

(19)日本国特許庁(JP)

(12)特許公報(B2)

(11)特許番号  
特許第7698635号  
(P7698635)

(45)発行日 令和7年6月25日(2025.6.25)

(24)登録日 令和7年6月17日(2025.6.17)

(51)国際特許分類

F I

C 0 7 K 16/22 (2006.01)

C 0 7 K 16/22

C 1 2 N 15/13 (2006.01)

C 1 2 N 15/13

Z N A

C 1 2 P 21/08 (2006.01)

C 1 2 P 21/08

請求項の数 13 (全49頁)

|                   |                               |          |                                                                 |
|-------------------|-------------------------------|----------|-----------------------------------------------------------------|
| (21)出願番号          | 特願2022-517136(P2022-517136)   | (73)特許権者 | 522103454                                                       |
| (86)(22)出願日       | 令和2年9月16日(2020.9.16)          |          | オプシディオ, エルエルシー                                                  |
| (65)公表番号          | 特表2022-548646(P2022-548646 A) |          | アメリカ合衆国 ペンシルベニア 1 9 0 1 0, フィラデルフィア, プリン マー, ピー. オー. ボックス 8 0 2 |
| (43)公表日           | 令和4年11月21日(2022.11.21)        | (74)代理人  | 100078282                                                       |
| (86)国際出願番号        | PCT/US2020/050973             |          | 弁理士 山本 秀策                                                       |
| (87)国際公開番号        | WO2021/055408                 | (74)代理人  | 100113413                                                       |
| (87)国際公開日         | 令和3年3月25日(2021.3.25)          |          | 弁理士 森下 夏樹                                                       |
| 審査請求日             | 令和5年9月5日(2023.9.5)            | (74)代理人  | 100181674                                                       |
| (31)優先権主張番号       | 62/900,927                    |          | 弁理士 飯田 貴敏                                                       |
| (32)優先日           | 令和1年9月16日(2019.9.16)          | (74)代理人  | 100181641                                                       |
| (33)優先権主張国・地域又は機関 | 米国(US)                        |          | 弁理士 石川 大輔                                                       |
|                   |                               | (74)代理人  | 230113332                                                       |
|                   |                               |          | 弁護士 山本 健策                                                       |

最終頁に続く

(54)【発明の名称】 抗幹細胞因子抗体及びその使用方法

(57)【特許請求の範囲】

【請求項1】

幹細胞因子 2 4 8 ( S C F 2 4 8 ) に特異的に結合する抗体であって、前記抗体が、配列番号 1、2、及び 3 をそれぞれ含む重鎖 C D R 1、C D R 2、及び C D R 3 と、それぞれ配列番号 4、5、及び 6 を含む軽鎖 C D R 1、C D R 2、及び C D R 3 とを含み、前記抗体がヒト化されており、前記抗体が、

( a ) 配列番号 8 のアミノ酸配列を有する重鎖可変領域と、

( b ) 配列番号 1 6 のアミノ酸配列を有する軽鎖可変領域と

を含む、前記抗体。

【請求項2】

前記抗体がモノクローナル抗体である、請求項 1 に記載の抗体。

【請求項3】

前記抗体がヒト I g G 4 ドメインを含む、請求項 2 に記載の抗体。

【請求項4】

前記 I g G 4 ドメインが、アミノ酸残基 2 4 1 における S 2 4 1 P 変異及びアミノ酸残基 2 4 8 における L 2 4 8 E 変異を含み、前記残基のナンバリングが K a b a t ナンバリングシステムのナンバリングである、請求項 3 に記載の抗体。

【請求項5】

前記抗体が、配列番号 4 2 に記載の重鎖と、配列番号 4 9 に記載の軽鎖とを含む、請求項 2 に記載の抗体。

## 【請求項 6】

- (a) 前記抗体が、SCFとc-Ki tとの間の相互作用を遮断する、
- (b) 前記抗体が、SCFの内在化を引き起こす、及び／または
- (c) 前記抗体が、SCF 220に結合しない、

請求項 1 に記載の抗体。

## 【請求項 7】

前記抗体が、配列番号 33 の少なくとも 8 個の連続したアミノ酸を含むエピトープに結合し、前記抗体が、SCF 248 と c-Ki t との相互作用を阻害する、請求項 1 に記載の抗体。

## 【請求項 8】

前記エピトープが配列番号 33 からなる、請求項 7 に記載の抗体。

## 【請求項 9】

前記ヒト Ig G 4 ドメインが、配列番号 40 のアミノ酸配列を含む、請求項 3 に記載の抗体。

## 【請求項 10】

軽鎖ヒト Ig カッパ定常領域を含む、請求項 1 に記載の抗体。

## 【請求項 11】

前記軽鎖ヒト Ig カッパ定常領域が配列番号 41 のアミノ酸配列を含む、請求項 10 に記載の抗体。

## 【請求項 12】

軽鎖ヒト Ig ラムダ定常領域を含む、請求項 1 に記載の抗体。

## 【請求項 13】

幹細胞因子 248 (SCF 248) に特異的に結合する抗 SCF 248 抗体であって、

- (i) 配列番号 42 のアミノ酸配列を含む重鎖と、
  - (i i) 配列番号 49 のアミノ酸配列を含む軽鎖と
- を含む、抗体。

## 【発明の詳細な説明】

## 【技術分野】

## 【0001】

関連出願の相互参照

本出願は、2019年9月16日に提出された米国仮出願第62／900,927号の優先権の利益を主張し、その内容全体が参照により本明細書に援用される。

## 【0002】

分野

本発明は、幹細胞因子 (SCF) 及びその特定の部位に結合する抗体及びその抗原結合フラグメント、ならびにこのような抗体及び抗原結合フラグメントを使用する方法に関する。

## 【0003】

電子的に提出するテキストファイルについての説明

本明細書と共に電子的に提出するテキストファイル、すなわち配列表のコンピューター可読フォーマットコピー (ファイル名: O P S L \_ 0 0 1 \_ 0 1 W O \_ S e q L i s t \_ S T 2 5 ; 記録日: 2020年09月16日; ファイルサイズ: 58 kb) の内容は、その全体が参照により本明細書に援用される。

## 【背景技術】

## 【0004】

炎症性疾患は、世界的に罹患率及び死亡率の主要な原因となっている。いくつかのタイプの慢性炎症は線維症につながり得る。この線維症とは、修復性または反応性のプロセスとしての、器官または組織における過剰な線維性結合組織の形成または発生であり、器官または組織の正常な構成要素としての線維性組織の形成とは異なるものである。慢性炎症及び線維症は、ほぼ全ての組織や器官系に影響を及ぼし、線維性組織リモデリングは、が

10

20

30

40

50

ん転移に影響を及ぼし、移植患者の慢性移植片拒絶を加速する恐れがある。

【0005】

幹細胞因子（SCF）及びその受容体c-Kitは、慢性炎症の持続及び線維性疾患における重要な因子である（El-Koraie, et al., Kidney Int. 60:167 (2001); Powell, et al., Am. J. Physiol. 289:G2 (2005); El Kossi, et al., Am. J. Kidney Dis. 41:785 (2003); Powell, et al., Am. J. Physiol. 277:C183 (1999) Ding et al J Pathol. 2013 Jun; 230 (2): 205-14.; Berlin et al Lab Invest. 2006 Jun; 86 (6): 557-65; Rasky et al Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol. 2020 Jan 1; 318 (1): L200-L211)。c-Kitは多くの細胞タイプに存在するIII型受容体チロシンキナーゼである（Orr-Urtreger et al., Development 109:911 (1990)）。免疫細胞、例えば、マスト細胞、好酸球、ならびに自然リンパ球2及び3（ILC2及びILC3）は全てc-Kit+細胞であり、関与する疾患及び器官によっては慢性炎症プロセスを駆動する可能性がある。炎症応答が開始すると、SCFを含む様々なメディエーターがc-Kit+免疫細胞を活性化し、その結果、線維芽細胞を活性化筋線維芽細胞に変化させるサイトカインが生成される。筋線維芽細胞は、細胞外マトリックスタンパク質、コラーゲン、及びフィブロネクチンを分泌し、組織の線維化をもたらす。活性化筋線維芽細胞、活性化上皮、内皮、マクロファージ、好酸球、マスト細胞、単球、及び他の細胞も細胞表面にSCFを発現し、c-Kit+免疫細胞をより活性化した結果、サイトカイン放出が増加し、炎症が永続する。

当技術分野では、炎症性疾患のためのより効率的かつより特異的な治療が必要とされている。本開示は、このようなニーズ及び他のニーズに対処するものである。

【先行技術文献】

【非特許文献】

【0006】

【文献】El-Koraie, et al., Kidney Int. 60:167 (2001)

【文献】Powell, et al., Am. J. Physiol. 289:G2 (2005)

【文献】El Kossi, et al., Am. J. Kidney Dis. 41:785 (2003)

【文献】Powell, et al., Am. J. Physiol. 277:C183 (1999)

【文献】Ding et al J Pathol. 2013 Jun; 230 (2): 205-14.

【文献】Berlin et al Lab Invest. 2006 Jun; 86 (6): 557-65

【文献】Rasky et al Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol. 2020 Jan 1; 318 (1): L200-L211

【発明の概要】

【課題を解決するための手段】

【0007】

1つの態様において、本開示は、幹細胞因子（SCF）に特異的に結合する抗体及びそのフラグメントを提供する。いくつかの実施形態において、抗体及びそのフラグメントは、SCFアイソフォームSCF248に特異的に結合する。いくつかの実施形態において、抗体及びそのフラグメントは重鎖相補性決定領域（CDR）を含み、重鎖CDR1、CDR2、及びCDR3は、それぞれ配列番号1、2、及び3を含む。いくつかの実施形態において、抗体及びそのフラグメントは軽鎖CDRを含み、軽鎖CDR1、CDR2、及

びCDR3は、それぞれ配列番号4、5、及び6を含む。いくつかの実施形態において、抗体及びそのフラグメントは、配列番号1、37、及び3をそれぞれ含む重鎖CDR1、CDR2、及びCDR3を含む。いくつかの実施形態において、抗体及びそのフラグメントは、配列番号7、8、9、10、11、及び12からなる群より選択される配列に少なくとも80%、少なくとも85%、少なくとも90%、少なくとも95%、または少なくとも99%の同一性を含む重鎖可変領域を含む。いくつかの実施形態において、抗体及びそのフラグメントは、配列番号13、14、15、16、及び17からなる群より選択される配列に少なくとも80%、少なくとも85%、少なくとも90%、少なくとも95%、または少なくとも99%の同一性を含む軽鎖可変領域を含む。いくつかの実施形態において、抗体及びそのフラグメントは、配列番号7、8、9、10、11、及び12からなる群より選択されるアミノ酸配列を含む重鎖可変領域と、配列番号13、14、15、16、及び17からなる群より選択されるアミノ酸配列を含む軽鎖可変領域とを含む。

10

## 【0008】

いくつかの実施形態において、抗体またはそのフラグメントは、配列番号7に記載の重鎖可変領域アミノ酸配列と、配列番号16に記載の軽鎖可変領域アミノ酸配列とを含む。いくつかの実施形態において、配列番号8に記載の重鎖可変領域アミノ酸配列と、配列番号16に記載の軽鎖可変領域アミノ酸配列とを含む、請求項1に記載の抗体またはそのフラグメント。いくつかの実施形態において、抗体またはそのフラグメントは、配列番号9に記載の重鎖可変領域アミノ酸配列と、配列番号16に記載の軽鎖可変領域アミノ酸配列とを含む。いくつかの実施形態において、抗体またはそのフラグメントは、配列番号10に記載の重鎖可変領域アミノ酸配列と、配列番号16に記載の軽鎖可変領域アミノ酸配列とを含む。いくつかの実施形態において、抗体またはそのフラグメントは、配列番号11に記載の重鎖可変領域アミノ酸配列と、配列番号16に記載の軽鎖可変領域アミノ酸配列とを含む。いくつかの実施形態において、抗体またはそのフラグメントは、配列番号12に記載の重鎖可変領域アミノ酸配列と、配列番号16に記載の軽鎖可変領域アミノ酸配列とを含む。

20

## 【0009】

いくつかの実施形態において、抗体またはそのフラグメントはヒト化されている。いくつかの実施形態において、抗体はモノクローナル抗体である。いくつかの実施形態において、抗体は、ヒトIgG1ドメインまたはヒトIgG4ドメインを含む。いくつかの実施形態において、抗体は抗原結合フラグメントであり、当該フラグメントは、Fab、Fab'、scFv、及び単一ドメイン抗体(sdAb)から選択される。

30

## 【0010】

いくつかの実施形態において、抗体またはそのフラグメントは、SCF（例えば、SCF248）とc-Kitとの間の相互作用を遮断する。いくつかの実施形態において、抗体はSCF248に特異的に結合する。いくつかの実施形態において、抗体はSCF220に結合しない。いくつかの実施形態において、抗体は、SCFの内在化を引き起こすことにより、SCF248とc-kitとの相互作用を妨げて、それが細胞表面上で利用できないようにする。

## 【0011】

1つの態様において、本開示は、本明細書で提供する抗体またはそのフラグメントを含む医薬組成物を提供する。いくつかの実施形態において、医薬組成物は、医薬的に許容される担体、希釈剤、または賦形剤を含む。

40

## 【0012】

いくつかの実施形態において、本開示は、本明細書で提供する抗体またはそのフラグメントをコードする単離された核酸分子を提供する。いくつかの実施形態において、本開示は、抗体またはそのフラグメントをコードする核酸を含む発現ベクターを提供する。さらなる特定の実施形態において、本開示は、発現ベクターを含む組換え型宿主細胞を提供する。

## 【0013】

50

1つの態様において、本開示は、幹細胞因子アイソフォーム248（SCF248）に特異的に結合する抗体を作製するための方法であって、配列番号30（ASSLRNDS SSSNRKAKNP PGD）またはそのフラグメントを含むペプチドで宿主動物を免疫することと、免疫された宿主動物から抗体を得ることを含む、方法を提供する。いくつかの実施形態において、宿主動物はヒトではない。いくつかの実施形態において、配列番号30のフラグメントは、配列番号30の少なくとも5個、少なくとも6個、少なくとも7個、少なくとも8個、少なくとも9個、少なくとも10個、少なくとも11個、少なくとも12個、少なくとも13個、少なくとも14個、少なくとも15個、少なくとも16個、少なくとも17個、少なくとも18個、少なくとも19個、または20個の連続したアミノ酸を含む。いくつかの実施形態において、配列番号30のフラグメントは、配列番号30の5個、6個、7個、8個、9個、10個、11個、12個、13個、14個、15個、16個、17個、18個、19個、または20個の連続したアミノ酸を含む。いくつかの実施形態において、配列番号30のフラグメントのN末端アミノ酸は、配列番号30のN末端の1位におけるアラニンである。いくつかの実施形態において、本方法は、配列番号30からなるペプチドで宿主動物を免疫することを含む。いくつかの実施形態において、免疫化された宿主動物からの抗体は、宿主動物から単離された免疫細胞から得られる。いくつかの実施形態において、本方法はさらに、免疫細胞を用いてハイブリドーマを生成することを含む。したがって、いくつかの実施形態において、本開示は、本明細書に記載のモノクローナル抗体を産生するハイブリドーマを提供する。

#### 【0014】

1つの態様において、本開示は、SCF248に特異的に結合する抗体またはそのフラグメントであって、配列番号33の少なくとも8個、少なくとも9個、少なくとも10個、少なくとも11個、少なくとも12個、または少なくとも13個の連続したアミノ酸を含むエピトープに結合し、当該抗体が、SCF248とc-Ki tとの相互作用を阻害する、抗体またはそのフラグメントを提供する。さらなる実施形態において、エピトープは、配列番号33または配列番号36を含む。またさらなる実施形態において、エピトープは、配列番号33または配列番号36からなる。

#### 【0015】

1つの態様において、本開示は、SCFとc-Ki tとの間の相互作用を阻害するための組成物及び方法を提供する。c-k i tは、免疫細胞、造血幹細胞、及びいくつかの構造細胞上に発現する。c-k i tのリガンドであるSCF248は、筋線維芽細胞、活性化上皮、内皮、マクロファージ、好酸球、マスト細胞、単球上などで上方調節される。いくつかの実施形態において、組成物及び方法は、SCF248とc-Ki tとの間の相互作用を特異的に阻害する。例えば、いくつかの実施形態において、組成物及び方法は、筋線維芽細胞上のSCF248と免疫細胞上のc-Ki tとの間の相互作用を特異的に阻害する。別の例として、いくつかの実施形態において、本明細書で提供する組成物及び方法は、筋線維芽細胞、活性化上皮、内皮、マクロファージ、好酸球、マスト細胞、及び／または単球上のSCF248と、免疫細胞及び／または構造細胞上のc-Ki tとの間の相互作用を特異的に阻害する。いくつかの実施形態において、本方法は、筋線維芽細胞上のSCF248を、本明細書で提供する抗体またはそのフラグメントに接触させることを含む。いくつかの実施形態において、本明細書で提供する抗体またはそのフラグメントは、SCF248がc-Ki tに結合するのを遮断する。いくつかの実施形態において、遮断は、立体障害を介した遮断である。いくつかの実施形態において、本明細書で提供する抗体またはそのフラグメントは、SCF248を内在化する。

#### 【0016】

いくつかの実施形態において、本開示は、それを必要とする対象の炎症を阻害するための方法であって、当該対象に、本明細書で提供する抗体またはそのフラグメントを投与することを含む、方法を提供する。いくつかの実施形態において、本開示は、それを必要とする対象の炎症性疾患を阻害するための方法であって、当該対象に、本明細書で提供する抗体またはそのフラグメントを投与することを含む、方法を提供する。さらなる実施形態

において、炎症性疾患は慢性炎症性疾患である。いくつかの実施形態において、本開示は、それを必要とする対象の炎症及び／または慢性炎症性疾患を治療するための方法であって、当該対象に、本明細書で提供する抗体またはそのフラグメントを投与することを含む、方法を提供する。

【0017】

いくつかの実施形態において、本開示は、それを必要とする対象の線維症を阻害するための方法であって、当該対象に、本明細書で提供する抗体またはそのフラグメントを投与することを含む、方法を提供する。いくつかの実施形態において、本開示は、それを必要とする対象の線維性疾患を治療するための方法であって、当該対象に、本明細書で提供する抗体またはそのフラグメントを投与することを含む、方法を提供する。諸実施形態において、本方法はさらに、1つ以上の追加の療法及び／または治療剤を投与することを含む。

10

【0018】

いくつかの実施形態において、炎症性疾患または線維性疾患は、蕁麻疹、アトピー性皮膚炎、水疱性類天疱瘡、強皮症、全身性硬化症、非アルコール性脂肪性肝炎（NASH）、原発性硬化性胆管炎、肝硬変、肺線維症（例えば、特発性肺線維症（IPF）、強皮症肺線維症）、慢性閉塞性肺疾患（COPD）、急性呼吸窮迫症候群（ARDS）、嚢胞性線維症、気管支周囲線維症、過敏性肺炎、喘息、ブレオマイシン肺、心内膜心筋線維症、線維筋痛症、好酸球性食道炎、放射線線維症、関節リウマチ、及び炎症性腸疾患からなる群より選択される。

【図面の簡単な説明】

20

【0019】

【図1】組織傷害／炎症性疾患プロセスの概略を示している。

【図2】本開示の抗SCF248抗体である5H10の例示的な機構を示している。5H10抗体は、図面内では「OpSCF」と称されている。

【図3】SCFのアイソフォームであるSCF220及びSCF248、ならびに単量体の切断された細胞外ドメインであるSCF165を示している。SCF165は、SCF248がExon6領域内の切断部位で切断されると放出される。

【図4A】マウス5H10抗体と、SCFを発現しない対照細胞（左パネル）、SCF220を発現するがSCF248を発現しない細胞（中パネル）、及びSCF248を発現するがSCF220を発現しない細胞（右パネル）との結合を示すヒストグラムのセットである。

30

【図4B】マウス5H10抗体と、165アミノ酸で切断されたSCF細胞外ドメイン（ECD）及び完全な194アミノ酸のSCF ECDとの結合を示している。

【図5】培養したヒトIPF筋線維芽細胞をpHrodo red標識2G8、5H10、または対照IgG抗体に接触させた後にフローサイトメトリーで測定した平均蛍光強度（MFI）を示している。

【図6】5H10抗体またはIgG対照の存在下で好酸球をSCF248発現細胞に接触させた後のc-kitシグナル伝達のP13K/ACT経路及びMEK/ERK経路の活性化を示している。5H10抗体は、両方の経路の活性化を有意に低減した。

【図7】マウス2G8抗体及びマウス5H10抗体と、SL/SL4 hSCF248（ATCC（登録商標）CRL2454（商標））の初期継代細胞（A）及び後期継代細胞（B）との結合をフローサイトメトリーにより示している。

40

【図8A】マウス2G8及びマウス5H10とSL/SL4 hSCF220（ATCC（登録商標）CRL2453（商標））の初期継代細胞及びハイグロマイシンB処置細胞との結合を示している。

【図8B】マウス2G8及びマウス5H10とSL/SL4 hSCF248の初期継代細胞及びハイグロマイシンB処置細胞との結合を示している。

【図9A】異なる抗体濃度の2G8ヒト化バリエーションとSL/SL4 hSCF220細胞との結合をフローサイトメトリーにより示している。

【図9B】異なる濃度の2G8ヒト化バリエーションとSL/SL4 hSCF248細胞と

50

の結合をフローサイトメトリーにより示している。

【図10A】異なる抗体濃度の5H10ヒト化バリエーションとSL/SL4 hSCF248細胞との結合をフローサイトメトリーにより示している。

【図10B】異なる抗体濃度の5H10ヒト化バリエーションとSL/SL4 hSCF220細胞との結合をフローサイトメトリーにより示している。

【図11A】異なる抗体濃度の2G8ヒト化バリエーションとSL/SL4 hSCF248細胞との結合をフローサイトメトリーにより示している。

【図11B】異なる抗体濃度の5H10ヒト化バリエーションとSL/SL4 hSCF248細胞との結合をフローサイトメトリーにより示している。

【図11C】異なる抗体濃度の5H10ヒト化バリエーションとSL/SL4 hSCF248細胞との結合をフローサイトメトリーにより示している。図11Cでは、示されているVHはVK3と対になっている。

【図11D】異なる抗体濃度の5H10ヒト化バリエーションとSL/SL4 hSCF248細胞との結合をフローサイトメトリーにより示している。図11Dでは、示されている5H10抗体はVH1/VK3である。

【図12A】ヒトIPF筋線維芽細胞(Mfb)を陽性対照(無関係な抗体)または図の各バー下を示した抗体とプレインキュベートした後のCCL11のmRNAレベルの変化を示している。マウス親抗体は図面内で「5H10」と示されている。ヒト化5H10抗体VH1/VK3、VH2/VK3、VH3/VK3、VH4/VK3、及びVH5/VK3についても、示されているように試験した。試験した抗体濃度は1 µg/mLまたは10 µg/mLであった。

【図12B】ヒトIPF筋線維芽細胞(Mfb)を陽性対照(無関係な抗体)または図の各バー下を示した抗体とプレインキュベートした後のコラーゲン1A1のmRNAレベルの変化を示している。マウス親抗体は図面内で「5H10」と示されている。ヒト化5H10抗体VH1/VK3、VH2/VK3、VH3/VK3、VH4/VK3、及びVH5/VK3についても、示されているように試験した。試験した抗体濃度は1 µg/mLまたは10 µg/mLであった。

【図12C】ヒトIPF筋線維芽細胞(Mfb)を陽性対照(無関係な抗体)または図の各バー下を示した抗体とプレインキュベートした後のフィブロネクチンのmRNAレベルの変化を示している。マウス親抗体は図面内で「5H10」と示されている。ヒト化5H10抗体VH1/VK3、VH2/VK3、VH3/VK3、VH4/VK3、及びVH5/VK3についても、示されているように試験した。試験した抗体濃度は1 µg/mLまたは10 µg/mLであった。

【図12D】ヒトIPF筋線維芽細胞(Mfb)を陽性対照(無関係な抗体)または図の各バー下を示した抗体とプレインキュベートした後のコラーゲン3のmRNAレベルの変化を示している。マウス親抗体は図面内で「5H10」と示されている。ヒト化5H10抗体VH1/VK3、VH2/VK3、VH3/VK3、VH4/VK3、及びVH5/VK3についても、示されているように試験した。試験した抗体濃度は1 µg/mLまたは10 µg/mLであった。

【図13】pHrodo red標識マウス5H10抗体、VH0/VK0キメラ型抗体、ヒト化バリエーションVH1/VK3、及びVH2/VK3の内在化を示している。矢印は、内在化した抗体を示す例示的な細胞を指し示している。

【図14】5H10ヒト化バリエーションがPBMC生存率に及ぼす影響を示している。

【図15A】EpiScreen(商標)時間経過T細胞増殖アッセイにおいて、示されている5H10ヒト化バリエーションによって誘導されたCD4+T細胞応答を示している。

【図15B】EpiScreen(商標)時間経過T細胞増殖アッセイにおいて、示されている5H10ヒト化バリエーションによって誘導されたCD4+T細胞応答を示している。

【図15C】EpiScreen(商標)時間経過T細胞増殖アッセイにおいて、示されている5H10ヒト化バリエーションによって誘導されたCD4+T細胞応答を示している。

【図15D】EpiScreen(商標)時間経過T細胞増殖アッセイにおいて、示され

10

20

30

40

50

ている5H10ヒト化バリエーションによって誘導されたCD4+T細胞応答を示している。

【図15E】EpiScreen（商標）時間経過T細胞増殖アッセイにおいて、示されている5H10ヒト化バリエーションによって誘導されたCD4+T細胞応答を示している。

【図15F】EpiScreen（商標）時間経過T細胞増殖アッセイにおいて、示されている5H10ヒト化バリエーションによって誘導されたCD4+T細胞応答を示している。

【図15G】EpiScreen（商標）時間経過T細胞増殖アッセイにおいて、示されている5H10ヒト化バリエーションによって誘導されたCD4+T細胞応答を示している。

エキセナチドは陽性対照である。

【図15H】EpiScreen（商標）時間経過T細胞増殖アッセイにおいて、示されている5H10ヒト化バリエーションによって誘導されたCD4+T細胞応答を示している。

KLHは陽性対照である。

【図16】EpiScreen（商標）の時間経過T細胞増殖アッセイの分散分析（ANOVA）を示している。

【図17】ブレオマイシン対照動物（左パネル）及びブレオマイシン及び5H10（20mg/kg）で処置した動物の肺組織像を示している。図面内の5

【図18】ブレオマイシン及び対照IgGで処置した動物、ならびにブレオマイシン及び5H10（20mg/kg；図面内では抗SCF248と称されている）で処置した動物における肺ヒドロキシプロリンの減少を示している。

【図19】ナイーブマウス、肺線維症を誘発するためのブレオマイシン及び対照Ig抗体（Bleo+cIg）で処置したマウス、ならびにブレオマイシン及びマウス5H10抗体（図面内では抗SCF248と称されている）で処置したマウスにおける体重の経時変化を、0日目に測定した体重の%として示している。抗体を指示時点で投与した。

【図20】ブレオマイシン及び対照IgGで処置した動物、ならびにブレオマイシン及び5H10（20mg/kg；図面内では抗SCF248と称されている）で処置した動物における炎症性サイトカイン及び筋線維芽細胞活性化マーカー（TGFB、CCL2、COL1a1、フィブロネクチン（fn）、平滑筋アクチン（acta2）、及び幹細胞因子（kitlg））についてのmRNAの減少を示している。

【図21】ブレオマイシン及び対照IgGで処置した動物、ならびにブレオマイシン及び5H10（20mg/kg；図面内では抗SCF248と称されている）で処置した動物における肺マスト細胞、好酸球、及びILC2リンパ球の減少を示している。

【図22】強制呼気量（左パネル）、強制呼気速度（中央パネル）、及び肺圧力の変化（右パネル）によって測定される肺機能検査が、ブレオマイシン及び5H10（20mg/kg；図面内では抗SCF248と称されている）で処置した動物では、ブレオマイシン及び対照IgGで処置した動物に比べて著しく改善したことを示している。

【図23】ヒト化抗体の試験に使用されるin vivo慢性アレルギー性喘息モデルにおける試験設計の模式図を示している。

【図24】慢性アレルギー性喘息のin vivoモデルにおけるヒト化5H10抗体による処置の結果を示している。Aは、測定した気道抵抗が、VH1/VK3で処置した動物ではPBS対照に比べて有意に低減したことを示している。肺組織のIL-13 mRNA（B）、コラーゲン1 mRNA（C）、コラーゲン3 mRNA（D）についても、VH1/VK3で処置した動物では慢性喘息（PBS）対照に比べて低減した。Eは、SCF248 mRNAの発現についても、VH1/VK3 5H10抗体で処置した動物ではPBS対照に比べて低減したことを示している。

【図25】抗体VH1/VK3が、in vivoで1mg/kg及び5mg/kgの濃度で粘液タンパク質Gob5（A）、IL-13（B）、及びIL-5（C）のmRNAレベルを低減したことを示している。

【発明を実施するための形態】

【0020】

幹細胞因子（SCF）は、急性及び慢性の炎症、線維性疾患、ならびに組織リモデリング疾患の重要なメディエーターである。免疫細胞上でSCFがc-Kitと相互作用する

10

20

30

40

50

ことにより、炎症及び線維化が開始し、永続する。本開示は、SCFとc-Ki tとの相互作用を阻害するための組成物及び方法を提供する。1つの態様において、本開示は、SCFの炎症形態であるSCF248がc-Ki tと相互作用するのを防止して免疫細胞の活性化を低減及び／または防止するための組成物及び方法を提供する。したがって、本開示は、慢性炎症ならびに線維性疾患及び組織リモデリング疾患を治療するための方法を提供する。1つの態様において、本開示は、器官または組織内での免疫細胞の蓄積（例えば、増殖及び／または保持）を低減するための組成物及び方法を提供する。例えば、本開示は、SCF248がc-Ki tと相互作用するのを防止して器官または組織内での免疫細胞の蓄積を低減及び／または防止する組成物及び方法を提供する。いくつかの実施形態において、本開示は、マスト細胞、好酸球、2型自然リンパ球（ILC2）細胞、及び3型自然リンパ球（ILC3）細胞の器官または組織内での活性化及び／または蓄積を低減及び／または防止するための組成物及び方法を提供する。

10

#### 【0021】

詳細には、本開示は、SCFに特異的に結合し、c-Ki tとの相互作用を遮断または阻害する抗体及びそのフラグメントを提供する。いくつかの実施形態において、本明細書で提供する抗体及びフラグメントは、SCFに結合し、c-Ki t及びc-Ki t＋細胞の活性を阻害する。また、本開示は、SCFに特異的に結合する抗体及びそのフラグメントを生成するための方法、ならびにそれらの使用の診断及び治療方法を提供する。1つの態様において、本明細書で提供する抗体及びそのフラグメントは、炎症を促進するSCFアイソフォームであるSCF248に特異的に結合する。したがって、本開示は、炎症及び線維症を阻害し、慢性炎症性疾患及び線維性疾患を治療するための、特定の有効な組成物及び方法を提供する。

20

#### 【0022】

##### 定義

本明細書で使用する場合、「抗体」という用語は、少なくとも1つの抗原結合ドメインを有する結合タンパク質を指す。本発明の抗体及びそのフラグメントは、全抗体であってもその任意のフラグメントであってもよい。したがって、本発明の抗体及びフラグメントには、モノクローナル抗体またはそのフラグメント、抗体バリエーションまたはそのフラグメント、及びイムノコンジュゲートが含まれる。抗原結合フラグメントには、Fabフラグメント、Fab'フラグメント、F(ab')<sub>2</sub>フラグメント、二重特異性Fab二量体 (Fab<sub>2</sub>)、三重特異性Fab三量体 (Fab<sub>3</sub>)、Fv、単鎖Fvタンパク質 (「scFv」)、bis-scFv、(scFv)<sub>2</sub>、ミニボディ、ダイアボディ、トリアボディ、テトラボディ、ジスルフィド安定化Fvタンパク質 (「dsFv」)、シングルドメイン抗体 (sdAb、ナノボディ)、重鎖のみの抗体（例えば、ラクダ科VHH、ラクダ科ナノボディ、サメIg NAR）、及び抗原結合を担当する全長抗体の一部が含まれる。単離された抗体またはその抗原結合フラグメントは、その自然環境の構成要素から同定及び分離され、及び／または回収された抗体である。

30

#### 【0023】

いくつかの実施形態において、抗体及びその抗原結合フラグメントは、単離された抗体及びそのフラグメントである。したがって、本発明は、単離された抗体及びその抗原結合フラグメント、ならびにこのような抗体及びフラグメントをコードする核酸、ならびにこのような単離された抗体、フラグメント、及び核酸を含む組成物を提供する。「単離された」という用語は、その自然環境から分離された目的化合物（例えば、抗体または核酸）を指す。本発明はさらに、単離された抗体もしくはそのフラグメント、またはこのような抗体もしくはフラグメントをコードする核酸を含み、1つ以上の医薬的に許容される担体をさらに含む、医薬組成物を提供する。医薬的に許容される担体としては、例えば、賦形剤、希釈剤、カプセル化材料、充填剤、緩衝剤、または他の薬剤が挙げられる。

40

#### 【0024】

本明細書で使用する場合、「由来する」という用語は、参照抗体または他の結合タンパク質に対する分子またはポリペプチドを指すために使用される際には、参照抗体または他

50

の結合タンパク質と同じエピトープに特異的であり結合可能な分子またはポリペプチドを意味する。

【0025】

本明細書で使用する場合、「～に特異的」という表現は、抗体が非特異的相互作用のみによって標的に結合するわけではないことを意味し得、この特性は、イソタイプ対照または同様のものとの比較によって決定することができる。特異的結合は、単一の標的への排他的結合を含む場合もあるが、必ずしもこれを要件とするわけではない。諸実施形態において、本明細書で提供する抗体は、SCF248に特異的に結合し、SCF220には結合はしない。

【0026】

「宿主細胞」という用語は、核酸配列で形質転換されているか、または形質転換可能であることにより、目的遺伝子を発現する細胞を意味する。当該用語は親細胞の後代を含み、それは、目的遺伝子が存在する限り、後代が形態学または遺伝子的構成において元の親細胞と同一であるか否かを問わない。

【0027】

ポリペプチド（例えば、抗原結合タンパク質、または抗体）の「バリエーション」は、別のポリペプチド配列に比べて、1つ以上のアミノ酸残基がアミノ酸配列に挿入、欠失、及び／または置換されているアミノ酸配列を含む。バリエーションには、本明細書で提供する抗体もしくはフラグメント、または挙げられたDNAもしくはアミノ酸配列を有する抗体もしくはフラグメントに対し、挙げられた同一性パーセントを有する抗体及びそのフラグメントが含まれる。

【0028】

「同一性」という用語は、配列のアラインメント及び比較によって決定される2つ以上のポリペプチド分子または2つ以上の核酸分子の配列間の関係を指す。「同一性パーセント」、「相同性パーセント」、「配列同一性」、「配列相同性」などは、比較する分子中のアミノ酸またはヌクレオチド間の同一な残基のパーセントを意味し、比較する分子のうち最小の分子のサイズに基づいて計算される。このような計算について、アラインメントにおけるギャップ（存在する場合）は、好ましくは特定の数学的モデルまたはコンピュータープログラム（すなわち、「アルゴリズム」）で対処する。アラインメントした核酸またはポリペプチドの同一性を計算するのに使用され得る方法としては、Computational Molecular Biology, (Lesk, A. M., ed.), 1988, New York: Oxford University Press; Bio computing Informatics and Genome Projects, (Smith, D. W., ed.), 1993, New York: Academic Press; Computer Analysis of Sequence Data, Part I, (Griffin, A. M., and Griffin, H. G., eds.), 1994, New Jersey: Humana Press; von Hein je, G., 1987, Sequence Analysis in Molecular Biology, New York: Academic Press; Sequence Analysis Primer, (Gribskov, M. and Devereux, J., eds.), 1991, New York: M. Stockton Press; 及びCarillo et al., 1988, SIAM J. Applied Math. 48: 1073に記載のものが挙げられる。同一性パーセントの計算では、比較される配列は、典型的には、配列間の一致度が最も高くなるようにアラインメントされる。

【0029】

「軽鎖」という用語は、完全長の軽鎖と、結合特異性を付与するのに十分な可変領域配列を有するそのフラグメントとを含む。完全長の軽鎖は、可変領域ドメイン及び定常領域ドメインを含む。軽鎖の可変領域ドメインは、ポリペプチドのアミノ末端にある。軽鎖にはカップ鎖及びラムダ鎖が含まれる。

【0030】

「重鎖」という用語は、完全長の重鎖と、結合特異性を付与するのに十分な可変領域配列を有するそのフラグメントとを含む。完全長の重鎖は、可変領域ドメインと、3つの定常領域ドメイン（ $C_H1$ 、 $C_H2$ 、及び $C_H3$ ）とを含む。可変重鎖ドメインはポリペプチドのアミノ末端にあり、 $C_H$ ドメインはカルボキシル末端にあり、 $C_H3$ はポリペプチドのカルボキシ末端の最も近くにある。重鎖は、IgG（IgG1、IgG2、IgG3、及びIgG4サブタイプを含む）、IgA（IgA1及びIgA2サブタイプを含む）、IgM、ならびにIgEを含めた任意のアイソタイプのものであり得る。「アイソタイプ」という用語は、重鎖定常領域遺伝子によってコードされる抗体クラスを指す。いくつかの実施形態において、本明細書で提供する抗体は、IgG4重鎖、またはある特定のアミノ酸変異を含むIgG4重鎖を有する。例えば、いくつかの実施形態において、IgG4は、Fabアーム交換を阻害するために228位に変異を含む（EUナンバリングスキーム（Kabat et al. Sequence of proteins of immunologic interest, 5th ed Bethesda, MD, NIH 1991））。例えば、いくつかの実施形態において、IgG4重鎖はIgG4 S228P重鎖である。いくつかの実施形態において、重鎖は、Fc受容体との結合を低減する1つ以上のアミノ酸変異を含むことにより、抗体のエフェクター機能を低減または除去する。例えば、重鎖は、233、234、235、236、237、265、309、331、及び409位（EUナンバリング）のうちの1つ以上に変異を含み得る。

#### 【0031】

「可変領域」または「可変ドメイン」という用語は、抗体の軽鎖及び／または重鎖の一部を指し、典型的には、重鎖内のアミノ末端約120～130アミノ酸及び軽鎖内のアミノ末端約100～110アミノ酸を含む。ある特定の実施形態において、異なる抗体の可変領域は、同じ種の抗体間でもアミノ酸配列が広範囲に異なっている。抗体の可変領域は、典型的には、その特定の抗体の標的に対する特異性を決定する。本明細書で使用する場合、「標的」という用語は、抗原結合タンパク質による結合が可能な分子または分子の一部を指す。ある特定の実施形態において、標的は1つ以上のエピトープを有し得る。ある特定の実施形態において、標的は抗原である。「抗原結合タンパク質」という表現における「抗原」の使用は、単に、抗原を構成するタンパク質配列が抗体によって結合され得ることを意味する。この文脈において、タンパク質が異物であること、または免疫応答の誘導が可能であることは要求されない。

#### 【0032】

「エピトープ」という用語は、抗原結合タンパク質による結合が可能な任意の決定基（例えば、抗体またはT細胞受容体）を含む。エピトープは、抗原を標的とする抗原結合タンパク質によって結合される抗原の領域であり、抗原がタンパク質である場合、エピトープは、抗原結合タンパク質に直接接触する特定のアミノ酸を含む。エピトープは、最も多くの場合タンパク質上に存在するが、場合によっては他の種類の分子（例えば、核酸）上に存在することもある。エピトープ決定基は、アミノ酸、糖側鎖、ホスホリルまたはスルホニルなどの分子の化学的に活性な表面グルーピングを含み得、特定の3次元構造特性及び／または特定の電荷特性を有し得る。概して、特定の標的抗原に特異的な抗体は、タンパク質及び／または巨大分子の複合混合物中にある標的抗原上のエピトープを優先的に認識する。抗体エピトープは、直鎖状の場合も立体構造の場合もある。諸実施形態において、本明細書で提供するエピトープは直鎖状エピトープである。

#### 【0033】

単数形の使用は、別段の明記がない限り複数形を含む。単語「a」または「an」は、別段の明記がない限り「少なくとも1つ」を意味する。「または」の使用は、別段の記載がない限り、「及び／または」を意味する。「少なくとも1つ」という表現の意味は、「1つ以上」という表現の意味と同等である。さらに、用語「含む（including）」ならびに他の形式（例えば、「含む（includes）」及び「含まれる（included）」）の使用は、限定的ではない。また、「要素」または「構成要素」などの用語は、別段の明記がない限り、1つの単位を含む要素または構成要素、及び2つ以上の単

10

20

30

40

50

位を含む要素または構成要素の両方を包含する。本明細書で使用する場合、「約」という用語は、記載されたパラメーター値よりも多いまたは少ない量、例えば、「約」が修飾する対象のプラスマイナス5%または10%、または当業者であれば文脈から認識できるような量（例えば、値間の間隔のおよそ50%）を指す。また、「約」という用語は、言及されている値も含む。

【0034】

#### 幹細胞因子

ヒトには少なくとも2つの形態のSCFが存在し、異なる構造及び活性を有する。SCF220は、造血及び精子形成を含めたいくつかの恒常性機能で機能し、骨髄、精巣、ならびに他の組織及び器官に見出される。SCF220はゆっくりと切断可能であり、「膜SCF」と呼ばれることもある。これに対し、SCF248は迅速に切断可能であり、N末端のc-kit結合ドメインと膜貫通ドメインとの間に位置するエキソン6に切断部位を含む。SCF248は「可溶性SCF」と称されることもある。エキソン6は選択的スプライシングによりSCF220から除外されており、よってSCF220にはこの切断部位が欠如している。単量体細胞外ドメイン（SCF165）は切断産物であり、慢性炎症性疾患に対する血漿中のバイオマーカーとして機能する。血漿は、SCF220に由来する検出可能なレベルのSCF細胞外ドメインも含む可能性があるが、検出可能な細胞外ドメインの大部分はSCF165であることが予想される。SCF248は、筋線維芽細胞、活性化上皮細胞、及び他の細胞に見出されるアイソフォームであり、炎症中に免疫細胞を活性化し、線維症の永続化に寄与する。より具体的には、SCF248は免疫細胞上のc-Kitに結合し、サイトカインの産生を開始し、線維芽細胞を活性化して筋線維芽細胞に変え、細胞外マトリックスタンパク質、コラーゲン、及びフィブロネクチンを分泌させる。活性化筋線維芽細胞に加えて活性化上皮、内皮、マクロファージ、好酸球、マスト細胞、単球、及び他の細胞も細胞表面にSCFを発現し、より多くのc-Kit+免疫細胞を活性化し、その結果さらなるサイトカインの放出及び免疫活性化及び線維化応答を引き起こす。

【0035】

本明細書で開示する抗体及びその抗原結合フラグメントは、SCFに特異的である。いくつかの実施形態において、抗体及びそのフラグメントは、ヒトSCFに特異的である。いくつかの実施形態において、抗体及びそのフラグメントは、SCF248に特異的である。いくつかの実施形態において、抗体はSCF248に結合し、SCFの他のアイソフォームには結合しない。いくつかの実施形態において、抗体は、SCF248に結合し、SCF220には結合しない。いくつかの実施形態において、本開示は、SCF248に特異的な抗体またはそのフラグメントを作製するための方法を提供する。SCF248に特異的な例示的な抗体及びフラグメント、ならびに当該抗体及びフラグメントを作製及び使用するための方法を本開示で提供する。いくつかの実施形態において、本明細書で提供する抗体及びそのフラグメントは、SCF248に結合し、SCF248とc-Kitとの間の相互作用を遮断することにより、様々な細胞タイプに発現するSCF248とc-Kit+免疫細胞との間の正のフィードバックループを中断する。

【0036】

#### 抗体及びフラグメント

本開示は、抗体（モノクローナル抗体を含む）及びそのフラグメントを提供する。本明細書で提供するSCF（例えば、SCF248）に特異的な抗体フラグメントは、本明細書内で抗原結合フラグメントと称されることがあるが、これは、標的抗原（SCF（例えば、SCF248））と結合可能な親抗体の一部を含むことを意味する。本明細書では「抗体フラグメント」、「抗原結合フラグメント」などは互換的に使用される。抗原フラグメントの例としては、Fabフラグメント、Fab'フラグメント、F(ab)'フラグメント、Fvフラグメント、単離されたCDR領域、二重特異性Fab二量体（Fab2）、三重特異性Fab三量体（Fab3）、単鎖Fvタンパク質（「scFv」）、bis-scFv、（scFv）2、ミニボディ、ダイアボディ、トリアボディ、テトラボディ

、ジスルフィド安定化Fvタンパク質（「dsFv」）、シングルドメイン抗体（sdAb、ナノボディ）、重鎖のみの抗体（例えば、ラクダ科VHH、ラクダ科ナノボディ、サメIg NAR）、及び抗原結合を担当する全長抗体の一部が挙げられる。

【0037】

「Fabフラグメント」は、1つの軽鎖と、1つの重鎖のCH1及び可変領域とを含む。Fab分子の重鎖は、別の重鎖分子とジスルフィド結合を形成することができない。「Fab'フラグメント」は、1つの軽鎖と、1つの重鎖の一部とを含み、この重鎖の一部は、VHドメイン及びCH1ドメイン、さらにCH1ドメインとCH2ドメインとの間の領域を含み、その結果、2つのFab'フラグメントの2つの重鎖間で鎖間ジスルフィド結合が形成されてF(ab')<sub>2</sub>分子を形成することができる。「F(ab')<sub>2</sub>フラグメント」は、2つの軽鎖と、2つの重鎖とを含み、これらの重鎖は、CH1ドメインとCH2ドメインとの間の定常領域の一部を含み、その結果、2つの重鎖間で鎖間ジスルフィド結合が形成される。したがって、F(ab')<sub>2</sub>フラグメントは2つのFab'フラグメントから構成され、これらは2つの重鎖間のジスルフィド結合によって一緒に保持されている。Fvフラグメントは、重鎖及び軽鎖両方の可変領域を含み、定常領域が欠如している。「scFv」は、重鎖及び軽鎖の可変領域が柔軟なリンカーによって接続して、抗原結合領域を形成する1つのポリペプチド鎖を形成するFv分子である。

【0038】

いくつかの態様において、本明細書で提供する抗体及びそのフラグメントは、これらの相補的決定領域（CDR）によって定義される。CDRは抗体内の可変鎖の一部であり、軽鎖可変領域及び重鎖可変領域の各々は、CDR1、CDR2、及びCDR3の3つのCDRを含む。抗体のCDRが抗原特異性を決定する。ある特定の実施形態において、CDRの確定的な定義及び抗体の結合部位を含む残基の同定は、抗体の構造を解明すること及び／または抗体-リガンド複合体の構造を解明することにより、遂行される。ある特定の実施形態において、それは、当業者に知られている任意の様々な技法（例えば、X線結晶解析）により、遂行することができる。ある特定の実施形態において、CDR領域を同定または近似するために様々な解析方法を用いることができる。このような方法の例としては、限定されるものではないが、Kabatt定義、Chothia定義、AbM定義、及び接触定義が挙げられる。

【0039】

Kabatt定義は抗体内の残基のナンバリングの基準であり、典型的には、CDR領域を同定するために使用される。例えば、Johnson & Wu, *Nucleic Acids Res.*, 28:214-8 (2000)を参照。Chothia定義はKabatt定義に類似するが、Chothia定義では、ある特定の構造ループ領域の位置が考慮されている。例えば、Chothia et al., *J. Mol. Biol.*, 196:901-17 (1986); Chothia et al., *Nature*, 342:877-83 (1989)を参照。AbM定義は、Oxford Molecular Groupによって制作された抗体構造をモデル化するコンピュータープログラムの統合パッケージソフトを使用する。例えば、Martin et al., *Proc Natl Acad Sci (USA)*, 86:9268-9272 (1989); “AbM (商標), A Computer Program for Modeling Variable Regions of Antibodies,” Oxford, UK; Oxford Molecular, Ltd.を参照。AbMの定義は、Samudrala et al., “Ab Initio Protein Structure Prediction Using a Combined Hierarchical Approach” (*PROTEINS, Structure, Function and Genetics Suppl.*, 3:194-198 (1999))で説明されているような知識データベースと第1原理法との組合せを用いて、一次配列から抗体の3次構造をモデル化している。接触定義は、利用可能な複雑な結晶構造の解析に基づくものである。例えば、MacCallum et al., *J. Mol. Biol.*, 5:732-45 (1996)を参照。

## 【0040】

抗体及びそのフラグメントは、組換え型ポリペプチド、融合タンパク質、及び二重特異性抗体も含むことができる。本明細書で開示する抗SCF抗体及びそのフラグメントは、IgG1、IgG2、IgG3、またはIgG4アイソタイプのものであり得る。1つの実施形態において、本明細書で開示する抗SCF抗体及びそのフラグメントは、IgG1またはIgG4アイソタイプのものである。本発明の抗SCF抗体及びそのフラグメントは、任意の種（限定されるものではないが、マウス、ラット、ウサギ、霊長類、ラマ、ラクダ、ヤギ、サメ、ニワトリ、及びヒトを含む）に由来し得る。SCF抗体及びそのフラグメントは、キメラ型抗体、ヒト化抗体、または完全ヒト抗体であり得る。1つの実施形態において、抗SCF抗体はマウス抗体である。別の実施形態において、抗SCF抗体はキメラ型抗体である。さらなる実施形態において、キメラ型抗体はマウスーヒトキメラ型抗体である。別の実施形態において、抗体はマウスに由来し、ヒト化されている。

10

## 【0041】

「キメラ型抗体」とは、ある種に由来する重鎖可変領域の少なくとも一部及び軽鎖可変領域の少なくとも一部と、別の種に由来する定常領域の少なくとも一部とを有する抗体である。例えば、1つの実施形態において、キメラ型抗体は、マウス可変領域及びヒト定常領域を含み得る。

## 【0042】

「ヒト化抗体」は、非ヒト抗体に由来する相補性決定領域（CDR）と、ヒト抗体に由来するフレームワーク領域及び定常領域とを含む抗体である。例えば、本明細書で提供する抗SCF抗体は、1つ以上のマウス抗体及びヒトフレームワーク領域及び定常領域に由来するCDRを含み得る。したがって、1つの実施形態において、本明細書で提供するヒト化抗体は、抗体のCDRが由来するマウス抗体と同じSCF上のエピトープに結合する。

20

## 【0043】

いくつかの実施形態において、本明細書で提供する抗体及びそのフラグメントは重鎖及び軽鎖を含み、これらの各々が3つのCDRを含む。例示的な重鎖CDR1、CDR2、及びCDR3（それぞれHC DR1、HC DR2、及びHC DR3）ならびに軽鎖CDR1、CDR2、及びCDR3（それぞれLC DR1、LC DR2、及びLC DR3）のアミノ酸配列を以下の表1に示す。また、例示的な重鎖及び軽鎖可変領域のアミノ酸配列も表1に示す。いくつかの実施形態において、本開示は、本明細書で「5H10」及び「2G8」と称されている抗体を提供する。ヒト化5H10または2G8の重鎖可変領域を、本明細書ではVH1、VH2、VH3、VH4、及びVH5と称する。5H10 VH0は、本明細書に記載の方法によって生成されたマウス親抗体の可変重鎖である。VH1、VH2、VH3、VH4、VH5は各々、5H10 VH0または2G8 VH0に由来するヒト化重鎖可変領域である。5H10抗体はカップ軽鎖を含む。マウス親抗体可変軽鎖を、本明細書では5H10 VK0と称する。VK1、VK2、VK3、及びVK4は各々、VK0に由来するヒト化軽鎖可変領域である。2G8抗体はラムダ軽鎖を含む。マウス親抗体可変軽鎖を、本明細書では2G8 VL0と称する。VL1、VL2、VL3、及びVL4は各々、VL0に由来するヒト化軽鎖可変領域である。

30

40

50

【表 1 - 1】

表 1. 例示的な抗SCF抗体配列

| 配列番号 | 説明                   |                                                                                                                                          |
|------|----------------------|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| 1    | 5H10重鎖CDR1           | SYWMN                                                                                                                                    |
| 2    | 5H10重鎖CDR2           | Q I Y P G D G D T H Y N G K F K G                                                                                                        |
| 3    | 5H10重鎖CDR3           | SNWVGSY                                                                                                                                  |
| 4    | 5H10軽鎖CDR1           | KSSQSLLESDGKTYLN                                                                                                                         |
| 5    | 5H10軽鎖CDR2           | LVSRLDS                                                                                                                                  |
| 6    | 5H10軽鎖CDR3           | WQGTHLPQT                                                                                                                                |
| 7    | 5H10重鎖可変領域VH0 (マウス親) | QVQLQQSGAELVRPGSSSVKISCKSS<br>GYAFSSSYWMNWVKQRPGQGLEWIGQ<br>IYPGDGDTHYNGKFKGKATLTADKS<br>SSTAYMQLSRLTSEDSAVYFCSSSN<br>WVGSYWGQGTLVTVSA   |
| 8    | 5H10重鎖可変領域VH1 (ヒト化)  | QVQLVQSGAELKKPGSSSVKISCKSS<br>GYAFSSSYWMNWVKQRPGQGLEWIGQ<br>IYPGDGDTHYNGKFKGKATLTADKS<br>TSTAYMELSSLTSEDSAVYFCSSSN<br>WVGSYWGQGTLVTVSS   |
| 9    | 5H10重鎖可変領域VH2 (ヒト化)  | QVQLVQSGAEVKKPGSSSVKISCKSS<br>GYAFSSSYWMNWVKQRPGQGLEWIGQ<br>IYPGDGDTHYNGKFKGKATLTADKS<br>TSTAYMELSSLRSED TAVYFCSSSN<br>WVGSYWGQGTLVTVSS  |
| 10   | 5H10重鎖可変領域VH3 (ヒト化)  | QVQLVQSGAEVKKPGSSSVKVSCCKSS<br>GYAFSSSYWMNWVRQRPGQGLEWIGQ<br>IYPGDGDTHYNGKFKGKATLTADKS<br>TSTAYMELSSLRSED TAVYFCSSSN<br>WVGSYWGQGTLVTVSS |
| 11   | 5H10重鎖可変領域VH4 (ヒト化)  | QVQLVQSGAEVKKPGSSSVKVSCCKSS<br>GYAFSSSYWMNWVRQRPGQGLEWIGQ<br>IYPGDGDTHYNGKFKGRVTITADKS<br>TSTAYMELSSLRSED TAVYFCSSSN<br>WVGSYWGQGTLVTVSS |
| 12   | 5H10重鎖可変領域VH5 (ヒト化)  | QVQLVQSGAEVKKPGSSSVKVSCCKSS<br>GYAFSSSYWMNWVRQRPGQGLEWIGQ<br>IYPGDGDTHYNGKFQGRVTITADKS<br>TSTAYMELSSLRSED TAVYYCSSSN<br>WVGSYWGQGTLVTVSS |
| 13   | 5H10軽鎖可変領域VK0 (マウス親) | DVVMTQTPLTSLVTIGQTASISCKS<br>SQSLLESDGKTYLNWLSQRPGQSPK<br>RLIYLVSRLD SGVPDRFTGSGSGTD<br>FTLKISRVEAEDLGVYYCWQGTHLP<br>QTFGGGTKLEIK        |

10

20

30

40

50

【表 1 - 2】

|     |                                 |                                                                                                                                                                                                                                       |
|-----|---------------------------------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| 1 4 | 5 H 1 0 軽鎖<br>可変領域VK<br>1 (ヒト化) | DVVM TQSP L T L S V T L G Q P A S I S C K S S Q<br>S L L E S D G K T Y L N W L Q Q R P G Q S P R R L I Y<br>L V S R L D S G V P D R F T G S G S G T D F T L K I S<br>R V E A E D V G V Y Y C W Q G T H L P Q T F G G G T K<br>V E I K |
| 1 5 | 5 H 1 0 軽鎖<br>可変領域VK<br>2 (ヒト化) | DVVM TQSP L S L P V T L G Q P A S I S C K S S Q<br>S L L E S D G K T Y L N W L Q Q R P G Q S P R R L I Y<br>L V S R L D S G V P D R F T G S G S G T D F T L K I S<br>R V E A E D V G V Y Y C W Q G T H L P Q T F G G G T K<br>V E I K |
| 1 6 | 5 H 1 0 軽鎖<br>可変領域VK<br>3 (ヒト化) | DVVM TQSP L S L P V T L G Q P A S I S C K S S Q<br>S L L E S D G K T Y L N W L Q Q R P G Q S P R R L I Y<br>L V S R L D S G V P D R F S G S G S G T D F T L K I S<br>R V E A E D V G V Y Y C W Q G T H L P Q T F G G G T K<br>V E I K |
| 1 7 | 5 H 1 0 軽鎖<br>可変領域VK<br>4 (ヒト化) | DVVM TQSP L S L P V T L G Q P A S I S C K S S Q<br>S L L E S D G K T Y L N W F Q Q R P G Q S P R R L I Y<br>L V S R L D S G V P D R F S G S G S G T D F T L K I S<br>R V E A E D V G V Y Y C W Q G T H L P Q T F G G G T K<br>V E I K |
| 3 7 | 5 H 1 0 V<br>H 5 CDR<br>2       | Q I Y P G D G D T H Y N G K F Q G                                                                                                                                                                                                     |

## 【0 0 4 4】

当業者は、可変重鎖及び可変軽鎖は、本明細書で提供する抗体から独立的に選択させてもよく、または混合及び一致させてもよいことを理解するであろう。したがって、いくつかの実施形態において、本明細書で提供する抗体及びそのフラグメントは、VH0/VK0、VH0/VK1、VH0/VK2、VH0/VK3、VH0/VK4、VH1/VK0、VH1/VK1、VH1/VK2、VH1/VK3、VH1/VK4、VH2/VK0、VH2/VK1、VH2/VK2、VH2/VK3、VH2/VK4、VH3/VK0、VH3/VK1、VH3/VK2、VH3/VK3、VH3/VK4、VH4/VK0、VH4/VK1、VH4/VK2、VH4/VK3、VH4/VK4、VH5/VK0、VH5/VK1、VH5/VK2、VH5/VK3、及びVH5/VK4からなる群より選択される重鎖及び軽鎖の組合せを含む。

## 【0 0 4 5】

いくつかの実施形態において、本開示は、配列番号7～12からなる群より選択されるアミノ酸配列に対し少なくとも80%、少なくとも85%、少なくとも90%、少なくとも95%、または少なくとも99%の相同性を有するアミノ酸配列を含む抗体またはフラグメントを提供する。いくつかの実施形態において、本開示は、配列番号7～12からなる群より選択される配列に記載の重鎖可変領域を含む抗体またはそのフラグメントを提供する。いくつかの実施形態において、本開示は、配列番号7～11からなる群より選択されるアミノ酸配列に対し少なくとも80%、少なくとも85%、少なくとも90%、少なくとも95%、または少なくとも99%の相同性を有するアミノ酸配列を含む抗体またはフラグメントであって、配列番号1、2、及び3とそれぞれ同一の重鎖CDR1、CDR2、及びCDR3を含む、抗体またはフラグメントを提供する。いくつかの実施形態において、本開示は、配列番号12のアミノ酸配列に対し少なくとも80%、少なくとも85%、少なくとも90%、少なくとも95%、または少なくとも99%の相同性を有するアミノ酸配列を含む抗体またはフラグメントであって、配列番号1、37、及び3とそれぞ

れ同一の重鎖 C D R 1、C D R 2、及び C D R 3 を含む、抗体またはフラグメントを提供する。

【 0 0 4 6 】

いくつかの実施形態において、本開示は、配列番号 1 3 ～ 1 7 からなる群より選択されるアミノ酸配列に対し少なくとも 8 0 %、少なくとも 8 5 %、少なくとも 9 0 %、少なくとも 9 5 %、または少なくとも 9 9 % の相同性を有するアミノ酸配列を含む抗体またはフラグメントを提供する。いくつかの実施形態において、本開示は、配列番号 1 3 ～ 1 7 からなる群より選択される配列に記載の軽鎖可変領域を含む抗体またはそのフラグメントを提供する。いくつかの実施形態において、本開示は、配列番号 1 3 ～ 1 7 からなる群より選択されるアミノ酸配列に対し少なくとも 8 0 %、少なくとも 8 5 %、少なくとも 9 0 %、少なくとも 9 5 %、または少なくとも 9 9 % の相同性を有するアミノ酸配列を含む抗体またはフラグメントであって、配列番号 4、5、及び 6 とそれぞれ同一の軽鎖 C D R 1、C D R 2、及び C D R 3 を含む、抗体またはフラグメントを提供する。

10

【 0 0 4 7 】

いくつかの実施形態において、本開示は、以下に対し少なくとも 8 0 %、少なくとも 8 5 %、少なくとも 9 0 %、少なくとも 9 5 %、または少なくとも 9 9 % の相同性を有するアミノ酸配列を含む抗体またはフラグメントを提供する：配列番号 7 及び配列番号 1 3；配列番号 7 及び配列番号 1 4；配列番号 7 及び配列番号 1 5；配列番号 7 及び配列番号 1 6；配列番号 7 及び配列番号 1 7；配列番号 7 及び配列番号 1 3；配列番号 7 及び配列番号 1 4；配列番号 7 及び配列番号 1 5；配列番号 7 及び配列番号 1 6；配列番号 7 及び配列番号 1 7；配列番号 8 及び配列番号 1 3；配列番号 8 及び配列番号 1 4；配列番号 8 及び配列番号 1 5；配列番号 8 及び配列番号 1 6；配列番号 8 及び配列番号 1 7；配列番号 9 及び配列番号 1 3；配列番号 9 及び配列番号 1 4；配列番号 9 及び配列番号 1 5；配列番号 9 及び配列番号 1 6；配列番号 9 及び配列番号 1 7；配列番号 1 0 及び配列番号 1 3；配列番号 1 0 及び配列番号 1 4；配列番号 1 0 及び配列番号 1 5；配列番号 1 0 及び配列番号 1 6；配列番号 1 0 及び配列番号 1 7；配列番号 1 1 及び配列番号 1 3；配列番号 1 1 及び配列番号 1 4；配列番号 1 1 及び配列番号 1 5；配列番号 1 1 及び配列番号 1 6；配列番号 1 1 及び配列番号 1 7；配列番号 1 2 及び配列番号 1 3；配列番号 1 2 及び配列番号 1 4；配列番号 1 2 及び配列番号 1 5；配列番号 1 2 及び配列番号 1 6；または配列番号 1 2 及び配列番号 1 7。

20

30

【 0 0 4 8 】

特定の実施形態において、抗体及びそのフラグメントは、V H 1 / V K 1、V H 1 / V K 2、V H 1 / V K 3、V H 2 / V K 1、V H 2 / V K 2、V H 2 / V K 3、V H 3 / V K 1、V H 3 / V K 2、V H 3 / V K 3、V H 4 / V K 1、V H 4 / V K 2、V H 4 / V K 3、V H 5 / V K 1、V H 5 / V K 2、及び V H 5 / V K 3 からなる群より選択される重鎖及び軽鎖の組合せを含む。いくつかの実施形態において、抗体は、配列番号 8 または配列番号 9 に対し少なくとも 8 0 %、少なくとも 8 5 %、少なくとも 9 0 %、少なくとも 9 5 %、または少なくとも 9 9 % の配列同一性を有するアミノ酸配列と、配列番号 1 6 に対し少なくとも 8 0 %、少なくとも 8 5 %、少なくとも 9 0 %、少なくとも 9 5 %、または少なくとも 9 9 % の配列同一性を有するアミノ酸配列とを含む。いくつかの実施形態において、抗体またはそのフラグメントは、配列番号 8 または配列番号 9 に対し少なくとも 8 0 %、少なくとも 8 5 %、少なくとも 9 0 %、少なくとも 9 5 %、または少なくとも 9 9 % の配列同一性を有するアミノ酸配列と、配列番号 1 6 に対し少なくとも 8 0 %、少なくとも 8 5 %、少なくとも 9 0 %、少なくとも 9 5 %、または少なくとも 9 9 % の配列同一性を有するアミノ酸配列とを含み、抗体またはフラグメントは、配列番号 1、2、及び 3 とそれぞれ同一の重鎖 C D R 1、C D R 2、及び C D R 3 と、配列番号 4、5、及び 6 とそれぞれ同一の軽鎖 C D R 1、C D R 2、及び C D R 3 とを含む。いくつかの実施形態において、抗体またはそのフラグメントは、配列番号 8 または配列番号 9 に対し少なくとも 9 5 % または少なくとも 9 9 % の配列同一性を有するアミノ酸配列と、配列番号 1 6 に対し少なくとも 9 5 % または少なくとも 9 9 % の配列同一性を有するアミノ酸配列とを含

40

50

み、抗体またはフラグメントは、配列番号 1、2、及び 3 とそれぞれ同一の重鎖 C D R 1、C D R 2、及び C D R 3 と、配列番号 4、5、及び 6 とそれぞれ同一の軽鎖 C D R 1、C D R 2、及び C D R 3 とを含む。抗体またはそのフラグメントは、S C F 2 4 8 に特異的に結合するが S C F 2 2 0 には結合しない場合がある。いくつかの実施形態において、抗体は、配列番号 8 に記載の重鎖可変領域と、配列番号 1 6 に記載の軽鎖可変領域とを含む。いくつかの実施形態において、抗体は、配列番号 9 に記載の重鎖可変領域と、配列番号 1 6 に記載の軽鎖可変領域とを含む。

【0049】

いくつかの実施形態において、本明細書で提供する抗体及びフラグメントは、配列番号 7、8、9、10、11、もしくは 12 に記載の重鎖可変領域アミノ酸配列またはそのバリエーションを含み、及び／または配列番号 13、14、15、16、もしくは 17 に記載の軽鎖可変領域アミノ酸配列またはそのバリエーションを含む。バリエーションは、1、2、3、4、5、6、7、8、9、もしくは 10 のアミノ酸置換もしくは欠失、またはそれらの組合せを含み得る。いくつかの実施形態において、アミノ酸置換は保存的置換である。C D R または可変軽鎖もしくは重鎖領域に 1 つ以上のアミノ酸置換、挿入、欠失、またはそれらの組合せを有する本明細書で開示する抗 S C F 抗体は、本明細書で提供する配列に対しアミノ酸置換、挿入、または欠失を有しない対応する抗 S C F 抗体の生物活性を保持する。したがって、本明細書で提供するバリエーション抗 S C F 抗体は、S C F 2 4 8 への特異的結合を保持する。本明細書では、相同性パーセント、配列同一性、配列相同性などの用語が互換的に使用され、これらの用語は、2 つの参照配列が共有する同一のアミノ酸配列の数を、アミノ酸位置の総数で割り、100 を掛けたものを指す。

【0050】

いくつかの実施形態において、本発明は、本明細書で開示する例示的な抗体のいずれか 1 つと同じエピトープに結合する抗体を提供する。したがって、いくつかの実施形態において、本発明は、S C F に対する結合が、本明細書で提供する例示的な抗体と競合する抗体を提供する。例えば、いくつかの実施形態において、本開示は、本明細書で配列番号 29 として示されるアミノ酸配列の領域に特異的に結合する抗体を提供する。いくつかの実施形態において、本明細書で提供する抗体は、配列番号 33 (A S S L R N D S S S S N R K) または配列番号 36 (A S S L R N D S S S S N R) のアミノ酸配列を含むエピトープに特異的に結合する。いくつかの実施形態において、本開示は、配列番号 33 または配列番号 36 に記載のアミノ酸配列からなるエピトープに特異的に結合する抗体を提供する。いくつかの実施形態において、本開示は、配列番号 33 の少なくとも 5 個、少なくとも 6 個、少なくとも 7 個、少なくとも 8 個、少なくとも 9 個、または少なくとも 10 個の連続したアミノ酸を含むエピトープに特異的に結合する抗体を提供する。

【0051】

いくつかの実施形態において、本明細書で提供する抗体及びそのフラグメントは、本明細書で提供する重鎖及び軽鎖可変領域の 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、及び／または L C D R 3、あるいはこれらのバリエーションを含む。したがって、いくつかの実施形態において、本明細書で提供する抗体及びそのフラグメントは、H C D R が配列番号 7、8、9、10、11、もしくは 12 の H C D R である抗体、及び／または L C D R が配列番号 13、14、15、16、もしくは 17 の L C D R である抗体を含む。例えば、いくつかの実施形態において、抗体及びそのフラグメントは、K a b a t ナンバリングスキームによる定義において、本明細書で提供する重鎖可変領域のいずれか 1 つのアミノ酸 31～35、50～65、及び 95～102 を含む。いくつかの実施形態において、抗体及びそのフラグメントは、K a b a t ナンバリングスキームによる定義において、本明細書で提供する軽鎖可変領域のいずれか 1 つのアミノ酸 24～34、50～56、及び 89～97 を含む。

【0052】

本明細書では例示的なヒト化抗体を提供する。本明細書で提供する重鎖及び軽鎖 C D R またはそのバリエーションを含む追加の抗 S C F 抗体は、任意のヒトフレームワーク配列を用

10

20

30

40

50

いて生成することができ、本発明に包含される。1つの実施形態において、本発明での使用に適したフレームワーク配列は、本明細書で提供するフレームワーク配列と構造的に類似するフレームワーク配列を含む。本明細書で提供する抗体の特性を改善するために、フレームワーク領域におけるさらなる修飾を行うことができる。このようなさらなるフレームワークの修飾としては、化学的修飾、免疫原性を低減するもしくはT細胞エпитープを除去するための点変異、または元の生殖細胞配列内の残基への逆変異が挙げられ得る。

#### 【0053】

いくつかの実施形態において、このようなフレームワーク修飾には、生殖細胞配列への逆変異を含めた本明細書で例示される変異に対応する修飾が含まれる。例えば、1つの実施形態において、本明細書で提供するヒト化抗体のVH及び／またはVLのヒトフレームワーク領域内の1つ以上のアミノ酸は、親マウス抗体内の対応するアミノ酸に逆変異している。また、本発明は、SCF（例えば、SCF248）に結合し、任意の好適なフレームワーク配列について本明細書に記載の例示的な修飾に対応するフレームワーク修飾、加えて、別の方法で抗体の特性を改善する他のフレームワーク修飾を含むヒト化抗体も包含する。他の実施形態において、本明細書で提供する抗体は、例えば、脱アミド化または酸化を低減する、異性化を低減する、疎水性コア及び／または電荷クラスター残基を最適化する、疎水性表面残基を除去する、可変重鎖と可変軽鎖との間の界面に関与する残基を最適化する、及び／または等電点を修飾する標的アミノ酸変化により、安定性を改善する、溶解度を改善する、グリコシル化を改変する、及び／または免疫原性を低減する1つ以上の変異を含む。

#### 【0054】

本明細書で提供する抗SCF抗体及びそのフラグメントはさらに、エフェクター機能を改変するためのFc領域修飾を含むことができる。Fc修飾は、アミノ酸の挿入、欠失、または置換の場合もあれば、化学的修飾の場合もある。例えば、Fc領域修飾は、補体結合を増加もしくは減少するため、抗体依存的な細胞毒性を増加もしくは減少するため、または抗体の半減期を増加もしくは減少するために行われ得る。いくつかのFc修飾は、Fcγ受容体（例えば、FcγRI、FcγRII、FcγRIII、またはFcRn）に対する抗体の親和性を増加または減少する。様々なFc修飾が当技術分野で説明されている（例えば、Shields et al., J Biol. Chem 276; 6591 (2001); Tai et al. Blood 119; 2074 (2012); Speckermann et al. J Exp. Med 196; 303 (2002); Moore et al. mAbs 2:2; 181 (2010); Medzihradsky Methods in Molecular Biology 446; 293 (2008); Mannan et al. Drug Metabolism and Disposition 35; 86 (2007); 及び Idusogie et al. J Immunol 164; 4178 (2000)。いくつかの実施形態において、Fc領域のグリコシル化パターンが改変される。他の実施形態において、Fc領域は、ペグ化によって（例えば、抗体またはそのフラグメントをポリエチレングリコール（PEG）と反応させることによって）修飾される。例示的なFc修飾としては、228、233、234、235、236、241、248、265、297、309、331、及び409からなる群より選択される1つ以上のアミノ酸位置での修飾が挙げられる（Kabatナンバリング; Kabat et al., Sequences of Immunological Interest, Fifth Edition, National Institute of Health, Bethesda, Md. (1991)）。諸実施形態において、抗体は、エフェクター機能を低減または消失するための修飾を有する。諸実施形態において、抗体は、E233P、L234V、L234A、L235V、L235A、G236（欠失）、D265A、D270A、N297A、及びN297Qからなる群より選択される1つ以上のFc修飾を有するIgG1抗体である。諸実施形態において、抗体は、S228P、E233P、F234A、F234V、L235A、L235V、S241P、L248E、D265A、D265T、L309L、及びR409Kからなる群より選

択される1つ以上のFc修飾を有するIgG4抗体である。諸実施形態において、本明細書で提供する抗SCF抗体は、S241P変異及びL248E変異を含む。

#### 【0055】

諸実施形態において、本開示は、配列番号40及び41に記載のヒトIgG4定常領域を含む、本明細書で提供する抗体を提供する。諸実施形態において、本開示は、配列番号40、41、42、43、44、45、46、47、48、49、または50に対する少なくとも約80%、少なくとも約85%、少なくとも約90%、少なくとも約95%、または約99%の配列同一性を含む抗体を提供する。諸実施形態において、本開示は、配列番号40に記載の重鎖と、配列番号41に記載の軽鎖とを含む抗体を提供する。諸実施形態において、本開示は、配列番号42、43、44、45、または46に記載の重鎖と、配列番号47、48、49、または50に記載の軽鎖とを含む抗体を提供する。諸実施形態において、本開示は、配列番号42に記載の重鎖と、配列番号49に記載の軽鎖とを含む抗体を提供する。諸実施形態において、本開示は、配列番号43に記載の重鎖と、配列番号49に記載の軽鎖とを含む抗体を提供する。諸実施形態において、本開示は、配列番号44に記載の重鎖と、配列番号49に記載の軽鎖とを含む抗体を提供する。諸実施形態において、本開示は、配列番号45に記載の重鎖と、配列番号49に記載の軽鎖とを含む抗体を提供する。諸実施形態において、本開示は、配列番号46に記載の重鎖と、配列番号49に記載の軽鎖とを含む抗体を提供する。

#### 【0056】

いくつかの実施形態において、本開示は、SCF248に特異的に結合する抗体を作製するための方法を提供する。SCFのSCF248アイソフォームはエキソン6を含む。これは、2つのアラニン残基（エキソン6のアミノ酸配列を示す配列番号34のアミノ酸16及び17）の間の切断部位を含む。以前の抗SCF抗体は、エキソン6及びエキソン7の一部にまたがるペプチドでマウスを免疫することによって生成された（例えば、米国特許第8,911,729号（あらゆる目的においてその全体が参照により本明細書に援用される）を参照）。SCF220は恒常性活性に関連するため、SCF220との任意の交差反応性は、対象に様々なオフターゲット効果をもたらすことから有害と考えられる。有利なことに、本開示で提供する抗体は、非常に高い特異性でSCF248に結合する。いくつかの実施形態において、本明細書で提供する抗体は、SCF248に特異的であり、SCF220には結合しない。したがって、本明細書で提供する抗体は、慢性炎症応答及び線維症を誘導し永続させるSCF248とc-Kitとの間の相互作用を、特異的に阻害可能である。さらに、本明細書で提供する抗体は、SCFの内在化を特異的に誘導することにより、SCF248とc-Kitとの相互作用を低減可能である。したがって、いくつかの実施形態において、本開示は、SCF248に特異的であり、本明細書で論じられ当技術分野で知られている様々な炎症性疾患及び線維性疾患に安全かつ有効な抗体を提供する。

#### 【0057】

モノクローナル抗体の調製については、培養下の連続的な細胞株による抗体分子の産生をもたらす任意の技法を使用することができる（例えば、Harlow and Lane, *Antibodies: A Laboratory Manual*, Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, N.Y. を参照）。このような技法としては、限定されるものではないが、Kohler及びMilsteinによって最初に開発されたハイブリドーマ技法、ならびにトリオーマ技法、ヒトB細胞ハイブリドーマ技法（例えば、Kozbor et al., *Immunol. Today*, 4:72 (1983) を参照）、及びヒトモノクローナル抗体を産生するためのEBV-ハイブリドーマ技法（Cole et al., *Monoclonal Antibodies and Cancer Therapy*, Alan R. Liss, Inc, pp. 77-96 (1985)）が挙げられる。代替的に、抗体は組換え型DNA法によって作製してもよい。いくつかの実施形態において、本開示に従う抗体は、例えば、Clackson et al., *Nature* 352:624

10

20

30

40

50

－28 (1991) 及び Marks et al., J. Mol. Biol. 222 (3) : 581-97 (1991) に記載の技法を用いて、ファージディスプレイライブラリーからモノクローナル抗体を単離することにより、作製することができる。いくつかの実施形態において、抗体は、ヒト由来のファージディスプレイまたは酵母ディスプレイライブラリー（複数可）から選択される Fv クローン可変ドメイン配列（複数可）を、既知のヒト定常ドメイン配列（複数可）と組み合わせることによって構築される、完全ヒト抗体である。

#### 【0058】

本明細書で提供するいくつかの実施形態において、抗体はハイブリドーマから調製される。ハイブリドーマ法を用いて、マウス、ハムスター、または他の適切な宿主動物に免疫ペプチドを注射することによって免疫して、リンパ球による免疫抗原に特異的に結合する抗体の産生を誘発する。代替的に、リンパ球を *in vitro* で免疫してもよい。免疫後、リンパ球を単離し、例えばポリエチレングリコールを用いて、好適な骨髓腫細胞株と融合させて、ハイブリドーマ細胞を形成し、次にこれを未融合のリンパ球及び骨髓腫細胞以外から選択することができる。ハイブリドーマは、免疫沈降法、免疫ブロット法、または *in vitro* 結合アッセイ（例えば、ラジオイムノアッセイ（RIA）もしくは酵素結合免疫吸着法（ELISA））によって決定される選択した抗原に特異的に指向するモノクローナル抗体を産生するが、このハイブリドーマは、次に標準法（Goding, Monoclonal Antibodies: Principles and Practice, Academic Press, 1986）を用いて *in vitro*（例えば培養下）で増殖させたり、動物の腹水腫瘍として *in vivo* で増殖させたりすることができる。次にモノクローナル抗体は、ポリクローナル抗体について上述されているように、培養基または腹水から精製することができる。

#### 【0059】

いくつかの実施形態において、本明細書で提供する抗体は、マウスハイブリドーマ系を用いて生成される。マウスにおけるハイブリドーマ産生は、十分に確立された手順である。融合のために免疫された脾臓細胞を単離するための免疫化プロトコル及び技法は、当技術分野で知られている。また、融合パートナー（例えば、マウス骨髓腫細胞）及び融合手順も知られている。本明細書の技法の実施形態は、SCFタンパク質の一部またはフラグメントであるペプチドでマウスを免疫することによって調製されたハイブリドーマから産生される抗体（例えば、モノクローナル抗体）を提供する。

#### 【0060】

いくつかの実施形態において、本明細書で提供する SCF 248 に特異的な抗体は、主にまたは独占的にエキソン 6 内にあるアミノ酸配列を有するペプチドでマウスを免疫することによって生成される。例えば、免疫ペプチドは、配列番号 34 内の 5 個以上の任意の一続きのアミノ酸を含む。別の例として、免疫ペプチドは、配列番号 29 のアミノ酸位置 20 から始まる 5 個以上の任意の一続きのアミノ酸を含む。別の例として、免疫ペプチドは、配列番号 29 のアミノ酸位置 20 で始まり、配列番号 29 の位置 25～38 のいずれか 1 つで終わる 5 個以上の任意の一続きのアミノ酸を含む。したがって、いくつかの実施形態において、免疫ペプチドは、切断部位以降のエキソン 6 のアミノ酸配列を含み、エキソン 6 内に完全に含まれるか、またはエキソン 7 の 1、2、3、4、もしくは 5 個のアミノ酸のみを含む。いくつかの実施形態において、免疫ペプチドは、配列番号 30 を含むか、またはそれからなる。いくつかの実施形態において、免疫ペプチドは、本明細書で提供するペプチドまたはその保存的バリエーションのいずれかを含む。保存的バリエーションは、1、2、3、4、もしくは 5 個のアミノ酸置換もしくは欠失、またはそれらの組合せを含み得る。上に示されているように、いくつかの実施形態において、本明細書で提供する免疫ペプチドを用いて生成される抗体は、エキソン 6 内に完全にまたは大部分収まっているエпитープを有する。「～内に大部分」とは、ペプチドの少なくとも 75%、少なくとも 80%、少なくとも 85%、少なくとも 90%、または少なくとも 95% がエキソン 6 内に収まることを意味する。いくつかの実施形態において、エпитープは、エキソン 6 の切断部

10

20

30

40

50

位（すなわち、配列番号 29 のアミノ酸位置 19 及び 20 のアラニン間）で始まり、エキソン 6 の末端まで及ぶ。いくつかの実施形態において、エピトープはエキソン 6 の切断部位から始まり、膜貫通ドメインの第 1、第 2、第 3、第 4、または第 5 の n 末端アミノ酸まで及ぶ。いくつかの実施形態において、エピトープは、配列番号 33 を含むか、またはそれからなる。いくつかの実施形態において、本明細書で 5H10 と称される抗体（マウス、キメラ型、及びヒト化 5H10 抗体を含む）は、配列番号 33 を含むか、またはそれからなる SCF のエピトープに結合する。

#### 【0061】

いくつかの実施形態において、本明細書で提供する方法は、本明細書で 5H10 と称される抗体を生成するために使用された。いくつかの実施形態において、抗体「5H10」は、本明細書では「OpSCF」とも称される。抗体 5H10 は、有利なことに、SCF 248 に高い特異性で結合し、SCF 220 には結合しない。マウス親抗体 5H10 及びそのヒト化バリエーションのアミノ酸配列が本明細書で提供される（表 1 を参照）。

#### 【0062】

1 つの実施形態において、本発明は、SCF 及び少なくとも 1 つの他の抗原またはエピトープに特異的な二重特異性または多重特異性抗体を提供する。本明細書で提供する抗 SCF 抗体及びそのフラグメントは、本明細書で提供する結合アッセイ、または当技術分野で知られている任意の他の結合アッセイを用いて、SCF との結合について試験することができる。

#### 【0063】

別段の明記がない限り、本発明の実施には、当技術分野で周知され、例えば、Methods in Molecular Biology, Humana Press; Molecular Cloning: A Laboratory Manual, second edition (Sambrook et al., 1989); Current Protocols in Immunology (J. E. Coligan et al., eds., 1991); Immunobiology (C. A. Janeway and P. Travers, 1997); Antibodies (P. Finch, 1997); Antibodies: a practical approach (D. Catty, ed., IRL Press, 1988-1989); Monoclonal antibodies: a practical approach (P. Shepherd and C. Dean, eds., Oxford University Press, 2000); Phage display: a laboratory manual (C. Barbas III et al, Cold Spring Harbor Laboratory Press, 2001); 及び Using antibodies: a laboratory manual (E. Harlow and D. Lane (Cold Spring Harbor Laboratory Press, 1999) に記載されている従来の分子生物学、細胞生物学、生化学、及び免疫学の技法が用いられる。

#### 【0064】

##### 治療方法

1 つの態様において、本開示は、SCF 248 と免疫細胞上の c-kit との相互作用を介した免疫細胞の移動、活性化、及び／または増殖に関連する任意の疾患または状態を治療及び／または予防するための方法を提供する。したがって、いくつかの実施形態において、本開示は、免疫細胞の活性化を阻害または防止する方法、ならびに器官または組織内の免疫細胞の蓄積を低減または防止することにより、炎症を伴う様々な疾患及び障害を治療または防止する方法を提供する。いくつかの実施形態において、免疫細胞は、マスト細胞、自然リンパ球（ILC（例えば、ILC2 または ILC3 細胞））、及び好酸球からなる群より選択される。

#### 【0065】

本明細書で使用する場合、「治療」または「治療する」という用語は、療法的治療及び予防的治療の両方を指す。治療を必要とする対象には、既に疾患または状態を有する対象

10

20

30

40

50

に加えて、疾患または状態を発症する可能性があり、その疾患または状態の防止、遅延、または軽減を目的とする対象が含まれる。本明細書で使用する場合、「対象」という用語は、哺乳類（例えば、げっ歯類、ネコ、イヌ、及び霊長類）を意味する。好ましくは、本発明に記載の対象はヒトである。本明細書で使用する場合、「治療有効量」という用語は、対象に治療上及び／または予防上の利益を提供するために必要な化合物または組成物の量を指す。

#### 【0066】

1つの態様において、本発明は、対象の炎症性疾患、線維性疾患、及び／または組織リモデリング疾患を治療するための方法を提供する。いくつかの実施形態において、炎症性疾患は慢性炎症性疾患である。

#### 【0067】

慢性炎症性疾患、線維性疾患、及び組織リモデリング疾患には、肺、腎臓、肝臓、心臓、皮膚、結合組織、及び他の組織の疾患が含まれる。例示的な炎症性、線維性、または組織リモデリング疾患としては、限定されるものではないが、肺線維症（例えば、特発性肺線維症（IPF）、強皮症肺線維症、強皮症関連間質性肺疾患（SSc-ILD）、肺感染または肺炎に関連する肺線維症、全身性エリテマトーデス及び／または関節リウマチに関連する肺線維症、サルコイドーシス）、慢性閉塞性肺疾患（COPD）、急性呼吸窮迫症候群（ARDS）、嚢胞性線維症、気管支周囲線維症、ブレオマイシン肺、過敏性肺炎、喘息、線維胸、縦隔線維症、慢性副鼻腔炎、蕁麻疹（例えば、慢性特発性蕁麻疹）、アトピー性皮膚炎、皮膚筋炎、結節性表皮下線維症、強皮症、ケロイド、腎線維症、慢性腎疾患、糸球体腎炎、慢性腎同種移植片拒絶、腎症（例えば、IgA腎症、巣状分節性糸球体硬化症、急速進行性糸球体腎炎、半月体形成性糸球体腎炎、ループス腎炎、高血圧性腎症、もしくは糖尿病性腎症）、非アルコール性脂肪性肝炎（NASH）、肝硬変、肝線維症、原発性硬化性胆管炎、原発性胆汁性肝硬変、線維筋痛症、歯肉線維症、放射線誘発性線維症、好酸球性食道炎、関節線維症、及び心房線維症、心内膜心筋線維症、実質線維症、線維性組織球腫、またはグリア瘢痕化が挙げられる。

#### 【0068】

いくつかの実施形態において、本明細書で開示する抗体及びそのフラグメントは、非経口、皮下、筋肉内、静脈内、関節内、気管支内、腹腔内、嚢内、軟骨内、洞内、腔内、脳内、脳室内、結腸内、頸管内、胃内、肝内、心筋内、骨内、骨盤内、心膜内、腹腔内、胸膜内、前立腺内、肺内、直腸内、腎内、網膜内、脊髄内、滑膜内、胸腔内、鼓膜内、子宮内、膀胱内、硝子体内、ボラス、結膜下、経口、経膈、経直腸、頬側、舌下、鼻腔内、腫瘍内、及び経皮から選択される少なくとも1つの経路により、対象に投与することができる。

#### 【0069】

諸実施形態において、本明細書で開示する抗体及びそのフラグメントは、1つ以上の追加の療法と組み合わせて、それを必要とする対象に投与することができる。1つ以上の追加の療法は、外科的手順などの手順の場合もあれば、治療剤（例えば、線維症及び／または炎症に関連する疾患または障害の症状を軽減または低減するように設計された薬剤）の場合もある。

#### 【0070】

以下の実施例を参照することにより、本発明についてさらに説明する。ただし、これらの実施例は、上述の実施形態と同様に例示であり、いかなる形においても本発明の範囲を制限するようには解釈しないものとするに留意されたい。

#### 【実施例】

#### 【0071】

以下の実施例は、本開示の様々な実施形態を説明する目的で示すものであり、いかなる形においても本開示を限定するようには意図されていない。この実施例の変更及び他の使用は、特許請求の範囲によって定義される本開示の趣旨の中に包含されることが、当業者には認識されよう。

10

20

30

40

50

## 【0072】

組織傷害／疾患のプロセスの概要が図1にまとめられている。疾患プロセスが炎症を開始する。c-Ki t+免疫細胞がサイトカインを産生することで、線維芽細胞が活性化筋線維芽細胞に変化し、その表面にSCF248を発現する。筋線維芽細胞及び他の細胞の表面にSCF248が発現すると、より多くの免疫細胞が活性化し、その結果IL-4、IL-9、IL-13、IL-25、TGFβ、及び他のサイトカインが放出され、炎症が永続化する。筋線維芽細胞は、細胞外マトリックスタンパク質、コラーゲン、フィブロネクチンを分泌し、線維症及びリモデリング疾患（例えば、肺線維症、皮膚線維症、重症喘息、及び他の疾患）を引き起こす。

## 【0073】

SCF248を標的とする本開示の抗体（この抗体は本明細書ではOpSCF及び／または5H10と称される）の例示的な機構が図2にまとめられている。

## 【0074】

上記に示されているように、SCFは、選択的スプライシングから生じる2つのアイソフォーム：SCF248及びSCF220を有する。SCF248及びSCF220はエキソン6により相違する。SCF220は恒常性機能に関連し、SCF248は炎症及び線維症に関連する。SCF248は、炎症中に免疫細胞を活性化させ、「溶解性SCF」と呼ばれることもある。SCF248は、筋線維芽細胞、活性化上皮、内皮、マクロファージ、好酸球、マスト細胞、及び単球を含めた様々な細胞タイプに発現する（図3）。SCF248アイソフォームは、SCF165と呼ばれる単量体の切断細胞外ドメインの切断をもたらす。エキソン6のアミノ酸配列は、本明細書では配列番号34として示される。

## 【0075】

実施例1：ハイブリドーマ技術を利用した抗SCF mAbsの産生

ASSLRNDSSSSNRKAKNP PGD（配列番号30）を含むペプチドを使用して、SCF248に結合する抗体を生成した。免疫ペプチドは、エキソン6の一部、すなわち、幹細胞因子のSCF248アイソフォームを含んだ。詳細には、免疫ペプチドは、本明細書で定義される切断部位の後から始まるエキソン6の一部を含んだ。標準プロトコルにより、配列番号30に記載のペプチドでマウスを免疫した。高力価血清抗体の定量により、適切な免疫化及び融合ハイブリドーマが作製されたことが示された。培養上清を個々のクローンからSCF特異的な抗体について解析し、特異性に基づいて選択した。ペプチドに対する特異的なモノクローナル抗体を産生するハイブリドーマを増殖させ、次に、最も力価が高いモノクローナルを生物学的に関連する培養物中で試験した。抗体5H10はSCF248に高い特異性を有し、SCF220との交差反応性は有しなかった。ハイブリドーマが産生した他のモノクローナル抗体には、SCF220との交差反応を伴わずにSCF248に高い特異性を有するものがなかった。したがって、さらなる特性評価、開発、及びキメラ化、ならびにその後のヒト化のために5H10が選択された。

## 【0076】

実施例2．5H10とSCF248完全細胞外ドメインとの結合

実施例1に記載の方法で得られたマウス5H10抗体を蛍光マーカと直接結合体化させ、この標識抗体を、SCF248を発現するSL/SL4 hSCF248細胞か、SCF220を発現するSL/SL4 hSCF220細胞か、またはSCFを発現しない対照細胞と共にインキュベートした。標識抗体と細胞との結合をフローサイトメトリーによって評価した。5H10がSCF248に特異性を有し、SCF220との交差反応性が欠如していることが図4Aに示されている。

## 【0077】

SCFのアミノ酸1～165個のみを含む切断細胞外ドメイン（ECD）と、SCFのアミノ酸1～194個を含む完全ECDとに対するマウス5H10抗体の結合をELISA法によって評価した。この抗体は完全SCF ECDには結合したが、切断SCF ECDには結合せず（図4B）、これにより、この抗体が完全細胞外ドメインに特異的であり、血中を循環する単量体の切断ECDには結合しないことが示された。

## 【0078】

筋線維芽細胞上のSCF248を内在化する2G8抗体及び5H10抗体の能力を評価するため、これらの抗体を、中性pHでは無色であり、エンドソーム内の低pHでは赤色に蛍光発光するpHrodo redで標識した。標識抗体を、培養したヒトIPF筋線維芽細胞と共に45分間インキュベートし、赤色蛍光を顕微鏡により可視化した。図5に示されているように、色素標識した抗体は迅速に内在化され、対照IgGは内在化されなかった。5H10は2G8に比べより迅速に内在化され、より高い蛍光が得られた。

## 【0079】

SCFは、2つの異なる経路：MEK／ERK経路及びP13K／AKT経路により、c-kitをシグナル伝達するように誘発する。マウス5H10抗体が、これらの経路の一方または両方で、c-kit陽性細胞の細胞内シグナル伝達を阻害するかどうかを調べる試験を行った。5H10またはIgG対照のいずれかの存在下で、好酸球をSCF248発現細胞株と共にインキュベートし、BioRad Bio-Plexアッセイ系でリン酸化タンパク質の発現を測定した。5H10はホスホ-MEK及びホスホ-AKTレベルを有意に減少し、当該抗体がc-kitを介した細胞内シグナル伝達を有意に低減することを示した（図6）。

## 【0080】

これらの試験の結果を総合すると、抗体5H10はSCF248に特異的に結合しこれを内在化させ、SCF220アイソフォームまたは切断ECDとは交差反応しないことが示された。さらに、5H10は、c-kit陽性細胞内での炎症を永続化させる細胞内シグナル伝達経路を有意に阻害する。

## 【0081】

実施例3：マウス抗体5H10のヒト化

重鎖及び軽鎖の可変ドメインをヒトIgG4骨格を有するベクターにサブクローニングすることにより、5H10由来のキメラ型抗体を産生した。標準的なプロトコルを用いてキメラ型抗体を発現及び精製した。2G8は以前に開発された抗体であり、SCF248及びSCF220に結合し、ラムダ軽鎖を含む。2G8のキメラ型重鎖及び軽鎖をそれぞれVH0及びVL0と命名した。本明細書で提供するSCF248特異的抗体5H10は、カッパ軽鎖を含む。5H10のキメラ型重鎖及び軽鎖をそれぞれVH0及びVK0と命名した。

## 【0082】

このキメラ型抗体をヒト化した。ヒト化重鎖は、相補性決定領域（CDR）は同じだが、より「ヒトらしい」フレームワーク領域を保持していた。2G8及び5H10可変重鎖の各々のいくつかのヒト化バリエーション（本明細書ではVH1、VH2、VH3、VH4、及びVH5と称する）を生成した。5H10のヒト化カッパ軽鎖バリエーション（本明細書ではVK1、VK2、VK3、及びVK4と称される）も生成した。2G8のヒト化ラムダ軽鎖をVL1、VL2、VL3、及びVL4と命名した。試験した2G8及び5H10におけるキメラ型軽鎖及び重鎖ならびにヒト化軽鎖及び重鎖の組合せを、それぞれ表2及び表3に示す。表2に示されているように、5H10抗体バリエーションのある特定の重鎖及び軽鎖の組合せがhSCF248に高い結合をもたらした。結合スコアの決定に使用した結合データを後述の実施例5に示す。

10

20

30

40

50

## 【表 2】

表 2. 2 G 8 のキメラ型及びヒト化クローンの S 1 / S 1 4 h S C F 2 4 8 細胞に対する結合スコア

| 2 G 8 m A b   | 結合スコア |
|---------------|-------|
| V H 0 / V L 0 | 高     |
| V H 1 / V L 1 | やや高   |
| V H 1 / V L 3 | 中     |
| V H 1 / V L 4 | 中     |
| V H 2 / V L 1 | 中     |
| V H 2 / V L 4 | 中     |
| V H 3 / V L 1 | 中     |
| V H 3 / V L 4 | 中     |
| V H 4 / V L 1 | 中     |
| V H 4 / V L 2 | 中     |
| V H 5 / V L 1 | やや高   |
| V H 5 / V L 4 | 中     |

10

## 【表 3】

表 3. 5 H 1 0 のキメラ型及びヒト化クローンの S 1 / S 1 4 h S C F 2 4 8 細胞に対する結合スコア

| 5 H 1 0 m A b | 結合スコア |
|---------------|-------|
| V H 0 / V K 0 | 高     |
| V H 1 / V K 1 | 高     |
| V H 1 / V K 2 | 高     |
| V H 1 / V K 3 | 高     |
| V H 1 / V K 4 | 結合なし  |
| V H 2 / V K 2 | やや高   |
| V H 2 / V K 3 | 高     |
| V H 3 / V K 2 | 中     |
| V H 3 / V K 3 | 中     |
| V H 4 / V K 2 | やや低   |
| V H 4 / V K 3 | やや低   |
| V H 5 / V K 2 | 低     |
| V H 5 / V K 3 | 低     |

20

30

## 【 0 0 8 3 】

B i a C o r e 解析を用いて結合親和性も評価した。B i a C o r e データからは、V K 1、V K 2、または V K 3 軽鎖を有する全てのヒト化 5 H 1 0 抗体の固定化 S C F 2 4 8 ペプチド抗原に対する親和性が、このアッセイを用いた親マウス 5 H 1 0 の結合親和性に非常に類似することが示された。V K 4 軽鎖を有するヒト化 5 H 1 0 抗体は、このペプチドに結合しなかった。

40

50

## 【表 4】

表 4. Biacore データ

|      | VK 0   | VK 1   | VK 2   | VK 3   | VK 4 |
|------|--------|--------|--------|--------|------|
| VH 0 | 1. 0 0 | 0. 9 1 |        |        |      |
| VH 1 | 0. 9 2 | 0. 9 9 | 0. 9 7 | 0. 9 4 | —    |
| VH 2 |        | 0. 9 8 | 0. 9 9 | 0. 9 4 | —    |
| VH 3 |        | 1. 1 5 | 1. 1 6 | 1. 1 0 | —    |
| VH 3 |        | 1. 2 7 | 1. 3 2 | 0. 8 5 | —    |
| VH 5 |        | 1. 0 7 | 0. 9 3 | 1. 0 9 | —    |

10

## 【0084】

## 実施例 4. フローサイトメトリーによる抗 SCF キメラ型抗体結合の評価

SCF 248 を発現する形質移入細胞株である SL / SL4 hSCF 248 細胞を利用して、キメラ型抗体 2G8 及び 5H10 の結合を試験した。抗 SCF 抗体を、SCF 結合における陽性対照として使用した。ヒト IgG 4 抗体を、陰性アイソタイプ対照抗体として使用した。早期継代 (P3) の SL / SL4 hSCF 248 細胞を後期継代 (P5) の細胞と比較した。予想されたように、陰性対照 (ヒト IgG 4 抗体) はいずれの細胞集団にも結合しなかった。5H10 は、初期継代の場合は細胞に結合したが (図 7A)、後期継代の場合は検出されなかった (図 7B)。これは、複数回の継代で SCF 248 の発現が喪失したためである。同様に、10 µg / mL の 2G8 で検出した最大平均蛍光強度 (MFI) は、P5 では P3 に比べて約 4 倍低減した。

20

## 【0085】

ハイグロマイシン B で処置した細胞でも同様の観察がなされた。ハイグロマイシン選択を使用して、該当ヒト SCF 配列を発現する SL / SL4 細胞の画分を濃縮した。2つのキメラ型抗 SCF mAbs 2G8 及び 5H10 ならびにヒト化抗 SCF 抗体の結合をフローサイトメトリーにより評価した。SL / SL4 hSCF 248 細胞及び SL / SL4 hSCF 220 細胞 (それぞれ SCF 248 + 及び SCF 220 +) を利用して、キメラ型抗体 2G8 及び 5H10 の結合性及び特異性を試験した。抗 SCF 抗体を、SCF 結合における陽性対照として使用した。ヒト IgG 4 抗体を、陰性アイソタイプ対照抗体として使用した。ハイグロマイシン B で処置した細胞を初期継代 (P3) 細胞と比較した。最大平均蛍光強度 (MFI) 及び抗体用量応答曲線は、初期継代 (P3) 細胞と同様であった (図 8A、図 8B)。

30

## 【0086】

## 実施例 5. フローサイトメトリーによる 2G8 及び 5H10 ヒト化 mAb の結合評価

SL / SL4 hSCF 248 細胞及び SL / SL4 hSCF 220 細胞 (それぞれ SCF 248 + 及び SCF 220 +) を利用して、キメラ型抗体 2G8 及び 5H10、ならびにそれらのヒト化バリエーションの結合性及び特異性を試験した。両方の実験セットにおいて、ヒト IgG 4 抗体を陰性アイソタイプ対照抗体として使用した。アイソタイプ対照は、SL / SL4 hSCF 248 細胞にも SL / SL4 hSCF 220 細胞にも結合しなかった (図 9A、9B、10A、及び 10B)。市販の抗 SCF 抗体 (Abcam、カタログ番号 EP665Y / ab52603) は、SL / SL4 hSCF 220 細胞に結合し、SL / SL4 hSCF 248 細胞にはわずかに結合する (1:25 希釈時のみ) ことがわかった (図 9A、9B、10A、及び 10B)。2G8 VH0 / VL0 (キメラ型 2G8) は、そのヒト化クローンよりも強い結合を示した。ただし、2G8 VH0 / VL0 は、抗体濃度 3.3 及び 10 µg / mL で SL / SL4 hSCF 220 細胞との結合も示した (図 9A、図 9B)。5H10 VH0 / VK0 は、ヒト化クローン 5H10 VH3 / VK2、5H10 VH3 / VK3、5H10 VH4 / VK2、5H10 VH4 / VK3、5H10 VH5 / VK2、及び 5H10 VH5 / VK3 に比べて高い結合を示した (図 10A)。5H10 もそのいずれのヒト化バリエーションも、SL / SL4 hSCF 220 細胞との結合は観察されなかった (図 10B)。本試験における 50% 最大

40

50

結合 ( $BC_{50}$ ) の観点から、示された 5H10 ヒト化バリエーション間の差異を表 5 に示す。5H10 クローンの結合は、S1/S14 hSCF248 細胞上では  $3.3 \mu\text{g}/\text{mL}$  で飽和に達した。(図 10A)。

【表 5】

表 5. キメラ型及びヒト化 5H10 バリエーション、アイソタイプ対照、ならびに市販の抗 SCF 抗体と S1/S14 hSCF248 細胞との結合における  $BC_{50}$  ( $\mu\text{g}/\text{mL}$ ) 値

| 試料 ID        | $BC_{50}$ ( $\mu\text{g}/\text{mL}$ ) |
|--------------|---------------------------------------|
| 5H10 VH0/VK0 | 5.47                                  |
| 5H10 VH3/VK2 | 1.36                                  |
| 5H10 VH3/VK3 | 0.90                                  |
| 5H10 VH4/VK2 | 1.91                                  |
| 5H10 VH4/VK3 | 1.18                                  |
| 5H10 VH5/VK2 | 2.12                                  |
| 5H10 VH5/VK3 | 0.67                                  |
| アイソタイプ対照     | n/a                                   |
| 抗 SCF Abcam  | 3.02                                  |

10

【0087】

S1/S14 hSCF248 細胞を利用して、5H10 及び 2G8 のさらなるヒト化バリエーションの結合を試験した。2G8 VH0/VL0 (キメラ型) は、ヒト化バリエーションよりも強い細胞結合を示した (図 11A)。ヒト化 5H10 クローン 5H10 VH1/VK1、5H10 VH1/VK2、5H10 VH1/VK3、5H10 VH2/VK2、及び 5H10 VH2/VK3 の結合プロファイルは 5H10 VH0/VK0 と同等であった (図 11B)。上に提示した Biacore データと一致するように、ヒト化バリエーション 5H10 VH1/VK4 は標的結合を喪失した (図 11B)。アイソタイプ対照は、S1/S14 hSCF248 細胞に結合しなかった。これらの試験で提示されたデータに基づき、ヒト化 2G8 及び 5H10 mAbs に S1/S14 hSCF248 細胞に対する結合スコアを割り当て、上の表 2 及び表 3 に提示している。

20

【0088】

別の実験では、5H10 クローン VH1/VK3、VH2/VK3、VH3/VK3、VH4/VK3、及び VH5/VK3 の SCF248 発現細胞株との結合をフローサイトメトリーにより評価した。図 11C 及び図 11D に示されているように、VH1/VK3 及び VH2/VK3 は高い結合性を示し、 $1 \mu\text{g}/\text{mL}$  で最大となった。陰性対照は二次抗体のみであった。対照の SCF220 発現細胞株についての結合は観察されなかった (図示せず)。

30

【0089】

実施例 6. SCF と c-kit との相互作用の *in vitro* 遮断

ヒト化 5H10 抗体を、*in vitro* で SCF-c-kit 相互作用と炎症フィードフォワードループを阻害する能力について試験した。表面 SCF248 を発現する培養ヒト IPF 筋線維芽細胞 (Mfb) を、SCF 応答性細胞株である LAD2 マスト細胞と重ね合わせた。他の任意の介入がなければ、Mfb は LAD2 細胞を刺激し、それによって産生されたサイトカインが Mfb を刺激し、さらなるサイトカイン及び細胞外マトリックスタンパク質が産生される。このアッセイにおいて、炎症及びフィードフォワードループの読出しは、CCL11、コラーゲン 1 及び 3、ならびにフィブロネクチンの mRNA である。

40

【0090】

マウス 5H10 抗体ならびにヒト化 (VH1/VK3、VH2/VK3、VH3/VK3、VH4/VK3、及び VH5/VK3) 5H10 抗体を  $1 \mu\text{g}/\text{mL}$  及び  $10 \mu\text{g}/\text{mL}$

50

mLの濃度でMfbとプレインキュベートして、これらのフィードフォワードループ阻害能力を評価した。結果を図12A～12Dに示す。ヒト化VH1/VK3抗体は、低濃度においてさえも、一貫してSCF-c-kit相互作用の阻害を示した。

【0091】

筋線維芽細胞上のSCF248を内在化するヒト化抗体（5H10、VH1/VK3、及びVH2/VK3）の能力を評価するため、これらの抗体を、中性pHでは無色であり、エンドソーム内の低pHでは赤色に蛍光発光するpHrodo redで標識した。標識抗体を、培養したヒトIPF筋線維芽細胞と共に45分間インキュベートし、赤色蛍光を顕微鏡により可視化した。図13に示されているように、マウス親抗体5H10及びキメラ型抗体（VH0/VK0）と同様、ヒト化抗体も迅速に内在化された。

【0092】

実施例7．キメラ型抗体5H10及びヒト化リード候補の免疫原性

5つのヒト化抗体5H10 VH1/VK3、5H10 VH2/VK3、5H10 VH3/VK3、5H10 VH4/VK3、及び5H10 VH5/VK3の免疫原性をキメラ型抗体5H10 VH0/VK0と比較した。

【0093】

PBMC生存率に及ぼす試料の任意の細胞毒性作用の初期評価を、EpiScreen（商標）時間経過アッセイで使用したドナー5例に対し実施した。CD8+T細胞枯渇PBMCを試料と共にインキュベートし、7日目にLuna-FL（商標）Automated Cell Counterを用いて細胞の生存率を定量した。その結果、抗SCF mAbで処置したドナー5例由来のPBMCの平均生存率は、培地のみで処置した細胞と同様であり、83%～90%の範囲であることが示された（図14）。KLH（Pierce, Life Technologies, UK）をネオ抗原として使用した。エキセナチド（Bydureon, AstraZeneca, UK）を臨床ベンチマーク対照として使用した。図15A～H及び表6は、試料及び対照によって誘導されたCD4+T細胞応答のEpiScreen（商標）時間経過T細胞増殖アッセイで得られた結果を明らかにするものである。臨床ベンチマークのエキセナチド及びネオ抗原のKLHは、いずれも陽性増殖応答を誘発した。5H10 VH1/VK3、5H10 VH2/VK3、及び5H10 VH3/VK3は、低頻度の陽性応答（SI $\geq$ 1.90、 $p<0.05$ ）率を誘導し、4%～8%の範囲であった。試料5H10 VH5/VK3は、ドナーコホートの17%でより高い陽性応答を誘導した。5H10 VH0/VK0及び5H10 VH4/VK3は、いかなる陽性応答も誘導しなかった。陽性T細胞増殖応答の平均の大きさは、全試料において2.14～3.61であった（表7）。

【0094】

増殖データセット全体の分散分析（ANOVA）（5～8日目の増殖の最大規模を使用）を使用して、互いと比べて、及び臨床ベンチマークのエキセナチドに比べて、試験条件に対するCD4+T細胞応答の最大の大きさに統計的有意差があるかどうかを判定した（図16）。エキセナチドに対するT細胞増殖応答の最大の大きさは、全試料に対する応答よりも統計的に高かった（表8）。

10

20

30

40

50

【表 6】

表 6. 健康なドナーの T 細胞増殖応答の概要。5～8 日目の全体の時間経過における増殖に対する陽性 T 細胞応答 ( $SI \geq 1.90$ 、 $p < 0.05$ ) (「P」)。陽性応答の頻度は、カラムの下部にパーセンテージとして示されている。

|        | 5H10<br>VH0/VK0 | 5H10<br>VH1/VK3 | 5H10<br>VH2/VK3 | 5H10<br>VH3/VK3 | 5H10<br>VH4/VK3 | 5H10<br>VH5/VK3 | エキセナチド | KLH |
|--------|-----------------|-----------------|-----------------|-----------------|-----------------|-----------------|--------|-----|
| ドナー 1  |                 |                 |                 |                 |                 |                 | P      | P   |
| ドナー 2  |                 |                 |                 |                 |                 |                 | P      | P   |
| ドナー 3  |                 |                 |                 |                 |                 |                 | P      | P   |
| ドナー 4  |                 |                 |                 | P               |                 | P               | P      | P   |
| ドナー 5  |                 |                 |                 |                 |                 |                 |        | P   |
| ドナー 6  |                 |                 |                 |                 |                 |                 | P      | P   |
| ドナー 7  |                 |                 |                 |                 |                 |                 |        | P   |
| ドナー 8  |                 |                 |                 |                 |                 |                 | P      | P   |
| ドナー 9  |                 |                 |                 |                 |                 |                 | P      | P   |
| ドナー 10 |                 |                 |                 |                 |                 |                 | P      | P   |
| ドナー 11 |                 |                 |                 |                 |                 |                 |        | P   |
| ドナー 12 |                 |                 |                 |                 |                 |                 | P      | P   |
| ドナー 13 |                 | P               |                 |                 |                 |                 | P      | P   |
| ドナー 14 |                 |                 |                 |                 |                 | P               | P      | P   |
| ドナー 15 |                 |                 |                 |                 |                 | P               | P      | P   |
| ドナー 16 |                 |                 |                 |                 |                 |                 | P      | P   |
| ドナー 17 |                 |                 | P               |                 |                 |                 | P      | P   |
| ドナー 18 |                 |                 | P               |                 |                 |                 | P      | P   |
| ドナー 19 |                 |                 |                 |                 |                 |                 | P      | P   |
| ドナー 20 |                 |                 |                 |                 |                 |                 |        | P   |
| ドナー 21 |                 |                 |                 |                 |                 |                 |        | P   |
| ドナー 22 |                 |                 |                 |                 |                 | P               |        | P   |
| ドナー 23 |                 |                 |                 |                 |                 |                 |        | P   |
| ドナー 24 |                 |                 |                 |                 |                 |                 |        | P   |
| 増殖%    | 0               | 4               | 8               | 4               | 0               | 17              | 67     | 100 |

【表 7】

表 7. 陽性 ( $SI \geq 1.90$ 、有意  $p < 0.05$ ) T 細胞増殖応答の大きさ ( $\pm SD$ ) の概要。平均 SI は、全体の時間経過 (5～8 日目) で観察された全ての陽性ドナー応答の平均から計算した。N/A は該当なし (not applicable) を示す。

| 試料      | 平均 SI | SD          | 応答% |
|---------|-------|-------------|-----|
| VH0/VK0 | N/A   | N/A         | 0   |
| VH1/VK3 | 2.88  | $\pm 0.13$  | 4   |
| VH2/VK3 | 3.61  | $\pm 1.36$  | 8   |
| VH3/VK3 | 3.09  | $\pm 0.88$  | 4   |
| VH4/VK3 | N/A   | N/A         | 0   |
| VH5/VK3 | 2.14  | $\pm 0.43$  | 17  |
| エキセナチド  | 2.99  | $\pm 0.92$  | 67  |
| KLH     | 14.95 | $\pm 11.22$ | 100 |

【表 8】

表 8. D u n n の事後検定ペア比較を用いた反復測定一元配置 A N O V A (フリードマン検定)。全てのドナーの全ての時点からの増殖データからの最大 S I を解析した。 \*\*  $p < 0.01$ 、\*\*\*\*  $p < 0.0001$ 、及び n s = 有意差なし。

|                             | 5 H 1 0<br>V H 0 /<br>V K 0 | 5 H 1 0<br>V H 1 /<br>V K 3 | 5 H 1 0<br>V H 2 /<br>V K 3 | 5 H 1 0<br>V H 3 /<br>V K 3 | 5 H 1 0<br>V H 4 /<br>V K 3 | 5 H 1 0<br>V H 5 /<br>V K 3 |
|-----------------------------|-----------------------------|-----------------------------|-----------------------------|-----------------------------|-----------------------------|-----------------------------|
| 5 H 1 0<br>V H 1 /<br>V K 3 | n s                         |                             |                             |                             |                             |                             |
| 5 H 1 0<br>V H 2 /<br>V K 3 | n s                         | n s                         |                             |                             |                             |                             |
| 5 H 1 0<br>V H 3 /<br>V K 3 | n s                         | n s                         | n s                         |                             |                             |                             |
| 5 H 1 0<br>V H 4 /<br>V K 3 | n s                         | n s                         | n s                         | n s                         |                             |                             |
| 5 H 1 0<br>V H 5 /<br>V K 3 | n s                         | n s                         | n s                         | n s                         | n s                         |                             |
| エキセナ<br>チド                  | ****                        | ****                        | ****                        | ****                        | ****                        | **                          |

## 【 0 0 9 5 】

要約すると、臨床的免疫原性のリスクは、E p i S c r e e n (商標) 時間経過 T 細胞アッセイにおいて、欧州及び北米の集団を代表する (H L A アロタイプに基づく) 健康なドナー 24 例から単離した末梢血単核細胞 (P B M C) を用いて、e x v i v o T 細胞応答を測定することにより、決定した。T 細胞応答は、増殖アッセイ ([<sup>3</sup>H] - チミジン取込み) を用いて測定した。その結果、リードヒト化抗体のうち 4 つにおいて、臨床的免疫原性の潜在可能性が低いことが示された。

## 【 0 0 9 6 】

実施例 8. 肺の炎症及び線維症のブレオマイシンモデルにおけるマウス 5 H 1 0 の評価

ブレオマイシン肺線維症の動物モデルを用いて、5 H 1 0 の i n v i v o での効果を評価した。ブレオマイシンは、ヒト及び動物に肺線維症を引き起こす化学療法剤である。C 5 7 B L 6 マウスに、1 日目にブレオマイシンを気管内投与し、8 日目及び 12 日目に 20 m g / k g の 5 H 1 0、またはアイソタイプが一致した対照抗体を腹腔内投与した。17 日目に試料を採取した。5 H 1 0 処置動物では、有意な肺組織像の改善 (図 17)、肺ヒドロキシプロリン (線維化の定量的尺度; 図 18) の減少、経時的な体重の維持 (図 19)、炎症性サイトカイン及び筋線維芽細胞活性化マーカーにおける m R N A の減少 (図 20)、ならびに肺マスト細胞、好酸球、及び I L C 2 リンパ球の減少 (図 21) が認められた。また、肺機能検査も有意に改善した (図 22)。このように、本試験からは、肺線維症の i n v i v o モデルにおいて、5 H 1 0 が線維症及び炎症を低減し、肺機能を改善するのに有効であることが示された。

## 【 0 0 9 7 】

実施例 9. 慢性アレルギー性喘息モデルにおけるヒト化 5 H 1 0 抗体の評価

慢性アレルギー性喘息の i n v i v o モデルでヒト化 5 H 1 0 抗体を試験した。マウスを腹腔内及び皮下でゴキブリ抗原 (C R A) に感作させ、次に 14、18、22、及び 26 日目に鼻腔内ブースティングを行った。26、29、32、及び 34 日目に、指示ヒト化 5 H 1 0 抗体または P B S 対照を 20 m g / k g で腹腔内投与し、または対照の無関

係な抗体を投与した。30及び34日目には、CRAも気管内投与した。35日目に検体を採取した。試験設計の模式図を図23に示す。

【0098】

抗体5H10 V H 1 / V K 3で処置した動物では、P B S対照及び他のヒト化バリエーション抗体に比べて気道抵抗が有意に少なかった(図24A)。さらに、V H 1 / V K 3またはV H 2 / V K 3で処置した動物では、慢性喘息対照に対して(すなわち、いかなる抗体処置もせずにCRAを投与した動物(P B S対照)に比べて)、肺I L - 1 3 m R N Aに有意な減少が見られた(図24B)。さらに、V H 1 / V K 3抗体処置を行った動物では、マトリックス遺伝子の発現が有意に低減した(図24Cに示されているコラーゲン1 m R N A、図24Dに示されているコラーゲン3 m R N A)。また、S C F 2 4 8 m R N Aの発現もV H 1 / V K 3で処置した動物で有意に低減した(図24E)。図25A、25B、及び25Cは、V H 1 / V K 3投与により、1 m g / k g及び5 m g / k gの濃度で粘液タンパク質G o b 5ならびにサイトカインI L - 1 3及びI L - 5のm R N Aレベルが低減したことを示している。したがって、このデータは、V H 1 / V K 3抗体は慢性喘息モデルにおいて、i n v i v oでサイトカイン及びマトリックス遺伝子の発現を遮断することを示したものである。

10

【0099】

実施例12. 抗S C F 2 4 8抗体の安全性、薬物動態、及び薬力学を評価するための第1a相臨床試験

第1a相試験では、110例の健康なボランティアを登録する。主な目的は、ヒト化抗S C F 2 4 8抗体5H10について、安全性評価を得ること、ならびに正確な薬物動態及び薬力学データを得ることである。

20

【0100】

単回または複数回の漸増用量のヒト化5H10またはプラセボを、静脈内または皮下のいずれかで投与する。6〜8例の対象を1つの群とする。開始用量は、G L P (優良試験所基準)に従って実施する毒性試験に基づく。ベースライン薬物動態を全ての開発及び製品寿命のために取得する。薬力学を評価するため、S C F 1 6 5などの血清炎症マーカーに加えて、マスト細胞前駆細胞及び2型自然リンパ球(I L C 2)細胞を含めた循環c - k i t +細胞数を評価する。

【0101】

実施例13. 患者における抗S C F 2 4 8抗体の安全性及び有効性を評価するための臨床試験

30

臨床試験で、炎症性障害(例えば、アトピー性皮膚炎、慢性蕁麻疹、肺線維症、及び/またはその他)を患う患者を登録する。本試験の1つの目的は、ヒト化5H10抗体と罹患患者における薬力学的マーカー(例えば、循環c - k i t +細胞(例えば、マスト細胞前駆細胞及び2型自然リンパ球(I L C 2)細胞)の数)との間の用量応答関係を確立することである。また、炎症バイオマーカー(例えば、A D A M 8、C C L 1 7、E P X、R N A S E 3、C C L 2、C C L 5、トリプターゼ、ヒスタミン、及びS C F 1 6 5)も測定する。

【0102】

5H10抗体を単回用量漸増で各対象群に投与する。開始用量は、第1a相試験の薬力学バイオマーカーに基づく。患者は、1か月、2か月、3か月、またはそれ以上の月数の間、治療を受ける。本試験の結果は、ヒト化5H10抗体が、炎症性障害及び線維性疾患の安定化及び/または治療及び/または進行防止に有効であることを示すであろう。

40

【0103】

本明細書に引用する全ての刊行物、特許、及び特許出願は、参照によりそれらの全体が本明細書に具体的に援用される。記載された発明について、その具体的な実施形態を参照しながら説明してきたが、当業者は、本発明の趣旨及び範囲から逸脱することなく、様々な変更がなされてもよく、かつ等価物が代用されてもよいことを理解するはずである。加えて、特定の状況、材料、物質の組成物、プロセス、プロセスステップ(1つまたは複数

50

）は、記載された発明の目的、趣旨、及び範囲に適合するように多くの修正が施されてもよい。このような変更は全て、本明細書に付属する請求項の範囲内であることが意図されている。

本発明は、例えば、以下の項目を提供する。

(項目 1)

幹細胞因子 (SCF) に特異的に結合する抗体またはそのフラグメントであって、前記抗体が、配列番号 1、2、及び 3 をそれぞれ含む重鎖 CDR 1、CDR 2、及び CDR 3 を含む、前記抗体またはそのフラグメント。

(項目 2)

前記抗体が、それぞれ配列番号 4、5、及び 6 を含む軽鎖 CDR 1、CDR 2、及び CDR 3 をさらに含む、項目 1 に記載の抗体またはそのフラグメント。

10

(項目 3)

前記抗体が、配列番号 7、8、9、10、及び 11 から選択される配列に少なくとも 80 % の同一性を有する重鎖可変領域を含む、項目 1 または項目 2 に記載の抗体またはそのフラグメント。

(項目 4)

前記抗体が、配列番号 7、8、9、10、及び 11 から選択される配列に少なくとも 90 % の同一性を有する重鎖可変領域を含む、項目 3 に記載の抗体またはそのフラグメント。

(項目 5)

前記抗体が、配列番号 13、14、15、及び 16 から選択される配列に少なくとも 80 % の同一性を有する軽鎖可変領域を含む、項目 1 または項目 2 に記載の抗体またはそのフラグメント。

20

(項目 6)

前記抗体が、配列番号 13、14、15、及び 16 から選択される配列に少なくとも 90 % の同一性を有する軽鎖可変領域を含む、項目 5 に記載の抗体またはそのフラグメント。

(項目 7)

前記抗体またはそのフラグメントが、配列番号 7、8、9、10、及び 11 から選択される重鎖可変領域アミノ酸配列と、配列番号 13、14、15、及び 16 から選択される軽鎖可変領域アミノ酸配列とを含む、項目 1 に記載の抗体またはそのフラグメント。

(項目 8)

前記抗体またはそのフラグメントが、配列番号 7 に記載の重鎖可変領域アミノ酸配列と、配列番号 16 に記載の軽鎖可変領域アミノ酸配列とを含む、項目 1 に記載の抗体またはそのフラグメント。

30

(項目 9)

前記抗体またはそのフラグメントが、配列番号 8 に記載の重鎖可変領域アミノ酸配列と、配列番号 16 に記載の軽鎖可変領域アミノ酸配列とを含む、項目 1 に記載の抗体またはそのフラグメント。

(項目 10)

前記抗体またはそのフラグメントが、配列番号 9 に記載の重鎖可変領域アミノ酸配列と、配列番号 16 に記載の軽鎖可変領域アミノ酸配列とを含む、項目 1 に記載の抗体またはそのフラグメント。

40

(項目 11)

前記抗体またはそのフラグメントが、配列番号 10 に記載の重鎖可変領域アミノ酸配列と、配列番号 16 に記載の軽鎖可変領域アミノ酸配列とを含む、項目 1 に記載の抗体またはそのフラグメント。

(項目 12)

前記抗体またはそのフラグメントが、配列番号 11 に記載の重鎖可変領域アミノ酸配列と、配列番号 16 に記載の軽鎖可変領域アミノ酸配列とを含む、項目 1 に記載の抗体またはそのフラグメント。

(項目 13)

50

前記抗体がヒト化されている、項目 1 または 2 に記載の抗体またはそのフラグメント。  
(項目 1 4)

前記抗体がモノクローナル抗体である、項目 1 ～ 1 3 のいずれか 1 項に記載の抗体またはそのフラグメント。

(項目 1 5)

前記抗体がヒト I g G 4 ドメインを含む、項目 1 4 に記載の抗体。

(項目 1 6)

前記 I g G 4 ドメインが、アミノ酸残基 2 4 1 における S 2 4 1 P 変異及びアミノ酸残基 2 4 8 における L 2 4 8 E 変異を含み、前記残基のナンバリングが K a b a t ナンバリングシステムのナンバリングである、項目 1 5 に記載の抗体。

(項目 1 7)

前記抗体が、配列番号 4 2 に記載の重鎖と、配列番号 4 9 に記載の軽鎖とを含む、項目 1 4 ～ 1 6 のいずれか 1 項に記載の抗体。

(項目 1 8)

前記抗体が、配列番号 4 3 に記載の重鎖と、配列番号 4 9 に記載の軽鎖とを含む、項目 1 4 ～ 1 6 のいずれか 1 項に記載の抗体。

(項目 1 9)

前記抗体またはそのフラグメントが、S C F と c - K i t との間の相互作用を遮断する、項目 1 ～ 1 8 のいずれか 1 項に記載の抗体またはそのフラグメント。

(項目 2 0)

前記抗体またはそのフラグメントが、S C F の内在化を引き起こす、項目 1 ～ 1 8 のいずれか 1 項に記載の抗体またはそのフラグメント。

(項目 2 1)

前記抗体が、S C F 2 4 8 に特異的に結合する、項目 1 ～ 2 0 のいずれか 1 項に記載の抗体またはそのフラグメント。

(項目 2 2)

前記抗体が S C F 2 2 0 に結合しない、項目 1 ～ 2 1 のいずれか 1 項に記載の抗体またはそのフラグメント。

(項目 2 3)

前記フラグメントが、F a b、F ( a b )<sub>2</sub>、F a b'、s c F v、及びシングルドメイン抗体 ( s d A b ) から選択される、項目 1 ～ 1 4 または 1 7 ～ 2 2 のいずれか 1 項に記載の抗体またはそのフラグメント。

(項目 2 4)

項目 1 ～ 2 3 のいずれか 1 項に記載の抗体またはそのフラグメントをコードする、単離された核酸分子。

(項目 2 5)

項目 1 ～ 2 3 のいずれか 1 項に記載の抗体またはそのフラグメントをコードする核酸セグメントを含む、発現ベクター。

(項目 2 6)

項目 2 5 に記載の発現ベクターを含む、組換え型宿主細胞。

(項目 2 7)

幹細胞因子アイソフォーム 2 4 8 ( S C F 2 4 8 ) に特異的に結合する抗体を作製するための方法であって、配列番号 3 0 を含むペプチドまたはそのフラグメントで宿主動物を免疫し、前記免疫された宿主動物から抗体を取得することを含む、前記方法。

(項目 2 8)

前記フラグメントが少なくとも 5 個のアミノ酸を含む、項目 2 7 に記載の方法。

(項目 2 9)

前記フラグメントが少なくとも 1 0 個のアミノ酸を含む、項目 2 7 に記載の方法。

(項目 3 0)

前記ペプチドが配列番号 3 0 からなる、項目 2 7 に記載の方法。

10

20

30

40

50

(項目 3 1)

前記ペプチドが少なくとも 5 個のアミノ酸を含み、前記ペプチドの N 末端アミノ酸が、配列番号 3 0 の 1 位にあるアラニンである、項目 2 7 に記載の方法。

(項目 3 2)

前記ペプチドが少なくとも 1 0 個のアミノ酸を含む、項目 3 1 に記載の方法。

(項目 3 3)

前記免疫された宿主動物からの抗体が、前記宿主動物から単離された免疫細胞から得られる、項目 2 7 ～ 3 2 のいずれか 1 項に記載の方法。

(項目 3 4)

前記免疫細胞を用いてハイブリドーマを生成することをさらに含む、項目 3 3 に記載の方法。

(項目 3 5)

項目 2 7 ～ 3 4 のいずれか 1 項に記載の方法によって調製された抗体であって、S C F 2 4 8 に特異的に結合する、前記抗体。

(項目 3 6)

それを必要とする対象の慢性炎症を阻害するための方法であって、前記対象に、項目 1 ～ 2 3 のいずれか 1 項に記載の抗体またはそのフラグメントを投与することを含む、前記方法。

(項目 3 7)

それを必要とする対象の線維症を阻害するための方法であって、前記対象に、項目 1 ～ 2 3 のいずれか 1 項に記載の抗体またはそのフラグメントを投与することを含む、前記方法。

(項目 3 8)

それを必要とする対象の慢性炎症性疾患または線維性疾患を治療するための方法であって、前記対象に、項目 1 ～ 2 3 のいずれか 1 項に記載の抗体を投与することを含む、前記方法。

(項目 3 9)

前記慢性炎症性疾患または前記線維性疾患が、蕁麻疹、アトピー性皮膚炎、非アルコール性脂肪性肝炎 (N A S H)、原発性硬化性胆管炎、肺線維症、慢性閉塞性肺疾患 (C O P D)、急性呼吸窮迫症候群 (A R D S)、嚢胞性線維症、気管支周囲線維症、過敏性肺炎、喘息、プレオマイシン肺、強皮症、肝硬変、心内膜心筋線維症、線維筋痛症、及び好酸球性食道炎からなる群より選択される、項目 3 8 に記載の方法。

(項目 4 0)

前記肺線維症が、特発性肺線維症または強皮症肺線維症である、項目 3 9 に記載の方法。

(項目 4 1)

前記方法が、前記対象に追加の治療剤を投与することをさらに含む、項目 3 7 に記載の方法。

(項目 4 2)

S C F 2 4 8 に特異的に結合する抗体またはそのフラグメントであって、配列番号 3 3 の少なくとも 8 個の連続したアミノ酸を含むエピトープに結合し、前記抗体が、S C F 2 4 8 と c - K i t との相互作用を阻害する、前記抗体またはそのフラグメント。

(項目 4 3)

前記エピトープが配列番号 3 3 を含む、項目 4 2 に記載の抗体またはそのフラグメント。

(項目 4 4)

前記エピトープが配列番号 3 3 からなる、項目 4 2 に記載の抗体またはそのフラグメント。

(項目 4 5)

前記抗体またはそのフラグメントが、S C F 2 4 8 が免疫細胞上の c - K i t に結合するのを遮断する、項目 4 2 に記載の抗体またはそのフラグメント。

(項目 4 6)

10

20

30

40

50

免疫細胞の活性化を阻害するための方法であって、前記免疫細胞に、SCF248に特異的に結合する抗体またはそのフラグメントを接触させることを含み、前記抗体またはそのフラグメントが、配列番号33の少なくとも8個の連続したアミノ酸を含むエピトープに結合し、前記抗体が、SCF248とc-Kitの相互作用を阻害する、前記方法。  
(項目47)

前記方法がin vitro、ex vivo、またはin vivoで実施される、項目46に記載の方法。  
(項目48)

それを必要とする対象の炎症を阻害するための方法であって、前記対象に、SCF248に特異的に結合する抗体またはそのフラグメントを投与することを含み、前記抗体またはそのフラグメントが、配列番号33の少なくとも8個の連続したアミノ酸を含むエピトープに結合し、前記抗体が、SCF248とc-Kitの相互作用を阻害する、前記方法。  
(項目49)

10

それを必要とする対象の線維症を阻害するための方法であって、前記対象に、SCF248に特異的に結合する抗体またはそのフラグメントを投与することを含み、前記抗体またはそのフラグメントが、配列番号33の少なくとも8個の連続したアミノ酸を含むエピトープに結合し、前記抗体が、SCF248とc-Kitの相互作用を阻害する、前記方法。  
(項目50)

20

それを必要とする対象の炎症性疾患または炎症性障害を治療するための方法であって、前記対象に、SCF248に特異的に結合する抗体またはそのフラグメントを投与することを含み、前記抗体またはそのフラグメントが、配列番号33の少なくとも8個の連続したアミノ酸を含むエピトープに結合し、前記抗体が、SCF248とc-Kitの相互作用を阻害する、前記方法。  
(項目51)

前記炎症性疾患または前記炎症性障害が、慢性炎症性疾患または炎症性障害である、項目50に記載の方法。  
(項目52)

それを必要とする対象の線維性疾患を治療するための方法であって、前記対象に、SCF248に特異的に結合する抗体またはそのフラグメントを投与することを含み、前記抗体またはそのフラグメントが、配列番号33の少なくとも8個の連続したアミノ酸を含むエピトープに結合し、前記抗体が、SCF248とc-Kitの相互作用を阻害する、前記方法。  
(項目53)

30

前記炎症性疾患もしくは前記炎症性障害または前記線維性疾患が、蕁麻疹、アトピー性皮膚炎、非アルコール性脂肪性肝炎(NASH)、原発性硬化性胆管炎、肺線維症、慢性閉塞性肺疾患(COPD)、急性呼吸窮迫症候群(ARDS)、嚢胞性線維症、気管支周囲線維症、過敏性肺炎、喘息、ブレオマイシン肺、強皮症、肝硬変、心内膜心筋線維症、線維筋痛症、及び好酸球性食道炎からなる群より選択される、項目50～52のいずれか1項に記載の方法。  
(項目54)

40

前記肺線維症が、特発性肺線維症または強皮症肺線維症である、項目53に記載の方法。  
(項目55)

医薬品として使用するための、SCF248に特異的に結合する抗体またはそのフラグメントであって、配列番号33の少なくとも8個の連続したアミノ酸を含むエピトープに結合し、前記抗体が、SCF248とc-Kitとの相互作用を阻害する、前記抗体またはそのフラグメント。  
(項目56)

治療方法で使用するための、SCF248に特異的に結合する抗体またはそのフラグメントであって、配列番号33の少なくとも8個の連続したアミノ酸を含むエピトープに結

50

合し、前記抗体が、SCF248とc-Kitとの相互作用を阻害し、前記方法が、対象の免疫細胞の活性化の阻害、対象の炎症の阻害、対象の線維症の阻害、炎症性疾患もしくは炎症性障害の治療、慢性炎症性疾患もしくは炎症性障害の治療、及び／または線維性疾患の治療を含む、前記方法。

(項目57)

医薬品として使用するための、項目1～21、34、または42～45のいずれか1項に記載の抗体もしくはそのフラグメント、または項目22に記載の医薬組成物。

(項目58)

対象の慢性炎症を阻害する、線維症を阻害する、慢性炎症性疾患を治療する、及び／または線維性疾患を治療する方法に使用するための、項目1～21、34、または42～45のいずれか1項に記載の抗体もしくはそのフラグメント、または項目22に記載の医薬組成物。

(項目59)

前記慢性炎症性疾患または前記線維性疾患が、蕁麻疹、アトピー性皮膚炎、非アルコール性脂肪性肝炎(NASH)、原発性硬化性胆管炎、肺線維症、慢性閉塞性肺疾患(COPD)、急性呼吸窮迫症候群(ARDS)、嚢胞性線維症、気管支周囲線維症、過敏性肺炎、喘息、ブレオマイシン肺、強皮症、肝硬変、心内膜心筋線維症、線維筋痛症、及び好酸球性食道炎からなる群より選択される、項目56または項目58に記載の使用のための抗体またはそのフラグメント。

(項目60)

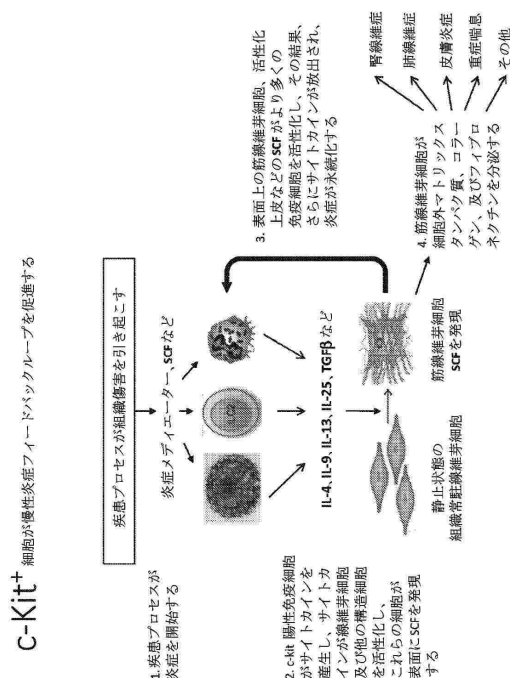
前記肺線維症が特発性肺線維症または強皮症肺線維症である、項目59に記載の使用のための抗体またはそのフラグメント。

(項目61)

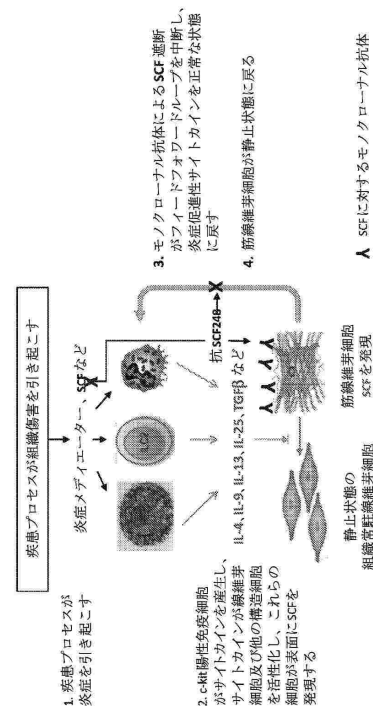
前記使用が、前記対象に追加の治療剤を投与することをさらに含む、項目55～60のいずれか1項に記載の使用のための抗体またはそのフラグメント。

【図面】

【図1】



【図2】



10

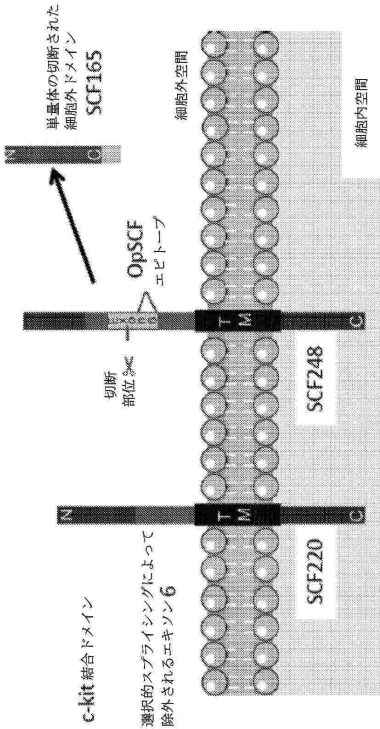
20

30

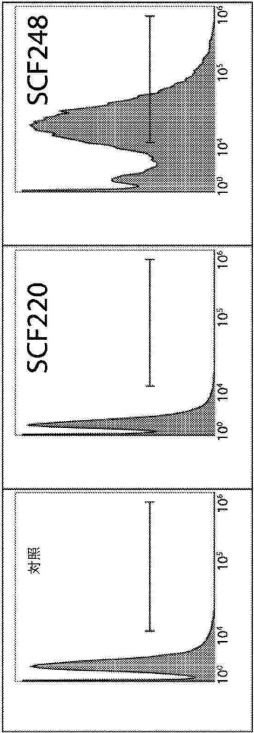
40

50

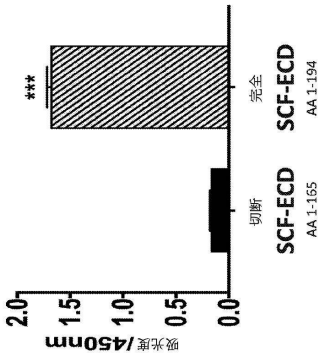
【図 3】



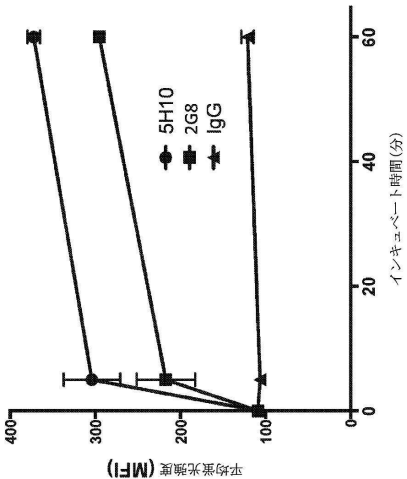
【図 4 A】



【図 4 B】



【図 5】



10

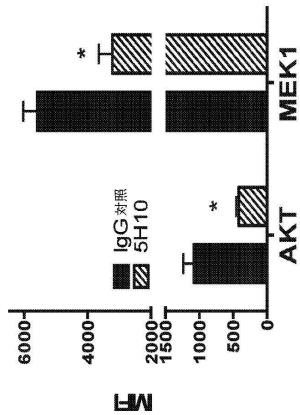
20

30

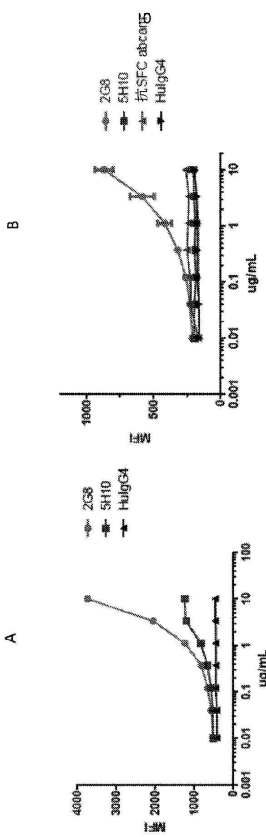
40

50

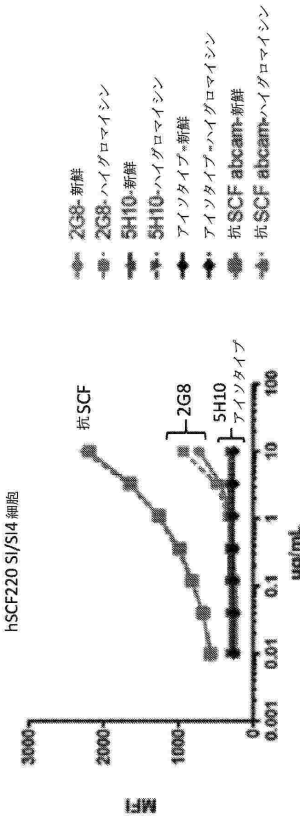
【図 6】



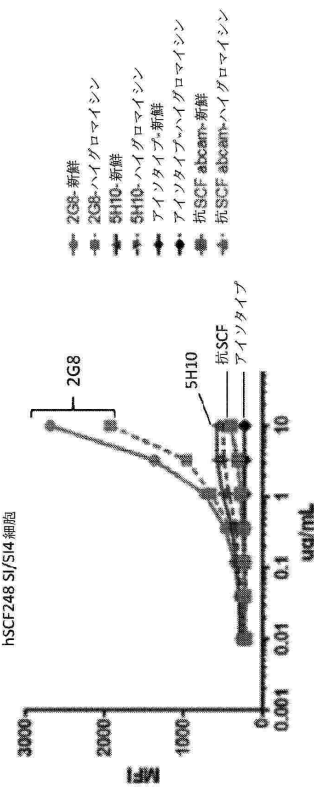
【図 7】



【図 8 A】



【図 8 B】



10

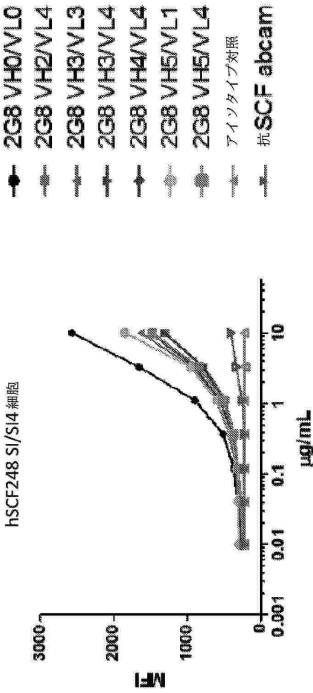
20

30

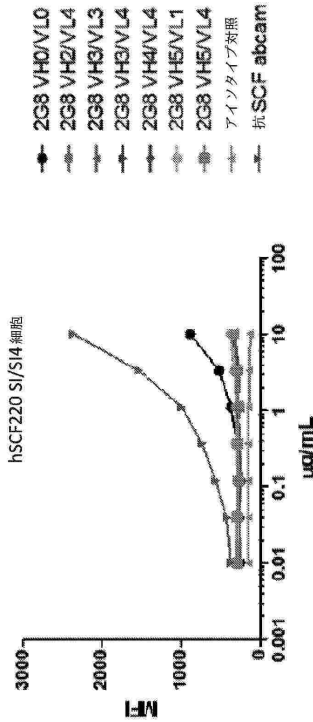
40

50

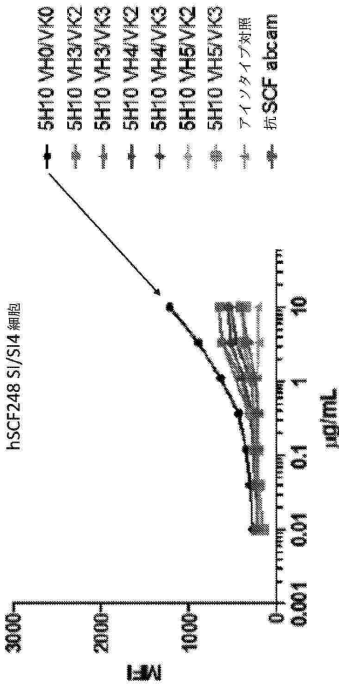
【図 9 A】



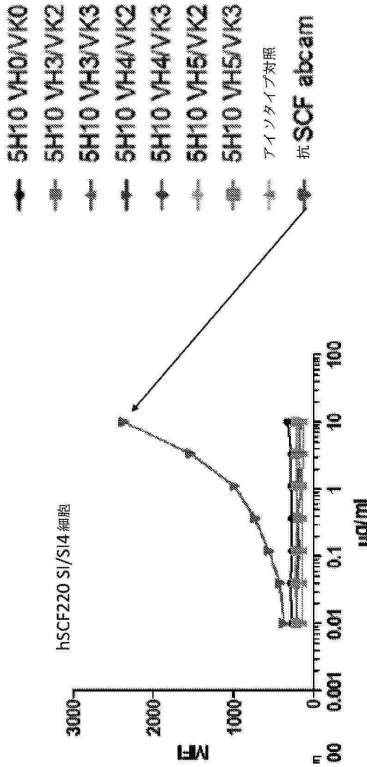
【図 9 B】



【図 10 A】



【図 10 B】



10

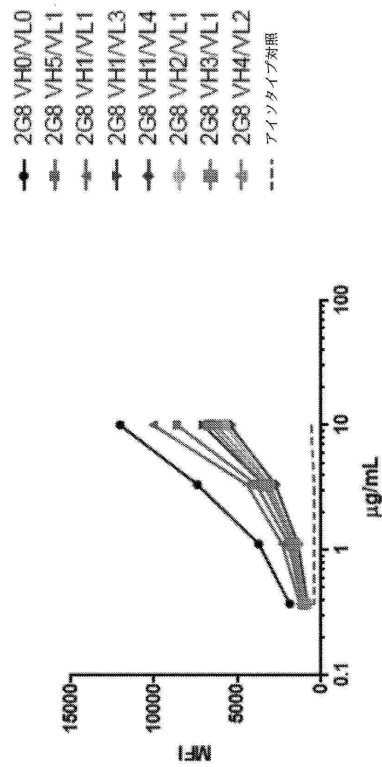
20

30

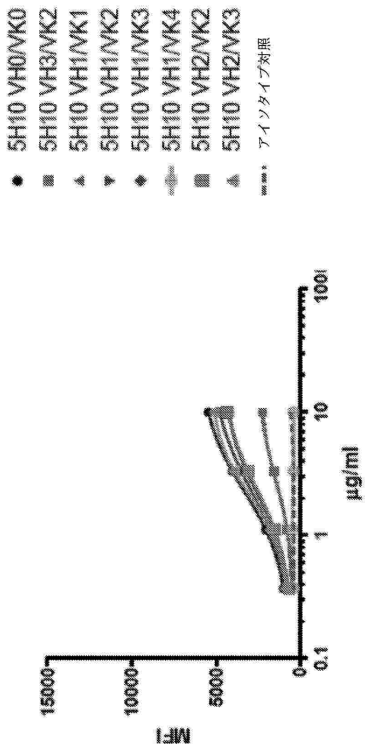
40

50

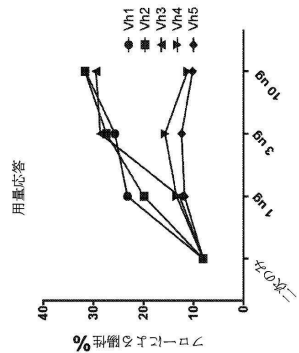
【図 1 1 A】



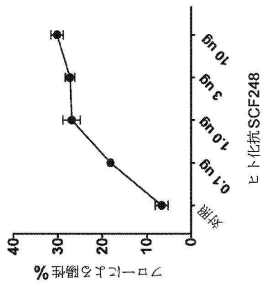
【図 1 1 B】



【図 1 1 C】



【図 1 1 D】



10

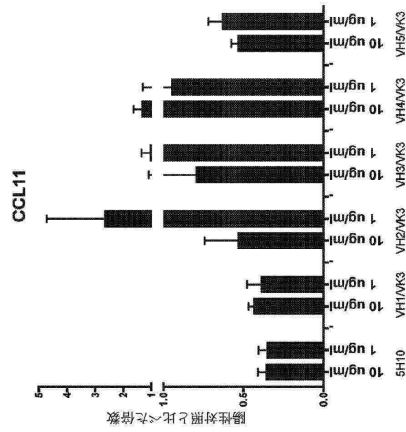
20

30

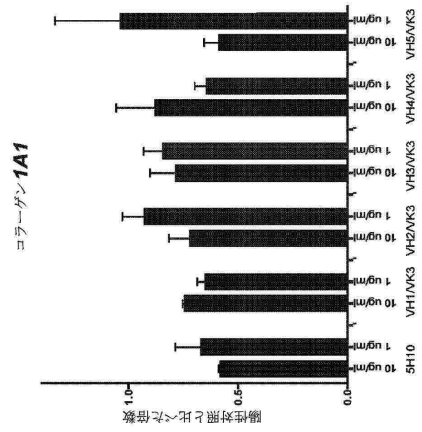
40

50

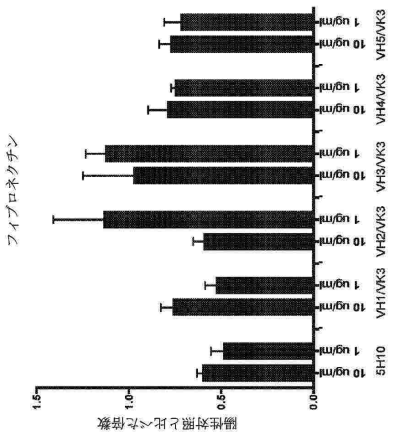
【図 1 2 A】



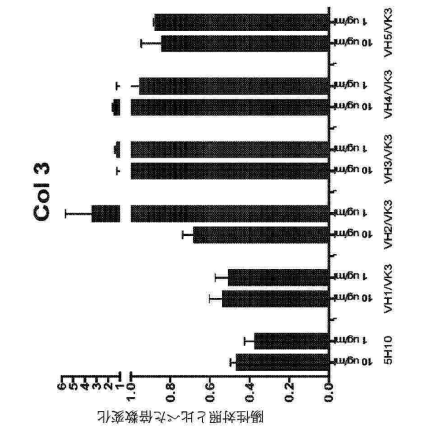
【図 1 2 B】



【図 1 2 C】



【図 1 2 D】



10

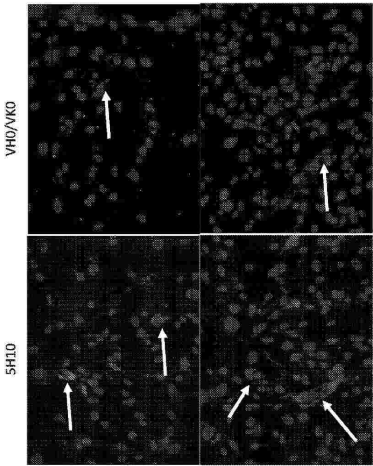
20

30

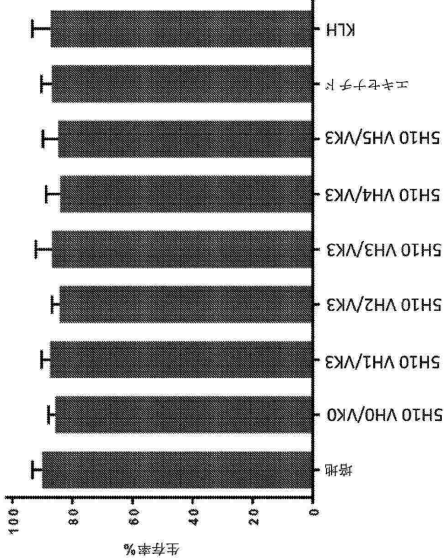
40

50

【図 1 3】

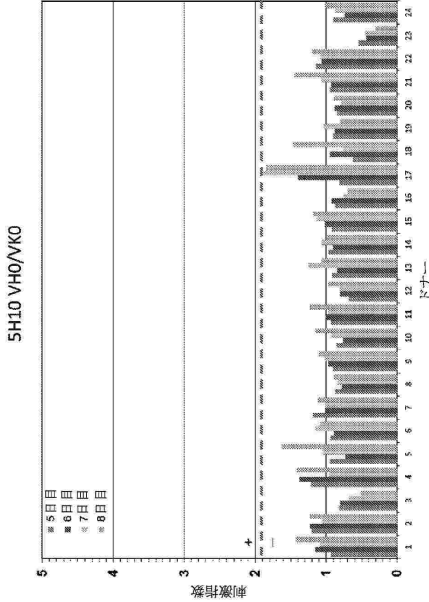


【図 1 4】

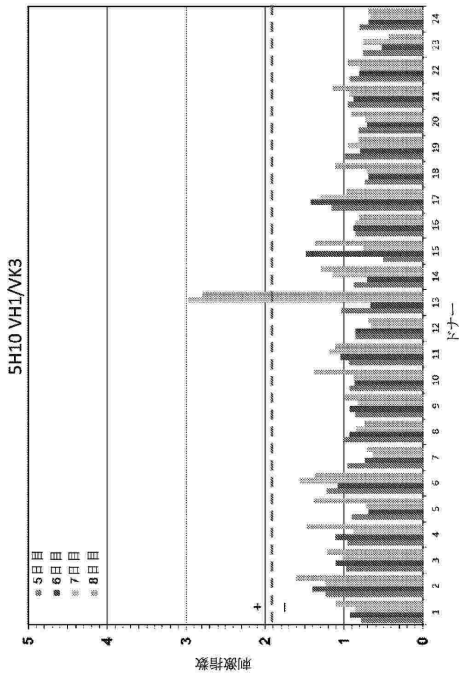


10

【図 1 5 A】



【図 1 5 B】



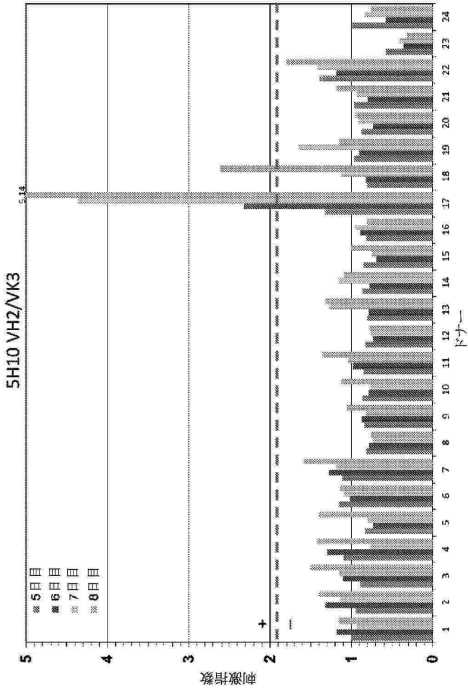
20

30

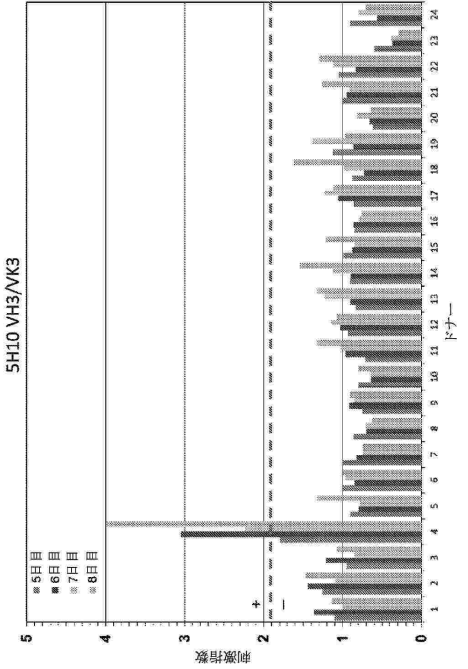
40

50

【図 1 5 C】



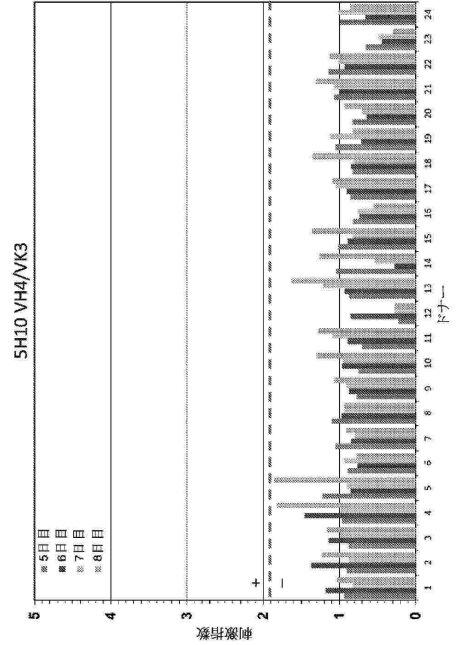
【図 1 5 D】



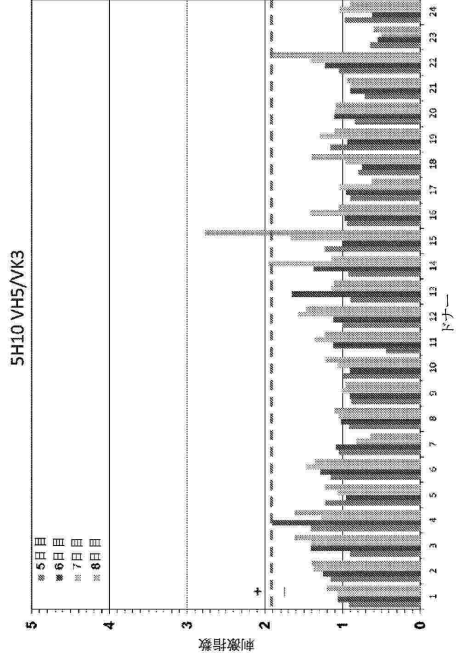
10

20

【図 1 5 E】



【図 1 5 F】

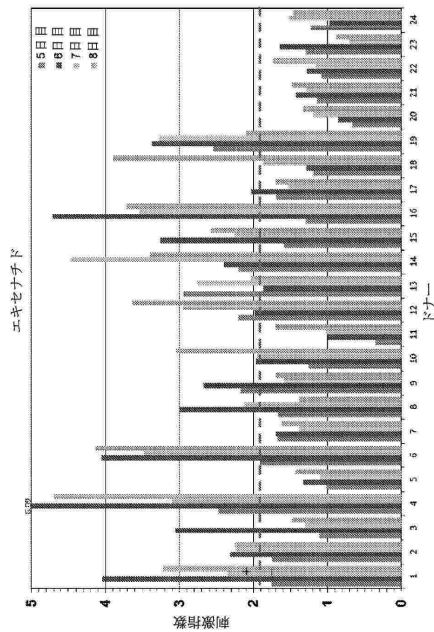


30

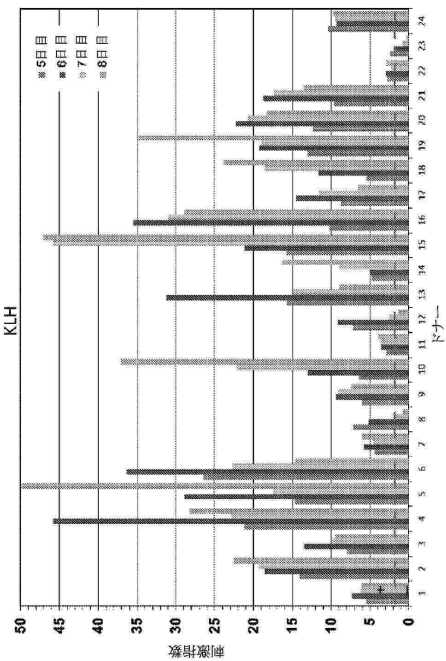
40

50

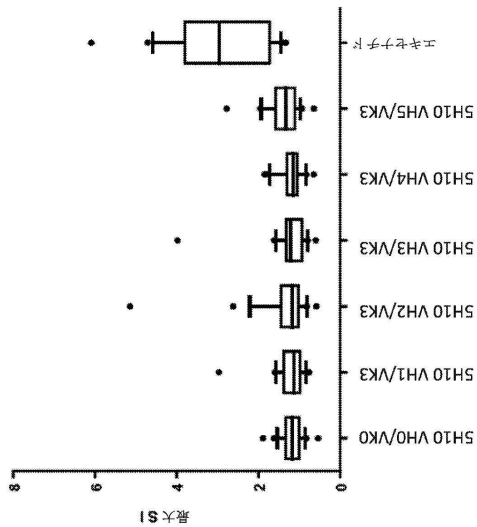
【図 1 5 G】



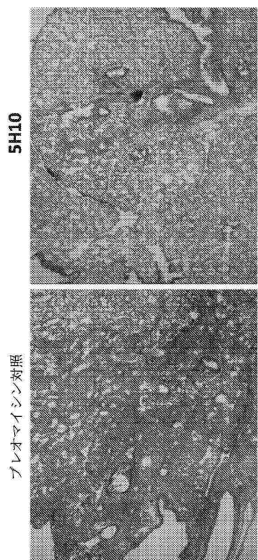
【図 1 5 H】



【図 1 6】



【図 1 7】



10

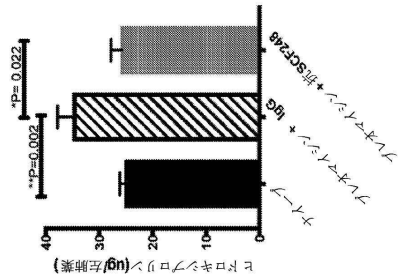
20

30

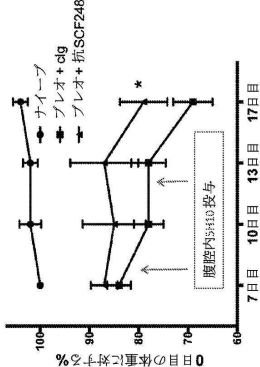
40

50

【図 18】

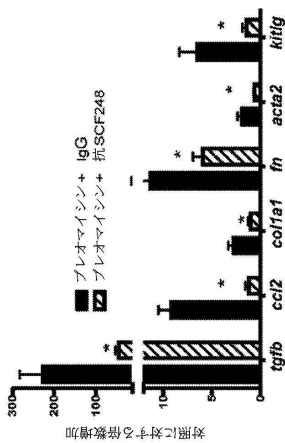


【図 19】

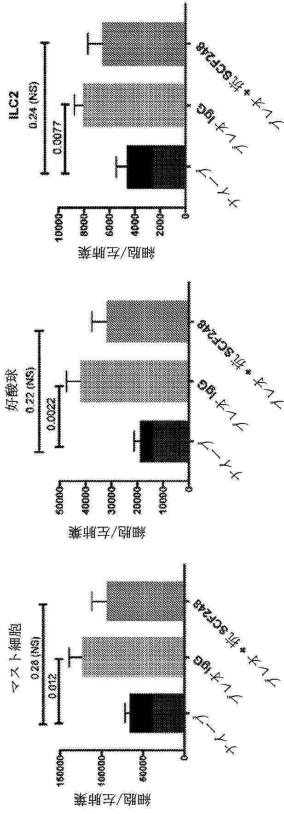


10

【図 20】



【図 21】



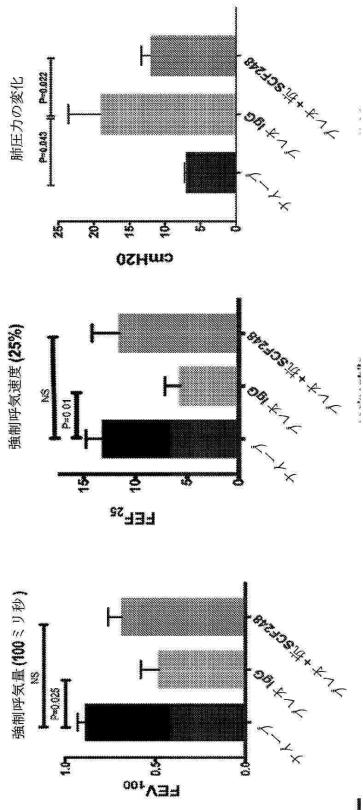
20

30

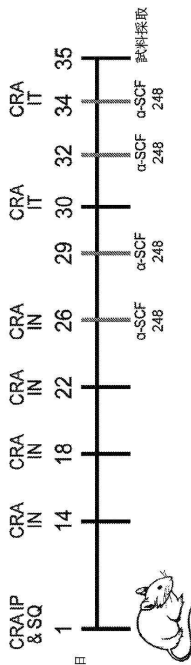
40

50

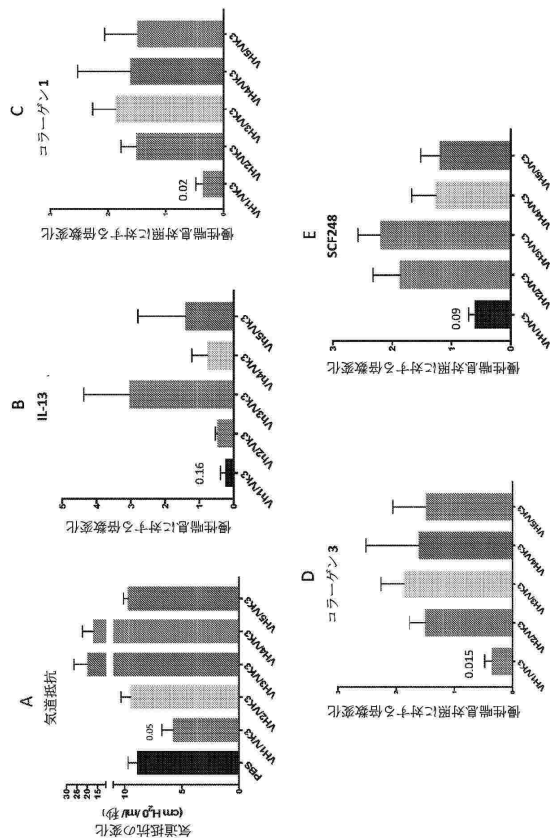
【図 2 2】



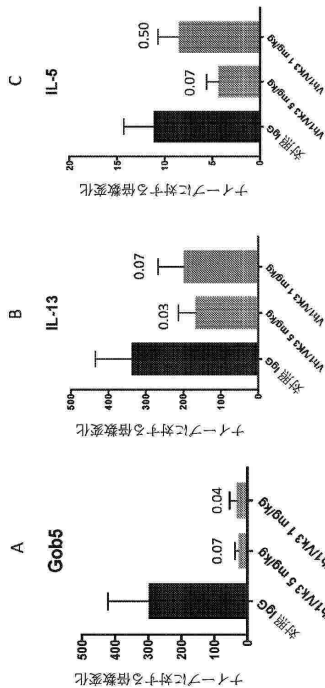
【図 2 3】



【図 2 4】



【図 2 5】



10

20

30

40

50

【配列表】  
0007698635000001.app

10

20

30

40

50

---

フロントページの続き

- (72)発明者    フィリップス, マーティン  
                 アメリカ合衆国 ペンシルベニア 19010, ブリン マー, ピー. オー. ボックス 802,  
                 オプシディオ, エルエルシー 気付
- 審査官    小田 浩代
- (56)参考文献    米国特許出願公開第2003/0194405 (US, A1)  
                 特表2014-505057 (JP, A)  
                 Fonseca W. et al., Mucosal Immunol, 2019年01月07日, Vol. 12, pp. 445-456
- (58)調査した分野 (Int.Cl., DB名)  
                 C07K 1/00-19/00  
                 JSTPlus/JMEDPlus/JST7580 (JDreamIII)  
                 CAPlus/REGISTRY/MEDLINE/EMBASE/BIOSIS (ST  
                 N)  
                 UniProt/GeneSeq  
                 PubMed