, even if Groups I+ were considered to share the technical features a composition comprising an IL-18 variant polypeptide, wherein the IL-18 variant polypeptide specifically binds to IL-18 receptor (IL-18R) and wherein the IL-18 variant polypeptide exhibits substantially reduced binding to IL-18 binding protein (IL-18BP); a composition comprising an IL-18BP inhibitor or IL-18BP antagonist, wherein the inhibitor or antagonist inhibits the ability of IL-18BP to neutralize endogenous IL-18; these shared technical features do not represent a contribution over the prior art.

Specifically, US 2005/0008615 A1 to Bam et al. discloses a composition comprising an IL-18 variant polypeptide (the present invention provides a composition comprising a human IL-18 polypeptide, wherein the polypeptide is conjugated to a water-soluble polymer, Para. [0031]), wherein the IL-18 variant polypeptide specifically binds to IL-18 receptor (IL-18R) and wherein the IL-18 variant polypeptide exhibits substantially reduced binding to IL-18 binding protein (IL-18BP) (we aimed to pegylate a residue at the tip of a flexible surface loop of IL-18 that is not implicated in interactions with the IL-18 receptor; [we assume that IL-18 will interact with its receptor in a way similar to the IL-18:IL-18 receptor interaction, Para. [0066]; IL-18 ...pegylation significantly reduced affinities for ...IL-18 BP (10-176-fold), Para. [0101]; [p]egylated IL-18 molecules had a reduced capacity to complex with IL-18BP, Para. [0113]); a composition comprising an IL-18BP inhibitor or IL-18BP antagonist (a composition comprising a human IL-18 polypeptide, wherein the polypeptide is conjugated to a water-soluble polymer, Para. [0031]), wherein the inhibitor or antagonist inhibits the ability of IL-18BP to neutralize endogenous IL-18 (IL-18 ...pegylation significantly reduced affinities for ...IL-18 BP (10-176-fold), Para. [0101]; [p]egylated IL-18 molecules had a reduced capacity to complex with IL-18BP, Para. [0113]).

The inventions listed in Groups I+ therefore lack unity under Rule 13 because they do not share a same or corresponding special technical features.

フロントページの続き

(51)Int.Cl.	F I	テーマコード(参考)
A 6 1 K 35/768 (2015.01)	A 6 1 K 35/768	
A 6 1 K 35/17 (2015.01)	A 6 1 K 35/17	Z
A 6 1 K 38/19 (2006.01)	A 6 1 K 38/19	
A 6 1 K 47/55 (2017.01)	A 6 1 K 47/55	
A 6 1 K 47/64 (2017.01)	A 6 1 K 47/64	
A 6 1 K 47/68 (2017.01)	A 6 1 K 47/68	
A 6 1 K 47/69 (2017.01)	A 6 1 K 47/69	
C 1 2 N 15/24 (2006.01)	C 1 2 N 15/24	Z N A
C 1 2 N 15/13 (2006.01)	C 1 2 N 15/13	
C 1 2 N 15/113 (2010.01)	C 1 2 N 15/113	Z
C 0 7 K 14/54 (2006.01)	C 0 7 K 14/54	
C 0 7 K 16/00 (2006.01)	C 0 7 K 16/00	
C 1 2 N 5/10 (2006.01)	C 1 2 N 5/10	
C 1 2 N 7/01 (2006.01)	C 1 2 N 7/01	

(81)指定国・地域 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, T J, 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, R O, 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, DJ, DK, DM, DO, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, G T, HN, HR, HU, ID, IL, IN, IR, IS, JO, JP, KE, KG, KH, KN, KP, KR, KW, 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

(74)代理人 100150810

弁理士 武居 良太郎

(72)発明者 アーロン リング

アメリカ合衆国, コネティカット 0 6 5 1 1 , ニュー ヘブン, チャペル ストリート 5 0 4 , ユナイテッド 2

(72)発明者 ティン チョウ

アメリカ合衆国, コネティカット 0 6 5 1 1 , ニュー ヘブン, プロスペクト ストリート 5 7 9 , アpartment シー

(72)発明者 スザンヌ フィッシャー

アメリカ合衆国, コネティカット 0 6 5 1 5 , ニュー ヘブン, チャペル ストリート 1 9 9 5

F ターム(参考) 4B065 AA91Y AA94X AA95X AB01 AC14 BA01 CA24 CA44
 4C076 AA95 BB11 CC07 CC21 CC27 CC31 CC41 EE41 EE59 FF67
 FF68
 4C084 AA02 AA19 BA01 BA08 BA22 BA41 BA44 CA53 DA12 DA27
 DA59 MA66 NA05 NA14 ZB02 ZB021 ZB022 ZB05 ZB051 ZB052
 ZB09 ZB091 ZB092 ZB26 ZB261 ZB262 ZB31 ZB311 ZB32 ZB321
 ZC21 ZC211 ZC75 ZC751 ZC752
 4C087 AA01 AA02 BB37 BC83 DA20 NA05 NA14 ZB02 ZB05 ZB09
 ZB26 ZB31 ZB32 ZC21 ZC75
 4H045 AA10 AA11 AA20 AA30 BA10 CA40 DA02 DA75 EA27 EA28
 EA29 FA71