

(19)日本国特許庁(JP)

(12)特許公報(B2)

(11)特許番号
特許第7597784号
(P7597784)

(45)発行日 令和6年12月10日(2024.12.10)

(24)登録日 令和6年12月2日(2024.12.2)

(51)国際特許分類		F I	
C 0 7 K	16/24 (2006.01)	C 0 7 K	16/24 Z N A
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
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
請求項の数 16 (全56頁) 最終頁に続く			
(21)出願番号	特願2022-501205(P2022-501205)	(73)特許権者	522010200
(86)(22)出願日	令和2年7月10日(2020.7.10)		タヴォテック バイオセラピューティクス
(65)公表番号	特表2022-540620(P2022-540620 A)		(ホン コン) リミテッド
(43)公表日	令和4年9月16日(2022.9.16)		中華人民共和国 香港, シュン ワン,
(86)国際出願番号	PCT/US2020/041642		ボンナム ストランド ウェスト, フォー
(87)国際公開番号	WO2021/007533		シーズ コミュニケーションズ バンク
(87)国際公開日	令和3年1月14日(2021.1.14)		ビルド ナンバー 49-51, 11/
審査請求日	令和5年6月9日(2023.6.9)		エフ., ユニット ディー
(31)優先権主張番号	62/873,051	(74)代理人	100078282
(32)優先日	令和1年7月11日(2019.7.11)		弁理士 山本 秀策
(33)優先権主張国・地域又は機関	米国(US)	(74)代理人	100113413
			弁理士 森下 夏樹
		(74)代理人	100181674
			弁理士 飯田 貴敏
		(74)代理人	100181641
			最終頁に続く

(54)【発明の名称】 胸腺間質性リンパ球新生因子(T S L P)受容体シグナル伝達に干渉する薬剤

(57)【特許請求の範囲】

【請求項1】

胸腺間質性リンパ球新生因子T S L Pに特異的に結合し、T S L Pの活性を中和する、阻害する、遮断する、抑止する、低下するかまたはそれに対して干渉する、単離された抗体またはその抗原結合性断片であって、それぞれ配列番号3、配列番号4および配列番号5の重鎖相補性決定領域(H C D R)配列H C D R 1、H C D R 2、H C D R 3、ならびにそれぞれ配列番号6、配列番号7および配列番号8の軽鎖相補性決定領域(L C D R)配列L C D R 1、L C D R 2、L C D R 3を含む、抗体またはその抗原結合性断片。

【請求項2】

a) 配列番号1として示す重鎖可変領域および配列番号2として示す軽鎖可変領域を有するマウスモノクローナル抗体またはその抗体断片である、または
b) 配列番号9として示す重鎖可変領域、もしくは配列番号9に対して少なくとも95%の配列同一性を有する重鎖可変領域、および配列番号10もしくは配列番号11として示す軽鎖可変領域、もしくは配列番号10もしくは11に対して少なくとも95%の配列同一性を有する軽鎖可変領域を含むヒト化抗体またはその抗体断片である、
請求項1に記載の抗体またはその抗原結合性断片。

【請求項3】

前記ヒト化抗体が、配列番号12または15~16のいずれか1つとして示すヒトI g G重鎖配列を含む、請求項2に記載の抗体またはその抗原結合性断片。

【請求項4】

前記ヒト化抗体が、配列番号 13～14 のいずれか 1 つとして示す軽鎖配列を含む、請求項 2 に記載の抗体またはその抗原結合性断片。

【請求項 5】

前記抗体が、IgG₁、IgG₂、IgG₃ または IgG₄ アイソタイプである、請求項 1～4 のいずれか一項に記載の抗体またはその抗原結合性断片。

【請求項 6】

前記抗体が、

a) 親野生型抗体と比較して、操作された抗体の半減期を延長する、
b) 親野生型抗体と比較して、プロテアーゼによるタンパク質分解に対する操作された抗体の抵抗性を増強する、または

c) 親野生型抗体と比較して、操作された抗体のエフェクター機能を低下または排除する、

1 個または複数の F_c 変異を有する、請求項 1～4 のいずれか一項に記載の抗体またはその抗原結合性断片。

【請求項 7】

前記抗体が、親野生型抗体と比較して、操作された抗体の半減期を延長し、エフェクター機能を低下させる、L234A、L235A、M428L および N434S F_c 変異を有し、残基ナンバリングが、EU インデックスに従う、請求項 1～4 のいずれか一項に記載の抗体またはその抗原結合性断片。

【請求項 8】

前記ヒト化抗体または断片が、配列番号 16 として示す、L234A、L235A、M428L、N434S F_c 変異を有するヒト IgG₁ 重鎖を含む、請求項 4 に記載の抗体またはその抗原結合性断片。

【請求項 9】

a) ヒト TSLP のその受容体複合体への結合を遮断する、

b) TSLP のその受容体複合体に対する機能活性を中和する、低下するまたはそれに対して干渉する、

c) STAT5 レポーター遺伝子アッセイにおいて TSLP 駆動レポーター遺伝子活性化を中和する、

d) 細胞増殖アッセイにおいて TSLP 受容体複合体を発現する細胞の TSLP 駆動増殖を中和する、

e) サイトカイン放出アッセイにおいてヒト樹状細胞からの TSLP 駆動サイトカイン放出を阻害する、または

f) 動物喘息モデルにおいて TSLP 駆動喘息および肺炎症を阻害する、

請求項 1～8 に記載の抗体またはその抗原結合性断片。

【請求項 10】

請求項 1～9 のいずれか一項に記載の抗体またはその抗原結合性断片をコードする、単離されたポリヌクレオチド。

【請求項 11】

請求項 10 に記載のポリヌクレオチドを含むベクターであって、必要に応じて発現ベクターである、ベクター。

【請求項 12】

請求項 11 に記載のベクターを含む宿主細胞。

【請求項 13】

請求項 1～9 のいずれか一項に記載の抗体またはその抗原結合性断片を産生する方法であって、前記抗体またはその抗原結合性断片が発現される条件で、請求項 12 に記載の宿主細胞を培養するステップと、前記抗体またはその抗原結合性断片を単離するステップとを含む、方法。

【請求項 14】

TSLP 媒介性疾患または障害の処置を必要とする被験体における TSLP 媒介性疾患

10

20

30

40

50

または障害を処置するための方法における使用のための、請求項 1 ～ 9 のいずれか一項に記載の抗体またはその抗原結合性断片を含む組成物。

【請求項 15】

前記 T S L P 媒介性疾患または障害が、

- a) 中等度から重度の制御されない喘息を含む喘息である、
- b) 必要に応じて、全身性硬化症、全身性特発性肺線維症およびケロイド疾患から選択される線維性疾患および関連状態である、
- c) 気腫、慢性気管支炎および難治性喘息等の慢性閉塞性肺疾患である、
- d) 必要に応じて、鼻炎、アトピー性皮膚炎、湿疹、全身性硬化症、食物アレルギーおよび炎症性腸疾患から選択される炎症性疾患である、または
- e) 必要に応じて、肺癌、乳癌、膵癌、結腸直腸癌、リンパ芽球性白血病、頭頸部癌から選択されるがんである、

請求項 14 に記載の使用のための組成物。

【請求項 16】

処置を必要とする前記被験体に第 2 の薬剤と組み合わせて投与されることを特徴とし、必要に応じて前記第 2 の薬剤が、コルチコステロイド、気管支拡張薬、抗ヒスタミン薬、抗ロイコトリエン薬、P D E - 4 阻害剤；抗がん薬物、免疫調節薬およびサイトカイン療法薬からなる群から選択される、請求項 14 ～ 15 のいずれか一項に記載の使用のための組成物。

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0001】

関連出願の相互参照

本出願は、その全体が参照により本明細書に組み込まれる、2019年7月11日に出願された米国仮出願第 62 / 873, 051 号に対する優先権の利益を主張するものである。

【0002】

電子的に提出されたテキストファイルの説明

本明細書に添付して電子的に提出されたテキストファイルの内容は、その全体が参照により本明細書に組み込まれる：配列表のコンピュータ可読形式コピー（ファイル名：T A B I _ 0 0 2 _ 0 1 W O _ S e q L i s t _ S T 2 5 ；記録日、2020年7月3日；ファイルサイズ、49キロバイト）。

【背景技術】

【0003】

本開示の背景

胸腺間質性リンパ球新生因子、T S L P は、免疫応答の調節および造血細胞の分化において決定的な役割を果たすインターロイキン7様サイトカインである。T S L P は、肺、皮膚および腸の上皮細胞、胸腺髄質におけるハッサル小体、粘膜関連リンパ組織ならびに扁桃腺に広く発現される（L i u , S o u m e l i s e t a l . 2007、R o c h m a n a n d L e o n a r d 2008、S o k o l , B a r t o n e t a l . 2008）。肺、骨格筋、腎臓、脾臓、卵巣、小腸および結腸における発現レベルと比較して、高いT S L P 発現レベルが、心臓、肝臓、脾臓および前立腺に見出される（Q u e n t m e i e r , D r e x l e r e t a l . 2001）。

【0004】

上皮細胞由来サイトカインは、環境的および炎症促進性刺激にตอบสนองして産生される。これは、単球からT細胞誘引性ケモカインの放出を誘導し、骨髄性樹状細胞の成熟を増強する。胸腺内で、T S L P は、骨髄性および形質細胞様樹状細胞を活性化し、調節性T細胞の産生をもたらす。T S L P は、樹状細胞、TおよびB細胞におけるその活性を介した2型（T h 2、T 2）免疫の調節、ならびに抗原特異的T h 2細胞によるサイトカインの産生に重要である（Z i e g l e r , R o a n e t a l . 2013）。

【0005】

TSLPは、胸腺間質性リンパ球新生因子受容体(TSLPR)およびIL-7Rアルファ鎖で構成されているヘテロ二量体受容体複合体を介してシグナル伝達する(Verstraete, van Schie et al., 2014)。その受容体複合体との結合において、TSLPは、複数のシグナルトランスダクション経路を活性化することができる(Zhong, Sharma et al., 2014)。TSLPによるIL7R/TSLPR複合体の刺激は、ヤヌスキナーゼ(JAK)のリン酸化および活性化を誘導する。活性化されたJAKは次いで、STAT1、STAT3、STAT4、STAT5a、STAT5bおよびSTAT6を含む複数の転写(STAT)因子の活性を調節する。AKT1、ERK1/2、JNK、リボソームタンパク質S6キナーゼおよび4E-BP1等のいくつかの他のタンパク質もTSLP刺激によって活性化される。加えて、ホスホプロテオミクス(phosphoproteomic)解析は、TSLPが、SHP-1およびSHP-2等のキナーゼおよびタンパク質ホスファターゼを含む226種のタンパク質のリン酸化を調節することができることを明らかにしている。

10

【0006】

TSLPは、炎症性カスケードの惹起に関与することが公知であり、アレルギー性喘息、アトピー性皮膚炎、アレルギー性鼻炎、潰瘍性大腸炎および多くの慢性線維増殖性障害を含む慢性疾患の発症に寄与することができる(Vannella, Ramalingam et al., 2016)。研究は、TSLPが、感染症(Piliponsky et al., 2016)、がん(De Monte et al., 2011)、自己免疫(Moret et al., 2011)を含む免疫障害；ならびに自然および適応免疫応答(Ziegler, Roan, 2013; Headley et al., 2009)に関与することも示唆した。

20

【0007】

TSLPは、アレルギー性炎症、特に、2型炎症性経路のマスター調節因子であり、したがって、喘息の処置のための有望な標的となってきた。喘息は、気管支内側の粘液の産生増加による、気管支の炎症によって特徴付けられる障害である。喘息患者は、典型的には好酸球浸潤による慢性気道応答性亢進が原因で、咳嗽、喘鳴、息切れ、胸部絞扼感、疼痛または圧等の症状を経験する(Ohta, Nagase et al., 2017)。重度喘息を有する一部の患者は、経口グルココルチコイドありまたはなしの高用量吸入グルココルチコイドによる連続的処置にもかかわらず、持続性好酸球性炎症に関連する増悪を高頻度に有する。従来処置に応答しない難治性(refractory)喘息患者の一定のパーセンテージは、非好酸球、非Th2細胞集団が原因である可能性が最も高い重度症状を有する。TSLP発現は、喘息患者の気道において、健康対照の気道におけるよりも高く、そのレベルは、Th2サイトカインおよびケモカイン発現ならびに疾患重症度と相関する(Gauvreau, O'Byrne et al., 2014)。さらに最近、ヒトTSLPに特異的に結合するヒト抗TSLP IgG₂抗体であるテゼベルマブ(AMG 157)は、制御されない喘息のために臨床試験中である(Comeau, DESMEDT et al., 2006)(Comeau, Smothers et al., 2012)(Corren, Parnes et al., 2017)。

30

40

【0008】

TSLP標的化の他に、IL-5に対して誘導された3種のmAbが、重度喘息および好酸球性表現型を有する患者のために承認されており、メポリズマブおよびレスリズマブは、IL-5に直接的に結合し、ベンラリズマブは、IL-5受容体に結合する(Ortega, Liu et al., 2014)(Castro, Zangrilli et al., 2015)(Bleecker, FitzGerald et al., 2016)。IL-4受容体アルファ鎖に結合し、IL-4およびIL-13の両方の結合を防止する抗体であるデュピルマブは、中等度から重度の好酸球性喘息を有する患者のために承認された(Castro, Corren et al., 2018)。注目すべきことに、これらの治療抗体は全て、増加するレベルのT2バイオマーカーを有する患者におい

50

て、より低いレベルを有する患者と比べてより効果的であると思われる。

【0009】

他の非アレルギー性疾患およびいくつかの線維性状態におけるTSLPの蔓延も、標的治療のための正当化として考慮されるべきである(Ying, Zhang 2015)。自己免疫性疾患である全身性硬化症において、TSLPは、血管周囲区域および皮膚の免疫細胞に高度に発現される。TSLPは、全身性硬化症患者の皮膚性上皮細胞、マスト細胞および線維芽細胞において上方調節される(Usategui, Criado et al. 2013)。TSLPおよびその受容体は、重度線維性肺疾患である特発性肺線維症患者の肺に強く発現される(Datta, Alexander et al. 2013)。線維性皮膚疾患において、真皮線維芽細胞は、ケロイド組織においてTGFβに

10

【0010】

治療標的としてのTSLPに対するさらなる支持は、TSLPが、種々の腫瘍の惹起および進行に役割を有するという知見から得られる。そのような腫瘍は、固形腫瘍(乳房、結腸および膀胱等)と共に血液学的腫瘍(B細胞急性リンパ球性白血病(B-ALL)等)を含む(Corren, Ziegler 2019)。Th2型応答を呈する腫瘍は一般に、優勢にTh型応答を有する腫瘍よりも悪い予後を有する。腫瘍細胞は、がん関連線維芽細胞によるTSLP発現に要求されるIL-1αおよびIL-1βを分泌し、腫瘍および腫瘍微小環境が、TSLPの誘導において重要であることを示唆する。ヒト子宮頸部癌細胞、胃および卵巣がんによる研究も、腫瘍および間質に浸潤する造血細胞ならびに腫瘍それ自体の間にTSLP媒介性クロストークが存在することの証拠を提供する。

20

【0011】

TSLPは、がんに必要な役割を有するが、腫瘍促進(pro-tumor)因子または抗腫瘍因子としてのその機能は、腫瘍の型に依存する。転移性乳がんにおけるTSLPは、集中的に研究が為されている分野であるが、マウスモデルおよびヒト乳房腫瘍細胞系において矛盾した知見が見られた。同様に、皮膚腫瘍におけるTSLPの役割は、2つに分かれている。B-ALLにおけるTSLPの役割は、予後不良の患者の50~60%に発生する、TSLPシグナル伝達経路の構成成分をコードする遺伝子における変異による遺伝的病変の存在によって複雑化されている(Corren, Ziegler 2019)。

30

【0012】

これらの観察は、ヒト疾患におけるTSLPの重要な役割を示唆し、TSLPおよびTSLP受容体シグナル伝達経路の破壊は、有効な処置が欠如している疾患のための臨床利益を有し得る。喘息については、例として、喘息関連症状が原因の死亡率は、世界的に年間250,000人前後であり、この数は、2025年までに1億を超えるまで伸びると予測される(Pawankar 2014)。アレルギー性喘息患者は、糖尿病、肥満、心血管疾患、胃食道疾患等の他の状態を有することが多く、より複雑化されたより悪い転帰をもたらす。喘息患者の約70%はまた、アレルギーを有する。アレルギー性疾患は、アナフィラキシー、食物アレルギー、ある特定の形態の喘息、鼻炎、結膜炎、血管浮腫、蕁麻疹、アトピー性皮膚炎、湿疹、好酸球性食道炎を含む好酸球性障害、ならびに薬物および昆虫アレルギーを含む(Pawankar 2014)(Kay 2001)。

40

高い医療費、罹患率、クオリティ・オブ・ライフに対する影響、常習的欠勤、より不振な勤務成績、アレルギー性および非アレルギー性疾患を有する患者人口の増加のため、疑いの余地なく、Th2サイトカイン関連炎症を低下させる必要性が著しくある。TSLP受容体結合およびシグナル伝達に干渉し、所望の有効性および薬物動態プロファイルを有する中和抗体分子等の薬剤は、慢性炎症性状態に関連する(T2高およびT2低の両方の)症状を阻害するための満たされていない必要性である。

【先行技術文献】

【非特許文献】

【0013】

50

【文献】Corren, J. および Ziegler, S. F. Nature Immunology (2019) 20:1603~1609

【文献】Pawankar, R. World Allergy Organization Journal (2014) 7 (1): 1~3

【文献】Kay, A. B. New England Journal of Medicine (2001) 344 (1): 30~37

【発明の概要】

【課題を解決するための手段】

【0014】

本開示の概要

本開示は、胸腺間質性リンパ球新生因子、TSLPに特異的に結合し、その少なくとも1種の活性を中和する、阻害する、遮断する、抑止する、低下するかまたはそれに対して干渉するモノクローナル抗体およびその抗原結合性断片を提供する。本明細書に開示されている抗体またはその断片によって中和、阻害、遮断、抑止、低下または干渉され得るTSLPの活性は、TSLPによるその受容体複合体の活性化の中和、その他を含むがこれらによって限定されない。実施形態では、抗体は、モノクローナル抗体、例えば、マウスモノクローナル抗体またはヒト化抗体である。実施形態では、抗体は、抗原結合抗体断片である。

【0015】

本開示は、配列番号1のアミノ酸配列を有する重鎖可変領域配列、および配列番号2のアミノ酸配列を有する軽鎖可変領域配列を含む、TAVO202として指定された、ヒトTSLPに対するマウスモノクローナル抗体を提供する。

【0016】

本開示は、それぞれ配列番号3、配列番号4および配列番号5として示すアミノ酸配列を有する、HCDR1、HCDR2およびHCDR3として指定された、3種の相補性決定領域(CDR)を含むTAVO202の重鎖可変領域を提供する。

【0017】

本開示は、それぞれ配列番号6、配列番号7および配列番号8として示すアミノ酸配列を有する、LCDR1、LCDR2およびLCDR3として指定された、3種のCDRを含むTAVO202の軽鎖可変領域を提供する。

【0018】

本開示は、配列番号9として示すアミノ酸配列を有する、202H2として指定された、TAVO202の1種のヒト化重鎖可変領域を提供する。

【0019】

本開示は、それぞれ配列番号10および配列番号11として示すアミノ酸配列を有する、202L3および202L4として指定された、TAVO202の2種のヒト化軽鎖可変領域を提供する。

【0020】

実施形態では、本開示は、それぞれ配列番号3、配列番号4、配列番号5、配列番号6、配列番号7および配列番号8に従う、HCDR1、HCDR2、HCDR3、LCDR1、LCDR2およびLCDR3を含むヒト化抗体またはその抗原結合性断片を提供する。ある実施形態では、ヒト化抗体は、配列番号9に対して少なくとも80%、少なくとも85%、少なくとも90%、少なくとも95%または少なくとも99%の配列同一性を有する重鎖可変領域を含む。ある実施形態では、ヒト化抗体は、配列番号10または配列番号11に対して少なくとも80%、少なくとも85%、少なくとも90%、少なくとも95%または少なくとも99%の配列同一性を有する軽鎖可変領域を含む。

【0021】

非限定的な例として、本開示は、配列番号12として示す重鎖配列および配列番号13として示す軽鎖配列を含む、TAVO6264として指定された、ヒト化重鎖可変領域202H2およびヒト化軽鎖可変領域202L3とヒトIgG2Fcを含む、TAVO2

10

20

30

40

50

02のための第1のヒト化抗体を提供する。

【0022】

本開示は、配列番号12として示す重鎖配列および配列番号14として示す軽鎖配列を含む、TAVO6265として指定された、ヒト化重鎖可変領域202H2およびヒト化軽鎖可変領域202L4とヒトIgG2Fcを含む、TAVO202のための第2のヒト化抗体を提供する。

【0023】

本開示は、配列番号15として示す重鎖配列および配列番号13として示す軽鎖配列を含む、TAVO7264として指定された、ヒト化重鎖可変領域202H2およびヒト化軽鎖可変領域202L3とL234F、L235E、D265A、F405L変異を有するヒトIgG1Fcを含む、TAVO202のための第3のヒト化抗体を提供する。

10

【0024】

本開示は、配列番号15として示す重鎖配列および配列番号14として示す軽鎖配列を含む、TAVO7265として指定された、ヒト化重鎖可変領域202H2およびヒト化軽鎖可変領域202L4とL234F、L235E、D265A、F405L変異を有するヒトIgG1Fcを含む、TAVO202のための第4のヒト化抗体を提供する。

【0025】

本開示は、配列番号16として示す重鎖配列および配列番号13として示す軽鎖配列を含む、TAVO9764として指定された、ヒト化重鎖可変領域202H2およびヒト化軽鎖可変領域202L3とL234A、L235A、M428L、N434S変異を有するヒトIgG1Fcを含む、TAVO202のための第5のヒト化抗体を提供する。

20

【0026】

本開示は、配列番号16として示す重鎖配列および配列番号14として示す軽鎖配列を含む、TAVO9765として指定された、ヒト化重鎖可変領域202H2およびヒト化軽鎖可変領域202L4とL234A、L235A、M428L、N434S変異を有するヒトIgG1Fcを含む、TAVO202のための第6のヒト化抗体を提供する。

【0027】

抗TSLPモノクローナル抗体は、全長IgG1、IgG2、IgG3、IgG4抗体であってもよい、または(例えば、ヒト)TSLPに特異的に結合し、TSLPの少なくとも1種の活性を中和する、阻害する、遮断する、抑止する、低下するかもしれないかそれに対して干渉する、Fab、F(ab)₂もしくはscFv断片を含む抗原結合性部分のみを含むことができる。抗体骨格は、機能性に影響を与えるように、例えば、残留するエフェクター機能を排除するように改変することができる。

30

【0028】

本開示はまた、野生型抗体と比較して、延長された半減期を有する抗TSLPモノクローナル抗体を提供する。半減期の延長は、親野生型抗体と比較して、M252Y/S254T/T256E、M428L/N434S、T250Q/M428L、N434AおよびT307A/E380A/N434Aから選択されるいずれか1セットの変異を有する抗体のCH2およびCH3ドメインを操作することにより実現することができ、残基ナンバリングはEUインデックスに従う。

40

【0029】

本開示はまた、残基222~237(EUナンバリング)の間でまたは当該残基において野生型抗体を切断するプロテアーゼによるタンパク質分解に対して増強された抵抗性を有する抗TSLPモノクローナル抗体を提供する。タンパク質分解に対する抵抗性は、親野生型抗体と比較して、ヒンジ領域におけるE233P/L234V/L235A変異と、G236欠失を操作することにより実現することができ、残基ナンバリングはEUインデックスに従う。

【0030】

本開示はまた、本開示のポリヌクレオチドを含むベクターを提供する。

【0031】

50

本開示はまた、本開示の抗 T S L P モノクローナル抗体を産生する方法であって、抗体が発現される条件下で本開示の宿主細胞を培養するステップと、抗体を精製するステップとを含む方法を提供する。

【0032】

本開示はまた、本開示の抗 T S L P 抗体またはその抗原結合性断片と、薬学的に許容される担体とを含む医薬組成物を提供する。

【0033】

本開示はまた、抗 T S L P 抗体の結合を検出する方法を提供する。

【0034】

本開示はまた、T S L P のその受容体 T L P R への結合を遮断する方法であって、T S L P R を、本明細書に提供される抗 T S L P 抗体またはその抗原結合性断片のうちいずれか1種と接触させるステップを含む方法を提供する。

【0035】

本開示はまた、喘息を処置する方法であって、必要がある被験体に、治療有効量の、T S L P に対する提供される抗体を投与するステップを含む方法を提供する。

【0036】

本開示はまた、C O P D および特発性肺線維症を処置する方法であって、必要がある被験体に、治療有効量の、T S L P に対する提供される抗体を投与するステップを含む方法を提供する。

【0037】

本開示はまた、アトピー性皮膚炎の症状を処置する方法であって、必要がある被験体に、治療有効量の、T S L P に対する提供される抗体を投与するステップを含む方法を提供する。

【0038】

本開示はまた、湿疹の症状を処置する方法であって、必要がある被験体に、治療有効量の、T S L P に対する提供される抗体を投与するステップを含む方法を提供する。

【0039】

本開示はまた、好酸球性食道炎等の他のアレルギー性状態の症状を処置する方法であって、必要がある被験体に、治療有効量の、T S L P に対する提供される抗体を投与するステップを含む方法を提供する。

【0040】

本開示はまた、炎症性腸疾患の症状を処置する方法であって、必要がある被験体に、治療有効量の、T S L P に対する提供される抗体を投与するステップを含む方法を提供する。

【0041】

本開示はまた、全身性硬化症、全身性特発性肺線維症 (systemic idiopathic pulmonary fibrosis) およびケロイド疾患等の線維性状態を処置する方法であって、必要がある被験体に、治療有効量の、T S L P に対する提供される抗体を投与するステップを含む方法を提供する。

【0042】

本開示はまた、がん、すなわち、乳がん、膵がん、結腸直腸がん、リンパ芽球性白血病、頭頸部がんを処置する方法であって、必要がある被験体に、治療有効量の、T S L P に対する提供される抗体を投与するステップを含む方法を提供する。

特定の実施形態では、例えば以下の項目が提供される。

(項目1)

胸腺間質性リンパ球新生因子 T S L P に特異的に結合し、T S L P の活性を中和する、阻害する、遮断する、抑止する、低下するかまたはそれに対して干渉する、単離された抗体またはその抗原結合性断片。

(項目2)

配列番号1として示す重鎖可変領域および配列番号2として示す軽鎖可変領域を有するマウスモノクローナル抗体または抗体断片である、項目1に記載の抗体またはその抗原結

10

20

30

40

50

合性断片。

(項目 3)

それぞれ配列番号 3、配列番号 4 および配列番号 5 に従う重鎖の相補性決定領域 (C D R) 配列 H C D R 1、H C D R 2、H C D R 3 を含む、項目 1 に記載の抗体または抗原結合性断片。

(項目 4)

それぞれ配列番号 6、配列番号 7 および配列番号 8 に従う軽鎖の相補性決定領域 (C D R) 配列 L C D R 1、L C D R 2、L C D R 3 を含む、項目 1 に記載の抗体または抗原結合性断片。

(項目 5)

ヒト化抗体または抗体断片である、項目 1 に記載の抗体または抗原結合性断片。

(項目 6)

前記ヒト化抗体または断片が、配列番号 9 として示す重鎖可変領域を含む、項目 5 に記載の抗体または抗原結合性断片。

(項目 7)

前記ヒト化抗体または断片が、配列番号 10 として示す軽鎖可変領域を含む、項目 5 に記載の抗体または抗原結合性断片。

(項目 8)

前記ヒト化抗体または断片が、配列番号 11 として示す軽鎖可変領域を含む、項目 5 に記載の抗体または抗原結合性断片。

(項目 9)

前記抗体または断片が、それぞれ配列番号 3、配列番号 4 および配列番号 5 に従う重鎖の相補性決定領域 (C D R) 配列 H C D R 1、H C D R 2、H C D R 3、ならびにそれぞれ配列番号 6、配列番号 7 および配列番号 8 に従う軽鎖の L C D R 1、L C D R 2、L C D R 3 を含み、ここで前記抗体または抗原結合性断片が、配列番号 9 に対して少なくとも 80% の配列同一性を有する重鎖可変領域、および配列番号 10 または 11 に対して少なくとも 80% の配列同一性を有する軽鎖可変領域を含む、項目 5 に記載の抗体または抗原結合性断片。

(項目 10)

前記ヒト化抗体が、配列番号 12 として示すヒト I g G 重鎖配列を含む、項目 5 に記載の抗体または抗原結合性断片。

(項目 11)

前記ヒト化抗体が、配列番号 13 として示すヒト軽鎖配列を含む、項目 5 に記載の抗体または抗原結合性断片。

(項目 12)

前記ヒト化抗体が、配列番号 14 として示すヒト軽鎖配列を含む、項目 5 に記載の抗体または抗原結合性断片。

(項目 13)

前記ヒト化抗体が、配列番号 15 として示すヒト I g G 重鎖配列を含む、項目 5 に記載の抗体または抗原結合性断片。

(項目 14)

前記ヒト化抗体が、配列番号 16 として示すヒト I g G 重鎖配列を含む、項目 5 に記載の抗体または抗原結合性断片。

(項目 15)

前記抗体が、I g G₁、I g G₂、I g G₃ または I g G₄ アイソタイプである、項目 1 ~ 14 に記載の抗体または抗原結合性断片。

(項目 16)

前記抗体が、親野生型抗体と比較して、操作された抗体の半減期を延長する 1 個または複数の F_c 変異を有する、項目 1 ~ 14 に記載の抗体または抗原結合性断片。

(項目 17)

10

20

30

40

50

前記抗体が、親野生型抗体と比較して、プロテアーゼによるタンパク質分解に対する操作された抗体の抵抗性を増強する1個または複数のFc変異を有する、項目1～14に記載の抗体または抗原結合性断片。

(項目18)

前記抗体が、親野生型抗体と比較して、操作された抗体のエフェクター機能を低下または排除する1個または複数のFc変異を有する、項目1～14に記載の抗体または抗原結合性断片。

(項目19)

前記抗体が、親野生型抗体と比較して、操作された抗体の半減期を延長し、エフェクター機能を低下させる、L234A、L235A、M428LおよびN434S Fc変異を有し、残基ナンバリングが、EUインデックスに従う、項目1～14に記載の抗体または抗原結合性断片。

10

(項目20)

前記ヒト化抗体または断片が、配列番号16として示す、L234A、L235A、M428L、N434S Fc変異を有するヒトIgG1重鎖を含む、項目5に記載の抗体または抗原結合性断片。

(項目21)

ヒトTSLPのその受容体複合体への結合を遮断する、項目1～20に記載の抗体または抗原結合性断片。

(項目22)

TSLPのその受容体複合体に対する機能活性を中和する、低下するまたはそれに対して干渉する、項目1～20に記載の抗体または抗原結合性断片。

20

(項目23)

STAT5レポーター遺伝子アッセイにおいてTSLP駆動レポーター遺伝子活性化を中和する、項目1～20に記載の抗体または抗原結合性断片。

(項目24)

細胞増殖アッセイにおいてTSLP受容体複合体を発現する細胞のTSLP駆動増殖を中和する、項目1～20に記載の抗体または抗原結合性断片。

(項目25)

サイトカイン放出アッセイにおいてヒト樹状細胞からのTSLP駆動サイトカイン放出を阻害する、項目1～20に記載の抗体または抗原結合性断片。

30

(項目26)

動物喘息モデルにおいてTSLP駆動喘息および肺炎症を阻害する、項目1～20に記載の抗体または抗原結合性断片。

(項目27)

項目1～20に記載の抗TSLP IgG抗体をコードする、単離されたポリヌクレオチド。

(項目28)

項目27に記載のポリヌクレオチドを含むベクター。

(項目29)

発現ベクターである、項目28に記載のベクター。

40

(項目30)

項目28または29に記載のベクターを含む宿主細胞。

(項目31)

項目1～20に記載の抗TSLP IgG抗体または断片を産生する方法であって、前記抗TSLP IgG抗体または断片が発現される条件で、項目29に記載の宿主細胞を培養するステップと、前記抗TSLP IgG抗体または断片を単離するステップとを含む、方法。

(項目32)

項目1～20に記載の抗TSLP IgG抗体または断片の半減期を測定する方法。

50

(項目 3 3)

項目 1 ～ 2 0 に記載の抗 T S L P I g G 抗体または断片のタンパク質分解に対する抵抗性を測定する方法。

(項目 3 4)

項目 1 ～ 2 0 に記載の抗 T S L P I g G 抗体または断片のエフェクター機能を測定する方法。

(項目 3 5)

T S L P 媒介性疾患または障害の処置を必要とする被験体における T S L P 媒介性疾患または障害を処置するための方法であって、前記被験体に、有効量の項目 1 ～ 2 0 に記載の抗 T S L P I g G 抗体または断片を投与するステップを含む、方法。

10

(項目 3 6)

前記 T S L P 媒介性疾患または障害が、中等度から重度の制御されない喘息を含む喘息である、項目 3 5 に記載の方法。

(項目 3 7)

前記 T S L P 媒介性疾患または障害が、全身性硬化症、全身性特発性肺線維症およびケロイド疾患を含む線維性疾患および関連状態である、項目 3 5 に記載の方法。

(項目 3 8)

前記 T S L P 媒介性疾患または障害が、気腫、慢性気管支炎および難治性喘息等の慢性閉塞性肺疾患である、項目 3 5 に記載の方法。

(項目 3 9)

前記 T S L P 媒介性疾患または障害が、鼻炎、アトピー性皮膚炎、湿疹、全身性硬化症、食物アレルギーおよび炎症性腸疾患を含む炎症性疾患である、項目 3 5 に記載の方法。

20

(項目 4 0)

前記 T S L P 媒介性疾患または障害が、肺癌、乳癌、膵癌、結腸直腸癌、リンパ芽球性白血病、頭頸部癌を含むある特定のがんである、項目 3 5 に記載の方法。

(項目 4 1)

処置を必要とする前記被験体に第 2 の薬剤を投与するステップをさらに含む、項目 3 5 ～ 4 0 のいずれか一項に記載の方法。

(項目 4 2)

前記第 2 の薬剤が、コルチコステロイド、気管支拡張薬、抗ヒスタミン薬、抗ロイコトリエン薬、P D E - 4 阻害剤；抗がん薬物、免疫調節薬およびサイトカイン療法薬からなる群から選択される、項目 4 1 に記載の方法。

30

【図面の簡単な説明】

【0043】

【図 1】図 1：マウスモノクローナル抗ヒト T S L P 抗体 T A V O 2 0 2 による (A) ヒトおよび (B) マウス T S L P への結合。

【0044】

【図 2】図 2：(A) . ヒト T S L P 受容体複合体をトランスフェクトされた B A F 細胞におけるヒト T S L P による刺激の際の細胞増殖の応答。(B) . T A V O 2 0 2 によるヒト T S L P 駆動細胞増殖の用量依存的な中和。

40

【0045】

【図 3】図 3：(A) . ルシフェラーゼレポーターアッセイにおけるヒト T S L P による刺激の際の用量依存的な S T A T 5 レポーター遺伝子発現。(B) . ヒト T S L P 駆動レポーター遺伝子発現アッセイにおける T A V O 2 0 2 によるレポーター遺伝子発現の用量依存的な中和。

【0046】

【図 4】図 4：ヒト化 V_H および V_L バリエントを有する T A V O 2 0 2 の重鎖および軽鎖可変領域の配列アライメント。ヒト化抗体は、ヒト化 V_H バリエント (202H2) および 2 種のヒト化 V_L バリエント (202L3 および 202L4) を異なる I g G F c と共に対形成することにより形成することができる。

50

【0047】

【図5】図5：（A）非還元および（B）還元条件下における、例としてのヒト化抗 T S L P I g G 抗体の S D S - P A G E 解析。（C）．例としての抗 T S L P I g G 抗体のサイズ排除クロマトグラフィー（S E C）解析。

【0048】

【図6】図6：例としてのヒト化抗 T S L P I g G 抗体による（A）ヒトおよび（B）カニクイザル T S L P への結合。

【0049】

【図7】図7：S T A T 5 レポーター遺伝子発現アッセイにおける、例としてのヒト化抗 T S L P I g G 抗体によるヒト T S L P 駆動レポーター遺伝子活性化の中和。

10

【0050】

【図8】図8：ヒト化抗 T S L P I g G 抗体による、2名のドナーから単離された樹状細胞からのヒト T S L P 駆動 C C L 1 7 放出の中和。

【0051】

【図9】図9：半減期延長 F c 変異を有するヒト化抗 T S L P I g G 抗体 T A V O 9 7 6 5 およびこのような変異を欠如する T A V O 7 2 6 5 による、p H 6 . 0 におけるマウス F c R n への結合。

【0052】

【図10】図10：カニクイザルにおける抗 T S L P 抗体の P K プロファイル。半減期延長のための F c 変異を有する抗 T S L P 抗体（T A V O 9 7 6 5）を、カニクイザルへと 4 m g / k g 静脈内用量として投与した。血漿濃度は、投薬後最大 3 5 日目の時点まで表示される。

20

【発明を実施するための形態】

【0053】

本開示の詳細な説明

定義

本明細書に使用されている用語法は、単に実施形態を説明することを目的としており、限定を意図するものではない。他に規定がなければ、本明細書に使用されているあらゆる技術および科学用語は、本開示が属する技術分野の当業者によって一般的に理解されているものと同じ意味を有する。本開示を記載および特許請求することにおいて、次の用語法が使用されるであろう。

30

【0054】

本明細書および添付の特許請求の範囲で使用される場合、単数形「1つの（a）」、「1つの（a n）」および「その（t h e）」は、内容がそれ以外のことを明らかに指示しない限り、複数形の指示対象を含む。よって、例えば、「1つの細胞（a c e l l）」の参照は、2つまたはそれよりも多い細胞の組合せ、その他を含む。

【0055】

「抗体」は、広義で企図され、マウス、ヒト、ヒト化およびキメラモノクローナル抗体を含むモノクローナル抗体、抗体断片、二特異性または多特異性抗体、二量体、四量体または多量体抗体、単鎖抗体、ドメイン抗体、ならびに要求される特異性の抗原結合部位を含む他のいずれかの改変された構成の免疫グロブリン分子を含む免疫グロブリン分子を含む。「全長抗体分子」は、ジスルフィド結合によって相互接続された2本の重鎖（H C）および2本の軽鎖、ならびにその多量体（例えば、I g M）で構成される。各重鎖は、重鎖可変領域（V_H）および重鎖定常領域（ドメイン C_{H1}、ヒンジ、C_{H2} および C_{H3} で構成される）で構成される。各軽鎖は、軽鎖可変領域（V_L）および軽鎖定常領域（C_L）で構成される。V_H および V_L 領域は、フレームワーク領域（F R）を散在させた、相補性決定領域（C D R）と命名された高頻度可変性の領域へとさらに細分することができる。各 V_H および V_L は、3 個の C D R および 4 個の F R セグメントで構成されており、これらは、アミノ末端からカルボキシル末端へと、次の順序：F R 1、C D R 1、F R 2、C D R 2、F R 3、C D R 3 および F R 4 で配置されている。

40

50

【0056】

「相補性決定領域（CDR）」は、抗体における「抗原結合部位」である。CDRは、様々な用語を使用して定義することができる：（i）相補性決定領域（CDR）は、3個は V_H にあり（HCDR1、HCDR2、HCDR3）、3個は V_L にあり（LCDR1、LCDR2、LCDR3）、配列可変性に基づく（Wu and Kabat 1970）（Kabat, National Institutes of Health et al. 1991）；（ii）「高頻度可変領域」、「HVR」または「HV」は、3個は V_H にあり（H1、H2、H3）、3個は V_L にあり（L1、L2、L3）、ChothiaおよびLesk（Chothia and Lesk 1987）によって定義される通り、構造が高頻度可変である抗体可変ドメインの領域を指す。The International ImmunoGenetics（IMGT）データベース（<http://www.imgt.org>）は、抗原結合部位の標準化されたナンバリングおよび定義を提供する。CDR、HVおよびIMGT描写の間の一致は、Lefrancら（Lefranc, Pomme et al. 2003）に記載されている。用語「CDR」、「HCDR1」、「HCDR2」、「HCDR3」、「LCDR1」、「LCDR2」および「LCDR3」は、本明細書で使用される場合、本明細書にそれ以外のことが明確に記述されていない限り、上記の方法、Kabat、ChothiaまたはIMGTのいずれかによって定義されるCDRを含む。

10

【0057】

免疫グロブリンは、重鎖定常領域アミノ酸配列に応じて、5種の主要なクラス、IgA、IgD、IgE、IgGおよびIgMに割り当てることができる。IgAおよびIgGは、アイソタイプIgA₁、IgA₂、IgG₁、IgG₂、IgG₃およびIgG₄としてさらに細分類される。いずれかの脊椎動物種の抗体軽鎖は、その定常領域のアミノ酸配列に基づき、2種の明らかに別個の型、すなわちカッパー（κ）およびラムダ（λ）の一方に割り当てることができる。

20

【0058】

「抗体断片」は、重鎖相補性決定領域（HCDR）1、2および3、軽鎖相補性決定領域（LCDR）1、2および3、重鎖可変領域（ V_H ）、または軽鎖可変領域（ V_L ）等の重鎖および／または軽鎖抗原結合部位を保持する免疫グロブリン分子の部分の部分を指す。抗体断片は、周知のF_{ab}、F（a_b）₂、F_dおよびF_v断片、ならびに1個の V_H ドメインからなるドメイン抗体（dAb）を含む。 V_H および V_L ドメインは、合成リンカーを介して一体に連結して、 V_H/V_L ドメインが分子内で対形成し得る様々な型の単鎖抗体設計を形成することができるか、または V_H および V_L ドメインが別々の単鎖抗体構築物によって発現される場合は分子間で対形成し得、単鎖F_v（scFv）またはダイアボディ（diabody）等の一価抗原結合部位を形成し得る：例えば、国際特許公開番号WO1998/44001、WO1988/01649、WO1994/13804およびWO1992/01047に記載されている。

30

【0059】

「モノクローナル抗体」は、抗体重鎖からのC末端リシンの除去等の可能な周知の変更を除いて、各重および各軽鎖に単一のアミノ酸組成を有する抗体集団を指す。モノクローナル抗体は典型的に、二特異性モノクローナル抗体が2種の別個の抗原エピトープに結合することを除いて、1種の抗原エピトープに結合する。モノクローナル抗体は、抗体集団内に不均一なグリコシル化を有することができる。モノクローナル抗体は、単一特異性もしくは多特異性、または一価、二価もしくは多価であってもよい。二特異性抗体は、モノクローナル抗体という用語の中に含まれる。

40

【0060】

「単離された抗体」は、異なる抗原特異性を有する他の抗体を実質的に含まない、抗体または抗体断片を指す（例えば、TSLPに例えば特異的に結合する単離された抗体は、TSLP以外の抗原に特異的に結合する抗体を実質的に含まない）。

【0061】

50

「単離された抗体」は、８０％、８１％、８２％、８３％、８４％、８５％、８６％、８７％、８８％、８９％、９０％、９１％、９２％、９３％、９４％、９５％、９６％、９７％、９８％、９９％または１００％純粋である抗体等、より高い純度まで単離された抗体を包含する。

【００６２】

「ヒト化抗体」は、抗原結合部位が非ヒト種に由来し、可変領域フレームワークがヒト免疫グロブリン配列に由来する、抗体を指す。ヒト化抗体はフレームワークにおける置換を含むことができ、フレームワークが発現されたヒト免疫グロブリンまたはヒト免疫グロブリン生殖系列遺伝子配列の正確なコピーとならなくてよい。

【００６３】

「ヒト抗体」は、フレームワークおよび抗原結合部位の両方がヒト起源の配列に由来する重および軽鎖可変領域を有する抗体を指し、ヒト被験体に投与されたときに、最小の免疫応答を有するように最適化されている。抗体が、定常領域または定常領域の部分を含む場合、定常領域はまた、ヒト起源の配列に由来する。

【００６４】

本明細書全体にわたる抗体定常領域におけるアミノ酸残基のナンバリングは、他に明確に記述されていない限り、Kabatらに記載されているEUインデックスに従う（Kabat, National Institutes of Health et al., 1991）。

【００６５】

従来の１文字および３文字アミノ酸コードが、表１に示す通り、本明細書で使用されている。

表１．

10

20

30

40

50

【表 1】

アミノ酸	3 文字コード	1 文字コード
アラニン	Ala	A
アルギニン	Arg	R
アスパラギン	Asn	N
アスパラギン酸	Asp	D
システイン	Cys	C
グルタミン酸	Gln	E
グルタミン	Glu	Q
グリシン	Gly	G
ヒスチジン	His	H
イソロイシン	Ile	I
ロイシン	Leu	L
リシン	Lys	K
メチオニン	Met	M
フェニルアラニン	Phe	F
プロリン	Pro	P
セリン	Ser	S
スレオニン	Thr	T
トリプトファン	Trp	W
チロシン	Tyr	Y
バリン	Val	V

10

20

30

【0066】

ポリペプチド（例えば、抗原結合タンパク質または抗体）の「バリエーション」は、別のポリペプチド配列と比べて、1個または複数のアミノ酸残基が、アミノ酸配列に挿入された、欠失されたおよび／または置換されたアミノ酸配列を含む。バリエーションは、本明細書に提供される抗体もしくは断片、または列挙されるDNAもしくはアミノ酸配列を有する抗体もしくは断片に対して列挙されているパーセント同一性を有する抗体およびその断片を含む。

40

【0067】

用語「同一性」は、配列の整列および比較によって決定される、2種もしくはそれよりも多いポリペプチド分子または2種もしくはそれよりも多い核酸分子の配列の間の関係性を指す。「パーセント同一性」、「パーセント相同性」、「配列同一性」または「配列相同性」その他は、比較される分子におけるアミノ酸またはヌクレオチドの間の同一残基のパーセントを意味し、これは、比較されている分子の最小のサイズに基づき計算される。このような計算のため、整列におけるギャップ（あるとすれば）が、好ましくは、特定の数理モデルまたはコンピュータプログラム（すなわち、「アルゴリズム」）によって取り組まれる。整列された核酸またはポリペプチドの同一性の計算に使用することができる方

50

法は、Computational Molecular Biology, (Lesk, A. M., ed.), 1988, New York: Oxford University Press; Biocomputing Informatics and Genome Projects, (Smith, D. W., ed.), 1993, New York: Academic Press; Computer Analysis of Sequence Data, Part I, (Griffin, A. M., and Griffin, H. G., eds.), 1994, New Jersey: Humana Press; von Heinje, G., 1987, Sequence Analysis in Molecular Biology, New York: Academic Press; Sequence Analysis Primer, (Gribskov, M. and Devereux, J., eds.), 1991, New York: M. Stockton Press; および Carillo et al., 1988, SIAM J. Applied Math. 48:1073 に記載されている方法を含む。パーセント同一性の計算において、比較されている配列は、典型的に、配列の間で最大のマッチが得られる仕方で整列される。

【0068】

哺乳動物 IgG 重鎖の定常領域配列は、配列において C_{H1} - ヒンジ - C_{H2} - C_{H3} として指定される。IgG の「ヒンジ」、「ヒンジ領域」または「ヒンジドメイン」は、一般に、EU インデックスに従ったヒト IgG₁ の Glu216 を含み、Pro230 で終結するものとして定義されるが、機能的には、鎖の可撓性部分は、Glu216 ~ Gly237 等、上部および下部ヒンジ領域と命名された追加的な残基を含むと考慮することができ、下部ヒンジは、概して FcγR 結合の原因となる Fc 領域の残基 233 ~ 239 と称される。他の IgG アイソタイプのヒンジ領域は、重鎖間 S-S 結合を形成する最初および最後のシステイン残基を置くことにより、IgG₁ 配列と整列することができる。EU インデックスに従ってナンバリングされる境界は、僅かに変動し得るが、 C_{H1} ドメインは、 V_H ドメインにおよび免疫グロブリン重鎖分子のヒンジ領域のアミノ末端に隣接し、免疫グロブリン重鎖の第 1 (最もアミノ末端側) の定常領域、例えば、約 EU 位置 118 ~ 215 を含む。Fc ドメインは、アミノ酸 231 からアミノ酸 447 に延在する; C_{H2} ドメインは、約 Ala231 から Lys340 または Gly341 に、 C_{H3} は、約 Gly341 または Gln342 から Lys447 に延在する。 C_{H1} 領域の IgG 重鎖定常領域の残基は、Lys で終結する。Fc ドメイン含有分子は、抗体定常領域の少なくとも C_{H2} ドメインおよび C_{H3} ドメインを含み、したがって、IgG 重鎖定常領域の少なくとも約 Ala231 から Lys447 の領域を含む。Fc ドメイン含有分子は、ヒンジ領域の少なくとも部分を必要に応じて含むことができる。

【0069】

「エピトープ」は、抗体が特異的に結合する抗原の部分を指す。エピトープは典型的に、アミノ酸または多糖側鎖等の部分の化学的に活性な (極性、非極性または疎水性等) 表面グルーピング (surface grouping) からなり、特異的な三次元構造特徴と共に、特異的な電荷特徴を有することができる。エピトープは、コンフォメーション空間単位を形成する連続的および / または非連続的アミノ酸で構成され得る。非連続的エピトープのため、抗原の直鎖状配列の異なる部分由来のアミノ酸は、タンパク質分子のフォールディングにより、三次元空間において近づく。抗体「エピトープ」は、エピトープの同定に使用される方法論に依存する。

【0070】

「リーダー配列」は、本明細書で使用される場合、ヒト B2M リーダーを含む、哺乳動物細胞によってプロセシングされ得るいずれかのシグナルペプチドを含む。このような配列は、当技術分野で周知である。

【0071】

用語「ペプチド」、「ポリペプチド」および「タンパク質」は、本明細書で互換的に使用され、コードされたおよびコードされていないアミノ酸、化学的または生化学的に改変

または誘導体化されたアミノ酸、ならびに改変されたペプチド骨格を有するポリペプチドを含むことができる、いずれかの長さのアミノ酸のポリマー形態を指す。これらの用語は、例えば、ジスルフィド結合形成、グリコシル化、アセチル化、リン酸化、タンパク質分解性切断その他等、ポリペプチドの同時翻訳（例えば、シグナルペプチド切断）および翻訳後改変を有するポリペプチドも含む。さらに、本明細書で使用される場合、「ポリペプチド」は、タンパク質が所望の活性を維持するのであれば、ネイティブ配列に対して欠失、付加および置換（当業者にとって公知の通り、一般に保存的な性質の）等の改変を含むタンパク質を指す。これらの改変は、部位特異的変異誘発による等、計画的であってもよい、あるいはタンパク質を産生する宿主の変異またはPCR増幅もしくは他の組換えDNA法が原因のエラーによる等、偶発的であってもよい。

10

【0072】

用語「組換え」は、核酸分子を説明するために本明細書で使用される場合、その起源または操作によって、それが自然界では関連するポリヌクレオチド配列の全体または部分と関連していない、ゲノム、cDNA、ウイルス、半合成および／または合成起源のポリヌクレオチドを意味する。用語「組換え」は、宿主細胞またはウイルスに関して使用される場合、組換えポリヌクレオチドが導入された宿主細胞またはウイルスを指す。組換えはまた、材料（例えば、細胞、核酸、タンパク質またはベクター）を参照して、当該材料が、異種材料（例えば、細胞、核酸、タンパク質またはベクター）の導入によって改変されたことを指すように本明細書で使用される。

【0073】

20

用語「ポリヌクレオチド」、「オリゴヌクレオチド」、「核酸」および「核酸分子」は、リボヌクレオチドまたはデオキシリボヌクレオチドのいずれかであるヌクレオチドのポリマー形態を含むように本明細書で互換的に使用される。この用語は、分子の一次構造のみを指す。

【0074】

「ベクター」は、生物システム内で重複され得る、またはこのようなシステム間で移動され得るポリヌクレオチドを指す。ベクターポリヌクレオチドは典型的に、ベクターを重複することができる生物学的構成成分を利用して、細胞、ウイルス、動物、植物および再構成された生物システム等の生物システムにおけるこのようなポリヌクレオチドの重複または維持を容易にするように機能する、複製起点、ポリアデニル化シグナルまたは選択マーカー等のエレメントを含有する。ベクターポリヌクレオチドは、一本鎖または二本鎖の、DNAもしくはRNA分子、cDNA、またはこれらのハイブリッドであってもよい。

30

【0075】

「発現ベクター」は、発現ベクター中に存在するポリヌクレオチド配列によってコードされるポリペプチドの翻訳を方向付けるために、生物システムまたは再構成された生物システムにおいて利用され得るベクターを指す。

【0076】

「～価 (valent)」は、分子中の抗原に特異的な、特定化された数の結合部位の存在を指す。したがって、用語「一価」、「二価」、「四価」および「六価」は、分子中の抗原に特異的な、それぞれ1、2、4および6個の結合部位の存在を指す。

40

【0077】

本明細書で使用される場合、核酸配列、タンパク質またはポリペプチドに関して使用される用語「異種」は、これらの分子が、異種核酸配列、タンパク質またはポリペプチドが得られた細胞において天然に存在しないことを意味する。例えば、ヒト細胞ではない細胞に挿入されたヒトポリペプチドをコードする核酸配列は、当該文脈において異種核酸配列である。異種核酸は、異なる生物または動物種に由来することができる一方で、このような核酸は、異種となるのに、別々の生物種に必ずしも由来しない。例えば、一部の事例では、合成核酸配列またはそれにコードされるポリペプチドは、それが導入される細胞が、当該合成核酸を以前に含有していなかったという点において、それが導入される細胞によって異種であってもよい。したがって、例えば、合成核酸配列またはそれにコードされる

50

ポリペプチドの1種または複数の構成成分が、本来ヒト細胞から得られた場合であっても、合成核酸配列またはそれにコードされるポリペプチドは、ヒト細胞にとって異種とみなすことができる。

【0078】

「宿主細胞」は、本明細書で使用される場合、*in vivo*もしくは*in vitro*真核細胞、または単細胞の実体として培養された多細胞生物由来の細胞（例えば、細胞系）を表示し、このような真核細胞は、核酸（例えば、本開示の多量体ポリペプチドをコードするヌクレオチド配列を含む発現ベクター）のレシピエントとして使用することができるまたは使用されており、核酸によって遺伝子改変された元の細胞の子孫を含む。単一細胞の子孫が、天然、偶発的または計画的変異が原因で、必ずしも、元の親と形態またはゲノムもしくは総DNA含量（*complement*）において完全に同一でなくてよいことが理解される。

10

【0079】

「組換え宿主細胞」（「遺伝子改変された宿主細胞」とも称される）は、異種核酸、例えば、発現ベクターが導入された宿主細胞である。例えば、遺伝子改変された真核宿主細胞は、適した真核宿主細胞への、異種核酸、例えば、真核宿主細胞にとって外来である外因性核酸または真核宿主細胞において正常には見出されない組換え核酸の導入によって遺伝子改変される。

【0080】

「特異的結合」または「特異的に結合する」または「結合する」は、他の抗原に対するよりも優れた親和性での特異的抗原への抗体結合を指す。典型的には、結合に関する平衡解離定数（ K_D ）が、約 1×10^{-8} Mまたはそれ未満、例えば、約 1×10^{-9} Mもしくはそれ未満、約 1×10^{-10} Mもしくはそれ未満、約 1×10^{-11} Mもしくはそれ未満または約 1×10^{-12} Mもしくはそれ未満であり、典型的には、非特異的抗原（例えば、BSA、カゼイン）への結合に関するその K_D の多くとも百分の1の K_D による場合、抗体は、「特異的に結合する」。 K_D は、標準手順を使用して測定することができる。

20

【0081】

本明細書で使用される場合、用語「処置」、「処置すること」その他は、所望の薬理学および／または生理学的効果を得ることを指す。効果は、疾患もしくはその症状を完全にもしくは部分的に予防するとの観点から予防的であってもよい、ならびに／または疾患および／もしくは疾患に起因し得る有害効果の部分的もしくは完全治癒の観点から治療的であってもよい。

30

【0082】

「処置」は、本明細書で使用される場合、哺乳動物、例えば、ヒトにおける疾患のいずれかの処置を網羅し、（a）疾患の素因がある可能性があるが、疾患を有するとは未だ診断されていない被験体において疾患が発生するのを防止すること；（b）疾患を阻害すること、すなわち、その発症を抑止すること；および（c）疾患を緩和すること、すなわち、疾患の退縮を引き起こすことを含む。

【0083】

本明細書で互換的に使用される用語「個体」、「被験体」、「宿主」および「患者」は、マウス（例えば、ラット、マウス）、ウサギ類（例えば、ウサギ）、非ヒト霊長類、ヒト、イヌ、ネコ、有蹄動物（例えば、ウマ、ウシ、ヒツジ、ブタ、ヤギ）等を含むがこれらに限定されない、哺乳動物を指す。

40

【0084】

「治療有効量」または「効果的な量」は、疾患を処置するために哺乳動物または他の被験体に投与された場合に、疾患のためのこのような処置に影響を与えるのに十分である、薬剤の量または2種の薬剤の組み合わせた量を指す。「治療有効量」は、薬剤、疾患およびその重症度、ならびに処置されるべき被験体の年齢、体重等に応じて変動するであろう。

【0085】

本開示についてさらに説明する前に、説明されている実施形態は、当然ながら変動し得

50

るため、本開示が、説明されている実施形態に限定されないことを理解されたい。本開示の範囲は、添付の特許請求の範囲によってのみ限定されるため、本明細書に使用されている用語法が、単に実施形態を説明することを目的としており、限定を意図するものではないことも理解されたい。

【0086】

抗TSLP抗体および抗原結合性断片の組成

TSLPに特異的に結合し、TSLPの少なくとも1種の活性、例えば、TSLPのその受容体複合体に対する機能活性を中和する、阻害する、遮断する、抑止する、低下するかまたはそれに対して干渉する、モノクローナル抗体およびその抗原結合性断片が本明細書において記載されている。抗TSLP抗体および抗原結合性断片は、被験体に治療的に投与して、TSLP媒介性疾患を処置することができる。

10

【0087】

本開示は、ヒト胸腺間質性リンパ球新生因子(TSLP)に特異的に結合し、その少なくとも1種の活性を中和する、阻害する、遮断する、抑止する、低下するかまたはそれに対して干渉する、マウスハイブリドーマスクリーニングから同定された、TAVO202として指定された、マウスモノクローナル抗体を提供する。TAVO202は、配列番号1のアミノ酸配列を有する重鎖可変領域配列、および配列番号2のアミノ酸配列を有する軽鎖可変領域配列を含む。TAVO202の重鎖可変領域は、それぞれ配列番号3、配列番号4および配列番号5として示すアミノ酸配列を有する、HCDR1、HCDR2およびHCDR3として指定された、3種の相補性決定領域を含む。TAVO202の軽鎖可変領域は、それぞれ配列番号6、配列番号7および配列番号8として示すアミノ酸配列を有する、LCDR1、LCDR2およびLCDR3として指定された、3種の相補性決定領域を含む。

20

【0088】

抗ヒトTSLPマウスモノクローナル抗体TAVO202の重鎖可変領域配列(配列番号1)

【化1】

QVQLQQSGAELVRPGSSVKISCKASGYTFSSYWVNWVKQRPGQGLEWIGQIYPGDGDT
DYNGKFKGKATLTADKSSSTAYMQLSSLTSEDSAVYFCARGTIYNNYYGTDYWGQGT
SVTVSS

30

重鎖の3種のCDRの配列に下線を引く。

【0089】

抗ヒトTSLPマウスモノクローナル抗体TAVO202の軽鎖可変領域配列(配列番号2)

【化2】

EIVLTQSPALMAASPGEKVTITCSVSSSISSSNLHWYQQKSETSPKRWIYGTSNLSGVPV
RFGSGSGTSSYSLTISSMEAEDAATYYCQQWSSYPLTFGGGTKLEIK

40

軽鎖の3種のCDRの配列に下線を引く。

【0090】

抗ヒトTSLPマウスモノクローナル抗体TAVO202のHCDR1配列(配列番号3)

【化3】

GYTFSSYWVN

【0091】

50

抗ヒトTSLPマウスモノクローナル抗体TAVO202のHCDR2配列（配列番号4）

【化4】

QIYPGDGDTD

【0092】

抗ヒトTSLPマウスモノクローナル抗体TAVO202のHCDR3配列（配列番号5）

【化5】

GTYYNNYYGTDY

10

【0093】

抗ヒトTSLPマウスモノクローナル抗体TAVO202のLCDR1配列（配列番号6）

【化6】

SVSSSISSSNLH

【0094】

抗ヒトTSLPマウスモノクローナル抗体TAVO202のLCDR2配列（配列番号7）

【化7】

GTSNLAS

20

【0095】

抗ヒトTSLPマウスモノクローナル抗体TAVO202のLCDR3配列（配列番号8）

【化8】

QQWSSYPLT

30

【0096】

マウス抗ヒトTSLP抗体TAVO202は、マウスCDRをヒト生殖系列足場にグラフトすることによってヒト化することができる。いくつかの肝要なマウス残基は、復帰変異によって保存されて、免疫原性を最小化しつつ、より高い安定性およびより優れた発現を達成する。TAVO202のために、1種のヒト化VHバリエーション（202H2）が、IGHV1-69*02に基づき設計され、2種のヒト化VLバリエーションが、IGKV1-9*01に基づき202L3により、IGKV6-21*01に基づき202L4により設計され、2個の復帰変異はフレームワークに存在する。

【0097】

前述に基づき、本開示は、配列番号9として示すアミノ酸配列を有する、202H2として指定された、TAVO202の1種のヒト化重鎖可変領域を提供する。

40

【0098】

ヒト化重鎖可変領域202H2配列（配列番号9）

【化9】

QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKASGYTFSSYWVNWVRQAPGQGLEWIGQIYPGDGD
TDYAQKFQGRATLTADKSTSTAYMELSSLRSEDTAVYFCARGTYYNNYYGTDYWGGG
TTVTVSS

ヒト化重鎖の3種のCDRの配列に下線を引く。

50

【0099】

本開示は、それぞれ配列番号10および配列番号11として示すアミノ酸配列を有する、202L3および202L4として指定された、TAVO202の2種のヒト化軽鎖可変領域を提供する。

【0100】

ヒト化軽鎖可変領域202L3配列（配列番号10）

【化10】

DIQLTQSPSFLSASVGDRVITITCSVSSSISSSNLHWYQQKPGKAPKRWIYGTSNLAGVPS
RFSGSGSGTEYTLTISSLQPEDAATYYCQQWSSYPLTFGQGTKLEIK

10

ヒト化軽鎖の3種のCDRの配列に下線を引く。

【0101】

ヒト化軽鎖可変領域202L4配列（配列番号11）

【化11】

EIVLTQSPDFQSVTPKEKVTITCSVSSSISSSNLHWYQQKPDQSPKRWIYGTSNLAGVPS
RFSGSGSGTDYTLTINSLEAEDAATYYCQQWSSYPLTFGQGTKLEIK

ヒト化軽鎖の3種のCDRの配列に下線を引く。

20

【0102】

非限定的な例として、ヒト化202H2重鎖可変領域ならびに2種のヒト化軽鎖可変領域202L3および202L4を、異なるIgG Fcと共に対形成することにより、TAVO202のための6種のヒト化抗体を作製することができる（図4、表2）。

表2. 例示的な抗体

【表2-1】

ヒト化 mAb	V _H	V _L	Fc
TAVO6264	202H2	202L3	IgG2
TAVO6265	202H2	202L4	IgG2
TAVO7264	202H2	202L3	IgG1 (L234F, L235E, D265A, F405L)
TAVO7265	202H2	202L4	IgG1 (L234F, L235E, D265A, F405L)

30

【表2-2】

TAVO9764	202H2	202L3	IgG1 (L234A, L235A, M428L, N434S)
TAVO9765	202H2	202L4	IgG1 (L234A, L235A, M428L, N434S)

40

【0103】

本開示は、配列番号12として示す重鎖配列および配列番号13として示す軽鎖配列を含む、TAVO6264として指定された、ヒト化重鎖可変領域202H2およびヒト化軽鎖可変領域202L3とヒトIgG2 Fcを含む、TAVO202のための第1のヒ

50

ト化抗体を提供する。

【0104】

本開示は、配列番号12として示す重鎖配列および配列番号14として示す軽鎖配列を含む、TAVO6265として指定された、ヒト化重鎖可変領域202H2およびヒト化軽鎖可変領域202L4とヒトIgG2 Fcを含む、TAVO202のための第2のヒト化抗体を提供する。

【0105】

本開示は、配列番号15として示す重鎖配列および配列番号13として示す軽鎖配列を含む、TAVO7264として指定された、ヒト化重鎖可変領域202H2およびヒト化軽鎖可変領域202L3とL234F、L235E、D265A、F405L変異を有するヒトIgG1 Fcを含む、TAVO202のための第3のヒト化抗体を提供する。

【0106】

本開示は、配列番号15として示す重鎖配列および配列番号14として示す軽鎖配列を含む、TAVO7265として指定された、ヒト化重鎖可変領域202H2およびヒト化軽鎖可変領域202L4とL234F、L235E、D265A、F405L変異を有するヒトIgG1 Fcを含む、TAVO202のための第4のヒト化抗体を提供する。

【0107】

本開示は、配列番号16として示す重鎖配列および配列番号13として示す軽鎖配列を含む、TAVO9764として指定された、ヒト化重鎖可変領域202H2およびヒト化軽鎖可変領域202L3とL234A、L235A、M428L、N434S変異を有するヒトIgG1 Fcを含む、TAVO202のための第5のヒト化抗体を提供する。

【0108】

本開示は、配列番号16として示す重鎖配列および配列番号14として示す軽鎖配列を含む、TAVO9765として指定された、ヒト化重鎖可変領域202H2およびヒト化軽鎖可変領域202L4とL234A、L235A、M428L、N434S変異を有するヒトIgG1 Fcを含む、TAVO202のための第6のヒト化抗体を提供する。

【0109】

202H2とIgG2 Fcに基づく抗TSLPヒト化抗体重鎖（配列番号12）

【化12】

QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKASGYTFSSYWVNWVRQAPGQGLEWIGQIYPGDGD
TDYAQKFQGRATLTADKSTSTAYMELSSLRSEDTAVYFCARGTTYNNYYGTDYWGQG
TTVTVSSASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTF
PAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSNFGTQTYTCNVDHKPSNTKVDKTVERKCCVECPCPAPP
VAGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPR
EEQFNSTFRVVSVLTVVHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPAPIEKTISKTKGQPREPQVYTL
PPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPMLDSDGSFFLYSKL
TVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

重鎖の可変ドメインの配列に下線を引く。

【0110】

202L3に基づく抗TSLPヒト化抗体軽鎖（配列番号13）

10

20

30

40

50

【化 1 3】

DIQLTQSPSFLSASVGDRVITITCSVSSSISSSNLHWYQOKPGKAPKPWIYGTSNLASGVPS
RFSGSGSGTEYTLTISSLOPEDAATYYCQOWSSYPLTFGQGTKLEIKRTVAAPSVFIFPPS
DEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSSTYSLSSTL
TLISKADYEEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC

軽鎖の可変ドメインの配列に下線を引く。

【0 1 1 1】

10

2 0 2 L 4 に基づく抗 T S L P ヒト化抗体軽鎖（配列番号 1 4）

【化 1 4】

EIVLTQSPDFQSVTPKEKVTITCSVSSSISSSNLHWYQOKPDQSPKPWIYGTSNLASGVPS
RFSGSGSGTDYTLTINSLEAEDAATYYCQOWSSYPLTFGQGTKLEIKRTVAAPSVFIFPPS
DEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSSTYSLSSTL
TLISKADYEEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC

軽鎖の可変ドメインの配列に下線を引く。

20

【0 1 1 2】

2 0 2 H 2 と L 2 3 4 F、L 2 3 5 E、D 2 6 5 A、F 4 0 5 L 変異を有する I g G 1 F c に基づく抗 T S L P ヒト化抗体重鎖（配列番号 1 5）

【化 1 5】

QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKASGYTFSSYWVNWVRQAPGQGLEWIGQIYPGDGD
TDYAQKFQGRATLTADKSTSTAYMELSSLRSEDTAVYFCARGTYNNYYGTDYWGQG
TTVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTF
PAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCP
APEFEGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVAVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKT
KPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQ
VYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFLL
YSKLTVDKSRWQQGNVFCFSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

30

重鎖の可変ドメインの配列に下線を引く。L 2 3 4 F、L 2 3 5 E、D 2 6 5 A、F 4 0 5 L 変異を太字で示す。

【0 1 1 3】

2 0 2 H 2 と L 2 3 4 A、L 2 3 5 A、M 4 2 8 L、N 4 3 4 S 変異を有する I g G 1 F c に基づく抗 T S L P ヒト化抗体重鎖（配列番号 1 6）

40

【化 1 6】

QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKASGYTFSSYWVNWVROAPGOGLEWIGOIYPGDGD
TDYAQKFQGRATLTADKSTSTAYMELSSLRSEDTAVYFCARGTYNNYYGTDYWGQG
TTVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTF
PAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCP
APEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAK
TKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQ
VYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFL
YSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVLHEALHSHYTKQKSLSLSPGK

10

重鎖の可変ドメインの配列に下線を引く。L 2 3 4 A、L 2 3 5 A、M 4 2 8 L、N 4 3 4 S 変異を太字で示す。

【0 1 1 4】

本開示はまた、配列番号 9 として示すアミノ酸配列を有する 2 0 2 H 2 として指定された T A V O 2 0 2 の 1 種のヒト化重鎖可変領域と、それぞれ配列番号 1 0 および配列番号 1 1 として示すアミノ酸配列を有する 2 0 2 L 3 および 2 0 2 L 4 として指定された T A V O 2 0 2 の 2 種のヒト化軽鎖可変領域のうち 1 種を含む、F a b または s c F v ドメインを有することにより、いずれか 2、3 または 4 種の T S L P エピトープの係合を含むことができる、二特異性抗体または多特異性抗体の調製物を提供する。例えば、これは、2、3 または 4 種のエピトープに係合することができる、F a b もしくは s c F v ドメイン 2 0 2 H 2 と 2 0 2 L 3 および 2 0 2 H 2 と 2 0 2 L 4、または他のいずれかのドメイン並べ替えを有する二特異性抗体であってもよい。

20

【0 1 1 5】

本開示の T S L P 結合抗体および断片は、T S L P に特異的に結合する十分な能力を保持する抗原結合性断片を包含する。T S L P 結合性断片は、本明細書で使用される場合、抗体のいずれか 3 個またはそれよりも多い連続的アミノ酸（例えば、4 個もしくはそれよりも多い、5 個もしくはそれよりも多い、6 個もしくはそれよりも多い、8 個もしくはそれよりも多い、またはさらには 1 0 個もしくはそれよりも多い連続的アミノ酸）を含むことができ、F a b、F a b'、F (a b') 2 および F (v) 断片、あるいは個々の軽もしくは重鎖可変領域またはその部分を包含する。これらの断片は、無傷抗体の F c 断片を欠如し、無傷抗体よりも急速に循環から排除され、より低い非特異的組織結合を有することができる。これらの断片は、周知方法を使用して、例えば、パパイン（F a b 断片を産生するため）またはペプシン（F (a b') 2 断片を産生するため）等の酵素によるタンパク質分解性切断によって、無傷抗体から産生することができる。

30

【0 1 1 6】

本開示の T S L P 結合抗体および断片は、V H および V L ドメインが単一ポリペプチド鎖上に発現されるが、同じ鎖上の 2 個のドメインの間の対形成を可能にするには短すぎるリンカーを使用しており、これにより、ドメインを別の鎖の相補的ドメインと対形成させ、2 個の抗原結合部位を創出する、二価抗体であるダイアボディを包含することもできる。

40

【0 1 1 7】

本開示の T S L P 結合抗体および断片は、T S L P に結合する単鎖抗体断片（s c F v）を包含することもできる。s c F v は、抗体軽鎖可変領域（V L）に作動可能に連結した抗体重鎖可変領域（V H）を含み、重鎖可変領域および軽鎖可変領域は、一緒にまたは個々に、T S L P に結合する結合部位を形成する。このような T S L P 結合性断片は、例えば、抗体分子の重および軽鎖の可変部分ならびにアミノ酸 G l y および S e r で構成されている可撓性タンパク質リンカーの合成または P C R 媒介性増幅等、当技術分野で公知の方法によって調製することができる。その結果得られる D N A 断片は、E . c o l i ま

50

たは哺乳動物細胞における発現のためにクローニングされる。発現された T S L P 結合性断片は、宿主細胞から精製される。

【0118】

本開示の T S L P 結合抗体および断片は、2本の重鎖および2本の軽鎖を含む全長抗体を包含する。例示的なヒトまたはヒト化抗体は、I g G、I g M、I g E、I g A および I g D 抗体を含む。本抗体は、いずれかのクラス (I g G、I g M、I g E、I g G A、I g D 等) またはアイソタイプのものであってもよい。例えば、ヒト抗体は、アイソタイプ I g G 1、I g G 2、I g G 3 または I g G 4 のうち少なくとも1種等、I g G F c ドメインを含むことができる。

【0119】

一部の事例では、I g G F c ドメインは、配列番号17としての I g G 1 F c 配列に対して少なくとも70%、少なくとも75%、少なくとも80%、少なくとも85%、少なくとも90%、少なくとも95%、少なくとも98%、少なくとも99%または100%アミノ酸配列同一性を有するアミノ酸配列を含む。

【0120】

一部の事例では、I g G F c ドメインは、配列番号18としての I g G 2 F c 配列に対して少なくとも70%、少なくとも75%、少なくとも80%、少なくとも85%、少なくとも90%、少なくとも95%、少なくとも98%、少なくとも99%または100%アミノ酸配列同一性を有するアミノ酸配列を含む。

【0121】

一部の事例では、I g G F c ドメインは、配列番号19としての I g G 3 F c 配列に対して少なくとも70%、少なくとも75%、少なくとも80%、少なくとも85%、少なくとも90%、少なくとも95%、少なくとも98%、少なくとも99%または100%アミノ酸配列同一性を有するアミノ酸配列を含む。

【0122】

一部の事例では、I g G F c ドメインは、配列番号20としての I g G 4 F c 配列に対して少なくとも70%、少なくとも75%、少なくとも80%、少なくとも85%、少なくとも90%、少なくとも95%、少なくとも98%、少なくとも99%または100%アミノ酸配列同一性を有するアミノ酸配列を含む。

【0123】

S 2 2 8 P 変異を I g G 4 抗体中に作製して、I g G 4 安定性を増強することができる。

【0124】

I g G 1 F c (配列番号17) :

【化17】

KVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEV
KFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALP
APIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPEN
NYKTTTPVLDSGDSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

【0125】

I g G 2 F c (配列番号18) :

【化18】

TVERKCCVECPAPPVAGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVQFNW
YVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTFRVSVLTVVHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPAPIEKT
ISKTKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTP
PMLDSGDSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

10

20

30

40

50

【0126】

IgG₃ F_c (配列番号19) :

【化19】

RVELKTPLGDTTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPE
VKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKAL
PAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPE
NNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSVSMHEALHNHYTQKSLSLSPG
K

10

【0127】

IgG₄ F_c (配列番号20)

【化20】

RVESKYGPPCPSCPAPEFLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSQEDPEVQFN
WYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIE
KTISKAKGQPREPQVYTLPPSQEEMITKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYK
TTTPVLDSDGSFFLYSRLTVDKSRWQEGNVFSVSMHEALHNHYTQKSLSLSLGK

20

【0128】

本抗TSLP抗体は、改変されたF_c領域を含むことができ、改変されたF_c領域は、野生型F_c領域と比べて少なくとも1個のアミノ酸改変を含む。一部の実施形態では、本抗TSLP抗体は、改変されたF_c領域を備えており、この場合、天然に存在するF_c領域は、生物学的環境において親野生型抗体と比較して抗体の半減期、例えば、血清半減期または*in vitro*アッセイによって測定される半減期を延長するように改変されている。

【0129】

単独でまたは組み合わせて作製することができる例示的な変異は、T250Q、M252Y、I253A、S254T、T256E、P257I、T307A、D376V、E380A、M428L、H433K、N434S、N434A、N434H、N434F、H435AおよびH435R変異、または前記F_c変異がない対照と比べて増強された循環抗体半減期を有するF_c)のC末端へのアルブミン結合ペプチドの融合である。

30

【0130】

ある特定の実施形態では、半減期の延長は、配列番号21としてのIgG₁ F_cにおけるM252Y/S254T/T256E変異を操作することにより実現することができ、残基ナンバリングはEUインデックスに従う(Dall'Acqua, Kiener et al., 2006)。

【0131】

ある特定の実施形態では、半減期の延長は、配列番号22としてのIgG₁ F_cにおけるM428L/N434S変異を操作することにより実現することもできる(Zallevsky, Chamberlain et al., 2010)。

40

【0132】

ある特定の実施形態では、半減期の延長は、配列番号23としてのIgG₁ F_cにおけるT250Q/M428L変異を操作することにより実現することもできる(Hinton, Xiong et al., 2006)。

【0133】

ある特定の実施形態では、半減期の延長は、配列番号24としてのIgG₁ F_cにおけるN434A変異を操作することにより実現することもできる(Shields, Namenuk et al., 2001)。

50

【0134】

ある特定の実施形態では、半減期の延長は、配列番号25としてのIgG₁ F_cにおけるT307A/E380A/N434A変異を操作することにより実現することもできる(Petkova, Akillesh et al. 2006)。

【0135】

抗体半減期の延長におけるF_c操作の効果は、ネイティブIgG F_cを有する抗体と比べて、マウスのPK試験において評価することができる。

【0136】

M252Y/S254T/T256E変異を有するIgG₁ F_c (配列番号21)

【化21】

KVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLYITREPEVTCVVVDVSHEDPEV
KFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALP
APIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPEN
NYKTTTPVLDSGDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

10

【0137】

M428L/N434S変異を有するIgG₁ F_c (配列番号22)

【化22】

KVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEV
KFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALP
APIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPEN
NYKTTTPVLDSGDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSVLEALHSHYTQKSLSLSPGK

20

【0138】

T250Q/M428L変異を有するIgG₁ F_c (配列番号23)

【化23】

KVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDQLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEV
KFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALP
APIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPEN
NYKTTTPVLDSGDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSVLEALHNHYTQKSLSLSPGK

30

【0139】

N434A変異を有するIgG₁ F_c (配列番号24)

【化24】

KVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEV
KFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALP
APIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPEN
NYKTTTPVLDSGDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSVMHEALHAHYTQKSLSLSPGK

40

【0140】

T307A/E380A/N434A変異を有するIgG₁ F_c (配列番号25)

50

【化 2 5】

KVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEV
KFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLAVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALP
APIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVAWESNGQPEN
NYKTTTPVLDSGDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCFSVMHEALHAHYTQKSLSLSPGK

【0141】

一部の実施形態では、本抗 T S L P 抗体は、改変された F_c 領域を備えており、この場合、天然に存在する F_c 領域は、残基 222～237（E U ナンバリング）の間でまたは当該残基において野生型抗体を切断するプロテアーゼによるタンパク質分解に対する抗体の抵抗性を増強するように改変されている。

10

【0142】

ある特定の実施形態では、抗体またはその抗原結合性断片は、F_c の下部ヒンジ領域（例えば、I g G 1 F_c の残基 222～237 と等価）に変異をさらに含み、内在性タンパク質分解活性を有する環境において、ネイティブ I g G 1 抗体と比べて増加したプロテアーゼ抵抗性（例えば、MMP-3、MMP-7、MMP-12、MMP-13、カテプシン G、ペプシン、I d e S または G l u V 8 による分解に対する抵抗性）を可能にする。

【0143】

ある特定の実施形態では、タンパク質分解に対する抵抗性は、配列番号 26 として、親野生型抗体と比較して、ヒンジ領域において E 233 P / L 234 V / L 235 A 変異と G 236 欠失を操作することにより実現することができ、残基ナンバリングは E U インデックスに従う（Kinder, Greenplate et al. 2013）。

20

【0144】

E 233 P / L 234 V / L 235 A 変異を有し、G 236 が欠失された I g G 1 F_c（配列番号 26）

【化 2 6】

KVEPKSCDKTHTCPPCPAPPVAGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVK
FNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPA
PIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENN
YKTTTPVLDSGDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCFSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

30

【0145】

エフェクター機能性が所望されない場合、本開示の抗体は、活性化 F_c γ 受容体（F_c γ R）への抗体の結合を低下させる、および／または C 1 q 結合、補体依存性細胞傷害（CDC）、抗体依存性細胞媒介性細胞傷害（ADCC）もしくはファゴサイトーシス（ADCP）等の F_c エフェクター機能を低下させる、少なくとも 1 個の変異を抗体 F_c に導入するようにさらに操作することができる。

40

【0146】

活性化 F_c γ R への抗体の結合を低下させ、その後、エフェクター機能を低下させるために変異され得る F_c 位置は、例えば、（Xu, Alegre et al. 2000）（Vafa, Gilliland et al. 2014）（Bolt, Routledge et al. 1993）（Chu, Vostiar et al. 2008）（Shields, Namenuk et al. 2001）に記載されている位置である。最小の ADCC、ADCP、CDC、F_c 媒介性細胞活性化を伴う F_c 変異は、I g G 1、I g G 2 および I g G 4 のためのシグマ変異としても記載された（Tam, McCarthy et al. 2017）。

【0147】

50

単独でまたは組み合わせて作製することができる例示的な変異は、IgG₁、IgG₂、IgG₃またはIgG₄におけるK214T、E233P、L234V、L234A、G236欠失、V234A、F234A、L235A、G237A、P238A、P238S、D265A、S267E、H268A、H268Q、Q268A、N297A、A327Q、P329A、D270A、Q295A、V309L、A327S、L328F、A330SおよびP331S変異である。

【0148】

ADCCを低下させるために作製され得る例示的な組合せ変異は、IgG₁におけるL234A/L235A、IgG₂におけるV234A/G237A/P238S/H268A/V309L/A330S/P331S、IgG₄におけるF234A/L235A、IgG₄におけるS228P/F234A/L235A、IgG₁、IgG₂、IgG₃またはIgG₄におけるN297A、IgG₂におけるV234A/G237A、IgG₁におけるK214T/E233P/L234V/L235A/G236欠失/A327G/P331A/D365E/L358M、IgG₂におけるH268Q/V309L/A330S/P331S、IgG₁におけるS267E/L328F、IgG₁におけるL234F/L235E/D265A、IgG₁におけるL234A/L235A/G237A/P238S/H268A/A330S/P331S、IgG₄におけるS228P/F234A/L235A/G237A/P238S、およびIgG₄におけるS228P/F234A/L235A/G236欠失/G237A/P238Sである。IgG₂由来の残基117～260およびIgG₄由来の残基261～447を有するFc等、ハイブリッドIgG₂/4 Fcドメインを使用することもできる。

【0149】

一部の実施形態では、本抗TSLP抗体は、改変されたFc領域を備えており、この場合、天然に存在するFc領域は、Fcヘテロ二量体化による二特異性抗体の作製を容易にするように改変されている。

【0150】

ある特定の実施形態では、Fcヘテロ二量体化は、2種の親抗体におけるF405LおよびK409R変異を操作すること、ならびにFabアーム交換として公知のプロセスにおける二特異性抗体の作製により実現することができる(Labrijn, Meesters et al., 2014)。

【0151】

ある特定の実施形態では、Fcヘテロ二量体化は、ノブ・イン・ホール(Knob-in-Hole)戦略を容易にするためのFc変異によって実現することもできる(例えば、国際公開番号WO2006/028936を参照)。小型の側鎖を有するアミノ酸(ホール)が、一方のFcドメインに導入され、大型の側鎖を有するアミノ酸(ノブ)が、他方のFcドメインに導入される。2本の重鎖の同時発現後に、「ノブ」を有する重鎖と「ホール」を有する重鎖との優先的相互作用の結果として、ヘテロ二量体が形成される(Ridgway, Presta et al., 1996)。

【0152】

ノブおよびホールを形成する例示的なFc変異対は、T366Y/F405A、T366W/F405W、F405W/Y407A、T394W/Y407T、T394S/Y407A、T366W/T394S、F405W/T394SおよびT366W/T366S/L368A/Y407Vである。

【0153】

ある特定の実施形態では、Fcヘテロ二量体化は、静電的にマッチした相互作用戦略を容易にするためのFc変異によって実現することもできる(Gunasekaran, Pentony et al., 2010)。変異は、米国特許公開番号US2010/0015133；米国特許公開番号US2009/0182127；米国特許公開番号US2010/028637または米国特許公開番号US2011/0123532に記載されている通り、一方のFcドメインに正に荷電した残基を、他方のFcドメインに負に荷

電した残基を作製するように操作することができる。重鎖ヘテロ二量体化は、2個の変異したFcの間の静電的にマッチした相互作用によって形成することができる。

【0154】

保存的改変をさらに含む本開示の抗体は、本開示の範囲内にある。

【0155】

「保存的改変」は、アミノ酸配列を含有する抗体の結合特徴に有意に影響を与えることも変更することもないアミノ酸改変を指す。保存的改変は、アミノ酸置換、付加および欠失を含む。保存的置換は、アミノ酸が、同様の側鎖を有するアミノ酸残基に置き換えられる置換である。同様の側鎖を有するアミノ酸残基のファミリーは、十分に定義されており、酸性側鎖（例えば、アスパラギン酸、グルタミン酸）、塩基性側鎖（例えば、リシン、アルギニン、ヒスチジン）、非極性側鎖（例えば、アラニン、バリン、ロイシン、イソロイシン、プロリン、フェニルアラニン、メチオニン）、無電荷極性側鎖（例えば、グリシン、アスパラギン、グルタミン、システイン、セリン、スレオニン、チロシン、トリプトファン）、芳香族側鎖（例えば、フェニルアラニン、トリプトファン、ヒスチジン、チロシン）、脂肪族側鎖（例えば、グリシン、アラニン、バリン、ロイシン、イソロイシン、セリン、スレオニン）、アミド（例えば、アスパラギン、グルタミン）、ベーター分枝側鎖（例えば、スレオニン、バリン、イソロイシン）および硫黄含有側鎖（システイン、メチオニン）を有するアミノ酸を含む。さらに、アラニンスキニング変異誘発について以前に記載された通り（MacLennan, Rice et al. 1998）; (Sasaki and Sutoh 1998)）、ポリペプチドにおけるいずれかのネイティブ残基をアラニンに置換することもできる。本開示の抗体に対するアミノ酸置換は、公知方法によって、例えば、PCR変異誘発によって行うことができる（米国特許第4,683,195号）。その代わりに、バリエーションのライブラリーは、例えば、ランダム（NNK）または非ランダムコドン、例えば、11種のアミノ酸（Ala、Cys、Asp、Glu、Gly、Lys、Asn、Arg、Ser、Tyr、Trp）をコードするDVKコドンを使用して作製することができる。その結果得られる抗体バリエーションは、本明細書に記載されているアッセイを使用して、その特徴について検査することができる。

【0156】

本開示の抗体は、グリコシル化、異性化、脱グリコシルまたは天然に存在しない共有結合性改変、例えば、ポリエチレングリコール部分の付加（ペグ化）および脂質付加等のプロセスによって翻訳後改変することができる。このような改変は、*in vivo*または*in vitro*で発生し得る。例えば、本開示の抗体は、ポリエチレングリコールにコンジュゲート（PEG化）して、その薬物動態プロファイルを改善することができる。コンジュゲーションは、当業者にとって公知の技法によって実行することができる。PEGと治療抗体のコンジュゲーションは、機能に干渉することなく、薬力学を増強することが示された（Leong, DeForge et al. 2001、Yang, Basu et al. 2003、Knight, Jordan et al. 2004）。

【0157】

本開示の抗体は、安定性、選択性、交差反応性、親和性、免疫原性または他の望ましい生物学的もしくは生物物理学的特性を改善するように改変することができ、これは、本開示の範囲内にある。抗体の安定性は、（1）その固有の安定性に影響を与える個々のドメインのコアパッキング、（2）HCおよびLC対形成に影響を与えるタンパク質／タンパク質界面相互作用、（3）極性および荷電残基の埋没、（4）極性および荷電残基のためのH結合ネットワーク；ならびに（5）分子内および分子間力の中でもとりわけ表面電荷および極性残基分布を含む、いくつかの因子によって影響される（Worn and Pluckthun 2001）。潜在的な構造不安定化残基は、抗体の結晶構造に基づき、またはある特定の事例では分子モデリングによって同定することができ、抗体安定性における残基の効果は、同定された残基に変異を有するバリエーションを作製し評価することにより検査することができる。抗体安定性を増加させる仕方の1つは、示差走査熱量測定（DSC）によって測定される熱転移中点（ T_m ）を上昇させることである。一般に、タンパ

ク質 T_m は、その安定性と相関し、タンパク質がアンフォールドする傾向に依存する、アンフォールディングおよび溶液中の変性および分解プロセスに対するその感受性と逆相関する (Remmelle and Gombotz 2000)。いくつかの研究は、DSC により熱安定性として測定される製剤の物理的安定性および他の方法により測定される物理的安定性のランキングの間の相関を見出した (Maa and Hsu 1996、Remmelle, Nightlinger et al. 1997、Gupta and Kaisheva 2003、Bedu-Addo, Johnson et al. 2004、Zhang, Roy et al. 2004)。製剤研究は、Fab T_m が、対応する mAb の長期物理的安定性に意味を有することを示唆する。

【0158】

本開示の抗体は、製造および薬物安定性を改善する、Fc 領域におけるアミノ酸置換を有することができる。IgG₁ についての例は、ラジカルにより誘導される切断を遮断する、ヒンジ 221-DKTHTC-226 (Eu ナンバリング) における H224S (または H224Q) であり (Yates, Gunasekaran et al. 2010) ; IgG₄ については、S228P 変異が、半抗体 (half-antibody) 交換を遮断する (Angal, King et al. 1993、Labrijn, Buijsse et al. 2009)。

【0159】

抗 TSLP 抗体の発現および精製

本開示の抗 TSLP 抗体および断片は、単一の核酸 (例えば、抗体の軽および重鎖ポリペプチドをコードするヌクレオチド配列を含む単一の核酸) によって、またはそれぞれが抗体もしくは抗体断片の異なる部分をコードする 2 種もしくはそれよりも多い別々の核酸によってコードされ得る。

【0160】

非限定的な例として、本開示は、202H2 と IgG2 Fc に基づく抗 TSLP ヒト化抗体重鎖をコードする配列番号 27 としての核酸配列、202L3 に基づく抗 TSLP 抗体軽鎖配列をコードする配列番号 28 としての核酸配列、および 202L4 に基づく抗 TSLP 抗体軽鎖配列をコードする配列番号 29 としての核酸配列を提供する。

【0161】

202H2 と IgG2 Fc に基づく抗 TSLP ヒト化抗体重鎖のためのヌクレオチド配列 (配列番号 27)

【化 27-1】

```
caagtgcagctgggtgcagtcgggagccgaggtgaagaagcccggtccagcgtgaaggtgagctgcaaagcctccggctacaccttca  
gcagctactgggtgaactgggtcagacaagcccgccaaggactggagtggaattggccagatctatcccggcgacggcgacaccga
```

10

20

30

40

50

【化 2 7 - 2】

ttacgccagaagttccaaggcagagccacactgaccgccgacaagtccaccagcaccgectacatggagctgagctctctgaggagcg
aggataccgccgtgtacttctgctagaggcaccactactacaacaactactacggcaccgactactggggccaaggcaccaccgtgacgg
tgagcagcgccagcaccaaggggcccatccgtcttcccccctggccccttgctccagaagcaactccgagagcacagccgcccctcggatgt
ctgggtgaaagactacttccccgagcctgtgaccgtgagctggaacagcgggcgccctgacaagcggcgtgcatacctttccctgcccgtgctgc
agagcagcgggcctgtactccctgtccagcgtggtgaccgtgcccagcagcaatttcggcaccagacctacacctgtaacgtggatcaca
agccctccaacaccaaagtggacaagaccgtggagagggaagtgtgtgtggaatgccccctgtctgcccctcccgtggctggcccca
ggctgttccctcttccctccaagcccaaggacacccatgatcagcagaacaccggaggtgacctgcgtggtggagcgtgtcccacga
ggaccccagggtgcagttcaactgtgtacgtggacggcggtggaggtgcacaacgccaagaccaagcccaggaggagcagttcaattcc
accttcagggtgtgagcgtgctgaccgtgggtgcaccaggactggctgaacggcaaggagtacaagtgcagggtgagcaacaagggcc
tgcccgcccccatgaaaagaccatttcaaaaaccaaaggccagcccaggaggccccagggtgtacacactgccccccagcagagagga
gatgacaaagaaccaggtgagcctgacatgcctgtgtaagggctttaccctagcgacatcgctgtggagtgggagagcaacggccagc
ccgagaacaactacaagacaacccctcccatgctggattccgatggctccttcttctgtactccaagctgaccgtggacaagagcaggtg
gcagcaggggcaacgtgttctcctgttccgtgatgcatgaggccctgcacaaccactacacccagaagtccctgagcctgagccccggcaa
g

10

20

【0 1 6 2】

2 0 2 L 3 に基づく抗 T S L P ヒト化抗体軽鎖のためのヌクレオチド配列（配列番号 2 8）

【化 2 8】

gatatccagctgaccagagccccagcttctgagcgtagcgtgggagacagagtgacctcacatgcagcgtgtccagcagcatcagc
agcagcaatctgcactggfaccagcagaagcccggaaggcccccaagccttgatctacggaaccagcaatctggccagcggcgtgc
ctagcagattttccggatccggaagcggcaccgaglacacactgacctcagctctctgcagcccgaagacgcgcgtacctactactgcca
gcagtgagcagctacacctctgacctcggccaaggcaccaagctggagatcaagcgtacgggtggctgcacctctgtctcatcttcccg
ccatctgatgagcagttgaaatctggaactgcctctgtgtgtgcctgtgaataacttctatcccagagaggccaaagtacagtggaaagggtg
gataacgccctccaatcgggtaactccaggagagtgtcacagagcaggacagcaaggacagcacctacagcctcagcagcacctga
cgctgagcaaaagcagactacgagaaacaaagtctacgcctgcgaagtacccatcaggccctgagctcggccgtcacaaagagcttc
aacagggggagagttgt

30

【0 1 6 3】

2 0 2 L 4 に基づく抗 T S L P ヒト化抗体軽鎖のためのヌクレオチド配列（配列番号 2 9）

【化 2 9 - 1】

gagatcgtgctgaccagagccccgattccagtcctgaccccccaaggagaagggtgacattacatgctccgtgagcagcagcatcagc
agcagcaatctgcactggfaccagcagaagcccgatcagagcccccaagccttgatttacggcacaagcaatctggccagcggagtgcc

40

50

【化 2 9 - 2】

ctccagattcagcggcagcgggaagcggcaccgactacacactgaccatcaactctctggaggcggaggatgccgccactactactgcc
agcagtggagcagctaccctctgaccttggccaaggcaccgaagctggaaatcaagcgtacgggtggctgcaccatctgtcttcatcttccg
ccatctgatgagcagttgaaatctggaactgcctctgtgtgtgctgctgaataacttctatcccagagaggccaaagtacagtgggaagggtg
gataacgccctccaatcgggtaactcccaggagagtggtcacagagcaggacagcaaggacagcacctacagcctcagcagcacctga
cgctgagcaaagcagactacgagaaacacaaagtctacgcctgcgaagtcacccatcaggggcctgagctcggccgtcacaagagcttc
aacagggggagagtgt

10

【0 1 6 4】

核酸は、ベクター、例えば、核酸発現ベクターおよび／または標的化ベクターに挿入することができる。このようなベクターは、様々な仕方で、例えば、細胞またはトランスジェニック動物における抗 T S L P 結合抗体または抗体断片の発現のために使用することができる。ベクターは典型的に、ベクターが使用されることになる宿主細胞において機能的となるように選択される。抗 T S L P 結合抗体または断片をコードする核酸分子は、原核、酵母、昆虫（バキュロウイルス系）および／または真核宿主細胞において増幅／発現され得る。宿主細胞の選択は、一部には、抗 T S L P 結合抗体または断片が、翻訳後改変（例えば、グリコシル化および／またはリン酸化）されるか否かに依存するであろう。そうされるべきである場合、酵母、昆虫または哺乳動物宿主細胞が好ましい。発現ベクターは典型的に、次の構成成分のうち 1 種または複数を含む：プロモーター、1 種または複数のエンハンサー配列、複製起点、転写終結配列、ドナーおよびアクセプタープライス部位を含む完全イントロン配列、分泌のためのリーダー配列、リボソーム結合部位、ポリアデニル化配列、発現されるべきポリペプチドをコードする核酸を挿入するためのポリリンカー領域、ならびに選択可能マーカーエレメント。

20

【0 1 6 5】

大部分の事例では、リーダーまたはシグナル配列は、抗 T S L P 抗体または断片の N 末端において操作されて、その分泌をガイドする。宿主細胞からの抗 T S L P 抗体または断片の分泌は、抗体または断片からのシグナルペプチドの除去をもたらすであろう。よって、成熟抗体または断片は、いかなるリーダー配列もシグナル配列も欠如するであろう。真核宿主細胞発現系においてグリコシル化が所望される場合等、一部の事例では、グリコシル化または収量を改善するための様々なプレ配列を操作することができる。例えば、シグナルペプチドのペプチダーゼ切断部位を変更することができる、または同様にグリコシル化に影響を与え得るプロ配列を付加することができる。

30

【0 1 6 6】

本開示はさらに、本開示の核酸またはベクターを含む細胞（例えば、単離または精製された細胞）を提供する。細胞は、本開示の核酸またはベクターにより形質転換されて、それによってコードされるポリペプチドを産生することができるいずれかの型の細胞であってもよい。抗 T S L P 結合抗体または断片を発現させるために、上述の通りに得られる部分的または全長軽および重鎖をコードする DNA は、遺伝子が転写および翻訳制御配列に操作可能に連結されるように、発現ベクターに挿入される。

40

【0 1 6 7】

単離された細胞に核酸およびベクターを導入する方法、ならびに *in vitro* での形質転換宿主細胞の培養および選択の方法は、当技術分野で公知であり、塩化カルシウム媒介性形質転換、形質導入、コンジュゲーション、三親交配 (*triparental mating*)、DEAE、デキストラン媒介性トランスフェクション、感染、リボソームによる膜融合、DNA コーティングされた微小発射体 (*microprojectile*) による高速衝突 (*bombardment*)、単一細胞への直接的マイクロインジェクション、および電気穿孔の使用を含む。

【0 1 6 8】

50

細胞に本開示の核酸またはベクターを導入した後に、細胞は、コードされた配列の発現に適した条件下で培養される。次に、抗体、抗原結合性断片または抗体の部分を、細胞から単離することができる。

【0169】

ある特定の実施形態では、抗TSLP結合抗体またはその抗原結合性断片と一緒にコードする2種またはそれよりも多いベクターを、細胞に導入することができる。

【0170】

細胞培地に分泌された抗TSLP結合抗体または断片の精製は、親和性、免疫親和性またはイオン交換クロマトグラフィー、分子ふるいクロマトグラフィー、調製用ゲル電気泳動または等電点電気泳動、クロマトフォーカシング、および高圧液体クロマトグラフィーを含む種々の技法を使用して達成することができる。例えば、Fc領域を含む抗体は、Fc領域に選択的に結合するプロテインAによる親和性クロマトグラフィーによって精製することができる。

【0171】

抗体または抗原結合性断片の改変形態は、そのカルボキシルまたはアミノ末端のいずれかにおける、ヘキサヒスチジン、またはFLAG (Eastman Kodak Co., New Haven, Conn.) もしくはmyc (Invitrogen) 等の他の小型のペプチド等の親和性タグにより調製し、1ステップ親和性カラムによって精製することができる。例えば、ポリヒスチジンは、優れた親和性および特異性でニッケルに結合し、よって、ニッケルの親和性カラム (Qiagen (登録商標) ニッケルカラム等) は、ポリヒスチジンタグが付いた選択的結合剤の精製に使用することができる。一部の事例では、2以上の精製ステップを用いることができる。

【0172】

抗体または抗原結合性断片の改変形態は、そのカルボキシルまたはアミノ末端のいずれかにおける、ヘキサヒスチジン、またはFLAG (Eastman Kodak Co., New Haven, Conn.) もしくはmyc (Invitrogen) 等の他の小型のペプチド等の親和性タグにより調製し、1ステップ親和性カラムによって精製することができる。例えば、ポリヒスチジンは、優れた親和性および特異性でニッケルに結合し、よって、ニッケルの親和性カラム (Qiagen (登録商標) ニッケルカラム等) は、ポリヒスチジンタグが付いた選択的結合剤の精製に使用することができる。一部の事例では、2以上の精製ステップを用いることができる。

【0173】

TSLP

胸腺間質性リンパ球新生因子、TSLPは、アレルギー性炎症に関係付けられるサイトカインファミリーに属する上皮細胞由来タンパク質である (Cianferoni and Spergel 2014)。これは、線維芽細胞、上皮細胞および異なる上皮様細胞等の非造血細胞によって主に産生され、抗原提示細胞の活性化によるT細胞集団の成熟における重要な役割を果たす。TSLPは、炎症促進性刺激に応答して産生され、主にTヘルパー (Th) 2サイトカイン産生のための樹状細胞における影響によって、アレルギー性炎症性応答を駆動する。

【0174】

ヒトTSLPは、2種のアイソフォームを有する。長い形態のTSLP、lfTSLPは、心臓、肝臓および前立腺を含むいくつかの組織において発現され、単球からのT細胞誘引性ケモカインの放出を誘導し、CD11c-樹状細胞の成熟を増強する。これは、マスト細胞を直接的に活性化することにより、アレルギー性炎症を誘導することができる (Reche, Soumelis et al. 2001, Zhang and Zhou 2012)。アイソフォーム2は、短い形態のTSLP、sfTSLPであり、口腔粘膜、皮膚のケラチノサイトおよび唾液腺において優勢な形態であり、抗菌ペプチドとして機能することができる (Bjerkkan, Sonesson et al. 2016)。ヒトTSLPは、染色体5q22.1にマッピングされる (Quentmeier, D

rexler et al. 2001)。

【0175】

l f T S L P のアミノ酸配列は、配列番号30として提供され、そのうち最初の28アミノ酸は、シグナルペプチドを構成し、Y29～Q159が、成熟形態である。s f T S L P のアミノ酸配列は、配列番号31として提供される。

【0176】

長い形態のT S L P、l f T S L P のためのアミノ酸配列（配列番号30）

【化30】

MFPFALLYVLSVSFRKIFILQLVGLVLTVDFTNCDFEKIKAAYLSTISKDLITYMSGTKST
EFNNTVSCSNRPHCLTEIQSLTFNPTAGCASLAKEMFAMKTKAALAIWCPCGYSETQINA
TQAMKKRRKRKVTTNKCLEQVSQLQGLWRRFNRPLLKQQ

10

【0177】

短い形態のT S L P、s f T S L P のためのアミノ酸配列（配列番号31）

【化31】

MFAMKTKAALAIWCPCGYSETQINATQAMKKRRKRKVTTNKCLEQVSQLQGLWRRFNR
PLLKQQ

20

【0178】

T S L P 受容体 (T S L P R) は、低親和性でT S L P に結合し、ヘマトポエチン受容体ファミリーのメンバーである (Park, Martin et al. 2000)。IL-7 受容体アルファ鎖 (IL-7 R α) およびT S L P R の組合せは、三元複合体を形成するためのT S L P の高親和性結合に要求される (Verstraete, van Schie et al. 2014)。三元複合体は、細胞増殖およびシグナル伝達に必要である。

【0179】

T S L P の結合後に、S T A T 5 リン酸化が誘導され、下流転写因子の発現をもたらす。初期結果は、T S L P R 複合体におけるT S L P 係合が、検出可能なJ A K 活性化を伴わずにS T A T 5 を活性化することを示唆するが、近年の結果は、それぞれIL-7 R α およびT S L P R 鎖に結合するJ A K 1 およびJ A K 2 が、T S L P 媒介性S T A T 5 活性化に要求されることを実証する (Rochman, Kashyap et al. 2010)。ERK1、2 およびp70S6Kの活性化等、多くのサイトカインによって刺激される他のシグナル伝達経路は、T S L P 活性に関与しない (Quentmeier, Drexler et al. 2001)。

30

【0180】

マウスおよびヒトT S L P の間の相同性は43%であり、T S L P R については39%であり、種間に交差反応性はない。マウスおよびヒトT S L P の間ならびにマウスおよびヒトT S L P R の間の不十分なアミノ酸配列同一性にもかかわらず、両方の種におけるT S L P のその受容体への高親和性結合がIL-7 R α を要求するという事実は、ヒトT S L P およびT L P L R が、マウスT S L P およびT S L P R のオルソログであることを示唆する。よって、マウスモデルが、キメラヒトT S L P およびヒトT S L P R トランスジェニックマウス系統の使用を含む、様々な生物学的研究のために使用された (Francis, Milford et al. 2016)。

40

【0181】

T S L P 発現は、喘息 (Ying, O'Connor et al. 2005)、炎症性関節炎 (Koyama, Ozawa et al. 2007)、炎症性腸疾患 (Park, Jeong et al. 2017)、アトピー性皮膚炎 (Ebner, Nguyen et al. 2007)、湿疹、好酸球性食道炎および他のアレルギー性状態

50

(Soumelis and Liu 2004)、(Soumelis, Reche et al. 2002)を含む多くの病状に関連する。TSLP産生の機構および産生を遮断する潜在的な物質の理解は、これらの状態を予防または処置するためのより良い方法を可能にすることができる。よって、TSLPの標的化は、喘息およびTh2サイトカイン媒介性炎症性障害に関与する複数の生物学的経路を阻害することができる(Gauvreau, O'Byrne et al. 2014)。

【0182】

抗TSLP抗体の結合および機能活性

本開示は、他の抗原に対するよりも優れた親和性で、TSLPに選択的に結合する抗TSLPモノクローナル抗体または抗体断片を包含する。抗TSLPモノクローナル抗体および断片は、ヒトTSLPに選択的に結合することができるが、非ヒトTSLPにも検出可能に結合する。その代わりにまたはその上、TSLP結合抗体および抗体断片は、組換えヒトTSLPおよび内在性ヒトTSLPに対して同じまたは実質的に同じ効力を有することができる。

【0183】

*in vitro*および細胞に基づくアッセイは、TSLP抗体のその標的への結合の決定における使用のために当技術分野で十分に記載されている。例えば、TSLPのその受容体への結合は、TSLP結合抗体を固定化し、固定化された抗体によりTSLPを隔絶し、TSLPが抗体に結合されているか否かを決定し、可溶性形態の受容体を結合されたTSLP／抗体複合体と接触させ、可溶性受容体が複合体に結合されているか否かを決定することにより、決定することができる。プロトコールは、TSLP抗体との接触前に、可溶性受容体を固定化された抗体と接触させて、可溶性受容体が固定化された抗体に結合しないことを確認するステップを含むこともできる。このプロトコールは、結合相互作用の動態解析のためのBiacore（登録商標）機器を使用して行うことができる。このようなプロトコールを用いて、抗体または他の分子が、TSLPのその受容体への結合を許容するかまたは遮断するかを決定することもできる。

【0184】

他のTSLP／受容体結合アッセイのため、その受容体へのTSLP結合の許容または遮断は、TSLP抗体またはそのTSLP結合性断片の存在または非存在下でTSLPのその受容体への結合を比較することにより決定することができる。遮断は、対応する緩衝液または希釈剤を含有するが、TSLP抗体またはそのTSLP結合性断片を含有しない対照試料と比較して、抗TSLP抗体またはそのTSLP結合性断片の存在下における、その受容体へのTSLP結合の指定された低下としてアッセイ読み取り値において同定される。アッセイ読み取り値は、遮断の存在もしくは非存在を指し示すものとして定性的に検分することができる、または抗体もしくは断片の存在による結合の低下パーセントもしくはは倍数での低下(fold reduction)を指し示すものとして定量的に検分することができる。TSLP結合抗体またはTSLP結合性断片が、その受容体へのTSLP結合を実質的に遮断する場合、その受容体へのTSLP結合は、抗体または断片の非存在下における同じ濃度のTSLPおよびその受容体の結合と比較して、多くとも10分の1、その代わりに多くとも約20分の1、その代わりに多くとも約50分の1、その代わりに多くとも約100分の1、その代わりに多くとも約1000分の1、その代わりに多くとも約10000分の1にまたはそれよりもさらに低下される。

【0185】

本開示に従った使用のための好まれる抗TSLP抗体は一般に、例えば、約10 nMもしくはそれ未満、約5 nMもしくはそれ未満、約1 nMもしくはそれ未満、約500 pMもしくはそれ未満、あるいはより好ましくは、約250 pMもしくはそれ未満、約100 pMもしくはそれ未満、約50 pMもしくはそれ未満、約25 pMもしくはそれ未満、約10 pMもしくはそれ未満、約5 pMもしくはそれ未満、約3 pMもしくはそれ未満、約1 pMもしくはそれ未満、約0.75 pMもしくはそれ未満、約0.5 pMもしくはそれ未満、または約0.3 pMもしくはそれ未満のTSLPに対する平衡結合解離定数(KD

）等、高い親和性（例えば、B I A C O R Eにより決定される）でヒトT S L Pに結合する。

【0186】

本開示の抗体または断片は、例えば、酵素結合免疫吸着アッセイ（E L I S A）によって決定される、約10 nMもしくはそれ未満、約5 nMもしくはそれ未満、約2 nMもしくはそれ未満、約1 nMもしくはそれ未満、約0.75 nMもしくはそれ未満、約0.5 nMもしくはそれ未満、約0.4 nMもしくはそれ未満、約0.3 nMもしくはそれ未満、またはさらには約0.2 nMもしくはそれ未満のE C 5 0で、T S L Pに結合することができる。

【0187】

好ましくは、本開示の抗体または抗体断片は、T S L P以外のいかなる標的とも交差反応しない。例えば、本抗体および断片は、T S L Pに結合することができるが、他のタンパク質には検出可能に結合しない、または他のタンパク質へのその結合と比べて、T S L Pへのその結合において少なくとも約100倍（例えば、少なくとも約150倍、少なくとも約200倍またはさらには少なくとも約250倍）高い選択性を有する。

【0188】

本開示に記載されているT S L P結合抗体または断片によって結合される肝要なアミノ酸残基（エピトープ）は、例えば、P e p S p o t（商標）ペプチドアレイ（J P T P e p t i d e T e c h n o l o g i e s、B e r l i n、G e r m a n y）等のペプチドアレイを使用して決定することができ、それによると、各ペプチドが前のペプチドと11アミノ酸重複する、T S L Pアミノ酸配列全体に及ぶ12種のアミノ酸ペプチドのスクランが、膜上に直接的に合成される。その代わりにまたはそれに加えて、抗体競合実験を行うことができ、このようなアッセイは、当技術分野で周知である。

【0189】

本開示はまた、T S L Pに結合してその生物活性を中和する、中和抗体またはその中和断片を包含する。T S L Pの生物活性の中和は、レポーターアッセイにおけるT S L P刺激性レポーター遺伝子発現等、生物活性の1種または複数の指標のアッセイによって評価することができる。T S L Pの生物活性の中和は、喘息またはアトピー性皮膚炎の動物モデルによってi n v i v oで評価することもできる。好ましくは、本開示のT S L P結合抗体および断片は、T S L Pによって結合されたその受容体のシグナル伝達機能に繋がるT S L Pの生物活性を中和する。

【0190】

本抗体または断片は、T S L Pの生物活性に影響を与えるT S L Pエピトープに特異的に結合する中和抗体または断片であってもよい。本抗体または断片は、T S L Pの中和感受性エピトープに結合することができる。T S L Pの中和感受性エピトープが、本抗体または断片のうち1種によって結合されると、その結果は、エピトープを含有する生物活性の喪失である。

【0191】

ある特定の実施形態では、本開示の抗体またはその断片は、T S L Pの標的化される活性に直接的に関与するT S L Pのエピトープに結合することにより、T S L Pの活性を中和する、阻害する、遮断する、抑止する、低下するかまたはそれに対して干渉することができる。別の実施形態では、本開示の抗体またはその断片は、T S L Pの標的化される活性に直接的に関与しないT S L Pのエピトープに結合することにより、T S L Pの活性を中和する、阻害する、遮断する、抑止する、低下するかまたはそれに対して干渉することができるが、それに結合する抗体または断片は、T S L Pの標的化される活性を立体的にまたはコンフォメーション的に阻害する、遮断する、抑止する、低下するかまたはそれに対して干渉する。さらに別の実施形態では、本開示の抗体またはその断片は、T S L Pの標的化される活性に直接的に関与しないT S L Pのエピトープに結合する（すなわち、非遮断抗体）が、それに結合する抗体または断片は、T S L Pのクリアランスの増強をもたらす。

【0192】

ある特定の実施形態では、抗体またはその抗原結合性断片は、a) T S L P および T S L P R の結合を阻害する； b) T S L P 依存性遺伝子の発現レベルを低下させる； c) T S L P 誘導性細胞増殖を阻害する； d) T S L P 誘導性 S T A T 5 活性化を阻害する； ならびに／または e) 初代ヒト樹状細胞からの T S L P 誘導性 C C L 1 7 産生を阻害する。

【0193】

医薬組成物

本開示に従った使用のための T S L P 結合抗体および抗体断片は、本明細書における方法における使用のために、組成物、特に、医薬組成物において製剤化することができる。このような組成物は、適した担体、例えば、薬学的に許容される作用物質との混合物中に、治療または予防有効量の本開示の T S L P 結合抗体または抗体断片を含む。典型的には、本開示の T S L P 結合抗体および抗体断片は、医薬組成物における製剤化の前に、動物への投与のために十分に精製されている。

10

【0194】

薬学的に許容される作用物質は、担体、賦形剤、希釈剤 (d i l u e n t)、抗酸化剤、保存料、着色剤、矯味矯臭剤および希釈剤 (d i l u t i n g a g e n t)、乳化剤、懸濁化剤、溶媒、フィラー、増量剤、緩衝液、送達ビヒクル、張度剤 (t o n i c i t y a g e n t)、共溶媒、湿潤剤、錯化剤、緩衝化剤、抗菌薬ならびに界面活性物質を含む。

【0195】

組成物は、液体形態または凍結乾燥もしくはフリーズドライ形態であってもよく、1種または複数の凍結保護剤 (l y o p r o t e c t a n t)、賦形剤、界面活性物質、高分子量構造的添加物 (h i g h m o l e c u l a r w e i g h t s t r u c t u r a l a d d i t i v e) および／または増量剤を含むことができる。

20

【0196】

組成物は、非経口投与に適することができる。例示的な組成物は、関節内、皮下、静脈内、筋肉内、腹腔内、脳内 (実質内)、脳室内、筋肉内、眼内、動脈内、病巣内、直腸内、経皮、経口および吸入経路等、当業者に利用できるいずれかの経路による動物への注射または注入に適する。

【0197】

本明細書に記載されている医薬組成物は、産物の局所的濃縮 (例えば、ボーラス、デポ効果)、持続放出および／または特定の局所的環境における増加された安定性もしくは半減期をもたらす様式での制御送達または持続送達のために製剤化することができる。

30

【0198】

使用方法

本抗体および断片は、T S L P 媒介性疾患または医学的状態、例えば、喘息、アレルギー性鼻炎、アトピー性皮膚炎、アレルギーおよびある特定のがんの予防法および処置に有用である。

【0199】

本開示の一態様は、それを必要とする被験体に、治療有効量の対象抗体またはその抗原結合性断片および対象医薬組成物のうちいずれか1種を投与することにより、T h 2 駆動ではない喘息を含む中等度から重度の制御されない喘息を処置する方法を提供する。

40

【0200】

本開示の別の態様は、それを必要とする被験体に、治療有効量の対象抗体またはその抗原結合性断片および対象医薬組成物のうちいずれか1種を投与することにより、全身性硬化症、全身性特発性肺線維症およびケロイド疾患を含む線維性疾患および関連状態を処置する方法を提供する。

【0201】

本開示の別の態様は、それを必要とする被験体に、治療有効量の対象抗体またはその抗原結合性断片および対象医薬組成物のうちいずれか1種を投与することにより、気腫、慢

50

性気管支炎および難治性喘息等の慢性閉塞性肺疾患を処置する方法を提供する。

【0202】

本開示の別の態様は、鼻炎、アトピー性皮膚炎、湿疹、食物アレルギーおよび炎症性腸疾患を含む炎症性疾患に関連する障害を処置する方法であって、それを必要とする被験体に、治療有効量の対象抗体またはその抗原結合性断片および対象医薬組成物のうちいずれか1種を投与するステップを含む方法を提供する。

【0203】

本開示の別の態様は、肺癌、乳癌、膵癌、結腸直腸癌、リンパ芽球性白血病、頭頸部癌を含むある特定のがんを処置する方法であって、それを必要とする被験体に、治療有効量の対象抗体またはその抗原結合性断片および対象医薬組成物のうちいずれか1種を投与するステップを含む方法を提供する。

10

【0204】

本開示のある態様はまた、TSLPのその受容体TLPRへの結合を遮断するための医薬、ならびに／または本明細書に提供されるもの等のTSLP媒介性疾患もしくは医学的状態の予防法および処置のための医薬の製造における、本明細書に提供される抗体またはその抗原結合性断片のいずれかの使用を提供する。本開示のある態様はまた、TSLPのその受容体TLPRへの結合を遮断するための、ならびに／または本明細書に提供されるもの等のTSLP媒介性疾患もしくは医学的状態の予防法および処置のための方法における、提供される抗体またはその抗原結合性断片の使用を提供する。例えば、実施形態では、本開示は、喘息、COPD、特発性肺線維症、アトピー性皮膚炎、湿疹、好酸球性食道炎、炎症性腸疾患、全身性硬化症、全身性特発性肺線維症、ケロイド疾患またはがんを処置するための方法における本明細書に提供される抗体の使用を提供する。

20

【0205】

治療上の使用に加えて、酵素結合免疫吸着アッセイ(Rizos C.V.)、ラジオイムノアッセイ(RIA)または組織の免疫組織化学等の従来のイムノアッセイを使用して、本抗体および断片を診断方法において使用して、TSLP(例えば、血清または血漿等の生体試料における)を検出することができる。

【0206】

生体試料におけるTSLPを検出するための方法は、生体試料を本抗体または断片のうち1種または複数と接触させるステップと、TSLPに結合している抗体もしくは断片、または結合していない抗体もしくは断片のいずれかを検出して、これにより、生体試料におけるTSLPを検出するステップとを含むことができる。抗体または断片は、検出可能な物質で直接的にまたは間接的に標識して、結合しているまたは結合していない抗体の検出を容易にすることができる。適した検出可能な物質は、様々な酵素、補欠分子族、蛍光材料、発光材料および放射性材料を含む。

30

【実施例】

【0207】

次の実施例は、本開示をさらに詳細に記載するために提供されている。これは、本開示の説明を意図しており、限定を意図するものではない。

【0208】

40

(実施例1)

マウス抗TSLP抗体TAVO202についてのTSLP結合親和性

TAVO202は、ハイブリドーマスクリーニングによってマウス抗ヒトTSLP抗体として同定した。ELISAに基づく結合アッセイを用いて、組換えヒトTSLPへのTAVO202結合を評価した。このアッセイにおいて、 $1\mu\text{g/mL}$ 組換えヒトTSLP(R&D Systems)をELISAプレート上にコーティングした。増加する濃度のTAVO202抗体をプレートに加え、その組換えヒトTSLPへの結合をHRPコンジュゲート抗マウス二次抗体によって検出した。TAVO202が、 2.4ng/mL におけるEC50で組換えヒトTSLPに用量依存的に結合したことが観察された(図1A)。

50

【0209】

マウスTSLP (R&D Systems) でプレートをコーティングすることによる同様のELISAアッセイにおいて、マウスTSLPへのTAVO202の結合も評価した。TAVO202は、マウスTSLPに対して有意な結合親和性を示さなかった(図1B)。

【0210】

(実施例2)

TAVO202によるTSLP中和に関する*in vitro*アッセイ

TSLP媒介性細胞増殖アッセイを開発して、TAVO202の機能活性を評価した。このアッセイにおいて、ヒトIL-7受容体アルファ(IL-7R α)およびTSLP受容体(TSLPR)をBAF3マウスプロB細胞に共トランスフェクトした。組換えヒトTSLPをトランスフェクト細胞に添加し、2日後に細胞増殖アッセイにより細胞増殖を定量化した。組換えヒトTSLPが、0.18 ng/mLにおけるEC50で、用量依存的な様式でトランスフェクトBAF3細胞系の増殖を刺激することができることが観察された(図2A)。

【0211】

TAVO202の機能活性を評価するために、増加する濃度のTAVO202を0.5 ng/mLヒトTSLPと共に、IL-7R α およびTSLPRを共トランスフェクトしたBAF3細胞に加えた。TAVO202が、6.6 ng/mLにおけるIC50で、トランスフェクトBAF3細胞増殖の刺激において、TSLP活性を用量依存的に中和することができることが観察された(図2B)。

【0212】

細胞増殖アッセイの他に、TSLP駆動レポーター遺伝子発現アッセイも開発して、TAVO202の機能活性を評価した。STAT5活性化は、TSLPが、その受容体複合体(TSLPR:IL-7R α)に結合しこれを活性化した後には発生する下流事象である。このアッセイにおいて、TSLPR、IL-7R α およびSTAT5ルシフェラーゼレポーター構築物を発現するプラスミドを、HEK293T細胞に一過性にトランスフェクトした。トランスフェクション1日後に、組換えヒトTSLPを添加し、24時間後にTSLP駆動ルシフェラーゼレポーター遺伝子発現を定量化した。ヒトTSLPが、1.4 ng/mLにおけるEC50で、レポーター遺伝子発現を用量依存的に駆動することができることが観察された(図3A)。

【0213】

TAVO202の機能活性を評価するために、増加する濃度のTAVO202を10 ng/mLヒトTSLPと共に、IL-7R α 、TSLPRおよびSTAT5ルシフェラーゼレポーター遺伝子を共トランスフェクトしたHEK293T細胞に加えた。TAVO202が、20 ng/mLのIC50で、レポーター遺伝子発現の刺激において、TSLP活性を用量依存的に中和したことが観察された(図3B)。

【0214】

(実施例3)

マウス抗ヒトTSLP抗体TAVO202のヒト化

マウスCDRをヒト生殖系列足場にグラフトすることにより、マウス抗ヒトTSLP抗体TAVO202をヒト化した。いくつかの肝要なマウス残基を復帰変異によって保存して、免疫原性を最小化しつつ、より高い安定性およびより優れた発現を達成した。TAVO202のため、IGHV1-69*02に基づき1種のヒト化V_Hバリエーション(202H2)を設計し、2個の復帰変異を有するそれぞれIGKV1-9*01およびIGKV6-21*01に基づき202L3および202L4により2種のヒト化V_Lバリエーションを設計した(図4)。2種のヒト化V_Lバリエーションとヒト化V_Hバリエーションとの組合せによって、TAVO6264およびTAVO6265として指定された、IgG2Fcを有する2種のヒト化TAVO202抗体を、それぞれ202L3および202L4と対形成する202H2バリエーションにより作製した(図4)。同様に、TAVO7264および

TAVO7265として指定された、L234F、L235E、D265A、F405L変異を有するIgG1Fcを有する2種のヒト化TAVO202抗体も、それぞれ202L3および202L4と対形成する202H2バリエーションにより作製した。その他に、TAVO9764およびTAVO9765として指定された、L234A、L235A、M428L、N434S変異を有するIgG1Fcを有する2種のヒト化TAVO202抗体も、それぞれ202L3および202L4と対形成する202H2バリエーションにより作製した(図4)。

【0215】

(実施例4)

ヒト化TAVO202の発現および精製

トランスフェクションキットの指示(Thermo Scientific)に従って、TAVO6264、TAVO6265、TAVO7264、TAVO7265、TAVO9764、TAVO9765の重鎖および軽鎖をコードするプラスミドを、Expi293F細胞に共トランスフェクトした。トランスフェクション5日後に細胞をスピンドウンし、上清を0.2μmフィルターに通した。プロテインAアガロースカラム(GE Healthcare Life Sciences)における親和性クロマトグラフィーによって、上清中の発現された抗体の精製を実行した。精製された抗体を、透析によりDPBS、pH7.2に緩衝液交換し、280nmにおけるUV吸光度によってタンパク質濃度を決定した。

【0216】

精製されたヒト化TAVO202抗体をSDS-PAGE解析に付し、TAVO7264およびTAVO7265の例を図5Aおよび図5Bに示した。還元条件下で、全4種の抗体が、予想される分子量を有する重鎖および軽鎖を示した。非還元条件下で、全4種の抗体が、150kDa前後の分子量を有する主要タンパク質バンドとして移動した。精製されたヒト化TAVO202抗体もサイズ排除クロマトグラフィー(SEC)によって評価した。図5Cは、例としての抗体TAVO7264およびTAVO7265のSECプロファイルを明らかにした。

【0217】

(実施例5)

ヒト化TAVO202によるTSLPへの結合

ELISAに基づく結合アッセイを用いて、組換えヒトTSLP抗原に結合するヒト化TAVO202抗体を評価した。このアッセイにおいて、1μg/mL組換えヒトTSLP(R&D Systems)をELISAプレート上にコーティングした。増加する濃度のヒト化TAVO202抗体をプレートに加え、その組換えヒトTSLPへの結合をHRPコンジュゲート抗マウス二次抗体によって検出した。例として、TAVO6264およびTAVO6265が、マウス抗体TAVO202と同様の匹敵する効力で、組換えヒトTSLPに用量依存的に結合したことが観察された(図6A)。

【0218】

カニクイザルTSLPでプレートをコーティングすることによる同様のELISAアッセイにおいて、カニクイザルTSLPにおけるヒト化TAVO202抗体の結合も評価した。TAVO7264またはTAVO7265抗体のいずれも、サルTSLPに結合することができなかった(図6B)。

【0219】

固定化された組換えTSLPへのヒト化抗体の結合をさらに測定するために、Biacoreを使用して、表面プラズモン共鳴(SPR)結合アッセイが行われることになる。このアッセイは、結合親和性を測定することができるだけでなく、結合の動態速度定数および熱力学を測定することもできる。

【0220】

(実施例6)

ヒト化TAVO202抗体によるTSLP中和に関するin vitroアッセイ

T S L P 駆動 S T A T 5 ルシフェラーゼレポーター遺伝子発現アッセイを用いて、ヒト化 T A V O 2 0 2 抗体の機能活性を評価した。増加する濃度の T A V O 6 2 6 4 および T A V O 6 2 6 5 を 1 0 n g / m L ヒト T S L P と共に、I L - 7 R α 、T S L P R および S T A T 5 ルシフェラーゼレポーター遺伝子を共トランスフェクトした H E K 2 9 3 T 細胞に加えた。T A V O 6 2 6 4 および T A V O 6 2 6 5 の両方が、T A V O 2 0 2 に匹敵する I C 5 0 で、レポーター遺伝子発現の刺激において、T S L P 活性を用量依存的に中和することができることが観察された（図 7）。

【0221】

（実施例 7）

ヒト化 T A V O 2 0 2 による T S L P 媒介性樹状細胞活性化の阻害

T S L P は、C C L 1 7 ケモカインの分泌増加により、初代ヒト C D 1 c ⁺ 血液樹状細胞の活性化を刺激することができる。e x v i v o アッセイをセットアップして、活性化された樹状細胞からの T S L P 駆動 C C L 1 7 放出の中和におけるヒト化 T A V O 2 0 2 抗体を評価した。抗 C D 1 c ⁺ 抗体コーティング磁気ビーズ選択（M i l t e n y i B i o t e c）によって、ドナー末梢血単核細胞（P B M C）から C D 1 c ⁺ 樹状細胞を単離した。単離された細胞を組換えヒト T S L P と共にインキュベートし、C C L 1 7 の放出を E L I S A によって定量化した。1 5 n g / m L 組換えヒト T S L P が、4 8 時間インキュベーション後に、活性化された樹状細胞からの数倍増強された C C L 1 7 放出を刺激することができることが観察された。T A V O 7 2 6 4 および T A V O 7 2 6 5 の両方が、T S L P と共に 1 μ g / m L で添加されたときに、活性化された樹状細胞からの T S L P 駆動 C C L 1 7 放出を遮断することができた。図 8 は、2 名の異なるドナーから単離された P B M C によるアッセイの結果を示した。

【0222】

（実施例 8）

延長された半減期および低下されたエフェクター機能のためのヒト化抗体の F_c 操作

ヒト化抗体の P K プロファイルを改善するために、F_c 変異を I g G 1 抗体に導入して、抗体半減期を延長することができる。具体的には、M 4 2 8 L / N 4 3 4 S 変異は、F c R n 結合親和性を増加させることにより抗体半減期を延長することが実証された（B o o t h, R a m a k r i s h n a n e t a l. 2 0 1 8）。さらに、L 2 3 4 A / L 2 3 5 A F_c 変異は、I g G 1 抗体の A D C C および C D C エフェクター機能を消失させることができる（H e z a r e h, H e s s e l l e t a l. 2 0 0 1）。したがって、配列番号 1 6 として示す配列を含む、L 2 3 4 A / L 2 3 5 A / M 4 2 8 L / N 4 3 4 S（A A L S）変異を有する 2 0 2 H 1 に基づくヒト化 I g G 1 重鎖を作製した。この F_c 操作 2 0 2 H 1 重鎖をヒト化 2 0 2 L 3 または 2 0 2 L 4 軽鎖のいずれかと対形成することにより、延長された半減期および低下されたエフェクター機能を有する 2 種のヒト化 T A V O 2 0 2 抗体を作製し、それぞれ T A V O 9 7 6 4 および T A V O 9 7 6 5 として指定した（図 4）。

【0223】

F_c 操作抗体が、改善された F c R n 結合親和性を有するか否かを研究するために、マウス F c R n への T A V O 9 7 6 5 および T A V O 7 2 6 5 による結合を、E L I S A に基づく結合アッセイにおいて評価した。1 μ g / m L 組換えマウス F c R n（R & D S y s t e m s）を E L I S A プレート上にコーティングした。増加する濃度の T A V O 9 7 6 5 および T A V O 7 2 6 5 抗体をプレートに加え、p H 6 . 0 でのそれらの組換え F c R n への結合を H R P コンジュゲート抗ヒト二次抗体によって検出した。F c M 4 2 8 L / N 4 3 4 S 変異を有する T A V O 9 7 6 5 が、このような半減期延長変異を欠如する T A V O 7 2 6 5 よりも約 1 0 倍優れた効力で、F c R n に結合することができることが観察された（図 9）。

【0224】

M 4 2 8 L / N 4 3 4 S 変異が、抗 T S L P 抗体の循環半減期を延長することができるか否かを決定するために、カニクイザル P K モデルにおいて T A V O 9 7 6 5 を検査した

。TAVO9765を4mg/kgの静脈内注入として、0日目の体重に基づき1.0mL/kgの体積で3分間、雄ナীবカニクイザルに投与した。投薬前に、ならびに投薬後1時間、2時間および2、5、9、12、16、21、24、26、29、32、35日目に、全血を採取してEDTA-K2採取管に入れた。3500×gで10分間、4℃における遠心分離によって血漿を分離し、次いで-80℃での貯蔵のために微量遠心管に移した。血漿試料を標準ELISA方法によって測定して、ヒトIgGを検出した。ヤギ抗ヒトIgGは、捕捉抗体であり、HRPコンジュゲートヤギ抗ヒトIgG(H+L)は、検出抗体であった。捕捉および検出抗体の希釈倍率は、それぞれ13,333および30,000であった。Winnonlin 6.4ソフトウェアを使用して、PKデータを、半減期；C₀、AUC、Vdおよびクリアランスについて解析した。TAVO9765の血漿濃度対時間のPKプロファイルを図10に示す。TAVO9765のPKパラメーターは次の通りであった：C₀：131405 ng・mL⁻¹、半減期：26.131日、AUC_{0-t}：1268621 ng・日・mL⁻¹、AUC_{0-inf}：2128728 ng・日・mL⁻¹、クリアランス：1.879 mL・kg⁻¹・日⁻¹、Vd：71.049 mL・kg⁻¹。

【0225】

参考文献

10

20

30

40

50

【化 3 2 - 1】

Angal, S., D. J. King, M. W. Bodmer, A. Turner, A. D. Lawson, G. Roberts, B. Pedley and J. R. Adair (1993). "A single amino acid substitution abolishes the heterogeneity of chimeric mouse/human (IgG4) antibody." Mol Immunol **30**(1): 105-108.

Bedu-Addo, F. K., C. Johnson, S. Jeyarajah, I. Henderson and S. J. Advant (2004). "Use of biophysical characterization in preformulation development of a heavy-chain fragment of botulinum serotype B: evaluation of suitable purification process conditions." Pharm. Res. **21**: 1353-1361.

10

Bjerkas, L., A. Sonesson and K. Schenck (2016). "Multiple Functions of the New Cytokine-Based Antimicrobial Peptide Thymic Stromal Lymphopoietin (TSLP)." Pharmaceuticals **9**(3): 41.

Bleecker, E. R., J. M. FitzGerald, P. Chanez, A. Papi, S. F. Weinstein, P. Barker, S. Sproule, G. Gilmartin, M. Aurivillius, V. Werkstrom and M. Goldman (2016). "Efficacy and safety of benralizumab for patients with severe asthma uncontrolled with high-dosage inhaled corticosteroids and long-acting beta2-agonists (SIROCCO): a randomised, multicentre, placebo-controlled phase 3 trial." Lancet **388**(10056): 2115-2127.

20

Bolt, S., E. Routledge, I. Lloyd, L. Chatenoud, H. Pope, S. D. Gorman, M. Clark and H. Waldmann (1993). "The generation of a humanized, non-mitogenic CD3 monoclonal antibody which retains in vitro immunosuppressive properties." Eur J Immunol **23**(2): 403-411.

Booth, B. J., B. Ramakrishnan, K. Narayan, A. M. Wollacott, G. J. Babcock, Z. Shriver and K. Viswanathan (2018). "Extending human IgG half-life using structure-guided design." MAbs **10**(7): 1098-1110.

30

Castro, M., J. Corren, I. D. Pavord, J. Maspero, S. Wenzel, K. F. Rabe, W. W. Busse, L. Ford, L. Sher, J. M. FitzGerald, C. Katelaris, Y. Tohda, B. Zhang, H. Staudinger, G. Pirozzi, N. Amin, M. Ruddy, B. Akinlade, A. Khan, J. Chao, R. Martincova, N. M. H. Graham, J. D. Hamilton, B. N. Swanson, N. Stahl, G. D. Yancopoulos and A. Teper (2018). "Dupilumab Efficacy and Safety in Moderate-to-Severe Uncontrolled Asthma." New England Journal of Medicine **378**(26): 2486-2496.

40

【化 3 2 - 2】

Castro, M., J. Zangrilli, M. E. Wechsler, E. D. Bateman, G. G. Brusselle, P. Bardin, K. Murphy, J. F. Maspero, C. O'Brien and S. Korn (2015). "Reslizumab for inadequately controlled asthma with elevated blood eosinophil counts: results from two multicentre, parallel, double-blind, randomised, placebo-controlled, phase 3 trials." Lancet Respir Med **3**(5): 355-366.

Chothia, C. and A. M. Lesk (1987). "Canonical structures for the hypervariable regions of immunoglobulins." J Mol Biol **196**(4): 901-917.

Chu, S. Y., I. Vostiar, S. Karki, G. L. Moore, G. A. Lazar, E. Pong, P. F. Joyce, D. E. Szymkowski and J. R. Desjarlais (2008). "Inhibition of B cell receptor-mediated activation of primary human B cells by coengagement of CD19 and FcγRIIb with Fc-engineered antibodies." Mol Immunol **45**(15): 3926-3933.

Cianferoni, A. and J. Spergel (2014). "The importance of TSLP in allergic disease and its role as a potential therapeutic target." Expert Rev Clin Immunol **10**(11): 1463-1474.

Comeau, M. R., T. N. DESMEDT and D. R. Fitzpatrick (2006). Methods and compositions for treating allergic inflammation. **WO 2006023791 A2**.

Comeau, M. R., J. F. Smothers, B. R. P. Yoon and C. Mehlin (2012). Methods of treating TSLP-related inflammatory disorders. **US 8,163,284 B2**

Corren, J., J. R. Parnes, L. Wang, M. Mo, S. L. Roseti, J. M. Griffiths and R. van der Merwe (2017). "Tezepelumab in Adults with Uncontrolled Asthma." New England Journal of Medicine **377**(10): 936-946.

Corren, J. and Ziegler, S.F. (2019). "TSLP: from allergy to cancer." Nature Immunology **20**:1603-1609.

Dall'Acqua, W. F., P. A. Kiener and H. Wu (2006). "Properties of human IgG1s engineered for enhanced binding to the neonatal Fc receptor (FcRn)." J Biol Chem **281**(33): 23514-23524.

Datta, A, Alexander, R, Sulikowski M.G, et.al. (2013) "Evidence for a functional thymic stromal lymphopoietin signaling axis in fibrotic lung disease." J Immunol **191**:4867-79.

De Monte L, et al. (2011). "Intratumor T helper type 2 cell infiltrate correlates with cancer-associated fibroblast thymic stromal lymphopoietin production and reduced survival in pancreatic cancer." J Exp Med. **208**(3):469-478.

10

20

30

40

50

【化 3 2 – 3】

- Ebner, S., V. A. Nguyen, M. Forstner, Y. H. Wang, D. Wolfram, Y. J. Liu and N. Romani (2007). "Thymic stromal lymphopoietin converts human epidermal Langerhans cells into antigen-presenting cells that induce proallergic T cells." *J Allergy Clin Immunol* **119**(4): 982-990.
- Francis, O. L., T. A. Milford, S. R. Martinez, I. Baez, J. S. Coats, K. Mayagoitia, K. R. Concepcion, E. Ginelli, C. Beldiman, A. Benitez, A. J. Weldon, K. Arogyaswamy, P. Shiraz, R. Fisher, C. L. Morris, X. B. Zhang, V. Filippov, B. Van Handel, Z. Ge, C. Song, S. Dovat, R. J. Su and K. J. Payne (2016). "A novel xenograft model to study the role of TSLP-induced CRLF2 signals in normal and malignant human B lymphopoiesis." *Haematologica* **101**(4): 417-426. 10
- Gauvreau, G. M., P. M. O'Byrne, L.-P. Boulet, Y. Wang, D. Cockcroft, J. Bigler, J. M. FitzGerald, M. Boedigheimer, B. E. Davis, C. Dias, K. S. Gorski, L. Smith, E. Bautista, M. R. Comeau, R. Leigh and J. R. Parnes (2014). "Effects of an Anti-TSLP Antibody on Allergen-Induced Asthmatic Responses." *New England Journal of Medicine* **370**(22): 2102-2110.
- Gunasekaran, K., M. Pentony, M. Shen, L. Garrett, C. Forte, A. Woodward, S. B. Ng, T. Born, M. Retter, K. Manchulenko, H. Sweet, I. N. Foltz, M. Wittekind and W. Yan (2010). "Enhancing antibody Fc heterodimer formation through electrostatic steering effects: applications to bispecific molecules and monovalent IgG." *J Biol Chem* **285**(25): 19637-19646. 20
- Gupta, S. and E. Kaisheva (2003). "Development of a multidose formulation for a humanized monoclonal antibody using experimental design techniques." *AAPS PharmSci* **5E8**: 2003.
- Headley MB, Zhou B, Shih WX, Aye T, Comeau MR, Ziegler SF. (2009) "TSLP conditions the lung immune environment for the generation of pathogenic innate and antigen-specific adaptive immune responses." *J Immunol* **182**(3):1641–1647. 30
- Hezareh, M., A. J. Hessel, R. C. Jensen, J. G. van de Winkel and P. W. Parren (2001). "Effector function activities of a panel of mutants of a broadly neutralizing antibody against human immunodeficiency virus type 1." *J Virol* **75**(24): 12161-12168.
- Hinton, P. R., J. M. Xiong, M. G. Johlfs, M. T. Tang, S. Keller and N. Tsurushita (2006). "An engineered human IgG1 antibody with longer serum half-life." *J Immunol* **176**(1): 346-356.
- Kabat, E. A., H. National Institutes of and U. Columbia (1991). *Sequences of proteins of* 40

【化 3 2 - 4】

immunological interest. Bethesda, MD, U.S. Dept. of Health and Human Services, Public Health Service, National Institutes of Health.

Kay, A. B. (2001). "Allergy and Allergic Diseases." New England Journal of Medicine **344**(1): 30-37.

Kinder, M., A. R. Greenplate, K. D. Grugan, K. L. Soring, K. A. Heeringa, S. G. McCarthy, G. Bannish, M. Perpetua, F. Lynch, R. E. Jordan, W. R. Strohl and R. J. Brezski (2013). "Engineered protease-resistant antibodies with selectable cell-killing functions." J Biol Chem **288**(43): 30843-30854.

10

Knight, D. M., R. E. Jordan, M. Kruszynski, S. H. Tam, J. Giles-Komar, G. Treacy and G. A. Heavner (2004). "Pharmacodynamic enhancement of the anti-platelet antibody fab abciximab by site-specific pegylation." Platelets **15**(7): 409-418.

Koyama, K., T. Ozawa, K. Hatsushika, T. Ando, S. Takano, M. Wako, F. Suenaga, Y. Ohnuma, T. Ohba, R. Katoh, H. Sugiyama, Y. Hamada, H. Ogawa, K. Okumura and A. Nakao (2007). "A possible role for TSLP in inflammatory arthritis." Biochemical and Biophysical Research Communications **357**(1): 99-104.

20

Labrijn, A. F., A. O. Buijsse, E. T. van den Bremer, A. Y. Verwilligen, W. K. Bleeker, S. J. Thorpe, J. Killestein, C. H. Polman, R. C. Aalberse, J. Schuurman, J. G. van de Winkel and P. W. Parren (2009). "Therapeutic IgG4 antibodies engage in Fab-arm exchange with endogenous human IgG4 in vivo." Nat Biotechnol **27**(8): 767-771.

Labrijn, A. F., J. I. Meesters, B. E. de Goeij, E. T. van den Bremer, J. Neijssen, M. D. van Kampen, K. Strumane, S. Verploegen, A. Kundu, M. J. Gramer, P. H. van Berkel, J. G. van de Winkel, J. Schuurman and P. W. Parren (2014). "Efficient generation of stable bispecific IgG1 by controlled Fab-arm exchange." Proc Natl Acad Sci U S A **110**(13): 5145-5150.

30

Lefranc, M. P., C. Pommie, M. Ruiz, V. Giudicelli, E. Foulquier, L. Truong, V. Thouvenin-Contet and G. Lefranc (2003). "IMGT unique numbering for immunoglobulin and T cell receptor variable domains and Ig superfamily V-like domains." Dev Comp Immunol **27**(1): 55-77.

Leong, S. R., L. DeForge, L. Presta, T. Gonzalez, A. Fan, M. Reichert, A. Chuntharapai, K. J. Kim, D. B. Tumas, W. P. Lee, P. Gribling, B. Snedecor, H. Chen, V. Hsei, M. Schoenhoff, V.

40

【化 3 2 – 5】

Hale, J. Deveney, I. Koumenis, Z. Shahrokh, P. McKay, W. Galan, B. Wagner, D. Narindray, C. Hebert and G. Zapata (2001). "Adapting pharmacokinetic properties of a humanized anti-interleukin-8 antibody for therapeutic applications using site-specific pegylation." Cytokine **16**(3): 106-119.

Liu, Y. J., V. Soumelis, N. Watanabe, T. Ito, Y. H. Wang, W. Malefyt Rde, M. Omori, B. Zhou and S. F. Ziegler (2007). "TSLP: an epithelial cell cytokine that regulates T cell differentiation by conditioning dendritic cell maturation." Annu Rev Immunol **25**: 193-219.

10

Maa, Y. F. and C. C. Hsu (1996). "Aggregation of recombinant human growth hormone induced by phenolic compounds." Int. J. Pharm. **140**: 155-168.

MacLennan, D. H., W. J. Rice, A. Odermatt and N. M. Green (1998). "Structure-function relationships in the Ca(2+)-binding and translocation domain of SERCA1: physiological correlates in Brody disease." Acta Physiol Scand Suppl **643**: 55-67.

Moret F.M, Hack C.E, van der Wurff-Jacobs KM, Radstake TR, Lafeber FP, van Roon JA. (2014) "Thymic stromal lymphopoietin, a novel proinflammatory mediator in rheumatoid arthritis that potently activates CD1c+ myeloid dendritic cells to attract and stimulate T cells." Arthritis Rheumatol. **66**(5):1176–1184.

20

Ortega, H. G., M. C. Liu, I. D. Pavord, G. G. Brusselle, J. M. FitzGerald, A. Chetta, M. Humbert, L. E. Katz, O. N. Keene, S. W. Yancey and P. Chaney (2014). "Mepolizumab treatment in patients with severe eosinophilic asthma." N Engl J Med **371**(13): 1198-1207.

Park, J. H., D. Y. Jeong, L. Peyrin-Biroulet, M. Eisenhut and J. I. Shin (2017). "Insight into the role of TSLP in inflammatory bowel diseases." Autoimmun Rev **16**(1): 55-63.

30

Park, L. S., U. Martin, K. Garka, B. Gliniak, J. P. Di Santo, W. Muller, D. A. Largaespada, N. G. Copeland, N. A. Jenkins, A. G. Farr, S. F. Ziegler, P. J. Morrissey, R. Paxton and J. E. Sims (2000). "Cloning of the murine thymic stromal lymphopoietin (TSLP) receptor: Formation of a functional heteromeric complex requires interleukin 7 receptor." J Exp Med **192**(5): 659-670.

Pawankar, R. (2014). "Allergic diseases and asthma: a global public health concern and a call to action." World Allergy Organization Journal **7**(1): 1-3.

Petkova, S. B., S. Akilesh, T. J. Sproule, G. J. Christianson, H. Al Khabbaz, A. C. Brown, L. G.

40

【化 3 2 – 6】

- Presta, Y. G. Meng and D. C. Roopenian (2006). "Enhanced half-life of genetically engineered human IgG1 antibodies in a humanized FcRn mouse model: potential application in humorally mediated autoimmune disease." Int Immunol **18**(12): 1759-1769.
- Quentmeier, H., H. G. Drexler, D. Fleckenstein, M. Zaborski, A. Armstrong, J. E. Sims and S. D. Lyman (2001). "Cloning of human thymic stromal lymphopoietin (TSLP) and signaling mechanisms leading to proliferation." Leukemia **15**(8): 1286-1292.
- Piliponsky AM, Lahiri A, Truong, P et al. (2016) "Thymic stromal lymphopoietin improves survival and reduces inflammation in sepsis." Am J Respir Cell Mol Biol. **55**(2): 264-274.
- Reche, P. A., V. Soumelis, D. M. Gorman, T. Clifford, M. Liu, M. Travis, S. M. Zurawski, J. Johnston, Y. J. Liu, H. Spits, R. de Waal Malefyt, R. A. Kastelein and J. F. Bazan (2001). "Human thymic stromal lymphopoietin preferentially stimulates myeloid cells." J Immunol **167**(1): 336-343.
- Remmele, R. L. and W. R. Gombotz (2000). "Differential scanning calorimetry: A practical tool for elucidating stability of liquid biopharmaceuticals." Biopharm. **13**: 36-46.
- Remmele, R. L., N. S. Nightlinger, S. Srinivasan and W. R. Gombotz (1997). "Interleukin-1 receptor (IL-1R) liquid formulation development using differential scanning calorimetry." Pharm. Res. **15**: 200-208.
- Ridgway, J. B., L. G. Presta and P. Carter (1996). "'Knobs-into-holes' engineering of antibody CH3 domains for heavy chain heterodimerization." Protein Eng **9**(7): 617-621.
- Rizos C.V., F. M. E. M. S. (2017). "The role of angiopoietin-like 3 in the metabolism of lipoproteins: therapeutic perspectives." Hell J Atheroscler **8**: 61-66.
- Rochman, Y., M. Kashyap, G. W. Robinson, K. Sakamoto, J. Gomez-Rodriguez, K. U. Wagner and W. J. Leonard (2010). "Thymic stromal lymphopoietin-mediated STAT5 phosphorylation via kinases JAK1 and JAK2 reveals a key difference from IL-7-induced signaling." Proc Natl Acad Sci U S A **107**(45): 19455-19460.
- Rochman, Y. and W. J. Leonard (2008). "Thymic stromal lymphopoietin: a new cytokine in asthma." Curr Opin Pharmacol **8**(3): 249-254.
- Sasaki, N. and K. Sutoh (1998). "Structure-mutation analysis of the ATPase site of

10

20

30

40

50

【化 3 2 – 7】

Dictyostelium discoideum myosin II." *Adv Biophys* **35**: 1-24.

Shields, R. L., A. K. Namenuk, K. Hong, Y. G. Meng, J. Rae, J. Briggs, D. Xie, J. Lai, A. Stadlen, B. Li, J. A. Fox and L. G. Presta (2001). "High resolution mapping of the binding site on human IgG1 for Fc gamma RI, Fc gamma RII, Fc gamma RIII, and FcRn and design of IgG1 variants with improved binding to the Fc gamma R." *J Biol Chem* **276**(9): 6591-6604.

Sokol, C. L., G. M. Barton, A. G. Farr and R. Medzhitov (2008). "A mechanism for the initiation of allergen-induced T helper type 2 responses." *Nat Immunol* **9**(3): 310-318.

10

Soumelis, V. and Y. J. Liu (2004). "Human thymic stromal lymphopoietin: a novel epithelial cell-derived cytokine and a potential key player in the induction of allergic inflammation." *Springer Semin Immunopathol* **25**(3-4): 325-333.

Soumelis, V., P. A. Reche, H. Kanzler, W. Yuan, G. Edward, B. Homey, M. Gilliet, S. Ho, S. Antonenko, A. Lauerma, K. Smith, D. Gorman, S. Zurawski, J. Abrams, S. Menon, T. McClanahan, R. de Waal-Malefyt Rd, F. Bazan, R. A. Kastelein and Y. J. Liu (2002). "Human epithelial cells trigger dendritic cell mediated allergic inflammation by producing TSLP." *Nat Immunol* **3**(7): 673-680.

20

Tam, S. H., S. G. McCarthy, A. A. Armstrong, S. Somani, S. J. Wu, X. Liu, A. Gervais, R. Ernst, D. Saro, R. Decker, J. Luo, G. L. Gilliland, M. L. Chiu and B. J. Scallion (2017). "Functional, Biophysical, and Structural Characterization of Human IgG1 and IgG4 Fc Variants with Ablated Immune Functionality." *Antibodies (Basel)* **6**(3).

Usategui A, Criado G, Izquierdo E et al. (2013) "A profibrotic role for thymic stromal lymphopoietin in systemic sclerosis." *Ann Rheum Dis* **72**:2018-23.

30

Vafa, O., G. L. Gilliland, R. J. Brezski, B. Strake, T. Wilkinson, E. R. Lacy, B. Scallion, A. Teplyakov, T. J. Malia and W. R. Strohl (2014). "An engineered Fc variant of an IgG eliminates all immune effector functions via structural perturbations." *Methods* **65**(1): 114-126.

Vannella, K.M, et al. (2016). "Combinatorial targeting of TSLP, IL-25, and IL-33 in type 2 cytokie-driven inflammation and fibrosis." *Sci. Transl. Med.* **8**(337):337ra65.

Verstraete, K., L. van Schie, L. Vyncke, Y. Bloch, J. Tavernier, E. Pauwels, F. Peelman and S. N. Savvides (2014). "Structural basis of the proinflammatory signaling complex mediated by

40

【化 3 2 - 8】

TSLP." *Nat Struct Mol Biol* **21**(4): 375-382.

Worn, A. and A. Pluckthun (2001). "Stability engineering of antibody single-chain Fv fragments." *J Mol Biol* **305**(5): 989-1010.

Wu, T. T. and E. A. Kabat (1970). "An analysis of the sequences of the variable regions of Bence Jones proteins and myeloma light chains and their implications for antibody complementarity." *J Exp Med* **132**(2): 211-250.

10

Xu, D., M. L. Alegre, S. S. Varga, A. L. Rothermel, A. M. Collins, V. L. Pulito, L. S. Hanna, K. P. Dolan, P. W. Parren, J. A. Bluestone, L. K. Jolliffe and R. A. Zivin (2000). "In vitro characterization of five humanized OKT3 effector function variant antibodies." *Cell Immunol* **200**(1): 16-26.

Yang, K., A. Basu, M. Wang, R. Chintala, M. C. Hsieh, S. Liu, J. Hua, Z. Zhang, J. Zhou, M. Li, H. Phyu, G. Petti, M. Mendez, H. Janjua, P. Peng, C. Longley, V. Borowski, M. Mehlig and D. Filpula (2003). "Tailoring structure-function and pharmacokinetic properties of single-chain Fv proteins by site-specific PEGylation." *Protein Eng* **16**(10): 761-770.

20

Yates, Z., K. Gunasekaran, H. Zhou, Z. Hu, Z. Liu, R. R. Ketchum and B. Yan (2010). "Histidine residue mediates radical-induced hinge cleavage of human IgG1." *J Biol Chem* **285**(24): 18662-18671.

Ying G, Zhang y, Tang G, Chen S. (2015) "Functions of thymic stromal lymphopoietin in non-allergic diseases." *Cell Immunol* **295**:144-9.

Ying, S., B. O'Connor, J. Ratoff, Q. Meng, K. Mallett, D. Cousins, D. Robinson, G. Zhang, J. Zhao, T. H. Lee and C. Corrigan (2005). "Thymic Stromal Lymphopoietin Expression Is Increased in Asthmatic Airways and Correlates with Expression of Th2-Attracting Chemokines and Disease Severity." *The Journal of Immunology* **174**(12): 8183-8190.

30

Zalevsky, J., A. K. Chamberlain, H. M. Horton, S. Karki, I. W. Leung, T. J. Sproule, G. A. Lazar, D. C. Roopenian and J. R. Desjarlais (2010). "Enhanced antibody half-life improves in vivo activity." *Nat Biotechnol* **28**(2): 157-159.

Zhang, Y., S. Roy, L. S. Jones, S. Krishnan, B. A. Kerwin, B. S. Chang, M. C. Manning, T. W. Randolph and J. F. Carpenter (2004). "Mechanism for benzyl alcohol-induced aggregation of

40

【化 3 2 - 9】

recombinant human interleukin-1 receptor antagonist in aqueous solution." J. Pharm. Sci. **93**: 3076-3089.

Zhang, Y. and B. Zhou (2012). "Functions of Thymic Stromal Lymphopoietin in Immunity and Disease." Immunologic Research **52**(3): 211-223.

Zhong, J., J. Sharma, R. Raju, S. M. Palapetta, T. S. K. Prasad, T.-C. Huang, A. Yoda, J. W. Tyner, D. van Bodegom, D. M. Weinstock, S. F. Ziegler and A. Pandey (2014). "TSLP signaling pathway map: a platform for analysis of TSLP-mediated signaling." Database : the journal of biological databases and curation **2014**: bau007-bau007.

Ziegler, S. F., F. Roan, B. D. Bell, T. A. Stoklasek, M. Kitajima and H. Han (2013). "The biology of thymic stromal lymphopoietin (TSLP)." Advances in pharmacology (San Diego, Calif.) **66**: 129-155.

10

20

30

40

50

【図面】
【図 1】

FIGURE 1

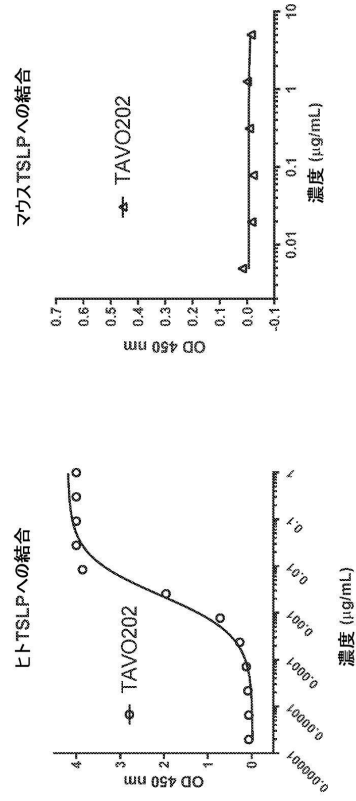


FIGURE 1B

FIGURE 1A

【図 3】

FIGURE 3

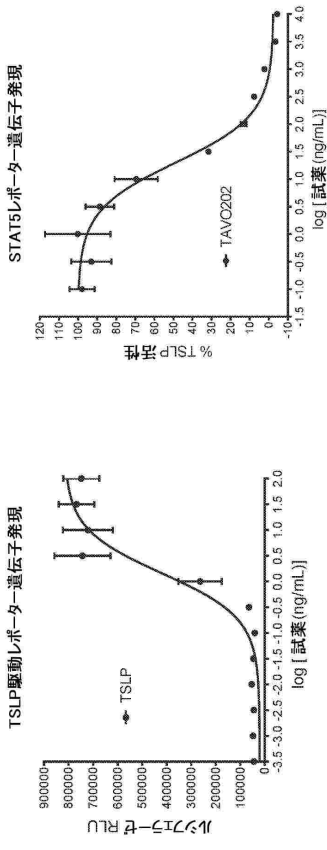


FIGURE 3B

FIGURE 3A

【図 2】

FIGURE 2

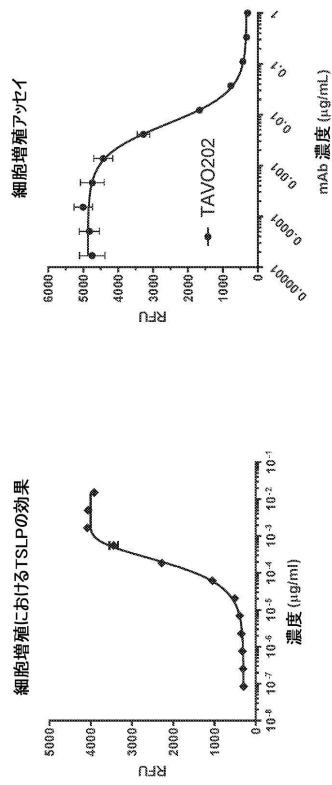
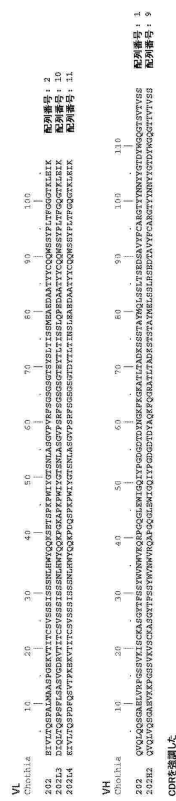


FIGURE 2B

FIGURE 2A

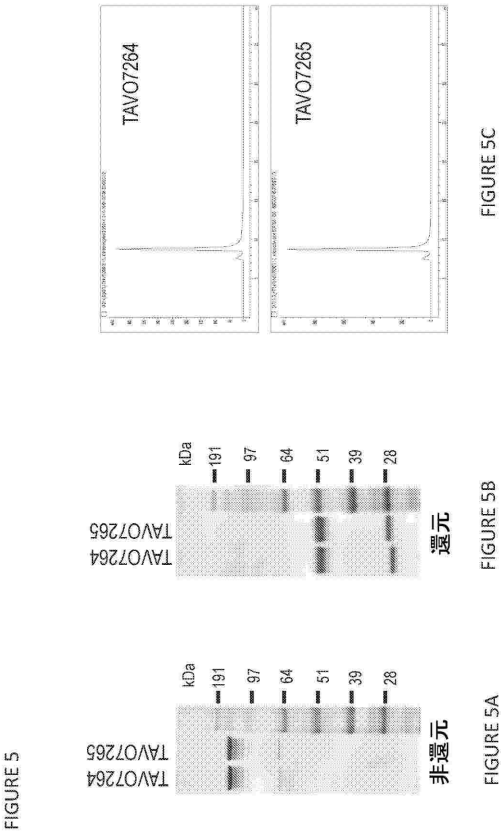
【図 4】

FIGURE 4

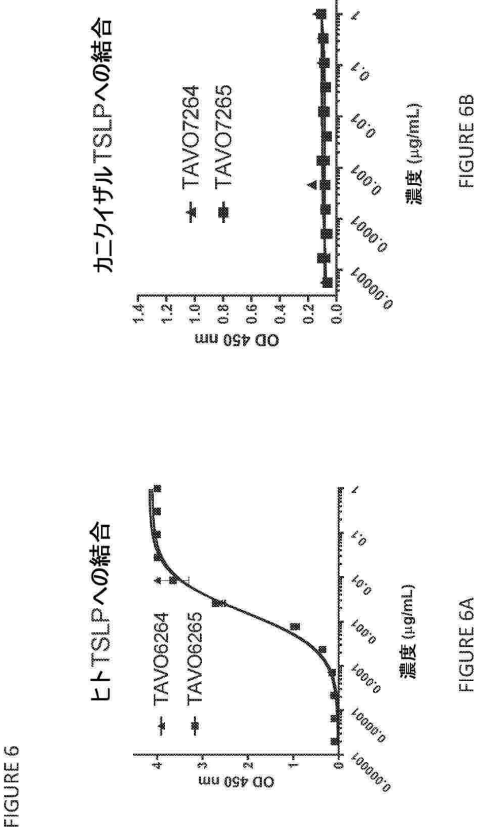


CD4発現した

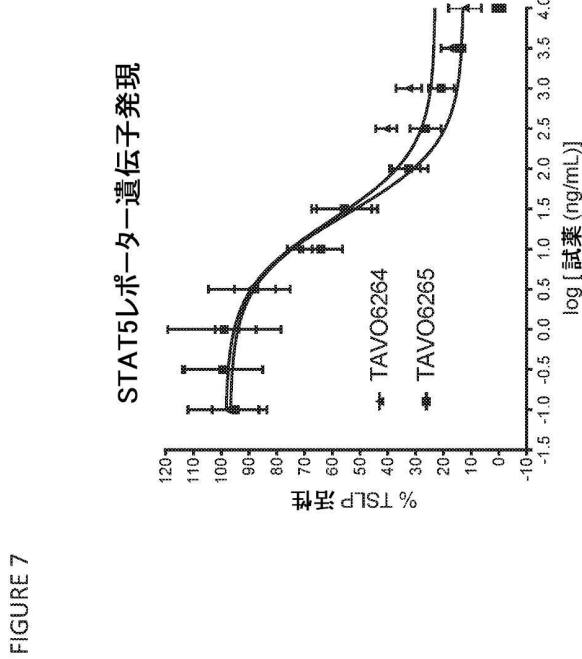
【図 5】



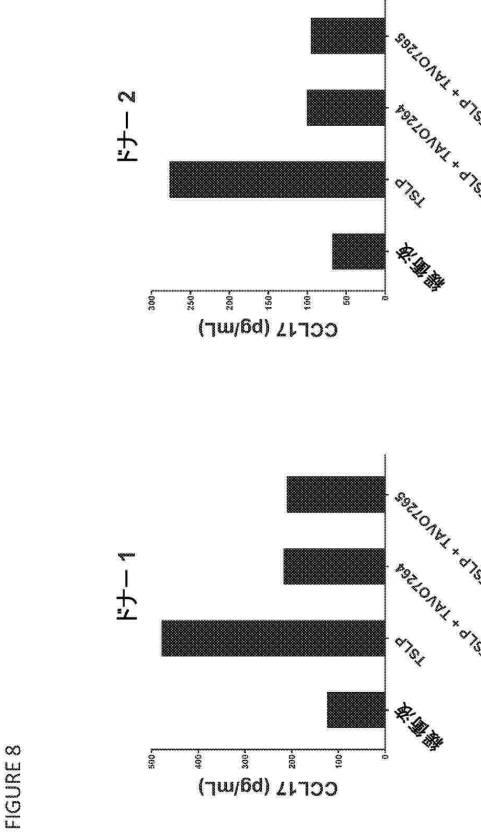
【図 6】



【図 7】



【図 8】



10

20

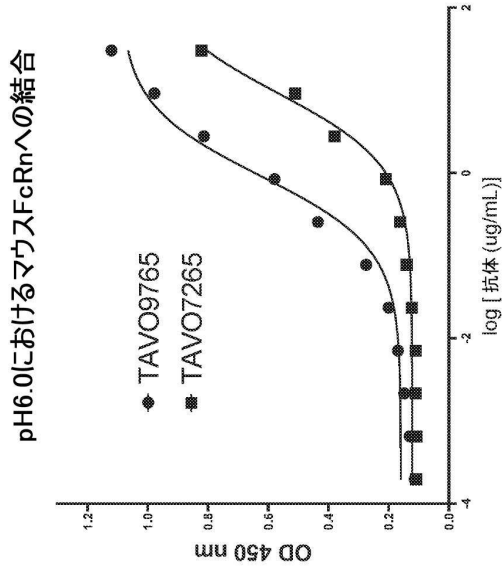
30

40

50

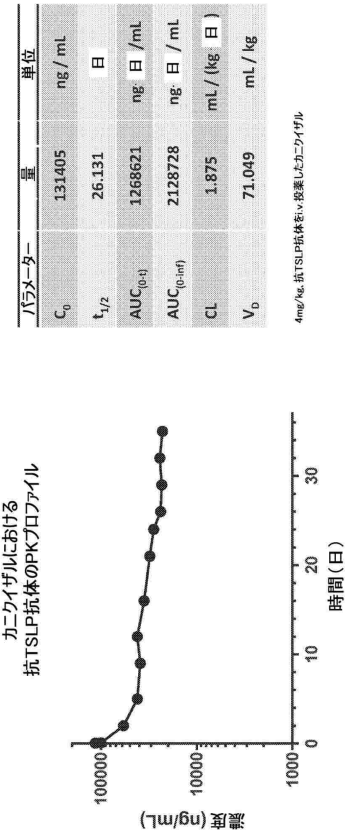
【図 9】

FIGURE 9



【図 10】

FIGURE 10



【配列表】

0007597784000001.app

10

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	1/21 (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	
A 6 1 K	39/395 (2006.01)	A 6 1 K	39/395	U
A 6 1 P	11/06 (2006.01)	A 6 1 P	11/06	
A 6 1 P	11/00 (2006.01)	A 6 1 P	11/00	
A 6 1 P	37/06 (2006.01)	A 6 1 P	37/06	
A 6 1 P	17/02 (2006.01)	A 6 1 P	17/02	
A 6 1 P	17/04 (2006.01)	A 6 1 P	17/04	
A 6 1 P	11/02 (2006.01)	A 6 1 P	11/02	
A 6 1 P	35/00 (2006.01)	A 6 1 P	35/00	
A 6 1 P	35/02 (2006.01)	A 6 1 P	35/02	
A 6 1 P	25/00 (2006.01)	A 6 1 P	25/00	
A 6 1 K	45/00 (2006.01)	A 6 1 K	45/00	

弁理士 石川 大輔

(74)代理人 230113332

弁護士 山本 健策

(72)発明者 タム, スーザン

アメリカ合衆国 ペンシルベニア 1 9 0 6 0, ガーネット バレー, ブルッククロフト レーン
3 7 8 1

(72)発明者 ジャン, ディ

アメリカ合衆国 ニュージャージー 0 8 8 4 4, ヒルズボロー, オーチャード ドライブ 1 1 8 0

(72)発明者 シー, リーファ

アメリカ合衆国 ペンシルベニア 1 9 0 9 6, ワインウッド, ウェイマス ロード 1 2 0 1

(72)発明者 フン, マン-チョン

アメリカ合衆国 ニュージャージー 1 8 5 5 1, リンゴーズ, スターク コート 7

審査官 平林 由利子

(56)参考文献 特表 2 0 1 8 - 5 3 3 9 1 1 (J P, A)

特表 2 0 0 9 - 5 2 7 2 3 5 (J P, A)

国際公開第 2 0 1 8 / 1 9 1 4 7 9 (W O, A 1)

(58)調査した分野 (Int.Cl., D B 名)

C 0 7 K 1 / 0 0 - 1 9 / 0 0

C 1 2 N 1 5 / 0 0 - 1 5 / 9 0

C 1 2 N 1 / 0 0 - 7 / 0 8

C 1 2 P 1 / 0 0 - 4 1 / 0 0

A 6 1 K 3 9 / 0 0 - 3 9 / 4 4

A 6 1 K 4 5 / 0 0 - 4 5 / 0 8

C a p l u s / R E G I S T R Y / M E D L I N E / E M B A S E / B I O S I S (S T
N)

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