

(19) 日本国特許庁 (JP)

(12) 公表特許公報 (A)

(11) 特許出願公表番号

特表2017-527560

(P2017-527560A)

(43) 公表日 平成29年9月21日 (2017.9.21)

(51) Int.Cl.	F I	テーマコード (参考)
A 6 1 K 39/395 (2006.01)	A 6 1 K 39/395 M	4 B 0 6 4
C 0 7 K 16/28 (2006.01)	C 0 7 K 16/28 Z N A	4 C 0 7 6
C 1 2 P 21/08 (2006.01)	C 1 2 P 21/08	4 C 0 8 5
A 6 1 K 9/08 (2006.01)	A 6 1 K 39/395 N	4 H 0 4 5
A 6 1 K 47/22 (2006.01)	A 6 1 K 39/395 D	
審査請求 未請求 予備審査請求 未請求 (全 108 頁) 最終頁に続く		

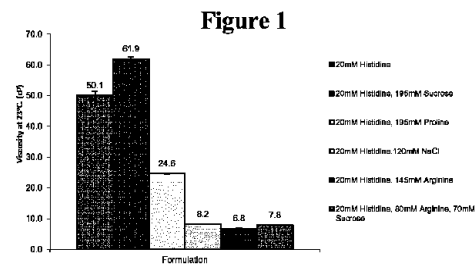
(21) 出願番号	特願2017-512291 (P2017-512291)	(71) 出願人	508098350 メドイミュン・リミテッド Medimmune Limited 英国シービー21・6ジーエイチ、ケンブリッジ、グランタ・パーク、ミルスタイン・ビルディング Milstein Building, Granta Park, Cambridge CB21 6GH, England
(86) (22) 出願日	平成27年9月2日 (2015.9.2)	(74) 代理人	100101454 弁理士 山田 卓二
(85) 翻訳文提出日	平成29年3月2日 (2017.3.2)	(74) 代理人	100062144 弁理士 青山 稔
(86) 国際出願番号	PCT/EP2015/070091	(74) 代理人	100106518 弁理士 松谷 道子
(87) 国際公開番号	W02016/034648		
(87) 国際公開日	平成28年3月10日 (2016.3.10)		
(31) 優先権主張番号	62/045, 338		
(32) 優先日	平成26年9月3日 (2014.9.3)		
(33) 優先権主張国	米国 (US)		

最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 安定抗 I L 4 R アルファ抗体配合物

(57) 【要約】

本発明は、高濃度の抗 I L 4 R 抗体を含む安定な低粘度抗体配合物に関する。一部の実施形態において、本発明は、一般に、ヒトインターロイキン-4 受容体アルファ (h I L-4 R α) に特異的に結合する約 1 0 0 m g / m L から約 2 0 0 m g / m L の抗体またはその断片、約 5 0 m M から約 4 0 0 m M の粘度調整剤；約 0 . 0 0 2 % から約 0 . 2 % の非イオン性界面活性剤；および配合緩衝液を含む安定な抗体配合物に関する。一部の実施形態において、配合緩衝液は、本質的にリン酸塩を有さない。一部の実施形態において、本発明は、容器、剤形および／またはキットを対象とする。一部の実施形態において、本発明は、安定な抗体配合物を作製し、使用する方法を対象とする。



【特許請求の範囲】

【請求項1】

安定な抗体配合物であって：

a. ヒトインターロイキン-4受容体アルファ（h I L - 4 R α）に特異的に結合する約 1 0 0 m g / m L から約 2 0 0 m g / m L の抗体またはその断片：

（I）前記抗体が、C D R のセット：H C D R 1、H C D R 2、H C D R 3、L C D R 1、L C D R 2 および L C D R 3 を含み、前記 C D R のセットが、以下の C D R の参照セット：

H C D R 1 が、配列番号 1 9 3 のアミノ酸配列を有し；
H C D R 2 が、配列番号 1 9 4 のアミノ酸配列を有し；
H C D R 3 が、配列番号 1 9 5 のアミノ酸配列を有し；
L C D R 1 が、配列番号 1 9 8 のアミノ酸配列を有し；
L C D R 2 が、配列番号 1 9 9 のアミノ酸配列を有し；
L C D R 3 が、配列番号 2 0 0 のアミノ酸配列を有するもの
からの 1 0 以下のアミノ酸置換を有し；

10

（I I）

前記 H C D R 1 が、配列番号 3 6 3 のアミノ酸配列を有し；
前記 H C D R 2 が、配列番号 3 6 4 のアミノ酸配列を有し；
前記 H C D R 3 が、配列番号 3 6 5 のアミノ酸配列を有し；
前記 L C D R 1 が、配列番号 3 6 8 のアミノ酸配列を有し；
前記 L C D R 2 が、配列番号 3 6 9 のアミノ酸配列を有し；
前記 L C D R 3 が、配列番号 3 7 0 のアミノ酸配列を有し；

20

もしくは

前記 H C D R 1 が、配列番号 2 3 3 のアミノ酸配列を有し；
前記 H C D R 2 が、配列番号 2 3 4 のアミノ酸配列を有し；
前記 H C D R 3 が、配列番号 2 3 5 のアミノ酸配列を有し；
前記 L C D R 1 が、配列番号 2 3 8 のアミノ酸配列を有し；
前記 L C D R 2 が、配列番号 2 3 9 のアミノ酸配列を有し；
前記 L C D R 3 が、配列番号 2 4 0 のアミノ酸配列を有し；

30

（I I I）前記抗体が、V H ドメインを含み：

i v. 前記 V H ドメインが、配列番号 1 9 2 のアミノ酸配列を有し；
v. 前記 V H ドメインが、配列番号 3 6 2 のアミノ酸配列を有し；もしくは
v i. 前記 V H ドメインが、配列番号 2 3 2 のアミノ酸配列を有し；
前記 V H ドメインが、K a b a t の標準ナンバリングを使用してフレームワーク領域内の
以下の残基：

H F W 1 中の 1 1、1 2；
H F W 2 中の 3 7、4 8；
H F W 3 中の 6 8、8 4、8 5；もしくは
H F W 4 中の 1 0 5、1 0 8、1 1 3

における 1 つ以上のアミノ酸置換を含み；

40

（I V）前記抗体が、V L ドメインを含み：

i v. 前記 V L ドメインが、配列番号 1 9 7 のアミノ酸配列を有し；
v. 前記 V L ドメインが、配列番号 3 6 7 のアミノ酸配列を有し；もしくは
v i. 前記 V L ドメインが、配列番号 2 3 7 のアミノ酸配列を有し；
前記 V L ドメインが、K a b a t の標準ナンバリングを使用してフレームワーク領域内の
以下の残基：

L F W 1 中の 1、2、3、9；
L F W 2 中の 3 8、4 2；もしくは
L F W 3 中の 5 8、6 5、6 6、7 0、7 4、8 5、8 7

における 1 つ以上のアミノ酸置換を含み；

50

または

(V) 前記抗体またはその断片が、VHおよびVLドメインを含み：

i v. 前記VHドメインが、配列番号192のアミノ酸配列を有し、

前記VLドメインが、配列番号197のアミノ酸配列を有し；

v. 前記VHドメインが、配列番号362のアミノ酸配列を有し、

前記VLドメインが、配列番号367のアミノ酸配列を有し；もしくは

v i. 前記VHドメインが、配列番号232のアミノ酸配列を有し、

前記VLドメインが、配列番号237のアミノ酸配列を有し；

前記VHドメインおよびVLドメインが、K a b a tの標準ナンバリングを使用してフレームワーク領域内の以下の残基：

H F W 1中の11、12；

H F W 2中の37、48；

H F W 3中の68、84、85；

H F W 4中の105、108、113；

L F W 1中の1、2、3、9；

L F W 2中の38、42；もしくは

L F W 3中の58、65、66、70、74、85、87

における1つ以上のアミノ酸置換を含む；

または(I)～(V)の任意の組合せ；および

b. 約50mMから約400mMの粘度調整剤；

c. 約0.002%から約0.2%の非イオン性界面活性剤；および

d. 配合緩衝液

を含む抗体配合物。

【請求項2】

前記配合緩衝液が、本質的にリン酸塩を有さない、請求項1に記載の抗体配合物。

【請求項3】

前記粘度調整剤が、ヒスチジン、アルギニン、リジン、ポリビニルアルコール、ポリアルキルセルロース、ヒドロキシアルキルセルロース、グリセリン、ポリエチレングリコール、グルコース、デキストロース、およびスクロースからなる群から選択される、請求項2に記載の抗体配合物。

【請求項4】

前記非イオン性界面活性剤が、T r i t o n X-100、T w e e n 80、ポリソルベート20、ポリソルベート80、ノノキシノール-9、ポリオキサマー、ステアシルアルコール、またはモノステアリン酸ソルビタンからなる群から選択される、請求項1～3のいずれか一項に記載の抗体配合物。

【請求項5】

前記配合緩衝液が、酢酸緩衝液、T R I S緩衝液、H E P E S緩衝液、塩酸緩衝液、アルギニン緩衝液、グリシン緩衝液、クエン酸緩衝液、またはT E S緩衝液である、請求項1～4のいずれか一項に記載の抗体配合物。

【請求項6】

前記配合緩衝液が、アルギニン緩衝液である、請求項5に記載の抗体配合物。

【請求項7】

約100mMから約200mMのN a C lをさらに含む、請求項1～6のいずれか一項に記載の抗体配合物。

【請求項8】

約5から約8のpHを有する、請求項1～7のいずれか一項に記載の抗体配合物。

【請求項9】

前記抗体が、CDRのセット：H C D R 1、H C D R 2、H C D R 3、L C D R 1、L C D R 2およびL C D R 3を含み、前記CDRのセットが、以下のCDRの参照セット：H C D R 1が、配列番号193のアミノ酸配列を有し；

10

20

30

40

50

H C D R 2 が、配列番号 1 9 4 のアミノ酸配列を有し；
H C D R 3 が、配列番号 1 9 5 のアミノ酸配列を有し；
L C D R 1 が、配列番号 1 9 8 のアミノ酸配列を有し；
L C D R 2 が、配列番号 1 9 9 のアミノ酸配列を有し；
L C D R 3 が、配列番号 2 0 0 のアミノ酸配列を有するもの
からの 1 0 以下のアミノ酸置換を有する、請求項 1 に記載の抗体配合物。

【請求項 1 0】

前記アミノ酸置換が、K a b a t の標準ナンバリングを使用して前記 C D R 内の以下の残基：

H C D R 2 中の 5 3、5 7；
H C D R 3 中の 9 7、9 8、9 9、1 0 1、1 0 2；
L C D R 1 中の 2 7、2 7 A、2 7 B、3 1；
L C D R 2 中の 5 6；または
L C D R 3 中の 9 2、9 3、9 4、9 5、9 5 A、9 5 B、9 5 C、9 6、9 7
の 1 つ以上におけるアミノ酸置換を含む、請求項 9 に記載の抗体配合物。

【請求項 1 1】

K a b a t の標準ナンバリングを使用して前記フレームワーク領域内の以下の残基：

H F W 1 中の 1 1、1 2；
H F W 2 中の 3 7、4 8；
H F W 3 中の 6 8、8 4、8 5；
H F W 4 中の 1 0 5、1 0 8、1 1 3；
L F W 1 中の 1、2、3、9；
L F W 2 中の 3 8、4 2；または
L F W 3 中の 5 8、6 5、6 6、7 0、7 4、8 5、8 7
における 1 つ以上のアミノ酸置換をさらに含む、請求項 9 に記載の抗体配合物。

【請求項 1 2】

前記抗体またはその断片が、ヒトインターロイキン-4 受容体アルファ（h I L - 4 R α）に特異的結合し：

（I）

前記 H C D R 1 が、配列番号 3 6 3 のアミノ酸配列を有し；
前記 H C D R 2 が、配列番号 3 6 4 のアミノ酸配列を有し；
前記 H C D R 3 が、配列番号 3 6 5 のアミノ酸配列を有し；
前記 L C D R 1 が、配列番号 3 6 8 のアミノ酸配列を有し；
前記 L C D R 2 が、配列番号 3 6 9 のアミノ酸配列を有し；
前記 L C D R 3 が、配列番号 3 7 0 のアミノ酸配列を有し；
または

（I I）

前記 H C D R 1 が、配列番号 2 3 3 のアミノ酸配列を有し；
前記 H C D R 2 が、配列番号 2 3 4 のアミノ酸配列を有し；
前記 H C D R 3 が、配列番号 2 3 5 のアミノ酸配列を有し；
前記 L C D R 1 が、配列番号 2 3 8 のアミノ酸配列を有し；
前記 L C D R 2 が、配列番号 2 3 9 のアミノ酸配列を有し；
前記 L C D R 3 が、配列番号 2 4 0 のアミノ酸配列を有する、
請求項 1 に記載の抗体配合物。

【請求項 1 3】

前記抗体またはその断片が、抗体 V H ドメインおよび抗体 V L ドメインを含み、前記 V H ドメインが、H C D R 1、H C D R 2、H C D R 3 および第 1 のフレームワークを含み、前記 V L ドメインが、L C D R 1、L C D R 2、L C D R 3 および第 2 のフレームワークを含む、請求項 9 または 1 2 に記載の抗体配合物。

【請求項 1 4】

前記抗体またはその断片が、V Hドメインを含み：

- a. 前記V Hドメインが、配列番号192のアミノ酸配列を有し；
- b. 前記V Hドメインが、配列番号362のアミノ酸配列を有し；または
- c. 前記V Hドメインが、配列番号232のアミノ酸配列を有し；

前記V Hドメインが、K a b a tの標準ナンバリングを使用して前記フレームワーク領域内の以下の残基：

H F W 1中の11、12；

H F W 2中の37、48；

H F W 3中の68、84、85；または

H F W 4中の105、108、113

における1つ以上のアミノ酸置換を含む、請求項1に記載の抗体配合物。

10

【請求項15】

前記抗体またはその断片が、V Lドメインを含み：

- a. 前記V Lドメインが、配列番号197のアミノ酸配列を有し；
- b. 前記V Lドメインが、配列番号367のアミノ酸配列を有し；または
- c. 前記V Lドメインが、配列番号237のアミノ酸配列を有し；

前記V Lドメインが、K a b a tの標準ナンバリングを使用して前記フレームワーク領域内の以下の残基：

L F W 1中の1、2、3、9；

L F W 2中の38、42；または

L F W 3中の58、65、66、70、74、85、87

における1つ以上のアミノ酸置換を含む、請求項1に記載の抗体配合物。

20

【請求項16】

前記抗体またはその断片が、V HおよびV Lドメインを含み：

- a. 前記V Hドメインが、配列番号192のアミノ酸配列を有し、前記V Lドメインが、配列番号197のアミノ酸配列を有し；
- b. 前記V Hドメインが、配列番号362のアミノ酸配列を有し、前記V Lドメインが、配列番号367のアミノ酸配列を有し；または
- c. 前記V Hドメインが、配列番号232のアミノ酸配列を有し、前記V Lドメインが、配列番号237のアミノ酸配列を有し；

前記V HドメインおよびV Lドメインが、K a b a tの標準ナンバリングを使用して前記フレームワーク領域内の以下の残基：

H F W 1中の11、12；

H F W 2中の37、48；

H F W 3中の68、84、85；

H F W 4中の105、108、113；

L F W 1中の1、2、3、9；

L F W 2中の38、42；または

L F W 3中の58、65、66、70、74、85、87

における1つ以上のアミノ酸置換を含む、請求項1に記載の抗体配合物。

30

40

【請求項17】

約40℃における少なくとも1ヵ月間の貯蔵時に安定である、請求項1～16のいずれか一項に記載の抗体配合物。

【請求項18】

約40℃における1ヵ月間の貯蔵後に1000未満の「 $\geq 10 \mu m$ の粒子」/mLを有する、請求項1～17のいずれか一項に記載の抗体配合物。

【請求項19】

23℃において20cP未満の粘度を有する、請求項1～88のいずれか一項に記載の抗体配合物。

【請求項20】

50

安定な抗体配合物であって：

a. ヒトインターロイキン-4受容体アルファ（h I L-4 R α）に特異的に結合する約 1 0 0 m g / m L から約 2 0 0 m g / m L の抗体またはその断片：

（I）前記抗体が、CDRのセット：H C D R 1、H C D R 2、H C D R 3、L C D R 1、L C D R 2 および L C D R 3 を含み、前記 C D R のセットが、以下の C D R の参照セット：

H C D R 1 が、配列番号 1 9 3 のアミノ酸配列を有し；
H C D R 2 が、配列番号 1 9 4 のアミノ酸配列を有し；
H C D R 3 が、配列番号 1 9 5 のアミノ酸配列を有し；
L C D R 1 が、配列番号 1 9 8 のアミノ酸配列を有し；
L C D R 2 が、配列番号 1 9 9 のアミノ酸配列を有し；
L C D R 3 が、配列番号 2 0 0 のアミノ酸配列を有するもの
からの 1 0 以下のアミノ酸置換を有し；

10

（I I）

前記 H C D R 1 が、配列番号 3 6 3 のアミノ酸配列を有し；
前記 H C D R 2 が、配列番号 3 6 4 のアミノ酸配列を有し；
前記 H C D R 3 が、配列番号 3 6 5 のアミノ酸配列を有し；
前記 L C D R 1 が、配列番号 3 6 8 のアミノ酸配列を有し；
前記 L C D R 2 が、配列番号 3 6 9 のアミノ酸配列を有し；
前記 L C D R 3 が、配列番号 3 7 0 のアミノ酸配列を有し；
もしくは

20

前記 H C D R 1 が、配列番号 2 3 3 のアミノ酸配列を有し；
前記 H C D R 2 が、配列番号 2 3 4 のアミノ酸配列を有し；
前記 H C D R 3 が、配列番号 2 3 5 のアミノ酸配列を有し；
前記 L C D R 1 が、配列番号 2 3 8 のアミノ酸配列を有し；
前記 L C D R 2 が、配列番号 2 3 9 のアミノ酸配列を有し；
前記 L C D R 3 が、配列番号 2 4 0 のアミノ酸配列を有し；

（I I I）前記抗体が、V H ドメインを含み：

i. 前記 V H ドメインが、配列番号 1 9 2 のアミノ酸配列を有し；
i i. 前記 V H ドメインが、配列番号 3 6 2 のアミノ酸配列を有し；もしくは
i i i. 前記 V H ドメインが、配列番号 2 3 2 のアミノ酸配列を有し；
前記 V H ドメインが、K a b a t の標準ナンバリングを使用してフレームワーク領域内の
以下の残基：

30

H F W 1 中の 1 1、1 2；
H F W 2 中の 3 7、4 8；
H F W 3 中の 6 8、8 4、8 5；もしくは
H F W 4 中の 1 0 5、1 0 8、1 1 3
における 1 つ以上のアミノ酸置換を含み；

（I V）前記抗体が、V L ドメインを含み：

v i i. 前記 V L ドメインが、配列番号 1 9 7 のアミノ酸配列を有し；
v i i i. 前記 V L ドメインが、配列番号 3 6 7 のアミノ酸配列を有し；もしくは
i x. 前記 V L ドメインが、配列番号 2 3 7 のアミノ酸配列を有し；
前記 V L ドメインが、K a b a t の標準ナンバリングを使用してフレームワーク領域内の
以下の残基：

40

L F W 1 中の 1、2、3、9；
L F W 2 中の 3 8、4 2；もしくは
L F W 3 中の 5 8、6 5、6 6、7 0、7 4、8 5、8 7
における 1 つ以上のアミノ酸置換を含み；

または

（V）前記抗体またはその断片が、V H および V L ドメインを含み：

50

v i i . 前記 V H ドメインが、配列番号 1 9 2 のアミノ酸配列を有し、前記 V L ドメインが、配列番号 1 9 7 のアミノ酸配列を有し；

v i i i . 前記 V H ドメインが、配列番号 3 6 2 のアミノ酸配列を有し、前記 V L ドメインが、配列番号 3 6 7 のアミノ酸配列を有し；もしくは

i x . 前記 V H ドメインが、配列番号 2 3 2 のアミノ酸配列を有し、前記 V L ドメインが、配列番号 2 3 7 のアミノ酸配列を有し；

前記 V H ドメインおよび V L ドメインが、K a b a t の標準ナンバリングを使用してフレームワーク領域内の以下の残基：

H F W 1 中の 1 1、1 2；

H F W 2 中の 3 7、4 8；

H F W 3 中の 6 8、8 4、8 5；

H F W 4 中の 1 0 5、1 0 8、1 1 3；

L F W 1 中の 1、2、3、9；

L F W 2 中の 3 8、4 2；もしくは

L F W 3 中の 5 8、6 5、6 6、7 0、7 4、8 5、8 7

における 1 つ以上のアミノ酸置換を含む；

または (I) ～ (V) の任意の組合せ；および

b . 約 5 0 m M から約 4 0 0 m M のアルギニン；

c . 約 0 . 0 0 2 % から約 0 . 2 % のポリソルベート 8 0；および

d . 約 1 0 から約 4 0 m M の L - ヒスチジン / L - ヒスチジン塩酸塩を含む抗体配合物。

【請求項 2 1】

安定な抗体配合物であって：

b . ヒトインターロイキン - 4 受容体アルファ (h I L - 4 R α) に特異的に結合する約 1 0 0 m g / m L から約 2 0 0 m g / m L の抗体またはその断片：

(I) 前記抗体が、C D R のセット：H C D R 1、H C D R 2、H C D R 3、L C D R 1、L C D R 2 および L C D R 3 を含み、前記 C D R のセットが、以下の C D R の参照セット：

H C D R 1 が、配列番号 1 9 3 のアミノ酸配列を有し；

H C D R 2 が、配列番号 1 9 4 のアミノ酸配列を有し；

H C D R 3 が、配列番号 1 9 5 のアミノ酸配列を有し；

L C D R 1 が、配列番号 1 9 8 のアミノ酸配列を有し；

L C D R 2 が、配列番号 1 9 9 のアミノ酸配列を有し；

L C D R 3 が、配列番号 2 0 0 のアミノ酸配列を有するもの

からの 1 0 以下のアミノ酸置換を有し；

(I I)

前記 H C D R 1 が、配列番号 3 6 3 のアミノ酸配列を有し；

前記 H C D R 2 が、配列番号 3 6 4 のアミノ酸配列を有し；

前記 H C D R 3 が、配列番号 3 6 5 のアミノ酸配列を有し；

前記 L C D R 1 が、配列番号 3 6 8 のアミノ酸配列を有し；

前記 L C D R 2 が、配列番号 3 6 9 のアミノ酸配列を有し；

前記 L C D R 3 が、配列番号 3 7 0 のアミノ酸配列を有し；

もしくは

前記 H C D R 1 が、配列番号 2 3 3 のアミノ酸配列を有し；

前記 H C D R 2 が、配列番号 2 3 4 のアミノ酸配列を有し；

前記 H C D R 3 が、配列番号 2 3 5 のアミノ酸配列を有し；

前記 L C D R 1 が、配列番号 2 3 8 のアミノ酸配列を有し；

前記 L C D R 2 が、配列番号 2 3 9 のアミノ酸配列を有し；

前記 L C D R 3 が、配列番号 2 4 0 のアミノ酸配列を有し；

(I I I) 前記抗体が、V H ドメインを含み：

(I I I) 前記抗体が、V H ドメインを含み：

v i i . 前記 V H ドメインが、配列番号 1 9 2 のアミノ酸配列を有し；
 v i i i . 前記 V H ドメインが、配列番号 3 6 2 のアミノ酸配列を有し；もしくは
 i x . 前記 V H ドメインが、配列番号 2 3 2 のアミノ酸配列を有し；
 前記 V H ドメインが、K a b a t の標準ナンバリングを使用してフレームワーク領域内の
 以下の残基：

H F W 1 中の 1 1、1 2；

H F W 2 中の 3 7、4 8；

H F W 3 中の 6 8、8 4、8 5；もしくは

H F W 4 中の 1 0 5、1 0 8、1 1 3

における 1 つ以上のアミノ酸置換を含み；

10

(I V) 前記抗体が、V L ドメインを含み：

v i i . 前記 V L ドメインが、配列番号 1 9 7 のアミノ酸配列を有し；

v i i i . 前記 V L ドメインが、配列番号 3 6 7 のアミノ酸配列を有し；もしくは

i x . 前記 V L ドメインが、配列番号 2 3 7 のアミノ酸配列を有し；

前記 V L ドメインが、K a b a t の標準ナンバリングを使用してフレームワーク領域内の
 以下の残基：

L F W 1 中の 1、2、3、9；

L F W 2 中の 3 8、4 2；もしくは

L F W 3 中の 5 8、6 5、6 6、7 0、7 4、8 5、8 7

における 1 つ以上のアミノ酸置換を含み；

20

または

(V) 前記抗体またはその断片が、V H および V L ドメインを含み：

v i i . 前記 V H ドメインが、配列番号 1 9 2 のアミノ酸配列を有し、

前記 V L ドメインが、配列番号 1 9 7 のアミノ酸配列を有し；

v i i i . 前記 V H ドメインが、配列番号 3 6 2 のアミノ酸配列を有し、

前記 V L ドメインが、配列番号 3 6 7 のアミノ酸配列を有し；もしくは

i x . 前記 V H ドメインが、配列番号 2 3 2 のアミノ酸配列を有し、

前記 V L ドメインが、配列番号 2 3 7 のアミノ酸配列を有し；

前記 V H ドメインおよび V L ドメインが、K a b a t の標準ナンバリングを使用してフレ
 ームワーク領域内の以下の残基：

30

H F W 1 中の 1 1、1 2；

H F W 2 中の 3 7、4 8；

H F W 3 中の 6 8、8 4、8 5；

H F W 4 中の 1 0 5、1 0 8、1 1 3；

L F W 1 中の 1、2、3、9；

L F W 2 中の 3 8、4 2；もしくは

L F W 3 中の 5 8、6 5、6 6、7 0、7 4、8 5、8 7

における 1 つ以上のアミノ酸置換を含む；

または (I) ～ (V) の任意の組合せ；および

b . 約 1 9 0 m M のアルギニン；

40

c . 約 0 . 0 4 % のポリソルベート 8 0；および

d . 約 2 5 m M の L - ヒスチジン / L - ヒスチジン塩酸塩
 を含む抗体配合物。

【請求項 2 2】

約 2 5 ℃ における少なくとも 3 ヶ月間の貯蔵時に安定である、請求項 1 ～ 2 1 のいずれ
 か一項に記載の抗体配合物。

【請求項 2 3】

約 5 ℃ における少なくとも 1 8 ヶ月間の貯蔵時に安定である、請求項 1 ～ 2 2 のいずれ
 か一項に記載の抗体配合物。

【請求項 2 4】

50

約 40℃において少なくとも 1 ヶ月間貯蔵された前記抗体が、貯蔵されなかった参照抗体と比較して h I L - 4 R α ポリペプチドへの結合能の少なくとも 80%を保持する、請求項 1～23 のいずれか一項に記載の抗体配合物。

【請求項 25】

約 5℃において少なくとも 6 ヶ月間貯蔵された前記抗体が、貯蔵されなかった参照抗体と比較して h I L - 4 R α ポリペプチドへの結合能の少なくとも 80%を保持する、請求項 1～24 のいずれか一項に記載の抗体配合物。

【請求項 26】

約 40℃において少なくとも 1 ヶ月間貯蔵された前記抗体が、貯蔵されなかった参照抗体と比較して h I L - 4 R α ポリペプチドへの結合能の少なくとも 50%を保持する、請求項 1～25 のいずれか一項に記載の抗体配合物。

10

【請求項 27】

約 5℃において少なくとも 6 ヶ月間貯蔵された前記抗体が、貯蔵されなかった参照抗体と比較して h I L - 4 R α ポリペプチドへの結合能の少なくとも 50%を保持する、請求項 1～26 のいずれか一項に記載の抗体配合物。

【請求項 28】

好適な容器中で請求項 1～27 のいずれか一項に記載の抗体配合物を含むヒトへの非経口投与に好適な医薬単位剤形。

【請求項 29】

安定な水性抗体配合物を産生する方法であって：

20

c. 抗体を、ヒトインターロイキン-4 受容体アルファ (h I L - 4 R α) に特異的に結合する約 100 mg/mL から約 200 mg/mL の抗体またはその断片に精製すること：

(I) 前記抗体が、CDR のセット：H C D R 1、H C D R 2、H C D R 3、L C D R 1、L C D R 2 および L C D R 3 を含み、前記 C D R のセットが、以下の C D R の参照セット：

H C D R 1 が、配列番号 193 のアミノ酸配列を有し；

H C D R 2 が、配列番号 194 のアミノ酸配列を有し；

H C D R 3 が、配列番号 195 のアミノ酸配列を有し；

L C D R 1 が、配列番号 198 のアミノ酸配列を有し；

30

L C D R 2 が、配列番号 199 のアミノ酸配列を有し；

L C D R 3 が、配列番号 200 のアミノ酸配列を有するもの

からの 10 以下のアミノ酸置換を有し；

(I I)

前記 H C D R 1 が、配列番号 363 のアミノ酸配列を有し；

前記 H C D R 2 が、配列番号 364 のアミノ酸配列を有し；

前記 H C D R 3 が、配列番号 365 のアミノ酸配列を有し；

前記 L C D R 1 が、配列番号 368 のアミノ酸配列を有し；

前記 L C D R 2 が、配列番号 369 のアミノ酸配列を有し；

前記 L C D R 3 が、配列番号 370 のアミノ酸配列を有し；

40

もしくは

前記 H C D R 1 が、配列番号 233 のアミノ酸配列を有し；

前記 H C D R 2 が、配列番号 234 のアミノ酸配列を有し；

前記 H C D R 3 が、配列番号 235 のアミノ酸配列を有し；

前記 L C D R 1 が、配列番号 238 のアミノ酸配列を有し；

前記 L C D R 2 が、配列番号 239 のアミノ酸配列を有し；

前記 L C D R 3 が、配列番号 240 のアミノ酸配列を有し；

(I I I) 前記抗体が、V H ドメインを含み：

前記 V H ドメインが、配列番号 192 のアミノ酸配列を有し；

前記 V H ドメインが、配列番号 362 のアミノ酸配列を有し；もしくは

50

前記 V H ドメインが、配列番号 2 3 2 のアミノ酸配列を有し；
 前記 V H ドメインが、K a b a t の標準ナンバリングを使用してフレームワーク領域内の以下の残基：

H F W 1 中の 1 1、1 2；

H F W 2 中の 3 7、4 8；

H F W 3 中の 6 8、8 4、8 5；もしくは

H F W 4 中の 1 0 5、1 0 8、1 1 3

における 1 つ以上のアミノ酸置換を含み；

(I V) 前記抗体が、V L ドメインを含み；

前記 V L ドメインが、配列番号 1 9 7 のアミノ酸配列を有し；

前記 V L ドメインが、配列番号 3 6 7 のアミノ酸配列を有し；もしくは

前記 V L ドメインが、配列番号 2 3 7 のアミノ酸配列を有し；

前記 V L ドメインが、K a b a t の標準ナンバリングを使用してフレームワーク領域内の以下の残基：

L F W 1 中の 1、2、3、9；

L F W 2 中の 3 8、4 2；もしくは

L F W 3 中の 5 8、6 5、6 6、7 0、7 4、8 5、8 7

における 1 つ以上のアミノ酸置換を含み；

または

(V) 前記抗体またはその断片が、V H および V L ドメインを含み；

i . 前記 V H ドメインが、配列番号 1 9 2 のアミノ酸配列を有し、

前記 V L ドメインが、配列番号 1 9 7 のアミノ酸配列を有し；

i i . 前記 V H ドメインが、配列番号 3 6 2 のアミノ酸配列を有し、

前記 V L ドメインが、配列番号 3 6 7 のアミノ酸配列を有し；もしくは

i i i . 前記 V H ドメインが、配列番号 2 3 2 のアミノ酸配列を有し、

前記 V L ドメインが、配列番号 2 3 7 のアミノ酸配列を有し；

前記 V H ドメインおよび V L ドメインが、K a b a t の標準ナンバリングを使用してフレームワーク領域内の以下の残基：

H F W 1 中の 1 1、1 2；

H F W 2 中の 3 7、4 8；

H F W 3 中の 6 8、8 4、8 5；

H F W 4 中の 1 0 5、1 0 8、1 1 3；

L F W 1 中の 1、2、3、9；

L F W 2 中の 3 8、4 2；もしくは

L F W 3 中の 5 8、6 5、6 6、7 0、7 4、8 5、8 7

における 1 つ以上のアミノ酸置換を含む；

または (I) ～ (V) の任意の組合せ；および

d . 前記単離された抗体を安定化配合物中に入れて安定な水性抗体配合物を形成することを含み、前記得られる安定な水性抗体配合物が、

i . 約 1 0 0 m g / m L から約 2 0 0 m g / m L の前記抗体；

i i . 約 5 0 m M から約 4 0 0 m M の粘度調整剤；

i i i . 約 0 . 0 0 2 % から約 0 . 2 % の非イオン性界面活性剤；および

i v . 配合緩衝液

を含む方法。

【請求項 3 0】

対象における肺疾患もしくは障害または慢性炎症性皮膚疾患もしくは障害を治療する方法であって、治療有効量の請求項 1 ～ 2 9 のいずれか一項に記載の抗体配合物を投与することを含む方法。

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

10

20

30

40

50

【0001】

本出願は、2014年9月3日に出願された米国仮特許出願第62/045,338号明細書の利益を主張し、その開示は参照により全体として本明細書に組み込まれる。

【0002】

本出願は、2013年5月13日に作成され、214キロバイトのサイズを有する標題「IL4R300P1」のテストファイルとしてEFS-Webを介して本出願とともに提出される配列表を参照により取り込む。

【背景技術】

【0003】

本発明は、高濃度の抗IL4R抗体を含む安定な低粘度抗体配合物に関する。一部の実施形態において、本発明は、一般に、ヒトインターロイキン-4受容体アルファ(hIL-4R α)に特異的に結合する約100mg/mLから約200mg/mLの抗体またはその断片、約50mMから約400mMの粘度調整剤；約0.002%から約0.2%の非イオン性界面活性剤；および配合緩衝液を含む安定な抗体配合物に関する。一部の実施形態において、配合緩衝液は、本質的にリン酸塩を有さない。一部の実施形態において、本発明は、容器、剤形および／またはキットを対象とする。一部の実施形態において、本発明は、安定な抗体配合物を作製し、使用方法を対象とする。

【0004】

抗体は、それらの標的認識の特異性、それによる全身投与後の高度な選択的アウトカム
の生成に起因して種々の疾患および病態の治療において使用されている。抗体を有効なま
まにするため、それらは、それらの産生、精製、輸送および貯蔵の間にそれらの生物学的
活性を維持しなければならない。産生すべき大量の高度に精製されたモノクローナル抗体
を提供するための新たな産生および精製技術が、開発されている。しかしながら、それら
の抗体を輸送および貯蔵について安定化することは依然として困難であり、抗体を投与に
好適な剤形で提供することはさらにいっそうより困難である。

【0005】

変性、凝集、汚染、および粒子形成は、抗体の配合および貯蔵における顕著な障害であ
り得る。広範な抗体に起因して、全ての抗体の貯蔵に好適な普遍的な配合物も条件も存在
しない。ある抗体の最適な配合物は、その抗体に特異的であることが多い。さらに、抗体
配合物は、抗体の濃度、および／または抗体配合物の所望の物理的特性、例えば、粘度に
応じて特異的抗体にさらに調整されることを必要とし得る。抗体貯蔵配合物は、市販の抗
体のための研究開発プロセスの顕著な要素であることが多い。したがって、輸送および貯
蔵に伴う困難を解消し得る安定な水性抗体配合物を提供することが必要とされる。

【0006】

本明細書における参照文献の引用も考察も、そのようなものが本発明に対して従来技術
であることの容認として解釈すべきでない。

【発明の概要】

【課題を解決するための手段】

【0007】

本発明は、高濃度の抗IL4R抗体を含む安定な低粘度抗体配合物に関する。一部の実
施形態において、本発明は、一般に、ヒトインターロイキン-4受容体アルファ(hIL
-4R α)に特異的に結合する約100mg/mLから約200mg/mLの抗体または
その断片、約50mMから約400mMの粘度調整剤；約0.002%から約0.2%の
非イオン性界面活性剤；および配合緩衝液を含む安定な抗体配合物に関する。

【0008】

一部の実施形態において、本発明は、安定な抗体配合物であって：ヒトインターロイキ
ン-4受容体アルファ(hIL-4R α)に特異的に結合する約100mg/mLから約
200mg/mLの抗体またはその断片：

(I) 抗体が、CDRのセット：HCDR1、HCDR2、HCDR3、LCDR1、L
CDR2およびLCDR3を含み、CDRのセットが、以下のCDRの参照セット：

10

20

30

40

50

HCDR1が、配列番号193のアミノ酸配列を有し；
 HCDR2が、配列番号194のアミノ酸配列を有し；
 HCDR3が、配列番号195のアミノ酸配列を有し；
 LCDR1が、配列番号198のアミノ酸配列を有し；
 LCDR2が、配列番号199のアミノ酸配列を有し；
 LCDR3が、配列番号200のアミノ酸配列を有するもの
 からの10以下のアミノ酸置換を有し；

(II)

HCDR1が、配列番号363のアミノ酸配列を有し；
 HCDR2が、配列番号364のアミノ酸配列を有し；
 HCDR3が、配列番号365のアミノ酸配列を有し；
 LCDR1が、配列番号368のアミノ酸配列を有し；
 LCDR2が、配列番号369のアミノ酸配列を有し；
 LCDR3が、配列番号370のアミノ酸配列を有し；
 もしくは

HCDR1が、配列番号233のアミノ酸配列を有し；
 HCDR2が、配列番号234のアミノ酸配列を有し；
 HCDR3が、配列番号235のアミノ酸配列を有し；
 LCDR1が、配列番号238のアミノ酸配列を有し；
 LCDR2が、配列番号239のアミノ酸配列を有し；
 LCDR3が、配列番号240のアミノ酸配列を有し；

(III) 抗体が、VHドメインを含み：

i. VHドメインが、配列番号192のアミノ酸配列を有し；
 ii. VHドメインが、配列番号362のアミノ酸配列を有し；もしくは
 iii. VHドメインが、配列番号232のアミノ酸配列を有し；
 VHドメインが、Kabatの標準ナンバリングを使用してフレームワーク領域内の以下の残基：

HFW1中の11、12；
 HFW2中の37、48；
 HFW3中の68、84、85；もしくは
 HFW4中の105、108、113
 における1つ以上のアミノ酸置換を含み；

(IV) 抗体が、VLドメインを含み：

i. VLドメインが、配列番号197のアミノ酸配列を有し；
 ii. VLドメインが、配列番号367のアミノ酸配列を有し；もしくは
 iii. VLドメインが、配列番号237のアミノ酸配列を有し；
 VLドメインが、Kabatの標準ナンバリングを使用してフレームワーク領域内の以下の残基：

LFW1中の1、2、3、9；
 LFW2中の38、42；もしくは
 LFW3中の58、65、66、70、74、85、87
 における1つ以上のアミノ酸置換を含み；

または

(V) 抗体またはその断片が、VHおよびVLドメインを含み：

i. VHドメインが、配列番号192のアミノ酸配列を有し、VLドメインが、配列番号197のアミノ酸配列を有し；
 ii. VHドメインが、配列番号362のアミノ酸配列を有し、VLドメインが、配列番号367のアミノ酸配列を有し；もしくは
 iii. VHドメインが、配列番号232のアミノ酸配列を有し、VLドメインが、配列番号237のアミノ酸配列を有し；

10

20

30

40

50

VHドメインおよびVLドメインが、Kabatの標準ナンバリングを使用してフレームワーク領域内の以下の残基：

HFW1中の11、12；

HFW2中の37、48；

HFW3中の68、84、85；

HFW4中の105、108、113；

LFW1中の1、2、3、9；

LFW2中の38、42；もしくは

LFW3中の58、65、66、70、74、85、87

における1つ以上のアミノ酸置換を含む；

または（I）～（V）の任意の組合せ；および約50mMから約400mMの粘度調整剤；約0.002%から約0.2%の非イオン性界面活性剤；および配合緩衝液を含む抗体配合物を対象とする。

【0009】

一部の実施形態において、本発明は、安定な抗体配合物であって：ヒトインターロイキン-4受容体アルファ（hIL-4Rα）に特異的に結合する約100mg/mLから約200mg/mLの抗体またはその断片：

（I）抗体が、CDRのセット：HC DR 1、HC DR 2、HC DR 3、LC DR 1、LC DR 2およびLC DR 3を含み、CDRのセットが、以下のCDRの参照セット：

HC DR 1が、配列番号193のアミノ酸配列を有し；

HC DR 2が、配列番号194のアミノ酸配列を有し；

HC DR 3が、配列番号195のアミノ酸配列を有し；

LC DR 1が、配列番号198のアミノ酸配列を有し；

LC DR 2が、配列番号199のアミノ酸配列を有し；

LC DR 3が、配列番号200のアミノ酸配列を有するもの

からの10以下のアミノ酸置換を有し；

（I I）

HC DR 1が、配列番号363のアミノ酸配列を有し；

HC DR 2が、配列番号364のアミノ酸配列を有し；

HC DR 3が、配列番号365のアミノ酸配列を有し；

LC DR 1が、配列番号368のアミノ酸配列を有し；

LC DR 2が、配列番号369のアミノ酸配列を有し；

LC DR 3が、配列番号370のアミノ酸配列を有し；

もしくは

HC DR 1が、配列番号233のアミノ酸配列を有し；

HC DR 2が、配列番号234のアミノ酸配列を有し；

HC DR 3が、配列番号235のアミノ酸配列を有し；

LC DR 1が、配列番号238のアミノ酸配列を有し；

LC DR 2が、配列番号239のアミノ酸配列を有し；

LC DR 3が、配列番号240のアミノ酸配列を有し；

（I I I）抗体が、VHドメインを含み：

i. VHドメインが、配列番号192のアミノ酸配列を有し；

i i. VHドメインが、配列番号362のアミノ酸配列を有し；もしくは

i i i. VHドメインが、配列番号232のアミノ酸配列を有し；

VHドメインが、Kabatの標準ナンバリングを使用してフレームワーク領域内の以下の残基：

HFW1中の11、12；

HFW2中の37、48；

HFW3中の68、84、85；もしくは

HFW4中の105、108、113

における1つ以上のアミノ酸置換を含み；

(I V) 抗体が、V Lドメインを含み；

i . V Lドメインが、配列番号197のアミノ酸配列を有し；

i i . V Lドメインが、配列番号367のアミノ酸配列を有し；もしくは

i i i . V Lドメインが、配列番号237のアミノ酸配列を有し；

V Lドメインが、K a b a tの標準ナンバリングを使用してフレームワーク領域内の以下の残基：

L F W 1中の1、2、3、9；

L F W 2中の38、42；もしくは

L F W 3中の58、65、66、70、74、85、87

10

における1つ以上のアミノ酸置換を含み；

または

(V) 抗体またはその断片が、V HおよびV Lドメインを含み；

i . V Hドメインが、配列番号192のアミノ酸配列を有し、V Lドメインが、配列番号197のアミノ酸配列を有し；

i i . V Hドメインが、配列番号362のアミノ酸配列を有し、V Lドメインが、配列番号367のアミノ酸配列を有し；もしくは

i i i . V Hドメインが、配列番号232のアミノ酸配列を有し、V Lドメインが、配列番号237のアミノ酸配列を有し；

V HドメインおよびV Lドメインが、K a b a tの標準ナンバリングを使用してフレームワーク領域内の以下の残基：

20

H F W 1中の11、12；

H F W 2中の37、48；

H F W 3中の68、84、85；

H F W 4中の105、108、113；

L F W 1中の1、2、3、9；

L F W 2中の38、42；もしくは

L F W 3中の58、65、66、70、74、85、87

における1つ以上のアミノ酸置換を含む；

または(I)～(V)の任意の組合せ；および約50mMから約400mMのアルギニン；約0.002%から約0.2%のポリソルベート80；および約10から約40mMのL-ヒスチジン／L-ヒスチジン塩酸塩を含む抗体配合物を対象とする。

30

【0010】

一部の実施形態において、本発明は、安定な抗体配合物であって：ヒトインターロイキン-4受容体アルファ(h I L-4 R α)に特異的に結合する約100mg/mLから約200mg/mLの抗体またはその断片：

(I) 抗体が、C D Rのセット：H C D R 1、H C D R 2、H C D R 3、L C D R 1、L C D R 2およびL C D R 3を含み、C D Rのセットが、以下のC D Rの参照セット：

H C D R 1が、配列番号193のアミノ酸配列を有し；

H C D R 2が、配列番号194のアミノ酸配列を有し；

H C D R 3が、配列番号195のアミノ酸配列を有し；

L C D R 1が、配列番号198のアミノ酸配列を有し；

L C D R 2が、配列番号199のアミノ酸配列を有し；

L C D R 3が、配列番号200のアミノ酸配列を有するもの

からの10以下のアミノ酸置換を有し；

40

(I I)

H C D R 1が、配列番号363のアミノ酸配列を有し；

H C D R 2が、配列番号364のアミノ酸配列を有し；

H C D R 3が、配列番号365のアミノ酸配列を有し；

L C D R 1が、配列番号368のアミノ酸配列を有し；

50

L C D R 2 が、配列番号 3 6 9 のアミノ酸配列を有し；
 L C D R 3 が、配列番号 3 7 0 のアミノ酸配列を有し；
 もしくは

H C D R 1 が、配列番号 2 3 3 のアミノ酸配列を有し；
 H C D R 2 が、配列番号 2 3 4 のアミノ酸配列を有し；
 H C D R 3 が、配列番号 2 3 5 のアミノ酸配列を有し；
 L C D R 1 が、配列番号 2 3 8 のアミノ酸配列を有し；
 L C D R 2 が、配列番号 2 3 9 のアミノ酸配列を有し；
 L C D R 3 が、配列番号 2 4 0 のアミノ酸配列を有し；

(I I I) 抗体が、V H ドメインを含み；

10

i . V H ドメインが、配列番号 1 9 2 のアミノ酸配列を有し；

i i . V H ドメインが、配列番号 3 6 2 のアミノ酸配列を有し；もしくは

i i i . V H ドメインが、配列番号 2 3 2 のアミノ酸配列を有し；

V H ドメインが、K a b a t の標準ナンバリングを使用してフレームワーク領域内の以下の残基：

H F W 1 中の 1 1、1 2；

H F W 2 中の 3 7、4 8；

H F W 3 中の 6 8、8 4、8 5；もしくは

H F W 4 中の 1 0 5、1 0 8、1 1 3

における 1 つ以上のアミノ酸置換を含み；

20

(I V) 抗体が、V L ドメインを含み；

i . V L ドメインが、配列番号 1 9 7 のアミノ酸配列を有し；

i i . V L ドメインが、配列番号 3 6 7 のアミノ酸配列を有し；もしくは

i i i . V L ドメインが、配列番号 2 3 7 のアミノ酸配列を有し；

V L ドメインが、K a b a t の標準ナンバリングを使用してフレームワーク領域内の以下の残基：

L F W 1 中の 1、2、3、9；

L F W 2 中の 3 8、4 2；もしくは

L F W 3 中の 5 8、6 5、6 6、7 0、7 4、8 5、8 7

における 1 つ以上のアミノ酸置換を含み；

30

または

(V) 抗体またはその断片が、V H および V L ドメインを含み；

i . V H ドメインが、配列番号 1 9 2 のアミノ酸配列を有し、V L ドメインが、配列番号 1 9 7 のアミノ酸配列を有し；

i i . V H ドメインが、配列番号 3 6 2 のアミノ酸配列を有し、V L ドメインが、配列番号 3 6 7 のアミノ酸配列を有し；もしくは

i i i . V H ドメインが、配列番号 2 3 2 のアミノ酸配列を有し、V L ドメインが、配列番号 2 3 7 のアミノ酸配列を有し；

V H ドメインおよび V L ドメインが、K a b a t の標準ナンバリングを使用してフレームワーク領域内の以下の残基：

40

H F W 1 中の 1 1、1 2；

H F W 2 中の 3 7、4 8；

H F W 3 中の 6 8、8 4、8 5；

H F W 4 中の 1 0 5、1 0 8、1 1 3；

L F W 1 中の 1、2、3、9；

L F W 2 中の 3 8、4 2；もしくは

L F W 3 中の 5 8、6 5、6 6、7 0、7 4、8 5、8 7

における 1 つ以上のアミノ酸置換を含む；

または (I) ～ (V) の任意の組合せ；および約 1 9 0 m M のアルギニン；約 0 . 0 4 % のポリソルベート 8 0；および約 2 5 m M の L - ヒスチジン / L - ヒスチジン塩酸塩を含

50

む抗体配合物を対象とする。

【0011】

一部の実施形態において、本発明は、好適な容器中で本明細書に記載の抗体配合物のいずれか1つを含むヒトへの非経口投与に好適な医薬単位剤形を対象とする。

【0012】

一部の実施形態において、本発明は、本明細書に記載の任意の抗体配合物、本明細書に記載の容器、本明細書に記載の単位剤形、または本明細書に記載のプレフィルドシリンジを含むキットを対象とする。

【0013】

一部の実施形態において、本発明は、安定な水性抗体配合物を産生する方法であって：
A. 抗体を、ヒトインターロイキン-4受容体アルファ（hIL-4Rα）に特異的に結合する約100mg/mLから約200mg/mLの抗体またはその断片に精製すること；

（I）抗体が、CDRのセット：HC DR 1、HC DR 2、HC DR 3、LC DR 1、LC DR 2およびLC DR 3を含み、CDRのセットが、以下のCDRの参照セット：

HC DR 1が、配列番号193のアミノ酸配列を有し；

HC DR 2が、配列番号194のアミノ酸配列を有し；

HC DR 3が、配列番号195のアミノ酸配列を有し；

LC DR 1が、配列番号198のアミノ酸配列を有し；

LC DR 2が、配列番号199のアミノ酸配列を有し；

LC DR 3が、配列番号200のアミノ酸配列を有するもの

からの10以下のアミノ酸置換を有し；

（II）

HC DR 1が、配列番号363のアミノ酸配列を有し；

HC DR 2が、配列番号364のアミノ酸配列を有し；

HC DR 3が、配列番号365のアミノ酸配列を有し；

LC DR 1が、配列番号368のアミノ酸配列を有し；

LC DR 2が、配列番号369のアミノ酸配列を有し；

LC DR 3が、配列番号370のアミノ酸配列を有し；

もしくは

HC DR 1が、配列番号233のアミノ酸配列を有し；

HC DR 2が、配列番号234のアミノ酸配列を有し；

HC DR 3が、配列番号235のアミノ酸配列を有し；

LC DR 1が、配列番号238のアミノ酸配列を有し；

LC DR 2が、配列番号239のアミノ酸配列を有し；

LC DR 3が、配列番号240のアミノ酸配列を有し；

（III）抗体が、VHドメインを含み：

VHドメインが、配列番号192のアミノ酸配列を有し；

VHドメインが、配列番号362のアミノ酸配列を有し；もしくは

VHドメインが、配列番号232のアミノ酸配列を有し；

VHドメインが、Kabatの標準ナンバリングを使用してフレームワーク領域内の以下の残基：

HFW1中の11、12；

HFW2中の37、48；

HFW3中の68、84、85；もしくは

HFW4中の105、108、113

における1つ以上のアミノ酸置換を含み；

（IV）抗体が、VLドメインを含み：

VLドメインが、配列番号197のアミノ酸配列を有し；

VLドメインが、配列番号367のアミノ酸配列を有し；もしくは

V Lドメインが、配列番号237のアミノ酸配列を有し；

V Lドメインが、K a b a tの標準ナンバリングを使用してフレームワーク領域内の以下の残基：

L F W 1中の1、2、3、9；

L F W 2中の38、42；もしくは

L F W 3中の58、65、66、70、74、85、87

における1つ以上のアミノ酸置換を含み；

または

(V) 抗体またはその断片が、V HおよびV Lドメインを含み；

i. V Hドメインが、配列番号192のアミノ酸配列を有し、V Lドメインが、配列番号197のアミノ酸配列を有し； 10

i i. V Hドメインが、配列番号362のアミノ酸配列を有し、V Lドメインが、配列番号367のアミノ酸配列を有し；もしくは

i i i. V Hドメインが、アミノ酸配列の配列番号232のを有し、V Lドメインが、配列番号237のアミノ酸配列を有し；

V HドメインおよびV Lドメインが、K a b a tの標準ナンバリングを使用してフレームワーク領域内の以下の残基：

H F W 1中の11、12；

H F W 2中の37、48；

H F W 3中の68、84、85；

H F W 4中の105、108、113；

L F W 1中の1、2、3、9；

L F W 2中の38、42；もしくは

L F W 3中の58、65、66、70、74、85、87

における1つ以上のアミノ酸置換を含む；

または(I)～(V)の任意の組合せ；および

B. 単離された抗体を安定化配合物中に入れて安定な水性抗体配合物を形成することを含み、得られる安定な水性抗体配合物が、

i. 約100mg/mLから約200mg/mLの抗体；

i i. 約50mMから約400mMの粘度調整剤；

i i i. 約0.002%から約0.2%の非イオン性界面活性剤；および

i v. 配合緩衝液

を含む方法を対象とする。

【0014】

一部の実施形態において、本発明は、対象における肺疾患もしくは障害、または炎症性皮膚障害を治療する方法であって、治療有効量の本明細書に記載の抗体配合物のいずれか1つを投与することを含む方法を対象とする。

【0015】

本発明の説明の目的のため、図面において本発明のある実施形態が示される。しかしながら、本発明は、図面に示される実施形態の厳密な配置および手段に限定されない。

【図面の簡単な説明】

【0016】

【図1】イオン性賦形剤、例えば、アルギニン-H C Lまたは塩化ナトリウムの添加が、抗I L 4 R抗体の粘度を23℃において<10c Pに低減させることを実証する。

【図2】25mMのヒスチジン/ヒスチジン-H C L、190mMのアルギニン-H C L、p H 6を含有する配合物中のおよそ150mg/mLにおける攪拌なしの抗h I L - 4 R αの写真である。

【図3】25mMのヒスチジン/ヒスチジン-H C L、190mMのアルギニン-H C L、p H 6を含有する配合物中のおよそ150mg/mLにおける攪拌ありの抗h I L - 4 R αの写真である。

【図4】25mMのヒスチジン／ヒスチジン-HCL、190mMのアルギニン-HCL、pH6、0.01%のポリソルベート80を含有する配合物中のおよそ150mg/mlにおける攪拌ありの抗hIL-4R α の写真である。

【図5】25mMのヒスチジン／ヒスチジン-HCL、190mMのアルギニン-HCL、pH6を含有する配合物中のおよそ150mg/mlにおける抗hIL-4R α の写真である。この試料は、凍結融解に供しなかった。

【図6】25mMのヒスチジン／ヒスチジン-HCL、190mMのアルギニン-HCL、pH6を含有する配合物中のおよそ150mg/mlにおける抗hIL-4R α の写真である。この試料は、凍結融解に5回供した。

【図7】25mMのヒスチジン／ヒスチジン-HCL、190mMのアルギニン-HCL、pH6、0.01%のポリソルベート80を含有する配合物中のおよそ150mg/mlにおける抗hIL-4R α の写真である。この試料は、凍結融解に5回供した。

【図8】(i) pH5.5 (ii) pH6.0、または (iii) pH6.5における抗IL4R抗体配合物についての40℃における総ピーク面積吸光度(HPSEC)対時間の散布図である。

【図9】(i) 2~8℃ (ii) 25℃または (iii) 40℃において貯蔵された抗IL4R抗体配合物についての総ピーク面積吸光度(HPSEC)対時間の散布図である。

【図10】(i) pH5.5 (ii) pH6または (iii) pH6.5における抗IL4R抗体配合物についての40℃における8週間後の総ピーク面積低減パーセント(HPSEC)対T_m1の散布図である。

【図11】(i) 2~8℃ (ii) 25℃または (iii) 35℃または (iv) 40℃において4週間貯蔵された抗IL4R抗体配合物についての $\geq 10\mu\text{M}$ の粒子の数/ml対希釈剤についてのカラムチャートである。

【図12】40℃において4週間貯蔵された抗IL4R抗体配合物についての $\geq 10\mu\text{M}$ の粒子の数/ml対希釈剤についてのカラムチャートである。

【図13】抗体1に対する抗体2~42のVHドメインのアラインメントを示す(シートA、B、C、およびDに分割)。

【図14】抗体1に対する抗体2~42のVIドメインのアラインメントを示す(シートA、B、C、およびDに分割)。

【図15】抗体20に対する抗体1~19および21~42のVHドメインのアラインメントを示す(シートA、B、C、およびDに分割)。

【図16】抗体20に対する抗体1~19および21~42のVIドメインのアラインメントを示す(シートA、B、C、およびDに分割)。

【図17】 $>0.01\%$ のポリソルベート80(PS80)を含有する試料が、攪拌後に最小粒子スタンダードよりも可視的でない粒子を含有したことを示す。

【図18】攪拌試料中の $>0.02\%$ のPS80および $<0.7\%$ のPS80の添加が、 $\geq 10\mu\text{M}$ の粒子の濃度を攪拌を受けなかった試料と同等のレベルに低減させるために要求されることを示す。

【図19】 $>0.005\%$ のPS80を含有する試料が、凍結融解サイクリング後に最小粒子スタンダードに対して可視的でない粒子を含有したことを示す。

【発明を実施するための形態】

【0017】

定義

本発明を詳細に記載する前、本発明は規定の組成物またはプロセスステップに限定されず、したがって、変動し得ることを理解すべきである。本明細書および付属の特許請求の範囲において使用される単数形「a」、「an」および「the」は、文脈が特に明確に示さない限り、複数の指示対象を含むことに留意すべきである。用語「a」(または「an」)、ならびに用語「1つ以上」、および「少なくとも1つ」は、本明細書において同義的に使用することができる。

【0018】

10

20

30

40

50

さらに、「および／または」は、本明細書において使用される場合、2つの具体的な特徴または構成要素のそれぞれの、他方を伴うまたは伴わない具体的な開示として意図される。したがって、本明細書における「Aおよび／またはB」などの語句において使用される用語「および／または」は、「AおよびB」、「AまたはB」、「A」（単独）、および「B」（単独）を含むものとする。同様に、「A、B、および／またはC」などの語句において使用される用語「および／または」は、以下の実施形態のそれぞれを包含するものとする：A、B、およびC；A、B、またはC；AまたはC；AまたはB；BまたはC；AおよびC；AおよびB；BおよびC；A（単独）；B（単独）；ならびにC（単独）。

【0019】

本開示を通して、割合、比などの全ての表現は、特に他の記載がない限り「重量基準」である。本明細書において使用される「重量基準」は、用語「質量基準」と同義であり、本明細書に定義の比または割合が容量でも、厚さでも、他の何らかの尺度でもなく重量に従って算出されることを示す。

【0020】

用語「約」は、およそ、その辺り、ほぼ、または前後を意味するために、本明細書において使用される。用語「約」が、数値範囲と同時に使用される場合、それは、記載された数値の上下に境界を延長することにより、その範囲を修正する。一般に、用語「約」は、数値を、例えば、記述値の上下に10%の相違だけ修正するために本明細書において使用される。

【0021】

特に定義のない限り、本明細書において使用される全ての技術および科学用語は、本発明が関する分野の当業者により一般に理解される意味と同一の意味を有する。例えば、Concise Dictionary of Biomedicine and Molecular Biology, Juo, Pei-Show, 2nd ed., 2002, CRC Press; The Dictionary of Cell and Molecular Biology, 3rd ed., 1999, Academic Press; および Oxford Dictionary Of Biochemistry And Molecular Biology, Revised, 2000, Oxford University Press が、当業者に、本発明において使用される用語の多くの一般辞書を提供する。

【0022】

単位、接頭語、および記号は、それらの国際単位系(SI)が容認する形式で示される。数値範囲は、範囲を定義する数を含む。特に記載のない限り、アミノ酸配列は、アミノからカルボキシの方向に左から右へ記載される。本明細書に提供される見出しは、全体として本明細書を参照することにより得ることができる本開示の種々の態様も実施形態も限定するものではない。したがって、直後に定義される用語は、本明細書を参照することにより全体としてさらに十分に定義される。

【0023】

本明細書において、実施形態が「を含む」という言葉を用いて記載される場合、そうでなければ、「からなる」および／または「本質的に～からなる」という用語に関して記載される類似する実施形態も提供されることを理解される。

【0024】

アミノ酸は、本明細書において、IUPAC-IUB生化学命名委員会(Biochemical Nomenclature Commission)により推奨されるそれらの一般に公知の三文字記号または一文字記号により参照される。ヌクレオチドも同様に、一般に認められるそれらの一文字コードにより参照される。

【0025】

本明細書において使用される用語「エピトープ」は、本発明の足場に結合し得るタンパク質決定基を指す。エピトープは、一般に、分子の化学的活性表面基(grouping

10

20

30

40

50

）、例えば、アミノ酸および／または糖側鎖からなり、通常、特異的な三次元構造的特徴、および特異的電荷特徴を有する。立体構造および非立体構造エピトープは、変性溶媒の存在下で前者への結合は損失されるが、後者への結合は損失されない点で区別される。

【0026】

用語「DNA」は、2つ以上の共有結合している天然存在または改変デオキシリボヌクレオチドの配列を指す。

【0027】

「タンパク質配列」または「アミノ酸配列」は、表示中の互いに隣接する残基がポリペプチドの一次構造中で連続するアミノ末端からカルボキシル末端方向でのポリペプチド中のアミノ酸構成要素の直鎖表示を意味する。

【0028】

用語「核酸」は、任意の2つ以上の共有結合しているヌクレオチドまたはヌクレオチド類似体または誘導体を指す。本明細書において使用されるこの用語としては、限定されるものではないが、DNA、RNA、およびPNAが挙げられる。「核酸」および「ポリヌクレオチド」は、本明細書において同義的に使用される。

【0029】

用語「ポリヌクレオチド」は、単一の核酸および複数の核酸を包含するものとし、単離核酸分子または構築物、例えば、メッセンジャーRNA (mRNA) またはプラスミドDNA (pDNA) を指す。用語「単離」核酸またはポリヌクレオチドは、その天然の環境から取り出された核酸分子、DNAまたはRNAを指す。例えば、ベクター中に含有される、例えば、本発明の足場をコードする組換えポリヌクレオチドは、本発明の目的のために単離されたとみなされる。単離ポリヌクレオチドのさらなる例としては、異種宿主細胞中で維持される組換えポリヌクレオチドまたは溶液中で精製（部分的にまたは実質的に）されたポリヌクレオチドが挙げられる。単離RNA分子としては、本発明のポリヌクレオチドのインビボまたはインビトロRNA転写物が挙げられる。本発明による単離ポリヌクレオチドまたは核酸としては、合成により産生されたそのような分子がさらに挙げられる。さらに、ポリヌクレオチドまたは核酸は、調節エレメント、例えば、プロモーター、リボソーム結合部位、または転写ターミネーターであり得、またはそれらを含み得る。

【0030】

「ポリペプチド」は、長さ、翻訳後修飾、または機能にかかわらず、アミド結合（ペプチド結合）により直鎖結合している2つ以上のアミノ酸の任意の配列を意味する。「ポリペプチド」、「ペプチド」、および「タンパク質」は、本明細書において同義的に使用される。したがって、ペプチド、ジペプチド、トリペプチド、またはオリゴペプチドは、「ポリペプチド」の定義内に含まれ、用語「ポリペプチド」は、それらの用語のいずれかに代えて、またはそれらと同義的に使用することができる。用語「ポリペプチド」は、ポリペプチドの発現後修飾、例として、限定されるものではないが、グリコシル化、アセチル化、リン酸化、アミド化、公知の保護／遮断基による誘導体化、タンパク質分解開裂、または非天然存在アミノ酸による修飾の産物も指すものとする。ポリペプチドは、天然の生物学的資源から誘導し、または組換え技術により産生することができるが、必ずしも指定の核酸配列から翻訳されない。ポリペプチドは、任意の様式で、例として、化学合成により生成することができる。

【0031】

本発明のポリペプチドとして、上記ポリペプチドの断片、誘導体、類似体、または変異体、およびそれらの任意の組合せも含まれる。変異体は、天然または非天然存在であり得る。非天然存在変異体は、当技術分野において公知の突然変異導入技術を使用して産生することができる。変異体ポリペプチドは、保存または非保存アミノ酸置換、欠失、または付加を含み得る。「誘導体」としては、20個の標準アミノ酸の1つ以上の天然存在アミノ酸誘導体を含むそれらのペプチドも含まれる。

【0032】

「ランダム化された」または「突然変異した」は、テンプレート配列に対して1つ以上

10

20

30

40

50

のアミノ酸変化、例として、欠失、置換または付加を含むことを意味する。「ランダム化すること」または「突然変異させること」は、このようなアミノ酸変化を配列中に導入するプロセスを意味する。ランダム化または突然変異は、一般に、核酸コード配列の意図的、ブラインド、または自然配列変異を介して達成することができ、任意の技術、例えば、PCR、エラープロードPCR、または化学的DNA合成により生じ得る。用語「ランダム化すること」、「ランダム化された」、「突然変異させること」、「突然変異した」などは、本明細書において同義的に使用される。

【0033】

「コグネイト」または「コグネイト非突然変異タンパク質」は、ランダム化され、または突然変異した変異体タンパク質中に導入されたアミノ酸突然変異を除き、変異体タンパク質と配列が同一であるタンパク質を意味する。

10

【0034】

「RNA」は、2つ以上の共有結合している天然存在または改変リボヌクレオチドの配列を意味する。この用語に含まれる改変RNAの一例は、ホスホロチオエートRNAである。

【0035】

本明細書において使用される用語「発現」は、遺伝子が生化学物質、例えば、本発明の足場またはその断片を産生するプロセスを指す。このプロセスは細胞内の遺伝子の機能的存在の任意の顕在化、例として、限定されるものではないが、遺伝子ノックダウンならびに一過的発現および安定的発現の両方を含む。限定されるものではないが、それは遺伝子の1つ以上のmRNAへの転写、およびこのようなmRNAの1つ以上のポリペプチドへの翻訳を含む。最終所望産物が生化学物質である場合、発現は、その生化学物質および任意の前駆体の作出を含む。

20

【0036】

「発現産物」は、核酸、例えば、遺伝子の転写により産生されるメッセンジャーRNA、またはポリペプチドのいずれかであり得る。本明細書に記載の発現産物は、転写後修飾、例えば、ポリアデニル化を有する核酸、または翻訳後修飾、例えば、メチル化、グリコシル化、脂質付加、他のタンパク質サブユニットとの会合、タンパク質分解開裂などを有するポリペプチドをさらに含む。

【0037】

用語「ベクター」または「発現ベクター」は、本明細書において宿主細胞中に導入し、その中で所望発現産物を発現させるためのビヒクルとして本発明により使用されるベクターを意味するために使用される。当業者に公知であるとおり、このようなベクターは、プラスミド、ファージ、ウイルスおよびレトロウイルスからなる群から容易に選択することができる。一般に、本発明と適合性のベクターは、選択マーカー、所望核酸のクローニングを容易にするための適切な制限部位、ならびに真核または原核細胞中への流入能および/またはその中での複製能を含む。

30

【0038】

用語「宿主細胞」は、組換えDNA技術を使用して構築され、少なくとも1つの発現産物をコードするベクターを保有する細胞を指す。組換え宿主から発現産物を単離するプロセスの記載において、特に明記のない限り、用語「細胞」および「細胞培養物」は、発現産物の資源を示すために同義的に使用され、すなわち、「細胞」からの発現産物の回収は、遠心沈殿全細胞からの回収、または培地および懸濁細胞の両方を含有する細胞培養物からの回収のいずれかを意味する。

40

【0039】

本明細書において使用される用語「治療する」または「治療」は、治療法上の治療および防止または予防措置の両方を指し、その目的は、対象における不所望な生理学的変化または障害、例えば、炎症性疾患または病態の進行を予防し、または減速させる（弱める）ことである。有益または所望臨床的結果としては、限定されるものではないが、検出可能か検出不可能かにかかわらず、症状の軽減、疾患の程度の縮小、病状の安定化（すなわち

50

、悪化しない)、疾患進行の遅滞化または遅延、病状の改善または緩和、および寛解(部分または完全を問わない)が挙げられる。

【0040】

用語「治療」は、治療を受けていない場合に予期される生存と比較した生存の延長も意味する。治療が必要とされる者としては、既に病態もしくは障害を有する者および病態もしくは障害を有する傾向がある者、または病態もしくは障害を予防すべき者が挙げられる。

【0041】

用語「対象」、「個体」、「動物」、「患者」、または「哺乳動物」は、診断、予後診断、または治療が望まれる任意の個体、患者または動物、特に、哺乳動物の対象を指す。哺乳動物の対象としては、ヒト、ドメスティックアニマル、家畜、および動物園の動物、競技用動物または愛玩動物、例えば、イヌ、ネコ、モルモット、ウサギ、ラット、マウス、ウマ、ウシ、雌ウシなどが挙げられる。

【0042】

用語「標的」は、本発明の特異的抗体により認識される化合物を指す。用語「標的」および「抗原」は、本明細書において同義的に使用される。例えば、本明細書において使用される用語「特異的に結合する」または「特異的結合」中の用語「特異的」は、本発明の抗体が1つ以上の抗原結合ドメインを介して1つ以上の抗原に結合する相対的親和性を指し、その結合は1つ以上の抗原結合ドメインと1つ以上の抗原との間のいくつかの相補性を必要とする。この定義によれば、本発明の抗体は、それがランダムな非関連エピトープに結合するよりも容易にエピトープに結合する場合、そのエピトープに「特異的に結合する」と言われる。

【0043】

本明細書において使用される用語「親和性」は、本発明のある抗体の個々のエピトープへの結合の強度の尺度を指す。

【0044】

本明細書において使用される用語「アビディティー」は、本発明の抗体集団とあるエピトープとの間の複合体の全体的安定性、すなわち、機能的に組み合わされた複数の抗体の抗原との結合強度を指す。アビディティーは、個々の抗原結合ドメインの特異的エピトープとの親和性、およびさらには本発明の抗体の価数の両方に関連する。

【0045】

用語「標的に対する作用」は、本発明の抗体の1つ以上の標的への結合、およびそのような結合から得られる生物学的効果を指す。

【0046】

用語「免疫グロブリン」および「抗体」は、生化学的に区別することができる種々の広範なクラスのポリペプチドを含む。当業者は、重鎖がガンマ、ミュー、アルファ、デルタ、またはイプシロンに分類されることを認識する。抗体の「クラス」をそれぞれIgG、IgM、IgA、IgG、またはIgEとして決定するのは、この鎖の性質である。これらのクラスのそれぞれの改変形は、当業者には容易に識別可能である。本明細書において使用される用語「抗体」としては、限定されるものではないが、インタクト抗体、改変抗体、抗体VLまたはVLドメイン、CH1ドメイン、Cカップドメイン、Cラムダドメイン、Fcドメイン(以下参照)、CH2、またはCH3ドメインが挙げられる。

【0047】

本明細書において使用される用語「改変抗体」としては、非天然存在の、例えば、少なくとも2つの重鎖部分を含むが、2つの完全な重鎖を含まない抗体(例えば、ドメイン欠失抗体またはミニボディーのような)となるように変化させた合形成態の抗体; 2つ以上の抗原または単一抗原の異なるエピトープに結合するように変化させた多重特異的形態の抗体(例えば、二重特異性、三重特異性など)が挙げられる)。さらに、用語「改変抗体」としては、多価形態の抗体(例えば、三価、四価など、同一抗原の3つ以上のコピーに対する抗体)が挙げられる(例えば、Antibody Engineering, Ko

10

20

30

40

50

ntermann & Dubel, eds., 2010, Springer Protocols, Springer 参照)。

【0048】

本発明の抗体は、任意の動物起源、例として、鳥類および哺乳動物からのものであり得る。一部の実施形態において、本発明の方法の抗体は、ヒト、ネズミ（例えば、マウスおよびラット）、ロバ、ヒツジ、ウサギ、ヤギ、モルモット、ラクダ、ウマ、またはニワトリである。本明細書において使用される「ヒト」抗体としては、ヒト免疫グロブリンのアミノ酸配列を有する抗体が挙げられ、ヒト免疫グロブリンライブラリーから、または1つ以上のヒト免疫グロブリンにトランスジェニックな動物から単離され、内因性免疫グロブリンを発現しない抗体が挙げられる。例えば、Kucherlapati et al. 10
による米国特許第5,939,598号明細書参照。

【0049】

本発明の抗体としては、例えば、天然抗体、インタクトモノクローナル抗体、ポリクローナル抗体、少なくとも2つのインタクト抗体から形成される多重特異的抗体（例えば、二重特異的抗体）、抗体断片（例えば、1つ以上の抗原に結合し、および／またはそれを認識する抗体断片）、ヒト化抗体、ヒト抗体（Jakobovits et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA 90:2551 (1993); Jakobovits et al., Nature 362:255-258 (1993); Bruggemann et al., Year in Immunol. 7:33 (1993); 米国特許第5,591,669号明細書および同第5,545,807号明細書）20
、抗体ファージライブラリーから単離された抗体および抗体断片（McCafferty et al., Nature 348:552-554 (1990); Clackson et al., Nature 352:624-628 (1991); Marks et al., J. Mol. Biol. 222:581-597 (1991); Marks et al., Bio/Technology 10:779-783 (1992); Waterhouse et al., Nucl. Acids Res. 21:2265-2266 (1993))を挙げることができる。本発明の方法により精製された抗体は、異種ポリペプチドにNもしくはC末端において組換え融合し、またはポリペプチドもしくは他の組成物に化学的にコンジュゲート（共有および非共有コンジュゲーションを含む）することができる。例えば、本発明の方法により精製された抗体は、検出アッセイ30
における標識として有用な分子およびエフェクター分子、例えば、異種ポリペプチド、薬物、または毒素に組換え融合またはコンジュゲートすることができる。例えば、PCT公開の国際公開第92/08495号パンフレット；国際公開第91/14438号パンフレット；国際公開第89/12624号パンフレット；米国特許第5,314,995号明細書；および欧州特許第396,387号明細書参照。

【0050】

IL-4R α

IL-4R α は、インターロイキン-4受容体アルファである。IL-4R α への言及は、通常、特に記載のない限り、ヒトIL-4R α に対するものである。野生型成熟ヒトIL-4R α の配列は、シグナルペプチドを含む全長IL-4R α を示すアクセッション番号P24394 (Swiss-Prot)のもと寄託されている。40

【0051】

カニクイザルIL-4R α をインハウスで配列決定し、カニクイザルIL-4R α のcDNA配列を配列番号455として示す。

【0052】

本明細書その他箇所に記載されるとおり、IL-4R α は、組換え体であり得、および／またはグリコシル化もしくは非グリコシル化のいずれでもよい。IL-4R α は、N結合グリコシル化形態でインビボで天然に発現される。グリコシル化IL-4R α は、組換え系中で、例えば、HEK-EBNA細胞中で発現させることもできる。IL-4R α は、大腸菌(E. coli)細胞中で非グリコシル化形態で発現させることもできる。50

【0053】

抗体分子

これは、天然または部分的もしくは完全に合成により産生される免疫グロブリンを説明する。この用語はまた、抗体抗原結合部位を含む任意のポリペプチドまたはタンパク質を包含する。ここで、本発明は天然形態の抗体に関するものではなく、すなわちそれらはその天然環境中に存在しないが、それらは天然源から単離することができたか、または精製により得ることができたか、またはそうでなければ遺伝子組換え、もしくは化学合成により得ることができたものであり、その場合、下記のとおりそれらは非天然アミノ酸を含有し得ることが理解されなければならない。抗体抗原結合部位を含む抗体断片には、限定されるものではないが、Fab、Fab'、Fab'-SH、scFv、Fv、dAb、Fdおよびダイアボディ(diabodies)などの分子が含まれる。

10

【0054】

本発明の抗体分子は、IgG、例えば、IgG1、IgG4、IgG2またはグリコシルIgG2であり得る。

【0055】

モノクローナルおよび他の抗体を採用し、組換えDNA技術の技術を使用して標的抗原に結合する他の抗体またはキメラ分子を産生することが可能である。そのような技術は、異なる免疫グロブリンの定常領域とフレームワーク領域に対する抗体の免疫グロブリン可変領域、またはCDRをコードするDNAを導入することを必要とし得る。例えば欧州特許出願公開第A-184187号明細書、英国特許第2188638A号明細書または欧州特許出願公開第A-239400号明細書、および大多数の後続の文献を参照。ハイブリドーマまたは抗体を産生する他の細胞を遺伝子突然変異または他の変化に供することができ、それらは、産生される抗体の結合特異性を変化させてもさせなくてもよい。

20

【0056】

抗体は多数の手法で改変することができるため、用語「抗体分子」は、要求される特異性を有する抗体抗原結合部位を有し、および／または抗原と結合する、任意の結合メンバーまたは物質を包含すると解釈すべきである。したがって、この用語は抗体の断片および誘導体を包含し、それには、天然であるか完全にまたは部分的に合成されたものであるかにかかわらず、抗体抗原結合部位を含む任意のポリペプチドが含まれる。したがって、別のポリペプチド（例えば別の種由来または別の抗体クラスもしくはサブクラスに属するポリペプチド）に融合された抗体抗原結合部位または等価物を含むキメラ分子が含まれる。キメラ抗体のクローニングおよび発現は欧州特許出願公開第A-0120694号明細書および欧州特許出願公開第A-0125023号明細書、および大多数の後続文献に記載されている。

30

【0057】

抗体工学分野で利用可能なさらなる技術によりヒト抗体およびヒト化抗体を単離することが可能になる。例えば、ヒトハイブリドーマはKontermann&Dubel (Antibody Engineering, Springer-Verlag New York, LLC; 2001, ISBN: 3540413545) により記載のとおり作製することができる。抗体を生成する別の確立技術であるファージディスプレイは、多数の刊行物、例えば国際公開第92/01047号パンフレット（さらに以下で考察される）、および米国特許5,969,108号明細書、米国特許第5,565,332号明細書、米国特許第5,733,743号明細書、米国特許第5,858,657号明細書、米国特許第5,871,907号明細書、米国特許第5,872,215号明細書、米国特許第5,885,793号明細書、米国特許第5,962,255号明細書、米国特許第6,140,471号明細書、米国特許第6,172,197号明細書、米国特許第6,225,447号明細書、米国特許第6,291,650号明細書、米国特許第6,492,160号明細書、米国特許第6,521,404号明細書およびKontermann&Dubel [前掲] に詳細に記載されている。マウス抗体遺伝子が不活性化され、ヒト抗体遺伝子により機能的に置き換えられている一方、マウス免疫系のインタクトな他

40

50

の構成要素を残すトランスジェニックマウスを、ヒト抗体の単離に使用することができる (Mendez, M et al. Nature Genet, 15 (2): 146-156, 1997)。

【0058】

合成抗体分子は、例えばKnappik et al. (J. Mol. Biol. 296, 57-86, 2000) またはKrebs et al. (Journal of Immunological Methods 254 67-84, 2001) により記載されるとおり、合成され、好適な発現ベクター内でアセンブルされたオリゴヌクレオチドにより生成された遺伝子から発現させることにより作出することができる。

【0059】

全抗体の断片は抗原に結合する機能を達成し得ることが示されている。結合断片の例は (i) VL、VH、CLおよびCH1ドメインからなるFab断片; (ii) VHおよびCH1ドメインからなるFd断片; (iii) 単一抗体のVLおよびVHドメインからなるFv断片; (iv) VHまたはVLドメインからなるdAb断片 (Ward et al., Nature 341, 544-546, 1989; McCafferty et al. Nature, 348: 552-554, 1990; Holt et al. Trends in Biotechnology 21, 484-490, 2003); (v) 単離されたCDR領域; (vi) F(ab')₂断片、2つの連結されたFab断片を含む二価断片 (vii) VHドメインおよびVLドメインが、2つのドメインが会合して抗原結合部位を形成することを可能にするペプチドリンカーによって連結されている一本鎖Fv分子 (scFv) (Bird et al., Science, 242, 423-426, 1988; Huston PNAS USA, 85, 5879-5883, 1988); (viii) 二重特異性一本鎖Fv二量体 (PCT/US92/09965) および (ix) 遺伝子融合により構築された「ダイアボディ」、多価または多重特異性断片 (国際公開第94/13804号パンフレット; Holliger et al, PNAS USA 90: 6444-6448, 1993a) である。VHおよびVLドメインを連結するジスルフィド架橋を取り込むことによりFv、scFvまたはダイアボディ分子を安定化することができる (Reiter et al, Nature Biotech, 14: 1239-1245, 1996)。CH3ドメインに連結されたscFvを含むミニボディを作製することもできる (Hu et al, Cancer Res., 56, 3055-3061, 1996)。結合断片の他の例は、重鎖CH1ドメインのカルボキシル末端に少数の残基、例として抗体ヒンジ領域からの1つ以上のシステインの付加によりFab断片と異なるFab'、および定常ドメインのシステイン残基が遊離のチオール基を担持するFab'断片であるFab'-SHである。

【0060】

本発明の抗体断片は、本明細書に記載の抗体分子、例えば、抗体1から42のいずれかのVHおよび／もしくはVLドメインまたはCDRを含む抗体分子のいずれかから出発して、酵素、例えば、ペプシンもしくはパインによる消化などの方法により、および／または化学的還元によるジスルフィド架橋の開裂により得ることができる。別の様式において、本発明に含まれる抗体断片は、同様に当業者に周知の遺伝子組換え技術により、またはそうでれば、例えば、自動ペプチドシンセサイザー、例えばApplied Biosystems社などにより供給されるものによるペプチド合成により、または核酸合成および発現により得ることができる。

【0061】

本発明の機能的抗体断片には、化学修飾、特にPEG化、またはリボソームへの取り込みにより半減期が増加した任意の機能的断片が含まれる。

【0062】

dAb (ドメイン抗体) は抗体の単量体の抗原結合性小断片であり、すなわち抗体重鎖または軽鎖の可変領域である (Holt et al. Trends, Biotechnology 21, 484-490, 2003)。VHdAbはラクダ科動物 (例えばラ

クダ、ラマ)に天然に生じ、ラクダ科動物を標的抗原により免疫化し、抗原特異的B細胞を単離し、個々のB細胞からdAb遺伝子を直接クローニングすることにより産生することができる。dAbは細胞培養物中で産生可能でもある。それらの小さいサイズ、良好な溶解度および温度安定性により、それらは特に生理学的に有用であり、選択および親和性成熟に好適である。本発明の抗体は、実質的に本明細書に記載されるVHもしくはVLドメイン、または実質的に本明細書に記載されるCDRセットを含むVHもしくはVLドメインを含むdAbであり得る。

【0063】

本明細書において使用される語句「実質的に記載される」は、本明細書に記載の抗体のVHまたはVLドメインの関連CDRの特徴が、配列が本明細書に記載される規定の領域と同一であり、または高度に類似することを指す。本明細書に記載の、1つ以上の可変ドメインの規定の領域に関する語句「高度に類似する」は、1から約12、例えば、1から8、例として、1から7、1から6、1から5、1から4、1から3、または1または2つのアミノ酸置換がVHおよび／またはVLドメインのCDR中で作製されていてよいことを企図する。

【0064】

本発明の抗体は、二重特異的抗体を含む。二重特異性または二機能性抗体は、2つの異なる可変領域が同一分子中で組み合わされている第二世代のモノクローナル抗体を形成する[Holliger, P&Winter, G. 1999 Cancer and metastasis rev. 18:411-419, 1999)。それらの使用は、新規エフェクター機能をリクリートするかまたは腫瘍細胞表面上のいくつかの分子を標的化するそれらの能力から、診断分野および治療分野の両方で実証されている。二重特異性抗体を使用すべき場合、これらの二重特異性抗体は種々の手法で製造することができる慣用の二重特異性抗体であり得(Holliger et al, PNAS USA 90:6444-6448, 1993)、例えば化学的にまたはハイブリッドハイブリドーマから調製し、または上記の二重特異性抗体断片のいずれかであり得る。これらの抗体は、化学的方法(Glennie et al, 1987 J. Immunol. 139, 2367-2375; Repp et al., J. Hemat. 377-382, 1995)または体細胞法(Staerz U. D. and Bevan M. J. PNAS 83, 1986; et al., Method Enzymol. 121:210-228, 1986)によって得ることができるが、ヘテロ二量体化を強制することが可能で、したがって目的の抗体の精製プロセスを促進する遺伝子工学技術により得ることができる(Merchand et al Nature Biotech. 16:677-681, 1998)。二重特異性抗体の例には、異なる特異性を有する2つの抗体の結合ドメインを使用し、短いフレキシブルペプチドを介して直接連結することができるBiTE(商標)技術の二重特異性抗体が含まれる。これは短い単一ポリペプチド鎖上で2つの抗体を組み合わせる。ダイアボディおよびscFvは、可変ドメインのみを使用して、Fc領域を用いずに構築することができ、潜在的に抗イディオタイプ反応の効果を低減する。

【0065】

二重特異性抗体は、完全IgGとして、二重特異性Fab'2として、Fab'PEGとして、ダイアボディとして、またはそうでなければ二重特異性scFvとして構築することができる。さらに、当技術分野において公知の定型的方法を使用して2つの二重特異性抗体を連結し、四価抗体を形成することができる。

【0066】

二重特異性完全抗体とは対照的に二重特異性ダイアボディが特に有用であることがある。それというのも、それらは容易に構築することができ、大腸菌(E. coli)中で発現させることができるためである。適切な結合特異性のダイアボディ(および多数の他のポリペプチド、例えば抗体断片)は、ファージディスプレイ(国際公開第94/13804号パンフレット)を使用してライブラリーから容易に選択することができる。ダイアボディの一方のアームが一定に保持され、例えばIL-4Rαに対して指向される特異性を

有する場合、他方のアームが変動するライブラリーを作製することができ、適切な特異性の抗体を選択することができる。Ridgeway et al., (Protein Eng., 9:616-621, 1996) に記載の代替の遺伝子操作方法により二重特異性完全抗体を作製することができる。

【0067】

当技術分野において IL-4R α に対する抗体を得るための種々の方法が利用可能である。抗体は、当業者に周知の標準的方法にしたがって得ることができる、特にヒト、マウス、キメラまたはヒト化起源のモノクローナル抗体であり得る。

【0068】

一般に、特にマウス起源のモノクローナル抗体またはそれらの機能的断片の調製について、特に手引き「Antibodies」(Harlow and Lane, Antibodies: A Laboratory Manual, Cold Spring Harbor Laboratory, Cold Spring Harbor N. Y., pp. 726, 1988) に記載の技術または Kohler および Milstein (Nature, 256:495-497, 1975) により記載されたハイブリドーマからの調製の技術を参照することが可能である。

【0069】

モノクローナル抗体は、例えば、IL-4R α 、または前記モノクローナル抗体により認識されるエピトープを含有するその断片の1つに対して免疫化された動物細胞から得ることができる。前記 IL-4R α 、またはその断片の1つは、特に、IL-4R α またはその断片をコードする cDNA 配列に含有される核酸配列から出発する遺伝子組換えにより、IL-4R α および/またはその断片のペプチド配列に含まれるアミノ酸の配列から出発するペプチド合成により、通常の作業方法に従って産生することができる。モノクローナル抗体は、例えば、IL-4R α 、または前記モノクローナル抗体により認識されるエピトープを含有するその断片の1つが事前に固定化された親和性カラム上で精製することができる。より具体的には、モノクローナル抗体は、プロテイン A および/または G 上のクロマトグラフィーにより精製し、次いで残留するタンパク質汚染物質ならびに DNA および LPS 自体を排除する目的のイオン交換クロマトグラフィーを行うかまたは行わずに、次いで二量体または他の多量体の存在に起因する潜在的凝集物を排除するためのセファロスゲル上での排除クロマトグラフィーを行うかまたは行わずに達成することができる。一実施形態において、これらの技術の全部を同時にまたは連続的に使用することができる。

【0070】

抗原結合部位は、非抗体タンパク質足場、例えば、フィブロネクチンまたはシトクロム B などの上の CDR の配置により (Haan & Maggos, BioCentury, 12(5):A1-A6, 2004; Koide, Journal of Molecular Biology, 284:1141-1151, 1998; Nygren et al., Current Opinion in Structural Biology, 7:463-469, 1997)、またはタンパク質足場内のループのアミノ酸残基をランダム化し、もしくは突然変異させて所望の標的についての結合特異性を付与することにより提供することができる。タンパク質中の新規結合部位の遺伝子操作のための足場は、Nygren et al. (前掲) により詳細に記載されている。抗体模倣体のためのタンパク質足場は、参照により全体として本明細書に組み込まれる国際公開第 0034784 号パンフレットに開示されており、発明者らは、少なくとも1つのランダム化ループを有するフィブロネクチン III 型ドメインを含むタンパク質(抗体模倣体)に記載している。1つ以上の CDR、例えば、HCDR のセットまたは HCDR 3 および/もしくは LCDR 3 をグラフトする好適な足場は、免疫グロブリン遺伝子スーパーファミリーの任意のドメインメンバーにより提供することができる。足場は、ヒトまたは非ヒトタンパク質であり得る。

【0071】

抗体配列および／または抗原結合部位に加えて、本発明による抗体は、例えば、ペプチドもしくはポリペプチド、例えば、折り畳みドメインを形成する、または分子に抗原結合能に加えた別の機能的特徴を付与するための他のアミノ酸を含み得る。本発明の抗体は、検出可能な標識を担持し得、または毒素もしくは標的化部分もしくは酵素（例えば、ペプチジル結合またはリンカーを介して）にコンジュゲートすることができる。例えば、抗体は、触媒部位（例えば、酵素ドメイン中）および抗原結合部位を含み得、抗原結合部位が抗原に結合し、したがって触媒部位を抗原に標的化する。触媒部位は、抗原の生物学的機能を例えば開裂により阻害し得る。

【0072】

本発明のCDR、例えばCDR3、またはCDRのセットを担持するための構造は、一般に、CDRまたはCDRのセットが、再編成される免疫グロブリン遺伝子によりコードされる天然存在のVHおよびVL抗体可変ドメインのCDRまたはCDRのセットに対応する局在において局在する抗体重鎖または軽鎖配列またはその実質的な部分である。免疫グロブリン可変ドメインの構造および局在は、Kabat (Sequences of Proteins of Immunological Interest, 4th Edition. US Department of Health and Human Devices, 1987) およびその更新情報、例えば、5th Edition (Sequences of Proteins of Immunological Interest, 5th Edition. US Department of Health and Human Services, Public Service, NIH, Washington, 1991) を参照して決定することができる。

【0073】

特に記載のない限り、本明細書に言及される特定の残基の局在、ならびにCDRおよびフレームワーク領域は、Kabatナンバリング系を使用する。

【0074】

CDR領域またはCDRは、Kabat et al. (前掲) により定義される免疫グロブリンの重鎖および軽鎖の超可変領域を示すものとする。抗体は、典型的には、3つの重鎖CDRおよび3つの軽鎖CDRを含有する。CDRという用語は、本明細書において、場合に応じて、抗体が認識する抗原またはエпитープについての抗体の親和性による結合を担う大部分のアミノ酸残基を含有するそれらの領域の1つまたはそれらの領域のいくつか、またはさらに全体を示すために使用される。

【0075】

6つの短いCDR配列のうち、重鎖の第3のCDR (HCDR3) は、より大きいサイズ可変性を有する (本質的には、それを生じさせる遺伝子の配置の機序に起因するより大きい多様性)。それは、2アミノ酸ほど短いこともあるが、公知の最長サイズは26である。機能的には、HCDR3は、部分的に、抗体の特異性の決定において役割を担う (Segal et al. PNAS, 71:4298-4302, 1974; Amit et al., Science, 233:747-753, 1986; Chothia et al. J. Mol. Biol., 196:901-917, 1987; Chothia et al. Nature, 342:877-883, 1989; et al. J. Immunol., 144:1965-1968, 1990; Sharon et al. PNAS, 87:4814-4817, 1990 (a); Sharon et al. J. Immunol., 144:4863-4869, 1990; Kabat et al., et al., J. Immunol., 147:1709-1719, 1991b)。

HCDR1は、Kabat残基31～35からなる5アミノ酸長であり得る。

HCDR2は、Kabat残基50～65からなる17アミノ酸長であり得る。

HCDR3は、Kabat残基95～102からなる7アミノ酸長であり得る。

LCDR1は、Kabat残基24～34からなる13アミノ酸長であり得る。

LCDR2は、Kabat残基50～56からなる7アミノ酸長であり得る。

L C D R 3 は、K a b a t 残基 8 9 ~ 9 7 からなる 1 2 アミノ酸長であり得る。

【0076】

抗原結合部位

抗原結合部位は、標的抗原の全体または部分と結合し、それと相補的な分子の部分の説明する。抗体分子において、それは抗体抗原結合部位と称され、標的抗原の全体または部分と結合し、それと相補的な抗体の部分を含む。抗原が大きい場合、抗体は抗原の特定部分にのみ結合し得、その部分はエピトープと称される。抗体抗原結合部位は 1 つ以上の抗体可変ドメインにより提供することができる。抗体抗原結合部位は、抗体軽鎖可変領域（V L）および抗体重鎖可変領域（V H）を含み得る。

【0077】

単離

「単離された」は、本発明の抗体、またはそのような抗体をコードする核酸が、一般に本発明による状態を指す。したがって、本発明による V H および / または V L ドメイン、ならびにコード核酸分子およびベクターを含む抗体は、実質的に純粋または均質な形態で、例えばそれらの天然環境から単離および / または精製されている状態、または核酸の場合、要求される機能を有するポリペプチドをコードする配列以外の起源の核酸または遺伝子を含まないかまたは実質的に含まない状態で提供することができる。単離されたメンバーおよび単離された核酸は、それらが天然に付随する材料、例えばその天然環境、またはそれらが調製される環境（例えば細胞培養物）中で（そのような調製がインビトロもしくはインビボで実施される組換え D N A 技術によるものである場合）、それらが見出される他のポリペプチドまたは核酸を含まないかまたは実質的に含まない。メンバーおよび核酸は希釈剤またはアジュバントとともに製剤化することができ、実際の目的のために依然として単離されており、例えば、メンバーは、イムノアッセイで使用するためのマイクロタイタープレートをコーティングするために使用する場合、通常ゼラチンまたは他の担体と混合し、または診断もしくは治療において使用する場合、薬学的に許容可能な担体または希釈剤と混合する。抗体は、天然にまたは異種真核細胞（例えば C H O または N S O （E C A C C 8 5 1 1 0 5 0 3）細胞）の系によってグリコシル化されているか、または（例えば原核細胞中の発現により産生される場合）非グリコシル化状態であり得る。

【0078】

抗 I L - 4 R α 抗体分子を含む不均一調製物もまた、本発明の部分を構成する。例えば、そのような調製物は、完全長重鎖および C 末端リジンを欠く重鎖を有し、種々の程度のグリコシル化を有し、ならびに / または誘導体化アミノ酸、例えばピログルタミン酸残基を形成する N 末端グルタミン酸の環化物を有する抗体の混合物であり得る。

【0079】

上記のとおり、本発明による抗体は、I L - 4 R α の生物学的活性をモジュレートし、中和し得る。本明細書に記載のとおり、本発明の I L - 4 R α 抗体は、その中和効力について最適化することができる。一般に、効力の最適化は、選択された抗体の配列（通常は抗体の可変ドメイン配列）を突然変異させて抗体のライブラリーを生成することを含み、次いでそのライブラリーを効力についてアッセイし、より強力な抗体を選択する。こうして選択された「効力最適化」抗体は、ライブラリーを生成した抗体よりも高い効力を有する傾向がある。これにもかかわらず、最適化なしで高い効力の抗体を得ることもでき、例えば、初期スクリーン、例えば、生化学的中和アッセイから高い効力の抗体を直接得ることができる。「効力最適化」抗体は、結合または I L - 4 R α の特定の活性もしくは下流機能の中和の効力が最適化されている抗体を指す。アッセイおよび効力は本明細書の他箇所により詳細に記載される。本発明は、効力最適化および / または非最適化抗体の両方、ならびに選択された抗体から効力を最適化する方法を提供する。したがって、本発明は、当業者が、高い効力を有する抗体を有する組成物を生成することを可能にする。

【0080】

効力最適化を使用して所与の結合メンバーからより高い効力の抗体を生成することができるが、高い効力の抗体を効力最適化なしでも得ることができることにも留意される。

【0081】

前記選択された結合メンバーの抗体VH可変ドメインのアミノ酸配列を有する抗体VH可変ドメインは、そのようなVHドメインを含む抗体と同様に、単離された形態で提供することができる。

【0082】

IL-4R α への結合能および／または例えば、親抗体分子（例えば、抗体1）もしくは最適化抗体分子、抗体2から42（例えば、scFvフォーマットおよび／またはIgGフォーマット、例えば、IgG1、IgG2またはIgG4）とのIL-4R α への結合についての競合能を、さらに試験することができる。本明細書その他箇所にさらに考察されたとおり、IL-4R α を中和する能力を試験することができる。

10

【0083】

本発明による抗体は、例えば、scFvもしくはIgG1もしくはIgG2もしくはIgG4フォーマットの抗体1から42の1つの親和性で、またはより良好な親和性でIL-4R α に結合し得る。

【0084】

本発明による抗体は、例えば、scFvもしくはIgG1もしくはIgG2もしくはIgG4フォーマットの抗体1から42の1つの効力で、またはより良好な効力でIL-4R α の生物学的活性を中和し得る。

【0085】

異なる抗体の結合親和性および中和効力を適切な条件下で比較することができる。

20

【0086】

本明細書に開示される抗体分子の変異体を産生し、本発明において使用することができる。多変量データ分析技術を構造／特性－活性関係に対して適用する場合の計算化学の手引き (Wold et al Multivariate data analysis in chemistry. Chemometrics－Mathematics and Statistics in Chemistry (Ed. : B. Kowalski), D. Reidel Publishing Company, Dordrecht, Holland, 1984 (ISBN 90-277-1846-6)) に従って、周知の数学的技術、例えば統計回帰、パターン認識および分類 (Norman et al. Applied Regression Analysis. Wiley-Interscience; 3rd edition (1998年4月) ISBN: 0471170828; Kandel, Abraham & Backer, Computer-Assisted Reasoning in Cluster Analysis. Prentice Hall PTR, (1995年5月11日), ISBN: 0133418847; Principles of Multivariate Analysis: A User's Perspective (Oxford Statistical Science Series, No 22 (Paper)). Oxford University Press; (2000年12月), ISBN: 0198507089; Witt en & Frank, Data Mining: Practical Machine Learning Tools and Techniques with Java Implementations. Morgan Kaufmann; (1999年10月11日), ISBN: 1558605525; Denison DGT. (Editor) Holmes, C. C. et al Bayesian Methods for Nonlinear Classification and Regression (Wiley Series in Probability and Statistics). John Wiley & Sons; (2002年7月), ISBN: 0471490369; Ghose, A. K. & Viswanadhan, V. N. Combinatorial Library Design and Evaluation Principles, Software, Tools, and Applications in Drug Discovery. ISBN: 0-8247-0487-8) を使用し

30

40

50

て抗体の定量的活性－特性関係を導き出すことができる。抗体の特性は、抗体配列、機能的および3次元構造の経験的および理論的モデル（例えば、接触候補残基の分析または算出上の物理化学的特性）から導き出すことができ、これらの特性は個々におよび組み合わせて考慮することができる。

【0087】

C D R、抗体V HまたはV Lドメインおよび抗体のアミノ酸配列内で置換を作製するために必要とされる技術は、一般に当技術分野において利用可能である。活性に対して最小または有益な影響を有すると予測されてもされなくてもよい置換を有する変異体配列を作製し、I L－4 R αに結合し、および／またはそれらを中和する能力および／または任意の他の所望の特性について試験することができる。

10

【0088】

本明細書に配列が具体的に開示されている任意のV HおよびV Lドメインのいずれかの可変ドメインアミノ酸配列変異体を、考察されるとおり本発明により用いることができる。特定の変異体は、1つ以上のアミノ酸配列変化（アミノ酸残基の付加、欠失、置換、および／または挿入）を含み得、約20未満の変化、約15未満の変化、約12未満の変化、約10未満の変化、または約6未満の変化であり得、5、4、3、2または1つであり得る。変化は、1つ以上のフレームワーク領域および／または1つ以上のC D R中で作製することができる。変化は、通常、機能の損失をもたらさず、したがって、こうして変化したアミノ酸配列を含む抗体はI L－4 R αに結合し、および／またはそれを中和する能力を保持し得る。それは、例えば、本明細書に記載のアッセイにおいて計測して変化が作製されていない抗体と同一の定量的結合および／または中和能力を保持し得る。こうして変化したアミノ酸配列を含む結合メンバーは、I L－4 R αに結合し、および／またはそれを中和する能力の改善を有し得る。実際、抗体20のランダム突然変異導入から生成された抗体21から42は、抗体20に対して置換を、ほとんど種々のフレームワーク領域内で示し、それらのそれぞれが、依然としてI L－4 R αに結合し、および／またはそれを中和し、実際に、一部は、I L－4 R αに結合し、および／またはそれを中和する能力の改善を示す。

20

【0089】

変更形態は、1つ以上のアミノ酸残基を、天然に存在しないかもしくは非標準アミノ酸により置き換えること、1つ以上のアミノ酸残基を、天然に存在しないかしくは非標準形態に改変すること、または1つ以上の天然に存在しないかしくは非標準アミノ酸を配列内に挿入することを含み得る。本発明の配列中の変更の数および位置の例は、本明細書他箇所に記載されている。天然に存在するアミノ酸には、20種の「標準」L－アミノ酸が含まれ、それらの標準一文字コードによりG、A、V、L、I、M、P、F、W、S、T、N、Q、Y、C、K、R、H、D、Eとして同定される。非標準アミノ酸には、ポリペプチド骨格中に取り込むことができるかまたは既存のアミノ酸残基の改変から生じ得る任意の他の残基が含まれる。非標準アミノ酸は天然に存在しても天然に存在しなくてもよい。いくつかの天然に存在する非標準アミノ酸が当技術分野において公知であり、例えば4－ヒドロキシプロリン、5－ヒドロキシリジン、3－メチルヒスチジン、N－アセチルセリンなどである（Voet & Voet, Biochemistry, 2nd Edition, (Wiley) 1995）。N－アルファ位置において誘導体化されているアミノ酸残基はアミノ酸配列のN末端に局在するにすぎない。本発明においては通常、アミノ酸はL－アミノ酸であるが、一部の実施形態ではD－アミノ酸であってもよい。したがって、変更形態は、L－アミノ酸をD－アミノ酸に改変するかまたはL－アミノ酸をD－アミノ酸により置き換えることを含む。アミノ酸のメチル化、アセチル化および／またはリン酸化形態も既知であり、本発明におけるアミノ酸をそのような改変に供することができる。

30

40

【0090】

本発明の抗体ドメインおよび抗体中のアミノ酸配列は、上記の非天然または非標準アミノ酸を含み得る。一部の実施形態において、非標準アミノ酸（例えば、D－アミノ酸）は

50

、合成中にアミノ酸配列中に取り込むことができる一方、他の実施形態において、非標準アミノ酸をアミノ酸配列の合成後に「元の」標準アミノ酸の改変または置き換えにより取り込むことができる。

【0091】

非標準および／または非天然存在アミノ酸の使用により、構造的および機能的多様性を増加させ、したがって本発明の抗体における所望のIL-4R α 結合および中和特性を達成するための潜在性を増加させることができる。さらに、D-アミノ酸および類似体は、動物、例えばヒトへの投与後のL-アミノ酸を有するポリペプチドのインビボ分解により標準L-アミノ酸と比較して良好な薬物動態学的プロファイルを有することが示されている。

10

【0092】

本発明のCDR由来配列を担持する新規VHまたはVL領域は、全可変ドメイン内の突然変異を生成するための1つ以上の選択VHおよび／またはVL遺伝子のランダム突然変異導入を使用して生成することができる。このような技術はエラープロンプPCRを使用したGram et al. (Proc. Natl. Acad. Sci., USA, 89: 3576-3580, 1992)により記載されている。一部の実施形態において、全可変ドメインまたはCDRのセット内で1または2つのアミノ酸置換を作製する。使用することができる別の方法は、VHまたはVL遺伝子のCDR領域に対する直接突然変異導入である。このような技術は、Barbas et al. (Proc. Natl. Acad. Sci., 91: 3809-3813, 1994)およびSchier et al. (J. Mol. Biol. 263: 551-567, 1996)により開示されている。

20

【0093】

全ての上記技術は、当技術分野においてそれ自体公知であり、当業者は、そのような技術を使用して当技術分野における定型的な方法論を使用して本発明の結合メンバーを提供することができる。

【0094】

本発明のさらなる態様は、IL-4R α についての抗体抗原結合部位を得る方法であって、本明細書に記載のVHドメインのアミノ酸配列中の1つ以上のアミノ酸の追加、欠失、置換、または挿入を用いて、VHドメインのアミノ酸配列変異体であるVHドメインを提供し、場合により、こうして提供されたVHドメインを1つ以上のVLドメインと組み合わせること、およびVHドメインまたはVH/VL組合せを試験して、IL-4R α についての抗体または抗体抗原結合部位（場合により1つ以上の機能的特性、例えばIL-4R α 活性を中和する能力を有する）を同定することを含む方法を提供する。前記VLドメインは本明細書に実質的に記載されるアミノ酸配列を有し得る。本明細書に開示されるVLドメインの1つ以上の配列変異体を1つ以上のVHドメインと組み合わせる類似の方法を用いることができる。

30

【0095】

上記のとおり、本明細書に実質的に記載されるCDRアミノ酸配列は、ヒト抗体可変ドメインまたはその実質的部分中のCDRとして有することができる。本明細書中に実質的に記載されるHCDR3配列は本発明の実施形態を表し、例えばこれらのそれぞれはヒト重鎖可変ドメインまたはその実質的部分中のHCDR3として有することができる。

40

【0096】

本発明において用いられる可変ドメインは、任意の生殖細胞系列もしくは再編成ヒト可変ドメインから得ることができ、もしくはそれに由来し得、または既知のヒト可変ドメインのコンセンサスまたは実際の配列に基づく合成可変ドメインであり得る。可変ドメインは非ヒト抗体に由来するものであり得る。組換えDNA技術を使用してCDR（例えばCDR3）を欠く可変ドメインのレパートリー中に本発明のCDR配列（例えばCDR3）を導入することができる。例えば、Marks et al. (Bio/Technology, 10: 779-783, 1992)は、抗体可変ドメインのレパートリーを産生

50

する方法であって、可変ドメイン領域の5'末端に指向されるかまたはそれに隣接するコンセンサスプライマーを、ヒトVH遺伝子の第3フレームワーク領域に対するコンセンサスプライマーとともに使用してCDR3を欠くVH可変ドメインのレパートリーを提供する方法を記載している。Marks他は、このレパートリーを特定の抗体のCDR3とどのように組み合わせることができるかをさらに記載している。類似の技術を使用して、本発明のCDR3由来配列を、CDR3を欠くVHまたはVLドメインのレパートリーとシャッフリングし、シャッフリングされた完全VHまたはVLドメインをコグネイトVLまたはVHドメインと組み合わせて本発明の抗体を提供することができる。次いで、好適な抗体を選択することができるように、レパートリーを好適な宿主系、例えば国際公開第92/01047号パンフレット（参照により全体として本明細書に組み込まれる）、または後続の多数の文献のいずれか、例としてKay, Winter & McCafferty (Phage Display of Peptides and Proteins: A Laboratory Manual, San Diego: Academic Press, 1996)のファージディスプレイ系中でディスプレイすることができる。レパートリーは、 10^4 個の個々のメンバー以上、例えば少なくとも 10^5 個、少なくとも 10^6 個、少なくとも 10^7 個、少なくとも 10^8 個、少なくとも 10^9 個または少なくとも 10^{10} 個のメンバーのいずれかから構成され得る。他の好適な宿主系には、限定されるものではないが、酵母ディスプレイ、細菌ディスプレイ、T7ディスプレイ、ウイルスディスプレイ、細胞ディスプレイ、リボソームディスプレイおよび共有結合ディスプレイが含まれる。

10

20

【0097】

類似のシャッフリングまたはコンビナトリアル技術も、 β -ラクタマーゼ遺伝子に関連する技術を記載するが、アプローチが抗体の生成に使用することができることを観察するStemmer (Nature, 370: 389-391, 1994)により開示されている。

【0098】

ここでも、置き換えるべきCDR3を含むかまたはCDR3コード領域を欠くVLドメインをコードする核酸のレパートリーと本発明のVLCDR3を組み合わせる類似の方法を用いることができる。

【0099】

同様に、本明細書に開示の他のVHおよびVLドメイン、CDRのセットならびにHC DRのセットおよび／またはLC DRのセットを用いることができる。

30

【0100】

同様に、1つ以上の、または3つ全てのCDRを、VHまたはVLドメインのレパートリー中にグラフトし、次いでIL-4R α についての1つまたは複数の抗体についてスクリーニングすることができる。

【0101】

あるいは、本発明の抗体、例えば、抗体1～42のいずれかのVHおよび／またはVLドメインをコードする核酸を、突然変異導入（例えば、標的化またはランダム）に供して1つ以上の突然変異核酸を生成することができる。次いで、これらの配列によりコードされる抗体を生成することができる。

40

【0102】

一実施形態において、抗体1から42のHC DR1、HC DR2およびHC DR3の1つ以上、もしくは抗体1から42のHC DRセットを用いることができ、ならびに／または抗体1から42のLC DR1、LC DR2およびLC DR3の1つ以上もしくは抗体1から42のLC DRセットを用いることができる。

【0103】

特定の実施形態において、ドナー核酸は、VHもしくはVLドメインまたはその中の任意のCDR領域の標的化またはランダム突然変異導入により産生される。

【0104】

50

別の実施形態において、産物 V H または V L ドメインは、抗体定常領域に付着している。

【0105】

別の実施形態において、産物 V H または V L ドメインおよび同伴 V L または V H ドメインはそれぞれ、I g G、s c F V または F a b 抗体分子中に含まれる。

【0106】

別の実施形態において、回収された結合メンバーまたは抗体分子を、I L - 4 R α の中和能について試験する。

【0107】

一部の実施形態において、免疫グロブリン可変ドメインの実質的部分は少なくとも3つの C D R 領域をそれらの介在フレームワーク領域と一緒に含み得る。部分は第1および第4フレームワーク領域の一方または両方の少なくとも約50%を含んでもよく、50%は第1フレームワーク領域のC末端の50%であり、第4フレームワーク領域のN末端の50%である。可変ドメインの実質的部分のN末端またはC末端における追加の残基は、天然に存在する可変ドメイン領域に通常付随しない残基であり得る。例えば、本発明の抗体の構築を組換えDNA技術により行ってクローニングまたは他の操作ステップを促進するために導入されるリンカーによりコードされるNまたはC末端残基の導入をもたらすことができる。他の操作ステップには、本発明の可変ドメインをさらなるタンパク質配列に連結させるためのリンカーの導入が含まれ、そのタンパク質配列には、本明細書その他箇所にさらに詳細に考察される抗体定常領域、他の可変ドメイン（例えばダイアボディの産生における場合）または検出可能／機能的標識が含まれる。

【0108】

本発明の一部の態様において、抗体はV H およびV L ドメインのペアを含むが、V H またはV L ドメイン配列のいずれかに基づく単一の結合ドメインは本発明のさらなる態様を形成する。単一の免疫グロブリンドメイン、特にV H ドメインは特異的様式で標的抗原に結合し得ることが公知である。例えば、上記 d A b についての考察を参照のこと。

【0109】

いずれの単一結合ドメインの場合でも、これらのドメインを使用して、I L - 4 R α に結合し得る2ドメイン結合メンバーを形成し得る相補的ドメインについてスクリーニングすることができる。これは、国際公開第92/01047号パンフレット（参照により全体として本明細書に組み込まれる）に開示されるいわゆる階層的二重コンビナトリアルアプローチ（hierarchical dual combinatorial approach）を使用するファージディスプレイスクリーニング法により達成することができ、その方法において、HまたはL鎖クローンのいずれかを含有する個々のコロニーを使用して、他方の鎖（LまたはH）をコードするクローンの完全ライブラリーを感染させ、得られた2鎖結合メンバーを例えば参考文献に記載のファージディスプレイ技術に従って選択する。この技術も Marks et al. (Bio/Technology, 10: 779-783, 1992) に開示されている。

【0110】

本発明の抗体は、抗体定常領域またはその部分、例えばヒト抗体定常領域またはその部分をさらに含み得る。例えば、V L ドメインをそのC末端において、例えばC λ 鎖である、ヒトC κ またはC λ 鎖を含む抗体軽鎖定常ドメインに付着させることができる。同様に、V H ドメインに基づく抗体をそのC末端で、任意の抗体アイソタイプ、例えばI g G、I g A、I g D、I g Y、I g E および I g M ならびに任意のアイソタイプサブクラスのいずれか（例えば、I g G 1、I g G 2、I g G 3、I g G 4、I g A 1、および I g A 2；特に I g G 1 および I g G 4）由来の免疫グロブリン重鎖の全体または部分（例えば C H 1 ドメイン）に付着させることができる。I g G 1 は、そのエフェクター機能および製造容易性により有利であり得る。これらの特性を有し、可変領域を安定化する任意の合成または他の定常領域変異体も本発明の実施形態において有用である。

【0111】

用語「アイソタイプ」は、抗体の重鎖または軽鎖定常領域の分類を指す。抗体の定常ドメインは、抗原への結合に関与しないが、種々のエフェクター機能を示す。重鎖定常領域のアミノ酸配列に応じて、所与のヒト抗体または免疫グロブリンは、免疫グロブリンの5つの主なクラスであるIgA、IgD、IgE、IgG、およびIgMのうちの1つに割り当てることができる。これらのクラスのいくつかは、サブクラス（アイソタイプ）、例えば、IgG1（ガンマ1）、IgG2（ガンマ2）、IgG3（ガンマ3）、およびIgG4（ガンマ4）、ならびにIgA1およびIgA2にさらに分類される。免疫グロブリンの異なるクラスに対応する重鎖定常領域は、それぞれ、 α 、 δ 、 ϵ 、 γ 、および μ と呼ばれる。免疫グロブリンの異なるクラスの構造および三次元構造は周知である。種々のヒト免疫グロブリンクラスのうち、ヒトIgG1、IgG2、IgG3、IgG4、およびIgMのみが、補体を活性化させることが公知である。ヒトIgG1およびIgG3は、ヒトにおいてADCCを媒介することが公知である。ヒト軽鎖定常領域は、カッパおよびラムダの2つの主なクラスに分類することができる。

10

【0112】

抗体フォーマット

本発明は、本発明の抗体、特に、改変されたIgG定常ドメインを有する本発明の抗体も含む。機能的特徴、例えば、長い血清半減期および種々のエフェクター機能を媒介する能力を有するヒトIgGクラスの抗体が、本発明のある実施形態において使用される（*Monoclonal Antibodies: Principles and Applications*, Wiley-Liss, Inc., Chapter 1 (1995)）。ヒトIgGクラス抗体は、以下の4つのサブクラス：IgG1、IgG2、IgG3およびIgG4にさらに分類される。多数の研究が、これまで、IgGクラス抗体のエフェクター機能としてのADCCおよびCDCについて実施されており、ヒトIgGクラスの抗体のうち、IgG1サブクラスがヒトにおける最大のADCC活性およびCDC活性を有することが報告されている（*Chemical Immunology*, 65, 88 (1997)）。

20

【0113】

したがって、本発明のさらなる態様によれば、抗体、特に、抗体の生物学的エフェクター機能を変化させる、すなわち、増加させ、減少させ、または排除するように改変された抗体、例えば、改変Fc領域を有する抗体が提供される。一部の実施形態において、本明細書に開示の抗体は、補体を固定し、補体依存性細胞傷害（CDC）に関与するそれらの能力を向上させるように改変することができる。他の実施形態において、抗体は、エフェクター細胞を活性化させ、抗体依存性細胞傷害（ADCC）に関与するそれらの能力を向上させるように改変することができる。さらに他の実施形態において、本明細書に開示の抗体は、エフェクター細胞を活性化させ、抗体依存性細胞傷害（ADCC）に関与するそれらの能力および補体を固定し、補体依存性細胞傷害（CDC）に関与するそれらの能力の両方を向上させるように改変することができる。

30

【0114】

一部の実施形態において、本明細書に開示の抗体は、補体を固定し、補体依存性細胞傷害（CDC）に関与するそれらの能力を低減させるように改変することができる。他の実施形態において、抗体は、エフェクター細胞を活性化させ、抗体依存性細胞傷害（ADCC）に関与するそれらの能力を低減させるように改変することができる。さらに他の実施形態において、本明細書に開示の抗体は、エフェクター細胞を活性化させ、抗体依存性細胞傷害（ADCC）に関与するそれらの能力および補体を固定し、補体依存性細胞傷害（CDC）に関与するそれらの能力の両方を低減させるように改変することができる。

40

【0115】

一実施形態において、Fc変異体領域を有する抗体は、同等の分子に対して向上したADCC活性を有する。具体的な実施形態において、Fc変異体領域を有する抗体は、同等の分子よりも少なくとも2倍、または少なくとも3倍、または少なくとも5倍または少なくとも10倍または少なくとも50倍または少なくとも100倍大きいADCC活性を有

50

する。別の具体的な実施形態において、Fc変異体領域を有する抗体は、同等の分子に対して向上したFc受容体FcγRIIIAへの結合を有し、向上したADCC活性を有する。他の実施形態において、Fc変異体領域を有する結合メンバーは、同等の分子に対して向上したADCC活性および向上した血清半減期の両方を有する。

【0116】

一実施形態において、Fc変異体領域を有する抗体は、同等の分子に対して低減したADCC活性を有する。具体的な実施形態において、Fc変異体領域を有する抗体は、同等の分子よりも少なくとも2倍、または少なくとも3倍、または少なくとも5倍または少なくとも10倍または少なくとも50倍または少なくとも100倍低いADCC活性を有する。別の具体的な実施形態において、Fc変異体領域を有する結合メンバーは、同等の分子に対して低減したFc受容体FcγRIIIAへの結合を有し、低減したADCC活性を有する。他の実施形態において、Fc変異体領域を有する結合メンバーは、同等の分子に対して低減したADCC活性および向上した血清半減期の両方を有する。

10

【0117】

一実施形態において、Fc変異体領域を有する結合メンバーは、同等の分子に対して向上したCDC活性を有する。具体的な実施形態において、Fc変異体領域を有する結合メンバーは、同等の分子よりも少なくとも2倍、または少なくとも3倍、または少なくとも5倍または少なくとも10倍または少なくとも50倍または少なくとも100倍大きいCDC活性を有する。他の実施形態において、Fc変異体領域を有する結合メンバーは、同等の分子に対して向上したCDC活性および向上した血清半減期の両方を有する。

20

【0118】

一実施形態において、Fc変異体領域を有する結合メンバーは、同等の分子に対して低減した1つ以上のFcリガンドへの結合を有する。別の実施形態において、Fc変異体領域を有する結合メンバーは、同等の分子よりも少なくとも2倍、または少なくとも3倍、または少なくとも5倍、または少なくとも7倍、または少なくとも10倍、または少なくとも20倍、または少なくとも30倍、または少なくとも40倍、または少なくとも50倍、または少なくとも60倍、または少なくとも70倍、または少なくとも80倍、または少なくとも90倍、または少なくとも100倍、または少なくとも200倍低いFcリガンドについての親和性を有する。具体的な実施形態において、Fc変異体領域を有する結合メンバーは、Fc受容体への低減した結合を有する。別の具体的な実施形態において、Fc変異体領域を有する結合メンバーは、Fc受容体FcγRIIIAへの低減した結合を有する。さらなる具体的な実施形態において、本明細書に記載のFc変異体領域を有する結合メンバーは、同等の分子よりも少なくとも約5倍小さいFc受容体FcγRIIBについての親和性を有し、Fc変異体は、同等の分子の約2倍以内のFc受容体FcγRIIBについての親和性を有する。さらに別の具体的な実施形態において、Fc変異体領域を有する結合メンバーは、Fc受容体FcRnへの低減した結合を有する。さらに別の具体的な実施形態において、Fc変異体領域を有する結合メンバーは、同等の分子に対して低減したC1qへの結合を有する。

30

【0119】

一実施形態において、Fc変異体領域を有する結合メンバーは、同等の分子に対して向上した1つ以上のFcリガンドへの結合を有する。別の実施形態において、Fc変異体領域を有する結合メンバーは、同等の分子よりも少なくとも2倍、または少なくとも3倍、または少なくとも5倍、または少なくとも7倍、または少なくとも10倍、または少なくとも20倍、または少なくとも30倍、または少なくとも40倍、または少なくとも50倍、または少なくとも60倍、または少なくとも70倍、または少なくとも80倍、または少なくとも90倍、または少なくとも100倍、または少なくとも200倍大きいFcリガンドについての親和性を有する。具体的な実施形態において、Fc変異体領域を有する結合メンバーは、Fc受容体への向上した結合を有する。別の具体的な実施形態において、Fc変異体領域を有する結合メンバーは、Fc受容体FcγRIIIAへの向上した結合を有する。さらなる具体的な実施形態において、Fc変異体領域を有する結合メンバ

40

50

一は、Fc受容体FcγRIIBへの向上した結合を有する。さらに別の具体的な実施形態において、Fc変異体領域を有する結合メンバーは、Fc受容体FcRnへの向上した結合を有する。さらに別の具体的な実施形態において、Fc変異体領域を有する結合メンバーは、同等の分子に対して向上したC1qへの結合を有する。

【0120】

一実施形態において、本発明の抗IL-4Rα抗体は、変異体Fcドメインを含み、前記変異体Fcドメインは、同等の非変異体Fcドメインに対して向上したFcガンマ受容体IIBへの結合親和性を有する。さらなる実施形態において、本発明の抗IL-4Rα抗体は、変異体Fcドメインを含み、前記変異体Fcドメインは、同等の非変異体Fcドメインよりも少なくとも2倍、または少なくとも3倍、または少なくとも5倍、または少なくとも7倍、または少なくとも10倍、または少なくとも20倍、または少なくとも30倍、または少なくとも40倍、または少なくとも50倍、または少なくとも60倍、または少なくとも70倍、または少なくとも80倍、または少なくとも90倍、または少なくとも100倍、または少なくとも200倍大きいFcガンマ受容体IIBについての親和性を有する。

【0121】

一実施形態において、本発明は、Fc変異体領域を有する抗体またはそれらを含む配合物であって、Fc領域が、Kabattに記載のEUインデックスによりナンバリングされた228、234、235、236、237、238、239、240、241、243、244、245、247、251、252、254、255、256、262、263、264、265、266、267、268、269、279、280、284、292、296、297、298、299、305、313、316、325、326、327、328、329、330、331、332、333、334、339、341、343、370、373、378、392、416、419、421、440および443からなる群から選択される1つ以上の位置における非天然アミノ酸残基を含む配合物を提供する。場合により、Fc領域は、当業者に公知の追加および／または代替位置における非天然アミノ酸残基を含み得る（例えば、米国特許第5,624,821号明細書；同第6,277,375号明細書；同第6,737,056号明細書；PCT特許公開の国際公開第01/58957号パンフレット；国際公開第02/06919号パンフレット；国際公開第04/016750号パンフレット；国際公開第04/029207号パンフレット；国際公開第04/035752号パンフレット；国際公開第04/074455号パンフレット；国際公開第04/099249号パンフレット；国際公開第04/063351号パンフレット；国際公開第05/070963号パンフレット；国際公開第05/040217号パンフレット、国際公開第05/092925号パンフレットおよび国際公開第06/020114号パンフレット参照）。

【0122】

「非天然アミノ酸残基」は、天然存在タンパク質中の記載位置において存在しないアミノ酸残基を意味する。典型的には、これは、そのまたは天然／天然存在アミノ酸残基が、他の20種の天然存在（一般）アミノ酸または非古典アミノ酸または化学アミノ酸類似体の1つを含み得る1つ以上の他の残基に置換されたことを意味する。非古典アミノ酸としては、限定されるものではないが、一般アミノ酸のD異性体、α-アミノイソ酪酸、4-アミノ酪酸、Abu、2-アミノ酪酸、γ-Abu、ε-Ahx、6-アミノヘキサ酸、Aib、2-アミノイソ酪酸、3-アミノプロピオン酸、オルニチン、ノルロイシン、ノルバリン、ヒドロキシプロリン、サルコシン、シトルリン、システイン酸、t-ブチルグリシン、t-ブチルアラニン、フェニルグリシン、シクロヘキシルアラニン、β-アラニン、フルオロ-アミノ酸、デザイナーアミノ酸、例えば、β-メチルアミノ酸、Cα-メチルアミノ酸、Nα-メチルアミノ酸、およびアミノ酸類似体が一般に挙げられる。

【0123】

具体的な実施形態において、本発明は、変異体Fc領域を有する抗体または変異体Fc領域を有するそのような結合メンバーを含む配合物であって、Fc領域が、Kabattに

記載の E U インデックスによりナンバリングされた 2 3 4 D、2 3 4 E、2 3 4 N、2 3 4 Q、2 3 4 T、2 3 4 H、2 3 4 Y、2 3 4 1、2 3 4 V、2 3 4 F、2 3 5 A、2 3 5 D、2 3 5 R、2 3 5 W、2 3 5 P、2 3 5 S、2 3 5 N、2 3 5 Q、2 3 5 T、2 3 5 H、2 3 5 Y、2 3 5 1、2 3 5 V、2 3 5 F、2 3 6 E、2 3 9 D、2 3 9 E、2 3 9 N、2 3 9 Q、2 3 9 F、2 3 9 T、2 3 9 H、2 3 9 Y、2 4 0 1、2 4 0 A、2 4 0 T、2 4 0 M、2 4 1 W、2 4 1 L、2 4 1 Y、2 4 1 E、2 4 1 R、2 4 3 W、2 4 3 L、2 4 3 Y、2 4 3 R、2 4 3 Q、2 4 4 H、2 4 5 A、2 4 7 L、2 4 7 V、2 4 7 G、2 5 1 F、2 5 2 Y、2 5 4 T、2 5 5 L、2 5 6 E、2 5 6 M、2 6 2 1、2 6 2 A、2 6 2 T、2 6 2 E、2 6 3 1、2 6 3 A、2 6 3 T、2 6 3 M、2 6 4 L、2 6 4 1、2 6 4 W、2 6 4 T、2 6 4 R、2 6 4 F、2 6 4 M、2 6 4 Y、2 6 4 E、2 6 5 G、2 6 5 N、2 6 5 Q、2 6 5 Y、2 6 5 F、2 6 5 V、2 6 5 1、2 6 5 L、2 6 5 H、2 6 5 T、2 6 6 1、2 6 6 A、2 6 6 T、2 6 6 M、2 6 7 Q、2 6 7 L、2 6 8 E、2 6 9 H、2 6 9 Y、2 6 9 F、2 6 9 R、2 7 0 E、2 8 0 A、2 8 4 M、2 9 2 P、2 9 2 L、2 9 6 E、2 9 6 Q、2 9 6 D、2 9 6 N、2 9 6 S、2 9 6 T、2 9 6 L、2 9 6 1、2 9 6 H、2 9 6 G、2 9 7 S、2 9 7 D、2 9 7 E、2 9 8 H、2 9 8 1、2 9 8 T、2 9 8 F、2 9 9 1、2 9 9 L、2 9 9 A、2 9 9 S、2 9 9 V、2 9 9 H、2 9 9 F、2 9 9 E、3 0 5 1、3 1 3 F、3 1 6 D、3 2 5 Q、3 2 5 L、3 2 5 1、3 2 5 D、3 2 5 E、3 2 5 A、3 2 5 T、3 2 5 V、3 2 5 H、3 2 7 G、3 2 7 W、3 2 7 N、3 2 7 L、3 2 8 S、3 2 8 M、3 2 8 D、3 2 8 E、3 2 8 N、3 2 8 Q、3 2 8 F、3 2 8 1、3 2 8 V、3 2 8 T、3 2 8 H、3 2 8 A、3 2 9 F、3 2 9 H、3 2 9 Q、3 3 0 K、3 3 0 G、3 3 0 T、3 3 0 C、3 3 0 L、3 3 0 Y、3 3 0 V、3 3 0 1、3 3 0 F、3 3 0 R、3 3 0 H、3 3 1 G、3 3 1 A、3 3 1 L、3 3 1 M、3 3 1 F、3 3 1 W、3 3 1 K、3 3 1 Q、3 3 1 E、3 3 1 S、3 3 1 V、3 3 1 I、3 3 1 C、3 3 1 Y、3 3 1 H、3 3 1 R、3 3 1 N、3 3 1 D、3 3 1 T、3 3 2 D、3 3 2 S、3 3 2 W、3 3 2 F、3 3 2 E、3 3 2 N、3 3 2 Q、3 3 2 T、3 3 2 H、3 3 2 Y、3 3 2 A、3 3 9 T、3 7 0 E、3 7 0 N、3 7 8 D、3 9 2 T、3 9 6 L、4 1 6 G、4 1 9 H、4 2 1 K、4 4 0 Y および 4 3 4 W からなる群から選択される少なくとも 1 つの非天然アミノ酸残基を含む配合物を提供する。場合により、F c 領域は、当業者に公知の追加および／または代替非天然アミノ酸残基を含み得る（例えば、米国特許第 5, 6 2 4, 8 2 1 号明細書；同第 6, 2 7 7, 3 7 5 号明細書；同第 6, 7 3 7, 0 5 6 号明細書；P C T 特許公開の国際公開第 0 1 / 5 8 9 5 7 号パンフレット；国際公開第 0 2 / 0 6 9 1 9 号パンフレット；国際公開第 0 4 / 0 1 6 7 5 0 号パンフレット；国際公開第 0 4 / 0 2 9 2 0 7 号パンフレット；国際公開第 0 4 / 0 3 5 7 5 2 号パンフレットおよび国際公開第 0 5 / 0 4 0 2 1 7 号パンフレット参照）。

【0124】

本明細書において使用される F c 領域は、第 1 の定常領域免疫グロブリンドメインを除く抗体の定常領域を含むポリペプチドを含むことが理解される。したがって、F c は、I g A、I g D、および I g G の最後の 2 つの定常領域免疫グロブリンドメイン、ならびに I g E および I g M の最後の 3 つの定常領域免疫グロブリンドメイン、ならびにそれらのドメインへのフレキシブルヒンジ N 末端を指す。I g A および I g M について、F c は、J 鎖を含み得る。I g G について、F c は、免疫グロブリンドメイン C ガンマ 2 および C ガンマ 3 (C γ 2 および C γ 3) ならびに C ガンマ 1 (C γ 1) と C ガンマ 2 (C γ 2) との間のヒンジを含む。F c 領域の境界は変動し得るが、ヒト I g G 重鎖 F c 領域は、通常、残基 C 2 2 6 または P 2 3 0 からそのカルボキシル末端を含むように定義され、そのナンバリングは、Kabat et al. (1991, NIH Publication 91-3242, National Technical Information Service, Springfield, Va.) における E U インデックスによる。「Kabat に記載の E U インデックス」は、Kabat et al. (前掲) に記載のヒト I g G 1 E U 抗体の残基ナンバリングを指す。F c は、単独のこの領域、または抗体、抗体断片、もしくは F c 融合タンパク質に関するこの領域を指し得る。変異体 F c

タンパク質は、抗体、F c 融合物、またはF c 領域を含む任意のタンパク質もしくはタンパク質ドメイン、例として、限定されるものではないが、F c の非天然存在変異体である変異体F c 領域を含むタンパク質であり得る。

【0125】

本発明は、同等の分子（例えば、野生型F c 領域を有することを除き同一のアミノ酸配列を有するタンパク質）に対して変化したF c リガンド（例えば、F c 受容体、C1q）についての結合特性を有する変異体F c 領域を有する抗体を包含する。結合特性の例としては、限定されるものではないが、結合特異性、平衡解離定数（ K_D ）、解離および会合速度（それぞれ k_{off} および k_{on} ）、結合親和性および／またはアビディティが挙げられる。低い K_D を有する結合分子（例えば、変異体F c タンパク質、例えば、抗体）が、高い K_D を有する結合分子よりも好ましいことがあることが一般に理解される。しかしながら、一部の例において、 k_{on} または k_{off} の値が K_D の値よりも関連性を示し得る。当業者は、その運動パラメータが所与の抗体用途に最も重要かを決定することができる。

10

【0126】

F c ドメインのそのリガンドについての親和性および結合特性は、F c -F c γ R相互作用、すなわち、F c γ RへのF c 領域の特異的結合を決定するための当技術分野において公知の種々のインビトロアッセイ法（生化学または免疫学ベースアッセイ）、例として、限定されるものではないが、平衡法（例えば、酵素結合免疫吸着アッセイ（ELISA）、またはラジオイムノアッセイ（RIA））、またはキネティクス（例えば、BIACORE（登録商標）分析）、ならびに他の方法、例えば、間接結合アッセイ、競合阻害アッセイ、蛍光共鳴エネルギー移動（FRET）、ゲル電気泳動およびクロマトグラフィー（例えば、ゲル濾過）などにより決定することができる。これらのおよび他の方法は、試験される構成要素の1つ以上の標識を利用し、および／または種々の検出法、例として、限定されるものではないが、発色物質、蛍光物質、発光物質または同位体標識を用い得る。結合親和性およびキネティクスの詳細な説明は、抗体-免疫原相互作用にフォーカスするPaul, W. E., ed., *Fundamental Immunology*, 4th Ed., Lippincott-Raven, Philadelphia (1999)に見出すことができる。F c 領域を含むタンパク質の血清半減期は、F c RnについてのF c 領域の結合親和性の増加により増加させることができる。一実施形態において、F c 変異体タンパク質は、同等の分子に対して向上した血清半減期を有する。

20

30

【0127】

コンジュゲーションおよび半減期

本明細書において使用される、用語「抗体半減期」は、抗体分子のそれらの投与後の平均生存時間の尺度である抗体の薬物動態特性を意味する。抗体半減期は、例えば、血清もしくは血漿中（すなわち、循環半減期）、または他の組織中で計測して既知の免疫グロブリン量の50パーセントを患者の身体またはその規定のコンパートメントから排除するために要求される時間として表現することができる。半減期は、ある免疫グロブリンもしくは免疫グロブリンのクラスから別のものに変動し得る。一般に、抗体半減期の増加は、投与された抗体の循環における平均滞留時間（MRT）の増加をもたらす。

40

【0128】

ある実施形態において、本発明の抗IL-4R α 抗体または組成物および方法の半減期は、少なくとも約4から7日間である。ある実施形態において、本発明の組成物および方法の抗IL-4R α 抗体の平均半減期は、少なくとも約2から5日間、3から6日間、4から7日間、5から8日間、6から9日間、7から10日間、8から11日間、8から12、9から13、10から14、11から15、12から16、13から17、14から18、15から19、または16から20日間である。他の実施形態において、本発明の組成物および方法の抗IL-4R α 抗体の平均半減期は、少なくとも約17から21日間、18から22日間、19から23日間、20から24日間、21から25日間、22から26日間、23から27日間、24から28日間、25から29日間、または26から

50

30日間である。いっそうさらなる実施形態において、本発明の組成物および方法の抗 I L-4 R α 抗体の半減期は、最大約 50 日間であり得る。ある実施形態において、本発明の組成物および方法の抗体の半減期は、当技術分野において公知の方法により延長させることができる。このような延長は、次に抗体組成物の投与の量および／または頻度を低減させ得る。改善されたインビボ半減期を有する抗体およびそれらを調製する方法は、米国特許第 6, 277, 375 号明細書、米国特許第 7, 083, 784 号明細書；ならびに国際公開第 98/23289 号パンフレットおよび国際公開第 97/3461 号パンフレットに開示されている。

【0129】

インビボ抗 I L-4 R α 抗体の血清循環は、不活性ポリマー分子、例えば、高分子量ポリエチレングリコール (PEG) を抗体に、多官能性リンカーを用いてまたは用いずに、抗体の N または C 末端への PEG の部位特異的コンジュゲーションを介して、またはリジル残基上に存在するイプシロンアミノ基を介して付着させることにより延長させることもできる。生物学的活性の最小の損失をもたらす直鎖または分枝鎖ポリマー誘導体化が使用される。コンジュゲーションの程度は、SDS-PAGE および質量分析により厳密にモニタリングして抗体への PEG 分子の適切なコンジュゲーションを確保することができる。未反応 PEG は、抗体-PEG コンジュゲートから、サイズ排除またはイオン交換クロマトグラフィーにより分離することができる。PEG 誘導体化抗体は、結合活性について、およびインビボ効力について、当業者に公知の方法を使用して、例えば、本明細書に記載のイムノアッセイにより試験することができる。

【0130】

さらに、本発明の組成物および方法の抗体は、アルブミンにコンジュゲートして抗体をインビボでより安定にし、またはより長いインビボ半減期を持たせることができる。この技術は、当技術分野において周知であり、例えば、全て参照により本明細書に組み込まれる国際公開第 93/15199 号パンフレット、国際公開第 93/15200 号パンフレット、および国際公開第 01/77137 号パンフレット；ならびに欧州特許第 413, 622 号明細書参照。

【0131】

ある実施形態において、本明細書に開示の、および本発明の組成物の抗体の半減期は、少なくとも約 4 から 7 日間である。ある実施形態において、本明細書に開示の、および本発明の組成物の抗体の平均半減期は、少なくとも約 2 から 5 日間、3 から 6 日間、4 から 7 日間、5 から 8 日間、6 から 9 日間、7 から 10 日間、8 から 11 日間、8 から 12、9 から 13、10 から 14、11 から 15、12 から 16、13 から 17、14 から 18、15 から 19、または 16 から 20 日間である。他の実施形態において、本明細書に開示の、および本発明の組成物の抗体の平均半減期は、少なくとも約 17 から 21 日間、18 から 22 日間、19 から 23 日間、20 から 24 日間、21 から 25 日間、22 から 26 日間、23 から 27 日間、24 から 28 日間、25 から 29 日間、または 26 から 30 日間である。いっそうさらなる実施形態において、本明細書に開示の、および本発明の組成物の抗体の半減期は、最大約 50 日間であり得る。ある実施形態において、本発明の抗体および組成物の半減期は、当技術分野において公知の方法により延長させることができる。このような延長は、次に抗体組成物の投与の量および／または頻度を低減させ得る。改善されたインビボ半減期を有する抗体およびそれらを調製する方法は、米国特許第 6, 277, 375 号明細書；米国特許第 7, 083, 784 号明細書；ならびに国際公開第 1998/23289 号パンフレットおよび国際公開第 1997/34361 号パンフレットに開示されている。

【0132】

突然変異および改変

別の実施形態において、本発明は、変異体 Fc 領域を有する抗体、またはそれらを含む配合物であって、Fc 領域が、Kabata に記載の EU インデックスによりナンバリングされた 239、330 および 332 からなる群から選択される 1 つ以上の位置における少

なくとも1つの非天然改変を含む配合物を提供する。具体的な実施形態において、本発明は、Fc変異体であって、Fc領域が、Kabatに記載のEUインデックスによりナンバリングされた239D、330Lおよび332Eからなる群から選択される少なくとも1つの非天然アミノ酸を含むFc変異体を提供する。場合により、Fc領域は、Kabatに記載のEUインデックスによりナンバリングされた252、254、および256からなる群から選択される1つ以上の位置における追加の非天然アミノ酸をさらに含み得る。具体的な実施形態において、本発明は、Fc変異体であって、Fc領域が、Kabatに記載のEUインデックスによりナンバリングされた239D、330Lおよび332Eからなる群から選択される少なくとも1つの非天然アミノ酸ならびにKabatに記載のEUインデックスによりナンバリングされた252Y、254Tおよび256Eからなる群から選択される1つ以上の位置における少なくとも1つの非天然アミノ酸を含むFc変異体を提供する。

10

【0133】

別の実施形態において、本発明は、変異体Fc領域を有する抗体、またはそれらを含む配合物であって、Fc領域が、Kabatに記載のEUインデックスによりナンバリングされた234、235および331からなる群から選択される1つ以上の位置における少なくとも1つの非天然アミノ酸を含む抗体、またはそれらを含む配合物を提供する。具体的な実施形態において、本発明は、Fc変異体であって、Fc領域が、Kabatに記載のEUインデックスによりナンバリングされた234F、235F、235Y、および331Sからなる群から選択される少なくとも1つの非天然アミノ酸を含むFc変異体を提供する。さらなる具体的な実施形態において、本発明のFc変異体は、Kabatに記載のEUインデックスによりナンバリングされた234F、235F、および331Sアミノ酸残基を含む。別の実施形態において、本発明のFc変異体は、Kabatに記載のEUインデックスによりナンバリングされた234F、235Y、および331Sアミノ酸残基を含む。場合により、Fc領域は、Kabatに記載のEUインデックスによりナンバリングされた252、254、および256からなる群から選択される1つ以上の位置における追加の非天然アミノ酸残基をさらに含み得る。具体的な実施形態において、本発明は、Fc変異体であって、Fc領域が、Kabatに記載のEUインデックスによりナンバリングされた234F、235F、235Y、および331Sからなる群から選択される少なくとも1つの非天然アミノ酸；ならびにKabatに記載のEUインデックスによりナンバリングされた252Y、254Tおよび256Eからなる群から選択される1つ以上の位置における少なくとも1つの非天然アミノ酸を含むFc変異体を提供する。

20

30

【0134】

特定の実施形態において、本発明は、変異体Fc領域を有する本発明の抗体であって、変異体が、Kabatに記載のEUインデックスによりナンバリングされた252位におけるチロシン(Y)残基、254位におけるトレオニン(T)残基および256位におけるグルタミン酸(E)残基を含む抗体を提供する。

【0135】

Kabatに記載のEUインデックスによりナンバリングされたM252Y、S254TおよびT256E突然変異(以下、YTE突然変異と称する)は、特定のIgG1抗体分子の血清半減期を増加させることが報告されている(Dall'Acqua et al. J. Biol. Chem. 281(33):23514-23524, 2006)。

40

【0136】

さらなる実施形態において、本発明は、変異体Fc領域を有する本発明の抗体であって、変異体が、Kabatに記載のEUインデックスによりナンバリングされた252位におけるチロシン(Y)残基、254位におけるトレオニン(T)残基、256位におけるグルタミン酸(E)残基および241位におけるプロリン(P)残基を含む抗体を提供する。

【0137】

50

K a b a t に記載の E U インデックスによりナンバリングされたセリン 2 2 8 プロリン突然変異 (S 2 2 8 P) (以下、P 突然変異と称する) は、特定の I g G 4 分子の安定性を増加させることが報告されている (L u e t a l . , J P h a r m a c e u t i c a l S c i e n c e s 9 7 (2) : 9 6 0 - 9 6 9 , 2 0 0 8) 。注釈: L u e t a l . において、それは 2 4 1 位と称される。それというのも、その中で、K a b a t に記載の「E U インデックス」ではなく K a b a t ナンバリング系が使用されるためである。

【0138】

この P 突然変異は、L 2 3 5 E と組み合わせて A D C C をさらにノックアウトすることができる。この突然変異の組合せは、以下、二重突然変異 (D M) と称する。

10

【0139】

特定の実施形態において、本発明は、変異体 F c 領域を有する本発明の抗体であって、変異体が、K a b a t に記載の E U インデックスによりナンバリングされた 2 3 4 位におけるフェニルアラニン (F) 残基、2 3 5 位におけるフェニルアラニン (F) 残基またはグルタミン酸 (E) 残基および 3 3 1 位におけるセリン (S) 残基を含む抗体を提供する。このような突然変異組合せは、以下、三重突然変異体 (T M) と称する。

【0140】

さらなる実施形態によれば、本発明は、F c 領域中の Y T E 突然変異を有する I g G 1 フォーマットの本発明の抗体を提供する。

【0141】

さらなる実施形態によれば、本発明は、F c 領域中の T M 突然変異を有する I g G 1 フォーマットの本発明の抗体を提供する。

20

【0142】

さらなる実施形態によれば、本発明は、F c 領域中の Y T E 突然変異および T M 突然変異を有する I g G 1 フォーマットの本発明の抗体を提供する。

【0143】

実施形態によれば、本発明は、F c 領域中の Y T E および P 突然変異を有する I g G 4 フォーマットの本発明の抗体を提供する。

【0144】

実施形態によれば、本発明は、F c 領域中の Y T E および D M 突然変異を有する I g G 4 フォーマットの本発明の抗体を提供する。

30

【0145】

本発明の特定の実施形態によれば、I g G 1 Y T E、I g G 1 T M、I g G 1 T M + Y T E、I g G 4 P、I g G 4 D M、I g G 4 Y T E、I g G 4 P + Y T E および I g G 4 D M + Y T E から選択されるフォーマットの本発明の抗体が提供される。

【0146】

使用される命名法に関して、D M + Y T E は、定常ドメイン F c 領域は、二重突然変異 (S 2 2 8 P および L 2 3 5 E) および Y T E 突然変異 (M 2 5 2 Y、S 2 5 4 T および T 2 5 6 E) の両方を有することを意味することが認識される。

40

【0147】

非天然存在 F c 領域を生成する方法は、当技術分野において公知である。例えば、アミノ酸置換および／または欠失を、突然変異導入法、例として、限定されるものではないが、部位特異的突然変異導入 (K u n k e l , P r o c . N a t l . A c a d . S c i . U S A 8 2 : 4 8 8 - 4 9 2 , 1 9 8 5)、P C R 突然変異導入 (H i g u c h i , “ P C R P r o t o c o l s : A G u i d e t o M e t h o d s a n d A p p l i c a t i o n s ” , A c a d e m i c P r e s s , S a n D i e g o , p p . 1 7 7 - 1 8 3 , 1 9 9 0)、およびカセット突然変異導入 (W e l l s e t a l . , G e n e 3 4 : 3 1 5 - 3 2 3 , 1 9 8 5) により生成することができる。好ましくは、部位特異的突然変異導入が、オーバーラップ伸長 P C R 法 (H i g u c h i , “ P C R

50

Technology: Principles and Applications for DNA Amplification”, Stockton Press, New York, pp. 61-70, 1989) により実施される。オーバーラップ伸長PCR (Higuchi、同箇所) の技術を使用して任意の所望の突然変異を標的配列 (出発DNA) 中に導入することもできる。例えば、オーバーラップ伸長法におけるPCRの第1ラウンドは、外側プライマー (プライマー1) および内部突然変異導入プライマー (プライマー3) を用い、別に第2の外側プライマー (プライマー4) および内部プライマー (プライマー2) を用いて標的配列を増幅し、2つのPCRセグメント (セグメントAおよびB) を得ることを含む。内部変異誘発プライマー (プライマー3) は、所望の突然変異を規定する標的配列に対するミスマッチを含有するように設計される。PCRの第2ラウンドにおいて、PCRの第1ラウンドの産物 (セグメントAおよびB) は、2つの外側プライマー (プライマー1および4) を使用して、PCRにより増幅される。得られた完全長PCRセグメント (セグメントC) は、制限酵素により消化され、得られた制限断片は、適切なベクター中にクローニングされる。突然変異導入の第1ステップとして、出発DNA (例えば、Fc融合タンパク質、抗体、または単にFc領域をコードする) は、操作可能に、突然変異導入ベクター中にクローニングされる。プライマーは、所望のアミノ酸置換を反映するように設計される。変異体Fc領域の生成に有用な他の方法は、当技術分野において公知である (例えば、米国特許第5, 624, 821号明細書; 同第5, 885, 573号明細書; 同第5, 677, 425号明細書; 同第6, 165, 745号明細書; 同第6, 277, 375号明細書; 同第5, 869, 046号明細書; 同第6, 121, 022号明細書; 同第5, 624, 821号明細書; 同第5, 648, 260号明細書; 同第6, 528, 624号明細書; 同第6, 194, 551号明細書; 同第6, 737, 056号明細書; 同第6, 821, 505号明細書; 同第6, 277, 375号明細書; 米国特許出願公開第2004/0002587号明細書およびPCT公開の国際公開第94/29351号パンフレット; 国際公開第99/58572号パンフレット; 国際公開第00/42072号パンフレット; 国際公開第02/060919号パンフレット; 国際公開第04/029207号パンフレット; 国際公開第04/099249号パンフレット; 国際公開第04/063351号パンフレット; 国際公開第06/23403号パンフレット参照)。

【0148】

本発明の一部の実施形態において、本明細書に提供される抗体のグリコシル化パターンは、ADCCおよびCDCエフェクター機能を向上させるように改変される (Shields R L et al., 参照 (JBC. 277: 26733-26740, 2002; Shinkawa T et al., JBC. 278: 3466-3473, 2003; およびOkazaki A et al., J. Mol. Biol., 336: 1239, 2004))。一部の実施形態において、Fc変異体タンパク質は、1つ以上の遺伝子操作されたグリコフォーム、すなわち、Fc領域を含む分子に共有結合している炭水化物組成物を含む。遺伝子操作されたグリコフォームは、種々の目的、例として、限定されるものではないが、エフェクター機能の向上または低減に有用であり得る。遺伝子操作されたグリコフォームは、当業者に公知の任意の方法により、例えば、遺伝子操作された、もしくは変異体発現株を使用することにより、1つ以上の酵素、例えば、DI-N-アセチルグルコサミニルトランスフェラーゼIII (GnTIII) との同時発現により、種々の生物もしくは種々の生物からの細胞系中のFc領域を含む分子を発現させることにより、またはFc領域を含む分子が発現された後に炭水化物を改変することにより生成することができる。遺伝子操作されたグリコフォームを生成する方法は、当技術分野において公知であり、それとしては、限定されるものではないが、Umaña et al, Nat. Biotechnol 17: 176-180, 1999; Davies et al., Biotechnol Bioeng 74: 288-294, 2007; Shields et al, J Biol Chem 277: 26733-26740, 2002; Shinkawa et al., J Biol Chem 278: 346

6-3473, 2003) 米国特許第6,602,684号明細書；米国特許出願第10/277,370号明細書；米国特許出願第10/113,929号明細書；PCT国際公開第00/61739A1号パンフレット；PCT国際公開第01/292246A1号パンフレット；PCT国際公開第02/311140A1号パンフレット；PCT国際公開第02/30954A1号パンフレット；Potillegent（商標）技術（Biowa, Inc. Princeton, N. J.）；GlycoMAb（商標）グリコシル化遺伝子操作技術（Glycart Biotechnology AG, Zurich, Switzerland）に記載のものが挙げられる。例えば、国際公開第00/061739号パンフレット；欧州特許第01229125号明細書；米国特許出願公開第20030115614号明細書；Okazaki et al., JMB. 336: 1239-49, 2004 参照。

10

【0149】

標識

本発明の抗体配合物の抗体は、検出可能または機能的標識により標識することができる。標識は、シグナルを産生し、またはシグナルを産生するように誘導することができる任意の分子であり得、それとしては、限定されるものではないが、蛍光剤、放射性標識、酵素、化学発光剤または光増感剤が挙げられる。したがって、蛍光または発光、放射能、酵素活性または吸光度を検出することにより結合を検出および／または計測することができる。

【0150】

好適な標識としては、例として、限定されるものではないが、酵素、例えば、アルカリホスファターゼ、グルコース-6-リン酸デヒドロゲナーゼ（「G6PDH」）およびセイヨウワサビペルオキシダーゼ；色素；蛍光剤、例えば、フルオレセイン、ローダミン化合物、フィコエリスリン、フィコシアニン、アロフィコシアニン、o-フタルデヒド（o-phthaldehyde）、フルオレスカミン、フルオロフォア、例えば、ランタニドクリプテートおよびキレート（Perkin ElmerおよびCis Biointernational）、化学発光剤、例えば、イソルミノール、増感剤、補酵素、酵素基質、放射性標識、例として、限定されるものではないが、 ^{125}I 、 ^{131}I 、 ^{35}S 、 ^{32}P 、 ^{14}C 、 ^3H 、 ^{57}Co 、 ^{99}Tc および ^{75}Se および本明細書に記載の他の放射性標識；粒子、例えば、ラテックスまたは炭素粒子；金属ゾル；クリスタリット；リボソーム；細胞などが挙げられ、それらは色素、触媒または他の検出可能な基によりさらに標識することができる。好適な酵素および補酵素は、それぞれが参照により全体として本明細書に組み込まれる米国特許第4275149号明細書および米国特許第4318980号明細書に開示されている。好適な蛍光剤および化学発光剤も、参照により全体として本明細書に組み込まれる米国特許第4275149号明細書に開示されている。標識としては、特異的なコグネイト検出可能部分、例えば、標識アビジンまたはストレプトアビジンへの結合を介して検出することができる化学的部分、例えばビオチンがさらに挙げられる。検出可能な標識は、当技術分野において公知の慣用化学反応を使用して本発明の抗体に付着させることができる。

20

30

【0151】

標識が、外部手段、例えば視覚的試験、電磁放射線、熱、および化学試薬により検出可能なシグナルを産生し得る多数の方法が存在する。本発明の抗体に結合する別の結合メンバー、または担体に標識を結合させることもできる。

40

【0152】

標識は、シグナルを直接産生し得、したがってシグナルの産生に追加の構成要素は要求されない。多数の有機分子、例えば蛍光剤は紫外光および可視光を吸収し得、光吸収はこれらの分子にエネルギーを移動させ、それらを励起エネルギー状態に上昇させる。次いで、この吸収エネルギーは第2の波長における発光により消散する。この第2の波長での発光も、標識アクセプター分子にエネルギーを移動させ得、得られるエネルギーは、発光、例えば蛍光共鳴エネルギー移動（FRET）によりアクセプター分子から消散する。シグ

50

ナルを直接産生する他の標識には、放射性同位体および色素が含まれる。

【0153】

あるいは、標識は、シグナルを産生するために他の構成要素を必要とし得、そしてシグナル産生系は計測可能なシグナルを産生するために要求される全ての構成要素を含み、その場合それには、基質、補酵素、エンハンサー、追加の酵素、酵素産物と反応する物質、触媒、アクチベーター、補因子、インヒビター、スカベンジャー、金属イオン、およびシグナル生成物質の結合に要求される特異的結合物質が含まれ得る。好適なシグナル産生系についての詳細な考察は、参照により全体として本明細書に組み込まれる米国特許第5,185,243号明細書に見出すことができる。

【0154】

結合メンバー、抗体、またはその機能的断片の1つは、検出可能および／または定量可能なシグナルを得るためにイムノコンジュゲートの形態で存在し得る。イムノコンジュゲートは、例えば、酵素、例えば、ペルオキシダーゼ、アルカリホスファターゼ、アルファ-D-ガラクトシダーゼ、グルコースオキシダーゼ、グルコースアミラーゼ、カルボニックアンヒドラーゼ、アセチルコリンエステラーゼ、リゾチーム、マレートデヒドロゲナーゼもしくはグルコース6-リン酸デヒドロゲナーゼと、または分子、例えば、ビオチン、ジゴキシゲニンもしくは5-ブロモデオキシウリジンによりコンジュゲートすることができる。同様に、蛍光標識は、本発明によるイムノコンジュゲートに、またはそれらの機能的断片にコンジュゲートすることができ、それとしては、特に、フルオレセインおよびその誘導体、蛍光色素、ローダミンおよびその誘導体、GF P (GF Pは「緑色蛍光タンパク質」を表す)、ダンシル、ウンベリフェロン、ランタニドキレートおよびクリプテート、例えばユーロピウムなどが挙げられる。

【0155】

イムノコンジュゲートまたはそれらの機能的断片は、当業者に公知の方法により調製することができる。これらは、直接またはスパーサー基もしくは連結基、例えば、ポリアルデヒド、例えば、グルタルアルデヒド、エチレンジアミン四酢酸(EDTA)、ジエチレントリアミン五酢酸(DPTA)の仲介により、またはカップリング剤、例えば治療コンジュゲートについて上記のものの存在下で、酵素または蛍光標識にカップリングすることができる。フルオレセイントイプの標識を含有するコンジュゲートは、イソチオシアネートと反応させることにより調製することができる。同様に、他のイムノコンジュゲートとしては、化学発光標識、例えば、ルミノールおよびジオキセタン、生物発光標識、例えば、ルシフェラーゼおよびルシフェリン、またはそうでなければ放射性標識、例えば、ヨウ素123、ヨウ素125、ヨウ素126、ヨウ素131、ヨウ素133、臭素77、テクネチウム99m、インジウム111、インジウム113m、ガリウム67、ガリウム68、硫黄35、リン32、炭素14、トリチウム(水素3)、コバルト57、セレン75、ルテニウム95、ルテニウム97、ルテニウム103、ルテニウム105、水銀107、水銀203、レニウム99m、レニウム101、レニウム105、スカンジウム47、テルル121m、テルル122m、テルル125m、ツリウム165、ツリウム167、ツリウム168、フッ素8、イットリウム199を挙げることができる。直接または上記キレート剤、例えば、EDTA、DTPAを介して治療放射性同位体を抗体にカップリングする既存の当業者に公知の方法を、診断において使用することができる放射性元素に使用することができる。同様に、クロラミンT法(Hunter and Greenwood Nature 194:495, 1962)によるNa[¹²⁵I]による、もしくはそうでなければCrockford et al. (参照により全体として本明細書に組み込まれる米国特許第4424200号明細書)の技術によるテクネチウム99mによる標識化、またはHnatowich (参照により全体として本明細書に組み込まれる米国特許第4479930号明細書)により記載されるとおりDTPAを介する付着を挙げることができる。さらなるイムノコンジュゲートとしては、毒素部分、例えば、シェードモナス外毒素(PEまたはその細胞傷害性断片もしくは突然変異体)、ジフテリア毒素またはその細胞傷害性断片もしくは突然変異体、ボツリヌス毒素AからF、リシンまた

10

20

30

40

50

はその細胞傷害性断片、アブリンまたはその細胞傷害性断片、サボリンまたはその細胞傷害性断片、ヨウシュヤマゴボウ抗ウイルス毒素またはその細胞傷害性断片およびブリオン1 (bryodin 1) またはその細胞傷害性断片などの群から選択される毒素部分を挙げることができる。

【0156】

本発明は、IL-4R α への本明細書に提供される抗体の結合を引き起こし、または可能にすることを含む方法を提供する。上記のとおり、そのような結合はインビボで、例えば、抗体、もしくは抗体をコードする核酸の投与後に生じ得、またはそれはインビトロで、例えば、ELISA、ウエスタンブロッティング、免疫細胞化学、免疫沈降、親和性クロマトグラフィー、および生化学的もしくは細胞ベースアッセイ、例えば本明細書に記載のものにおいて生じ得る。本発明はまた、本発明による抗体を例えば、バイオセンサ系中で用いることにより抗原のレベルを直接計測することを提供する。

10

【0157】

IL-4R α への結合メンバーの結合の量を測定することができる。定量化は、診断目的である得る試験試料中の抗原の量に関連し得る。IL-4R α 結合についてのスクリーニングおよび／またはその定量化は、例えば本明細書のいずれかに言及されるような、IL-4R α に関連する疾患または障害についての患者のスクリーニングにおいて有用であり得る。とりわけ、一実施形態では、本発明の診断方法は、(i) 対象から組織または体液試料を得ること、(ii) 前記組織または体液試料を1つ以上の本発明の抗体に曝露すること；および(iii) 対照試料と比較して結合したIL-4R α を検出することを含み、対照と比較したIL-4R α 結合の量の増加が、異常なレベルのIL-4R α の発現または活性を示し得る。試験すべき組織または体液試料には、血液、血清、尿、生検材料、腫瘍、または異常なIL-4R α レベルを含有すると疑われる任意の組織が含まれる。異常なIL-4R α レベルまたは活性について陽性であると試験された対象はさらに、本明細書に以下に開示される治療方法によって恩恵を受け得る。

20

【0158】

当業者は、本明細書に開示される方法に照らして、その優先性および一般的知識に従って、抗原への結合メンバーの結合を測定する好適な様式を選択することができる。

【0159】

IL-4R α 抗体

30

本発明は、インターロイキン(IL)-4受容体アルファ(IL-4R α 、CD124とも称される)についての抗体、ならびに例えば、IL-4R α 、IL-4および／またはIL-13に関連する障害、例えば、喘息、COPDおよび炎症性皮膚障害、例えば、アトピー性皮膚炎の治療または予防におけるそれらの治療的使用に関する。例えば、参照により全体が組み込まれる米国特許第8,092,804号明細書参照。

【0160】

ヒトIL-4R α サブユニット(Swiss Protアクセッション番号P24394)は、高い親和性でヒトIL-4に結合する140kDaの1型膜タンパク質である(Andrews et al J. Biol. Chem. (2002) 277:46073-46078)。IL-4/IL-4R α 複合体は、共通のガンマ鎖(γ c、CD132)またはIL-13Rアルファ1(IL-13R α 1)サブユニットと、IL-4上のドメインを介してダイマー化し、それぞれ一般にI型およびII型受容体と称される2つの異なるシグナリング複合体を作出し得る。あるいは、IL-13はIL-13R α 1に結合してIL-13/IL-13R α 1複合体を形成し得、それがIL-4R α サブユニットをリクルートしてII型受容体複合体を形成する。したがって、IL-4R α は、IL-4およびIL-13の両方の生物学的活性を媒介する(Gessner et al, Immunobiology, 201:285, 2000により概説)。インビトロ試験は、IL-4およびIL-13が多数の細胞型、例えば、T細胞、B細胞、好酸球、マスト細胞、好塩基球、気道平滑筋細胞、呼吸上皮細胞、肺線維芽細胞、および内皮細胞においてエフェクター機能を活性化させることを示している(Steinke et al

40

50

, Resp Res, 2:66, 2001、および Willis-Karp, Immunol Rev, 202:175, 2004により概説)。

【0161】

IL-4R α は、種々の細胞型、例えば、末梢血T細胞、単球、気道上皮細胞、B細胞および肺線維芽細胞上で少数(100~5000分子/細胞)で発現される(Lowenthal et al, J Immunol, 140:456, 1988)。I型受容体は、造血細胞において優勢である一方、II型受容体は、造血細胞および非造血細胞上の両方で発現される。

【0162】

IL-4R α に対する抗体が記載されている。2つの例は、中和ネズミ抗IL-4R α モノクローナル抗体MAB230(クローン25463)および16146(クローン25463.11)であり、それぞれR&D Systems(Minneapolis, Minn.)およびSigma(St Louis, Mo.)により供給される。これらの抗体は、IgG2aサブタイプのものであり、精製組換えヒトIL-4R α (バキュロウイルス由来)により免疫化されたマウスから発達させたマウスハイブリドーマから開発された。2つのさらなる中和ネズミ抗IL-4R α 抗体M57およびX2/45-12が、それぞれBD Biosciences(Franklin Lakes, N. J.)およびeBioscience(San Diego, Calif.)により供給される。これらはIgG1抗体であり、組換え可溶性IL-4R α により免疫化されたマウスから発達させたマウスハイブリドーマによっても産生される。

【0163】

完全ヒト抗体は、ネズミまたはキメラ抗体よりも良好に臨床有用である可能性が高い。これは、マウス免疫グロブリンのFC部分に対して指向されるヒト抗マウス抗体(HAMA)が産生されることが多く、急速なクリアランスおよび予想されるアナフィラキシー反応をもたらすためである(Brochier et al., Int. J. Immunopharm., 17:41-48, 1995)。キメラ抗体(マウス可変領域およびヒト定常領域)は、ネズミmAbよりも免疫原性でないが、ヒト抗キメラ抗体(HACA)応答が報告されている(Bell and Kamm, Aliment. Pharmacol. Ther., 14:501-514, 2000)。

【0164】

国際公開第01/92340号パンフレット(ImmuneX)は、可溶性IL-4Rペプチドによるトランスジェニックマウスの免疫化およびIL-4Rに対する抗体を分泌するハイブリドーマ細胞系の作出を含む手順により生成されるIL-4受容体に対するヒトモノクローナル抗体を記載し、主要抗体12B5が、IgG1抗体および完全ヒトであるとして開示される。国際公開第05/047331号パンフレット(ImmuneX)は、VH領域のオリゴヌクレオチド突然変異導入を介して12B5に由来するさらなる抗体(H1L1と改名)を開示する。それぞれの突然変異VH鎖は、6つの区別されるVL鎖の1つとペア形成されて抗体分子の小レパートリーを作出した。

【0165】

国際公開第07/082,068号パンフレット(Aerovance)は、R121DおよびY124Dの置換を有する突然変異ヒトIL-4タンパク質を投与することを含む、喘息を治療する方法を開示する。この明細書は、医薬組成物中で投与されるそのようなIL4突然変異体が、野生型huIL-4および野生型huIL-13の受容体への結合をアンタゴナイズし得ることを教示する。

【0166】

国際公開第08/054,606号パンフレット(Regeneron)は、ヒト抗体を産生し得るトランスジェニックマウス中で産生されたヒトIL-4Rに対する特定の抗体を開示する。

【0167】

別の種、例えば、カニクイザルからのオルソログスタンパク質に対する交差反応性も示

10

20

30

40

50

すヒト I L - 4 R α に対する抗体の発見および開発において、利点および利益が存在する。このような抗体は、薬理学およびインビボ安全性に関するそのような抗体の特徴決定を容易にする。別の種に対する効力または親和性は、例えば、ヒト活性と 10 倍未満で異なり、そのような評価に適切であり得る。しかしながら、ヒト I L - 4 R α タンパク質は、チンパンジーを除き、他の種からのオルソログス I L - 4 R α タンパク質との相対的に小さい類似性を示す。したがって、臨床開発のための安全性および毒性学的評価に好適であると広く考えられる種に対する交差反応性を有する臨床使用に適切な高い親和性および効力の抗体の発見は、極めて困難である。

【0168】

適切に設計された選択技術およびアッセイを介して、本発明者らは、ヒトおよびカニクイザル I L - 4 R α の生物学的活性を阻害する I L - 4 R α についての安定な抗体組成物を開発した。

【0169】

米国特許第 8, 092, 804 号明細書に詳述されるとおり、初期リード同定プログラムから、カニクイザル I L - 4 R α へのいくつかの、しかし弱い結合、およびその機能的中和も示すヒト I L - 4 R α に対する単一抗体分子が選択された。標的化およびランダム突然変異導入の計画および規定プロセスならびにこの親抗体分子からの突然変異体のさらなる選択後、大幅に改善された特性を有するより大きいパネルの抗体分子が開発された。親抗体（抗体 1）の、および最適化抗体の相補性決定領域（CDR）を含む V H および V L 領域を、図 13、14、15、および 16 に示す。これらの抗体分子、V H、V L、および CDR は、本発明の態様を形成する。

【0170】

野生型 I L - 4 R α に加え、本発明の抗体は、一般のヒト変異体 175 V I L - 4 R α に結合することも見出された。

【0171】

高い効力で I L - 4 R α の生物学的効果を中和し、高い親和性で I L - 4 R α に結合し、I L - 4 および I L - 13 により誘導されるシグナリングを阻害する抗体が本明細書に記載される。特に、抗体は、高親和性複合体、例えば、I L - 4 : I L - 4 R α : γ c、I L - 4 : I L - 4 R α : I L - 13 R α 1、I L - 13 I L - 13 R α 1 : I L - 4 R α からのシグナリングを阻害する。このような作用は、I L - 4 および I L - 13 の両方のシグナリングを防止する。さらに、データは、抗体が I L - 4 R α 1 型および 2 型複合体の相互作用およびシグナリングを阻害することを示す。抗体のこれらのおよび他の特性および効果は、以下にさらに詳細に記載される。

【0172】

抗体は、I L - 4 R α 、I L - 4 または I L - 13 が発現される障害、例えば、本明細書その他箇所而言及される I L - 4 R α 、I L - 4、または I L - 13 関連障害の 1 つ以上、例えば、喘息、COPD、または炎症性皮膚障害、例えば、アトピー性皮膚炎の治療に有用である。

【0173】

本明細書その他箇所に記載のとおり、I L - 4 R α への抗体の結合は、表面プラズモン共鳴、例えば、BIAcore を使用して測定することができる。

【0174】

表面プラズモン共鳴データは、1 : 1 ラングミュア結合モデル（同時 k_a k_d ）にフィットさせ、親和性定数 KD を速度定数の比 k_d / k_a から計算することができる。本発明の抗体は、20 nM 未満であるヒト I L - 4 R α への結合についての一価親和性を有し得る。他の実施形態において、10 nM 未満、例えば、8 未満、5 nM 未満であるヒト I L - 4 R α への結合についての一価親和性。他の実施形態において、結合メンバーは、カニクイザル I L - 4 R α にも結合する。一実施形態において、本発明の抗体は、0.05 から 12 nM の範囲内のヒト I L - 4 R α への結合についての一価親和性を有する。一実施形態において、本発明の抗体は、0.1 から 5 nM の範囲内のヒト I L - 4 R α へ

の結合についての一価親和性を有する。一実施形態において、本発明の抗体は、0.1 から 2 nM の範囲内のヒト IL-4 R α への結合についての一価親和性を有する。

【0175】

一実施形態において、本発明の抗体は、ヒト IL-4 R α に免疫特異的に結合し得、本明細書に記載の、または当業者に公知の方法（例えば、BIAcore アッセイ、ELISA）（Biacore International AB, Uppsala, Sweden）を使用して評価して 5000 pM 未満、4000 pM 未満、3000 pM 未満、2500 pM 未満、2000 pM 未満、1500 pM 未満、1000 pM 未満、750 pM 未満、500 pM 未満、250 pM 未満、200 pM 未満、150 pM 未満、100 pM 未満、75 pM 未満の親和性（KD）を有し得る。

10

【0176】

一実施形態において、本発明の抗 IL-4 R α 抗体は、ヒト IL-4 R α に免疫特異的に結合し、結合し得、本明細書に記載の、または当業者に公知の方法（例えば、BIAcore アッセイ、ELISA）を使用して評価して 500 pM、100 pM、75 pM または 50 pM の親和性（KD）を有し得る。

【0177】

一部の実施形態において、本発明による抗体は、高い効力で IL-4 R α を中和し得る。中和は、IL-4 R α により媒介される生物学的活性の阻害を意味する。本発明の抗体は、IL-4 R α により媒介される 1 つ以上の活性を中和し得る。生物学的活性の阻害は、IL-4 R α がガンマ鎖（または IL-13 R α ）および関連可溶性リガンド、例えば、IL-4 または IL-13 のいずれかとのシグナリング複合体を形成することの防止により媒介される可能性が高い。

20

【0178】

IL-4 または IL-13 シグナリングの、受容体複合体を含有するその IL-4 R α を介する中和は、IL-4 または IL-13 刺激 T F-1 細胞増殖の阻害により計測することができる。

【0179】

本発明の抗体が結合するヒト IL-4 R α のエピトープは、突然変異導入およびドメインスワッピングの組合せにより局在させた。全ドメインスワップキメラは、エピトープをヒト IL-4 R α のドメイン 1（D1）（残基 M1～E119）に局在させた。ヒト IL-4 R α は、結晶構造中で IL-4 に近接する 5 つのループ領域を含有する（Hage et al., Cell 97:271-281, 1999）。ループスワップキメラは、ループ 3 中の主要構成要素（残基 L89～N98）およびループ 2 中の非主要構成要素（残基 V65～H72）への、本発明の抗体により結合されるヒト IL-4 R α エピトープのさらなる局在化を可能とした。ヒトループ 3 を有さないキメラは、抗体へのヒト IL-4 R α 結合を阻害し得ず、ループ 2 を有さないキメラは、ヒト IL-4 R α よりも 100 倍大きい IC₅₀ を生じさせた（表 5）。ドメインスワップデータと一致して、ループ 2 およびループ 3 の両方は、ドメイン 1（D1）中に局在する（Hage et al., Cell 97:271-281, 1999）。

30

【0180】

抗体エピトープは、ヒト IL-4 R α の 2 つのループ領域；V65～H72 および L89～N98 中の 18 アミノ酸の不連続エピトープに局在させた。エピトープは、ループ 2 のアミノ酸残基 L67 および L68 ならびにループ 3 の D92 および V93 にさらに局在させることができる（残基 67、68、92 および 93 の局在について配列番号 454 または 460 参照）。D92 残基は最も重要であり、それに V93 が続く。それというのも、試験抗体は、ループ 2 中の L67 および／または L68 残基を欠くキメラ IL-4 R α に依然として結合し得たためである。無論、本発明の抗体は、L67、L68、D92 および V93 の 1 つの他のヒト IL-4 R α タンパク質の残基にも結合する可能性が高い。

40

【0181】

本発明の一態様によれば、ヒトインターロイキン-4 受容体アルファ（hIL-4 R α

50

）に、配列番号４６０中の位置による６７、６８、９２および９３位におけるアミノ酸から選択される少なくとも１つのアミノ酸残基において結合し得る抗体を含む抗体配合物が提供される。本発明の一態様によれば、天然ヒトインターロイキン－４受容体アルファ（h I L－４ R α）の配列番号４６０中の位置によるアミノ酸残基６７、６８、９２および９３の少なくとも１つに結合し得る単離結合メンバー、例えば、抗体を含む抗体配合物が提供される。特定の実施形態において、単離結合メンバー、例えば、抗体は、配列番号４６０中の位置によるh I L－４ R αの９２位におけるアミノ酸に結合し得る。別の実施形態において、単離結合メンバー、例えば、抗体は、D ９２ならびにL ６７、L ６８およびV ９３から選択される少なくとも１つの他の残基に結合し得る。別の実施形態において、単離結合メンバー、例えば、抗体は、D ９２およびV ９３に結合し得る。別の実施形態において、単離結合メンバー、例えば、抗体は、D ９２、V ９３およびL ６７またはL ６８のいずれかに結合し得る。別の実施形態において、抗体は、L ６７、L ６８、D ９２およびV ９３のそれぞれに結合し得る。これらの実施形態のそれぞれは、局在を配列番号４６０中に示されるh I L－４ R αアミノ酸配列（１～２２９位）により同定することができるh I L－４ R α中のアミノ酸位置を指す。一実施形態において、結合メンバー、例えば、抗体は、全長h I L－４ R αの記載のエピトープ残基（すなわち、６７、６８、９２および９３位の少なくとも１つ）に結合し得る。一実施形態において、結合メンバー、例えば、抗体は、細胞表面上で発現される天然h I L－４ R αの記載のエピトープ残基（すなわち、６７、６８、９２および９３位の少なくとも１つ）に結合し得る。一実施形態において、結合メンバー、例えば、抗体は、組換え発現全長（２２９アミノ酸）h I L－４ R αの記載のエピトープ残基（すなわち、６７、６８、９２および９３位の少なくとも１つ）に結合し得る。

10

20

【０１８２】

本発明のさらなる態様によれば、ヒトインターロイキン－４受容体アルファ（h I L－４ R α）に結合し得る単離結合メンバー、例えば、抗体を含む抗体配合物が提供される。特定の実施形態において、結合メンバーはヒト抗体である。さらなる実施形態において、結合メンバーは、カニクイザルインターロイキン－４受容体アルファ（c y I L－４ R α）にも結合し得る。

【０１８３】

本発明の別の態様によれば、ヒトインターロイキン－４受容体アルファ（h I L－４ R α）についての単離結合メンバーを含む抗体配合物であって、結合メンバーが、１８ p Mの可溶性ヒト I L－４タンパク質を使用するT F－１増殖アッセイにおける５０ p M未満のヒト I L－４（h I L－４）誘導細胞増殖の阻害についてのI C₅₀幾何平均を有し、結合メンバーが、c y I L－４ R αにも結合し得る抗体配合物を提供する。

30

【０１８４】

本発明のこの態様の特定の実施形態において、結合メンバーは、１８ p Mの可溶性ヒト I L－４を使用するT F－１増殖アッセイにおける５０ p M未満、３５ p M未満、２５ p M未満、または２０ p M未満、のヒト I L－４（h I L－４）誘導細胞増殖の阻害についてのI C₅₀幾何平均を有する。特定の実施形態において、本発明の結合メンバーは、本明細書に記載（例えば、実施例３．２．１）または当業者に公知の方法における１８ p Mの可溶性ヒト I L－４を使用して１から５０ p M、１から３５ p M、２から３０ p M、２から２５ p M、２から１２ p Mの間のヒト I L－４（h I L－４）誘導細胞増殖の阻害についてのI C₅₀幾何平均を有する。c y I L－４ R αへの結合は、任意の好適な手段により計測することができる。

40

【０１８５】

同様に、本発明の範囲内の抗体は、４００ p Mの可溶性ヒト I L－１３（h I L－１３）を使用して２００ p M未満のヒト I L－１３（h I L－１３）媒介T F－１増殖（h I L－４ R αの中和を介する）の阻害についてのI C₅₀幾何平均を有する。特定の実施形態において、４００ p Mの可溶性ヒト I L－１３（h I L－１３）を使用してヒト I L－１３（h I L－１３）媒介T F－１増殖（h I L－４ R αの中和を介する）の阻害につい

50

ての IC_{50} 幾何平均は、5 から 75 pM の間または 5 から 45 pM の間である。

【0186】

特定の実施形態において、本発明の抗体配合物は、ネズミ IL-4R α に実質的に結合し得ない抗体を含む。これは、本発明の抗体が、ネズミ IL-4R α よりも少なくとも 500 倍（例えば、少なくとも 500 倍、少なくとも 1000 倍、少なくとも 1500 倍、少なくとも 2000 倍、少なくとも 3000 倍、少なくとも 4000 倍）強く、ヒトインターロイキン-4 受容体アルファに結合し得ることを意味する（すなわち、ネズミ IL-4R α への結合は、ヒト IL-4R α への結合よりも少なくとも 500 倍弱い）。これは、例えば、HTRF 競合アッセイにより計測することができる。

【0187】

生物学的活性の阻害は、一部または完全であり得る。具体的な実施形態において、IL-4R α 生物学的活性を、結合メンバーの不存在下で活性の少なくとも 95%、少なくとも 90%、少なくとも 85%、少なくとも 80%、少なくとも 75%、少なくとも 70%、少なくとも 60%、または少なくとも 50% だけ阻害する抗体が提供される。抗体が IL-4R α を中和する程度は、その中和効力と称される。効力は、当業者に公知の、および／または本明細書に記載の、もしくは言及される 1 つ以上のアッセイを使用して決定または測定することができる。例えば、効力は、以下においてアッセイすることができる：

- 蛍光（例えば、HTRF または DELFIA）または放射性フォーマットにおける受容体-リガンド結合アッセイ

- 蛍光（例えば、HTRF または DELFIA）エピトープ競合アッセイ
- 細胞ベース機能アッセイ、例として、ヒトもしくはカニクイザル PBMC の STAT6 リン酸化、TF-1 細胞の増殖、ヒトもしくはカニクイザル線維芽細胞系からのエオタキシン放出、ヒト内皮静脈細胞に対する VCAM1 上方調節またはヒト T 細胞の増殖。

【0188】

これらのアッセイ法の一部は、米国特許第 8,092,804 号明細書の実施例にも記載されている。

【0189】

第 1 の種（例えば、ヒト）からの IL-4R α を使用するアッセイにおいて計算される抗体の中和効力は、第 2 の種（例えば、カニクイザル）からの IL-4R α を使用する同一アッセイにおいて結合メンバーの中和効力と比較して 2 つの種の IL-4R α についての結合メンバーの交差反応性の程度を評価することができる。ヒト標的および別の種からのオルソログス標的の両方に結合する抗体を有する大きい利点が存在する。結合メンバーが治療産物として進歩中であり、安全性試験（例えば、毒性）を別の種において実施することが必要である場合、重要な利点が生まれる。別の種に対する効力または親和性は、例えば、ヒト活性よりも 10 倍未満で異なり、そのような評価に適切であり得る。

【0190】

本発明の特定の実施形態によれば、結合メンバー、例えば、抗体の結合の比は、受容体-リガンド結合アッセイを使用して scFv と hIL-4R α および cyIL-4R α との比として計測する場合、少なくとも 6:1 である。本明細書において使用される「少なくとも」6:1 は、2:1、1:1 ではなく、8:1、10:1 などを含む。

【0191】

本発明の抗体は、ヒト IL-4R α およびカニクイザル IL-4R α に結合し、受容体-リガンド結合アッセイにおいて決定してヒトおよびカニクイザル IL-4R α の中和についての効力における 250 倍未満、例えば、150、100、75、50、25、20、15、10 倍未満の差を有し得、結合メンバーは、例えば、米国特許第 8,092,804 号明細書におけるような scFv フォーマットである。

【0192】

一部の実施形態において、受容体-リガンド結合アッセイを使用して計測されるヒトおよびカニクイザル IL-4R α についての本発明の抗体（scFv フォーマットの場合）の中和効力は、25 倍以内である。一実施形態において、ヒトおよびカニクイザル IL-

10

20

30

40

50

4 R α についての本発明の抗体の中和効力は、210 倍以内であり；すなわち、ヒト I L - 4 R α への結合は、カニクイザル I L - 4 R α への結合に対して210 倍以下である。別の実施形態において、前記中和効力は、5 : 1 から210 : 1 の間、例えば、5 : 1 から100 : 1 の間である。

【0193】

機能細胞ベースアッセイについて、効力は、通常、特に記載のない限り、nMで I C₅₀ 値として表現される。機能アッセイにおいて、I C₅₀ は、生物学的（または生化学的）応答をその最大値の50%だけ低減させる結合メンバーのモル濃度である。I C₅₀ は、最大生物学的応答の%を、結合メンバー濃度のlogの関数としてプロットすることにより、ソフトウェアプログラム、例えば、Prism (GraphPad) またはOrigin (Origin Labs) を使用して計算してシグモイド関数をデータにフィットさせて I C₅₀ 値を生成することができる。

10

【0194】

受容体ーリガンド結合アッセイについて、効力は、通常、標識リガンドが存在しない場合、受容体の50%を占有する結合メンバーの濃度のK_i（阻害定数）として表現される。I C₅₀ がリガンド濃度に応じて実験間で変動し得る一方、K_i は、Cheng Prusoff 式から計算される絶対値である。

【0195】

本発明の抗体は、本明細書に記載のヒト I L - 4 R α H T R F（登録商標）アッセイにおいて最大5 nMの中和効力またはK_iを有し得る。このアッセイを使用して s c F v フォーマットの抗体についてのK_iを決定することができる。K_i は、例えば、最大5.0、4.0、3.0、2.0、1.0、0.5、0.2、0.1、0.05、または0.02 nMであり得る。

20

【0196】

さらに、I L - 4 R α についての I L - 4 R α 抗体の結合キネティクスおよび親和性（平衡解離定数、K_Dとして表現される）は、例えば、表面プラズモン共鳴、例えば、B I A c o r e（登録商標）を使用して決定することができ、またはK_dは、pA₂ 分析から推定することができる。

【0197】

一部の実施形態において、本発明の抗体は、グリコシル化 h I L - 4 R α に結合し得る。

30

【0198】

一部の実施形態において、本発明の抗体は、場合により、他の構造的に関連する分子（例えば、他のインターロイキン受容体）と比べて I L - 4 R α に特異的であり、したがって、選択的に I L - 4 R α に結合し得る。例えば、本発明の抗体は、I L - 13 R α 1 または I L - 13 R α 2 および共通ガンマ鎖（ γ c）のいずれとも交差反応し得ない。

【0199】

本発明の抗体は、抗体分子、例えば、ヒト抗体分子を含み得る。結合メンバーは、抗体 V H および／または V L ドメインを含む。抗体の V H ドメインは、本発明の一部としても提供される。相補性決定領域（「C D R」）、およびフレームワーク領域（「F R」）は、V H および V L ドメインのそれぞれの範囲内である。V H ドメインは、H C D R のセットを含み、V L ドメインは、L C D R のセットを含む。抗体分子は、V H C D R 1、C D R 2 および C D R 3 ならびにフレームワークを含む抗体 V H ドメインを含み得る。これは、あるいは、またはさらに、V L C D R 1、C D R 2 および C D R 3 ならびにフレームワークを含む抗体 V L ドメインを含み得る。V H または V L ドメインフレームワークは、以下の構造中で C D R が散在する4つのフレームワーク領域 F R 1、F R 2、F R 3 および F R 4 を含む：

40

F R 1 - C D R 1 - F R 2 - C D R 2 - F R 3 - C D R 3 - F R 4。

【0200】

本発明による抗体 V H および V L ドメイン、F R ならびに C D R の例は、本開示の一部

50

を形成する付属の配列表に列記されたとおりである。本明細書に開示の全てのVHおよびVL配列、CDR配列、CDRのセットならびにHCDRのセットおよびLCDRのセットは、本発明の態様および実施形態を表す。本明細書に記載の「CDRのセット」は、CDR1、CDR2およびCDR3を含む。したがって、HCDRのセットは、HCDR1、HCDR2およびHCDR3を指し、LCDRのセットは、LCDR1、LCDR2およびLCDR3を指す。特に記載のない限り、「CDRの完全セット」は、HCDRおよびLCDRを含む。典型的には、本発明の抗体は、モノクローナル抗体である。

【0201】

本発明のさらなる態様は、付属の配列表に示される抗体1から42のいずれかのVHドメインと少なくとも75、80、85、90、95、98もしくは99%のアミノ酸配列同一性を有するVHドメインを含み、および／または付属の配列表に示される抗体1から42のいずれかのVLドメインと少なくとも75、80、85、90、95、98または99%のアミノ酸配列同一性を有するVLドメインを含む抗体分子である。Accelryの「MacVector（商標）」プログラムを使用して2つのアミノ酸配列の同一性%を計算することができる。

【0202】

本発明の抗体は、通常、さらに以下に考察される非抗体タンパク質足場中の1つ以上のCDR、例えば、HCDR3および／もしくはLCDR3、またはCDRのセットにより提供される非抗体分子内の抗原結合部位を含み得る。

【0203】

本発明者らは、図13（VHドメイン）および14（VLドメイン）に示されるCDR配列のセットを有する親抗体分子（抗体1）を単離した。最適化する方法を介して、それらは、親CDR3配列に由来するCDR3配列を有し、図13（VHドメイン）および図14（VLドメイン）に示される位置における置換を有する2から20にナンバリングされたものを含む抗体クローンのパネルを生成した。したがって、例えば、図13（AからD）から、抗体2が、親HCDR1、HCDR2、LCDR1およびLCDR2配列を有し、Kabata残基95がQにより置き換えられており、Kabata残基95A、95Bおよび96がPによりそれぞれ置き換えられており、Kabata残基97がLにより置き換えられている親LCDR3配列を有し、Kabata残基101がYにより置き換えられており、Kabata残基102がNにより置き換えられている親HCDR3配列を有する

【0204】

本明細書に記載の親抗体分子、および抗体分子2から20は、それぞれ、親抗体分子のCDRを有する抗体分子を、および抗体分子2から20のCDRを有する抗体分子を指す。最適化のさらなるプロセスを介して、本発明者らは、VHおよびVLドメイン全体にわたる追加の置換を有する21～42にナンバリングされた抗体クローンのパネルを生成した。したがって、例えば、抗体21は、抗体20と同一のLCDR1、LCDR2、LCDR3、HCDR1、およびHCDR3を有し；それは、抗体20の親HCDR2配列を有するが、Kabata残基57はAにより置き換えられており；それは、VおよびFによりそれぞれ置き換えられているKabata残基85および87（LFW3中）を有する。

【0205】

図15（VH）および16（VL）に示される抗体20のCDRのセットを含む参照結合メンバーが本明細書に記載され、HCDR1は、配列番号193（Kabata残基31～35）であり、HCDR2は、配列番号194（Kabata残基50～65）であり、HCDR3は、配列番号195（Kabata残基95～102）であり、LCDR1は、配列番号198（Kabata残基24～34）であり、LCDR2は、配列番号199（Kabata残基50～56）であり、LCDR3は、配列番号200（Kabata残基89～97）である。さらなる抗体は、参照結合メンバー中の配列を参照して記載することができる。

【0206】

抗体を含む抗体配合物は、本明細書に記載の1つ以上のCDR（すなわち、少なくとも1つ、少なくとも2つ、少なくとも3つ、少なくとも4つ、少なくとも5つおよび少なくとも6つ）、例えば、CDR3、および場合により、さらにはCDR1およびCDR2を含んでCDRのセットを形成し得る。CDRまたはCDRのセットは、親CDRもしくはCDRの親セットであり得、または抗体2から42いずれかのCDRもしくはCDRのセットであり得、または本明細書に記載のその変異体であり得る。

【0207】

例えば、本発明による抗体またはVLドメインは、別のアミノ酸に置換されているKabatat残基92～97の1つ以上を有する参照LCDR3を含み得る。例示的な置換としては、以下が挙げられる：

10

Phe（F）、Val（V）またはAla（A）により置き換えられているKabatat残基92；

Gly（G）またはSer（S）により置き換えられているKabatat残基93；

Thr（T）により置き換えられているKabatat残基94

Leu（L）、Gln（Q）、Pro（P）またはSer（S）により置き換えられているKabatat残基95；

Ser（S）、Pro1（P）、Ala（A）、Thr（T）、His（H）またはGly（G）により置き換えられているKabatat残基95a；

Ala（A）、Pro（P）、Ser（S）、Tyr（Y）、Met（M）、Leu（L）、Thr（T）、Arg（R）またはAsp（D）により置き換えられているKabatat残基95b；

20

Asn（N）、Gln（Q）、His（H）、Tyr（Y）、Thr（T）、Ile（I）、Lys（K）、Arg（R）またはMet（M）により置き換えられているKabatat残基95c；

Tyr（Y）またはPro（P）により置き換えられているKabatat残基96；

Val（V）、Leu（L）またはIle（I）により置き換えられているKabatat残基97。

【0208】

抗体またはVHドメインは、別のアミノ酸に置換されているKabatat残基97～102の1つ以上を有する参照HCDR3を含み得る。例示的な置換としては、以下が挙げられる：

30

Trp（W）またはLeu（L）により置き換えられているKabatat残基97；

Leu（L）により置き換えられているKabatat残基98；

Leu（L）、Lys（K）、Phe（F）またはTrp（W）により置き換えられているKabatat残基99；

Asp（D）、Asn（N）またはGln（Q）により置き換えられているKabatat残基101；

Tyr（Y）、Asn（N）、Pro（P）またはHis（H）により置き換えられているKabatat残基102。

【0209】

40

本発明の抗体は、抗体1から42のいずれかのHCDR1、HCDR2および／もしくはHCDR3ならびに／または抗体1から42のいずれかのLCDR1、LCDR2および／もしくはLCDR3を含み得る。抗体は、それらの抗体の1つのVH CDRのセットを含み得る。場合により、それは、それらの抗体の1つのVL CDRのセットも含み得、VL CDRは、VH CDRと同一または異なる抗体からのものであり得る。抗体1から42のいずれかのHCDRのセットを含むVHドメイン、および／または抗体1から42のいずれかのLCDRのセットを含むVLドメインも、本発明の個々の実施形態である。

【0210】

以下にさらに考察されたとおり、VHまたはVLドメイン単独を使用して抗原に結合さ

50

せることができるが、典型的には、V Hドメインは、V Lドメインとペア形成して抗体抗原結合部位を提供する。一実施形態において、抗体1 V Hドメインは、抗体1 V Lドメインとペア形成し、その結果、抗体1 V HおよびV Lドメインの両方を含む抗体抗原結合部位が形成される。類似の実施形態が、本明細書に開示の他のV HおよびV Lドメインについて提供される。他の実施形態において、抗体1 V Hは、抗体1 V L以外のV Lドメインとペア形成する。軽鎖無差別性は、当技術分野において十分確立されている。ここでも、類似の実施形態が、本明細書に開示の他のV HおよびV Lドメインについて本発明により提供される。したがって、親（抗体1）の、または抗体2から42のいずれかのV Hは、親の、または抗体2から42のいずれかのV Lとペア形成させることができる。

【0211】

本発明の一態様は、V HおよびV Lドメインを含む抗体であって、V Hドメインが、図13または15に開示の配列を含む抗体である。

【0212】

本発明の別の態様は、V HおよびV Lドメインを含む抗体であって、V Lドメインが、図14または16に開示の配列を含む抗体である。

【0213】

本発明の別の態様は、配列番号362、442、232、422または432に示されるV Hドメインアミノ酸配列を有するV Hドメインおよび配列番号367、237、447、437または427に示されるV Lドメインアミノ酸配列を有するV Lドメインを含む単離抗体分子である。

【0214】

抗体は、Hおよび／またはL C D Rの開示セット内の12または10または9以下の、例えば、1、2、3、4または5つの置換を有する親抗体または抗体2から42のいずれかのHおよび／またはL C D Rのセットを含み得る。例えば、本発明の抗体は、12以下の置換、例えば、7つ以下の置換、例えば、0、1、2、3、4、5、または6つの置換を有する抗体16または抗体20のHおよび／またはL C D Rのセットを含み得る。置換は、C D Rのセット内の任意の残基において潜在的に作製することができ、C D R 1、C D R 2および／またはC D R 3内に存在し得る。

【0215】

したがって、本発明の一態様によれば、C D Rのセット：H C D R 1、H C D R 2、H C D R 3、L C D R 1、L C D R 2およびL C D R 3を含むヒトインターロイキン-4受容体アルファ（h I L-4 R α）についての単離結合メンバーであって、C D Rのセットが、以下のC D Rの参照セット：

H C D R 1が、配列番号153のアミノ酸配列を有し；
H C D R 2が、配列番号154のアミノ酸配列を有し；
H C D R 3が、配列番号155のアミノ酸配列を有し；
L C D R 1が、配列番号158のアミノ酸配列を有し；
L C D R 2が、配列番号159のアミノ酸配列を有し；
L C D R 3が、配列番号160のアミノ酸配列を有するもの
からの12以下のアミノ酸変化を有する単離結合メンバーが提供される。

【0216】

この例における参照抗体は、抗体16である。

【0217】

単離結合メンバーは、C D Rの参照セットからの10以下、8つ以下、7つ以下、例えば、6、5、4、3、2、1つまたは0のアミノ酸変化を有し得る。特定の変化は、アミノ酸置換である。

【0218】

本発明の別の態様によれば、C D Rのセット：H C D R 1、H C D R 2、H C D R 3、L C D R 1、L C D R 2およびL C D R 3を含むヒトインターロイキン-4受容体アルファ（h I L-4 R α）についての単離結合メンバーであって、C D Rのセットが、以下の

C D R の参照セット：

H C D R 1 が、配列番号 1 9 3 のアミノ酸配列を有し；
H C D R 2 が、配列番号 1 9 4 のアミノ酸配列を有し；
H C D R 3 が、配列番号 1 9 5 のアミノ酸配列を有し；
L C D R 1 が、配列番号 1 9 8 のアミノ酸配列を有し；
L C D R 2 が、配列番号 1 9 9 のアミノ酸配列を有し；
L C D R 3 が、配列番号 2 0 0 のアミノ酸配列を有するもの
からの 1 2 以下のアミノ酸変化を有する単離結合メンバーが提供される。

【0 2 1 9】

この例における参照抗体は、抗体 2 0 である。

10

【0 2 2 0】

単離結合メンバーは、C D R の参照セットからの 1 0 以下、8 つ以下、7 つ以下、例えば、6、5、4、3、2、1 つまたは 0 のアミノ酸変化を有し得る。特定の変化は、アミノ酸置換である。特定の実施形態において、単離結合メンバーは、上記 C D R の参照セットからの 4 つ以下のアミノ酸置換を有する。

【0 2 2 1】

本発明の別の態様によれば、C D R のセット：H C D R 1、H C D R 2、H C D R 3、L C D R 1、L C D R 2 および L C D R 3 を含むヒトインターロイキン-4 受容体アルファ（h I L-4 R α）についての単離結合メンバーであって、C D R のセットが、以下の C D R の参照セット：

20

H C D R 1 が、配列番号 3 6 3 のアミノ酸配列を有し；
H C D R 2 が、配列番号 3 6 4 のアミノ酸配列を有し；
H C D R 3 が、配列番号 3 6 5 のアミノ酸配列を有し；
L C D R 1 が、配列番号 3 6 8 のアミノ酸配列を有し；
L C D R 2 が、配列番号 3 6 9 のアミノ酸配列を有し；
L C D R 3 が、配列番号 3 7 0 のアミノ酸配列を有するもの
からの 6 つ以下のアミノ酸変化を有する単離結合メンバーが提供される。

【0 2 2 2】

この例における参照抗体は、抗体 3 7 である。

【0 2 2 3】

30

置換は、C D R 3 内に、例えば、図 1 3 または 1 5（V H ドメイン）および 1 4 または 1 6（V L ドメイン）に示される抗体 2 から 4 2 のいずれかで置換されている位置において存在し得る。したがって、1 つ以上の置換は、以下の残基における 1 つ以上の置換を含み得る：

H C D R 3 中の K a b a t 残基 9 7、9 8、9 9、1 0 1 もしくは 1 0 2；または
L C D R 3 中の K a b a t 残基 9 2、9 3、9 4、9 5、9 5 A、9 5 B、9 5 C、9 6
もしくは 9 7。

【0 2 2 4】

したがって、C D R 3 は、例えば、K a b a t 残基 9 2、9 3、9 4、9 5、9 5 A、9 5 B、9 5 C、9 6 または 9 7 における 1 つ以上の置換を有する参照 L C D R 3 であり得る。

40

【0 2 2 5】

親／参照 C D R 中の置換の例は、本明細書その他箇所に記載されている。記載のとおり、置換は、図 1 3 から 1 6 に示される 1 つ以上の置換を含み得る。

【0 2 2 6】

本発明の抗体は、参照抗体 2 0 の H C D R 1、H C D R 2 および／もしくは H C D R 3 を含み得、または以下の置換の 1 つ以上：

K a b a t 残基 5 3 が A r g（R）である H C D R 2；

K a b a t 残基 5 7 が A l a（A）である H C D R 2；

K a b a t 残基 9 7 が T r p（W）もしくは L e u（L）であり；K a b a t 残基 9 8 が

50

Leuであり；Kabat残基99がLeu(L)、Lys(K)もしくはTrp(W)であり；Kabat残基101がAsn(N)もしくはGln(Q)であり；および／またはKabat残基102がTyr(Y)、Asn(N)、Pro(P)もしくはHis(H)であるHC DR 3

を有する。

【0227】

本発明の抗体は、参照抗体20のLC DR 1、LC DR 2および／もしくはLC DR 3を含み得、以下の置換の1つ以上：

Kabat残基27がGly(G)であり；

Kabat残基27AがThr(T)であり；

Kabat残基27BがSer(S)であり；

Kabat残基31がAsn(N)であるLC DR 1；

Kabat残基56がPro(P)であるLC DR 2；

Kabat残基92がPhe(F)、Val(V)もしくはAla(A)であり；

Kabat残基93がGly(G)もしくはSer(S)であり；

Kabat残基94がThr(T)であり；

Kabat残基95がLeu(L)、Gln(Q)、Pro(P)もしくはSer(S)であり；

Kabat残基95AがSer(S)、Pro(P)、Ala(A)、Thr(T)、His(H)もしくはGly(G)であり；

Kabat残基95BがAla(A)、Pro(P)、Ser(S)、Tyr(Y)、Met(M)、Leu(L)、Thr(T)、Asp(D)もしくはArg(R)であり；

Kabat残基95CがAsn(N)、Gln(Q)、His(H)、Tyr(Y)、Ile(I)、Lys(K)、Arg(R)、Thr(T)もしくはMet(M)であり；

Kabat残基96がTyr(Y)もしくはPro(P)であり；

および／またはKabat残基97がVal(V)、Leu(L)もしくはIle(I)であるLC DR 3

を有する。

【0228】

特定の実施形態において、抗体20配列を参照すると、HC DR 2中のKabat残基53は、Arg(R)により置き換えられており；および／またはHC DR 2中のKabat残基57は、Ala(A)により置き換えられており；および／またはLC DR 1中のKabat残基27は、Gly(G)により置き換えられており；および／またはLC DR 1中のKabat残基27Bは、Ser(S)により置き換えられており；および／またはLC DR 3中のKabat残基95は、Pro(P)により置き換えられている。

【0229】

本発明の特定の態様によれば、ヒトインターロイキン-4受容体アルファ(hIL-4R α)についての単離結合メンバーであって、

HC DR 1が、配列番号363のアミノ酸配列を有し；

HC DR 2が、配列番号364のアミノ酸配列を有し；

HC DR 3が、配列番号365のアミノ酸配列を有し；

LC DR 1が、配列番号368のアミノ酸配列を有し；

LC DR 2が、配列番号369のアミノ酸配列を有し；

LC DR 3が、配列番号370のアミノ酸配列を有する単離結合メンバーが提供される。

【0230】

本発明の別の特定の態様によれば、ヒトインターロイキン-4受容体アルファ(hIL-4R α)についての単離結合メンバーであって、

HC DR 1が、配列番号233のアミノ酸配列を有し；

HC DR 2が、配列番号234のアミノ酸配列を有し；

HCDR3が、配列番号235のアミノ酸配列を有し；
LCDR1が、配列番号238のアミノ酸配列を有し；
LCDR2が、配列番号239のアミノ酸配列を有し；
LCDR3が、配列番号240のアミノ酸配列を有する
単離結合メンバーが提供される。

【0231】

本発明の抗体において：

HCDR1は、Kabab残基31～35からなる5アミノ酸長であり得；
HCDR2は、Kabab残基50～65からなる17アミノ酸長であり得；
HCDR3は、Kabab残基95～102からなる9アミノ酸長であり得；
LCDR1は、Kabab残基24～34からなる13アミノ酸長であり得；
LCDR2は、Kabab残基50～56からなる7アミノ酸長であり得；および／または
LCDR3は、Kabab残基89～97からなる9アミノ酸長であり得る。
HCDRおよびLCDRのセットのKababナンバリングにおいて、HCDR1は、Kabab残基31～35であり、HCDR2は、Kabab残基50～65であり、HCDR3は、Kabab残基95～102であり、図13および15に示し；LCDR1は、Kabab残基24～34であり、LCDR2は、Kabab残基50～56であり、LCDR3は、Kabab残基89～97であり、図14および16に示す。

【0232】

本発明の別の態様によれば、CDRのセット：HCDR1、HCDR2、HCDR3、LCDR1、LCDR2およびLCDR3を含むヒトインターロイキン-4受容体アルファ（hIL-4Rα）についての単離結合メンバーであって、CDRのセットが、NCIMBに2008年12月9日にアクセッション番号：NCIMB41600により寄託されたクローン中に存在するCDRの参照セットからの6つ以下のアミノ酸変化を有する単離結合メンバーが提供される。

【0233】

本発明の別の態様によれば、NCIMBに2008年12月9日にアクセッション番号：NCIMB41600により寄託されたクローン中に見出されるVH配列を含むヒトインターロイキン-4受容体アルファ（hIL-4Rα）についての単離結合メンバーが提供される。

【0234】

本発明の別の態様によれば、NCIMBに2008年12月9日にアクセッション番号：NCIMB41600により寄託されたクローン中に見出されるVL配列を含むヒトインターロイキン-4受容体アルファ（hIL-4Rα）についての単離結合メンバーが提供される。

【0235】

本発明の別の態様によれば、NCIMBに2008年12月9日にアクセッション番号：NCIMB41600により寄託されたクローン中に見出されるVHおよびVL配列を含むヒトインターロイキン-4受容体アルファ（hIL-4Rα）についての単離結合メンバーが提供される。

【0236】

本発明の別の態様によれば、単離抗体または抗体の断片であって、ヒトインターロイキン-4受容体アルファに免疫特異的に結合し、以下を含む単離抗体または抗体の断片が提供される：

(a) NCIMBに2008年12月9日にアクセッション番号：NCIMB41600により寄託されたクローン中に存在するVH CDR1と同一のアミノ酸配列またはそれに対する1、2、もしくは3つのアミノ酸残基置換を含むアミノ酸配列を有するVH CDR1；

(b) NCIMBに2008年12月9日にアクセッション番号：NCIMB41600

により寄託されたクローン中に存在するVH CDR 2と同一のアミノ酸配列またはそれに対する1、2、もしくは3つのアミノ酸残基置換を含むアミノ酸配列を有するVH CDR 2；

(c) NCIMBに2008年12月9日にアクセッション番号：NCIMB41600により寄託されたクローン中に存在するVH CDR 3と同一のアミノ酸配列またはそれに対する1、2、もしくは3つのアミノ酸残基置換を含むアミノ酸配列を有するVH CDR 3；

(d) NCIMBに2008年12月9日にアクセッション番号：NCIMB41600により寄託されたクローン中に存在するVL CDR 1と同一のアミノ酸配列またはそれに対する1、2、もしくは3つのアミノ酸残基置換を含むアミノ酸配列を有するVL CDR 1；

(e) NCIMBに2008年12月9日にアクセッション番号：NCIMB41600により寄託されたクローン中に存在するVL CDR 2と同一のアミノ酸配列またはそれに対する1、2、もしくは3つのアミノ酸残基置換を含むアミノ酸配列を有するVL CDR 2；ならびに

(f) NCIMBに2008年12月9日にアクセッション番号：NCIMB41600により寄託されたクローン中に存在するVL CDR 3と同一のアミノ酸配列またはそれに対する1、2、もしくは3つのアミノ酸残基置換を含むアミノ酸配列を有するVL CDR 3。

【0237】

本発明の別の態様によれば、単離抗体または抗体の断片であって、ヒトインターロイキン-4受容体アルファに免疫特異的に結合し、以下を含む単離抗体または抗体の断片が提供される：

(a) NCIMBに2008年12月9日にアクセッション番号：NCIMB41600において寄託されたクローン中に存在するVH配列と同一のアミノ酸配列またはそれに対する1、2、3、4、5、もしくは6つのアミノ酸残基置換を含むアミノ酸配列を有するVH配列；

(b) NCIMBに2008年12月9日にアクセッション番号：NCIMB41600において寄託されたクローン中に存在するVL配列と同一のアミノ酸配列またはそれに対する1、2、3、4、5、もしくは6つのアミノ酸残基置換を含むアミノ酸配列を有するVL配列。

【0238】

抗体は、抗体フレームワーク内の1つ以上のCDR、例えば、CDRのセットを有する抗体分子を含み得る。例えば、抗体の1つ以上のCDRまたはCDRのセットは、フレームワーク（例えば、ヒトフレームワーク）中にグラフトして抗体分子を提供することができる。フレームワーク領域は、ヒト生殖系列遺伝子セグメント配列を含み得る。したがって、フレームワークは、生殖系列化し、それによりフレームワーク内の1つ以上の残基を最も類似するヒト生殖系列フレームワーク中の同等位置における残基と一致するように変化させることができる。当業者は、生殖系列化前に抗体のフレームワーク配列に配列が最も近縁である生殖系列セグメントを選択し、抗体の親和性または活性を試験して生殖系列化が本明細書に記載のアッセイにおいて抗原結合も効力も顕著に低減させないことを確認することができる。ヒト生殖系列遺伝子セグメント配列は、当業者に公知であり、例えば、VBaseコンパイルーション（Tomlinson, Journal of Molecular Biology, 224, 487-499, 1997参照）からアクセスすることができる。

【0239】

一実施形態において、本発明の抗体は、ヒト生殖系列フレームワーク、例えば、Vh1__DP-7__（1～46）中でHCDRのセットを含むVHドメインを有する単離ヒト抗体分子である。したがって、VHドメインフレームワーク領域FR1、FR2および／またはFR3は、ヒト生殖系列遺伝子セグメントVh1__DP-7__（1～46）のフレー

ムワーク領域を含み得る。FR 4は、ヒト生殖系列jセグメントJH 1、JH 4もしくはJH 5（これらのjセグメントは、同一のアミノ酸配列を有する）のフレームワーク領域を含み得、またはそれは、ヒト生殖系列jセグメントJH 3のフレームワーク領域を含み得る。VH FR 1のアミノ酸配列は、配列番号442（残基1～30）であり得る。VH FR 2のアミノ酸配列は、配列番号442（残基36～49）であり得る。VH FR 3のアミノ酸配列は、配列番号442（残基66～94）であり得る。VH FR 4のアミノ酸配列は、配列番号442（103～113）であり得る。通常、結合メンバーは、例えば、ヒト生殖系列フレームワーク、例えば、Vλ 1__DPL 5中でLCDRのセットを含むVLドメインも有する。したがって、VLドメインフレームワーク領域FR 1、FR 2および／またはFR 3は、ヒト生殖系列遺伝子セグメントVλ 1__DPL 5のフレームワーク領域を含み得る。FR 4は、ヒト生殖系列jセグメントJL 2またはJL 3（これらのjセグメントは、同一のアミノ酸配列を有する）のフレームワーク領域を含み得る。VL FR 1のアミノ酸配列は、配列番号447（残基1～23）であり得る。VL FR 2のアミノ酸配列は、配列番号447（残基35～49）であり得る。VL FR 3のアミノ酸配列は、配列番号447（残基57～88）であり得る。VL FR 4のアミノ酸配列は、配列番号447（残基98～107）であり得る。生殖系列化VHまたはVLドメインは、1つ以上のVernier残基において生殖系列化されていてもいなくてもよいが、通常は、生殖系列化されていない。

10

【0240】

本発明の抗体分子またはVHドメインは、重鎖フレームワーク領域の以下のセット：

20

FR 1 配列番号442（残基1～30）；

FR 2 配列番号442（残基36～49）；

FR 3 配列番号442（残基66～94）；

FR 4 配列番号442（残基103～113）

を含み得；

または1、2、3、4、5、もしくは6つのアミノ酸変化、例えば、置換を有する前記重鎖フレームワーク領域のセットを含み得る。

【0241】

本発明の抗体分子またはVLドメインは、軽鎖フレームワーク領域の以下のセット：

30

FR 1 配列番号447（残基1～23）；

FR 2 配列番号447（残基35～49）；

FR 3 配列番号447（残基57～88）；

FR 4 配列番号447（残基98～107）

を含み得；

または1、2、3、4、5、もしくは6つのアミノ酸変化、例えば、置換を有する前記重鎖フレームワーク領域のセットを含み得る。

【0242】

アミノ酸変化は、置換、挿入（付加）または欠失であり得る。最も一般的な変化は、置換である可能性が高い。例えば、本発明の抗体分子は、重鎖および軽鎖フレームワーク領域のセットを含み得：

40

重鎖FR 1は、配列番号192（残基1～30）であり；

重鎖FR 2は、配列番号192（残基36～49）であり；

重鎖FR 3は、配列番号192（残基66～94）であり；

重鎖FR 4は、配列番号192（残基103～113）であり；

軽鎖FR 1は、配列番号197（残基1～23）であり；

軽鎖FR 2は、配列番号197（残基35～49）であり；

軽鎖FR 3は、配列番号197（残基57～88）であり；

軽鎖FR 4は、配列番号197（残基98～107）であり；または

7つ以下、例えば、6つ以下のアミノ酸変化、例えば、置換を有する前記重鎖および軽鎖フレームワーク領域のセットを含み得る。例えば、重鎖および軽鎖フレームワーク領域の

50

セット中で1または2つのアミノ酸置換が存在し得る。

【0243】

抗体21～42は、抗体20をベースとするが、CDRおよびフレームワーク領域内のある追加の変化を有する。抗体20と同様に、抗体21～42はhIL-4RαおよびcylIL-4Rαに結合する。したがって、このようなCDRおよび／またはフレームワーク置換は、潜在的により大きい結合を有する抗体を生成する任意選択または追加の置換とみなすことができる。

【0244】

したがって、VHおよびVLドメインの6つのCDR領域内のいずれかの置換に加え、抗体は、Kabatの標準ナンバリングを使用してフレームワーク領域内の以下の残基：

HF1中の11、12；

HF2中の37、48；

HF3中の68、84、85；

HF4中の105、108、113；

LF1中の1、2、3、9；

LF2中の38、42；または

LF3中の58、65、66、70、74、85、87

における1つ以上のアミノ酸置換も含み得る。

【0245】

好適なフレームワーク置換は、図13から16に示される。本発明の抗体は、図13から16に示される規定の置換の1つ以上を含み得る。

【0246】

本発明の抗体分子またはVHドメインは、VH FR1を含み得、Kabat残基11は、ValもしくはGluであり、および／またはKabat残基12は、LysもしくはArgであり；本発明の抗体分子またはVHドメインは、VH FR2を含み得、Kabat残基37は、AlaもしくはValであり、および／またはKabat残基48は、MetもしくはValであり；本発明の抗体分子またはVHドメインは、VH FR3を含み得、Kabat残基68は、Ser、AlaもしくはThrであり、および／またはKabat残基84は、SerもしくはProであり、および／またはKabat残基85は、GluもしくはGlyであり；本発明の抗体分子またはVHドメインは、VH FR4を含み得、Kabat残基105は、LysもしくはAsnであり、および／またはKabat残基108は、Gln、ArgもしくはLeuであり、および／またはKabat残基113は、SerもしくはGlyである。

【0247】

本発明の抗体分子またはVLドメインは、VL FR1を含み得、Kabat残基1は、GlnもしくはLeuであり、および／またはKabat残基2は、SerもしくはProもしくはAlaであり、および／またはKabat残基3は、ValもしくはAlaであり、および／またはKabat残基9は、SerもしくはLeuであり；本発明の抗体分子またはVLドメインは、VL FR2を含み得、Kabat残基38は、GlnもしくはArgであり、および／またはKabat残基42は、ThrもしくはAlaであり；本発明の抗体分子またはVLドメインは、VL FR3を含み得、Kabat残基58は、IleもしくはValであり、および／またはKabat残基65は、SerもしくはPheであり、および／またはKabat残基66は、LysもしくはArgであり、および／またはKabat残基70は、SerもしくはThrであり、および／またはKabat残基74は、AlaもしくはGlyであり、および／またはKabat残基85は、AspもしくはValであり、および／またはKabat残基87は、TyrもしくはPheである。

【0248】

非生殖系列化抗体は、生殖系列化抗体と比較して同一のCDRを有するが、異なるフレームワークを有する。本明細書に示される抗体配列のうち、抗体24PGLおよび37G

10

20

30

40

50

LのVHおよびVLドメインは、生殖系列化されている。

【0249】

本発明のさらなる態様によれば、CDRのセット：HC DR 1、HC DR 2、HC DR 3、LC DR 1、LC DR 2およびLC DR 3を含むヒトインターロイキン-4受容体アルファ（h IL-4 R α）についての単離結合メンバーであって、抗体1～42のいずれかのいかなる介在フレームワーク配列も有さないHC DR 1、HC DR 2、HC DR 3、LC DR 1、LC DR 2およびLC DR 3の整列した配列の複合配列と少なくとも73%のアミノ酸配列同一性を有する単離結合メンバーが提供される。特定の実施形態において、単離結合メンバーは、抗体1～42のいずれかの複合スコアと少なくとも78%のアミノ酸配列同一性を有する。

10

【0250】

本発明のさらなる実施形態によれば、CDRのセット：HC DR 1、HC DR 2、HC DR 3、LC DR 1、LC DR 2およびLC DR 3を含むヒトインターロイキン-4受容体アルファ（h IL-4 R α）についての単離結合メンバーであって、抗体1～42のいずれかのHC DR 1、HC DR 2およびHC DR 3の複合配列と少なくとも75%のアミノ酸配列同一性を有する単離結合メンバーが提供される。

【0251】

本発明のさらなる態様によれば、CDRのセット：HC DR 1、HC DR 2、HC DR 3、LC DR 1、LC DR 2およびLC DR 3を含むヒトインターロイキン-4受容体アルファ（h IL-4 R α）についての単離結合メンバーであって、抗体1～42のいずれかのLC DR 1、LC DR 2およびLC DR 3の複合配列と少なくとも65%のアミノ酸配列同一性を有する単離結合メンバーが提供される。

20

【0252】

本発明の抗体は、IL-4 R αに結合し、本明細書に開示の抗体、VHおよび／またはVLドメイン、CDR、例えば、HC DR 3、および／またはCDRのセットを含む、任意の結合メンバーとIL-4 R αへの結合について競合するものであり得る。抗体間の競合は、例えば、ELISAを使用してインビトロで、および／または規定のレポーター分子を、1つ以上の他のタグなし抗体の存在下で検出することができるある結合メンバーにタグ付けすることにより容易にアッセイして同一エピトープまたは重複エピトープに結合する抗体の同定を可能とすることができる。競合は、例えば、IL-4 R αをプレートに固定化し、第1のタグ付き結合メンバーを、1つ以上の他のタグなし抗体とともにプレートに添加するELISAを使用して決定することができる。タグ付き結合メンバーと競合するタグなし結合メンバーの存在は、タグ付き結合メンバーにより放出されるシグナルの減少により観察される。このような方法は、当業者に容易に公知であり、本明細書により詳細に記載される。一実施形態において、競合結合は、本明細書に記載のエピトープ競合アッセイを使用してアッセイする。本発明の抗体は、抗体分子、例えば、特に、親抗体の、または抗体2から42のいずれかのVHおよび／またはVLドメイン、CDR、例えば、HC DR 3またはCDRのセットを含む抗体分子と、IL-4 R αへの結合について競合する抗体抗原結合部位を含み得る。

30

【0253】

本発明の態様は、本明細書に定義の任意の結合メンバーと、IL-4 R αへの結合について競合する、例えば、親抗体または抗体2から42のいずれかと例えば、scFvまたはIgG1、IgG2またはIgG4フォーマットで競合する抗体を提供する。本明細書に定義の任意の結合メンバーとIL-4 R αへの結合について競合する抗体は、本発明の抗体について本明細書に開示の構造および／または機能特性のいずれか1つ以上を有し得る。

40

【0254】

治療の方法

本発明による抗体は、ヒトまたは動物体の治療または診断の方法、例えば、前記患者に有効量の本発明の抗体を投与することを含む、ヒト患者における疾患または障害の治療の

50

方法（予防的治療を含み得る）において使用することができる。本発明により治療可能な病態としては、本明細書の他箇所に詳細に考察される I L - 4 R α、I L - 4 および／または I L - 1 3 が役割を担う任意のものが挙げられる。

【0255】

本発明のこれらのおよび他の態様は、さらに以下に詳細に記載される。

【0256】

本発明の抗体は、ヒトまたは動物対象、例えば、ヒトにおいて診断または治療の方法において使用することができる。例えば、抗体は、例えば、例が本明細書の他箇所に言及される I L - 4 R α 関連疾患または障害の診断または治療において使用することができる。

【0257】

本発明の抗体を治療または診断において使用することができる特定の病態としては、喘息、C O P D（例として、慢性気管支炎、末梢気道疾患および肺気腫）、炎症性腸疾患、線維性病態（例として、全身性硬化症、肺線維症、寄生虫誘導肝線維症、および嚢胞性線維症、アレルギー（例として、例えば、アトピー性皮膚炎および食物アレルギー）、移植片拒絶を予防するための移植療法、ならびに遅延型過敏症または接触過敏反応の抑制（アレルギー免疫療法に対するアジュバントとして、およびワクチンアジュバントとして）が挙げられる。一部の実施形態において、本発明は、本明細書に記載の抗体配合物を投与することにより炎症性皮膚障害を治療する方法を対象とする。一部の実施形態において、炎症性皮膚障害は、アトピー性皮膚炎である。

【0258】

ある態様において、本開示は、本明細書に記載の抗体配合物を投与することを含む、肺疾患もしくは障害（例えば、喘息、特発性肺疾患（I P F）またはC O P D）または慢性炎症性皮膚疾患もしくは障害（例えば、またはアトピー性皮膚炎）と診断された患者を治療する方法を提供する。一部の実施形態において、本発明は、本明細書に記載の抗体配合物を投与することを含む、慢性炎症性皮膚疾患または障害を治療する方法を対象とする。一部の実施形態において、慢性炎症性皮膚疾患は、アトピー性皮膚炎、アレルギー性接触皮膚炎、湿疹または乾癬からなる群から選択される。

【0259】

用語「特発性肺線維症」（I P F）は、肺の進行性瘢痕、または線維症を特徴とする疾患を指す。これは、肺胞が徐々に線維性組織により置き換えられる規定のタイプの間質性肺疾患である。I P Fを罹患すると、進行性瘢痕が、通常、薄く柔軟な組織を肥大化させ、それが硬直し、肺が膨らみにくくなり、酸素が血流中に容易に流入することが妨げられる。例えば、Am. J. Respir. Crit. Care Med. 2000. 161 : 646-664 参照。

【0260】

アトピー性皮膚炎は、他のアトピー性障害、例えば、アレルギー性鼻炎および喘息に伴うことが多い一般的な慢性炎症性皮膚疾患である（Bieber, New England Journal of Medicine, 2008, 358 : 1483-1494）。I L - 1 3 mRNAの上方調節は、アトピー性皮膚炎の亜急性および慢性病変において観察されている（Tazawa et al., Arch. Dermatol. Res., 2004, 295 : 459-464 ; Purwar et al., J. Invest. Derm., 2006, 126, 1043-1051 ; Oh et al., J. Immunol., 2011, 186 : 7232-42）。

【0261】

本明細書において使用される用語「アトピー性皮膚炎」は、他のアトピー性障害、例えば、アレルギー性鼻炎および喘息に伴うことが多い慢性炎症、再発性、非感染性および掻痒性皮膚障害を指す（Bieber, New England Journal of Medicine, 2008, 358 : 1483-1494）。用語「アトピー性皮膚炎」は、「神経皮膚炎」、「アトピー性湿疹」、「内因性湿疹」と同義である。生じる場所に、または外観から、または誘発するストレス因子から名称が由来するアトピー性皮膚炎

10

20

30

40

50

の特定の形態も、本開示により用語「アトピー性皮膚炎」に含まれる。これらとしては、限定されるものではないが、屈面性湿疹、軟属腫性湿疹（eczema mullicatum）、いば状湿疹（eczema verrucatum）、種痘性湿疹、円盤状湿疹（eczema dyskoides）、汗疱状湿疹、微生物湿疹、貨幣状湿疹、脂漏性湿疹および湿疹の他の形態；口囲皮膚炎および眼囲皮膚炎が挙げられる。本明細書において使用される、アトピー性皮膚炎という用語は、高頻度で生じる細菌二次感染、例えば、黄色ブドウ球菌（Staphylococcus aureus）感染、膿皮症、例えば、伝染性膿痂疹およびそれに由来する疾患、ならびに鬚髯毛嚢炎（follicularis barbae）またはウイルス二次感染に起因するものも含む。IL-13は、疾患の病因に関与し、重要なインビボ誘導因子である。例えば、Oh et al., J. Immunol. 186:7232-42 (2011); Tazawa et al., Arch. Dermatol. Res. 295:459-464 (2004); Metwally et al. Egypt J. Immunol. 11:171-7 (2004) 参照。

10

【0262】

したがって、本発明の抗体は、IL-4、IL-13またはIL-4R α 発現および／または活性が関与する病態の治療における治療剤として有用である。とりわけ、一実施形態は、有効量の本発明の抗体を、それが必要される患者に投与することを含む治療の方法であって、IL-4R α 活性化の機能的結果を減少させる方法である。とりわけ、別の実施形態は、(i) 例えば、上記の診断方法を使用してIL-4、IL-13またはIL-4R α 発現または活性を呈する患者を同定すること、および(ii) 有効量の本発明の抗体を患者に投与することを含む治療の方法であって、IL-4R α 活性化の機能的結果を減衰させる方法である。本発明による有効量は、IL-4R α 活性化の機能的結果をモジュレートして（例えば、減少させて）治療される特定の疾患または障害の少なくとも1つの症状の重症度をモジュレートする（例えば、減少または低下させる）が、疾患も障害も必ずしも治癒しない量である。したがって、本発明の一実施形態は、本明細書に言及される障害のいずれかの少なくとも1つの症状の重症度を治療し、または低減させる方法であって、障害のいずれかの少なくとも1つの症状の重症度が低減されるように、必要とされる患者に有効量の本発明の1つ以上の抗体を単独で、または当技術分野において公知のもしくは本明細書に記載の別の適切な医薬品との併用治療レジメンで投与することを含む方法である。とりわけ、本発明の別の実施形態は、IL-4R α の少なくとも1つの効果をアンタゴナイズする方法であって、IL-4R α の前記少なくとも1つの効果、例えば、IL-4との複合体（シグナリングを活性化させるための前駆体）を形成するIL-4R α の能力がアンタゴナイズされるように、有効量の本発明の1つ以上の抗体と接触させ、またはそれを投与することを含む方法である。

20

30

【0263】

したがって、本発明のさらなる態様は、提供される結合メンバーを投与することを含む治療方法、またはそのような抗体を含む医薬組成物、および／または投与用医薬品の製造における、例えば抗体を薬学的に許容可能な賦形剤とともに製剤化することを含む医薬品または医薬組成物の作製方法におけるそのような抗体の使用を提供する。薬学的に許容可能な賦形剤は、医薬組成物に入るが二次反応を引き起こさず、例えば活性化化合物の投与を容易にし、体内でのその寿命および／またはその効力を増加させ、溶液中のその溶解度を増加させ、またはそうでなければその保存を改善する化合物または化合物の組合せであり得る。これらの薬学的に許容可能なビヒクルは周知であり、選択される活性化化合物の性質および投与様式に応じて、当業者により適合させる。

40

【0264】

抗体配合物

本発明のさらなる態様は、本発明の抗体を含有する抗体配合物、ならびにIL-4R α を阻害および／または中和する方法、例として、治療法によりヒトまたは動物体を治療する方法におけるその使用を提供する。

50

【0265】

一部の実施形態において、抗体配合物は、薬学的に許容可能である。用語「薬学的に許容可能」は、顕著な有害な医学的結果なしで動物（例えば、哺乳動物）に投与することができる化合物またはタンパク質を指す。

【0266】

一部の実施形態において、抗体配合物は、生理学的に許容可能な担体を含む。用語「生理学的に許容可能な担体」は、治療される宿主に対して顕著な有害な影響を有さず、一緒に投与される化合物の治療特性を保持する担体を指す。1つの例示的な生理学的に許容可能な担体は、生理食塩水である。他の生理学的に許容可能な担体およびその配合物は、当業者に公知であり、例えば、参照により本明細書に組み込まれる Remington's Pharmaceutical Sciences, (18th edition), ed. A. Gennaro, 1990, Mack Publishing Company, Easton, Pa. に記載される。

【0267】

本発明の抗体は、通常、抗体に加えて少なくとも1つの構成要素を含み得る医薬組成物の形態で投与される。したがって、本発明による医薬組成物、本発明により使用される医薬組成物は、抗体に加え、粘度調整剤、非イオン性界面活性剤、配合緩衝液、薬学的に許容可能な賦形剤、担体、緩衝液、安定剤または当業者に公知の他の材料の1つ以上を含み得る。このような材料は、非毒性であるべきであり、抗体の効力を干渉すべきでない。担体または他の材料の正確な性質は、経口、吸入または注射、例えば、静脈内注射であり得る投与経路に依存する。一実施形態において、組成物は、無菌である。

【0268】

静脈内注射、または罹患部位における注射について、活性成分は、パイロジェンフリーの、好適な pH、等張性および安定性を有する、非経口的に許容可能な水溶液の形態である。当業者は、例えば等張性ビヒクル、例えば塩化ナトリウム注射液、リンガー注射液、乳酸化リンガー注射液を使用して、好適な溶液を調製することが十分に可能である。保存剤、安定剤、緩衝液、酸化防止剤および／または他の添加物を必要に応じて用いることができ、それには、緩衝液、例えばリン酸、クエン酸、ヒスチジンおよび他の有機酸；酸化防止剤、例えばアスコルビン酸およびメチオニン；保存剤（例えばオクタデシルジメチルベンジルアンモニウムクロライド；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、ブチルまたはベンジルアルコール；アルキルパラベン、例えばメチルまたはプロピルパラベン；カテコール；レゾルシノール；シクロヘキサノール；3'-ベンタノール；および m-クレゾール）；低分子量ポリペプチド；タンパク質、例えば血清アルブミン、ゼラチンまたは免疫グロブリン；親水性ポリマー、例えばポリビニルピロリドン；アミノ酸、例えばグリシン、グルタミン、アスパラギン、ヒスチジン、アルギニン、またはリジン；単糖、二糖および他の炭水化物、例としてグルコース、マンノースまたはデキストリン；キレート剤、例えば EDTA；糖、例えばスクロース、マンニトール、トレハロースまたはソルビトール；塩形成カウンターイオン、例えばナトリウム；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、例えば TWEEN（商標）、PLURONICS（商標）またはポリエチレングリコール（PEG）が含まれる。

【0269】

本発明の抗体は、分子の物理化学的特性および送達経路に応じて、液体、半固体または固体形態で製剤化することができる。製剤は、賦形剤、または賦形剤の組合せ、例えば：糖、アミノ酸および界面活性剤を含み得る。液体製剤は、広範囲の抗体濃度および pH を含み得る。固体製剤は、例えば、凍結乾燥、噴霧乾燥、または超臨界流体技術による乾燥により產生することができる。抗 IL-4Rα の製剤は、意図される送達経路に依存し：例えば、肺送達用製剤は、吸入時に肺に深く浸透することを保証する物性を有する粒子からなり得；局所製剤（例えば瘻痕、例えば真皮瘻痕治療用の局所製剤）は、薬物が作用部位に留まる時間を延長する粘性改変剤を含み得る。ある実施形態において、結合メンバー

は、結合メンバーを急速な放出から保護する担体とともに調製することができ、例えば制御放出製剤であり、それには、移植片、経皮貼付剤、およびマイクロカプセル化送達系が含まれる。生分解性、生体適合性ポリマー、例えばエチレンビニルアセテート、ポリ無水物、ポリグリコール酸、コラーゲン、ポリオルトエステル、およびポリ乳酸を使用することができる。そのような製剤を調製するための多数の方法が当業者に公知である。例えば、Robinson, 1978を参照のこと。

【0270】

本発明の抗体による抗IL-4R α 治療は、経口で（例えば、ナノボディ）、注射により（例えば、皮下、関節内、静脈内、腹膜内、動脈内または筋肉内注射により）、吸入により、膀胱内経路により（膀胱内への点滴注入）、または局所的（例えば、眼内、鼻腔内、経直腸、創傷内、皮膚上）に施すことができる。治療は、パルス注入により、特に結合メンバーの用量を減らして施行することができる。投与経路は、治療の物理化学的特性により、疾患に関する特別な配慮により、または効力を最適化し、もしくは副作用を最小化する必要性により決定することができる。1つの特定の投与経路は静脈内経路である。本発明の医薬組成物を投与する別の経路は皮下経路である。抗IL-4R α 治療は病院または診療所における使用に制限されず、自宅および職場も含まれ得ることが想定される。したがって、無針デバイスを使用する皮下注射も有利である。

【0271】

本発明の一部の実施形態において、抗体配合物は、高濃度の抗体を含有する。一部の実施形態において、抗体配合物中の抗体濃度は、100mg/mLの抗体よりも大きい。一部の実施形態において、抗体濃度は、約100mg/mLから約200mg/mL、約120mg/mLから約180mg/mL、約140mg/mLから約160mg/mL、または約150mg/mLである。

【0272】

一部の実施形態において、抗体配合物は、より低濃度の抗体、例えば、約10mg/mLから約100mg/mLを含有する。一部の実施形態において、抗体配合物中の抗体濃度は、約20mg/mLから約80mg/mL、約30mg/mLから約70mg/mL、約40mg/mLから約60mg/mL、または約50mg/mLである。一部の実施形態において、より低濃度の抗体を含む抗体配合物は、賦形剤をさらに含む。賦形剤という用語は、本明細書に記載の抗体と配合される薬理学的に不活性な物質を指す。一部の実施形態において、賦形剤は、変性の防止を支援し、またはそうでなければより低濃度における抗体の安定化を支援し得る。

【0273】

医薬組成物中で使用することができる好適な賦形剤は、当技術分野において公知である。例は、例えば、手引き：Gennaro, Alfonso R. : "Remington's Pharmaceutical Sciences", Mack Publishing Company, Easton, Pa., 1990から確認することができる。一部の実施形態において、賦形剤は、「非荷電」賦形剤であり、すなわち、賦形剤は、正「+」電荷も負「-」電荷も担持しない。一部の実施形態において、賦形剤は、フルクトース、グルコース、マンノース、ソルボース、キシロース、ラクトース、マルトース、スクロース、デキストラン、プルラン、デキストリン、シクロデキストリン、可溶性デンプン、トレハロース、ソルビトール、エリスリトール、イソマルト、ラクチトール、マルチトール、キシリトール、グリセロール、ラクチトール、ヒドロキシエチルデンプン、水溶性グルカンからなる群から選択される。一部の実施形態において、賦形剤は、トレハロースである。

【0274】

一部の実施形態において、トレハロースは、抗体配合物中の約50mMから約800mM、約100mMから約500mM、約150mMから約400mM、約200mM、約400mM、約200mM、約300mM、または約250mM、例えば、20から100mg/mLの抗体を含む抗体配合物である。一実施形態において、トレハロースは、抗

体配合物中で約 250 mM である。

【0275】

一部の実施形態において、配合緩衝液は、本質的にリン酸塩を有さない。用語「本質的にリン酸塩を有さない」は、配合緩衝液を指す場合、リン酸イオンを使用せずに pH を緩衝する緩衝液系を指す。したがって、本質的にリン酸塩を有さない緩衝液は、作業 pH において化合物上で存在する（すなわち、共有結合している）リン酸塩部分を有し得るが、リン酸イオンは存在しない。一部の実施形態において、抗体配合物は、本質的には、リン酸塩を有さない。用語「本質的にリン酸塩を有さない」は、抗体配合物を指す場合、リン酸イオンを使用せずに抗体配合物の pH を緩衝する緩衝液系を指す。

【0276】

一部の実施形態において、抗体配合物は、粘度調整剤を含む。一部の例において、抗体配合物は、高濃度の抗体に起因する高粘度を有する。種々の粘度調整剤は、当技術分野において公知である。一部の実施形態において、粘度調整剤は、ヒスチジン、アルギニン、リジン、ポリビニルアルコール、ポリアルキルセルロース、ヒドロキシアルキルセルロース、グリセリン、ポリエチレングリコール、グルコース、デキストロース、およびスクロースからなる群から選択される。一部の実施形態において、粘度調整剤は、リジン、アルギニン、またはヒスチジンである。一部の実施形態において、粘度調整剤は、アルギニンである。一部の実施形態において、粘度調整剤は、塩形態、例えば、アルギニン、リジンまたはヒスチジンの塩を含む。一部の実施形態において、粘度調整剤は、アミノ酸、例えば、L 型アミノ酸、例えば、L-アルギニン、L-リジン、または L-ヒスチジンである。一部の実施形態において、粘度調整剤は、約 50 mM から約 400 mM、または約 100 mM から約 250 mM の濃度である。一部の実施形態において、粘度調整剤は、約 190 mM の濃度である。一部の実施形態において、粘度調整剤は、約 100 mM から約 250 mM の濃度のアルギニンである。一部の実施形態において、粘度調整剤は、約 100 mM から約 250 mM の濃度のアルギニン-HCl である。一部の実施形態において、粘度調整剤は、約 190 mM の濃度のアルギニンである。一部の実施形態において、粘度調整剤は、約 190 mM の濃度のアルギニン-HCl である。

【0277】

一部の実施形態において、粘度調整剤は、23℃における約 40 cP 未満、23℃における約 30 cP 未満、23℃における約 25 cP 未満、または 23℃における約 20 cP 未満の粘度を得るための量で添加される。一部の実施形態において、粘度調整剤は、23℃における約 1 cP から約 40 cP、23℃における約 2 cP から約 30 cP、23℃における約 5 cP から約 25 cP、または 23℃における約 10 cP から約 20 cP の粘度を得るための量で添加される。

【0278】

一部の実施形態において、界面活性剤が抗体配合物中に存在する。種々の界面活性剤が当業者に公知である。一部の実施形態において、界面活性剤は、非イオン性界面活性剤である。一部の実施形態において、非イオン性界面活性剤は、Triton X-100、Tween 80、ポリソルベート 20、ポリソルベート 80、ノノキシノール-9、ポリオキサマー、ステアシルアルコール、またはモノステアリン酸ソルビタンからなる群から選択される。一部の実施形態において、非イオン性界面活性剤は、ポリソルベート 80 である。本発明者らは、IL-4Rα 抗体を配合する場合、一部の実施形態において、配合物が、約 0.002% から約 0.4%、0.005% から約 0.15%、約 0.002% から約 0.2%、約 0.01% から約 0.1%、または約 0.02% から約 0.08% の非イオン性界面活性剤を含むことを見出した。一部の実施形態において、配合物は、約 0.04% の非イオン性界面活性剤を含む。一部の実施形態において、配合物は、約 0.002% から約 0.4%、約 0.002% から約 0.2%、約 0.005% から約 0.15%、約 0.01% から約 0.1%、または約 0.02% から約 0.08% のポリソルベート 80 を含む。一部の実施形態において、配合物は、約 0.04% のポリソルベート 80 を含む。一部の実施形態において、非イオン性界面活性剤は、CMC 値以上、最大 0.

5 %である。一部の実施形態において、非イオン性界面活性剤の濃度は、凝集を防止または阻害するために十分である。一部の実施形態において、凝集は、可視的分析により決定される。

【0279】

一部の実施形態において、抗体配合物は、配合緩衝液を含む。一部の実施形態において、配合緩衝液は、酢酸緩衝液、T R I S緩衝液、H E P E S緩衝液、塩酸緩衝液、アルギニン緩衝液、グリシン緩衝液、クエン酸緩衝液、またはT E S緩衝液である。一部の実施形態において、配合緩衝液は、アルギニン緩衝液である。一部の実施形態において、アルギニン緩衝液は、アルギニン塩酸塩を含む。一部の実施形態において、アルギニン緩衝液は、ヒスチジンをさらに含む。一部の実施形態において、ヒスチジンは、Lーヒスチジン／Lーヒスチジン塩酸塩である。

10

【0280】

配合緩衝液は、種々の濃度のアルギニンを含み得る。一部の実施形態において、配合緩衝液は、約10 mMから約40 mMのLーヒスチジン／Lーヒスチジン塩酸塩を含む。一部の実施形態において、配合緩衝液は、約25 mMのLーヒスチジン／Lーヒスチジン塩酸塩を含む。

【0281】

種々の追加の賦形剤を抗体配合物中に見出すことができる。一部の実施形態において、配合物は、塩、例えば、NaCl、またはKCl塩をさらに含む。一部の実施形態において、塩は、約100 mMから約200 mMのNaClである。

20

【0282】

抗体配合物は、種々のpHレベルを有し得る。一部の実施形態において、配合物は、約5から約8、約5.5から約8、約6から約8、約6.5から約8、約7から約8のpHを有する。一部の実施形態において、配合物は、約7.0、約7.1、約7.2、約7.3、約7.4、約7.5、約7.6、約7.7、約7.8または約7.9のpHを有する。一部の実施形態において、配合物は、約7.2から約7.6、または約7.4のpHを有する。一部の実施形態において、配合物は、約5.5から約6.5のpHを有する。一部の実施形態において、配合物は、約5.6、約5.7、約5.8、約5.9、約6.0、約6.1、約6.2、約6.3、または約6.4のpHを有する。一部の実施形態において、配合物は、約6.0のpHを有する。

30

【0283】

一部の実施形態において、抗体配合物は、皮下投与に好適な液体配合物である。一部の実施形態において、抗体配合物は、凍結乾燥配合物である。一部の実施形態において、凍結乾燥配合物は、投与前に液体（例えば、水性）形態に再構成される。一部の実施形態において、抗体は、凍結乾燥に供されていない。

【0284】

本発明の抗体配合物は、長期間の貯蔵に好適であり得る。一部の実施形態において、配合物は、約40℃における少なくとも約1週間、少なくとも約2週間、少なくとも約3週間、少なくとも約1ヵ月間、少なくとも約2ヵ月間、少なくとも約3ヵ月間、少なくとも約6ヵ月間、少なくとも約1年間、または少なくとも約18ヵ月間の貯蔵時に安定である。一部の実施形態において、抗体配合物は、約40℃における約2週間から約1年間、約1ヵ月から約1年間、約2ヵ月から約1年間、または約3ヵ月から約1年間の貯蔵時に安定である。一部の実施形態において、抗体配合物は、約40℃における約2週間から約6ヵ月間、約1ヵ月から約6ヵ月間、約2ヵ月間から約6ヵ月間、または約3ヵ月間から約6ヵ月間の貯蔵時に安定である。

40

【0285】

一部の実施形態において、本明細書に記載の抗体配合物は、攪拌の間に低減した粒子形成を有する。粒子配合物分析は、実施例5に本明細書に記載される。一部の実施形態において、抗体配合物は、実施例5の攪拌実験に供される場合、1,000未満の「 $\geq 10 \mu\text{m}$ の粒子」／mLを有する。一部の実施形態において、抗体配合物は、実施例5の攪拌実

50

験に供される場合、500未満の「 $\geq 10 \mu\text{m}$ の粒子」/mLを有する。一部の実施形態において、抗体配合物は、実施例5の攪拌実験に供される場合、100未満の「 $\geq 10 \mu\text{m}$ の粒子」/mLを有する。一部の実施形態において、抗体配合物は、実施例5の攪拌実験に供される場合、1,000未満の「 $\geq 10 \mu\text{m}$ の粒子」/mLを有する。一部の実施形態において、抗体配合物は、実施例5の攪拌実験に供される場合、500未満の「 $\geq 10 \mu\text{m}$ の粒子」/mLを有する。一部の実施形態において、抗体配合物は、実施例5の攪拌実験に供される場合、100未満の「 $\geq 10 \mu\text{m}$ の粒子」/mLを有する。

【0286】

一部の実施形態において、配合物は、約25℃における少なくとも3ヵ月間、少なくとも6ヵ月間、少なくとも9ヵ月間、または少なくとも1年間の貯蔵時に安定である。一部の実施形態において、配合物は、約5℃における少なくとも18ヵ月間、少なくとも24ヵ月間、または少なくとも36ヵ月間の貯蔵時に安定である。

【0287】

一部の実施形態において、約40℃において少なくとも1ヵ月間貯蔵された抗体は、貯蔵されなかった参照抗体と比較して少なくとも50%、少なくとも60%、少なくとも70%、少なくとも80%、少なくとも90%、または少なくとも95%のhIL-4R α ポリペプチドへの結合能を保持する。一部の実施形態において、約5℃において少なくとも6ヵ月間貯蔵された抗体は、貯蔵されなかった参照抗体と比較して少なくとも50%、少なくとも60%、少なくとも70%、少なくとも80%、少なくとも90%、または少なくとも95%のhIL-4R α ポリペプチドへの結合能を保持する。一部の実施形態において、約40℃において少なくとも1ヵ月間貯蔵された抗体は、貯蔵されなかった参照抗体と比較して少なくとも50%または少なくとも95%のhIL-4R α ポリペプチドへの結合能を保持する。一部の実施形態において、約5℃において少なくとも6ヵ月間貯蔵された抗体は、貯蔵されなかった参照抗体と比較して少なくとも50%または少なくとも95%のhIL-4R α ポリペプチドへの結合能を保持する。

【0288】

一部の実施形態において、配合物は、注射可能な配合物である。一部の実施形態において、配合物は、静脈内、皮下、または筋肉内投与に好適である。

【0289】

本発明の抗体配合物は、輸送、貯蔵および／または投与のための密封容器中に入れることができる。一部の実施形態において、密封容器は、密封バイアルまたは密封シリンジである。一部の実施形態において、容器は、プレフィルドシリンジである。一部の実施形態において、容器は、1回投与量の抗体を含有する使い捨て容器である。一部の実施形態において、本発明は、好適な容器中で抗体配合物を含むヒトへの非経口投与に好適な医薬単位剤形を対象とする。

【0290】

本発明はまた、本明細書に記載の抗体配合物、本明細書に記載の容器、本明細書に記載の単位剤形、および／または本明細書に記載のプレフィルドシリンジを含むキットを対象とし得る。

【0291】

組成物は、治療すべき病態に応じて単独または他の治療との組合せで、同時もしくは連続的に、または1つまたは複数の別の治療剤との併用製剤として投与することができる。

【0292】

IL-4R α についての抗体は、追加の医薬構成要素と組み合わせた併用療法の部分として使用することができる。併用治療、特に抗IL-4R α 結合メンバーおよび1つ以上の他の薬物の組合せを使用して顕著な相乗効果を提供することができる。IL-4R α についての抗体は、本明細書に列記される病態の1つ以上の治療のために、別の1つまたは複数の治療剤と同時にまたは連続してまたは組合せ調製物として投与することができる。

【0293】

一部の実施形態において、本発明の抗体組成物は、以下の薬剤の1つ以上との組合せの

、またはそれに添加した本明細書に記載の抗体を含み得る。

【0294】

・サイトカインまたはサイトカイン機能のアゴニストもしくはアンタゴニスト（例えばサイトカインシグナリング経路に作用する薬剤、例えばSOC S系のモジュレーター）、例えばアルファ、ベータおよび／またはガンマインターフェロン；インシュリン様成長因子I型（IGF-1）、その受容体および関連結合タンパク質；インターロイキン（IL）、例えばIL-1から-33の1つ以上、および／またはインターロイキンアンタゴニストまたはインヒビター、例えばアナキ니라；インターロイキンファミリーメンバーの受容体のインヒビターまたはそのような受容体の特定サブユニットのインヒビター、腫瘍壊死因子アルファ（TNF- α ）インヒビター、例えば抗TNFモノクローナル抗体（例えばインフリキシマブ、アダリムマブおよび／またはCDP-870）および／またはTNF受容体アンタゴニスト、例えば免疫グロブリン分子（例えばエタネルセプト）および／または低分子量薬剤、例えばペントキシフィリン；

・B細胞のモジュレーター、例えばBリンパ球を標的化するモノクローナル抗体（例えばCD20（リツキシマブ）またはMRA-a IL16R）またはTリンパ球を標的化するにすもの（例えばCTLA4-Igまたはアバタセプト）；

・破骨細胞活性を阻害するモジュレーター、例えばRANKLに対する抗体；

・ケモカインまたはケモカイン受容体機能のモジュレーター、例えばCCR1、CCR2、CCR2A、CCR2B、CCR3、CCR4、CCR5、CCR6、CCR7、CCR8、CCR9、CCR10またはCCR11（C-Cファミリーについて）；CXCR1、CXCR2、CXCR3、CXCR4、CXCR5、CXCR6またはCXCL13（C-X-Cファミリーについて）またはCX₃CR1（C-X₃-Cファミリーについて）のアンタゴニスト；

・マトリックスメタロプロテアーゼ（MMP）、すなわちストロメライシン、コラゲナーゼおよびゼラチナーゼならびにアグリカナーゼ、特にコラゲナーゼ-1（MMP-1）、コラゲナーゼ-2（MMP-8）、コラゲナーゼ-3（MMP-13）、ストロメライシン-1（MMP-3）、ストロメライシン-2（MMP-10）および／またはストロメライシン-3（MMP-11）および／またはMMP-9および／またはMMP-12の1つ以上のインヒビター、例えばドキサイクリンなどの薬剤；

・ロイコトリエン生合成インヒビター、5-リポキシゲナーゼ（5-LO）インヒビターまたは5-リポキシゲナーゼ活性化タンパク質（FLAP）アンタゴニスト、例えばジレウトン；ABT-761；フェンレウトン；テボキサリン；Abbott-79175；Abbott-85761；N-（5-置換）-チオフエン-2-アルキルスルホンアミド；2,6-ジ-tert-ブチルフェノールヒドラゾン；メトキシテトラヒドロピラン、例えばZeneca ZD-2138；化合物SB-210661；ピリジニル置換2-シアノナフタレン化合物、例えばL-739,010；2-シアノキノリン化合物、例えばL-746,530；インドールおよび／またはキノリン化合物、例えばMK-591、MK-886および／またはBAYx1005；

・フェノチアジン-3-1、例えばL-651,392；アミジノ化合物、例えばCGS-25019c；ベンゾキサミン（benzoxalamines）、例えばオンタゾラスト；ベンゼンカルボキシミドアミド、例えばBII L284/260；および化合物、例えばザフィルルカスト、アブルカスト、モンテルカスト、プラナルカスト、ベルルカスト（MK-679）、RG-12525、Ro-245913、イラルカスト（CGP45715A）およびBAYx7195からなる群から選択されるロイコトリエン（LT）B4、LTC4、LTD4、およびLTE4の受容体アンタゴニスト；

・ホスホジエステラーゼ（PDE）インヒビター、例えばメチルキサントニン（methylxanthanine）、例えばテオフィリンおよび／またはアミノフィリン；および／または選択的PDEアイソザイムインヒビター、例えばPDE4インヒビターおよび／またはアイソフォームPDE4Dのインヒビターおよび／またはPDE5のインヒビター；

10

20

30

40

50

・ヒスタミン1型受容体アンタゴニスト、例えばセチリジン、ロラタジン、デスロラタジン、フェキソフェナジン、アクリバスチン、テルフェナジン、アステミゾール、アゼラスチン、レボカバスチン、クロルフェニラミン、プロメタジン、シクリジン、および／またはミゾラスチン（一般に、経口、局所または非経口で適用される）；

・プロトンポンプインヒビター（例えばオメプラゾール）または胃保護性ヒスタミン2型受容体アンタゴニスト；

・ヒスタミン4型受容体のアンタゴニスト；

・アルファ1／アルファ2アドレナリン受容体アゴニスト血管収縮性交感神経様作用剤、例えばプロピルヘキセドリン、フェニレフリン、フェニルプロパノールアミン、エフェドリン、シュードエフェドリン、塩酸ナファゾリン、塩酸オキシメタゾリン、塩酸テトラヒドロゾリン、塩酸キシロメタゾリン、塩酸トラマゾリンおよび塩酸エチルノルエピネフリン；

・抗コリン作動剤、例えばムスカリン受容体（例えば、M1、M2、M3、M4またはM5）アンタゴニスト、例えばアトロピン、ヒョスチン、グリコピロレート、臭化イプラトロピウム、臭化チオトロピウム、臭化オキシトロピウム、ピレンゼピンおよびテレンゼピン；

・ベーターアドレナリン受容体アゴニスト（例としてベータ受容体サブタイプ1～4）、例えばイソプレナリン、サルブタモール、ホルモテロール、サルメテロール、テルブタリン、オルシプレナリン、メシル酸ビトルテロールおよび／またはビルブテロール、例えばそのキラリエナンチオマー；

・クロモン、例えばクロモグリク酸ナトリウムおよび／またはネドクロミルナトリウム；

・グルココルチコイド、例えばフルニソリド、トリアムシノロンアセトニド、ジプロピオン酸ベクロメタゾン、ブデソニド、プロピオン酸フルチカゾン、シクレソニド、および／またはフランカルボン酸モメタゾン；

・核ホルモン受容体、例えばPPARをモジュレートする薬剤；

・免疫グロブリン（Ig）もしくはIg調製物またはIg機能をモジュレートするアンタゴニストもしくは抗体、例えば抗IgE（例えばオマリズマブ）；

・他の全身または局所適用の抗炎症剤、例えばサリドマイドもしくはその誘導体、レチノイド、ジトラノールおよび／またはカルシポトリオール；

・アミノサリチル酸およびスルファピリジンの組合せ、例えばスルファサラジン、メサラジン、バルサラジド、およびオルサラジン；ならびに免疫調節剤、例えばチオプリン；およびコルチコステロイド、例えばブデソニド；

・抗菌剤、例えばペニシリン誘導体、テトラサイクリン、マクロライド、ベータラクタム、フルオロキノロン、メトロニダゾールおよび／もしくは吸入アミノグリコシド；ならびに／または抗ウイルス剤、例えばアシクロビル、ファムシクロビル、バラシクロビル、ガンシクロビル、シドフォビル；アマンタジン、リマンタジン；リバビリン；ザナマビル（zanamavir）および／またはオセルタマビル（oseltamavir）；プロテアーゼインヒビター、例えばインジナビル、ネルフィナビル、リトナビルおよび／またはサキナビル；ヌクレオシド逆転写酵素インヒビター、例えばジダノシン、ラミブジン、スタブジン、ザルシタビン、ジドブジン；非ヌクレオシド逆転写酵素インヒビター、例えばネビラピン、エファビレンツ；

・心血管作動剤、例えば、カルシウムチャネルブロッカー、ベーターアドレナリン受容体ブロッカー、アンギオテンシン変換酵素（ACE）インヒビター、アンギオテンシン2受容体アンタゴニスト；脂質低下剤、例えばスタチン、および／またはフィブレート；血液細胞形態のモジュレーター、例えばペントキシフィリン；血栓溶解剤および／または抗凝血剤、例えば血小板凝集インヒビター；

・CNS作動剤、例えば抗うつ剤（例えばセルトラリン）、抗パーキンソン薬（例えばデプレニル、L-ドーパ、ロピニロール、プラミペキソール；MAOBインヒビター、例えばセレギンおよびラサギリン；comPインヒビター、例えばtasmar；A-2イ

10

20

30

40

50

ンヒビター、ドーパミン再取り込みインヒビター、NMDAアンタゴニスト、ニコチンアゴニスト、ドーパミンアゴニストおよび／またはニューロンー酸化窒素シンターゼのインヒビター）および抗アルツハイマー薬、例えばドネペジル、リバスチグミン、タクリン、COX-2インヒビター、プロベントフィリンまたはメトリホネート；

・急性および慢性疼痛を治療するための薬剤、例えば中枢または末梢作用鎮痛薬、例えばオピオイド類似体または誘導體、カルバマゼピン、フェニトイン、バルプロ酸ナトリウム、アミトリプチリンまたは他の抗うつ剤、パラセタモール、または非ステロイド性炎症剤；

・非経口または局所適用（吸入を含む）局所麻酔剤、例えばリグノカインまたはその類似体；

・抗骨粗鬆症剤、例えばホルモン剤、例えばラロキシフェン、またはビホスホネート、例えばアレンドロネート；

・（i）トリプターゼインヒビター；（ii）血小板活性化因子（PAF）アンタゴニスト；（iii）インターロイキン変換酵素（ICE）インヒビター；（iv）IMPDHインヒビター；（v）接着分子インヒビター、例としてVLA-4アンタゴニスト；（vi）カテプシン；（vii）キナーゼインヒビター、例えばチロシンキナーゼのインヒビター（例えばBtk、Itk、Jak3MAPインヒビターの例にはゲフィチニブ、メシル酸イマチニブが含まれる）、セリン／スレオニンキナーゼ（例えばMAPキナーゼ、例えばp38、JNK、プロテインキナーゼA、BおよびCならびにIKKのインヒビター）、または細胞周期調節に関与するキナーゼ（例えばサイクリン依存性キナーゼ）；（viii）グルコース-6リン酸デヒドロゲナーゼインヒビター；（ix）キニン-Bsub1-および／またはBsub2-受容体アンタゴニスト；（x）抗痛風剤、例えばコルヒチン；（xi）キサンチンオキシダーゼインヒビター、例えばアロプリノール；（xii）尿酸排泄剤、例えばプロベネシド、スルフィンピラゾン、および／またはベンズプロマロン；（xiii）成長ホルモン分泌促進剤；（xiv）トランスフォーミング成長因子（TGFβ）；（xv）血小板由来成長因子（PDGF）；（xvi）線維芽細胞成長因子、例えば塩基性線維芽細胞成長因子（bFGF）；（xvii）顆粒球マクロファージコロニー刺激因子（GM-CSF）；（xviii）カプサイシンクリーム；（xix）タキキニンNKsub1-および／またはNKsub3-受容体アンタゴニスト、例えばNKP-608C、SB-233412（タルネタント）および／またはD-4418；（xx）エラスターゼインヒビター、例えばUT-77および／またはZD-0892；（xxi）TNF-α変換酵素インヒビター（TACE）；（xxii）誘導性一酸化窒素シンターゼ（iNOS）インヒビターまたは（xxiii）TH2細胞上で発現される化学誘引物質受容体相同分子（例えばCRTH2アンタゴニスト）；（xxiv）P38のインヒビター（xxv）Toll様受容体（TLR）の機能をモジュレートする薬剤および（xxvi）プリン受容体の活性をモジュレートする薬剤、例えばP2×7；（xxvii）転写因子活性化、例えばNFκB、API、および／またはSTATSのインヒビター。

【0295】

インヒビターは特異的であるか、または混合インヒビター、例えば上記の分子（例えば受容体）または分子クラスの2つ以上を標的化するインヒビターであり得る。

【0296】

結合メンバーは、化学療法剤または別のチロシンキナーゼインヒビターと会合させて同時投与でまたはイムノコンジュゲートの形態で使用することもできる。前記抗体の断片は、組換え機構または生化学的カップリングおよび次いで上記抗体の特異性を、IL-4Rαが関連する活性に関与する他の分子を認識し得る他の抗体の特異性と会合させることにより得られる二重特異性抗体において使用することもできる。

【0297】

炎症性疾患、例えば、関節リウマチ、骨関節炎、喘息、アレルギー性鼻炎、慢性閉塞性肺疾患（COPD）、アトピー性皮膚炎などの炎症性皮膚疾患、または乾癬の治療につい

10

20

30

40

50

て、本発明の抗体を、1つ以上の薬剤、例えば局所適用であるか全身適用であるかにかかわらず非ステロイド性抗炎症剤（以後NSAID）、例として非選択的シクロオキシゲナーゼ（COX）-1/COX-2インヒビター、例えばピロキシカム、ジクロフェナク、プロピオン酸、例えばナプロキセン、フルルビプロフェン、フェノプロフェン、ケトプロフェンおよびイブプロフェン、フェナメート、例えばメフェナム酸、インドメタシン、スリンダク、アザプロパゾン、ピラゾロン、例えばフェニルブタゾン、サリチレート、例えばアスピリン）；選択的COX-2インヒビター（例えばメロキシカム、セレコキシブ、ロフェコキシブ、バルデコキシブ、ルマロコキシブ（lumarocoxib）、パレコキシブおよびエトリコキシブ）；シクロオキシゲナーゼ阻害一酸化窒素ドナー（CINOD）；グルココルチコステロイド（局所、経口、筋肉内、静脈内または関節内経路による投与のいずれでもよい）；メトトレキセート、レフルノミド；ヒドロキシクロロキン、d-ペニシラミン、オーラノフィンまたは他の非経口もしくは経口金製剤；鎮痛薬；ジアセレイン；関節内治療薬、例えばヒアルロン酸誘導体；および栄養補助食品、例えばグルコサミンと組み合わせることができる。

【0298】

本発明の抗体は、癌を治療するための既存の治療剤と組み合わせて使用することもできる。組み合わせて使用するために好適な薬剤には、以下のものが含まれる：

（i）内科的腫瘍学において使用される抗増殖性／抗悪性腫瘍薬およびその組合せ、例えばGleevec（メシル酸イマチニブ）、アルキル化剤（例えばシスプラチン、カルボプラチン、シクロホスファミド、ナイトロジェンマスタード、メルファラン、クロランブシル、ブスルファンおよびニトロソウレア）；代謝拮抗剤（例えば葉酸拮抗剤、例えばフルオロピリミジン、例えば5-フルオロウラシルおよびテガフル、ラルチトレキセド、メトトレキセート、シトシンアラビノシド、ヒドロキシウレア、ゲムシタビンおよびパクリタキセル）；抗腫瘍性抗生物質（例えばアントラサイクリン、例えばアドリアマイシン、ブレオマイシン、ドキソルビシン、ダウノマイシン、エピルビシン、イダルビシン、マイトマイシン-C、ダクチノマイシンおよびミトラマイシン）；有糸分裂阻害剤（例えばビンカアルカロイド、例えばビンクリスチン、ビンブラスチン、ビンデシンおよびビノレルビンおよびタキソイド、例えばタキソールおよびタキソテル）；およびトポイソメラーゼインヒビター（例えばエポドフィロトキシン、例えばエトポシドおよびテニポシド、アムサクリン、トポテカンおよびカンプトセシン）；

（ii）細胞増殖抑制剤、例えば抗エストロゲン剤（例えばタモキシフェン、トレミフェン、ラロキシフェン、ドロロキシフェンおよびヨードキシフェン（iodoxyfene））、エストロゲン受容体下方調節因子（例えばフルベストラント）、抗アンドロゲン剤（例えばビカルタミド、フルタミド、ニルタミドおよび酢酸シプロテロン）、LHRHアンタゴニストまたはLHRHアゴニスト（例えばゴセレリン、ロイプロレリンおよびブセレリン）、プロゲステゲン（例えば酢酸メゲストロール）、アロマターゼインヒビター（例えばアナストロゾール、レトロゾール、ボラゾール（vorazole）およびエキセメスタンとして）および5 α -レダクターゼのインヒビター、例えばフィナステリド；

（iii）癌細胞侵襲を阻害する薬剤（例えばメタロプロテイナーゼインヒビター、例えばマリマスタットおよびウロキナーゼプラスミノーゲンアクチベーター受容体機能のインヒビター）；

（iv）成長因子機能のインヒビター、例えば、そのようなインヒビターには、成長因子抗体、成長因子受容体抗体（例えば抗erbB2抗体トラスツズマブおよび抗erbB1抗体セツキシマブ〔C225〕）、ファルネシルトランスフェラーゼインヒビター、チロシンキナーゼインヒビターおよびセリン／スレオニンキナーゼインヒビター、例えば上皮細胞成長因子ファミリーのインヒビター（例えばEGFRファミリーチロシンキナーゼインヒビター、例えばN-（3-クロロ-4-フルオロフェニル）-7-メトキシ-6-（3-モルホリノプロポキシ）キナゾリン-4-アミン（ゲフィチニブ、AZD1839）、N-（3-エチニルフェニル）-6, 7-ビス（2-メトキシエトキシ）キナゾリン-4-アミン（エルロチニブ、OSI-774）および6-アクリルアミド-N-（3-ク

10

20

30

40

50

ロロ-4-フルオロフェニル)-7-(3-モルホリノプロポキシ)キナゾリン-4-アミン(CI 1033))、例えば血小板由来成長因子ファミリーのインヒビターおよび例えば肝細胞成長因子ファミリーのインヒビターが含まれ；

(v) 血管新生阻害剤、例えば血管内皮成長因子の効果を阻害するもの(例えば抗血管内皮細胞成長因子抗体ベバシズマブ、国際公開第97/22596号パンフレット、国際公開第97/30035号パンフレット、国際公開第97/32856号パンフレットおよび国際公開第98/13354号パンフレット(いずれも参照により本明細書に組み込まれる)に開示されている化合物等の化合物および他の機構により作用する化合物(例えばリノマイド、インテグリン $\alpha v \beta 3$ 機能のインヒビターおよびアンギオスタチン)；

(v i) 血管損傷剤、例えばコンプレタスタチンA4および国際公開第99/02166号パンフレット、国際公開第00/40529号パンフレット、国際公開第00/41669号パンフレット、国際公開第01/92224号パンフレット、国際公開第02/04434号パンフレットおよび国際公開第02/08213号パンフレット(そのそれぞれは、全体として本明細書に組み込まれる)に開示されている化合物；

(v i i) アンチセンス治療薬、例えば上記列挙される標的に指向されるもの、例えば I S I S 2 5 0 3、抗 r a s アンチセンス；

(v i i i) 遺伝子治療アプローチ、例として例えば異常遺伝子、例えば異常 p 5 3 または異常 B R C A 1 もしくは B R C A 2 を置き換えるアプローチ、G D E P T (遺伝子指向性酵素プロドラッグ治療)アプローチ、例えばシトシンデアミナーゼ、チミジンキナーゼまたは細菌性ニトロレダクターゼ酵素を使用するアプローチおよび化学療法または放射線療法に対する患者の耐容性を増加させるアプローチ、例えば多剤耐性遺伝子治療；ならびに

(i x) 免疫療法アプローチ、例として例えば患者腫瘍細胞の免疫原性を高めるエキスポおよびインビボアプローチ、例えばサイトカイン、例えばインターロイキン2、インターロイキン4または顆粒球マクロファージコロニー刺激因子による形質移入、T細胞不応答を減少させるアプローチ、形質移入された免疫細胞、例えばサイトカインにより形質移入された樹状細胞を使用するアプローチ、サイトカインにより形質移入された腫瘍細胞系を使用するアプローチおよび抗イディオタイプ抗体を使用するアプローチ。

【0299】

本発明の抗体および上記の追加医薬構成要素の1つ以上を医薬品の製造において使用することができる。医薬品は個体に対する別個または組合せ投与用であり得、したがって結合メンバーおよび追加の構成要素を組合せ調製物または別個の調製物として含み得る。別個の調製物を使用して、別個の連続する投与または同時投与を促進し、異なる経路、例えば経口および非経口投与による構成要素の投与を可能にする。

【0300】

本発明によれば、提供される組成物は、哺乳動物に投与することができる。投与は「治療有効量」で行われ、それは患者に利益を示すために十分な量であり得る。そのような利益は少なくとも1つの症状の少なくとも改善であり得る。実際の投与量、ならびに投与の割合および時間経過は、治療されるものの性質および重症度、治療対象の具体的な哺乳動物、個々の患者の臨床的状态、疾患の原因、組成物の送達部位、結合メンバーのタイプ、投与方法、投与計画および医師に公知の他の要因に依存する。治療の処方、例えば用量などの決定は一般開業医および他の医師の責任の範囲内であり、症状の重症度および/または治療される疾患の進行に依存し得る。抗体の適切な用量は当技術分野において周知である(Ledermann et al. Int. J. Cancer 47:659-664, 1991; Bagshawe et al. Antibody, Immunocjugates and Radiopharmaceuticals 4:915-922, 1991)。投与される医薬品のタイプに応じて本明細書またはPhysician's Desk Reference(2005)に記載の具体的な用量を適宜使用することができる。本発明の抗体の治療有効量または好適な用量は、そのインビトロ活性および動物モデルにおけるインビボ活性を比較することにより決定することができる。マウス

および他の試験動物における有効投与量をヒトに対して外挿する方法が公知である。厳密な用量は、多数の要因、例として抗体が診断用であるか、予防用であるかまたは治療用であるか、治療すべき領域のサイズおよび位置、抗体の厳密な性質（例えば完全抗体、断片またはダイアボディ）および抗体に付着している任意の検出可能な標識または他の分子の性質に依存する。典型的な抗体用量は、全身適用について100 μgから1gの範囲であり、局所適用について1 μgから1mgの範囲である。最初に高負荷用量を投与し、次いで1回以上の低用量を投与することができる。典型的には、抗体は完全抗体であり、例えばIgG1アイソタイプである。これは成体患者の単回治療についての用量であり、小児および乳児に関して比例的に調節することができ、分子量に比例して他の抗体フォーマットについて調節することもできる。治療は、医師の裁量において毎日、週2回、毎週または毎月の間隔で繰り返すことができる。治療は、皮下投与について2から4週毎であり得、静脈内投与について4から8週毎であり得る。本発明の一部の実施形態において、治療は定期的であり、投与間の期間は約2週間以上、例えば約3週間以上、約4週間以上、または約月1回である。本発明の他の実施形態において、治療は、外科手術前および／もしくは後に施すことができ、ならびに外科治療の解剖部位に直接投与または適用することができる。

10

【0301】

本発明はまた、安定な水性抗体配合物を産生する方法であって、抗体を、本明細書に記載のヒトインターロイキン-4受容体アルファ（hIL-4Rα）に特異的に結合する約100mg/mLから約200mg/mLの抗体またはその断片に精製し、次いで単離された抗体を安定化配合物中に入れて安定な水性抗体配合物を形成することを含み、得られる安定な水性抗体配合物が、（1）約100mg/mLから約200mg/mLの抗体；（2）約50mMから約400mMの粘度調整剤；（3）約0.01%から約0.2%の非イオン性界面活性剤；および（4）配合緩衝液を含む方法を対象とする。一部の実施形態において、抗体は、トレハロース、アルギニン、またはそれらの組合せの存在下で濃縮される。一部の実施形態において、トレハロース、アルギニン、またはそれらの組合せを添加してタンジェンシャルフロー濾過プロセスを支援する。

20

【0302】

ある実施形態において、本発明は、以下のものを対象とする：

30

1. 安定な抗体配合物であって：

a. 本明細書に記載のヒトインターロイキン-4受容体アルファ（hIL-4Rα）に特異的に結合する約100mg/mLから約200mg/mLの抗体またはその断片：

（I）抗体が、CDRのセット：HC DR 1、HC DR 2、HC DR 3、LC DR 1、LC DR 2およびLC DR 3を含み、CDRのセットが、以下のCDRの参照セット：

HC DR 1が、配列番号193のアミノ酸配列を有し；

HC DR 2が、配列番号194のアミノ酸配列を有し；

HC DR 3が、配列番号195のアミノ酸配列を有し；

LC DR 1が、配列番号198のアミノ酸配列を有し；

LC DR 2が、配列番号199のアミノ酸配列を有し；

LC DR 3が、配列番号200のアミノ酸配列を有するもの

40

からの10以下のアミノ酸置換を有し；

（II）

HC DR 1が、配列番号363のアミノ酸配列を有し；

HC DR 2が、配列番号364のアミノ酸配列を有し；

HC DR 3が、配列番号365のアミノ酸配列を有し；

LC DR 1が、配列番号368のアミノ酸配列を有し；

LC DR 2が、配列番号369のアミノ酸配列を有し；

LC DR 3が、配列番号370のアミノ酸配列を有し；

もしくは

HC DR 1が、配列番号233のアミノ酸配列を有し；

50

- HCDR2が、配列番号234のアミノ酸配列を有し；
HCDR3が、配列番号235のアミノ酸配列を有し；
LCDR1が、配列番号238のアミノ酸配列を有し；
LCDR2が、配列番号239のアミノ酸配列を有し；
LCDR3が、配列番号240のアミノ酸配列を有し；
（III）抗体が、VHドメインを含み；
i. VHドメインが、配列番号192のアミノ酸配列を有し；
ii. VHドメインが、配列番号362のアミノ酸配列を有し；もしくは
iii. VHドメインが、配列番号232のアミノ酸配列を有し；
VHドメインが、Kabatの標準ナンバリングを使用してフレームワーク領域内の以下の残基： 10
HFW1中の11、12；
HFW2中の37、48；
HFW3中の68、84、85；もしくは
HFW4中の105、108、113
における1つ以上のアミノ酸置換を含み；
（IV）抗体が、VLドメインを含み；
i. VLドメインが、配列番号197のアミノ酸配列を有し；
ii. VLドメインが、配列番号367のアミノ酸配列を有し；もしくは
iii. VLドメインが、配列番号237のアミノ酸配列を有し； 20
VLドメインが、Kabatの標準ナンバリングを使用してフレームワーク領域内の以下の残基：
LFW1中の1、2、3、9；
LFW2中の38、42；もしくは
LFW3中の58、65、66、70、74、85、87
における1つ以上のアミノ酸置換を含み；
または
（V）抗体またはその断片が、VHおよびVLドメインを含み；
i. VHドメインが、配列番号192のアミノ酸配列を有し、VLドメインが、配列番号197のアミノ酸配列を有し； 30
ii. VHドメインが、配列番号362のアミノ酸配列を有し、VLドメインが、配列番号367のアミノ酸配列を有し；もしくは
iii. VHドメインが、配列番号232のアミノ酸配列を有し、VLドメインが、配列番号237のアミノ酸配列を有し；
VHドメインおよびVLドメインが、Kabatの標準ナンバリングを使用してフレームワーク領域内の以下の残基：
HFW1中の11、12；
HFW2中の37、48；
HFW3中の68、84、85；
HFW4中の105、108、113； 40
LFW1中の1、2、3、9；
LFW2中の38、42；もしくは
LFW3中の58、65、66、70、74、85、87
における1つ以上のアミノ酸置換を含む；
または（I）～（V）の任意の組合せ；および
b. 約50mMから約400mMの粘度調整剤；
c. 約0.002%から約0.2%の非イオン性界面活性剤；および
d. 配合緩衝液
を含む抗体配合物。
2. 配合緩衝液が、本質的にリン酸塩を有さない、請求項1に記載の抗体配合物。 50

3. 粘度調整剤が、ヒスチジン、アルギニン、リジン、ポリビニルアルコール、ポリアルキルセルロース、ヒドロキシアルキルセルロース、グリセリン、ポリエチレングリコール、グルコース、デキストロース、およびスクロースからなる群から選択される、請求項2に記載の抗体配合物。

4. 粘度調整剤が、リジン、アルギニン、またはヒスチジンである、請求項1～3のいずれか一項に記載の抗体配合物。

5. 粘度調整剤が、アルギニンである、請求項4に記載の抗体配合物。

6. 粘度調整剤が、約100mMから約250mMの濃度である、請求項1～4のいずれか一項に記載の抗体配合物。

7. 粘度調整剤が、約190mMの濃度である、請求項1～5のいずれか一項に記載の抗体配合物。

8. 非イオン性界面活性剤が、T r i t o n X-100、T w e e n 80、ポリソルベート20、ポリソルベート80、ノノキシノール9、ポリオキサマー、ステアリルアルコール、またはモノステアリン酸ソルビタンからなる群から選択される、請求項1～7のいずれか一項に記載の抗体配合物。

9. 非イオン性界面活性剤が、ポリソルベート80である、請求項8に記載の抗体配合物。

10. 約0.02%から約0.08%の非イオン性界面活性剤を含む、請求項1～9のいずれか一項に記載の抗体配合物。

11. 約0.04%の非イオン性界面活性剤を含む、請求項10に記載の抗体配合物。

12. 配合緩衝液が、酢酸緩衝液、T R I S緩衝液、H E P E S緩衝液、塩酸緩衝液、アルギニン緩衝液、グリシン緩衝液、クエン酸緩衝液、またはT E S緩衝液である、請求項1～11のいずれか一項に記載の抗体配合物。

13. 配合緩衝液が、アルギニン緩衝液である、請求項12に記載の抗体配合物。

14. アルギニン緩衝液が、アルギニン塩酸塩を含む、請求項13に記載の抗体配合物。

15. アルギニン緩衝液が、ヒスチジンをさらに含む、請求項14に記載の抗体配合物。

16. ヒスチジンが、L-ヒスチジン/L-ヒスチジン塩酸塩である、請求項15に記載の抗体配合物。

17. アルギニン緩衝液が、約10mMから約40mMのL-ヒスチジン/L-ヒスチジン塩酸塩を含む、請求項16に記載の抗体配合物。

18. アルギニン緩衝液が、約25mMのL-ヒスチジン/L-ヒスチジン塩酸塩を含む、請求項17に記載の抗体配合物。

19. 約100mMから約200mMのN a C lをさらに含む、請求項1～18のいずれか一項に記載の抗体配合物。

20. 約5から約8のpHを有する、請求項1～19のいずれか一項に記載の抗体配合物。

21. 約6のpHを有する、請求項20に記載の抗体配合物。

22. 抗体が、CDRのセット：H C D R 1、H C D R 2、H C D R 3、L C D R 1、L C D R 2およびL C D R 3を含み、CDRのセットが、以下のCDRの参照セット：

H C D R 1が、配列番号193のアミノ酸配列を有し；

H C D R 2が、配列番号194のアミノ酸配列を有し；

H C D R 3が、配列番号195のアミノ酸配列を有し；

L C D R 1が、配列番号198のアミノ酸配列を有し；

L C D R 2が、配列番号199のアミノ酸配列を有し；

L C D R 3が、配列番号200のアミノ酸配列を有するもの

からの10以下のアミノ酸置換を有する、請求項1に記載の抗体配合物。

23. アミノ酸置換が、図15および16に示される1つ以上の置換を含む、請求項22に記載の抗体配合物。

24. アミノ酸置換が、K a b a tの標準ナンバリングを使用してCDR内の以下の残基：

10

20

30

40

50

H C D R 2 中の 5 3、5 7；

H C D R 3 中の 9 7、9 8、9 9、1 0 1、1 0 2；

L C D R 1 中の 2 7、2 7 A、2 7 B、3 1；

L C D R 2 中の 5 6；または

L C D R 3 中の 9 2、9 3、9 4、9 5、9 5 A、9 5 B、9 5 C、9 6、9 7

の 1 つ以上におけるアミノ酸置換を含む、請求項 2 2 に記載の抗体配合物。

2 5. K a b a t の標準ナンバリングを使用してフレームワーク領域内の以下の残基：

H F W 1 中の 1 1、1 2；

H F W 2 中の 3 7、4 8；

H F W 3 中の 6 8、8 4、8 5；

H F W 4 中の 1 0 5、1 0 8、1 1 3；

L F W 1 中の 1、2、3、9；

L F W 2 中の 3 8、4 2；または

L F W 3 中の 5 8、6 5、6 6、7 0、7 4、8 5、8 7

における 1 つ以上のアミノ酸置換をさらに含む、請求項 2 2 に記載の抗体配合物。

2 6. フレームワーク領域中のアミノ酸置換が、図 1 5 および 1 6 に示される 1 つ以上の置換を含む、請求項 2 5 に記載の抗体配合物。

2 7. 抗体またはその断片が、ヒトインターロイキン-4 受容体アルファ（h I L - 4 R α）に特異的に結合し、

（ I ）

H C D R 1 が、配列番号 3 6 3 のアミノ酸配列を有し；

H C D R 2 が、配列番号 3 6 4 のアミノ酸配列を有し；

H C D R 3 が、配列番号 3 6 5 のアミノ酸配列を有し；

L C D R 1 が、配列番号 3 6 8 のアミノ酸配列を有し；

L C D R 2 が、配列番号 3 6 9 のアミノ酸配列を有し；

L C D R 3 が、配列番号 3 7 0 のアミノ酸配列を有し；

または

（ I I ）

H C D R 1 が、配列番号 2 3 3 のアミノ酸配列を有し；

H C D R 2 が、配列番号 2 3 4 のアミノ酸配列を有し；

H C D R 3 が、配列番号 2 3 5 のアミノ酸配列を有し；

L C D R 1 が、配列番号 2 3 8 のアミノ酸配列を有し；

L C D R 2 が、配列番号 2 3 9 のアミノ酸配列を有し；

L C D R 3 が、配列番号 2 4 0 のアミノ酸配列を有する、

請求項 1 に記載の抗体配合物。

2 8. 抗体またはその断片が、抗体 V H ドメインおよび抗体 V L ドメインを含み、V H ドメインが、H C D R 1、H C D R 2、H C D R 3 および第 1 のフレームワークを含み、V L ドメインが、L C D R 1、L C D R 2、L C D R 3 および第 2 のフレームワークを含む、請求項 2 2 または 2 7 に記載の抗体配合物。

2 9. 抗体が、s c F v である、請求項 1 ～ 2 8 のいずれか一項に記載の抗体配合物。

3 0. 抗体が、抗体定常領域を含む、請求項 1 ～ 2 9 のいずれか一項に記載の抗体配合物。

。

3 1. 抗体分子が、I g G 1、I g G 2 または I g G 4 分子である、請求項 1 ～ 3 0 のいずれか一項に記載の抗体配合物。

3 2. 抗体またはその断片が、V H ドメインを含み：

a. V H ドメインが、配列番号 1 9 2 のアミノ酸配列を有し；

b. V H ドメインが、配列番号 3 6 2 のアミノ酸配列を有し；または

c. V H ドメインが、配列番号 2 3 2 のアミノ酸配列を有し；

V H ドメインが、K a b a t の標準ナンバリングを使用してフレームワーク領域内の以下の残基：

10

20

30

40

50

HFW 1 中の 11、12；

HFW 2 中の 37、48；

HFW 3 中の 68、84、85；または

HFW 4 中の 105、108、113

における 1 つ以上のアミノ酸置換を含む、請求項 1 に記載の抗体配合物。

33. フレームワーク領域中のアミノ酸置換が、図 15 および 16 に示される 1 つ以上の置換を含む、請求項 32 に記載の抗体配合物。

34. 抗体が、scFv である、請求項 32 に記載の抗体配合物。

35. 抗体が、抗体定常領域を含む、請求項 32 に記載の抗体配合物。

36. 抗体分子が、IgG1、IgG2 または IgG4 分子である、請求項 32 に記載の抗体配合物。 10

37. 抗体またはその断片が、VL ドメインを含み：

a. VL ドメインが、配列番号 197 のアミノ酸配列を有し；

b. VL ドメインが、配列番号 367 のアミノ酸配列を有し；または

c. VL ドメインが、配列番号 237 のアミノ酸配列を有し；

VL ドメインが、Kabat の標準ナンバリングを使用してフレームワーク領域内の以下の残基：

LFW 1 中の 1、2、3、9；

LFW 2 中の 38、42；または

LFW 3 中の 58、65、66、70、74、85、87 20

における 1 つ以上のアミノ酸置換を含む、請求項 1 に記載の抗体配合物。

38. 抗体分子が、scFv である、請求項 37 に記載の抗体配合物。

39. 抗体分子が、抗体定常領域を含む、請求項 37 に記載の抗体配合物。

40. 抗体分子が、IgG1、IgG2 または IgG4 分子である、請求項 37 に記載の抗体配合物。

41. 抗体またはその断片が、VH および VL ドメインを含み：

a. VH ドメインが、配列番号 192 のアミノ酸配列を有し、VL ドメインが、配列番号 197 のアミノ酸配列を有し；

b. VH ドメインが、配列番号 362 のアミノ酸配列を有し、VL ドメインが、配列番号 367 のアミノ酸配列を有し；または 30

c. VH ドメインが、配列番号 232 のアミノ酸配列を有し、VL ドメインが、配列番号 237 のアミノ酸配列を有し；

VH ドメインおよび VL ドメインが、Kabat の標準ナンバリングを使用してフレームワーク領域内の以下の残基：

HFW 1 中の 11、12；

HFW 2 中の 37、48；

HFW 3 中の 68、84、85；

HFW 4 中の 105、108、113；

LFW 1 中の 1、2、3、9；

LFW 2 中の 38、42；または 40

LFW 3 中の 58、65、66、70、74、85、87

における 1 つ以上のアミノ酸置換を含む、請求項 1 に記載の抗体配合物。

42. フレームワーク領域中のアミノ酸置換が、図 15 および 16 に示される 1 つ以上の置換を含む、請求項 41 に記載の抗体配合物。

43. 抗体分子が、scFv である、請求項 41 に記載の抗体配合物。

44. 抗体分子が、抗体定常領域を含む、請求項 41 に記載の抗体配合物。

45. 抗体分子が、IgG1、IgG2 または IgG4 分子である、請求項 41 に記載の抗体配合物。

46. 前記抗体が、凍結乾燥に供されなかった、請求項 1～45 のいずれか一項に記載の抗体配合物。 50

47. 約40℃における少なくとも1ヵ月間の貯蔵時に安定である、請求項1～46のいずれか一項に記載の抗体配合物。

48. 約40℃における1ヵ月間の貯蔵後に1000未満の「 $\geq 10 \mu\text{m}$ の粒子」/mLを有する、請求項1～47のいずれか一項に記載の抗体配合物。

49. 23℃において20cP未満の粘度を有する、請求項1～48のいずれか一項に記載の抗体配合物。

50. 安定な抗体配合物であって：

a. ヒトインターロイキン-4受容体アルファ（hIL-4R α ）に特異的に結合する約100mg/mLから約200mg/mLの抗体またはその断片：

(I) 抗体が、CDRのセット：HC DR 1、HC DR 2、HC DR 3、LC DR 1、LC DR 2およびLC DR 3を含み、CDRのセットが、以下のCDRの参照セット： 10

HC DR 1が、配列番号193のアミノ酸配列を有し；

HC DR 2が、配列番号194のアミノ酸配列を有し；

HC DR 3が、配列番号195のアミノ酸配列を有し；

LC DR 1が、配列番号198のアミノ酸配列を有し；

LC DR 2が、配列番号199のアミノ酸配列を有し；

LC DR 3が、配列番号200のアミノ酸配列を有するもの

からの10以下のアミノ酸置換を有し；

(II)

HC DR 1が、配列番号363のアミノ酸配列を有し； 20

HC DR 2が、配列番号364のアミノ酸配列を有し；

HC DR 3が、配列番号365のアミノ酸配列を有し；

LC DR 1が、配列番号368のアミノ酸配列を有し；

LC DR 2が、配列番号369のアミノ酸配列を有し；

LC DR 3が、配列番号370のアミノ酸配列を有し；

もしくは

HC DR 1が、配列番号233のアミノ酸配列を有し；

HC DR 2が、配列番号234のアミノ酸配列を有し；

HC DR 3が、配列番号235のアミノ酸配列を有し；

LC DR 1が、配列番号238のアミノ酸配列を有し； 30

LC DR 2が、配列番号239のアミノ酸配列を有し；

LC DR 3が、配列番号240のアミノ酸配列を有し；

(III) 抗体が、VHドメインを含み、

i. VHドメインが、配列番号192のアミノ酸配列を有し；

ii. VHドメインが、配列番号362のアミノ酸配列を有し；もしくは

iii. VHドメインが、配列番号232のアミノ酸配列を有し；

VHドメインが、Kabatの標準ナンバリングを使用してフレームワーク領域内の以下の残基：

HFW1中の11、12；

HFW2中の37、48； 40

HFW3中の68、84、85；もしくは

HFW4中の105、108、113

における1つ以上のアミノ酸置換を含み；

(IV) 抗体が、VLドメインを含み、

iv. VLドメインが、配列番号197のアミノ酸配列を有し；

v. VLドメインが、配列番号367のアミノ酸配列を有し；もしくは

vi. VLドメインが、配列番号237のアミノ酸配列を有し；

VLドメインが、Kabatの標準ナンバリングを使用してフレームワーク領域内の以下の残基：

LFW1中の1、2、3、9； 50

LFW2中の38、42；もしくは
LFW3中の58、65、66、70、74、85、87
における1つ以上のアミノ酸置換を含み；
または

(V) 抗体またはその断片が、VHおよびVLドメインを含み、
i v. VHドメインが、配列番号192のアミノ酸配列を有し、VLドメインが、配列番号197のアミノ酸配列を有し；
v. VHドメインが、配列番号362のアミノ酸配列を有し、VLドメインが、配列番号367のアミノ酸配列を有し；もしくは
v i. VHドメインが、配列番号232のアミノ酸配列を有し、VLドメインが、配列番号237のアミノ酸配列を有し；
VHドメインおよびVLドメインが、Kabatの標準ナンバリングを使用してフレームワーク領域内の以下の残基：

HFW1中の11、12；
HFW2中の37、48；
HFW3中の68、84、85；
HFW4中の105、108、113；
LFW1中の1、2、3、9；
LFW2中の38、42；もしくは

LFW3中の58、65、66、70、74、85、87
における1つ以上のアミノ酸置換を含む；

または(I)～(V)の任意の組合せ；および

b. 約50mMから約400mMのアルギニン；
c. 約0.002%から約0.2%のポリソルベート80；および
d. 約10から約40mMのL-ヒスチジン／L-ヒスチジン塩酸塩
を有する抗体配合物。

51. 安定な抗体配合物であって：

a. ヒトインターロイキン-4受容体アルファ(hIL-4Rα)に特異的に結合する約100mg/mLから約200mg/mLの抗体またはその断片：

(I) 抗体が、CDRのセット：HCDR1、HCDR2、HCDR3、LCDR1、LCDR2およびLCDR3を含み、CDRのセットが、以下のCDRの参照セット：

HCDR1が、配列番号193のアミノ酸配列を有し；
HCDR2が、配列番号194のアミノ酸配列を有し；
HCDR3が、配列番号195のアミノ酸配列を有し；
LCDR1が、配列番号198のアミノ酸配列を有し；
LCDR2が、配列番号199のアミノ酸配列を有し；
LCDR3が、配列番号200のアミノ酸配列を有するもの
からの10以下のアミノ酸置換を有し；

(II)

HCDR1が、配列番号363のアミノ酸配列を有し；
HCDR2が、配列番号364のアミノ酸配列を有し；
HCDR3が、配列番号365のアミノ酸配列を有し；
LCDR1が、配列番号368のアミノ酸配列を有し；
LCDR2が、配列番号369のアミノ酸配列を有し；
LCDR3が、配列番号370のアミノ酸配列を有し；
もしくは

HCDR1が、配列番号233のアミノ酸配列を有し；
HCDR2が、配列番号234のアミノ酸配列を有し；
HCDR3が、配列番号235のアミノ酸配列を有し；
LCDR1が、配列番号238のアミノ酸配列を有し；

10

20

30

40

50

L C D R 2 が、配列番号 2 3 9 のアミノ酸配列を有し；
 L C D R 3 が、配列番号 2 4 0 のアミノ酸配列を有し；
 (I I I) 抗体が、V H ドメインを含み、
 i v . V H ドメインが、配列番号 1 9 2 のアミノ酸配列を有し；
 v . V H ドメインが、配列番号 3 6 2 のアミノ酸配列を有し；もしくは
 v i . V H ドメインが、配列番号 2 3 2 のアミノ酸配列を有し；
 V H ドメインが、K a b a t の標準ナンバリングを使用してフレームワーク領域内の以下の残基：

H F W 1 中の 1 1、1 2；
 H F W 2 中の 3 7、4 8；
 H F W 3 中の 6 8、8 4、8 5；もしくは
 H F W 4 中の 1 0 5、1 0 8、1 1 3
 における 1 つ以上のアミノ酸置換を含み；

(I V) 抗体が、V L ドメインを含み、
 i v . V L ドメインが、配列番号 1 9 7 のアミノ酸配列を有し；
 v . V L ドメインが、配列番号 3 6 7 のアミノ酸配列を有し；もしくは
 v i . V L ドメインが、配列番号 2 3 7 のアミノ酸配列を有し；
 V L ドメインが、K a b a t の標準ナンバリングを使用してフレームワーク領域内の以下の残基：

L F W 1 中の 1、2、3、9；
 L F W 2 中の 3、4 2；もしくは
 L F W 3 中の 5 8、6 5、6 6、7 0、7 4、8 5、8 7
 における 1 つ以上のアミノ酸置換を含み；

または

(V) 抗体またはその断片が、V H および V L ドメインを含み、
 i v . V H ドメインが、配列番号 1 9 2 のアミノ酸配列を有し、
 V L ドメインが、配列番号 1 9 7 のアミノ酸配列を有し；
 v . V H ドメインが、配列番号 3 6 2 のアミノ酸配列を有し、
 V L ドメインが、配列番号 3 6 7 のアミノ酸配列を有し；もしくは
 v i . V H ドメインが、配列番号 2 3 2 のアミノ酸配列を有し、
 V L ドメインが、配列番号 2 3 7 のアミノ酸配列を有し；
 V H ドメインおよび V L ドメインが、K a b a t の標準ナンバリングを使用してフレームワーク領域内の以下の残基：

H F W 1 中の 1 1、1 2；
 H F W 2 中の 3 7、4 8；
 H F W 3 中の 6 8、8 4、8 5；
 H F W 4 中の 1 0 5、1 0 8、1 1 3；
 L F W 1 中の 1、2、3、9；
 L F W 2 中の 3 8、4 2；もしくは
 L F W 3 中の 5 8、6 5、6 6、7 0、7 4、8 5、8 7
 における 1 つ以上のアミノ酸置換を含む；

または (I) ～ (V) の任意の組合せ；および

b . 約 1 9 0 m M のアルギニン；
 c . 約 0 . 0 4 % のポリソルベート 8 0；および
 d . 約 2 5 m M の L - ヒスチジン / L - ヒスチジン塩酸塩
 を含む抗体配合物。

5 2 . 約 2 5 ℃ における少なくとも 3 ヶ月間の貯蔵時に安定である、請求項 1 ～ 5 1 のいずれか一項に記載の抗体配合物。

5 3 . 約 5 ℃ における少なくとも 1 8 ヶ月間の貯蔵時に安定である、請求項 1 ～ 5 2 のいずれか一項に記載の抗体配合物。

10

20

30

40

50

54. 約40℃において少なくとも1ヵ月間貯蔵された抗体が、貯蔵されなかった参照抗体と比較して少なくとも80%のhIL-4Rαポリペプチドへの結合能を保持する、請求項1～53のいずれか一項に記載の抗体配合物。

55. 約5℃において少なくとも6ヵ月間貯蔵された抗体が、貯蔵されなかった参照抗体と比較して少なくとも80%のhIL-4Rαポリペプチドへの結合能を保持する、請求項1～54のいずれか一項に記載の抗体配合物。

56. 約40℃において少なくとも1ヵ月間貯蔵された抗体が、貯蔵されなかった参照抗体と比較して少なくとも50%のhIL-4Rαポリペプチドへの結合能を保持する、請求項1～55のいずれか一項に記載の抗体配合物。

57. 約5℃において少なくとも6ヵ月間貯蔵された抗体が、貯蔵されなかった参照抗体と比較して少なくとも50%のhIL-4Rαポリペプチドへの結合能を保持する、請求項1～56のいずれか一項に記載の抗体配合物。

58. 注射可能な配合物である、請求項1～57のいずれか一項に記載の抗体配合物。

59. 静脈内、皮下、または筋肉内投与に好適である、請求項1～58のいずれか一項に記載の抗体配合物。

60. 請求項1～59のいずれか一項に記載の抗体配合物を含有する密封容器。

61. 好適な容器中で請求項1～59のいずれか一項に記載の抗体配合物を含むヒトへの非経口投与に好適な医薬単位剤形。

62. 抗体配合物が、静脈内投与、皮下投与、または筋肉内投与される、請求項61に記載の医薬単位剤形。

63. 好適な容器が、プレフィルドシリンジである、請求項61または62に記載の医薬単位剤形。

64. 請求項1～59のいずれか一項に記載の配合物、請求項60に記載の容器、請求項61または62に記載の単位剤形、または請求項63に記載のプレフィルドシリンジを含むキット。

65. 安定な水性抗体配合物を産生する方法であって：

a. 抗体を、ヒトインターロイキン-4受容体アルファ（hIL-4Rα）に特異的に結合する約100mg/mLから約200mg/mLの抗体またはその断片に精製すること：

（I）抗体が、CDRのセット：HC DR 1、HC DR 2、HC DR 3、LC DR 1、LC DR 2およびLC DR 3を含み、CDRのセットが、以下のCDRの参照セット：

HC DR 1が、配列番号193のアミノ酸配列を有し；

HC DR 2が、配列番号194のアミノ酸配列を有し；

HC DR 3が、配列番号195のアミノ酸配列を有し；

LC DR 1が、配列番号198のアミノ酸配列を有し；

LC DR 2が、配列番号199のアミノ酸配列を有し；

LC DR 3が、配列番号200のアミノ酸配列を有するもの

からの10以下のアミノ酸置換を有し；

（II）

HC DR 1が、配列番号363のアミノ酸配列を有し；

HC DR 2が、配列番号364のアミノ酸配列を有し；

HC DR 3が、配列番号365のアミノ酸配列を有し；

LC DR 1が、配列番号368のアミノ酸配列を有し；

LC DR 2が、配列番号369のアミノ酸配列を有し；

LC DR 3が、配列番号370のアミノ酸配列を有し；

もしくは

HC DR 1が、配列番号233のアミノ酸配列を有し；

HC DR 2が、配列番号234のアミノ酸配列を有し；

HC DR 3が、配列番号235のアミノ酸配列を有し；

LC DR 1が、配列番号238のアミノ酸配列を有し；

10

20

30

40

50

L C D R 2 が、配列番号 2 3 9 のアミノ酸配列を有し；
 L C D R 3 が、配列番号 2 4 0 のアミノ酸配列を有し；
 (I I I) 抗体が、V H ドメインを含み、
 V H ドメインが、配列番号 1 9 2 のアミノ酸配列を有し；
 V H ドメインが、配列番号 3 6 2 のアミノ酸配列を有し；もしくは
 V H ドメインが、配列番号 2 3 2 のアミノ酸配列を有し；
 V H ドメインが、K a b a t の標準ナンバリングを使用してフレームワーク領域内の以下の残基：

H F W 1 中の 1 1、1 2；
 H F W 2 中の 3 7、4 8；
 H F W 3 中の 6 8、8 4、8 5；もしくは
 H F W 4 中の 1 0 5、1 0 8、1 1 3
 における 1 つ以上のアミノ酸置換を含み；

10

(I V) 抗体が、V L ドメインを含み、
 V L ドメインが、配列番号 1 9 7 のアミノ酸配列を有し；
 V L ドメインが、配列番号 3 6 7 のアミノ酸配列を有し；もしくは
 V L ドメインが、配列番号 2 3 7 のアミノ酸配列を有し；
 V L ドメインが、K a b a t の標準ナンバリングを使用してフレームワーク領域内の以下の残基：

L F W 1 中の 1、2、3、9；
 L F W 2 中の 3 8、4 2；もしくは
 L F W 3 中の 5 8、6 5、6 6、7 0、7 4、8 5、8 7
 における 1 つ以上のアミノ酸置換を含み；

20

または

(V) 抗体またはその断片が、V H および V L ドメインを含み、
 i . V H ドメインが、配列番号 1 9 2 のアミノ酸配列を有し、
 V L ドメインが、配列番号 1 9 7 のアミノ酸配列を有し；
 i i . V H ドメインが、配列番号 3 6 2 のアミノ酸配列を有し、
 V L ドメインが、配列番号 3 6 7 のアミノ酸配列を有し；もしくは
 i i i . V H ドメインが、配列番号 2 3 2 のアミノ酸配列を有し、
 V L ドメインが、配列番号 2 3 7 のアミノ酸配列を有し；
 V H ドメインおよび V L ドメインが、K a b a t の標準ナンバリングを使用してフレームワーク領域内の以下の残基：

30

H F W 1 中の 1 1、1 2；
 H F W 2 中の 3 7、4 8；
 H F W 3 中の 6 8、8 4、8 5；
 H F W 4 中の 1 0 5、1 0 8、1 1 3；
 L F W 1 中の 1、2、3、9；
 L F W 2 中の 3 8、4 2；もしくは
 L F W 3 中の 5 8、6 5、6 6、7 0、7 4、8 5、8 7

40

における 1 つ以上のアミノ酸置換を含む；

または (I) ～ (V) の任意の組合せ；および

b . 単離された抗体を安定化配合物中に入れて安定な水性抗体配合物を形成することを含み、得られる安定な水性抗体配合物が、

i . 約 1 0 0 m g / m L から約 2 0 0 m g / m L の抗体；
 i i . 約 5 0 m M から約 4 0 0 m M の粘度調整剤；
 i i i . 約 0 . 0 0 2 % から約 0 . 2 % の非イオン性界面活性剤；および
 i v . 配合緩衝液

を含む方法。

6 6 . 抗体を、トレハロース、アルギニン、またはそれら組合せの存在下で濃縮させる、

50

請求項 65 に記載の方法。

67. 対象における肺疾患もしくは障害または慢性炎症性皮膚疾患もしくは障害を治療する方法であって、治療有効量の請求項 1～60 のいずれか一項に記載の抗体配合物を投与することを含む方法。

68. 疾患または障害が、喘息、COPD（例として、慢性気管支炎、末梢気道疾患および肺気腫）、炎症性腸疾患、線維性病態（例として、全身性硬化症、肺線維症、寄生虫誘導肝線維症、および嚢胞性線維症、アレルギー（例として、例えば、アトピー性皮膚炎および食物アレルギー）、移植片拒絶を予防するための移植療法、ならびに遅延型過敏症または接触過敏反応の抑制（アレルギー免疫療法に対するアジュバントとして、およびワクチンアジュバントとして）からなる群から選択される、請求項 67 に記載の方法。

10

69. 肺疾患または障害が、喘息、COPD、好酸球性喘息、好酸球性および好中球性喘息の併発、アスピリン感受性喘息、アレルギー性気管支肺アスペルギルス症、急性および慢性好酸球性気管支炎、急性および慢性好酸球性肺炎、チャージ・ストラウス症候群、好酸球増加症候群、薬物、刺激物質および放射線誘導肺好酸球増加症、感染誘導肺好酸球増加症（真菌、結核、寄生虫）、自己免疫関連肺好酸球増加症、好酸球性食道炎、クローン病、またはそれらの組合せである、請求項 67 に記載の方法。

70. 肺疾患または障害が、喘息である、請求項 69 に記載の方法。

71. 慢性炎症性皮膚障害が、アトピー性皮膚炎、アレルギー性接触皮膚炎、湿疹または乾癬からなる群から選択される、請求項 67 に記載の方法。

72. 炎症性皮膚障害が、アトピー性皮膚炎である、請求項 71 に記載の方法。

20

【0303】

均等物

当業者は、ただ定型的な実験を使用して本明細書に記載の本発明の具体的な実施形態の多くの均等物を認識し、または確認することができる。このような均等物は、以下の特許請求の範囲により包含されるものとする。

【0304】

本明細書に挙げた全ての刊行物、特許および特許出願は、それぞれの個々の刊行物、特許または特許出願が参照により本明細書に組み込まれることが個別具体的に示される同程度に本明細書への参照により本明細書に取り込まれる。

【実施例】

30

【0305】

本発明は、目下、以下の実施例を参照して記載される。これらの実施例は説明にすぎず、本発明は、それらの実施例に限定されるものと解釈すべきでなく、本明細書に提供される教示の結果として明らかになる任意および全てのバリエーションを包含すると解釈すべきである。

【0306】

実施例 1

材料および方法

材料

全ての使用材料は、USP または三極薬局方適合 (Multicompidual) グレードのものであった。全ての溶液および緩衝液は、USP または HPLC 水を使用して調製し、さらなる使用前に 0.2 μm PVDF フィルタ (Millipore) に通して濾過した。精製抗 hIL-4Rα 抗体は、表 1 にまとめるとおり精製した。安定性試験のための精製抗 hIL-4Rα 抗体試料は、バイオセーフティキャビネットフード (BSC) において無菌条件下で精製した。バルク材料は、2～8℃において貯蔵した。

40

【0307】

【表 1】

表 1

バッチ番号	スケール	精製プロセス
SP09-339	250L	MabSelect SuRe (洗浄あり);低 pH、Fractogel、TFF
SP10-383	22L	MabSelect SuRe (洗浄あり);低 pH、Poros HS50、Chromasorb、ウイルス濾過、TFF
SP13-108	50L	MabSelect SuRe (洗浄あり);低 pH、Poros HS50、Chromasorb、ウイルス濾過、TFF
SP13-406	5L	MabSelect SuRe (洗浄あり);低 pH、Poros HS50、Mustang Q 、ウイルス濾過、TFF
SP13-118	100L	MabSelect SuRe (洗浄あり);低 pH、Poros HS50、Mustang Q 、ウイルス濾過、TFF

【0308】

タンパク質濃度測定

抗 h I L - 4 R α タンパク質濃度を、現行の配合科学ガイドラインに従って A g i l e n t U V - V i s 分光光度計より 280nm における吸光度の計測により測定した。希釈物を、PBS または配合緩衝液により作製した。全ての試験について $1.77 \text{ (mg/mL)}^{-1} \text{ cm}^{-1}$ の吸光係数を使用してタンパク質濃度を計算した。この数字は、その分子について決定された理論吸光係数に対応する。材料が制約される場合、Nanodrop 2000 (ThermoScientific) を使用して 280nm における吸光度を計測した。

【0309】

サイズ排除クロマトグラフィー (HPSEC) の純度決定

SEC 分析を、現行の配合科学ガイドラインに従って TSK-Gel G3000 を有する Agilent HPLC システムにより実施した。注入容量は、10mg/mL 未満であるが、2.5mg/mL よりも大きい濃度について 250μg の一定の質量を維持するように調整した。HPSEC に使用した希釈剤は、リン酸緩衝生理食塩水 (Sigma) または配合緩衝液であった。

【0310】

可視外観

試料の目視調査は、試料をそれらのそれぞれの容器中で、欧州薬局方 (セクション 2.9.20) から適合された手順に従って粒子スタンダードを使用して粒子について試験することにより実施した。

【0311】

非可視粒子分析

非可視粒子の分析は、現行の配合科学ガイドラインを使用して光遮蔽フローマイクロコピー (Brightwell Microflow Imager, MFI) を使用して実施した。

【0312】

オスモル濃度

オスモル濃度は、Gonotec Osmomat 030-D 浸透計の凝固点降下浸透計により計測した。系の好適性は、参照標準をランすることにより評価した。

【0313】

粘度評価

種々の濃度における抗hIL-4R α 配合物の粘度は、コーンプレートアクセサリ（40mm）を有するAnton Paar MCR301粘度計を使用して計測した。粘度は、1秒当たり1000の剪断速度の高剪断限界において報告した。

【0314】

配合物安定性試験

異なる賦形剤と配合された抗hIL-4R α 抗体を、透明3cc、13mmガラスバイアル中に充填した。スクリーニングの加速のため、試料を、40℃/75%のRHにおける安定性で入れた。リード配合物のより長期の安定性試験のため、加速40℃条件に加え、試験を25℃/60%のRHおよび5℃においても実施した。試料をSEC HPLC およびBioanalyzerにより分析し、バイアルを粒子について目視調査した。さらに、選択された時点を、効力、オスモル濃度、pH、およびマイクロフローイメージング（MFI）について適宜分析した。

10

【0315】

示差走査熱量測定を使用する熱安定性

示差走査熱量測定（DSC）実験は、VP-DSC超高感度示差走査熱量計（Microcal, Northampton, MA）により5mg/mLのタンパク質濃度において96ウェルプレートを使用して実施した。試料を、1時間当たり95℃の速度において25～100℃に加熱した。正規化熱容量（Cp）データを緩衝液ベースライン補正した。

【0316】

実施例2

安定性50mg/mLスクリーニング評価

複数の抗hIL-4R α 抗体配合物の安定性を評価し、安定性の観点から類似することを見出した。40℃のストレス温度における構造（熱）安定性および凝集速度が、本試験において調査されるメインパラメータであった。

20

【0317】

表2は、およそ50mg/mLの濃度における抗hIL-4R α 抗体配合物の40℃における構造安定性（Tm1）および凝集速度/月に対する緩衝液タイプ、糖タイプ、糖レベルおよびアルギニン-HCLレベルの影響に関する調査をまとめる。

【0318】

30

【表 2】

表 2

Ab 濃度 (mg/mL)	配合物	オスモル濃度 (mosm/kg)	計測 Tm (°C)	40°Cにおける 凝集速度 (%/日)
66.1	1) 20mM クエン酸塩、290mM スクロース、pH 6.0	400	61.8	1.7
53.3	2) 20mM ヒスチジン、260mM トレハロース、pH 6.0	320	59.4	2.0
48.9	3) 20mM ヒスチジン、260mM トレハロース、50mM アルギニ ン、pH6.0	431	58.1	1.6
54.9	4) 20mM ヒスチジン、290mM スクロース、50mM アルギニン、 pH6.0	480	58.2	1.7
57.6	5) 20mM ヒスチジン、175mM スクロース、100mM アルギニ ン、pH6.0	404	57.9	1.5

【0319】

表 2 は、全ての抗 h I L - 4 R α 抗体配合物が、40 °C における 1 ヶ月のインキュベーション後に同等の構造安定性 (T m l) および凝集速度を有することを示す。試料 2 および 3 は、アルギニン-H C L の添加が構造安定性にも凝集速度にも影響しないことを示す。試料 4 および 5 は、アルギニン-H C L の濃度の増加が、40 °C における構造安定性も凝集速度も改善しないことを示す。

【0320】

実施例 3

粘度スクリーニング評価

複数の配合物中の 109.8 mg / ml ± 5.8 mg / ml の濃度における抗 h I L - 4 R α 抗体の粘度を評価した。図 1 は、ヒスチジンベース緩衝配合物およびスクロース含有配合物中の抗 h I L - 4 R α 抗体の粘度が、23 °C において > 50 c P であることを示す。このデータは、イオン性賦形剤が、高濃度における抗 h I L - 4 R α 抗体の粘度を皮下送達に適切なレベルに低減させるために必要であることを示す。予備データは、このレベルが 23 °C において < 20 c P であることを示唆する。

【0321】

実施例 4

安定性高濃度スクリーニング評価

抗 h I L - 4 R α 抗体の安定性および粘度を、ヒスチジン / アルギニン-H C L 配合物中で狭い pH 範囲にわたり評価した。この実験は、製造限界を考慮するための産物規格中にカバーされる pH 範囲にわたり安定性および粘度の堅牢性を示すように設計した。表 3 は、安定性および粘度が、許容可能な限界内であり、pH 6.0 ± 0.5 の範囲にわたり堅牢であることを示す。

【0322】

純度損失は、2 ~ 8 °C における 10 ヶ月データに基づき、外挿して H P S E C (高速サイズ排除クロマトグラフィー) により計測して純度の年間損失を計算した。

【0323】

【表3】

表3

pH	配合物	抗体濃度 (mg/ml)	計測 Tm1 (°C)	2-8°C における 純度損失 / 年	23°C における 粘度 (cP)
1) 5.5	25mM ヒスチジン、190mM アルギニン、0.02% PS80	142.8	52.0	0.7	10
2) 6.0	25mM ヒスチジン、190mM アルギニン、0.02% PS80	153.9	56.1	0.7	11
3) 6.5	25mM ヒスチジン、190mM アルギニン、0.02% PS80	150.2	58.4	1	11

10

【0324】

実施例 5

攪拌に対する IL4R 抗体の感受性

20

材料

抗 hIL-4R α 抗体は、25mM のヒスチジン／ヒスチジン-HCl、190mM のアルギニン-HCl、pH 6 中の 140mg/ml で濃度において配合した。使用ポリソルベート 80（植物由来）は、三極薬局方適合 J. T. Baker ブランドであった。水は、インハウス USP 水系から得た。全て他の使用試薬は、薬局方収載グレードであった。

【0325】

試料調製

抗 hIL-4R α 抗体試料を 0.22 μ M の PVDF シリンジフィルタに通して濾過し、ポリプロピレンチューブ中に分注した。ポリソルベート 80 を、それぞれの試料に表 4 に示される変動濃度において添加した。ポリソルベート 80 を含有しない対照試料も調製した（試料 1～3、表 4）。それぞれの試料を、0.22 μ M のシリンジフィルタに通して再度濾過し、3cc ガラスバイアル中に無菌的に充填し、栓をし、アルミニウムオーバーシールにより密封した。バイアルを 600rpm における攪拌に、オービタルシェーカー（Scientific Industries, Inc）を使用して 4 時間供し、または実験の継続時間にわたりベンチ上で直立のままにした。攪拌時間の終了時、試料を可溶性凝集物含有率について高速サイズ排除クロマトグラフィーにより、非可視粒子特徴決定についてフローイメージングにより分析し、大きな粒子または繊維の存在について目視調査した。

30

【0326】

40

【表 4】

表 4

試料番号	hIL4R 抗体濃度	最終 PS80 濃度および ストレス条件
1	0	0% PS80、攪拌なし
2	140	0 % PS80、攪拌なし
3	140	0% PS80、攪拌あり
4	140	0.005% PS80、攪拌あり
5	140	0.01% PS80、攪拌あり
6	140	0.02% PS80、攪拌あり
7	140	0.03% PS80、攪拌あり
8	140	0.04% PS80、攪拌あり
9	140	0.05% PS80、攪拌あり
10	140	0.07% PS80、攪拌あり

10

【0327】

20

純度および可溶性凝集物

高速サイズ排除クロマトグラフィー（HPSEC）は、TSK-GEL G3000S WXLカラムおよびSWガードカラム（Tosoh Bioscience）を280 nmにおけるUV検出で使用して実施した。0.1 Mのリン酸ナトリウム、0.1 Mの硫酸ナトリウム、および0.05%（w/v）のアジ化ナトリウムを含有するpH6.8移動相を使用する20分間の1.0 mL/分の流速を使用して試料をアッセイした。約250 μgのタンパク質を注入した。可溶性凝集物、モノマー、および断片の溶出は、およそ6から8分、8.6分、および9から10分においてそれぞれ生じた。

【0328】

30

目視調査

試料中の粒子レベルを、一連のインハウス硫酸バリウム可視粒子スタンダードに対して比較した。3 ccガラスバイアル中の試料を、暗および明バックグラウンドを有するライトボックスを使用して粒子状および繊維状物質の存在について調査した。試料を、可視粒子を有さないもの、可視粒子をほとんど有さないものまたは多くの粒子に割り当てた。

【0329】

非可視粒子分析

非可視粒子分析は、現行の配合科学ガイドラインを使用するフローマイクロコピー（Brightwell Microflow Imager, MFI）を使用して実施した。試料を無希釈で分析し、フローセルをそれぞれの試料間で超純水により完全に清浄した。

40

【0330】

結果および考察

抗hIL-4Rα抗体は、ポリソルベート80の不存在下で攪拌誘導凝集に対して極めて感受性であることが見出された。表5は、この実験からのデータのまとめである。表5の試料2および3は、ポリソルベート80の不存在下の攪拌が可溶性凝集物パーセントを2.5倍だけ増加させ、可視粒子および繊維の数の大きな増加を引き起こすことを示す；図2および図3。試料3は、試料内の高レベルの沈殿物の存在に起因してマイクロフローイメージングにより分析することができなかった。これらの粒子は、100 μmの最大直径を有するフローセルを遮断し得た。表5の試料4～10は、>0.005%のPS80の存在が、攪拌時の大きな可視粒子の形成から抗体を保護したことを示す；図4。>0.

50

0.2%のPS80（試料6～10）のレベルにおいて、攪拌ありの試料は、攪拌なしの試料と同等レベルの非可視粒子、可溶性凝集物および可視外観を有する（試料2）。これらのデータは、最大レベルの>0.02%のPS80が、攪拌誘導凝集から抗体を完全に保護するために抗hIL-4Rα配合物中で要求されることを示す。

【0331】

【表5】

表5

試料番号	hIL4R 抗体 濃度 (mg/ml)	最終 PS80 濃度 および ストレス条件	可溶性 凝集物 (%)	≥10μm の 粒子の数	可視外観
1	0	0% PS80、 攪拌なし	該当なし	0	可視粒子を ほとんど 有さない
2	140	0% PS80、 攪拌なし	1.0	14	可視粒子を ほとんど 有さない
3	140	0% PS80、 攪拌あり	2.5	不検出	多くの粒子
4	140	0.005% PS80、 攪拌あり	1.4	555	可視粒子を ほとんど 有さない
5	140	0.01% PS80、 攪拌あり	1.1	83	可視粒子を ほとんど 有さない
6	140	0.02% PS80、 攪拌あり	1.0	5	可視粒子を ほとんど 有さない
7	140	0.03% PS80、 攪拌あり	1.0	18	可視粒子を ほとんど 有さない
8	140	0.04% PS80、 攪拌あり	1.0	9	可視粒子を ほとんど 有さない
9	140	0.05% PS80、 攪拌あり	1.0	0	可視粒子を ほとんど 有さない
10	140	0.07% PS80、 攪拌あり	1.1	28	可視粒子を ほとんど 有さない

【0332】

実施例 6

凍結融解に対する hIL4R 抗体感受性

材料

抗 h I L - 4 R α 抗体を、25 mM のヒスチジン／ヒスチジン-HCL、190 mM のアルギニン-HCL、pH 6 中で 140 mg/ml の濃度において配合した。使用したポリソルベート 80（植物由来）は、三極薬局方適合 J. T. Baker ブランドであった。水は、インハウス USP 水系から得た。全ての他の使用試薬は、薬局方収載グレードのものであった。

【0333】

試料調製

抗 h I L - 4 R α 抗体試料を 0.22 μM の PVD F シリンジフィルタに通して濾過し、ポリプロピレンチューブ中に分注した。ポリソルベート 80 をそれぞれの試料に表 6 に示される変動濃度において添加した。ポリソルベート 80 を含有しない対照試料も調製した（試料 1～3、表 6）。それぞれの試料は、0.22 μM のシリンジフィルタに通して再度濾過し、3 cc ガラスバイアル中に無菌的に充填し、栓をし、アルミニウムオーバーシールにより密封した。バイアルを 5 回の緩慢凍結融解（FT）サイクリング（1 サイクルは、-40℃において 1 時間、続いて室温において 1 時間からなる）に供し、または実験の継続時間にわたりベンチ上で直立のままにした。凍結融解サイクリングの終了時、試料を可溶性凝集物含有率について高速サイズ排除クロマトグラフィーにより、非可視粒子特性決定についてフローイメージングにより分析し、大きな粒子または繊維の存在について目視調査した。

【0334】

【表 6】

表 6

試料番号	hIL4R 抗体 濃度 (mg/ml)	最終 PS80 濃度および ストレス条件
1	0	0% PS80, FT なし
2	140	0 % PS80, FT なし
3	140	0% PS80, 5 回 FT
4	140	0.005% PS80, 5 回 FT
5	140	0.01% PS80, 5 回 FT
6	140	0.02% PS80, 5 回 FT
7	140	0.03% PS80, 5 回 FT
8	140	0.04% PS80, 5 回 FT
9	140	0.05% PS80, 5 回 FT
10	140	0.07% PS80, 5 回 FT

【0335】

純度および可溶性凝集物

高速サイズ排除クロマトグラフィー（HPSEC）を、TSK-GEL G3000S WXL カラムおよび SW ガードカラム（Tosoh Bioscience）を 280 nm における UV 検出で使用して実施した。0.1 M のリン酸ナトリウム、0.1 M の硫酸ナトリウム、および 0.05 %（w/v）のアジ化ナトリウムを含有する pH 6.8 移動相を使用する 20 分間の 1.0 mL/分の流速を使用して試料をアッセイした。約 250 μg のタンパク質を注入した。可溶性凝集物、モノマー、および断片の溶出は、およそ 6 から 8 分、8.6 分、および 9 から 10 分においてそれぞれ生じた。

【0336】

目視調査

試料中の粒子レベルを、一連のインハウス硫酸バリウム可視粒子スタンダードに対して

比較した。3 c c ガラスバイアル中の試料を、暗および明バックグラウンドを有するライトボックスを使用して粒子状および繊維状物質の存在について調査した。試料を、可視粒子を有さないもの、可視粒子をほとんど有さないものまたは多くの粒子に割り当てた。

【0337】

非可視粒子分析

非可視粒子分析は、現行の配合科学ガイドラインを使用するフローマイクロコピー（Brightwell Microflow Imager, MFI）を使用して実施した。試料を無希釈で分析し、フローセルをそれぞれの試料間で超純水により完全に洗浄した。

【0338】

結果および考察

抗hIL-4R α 抗体は、ポリソルベート80の不存在下で凍結融解誘導凝集に対して極めて感受性であることが見出された。表7は、この実験からのデータのまとめである。表7の試料2および3は、ポリソルベート80の不存在下の凍結融解サイクリングが可視粒子および繊維の数の大きな増加を引き起こすことを示す；図5および図6。しかしながら、非可視粒子カウント数は、ポリソルベート80（試料2および3）の不存在下で凍結融解サイクリングにより減少した。これは、試料3中の高レベルの大きな可視粒子の存在に起因し得た。これは、100 μ mの最大直径を有するフローセルを遮断し、イメージングに利用可能なより少数の粒子をもたらし得た。表7の試料4～10は、>0.005%のPS80の存在が、凍結融解サイクリングによる大きな可視粒子の形成から抗体を保護したことを示す；図7。可溶性凝集物形成（HPSEC）に対する凍結融解サイクリングの影響は、この実験において見られなかった。

【0339】

10

20

【表 7】

表 7

試料番号	hIL4R 抗体 濃度 (mg/ml)	最終 PS80 濃度 (%)および ストレス条件	可溶性 凝集物 (%)	$\geq 10\mu\text{m}$ の粒子の 数	可視外観
1	0	0% PS80、 FT なし	該当なし	0	可視粒子を ほとんど 有さない
2	140	0 % PS80、 FT なし	1.0	2891	可視粒子を ほとんど 有さない
3	140	0% PS80、 5 回 FT	1.0	96	多くの粒子
4	140	0.005% PS80、 5 回 FT	1.0	23	可視粒子を ほとんど 有さない
5	140	0.01% PS80、 5 回 FT	1.0	0	可視粒子を ほとんど 有さない
6	140	0.02% PS80、 5 回 FT	1.0	9	可視粒子を ほとんど 有さない
7	140	0.03% PS80、 5 回 FT	1.0	5	可視粒子を ほとんど 有さない
8	140	0.04% PS80、 5 回 FT	1.0	5	可視粒子を ほとんど 有さない
9	140	0.05% PS80、 5 回 FT	1.0	14	可視粒子を ほとんど 有さない
10	140	0.07% PS80、 5 回 FT	1.0	9	可視粒子を ほとんど 有さない

【0340】

実施例 7

h I L 4 抗体構造安定性および凝集評価

抗 h I L - 4 R α 抗体を、25 mM のヒスチジン / ヒスチジン - H C L、190 mM のアルギニン - H C L、0.02 % の P S 8 0、変動 p H (5.5 ~ 6.5) 中で $149 \pm 4.6 \text{ mg/ml}$ において調製した。薬剤を、3 cc ガラスバイアル中に無菌的に充填し、栓をし、アルミニウムオーバーシールにより密封した。スクリーニングの加速のため、試料を、40 °C における安定性で入れた。より長期の安定性試験のため、加速 40 °C の条件に加え、試験を 5 °C においても実施した。試料を S E C H P L C、B i o a n a l y

zerにより分析し、バイアルを粒子について目視調査した。さらに、初期時点をオスモル濃度、pH、H I A C、およびD S Cについて分析した。

【0341】

図7は、pHの増加に伴う構造安定性（T m 1）の増加を示す（p H 6 . 5 > p H 6 > p H 5 . 5）。

【0342】

図8は、40℃において貯蔵された試料のH P S E C分析間の総ピーク面積のU V 吸光度の時間依存損失を示す。図9に示されるとおり、総ピーク面積のこの損失は、試料を2～8℃または25℃において1ヵ月間貯蔵した場合、明らかでない。総ピーク面積のU V 吸光度は、分析される全タンパク質の濃度の間接的尺度である。可溶性タンパク質の損失は、一般に、直接分析されない不溶性凝集物に起因すると想定される。

10

【0343】

図10は、それぞれの配合物のT m 1に対する40℃における8週間後の総面積吸光度低減パーセントのグラフを示す。これらのデータは、40℃における経時的な不溶性凝集物形成が分子の構造安定性に依存的であることを示す。

【0344】

実施例8

h I L 4 R抗体不溶性凝集物形成に対する希釈剤の影響の試験

予備データは、40℃において1ヵ月間貯蔵された試料が、分析前またはその間の不溶性凝集物の形成に潜在的に起因する高速サイズ排除クロマトグラフィーによる分析の間の全ピーク吸光度の時間依存的損失を示すことを示した。試料を、リン酸緩衝生理食塩水中に希釈し、H P S E C分析前に0.2μMのフィルタに通して濾過する。以下の試験は、非可視粒子形成に対する希釈の影響を評価することであった。

20

【0345】

25mMのL-ヒスチジン/L-ヒスチジン塩酸塩一水和物、190mMのアルギニン塩酸塩、0.04%（w/v）のポリソルベート80、pH6.0中で148.2mg/mLにおいて抗h I L-4 R α抗体を含有する抗h I L-4 R α抗体配合物を作製した。

【0346】

薬剤を3ccガラスバイアル中に無菌的に充填し、栓をし、アルミニウムオーバーシールにより密封した。試料を、2～8℃、25℃、35℃または40℃において1ヵ月間貯蔵した。試料を、配合緩衝液（25mMのL-ヒスチジン/L-ヒスチジン塩酸塩一水和物、190mMのアルギニン塩酸塩、pH6）リン酸緩衝生理食塩水中のいずれかで1/16に希釈した。さらに、40℃において貯蔵された試料も、25mMのL-ヒスチジン/L-ヒスチジン塩酸塩一水和物、190mMのアルギニン塩酸塩、pH7.4、25mMのL-ヒスチジン/L-ヒスチジン塩酸塩一水和物、140mMのNaCl、pH7.4または10mMのリン酸塩、190mMのアルギニン、pH7.4中に1/16に希釈した。

30

【0347】

それぞれの温度条件からの希釈試料および未希釈試料を、マイクロフローイメージングにより非可視粒子数について分析した。

40

【0348】

非可視粒子分析

非可視粒子分析は、現行の配合科学ガイドラインを使用するフローマイクロコピー（Brightwell Microflow Imager, MFI）を使用して実施した。試料を無希釈で、またはリン酸緩衝生理食塩水もしくは配合緩衝液中への希釈後に分析した。フローセルをそれぞれの試料間で超純水により完全に清浄した。

【0349】

結果および考察

図11は、適宜、希釈係数を考慮する絶対 $\geq 10\mu\text{m}$ の粒子数を示す。40℃において4週間インキュベートされた試料は、リン酸緩衝生理食塩水および配合緩衝液中の両方の

50

希釈後に高レベルの $\geq 10 \mu\text{m}$ の粒子を形成する。リン酸緩衝生理食塩水中への抗hIL-4R α 抗体の希釈は、配合緩衝液中への抗体の希釈よりも大きな非可視粒子形成に対する影響を有する。熱ストレスを与えた抗hIL-4R α 抗体における非可視粒子形成に対するpH、イオン強度およびイオンタイプの影響も調査した。図12は、熱ストレスを与えた抗hIL-4R α 抗体における非可視粒子形成が、リン酸イオンの存在により悪化することを示す。

【0350】

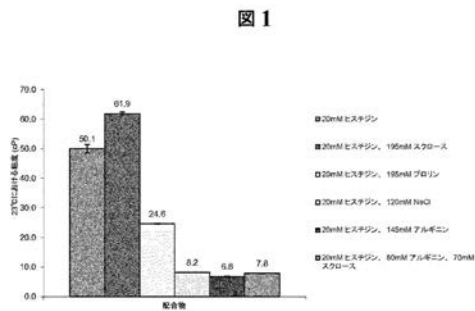
上記実施例は、本発明の種々の態様および本発明の方法の実施を説明する。これらの実施例は、本発明の多くの異なる実施形態の排他的記載を提供するものではない。したがって、本発明をより明確な理解の目的のために説明および例としていくぶん詳細に記載してきたが、当業者は、多くの変化および改変を付属の特許請求の範囲の趣旨からも範囲からも逸脱せずに作製することができることを容易に実現する。

【0351】

本明細書に挙げた全ての刊行物、特許および特許出願は、それぞれの個々の刊行物、特許または特許出願が参照により本明細書に組み込まれることが個別具体的に示される同程度に本明細書への参照により本明細書に取り込まれる。

10

【図1】



【図2】

Figure 2



【図 3】

Figure 3

【図 4】

Figure 4

【図 5】

Figure 5

【図 6】

Figure 6

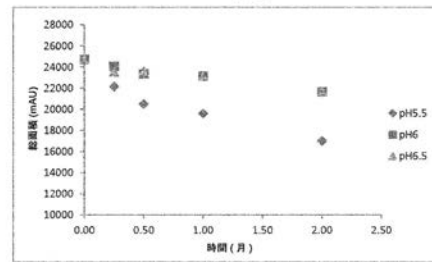
【図 7】

Figure 7



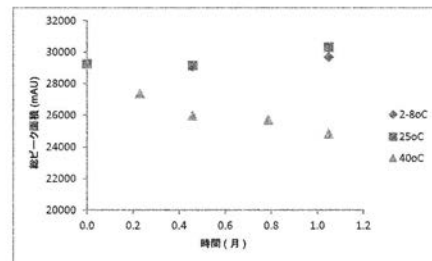
【図 8】

図 8



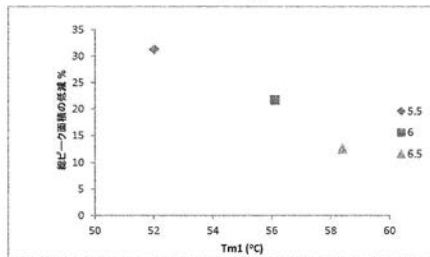
【図 9】

図 9



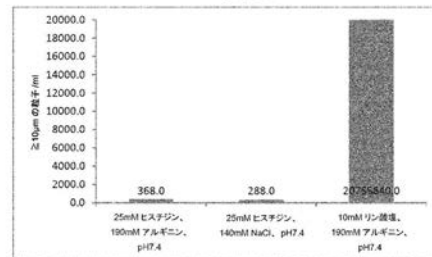
【図 10】

図 10



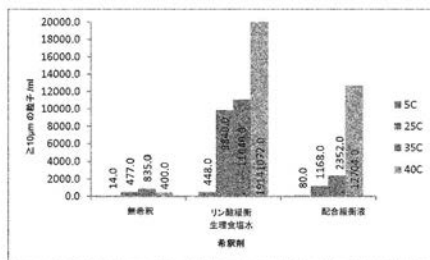
【図 12】

図 12



【図 11】

図 11



【図 1 4 B】

FIG. 14B

[illegible][illegible]

【図 1 4 D】

FIG. 14D

[illegible][illegible]

【图 1 6 B】

FIG. 16B

Kata パターンID	FWL																CBFL																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																							
	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24	25	26	27	28	29	30	31	32	33	34	35	36	37	38	39	40	41	42	43	44	45	46	47	48	49	50	51	52	53	54	55	56	57	58	59	60	61	62	63	64	65	66	67	68	69	70	71	72	73	74	75	76	77	78	79	80	81	82	83	84	85	86	87	88	89	90	91	92	93	94	95	96	97	98	99	100	101	102	103	104	105	106	107	108	109	110	111	112	113	114	115	116	117	118	119	120	121	122	123	124	125	126	127	128	129	130	131	132	133	134	135	136	137	138	139	140	141	142	143	144	145	146	147	148	149	150	151	152	153	154	155	156	157	158	159	160	161	162	163	164	165	166	167	168	169	170	171	172	173	174	175	176	177	178	179	180	181	182	183	184	185	186	187	188	189	190	191	192	193	194	195	196	197	198	199	200	201	202	203	204	205	206	207	208	209	210	211	212	213	214	215	216	217	218	219	220	221	222	223	224	225	226	227	228	229	230	231	232	233	234	235	236	237	238	239	240	241	242	243	244	245	246	247	248	249	250	251	252	253	254	255	256	257	258	259	260	261	262	263	264	265	266	267	268	269	270	271	272	273	274	275	276	277	278	279	280	281	282	283	284	285	286	287	288	289	290	291	292	293	294	295	296	297	298	299	300	301	302	303	304	305	306	307	308	309	310	311	312	313	314	315	316	317	318	319	320	321	322	323	324	325	326	327	328	329	330	331	332	333	334	335	336	337	338	339	340	341	342	343	344	345	346	347	348	349	350	351	352	353	354	355	356	357	358	359	360	361	362	363	364	365	366	367	368	369	370	371	372	373	374	375	376	377	378	379	380	381	382	383	384	385	386	387	388	389	390	391	392	393	394	395	396	397	398	399	400	401	402	403	404	405	406	407	408	409	410	411	412	413	414	415	416	417	418	419	420	421	422	423	424	425	426	427	428	429	430	431	432	433	434	435	436	437	438	439	440	441	442	443	444	445	446	447	448	449	450	451	452	453	454	455	456	457	458	459	460	461	462	463	464	465	466	467	468	469	470	471	472	473	474	475	476	477	478	479	480	481	482	483	484	485	486	487	488	489	490	491	492	493	494	495	496	497	498	499	500	501	502	503	504	505	506	507	508	509	510	511	512	513	514	515	516	517	518	519	520	521	522	523	524	525	526	527	528	529	530	531	532	533	534	535	536	537	538	539	540	541	542	543	544	545	546	547	548	549	550	551	552	553	554	555	556	557	558	559	560	561	562	563	564	565	566	567	568	569	570	571	572	573	574	575	576	577	578	579	580	581	582	583	584	585	586	587	588	589	590	591	592	593	594	595	596	597	598	599	600	601	602	603	604	605	606	607	608	609	610	611	612	613	614	615	616	617	618	619	620	621	622	623	624	625	626	627	628	629	630	631	632	633	634	635	636	637	638	639	640	641	642	643	644	645	646	647	648	649	650	651	652	653	654	655	656	657	658	659	660	661	662	663	664	665	666	667	668	669	670	671	672	673	674	675	676	677	678	679	680	681	682	683	684	685	686	687	688	689	690	691	692	693	694	695	696	697	698	699	700	701	702	703	704	705	706	707	708	709	710	711	712	713	714	715	716	717	718	719	720	721	722	723	724	725	726	727	728	729	730	731	732	733	734	735	736	737	738	739	740	741	742	743	744	745	746	747	748	749	750	751	752	753	754	755	756	757	758	759	760	761	762	763	764	765	766	767	768	769	770	771	772	773	774	775	776	777	778	779	780	781	782	783	784	785	786	787	788	789	790	791	792	793	794	795	796	797	798	799	800	801	802	803	804	805	806	807	808	809	810	811	812	813	814	815	816	817	818	819	820	821	822	823	824	825	826	827	828	829	830	831	832	833	834	835	836	837	838	839	840	841	842	843	844	845	846	847	848	849	850	851	852	853	854	855	856	857	858	859	860	861	862	863	864	865	866	867	868	869	870	871	872	873	874	875	876	877	878	879	880	881	882	883	884	885	886	887	888	889	890	891	892	893	894	895	896	897	898	899	900	901	902	903	904	905	906	907	908	909	910	911	912	913	914	915	916	917	918	919	920	921	922	923	924	925	926	927	928	929	930	931	932	933	934	935	936	937	938	939	940	941	942	943	944	945	946	947	948	949	950	951	952	953	954	955	956	957	958	959	960	961	962	963	964	965	966	967	968	969	970	971	972	973	974	975	976	977	978	979	980	981	982	983	984	985	986	987	988	989	990	991	992	993	994	995	996	997	998	999
状態 20	Q	S	Y	L	T	Q	P	F	S	Y	S	A	A	P	G	Q	K	V	T	I	S	C	S	G	G	S	S	N	I	G	N	S	Y	V	S																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																					

[illegible]

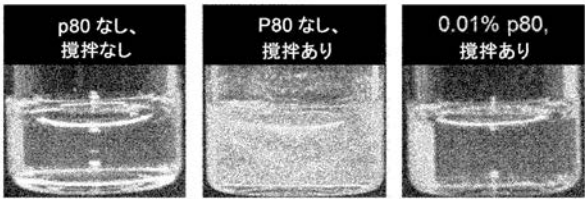
【図 1 6 D】

FIG. 16D

[illegible][illegible]

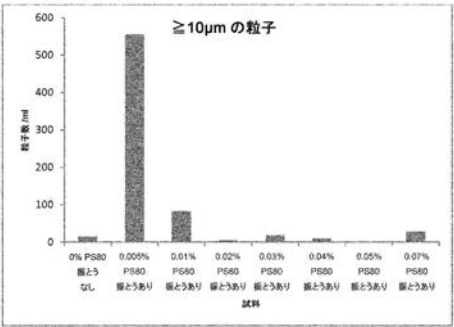
【図 1 7】

図 17



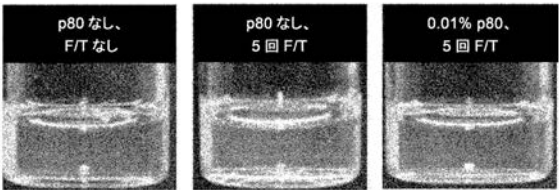
【図 1 8】

図 18



【図 1 9】

図 19



【配 列 表】

20175275600000001.app

【国際調査報告】

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No
PCT/EP2015/070091

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

INV. A61K39/395 A61K9/00 A61K47/18 A61K47/26 C07K16/28
ADD.

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

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)
A61K C07K

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

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

EPO-Internal, BIOSIS, WPI Data

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
Y	US 8 613 919 B1 (MA XINGHANG [US] ET AL) 24 December 2013 (2013-12-24) column 10, line 16 - column 20, line 22 -----	1-30
Y	WO 2010/066762 A1 (NOVARTIS AG [CH]; MOMM JOACHIM [CH]; WALLNY HANS-JOACHIM [CH]) 17 June 2010 (2010-06-17) page 14, line 6 - page 16, line 6; claims 1-15 -----	1-30
Y	WO 2010/070346 A2 (MEDIMUNE LTD [GB]; COHEN SUZANNE [GB]; DOBSON CLAIRE LOUISE [GB]; ERI) 24 June 2010 (2010-06-24) page 72, line 14 - page 73, line 30; claims 1-22 ----- -/--	1-30

☒ Further documents are listed in the continuation of Box C.

☒ See patent family annex.

* Special categories of cited documents :

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

"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

6 November 2015

Date of mailing of the international search report

02/12/2015

Name and mailing address of the ISA/

European Patent Office, P.B. 5818 Patentlaan 2
NL - 2280 HV Rijswijk
Tel. (+31-70) 340-2040,
Fax: (+31-70) 340-3016

Authorized officer

Kalsner, Inge

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No

PCT/EP2015/070091

C(Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
Y	DAUGHERTY A L ET AL: "Formulation and delivery issues for monoclonal antibody therapeutics", ADVANCED DRUG DELIVERY REVIEWS, ELSEVIER, AMSTERDAM, NL, vol. 58, no. 5-6, 7 August 2006 (2006-08-07), pages 686-706, XP024892149, ISSN: 0169-409X, DOI: 10.1016/J.ADDR.2006.03.011 [retrieved on 2006-08-07] page 492, right-hand column, line 12 - page 695, right-hand column, line 21 -----	1-30
Y	WO 03/009817 A2 (PROTEIN DESIGN LABS INC [US]; KAISHEVA ELIZABET A [US]; FLORES-NATE AL) 6 February 2003 (2003-02-06) page 14, line 15 - page 20, line 16 -----	1-30
A	MAHLER H C ET AL: "Induction and analysis of aggregates in a liquid IgG1-antibody formulation", EUROPEAN JOURNAL OF PHARMACEUTICS AND BIOPHARMACEUTICS, ELSEVIER SCIENCE PUBLISHERS B.V., AMSTERDAM, NL, vol. 59, no. 3, 1 April 2005 (2005-04-01), pages 407-417, XP027805032, ISSN: 0939-6411 [retrieved on 2005-04-01] page 412, right-hand column, line 7 - page 416, left-hand column, line 18 -----	1-30

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

International application No

PCT/EP2015/070091

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member(s)	Publication date
US 8613919	B1	24-12-2013	NONE
WO 2010066762	A1	17-06-2010	
		AU 2009324371 A1	23-06-2011
		CA 2745938 A1	17-06-2010
		CN 102245639 A	16-11-2011
		CN 104399076 A	11-03-2015
		CO 6361952 A2	20-01-2012
		EC SP11011192 A	31-08-2011
		EP 2196476 A1	16-06-2010
		EP 2376533 A1	19-10-2011
		JP 2012511540 A	24-05-2012
		KR 20120009421 A	31-01-2012
		MA 33023 B1	01-02-2012
		NZ 592918 A	21-12-2012
		PE 03422012 A1	24-04-2012
		RU 2011127913 A	20-01-2013
		US 2011236398 A1	29-09-2011
		US 2012315285 A1	13-12-2012
		WO 2010066762 A1	17-06-2010
WO 2010070346	A2	24-06-2010	
		AU 2009329348 A1	07-07-2011
		US 2009202568 A1	13-08-2009
		US 2012171197 A1	05-07-2012
		US 2013336978 A1	19-12-2013
		US 2015079092 A1	19-03-2015
		WO 2010070346 A2	24-06-2010
WO 03009817	A2	06-02-2003	
		AT 454137 T	15-01-2010
		AU 2002324556 A1	17-02-2003
		CA 2454587 A1	06-02-2003
		EP 1409018 A2	21-04-2004
		ES 2338218 T3	05-05-2010
		JP 4317010 B2	19-08-2009
		JP 2004538287 A	24-12-2004
		MX PA04000747 A	08-07-2004
		US 2003113316 A1	19-06-2003
		US 2006029599 A1	09-02-2006
		US 2010055097 A1	04-03-2010
		WO 03009817 A2	06-02-2003

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 47/18 (2006.01)	A 6 1 K 9/08	
A 6 1 K 47/32 (2006.01)	A 6 1 K 47/22	
A 6 1 K 47/38 (2006.01)	A 6 1 K 47/18	
A 6 1 K 47/10 (2006.01)	A 6 1 K 47/32	
A 6 1 K 47/26 (2006.01)	A 6 1 K 47/38	
A 6 1 P 11/00 (2006.01)	A 6 1 K 47/10	
A 6 1 P 29/00 (2006.01)	A 6 1 K 47/26	
A 6 1 P 17/00 (2006.01)	A 6 1 P 11/00	
A 6 1 K 47/20 (2006.01)	A 6 1 P 29/00	
A 6 1 K 47/12 (2006.01)	A 6 1 P 17/00	
C 1 2 N 15/02 (2006.01)	A 6 1 K 47/20	
	A 6 1 K 47/12	
	C 1 2 N 15/00	C

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

(74)代理人 100138911

弁理士 櫻井 陽子

(72)発明者 ベルーオロフ・エリクソン

スウェーデン、エスエー 2 2 1 8 7 ルンド、アストラゼネカ・アール・アンド・ディ・ルンド内

(72)発明者 カリン・フォン・ヴァッヘンフェルト

スウェーデン、エスエー 2 2 1 8 7 ルンド、アストラゼネカ・アール・アンド・ディ・ルンド内

(72)発明者 スザンヌ・コーエン

英国シービー 2 1 ・ 6 ジーエイチ、ケンブリッジシャー、ケンブリッジ、グランタ・パーク、メディムーン・リミテッド内

(72)発明者 クレア・ドブソン

英国シービー 2 1 ・ 6 ジーエイチ、ケンブリッジシャー、ケンブリッジ、グランタ・パーク、メディムーン・リミテッド内

(72)発明者 デボラ・レイン

英国シービー 2 1 ・ 6 ジーエイチ、ケンブリッジシャー、ケンブリッジ、グランタ・パーク、メディムーン・リミテッド内

(72)発明者 カトリーナ・デイ

英国シービー 2 1 ・ 6 ジーエイチ、ケンブリッジシャー、ケンブリッジ、グランタ・パーク、メディムーン・リミテッド内

F ターム (参考) 4B064 AG27 BJ12 CA01 CA19 CC24 DA01

4C076 AA07 BB11 BB13 CC05 CC07 CC15 CC18 DD07F DD08F DD09F
DD22F DD22Z DD23D DD37F DD38G DD41Z DD42F DD42Z DD43F DD43Z
DD50Z DD51F DD51G DD51Z DD57Z DD60F DD60G DD67G EE06G EE23F
EE23G EE32G FF11 FF14 FF16 FF17 FF36 FF43 FF68 GG45

4C085	AA13	AA14	AA16	BB31	BB36	BB41	BB43	BB44	CC22	CC23
	DD12	DD13	DD14	DD15	EE01	EE07	GG01	GG02	GG08	
4H045	AA11	AA20	AA30	CA40	DA76	EA20	FA74			