(19)日本国特許庁(JP)　(12)公表特許公報(A)　(11)公表番号
特表2025-518164
(P2025-518164A)
(43)公表日　令和7年6月12日(2025.6.12)

(51)国際特許分類		FI			テーマコード（参考）
C12Q	*1/686(2018.01)*	C12Q	1/686	Z	4B063
C12Q	*1/02 (2006.01)*	C12Q	1/02	ZNA	4B064
C07K	*16/28 (2006.01)*	C07K	16/28		4H045
C12Q	*1/6851(2018.01)*	C12Q	1/6851	Z	
C12N	*15/13 (2006.01)*	C12N	15/13		

審査請求　未請求　予備審査請求　未請求　（全48頁）　最終頁に続く

(21)出願番号　特願2024-570434(P2024-570434)
(86)(22)出願日　令和5年5月30日(2023.5.30)
(85)翻訳文提出日　令和7年1月8日(2025.1.8)
(86)国際出願番号　PCT/EP2023/064461
(87)国際公開番号　WO2023/232826
(87)国際公開日　令和5年12月7日(2023.12.7)
(31)優先権主張番号　22305790.2
(32)優先日　令和4年5月30日(2022.5.30)
(33)優先権主張国・地域又は機関
欧州特許庁(EP)
(81)指定国・地域　AP(BW,CV,GH,GM,KE,LR,LS,MW,MZ,NA,RW,SD,SL,ST,SZ,TZ,UG,ZM,ZW),EA(AM,AZ,BY,KG,KZ,RU,TJ,TM),EP(AL,AT,BE,BG,CH,CY,CZ,DE,DK,EE,ES,FI,FR,GB,GR,HR,HU,IE,IS,IT,LT,LU,LV
最終頁に続く

(71)出願人　516371254
オセ イムノセラピューティクス
フランス ４４２００ ナンテ ボウレバルド ベノニ ゴウリン ２２
(74)代理人　100097456
弁理士　石川 徹
(72)発明者　ニコラス ポイリエル
フランス ４４１１９ グランシャン デ フォンテーヌ アンパス ドゥ ラ ロシェール ４
(72)発明者　イザベル ジロー
フランス ４４０００ ナント リュ ブランリ ７０

Fターム（参考）　4B063　QA01 QA05 QA13 QA18 QQ03 QQ08 QQ53 QQ79
最終頁に続く

(54)【発明の名称】　ＩＬ７Ｒモジュレーター活性のバイオマーカー

(57)【要約】
本発明は、患者におけるIL7Rアンタゴニスト又はアゴニストなどのIL7Rモジュレーターによる治療に対する治療応答を評価又は予測する方法、より特には、IL7Rモジュレーターが患者を治療するのに有効であるかどうかを評価又は予測するためのバイオマーカーの同定に関する。本発明はまた、患者を治療するのに有効である化合物をスクリーニングする方法に関する。該バイオマーカーは、BCL2、CISH、SOCS2、FLT3LG、PTGER2、及びDPP4である。
【選択図】図6

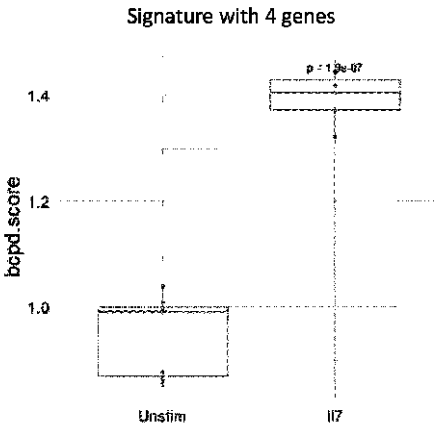


FIG. 6

【特許請求の範囲】
【請求項１】
ヒト患者におけるIL7Rアンタゴニスト又はIL7Rアゴニスト治療の治療応答を評価するインビトロ法であって、IL7Rアンタゴニスト又はIL7Rアゴニストの少なくとも1用量を投与された患者の試料中の以下の遺伝子:BCL2、CISH、PTGER2及びDPP4遺伝子、並びに好ましくはさらにFLT3LG又はSOCS2遺伝子、より好ましくは、BCL2、CISH、PTGER2、DPP4、FLT3LG及びSOCS2遺伝子の各々の遺伝子発現プロファイルを決定する工程を含み、ここで、対照値と比較した前記患者試料中の前記遺伝子のより低い又はより高い遺伝子発現プロファイルが、該患者は前記IL7Rアンタゴニスト又はIL7Rアゴニスト治療それぞれに応答する可能性が高いことを示す、前記インビトロ法。
【請求項２】
前記試料が、前記患者における前記IL7Rアンタゴニスト又はIL7Rアゴニストの少なくとも1用量の投与の少なくとも15日後に、患者から事前に収集される、請求項1記載の方法。
【請求項３】
前記治療前に、IL7Rアンタゴニスト又はアゴニストに対するヒト患者における治療応答の可能性を評価するインビトロ法であって、
a)前記治療前に患者から事前に収集した試料を、前記IL7Rアンタゴニスト又はIL7Rアゴニストの存在下で培養する工程、
b)前記培養試料中の以下の遺伝子:BCL2、CISH、PTGER2及びDPP4遺伝子、並びに好ましくはさらに、FLT3LG又はSOCS2遺伝子、より好ましくは、BCL2、CISH、PTGER2、DPP4、FLT3LG及びSOCS2遺伝子の各々の遺伝子発現プロファイルを決定する工程であって、ここで、対照値と比較して、培養試料中の前記遺伝子のより低い又はより高い遺伝子発現プロファイルが、該患者は前記IL7Rアンタゴニスト又はIL7Rアゴニストそれぞれによる治療に応答する可能性が高いことを示す、前記遺伝子発現プロファイルを決定する工程
を含む、前記インビトロ法。
【請求項４】
前記IL7Rアンタゴニストが、好ましくは、
a)- VHCDR1が配列番号1のアミノ酸配列を含むか又はそれからなり、
- VHCDR2が配列番号2のアミノ酸配列を含むか又はそれからなり、かつ
- VHCDR3が配列番号3もしくは11、好ましくは、配列番号3のアミノ酸配列を含むか又はそれからなる
3つCDRを含む可変重鎖;及び
(b)- VLCDR1が配列番号4もしくは12、好ましくは、配列番号4のアミノ酸配列を含むか又はそれからなり、
- VLCDR2が配列番号5もしくは13、好ましくは、配列番号5のアミノ酸配列を含むか又はそれからなり、かつ
- VLCDR3が配列番号6のアミノ酸配列を含むか又はそれからなる
3つのCDRを含む可変軽鎖
を含む抗IL7R抗体又はその抗原結合断片であり、より好ましくは、前記抗IL7Rアンタゴニスト抗体又はその抗原結合断片が、配列番号7のアミノ酸配列を含むか又はそれからなる重鎖可変ドメイン、及び配列番号8のアミノ酸配列を含むか又はそれからなる軽鎖可変ドメインを含み、再びより好ましくは、前記抗体又はその抗原結合断片が、配列番号9を含むか又はそれからなる完全な重鎖、及び配列番号10を含むか又はそれからなる完全な軽鎖を含む、請求項1～3のいずれか一項記載の方法。
【請求項５】
前記患者が、IL7によって誘導されるIL7Rシグナル伝達経路の亢進と関連付けられる疾患、好ましくは、CD127陽性罹患細胞の活性化又は増殖を伴う自己免疫疾患、炎症性疾患、アレルギー性疾患、癌疾患、感染症、呼吸器疾患、及び移植に関連する疾患、特に

、ＣＤ１２７陽性細胞の活性化もしくは増殖を伴う自己免疫疾患又は炎症性疾患、より好ましくは、シェーグレン症候群などの慢性炎症性疾患又は潰瘍性大腸炎などの炎症性腸疾患からなる群から選択される疾患に罹患しているときに、請求項１、２もしくは４のいずれか一項記載のＩＬ７Ｒアンタゴニストの治療応答を評価する方法、又はヒト患者における請求項３もしくは４のいずれか一項記載のＩＬ７Ｒアンタゴニストに対する治療応答の可能性を評価する方法。

【請求項６】

前記患者が、健常なＴ細胞活性の障害と関連付けられる疾患、好ましくは、発症にそれ自体がＩＬ７Ｒ経路に依存しない癌疾患又は感染症に罹患している、請求項１、２もしくは４のいずれか一項記載のＩＬ７Ｒアゴニストの治療応答を評価する方法、又はヒト患者における請求項３もしくは４のいずれか一項記載のＩＬ７Ｒアゴニストに対する治療応答の可能性を評価する方法。

【請求項７】

前記患者試料が、組織試料、好ましくは、癌患者からの浸潤免疫細胞を含有する腫瘍組織又は血液患者試料、好ましくは、ヒトの単離された末梢血単核球である、請求項１～６のいずれか一項記載の方法。

【請求項８】

遺伝子発現プロファイルが、前記遺伝子のｍＲＮＡ発現を検出することによって、好ましくは、ＲＴ-ｑＰＣＲによって決定される、請求項１～７のいずれか一項記載の方法。

【請求項９】

それを必要とするヒト患者におけるＩＬ７によって誘導されるＩＬ７Ｒシグナル伝達経路と関連付けられる疾患、好ましくは、ＣＤ１２７陽性罹患細胞の活性化又は増殖を伴う自己免疫疾患、炎症性疾患、アレルギー性疾患、癌疾患、感染症、呼吸器疾患、及び移植に関連する疾患、特に、ＣＤ１２７陽性細胞の活性化もしくは増殖を伴う自己免疫疾患又は炎症性疾患、より好ましくは、シェーグレン症候群などの慢性炎症性疾患又は潰瘍性大腸炎などの炎症性腸疾患からなる群から選択される疾患の治療に使用するためのＩＬ７Ｒアンタゴニストであって、前記患者が、前記ＩＬ７Ｒアンタゴニストの少なくとも１用量を投与された後に、請求項１～２及び４～８のいずれか一項記載の方法で前記治療に応答する可能性が高いと評価されたときに、前記患者に投与される、前記ＩＬ７Ｒアンタゴニスト。

【請求項１０】

それを必要とするヒト患者におけるＩＬ７によって誘導されるＩＬ７Ｒシグナル伝達経路と関連付けられる疾患、好ましくは、ＣＤ１２７陽性罹患細胞の活性化又は増殖を伴う自己免疫疾患、炎症性疾患、アレルギー性疾患、癌疾患、感染症、呼吸器疾患、及び移植に関連する疾患、特に、ＣＤ１２７陽性細胞の活性化もしくは増殖を伴う自己免疫疾患又は炎症性疾患、より好ましくは、シェーグレン症候群などの慢性炎症性疾患又は潰瘍性大腸炎などの炎症性腸疾患からなる群から選択される疾患の治療に使用するためのＩＬ７Ｒアンタゴニストであって、前記患者が、請求項３～８のいずれか一項記載の方法で前記ＩＬ７Ｒアンタゴニスト治療に応答する可能性が高いと事前に評価される、前記ＩＬ７Ｒアンタゴニスト。

【請求項１１】

前記ＩＬ７Ｒアンタゴニストが、

a)- ＶＨＣＤＲ１が配列番号１のアミノ酸配列を含むか又はそれからなり、
- ＶＨＣＤＲ２が配列番号２のアミノ酸配列を含むか又はそれからなり、かつ
- ＶＨＣＤＲ３が配列番号３もしくは１１、好ましくは、配列番号３のアミノ酸配列を含むか又はそれからなる
３つＣＤＲを含む可変重鎖;及び
(b)- ＶＬＣＤＲ１が配列番号４もしくは１２、好ましくは、配列番号４のアミノ酸配列を含むか又はそれからなり、
- ＶＬＣＤＲ２が配列番号５もしくは１３、好ましくは、配列番号５のアミノ酸配列を含むか又はそれからなり、かつ
- ＶＬＣＤＲ３が配列番号６のアミノ酸配列を含むか又はそれからなる

3つのCDRを含む可変軽鎖
を含む抗IL7Rアンタゴニスト抗体又はその抗原結合断片であり、好ましくは、前記抗体又はその抗原結合断片が、配列番号7のアミノ酸配列を含むか又はそれからなる重鎖可変ドメイン、及び配列番号8のアミノ酸配列を含むか又はそれからなる軽鎖可変ドメインを含み、再びより好ましくは、前記抗体又はその抗原結合断片が、配列番号9を含むか又はそれからなる完全な重鎖、及び配列番号10を含むか又はそれからなる完全な軽鎖を含む、請求項9又は10記載の使用のためのIL7Rアンタゴニスト。

【請求項１２】

それを必要とするヒト患者における健常なT細胞活性の障害と関連付けられる疾患、好ましくは、発症にそれ自体がIL7R経路に依存しない癌疾患又は感染症の治療に使用するためのIL7Rアゴニストであって、該患者が、前記IL7Rアゴニストの少なくとも1用量を投与された後に、請求項1～2及び4～8のいずれか一項記載の方法で前記治療に応答する可能性が高いと評価されたときに、前記患者に投与される、前記IL7Rアゴニスト。

【請求項１３】

それを必要とするヒト患者における健常なT細胞活性の障害と関連付けられる疾患、好ましくは、発症にそれ自体がIL7R経路に依存しない癌疾患又は感染症の治療に使用するためのIL7Rアゴニストであって、前記患者が、請求項3～8のいずれか一項記載の方法で前記IL7Rアンタゴニスト治療に応答する可能性が高いと事前に評価される、前記IL7Rアゴニスト。

【請求項１４】

IL7によって誘導されるIL7Rシグナル伝達経路と関連付けられる疾患又は健常なT細胞活性の障害と関連付けられる疾患の治療において有効である可能性が高い化合物を選択するインビトロ法であって、
a)前記化合物の存在下でヒト細胞、好ましくは、免疫細胞、より好ましくは、末梢血単核球を培養する工程、
b)前記細胞内の以下の遺伝子:BCL2、CISH、PTGER2及びDPP4遺伝子、並びに好ましくはさらに、FLT3LG又はSOCS2遺伝子、より好ましくは、BCL2、CISH、PTGER2、DPP4、SOCS2及びFLT3LG遺伝子の各々の遺伝子発現プロファイルを決定する工程、及び
c)対照値と比較して、前記細胞内の前記遺伝子のより低い又はより高い遺伝子発現プロファイルを誘導する化合物を選択する工程
を含み、好ましくは、遺伝子発現プロファイルが、前記遺伝子のmRNA発現を検出することによって、好ましくは、RT-qPCRによって決定される、前記インビトロ法。

【請求項１５】

以下の遺伝子:BCL2、CISH、PTGER2及びDPP4遺伝子、並びに好ましくはさらに、FLT3LG又はSOCS2遺伝子、より好ましくは、BCL2、CISH、PTGER2、DPP4、SOCS2及びFLT3LG遺伝子の各々の遺伝子発現プロファイルを特異的に検出する試薬のセットからなり、再びより好ましくは、前記試薬が各遺伝子に特異的なプライマー対及び/又はプローブである、請求項1～14のいずれか一項記載の方法で使用するためのキット。

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【０００１】

(発明の分野)

本発明は、患者におけるIL7Rアンタゴニスト又はアゴニストなどのIL7Rモジュレーターによる治療に対する治療応答を評価又は予測する方法、より特には、IL7Rモジュレーターが患者を治療するのに有効であるかどうかを評価又は予測するためのバイオマーカーの同定に関する。本発明はまた、患者を治療するのに有効である化合物をスクリーニングする方法に関する。

【背景技術】

【０００２】

(発明の背景)

IL-7は、ナイーブT細胞とメモリーT細胞の両方のホメオスタシス、増殖、分化、及び生存に最も重要なサイトカインである。IL-7は、IL-7受容体(IL-7R)を介してシグナルを伝達し、IL-7受容体(IL-7R)は、CD127とも呼ばれるアルファ鎖(IL-7Rα)と、共通サイトカイン受容体ガンマ鎖(IL-2Rγ、CD132)で構成されている。IL-7R活性化は、主に、JAK-STAT経路を活性化することによって増殖性及び抗アポトーシスシグナルを誘導する。いくつかの研究により、IL-7カナルがPI3K又はMAPK/ERK経路も活性化することが報告され、IL-7は、細胞型と細胞の生理的状態の両方に応じて異なるシグナル伝達経路を使用できることが示唆された。

【０００３】

IL-7とIL-7Rは、リンパ系機能の機能不全によって媒介される異なる疾患状態、例えば、糖尿病及び多発性硬化症などの自己免疫疾患(Lee, L.F.らの文献 Proc Natl Acad Sci U S A 109, 12674-12679 (2012))、関節リウマチ、強直性脊椎炎及び炎症性腸疾患などの慢性炎症性疾患(Churchman, S.M. & Ponchel, F.の文献 Rheumatology (Oxford) 47, 753-759 (2008); Krzystek-Korpacka, M.らの文献 Cancer Immunol Immunother 66, 171-179 (2017); Anderson, C.A.らの文献 Nat Genet 43, 246-252 (2011); Gracey, E.らの文献 Ann Rheum Dis 75, 2124-2132 (2016))並びに血液癌(Oliveira, M.L.らの文献 Adv Biol Regul 71, 88-96 (2018))の病因に関与する。

【０００４】

CD127は、ナイーブT細胞及びメモリーT細胞上で十分に発現するが、FoxP3+調節性T細胞(Treg)では発現が低い。これは、天然調節因子を維持しながら、病原性エフェクターを選択的に標的化するまたとない機会である(Liu W,らの文献 J. Exp. Med. 2006; 203:1701-1711; Seddiki N,らの文献 J. Exp. Med. 2006; 203:1693-1700; Michel L,らの文献 J. Clin. Invest. 2008;118:3411-3419)。IL7Rの多くのアンタゴニストが現在開発されている。癌患者における遺伝子発現プロファイルを解析し、抗PD1抗体などの治療応答を予測又は監視するためのバイオマーカーをインビトロ又はインビボのいずれかで同定するためにいくつかの研究が行われてきたが、本件出願人の知るところによると、IL7Rアンタゴニスト又はアゴニスト治療に関連する遺伝子シグネチャーは、知られていないか、又は公的に入手可能ではない。IL7シグナル伝達経路は複雑であり、いくつかの遺伝子が関与する。実際に、対照条件と比較して、抗ヒトIL-7RαmAbとインキュベートしたヒトPBMCにおいて、481個の遺伝子が差次的に発現した(Belarif L.らの文献 Nat Commun. 2018 Oct 26;9(1):4483)。

【０００５】

そのため、そのような薬物に対する患者の応答を臨床試験で正確に監視するための薬物活性バイオマーカーを同定する必要がある。そのようなマーカーは、各患者のための治療法の個別化を容易にするだろう。

【発明の概要】

【発明が解決しようとする課題】

【０００６】

(発明の概要)

抗IL7Rアンタゴニスト抗体により治療した対象における遺伝子発現プロファイルを解析する方法により、差次的発現した41個の遺伝子が同定された。一方で、IL7サイトカインで、インビトロで処理したヒト細胞における遺伝子発現プロファイルを解析する方法により、差次的発現した56個の遺伝子が同定された。そのため、抗IL7Rアンタゴニスト又はアゴニストの有効性を容易に評価するために、制限された数の薬物関連バイオマーカーを同定する必要が残っている。

【０００７】

さらに、本出願人は、IL7誘導性転写修飾のうち、マウスとヒトに共通するものはほんの少しの割合であったことを以前に示しており、したがって、IL7-IL7Rシグナル伝達経

路を調べたときに、マウスでの研究がヒトに転換できる可能性は低いことが強調される。そのため、マウスモデルにおけるインビトロ遺伝子シグネチャーを実施して、ヒトで使用するための薬物関連バイオマーカーを同定することはできない。

【課題を解決するための手段】

【０００８】

これらの問題を解決するために、発明者らは、本出願で、ヒト末梢血単核球において行われる新たな強力な方法を開発し、抗IL7Rアンタゴニスト抗体活性などのIL7Rアゴニスト又はアンタゴニストを監視するための関連性の高い薬物関連バイオマーカー(本明細書では遺伝子シグネチャーとも呼ばれる)を同定した。IL7Rアンタゴニスト又はアゴニスト治療の有効性を正確に監視するための非常に有効な薬物関連バイオマーカーとして使用することができる非常に限られた数の遺伝子を同定することを可能にする比較スクリーニングを使用した。臨床試験におけるリスクを回避するために、これらの4～6個の標的遺伝子の少なくとも1つの発現レベルを測定することにより、IL7Rアンタゴニスト又はアゴニスト化合物の効率をはるかにより容易に、より低コストで評価することができる。これらのバイオマーカーの使用は、前記IL7Rモジュレーターに対する治療応答の可能性を評価するために拡張することができる。そのため、治療化合物の選択は、はるかにより選択的に行うことができる。

【発明の効果】

【０００９】

本発明は、ヒト患者におけるIL7Rアンタゴニスト(例えば、抗IL7Rアンタゴニスト抗体もしくはその抗原結合断片)又はIL7Rアゴニスト(例えば、IL7)治療などのIL7Rモジュレーターの治療応答を評価するインビトロ法であって、IL7Rアンタゴニスト(例えば、抗IL7Rアンタゴニスト抗体もしくはその抗原結合断片)又はIL7Rアゴニスト(例えば、IL7)の少なくとも1用量を投与された患者の試料中のBCL2、CISH、PTGER2及びDPP4遺伝子からなる群から選択される少なくとも1、2、3又は4個の遺伝子、好ましくは、BCL2、CISH、PTGER2、DPP4、FLT3LG及びSOCS2遺伝子からなる群から選択される少なくとも1、2、3、4、5又は6個の遺伝子の遺伝子発現プロファイルを決定する工程を含み、ここで、対照値と比較した前記患者試料中の前記遺伝子のより低い又はより高い遺伝子発現プロファイルが、該患者は該アンタゴニスト又はアゴニスト治療それぞれに応答する可能性が高いことを示す、前記インビトロ法に関する。この遺伝子のセットは、IL7Rモジュレーター活性を監視するための特有のシグネチャーに対応する。

【００１０】

別の態様では、本発明は、それを必要とするヒト患者における、IL7によって誘導されるIL7Rシグナル伝達経路の亢進と関連付けられる疾患の治療に使用するためのIL7Rアンタゴニスト(例えば、抗IL7Rアンタゴニスト抗体又はその抗原結合断片)であって、該患者が前記アンタゴニスト(例えば、抗IL7Rアンタゴニスト抗体又はその抗原結合断片)の少なくとも1用量を投与された後に、前記患者が、上記の方法で前記アンタゴニスト(例えば、抗IL7Rアンタゴニスト抗体又はその抗原結合断片)治療に応答する可能性が高いと評価されたときに、前記アンタゴニストが前記患者に投与され、好ましくは、IL7によって誘導されるIL7Rシグナル伝達経路の亢進と関連付けられる前記疾患が、CD127陽性罹患細胞の活性化又は増殖を伴う自己免疫疾患、炎症性疾患、アレルギー性疾患、癌疾患、感染症、呼吸器疾患、及び移植に関連する疾患、特に、CD127陽性細胞の活性化もしくは増殖を伴う自己免疫疾患又は炎症性疾患、より好ましくは、シェーグレン症候群などの慢性炎症性疾患又は潰瘍性大腸炎などの炎症性腸疾患からなる群から選択される、前記IL7Rアンタゴニストに関する。

【００１１】

別の態様では、本発明は、それを必要とするヒト患者における健常なT細胞活性の障害と関連付けられる疾患、好ましくは、免疫応答刺激が必要とされる障害(複数可)、より好ましくは、発症にそれ自体がIL7Rシグナル伝達経路に依存しない癌疾患又は感染症の治療に使用するためのIL7Rアゴニストであって、ここで、該患者が、前記アゴニストの少

なくとも1用量を投与された後に、上記の方法で前記アゴニスト治療に応答する可能性が高いと評価されたときに前記患者に投与される、前記IL7Rアゴニストに関する。

【００１２】

本発明はまた、ヒト患者においてIL7受容体アンタゴニスト(例えば、抗IL7Rアンタゴニスト抗体もしくはその抗原結合断片)又はアゴニスト治療などのIL7Rモジュレーターに対する治療応答の可能性を評価するインビトロ法であって、

a)IL7Rアンタゴニスト(例えば、抗IL7Rアンタゴニスト抗体もしくはその抗原結合断片)又はIL7Rアゴニストなどの前記IL7Rモジュレーターの存在下で、前記IL7Rモジュレーター治療の前に患者から事前に収集された細胞を含む試料を培養する工程、

b)前記培養試料中のBCL2、CISH、PTGER2及びDPP4遺伝子からなる群から選択される少なくとも1、2、3又は4個の遺伝子、好ましくは、BCL2、CISH、PTGER2、DPP4、FLT3LG及びSOCS2遺伝子からなる群から選択される少なくとも1、2、3、4、5又は6個の遺伝子の遺伝子発現プロファイルを決定する工程、

を含み、ここで、対照値と比較して培養試料中の前記遺伝子(複数可)のより低い又はより高い遺伝子発現プロファイルが、該患者は該アンタゴニスト(例えば、抗IL7Rアンタゴニスト抗体もしくはその抗原結合断片)又はアゴニスト治療それぞれに応答する可能性が高いことを示す、前記インビトロ法に関する。

【００１３】

別の態様では、本発明は、それを必要とするヒト患者におけるIL7によって誘導されるIL7Rシグナル伝達経路の亢進と関連付けられる疾患の治療に使用するためのIL7Rアンタゴニスト(例えば、抗IL7Rアンタゴニスト抗体又はその抗原結合断片)であって、ここで、前記患者が、上記で定義した方法で前記アンタゴニスト(例えば、抗IL7Rアンタゴニスト抗体又はその抗原結合断片)治療に応答する可能性が高いと以前に評価され、好ましくは、IL7によって誘導されるIL7Rシグナル伝達経路の亢進と関連付けられる前記疾患が、CD127陽性罹患細胞の活性化又は増殖を伴う自己免疫疾患、炎症性疾患、アレルギー性疾患、癌疾患、感染症、呼吸器疾患、及び移植に関連する疾患、特に、CD127陽性細胞の活性化もしくは増殖を伴う自己免疫疾患又は炎症性疾患、より好ましくは、シェーグレン症候群などの慢性炎症性疾患又は潰瘍性大腸炎などの炎症性腸疾患からなる群から選択される、前記IL7Rアンタゴニストに関する。

【００１４】

別の態様では、本発明は、健常なT細胞活性の障害と関連付けられる疾患、好ましくは、発症にそれ自体がIL7R経路に依存しない癌疾患又は感染症のヒト患者における治療に使用するためのIL7Rアゴニストであって、ここで、前記患者は、上記で定義した方法で前記IL7Rアゴニスト治療に応答する可能性が高いと以前に評価され、ここで、前記患者は、上記で定義した方法で前記アゴニスト(例えば、抗IL7Rアンタゴニスト抗体又はその抗原結合断片)治療に応答する可能性が高いと以前に評価された、前記IL7Rアゴニストに関する。

【００１５】

本発明はまた、IL7によって誘導されるIL7Rシグナル伝達経路の亢進と関連付けられる疾患、又は健常なT細胞活性の障害と関連付けられる疾患の治療に有効なIL7Rアンタゴニスト又はIL7Rアゴニスト化合物などのIL7Rモジュレーターを選択するインビトロ法であって、

a)前記化合物の存在下でヒト細胞を培養する工程、

b)前記細胞内のBCL2、CISH、PTGER2及びDPP4遺伝子からなる群から選択される少なくとも1、2、3又は4個の遺伝子、好ましくは、BCL2、CISH、PTGER2、DPP4、SOCS2及びFLT3LG遺伝子からなる群から選択される少なくとも1、2、3、4、5又は6個の遺伝子の遺伝子発現プロファイルを決定する工程、及び

c)対照値と比較して、前記細胞内の前記遺伝子(複数可)のより低い又はより高い遺伝子発現プロファイルをそれぞれ誘導するアンタゴニスト又はアゴニスト化合物を選択する工程を含む、前記インビトロ法に関する。

【００１６】
別の態様では、本発明は、ＢＣＬ２、ＣＩＳＨ、ＰＴＧＥＲ２及びＤＰＰ４遺伝子からなる群から選択される少なくとも１、２、３又は４個の遺伝子、好ましくは、ＢＣＬ２、ＣＩＳＨ、ＰＴＧＥＲ２、ＤＰＰ４、ＳＯＣＳ２及びＦＬＴ３ＬＧ遺伝子からなる群から選択される少なくとも１、２、３、４、５又は６個の遺伝子の遺伝子発現プロファイルを特異的に検出する試薬のセットを含むキットであって、好ましくは、前記試薬が、各遺伝子に特異的なプライマー対及び/又はプローブである、前記キットに関する。
【発明を実施するための形態】
【００１７】
(発明の詳細な説明)
「バイオマーカー」という用語は、プロセス、事象又は状態の特徴的な生物学的指標又は生物由来の指標(すなわち、細胞の、生化学的な、分子の、遺伝的な、タンパク質、代謝産物、特異的な翻訳後修飾又は生理学的もしくは物理的な兆候)を指す。本開示によれば、前記バイオマーカーは、遺伝子シグネチャーを指し得る。遺伝子シグネチャーは、改変されたもしくは改変されていない生物学的プロセス又は病的な医学的状態の結果として生じるユニークで特徴的な遺伝子発現プロファイルを有する細胞内の遺伝子の単一グループ又は組み合わされたグループである。
【００１８】
「対象」及び「患者」という用語は、本明細書では交換可能に使用され、ヒトと非ヒト動物の両方を指す。本明細書で使用されるように、「患者」という用語は、げっ歯類、ネコ、イヌ、及び霊長類などの哺乳動物を示す。好ましくは、本発明による患者はヒトである。
【００１９】
「患者試料」という用語は、患者に由来する任意の生体試料を意味する。そのような試料の例には、組織試料、細胞試料、器官、生検、好ましくは、癌患者からの浸潤免疫細胞を含有する腫瘍組織又は血液患者試料が含まれる。好ましい生体試料は、細胞試料、好ましくは、ヒトの単離された末梢血単核球などの血球試料である。
【００２０】
「可能性が高い応答者」、又は「治療に応答する可能性が高い」という用語は、治療されるべき状態の症状の少なくとも１つの発症が、治療中又は治療後に遅延又は防止される対象、又はその症状もしくは症状の少なくとも１つが安定化、減少又は消失する対象を指す。
【００２１】
「治療応答」とは、結果が有用であるか又は好ましいと判定される、患者における医学的処置の結果を指す。例えば、治療応答は、治療中もしくは治療後の症状の少なくとも１つの遅延もしくは予防であり得るか、又は患者における症状もしくは症状の少なくとも１つが安定化、減少又は消失することであり得る。
【００２２】
本開示によれば、「ＩＬ７Ｒモジュレーターにより治療された患者における治療応答」又は「ＩＬ７Ｒモジュレーター治療応答」とは、ＩＬ７Ｒアンタゴニスト(例えば、抗ＩＬ７Ｒアンタゴニスト抗体もしくはその抗原結合断片)又はＩＬ７Ｒアゴニスト(例えば、ＩＬ７)などのＩＬ７Ｒモジュレーターの投与工程を実施すると、それを必要とする動物又はヒトの患者の臨床状態が改善されることを意味し、該患者は、ＩＬ７によって誘導されるＩＬ７Ｒシグナル伝達経路(本明細書ではＩＬ７-ＩＬ７Ｒ経路とも呼ばれる)、すなわち、ＣＤ１２７陽性細胞の活性化及び/もしくは増殖を伴うＩＬ７-ＩＬ７受容体相互作用によって誘導されるシグナル伝達経路の亢進と関連付けられる障害(複数可)又は健常なＴ細胞活性の障害と関連付けられる疾患それぞれを患っている。そのような治療は、ＩＬ-７又はＴＳＬＰ(胸腺間質リンホポエチン)に関連する障害(複数可)と関連付けられる症状を排除又は低下させることによって、好ましい実施態様では、ＩＬ７によって誘導されるＩＬ７Ｒシグナル伝達経路に関連する障害(複数可)又は健常なＴ細胞活性の障害と関連付けられる疾患と関連付けられる症状を排除又は低

下させることによって、動物又はヒト患者の臨床状態を改善することを目的とする。

【００２３】

特定の実施態様では、IL7Rアンタゴニスト(例えば、抗IL7Rアンタゴニスト抗体又はその抗原結合断片)により治療された患者における治療応答は、IL-7によって誘導されるIL7Rシグナル伝達経路の亢進と関連付けられる障害、例えば、CD127陽性罹患細胞の活性化又は増殖を伴う自己免疫疾患、炎症性疾患、アレルギー性疾患、癌疾患、感染症、呼吸器疾患、及び移植に関連する疾患、特に、CD127陽性細胞の活性化もしくは増殖を伴う自己免疫疾患又は炎症性疾患、より好ましくは、シェーグレン症候群などの慢性炎症性疾患又は潰瘍性大腸炎などの炎症性腸疾患に罹患している患者の臨床状態を改善するIL7Rアンタゴニスト投与を指す。

【００２４】

別の特定の実施態様では、IL7Rアゴニスト(例えば、IL7)により治療された患者における治療応答は、健常なT細胞活性の障害と関連付けられる障害(複数可)又は疾患(複数可)、好ましくは、免疫応答刺激が必要とされる障害(複数可)、より好ましくは、発症にそれ自体がIL7R経路に依存しない癌疾患又は感染症に罹患している患者の臨床状態を改善するIL7Rアゴニスト投与を指す。

【００２５】

典型的には、IL7Rモジュレーターは、IL7-IL7受容体相互作用のためのIL7Rアンタゴニスト又はアゴニスト特性を有し、IL7/IL7R媒介性シグナル伝達(IL7によって誘導されるIL7Rシグナル伝達経路)を調節する(増加又は減少させる)化合物であり得る。

【００２６】

好ましい実施態様では、前記IL7Rモジュレーター(例えば、IL7Rアンタゴニスト又はIL7Rアゴニスト)は、IL7-IL7Rシグナル伝達経路の構成成分(例えば、IL7)などのタンパク質、ポリペプチド又はペプチドモジュレーター、その変異体又は誘導体(断片、融合タンパク質、可溶性タンパク質、ドミナントネガティブ突然変異体)、その断片及び発現可能な誘導体を含むIL7-IL7Rシグナル伝達経路の構成成分に対する抗体及び抗原結合抗体ミメティックからなる群から選択することができる。

【００２７】

IL-7のIL-7Rへの結合は、ヤヌスキナーゼ(JAK)-1及びヤヌスキナーゼ(JAK)-3、シグナル伝達兼転写活性化因子5(STAT5)及びホスファチジルイノシトール3-キナーゼ(PI3-k)を含むいくつかのシグナル伝達経路の活性化を誘発する。STAT1及びSTAT3経路が活性化されることが報告されているが、それらが主要経路であるとは思われない。STAT5経路の活性化は、抗アポトーシスタンパク質Bcl-2の誘導及びアポトーシス促進タンパク質Baxのミトコンドリアへの侵入の防止に必要とされ、ひいては、胸腺で発生するT細胞前駆細胞の生存に必要とされる。PI3-k経路の活性化は、アポトーシス促進タンパク質Badのリン酸化及び細胞質保持をもたらす。

【００２８】

特定の実施態様では、IL7によって誘導されるIL7-Rシグナル伝達経路は、WO2018/104483の実施例に記載されるように、STAT5リン酸化を測定することによって特定することができる。STAT5のIL-7誘導性リン酸化は、IL7-R活性化のマーカーである。IL7-IL7-R相互作用に拮抗する化合物は、STAT5のIL-7誘導性リン酸化を減少させることが予想され、IL7-IL7-R相互作用を刺激する化合物は、STAT5のIL-7誘導性リン酸化を増加させることが予想される。

【００２９】

特定の実施態様では、本開示によるIL7-Rのアンタゴニストは、STAT5のIL-7誘導性リン酸化を阻害する。好ましい実施態様では、STAT5リン酸化の阻害は、55 ng/mlほどの低いIL7Rアンタゴニスト濃度で50%超であり、かつ/又はSTAT5リン酸化の阻害は、100 ng/mlほどの低い抗体濃度で80%超である。STAT5リン酸化の阻害は、当業者に公知の方法によって、特に、WO2018/104483の実施例5、及び/又はページ21の段落[69]と[70]、並びにWO2015/189302の実施例3に記載の方法によって評価するこ

とができる。本開示によるIL7-Rのアゴニストは、STAT5のIL-7誘導性リン酸化を増加させる。

【００３０】

本開示のIL7Rアンタゴニスト(特に、抗体、その抗原結合断片)又はアゴニストなどのIL7Rモジュレーターは、PI3-K及び/又はERK (細胞外シグナル調節キナーゼ)シグナル伝達経路の活性化を測定することによって同定することができる。特定の実施態様では、IL7Rアンタゴニストは、PI3-k及び/又はERK(細胞外シグナル調節キナーゼ)シグナル伝達経路の活性化を阻害し、かつ/又は活性化しないか、又は活性化を増強せず、特に、PI3-k及び/もしくはERK1及び/もしくはERK2のリン酸化を阻害し、かつ/又はリン酸化を誘導もしくは増強しない。特に、本明細書に提供されるIL7Rアンタゴニストは、PI3-k及び/又はERK経路の(好ましくは、PI3-k及びERK経路の)活性化を誘導せず、特に、PI3-kの及び/又はERK 1の及び/又はERK 2のリン酸化を誘導せず、より特には、PI3-kの及びERK 1の及びERK 2のリン酸化を誘導しない。特に、IL7Rアンタゴニストは、PI3-k及び/又はERK経路の活性化を阻害し、特に、PI3-kの及び/又はERK 1の及び/又はERK 2のリン酸化を阻害し、より特には、PI3-kの及びERK 1の及びERK 2のリン酸化を阻害する。前記タンパク質の経路及び/又はリン酸化の活性化は、当業者に公知の方法によって、特に、WO2018/104483の図7及び実施例8に示されるようなウエスタンブロッティングによって、好ましくは、PI3-k及び/又はERKの活性化の阻害によって試験することができる。

【００３１】

別の特定の実施態様では、IL7Rアゴニストは、PI3-k及び/又はERK(細胞外シグナル調節キナーゼ)シグナル伝達経路の活性化を誘導又は増強させ、特に、PI3-k及び/又はERK 1及び/又はERK 2のリン酸化を誘導又は増強させる。

【００３２】

本開示のIL7Rアンタゴニスト(特に、抗体、その抗原結合断片)又はアゴニストは、CD127の内在化を測定することによって同定することもできる。特定の実施態様では、本明細書に提供されるIL7Rアンタゴニストは、CD127のIL-7誘導性内在化を阻害し、IL7Rアゴニストは、CD127のIL-7誘導性内在化を増加させる。CD127の内在化は、IL7Rモジュレーター(例えば、IL7Rアンタゴニスト又はアゴニスト)とインキュベートした細胞におけるCD127の細胞表面発現レベルを、前記モジュレーターとインキュベートしない細胞などの対照値と比較して決定することによって測定することができる。

【００３３】

特定の実施態様では、前記IL7Rアンタゴニストとインキュベートした場合に、IL7の存在は、CD127の細胞表面発現の減少を誘導しないか、又はアンタゴニストを含めないでインキュベートした細胞よりも、CD127の細胞表面発現のそれほど強くない減少を誘導する。特定の実施態様では、前記アンタゴニストとインキュベートした場合に、細胞を5 ng/mLのIL7と15分間、37℃でインキュベートしたときのCD127細胞表面発現のレベルは、IL7を含めないでインキュベートした細胞における細胞表面発現レベルの少なくとも80%、好ましくは少なくとも90%である。インビトロで、細胞表面発現は、好ましくは、上に示したような限られた時間後に測定される。その上、ほとんどの細胞内在化プロセスは低温で阻害されるので、その効果は、通常、生理学的温度、特に37℃で最もよく観察される。しかし、低温、特に4℃で細胞をインキュベートすることも企図される。

【００３４】

別の好ましい実施態様では、本明細書に提供されるIL7Rアンタゴニストは、CD127の内在化を誘導しない。そのため、前記IL7Rアンタゴニストの存在下でインキュベートした細胞におけるCD127の細胞表面発現は低下しないか、又はそうでなければ同一の条件であるが、アンタゴニストの非存在下でインキュベートした細胞における細胞表面発現と比較して有意に低下しない。特定の実施態様では、50 ng/mLのアンタゴニストの存在下で、37℃で30～45分間インキュベートした場合に、CD127細胞表面発現のレベルは、アンタゴニストの非存在下でインキュベートした細胞におけるそのレベルの少なくと

も80%、好ましくは、少なくとも90%である。このアンタゴニスト効果は、IL7の非存在下で(抗体処理した細胞と未処理の細胞の両方で)、IL7の存在下で、及び/又はその両方において観察され得る。

【００３５】

上記の2つのCD127内在化に関連する特徴(すなわち、IL7誘導性内在化の阻害又は内在化の非誘導)は、WO2015/189302、特に、19～20ページの段落[59]～[63]及び図16及び実施例5に記載されているようにさらに定義及び/又は試験され得る。

【００３６】

例えば、本開示によるIL7Rモジュレーターは、以下の

a)表面上にCD127を発現する複数の細胞を提供すること、

b)前記細胞を候補化合物とインキュベートすること、

c)前記候補化合物が、上記のように、CD127に結合し、CD127の生物活性(例えば、STAT5リン酸化、ホスファチジルイノシトール3-キナーゼ及び/又はERKシグナル伝達経路の活性化、CD127内在化)を減少又は増加させるかどうかを決定すること、並びに

d)CD127の生物活性(例えば、STAT5リン酸化、ホスファチジルイノシトール3-キナーゼ及び/又はERKシグナル伝達経路の活性化、CD127内在化)を減少又は増加させる候補化合物を選択すること

からなる工程を含む方法によって同定することができる。

【００３７】

好ましい実施態様では、本開示によるIL7Rモジュレーターは、IL7Rアンタゴニストである。

【００３８】

本明細書で使用されるように、「IL7受容体アンタゴニスト(例えば、抗IL7Rアンタゴニスト抗体又はその抗原結合断片)」は、IL7-IL7受容体相互作用のためのアンタゴニスト特性を有し、IL7/IL7R媒介性シグナル伝達細胞の機能を損なう化合物(例えば、抗IL7Rアンタゴニスト抗体又はその抗原結合断片)を指す。特定の実施態様によれば、本開示によるIL7Rアンタゴニストは、さらにインターロイキン7(IL7)に対するアンタゴニスト特性を有し、それによって、CD127陽性細胞上でのIL7のCD127へのアクセス、すなわち、IL7のCD127への結合と拮抗する。

【００３９】

「IL7-IL7-R相互作用に対するアンタゴニスト特性」は、IL7-Rアルファを標的とするIL7Rアンタゴニスト(例えば、IL7Rアンタゴニスト抗体又はその抗原結合断片)が、CD127細胞、特にヒトエフェクターT細胞、特にヒトメモリーT細胞上で発現するIL7受容体のその結合パートナーIL7、特にヒトIL7とのアクセス可能性を防止する効果を有することを意味する。IL7の結合と拮抗する結果として、IL7Rアンタゴニストは、IL7依存性胸腺T細胞の生成を防止することによってリンパ球減少をもたらす。このアンタゴニスト特性は、特に、IL7によって誘導されるIL7-Rシグナル伝達に対する拮抗作用であり得る。

【００４０】

好ましい実施態様では、本明細書に提供されるIL7Rアンタゴニストは、TSLP(胸腺間質リンホポエチン)受容体中のCD127に結合しない(すなわち、TSLP受容体を形成するCRLF2と複合体になっているときには、CD127に結合しない)。したがって、本明細書に提供されるアンタゴニストは、TSLP誘導性及び/又はTSLP受容体媒介性シグナル伝達に干渉しない。別の好ましい実施態様では、前記IL7Rアンタゴニストは、全血中の非T細胞に結合できない;((d)全血、例えば、ヒト全血中の非T細胞(例えば、単球)上で発現するCD127IL-7Raに結合できない)。

【００４１】

特定の実施態様では、前記IL7Rアンタゴニストは、抗IL7Rアンタゴニスト抗体又はその抗原結合断片、好ましくは、IL-7の受容体のアルファ鎖、好ましくは、ヒトIL-7の受容体のアルファ鎖に特異的に結合するモノクローナル抗体又はその抗原結合断片であり

得る。インターロイキン7(IL-7)の受容体のアルファ鎖は、CD127又はp90 IL-7R、IL-7Rアルファ又はIL-7Rα(NCBI受入番号:XP_005248356.1、2021年11月22日更新)と命名されている。本開示によれば、前記IL7Rアンタゴニストは、好ましくは、IL7Rαアンタゴニスト、より好ましくは、抗IL7Rαアンタゴニスト抗体又はその抗原結合断片である。

【００４２】

本明細書で使用されるように、「に特異的に結合する」又は「特異的に結合する」という用語は、抗原受容体が、少なくとも約1×10^{-6} M、1×10^{-7} M、1×10^{-8} M、1×10^{-9} M、1×10^{-10} M、1×10^{-11} M、1×10^{-12} M、又はそれ以上の親和性で抗原に結合する能力、及び/又は非特異的抗原に対する親和性よりも少なくとも2倍大きい親和性で標的に結合する能力を指す。親和性は、当業者に周知の様々な方法によって決定することができる。これらの方法には、Biacore分析、Blitz分析及びScatchardプロットが含まれるが、これらに限定されない。

【００４３】

実施態様では、本発明による抗体又はその抗原結合断片は、バイオセンサー分析によって、特に、Biacore分析によって決定され得るように、CD127、特にヒトCD127に対して、10^{-8} M以下、好ましくは、10^{-9} M以下、より好ましくは、1.10^{-10} M以下のKD値を有する。

【００４４】

本明細書で使用されるように、「抗体」という用語は、免疫グロブリン分子及び免疫グロブリン分子の免疫学的に活性な部分、すなわち、抗原に免疫特異的に結合する抗原結合部位を含有する分子を指す。したがって、抗体という用語は、抗体分子全体だけでなく、抗体断片及び抗体の変異体(誘導体を含む)を包含する。

【００４５】

げっ歯類及び霊長類の天然抗体では、2つの重鎖がジスルフィド結合によって互いに連結され、各重鎖はジスルフィド結合によって軽鎖に連結されている。軽鎖にはラムダ(λ)とカッパ(κ)の2種類がある。抗体分子：IgM、IgD、IgG、IgA及びIgEの機能的活性を決定する5つの主要重鎖クラス(又はアイソタイプ)が存在する。各鎖は、別々の配列ドメインを含有する。典型的なIgG抗体では、軽鎖は、可変ドメイン(VL)と定常ドメイン(CL)の2つのドメインを含む。重鎖は、可変ドメイン(VH)と3つの定常ドメイン(CH1、CH2及びCH3、まとめてCHと呼ばれる)の4つのドメインを含む。軽鎖(VL)と重鎖(VH)の両方の可変領域は、抗原に対する結合認識及び特異性を決定する。軽鎖(CL)と重鎖(CH)の定常領域ドメインは、抗体鎖の会合、分泌、胎盤を越える移動性、補体結合、及びFc受容体(FcR)への結合などの重要な生物学的特性を与える。

【００４６】

Fv断片は、免疫グロブリンのFab断片のN末端部分であり、1つの軽鎖と1つの重鎖の可変部分からなる。抗体の特異性は、抗体の抗原との結合部位(antibody combining site)と抗原決定基の間の構造相補性にある。抗体の抗原との結合部位は、主に、超可変領域又は相補性決定領域(CDR)由来の残基で構成される。場合によっては、非超可変領域又はフレームワーク領域(FR)由来の残基が、抗体結合部位(antibody binding site)に関与するか、又はドメイン構造全体、したがって、抗原との結合部位(combining site)に影響を及ぼす可能性がある。相補性決定領域すなわちCDRは、ネイティブ免疫グロブリン結合部位の天然Fv領域の結合親和性と特異性を共に定義するアミノ酸配列を指す。免疫グロブリンの軽鎖及び重鎖は、それぞれL-CDR1、L-CDR2、L-CDR3及びH-CDR1、H-CDR2、H-CDR3と命名された3つのCDRを有する。したがって、抗原結合部位は、典型的には、重鎖及び軽鎖V領域の各々からのCDRセットを含む6つのCDRを含む。フレームワーク領域(FR)は、CDRの間に挟まったアミノ酸配列を指す。したがって、軽鎖及び重鎖の可変領域は、典型的には、以下の配列：FR1-CDR1-FR2-CDR2-FR3-CDR3-FR4の、4つのフレームワーク領域と3つのCDRを含む。

【００４７】

抗体可変ドメイン中の残基は、従来、Kabatらによって考案された体系に従って付番される。この体系は、Kabatらの文献，1987，免疫学的関心対象のタンパク質の配列(Sequences of Proteins of Immunological Interest)，US Department of Health and Human Services，NIH，USA（Kabatらの文献，1992,以下「Kabatら」）の中に記載されている。この付番体系が本明細書で使用される。Kabat残基指定は、配列番号の配列中の直鎖状のアミノ酸残基の付番と必ずしも直接対応していない。実際の直鎖状アミノ酸配列は、基本の可変ドメイン構造のフレームワークであろうと、相補性決定領域(CDR)であろうと、構造成分の短縮型又は構造成分への挿入に対応する厳密なKabat付番よりも少ないアミノ酸又は追加のアミノ酸を含有し得る。残基の正しいKabat付番は、抗体の配列中の相同性残基を「標準的な」Kabat付番配列と整列させることによって、所与の抗体に対して決定され得る。

【００４８】

本明細書で使用されるように、「モノクローナル抗体」という用語は、単一特異性の抗体分子の調製物を指す。モノクローナル抗体は、特定のエピトープに対する単一の結合特異性及び親和性を示す。したがって、「ヒトモノクローナル抗体」という用語は、ヒト生殖系列免疫グロブリン配列に由来するもしくはそれに基づく、又は全合成配列に由来する可変領域と定常領域を有する単一の結合特異性を示す抗体を指す。モノクローナル抗体を調製する方法は、結合特異性には関係しない。

【００４９】

抗体の「抗原結合断片」(又は単に「抗体断片」)という用語は、本明細書で使用されるように、抗原(例えば、IL7R)に特異的に結合する能力を保持する抗体の1以上の断片を指し、特に、IL7-IL7受容体相互作用に対するアンタゴニスト特性を有し、PI3K/Akt/mTOR及びJAK/STAT経路などのIL7/IL7R媒介性シグナル伝達の機能を損ない、CD127陽性細胞に対する細胞傷害活性を提示することができる。抗体の抗原結合機能は、全長抗体の断片が行うことができることが示されている。

【００５０】

抗体の「抗原結合断片」という用語の中に包含される結合断片の例には、Fab断片、VL、VH、CL及びCH1ドメインからなる一価断片;F(ab)2断片、ヒンジ領域でジスルフィド架橋によって連結された2つのFab断片を含む二価断片；VHドメイン及びCH1ドメインからなるFd断片；抗体の単一アームのVLドメイン及びVHドメインからなるFv断片；VHドメインからなるdAb断片(Wardらの文献，1989 Nature 341:544-546)、又はこのような抗原結合断片を含む任意の融合タンパク質が含まれる。さらに、Fv断片の2つのドメインのVLとVHは別々の遺伝子によってコードされているが、それらを、組換え法を使用して合成リンカーによって結合することができ、その合成リンカーによってそれらが単鎖タンパク質として作製されることが可能になり、単鎖タンパク質中で、VL領域とVH領域が対になって、一価分子(一本鎖Fv(scFv)として知られる)を形成している(例えば、Birdらの文献，1988 Science 242:423-426;及びHustonらの文献，1988 Proc. Natl. Acad. Sci. 85:5879-5883を参照されたい)。このような一本鎖抗体はまた、抗体の「抗原結合断片」という用語の中に包含されることが意図される。これらの抗体断片は、当業者に公知の従来技術を使用して取得され、断片は、無傷の抗体と同じ方法で有用性についてスクリーニングされる。

【００５１】

特定の実施態様では、本開示による前記抗IL7Rアンタゴニスト抗体又はその抗原結合断片は、WO2015/189302に記載のN13B2h1、N13B2h2もしくはN13B2h3の抗体もしくはその抗原結合断片、又はWO2018/104483に記載のN13B2-hVL3、N13B2-hVL4、N13B2-hVL5もしくはN13B2-hVL6の抗体もしくはその抗原結合断片であり、(a)VHCDR1が配列番号1のアミノ酸配列を含むか又はそれからなり、VHCDR2が配列番号2のアミノ酸配列を含むか又はそれからなり、かつVHCDR3が配列番号3もしくは11のアミノ酸配列を含むか又はそれからなる3つのCDRを含む可変重鎖;及び(b)VLCDR1が配列番号4もしくは12のアミノ酸配列を含むか又はそれからなり、VLCDR2が配列番

号5もしくは13のアミノ酸配列を含むか又はそれからなり、かつVLCDR3が配列番号6のアミノ酸配列を含むか又はそれからなる3つのCDRを含む可変軽鎖を含む。

【００５２】

より特定の実施態様では、本開示による前記抗IL7Rアンタゴニスト抗体又はその抗原結合断片は、WO2015/189302に記載のN13B2h3抗体もしくはその抗原結合断片、又はWO2018/104483に記載のN13B2-hVL3、N13B2-hVL4、N13B2-hVL5もしくはN13B2-hVL6の抗体もしくはその抗原結合断片、好ましくは、WO2018/104483に記載のN13B2-hVL6抗体もしくはその抗原結合断片であり、(a)VHCDR1が配列番号1のアミノ酸配列を含むか又はそれからなり、VHCDR2が配列番号2のアミノ酸配列を含むか又はそれからなり、かつVHCDR3が配列番号3のアミノ酸配列を含むか又はそれからなる3つのCDRを含む可変重鎖;及び(b)VLCDR1が配列番号4のアミノ酸配列を含むか又はそれからなり、VLCDR2が配列番号5のアミノ酸配列を含むか又はそれからなり、かつVLCDR3が配列番号6のアミノ酸配列を含むか又はそれからなる3つのCDRを含む可変軽鎖を含む。

【００５３】

抗体又はその抗原結合断片は、それらの親和性結合及び/又はアンタゴニスト活性についてさらにスクリーニング又は最適化され得ることがさらに企図される。特に、抗体又はその抗原結合断片は、本明細書に提供されるモノクローナル抗体の1、2、3、4、5、又は6つのCDRのアミノ酸配列において、1、2、3、4、5、6、又はそれ以上の改変を有してよいことが企図される。抗体の軽鎖又は重鎖可変領域のVJ又はVDJ領域のCDR1、CDR2、CDR3、CDR4、CDR5、又はCDR6の位置1、2、3、4、5、6、7、8、9、又は10にあるアミノ酸は、挿入、欠失、又は保存的もしくは非保存的アミノ酸での置換を有し得ることが企図される。置換されるか又は置換を構成することができるそのようなアミノ酸は、上記に開示されている。

【００５４】

いくつかの実施態様では、アミノ酸の差異は、保存的置換、すなわち、類似の化学的又は物理的特性(サイズ、電荷又は極性)を有する別のアミノ酸との1つのアミノ酸の置換であり、この置換は、一般に、抗体の生化学的、生物物理学的及び/又は生物学的特性に悪影響を及ぼさない。特に、置換は、抗体とIL7R抗原との相互作用及び拮抗的特性を阻害しない。前記保存的置換(複数可)は、有利には、以下の5つのグループ：グループ1-小さい脂肪族、非極性又はわずかに極性の残基(A、S、T、P、G)；グループ2-極性、負電荷の残基及びそれらのアミド(D、N、E、Q)；グループ3-極性、正電荷の残基(H、R、K)；グループ4-大きい脂肪族、非極性の残基(M、L、I、V、C)；並びにグループ5-大きい芳香族の残基(F、Y、W)のうちの1つから選択される。

【００５５】

特定の実施態様では、前記抗IL7Rアンタゴニストは、WO2015/189302に記載のN13B2h1、N13B2h2又はN13B2h3の抗体又はその抗原結合断片であり、配列番号14～17からなる群から選択されるアミノ酸を含むか又はそれからなる重鎖可変ドメイン、及び配列番号18～21からなる群から選択されるアミノ酸配列を含むか又はそれからなる軽鎖可変ドメインを含む。好ましくは、前記抗IL7Rアンタゴニストは、WO2015/189302に記載のN13B2h3抗体又はその抗原結合断片であり、配列番号17のアミノ酸配列を含むか又はそれからなる重鎖可変ドメイン、及び配列番号21のアミノ酸配列を含むか又はそれからなる軽鎖可変ドメインを含み、より好ましくは、前記抗体又はその抗原結合断片は、配列番号22を含むか又はそれからなる完全な重鎖及び配列番号23を含むか又はそれからなる完全な軽鎖を含む。

【００５６】

別の特定の実施態様では、前記抗IL7Rアンタゴニストは、WO2018/104483に記載のN13B2-hVL3、N13B2-hVL4、N13B2-hVL5又はN13B2-hVL6の抗体又はその抗原結合断片であり、配列番号7のアミノ酸配列を含むか又はそれからなる重鎖可変ドメイン、及び配列番号8、24～26からなる群から選択されるアミノ酸配列を含むか又はそれ

からなる軽鎖可変ドメインを含む。

【００５７】

より好ましい実施態様では、前記抗IL7Rアンタゴニスト抗体又はその抗原結合断片は、WO2018/104483に記載のN13B2-hVL6抗体又はその抗原結合断片であり、配列番号7のアミノ酸配列を含むか又はそれからなる重鎖可変ドメイン及び配列番号8のアミノ酸配列を含むか又はそれからなる軽鎖可変ドメインを含み、好ましくは、前記抗体又はその抗原結合断片は、配列番号9を含むか又はそれからなる完全な重鎖と配列番号10を含むか又はそれからなる完全な軽鎖を含む。

【００５８】

上記で定義されたアミノ酸配列のいずれか1つと少なくとも90%、例えば、少なくとも95%、96%、97%、98%、又は99%の同一性を有するアミノ酸配列を有する抗IL7Rアンタゴニスト抗体又はその抗原結合断片も、本開示の一部であり、典型的には、抗IL7Rアンタゴニスト抗体又はその抗原結合断片は、特に、N13B2-hVL6抗体の重鎖及び軽鎖のVH及びVLからなる前記IL7Rアンタゴニスト抗体又はその抗原結合断片よりも、上記のIL7-IL7R相互作用について少なくとも同等又はそれ以上のアンタゴニスト活性を有する。

【００５９】

本明細書で使用されるように、2つの配列間のパーセント同一性は、2つの配列の最適なアライメントのために導入する必要があるギャップの数、及び各ギャップの長さを考慮した、配列によって共有される同一の位置の数の関数(すなわち、%同一性＝同一の位置の数/位置の総数×100)である。2つの配列間の配列の比較及びパーセント同一性の決定は、下記の数学的アルゴリズムを使用して達成することができる。

【００６０】

2つのアミノ酸配列又はヌクレオチド配列間のパーセント同一性は、ALIGNプログラム(バージョン2.0)に組み込まれているE. Meyers及びW. Miller(Comput. Appl. Biosci., 4:11-17, 1988)のアルゴリズムを用いて、PAM120加重残基表、12のギャップ長ペナルティ及び4のギャップペナルティを用いて決定することができる。あるいは、2つのアミノ酸配列又はヌクレオチド配列間のパーセント同一性は、GCGソフトウェアパッケージ内のGAPプログラム(http://www.gcg.comで利用可能)に組み込まれているNeedleman及びWunsch(J. Mol, Biol. 48:444-453, 1970)のアルゴリズムを用いて、Blossom 62マトリクス又はPAM250マトリクスのいずれか、及び16、14、12、10、8、6、又は4のギャップ加重(gap weight)及び1、2、3、4、5、又は6の長さ加重(length weight)を用いて決定することができる。2つのヌクレオチド配列又はアミノ酸配列間のパーセント同一性はまた、例えば、核酸又はアミノ酸配列用のBLASTNプログラムなどのアルゴリズムを用いて、デフォルトとして11のワード長(W)、10の期待値(E)、M=5、N=4、及び両鎖の比較を用いて決定され得る。

【００６１】

本開示の別の特定の実施態様では、IL7Rアンタゴニスト(例えば、IL7Rアンタゴニスト抗体又はその抗原結合断片)は、さらに、前記受容体を発現するヒト細胞、特に、ヒトT細胞に対して細胞傷害性の性質を有する。

【００６２】

本開示の特定の実施態様によれば、細胞傷害性のIL7Rアンタゴニストは、マクロファージによるCD127陽性腫瘍細胞の抗体依存性細胞食作用(ADCP)活性を増強する能力をさらに有し、特に免疫細胞における抗体依存性細胞傷害性(ADCC)活性を有していない抗体である。本発明の特定の実施態様では、本発明の方法で使用されるか、又は本発明に従って使用するための抗IL-7Rアンタゴニスト抗体又はその抗原結合断片、特に、抗CD127抗体又はその断片は、マクロファージによるCD127陽性腫瘍細胞の抗体依存性細胞食作用(ADCP)活性を増強する能力を有し、好ましくは、特に、免疫細胞における抗体依存性細胞傷害性(ADCC)活性を有していない。

【００６３】

別の一実施態様では、IL7Rモジュレーター(すなわち、IL7Rアンタゴニスト又はIL7Rアゴニスト)は、抗原結合抗体ミメティックである。本明細書で使用されるように、「抗原結合抗体ミメティック」という用語は、抗体の能力を模倣する抗原結合能を有する人工のタンパク質、ペプチド及び任意の化合物を指す。そのような模倣体には、アフィチン及びアンチカリン並びにアプタマー(ペプチドアプタマー及びオリゴヌクレオチドアプタマー)が含まれる。

【００６４】

一実施態様では、IL7Rモジュレーター(すなわち、アンタゴニスト又はIL7Rアゴニスト)はアプタマーである。アプタマーは、分子認識の観点から抗体の代替物を表す分子のクラスである。アプタマーは、高い親和性及び特異性で実質的に任意のクラスの標的分子を認識する能力を有するオリゴヌクレオチド又はオリゴペプチド配列である。そのようなリガンドは、ランダム配列ライブラリーのEXponential enrichmentによるリガンドの系統的進化(Systematic Evolution of Ligands by EXponential enrichment)(SELEX)により単離することができる。ランダム配列ライブラリーは、DNAのコンビナトリアル化学合成によって得られる。このライブラリーでは、各メンバーは、固有の配列の最終的に化学修飾された直鎖状オリゴマーである。ペプチドアプタマーは、大腸菌のチオレドキシンAなどのプラットフォームタンパク質によって提示される構造的に制約のある抗体可変領域からなり、ツーハイブリッド法によってコンビナトリアルライブラリーから選択される。

【００６５】

いくつかの実施態様では、IL7Rモジュレーター(すなわち、IL7Rアンタゴニスト又はIL7Rアゴニスト)は、ポリペプチドである。「ポリペプチド」という用語は、本明細書において、具体的な長さを有していないアミノ酸のポリマーを意味する。そのため、ペプチド、オリゴペプチド及びタンパク質は、「ポリペプチド」の定義に含まれ、これらの用語は、本明細書全体を通して及び特許請求の範囲で交換可能に使用される。「ポリペプチド」という用語は、リン酸化、アセチル化、グリコシル化などを含むが、これらに限定されない翻訳後修飾を排除しない。

【００６６】

一実施態様では、本開示のポリペプチドは、2～200個のアミノ酸を含む長さを有する。一実施態様では、本開示のポリペプチドは、2～190、特に、10～180、10～170、10～160、10～150、10～140、10～130、10～120、10～110個のアミノ酸を含む長さを有する。一実施態様では、本発明のポリペプチドは、10～100個のアミノ酸を含む長さを有する。一実施態様では、本発明のポリペプチドは、50～100個のアミノ酸を含む長さを有する。一実施態様では、本発明のポリペプチドは、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又は100個のアミノ酸の長さを有する。

【００６７】

特定の実施態様では、該ポリペプチドは、IL7Rの機能的等価物である。本明細書で使用されるように、IL7Rの「機能的等価物」は、少なくとも1つのIL7リガンドに結合でき、それによって、IL7Rとの相互作用を防止することができる化合物である。「機能的等価物」という用語には、IL7Rの断片、突然変異体、及びムテインが含まれる。「機能的に等価」という用語は、そのため、タンパク質類似体がそのリガンドに結合する能力を保持するようにアミノ酸配列を改変することによって、例えば、1以上のアミノ酸の欠失、置換又は付加によって得られるIL7Rの任意の等価物を含む。アミノ酸置換は、例えば、アミノ酸配列をコードするDNAの点変異によって行われてもよい。

【００６８】

機能的等価物には、IL7Rのリガンドに結合し、IL7Rのリガンドを捕捉することができる可溶性受容体を形成するように、IL7Rの細胞外ドメインの全部又は一部を含む分子

が含まれるが、これに限定されない。そのため、機能的等価物には、IL7Rの可溶性形態が含まれる。これらのタンパク質の適切な可溶性形態、又はそれらの機能的等価物は、例えば、膜貫通ドメインが化学的方法、タンパク質分解法又は組換え法によって除去されたタンパク質の切断形態を含んでよい。特に、対応するタンパク質の全長にわたって、対応するタンパク質と少なくとも80%の同一性、より特には、少なくとも85%、少なくとも86%、少なくとも87%、少なくとも88%、少なくとも89%、少なくとも90%、少なくとも91%、少なくとも92%、少なくとも93%、少なくとも94%、少なくとも95%、少なくとも96%、少なくとも97%、少なくとも98%、さらにより特には、少なくとも99%の同一性を有する配列からなる機能的等価物。本明細書で使用されるように、「対応するタンパク質」という用語は、本発明の機能的等価物が同様の機能を有するタンパク質を指す。本発明の提示において言及される同一性のパーセンテージは、比較されるべき配列のグローバルアライメント、すなわち、それらの全長にわたる配列のアライメントに基づいて、例えば、Needleman及びWunsch 1970のアルゴリズムを使用して決定される。この配列比較は、例えば、10.0に等しいパラメータ「ギャップオープン(Gap open)」、0.5に等しいパラメータ「ギャップエクステンド(Gap Extend)」、及びマトリックス「BLOSUM 62」を使用することによって、needleソフトウェアを使用して行うことができる。needleなどのソフトウェアは、「needle」という名称の下で、ワールドワイドウェブサイトebi.ac.uk上で利用可能である。本明細書で使用されるように、「機能的に等価な断片」という用語はまた、IL7に結合するIL7Rの任意の断片又は断片のアセンブリを意味することができる。したがって、本開示は、IL7RのIL7への結合を阻害できるポリペプチド、特に、機能的等価物であって、IL7に結合する部分である、IL7Rの細胞外ドメインの少なくとも一部の配列に対応する配列を有する連続アミノ酸を含む、前記ポリペプチドを提供する。いくつかの実施態様では、該ポリペプチド、特に、該機能的等価物は、IL7Rの細胞外ドメインに対応する。

【００６９】

いくつかの実施態様では、IL7Rの機能的等価物は異種ポリペプチドに融合されて、融合タンパク質を形成する。本明細書で使用されるように、「融合タンパク質」は、異種ポリペプチド(すなわち、該ポリペプチド以外のポリペプチド)に作用可能に連結された本開示の機能的等価物の全部又は(典型的には、生物活性のある)一部を含む。融合タンパク質において、「作用可能に連結された」という用語は、本開示の機能的等価物と異種ポリペプチドが互いにインフレームで融合されていることを示すことを意図する。異種ポリペプチドは、本開示の機能的等価物のN末端又はC末端に融合することができる。

【００７０】

いくつかの実施態様では、IL7Rの機能的等価物は、免疫グロブリン定常ドメイン(Fc領域)に融合されて、イムノアドヘシンを形成する。イムノアドヘシンは、ヒト抗体の価値のある化学的及び生物学的特性の多くを保有することができる。イムノアドヘシンは、適切なヒト免疫グロブリンヒンジ及び定常ドメイン(Fc)配列に連結された、所望の特異性を有するヒトタンパク質配列から構築することができるので、関心対象の結合特異性は、完全ヒト構成成分を使用して達成することができる。そのようなイムノアドヘシンは、患者に対する免疫原性が最小限であり、慢性使用又は反復使用に対して安全である。いくつかの実施態様では、Fc領域は、ネイティブ配列のFc領域である。いくつかの実施態様では、Fc領域は、バリアントFc領域である。さらに別の実施態様では、Fc領域は、機能的Fc領域である。本明細書で使用されるように、「Fc領域」という用語は、ネイティブ配列のFc領域及びバリアントFc領域を含む、免疫グロブリン重鎖のC末端領域を定義するために使用される。免疫グロブリン重鎖のFc領域の境界は変化し得るが、ヒトIgG重鎖Fc領域は、通常、位置Cys226のアミノ酸残基から、又はPro230からそのカルボキシル末端に及ぶ範囲と定義される。イムノアドヘシンの接着部分と免疫グロブリン配列部分は、最小リンカーによって連結され得る。免疫グロブリン配列は、典型的には、必ずしもそうではないが、免疫グロブリン定常ドメインである。本発明のキメラにおける免疫グロブリン部分は、IgG1、IgG2、IgG3又はIgG4サブタイプ、IgA、IgE、IgD又はIgM

、しかし典型的には、IgG1又はIgG4から取得され得る。いくつかの実施態様では、IL7Rの機能的等価物とイムノアドヘシンの免疫グロブリン配列部分は、最小リンカーによって連結される。本明細書で使用されるように、「リンカー」という用語は、本発明のポリペプチドと免疫グロブリン配列部分とを連結する少なくとも1つのアミノ酸の配列を指す。そのようなリンカーは、立体障害を防止するのに有用であり得る。いくつかの実施態様では、リンカーは、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アミノ酸残基を有する。しかし、上限は、重要ではないが、例えば、そのようなポリペプチドのバイオ医薬品製造に関する便宜上の理由のために選択される。リンカー配列は、天然に存在する配列であっても、又は天然に存在しない配列であってもよい。治療目的で使用される場合、リンカーは、典型的には、イムノアドヘシンが投与される対象において非免疫原性である。リンカー配列の1つの有用なグループは、WO 96/34103及びWO 94/04678に記載されているような重鎖抗体のヒンジ領域に由来するリンカーである。他の例は、ポリアラニンリンカー配列である。

【００７１】

本開示によれば、前記アンタゴニスト(例えば、抗IL7Rアンタゴニスト抗体又はその抗原結合断片)が、前記患者において前記アンタゴニスト治療に対する治療応答と相関し得るIL7Rアンタゴニスト効果を有する場合に、患者は、IL7Rアンタゴニスト(例えば、抗IL7Rアンタゴニスト抗体又はその抗原結合断片)治療に応答する可能性が高い。

【００７２】

別の特定の実施態様では、本開示によれば、前記アゴニストが、前記患者において前記アゴニスト治療に対する治療応答と相関し得るIL7Rアゴニスト効果を有する場合に、患者は、IL7Rアゴニスト(例えば、IL7)治療に応答する可能性が高い。

【００７３】

本開示の異なる方法によれば、インビトロ又はインビボでIL7Rアンタゴニスト(例えば、抗IL7Rアンタゴニスト抗体もしくはその抗原結合断片)又はIL7RアゴニストなどのIL7Rモジュレーターで以前に治療された患者試料中のBCL2、CISH、PTGER2及びDPP4遺伝子からなる群から選択される少なくとも1、2、3又は4個の遺伝子、好ましくは、BCL2、CISH、PTGER2、DPP4、SOCS2及びFLT3LG遺伝子からなる群から選択される少なくとも1、2、3、4、5又は6個の遺伝子の遺伝子発現プロファイルの解析は、患者においてIL7Rアンタゴニスト(例えば、抗IL7Rアンタゴニスト抗体もしくはその抗原結合断片)又はIL7RアゴニストなどのIL7Rモジュレーターの有効性を決定し、前記アンタゴニスト(例えば、抗IL7Rアンタゴニスト抗体もしくはその抗原結合断片)又はアゴニスト治療に対する前記患者の治療応答を評価する(evaluate)か、又は治療応答の可能性を評価する(assess)か、又は前記治療において有効である可能性が高いIL7Rアンタゴニストもしくはアゴニスト化合物を選択するためのバイオマーカーとして使用することができる。

【００７４】

そのため、本開示による異なる方法は、患者試料中のBCL2、CISH、PTGER2及びDPP4遺伝子からなる群から選択される少なくとも1、2、3又は4個の遺伝子、好ましくは、BCL2、CISH、PTGER2、DPP4、SOCS2及びFLT3LG遺伝子からなる群から選択される少なくとも1、2、3、4、5及び6個の遺伝子の発現レベルを決定することを含む。

【００７５】

「BCL2、CISH、PTGER2及びDPP4遺伝子からなる群から選択される少なくとも1、2、3又は4個の遺伝子の発現プロファイルを決定すること」という用語は、前記遺伝子の少なくとも1、2、3又は4個の発現レベルが評価されることを意味する。特定の実施態様では、全ての前記遺伝子の各々の発現レベルが評価される。

【００７６】

ヒトBCL2遺伝子は、BCL2アポトーシス調節因子(遺伝子ID:596、2021年6月20日更新)とも命名され、リンパ球などの一部の細胞のアポトーシス死を阻止する完全なミト

コンドリア外膜タンパク質をコードする。ヒトBCL2遺伝子は、オルタナティブスプライシングによって生成される2つの転写物の、BCL2アイソフォームアルファタンパク質(NCBI参照配列：NP_000624.2、2021年7月1日更新)とBCL2アイソフォームベータタンパク質(NCBI参照配列：NP_000648.2、2021年7月1日更新)をそれぞれコードする6881bpのBCL2転写物バリアントアルファ(NCBI参照配列：NM_000633.3、2021年7月1日更新)と1595bpのBCL2転写物バリアントベータ(NCBI参照配列：NM_000657.3、2021年7月1日更新)をコードする。

【００７７】

ヒトCISH遺伝子(サイトカイン誘導性SH2含有タンパク質、遺伝子ID：1154、2021年6月20日更新)は、SH2ドメインとSOCSボックスドメインを含有するタンパク質をコードし、サイトカインシグナル伝達抑制因子(SOCS)又はSTAT誘導性STAT阻害因子(SSI)タンパク質ファミリーとしても知られるサイトカイン誘導性STAT阻害因子(CIS)に属する。ヒトCISH遺伝子は、2つの転写物の、CISHアイソフォーム1タンパク質(NCBI参照配列：NP_037456.5、2021年7月1日更新)とCISHアイソフォーム2タンパク質(NCBI参照配列：NP_659508.1、2021年7月1日更新)をそれぞれコードする2176 bpのCISH転写物バリアント1(NCBI参照配列：NM_013324.7、2021年7月1日更新)と2019 bpのCISH転写物バリアント2(NCBI参照配列：NM_145071.4、2021年7月1日更新)をコードする。

【００７８】

ヒトPTGER2遺伝子(プロスタグランジンE受容体2、遺伝子ID: 5732　2021年6月20日更新)は、広範囲の組織において異なる生物活性を有するアラキドン酸の代謝産物であるプロスタグランジンE2の受容体をコードする。ヒトPTGER2遺伝子は、PTGER2タンパク質(NCBI参照配列：NP_000947.2、2021年6月24日更新)をコードする2548 bp(NCBI参照配列：NM_000956.4、2021年6月24日更新)の転写物をコードする。

【００７９】

ヒトDPP4遺伝子(ジペプチジルペプチダーゼ4、遺伝子ID：1803、2021年6月28日更新)は、ADABP、ADCP2、CD26、DPPIV及びTP103としても知られ、アデノシンデアミナーゼ複合タンパク質-2及びT細胞活性化抗原CD26と同一であるジペプチジルペプチダーゼ4をコードする。ヒトDPP4遺伝子は、4つの転写物：3573 bpのDPP4転写物バリアント1(NCBI参照配列：NM_001935.4、2021年6月29日更新)、3570 bpのDPP4転写物バリアント2(NCBI参照配列：NM_ 001379604.1、2021年7月1日更新)、3567 bpのDPP4転写物バリアント3(NCBI参照配列：NM_001379605.1、2021年6月30日更新)、3519 bpのDPP4転写物バリアント4(NCBI参照配列：NM_001379606.1、2021年7月1日更新)をコードし、これらはそれぞれ4つのタンパク質アイソフォーム：DPP4アイソフォーム1(NCBI参照配列：NP_001926.2、2021年6月29日更新)、DPP4アイソフォーム2(NCBI参照配列：NP_001366533.1、2021年7月1日更新)、DPP4アイソフォーム3(NCBI参照配列：NP_001366534.1、2021年6月30日更新)及びDPP4アイソフォーム4(NCBI参照配列：NP_001366535.1、2021年7月1日更新)をコードする。

【００８０】

ヒトSOCS2遺伝子(遺伝子ID: 8835、2021年6月11日更新)は、CIS2、Cish2、SOCS-2、SSI-2、SSI2、STATI2としても知られ、サイトカインシグナル伝達抑制因子(SOCS)ファミリーのメンバーをコードする。ヒトSOCS2遺伝子は、5つの転写物:2606 bpのSOCS2転写物バリアント1(NCBI参照配列：NM_003877.5、2021年6月27日更新)、2653 bpのSOCS2転写物バリアント2(NCBI参照配列：NM_001270467.2、2021年6月27日更新)、2581 bpのSOCS2転写物バリアント3(NCBI参照配列：NM_001270468.2、2021年6月27日更新)、2431 bpのSOCS2転写物バリアント4(NCBI参照配列：NM_001270469.2、2021年6月27日更新)、2888 bpのSOCS2転写物バリアント5(NCBI参照配列：NM_001270470.1、2021年6月23日更新)、2386 bpのSOCS2転写物バリアント6(NCBI参照配列：NM_001270471.2、2021年6月26日

更新)をコードする。これらの転写物は、198個のアミノ酸のSOCS2タンパク質(NCBI参照配列：NP_003868.1、2021年6月27日更新)をコードする。

【００８１】

ヒトFLT3LG遺伝子(fms関連受容体チロシンキナーゼ3リガンド、遺伝子ID: 2323 2021年6月11日更新)は、FL、FLG3L、FLT3Lとしても知られ、樹状細胞の発達を制御するタンパク質をコードする。ヒトFLT3LG遺伝子は、5つの転写物:1101 bpのFLT3LG転写物バリアント1(NCBI参照配列：NM_001204502.2、2021年6月27日更新)、1051 bpのFLT3LG転写物バリアント2(NCBI参照配列：NM_001204503.2、2021年6月27日更新)、1050 bpのFLT3LG転写物バリアント3(NCBI参照配列：NM_001459.4、2021年6月26日更新)、1078 bpのFLT3LG転写物バリアント4(NCBI参照配列：NM_001278637.2、2021年5月3日更新)、1067 bpのFLT3LG転写物バリアント5(NCBI参照配列：NM_001278638.2、2021年5月3日更新)をコードする。これらの転写物は、2つのタンパク質アイソフォームのFLT3LGアイソフォーム1前駆体タンパク質(NCBI参照配列：NP_001450.2、2021年6月26日更新)とFLT3LGアイソフォーム2(NCBI参照配列：NP_001265566.1、2021年5月3日更新)をコードする。

【００８２】

前記遺伝子の遺伝子発現プロファイルは、当業者に公知の任意の適切な方法によって決定され得る。

【００８３】

「遺伝子発現プロファイル」又は「遺伝子シグネチャー」という用語は、生物学的プロセス、本明細書では、細胞内でのIL7Rアンタゴニスト又はアゴニスト効果の結果として生じる、細胞内での上記の遺伝子セットの少なくとも1つの遺伝子の発現のパターンを指す。本開示によれば、前記バイオマーカーの遺伝子発現プロファイルは、上記のILR7アンタゴニスト(例えば、抗IL7Rアンタゴニスト抗体もしくはその抗原結合断片)又はIL7Rアゴニストで処理された細胞内で発現する遺伝子産物の相対量を測定することによって、好ましくは、遺伝子セット内外の遺伝子発現ランクの経験的累積分布関数で正規化された差として、試料当たりの遺伝子セットエンリッチメントスコアを計算することによるGSVAアルゴリズムで単一試料GSEA(ssGSEA)を実行することによって決定することができる。

【００８４】

通常、これらの方法は、上記のmRNA又はタンパク質の量を測定することを含む。mRNAの量を決定する方法は、当技術分野において周知である。例えば、試料中に含まれるmRNAは、最初に標準的な方法に従って、例えば、溶解酵素又は化学溶液を使用して抽出されるか、又は製造業者の説明書に従って核酸結合樹脂によって抽出される。次いで、抽出されたmRNAは、ハイブリダイゼーション(例えば、ノーザンブロット分析)及び/又は本開示の実施例に記載の前記遺伝子に特異的なプライマー対及びプローブを使用することによる増幅(例えば、RT-PCR)によって検出される。定量的又は半定量的RT-PCRが好ましい。別の特定の実施態様では、mRNA発現レベルは、RNA seq法によって測定される。

【００８５】

いくつかの実施態様では、例えば、定量的RT-PCRによって測定された前記遺伝子の発現レベルは、同じ実験で決定されたハウスキーピング遺伝子の発現レベルを各遺伝子から減算することによって正規化され、遺伝子発現プロファイルは、好ましくは、BCL2、CISH、PTGER2及びDPP4遺伝子からなる群から選択される1つの遺伝子の正規化された遺伝子発現レベル又は少なくとも2つ、3つの遺伝子の、好ましくは、4つの遺伝子の各々の、より好ましくは、BCL2、CISH、PTGER2、DPP4、SOCS2及びFLT3LGからなる群から選択される4、5又は6個の遺伝子の各々の正規化された遺伝子発現レベルの合計に対応し得る。

【００８６】

別の実施態様では、遺伝子発現プロファイルを決定することは、特に、RNA-seq又は

DNAマイクロアレイによって、前記遺伝子(複数可)の発現レベルを決定することを含む。

【００８７】

(治療の過程におけるIL7受容体モジュレーター治療の治療応答を評価するインビトロ法)

特定の実施態様では、これらの遺伝子の少なくとも1つ、好ましくは、2、3、4、5つの発現プロファイル、より好ましくは、全て組み合わせたものの発現プロファイルは、治療過程中の患者において、化合物(IL7Rアンタゴニスト(例えば、抗IL7Rアンタゴニスト抗体もしくはその抗原結合断片)又はIL7Rアゴニスト)のアンタゴニスト又はアゴニスト効果、ひいては、前記治療の有効性を監視するのに有益である。

【００８８】

本開示によるバイオマーカーは、患者試料中のBCL2、CISH、PTGER2及びDPP4遺伝子からなる群から選択される少なくとも1、2、3又は4個の遺伝子、好ましくは、BCL2、CISH、PTGER2、DPP4、SOCS2及びFLT3LG遺伝子からなる群から選択される少なくとも1、2、3、4、5又は6個の遺伝子の遺伝子発現プロファイルを決定することによって、及び前記遺伝子の遺伝子発現プロファイルが対照値と比較して高いか低いかを決定することによって、前記治療の応答者として患者を分類することを可能にする。

【００８９】

本開示は、IL7Rアンタゴニスト(例えば、抗IL7受容体アンタゴニスト抗体又はその抗原結合断片)の少なくとも1用量を投与された患者の試料中のヒトBCL2、CISH、PTGER2及びDPP4遺伝子からなる群から選択される1、2、3又は4個の遺伝子、好ましくは、BCL2、CISH、PTGER2、DPP4、SOCS及びFLT3LG遺伝子からなる群から選択される少なくとも1、2、3、4、5又は6個の遺伝子の遺伝子発現プロファイルを決定することによって、IL7Rアンタゴニスト(例えば、抗IL7受容体アンタゴニスト抗体又はその抗原結合断片)による治療に対するヒト患者の治療応答を評価するインビトロ法であって、ここで、対照値と比較した前記患者試料中の前記遺伝子(複数可)のより低い遺伝子発現プロファイルが、患者は前記アンタゴニスト治療に応答する可能性が高いことを示す、前記インビトロ法に関する。

【００９０】

別の特定の実施態様では、本開示は、IL7Rアゴニストの少なくとも1用量を投与された患者の試料中のヒトBCL2、CISH、PTGER2及びDPP4遺伝子からなる群から選択される1、2、3又は4個の遺伝子、好ましくは、BCL2、CISH、PTGER2、DPP4、SOCS及びFLT3LG遺伝子からなる群から選択される少なくとも1、2、3、4、5又は6個の遺伝子の遺伝子発現プロファイルを決定することによって、IL7Rアゴニスト(例えば、IL7)による治療に対するヒト患者の治療応答を評価するインビトロ法であって、ここで、対照値と比較した前記患者試料中の前記遺伝子(複数可)のより高い遺伝子発現プロファイルが、患者は前記アゴニスト治療に応答する可能性が高いことを示す、前記インビトロ法に関する。

【００９１】

「治療に対する治療応答を評価する」という用語は、本明細書で使用されるように、治療を施してしばらくした後の患者において患者の治療が有効である可能性が高い(例えば、測定可能な利益又は肯定的な医学的応答を提供する)かどうかを評価する能力を指す。言い換えれば、本開示によれば、治療に対する応答を評価することは、前記治療に対する前記患者の可能性の高い応答性と相関し得る、患者細胞内でのIL7Rアンタゴニスト(例えば、抗IL7Rアンタゴニスト抗体もしくはその抗原結合断片)又はIL7Rアゴニストの効果を評価する能力を指す。

【００９２】

特に、患者における化合物のアンタゴニスト又はアゴニスト効果、ひいては、患者における前記アンタゴニスト又はアゴニスト治療に応答する可能性が高いことは、前記アンタゴニストの少なくとも1用量を投与された患者におけるBCL2、CISH、PTGER2及びDPP4遺伝子からなる群から選択される少なくとも1、2、3又は4個の遺伝子、好ましくは、BCL2、CISH、PTGER2、DPP4、SOCS2及びFLT3LG遺伝子からなる群から選択さ

れる少なくとも1、2、3、4、5又は6個の遺伝子の遺伝子発現プロファイルを対照値と比較することによって評価される。

【００９３】

治療応答を評価する本方法によれば、試料は、IL7Rアンタゴニスト(例えば、抗IL7Rアンタゴニスト抗体もしくはその抗原結合断片)又はIL7Rアゴニストの少なくとも1用量を投与された患者から事前に収集されている。

【００９４】

「患者試料」という用語は、患者に由来する任意の生体試料を意味する。そのような試料の例には、組織、細胞試料、器官、生検、腫瘍試料などが含まれる。

【００９５】

好ましい生体試料は、浸潤免疫細胞を含有する末梢血単核球、組織又は腫瘍である。

【００９６】

特定の実施態様では、前記試料は免疫細胞を含む。免疫細胞には、B細胞及びT細胞及びナチュラルキラー細胞などのリンパ球が含まれる。前記免疫細胞は、末梢血単核球、骨髄、リンパ節組織、臍帯血、胸腺組織、感染部位からの組織、腹水、胸水、脾臓組織、及び腫瘍、当業者に知られている任意の数の技術を使用して対象から採取される血液の単位を含む多数の非限定的な供給源から取得することができる。免疫細胞は、血液から抽出され得るか、又は幹細胞由来であり得る。好ましい実施態様では、前記試料は、組織試料、好ましくは、癌患者又は血液患者試料からの浸潤免疫細胞を含有する腫瘍組織、より好ましくは、ヒトの単離された末梢血単核球である。

【００９７】

本開示によれば、IL7Rアンタゴニスト又はアゴニスト治療を受けた患者は、IL7Rアンタゴニスト(例えば、抗IL7Rアンタゴニスト抗体もしくはその抗原結合断片)又はIL7Rアゴニストの少なくとも1用量を投与された患者を指す。治療応答は、治療の過程を通して、治療応答を経時的に監視するために、IL7Rアンタゴニスト又はIL7Rアゴニストの用量の各投与後に本方法に従って評価することができる。

【００９８】

本明細書で使用されるように、「対照値」という用語は、好ましくは、IL7Rアンタゴニスト(例えば、抗IL7Rアンタゴニスト抗体又はその抗原結合断片)用量の前記投与前に、又はアンタゴニスト用量の任意の投与前に、又は病態もしくは疾患の任意の治療前に、異なる時点で前記患者から取得された生体試料、あるいは前記アンタゴニストもしくはアゴニストを含めないでインビトロで培養された患者細胞、又はIL7/IL7R経路に影響を及ぼさないことが知られている化合物(例えば、抗体)と共にインビトロで培養された患者細胞から取得された生体試料中の遺伝子シグネチャー(すなわち、BCL2、CISH、PTGER2及びDPP4遺伝子からなる群から選択される少なくとも1、2、3又は4個の遺伝子、好ましくは、BCL2、CISH、PTGER2、DPP4、SOCS2及びFLT3LG遺伝子からなる群から選択される少なくとも1、2、3、4、5又は6個の遺伝子の遺伝子発現プロファイル)を指すことができる。対照値は、代替的に、患者のデータ以外の供給源から得られる閾値、標準値又は範囲などの所定の値であり得る。対照の所定の値は、アンタゴニスト(例えば、抗IL7Rアンタゴニスト抗体又はその抗原結合断片)用量の前記投与前の患者と前記アンタゴニスト用量を投与された患者との間の比較測定に基づくか、又は前記アンタゴニストもしくはアゴニストと共にインビトロで培養された患者細胞、又は前記アンタゴニストもしくはアゴニストを含めないでインビトロで培養された患者細胞、又はIL7/IL7Rシグナル伝達経路に影響を及ぼさないことが知られている化合物(例えば、抗体)と共にインビトロで培養された患者細胞の間の比較測定に基づいて確立され得る。

【００９９】

特定の実施態様では、本開示の治療過程においてIL7受容体モジュレーター治療の治療応答を評価する方法によれば、対照値は、好ましくは、IL7Rアンタゴニスト(例えば、抗IL7Rアンタゴニスト抗体又はその抗原結合断片)用量の前記投与前に、又はアンタゴニスト用量の任意の投与前に、又は病態もしくは疾患の任意の治療前に、異なる時点で前記患

者から取得された生体試料中の遺伝子シグネチャー(すなわち、BCL2、CISH、PTGER2及びDPP4遺伝子からなる群から選択される少なくとも1、2、3又は4個の遺伝子、好ましくは、BCL2、CISH、PTGER2、DPP4、SOCS2及びFLT3LG遺伝子からなる群から選択される少なくとも1、2、3、4、5又は6個の遺伝子の遺伝子発現プロファイル)を指すか、あるいは、対照値は、アンタゴニスト(例えば、抗IL7Rアンタゴニスト抗体又はその抗原結合断片)用量の前記投与前の患者と前記アンタゴニスト用量を投与された患者との間の比較測定に基づいて確立された対照の所定の値を指す。

【０１００】

好ましい実施態様では、前記バイオマーカーの遺伝子発現プロファイルは、抗体用量投与の少なくとも1、2、3、又は7、好ましくは、10、14、21、28日後、より特には、抗体用量投与の少なくとも30、35、40、45、50、55、60、70、80、90、100、120日後に患者から収集された試料において評価される。

【０１０１】

IL7Rアンタゴニスト(例えば、抗IL7Rアンタゴニスト抗体又はその抗原結合断片)の少なくとも1用量を投与された患者の試料中の、対照値と比較した前記バイオマーカーのより低い遺伝子発現プロファイルは、患者における前記アンタゴニスト(例えば、抗IL7Rアンタゴニスト抗体又はその抗原結合断片)のアンタゴニスト効果と相関し、ひいては、前記IL7Rアンタゴニスト(例えば、抗IL7Rアンタゴニスト抗体又はその抗原結合断片)治療に対する患者の治療応答と相関する。

【０１０２】

典型的には、前記患者におけるBCL2、CISH、PTGER2及びDPP4遺伝子からなる群から選択される少なくとも1、2、3又は4個の遺伝子、好ましくは、BCL2、CISH、PTGER2、DPP4、SOCS2及びFLT3LG遺伝子からなる群から選択される少なくとも1、2、3、4、5又は6個の遺伝子の遺伝子発現プロファイルの、前記対照値のそれに対するlog2倍変化が、少なくとも0.1、好ましくは、0.2、0.3、0.4、0.5、0.6、0.7、0.8、0.9、より好ましくは、1、2、3、4、再びより好ましくは5より低い場合には、患者試料中の前記バイオマーカーの遺伝子発現プロファイルは、対照値よりも低いとみなされる。

【０１０３】

特に、遺伝子発現レベルが定量的RT-PCRによって決定される場合、前記患者におけるBCL2、CISH、PTGER2及びDPP4遺伝子からなる群から選択される少なくとも1、2、3又は4個の遺伝子、好ましくは、BCL2、CISH、PTGER2、DPP4、SOCS2及びFLT3LG遺伝子からなる群から選択される少なくとも1、2、3、4、5又は6個の遺伝子の遺伝子発現プロファイルの、前記対照値のそれに対するlog2倍変化が、少なくとも0.4より低い場合には、患者試料中の前記バイオマーカーの遺伝子発現プロファイルは、対照値よりも低いとみなされる。

【０１０４】

別の特定の実施態様では、遺伝子発現レベルがRNA-seqによって決定される場合、前記患者におけるBCL2、CISH、PTGER2及びDPP4遺伝子からなる群から選択される少なくとも1、2、3又は4個の遺伝子、好ましくは、BCL2、CISH、PTGER2、DPP4、SOCS2及びFLT3LG遺伝子からなる群から選択される少なくとも1、2、3、4、5又は6個の遺伝子の遺伝子発現プロファイルの、前記対照値のそれに対するlog2倍変化が、少なくとも0.1より低い場合には、患者試料中の前記バイオマーカーの遺伝子発現プロファイルは、対照値よりも低いとみなされる。

【０１０５】

IL7Rアンタゴニスト(例えば、抗IL7Rアンタゴニスト抗体又はその抗原結合断片)により治療した後に、アンタゴニストの少なくとも1用量を投与された患者の試料中の前記バイオマーカーの遺伝子発現プロファイルが対照値よりも低くない場合には、例えば、前記IL7Rアンタゴニスト化合物を変えることによって、又は前記IL7Rアンタゴニストの濃度を変えることによって、治療は中断又は変更されるべきである。本開示による治療応答

を評価する方法は、IL7Rアンタゴニスト(例えば、抗IL7Rアンタゴニスト抗体又は抗原結合断片)での患者の治療の成功又は失敗を示すことができる。

【０１０６】

別の特定の実施態様では、対照値と比較して、IL7Rアゴニストの少なくとも1用量を投与された患者の試料中の前記バイオマーカーのより高い遺伝子発現プロファイルは、患者における前記アゴニストのアゴニスト効果と相関し、ひいては、前記IL7Rアゴニスト治療に対する患者の治療応答と相関する。

【０１０７】

典型的には、前記患者におけるBCL2、CISH、PTGER2及びDPP4遺伝子からなる群から選択される少なくとも1、2、3又は4個の遺伝子、好ましくは、BCL2、CISH、PTGER2、DPP4、SOCS2及びFLT3LG遺伝子からなる群から選択される少なくとも1、2、3、4、5又は6個の遺伝子の遺伝子発現プロファイルの、前記対照値のそれに対するlog2倍変化が、少なくとも0.1、好ましくは、0.2、0.3、0.4、0.5、0.6、0.7、0.8、0.9、より好ましくは、1、2、3、再びより好ましくは4、さらにより好ましくは5より高い場合には、患者試料中の前記バイオマーカーの遺伝子発現プロファイルは、対照値よりも高いとみなされる。

【０１０８】

特に、遺伝子発現レベルが定量的RT-PCRによって決定される場合、前記患者におけるBCL2、CISH、PTGER2及びDPP4遺伝子からなる群から選択される少なくとも1、2、3又は4個の遺伝子、好ましくは、BCL2、CISH、PTGER2、DPP4、SOCS2及びFLT3LG遺伝子からなる群から選択される少なくとも1、2、3、4、5又は6個の遺伝子の遺伝子発現プロファイルの、前記対照値のそれに対するlog2倍変化が、少なくとも0.4より高い場合には、患者試料中の前記バイオマーカーの遺伝子発現プロファイルは、対照値よりも高いとみなされる。

【０１０９】

別の特定の実施態様では、遺伝子発現レベルがRNA-seqによって決定される場合、前記患者におけるBCL2、CISH、PTGER2及びDPP4遺伝子からなる群から選択される少なくとも1、2、3又は4個の遺伝子、好ましくは、BCL2、CISH、PTGER2、DPP4、SOCS2及びFLT3LG遺伝子からなる群から選択される少なくとも1、2、3、4、5又は6個の遺伝子の遺伝子発現プロファイルの、前記対照値のそれに対するlog2倍変化が、少なくとも0.1より高い場合には、患者試料中の前記バイオマーカーの遺伝子発現プロファイルは、対照値よりも高いとみなされる。

【０１１０】

IL7Rアゴニストにより治療した後に、アゴニストの少なくとも1用量を投与された患者の試料中の前記バイオマーカーの遺伝子発現プロファイルが対照値よりも高くない場合には、例えば、前記IL7Rアンタゴニスト化合物を変えることによって、又は前記IL7Rアンタゴニストの濃度を変えることによって、治療は中断又は変更されるべきである。本開示による治療応答を評価する方法は、IL7Rアゴニストでの患者の治療の成功又は失敗を示すことができる。

【０１１１】

本開示によれば、IL7Rアンタゴニスト(例えば、抗IL7Rアンタゴニスト抗体又は抗原結合断片)により治療された前記患者は、IL7(IL7/IL7R経路)によって誘導されるIL7Rシグナル伝達経路の亢進と関連付けられる障害又は疾患に罹患している。

【０１１２】

様々な病理学的状態は、異常な高レベルのIL-7及び/又はIL-7Rと関連付けられる。IL7によって誘導されるIL7シグナル伝達経路の亢進と関連付けられる前記障害は、CD127陽性罹患細胞の活性化又は増殖を伴う自己免疫疾患、炎症性疾患、アレルギー性疾患、癌疾患、感染症、呼吸器疾患、及び移植と関連する疾患、特に、CD127陽性細胞の活性化もしくは増殖を伴う自己免疫疾患又は炎症性疾患、より好ましくは、シェーグレン症候群などの慢性炎症性疾患又は潰瘍性大腸炎などの炎症性腸疾患からなる群から選択され得

る。
【０１１３】
シェーグレン病は、主に、外分泌腺に影響を及ぼし、それらの機能障害をもたらす自己免疫疾患である。シェーグレン病は、炎症の兆候を特徴とし、炎症性疾患として分類され得る自己免疫疾患である。シェーグレン症候群の症状には、例えば、ドライアイ及びドライマウスが含まれる。シェーグレン症候群は、関節リウマチ、ループス、エリテマトーデス、又は進行性全身性硬化症などの他の免疫系障害を伴うことが多い。
【０１１４】
特定の実施態様では、IL7によって誘導されるIL7Rシグナル伝達経路の亢進と関連付けられる前記障害は、好ましくは、慢性感染症、一次感染症及び二次感染症からなる群から選択される感染症である。
【０１１５】
特定の実施態様では、IL7によって誘導されるIL7Rシグナル伝達経路の亢進と関連付けられる前記障害は、好ましくは、糖尿病、多発性硬化症、シェーグレン症候群、ループス、乾癬及びアトピー性皮膚炎からなる群から選択される自己免疫疾患である。
【０１１６】
別の特定の実施態様では、IL7によって誘導されるIL7Rシグナル伝達経路の亢進と関連付けられる前記疾患は、好ましくは、関節リウマチ、強直性脊椎炎及び炎症性腸疾患からなる群から選択される慢性炎症性疾患である。
【０１１７】
別の特定の実施態様では、IL7によって誘導されるIL7Rシグナル伝達経路の亢進と関連付けられる前記疾患は、アレルギー性疾患である。
【０１１８】
IL7によって誘導されるIL7Rシグナル伝達経路の亢進と関連付けられる前記疾患はまた、好ましくは、T細胞急性リンパ芽球性白血病、B細胞急性リンパ芽球性白血病、慢性リンパ球性白血病、T細胞前リンパ球性白血病及びホジキンリンパ腫からなる群から選択される血液癌などの癌であり得る。
【０１１９】
好ましい実施態様では、IL7によって誘導されるIL7Rシグナル伝達経路の亢進と関連付けられる前記障害は、シェーグレン症候群又は潰瘍性大腸炎もしくはクローン病などの炎症性腸疾患である。
【０１２０】
本開示によれば、IL7Rアゴニストにより治療される前記患者は、健常なT細胞活性の障害と関連付けられる、好ましくは、IL7によって誘導されるIL7Rシグナル伝達経路を通して救済され得る障害又は疾患、好ましくは、発症にそれ自体がIL7R経路に依存しない癌疾患又は感染症に罹患している。特定の実施態様では、IL7Rアゴニストにより治療される前記患者は、癌疾患又は感染症における免疫療法などの免疫応答の増強が必要とされる障害又は疾患に罹患している。
【０１２１】
別の特定の実施態様では、本開示は、それを必要とするヒト患者におけるIL7Rアンタゴニスト(例えば、抗IL7受容体アンタゴニスト抗体もしくはその抗原結合断片)又はアゴニストの治療的使用であって、患者がIL7Rアンタゴニスト(例えば、抗IL7受容体アンタゴニスト抗体もしくはその抗原結合断片)又はIL7Rアゴニストの少なくとも1用量を投与された後に、前記患者が、上記の方法において前記アンタゴニスト又はアゴニスト治療に応答する可能性が高いと評価された場合に、前記アンタゴニスト、特に、前記抗体又はアゴニストが前記患者に投与される、前記治療的使用に関する。
【０１２２】
本発明はまた、それを必要とするヒト患者におけるIL7によって誘導されるIL7Rシグナル伝達経路の亢進と関連付けられる疾患、又は上記の健常なT細胞活性の障害と関連付けられる疾患を治療する方法であって、

(a)IL7Rアンタゴニスト(例えば、抗IL7受容体アンタゴニスト抗体もしくはその抗原結合断片)又はIL7Rアゴニストの少なくとも1用量を投与された前記患者から事前に収集した試料を提供すること、
(b) BCL2、CISH、PTGER2及びDPP4遺伝子からなる群から選択される少なくとも1、2、3又は4個の遺伝子、好ましくは、BCL2、CISH、PTGER2、DPP4、FLT3LG及びSOCS2からなる群から選択される少なくとも1、2、3、4、5又は6個の遺伝子の遺伝子発現プロファイルが、対照値と比較してより低いか又は高いかどうかを決定することであって、ここで、前記遺伝子のより低い又はより高い遺伝子発現プロファイルが、前記患者は前記IL7Rアンタゴニスト(例えば、抗IL7受容体アンタゴニスト抗体もしくはその抗原結合断片)又はIL7Rアゴニスト治療それぞれに応答する可能性が高いことを示す、前記対照値と比較してより低いか又は高いかどうかを決定すること、
(c)前記アンタゴニスト又はアゴニスト治療に応答する可能性が高いと評価された前記患者に、治療有効量のIL7Rアンタゴニスト(例えば、抗IL7受容体アンタゴニスト抗体もしくはその抗原結合断片)又はIL7Rアゴニストを再投与すること
を含む、前記方法に関する。

【０１２３】

言い換えると、本開示は、上記のようにIL7によって誘導されるIL7Rシグナル伝達経路の亢進と関連付けられる疾患に罹患している、それを必要とするヒト患者におけるIL7Rアンタゴニスト治療の治療応答を評価する方法であって、
(a)第1の時点又はそれより前の時点で前記患者から収集された試料を提供すること、
(b)第2の時点又はその後の時点で前記患者から収集された試料を提供すること、
(b)第2の時点又はその後の時点で収集された前記患者試料中のBCL2、CISH、PTGER2及びDPP4遺伝子からなる群から選択される少なくとも1、2、3又は4個の遺伝子、好ましくは、BCL2、CISH、PTGER2、DPP4、FLT3LG及びSOCS2遺伝子からなる群から選択される少なくとも1、2、3、4、5又は6個の遺伝子の遺伝子発現プロファイルが、第1の時点又はそれより前の時点で収集された患者試料と比較してより低いかどうかを決定することであって、より低い遺伝子発現プロファイルは、前記患者が前記治療に応答する可能性が高いことを示す、前記比較してより低いかどうかを決定すること、
(c)前記アンタゴニスト治療に応答する可能性が高いと評価された前記患者に、治療有効量のIL7Rアンタゴニスト(例えば、抗IL7受容体アンタゴニスト抗体もしくはその抗原結合断片)を再投与すること
を含む、前記方法に関する。

【０１２４】

本開示はまた、健常なT細胞活性の障害と関連付けられる障害又は疾患に罹患しており、好ましくは、IL7によって誘導されるIL7Rシグナル伝達経路を介して救済することができる、それを必要とするヒト患者におけるIL7Rアゴニスト治療の治療応答を評価する方法であって、
(a)第1の時点又はそれより前の時点で前記患者から収集された試料を提供すること、
(b)第2の時点又はその後の時点で前記患者から収集された試料を提供すること、
(b)第2の時点又はその後の時点で収集された前記患者試料中のBCL2、CISH、PTGER2及びDPP4遺伝子からなる群から選択される少なくとも1、2、3又は4個の遺伝子、好ましくは、BCL2、CISH、PTGER2、DPP4、FLT3LG及びSOCS2遺伝子からなる群から選択される少なくとも1、2、3、4、5又は6個の遺伝子の遺伝子発現プロファイルが、第1の時点又はそれより前の時点で収集された患者試料と比較してより高いかどうかを決定することであって、より高い遺伝子発現プロファイルは、前記患者が前記治療に応答する可能性が高いことを示す、前記比較してより高いかどうかを決定すること、
(c)前記アゴニスト治療に応答する可能性が高いと評価された前記患者に、治療有効量のIL7Rアゴニストを再投与すること
を含む、前記方法に関する。

【０１２５】

本開示は、それを必要とするヒト患者におけるIL7によって誘導されるIL7Rシグナル伝達経路と関連付けられる疾患又は健常なT細胞活性の障害と関連付けられる疾患の治療のための薬剤の製造におけるIL7Rアンタゴニスト(例えば、上記の抗IL7受容体アンタゴニスト抗体もしくはその抗原結合断片)又はIL7Rアゴニストの使用であって、該患者が前記IL7Rアンタゴニスト(例えば、上記抗IL7受容体アンタゴニスト抗体もしくはその抗原結合断片)又はIL7Rアゴニストの少なくとも1用量を投与された後に、前記患者が、上記の方法で前記アンタゴニスト又はアゴニスト治療に応答する可能性が高いと評価されたときに、前記アンタゴニスト又はアゴニストが前記患者に投与される、前記使用に関する。

【０１２６】

特定の実施態様では、IL7によって誘導されるIL7シグナル伝達経路の亢進と関連付けられ、IL7Rアンタゴニストにより治療される前記障害又は疾患は、CD127陽性罹患細胞の活性化又は増殖を伴う自己免疫疾患、炎症性疾患、アレルギー疾患、癌疾患、感染症、呼吸器疾患、及び移植に関連する疾患、特に、CD127陽性細胞の活性化もしくは増殖を伴う自己免疫疾患又は炎症性疾患、より好ましくは、シェーグレン症候群などの慢性炎症性疾患又は潰瘍性大腸炎などの炎症性腸疾患、好ましくは、糖尿病、肉腫症、癌、好ましくは、多発性硬化症、シェーグレン症候群、ループス、乾癬及びアトピー性皮膚炎からなる群から選択される自己免疫疾患、又は好ましくは、関節リウマチ、強直性脊椎炎及び炎症性腸疾患からなる群から選択される慢性炎症性疾患、好ましくは、潰瘍性大腸炎又はクローン病からなる群から選択される。

【０１２７】

特定の実施態様では、前記IL7Rアンタゴニストは、本開示による抗IL7Rアンタゴニスト抗体又はその抗原結合断片であり、(a)VHCDR1が配列番号1のアミノ酸配列を含むか又はそれからなり、VHCDR2が配列番号2のアミノ酸配列を含むか又はそれからなり、かつVHCDR3が配列番号3もしくは11のアミノ酸配列を含むか又はそれからなる3つのCDRを含む可変重鎖;及び(b)VLCDR1が配列番号4もしくは12のアミノ酸配列を含むか又はそれからなり、VLCDR2が配列番号5もしくは13のアミノ酸配列を含むか又はそれからなり、かつVLCDR3が配列番号6のアミノ酸配列を含むか又はそれからなる3つのCDRを含む可変軽鎖を含む。

【０１２８】

好ましい実施態様では、前記抗IL7受容体アンタゴニスト抗体又はその抗原結合断片は、(a)VHCDR1が配列番号1のアミノ酸配列を含むか又はそれからなり、VHCDR2が配列番号2のアミノ酸配列を含むか又はそれからなり、かつVHCDR3が配列番号3のアミノ酸配列を含むか又はそれからなる3つのCDRを含む可変重鎖;及び(b)VLCDR1が配列番号4のアミノ酸配列を含むか又はそれからなり、VLCDR2が配列番号5のアミノ酸配列を含むか又はそれからなり、かつVLCDR3が配列番号6のアミノ酸配列を含むか又はそれからなる3つのCDRを含む可変軽鎖を含む。

【０１２９】

特定の実施態様では、前記抗IL7Rアンタゴニスト抗体又はその抗原結合断片は、配列番号14～17からなる群から選択されるアミノ酸配列を含むか又はそれからなる重鎖可変ドメイン、及び配列番号18～21からなる群から選択されるアミノ酸配列を含むか又はそれからなる軽鎖可変ドメインを含み、好ましくは、前記抗IL7Rアンタゴニストは、WO2015/189302に記載のN13B2h3抗体又はその抗原結合断片であり、配列番号17のアミノ酸配列を含むか又はそれからなる重鎖可変ドメイン、及び配列番号21のアミノ酸配列を含むか又はそれからなる軽鎖可変ドメインを含み、より好ましくは、前記抗体又はその抗原結合断片は、配列番号22を含むか又はそれから完全な重鎖及び配列番号23を含むか又はそれからなる完全な軽鎖を含む。

【０１３０】

別の特定の実施態様では、前記抗IL7Rアンタゴニスト抗体又はその抗原結合断片は、配列番号7のアミノ酸配列を含むか又はそれからなる重鎖可変ドメイン、及び配列番号8、24～26からなる群から選択されるアミノ酸配列を含むか又はそれからなる軽鎖可変ド

メインを含む。
【０１３１】
より好ましい実施態様では、前記抗IL7Rアンタゴニスト抗体又はその抗原結合断片は、配列番号7のアミノ酸配列を含むか又はそれからなる重鎖可変ドメイン及び配列番号8のアミノ酸配列を含むか又はそれからなる軽鎖可変ドメインを含み、好ましくは、前記抗体又はその抗原結合断片は、配列番号9を含むか又はそれから完全な重鎖及び配列番号10を含むか又はそれからなる完全な軽鎖を含む。
【０１３２】
本開示の文脈では、「治療する」又は「治療」という用語は、本明細書で使用されるように、そのような用語が適用される障害もしくは病態の逆転、軽減、進行の阻害、又は予防、あるいはそのような用語が適用される障害もしくは病態の1以上の症状の逆転、軽減、進行の阻害、又は予防を意味する。
【０１３３】
本明細書で使用されるように、「治療有効量」又は「有効量」とは、状態、障害又は病態を治療するために対象に投与されたときに、治療の効果をもたらすのに十分である組成物の量を意味する。治療有効量は、化合物、製剤又は組成物、疾患及びその重症度並びに治療される対象の年齢、体重、身体的状態及び応答性に応じて変化するであろう。
【０１３４】
本明細書に記載のIL7Rアンタゴニスト(例えば、抗IL7Rアンタゴニスト抗体もしくはその抗原結合断片)又はIL7Rアゴニストは、静脈内、経口、腫瘍内、病変内、皮内、局所、腹腔内、筋肉内、非経口、皮下及び局所投与を含むが、これらに限定されない当業者に知られる任意の手段によって投与され得る。そのため、該組成物は、注射可能な、局所用の、又は摂取可能な製剤として製剤化され得る。本開示による化合物又は治療剤の対象への投与は、用量依存的に有益な効果を示し得る。そのため、広い範囲内で、より多くの量の該組成物の投与は、より少量の投与よりも有益な生物学的効果の増強を達成することが期待される。さらに、有効性も、毒性が見られるレベル未満の投与量で企図される。
【０１３５】
任意の所与の場合に投与されるIL7Rアンタゴニスト又はアゴニストの具体的な用量は、当業者によく知られているように、投与されている組成物、投与部位に効果的に送達することができる組成物の量、治療又は阻害される疾患、対象の状態、及び組成物の活性又は対象の応答を変え得る他の関連する医学的要因に従って調節されることが理解されよう。
【０１３６】
例えば、特定の対象用のIL7Rアンタゴニスト又はアゴニストの具体的な用量は、年齢、体重、一般的健康状態、食事、投与のタイミングと様式、排出の速度、組み合わせて使用される薬剤、及び療法が適用される特定の障害の重症度に依存する。所与の患者の投与量は、例えば、適切な従来の薬理学的プロトコルなどによる、本明細書に記載の組成物と既知の薬剤の異なる活性の通常比較によって、従来の考慮事項を使用して決定することができる。該組成物は、単回用量スケジュールで、又は複数回用量スケジュールで与えられ得る。
【０１３７】
IL7Rアンタゴニスト(例えば、抗IL7Rアンタゴニスト抗体もしくはその抗原結合断片)又はIL7Rアゴニストの適切な投与量範囲は、約0.001～100 mg/kgの範囲、好ましくは、約0.1～20 mg/kg、より好ましくは、約1～12 mg/kg、再びより好ましくは、8～12 mg/kgの範囲の薬剤の数百マイクログラムオーダーであり得る。例えば、400、450、500、600、700、850、900mgの一定量を使用することができる。
【０１３８】
(前記治療の前にヒト患者においてIL7Rモジュレーター治療に対する治療応答の可能性を評価する方法)
前記バイオマーカーの発現プロファイルの組み合わせも、任意の治療の前に応答する可

能性が高いと分類することができ、本明細書に記載のアンタゴニスト(例えば、抗IL7受容体アンタゴニスト抗体もしくはその抗原結合断片)又はIL7Rアゴニストによる治療が推奨される患者の状態を知らせ得る。

【０１３９】

例えば、アッセイは、その生物学的応答を評価するために、IL7Rアンタゴニスト又はアゴニストの存在下で、治療前に前記患者の試料を培養することを含むことができる。

【０１４０】

そのため、別の特定の実施態様では、本開示は、前記アンタゴニスト又はアゴニスト治療の前に、IL7Rアンタゴニスト(例えば、抗IL7受容体アンタゴニスト抗体もしくはその抗原結合断片)又はアゴニスト治療に対するヒト患者における治療応答の可能性を評価する方法であって、

a)IL7受容体アンタゴニスト及び/又はIL7Rアゴニストの存在下で、前記アンタゴニスト又はアゴニスト治療の前に前記患者から事前に収集した試料を培養する工程、

b)BCL2、CISH、PTGER2及びDPP4遺伝子からなる群から選択される少なくとも1、2、3又は4個の遺伝子、好ましくは、BCL2、CISH、PTGER2、DPP4、SOCS2及びFLT3LG遺伝子からなる群から選択される少なくとも1、2、3、4、5又は6個の遺伝子の遺伝子発現プロファイルを決定する工程であって、対照値と比較して、培養試料中の前記遺伝子のより低い又はより高い遺伝子発現プロファイルが、前記患者はアンタゴニスト又はアゴニスト治療それぞれに応答する可能性が高いことを示す、前記遺伝子発現プロファイルを決定する工程

を含む、前記方法に関する。

【０１４１】

本明細書で使用されるように、「治療応答の可能性を評価する」という用語は、患者がIL7Rアンタゴニスト(例えば、抗IL7受容体アンタゴニスト抗体もしくはその抗原結合断片)又はIL7Rアゴニストによる治療に応答するかどうか、言い換えると、該アンタゴニスト又はアゴニスト治療が、療法の前に、(例えば、患者に対する測定可能な利益又は肯定的な医学的応答を提供すること)において有効であるかどうかを評価する能力を指す。患者が前記アンタゴニスト又はアゴニストによる治療に応答するかどうかを評価するそのような能力は、典型的には、アンタゴニスト又はアゴニスト治療が患者において開始される前に発揮される。

【０１４２】

治療応答の可能性を評価する本方法によれば、試料は、アンタゴニスト又はアゴニスト治療が始まる前に、患者から事前に収集されている。前記試料は、好ましくは、上記の前記アンタゴニスト又はアゴニストによる治療の前に、前記患者から収集された免疫細胞、より好ましくは、末梢血単核球である。

【０１４３】

特定の実施態様では、前記細胞は免疫細胞である。免疫細胞には、B細胞及びT細胞、ナチュラルキラー細胞などのリンパ球が含まれる。前記免疫細胞は、末梢血単核球、骨髄、リンパ節組織、臍帯血、胸腺組織、感染部位からの組織、腹水、胸水、脾臓組織、及び腫瘍、当業者に知られている任意の数の技術を使用して対象から採取される血液の単位を含む多数の非限定的な供給源から取得することができる。免疫細胞は、血液から抽出され得るか、又は幹細胞由来であり得る。好ましい実施態様では、前記試料は、組織試料、好ましくは、癌患者又は血液患者試料からの浸潤免疫細胞を含有する腫瘍組織、より好ましくは、ヒトの単離された末梢血単核球である。

【０１４４】

前記試料は、その後、IL7Rアンタゴニスト(例えば、抗IL7受容体アンタゴニスト抗体又はその抗原結合断片)及び/又はIL7Rアゴニストの存在下で、インビトロで培養される。

【０１４５】

試料は、遺伝子発現レベル分析のために収集される前に、当技術分野で周知の培養条件

下で、培地中で培養して増殖させてよい。好ましい実施態様では、前記試料は、さらなる分析のために収集される前に、37℃で少なくとも3時間、好ましくは、2、4、5又は6時間培養される。

【０１４６】

多くの培地が市販されており、当業者に周知である。この培地は、特に、細胞に必須のミネラル塩、アミノ酸、ビタミン類及び炭素源並びにpHを調節するための緩衝系を含む最小培地であり得る。本発明による方法で使用可能な基礎培地には、例えば、DMEM/F12培地、DMEM培地、RPMI培地、Ham's F12培地、IMDM培地及びKnockOut(商標)DMEM培地(Life Technologies)が含まれるが、これらに限定されない。前記培地は、インターロイキン-7、好ましくは、ヒト組換えインターロイキン-7を含んでよい。

【０１４７】

特定の実施態様では、IL7Rアンタゴニストに対するヒト患者における治療応答の可能性を評価する前記方法において、前記アンタゴニスト治療前に前記患者から事前に収集された前記試料は、IL7受容体アンタゴニスト(例えば、抗IL7受容体アンタゴニスト抗体又はその抗原結合断片)及びIL7サイトカイン、好ましくは、ヒト組換えインターロイキン-7の存在下で、細胞増殖を可能にするために工程a)で培養される。

【０１４８】

前記培地は、より好ましくは、1～10000 ng/mL、好ましくは、500～10000 ng/mL、より好ましくは、1000～10000 ng/mLを含む濃度で、IL7Rアンタゴニスト、好ましくは、抗IL7受容体アンタゴニスト抗体又はその抗原結合断片を含む。

【０１４９】

前記培地は、好ましくは、1～10000 ng/mL、好ましくは、500～10000 ng/mL、より好ましくは、1000～10000 ng/mLを含む濃度でIL7Rアゴニストを含む。

【０１５０】

IL7Rアンタゴニスト(例えば、抗IL7受容体アンタゴニスト抗体又はその抗原結合断片)及び/又はIL7Rアゴニストによる細胞培養工程の後に、前記細胞が収集され、前記培養細胞中のBCL2、CISH、PTGER2及びDPP4遺伝子からなる群から選択される少なくとも1、2、3又は4個の遺伝子、好ましくは、BCL2、CISH、PTGER2、DPP4、SOCS2及びFLT3LG遺伝子からなる群から選択される少なくとも1、2、3、4、5又は6個の遺伝子の遺伝子発現プロファイルが、上記のように決定される。

【０１５１】

本方法は、前記遺伝子の遺伝子発現プロファイルが対照値と比較して高いか又は低いかどうかを決定することをさらに含む。例えば、対照値と比較して、前記遺伝子の少なくとも1つのより低い又はより高い遺伝子発現プロファイルは、アンタゴニスト又はアゴニスト治療それぞれに応答する可能性が高い患者を示し得る。

【０１５２】

特定の実施態様では、本開示のヒト患者における治療応答の可能性を評価する方法によれば、対照値は、前記アンタゴニストもしくはアゴニストを含めないでインビトロで培養された患者細胞、又はIL7/IL7R経路に影響を及ぼさないことが知られている化合物(例えば、抗体)とインビトロで培養された患者細胞における前記遺伝子(複数可)の遺伝子発現プロファイルであり得るか、あるいは前記アンタゴニストもしくはアゴニストと共にインビトロで培養された患者細胞、又は前記アンタゴニストもしくはアゴニストを含めないでインビトロで培養された患者細胞、又はIL7/IL7Rシグナル伝達経路に影響を及ぼさないことが知られている化合物(例えば、抗体)と共にインビトロで培養された患者細胞の間の比較測定に基づいて確立された対照の所与の値であり得る。

【０１５３】

インビトロでIL7Rアンタゴニスト(例えば、抗IL7受容体アンタゴニスト抗体又はその抗原結合断片)と培養された患者細胞における前記バイオマーカーのうちの少なくとも1つの、対照値と比較してより低い遺伝子発現プロファイルは、前記患者細胞におけるIL7Rアンタゴニスト効果を示し、ひいては、患者におけるIL7Rアンタゴニスト治療に対す

る治療応答の可能性と相関する。

【０１５４】

典型的には、前記患者における遺伝子(複数可)の遺伝子発現プロファイルの、前記対照値のそれに対するlog2倍変化が、少なくとも0.1、好ましくは、0.2、0.3、0.4、0.5、0.6、0.7、0.8、0.9、より好ましくは、1、2、3、4、再びより好ましくは5より低い場合には、IL7Rアンタゴニスト(例えば、抗IL7Rアンタゴニスト抗体又はその抗原結合断片)とインビトロで培養された患者試料中の前記遺伝子(複数可)の遺伝子発現プロファイルは、対照値よりも低いとみなされる。

【０１５５】

特に、遺伝子発現レベルが定量的RT-PCRによって決定される場合、前記患者におけるBCL2、CISH、PTGER2及びDPP4遺伝子からなる群から選択される少なくとも1、2、3又は4個の遺伝子、好ましくは、BCL2、CISH、PTGER2、DPP4、SOCS2及びFLT3LG遺伝子からなる群から選択される少なくとも1、2、3、4、5又は6個の遺伝子の遺伝子発現プロファイルの、前記対照値のそれに対するlog2倍変化が、少なくとも0.4よりも低い場合には、患者試料中の前記バイオマーカーの遺伝子発現プロファイルは、対照値よりも低いと見なされる。

【０１５６】

別の特定の実施態様では、遺伝子発現レベルがRNA-seqによって決定される場合、前記患者におけるBCL2、CISH、PTGER2及びDPP4遺伝子からなる群から選択される少なくとも1、2、3又は4個の遺伝子、好ましくは、BCL2、CISH、PTGER2、DPP4、SOCS2及びFLT3LG遺伝子からなる群から選択される少なくとも1、2、3、4、5又は6個の遺伝子の遺伝子発現プロファイルの、前記対照値のそれに対するlog2倍変化が、少なくとも0.1よりも低い場合には、患者試料中の前記バイオマーカーの遺伝子発現プロファイルは、対照値よりも低いと見なされる。

【０１５７】

別の特定の実施態様では、IL7Rアゴニストとインビトロで培養された患者細胞における前記バイオマーカーのうちの少なくとも1つの、対照値と比較してより高い遺伝子発現プロファイルは、前記患者細胞におけるIL7Rアゴニスト効果を示し、ひいては、患者におけるIL7Rアゴニスト治療に対する治療応答の可能性と相関する。

【０１５８】

典型的には、前記患者における遺伝子(複数可)の遺伝子発現プロファイルの、前記対照値のそれに対するlog2倍変化が、少なくとも0.1、好ましくは、0.2、0.3、0.4、0.5、0.6、0.7、0.8、0.9、より好ましくは、1、2、3、4、再びより好ましくは5より高い場合には、IL7Rアゴニストとインビトロで培養された患者試料中の前記遺伝子(複数可)の遺伝子発現プロファイルは、対照値よりも高いとみなされる。

【０１５９】

特に、遺伝子発現レベルが定量的RT-PCRによって決定される場合、前記患者におけるBCL2、CISH、PTGER2及びDPP4遺伝子からなる群から選択される少なくとも1、2、3又は4個の遺伝子、好ましくは、BCL2、CISH、PTGER2、DPP4、SOCS2及びFLT3LG遺伝子からなる群から選択される少なくとも1、2、3、4、5又は6個の遺伝子の遺伝子発現プロファイルの、前記対照値のそれに対するlog2倍変化が、少なくとも0.4よりも高い場合には、患者試料中の前記バイオマーカーの遺伝子発現プロファイルは、対照値よりも高いと見なされる。

【０１６０】

別の特定の実施態様では、遺伝子発現レベルがRNA-seqによって決定される場合、前記患者におけるBCL2、CISH、PTGER2及びDPP4遺伝子からなる群から選択される少なくとも1、2、3又は4個の遺伝子、好ましくは、BCL2、CISH、PTGER2、DPP4、SOCS2及びFLT3LG遺伝子からなる群から選択される少なくとも1、2、3、4、5又は6個の遺伝子の遺伝子発現プロファイルの、前記対照値のそれに対するlog2倍変化が、少なくとも0.1よりも高い場合には、患者試料中の前記バイオマーカーの遺伝子発現プロファ

イルは、対照値よりも高いと見なされる。

【０１６１】

本開示によれば、IL7Rアンタゴニスト(例えば、抗IL7受容体アンタゴニスト抗体又はその抗原結合断片)により治療された前記患者は、IL7によって誘導されるIL7Rシグナル伝達経路の亢進と関連付けられる障害又は疾患、好ましくは、上記のCD127陽性罹患細胞の活性化又は増殖を伴う自己免疫疾患、炎症性疾患、アレルギー性疾患、癌疾患、感染症、呼吸器疾患、及び移植に関連する疾患、特に、CD127陽性細胞の活性化もしくは増殖を伴う自己免疫疾患又は炎症性疾患、より好ましくは、シェーグレン症候群などの慢性炎症性疾患、又は潰瘍性大腸炎などの炎症性腸疾患からなる群から選択される障害又は疾患に罹患している。

【０１６２】

本開示によれば、IL7Rアゴニストにより治療される前記患者は、上記の健常なT細胞活性の障害と関連付けられる障害又は疾患、好ましくは、発症にそれ自体がIL7R経路に依存しない癌疾患又は感染症に罹患している。

【０１６３】

本開示はまた、ヒト患者であって、上記の方法で、前記治療の前に、前記アンタゴニスト又はアゴニスト治療に応答する可能性が高いと以前に評価された前記ヒト患者におけるIL7Rアンタゴニスト(例えば、抗IL7受容体アンタゴニスト抗体もしくはその抗原結合断片)又はIL7Rアゴニストの治療的使用に関する。

【０１６４】

本開示はまた、それを必要とするヒト患者におけるIL7によって誘導されるIL7R経路の亢進と関連付けられる疾患を、IL7Rアンタゴニスト(例えば、抗IL7受容体アンタゴニスト抗体又はその抗原結合断片)により治療する方法であって、

(a)IL7Rアンタゴニスト(例えば、抗IL7受容体アンタゴニスト抗体又はその抗原結合断片)の存在下で、前記治療の前に患者から事前に収集した試料を培養すること、及び

(b)前記試料中のBCL2、CISH、PTGER2及びDPP4遺伝子からなる群から選択される少なくとも1、2、3又は4個の遺伝子、好ましくは、BCL2、CISH、PTGER2、DPP4、FLT3LG及びSOCS2遺伝子からなる群から選択される少なくとも1、2、3、4、5又は6個の遺伝子の遺伝子発現プロファイルが、対照値と比較してより低いかどうかを決定することであって、前記患者試料における対照値と比較してより低い遺伝子発現プロファイルが、前記患者は前記治療に応答する可能性が高いことを示す、前記対照値と比較してより低いかどうかを決定すること、

(c)治療有効量のIL7Rアンタゴニスト(例えば、抗IL7受容体アンタゴニスト抗体又はその抗原結合断片)を、前記治療に応答する可能性が高いと評価された前記患者に投与すること

を含む、前記方法に関する。

【０１６５】

本開示はまた、それを必要とするヒト患者における上記の健常なT細胞活性の障害と関連付けられる疾患をIL7Rアゴニストにより治療する方法であって、

(a)前記治療の前に、患者から事前に収集した試料をIL7Rアゴニストと培養すること、及び

(b)前記試料中のBCL2、CISH、PTGER2及びDPP4遺伝子からなる群から選択される少なくとも1、2、3又は4個の遺伝子、好ましくは、BCL2、CISH、PTGER2、DPP4、FLT3LG及びSOCS2遺伝子からなる群から選択される少なくとも1、2、3、4、5又は6個の遺伝子の遺伝子発現プロファイルが、対照値と比較してより高いかどうかを決定することであって、前記患者試料における対照値と比較してより高い遺伝子発現プロファイルが、前記患者は前記治療に応答する可能性が高いことを示す、前記対照値と比較してより高いかどうかを決定すること、

(c)治療有効量のIL7Rアゴニストを、前記治療に応答する可能性が高いと評価された前記患者に投与すること

を含む、前記方法に関する。

【０１６６】

本開示はまた、それを必要とするヒト患者であって、上記の方法で、前記アンタゴニスト又はそのアゴニスト治療に応答する可能性が高いと以前に評価された前記ヒト患者における上記のIL7/IL7R経路と関連付けられる疾患又は健常なT細胞活性の障害と関連付けられる疾患の治療のための薬剤の製造におけるIL7Rアンタゴニスト(例えば、抗IL7受容体アンタゴニスト抗体もしくはその抗原結合断片)又はIL7Rアゴニストの使用に関する。

【０１６７】

特定の実施態様では、前記抗IL7Rアンタゴニストは、WO2015/189302に記載のN13B2h1、N13B2h2もしくはN13B2h3の抗体もしくはその抗原結合断片、又はWO2018/104483に記載のN13B2-hVL3、N13B2-hVL4、N13B2-hVL5もしくはN13B2-hVL6の抗体もしくはその抗原結合断片であり、(a)VHCDR1が配列番号1のアミノ酸配列を含むか又はそれからなり、VHCDR2が配列番号2のアミノ酸配列を含むか又はそれからなり、かつVHCDR3が配列番号3もしくは11のアミノ酸配列を含むか又はそれからなる3つのCDRを含む可変重鎖;及び(b)VLCDR1が配列番号4もしくは12のアミノ酸配列を含むか又はそれからなり、VLCDR2が配列番号5もしくは13のアミノ酸配列を含むか又はそれからなり、かつVLCDR3が配列番号6のアミノ酸配列を含むか又はそれからなる3つのCDRを含む可変軽鎖を含む。

【０１６８】

好ましい実施態様では、前記抗IL7受容体アンタゴニスト抗体又はその抗原結合断片は、WO2015/189302に記載のN13B2h3抗体又はその抗原結合断片、又はWO2018/104483に記載のN13B2-hVL3、N13B2-hVL4、N13B2-hVL5もしくはN13B2-hVL6の抗体もしくはその抗原結合断片、好ましくは、N13B2-hVL6抗体もしくはその抗原結合断片であり、(a)VHCDR1が配列番号1のアミノ酸配列を含むか又はそれからなり、VHCDR2が配列番号2のアミノ酸配列を含むか又はそれからなり、かつVHCDR3が配列番号3のアミノ酸配列を含むか又はそれからなる3つのCDRを含む可変重鎖;及び(b)VLCDR1が配列番号4のアミノ酸配列を含むか又はそれからなり、VLCDR2が配列番号5のアミノ酸配列を含むか又はそれからなり、かつVLCDR3が配列番号6のアミノ酸配列を含むか又はそれからなる3つのCDRを含む可変軽鎖を含む。

【０１６９】

特定の実施態様では、前記抗IL7Rアンタゴニスト抗体又はその抗原結合断片は、配列番号14～17からなる群から選択されるアミノ酸を含むか又はそれからなる重鎖可変ドメイン、及び配列番号18～21からなる群から選択されるアミノ酸配列を含むか又はそれからなる軽鎖可変ドメインを含み、好ましくは、前記抗IL7Rアンタゴニストは、WO2015/189302に記載のN13B2h3抗体又はその抗原結合断片であり、配列番号17のアミノ酸配列を含むか又はそれからなる重鎖可変ドメイン、及び配列番号21のアミノ酸配列を含むか又はそれからなる軽鎖可変ドメインを含み、より好ましくは、前記抗体又はその抗原結合断片は、配列番号22を含むか又はそれからなる完全な重鎖及び配列番号23を含むか又はそれからなる完全な軽鎖を含む。

【０１７０】

別の特定の実施態様では、前記抗IL7Rアンタゴニストは、WO2018/104483に記載のN13B2-hVL3、N13B2-hVL4、N13B2-hVL5又はN13B2-hVL6の抗体又はその抗原結合断片であり、配列番号7のアミノ酸配列を含むか又はそれからなる重鎖可変ドメイン、及び配列番号8、24～26からなる群から選択されるアミノ酸配列を含むか又はそれからなる軽鎖可変ドメインを含む。

【０１７１】

より好ましい実施態様では、前記抗IL7Rアンタゴニスト抗体又はその抗原結合断片は、配列番号7のアミノ酸配列を含むか又はそれからなる重鎖可変ドメイン及び配列番号8のアミノ酸配列を含むか又はそれからなる軽鎖可変ドメインを含み、好ましくは、前記抗体又はその抗原結合断片は、配列番号9を含むか又はそれからなる完全な重鎖及び配列番

号10を含むか又はそれからなる完全な軽鎖を含む。

【０１７２】

本明細書に記載のアンタゴニスト、好ましくは、抗体もしくはその抗原結合断片又はアゴニストは、上記の当業者に公知の任意の手段によって投与され得る。

【０１７３】

IL7Rアンタゴニスト、好ましくは、抗IL7Rアンタゴニスト抗体もしくはその抗原結合断片又はIL7Rアゴニストの適切な投与量範囲は、約0.001～100 mg/kgの範囲、好ましくは、約0.1～20 mg/kg、より好ましくは、約1～12 mg/kg、再びより好ましくは、8～12 mg/kgの範囲の薬剤の数百マイクログラムオーダーであり得る。例えば、400、450、500、600、700、850、900 mgの一定量を使用することができる。

【０１７４】

(IL7Rモジュレーター化合物の選択方法)

別の特定の実施態様では、本開示は、上記のIL7によって誘導されるIL7Rシグナル伝達経路の亢進と関連付けられる疾患の治療において有効である可能性が高いIL7Rアンタゴニスト化合物、好ましくは、IL7Rαアンタゴニスト化合物を選択するインビトロ法であって、

a)前記化合物とヒト細胞を培養する工程、

b)前記細胞内のBCL2、CISH、PTGER2及びDPP4遺伝子からなる群から選択される少なくとも1、2、3又は4個の遺伝子、好ましくは、BCL2、CISH、PTGER2、DPP4、SOCS2及びFLT3LG遺伝子からなる群から選択される少なくとも1、2、3、4、5又は6個の遺伝子の遺伝子発現プロファイルを決定する工程、及び

c)対照値と比較して、前記細胞内の前記遺伝子(複数可)のより低い遺伝子発現プロファイルを誘導する化合物を選択する工程

を含む、前記インビトロ法に関する。

【０１７５】

別の特定の実施態様では、本開示は、上記の健常なT細胞活性の障害と関連付けられる疾患の治療において有効である可能性が高いIL7Rアゴニスト化合物を選択するインビトロ法であって、

a)前記アゴニスト化合物とヒト細胞を培養する工程、

b)前記細胞内のBCL2、CISH、PTGER2及びDPP4遺伝子からなる群から選択される少なくとも1、2、3又は4個の遺伝子、好ましくは、BCL2、CISH、PTGER2、DPP4、SOCS2及びFLT3LG遺伝子からなる群から選択される少なくとも1、2、3、4、5又は6個の遺伝子の遺伝子発現プロファイルを決定する工程、及び

c)対照値と比較して、前記細胞内の前記遺伝子(複数可)のより高い遺伝子発現プロファイルをそれぞれ誘導する化合物を選択する工程

を含む前記インビトロ法に関する。

【０１７６】

IL7Rアンタゴニスト又はアゴニスト化合物を選択する本方法によれば、前記対照値は、IL7/IL7Rシグナル伝達経路に影響を及ぼさないことが知られている化合物を含めないで培養された細胞内の前記遺伝子(複数可)の遺伝子発現プロファイルであり得る。

【０１７７】

好ましい実施態様では、前記化合物は、抗IL7Rアンタゴニスト抗体又はその抗原結合断片である。

【０１７８】

前記化合物を選択するために使用することができる細胞は、T細胞株などのCD127を発現する不死化細胞株、例えば、Jurkat細胞、又はドナー、好ましくは、ヒト健常ドナーから収集された細胞であり得る。

【０１７９】

特定の実施態様では、前記細胞は、リンパ球、特に、T細胞、ナチュラルキラー細胞を含む免疫細胞である。前記免疫細胞は、末梢血単核球、骨髄、リンパ節組織、臍帯血、胸

腺組織、感染部位からの組織、腹水、胸水、脾臓組織、及び腫瘍、当業者に知られている任意の数の技術を使用して対象から採取される血液の単位を含む多数の非限定的な供給源から取得することができる。免疫細胞は、血液から抽出され得るか、又は幹細胞由来であり得る。好ましい実施態様では、前記細胞は、末梢血単核球である。

【０１８０】

アンタゴニストは、適切なIL7-Rアンタゴニスト、好ましくは、抗IL7Rアンタゴニスト抗体又はその抗原結合断片であり、前記化合物と培養された細胞内のBCL2、CISH、PTGER2及びDPP4遺伝子からなる群から選択される少なくとも1、2、3又は4個の遺伝子、好ましくは、BCL2、CISH、PTGER2、DPP4、SOCS2及びFLT3LG遺伝子からなる群から選択される少なくとも1、2、3、4、5又は6個の遺伝子の、対照値と比較してより低い遺伝子発現プロファイルを誘導する場合に、好ましくは、前記化合物と培養された前記細胞内のBCL2、CISH、PTGER2、DPP4からなる群から選択される少なくとも1、2、3又は4個の遺伝子、好ましくは、BCL2、CISH、PTGER2、DPP4、SOCS2及びFLT3LG遺伝子からなる群から選択される1、2、3、4、5又は6個の遺伝子の遺伝子発現プロファイルの、前記対照値のそれに対するlog2倍変化が、少なくとも0.1、好ましくは、0.2、0.3、0.4、0.5、0.6、0.7、0.8、0.9、より好ましくは、1、2、3、4、さらにより好ましくは5より低い場合に、IL7によって誘導されるIL7Rシグナル伝達経路の亢進と関連付けられる疾患の治療において有効である可能性が高いと考えられ得る。

【０１８１】

特に、遺伝子発現レベルが定量的RT-PCRによって決定される場合、前記患者におけるBCL2、CISH、PTGER2及びDPP4遺伝子からなる群から選択される少なくとも1、2、3又は4個の遺伝子、好ましくは、BCL2、CISH、PTGER2、DPP4、SOCS2及びFLT3LG遺伝子からなる群から選択される少なくとも1、2、3、4、5又は6個の遺伝子の遺伝子発現プロファイルの、前記対照値のそれに対するlog2倍変化が、少なくとも0.4より低い場合には、患者試料中の前記バイオマーカーの遺伝子発現プロファイルは、対照値よりも低いとみなされる。

【０１８２】

別の特定の実施態様では、遺伝子発現レベルがRNA-seqによって決定される場合、前記患者におけるBCL2、CISH、PTGER2及びDPP4遺伝子からなる群から選択される少なくとも1、2、3又は4個の遺伝子、好ましくは、BCL2、CISH、PTGER2、DPP4、SOCS2及びFLT3LG遺伝子からなる群から選択される少なくとも1、2、3、4、5又は6個の遺伝子の遺伝子発現プロファイルの、前記対照値のそれに対するlog2倍変化が、少なくとも0.1より低い場合には、患者試料中の前記バイオマーカーの遺伝子発現プロファイルは、対照値よりも低いとみなされる。

【０１８３】

そうでなければ、アゴニストは、適切なIL7Rアゴニストであり、前記化合物と培養された細胞内のBCL2、CISH、PTGER2及びDPP4遺伝子からなる群から選択される少なくとも1、2、3又は4個の遺伝子、好ましくは、BCL2、CISH、PTGER2、DPP4、SOCS2及びFLT3LG遺伝子からなる群から選択される少なくとも1、2、3、4、5又は6個の遺伝子の、対照値と比較してより高い遺伝子発現プロファイルを誘導する場合に、好ましくは、前記化合物と培養された前記細胞内のBCL2、CISH、PTGER2、DPP4からなる群から選択される少なくとも1、2、3又は4個の遺伝子、好ましくは、BCL2、CISH、PTGER2、DPP4、SOCS2及びFLT3LG遺伝子からなる群から選択される1、2、3、4、5又は6個の遺伝子の遺伝子発現プロファイルの、前記対照値のそれに対するlog2倍変化が、0.1、好ましくは、0.2、0.3、0.4、0.5、0.6、0.7、0.8、0.9、より好ましくは、1、2、3、4、さらにより好ましくは5より高い場合に、上記の健常なT細胞活性の障害と関連付けられる疾患の治療において有効である可能性が高いと考えられ得る。

【０１８４】

特に、遺伝子発現レベルが定量的RT-PCRによって決定される場合、前記患者におけるBCL2、CISH、PTGER2及びDPP4遺伝子からなる群から選択される少なくとも1、2、

3又は4個の遺伝子、好ましくは、BCL2、CISH、PTGER2、DPP4、SOCS2及びFLT3LG遺伝子からなる群から選択される少なくとも1、2、3、4、5又は6個の遺伝子の遺伝子発現プロファイルの、前記対照値のそれに対するlog2倍変化が、少なくとも0.4より高い場合には、患者試料中の前記バイオマーカーの遺伝子発現プロファイルは、対照値よりも高いとみなされる。

【０１８５】

別の特定の実施態様では、遺伝子発現レベルがRNA-seqによって決定される場合、前記患者におけるBCL2、CISH、PTGER2及びDPP4遺伝子からなる群から選択される少なくとも1、2、3又は4個の遺伝子、好ましくは、BCL2、CISH、PTGER2、DPP4、SOCS2及びFLT3LG遺伝子からなる群から選択される少なくとも1、2、3、4、5又は6個の遺伝子の遺伝子発現プロファイルの、前記対照値のそれに対するlog2倍変化が、少なくとも0.1より高い場合には、患者試料中の前記バイオマーカーの遺伝子発現プロファイルは、対照値よりも高いとみなされる。

【０１８６】

(キット)

別の態様では、本開示は、好ましくは、BCL2、CISH、PTGER2及びDPP4遺伝子からなる群から選択される少なくとも1、2、3又は4個の遺伝子、好ましくは、BCL2、CISH、PTGER2、DPP4、SOCS2及びFLT3LG遺伝子からなる群から選択される少なくとも1、2、3、4、5又は6個の遺伝子の遺伝子発現プロファイルを特異的に検出する試薬のセットを含むか又はそれからなるIL7Rアンタゴニストもしくはアゴニストの治療応答を評価するインビトロ法、又はIL7Rアンタゴニストもしくはアゴニストに対するヒト患者における治療応答の可能性を評価するインビトロ法において使用するためのキットに関する。

【０１８７】

好ましくは、該キットは、BCL2、CISH、PTGER2及びDPP4遺伝子からなる群から選択される少なくとも1、2、3又は4個の遺伝子、好ましくは、BCL2、CISH、PTGER2、DPP4、SOCS2及びFLT3LG遺伝子からなる群から選択される少なくとも1、2、3、4、5又は6個の遺伝子の遺伝子発現プロファイルを特異的に検出する試薬のセットの再構成及び/又は使用並びに本開示による方法の実施を容易にする濃度又は量で1以上の化合物をそれぞれ含む容器を含む。

【０１８８】

特に、該キットは、BCL2、CISH、PTGER2及びDPP4遺伝子からなる群から選択される少なくとも1、2、3、又は4個の遺伝子、好ましくは、BCL2、CISH、PTGER2、DPP4、SOCS2及びFLT3LG遺伝子からなる群から選択される少なくとも1、2、3、4、5又は6個の遺伝子に特異的なプライマー対及び又はプローブを含む。

【０１８９】

該キットはまた、本開示の方法に従って、前記遺伝子の発現レベルを決定するための試薬を調製及び/又は使用する方法を示す説明書を含み得る。

【０１９０】

本発明はまた、本開示による方法のためのキットの使用に関する。

【０１９１】

これから本発明を、添付の図面を参照して、限定されない以下の実施例を用いて例示する。

【図面の簡単な説明】

【０１９２】

(図面の簡単な説明)

【図１】図1: A) N13B2-hVL6又はプラセボのD1及びD15のペア試料並びにB)N13B2-hVL6で治療した試料からのD1、D15及びD57のペア試料における、RNAseq法を用いた6個の遺伝子のssGSEAシグネチャー(BCL2、CISH、PTGER2、DPP4、FLT3LG及びSOCS2)のボックスプロット図。これらの6個の遺伝子とN13B2-hVL6について、I

L7/IL7R経路に関連するシグネチャーの有意で高い減少が観察された。
【図２】図2: A) N13B2-hVL6又はプラセボのD1及びD15のペア試料並びにB)N13B2-hVL6で治療した試料からのD1、D15及びD57のペア試料における、RNAseq法を用いた新しい4個の遺伝子のssGSEAシグネチャー(BCL2、CISH、PTGER2、DPP4)のボックスプロット図。これらの4個の遺伝子とN13B2-hVL6について、IL7/IL7R経路に関連するシグネチャーの有意で高い減少が観察された。
【図３】図3: N13B2-hVL6又はプラセボのD1及びD15のペア試料におけるRT-qPCR法を用いた新しい4個の遺伝子のシグネチャー(BCL2、CISH、PTGER2、DPP4)のボックスプロット図。これらの4個の遺伝子とN13B2-hVL6について、IL7/IL7R経路に関連するシグネチャーの有意で高い減少が観察された。
【図４】図4:3つの抗ヒトIL7Ra mAb (mAb1 : N13B2-hVL6(WO2018/104483に開示されている)、mAb2 : MD707-13 (WO2013/056984に開示されている抗部位1抗体)、mAb3 : GSKWO2011 (GSK特許のWO2011/094259に開示されている1A11))とプレインキュベートし、組換えIL7で3時間刺激したヒトPBMCのRNAseq配列決定においてGSVA Rパッケージを用いて計算したBCL2、CISH、PTGER2、DPP4遺伝子発現と4個の遺伝子のssGSEAシグネチャーのボックスプロット図。これらの4個の遺伝子と3つの抗体について、IL7/IL7R経路に関連するssGSEAシグネチャーの有意で高い減少が観察された。
【図５】図5:3つの抗ヒトIL7Ra mAb (mAb1 : N13B2-hVL6(WO2018/104483に開示されている)、mAb2 : MD707-13 (WO2013/056984に開示されている抗部位1抗体)、mAb3 : GSKWO2011 (GSK特許のWO2011/094259に開示されている1A11))とプレインキュベートし、組換えIL7で3時間刺激したヒトPBMCのRNAseq配列決定においてGSVA Rパッケージを用いて計算したBCL2、CISH、PTGER2、DPP4、SOCS2及びFLT3LG遺伝子発現と6個の遺伝子のssGSEAシグネチャーのボックスプロット図。これらの6個の遺伝子と3つの抗体について、IL7/IL7R経路に関連するssGSEAシグネチャーの有意で高い減少が観察された。
【図６】図6:組換えIL7で刺激したヒトPBMCのRNAseq配列決定においてGSVA Rパッケージを用いて計算したBCL2、CISH、PTGER2、DPP4遺伝子発現と4個の遺伝子のssGSEAシグネチャーのボックスプロット図。IL7/IL7R経路に関連するssGSEAシグネチャーの有意で高い増加が観察された。
【図７】図7:組換えIL7で刺激したヒトPBMCのRNAseq配列決定においてGSVA Rパッケージを用いて計算したBCL2、CISH、PTGER2、DPP4、FLT3LG及びSOCS2遺伝子発現と6個の遺伝子のssGSEAシグネチャーのボックスプロット図。IL7/IL7R経路に関連するssGSEAシグネチャーの有意で高い増加が観察された。
【実施例】
【０１９３】
(実施例)
健常ボランティア集団におけるpaxgen血液試料からの、rRNAとグロブリンを除去した抗IL7Rアンタゴニスト抗体のRNAを、Genewiz社がIllumina HiSeqにて150塩基対の両端から配列決定した。
【０１９４】
fastQCバイオインフォマティックツールによる配列決定の質について、生のfastqファイルを評価した。インデックス作成オプション-genecodeとバイオインフォマティックツールのsalmonを使用して、リードをCRGh38/hg38に擬似整列(pseudo-align)させ、オプション-geneMapとバイオインフォマティックツールのsalmonを使用して、各遺伝子のリード数について生カウント表と正規化したTPM表を作成した。疑似マッピング品質リード(pseudo mapping quality read)を、fastQCバイオインフォマティックツールを使用して評価し、全ての試料についてリードの平均値は20～30Mであり、30以上の塩基が90%を超えた。
【０１９５】

この健常ボランティアのコホートには、48試料の全コホートについて、注射後15日目に収集された末梢血単核球(PBMC)試料、及びそれらのうちの4つについては注射後57日目に収集された末梢血単核球(PBMC)試料と対になった抗ヒトIL7Rアンタゴニスト抗体(N13B2-hVL6)(10mg/kg)又はプラセボ注射の前の22の末梢血単核球(PBMC)試料が含まれる。1つの試料のみが、異なる品質管理を通過せず、研究から取り除いた。

【0196】

本発明者らは、IL7/IL7Rシグナル伝達経路に実際に関与している6個の遺伝子：BCL2、CISH、SOCS2、FLT3LG、PTGER2及びDPP4を同定した。

【0197】

これらの遺伝子を含む遺伝子シグネチャーの性能を評価するために、単一試料GSEAシグネチャーを計算した(ssGSEA)。

【0198】

N13B2-hVL6によって治療した健常ボランティアからの試料について、治療中D15で6個の遺伝子のssGSEAシグネチャーの有意で高い減少が観察されたが、プラセボによって治療した健常ボランティアからの試料については観察されなかった(図1A)。この減少は、N13B2-hVL6注射後のD57でも観察され、これは、N13B2-hVL6により治療した健常ボランティアの血清における抗体の長期検出(3ヶ月超)と一致した(図1B)。

【0199】

N13B2-hVL6によって治療した健常ボランティアからの試料について、治療中D15で4個の遺伝子のみのssGSEAシグネチャーの有意で高い減少も観察されたが、プラセボによって治療した健常ボランティアからの試料については観察されなかった(図2A)。6個の遺伝子のシグネチャーと同様に、この減少は、N13B2-hVL6注射後のD57でも観察された(図2B)。

【0200】

以下の表1に示されるように、短期及び長期の治療後に、1つの遺伝子のみのssGSEA解析と比較して、より高い感度が4及び6個の遺伝子のssGSEAシグネチャーで観察される。

【0201】

【表1】

	分散分析検定	D1 対 D15 の t 検定	log2FC = D15 - D1	D1 対 D57 の t 検定	log2FC = D57 - D1
	10 mg/kg				
PTGER2	3.6e-06	0.0025	-0.24	0.0026	-0.67
CISH	1.1e-07	5.4e-09	-0.24	0.033	-0.52
BCL2	9.9e-07	2.7e-05	-0.35	0.012	-0.57
DPP4	3.6e-06	0.0035	-0.19	0.0093	-0.55
PTGER2/CISH/DPP4/BCL2	**1.3e-08**	**5.6e-07**	**-0.26**	**0.011**	**-0.60**
PTGER2/CISH/DPP4/BCL2/SOCS2/FLT3LG	**8.5e-10**	**3.9e-08**	**-0.37**	**0.0027**	**-0.63**

表1：10 mg:kgのN13B2-hVL6により治療した対象試料に対して実施した4及び6個の遺伝子のssGSEA解析

【0202】

この新たなシグネチャーは、生物学的抗IL7R抗体アンタゴニスト効果と強く相関し、異なる新たな治験において抗IL7Rアンタゴニスト抗体の生物学的効果を追跡するためのツールとして使用することができた。

【0203】

RNA seq技術は非常に高感度であるが、高価な技術である。遺伝子シグネチャーはまた、別のより安価な技術のRT-qPCRによっても検証されたが、これは感度が低い。FLT3G及びSOCS2遺伝子は、RT-qPCRにおいて分析されなかった。

【０２０４】

本発明者らは、これらの4個の遺伝子のRT-qPCR検証を、抗IL7Rアンタゴニスト抗体のコンパニオン試験として行った。

【０２０５】

GenewizによってRNAseq配列決定で既に分析された、プラセボからのD1とD15の5つのペア試料、及びN13B2-hVL6でインビボ治療したボランティア(10 mg/kg)からのD1とD15の5つのペア試料において、これらの4個の遺伝子のリアルタイム定量分析(RT-qPCR)を行った。

【０２０６】

そのために、EzDNASE #11766050 ThermoとSuperScript IV VILOマスターミックスを用いて逆転写(RT)を行い、相補DNA(cDNA)を取得し、Dnaseで処理してゲノムDNAを除去した。TaqManプローブとTaqMan(登録商標) Fast Advancedマスターミックス #4444557(5mL) Thermoを使用して、リアルタイム分析器ViiA7にて各遺伝子とハウスキーピング遺伝子を定量した(表2)。

【０２０７】

【表２】

生成物 ID	遺伝子ID	アッセイID
4448892	BCL2	Hs01048932_g1
4448892	CISH	Hs00367082_g1
4453320	PTGER2	Hs00168754_m1
4448892	DPP4	Hs00897405_m1
4331182	TBP	Hs00427620_m1
4331182	HPRT	Hs02800695_m1
4331182	ACTB	Hs03023943_g1

表2：RT-qPCRに使用されるTaqManプローブのリスト

【０２０８】

RT-qPCRで検出された4個の遺伝子(BCL2、CISH、PTGER2、DPP4)の、TBPハウスキーピング遺伝子に対して正規化した-DeltaCtの合計を計算し、シグネチャーとして使用した。

【０２０９】

このシグネチャーのボックスプロット図(図3)は、N13B2-hVL6により治療した健常ボランティアの試料からのD15試料においてRNA配列決定で観察される減少が、RT-qPCR分析でも観察可能であることを示す。

【０２１０】

この4個の遺伝子のRT-qPCRシグネチャーを検証するために、ハウスキーピング遺伝子としてTBPを用いて、1 mg/kg、4 mg/kg及び6 mg/kgのN13B2-hVL6により治療した対象試料において、これらの4個の遺伝子のRT-qPCR分析を行い(表3)、ペア試料においてD15とD1との間でlog2倍数変化を計算した(log2FC)。

【０２１１】

【表３】

	D1とD15間のt検定							
	1mg/kg		4mg/kg		6mg/kg		10 mg/kg	
	t検定	log2FC = D15 - D1	t検定	log2FC = D15 - D1	t検定	log2FC = D15 - D1	t検定	log2FC = D15 - D1
PTGER2	ns	-0.48	0.0037	-0.8	0.01	-0.41	ns	-0.59
CISH	0.0025	-1.26	0.00049	-1.39	0.0049	-0.94	0.00092	-1.21
BCL2	0.0052	-1.04	0.0029	-1.05	0.021	-0.71	0.0013	-0.94
DPP4	ns	-0.41	ns	-0.57	ns	-0.27	4.6e-05	-0.57
PTGER2/CISH/ DPP4/BCL2	**0.0029**	**-3.18**	**0.00065**	**-4.28**	**0.0034**	**-2.65**	**0.00012**	**-3.32**

表3：ハウスキーピング遺伝子としてTBPを用いて、1 mg/kg、4 mg/kg、6 mg/kg及び10 mg/kgのN13B2-hVL6により治療した対象試料において行った4個の遺伝子のRT-qPCR分析（p値及びlog2FCはD15とD1との間で計算された）

【０２１２】

4個の遺伝子RT-qPCRシグネチャーの有意な減少は、N13B2-hVL6治療の全ての用量で観察された。

【０２１３】

このシグネチャーを他の抗体を用いて検証した。そのために、3つの抗ヒトIL7Rα mAb (mAb1: N13B2-hVL6、mAb2: MD707-13、及びmAb13: GSKWO2011)とプレインキュベートし、組換えIL7で3時間刺激したヒトPBMCのRNAseq配列決定を行った。

【０２１４】

IL7/IL7R経路に関連するssGSEAシグネチャーの有意で高い減少が、4及び6個の遺伝子を用いて、3つの抗体について観察された(図4及び5)。

【０２１５】

この新たなシグネチャーがIL7Rアゴニスト効果と相関して、IL7Rアゴニストの生物学的効果を追跡するためのツールとして使用することができることを検証するために、IL7サイトカインで処理したPBMCのRNA配列決定を行った。健康なドナーからの新たに単離したヒトPBMC(Etablissement Fransais du Sangによって取得された)を、5 ng/mlの組換えヒトIL-7 (AbDSerotec)と37℃で3時間インキュベートした。反応を氷上で停止し、Rnase/Dnaseを含まない水中1%のβメルカプトエタノールを含有するRLT緩衝液(Qiagen)に細胞ペレットを再懸濁し、-80℃で保存した。

【０２１６】

製造業者(Qiagen)の指示に従って、RNAミニ抽出キットを使用してRNAを抽出した。RNAの品質及び量を、赤外スペクトル測定(Nanodrop)及びAgilentバイオアナライザー(Agilent RNA 6000 Pico Kit)によって評価した。

【０２１７】

Smart-Seq2ライブラリーは、Broad Technology Labが調整し、一部変更したSmartSeq2プロトコルに従って、Broad Genomics Platformによって配列決定された(Trombetta, J. J.らの文献 Curr. Protoc. Mol. Biol. 107, 4.22.1-4.22.17 (2014))。簡単に説明すると、RNA-SPRIビーズを使用して全RNAを精製し、ポリA+ mRNAを逆転写してcDNAにし、増幅したcDNAを二重インデックスを使用するトランスポゾンベースの断片化に供し、各変換された転写産物の各断片を各試料に特異的なバーコードの組み合わせを用いてバーコード化した。

【０２１８】

各インデックスに対して8サイクル追加して、ペアエンド2×25 bpとして配列決定を実施した。データをバーコードによって分け、Tophatバージョン2.0.10を使用して、デフォルト設定で整列させた。転写物を、Cuffquantバージョン2.2.167を使用して、Broad Technology Labsの計算パイプライン(computational pipeline)によって定量化した。簡単に説明すると、リードの50%が整列した場合、及び試料ごとに少なくとも100,000ペアが整列した場合に、データをCuffNormにより処理した。正規化は、「geometric」正規化を含むデフォルト設定を使用し、log2変換FPKM値としての発現レベル情報(百万個のマッピングされた断片当たり1キロベースの転写物当たりの断片)をその後の分析のために使用した。RNA-seqの結果は、アクセッションコードGSE103643の下でGEOデータベースにおいてアクセス可能である(Belarifらの文献 Nature communications, (2018) 9:4483)。

【0219】

単一試料GSEA(ssGSEA)シグネチャーを、関心対象の遺伝子BCL2、CISH、SOCS2、FLT3LG、PTGER2及びDPP4に基づいて計算した。

【0220】

図6及び7に示すように、IL7/IL7R経路に関連する4及び6個の遺伝子のssGSEAシグネチャーの有意で高い増加が、IL7で刺激した試料について観察された。

【0221】

表4に示されるように、1つの遺伝子のみのssGSEA解析と比較して、より高い感度が4及び6個の遺伝子のssGSEAシグネチャーで観察される。

【0222】

【表4】

	非刺激対IL7のt検定	log2FC = IL7 - 非刺激
PTGER2	0.0076	0.14
CISH	4.e-04	0.29
BCL2	8.0e-08	0.52
DPP4	0.0018	0.25
PTGER2/CISH/DPP4/BCL2	**1.9e-07**	**0.45**
PTGER2/CISH/DPP4/BCL2/SOCS2/FLT3LG	**5.6e-09**	**0.48**

表4：IL7サイトカインで刺激したPBMC試料において実施した4及び6個の遺伝子のssGSEA解析

【0223】

(結論)

この研究は、6個の遺伝子、特に、4個の遺伝子の遺伝子発現プロファイルがIL7/IL7R経路活性を反映するという発見を可能にした。RT-qPCRによって容易に定量することができるこれらの4つの遺伝子のうちの少なくとも1つの遺伝子発現プロファイルは、IL7Rアンタゴニスト又はアゴニスト活性を評価するために使用することができ、IL7Rアンタゴニスト又はアゴニストの生物学的効果を監視するためのコンパニオン試験として役立ち得る。

【図面】

【図１Ａ】

A

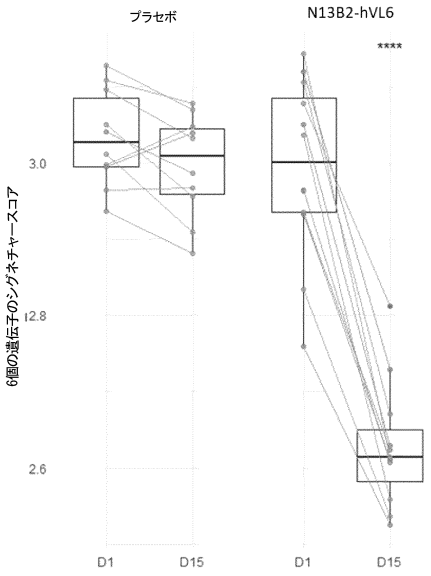


図 1A

【図１Ｂ】

B

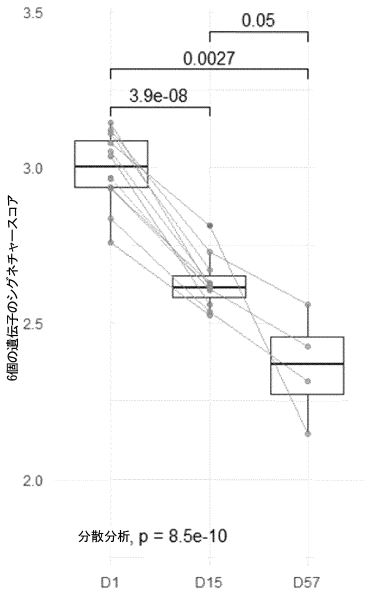


図 1B

【図２Ａ】

A

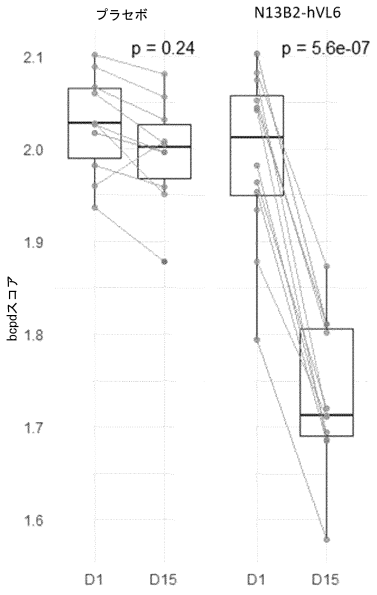


図 2A

【図２Ｂ】

B

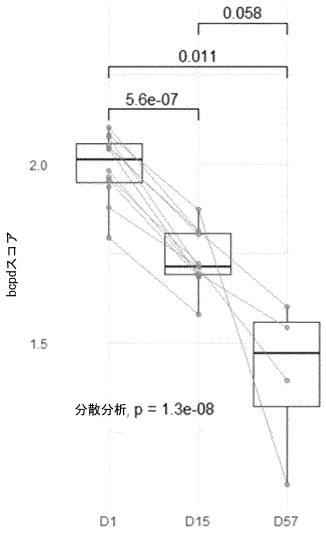


図 2B

【図３】

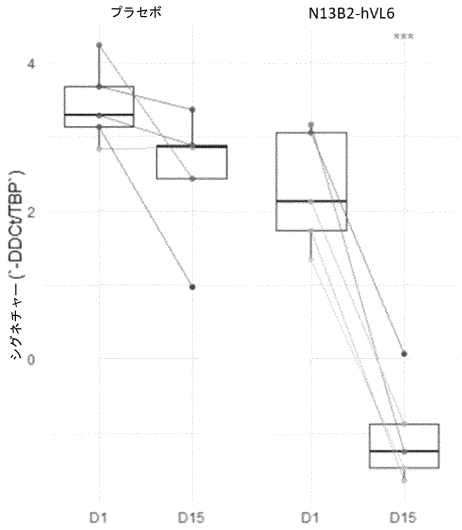


図 3

【図４】

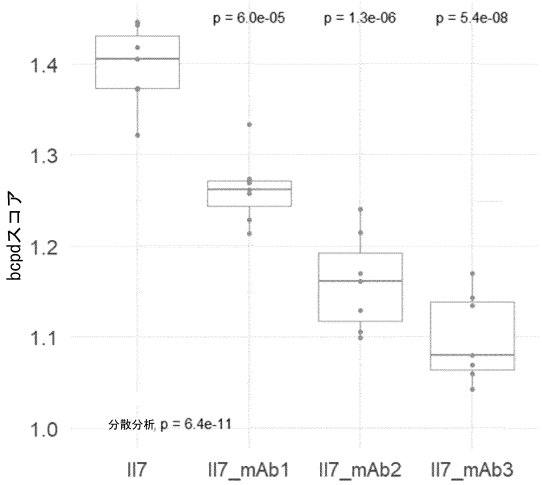


図 4

【図５】

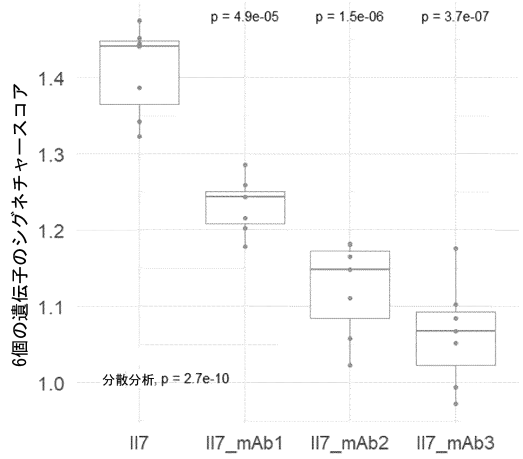


図 5

【図６】

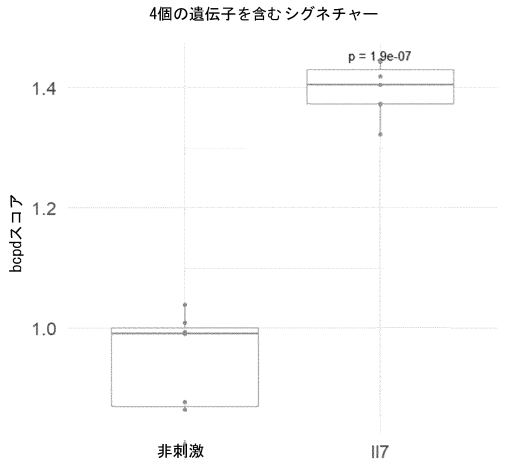


図 6

【図７】

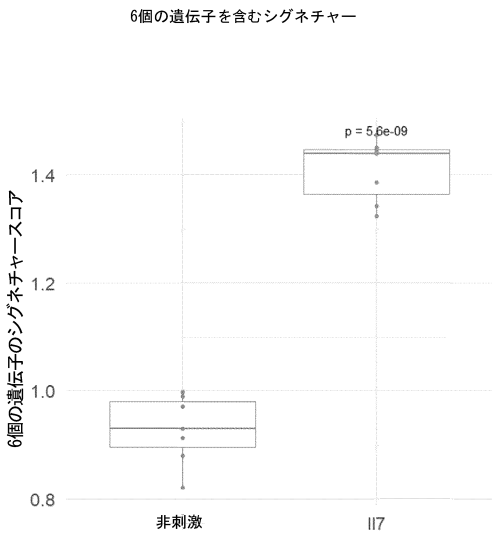


図７

【配列表】

２０２５５１８１６４０００００１．ｘｍｌ

【国際調査報告】

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No
PCT/EP2023/064461

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER
INV. C12Q1/6883 C12Q1/6886
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)
C12Q

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, WPI Data, BIOSIS, EMBASE

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	RIVIÈRE ELODIE ET AL: "Interleukin-7/Interferon Axis Drives T Cell and Salivary Gland Epithelial Cell Interactions in Sjögren's Syndrome", ARTHRITIS & RHEUMATOLOGY , vol. 73, no. 4 15 October 2020 (2020-10-15), pages 631-640, XP055979047, US ISSN: 2326-5191, DOI: 10.1002/art.41558 Retrieved from the Internet: URL:https://onlinelibrary.wiley.com/doi/full/10.1002/art.41558 abstract page 637, left-hand column, last paragraph page 639, left-hand column, paragraph 2-3 ----- -/--	1-15

[X] 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	Date of mailing of the international search report
29 June 2023	11/07/2023

Name and mailing address of the ISA/	Authorized officer
European Patent Office, P.B. 5818 Patentlaan 2 NL - 2280 HV Rijswijk Tel. (+31-70) 340-2040, Fax: (+31-70) 340-3016	Eveleigh, Anna

Form PCT/ISA/210 (second sheet) (April 2005)

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No
PCT/EP2023/064461

C(Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	PRISCILA P ZENATTI ET AL: "Oncogenic IL7R gain-of-function mutations in childhood T-cell acute lymphoblastic leukemia", NATURE GENETICS, vol. 43, no. 10, 4 September 2011 (2011-09-04), pages 932-939, XP055663629, New York ISSN: 1061-4036, DOI: 10.1038/ng.924 abstract online methods 1. col. par. 4 page 934, left-hand column, paragraph 1 -----	1-15
A	JÄGER J ET AL: "IL7RA haplotype-associated alterations in cellular immune function and gene expression patterns in multiple sclerosis", GENES AND IMMUNITY, NATURE PUBLISHING GROUP, GB, vol. 14, no. 7, 29 August 2013 (2013-08-29), pages 453-461, XP037768626, ISSN: 1466-4879, DOI: 10.1038/GENE.2013.40 [retrieved on 2013-08-29] abstract page 457, left-hand column, paragraph 1 -----	1-15
A	OLIVEIRA MARIANA L ET AL: "IL-7R-mediated signaling in T-cell acute lymphoblastic leukemia: An update", ADVANCES IN BIOLOGICAL REGULATION, ELSEVIER, AMSTERDAM, NL, vol. 71, 19 September 2018 (2018-09-19), pages 88-96, XP085582567, ISSN: 2212-4926, DOI: 10.1016/J.JBIOR.2018.09.012 the whole document -----	1-15

2

Form PCT/ISA/210 (continuation of second sheet) (April 2005)

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.
PCT/EP2023/064461

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

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

   a. [X] forming part of the international application as filed.

   b. [ ] furnished subsequent to the international filing date for the purposes of international search (Rule 13*ter*.1(a)).

      [ ] accompanied by a statement to the effect that the sequence listing does not go beyond the disclosure in the international application as filed.

2. [ ] With regard to any nucleotide and/or amino acid sequence disclosed in the international application, this report has been established to the extent that a meaningful search could be carried out without a WIPO Standard ST.26 compliant sequence listing.

3. Additional comments:

フロントページの続き

(51)国際特許分類	F I	テーマコード（参考）
Ｃ１２Ｐ　21/08　(2006.01)	Ｃ１２Ｐ　21/08	

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

Ｆターム（参考）
QQ96 QR08 QR32 QR48 QR56 QR62 QS10 QS14 QS25 QS36 QX02
4B064 AG27 CA10 CA19 CC24 DA01 DA13
4H045 AA11 AA30 BA10 CA40 DA76 EA20 EA50 FA74