

(19)日本国特許庁(JP)

(12)特許公報(B2)

(11)特許番号
特許第7706458号
(P7706458)

(45)発行日 令和7年7月11日(2025.7.11)

(24)登録日 令和7年7月3日(2025.7.3)

(51)国際特許分類		F I	
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
A 6 1 P	13/12 (2006.01)	A 6 1 P	13/12
C 1 2 N	15/13 (2006.01)	C 1 2 N	15/13
C 1 2 N	15/63 (2006.01)	C 1 2 N	15/63
		Z N A	
		N	
		Z	
		請求項の数 13 (全73頁) 最終頁に続く	
(21)出願番号	特願2022-545136(P2022-545136)	(73)特許権者	506042265
(86)(22)出願日	令和3年1月26日(2021.1.26)		メディミューン リミテッド
(65)公表番号	特表2023-511686(P2023-511686 A)		MedImmune Limited
(43)公表日	令和5年3月22日(2023.3.22)		イギリス国 ケンブリッジ シービー2
(86)国際出願番号	PCT/EP2021/051753		0エイエイ ケンブリッジ・バイオメディ
(87)国際公開番号	WO2021/151889		カル・キャンパス フランシス・クリ
(87)国際公開日	令和3年8月5日(2021.8.5)		ック・アヴェニュー 1
審査請求日	令和6年1月12日(2024.1.12)		1 Francis Crick Ave
(31)優先権主張番号	62/966,258		nue, Cambridge Biom
(32)優先日	令和2年1月27日(2020.1.27)		edical Campus, Camb
(33)優先権主張国・地域又は機関	米国(US)		ridge CB2 0AA, UNIT
		(74)代理人	ED KINGDOM
			100106518
		(74)代理人	弁理士 松谷 道子
			100138911
			最終頁に続く

(54)【発明の名称】 腎疾患の治療に使用するための抗αvβ8インテグリン抗体

(57)【特許請求の範囲】

【請求項1】

(a) アミノ酸配列

R S W I S

を含む重鎖可変領域 C D R 1 ;

(b) アミノ酸配列

E I N P D S S T I N Y T S S L

を含む重鎖可変領域 C D R 2 ;

(c) アミノ酸配列

L I T T E D Y

を含む重鎖可変領域 C D R 3 ; 並びに

(d) アミノ酸配列

K A S Q D I N K Y L S

を含む軽鎖可変領域 C D R 1 ;

(e) アミノ酸配列

Y A N R L V D

を含む軽鎖可変領域 C D R 2 ; 及び

(f) アミノ酸配列

L Q Y D V F P Y T

を含む軽鎖可変領域 C D R 3

を含む抗 $\alpha v \beta 8$ インテグリン抗体又はその抗原結合断片。

【請求項 2】

重鎖可変領域 (V_H) アミノ酸配列

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAVSGFVFSRSWISWVRQA
PGKGLEWIGEINPDSSTINYTSSSLKDRFTISRDNANKNSLY
LQMNSLRAEDTAVYYCAILITTEDYWGQGTTVTVSS及び

軽鎖可変領域 (V_L) アミノ酸配列

DIQLTQSPSSLSASVGDRTITCKASQDINKYLSWFQQKP
GKAPKSLIYYANRLVDGVPSPRFSGSGSGTDFTLTISSLQP
EDFATYYCLQYDVFPTYTFGGGTKVEIK

を含む、請求項 1 に記載の抗 $\alpha v \beta 8$ インテグリン抗体又はその抗原結合断片。

【請求項 3】

腎疾患を有する対象における腎線維症を治療するための医薬組成物であって、請求項 1 又は 2 に記載の抗体又はその抗原結合断片と、薬学的に許容される担体、賦形剤又は希釈剤を含む、医薬組成物。

【請求項 4】

対象における血漿クレアチニン及び／又は尿中タンパク質排泄レベルの増加を特徴とする腎傷害を治療するための医薬組成物であって、請求項 1 又は 2 に記載の抗体又はその抗原結合断片と、薬学的に許容される担体、賦形剤又は希釈剤とを含み、前記対象は、腎疾患を有してもよい、医薬組成物。

【請求項 5】

(i) 前記腎疾患は、糖尿病性腎症 (DN)、慢性腎疾患 (CKD)、急性腎疾患、高血圧関連腎疾患、高血糖関連腎疾患、腎線維症、炎症関連腎疾患、末期腎疾患 (ESRD)、自己免疫関連腎線維症 (例えば、ループス腎炎) 及び腎移植後の線維症から選択される；及び／又は

(ii) 前記抗体又はその抗原結合断片は、腎細胞及び／又は腎組織に発現する $\alpha v \beta 8$ インテグリンに結合し、前記腎細胞及び／又は腎組織において、TGF- β のその潜在型からの活性化を遮断する、
請求項 3 又は 4 に記載の医薬組成物。

【請求項 6】

腎疾患を有する前記対象の腎組織の足細胞及び間質尿管細胞における $\alpha v \beta 8$ インテグリンの発現の増加に関連する線維症を減弱化又は抑止する、請求項 3～5 のいずれか一項に記載の医薬組成物。

【請求項 7】

腎疾患の補助治療薬又は治療と組み合わせて前記対象に投与される、請求項 3～6 のいずれか一項に記載の医薬組成物。

【請求項 8】

請求項 1 又は請求項 2 に記載の抗体又はその抗原結合断片をコードするポリヌクレオチド。

【請求項 9】

V_H 領域をコードする配列は、核酸配列

【化 1】

gaggtgcagctggtggaaagcggcggaggactggtgcagcctggcggcagcctgagactgagct
gcgccgtgtccggcttcgtgttcagccggagctggatcagctgggtccgccaggcccccaggga
gggcccgggaatggatcgccgagatcaaccccgacagcagcaccatcaactacaccagcagcctg
aaggaccggttcaccaacagccgggacaacgccaagaacagcctgtacctgcagatgaacagcc
tgccggccgaggacaccgcccgtgtactactgcccacatcctcatcaccaccgaggactactgggg
ccagggcaccaccgtgaccgtgtcctct

を含み、 V_L 領域をコードする配列は、核酸配列

【化 2】

gacatccagctgacccagagccccagcagcctgagcgccagcgtggggcgacagagtgaccatca
catgcaaggccagccaggacatcaacaagtacctgagctgggtccagcagaagcccggaaggc
ccccaaagagcctgatctactacgccaaccggctgggtggacggcgtgccagcagattttctggc
agcggcagcggcaccgacclccacccclgaccalcagcagccclgcagcccgaggacclccgccaaccl
actactgctgcagtagcagcgtgttccctacaccttcggcggagggcaccaaggtggaaatcaa
g

を含む、請求項 8 に記載のポリヌクレオチド。

【請求項 10】

請求項 8 又は 9 に記載のポリヌクレオチドを含む発現ベクター。

【請求項 11】

請求項 10 に記載の発現ベクターを含む細胞。

【請求項 12】

請求項 8 又は 9 に記載のポリヌクレオチドと、薬学的に許容される担体、賦形剤又は希釈剤とを含む、医薬組成物。

【請求項 13】

請求項 1 又は 2 に記載の抗 $\alpha v \beta 8$ インテグリン抗体又はその抗原結合断片、或いは前記抗体又はその抗原結合断片を含む医薬組成物を含むキット。

【発明の詳細な説明】

【背景技術】

【0001】

腎疾患は一般に、個体の腎臓が損傷を受け、血液からの老廃物や過剰な水分を濾過する働き、又は血圧の制御を助ける働きを適切に行うことができない病態を指す。腎臓には、血圧を調節し、ビタミン D を産生し、赤血球の産生を制御するホルモンを放出する機能がある。腎臓の損傷は、体内に老廃物を蓄積させる可能性があり、また、個体における心疾患、心臓発作、又は脳卒中などの他の健康問題のリスクを惹起又は増加させる可能性がある。腎疾患の主なリスク因子には、糖尿病、高血圧及び腎不全の家族歴が含まれる。腎疾患には、突然の、時には一時的な腎機能の喪失を伴う急性腎障害（AKI）、及び、長期間にわたって腎機能の低下を引き起こす病態を指す慢性腎疾患（CKD）が含まれ得る。CKD は、長年にわたって進行し、末期腎疾患（ESRD）をもたらす得る。

【0002】

アメリカ腎臓基金（American kidney Fund）の 2015 腎疾患統計によると、腎疾患は米国における死因の第 9 位である。米国の一般成人人口の約 10%～14% が CKD を有しており、これは女性においてより一般的である。しかしながら、CKD の男性は、女性よりも、CKD の病態が腎不全又は ESRD に進行する可能性が 50% 高い。さらに、特定の人種及び民族集団は、他の集団よりも腎不全のリスクが高い。例えば、ESRD の有病率は、白人と比較して、アフリカ系アメリカ人で約 3.7 倍、先住アメリカ人で約 1.4 倍、アジア系アメリカ人で約 1.5 倍高い。非ヒスパニック系アメリカ人と比較して、ヒスパニック系アメリカ人の ESRD を有する可能性はほぼ 1.5 倍である。

【0003】

腎疾患の進行は、多くの場合、腎臓の機能組織の完全な破壊をもたらす、最終的に、罹患した個体は、生涯にわたる透析が必要となるか、又は腎臓の同種移植を受けることになり得る。腎疾患の進行は線維症を特徴とし、これは糸球体の破壊（糸球体硬化症）及び尿細管の破壊（尿細管間質性線維症）の一因となる。腎線維症の進行における重要な因子は、サイトカイン TGF- β 、その相互作用分子及び受容体、並びにその下流の細胞シグナル伝達カスケードであり、これらは腎線維症及び腎機能低下をもたらす病態生理学的細胞機構を活性化させる。腎臓における TGF- β の発現及び TGF- β の排出は、糸球体濾過量（GFR）低下及びタンパク質漏出（タンパク尿）と関連する。腎疾患の進行は、多く

の場合、腎臓の機能組織の完全な破壊をもたらし、罹患した個体は、生涯にわたる透析が必要となるか、又は腎臓の同種移植を受けることになる。分子レベルでは、腫瘍性疾患及び炎症を含む多くの病態に関与する $TGF-\beta$ と、その受容体及びシグナル伝達機構間の結合及び相互作用は依然としてよくわかっていない。

【0004】

腎疾患の治療のために、望ましくないオフターゲット効果をもたらさず、且つ正常な細胞機能に対するこのサイトカインの他の生理学的寄与に悪影響を及ぼさない、 $TGF-\beta$ 活性の組織及び疾患特異的モジュレーターが非常に必要とされている。本明細書に記載される方法及び試薬は、腎疾患に対する有利且つ有益な治療、並びに腎細胞及び腎組織の病態において、また腎疾患の機序において重要な役割を果たすことが発見されている重要な

10

【発明の概要】

【課題を解決するための手段】

【0005】

以下に記載するように、本開示は、 $\alpha v \beta 8$ インテグリンに特異的に結合する抗体又はその抗原結合断片、すなわち抗 $\alpha v \beta 8$ インテグリン抗体を用いて、腎疾患、特に慢性腎疾患 (CKD) 及び／又はその症状を有する対象、特に哺乳動物対象、より特にヒト対象を治療する治療方法を特徴とする。本明細書に記載の知見に基づく、腎細胞及び腎組織、特に、腎疾患、例えば CKD を有する対象におけるような罹患腎細胞及び腎組織上の $\alpha v \beta 8$ インテグリンの高レベルの発現は、抗 $\alpha v \beta 8$ インテグリン抗体又はその抗原結合断片が、CKD などの腎疾患に罹患した対象の罹患腎組織に発現する $\alpha v \beta 8$ インテグリンを特異的に標的とすることを可能にする。記載の抗 $\alpha v \beta 8$ インテグリン抗体は、 $\alpha v \beta 1$ 、 $\alpha v \beta 3$ 、 $\alpha v \beta 5$ 、又は $\alpha v \beta 6$ などの他のインテグリン受容体アイソフォームと交差反応しない。実施形態では、抗 $\alpha v \beta 8$ インテグリン抗体は、単離され、且つ精製された抗体である。特定の実施形態では、抗 $\alpha v \beta 8$ インテグリン抗体は、ヒト化抗体である。別の特定の実施形態では、抗 $\alpha v \beta 8$ インテグリン抗体は、特異性、親和性及び／又は安定性など、良好な構造特性、結合特性及び／又は機能特性を有するように、ヒト化され、親和性が最適化される。

20

【0006】

本明細書に記載の抗 $\alpha v \beta 8$ インテグリン抗体及び方法は、腎細胞及び腎組織、特に腎臓の上皮組織が、 $TGF-\beta$ サイトカイン ($LAP-TGF-\beta$) の潜在型の受容体である高レベルの $\alpha v \beta 8$ インテグリンを発現するという発見に基づいて開発された。特に、腎臓上皮に発現する $\alpha v \beta 8$ インテグリンのレベルの上昇は、本明細書に記載の実験的实施形態によって証明されるように、腎疾患を有するヒト対象及び動物モデルにおける腎組織の線維症並びに／又は線維症及び線維性疾患の重症度とよく相関することが発見された。特に、正常な腎細胞及び腎組織と比較して、糖尿病性腎症 (DN) などの腎疾患を有する個体由来の腎臓の上皮組織中の糸球体及び尿細管の細胞は、本明細書に例示されるように、特に罹患腎臓の足細胞及び尿細管 (近位及び遠位皮質尿細管など) において、高レベルの $\alpha v \beta 8$ インテグリン発現を示した。糖尿病性腎症に加えて、腎組織の線維症が腎臓の活動及び機能を低下させる損傷や機能不全をもたらす他の非限定的な腎臓疾患としては、慢性腎疾患 (CKD)、急性腎疾患、高血圧関連腎疾患、高血糖関連腎疾患、腎線維症、炎症関連腎疾患、末期腎疾患 (ESRD)、自己免疫関連腎線維症 (例えば、ループス腎炎) 及び腎臓移植後の線維症などが挙げられる。

30

40

【0007】

腎疾患及び CKD の治療のために、潜在型の $TGF-\beta$ に結合する $\alpha v \beta 8$ インテグリンは、本明細書に記載の抗体試薬を含む方法の実施によって、CKD などの腎疾患の特徴である線維症及び組織損傷を低減及び減弱化させるために非常に有効且つ有用な標的であることが示されている。本明細書に記載され例示されているように、 $\alpha v \beta 8$ インテグリンは、腎細胞及び腎組織、特に腎臓の上皮細胞及び上皮組織、例えば、腎臓の糸球体足細

50

胞及び尿細管細胞における $\alpha v \beta 8$ インテグリンの高レベルの発現、並びに腎疾患を有する対象の腎組織の線維症に関与し、その損傷効果を増大させるTGF- β の活性の調節を考慮すると、腎線維症にこれまでに認識されていない直接的で且つ大きな役割を果たす。本明細書に記載の方法で使用される抗 $\alpha v \beta 8$ インテグリン抗体は、腎細胞及び腎組織における $\alpha v \beta 8$ インテグリンとそのTGF- β リガンドの両方の活性を特異的且つ選択的に調節することができ、それにより、 $\alpha v \beta 8$ インテグリンのそのリガンドである潜在的TGF- β への結合によって引き起こされる腎組織における線維症の低減、抑止、減弱化、減少、及び／又は阻止をもたらす、次に、活性TGF- β の活性化／放出を可能にし、腎組織の線維症を引き起こす際の活性TGF- β の有害な効果を解放する。

【0008】

TGF- β が腎組織において活性化され得る1つの方法は、潜在型関連ペプチド(LAP) TGF- β として、腎細胞の膜に発現する $\alpha v \beta 8$ インテグリンと結合することによるものである。本明細書に示すように、腎疾患を有し腎線維症を伴う対象の腎組織では、 $\alpha v \beta 8$ インテグリンの発現が著しく上昇することがわかった。腎臓においてTGF- β の活性化が長期に亘って持続すると、腎組織の線維症を発症する。本明細書に記載の抗 $\alpha v \beta 8$ インテグリン抗体による $\alpha v \beta 8$ インテグリンの標的化、特に高レベルの $\alpha v \beta 8$ インテグリンを発現する腎組織における $\alpha v \beta 8$ インテグリンの標的化は、腎疾患、例えばCKDに対する有効な治療法である一方、身体の他の非腎臓組織における無差別的なTGF- β の標的化し抑制する多くの潜在的な全身効果は回避されることが決定された。UUOモデルは線維症のモデルであり、本明細書に記載の抗 $\alpha v \beta 8$ インテグリン抗体によって示されるように、線維症及びTGF- β 活性化の阻害は、CKD進行の低減及び／又は阻止をもたらす。本明細書に記載されるように、罹患及び／又は線維性腎臓に多く発現する $\alpha v \beta 8$ インテグリンに特異的に結合する高親和性抗 $\alpha v \beta 8$ インテグリン抗体はまた、腎細胞及び腎組織の膜における $\alpha v \beta 8$ インテグリンと潜在型TGF- β との相互作用を選択的に低減、抑止、減弱化、減少、中和及び／又は阻害し、或いは防止する。 $\alpha v \beta 8$ インテグリンを発現しない他の組織及び臓器は影響を受けない。腎臓細胞発現 $\alpha v \beta 8$ インテグリンに対する抗 $\alpha v \beta 8$ 抗体の特異的結合はそれによって、CKDなどの腎疾患、及び関連する線維症を治療するように、罹患及び／又は線維性腎臓におけるTGF- β の活性化を遮断し、非腎臓細胞及び組織におけるTGF- β の活性に対する重大な有害作用は最小限であるか、又は全く生じない。

【0009】

有利には、抗 $\alpha v \beta 8$ インテグリン抗体は、腎組織の線維症及び腎疾患の発症及び進行に対する $\alpha v \beta 8$ インテグリンと潜在的TGF- β との相互作用の効果を特異的に軽減する一方、正常な細胞機能に対するTGF- β 活性の寄与の多くを回避する。実施形態では、本明細書に記載の方法は、CKD及び他の腎疾患、例えば糖尿病性腎症(DN)関連腎疾患、急性腎疾患、高血圧関連腎疾患、高血糖関連腎疾患、腎線維症、炎症関連腎疾患、末期腎疾患(ESRD)、自己免疫関連腎線維症(例えば、ループス腎炎)及び腎移植後の線維症などの、線維症が関与する腎疾患を有する個体の機能性腎上皮を保護するための治療的利益をさらに提供する。

【0010】

一態様では、腎疾患を有する対象における腎線維症を治療する方法であって、対象に有効量の抗 $\alpha v \beta 8$ インテグリン抗体又はその抗原結合断片を投与することを含む方法が提供される。

【0011】

別の態様では、腎疾患を有する対象における腎線維症を低減又は減弱化させる方法であって、それを必要とする対象に有効量の抗 $\alpha v \beta 8$ インテグリン抗体又はその抗原結合断片を投与し、それによって腎臓における線維症を低減又は減弱化させることを含む方法が提供される。

【0012】

別の態様では、腎線維症に関連する $\alpha v \beta 8$ インテグリンの活性を抑止する方法であっ

10

20

30

40

50

て、それを必要とする対象に、有効量の抗 $\alpha v \beta 8$ インテグリン抗体又はその抗原結合断片を投与することを含み、潜在型TGF- β への $\alpha v \beta 8$ インテグリンの結合を遮断し、それによって腎線維症に関連する $\alpha v \beta 8$ インテグリンの活性を抑止する方法が提供される。本方法の一実施形態では、対象は腎疾患を有する。

【0013】

さらに別の態様では、腎細胞及び腎組織におけるTGF- β のその潜在型からの活性化を遮断することによって腎線維症を治療する方法であって、それを必要とする対象に、有効量の抗 $\alpha v \beta 8$ インテグリン抗体又はその抗原結合断片を投与することを含み、 $\alpha v \beta 8$ インテグリンがTGF- β の潜在型に結合して活性TGF- β を産生するのを遮断し、それによって腎線維症を治療することを含む方法が提供される。本方法の一実施形態では、対象は腎疾患を有する。

10

【0014】

血漿クレアチニン及び／又は尿中タンパク質排泄レベルの増加を特徴とする腎傷害を治療する方法であって、それを必要とする対象に、有効量の抗 $\alpha v \beta 8$ インテグリン抗体又はその抗原結合断片を投与し、ここで、抗 $\alpha v \beta 8$ インテグリン抗体又はその抗原結合断片の投与は対象における血漿クレアチニン及び／又は尿中タンパク質排泄レベルを抑止し、それによって腎傷害を治療することを含む方法が提供される。

【0015】

一実施形態では、抗 $\alpha v \beta 8$ インテグリン抗体又はその抗原結合断片は、対象の腎組織における $\alpha v \beta 8$ 媒介TGF- β 活性化を減少させる。

20

【0016】

本明細書に記載される上記方法のいずれかの態様の実施形態では、腎疾患は、糖尿病性腎症(DN)、慢性腎疾患(CKD)、急性腎疾患、高血圧関連腎疾患、高血糖関連腎疾患、腎線維症、炎症関連腎疾患、末期腎疾患(ESRD)、自己免疫関連腎線維症(例えば、ループス腎炎)及び腎移植後の線維症などから選択される。特定の実施形態では、腎疾患はCKDである。特定の実施形態では、腎疾患は糖尿病性腎症である。

【0017】

本明細書に記載される上記方法のいずれかの態様の一実施形態では、抗 $\alpha v \beta 8$ インテグリン抗体又はその抗原結合断片は、腎細胞及び／又は腎組織に発現する $\alpha v \beta 8$ インテグリンに結合し、TGF- β のその潜在型からの活性化を遮断する。

30

【0018】

本明細書に記載の別の態様として、腎組織における腎線維症を検出する方法であって、腎組織を有効量の検出可能に標識された抗 $\alpha v \beta 8$ インテグリン抗体又はその抗原結合断片と接触させ、腎組織における $\alpha v \beta 8$ インテグリンへの抗 $\alpha v \beta 8$ インテグリン抗体の結合を検出することを含む方法が提供される。

【0019】

本明細書に記載される上記方法のいずれかの態様の一実施形態では、 $\alpha v \beta 8$ インテグリンに特異的に結合する抗 $\alpha v \beta 8$ インテグリン抗体又はその抗原結合断片は、

(a) アミノ酸配列

RYWMS (配列番号1)

40

を含む重鎖可変領域相補性決定領域1(CDR1)；

(b) アミノ酸配列

EINPDSSSTINYTSSL (配列番号2)

を含む重鎖可変領域相補性決定領域2(CDR2)；及び

(c) アミノ酸配列

LITTEDY (配列番号3)

を含む重鎖可変領域相補性決定領域3(CDR3) CDR3；並びに

(d) アミノ酸配列

KASQDINSYLS (配列番号4)

を含む軽鎖可変領域CDR1；

50

(e) アミノ酸配列

Y A N R L V D (配列番号 5)

を含む軽鎖可変領域 C D R 2 ; 及び

(f) アミノ酸配列

L Q Y D E F P Y T (配列番号 6)

を含む軽鎖可変領域 C D R 3

を含む。

【 0 0 2 0 】

本明細書に記載される上記方法のいずれかの態様の別の実施形態では、 $\alpha \nu \beta 8$ インテグリンに特異的に結合する抗 $\alpha \nu \beta 8$ インテグリン抗体又はその抗原結合断片は、重鎖可変領域 (V_H) アミノ酸配列

E V Q L V E S G G G L V Q P G G S L R L S C A V S G F V F S R Y W M S W V R Q A
P G K G L E W I G E I N P D S S T I N Y T S S L K D R F T I S R D N A K N S L Y
L Q M N S L R A E D T A V Y Y C A I L I T T E D Y W G Q G T T V T V S S (配列番号 7) ; 及び

軽鎖可変領域 (V_L) アミノ酸配列

D I Q L T Q S P S S L S A S V G D R V T I T C K A S Q D I N S Y L S W F Q Q K P
G K A P K S L I Y Y A N R L V D G V P S R F S G S G S G T D F T L T I S S L Q P
E D F A T Y Y C L Q Y D E F P Y T F G G G T K V E I K (配列番号 8)

を含む。

【 0 0 2 1 】

本明細書に記載される上記方法のいずれかの態様の一実施形態では、 $\alpha \nu \beta 8$ インテグリンに特異的に結合する抗 $\alpha \nu \beta 8$ インテグリン抗体又はその抗原結合断片は、

(a) アミノ酸配列

R S W I S (配列番号 9)

を含む重鎖可変領域 C D R 1 ;

(b) アミノ酸配列

E I N P D S S T I N Y T S S L (配列番号 2)

を含む重鎖可変領域 C D R 2 ; 及び

(c) アミノ酸配列

L I T T E D Y (配列番号 3)

を含む重鎖可変領域 C D R 3 ; 並びに

(d) アミノ酸配列

K A S Q D I N K Y L S (配列番号 10)

を含む軽鎖可変領域 C D R 1 ;

(e) アミノ酸配列

Y A N R L V D (配列番号 5)

を含む軽鎖可変領域 C D R 2 ; 及び

(f) アミノ酸配列

L Q Y D V F P Y T (配列番号 11)

を含む軽鎖可変領域 C D R 3

を含む。

【 0 0 2 2 】

本明細書に記載される上記方法のいずれかの態様の別の実施形態では、 $\alpha \nu \beta 8$ インテグリンに特異的に結合する抗 $\alpha \nu \beta 8$ インテグリン抗体 (本明細書では「B5-15」と称する)、又はその抗原結合断片は、重鎖可変領域 (V_H) アミノ酸配列

E V Q L V E S G G G L V Q P G G S L R L S C A V S G F V F S R S W I S W V R Q A
P G K G L E W I G E I N P D S S T I N Y T S S L K D R F T I S R D N A K N S L Y
L Q M N S L R A E D T A V Y Y C A I L I T T E D Y W G Q G T T V T V S S (配列番号 12) ; 及び

10

20

30

40

50

軽鎖可変領域 (V_L) アミノ酸配列

DIQLTQSPSSLSASVGDRVTITCKASQDINKYLSWFFQQKP
GKAPKSLIYYANRLVDGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQP
EDFATYYCLQYDVFPTYTFGGGKVEIK (配列番号 13)

を含む。

【0023】

本明細書に記載される上記治療方法のいずれかの態様の実施形態では、 $\alpha\text{v}\beta 8$ インテグリンに特異的に結合する抗 $\alpha\text{v}\beta 8$ インテグリン抗体又はその抗原結合断片は、腎疾患の補助治療薬又は治療と組み合わせて対象に投与される。実施形態では、 $\alpha\text{v}\beta 8$ インテグリンに特異的に結合する抗 $\alpha\text{v}\beta 8$ インテグリン抗体又はその抗原結合断片は、補助治療薬又は治療の施行の前、施行と同時に、又は施行後に対象に投与される。

10

【0024】

本明細書に記載される上記治療方法のいずれかの態様の一実施形態では、抗 $\alpha\text{v}\beta 8$ インテグリン抗体又はその抗原結合断片は、発現が増加した線維性腎細胞及び腎組織の $\alpha\text{v}\beta 8$ インテグリンに結合し、CKDなどの腎疾患を有する対象の腎組織の足細胞及び間質尿細管細胞における $\alpha\text{v}\beta 8$ インテグリンの発現の増加と関連する線維症を減弱化又は抑止する。

【0025】

本明細書に記載される別の態様では、抗 $\alpha\text{v}\beta 8$ インテグリン抗体又はその抗原結合断片であって、

20

(a) アミノ酸配列

RYWMS (配列番号 1)

を含む重鎖可変領域 CDR1:

(b) アミノ酸配列

EINPDSSSTINYTSSL (配列番号 2)

を含む重鎖可変領域 CDR2; 及び

(c) アミノ酸配列

LITTEDY (配列番号 3)

を含む重鎖可変領域 CDR3; 並びに

(d) アミノ酸配列

KASQDINSYLS (配列番号 4)

を含む軽鎖可変領域 CDR1;

(e) アミノ酸配列

YANRLVD (配列番号 5)

を含む軽鎖可変領域 CDR2; 及び

(f) アミノ酸配列

LQYDEFPTYT (配列番号 6)

を含む軽鎖可変領域 CDR3

を含む抗体又はその抗原結合断片が提供される。

【0026】

30

本明細書に記載される別の態様では、抗 $\alpha\text{v}\beta 8$ インテグリン抗体又はその抗原結合断片であって、

40

重鎖可変領域 (V_H) アミノ酸配列

EVQLVESGGGLVQP GGS LRLSCAVSGFVFSRYWMSWVRQA
PGKGLEWIGEINPDSSSTINYTSSLKDRFTISRDN AKNSLY
LQMNSLRAEDTAVYYCAILITTEDYWGQGTTVTVSS (配列番号 7); 及び

軽鎖可変領域 (V_L) アミノ酸配列

DIQLTQSPSSLSASVGDRVTITCKASQDINSYLSWFFQQKP
GKAPKSLIYYANRLVDGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQP

50

EDFATYYCLQYDEFPTYTFGGGTKVEIK (配列番号 8)

を含む抗体又はその抗原結合断片が提供される。

【0027】

一実施形態では、上記抗体又はその抗原結合断片は、CKDなどの腎疾患を有する対象の線維性腎細胞及び腎組織で発現が増加した $\alpha\text{v}\beta 8$ インテグリンに結合する。一実施形態では、抗 $\alpha\text{v}\beta 8$ インテグリン抗体又はその抗原結合断片は、線維性腎細胞及び腎組織で発現が増加した $\alpha\text{v}\beta 8$ インテグリンに特異的に結合し、 $\alpha\text{v}\beta 8$ インテグリンの潜在型TGF- β への結合を遮断し、それによって、腎線維症に関連する $\alpha\text{v}\beta 8$ インテグリンの活性を抑止する。一実施形態では、抗 $\alpha\text{v}\beta 8$ インテグリン抗体又はその抗原結合断片は、腎疾患を有する対象の腎組織の足細胞及び間質尿細管細胞における $\alpha\text{v}\beta 8$ インテグリンの発現の増加に関連する線維症を減弱化又は抑止する。

10

【0028】

本明細書に記載される別の態様では、抗 $\alpha\text{v}\beta 8$ インテグリン抗体又はその抗原結合断片であって、

(a) アミノ酸配列

RSWIS (配列番号 9)

を含む重鎖可変領域CDR1；

(b) アミノ酸配列

EINPDSSSTINYTSSL (配列番号 2)

を含む重鎖可変領域CDR2；及び

20

(c) アミノ酸配列

LITTEDY (配列番号 3)

を含む重鎖可変領域CDR3；並びに

(d) アミノ酸配列

KASQDINKYLS (配列番号 10)

を含む軽鎖可変領域CDR1；

(e) アミノ酸配列

YANRLVD (配列番号 5)

を含む軽鎖可変領域CDR2；及び

(f) アミノ酸配列

30

LQYDVFPYT (配列番号 11)

を含む軽鎖可変領域CDR3

を含む抗体又はその抗原結合断片が提供される。

【0029】

本明細書に記載される別の態様では、抗 $\alpha\text{v}\beta 8$ インテグリン抗体又はその抗原結合断片であって、重鎖可変領域(V_H)アミノ酸配列

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAVSGFVFSRSWISWVRQAPGKGLEWIGEINPDSSSTINYTSSLKDRFTISRDNANKNSLYLQMNSLRAEDTAVYYCAILITTEDYWGQGTTVTVSS (配列番号 12) 及び

40

軽鎖可変領域(V_L)アミノ酸配列

DIQLTQSPSSLSASVGDRTITCKASQDINKYLSWFFQQKPGKAPKSLIYYANRLVDGVPSPRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCLQYDVFPYTTFGGGTKVEIK (配列番号 13)

を含む抗体又はその抗原結合断片が提供される。

【0030】

一実施形態では、上記抗体又はその抗原結合断片は、CKDなどの腎疾患を有する対象の線維性腎細胞及び腎組織で発現が増加した $\alpha\text{v}\beta 8$ インテグリンに結合する。一実施形態では、抗 $\alpha\text{v}\beta 8$ インテグリン抗体又はその抗原結合断片は、線維性腎細胞及び腎組織で発現が増加した $\alpha\text{v}\beta 8$ インテグリンに特異的に結合し、 $\alpha\text{v}\beta 8$ インテグリンの潜在

50

型 TGF- β への結合を遮断し、それによって、腎線維症に関連する $\alpha v \beta 8$ インテグリンの活性を抑止する。一実施形態では、抗 $\alpha v \beta 8$ インテグリン抗体又はその抗原結合断片は、腎疾患を有する対象の腎組織の足細胞及び間質尿細管細胞における $\alpha v \beta 8$ インテグリンの発現の増加に関連する線維症を減弱化又は抑止する。

【0031】

上記態様のいずれかの一実施形態では、抗 $\alpha v \beta 8$ インテグリン抗体又はその抗原結合断片は、IgG クラスのものである。特定の実施形態では、抗体又はその抗原結合断片は、IgG1 アイソタイプである。

【0032】

別の態様では、 $\alpha v \beta 8$ インテグリンへの結合について、上記の態様に記載の抗 $\alpha v \beta 8$ インテグリン抗体のいずれかの抗体又はその抗原結合断片と競合する抗 $\alpha v \beta 8$ インテグリン抗体又はその抗原結合断片が提供される。一実施形態では、抗 $\alpha v \beta 8$ インテグリン抗体又はその抗原結合断片は、IgG 抗体である。一実施形態では、抗 $\alpha v \beta 8$ インテグリン抗体又はその抗原結合断片は、IgG1 抗体である。

10

【0033】

別の態様では、本明細書に記載の抗 $\alpha v \beta 8$ インテグリン抗体又はその抗原結合断片をコードするポリヌクレオチドが提供される。一実施形態では、抗体の V_H 領域をコードするポリヌクレオチド配列は、以下の核酸配列

【化1】

gaggtgcagctggtggaaagcggcggaggactggtgcagcctggcggcagcctgagactgagct
gcgccgtgtccggccttcgtgttcagccggagctggatcagctgggtccgccaggcccccaggga
gggcctggaatggatcggcgagatcaaccccgacagcagcaccatcaactacaccagcagcctg
aaggaccggttcaccatcagccgggacaacgccaagaacagcctgtacctgcagatgaacagcc
tgccgggccgaggacaccgcccgtgtactactgcgccatcctcatcaccaccgaggactactggg
ccagggcaccaccgtgaccgtgtcctct (配列番号14)

20

を含み、

抗体の V_L 領域をコードするポリヌクレオチド配列は、以下の核酸配列

【化2】

gacatccagctgacccagagcccccagcagcctgagcgccagcgtgggcccagagagtgaccatca
catgcaaggccagccaggacatcaacaagtacctgagctggttccagcagaagcccggcaaggc
ccccaagagcctgatctactacgccaaaccggctggtggacggcgtgccagcagattttctggc
agcggcagcggcaccgacttcaccctgaccatcagcagcctgcagcccaggacttcgccacct
actactgcctgcagtagcagctgttcccctacaccttcggcggaggcaccgaaggtggaaatcaa
g (配列番号15)

30

を含む。

【0034】

別の態様では、上記のポリヌクレオチドを含む発現ベクターが提供される。実施形態では、発現ベクターは、原核生物、真核生物、又は哺乳動物の発現ベクターである。

40

【0035】

別の態様では、上記の発現ベクターを含む細胞が提供される。実施形態では、細胞は、原核生物、真核生物、又は哺乳動物の宿主細胞である。

【0036】

別の態様では、上記の抗 $\alpha v \beta 8$ インテグリン抗体又はその抗原結合断片と、薬学的に許容される担体、賦形剤、又は希釈剤とを含む医薬組成物が提供される。

【0037】

別の態様では、上記のポリヌクレオチドと、薬学的に許容される担体、賦形剤、又は希釈剤とを含む医薬組成物が提供される。

【0038】

50

別の態様では、本明細書に記載の抗 $\alpha v \beta 8$ インテグリン抗体又はその抗原結合断片を含むキット、或いは抗 $\alpha v \beta 8$ インテグリン抗体又はその抗原結合断片を含む医薬組成物が提供される。

【0039】

本開示のその他の特徴及び利点は、詳細な説明及び特許請求の範囲から明らかになるであろう。

【0040】

定義

特に定義しない限り、本明細書で使用される全ての技術及び科学用語は、本発明が属する技術分野の当業者が一般に理解する意味を有する。以下の参考文献は、本開示で使用する用語の多くの一般的な定義を当業者に提供するものである：Singleton et al., Dictionary of Microbiology and Molecular Biology (2nd ed. 1994); The Cambridge Dictionary of Science and Technology (Walker ed., 1988); The Glossary of Genetics, 5th Ed., R. Rieger et al. (eds.), Springer Verlag (1991); 及びHale & Marham, The Harper Collins Dictionary of Biology (1991)。本明細書で使用される場合、以下の用語は、別段の指定がない限り、下のそれらに帰属する意味を有する。

【0041】

「薬剤」という用語は、タンパク質、ポリペプチド、ペプチド（又はその断片若しくは部分）、核酸分子、小化合物、薬物、又は医薬品を指す。薬剤は、アンタゴニストであり得、同族リガンドなどの別の分子の活性を遮断又は阻害し得る。

【0042】

「抗体」という用語は、本開示で使用される場合、免疫グロブリン又はその断片、部分若しくは誘導体を指し、インビトロで産生されるかインビボで産生されるかにかかわらず、抗原結合部位を含む任意のポリペプチドを包含する。この用語には、ポリクローナル、モノクローナル、単一特異的、多特異的、非特異的、ヒト化、単鎖、キメラ、合成、組換え、ハイブリッド、変異型、及びグラフト化抗体が含まれるが、これらに限定されない。

「インタクト抗体」のように「インタクトな」という用語で特に修飾されていない限り、本開示の目的上、「抗体」という用語には、Fab、F(ab')₂、Fv、scFv、Fd、dAbなどの抗体断片（又は部分）、及び抗原結合機能又はエピトープ結合機能、すなわちポリペプチドに特異的に結合する能力を保持する、その他の抗体断片（又は部分）もまた含まれる。典型的には、そのような断片（又は部分）は、抗原結合ドメインを含む。

【0043】

例として、免疫グロブリン（抗体）は、四量体構造単位を含む。各四量体はポリペプチド鎖の2つの同一対を含み、各対は1つの「軽」（L）鎖（約25 kD）及び1つの「重」（H）鎖（約50～70 kD）を有する。各ポリペプチド鎖のアミノ（N）末端は、主に抗原認識及び結合に関与する約100～110又はそれ以上のアミノ酸の可変（V）領域を規定する。可変軽鎖領域（V_L）及び可変重鎖領域（V_H）という用語は、それぞれ免疫グロブリン分子（抗体）の軽鎖及び重鎖の可変領域を指す。可変領域又は「V領域」は、B細胞分化期間の重鎖及び軽鎖V領域遺伝子の遺伝子再編成に起因する成分セグメント、すなわち、フレームワーク1（F1）、CDR1、フレームワーク2（F2）、CDR2、フレームワーク3（F3）、CDR3、及びフレームワーク4（F4）を含む抗体可変領域を指す。

【0044】

免疫グロブリン（抗体）分子のV_H及びV_L領域は、V_H及びV_Lフレームワーク領域内に位置する3つの超可変領域である3つの相補性決定領域（CDR）を含む。CDRは、主に抗原のエピトープへの結合に関与する。抗体のV_H及びV_L領域のCDRは、典型的には、可変領域セグメントのN末端から始まって連続して番号付けされ、CDR1、CD

10

20

30

40

50

R2、及びCDR3と呼ばれる。異なる重及び軽抗体鎖のフレームワーク領域のアミノ酸配列は、種内で比較的保存されている。抗体の構成要素の重鎖及び軽鎖のV領域のフレームワーク領域(FW1~FW4)は、三次元空間におけるCDRの構造的配置及びアラインメントを提供する。抗体分子中のCDR及びフレームワーク領域のアミノ酸配列の特徴付け(及び番号付け)は、例えば、Kabat、Chothia、国際ImMunoGeneTicsデータベース(IMGt)、及びAbM(例えば、Chothia & Lesk, 1987, J. Mol. Biol., 196:901-917; Chothia et al., 1989, Nature, 342:877-883; Chothia et al., 1992, J. Mol. Biol., 227:799-817; Al-Lazikani et al., 1997, J. Mol. Biol., 273(4):927-948)により報告されているように決定することができる。抗原結合部位の定義は、Ruiz et al., 2000, Nucleic Acids Res., 28:219-221及びLefranc, 2001, Nucleic Acids Res., 29(1):207-209; MacCallum et al., 1996, J. Mol. Biol., 262:732-745; Martin et al., 1989, Proc. Natl Acad. Sci. USA, 86:9268-9272; Martin, et al., 1991, Methods Enzymol., 203:121-153; Pedersen et al., 1992, Immunomethods, 1:126-136; 及びRees et al., 1996, In: Sternberg M. J. E. (ed.), Protein Structure Prediction. Oxford University Press, Oxford, England, pp. 141-172に報告されている。

【0045】

「キメラ抗体」は、抗原結合部位(可変領域、CDR、又はその断片)が異なる又は変化したクラス及び／又は種の抗体分子の定常領域に、又はキメラ抗体に新しい特性又はエフェクター機能を付与する完全に異なる分子(例えば、酵素、毒素、ホルモン、成長因子、薬物など)に連結されるように、定常領域又はその断片が変更、置換又は交換されている抗体分子である。或いは、キメラ抗体は、異なる又は変化した抗原特異性を有する可変領域(例えば、異なる種由来の1つ又は複数のCDR及びフレームワーク領域)で改変、置換、又は交換された可変領域又はその断片を含み得る。

【0046】

「抗原結合部分」、「抗原結合ドメイン」、「抗原結合断片」、「結合断片」又は「結合部分」という用語は、抗体と抗原の特異的結合に関与するアミノ酸を含む抗体分子の部分を指す。抗原が大きい場合、抗原結合ドメインは、抗原の一部にのみ結合し得る。抗原結合ドメインとの特異的相互作用を担う抗原分子の部分は、「結合部位」、「エピトープ」又は「抗原決定基」と称される。特定の実施形態では、抗原結合ドメインは、抗体軽鎖可変領域(V_L)及び抗体重鎖可変領域(V_H)を含むが、必ずしも双方を含む必要はない。例えば、いわゆるF_d抗体断片は、V_Hドメインのみからなるが、依然としてインタクトな抗体の抗原結合機能の幾分かを保持している。所与の抗原に対して産生される抗体の結合部位、すなわちエピトープは、当該技術分野で知られた方法を用いて決定され得る。例えば、競合アッセイ(例えば、酵素結合免疫吸着アッセイ(ELISA))は、既知のエピトープを有する抗体を用いて実施され得る。所与の抗原への結合に対し、試験抗体が競合する場合、その抗体は、同じエピトープの少なくとも一部を共有する可能性が高い。エピトープはまた、抗原のドメイン交換又は選択的変異誘発を用いて局在化され得る。すなわち、抗原の各領域又は各アミノ酸は、試験抗体と相互作用しないことが知られているアミノ酸又は成分で「交換」又は置換され得る。所与の領域又はアミノ酸の置換により、試験抗体の置換抗原への結合が、非置換抗原への結合と比べて低下する場合、その領域又はアミノ酸は、エピトープであるか、エピトープ内にあるか、又はエピトープの少なくとも一部である可能性が高い。

【0047】

抗体の結合断片（又は、部分）は、組換えDNA技術によって、又はインタクト抗体の酵素的若しくは化学的開裂によって生成される。結合断片又は部分としては、Fab、Fab'、F(ab')₂、Fv、及び一本鎖抗体が挙げられる。「二重特異的」又は「二機能性」抗体以外の抗体は、その結合部位はそれぞれ同一であると理解される。酵素パインによる抗体の消化により、「Fab」断片としても知られる2つの同一の抗原結合断片、及び、抗原結合活性はないが結晶化する能力を有する「Fc」断片が生じる。酵素ペプシンによる抗体の消化により、抗体分子の2つのアームが連結されたままで、2つの抗原結合部位を含むF(ab')₂断片が生じる。F(ab')₂断片は、抗原を架橋する能力を有する。「Fv」は、本明細書で用いられる場合、抗原認識部位及び抗原結合部位の双方を保持する抗体の最小断片を指す。「Fab」は、本明細書で使用される場合、軽鎖の定常ドメインと、重鎖のCH1ドメインとを含む抗体の断片を指す。

10

【0048】

「mAb」という用語は、モノクローナル抗体を指す。本明細書に開示される抗体は、限定はされないが、全天然抗体、二重特異性抗体；キメラ抗体；Fab、Fab'、単鎖V領域断片(scFv)、融合ポリペプチド、及び非従来型抗体を含む。

【0049】

「ヒト化抗体」という用語は、最小の非ヒト（例えば、マウス、ラット又はウサギ）配列を含有するように操作されている、非ヒト（例えば、マウス、ラット又はウサギ）免疫グロブリンに由来する抗体を指す。典型的には、ヒト化抗体は、超可変相補性決定領域(CDR)からの残基が、目的の特異性、親和性、及び／又は能力を有する非ヒト種（例えば、マウス、ラット、ウサギ、又はハムスター）のCDRからの残基によって置き換えられている、ヒト免疫グロブリンである(Jones et al., 1986, Nature, 321:522-525; Riechmann et al., 1988, Nature, 332:323-327; Verhoeyen et al., 1988, Science, 239:1534-1536)。したがって、ヒト化抗体のフレームワーク領域は、実質的にヒト免疫グロブリンのものである。場合によっては、ヒト免疫グロブリンのFvフレームワーク領域(FW)残基は、目的の特異性、親和性、及び／又は能力を有する、非ヒト種由来の抗体中の対応する残基で置換される。

20

【0050】

ヒト化抗体は、抗体特異性、親和性、及び／又は能力を洗練し、最適化するために、Fvフレームワーク領域中及び／又は置換された非ヒト残基中の追加的残基の置換によってさらに改変され得る。一般に、ヒト化抗体は、非ヒト免疫グロブリンに相当するCDR領域の全て又は実質的に全てを含有する可変ドメインの少なくとも1つ、典型的には2つ又は3つを実質的に全て含むこととなるが、FR領域の全て又は実質的に全ては、ヒト免疫グロブリンコンセンサス配列のものである。ヒト化抗体はまた、典型的にヒト免疫グロブリンのものである、免疫グロブリン定常領域又はドメイン(Fc)の少なくとも一部を含み得る。ヒト化抗体を作製するのに使用される方法の例は、米国特許第5,225,539号明細書又は同第5,639,641号明細書に記載されている。

30

【0051】

「断片」は、ポリペプチド又は核酸分子の部分を意味する。この「断片」又は「部分」は、好ましくは、参照核酸分子又はポリペプチド全長の少なくとも10%、20%、30%、40%、50%、60%、70%、80%、又は90%を含有する。特定の実施形態では、ポリペプチドの断片又は部分は、5、10、20、30、40、50、60、70、80、90、100、200、又は300個のアミノ酸を含有し得る。実施形態では、断片又は部分は、ポリペプチド又は核酸分子全体の完全な又は少なくとも部分的な活性及び／又は機能を保持する。

40

【0052】

「検出」は、検出すべき分析物の存在、非存在又は量を特定することを指す。様々な実施形態において、分析物は、ポリペプチド又は核酸バイオマーカーである。

【0053】

50

抗体に関連して「競合する」とは、一般に、第1の抗体又はその抗原結合断片が、第2の抗体又はその抗原結合断片と結合を競い合うことを意味し、この場合、第2の抗体の存在下での、第1の抗体の（その同族抗原結合部位又はエピトープ（例えば、インテグリン $\alpha v \beta 8$ 上の）への）結合は、第2の抗体の非存在下での第1の抗体の結合と比較して、検出可能なほどに減少する。或いは場合によっては、第2の抗体のその同族抗原結合部位又はエピトープへの結合もまた、第1の抗体の存在下で検出可能なほどに減少する。しかし、これは常にそうであるとは限らない。したがって、第1の抗体は、第2の抗体が抗原のそのそれぞれの結合部位又はエピトープへの第1の抗体の結合を阻害することなく、その同族抗原結合部位又はエピトープへの第2の抗体の結合を阻害することができる。しかし、各抗体が他の抗体のその同族のエピトープ又はリガンドとの結合を、同程度か、より大きな程度か、又はより小さい程度に、検出可能なほどに阻害する場合、抗体は、それら各々の結合部位又はエピトープへの結合に対して相互に「交差競合する」と言われる。本明細書においては、競合抗体及び交差競合抗体の両方が企図される。立体障害、立体構造変化、又は共通の結合部位、エピトープ、若しくはその断片などへの結合など、抗体競合又は交差競合が起こる機構にかかわらず、競合抗体及び／又は交差競合抗体の両方が本明細書に包含され、開示される方法において有用であり得る。

【0054】

本明細書に記載の治療に関連して用語「改善する」は、腎細胞及び／又は腎組織における線維症（腎線維症）などの疾患又は病態の発生又は進行を減少、低減、軽減、抑制、減弱、抑止、停止、阻止、遮断、中和、又は安定化することを指す。

【0055】

「インテグリン」は、本明細書で言及される場合、細胞外マトリックスに結合し、細胞－細胞及び細胞－細胞外マトリックス相互作用を媒介するために、哺乳動物細胞によって使用される主要な受容体である細胞表面糖タンパク質である。それらは、ヘテロ二量体（互いに非共有結合的に結合した α 及び β サブユニットを有する）であり、細胞外マトリックスと細胞のアクチン細胞骨格との間の膜貫通リンカーとして機能する。インテグリンタンパク質は、受動的接着剤として機能せず、むしろ、両方向に細胞膜を横切る情報の伝達を媒介する動的分子である。インテグリン媒介性接着は、インテグリンの細胞質尾部で誘発されるクラスター形成及び立体構造変化によってシグナルに応答して調節され得、それはリガンド結合によって活性化されると、様々な細胞内シグナル伝達経路を活性化してシグナル伝達物質として機能する。さらに、インテグリンシグナル伝達は、細胞生存、細胞周期進行、及び分化を制御する。インテグリン媒介性接着構造の調節は、多くの形態の細胞遊走にとって重要である。インテグリンはまた、多様な後天性及び遺伝性疾患の発症の一因となる。

【0056】

タンパク質のインテグリンファミリーにはいくつかのメンバーがあり、そのうちのいくつかは広範な組織分布を有する。脊椎動物には約24種類のインテグリンが存在し、1つの細胞がその表面に複数の異なるタイプのインテグリン受容体を発現することがある。ITGB8遺伝子によってコードされるヒトインテグリン $\beta 8$ サブユニットは、フィブロネクチン並びにTGF- $\beta 1$ 及びTGF- $\beta 2$ アイソフォームを含むリガンドを有する。 $\alpha v \beta 8$ インテグリン（以下にさらに記載されるようなベータ8（ $\beta 8$ ）サブユニットと結合したアルファV（ αv ）サブユニットを含むヘテロ二量体）は、MT1マトリックスメタロプロテイナーゼ（MMP）と組み合わされて、細胞表面上に発現し、細胞マトリックス中の潜在型TGF- β と相互作用し、その活性化を媒介する。MT1プロテアーゼは、潜在型TGF- β を切断して、成熟した活性TGF- β ポリペプチドを放出する。活性酸素種、他のプロテアーゼ、炎症及びpH変化も、活性TGF- β の放出に関与していることが実証されている。

【0057】

「 $\alpha v \beta 8$ 」は、NCBI参照配列：NM_002214.2で提供されるヒト $\alpha v \beta 8$ インテグリンアミノ酸配列に対して少なくとも約85%以上のアミノ酸配列同一性を有

10

20

30

40

50

し、以下に記載の $\alpha v \beta 8$ 活性及び／又は機能を有する「 $\alpha v \beta 8$ インテグリン受容体」、「 $\alpha v \beta 8$ インテグリン」若しくは「インテグリン $\alpha v \beta 8$ 」ポリペプチド、又はその断片を意味する。他のインテグリンベータ（ β ）サブユニットと同様に、ヒト $\alpha v \beta 8$ は、N末端シグナルペプチド、4つのシステインリッチリピートを含む大きな細胞外ドメイン、膜貫通ドメイン、及び短いC末端細胞質ドメインを含有する。 $\alpha v \beta 8$ は約95 kDの分子量を有し、予測される81 kDの $\beta 8$ 遺伝子産物の実質的なグリコシル化と一致する。（M. Moyl e e t a l. , 1991, J. Biol. Chem. , 266 : 19650-19658）。ノーザンブロット分析は、ヒト $\alpha v \beta 8$ が骨肉腫細胞株において約8.5キロ塩基（kb）のmRNAとして発現されることを明らかにした。哺乳動物細胞において発現する場合、 $\beta 8$ インテグリンサブユニットは、アルファV（ αV ）サブユニットと結合して、細胞表面 $\alpha V \beta 8$ インテグリン複合体を形成する。特定の実施形態では、ポリペプチドは、ヒト $\alpha v \beta 8$ インテグリンである。本明細書で使用される「 $\alpha v \beta 8$ 」という用語は、「 $\alpha v \beta 8$ インテグリン受容体」、「 $\alpha v \beta 8$ インテグリン」、及び「インテグリン $\alpha v \beta 8$ 」と同義である。「i t g b 8」という名称は、典型的には、 $\beta 8$ サブユニットのヒト遺伝子配列を指す。

【0058】

ヒト $\beta 8$ インテグリン（ITGB8、インテグリンベータ8、インテグリン $\beta 8$ 、 $\beta 8$ 、及び類似の用語と互換的に使用される）タンパク質配列は、UniProtアクセッション番号P26012又はNCBI参照配列：NM_002214.2で見出すことができ、以下の通りである：

【化3】

```
MCGSALAFFTAFAFVCLQNDRRGPASFLWAAWVFSVLVLGLGQGEDNRCASSNAASCARCL
ALGPECGWCVCQEDFISGGSRSERCDIVSNLISKGCSVDSIEYPSVHVIIPTENEINTQV
TPGEVSIQLRPGAEANFMLKVHPLKKYPVDLYYLVDVSASMHNNEIKLNSVGNLDSRKM
AFFSRDFRLGFGSYVDKTVSPYISIHPERIHNQCSDYNLDCMPPHGYIHVLSLTENITE
FEKAVHRQKISGNIDTPEGGFDAVLQAACVESHIGWRKEAKRLLLVMTDQTSHLALDSK
LAGIVVPNDGNCNHLKNNVYVKSTTMEHPSLGQLSEKLIDNNINVI FAVQKGQFHWYKDL
LPLLPGTIAGEIESKAANLNNLVVEAYQKLISEVKVQVENQVQGIYFNITAICPDGSRK
PGMEGCRNVTSNDEVLFNVTVTMKKCDVTGGKNYAI IKPIGFNETAKIHIHRNCSCQCE
DNRGPKGKCVDETFLDSKCFQCDENKCHFDEDDQFSSESCKSHKDQPVCSGRGVCVCGKC
SCHKIKLGVYGYKYCEKDDFSCPYHHGNLCAGHGECEAGRCQCFSGWEGDRCQCPASAA
QHCVNSKGQVCSGRGTCVCGRCECTDPRS IGRFCEHCPTCYTACKENWNCMQCLHPHNL
SQAILDQCKTSCALMEQQHYVDQTSECFSSPSYLRIFFIIFIVTFLIGLLKVLIIRQVI
LQWNSNLIKSSSDYRVASAKKDKLILQSVCTRAVTYRREKPEEIKMDISKLNHETFRCL
NF (配列番号16)
```

【0059】

ヒト $\beta 8$ インテグリンのi t g b 8ポリヌクレオチドコード配列を以下に示す（8787 bpのi t g b 8 mRNA核酸配列）。ヒト $\beta 8$ インテグリンのポリヌクレオチド配列は、アクセッション番号：NCBI参照配列：NM_002214.2に見出すことができる。ヒト $\beta 8$ インテグリンポリペプチドをコードするi t g b 8ポリヌクレオチド配列に対して少なくとも約85%以上のヌクレオチド配列同一性を有するポリヌクレオチド又はその断片は、本開示に包含される。

10

20

30

40

50

【化 4】

1 ggcggtgtct tctagggcgc tcccagagcc gcctccccct gttgctggca tcccagagctt
 61 cctcccttgc cagccaggac gctgccgact tgtctttgcc cgctgctccg cagacggggc
 121 tgcaaagctg caactaatgg tgttggcctc cctgcccacc tgtggaagca actgcgctga
 181 ttgatgcgcc acagactttt tccccctcga cctgcgcggc gtcccctccc acagatccag
 241 catcaccagc tgaatgtaca ttagggtggg tccccccca gcttcgggct ttgtttgggt
 301 ttgattgtgt ttggctcttc gctaagctga tttatgcagc agaagcccca cggctggag
 361 agaaacaaaa gctcttttct ttgtcccgga gcaggtgctg gagcccttgc agagccctct
 421 ctccagtcgc cgccggggcc cttggccgtc gaaggaggtg cttctcgcgg agaccgagg
 481 acccgccgtg ccgagccggg agggccgcag gggccctgag atgccgagcg gtgcccgggc
 541 ccgcttacct gcaccgcttg ctccgagccg cggggctccg ctgctaggcc tgcggaaaaac
 601 gtccctagcga cactcggccc gcgggccccg aggtgcgccc gggaggcgcg agcccgctc
 661 cggaaggcag tcaggcgcg gcgcggggc gggctgtttt gcattatgtg cggtcggcc
 721 ctggcttttt ttaccgctgc atttgtctgc ctgcaaaacg accggcgagg tccgcctcg
 781 ttcctctggg cagcctgggt gttttcactt gttcttgga cttggccaagg tgaagacaat
 841 agatgtgcat cttcaaatgc agcatcctgt gccaggtgcc ttgcgctggg tccagaatgt
 901 ggatgggtgt ttcaagagga tttcatttca ggtggatcaa gaagtgaacg ttgtgatatt
 961 gtttccaatt taataagcaa aggtgctca gttgattcaa tagaatcccc atctgtgcat
 1021 gttataatac ccactgaaaa tgaaattaat acccagggtg caccaggaga agtgtctatc
 1081 cagctgcgtc caggagccga agctaatttt atgctgaaag ttcacctctt gaagaaatat
 1141 cctgtggatc tttattatct tgttgatgtc tcagcatcaa tgcacaataa tatagaaaaa
 1201 ttaaatccg ttggaaacga tttatctaga aaaatggcat ttttctccg tgactttcgt
 1261 cttggatttg gtcatacgt tgataaaaca gtttcacccat acattagcat ccaccccgaa
 1321 aggattcata atcaatgcag tgactacaat ttagactgca tgccctccca tggatacatc
 1381 catgtgctgt ctttgacaga gaacatcact gagtttgaga aagcagttca tagacagaag
 1441 atctctggaa acatagatac accagaagga ggttttgacg ccatgcttca ggcagctgtc
 1501 tgtgaaagtc atatcggtat gcgaaaagag gctaaaagat tgctgctggg gatgacagat
 1561 cagacgtctc atctcgtctc tgatagcaaa ttggcaggca tagtggtgcc caatgacgga
 1621 aactgtcatc tgaaaaacaa cgtctatgtc aaatcgacaa ccatggaaca cccctcacta
 1681 ggccaacttt cagagaaatt aatagacaac aacattaatg tcatctttgc agttcaagga
 1741 aaacaatttc attggtataa ggatcttcta cccctcttgc caggcaccat tgctggtgaa
 1801 atagaatcaa aggtgcgaaa cctcaataat ttggtagtgg aagcctatca gaagctcatt
 1861 tcagaagtga aagttcaggt ggaaaaccag gtacaaggca tctattttaa cattaccgcc
 1921 atctgtccag atgggtccag aaagccaggc atggaaggat gcagaaacgt gacgagcaat
 1981 gatgaagttc ttttcaatgt aacagttaca atgaaaaaat gtgatgtcac aggaggaaaa
 2041 aactatgcaa taatcaaacc tattggtttt aatgaaaccg ctaaaattca tatacacaga
 2101 aactgcagct gtcagtgtga ggacaacaga ggacctaaag gaaagtgtgt agatgaaact
 2161 tttctagatt ccaagtgttt ccagtgtgat gagaataaat gtcattttga tgaagatcag
 2221 tttctctctg agagttgcaa gtcacacaag gatcagcctg tttgcagtgg tcgaggagtt
 2281 tgtgtttgtg ggaaatgttc atgtcacaaa attaagcttg gaaaagtgtg tggaaaatac
 2341 tgtgaaaagg atgacttttc ttgtccatat caccatggaa atctgtgtgc tgggcatgga
 2401 gagtgtgaag caggcagatg ccaatgcttc agtggctggg aaggtgatcg atgccagtc
 2461 ccttcagcag cagcccagca ctgtgtcaat tcaaagggcc aagtgtgcag tggaaagggc

10

20

30

40

50

【化 5】

2521 acgtgtgtgt gtggaagggtg tgagtgcacc gatcccagga gcatcggccg cttctgtgaa
 2581 cactgcccc cctgttatac agcctgcaag gaaaactgga attgtatgca atgccttcac
 2641 cctcacaatt tgtctcaggc tatacttgat cagtgcacaaa cctcatgtgc tctcatggaa
 2701 caacagcatt atgtcgacca aacttcagaa tgtttctcca gcccaagcta cttgagaata
 2761 tttttcatca ttttcatagt tacattcttg attgggttgc ttaaagtcct gatcattaga
 2821 caggtgatac tacaatggaa tagtaataaa attaagtcct catcagatta cagagtgtca
 2881 gcctcaaaaa aggataagtt gattctgcaa agtgtttgca caagagcagt cacctaccga
 2941 cgtgagaagc ctgaagaaat aaaaatggat atcagcaaat taaatgctca tgaaactttc
 3001 aggtgcaact tctaaaaaaa gatttttaaa cacttaatgg gaaactggaa ttgttaataa
 3061 ttgtccttaa agattataat tttaaaagtc acaggaggag acaaatgtct cacggtcatg
 3121 ccagttgctg gttgtacact cgaacgaaga ctgacaagta tctcatcat gatgtgactc
 3181 acatagctgc tgactttttc agagaaaaat gtgtcttact actgtttgag actagtgtcg
 3241 ttgtagcact ttactgtaat atataactta tttagatcag catagaatgt agatcctctg
 3301 aagagcactg attacacttt acaggtacct gttatcccta cgcttcccag agagaacaat
 3361 gctgtgagag agtttagcat tgtgtcacta caagggtaca gtaatccctg cactggacat
 3421 gtgaggaaaa aaataatctg gcaagtatat tctaagggtg ccaaactt caacagttgg
 3481 tgggtgaata gacaagaaca gctagatgaa taaatgattc gtgtttcact ctttcaagag
 3541 gtgaacagat acaaccttaa tcttaaaaga ttattgcttt ttaaagtggt tagttttatg
 3601 catgtgtgtt tatgggttgc ttatttttgc aagatggata ctaattccag cattctctcc
 3661 tctttgcctt tatgttttgt tttctttttt acaggataag tttatgtatg tcacagatga
 3721 ctggattaat taagtgtctaa gttactactg ccataaaaaa ctaataatac aatgtcactt
 3781 tatcagaata ctagttttaa aagctgaatg ttaatagggg aactgtaaa gtatcatcaa
 3841 aacctgaata gcttcattgt gcacaagtgt ggagttttgt atcctcttac ctggtaaact
 3901 gaagggtattg tttggccatt tcatttatct tatcattaat tcacaagata gttagaaatt
 3961 ctgcctcaag caaagtacca cttttgaat gttttcttag attttgattg caagtagata
 4021 tcagcatttt ttaaataaaa agctatatta tcttctccct tcaaggcagc ctaaggatgt
 4081 tctttcccag aatcactcca acccttcttg ccagaattca taaaagtaca aaattggaga
 4141 atagatgata tcttagaaat aagctttttt tttttttttt tttttttttg agacggagtt
 4201 tcaactctgt cccccaggct gaagtgcaat ggcgcaatta gggttcactg caacctctgc
 4261 ctccggggtt caagcagttc tctgctca gctcctgag tagctgggat tacaggcatc
 4321 caccacggtg ccagctaatt tttgtatatt ttagtagaga cggggttttg ccatgttgga
 4381 caggttgatc tcaaaactcct gacctcaggt gatctaccct cctcggcctc ccagagtgtt
 4441 gggattacag gcatgagcca ccattgccagg ctgctaattc tcttttttag tgagttaggg
 4501 aactgagcct cagaaaaactt aaacgatttc tcagaaaaca ctcaagtgat aaagtggcca
 4561 cattggaaag gagtttttat cttctcattg tcaggccagt gttcattgca caatatcatg
 4621 ctacctcttg aatcttttaa atattcaatt ggcaaatgtt tttcaatgtg atttactcat
 4681 gtcttaagtg tatgaggaaa gttcaaaagc aaatagaaag gaataattca aactgaattg
 4741 tccataatca gcttccagtc tttcatgcta atcagcttct taagagactg aagtatggca
 4801 tacctacagg ggaattcctt cgcaccatag cctgtatgaa cagtgttccc tggagtcttc
 4861 cagtgtctag cttgagacct tgatacacgg gccatgagcc ctgtcttccc caatggaaat
 4921 ttattttacac ttaccttatc cctatggact tagtctgatt ttattggcta ggagtctaac

10

20

30

40

【化 6】

4981 agtcctgtgt ggatatacag ttttgcccat gacaacaaag gaatctatcc gaaatatctt
 5041 tttttttata ataaacttcc aagatttgct gtcttccagc acttgagtta aagtactaga
 5101 tactgcattt tgatgaagac taaccccatc tcatattcta ccctaaagag aactgaaaaa
 5161 cctataataa gttgttctgg agccaataaa cacagcagct ctgttagatg tctctacag
 5221 ccaagcactt tcaatgctaa cttgaactgc atttccttcc tcaaagaga gattgacata
 5281 attcagttact gtgagtcact tgtataagaa acctttgatc actaaaaata atgtaaaaat
 5341 tgggtttagt agcctaatac acataacgtt cttcttaaaa aggaaaatgg atggatgcct
 5401 gacaaccctc caaaagaaaa aagtgtaga tagccattaa gatgatgaca atttttgaaa
 5461 tgaacattat gatatttatg aacaataaac aaatttcctg atggaatgaa ttatccaaaa
 5521 agagtataac aaaatgaaat ccttaaaaat ccagagttta ttttttttt ataccctcac
 5581 ttgtttgcac taactttata gtggaccaag gctgttacca taggaagggg caaacttcct
 5641 tgtaggcaac tcagtgttag acgatgattg tggttatgct tgcaaagtct tgtgcttacc
 5701 ttttttgttt ttacttaaaa agctaatttt taaagattgt agggcttgta ttttacttga
 5761 ataattgata tcttctgtg taatgatttg tgagatgaga attaatattt gactagttag
 5821 aattaattaa atggtaaggg aacacagggt actcttaggt taaataatgt atgcaaatag
 5881 agtctatttt caactaatat ggccacagga gccttttgag attcattgat attaaacaca
 5941 attaatgaaa ttttaaatg ttaacagaat tgagaacttg aacaacactt ttagtactgc
 6001 agcatttttg tgccctaaag tatgtaatga tttataaatg tgccatacat aactacacac
 6061 ataacatttg ctttgttatg cattttatct ctctggggac accattgcac tgcagtgcac
 6121 acgtatttat aaacatttgt tatatttttg gaaacttgct aatattttat aagtcataga
 6181 cttttctgga ggacttaaaa attcactaaa aatctgatta tgtcttaaat gttcagttta
 6241 tcttttggtt attaaaataa aaaaaaaatc taagattaaa cacagtagat atctctggag
 6301 gcaattttcc aaaactcaac attaaaattt gtggatgcat gagatgcaat ccttcaaga
 6361 atgaatctga aatatatttt taatattttac ttaatatcca ctgaagatat ctttatgcaa
 6421 gacaagagtc agccatcaga cactgaaata tattatgata gattatgaag aattttctct
 6481 gtagaattat attcttctg gaacctggta gagtagatta gactcaaagg ctttttcttc
 6541 cttttcttac tctgttttt tccactcact cttcccaaga gatttcttaa agcttcaagc
 6601 ttaataagcc taatagtga aaataactga atttaattgt ataataagt tcttcatttc
 6661 cagacatctt taattgatct taaagctcat ttgagtctt gccctgaac aaagacagac
 6721 ccattaaaaat ctaagaattc taaattttca caactgtttg agcttctttt cattttgaag
 6781 gatttggaat atatatgttt tcataaaaagt atcaagtga atatatgttac atgggagctc
 6841 aatcatgtgc agattgcatt ctgttatgtt gactcaatat ttaatttaca actatcctta
 6901 tttataattga cctcaagaac tccattttat gcaatgcaga ccactgagat atagctaaca
 6961 ttctttcaaa taattttctt tttcttttat aattcctcta tagcaaattt ttatgtataa
 7021 ctgattatac atatccatat ttatatttca ttgattccaa gacatcactt tttcaattta
 7081 acatctctga aattgtgaca tttcttgcaa ctgttggcac ttcagatgca gtgtttaaaa
 7141 ttatgcttga ataaatatta cactaatcca actttaccta aatgtttatg catctaggca
 7201 aattttgttt tcttataaag atttgagagc ccattttatg caaaatatga aggcgaatt
 7261 taaggacaac tgagtcacgc acaactcaac atggagccta actgattatc agctcagatc
 7321 ccgcatatct tgagtttaca aaagctcttt caggtcccca tttatacttt acgtgagtgc
 7381 gaatgatttc agcaaaccct aacttaacta acaagaatgg gtaggtatgt ctacgtttca

10

20

30

40

【化 7】

```

7441 ttaacaaatt tttattatatt ttattctatt atatgagatc cttttatatt atcatctcac
7501 ttttaacaa aattaactgg aaaaatatta catggaactg tcatagtttag gttttgcagc
7561 atcttacatg tcttgatca atggcaggag aaaaatatga taaaaacaat cagtgcgtgtg
7621 aaaaacaact ttcttctaga gtctctttac tttttattct tctttatcat ttgtgggttt
7681 ttcccccttg gctctgatca ctttaacttc aagcttatgt aacgactgtt ataaaaactgc
7741 atatttaaat tatttgaatt atatgaaata attgttcagc tatctgggca gctgttaatg
7801 taaacctgag agtaataaca ctactctttt atctacctgg aatacttttc tgcataaaat
7861 ttatctttgt aagctaactc tattaatcag gtttcttcta gcctctgcaa cctacttcag
7921 ttagaattgt ctaatactgc tctattaatc aggtttctag cctctacaac ctacttcagt
7981 taaaattgtc taatacagca atatttaaaa aaaaaaact gcaattgtca aggatggaaa
8041 atgtgtgatt tgtgtaaaca atttttacca actttacatt ttcctacaga taaatgtgaa
8101 attttgataa gaagtctacg caatgacaag tatggtacat aaattttatt aagaatattg
8161 agtataaagt actttaattc taaattataa gaaaatatac atttgcacat attaatatag
8221 aaattcattt tgtgtatatt taacatagct tttaaactat tttacattag ctacttcatt
8281 atggtttctt gaacttctga aaaaaattag aaatgtatta aacttatcag taacataaaa
8341 acttattttg tttcacctaa cgaatactgc gtttgtaaaa ataaatttaa tatagaatat
8401 attttttaaat taaatatttg aatataaaat agctctaaga aagaagcaaa ttatcactga
8461 acatatttct tattatttct ggctttgaat tatacgtaac ttaaattgtc ttaaattgata
8521 cagaatattg gagaatatga tactttcaca taatatacta tgaacctgtt catataactc
8581 tgattgacta ctaacttctg ttttatgtat ttattaaaga gctgacactg tagtttgtgg
8641 tgagatgttt atttttctaa cagagcttat aacagttagg acaaggcatt taattaatgc
8701 atcattctgt ttagtagtag gtgttaatca atatgaaatt ctctgtttta aaataaaaat
8761 gtaaaaatct aagaataaaa aaaaaaa (配列番号17)

```

10

20

【0060】

アルファVインテグリン (α -V、ITGAV) サブユニット (アルファV及び α vとも呼ばれる) は、 β -1 (ITGB1)、 β -3 (ITGB3)、 β -5 (ITGB5)、 β -6 (ITGB6) 及び β -8 (ITGB8) サブユニットのいずれかと結合し、アルファ (α V) 及びベータ (β 1-8) サブユニットのヘテロ二量体を形成する。アルファサブユニットは、ジスルフィド結合によって連結された重鎖 (インテグリン α -V重鎖) 及び軽鎖 (インテグリン α -V軽鎖) から構成される。特定の実施形態では、 α vインテグリンサブユニットは β 8インテグリンサブユニットと結合し、 α v β 8インテグリンを形成する。上記のように β -8 (ITGB8) と結合することができるヒト α -V (ITAV) は、1040個のアミノ酸を含み、以下の通り、Uniprot (UniProtKB) アクセッション番号P06756に見出すことができる：

30

【化 8】

```

10          20          30          40          50
MAFPFRRRLR LGPRGLPLLL SGLLLPLCRA FNLDVDSPAE YSGPEGSYFG
60          70          80          90         100
FAVDFFVPSSA SSRMFLLVGA PKANTTQPGI VEGGQVLKCD WSSTRRCQPI
110         120         130         140         150

```

40

50

【化 9】

```

EFDATGNRDY AKDDPLEFKS HQWFGASVRS KQDKILACAP LYHWRTEMKQ
      160      170      180      190      200
EREPVGTGFL QDGTKTVEYA PCRSQDIDAD GQGFCQGGFS IDFTKADRVL
      210      220      230      240      250
LGPGSFFYWQ GQLISDQVAE IVSKYDPNVY SIKYNNQLAT RTAQAIFFDS
      260      270      280      290      300
YLGYSVAVGD FNGDGIDDFV SGVPRAARTL GMVYIYDGKN MSSLYNFTGE
      310      320      330      340      350
QMAAYFGFSV AATDINGDDY ADVFIGAPLF MDRGSDGKLQ EVGQVSVSLQ
      360      370      380      390      400
RASGDFQTTK LNGFEVFARF GSAIAPLGDL DQDGFNDIAI AAPYGGEDKK
      410      420      430      440      450
GIVYIFNGRS TGLNAVPSQI LEGQWAARSM PPSFGYSMKG ATDIDKNGYP
      460      470      480      490      500
DLIVGAFGVD RAILYRARPV ITVNAGLEVY PSILNQDNKT CSLPGTALKV
      510      520      530      540      550
SCFNVRFLCK ADGKGVLPRK LNFQVELLLD KLKQKGAIIR ALFLYSRSPS
      560      570      580      590      600
HSKNMTISRG GLMQCEELIA YLRDESEFRD KLTPITIFME YRLDYRTAAD
      610      620      630      640      650
TTGLQPILNQ FTPANISRQA HILLDCGEDN VCKPKLEVSF DSDQKKIYIG
      660      670      680      690      700
DDNPLTLIVK AQNQGEGAYE AELIVSIPLQ ADFIGVVRNN EALARLSCAF
      710      720      730      740      750
KTENQTRQVV CDLGNPMKAG TQLLAGLRFS VHQQSEMDTS VKFDLQIQSS
      760      770      780      790      800
NLFDKVSPVV SHKVDLAVLA AVEIRGVSSP DHVFLPIPWN EHKENPETEE
      810      820      830      840      850
DVGPPVQHIY ELRNNGPSSF SKAMLHLQWP YKYNNTLLY ILHYDIDGPM
      860      870      880      890      900
NCTSDMEINP LRIKISSLQT TEKNDTVAGQ GERDHLITKR DLALSEGDIH
      910      920      930      940      950
TLGCGVAQCL KIVCQVGRLD RGKSAILYVK SLLWTETFMN KENQNHSYSL
      960      970      980      990     1000

```

10

20

30

40

【化 10】

```

KSSASFNVIE FPYKNLPIED ITNSTLVTTN VTWGIQPAFM PVPVWVIILA
      1010      1020      1030      1040

```

VLAGLLLLAV LVFVMYRMGF FKRVRPPQEE QEREQLQPHE NGEGNSET (配列番号18)

【0061】

ヒトアルファV (ITGAV) をコードするポリヌクレオチドコード配列を以下に示す

50

(3147ヌクレオチドbp)。ヒト α vインテグリンのポリヌクレオチド配列(CCD S 2292.1)は、アクセッション番号:NCBI参照配列:NM_002210.4に見出すことができる。ヒトITGAVインテグリンポリペプチドをコードする α v(ITGAV)インテグリンポリヌクレオチド配列に対して少なくとも約85%以上のヌクレオチド配列同一性を有するポリヌクレオチド又はその断片は、本開示に包含される。

【化11】

```
atggccttttccgcgcgcggcgacggctgcgcctcggtccccgcggcctcccgcttcttctctcgggaactcc
tgctacctctgtgcgcgcgcttcaacctagacgtggacagtcctgccgagtactctggccccgaggggaag
ttacttcggcttcgcgcgtggatttcttcgtgcccagcgcgtcttccccgatgtttcttctcgtgggagct
cccaaagcaaacaccacccagcctgggattgtggaaggagggcaggctcctcaaagtgtgactggctcttcta
cccgccggtgccagccaattgaatttgatgcaacaggcaatagagattatgccaaggatgatccattgga
atttaagtcctcatcagtgggttgagcatctgtgaggtcgaaacaggataaaaattttggcctgtgccccca
ttgtaccattggagaactgagatgaaacaggagcgagagcctgttggaacatgctttcttcaagatggaa
caaagactgttgagtatgctccatgtagatcacaagatattgatgctgatggacagggattttgtcaagg
aggattcagcattgattttactaaagctgacagagtacttcttggtggtcctggtagcttttattggcaa
ggtcagcttatttccgatcaagtggcagaaatcgtatctaaatacgaccccaatgtttacagcatcaagt
ataataaccaattagcaactcggactgcacaagctatttttgatgacagctatttgggttattctgtggc
tgtcggagatttcaatggtgatggcatagatgactttgtttcaggagttccaagagcagcaaggactttg
ggaatggtttatatttatgatgggaagaacatgtcctccttatacaattttactggcgagcagatggctg
catatttccgattttctgtagctgccactgacattaatggagatgattatgcagatgtgtttattggagc
acctctcttcatggatcgtggctctgatggcaaacctccaagaggtggggcaggctctcagtgctctacag
agagcttcaggagacttccagacgacaaagctgaatggatttgaggtctttgcacggtttggcagtgcca
tagctcctttgggagatctggaccaggatgggtttcaatgatattgcaattgctgctccatatgggggtga
agataaaaaaggaattgtttatatcttcaatggaagatcaacaggcttgaacgcagtcctcatctcaaatc
cttgaagggcagtgggctgctcgaagcatgccaccaagctttggctattcaatgaaaggagccacagata
tagacaaaaatggatatccagacttaattgtaggagcttttgggtgtagatcgagctatcttatacagggc
cagaccagttatcactgtaaattgctggtcttgaagtgtaccctagcattttaaatcaagacaataaaacc
tgctcactgcctggaacagctctcaaagtttctgttttaaatgttaggttctgcttaaaggcagatggca
aaggagtacttcccaggaaacttaatttccagggtggaacttcttttgataaaactcaagcaaaagggagc
aattcgacgagcactgtttctctacagcaggtccccaagtcactccaagaacatgactatttcaaggggg
```

10

20

30

40

50

【化 1 2】

ggactgatgcagtggtgaggaattgatagcgtatctgcgggatgaatctgaatttagagacaaactcactc
 caattactatTTTTATGGAATATCGGTTGGATTATAGAACAGCTGCTGATACAACAGGCTTGCAACCCAT
 TCTTAACCAGTTCAAGCCTGCTAACATTAGTCGACAGGCTCACATTCTACTTGACTGTGGTGAAGACAAT
 GTCTGTAACCCCAAGCTGGAAGTTTCTG TAGATAGTGATCAAAAGAAGATCTATATTGGGGATGACAACC
 CTCTGACATTGATTGTTAAGGCTCAGAAATCAAGGAGAAGGTGCCTACGAAGCTGAGCTCATCGTTTCCAT
 TCCACTGCAGGCTGATTTTCATCGGGTTGTCCGAAACAATGAAGCCTTAGCAAGACTTTCTCTGTGCATTT
 AAGACAGAAAACCAAACTCGCCAGGTGGTATGTGACCTTGGAAACCAATGAAGGCTGGAACCTCAACTCT
 TAGCTGGTCTTCTGTTTCAGTGTGCACCAGCAGTCAGAGATGGATACTTCTGTGAAATTTGACTTACAAAT
 CCAAAGCTCAAATCTATTTGACAAAGTAAGCCCAGTTGTATCTCACAAGTTGATCTTGCTGTTTTAGCT
 GCAGTTGAGATAAGAGGAGTCTCGAGTCCTGATCATGTCTTTCTTCCGATTCCAAACTGGGAGCACAAGG
 AGAACCTGAGACTGAAGAAGATGTTGGGCCAGTTGTTTCAGCACATCTATGAGCTGAGAAACAATGGTCC
 AAGTTCATTGAGCAAGGCAATGCTCCATCTTCAGTGGCCTTACAAATATAATAAACACTCTGTTGTAT
 ATCCTTCATTATGATATTGATGGACCAATGAAGTGCACCTCAGATATGGAGATCAACCTTTGAGAATTA
 AGATCTCATCTTTGCAACAACCTGAAAAGAATGACACGGTTGCCGGGCAAGGTGAGCGGGACCATCTCAT
 CACTAAGCGGGATCTTGCCCTCAGTGAAGGAGATATTCACACTTTGGGTTGTGGAGTTGCTCAGTGCTTG
 AAGATTGTCTGCCAAGTTGGGAGATTAGACAGAGGAAAGAGTGAATCTTGACGTAAGTCATTACTGT
 GGACTGAGACTTTTATGAATAAAGAAAATCAGAAATCATTCTCTGAAGTCGTCTGCTTCATTATAA
 TGTCTAGAGTTTCTTATAAGAATCTTCCAATTGAGGATATCACCAACTCCACATTGGTTACCCTAAT
 GTCACCTGGGGCATTGAGCCAGCGCCCATGCCTGTGCTGTGTGGGTGATCATTTTAGCAGTTCTAGCAG
 GATTGTTGCTACTGGCTGTTTTGGTATTTGTAATGTACAGGATGGGCTTTTTTAAACGGGTCCGGCCACC
 TCAAGAAGAACAAGAAAGGGAGCAGCTTCAACCTCATGAAAATGGTGAAGGAAACTCAGAAACTTAA

(配列番号19)

【0062】

本明細書において「MEDI-hu37E1B5」と称されるヒト化抗 $\alpha v \beta 8$ インテグリン抗体は、本開示の組成物及び方法において有用である。MEDI-hu37E1B5抗体は、以下に示す重鎖及び軽鎖可変領域アミノ酸配列を有する。この抗体は、腎細胞及び腎組織で発現する、より特には、慢性腎疾患（CKD）などの腎疾患を有する対象の線維性腎組織などの罹患腎細胞及び腎組織で非常に多く発現する $\alpha v \beta 8$ インテグリンタンパク質に特異的且つ選択的に結合する。一実施形態では、以下に示すMEDI-hu37E1B5 $\alpha v \beta 8$ インテグリン抗体の重鎖可変領域（ V_H ）、（116個のアミノ酸残基）、及び軽鎖可変領域（ V_L ）、（107個のアミノ酸残基）のアミノ酸配列と少なくとも約85%以上又は少なくとも85%以上のアミノ酸配列同一性を有する、抗 $\alpha v \beta 8$ インテグリン抗体又はその抗原結合断片は、本開示に包含される。

MEDI-hu37E1B5抗 $\alpha v \beta 8$ インテグリン抗体の V_H アミノ酸配列：

【化 1 3】

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAVSGFVFSRYWMSWVRQAPGKGLEWIGEINPDSSTINYTSSL
 KDRFTISRDNKNSLYLQMNSLRAEDTAVYYCAILITTEDYWGQGTITVTVSS (配列番号7)

MEDI-hu37E1B5抗 $\alpha v \beta 8$ インテグリン抗体の V_L アミノ酸配列：

10

20

30

40

50

【化14】

DIQLTQSPSSLSASVGDRVTTITCKASQDINSYLSWFQQKPGKAPKSLIYYANRLVDGVPSRFSG
SGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCLQYDEFPYTFGGGTKVEIK (配列番号8)

【0063】

MEDI-hu37E1B5抗体の上記V_H及びV_L配列において、3つのCDR領域 (Kabatによる定義) に下線を引く。より具体的には、MEDI-hu37E1B5抗体の重鎖可変領域 (V_H) の3つのCDRのアミノ酸配列は以下の通りである：

V_HCDR1: RYWMS (配列番号1)

V_HCDR2: EINPDSSTINYTSSL (配列番号2)

V_HCDR3: LITTEDY (配列番号3)

【0064】

MEDI-hu37E1B5抗体の軽鎖可変領域 (V_L) の3つのCDRのアミノ酸配列は以下の通りである：

V_LCDR1: KASQDINSYLS (配列番号4)

V_LCDR2: YANRLVD (配列番号5)

V_LCDR3: LQYDEFPYT (配列番号6)

【0065】

上記で同定されたMEDI-hu37E1B5抗 α v β 8インテグリン抗体又はその抗原結合断片のV_H及びV_L領域をコードするポリヌクレオチド配列もまた、本開示に包含される。一実施形態では、MEDI-hu37E1B5ヌクレオチド配列と少なくとも約85%以上又は少なくとも85%以上のヌクレオチド配列同一性を有する、上記のMEDI-hu37E1B5抗 α v β 8インテグリン抗体又はその抗原結合断片のV_H及びV_L領域をコードするポリヌクレオチド配列もまた、本開示に包含される。

【0066】

本明細書において「B5-15」と呼ばれる別の抗 α v β 8インテグリン抗体は、本開示の組成物及び方法において特に有用である。B5-15抗 α v β 8インテグリン抗体は、 α v β 8インテグリンに特異的に結合し、以下に示す重鎖及び軽鎖可変領域アミノ酸配列を有する、(IgG1アイソタイプの) ヒト化及び親和性最適化抗体である。ヒト化B5-15抗体は、本明細書に記載のB5-15抗体の「親」である上述のMEDI-hu37E1B5抗体から誘導され、親和性が最適化された。このB5-15抗体は、 α v β 8インテグリンに、特に、腎細胞及び腎組織で発現する α v β 8インテグリンに、より特には、慢性腎疾患 (CKD) などの腎疾患を有する対象の線維性腎組織などの罹患腎細胞及び腎組織で非常に多く発現する α v β 8インテグリンタンパク質に極めて特異的且つ選択的に結合する。一実施形態では、以下に示すB5-15 α v β 8インテグリン抗体の重鎖可変領域 (V_L)、(116個のアミノ酸残基)、及び軽鎖可変領域 (V_L)、(107個のアミノ酸残基) のアミノ酸配列と少なくとも約85%以上、又は少なくとも85%以上のアミノ酸配列同一性を有する、抗 α v β 8インテグリン抗体又はその抗原結合断片は、本開示に包含される。

ヒト化及び最適化B5-15抗 α v β 8インテグリン抗体のV_Hアミノ酸配列：

【化15】

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAVSGFVFSRWSISWVRQAPGKGLEWIGEINPDSSTINYTSSL
KDRFTISRDNKNSLYLQMNSLRAEDTAVYYCAILITTEDYWGQGTTVTVSS (配列番号12)

ヒト化及び最適化B5-15抗 α v β 8インテグリン抗体のV_Lアミノ酸配列：

【化16】

DIQLTQSPSSLSASVGDRVTTITCKASQDINKYLSWFQQKPGKAPKSLIYYANRLVDGVPSRFSG
SGSGTDFLTITSSSLQPEDFATYYCLQYDVFPYTFGGGTKVEIK (配列番号13)

【0067】

B5-15ヒト化及び親和性最適化抗体の上記V_H及びV_L配列において、3つのCDR領域(Kabatによって定義)のアミノ酸配列に下線を引く。より具体的には、B5-15抗体の重鎖可変領域(V_H)の3つのCDRのアミノ酸配列は以下の通りである：

V_HCDR1: RSWIS (配列番号9)

V_HCDR2: EINPDSSTINYTSSL (配列番号2)

V_HCDR3: LITTEDY (配列番号3)

【0068】

B5-15ヒト化及び親和性最適化抗体の軽鎖可変領域(V_L)の3つのCDRのアミノ酸配列は、以下の通りである：

V_LCDR1: KASQDINKYLS (配列番号10)

V_LCDR2: YANRLVD (配列番号5)

V_LCDR3: LQYDVFPYT (配列番号11)

【0069】

上記のB5-15抗 α v β 8インテグリン抗体又はその抗原結合断片のV_H及びV_L領域をコードするポリヌクレオチド配列もまた、本開示に包含される。最適化B5-15抗 α v β 8インテグリン抗体のV_H領域をコードするポリヌクレオチド配列を以下に提示する：

【化17】

gagggtgcagctggttgaaagcgcgaggactggtgcagcctggcggcagcctgagactgagct
gcgcggtgtccggcttcgtgttcagccggagctggatcagctgggtccgcccaggccccaggaa
gggcctggaatggatcggcgagatcaaccccgacagcagcaccatcaactacaccagcagcctg
aaggaccggttcaccatcagccgggacaacgccaagaacagcctgtacctgcagatgaacagcc
tgcgggccgaggacaccgcccgtgtactactgcgccatcctcatcaccaccgaggactactggg
ccagggcaccaccgtgaccgtgtcctct (配列番号14)

【0070】

最適化B5-15抗 α v β 8インテグリン抗体のV_L(カッパ)領域をコードするポリヌクレオチド配列を以下に提示する：

【化18】

gacatccagctgacccagagccccagcagcctgagcgccagcgtgggcgacagagtgaccatca
catgcaaggccagccaggacatcaacaagtacctgagctggttccagcagaagcccggaaggc
ccccagagcctgatctactacgccaaccggctgggtggacggcggtgccagcagattttctggc
agcggcagcggcaccgacttcaccctgaccatcagcagcctgcagcccaggacttcgccacct
actactgcctgcagtagcagctgttcccctacaccttcggcgaggacccaaggtggaaatcaa
g (配列番号15)

【0071】

一実施形態では、B5-15ヌクレオチド配列と少なくとも約85%以上又は少なくとも85%以上のヌクレオチド配列同一性を有する、上記のB5-15抗 α v β 8インテグリン抗体又はその抗原結合断片のV_H及びV_L領域をコードするポリヌクレオチド配列もまた、本開示に包含される。

【0072】

サイトカインの形質転換成長因子ベータ(β)(TGF- β)は、種々の細胞型の細胞増殖、分化、アポトーシス、接着及び遊走を調節する多機能性調節因子である。TGF-

10

20

30

40

50

β は、細胞外マトリックス (ECM) タンパク質、及びほとんど全ての細胞型、例えば、活性化 T 及び B 細胞、造血細胞、マクロファージ、樹状細胞の産生を誘導し、それらは TGF- β を産生し、且つ／又はその効果に感受性がある。(S. Denmler et al., 2002, J. Leukoc. Biol., 71: 731-740)。TGF- β は、哺乳動物において 30 を超える関連メンバー、すなわち、3 つの TGF- β アイソフォーム、4 つのアクチビン、及び 20 を超える骨形成タンパク質 (BMP) を含む多様なスーパーファミリーのメンバーである。TGF- β の 3 つの哺乳動物アイソフォーム (TGF- β 1、TGF- β 2 及び TGF- β 3) は、アミノ酸レベルで 70~82% の相同性を共有し、異なる系において定性的に類似の活性を有する。TGF- β の活性型は、疎水性相互作用によって安定化された二量体であり、ほとんどの場合、サブユニット間ジスルフィド架橋によってさらに強化されている。TGF- β 1 アイソフォームは、腎細胞に最も豊富に存在するアイソフォームである。

【0073】

TGF- β が細胞膜で細胞内シグナル伝達を開始する機構は、一般によく理解されている。例えば、I. Loeffler and G. Wolf, 2013, Nephrol. Dial. Transplant, 29: i37-i45 を参照されたい)。TGF- β シグナル伝達の細胞内媒介物は Smad と呼ばれ、1 型 TGF- β 受容体 (T β R-1) の下流で作用し、3 つのクラスに分類される。受容体調節 Smad (R-Smad)、例えば、Smad1、Smad2、Smad3、Smad5 及び Smad8 は直接リン酸化され、T β R-1 (これは、膜貫通受容体セリン／トレオニンキナーゼである) によって活性化され、第 2 のクラスの Smad である一般的な媒介物 Smad (Co-Smad)、例えば、Smad4 とヘテロオリゴマー複合体を形成する。これらの Smad 複合体は核に移行し、そこで部位特異的 DNA 転写因子と相互作用し、標的遺伝子の調節に関与する。Smad2 及び Smad3 は、TGF- β サブファミリーによるシグナル伝達に応答する。Smad の第 3 の同定されたクラスには、阻害性 Smad、Smad6 及び Smad7 が含まれ、これらは活性化された T β R-1 受容体と物理的に相互作用することによって受容体調節 Smad の活性に拮抗し、R-Smad のドッキング及びリン酸化を防止することができる。(同上)。TGF- β はまた、その多面的効果により、TGF- β はまた、Smad 媒介転写に加えて、Ras、Raf、Erk、JNK 及び p38 などの MAPK 経路を含む他のシグナル伝達カスケードも直接活性化することができる。さらに、TGF- β は、そのエフェクター Akt、並びに RhoA、Rac 及び cdc42 を含む Rho 様 GTPアーゼのリン酸化によって、ホスファチジルイノシトール-3-キナーゼ (PI-3K) カスケードを活性化することができる。(同上)。

【0074】

TGF- β は、多くの腎細胞型によって合成され、上記のシグナル伝達経路を介してその生物学的 (及び病態生理学的) 効果を発揮する。TGF- β は腎疾患において上方制御され、腎細胞を誘導して細胞外マトリックスタンパク質を産生し、糸球体硬化症及び尿管間質 (TI) 線維症をもたらす。これは、腎実質上の進行性の有害な結合組織沈着として特徴付けられ、腎機能の悪化をもたらす損傷プロセスである。種々のタイプの腎細胞は、TGF- β の活性によって誘導される種々の病態生理学的変化を受け、アポトーシス、組織肥大及び足細胞の足突起異常をもたらす。最終的に腎機能障害を引き起こす。(同上)。

【0075】

本明細書で使用される場合、「決定する」、「評価する (evaluating)」、「評価する (assessing)」、「アッセイする」、「測定する」及び「検出する」、並びに「同定する」という用語は、定量的及び定性的決定の両方を指し、したがって、「決定する」という用語は、本明細書では「アッセイする」、「測定する」などと同義的に使用される。定量的決定が意図される場合、分析物、物質、タンパク質などの「量、レベル又は濃度を決定する」という語句が使用される。定性的及び／又は定量的決定が意図される場合、分析物の「レベルを決定する」又は分析物を「検出する」という語句が使用

される。

【0076】

「疾患」とは、細胞、組織又は臓器の正常な機能を損傷するか、妨害するか、又は調節不全にするあらゆる病態又は障害を意味する。本明細書において言及される腎臓の疾患及び腎臓に関連する疾患には、非限定的な例として、糖尿病性腎症（DN）、慢性腎疾患（CKD）、急性腎疾患、高血圧関連腎疾患、高血糖関連腎疾患、腎線維症、炎症関連腎疾患、末期腎疾患（ESRD）、自己免疫関連腎線維症（例えば、ループス腎炎）及び腎臓移植後の線維症などが含まれる。このような疾患、病態、病変及び／又は腎臓に関連したその症状は、対象において急性であっても慢性であってもよく、限定することは意図されない。

10

【0077】

一般的に言えば、「線維症」は、反応性（例えば、傷害に対する応答；疾患）又は修復プロセスの結果として生じ得る、臓器又は組織における過剰な結合組織の形成である。線維症は、反応性、良性、又は病理学的状態で起こり得る。損傷に対する応答では、線維症は癒痕化と呼ばれ得る。腎癒痕化は進行性の腎機能の喪失をもたらす、最終的に末期腎不全、及び透析又は腎移植の必要性につながる。

【0078】

腎線維症は、実質的にあらゆるタイプの慢性腎臓疾患において生じる細胞外マトリックスの過剰な蓄積の不可避の結果である。腎線維症の病因は、最終的に末期腎疾患／腎不全、透析又は腎移植を必要とする壊滅的な障害をもたらす進行性プロセスである。一般に、腎線維症は、慢性的な持続的傷害又は損傷後の腎組織の創傷治癒プロセスの失敗を表す。メサングウム細胞及び線維芽細胞の活性化、並びに尿細管上皮間葉転換（EMT）を含むいくつかの細胞経路が、マトリックス産生細胞が疾患状態で産生される主要な方法として確認されている。（例えば、Y. Liu, 2006, Kidney Int., 69（2）：213－217を参照されたい）。

20

【0079】

腎線維化プロセスを調節する多くの線維形成因子の中で、TGF- β は中心的な役割を果たす。欠陥のあるマトリックス分解は組織癒痕化の一因であり得るが、損傷した腎臓におけるマトリックス分解酵素の正確な作用及び機構は複雑であり、よくわかっていない。内因性抗線維化因子の活性を介在させることは、TGF- β /Smadシグナル伝達経路の線維形成作用に拮抗するための戦略を提供し得る。

30

【0080】

「足細胞」は、糸球体の毛細血管に巻き付く腎臓のボーマン嚢における高度に分化した上皮細胞である。毛細血管の周りを包み、血液及び血液成分が濾過される濾過スリット（又はスリット膜）を生成するのは、足突起又は足細胞の突起である。ボーマン嚢は血液を濾過し、より大きな分子（例えば、タンパク質）を保持し、一方、尿の形成における第1の工程として、より小さな分子（例えば、水、塩、糖）を濾過する。糸球体毛細血管ループ及び糸球体基底膜の内皮細胞と共に、足細胞は濾過バリアを形成する。腎臓の足細胞及びメサングウム細胞は、糸球体の構造及び機能を支持する。

【0081】

腎臓における「糸球体」は、係締と呼ばれる毛細血管のネットワーク又はクラスターであり、各腎尿細管（ネフロン）の末端に位置するカップ様嚢（糸球体嚢）の内部に位置し、血液の濾過に関与する。糸球体毛細血管壁の組成は、糸球体嚢に濾過されるものとその量を決定する。毛細血管壁は溶質、血漿タンパク質及び流体が通過できるが、血液細胞は通過できない比較的大きな孔を有する内皮層、内皮層に融合され、血漿タンパク質が血液から濾過されるのを防ぐ基底膜層、及び足突起によって基底膜に付着する足細胞からなる上皮層から構成される。流体は、足細胞によって形成された濾過スリットを通過する。スリット間の薄い隔膜は、流体が糸球体空間に入る前の最終的な濾過バリアとして機能する。

40

【0082】

「単離された」、「精製された」又は「生物学的に純粋な」という用語は、天然状態で

50

見られる通常はそれに付随する成分を様々な程度に含まない物質を指す。「単離する」は、元の供給源又は環境からのある程度の分離を示す。「精製する」は、単離よりも高い分離度を示す。「精製された」又は「生物学的に純粋な」タンパク質は、いかなる不純物もタンパク質の生物学的特性に実質的に影響を及ぼしたり、その他の有害な帰結を引き起こしたりしないように、その他の材料を十分に含まない。すなわち、核酸又はペプチドは、本明細書で使用される場合、組換えDNA技術によって生成されるときは、細胞材料、ウイルス汚染物質又は培養培地を実質的に含まず、また化学合成されるときは、化学物質前駆体又はその他の化学物質を実質的に含まない場合に、精製されている。純度及び均一性は、典型的には、分析化学技術、例えば、ポリアクリルアミドゲル電気泳動、カラムクロマトグラフィー、高速液体クロマトグラフィー（HPLC）、質量分析などを用いて決定される。「精製された」という用語は、核酸又はタンパク質が電気泳動ゲル中で実質的に1つのバンドを生じることを意味し得る。例えば、リン酸化又はグリコシル化などの修飾を受け得るタンパク質については、異なる修飾は、別々に精製され得る、異なる単離されたタンパク質を生じさせてもよい。

【0083】

「単離されたポリヌクレオチド」は、核酸分子が由来する生物の天然に存在するゲノム中でその遺伝子に隣接する遺伝子を含まない、核酸（例えば、DNA）を意味する。したがって、この用語には、例えば、発現ベクターなどのベクターに組み込まれた組換えDNA、自律的に複製するプラスミド若しくはウイルスに組み込まれた組換えDNA、又は原核生物若しくは真核生物のゲノムDNAに組み込まれた組換えDNA、又はその他の配列とは独立した別個の分子（例えば、PCR又は制限エンドヌクレアーゼ消化によって生成されたcDNA又はゲノム若しくはcDNA断片）として存在する組換えDNAが含まれる。さらに、この用語には、DNA分子から転写されたRNA分子、並びに1つ又は複数の追加的なポリペプチド配列をコードするハイブリッド遺伝子の一部である組換えDNAを含む。

【0084】

「単離されたポリペプチド」は、それが天然に付随する成分から分離された、又は単離又は精製処理中に存在する成分から分離された、単離された抗 α v β 8インテグリン抗体又はその抗原結合断片などの本開示のポリペプチド又は分子を意味する。そのようなポリペプチド又は分子は、その自然環境中に存在する他の要素を実質的に含まない。例えば、単離されたタンパク質は、それが由来する細胞又は組織源からの細胞物質又はその他のタンパク質を実質的に含まない。典型的には、ポリペプチド又は分子は、それが自然に結合している、タンパク質及び天然に存在する有機分子を少なくとも60重量%含まない場合に、単離されている。好ましくは、調製物は、その少なくとも75重量%、より好ましくは少なくとも90重量%、最も好ましくは少なくとも99重量%が、本開示のポリペプチドである。本開示の単離されたポリペプチドは、例えば、天然源からの抽出によって、このようなポリペプチドをコードする組換え核酸の発現によって、又はタンパク質を化学的に合成することによって得られ得る。「単離された」という用語はまた、単離されたタンパク質が医薬組成物として投与されるのに十分に純粋であるか、又は少なくとも70~80%（w/w）純粋な、より好ましくは、少なくとも80~90%（w/w）純粋な、より一層好ましくは、90~95%純粋な；最も好ましくは、少なくとも95%、96%、97%、98%、99%若しくは100%（w/w）純粋である調製物を指す。純度は、例えば、カラムクロマトグラフィー、ポリアクリルアミドゲル電気泳動、HPLC分析、及び／又は質量分析などの任意の適切な方法によって測定することができる。

【0085】

「用量」という用語は、例えば、治療又は治療法の利益などのために薬剤を必要とする対象又は患者に（投与経路を限定することなく）投与される、小分子又は生物学的のような、薬物、医薬品、化合物などの治療薬の測定された分量、量、又は濃度を指す。

【0086】

「増加する」は、例えば、少なくとも10%、25%、50%、75%、100%、2

10

20

30

40

50

00%、300%、400%、500%、1000%、又はそれ以上の増加など、正の変化を意味する。

【0087】

「減少させる」は、例えば、少なくとも10%、25%、50%、75%、又は100%の減少など、負の変化を意味する。

【0088】

「参照」又は「対照」は、限定はされないがプラセボなどの比較の基準を意味する。一実施形態では、参照レベルは、非罹患組織から得られた生体試料中のバイオマーカーのレベル、発現、又は活性である。

【0089】

「参照配列」は、配列比較の基礎として使用される定義された配列である。参照配列は、例えば、完全長のcDNA若しくは遺伝子配列のセグメント、又は完全なcDNA若しくは遺伝子配列などの規定の配列のサブセット又は全体であってもよい。ポリペプチドでは、参照ポリペプチド配列の長さは、一般に少なくとも約16アミノ酸、好ましくは少なくとも約20アミノ酸、より好ましくは少なくとも約25アミノ酸、より一層好ましくは約35アミノ酸、約50アミノ酸、又は約100アミノ酸である。核酸分子では、参照核酸配列の長さは、一般に少なくとも約50ヌクレオチド、好ましくは少なくとも約60ヌクレオチド、より好ましくは少なくとも約75ヌクレオチド、より一層好ましくは約100ヌクレオチド若しくは約300ヌクレオチド、又はそれらの前後若しくはそれらの間の任意の整数である。

【0090】

治療に関連して「応答性の」は、治療の影響を受け易いことを意味する。

【0091】

「特異的に結合する」又は「選択的に結合する」は、分子（例えば、ポリペプチド、抗原、リガンド）を認識して結合するが、例えば生体試料などの試料中のその他の分子は実質的に認識も結合もしない作用物質（例えば、抗体）を意味する。例えば、互いに特異的に結合する2つの分子（例えば、抗体及びそのリガンド）は、生理学的条件下で比較的安定な複合体を形成する。特異的結合は、高い親和性及び低から中程度のキャパシティを特徴とし、通常、低い親和性を有し、中程度から高いキャパシティを持つ非特異的結合と区別される。

【0092】

「生体試料」又は「試料」は、対象から得られた任意の液体、細胞又は組織を意味する。いくつかの実施形態では、生体試料は、血液、血清、血漿、脳脊髄液、気管支肺泡洗浄液、痰、涙、唾液、尿、精液、糞便などである。腎臓試料などの細胞又は組織試料は、細胞及び組織の細胞内成分が提供されるホモジネート又は懸濁液を生成するために、好適な緩衝液中でさらに処理され得る。

【0093】

「対象」は、以下に限定されないが、ヒト患者、ヒト対象、ヒト個体などのヒト、非ヒト霊長類、又はウシ、ウマ、イヌ、ヒツジ若しくはネコ科動物などの非ヒト哺乳類を含む哺乳類を意味する。一実施形態では、対象はヒトである。一実施形態では、対象は、CKDなどの腎臓の病態若しくは疾患及び／又はその症状のリスクを有する、又はそれらを有し、その治療を受けている、ヒト患者である。「対象」、「個体」及び「患者」という用語は、本明細書では同義的に使用され得る。

【0094】

本明細書で提供される範囲は、最初に記載される値と最後に記載される値を含む、範囲内の全ての値の省略表現であると理解される。例えば、1～50の範囲は、1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、26、27、28、29、30、31、32、33、34、35、36、37、38、39、40、41、42、43、44、45、46、47、48、49、又は50からなる群からの任意の数、数の組み合わせ、又はサ

10

20

30

40

50

ブ範囲を含むと理解される。

【0095】

「医薬組成物」又は「製剤」は、ヒトを含む動物又は哺乳類などの対象における医薬的使用に好適な組成物（生理学的に許容される組成物）を指す。医薬組成物は、本明細書に記載の抗 $\alpha\text{v}\beta 8$ インテグリン抗体又はその抗原結合断片の治療的又は予防的有効量と、薬学的に許容される賦形剤、担体、ビヒクル又は希釈剤とを含む。一実施形態では、医薬組成物は、活性成分（抗 $\alpha\text{v}\beta 8$ インテグリン抗体又はその抗原結合部分若しくは断片）、及び担体を構成する不活性成分、並びに任意の2つ以上の成分の組み合わせ、複合体若しくは凝集から、又は成分の1つ又は複数の分離から、又は成分の1つ又は複数のその他の各種反応又は相互作用から、直接的又は間接的に生じる任意の生成物を含む組成物を包含する。一実施形態では、医薬組成物は、任意選択的に、別の生物学的活性剤、化合物、薬物、又は医薬を含む。したがって、本開示の医薬組成物は、抗 $\alpha\text{v}\beta 8$ インテグリン抗体又はその抗原結合部分若しくは断片と、薬学的に許容される賦形剤、担体、ビヒクル、又は希釈剤とを混合することによって作製される任意の組成物を包含する。

10

【0096】

「薬学的に許容される担体」は、リン酸塩緩衝食塩水、任意選択的に別の生物学的活性剤、デキストロースの水性（例えば、5%）溶液、及びエマルジョン（例えば、油／水又は水／油エマルジョン）などの標準的な医薬担体、緩衝剤などのいずれかを指す。賦形剤の非限定的な例としては、アジュバント、結合剤、充填剤、希釈剤、崩壊剤、乳化剤、湿潤剤、潤滑剤、滑剤、甘味剤、香味剤、及び着色剤が挙げられる。好適な医薬担体、賦形剤、ビヒクル及び希釈剤は、Remington's Pharmaceutical Sciences, 19th Ed. (Mack Publishing Co., Easton, 1995（又はこの参考文献の更新版））に見出し得る。組成物又は製剤に含めるのに好適な医薬担体は、典型的には活性剤、例えば、本明細書に記載の抗 $\alpha\text{v}\beta 8$ インテグリン抗体又はその抗原結合部分若しくは断片の意図する投与方法に依存する。例示的な投与方法としては、経腸（例えば、経口）又は非経口（例えば、皮下、筋肉内、静脈内又は腹腔内注射、静脈内輸液、又は局所、経皮、若しくは経粘膜投与）が挙げられる。

20

【0097】

「薬学的に許容される塩」は、以下に限定されないが、金属塩（例えば、ナトリウム、カリウム、マグネシウム、カルシウムなど）、及びアンモニア又は有機リン酸の塩を含む、医薬的使用のための化合物に製剤化され得る塩を指す。

30

【0098】

「薬学的に許容される」、生理学的に許容される」、又は「薬理学的に許容される」は、生物学的、生理学的、又は別の様式で有害でない物質を指し、すなわち、物質は、いかなる望ましくない生物学的効果を引き起こすことなく、又は、有害な様式で、それがその中に含まれる組成物の成分のいずれかと、又は個体の身体上若しくは身体内に存在するいかなる成分と相互作用することなく、個体に投与され得る。

【0099】

「生理学的状態」は、ヒトなどの動物又は哺乳類の体内の状態を指す。生理学的状態としては、体温と、生理学的イオン強度、pH、及び酵素などの水性環境とが挙げられるが、これらに限定されない。生理学的状態はまた、正常なヒト体温（約37℃）又は正常なヒト血液pH（約7.4）など、大部分の対象に存在する「正常」な状態と異なる、特定の対象の体内の状態も包含する。

40

【0100】

本明細書で使用される場合、「治療する」、「治療すること」、「治療」などの用語は、障害及び／又はそれに関連した症状を、低減、軽減、減少、緩和、抑止、中和、又は改善することを指す。除外するものではないが、障害又は病態を治療することは、障害、病態又はそれに関連した症状を完全に除去又は緩和することを必要としないことは理解されるであろう。「治療」は、予防的治療又は治療の治療又は診断的治療を指してもよい。特定の実施形態では、「治療」は、治療目的、予防目的、又は診断目的のために、化合物又

50

は組成物を対象に投与することを指す。

【0101】

記載される方法に従って、治療すること又は治療は、本明細書に記載の抗 $\alpha v \beta 8$ インテグリン抗体を投与することを含む。一実施形態では、抗 $\alpha v \beta 8$ インテグリン抗体は、必要とする対象に対し、非経口的に、例えば静脈内又は皮下に投与される。当該技術分野の当業者によって理解されるように、静脈内投与は、一般に、抗 $\alpha v \beta 8$ インテグリン抗体などの活性成分、治療薬、物質、薬剤、薬物、又は抗体を、対象の静脈又は血管に提供又は送達し、活性成分を対象の体循環に送達することを指す。静脈内投与は、例えば、シリンジ及び針又はカテーテルの手段による、静脈又は血管への静脈内注射又は静脈内輸液を含み得る。静脈内注射又は輸液は、活性成分が、チューブを通じて輸液バッグ内に送達され、次に対象の体内に配置されたカテーテル及び／又はポートを通じて、医師によって慣例的及び实际的に決定される流量で、輸液バッグから対象内に送達されるように、プラスチックチューブ及び輸液バッグ（例えば、輸液セット）の使用を伴い得る。静脈内注射又は輸液は、ポンプの使用によって又は点滴を介して行われてもよい。

10

【0102】

「予防的治療」（予防的又は保護的治療など）は、疾患、病変、又は病態を発症するリスク、又は疾患、病変、又は病態のより重篤な又は重症の形態を発症するリスクを低減し、減少させ、緩和し、又は除去する目的で、疾患の徴候を示さない、又は疾患の初期徴候のみを示す、又は疾患を有するリスクがある対象に施される治療である。本明細書に記載される抗 $\alpha v \beta 8$ インテグリン抗体若しくはその抗原結合断片、又はその組成物を、対象が腎疾患、病変、若しくは病態を発症する可能性を低減するために、又は対象に腎疾患、病変又は病態が発症した場合にその重症度を最小化するために、予防的又は保護的治療として投与され得ることが想定される。

20

【0103】

「治療的」治療は、徴候又は症状を低減し、軽減し、緩和し、又は除去する目的で、疾患又は病変の徴候又は症状を示す対象に施される治療である。疾患又は病変の徴候又は症状は、限定はされないが、生化学的、行動的、細胞性、表現型、遺伝子型、組織学的、機能的、身体的、主観的、又は客観的であってよい。一実施形態では、本開示の抗 $\alpha v \beta 8$ インテグリン抗体は、治療的治療として与えられ／投与され得る。

【0104】

本明細書で使用される場合、障害又は病態を「予防する」治療薬は、統計的なサンプルにおいて、未治療の対照又は参照サンプルと比較して、治療済みサンプル中の障害又は病態の発生を低減させる、又は未治療の参照又は対照サンプルと比較して、障害又は病態の1つ又は複数の症状の発症を遅延させる、若しくは重症度を低減させる、生物製剤、化合物又は医薬物質を指す。一実施形態では、本開示の抗 $\alpha v \beta 8$ インテグリン抗体は、本明細書に記載の方法における予防的治療薬である。

30

【0105】

「有効量」という用語は、対象の健康状態、病変、又は疾患に関連して、又は診断目的のために、所望の結果（例えば、症状の低減、軽減、除去、又は改善）を生じるのに十分な投与量を指す。所望の結果は、用量又は投与量が投与される対象における、主観的又は客観的改善を含み得る。「治療的有效量」は、健康に対し、意図した有益な効果を生じるのに有効な薬剤の量を指す。特定の患者に対する特定の投与レベル及び頻度は、用いられる特定の化合物の活性；その化合物の生物学的利用能、代謝安定性、排泄速度及び作用の長さ；その化合物の投与方法及び時間；患者の年齢、体重、総体的な健康、性別、及び食生活；並びに患者の特定の病態の重症度を含む、様々な要因に依存し得ることは理解されるであろう。

40

【0106】

「タンパク質」、「ペプチド」、及び「ポリペプチド」という用語は、長さ又は翻訳後修飾（例えば、グリコシル化又はリン酸化）に関係なく、アミノ酸鎖を指す。したがって、本明細書では、これらの用語は、アミノ酸残基のポリマーを指すために同義的に使用さ

50

れ得る。これらの用語はまた、1つ又は複数のアミノ酸残基が対応する天然アミノ酸の人工的な化学模倣薬であるアミノ酸ポリマーにも適用される。したがって、「ポリペプチド」という用語には、完全長の天然に存在するタンパク質；並びに完全長の天然に存在するタンパク質に対応する、又は天然に存在するタンパク質の特定のドメイン若しくは部分に対応する、組換え又は合成によって製造されたポリペプチドが含まれる。この用語にはまた、原核細胞における発現を促進するために、アミノ末端メチオニンが付加された成熟タンパク質も包含される。ポリペプチドは、化学的に合成され得、また組換えDNA法によって合成され得、また天然に発現している組織から標準的な生化学的精製方法に従って精製され得る。「機能的ポリペプチド」は、例えば、抗 $\alpha v \beta 8$ インテグリン抗体などの所与のタンパク質又はポリペプチドの1つ又は複数の生物学的機能又は活性を有する。機能的ポリペプチドは、抗 $\alpha v \beta 8$ インテグリン抗体の標準配列であると考えられるものから改変された、一次アミノ酸配列を含有してもよい。好ましくは、このような改変は、タンパク質の正常な機能又は活性を変化も実質的な変化もさせない、保存的アミノ酸置換である。ポリペプチド断片、部分、又はセグメントは、特定の配列からの少なくとも約6個の連続したアミノ酸、より典型的には少なくとも約10～12個の連続したアミノ酸の一続きのアミノ酸残基を指す。

【0107】

本開示の抗 $\alpha v \beta 8$ インテグリン抗体などのポリペプチドをコードする核酸分子（ポリヌクレオチド）には、本開示のポリペプチド、例えば、抗 $\alpha v \beta 8$ インテグリン抗体又はその抗原結合断片をコードする核酸分子が含まれる。このような核酸分子は、内因性核酸配列と100%同一である必要はないが、典型的には実質的な同一性を示すであろう。内因性配列に対し「実質的な同一性」を有するポリヌクレオチドは、典型的には、二本鎖核酸分子の少なくとも1本の鎖とハイブリダイズすることができる。内因性配列に対し「実質的な同一性」を有するポリヌクレオチドは、典型的には、二本鎖核酸分子の少なくとも1本の鎖とハイブリダイズすることができる。「ハイブリダイズする」は、様々なストリンジエンシー条件下で、相補的ポリヌクレオチド配列（例えば、遺伝子）又はその一部の間で対合して、二本鎖分子を形成することを意味する。（例えば、Wahl, G. M. and S. L. Berger, 1987, *Methods Enzymol.*, 152:399; Kimmel, A. R., 1987, *Methods Enzymol.*, 152:507を参照されたい）。

【0108】

非限定的な例として、ストリンジエントな塩濃度は、通常、NaCl約750mM未満及びクエン酸三ナトリウム約75mM未満、好ましくはNaCl約500mM未満及びクエン酸三ナトリウム約50mM未満、より好ましくはNaCl約250mM未満及びクエン酸三ナトリウム約25mM未満である。低ストリンジエンシーハイブリダイゼーションは、例えば、ホルムアミドなどの有機溶媒の非存在下で得られ得る一方で、高ストリンジエンシーハイブリダイゼーションは、少なくとも約35%のホルムアミド、より好ましくは少なくとも約50%のホルムアミドの存在下で得られ得る。ストリンジエントな温度条件は、通常、少なくとも約30℃、より好ましくは少なくとも約37℃、最も好ましくは少なくとも約42℃の温度を含む。ハイブリダイゼーション時間、界面活性剤、例えばドデシル硫酸ナトリウム（SDS）の濃度、及び担体DNAの包含又は除外などの様々な追加のパラメータは、当業者にはよく知られている。様々なレベルのストリンジエンシーは、これらの様々な条件を必要に応じて組み合わせることで達成される。特定の実施形態では、ハイブリダイゼーションは、750mMのNaCl、75mMのクエン酸三ナトリウム、及び1%のSDS中、30℃で行われる。別の特定の実施形態では、ハイブリダイゼーションは、500mMのNaCl、50mMのクエン酸三ナトリウム、1%のSDS、35%のホルムアミド、及び100 μ g/mlの変性サケ精子DNA中、37℃で行われる。別の特定の実施形態では、ハイブリダイゼーションは、250mMのNaCl、25mMのクエン酸三ナトリウム、1%のSDS、50%ホルムアミド、及び200 μ g/mlのサケ精子DNA中、42℃で行われる。これらの条件の有用なバリエーションは、当

業者には容易に明らかであろう。

【0109】

ほとんどの用途では、ハイブリダイゼーションに続く洗浄工程もまた、ストリンジェンシーによって変わる。洗浄ストリンジェンシー条件は、塩濃度及び温度によって定義され得る。上記のように、塩濃度を下げるか、又は温度を上げることによって、洗浄ストリンジェンシーを高め得る。例えば、洗浄工程のストリンジェントな塩濃度は、NaCl約30mM未満及びクエン酸三ナトリウム約3mM未満であり、特に、NaCl約15mM未満及びクエン酸三ナトリウム約1.5mM未満であろう。洗浄工程のストリンジェントな温度条件は、通常、少なくとも約25℃、又は少なくとも約42℃、又は少なくとも約68℃の温度を含む。特定の実施形態では、洗浄工程は、30mMのNaCl、3mMのクエン酸三ナトリウム、及び0.1%のSDS中、25℃で行われる。別の特定の実施形態では、洗浄工程は、15mMのNaCl、1.5mMのクエン酸三ナトリウム、及び0.1%SDS中、42℃で行われる。別の特定の実施形態では、洗浄工程は、15mMのNaCl、1.5mMのクエン酸三ナトリウム、及び0.1%SDS中、68℃で行われる。これらの条件の追加的なバリエーションは、当業者には容易に明らかであろう。ハイブリダイゼーション技術は当業者によく知られており、例えば、Benton and Davis (Science, 196:180, 1977); Grunstein and Hogness (Proc. Natl. Acad. Sci., USA, 72:3961, 1975); Ausubel et al. (Current Protocols in Molecular Biology, Wiley Interscience, New York, 2001); Berger and Kimmel (Guide to Molecular Cloning Techniques, 1987, Academic Press, New York); 及び Sambrook et al., Molecular Cloning: A Laboratory Manual, Cold Spring Harbor Laboratory Press, New Yorkに記載されている。

【0110】

2つ以上の核酸又はポリペプチドの文脈における用語「同一の」又は「同一性」パーセントは、保存的アミノ酸置換を配列同一性の一部と見なさず、最大の一致のために比較し整列した場合（必要に応じてギャップを導入する）、同一であるか、又は規定の割合の同一ヌクレオチド又はアミノ酸残基を有する、2つ以上の配列又は部分配列を指す。同一性パーセントは、配列比較ソフトウェア又はアルゴリズムを使用して、又は目視検査によって測定され得る。アミノ酸配列又はヌクレオチド配列のアラインメントを得るために用い得る様々なアルゴリズム及びソフトウェアが当該技術分野において知られている（例えば、Karlin et al., 1990, Proc. Natl. Acad. Sci., 87:2264-2268 (Karlin et al., 1993, Proc. Natl. Acad. Sci., 90:5873-5877において変更され、NBLAST及びXBLASTプログラム (Altschul et al., 1991, Nucleic Acids Res., 25:3389-3402) に導入されている) を参照されたい)。特定の実施形態では、Gapped BLASTを、Altschul et al., 1997, Nucleic Acids Res. 25:3389-3402に記載のとおり使用することができる。BLAST-2、WU-BLAST-2 (Altschul et al., 1996, Methods in Enzymology, 266:460-480)、ALIGN、ALIGN-2 (Genentech, South San Francisco, California) 又はMegalign (DNASTAR)。

【0111】

「実質的に同一」は、参照アミノ酸配列又は核酸配列と、少なくとも50%の同一性を示すポリペプチド又は核酸分子を意味する。このような配列は、比較のために使用される配列と、アミノ酸レベル又は核酸で、少なくとも60%、又は少なくとも80%若しくは85%、又は少なくとも90%、95%、又は99%の同一性を有し得る。

【0112】

配列同一性は、典型的には、配列解析ソフトウェアを使用して測定される（例えば、Sequence Analysis Software Package of the Genetics Computer Group, University of Wisconsin Biotechnology Center, 1710 University Avenue, Madison, Wis. 53705、BLAST、BESTFIT、GAP、又はPILEUP/PRETTYBOXプログラム）。このようなソフトウェアは、様々な置換、欠失、及び／又はその他の変更について、相同性の程度を割り当てることによって、同一又は類似の配列を適合させる。保存的置換は、典型的には、以下のアミノ酸基内の置換を含む：グリシン、アラニン；バリン、イソロイシン、ロイシン；アスパラギン酸、グルタミン酸、アスパラギン、グルタミン；セリン、トレオニン；リシン、アルギニン；及びフェニルアラニン、チロシン。同一性の程度を決定する例示的な方法では、BLASTプログラムが使用され得、 $e^{-3} \sim e^{-100}$ の間の確率スコアは、密接に関連した配列を示唆する。

【0113】

哺乳動物の抗 $\alpha\beta$ 8インテグリン抗体（特に、抗ヒト $\alpha\beta$ 8インテグリン抗体）、又はその免疫学的に機能的な対立遺伝子バリエーション若しくはアイソフォームは、抗 $\alpha\beta$ 8インテグリン抗体の結合及び遮断活性を有する抗体の断片を含む他の変異体又はアイソフォームと同様に、記載される方法において有用であり得る。ポリヌクレオチド又は遺伝子の文脈における「対立遺伝子変異」は、集団において2つ以上の形態で存在する遺伝子の代替形態（対立遺伝子）である。ポリペプチドレベルでは、「対立遺伝子バリエーション」は、一般に、1つだけ、又は最大で数個のアミノ酸置換だけ互いに異なる。ポリヌクレオチド又はポリペプチドの「種変異」は、異なる生物種間で、多様性が天然に存在するものである。

【0114】

本開示において、「含む (comprises)」、「含んでいる (comprising)」、「含有する」、及び「有する」などは、米国特許法においてそれらに帰するとされる意味を有し得、「含む (includes)」、「含んでいる (including)」などを意味し得、「実質的に～からなる (consisting essentially of)」又は「実質的になる (consists essentially)」は、同様に米国特許法において帰するとされる意味を有し、用語は開放型であり、列挙されたものの基本的又は新規な特性が、列挙されたものをを超える存在によって変更されない限り、列挙されたものをを超える存在を許容するが、先行技術の実施形態は除外される。

【0115】

特に明記されていない限り又はその文脈から明らかでない限り、「又は」という用語は、本明細書で使用される場合、包括的であると理解される。特に明記されていない限り又は文脈から明らかでない限り、「1つの (a)」、「(1つの) an」、及び「その (the)」という用語は、本明細書で使用される場合、単数形又は複数形であると理解される。

【0116】

特に明記されていない限り又は文脈から明らかでない限り、本明細書で使用される場合、「約」という用語は、当該技術分野における通常の許容範囲内、例えば平均値の2標準偏差内と理解される。「約」という用語は、記載値の5%、10%、9%、8%、7%、6%、5%、4%、3%、2%、1%、0.5%、0.1%、0.05%又は0.01%以内を指すと理解される。文脈から明確でない限り、本明細書に提供される全数値は、用語約により修飾される。

【0117】

本明細書で提供される組成物又は方法はいずれも、本明細書で提供されるその他の組成物及び方法のいずれかの1つ又は複数と組み合わせられ得る。

【図面の簡単な説明】

【0118】

【図1A-1B】図1A及び1Bは、本明細書に開示される $\alpha\text{v}\beta 8$ インテグリンタンパク質に対する特異的抗 $\alpha\text{v}\beta 8$ インテグリン抗体の結合を示すグラフ及び表を提示する。より具体的には、図1Aは、国際公開第2013/026004号パンフレットに開示されている配列を用いて生成されたIgG抗 $\alpha\text{v}\beta 8$ インテグリン抗体「hu37E1B5」、及び本明細書の実施例1に記載のキメラIgG抗 $\alpha\text{v}\beta 8$ インテグリン抗体「Chi-37E1B5」間の結合親和性の比較を示すグラフを示す。図1Aに示す結合結果から観察されるように、hu37E1B5抗 $\alpha\text{v}\beta 8$ インテグリン抗体は、Chi-37E1B5抗 $\alpha\text{v}\beta 8$ インテグリン抗体と比較して、非常に低い結合親和性を有する。図1Bは、 $\alpha\text{v}\beta 8$ インテグリンタンパク質への結合についての、異なるIgG抗 $\alpha\text{v}\beta 8$ インテグリン抗体（図1Aで論じたような「hu37E1B5」及び「Chi-37E1B5」と、「MEDI-hu37E1B5」と呼ばれるCDRグラフト抗体）の親和性の比較を示すグラフ、並びにBiacoreアッセイによって評価した、これらの抗体の K_d 測定の表を提示する。MEDI-hu37E1B5抗 $\alpha\text{v}\beta 8$ インテグリン抗体は、抗 $\alpha\text{v}\beta 8$ インテグリン抗体Chi-37E1B5からのCDRグラフトによって生成され、Chi-37E1B5抗 $\alpha\text{v}\beta 8$ インテグリン抗体と同様の $\alpha\text{v}\beta 8$ インテグリン結合プロフィールを示した（図1B）。

【図2A-2D】図2A-2Dは、MEDI-hu37E1B5ヒト化抗 $\alpha\text{v}\beta 8$ インテグリン抗体C94IのCDR位置における飽和点変異の生成からの代表的な抗 $\alpha\text{v}\beta 8$ インテグリン抗体クローナルヒットの結果及びアミノ酸配列を、MEDI-hu37E1B5 C94I抗 $\alpha\text{v}\beta 8$ インテグリン抗体と、代表的な抗 $\alpha\text{v}\beta 8$ インテグリンV_HCDR1、V_HCDR3及びV_Lヒット（飽和点変異実験によって生成され、実施例1に記載のスクリーニング分析において同定された「P1」又は「P2」と呼ばれる）の結合親和性分析を示すグラフとともに示す。図2Aは、MEDI-hu37E1B5親抗体と比較して改善された $\alpha\text{v}\beta 8$ インテグリンに対するV_HCDR1ヒットの結合親和性を示す。図2Bは、MEDI-hu37E1B5親抗体と比較して改善された $\alpha\text{v}\beta 8$ インテグリンに対するV_HCDR3ヒットの結合親和性を示す。図2Cは、MEDI-hu37E1B5親抗体と比較して改善された $\alpha\text{v}\beta 8$ インテグリンに対するV_Lヒットの結合親和性を示す。図2Dは、親和性成熟抗 $\alpha\text{v}\beta 8$ インテグリン抗体クローンのスクリーニングから得られた、「P2-23」、「P2-33」、「P2-25」、「P1-21」、「P1-35」、「P1-42」、「P2-16」、「P2-19」、「P2-36」、及び「P2-14」と命名された代表的な一次クローン抗 $\alpha\text{v}\beta 8$ インテグリン抗体ヒットのV_H及びV_L領域のアミノ酸配列のアラインメントを示す。クローンのV_H及びV_L領域におけるフレームワーク（FW1～FW4）領域及びCDR（CDR1～CDR3）は、配列の上に指定する。CDR領域におけるアミノ酸残基の相異箇所は、二重下線で示す。

【図3A-3B】図3A及び3Bは、実施例1に記載されるヒト化及び親和性最適化抗 $\alpha\text{v}\beta 8$ 抗体を生成するために使用される組み合わせライブラリースクリーニングからの $\alpha\text{v}\beta 8$ インテグリン結合データを提示する。図3A及び図3Bに示すように、10個の有益な点変異は全て、コンビナトリアル手法で組み合わせられた。4608個のクローンをスクリーニングし、確認のために88個のクローンを選択した。最良の一次ヒットP2-23よりもさらなる結合改善を示した6つのコンボヒットを同定した。

【図4】図4は、ヒト化MEDI-hu37E1B5、親和性最適化B5-15及びB5-15 N59Q抗 $\alpha\text{v}\beta 8$ インテグリン抗体の異なる濃度を $\alpha\text{v}\beta 8$ インテグリンタンパク質への結合について比較した酵素結合免疫吸着アッセイ（ELISA）の結果を示す。ELISAアッセイのために、組換え技術により生成した $\alpha\text{v}\beta 8$ インテグリンタンパク質を組織培養プレートのウェル上にコーティングした。抗体結合を、西洋ワサビペルオキシダーゼ（HRP）結合ヤギ抗ヒトFc抗体を用いて検出した。親和性最適化B5-15及びB5-15 N59Q抗 $\alpha\text{v}\beta 8$ インテグリン抗体の結合は、親MEDI-hu37E1B5抗 $\alpha\text{v}\beta 8$ インテグリン抗体と比較して改善されたことが、抗体濃度の全範囲にわたって観察された。B5-15 N59Qは、B5-15抗 $\alpha\text{v}\beta 8$ インテグリン抗体の非グリコシル化バージョンである。抗 $\alpha\text{v}\beta 8$ インテグリン抗体の（HCDR2配列

中) のグリコシル化は阻害活性に重要であることが示されているが、 $\alpha v \beta 8$ インテグリンへの結合には影響しない (国際公開第 2015 / 195835 号パンフレットを参照されたい)。

【図 5】図 5 は、 $TGF-\beta$ 活性化に対する抗 $\alpha v \beta 8$ インテグリン抗体の阻害を測定するための TMLC ルシフェラーゼ バイオアッセイの結果を示すグラフ及び表を提示する。図 5 のグラフは、抗 $\alpha v \beta 8$ インテグリン抗体 (IgG アイソタイプ) と対比した $TGF-\beta$ 活性の最大応答パーセントを示す。アッセイで評価した抗 $\alpha v \beta 8$ インテグリン抗体は、親 (Chi-37E1B5、図において「Chi-B5」として示す) 及び親和性最適化 (B5-15) 抗 $\alpha v \beta 8$ インテグリン抗体であった。2 つの抗体についての K_d (pM) 値及び IC_{50} (nM) 値を、グラフの下に示す。グラフから観察されるように、アッセイにおける抗 $\alpha v \beta 8$ インテグリン抗体の濃度の増加により、 $TGF-\beta$ の活性化が減少しており、B5-15 が Chi-37E1B5 よりも高いインビトロ効力を示した。

【図 6】図 6 は、4 つの抗 $\alpha v \beta 8$ インテグリン抗体、「Chi-37E1B5」(UCSF から導入したキメラ抗 $\alpha v \beta 8$ インテグリン抗体)、「hu37E1B5」(国際公開第 2013 / 026004 号パンフレットからの UCSF ヒト化 37E1B5 抗体)、「MedI-hu37E1B5」(MedI ヒト化抗 $\alpha v \beta 8$ インテグリン抗体) 及び「B5-15」(ヒト化及び親和性最適化 B5-15 抗 $\alpha v \beta 8$ インテグリン抗体) の V_H 及び V_L 領域のアミノ酸配列のアラインメントを示す。「Chi-37E1B5」とのアミノ酸配列の相違箇所を太字で強調している。 V_H 及び V_L の CDR の各可変領域配列に下線を引いている。図 6 に示すように、Chi-37E1B5 抗 $\alpha v \beta 8$ インテグリン抗体の V_H 領域のアミノ酸配列は以下の通りである：EVQLVESGGGLVQPGGSLNLSCAVSGFVFSRYWMSWVRQAPGKGLEWIGEINPDSSITINYTSSSLKDKFIISRDNKNTLYLQMNKVRSEDTALYYCACLITTEDYWGQGTSTVTVSS (配列番号 20)。Chi-37E1B5 抗体の V_H 領域のヌクレオチド配列は以下の通りである：

【化 19】

```
gaagtgcagctggtggagctctggaggtggcctggtgcagcctggaggatccctgaacctctcct
gtgcagctctcaggattcggttttagtagatactggatgagttgggtccggcaggctccagggaa
agggctagaatggattggagaaattaatccagatagcagtagcagataaactatacgtcatctcta
aaggataaattcatcatctccagagacaacgccaaaaatacgttgtagctgcaaatgaacaaag
tgagatctgaggacacagccctttattactgtgcatgtcttattactacggaggactactgggg
tcaaggaacctcagtcaccgtctcctca (配列番号21)
```

Chi-37E1B5 抗 $\alpha v \beta 8$ インテグリン抗体の V_L (カッパ) 領域のアミノ酸配列は以下の通りである：

EVLTQSPSSMYASLGERTIPCKASQDINSYLSWVQQKPGKSPKTLIYYANRLVDGVPSRFSGSGSGQDYSLTISSELEYEDMGIIYYCLQYDEFPYTFGGGTTKLEIK (配列番号 22)。

Chi-37E1B5 抗体の V_L (カッパ) 領域のヌクレオチド配列は以下の通りである：

【化 20】

```
gaaattgtgctgactcagtcctccatcttccatgtatgcatctctaggagagagagtcactatcc
cttgcaaggcgagtcaggacattaatagctatttaagctgggtccagcagaaaccagggaaatc
tcctaagaccctgatctattatgcaaacagattggtagatgggtcccatcaaggttcagtggc
agtggatctgggcaagattattctctcaccatcagcagcctggagtatgaagatatgggaattt
attattgtctacagtatgatgagtttccgtacacgttcggaggaggcaccaagctggaaatcaa
a (配列番号23)
```

また、図 6 において、UCSF hu37E1B5 抗 $\alpha v \beta 8$ インテグリン抗体の V_H 領域のアミノ酸配列は以下の通りである：

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAVSGFVFSRYWMSWVRQA
PGKGLEWIGEINPDSSTINYTSSLKDRFTISRDNANKNSLY
LQMNSLRAEDTAVYYCASLITTEDYWGQGTTVTVSS（配列番
号24）。

UCSF hu37E1B5抗体のV_L（カッパ）領域のアミノ酸配列は以下の通りである：

EIVLTQSPSSLSLSPGERVTITCKASQDINSYLSWYQQKP
GKAPKLLIYYANRLVDGVPARFSGSGSGQDYTLTISSLEP
EDFAVYYCLQYDEFPYTFGGGGTKLEIK（配列番号25）。

【図7A-7C】図7A~7Cは、抗 $\alpha\text{v}\beta 8$ インテグリン抗体を用いた免疫組織化学（IHC）によって染色されたヒト腎組織の顕微鏡写真画像を示す。図7Aに示されるように、ヒト腎組織は、神経組織を除いて、評価された他の健康なヒト組織と比較して、特に足細胞において、 $\alpha\text{v}\beta 8$ インテグリンが高密度に存在していることがわかった。図7Bは、 $\alpha\text{v}\beta 8$ インテグリンが、 $\alpha\text{v}\beta 8$ インテグリン抗体による染色のパターンに基づいて、糖尿病性腎症（DN）及び慢性腎疾患（CKD）を有する個体から得られた腎組織試料に豊富に存在することを示す。特に、DN及びCKD患者から得られた腎組織試料においては、 $\alpha\text{v}\beta 8$ インテグリン染色は実質的に尿細管に見出された。DN患者の腎臓の糸球体は、 $\alpha\text{v}\beta 8$ インテグリン染色の減少を示しており、おそらく腎組織の線維化及び損傷による足細胞の喪失の結果としてであろう。図7Cは、正常個体由来の腎組織（「正常腎臓」）及び異なるステージの糖尿病性腎症（「DN」）を有する患者由来の腎組織の抗 $\alpha\text{v}\beta 8$ インテグリン抗体によるIHC染色の結果を示す。結果は、 $\alpha\text{v}\beta 8$ 染色が生存可能な機能的ネフロンにおいて上昇していることを示す。DNを有する患者から得られた腎組織試料では、染色されていない領域は機能的ネフロンから置き換わった線維性マトリックスであり、アスタリスク（*）で示されている。

【図8A-8E】図8A~8Eは、糖尿病性腎症（DN）腎疾患を有する患者から得られた腎組織試料を使用して実施されたトランスクリプトームのプロライフ解析の結果を、生体ドナーから得られた腎組織試料と比較して示す、棒グラフ、ドットプロットグラフ及びボックスプロットグラフを提示する。図8Aは、CKDを有するヒト被験体から得られた腎組織における、異なるAV関連インテグリン、ITGB8、ITGB1、ITGB3、ITGB5及びITGB6の相対mRNA発現レベル（hprt1発現に対する）を示す。ITGB8は、CKD患者の腎臓に最も豊富な $\beta 8$ サブユニットである。図8Bは、NPHS1（ネフリン、足細胞特異的遺伝子）mRNAに対して正規化されたITGB8 mRNA発現が、健常対照としての生体ドナーにおけるその発現と比較して、DN患者腎臓試料の糸球体においてより高かったことを示すボックスプロットグラフを示す。図8Cは、NPHS1 mRNAに対して正規化されたITGB8 mRNA発現が、健常対照としての生体ドナーにおけるその発現と比較して、DN患者腎臓試料の尿細管間質においてより高かったことを示すボックスプロットグラフを示す。図8Dは、ITGB8 mRNA発現が、CKD患者の尿細管間質におけるCKD全体のTGF- β 活性化スコア（TGF- β 経路における下流遺伝子の複合体）と強く相関することを示すドットプロットグラフを示す。図8Eは、RNAseqを用いた全ゲノム転写プロファイリング後の、健常ドナー腎糸球体（糸球体-LD）、DNを有する患者由来の腎糸球体（糸球体-DN）、健常ドナー由来の腎尿細管間質（Tub-LD）、及びDNを有する患者由来の腎尿細管間質（Tub-DN）における、種々のインテグリン遺伝子（ITGAV、ITGB2、ITGB4、ITGB5、ITGB6、ITGB7、及びITGB8）のmRNA発現レベル（正規化されたカウント）を示すボックスプロットグラフを示す。尿細管間質におけるITGB8 mRNAの発現が、生体ドナー（LD、n=19）に比べ、DN患者（n=20）で増加していることが認められた（ $p<0.01$ ）。

【図9A-9J】図9A~9Jは、本明細書に記載されるような抗 $\alpha\text{v}\beta 8$ インテグリン抗体を用いたIHC染色の結果を示す顕微鏡写真（図9A~9D）、並びに片側尿管結紮（UUO）処置を受けたヒト化 $\alpha\text{v}\beta 8$ トランスジェニックマウス（腎線維症のマウスモ

10

20

30

40

50

デル)におけるmRNA発現(図9E~9I)及び線維症の指標としてのヒドロキシプロリン含量(図9J)のインビボ分析の結果を示す棒グラフを示す。図9A及び9Bに示すIHC染色顕微鏡写真は、ヒト化 $\alpha v \beta 8$ トランスジェニックマウスが健康なヒト腎臓において典型的に観察されるものと同様に、主に腎臓の糸球体に $\alpha v \beta 8$ を発現することを示している。CKDを有するヒトの腎臓において典型的に観察されるものと同様に、UUO処置による線維症の誘導が腎尿細管における $\alpha v \beta 8$ 発現を増加させることが示された(図9C及び9D)。図9Eに示されるように、抗 $\alpha v \beta 8$ インテグリン抗体Ch i - 37 E 1 B 5 (親A v b 8 A bのラベルが付されている)及びB 5 - 1 5 (リードA v b 8 A bのラベルが付されている)は、UUO対照と比較して、UUO施術後8日目で、コラーゲン1 a 1 mRNA発現のUUO誘導による増加を減弱化させた。各抗体は10mg/kg投与された。図9Fに示されるように、抗 $\alpha v \beta 8$ インテグリン抗体Ch i - 37 E 1 B 5 (親A v b 8 A bのラベルが付されている)及びB 5 - 1 5 (リードA v b 8 A bのラベルが付されている)は、UUO対照と比較して、UUO施術後8日目で、コラーゲン3 a 1 mRNA発現のUUO誘導による増加を減弱化させた。各抗体は10mg/kg投与された。図9Gに示されるように、UUOは、UUO施術後8日目に、閉塞された腎皮質フィブロネクチン1(F n 1)mRNA発現を、シャム対照と比較して増加させた。抗体Ch i - 37 E 1 B 5 (親A v b 8 A bのラベルが付されている)及び抗体B 5 - 1 5 (リードA v b 8 A bのラベルが付されている)は、UUO対照と比較して、8日間の損傷期間でのF n 1発現のUUO誘導による増加を減弱化させた。各抗体は10mg/kg投与された。図9Hに示すように、抗 $\alpha v \beta 8$ インテグリン抗体B 5 - 1 5 (リードA v b 8 A bのラベルが付されている)は、UUO対照と比較して、UUO施術後8日目で、 α -平滑筋アクチン(α -SMA)発現のUUO誘導による増加を減弱化させた。Ch i - 37 E 1 B 5 (親A v b 8 A bのラベルが付されている)は、 α -SMAのUUO誘導による増加を減少させなかった。各抗体は10mg/kg投与された。図9Iに示されるように、抗 $\alpha v \beta 8$ インテグリン抗体Ch i - 37 E 1 B 5 (親A v b 8 A bのラベルが付されている)及びB 5 - 1 5 (リードA v b 8 A bのラベルが付されている)は、UUO対照と比較して、UUO施術後8日目に、結合組織成長因子(CTGF)mRNA発現のUUO誘導による増加を減弱化させた。各抗体は10mg/kg投与された。図9Jに示されるように、UUOは、UUO手術後8日目で、閉塞された腎皮質ヒドロキシプロリン(OH-P)%を増加させた。Ch i - 37 E 1 B 5 (親A v b 8 A bのラベルが付されている)抗体及びB 5 - 1 5 (リードA v b 8 A bのラベルが付されている)抗体は、対照と比較して、8日間の損傷期間でのOH-P%のUUO誘導性増加を減弱化させた。各抗体は10mg/kg投与された。腎皮質ヒドロキシプロリンの読み取りは、組織の実際の線維化含量/線維症の測定として役立つ。

【図10A-10B】図10A及び10Bは、アイソタイプ対照抗体(NIP228)又は抗 $\alpha v \beta 8$ インテグリン抗体(B 5 - 1 5)による治療後のUUO施術がされたヒト化 $\alpha v \beta 8$ トランスジェニック動物におけるTGF- β シグナル伝達の下流の効果に関するグラフを示す。図10Aは、ヒト化 $\alpha v \beta 8$ トランスジェニックマウスにおけるUUO施術が、シャム治療群に対して5.7倍のTGF- β 依存性SMAD2/3リン酸化の増加をもたらしたことを示す。抗 $\alpha v \beta 8$ インテグリン抗体(B 5 - 1 5)による治療は、アイソタイプ対照による治療と比較して、SMAD2/3活性化を1.6倍有意に減少させた。SMAD2/3の総レベルは、全てのUUO群で、シャム治療動物と比較して増加した(図10B)。

【図11】図11は、B 5 - 1 5 (抗 $\alpha v \beta 8$ インテグリン抗体)又はNIP228(アイソタイプ対照)による腎臓初代三培養細胞系の治療効果を示すグラフを示す。この三培養細胞系は、糸球体内皮細胞、足細胞、及びメサンギウム細胞が血管ネットワークを形成するヒト糸球体硬化症のモデルである(Waters et al., 2017, J Pathol, 243(3):390-400)。TGF- β 又はCTGFによる治療は、線維症の指標である小結節の形成を誘導する。抗 $\alpha v \beta 8$ インテグリン抗体による治療は、アイソタイプ対照による治療と比較して、小結節数を有意に減少させる。

【発明を実施するための形態】

【0119】

本開示は、一般に、本明細書に記載されるように、必要とする個体において、腎疾患、例えば、糖尿病性腎症（DN）、慢性腎疾患（CKD）、急性腎疾患、高血圧関連腎疾患、高血糖関連腎疾患、腎線維症、炎症関連腎疾患、末期腎疾患（ESRD）、自己免疫関連腎線維症（例えば、ループス腎炎）及び腎移植後の線維症などを治療するための抗体、組成物及び方法の特徴とする。特に、抗体、組成物及び方法は、CKDなどの腎疾患に関連する腎線維症を治療することを対象とする。

【0120】

本開示は、CKDなどの腎疾患を有する対象における腎組織の線維症を改善、減弱化、抑止、低減、又は緩和するための治療方法を対象とする。一般に、線維症は、腎臓などの臓器における過剰な線維性結合組織（瘢痕組織）の形成を指し、これは、腎臓結合組織の肥厚及び瘢痕化を引き起こす。上記のように、本方法は、罹患腎臓細胞及び腎組織、特に、CKDなどの腎臓疾患を有する対象の腎上皮細胞及び腎上皮組織で高度に発現されることが見出された $\alpha v \beta 8$ インテグリンに特異的に結合する抗 $\alpha v \beta 8$ インテグリン抗体又はその抗原結合断片の投与を含む。抗 $\alpha v \beta 8$ インテグリン抗体又はその抗原結合断片は、線維性腎細胞及び腎組織上の $\alpha v \beta 8$ インテグリンに選択的に結合し、それによって、腎細胞表面における潜在型TGF- β （LAP-TGF- β ）と腎臓発現 $\alpha v \beta 8$ インテグリンの相互作用を遮断、中和、又は阻害する。抗 $\alpha v \beta 8$ インテグリン抗体結合は、 $\alpha v \beta 8$ インテグリン／LAP TGF- β 相互作用を妨害し、これは、次に、腎臓細胞表面でのTGF- β の活性化を遮断又は防止し、その結果、活性TGF- β は産生されず、したがって、ヒト又は非ヒト対象などの対象の腎組織における腎線維症に関連するその細胞効果を発揮することができない。本方法は、例えば、腎疾患、例えばCKDにおける活性TGF- β によって誘発される有害な線維症を低減、減弱化、抑止、又は減少させることによって、特に腎疾患の治療において治療的利益を提供する。

【0121】

特定の理論に拘束されることを望むものではないが、抗 $\alpha v \beta 8$ インテグリン抗体又はその抗原結合フラグメントは、例えば、LAP TGF- β の $\alpha v \beta 8$ インテグリン受容体に直接結合することによって、 $\alpha v \beta 8$ インテグリンが高度に発現する腎細胞及び腎組織におけるTGF- β の局所的活性化を低減する。TGF- β の活性化をその潜在型から遮断する $\alpha v \beta 8$ インテグリンへの抗 $\alpha v \beta 8$ インテグリン抗体の結合はまた、潜在型TGF- β を切断し、成熟した活性TGF- β ペプチドを放出するプロテアーゼの動員を低減又は防止し得る。これは、抗 $\alpha v \beta 8$ インテグリン抗体が、腎細胞表面の $\alpha v \beta 8$ インテグリンの、細胞マトリックスに関連する潜在型TGF- β への結合を阻害し、それによって、以下に記載されるように、TGF- β のその後の活性化を阻害することによって起こり得る。

【0122】

形質転換成長因子ベータ（ β ）、（TGF- β ）及びその $\alpha v \beta 8$ インテグリンとの相互作用

細胞において、TGF- β サイトカインは、合成され、「潜在関連ペプチド（LAP）」及び「潜在型TGF- β 結合タンパク質（LTBP）」に複合体化される不活性前駆体として細胞外マトリックスに分泌される。TGF- β の潜在型は、その受容体、例えば $\alpha v \beta 8$ インテグリンに結合するために活性化されなければならない、生物学的機能を有していなければならない（J. J. Worthington et al., 2011a, Trends Biochem. Sci., 36, 47-54）。LAPは活性TGF- β から切断されるが、TGF- β がその受容体と結合するのを妨げる構造で非共有結合的に付着したままである。TGF- β の活性化因子には、活性TGF- β がその受容体と結合するのを可能にする、潜在複合体を変化させる様々なプロテアーゼ及び細胞表面分子が含まれる。推定TGF- β 活性化因子としては、LAPを分解するプロテアーゼ、トロンボスポンジン1、活性酸素種（ROS）及びインテグリンが挙げられるが、これらに限定されな

10

20

30

40

50

い。したがって、潜在型複合体の活性化はTGF- β 機能の調節に必須であり、TGF- β 活性化因子は、潜在型TGF- β の活性TGF- β への変換における律速段階である。例として、ヒトCKD腎臓（ $n=4$ ）において、潜在型TGF- β の量は、活性TGF- β の53倍以上である。

【0123】

線維症は、ヒト患者における慢性腎疾患（CKD）進行の重要な駆動因子であり、腎機能障害及び腎障害と相関する。TGF- β は、CKDにおける腎線維症の発症に関与する。腎臓のTGF- β は、対照腎臓と比べて、ヒト線維性CKDにおいて上方制御される（D. S. Goumenos et al., 2002, Nephrol. Dial. Transplant., 17: 2145-2152）。尿中TGF- β は、2型糖尿病における腎障害（アルブミン尿症）と相関することが示された。（Marwood et al., 2002, Exp. Biol. Med., 227 (11): 943-956）。

【0124】

αv -インテグリン膜貫通受容体、例えば、 $\alpha v \beta 8$ は、細胞外マトリックス生理学の調節及びTGF- β の活性化において重要な役割を果たしている。簡潔に記載すると、 αv -インテグリンは、潜在型TGF- β の活性化を媒介する。特に、 $\alpha v \beta 8$ は、TGF- β 結合潜在関連ペプチド（LAP）のRGD（アルギニン-グリシン-アスパラギン酸）モチーフに結合し、それによって組織中の遊離及び活性TGF- β レベルを調節する（Mu, D. et al., 2002, J. Cell Biol., 157 (3): 493-507; Araya, J., 2006, Am. J. Pathol., 169 (2): 405-415）。

【0125】

他の $\alpha v \beta$ インテグリンの活性とは異なり、 $\alpha v \beta 8$ インテグリンは構造的に活性であり、LAP TGF- β の活性化（LAP TGF- β の $\alpha v \beta 8$ インテグリンへの結合後の活性TGF- β サイトカインの放出による）を、細胞質アクチンへの固定（牽引効果なし）によってではなく、MMP-14プロテアーゼによる切断によって媒介する。 $\alpha v \beta 8$ インテグリン発現は腎組織に多く、 $\alpha v \beta 8$ インテグリンをコードする遺伝子は、以下に例示するように、例えば、脾臓、肝臓、胆嚢、唾液腺、食道、胃、腸、肺、心臓、又は膀胱などの他の組織と比較して、腎組織で高度に発現する。

【0126】

本明細書に記載されるように、インビトロ及びインビボの両研究で、腎臓上皮細胞における $\alpha v \beta 8$ インテグリンの高レベルの発現がTGF- β の活性化に起因する高レベルの腎組織線維症と直接相関していることが示されている。高レベルのTGF- β 活性は、腎細胞及び腎組織に対する損傷を誘導及び増加させ、線維症を引き起こし、したがって、CKDなどの腎疾患の重篤度を高める。本明細書に記載される抗 $\alpha v \beta 8$ インテグリン抗体は、腎臓細胞に発現する $\alpha v \beta 8$ インテグリンに特異的に結合し、潜在型TGF- β （LAP TGF- β ）への $\alpha v \beta 8$ インテグリンの結合を遮断及び／又は低減し、TGF- β の活性型の放出を阻害することによって、腎細胞及び腎組織におけるTGF- β の破壊的活性及びその結果として生じる線維症を阻害する。この特異的抗 $\alpha v \beta 8$ インテグリン抗体の作用は、例えば、TGF- β の細胞内シグナル伝達カスケードを阻害することによって、TGF- β 活性がもたらす腎細胞及び腎組織の破壊に対する治療として役立つ。本明細書に開示及び例示される方法によれば、腎臓において $\alpha v \beta 8$ インテグリンに特異的に結合する抗体を提供することによって $\alpha v \beta 8$ インテグリン活性を遮断することにより、腎臓に局在するTGF- β の活性化が大きく低減され、それによって、罹患腎臓における腎細胞及び腎組織の損傷、すなわち腎線維症が特異的に低減される。

【0127】

腎細胞上の $\alpha v \beta 8$ インテグリン受容体の特異的に標的とする抗 $\alpha v \beta 8$ インテグリン抗体の使用は、本明細書に記載されるように、 $\alpha v \beta 8$ インテグリンが正常対象の腎臓において優先的に発現され、また $\alpha v \beta 8$ インテグリンの発現が線維性腎疾患を有する対象、例えば、CKDを有するヒト患者の腎臓の腎上皮細胞（例えば、足細胞及び間質細管）

において顕著に増加し局在化されるという発見から生じた。上記のように、本開示は、 $\alpha v \beta 8$ タンパク質がCKDを有するヒト患者の腎臓において高度に上方制御されるという驚くべき知見を提供する。さらに、腎臓におけるTGF- β の潜在活性型への $\alpha v \beta 8$ インテグリンの特異的結合によるTGF- β の活性化は、腎組織における破壊的線維症の直接的原因である。これらの発見は、 $\alpha v \beta 8$ インテグリンが主に腎臓のメサンギウム細胞に存在し、それにもかかわらずメサンギウム細胞 $\alpha v \beta 8$ インテグリンを発現しないトランスジェニック動物は内皮細胞アポトーシスを引き起こす活性TGF- β を保有していたという先行技術の発見と矛盾する(S. Khan et al., 2011, Am. J. Pathology, 178(2):609-620)。対照的に、本明細書に記載及び例示されるように、本方法は、活性TGF- β が、腎臓細胞膜で放出されず、且つCKDなどの腎疾患に罹患した対象の腎細胞及び腎組織に線維症(及び／又はさらなる損傷)を引き起こすことができないように、 $\alpha v \beta 8$ インテグリンのLAP-TGF- β との相互作用及びLAP-TGF- β への結合の阻害及び遮断することを含む。

【0128】

$\alpha v \beta 8$ インテグリンに対する特異的抗体

本開示は、 $\alpha v \beta 8$ インテグリン、特に、腎細胞及び腎組織に、並びに線維性腎細胞及び腎組織において発現する $\alpha v \beta 8$ インテグリンを指向し、特異的に標的とし、それに結合する抗体の開発及び使用を包含する。これらの抗体又はその抗原結合断片は、治療を必要とする対象の腎疾患、特に、慢性腎疾患(CKD)などの腎疾患における腎線維症を治療する方法において非常に有益である。実施形態では、対象は、腎細胞及び腎組織への損傷又は傷害に関連し、本明細書に記載されるような腎組織の線維症、又は急性、慢性、若しくは末期の腎疾患を引き起こす病態を有し得る。病因にかかわらず腎線維症及び線維症を伴う腎疾患を有する対象を本明細書に記載される抗体、組成物及び方法を使用して行う治療は、必要とする対象、特にCKD又はDNなどの腎疾患に罹患している患者に、重要な医学的及び臨床的利益を提供する。一実施形態では、抗 $\alpha v \beta 8$ インテグリン抗体は、ヒト化抗体である。

【0129】

一実施形態では、抗 $\alpha v \beta 8$ インテグリン抗体は、ヒト $\alpha v \beta 8$ インテグリンを特異的に標的とし、それに結合する、上記の「MED1-hu37E1B5」抗体と呼ばれるヒト化抗体である。特定の実施形態では、MED1-hu37E1B5抗体は、腎臓で発現し、線維性腎臓で高度に発現するヒト $\alpha v \beta 8$ インテグリンを特異的に標的とし、それに結合する。一実施形態では、MED1-hu37E1B5抗体は、他のインテグリンに対する抗体と交差反応しない。

【0130】

別の実施形態では、抗 $\alpha v \beta 8$ インテグリン抗体は、上記の「B5-15」抗 $\alpha v \beta 8$ インテグリン抗体と呼ばれる、ヒト化及び親和性最適化抗体であり、これはヒト $\alpha v \beta 8$ インテグリンを特異的に標的とし、ヒト $\alpha v \beta 8$ インテグリンに対する高い親和性結合を示す。最適化されたB5-15抗体は、IgG1サブタイプのものであり、ヒト $\alpha v \beta 8$ インテグリンに特異的且つ選択的に結合し、ヒト $\alpha v \beta 8$ インテグリンとTGF- β 潜在型との結合相互作用又は会合を遮断又は阻害することによって機能的活性を示し、したがって、その潜在型からの活性TGF- β の放出によるTGF- β の活性化を遮断又は阻害する。本明細書に示されるように(図4)、B5-15は、実施例1に記載されるCDRグラフトMED1-hu37E1B5抗 $\alpha v \beta 8$ インテグリン抗体と比較して、 $\alpha v \beta 8$ インテグリンへの結合に関し、良好なプロファイルを有する。

【0131】

B5-15抗体は、 $\alpha v \beta 8$ インテグリンのLAP-TGF- β への結合を遮断し、TGF- β の活性化及びTGF- β による細胞内シグナル伝達を遮断し、その結果として、腎細胞及び腎組織を線維症を誘導し悪化させ得る活性TGF- β ペプチドの損傷効果から保護する。理論に拘束されることを望むものではないが、B5-15抗体は $\alpha v \beta 8$ インテグリンをアロステリックに修飾し、潜在性TGF- β (LAP)結合ドメインに対する

その親和性を低下させ、これにより、 $TGF-\beta$ の潜在性形態からの活性化が妨げられ、活性 $TGF-\beta$ ペプチドは放出されない。したがって、抗体は $\alpha v \beta 8$ インテグリンの構造変化を誘導し、その結果、 $\alpha v \beta 8$ は潜在型 $TGF-\beta$ にもはや結合することはできず、その活性化を促進することはできない（国際公開第2015/195835号パンフレット）。本開示まで、腎線維症における抗 $\alpha v \beta 8$ インテグリン抗体、例えばB5-15抗体の結合特性及び機能的活性は不明であった。

【0132】

実施形態では、本明細書に開示される抗 $\alpha v \beta 8$ インテグリン抗体は、腎細胞及び腎組織、特に、腎疾患、例えばCKD又はDNを有する個体において見出されるような、罹患した、損傷した、且つ／又は線維性の腎組織で発現が上昇している $\alpha v \beta 8$ インテグリン受容体に特異的に結合する。これらの抗体を含む組成物、並びに腎疾患及び腎症、特に線維症を伴う腎疾患を治療する方法におけるそれらの使用は、本開示に包含される。記載される抗体はヒト $\alpha v \beta 8$ インテグリンにのみ結合し、その他のインテグリンとは交差反応しない。

【0133】

記載される抗体はまた、潜在型 $TGF-\beta$ の $\alpha v \beta 8$ インテグリン受容体を選択的に標的とし、それに特異的に結合し、サイトカイン自体を直接標的とせず、したがって、腎疾患、特に線維症を伴う腎疾患を治療するより安全な治療法を提供するので、有利である。さらに、 $TGF-\beta 1$ アイソフォームの活性の阻害、遮断、又は中和は、この $TGF-\beta$ アイソフォームが $TGF-\beta$ の疾患関連活性の大部分を占めると一般に考えられるので、特に有利である。腎臓における $TGF-\beta 1$ アイソフォームの出現は、腎線維症及び腎臓疾患における $TGF-\beta 1$ の活性型の関与をもたらす可能性が高い。

【0134】

$TGF-\beta$ を直接、標的とすることは、 $TGF-\beta$ 活性によって引き起こされる病変を阻害又は予防するための1つの方法であり得るが、サイトカインを直接標的とすることから生じる $TGF-\beta$ の作用の一般的な中和及び／又は慢性的な阻害は、多様な細胞機能及び経路の調節における $TGF-\beta$ の関与を考慮すると、治療された個体に重大な副作用をもたらし得る。したがって、他の細胞、組織及び臓器におけるインビボ $TGF-\beta$ 活性化を損なうことなく、腎細胞及び腎組織における $\alpha v \beta 8$ インテグリン/ LAP $TGF-\beta$ 相互作用を遮断、阻害、中和、及びしたがって効果的に防ぐために、又は他の生理学的目的のために、本明細書において提供される抗 $\alpha v \beta 8$ インテグリン抗体を使用する方法は、CKD又はDNなどの腎疾患及び線維症を治療するための有益な治療ツール及び治療方法を提供する。有利には、高レベルの $\alpha v \beta 8$ インテグリンを発現する腎細胞及び腎組織に対する本明細書に記載の抗 $\alpha v \beta 8$ 抗体の特異性は、自己免疫応答、急速に発症するアテローム性動脈硬化症、及び癌の発生などの有害作用を減少させる。有害作用は $pan-TGF-\beta$ 阻害で見られ、したがって、 $TGF-\beta$ 活性化に影響する $\alpha v \beta 8$ インテグリンを特異的に標的とすることにより、有害事象が低減される可能性が高い。

【0135】

別の利点として、本明細書に記載される抗 $\alpha v \beta 8$ インテグリン抗体は、血液脳関門（BBB）を横断せず、したがって、脳の細胞及び組織に発現する $\alpha v \beta 8$ インテグリンに結合することはできない。

【0136】

記載される抗 $\alpha v \beta 8$ 抗体は、腎上皮細胞発現 $\alpha v \beta 8$ インテグリンの $TGF-\beta$ の潜在型への結合を特異的に遮断し、したがって、活性 $TGF-\beta$ の腎組織における放出によって引き起こされる線維症を遮断し、これは、糸球体濾過関門の変化、糸球体硬化症及び線維症、並びに永続的な腎機能障害をもたらす尿細管の変性を誘導する腎疾患の糸球体及び尿細管間質の病変に中心的役割を果たすことが見出されている。したがって、本方法は、 $TGF-\beta$ 自体を標的とするのではなく、損傷した腎臓及び／又は腎疾患を有する個体腎細胞の表面に高度に発現する標的受容体、すなわち $\alpha v \beta 8$ インテグリンに特異的に結合することによって、腎疾患、例えば、有害な腎組織線維症を特徴とする慢性腎疾患又は

糖尿病性腎症を治療する特異的抗 $\alpha v \beta 8$ インテグリン抗体の使用を含む。本明細書で提供される特異的抗 $\alpha v \beta 8$ インテグリン抗体による $\alpha v \beta 8$ インテグリンの標的化及び結合は、腎組織線維症を引き起こし、腎疾患における腎組織へのさらなる損傷を引き起こす主な原因であるTGF- β サイトカイン活性を無効にし、効果的に防止する。

【0137】

本明細書に記載の抗 $\alpha v \beta 8$ インテグリン抗体は、抗原結合部位又はエピトープを含有する $\alpha v \beta 8$ インテグリン受容体タンパク質の1つ又は複数の領域に特異的に結合する。一実施形態では、MED1-hu37E1B5抗体又はB5-15抗体などの抗 $\alpha v \beta 8$ インテグリン抗体によって結合される $\alpha v \beta 8$ インテグリンのエピトープは、 $\alpha v \beta 8$ インテグリン及びLAP-TGF- β 結合部位から約28Å（オングストローム）離れた領域にマッピングされた。（S. Minagawa et al., 2014, Sci. Transl. Med., 6 (241): 241re79. Doi: 10.1126/scitranslmed.3008074）。

【0138】

一実施形態では、 $\alpha v \beta 8$ インテグリンへの結合に対し、本明細書に記載されるように、以下の3つの軽鎖CDR: V_LCDR1: KASQDINSYLS（配列番号4）、V_LCDR2: YANRLVD（配列番号5）、及びV_LCDR3: LQYDEFPYT（配列番号6）を含む軽鎖可変領域と、以下の3つの重鎖CDR: V_HCDR1: RYWMS（配列番号1）、V_HCDR2: EINPDSSTINYTSSL（配列番号2）、及びV_HCDR3: LITTEDY（配列番号3）を含む重鎖可変領域とを有する抗体と競合する抗体が企図される。抗体は、モノクローナル、キメラ、ヒト化などであり得、アイソタイプIgG1、IgG2、IgG2a、IgG3又はIgG4であり得る。特定の実施形態では、抗体はIgG1抗体である。いくつかの実施形態では、抗体は、ヒト、ヒト化又はキメラ抗体である。

【0139】

別の実施形態では、 $\alpha v \beta 8$ インテグリンへの結合に対し、本明細書に記載されるように、以下の3つの軽鎖CDR: V_LCDR1: KASQDINKYLS（配列番号10）、V_LCDR2: YANRLVD（配列番号5）、及びV_LCDR3: LQYDVFPYT（配列番号11）を含む軽鎖可変領域と、以下の3つの重鎖CDR: V_HCDR1: RSWIS（配列番号9）、V_HCDR2: EINPDSSTINYTSSL（配列番号2）、及びV_HCDR3: LITTEDY（配列番号3）を含む重鎖可変領域とを有する抗体と競合する抗体が企図される。抗体は、モノクローナル、キメラ、ヒト化などであり得、アイソタイプIgG1、IgG2、IgG2a、IgG3又はIgG4であり得る。特定の実施形態では、抗体はIgG1抗体である。いくつかの実施形態では、抗体は、ヒト、ヒト化又はキメラ抗体である。

【0140】

記載される抗 $\alpha v \beta 8$ インテグリン抗体又はその抗原結合断片をコードする単離されたポリヌクレオチド、記載される抗 $\alpha v \beta 8$ インテグリン抗体又はその抗原結合断片をコードし発現するのに適した、原核生物、真核生物、又は哺乳動物ベクター、及び宿主細胞（原核生物、真核生物、又は哺乳動物）もまた提供される。

【0141】

他の態様では、記載される方法及び組成物に有用な抗体としては、免疫グロブリン、モノクローナル抗体（完全長モノクローナル抗体を含む）、ポリクローナル抗体、少なくとも2つの異なる $\alpha v \beta 8$ インテグリンエピトープ結合断片から形成される多重特異性抗体（例えば、二重特異性抗体）、ヒト抗体、ヒト化抗体、ラクダ化抗体、キメラ抗体、単鎖Fv（scFv）、単鎖抗体、単ドメイン抗体、ドメイン抗体、Fab断片、F(ab')₂断片、所望の生物学的活性を示す抗体断片（例えば、抗原結合部分）、ジスルフィド結合Fv（dsFv）、細胞内発現抗体、及び上記のいずれかの抗原又はエピトープ結合断片が挙げられる。特に、好適な抗体としては、免疫グロブリン分子と、例えば、少なくとも1つの抗原結合部位を含む分子などの免疫グロブリン分子の免疫学的に且つ機能的に

活性な断片とが挙げられる。

【0142】

抗 $\alpha\text{v}\beta 8$ インテグリン抗体は、モノクローナルヒト、ヒト化又はキメラ抗 $\alpha\text{v}\beta 8$ 抗体を包含する。本明細書に記載の組成物及び方法で使用される抗 $\alpha\text{v}\beta 8$ 抗体は、ネイキッド抗体、免疫複合体又は融合タンパク質であり得る。特定の実施形態では、抗 $\alpha\text{v}\beta 8$ 抗体は、IgGアイソタイプ、特にIgG1、IgG2、IgG3若しくはIgG4ヒトアイソタイプ、又はヒト集団で見られる任意のIgG1、IgG2、IgG3若しくはIgG4対立遺伝子の、ヒト、ヒト化又はキメラ抗体である。ヒトIgGクラスの抗体は、血清中の長い半減期や様々なエフェクター機能を媒介する能力などの有利な機能的特性を有する (Monoclonal Antibodies: Principles and Applications, Wiley-Liss, Inc., Chapter 1 (1995))。ヒトIgGクラス抗体は、さらに以下のサブクラスに分類される: IgG1、IgG2、IgG3及びIgG4。一実施形態では、抗 $\alpha\text{v}\beta 8$ インテグリン抗体は、ヒトIgG1サブクラス又はアイソタイプのものである。ヒトIgG1サブクラスは、ヒトにおいて高いADCC活性及びCDC活性を有する (Clark, Chemical Immunology, 65, 88 (1997))。一実施形態では、抗 $\alpha\text{v}\beta 8$ インテグリン抗体は、MED1-hu37E1B5抗体などの親抗体由来のヒトフレームワーク領域及びCDRを含有するヒト化抗体である。別の実施形態では、抗 $\alpha\text{v}\beta 8$ インテグリン抗体は、抗原に対する特異性、機能、安定性、半減期/寿命などを含む、1つ以上の抗体特性を改善するために最適化されたアミノ酸配列を含む。

【0143】

抗 $\alpha\text{v}\beta 8$ インテグリン抗体の投与を含む治療方法

記載される方法は、腎疾患、特に線維性腎疾患、特に、腎機能がある期間にわたって低下し、典型的には腎組織の広範な線維化が起こり、時間とともに悪化する慢性腎疾患 (CKD) の治療を提供する。一般に、CKDの5つのステージは、正常な腎機能 (推算糸球体濾過量 (GFR) $\geq 90\text{ mL/min/1.73 m}^2$) 及び持続性 (≥ 3 か月) タンパク尿を伴う腎障害を特徴とするステージ1; 持続性 (≥ 3 か月) タンパク尿の有無にかかわらず、軽度の腎機能喪失 (推算GFR $60\sim 89\text{ mL/min/1.73 m}^2$) を伴う腎障害を特徴とするステージ2; 軽度から重度の腎機能喪失 (推算GFR $30\sim 59\text{ mL/min/1.73 m}^2$) を特徴とするステージ3; 重度の腎機能喪失 (推算GFR $15\sim 29\text{ mL/min/1.73 m}^2$) を特徴とするステージ4; 及び生存のために透析又は移植を必要とする腎不全を特徴とするステージ5、である。ステージ5のCKDは、ESRD (推算GFR $< 15\text{ mL/min/1.73 m}^2$) としても知られる。糸球体濾過量 (GFR) は、ミリリットル/分 (mL/min) で測定され、腎臓が血液から老廃物及び余分な流体を濾過する速度を指す。

【0144】

抗 $\alpha\text{v}\beta 8$ インテグリン抗体又はその抗原結合断片の投与を含む記載の方法はまた、例えば、糖尿病性腎症 (DN)、慢性腎疾患 (CKD)、急性腎疾患、高血圧関連腎疾患、高血糖関連腎疾患、腎線維症、炎症関連腎疾患、末期腎疾患 (ESRD)、自己免疫関連腎線維症 (例えば、ループス腎炎) 及び腎移植後の線維症などによって引き起こされる腎細胞及び腎組織の損傷又は傷害に関連する腎疾患及び/又は腎線維症の治療に有用である。腎臓における一般的且つ局所的な組織炎症は、糖尿病性腎症の病態生理及び進行に作用する。典型的には糖尿病性腎症に付随する高血糖症及び高血圧症の病態はさらに、糸球体性高血圧、腎細胞及び腎組織に対する機械的ストレス、足細胞傷害及び脱離、糸球体の炎症、並びに腎尿細管の炎症をもたらす得、その全てが、腎臓、特に腎臓糸球体及び尿細管における線維化 (瘢痕化) をもたらす。

【0145】

組み合わせ治療

別の実施形態では、抗 $\alpha\text{v}\beta 8$ インテグリン抗体の1つ又は複数が、腎疾患又はCKDを有する患者に提供されるような別の薬物、医薬、又は治療薬若しくは治療化合物と併せ

て投与され得る。頻繁に見られるように、腎疾患又はCKDを有する個体はまた、高血圧を有する。血圧を下げる医薬及び薬物は、血圧を目標範囲に維持し、さらなる腎臓の損傷を遅延又は止めるのに役立つ。一般的な血圧薬としては、アセチルコリンエステラーゼ（ACE）阻害剤、アンギオテンシンII受容体遮断薬（ARB）、ベータ遮断薬、カルシウムチャネル遮断薬、直接的レニン阻害剤、利尿剤及び血管拡張剤が挙げられるが、これらに限定されない。CKDの症状及び合併症を治療するために投与される医薬及び薬物としては、エリスロポエチン（EPO）、（組換えヒトエリスロポエチン、r h E P O）、電解質不均衡矯正薬、利尿剤、ACE阻害剤及びARB、並びに鉄療法及びビタミンDが挙げられるが、これらに限定されない。

【0146】

併用療法では、1つ又は複数の抗 $\alpha v \beta 8$ インテグリン抗体は、任意選択的に、他の薬物又は医薬と同じ医薬組成物に含めてもよい。或いは、抗 $\alpha v \beta 8$ インテグリン抗体は、別個の医薬組成物であってもよく、1つ又は複数の他の薬物又は医薬と同時に又は異なる時点で投与してもよい。本明細書に記載の抗 $\alpha v \beta 8$ インテグリン抗体、又は抗 $\alpha v \beta 8$ インテグリン抗体を含む医薬組成物は、他の薬物若しくは医薬、又はその薬物若しくは医薬を含む医薬組成物の投与の前、同時、又は後に投与するのに好適である。特定の例では、対象への1つ又は複数の抗 $\alpha v \beta 8$ インテグリン抗体の投与は、別個に又は別個の組成物で提供される、別の又はコンパニオン薬物又は医薬の投与時間と重なる。

【0147】

医薬組成物及び製剤

本開示は、1つ又は複数の記載される抗 $\alpha v \beta 8$ インテグリン抗体、並びに1つ又は複数の薬学的に許容される賦形剤、担体及び／又は希釈剤を含む医薬組成物及び製剤の使用を包含する。特定の実施形態では、組成物は、1つ又は複数の他の生物学的に活性な薬剤（例えば、プロテアーゼ阻害剤）を含み得る。

【0148】

賦形剤、担体及び希釈剤の非限定的な例としては、ビヒクル、液体、緩衝剤、等張剤、添加剤、安定剤、保存剤、可溶化剤、界面活性剤、乳化剤、湿潤剤、アジュバントなどが挙げられる。組成物は、液体（例えば、水、エタノール）；様々な緩衝剤成分の希釈液（例えば、トリスHCl、リン酸塩、酢酸緩衝液、クエン酸緩衝液）、pH及びイオン強度；界面活性剤及び可溶化剤（例えば、ポリソルベート20、ポリソルベート80）；抗酸化剤（例えば、メチオニン、アスコルビン酸、メタ重亜硫酸ナトリウム）；保存剤（例えば、チメロソール（Thimerosal）、ベンジルアルコール、m-クレゾール）；並びに増量物質（例えば、ラクトース、マンニトール、スクロース）を含有することができる。医薬組成物の製剤中の賦形剤、希釈剤、及び担体の使用は、当該技術分野で知られており、例えば、Remington's Pharmaceutical Sciences, 18th Edition, pages 1435-1712, Mack Publishing Co. (Easton, Pennsylvania (1990))を参照されたい。この文献は参照によりその全体が本明細書に組み込まれる。

【0149】

非限定的な例として、担体には、希釈剤、ビヒクル及びアジュバント、並びにインプラント担体、及び活性成分と反応しない不活性で且つ無毒の固体又は液体の充填剤とカプセル化材料が含まれ得る。担体の非限定的例としては、リン酸緩衝食塩水、生理学的食塩水、水、及びエマルジョン（例えば、油／水エマルジョン）が挙げられる。担体は、例えば、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、液体ポリエチレングリコールなど）、植物油、及びそれらの混合物を含有する、溶媒又は分散媒体であり得る。

【0150】

非経口投与のための1つ又は複数の抗 $\alpha v \beta 8$ インテグリン抗体を含む製剤は、例えば、液体溶液又は懸濁液として、注射前に液体媒体中で可溶化又は懸濁するのに適した固体形態として、又はエマルジョンとして調製され得る。滅菌注射液及び懸濁液は、好適な希

10

20

30

40

50

釈剤、担体、溶媒（例えば、緩衝水溶液、リンゲル液、等張性塩化ナトリウム溶液）、分散剤、湿潤剤、乳化剤、懸濁剤などを使用して、当該技術分野で知られた技術に従って製剤化することができる。滅菌不揮発性油、脂肪エステル、ポリオール及び／又はその他の不活性成分もまた使用することができる。さらに、非経口投与のための製剤は、水性滅菌注射液を含むことができ、それは抗酸化剤、緩衝剤、静菌剤、製剤を意図される対象の血液と等張にする溶質、並びに懸濁剤及び増粘剤を含有し得る水性及び非水性滅菌懸濁液を含有し得る。注射液剤及び懸濁剤は、滅菌散剤、顆粒、及び錠剤から調製してもよい。

【0151】

実施形態は、腎疾患の治療薬として有用な抗 $\alpha\text{v}\beta 8$ インテグリン抗体の無菌医薬製剤を含む。このような製剤は、 $\alpha\text{v}\beta 8$ インテグリンへのリガンドの結合を阻害し、これにより、例えば、組織 $\alpha\text{v}\beta 8$ が異常に増加した病態を効果的に治療するであろう。抗 $\alpha\text{v}\beta 8$ インテグリン抗体は、 $\alpha\text{v}\beta 8$ インテグリン活性を強力に阻害する適切な親和性を有し、且つヒトにおける低頻度の投与を可能にする適切な作用の持続時間を有し得る。長時間にわたる作用の持続は、皮下又は筋肉内注射などの代替的非経口経路による低頻度で、しかもより好都合な投与スケジュールを可能にする。

【0152】

無菌製剤は、例えば、抗体の凍結乾燥及び再構成の前又は後に無菌濾過膜で濾過することによって作ることができる。抗体は、通常、凍結乾燥形態又は溶液で保存される。治療用抗体組成物は一般に、滅菌アクセスポートを有する容器、例えば、皮下注射針によって穿刺可能な栓などの、製剤の回収を可能にするアダプターを有する静脈内溶液バッグ又はバイアル中に入れられる。

【0153】

治療的使用のために、例えば、腎疾患、特に、腎線維症の治療において、抗 $\alpha\text{v}\beta 8$ インテグリン抗体又はその抗原結合断片は、患者の要求、患者の身体健康及び特徴、並びに治療される病態の重症度、例えば、CKDのステージに応じた用量で投与され得る。例えば、用量は、特定の患者において診断される腎疾患及び／又は線維症のタイプ及びステージを考慮して経験的に決定することができる。本組成物及び方法との関連で、患者に投与される用量は、所与の期間にわたって患者に有益な治療応答をもたらすのに十分なものであるべきである。用量のサイズはまた、特定の患者において別の治療剤と組み合わせた抗体用量及び／又は用量の投与に伴う有害な副作用の存在、性質、及び程度によって決定される。特定の患者及び状況に対する適切な用量の決定は、医師の技能の範囲内である。一般に、治療は治療薬の最適用量よりも少ない、より少ない用量を用いて開始される。その後、最適な有効性などの有効性が達成されるまで、用量を少しずつ増加させる。便宜のためや必要に応じて、1日総投与量はその日に小分けして投与してもよい。決定された又は最適な用量による治療は、短期間（例えば、数時間又は数日間）、又はより長い期間（例えば、数日間、数週間、数か月間、数年間）にわたって継続され得る。

【0154】

検出方法

いくつかの実施形態では、抗 $\alpha\text{v}\beta 8$ インテグリン抗体が検出のために、例えば、画像化のために、又はインビボ、エクスビボ、若しくはインビトロでの $\alpha\text{v}\beta 8$ インテグリンの存在を決定するために使用される。このような実施形態では、抗体は、検出可能な部分で直接的又は間接的に標識される。したがって、いくつかの実施形態では、対象から得られた生体試料中の $\alpha\text{v}\beta 8$ インテグリンの存在を決定するための方法（インビボ、エクスビボ、又はインビトロ）が提供され、この方法は、生体試料を標識された本明細書に記載の標識抗 $\alpha\text{v}\beta 8$ インテグリン抗体と接触させ、 $\alpha\text{v}\beta 8$ インテグリンに結合した標識抗体の存在を検出し、これにより試料中の $\alpha\text{v}\beta 8$ インテグリンの存在を決定することを含む。このような方法は、腎疾患、又は腎線維症、炎症若しくはCKDなどの腎関連病態を診断するために使用され得る。

【0155】

一実施形態では、抗体は、「エフェクター」部分又は分子に結合し、この部分又は分子

としては、限定はされないが、放射性標識若しくは蛍光標識などの標識部分、又は治療部分若しくは分子であり得る。一実施形態では、エフェクター部分又は分子として、抗癌剤、毒素、細胞傷害剤、放射性薬剤、サイトカイン、第2の抗体、又は酵素を挙げ得るが、これらに限定されない。別の実施形態では、治療部分又は分子の活性は、抗体に結合することによって調節される。別の実施形態では、抗体は、プロドラッグを細胞傷害性薬剤に変換する酵素に連結される。

【0156】

抗体又はその抗原結合断片を含む免疫複合体を使用して、エフェクター部分又は分子を、その表面に $\alpha v \beta 8$ インテグリンを発現する細胞、特に罹患している腎細胞及び腎組織、例えばCKD腎細胞及び腎組織に対し標的化することができる。エフェクター分子であり得る細胞傷害剤の非限定的な例としては、放射性同位体、リシン、ドキソルビシン、ダウノルビシン、タキソール、臭化エチジウム、マイトマイシン、エトポシド、テノポシド、ビンクリスチン、ビンブラスチン、コルヒチン、ジヒドロキシアントラシンジオン、アクチノマイシンD、ジフテリア毒素、シュードモナス (*Pseudomonas*) 外毒素 (PE) A、PE40、アブリン、ステロイド、グルココルチコイド及び他の化学療法剤が挙げられる。検出可能なマーカーとしては、限定はされないが、放射性同位体、蛍光化合物、生物発光若しくは化学発光化合物、金属キレート剤、又は酵素が挙げられる。

【0157】

一実施形態では、抗 $\alpha v \beta 8$ インテグリン抗体又はその抗原結合断片は、それ自体で（複合体化されていない）、又は検出可能な標識若しくはエフェクター部分、例えば腎疾患若しくはCKDに対する好適な治療薬若しくは治療剤などの補助的治療薬と複合体化することにより、それを必要とする個体の腎臓、特に罹患した腎臓又はCKD腎臓におけるTGF- β 活性化を低減、抑止、減弱化、減少、遮断又は阻害する治療剤として使用される。

【0158】

「検出可能な標識又は部分」は、物理的又は化学的手段、例えば、分光学的、放射線学的、光化学的、生化学的、免疫化学的手段などによって検出可能な診断薬又は成分であり得る。例として、検出可能な標識には、放射性標識（例えば、 ^{111}In 、 $^{99\text{m}}\text{Tc}$ 、 ^{131}I 、 ^{67}Ga ）、及びその他のFDAが承認したイメージング剤が含まれる。さらなる標識としては、 ^{32}P 、蛍光染料、高電子密度試薬、酵素、ビオチン、ジゴキシゲニン、又は例えば放射性標識を標的化剤に組み込むことによって検出可能にすることができるハプテン及びタンパク質若しくは他の分子を挙げることができる。例えば、Hermanson, Bioconjugate Techniques 1996, Academic Press, Inc., San Diegoに記載されている方法を使用することによって、当該技術分野で知られる核酸又はナノ担体を標識に結合させる方法を使用することができる。

【0159】

「標識された」又は「タグ付けされた」抗体又は薬剤は、リンカー若しくは化学結合によって共有結合的に、又はイオン、ファンデルワールス、静電若しくは水素結合によって非共有結合的に、抗体、その抗原結合断片又は薬剤の存在の検出を、抗体又は薬剤に結合した標識を検出することによって可能にする標識に結合したものである。検出可能な治療剤を抗体に結合させるための技術は、例えば、Arnon et al., "Monoclonal Antibodies For Immunotargeting Of Drugs In Cancer Therapy", Monoclonal Antibodies And Cancer Therapy, Reisfeld et al. (Eds.), pp. 243-56 (Alan R. Liss, Inc. 1985); Hellstrom et al., "Antibodies For Drug Delivery", Controlled Drug Delivery (2nd Ed.), Robinson et al. (Eds.), pp. 623-53 (Marcel Dekker, Inc. 1987); Thorpe, "Antibody Carriers Of Cytotoxic Agents In Cancer Therapy: A Review",

Monoclonal Antibodies '84: Biological And Clinical Applications, Pinchera et al. (Eds.), pp. 475-506 (1985); 及び Thorpe et al., "The Preparation And Cytotoxic Properties Of Antibody-Toxin Conjugates", Immunol. Rev., 62: 119-58 (1982) に記載されているように、当業者により知られており、また実施されている。

【0160】

投与方法

本明細書に記載される投与レジメンに加えて、抗 $\alpha v \beta 8$ インテグリン抗体若しくはその抗原結合断片、又は抗 $\alpha v \beta 8$ インテグリン抗体若しくはその抗原結合断片を含む医薬組成物又は製剤は、タンパク質又は抗体などの生物学的薬物を対象に投与及び／又は送達するのに好適な方法及び経路で、対象に投与することができる。一般に、好適な生物学的送達又は投与方法は、非経口投与方法又は経路を包含する。このような送達方法としては、限定はされないが、皮下（SC）送達、皮下注射又は輸液、例えば静脈内輸液若しくは注射又は静注などの静脈内（IV）送達が挙げられる。その他の送達及び投与方法又はレジメンとしては、限定はされないが、関節内、動脈内、腹腔内、筋肉内、皮内、直腸内、経皮又はクモ膜下腔内が挙げることができる。特定の実施形態では、抗 $\alpha v \beta 8$ インテグリン抗体は、例えば、IV輸液又はボラスIV注射などの静脈内投与によって、対象に提供される。別の特定の実施形態では、抗 $\alpha v \beta 8$ インテグリン抗体は、単回皮下注射などの皮下注射によって、対象に提供される。

【0161】

抗 $\alpha v \beta 8$ インテグリン抗体は、長期投与レジメンで投与することができる。抗体は、ある期間又は所定の期間投与された後、投与されない期間が続くことがある。投与レジメン又は投与サイクルはまた、繰り返され得る。いくつかの実施形態では、治療（例えば、抗 $\alpha v \beta 8$ インテグリン抗体の投与）には、第1の用量の投与、その後の、例えば複数日を含む期間の、第2の用量及び／又は1つ又は複数のその後の維持用量の投与を含む。後続用量又は維持用量は、最初の用量、第2の用量、又はその後の用量の後、定期的な間隔、例えば、1週、2週、3週、若しくはそれ以上、例えば4週、5週、6週、7週、8週、9週間、10、11週、12週などの週間隔で、又は月間隔、若しくは年間隔などのより長い間隔で投与され得る。

【0162】

実行可能であれば、抗 $\alpha v \beta 8$ インテグリン抗体は、疾患部位又はその近傍に例えば輸液又は注射などの直接送達によって投与し得ることもまた想定される。腎臓若しくは腎組織内への注射、又はその近傍への注射が有用であり得る。また、抗 $\alpha v \beta 8$ インテグリン抗体は、デポーの移植によって投与し得ることも想定され、デポーは腎組織などの作用の標的部位で抗体を放出する。抗 $\alpha v \beta 8$ インテグリン抗体の投与又は送達の代替方法としては、吸入（例えば、吸入器又はエアロゾルスプレー）、鼻腔内送達、又は経皮送達（例えば、皮膚上のパッチによる）を挙げることができる。さらに、投与は、浸透圧ポンプ（例えば、アルゼットポンプ）又はミニポンプ（例えば、アルゼットミニ浸透圧ポンプ）によって行うことができ、これによって、予め定められた期間にわたり、抗 $\alpha v \beta 8$ インテグリン抗体、又はその医薬組成物の制御された連続的及び／又は徐放性送達が可能になる。浸透圧ポンプ又はミニポンプはまた、標的部位として、腎臓若しくは腎組織に、又はその近傍に、皮下移植することができる。

【0163】

キット

また、線維症を伴う腎疾患、例えばCKD又はDNなどの腎疾患の治療のためのキットが提供される。一実施形態では、キットには、有効量の抗 $\alpha v \beta 8$ インテグリン抗体又はその抗原結合断片を含有する組成物、例えば治療用組成物が含まれる。一実施形態では、抗 $\alpha v \beta 8$ インテグリン抗体又はその抗原結合断片は単位剤形とされる。

【0164】

いくつかの実施形態では、キットは、抗 $\alpha\text{v}\beta 8$ インテグリン抗体又はその抗原結合断片を例えば水性又は凍結乾燥形態で含む滅菌容器を含む。抗体が凍結乾燥形態である場合、キットは、投与、例えば静脈内投与に好適な抗体を含有する溶液を調製するために、乾燥抗体と混合するための適切な希釈剤、賦形剤、又はビヒクルを含む容器を含み得る。そのような容器は、アンプル、ボトル、バイアル、チューブ、バッグ、パウチ、プリスターパック又は当技術分野において知られた他の好適な容器形態であってよい。そのような容器は、プラスチック、ガラス、ラミネート紙、金属箔、又は、例えば水性若しくは乾燥形態で薬剤を保持するのに好適な他の材料から作製することができる。容器は、損傷又は破損から保護するための箱に入れることができる。抗体希釈用及び／又は投与用の1つ又は複数のシリンジをキットに含めることができる。

10

【0165】

キットは、抗 $\alpha\text{v}\beta 8$ インテグリン抗体、又は抗体を含有する組成物を、腎疾患、線維性腎疾患、例えばCKD又はDNを有する対象に投与するための説明書をさらに提供し得る。説明書は一般に、腎疾患、線維性腎疾患、例えばCKD又はDNの治療のための抗体又は組成物の使用についての情報を含む。他の実施形態では、説明書は、以下の1つ以上を含む：治療抗体の説明；腎疾患、線維性腎疾患、例えばCKD若しくはDN、又はそれらの症状の治療のための投薬スケジュール及び投与；投薬情報；注意；警告；適応症；禁忌；過剰接種情報；副作用；動物薬理学；臨床試験；及び／又は参考文献。説明は、容器（存在する場合）に直接印刷されても、容器に貼付されるラベルに印刷されても、又はキット内に若しくはキット内に容器と共に提供される別のシート、パンフレット、カード若しくはフォルダーに印刷されてもよい。

20

【0166】

本開示は、別段の指示がない限り、分子生物学（任意の組換え技術を含む）、微生物学、細胞生物学、生化学、及び免疫学の従来技術を包含し、これらは十分に当業者の技量の範囲内である。このような技術は、“Molecular Cloning: A Laboratory Manual”, second edition (Sambrook, 1989)；“Oligonucleotide Synthesis” (Gait, 1984)；“Animal Cell Culture” (Freshney, 1987)；“Methods in Enzymology” “Handbook of Experimental Immunology” (Weir, 1996)；“Gene Transfer Vectors for Mammalian Cells” (Miller and Calos, 1987)；“Current Protocols in Molecular Biology” (Ausubel, 1987)；“PCR: The Polymerase Chain Reaction”, (Mullis, 1994)；“Current Protocols in Immunology” (Coligan, 1991)などの文献に十分に説明されている。これらの技術は、本明細書に記載の抗 $\alpha\text{v}\beta 8$ インテグリン抗体又はその抗原結合部分若しくは断片をコードするポリヌクレオチド（ポリヌクレオチド）、及び／又は抗 $\alpha\text{v}\beta 8$ インテグリン抗体又はその抗原結合部分若しくは断片（ポリペプチド）の生産に適用可能であり、したがって、本発明を作製及び実施する際に考慮され得る。

30

40

【0167】

以下の実施例は、本発明の治療方法をどのように作成して使用するかという、完全な開示及び説明を当業者に提供するために記載されたものであって、本発明者らが自らの発明と見なすものの範囲を限定することを意図したものではない。

【実施例】

【0168】

実施例 1

抗 $\alpha\text{v}\beta 8$ インテグリン抗体

いくつかの抗 $\alpha\text{v}\beta 8$ インテグリン抗体が本開示に包含され、本明細書に記載の方法、

50

組成物及び生成物に従って、及び／又は参照抗体若しくは対照抗体として使用される。具体的には、本明細書において「Ch i - 3 7 E 1 B 5」と呼ばれるキメラ抗 $\alpha v \beta 8$ インテグリン抗体をThe Regents of University of California (UCSF) から導入した。本明細書において「hu 3 7 E 1 B 5」と呼ばれる第2の抗 $\alpha v \beta 8$ インテグリン抗体を、公開されたPCT国際出願の国際公開第2013/026004号パンフレット(UCSF)において報告されたヒト化配列を用いて、MedImmuneにおいて生成した。hu 3 7 E 1 B 5抗体を親和性結合試験で評価したところ、図1Aに示すように、 $\alpha v \beta 8$ インテグリンタンパク質に対する結合親和性が非常に低いことがわかった。したがって、本明細書において「MED I - hu 3 7 E 1 B 5」と呼ばれる第3のヒト化抗 $\alpha v \beta 8$ インテグリン抗体を、当該技術分野知られ且つ実施されているCDRグラフト技術を用いて生成した。ヒト化MED I - hu 3 7 E 1 B 5抗 $\alpha v \beta 8$ インテグリン抗体を生成するために使用したCDRは、上記のCh i - 3 7 E 1 B 5抗体から得た。MED I - hu 3 7 E 1 B 5抗体は、図1Bに示すように、Ch i - 3 7 E 1 B 5抗体と同様の $\alpha v \beta 8$ インテグリンタンパク質に対する結合親和性を示した。MED I - hu 3 7 E 1 B 5抗体のV_H及びV_L領域並びにCDRのアミノ酸配列を図6に示す。驚くべきことに、結合親和性は、Ch i - 3 7 E 1 B 5抗体のヒト化の際に保持された。対照的に、UCSFヒト化抗体(「hu 3 7 E 1 B 5」)は、Ch i - 3 7 E 1 B 5からのヒト化では非常に低い結合親和性を示した。

【0169】

加えて、 $\alpha v \beta 8$ インテグリンに対する結合親和性が改善された抗 $\alpha v \beta 8$ インテグリン抗体を得るために、本明細書において「B 5 - 1 5」と呼ばれる第4の最適化された抗 $\alpha v \beta 8$ インテグリン抗体を、当該技術分野において知られ且つ使用されている親和性成熟技術を使用して、親抗体としたMED I - hu 3 7 E 1 B 5抗体から作製した。得られたB 5 - 1 5抗 $\alpha v \beta 8$ インテグリン抗体(「最適化された」又は「親和性最適化された」B 5 - 1 5とも呼ばれる)は、図4に示すように、MED I - hu 3 7 E 1 B 5抗 $\alpha v \beta 8$ インテグリン抗体と比較して、 $\alpha v \beta 8$ インテグリンタンパク質に対する結合プロファイルの改善を示した。最適化B 5 - 1 5抗体のV_H及びV_L領域並びにCDRのアミノ酸配列もまた図6に示す。

【0170】

CDRグラフトによるキメラCh i - 3 7 E 1 B 5抗体のヒト化

当該技術分野で知られ、実施されているCDRグラフト法を用いて、マウス／ヒトキメラ3 7 E 1 B 5 (Ch i - 3 7 E 1 B 5)抗体をヒト化し、ヒト化MED I - hu 3 7 E 1 B 5抗 $\alpha v \beta 8$ インテグリン抗体を生成した。ヒト化のために、同じ標準クラスを有する最も近い個々のヒト生殖細胞系フレームワーク(FW)を、抗体フォールディング構造を模倣するように選択した。復帰変異のために重要なマウスFW残基を同定し、遺伝子を合成し、293細胞を用いた一過性トランスフェクションによってIgGを変換及び生成し、得られた抗体を $\alpha v \beta 8$ インテグリンへの結合についてスクリーニングした。このプロセスにより、完全にヒト化された軽鎖クローン、及び4つの重要なマウス残基を有するハイブリッドヒト生殖細胞系FWが生成された。上記方法から得られたヒト化MED I - hu 3 7 E 1 B 5抗 $\alpha v \beta 8$ インテグリン抗体は、驚くべきことに、元のキメラ3 7 E 1 B 5 (Ch i - 3 7 E 1 B 5)抗体の完全な結合活性を保持していることが示された(図1B)。図1Bで観察されるように、ヒト化MED I - hu 3 7 E 1 B 5抗体及びCh i - 3 7 E 1 B 5抗体はいずれも、hu 3 7 E 1 B 5抗体(この配列は、上記のように国際公開第2013/026004号パンフレットに報告されている)と比較して、 $\alpha v \beta 8$ インテグリンへの結合が増加した。

【0171】

部位飽和変異誘発及び親和性成熟は、親和性最適化ヒト化B 5 - 1 5抗 $\alpha v \beta 8$ インテグリン抗体の産生をもたらす

さらに、部位飽和変異誘発をヒト化MED I - hu 3 7 E 1 B 5抗体に対して行い、Cys 94残基(抗体骨格の潜在的な断片化／ペプチド切断に関連するため、抗体構造にお

ける欠陥であることが示されている)を、残基を他の19個のアミノ酸の全てに最初に変換することによって、除去した。得られた変異抗体の全てを、ELISA分析により、 $\alpha v \beta 8$ インテグリンへの結合についてスクリーニングした。94位の残基に応じて、結合親和性が低下した。この手順から得られた最良の $\alpha v \beta 8$ インテグリン結合変異体を、MED I-hu37E1B5-C94I及びMED I-hu37E1B5-C94Gと称した。MED I-hu37E1B5-C94I変異体抗体は、 $\alpha v \beta 8$ 結合親和性がおおよそ3倍減少した。ヒト化MED I-hu37E1B5-C94I抗体を、さらなる分析及び親和性最適化のために選択した。

【0172】

N-グリコシル化部位を有するヒト化MED I-hu37E1B5-C94Iの親和性成熟を、当該技術分野で認められている方法である節約的変異誘発を用いて行った。簡潔に記載すると、Med i-hu37E1B5-C94Iの各CDR位置に対する飽和点変異を最初に生成した。変異は、抗体の V_H 及び V_L 領域の6つのCDR全てをカバーした。合計6528個の個々のクローンを、 $\alpha v \beta 8$ インテグリンへの結合についてスクリーニングした(冗長性 $>4\times$)。これらから、次の10の一次ヒットが同定された: 3つは V_H -CDR1中にあり; 2つは V_H -CDR3中にあり; 1つは V_L -CDR1中にあり; 4つは V_L -CDR3中にあった。ヒットの全てが、 $\alpha v \beta 8$ インテグリンへの結合において2~5倍の改善を示した。

【0173】

図2A~2Cは、MED I-hu37E1B5-C94I抗 $\alpha v \beta 8$ インテグリン抗体、及びスクリーニング分析において同定された代表的な抗 $\alpha v \beta 8$ インテグリン抗体「ヒット」(「P1」又は「P2」ヒットと呼ぶ)、例えば、 V_H CDR1ヒット(図2A)、 V_H CDR3ヒット(図2B)及び V_L ヒット(図2C)の結合親和性分析を示すグラフを示す。例えば、抗体クローンヒットを指定するために、「P」は所与のマルチウェルプレートを表し、Pに続く数字は、プレート中のウェル番号を表す。

【0174】

図2Dは、親和性成熟抗 $\alpha v \beta 8$ インテグリン抗体クローンのスクリーニングから得られた、「P2-23」、「P2-33」、「P2-25」、「P1-21」、「P1-35」、「P1-42」、「P2-16」、「P2-19」、「P2-36」、及び「P2-14」と命名された代表的な一次クローン抗 $\alpha v \beta 8$ インテグリン抗体ヒットの V_H 及び V_L 領域のアミノ酸配列のアラインメントを示す。クローンの V_H 及び V_L 領域におけるフレームワーク(FW1~FW4)領域及びCDR(CDR1~CDR3)を、配列の上に指定する。CDR領域におけるアミノ酸残基の相異箇所を、二重下線で示す。

【0175】

次いで、10個の最も有益な点変異の組み合わせライブラリーを、組み合わせ様式で作製した。 $\alpha v \beta 8$ インテグリンへの結合について、4608個のクローンをスクリーニングした。確認のために88個のクローンを選択した。最良の一次ヒット、P2-23と比較して、 $\alpha v \beta 8$ インテグリンへの結合にさらなる改善を示すものとして、コンビナトリアル評価から6つのヒットを同定した。組み合わせライブラリースクリーニングからの $\alpha v \beta 8$ インテグリン結合データを図3A及び図3Bに示す。CHO(G22)細胞において発現したB5-15(「最適化B5-15」又は「親和性最適化B5-15」と称するヒト化及び親和性最適化抗体を、MED I-hu37E1B5よりも高い $\alpha v \beta 8$ インテグリンに対するその結合親和性(図4)及びCh i-37E1B5よりも高いTMLCルシフェラーゼアッセイにおけるそのインビトロ効力(図5)に基づいて、最終的な最適抗体として選択した。

【0176】

TGF- β 活性化バイオアッセイ

当該技術分野においては、TMLCルシフェラーゼバイオアッセイが、 $\alpha v \beta 8$ インテグリンなどのインテグリンによるTGF- β 活性化を測定するために使用される。このバイオアッセイは、例えば、M. Abe et al., 1994, Anal. Bioche

10

20

30

40

50

m., 216 (2): 276-284; L. A. Randall et al., 1993, J. Immunol. Methods, 164 (1): 61-67; M. A. van Waarde et al., 1997, Anal. Biochem., 247 (1): 45-51; 及び I. Tesseur et al., 2006, BMC Cell Biology, 7: 15 (<https://doi.org/10.1186/1471-2121-7-15>) に記載されているように、ルシフェラーゼに融合されたプラスミノーゲンアクチベーターインヒビター-1 (PAI-1) プロモーターで安定にトランスフェクトされたミンク肺細胞株 TMLC に基づく。

【0177】

ルシフェラーゼレポーターに連結されたプラスミノーゲンアクチベーターインヒビター-1 (PAI-1) プロモーターの一部を安定にトランスフェクトし、以前に記載されているように培養した形質転換ミンク肺上皮細胞 (TMLC) (Daniel Rifkin, New York University により提供された細胞) を用いて、TGF- β 活性化を測定した (M. Abe et al., 1994, Anal. Biochem., 216 (2): 276-284)。96 ウェルプレート中、10% の FBS 及び 10 U/ml のペニシリン G、10 μ g/ml のストレプトマイシン G 硫酸塩を添加した DME M 高グルコース (Life Technologies/Thermo Fisher) (試験抗体を含むか又は含まない) で、HeLa-B8 細胞 (1.5 $\times$ 10⁴ 細胞/ウェル) を TMLC (1.5 $\times$ 10⁴ 細胞/ウェル) と一晚共培養した。16 時間後、上清を除去し、細胞を 100 μ L の細胞溶解緩衝液 (Promega) 中で溶解し、ルシフェラーゼアッセイシステム (Promega) を使用して、白色壁透明ボトム 96 ウェルプレートに 80 μ L の溶解物を移し、80 μ L の基質と混合することにより、ルシフェラーゼ活性を測定した。試料を直ちに照度計で読み取り、相対ルシフェラーゼ単位 (RLU) 又は最大応答パーセントとして示し、アッセイのベースライン又は 0% 対照として TMLC 単独を、また HeLa-B8 細胞と共培養した TMLC を最大又は 100% 応答として使用して決定した。

【0178】

HeLa-B8 細胞株の作製

HeLa-B8 細胞は、HeLa 細胞株 (ECACC) の誘導株である。簡潔に記載すると、コンフルエント HeLa 細胞を、10% FBS、1% 非必須アミノ酸 (Life Technologies/Thermo Fisher)、及び 10 U/ml ペニシリン G (Life Technologies/Thermo Fisher)、10 μ g/ml ストレプトマイシン G 硫酸塩を添加した MEM (Life Technologies/Thermo Fisher) 中で維持し、使用前、細胞をアクターゼを用いて剥がし取り、PBS 中に 1 $\times$ 10⁶ 細胞/ml で再懸濁した。LIVE/DEAD 固定水性死細胞染色 (Life Technologies/Thermo Fisher、1:1000) を氷上の細胞に 20 分間添加した。細胞をペレット化し、冷フローサイトメトリ染色緩衝液 (eBioscience) 中で洗浄した。組換え 37E1B5-mIgG1 又はアイソタイプ-mIgG1 (100 μ g/ml の 1 $\times$ 10⁶ 細胞/ml) を細胞に加え、氷上で 30 分間インキュベートした。細胞をペレット化し、洗浄し、二次抗マウス Alexa-647 (Jackson ImmunoResearch、1:200) を細胞に加え、氷上で 30 分間インキュベートした。細胞をペレット化し、洗浄し、1% の FBS を含有する HeLa 細胞培地中に 10 $\times$ 10⁶ 細胞/ml で再懸濁した。Chi-37E1B5 抗体を用いて、BD FACSAria III 細胞ソーター (BD Biosciences) で細胞を選別した。次いで、高 α v β 8+ 選別細胞を完全 HeLa 細胞培地で培養し、増殖させ、将来の使用のために保管した。細胞は、少なくとも 1 か月の培養の間、 α v β 8 高発現についてポジティブのままであった。

【0179】

ヒト化親和性最適化 B5-15 抗 α v β 8 インテグリン抗体の特徴

ヒト化及び最適化された B5-15 抗体ポリペプチドの軽鎖 (L) 可変領域 (V_L、 κ

）アミノ酸（a a）配列は、以下のような107個のアミノ酸残基を有する：

B5-15V_L（カッパ（κ））

DIQLTQSPSSLSASVGDRTITCKASQDINKYLSWFFQQKP
GKAPKSLIYYANRLVDGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQP
EDFATYYCLQYDVFPYTFGGGTKVEIK（107aa）（配列番号13）

【0180】

B5-15抗体ポリペプチドの重鎖（H）可変領域（V_H）アミノ酸配列は、以下のような116個のアミノ酸残基を有する：

B5-15 V_H

EVQLVESGGLVQPGGSLRLSCAVSGFVFSRSWISWVRQAP
GKGLEWIGEINPDSSTINYTSSSLKDRFTISRDNANKNSLYL
QMNSLRAEDTAVYYCAILITTEDYWGQGTTVTVSS（116aa）（配列番号12）

【0181】

特に、B5-15抗体の軽鎖（L）可変領域（V_L）は、以下のようなアミノ酸配列を有する3つのCDRを含む：

V_LCDR1：KASQDINKYLS（配列番号10）

V_LCDR2：YANRLVD（配列番号5）

V_LCDR3：LQYDVFPYT（配列番号11）

【0182】

B5-15抗体の重鎖（L）可変領域（V_H）は、以下のようなアミノ酸配列を有する3つのCDRを含む：

V_HCDR1：RSWIS（配列番号9）

V_HCDR2：EINPDSSTINYTSSSL（配列番号2）

V_HCDR3：LITTEDY（配列番号3）

【0183】

Chi-37E1B5、hu37E1B5、MEDI-hu37E1B5及びB5-15抗αvβ8インテグリン抗体のV_H及びV_L領域のアミノ酸配列の比較を図6に示す。

【0184】

実施例2

抗αvβ8インテグリン抗体を用いたホルマリン固定パラフィン包埋（FFPE）ヒト組織におけるαvβ8インテグリン発現の免疫組織染色（IHC）検出法

IHC法

ホルマリン固定パラフィン包埋（FFPE）組織切片を調製するために、ヒト組織試料が固定されたスライドを保管場所から取り出した。スライドを適切に標識し、自動染色装置XLラックにロードした。染色したスライドを脱ろうし、水道水で再水和した。

【0185】

スライドラックを、Dako抗原賦活液（Dako S1699）を含む圧力釜に移した。熱媒介抗原賦活を加圧下（SPDDCP_5024）で2分間、以下の変更を加えて実施した：抗原賦活後、圧力釜を冷却して減圧し、圧力釜を流水道水中に置き、蓋を取り外し、圧力釜を5分間冷却し、次いで、その内容物を流水道水で洗い流し、スライドを取り出し、流水で5分間濯いだ。スライドをペルオキシダーゼ（メタノール中、3%の過酸化水素）で10分間ブロックした。

【0186】

免疫組織染色を以下のように行った：

- ・スライドの適切な位置にパップペンを引く（組織上の疎水性障壁を引くため）；
- ・スライドをDako自動染色装置にロードする；
- ・0.1%Tween20を含む標準ダルベッコPBS（PBST）で×1（1回）洗浄する；

10

20

30

40

50

- ・スライドを2.5%ウマ血清（ImmPRESSキットから）中で20分間インキュベートする；
- ・ブロー工程；Calico抗体CAL16（精製ウサギ組換え抗 $\alpha v \beta 8$ インテグリン抗体）1.0ug/ml（PBSTで希釈）、Dakouサギ免疫グロブリンアイソタイプ対照1.0ug/ml又はベクターKi67（実験対照として1:200希釈）で60分間インキュベートする；
- ・PBSTで×1濯ぐ；
- ・標識したポリマー、ベクターImmPRESS（商標）HRP、ウマ抗ウサギIgG（ペルオキシダーゼ）ポリマー検出キット（カタログ番号MP-7401）中で30分間インキュベートする；
- ・PBSTで×1濯ぐ；
- ・PBSTで5分間インキュベートする；
- ・PBSTで×1濯ぎ；有害廃棄物×1に切り替える；
- ・DAB+基質／クロマゲン（chromagen）（Dako、K3468）中で5分間インキュベートする；
- ・純水で×1濯ぐ（自動染色装置が自動で行う）；
- ・Dako自動染色装置からスライドを取り出す；
- ・プログラム9を用いて、ギルヘマトキシリンIで対比染色し、脱水し、スライドをカバースリップで覆う；及び
- ・Leica CV5030カバースリッパーからスライドを取り出し、乾燥／セットする。

10

【0187】

【表1】

20

表1

プログラム番号9		対比染色及び脱水		
工程	ステーション	試薬	時間 [M:S]	正確度
1	洗浄5	流水道水	3:00	いいえ
2	11	ヘマトキシリンギルI	0:25	はい
3	洗浄4	流水道水	4:00	いいえ
4	12	1% 酸アルコール	0:02	はい
5	洗浄2	流水道水	5:00	いいえ
6	13	95% IMS	1:30	いいえ
7	14	IMS	1:00	いいえ
8	15	IMS	1:30	いいえ
9	16	IMS	1:00	いいえ
10	17	キシレン	2:00	いいえ
11	18	キシレン	2:00	いいえ
12	終了	キシレン	/:/	/

30

40

【0188】

或いは、「プログラム番号9」の工程を手動で実行することができる。これを行うために、スライドを記載の試薬中に記載の時間置くことができる。自動プログラムを使用しても、手動で工程を実行してもよい。

【0189】

実施例3

$\alpha v \beta 8$ インテグリンは腎臓で優先的に発現される

実施例2に記載のIHC染色分析を多数の組織試料に対して実施して、ヒト組織における $\alpha v \beta 8$ インテグリンの発現及び分布を決定した。以下の表2は、IHC分析の結果を

50

示す。

【0190】

【表2】

表2

組織	N	$\alpha v \beta 8$ インテグリンを 発現する 試料数	場所
心臓	3	0	
肺	3	0	
腎臓	3	3	糸球体及び尿細管
脾臓	3	0	
リンパ節	3	0	
胸腺	3	2	ハッサル小体を囲む上皮細胞
扁桃腺	3	2	重層扁平上皮小柱
肝臓	3	0	
胆嚢	3	1	弱い細胞質染色円柱上皮
膵臓	3	1	間質陽性発現の小領域
脳小脳	3	1	弱く均質な実質
脳小脳	3	2	弱く均質な実質
甲状腺	3	0	
副腎	3	2	皮質細胞 – 稀な間質 $\alpha v \beta 8$ インテグリン染色検出 毛細血管
耳下腺	3	0	
皮膚	3	0	
骨格筋	3	0	
胃	3	0	
回腸	3	2	外膜神経細胞
結腸	3	0	
卵巣	3	1	? 神経細胞
卵管	3	1	稀で弱い円柱上皮
子宮筋層	3	0	
子宮内膜	3	1	子宮内膜腺上皮
子宮頸部	3	1	弱い重層扁平
子宮頸腔部	3	2	上皮膜。円柱/重層扁平
乳房	3	0	
胎盤	3	3	弱く少量の栄養膜、稀な膜
前立腺	3	1	中等度の腺上皮
精巣	3	2	弱い細胞質一次精母細胞
精嚢	3	2	腺/小胞上皮
膀胱	3	0	
尿管	3	0	

【0191】

表2で認められるように、腎組織は、高レベルの $\alpha v \beta 8$ インテグリンを発現する。さらに、 $\alpha v \beta 8$ インテグリンは、33の他のヒト組織型、すなわち、心臓、肺、脾臓、リンパ節、胸腺、扁桃腺、肝臓、胆嚢、膵臓、脳小脳及び大脳、甲状腺、副腎、耳下腺、皮膚、骨格筋、胃、回腸、結腸、卵巣、卵管、子宮筋層、子宮内膜、子宮頸部、子宮頸腔部、乳房、胎盤、前立腺、精巣、精嚢、膀胱及び尿管と比較して、ヒト腎組織において高密度に存在していることがわかった。図7A（左側）では、 $\alpha v \beta 8$ インテグリンの強い染

色がヒト腎組織、特に腎組織の尿細管の足細胞及び上皮細胞において観察された。対照的に、染色は、検査された他の組織型では、弱い、一貫性がない、又は存在しないことがわかった。

【0192】

図7Aに示すIHC染色分析では、CAL16クローン抗 $\alpha v \beta 8$ インテグリンウサギモノクローナル抗体(Calico Biolabs Inc (Pleasanton, CA)からの精製ウサギ組換え抗 $\alpha v \beta 8$ インテグリン抗体)を使用した。市販されているこの抗体を、ヒト及びマウス組織の両方で発現される $\alpha v \beta 8$ インテグリンへの結合のために最適化し検証した。

【0193】

実施例4

$\alpha v \beta 8$ 発現は、慢性腎疾患(CKD)を有する患者の腎組織において増加する

$\alpha v \beta 8$ インテグリンの発現を、糖尿病性腎症(DN)を有する患者と、「健常」対照として正常な腎組織を有する個体とから採取したヒト腎組織試料において評価した。DN腎組織試料は、Addenbrooke's Biobank及びMedImmune (Gaithersburg) Biobankから得た。正常な腎臓試料は、MedImmune (Cambridge) 組織バンクから得た。より具体的には、糖尿病性腎症慢性腎疾患、DN-CKDを有する9人の患者からの試料を針生検によって得た。4人の健康な「正常」個体からの試料を対照として使用した。正常試料では、軽度の慢性炎症のいくつかの領域の存在が明白であったが、試験デザイン又は結果に影響を与えなかった(図7A、右側)。

【0194】

実施例3に記載のように、IHC染色実験で使用した抗体は、Calico Biolabs Inc (Pleasanton, CA)からのCAL16クローン抗 $\alpha v \beta 8$ インテグリンウサギモノクローナル抗体(精製ウサギ組換え抗体)であった。染色後、経験豊富な上級病理学者によってスライドをレビューした。

【0195】

このIHC染色分析の結果は以下の通りであった：健康な個体において、糸球体はアイソタイプ一致対照抗体染色と比較して、抗 $\alpha v \beta 8$ インテグリン抗体で陽性染色を示した；抗 $\alpha v \beta 8$ インテグリン抗体染色は概して弱い(3/4試料)が1つの試料(1/4)は足細胞において強い染色を示した(足細胞パターン)。腎尿細管では、皮質尿細管、膜、基底から頂端に弱い多焦点染色が観察された。(図7A、右側)。尿細管の染色は集合管には見られなかった。健康なヒト腎臓の全体的な染色パターンは、ほとんどが健康なトランスジェニックマウスと同様に糸球体にあったが、IHCによる $\alpha v \beta 8$ インテグリンの染色は、CKD患者及びUUOトランスジェニックマウスのいずれも尿細管構造で観察された。

【0196】

DN-CKDを有する患者では、糸球体における $\alpha v \beta 8$ 染色の程度は様々であり、糸球体損傷の程度と関連していた。罹患組織における足細胞の喪失が、少ない染色と関連した。罹患腎臓における足細胞の喪失のため、染色強度は変動した。DN-CKD腎臓における尿細管の染色は、弱い染色から、主に炎症／線維症領域における細胞質及び膜の強い染色まで様々であった。抗 $\alpha v \beta 8$ インテグリン抗体の染色パターンによって明示されるように、 $\alpha v \beta 8$ インテグリンの全体的な発現増加がDN-CKD腎臓で観察された。過剰発現は実質的に腎尿細管で見られた。(図7B)。抗 $\alpha v \beta 8$ インテグリン抗体染色に基づいて、DN-CKD腎臓における $\alpha v \beta 8$ インテグリンの発現の変化は、尿細管間質炎症及び線維症を示すマウスモデルの腎臓における $\alpha v \beta 8$ インテグリン発現に適切に近似するようであった。

【0197】

図7Cは、腎疾患を有するヒト患者から得られた腎組織細胞の顕微鏡写真を示す。腎組織細胞を抗 $\alpha v \beta 8$ インテグリン抗体で染色し、IHCによって分析した。IHC染色結

10

20

30

40

50

果は、 $\alpha v \beta 8$ インテグリンタンパク質が、正常な腎細胞及び腎組織と比較して、糖尿病性腎症（DN）を有するヒト患者の腎細胞及び腎組織で上方制御されることを示した（図7C、上段）。特に、DN及びCKD患者から得られた腎組織試料においては、 $\alpha v \beta 8$ インテグリンの過剰発現は実質的に尿細管で認められた（図7C、下段）。DN患者の腎臓の糸球体は、 $\alpha v \beta 8$ インテグリン染色の減少を示しており、おそらく腎組織の線維化及び損傷による足細胞の喪失の結果としてであろう。ステージ2及びステージ3のDNを有する患者からの腎組織試料中の非染色領域は、図7Cにおいてアスタリスク（*）によって示されるように、機能性ネフロンを置き換えた線維性マトリックスである。この結果は、機能的上皮を保護するために $\alpha v \beta 8$ インテグリンを標的とすることの重要性を強調するものである。図7Cに示すIHC染色分析では、CAL16クローン抗 $\alpha v \beta 8$ インテグリンウサギモノクローナル抗体（Calico Biolabs Inc.（Pleasanton, CA）からの精製ウサギ組換え抗 $\alpha v \beta 8$ インテグリン抗体）を使用した。市販されているこの抗体を、ヒト及びマウス組織の両方で発現される $\alpha v \beta 8$ インテグリンへの結合のために最適化し検証した。

【0198】

実施例5

itgb8 遺伝子は、CKDを有する個体の腎臓において上方制御され、他の β インテグリンと比較して高い発現を示す

トランスクリプトミクス分析は、ヒトCKD患者の腎臓が健康なヒト対象の腎臓と比較して、ITGB8（ $\beta 8$ インテグリンをコードする）をより高度に発現するという証拠を提供した。これらの分析では、相対的 β インテグリンファミリーmRNA発現をヒトCKD腎ホモジネートにおいて測定した。簡潔に記載すると、腎生検の1パンチ（2mmパンチャー）を、TissueLyser IIを用いてRLT溶解緩衝液中でホモジナイズした。溶解物からのRNAをRNAeasy Miniキットカラムで単離した。RNA濃度をNanodropで測定し、濃度を調整して、TaqMan RNA-to-ct 1ステップキット及び全てのインテグリンに特異的なプローブ（*hprt-1* をハウスキーピング遺伝子として含む）を使用してqPCR分析を行った。図8Aは、CKDを有するヒト患者からの腎臓における β インテグリンの異なるアイソフォームをコードするmRNAの相対発現レベルを示す棒グラフを示す。図8Aに見られるように、 $\beta 8$ インテグリンmRNA発現はCKD患者の腎臓における他の β インテグリン（すなわち、 $\beta 1$ 、 $\beta 3$ 、 $\beta 5$ 及び $\beta 6$ ）の発現より優勢であった。

【0199】

他の実験では、程度の異なるCKDを有する157人の患者のトランスクリプトームプロファイルを分析し、生体ドナー（LD）のものと比較した。157例中12例に糖尿病性神経障害（DN）が認められた。糸球体及び尿細管間質コンパートメントを分離し、S. Martini et al.（2014, J. Am. Soc. Nephrol., 25（11）：2559-2572）によって記載されているように、全ゲノム遺伝子の発現分析を行った。この分析では、まず、腎糸球体コンパートメントにおける*itgb8* mRNAの発現を、ネフリン（NPHS1遺伝子によってコードされる）と関連させて評価した。ネフリンは、有窓内皮細胞、糸球体基底膜、及び上皮細胞の足細胞からなる、腎臓濾過バリアの適切な機能に必要な足細胞タンパク質である。NPHS1における変異は、先天性ネフローゼ症候群と関連する。NPHS1発現は、足細胞数の指標である。CKDでは、足細胞数が減少するので、NPHS1発現が減少する。図8Bは、*itgb8* mRNA発現が、足細胞マーカー遺伝子であるNPHS1と正に相関することを示しており、腎足細胞におけるこの遺伝子の発現を支持する。糸球体皮質における*itgb8* 発現を、足細胞の喪失を考慮してより良く評価するために、*itgb8* 発現をNPHS1によって正規化した。したがって、慢性腎疾患におけるような足細胞喪失の条件下での足細胞内の発現変化を理解するため、データをネフリン（NPHS1遺伝子によってコードされる）の発現について正規化した。図8Cは、*itgb8* mRNA発現が、健常対照としての生体ドナー（LD）におけるその発現と比較して、DN患者腎臓試料の尿細管間質（T

I)においてより高かったことを示すボックスプロットグラフを示す。図8Dは、*itgb8* mRNA発現が、CKDを有する患者のTIにおけるCKD全体のTGF- β 活性化スコアと強く相関することを示すドットプロットグラフを示し、CKDにおけるTGF- β 活性化の $\alpha v \beta 8$ インテグリンの役割を支持する。

【0200】

別のコホートにおいて、DNを有する20人のヒト患者から得られた腎臓試料の尿細管間質(Tub)及び糸球体(Glom)を、19人のLD患者から得られた腎臓試料のTI及び糸球体と比較して、RNAseqを用いた全ゲノム転写プロファイリングによってプロファイリングした。結果は、生体ドナー(LD)と比較して、DN患者(グラフにおいて「Tub-DN」と表されている)の尿細管間質において*itgb8* mRNA発現が増加したことを示した(図8E)。腎疾患、すなわち糖尿病性腎症を有する患者の尿細管間質における高い*itgb8* mRNAレベルの所見は、これらの腎疾患患者における腎障害及び線維症の病態と相関する。

【0201】

これらの分析の主要な所見は以下の通りであった：*itgb8* mRNA発現は、足細胞マーカー遺伝子であるネフリン(NPHS1)に対する正規化後、DN患者試料からの糸球体において上昇した。*itgb8* mRNA発現は、DN患者の尿細管間質(TI)において上昇した。TIにおいて、*itgb8* mRNA発現は、推定TGF- β 活性化スコアと正に相関し、これは、線維性疾患におけるTGF- β 活性化の制御における $\alpha v \beta 8$ インテグリンの提示された役割と一致する。同様の結果が、別の足細胞マーカー遺伝子であるWT1のmRNA発現の分析によっても見出された(データは示さず)。これらの知見は、ヒトCKD腎臓において、 $\alpha v \beta 8$ インテグリン発現が、CKDにおける線維化と相関するという発見を支持するものであり、CKDにおける線維化は、腎線維症を引き起こし悪化させる際に重要な役割を果たしているTGF- β の活性化と関連している。

【0202】

実施例6

抗 $\alpha v \beta 8$ インテグリン抗体のインビボにおける有効性

線維症誘導のマウスモデルを用いて、腎臓の線維症の治療における抗 $\alpha v \beta 8$ インテグリン抗体のインビボにおける有効性を試験した。このモデルは、動物に対して片側尿管閉塞(UUO)(尿管の片側結紮)と呼ばれる処置を実施することを含んだ。このモデルでは、ヒト化 $\alpha v \beta 8$ トランスジェニック(Tg)雄マウスに、傷害の5日間及び8日間を含むシャム又はUUO処置を行った。Tgマウスは、 $\alpha v \beta 8$ 遺伝子をノックアウトしたマウス($\alpha v \beta 8$ KOマウス)をヒト $\alpha v \beta 8$ BACトランスジェニックマウスと交配させることにより作製した。ヒトITGB8遺伝子を発現するTgマウスの作製は、例えば、S. Minagawa et al., 2014, Sci. Transl. Med., 6(241):241ra79(doi:10.1126/scitranslmed.3008074)に記載されている。ヒト化 $\alpha v \beta 8$ トランスジェニックマウスは、健康なヒトで観察されたパターンと同様のパターンで、主に腎糸球体でヒト $\alpha v \beta 8$ インテグリンを発現した。尿管結紮(UUO)による線維症の誘導は、ヒトCKDで観察されるものと同様に、腎尿細管における $\alpha v \beta 8$ インテグリン発現を増加させた。

【0203】

使用した試験薬剤は、上記したIgG1ヒト化及び配列最適化抗 $\alpha v \beta 8$ インテグリン抗体のB5-15であった。対照抗体は、アイソタイプ一致IgG抗体であった。

【0204】

UUO Tg マウスモデル試験のためのプロトコル:

モデル: 91匹のヒト化 $\alpha v \beta 8$ トランスジェニック(Tg)雄マウスにシャム又は片側尿管閉塞(UUO)処置を施した; 障害の5日間又は8日間。これらの群の動物に、隔日(EOD)に、すなわち-1日目、1日目、3日目、5日目及び7日目に、それぞれの抗体を投与した。シャム処置した動物に、0日目、2日目、4日目及び6日目にビヒクルを投与した。

【0205】

試験開始時のマウスの年齢：92～121日齢。

【0206】

試験薬剤／化合物：抗 $\alpha v \beta 8$ インテグリン抗体（Chi-37E1B5モノクローナル抗体）、B5-15配列最適化抗 $\alpha v \beta 8$ インテグリン抗体）、IgGアイソタイプ対照及び／又はビヒクル（PBS）を、以下の表3に示す用量、頻度で、群に対し投与した。

【0207】

【表3】

表3

N / 群 (動物番号)	種	化合物及び投与間隔 (日目 (D))	用量及び 経路	施術準備の 間隔 (日目 (D))	状態
n = 6 (3428 – 3433)	Tg	IgG 対照 D-1, D1, D3, D5, D7 ビヒクル D0, D2, D4, D6	10 mg/kg i.p. N/A i.p.	D0に1回	シャム手術
n = 10 (3434 – 3443)	Tg	IgG 対照 D-1, D1, D3 ビヒクル D0, D2, D4, D6	10 mg/kg i.p. N/A i.p.	D0に1回	永続的 UUO
n = 10 (3454 – 3463)	Tg	Chi-37E1B5 D-1, D1, D3, D5, D7 ビヒクル D0, D2, D4, D6	10 mg/kg i.p. N/A i.p.	D0に1回	永続的 UUO
n = 10 (3464 – 3473)	Tg	B5-15 D-1, D1, D3, D5, D7 ビヒクル D0, D2, D4, D6	10 mg/kg i.p. N/A i.p.	D0に1回	永続的 UUO

【0208】

試験エンドポイント：形態：体重（初期、最終、 Δ ）；腎重量（閉塞及び対側）及び指数；並びに脛骨長。

【0209】

Lumindexによる腎皮質mRNA発現：

- ・結合組織増殖因子（CTGF）
- ・ α 平滑筋アクチン（ACTA2）
- ・フィブロネクチン1（FN1）
- ・コラーゲン1 $\alpha 1$ （Col1 $\alpha 1$ ）
- ・コラーゲン3 $\alpha 1$ （Col3 $\alpha 1$ ）

【0210】

腎皮質ヒドロキシプロリン含量

組織学的読み取り：ピクロシリウスレッド（PRS）及び $\alpha v \beta 8$ 染色。

抗 $\alpha v \beta 8$ インテグリン抗体を用いてヒト化 $\alpha v \beta 8$ トランスジェニックマウスの腎組織をIHC染色して、腎線維症及びその程度を決定した結果を図9A～9Dに示す。図9A及び9Bに示される抗 $\alpha v \beta 8$ インテグリン抗体によるIHC染色の顕微鏡写真は、ヒト

化 $\alpha v \beta 8$ トランスジェニックマウスが健康なヒト腎臓において典型的に観察されるものと同様に、主に腎臓の糸球体において $\alpha v \beta 8$ インテグリンを発現したことを示す。CKDを有するヒトの腎臓において典型的に観察されるものと同様に、UUO処置による線維症の誘導が腎尿細管における $\alpha v \beta 8$ 発現を増加させることが示された（図9C及び9D）。図9E～9Hは、上記され、表3に概説したUUO処置によるインビボ試験から得られた結果を示す。

【0211】

図9Eに示すように、抗 $\alpha v \beta 8$ インテグリン抗体Ch i - 3 7 E 1 B 5（親Avb8 Abのラベルが付されている）及びB5 - 15（リードAvb8 Abのラベルが付されている）は、UUO対照と比較して、UUO施術後8日目で、コラーゲン1a1 mRNA発現のUUO誘導による増加を減弱化させた。図9Fに示すように、抗 $\alpha v \beta 8$ インテグリン抗体Ch i - 3 7 E 1 B 5（親Avb8 Abのラベルが付されている）及びB5 - 15（リードAvb8 Abのラベルが付されている）は、UUO対照と比較して、UUO施術後8日目で、Col3a1発現のUUO誘導による増加を減弱化させた。図9Gに示すように、UUOは、UUO施術後8日目で、閉塞された腎皮質フィブロネクチン1（Fn1）mRNA発現を、シャム対照と比較して増加させた。抗体Ch i - 3 7 E 1 B 5（親Avb8 Abのラベルが付されている）及び抗体B5 - 15（リードAvb8 Abのラベルが付されている）抗 $\alpha v \beta 8$ インテグリン抗体は、UUO対照と比較して、8日間の損傷期間でのFn1発現のUUO誘導による増加を減弱化させた。図9Hに示すように、抗 $\alpha v \beta 8$ インテグリン抗体B5 - 15（リードAvb8 Abのラベルが付されている）は、UUO対照と比較して、UUO施術後8日目で、 α -平滑筋アクチン（ α -SMA）mRNA発現のUUO誘導による増加を減弱化させた。Ch i - 3 7 E 1 B 5（親Avb8 Abのラベルが付されている）抗体は、 α -SMAのUUO誘導による増加を減少させなかった。 α -SMA+細胞の存在は正常な腎機能に有害であるので、 α -SMAの減少は重要である。これは、これらの細胞が収縮性であり、線維性リモデリングに直接作用するだけでなく、高度に合成され、炎症性メディエーター及び線維性メディエーターを産生するためである。図9Iに示すように、抗 $\alpha v \beta 8$ インテグリン抗体Ch i - 3 7 E 1 B 5（親Avb8 Abのラベルが付されている）及びB5 - 15（リードAvb8 Abのラベルが付されている）は、UUO対照と比較して、UUO施術後8日目で、結合組織成長因子（CTGF）mRNA発現のUUO誘導による増加を減弱化させた。図9Jに示すように、UUOは、UUO手術後8日目で、閉塞された腎皮質ヒドロキシプロリン（OHP）%を増加させた。Ch i - 3 7 E 1 B 5（親Avb8 Abのラベルが付されている）抗体及びB5 - 15（リードAvb8 Abのラベルが付されている）抗体は、対照と比較して、8日間の損傷期間で、OHP%のUUO誘導による増加を減弱化させた。腎皮質ヒドロキシプロリンの読み取りは、組織の実際の線維化含量／線維症の測定として役立つ。

【0212】

要約すると、UUO施術後8日目で、Ch i - 3 7 E 1 B 5及びB5 - 15は、Col1a1、Col3a1、FN-1及びCTGF mRNA発現、並びにヒドロキシプロリン含有%のUUO誘導性増加を減弱させた。さらに、UUO施術後8日目で、B5 - 15は、 α -SMA mRNA発現のUUO誘導による増加を減弱化した。

【0213】

この実施例で使用した2つの抗 $\alpha v \beta 8$ インテグリン抗体、Ch i - 3 7 E 1 B 5及びB5 - 15を、UUOモデルのマウスに最大用量で投与した。この試験の目的は、 $\alpha v \beta 8$ インテグリンに対する抗体が、 $\alpha v \beta 8$ インテグリンと結合することによって引き起こされるTGF- β 誘導線維症を効果的に低減できるかどうかを実証することであった。本発明者らは、これらの抗 $\alpha v \beta 8$ インテグリン抗体のいずれかのより低い用量（すなわち、EC₅₀）で、TGF- β 誘導線維症の低減に差が見られることを期待する。すなわち、本発明者らは、等価用量でCh i - 3 7 E 1 B 5よりもB5 - 15による治療からのUUOモデルにおいて、TGF- β 誘導線維症のより大きな低減が見られることを期待する

。これは、主に、B5-15がCh i-37E1B5よりも $\alpha v \beta 8$ インテグリンに対する結合親和性が高いこと（図1B及び図4を参照）、及びB5-15がCh i-37E1B5よりもインビトロ効力が高いこと（図5を参照）による。B5-15による治療はCh i-37E1B5よりも有利であり、これは、患者へのより低い頻度の投与又はより低い用量の投与が達成され、有害事象があったとしてもわずかであり、より大きな患者コンプライアンスにつながるためである。

【0214】

上で論じたように、 $\alpha v \beta 8$ インテグリン標的受容体は、罹患／線維性腎組織において優先的且つ高度に発現され、抗 $\alpha v \beta 8$ インテグリン抗体によって腎組織中で結合され、これが $\alpha v \beta 8$ インテグリンの潜在型TGF- β への結合相互作用を妨害する。本明細書に開示される抗 $\alpha v \beta 8$ インテグリン抗体は、潜在的なTGF- β に結合する $\alpha v \beta 8$ インテグリンに対する抗体の使用が全身性TGF- β の標的化を未然に防ぎ且つ回避し、したがって、治療を受けている対象における他の組織におけるTGF- β の全身性阻害に付随し得る潜在的に重大な問題を回避するため、腎疾患を有する対象における線維性腎疾患の治療に特に有利であり且つ有益である。

【0215】

実施例7

B5-15抗 $\alpha v \beta 8$ インテグリン抗体を用いたエクスビポ試験

TGF- β の標的 $\alpha v \beta 8$ インテグリン受容体との抗 $\alpha v \beta 8$ インテグリン抗体（B5-15）の結合及び関与を評価するために、総リン酸化腎臓SMAD2／3を測定することによって、腎臓溶解物の下流TGF- β シグナル伝達経路の活性化を評価した。簡潔に記載すると、実施例5に記載の試験で使用した動物からの腎臓試料を、Tissue Lys er IIを使用して特定の溶解緩衝液（蒸留水+10 μ l/mlのプロテアーゼ及びホスファターゼ阻害剤で1 $\times$ 希釈）中でホモジナイズし、タンパク質含量を、当業者に知られ且つ使用されているピシンコニン酸（BCA）アッセイを使用して測定し、タンパク質濃度を全ての試料について正規化した。SMAD2／3タンパク質の総リン酸化形態（ホスホSMAD2（Ser465／467）／SMAD3（Ser423／425））を、製造業者のプロトコルに従ってELISAにより分析した。上記のように、シグナル伝達分子のSmadファミリーのメンバーは、TGF- β シグナルを細胞表面から核に伝達する細胞内経路の成分である。

【0216】

実験の結果は、B5-15抗 $\alpha v \beta 8$ インテグリン抗体が5日間の片側尿管閉塞（UUO）を受けたヒト $\alpha v \beta 8$ コード遺伝子を有するトランスジェニックマウス（「ヒト化 $\alpha v \beta 8$ トランスジェニックマウス」）の腎臓における下流TGF- β シグナル伝達経路を減少させることを示した。図10（a）及び図10（b）において、*= ≤ 0.05 、及び****= ≤ 0.0001 である。図10A及び図10Bにおいて、「シャム+NIP228（IgGアイソタイプ対照）、n=6；「UUO+NIP228（IgGアイソタイプ対照）」、n=8；及び「UUO+B5-15（抗 $\alpha v \beta 8$ インテグリン抗体）」、n=8。

【0217】

図10A及び10Bで認められるように、ヒト化 $\alpha v \beta 8$ マウスにおけるUUO施術は、Sham処置群に対して5.7倍のTGF- β 依存性SMAD2／3リン酸化の増加をもたらした。興味深いことに、抗 $\alpha v \beta 8$ インテグリン抗体（B5-15）は、アイソタイプ対照による治療と比較して、SMAD2／3活性化を1.6倍有意に減少させた。SMAD2／3の総レベルは、シャム処置動物と比較して、全てのUUO群で増加した。

【0218】

実施例8

抗 $\alpha v \beta 8$ インテグリン抗体であるB5-15を用いたトリ培養細胞系の処理

ヒト糸球体硬化症のモデル（Waters et al., 2017, J Pathol, 243（3）：390-400に記載されている）に対するB5-15（抗 $\alpha v \beta 8$ イ

10

20

30

40

50

ンテグリン抗体)の効果を評価するために、本発明者らは、線維症を誘導する 10 ng/ml の $\text{TGF-}\beta$ 又は 25 ng/ml の CTGF でトリ培養細胞系(糸球体内皮細胞、足細胞、及びメサンギウム細胞が血管ネットワークを形成する)を処理した。結節数の増加は、線維症の進行を反映する。 $15\text{ }\mu\text{g/ml}$ の B5-15 での処理は、 $15\text{ }\mu\text{g/ml}$ のアイソタイプ対照(NIP228)での処理と比較して、結節数を有意に減少させた(図11を参照)。

【0219】

3Dトリ培養形成

トリ培養において、ヒト足細胞(Celprogen 、 CA 、 USA)、糸球体内皮細胞(GEC)及びメサンギウム細胞(MC)(GEC 及び MC はいずれも $\text{Sciencell Research Laboratories}$ 、 CA 、 USA から)を、ラット尾1型コラーゲン(1.5 mg/ml ; Corning 、 MA 、 USA)、ヒト血漿フィブロネクチン($90\text{ }\mu\text{g/ml}$; Merck Millipore 、 MA 、 USA)、 1.5 mg/ml NaHCO_3 、 25 mM HEPES 及び M199 培地($10\times$; Sigma 、 MO 、 USA)内に 4°C で懸濁させた。ゲルを 0.1 M HCl (Fisher Scientific 、 UK)で $\text{pH}7.4$ に pH 調整した。この細胞/ゲル懸濁液をピペットを用いて48ウェルプレート($\text{Corning Incorporated}$ 、 NY 、 USA)にそれぞれ1ウェル当たり $320\text{ }\mu\text{L}$ の容量で注入した。腎糸球体細胞は、 $16:3:1$ ($\text{GEC}:\text{POD}:\text{MC}$)の比で、すなわち、 $320\text{ }\mu\text{L}$ 当たり、 $330,000\sim 340,000$ 個の GEC 、 $50,000\sim 70,000$ 個の POD 、及び $20,000\sim 24,000$ 個の MC を使用した。細胞/ゲル懸濁液を 37°C 20分間重合させ、その後、ゲル上に $500\text{ }\mu\text{L}$ の培地をピペットで注入した。トリ培養培地は、 RMPI 1640 (GibcoTM 、 Thermo Fisher 、 UK による)、 2% FBS 、 1% ペニシリン/ストレプトマイシン、 1% インスリン、アポトランスフェリン、亜セレン酸ナトリウム(ITS 混合物中)及び 1% ECGS (補充成分は全て、 $\text{Sciencell Research Laboratories}$ 、 CA 、 USA から)から構成された。培養物を24時間維持した。細胞を、 $\text{p}2\sim\text{p}6$ の間の実験に使用した。

【0220】

$\text{TGF-}\beta$ 、 NIP228 、抗 $\alpha\text{v}\beta 8$ 抗体及び CTGF による刺激アッセイ

刺激のために、 10 ng/ml の $\text{TGF-}\beta$ ($\text{R\&D Systems (Bio-Techne Ltd)}$ 、 MN 、 USA)、 $15\text{ }\mu\text{g/ml}$ の NIP228 、 $15\text{ }\mu\text{g/ml}$ の抗 $\alpha\text{v}\beta 8$ インテグリン抗体、及び 25 ng/ml の CTGF (Invitrogen 、 CA 、 USA)を、単独で、又は組み合わせて、24時間のインキュベーションのために、培養ゲルの上に置かれた培地に加えた。対照処理は培地単独であった。

【0221】

本発明者らは、抗 $\alpha\text{v}\beta 8$ インテグリン抗体による処理が $\text{TGF-}\beta$ 活性化によって引き起こされる線維症の進行を阻害することができることを実証する。

【0222】

その他の実施形態

本発明の実施形態を以下の項にさらに記載する：

[項1]

腎疾患を有する対象における腎線維症を治療する方法であって、前記対象に有効量の抗 $\alpha\text{v}\beta 8$ インテグリン抗体又はその抗原結合断片を投与し、それによって腎線維症を治療することを含む方法。

[項2]

腎疾患を有する対象における腎線維症を低減又は減弱化させる方法であって、それを必要とする対象に有効量の抗 $\alpha\text{v}\beta 8$ インテグリン抗体又はその抗原結合断片を投与し、それによって腎臓における線維症を低減又は減弱化させることを含む方法。

[項3]

腎線維症に関連する $\alpha\text{v}\beta 8$ インテグリンの活性を抑止する方法であって、それを必要

10

20

30

40

50

とする対象に、有効量の抗 $\alpha v \beta 8$ インテグリン抗体又はその抗原結合断片を投与し、それによって腎線維症に関連する $\alpha v \beta 8$ インテグリンの活性を抑止する方法。

[項 4]

腎細胞及び腎組織における $TGF-\beta$ のその潜在型からの活性化を遮断することによって腎線維症を治療する方法であって、それを必要とする対象に、有効量の抗 $\alpha v \beta 8$ インテグリン抗体又はその抗原結合断片を投与し、それによって前記腎線維症を治療することを含む方法。

[項 5]

血漿クレアチニン及び／又は尿中タンパク質排泄レベルの増加を特徴とする腎傷害を治療する方法であって、それを必要とする対象に、有効量の抗 $\alpha v \beta 8$ インテグリン抗体又はその抗原結合断片を投与し、ここで、前記抗 $\alpha v \beta 8$ インテグリン抗体又はその抗原結合断片の前記投与は前記対象における血漿クレアチニン及び／又は尿中タンパク質排泄レベルを抑止し、それによって腎傷害を治療することを含む方法。

10

[項 6]

前記対象は、腎疾患を有する、上記項 3～5 のいずれか一項に記載の方法。

[項 7]

前記腎疾患は、糖尿病性腎症（DN）、慢性腎疾患（CKD）、急性腎疾患、高血圧関連腎疾患、高血糖関連腎疾患、腎線維症、炎症関連腎疾患、末期腎疾患（ESRD）、自己免疫関連腎線維症（例えば、ループス腎炎）及び腎移植後の線維症から選択される、上記項 1～6 のいずれか一項に記載の方法。

20

[項 8]

前記腎疾患はCKDである、上記項 7 に記載の方法。

[項 9]

前記抗体又はその抗原結合断片は、腎細胞及び／又は腎組織に発現する $\alpha v \beta 8$ インテグリンに結合し、前記腎細胞及び／又は腎組織において、 $TGF-\beta$ のその潜在型からの活性化を遮断する、上記項 1～8 のいずれか一項に記載の方法。

[項 10]

腎組織における腎線維症を検出する方法であって、腎組織を有効量の検出可能に標識された抗 $\alpha v \beta 8$ インテグリン抗体又はその抗原結合断片と接触させ、それによって前記腎組織における $\alpha v \beta 8$ インテグリンへの前記抗 $\alpha v \beta 8$ インテグリン抗体の結合を検出することを含む方法。

30

[項 11]

前記抗 $\alpha v \beta 8$ インテグリン抗体又はその抗原結合断片は、

(a) アミノ酸配列

R Y W M S

を含む重鎖可変領域相補性決定領域 1（CDR1）；

(b) アミノ酸配列

E I N P D S S T I N Y T S S L

を含む重鎖可変領域相補性決定領域 2（CDR2）CDR2；及び

(c) アミノ酸配列

L I T T E D Y

を含む重鎖可変領域相補性決定領域 3（CDR3）CDR3；並びに

(d) アミノ酸配列

K A S Q D I N S Y L S

を含む軽鎖可変領域CDR1；

(e) アミノ酸配列

Y A N R L V D

を含む軽鎖可変領域CDR2；及び

(f) アミノ酸配列

L Q Y D E F P Y T

40

50

を含む軽鎖可変領域 C D R 3

を含む、上記項 1 ～ 1 0 のいずれか一項に記載の方法。

[項 1 2]

前記抗 $\alpha \nu \beta 8$ インテグリン抗体又はその抗原結合断片は、重鎖可変領域 (V_H) アミノ酸配列

E V Q L V E S G G G L V Q P G G S L R L S C A V S G F V F S R Y W M S W V R Q A
P G K G L E W I G E I N P D S S T I N Y T S S L K D R F T I S R D N A K N S L Y
L Q M N S L R A E D T A V Y Y C A I L I T T E D Y W G Q G T T V T V S S ; 及び

軽鎖可変領域 (V_L) アミノ酸配列

D I Q L T Q S P S S L S A S V G D R V T I T C K A S Q D I N S Y L S W F Q Q K P
G K A P K S L I Y Y A N R L V D G V P S R F S G S G S G T D F T L T I S S L Q P
E D F A T Y Y C L Q Y D E F P Y T F G G G T K V E I K

を含む、上記項 1 1 に記載の方法。

[項 1 3]

前記抗 $\alpha \nu \beta 8$ インテグリン抗体又はその抗原結合断片は、

(a) アミノ酸配列

R S W I S

を含む重鎖可変領域 C D R 1 ;

(b) アミノ酸配列

E I N P D S S T I N Y T S S L

を含む重鎖可変領域 C D R 2 ; 及び

(c) アミノ酸配列

L I T T E D Y

を含む重鎖可変領域 C D R 3 ; 並びに

(d) アミノ酸配列

K A S Q D I N K Y L S

を含む軽鎖可変領域 C D R 1 ;

(e) アミノ酸配列

Y A N R L V D

を含む軽鎖可変領域 C D R 2 ; 及び

(f) アミノ酸配列

L Q Y D V F P Y T

を含む軽鎖可変領域 C D R 3

を含む、上記項 1 ～ 1 0 のいずれか一項に記載の方法。

[項 1 4]

前記抗 $\alpha \nu \beta 8$ インテグリン抗体又はその抗原結合断片は、重鎖可変領域 (V_H) アミノ酸配列

E V Q L V E S G G G L V Q P G G S L R L S C A V S G F V F S R S W I S W V R Q A
P G K G L E W I G E I N P D S S T I N Y T S S L K D R F T I S R D N A K N S L Y
L Q M N S L R A E D T A V Y Y C A I L I T T E D Y W G Q G T T V T V S S 及び

軽鎖可変領域 (V_L) アミノ酸配列

D I Q L T Q S P S S L S A S V G D R V T I T C K A S Q D I N K Y L S W F Q Q K P
G K A P K S L I Y Y A N R L V D G V P S R F S G S G S G T D F T L T I S S L Q P
E D F A T Y Y C L Q Y D V F P Y T F G G G T K V E I K

を含む、上記項 1 3 に記載の方法。

[項 1 5]

前記抗体又はその抗原結合断片は、腎疾患を有する前記対象の腎組織の足細胞及び間質尿細管細胞における $\alpha \nu \beta 8$ インテグリンの発現の増加に関連する線維症を減弱化又は抑制する、上記項 1 ～ 1 4 のいずれか一項に記載の方法。

[項 1 6]

前記抗体又はその抗原結合断片は、腎疾患の補助治療薬又は治療と組み合わせて前記対象に投与される、上記項 1～9 又は 11～15 のいずれか一項に記載の方法。

[項 17]

前記抗体又はその抗原結合断片は、前記補助治療薬又は治療の施行の前、施行と同時に、又は施行後に前記対象に投与される、上記項 16 に記載の方法。

[項 18]

(a) アミノ酸配列

R Y W M S

を含む重鎖可変領域 C D R 1 :

(b) アミノ酸配列

E I N P D S S T I N Y T S S L

を含む重鎖可変領域 C D R 2 ; 及び

(c) アミノ酸配列

L I T T E D Y

を含む重鎖可変領域 C D R 3 ; 並びに

(d) アミノ酸配列

K A S Q D I N S Y L S

を含む軽鎖可変領域 C D R 1 ;

(e) アミノ酸配列

Y A N R L V D

を含む軽鎖可変領域 C D R 2 ; 及び

(f) アミノ酸配列

L Q Y D E F P Y T

を含む軽鎖可変領域 C D R 3

を含む抗 $\alpha v \beta 8$ インテグリン抗体又はその抗原結合断片。

[項 19]

重鎖可変領域 (V_H) アミノ酸配列

E V Q L V E S G G G L V Q P G G S L R L S C A V S G F V F S R Y W M S W V R Q A
P G K G L E W I G E I N P D S S T I N Y T S S L K D R F T I S R D N A K N S L Y
L Q M N S L R A E D T A V Y Y C A I L I T T E D Y W G Q G T T V T V S S ; 及び

軽鎖可変領域 (V_L) アミノ酸配列

D I Q L T Q S P S S L S A S V G D R V T I T C K A S Q D I N S Y L S W F Q Q K P
G K A P K S L I Y Y A N R L V D G V P S R F S G S G S G T D F T L T I S S L Q P
E D F A T Y Y C L Q Y D E F P Y T F G G G T K V E I K

を含む、上記項 18 に記載の抗 $\alpha v \beta 8$ インテグリン抗体又はその抗原結合断片。

[項 20]

(a) アミノ酸配列

R S W I S

を含む重鎖可変領域 C D R 1 ;

(b) アミノ酸配列

E I N P D S S T I N Y T S S L

を含む重鎖可変領域 C D R 2 ;

(c) アミノ酸配列

L I T T E D Y

を含む重鎖可変領域 C D R 3 ; 並びに

(d) アミノ酸配列

K A S Q D I N K Y L S

を含む軽鎖可変領域 C D R 1 ;

(e) アミノ酸配列

Y A N R L V D

を含む軽鎖可変領域 C D R 2 ; 及び

(f) アミノ酸配列

L Q Y D V F P Y T

を含む軽鎖可変領域 C D R 3

を含む抗 $\alpha v \beta 8$ インテグリン抗体又はその抗原結合断片。

[項 2 1]

重鎖可変領域 (V_H) アミノ酸配列

E V Q L V E S G G G L V Q P G G S L R L S C A V S G F V F S R S W I S W V R Q A
P G K G L E W I G E I N P D S S T I N Y T S S L K D R F T I S R D N A K N S L Y
L Q M N S L R A E D T A V Y Y C A I L I T T E D Y W G Q G T T V T V S S 及び

10

軽鎖可変領域 (V_L) アミノ酸配列

D I Q L T Q S P S S L S A S V G D R V T I T C K A S Q D I N K Y L S W F Q Q K P
G K A P K S L I Y Y A N R L V D G V P S R F S G S G S G T D F T L T I S S L Q P
E D F A T Y Y C L Q Y D V F P Y T F G G G T K V E I K

を含む、上記項 2 0 に記載の抗 $\alpha v \beta 8$ インテグリン抗体又はその抗原結合断片。

[項 2 2]

$\alpha v \beta 8$ インテグリンへの結合について、上記項 1 8 ~ 2 1 のいずれか一項に記載の抗体又はその抗原結合断片と競合する抗 $\alpha v \beta 8$ インテグリン抗体又はその抗原結合断片。

[項 2 3]

腎線維症を治療する方法で使用するための、上記項 1 8 ~ 2 2 のいずれか一項に記載の抗体又はその抗原結合断片であって、 $\alpha v \beta 8$ インテグリンに特異的に結合し、それによって腎線維症を治療する抗体又はその抗原結合断片。

20

[項 2 4]

線維性腎細胞及び腎組織で発現した $\alpha v \beta 8$ インテグリンに特異的に結合し、 $\alpha v \beta 8$ インテグリンの潜在型 T G F - β への結合を遮断し、それによって腎線維症と関連する $\alpha v \beta 8$ インテグリンの活性を抑止して腎疾患を治療する、上記項 2 3 に記載の抗体又はその抗原結合断片。

[項 2 5]

上記項 1 8 又は上記項 1 9 に記載の抗体又はその抗原結合断片をコードするポリヌクレオチド。

30

[項 2 6]

上記項 2 0 又は上記項 2 1 に記載の抗体又はその抗原結合断片をコードするポリヌクレオチド。

[項 2 7]

前記 V_H 領域をコードする配列は、核酸配列

gaggtgcagctggtggaaagcggcggaggactggtgcagcctggcggcagcctgagactgagct
gcgcgctgtccggcttcgtgttcagccggagctggatcagctgggtccgccaggcccccagggaa
gggcccgggaatggatcggcgagatcaaccccgcacagcagcaccatcaactacaccagcagcctg
aaggaccggttcaccaacagccgggacaacgccaagaacagcctgtacctgcagatgaacagcc
tgccgggcccaggacaccgcgctgtactactgcgccatcctcatcaccacccaggactactgggg
ccagggcaccaccgtgaccgtgtcctct

40

を含み、前記 V_L 領域をコードする配列は、核酸配列

gacatccagctgaccagagccccagcagcctgagcgccagcgtggggcgacagagtgaccatca
catgcaaggccagccaggacatcaacaagtacctgagctgggtccagcagaagcccggaaggc
ccccagagcctgatctactacgccaacccggctgggtggacggcgtgccagcagatcttctggc
agcggcagcggcaccgacccaccctgaccatcagcagcccgagcccgaggaccccgccacc
actactgcctgcagtagcagctgttcccctacaccttcggcgaggacccaaggtggaaatcaa
g

50

を含む、上記項 26 に記載のポリヌクレオチド。

[項 28]

上記項 25 ～ 27 のいずれか一項に記載のポリヌクレオチドを含む発現ベクター。

[項 29]

原核生物、真核生物、又は哺乳動物の発現ベクターである、上記項 28 に記載の発現ベクター。

[項 30]

上記項 28 又は 29 に記載の発現ベクターを含む細胞。

[項 31]

原核生物、真核生物、又は哺乳動物の宿主細胞である、上記項 30 に記載の細胞。

10

[項 32]

上記項 18 ～ 24 のいずれか一項に記載の抗体又はその抗原結合断片と、薬学的に許容される担体、賦形剤又は希釈剤とを含む医薬組成物。

[項 33]

上記項 25 ～ 27 のいずれか一項に記載のポリヌクレオチドと、薬学的に許容される担体、賦形剤又は希釈剤とを含む、医薬組成物。

[項 34]

上記項 18 ～ 24 のいずれか一項に記載の $\alpha v \beta 8$ インテグリンに特異的に結合する抗体又はその抗原結合断片、或いは前記抗体又は前記その抗原結合断片を含む医薬組成物を含むキット。

20

前述の説明から、本明細書に記載される本発明を様々な用途及び条件に適合させるために、本発明にバリエーション及び修正を加えてもよいことは明らかであろう。このような実施形態もまた、以下の特許請求の範囲内にある。

【0223】

本明細書の変数の任意の定義における要素のリストの引用は、挙げられた要素の任意の単一の要素又は組み合わせ（又は下位の組み合わせ）としての変数の定義を含む。本明細書における実施形態の詳述は、任意の単一実施形態としての、又は任意のその他の実施形態又はその部分と組み合わせされた、その実施形態を含む。

【0224】

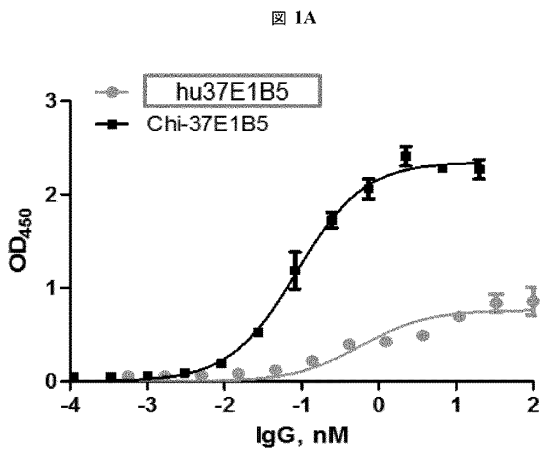
本明細書に記載されている特許及び刊行物は全て、それぞれ独立した特許及び刊行物が、参照により組み込まれるように明確に且つ個々に指示されているかのような場合と同程度まで、参照により本明細書に組み込まれる。

30

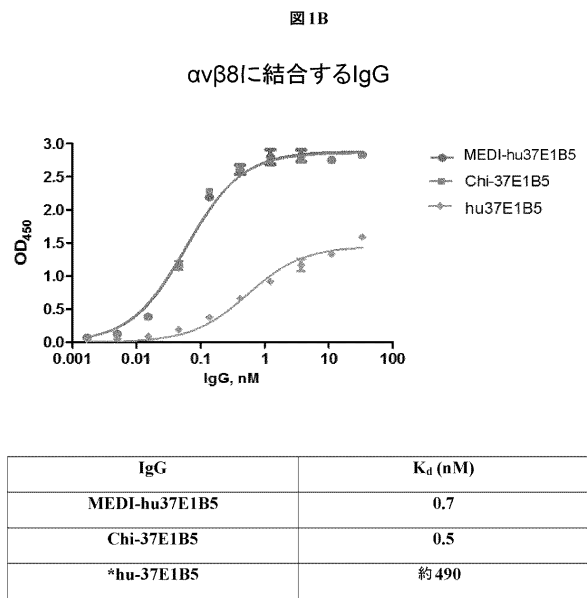
40

50

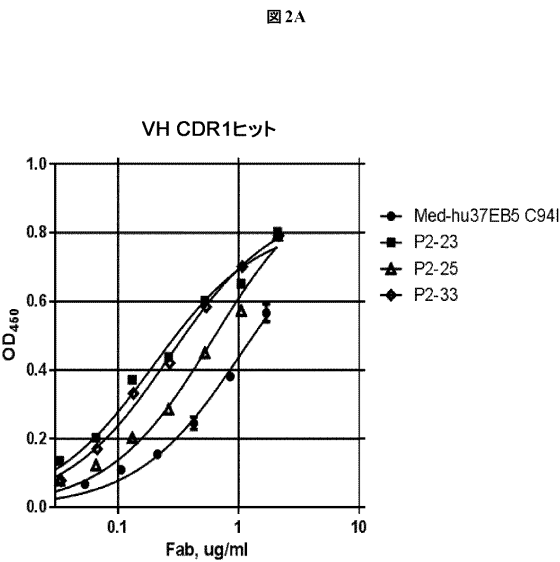
【図面】
【図 1 - 1】



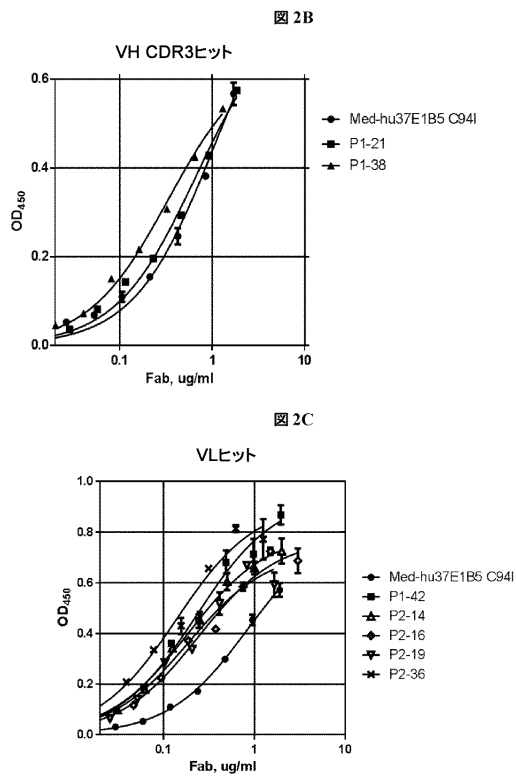
【図 1 - 2】



【図 2 - 1】



【図 2 - 2】



10

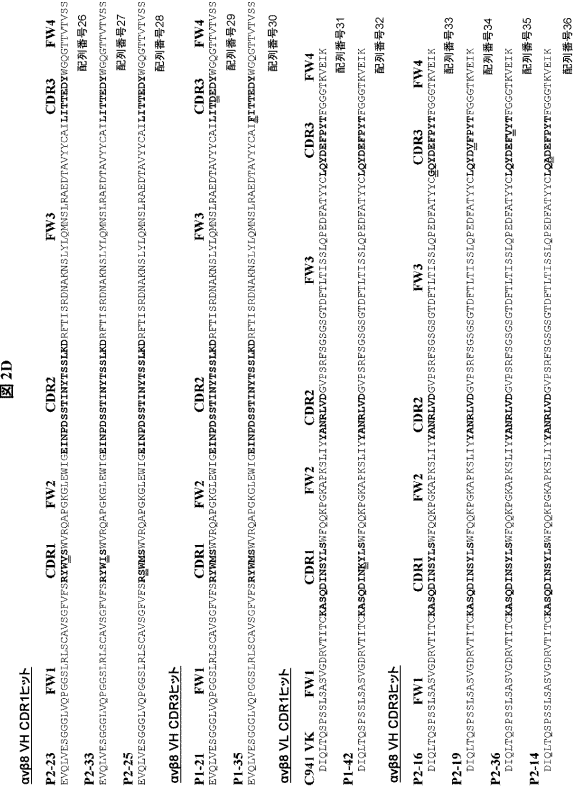
20

30

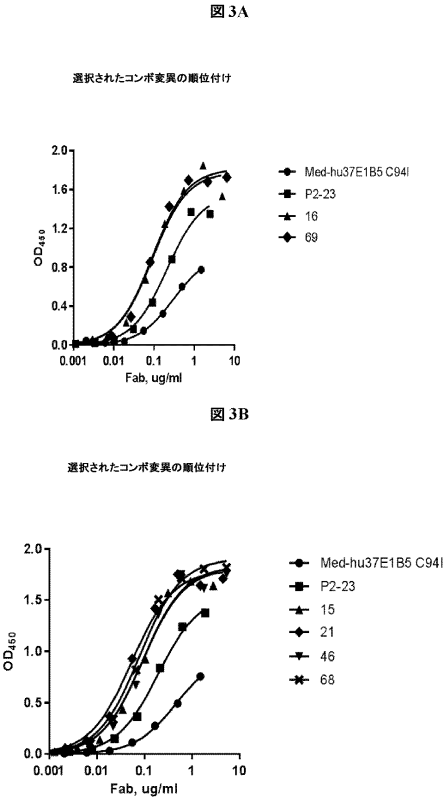
40

50

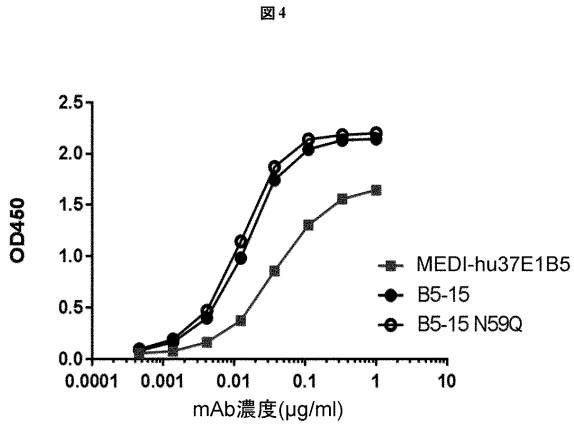
【図 2 - 3】



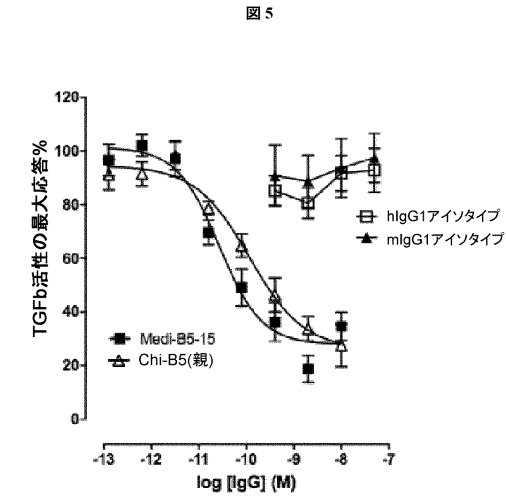
【図 3】



【図 4】



【図 5】

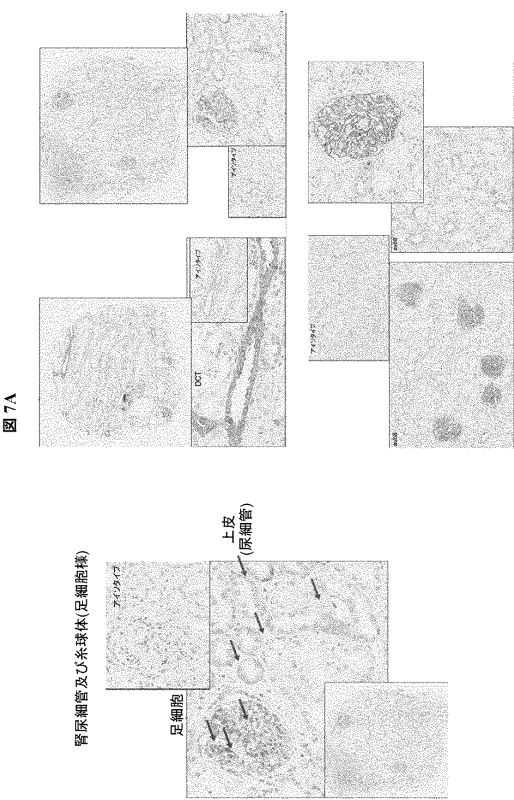


抗avB8抗体	K _a (pM)	IC ₅₀ (nM)
Chi-37E1B5	500	0.12
B5-15	166.3	0.03

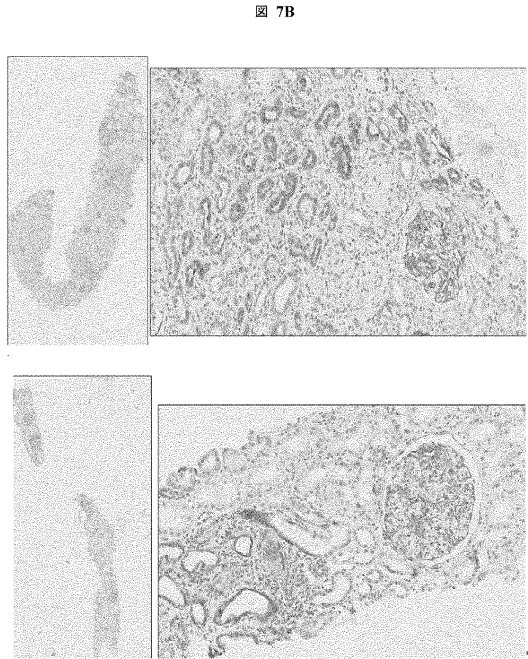
【図 6】

VHアラインメント		HCOR1		HCOR2	
Ch-37E1B5	EVQLVESGGG LVQPSSGSLM SCVSGSFVS EYKNSVWFOA FKGLEWIGE IPDGSITNY TSSIAKRTII SGNANNTLY				
hu37E1B5	EVQLVESGGG LVQPSSGSLM SCVSGSFVS EYKNSVWFOA FKGLEWIGE IPDGSITNY TSSIAKRTII SGNANNTLY				
MED-hu37E1B5	EVQLVESGGG LVQPSSGSLM SCVSGSFVS EYKNSVWFOA FKGLEWIGE IPDGSITNY TSSIAKRTII SGNANNTLY				
B5-15	EVQLVESGGG LVQPSSGSLM SCVSGSFVS EYKNSVWFOA FKGLEWIGE IPDGSITNY TSSIAKRTII SGNANNTLY				
		HCOR3		HCOR4	
Ch-37E1B5	LQNNSLRSED TAVYICACIL ITEDYWGQST TTVVSS				
hu37E1B5	LQNNSLRSED TAVYICACIL ITEDYWGQST TTVVSS				
MED-hu37E1B5	LQNNSLRSED TAVYICACIL ITEDYWGQST TTVVSS				
B5-15	LQNNSLRSED TAVYICACIL ITEDYWGQST TTVVSS				
		LCOR1		LCOR2	
Ch-37E1B5	RIVLTQSPFS MYASGERRV IT-KASQDIN SYLSWFOQRP GKSPKTIIVY ANRLVDVPS RFSGSGSGQD YSLTISLEY				
hu37E1B5	RIVLTQSPFS MYASGERRV IT-KASQDIN SYLSWFOQRP GKSPKTIIVY ANRLVDVPS RFSGSGSGQD YSLTISLEY				
MED-hu37E1B5	RIVLTQSPFS MYASGERRV IT-KASQDIN SYLSWFOQRP GKSPKTIIVY ANRLVDVPS RFSGSGSGQD YSLTISLEY				
B5-15	RIVLTQSPFS MYASGERRV IT-KASQDIN SYLSWFOQRP GKSPKTIIVY ANRLVDVPS RFSGSGSGQD YSLTISLEY				
		LCOR3		LCOR4	
Ch-37E1B5	ENGLYICLQ IDEFTYFPG GTKLEIK				
hu37E1B5	ENGLYICLQ IDEFTYFPG GTKLEIK				
MED-hu37E1B5	ENGLYICLQ IDEFTYFPG GTKLEIK				
B5-15	ENGLYICLQ IDEFTYFPG GTKLEIK				

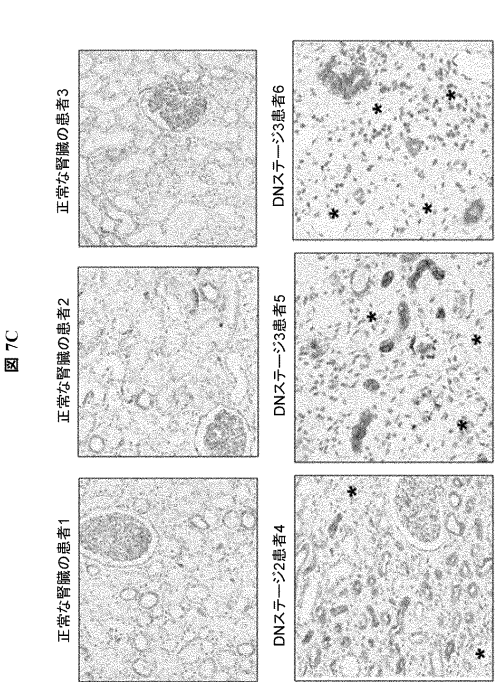
【図 7 - 1】



【図 7 - 2】



【図 7 - 3】



10

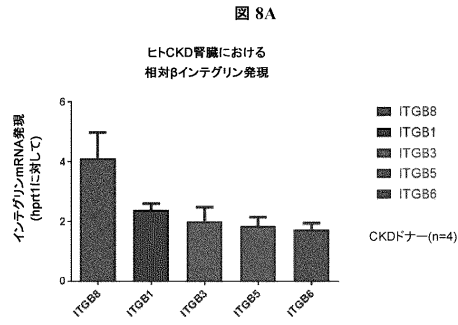
20

30

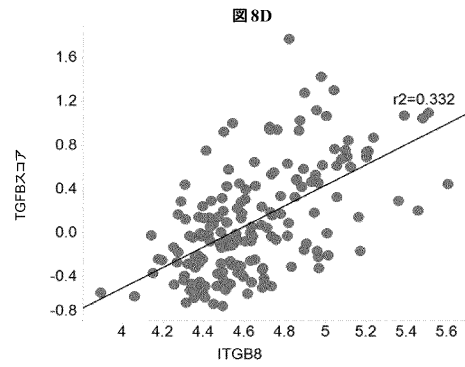
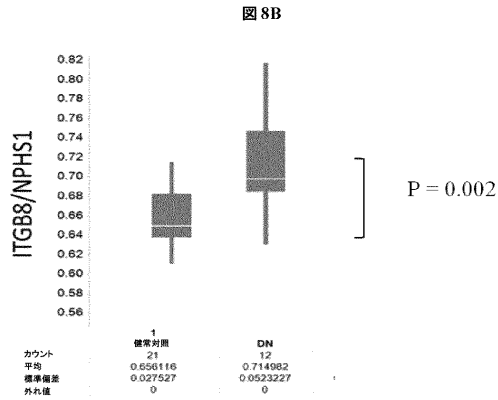
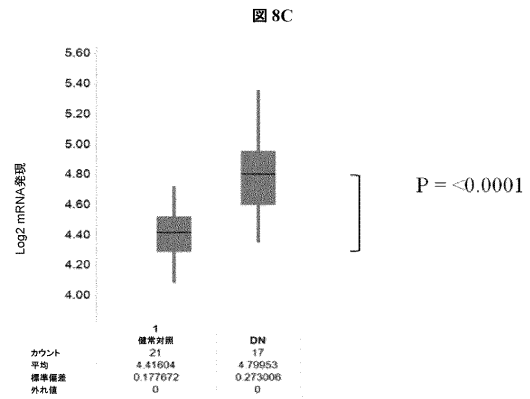
40

50

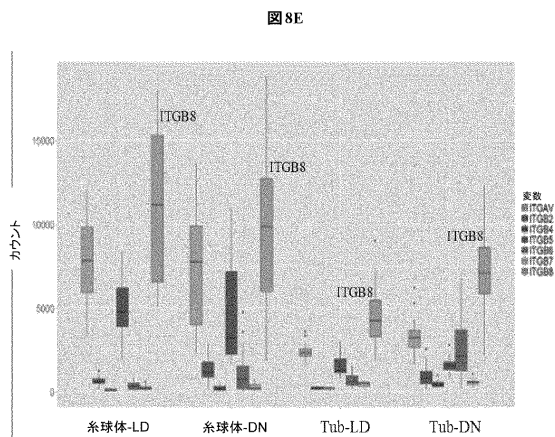
【図 8 - 1】



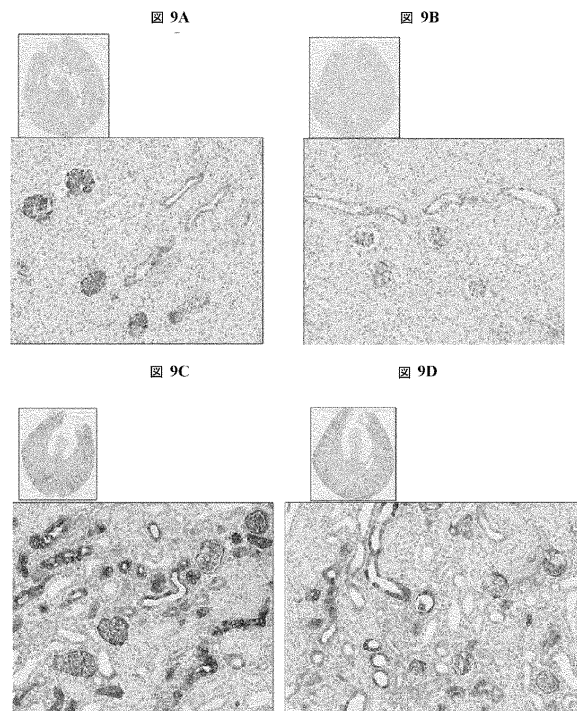
【図 8 - 2】



【図 8 - 3】



【図 9 - 1】



10

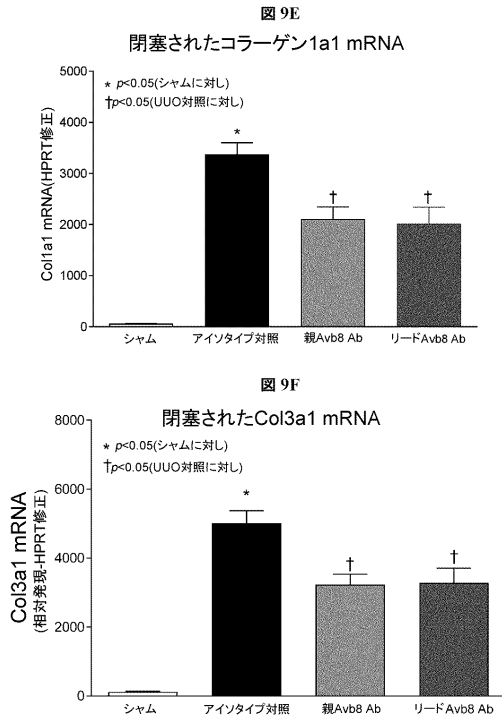
20

30

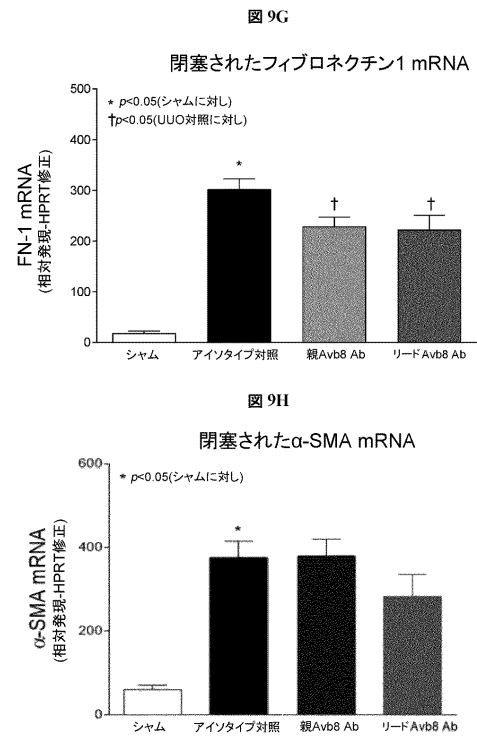
40

50

【図 9 - 2】

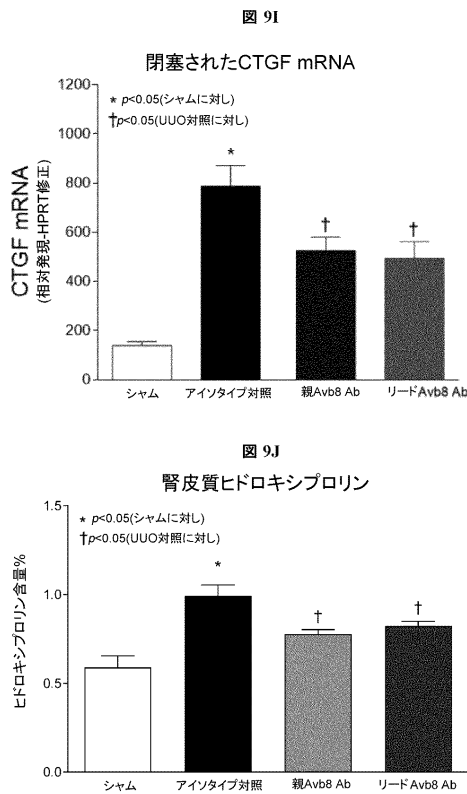


【図 9 - 3】

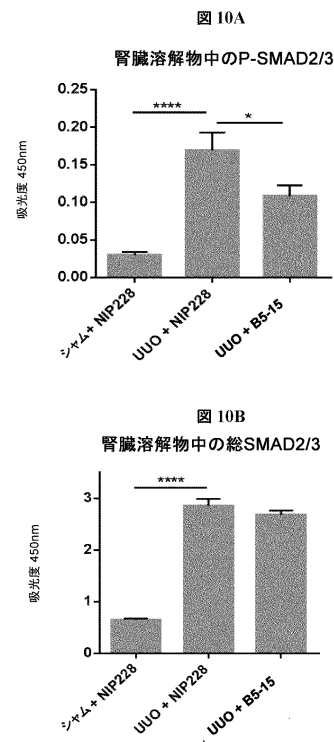


10

【図 9 - 4】



【図 10】



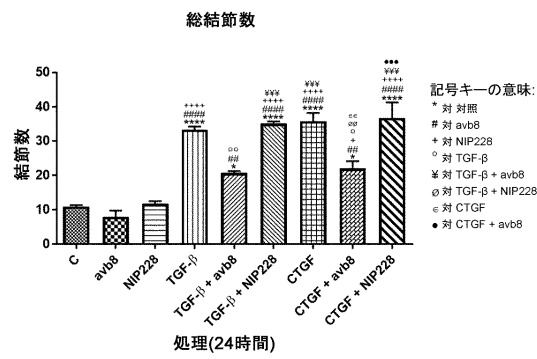
30

40

50

【図 1 1】

図 11



10

【配列表】

000770645800001.app

20

30

40

50

フロントページの続き

(51)国際特許分類

F I

C 1 2 N	1/15 (2006.01)	C 1 2 N	1/15
C 1 2 N	1/19 (2006.01)	C 1 2 N	1/19
C 1 2 N	1/21 (2006.01)	C 1 2 N	1/21
C 1 2 N	5/10 (2006.01)	C 1 2 N	5/10
C 1 2 P	21/08 (2006.01)	C 1 2 P	21/08

弁理士 櫻井 陽子

- (72)発明者 ベイカー, デイビッド ジェイムズ
英国シービー２１・６ジーエイチ、ケンブリッジシャー、ケンブリッジ、グランタ・パーク、ミル
スタイン・ビルディング、メディムーン・リミテッド
- (72)発明者 ヒースマン, ステファニー クレア
英国シービー２１・６ジーエイチ、ケンブリッジシャー、ケンブリッジ、グランタ・パーク、ミル
スタイン・ビルディング、メディムーン・リミテッド
- (72)発明者 エレラ, マリア マルセラ
英国シービー２１・６ジーエイチ、ケンブリッジシャー、ケンブリッジ、グランタ・パーク、ミル
スタイン・ビルディング、メディムーン・リミテッド
- (72)発明者 リアルテ マリン, エレナ
英国シービー２１・６ジーエイチ、ケンブリッジシャー、ケンブリッジ、グランタ・パーク、ミル
スタイン・ビルディング、メディムーン・リミテッド
- (72)発明者 モレノークイン, キャロル パトリシア
英国シービー２１・６ジーエイチ、ケンブリッジシャー、ケンブリッジ、グランタ・パーク、ミル
スタイン・ビルディング、メディムーン・リミテッド
- (72)発明者 マリー, リン アン
英国シービー２１・６ジーエイチ、ケンブリッジシャー、ケンブリッジ、グランタ・パーク、ミル
スタイン・ビルディング、メディムーン・リミテッド
- (72)発明者 ツイ, ピン
アメリカ合衆国２０８７８メリーランド州ゲイザースバーグ、メディムーン・ウェイ１、メディ
ムーン・リミテッド・ライアビリティ・カンパニー
- (72)発明者 ウー, ヤンリー
アメリカ合衆国２０８７８メリーランド州ゲイザースバーグ、メディムーン・ウェイ１、メディ
ムーン・リミテッド・ライアビリティ・カンパニー

審査官 團野 克也

- (56)参考文献 国際公開第２０１８／２２７０１８ (WO, A1)
特表２０１７－５２２２８９ (JP, A)
特表２０１５－５０１２８５ (JP, A)
特表２０１３－５２０１７３ (JP, A)

(58)調査した分野 (Int.Cl., DB名)

IPC C07K、C12N
DB名 JSTPlus/JMEDPlus
/JST7580 (JDreamIII),
REGISTRY/MEDLINE/CAplus
/EMBASE (STN)
UniProt/GenSeq