

(19)日本国特許庁(JP)

**(12)特許公報(B2)**

(11)特許番号  
**特許第7285936号**  
**(P7285936)**

(45)発行日 令和5年6月2日(2023.6.2)

(24)登録日 令和5年5月25日(2023.5.25)

## (51)国際特許分類

C 1 2 N	15/13 (2006.01)	F I	C 1 2 N	15/13	Z N A
C 0 7 K	16/28 (2006.01)		C 0 7 K	16/28	
A 6 1 K	39/395 (2006.01)		A 6 1 K	39/395	N
A 6 1 K	47/68 (2017.01)		A 6 1 K	47/68	
A 6 1 K	48/00 (2006.01)		A 6 1 K	48/00	

請求項の数 27 (全127頁) 最終頁に続く

(21)出願番号	特願2021-542443(P2021-542443)
(86)(22)出願日	令和2年1月21日(2020.1.21)
(65)公表番号	特表2022-518770(P2022-518770)
	A)
(43)公表日	令和4年3月16日(2022.3.16)
(86)国際出願番号	PCT/US2020/014413
(87)国際公開番号	WO2020/154293
(87)国際公開日	令和2年7月30日(2020.7.30)
審査請求日	令和5年1月20日(2023.1.20)
(31)優先権主張番号	62/795,378
(32)優先日	平成31年1月22日(2019.1.22)
(33)優先権主張国・地域又は機関	米国(US)
(31)優先権主張番号	62/868,791
(32)優先日	令和1年6月28日(2019.6.28)
	最終頁に続く

(73)特許権者	391015708 ブリストル・マイヤーズ スクイブ カン パニー B R I S T O L - M Y E R S S Q U I B B C O M P A N Y アメリカ合衆国 0 8 5 4 3 ニュージャー ジー州 プリンストン、ルート 2 0 6 ア ンド・プロビンス・ライン・ロード
(74)代理人	100118902 弁理士 山本 修
(74)代理人	100106208 弁理士 宮前 徹
(74)代理人	100196508 弁理士 松尾 淳一
(74)代理人	100196243

最終頁に続く

(54)【発明の名称】 IL - 7 R アルファサブユニットに対する抗体及びその使用

**(57)【特許請求の範囲】****【請求項1】**

ヒトIL-7受容体(IL-7R)のアルファ鎖に特異的に結合する単離された抗IL-7R抗体又はその抗原結合部分であって、前記抗IL-7R抗体及びその抗原結合部分が、重鎖(HC)CDR1、CDR2及びCDR3と、軽鎖(LC)CDR1、CDR2及びCDR3と、を含み、

(i) 前記重鎖CDR1が、配列番号31～46に示されるアミノ酸配列のうちの1つを含み、

(ii) 前記重鎖CDR2が、配列番号14に示されるアミノ酸配列を含み、

(iii) 前記重鎖CDR3が、配列番号15に示されるアミノ酸配列を含み、

(iv) 前記軽鎖CDR1が、配列番号16に示されるアミノ酸配列を含み、

(v) 前記軽鎖CDR2が、配列番号17に示されるアミノ酸配列を含み、

(vi) 前記軽鎖CDR3が、配列番号18に示されるアミノ酸配列を含む、前記抗IL-7R抗体又はその抗原結合部分。

**【請求項2】**

請求項1に記載の抗IL-7R抗体又はその抗原結合部分が免疫療法薬剤に連結されたものを含む免疫複合体。

**【請求項3】**

請求項1に記載の抗IL-7R抗体又はその抗原結合部分、及び使用のための説明を含むキット。

**【請求項 4】**

請求項 1 に記載の抗 I L - 7 R 抗体又はその抗原結合部分であって、前記抗 I L - 7 R 抗体が重鎖可変領域 (V H) 及び軽鎖可変領域 (V L) を含み、前記 V H が配列番号 19 に示されるアミノ酸配列を含み、前記 V L が配列番号 20 に示されるアミノ酸配列を含む、前記抗 I L - 7 R 抗体又はその抗原結合部分。

**【請求項 5】**

請求項 1 に記載の抗 I L - 7 R 抗体又はその抗原結合部分であって、前記抗 I L - 7 R 抗体が重鎖及び軽鎖を含み、前記重鎖が配列番号 21 に示されるアミノ酸配列を含み、前記軽鎖が配列番号 22 に示されるアミノ酸配列を含む、前記抗 I L - 7 R 抗体又はその抗原結合部分。

10

**【請求項 6】**

前記抗体が I g G 1、I g G 2、I g G 3 及び I g G 4 からなる群から選択される、請求項 1 に記載の抗 I L - 7 R 抗体又はその抗原結合部分。

**【請求項 7】**

前記抗体が I g G 1 抗体である、請求項 6 に記載の抗 I L - 7 R 抗体又はその抗原結合部分。

**【請求項 8】**

エフェクター機能を有さない I g G 1 Fc を含む、請求項 7 に記載の抗 I L - 7 R 抗体又はその抗原結合部分。

20

**【請求項 9】**

前記抗体が I g G 1、I g G 2、I g G 3 及び I g G 4 からなる群から選択される、請求項 4 に記載の抗 I L - 7 R 抗体又はその抗原結合部分。

**【請求項 10】**

前記抗体が I g G 1 抗体である、請求項 9 に記載の抗 I L - 7 R 抗体又はその抗原結合部分。

**【請求項 11】**

エフェクター機能を有さない I g G 1 Fc を含む、請求項 10 に記載の抗 I L - 7 R 抗体又はその抗原結合部分。

30

**【請求項 12】**

抗原結合部分が F(ab)、F(ab')<sub>2</sub>、Fv 又は一本鎖 Fv (scFv) である、請求項 1 に記載の抗 I L - 7 R 抗体又はその抗原結合部分。

**【請求項 13】**

抗原結合部分が F(ab)、F(ab')<sub>2</sub>、Fv 又は一本鎖 Fv (scFv) である、請求項 4 に記載の抗 I L - 7 R 抗体又はその抗原結合部分。

**【請求項 14】**

請求項 1 に記載の抗 I L - 7 R 抗体又はその抗原結合部分、及び医薬的に許容可能な担体を含む組成物。

**【請求項 15】**

請求項 4 に記載の抗 I L - 7 R 抗体又はその抗原結合部分、及び医薬的に許容可能な担体を含む組成物。

40

**【請求項 16】**

請求項 5 に記載の抗 I L - 7 R 抗体又はその抗原結合部分、及び医薬的に許容可能な担体を含む組成物。

**【請求項 17】**

請求項 6 に記載の抗 I L - 7 R 抗体又はその抗原結合部分、及び医薬的に許容可能な担体を含む組成物。

**【請求項 18】**

請求項 7 に記載の抗 I L - 7 R 抗体又はその抗原結合部分、及び医薬的に許容可能な担体を含む組成物。

**【請求項 19】**

50

請求項 8 に記載の抗 I L - 7 R 抗体又はその抗原結合部分、及び医薬的に許容可能な担体を含む組成物。

**【請求項 20】**

請求項 9 に記載の抗 I L - 7 R 抗体又はその抗原結合部分、及び医薬的に許容可能な担体を含む組成物。

**【請求項 21】**

請求項 10 に記載の抗 I L - 7 R 抗体又はその抗原結合部分、及び医薬的に許容可能な担体を含む組成物。

**【請求項 22】**

請求項 11 に記載の抗 I L - 7 R 抗体又はその抗原結合部分、及び医薬的に許容可能な担体を含む組成物。 10

**【請求項 23】**

請求項 12 に記載の抗 I L - 7 R 抗体又はその抗原結合部分、及び医薬的に許容可能な担体を含む組成物。

**【請求項 24】**

請求項 13 に記載の抗 I L - 7 R 抗体又はその抗原結合部分、及び医薬的に許容可能な担体を含む組成物。

**【請求項 25】**

請求項 2 に記載の免疫複合体であって、前記免疫療法薬剤が、代謝拮抗剤、アルキル化剤、DNA 副溝結合剤、DNA インターカレーター、DNA クロスリンクー、ヒストンデアセチラーゼ阻害剤、核外輸送阻害剤、プロテアソーム阻害剤、トポイソメラーゼ I 阻害剤若しくはトポイソメラーゼ II 阻害剤、熱ショックタンパク質阻害剤、チロシンキナーゼ阻害剤、抗生物質、又は有糸分裂阻害剤である、前記免疫複合体。 20

**【請求項 26】**

請求項 3 に記載のキットであって、

炎症性腸疾患 (I B D)、潰瘍性大腸炎、クローン病、過敏性腸症候群、関節リウマチ (R A)、乾癬、乾癬性関節炎、若年性少関節炎、コラーゲン誘発関節炎、アジュバント誘発関節炎、実験的自己免疫性脳脊髄炎、全身性エリテマトーデス (S L E)、ループス腎炎、血管炎、敗血症、全身性炎症反応症候群 (S I R S)、I 型糖尿病、グレーブス病、多発性硬化症 (M S)、自己免疫性心筋炎、川崎病、冠動脈疾患、慢性閉塞性肺疾患、間質性肺疾患、自己免疫性甲状腺炎、強皮症、全身性硬化症、変形性関節症、アトピー性皮膚炎、白斑、移植片対宿主病、シェーグレン症候群、自己免疫性腎炎、グッドパスチャーリー症候群、慢性炎症性脱髓性多発神経炎、アレルギー、喘息、自己免疫性の胃の萎縮、尋常性天疱瘡、非肥満糖尿病、重症筋無力症、橋本甲状腺炎、硬化性胆管炎、硬化性唾液腺炎、自己免疫性血小板減少性紫斑病、アジソン病、多発性筋炎、皮膚筋炎、自己免疫性溶血性貧血、悪性貧血、急性または慢性の炎症の結果である自己免疫疾患、及びそれらの組み合わせなどの炎症性疾患または自己免疫疾患の治療において使用するための、前記キット。 30

**【請求項 27】**

請求項 14 ~ 24 のいずれか 1 項に記載の組成物であって、

炎症性腸疾患 (I B D)、潰瘍性大腸炎、クローン病、過敏性腸症候群、関節リウマチ (R A)、乾癬、乾癬性関節炎、若年性少関節炎、コラーゲン誘発関節炎、アジュバント誘発関節炎、実験的自己免疫性脳脊髄炎、全身性エリテマトーデス (S L E)、ループス腎炎、血管炎、敗血症、全身性炎症反応症候群 (S I R S)、I 型糖尿病、グレーブス病、多発性硬化症 (M S)、自己免疫性心筋炎、川崎病、冠動脈疾患、慢性閉塞性肺疾患、間質性肺疾患、自己免疫性甲状腺炎、強皮症、全身性硬化症、変形性関節症、アトピー性皮膚炎、白斑、移植片対宿主病、シェーグレン症候群、自己免疫性腎炎、グッドパスチャーリー症候群、慢性炎症性脱髓性多発神経炎、アレルギー、喘息、自己免疫性の胃の萎縮、尋常性天疱瘡、非肥満糖尿病、重症筋無力症、橋本甲状腺炎、硬化性胆管炎、硬化性唾液腺炎、自己免疫性血小板減少性紫斑病、アジソン病、多発性筋炎、皮膚筋炎、自己免疫性溶血性貧血、悪性貧血、急性または慢性の炎症の結果である自己免疫疾患、及びそれらの組み合わせなどの炎症性疾患または自己免疫疾患の治療において使用するための、前記キット。 40

10

20

30

40

50

血性貧血、悪性貧血、急性または慢性の炎症の結果である自己免疫疾患、及びそれらの組み合わせなどの炎症性疾患または自己免疫疾患の治療において使用するための、前記組成物。

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0001】

E F S - W E B を介して電子的に提出される配列表の参照

本出願と共に A S C I I テキストファイル(名称: 4 5 2 1 . 0 0 1 P C 0 2 \_ S e q l i s t i n g \_ S T 2 5 . t x t ; サイズ: 1 0 0 , 5 6 5 バイト; 作成日: 2 0 2 0 年 1 月 1 7 日)で配列表が電子的に提出され、当該配列表の内容は、その全体が参照によって本明細書に組み込まれる。

10

【背景技術】

【0002】

インターロイキン-7 ( I L - 7 ) は、共通 鎖 ( c ) サイトカインファミリーのメンバーであり、このファミリーには、 I L - 2 、 I L - 4 、 I L - 9 、 I L - 1 5 、及び I L - 2 1 が含まれる。 N g u y e n V . , e t a l . , J Immunol Res 2 0 1 7 : 4 8 0 7 8 5 3 ( 2 0 1 7 ) 。他のメンバーと同様に、 I L - 7 は、その特有の 受容体 ( I L - 7 R ( C D 1 2 7 ) ) 及び共通 受容体と共に形成する三元複合体を介してシグナルを伝達する。 C a r r e t t e , F . , e t a l . , Semin Immunol 2 4 ( 3 ) : 2 0 9 - 1 7 ( 2 0 1 2 ) 。この相互作用は、ヤヌスキナーゼ ( J A K ) タンパク質及びシグナル伝達兼転写活性化因子 ( S T A T ) タンパク質を刺激し、その後にホスホイノシトール 3 - キナーゼ ( P I 3 K ) / A k t 経路または S r c 経路を活性化することで標的遺伝子の転写を促進する。 I L - 7 R は、第 2 の受容体鎖 ( T S L P R ) を含む複合体の一部として胸腺間質性リンパ球新生因子 ( T S L P ) によつても使用される。 D u r u m , S . K . , B l o o d 1 2 4 ( 1 ) : 4 - 5 ( 2 0 1 4 ) 。

20

【0003】

I L - 7 は、胸腺の発達、末梢の恒常性維持、及びリンパ球の生存に必須のものであるため、正常な免疫系の発達に極めて重要な役割を果たす。 M a r a s k o v s k y , E . , e t a l . , J Immunol 1 5 7 ( 1 2 ) : 5 3 1 5 - 5 3 2 3 ( 1 9 9 6 ) 。胸腺 T 前駆細胞の増殖、分化、及び生存には I L - 7 が必要である。末梢では、 I L - 7 は、ナイーブ T 細胞及びメモリー T 細胞の生存及び増殖を増強することによって T 細胞ホメオスタシスを制御する。

30

【0004】

I L - 7 は組織由来のサイトカインであり、さまざまな組織中の間質細胞及び上皮細胞から主に産生される。例えば、小腸及び大腸では、 I L - 7 は、腸上皮杯細胞によって産生され、慢性大腸炎の持続に必須のものであることが動物モデルにおいて報告されている。 T o m i t a , T . , e t a l . , J Immunol 1 8 0 ( 1 ) : 3 8 3 - 3 9 0 ( 2 0 0 8 ) 。 I L - 7 は、制御性 T 細胞 ( T r e g ) の免疫抑制能を妨害することも示されている。 H e n i n g e r , A . K . , e t a l . , J Immunol 1 8 9 ( 1 2 ) : 5 6 4 9 - 5 6 5 8 ( 2 0 1 2 ) 。したがって、炎症性疾患 ( 炎症性腸疾患など ) を治療する上では、 I L - 7 の活性をインビボで調節し、それによって病原性 T 細胞の生存 / 機能を低減し、及び / または制御性 T 細胞の誘導を促進し得る薬剤が非常に望ましい。

40

【発明の概要】

【0005】

ヒト I L - 7 受容体のアルファ鎖に特異的に結合する単離された抗体 ( 「抗 I L - 7 R 抗体」 ) またはその抗原結合部分が本明細書で提供され、この抗体は、重鎖 C D R 1 、重鎖 C D R 2 、及び重鎖 C D R 3 と、軽鎖 C D R 1 、軽鎖 C D R 2 、及び軽鎖 C D R 3 とを含み、この抗体は、

50

( a ) 約 5 nM 以下 ( 例えば、約 3 nM 未満 ) の E C 50 で全血中の T 細胞 ( C D 4 + C D 45 R A + 、 C D 4 + C D 45 R A - 、 C D 8 + C D 45 R A + 、 及び / または C D 8 + C D 45 R A - ) に結合する能力を有するか、

( b ) 全血中の非 T 細胞に結合する能力を有さないか、

( c ) 胸腺間質性リンパ球新生因子 ( T S L P ) 介在性の単球活性化を効果的に遮断する能力を有さないか、

( d ) I L - 7 受容体への結合時に I L - 7 受容体シグナル伝達をアゴナイズしない ( 例えば、 p S T A T 5 活性化が最小限に留まる ) か、あるいは

( e ) それらが任意に組み合わさったものである。

#### 【 0 0 0 6 】

10

いくつかの実施形態では、抗 I L - 7 R 抗体 ( 例えば、本明細書に開示のもの ) の重鎖 C D R 3 は、配列番号 15 に示されるアミノ酸配列 ( D E Y S R G Y Y V L D V ) を含む。

#### 【 0 0 0 7 】

いくつかの実施形態では、本開示の抗 I L - 7 R 抗体は、

( a ) ヒト及びカニクイザルの I L - 7 R のアルファ鎖に選択的に結合する能力を有すること、

( b ) 可溶性及び膜結合型の I L - 7 R のアルファ鎖に結合する能力を有すること、

( c ) 病原性 T 細胞の増殖及び / または生存の遮断を必要とする対象に投与されると、当該遮断を行う能力を有すること、

( d ) 制御性 T 細胞 ( T r e g ) 機能の回復及び / または T r e g 生存の促進を必要とする対象に投与されると、当該回復及び / または促進を行う能力を有すること、

( e ) C T L A 4 - I g ( O R E N C I A ( 登録商標 ) ) によるものと比較して薬剤フリー寛解を長く維持する能力を有すること、

( f ) 炎症及び粘膜損傷 ( 例えば、病原性 T 細胞によって誘導されるもの ) の遮断を必要とする対象の腸組織内で当該遮断を行う能力を有すること、

( g ) 腸間膜リンパ節 ( M L N ) 及び / または粘膜固有層 ( L P ) におけるエフェクター T 細胞の頻度の低減を必要とする対象において当該低減を行う能力を有すること、

( h ) T 細胞 ( 例えば、 C D 4 + C D 45 R A + ) の I L - 7 介在性の p S T A T 活性化を低減または阻害する能力を有すること、

( i ) I L - 17 及び / または I F N - ガンマを産生する細胞の増殖を遮断する能力を有すること、

30

( j ) 炎症性疾患 ( 例えば、炎症性腸疾患 ) を有する対象を治療する能力を有すること、ならびに

( k ) それらのいずれかの組み合わせ、

なる群から選択される 1 つ以上の特性を有する。

#### 【 0 0 0 8 】

いくつかの実施形態では、抗 I L - 7 R 抗体は、重鎖 C D R 1 を含み、重鎖 C D R 1 は、配列番号 13 に示されるアミノ酸配列 ( D H A M H ) を含む。いくつかの実施形態では、抗 I L - 7 R 抗体は、重鎖 C D R 2 を含み、重鎖 C D R 2 は、配列番号 14 に示されるアミノ酸配列 ( G I S W N S R G I G Y A D S V K G ) を含む。いくつかの実施形態では、抗 I L - 7 R 抗体は、軽鎖 C D R 1 を含み、軽鎖 C D R 1 は、配列番号 16 に示されるアミノ酸配列 ( R A S Q G I S S A L A ) を含む。いくつかの実施形態では、抗 I L - 7 R 抗体は、軽鎖 C D R 2 を含み、軽鎖 C D R 2 は、配列番号 17 に示されるアミノ酸配列 ( D A S S L E S ) を含む。いくつかの実施形態では、抗 I L - 7 R 抗体は、軽鎖 C D R 3 を含み、軽鎖 C D R 3 は、配列番号 18 に示されるアミノ酸配列 ( Q Q F N S Y P L W I T ) を含む。

40

#### 【 0 0 0 9 】

いくつかの実施形態では、抗 I L - 7 R 抗体は、重鎖可変領域 ( V H ) 及び軽鎖可変領域 ( V L ) を含み、 V H は、配列番号 19 に示されるアミノ酸配列との同一性が少なくとも約 80 % 、少なくとも約 85 % 、少なくとも約 90 % 、少なくとも約 95 % 、少なくと

50

も約 9 6 %、少なくとも約 9 7 %、少なくとも約 9 8 %、少なくとも約 9 9 %、または約 1 0 0 %であるアミノ酸配列を含む。ある特定の実施形態では、V L は、配列番号 2 0 に示されるアミノ酸配列との同一性が少なくとも約 8 0 %、少なくとも約 8 5 %、少なくとも約 9 0 %、少なくとも約 9 5 %、少なくとも約 9 6 %、少なくとも約 9 7 %、少なくとも約 9 8 %、少なくとも約 9 9 %、または約 1 0 0 %であるアミノ酸配列を含む。

#### 【 0 0 1 0 】

いくつかの実施形態では、本明細書に開示の抗 I L - 7 R 抗体は、<sup>2 4</sup> S Q L E V N G S Q H S L T C A F<sup>3 9</sup> (配列番号 8 )、<sup>7 3</sup> F I E T K K F L L I G K S N I C<sup>8 8</sup> (配列番号 9 )、<sup>8 9</sup> V K V G E K S L T C K K I D L T T<sup>1 0 5</sup> (配列番号 1 0 )、<sup>1 3 6</sup> Q K K Y V K V L M H D V A Y<sup>1 4 9</sup> (配列番号 1 1 )、<sup>1 8 1</sup> Y E I K V R S I P D H Y F K G F<sup>1 9 6</sup> (配列番号 1 2 )、及びそれらの組み合わせ、からなる群から選択されるエピトープの位置でヒト I L - 7 受容体のアルファ鎖に特異的に結合する。ある特定の実施形態では、抗 I L - 7 R 抗体は、H 3 3 、E 7 5 、F 7 9 、I 8 2 、K 8 4 、M 1 4 4 、R 1 8 6 、H 1 9 1 、Y 1 9 2 、及びそれらの組み合わせ、からなる群から選択される 1 つ以上のアミノ酸残基を含むエピトープの位置でヒト I L - 7 受容体のアルファ鎖に特異的に結合する。  
10

#### 【 0 0 1 1 】

いくつかの実施形態では、本開示の抗 I L - 7 R 抗体は、I g G 1 、I g G 2 、I g G 3 、I g G 4 、及びそのバリエントからなる群から選択される。ある特定の実施形態では、I L - 7 R 抗体は、I g G 1 抗体である。いくつかの実施形態では、抗 I L - 7 R 抗体は、エフェクター機能を有さない I g G 1 - F c を含む。  
20

#### 【 0 0 1 2 】

ヒト I L - 7 受容体のアルファ鎖に特異的に結合する単離された抗体 ( 「抗 I L - 7 R 抗体」 ) またはその抗原結合部分も本明細書に開示され、この抗体は、重鎖及び軽鎖を含み、重鎖は、配列番号 2 1 に示されるアミノ酸配列を含み、軽鎖は、配列番号 2 2 に示されるアミノ酸配列を含む。

#### 【 0 0 1 3 】

いくつかの実施形態では、抗 I L - 7 R 抗体は、表面プラズモン共鳴によって測定すると、1 0 n M 未満、9 n M 未満、8 n M 未満、7 n M 未満、6 n M 未満、5 n M 未満、4 n M 未満、3 n M 未満、2 n M 未満、または 1 n M 未満の K D ( 例えば、1 . 3 n M ) でヒト I L - 7 受容体のアルファ鎖に結合する。ある特定の実施形態では、抗 I L - 7 R 抗体は、表面プラズモン共鳴によって測定すると、1 0 n M 未満、9 n M 未満、8 n M 未満、7 n M 未満、6 n M 未満、5 n M 未満、4 n M 未満、3 n M 未満、2 n M 未満、または 1 n M 未満の K D ( 例えば、1 . 7 n M ) でカニクイザル I L - 7 受容体のアルファ鎖に結合する。いくつかの実施形態では、ヒト I L - 7 受容体のアルファ鎖への結合、またはカニクイザル I L - 7 受容体のアルファ鎖への結合は pH 依存性である。ある特定の実施形態では、抗 I L - 7 R 抗体は、p H 7 . 4 では約 1 . 3 n M の K D 、p H 6 では約 5 . 3 n M の K D でヒト I L - 7 受容体のアルファ鎖に結合する。いくつかの実施形態では、抗 I L - 7 R 抗体は、p H 7 . 4 では約 1 . 7 n M の K D 、p H 6 では約 7 . 0 n M の K D でカニクイザル I L - 7 受容体のアルファ鎖に結合する。  
30

#### 【 0 0 1 4 】

ヒト I L - 7 受容体のアルファ鎖に特異的に結合する単離された抗体 ( 「抗 I L - 7 R 抗体」 ) またはその抗原結合部分が本明細書で提供され、この抗体は、重鎖 ( H C ) C D R 1 、H C C D R 2 、及び H C C D R 3 と、軽鎖 ( L C ) C D R 1 、L C C D R 2 、及び L C C D R 3 と、を含み、H C C D R 1 は、G X<sub>1</sub> X<sub>2</sub> F D D H A X<sub>3</sub> H というアミノ酸配列 ( 配列番号 2 6 0 ) を含み、配列中、X<sub>1</sub> は、F または Y であり、X<sub>2</sub> は、T 、P 、A 、S 、V 、L 、I 、M 、H 、F 、Y 、N 、D 、E 、または Q であり、X<sub>3</sub> は、L または M である。ある特定の態様では、X<sub>2</sub> は、D または E である。  
40

#### 【 0 0 1 5 】

いくつかの態様では、H C C D R 2 は、G I X<sub>1</sub> W X<sub>2</sub> S R G X<sub>3</sub> G Y X<sub>4</sub> X<sub>5</sub> X<sub>6</sub> X<sub>7</sub>

10

20

30

40

50

$X_8 X_9$  というアミノ酸配列（配列番号 261）を含み、配列中、 $X_1$ は、SまたはTであり、 $X_2$ は、HまたはNであり、 $X_3$ は、IまたはVであり、 $X_4$ は、G、A、S、T、V、L、I、R、H、またはNであり、 $X_5$ は、P、T、N、D、E、Q、S、H、またはYであり、 $X_6$ は、P、G、A、S、T、V、R、H、F、Y、N、D、またはEであり、 $X_7$ は、VまたはIであり、 $X_8$ は、A、S、T、V、L、I、M、K、R、H、F、Y、N、D、E、またはQであり、 $X_9$ は、G、H、D、またはQである。ある特定の態様では、 $X_1$ は、Tである。

#### 【0016】

いくつかの態様では、H C C D R 3 は、D E Y X<sub>1</sub> X<sub>2</sub> G Y Y X<sub>3</sub> L D X<sub>4</sub> というアミノ酸配列（配列番号 262）を含み、配列中、 $X_1$ は、S、T、N、D、またはEであり、 $X_2$ は、L、M、R、またはSであり、 $X_3$ は、G、A、S、T、V、M、N、E、またはQであり、 $X_4$ は、A、S、T、V、R、H、Y、W、N、E、Q、またはMである。ある特定の態様では、 $X_3$ は、A、S、またはTである。いくつかの態様では、 $X_4$ は、Eである。

10

#### 【0017】

いくつかの態様では、L C C D R 1 は、X<sub>1</sub> X<sub>2</sub> X<sub>3</sub> X<sub>4</sub> X<sub>5</sub> X<sub>6</sub> X<sub>7</sub> S X<sub>8</sub> X<sub>9</sub> A というアミノ酸配列（配列番号 263）を含み、配列中、 $X_1$ は、S、T、V、K、R、H、Y、またはIであり、 $X_2$ は、A、S、T、またはVであり、 $X_3$ は、P、G、A、S、T、V、L、I、M、K、R、H、N、E、またはQであり、 $X_4$ は、P、G、A、S、T、V、L、I、M、H、F、Y、N、D、E、またはQであり、 $X_5$ は、P、G、A、S、T、H、E、Q、M、N、またはDであり、 $X_6$ は、P、G、A、S、T、V、L、I、またはNであり、 $X_7$ は、S、T、V、L、I、M、H、F、Y、N、D、E、またはQであり、 $X_8$ は、PまたはAであり、 $X_9$ は、A、L、またはVである。ある特定の態様では、 $X_6$ は、Pである。別の態様では、 $X_8$ は、Pである。いくつかの態様では、 $X_7$ は、DまたはEである。

20

#### 【0018】

いくつかの態様では、L C C D R 2 は、D X<sub>1</sub> X<sub>2</sub> X<sub>3</sub> X<sub>4</sub> X<sub>5</sub> X<sub>6</sub> というアミノ酸配列（配列番号 264）を含み、配列中、 $X_1$ は、G、A、S、M、H、N、D、E、またはQであり、 $X_2$ は、G、A、S、T、V、M、H、F、Y、N、D、E、またはQであり、 $X_3$ は、A、S、F、Y、W、N、D、E、またはLであり、 $X_4$ は、P、S、T、L、K、H、またはNであり、 $X_5$ は、D、E、またはQであり、 $X_6$ は、G、S、T、N、D、Q、P、またはEである。

30

#### 【0019】

いくつかの態様では、L C C D R 3 は、X<sub>1</sub> X<sub>2</sub> F X<sub>3</sub> X<sub>4</sub> Y P L X<sub>5</sub> X<sub>6</sub> X<sub>7</sub> というアミノ酸配列（配列番号 265）を含み、配列中、 $X_1$ は、MまたはQであり、 $X_2$ は、G、A、D、E、またはQであり、 $X_3$ は、NまたはEであり、 $X_4$ は、P、A、またはSであり、 $X_5$ は、T、I、M、K、W、N、E、またはQであり、 $X_6$ は、LまたはIであり、 $X_7$ は、T、M、K、H、Y、E、またはQである。ある特定の態様では、 $X_2$ は、Aである。別の態様では、 $X_4$ は、PまたはAである。

#### 【0020】

いくつかの態様では、重鎖 C D R 1 は、配列番号 31 ~ 46 に示されるアミノ酸配列のうちの1つを含む。ある特定の態様では、重鎖 C D R 1 は、配列番号 43 または配列番号 44 に示されるアミノ酸配列を含む。いくつかの態様では、重鎖 C D R 2 は、配列番号 47 ~ 96 に示されるアミノ酸配列のうちの1つを含む。ある特定の態様では、重鎖 C D R 2 は、配列番号 47 に示されるアミノ酸配列を含む。別の態様では、重鎖 C D R 3 は、配列番号 97 ~ 122 に示されるアミノ酸配列のうちの1つを含む。ある特定の態様では、重鎖 C D R 3 は、配列番号 105、配列番号 106、配列番号 107、または配列番号 120 に示されるアミノ酸配列を含む。いくつかの態様では、軽鎖 C D R 1 は、配列番号 123 ~ 194 に示されるアミノ酸配列のうちの1つを含む。ある特定の態様では、軽鎖 C D R 1 は、配列番号 172、配列番号 189、配列番号 190、または配列番号 192 に

40

50

示されるアミノ酸配列を含む。いくつかの態様では、軽鎖 C D R 2 は、配列番号 1 9 5 ~ 2 3 7 に示されるアミノ酸配列のうちの 1 つを含む。いくつかの態様では、軽鎖 C D R 3 は、配列番号 2 3 8 ~ 2 5 9 に示されるアミノ酸配列のうちの 1 つを含む。ある特定の態様では、軽鎖 C D R 3 は、配列番号 2 4 0 、配列番号 2 4 4 、または配列番号 2 4 5 に示されるアミノ酸配列を含む。

#### 【 0 0 2 1 】

ヒト I L - 7 受容体のアルファ鎖に特異的に結合する単離された抗体（「抗 I L - 7 R 抗体」）またはその抗原結合部分が本明細書で提供され、この抗体は、重鎖（H C ）C D R 1 、H C C D R 2 、及び H C C D R 3 と、軽鎖（L C ）C D R 1 、L C C D R 2 、及び L C C D R 3 と、を含み、（i）重鎖 C D R 1 は、配列番号 3 1 ~ 4 6 に示されるアミノ酸配列のうちの 1 つを含み、（i i ）重鎖 C D R 2 は、配列番号 1 4 に示されるアミノ酸配列を含み、（i i i ）重鎖 C D R 3 は、配列番号 1 5 に示されるアミノ酸配列を含み、（i v ）軽鎖 C D R 1 は、配列番号 1 6 に示されるアミノ酸配列を含み、（v ）軽鎖 C D R 2 は、配列番号 1 7 に示されるアミノ酸配列を含み、（v i ）軽鎖 C D R 3 は、配列番号 1 8 に示されるアミノ酸配列を含む。ある特定の態様では、重鎖 C D R 1 は、配列番号 4 3 または配列番号 4 4 に示されるアミノ酸配列を含む。

10

#### 【 0 0 2 2 】

同様に、ヒト I L - 7 受容体のアルファ鎖に特異的に結合する単離された抗体（「抗 I L - 7 R 抗体」）またはその抗原結合部分が本明細書で提供され、この抗体は、重鎖（H C ）C D R 1 、H C C D R 2 、及び H C C D R 3 と、軽鎖（L C ）C D R 1 、L C C D R 2 、及び L C C D R 3 と、を含み、（i）重鎖 C D R 1 は、配列番号 1 3 に示されるアミノ酸配列を含み、（i i ）重鎖 C D R 2 は、配列番号 4 7 ~ 9 6 に示されるアミノ酸配列のうちの 1 つを含み、（i i i ）重鎖 C D R 3 は、配列番号 1 5 に示されるアミノ酸配列を含み、（i v ）軽鎖 C D R 1 は、配列番号 1 6 に示されるアミノ酸配列を含み、（v ）軽鎖 C D R 2 は、配列番号 1 7 に示されるアミノ酸配列を含み、（v i ）軽鎖 C D R 3 は、配列番号 1 8 に示されるアミノ酸配列を含む。ある特定の態様では、重鎖 C D R 2 は、配列番号 4 7 に示されるアミノ酸配列を含む。

20

#### 【 0 0 2 3 】

本開示は、ヒト I L - 7 受容体のアルファ鎖に特異的に結合する単離された抗体（「抗 I L - 7 R 抗体」）またはその抗原結合部分を提供し、この抗体は、重鎖（H C ）C D R 1 、H C C D R 2 、及び H C C D R 3 と、軽鎖（L C ）C D R 1 、L C C D R 2 、及び L C C D R 3 と、を含み、（i）重鎖 C D R 1 は、配列番号 1 3 に示されるアミノ酸配列を含み、（i i ）重鎖 C D R 2 は、配列番号 1 4 に示されるアミノ酸配列を含み、（i i i ）重鎖 C D R 3 は、配列番号 9 7 ~ 1 2 2 に示されるアミノ酸配列のうちの 1 つを含み、（i v ）軽鎖 C D R 1 は、配列番号 1 6 に示されるアミノ酸配列を含み、（v ）軽鎖 C D R 2 は、配列番号 1 7 に示されるアミノ酸配列を含み、（v i ）軽鎖 C D R 3 は、配列番号 1 8 に示されるアミノ酸配列を含む。いくつかの態様では、重鎖 C D R 3 は、配列番号 1 0 5 、配列番号 1 0 6 、配列番号 1 0 7 、または配列番号 1 2 0 に示されるアミノ酸配列を含む。

30

#### 【 0 0 2 4 】

ヒト I L - 7 受容体のアルファ鎖に特異的に結合する単離された抗体（「抗 I L - 7 R 抗体」）またはその抗原結合部分が本明細書で提供され、この抗体は、重鎖（H C ）C D R 1 、H C C D R 2 、及び H C C D R 3 と、軽鎖（L C ）C D R 1 、L C C D R 2 、及び L C C D R 3 と、を含み、（i）重鎖 C D R 1 は、配列番号 1 3 に示されるアミノ酸配列を含み、（i i ）重鎖 C D R 2 は、配列番号 1 4 に示されるアミノ酸配列を含み、（i i i ）重鎖 C D R 3 は、配列番号 1 5 に示されるアミノ酸配列を含み、（i v ）軽鎖 C D R 1 は、配列番号 1 2 3 ~ 1 9 4 に示されるアミノ酸配列のうちの 1 つを含み、（v ）軽鎖 C D R 2 は、配列番号 1 7 に示されるアミノ酸配列を含み、（v i ）軽鎖 C D R 3 は、配列番号 1 8 に示されるアミノ酸配列を含む。ある特定の態様では、軽鎖 C D R 1 は、配列番号 1 7 2 、配列番号 1 8 9 、配列番号 1 9 0 、または配列番号 1 9 2 に示される

40

50

アミノ酸配列を含む。

**【0025】**

同様に、ヒトIL-7受容体のアルファ鎖に特異的に結合する単離された抗体（「抗IL-7R抗体」）またはその抗原結合部分が本明細書で提供され、この抗体は、重鎖（HC）CDR1、HC CDR2、及びHC CDR3と、軽鎖（LC）CDR1、LC CDR2、及びLC CDR3と、を含み、（i）重鎖CDR1は、配列番号13に示されるアミノ酸配列を含み、（ii）重鎖CDR2は、配列番号14に示されるアミノ酸配列を含み、（iii）重鎖CDR3は、配列番号15に示されるアミノ酸配列を含み、（iv）軽鎖CDR1は、配列番号16に示されるアミノ酸配列を含み、（v）軽鎖CDR2は、配列番号195～237に示されるアミノ酸配列のうちの1つを含み、（vi）軽鎖CDR3は、配列番号18に示されるアミノ酸配列を含む。10

**【0026】**

ヒトIL-7受容体のアルファ鎖に特異的に結合する単離された抗体（「抗IL-7R抗体」）またはその抗原結合部分が本明細書で提供され、この抗体は、重鎖（HC）CDR1、HC CDR2、及びHC CDR3と、軽鎖（LC）CDR1、LC CDR2、及びLC CDR3と、を含み、（i）重鎖CDR1は、配列番号13に示されるアミノ酸配列を含み、（ii）重鎖CDR2は、配列番号14に示されるアミノ酸配列を含み、（iii）重鎖CDR3は、配列番号15に示されるアミノ酸配列を含み、（iv）軽鎖CDR1は、配列番号16に示されるアミノ酸配列を含み、（v）軽鎖CDR2は、配列番号17に示されるアミノ酸配列を含み、（vi）軽鎖CDR3は、配列番号238～259に示されるアミノ酸配列のうちの1つを含む。ある特定の態様では、軽鎖CDR3は、配列番号240、配列番号244、または配列番号245に示されるアミノ酸配列を含む。20

**【0027】**

本開示は、本開示の抗IL-7R抗体をコードする核酸、核酸を含むベクター、ベクターを含む細胞も提供する。いくつかの実施形態では、細胞は、CHO細胞、HEK293細胞、HBK細胞、COS細胞、NSO細胞、またはHT1080細胞である。

**【0028】**

本明細書に開示の抗IL-7R抗体が薬剤に連結されたものを含む免疫複合体も本明細書で提供される。30

**【0029】**

本開示は、本明細書に開示の抗IL-7R抗体、核酸、ベクター、細胞、または免疫複合体と、担体と、を含む組成物をさらに提供する。

**【0030】**

本開示では、本明細書に開示の抗IL-7R抗体、核酸、ベクター、細胞、または免疫複合体と、使用のための説明と、を含むキットも提供される。

**【0031】**

IL-7活性の阻害を必要とする対象において当該阻害を行う方法が本明細書で提供され、この方法は、本明細書に開示の抗IL-7R抗体、核酸、ベクター、細胞、または免疫複合体を対象に投与することを含む。40

**【0032】**

エフェクターT細胞の増殖の抑制、及び/または制御性T細胞の発生及び/または生存の誘導を必要とする対象において当該抑制及び/または誘導を行う方法が本明細書で提供され、この方法は、本明細書に開示の抗IL-7R抗体、核酸、ベクター、細胞、または免疫複合体を対象に投与することを含む。

**【0033】**

炎症性疾患または自己免疫疾患の治療を必要とする対象において当該治療を行う方法も本明細書で提供され、この方法は、本明細書に開示の抗IL-7R抗体、核酸、ベクター、細胞、または免疫複合体を対象に投与することを含む。ある特定の実施形態では、炎症性疾患または自己免疫疾患は、炎症性腸疾患（IBD）、過敏性腸症候群、関節リウマチ50

(R A)、乾癬、乾癬性関節炎、全身性エリテマトーデス(S L E)、ループス腎炎、血管炎、敗血症、全身性炎症反応症候群(S I R S)、I型糖尿病、グレーブス病、多発性硬化症(M S)、自己免疫性心筋炎、川崎病、冠動脈疾患、慢性閉塞性肺疾患、間質性肺疾患、自己免疫性甲状腺炎、強皮症、全身性硬化症、変形性関節症、アトピー性皮膚炎、白斑、移植片対宿主病、シェーグレン症候群、自己免疫性腎炎、グッドパスチャー症候群、慢性炎症性脱髓性多発神経炎、アレルギー、喘息、急性または慢性の炎症の結果である他の自己免疫疾患、及びそれらの任意の組み合わせ、からなる群から選択される。いくつかの実施形態では、炎症性疾患または自己免疫疾患は、炎症性腸疾患である。別の実施形態では、炎症性腸疾患は、潰瘍性大腸炎またはクローン病である。

## 【0034】

10

いくつかの実施形態では、対象(例えば、本明細書に記載の対象)は、これまでのTNF-阻害剤治療が十分に奏功しなかった対象(抗TNF-の効果が不十分なレスポンダー)である。

## 【0035】

いくつかの実施形態では、本明細書に開示の方法は、1つ以上の追加の治療を施すことをさらに含み得る。ある特定の実施形態では、追加の治療は、抗TNF-抗体を含む。

## 【0036】

いくつかの実施形態では、本明細書に開示の抗IL-7R抗体は、一律用量または体重ベースの用量で対象に投与される。いくつかの実施形態では、抗IL-7R抗体は、静脈内、皮下、筋肉内、皮内、または腹腔内に投与される。ある特定の実施形態では、抗IL-7R抗体は、静脈内または皮下に投与される。

20

## 【0037】

ヒトIL-7受容体のアルファ鎖に特異的に結合する抗体(「抗IL-7R抗体」)の生成方法も本明細書で提供され、この方法は、本明細書に記載の細胞を適切な条件の下で培養すること、及び抗体を単離すること、を含む。

## 【図面の簡単な説明】

## 【0038】

【図1】CD3+細胞(すなわち、非T細胞)に対する抗IL-7R抗体の結合をフローサイトメトリーによって測定して得た結合曲線を示す。x軸は、抗IL-7R抗体の濃度( $\mu\text{g}/\text{mL}$ )を示し、y軸は、結合の平均蛍光強度(MFI)を示す。

30

【図2】A及びBは、抗IL-7R抗体を単回静脈内投与した後のカニクイザルにおけるカニクイザルIL-7Rに対する当該抗体の交差反応性を示す。Aは、CD4<sup>+</sup>CD45RA<sup>+</sup>T細胞上に発現している全IL-7Rのうちで占有されたもののパーセントを抗IL-7R抗体の血清中濃度( $\text{ng}/\text{mL}$ )の関数として示す。Bは、CD4<sup>+</sup>CD45RA<sup>+</sup>T細胞におけるpSTAT5活性化を抗IL-7R抗体の血清中濃度( $\text{nM}$ )の関数として示す。pSTAT5活性化は、全STAT5のうちでリン酸化されたもののパーセントとして示される。A及びBの両方において、抗体の血清中濃度は、抗IL-7R抗体へのCD4<sup>+</sup>CD45RA<sup>+</sup>T細胞の測定曝露量を表すことが意図される。

【図3】単回静脈内投与後のNOD SCIDガンマ(NSG)-ヒトPBM C移植マウスにおける抗IL-7R抗体の薬物動態(血清中濃度)を示す。2つの用量(0.5mg/kg(実線付きの黒四角)または5mg/kg(破線付きの白四角))のいずれかで抗IL-7R抗体をマウスに投与した。対照マウスには、0.5mg/kg(実線付きの黒丸)または5mg/kg(破線付きの白丸)でA3312F抗体を投与した。データは、平均値±標準偏差として示される。

40

【図4】抗IL-7R抗体を単回静脈内投与した後のカニクイザルにおける薬物動態(血清中濃度)及び抗薬物抗体(ADA)形成を共に示す。3つの用量(0.1mg/kg(四角)、0.5mg/kg(丸)、または3mg/kg(三角))のうちの1つで抗体を動物に投与した。異なる用量での抗体の血清中濃度(左y軸)は実線として示される。抗薬物抗体(すなわち、投与した抗IL-7R抗体に対する抗体)形成(右y軸)は破線として示される。データは、平均値±標準偏差として示される。

50

【図5】単回静脈内投与後のカニクイザルにおける抗IL-7R抗体及びA3312F抗体の薬物動態（血清中濃度）を比較したものを示す。3つの用量（0.1mg/kg（実線付きの黒四角）、0.5mg/kg（実線付きの黒丸）、または3mg/kg（実線付きの黒三角））のうちの1つで抗IL-7R抗体を動物に投与した。対照動物には、下記の用量（0.1mg/kg（破線付きの白四角）、0.5mg/kg（破線付きの白丸）、または3mg/kg（破線付きの白三角））のうちの1つでA3312F抗体を投与した。データは、平均値±標準偏差として示される。

【図6】抗IL-7R抗体（四角）またはA3312F抗体（三角）を単回静脈内投与した後のカニクイザルにおけるCD4<sup>+</sup>CD45RA<sup>+</sup>T細胞におけるpSTAT5活性化を示す。pSTAT5活性化は、全STAT5のうちでリン酸化されたもののパーセントとして示される。抗体の血清中濃度は、抗体へのCD4<sup>+</sup>CD45RA<sup>+</sup>T細胞の測定曝露量を表すことが意図される。

【図7A】抗IL-7R抗体（3mg/kg）を単回静脈内投与した後の異なるカニクイザルの末梢血中で観測された異なるT細胞集団の頻度を示す。Aは、CD3<sup>+</sup>T細胞の頻度を全リンパ球に占めるパーセントとして示す。B及びCは、それぞれCD4<sup>+</sup>T細胞の頻度及びCD8<sup>+</sup>T細胞の頻度を全CD3<sup>+</sup>T細胞集団に占めるパーセントとして示す。A、B、及びCでは、投与前（個々のサルの各棒セットの左から1番目の棒）、ならびに抗体投与後4日目（個々のサルの各棒セットの左から2番目）、抗体投与後8日目（個々のサルの各棒セットの左から3番目）、及び抗体投与後15日目（個々のサルの各棒セットの左から4番目）に異なるT細胞集団の頻度を観察した。×軸は、各サルの識別番号を示す。

【図7B】抗IL-7R抗体（3mg/kg）を単回静脈内投与した後の異なるカニクイザルの末梢血中で観測された異なるT細胞集団の頻度を示す。Aは、CD3<sup>+</sup>T細胞の頻度を全リンパ球に占めるパーセントとして示す。B及びCは、それぞれCD4<sup>+</sup>T細胞の頻度及びCD8<sup>+</sup>T細胞の頻度を全CD3<sup>+</sup>T細胞集団に占めるパーセントとして示す。A、B、及びCでは、投与前（個々のサルの各棒セットの左から1番目の棒）、ならびに抗体投与後4日目（個々のサルの各棒セットの左から2番目）、抗体投与後8日目（個々のサルの各棒セットの左から3番目）、及び抗体投与後15日目（個々のサルの各棒セットの左から4番目）に異なるT細胞集団の頻度を観察した。×軸は、各サルの識別番号を示す。

【図7C】抗IL-7R抗体（3mg/kg）を単回静脈内投与した後の異なるカニクイザルの末梢血中で観測された異なるT細胞集団の頻度を示す。Aは、CD3<sup>+</sup>T細胞の頻度を全リンパ球に占めるパーセントとして示す。B及びCは、それぞれCD4<sup>+</sup>T細胞の頻度及びCD8<sup>+</sup>T細胞の頻度を全CD3<sup>+</sup>T細胞集団に占めるパーセントとして示す。A、B、及びCでは、投与前（個々のサルの各棒セットの左から1番目の棒）、ならびに抗体投与後4日目（個々のサルの各棒セットの左から2番目）、抗体投与後8日目（個々のサルの各棒セットの左から3番目）、及び抗体投与後15日目（個々のサルの各棒セットの左から4番目）に異なるT細胞集団の頻度を観察した。×軸は、各サルの識別番号を示す。

【図8】抗IL-7R抗体の異なる生産ロットの潜在的な免疫原性リスクを、樹状細胞：T細胞増殖アッセイを使用してインビトロで測定したものを示す。試験した異なる抗IL-7R抗体には、(i) P1-061895-2、(ii) P1-066930-3、(iii) P1-066930-9、及び(iv) 抗体A RACIRが含まれる。Avastin及び抗IL-21R抗体(IL-21R mAb)は、それぞれ陰性対照及び陽性対照として示される。

【図9】HDX-MSエピトープマッピング分析を行った際のヒトIL-7Rの配列カバー率を示す。各棒は、消化ペプチドを示す。

【図10】HDX-MSエピトープマッピング分析を使用して同定された抗IL-7R抗体の5つのエピトープについて重水素の取り込み差異を示す。示されるこれら5つのエピトープには下記のものが含まれる：(i) <sup>24</sup>S Q L E V N G S Q H S L T C A F<sup>39</sup>、(

10

20

30

40

50

i i )<sup>7 3</sup> F I E T K K F L L I G K S N I C<sup>8 8</sup>、( i i i )<sup>8 9</sup> V K V G E K S L T C  
K K I D L T T<sup>1 0 5</sup>、( i v )<sup>1 3 6</sup> Q K K Y V K V L M H D V A Y<sup>1 4 9</sup>、及び( v )<sup>1</sup>  
<sup>8 1</sup> Y E I K V R S I P D H Y F K G F<sup>1 9 6</sup>。黒色の縦棒は、各ペプチドの重水素化差異  
の合計を示す。線は、異なる時点（すなわち、1分（「（2）」）、10分（「（3）」）  
）、及び240分（「（1）」）での各ペプチドの重水素化差異を表す

【図11A】抗IL-7R抗体のエピトープマッピング分析をまとめたものを示す。この  
図では、ヒトIL-7Rの直鎖配列に対してエピトープをマッピングした。HDX-M  
S分析を使用して同定されたエピトープは実線で示される。FPOP/GEE分析を使用  
して同定されたエピトープは点線で示される。FPOP分析を使用して同定されたエピト  
ープの残基のうちで最も保護された残基は丸で示される。GEE分析を使用して同定され  
たエピトープの残基のうちで最も保護された残基は三角で示される。示される番号付けは  
、ヒトIL-7Rの成熟配列に対応するものである。  
10

【図11B】抗IL-7R抗体のエピトープマッピング分析をまとめたものを示す。この  
図では、ヒトIL-7Rの結晶構造にエピトープがマッピングされている。左側の結晶  
構造は、HDX-MS分析を使用して同定されたエピトープを示す。右側の結晶構造は、  
FPOP/GEE分析を使用して同定されたエピトープを示す。これらの結晶構造の下には  
エピトープの配列が示される。

【図12】A及びBは、サル及びヒトにおけるPKデータ及びPDデータの特徴付けに使  
用した抗IL-7R抗体のPKモデル（A）及びPK/OD機構モデル（B）の模式図を  
示す。  
20

【図13】抗IL-7R抗体の推定ヒト用量（70kgの成人の皮下への2週間ごとの1  
10mg用量）で予測されるヒト薬物動態（抗IL-7R抗体の血清中濃度に基づくもの  
）（左y軸）及び受容体占有率（右y軸）を示す。上の線（「RO」）は、受容体占有  
率データを示す。下の線（「PK」）は、薬物動態データを示す。

【図14】A及びBは、scFvとして再編成した後の18B1抗体（抗体A）の、ヒト  
IL-7Rに対する結合を示す。Aは、異なる濃度で18B1 scFvの結合を比較し  
たものを示す。Bは、ka値、kd値、及びKD値を示す。

【図15】重鎖CDR及び軽鎖CDR内の特定のアミノ酸残基を示し、これらのアミノ酸  
残基は、実施例11に記載の変異スキャン分析を行うために個々に変異させたものである。

【図16】18B1 scFvの1回の選択から得られた結果を示す。ヒトIL-7Rに  
対する18B1重鎖及び18B1軽鎖の結合パーセントが、ビオチン-IL-7Rと比較  
したものとして示される。18B1重鎖及び18B1軽鎖は、2つの異なる濃度（0.2  
nM及び1nM）で試験した。  
30

【図17A】実施例11に記載の変異スキャンライブラリーの構築及び次世代シークエン  
シング（NGS）の使用に関する全プロセスの模式図を示し、これらを行うことで、1)  
結合に重要なCDR位置、2)変異が許容されるCDR位置、及び3)hIL-7Rに対する  
抗体の結合を改善し得る変異が同定される。この図は、プロセス自体のさまざまな態  
様を示す。

【図17B】実施例11に記載の変異スキャンライブラリーの構築及び次世代シークエン  
シング（NGS）の使用に関する全プロセスの模式図を示し、これらを行うことで、1)  
結合に重要なCDR位置、2)変異が許容されるCDR位置、及び3)hIL-7Rに対する  
抗体の結合を改善し得る変異が同定される。この図は、ヒートマップから得られる結果  
の解釈に関する簡単な説明を示す。  
40

【図18A】LC CDR3中に変異を1つ有する18B1抗体バリエントについてのヒ  
ートマップ結果を示す。2つの異なる濃度（0.2nM及び1nM）で抗体バリエントを  
試験した。最も左の縦列は、特定のアミノ酸残基に導入した具体的な変異を示す。関連ボ  
ックスには、異なる変異に対するエンリッチメントスコアが示される。図17B中で説明  
されるように、エンリッチメントスコアが1を上回ることは、変異が好ましいこと（すな  
わち、結合が改善すること）を示唆し、エンリッチメントスコアが大きくなることは、変  
異がより好ましいものであることを示唆している。エンリッチメントスコアが1であるこ  
50

とは、変異が中立であること（すなわち、顕著な影響を結合に及ぼさないこと）を示唆する。エンリッチメントスコアが1を下回ることは、変異が好ましくないこと（すなわち、結合を損なうこと）を示唆する。

【図18B】H C C D R 3中に変異を1つ有する18B1抗体バリアントについてのヒートマップ結果を示す。2つの異なる濃度（0 . 2 n M及び1 n M）で抗体バリアントを試験した。最も左の縦列は、特定のアミノ酸残基に導入した具体的な変異を示す。関連ボックスには、異なる変異に対するエンリッチメントスコアが示される。図17B中で説明されるように、エンリッチメントスコアが1を上回ることは、変異が好ましいこと（すなわち、結合が改善すること）を示唆し、エンリッチメントスコアが大きくなることは、変異がより好ましいものであることを示唆している。エンリッチメントスコアが1であることは、変異が中立であること（すなわち、顕著な影響を結合に及ぼさないこと）を示唆する。エンリッチメントスコアが1を下回ることは、変異が好ましくないこと（すなわち、結合を損なうこと）を示唆する。

【図18C】L C C D R 1中に変異を1つ有する18B1抗体バリアントについてのヒートマップ結果を示す。2つの異なる濃度（0 . 2 n M及び1 n M）で抗体バリアントを試験した。最も左の縦列は、特定のアミノ酸残基に導入した具体的な変異を示す。関連ボックスには、異なる変異に対するエンリッチメントスコアが示される。図17B中で説明されるように、エンリッチメントスコアが1を上回ることは、変異が好ましいこと（すなわち、結合が改善すること）を示唆し、エンリッチメントスコアが大きくなることは、変異がより好ましいものであることを示唆している。エンリッチメントスコアが1であることは、変異が中立であること（すなわち、顕著な影響を結合に及ぼさないこと）を示唆する。エンリッチメントスコアが1を下回ることは、変異が好ましくないこと（すなわち、結合を損なうこと）を示唆する。

【図18D】L C C D R 2中に変異を1つ有する18B1抗体バリアントについてのヒートマップ結果を示す。2つの異なる濃度（0 . 2 n M及び1 n M）で抗体バリアントを試験した。最も左の縦列は、特定のアミノ酸残基に導入した具体的な変異を示す。関連ボックスには、異なる変異に対するエンリッチメントスコアが示される。図17B中で説明されるように、エンリッチメントスコアが1を上回ることは、変異が好ましいこと（すなわち、結合が改善すること）を示唆し、エンリッチメントスコアが大きくなることは、変異がより好ましいものであることを示唆している。エンリッチメントスコアが1であることは、変異が中立であること（すなわち、顕著な影響を結合に及ぼさないこと）を示唆する。エンリッチメントスコアが1を下回ることは、変異が好ましくないこと（すなわち、結合を損なうこと）を示唆する。

【図18E】H C C D R 1中に変異を1つ有する18B1抗体バリアントについてのヒートマップ結果を示す。2つの異なる濃度（0 . 2 n M及び1 n M）で抗体バリアントを試験した。最も左の縦列は、特定のアミノ酸残基に導入した具体的な変異を示す。関連ボックスには、異なる変異に対するエンリッチメントスコアが示される。図17B中で説明されるように、エンリッチメントスコアが1を上回ることは、変異が好ましいこと（すなわち、結合が改善すること）を示唆し、エンリッチメントスコアが大きくなることは、変異がより好ましいものであることを示唆している。エンリッチメントスコアが1であることは、変異が中立であること（すなわち、顕著な影響を結合に及ぼさないこと）を示唆する。エンリッチメントスコアが1を下回ることは、変異が好ましくないこと（すなわち、結合を損なうこと）を示唆する。

【図18F】H C C D R 2中に変異を1つ有する18B1抗体バリアントについてのヒートマップ結果を示す。2つの異なる濃度（0 . 2 n M及び1 n M）で抗体バリアントを試験した。最も左の縦列は、特定のアミノ酸残基に導入した具体的な変異を示す。関連ボックスには、異なる変異に対するエンリッチメントスコアが示される。図17B中で説明されるように、エンリッチメントスコアが1を上回ることは、変異が好ましいこと（すなわち、結合が改善すること）を示唆し、エンリッチメントスコアが大きくなることは、変異がより好ましいものであることを示唆している。エンリッチメントスコアが1であるこ

10

20

30

40

50

とは、変異が中立であること（すなわち、顕著な影響を結合に及ぼさないこと）を示唆する。エンリッチメントスコアが1を下回ることは、変異が好ましくないこと（すなわち、結合を損なうこと）を示唆する。

【図19-1】(i) KD値（バリアント抗体に対する親18B1抗体の比として示される）及び(ii)異なる18B1抗体バリアントについてのNGSヒートマップ分析から得られたエンリッチメント比を示す。

【図19-2】(i) KD値（バリアント抗体に対する親18B1抗体の比として示される）及び(ii)異なる18B1抗体バリアントについてのNGSヒートマップ分析から得られたエンリッチメント比を示す。

【図20】A及びBは、実施例11に記載の18B1（抗体A）及び18B1アラニンバリアントの結合評価に使用したBiacore速度論形式の概要を示す。使用した具体的な条件は、Aの左側部分に示される。Aの右側部分には、18B1抗体のBiacoreセンサーグラムが示される。Bは、使用したBiacoreアッセイの模式図を示す。

【図21】ヒトIL-7Rに対する異なる18B1抗体バリアントの結合をBiacore分析によって測定したデータを示す。

【図22】例示の18B1抗体バリアントの表面プラズモン共鳴(SPR)プロファイルを示す。各抗体バリアントについて、SPRプロファイルの下にka値、kd値、及びKD値が示される。

【図23】異なる18B1抗体バリアントについてKD値の分布をグラフにまとめたものを示す。各抗体バリアントは、どのCDRに変異が導入されたかに基づいて分けられている。各丸は、個々の抗体を表す。

【図24】異なるアラニンバリアントについて、KD値（四角）と、NGSを使用して得られたヒートマップ結果（白丸）との間の相関を示す。X軸には具体的な変異（軽鎖CDR中またはHCCDR中のもの）が示される。

【図25】A及びBは、18B1抗体のFab断片の結晶構造を示す。Aでは、18B1抗体の重鎖（暗灰色）及び軽鎖（淡灰色）が示される。Bでは、IL-7Rへの結合に重要な残基が暗灰色で示される。結合が改善するように改変し得る残基は黒色で示される。

【図26】18B1抗体を皮下投与したサルから単離したCD3<sup>+</sup>白血球上でのIL-7R発現を比較したものを示す。18B1抗体は下記の用量のうちの1つで投与した：(i) 2mg/kg（「四角」）、(ii) 10mg/kg（「三角」）、及び(iii) 50mg/kg（「菱形」）。18B1抗体を投与しない動物を対照（「丸」）として使用した。IL-7R発現は、フローサイトメトリーを使用して測定した平均蛍光強度(MFI)として示される。IL-7R発現は、抗体投与後、下記の日に測定した：1日目、4時間；5日目；8日目；22日目；36日目；36日目、4時間；40日目；43日目；64日目；及び99日目。

【図27A】18B1抗体を皮下投与したサルにおけるキーホールリンペットヘモシアニン(KLH)誘導性のIgM抗体応答(A)及びIgG抗体応答(B)を比較したものを見ます。18B1抗体は下記の用量のうちの1つで投与した：(i) 2mg/kg（「四角」）、(ii) 10mg/kg（「三角」）、及び(iii) 50mg/kg（「菱形」）。18B1抗体を投与しない動物を対照（「丸」）として使用した。KLH誘導性のIgM応答及びIgG応答は、ELISAを使用して動物の血清において測定したKLH特異的なIgM抗体及びIgG抗体のエンドポイント力値を記載することによって示されます。Aに示されるように、KLH特異的IgMは、18B1抗体の投与から15日目、22日目、及び29日目（すなわち、KLHでの免疫から、それぞれ0日目、7日目、及び14日目）に測定しました。Bに示されるように、KLH特異的IgGは、18B1抗体の投与から15日目、29日目、36日目、及び43日目（すなわち、KLHでの免疫から、それぞれ0日目、14日目、21日目、及び28日目）に測定しました。

【図27B】18B1抗体を皮下投与したサルにおけるキーホールリンペットヘモシアニン(KLH)誘導性のIgM抗体応答(A)及びIgG抗体応答(B)を比較したものを見ます。18B1抗体は下記の用量のうちの1つで投与した：(i) 2mg/kg（「四角」）、(ii) 10mg/kg（「三角」）、及び(iii) 50mg/kg（「菱形」）。18B1抗体を投与しない動物を対照（「丸」）として使用した。KLH誘導性のIgM応答及びIgG応答は、ELISAを使用して動物の血清において測定したKLH特異的なIgM抗体及びIgG抗体のエンドポイント力値を記載することによって示されます。Aに示されるように、KLH特異的IgMは、18B1抗体の投与から15日目、22日目、及び29日目（すなわち、KLHでの免疫から、それぞれ0日目、7日目、及び14日目）に測定されました。Bに示されるように、KLH特異的IgGは、18B1抗体の投与から15日目、29日目、36日目、及び43日目（すなわち、KLHでの免疫から、それぞれ0日目、14日目、21日目、及び28日目）に測定されました。

10

20

30

40

50

」)、(i i) 10 mg / kg (「三角」)、及び(i i i) 50 mg / kg (「菱形」)。18B1抗体を投与しない動物を対照(「丸」)として使用した。KLH誘導性のIgM応答及びIgG応答は、ELISAを使用して動物の血清において測定したKLH特異的なIgM抗体及びIgG抗体のエンドポイント力価を記載することによって示される。Aに示されるように、KLH特異的IgMは、18B1抗体の投与から15日目、22日目、及び29日目(すなわち、KLHでの免疫から、それぞれ0日目、7日目、及び14日目)に測定した。Bに示されるように、KLH特異的IgGは、18B1抗体の投与から15日目、29日目、36日目、及び43日目(すなわち、KLHでの免疫から、それぞれ0日目、14日目、21日目、及び28日目)に測定した。

【図28A】3つの参照抗IL-7R抗体(それぞれ4A8、13A10、及びPFE A3312F)についてHDX-MSエピトープマッピング分析を使用して同定された異なるエピトープの重水素の取り込み差異を示す。4A8抗体についてAに示されるエピトープには下記のものが含まれる:(i) <sup>5</sup>7 L V E V K C L N F <sup>6</sup>5、(i i) <sup>7</sup>3 F I E T K K F L L I G K S N I C <sup>8</sup>8、(i i i) <sup>1</sup>3<sup>6</sup> Q K K Y V K V L M H D V A Y <sup>1</sup>4<sup>9</sup>、及び(i v) <sup>1</sup>8<sup>1</sup> Y E I K V R S I P D H Y F K G F <sup>1</sup>9<sup>6</sup>。13A10抗体についてBに示されるエピトープには下記のものが含まれる:(i) <sup>7</sup>3 F I E T K K F L L I G K S N I C <sup>8</sup>8、(i i) <sup>8</sup>9 V K V G E K S L T C K K I D L T T <sup>1</sup>0<sup>5</sup>、(i i i) <sup>1</sup>3<sup>6</sup> Q K K Y V K V L M H D V A Y <sup>1</sup>4<sup>9</sup>、及び(i v) <sup>1</sup>8<sup>1</sup> Y E I K V R S I P D H Y F K G F <sup>1</sup>9<sup>6</sup>。PFE A3312FについてCに示されるエピトープには下記のものが含まれる:(i) <sup>2</sup>4 S Q L E V N G S Q H S L T C A <sup>3</sup>8、(i i) <sup>5</sup>2 E I C G A L V E V K C L N F <sup>6</sup>5、(i i i) <sup>7</sup>3 F I E T K K F L L I G K S N I C <sup>8</sup>8、(i v) <sup>8</sup>9 V K V G E K S L T C K K I D L T T <sup>1</sup>0<sup>5</sup>、(V) <sup>1</sup>0<sup>4</sup> T T I V K P E A P F D L S V <sup>1</sup>1<sup>7</sup>、(v i) <sup>1</sup>0<sup>9</sup> P E A P F D L S V I Y R E <sup>1</sup>2<sup>1</sup>、(v i i) <sup>1</sup>3<sup>6</sup> Q K K Y V K V L M H D V A Y <sup>1</sup>4<sup>9</sup>、(v i i i) <sup>1</sup>6<sup>9</sup> T L L Q R K L Q P A A M <sup>1</sup>8<sup>0</sup>、及び(ix) <sup>1</sup>8<sup>1</sup> Y E I K V R S I P D H Y F K G F <sup>1</sup>9<sup>6</sup>。黒色の縦棒は、各ペプチドの重水素化差異の合計を示す。線は、異なる時点(すなわち、1分(「(2)」)、10分(「(3)」)、及び240分(「(1)」)での各ペプチドの重水素化差異を表す

【図28B】3つの参照抗IL-7R抗体(それぞれ4A8、13A10、及びPFE A3312F)についてHDX-MSエピトープマッピング分析を使用して同定された異なるエピトープの重水素の取り込み差異を示す。4A8抗体についてAに示されるエピトープには下記のものが含まれる:(i) <sup>5</sup>7 L V E V K C L N F <sup>6</sup>5、(i i) <sup>7</sup>3 F I E T K K F L L I G K S N I C <sup>8</sup>8、(i i i) <sup>1</sup>3<sup>6</sup> Q K K Y V K V L M H D V A Y <sup>1</sup>4<sup>9</sup>、及び(i v) <sup>1</sup>8<sup>1</sup> Y E I K V R S I P D H Y F K G F <sup>1</sup>9<sup>6</sup>。13A10抗体についてBに示されるエピトープには下記のものが含まれる:(i) <sup>7</sup>3 F I E T K K F L L I G K S N I C <sup>8</sup>8、(i i) <sup>8</sup>9 V K V G E K S L T C K K I D L T T <sup>1</sup>0<sup>5</sup>、(i i i) <sup>1</sup>3<sup>6</sup> Q K K Y V K V L M H D V A Y <sup>1</sup>4<sup>9</sup>、及び(i v) <sup>1</sup>8<sup>1</sup> Y E I K V R S I P D H Y F K G F <sup>1</sup>9<sup>6</sup>。PFE A3312FについてCに示されるエピトープには下記のものが含まれる:(i) <sup>2</sup>4 S Q L E V N G S Q H S L T C A <sup>3</sup>8、(i i) <sup>5</sup>2 E I C G A L V E V K C L N F <sup>6</sup>5、(i i i) <sup>7</sup>3 F I E T K K F L L I G K S N I C <sup>8</sup>8、(i v) <sup>8</sup>9 V K V G E K S L T C K K I D L T T <sup>1</sup>0<sup>5</sup>、(V) <sup>1</sup>0<sup>4</sup> T T I V K P E A P F D L S V <sup>1</sup>1<sup>7</sup>、(v i) <sup>1</sup>0<sup>9</sup> P E A P F D L S V I Y R E <sup>1</sup>2<sup>1</sup>、(v i i) <sup>1</sup>3<sup>6</sup> Q K K Y V K V L M H D V A Y <sup>1</sup>4<sup>9</sup>、(v i i i) <sup>1</sup>6<sup>9</sup> T L L Q R K L Q P A A M <sup>1</sup>8<sup>0</sup>、及び(ix) <sup>1</sup>8<sup>1</sup> Y E I K V R S I P D H Y F K G F <sup>1</sup>9<sup>6</sup>。黒色の縦棒は、各ペプチドの重水素化差異の合計を示す。線は、異なる時点(すなわち、1分(「(2)」)、10分(「(3)」)、及び240分(「(1)」)での各ペプチドの重水素化差異を表す

【図28C】3つの参照抗IL-7R抗体(それぞれ4A8、13A10、及びPFE A3312F)についてHDX-MSエピトープマッピング分析を使用して同定された異なるエピトープの重水素の取り込み差異を示す。4A8抗体についてAに示されるエピトープには下記のものが含まれる:(i) <sup>5</sup>7 L V E V K C L N F <sup>6</sup>5、(i i) <sup>7</sup>3 F I E T K K F L L I G K S N I C <sup>8</sup>8、(i i i) <sup>1</sup>3<sup>6</sup> Q K K Y V K V L M H D V A Y <sup>1</sup>4<sup>9</sup>

10

20

30

40

50

、及び(i<sub>v</sub>)<sup>181</sup>YEIKVRSIPDHYFKGF<sup>196</sup>。13A10抗体についてBに示されるエピトープには下記のものが含まれる：(i)<sup>73</sup>FIEETKKFLLIGKSNIC<sup>88</sup>、(ii)<sup>89</sup>VKVGEKSLTCKKIDLTT<sup>105</sup>、(iii)<sup>136</sup>QKKYVKVLMDVAY<sup>149</sup>、及び(iv)<sup>181</sup>YEIKVRSIPDHYFKGF<sup>196</sup>。PFE A3312FについてCに示されるエピトープには下記のものが含まれる：(i)<sup>24</sup>SQLLEVNGSQHSLTCA<sup>38</sup>、(ii)<sup>52</sup>EICGALVEVKCLNF<sup>65</sup>、(iii)<sup>73</sup>FIEETKKFLLIGKSNIC<sup>88</sup>、(iv)<sup>89</sup>VKVGEKSLTCKKIDLTT<sup>105</sup>、(v)<sup>104</sup>TTIVKPEAPFDLSV<sup>117</sup>、(vi)<sup>109</sup>PEAPFDLSVIYRE<sup>121</sup>、(vii)<sup>136</sup>QKKYVKVLMDVAY<sup>149</sup>、(viii)<sup>169</sup>TLLQRKLQPAAM<sup>180</sup>、及び(ix)<sup>181</sup>YEIKVRSIPDHYFKGF<sup>196</sup>。黒色の縦棒は、各ペプチドの重水素化差異の合計を示す。線は、異なる時点（すなわち、1分（「(2)」）、10分（「(3)」）、及び240分（「(1)」）での各ペプチドの重水素化差異を表す

【図29】A、B、及びCは、3つの参照抗IL-7R抗体（それぞれ4A8、13A10、及びPFE A3312F）のエピトープをヒトIL-7Rタンパク質の結晶構造にマッピングしたものを示す。

#### 【発明を実施するための形態】

##### 【0039】

本開示の説明の理解が容易に深まり得るように、ある特定の用語が最初に定義される。  
追加の定義については、詳細な説明を通じて示される。

##### 【0040】

「a」実体または「an」実体という用語は、その実体の1つ以上を指すことに留意されたい。例えば、「ヌクレオチド配列（a nucleotide sequence）」は、1つ以上のヌクレオチド配列を表すことが理解されよう。したがって、「a」（または「an」）、「1つ以上」、及び「少なくとも1つの」という用語は、本明細書では互換的に使用され得る。

##### 【0041】

さらに、本明細書で使用される「及び／または」は、2つの特定の特徴または成分のそれぞれを、もう一方と共に、またはもう一方を含まずに、具体的に開示するものと解釈されたい。したがって、本明細書の「A及び／またはB」などの語句において使用される「及び／または」という用語は、「A及びB」、「AまたはB」、「A（単独）」、ならびに「B」（単独）を含むことが意図される。同様に、「A、B、及び／またはC」などの語句において使用される「及び／または」という用語は、下記の態様のそれぞれを包含することが意図される：A、B、及びC；A、B、またはC；AまたはC；AまたはB；BまたはC；A及びC；A及びB；B及びC；A（単独）；B（単独）；ならびにC（単独）。

##### 【0042】

「含む」という言葉を用いて本明細書に態様が記載される場合、その記載箇所を問わず、「含む」という言葉が用いられない以外は同様に「からなる」及び／または「から本質的になる」と関連付けて説明される態様も提供されることが理解されよう。

##### 【0043】

別段の定義がない限り、本明細書で使用される専門用語及び科学用語はすべて、本開示と関連する技術分野の当業者によって一般に理解される意味と同じ意味を有する。本開示で使用される用語の多くについて、当業者にとって一般的な辞書となるものは、例えば、Concise Dictionary of Biomedicine and Molecular Biology, Juo, Pei-Show, 2nd ed., 2002, CRC Press, The Dictionary of Cell and Molecular Biology, 3rd ed., 1999, Academic Press、及びthe Oxford Dictionary Of Biochemistry And Molecular Biology, Revised, 2000, Oxford

10

20

30

40

50

University Pressである。

#### 【0044】

単位、接頭辞、及び記号は、それらが国際単位系（S I）で認められた形式で示される。数値範囲は、範囲を定義する数を含む。別段の指定がない限り、スクレオチド配列は、5'から3'の方向で左から右に記載される。アミノ酸配列は、アミノ末端からカルボキシ末端の方向で左から右に記載される。本明細書で提供される見出しあり、本開示のさまざまな態様を限定するものではなく、こうした態様は、参照によって全体として本明細書に組み込まれ得るものである。したがって、以下に定義される用語は、その全体が参照によつてより完全に本明細書に定義される。

#### 【0045】

「約」という用語は、およそ、大まかに、大体、またはほぼを意味するために本明細書で使用される。「約」という用語は、数値範囲と併用される場合、示される数値の上下に境界を拡張することによって当該範囲を改変する。一般に、「約」という用語は、上下の変動（例えば、10パーセントの変動）（上昇または低下）によって記載値の上下に数値を改変し得る。

10

#### 【0046】

本明細書で使用される「IL - 7R」及び「IL - 7受容体」という用語は、IL - 7Rの活性の少なくとも一部を保持するIL - 7Rのバリエントを含めて、任意の形態のIL - 7Rを指す。IL - 7Rは、サブユニット（IL - 7R、すなわちCD127）及びサイトカイン受容体共通鎖（c）からなるヘテロ二量体である。IL - 7Rサブユニットは、ナイーブT細胞及びメモリーT細胞、ならびに発生B細胞を含めて、さまざまな細胞型に発現する。本明細書で使用されるIL - 7Rという用語は、いくつかの態様では、サブユニットを指し、IL - 7Rと互換的に使用される。

20

#### 【0047】

ヒトIL - 7Rのアイソフォームは4つ同定されている。アイソフォーム1（受入番号NP\_002176.2（配列番号1））は459個のアミノ酸からなり、標準配列となっている。アイソフォーム2（受入番号P16871-4（配列番号2））は252個のアミノ酸からなり、可溶性である。アイソフォーム2は、アミノ酸残基253～459を欠いており、これらのアミノ酸残基は、膜貫通ドメインの一部及び細胞質ドメイン全体をコードするものである。アミノ酸237～252もまた、標準配列（すなわち、アイソフォーム1）と異なる。アイソフォーム3（受入番号P16871-2（配列番号3））は298個のアミノ酸からなり、細胞質ドメインが短縮されている。アイソフォーム3は、アミノ酸残基293～459が標準配列と異なる。アイソフォーム4（受入番号P16871-3（配列番号4））は261個のアミノ酸からなり、可溶性である。アイソフォーム4は、アミノ酸残基237～459が標準配列と異なる。

30

#### 【0048】

以下には、これら4つの既知のヒトIL - 7Rアイソフォームのアミノ酸配列が示される。

#### 【化1】

(A) ヒトIL-7R $\alpha$ アイソフォーム1（受入番号NP\_002176.2（配列番号1）（受入番号NM\_002185.4のスクレオチド配列（配列番号5）によってコードされる））：

40

MTILGTTFGMVFSLQQVVGESGYAQNGDLEDAELDDYSFSCYSQLEVNGSQHSLTCAFEDPDVNNTN  
LEFEICGALVEVKCLNFRKLQEIYFIETKKFLLIGKSNICVKVGEKSLTCKKIDLTTIVKPEAPFDLS  
VIYREGANDFVVTNFNTSHLQKKYVKVLMDVAYRQEKENKWTHVNLSSTKLQLQPAAMYEIK  
VRSIPDHYFKGFWSWSPSYFFRTPEINNSSGEMDPILLTISILSFFSVALLVILACVLWKKRIKPIV  
WPSLPDPDKKKTLEHLCKKPRKVSVFGA

50

## 【化 2】

(B) ヒトIL-7R $\alpha$ アイソフォーム2(受入番号P16871-4(配列番号2)):

MTILGTTFGMVFSLQQVSGESGYAQNGDLEDAELDDYSFSCYSQLEVNGSQHSLTCAFEDPDVNNTN  
 LEFEICGALVEVKCLNFRKLQEIYFIETKKFLLIGKSNICVKVGEKSLTCKKIDLTTIVKPEAPFDLS  
 VIYREGANDFVVTFNTSHLQKKYVKVLMDVAYRQEKENWKWTHVNLSSTKLTLQRKLQPAAMYEIK  
 VRSIPDHYFKGFWSWSPSYFRTPEINNSGLSLSYGPVSPPIRQEL

## 【化 3】

(C) ヒトIL-7R $\alpha$ アイソフォーム3(受入番号P16871-2(配列番号3)): 10

MTILGTTFGMVFSLQQVSGESGYAQNGDLEDAELDDYSFSCYSQLEVNGSQHSLTCAFEDPDVNNTN  
 LEFEICGALVEVKCLNFRKLQEIYFIETKKFLLIGKSNICVKVGEKSLTCKKIDLTTIVKPEAPFDLS  
 VIYREGANDFVVTFNTSHLQKKYVKVLMDVAYRQEKENWKWTHVNLSSTKLTLQRKLQPAAMYEIK  
 VRSIPDHYFKGFWSWSPSYFRTPEINNSGEMDPILLTISILSFFSVALLVILACVLWKKRIKPIV  
 WPSLPDHKKTLEHLCKKPRKVSVFGA

## 【化 4】

(D) ヒトIL-7R $\alpha$ アイソフォーム4(受入番号P16871-3(配列番号4)): 20

MTILGTTFGMVFSLQQVSGESGYAQNGDLEDAELDDYSFSCYSQLEVNGSQHSLTCAFEDPDVNNTN  
 LEFEICGALVEVKCLNFRKLQEIYFIETKKFLLIGKSNICVKVGEKSLTCKKIDLTTIVKPEAPFDLS  
 VIYREGANDFVVTFNTSHLQKKYVKVLMDVAYRQEKENWKWTHVNLSSTKLTLQRKLQPAAMYEIK  
 VRSIPDHYFKGFWSWSPSYFRTPEINNSGEMDPILLTISILSFFSVALLVILACVLWKKRIKPIV  
 WPSLPDHKKTLEHLCKKPRKVSVFGA

## 【0049】

アイソフォーム1~4のシグナル配列は、アミノ酸残基1~20(下線部)に対応する。  
 したがって、成熟形態(例えば、標準配列(アイソフォーム1)のもの)は、アミノ酸  
 21~459からなる。成熟ヒトIL-7R(例えば、アイソフォーム1)の細胞外ド  
 メインはアミノ酸残基21~239からなり、下記のアミノ酸配列を有する:

## 【化 5】

ESGYAQNGDLEDAELDDYSFSCYSQLEVNGSQHSLTCAFEDPDVNNTNLEFEICGALVEVKCLNFRKL  
 QEIYFIETKKFLLIGKSNICVKVGEKSLTCKKIDLTTIVKPEAPFDLSVIYREGANDFVVTFNTSHLQ  
 KKVKVLMDVAYRQEKENWKWTHVNLSSTKLTLQRKLQPAAMYEIKVRSIPDHYFKGFWSWSPSY  
 YFRTPEINNSGEMD

(配列番号6)。

## 【0050】

カニクイザルIL-7Rタンパク質は、下記のアミノ酸配列(シグナル配列(下線部)  
 )を含む)からなる:

10

20

30

40

50

## 【化6】

MTILGTTFGMVFSLLQVVSGESGYAQNGDLEDAELDDYSFSCYSQLEVNGSQHSLTCAFEDPDVNTTN  
LFEI~~E~~CGALVEVKCLSFRKLQE~~I~~YFIETKKFLIGKSNICVKVGGKSLTCKKIDLTIVKPEAPFDLS  
VIYREGANDFVVTFNTSHLQKKYVKVLMHDVAYRQE~~K~~DENKWMHVNLSS~~S~~TKL~~L~~QRNLQPEAMYEIK  
VRSIPDHYFKGF~~W~~SEWSPSYYFRTPEINNSPGEMDPILLTISLLSFFSVALLVILACVLWKKRIKPIV  
WPSLPDHKKTLEHLCKKPRKNLNVSFN~~P~~ESFLDCQIHRVDDIQARDEV~~E~~GFLQDTFPQQLEESKKQRL  
GGDVQSPSCPSEDVVITPESFERDSSLRCLAGNVSACDAPILSSSRSLDCRESGKNGPHVYQDLLLSL  
GTTNSTLPPPFSLQSGILTNPVAQGQPILTSI~~G~~SNQEEAYVTMSSFYQNQ

10

(配列番号7)。

## 【0051】

本明細書で使用される「TSLP」は、IL-7と酷似した増殖因子を指し、骨髄系細胞（例えば、単球及び樹状細胞）の成熟及び活性化において役割を果たす。TSLPは、さまざまな細胞型（線維芽細胞、上皮細胞、及び間質細胞など）によって産生される。TSLPのレベル上昇は、疾患（喘息、アトピー性皮膚炎、及び炎症性関節炎など）と関連しており、こうした疾患は、IL-7の制御異常と関連することも知られている。Ngyen V., et al., J Immunol Res 2017: 4807853 (2017)。

20

## 【0052】

本明細書で使用される「抗体」という用語は、ジスルフィド結合によって互いに連結された少なくとも2つの重(H)鎖及び2つの軽(L)鎖を含むタンパク質を指す。各重鎖は、重鎖可変領域（本明細書ではVHと略される）及び重鎖定常領域（本明細書ではCHと略される）から構成される。ある特定の抗体（例えば、天然起源のIgG抗体）では、重鎖定常領域は、ヒンジならびに3つのドメイン（CH1、CH2、及びCH3）から構成される。ある特定の抗体（例えば、天然起源のIgG抗体）では、各軽鎖は、軽鎖可変領域（本明細書ではVLと略される）及び軽鎖定常領域から構成される。軽鎖定常領域は、1つのドメイン（本明細書ではCLと略される）から構成される。VH領域及びVL領域は、超可変性の領域（相補性決定領域（CDR）と呼ばれる）へとさらに細分類することができ、こうしたCDRは、より保存された領域（フレームワーク領域（FR）と呼ばれる）の間に挟まれて存在する。各VH及びVLは、3つのCDR及び4つのFRから構成され、これらのCDR及びFRは、アミノ末端からカルボキシ末端の方向に下記の順序で配置されている：FR1、CDR1、FR2、CDR2、FR3、CDR3、FR4。重鎖及び軽鎖の可変領域は、抗原と相互作用する結合ドメインを含む。抗体の定常領域は、宿主の組織または因子（免疫系のさまざまな細胞（例えば、エフェクター細胞）及び古典的補体系の第1成分（C1q）を含む）への免疫グロブリンの結合を媒介し得る。重鎖は、C末端リジンを有することも有さないこともあり得る。本明細書では別段の指定がない限り、可変領域中のアミノ酸は、Kabatの番号付けシステムを使用して番号付けされ、定常領域中のアミノ酸は、EUシステムを使用して番号付けされる。例として、「抗体」としては、天然起源の抗体及び非天然起源の抗体の両方、モノクローナル抗体及びポリクローナル抗体、キメラ抗体及びヒト化抗体、ヒト抗体及び非ヒト抗体、ならびに完全合成抗体が挙げられる。

30

## 【0053】

本明細書で使用される「IgG抗体」（例えば、ヒトのIgG1抗体、IgG2抗体、IgG3抗体、及びIgG4抗体）は、ある特定の実施形態では、天然起源のIgG抗体の構造を有し、すなわち、同じサブクラスの天然起源のIgG抗体と同じ数の重鎖及び軽鎖ならびにジスルフィド結合を有する。例えば、抗IL-7R IgG1抗体、抗IL-7R IgG2抗体、抗IL-7R IgG3抗体、または抗IL-7R IgG4抗体は

40

50

、2つの重鎖（H C）及び2つの軽鎖（L C）からなり、これら2つの重鎖及び2つの軽鎖は、それぞれ天然起源のIg G 1抗体、Ig G 2抗体、Ig G 3抗体、及びIg G 4抗体に生じるものと同じ数及び位置のジスルフィド架橋によって連結される（但し、こうしたジスルフィド架橋が改変される変異を抗体が有していない場合に限る）。

#### 【0054】

抗体は、典型的には、その対応抗原に高親和性で特異的に結合し、この高親和性は、解離定数（K<sub>D</sub>）が10<sup>-5</sup>～10<sup>-11</sup>M以下であることを反映するものである。約10<sup>-4</sup>Mを超えるK<sub>D</sub>はいずれも、一般に、非特異的な結合を示すものと見なされる。本明細書で使用される、抗原に「特異的に結合する」抗体は、抗原及び実質的に同一の抗原に高親和性（K<sub>D</sub>が10<sup>-7</sup>M以下、10<sup>-8</sup>M以下、5×10<sup>-9</sup>M以下、もしくは10<sup>-8</sup>M～10<sup>-10</sup>M、またはそれ未満であることを意味する）で結合するが、非関連抗原には高親和性で結合しない抗体を指す。抗原は、所与の抗原との配列同一性度が高い場合（例えば、所与の抗原の配列との配列同一性が少なくとも80%、少なくとも90%、少なくとも95%、少なくとも97%、または少なくとも99%である場合）、当該所与の抗原と「実質的に同一」である。例として、ヒトIL-7Rに特異的に結合する抗体は、ある特定の実施形態では、ある特定の靈長類種に由来するIL-7R抗原（例えば、カニクイザルIL-7R）との交差反応性も有し得るが、他の種に由来するIL-7R抗原またはIL-7R以外の抗原とは交差反応し得ない。

10

#### 【0055】

本明細書で使用される「アイソタイプ」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（例えば、Ig G 1抗体、Ig G 2抗体、Ig G 3抗体、Ig G 4抗体、Ig M抗体、Ig A 1抗体、Ig A 2抗体、Ig D抗体、及びIg E抗体）を指す。Ig Gアイソタイプは、ある特定の種では、サブクラスに分かれ、ヒトではIg G 1、Ig G 2、Ig G 3、及びIg G 4に分かれ、マウスではIg G 1、Ig G 2 a、Ig G 2 b、及びIg G 3に分かれる。いくつかの実施形態では、本明細書に記載の抗IL-7R抗体は、Ig G 1アイソタイプのものである。免疫グロブリン（例えば、Ig G 1）は、いくつかのアロタイプで存在し、こうしたアロタイプの間で互いに異なるアミノ酸は、多くても数個である。

20

#### 【0056】

本明細書で使用される「アロタイプ」という用語は、特定のアイソタイプ群内の天然起源のバリアントを指し、こうしたバリアントは、アミノ酸が数個異なる（例えば、Jef feris et al. (2009)mAbs 1:1を参照のこと）。本明細書に記載の抗IL-7R抗体は、任意のアロタイプのもので得る。本明細書で使用される、「Ig G 1 f」アイソタイプ、「Ig G 1 . 1 f」アイソタイプ、または「Ig G 1 . 3 f」アイソタイプと称される抗体は、アロタイプ「f」（すなわち、Kabatに示されるEUインデックスによる214R、356E、及び358Mを有するもの（例えば、配列番号21に示されるもの））、それぞれIg G 1抗体、エフェクター機能を有さないIg G 1 . 1抗体、及びエフェクター機能を有さないIg G 1 . 3抗体である。

30

#### 【0057】

本明細書で使用される、抗体の「抗原結合部分」という用語は、抗原（例えば、ヒトIL-7R）に特異的に結合する能力を保持する1つ以上の抗体断片を指す。抗体の抗原結合機能は、全長抗体の断片によって発揮され得ることが示されている。抗体（例えば、本明細書に記載の抗IL-7R抗体）の「抗原結合部分」という用語に包含される結合断片の例としては、（i）Fab断片（パパインによる切断から得られる断片）またはVLドメイン、VHドメイン、LCドメイン、及びCH1ドメインからなる同様の一価の断片、（ii）Fab'断片（ペプシンによる切断から得られる断片）または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断片を含む同様の二価の断片、（iii）VHドメイン及びCH1ドメインからなるFd断片、（iv）抗体の单一のアームのVLドメイン及びVHドメインからなるFv断片、（v）VHドメインからなるdAb断片（Ward et al., (1989) Nature 341:544-546）、（v

40

50

i ) 単離された相補性決定領域 ( C D R ) 、ならびに ( v i i ) 2つ以上の単離された C D R の組み合わせ ( これらの C D R は、合成リンカーによって任意選択で連結され得る ) が挙げられる。さらに、 F v 断片の 2つのドメイン ( V L 及び V H ) は、別々の遺伝子によってコードされるものであるが、組換え方法を使用することで、それら 2つのドメインを、それら V L 領域及び V H 領域がペアになって一価の分子を形成する単一のタンパク質鎖 ( 一本鎖 F v ( s c F v ) として知られる ) とすることを可能にする合成リンカーによって連結することができる。例えば、 Bird et al . ( 1988 ) Science 242 : 423 - 426 、及び Huston et al . ( 1988 ) Proc . Natl . Acad . Sci . USA 85 : 5879 - 5883 を参照のこと。抗体の「抗原結合部分」という用語は、そのような一本鎖抗体を包含することも意図するものである。こうした抗体断片は、当業者に知られる従来の手法を使用して得られるものであり、こうした断片は、インタクトな抗体に適用されるものと同じ様式で、有用性についてスクリーニングされる。抗原結合部分は、組換え DNA 手法によって生成されるか、またはインタクトな免疫グロブリンを酵素的もしくは化学的に切断することによって生成され得る。

#### 【 0058 】

「二重特異性抗体」または「二機能性抗体」は、 2つの異なる重鎖 / 軽鎖ペア及び 2つの異なる結合部位を有する人工的なハイブリッド抗体である。二重特異性抗体は、ハイブリドーマの融合または F ab' 断片の連結を含めて、さまざまな方法によって生成され得る。例えば、 Songsivilai & Lachmann , Clin . Exp . Immunol . 79 : 315 - 321 ( 1990 ) 、 Kosteln y et al . , J . Immunol . 148 , 1547 - 1553 ( 1992 ) を参照のこと。

#### 【 0059 】

本明細書で使用される「モノクローナル抗体」という用語は、実質的に均一な抗体の集団に由来する抗体を指し、すなわち、こうした集団を構成する個々の抗体は、モノクローナル抗体の產生の間に生じ得る可能性のあるバリエント ( そのようなバリエントは、一般に、若干は存在する ) を除いて、実質的に類似し、同じエピトープ ( 複数可 ) に結合するものである ( 例えば、こうした抗体は、単一の結合特異性及び親和性を示す ) 。「モノクローナル」という修飾語は、実質的に均一な抗体集団から得られたものであるという特徴を抗体が有することを示すものであり、任意の特定の方法によって抗体が生成されることを必要とするものと解釈してはならない。「ヒトモノクローナル抗体」という用語は、単一の結合特異性を示し、ヒト生殖系列免疫グロブリン配列に由来する可変領域及び任意選択の定常領域を有する実質的に均一な抗体の集団に由来する抗体を指す。一実施形態では、ヒトモノクローナル抗体は、ヒト重鎖導入遺伝子及びヒト軽鎖導入遺伝子を含むゲノムを有するトランスジェニック非ヒト動物 ( 例えば、トランスジェニックマウス ) から得られた B 細胞が不死化細胞と融合したハイブリドーマによって產生される。

#### 【 0060 】

本明細書で使用される「組換えヒト抗体」という用語は、組換え手段によって調製、発現、創出、または単離されるヒト抗体をすべて含み、こうしたヒト抗体は、( a ) ヒト免疫グロブリン遺伝子についてトランスジェニックであるか、もしくは染色体導入が行われた動物 ( 例えば、マウス ) から単離される抗体、またはこうした動物から調製されるハイブリドーマから単離される抗体、( b ) こうした抗体を発現するように形質転換された宿主細胞 ( 例えば、トランスフェクトーマ ) から単離される抗体、( c ) 組換えコンビナトリアルヒト抗体ライブラリーから単離される抗体、及び ( d ) ヒト免疫グロブリン遺伝子配列を他の DNA 配列に繋ぎ合わせることを含む任意の他の手段によって調製、発現、創出、または単離される抗体などである。そのような組換えヒト抗体は、生殖系列遺伝子によってコードされるが、その後に再構成及び変異 ( 例えば、抗体成熟の間に生じるもの ) が生じる特定のヒト生殖系列免疫グロブリン配列を利用する可変領域及び定常領域を含む。当該技術分野では知られることであるが ( 例えば、 Lonberg ( 2005 ) Nature Biotech . 23 ( 9 ) : 1117 - 1125 を参照のこと ) 、可変領域は、抗原結合ドメインを含み、この抗原結合ドメインは、外来抗原に特異的な抗体を形成す

10

20

30

40

50

るよう再構成されるさまざまな遺伝子によってコードされる。再構成に加えて、可変領域は、複数の単一アミノ酸変化（体細胞変異または超変異と称される）によってさらに改変されることで、外来抗原に対する抗体の親和性が向上し得る。定常領域は、抗原にさらに反応して変化することになる（すなわち、アイソタイプスイッチ）。したがって、軽鎖免疫グロブリンポリペプチド及び重鎖免疫グロブリンポリペプチドをコードする核酸分子は、抗原に反応して再編成及び体細胞変異を受けることで、元の核酸分子との配列同一性を有し得ないが、代わりに、実質的な同一性または類似性（すなわち、少なくとも 80 % の同一性）を有することになる。

#### 【0061】

「ヒト」抗体（HuMab）は、フレームワーク領域及びCDR領域の両方がヒト生殖系列免疫グロブリン配列に由来する可変領域を有する抗体を指す。さらに、こうした抗体が定常領域を含む場合、定常領域もまた、ヒト生殖系列免疫グロブリン配列に由来する。本明細書に記載の抗IL-7R抗体は、ヒト生殖系列免疫グロブリン配列によってコードされないアミノ酸残基を含み得る（例えば、無作為もしくは部位特異的なインビトロでの変異導入、またはインビトロでの体細胞変異によって変異が導入される）。一方で、本明細書で使用される「ヒト抗体」という用語は、別の哺乳類種（マウスなど）の生殖系列に由来するCDR配列がヒトフレームワーク配列に移植されている抗体を含むことを意図するものではない。「ヒト」抗体及び「完全ヒト」抗体という用語は、同義的に使用される。

10

#### 【0062】

「ヒト化」抗体は、非ヒト抗体のCDRドメインの外側のアミノ酸のいくつか、ほとんど、またはすべてが、ヒト免疫グロブリン由来の対応アミノ酸で置き換えられている抗体を指す。抗体のヒト化形態の一実施形態では、CDRドメインの外側のアミノ酸のいくつか、ほとんど、またはすべてが、ヒト免疫グロブリン由来のアミノ酸で置き換えられている一方で、1つ以上のCDR領域に含まれるアミノ酸のいくつか、ほとんど、またはすべては不变である。アミノ酸の軽微な付加、欠失、挿入、置換、または修飾は、そうしたもののが、抗体が特定の抗原に結合する能力を損なうものでない限り、許容される。「ヒト化」抗体は、元の抗体のものと同様の抗原特異性を保持する。

20

#### 【0063】

「キメラ抗体」は、可変領域がある種に由来し、定常領域が別の種に由来する抗体を指す。こうした抗体は、可変領域がマウス抗体に由来し、定常領域がヒト抗体に由来する抗体などである。

30

#### 【0064】

「抗原を認識する抗体」及び「抗原に特異的な抗体」という語句は、「抗原に特異的に結合する抗体」という用語と本明細書で互換的に使用される。

#### 【0065】

本明細書で使用される「単離された抗体」は、他のタンパク質及び細胞物質を実質的に含まない抗体を指すことが意図される。

#### 【0066】

本明細書で使用される「IL-7RへのIL-7の結合を阻害する」抗体は、当該技術分野で認知されている方法（例えば、本明細書に記載のFACSベースの結合アッセイ）において約1μg/mL以下（約0.9μg/mL以下、約0.85μg/mL以下、約0.8μg/mL以下、約0.75μg/mL以下、約0.7μg/mL以下、約0.65μg/mL以下、約0.6μg/mL以下、約0.55μg/mL以下、約0.5μg/mL以下、約0.45μg/mL以下、約0.4μg/mL以下、約0.35μg/mL以下、約0.3μg/mL以下、約0.25μg/mL以下、約0.2μg/mL以下、約0.15μg/mL以下、約0.1μg/mL以下、または約0.05μg/mL以下など）のEC<sub>50</sub>で、IL-7Rがそのリガンド（例えば、インターロイキン-7(IL-7)）に結合することを阻害する抗体を指すことが意図され、この阻害は、例えば、IL-7Rを発現する全血由来のT細胞を使用する結合アッセイにおいて試験される。

40

50

## 【0067】

「エフェクター機能」は、抗体Fc領域とFc受容体またはリガンドとの相互作用を指すか、またはそうした相互作用から生じる生化学的事象を指す。「エフェクター機能」の例としては、C1q結合、補体依存性細胞傷害(CDC)、Fc受容体結合、FcR介在性のエフェクター機能(ADC C及び抗体依存性細胞貪食(ADCP)など)、ならびに細胞表面受容体(例えば、B細胞受容体(BCR))の下方制御が挙げられる。そのようなエフェクター機能には、一般に、Fc領域が結合ドメイン(例えば、抗体可変ドメイン)と組み合わさっていることが必要である。

## 【0068】

「Fc受容体」または「FcR」は、免疫グロブリンのFc領域に結合する受容体である。IgG抗体に結合するFcRは、FcRファミリーの受容体(こうした受容体のアレルバリアント及び選択的スプライシングを受けた形態を含む)を構成する。FcRファミリーは、3つの活性化受容体(マウスではFcRI、FcRIII、及びFcRIV、ヒトではFcRI A、FcRIIA、及びFcRIIIA)ならびに1つの抑制性受容体(FcRIIB)からなる。当該技術分野では、ヒトFcRのさまざまな特性が知られている。自然エフェクター細胞型の大多数が、1つ以上の活性化FcR及び抑制性FcRIIBを共発現する一方で、マウス及びヒトでは、ナチュラルキラー(NK)細胞は、抑制性FcRIIBは発現せずに、1つの活性化Fc受容体(マウスではFcRIII、ヒトではFcRIIIA)を選択的に発現する。ヒトIgG1は、ほとんどのヒトFc受容体に結合し、マウスIgG2aと、それが結合する活性化Fc受容体の型に関して、同等であると考えられる。

10

## 【0069】

「Fc領域」(結晶性断片領域)または「Fcドメイン」または「Fc」は、抗体の重鎖のうちで、宿主の組織または因子への免疫グロブリンの結合(免疫系のさまざまな細胞(例えば、エフェクター細胞)に位置するFc受容体への結合または古典的補体系の第1成分(C1q)への結合を含む)を媒介するC末端領域を指す。したがって、Fc領域は、第1定常領域免疫グロブリンドメイン(例えば、CH1またはCL)を除く抗体の定常領域を含む。IgG抗体アイソタイプ、IgA抗体アイソタイプ、及びIgD抗体アイソタイプでは、Fc領域は、抗体の2つの重鎖の第2定常(CH2)ドメイン及び第3定常(CH3)ドメインに由来する2つの同一タンパク質断片を含む。IgM Fc領域及びIgE Fc領域は、各ポリペプチド鎖中に3つの重鎖定常ドメイン(CHドメイン2~4)を含む。IgGについては、Fc領域は、免疫グロブリンドメイン(CH2及びCH3)を含むと共に、CH1ドメイン及びCH2ドメインの間にヒンジを含む。免疫グロブリン重鎖のFc領域の境界の定義は異なり得るもの、本明細書に定義されるように、ヒトIgG重鎖Fc領域は、IgG1については重鎖のアミノ酸残基D221からカルボキシ末端までの区間、IgG2については重鎖のアミノ酸残基V222からカルボキシ末端までの区間、IgG3については重鎖のアミノ酸残基L221からカルボキシ末端までの区間、IgG4については重鎖のアミノ酸残基P224からカルボキシ末端までの区間と定義され、ここでの番号付けは、Kabatに示されるEUインデックスに従うものである。ヒトIgG Fc領域のCH2ドメインは、アミノ酸237からアミノ酸340にまたがっており、CH3ドメインは、Fc領域においてCH2ドメインのC末端側に位置しており、すなわち、IgGのアミノ酸341からアミノ酸447もしくはアミノ酸446(C末端にリジン残基が存在しない場合)またはアミノ酸445(C末端にグリシン残基及びリジン残基が存在しない場合)にまたがっている。本明細書で使用されるFc領域は、天然配列のFc(任意のアロタイプバリエントを含む)またはバリエントFc(例えば、非天然起源のFc)であり得る。Fcは、単離されている場合、またはFc含有タンパク質ポリペプチド(「Fc領域を含む結合タンパク質」(「Fc融合タンパク質」とも称される)(例えば、抗体またはイムノアドヘシン)など)の文脈においても、上記の領域を指し得る。

20

## 【0070】

30

40

50

「天然配列の Fc 領域」または「天然配列のFc」は、天然に見られるFc領域のアミノ酸配列と同一のアミノ酸配列を含む。天然配列のヒトFc領域には、天然配列のヒト IgG1 Fc 領域、天然配列のヒト IgG2 Fc 領域、天然配列のヒト IgG3 Fc 領域、及び天然配列のヒト IgG4 Fc 領域、ならびにそれらの天然起源のバリエントが含まれる。天然配列のFcには、さまざまなアロタイプのFcが含まれる（例えば、J eff eris et al. (2009) mAbs 1:1 を参照のこと）。

#### 【0071】

「エピトープ」または「抗原決定基」という用語は、免疫グロブリンまたは抗体が特異的に結合する抗原（例えば、IL-7R）上の部位を指し、この部位は、例えば、その同定に使用される特定の方法によって定義される。エピトープは、連続アミノ酸から形成される（通常は直鎖状エピトープ）ことも、タンパク質の三次フォールディングによって一緒に寄り集まつた非連続アミノ酸から形成される（通常は構造的エピトープ）こともあります。連続アミノ酸から形成されるエピトープは、常にではないが、典型的には、変性溶媒に暴露されても保持され、一方で、三次フォールディングによって形成されるエピトープは、典型的には、変性溶媒で処理されると失われる。エピトープは、典型的には、少なくとも3つ、少なくとも4つ、少なくとも5つ、少なくとも6つ、少なくとも7つ、少なくとも8つ、少なくとも9つ、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、または少なくとも15個のアミノ酸を特有の空間配置で含む。当該技術分野では、所与の抗体がどのエピトープに結合するかを決定するための方法（すなわち、エピトープマッピング）がよく知られており、こうした方法には、例えば、免疫プロット法及び免疫沈降法が含まれ、こうした方法では、所与の抗体（例えば、抗IL-7R抗体）との反応性について、重複ペプチドまたは連続ペプチド（例えば、IL-7R由来のもの）が試験される。エピトープの空間配置を決定する方法には、当該技術分野の手法、ならびに本明細書に記載のもの（例えば、X線結晶構造解析、抗原変異解析、二次元核磁気共鳴、及びHD-X-MSが含まれる（例えば、Epitope Mapping Protocols in Methods in Molecular Biology, Vol. 66, G.E. Morris, Ed. (1996) を参照のこと））。

#### 【0072】

「エピトープマッピング」という用語は、抗体 - 抗原認識に対する分子決定基を同定するプロセスを指す。

#### 【0073】

2つ以上の抗体に関して「同じエピトープに結合する」という用語は、所与の方法によって決定すると、同じアミノ酸残基セグメントに抗体が結合することを意味する。本明細書に記載の抗体に関して「IL-7R上の同じエピトープ」に抗体が結合するかどうかを決定するための手法には、例えば、エピトープマッピング法（抗原：抗体複合体のX線結晶解析（エピトープの原子分解能が得られる）及び水素 / 重水素交換質量分析（HD-X-MS）など）が含まれる。他の方法では、抗原断片または変異抗原バリエーションへの抗体の結合が監視され、抗原配列内のアミノ酸残基の変化に起因して結合が失われることが、エピトープ要素の指標として見なされることが多い。さらに、エピトープマッピングのための計算的コンビナトリアル法も使用され得る。こうした方法では、コンビナトリアルファージディスプレイペプチドライブラーに由来する特定の短いペプチドを目的抗体が親和性を伴って単離する能力が利用される。同じVH及びVLまたは同じCDR1配列、CDR2配列、及びCDR3配列を有する抗体は、同じエピトープに結合することが予想される。

#### 【0074】

「標的への結合について別の抗体と競合する」抗体は、標的への他の抗体の結合を（部分的または完全に）阻害する抗体を指す。標的への結合について2つ抗体が互いに競合するかどうか、すなわち、一方の抗体が、標的へのもう一方の抗体の結合を阻害するかどうか、及びどの程度阻害するかは、既知の競合実験（例えば、BIA CORE（商標）表面

10

20

30

40

50

プラズモン共鳴（SPR）分析を使用して決定され得る。ある特定の実施形態では、抗体は、別の抗体と競合し、標的への当該別の抗体の結合を少なくとも50%、少なくとも60%、少なくとも70%、少なくとも80%、少なくとも90%、または少なくとも100%阻害する。阻害または競合のレベルは、どの抗体が「遮断抗体」（すなわち、標的と共に最初にインキュベートされるコールド抗体）であるかによって異なり得る。競合アッセイは、例えば、Ed Harlow and David Lane, Cold Spring Harbor Protoc; 2006; doi: 10.1101/pdb.prot4277、またはEd Harlow and David Lane, Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, NY, USA 1999による「抗体の使用」の11章に記載のように実施され得る。2つの抗体が両方の様式で互いを少なくとも50%遮断し合う場合、すなわち、競合実験においてどちらの抗体が抗原と最初に接触するかによらずにこの遮断が生じる場合、それらの抗体は「交差競合する」。

#### 【0075】

結合について2つの抗体が競合または交差競合するかどうかを決定するための競合的結合アッセイには、IL-7Rを発現するT細胞への結合についての競合を、例えばフローサイトメトリーによって調べるもの（実施例に記載のものなど）が含まれる。他の方法には、SPR（例えば、BIACORE（商標））、固相の直接的または間接的な放射免疫測定法（RIA）、固相の直接的または間接的な酵素免疫アッセイ（EIA）、サンドイッチ競合アッセイ（Stahli et al., Methods in Enzymology 9:242 (1983) を参照のこと）、固相の直接的なビオチン・アビシンEIA（Kirkland et al., J. Immunol. 137:3614 (1986) を参照のこと）、固相の直接標識アッセイ、固相の直接標識サンドイッチアッセイ（Harlow and Lane, Antibodies: A Laboratory Manual, Cold Spring Harbor Press (1988) を参照のこと）、I-125標識を使用する固相の直接標識RIA（Morel et al., Mol. Immunol. 25(1):7 (1988) を参照のこと）、固相の直接的なビオチン・アビシンEIA（Cheung et al., Virology 176:546 (1990)）、及び直接標識RIA（Moldenhauer et al., Scand. J. Immunol. 32:77 (1990)）が含まれる。

#### 【0076】

本明細書で使用される「特異的な結合」、「選択的な結合」、「選択的に結合する」、及び「特異的に結合する」という用語は、所定の抗原上のエピトープに抗体が結合することを指す。典型的には、抗体は、(i) 例えば、所定の抗原（例えば、組換えヒトIL-7R）をアナライト、抗体をリガンドとして使用するBIACORE（商標）2000装置での表面プラズモン共鳴（SPR）技術、または抗原陽性細胞への抗体の結合のスキヤッチャード解析によって決定すると、約 $10^{-7}$ M未満（約 $10^{-8}$ M未満、約 $10^{-9}$ M未満、もしくは約 $10^{-10}$ M未満、またはさらに低い値など）の平衡解離定数（ $K_D$ ）で結合し、(ii) 所定の抗原または密接に関連する抗原以外の非特異的な抗原（例えば、BSA、カゼイン）への結合に対するその親和性と比較して少なくとも2倍強い親和性で所定の抗原に結合する。したがって、「ヒトIL-7Rに特異的に結合する」抗体は、 $10^{-7}$ M以下（約 $10^{-8}$ M未満、約 $10^{-9}$ M未満、もしくは約 $10^{-10}$ M未満、またはさらに低い値など）の $K_D$ で可溶性のヒトIL-7Rまたは細胞結合型のヒトIL-7Rに結合する抗体を指す。「カニクイザルIL-7Rと交差反応する」抗体は、 $10^{-7}$ M以下（約 $10^{-8}$ M未満、約 $10^{-9}$ M未満、もしくは約 $10^{-10}$ M未満、またはさらに低い値など）の $K_D$ でカニクイザルIL-7Rに結合する抗体を指す。ある特定の実施形態では、非ヒト種由来のIL-7Rと交差反応しない抗体は、標準的な結合アッセイではこうしたタンパク質に対する結合を検出することが本質的に不可能なものである。

#### 【0077】

10

20

30

40

50

本明細書で使用される「*k<sub>assoc</sub>*」または「*k<sub>a</sub>*」という用語は、特定の抗体 - 抗原相互作用の結合速度を指すことが意図され、本明細書で使用される「*k<sub>dis</sub>*」または「*k<sub>d</sub>*」という用語は、特定の抗体 - 抗原相互作用の解離速度を指すことが意図される。本明細書で使用される「*K<sub>D</sub>*」という用語は、*k<sub>a</sub>*に対する*k<sub>d</sub>*の比（すなわち、*k<sub>d</sub> / k<sub>a</sub>*）から得られる解離定数を指すことが意図され、モル濃度（M）として表される。抗体についての*K<sub>D</sub>*値は、当該技術分野でよく確立された方法を使用して決定され得る。抗体の*K<sub>D</sub>*の決定に利用可能な方法には、表面プラズモン共鳴、バイオセンサーシステム（B I A C O R E（登録商標）システムまたはフローサイトメトリーなど）、及びスキヤッチャード解析が含まれる。

## 【0078】

10

*IgG*抗体について本明細書で使用される「高親和性」という用語は、標的抗原に対する抗体の*K<sub>D</sub>*が $10^{-8}$  M以下、 $10^{-9}$  M以下、または $10^{-10}$  M以下であることを指す。しかしながら、「高親和性」結合は、他の抗体アイソタイプについては異なり得る。例えば、*IgM*アイソタイプについての「高親和性」結合は、抗体の*K<sub>D</sub>*が $10^{-10}$  M以下または $10^{-8}$  M以下であることを指す。

## 【0079】

抗体またはその抗原結合断片を使用するインビトロまたはインビボのアッセイの文脈での「E C 50」という用語は、抗体またはその抗原結合部分が、最大応答の50%である応答（すなわち、最大応答とベースラインとの間の中間）を誘導する濃度を指す。

## 【0080】

20

本明細書で使用される「天然起源」という用語は、物体に適用され、物体が天然に見られ得るという事実を指す。例えば、天然源から単離し得る生物（ウイルスを含む）に存在し、人の手によって意図的に改変されていないポリペプチド配列またはポリヌクレオチド配列は、天然起源のものである。

## 【0081】

「ポリペプチド」は、連続的に連結された少なくとも2つのアミノ酸残基を含む鎖を指し、こうした鎖の長さに上限は存在しない。タンパク質中のアミノ酸残基の1つ以上は、修飾を含み得、こうした修飾は、限定されないが、グリコシル化、リン酸化、またはジスルフィド結合形成などである。「タンパク質」は、1つ以上のポリペプチドを含み得る。

## 【0082】

30

本明細書で使用される「核酸分子」という用語は、DNA分子及びRN分子を含むことが意図される。核酸分子は、一本鎖または二本鎖であり得、cDNAであり得る。

## 【0083】

「保存的アミノ酸置換」は、アミノ酸残基が、同様の側鎖を有するアミノ酸残基で置換されることを指す。当該技術分野では、同様の側鎖を有するアミノ酸残基のファミリーが定義されている。こうしたファミリーには、塩基性側鎖を有するアミノ酸（例えば、リジン、アルギニン、ヒスチジン）、酸性側鎖を有するアミノ酸（例えば、アスパラギン酸、グルタミン酸）、非荷電極性側鎖を有するアミノ酸（例えば、グリシン、アスパラギン、グルタミン、セリン、スレオニン、チロシン、システイン、トリプトファン）、非極性側鎖を有するアミノ酸（例えば、アラニン、バリン、ロイシン、イソロイシン、プロリン、フェニルアラニン、メチオニン）、ベータ-分岐側鎖を有するアミノ酸（例えば、スレオニン、バリン、イソロイシン）、及び芳香族側鎖を有するアミノ酸（例えば、チロシン、フェニルアラニン、トリプトファン、ヒスチジン）が含まれる。ある特定の実施形態では、抗IL-7R抗体中の予測非必須アミノ酸残基は、同じ側鎖ファミリーに由来する別のアミノ酸残基で置き換えられる。当該技術分野では、抗原結合を損なわないようにする又クレオチドの保存的置換及びアミノ酸の保存的置換を同定する方法がよく知られている（例えば、Brummell et al., Biochem. 32: 1180-1187 (1993)、Kobayashi et al. Protein Eng. 12 (10): 879-884 (1999)、及びBurks et al. Proc. Natl. Acad. Sci. USA 94: 412-417 (1997)を参照のこと）。

40

50

**【 0 0 8 4 】**

核酸については、「実質的な相同性」という用語は、2つの核酸またはそれらの指定配列が、ヌクレオチドの挿入及び欠失が適切に行われて最適にアライメント及び比較された場合に、ヌクレオチドの少なくとも約80%、ヌクレオチドの少なくとも約90%～95%、またはヌクレオチドの少なくとも約98%～99.5%において同一であることを示す。あるいは、実質的な相同性は、選択的なハイブリダイゼーション条件の下で鎖の相補鎖にセグメントがハイブリダイゼーションする場合に存在する。

**【 0 0 8 5 】**

ポリペプチドについては、「実質的な相同性」という用語は、2つのポリペプチドまたはそれらの指定配列が、アミノ酸の挿入及び欠失が適切に行われて最適にアライメント及び比較された場合に、アミノ酸の少なくとも約80%、アミノ酸の少なくとも約90%～95%、またはアミノ酸の少なくとも約98%～99.5%において同一であることを示す。

10

**【 0 0 8 6 】**

2つの配列の間の同一性パーセントは、ギャップの数及び各ギャップの長さを考慮することでそれらの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、相同性% = 同一の位置の数 / 位置の総数 × 100）であり、こうしたギャップは、それら2つの配列が最適にアライメントされるように導入される必要がある。配列の比較及び2つの配列の間の同一性パーセントの決定は、数学的アルゴリズム（例えば、以下の非限定的な例に記載のもの）を使用して達成され得る。

20

**【 0 0 8 7 】**

2つのヌクレオチド配列の間の同一性パーセントは、GCGソフトウェアパッケージ（[worldwideweb.gcg.com](http://www.gcg.com)にて利用可能）に含まれるGAPプログラムを使用して決定することができ、この決定では、NWSgapDNA.CMP行列が使用され、ギャップの重みが40、50、60、70、または80とされ、長さの重みが1、2、3、4、5、または6とされる。2つのヌクレオチド配列またはアミノ酸配列の間の同一性パーセントは、アライメントプログラム（バージョン2.0）に組み込まれているE.Meyers and W.Miller(CABIOS, 4: 11-17 (1989))のアルゴリズムを使用しても決定することができ、この決定では、PAM120加重残基表が使用され、ギャップ長ペナルティが12とされ、ギャップペナルティが4とされる。さらに、2つのアミノ酸配列の間の同一性パーセントは、GCGソフトウェアパッケージ（<http://www.gcg.com>にて利用可能）に含まれるGAPプログラムに組み込まれているNeedleman and Wunsch(J.Mol.Biol.(48): 444-453 (1970))アルゴリズムを使用して決定することができ、この決定では、Blosum62行列またはPAM250行列のいずれかが使用され、ギャップの重みが16、14、12、10、8、6、または4とされ、長さの重みが1、2、3、4、5、または6とされる。

30

**【 0 0 8 8 】**

本明細書に記載の核酸配列及びタンパク質配列は、公的なデータベースに対する検索を実施するために「問い合わせ配列」としてさらに使用することができ、この検索によって、例えば、関連配列が同定される。そのような検索は、Altschul, et al.(1990)J.Mol.Biol.215: 403-10のBLASTプログラム及びXBLASTプログラム（バージョン2.0）を使用して実施され得る。スコア=100、ワード長=12としてBLASTプログラムを用いてBLASTヌクレオチド検索を実施することで、本明細書に記載の核酸分子と相同的なヌクレオチド配列を得ることができる。スコア=50、ワード長=3としてXBLASTプログラムを用いてBLASTタンパク質検索を実施することで、本明細書に記載のタンパク質分子と相同的なアミノ酸配列を得ることができる。比較を目的としてギャップ導入アライメントを得るには、Altschul, et al., (1997) Nucleic Acids Res. 25(17): 3389-3402に記載のようにギャップ導入BLAST(Gapped B

40

50

L A S T ) を利用することができる。B L A S T プログラム及びギャップ導入B L A S T プログラムを利用する場合、それぞれのプログラム（例えば、X B L A S T 及びN B L A S T ）のデフォルトパラメーターを使用することができる。w o r l d w i d e w e b . n c b i . n l m . n i h . g o v を参照のこと。

#### 【0089】

核酸は、全細胞、細胞溶解液、または部分的に精製された形態もしくは実質的に純粋な形態に存在し得る。核酸は、標準的な手法（アルカリ / SDS 处理、C s C l によるバンド形成、カラムクロマトグラフィー、アガロースゲル電気泳動、及び当該技術分野でよく知られる他の手法を含む）によって他の細胞成分もしくは他の混入物（例えば、他の細胞核酸（例えば、染色体のその他の部分））またはタンパク質が除去されるように精製されると、「単離される」か、または「実質的に純粋なものとなる」。F. Ausubel, et al., ed. Current Protocols in Molecular Biology, Greene Publishing and Wiley Inter science, New York (1987) を参照のこと。10

#### 【0090】

標準的な手法に沿って核酸（例えば、c D N A ）に変異を導入することで遺伝子配列を得ることができる。コード配列については、こうした変異によって、望ましいようにアミノ酸配列に影響を与えることができる。具体的には、天然のV配列、D配列、J配列、定常配列、スイッチ配列、及び本明細書に記載の他のそのような配列と実質的に相同的なD N A 配列、またはそうした配列に由来するD N A 配列が企図される（この場合、「由来する」は、配列が別の配列と同一のものであるか、または配列が別の配列から改変されたものであることを示す）。20

#### 【0091】

本明細書で使用される「ベクター」という用語は、自体が連結されている別の核酸を輸送する能力を有する核酸分子を指すことが意図される。ベクターの1つの型は「プラスミド」であり、「プラスミド」は、追加のD N A セグメントをライゲーションして導入することが可能な環状二本鎖D N A ループを指す。ベクターの別の型はウイルスベクターであり、ウイルスベクターでは、追加のD N A セグメントをウイルスゲノムにライゲーションして導入することが可能である。ある特定のベクターは、それが導入される宿主細胞において自己複製する能力を有する（例えば、細菌の複製起点を有する細菌ベクター、及びエピソーム哺乳類ベクター）。他のベクター（例えば、非エピソーム哺乳類ベクター）は、宿主細胞に導入されると宿主細胞のゲノムに組み込まれ得るものであり、それによって宿主ゲノムと共に複製される。さらに、ある特定のベクターは、それが機能可能なように連結された遺伝子の発現を生じさせる能力を有する。そのようなベクターは、本明細書では「組換え発現ベクター」（または単に「発現ベクター」）と称される。一般に、組換えD N A 手法に有用な発現ベクターは、プラスミドの形態であることが多い。ベクターの形態として最も一般的に使用されるものはプラスミドであるため、本明細書では、「プラスミド」及び「ベクター」は互換的に使用され得る。しかしながら、同等の機能を果たす他の形態の発現ベクター（ウイルスベクター（例えば、複製欠損型のレトロウイルス、アデノウイルス、及びアデノ随伴ウイルス）など）も含まれる。30

#### 【0092】

本明細書で使用される「組換え宿主細胞」（または単に「宿主細胞」）という用語は、天然には存在しない核酸を自体に含む細胞を指すことが意図され、こうした細胞は、組換え発現ベクターが導入されている細胞であり得る。そのような用語は、特定の対象細胞を指すだけでなく、そのような細胞の子孫も指すことが意図されることを理解されたい。そのような子孫は、変異または環境の影響に起因して、世代を経るにつれてある特定の変化が生じ得るため、実際は親細胞と同一ではあり得ないが、本明細書で使用される「宿主細胞」という用語の範囲に依然として含まれる。40

#### 【0093】

本明細書で使用される「免疫応答」という用語は、当該技術分野で理解されるように理

10

20

30

40

50

解され、一般に、外来物質または異常な細胞（例えば、がん性の細胞）に対して脊椎動物内で生じる生物学的応答を指し、この応答によって、こうした物質及びそれによって引き起こされる疾患から生物が保護される。免疫応答は、免疫系の細胞（例えば、Tリンパ球、Bリンパ球、ナチュラルキラー（NK）細胞、マクロファージ、好酸球、マスト細胞、樹状細胞、または好中球）のうちの1つ以上の細胞、ならびにこうした細胞のいずれかまたは肝臓によって産生される可溶性巨大分子（抗体、サイトカイン、及び補体を含む）が作用することによって媒介され、こうした作用の結果、侵入病原体、病原体に感染した細胞もしくは組織、がん性細胞もしくは他の異常細胞、または自己免疫性もしくは病的炎症の場合は、正常なヒト細胞もしくはヒト組織が、選択的に標的となり、結合を受け、損傷を受け、破壊され、及び／または脊椎動物の体から排除される。免疫反応には、例えば、T細胞（例えば、エフェクターT細胞、Th細胞、CD<sup>4+</sup>細胞、CD<sup>8+</sup>T細胞、もしくはT<sub>reg</sub>細胞）の活性化もしくは抑制、または任意の他の免疫系細胞（例えば、NK細胞）の活性化もしくは抑制が含まれる。

#### 【0094】

本明細書で使用される「異常な免疫応答」という用語は、対象の免疫系が自己を非自己と区別しないこと、または外来抗原に対して応答しないことを指す。この用語は、アレルギー性障害の場合に見られるような外来抗原に対する過剰免疫応答も包含する。したがって、こうした応答は、自己免疫障害及びアレルギー性障害の両方に存在する。異常な免疫応答には、限定されないが、生物自体の組織に対する抗体が産生されることによって引き起こされる組織傷害及び炎症、サイトカインの産生障害、ならびに細胞傷害性または非細胞傷害性の作用機序によって引き起こされる組織損傷が含まれる。いくつかの実施形態では、異常な免疫応答は、不適切に制御されることで患者症状に繋がる免疫応答である。典型的には、自己免疫応答は、対象の免疫系が自己抗原を異物として認識する場合に生じ、これによって自己反応性のエフェクター免疫細胞が産生される。自己反応性のエフェクター免疫細胞には、さまざまな系譜に由来する細胞が含まれ、こうした細胞には、限定されないが、細胞傷害性T細胞、ヘルパーT細胞、及びB細胞が含まれる。正確な機序は異なるものの、自己免疫障害を患有患者に自己反応性のエフェクター免疫細胞が存在すると、患者の組織及び細胞が破壊される結果、病的症状が生じ得る。同様に、正常な個体ならより抑制された様式での応答が生じる外来抗原に対して過敏反応を起こす細胞が存在することは過敏性（アレルギー）の徴候である。例としては、限定されないが、食物アレルギー、枯草熱、及びアレルギー性喘息が挙げられる。患者におけるそのような細胞の存在の決定、したがって、自己免疫障害（患者における抗原特異的自己免疫障害など）またはアレルギー性障害の存在の決定を行うためのアッセイは当業者に多く知られており、対象方法においてそうしたアッセイを容易に用いることができる。

#### 【0095】

本明細書で使用される「自己免疫疾患」という用語は、正常な宿主の一部である抗原（すなわち、自己抗原）に対する免疫応答（例えば、B細胞応答またはT細胞応答）を免疫系が生成する結果として組織が損傷を受ける疾患または障害を指す。自己抗原は、宿主細胞に由来し得るか、または共生生物（通常は粘膜表面にコロニーを形成する微生物（共生生物として知られる）など）に由来し得る。

#### 【0096】

哺乳類が罹患する自己免疫疾患の例としては、関節リウマチ、若年性少関節炎、コラーゲン誘発関節炎、アジュバント誘発関節炎、シェーグレン症候群、多発性硬化症、実験的自己免疫性脳脊髄炎、炎症性腸疾患（例えば、クロール病、潰瘍性大腸炎）、自己免疫性の胃の萎縮、尋常性天疱瘡、乾癬、白斑、1型糖尿病、非肥満糖尿病、重症筋無力症、グレーブス病、橋本甲状腺炎、硬化性胆管炎、硬化性唾液腺炎、全身性エリテマトーデス、自己免疫性血小板減少性紫斑病、グッドパスチャーリー症候群、アジソン病、全身性硬化症、多発性筋炎、皮膚筋炎、自己免疫性溶血性貧血、悪性貧血、及び同様のものが挙げられる。

#### 【0097】

本明細書で使用される「炎症性腸疾患」（IBD）という用語は、胃腸管の慢性炎症性

10

20

30

40

50

障害の混成群を指す。いくつかの実施形態では、IBDには、クローン病(CD)及び潰瘍性大腸炎(UC)が含まれる。

#### 【0098】

本明細書で使用される「免疫抑制剤」という用語は、免疫応答(炎症反応など)を低減し得る分子(化合物、小分子、ステロイド、核酸分子、または他の生物学的薬剤など)を指す。免疫抑制剤には、限定されないが、関節炎の治療において使用される薬剤(抗関節炎剤)が含まれる。免疫抑制剤の具体例は、限定されないが、非ステロイド性抗炎症剤、シクロスボリンA、FK506、及び抗CD4である。追加例では、薬剤は、生物学的応答調節剤(KINERET(登録商標))(アナキンラ)、ENBREL(登録商標)(エタネルセプト)、またはREMICADE(登録商標)(インフリキシマブ)など)、疾患修飾性抗リウマチ薬(DMARD)(ARAVA(登録商標)(レフルノミド)など)、非ステロイド性抗炎症剤(NSAID)、具体的にはシクロオキシゲナーゼ-2(COX-2)阻害剤、(CELEBREX(登録商標)(セレコキシブ)及びVIOXX(登録商標)(ロフェコキシブ)など)、または別の製品(HYALGAN(登録商標)(ヒアルロン)及びSYNViSC(登録商標)(hyylan G-F20)など)である。ラパマイシンは、免疫抑制剤の追加例である。

10

#### 【0099】

本明細書で使用される「炎症」または「炎症プロセス」という用語は、透過性及び血流の増加、体液(血漿タンパク質を含む)の滲出、ならびに炎症病巣への白血球の遊走を伴う複雑な一連の事象(細動脈、毛細血管、及び細静脈の拡張を含む)を指す。炎症は、当該技術分野でよく知られる多くの方法によって測定することができ、こうした方法は、白血球の数、多形核好中球(PMN)の数、PMN活性化度の尺度(ルミノール増感化学発光など)、または炎症促進性サイトカイン(例えば、IL-6もしくはTNF-)の存在量の尺度などである。

20

#### 【0100】

「免疫調節剤」または「免疫制御剤」は、薬剤(例えば、免疫応答の調節、制御、または修飾に関与し得るシグナル伝達経路の要素を標的とする薬剤)を指す。免疫応答の「調節」、「制御」、または「修飾」は、免疫系の細胞を任意に変化させること、またはそのような細胞(例えば、エフェクターT細胞(T<sub>h</sub>1細胞など))の活性を任意に変化させることを指す。そのような調節には、さまざまな細胞型の数の増減によって明らかになり得る免疫系の刺激もしくは抑制、こうした細胞の活性の増減、または免疫系内で生じ得る任意の他の変化が含まれる。抑制性免疫調節剤及び刺激性免疫調節剤の両方が同定されており、こうした免疫調節剤のいくつかは、腫瘍微小環境の機能を増強し得るものである。いくつかの実施形態では、免疫調節剤は、T細胞の表面上の分子を標的とする。「免疫調節標的」または「免疫制御標的」は、物質、薬剤、部分、化合物、または分子の結合の標的となり、こうしたものが結合することによってその活性が変化する分子(例えば、細胞表面分子)である。免疫調節標的には、例えば、細胞の表面上の受容体(「免疫調節性受容体」)及び受容体リガンド(「免疫調節性リガンド」)が含まれる。

30

#### 【0101】

「免疫療法」は、免疫系または免疫応答を誘導、増強、抑制、またはその他の様式で調節することを含む方法によって、疾患に罹患している対象または疾患を患うリスクを有する対象または疾患の再発に苦しむ対象を治療することを指す。

40

#### 【0102】

本明細書で使用される「病原性T細胞」という用語は、疾患または障害(例えば、炎症性疾患(例えば、炎症性腸疾患))と関連する原因症状及び/または損傷を引き起こすT細胞(例えば、CD4<sup>+</sup>T細胞またはCD8<sup>+</sup>T細胞)を指す。いくつかの実施形態では、この用語は、「エフェクターT細胞」(T<sub>eff</sub>)と互換的に使用可能であり、T<sub>eff</sub>は、細胞溶解活性を有するT細胞(例えば、CD4<sup>+</sup>T細胞及びCD8<sup>+</sup>T細胞)ならびにヘルパーT(T<sub>h</sub>)細胞(例えば、T<sub>h</sub>1細胞)を指し、T<sub>h</sub>細胞は、炎症性サイトカイン(例えば、TNF-、IFN-、またはIL-17)を分泌すると共に、他の免

50

疫細胞（例えば、単球）の活性化及び誘導も行って炎症促進性メディエーターを產生させ、それによって、疾患または障害と関連する原因症状及び／または損傷を引き起こし得る。いくつかの実施形態では、エフェクターT細胞はTh17細胞であり、Th17細胞は、炎症促進性サイトカインIL-17を產生するCD4<sup>+</sup>T細胞を指す。いくつかの実施形態では、エフェクターT細胞は細胞傷害性Tリンパ球（CTL）であり、CTLは、（例えば、パーフォリンまたはグランザイムBの放出を介して）他の細胞を死滅させる能力を有するCD8<sup>+</sup>T細胞を指す。

#### 【0103】

本明細書で使用される「制御性T細胞」（Treg）という用語は、エフェクターT細胞の誘導及び増殖を低減または抑制し、それによって免疫応答を調節する能力を有するT細胞の集団を指す。いくつかの実施形態では、Tregは、ナイーブT細胞からエフェクターT細胞への活性化及び分化を妨害し得る抗炎症性サイトカイン（IL-10、TGF- $\beta$ 、及びIL-35など）を分泌することによって免疫応答を抑制し得る。いくつかの実施形態では、Tregは、エフェクターT細胞のアポトーシスを誘導し得る細胞溶解性分子（グランザイムBなど）も產生し得る。いくつかの実施形態では、制御性T細胞は、内在性制御性T細胞（nTreg）（すなわち、胸腺内で発生するもの）である。いくつかの実施形態では、制御性T細胞は、誘導性制御性T細胞（iTreg）（すなわち、ある特定の刺激に曝露されると末梢組織においてTregに分化するナイーブT細胞）である。当該技術分野では、Tregを同定するための方法が知られている。例えば、Tregは、フローサイトメトリーを使用して測定され得る特定の表現型マーカー（例えば、CD25、Foxp3、またはCD39）を発現する。例えば、国際公開公報第WO2017/062035A1号、Gu J, et al., Cell Mol Immunol 114(6):521-528(2017)を参照のこと。いくつかの実施形態では、Tregは、CD45RA<sup>-</sup>CD39<sup>+</sup>T細胞である。

10

20

30

#### 【0104】

本明細書で使用される「連結された」という用語は、2つ以上の分子が結び付いていることを指す。結合は、共有結合または非共有結合であり得る。結合は、遺伝的なものでもあり得る（すなわち、組換えで融合される）。そのような結合は、当該技術分野で認知されているさまざまな手法（化学的複合体化及び組換えタンパク質產生など）を使用して達成され得る。

#### 【0105】

本明細書で使用される「投与すること」は、当業者に知られるさまざまな方法及び送達系のいずれかを使用して、治療剤を含む組成物を対象に物理的に導入することを指す。本明細書に記載の抗IL-7R抗体の異なる投与経路には、静脈内経路、腹腔内経路、筋肉内経路、皮下経路、脊髄経路、または他の注射投与経路（例えば、注射または注入によるもの）が含まれる。本明細書で使用される「注射投与」という語句は、腸内投与及び局所投与以外の投与様式（通常は注射によって行われる）を意味し、こうした注射投与には、限定されないが、静脈内、腹腔内、筋肉内、動脈内、くも膜下腔内、リンパ管内、病巣内、関節包内、眼窩内、心臓内、皮内、経気管、皮下、表皮下、関節内、囊下、くも膜下、髄腔内、硬膜外、及び胸骨内への注射及び注入、ならびにインビボの電気穿孔が含まれる。あるいは、本明細書に記載の抗体は、非注射投与経路（局所投与経路、表皮投与経路、または粘膜投与経路など）（例えば、鼻腔内へのもの、経口的なもの、腔へのもの、直腸へのもの、舌下へのもの、または局所的なもの）を介して投与され得る。投与は、例えば、1回、複数回、及び／または1つ以上の長期間にわたって実施されることもあり得る。

40

#### 【0106】

本明細書で使用される「阻害する」または「遮断する」という用語（例えば、細胞上のIL-7RへのIL-7の結合の阻害／遮断に関するもの）は互換的に使用され、部分的な阻害／遮断及び完全な阻害／遮断の両方を包含する。いくつかの実施形態では、抗IL-7R抗体は、IL-7RへのIL-7の結合を少なくとも約50%（例えば、約60%、約70%、約80%、約90%、約95%、約99%、または約100%）阻害し

50

、この阻害は、例えば、本明細書にさらに記載されるように決定される。いくつかの実施形態では、抗IL-7R抗体は、IL-7RへのIL-7の結合を50%以下（例えば、約40%、約30%、約20%、約10%、約5%、または約1%）阻害し、この阻害は、例えば、本明細書にさらに記載されるように決定される。

#### 【0107】

本明細書で使用される「治療する」、「治療すること」、及び「治療」という用語は、疾患と関連する症状、合併症、状態、または生化学的徵候の進行、発症、重症度、または再発の回復、緩和、軽快、抑制、または遅延もしくは阻止、あるいは全生存期間の延長を目的とする、対象に実施される任意の型の介入もしくはプロセスまたは対象への活性薬剤の投与を指す。治療は、疾患を有する対象に対するものであるか、または疾患を有さない対象に対するもの（例えば、予防のためのもの）であり得る。10

#### 【0108】

「有効用量（effective dose）」または「有効用量（effective dosage）」という用語は、所望の効果の達成または少なくとも部分的な達成に十分な量として定義される。薬物または治療剤の「治療的に有効な量」または「治療的に有効な用量」は、単独で使用されるか、または別の治療剤と併用された場合、疾患症状の重症度の低減、疾患症状が存在しない期間の頻度上昇及び持続期間長期化、または疾患の罹患に起因する機能障害もしくは能力障害の阻止によって証拠付けられる疾患の軽減を薬物が促進する任意の量である。薬物の治療的に有効な量または用量は、「予防的に有効な量」または「予防的に有効な用量」を含み、この量または用量は、疾患を発症するリスクを有する対象または疾患の再発に苦しむ対象に対して単独で投与されるか、または別の治療剤と組み合わせて投与された場合、薬物が疾患の発症または再発を抑制する任意の量である。治療剤が疾患軽減を促進する能力または治療剤が疾患の発症もしくは再発を抑制する能力は、当業者に知られるさまざまな方法を使用して評価することができ、こうした評価は、臨床試験中にヒト対象において行われるか、ヒトでの効力を予測する動物モデル系において行われるか、またはインビトロアッセイにおいてそうした薬剤の活性をアッセイすることによって行われるなどする。20

#### 【0109】

「患者」という用語は、予防的または治療的な治療を受けるヒト及び他の哺乳類対象を含む。30

#### 【0110】

本明細書で使用される「対象」という用語は、任意のヒトまたは非ヒト動物を含む。例えば、本明細書に記載の方法及び組成物は、がんを有する対象の治療に使用され得る。「非ヒト動物」という用語は、すべての脊椎動物（例えば、哺乳類及び非哺乳類（非ヒト靈長類、ヒツジ、イヌ、雌ウシ、ニワトリ、両生類、爬虫類など））を含む。

#### 【0111】

本明細書で称される「重量ベース」の用量または投薬という用語は、患者の重量に基づいて患者への投与用量が計算されることを意味する。例えば、60kgの体重の患者が3mg/kgの抗IL-7R抗体を必要とする場合、投与に適した抗IL-7R抗体量（すなわち、180mg）を計算し、使用することができる。40

#### 【0112】

本開示の方法に関する「固定用量」という用語の使用は、単一組成物中の2つ以上の異なる抗体（例えば、抗IL-7R抗体及び第2の抗体（例えば、抗TNFR抗体））が、互いに特定（固定）の比で組成物中に存在することを意味する。いくつかの実施形態では、固定用量は、抗体の重量（例えば、mg）に基づく。ある特定の実施形態では、固定用量は、抗体の濃度（例えば、mg/ml）に基づく。いくつかの実施形態では、2つの抗体（例えば、抗IL-7R及び抗TNFR）の比は、第1の抗体（例えば、抗IL-7R抗体）のmgと第2の抗体のmgとの比で、少なくとも約1:1、少なくとも約1:2、少なくとも約1:3、少なくとも約1:4、少なくとも約1:5、少なくとも約1:6、少なくとも約1:7、少なくとも約1:8、少なくとも約1:9、少なくとも約1:10

10

20

30

40

50

、少なくとも約1：15、少なくとも約1：20、少なくとも約1：30、少なくとも約1：40、少なくとも約1：50、少なくとも約1：60、少なくとも約1：70、少なくとも約1：80、少なくとも約1：90、少なくとも約1：100、少なくとも約1：120、少なくとも約1：140、少なくとも約1：160、少なくとも約1：180、少なくとも約1：200、少なくとも約200：1、少なくとも約180：1、少なくとも約160：1、少なくとも約140：1、少なくとも約120：1、少なくとも約100：1、少なくとも約90：1、少なくとも約80：1、少なくとも約70：1、少なくとも約60：1、少なくとも約50：1、少なくとも約40：1、少なくとも約30：1、少なくとも約20：1、少なくとも約15：1、少なくとも約10：1、少なくとも約9：1、少なくとも約8：1、少なくとも約7：1、少なくとも約6：1、少なくとも約5：1、少なくとも約4：1、少なくとも約3：1、または少なくとも約2：1である。例えば、抗IL-7R抗体と抗TNF受容体抗体(アトロサブ(atrosab)など)との比が2：1であることは、バイアルまたは注射が、約480mgの抗IL-7R抗体及び240mgの抗TNFR抗体を含むか、または約2mg/mlの抗IL-7R抗体及び1mg/mlの抗TNFR抗体を含み得ることを意味し得る。

#### 【0113】

本明細書に記載の方法及び用量に関する「一律用量」という用語の使用は、患者の重量または体表面積(BSA)にかかわらず患者に投与される用量を意味する。したがって、一律用量は、mg/kg用量としては提供されず、薬剤(例えば、抗IL-7R抗体)の絶対量として提供される。例えば、60kgの人であっても、100kgの人であっても、同じ用量の抗体(例えば、480mgの抗IL-7R抗体)が投与されることになる。

#### 【0114】

本明細書で使用される「ug」及び「uM」という用語は、それぞれ「μg」または「μM」と互換的に使用される。

#### 【0115】

下記のサブセクションでは、本明細書に記載のさまざまな態様についてさらに詳述される。

#### 【0116】

##### I. 抗ヒトIL-7R抗体

本明細書では、特定の機能的な特徴または特性によって特徴付けられる抗体(例えば、完全ヒト抗体)について記載される。例えば、抗体は、ヒトIL-7Rに特異的に結合し、より具体的には、ヒトIL-7Rの細胞外ドメイン内の特定のドメイン(例えば、機能性ドメイン)に特異的に結合する。いくつかの実施形態では、抗体は、IL-7R上のIL-7結合部位に特異的に結合する。ある特定の実施形態では、抗体はアンタゴニスト抗体であり、すなわち、病原性T細胞(例えば、エフェクターCD8<sup>+</sup>T細胞)がIL-7介在性に増殖及び/または生存することを阻害または抑制する。ある特定の実施形態では、本明細書に開示の抗IL-7R抗体は、1つ以上の非ヒト靈長類に由来するIL-7R(カニクイザルIL-7Rなど)と交差反応する。いくつかの実施形態では、抗体は、ヒトIL-7Rの細胞外領域及びカニクイザルIL-7Rの細胞外領域に特異的に結合する。ある特定の実施形態では、抗体は、高親和性でヒトIL-7Rに結合する。

#### 【0117】

本明細書に記載の抗IL-7R抗体は、下記の機能特性を1つ以上示す：

- (a) 可溶性及び/または膜結合型のヒトIL-7Rに結合する能力を有し、
- (b) 可溶性及び/または膜結合型のカニクイザルIL-7Rに結合する能力を有し、
- (c) 全血(例えば、ヒト全血)中のT細胞(CD4<sup>+</sup>CD45RA<sup>+</sup>、CD4<sup>+</sup>CD45RA<sup>-</sup>、CD8<sup>+</sup>CD45RA<sup>+</sup>、及び/またはCD8<sup>+</sup>CD45RA<sup>-</sup>)上に発現するIL-7Rに結合する能力を有し、
- (d) 全血(例えば、ヒト全血)中の非T細胞(例えば、単球)上に発現するIL-7Rに結合する能力を有さず、

(e) 胸腺間質性リンパ球新生因子 (TSLP) 介在性の単球活性化を効果的に遮断する能力を有さず、

(f) IL-7R への結合時に IL-7 受容体シグナル伝達をアゴナイズする能力を有さず (例えば、pSTAT5 活性化が最小限に留まる)、

(g) 制御性 T 細胞 (Treg) 機能を回復させ、及び / または Treg 生存を促進する能力を有し、

(h) IL-17 及び / または IFN-γ を産生する細胞の増殖を遮断する能力を有し、

(i) 薬剤フリー寛解を (例えば、CTLA4-Ig (ORENCIA (登録商標)) と比較して長く) 維持する能力を有し、

(j) 腸組織における炎症及び粘膜損傷 (例えば、病原性 T 細胞によって誘導されるもの) を遮断する能力を有し、

(k) エフェクター T 細胞 (例えば、腸間膜リンパ節 (MLN) 及び / または粘膜固有層 (LPL) におけるもの) の頻度を低減する能力を有し、

(l) 炎症性疾患 (例えば、炎症性腸疾患) を有する対象を治療する能力を有し、

(m) <sup>24</sup>S Q L E V N G S Q H S L T C A F <sup>39</sup> (配列番号 8)、<sup>73</sup>F I E T K K F L L I G K S N I C <sup>88</sup> (配列番号 9)、<sup>89</sup>V K V G E K S L T C K K I D L T T <sup>105</sup> (配列番号 10)、<sup>136</sup>Q K K Y V K V L M H D V A Y <sup>149</sup> (配列番号 11)、<sup>181</sup>Y E I K V R S I P D H Y F K G F <sup>196</sup> (配列番号 12)、及びそれらの組み合わせ、からなる群から選択されるエピトープの位置でヒト IL-7R に結合する能力を有し (このことは、例えば、水素 / 重水素交換質量分析 (HDX-MS) によって決定される)、及び / または

(n) H 33、E 75、F 79、I 82、K 84、M 144、R 186、H 191、Y 192、及びそれらの組み合わせ、からなる群から選択される 1 つ以上のアミノ酸残基の位置でヒト IL-7R に結合する能力を有する (このことは、例えば、質量分析ベースのタンパク質フットプリントティング手法 (タンパク質の光化学的酸化 (FPOP) 及びグリシンエチルエステル (GEE) 標識化など) によって決定される)。

#### 【0118】

いくつかの実施形態では、本明細書に記載の抗 IL-7R 抗体は、高親和性でヒト IL-7R に結合し、この結合の  $K_D$  は、例えば、 $10^{-7}$  M 以下、 $10^{-8}$  M 以下、 $10^{-9}$  M 以下、 $10^{-10}$  M 以下、 $10^{-11}$  M 以下、 $10^{-12}$  M 以下、 $10^{-13}$  M ~  $10^{-7}$  M、 $10^{-11}$  M ~  $10^{-7}$  M、 $10^{-10}$  M ~  $10^{-7}$  M、または  $10^{-9}$  M ~  $10^{-7}$  M である。ある特定の実施形態では、抗 IL-7R 抗体は、可溶性ヒト IL-7R に結合し、この結合の  $K_D$  は、例えば BIACORE (商標) によって決定すると、 $10^{-7}$  M 以下、 $10^{-8}$  M 以下、 $10^{-9}$  M ( $1 \text{ nM}$ ) 以下、 $10^{-10}$  M 以下、 $10^{-12}$  M ~  $10^{-7}$  M、 $10^{-11}$  M ~  $10^{-7}$  M、 $10^{-10}$  M ~  $10^{-7}$  M、 $10^{-9}$  M ~  $10^{-7}$  M、または  $10^{-8}$  M ~  $10^{-7}$  M である。ある特定の実施形態では、抗 IL-7R 抗体は、結合型 (例えば、細胞膜結合型) のヒト IL-7R (ヒト T 細胞上のものなど) に結合するが、ヒト非 T 細胞上のものには結合せず、この結合の  $K_D$  は、例えばフローサイトメトリー及びスキャッチャードプロットによって決定すると、 $10^{-7}$  M 以下、 $10^{-8}$  M 以下、 $10^{-9}$  M ( $1 \text{ nM}$ ) 以下、 $5 \times 10^{-10}$  M 以下、 $10^{-10}$  M 以下、 $10^{-12}$  M ~  $10^{-7}$  M、 $10^{-11}$  M ~  $10^{-8}$  M、 $10^{-10}$  M ~  $10^{-8}$  M、 $10^{-9}$  M ~  $10^{-8}$  M、 $10^{-11}$  M ~  $10^{-9}$  M、または  $10^{-10}$  M ~  $10^{-9}$  M である。いくつかの実施形態では、本明細書に開示の抗 IL-7R 抗体は、結合型 (例えば、細胞膜結合型) のヒト IL-7R (ヒト T 細胞上のものなど) に結合するが、ヒト非 T 細胞上のものには結合せず、この結合の EC<sub>50</sub> は、例えばフローサイトメトリーによって決定すると、 $10 \mu\text{g}/\text{mL}$  以下、 $5 \mu\text{g}/\text{mL}$  以下、 $1 \mu\text{g}/\text{mL}$  以下、 $0.9 \mu\text{g}/\text{mL}$  以下、 $0.8 \mu\text{g}/\text{mL}$  以下、 $0.7 \mu\text{g}/\text{mL}$  以下、 $0.6 \mu\text{g}/\text{mL}$  以下、 $0.5 \mu\text{g}/\text{mL}$  以下、 $0.4 \mu\text{g}/\text{mL}$  以下、 $0.3 \mu\text{g}/\text{mL}$  以下、 $0.2 \mu\text{g}/\text{mL}$  以下、 $0.1 \mu\text{g}/\text{mL}$  以下、 $0.05 \mu\text{g}/\text{mL}$  以下、または  $0.01 \mu\text{g}/\text{mL}$  以下である。いくつかの実施形態

10

20

30

40

50

では、本明細書に記載の抗IL-7R抗体は、カニクイザルIL-7Rに結合し、この結合のK<sub>D</sub>は、例えば、10<sup>-7</sup>M以下、10<sup>-8</sup>M以下、10<sup>-9</sup>M以下、10<sup>-10</sup>M以下、10<sup>-11</sup>M以下、10<sup>-12</sup>M以下、10<sup>-12</sup>M～10<sup>-7</sup>M、10<sup>-11</sup>M～10<sup>-7</sup>M、10<sup>-10</sup>M～10<sup>-7</sup>M、または10<sup>-9</sup>M～10<sup>-7</sup>Mである。ある特定の実施形態では、抗IL-7R抗体は、可溶性カニクイザルIL-7Rに結合し、この結合のK<sub>D</sub>は、例えばBiACORE(商標)によって決定すると、10<sup>-7</sup>M以下、10<sup>-8</sup>M以下、10<sup>-9</sup>M(1nM)以下、10<sup>-10</sup>M以下、10<sup>-12</sup>M～10<sup>-7</sup>M、10<sup>-11</sup>M～10<sup>-7</sup>M、10<sup>-10</sup>M～10<sup>-7</sup>M、10<sup>-9</sup>M～10<sup>-7</sup>M、または10<sup>-8</sup>M～10<sup>-7</sup>Mである。本開示の抗IL-7R抗体は、結合型(例えば、膜結合型)のカニクイザルIL-7R(カニクイザルT細胞上のものなど)に結合し得るが、カニクイザル非T細胞上のものには結合し得ず、この結合のEC<sub>50</sub>は、例えばフローサイトメトリーによって決定すると、例えば、100nM以下、10nM以下、100nM～0.01nM、100nM～0.1nM、100nM～1nM、または10nM～1nMである。ある特定の実施形態では、抗IL-7R抗体は、結合型(例えば、細胞膜結合型)のカニクイザルIL-7R(カニクイザルT細胞上のもの)に結合するが、カニクイザル非T細胞上のものには結合せず、この結合のK<sub>D</sub>は、例えばフローサイトメトリー及びスキヤッチャードプロットによって決定すると、10<sup>-7</sup>M以下、10<sup>-8</sup>M以下、10<sup>-9</sup>M(1nM)以下、5×10<sup>-10</sup>M以下、10<sup>-10</sup>M以下、10<sup>-12</sup>M～10<sup>-7</sup>M、10<sup>-11</sup>M～10<sup>-8</sup>M、10<sup>-10</sup>M～10<sup>-8</sup>M、10<sup>-9</sup>M～10<sup>-8</sup>M、10<sup>-11</sup>M～10<sup>-9</sup>M、または10<sup>-10</sup>M～10<sup>-9</sup>Mである。  
10

#### 【0119】

当該技術分野では、さまざまな種のIL-7Rに対する抗体の結合能力を評価するための標準的なアッセイが知られており、こうしたアッセイには、例えば、ELISA、ウエスタンプロット、及びRIAが含まれる。適切なアッセイは、実施例にも記載されている。抗体の結合速度論(例えば、結合親和性)もまた、当該技術分野で知られる標準的なアッセイ(Biacore分析によるものなど)によって評価され得る。免疫細胞の機能特性(例えば、リガンド結合、STAT5リン酸化/活性化、サイトカイン産生)に対する抗体の作用を評価するためのアッセイについては、後述部及び実施例にさらに詳述される。

#### 【0120】

いくつかの実施形態では、本明細書に開示の抗IL-7R抗体は、T細胞(例えば、CD4<sup>+</sup>CD45RA<sup>+</sup>、CD4<sup>+</sup>CD45RA<sup>-</sup>、CD8<sup>+</sup>CD45RA<sup>+</sup>、CD8<sup>+</sup>CD45RA<sup>-</sup>)上に発現するIL-7Rに選択的であるが、非T細胞(例えば、単球)上に発現するIL-7Rには選択的でない。したがって、いくつかの実施形態では、抗IL-7R抗体は、T細胞上のIL-7RへのIL-7の結合を効果的に遮断し得るが、非T細胞(例えば、単球)上に発現するIL-7RへのTS-LPの結合は遮断し得ない。いくつかの実施形態では、抗IL-7R抗体は、T細胞におけるIL-7介在性のSTAT5のリン酸化(「pSTAT5活性化」)を阻害または低減し得る。いくつかの実施形態では、参照(例えば、本明細書に開示の抗IL-7R抗体で処理されない対応T細胞)と比較して、pSTAT5活性化が少なくとも5%、少なくとも10%、少なくとも20%、少なくとも30%、少なくとも40%、少なくとも50%、少なくとも60%、少なくとも70%、少なくとも80%、少なくとも90%、または少なくとも100%阻害または低減される。いくつかの実施形態では、本明細書に開示の抗IL-7R抗体は、TS-LP介在性の単球活性化を低減または阻止しない。  
30  
40

#### 【0121】

いくつかの実施形態では、本明細書に記載の抗IL-7R抗体は、エフェクターT細胞に対する制御性T細胞の比の調節(例えば、増加)を必要とする対象において当該調節を行う能力を有する。いくつかの実施形態では、抗IL-7R抗体は、対象におけるTre-g(例えば、CD45RA<sup>-</sup>CD39<sup>+</sup>T細胞)の機能回復及び/または生存促進によって比を調節する。ある特定の実施形態では、本開示の抗IL-7R抗体は、Tre-g機能

10

20

30

40

50

(例えば、T細胞増殖を抑制する能力及び／またはIL-10産生)を、参照(例えば、抗IL-7R抗体が投与されていない対象における対応Trereg)と比較して少なくとも5%、少なくとも10%、少なくとも20%、少なくとも30%、少なくとも40%、少なくとも50%、少なくとも60%、少なくとも70%、少なくとも80%、少なくとも90%、または少なくとも100%増加させる。いくつかの実施形態では、参照(例えば、抗IL-7R抗体が投与されていない対象における対応Trereg)と比較して、対象におけるTreregの頻度が少なくとも5%、少なくとも10%、少なくとも20%、少なくとも30%、少なくとも40%、少なくとも50%、少なくとも60%、少なくとも70%、少なくとも80%、少なくとも90%、または少なくとも100%増加する。

#### 【0122】

いくつかの実施形態では、本明細書に開示の抗IL-7R抗体は、対象におけるエフェクターT細胞(例えば、IL-17及び／またはIFN-γを産生するT細胞)の増殖を遮断することによってエフェクターT細胞に対する制御性T細胞の比を調節する。ある特定の実施形態では、参照(例えば、抗IL-7R抗体が投与されていない対象における対応Trereg)と比較して、対象におけるエフェクターT細胞の頻度が少なくとも5%、少なくとも10%、少なくとも20%、少なくとも30%、少なくとも40%、少なくとも50%、少なくとも60%、少なくとも70%、少なくとも80%、少なくとも90%、または少なくとも100%減少する。ある特定の実施形態では、本開示の抗IL-7R抗体は、対象においてTreregの機能回復及び／または生存促進とエフェクターT細胞の増殖遮断との両方を行うことによって比を調節する。

#### 【0123】

いくつかの実施形態では、参照(例えば、抗IL-7R抗体が投与されていない対象における対応比)と比較して、エフェクターT細胞に対する制御性T細胞の比が少なくとも5%、少なくとも10%、少なくとも20%、少なくとも30%、少なくとも40%、少なくとも50%、少なくとも60%、少なくとも70%、少なくとも80%、少なくとも90%、または少なくとも100%増加する。

#### 【0124】

いくつかの実施形態では、本明細書に記載の抗IL-7R抗体は、ヒトIL-7Rの細胞外部分(例えば、細胞外領域のIg様ドメイン、すなわち、配列番号1のアミノ酸21～239)におけるエピトープ(例えば、構造的エピトープ)に結合する。ある特定の実施形態では、抗IL-7R抗体は、配列番号1のアミノ酸残基44～59(すなわち、配列番号6の残基24～39)(SQLLEVNGSQHSLTCAF、「エピトープ1」(配列番号8))からなる領域に結合するか、または当該領域内のエピトープに結合する。いくつかの実施形態では、抗IL-7R抗体は、配列番号1のアミノ酸残基93～108(すなわち、配列番号6の残基73～88)(FIEETKKFLLIGKSNIC、「エピトープ2」(配列番号9))からなる領域に結合するか、または当該領域内のエピトープに結合する。他の実施形態では、抗IL-7R抗体は、配列番号1のアミノ酸残基109～125(すなわち、配列番号6の残基89～105)(VKVGEEKSLTCKKIDLTT、「エピトープ3」(配列番号10))からなる領域に結合するか、または当該領域内のエピトープに結合する。いくつかの実施形態では、抗IL-7R抗体は、配列番号1のアミノ酸残基156～169(すなわち、配列番号6の残基136～149)(QKKYVKVLMDVAY、「エピトープ4」(配列番号11))からなる領域に結合するか、または当該領域内のエピトープに結合する。他の実施形態では、抗IL-7R抗体は、配列番号1のアミノ酸残基201～216(すなわち、配列番号6の残基181～196)(YEIKVRSPDHYFKGF、「エピトープ5」(配列番号12))からなる領域に結合するか、または当該領域内のエピトープに結合する。

#### 【0125】

いくつかの実施形態では、本開示の抗IL-7R抗体は、配列番号1のアミノ酸残基H53、アミノ酸残基E95、アミノ酸残基F99、アミノ酸残基I102、アミノ酸残基K104、アミノ酸残基M164、アミノ酸残基R206、アミノ酸残基H211、及び

10

20

30

40

50

アミノ酸残基Y212（すなわち、配列番号6のH33、E75、F79、I82、K84、M144、R186、H191、及びY192）のうちの1つ以上を含むエピトープ（またはヒトIL-7Rの領域）に結合する。いくつかの実施形態では、本明細書に開示の抗IL-7R抗体は、配列番号1のアミノ酸残基H53、アミノ酸残基E95、アミノ酸残基F99、アミノ酸残基I102、アミノ酸残基K104、アミノ酸残基M164、アミノ酸残基R206、アミノ酸残基H211、及びアミノ酸残基Y212のうちの1つ以上が別のアミノ酸に変更されたヒトIL-7R（この変更は、例えば、非保存的アミノ酸置換によって行われる）には顕著に結合しないか、または結合するとしても結合親和性が顕著に低下する。

## 【0126】

10

いくつかの実施形態では、本明細書に開示の抗IL-7R抗体は、天然の抗体ではないか、または天然起源の抗体ではない。例えば、ある特定の実施形態では、抗IL-7R抗体は、天然起源の抗体のものとは異なる翻訳後修飾を有し、この差異は、翻訳後修飾が多いか、少ないか、またはその型が異なることなどによるものである。

## 【0127】

いくつかの実施形態では、抗IL-7R抗体は、アゴニスト活性を有さず、そのような抗体は、抗IL-7R抗体単独の場合を超える程に活性を増強することではなく、こうしたことは、例えば、抗IL-7R抗体と共にT細胞を培養した後にpSTAT活性化を測定することによって決定される。ある特定の実施形態では、抗IL-7R抗体は、アゴニスト活性を促進することなくIL-7RとIL-7との相互作用を遮断する。

20

## 【0128】

いくつかの実施形態では、本開示の抗IL-7R抗体は、胸腺間質性リンパ球新生因子(TSLP)介在性の単球活性化を遮断する能力を有さない。

## 【0129】

いくつかの実施形態では、抗IL-7R抗体は、薬剤フリー寛解を（例えば、CTLA4-Ig(ORENICA(登録商標))と比較して長く）維持する能力を有する。

## 【0130】

いくつかの実施形態では、抗IL-7R抗体は、腸組織における炎症及び粘膜損傷（例えば、病原性T細胞によって誘導されるもの）を遮断する能力を有する。いくつかの実施形態では、抗IL-7R抗体は、エフェクターT細胞（例えば、腸間膜リンパ節(MLN)）及び/または粘膜固有層(LP)におけるもの）の頻度を低減する能力を有する。いくつかの実施形態では、抗IL-7R抗体は、炎症性疾患（例えば、炎症性腸疾患）を有する対象を治療する能力を有する。

30

## 【0131】

いくつかの実施形態では、本開示の抗IL-7R抗体は、重鎖CDR1、重鎖CDR2、及び重鎖CDR3と、軽鎖CDR1、軽鎖CDR2、及び軽鎖CDR3とを含み、重鎖CDR3は、配列番号15に示されるアミノ酸配列を含む。いくつかの実施形態では、重鎖CDR1は、配列番号13に示されるアミノ酸配列を含む。いくつかの実施形態では、重鎖CDR2は、配列番号14に示されるアミノ酸配列を含む。ある特定の実施形態では、軽鎖CDR1は、配列番号16に示されるアミノ酸配列を含む。他の実施形態では、軽鎖CDR2は、配列番号17に示されるアミノ酸配列を含む。いくつかの実施形態では、軽鎖CDR3は、配列番号18に示されるアミノ酸配列を含む。

40

## 【0132】

いくつかの実施形態では、抗IL-7R抗体は、重鎖CDR1、重鎖CDR2、及び重鎖CDR3と、軽鎖CDR1、軽鎖CDR2、及び軽鎖CDR3とを含み、重鎖CDR1、重鎖CDR2、及び重鎖CDR3は、それぞれ配列番号13、配列番号14、及び配列番号15に示されるCDR1配列、CDR2配列、及びCDR3配列を含み、軽鎖CDR1、軽鎖CDR2、及び軽鎖CDR3は、それぞれ配列番号16、配列番号17、及び配列番号18に示されるCDR1配列、CDR2配列、及びCDR3配列を含み、抗IL-7R抗体は、本明細書に開示の特性の1つ以上を有する。

50

**【0133】**

いくつかの態様では、本開示の抗IL-7R抗体は、重鎖CDR1、重鎖CDR2、及び重鎖CDR3と、軽鎖CDR1、軽鎖CDR2、及び軽鎖CDR3とを含み、重鎖CDR3は、配列番号15と比較して1つ以上のアミノ酸改変（例えば、1つ、2つ、3つ、または4つの置換（例えば、エンリッチメント比が1.00以上となる図18Bに示されるものなど））を含む。いくつかの態様では、重鎖CDR1は、配列番号13と比較して1つ以上のアミノ酸改変（例えば、1つ、2つ、または3つの置換（例えば、エンリッチメント比が1.00以上となる図18Eに示されるものなど））を含む。ある特定の態様では、重鎖CDR2は、配列番号14と比較して1つ以上のアミノ酸改変（例えば、1つ、2つ、3つ、4つ、5つ、6つ、7つ、8つ、または9つの置換（例えば、エンリッチメント比が1.00以上となる図18Fに示されるものなど））を含む。別の態様では、軽鎖CDR1は、配列番号16と比較して1つ以上のアミノ酸改変（例えば、1つ、2つ、3つ、4つ、5つ、6つ、7つ、8つ、または9つの置換（例えば、エンリッチメント比が1.00以上となる図18Cに示されるものなど））を含む。いくつかの態様では、軽鎖CDR2は、配列番号17と比較して1つ以上のアミノ酸改変（例えば、1つ、2つ、3つ、4つ、5つ、または6つの置換（例えば、エンリッチメント比が1.00以上となる図18Dに示されるものなど））を含む。ある特定の態様では、軽鎖CDR3は、配列番号18と比較して1つ以上のアミノ酸改変（例えば、1つ、2つ、3つ、4つ、5つ、6つ、または7つの置換（例えば、エンリッチメント比が1.00以上となる図18Aに示されるものなど））を含む。

10

20

**【0134】**

いくつかの態様では、本明細書に開示の抗IL-7R抗体の重鎖CDR1は、GX<sub>1</sub>X<sub>2</sub>FDDHAX<sub>3</sub>Hというアミノ酸配列（配列番号260）を含み、配列中、X<sub>1</sub>は、FまたはYであり、X<sub>2</sub>は、T、P、A、S、V、L、I、M、H、F、Y、N、D、E、またはQであり、X<sub>3</sub>は、LまたはMである。ある特定の態様では、X<sub>2</sub>は、DまたはEである。別の態様では、X<sub>2</sub>は、Dである。他の態様では、X<sub>2</sub>は、Eである。本明細書に開示のIL-7R抗体の重鎖CDR1配列の例は、限定されないが、表13に示される。

**【0135】**

いくつかの態様では、本明細書に開示の抗IL-7R抗体の重鎖CDR2は、GIX<sub>1</sub>WX<sub>2</sub>SRGX<sub>3</sub>GYX<sub>4</sub>X<sub>5</sub>X<sub>6</sub>X<sub>7</sub>X<sub>8</sub>X<sub>9</sub>というアミノ酸配列（配列番号261）を含み、配列中、X<sub>1</sub>は、SまたはTであり、X<sub>2</sub>は、HまたはNであり、X<sub>3</sub>は、IまたはVであり、X<sub>4</sub>は、G、A、S、T、V、L、I、R、H、またはNであり、X<sub>5</sub>は、P、T、N、D、E、Q、S、H、またはYであり、X<sub>6</sub>は、P、G、A、S、T、V、R、H、F、Y、N、D、またはEであり、X<sub>7</sub>は、VまたはIであり、X<sub>8</sub>は、A、S、T、V、L、I、M、K、R、H、F、Y、N、D、E、またはQであり、X<sub>9</sub>は、G、H、D、またはQである。ある特定の態様では、X<sub>1</sub>は、Tである。本明細書に開示のIL-7R抗体の重鎖CDR2配列の例は、限定されないが、表14に示される。

30

**【0136】**

いくつかの態様では、本明細書に開示の抗IL-7R抗体の重鎖CDR3は、DEYX<sub>1</sub>X<sub>2</sub>GYYX<sub>3</sub>LDX<sub>4</sub>というアミノ酸配列（配列番号262）を含み、配列中、X<sub>1</sub>は、S、T、N、D、またはEであり、X<sub>2</sub>は、L、M、R、またはSであり、X<sub>3</sub>は、G、A、S、T、V、M、N、E、またはQであり、X<sub>4</sub>は、A、S、T、V、R、H、Y、W、N、E、Q、またはMである。ある特定の態様では、X<sub>3</sub>は、A、S、またはTである。いくつかの態様では、X<sub>3</sub>は、Aである。他の態様では、X<sub>3</sub>は、Sである。別の態様では、X<sub>3</sub>は、Tである。いくつかの態様では、X<sub>4</sub>は、Eである。本明細書に開示のIL-7R抗体の重鎖CDR3配列の例は、限定されないが、表15に示される。

40

**【0137】**

いくつかの態様では、本開示の抗IL-7R抗体の軽鎖CDR1は、X<sub>1</sub>X<sub>2</sub>X<sub>3</sub>X<sub>4</sub>X<sub>5</sub>X<sub>6</sub>X<sub>7</sub>SX<sub>8</sub>X<sub>9</sub>Aというアミノ酸配列（配列番号263）を含み、配列中、X<sub>1</sub>は、S、T、V、K、R、H、Y、またはIであり、X<sub>2</sub>は、A、S、T、またはVであり、

50

X<sub>3</sub>は、P、G、A、S、T、V、L、I、M、K、R、H、N、E、またはQであり、X<sub>4</sub>は、P、G、A、S、T、V、L、I、M、H、F、Y、N、D、E、またはQであり、X<sub>5</sub>は、P、G、A、S、T、H、E、Q、M、N、またはDであり、X<sub>6</sub>は、P、G、A、S、T、V、L、I、またはNであり、X<sub>7</sub>は、S、T、V、L、I、M、H、F、Y、N、D、E、またはQであり、X<sub>8</sub>は、PまたはAであり、X<sub>9</sub>は、A、L、またはVである。ある特定の態様では、X<sub>6</sub>は、Pである。いくつかの態様では、X<sub>8</sub>は、Pである。別の態様では、X<sub>7</sub>は、DまたはEである。ある特定の態様では、X<sub>7</sub>は、Dである。いくつかの態様では、X<sub>7</sub>は、Eである。本明細書に開示のIL-7R抗体の軽鎖CDR1配列の例は、限定されないが、表16に示される。

## 【0138】

10

いくつかの態様では、本明細書に開示の抗IL-7R抗体の軽鎖CDR2は、DX<sub>1</sub>X<sub>2</sub>X<sub>3</sub>X<sub>4</sub>X<sub>5</sub>X<sub>6</sub>というアミノ酸配列（配列番号264）を含み、配列中、X<sub>1</sub>は、G、A、S、M、H、N、D、E、またはQであり、X<sub>2</sub>は、G、A、S、T、V、M、H、F、Y、N、D、E、またはQであり、X<sub>3</sub>は、A、S、F、Y、W、N、D、E、またはLであり、X<sub>4</sub>は、P、S、T、L、K、H、またはNであり、X<sub>5</sub>は、D、E、またはQであり、X<sub>6</sub>は、G、S、T、N、D、Q、P、またはEである。本明細書に開示のIL-7R抗体の軽鎖CDR2配列の例は、限定されないが、表17に示される。

## 【0139】

20

いくつかの態様では、本明細書に開示の抗IL-7R抗体の軽鎖CDR3は、X<sub>1</sub>X<sub>2</sub>FX<sub>3</sub>X<sub>4</sub>YPLX<sub>5</sub>X<sub>6</sub>X<sub>7</sub>というアミノ酸配列（配列番号265）を含み、配列中、X<sub>1</sub>は、MまたはQであり、X<sub>2</sub>は、G、A、D、E、またはQであり、X<sub>3</sub>は、NまたはEであり、X<sub>4</sub>は、P、A、またはSであり、X<sub>5</sub>は、T、I、M、K、W、N、E、またはQであり、X<sub>6</sub>は、LまたはIであり、X<sub>7</sub>は、T、M、K、H、Y、E、またはQである。ある特定の態様では、X<sub>2</sub>は、Aである。いくつかの態様では、X<sub>4</sub>は、PまたはAである。ある特定の態様では、X<sub>4</sub>は、Pである。他の態様では、X<sub>4</sub>は、Aである。本明細書に開示のIL-7R抗体の軽鎖CDR3配列の例は、限定されないが、表18に示される。

## 【0140】

いくつかの態様では、本明細書に開示の抗IL-7R抗体は、重鎖CDR1、重鎖CDR2、及び重鎖CDR3と、軽鎖CDR1、軽鎖CDR2、及び軽鎖CDR3とを含み、(i)重鎖CDR1は、配列番号31～46に示されるアミノ酸配列のうちの1つを含み、(ii)重鎖CDR2は、配列番号14に示されるアミノ酸配列を含み、(iii)重鎖CDR3は、配列番号15に示されるアミノ酸配列を含み、(iv)軽鎖CDR1は、配列番号16に示されるアミノ酸配列を含み、(v)軽鎖CDR2は、配列番号17に示されるアミノ酸配列を含み、(vi)軽鎖CDR3は、配列番号18に示されるアミノ酸配列を含む。

30

## 【0141】

いくつかの態様では、本明細書に開示の抗IL-7R抗体は、重鎖CDR1、重鎖CDR2、及び重鎖CDR3と、軽鎖CDR1、軽鎖CDR2、及び軽鎖CDR3とを含み、(i)重鎖CDR1は、配列番号13に示されるアミノ酸配列を含み、(ii)重鎖CDR2は、配列番号47～96に示されるアミノ酸配列のうちの1つを含み、(iii)重鎖CDR3は、配列番号15に示されるアミノ酸配列を含み、(iv)軽鎖CDR1は、配列番号16に示されるアミノ酸配列を含み、(v)軽鎖CDR2は、配列番号17に示されるアミノ酸配列を含み、(vi)軽鎖CDR3は、配列番号18に示されるアミノ酸配列を含む。

40

## 【0142】

いくつかの態様では、本明細書に開示の抗IL-7R抗体は、重鎖CDR1、重鎖CDR2、及び重鎖CDR3と、軽鎖CDR1、軽鎖CDR2、及び軽鎖CDR3とを含み、(i)重鎖CDR1は、配列番号13に示されるアミノ酸配列を含み、

50

( i i ) 重鎖 C D R 2 は、配列番号 1 4 に示されるアミノ酸配列を含み、  
 ( i i i ) 重鎖 C D R 3 は、配列番号 9 7 ~ 1 2 2 に示されるアミノ酸配列のうちの 1 つを含み、

( i v ) 軽鎖 C D R 1 は、配列番号 1 6 に示されるアミノ酸配列を含み、  
 ( v ) 軽鎖 C D R 2 は、配列番号 1 7 に示されるアミノ酸配列を含み、  
 ( v i ) 軽鎖 C D R 3 は、配列番号 1 8 に示されるアミノ酸配列を含む。

#### 【 0 1 4 3 】

いくつかの態様では、本明細書に開示の抗 I L - 7 R 抗体は、重鎖 C D R 1 、重鎖 C D R 2 、及び重鎖 C D R 3 と、軽鎖 C D R 1 、軽鎖 C D R 2 、及び軽鎖 C D R 3 とを含み、

( i ) 重鎖 C D R 1 は、配列番号 1 3 に示されるアミノ酸配列を含み、  
 ( i i ) 重鎖 C D R 2 は、配列番号 1 4 に示されるアミノ酸配列を含み、  
 ( i i i ) 重鎖 C D R 3 は、配列番号 1 5 に示されるアミノ酸配列を含み、  
 ( i v ) 軽鎖 C D R 1 は、配列番号 1 2 3 ~ 1 9 4 に示されるアミノ酸配列のうちの 1 つを含み、  
 ( v ) 軽鎖 C D R 2 は、配列番号 1 7 に示されるアミノ酸配列を含み、  
 ( v i ) 軽鎖 C D R 3 は、配列番号 1 8 に示されるアミノ酸配列を含む。

#### 【 0 1 4 4 】

いくつかの態様では、本明細書に開示の抗 I L - 7 R 抗体は、重鎖 C D R 1 、重鎖 C D R 2 、及び重鎖 C D R 3 と、軽鎖 C D R 1 、軽鎖 C D R 2 、及び軽鎖 C D R 3 とを含み、

( i ) 重鎖 C D R 1 は、配列番号 1 3 に示されるアミノ酸配列を含み、  
 ( i i ) 重鎖 C D R 2 は、配列番号 1 4 に示されるアミノ酸配列を含み、  
 ( i i i ) 重鎖 C D R 3 は、配列番号 1 5 に示されるアミノ酸配列を含み、  
 ( i v ) 軽鎖 C D R 1 は、配列番号 1 6 に示されるアミノ酸配列を含み、  
 ( v ) 軽鎖 C D R 2 は、配列番号 1 9 5 ~ 2 3 7 に示されるアミノ酸配列のうちの 1 つを含み、  
 ( v i ) 軽鎖 C D R 3 は、配列番号 1 8 に示されるアミノ酸配列を含む。

#### 【 0 1 4 5 】

いくつかの態様では、本明細書に開示の抗 I L - 7 R 抗体は、重鎖 C D R 1 、重鎖 C D R 2 、及び重鎖 C D R 3 と、軽鎖 C D R 1 、軽鎖 C D R 2 、及び軽鎖 C D R 3 とを含み、

( i ) 重鎖 C D R 1 は、配列番号 1 3 に示されるアミノ酸配列を含み、  
 ( i i ) 重鎖 C D R 2 は、配列番号 1 4 に示されるアミノ酸配列を含み、  
 ( i i i ) 重鎖 C D R 3 は、配列番号 1 5 に示されるアミノ酸配列を含み、  
 ( i v ) 軽鎖 C D R 1 は、配列番号 1 6 に示されるアミノ酸配列を含み、  
 ( v ) 軽鎖 C D R 2 は、配列番号 1 7 に示されるアミノ酸配列を含み、  
 ( v i ) 軽鎖 C D R 3 は、配列番号 2 3 8 ~ 2 5 9 に示されるアミノ酸配列のうちの 1 つを含む。

#### 【 0 1 4 6 】

いくつかの態様では、本明細書に開示の抗 I L - 7 R 抗体は、重鎖 C D R 1 、重鎖 C D R 2 、及び重鎖 C D R 3 と、軽鎖 C D R 1 、軽鎖 C D R 2 、及び軽鎖 C D R 3 とを含み、

( i ) 重鎖 C D R 1 は、配列番号 1 3 及び配列番号 3 1 ~ 4 6 に示されるアミノ酸配列のいずれか 1 つを含み、  
 ( i i ) 重鎖 C D R 2 は、配列番号 1 4 及び配列番号 4 7 ~ 9 6 に示されるアミノ酸配列のいずれか 1 つを含み、  
 ( i i i ) 重鎖 C D R 3 は、配列番号 1 5 及び配列番号 9 7 ~ 1 2 2 に示されるアミノ酸配列のいずれか 1 つを含み、  
 ( i v ) 軽鎖 C D R 1 は、配列番号 1 6 及び配列番号 1 2 3 ~ 1 9 4 に示されるアミノ酸配列のいずれか 1 つを含み、  
 ( v ) 軽鎖 C D R 2 は、配列番号 1 7 及び配列番号 1 9 5 ~ 2 3 7 に示されるアミノ酸配列のいずれか 1 つを含み、及び / または  
 ( v i ) 軽鎖 C D R 3 は、配列番号 1 8 及び配列番号 2 3 8 ~ 2 5 9 に示されるアミノ酸

10

20

30

40

50

配列のいずれか1つを含む。

#### 【0147】

いくつかの態様では、重鎖CDR1は、配列番号43または配列番号44に示されるアミノ酸配列を含む。いくつかの態様では、重鎖CDR2は、配列番号47に示されるアミノ酸配列を含む。いくつかの態様では、重鎖CDR3は、配列番号105、配列番号106、配列番号107、または配列番号120に示されるアミノ酸配列を含む。いくつかの態様では、軽鎖CDR1は、配列番号172、配列番号189、配列番号190、または配列番号192に示されるアミノ酸配列を含む。いくつかの態様では、軽鎖CDR3は、配列番号240、配列番号244、または配列番号245に示されるアミノ酸配列を含む。

#### 【0148】

いくつかの態様では、本明細書に開示のIL-7R抗体は、重鎖CDR1、重鎖CDR2、及び重鎖CDR3と、軽鎖CDR1、軽鎖CDR2、及び軽鎖CDR3とを含み、  
 (i) 重鎖CDR1は、配列番号43または配列番号44に示されるアミノ酸配列を含み、  
 (ii) 重鎖CDR2は、配列番号14に示されるアミノ酸配列を含み、  
 (iii) 重鎖CDR3は、配列番号15に示されるアミノ酸配列を含み、  
 (iv) 軽鎖CDR1は、配列番号16に示されるアミノ酸配列を含み、  
 (v) 軽鎖CDR2は、配列番号17に示されるアミノ酸配列を含み、  
 (vi) 軽鎖CDR3は、配列番号18に示されるアミノ酸配列を含む。

#### 【0149】

いくつかの態様では、本明細書に開示のIL-7R抗体は、重鎖CDR1、重鎖CDR2、及び重鎖CDR3と、軽鎖CDR1、軽鎖CDR2、及び軽鎖CDR3とを含み、  
 (i) 重鎖CDR1は、配列番号13に示されるアミノ酸配列を含み、  
 (ii) 重鎖CDR2は、配列番号47に示されるアミノ酸配列を含み、  
 (iii) 重鎖CDR3は、配列番号15に示されるアミノ酸配列を含み、  
 (iv) 軽鎖CDR1は、配列番号16に示されるアミノ酸配列を含み、  
 (v) 軽鎖CDR2は、配列番号17に示されるアミノ酸配列を含み、  
 (vi) 軽鎖CDR3は、配列番号18に示されるアミノ酸配列を含む。

#### 【0150】

いくつかの態様では、本明細書に開示のIL-7R抗体は、重鎖CDR1、重鎖CDR2、及び重鎖CDR3と、軽鎖CDR1、軽鎖CDR2、及び軽鎖CDR3とを含み、  
 (i) 重鎖CDR1は、配列番号13に示されるアミノ酸配列を含み、  
 (ii) 重鎖CDR2は、配列番号14に示されるアミノ酸配列を含み、  
 (iii) 重鎖CDR3は、配列番号105、配列番号106、配列番号107、または配列番号120に示されるアミノ酸配列を含み、  
 (iv) 軽鎖CDR1は、配列番号16に示されるアミノ酸配列を含み、  
 (v) 軽鎖CDR2は、配列番号17に示されるアミノ酸配列を含み、  
 (vi) 軽鎖CDR3は、配列番号18に示されるアミノ酸配列を含む。

#### 【0151】

いくつかの態様では、本明細書に開示のIL-7R抗体は、重鎖CDR1、重鎖CDR2、及び重鎖CDR3と、軽鎖CDR1、軽鎖CDR2、及び軽鎖CDR3とを含み、  
 (i) 重鎖CDR1は、配列番号13に示されるアミノ酸配列を含み、  
 (ii) 重鎖CDR2は、配列番号14に示されるアミノ酸配列を含み、  
 (iii) 重鎖CDR3は、配列番号15に示されるアミノ酸配列を含み、  
 (iv) 軽鎖CDR1は、配列番号172、配列番号189、配列番号190、または配列番号192に示されるアミノ酸配列を含み、  
 (v) 軽鎖CDR2は、配列番号17に示されるアミノ酸配列を含み、  
 (vi) 軽鎖CDR3は、配列番号18に示されるアミノ酸配列を含む。

#### 【0152】

いくつかの態様では、本明細書に開示のIL-7R抗体は、重鎖CDR1、重鎖CDR2、及び重鎖CDR3と、軽鎖CDR1、軽鎖CDR2、及び軽鎖CDR3とを含み、

10

20

30

40

50

( i ) 重鎖 C D R 1 は、配列番号 1 3 に示されるアミノ酸配列を含み、  
 ( i i ) 重鎖 C D R 2 は、配列番号 1 4 に示されるアミノ酸配列を含み、  
 ( i i i ) 重鎖 C D R 3 は、配列番号 1 5 に示されるアミノ酸配列を含み、  
 ( i v ) 軽鎖 C D R 1 は、配列番号 1 6 に示されるアミノ酸配列を含み、  
 ( v ) 軽鎖 C D R 2 は、配列番号 1 7 に示されるアミノ酸配列を含み、  
 ( v i ) 軽鎖 C D R 3 は、配列番号 2 4 0 、配列番号 2 4 4 、または配列番号 2 4 5 に示されるアミノ酸配列を含む。

#### 【 0 1 5 3 】

いくつかの態様では、本明細書に開示の I L - 7 R 抗体は、重鎖 C D R 1 、重鎖 C D R 2 、及び重鎖 C D R 3 と、軽鎖 C D R 1 、軽鎖 C D R 2 、及び軽鎖 C D R 3 とを含み、重鎖 C D R または軽鎖 C D R のうちの 1 つは、本明細書に開示のアミノ酸改変を含み、その他の重鎖 C D R または軽鎖 C D R は、本明細書に開示の 1 8 B 1 抗体（本明細書では「抗体 A 」とも称される）の対応 C D R と比較して改変されない。いくつかの態様では、重鎖 C D R または軽鎖 C D R のうちの 2 つは、本明細書に開示のアミノ酸改変を含み、その他の重鎖 C D R または軽鎖 C D R は、1 8 B 1 抗体の対応 C D R と比較して改変されない。別の態様では、重鎖 C D R または軽鎖 C D R のうちの 3 つは、本明細書に開示のアミノ酸改変を含み、その他の重鎖 C D R または軽鎖 C D R は、1 8 B 1 抗体の対応 C D R と比較して改変されない。ある特定の態様では、重鎖 C D R または軽鎖 C D R のうちの 4 つは、本明細書に開示のアミノ酸改変を含み、その他の重鎖 C D R または軽鎖 C D R は、1 8 B 1 抗体の対応 C D R と比較して改変されない。別の態様では、重鎖 C D R または軽鎖 C D R のうちの 5 つは、本明細書に開示のアミノ酸改変を含み、その他の重鎖 C D R または軽鎖 C D R は、1 8 B 1 抗体の対応 C D R と比較して改変されない。いくつかの態様では、重鎖 C D R 及び軽鎖 C D R は 6 つすべてが、1 8 B 1 抗体の対応 C D R と比較して本明細書に開示のアミノ酸改変を含む。本明細書に記載の 1 8 B 1 抗体は、配列番号 1 3 に示される重鎖 C D R 1 、配列番号 1 4 に示される重鎖 C D R 2 、配列番号 1 5 に示される重鎖 C D R 3 、配列番号 1 6 に示される軽鎖 C D R 1 、配列番号 1 7 に示される軽鎖 C D R 2 、及び配列番号 1 8 に示される軽鎖 C D R 3 を含む。

#### 【 0 1 5 4 】

いくつかの実施形態では、本明細書に開示の抗 I L - 7 R 抗体は、重鎖可変領域（ V H ）及び軽鎖可変領域（ V L ）を含み、 V H は、配列番号 1 9 に示されるアミノ酸配列との同一性が少なくとも約 8 0 % 、少なくとも約 8 5 % 、少なくとも約 9 0 % 、少なくとも約 9 5 % 、少なくとも約 9 6 % 、少なくとも約 9 7 % 、少なくとも約 9 8 % 、少なくとも約 9 9 % 、または約 1 0 0 % であるアミノ酸配列を含み、 V L は、配列番号 2 0 に示されるアミノ酸配列との同一性が少なくとも約 8 0 % 、少なくとも約 8 5 % 、少なくとも約 9 0 % 、少なくとも約 9 5 % 、少なくとも約 9 6 % 、少なくとも約 9 7 % 、少なくとも約 9 8 % 、少なくとも約 9 9 % 、または約 1 0 0 % であるアミノ酸配列を含み、抗 I L - 7 R 抗体は、本明細書に開示の特性の 1 つ以上を有する。

#### 【 0 1 5 5 】

いくつかの実施形態では、抗 I L - 7 R 抗体は、 V H 及び V L を含み、 V H は、配列番号 1 9 の重鎖 C D R 1 、重鎖 C D R 2 、及び重鎖 C D R 3 を含み、 V L は、配列番号 2 0 の軽鎖 C D R 1 、軽鎖 C D R 2 、及び軽鎖 C D R 3 を含み、抗 I L - 7 R 抗体は、本明細書に開示の特性の 1 つ以上を有する。

#### 【 0 1 5 6 】

いくつかの実施形態では、本開示の抗 I L - 7 R 抗体は、ヒト I L - 7 R に対する結合について参照抗 I L - 7 R 抗体と交差競合し、この参照抗 I L - 7 R 抗体は、 V H 及び V L を含み、 V H は、配列番号 1 9 に示されるアミノ酸配列を含み、 V L は、配列番号 2 0 に示されるアミノ酸配列を含む。いくつかの実施形態では、本明細書に開示の抗 I L - 7 R 抗体が結合するヒト I L - 7 R 上のエピトープは、参照抗 I L - 7 R 抗体が結合するものと同じであり、この参照抗 I L - 7 R 抗体は、 V H 及び V L を含み、 V H は、配列番号 1 9 に示されるアミノ酸配列を含み、 V L は、配列番号 2 0 に示されるアミノ酸配列

10

20

30

40

50

を含む。いくつかの実施形態では、抗 I L - 7 R 抗体及び参照抗体は両方共、 S Q L E V N G S Q H S L T C A F (配列番号 8 )、 F I E T K K F L L I G K S N I C (配列番号 9 )、 V K V G E K S L T C K K I D L T T (配列番号 10 )、 Q K K Y V K V L M H D V A Y (配列番号 11 )、 Y E I K V R S I P D H Y F K G F (配列番号 12 )からなる群から選択されるエピトープに結合する。いくつかの実施形態では、抗 I L - 7 R 抗体及び参照抗体は両方共、配列番号 1 のアミノ酸残基 H 5 3 、アミノ酸残基 E 9 5 、アミノ酸残基 F 9 9 、アミノ酸残基 I 1 0 2 、アミノ酸残基 K 1 0 4 、アミノ酸残基 M 1 6 4 、アミノ酸残基 R 2 0 6 、アミノ酸残基 H 2 1 1 、及びアミノ酸残基 Y 2 1 2 (すなわち、配列番号 6 の H 3 3 、 E 7 5 、 F 7 9 、 I 8 2 、 K 8 4 、 M 1 4 4 、 R 1 8 6 、 H 1 9 1 、及び Y 1 9 2 )の 1 つ以上を含むエピトープに結合する。

10

## 【 0 1 5 7 】

いくつかの実施形態では、本明細書に開示の抗 I L - 7 R 抗体は、ヒト I L - 7 R への参照抗 I L - 7 R 抗体の結合を、少なくとも 1 0 % 、少なくとも 2 0 % 、少なくとも 3 0 % 、少なくとも 4 0 % 、少なくとも 5 0 % 、少なくとも 6 0 % 、少なくとも 7 0 % 、少なくとも 8 0 % 、少なくとも 9 0 % 、または少なくとも 1 0 0 % 阻害する。競合抗体は、同じエピトープ、重複エピトープ、または隣接エピトープに結合する(例えば、立体障害によって証拠付けられる)。標的への結合について 2 つの抗体が互いに競合するかどうかは、当該技術分野で知られる競合実験( R I A 及び E I A など)を使用して決定され得る。

## 【 0 1 5 8 】

本明細書に記載の V H ドメインまたはその 1 つ以上の C D R は、重鎖(例えば、全長重鎖)を形成するための定常ドメインに連結され得る。同様に、本明細書に記載の V L ドメインまたはその 1 つ以上の C D R は、軽鎖(例えば、全長軽鎖)を形成するための定常ドメインに連結され得る。全長重鎖(例外として C 末端のリジン( K )または C 末端のグリシン及びリジン( G K )が不在であり得る)と全長軽鎖が組み合わせられることで全長抗体が形成される。

20

## 【 0 1 5 9 】

いくつかの実施形態では、天然起源であるか、または改変されたヒト I g G (例えば、 I g G 1 、 I g G 2 、 I g G 3 、または I g G 4 )の定常ドメインに本明細書に記載の V H ドメインが融合され得る。このことは、例えば、本明細書にさらに記載されるよう行われる。例えば、 V H ドメインは、本明細書に記載の任意の V H ドメインのアミノ酸配列を含み得、この V H ドメインは、ヒト I g G (例えば、 I g G 1 )の定常領域に融合しており、こうした定常領域は、下記の野生型ヒト I g G 1 定常ドメインアミノ酸配列：

30

## 【 化 7 】

```
ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVWSWNSGALTSGVHTFPAPVLQSSGLYSLSSV
VTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMI
SRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKC
KVSNKALPAPIEKTIISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQOPEN
NYKTPPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK
```

40

(配列番号 2 3 )

または配列番号 2 3 のアロタイプバリエントのもの(下記のアミノ酸配列を有する)などを有する：

50

## 【化 8】

ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTWSWNSGALTSGVHTFPAPVLQSSGLYSLSSV  
 VTVPSLGTQTYICNVNHPKSNTKVDKRVEPKSCDKTHCPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMI  
 SRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKC  
 KVSNKALPAPIEKTISAKGQPREPQVYTLPPSREMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQOPEN  
 NYKTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

(配列番号 24 ; アロタイプに特有のアミノ酸残基は、下線付きの太字で示される)。

10

## 【0160】

いくつかの実施形態では、抗 I L - 7 R 抗体の V H ドメインは、本明細書に記載の任意の V H ドメインのアミノ酸配列を含み得、この V H ドメインは、エフェクター機能を有さない定常領域に融合しており、こうした定常領域は、例えば、エフェクター機能を有さないヒト Ig G 1 定常ドメインアミノ酸配列（下記のもの）を有する：

## 【化 9】

ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTWSWNSGALTSGVHTFPAPVLQSSGLYSLSSV  
 VTVPSLGTQTYICNVNHPKSNTKVDKRVEPKSCDKTHCPCPAPEAEGAPSVFLFPPKPKDTLMI  
 SRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKC  
 KVSNKALPSIKTISAKGQPREPQVYTLPPSREMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQOPEN  
 NYKTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

(配列番号 25 ; L 234 A 置換、L 235 E 置換、G 237 A 置換、A 330 S 置換、及び P 331 S 置換（下線付きで示される）を含む「Ig G 1. 1 f」)

20

または

## 【化 10】

ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTWSWNSGALTSGVHTFPAPVLQSSGLYSLSSV  
 VTVPSLGTQTYICNVNHPKSNTKVDKRVEPKSCDKTHCPCPAPEAEGAPSVFLFPPKPKDTLMI  
 SRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKC  
 KVSNKALPAPIEKTISAKGQPREPQVYTLPPSREMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQOPEN  
 NYKTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

30

(配列番号 26 ; L 234 A 置換、L 235 E 置換、及び G 237 A 置換（下線付きで示される）を含む「Ig G 1. 3 f」)。

## 【0161】

例えば、Ig G 1 のアロタイプバリエントは、K 97 R、D 239 E、及び / または L 241 M (上に下線付きの太字で示されるもの) を含み、この番号付けは、配列番号 24 ~ 26 のものに従うものである。全長重領域内では、E U の番号付けに従うと、これらのアミノ酸置換の番号付けは K 214 R、D 356 E、及び L 358 M となる。いくつかの実施形態では、抗 I L - 7 R 抗体の定常領域は、配列番号 24 ~ 26 の番号付けによる L 117、A 118、G 120、A 213、及び P 214 のアミノ酸位置（上に下線付きで示される位置）または E U の番号付けに従う L 234、A 235、G 237、A 330、及び P 331 のアミノ酸位置に 1 つ以上の変異または置換をさらに含み得る。別の実施形態では、抗 I L - 7 R 抗体の定常領域は、配列番号 23 の L 117 A、A 118 E、G 120 A、A 213 S、及び P 214 S のアミノ酸位置または E U の番号付けに従う L 234 A、L 235 E、G 237 A、A 330 S、及び P 331 S のアミノ酸位置に 1 つ以上

40

50

の変異または置換を含む。抗 I L - 7 R 抗体の定常領域は、配列番号 2 3 の L 1 1 7 A、A 1 1 8 E、及び G 1 2 0 A または E U の番号付けに従う L 2 3 4 A、L 2 3 5 E、及び G 2 3 7 A にも、1つ以上の変異または置換を含み得る。

#### 【 0 1 6 2 】

本明細書に記載の V L ドメインは、ヒトのカッパ軽鎖またはラムダ軽鎖の定常ドメインに融合され得る。例えば、抗 I L - 7 R 抗体の V L ドメインは、本明細書に記載の任意の V L ドメインのアミノ酸配列を含み得、この V L ドメインは、下記のヒト Ig G 1 カッパ軽鎖アミノ酸配列に融合している：

#### 【 化 1 1 】

RTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSL  
SSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC

(配列番号 2 0 )

10

#### 【 0 1 6 3 】

ある特定の実施形態では、重鎖定常領域は、リジンまたは別のアミノ酸を C 末端に含み、例えば、L S P G K というアミノ酸配列（配列番号 2 8 ）を重鎖の最後に含む。ある特定の実施形態では、重鎖定常領域は、C 末端のアミノ酸を1つ以上欠いており、例えば、L S P G という C 末端配列（配列番号 2 9 ）または L S P という C 末端配列を有する。

#### 【 0 1 6 4 】

いくつかの実施形態では、本開示の抗 I L - 7 R 抗体は、重鎖（ H C ）及び軽鎖（ L C ）を含み、 H C は、配列番号 2 1 に示されるアミノ酸配列を含み、 L C は、配列番号 2 2 に示されるアミノ酸配列を含む。

20

#### 【 0 1 6 5 】

##### I I . 操作及び改変された抗体

本明細書に開示の V H 配列及び / または V L 配列の1つ以上を有する抗体を、改変抗体が操作創出されるように出発材料として使用して調製され得る操作及び改変された抗体も提供され、この改変された抗体は、出発抗体のものから変化した特性を有し得る。抗体は、一方または両方の可変領域（すなわち、 V H 及び / または V L ）に含まれる残基（例えば、1つ以上の C D R 領域及び / または1つ以上のフレームワーク領域に含まれる残基）を1つ以上改変することによって操作され得る。付加的または代替的に、抗体は、定常領域（複数可）内の残基を改変することによって操作することができ、これによって、例えば、抗体のエフェクター機能（複数可）が変化する。

30

#### 【 0 1 6 6 】

実施され得る可変領域操作の型の1つは C D R 移植である。抗体は、6つの重鎖相補性決定領域及び軽鎖相補性決定領域（ C D R ）に位置するアミノ酸残基を主に介して標的抗原と相互作用する。この理由から、 C D R 内のアミノ酸配列は、 C D R の外の配列と比較して個々の抗体の間での多様性が大きい。 C D R 配列は、抗体 - 抗原相互作用のほとんどを担うため、異なる特性を有する異なる抗体に由来するフレームワーク配列に対して特定の天然起源抗体に由来する C D R 配列を移植したものを含む発現ベクターを構築することによって、そうした特定の天然起源抗体の特性を模倣する組換え抗体を発現させることが可能である（例えば、 Riechmann , L. et al. (1998) Nature 332 : 323 - 327 、 Jones , P. et al. (1986) Nature 321 : 522 - 525 、 Queen , C. et al. (1989) Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A. 86 : 10029 - 10033 、 Winter に付与された米国特許第 5,225,539 号、ならびに Queen et al. に付与された米国特許第 5,530,101 号、同第 5,585,089 号、同第 5,693,762 号、及び同第 6,180,370 号を参照のこと）。

40

#### 【 0 1 6 7 】

したがって、本明細書に記載の一実施形態は、重鎖可変領域（ V H ）及び軽鎖可変領域

50

(V L) を含む単離されたモノクローナル抗体に関し、V H は、それぞれ配列番号 1 3、配列番号 1 4、及び配列番号 1 5 に示される C D R 1 配列、C D R 2 配列、及び C D R 3 配列を含み、V L は、それぞれ配列番号 1 6、配列番号 1 7、及び配列番号 1 8 に示される C D R 1 配列、C D R 2 配列、及び C D R 3 配列を含み、抗体は、本明細書に開示の特性を 1 つ以上有する。したがって、本明細書に開示の抗 I L - 7 R 抗体は、上記の V H C D R 配列及び V L C D R 配列を含み得、さらに、異なるフレームワーク配列を含み得る。

#### 【0168】

そのようなフレームワーク配列は、生殖系列抗体遺伝子配列を含む公的な D N A データベースまたは公開参考文献から入手することができる。例えば、ヒトの重鎖可変領域遺伝子及び軽鎖可変領域遺伝子の生殖系列 D N A 配列は、「V Base」ヒト生殖系列配列データベース ([www.mrc-cpe.cam.ac.uk/vbase](http://www.mrc-cpe.cam.ac.uk/vbase) にてインターネット上で利用可能) ならびに Kabat, E. A., et al. (1991) Sequences of Proteins of Immunological Interest, Fifth Edition, U.S. Department of Health and Human Services, NIH Publication No. 91-3242, Tomlinson, I. M., et al. (1992) "The Repertoire of Human Germline V<sub>H</sub> Sequences Reveals about Fifty Groups of V<sub>H</sub> Segments with Different Hypervariable Loops" / . Mol. Biol. 227: 776-798、及び Cox, J. P. L. et al. (1994) "A Directory of Human Germ-line V<sub>H</sub> Segments Reveals a Strong Bias in their Usage" Eur. J. Immunol. 24: 827-836において見つけることができ、これらの文献のそれらの内容は、参照によって本明細書に明確に組み込まれる。

#### 【0169】

いくつかの実施形態では、本明細書に記載の抗 I L - 7 R 抗体において使用するためのフレームワーク配列は、本明細書に記載の抗 I L - 7 R 抗体によって使用されるフレームワーク配列と構造的に類似したものである。V H C D R 1 配列、V H C D R 2 配列、及び V H C D R 3 配列、ならびに V L C D R 1 配列、V L C D R 2 配列、及び V L C D R 3 配列は、フレームワーク配列の由来元である生殖系列免疫グロブリン遺伝子に見られるものと同一の配列を有するフレームワーク領域に移植され得るか、またはそれらの C D R 配列は、こうした生殖系列配列のものと比較して 1 つ以上の変異を含むフレームワーク領域に移植され得る。例えば、ある特定の場合、抗体の抗原結合能力が維持または増強されるようにフレームワーク領域内の残基を変異させることができることが有益であることが明らかになっている（例えば、Queen et al. に付与された米国特許第 5,530,101 号、同第 5,585,089 号、同第 5,693,762 号、及び同第 6,180,370 号を参照のこと）。

#### 【0170】

本明細書に記載の操作された抗 I L - 7 R 抗体には、V H 及び / または V L 内のフレームワーク残基に改変が施されているものが含まれ、こうした改変を施すことでの、例えば、抗体の特性が改善する。典型的には、そのようなフレームワーク改変は、抗体の免疫原性が減少するように施される。例えば、1つの手法は、1つ以上のフレームワーク残基を対応生殖系列配列へと「復帰変異」させるというものである。より具体的には、体細胞変異が生じている抗体は、抗体の由来元である生殖系列配列とは異なるフレームワーク残基を含み得る。そのような残基は、抗体フレームワーク配列を、抗体の由来元である生殖系列配列と比較することによって同定され得る。フレームワーク領域配列をその生殖系列構成に戻すには、体細胞変異を生殖系列配列へと「復帰変異」させることができ、これは、例えば、部位特異的変異導入または P C R 介在性の変異導入によって行われる。そのような「復帰変異」抗体も包含することが意図される。別の型のフレームワーク改変は、フレー

10

20

30

40

50

ムワーク領域内の残基を1つ以上変異させるか、または1つ以上のCDR領域内の残基さえも1つ以上変異させてT細胞エピトープを除去し、それによって抗体の潜在的な免疫原性を低減するというものである。この手法は、「脱免疫化」とも称され、Carr et al.による米国特許公開公報第20030153043号にさらに詳述されている。

#### 【0171】

別の型の可変領域改変は、VH CDR1領域、VH CDR2領域、及び／またはVH CDR3領域、及び／またはVL CDR1領域、VL CDR2領域、及び／またはVL CDR3領域内のアミノ酸残基を変え、それによって目的抗体の結合特性（例えば、親和性）を1つ以上改善するものである。部位特異的変異導入またはPCR介在性の変異導入を実施することで変異（複数可）を導入することができ、抗体結合または他の目的機能特性に対する効果を、本明細書に記載及び実施例に提供されるインビトロまたはインビボのアッセイにおいて評価することができる。いくつかの実施形態では、保存的改変（上に論じられるもの）が導入される。こうした変異は、アミノ酸置換、アミノ酸追加、またはアミノ酸欠失であり得る。さらに、典型的には、CDR領域内の1つ以下、2つ以下、3つ以下、4つ以下、または5つ以下の残基が変えられる。

#### 【0172】

したがって、VH及びVLを含む単離された抗IL-7R抗体も本明細書で提供され、VHは、(i)配列番号13に示されるアミノ酸配列(DHAMH)を含むCDR1領域、または配列番号13と比較して1つ、2つ、3つ、4つ、もしくは5つのアミノ酸置換、アミノ酸欠失、もしくはアミノ酸追加を有するアミノ酸配列を含むCDR1領域、(ii)配列番号14に示されるアミノ酸配列(GISWNNSRGIGYADSVKG)を含むCDR2領域、または配列番号14と比較して1つ、2つ、3つ、4つ、もしくは5つのアミノ酸置換、アミノ酸欠失、もしくはアミノ酸追加を有するアミノ酸配列を含むCDR2領域、及び(iii)配列番号15に示されるアミノ酸配列(DEYSRGYYVLDV)を含むCDR3領域、または配列番号15と比較して1つ、2つ、3つ、4つ、もしくは5つのアミノ酸置換、アミノ酸欠失、もしくはアミノ酸追加を有するアミノ酸配列を含むCDR3領域を含み、VLは、(iv)配列番号16に示されるアミノ酸配列(RASQGISSALA)を含むCDR1領域、または配列番号16と比較して1つ、2つ、3つ、4つ、もしくは5つのアミノ酸置換、アミノ酸欠失、もしくはアミノ酸追加を有するアミノ酸配列を含むCDR1領域、(v)配列番号17に示されるアミノ酸配列(DASSLES)を含むCDR2領域、または配列番号17と比較して1つ、2つ、3つ、4つ、もしくは5つのアミノ酸置換、アミノ酸欠失、もしくはアミノ酸追加を有するアミノ酸配列を含むCDR2領域、及び(vi)配列番号18に示されるアミノ酸配列(QQFNSYPFWIT)を含むCDR3領域、または配列番号18と比較して1つ、2つ、3つ、4つ、もしくは5つのアミノ酸置換、アミノ酸欠失、もしくはアミノ酸追加を有するアミノ酸配列を含むCDR3領域を含み、抗体は、本明細書に開示の特性を1つ以上有する。そのようなVH CDR配列及びVL CDR配列の例は、限定されないが、表13(VH CDR1)、表14(VH CDR2)、表15(VH CDR3)、表16(VL CDR1)、表17(VL CDR2)、及び表18(VL CDR3)に示される。

#### 【0173】

抗体のCDR中のメチオニン残基が酸化されると化学的な分解が生じる可能性があり、結果的に抗体の効力が低下し得る。したがって、重鎖CDR及び／または軽鎖CDR中の1つ以上のメチオニン残基が、酸化的分解を受けないアミノ酸残基に置き換えられた抗IL-7R抗体も提供される。

#### 【0174】

同様に、本明細書に開示の抗IL-7R抗体から脱アミド化部位を除去することができ、具体的にはCDR中の脱アミド化部位を除去することができる。

#### 【0175】

本明細書に記載の抗IL-7R可変領域は、Fc（例えば、IgG1 Fc、IgG2 Fc、IgG3 Fc、またはIgG4 Fc）に連結され得る（例えば、共有結合で連結

10

20

30

40

50

されるか、または融合される）。こうした Fc は、任意のアロタイプまたはアイソアロタイプのものであり得、例えば、IgG1 については G1m、G1m1(a)、G1m2(x)、G1m3(f)、G1m17(z) であり、IgG2 については G2m、G2m23(n) であり、IgG3 については G3m、G3m21(g1)、G3m28(g5)、G3m11(b0)、G3m5(b1)、G3m13(b3)、G3m14(b4)、G3m10(b5)、G3m15(s)、G3m16(t)、G3m6(c3)、G3m24(c5)、G3m26(u)、G3m27(v) であり、K については Km、Km1、Km2、Km3 である（例えば、Jefferies et al. (2009) mAbs 1:1 を参照のこと）。

#### 【0176】

10

ある特定の実施形態では、本明細書に記載の抗 IL-7R 可変領域は、エフェクター機能を有さない Fc またはエフェクター機能をほとんど有さない Fc（例えば、IgG1.1f または IgG1.3f）に連結される。

#### 【0177】

一般に、本明細書に記載の可変領域は、1つ以上の改変を含む Fc に連結されることで、典型的には、抗体の機能特性（血清中半減期、補体結合、Fc 受容体結合、及び／または抗原依存性細胞傷害など）が1つ以上変化し得る。さらに、本明細書に記載の抗体は、化学的に改変されるか（例えば、1つ以上の化学的部分が抗体に付加され得る）、またはそのグリコシル化が変化するように改変されることで、抗体の機能特性が1つ以上変化し得る。こうした実施形態はそれぞれ、以下にさらに詳述される。Fc 領域中の残基の番号付けは、Kabat の EU インデックスのものである。

20

#### 【0178】

Fc 領域は、定常領域の断片、類似体、バリアント、変異体、または誘導体を含めて、免疫グロブリンの定常領域に由来するドメインを包含する。適切な免疫グロブリンには、IgG1、IgG2、IgG3、IgG4、及び他のクラス（IgA、IgD、IgE、及び IgM など）が含まれる。免疫グロブリンの定常領域は、免疫グロブリン C 末端領域と相同的な、天然起源のポリペプチドまたは合成的に生成されるポリペプチドとして定義され、CH1 ドメイン、ヒンジ、CH2 ドメイン、CH3 ドメイン、または CH4 ドメインを別々含むか、または組み合わせて含み得る。

#### 【0179】

30

Ig 分子は、複数クラスの細胞受容体と相互作用する。例えば、IgG 分子は、IgG クラスの抗体に特異的な3つのクラスの Fc 受容体（FcR）（すなわち、FcRI、FcRII、及び FcRIII）と相互作用する。FcR 受容体への IgG の結合に重要な配列は、CH2 ドメイン及び CH3 ドメインに位置することが報告されている。抗体の血清中半減期は、その抗体が Fc 受容体（FcR）に結合する能力によって影響される。

#### 【0180】

ある特定の実施形態では、Fc 領域は、バリアント Fc 領域であり、例えば、望ましい構造的特徴及び／または生物学的活性が得られるように、親 Fc 配列（例えば、非改変 Fc ポリペプチドであって、その後に改変されてバリアントにされるもの）と比較して改変（例えば、アミノ酸置換、アミノ酸欠失、及び／またはアミノ酸挿入によるもの）されている Fc 配列を有するものである。

40

#### 【0181】

一般に、定常領域またはその一部（例えば、CH1 ドメイン、CL ドメイン、ヒンジドメイン、CH2 ドメイン、または CH3 ドメイン）のバリアントは、1つ、2つ、3つ、4つ、5つ、6つ、7つ、8つ、9つ、10個、もしくはそれを超える数の変異、及び／または最大で 10 個、最大で 9 個、最大で 8 個、最大で 7 個、最大で 6 個、最大で 5 個、最大で 4 個、最大で 3 個、最大で 2 個、もしくは最大で 1 個の変異、または 1 ~ 10 個もしくは 1 ~ 5 個の変異を含むか、あるいは対応する野生型領域または野生型ドメイン（それぞれ CH1 ドメイン、CL ドメイン、ヒンジドメイン、CH2 ドメイン、または CH3

50

ドメイン)のものとの同一性が少なくとも約75%、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%、少なくとも約96%、少なくとも約97%、少なくとも約98%、または少なくとも約99%であるアミノ酸配列を含み得るが、但し、特定のバリアントを含む重鎖定常領域が必要な生物学的活性を保持することが条件である。

#### 【0182】

例えば、親Fcと比較して、(a)抗体依存性細胞介在性細胞傷害(ADCC)が増加もしくは減少しており、(b)補体介在性細胞傷害(CDC)が増加もしくは減少しており、(c)C1qに対する親和性が上昇もしくは低下しており、及び/または(d)Fc受容体に対する親和性が上昇もしくは低下しているFcバリアントを生成するためにFc領域に改変を施すことができる。そのようなFc領域バリアントは、一般に、少なくとも1つのアミノ酸改変をFc領域中に含むことになる。アミノ酸改変を組み合わせることが特に望ましいと考えられる。例えば、バリアントFc領域は、そこに2つ、3つ、4つ、5つなどの置換(例えば、本明細書に示される特定のFc領域位置の置換)を含み得る。

10

#### 【0183】

バリアントFc領域は、ジスルフィド結合形成に関するアミノ酸が除去されるか、または他のアミノ酸で置き換えられる配列変化を含み得る。そのような除去を行うことで、本明細書に記載の抗IL-7R抗体の生成に使用される宿主細胞中に存在する他のシステイン含有タンパク質との反応が回避され得る。システイン残基が除去されたとしても、一本鎖Fcドメインは、非共有結合で一緒になった二量体Fcドメインを依然として形成し得る。他の実施形態では、Fc領域は、選択宿主細胞との適合性が向上するように改変され得る。例えば、典型的な天然のFc領域のN末端付近のPA配列を除去することができ、このPA配列は、E.coliの消化酵素(プロリンイミノペプチダーゼなど)によって認識され得る。他の実施形態では、Fcドメイン内の1つ以上のグリコシル化部位が除去され得る。典型的にはグリコシル化される残基(例えば、アスパラギン)は、細胞溶解性応答を与え得る。そのような残基は、欠失されるか、または非グリコシル化残基(例えば、アラニン)で置換され得る。他の実施形態では、補体との相互作用に関する部位(C1q結合部位など)が、Fc領域から除去され得る。例えば、ヒトIgG1のEK配列を欠失させるか、または置換することができる。ある特定の実施形態では、Fc受容体への結合に影響する部位(好ましくは、サルベージ受容体結合部位以外の部位)が除去され得る。他の実施形態では、Fc領域は、ADCC部位が除去されるように改変され得る。ADCC部位は当該技術分野で知られている。IgG1中のADCC部位に関しては、例えば、Moléc. Immunol. 29(5):633-9(1992)を参照のこと。バリアントFcドメインの具体例は、例えば、WO97/34631及びWO96/32478に開示されている。

20

#### 【0184】

一実施形態では、Fcのヒンジ領域は、ヒンジ領域中のシステイン残基の数が変わるように(例えば、増加または減少するように)改変される。この手法については、Bodmer et al.による米国特許第5,677,425号にさらに詳述されている。Fcのヒンジ領域中のシステイン残基の数は、例えば、軽鎖及び重鎖の集合が促進されるように変えられるか、または抗体の安定性が上昇もしくは低下するように変えられる。一実施形態では、抗体のFcヒンジ領域は、抗体の生物学的半減期が短くなるように変異導入される。より具体的には、天然のヒンジドメインとブドウ球菌プロテインA(SpA)との結合と比較して抗体とSpAとの結合が弱まるようにFcヒンジ断片とCH2-CH3ドメインとの境界領域に1つ以上のアミノ酸変異が導入される。この手法については、Ward et al.による米国特許第6,165,745号にさらに詳述されている。

30

#### 【0185】

さらに他の実施形態では、抗体のエフェクター機能(複数可)が変化するように、少なくとも1つのアミノ酸残基を異なるアミノ酸残基で置き換えることによってFc領域が変えられる。例えば、エフェクターリガンドに対する抗体の親和性は変化するが、親抗体の

40

50

抗原結合能力は抗体が保持するように、アミノ酸残基 234、アミノ酸残基 235、アミノ酸残基 236、アミノ酸残基 237、アミノ酸残基 297、アミノ酸残基 318、アミノ酸残基 320、アミノ酸残基 322、アミノ酸残基 330、及び / またはアミノ酸残基 331 から選択される 1つ以上のアミノ酸が、異なるアミノ酸残基で置き換えられ得る。それへの親和性が変えられるエフェクターリガンドは、例えば、Fc 受容体であるか、または補体の C1 成分であり得る。この手法は、米国特許第 5,624,821 号及び同第 5,648,260 号（共に Winter et al. によるもの）にさらに詳述されている。

#### 【0186】

別の例では、抗体の C1q 結合が変化し、及び / または抗体の補体依存性細胞傷害（CDC）が減少もしくは消失するように、アミノ酸残基 329、アミノ酸残基 331、及びアミノ酸残基 322 から選択される 1つ以上のアミノ酸が、異なるアミノ酸残基で置き換えられ得る。この手法は、Idusogie et al. による米国特許第 6,194,551 号にさらに詳述されている。

10

#### 【0187】

別の例では、アミノ酸位置 231 ~ 239 内の 1つ以上のアミノ酸残基が変えられ、それによって抗体が補体に結合する能力が変えられる。この手法は、Bodmer et al. による PCT 公開公報 WO 94/29351 にさらに詳述されている。

#### 【0188】

さらに別の例では、Fc 領域は、下記の位置のアミノ酸の 1つ以上を改変することによって抗体依存性細胞傷害（ADCC）が減少し、及び / または Fc 受容体に対する親和性が低下するように改変され得る：234、235、236、238、239、240、241、243、244、245、247、248、249、252、254、255、256、258、262、263、264、265、267、268、269、270、272、276、278、280、283、285、286、289、290、292、293、294、295、296、298、299、301、303、305、307、309、312、313、315、320、322、324、325、326、327、329、330、331、332、333、334、335、337、338、340、360、373、376、378、382、388、389、398、414、416、419、430、433、434、435、436、437、438、または 439。置換の例としては、236A、239D、239E、268D、267E、268E、268F、324T、332D、及び 332E が挙げられる。バリエントの例としては、239D / 332E、236A / 332E、236A / 239D / 332E、268F / 324T、267E / 268F、267E / 324T、及び 267E / 268F / 7324T が挙げられる。Fc R との相互作用及び補体との相互作用を増強するための他の改変には、限定されないが、298A、333A、334A、326A、2471、339D、339Q、280H、290S、298D、298V、243L、292P、300L、396L、3051、及び 396L という置換が含まれる。こうした改変及び他の改変は、Strohle, 2009, Current Opinion in Biotechnology 20: 685 - 691 に概説されている。

20

30

40

#### 【0189】

Fc 受容体への結合を増加させる Fc 改変には、Fc 領域のアミノ酸位置 238、アミノ酸位置 239、アミノ酸位置 248、アミノ酸位置 249、アミノ酸位置 252、アミノ酸位置 254、アミノ酸位置 255、アミノ酸位置 256、アミノ酸位置 258、アミノ酸位置 265、アミノ酸位置 267、アミノ酸位置 268、アミノ酸位置 269、アミノ酸位置 270、アミノ酸位置 272、アミノ酸位置 279、アミノ酸位置 280、アミノ酸位置 283、アミノ酸位置 285、アミノ酸位置 298、アミノ酸位置 289、アミノ酸位置 290、アミノ酸位置 292、アミノ酸位置 293、アミノ酸位置 294、アミノ酸位置 295、アミノ酸位置 296、アミノ酸位置 298、アミノ酸位置 301、アミノ酸位置 303、アミノ酸位置 305、アミノ酸位置 307、アミノ酸位置 312、ア

50

アミノ酸位置 315、アミノ酸位置 324、アミノ酸位置 327、アミノ酸位置 329、アミノ酸位置 330、アミノ酸位置 335、アミノ酸位置 337、アミノ酸位置 338、アミノ酸位置 340、アミノ酸位置 360、アミノ酸位置 373、アミノ酸位置 376、アミノ酸位置 379、アミノ酸位置 382、アミノ酸位置 388、アミノ酸位置 389、アミノ酸位置 398、アミノ酸位置 414、アミノ酸位置 416、アミノ酸位置 419、アミノ酸位置 430、アミノ酸位置 434、アミノ酸位置 435、アミノ酸位置 437、アミノ酸位置 438、またはアミノ酸位置 439のうちの任意の1つ以上におけるアミノ酸改変が含まれ、Fc領域中のこれらの残基の番号付けは、Kabatに示されるEUインデックスのものである(WO 00/42072)。

## 【0190】

Fcに対して施され得る他のFc改変は、Fc-R及び/または補体タンパク質への結合を減少または消失させ、それによってFc介在性のエフェクター機能(ADCC、ADCP、及びCDCなど)を減少または消失させるためのものである。改変の例としては、限定されないが、位置234、位置235、位置236、位置237、位置267、位置269、位置325、位置328、位置330、及び/または位置331(例えば、330及び331)における置換、挿入、及び欠失が挙げられ、番号付けは、EUインデックスに従うものである。置換の例としては、限定されないが、234A、235E、236R、237A、267R、269R、325L、328R、330S、及び331S(例えば、330S及び331S)が挙げられ、番号付けは、EUインデックスに従うものである。Fcバリアントは、236R/328Rを含み得る。Fc-Rとの相互作用及び補体との相互作用を低減するための他の改変には、297A、234A、235A、237A、318A、228P、236E、268Q、309F、330S、331S、220S、226S、229S、238S、233P、及び234Vという置換、ならびに変異導入手段もしくは酵素的手段による位置297のグリコシル化の除去、またはタンパク質をグリコシル化しない生物(細菌など)において產生させることによるグリコシル化の除去が含まれる。こうした改変及び他の改変は、Strohl, 2009, Current Opinion in Biotechnology 20:685-691に概説されている。

## 【0191】

任意選択で、Fc領域は、当業者に知られる追加位置及び/または代替位置に非天然起源のアミノ酸残基を含み得る(例えば、米国特許第5,624,821号、同第6,277,375号、同第6,737,056号、同第6,194,551号、同第7,317,091号、同第8,101,720号、PCX特許公開広報WO 00/42072、同WO 01/58957、同WO 02/06919、同WO 04/016750、同WO 04/029207、同WO 04/035752、同WO 04/074455、同WO 04/099249、同WO 04/063351、同WO 05/070963、同WO 05/040217、WO 05/092925、及び同WO 06/020114を参照のこと)。

## 【0192】

抑制性受容体Fc-R<sub>I</sub>I<sub>b</sub>に対する親和性を増強するFcバリアントも使用され得る。そのようなバリアントは、Fc-R<sub>I</sub>I<sub>b</sub>細胞(例えば、B細胞及び単球を含む)と関連する免疫調節活性をFc融合タンパク質に与え得る。一実施形態では、Fcバリアントは、1つ以上の活性化受容体と比較してFc-R<sub>I</sub>I<sub>b</sub>に対する親和性を選択的に増強する。Fc-R<sub>I</sub>I<sub>b</sub>への結合を変化させるための改変には、234、235、236、237、239、266、267、268、325、326、327、328、330、331、及び332(EUインデックスに従うもの)からなる群から選択される位置における1つ以上の改変が含まれる。Fc-R<sub>I</sub>I<sub>b</sub>に対する親和性を増強するための置換の例としては、限定されないが、234A、234D、234E、234F、234W、235D、235E、235F、235R、235Y、236D、236N、237A、237D、237N、239D、239E、266M、267D、267E、268D、268E、327D、327E、328F、328W、328Y、330S、331S、及び

10

20

30

40

50

332Eが挙げられる。置換の例としては、235Y、236D、239D、266M、267E、268D、268E、328F、328W、及び328Yが挙げられる。FcR<sub>I</sub>Ibへの結合を増強するための他のFc<sub>c</sub>バリアントには、235Y/267E、236D/267E、239D/268D、239D/267E、267E/268D、267E/268E、及び267E/328Fが含まれる。

#### 【0193】

F<sub>c</sub>領域のそのリガンドに対する親和性及び結合特性は、当該技術分野で知られるさまざまなインビトロアッセイ法（生化学または免疫学に基づくアッセイ）によって決定することができ、こうしたインビトロアッセイ法には、限定されないが、平衡法（例えば、酵素結合免疫吸着測定法（ELISA）もしくは放射免疫測定法（RIA））または速度論（例えば、BIA CORE（商標）分析）、ならびに他の方法（間接結合アッセイ、競合阻害アッセイ、蛍光共鳴エネルギー移動（FRRET）、ゲル電気泳動、及びクロマトグラフィー（例えば、ゲルろ過）など）が含まれる。こうした方法及び他の方法では、調べられる要素の1つ以上に対する標識が利用され、及び／またはさまざまな検出方法が利用され得る。こうした標識及び検出方法には、限定されないが、発色標識、蛍光標識、発光標識、または同位体標識が含まれる。結合親和性及び速度論の詳細な説明は、Paul, W. E., ed., Fundamental immunology, 4th Ed., Lippincott-Raven, Philadelphia (1999)において見つけることができ、この文献では抗体-免疫原相互作用に焦点が当てられている。

#### 【0194】

ある特定の実施形態では、抗体は、その生物学的半減期が長くなるように改変される。さまざまな手法が可能である。例えば、このことは、FcRnに対するFc<sub>c</sub>領域の結合親和性を上昇させることによって行うことができ、例えば、米国特許第6,277,375号に記載のように下記の残基の1つ以上を変異させることができる：252、254、256、433、435、436。具体的な置換例としては、下記のものの1つ以上が挙げられる：T252L、T254S、及び／またはT256F。あるいは、生物学的半減期を長くするために、IgGのFc<sub>c</sub>領域のCH2ドメインの2つのループから得られるサルベージ受容体結合エピトープをCH1領域またはCL領域内に含むように抗体を変えることができる。このことは、Presta et al.による米国特許第5,869,046号及び同第6,121,022号に記載のように行われる。FcRnへの結合を増加させ、及び／または薬物動態特性を改善するバリアントの他の例としては、位置259、位置308、位置428、及び位置434が置換されたもの（例えば、2591、308F、428L、428M、434S、43411、434F、434Y、及び434X1が含まれる）が挙げられる。FcRnへのFc<sub>c</sub>の結合を増加させる他のバリアントには、250E、250Q、428L、428F、250Q/428L (Hinton et al. 2004, J. Biol. Chem. 279(8): 6213-6216, Hinton et al. 2006 Journal of Immunology 176: 346-356)、256A、272A、286A、305A、307A、307Q、311A、312A、376A、378Q、380A、382A、434A (Shields et al., Journal of Biological Chemistry, 2001, 276(9): 6591-6604)、252F、252T、252Y、252W、254T、256S、256R、256Q、256E、256D、256T、309P、311S、433R、433S、4331、433P、433Q、434H、434F、434Y、252Y/254T/256E、433K434F/436H、308T/309P/311S (Dall'Acqua et al. Journal of Immunology, 2002, 169: 5171-5180, Dall'Acqua et al., 2006, Journal of Biological Chemistry 281: 23514-23524)が含まれる。FcRn結合を調節するための他の改変については、Yeung et al., 2010, J. Immunol., 182: 7663-7671に記載されている。

10

20

30

40

50

## 【0195】

ある特定の実施形態では、特定の生物学的特徴を有するハイブリッド IgG アイソタイプが使用され得る。例えば、CH2 領域及び / または CH3 領域中の IgG1 位置を、IgG1 アイソタイプと IgG3 アイソタイプとで差異のある位置の IgG3 由来アミノ酸で置換することによって IgG1 / IgG3 ハイブリッドバリアントが構築され得る。したがって、1つ以上の置換（例えば、274Q、276K、300F、339T、356E、358M、384S、392N、397M、4221、435R、及び 436F）を含むハイブリッドバリアント IgG 抗体が構築され得る。本明細書に記載の他の実施形態では、CH2 領域及び / または CH3 領域中の IgG2 位置を、IgG2 アイソタイプと IgG1 アイソタイプとで差異のある位置の IgG1 由来アミノ酸で置換することによって IgG1 / IgG2 ハイブリッドバリアントが構築され得る。したがって、1つ以上の置換（例えば、下記のアミノ酸置換の1つ以上）を含むハイブリッドバリアント IgG 抗体が構築され得る：233E、234L、235L、-236G（位置 236 へのグリシンの挿入を指す）、及び 327A。

## 【0196】

さらに、Fc RII、Fc RIII、Fc RIIII 及び FcRn に対するヒト IgG1 上の結合部位はマッピングされており、結合が改善されたバリアントについて記載されている（Shields, R. L. et al. (2001) J. Biol. Chem. 276: 6591 - 6604 を参照のこと）。位置 256、位置 290、位置 298、位置 333、位置 334、及び位置 339 の特定の変異によって Fc RIIII への結合が改善されることが示された。さらに、下記の組み合わせ変異によって Fc RIIII への結合が改善されることが示された：T256A / S298A、S298A / E333A、S298A / K224A、及び S298A / E333A / K334A (Fc RIIII a への結合及び ADC活性が増強されることが示されている) (Shields et al. 2001)。Fc RIIII a への結合が強力に増強された他の IgG1 バリアントも同定されており、こうした IgG1 バリアントには、S239D / I332E 変異を有するバリアント及び S239D / I332E / A330L 変異を有するバリアントが含まれ、これらのバリアントでは、カニクイザルにおいて Fc RIIII a に対する親和性が最大に上昇し、Fc RIIIB への結合が減少し、強力な細胞傷害活性が見られた (Lazar et al., 2006)。こうした三重変異を抗体（アレムツズマブ（CD52 特異的）、トラスツズマブ（HER2/neu 特異的）、リツキシマブ（CD20 特異的）、及びセツキシマブ（EGFR 特異的）など）に導入するとインビトロでの ADC 活性が大幅に増強され、S239D / I332E バリアントでは、サルにおいて B 細胞を枯渇させる能力が増強されていた (Lazar et al., 2006)。さらに、L235V 変異、F243L 変異、R292P 変異、Y300L 変異、及び P396L 変異を含む IgG1 変異体が同定されており、この IgG1 変異体では、B 細胞悪性腫瘍モデル及び乳癌モデルであるヒト Fc RIIII a 発現トランスジェニックマウスにおいて Fc RIIII a への結合が増強され、同時に ADC 活性も増強されていた (Stavenga et al., 2007; Nordstrom et al., 2011)。使用され得る他の Fc 変異体には、S298A / E333A / L334A、S239D / I332E、S239D / I332E / A330L、L235V / F243L / R292P / Y300L / P396L、及び M428L / N434S が含まれる。

## 【0197】

ある特定の実施形態では、Fc R への結合が減少した Fc が選択される。Fc の例は、例えば、L234A、L235E、及び G237A という3つのアミノ酸置換を含み、Fc R への結合が減少している IgG1 Fc である。

## 【0198】

ある特定の実施形態では、補体結合が減少した Fc が選択される。Fc の例は、例えば、A330S 及び P331S という2つのアミノ酸置換を有し、補体結合が減少した IgG1 Fc である。

## 【0199】

ある特定の実施形態では、エフェクター機能を本質的に有さないFcが選択され、すなわち、こうしたFcは、Fc-Rへの結合が減少していると共に補体結合も減少している。Fcの例は、例えば、L234A、L235E、G237A、A330S、及びP331Sという5つの変異を含み、エフェクター機能を有さないIgG1-Fcである。

## 【0200】

IgG4定常ドメインを使用する場合、こうしたIgG4定常ドメインは、S228Pという置換を含み得、この置換は、IgG1中のヒンジ配列を模倣し、それによってIgG4分子を安定化させる。

## 【0201】

さらに他の実施形態では、抗体のグリコシル化が改変される。例えば、アグリコシル化抗体（すなわち、グリコシル化されていない抗体）が調製され得る。グリコシル化は、例えば、抗原に対する抗体の親和性が向上するように変えられ得る。そのような糖質改変は、例えば、抗体配列内の1つ以上のグリコシル化部位を変化させることによって達成され得る。例えば、1つ以上の可変領域フレームワークグリコシル化部位が除去され、それによってその部位でのグリコシル化が生じないようにする1つ以上のアミノ酸置換が施され得る。そのようなアグリコシル化は、抗原に対する抗体の親和性を向上させ得る。そのような手法は、Co et al.による米国特許第5,714,350号及び同第6,350,861号にさらに詳述されている。

10

## 【0202】

N297での定常領域のグリコシル化は、N297残基を別の残基へと変異（例えば、N297A）させ、及び/または隣接アミノ酸（例えば、298）を変異させることによって阻止され、それによってN297に対するグリコシル化が低減され得る。

20

## 【0203】

付加的または代替的に、グリコシル化の型が変わった抗体を調製することができ、こうした抗体は、フコシル残基の量が減少した低フコシル化抗体またはバイセクティングGlcNAc構造が増加した抗体などである。グリコシル化パターンのそのような変化は、抗体のADCC能力を向上させることができることが実証されている。そのような糖質改変は、例えば、グリコシル化機構が変化した宿主細胞において抗体を発現させることによって達成され得る。グリコシル化機構が変化した細胞については当該技術分野で報告されており、こうした細胞を、本明細書に記載の組換え抗IL-7R抗体を発現させるための宿主細胞として使用し、それによって、グリコシル化が変化した抗体を産生させることができる。例えば、Hanai et al.によるEP1,176,195では、FUT8遺伝子（フコシルトランスフェラーゼをコードする）が機能的に破壊された細胞株について記載されており、この破壊の結果、そのような細胞株において発現する抗体のフコシル化は低く抑えられる。PrestaによるPCT公開公報WO03/035835では、Asn(297)結合型糖質へのフコース付加能力が低減されたバリアントCHO細胞株（Leda3細胞）について記載されており、この能力低減の結果、当該宿主細胞においてもまた、発現する抗体のフコシル化が低く抑えられる（Shields, R. L. et al. (2002) J. Biol. Chem. 277: 26733-26740も併せて参照のこと）。Umana et al.によるPCT公開公報WO99/54342では、糖タンパク質修飾グリコシルトランスフェラーゼ（例えば、ベータ(1,4)-N-アセチルグルコサミニルトランスフェラーゼII（GnTII））を発現するように操作された細胞株について記載されており、この操作の結果、この操作された細胞株において発現する抗体ではバイセクティングGlcNAc構造が増加し、その結果、抗体のADCC活性が上昇する（Umana et al. (1999) Nat. Biotech. 17: 176-180も併せて参考のこと）。

30

## 【0204】

本明細書に記載の抗IL-7R抗体の別の改変はpeg化である。抗体をpeg化することで、例えば、抗体の生物学的半減期（例えば、血清中半減期）が長くなり得る。抗体

40

50

を p e g 化するには、抗体またはその断片が、典型的には、1つ以上の P E G 基が抗体または抗体断片に付加される条件の下でポリエチレングリコール( P E G ) ( P E G の反応性エステル誘導体または反応性アルデヒド誘導体など)との反応に供される。いくつかの実施形態では、p e g 化は、反応性 P E G 分子(または類似の反応性水溶性ポリマー)とのアシル化反応またはアルキル化反応を介して実施される。本明細書で使用される「ポリエチレングリコール」という用語は、他のタンパク質の誘導体化に使用されている P E G 形態(モノ( C I - C I O )アルコキシ-ポリエチレングリコールもしくはモノ( C I - C I O )アリールオキシ-ポリエチレングリコール、またはポリエチレングリコール-マレイミドなど)をいずれも包含することが意図される。ある特定の実施形態では、p e g 化すべき抗体は、アグリコシル化抗体である。当該技術分野ではタンパク質を p e g 化するための方法が知られており、こうした方法を、本明細書に記載の抗 I L - 7 R 抗体に適用することができる。例えば、N i s h i m u r a et al . による E P 0 1 5 4 3 1 6 及び I shikawa et al . による E P 0 4 0 1 3 8 4 を参照のこと。

#### 【 0 2 0 5 】

##### I I I . 抗体の物理的特性

抗 I L - 7 R 抗体(例えば、本明細書に記載のもの)は、本明細書に記載の物理的特徴(実施例に記載の特徴など)のいくつかまたはすべてを有する。

#### 【 0 2 0 6 】

本明細書に記載の抗 I L - 7 R 抗体は、軽鎖可変領域または重鎖可変領域のいずれかにグリコシル化部位を1つ以上含み得る。そのようなグリコシル化部位が存在すると、抗原結合の変化に起因して抗体の免疫原性が上昇するか、または抗体の p K が変化し得る( M arshall et al . , ( 1 9 7 2 ) A n n a R e v B i o c h e m 4 1 : 6 7 3 - 7 0 2 、 G a l a a n d M o r r i s o n ( 2 0 0 4 ) J . I m m u n o l 1 7 2 : 5 4 8 9 - 9 4 、 W a l l i c k et al . , ( 1 9 8 8 ) J E x p M e d 1 6 8 : 1 0 9 9 - 1 0 9 、 S p i r o ( 2 0 0 2 ) G l y c o b i o l o g y 1 2 : 4 3 R - 5 6 R 、 P a r e k h et al . , ( 1 9 8 5 ) N a t u r e 3 1 6 : 4 5 2 - 7 、 M i m u r a et al . , ( 2 0 0 0 ) M o l I m m u n o l 3 7 : 6 9 7 - 7 0 6 )。グリコシル化は、N - X - S / T 配列を含むモチーフに生じることが知られている。いくつかの実施形態では、抗 I L - 7 R 抗体の可変領域はグリコシル化されない。このことは、可変領域中にグリコシル化モチーフを含まない抗体を選択するか、またはグリコシル化領域内の残基を変異させることによって達成され得る。

#### 【 0 2 0 7 】

いくつかの実施形態では、本明細書に記載の抗 I L - 7 R 抗体は、アスパラギン異性部位を含まない。アスパラギンの脱アミド化はN - G 配列またはD - G 配列に生じ、その結果、ポリペプチド鎖にねじれを導入し、その安定性を低下させる(イソアスパラギン酸効果)イソアスパラギン酸残基を創出し得る。

#### 【 0 2 0 8 】

各抗体は、特有の等電点( p i )を有することになり、こうした p i は、一般に、6 ~ 9 . 5 の p H 範囲内に収まる。I g G 1 抗体の p i は、典型的には、7 ~ 9 . 5 の p H 範囲内に收まり、I g G 4 抗体の p i は、典型的には、6 ~ 8 の p H 範囲内に収まる。通常の範囲を外れる p i を有する抗体では、インビボ条件の下で幾つかのアンフォールディング及び不安定性が生じ得ることが推測される。したがって、抗 I L - 7 R 抗体は、通常範囲内に収まる p i 値を有し得る。このことは、通常範囲内の p i を有する抗体を選択するか、または荷電表面残基を変異させることによって達成され得る。

#### 【 0 2 0 9 】

各抗体は、特徴的な融解温度を有することになり、融解温度が高いほど、インビボでの全体的な安定性が高いことを示す( K r i s h n a m u r t h y R a n d M a n n i n g M C ( 2 0 0 2 ) C u r r P h a r m B i o t e c h n o l 3 : 3 6 1 - 7 1 )。一般に、T M i (アンフォールディングが始まる温度)は、6 0 超、6 5 超、または7 0 超であり得る。抗体の融点は、示差走査熱量測定( C h e n et al . ,

10

20

30

40

50

(2003) Pharm Res 20:1952-60、Ghirlando et al. (1999) Immunol Lett 68:47-52) または円二色性 (Murray et al., (2002) J. Chromatogr Sci 40:343-9) を使用して測定され得る。

#### 【0210】

一実施形態では、急速に分解しない抗体が選択される。抗体の分解は、キャピラリー電気泳動 (CE) 及び MALDI-MS (Alexander A J and Hughes D E (1995) Anal Chem 67:3626-32) を使用して測定され得る。

#### 【0211】

いくつかの実施形態では、凝集効果が最小の抗体が選択され、凝集効果が生じると、望ましくない免疫応答の誘発及び / または薬物動態特性の変化もしくは不良化が引き起こされ得る。一般に、許容可能な抗体凝集は、25%以下、20%以下、15%以下、10%以下、または5%以下である。凝集は、サイズ排除カラム (SEC)、高速液体クロマトグラフィー (HPLC)、及び光散乱を含めて、いくつかの手法によって測定され得る。

#### 【0212】

##### I V . 抗体の操作方法

上に論じられるように、本明細書に開示の VH 配列及び VL 配列を有する抗 I L - 7 R 抗体を使用することで、こうした VH 配列及び / または VL 配列を改変するか、あるいはそこに付加される定常領域 (複数可) を改変することによって新たな抗 I L - 7 R 抗体を創出することができる。したがって、本明細書に記載の別の態様では、本明細書に記載の抗 I L - 7 R 抗体の構造的特徴を使用することで、本明細書に記載の抗 I L - 7 R 抗体の機能特性 (ヒト I L - 7 R 及びカニクイザル I L - 7 R への結合など) を少なくとも 1つ保持する構造的に関連した抗 I L - 7 R 抗体が創出される。例えば、本明細書に開示の抗 I L - 7 R 抗体の CDR 領域の 1つ以上を、既知のフレームワーク領域及び / または他の CDR と組換えて組み合わせることで、組換え操作された上述の抗 I L - 7 R 抗体が追加で創出され得る。他の型の改変には、前述のセクションに記載のものが含まれる。操作方法のための出発材料は、本明細書で提供される VH 配列及び / または VL 配列の 1つ以上であるか、あるいはそれらの CDR 領域の 1つ以上である。操作された抗体の創出には、本明細書で提供される VH 配列及び / または VL 配列の 1つ以上、あるいはそれらの CDR 領域の 1つ以上を有する抗体を実際に調製すること (すなわち、タンパク質として発現させること) は不要である。そうではなく、配列 (複数可) に含まれる情報を出発材料として使用することで、元の配列 (複数可) に由来する「第二世代」配列 (複数可) が創出され、その後に「第二世代」配列 (複数可) が調製され、タンパク質として発現される。

#### 【0213】

したがって、抗 I L - 7 R 抗体を調製するための方法が本明細書で提供され、この方法は、

(a) (i) 配列番号 13 に示される CDR 1 配列もしくは表 13 に示される配列のいずれか 1つ、配列番号 14 に示される CDR 2 配列もしくは表 14 に示される配列のいずれか 1つ、及び / または配列番号 15 に示される CDR 3 配列もしくは表 15 に示される配列のいずれか 1つを含む重鎖可変領域抗体配列と、(ii) 配列番号 16 に示される CDR 1 配列もしくは表 16 に示される配列のいずれか 1つ、配列番号 17 に示される CDR 2 配列もしくは表 17 に示される配列のいずれか 1つ、及び / または配列番号 18 に示される CDR 3 配列または表 18 に示される配列のいずれか 1つを含む軽鎖可変領域抗体配列と、を提供すること、

(b) 重鎖可変領域抗体配列及び / または軽鎖可変領域抗体配列内の少なくとも 1つのアミン酸残基を変えることで、少なくとも 1つの変化した抗体配列を創出すること、ならびに

(c) 変化した抗体配列をタンパク質として発現させること、

を含む。

10

20

30

40

50

## 【0214】

標準的な分子生物学手法を使用することで、変化した抗体配列を調製及び発現させることができる。いくつかの実施形態では、変化した抗体配列（複数可）によってコードされる抗体は、本明細書に記載の抗 I L - 7 R 抗体の機能特性の 1 つ、いくつか、またはすべてを保持するものである。変化した抗体の機能特性は、当該技術分野で利用可能であり、及び／または本明細書に記載される標準的なアッセイ（実施例に示されるものなど（例えば、E L I S A、F A C S））を使用して評価され得る。

## 【0215】

いくつかの実施形態では、抗 I L - 7 R 抗体をコードする配列のすべてまたは一部に沿って無作為または選択的に変異が導入され得る。結合活性及び／または本明細書に記載の他の機能特性について、得られた改変抗 I L - 7 R 抗体のスクリーニングが行われ得る。変異導入方法については、当該技術分野で説明されている。例えば、S h o r t によるP C T 公開公報W O 0 2 / 0 9 2 7 8 0 では、飽和変異導入、合成的なライゲーション構築、またはそれらの組み合わせを使用して抗体変異を創出及びスクリーニングするための方法について記載されている。あるいは、L a z a r e t a l . によるP C T 公開公報W O 0 3 / 0 7 4 6 7 9 では、計算的なスクリーニング方法を使用して抗体の生理化学的特性を最適化する方法について記載されている。

10

## 【0216】

## V . 核酸、ベクター、及び細胞

本明細書に記載の抗 I L - 7 R 抗体をコードする核酸分子についても本明細書に記載される。核酸は、全細胞、細胞溶解液、または部分的に精製された形態もしくは実質的に純粋な形態に存在し得る。核酸は、標準的な手法（アルカリ／S D S 処理、C s C l によるバンド形成、カラムクロマトグラフィー、制限酵素、アガロースゲル電気泳動、及び当該技術分野でよく知られる他の手法を含む）によって他の細胞成分もしくは他の混入物（例えば、他の細胞核酸（例えば、染色体D N A（例えば、天然において単離されたD N A に連結されている染色体D N A））またはタンパク質が除去されるように精製されると、「単離される」か、または「実質的に純粋」となる。F . A u s u b e l , et a l . , ed . ( 1 9 8 7 ) Current Protocols in Molecular Biology , Greene Publishing and Wiley Inter science , New York を参照のこと。本明細書に記載の核酸は、例えば、D N A またはR N A であり得、イントロン配列を含むことも含まないこともあり得る。ある特定の実施形態では、核酸は、c D N A 分子である。

20

## 【0217】

本明細書に記載の核酸は、標準的な分子生物学手法を使用して得ることができる。ハイブリドーマ（例えば、さらに後述されるようにヒト免疫グロブリン遺伝子を保有するトランスジェニックマウスから調製されるハイブリドーマ）によって発現される抗体については、ハイブリドーマによって得られる抗体の軽鎖及び重鎖をコードするc D N A を、標準的なP C R 増幅手法またはc D N A クローニング手法によって得ることができる。免疫グロブリン遺伝子ライブラリーから（例えば、ファージディスプレイ手法を使用して）得られる抗体については、抗体をコードする核酸をライブラリーから回収することができる。

30

## 【0218】

いくつかの実施形態では、本明細書に記載の核酸は、本開示の抗 I L - 7 R 抗体のV H 配列及びV L 配列をコードするものである。いくつかの実施形態では、本明細書に記載の核酸は、本明細書に開示の抗 I L - 7 R 抗体と相同的なV H 配列及びV L 配列をコードする。いくつかの実施形態では、核酸は、V H 配列及びV L 配列をコードし、このV H 配列及びV L 配列は、本明細書に開示の抗 I L - 7 R 抗体のV H 配列及びV L 配列をコードする核酸分子との同一性が少なくとも7 0 %（例えば、少なくとも7 5 %、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 %）である。

40

## 【0219】

50

いくつかの実施形態では、本明細書に記載の核酸分子は、特定の配列（例えば、制限酵素認識配列）が欠失するように改変され得る。いくつかの実施形態では、核酸分子は、保存的置換（すなわち、核酸分子の翻訳時に得られるアミノ酸配列が変化しない置換）（例えば、コドンを最適化するためのもの）を含む。

#### 【0220】

本明細書に開示の抗IL-7R抗体を調製するための方法は、シグナルペプチドを有する重鎖及び軽鎖（例えば、それぞれ配列番号21及び配列番号22）をコードするヌクレオチド配列を含む細胞株において重鎖及び軽鎖を発現させることを含み得る。本明細書は、こうしたヌクレオチド配列を含む宿主細胞を包含する。いくつかの実施形態では、宿主細胞は、CHOZN細胞株に由来する。

10

#### 【0221】

VHセグメントをコードするDNA断片及びVLセグメントをコードするDNA断片が得られると、こうしたDNA断片を標準的な組換えDNA手法によってさらに操作することができ、その操作によって、例えば、可変領域遺伝子が全長抗体鎖遺伝子、Fab断片遺伝子、またはscFv遺伝子へと変換される。こうした操作では、VLコードDNA断片またはVHコードDNA断片は、別のタンパク質（抗体定常領域または可動性リンカーなど）をコードする別のDNA断片に機能可能なように連結される。この文脈で使用される「機能可能なように連結される」という用語は、2つのDNA断片によってコードされるアミノ酸配列がインフレームに留まるようにそれら2つのDNA断片が連結されることを意味することが意図される。

20

#### 【0222】

VH領域をコードする単離されたDNAは、重鎖定常領域（ヒンジ、CH1、CH2、及び/またはCH3）をコードする別のDNA分子に当該VHコードDNAを機能可能なように連結することによって全長重鎖遺伝子に変換され得る。ヒト重鎖定常領域遺伝子の配列は当該技術分野で知られており（例えば、Kabat, E. A., et al. (1991) Sequences of Proteins of Immunological Interest, Fifth Edition, U.S. Department of Health and Human Services, NIH Publication No. 91-3242を参照のこと）、こうした領域を含むDNA断片は、標準的なPCR增幅によって得ることができる。重鎖定常領域は、IgG1定常領域、IgG2定常領域、IgG3定常領域、IgG4定常領域、IgA定常領域、IgE定常領域、IgM定常領域、またはIgD定常領域（例えば、IgG1領域）であり得る。Fab断片重鎖遺伝子については、重鎖CH1定常領域のみをコードする別のDNA分子にVHコードDNAが機能可能なように連結され得る。

30

#### 【0223】

VL領域をコードする単離されたDNAは、軽鎖定常領域（CL）をコードする別のDNA分子に当該VFコードDNAを機能可能なように連結することによって全長軽鎖遺伝子（ならびにFab軽鎖遺伝子）に変換され得る。ヒト軽鎖定常領域遺伝子の配列は当該技術分野で知られており（例えば、Kabat, E. A., et al. (1991) Sequences of Proteins of Immunological Interest, Fifth Edition, U.S. Department of Health and Human Services, NIH Publication No. 91-3242を参照のこと）、こうした領域を含むDNA断片は、標準的なPCR增幅によって得ることができる。軽鎖定常領域は、カッパ定常領域またはラムダ定常領域であり得る。

40

#### 【0224】

本開示は、本明細書に記載の抗IL-7R抗体を（例えば、組換えで）発現する細胞（例えば、宿主細胞）ならびに関連するポリヌクレオチド及び発現ベクターをさらに提供する。抗IL-7R抗体またはその断片をコードするヌクレオチド配列を含むポリヌクレオチドをコードするベクターも本明細書で提供される。いくつかの実施形態では、ベクター

50

は、宿主細胞（例えば、哺乳類細胞（例えば、CHOZ N 細胞））において本明細書に記載の抗 I L - 7 R 抗体を組換えて発現させるために使用され得る。いくつかの実施形態では、ベクターは、遺伝子治療のために使用され得る。本開示に適したベクターには、発現ベクター、ウイルスベクター、及びプラスミドベクターが含まれる。

#### 【0225】

本明細書で使用される発現ベクターは、挿入コード配列の転写及び翻訳に必要な要素を含む任意の核酸コンストラクトを指すか、または RNA ウィルスベクターの場合は、適切な宿主細胞への導入時の複製及び翻訳に必要な要素を含む任意の核酸コンストラクトを指す。発現ベクターには、プラスミド、ファージミド、ウイルス、及びそれらの誘導体が含まれ得る。

10

#### 【0226】

本開示の発現ベクターは、本明細書に記載の抗体またはその抗原結合部分をコードするポリヌクレオチドを含み得る。いくつかの実施形態では、抗体またはその抗原結合部分のコード配列は、発現制御配列に機能可能なように連結される。本明細書で使用されるように、2つの核酸配列は、各構成核酸配列がその機能性を保持することが可能な様式でそれらが共有結合で連結される場合、機能可能なように連結される。コード配列及び遺伝子発現制御配列は、当該コード配列の発現もしくは転写及び／または翻訳が当該遺伝子発現制御配列の影響または制御の下に置かれる様式で、それらの配列が共有結合で連結される場合、機能可能なように連結されると言われる。2つのDNA配列は、5' 遺伝子発現配列中のプロモーターによる誘導がコード配列の転写を生じさせ、かつそれら2つのDNA配列の間の結合の性質が、(1)フレームシフト変異を導入するものではないか、(2)プロモーター領域がコード配列の転写を生じさせる能力を妨害するものでないか、または(3)対応RNA転写物がタンパク質へと翻訳される能力を妨害するものでない場合、機能可能なように連結されると言われる。したがって、遺伝子発現配列は、当該遺伝子発現配列がコード核酸配列の転写に影響を与える能力を有し、その結果、得られる転写物が所望の抗体またはその抗原結合部分に翻訳されるのであれば、当該コード核酸配列に機能可能なように連結されることになる。

20

#### 【0227】

ウイルスベクターには、限定されないが、下記のウイルスに由来する核酸配列が含まれる：レトロウイルス（モロニーマウス白血病ウイルス、ハーベイマウス肉腫ウイルス、マウス乳癌ウイルス、及びラウス肉腫ウイルスなど）；レンチウイルス；アデノウイルス；アデノ随伴ウイルス；SV40型ウイルス；ポリオーマウイルス；エプスタイン・バーウイルス；パピローマウイルス；ヘルペスウイルス；ワクシニアウイルス；ポリオウイルス；ならびにRNAウイルス（レトロウイルスなど）。当該技術分野でよく知られる他のベクターも容易に用いることができる。ある特定のウイルスベクターは、非必須遺伝子が目的遺伝子で置き換えられた非細胞傷害性の真核生物ウイルスに基づくものである。非細胞傷害性ウイルスには、ゲノムウイルスRNAをDNAへと逆転写し、その後にプロウイルスを宿主細胞DNAに組み込むことを含む生活環を有するレトロウイルスが含まれる。レトロウイルスは、ヒト遺伝子治療試験が承認されているものである。複製欠損レトロウイルス（すなわち、所望のタンパク質の合成を導く能力は有するが、感染性粒子を作り出す能力は有さないもの）が最も有用である。遺伝的に改変されたそのようなレトロウイルス発現ベクターは、インビボでの高い効率での遺伝子導入に広く有用である。複製欠損レトロウイルスを生成させるための標準的なプロトコール（外来性遺伝物質をプラスミドに組み込むステップ、プラスミドをパッケージング細胞株にトランスフェクションするステップ、パッケージング細胞株によって組換えレトロウイルスを生成させるステップ、組織培養地からウイルス粒子を収集するステップ、及びウイルス粒子を標的細胞に感染させるステップを含む）は、Kriegler, M., Gene Transfer and Expression, A Laboratory Manual, W. H. Freeman Co., New York (1990)、及びMurry, E. J., Methods in Molecular Biology, Vol. 7, Humana Press, In

30

40

50

c., Clifton, N.J. (1991) に示されている。

【0228】

V I . 抗体の生成

本明細書に記載の抗IL-7R抗体は、さまざまな既知の手法 (Kohler and Milstein, Nature 256: 495 (1975)) によって説明される標準的な体細胞交雑手法など) を使用して得ることができる。体細胞交雫手順が好ましいが、原理的には他のモノクローナル抗体生成手法を用いることもでき、こうした手法は、例えば、Bリンパ球のウイルス形質転換もしくは発がん性形質転換、及びヒト抗体遺伝子のライブラリーを使用するファージディスプレイ手法である。

【0229】

ハイブリドーマの調製に好ましい動物系はマウス系である。マウスにおけるハイブリドーマ生成は、非常によく確立された手順である。当該技術分野では、融合のための免疫化脾細胞を単離するための免疫化プロトコール及び手法が知られている。融合パートナー(例えば、マウス骨髄腫細胞)及び融合手順も知られている。

【0230】

本明細書に記載のキメラ抗IL-7R抗体またはヒト化抗IL-7R抗体は、上記のように調製されるマウスモノクローナル抗体の配列に基づいて調製することができる。重鎖免疫グロブリン及び軽鎖免疫グロブリンをコードするDNAを目的のマウスハイブリドーマから取得し、標準的な分子生物学手法を使用して操作することで、非マウス(例えば、ヒト)免疫グロブリン配列を含めることができる。例えば、キメラ抗体を創出するには、当該技術分野で知られる方法を使用してマウス可変領域をヒト定常領域に連結することができる(例えば、Cabilly et al. による米国特許第4,816,567号を参照のこと)。ヒト化抗体を創出するには、当該技術分野で知られる方法を使用してマウスCDR領域をヒトフレームワークに挿入することができる(例えば、Winterに付与された米国特許第5,225,539号、ならびにQueen et al. に付与された米国特許第5,530,101号、同第5,585,089号、同第5,693,762号、及び同第6,180,370号を参照のこと)。

【0231】

一実施形態では、本明細書に記載の抗IL-7R抗体は、ヒトモノクローナル抗体である。IL-7Rに対して指向化されたそのようなヒトモノクローナル抗体は、マウス系ではなく、ヒト免疫系の一部を保有するトランスジェニックマウスまたは染色体導入マウスを使用して生成され得る。こうしたトランスジェニックマウス及び染色体導入マウスには、それぞれHuMAbマウス及びKMマウスと本明細書で称されるマウスが含まれ、こうしたマウスは、本明細書では、まとめて「ヒトIgマウス」と称される。

【0232】

HUMAB-MOUSE(登録商標)(Medarex, Inc.)は、未再編のヒト重鎖(μ及び)免疫グロブリン配列ならびに軽鎖免疫グロブリン配列をコードするヒト免疫グロブリン遺伝子小遺伝子座を含むと共に、内在性のμ鎖遺伝子座及び鎖遺伝子座を標的として不活化する変異を有する(例えば、Lonberg, et al., (1994) Nature 368 (6474): 856-859を参照のこと)。したがって、このマウスでは、マウスのIgMまたはの発現が低減されており、免疫化に応答した際には、導入されているヒト重鎖導入遺伝子及び軽鎖導入遺伝子がクラススイッチ及び体細胞変異を起こすことで高親和性ヒトIgGKモノクローナル抗体が產生される(前掲のLonberg, N. et al. (1994) (Lonberg, N. (1994) Handbook of Experimental Pharmacology 113: 49-101において概説されている)、Lonberg, N. and Huszar, D. (1995) Intern. Rev. Immunol. 13: 65-93、及びHarding, F. and Lonberg, N. (1995) Ann. N. Y. Acad. Sci. 764: 536-546)。HuMabマウスの調製及び使用、ならびにそのようなマウスが保有するゲノム改変は、Taylor, L. et al. (1992)

10

20

30

40

50

Nucleic Acids Research 20: 6287 - 6295、Chen, J. et al., (1993) International Immunology 5: 647 - 656、Tuaililon et al. (1993) Proc. Natl. Acad. Sci. USA 90: 3720 - 3724、Choi et al. (1993) Nature Genetics 4: 117 - 123、Chen, J. et al. (1993) EMBO J. 12: 821 - 830、Tuaililon et al. (1994) Immunol. 152: 2912 - 2920、Taylor, L. et al. (1994) International Immunology 6: 579 - 591、及びFishwild, D. et al. (1996) Nature Biotechnology 14: 845 - 851にさらに記載されている。米国特許第5,545,806号、同第5,569,825号、同第5,625,126号、同第5,633,425号、同第5,789,650号、同第5,877,397号、同第5,661,016号、同第5,814,318号、同第5,874,299号、及び同第5,770,429号(すべてLonberg及びKayに付与されたもの)、Surani et al.に付与された米国特許第5,545,807号、PCT公開広報第WO 92/03918号、同第WO 93/12227号、同第WO 94/25585号、同第WO 97/13852号、同第WO 98/24884号、及び同第WO 99/45962(すべてLonberg及びKayに付与されたもの)、ならびにKorman et al.に付与されたPCT公開広報WO 01/14424も併せて参考のこと。10

## 【0233】

ある特定の実施形態では、本明細書に記載の抗IL-7R抗体は、導入遺伝子及び導入染色体上にヒト免疫グロブリン配列を保有するマウス(ヒト重鎖導入遺伝子及びヒト軽鎖導入染色体を保有するマウスなど)を使用して生成される。そのようなマウスは、本明細書では「KMマウス」と称され、このマウスについては、Ishida et al.に付与されたPCT公開公報WO 02/43478に詳述されている。20

## 【0234】

さらに、当該技術分野ではヒト免疫グロブリン遺伝子を発現する代替のトランスジェニック動物系も利用可能であり、こうしたトランスジェニック動物系を、本明細書に記載の抗IL-7R抗体の生成に使用することができる。例えば、XENOMOUSE(登録商標)(Abgenix, Inc.)と称される代替のトランスジェニック系が使用され得る。そのようなマウスについては、例えば、Kucherlapati et al.に付与された米国特許第5,939,598号、同第6,075,181号、同第6,114,598号、同第6,150,584号、及び同第6,162,963号に記載されている。30

## 【0235】

さらに、当該技術分野ではヒト免疫グロブリン遺伝子を発現する代替の染色体導入動物系も利用可能であり、こうした染色体導入動物系を、本明細書に記載の抗IL-7R抗体の生成に使用することができる。例えば、ヒト重鎖導入染色体及びヒト軽鎖導入染色体の両方を保有する「TCマウス」と称されるマウスが使用され得る。そのようなマウスについては、Tomizuka et al. (2000) Proc. Natl. Acad. Sci. USA 97: 722 - 727に記載されている。さらに、当該技術分野ではヒト重鎖導入染色体及びヒト軽鎖導入染色体を保有する雌ウシも報告されており(Kuroiwa et al. (2002) Nature Biotechnology 20: 889 - 894)、こうした雌ウシを、本明細書に記載の抗IL-7R抗体の生成に使用することができる。40

## 【0236】

ヒト抗体(例えば、ヒト抗IL-7R抗体)の生成用として当該技術分野で報告されている追加のマウス系には、(i) VELOCIMMUNE(登録商標)マウス(Regeneron Pharmaceuticals, Inc.) (このマウスでは、内在性のマウス重鎖可変領域及びマウス軽鎖可変領域が相同組換えを介してヒト重鎖可変領域及び

10

20

30

40

50

ヒト軽鎖可変領域で置き換えられると共に、このヒト重鎖可変領域及びヒト軽鎖可変領域が内在性のマウス定常領域に機能可能なように連結されており、その結果、このマウスではキメラ抗体（ヒトV / マウスC）が生成され、このキメラ抗体は、その後に標準的な組換えDNA手法を使用して完全ヒト抗体に変換される）、ならびに（i i）MEMO（登録商標）マウス（Merus Biopharmaceuticals, Inc.）（このマウスは、未再編のヒト重鎖可変領域を含み、さらに、単一の再編されたヒト共通軽鎖可変領域も含む）が含まれる。そのようなマウス及び抗体生成のためのその使用については、例えば、WO 2009 / 15777、US 2010 / 0069614、WO 2011 / 072204、WO 2011 / 097603、WO 2011 / 163311、WO 2011 / 163314、WO 2012 / 148873、US 2012 / 0070861、及びUS 2012 / 0073004に記載されている。10

#### 【0237】

本明細書に記載のヒトモノクローナル抗IL-7R抗体は、ヒト免疫グロブリン遺伝子のライブラリーをスクリーニングするためのファージディスプレイ法を使用しても調製することができる。ヒト抗体を単離するためのそのようなファージディスプレイ法は当該技術分野で確立されている。例えば、Ladner et al. に付与された米国特許第5,223,409号、同第5,403,484号、及び同第5,571,698号、Dower et al. に付与された米国特許第5,427,908号及び同第5,580,717号、McCafferty et al. に付与された米国特許第5,969,108号及び同第6,172,197号、ならびにGriffiths et al. に付与された米国特許第5,885,793号、同第6,521,404号、同第6,544,731号、同第6,555,313号、同第6,582,915号、及び同第6,593,081号を参照のこと。20

#### 【0238】

本明細書に記載のヒトモノクローナル抗IL-7R抗体は、免疫化時にヒト抗体応答が生じ得るようにヒト免疫細胞が再構築されているSCIDマウスを使用しても調製することができる。そのようなマウスについては、例えば、Wilson et al. に付与された米国特許第5,476,996号及び同第5,698,767号に記載されている。

#### 【0239】

##### V I . A . 免疫化

IL-7Rに対する完全ヒト抗体を生成させるには、ヒト免疫グロブリン遺伝子を含むトランスジェニックマウスまたは染色体導入マウス（例えば、HCo12マウス、HC07マウス、またはKMマウス）を、IL-7R抗原の精製調製物もしくは濃縮調製物及び/またはIL-7Rもしくはその断片を発現する細胞で免疫化することができ、この免疫化は、例えば、Lonberg et al., (1994) Nature 368 (6474) : 856 - 859、Fishwild et al., (1996) Nature Biotechnology 14 : 845 - 851、及びWO 98 / 24884によって他の抗原について記載されているように行われる。あるいは、ヒトIL-7Rまたはその断片をコードするDNAでマウスが免疫化され得る。いくつかの実施形態では、最初の注入時点でマウスは6~16週齢であり得る。例えば、HuMAbマウスの腹腔内への免疫化には、組換えIL-7R抗原の精製調製物または濃縮調製物（5~50 μg）が使用され得る。IL-7R抗原の精製調製物または濃縮調製物を免疫化に使用しても抗体が得られない場合には、IL-7Rを発現する細胞（例えば、細胞株）でマウスを免疫化して免疫応答を促進することもできる。細胞株の例としては、IL-7R過剰発現安定CHO細胞株（CHOZN）が挙げられる。40

#### 【0240】

Ribiアジュバントに含めた抗原で腹腔内（IP）または皮下（SC）への免疫化を最初に行った後、Ribiアジュバントに含めた抗原で2週間ごとにIP / SC免疫化（最大総回数10）を行うとHuMAbトランスジェニックマウスでの応答が最良のものとなることが、さまざま抗原での経験の蓄積から明らかとなっている。免疫応答は、後眼

竈静脈叢からの採血によって得られる血漿試料を用いて免疫化プロトコールの過程にわたって監視され得る。(以下に記載のように) E L I S A 及び F A C S によって血漿をスクリーニングすることができ、十分な力価の抗 I L - 7 R ヒト免疫グロブリンを有するマウスが融合に使用され得る。マウスの静脈内に抗原を投与することで追加の免疫化が行われ、その 3 日後にマウスが殺され、脾臓及びリンパ節を取り出され得る。各免疫化について融合を 2 ~ 3 回実施する必要があり得ると予想される。典型的には、各抗原につき、6 ~ 24 匹のマウスが免疫化される。通常、H C o 7 系統、H C o 1 2 系統、及び K M 系統が使用される。さらに、H C o 7 導入遺伝子及び H C o 1 2 導入遺伝子の両方を交配繁殖によって 1 種類のマウスと一緒に導入して、2 つの異なるヒト重鎖導入遺伝子 (H C o 7 / H C o 1 2 ) を持たせることもできる。

10

#### 【 0 2 4 1 】

V I . B . I L - 7 R に対するモノクローナル抗体を産生するハイブリドーマの生成

本明細書に記載のヒトモノクローナル抗 I L - 7 R 抗体を産生するハイブリドーマを生成させるには、免疫化したマウスから脾細胞及び/またはリンパ節細胞を単離し、適切な不死化細胞株 (マウス骨髄腫細胞株など) と融合させることができる。得られたハイブリドーマは、抗原特異的抗体の産生についてスクリーニングされ得る。例えば、免疫化したマウスから得られる脾臓リンパ球を、単一細胞浮遊液として、P E G を用いて S p 2 / 0 非分泌性マウス骨髄腫細胞 (A T C C 、 C R L 1 5 8 1 ) と融合させることができる。平底マイクロタイタープレートに細胞が播種された後、選択培地中で細胞がインキュベートされ得る。数週間後、細胞が培地中で培養され得る。その後、ヒトモノクローナル I g M 抗体及びヒトモノクローナル I g G 抗体について E L I S A によって個々のウェルがスクリーニングされ得る。ハイブリドーマの増殖が進むと、通常は 10 ~ 14 日後に培地の観測が行われ得る。抗体分泌ハイブリドーマが入れ替えられ、再度スクリーニングされ得る。この抗体分泌ハイブリドーマが依然としてヒト I g G 陽性の場合、限界希釈法によってモノクローナル抗体のサブクローニングが少なくとも 2 回行われ得る。その後、安定サブクローンがインビトロで培養されることで、組織培養培地中に特徴付け用の抗体が少量產生され得る。

20

#### 【 0 2 4 2 】

ヒトモノクローナル抗体を精製するには、選択したハイブリドーマを、モノクローナル抗体精製のための 2 リットルのスピナーフラスコにおいて増殖させることができる。上清がろ過及び濃縮された後、プロテイン A - s e p h a r o s e ( P h a r m a c i a , P i s c a t a w a y , N . J . ) を用いる親和性クロマトグラフィーに供され得る。溶出された I g G は、ゲル電気泳動及び高速液体クロマトグラフィーによって調べられて純度が確認され得る。P B S への緩衝液交換が行われ得る。吸光係数 1 . 4 3 を使用して O D 280 によって濃度が決定され得る。モノクローナル抗体は一定分量に分けられ、保管され得る。

30

#### 【 0 2 4 3 】

V I . C . I L - 7 R に対するモノクローナル抗体を産生するトランスフェクトーマの生成

宿主細胞トランスフェクトーマにおいて抗体を産生させることができ、こうしたトランスフェクトーマは、例えば、組換え D N A 手法及び遺伝子トランスフェクション方法を併用することで得られ、こうしたことは、当該技術分野でよく知られている (M o r r i s o n , S . ( 1 9 8 5 ) S c i e n c e 2 2 9 : 1 2 0 2 )。

40

#### 【 0 2 4 4 】

例えば、抗体またはその抗体断片を発現させるには、部分長または全長の軽鎖及び重鎖をコードする D N A を、標準的な分子生物学手法 (例えば、目的抗体を発現するハイブリドーマを使用する P C R 増幅または c D N A クローニング) によって得ることができ、こうした D N A を、転写制御配列及び翻訳制御配列に遺伝子が機能可能なように連結されないように発現ベクターに挿入することができる。この文脈での「機能可能なように連結される」という用語は、ベクター内の転写制御配列及び翻訳制御配列がそれらの所期の抗体遺

50

伝子転写制御機能及び抗体遺伝子翻訳制御機能を発揮するように抗体遺伝子がベクターにライゲーションされることを意味することが意図される。発現ベクター及び発現制御配列は、使用される発現宿主細胞と適合するように選択される。抗体軽鎖遺伝子及び抗体重鎖遺伝子が、別々のベクターに挿入され得るか、または両方の遺伝子が、同じ発現ベクターに挿入される。抗体遺伝子は、標準的な方法（例えば、抗体遺伝子断片及びベクター上に存在する相補的な制限酵素認識部位でのライゲーション、または制限酵素認識部位が存在しない場合は平滑末端でのライゲーション）によって発現ベクター（複数可）に挿入される。ベクター内の C<sub>H</sub> セグメント（複数可）に V<sub>H</sub> セグメントが機能可能なように連結され、ベクター内の C<sub>L</sub> セグメントに V<sub>L</sub> セグメントが機能可能なように連結されるように所望のアイソタイプの重鎖定常領域及び軽鎖定常領域を既にコードする発現ベクターへと本明細書に記載の抗 I L - 7 R 抗体の軽鎖可変領域及び重鎖可変領域を挿入することによって、それらの可変領域を使用して任意の抗体アイソタイプの全長抗体遺伝子を創出することができる。

#### 【 0 2 4 5 】

付加的または代替的に、組換え発現ベクターは、宿主細胞からの抗体鎖の分泌を促進するシグナルペプチドをコードし得る。抗体鎖遺伝子は、当該抗体鎖遺伝子のアミノ末端にシグナルペプチドがインフレームで連結されるようにベクターにクローニングされ得る。シグナルペプチドは、免疫グロブリンシグナルペプチドまたは異種シグナルペプチド（すなわち、非免疫グロブリンタンパク質に由来するシグナルペプチド）であり得る。当該技術分野では、使用され得るシグナルペプチド配列の例が知られている。例えば、国際公開公報第 WO 2 0 1 8 / 0 1 3 8 1 8 A 2 を参照のこと。

#### 【 0 2 4 6 】

抗体鎖遺伝子に加えて、組換え発現ベクターは、宿主細胞における抗体鎖遺伝子の発現を制御する調節配列を保有し得る。「調節配列」という用語は、プロモーター、エンハンサー、及び抗体鎖遺伝子の転写または翻訳を制御する他の発現制御要素（例えば、ポリアデニル化シグナル）を含むことが意図される。そのような調節配列は、例えば、 Go e d d e l ( G e n e E x p r e s s i o n T e c h n o l o g y . M e t h o d s i n E n z y m o l o g y 1 8 5 , A c a d e m i c P r e s s , S a n D i e g o , C A ( 1 9 9 0 ) ) に記載されている。調節配列の選択を含めて、発現ベクターの設計は、形質転換すべき宿主細胞の選択、所望のタンパク質の発現レベルなどの因子に依存し得ることを当業者なら理解するであろう。哺乳類宿主細胞での発現に好ましい調節配列には、哺乳類細胞においてタンパク質を高レベルで発現させるウイルス要素が含まれ、こうしたウイルス要素は、サイトメガロウイルス ( C M V ) 、サルウイルス 4 0 ( S V 4 0 ) 、アデノウイルス、及びポリオーマに由来するプロモーター及び／またはエンハンサーなど（例えば、アデノウイルス主要後期プロモーター ( A d M L P ) ）である。あるいは、非ウイルス調節配列（ユビキチンプロモーターまたは - グロビンプロモーターなど）が使用され得る。さらに、起源の異なる配列から構成される調節要素 ( S R a プロモーターなど) も存在し、 S R a プロモーターは、 S V 4 0 初期プロモーター由来の配列及びヒト T 細胞白血病ウイルス 1 型の長鎖末端反復配列を含む ( T a k e b e , Y . e t a l . ( 1 9 8 8 ) M o l . C e l l . B i o l . 8 : 4 6 6 - 4 7 2 ) 。

#### 【 0 2 4 7 】

抗体鎖遺伝子及び調節配列に加えて、組換え発現ベクターは、追加の配列を保有し得、こうした追加の配列は、宿主細胞におけるベクターの複製を制御する配列（例えば、複製起点）及び選択可能マーカー遺伝子などである。選択可能マーカー遺伝子は、ベクターが導入されている宿主細胞の選択を容易にするものである（例えば、米国特許第 4 , 3 9 9 , 2 1 6 号、同第 4 , 6 3 4 , 6 6 5 号、及び同第 5 , 1 7 9 , 0 1 7 号（すべて A x e 1 e t a l . によるもの）を参照のこと）。例えば、典型的には、選択可能マーカー遺伝子は薬物 ( G 4 1 8 、ハイグロマイシン、またはメトレキサートなど) に対する抵抗性を、ベクターが導入されている宿主細胞に付与するものである。好ましい選択可能マーカー遺伝子には、ジヒドロ葉酸還元酵素 ( D H F R ) 遺伝子（メトレキサートでの選択

10

20

30

40

50

/ 増幅を行う d h f r - 宿主細胞において使用するためのもの) 及び n e o 遺伝子 (G 4 1 8 での選択を行うためのもの) が含まれる。

#### 【 0 2 4 8 】

軽鎖及び重鎖の発現については、重鎖及び軽鎖をコードする発現ベクター (複数可) が、標準的な手法によって宿主細胞にトランスフェクションされる。さまざまな形態の「トランスフェクション」という用語は、原核生物宿主細胞または真核生物宿主細胞への外来性 D N A の導入に一般に使用されるさまざまな手法を包含することが意図され、こうした手法は、例えば、電気穿孔、リン酸カルシウム沈殿法、D E A E - デキストラントransフェクション、及び同様のものである。

#### 【 0 2 4 9 】

原核生物宿主細胞または真核生物宿主細胞のいずれにおいても本明細書に記載の抗 I L - 7 R 抗体を発現させることができ理論的には可能であるが、真核細胞 (最も好ましくは、哺乳類宿主細胞) での抗体発現が最も好ましく、この理由は、そのような真核細胞 (具体的には哺乳類細胞) では、原核細胞と比較して、フォールディングが正しく、かつ免疫学的な活性な抗体が構築及び分泌される可能性が高いことによるものである。抗体遺伝子の原核生物での発現は、活性な抗体を高い収量で得るには非効率であることが報告されている (Boss, M. A. and Wood, C. R. (1985) Immunology Today 6: 12 - 13)。

#### 【 0 2 5 0 】

本明細書に記載の組換え抗 I L - 7 R 抗体を発現させるためのある特定の哺乳類宿主細胞には、チャイニーズハムスター卵巣 (C H O 細胞) (Ur laub and Chasini, (1980) Proc. Natl. Acad. Sci. USA 77: 4216 - 4 2 2 0 に記載の d h f r - C H O 細胞 (D H F R 選択可能マーカーと共に使用され、例えば、R. J. Kaufman and P. A. Sharp (1982) Mol. Biol. 759: 601 - 621 に記載のように使用される) を含む)、N S O 骨髄腫細胞、C O S 細胞、及び S P 2 細胞が含まれる。具体的には、N S O 骨髄腫細胞との使用については、別の発現系は、W O 8 7 / 0 4 4 6 2、W O 8 9 / 0 1 0 3 6、及び E P 3 3 8 , 8 4 1 に開示の G S 遺伝子発現系である。抗体遺伝子をコードする組換え発現ベクターが哺乳類宿主細胞に導入される場合、宿主細胞における抗体の発現、またはより好ましくは、宿主細胞が増殖する培養培地への抗体の分泌を可能にする上で十分な時間宿主細胞を培養することによって抗体が産生される。抗体は、標準的なタンパク質精製方法を使用して培養培地から回収され得る。

#### 【 0 2 5 1 】

#### V I I . 免疫複合体、抗体誘導体、及び診断

本明細書に記載の抗 I L - 7 R 抗体は、試料検査及びインビボイメージングを含めて、診断目的で使用することができ、この目的では、抗体 (またはその結合断片) を適切な検出可能薬剤と複合化させて免疫複合体を形成させることができる。診断目的では、適切な薬剤は、放射性同位体を含む検出可能標識 (全身イメージングのためのもの)、ならびに放射性同位体、酵素、蛍光標識、及び試料検査に適した他の抗体タグである。

#### 【 0 2 5 2 】

本明細書に記載の I L - 7 R 抗体のいずれかと連結され得る検出可能標識は、インビトロ診断の領域で現在使用されているさまざまな型のいずれかのものであり得、こうした標識には、粒子標識 (金属ゾル (金コロイドなど) を含む)、同位体 (I<sup>125</sup> または T c<sup>9</sup> (例えば、N<sub>2</sub>S<sub>2</sub>型、N<sub>3</sub>S型、またはN<sub>4</sub>型のペプチド性キレート剤と共に提供されるもの) など)、発色団 (蛍光マーカー、発光マーカー、リン光マーカー、及び同様のものを含む)、ならびに検出可能マーカーへと所与の基質を変換する酵素標識、及び増幅 (ポリメラーゼ連鎖反応によるものなど) 後に出現するポリヌクレオチドタグが含まれる。適切な酵素標識には、西洋ワサビペルオキシダーゼ、アルカリホスファターゼ、及び同様のものが含まれる。例えば、標識はアルカリホスファターゼ酵素であり得、アルカリホスファターゼ酵素は、1, 2ジオキセタン基質 (アダマンチルメトキシホスホリルオキシフ

10

20

30

40

50

エニルジオキセタン (AMPPD)、3-(4-(メトキシスピロ{1,2-ジオキセタン-3,2'}-5'-クロロ)トリシクロ{3.3.1.1.3,7}デカン)-4-イル)フェニルリン酸二ナトリウム (CSPD)、ならびにCDP及びCDP-STAR (登録商標)など)の変換後の化学発光の存在もしくは形成を測定することによって検出されるか、または当業者によく知られる他の発光基質(例えば、適切なランタニド(テルビウム(III)及びヨーロピウム(III)など)のキレート物)の変換後の化学発光の存在もしくは形成を測定することによって検出される。検出手段は、選択される標識によって決定される。標識またはその反応生成物の出現は、肉眼で判定するか(標識が粒子であり、適切なレベルで蓄積する場合)、または機器(分光光度計、ルミノメーター、蛍光光度計、及び同様のものなど)を使用して判定することができ、これらはすべて、標準的な慣行に従って実施される。

10

#### 【0253】

いくつかの実施形態では、複合体化方法で生じる結合は、実質的に(またはほぼ)非免疫原性のものであり、こうした結合は、例えば、ペプチド結合(すなわち、アミド結合)、スルフィド結合、(立体障害を有する)ジスルフィド結合、ヒドラゾン結合、及びエーテル結合である。こうした結合は、ほぼ非免疫原性であり、血清中で適正な安定性を示す(例えば、Senter, P. D., Curr. Opin. Chem. Biol. 13 (2009) 235-244、WO 2009/059278、WO 95/17886を参照のこと)。

20

#### 【0254】

部分及び抗体の生化学的性質に応じて、異なる複合体化方針を用いることができる。部分が、50~500個のアミノ酸の天然起源物または組換え物である場合、タンパク質複合体の合成のための化学についての説明がある教科書に標準的な手順が存在し、当業者ならそうした手順に従うことは容易であり得る(例えば、Hackenberger, C. P. R., and Schwarzer, D., Angew. Chem. Int. Ed. Engl. 47 (2008) 10030-10074を参照のこと)。一実施形態では、マレイミド部分と抗体または部分に含まれるシステイン残基との反応が利用される。これは、例えば、抗体のFab断片またはFab'断片が使用される場合に特に適したカップリング化学である。あるいは、一実施形態では、抗体または部分のC末端とのカップリングが実施される。タンパク質(例えば、Fab断片)のC末端修飾は、報告のように実施され得る(Sunbul, M. and Yin, J., Org. Biomol. Chem. 7 (2009) 3361-3371)。

30

#### 【0255】

一般に、部位特異的な反応及び共有結合カップリングは、天然アミノ酸を、その他の存在官能基の反応性とは別の反応性を有するアミノ酸へと変換することに基づくものである。例えば、低頻度配列構成内の特定のシステインがアルデヒドへと酵素的に変換され得る(Freese, M. A., and Dierks, T., ChemBioChem. 10 (2009) 425-427を参照のこと)。所与の配列構成中の天然アミノ酸に特異的な酵素反応性を有するある特定の酵素を利用することによって所望のアミノ酸改変を施すことも可能である(例えば、Taki, M. et al., Prot. Eng. Des. Sel. 17 (2004) 119-126、Gautier, A. et al. Chem. Biol. 15 (2008) 128-136、及びBordusa, F., Highlights in Bioorganic Chemistry (2004) 389-403(この文献では、プロテアーゼ触媒によるC-N結合の形成が利用されている)を参照のこと)。部位特異的な反応及び共有結合カップリングは、末端アミノ酸と適切な修飾試薬との選択的な反応によっても達成され得る。

40

#### 【0256】

N末端システインとベンゾニトリルとの反応性(Ren, H. et al., Angew. Chem. Int. Ed. Engl. 48 (2009) 9658-9662を参照のこと)を利用して、部位特異的な共有結合カップリングを達成することができる。

50

**【0257】**

ネイティブケミカルライゲーションもまた、C末端システィン残基に依存するものであり得る(Taylor, E. Vogel; Imperiali, B., Nucleic Acids and Molecular Biology(2009), 22(Protein Engineering), 65-96)。

**【0258】**

U S 6 4 3 7 0 9 5 B 1では、負荷電アミノ酸の区間に位置するシステインと正荷電アミノ酸との区間に位置するシステインとがより速く反応することに基づく複合体化方法について記載されている。

**【0259】**

部分は、合成ペプチドまたはペプチド模倣物でもあり得る。ポリペプチドが化学的に合成される場合、そのような合成の間に、独立した化学反応性を有するアミノ酸が組み込まれ得る(例えば、de Graaf, A. J. et al., Bioconjug. Chem. 20(2009) 1281-1295を参照のこと)。反応性が独立した官能基は多種多様なものが論じられており、そうした官能基を合成ペプチドに組み込むことが可能なため、そのようなペプチドをリンカーと結合させることが標準化学となっている。

10

**【0260】**

モノ標識ポリペプチドを得るには、化学量論比が1:1の複合体を、クロマトグラフィーによって他の複合体化副生成物から分離することができる。この手順は、色素標識結合ペアメンバー及び荷電リンカーを使用することによって容易になり得る。この種の標識結合メンバー及び高度に負に荷電した結合メンバーを使用することによって、非標識ポリペプチド、及びリンカーを複数有するポリペプチドからモノ複合体化ポリペプチドを分離することが容易になり、この容易化の理由は、荷電及び分子量の差異を分離に利用できることによるものである。標識一価結合剤と同様に、非結合成分からの複合体の精製には蛍光色素も有用であり得る。

20

**【0261】**

一実施形態では、抗IL-7R抗体に付加される部分は、結合部分、標識化部分、及び生物学的に活性な部分からなる群から選択される。

**【0262】**

本明細書に記載の抗IL-7R抗体は、治療剤と複合体化させて免疫複合体(抗体薬物複合体(ADC)など)を形成させることもできる。適切な治療剤には、代謝拮抗剤、アルキル化剤、DNA副溝結合剤、DNAインターラーカレーター、DNAクロスリンク剤、ヒストンデアセチラーゼ阻害剤、核外輸送阻害剤、プロテアソーム阻害剤、トポイソメラーゼI阻害剤またはトポイソメラーゼII阻害剤、熱ショックタンパク質阻害剤、チロシンキナーゼ阻害剤、抗生物質、及び有糸分裂阻害剤が含まれる。ADCでは、抗体と治療剤とは、好ましくは、切断可能なリンカー(ペプチジルリンカー、ジスルフィドリンカー、またはヒドラゾンリンカーなど)を介して複合体化される。他の実施形態では、リンカーハ、ペプチジルリンカーナー(Val-Cit、Ala-Val、Val-Ala-Val、Lys-Lys、Pro-Val-Gly-Val-Val(配列番号30)、Ala-Asn-Val、Val-Leu-Lys、Ala-Ala-Asn、Cit-Cit、Val-Lys、Lys、Cit、Ser、またはGluなど)である。ADCは、米国特許第7,087,600号、同第6,989,452号、及び同第7,129,261号、PCT公開公報WO02/096910、同WO07/038658、同WO07/051081、同WO07/059404、同WO08/083312、及び同WO08/103693、米国特許公開公報20060024317、同20060004081、及び同20060247295に記載のように調製され得る。

30

40

**【0263】**

抗IL-7R抗体(例えば、本明細書に記載のもの)は、IL-7R(ヒトIL-7R(例えば、組織中または組織試料中のヒトIL-7R)など)の検出にも使用することができる。抗体は、例えば、ELISAアッセイまたはフローサイトメトリーにおい

50

て使用され得る。ある特定の実施形態では、抗IL-7R抗体は、特異的な結合が生じる上で適した時間、細胞（例えば、組織中の細胞）と接触された後、試薬（例えば、抗IL-7R抗体を検出する抗体）が添加される。アッセイの例は、実施例において提供される。抗IL-7R抗体は、完全ヒト抗体であり得るか、またはキメラ抗体（ヒト可変領域とマウス定常領域もしくはその一部とを有する抗体など）であり得る。抗体及び／または検出試薬とのインキュベート後には洗浄ステップが含められ得る。こうした方法において使用するための抗IL-7R抗体は、検出剤を別に使用できるため、標識または検出剤に連結される必要はない。

#### 【0264】

抗IL-7R抗体の他の使用（例えば、単剤療法または併用療法としての使用）は、本明細書の他の箇所（例えば、治療的使用に関するセクション）に提供される。

10

#### 【0265】

##### VIII. 二重特異性分子

本明細書に記載の抗体は、二重特異性分子の形成に使用することができる。本明細書に開示の抗IL-7R抗体は、少なくとも2つの異なる結合部位または標的分子に結合する二重特異性分子を生成させるために、誘導体化されるか、または別の機能性分子（例えば、別のペプチドもしくはタンパク質（例えば、受容体に対する別の抗体もしくはリガンド））に連結され得る。多くの炎症性疾患（炎症性腸疾患など）の発症においてさまざまなサイトカインが重要な役割を担っていることが報告されている。そのようなサイトカインの例としては、限定されないが、TNF-、TL1、IL-1、IL-6、IL-18、IL-12、IL-23、IL-17、及びIL-27が挙げられる。Sanchez-Munoz F., et al., *World J Gastroenterol* 14 (27) : 4280 - 4288 (2008)。前述のように、炎症性疾患の治療においては制御性T細胞も重要であると考えられる。サイトカインのいくつかは、制御性T細胞の誘導において重要であることが知られており、こうしたサイトカインには、TGF-、IL-10、及びIL-2が含まれる。Hoeppli R.E., et al., *Front Immunol* 6: 61 (2015)。したがって、本明細書に開示の抗IL-7R抗体は、上記のサイトカインのいずれかに特異的に結合し、それによって炎症性疾患の発症及び／または制御性T細胞の誘導を制御する抗体に連結され得る。いくつかの実施形態では、抗IL-7R抗体は、疾患または障害（例えば、炎症性疾患）を治療する抗体に連結され得る。そのような抗体の例としては、限定されないが、ナタリズマブ（TYSABRI（登録商標））、インフリキシマブ、アダリムマブ、ウステキヌマブ、ゴリムマブ、トリリズマブ、ベドリズマブ、セコキヌマブ（Secukinumab）が挙げられる。

20

#### 【0266】

本明細書に記載の抗体は、2つ以上の異なる結合部位及び／または標的分子に結合する多重特異性分子を生成させるために、実際に、誘導体化されるか、または複数の他の機能性分子に連結され得る。そのような多重特異性分子は、本明細書に記載の「二重特異性分子」という用語によって包含されることも意図される。本明細書に記載の二重特異性分子を創出するには、1つ以上の他の結合分子（別の抗体、その抗体結合部分、ペプチド、または結合模倣物など）に対して本明細書に記載の抗体を機能的に連結（例えば、化学的カップリング、遺伝子的融合、非共有結合性の結び付き、またはその他の様式での結合によるもの）することができ、その結果、二重特異性分子が得られる。

30

#### 【0267】

したがって、IL-7Rに対する少なくとも1つの第1の結合特異性と、第2の標的エピトープに対する第2の結合特異性と、を含む二重特異性分子が本明細書で提供される。いくつかの実施形態では、二重特異性分子は、第3の結合特異性をさらに含み得る。

40

#### 【0268】

いくつかの実施形態では、本明細書に記載の二重特異性分子は、少なくとも1つの抗体（例えば、Fab、Fab'、F(ab')<sub>2</sub>、Fv、または一本鎖Fv（scFv）を含む

50

)を結合特異性として含む。抗体は、軽鎖二量体もしくは重鎖二量体またはその任意の最小断片(Fvなど)、あるいはLadner et al.の米国特許第4,946,778号(当該文献の内容は、参照によって明確に組み込まれる)に記載の一本鎖コンストラクトでもあり得る。

#### 【0269】

ヒトモノクローナル抗体が好ましいが、他の抗体としては、マウスモノクローナル抗体、キメラモノクローナル抗体、及びヒト化モノクローナル抗体が本明細書に記載の二重特異性分子に用いられ得る。

#### 【0270】

本明細書に記載の二重特異性分子は、当該技術分野で知られる方法を使用して構成結合特異性を統合することによって調製され得る。例えば、二重特異性分子の各結合特異性は、別々に生成された後、互いに統合され得る。結合特異性がタンパク質またはペプチドである場合、共有結合での複合体化にさまざまなカップリング剤または架橋剤が使用され得る。架橋剤の例としては、プロテインA、カルボジイミド、N-スクシンイミジル-S-アセチル-チオアセテート(SATA)、5,5'-ジチオビス(2-ニトロ安息香酸)(DTNB)、o-フェニレンジマレイミド(oPDM)、N-スクシンイミジル-3-(2-ピリジルジチオ)プロピオネート(SPDP)、及びスルホスクシンイミジル4-(N-マレイミドメチル)シクロハキサン-1-カルボキシレート(スルホ-SMCC)が挙げられる(例えば、Karpovsky et al.(1984)J. Exp. Med. 160:1686、Liu, MA et al.(1985)Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. 82:8648を参照のこと)。他の方法には、Paulus(1985)Behring Ins. Mitt. No. 78, 118-132、Brennan et al.(1985)Science 229:81-83)、及びGlenne et al.(1987)J. Immunol. 139:2367-2375)に記載のものが含まれる。複合体化剤によっては、SATA及びスルホ-SMCCであり、これらは両方共、Pierce Chemical Co.(Rockford, IL)から入手可能である。

#### 【0271】

結合特異性が抗体である場合、2つの重鎖のC末端ヒンジ領域のスルフヒドリル結合を介してそれらの抗体を複合体化することができる。特定の実施形態では、ヒンジ領域は、奇数(好ましくは、1つ)のスルフヒドリル残基を含むように改変された後に複合体化に供される。

#### 【0272】

あるいは、両方の結合特異性を同じベクターにコードさせ、同じ宿主細胞において発現及び構築させることができる。この方法は、二重特異性分子がmAb × mAb、mAb × Fab、mAb × (scFv)<sub>2</sub>、Fab × F(ab')<sub>2</sub>、またはリガンド × Fab融合タンパク質である場合に特に有用である。二重特異性抗体は、各重鎖のC末端にscFvを含む抗体を含み得る。本明細書に記載の二重特異性分子は、1つの一本鎖抗体及び1つの結合決定基を含む一本鎖分子であるか、または2つの結合決定基を含む一本鎖二重特異性分子であり得る。二重特異性分子は、少なくとも2つの一本鎖分子を含み得る。二重特異性分子を調製するための方法は、例えば、米国特許第5,260,203号、米国特許第5,455,030号、米国特許第4,881,175号、米国特許第5,132,405号、米国特許第5,091,513号、米国特許第5,476,786号、米国特許第5,013,653号、米国特許第5,258,498号、及び米国特許第5,482,858号に記載されている。

#### 【0273】

二重特異性分子がその特異的な標的に結合することは、当該技術分野で認知される方法(酵素結合免疫吸着測定法(ELISA)、放射免疫測定法(RIA)、FACS分析、バイオアッセイ(例えば、増殖抑制)、またはウエスタンプロットアッセイなど)を使用して確認され得る。こうしたアッセイはそれぞれ、一般に、目的とする特定のタンパク質

10

20

30

40

50

- 抗体複合体の存在を、目的複合体に特異的な標識試薬（例えば、抗体）を用いて検出するものである。

#### 【 0 2 7 4 】

##### I X . キット

本明細書に記載の抗 I L - 7 R 抗体もしくはその抗原結合部分、二重特異性分子、またはその免疫複合体を 1 つ以上含むキットが本明細書で提供される。いくつかの実施形態では、本明細書に記載の医薬組成物の成分（本明細書で提供される抗体またはその抗原結合部分など）が 1 つ以上充填された 1 つ以上の容器と、任意選択の使用説明とを含む医薬パックまたは医薬キットが本明細書で提供される。いくつかの実施形態では、キットは、本明細書に記載の医薬組成物及び任意の予防剤または治療剤（本明細書に記載のものなど）を含む。

10

#### 【 0 2 7 5 】

##### X . 医薬組成物

生理学的に許容可能な担体、医薬品添加物、または安定化剤（Remington's Pharmaceutical Sciences (1990) Mack Publishing Co., Easton, PA）中に所望の純度の本明細書に記載の抗体またはその抗原結合部分を含む組成物が本明細書で提供される。許容可能な担体、医薬品添加物、または安定化剤は、用いられる用量及び濃度でレシピエントに無毒なものであり、こうした担体、医薬品添加物、または安定化剤には、緩衝剤（リン酸塩、クエン酸塩、及び他の有機酸など）、抗酸化剤（アスコルビン酸及びメチオニンを含む）、保存剤（オクタデシリジメチルベンジル塩化アンモニウム、塩化ヘキサメトニウム、塩化ベンザルコニウム、塩化ベンゼトニウム、フェノール、ブチルアルコールもしくはベンジルアルコール、アルキルパラベン（メチルパラベンもしくはプロピルパラベンなど）、カテコール、レゾルシノール、シクロヘキサンノール、3 - ペンタノール、及び m - クレゾールなど）、低分子量（約 10 残基未満）ポリペプチド、タンパク質（血清アルブミン、ゼラチン、または免疫グロブリンなど）、親水性ポリマー（ポリビニルピロリドンなど）、アミノ酸（グリシン、グルタミン、アスパラギン、ヒスチジン、アルギニン、もしくはリジンなど）、単糖、二糖、及び他の糖質（グルコース、マンノース、またはデキストリンを含む）、キレート剤（EDTA など）、糖（スクロース、マンニトール、トレハロース、またはソルビトールなど）、塩形成対イオン（ナトリウムなど）、金属錯体（例えば、Zn - タンパク質錯体）、及び / または非イオン性界面活性剤（TWEEN（登録商標）、PLURONICS（登録商標）、またはポリエチレンギリコール（PEG）など）が含まれる。

20

#### 【 0 2 7 6 】

特定の実施形態では、医薬組成物は、本明細書に記載の抗体またはその抗原結合部分、二重特異性分子、または免疫複合体と、任意選択の 1 つ以上の追加の予防剤または治療剤とを、医薬的に許容可能な担体中に含む。特定の実施形態では、医薬組成物は、有効量の本明細書に記載の抗体またはその抗原結合部分と、任意選択の 1 つ以上の追加の予防剤または治療剤とを、医薬的に許容可能な担体中に含む。いくつかの実施形態では、抗体は、医薬組成物に含められる唯一の活性成分である。本明細書に記載の医薬組成物は、T 細胞（例えば、病原性 T 細胞）における I L - 7 活性の調節（例えば、低減または抑制）、及び疾患または障害（炎症性疾患（例えば、炎症性腸疾患）など）の治療に有用であり得る。

30

#### 【 0 2 7 7 】

本明細書で使用される「医薬的に許容可能な担体」は、任意及びすべての溶媒、分散媒体、被覆剤、抗細菌剤及び抗真菌剤、等張化剤及び吸収遅延剤、ならびに生理学的に適合する同様のものが含まれる。いくつかの実施形態では、担体は、静脈内投与、筋肉内投与、皮下投与、注射投与、脊髄投与、または表皮投与（例えば、注射または注入によるもの）に適する。投与経路に応じて、活性化合物（すなわち、抗体、免疫複合体、または二重特異性分子）は、被覆されることで、酸の作用及び化合物を不活化し得る他の自然条件から化合物を保護するための材料中に含められ得る。

40

#### 【 0 2 7 8 】

50

したがって、本開示の目的の1つは、医薬製剤を提供することであり、こうした医薬製剤によって抗IL-7R抗体の安定性が向上し、それによってその長期保管が可能になる。いくつかの実施形態では、本明細書に開示の医薬製剤は、(a)抗IL-7R抗体、(b)緩衝剤、(c)安定化剤、(d)塩、(e)增量剤、及び/または(f)界面活性剤を含む。いくつかの実施形態では、医薬製剤は、少なくとも1ヶ月間、少なくとも2ヶ月間、少なくとも3ヶ月間、少なくとも6ヶ月間、少なくとも1年間、少なくとも2年間、少なくとも3年間、少なくとも5年間、またはそれを超える期間、安定である。いくつかの実施形態では、製剤は、4、25、または40で保管された場合、安定である。

#### 【0279】

##### 緩衝剤

本発明に有用な緩衝剤は、別の酸または塩基が添加された後でも溶液の酸性度(pH)を選択値付近に維持するために使用される弱酸または弱塩基であり得る。適切な緩衝剤は、医薬製剤のpH制御を維持することによって当該製剤の安定性を最大化し得る。適切な緩衝剤は、生理学的適合性の維持または溶解性の最適化も行い得る。レオロジー、粘度、及び他の特性もまた、製剤のpHに依存し得る。一般的な緩衝剤には、限定されないが、ヒスチジン、クエン酸塩、コハク酸塩、酢酸塩、及びリン酸塩が含まれる。いくつかの実施形態では、緩衝剤は、等張化剤と共にヒスチジン(例えば、L-ヒスチジン)を含み、当該技術分野で知られる酸または塩基でpHの調製が行われ得る。ある特定の実施形態では、緩衝剤は、L-ヒスチジンである。ある特定の実施形態では、製剤のpHは、約2～約10または約4～約8に維持される。

#### 【0280】

##### 安定化剤

医薬製品を安定化するために当該製品に安定化剤が添加される。そのような薬剤は、多くの異なる様式でタンパク質を安定化し得る。一般的な安定化剤には、限定されないが、アミノ酸(グリシン、アラニン、リジン、アルギニン、もしくはスレオニンなど)、糖質(グルコース、スクロース、トレハロース、ラフモース(raffose)、もしくはマルトースなど)、ポリオール(グリセロール、マンニトール、ソルビトール、シクロデキストリン、もしくは任意の種類及び分子量のデキストランなど)、またはPEGが含まれる。本発明の一態様では、凍結乾燥調製物中のFIXポリペプチドの安定性が最大化するように安定化剤が選択される。ある特定の実施形態では、安定化剤は、スクロース及び/またはアルギニンである。

#### 【0281】

##### 增量剤

医薬製品の体積及び質量を増やし、それによって正確な軽量及びその取扱いを容易化するために当該製品に增量剤が添加され得る。一般的な增量剤には、限定されないが、ラクトース、スクロース、グルコース、マンニトール、ソルビトール、炭酸カルシウム、またはステアリン酸マグネシウムが含まれる。

#### 【0282】

##### 界面活性剤

界面活性剤は、親液性基及び疎液性基を有する両親媒性物質である。界面活性剤は、陰イオン性、陽イオン性、双性イオン性、または非イオン性であり得る。非イオン性の界面活性剤の例としては、限定されないが、アルキルエトキシレート、ノニルフェノールエトキシレート、アミンエトキシレート、ポリエチレンオキシド、ポリプロピレンオキシド、脂肪アルコール(セチルアルコールもしくはオレイルアルコールなど)、コカミドMEA、コカミドDEA、ポリソルベート、またはドデシルジメチルアミノオキシドが挙げられる。いくつかの実施形態では、界面活性剤は、ポリソルベート20またはポリソルベート80である。

#### 【0283】

いくつかの実施形態では、本開示の医薬製剤は、下記のものを含む：

(a) 約0.25mg/mL～250mg/mL(例えば、10～200mg/mL)の

10

20

30

40

50

抗 I L - 7 R 抗体、

- ( b ) 約 2 0 m M の ヒスチジン、
- ( c ) 約 2 6 0 m M の スクロース、
- ( d ) 約 0 . 5 m M の D T P A 、 及び
- ( e ) 約 0 . 0 5 % の T w e e n - 8 0 。

【 0 2 8 4 】

製剤は、緩衝系、保存剤、等張化剤、キレート剤、安定化剤、及び / または界面活性剤、ならびにそれらのさまざまな組み合わせを 1 つ以上さらに含み得る。医薬組成物における保存剤、等張化剤、キレート剤、安定化剤、及び界面活性剤の使用は当業者によく知られている。参考文献としては、Remington : The Science and Practice of Pharmacy , 19<sup>th</sup> edition , 1995 を挙げることができる。10

【 0 2 8 5 】

いくつかの実施形態では、医薬製剤は、水性製剤である。そのような製剤は、典型的には、溶液または懸濁液であるが、そのような製剤には、コロイド、分散液、エマルション、及び多相物質も含まれ得る。「水性製剤」という用語は、水を少なくとも 5 0 % w / w 含む製剤として定義される。同様に、「水溶液」という用語は、水を少なくとも 5 0 % w / w 含む溶液として定義され、「水性懸濁液」という用語は、水を少なくとも 5 0 % w / w 含む懸濁液として定義される。

【 0 2 8 6 】

いくつかの実施形態では、医薬製剤は、フリーズドライ製剤であり、こうしたフリーズドライ製剤には、医師または患者によって使用前に溶媒及び / または希釈剤が添加される。20

【 0 2 8 7 】

本明細書に記載の医薬組成物は、併用療法において投与されることもあり得、すなわち、他の薬剤と併せて投与され得る。例えば、併用療法は、本明細書に記載の I L - 7 R 抗体を、少なくとも 1 つの他の治療剤と併用することを含み得る。併用療法に使用され得る治療剤の例としては、疾患または障害（例えば、炎症性障害）の治療に使用される他の化合物、薬物、及び / または薬剤が挙げられ得る。そのような化合物、薬物、及び / または薬剤には、例えば、炎症性サイトカインの產生を遮断または低減する抗炎症剤または抗体が含まれ得る。いくつかの実施形態では、治療剤には、抗 I P - 1 0 抗体、抗 T N F - 抗体（例えば、アダリムマブ（ H U M I R A （登録商標））、ゴリムマブ（ S I M P O N I （登録商標））、インフリキシマブ（ R E M I C A D E （登録商標））、セルトリズマブペゴル（ C I M Z I A （登録商標））、インターフェロンベータ - 1 a （例えば、 A V O N E X （登録商標）、 R E B I F （登録商標））、インターフェロンベータ - 1 b （例えば、 B E T A S E R O N （登録商標）、 E X T A V I A （登録商標））、酢酸グラチラマー（例えば、 C O P A X O N E （登録商標）、 G L A T O P A （登録商標））、ミトキサントロン（例えば、 N O V A N T R O N E （登録商標））、非ステロイド性抗炎症剤（ N S A I D ）、鎮痛剤、副腎皮質ステロイド、及びそれらの組み合わせが含まれ得る。いくつかの実施形態では、治療剤には、制御性 T 細胞（例えば、誘導性制御性 T 細胞）の発生を誘導し得る化合物、薬物、及び / または薬剤が含まれ得る。そのような治療剤の例としては、限定されないが、 T G F - 、 I L - 1 0 、 I L - 2 、及びそれらの組み合わせが挙げられる。30

【 0 2 8 8 】

本明細書に記載の医薬化合物は、1 つ以上の医薬的に許容可能な塩を含み得る。「医薬的に許容可能な塩」は、親化合物の所望の生物学的活性を保持し、いずれの望ましくない毒性学的作用も付与しない塩を指す（例えば、B e r g e , S . M . , e t a l . ( 1 9 7 7 ) J . P h a r m . S c i . 6 6 : 1 - 1 9 を参照のこと）。そのような塩の例としては、酸付加塩及び塩基付加塩が挙げられる。酸付加塩には、無毒な無機酸（塩酸、硝酸、リン酸、硫酸、臭化水素酸、ヨウ化水素酸、亜リン酸、及び同様のものなど）から得られるもの、ならびに無毒な有機酸（脂肪族モノカルボン酸及び脂肪族ジカルボン酸、フ40

エニル置換アルカン酸、ヒドロキシアルカン酸、芳香族酸、脂肪族スルホン酸及び芳香族スルホン酸、ならびに同様のものなど)から得られるものが含まれる。塩基付加塩には、アルカリ土類金属(ナトリウム、カリウム、マグネシウム、カルシウム、及び同様のものなど)から得られるもの、ならびに無毒な有機アミン(N、N'-ジベンジルエチレンジアミン、N-メチルグルカミン、クロロプロカイン、コリン、ジエタノールアミン、エチレンジアミン、プロカイン、及び同様のものなど)から得られるものが含まれる。

#### 【0289】

本明細書に記載の医薬組成物は、医薬的に許容可能な抗酸化剤も含み得る。医薬的に許容可能な抗酸化剤の例としては、(1)水溶性抗酸化剤(アスコルビン酸、システイン塩酸塩、重硫酸ナトリウム、メタ重亜硫酸ナトリウム、亜硫酸ナトリウム及び同様のものなど)、(2)油溶性抗酸化剤(パルミチン酸アスコルビル、ブチル化ヒドロキシアニソール(BHA)、ブチル化ヒドロキシトルエン(BHT)、レシチン、没食子酸プロピル、アルファ-トコフェロール、及び同様のものなど)、ならびに(3)金属キレート剤(クエン酸、エチレンジアミン四酢酸(EDTA)、ソルビトール、酒石酸、リン酸、及び同様のものなど)が挙げられる。

10

#### 【0290】

本明細書に記載の医薬組成物に用いられ得る適切な水性担体及び非水性担体の例としては、水、エタノール、ポリオール(グリセロール、プロピレングリコール、ポリエチレングリコール、及び同様のものなど)、ならびにそれらの適切な混合物、植物油(オリーブ油など)、ならびに注射用有機エステル(オレイン酸エチルなど)が挙げられる。適切な流動性は、例えば、被覆物質(レシチンなど)を使用するか、分散液の場合は必要粒度を維持するか、または界面活性剤を使用することによって維持され得る。

20

#### 【0291】

こうした組成物は、補助剤(保存剤、湿潤剤、乳化剤、及び分散剤など)も含み得る。滅菌手順(上記)を行うと共に、さまざまな抗細菌剤及び抗真菌剤(例えば、パラベン、クロロブタノール、フェノールソルビン酸、及び同様のもの)を含めることによって微生物の存在が確実に阻止され得る。等張化剤(糖、塩化ナトリウム、及び同様のものなど)を組成物に含めることも望ましくあり得る。さらに、吸収を遅延させる薬剤(モノステアリン酸アルミニウム及びゼラチンなど)を含めることによって注射用医薬形態の吸収が持続するようになり得る。

30

#### 【0292】

医薬的に許容可能な担体には、滅菌水溶液または滅菌分散液、及び注射用の滅菌溶液または滅菌分散液を即時調製するための滅菌粉末が含まれる。医薬的に活性物質向けにそのような媒体及び薬剤を使用することは当該技術分野で知られている。通常の媒体または薬剤のいずれかが活性化合物と不適合である場合を除き、本明細書に記載の医薬組成物においてこうした通常の媒体または薬剤を使用することが企図される。医薬組成物は、保存剤を含み得るか、または保存剤を含み得ない。組成物には活性化合物が追加で含められることがあり得る。

#### 【0293】

治療組成物は、典型的には、製造及び保管の条件の下で滅菌状態かつ安定でなくてはならない。組成物は、溶液、マイクロエマルション、リポソーム、または高い薬物濃度に適した他の秩序構造として製剤化され得る。担体は、溶媒または分散媒体(例えば、水、エタノール、ポリオール(例えば、グリセロール、プロピレングリコール、及び液体ポリエチレングリコール、ならびに同様のもの)、ならびにそれらの適切な混合物を含むもの)であり得る。適切な流動性は、例えば、被覆剤(レシチンなど)を使用すること、分散液の場合は必要粒度を維持すること、及び界面活性剤を使用することによって維持され得る。多くの場合、組成物は、等張化剤(例えば、糖、多価アルコール(マンニトール、ソルビトールなど)、または塩化ナトリウム)を組成物中に含み得る。吸収を遅延させる薬剤(例えば、モノステアリン酸塩及びゼラチン)を注射用組成物中に含めることによって当該組成物の吸収が持続するようになり得る。

40

50

**【 0 2 9 4 】**

滅菌注射用溶液は、活性化合物を必要量で、必要に応じて上記の成分の1つまたは組み合わせと共に、適切な溶媒に含めた後、滅菌精密ろ過を行うことによって調製され得る。一般に、分散液は、基礎分散媒体と、上記のものから選択される他の必要成分と、を含む滅菌媒体に活性化合物を含めることによって調製される。滅菌注射用溶液を調製するための滅菌粉末の場合、調製方法をいくつか挙げるとすれば、活性成分に任意の所望の追加成分を加えたものが、それを事前に滅菌ろ過した溶液から粉末として得られる真空乾燥及びフリーズドライ（凍結乾燥）である。

**【 0 2 9 5 】**

単一の剤形を得るために担体材料と組み合わせられ得る活性成分の量は、治療される対象及び具体的な投与様式によって異なることになる。単一の剤形を得るために担体材料と組み合わせられ得る活性成分の量は、一般に、その量の組成物によって治療効果が得られる量とされる。一般に、この量は、医薬的に許容可能な担体と組み合わせられる活性成分が100パーセントに占めるパーセントとすると、その範囲は約0.01パーセント～約99パーセント、約0.1パーセント～約70パーセント、または約1パーセント～約30パーセントとなる。

10

**【 0 2 9 6 】**

用量レジメンは、所望の応答（例えば、治療応答）が最適に得られるように調節される。例えば、単一のボーラスが投与され得るか、時間をかけていくつかの分割用量が投与され得るか、または治療状況の緊急性に応じて用量が比例的に増減され得る。投与を容易化し、用量の均一性を得るには、単位剤形において注射投与組成物を製剤化することが特に有利である。本明細書で使用される単位剤形は、治療すべき対象への単位用量として適した物理的に個別の単位を指し、各単位は、必要な医薬担体と結び付いて所望の治療効果が得られるように計算された所定量の活性化合物を含む。本明細書に記載の単位剤形の規格は、(a)活性化合物の特有の特徴及び達成すべき特定の治療効果、ならびに(b)個体の感受性への対応がなされるようにそのような活性化合物を配合する技術分野に固有の制限によって決定されると共に、それらに直接的に依存する。

20

**【 0 2 9 7 】**

抗IL-7R抗体（例えば、本明細書に記載のもの）の投与については、用量範囲は、約0.0001～100mg / 宿主体重kg、より通常は0.01～5または10mg / 宿主体重kgである。例えば、用量は、0.3mg / 体重kg、1mg / 体重kg、3mg / 体重kg、5mg / 体重kg、もしくは10mg / 体重kg、または1～10mg / kgの範囲内であり得る。治療レジメンの一例は、1週間に1回の投与、2週間に1回の投与、3週間に1回の投与、4週間に1回の投与、1ヶ月に1回の投与、3ヶ月に1回の投与、または3～6ヶ月に1回の投与を伴うものである。

30

**【 0 2 9 8 】**

いくつかの実施形態では、抗IL-7R抗体は、一律用量で投与される（一律用量レジメン）。他の実施形態では、抗IL-7R抗体は、別の抗体と共に固定用量で投与される。ある特定の実施形態では、抗IL-7R抗体は、体重に基づく用量で投与される。

**【 0 2 9 9 】**

40

いくつかの方法では、異なる結合特異性を有する2つ以上のモノクローナル抗体が同時に投与され、この場合、各投与抗体の用量は、指定の範囲内に収まるものである。抗体は、通常、複数回投与される。単回用量の間の間隔は、例えば、1週間、1ヶ月、3ヶ月、または1年であり得る。間隔は、患者における標的抗原に対する抗体の血中レベルを測定することによる指標に従う不規則なものもあり得る。いくつかの方法では、用量は、約1～1000μg / mlの血漿中抗体濃度を達成するように調節され、方法によっては、約25～300μg / mlの血漿中抗体濃度を達成するように調節される。

**【 0 3 0 0 】**

抗体は、持続放出製剤として投与することができ、この場合、投与頻度を下げる必要がある。用量及び頻度は、患者における抗体の半減期によって異なる。一般に、半減

50

期はヒト抗体で最も長く、次いでヒト化抗体、キメラ抗体、及び非ヒト抗体の順となる。投与の用量及び頻度は、治療が予防的または治療的であるかどうかによって異なり得る。予防的用途では、比較的低い用量で比較的間隔を空けずに長期にわたって投与が行われる。患者によっては、その生涯にわたって処置が継続される。治療用途では、疾患の進行が低減または停止し、患者において疾患の症状が部分的または完全に軽快するまで、比較的短い間隔で比較的高い用量が必要になることもある。その後、予防的レジメンが患者に施され得る。

#### 【0301】

本明細書に記載の医薬組成物中の活性成分の実際の用量レベルは、特定の患者、組成物、及び投与様式について患者に毒性を与えることなく所望の治療応答を達成する上で有効な量の活性成分が得られるように変更され得る。選択される用量レベルは、さまざまな薬物動態因子に依存することになり、こうした薬物動態因子には、用いられる本明細書に記載の特定の組成物またはそのエステル、塩、もしくはアミドの活性、投与経路、投与時刻、用いられる特定の化合物の排泄速度、治療期間、用いられる特定の組成物と併用される他の薬物、化合物、及び／または材料、治療される患者の年齢、性別、体重、状態、総体的な健康、及び既往歴、ならびに医学分野でよく知られる同様の因子が含まれる。

#### 【0302】

本明細書に記載の組成物は、当該技術分野で知られるさまざまな方法の1つ以上を使用して1つ以上の投与経路を介して投与され得る。当業者なら理解するであろうが、投与の経路及び／または様式は、所望の結果によって異なることになる。本明細書に記載の抗IL-7R抗体の投与経路には、静脈内投与経路、筋肉内投与経路、皮内投与経路、腹腔内投与経路、皮下投与経路、脊髄投与経路、または他の注射投与経路（例えば、注射または注入によるもの）が含まれ得る。本明細書で使用される「注射投与」という語句は、腸内投与及び局所投与以外の投与様式（通常は注射によって行われる）を意味し、こうした注射投与には、限定されないが、静脈内、筋肉内、動脈内、くも膜下腔内、関節包内、眼窩内、心臓内、皮内、腹腔内、経気管、皮下、表皮下、関節内、嚢下、くも膜下、髄腔内、硬膜外、及び胸骨内への注射及び注入が含まれる。

#### 【0303】

あるいは、本明細書に記載の抗体は、非注射投与経路（局所投与経路、表皮投与経路、または粘膜投与経路など）（例えば、鼻腔内へのもの、経口的なもの、腔へのもの、直腸へのもの、舌下へのもの、または局所的なもの）を介して投与される可能性があり得る。

#### 【0304】

活性化合物は、化合物が急速に放出されないように保護する担体と共に調製され得る（制御放出製剤（留置用剤、経皮吸収パッチ、及びマイクロカプセル化送達系を含む）など）。生分解性かつ生体適合性のポリマーを使用することができ、こうしたポリマーは、エチレン酢酸ビニル、ポリ酸無水物、ポリグリコール酸、コラーゲン、ポリオルトエステル、及びポリ乳酸などである。そのような製剤を調製するための方法の多くは、特許化されているか、または当業者に一般に知られるものである。例えば、Sustained and Controlled Release Drug Delivery Systems, J. R. Robinson, ed., Marcel Dekker, Inc., New York, 1978を参照のこと。

#### 【0305】

治療組成物は、当該技術分野で知られる医療機器を用いて投与され得る。例えば、特定の実施形態では、本明細書に記載の治療組成物は、無針皮下注射機器を用いて投与することができ、こうした機器は、米国特許第5,399,163号、同第5,383,851号、同第5,312,335号、同第5,064,413号、同第4,941,880号、同第4,790,824号、または同第4,596,556号に開示の機器などである。本明細書に記載の抗IL-7R抗体と共に使用するための植込み型医療機器及びモジュールで、よく知られるものの例としては、米国特許第4,487,603号（速度を制御して投薬を行うための植込み型マイクロ注入ポンプについて開示されている）、米国特許

10

20

30

40

50

第4,486,194号(皮膚を介して薬剤を投与するための治療用機器について開示されている)、米国特許第4,447,233号(正確な注入速度で薬剤を送達するための薬剤注入ポンプについて開示されている)、米国特許第4,447,224号(薬物を連続的に送達するための植込み型流量可変注入装置について開示されている)、米国特許第4,439,196号(複数チャンバー区画を有する浸透圧性の薬物送達系について開示されている)、及び米国特許第4,475,196号(浸透圧性の薬物送達系について開示されている)が挙げられる。こうした特許は、参照によって本明細書に組み込まれる。そのような植込み型医療機器、送達系、及びモジュールは、他にも多くのものが当業者に知られている。

#### 【0306】

10

#### X I . 使用及び方法

本開示の抗IL-7R抗体ならびにそのような抗体を含む組成物(例えば、医薬組成物、製剤、ポリヌクレオチド、ベクター、及び細胞)は、炎症性疾患の治療(例えば、対象におけるエフェクターT細胞に対する制御性T細胞の比を調節することによるもの)に使用され得る。

#### 【0307】

したがって、一態様では、本開示は、炎症性疾患の治療を必要とする対象において当該治療を行うための方法を提供し、この方法は、治療的に有効な用量の抗IL-7R抗体を対象に投与することを含む。本開示の抗IL-7R抗体を用いて治療され得る炎症性疾患の例としては、限定されないが、炎症性腸疾患(IBD)、クローン病(CD)、潰瘍性大腸炎(UC)、過敏性腸症候群、関節リウマチ(RA)、乾癬、乾癬性関節炎、全身性エリテマトーデス(SLE)、ループス腎炎、I型糖尿病、グレーブス病、多発性硬化症(MS)、自己免疫性心筋炎、川崎病、冠動脈疾患、慢性閉塞性肺疾患、間質性肺疾患、自己免疫性甲状腺炎、強皮症、全身性硬化症、変形性関節症、アトピー性皮膚炎、白斑、移植片対宿主病、シェーグレン症候群、自己免疫性腎炎、グッドパスチャーリー症候群、慢性炎症性脱髓性多発神経炎、アレルギー、喘息、及び急性または慢性の炎症の結果である他の自己免疫疾患が挙げられる。

20

#### 【0308】

いくつかの実施形態では、抗IL-7R抗体は、炎症性腸疾患を有する個体の治療における使用に適する。炎症性腸疾患(IBD)は、口から肛門に至るまでの胃腸管の任意の部分に影響を及ぼすことで多種多様な症状を引き起こし得る疾患である。IBDは、腹痛、下痢(出血を伴い得る)、嘔吐、または体重減少を主に引き起こすものであるが、胃腸管外に合併症(発疹、関節炎、眼の炎症、疲労、及び集中力の欠如など)も引き起こし得る。IBD患者は、2つの主要クラス(潰瘍性大腸炎(UC)を有する患者及びクローン病(CD)を有する患者)に分類され得る。CDは、一般に、回腸及び結腸に影響を及ぼすものであるが、腸の任意の領域にも影響を及ぼし得、非連続的であることが多い(疾患集中領域が腸全体に散らばっている)。UCは常に直腸(結腸)に影響を及ぼし、連続性が高い。CDでは、炎症は貫壁性であり、その結果、膿瘍、瘻孔、及び狭窄が生じる一方で、UCでは、炎症は、典型的には、粘膜に限局される。クローン病に対する医薬的治療または外科的治療の存在は知られていない一方で、UC患者は、患者によっては結腸を外科的に除去することによって治癒し得る。治療選択肢は、症状の制御、寛解の維持、及び再発の予防に限られる。臨床機関での炎症性腸疾患における有効性は、CDについては、クローン病活動指数(CDAI)スコアの減少として測定することができ、CDAIスコアは、臨床検査及び生活の質に関する質問票に基づくスコア付け尺度である。動物モデルでは、有効性は、ほとんどの場合、体重増加によって測定されるが、疾患活動指数(DAI)によっても評価され、DAIは、糞便の硬さ、体重、及び糞便潜血を組み合わせたものである。

30

#### 【0309】

いくつかの実施形態では、本開示の抗IL-7R抗体は、関節リウマチを有する個体の治療における使用に適する。関節リウマチ(RA)は、体のすべてではないにせよ、その

40

50

ほとんどに影響を与える全身性疾患であり、最も一般的な形態の関節炎の1つである。R Aは、関節の炎症によって特徴付けられ、この炎症によって疼痛、こわばり、熱感、赤み、及び腫脹が引き起こされる。この炎症は、炎症性細胞が関節に浸潤した結果であり、こうした炎症性細胞は、骨及び軟骨を消化し得る酵素を放出する。結果として、この炎症によって骨及び軟骨が重度の損傷を受け、数ある生理学的作用の中でも特に、関節の劣化及び激痛が引き起こされ得る。影響を受けた関節では、その形状及びアライメントが失われる結果、疼痛及び関節運動性の減少が生じ得る。当該技術分野では、関節リウマチの動物モデルがいくつか知られている。例えば、コラーゲン誘発関節炎（C I A）モデルでは、ヒト関節リウマチに似た炎症性関節炎をマウスが発症する。C I Aは、R Aと同様の免疫学的特徴及び病理学的特徴を共有するため、このことによってC I Aは、有望なヒト抗炎症化合物のスクリーニングに適したモデルとなっている。このモデルにおける有効性は、関節腫脹の減少によって測定される。臨床機関でのR Aにおける有効性は、患者における症状を低減する能力によって測定され、この能力は、関節腫脹、赤血球沈降速度、C反応性タンパク質のレベル、及び血清中因子（抗シトルリン化ペプチド抗体など）のレベルを組み合わせたものとして測定される。

#### 【0310】

いくつかの実施形態では、本明細書に開示の抗IL-7R抗体は、乾癬を有する個体の治療における使用に適する。乾癬は、相当な不快感を引き起こし得るT細胞介在性の炎症性皮膚障害である。乾癬は、現在のところその治療法が存在しない疾患であり、どの年齢層にも生じる。軽度乾癬を有する個体は、その疾患を局所製剤で制御し得ることが多いが、紫外線治療または全身性の免疫抑制療法を必要とする患者は世界で100万人を超えている。不幸なことに、紫外線照射には不便性及びリスクが存在し、多くの治療には毒性が伴うことから、こうした治療を長期的に行うことは制限される。さらに、患者は、通常、乾癬の再発を経験し、場合によっては、免疫抑制療法を停止するとすぐにリバウンドする。最近開発された乾癬モデルは、CD4<sup>+</sup>T細胞を移植することに基づいており、ヒト乾癬の多くの側面を模倣するものであることから、乾癬の治療における使用に適した化合物の同定に使用できるものである（Davenport et al., Internat. Immunopharmacol. 2: 653-672, 2002）。このモデルにおける有効性は、スコア付けシステムを使用する皮膚病状の減少によって測定される。同様に、患者における有効性は、皮膚病状の減少によって測定される。

#### 【0311】

いくつかの実施形態では、抗IL-7R抗体は、乾癬性関節炎を有する個体の治療における使用に適する。乾癬性関節炎（PA）は、乾癬患者のサブセットに生じる型の炎症性関節炎である。こうした患者では、皮膚病状／症状は、関節リウマチに見られるものと同様の関節腫脹を伴うものである。PAは、鱗屑を伴う皮膚炎症領域が斑状であり、肥厚し、赤みを帯びていることを特徴とする。乾癬は、肘及び膝の先、頭皮、へそ、ならびに生殖器部周辺または肛門周辺に影響を及ぼすことが多い。乾癬患者の約10%は、関節に関連炎症も発症する。

#### 【0312】

本開示に関して、予防的治療、緩和的治療、対症的治療、及び／または根治的治療は、本開示の個別の態様となり得る。本発明の抗体は、注射投与（静脈内投与、筋肉内投与、皮下投与など）によって投与され得る。あるいは、本発明の抗体は、非注射投与経路（経口経路または局所経路など）を介して投与され得る。本発明の抗体は、予防的に投与され得る。本発明の抗体は、（必要に応じて）治療的に投与され得る。

#### 【0313】

上に引用される参考文献ならびに本明細書で引用される参考文献はすべて、それらの全体が参照によって本明細書に組み込まれる。

以下に、出願時の特許請求の範囲の記載を示す。

#### [請求項1]

ヒトIL-7受容体のアルファ鎖に特異的に結合する単離された抗体（「抗IL-7R

10

20

30

40

50

抗体」)またはその抗原結合部分であって、前記抗体が、重鎖 C D R 1、重鎖 C D R 2、及び重鎖 C D R 3と、軽鎖 C D R 1、軽鎖 C D R 2、及び軽鎖 C D R 3と、を含み、前記抗体が、

(a) 約 5 nM 以下(例えば、約 3 nM 未満)の E C 5 0 で全血中の T 細胞(C D 4 + C D 4 5 R A +、C D 4 + C D 4 5 R A -、C D 8 + C D 4 5 R A +、及び/または C D 8 + C D 4 5 R A -)に結合する能力を有するか、

(b) 全血中の非 T 細胞に結合する能力を有さないか、

(c) 胸腺間質性リンパ球新生因子(T S L P)介在性の単球活性化を効果的に遮断する能力を有さないか、

(d) 前記 I L - 7 受容体への結合時に I L - 7 受容体シグナル伝達をアゴナイズしない(例えば、p S T A T 5 活性化が最小限に留まる)か、あるいは

(e) それらが任意に組み合わされたものである、前記抗体またはその抗原結合部分。

[請求項 2]

前記重鎖 C D R 3 が、配列番号 1 5 に示されるアミノ酸配列(D E Y S R G Y Y V L D V)を含む、請求項 1 に記載の抗体。

[請求項 3]

前記抗体が、

(a) ヒト及びカニクイザル I L - 7 受容体(I L - 7 R)のアルファ鎖に選択的に結合する能力を有すること、

(b) 可溶性及び膜結合型の I L - 7 R のアルファ鎖に結合する能力を有すること、

(c) 病原性 T 細胞の増殖及び/または生存の遮断を必要とする対象に投与されると、前記遮断を行う能力を有すること、

(d) 制御性 T 細胞(T r e g)機能の回復及び/または T r e g 生存の促進を必要とする対象に投与されると、前記回復及び/または前記促進を行う能力を有すること、

(e) C T L A 4 - I g(O R E N C I A(登録商標))によるものと比較して薬剤フリー寛解を長く維持する能力を有すること、

(f) 炎症及び粘膜損傷(例えば、病原性 T 細胞によって誘導されるもの)の遮断を必要とする対象の腸組織内で前記遮断を行う能力を有すること、

(g) 腸間膜リンパ節(M L N)及び/または粘膜固有層(L P)におけるエフェクター T 細胞の頻度の低減を必要とする対象において前記低減を行う能力を有すること、

(h) T 細胞(例えば、C D 4 + C D 4 5 R A +)の I L - 7 介在性の p S T A T 活性化を低減または阻害する能力を有すること、

(i) I L - 1 7 及び/または I F N - ガンマを産生する細胞の増殖を遮断する能力を有すること、

(j) 炎症性疾患(例えば、炎症性腸疾患)を有する対象を治療する能力を有すること、ならびに

(k) それらのいずれかの組み合わせ、

からなる群から選択される 1 つ以上の特性を有する、請求項 1 または請求項 2 に記載の抗体。

[請求項 4]

前記重鎖 C D R 1 が、配列番号 1 3 に示されるアミノ酸配列(D H A M H)を含む、請求項 1 ~ 3 のいずれか 1 項に記載の抗体。

[請求項 5]

前記重鎖 C D R 2 が、配列番号 1 4 に示されるアミノ酸配列(G I S W N S R G I G Y A D S V K G)を含む、請求項 1 ~ 4 のいずれか 1 項に記載の抗体。

[請求項 6]

前記軽鎖 C D R 1 が、配列番号 1 6 に示されるアミノ酸配列(R A S Q G I S S A L A)を含む、請求項 1 ~ 5 のいずれか 1 項に記載の抗体。

[請求項 7]

前記軽鎖 C D R 2 が、配列番号 1 7 に示されるアミノ酸配列(D A S S L E S)を含む

10

20

30

40

50

、請求項 1～6 のいずれか 1 項に記載の抗体。

[請求項 8]

前記軽鎖 C D R 3 が、配列番号 18 に示されるアミノ酸配列 (Q Q F N S Y P L W I T ) を含む、請求項 1～7 のいずれか 1 項に記載の抗体。

[請求項 9]

前記抗体が、重鎖可変領域 (V H) 及び軽鎖可変領域 (V L) を含み、前記 V H が、配列番号 19 に示されるアミノ酸配列との同一性が少なくとも約 80%、少なくとも約 85%、少なくとも約 90%、少なくとも約 95%、少なくとも約 96%、少なくとも約 97%、少なくとも約 98%、少なくとも約 99%、または約 100% であるアミノ酸配列を含む、請求項 1～8 のいずれか 1 項に記載の抗体。 10

[請求項 10]

前記 V L が、配列番号 20 に示されるアミノ酸配列との同一性が少なくとも約 80%、少なくとも約 85%、少なくとも約 90%、少なくとも約 95%、少なくとも約 96%、少なくとも約 97%、少なくとも約 98%、少なくとも約 99%、または約 100% であるアミノ酸配列を含む、請求項 1～8 のいずれか 1 項に記載の抗体。

[請求項 11]

24 S Q L E V N G S Q H S L T C A F 39 (配列番号 8)、73 F I E T K K F L L I G K S N I C 88 (配列番号 9)、89 V K V G E K S L T C K K I D L T T 105 (配列番号 10)、136 Q K K Y V K V L M H D V A Y 149 (配列番号 11)、181 Y E I K V R S I P D H Y F K G F 196 (配列番号 12)、及びそれらの組み合わせ、からなる群から選択されるエピトープの位置で前記ヒト I L - 7 受容体の前記アルファ鎖に特異的に結合する、請求項 1～10 のいずれか 1 項に記載の抗体。 20

[請求項 12]

H 33、E 75、F 79、I 82、K 84、M 144、R 186、H 191、Y 192、及びそれらの組み合わせ、からなる群から選択される 1 つ以上のアミノ酸残基を含むエピトープの位置で前記ヒト I L - 7 受容体の前記アルファ鎖に特異的に結合する、請求項 1～11 のいずれか 1 項に記載の抗体。

[請求項 13]

前記抗体が、IgG1、IgG2、IgG3、IgG4、及びそのバリエントからなる群から選択される、請求項 1～12 のいずれか 1 項に記載の抗体。 30

[請求項 14]

前記抗体が、IgG1 抗体である、請求項 13 に記載の抗体。

[請求項 15]

エフェクター機能を有さない IgG1 Fc を含む、請求項 14 に記載の抗体。

[請求項 16]

ヒト I L - 7 受容体のアルファ鎖に特異的に結合する単離された抗体 (「抗 I L - 7 R 抗体」) またはその抗原結合部分であって、前記抗体が、重鎖及び軽鎖を含み、前記重鎖が、配列番号 21 に示されるアミノ酸配列を含み、前記軽鎖が、配列番号 22 に示されるアミノ酸配列を含む、前記抗体またはその抗原結合部分。

[請求項 17]

表面プラズモン共鳴によって測定すると、10 nM 未満、9 nM 未満、8 nM 未満、7 nM 未満、6 nM 未満、5 nM 未満、4 nM 未満、3 nM 未満、2 nM 未満、または 1 nM 未満の K D (例えば、1.3 nM) で前記ヒト I L - 7 受容体の前記アルファ鎖に結合する、請求項 1～16 のいずれか 1 項に記載の抗体。 40

[請求項 18]

表面プラズモン共鳴によって測定すると、10 nM 未満、9 nM 未満、8 nM 未満、7 nM 未満、6 nM 未満、5 nM 未満、4 nM 未満、3 nM 未満、2 nM 未満、または 1 nM 未満の K D (例えば、1.7 nM) で前記カニクイザル I L - 7 受容体の前記アルファ鎖に結合する、請求項 1～17 のいずれか 1 項に記載の抗体。

[請求項 19]

10

20

30

40

50

前記ヒトIL-7受容体の前記アルファ鎖への結合、または前記カニクイザルIL-7受容体の前記アルファ鎖への結合がpH依存性である、請求項17または請求項18に記載の抗体。

[請求項20]

pH7.4では約1.3nMのKD、pH6では約5.3nMのKDで前記ヒトIL-7受容体の前記アルファ鎖に結合する、請求項19に記載の抗体。

[請求項21]

pH7.4では約1.7nMのKD、pH6では約7.0nMのKDで前記カニクイザルIL-7受容体の前記アルファ鎖に結合する、請求項19または請求項20に記載の抗体。

10

[請求項22]

ヒトIL-7受容体のアルファ鎖に特異的に結合する単離された抗体（「抗IL-7R抗体」）またはその抗原結合部分であって、前記抗体が、重鎖（HC）CDR1、HC CDR2、及びHC CDR3と、軽鎖（LC）CDR1、LC CDR2、及びLC CDR3と、を含み、前記HC CDR1が、GX1X2FDDHAX3Hというアミノ酸配列（配列番号260）を含み、配列中、X1が、FまたはYであり、X2が、T、P、A、S、V、L、I、M、H、F、Y、N、D、E、またはQであり、X3が、LまたはMである、前記抗体またはその抗原結合部分。

[請求項23]

X2が、DまたはEである、請求項22に記載の抗体。

20

[請求項24]

前記HC CDR2が、GIX1WX2SRGX3GYX4X5X6X7X8X9というアミノ酸配列（配列番号261）を含み、配列中、X1が、SまたはTであり、X2が、HまたはNであり、X3が、IまたはVであり、X4が、G、A、S、T、V、L、I、R、H、またはNであり、X5が、P、T、N、D、E、Q、S、H、またはYであり、X6が、P、G、A、S、T、V、R、H、F、Y、N、D、またはEであり、X7が、VまたはIであり、X8が、A、S、T、V、L、I、M、K、R、H、F、Y、N、D、E、またはQであり、X9が、G、H、D、またはQである、請求項22または請求項23に記載の抗体。

[請求項25]

X1が、Tである、請求項24に記載の抗体。

30

[請求項26]

前記HC CDR3が、DEYX1X2GYYX3LDX4というアミノ酸配列（配列番号262）を含み、配列中、X1が、S、T、N、D、またはEであり、X2が、L、M、R、またはSであり、X3が、G、A、S、T、V、M、N、E、またはQであり、X4が、A、S、T、V、R、H、Y、W、N、E、Q、またはMである、請求項22～25のいずれか1項に記載の抗体。

[請求項27]

X3が、A、S、またはTである、請求項26に記載の抗体。

[請求項28]

X4が、Eである、請求項26または請求項27に記載の抗体。

40

[請求項29]

前記LC CDR1が、X1X2X3X4X5X6X7SX8X9Aというアミノ酸配列（配列番号263）を含み、配列中、X1が、S、T、V、K、R、H、Y、またはIであり、X2が、A、S、T、またはVであり、X3が、P、G、A、S、T、V、L、I、M、K、R、H、N、E、またはQであり、X4が、P、G、A、S、T、V、L、I、M、H、F、Y、N、D、E、またはQであり、X5が、P、G、A、S、T、H、E、Q、M、N、またはDであり、X6が、P、G、A、S、T、V、L、I、またはNであり、X7が、S、T、V、L、I、M、H、F、Y、N、D、E、またはQであり、X8が、PまたはAであり、X9が、A、L、またはVである、請求項22～28のいず

50

れか 1 項に記載の抗体。

[請求項 3 0]

X 6 が、P である、請求項 2 9 に記載の抗体。

[請求項 3 1]

X 8 が、P である、請求項 2 9 または請求項 3 0 に記載の抗体。

[請求項 3 2]

X 7 が、D または E である、請求項 2 9 ~ 3 1 のいずれか 1 項に記載の抗体。

[請求項 3 3]

前記 L C C D R 2 が、D X 1 X 2 X 3 X 4 X 5 X 6 というアミノ酸配列（配列番号 2 6 4）を含み、配列中、X 1 が、G、A、S、M、H、N、D、E、またはQ であり、X 2 が、G、A、S、T、V、M、H、F、Y、N、D、E、またはQ であり、X 3 が、A、S、F、Y、W、N、D、E、またはL であり、X 4 が、P、S、T、L、K、H、またはN であり、X 5 が、D、E、またはQ であり、X 6 が、G、S、T、N、D、Q、P、またはE である、請求項 2 2 ~ 3 2 のいずれか 1 項に記載の抗体。 10

[請求項 3 4]

前記 L C C D R 3 が、X 1 X 2 F X 3 X 4 Y P L X 5 X 6 X 7 というアミノ酸配列（配列番号 2 6 5）を含み、配列中、X 1 が、M または Q であり、X 2 が、G、A、D、E、または Q であり、X 3 が、N または E であり、X 4 が、P、A、または S であり、X 5 が、T、I、M、K、W、N、E、または Q であり、X 6 が、L または I であり、X 7 が、T、M、K、H、Y、E、または Q である、請求項 2 2 ~ 3 3 のいずれか 1 項に記載の抗体。 20

[請求項 3 5]

X 2 が、A である、請求項 3 4 に記載の抗体。

[請求項 3 6]

X 4 が、P または A である、請求項 3 4 または請求項 3 5 に記載の抗体。

[請求項 3 7]

前記重鎖 C D R 1 が、配列番号 3 1 ~ 4 6 に示されるアミノ酸配列のうちの 1 つを含む、請求項 2 2 ~ 3 6 のいずれか 1 項に記載の抗体。

[請求項 3 8]

前記重鎖 C D R 1 が、配列番号 4 3 または配列番号 4 4 に示されるアミノ酸配列を含む、請求項 3 7 に記載の抗体。 30

[請求項 3 9]

前記重鎖 C D R 2 が、配列番号 4 7 ~ 9 6 に示されるアミノ酸配列のうちの 1 つを含む、請求項 2 2 ~ 3 8 のいずれか 1 項に記載の抗体。

[請求項 4 0]

前記重鎖 C D R 2 が、配列番号 4 7 に示されるアミノ酸配列を含む、請求項 3 9 に記載の抗体。

[請求項 4 1]

前記重鎖 C D R 3 が、配列番号 9 7 ~ 1 2 2 に示されるアミノ酸配列のうちの 1 つを含む、請求項 2 2 ~ 4 0 のいずれか 1 項に記載の抗体。 40

[請求項 4 2]

前記重鎖 C D R 3 が、配列番号 1 0 5、配列番号 1 0 6、配列番号 1 0 7、または配列番号 1 2 0 に示されるアミノ酸配列を含む、請求項 4 1 に記載の抗体。

[請求項 4 3]

前記軽鎖 C D R 1 が、配列番号 1 2 3 ~ 1 9 4 に示されるアミノ酸配列のうちの 1 つを含む、請求項 2 2 ~ 4 2 のいずれか 1 項に記載の抗体。

[請求項 4 4]

前記軽鎖 C D R 1 が、配列番号 1 7 2、配列番号 1 8 9、配列番号 1 9 0、または配列番号 1 9 2 に示されるアミノ酸配列を含む、請求項 4 3 に記載の抗体。

[請求項 4 5]

10

20

30

40

50

前記軽鎖 C D R 2 が、配列番号 1 9 5 ~ 2 3 7 に示されるアミノ酸配列のうちの 1 つを含む、請求項 2 2 ~ 4 4 のいずれか 1 項に記載の抗体。

[ 請求項 4 6 ]

前記軽鎖 C D R 3 が、配列番号 2 3 8 ~ 2 5 9 に示されるアミノ酸配列のうちの 1 つを含む、請求項 2 2 ~ 4 5 のいずれか 1 項に記載の抗体。

[ 請求項 4 7 ]

前記軽鎖 C D R 3 が、配列番号 2 4 0 、配列番号 2 4 4 、または配列番号 2 4 5 に示されるアミノ酸配列を含む、請求項 4 6 に記載の抗体。

[ 請求項 4 8 ]

ヒト I L - 7 受容体のアルファ鎖に特異的に結合する単離された抗体（「抗 I L - 7 R 抗体」）またはその抗原結合部分であって、前記抗体が、重鎖（H C ）C D R 1 、H C C D R 2 、及び H C C D R 3 と、軽鎖（L C ）C D R 1 、L C C D R 2 、及び L C C D R 3 と、を含み、

( i ) 前記重鎖 C D R 1 が、配列番号 3 1 ~ 4 6 に示されるアミノ酸配列のうちの 1 つを含み、

( i i ) 前記重鎖 C D R 2 が、配列番号 1 4 に示されるアミノ酸配列を含み、

( i i i ) 前記重鎖 C D R 3 が、配列番号 1 5 に示されるアミノ酸配列を含み、

( i v ) 前記軽鎖 C D R 1 が、配列番号 1 6 に示されるアミノ酸配列を含み、

( v ) 前記軽鎖 C D R 2 が、配列番号 1 7 に示されるアミノ酸配列を含み、

( v i ) 前記軽鎖 C D R 3 が、配列番号 1 8 に示されるアミノ酸配列を含む、  
前記抗体またはその抗原結合部分。

[ 請求項 4 9 ]

前記重鎖 C D R 1 が、配列番号 4 3 または配列番号 4 4 に示されるアミノ酸配列を含む、請求項 4 8 に記載の抗体。

[ 請求項 5 0 ]

ヒト I L - 7 受容体のアルファ鎖に特異的に結合する単離された抗体（「抗 I L - 7 R 抗体」）またはその抗原結合部分であって、前記抗体が、重鎖（H C ）C D R 1 、H C C D R 2 、及び H C C D R 3 と、軽鎖（L C ）C D R 1 、L C C D R 2 、及び L C C D R 3 と、を含み、

( i ) 前記重鎖 C D R 1 が、配列番号 1 3 に示されるアミノ酸配列を含み、

( i i ) 前記重鎖 C D R 2 が、配列番号 4 7 ~ 9 6 に示されるアミノ酸配列のうちの 1 つを含み、

( i i i ) 前記重鎖 C D R 3 が、配列番号 1 5 に示されるアミノ酸配列を含み、

( i v ) 前記軽鎖 C D R 1 が、配列番号 1 6 に示されるアミノ酸配列を含み、

( v ) 前記軽鎖 C D R 2 が、配列番号 1 7 に示されるアミノ酸配列を含み、

( v i ) 前記軽鎖 C D R 3 が、配列番号 1 8 に示されるアミノ酸配列を含む、  
前記抗体またはその抗原結合部分。

[ 請求項 5 1 ]

前記重鎖 C D R 2 が、配列番号 4 7 に示されるアミノ酸配列を含む、請求項 5 0 に記載の抗体。

[ 請求項 5 2 ]

ヒト I L - 7 受容体のアルファ鎖に特異的に結合する単離された抗体（「抗 I L - 7 R 抗体」）またはその抗原結合部分であって、前記抗体が、重鎖（H C ）C D R 1 、H C C D R 2 、及び H C C D R 3 と、軽鎖（L C ）C D R 1 、L C C D R 2 、及び L C C D R 3 と、を含み、

( i ) 前記重鎖 C D R 1 が、配列番号 1 3 に示されるアミノ酸配列を含み、

( i i ) 前記重鎖 C D R 2 が、配列番号 1 4 に示されるアミノ酸配列を含み、

( i i i ) 前記重鎖 C D R 3 が、配列番号 9 7 ~ 1 2 2 に示されるアミノ酸配列のうちの 1 つを含み、

( i v ) 前記軽鎖 C D R 1 が、配列番号 1 6 に示されるアミノ酸配列を含み、

10

20

30

40

40

50

(v) 前記軽鎖 CDR 2 が、配列番号 17 に示されるアミノ酸配列を含み、  
 (vi) 前記軽鎖 CDR 3 が、配列番号 18 に示されるアミノ酸配列を含む、  
 前記抗体またはその抗原結合部分。

## [請求項 5 3]

前記重鎖 CDR 3 が、配列番号 105、配列番号 106、配列番号 107、または配列番号 120 に示されるアミノ酸配列を含む、請求項 5 2 に記載の抗体。

## [請求項 5 4]

ヒト IL-7 受容体のアルファ鎖に特異的に結合する単離された抗体（「抗 IL-7R 抗体」）またはその抗原結合部分であって、前記抗体が、重鎖（HC）CDR1、HC CDR2、及び HC CDR3 と、軽鎖（LC）CDR1、LC CDR2、及び LC C D R 3 と、を含み、10

(i) 前記重鎖 CDR 1 が、配列番号 13 に示されるアミノ酸配列を含み、  
 (ii) 前記重鎖 CDR 2 が、配列番号 14 に示されるアミノ酸配列を含み、  
 (iii) 前記重鎖 CDR 3 が、配列番号 15 に示されるアミノ酸配列を含み、  
 (iv) 前記軽鎖 CDR 1 が、配列番号 123 ~ 194 に示されるアミノ酸配列のうちの 1 つを含み、  
 (v) 前記軽鎖 CDR 2 が、配列番号 17 に示されるアミノ酸配列を含み、  
 (vi) 前記軽鎖 CDR 3 が、配列番号 18 に示されるアミノ酸配列を含む、  
 前記抗体またはその抗原結合部分。

## [請求項 5 5]

前記軽鎖 CDR 1 が、配列番号 172、配列番号 189、配列番号 190、または配列番号 192 に示されるアミノ酸配列を含む、請求項 5 4 に記載の抗体。20

## [請求項 5 6]

ヒト IL-7 受容体のアルファ鎖に特異的に結合する単離された抗体（「抗 IL-7R 抗体」）またはその抗原結合部分であって、前記抗体が、重鎖（HC）CDR1、HC CDR2、及び HC CDR3 と、軽鎖（LC）CDR1、LC CDR2、及び LC C D R 3 と、を含み、30

(i) 前記重鎖 CDR 1 が、配列番号 13 に示されるアミノ酸配列を含み、  
 (ii) 前記重鎖 CDR 2 が、配列番号 14 に示されるアミノ酸配列を含み、  
 (iii) 前記重鎖 CDR 3 が、配列番号 15 に示されるアミノ酸配列を含み、  
 (iv) 前記軽鎖 CDR 1 が、配列番号 16 に示されるアミノ酸配列を含み、  
 (v) 前記軽鎖 CDR 2 が、配列番号 195 ~ 237 に示されるアミノ酸配列のうちの 1 つを含み、  
 (vi) 前記軽鎖 CDR 3 が、配列番号 18 に示されるアミノ酸配列を含む、  
 前記抗体またはその抗原結合部分。

## [請求項 5 7]

ヒト IL-7 受容体のアルファ鎖に特異的に結合する単離された抗体（「抗 IL-7R 抗体」）またはその抗原結合部分であって、前記抗体が、重鎖（HC）CDR1、HC CDR2、及び HC CDR3 と、軽鎖（LC）CDR1、LC CDR2、及び LC C D R 3 と、を含み、40

(i) 前記重鎖 CDR 1 が、配列番号 13 に示されるアミノ酸配列を含み、  
 (ii) 前記重鎖 CDR 2 が、配列番号 14 に示されるアミノ酸配列を含み、  
 (iii) 前記重鎖 CDR 3 が、配列番号 15 に示されるアミノ酸配列を含み、  
 (iv) 前記軽鎖 CDR 1 が、配列番号 16 に示されるアミノ酸配列を含み、  
 (v) 前記軽鎖 CDR 2 が、配列番号 17 に示されるアミノ酸配列を含み、  
 (vi) 前記軽鎖 CDR 3 が、配列番号 238 ~ 259 に示されるアミノ酸配列のうちの 1 つを含む、  
 前記抗体またはその抗原結合部分。

## [請求項 5 8]

前記軽鎖 CDR 3 が、配列番号 240、配列番号 244、または配列番号 245 に示さ50

れるアミノ酸配列を含む、請求項 5 7 に記載の抗体。

[ 請求項 5 9 ]

請求項 1 ~ 5 8 のいずれか 1 項に記載の抗体をコードする核酸。

[ 請求項 6 0 ]

請求項 5 9 に記載の核酸を含むベクター。

[ 請求項 6 1 ]

請求項 6 0 に記載のベクターを含む細胞。

[ 請求項 6 2 ]

前記細胞が、 C H O 細胞、 H E K 2 9 3 細胞、 H B K 細胞、 C O S 細胞、 N S O 細胞、  
または H T 1 0 8 0 細胞である、請求項 6 1 に記載の細胞。

10

[ 請求項 6 3 ]

請求項 1 ~ 5 8 のいずれか 1 項に記載の抗体が薬剤に連結されたものを含む免疫複合体。

[ 請求項 6 4 ]

請求項 1 ~ 5 8 のいずれか 1 項に記載の抗体、請求項 5 9 に記載の核酸、請求項 6 0 に  
記載のベクター、請求項 6 1 もしくは請求項 6 2 に記載の細胞、または請求項 6 3 に記載  
の免疫複合体と、担体と、を含む組成物。

10

[ 請求項 6 5 ]

請求項 1 ~ 5 8 のいずれか 1 項に記載の抗体、請求項 5 9 に記載の核酸、請求項 6 0 に  
記載のベクター、請求項 6 1 もしくは請求項 6 2 に記載の細胞、または請求項 6 3 に記載  
の免疫複合体と、使用のための説明と、を含むキット。

20

[ 請求項 6 6 ]

I L - 7 活性の阻害を必要とする対象において前記阻害を行う方法であって、前記方法  
が、請求項 1 ~ 5 8 のいずれか 1 項に記載の抗体、請求項 5 9 に記載の核酸、請求項 6 0  
に記載のベクター、請求項 6 1 もしくは請求項 6 2 に記載の細胞、または請求項 6 3 に記載  
の免疫複合体を前記対象に投与することを含む、前記方法。

20

[ 請求項 6 7 ]

エフェクター T 細胞の増殖の抑制、ならびに / または制御性 T 細胞の発生及び / もしく  
は生存の誘導を必要とする対象において前記抑制及び / または前記誘導を行う方法であっ  
て、前記方法が、請求項 1 ~ 5 8 のいずれか 1 項に記載の抗体、請求項 5 9 に記載の核酸  
、請求項 6 0 に記載のベクター、請求項 6 1 もしくは請求項 6 2 に記載の細胞、または請  
求項 6 3 に記載の免疫複合体を前記対象に投与することを含む、前記方法。

30

[ 請求項 6 8 ]

炎症性疾患または自己免疫疾患の治療を必要とする対象において前記治療を行う方法  
であって、前記方法が、請求項 1 ~ 5 8 のいずれか 1 項に記載の抗体、請求項 5 9 に記載  
の核酸、請求項 6 0 に記載のベクター、請求項 6 1 もしくは請求項 6 2 に記載の細胞、または請  
求項 6 3 に記載の免疫複合体を前記対象に投与することを含む、前記方法。

[ 請求項 6 9 ]

前記炎症性疾患または前記自己免疫疾患が、炎症性腸疾患 ( I B D ) 、過敏性腸症候群  
、関節リウマチ ( R A ) 、乾癬、乾癬性関節炎、全身性エリテマトーデス ( S L E ) 、ル  
ープス腎炎、血管炎、敗血症、全身性炎症反応症候群 ( S I R S ) 、 I 型糖尿病、グレー  
ープス病、多発性硬化症 ( M S ) 、自己免疫性心筋炎、川崎病、冠動脈疾患、慢性閉塞性肺  
疾患、間質性肺疾患、自己免疫性甲状腺炎、強皮症、全身性硬化症、変形性関節症、アト  
ピー性皮膚炎、白斑、移植片対宿主病、シェーグレン症候群、自己免疫性腎炎、グッドパ  
スチャーラー症候群、慢性炎症性脱髓性多発神経炎、アレルギー、喘息、急性または慢性の炎  
症の結果である他の自己免疫疾患、及びそれらの任意の組み合わせ、からなる群から選択  
される、請求項 6 8 に記載の方法。

40

[ 請求項 7 0 ]

前記炎症性疾患または前記自己免疫疾患が、炎症性腸疾患である、請求項 6 9 に記載  
の方法。

[ 請求項 7 1 ]

50

前記炎症性腸疾患が、潰瘍性大腸炎またはクローン病である、請求項 6 9 または請求項 7 0 に記載の方法。

[ 請求項 7 2 ]

前記対象が、これまでの TNF - 阻害剤治療が十分に奏功しなかった対象（抗 TNF - の効果が不十分なレスポンダー）である、請求項 6 6 ~ 7 1 のいずれか 1 項に記載の方法。

[ 請求項 7 3 ]

1 つ以上の追加の治療を施すことをさらに含む、請求項 6 6 ~ 7 2 のいずれか 1 項に記載の方法。

[ 請求項 7 4 ]

前記追加の治療が、抗 TNF - 抗体を含む、請求項 7 3 に記載の方法。

10

[ 請求項 7 5 ]

前記抗体が、一律用量または体重ベースの用量で前記対象に投与される、請求項 6 6 ~ 7 4 のいずれか 1 項に記載の方法。

[ 請求項 7 6 ]

前記抗体が、静脈内、皮下、筋肉内、皮内、または腹腔内に投与される、請求項 6 6 ~ 7 5 のいずれか 1 項に記載の方法。

[ 請求項 7 7 ]

前記抗体が、静脈内または皮下に投与される、請求項 7 6 に記載の方法。

[ 請求項 7 8 ]

ヒト IL - 7 受容体のアルファ鎖に特異的に結合する抗体（「抗 IL - 7 R 抗体」）の生成方法であって、前記方法が、請求項 6 1 または請求項 6 2 に記載の細胞を適切な条件の下で培養すること、及び前記抗体を単離すること、を含む、前記方法。

20

【 0 3 1 4 】

下記の実施例は、例示を目的として提供されるものであり、限定を目的として提供されるものではない。

【 実施例 】

【 0 3 1 5 】

実施例 1 : ヒト抗 IL - 7 R 抗体の特徴付け

本明細書に開示の抗 IL - 7 R 抗体（配列番号 1 9 に示される VH 及び配列番号 2 0 に示される VL（表 1 2 を参照のこと）を含む）（「抗体 A」）を、 IL - 7 R 発現細胞への結合についてアッセイした。 IL - 7 R は、主にヒト T 細胞上に発現すると共に、程度は低くなるが、単球上にも発現する。

30

【 0 3 1 6 】

表 1 ( 以下のもの ) に示されるように、抗体 A は、全血由来のさまざまな T 細胞サブセット ( CD 4 + CD 45 RA + 、 CD 4 + CD 45 RA - 、 CD 8 + CD 45 RA + 及び CD 8 + CD 45 RA - ) 上に発現する IL - 7 R に結合することが可能であった ( EC<sub>50</sub> 値の範囲は約 1 . 4 ~ 3 . 3 nM であった ) 。さらに、抗体 A は、 IL - 7 R シグナル伝達をアゴナイズせず ( 表 2 を参照のこと ) 、 CD 4 + CD 45 RA + T 細胞上に発現する IL - 7 R への IL - 7 の結合を効率的に遮断することが可能であった ( pS T AT 5 活性化によって測定した ) 。参考抗 IL - 7 R 抗体 ( 「 P F E A 3 3 1 2 F 」 ) と比較して、抗体 A は、 IL - 7 R への IL - 7 の結合をはるかに強力に遮断した。全血由来の CD 4 + CD 45 RA + T 細胞を、抗体 A の存在下で IL - 7 ( 例えば、 2 . 0 n g / mL ) を用いて刺激した場合、 pS T AT 5 活性化は最小限のものであった ( IC<sub>50</sub> = 2 . 1 ± 1 . 4 nM ) 。対照的に、 P F E A 3 3 1 2 F では、 pS T AT 5 活性化は有意に大きなものであった ( IC<sub>50</sub> = 1 5 . 8 ± 4 . 0 ) 。

40

50

## 【表1】

表1. 参照抗IL-7Rモノクローナル抗体(PFE A3312F)と比較したインビトロでの抗体Aの特性

細胞型	サブセット	アッセイ	刺激	抗IL-7R抗体	PFE A3312F
T細胞 (全血)	CD4 <sup>+</sup> CD45RA <sup>+</sup>	結合 EC50 nM	--	1.4 ± 0.7	1.5 ± 0.5
	CD4 <sup>+</sup> CD45RA <sup>-</sup>			3.3 ± 1.6	3.1 ± 0.9
	CD8 <sup>+</sup> CD45RA <sup>+</sup>			2.0 ± 0.9	1.7 ± 0.4
	CD8 <sup>+</sup> CD45RA <sup>-</sup>			1.9 ± 1.4	2.7 ± 0.8
T細胞 (全血)	CD4 <sup>+</sup> CD45RA <sup>+</sup>	pSTAT5 IC50 (nM)	IL-7 (0.25 ng/mL)	0.6 ± 0.7	1.0 ± 0.9
	CD4 <sup>+</sup> CD45RA <sup>+</sup>		IL-7 (2.0 ng/mL)	2.1 ± 1.4	15.8 ± 4.0
単球	精製	MCP1 産生 IC50 (nM)	TSLP	24 ± 4.5	0.08 ± 0.3

## 【0317】

抗体Aは、TSLP介在性の単球活性化を遮断する能力においても参照抗体と異なるものであった。表1(最後の横列)に示されるように、PFE A3312Fの存在下でTSLPを用いて刺激した単球は、単球走化性タンパク質1(MCP-1)を産生することができず( $IC50 = 0.08 \pm 0.3 \text{ nM}$ )、このことは、単球上に発現するIL-7RにPFE A3312Fが結合し、IL-7RへのTSLPの結合を効率的に遮断可能であったことを示唆している。対照的に、抗体Aを用いても、TSLPによって刺激された単球は有意に多い量のMCP1を産生した( $IC50 = 24 \pm 4.5$ )。

## 【0318】

次に、TSLPによって刺激される単球活性化の遮断能力を有さないことが、結合の問題に起因するものであったかどうかを評価するために、ヒトドナー由来の全血を、異なる濃度の抗体Aと共にインキュベートした。その後、非T細胞(CD3<sup>-</sup>)上に発現するIL-7Rへの抗体Aの結合の平均蛍光強度(MFI)を、フローサイトメトリーを使用して測定した。図1に示されるように、70 nMという濃度に達してもなお、非T細胞への抗体Aの結合は最小限のものであった。

## 【0319】

まとめると、上記のデータは、他の既知の抗体(PFE A3312F)と比較して、本明細書に開示の抗IL-7R抗体(抗体A)が、IF-7結合を強力に遮断するものであり、T細胞上に発現するIL-7Rには選択的であるが、非T細胞(例えば、単球及び全血中の他のCD3<sup>-</sup>細胞)上に発現するIL-7Rには選択的でないことを示している。

## 【0320】

## 実施例2：抗IL-7R抗体のアゴニスト活性の分析

次に、抗IL-7R抗体の結合がIL-7Rシグナル伝達を誘導し得るかどうかを評価するために、末梢血单核球(PBMC)及び全血を、異なる濃度の抗体A(100 nM、50 nM、25 nM、13 nM、6 nM、3 nM、2 nM、1 nM、及び0 nM)と共にインキュベートした。アイソタイプ対照抗体及びIL-7(2 nM)を、それぞれ陰性対照及び陽性対照として使用した。

## 【0321】

表2に示されるように、陰性対照と比較して、抗体Aは、すべての試験濃度においてpSTAT5活性化を誘導しなかった。この結果は、抗体AがIL-7Rに結合してもシグナル伝達をアゴナイズしないことを実証するものである。

【表 2】

表 2. p S T A T 5 活性化を使用して評価したヒト P B M C 及びヒト全血に対するインビトロでのアゴニスト活性

抗 IL-7R 抗体 (抗体 A) (nM)	P B M C					
	d355 + BMS DR 単独		d173 + BMS DR 単独		d341 + BMS DR 単独	
抗 IL-7R 抗体単独 (pSTAT5 活性化)	対照に対する %	抗 IL-7R 抗体単独 (pSTAT5 活性化)	対照に対する %	抗 IL-7R 抗体単独 (pSTAT5 活性化)	対照に対する %	
100	786	2	1836	6	1083	2
50	868	2	915	0	1386	3
25	894	3	1072	1	1333	3
13	1038	4	1060	1	1373	3
6	941	3	1031	1	1476	4
3	938	3	1467	4	1711	5
2	896	3	1075	1	1582	4
1	1174	5	1467	4	1787	5
0	597	0	841	0	797	0
アイソタイプ対照	934	3	1174	2	1325	3
2 nM の IL-7 による刺激	11520	100	16575	100	19406	100
抗 IL-7R 抗体 (抗体 A) (nM)	全血					
	d232 + BMS DR 単独		d331 + BMS DR 単独		d344 + BMS DR 単独	
抗 IL-7R 抗体単独 (pSTAT5 活性化)	対照に対する %	抗 IL-7R 抗体単独 (pSTAT5 活性化)	対照に対する %	抗 IL-7R 抗体単独 (pSTAT5 活性化)	対照に対する %	
100	14704	-4	1055	-10	8328	-20
50	17982	0	1001	-15	9524	-9
25	16463	-2	1140	-3	11526	10
13	15041	-4	1031	-12	11212	7
6	19004	1	976	-17	10891	4
3	15281	-4	958	-19	9132	-13
2	21046	3	1016	-14	14779	41
1	17489	-1	1045	-11	10224	-2
0	18350	0	1178	0	10459	0
アイソタイプ対照	18648	0	952	-19	14024	34
2 nM の IL-7 による刺激	85984	100	7371	526	33102	216

10

20

30

40

## 【0322】

実施例 3 : カニクイザルにおける抗 I L - 7 R 抗体の交差反応性

抗体 A の交差反応性を評価するために、ヒト I L - 7 R 及びカニクイザル I L - 7 R に対する結合親和性を、表面プラズモン共鳴 ( S P R ) を使用して評価した。簡潔に記載すると、1 0 m M の N a P O 4 、1 3 0 m M の N a C l 、0 . 0 5 % の p 2 0 ( P B S - T ) ( p H 7 . 4 または p H 6 . 0 ) からなるランニング緩衝液において B I A C O R E ( 商標 ) T 2 0 0 機器 ( G E H e a l t h c a r e , C h i c a g o , I L , U S A ) で実験を実施した。エチル (ジメチルアミノプロピル) カルボジイミド / N H S を使用してフローセル 1 、フローセル 2 、フローセル 3 、及びフローセル 4 の C M 5 センサーチ

50

ツップに対して4000RUの密度になるようにプロテインAを固定化することによってチップ表面を調製した。10μl/分で接触時間を30秒として抗体Aを捕捉させた。hisタグを有するヒトIL-7RまたはカニクイザルIL-7Rの精製細胞外ドメインコンストラクト（社内調製物）を500nM～7.8nMの2倍段階希釈液として結合試験に使用し、その際、30μl/分で、結合時間を180秒、解離時間を360秒とした。サイクル間の再生は、10mMのグリシン-HCl（pH1.5）を注入（30秒間を2回）して行った。データは、Biacore T200 Evaluationソフトウェア（GE Healthcare）を使用して解析し、1:1のラングミュアモデルにフィッティングさせた。

## 【0323】

表3に示されるように、抗体Aは、ヒトIL-7R及びカニクイザルIL-7Rの両方に対して同様の親和性で結合可能であった。例えば、pH7.4では、抗体Aは、ヒトIL-7R及びカニクイザルIL-7Rに対して、それぞれ1.3nM及び1.7nMのKD値で結合した。pH6.0では、結合は約4倍弱くなり、このことは、ヒトIL-7R及びカニクイザルIL-7Rの両方への抗IL-7Rの結合がpH依存性であることを示唆している。対照的に、PFE A3312Fの結合は、KD値がpH7.4では4.4nM、pH6.0では3.9nMとなり、pH依存性を示さなかった。SPR分析からは、すべてのヒトFc-R及びカニクイザルFc-Rへの結合が中性pHでは非常に弱く、pH6.0ではこの結合が強くなることも実証され、このことは、hIgG1.3fアイソタイプについて予想された通りであった。

## 【表3】

表3. ヒトIL-7R $\alpha$ 及びカニクイザルIL-7R $\alpha$ に対する抗IL-7R抗体（抗体A）の結合親和性

標的	温度	pH	ka (1/M 秒)	kd (1/秒)	KD (nM)
ヒトIL-7R $\alpha$	37°C	7.4	3.1E+05	4.0E-04	1.3
		6.0	2.4E+05	1.3E-03	5.3
カニクイザルIL-7R $\alpha$	37°C	7.4	2.9E+05	5.0E-04	1.7
		6.0	2.3E+05	1.6E-03	7.0

## 【0324】

上記の交差反応性データを確認するために、細胞結合及び機能遮断についても評価した。簡潔に記載すると、抗体Aを単回用量（0.1mg/kg、0.5mg/kg、または3.0mg/kg）でカニクイザルに投与した。その後、投与から8日目の時点で動物からPBM Cを単離した。カニクイザルIL-7RへのIL-7の結合を遮断する能力を測定するために、組換えカニクイザルIL-7（5pM）でPBM Cを15分間刺激し、CD4<sup>+</sup>T細胞でのpSTAT5活性及び受容体占有率を、フローサイトメトリーを使用して評価した。

## 【0325】

図2Aに示されるように、約310～350ng/mL（約2.1～2.3nM）の血清中抗IL-7R抗体濃度では、カニクイザルCD4<sup>+</sup>T細胞上に発現するIL-7Rの95%超が占有されていた。同様に、図2Bに示されるように、血清中抗IL-7R抗体濃度とpSTAT5活性との間には直接的な逆相関が存在した。670～2200ng/mL（4.5～15nM）の血清中濃度では、STAT5の阻害率は90%を超えた。こうした結果に基づくと、インビボでIL-7Rを完全に遮断するには、約2～15nMのトラフ濃度が必要になると想定される。

## 【0326】

まとめると、上記のデータは、本明細書に開示の抗IL-7R抗体（抗体A）がカニクイザルにおいて完全に交差反応性であると共に、カニクイザルIL-7Rに効率的に結合し、カニクイザルIL-7RのIL-7介在性シグナル伝達を遮断し得ることを実証

10

20

30

40

50

するものである。

【0327】

実施例4：抗IL-7R抗体の追加の特徴

表4には、抗体Aの分析特徴及び生物物理学的特徴が示される。

【0328】

抗体Aの分析特性及び生物物理学的特性は、開発を継続する上で有利なものであった。抗体の独自性は、質量分析（インタクトな質量分析及びペプチドマッピング）によって確認した。分析サイズ排除クロマトグラフィーによって試験したところ、抗体の99%超が単量体であった。重鎖上のN297にNグリコシル化部位が1つ確認され、グリカンプロファイルは、CHOで発現するモノクローナル抗体のグリカンプロファイル（G0F、G1F、及びG2F）と合致した。画像化キャビラリー等電点電気泳動によって決定した電荷バリエントプロファイルから、pI 8.5に主要ピーク（60%）が存在し、酸性バリエントを34%、塩基性バリエントを6%伴うことが明らかとなった。熱安定性（Tm1 = 70.0°C、Tm2 = 75.4°C、Tm3 = 84.2°C）は、典型的なヒトIgG1.3fモノクローナル抗体の範囲内のものであった。

【表4】

表4. 抗IL-7R抗体の分析特徴及び生物物理学的特徴

特性	方法	結果
独自性	LC-MS	インタクトな質量が確認された
	LC-MS/MSペプチドマップ	トリプシン消化ペプチドマップによって配列が確認され、重鎖及び軽鎖のカバー率は100%であった。グリコシル化占有率は99.8%であった
純度/均一性	SEC	単量体99.6%、HMW 0.4%
	SEC-MALS	予測された単量体質量が観測された
	LC-MS	重鎖上にG0Fが56%、G1Fが40%、G2Fが4%観測された
	cIEF	主要ピーク pI = 8.53 (59.8%)；酸性バリエント = 34.4%；塩基性バリエント = 5.8%
	SDS-PAGE	還元条件：約50kDa及び約25kDaに2つの主要バンド 非還元条件：約150kDaに主要バンド、約100kDa及び約25kDaに微量の断片( SDS分析実施条件のアーティファクト )
熱安定性	DSC	Tm1 = 70.0°C、Tm2 = 75.4°C、Tm3 = 84.2°C

10

20

30

40

【0329】

表5には、抗体Aの安定性特徴が示される。

50

## 【表 5】

表 5. 抗 IL-7R 抗体（抗体 A）の安定性

特性	方法(複数可)	結果
凍結/解凍 (-80°Cで 2 時間、室温で 4 時間を 3 回)	UV、SEC、DLS、iCIEF	凍結/解凍に伴う安定性リスクは存在しないことが明らかとなった
溶解性/濃度プロファイル	UV、SEC	プラットホーム製剤緩衝液(20mM のヒスチジン、260mM のスクロース、0.05mM の DTPA、0.05% の Tween-80、pH 6.0)では少なくとも 150mg/mL
立体安定性及びコロイド安定性についての pH スクリーニング	Optim2 (Tm 及び凝集発生 Tagg)	最適立体安定性 = pH 6~8 最適コロイド安定性 = pH 5~6
緩衝剤及び医薬品添加物のスクリーニング	Optim2 (Tm 及び凝集発生 Tagg)	安定化剤：スクロース、ソルビトール、グリセロール
安定性の促進 簡潔プラットホーム製剤 (20mM のヒスチジン、260mM のスクロース、0.05mM の DTPA、0.05% の Tween-80、pH 6.0) 中、150mg/mL、4°C、25°C、及び 40°C で 12 週間	SEC、cIEF、HIC、LC-MS/MS (ペプチドマッピング及びインタクトな質量)、Biacore、バイオアッセイ、UV-Vis、DLS	40°C で 12 週間 = HMW または LMW に変化は観測されなかった 25°C で 12 週間 = HMW が <0.1%/月 で増加し、LMW が 0.3%/月 で増加した 40°C で 12 週間 = HMW が約 1%/月 で増加し、LMW が約 1.3%/月 で増加した Rh または Pd に増加は認められなかった 40°C で 12 週間 = HC CDR2 において N54 の脱アミド化が 5.5%/月 で生じ、HC CDR1 において D30/31 の脱アミド化が 3.4%/月 で生じ、VSNK での脱アミド化が 10%/月 で生じた
搅拌安定性試験 (150mg/mL で実施した)	製剤緩衝液±0.05% の PS80 中、室温、350rpm で 7 日間	搅拌誘導性の HMW 形成は観測されなかった
粘度評価	濃度-粘度プロファイルの決定	溶液は、100mg/mL では 8cP に達し、140mg/mL では 18.8cP に達した。シリジ操作が可能な製剤濃度は約 125mg/mL までに制限されることが、粘度から予想された

## 【0330】

本明細書に開示の抗 IL-7R 抗体について、予備的な製剤評価（最適な pH、緩衝液組成、及び医薬品添加物の探索、ならびに安定性促進試験を含む）を、HEK 由来の物質を使用して実施した。150mg/mL において、界面活性剤の存在の有無にかかわらず、簡潔プラットホーム製剤 (20mM のヒスチジン、260mM のスクロース、0.05mM の DTPA、pH 6.0) における凍結解凍ストレス (5 サイクル) の間の物理的な安定性の問題、または搅拌ストレスに起因する物理的な安定性の問題が観測されることはなかった。こうした調査の間に界面活性剤の追加についての評価は行わなかった。150mg/mL において 4°C、25°C、及び 40°C での強制分解試験を行った。ストレスが最

10

20

30

40

50

も強い条件（40で3ヶ月）の下ではCDR領域での化学変化が観測され、この変化は、SPR活性アッセイにおけるKD及びRmaxの両方の変化と相關した。25での保管条件の下では同じCDR部位で軽度の化学変化が観測された。4または25で保管した試料では、その活性の変化は観測されなかった。予想されたVSNKでの脱アミド化変化も観測された。

#### 【0331】

HEK由来の物質を使用して実施した実現可能性評価からも、HMWバリアント及びLMWバリアントの両方の変化が時間及び温度に依存するものであること（40では、それぞれ約1%/月及び約1.3%/月の増加）が実証された。4での保管条件下ではHMWは不变のままであった一方で、25では0.3%/月で増加した。40での保管条件下で観測されたLMWの形成は、Fabアームに加えて、Fabが1つ失われた累積種と質量が正確に一致することによって特徴付けられ、こうしたものの生成は、上部ヒンジ領域中の保存配列において化学的な切断が生じた結果であると推定される。こうしたHEK由来のものでの試験から得られたHMW及びLMWの変化は、IgG1.3mAbについて予想されるものの範囲内であり、分子進歩を裏付けるものである。

10

#### 【0332】

初期のリード最適化における妨げとしては粘度による抗体Aの制限が認められた。製剤評価の過程で測定された粘度・濃度プロファイルから、100mg/mLでの粘度は8cPであり、140mg/mLでの粘度は約19cPであることが示された。抗体Aのこの粘度プロファイルに基づくと、約125mg/mL濃度が、通常の機器を使用してのシリジング操作が可能なものの上限になるであろうと推定された。

20

#### 【0333】

実施例5：NOD Scidガンマ(NSG) - ヒトPBM移植マウスにおける抗IL-7R抗体の薬物動態(PK)

抗体Aは、マウスIL-7Rとは交差反応しないため、NSG - ヒトPBM移植マウスでは、PKに対する標的介在性のクリアランスの影響を評価することが可能であった。さらに、抗体Aは、（例えば、PFE A3312Fと比較して）IL-7Rに対する結合親和性がpHによって異なることが示されている（実施例3を参照のこと）。標的介在性のクリアランスに起因して半減期が短くなるmAbについては、抗原結合をpH依存性にすることでPKプロファイルが改善されることが実証されている。Igawa T., et al., Nat Biotechnol 28(11):1203-7(2010)を参照のこと。したがって、このモデルを使用して、標的へのpH依存性の結合が薬物動態の改善に繋がることになるかどうかも評価した。

30

#### 【0334】

簡潔に記載すると、NSG - ヒトPBM移植マウスに対して、抗体Aまたは参照PFE A3312F抗体を単回投与した。マウスには、2つの用量（0.5mg/kgまたは5mg/kg）の一方を静脈内投与した。次に、投与後のさまざまな時点でマウスの採血を行い、血清中抗体濃度を決定した。図3に示されるように、PFE A3312FのPKは非線形であり、このことは、0.5mg/kg用量と5mg/kg用量との間で血液クリアランス(CL)が5.7倍減少していたことから（表6を参照のこと）、標的介在性の薬物消失(TMDD)に起因するものと推定される。5mg/kgでの抗体AのPKはPFE A3312Fと同様であったが、低用量（0.5mg/kg）では曝露量の顕著な改善が観測された。いずれか1つの理論によって拘束されるものではないが、標的介在性の薬物クリアランスは、一般に、低用量範囲で顕著化するものであることから、低用量で観測されたPKの改善は、IL-7Rに対する抗IL-7R抗体の結合親和性がpHによって異なることに起因するものと推定された。

40

50

## 【表 6】

表 6. NSG-ヒト PBMC 移植マウスにおける単回 IV 用量投与後の薬物動態パラメーター

	抗 IL-7R 抗体 (抗体 A)		PFE A3312F	
IV 用量 (mg/kg)	0.5	5.0	0.5	5.0
N (マウスの数)	6	6	5	5
AUClast ( $\mu\text{M}^*\text{時}$ )	4.1	51.2	0.7	49.6
T <sub>1/2</sub> (時間)	38	54	56	39
CL (mL/時/kg)	0.8	0.6	4.0	0.7

10

## 【0335】

実施例 6：カニクイザルにおける抗 IL - 7 R 抗体の薬物動態 (PK)

抗体 A の PK をさらに評価するために、抗体 A または参照 PFE A3312F 抗体の単回用量 (0.1 mg / kg、0.5 mg / kg、または 3 mg / kg のいずれか) をカニクイザルに静脈内投与した。次に、投与後のさまざまな時点で動物の採血を行い、抗体のインビボでの効力 (PK、RO、及びエクスピボでの pSTAT5 活性化) を比較した。

## 【0336】

図 4 に示されるように、抗体のいずれかを 0.5 mg / kg で投与した動物では、10 日目以降に抗薬物抗体 (ADA) (点線) が検出され、結果的に動物における血清中抗体濃度 (実線) は低下した。図 5 に示されるように、抗体 A 及び PFE A3312F の薬物動態は、試験用量では非線形であり、このことは TMDD を示唆するものであった。しかしながら、表 7 に示されるように、抗体 A の平均曝露量 (AUC) は、PFE A3312F と比較して多かった (1.6 ~ 2.1 倍)。同様に、抗体 A のクリアランス値もまた、高いものであった：0.1 mg / kg 用量、0.5 mg / kg 用量、及び 3 mg / kg 用量では、クリアランス値は、それぞれ  $1.15 \pm 0.20$  mL / 時 / kg、 $0.64 \pm 0.10$  mL / 時 / kg、 $0.44 \pm 0.02$  mL / 時 / kg であった。一方で、A3312F のクリアランス値は、それぞれ  $1.76 \pm 0.22$  mL / 時 / kg、 $1.16 \pm 0.39$  mL / 時 / kg、 $0.94 \pm 0.12$  mL / 時 / kg であった (表 7)。

20

## 【表 7】

表 7. NSG-ヒト PBMC 移植マウスにおける単回 IV 用量投与後の薬物動態パラメーター

	抗 IL-7R 抗体 (抗体 A)			PFE A3312F		
IV 用量 (mg/kg)	0.1	0.5	3	0.1	0.5	3
N (マウスの数)	3	3	3	3	3	3
AUClast ( $\mu\text{M}^*\text{時}$ )	$0.6 \pm 1$	$5.3 \pm 0.8$	$46.4 \pm 2.4$	$0.4 \pm 0.1$	$3.1 \pm 1.1$	$21.8 \pm 2.7$
CL (mL/時/kg)	$1.15 \pm 0.20$	$0.64 \pm 0.10$	$0.44 \pm 0.02$	$1.76 \pm 0.22$	$1.16 \pm 0.39$	$0.94 \pm 0.12$
V <sub>ss</sub> (mL/kg)	$39 \pm 1$	$42 \pm 0$	$41 \pm 1$	$41 \pm 0$	$48 \pm 1$	$49 \pm 1$

30

## 【0337】

カニクイザルにおける pSTAT5 阻害と抗体 A の血清中濃度との間には良好な相関が存在した。図 6 を参照のこと。抗体 A への曝露量が増加すると (血清中抗体濃度の増加によって証拠付けられた)、それに伴って IL - 7 介在性の pSTAT5 活性化が減少した

40

50

。このことは、本開示の抗 I L - 7 R 抗体を投与したサルにも、P F E A 3 3 1 2 を投与したサルにも当てはまった (I C 5 0 = 約 2 n m)。

#### 【 0 3 3 8 】

3 週間の評価期間の間、体重、血液学 (W B C 差異の決定を含む)、血清臨床化学、または T / B / N K 細胞の表現型決定 (図 7 A ~ 7 C に示される C D 4<sup>+</sup> 及び C D 8<sup>+</sup>) に関する抗 I L - 7 R 抗体と関連する臨床所見または有害作用は存在しなかった。

#### 【 0 3 3 9 】

上記の結果は、参照抗体と比較して、本明細書に開示の抗 I L - 7 R 抗体 (抗体 A) が、同様のインビオ効力を有するが、カニクイザルにおける薬物動態が改善しており、毒性問題が最小化されたものであることを示唆している。

#### 【 0 3 4 0 】

##### 実施例 7 : 抗 I L - 7 R 抗体の免疫原性の分析

インシリコの方法ならびにインピトロの D C : T 細胞増殖アッセイによって抗体 A の潜在的な免疫原性リスクを評価した。インシリコの i D A B 分析からは、V L C D R 3 に対する幾つかの結合可能性、及び V H の位置 7 1 におけるセリンからフェニルアラニンへのフレームワーク変異 (F 7 1 S) が示された。インピトロの D C : T 細胞増殖アッセイでは、抗体 A でパルスした樹状細胞と共に 40 種類の P B M C ドナーをインキュベートした。このアッセイからは、非 R A C I R バッチの抗体 A については顕著な免疫原性応答 (ドナーの約 30 ~ 50 %) が生じることが示された (図 8 中の P 1 - 0 6 6 9 3 0 - 3 及び P 1 - 0 6 6 9 3 0 - 9 を参照のこと)。興味深いことに、こうした結果は、前述のサル試験 (例えば、実施例 6 を参照のこと) において観測された A D A 重度と相關していた。R A C I R バッチの抗体 A では、ドナーにおける免疫原性は最小限 (約 12 . 5 %) であり、対照タンパク質 (A v a s t i n) と同等であった。このアッセイにおいて R A C I R 物質に対する応答が低かったことを考慮すると、抗体 A は、(例えば、本明細書に開示の炎症性疾患を治療するために) 臨床機関で使用する上で安全なものであろうと予想される。

#### 【 0 3 4 1 】

##### 実施例 8 : ヒト T 細胞において抗 I L - 7 R 抗体が I L - 7 シグナル伝達を遮断する能力の分析

I L - 7 R への I L - 7 の結合を抗体 A が阻害する能力をさらに評価するために、健康なボランティア (N H V)、潰瘍性大腸炎 (U C) 患者、及びクローニング病 (C D) 患者から末梢血を採取した。次に、P B C M をエクスピロでインキュベートし、抗体 A の存在下で I L - 7 を用いて約 15 分間 P B C M を刺激した。その後、T 細胞における p S T A T 5 活性を、フローサイトメトリーを使用して分析した。

#### 【 0 3 4 2 】

表 8 に示されるように、すべての試験個体に由来する T 細胞において p S T A T 5 活性が最小限に留まっており、このことは、健康なボランティア及び疾患患者の両方に由来するヒト I L - 7 R への I L - 7 の結合を抗体 A が効率的に遮断し得ることを示唆している。N H V ドナーの応答と U C ドナーまたは C D ドナーの応答との間に統計的な差は観測されなかった。この結果は、本明細書に開示の抗 I L - 7 R 抗体 (抗体 A) が、病原性 T 細胞における I L - 7 シグナル伝達を効果的に遮断することによるインビオでの炎症性疾患の治療に有効であり得ることを示している。

10

20

30

40

50

## 【表 8】

表 8. NSG - ヒト PBMC 移植マウスにおける単回 IV 用量投与後の薬物動態パラメーター

IC <sub>50</sub> (nM)	CD4 <sup>+</sup> CD45RA <sup>+</sup>	CD4 <sup>+</sup> CD45RA <sup>-</sup>	CD8 <sup>+</sup> CD45RA <sup>+*</sup>	CD8 <sup>+</sup> CD45RA <sup>-*</sup>
NHV (n=19)	0.60±0.3	0.52±0.3	0.43±0.29	0.38±0.30
UC (n=21)	0.34±0.2	0.28±0.2	0.29±0.40	0.22±0.18
CD (n=10)	0.36±0.3	0.36±0.4	0.29±0.22	0.23±0.30

\*、\* IC<sub>50</sub> は、CD8T 細胞が IL-7 に応答した場合にのみ計算した

10

## 【0343】

## 実施例 9 : エピトープマッピング分析

水素 / 重水素交換質量分析 (HDX - MS) を、独立した共有結合標識化フットプリントィング手法 (タンパク質の高速光化学的酸化 (FPOP) 及びグリシンエチルエステル (GEE) 標識化など) と組み合わせて利用することで、抗体 A との相互作用時の hIL7R の結合エピトープを探索した。

## 【0344】

## HDX - MX

組換えヒト hIL7R (10 μM) に見られるペプチドのリスト (社内作成)、及び hIL7R と抗体 A の Fab とのタンパク質複合体 (モル比 1 : 1) を得るために、エピトープマッピング実験に先んじて非重水素化実験を実施した。試料を Waters Envymate BEH ペプシン酵素カラム (2.1 × 30 mm) に注入し、15 で 3 分間消化した。測定の間は、UPLC システムの冷却チャンバー (すべてのクロマトグラフィー要素を収容したもの) を終始 0.0 ± 0.1 に保った。注入ペプチドを捕捉し、40 μL / 分で 3 分間脱塩した後、65 μL / 分で水中のアセトニトリル濃度を 6 分間かけて 5 ~ 40 % とするグラジエントによって分離した。使用した分離カラムは、1.7 μm の粒子を含む 1.0 mm × 100.0 mm の ACQUITY UPLC BEH C18 カラム (Waters) であり、背圧の平均値は 0.1 で 8500 psi であった。データの取得には Xevo G2 質量分析計を使用した。機器構成は下記の通りである: キャピラリー電圧 3.2 kV、トラップコリジョンエネルギー 6 V、サンプリングコーン電圧 3.5 V、イオン源温度 80 °C、及び脱溶媒温度 175 °C。質量スペクトルは、100 ~ 1900 の m/z 範囲にわたって取得した。質量精度は、500 nM の [Glu1] - フィブリノペプチド B でのキャリブレーションによって確保し、すべての実験を通じて 10 ppm 未満であった。消化ペプチドの同定は、ProteinLyinx Global SERVER 2.5 (Waters) を使用して精密質量分析と MSE とを組み合わせることによって達成した。

20

## 【0345】

HDX - MS 実験では、5 μL の各試料 (それぞれ hIL7R または hIL7R に抗体 A の Fab を加えたもの) を 55 μL の D<sub>2</sub>O 緩衝液 (10 mM のリン酸緩衝液、D<sub>2</sub>O、pH 7.0) に添加して希釈することで、標識化反応を開始した。この反応を、異なる時間 (1 分間、10 分間、及び 240 分間) 実施した。各標識化反応時間の終了時点までに、反応停止緩衝液 (4 M の GdnCl 及び 0.4 M の TCEP を含む 100 mM のリン酸緩衝液 (pH 2.5)) を添加 (1 : 1 (v/v)) することによって反応を停止した。反応停止試料 50 μL を、非重水素化実験と完全に同じ条件を使用してライン上の消化に供した。重水素レベルに逆交換の補正を行わなくていいように、すべての比較実験を同一の実験条件の下で実施した。したがって、重水素レベルは、相対的なものとして報告される。実験はすべて、2 連で実施した。各ペプチドの質量の測定誤差は、この実験設定では ± 0.20 Da であり、これまでに得られた値と一致した。重水素の取り込みは、重水素標識試料から得られたペプチドイオンの同位体分布の中心質量から、非重水素化タンパク質から得られたペプチドイオンの同位体分布の中心質量を差し引くことによって計

30

40

50

算した。得られた相対重水素レベルを、ソフトウェアプログラム D Y N A M X 3 . 0 (商標) (W a t e r s ) を使用して交換時間に対してプロットした。

#### 【 0 3 4 6 】

##### F F O P

h I L 7 R 及び h I L 7 R / F a b (抗体 A) 複合体 (モル比 1 : 1、最終濃度 10 μM) に対して F P O P 実験を実施した。K r F エキシマレーザーを使用することで、H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> の光分解によってヒドロキシルラジカルを生成させた。励起波長は 248 nm に設定した。標識化の直前に、5 μL のヒスチジン及び H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> をそれぞれ、一定分量のタンパク質に添加した。タンパク質溶液の最終体積を 50 μL とし、ヒスチジン及び H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> の最終濃度を、それぞれ 500 μM 及び 15 mM とした。レーザーエネルギーは、28 mJ / パルス (7.4 Hz) に調整した。F P O P 実験及びレーザー照射なしの対照実験は両方共、3 連で実施した。11 μL の反応停止液 (800 nM のカタラーゼ四量体及び 200 mM のメチオニン) を含むマイクロ遠心分離チューブに各反復試料を収集した。試料を変性、還元、アルキル化、及びキモトリプシンでの消化に供した。データの取得は、W a t e r s A c q u i t y U P L C システムを備えた Thermo Q E x a c t i v e P l u s 質量分析計で実施した。シーケンシングカバー率の生成及び酸化部位の同定には By o n i c 検索エンジンを使用した。トリプシン消化ペプチドの相対酸化レベルは、By o l o g i c ソフトウェア (P r o t e i n M e t r i c s , S a n C a r l o s , C A ) を使用して計算した。遊離状態と結合状態との間で相対的な酸化に統計的に有意な差 (スチュードント T 検定で p 値 < 0.01 であることに基づく) を有するペプチドのみを、さらなる分析に供した。残基レベルの解析は、By o l o g i c ソフトウェアで実施し、各反復試料について手動で検証した。h I L 7 R が遊離のものと h I L 7 R / F a b - 抗体 A との間で酸化に統計的に有意な差 (スチュードント T 検定で p 値 < 0.01 であることに基づく) を有する残基のみを、保護された残基と見なした。  
10

#### 【 0 3 4 7 】

##### G E E 標識化

G E E 標識化は、10 μL の各試料 (h P A I 1 または h P A I 1 に m A b を加えたもの (1 mg / mL)) を、2 M の G E E (1 μL) 及び 50 mM の 1 - エチル - 3 - (3 - ジメチルアミノプロピル) カルボジイミド (E D C) (1 μL) と室温で 1 分間混合することによって開始した。反応停止は、1 M の酢酸アンモニウム 10 μL を試料に添加することによって行った。各 G E E 標識試料 17.5 μL を酵素消化に供した。試料を 0.5 % の R a p i g e s t 界面活性剤の存在下で変性させ、D T T によって 56 度 30 分間還元し、I A M によって暗所、室温で 30 分間アルキル化し、キモトリプシンによってトリス (pH 7.4) 中、37 度一晩消化した後、酸性化して消化反応を停止した。消化試料は、Thermo Q E x a c t i v e P l u s 質量分析計で分析し、抗体 A の非存在下 / 存在下での h I L 7 R に対する G E E 修飾レベルを監視した。  
20

#### 【 0 3 4 8 】

##### 結果

図 9 に示されるように、H D X - M S 分析を使用して得られた h I L 7 R の配列カバー率は 97.3 % であった。この分析によって下記の非連續エピトープ (h I L 7 R 内の 4 つの異なる領域をカバーしている) が明らかとなった：(i) 領域 1 : 2<sup>4</sup> S Q L E V N G S Q H S L T C A F<sup>3 9</sup>、(i i) 領域 2 : 7<sup>3</sup> F I E T K K F L L I G K S N I C<sup>8 8</sup>、8<sup>9</sup> V K V G E K S L T C K K I D L T T<sup>1 0 5</sup>、(i i i) 領域 3 : 1<sup>3 6</sup> Q K K Y V K V L M H D V A Y<sup>1 4 9</sup>、及び (i v) 領域 4 : 1<sup>8 1</sup> Y E I K V R S I P D H Y F K G F<sup>1 9 6</sup>。相対的な重水素取り込み差異に基づくと、これらのペプチド領域を、領域 1 > 領域 2、領域 3、領域 4 として順位付けすることができ、領域 1 における重水素取り込みの変化が最も顕著であった (図 10)。  
40

#### 【 0 3 4 9 】

F P O P 分析では、h I F 7 R のエピトープが 5 つ (下記のもの) 同定された：(i) 領域 1 : 2<sup>4</sup> S Q L E V N G S Q H S<sup>3 5</sup>、(i i) 領域 2 : 7<sup>3</sup> F I E T K K F<sup>7 9</sup> 及び  
50

80LLIGKSNICVKVGEKSL<sup>95</sup>、(i i i)領域3: 144MHDVAY<sup>1</sup>  
 49、ならびに(i v)領域4: 182EIKVR<sup>S</sup>IPDH<sup>Y</sup>FKG<sup>F</sup>193。これらのエピトープは、HDX-MS分析を使用して同定された上記の非連続領域と重複していた。また、表9に示されるように、これらの同定エピトープにおいても、対照と比較して酸化レベルが低下していました。下記のものが、最も保護された残基として同定された:(i)領域1:H33、(i i)領域2:F79、I82、及びK84、(i i i)領域3:M144、ならびに(i v)領域4:R186、H191、及びY192。

## 【表9】

表9. hIL7R $\alpha$ のキモトリプシン消化ペプチドに対するFPOP後の残基の酸化レベル上昇

ペプチド	<sup>24</sup> SQL EVDG SQHS L <sup>35</sup>	<sup>73</sup> FIETKKF <sup>79</sup>		<sup>80</sup> LLIGKSNICVKVGEKSL <sup>96</sup>		<sup>144</sup> MHDVAY <sup>149</sup>				<sup>182</sup> EIKVR <sup>S</sup> IPDH <sup>Y</sup> F <sup>193</sup>		
アミノ酸残基番号	H33	F73	F79	I82	K84	M144	H145	Y149	R186	H191	Y192	
酸化% IL7R	0.13	1.40	0.83	3.35	1.25	29.22	0.05	0.36	1.15	0.09	2.61	
酸化% IL7R-抗体 A	0.07	1.35	0.38	1.18	0.37	16.42	0.05	0.33	0.19	0.03	0.28	
p 値	0.001	0.287	0.000 <sub>3</sub>	0.000 <sub>01</sub>	0.000 <sub>1</sub>	0.000 <sub>1</sub>	0.107	0.296	0.000 <sub>1</sub>	0.000 <sub>002</sub>	0.000 <sub>001</sub>	
STDEV (IL7R)	0.01	0.09	0.07	0.09	0.12	0.93	0.00	0.04	0.12	0.00	0.09	
STDEV (IL7R-抗体 A)	0.01	0.09	0.05	0.13	0.02	1.64	0.00	0.07	0.02	0.00	0.04	

hIL7R 対照と比較して、抗体Aとの結合時に酸化レベルに有意差(p値<0.01)を示す残基は、最も保護された残基と見なされる。計算値は、条件につき反復実施(n=3)したものと示す。

## 【0350】

最後に、GEE標識化(酸化傾向が限られた残基(FPOPに無反応性であり得る残基)、具体的にはアスパラギン酸及びグルタミン酸に対する補完データを得るために使用した)を行うことで、hIL7R 上の残基のうちで抗体Aとの相互作用時に最も保護される残基としてE75が同定された(表10)。

10

20

30

40

50

## 【表10】

表10. hIL7R $\alpha$ のキモトリプシン消化ペプチドに対するGEE標識化の増加

ペプチド	<sup>24</sup> SQLLEVGDGS QHSL <sup>35</sup>	<sup>73</sup> FIETKKF <sup>79</sup>	<sup>80</sup> LLIGKSNI CVKVGEKS L <sup>96</sup>	<sup>144</sup> MHDVAY <sup>14</sup>	<sup>182</sup> EIKVRSIP DHYF <sup>193</sup>
残基番号	E27	E75	E93	D146	E182/D190
GEE 標識化% IL7R	0.16	4.07	0.76	ND	1.75
GEE 標識化% IL7R-抗体 A	0.16	2.65	0.65	ND	1.43
p 値	0.460	0.004	0.020	NA	0.017
STDEV (IL7R)	0.01	0.27	0.06	NA	0.13
STDEV (IL7R_mA)	0.02	0.42	0.02	NA	0.12

10

20

hIL7R 対照と比較して、抗体 A との結合時に GEE 標識化レベルに有意差 ( p 値 < 0.01 ) を示す残基は、最も保護された残基と見なされる。計算値は、条件につき反復実施 ( n = 2 ) したものを見た。

## 【0351】

上記の分析に基づいて、抗体 A と相互作用する hIL7R のエピトープを、hIL7R の直鎖配列にマッピングし ( 図 11A ) 、さらに、結晶構造にマッピングした ( 図 11B )

## 【0352】

まとめると、水素 / 重水素交換質量分析 ( HDX - MS ) 実験から、ヒト IL7R 上の抗体 A 結合部位は、下記のペプチド配列中の残基にマッピングされることが示された : <sup>24</sup>SQLLEVNGSQHSLTCAF<sup>39</sup>、<sup>73</sup>FIETKKFLLIGKSNIC<sup>88</sup>、<sup>89</sup>VKVGEKSLTCKKIDLT<sup>105</sup>、<sup>136</sup>QKKYVKVLMHDVAY<sup>149</sup>、及び<sup>181</sup>YEIKVRSI<sup>196</sup>。質量分析ベースのタンパク質フットプリントマッピング手法 ( FPOP 及び GEE 標識化を含む ) を追加で行ったところ、ヒト IL7R 上の抗体 A 結合部位がアミノ酸分解能で得られ、下記のアミノ酸が同定された : H33、E75、F79、I82、K84、M144、R186、H191、及び Y192 。

30

## 【0353】

## 実施例 10 : ヒト用量の推定

PFE A3312F について最近報告された標的介在性の薬物消失機構モデル ( n b c . a a p s m e e t i n g . o r g / e v e n t / m e m b e r / 3 7 3 8 5 2 ) を使用して本明細書に開示の抗 IL - 7 R 抗体のヒト PK / RO / PD を推定した ( 図 12A 及び図 12B ) 。この機構モデルは、ヒト臨床試験において PFE A3312F mAb の投与後の PK / RO / PD の経時変化を捕捉することを可能にしたものである。

40

## 【0354】

抗 IL - 7 R 抗体のヒト PK 及びヒト PD のシミュレーションを可能にするために、モデルパラメーターのほとんどを報告モデルと同様にした一方で、ヒトでのクリアランスは 2 倍低い ( PFE A3312F との比較 ) 想定とした。このことは、サルにおいて薬理学的に適した用量 ( 3 mg / kg ; 図 4 ) で A3312F と比較して CL が 2 倍低く観測されたことによって裏付けられたものである。さらに、抗 IL - 7 R 抗体の結合親和性は

50

、サルとヒトとの間で、特に pH 7.4において同様であった（実施例3を参照のこと）。したがって、PKの推定では、このCL差異がヒトにも反映されるであろうと想定した。サルにおいて本開示の抗IL-7R抗体とA3312Fとのインビボでの効力が同様であったこと（図5）を考慮すると、これらの2つの抗体の結合速度論は、ヒトにおいても同様であると想定した。

#### 【0355】

ヒトで有効な用量は、2週間に1回の投薬後のトラフでのROが95%となるようにすることによって推定した。サルPK/PD試験では、ROが95%を超えるとpSTAT5が90%阻害されることが実証された。実施例3を参照のこと。したがって、pSTAT5カバー率ではなくROを用量推定に使用した。この理由は、サル及びヒトではpSTAT5阻害の可変性が高かったことによるものである。10

#### 【0356】

上記の情報を統合すると、70kgの成人に対して2週間に1回（Q2W）の110mgのSC用量を維持すれば、本開示の抗IL-7R抗体での治療の間にIL-7RのRO 95%が達成されるであろうと推定された。最初の用量後にこのROの達成を可能にするSC負荷用量は、140mgと計算された（図13）。

#### 【0357】

表11には、この用量で予測されるヒトの定常状態曝露量及びPKパラメーターが示される。予想通り、非線形薬物動態に起因して、ヒトでの抗IL-7R抗体の推定半減期は、用量を高めることで長くなるように保護された。110mgの有効用量での推定半減期は53時間となったが、用量を高めると長くなるものと想定された（例えば、125mgでは85時間）。20

#### 【表11】

表11. NSG-ヒトPBMC移植マウスにおける単回IV用量投与後の薬物動態パラメーター

PKパラメーター	抗IL-7R抗体の推定ヒト用量及び想定PKパラメーター
	110 mg SC (2週間に1回)
Cmax <sub>ss</sub> (nM)	40.6
AUC(tau) <sub>ss</sub> (nM*時)	7893
CL (mL/時/kg)	0.56
Ctrough <sub>ss</sub> (nM)	6.0
終末相T <sub>1/2</sub> (時間)	53

#### 【0358】

##### 実施例11：抗体18B1の変異スキャン分析

変異スキャンを実施するために、抗体18B1（抗体A、表12）をscFvとして最初に再編成し、mRNAディスプレイ（Xu L et al. (2002) Chemistry & Biology 9: 933、Roberts RW and JW Szostak (1997) Proc. Natl. Acad. Sci. USA 94: 12297、Kurz et al. (2000) Nucleic Acids Res. 28 (18) : E83）を介して全長IL-7Rに結合することを確認した。再編成した抗体の結合データは、図14A及び図14Bに示される。40

#### 【0359】

結合が確認された時点で、本発明者らは、次に、各ライブラリーバリアントがCDR内に単一の変異のみを含む変異スキャンライブラリーを構築した。抗体のCDR6つをすべて変異させ、CDR中の各位置をその位置で可能なすべてのアミノ酸に変異させた。図15には、変異させた具体的な位置が示される。この18B1 scFvバリアントライブ50

ラリーを、mRNAディスプレイを使用するhIL-7Rに対する1回の選択に供した。この1回の選択から得られた結果は図16に示される。選択のアウトプットを次世代シーケンシング(NGS)によって分析し、ヒートマップを作成してNGSデータを可視化し、1)結合に重要なCDR位置、2)変異が許容されるCDR位置、及び3)hIL-7Rに対する抗体の結合を改善し得る変異、の同定を容易化した。図17A及び図17Bは、全プロセスの模式図を示す。図18A~18Fには、ヒートマップ結果が示される。

#### 【0360】

上記のNGSデータを確認するために、18B1抗体のアラニン置換バリアントを調製した。簡潔に記載すると、CDR中の単一位置に单一のアラニン変異が導入された一連の単一変異バリアントを設計した。このアラニン変異導入を、既にアラニンをコードするCDR位置を除き、6つのCDRのすべての位置に対して実施した。こうしたアラニン置換バリアントを遺伝子合成し、IgG1.3としてExp 293において一過性に発現させ、プロテインA樹脂を使用して精製した。

10

#### 【0361】

18B1及びアラニン置換バリアントを、hIL-7Rへのその結合についてbioassayによって試験した。簡潔に記載すると、CM5チップ(チップ表面にFcを有する)を使用して12.5nMの抗体を捕捉させ、HBS-P(pH7.4)中、37°Cで30nM、10nM、及び3.3nMのhIL-7Rをリガンドとして導入した。図20A及び図20Bを参照のこと。この手法を使用してhIL-7Rへの各バリアントの結合の親和性( $K_D$ )を取得し、同じバリアントについてNGSヒートマップ分析を介して得られたエンリッチメント比(ER)と比較した。図19は、各抗体バリアントの値を示す。

20

#### 【0362】

図21に示されるように、18B1バリアントのいくつかは、18B1抗体(すなわち、抗体A)と同様の親和性でhIL-7Rに結合することが可能であった。加えて、図22及び図23に示されるように、重鎖CDR3及び軽鎖CDR3でのアラニン変異は、最も大きな影響を結合に与えるものと思われる。最後に、図24に示されるように、ヒートマップに示される結果は、アラニンバリアントについて測定された $K_D$ 値と良好に相関した。図25は、18B1抗体のFab断片の結晶構造を示し、結合に重要な残基(赤色)及び結合を改善し得る残基(青色)が示される。

#### 【0363】

30

実施例12：IF-7受容体鎖(IF-7R)への結合時の18B1抗体の内部移行分析

本明細書に開示の抗IL-7R抗体をさらに特徴付けるために、18B1抗体(すなわち、抗体A)を、サル白血球上に発現するIL-7Rへの結合時の内部移行について試験した。簡潔に記載すると、(i)2mg/kg、(ii)10mg/kg、及び(iii)50mg/kgのいずれかで18B1抗体をカニクイザルに皮下投与した。18B1抗体を投与しない動物を対照として使用した。その後、投与後のさまざまな時点で動物から末梢血を採取し、CD3+白血球上のIL-7R発現の平均蛍光強度(MFI)を、フローサイトメトリーを使用して評価した。

#### 【0364】

40

図26に示されるように、CD3+白血球上のIL-7R発現は、18B1抗体で処理したすべての動物において実験期間を通じて、その大部分が一貫性を保っていた。対照動物と比較して、18B1抗体を投与してもCD3+白血球上のIL-7Rの発現が減少することはなかった。

#### 【0365】

この結果は、本明細書に開示の18B1抗体が、結合時にIL-7Rの内部移行を誘導しないことを実証するものであり、このことは、当該抗体がいずれのアゴニスト作用も有さないことを裏付けるものである。

#### 【0366】

実施例13：18B1抗体の効力の分析

50

本明細書に開示の抗 I L - 7 R 抗体の効力を評価するために、キーホールリンペットヘモシアニン (K L H) 誘導性の抗体応答を 1 8 B 1 抗体が阻害する能力を測定した。簡潔に記載すると、( i ) 2 m g / k g、( ii ) 1 0 m g / k g、及び( iii ) 5 0 m g / k g のいずれかの用量で 1 8 B 1 抗体をカニクイザル（雄性及び雌性の両方）に皮下投与した。1 8 B 1 抗体を投与しない動物を対照として使用した。その後、抗体投与から 1 5 日目の時点で、すべての動物に対して K L H での免疫化（大腿四頭筋後部への 1 0 m g の筋肉内投与）を行った。その後、さまざまな時点で動物（大腿静脈、橈側皮静脈、または伏在静脈）から末梢血を採取し、血清中に含まれる K L H 特異的な I g M 抗体及び I g G 抗体のエンドポイント力値（E P T）を、E L I S A を使用して測定した。

## 【 0 3 6 7 】

図 2 7 A 及び図 2 7 B に示されるように、K L H を用いて免疫化を行うと、すべての処理群において K L H 特異的な I g M 抗体及び I g G 抗体の増加が観測された。K L H 特異的 I g M 応答については、処理群の間で有意差は存在しなかった（図 2 7 A を参照のこと）。一方で、1 8 B 1 抗体で処理した動物では、K L H での免疫化から 2 週間後（「2 9 日目」）、3 週間後（「3 6 日目」）、及び 4 週間後（「4 3 日目」）に、K L H 特異的 I g G 応答が、対照動物（すなわち、K L H で免疫化されているが、1 8 B 1 抗体は投与されていない動物）と比較して統計的に有意に減少した（最大で 8 0 % 抑制された）（図 2 7 B を参照のこと）。観測された K L H 特異的 I g G 応答の抑制は、1 8 B 1 抗体で処理したすべての動物において用量に関わらず同等の応答が見られたことから、用量非依存なものであった。

## 【 0 3 6 8 】

上記のデータは、本開示の抗 I L - 7 R 抗体の効力を実証するものであると共に、2 m g / k g という低用量でさえ、1 8 B 1 抗体が K L H 特異的 I g G 応答を効果的に抑制し得ることを実証するものである。いずれか 1 つの理論によって拘束されるものではないが、K L H 特異的な I g G 応答は抑制されるが、K L H 特異的な I g M 応答は抑制されることは、1 8 B 1 抗体が、アイソタイプスイッチが生じている B 細胞における抗体クラススイッチ組換えを抑制し得ることを示唆している。

## 【 0 3 6 9 】

## 実施例 1 4 : 追加のエピトープマッピング分析

本開示の抗 I L - 7 R 抗体をさらに特徴付けるために、3 つの参考抗体（すなわち、4 A 8、1 3 A 1 0、及び P F E A 3 3 1 2 F）の結合エピトープを決定し、抗体 1 8 B 1（抗体 A、表 1 2）の結合エピトープと比較した。結合エピトープは、実施例 9 で前述したように決定した。

## 【 0 3 7 0 】

図 2 8 A ~ 2 8 C に示されるように、H D X - M S 実験に基づいて、4 A 8 抗体の結合部位は、下記のペプチド配列中の残基にマッピングされた：( i )<sup>5</sup><sup>7</sup> L V E V K C L N F<sup>6</sup><sup>5</sup>、( ii )<sup>7</sup><sup>3</sup> F I E T K K F L L I G K S N I C<sup>8</sup><sup>8</sup>、( iii )<sup>1</sup><sup>3</sup><sup>6</sup> Q K K Y V K V L M H D V A Y<sup>1</sup><sup>4</sup><sup>9</sup>、及び( iv )<sup>1</sup><sup>8</sup><sup>1</sup> Y E I K V R S I P D H Y F K G F<sup>1</sup><sup>9</sup><sup>6</sup>。1 3 A 1 0 抗体の結合部位は、下記のペプチド配列にマッピングされた：( i )<sup>7</sup><sup>3</sup> F I E T K K F L L I G K S N I C<sup>8</sup><sup>8</sup>、( ii )<sup>8</sup><sup>9</sup> V K V G E K S L T C K K I D L T T<sup>1</sup><sup>0</sup><sup>5</sup>、( iii )<sup>1</sup><sup>3</sup><sup>6</sup> Q K K Y V K V L M H D V A Y<sup>1</sup><sup>4</sup><sup>9</sup>、及び( iv )<sup>1</sup><sup>8</sup><sup>1</sup> Y E I K V R S I P D H Y F K G F<sup>1</sup><sup>9</sup><sup>6</sup>。P F E A 3 3 1 2 F の結合部位は、下記のペプチド配列にマッピングされた：( i )<sup>2</sup><sup>4</sup> S Q L E V N G S Q H S L T C A<sup>3</sup><sup>8</sup>、( ii )<sup>5</sup><sup>2</sup> E I C G A L V E V K C L N F<sup>6</sup><sup>5</sup>、( iii )<sup>7</sup><sup>3</sup> F I E T K K F L L I G K S N I C<sup>8</sup><sup>8</sup>、( iv )<sup>8</sup><sup>9</sup> V K V G E K S L T C K K I D L T T<sup>1</sup><sup>0</sup><sup>5</sup>、( v )<sup>1</sup><sup>0</sup><sup>4</sup> T T I V K P E A P F D L S V<sup>1</sup><sup>1</sup><sup>7</sup>、( vi )<sup>1</sup><sup>0</sup><sup>9</sup> P E A P F D L S V I Y R E<sup>1</sup><sup>2</sup><sup>1</sup>、( vii )<sup>1</sup><sup>3</sup><sup>6</sup> Q K K Y V K V L M H D V A Y<sup>1</sup><sup>4</sup><sup>9</sup>、( viii )<sup>1</sup><sup>6</sup><sup>9</sup> T L L Q R K L Q P A A M<sup>1</sup><sup>8</sup><sup>0</sup>、及び( ix )<sup>1</sup><sup>8</sup><sup>1</sup> Y E I K V R S I P D H Y F K G F<sup>1</sup><sup>9</sup><sup>6</sup>。図 2 9 A ~ 2 9 C は、ヒト I L - 7 R タンパク質の結晶構造に 4 A 8、1 3 A 1 0、及び P F E A 3 3 1 2 F の結合部位をマッピングしたものを見ます。

10

20

30

40

50

## 【0371】

実施例9に示されるデータ（図10及び11Bも併せて参照のこと）と比較して、上記の結果は、本出願に開示の抗体18B1が、この実施例に記載の参考抗体と比較してヒトIL-7Rタンパク質上の異なる領域に結合することを実証するものである。

## 【表12】

表12.

配列番号	説明	配列
19	抗IL-7R抗体(抗体A) 重鎖可変領域(VH)	EVQLVESGGGLVQPGRLRLSCAASGFTFDDHAMHWVRQAPGKGLEWVSGISWNSRGIGYADSVK GRFTIFRDNAKNSLYLQMNSLRAEDTALYYCAKDEYSRGYYVLDVGQGTTVTVSS
20	抗IL-7R抗体(抗体A) 軽鎖可変領域(VL)	AIQLTQSPSSLSASVGDRVITICRASQGISSALAWYQQKPGKAPKLLIYDASSLESQVPSRFSGS GSGTDFTLTISLQPEDFATYYCQQFNSYPLWITFGQGTRLEIK
21	抗IL-7R抗体(抗体A) 重鎖	EVQLVESGGGLVQPGRLRLSCAASGFTFDDHAMHWVRQAPGKGLEWVSGISWNSRGIGYADSVK GRFTIFRDNAKNSLYLQMNSLRAEDTALYYCAKDEYSRGYYVLDVGQGTTVTVSSASTKGPSVF PLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSS SLGTQTYICNVNHNKPNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPPCPAPEAEQAPSFLFPPKPKDTLMISRT PEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKC KVSNKALPAPIEKTISAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQ PENNYKTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCVMHEALHNHYTQKSLSLSPG
22	抗IL-7R抗体(抗体A) 軽鎖	AIQLTQSPSSLSASVGDRVITICRASQGISSALAWYQQKPGKAPKLLIYDASSLESQVPSRFSGS GSGTDFTLTISLQPEDFATYYCQQFNSYPLWITFGQGTRLEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSG TASVVCLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTSKADYEKHKVYA CEVTHQGLSSPVTKSFRGEC

10

20

30

40

50

## 【表 1 3】

表 1 3. 重鎖 C D R 1 配列の例

	26	27	28	29	30	31	32	33	34	35
「18B1」 (配列番号 31)	G	F	T	F	D	D	H	A	M	H
F27Y (配列番号 32)	G	Y	T	F	D	D	H	A	M	H
T28P (配列番号 33)	G	F	P	F	D	D	H	A	M	H
T28A (配列番号 34)	G	F	A	F	D	D	H	A	M	H
T28V (配列番号 35)	G	F	V	F	D	D	H	A	M	H
T28L (配列番号 36)	G	F	L	F	D	D	H	A	M	H
T28I (配列番号 37)	G	F	I	F	D	D	H	A	M	H
T28M (配列番号 38)	G	F	M	F	D	D	H	A	M	H
T28H (配列番号 39)	G	F	H	F	D	D	H	A	M	H
T28F (配列番号 40)	G	F	F	F	D	D	H	A	M	H
T28Y (配列番号 41)	G	F	Y	F	D	D	H	A	M	H
T28N (配列番号 42)	G	F	N	F	D	D	H	A	M	H
T28D (配列番号 43)	G	F	D	F	D	D	H	A	M	H
T28E (配列番号 44)	G	F	E	F	D	D	H	A	M	H
T28Q (配列番号 45)	G	F	Q	F	D	D	H	A	M	H
M34L (配列番号 46)	G	F	T	F	D	D	H	A	L	H

10

20

30

40

50

## 【表 14 - 1】

表 14. 重鎖 C D R 2 配列の例

	50	51	52	52a	53	54	55	56	57	58	59	60	61	62	63	64	65
「18B1」 (配列番号 14)	G	I	S	W	N	S	R	G	I	G	Y	A	D	S	V	K	G
S52T (配列番号 47)	G	I	T	W	N	S	R	G	I	G	Y	A	D	S	V	K	G
N53H (配列番号 48)	G	I	S	W	H	S	R	G	I	G	Y	A	D	S	V	K	G
I57V (配列番号 49)	G	I	S	W	N	S	R	G	V	G	Y	A	D	S	V	K	G
A60G (配列番号 50)	G	I	S	W	N	S	R	G	I	G	Y	G	D	S	V	K	G
A60S (配列番号 51)	G	I	S	W	N	S	R	G	I	G	Y	S	D	S	V	K	G
A60T (配列番号 52)	G	I	S	W	N	S	R	G	I	G	Y	T	D	S	V	K	G
A60V (配列番号 53)	G	I	S	W	N	S	R	G	I	G	Y	V	D	S	V	K	G
A60L (配列番号 54)	G	I	S	W	N	S	R	G	I	G	Y	L	D	S	V	K	G
A60I (配列番号 55)	G	I	S	W	N	S	R	G	I	G	Y	I	D	S	V	K	G
A60R (配列番号 56)	G	I	S	W	N	S	R	G	I	G	Y	R	D	S	V	K	G
A60H (配列番号 57)	G	I	S	W	N	S	R	G	I	G	Y	H	D	S	V	K	G
A60N (配列番号 58)	G	I	S	W	N	S	R	G	I	G	Y	N	D	S	V	K	G
D61P (配列番号 59)	G	I	S	W	N	S	R	G	I	G	Y	A	P	S	V	K	G
D61T (配列番号 60)	G	I	S	W	N	S	R	G	I	G	Y	A	T	S	V	K	G
D61N (配列番号 61)	G	I	S	W	N	S	R	G	I	G	Y	A	N	S	V	K	G
D61E (配列番号 62)	G	I	S	W	N	S	R	G	I	G	Y	A	E	S	V	K	G
D61Q (配列番号 63)	G	I	S	W	N	S	R	G	I	G	Y	A	Q	S	V	K	G
D61S (配列番号 64)	G	I	S	W	N	S	R	G	I	G	Y	A	S	S	V	K	G
D61H (配列番号 65)	G	I	S	W	N	S	R	G	I	G	Y	A	H	S	V	K	G
S62P (配列番号 66)	G	I	S	W	N	S	R	G	I	G	Y	A	D	P	V	K	G

10

20

30

40

50

【表 14 - 2】

	50	51	52	52a	53	54	55	56	57	58	59	60	61	62	63	64	65
S62G (配列番号 67)	G	I	S	W	N	S	R	G	I	G	Y	A	D	G	V	K	G
S62A (配列番号 68)	G	I	S	W	N	S	R	G	I	G	Y	A	D	A	V	K	G
S62T (配列番号 69)	G	I	S	W	N	S	R	G	I	G	Y	A	D	T	V	K	G
S62V (配列番号 70)	G	I	S	W	N	S	R	G	I	G	Y	A	D	V	V	K	G
S62R (配列番号 71)	G	I	S	W	N	S	R	G	I	G	Y	A	D	R	V	K	G
S62H (配列番号 72)	G	I	S	W	N	S	R	G	I	G	Y	A	D	H	V	K	G
S62F (配列番号 73)	G	I	S	W	N	S	R	G	I	G	Y	A	D	F	V	K	G
S62Y (配列番号 74)	G	I	S	W	N	S	R	G	I	G	Y	A	D	Y	V	K	G
S62N (配列番号 75)	G	I	S	W	N	S	R	G	I	G	Y	A	D	N	V	K	G
S62D (配列番号 76)	G	I	S	W	N	S	R	G	I	G	Y	A	D	D	V	K	G
S62E (配列番号 77)	G	I	S	W	N	S	R	G	I	G	Y	A	D	E	V	K	G
V63I (配列番号 78)	G	I	S	W	N	S	R	G	I	G	Y	A	D	S	I	K	G
K64A (配列番号 79)	G	I	S	W	N	S	R	G	I	G	Y	A	D	S	V	A	G
K64S (配列番号 80)	G	I	S	W	N	S	R	G	I	G	Y	A	D	S	V	S	G
K64T (配列番号 81)	G	I	S	W	N	S	R	G	I	G	Y	A	D	S	V	T	G
K64V (配列番号 82)	G	I	S	W	N	S	R	G	I	G	Y	A	D	S	V	V	G
K64L (配列番号 83)	G	I	S	W	N	S	R	G	I	G	Y	A	D	S	V	L	G
K64I (配列番号 84)	G	I	S	W	N	S	R	G	I	G	Y	A	D	S	V	I	G
K64M (配列番号 85)	G	I	S	W	N	S	R	G	I	G	Y	A	D	S	V	M	G
K64R (配列番号 86)	G	I	S	W	N	S	R	G	I	G	Y	A	D	S	V	R	G
K64H (配列番号 87)	G	I	S	W	N	S	R	G	I	G	Y	A	D	S	V	H	G
K64F (配列番号 88)	G	I	S	W	N	S	R	G	I	G	Y	A	D	S	V	F	G

10

20

30

40

50

【表 14 - 3】

	50	51	52	52a	53	54	55	56	57	58	59	60	61	62	63	64	65
K64Y (配列番号 89)	G	I	S	W	N	S	R	G	I	G	Y	A	D	S	V	Y	G
K64N (配列番号 90)	G	I	S	W	N	S	R	G	I	G	Y	A	D	S	V	N	G
K64D (配列番号 91)	G	I	S	W	N	S	R	G	I	G	Y	A	D	S	V	D	G
K64E (配列番号 92)	G	I	S	W	N	S	R	G	I	G	Y	A	D	S	V	E	G
K64Q (配列番号 93)	G	I	S	W	N	S	R	G	I	G	Y	A	D	S	V	Q	G
G65H (配列番号 94)	G	I	S	W	N	S	R	G	I	G	Y	A	D	S	V	K	H
G65D (配列番号 95)	G	I	S	W	N	S	R	G	I	G	Y	A	D	S	V	K	D
G65Q (配列番号 96)	G	I	S	W	N	S	R	G	I	G	Y	A	D	S	V	K	Q

10

20

30

40

50

【表 15 - 1】

表 15：重鎖 C D R 3 配列の例

	95	96	97	98	99	100	100a	100b	100c	100d	101	102
「18BI」 (配列番号 15)	D	E	Y	S	R	G	Y	Y	V	L	D	V
S98T (配列番号 97)	D	E	Y	T	R	G	Y	Y	V	L	D	V
S98N (配列番号 98)	D	E	Y	N	R	G	Y	Y	V	L	D	V
S98D (配列番号 99)	D	E	Y	D	R	G	Y	Y	V	L	D	V
S98E (配列番号 100)	D	E	Y	E	R	G	Y	Y	V	L	D	V
R99L (配列番号 101)	D	E	Y	S	L	G	Y	Y	V	L	D	V
R99M (配列番号 102)	D	E	Y	S	M	G	Y	Y	V	L	D	V
R99S (配列番号 103)	D	E	Y	S	S	G	Y	Y	V	L	D	V
V100cG (配列番号 104)	D	E	Y	S	R	G	Y	Y	G	L	D	V
V100cA (配列番号 105)	D	E	Y	S	R	G	Y	Y	A	L	D	V
V100cS (配列番号 106)	D	E	Y	S	R	G	Y	Y	S	L	D	V
V100cT (配列番号 107)	D	E	Y	S	R	G	Y	Y	T	L	D	V
V100cM (配列番号 108)	D	E	Y	S	R	G	Y	Y	M	L	D	V
V100cN (配列番号 109)	D	E	Y	S	R	G	Y	Y	N	L	D	V
V100cE (配列番号 110)	D	E	Y	S	R	G	Y	Y	E	L	D	V

10

20

30

40

50

【表 15 - 2】

	95	96	97	98	99	100	100a	100b	100c	100d	101	102
V100cQ (配列番号 111)	D	E	Y	S	R	G	Y	Y	Q	L	D	V
V102A (配列番号 112)	D	E	Y	S	R	G	Y	Y	V	L	D	A
V102S (配列番号 113)	D	E	Y	S	R	G	Y	Y	V	L	D	S
V102T (配列番号 114)	D	E	Y	S	R	G	Y	Y	V	L	D	T
V102R (配列番号 115)	D	E	Y	S	R	G	Y	Y	V	L	D	R
V102H (配列番号 116)	D	E	Y	S	R	G	Y	Y	V	L	D	H
V102Y (配列番号 117)	D	E	Y	S	R	G	Y	Y	V	L	D	Y
V102W (配列番号 118)	D	E	Y	S	R	G	Y	Y	V	L	D	W
V102N (配列番号 119)	D	E	Y	S	R	G	Y	Y	V	L	D	N
V102E (配列番号 120)	D	E	Y	S	R	G	Y	Y	V	L	D	E
V102Q (配列番号 121)	D	E	Y	S	R	G	Y	Y	V	L	D	Q
V102M (配列番号 122)	D	E	Y	S	R	G	Y	Y	V	L	D	M

10

20

30

40

50

【表 16 - 1】

表 16. 軽鎖 C D R 1 配列の例

	24	25	26	27	28	29	30	31	32	33	34
「18BI」 (配列番号 16)	R	A	S	Q	G	I	S	S	A	L	A
R24S (配列番号 123)	S	A	S	Q	G	I	S	S	A	L	A
R24T (配列番号 124)	T	A	S	Q	G	I	S	S	A	L	A
R24V (配列番号 125)	V	A	S	Q	G	I	S	S	A	L	A
R24K (配列番号 126)	K	A	S	Q	G	I	S	S	A	L	A
R24H (配列番号 127)	H	A	S	Q	G	I	S	S	A	L	A
R24Y (配列番号 128)	Y	A	S	Q	G	I	S	S	A	L	A
R24I (配列番号 129)	I	A	S	Q	G	I	S	S	A	L	A
A25S (配列番号 130)	R	S	S	Q	G	I	S	S	A	L	A
A25T (配列番号 131)	R	T	S	Q	G	I	S	S	A	L	A
A25V (配列番号 132)	R	V	S	Q	G	I	S	S	A	L	A
S26P (配列番号 133)	R	A	P	Q	G	I	S	S	A	L	A
S26G (配列番号 134)	R	A	G	Q	G	I	S	S	A	L	A
S26A (配列番号 135)	R	A	A	Q	G	I	S	S	A	L	A
S26T (配列番号 136)	R	A	T	Q	G	I	S	S	A	L	A
S26V (配列番号 137)	R	A	V	Q	G	I	S	S	A	L	A
S26L (配列番号 138)	R	A	L	Q	G	I	S	S	A	L	A
S26I (配列番号 139)	R	A	I	Q	G	I	S	S	A	L	A
S26M (配列番号 140)	R	A	M	Q	G	I	S	S	A	L	A
S26K (配列番号 141)	R	A	K	Q	G	I	S	S	A	L	A
S26R (配列番号 142)	R	A	R	Q	G	I	S	S	A	L	A

10

20

30

40

50

【表 16 - 2】

	24	25	26	27	28	29	30	31	32	33	34
S26H (配列番号 143)	R	A	H	Q	G	I	S	S	A	L	A
S26N (配列番号 144)	R	A	N	Q	G	I	S	S	A	L	A
S26E (配列番号 145)	R	A	E	Q	G	I	S	S	A	L	A
S26Q (配列番号 146)	R	A	Q	Q	G	I	S	S	A	L	A
Q27P (配列番号 147)	R	A	S	P	G	I	S	S	A	L	A
Q27G (配列番号 148)	R	A	S	G	G	I	S	S	A	L	A
Q27A (配列番号 149)	R	A	S	A	G	I	S	S	A	L	A
Q27S (配列番号 150)	R	A	S	S	G	I	S	S	A	L	A
Q27T (配列番号 151)	R	A	S	T	G	I	S	S	A	L	A
Q27V (配列番号 152)	R	A	S	V	G	I	S	S	A	L	A
Q27L (配列番号 153)	R	A	S	L	G	I	S	S	A	L	A
Q27I (配列番号 154)	R	A	S	I	G	I	S	S	A	L	A
Q27M (配列番号 155)	R	A	S	M	G	I	S	S	A	L	A
Q27H (配列番号 156)	R	A	S	H	G	I	S	S	A	L	A
Q27F (配列番号 157)	R	A	S	F	G	I	S	S	A	L	A
Q27Y (配列番号 158)	R	A	S	Y	G	I	S	S	A	L	A
Q27N (配列番号 159)	R	A	S	N	G	I	S	S	A	L	A
Q27D (配列番号 160)	R	A	S	D	G	I	S	S	A	L	A
Q27E (配列番号 161)	R	A	S	E	G	I	S	S	A	L	A
G28P (配列番号 162)	R	A	S	Q	P	I	S	S	A	L	A
G28A (配列番号 163)	R	A	S	Q	A	I	S	S	A	L	A
G28S (配列番号 164)	R	A	S	Q	S	I	S	S	A	L	A

10

20

30

40

50

【表 16 - 3】

	24	25	26	27	28	29	30	31	32	33	34
G28T (配列番号 165)	R	A	S	Q	T	I	S	S	A	L	A
G28H (配列番号 166)	R	A	S	Q	H	I	S	S	A	L	A
G28E (配列番号 167)	R	A	S	Q	E	I	S	S	A	L	A
G28Q (配列番号 168)	R	A	S	Q	Q	I	S	S	A	L	A
G28M (配列番号 169)	R	A	S	Q	M	I	S	S	A	L	A
G28N (配列番号 170)	R	A	S	Q	N	I	S	S	A	L	A
G28D (配列番号 171)	R	A	S	Q	D	I	S	S	A	L	A
I29P (配列番号 172)	R	A	S	Q	G	P	S	S	A	L	A
I29G (配列番号 173)	R	A	S	Q	G	G	S	S	A	L	A
I29A (配列番号 174)	R	A	S	Q	G	A	S	S	A	L	A
I29S (配列番号 175)	R	A	S	Q	G	S	S	S	A	L	A
I29T (配列番号 176)	R	A	S	Q	G	T	S	S	A	L	A
I29V (配列番号 177)	R	A	S	Q	G	V	S	S	A	L	A
I29L (配列番号 178)	R	A	S	Q	G	L	S	S	A	L	A
I29N (配列番号 179)	R	A	S	Q	G	N	S	S	A	L	A
S30T (配列番号 180)	R	A	S	Q	G	I	T	S	A	L	A
S30V (配列番号 181)	R	A	S	Q	G	I	V	S	A	L	A
S30L (配列番号 182)	R	A	S	Q	G	I	L	S	A	L	A
S30I (配列番号 183)	R	A	S	Q	G	I	I	S	A	L	A
S30M (配列番号 184)	R	A	S	Q	G	I	M	S	A	L	A
S30H (配列番号 185)	R	A	S	Q	G	I	H	S	A	L	A
S30F (配列番号 186)	R	A	S	Q	G	I	F	S	A	L	A

10

20

30

40

50

【表 16 - 4】

	24	25	26	27	28	29	30	31	32	33	34
S30Y (配列番号 187)	R	A	S	Q	G	I	Y	S	A	L	A
S30N (配列番号 188)	R	A	S	Q	G	I	N	S	A	L	A
S30D (配列番号 189)	R	A	S	Q	G	I	D	S	A	L	A
S30E (配列番号 190)	R	A	S	Q	G	I	E	S	A	L	A
S30Q (配列番号 191)	R	A	S	Q	G	I	Q	S	A	L	A
A32P (配列番号 192)	R	A	S	Q	G	I	S	S	P	L	A
L33A (配列番号 193)	R	A	S	Q	G	I	S	S	A	A	A
L33V (配列番号 194)	R	A	S	Q	G	I	S	S	A	V	A

10

20

30

40

50

【表 17 - 1】

表 17. 軽鎖 C D R 2 配列の例

	50	51	52	53	54	55	56
「18B1」 (配列番号 17)	D	A	S	S	L	E	S
A51G (配列番号 195)	D	G	S	S	L	E	S
A51S (配列番号 196)	D	S	S	S	L	E	S
A51M (配列番号 197)	D	M	S	S	L	E	S
A51H (配列番号 198)	D	H	S	S	L	E	S
A51N (配列番号 199)	D	N	S	S	L	E	S
A51D (配列番号 200)	D	D	S	S	L	E	S
A51E (配列番号 201)	D	E	S	S	L	E	S
A51Q (配列番号 202)	D	Q	S	S	L	E	S
S52G (配列番号 203)	D	A	G	S	L	E	S
S52A (配列番号 204)	D	A	A	S	L	E	S
S52T (配列番号 205)	D	A	T	S	L	E	S
S52V (配列番号 206)	D	A	V	S	L	E	S
S52M (配列番号 207)	D	A	M	S	L	E	S
S52H (配列番号 208)	D	A	H	S	L	E	S
S52F (配列番号 209)	D	A	F	S	L	E	S
S52Y (配列番号 210)	D	A	Y	S	L	E	S
S52N (配列番号 211)	D	A	N	S	L	E	S
S52D (配列番号 212)	D	A	D	S	L	E	S
S52E (配列番号 213)	D	A	E	S	L	E	S
S52Q (配列番号 214)	D	A	Q	S	L	E	S

10

20

30

40

50

【表 17 - 2】

	50	51	52	53	54	55	56
S53A (配列番号 215)	D	A	S	A	L	E	S
S53F (配列番号 216)	D	A	S	F	L	E	S
S53Y (配列番号 217)	D	A	S	Y	L	E	S
S53W (配列番号 218)	D	A	S	W	L	E	S
S53N (配列番号 219)	D	A	S	N	L	E	S
S53D (配列番号 220)	D	A	S	D	L	E	S
S53E (配列番号 221)	D	A	S	E	L	E	S
S53L (配列番号 222)	D	A	S	L	L	E	S
L54P (配列番号 223)	D	A	S	S	P	E	S
L54S (配列番号 224)	D	A	S	S	S	E	S
L54T (配列番号 225)	D	A	S	S	T	E	S
L54K (配列番号 226)	D	A	S	S	K	E	S
L54H (配列番号 227)	D	A	S	S	H	E	S
L54N (配列番号 228)	D	A	S	S	N	E	S
E55D (配列番号 229)	D	A	S	S	L	D	S
E55Q (配列番号 230)	D	A	S	S	L	Q	S
S56G (配列番号 231)	D	A	S	S	L	E	G
S56T (配列番号 232)	D	A	S	S	L	E	T
S56N (配列番号 233)	D	A	S	S	L	E	N
S56D (配列番号 234)	D	A	S	S	L	E	D
S56Q (配列番号 235)	D	A	S	S	L	E	Q
S56P (配列番号 236)	D	A	S	S	L	E	P

10

20

30

40

【表 17 - 3】

	50	51	52	53	54	55	56
S56E (配列番号 237)	D	A	S	S	L	E	E

50

【表 18 - 1】

表 18. 軽鎖 C D R 3 配列の例

	89	90	91	92	93	94	95	95a	95b	96	97
「18B1」 (配列番号 18)	Q	Q	F	N	S	Y	P	L	W	I	T
Q89M (配列番号 238)	M	Q	F	N	S	Y	P	L	W	I	T
Q90G (配列番号 239)	Q	G	F	N	S	Y	P	L	W	I	T
Q90A (配列番号 240)	Q	A	F	N	S	Y	P	L	W	I	T
Q90D (配列番号 241)	Q	D	F	N	S	Y	P	L	W	I	T
Q90E (配列番号 242)	Q	E	F	N	S	Y	P	L	W	I	T
N92E (配列番号 243)	Q	Q	F	E	S	Y	P	L	W	I	T
S93P (配列番号 244)	Q	Q	F	N	P	Y	P	L	W	I	T
S93A (配列番号 245)	Q	Q	F	N	A	Y	P	L	W	I	T
W95bT (配列番号 246)	Q	Q	F	N	S	Y	P	L	T	I	T
W95bI (配列番号 247)	Q	Q	F	N	S	Y	P	L	I	I	T
W95bM (配列番号 248)	Q	Q	F	N	S	Y	P	L	M	I	T
W95bK (配列番号 249)	Q	Q	F	N	S	Y	P	L	K	I	T
W95bN (配列番号 250)	Q	Q	F	N	S	Y	P	L	N	I	T
W95bE (配列番号 251)	Q	Q	F	N	S	Y	P	L	E	I	T
W95bQ (配列番号 252)	Q	Q	F	N	S	Y	P	L	Q	I	T
I96L (配列番号 253)	Q	Q	F	N	S	Y	P	L	W	L	T
T97M (配列番号 254)	Q	Q	F	N	S	Y	P	L	W	I	M
T97K (配列番号 255)	Q	Q	F	N	S	Y	P	L	W	I	K
T97H (配列番号 256)	Q	Q	F	N	S	Y	P	L	W	I	H
T97Y (配列番号 257)	Q	Q	F	N	S	Y	P	L	W	I	Y

10

20

30

40

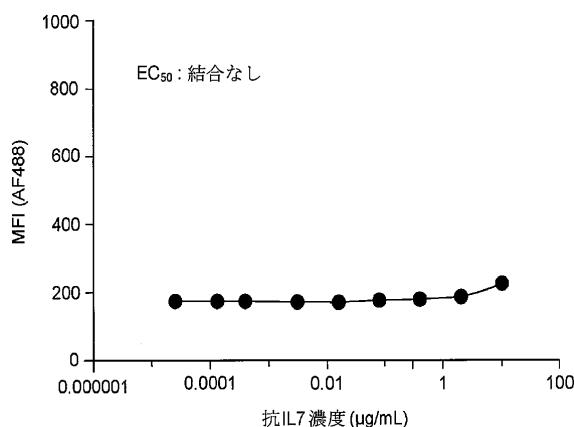
【表 18 - 2】

	89	90	91	92	93	94	95	95a	95b	96	97
T97E (配列番号 258)	Q	Q	F	N	S	Y	P	L	W	I	E
T97Q (配列番号 259)	Q	Q	F	N	S	Y	P	L	W	I	Q

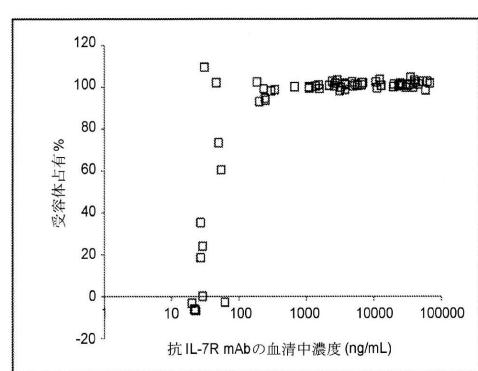
50

## 【図面】

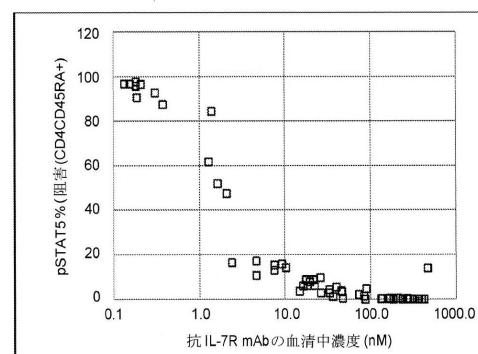
## 【図 1】



## 【図 2】



A



B

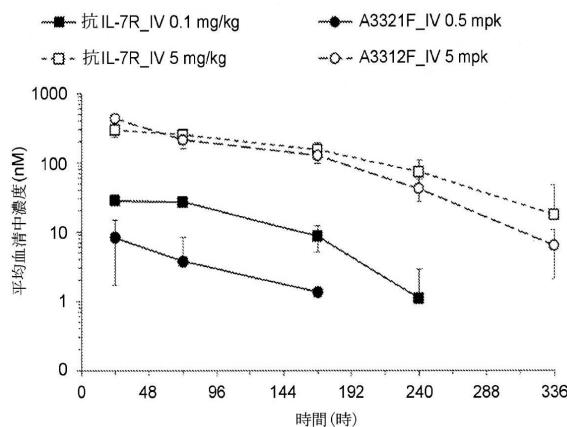
10

20

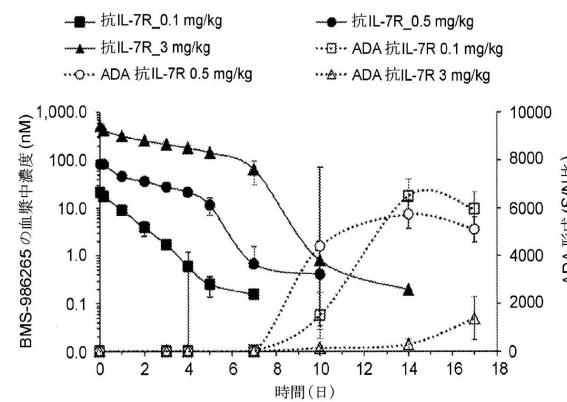
30

40

## 【図 3】

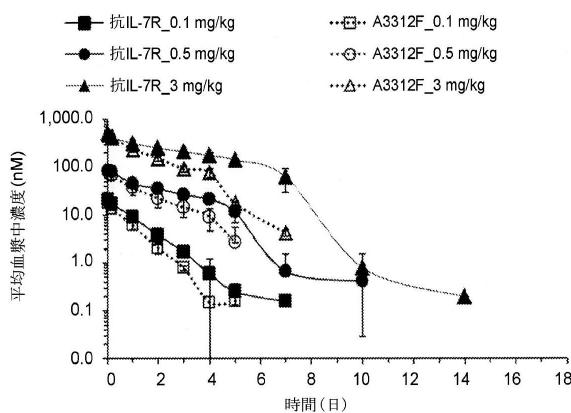


## 【図 4】

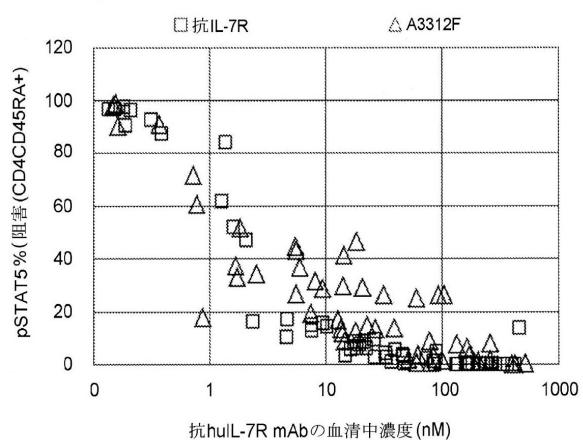


50

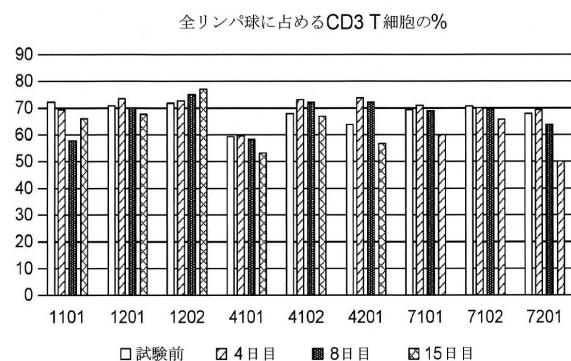
【図 5】



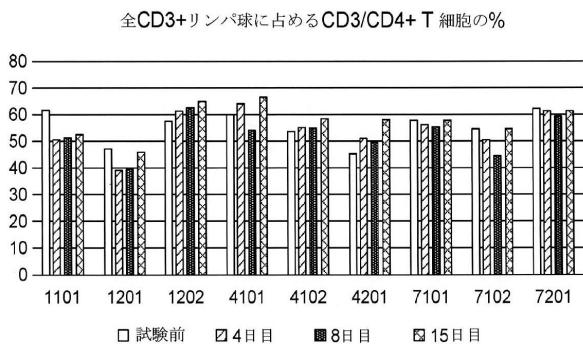
【図 6】



【図 7 A】



【図 7 B】



10

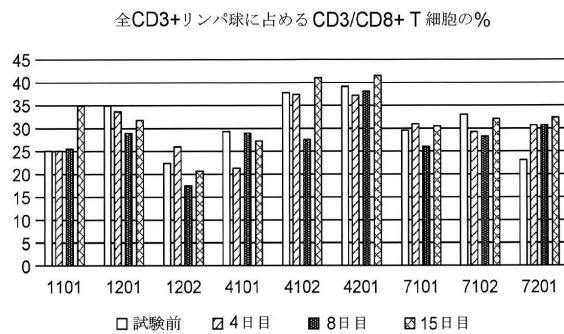
20

30

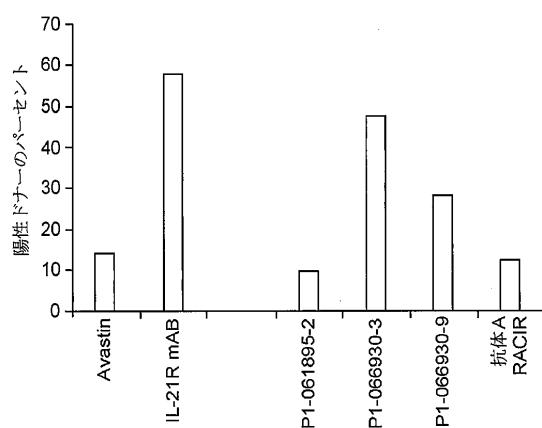
40

50

【図 7 C】



【図 8】



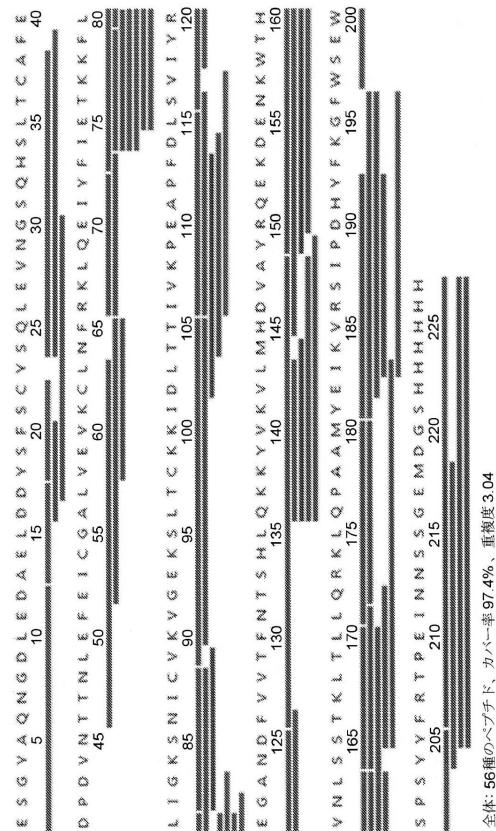
10

20

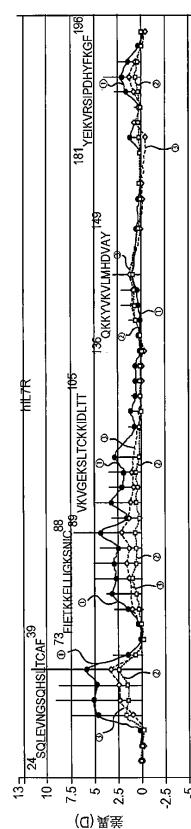
30

40

【図 9】

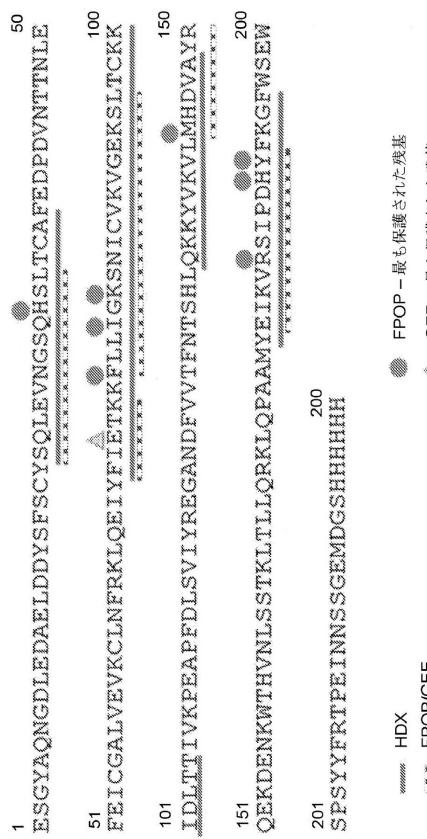


【図 10】

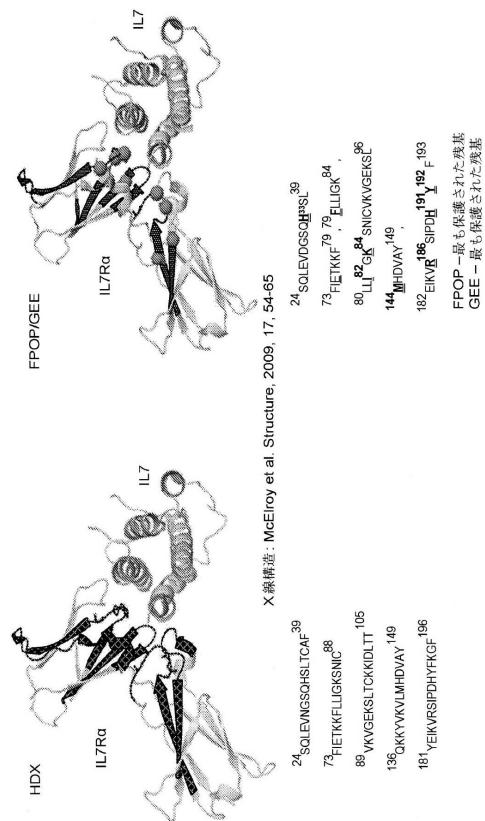


50

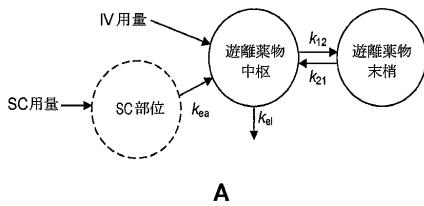
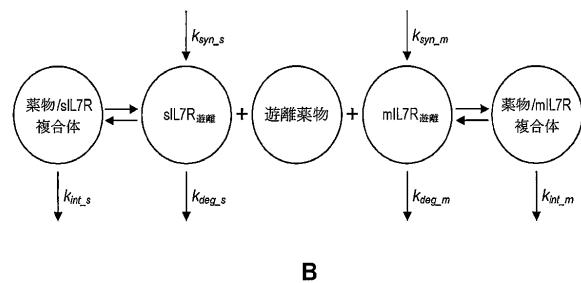
【図 1 1 A】



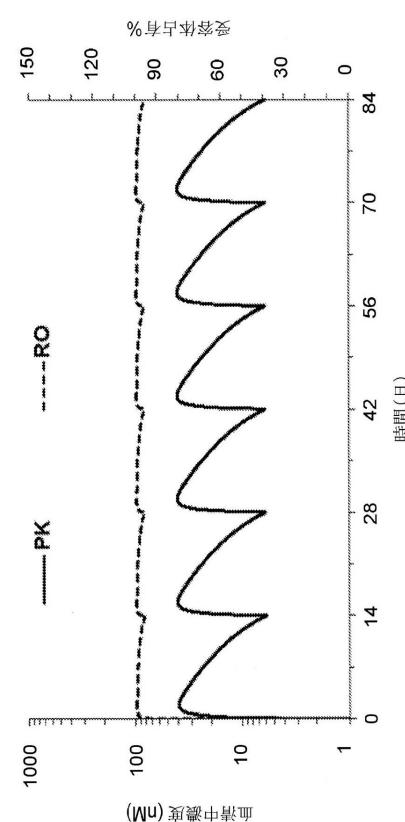
【図 1 1 B】



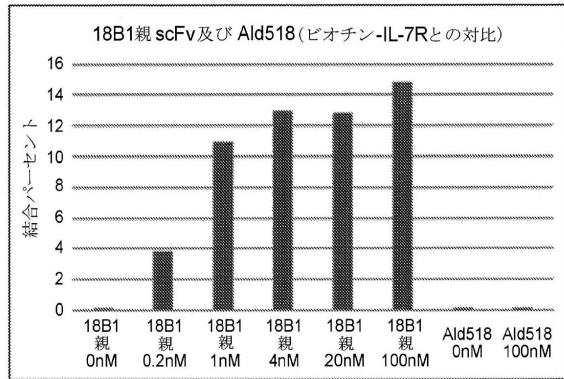
【図 1 2】

**A****B**

【図 1 3】



【図 14】

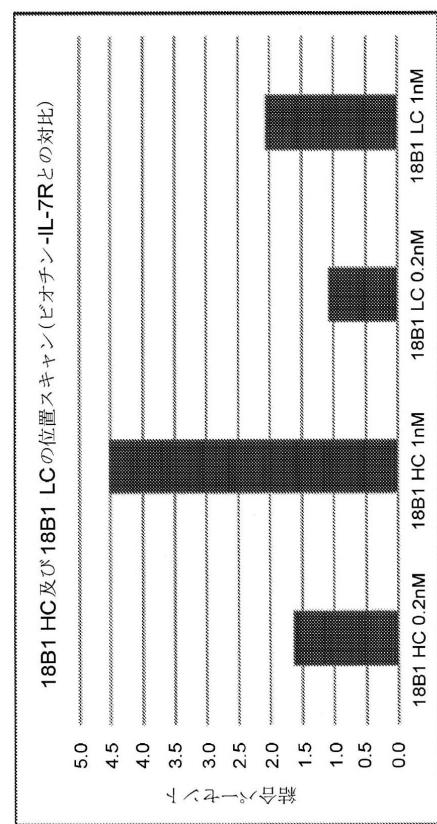
**A**

37CでのSPRデータ：

	ka (1/M秒)	kd (1/秒)	KD (nM)
18B1	3.11e5	4.03e-04	1.3

**B**

【図 16】



【図 15】

鎖	LCDR1	LCDR2	LCDR3	重鎖
	R A S Q G I S S A L A	D A S S L E S	Q Q F N S Y P L W I T	HCDR1
	50 51 52 53 54 55 56	69 90 91 92 93 94 95	95A 95B 96 97	HCDR2
				HCDR3

フレームワーク F89L

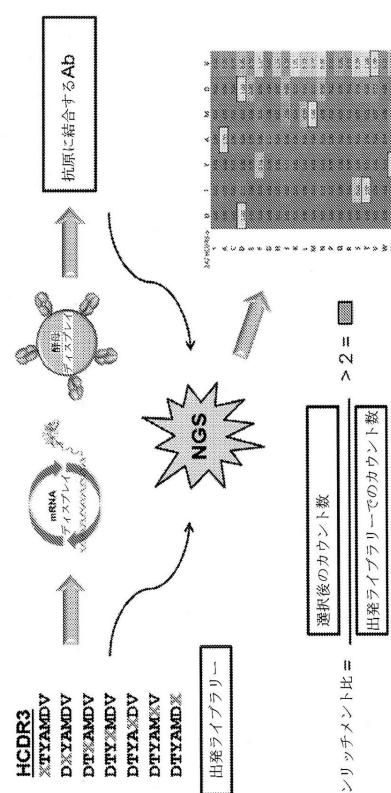
10

20

30

40

【図 17 A】



試験のための変異体の設計にヒートマップを使用

50

【 义 17 B 】

【图 18A】

生年系列	正規化ER直角三角形									
	Q	F	N	S	P	L	W	T	Y	M
89	91	92	93	94	95	96	97			
	0.056	0.33	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
*	0.02	0.15	0.01	0.01	1.56	2.03	1.60	1.11	0.60	0.04
G	0.14	1.35	0.08	0.46	1.42	0.01	0.03	0.01	0.00	0.00
C	0.11	0.55	0.05	0.05	0.01	0.02	0.01	0.08	0.07	0.10
S	0.16	0.12	0.59	0.08	0.81	1.00	0.01	0.04	0.07	0.11
T	0.02	0.02	0.42	0.07	0.17	0.10	0.08	0.00	1.02	0.01
L	0.01	0.33	0.38	0.08	0.27	1.00	0.01	0.05	1.00	0.03
M	1.16	0.15	0.11	0.00	0.26	0.03	0.00	0.02	0.07	1.04
K	0.02	0.28	0.18	0.01	0.01	0.01	0.01	0.00	0.00	0.01
H	0.06	0.06	0.32	0.01	0.84	0.01	0.04	0.04	0.01	0.85
F	0.37	0.07	0.07	0.01	0.42	0.01	0.12	0.02	0.01	0.79
Y	0.52	0.58	0.18	0.35	0.01	0.04	0.01	0.01	0.00	0.04
Q	0.75	0.57	0.01	0.45	0.03	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
D	0.04	1.00	0.07	0.00	0.02	0.01	0.00	0.00	0.00	0.00
Z	0.23	1.20	0.01	0.07	0.00	0.01	0.00	0.00	1.09	0.01
E	1.00	1.00	0.01	0.02	0.01	0.00	0.00	0.00	1.09	0.03

【図18B】

【図18C】

1 mM									
生菌系別		R	A	S	G	T	S	A	L
正常規則性( $\beta \pm \sigma$ )									
24	25	26	27	28	29	30	31	32	33
0.07	0.06	0.09	0.26	0.43	1.26	0.57	0.61	1.54	0.98
0.06	0.06	0.09	0.26	0.43	1.26	0.57	0.61	1.54	0.98
*	*	*	*	*	*	*	*	*	*
P	G	G	G	G	G	G	G	G	G
0.71	0.77	0.70	1.12	1.08	0.59	0.57	0.48	0.65	0.57
0.55	1.00	1.44	1.38	1.12	1.17	0.89	1.03	0.97	1.00
A	S	S	S	S	S	S	S	S	S
0.62	0.77	0.47	0.87	0.65	0.69	0.41	0.27	0.49	0.42
C	C	C	C	C	C	C	C	C	C
1.22	1.09	1.00	1.20	1.10	1.00	0.75	0.75	0.75	0.75
S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
1.08	1.04	1.10	1.21	1.21	1.25	1.11	0.68	0.56	0.78
F	F	F	F	F	F	F	F	F	F
1.09	0.97	1.21	1.05	1.26	1.22	1.02	0.49	1.04	0.93
V	V	V	V	V	V	V	V	V	V
0.79	0.62	0.91	0.71	0.93	1.00	0.88	0.65	0.57	0.53
L	L	L	L	L	L	L	L	L	L
1.03	1.02	1.00	1.00	1.00	1.00	0.98	0.80	0.85	0.84
M	M	M	M	M	M	M	M	M	M
0.84	0.57	1.02	1.14	1.00	0.97	0.56	0.48	0.54	0.25
K	K	K	K	K	K	K	K	K	K
1.06	2.08	1.24	0.95	1.88	0.31	0.17	0.44	0.25	0.19
H	H	H	H	H	H	H	H	H	H
1.06	1.00	2.30	1.00	0.78	0.45	0.63	0.19	0.24	0.06
R	R	R	R	R	R	R	R	R	R
1.14	1.05	0.94	1.28	1.16	0.66	1.22	0.65	0.51	0.38
F	F	F	F	F	F	F	F	F	F
1.05	0.87	0.60	0.21	1.01	0.88	0.87	1.04	0.63	0.69
Y	Y	Y	Y	Y	Y	Y	Y	Y	Y
0.72	0.55	0.74	0.76	0.72	0.69	0.39	0.55	0.65	0.03
W	W	W	W	W	W	W	W	W	W
0.99	0.73	0.98	1.15	1.09	0.64	0.64	0.42	0.55	0.03
N	N	N	N	N	N	N	N	N	N
0.44	0.38	0.83	1.31	1.06	0.77	1.46	0.33	0.78	0.24
O	O	O	O	O	O	O	O	O	O
0.67	0.67	0.55	0.55	0.55	0.55	0.55	0.28	0.36	0.24
Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q
0.95	0.44	1.17	1.00	1.18	0.74	1.18	0.57	0.72	0.47

0.2 nm

生息系別 正規化R値(%)											
	R	A	S	T	Q	G	T	S	A	L	Δ
生息系別	0.08	0.05	0.53	0.13	0.03	0.13	0.03	0.01	0.07	0.03	
P	0.78	0.74	1.22	2.28	1.43	1.00	1.41	0.46	0.52	0.18	
G	0.69	0.75	1.22	1.22	1.00	1.41	0.46	0.52	0.65	0.67	
C	0.91	1.00	1.32	2.27	1.05	1.44	0.70	0.51	1.00	1.00	
A	0.64	0.66	0.54	0.50	0.69	0.62	0.33	0.17	0.45	0.15	
S	1.17	1.12	1.00	1.17	1.02	1.39	1.00	1.00	1.51	0.57	0.27
T	1.00	1.11	1.25	1.22	1.52	1.43	1.13	0.52	0.45	0.72	0.71
V	1.00	1.00	1.15	1.11	0.92	1.43	1.09	0.87	0.40	0.96	0.53
W	0.96	0.54	1.11	1.08	0.96	1.04	0.52	0.47	1.00	0.15	
M	0.84	0.45	1.16	1.05	0.95	1.17	0.51	0.45	0.50	0.47	
R	1.02	1.17	1.35	0.85	1.25	0.84	0.11	0.38	0.20	0.14	
H	1.00	0.38	1.24	0.64	0.76	0.37	0.40	0.13	0.70	0.21	0.14
F	0.91	0.56	0.90	1.02	0.85	0.86	1.15	0.68	0.31	0.67	0.03
W	0.70	0.60	0.94	0.77	0.63	0.64	0.73	0.43	0.59	0.46	0.04
N	0.92	0.92	1.00	1.00	0.94	1.03	1.07	0.52	0.57	0.04	
O	0.41	0.37	0.28	1.14	1.31	1.35	1.09	0.59	0.39	0.26	0.03
I	0.69	0.37	0.27	0.21	0.20	0.20	0.20	0.22	0.22	0.19	
Q	0.96	0.95	1.50	1.00	1.19	0.21	1.14	0.40	0.55	0.38	0.16

【図 18 D】

生産系列	正規化ER値(アミノ酸)					正規化ER値(アミノ酸)									
	D	A	S	L	E	D	A	S	L	E					
*	0.10	0.08	0.09	0.07	0.12	0.08	0.08	*	0.10	0.07	0.10	0.07	0.13	0.07	0.05
P	0.31	0.53	0.87	0.52	1.08	0.98	0.98	P	0.36	0.79	0.82	0.88	1.05	0.98	1.04
G	0.54	1.04	1.12	0.96	0.92	0.87	1.06	G	0.62	1.07	1.06	0.94	0.87	0.90	1.01
A	0.30	0.01	1.09	1.07	0.99	0.23	0.96	A	0.34	1.01	1.05	1.04	0.95	0.30	0.98
C	0.21	0.44	0.76	0.62	0.45	0.73	0.73	C	0.21	0.43	0.71	0.67	0.66	0.47	0.71
S	0.84	1.14	1.01	1.01	1.03	0.87	1.01	S	0.84	1.12	1.01	1.01	0.97	0.93	1.01
T	0.76	1.06	1.06	0.90	1.06	1.00	1.00	T	0.71	0.97	1.07	0.96	1.01	0.95	1.02
V	0.67	1.06	1.04	1.08	1.02	0.96	0.41	V	0.42	0.89	1.12	0.77	0.34	0.51	0.83
L	0.42	0.82	0.95	0.95	1.01	0.85	0.96	L	0.42	0.75	0.96	1.00	1.01	0.87	0.95
M	0.32	0.83	0.99	0.61	0.99	0.80	0.81	M	0.63	0.99	1.04	0.93	0.89	0.64	0.92
K	0.68	0.92	0.92	0.31	1.04	0.74	0.85	K	0.70	0.91	0.95	0.38	0.98	0.83	0.88
R	0.73	1.07	0.89	0.37	0.88	0.50	0.85	R	0.74	0.93	0.88	0.44	0.91	0.60	0.90
H	0.67	1.06	1.04	1.08	1.02	0.90	0.99	H	0.69	1.00	1.01	0.90	0.96	0.76	0.97
F	0.49	0.88	1.06	1.18	0.88	0.59	0.93	F	0.45	0.83	0.96	1.15	1.33	0.83	0.83
Y	0.68	0.88	0.86	1.18	0.86	0.49	0.93	Y	0.66	0.83	1.00	1.13	0.80	0.57	0.98
W	0.70	0.90	0.99	1.41	0.82	0.07	0.93	W	0.66	0.81	0.82	1.15	1.08	0.94	1.04
D	0.36	1.12	1.07	1.04	1.04	0.90	1.05	D	0.43	1.13	1.03	1.00	0.98	0.95	1.04
D	1.01	1.11	1.23	1.08	1.05	1.00	1.07	D	1.02	1.06	1.12	1.02	0.81	1.00	1.04
E	0.97	1.10	1.33	1.10	0.85	1.01	0.97	E	0.97	1.04	1.23	1.08	0.83	1.01	1.02
Q	0.85	1.14	1.01	0.78	0.97	0.98	1.02	Q	0.86	1.06	0.97	0.86	0.91	1.02	1.05

1 nM

0.2 nM

【図 18 F】

生産系列	正規化ER値(アミノ酸)					正規化ER値(アミノ酸)				
	G	I	S	W	N	G	I	S	W	N
*	0.00	0.00	0.01	0.01	0.02	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
P	0.01	0.01	0.01	0.01	0.01	0.01	0.01	0.01	0.01	0.01
G	0.01	0.01	0.01	0.01	0.01	0.01	0.01	0.01	0.01	0.01
A	0.07	0.07	0.07	0.07	0.07	0.04	1.00	0.03	1.00	0.25
C	0.20	0.07	0.07	0.07	0.07	0.01	0.01	0.01	0.01	0.01
S	0.04	0.04	0.04	0.04	0.04	0.01	0.01	0.01	0.01	0.01
T	0.07	0.02	0.02	0.02	0.02	0.01	0.01	0.01	0.01	0.01
V	0.08	0.08	0.08	0.08	0.08	0.01	0.01	0.01	0.01	0.01
Y	0.09	0.09	0.09	0.09	0.09	0.01	0.01	0.01	0.01	0.01
W	0.09	0.09	0.09	0.09	0.09	0.01	0.01	0.01	0.01	0.01
D	0.04	0.15	0.02	0.12	0.09	0.01	0.01	0.01	0.01	0.01
D	0.05	0.16	0.09	0.05	0.05	0.01	0.01	0.01	0.01	0.01
E	0.06	0.08	0.08	0.08	0.08	0.01	0.01	0.01	0.01	0.01
Q	0.07	0.14	0.14	0.14	0.14	0.01	0.01	0.01	0.01	0.01

1 nM

0.2 nM

0.1 nM

观

视

正規化ER値(アミノ酸)

生産系列	正規化ER値(アミノ酸)					正規化ER値(アミノ酸)				
	G	I	S	W	N	G	I	S	W	N
*	0.00	0.00	0.01	0.01	0.02	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
P	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
G	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
A	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
C	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
S	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
T	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
V	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
Y	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
W	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
D	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
D	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
E	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
Q	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00

观

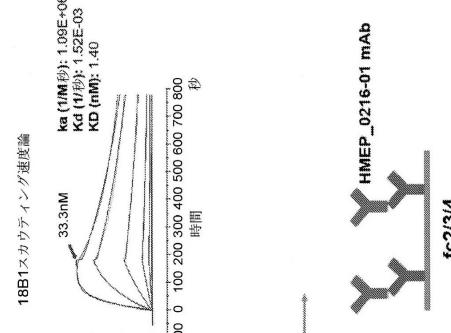
视

正規化ER値(アミノ酸)

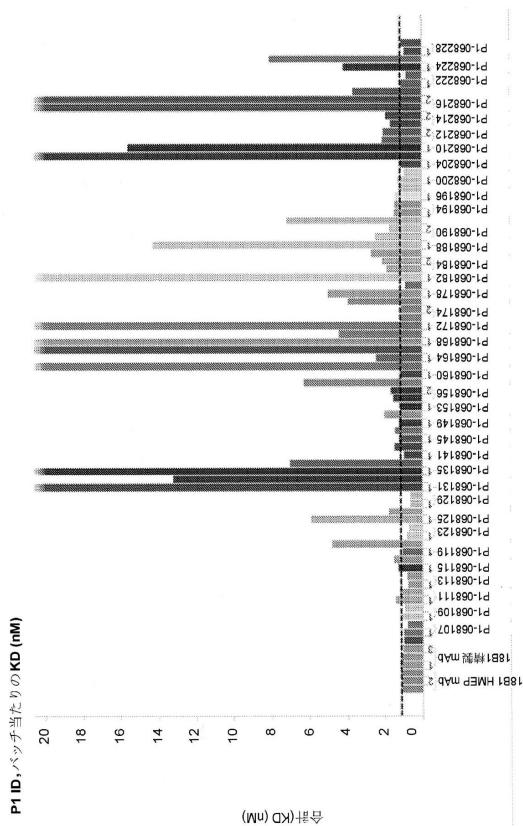
【図 19 - 2】

18B1 HC F89LR99A	0.63	0.53
18B1 HC F89LG100A	0.01	0.01
18B1 HC F89LY100Aa	0.31	0.34
18B1 HC F89LV100Ca	1.17	1.46
18B1 HC F89LL100dA	0.27	0.01
18B1 HC F89LD101A	0.14	0.02
18B1 HC F89LV102A	1.14	0.90
18B1 露	1.00	1.00
18B1 LC D50A	0.77	0.30
18B1 LC S52A	0.93	1.09
18B1 LC S53A	0.79	1.07
18B1 LC L54A	0.93	0.99
18B1 LC E55A	0.57	0.23
18B1 LC S56A	0.98	0.96
18B1 LC R24A	1.15	0.91

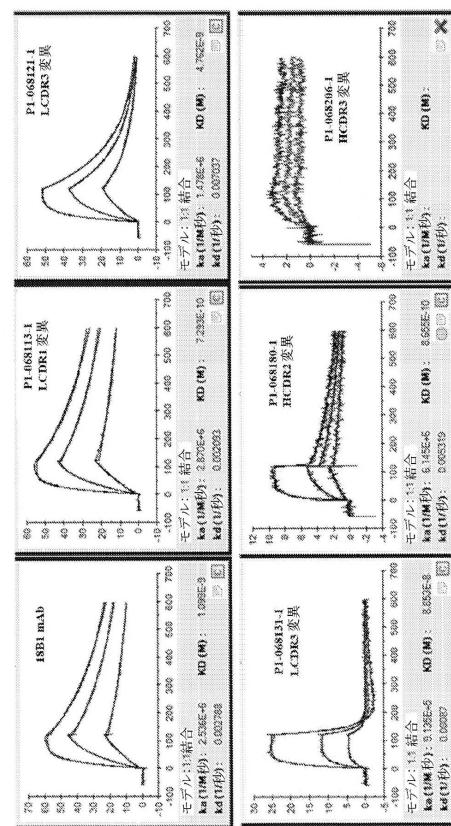
【図20】



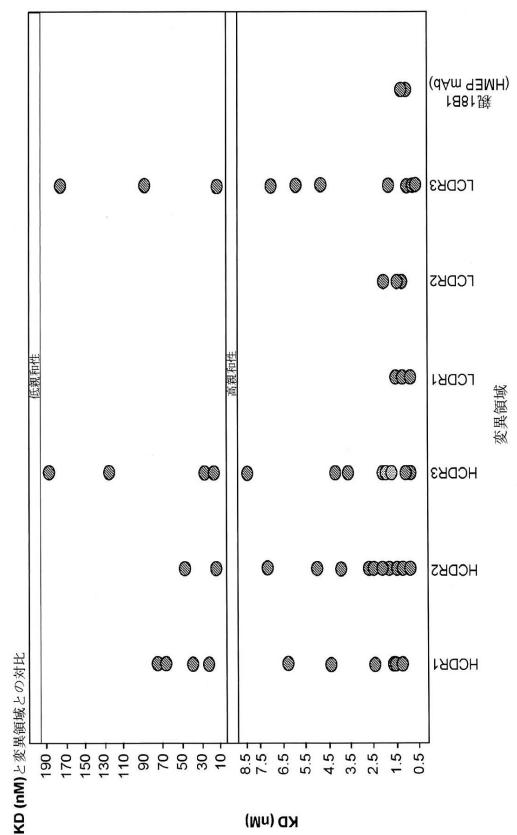
【図21】



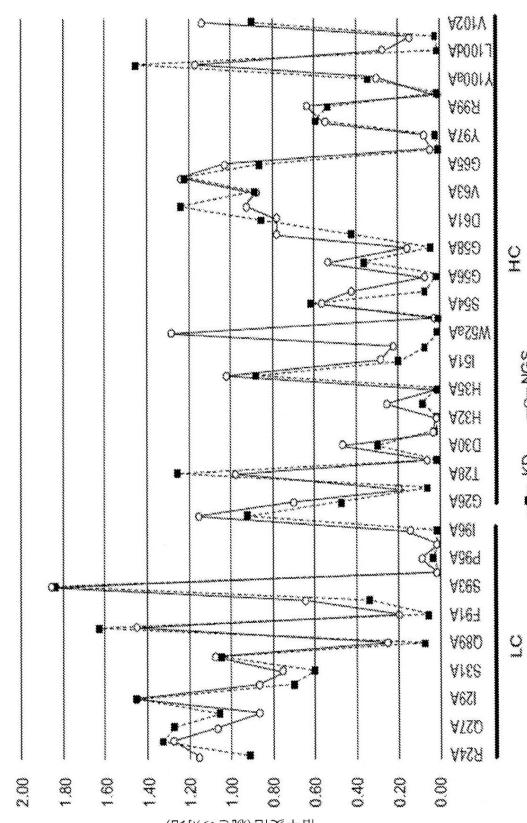
【図22】



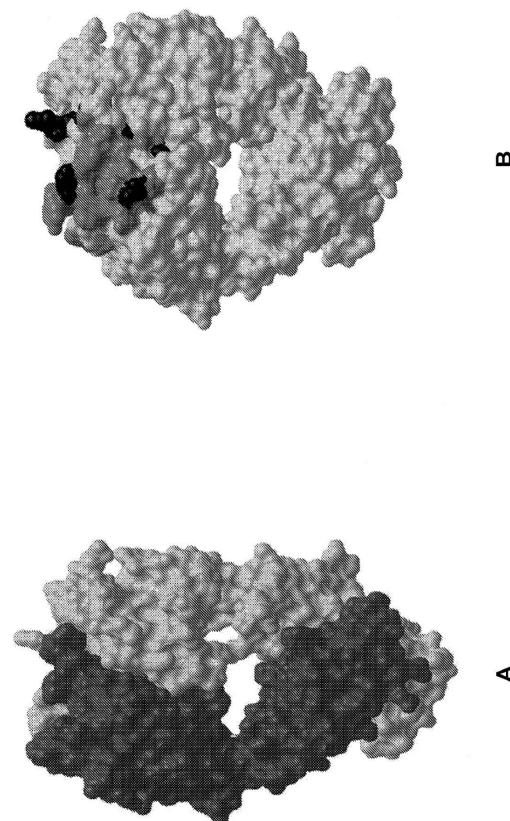
【図 2 3】



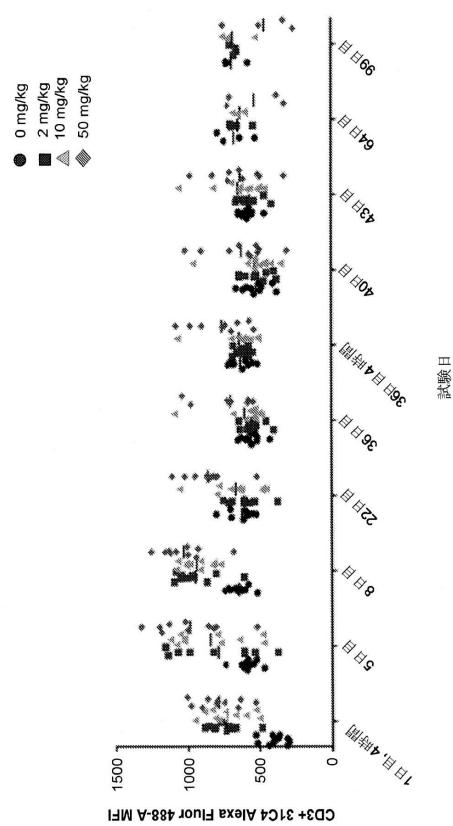
【図 2 4】



【図 2 5】



【図 2 6】



10

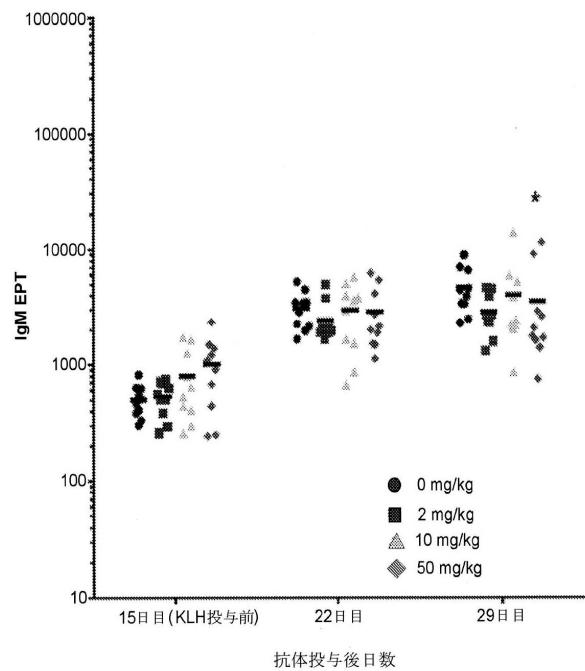
20

30

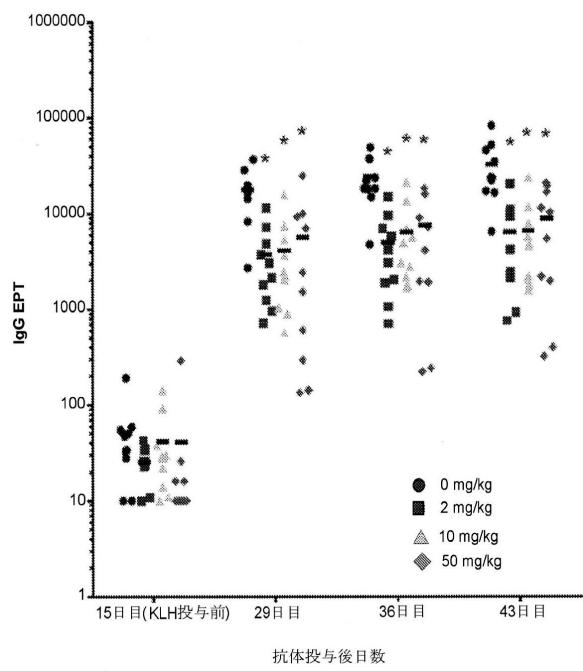
40

50

【図 2 7 A】



【図 2 7 B】



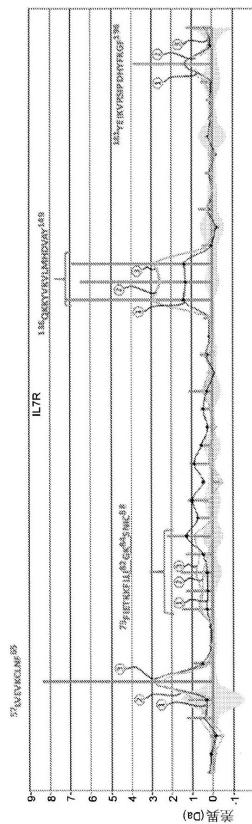
10

20

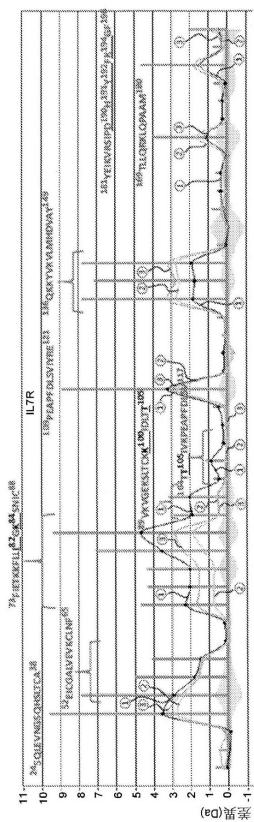
30

40

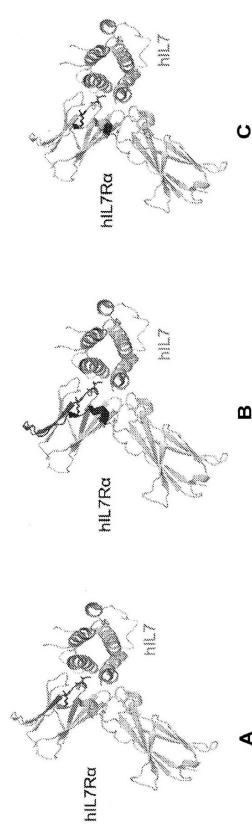
【図 2 8 A】



【図 2 8 C】



【図 2 9】



10

20

30

40

50

【配列表】

0007285936000001.app

## フロントページの続き

## (51)国際特許分類

	F I
A 6 1 P 1/04 (2006.01)	A 6 1 P 1/04
A 6 1 P 3/10 (2006.01)	A 6 1 P 3/10
A 6 1 P 5/14 (2006.01)	A 6 1 P 5/14
A 6 1 P 9/00 (2006.01)	A 6 1 P 9/00
A 6 1 P 11/00 (2006.01)	A 6 1 P 11/00
A 6 1 P 11/06 (2006.01)	A 6 1 P 11/06
A 6 1 P 13/12 (2006.01)	A 6 1 P 13/12
A 6 1 P 17/00 (2006.01)	A 6 1 P 17/00
A 6 1 P 17/06 (2006.01)	A 6 1 P 17/06
A 6 1 P 19/02 (2006.01)	A 6 1 P 19/02
A 6 1 P 25/00 (2006.01)	A 6 1 P 25/00
A 6 1 P 29/00 (2006.01)	A 6 1 P 29/00
A 6 1 P 31/04 (2006.01)	A 6 1 P 29/00 1 0 1
A 6 1 P 37/02 (2006.01)	A 6 1 P 31/04
A 6 1 P 37/06 (2006.01)	A 6 1 P 37/02
A 6 1 P 37/08 (2006.01)	A 6 1 P 37/06
A 6 1 P 43/00 (2006.01)	A 6 1 P 37/08
C 1 2 P 21/08 (2006.01)	A 6 1 P 43/00 1 0 5 A 6 1 P 43/00 1 0 7 A 6 1 P 43/00 1 1 1 A 6 1 P 43/00 1 2 1 C 1 2 P 21/08

## (33)優先権主張国・地域又は機関

米国(US)

## 早期審査対象出願

弁理士 運 敬太

## (72)発明者 ヤムニウク , アーロン・ポール

アメリカ合衆国ニュージャージー州 0 8 5 4 3 , プリンストン , ルート 2 0 6 アンド プロビンス  
・ライン・ロード

## (72)発明者 プロデュア , スコット・ロナルド

アメリカ合衆国ペンシルバニア州 1 8 9 3 8 , ニュー・ホープ , ノース・シュガー・ロード 3 5  
5 3

## (72)発明者 デヤノワ , エカテリーナ

アメリカ合衆国ニュージャージー州 0 8 5 4 3 , プリンストン , ルート 2 0 6 アンド プロビンス  
・ライン・ロード

## (72)発明者 ホワーン , リチャード・ユ - チェン

アメリカ合衆国ニュージャージー州 0 8 5 4 3 , プリンストン , ルート 2 0 6 アンド プロビンス  
・ライン・ロード

## (72)発明者 ワーン , ユン

アメリカ合衆国ニュージャージー州 0 8 5 4 3 , プリンストン , ルート 2 0 6 アンド プロビンス  
・ライン・ロード

## (72)発明者 ランギッシュ , アルフレッド・ロバート

アメリカ合衆国ニュージャージー州 0 8 5 4 3 , プリンストン , ルート 2 0 6 アンド プロビンス  
・ライン・ロード

## (72)発明者 チェン , グオドーン

アメリカ合衆国ニュージャージー州 0 8 5 4 3 , プリンストン , ルート 2 0 6 アンド プロビンス  
・ライン・ロード

## (72)発明者 カール , スティーブン・マイケル

アメリカ合衆国ニュージャージー州 0 8 5 4 3 , プリンストン , ルート 2 0 6 アンド プロビンス  
・ライン・ロード

## (72)発明者 シエン , ホーン

---

アメリカ合衆国ニュージャージー州 08543 , プリンストン , ルート 206 アンド プロビンス  
・ライン・ロード

(72)発明者 パシネ , アチャル・ムケンドラオ

アメリカ合衆国ニュージャージー州 08543 , プリンストン , ルート 206 アンド プロビンス  
・ライン・ロード

(72)発明者 スー , リン・フイ

アメリカ合衆国マサチューセッツ州 02142 , ケンブリッジ , ビニー・ストリート 100

審査官 福間 信子

(56)参考文献 特表 2014 - 532074 (JP , A )

国際公開第 2011 / 094259 (WO , A 2 )

国際公開第 2010 / 017468 (WO , A 1 )

国際公開第 2018 / 104483 (WO , A 1 )

CHUNG B. et al. , Blood, 2007, vol. 110, no.8, p.2803-2810

(58)調査した分野 (Int.Cl. , DB名)

C 12N 15 / 00 - 90

C a p l u s / R E G I S T R Y ( S T N )

G e n B a n k / E M B L / D D B J / G e n e S e q

U n i P r o t / G e n e S e q

S w i s s P r o t / G e n e S e q