

(19)日本国特許庁(JP)

(12)公表特許公報(A)

(11)公表番号

特表2024-532158

(P2024-532158A)

(43)公表日 令和6年9月5日(2024.9.5)

(51)国際特許分類		F I		テーマコード(参考)	
A 6 1 K	39/395 (2006.01)	A 6 1 K	39/395	Y	4 C 0 8 4
A 6 1 K	38/00 (2006.01)	A 6 1 K	38/00		4 C 0 8 5
A 6 1 P	43/00 (2006.01)	A 6 1 P	43/00	1 2 1	4 C 0 8 6
A 6 1 K	45/00 (2006.01)	A 6 1 K	45/00		4 H 0 4 5
A 6 1 K	31/519 (2006.01)	A 6 1 K	31/519		
		審査請求	未請求	予備審査請求	未請求 (全62頁) 最終頁に続く

(21)出願番号	特願2024-509411(P2024-509411)	(71)出願人	510000976
(86)(22)出願日	令和4年8月19日(2022.8.19)		インターベット インターナショナル ベー. フェー.
(85)翻訳文提出日	令和6年4月9日(2024.4.9)		オランダ国、5 8 3 1・アー・エヌ・ボツクスメール、ウイム・ドウ・コルベル
(86)国際出願番号	PCT/EP2022/073147		ストラート・3 5
(87)国際公開番号	WO2023/021171	(74)代理人	100114188
(87)国際公開日	令和5年2月23日(2023.2.23)		弁理士 小野 誠
(31)優先権主張番号	63/235,259	(74)代理人	100119253
(32)優先日	令和3年8月20日(2021.8.20)		弁理士 金山 賢教
(33)優先権主張国・地域又は機関	米国(US)	(74)代理人	100124855
(31)優先権主張番号	63/235,261		弁理士 坪倉 道明
(32)優先日	令和3年8月20日(2021.8.20)	(74)代理人	100129713
(33)優先権主張国・地域又は機関	米国(US)		弁理士 重森 一輝
(81)指定国・地域	AP(BW,GH,GM,KE,LR,LS,MW,MZ,NA)	(74)代理人	100137213
	最終頁に続く		最終頁に続く

(54)【発明の名称】 アトピー性皮膚炎を治療するためのホモ二量体融合タンパク質

(57)【要約】

本発明は、イヌアトピー性皮膚炎を治療するための、イヌインターロイキン - 4 受容体アルファ融合タンパク質およびイヌインターロイキン - 1 3 受容体アルファ 2 融合タンパク質のホモ二量体の組成物を提供する。組成物は、イヌ I L - 3 1 に対するイヌ化抗体またはイヌ I L - 3 1 R に対するイヌ化抗体をさらに含むことができる。

【特許請求の範囲】

【請求項 1】

一对のイヌインターロイキン - 4 受容体アルファ - イヌフラグメント結晶化可能領域融合タンパク質 (c I L - 4 R - c F c 融合タンパク質) を含むホモ二量体と、一对のイヌインターロイキン - 1 3 受容体アルファ 2 - イヌフラグメント結晶化可能領域融合タンパク質 (c I L - 1 3 R 2 - c F c 融合タンパク質) を含むホモ二量体とを含む組成物であって、

前記一对の c I L - 4 R - c F c 融合タンパク質の各々が、イヌインターロイキン - 4 (c I L - 4) に結合するイヌインターロイキン - 4 受容体アルファ (c I L - 4 R) の細胞外ドメイン (E C D) またはそのフラグメントと、第 1 のイヌフラグメント結晶化可能領域 (c F c) とを含み、かつ

10

前記一对の c I L - 1 3 R 2 - c F c 融合タンパク質の各々が、イヌインターロイキン - 1 3 (c I L - 1 3) に結合するイヌインターロイキン - 1 3 受容体アルファ 2 (c I L - 1 3 R 2) の細胞外ドメイン (E C D) またはそのフラグメントと、第 2 の c F c とを含み、

前記第 1 の c F c および前記第 2 の c F c が同じであるか、または異なるかのいずれかである、組成物。

【請求項 2】

前記第 1 の c F c および前記第 2 の c F c が、配列番号 1、配列番号 2、配列番号 3、配列番号 4 または配列番号 5 1 からなる群から選択されるアミノ酸配列と少なくとも 9 0 %、9 5 %、9 9 % または 1 0 0 % の同一性を有するアミノ酸配列を個々に含む、請求項 1 に記載の組成物。

20

【請求項 3】

前記一对の c I L - 4 R - c F c 融合タンパク質の各々が、第 1 のイヌヒンジ領域をさらに含み、前記第 1 のイヌヒンジ領域が、前記 c I L - 4 R の前記 E C D と前記第 1 の c F c との間のリンカーとして作用し、かつ

前記一对の c I L - 1 3 R 2 - c F c 融合タンパク質の各々が、第 2 のイヌヒンジ領域をさらに含み、前記第 2 のイヌヒンジ領域が、前記 c I L - 1 3 R 2 の前記 E C D と前記第 2 の c F c との間のリンカーとして作用し、前記第 1 のイヌヒンジ領域および前記第 2 のイヌヒンジ領域が、同じであるか、または異なるかのいずれかである、請求項 1 または 2 に記載の組成物。

30

【請求項 4】

前記第 1 のイヌヒンジ領域および前記第 2 のイヌヒンジ領域が、配列番号 2 1、配列番号 2 2、配列番号 2 3、および配列番号 2 4 からなる群から選択されるアミノ酸配列と少なくとも 8 5 %、9 0 %、9 5 %、または 1 0 0 % の同一性を有するアミノ酸配列を個々に含む、請求項 3 に記載の組成物。

【請求項 5】

c I L - 4 R の前記 E C D が、配列番号 4 8 のアミノ酸配列と少なくとも 8 5 %、9 0 %、9 5 % または 1 0 0 % の同一性を含む、請求項 1 ~ 4 のいずれか一項に記載の組成物。

40

【請求項 6】

c I L - 1 3 R 2 の前記 E C D が、配列番号 5 0 のアミノ酸配列と少なくとも 8 5 %、9 0 %、9 5 % または 1 0 0 % の同一性を含む、請求項 1 ~ 5 のいずれか一項に記載の組成物。

【請求項 7】

前記第 1 のイヌヒンジ領域が、前記 c I L - 4 R の前記 E C D と前記第 1 の c F c との間の唯一のリンカーとして作用し、かつ前記 c I L - 4 R の前記 E C D と前記第 1 の c F c との間の前記唯一のリンカーが、イヌにおいて天然に見られるタンパク質中のアミノ酸配列 (その天然に存在する変異体を含む) と同一のアミノ酸配列を含む、請求項 3 ~ 6 のいずれか一項に記載の組成物。

50

【請求項 8】

前記第 2 のイヌヒンジ領域が、前記 c I L - 1 3 R 2 の前記 E C D と前記第 2 の c F c との間の唯一のリンカーとして作用し、前記 c I L - 1 3 R 2 の前記 E C D と前記第 2 の c F c との間の前記唯一のリンカーが、イヌにおいて天然に見られるタンパク質中のアミノ酸配列（その天然に存在する変異体を含む）を含む、請求項 3 ~ 7 のいずれか一項に記載の組成物。

【請求項 9】

前記一対の c I L - 4 R - c F c 融合タンパク質の各々が、イヌにおいて天然に見られるタンパク質のアミノ酸配列（その天然に存在する変異体を含む）と同一のアミノ酸配列のみから構成される、請求項 1 ~ 8 のいずれか一項に記載の組成物。

10

【請求項 10】

前記一対の c I L - 1 3 R 2 - c F c 融合タンパク質の各々が、イヌにおいて天然に見られるタンパク質のアミノ酸配列（その天然に存在する変異体を含む）と同一のアミノ酸配列のみから構成される、請求項 1 ~ 9 のいずれか一項に記載の組成物。

【請求項 11】

前記一対の c I L - 4 R - c F c 融合タンパク質の各々が、配列番号 5 のアミノ酸配列と少なくとも 90%、95%、または 99% の同一性を有するアミノ酸配列を含む、請求項 1 ~ 10 のいずれか一項に記載の組成物。

【請求項 12】

前記一対の c I L - 4 R - c F c 融合タンパク質の各々が、配列番号 5、配列番号 8、配列番号 11 および配列番号 12 からなる群から選択されるアミノ酸配列を含む、請求項 11 に記載の組成物。

20

【請求項 13】

前記一対の c I L - 1 3 R 2 - c F c 融合タンパク質の各々が、配列番号 7 のアミノ酸配列と少なくとも 90%、95%、または 99% の同一性を有するアミノ酸配列を含む、請求項 1 ~ 12 のいずれか一項に記載の組成物。

【請求項 14】

前記一対の c I L - 1 3 R 2 - c F c 融合タンパク質の各々が、配列番号 7、配列番号 10 および配列番号 13 からなる群から選択されるアミノ酸配列を含む、請求項 13 に記載の組成物。

30

【請求項 15】

イヌ抗搔痒抗体またはイヌ化抗搔痒抗体をさらに含む、請求項 1 ~ 14 のいずれか一項に記載の組成物。

【請求項 16】

前記イヌ抗搔痒抗体または前記イヌ化抗搔痒抗体が、イヌインターロイキン - 31 (c I L - 31) に対するイヌ化抗体、c I L - 31 に対するイヌ抗体、イヌインターロイキン - 31 R (c I L - 31 R) に対するイヌ化抗体、および c I L - 31 R に対するイヌ抗体からなる群から選択される、請求項 15 に記載の組成物。

【請求項 17】

c I L - 31 に対する前記イヌ化抗体が、
 (i) 配列番号 14 のアミノ酸配列を含む重鎖および配列番号 15 のアミノ酸配列を含む軽鎖、または
 (i i) 配列番号 16 のアミノ酸配列を含む重鎖および配列番号 17 のアミノ酸配列を含む軽鎖、
 を含む、請求項 16 に記載の組成物。

40

【請求項 18】

c I L - 31 R に対する前記イヌ化抗体が、
 (i) 配列番号 26 および配列番号 27 からなる群から選択されるアミノ酸配列を含む重鎖、ならびに配列番号 29、配列番号 30 および配列番号 31 からなる群から選択されるアミノ酸配列を含む軽鎖、

50

(i i) 配列番号 3 3 および配列番号 3 4 からなる群から選択されるアミノ酸配列を含む重鎖、ならびに配列番号 3 6、配列番号 3 7、配列番号 3 8 および配列番号 3 9 からなる群から選択されるアミノ酸配列を含む軽鎖、ならびに

(i i i) 配列番号 4 1、配列番号 4 2 および配列番号 4 3 からなる群から選択されるアミノ酸配列を含む重鎖、ならびに配列番号 4 5、配列番号 4 6 および配列番号 4 7 からなる群から選択されるアミノ酸配列を含む軽鎖、

からなる群から選択される、請求項 1 6 に記載の組成物。

【請求項 1 9】

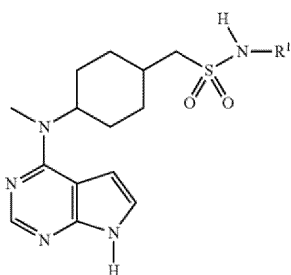
ヤヌスキナーゼ (J A K) 阻害剤、脾臓チロシンキナーゼ (S Y K) 阻害剤、または T H 2 細胞上に発現される化学誘引物質受容体相同分子に対するアンタゴニストからなる群から選択される 1 つ以上の追加の成分をさらに含む、請求項 1 ~ 1 8 のいずれか一項に記載の組成物。

10

【請求項 2 0】

前記 J A K 阻害剤が、以下からなる群から選択される、請求項 1 9 に記載の組成物

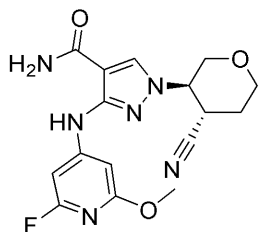
【化 1】



20

(式中、R¹ は、ヒドロキシで置換されていてもよい C₁ ~ 4 アルキルおよびその薬学的に許容され得る塩である)、

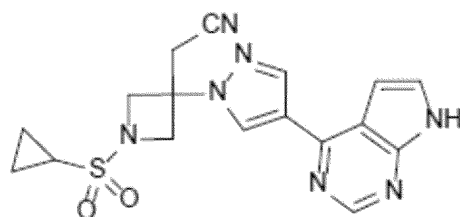
【化 2】



30

およびその薬学的に許容され得る塩、ならびに

【化 3】



40

およびその薬学的に許容され得る塩。

【請求項 2 1】

請求項 1 ~ 2 0 のいずれか一項に記載の組成物を、アトピー性皮膚炎を有するイヌに投与することを含む、アトピー性皮膚炎を治療する方法。

【発明の詳細な説明】

50

【技術分野】

【0001】

配列表

本出願は、XML形式で電子的に提出された配列表を含み、その全体が参照により本明細書に組み込まれる。2022年7月13日に生成されたXMLファイルのファイル名は、「25269 SEQ Listing.xml」となる。EFS-Webを介して提出されたこの配列表は、本明細書の一部であり、その全体が参照により本明細書に組み込まれる。

【0002】

関連出願の相互参照

本出願は、米国仮特許出願第63/235,259号(2021年8月20日出願)および米国特許出願第63/235,261号(2021年8月20日出願)の35 U.S.C. § 119(e)に基づく優先権を主張する。

【0003】

発明の分野

本発明は、イヌインターロイキン-4またはイヌインターロイキン-13に結合する融合タンパク質を含む、イヌにおけるアトピー性皮膚炎を治療するための組成物に関する。組成物は、イヌアトピー性皮膚炎を治療するために使用することができる。

【背景技術】

【0004】

免疫系は、宿主を感染症および癌から保護するために協働して機能する常在および再循環する特殊な細胞のネットワークを含む。免疫系がこの機能を果たす能力は、白血球によって分泌され、まとめてインターロイキンと呼ばれるタンパク質群の生物学的活性に大きく依存する。よく研究されているインターロイキンの中には、インターロイキン-4(IL-4)、インターロイキン-13(IL-13)、およびインターロイキン-31(IL-31)として同定された3つの重要な分子がある。IL-4およびIL-13は、特定の病原体(例えば、組織または管腔内に存在する寄生生物)に対する防御に必要な免疫応答の発生に關与する関連シグナル伝達経路における重要なサイトカインである。しかしながら、これらの2つのサイトカインは、IL-31と共に、アトピー性皮膚炎を含むヒトおよび動物におけるアレルギー性疾患の病因にも關与している。

【0005】

アトピー性皮膚炎(AD)は、再発性の掻痒性および慢性炎症性皮膚疾患であり、ヒトにおける免疫系調節不全および表皮バリア異常を特徴とする。アトピー性皮膚炎の病理学的属性および免疫学的属性は、広範な調査の対象であった[Rahman et al., Inflammation & Allergy - drug target 10:486-496(2011) and Harskamp et al., Seminar in Cutaneous Medicine and Surgery 32:132-139(2013)に概説されている]。アトピー性皮膚炎はまた、コンパニオンアニマル、特にイヌにおける一般的な状態であり、その有病率はイヌ集団の約10~15%であると推定されている。イヌおよびネコにおけるアトピー性皮膚炎の発病[Nuttall et al., Veterinary Records 172(8):201-207(2013)に概説されている]は、ヒトにおけるアトピー性皮膚炎の発病との有意な類似性を示し、これには、様々な免疫細胞による皮膚浸潤、ならびにIL-4、IL-13およびIL-31が優勢であることを含むCD4⁺Th2極性化サイトカイン環境が含まれる。

【0006】

IL-4およびIL-13は、CD4⁺Th2細胞、ナチュラルキラーT細胞(NKT)、マクロファージ、肥満細胞および好塩基球を含む多くの細胞型によって分泌され得る密接に関連したタンパク質である。IL-4およびIL-13は、多くの重複する機能を示し、T細胞依存性体液性免疫応答の発生に重要である。IL-4およびIL-13の両

10

20

30

40

50

方が、アトピー性皮膚炎に關与するシグナル伝達経路の一部である。IL-4は、共通c鎖のモノマー(c)およびIL-4受容体アルファのモノマー(IL-4R)をそれぞれ含むヘテロ二量体受容体に結合し、IL-13は、IL-13受容体アルファ1のモノマー(IL-13R1)およびIL-4Rのモノマーをそれぞれ含むヘテロ二量体受容体に結合する。

【0007】

したがって、Th2サイトカインIL-4、IL-13およびIL-31は、より良好な治療法を開発するための治療介入の対象であった。アトピー性皮膚炎の治療を補助することが証明されているおよび/またはそうすることが約束されていることが証明されている医薬としては、ヤヌスキナーゼ(JAK)阻害剤[例えば、米国特許第8,133,899号;米国特許第8,987,283号;国際公開第2018/108969号;米国特許出願公開第2020/0339585号を参照]、脾臓チロシンキナーゼ(SYK)阻害剤[例えば、米国特許第8,759,366号を参照]、およびTH2細胞上で発現される化学誘引物質受容体相同分子に対するアンタゴニスト[例えば、米国特許第7,696,222号、米国特許第8,546,422号、米国特許第8,637,541号、および米国特許第8,546,422号を参照]を含む。さらに、米国特許出願公開第2020/0048325号は、隣接するIL-13/IL-4受容体融合タンパク質を開示している。これらの融合タンパク質の設計は、IL-13R1とIL-4Rとを、IL-13R1がリンカーと呼ばれる非自己アミノ酸配列によってIL-4Rに連結され、隣接する受容体もまた第2の非自己アミノ酸リンカーを有する融合パートナーに連結され得る隣接した配置で一緒にする。特に、使用されるリンカーは、翻訳後修飾、例えばグリコシル化を受ける可能性も有する。

10

20

【0008】

タンパク質リガンドまたはそのタンパク質受容体のいずれかに結合することによって特定の経路におけるシグナル伝達を遮断するためのモノクローナル抗体の治療的使用は、広く成功していることが証明されている。実際、そのようなモノクローナル抗体は、ヒト生物製剤の急速な成長において重要な役割を果たしており、2017年現在、ヒト生物製剤市場の25%超を主張している。2014年に最も売り上げが高かった20の薬物のうち、6つはモノクローナル抗体であった[Chung, *Experimental & Molecular Medicine* 49:e304; doi:10.1038/emm.2017.46(2017)]。この傾向は成長を続けている。ヒトIL-4受容体アルファ(IL-4R)に対して生じたモノクローナル抗体が開発されており、これらの抗体のいくつかは、ヒトにおけるアトピー性皮膚炎を治療するためのそれらの治療効果について広範囲に試験されている[例えば、米国特許出願公開第2015/0017176号A1を参照]。1つのそのような抗体(デュピルマブ)は、マウス抗体遺伝子をヒト抗体遺伝子で置き換えたトランスジェニックマウスの免疫化によって産生され、したがって、得られた抗体は、例えばヒト化マウス抗体とは対照的にヒト抗体である。

30

【0009】

モノクローナル抗体治療薬のコストが高いため、最初はヒト生物製剤に限定されていたが、最近、生産コストの大幅な削減により、イヌモノクローナル製品が利用可能になった。初期の兆候は、そのようなモノクローナル抗体もコンパニオンアニマル市場において主要な治療薬になる可能性が高いことを示唆している。例えば、ヒトIL-31受容体アルファ(IL-31RA)に対する抗体が試験され、ヒトにおけるアトピー性皮膚炎に關連する掻痒症に対して有意な効果を有することが見出された[Ruzicka, et al., *New England Journal of Medicine*, 376(9), 826-835(2017)]。さらに、イヌIL-31に対する抗体は、イヌにおけるアトピー性皮膚炎に關連する掻痒症に対して有意な効果を有することが示されている[米国特許第8,790,651号;米国特許第10,093,731号]。このイヌ化抗体は、イヌIL-31受容体(cIL-31R)へのcIL-31の結合を遮断し、それにより、cIL-31/cIL-31Rシグナル伝達経路を遮断する。したがって、IL

40

50

- 31 がその受容体 IL-31RA に結合するのを遮断することにより、アトピー性皮膚炎に伴う掻痒症が軽減される。しかしながら、単に cIL-31 / cIL-31R シグナル伝達経路を遮断するだけでは、アトピー性皮膚炎の掻痒作用が改善されるだけであり、イヌ IL-4 (cIL-4) または イヌ IL-13 (cIL-13) / イヌ IL-4 受容体アルファ (cIL-4R) シグナル伝達経路によって引き起こされる付随する皮膚炎を止めることはない。

【0010】

より最近では、イヌ IL-4R に対するイヌ IL-4 の結合を遮断する、イヌ IL-4R に対するイヌ化抗体も開示されている [参照によりその全体が本明細書に組み込まれる米国特許出願公開第 2018/0346580 号 A1]。これらの抗体は、イヌ IL-4R 細胞外ドメイン (ECD) によるコンベンショナルな、すなわち非トランスジェニックマウスの免疫化によって産生された。II 型 IL-4 受容体は IL-4R 鎖および IL-13R 1 鎖からなるため、イヌ IL-4 および イヌ IL-13 の両方が II 型イヌ IL-4 受容体に結合するのを遮断することができ、それによってアトピー性皮膚炎に関連する炎症を遮断するのに役立つ、イヌ IL-4R に対する抗体が得られている。

10

【0011】

しかしながら、アトピー性皮膚炎に関連する掻痒症の治療における最近の成功および関連する炎症の治療に関する最近の有望な開示にもかかわらず、この状態に罹患している多くの対象は、皮膚炎に対する有意な効果を伴う急速な抗掻痒作用の開始を経験していない。したがって、この満たされていない医学的ニーズに対処するための代替療法を設計する必要はある。

20

【0012】

本明細書における任意の参考文献の引用は、そのような参考文献が本出願に対する「従来技術」として利用可能であることの承認として解釈されるべきではない。

【先行技術文献】

【特許文献】

【0013】

【特許文献 1】米国特許第 8,133,899 号

【特許文献 2】米国特許第 8,987,283 号

【特許文献 3】国際公開第 2018/108969 号

30

【特許文献 4】米国特許出願公開第 2020/0339585 号

【特許文献 5】米国特許第 8,759,366 号

【特許文献 6】米国特許第 7,696,222 号

【特許文献 7】米国特許第 8,546,422 号

【特許文献 8】米国特許第 8,637,541 号

【特許文献 9】米国特許出願公開第 2020/0048325 号

【特許文献 10】米国特許出願公開第 2015/0017176 号

【特許文献 11】米国特許第 8,790,651 号

【特許文献 12】米国特許第 10,093,731 号

【特許文献 13】米国特許出願公開第 2018/0346580 号

40

【非特許文献】

【0014】

【非特許文献 1】Rahman et al. Inflammation & Allergy - drug target 10:486-496 (2011)

【非特許文献 2】Harskamp et al., Seminar in Cutaneous Medicine and Surgery 32:132-139 (2013)

【非特許文献 3】Nuttall et al., Veterinary Record s 172(8):201-207 (2013)

【非特許文献 4】Chung, Experimental & Molecular Medicine 49:e304; doi:10.1038/emm.2017.46 (20

50

17)

【非特許文献5】Ruzicka, et al., New England Journal of Medicine, 376(9), 826-835(2017)

【発明の概要】

【0015】

本発明は、アトピー性皮膚炎を治療するために使用され得る組成物を提供する。組成物は、イヌIL-4に結合する融合タンパク質を、イヌIL-13に結合する融合タンパク質と共に含み得る。特有の実施形態では、組成物は、一对のイヌインターロイキン-4受容体アルファ-イヌフラグメント結晶化可能領域融合タンパク質(cIL-4R-cFc融合タンパク質)を含むホモ二量体と、一对のイヌインターロイキン-13受容体アルファ2-イヌフラグメント結晶化可能領域融合タンパク質(cIL-13R₂-cFc融合タンパク質)とを含むホモ二量体とを含み、一对のcIL-4R-cFc融合タンパク質の各々が、イヌインターロイキン-4(cIL-4)に結合するイヌインターロイキン-4受容体アルファ(cIL-4R)またはそのフラグメントの細胞外ドメイン(ECD)と、cFc(本明細書では第1のcFcとして示される)とを含み、cIL-13R₂-cFc融合タンパク質の対の各々が、イヌインターロイキン-13(cIL-13)に結合するイヌインターロイキン-13受容体アルファ2(cIL-13R₂)の細胞外ドメイン(ECD)またはそのフラグメントと、cFc(本明細書では第2のcFcとして示される)とを含む。特定の実施形態では、第1のcFcおよび第2のcFcは、同じである。他の実施形態では、第1のcFcと第2のcFcは、異なる。

【0016】

組成物の特有の実施形態では、第1のcFcは、配列番号1のアミノ酸配列と少なくとも90%、95%、99%、または100%の同一性を有するアミノ酸配列を含む。他の実施形態では、第1のcFcは、配列番号2のアミノ酸配列と少なくとも90%、95%、99%または100%の同一性を有するアミノ酸配列を含む。更なる他の実施形態では、第1のcFcは、配列番号51のアミノ酸配列と少なくとも90%、95%、99%または100%の同一性を有するアミノ酸配列を含む。更に他の実施形態では、第1のcFcは、配列番号3のアミノ酸配列と少なくとも90%、95%、99%または100%の同一性を有するアミノ酸配列を含む。更なる他の実施形態では、第1のcFcは、配列番号4のアミノ酸配列と少なくとも90%、95%、99%または100%の同一性を有するアミノ酸配列を含む。

【0017】

組成物の特定の実施形態では、第2のcFcが、配列番号1のアミノ酸配列と少なくとも90%、95%、99%または100%の同一性を有するアミノ酸配列を含む。他の実施形態では、第2のcFcは、配列番号2のアミノ酸配列と少なくとも90%、95%、99%または100%の同一性を有するアミノ酸配列を含む。更なる他の実施形態では、第2のcFcは、配列番号51のアミノ酸配列と少なくとも90%、95%、99%または100%の同一性を有するアミノ酸配列を含む。更に他の実施形態では、第2のcFcは、配列番号3のアミノ酸配列と少なくとも90%、95%、99%または100%の同一性を有するアミノ酸配列を含む。更に他の実施形態では、第2のcFcは、配列番号4のアミノ酸配列と少なくとも90%、95%、99%または100%の同一性を有するアミノ酸配列を含む。特有の実施形態では、第1のcFcおよび第2のcFcは、同じである。他の実施形態では、第1のcFcと第2のcFcは、異なる。

【0018】

組成物の特定の実施形態では、cIL-4R-cFc融合タンパク質は、イヌヒンジ領域(本明細書では第1のイヌヒンジ領域として示される)をさらに含む。関連する実施形態では、cIL-13R₂-cFc融合タンパク質は、イヌヒンジ領域(本明細書では第2のイヌヒンジ領域として示される)をさらに含む。特有の実施形態では、第1のイヌヒンジ領域と第2のイヌヒンジ領域とは同じである。他の実施形態では、第1のイヌヒンジ領域と第2のイヌヒンジ領域とは異なる。イヌヒンジ領域は、cIL-4RのEC

Dと第1のc F cとの間のリンカーとして、およびc I L - 1 3 R 2のE C Dと第2のc F cとの間のリンカーとして作用することができる。

【0019】

組成物の特有の実施形態では、第1のイヌヒンジ領域は、配列番号21のアミノ酸配列と少なくとも85%、90%、95%、または100%の同一性を有するアミノ酸配列を含む。他の実施形態では、第1のイヌヒンジ領域は、配列番号22のアミノ酸配列と少なくとも85%、90%、95%、または100%の同一性を有するアミノ酸配列を含む。更に他の実施形態では、第1のイヌヒンジ領域は、配列番号23のアミノ酸配列と少なくとも85%、90%、95%、または100%の同一性を有するアミノ酸配列を含む。更なる他の実施形態では、第1のイヌヒンジ領域は、配列番号24のアミノ酸配列と少なくとも85%、90%、95%、または100%の同一性を有するアミノ酸配列を含む。

10

【0020】

組成物の特定の実施形態では、第2のイヌヒンジ領域は、配列番号21のアミノ酸配列と少なくとも85%、90%、95%、または100%の同一性を有するアミノ酸配列を含む。他の実施形態では、第2のイヌヒンジ領域は、配列番号22のアミノ酸配列と少なくとも85%、90%、95%、または100%の同一性を有するアミノ酸配列を含む。更なる他の実施形態では、第2のイヌヒンジ領域は、配列番号23のアミノ酸配列と少なくとも85%、90%、95%、または100%の同一性を有するアミノ酸配列を含む。更なる他の実施形態では、第1のイヌヒンジ領域は、配列番号24のアミノ酸配列と少なくとも85%、90%、95%、または100%の同一性を有するアミノ酸配列を含む。特有の実施形態では、第1のイヌヒンジ領域と第2のイヌヒンジ領域とは同じである。他の実施形態では、第1のイヌヒンジ領域と第2のイヌヒンジ領域とは異なる。

20

【0021】

特有の実施形態では、イヌヒンジ領域およびc F cは両方ともI g G A由来である。他の実施形態では、イヌヒンジ領域およびc F cは両方ともI g G Bに由来する。更に他の実施形態では、イヌヒンジ領域およびc F cは両方ともI g G C由来である。更に他の実施形態では、イヌヒンジ領域およびc F cは両方ともI g G D由来である。

【0022】

組成物の特定の実施形態では、c I L - 4 R のE C Dは、配列番号48のアミノ酸配列と少なくとも85%、90%、95%、または100%の同一性を含む。他の実施形態では、c I L - 1 3 R 2のE C Dは、配列番号50のアミノ酸配列と少なくとも85%、90%、95%、または100%の同一性を含む。さらに他の実施形態では、c I L - 4 R のE C Dは、配列番号48のアミノ酸配列と少なくとも85%、90%、95%または100%の同一性を含み、かつc I L - 1 3 R 2のE C Dは、配列番号50のアミノ酸配列と少なくとも85%、90%、95%または100%の同一性を含む。

30

【0023】

組成物の具体的な実施形態では、c I L - 4 R のE C Dと第1のc F cとの間の唯一のリンカーは、イヌに天然に見られるタンパク質中のアミノ酸配列（その天然に存在する変異体を含む）と同一のアミノ酸配列を含む。関連する実施形態では、第1のイヌヒンジ領域は、c I L - 4 R のE C Dと第1のc F cとの間の唯一のリンカーとして作用する。他の特定の実施形態では、c I L - 1 3 R 2のE C Dと第2のc F cとの間の唯一のリンカーは、イヌに天然に見られるタンパク質中のアミノ酸配列（その天然に存在する変異体を含む）と同一のアミノ酸配列を含む。関連する実施形態では、第2のイヌヒンジ領域は、c I L - 1 3 R 2のE C Dと第2のc F cとの間の唯一のリンカーとして作用する。

40

【0024】

組成物のより具体的な実施形態では、c I L - 4 R のE C Dと第1のc F cとの間の唯一のリンカーは、イヌにおいて天然に見られるタンパク質（その天然に存在する変異体を含む）中のアミノ酸配列と同一のアミノ酸配列を含み、c I L - 1 3 R 2のE C Dと第2のc F cとの間の唯一のリンカーは、イヌにおいて天然に見られるタンパク質（その

50

天然に存在する変異体を含む)中のアミノ酸配列と同一のアミノ酸配列を含む。関連する実施形態では、第1のイヌヒンジ領域は、c I L - 4 R の E C D と第1の c F c との間の唯一のリンカーとして作用し、第2のイヌヒンジ領域は、c I L - 1 3 R 2 の E C D と第2の c F c との間の唯一のリンカーとして作用する。

【0025】

組成物の特有の実施形態では、c I L - 4 R - c F c 融合タンパク質は、イヌにおいて天然に見られるタンパク質(その天然に存在する変異体を含む)アミノ酸配列と同一のアミノ酸配列のみから構成される。関連する実施形態では、c I L - 1 3 R 2 - c F c 融合タンパク質は、イヌにおいて天然に見られるタンパク質(その天然に存在する変異体を含む)アミノ酸配列と同一のアミノ酸配列のみから構成される。具体的な実施形態では、c I L - 4 R - c F c 融合タンパク質および c I L - 1 3 R 2 - c F c 融合タンパク質の両方は、イヌにおいて天然に見られるアミノ酸配列のみから構成され、その天然に存在する変異体を含む。

10

【0026】

組成物の特定の実施形態では、c I L - 4 R - c F c 融合タンパク質は、配列番号5のアミノ酸配列と少なくとも90%、95%、または99%の同一性を有するアミノ酸配列を含む。特有の実施形態では、c I L - 4 R - c F c 融合タンパク質は、配列番号5のアミノ酸配列を含む。他の実施形態では、c I L - 4 R - c F c 融合タンパク質は、配列番号8のアミノ酸配列を含む。更なる他の実施形態では、c I L - 4 R - c F c 融合タンパク質は、配列番号11のアミノ酸配列を含む。更に他の実施形態では、c I L - 4 R - c F c 融合タンパク質は、配列番号12のアミノ酸配列を含む。

20

【0027】

組成物の具体的な実施形態では、c I L - 1 3 R 2 - c F c 融合タンパク質は、配列番号7のアミノ酸配列と少なくとも90%、95%、または99%の同一性を有するアミノ酸配列を含む。特有の実施形態では、c I L - 1 3 R 2 - c F c 融合タンパク質は、配列番号7のアミノ酸配列を含む。他の実施形態では、c I L - 1 3 R 2 - c F c 融合タンパク質は、配列番号10のアミノ酸配列を含む。さらに他の実施形態では、c I L - 1 3 R 2 - c F c 融合タンパク質は、配列番号13のアミノ酸配列を含む。

【0028】

本発明の組成物のいずれも、抗搔痒抗体を更に含むことができる。特有の実施形態では、抗搔痒抗体は、イヌ抗体である。より特有の実施形態では、抗搔痒抗体は、イヌインターロイキン-31(c I L - 3 1)に対するイヌ抗体である。他の実施形態では、抗搔痒抗体は、イヌ化抗体である。特有の実施形態では、イヌ化抗搔痒抗体は、c I L - 3 1 に対する抗体である。より特有の実施形態では、c I L - 3 1 に対するイヌ化抗体は、配列番号14のアミノ酸配列を含む重鎖と、配列番号15のアミノ酸配列を含む軽鎖とを含む。代替的な実施形態では、c I L - 3 1 に対するイヌ化抗体は、配列番号16のアミノ酸配列を含む重鎖と、配列番号17のアミノ酸配列を含む軽鎖とを含む。

30

【0029】

組成物の他の実施形態では、抗搔痒抗体は、イヌインターロイキン-31R(c I L - 3 1 R)に対するイヌ抗体である。特定の実施形態では、抗搔痒抗体は、c I L - 3 1 R に対するイヌ化抗体である。更に他の実施形態では、c I L - 3 1 R に対するイヌ化抗体は、配列番号26または配列番号27のアミノ酸配列を含む重鎖と、配列番号29、配列番号30または配列番号31のアミノ酸配列を含む軽鎖とを含む。更なる他の実施形態では、c I L - 3 1 R に対するイヌ化抗体は、配列番号33または配列番号34のアミノ酸配列を含む重鎖と、配列番号36、配列番号37、配列番号38または配列番号39のアミノ酸配列を含む軽鎖とを含む。更に他の実施形態では、c I L - 3 1 R に対するイヌ化抗体は、配列番号41、配列番号42または配列番号43のアミノ酸配列を含む重鎖と、配列番号45、配列番号46または配列番号47のアミノ酸配列を含む軽鎖とを含む。

40

【0030】

本発明の組成物のいずれもまた、1つ以上の追加の治療成分を更に含むことができる。

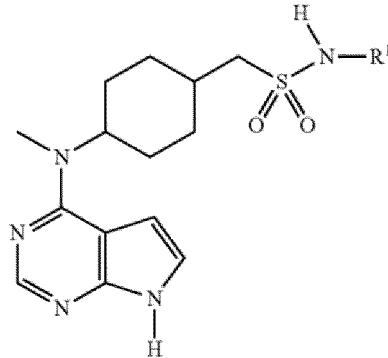
50

特有の実施形態では、追加の治療成分は、ヤヌスキナーゼ（JAK）阻害剤である。他の実施形態では、追加の治療成分は、脾臓チロシンキナーゼ（SYK）阻害剤である。更に他の実施形態では、追加の治療成分は、TH2細胞上に発現される化学誘引物質受容体相同分子に対するアンタゴニストである。

【0031】

具体的な実施形態では、JAK阻害剤は、

【化1】



10

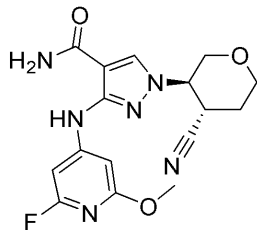
（式中、R¹は、ヒドロキシで置換されていてもよいC₁-4アルキル）、およびその薬学的に許容され得る塩である。

20

【0032】

代替的な実施形態では、JAK阻害剤は、

【化2】



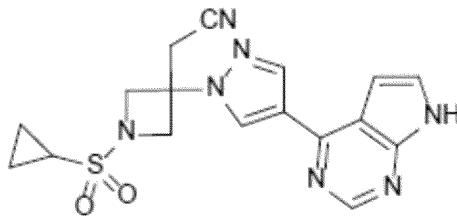
30

およびその薬学的に許容され得る塩である。

【0033】

更に他の実施形態では、JAK阻害剤は、

【化3】



40

およびその薬学的に許容され得る塩である。

【0034】

本発明は更に、本発明の組成物のいずれかをアトピー性皮膚炎を有するイヌに投与することを含む、アトピー性皮膚炎を治療する方法を含む。

【0035】

本発明のこれらおよび他の態様は、以下の図面の簡単な説明および詳細な説明を参照することによってよりよく理解されよう。

【図面の簡単な説明】

50

【0036】

【図1】図1は、ELISAによって評価される、キメラ抗イヌIL-31R抗体およびイヌ化抗イヌIL-31R抗体の結合活性を示す。キメララット/イヌ44E2 []。イヌ化44E2：H2k1 []、H2k2 []、H5k1 []、およびH5k2 []。

【図2】図2は、ELISAによって評価される、キメラ抗イヌIL-31R抗体およびイヌ化抗イヌIL-31R抗体の結合活性を示す。キメララット/イヌ：10A12 []。イヌ化10A12：H1L5 []およびH2L6 []。

【図3】図3は、ELISAによって評価される、キメラ抗イヌIL-31R抗体および対応するイヌ化抗イヌIL-31R抗体の結合活性を示す。キメララット/イヌ28F12。イヌ化28F12：H1k3 []、H2k2 []、およびH2k3 []。

【発明を実施するための形態】

【0037】

上記のタンパク質リガンドまたはそのタンパク質受容体のいずれかに結合することによって特異的経路におけるシグナル伝達を遮断するためのモノクローナル抗体の成功した治療的使用は、イヌIL-4受容体アルファに対するイヌ化抗体を生成する推進力であった。したがって、マウス抗体をcIL-4Rに対して産生させ、次いで、イヌ化し、*in vitro*で、cIL-4Rとその2つの天然リガンド、すなわちcIL-4またはcIL-13のいずれかとの結合を効果的に遮断することが示された。しかしながら、驚くべきことに、イヌ化マウスcIL-4R抗体をイヌに投与した後、治療したイヌにおいて異常に多量のいわゆる抗薬物抗体(ADA)が検出された。更に予想外なことに、この問題は、試験した複数の異なるイヌ化マウスcIL-4R抗体について生じた。

【0038】

ADAの誘導は、治療薬としてのモノクローナル抗体の開発における実質的な障害である。ADAは、動物対象に投与される治療用抗体(すなわち、薬物)に対して動物対象によって形成される抗体である。それらは、典型的には、治療用抗体の生物学的活性を中和し、および/またはそれらが投与される動物対象の全身循環からの治療用抗体の迅速なクリアランスをもたらす。ADAの問題は、抗体が最初に1つの種、例えばマウスまたはラットで生成されるが、第2の種、例えばイヌの治療用抗体を作製するために使用される場合、より深刻になり、これは、イヌ化マウスまたはラット抗体が構築される方法である。

【0039】

さらに、対応するイヌ化ラット抗体において標的イヌタンパク質に対する選択されたラット抗体の強い結合親和性を保持するために、一般に、マウスまたはラットCDRのアミノ酸配列だけでなく、マウスまたはラット抗体のアミノ酸配列からの追加のアミノ酸残基も含めることが必要である。これらの追加のアミノ酸は、逆突然変異と呼ばれる。逆突然変異は、CDRの三次元構造を維持し、それによって、イヌ化マウスまたはラット抗体におけるイヌ標的タンパク質に対するマウスまたはラット抗体の強い結合親和性の保持を促進するのに役立つ。しかしながら、マウスまたはラットのCDRのアミノ酸残基の数を治療用のイヌ化マウスまたはラット抗体に増加させること、すなわち、マウスまたはラットのCDRおよび関連する逆突然変異の付加によって、その抗体が治療されているイヌの免疫系によって外来として認識される可能性も増加し、ADAが生じる。

【0040】

上記のように、ADAの発生はほとんどの治療用抗体に共通の問題であるが、ADAの発生は通常、治療されている抗体の比較的小さな亜集団で起こるため、一般に管理可能な問題と見なされる。しかしながら、驚くべきことに、ADAを示したイヌ化マウスcIL-4R抗体で治療されたイヌの数は、予想外に多いことが判明した。この驚くべき結果の説明を任意の特定の分子機構に限定するものではないが、後になってみれば、cIL-4Rが抗原提示細胞(APC)上で発現されるという事実が重要な因子であり得る。したがって、治療的にイヌ化されたcIL-4R抗体のAPCのcIL-4Rへの結合は、結合したcIL-4Rの内在化をもたらし得る。これに続いて、イヌ化抗体のマウ

10

20

30

40

50

スCDR（またはマウスCDRおよびマウス逆突然変異）を含有する配列を有するタンパク質フラグメントがイヌT細胞にその後提示され、これにより、治療動物においてADAのより高い誘導が観察され得る。

【0041】

ADAを示すイヌ化マウスcIL-4R抗体で治療したイヌの数が増加した原因にかかわらず、その発見は、cIL-4またはcIL-13/cIL-4Rシグナル伝達経路を遮断するための代替戦略の評価につながった。1つの可能性のある代替戦略は、上記のようにイヌIL-4受容体およびイヌIL-13受容体の両方の一部であるcIL-4Rではなく、cIL-4およびcIL-13を直接遮断することである。この目的を達成するための可能な方法論は、IL-4およびIL-13の2つの天然に存在する結合パートナーの細胞外ドメイン（ECD）、すなわち、それぞれIL-4RのECDおよびIL-13R1のECDの使用によるものであろう。

10

【0042】

使用され得る現在一般的な方法論は、IL-4RのECDおよびIL-13R1のECDの両方を含む隣接二重特異性融合タンパク質の使用であらう。隣接二重特異性融合タンパク質は、2つの別個のタンパク質分子を合成することを必要とするのではなく、単一の治療用タンパク質分子の合成を可能にする等、明確な利点を有する。さらに、隣接二重特異性cIL-13R1およびcIL-4R融合タンパク質の場合のように、二重特異性融合タンパク質の2つの機能的成分が機能的に関連している場合、第1の機能的成分（例えば、cIL-13R1）の結合が第2の機能的成分（例えば、cIL-4R）の結合を促進すると予想されるので、相乗効果が予想されるであらう。隣接したIL-13/IL-4受容体融合タンパク質を使用するそのような戦略の1つが提案されている[米国特許出願公開第2020/0048325号を参照]。そのような融合タンパク質の設計は、IL-13R1とIL-4Rとを、IL-13R1がIL-4Rに連結されている隣接した配置で一緒にする。さらに、隣接する受容体は、第2のリンカーで融合パートナーに連結されてもよい。しかしながら、そのような方法論の重大な欠点は、そのようなリンカーの使用であり、これは、融合した受容体の一般に非天然の構成要素であり、それにより、ADA形成を誘導し得る潜在的ネオエピトープをもたらし得る。さらに、使用されるリンカーは、翻訳後修飾（例えば、グリコシル化）を受ける可能性を更に有し、これは潜在的に変化した構造を有する変異体分子を作成することができ、これは次にADA形成を更にもたらし得る。

20

30

【0043】

二重特異性融合タンパク質を作製するための代替方法は、IL-13R1のECDおよびIL-4RのECD[国際公開第2020/086886号]またはIL-13R2のECDおよびIL-4RのECDの融合タンパク質の二重特異性ヘテロ二量体の使用である。さらに別の推定上の戦略は、IL-13R1-cFc融合タンパク質および/またはIL-13R2-cFc融合タンパク質のホモ二量体と組み合わせたIL-4R-cFc融合タンパク質のホモ二量体を組み込んだイヌFc融合タンパク質の使用である。いずれの場合も、これらのECDをイヌIgG(cFc)、すなわちIgGA、IgGB、IgGCまたはIgGDと融合させることができる。より好ましくは、融合タンパク質は、イヌIgGヒンジ領域またはそのフラグメントを含むことができる。ECDとのcFcの結合には、(i)融合タンパク質のin vivo半減期を延長すること、および(ii)アフィニティークロマトグラフィーによる融合タンパク質の精製を補助することの2つの主な利点がある。したがって、IL-4R、IL-13R1またはIL-13R2のいずれかのECDは、イヌIgGヒンジ領域およびイヌIgG(cFc)と融合/結合することができる。特定の代替法では、得られた融合タンパク質は、N末端からC末端の順序で、cIL-13R1、またはcIL-13R2、またはcIL-4RのECDと、イヌヒンジ領域と、cFcとを含む。国際公開第01/77332号は、IL-13R2およびイヌIgGFc配列を含有するFc融合タンパク質を開示している。しかしながら、これらのタンパク質は、IL-13R2のECDとイヌI

40

50

g G F c との間にリンカーとして非自己グリシン残基 (G) の挿入を含み、その後イヌ I g G の C H 1 ドメインからの 9 アミノ酸残基が続く。グリシルリンカーも C H 1 ドメインからの 9 アミノ酸残基のストレッチも、本発明の c F c 融合タンパク質には存在しない。国際公開第 0 1 / 7 7 3 3 2 号に開示されている F c 融合タンパク質のように、グリシン残基の後にセリン残基が存在することは、融合タンパク質が細胞培養系で発現される場合に、融合タンパク質の酵素的グリコシル化の機会を生み出し、それにより、セリン残基上にある程度のレベルのグリコシル化を有する変異体分子の生成をもたらす得る。これは、工業規模での製造可能性の観点から望ましくない。さらに、ネイティブイヌ I g G 配列の一部ではないグリシン残基の挿入は、イヌの免疫系によって認識され、融合タンパク質に対する抗体の産生を刺激することができるネオエピトープを作成する可能性を作り出す。そのような抗体は、融合タンパク質の治療的有用性を無効にする可能性がある。

【 0 0 4 4 】

したがって、本発明の特定の c F c 融合タンパク質の 1 つの利点は、それらが非自己アミノ酸リンカーを導入せず、それによって、治療された動物において A D A をもたらし可能性を最小限に抑えることである。さらに、本発明の c F c 融合タンパク質は、イヌ I L - 1 3 R 1 またはイヌ I L - 1 3 R 2 F c 融合タンパク質から c I L - 4 R F c 融合タンパク質を分離する隣接していない分子として維持される。いくつかの例外はあるが、¹ 融合ドメインを接続する非自己アミノ酸リンカーの非存在は、融合タンパク質ドメインの低収率、低効力および / またはミスフォールディングをもたらすことが一般に認められており、驚くべきことに、イヌヒンジ領域を有する c I L - 4 R 、または c I L - 1 3 R 1 、または c I L - 1 3 R 2 の E C D および c F c を含む融合タンパク質は、非自己アミノ酸リンカーを使用しなかったとしても、首尾よく産生および精製された。したがって、以下に示すように、これらの融合タンパク質は高い治療価値を有することが証明され、A D A リスクが減少した。

【 0 0 4 5 】

対照的に、以下に記載される研究では、二重特異性ヘテロ二量体融合タンパク質は、発現レベルの低下、安定性の低下および純度の低下をもたらすことが見出された。さらに、上記のように、それらはまた、動物対象における A D A 形成の可能性を増加させ得る。さらに、2 つの個々の単一特異性分子 (すなわち、ホモ二量体) の組合せから達成されるのと同じ治療効果を得るために二重特異性融合タンパク質の 2 倍の量を使用する必要があるかどうかは明らかではない。さらに、2 つの個々の機能的成分の有効性 / 安全性バランスを制御する能力、例えば、個々の単一特異性タンパク質の一方の投与量を変化させ、他方の投与量を一定に保つ能力が失われる。

【 0 0 4 6 】

まとめると、二重特異性 F c 融合タンパク質は、発現および精製が困難であることがわかった。より重要なことに、それらは、2 つのホモ二量体、特に c I L - 4 R - c F c ホモ二量体と c I L - 1 3 R 2 - c F c ホモ二量体との組み合わせよりも c I L - 4 および c I L - 1 3 活性の阻害剤として効力が低いことが見出された (以下の実施例を参照) 。したがって、本発明は、c I L - 4 および c I L - 1 3 活性の強力な遮断薬、すなわち、c I L - 4 R - c F c のホモ二量体と c I L - 1 3 R 2 - c F c との組み合わせを含む組成物を提供する。

【 0 0 4 7 】

さらに、アトピー性皮膚炎のためのより良好な治療法の必要性に回答して、本発明はまた、アトピー性皮膚炎に關与する c I L - 4 / c I L - 1 3 および c I L - 3 1 シグナル伝達経路の同時調節を達成して、皮膚炎症に対する有意な効果および皮膚バリア機能の改善を伴う抗搔痒作用の迅速な開始をもたらすことができる製剤および方法論を提供する。これらの製剤は、イヌ I L - 3 1 R に結合するイヌ化ラット抗体と共に、c I L - 4 R - c F c 融合タンパク質および c I L - 1 3 R 2 - c F c 融合タンパク質のホモ二量体の使用を組み合わせる。

【 0 0 4 8 】

したがって、本発明は、c I L - 4またはc I L - 13のいずれかに結合し、これらのサイトカインのそれぞれの受容体への結合を遮断するc F c融合タンパク質のホモ二量体の組成物を提供する。さらに、本発明は、c I L - 31またはc I L - 31 Rに結合し、c I L - 31のc I L - 31受容体への結合を遮断するイヌまたはイヌ化抗体を更に含む組成物を提供する。これらの組成物は、イヌのアトピー性皮膚炎を治療するために使用することができる。

【0049】

¹ 特定のヒトタンパク質、例えば、ENBREL(登録商標)として公知のヒトTNFR - FcおよびBELATACEPT(登録商標)として公知のヒトCTLA - 4 - Fcを含むFc融合タンパク質は、リンカーを含まない。

10

【0050】

略語

本発明の詳細な説明および実施例を通して、以下の略語を使用する。

A D C C 抗体依存性細胞傷害

C D C 補体依存性細胞毒性

C D R K a b a t ナンバリングシステムを使用して定義される、免疫グロブリン可変領域中の相補性決定領域

c F c イヌフラグメント結晶化可能領域

C H O チャイニーズハムスター卵巣

E C 5 0 50%の有効性または結合をもたらす濃度

20

E C D 細胞外ドメイン

E L I S A 酵素結合免疫吸着アッセイ

F R 抗体フレームワーク領域：C D R領域を除く免疫グロブリン可変領域。

H R P セイヨウワサビペルオキシダーゼ

I C 5 0 50%阻害をもたらす濃度

I g G 免疫グロブリンG

K a b a t E l v i n A . K a b a t によって開拓された免疫グロブリンのアライメントおよびナンバリングシステム [S e q u e n c e s o f P r o t e i n s o f I m m u n o l o g i c a l I n t e r e s t , 5 t h E d . P u b l i c H e a l t h S e r v i c e , N a t i o n a l I n s t i t u t e s o f H e a l t h , B e t h e s d a , M d . (1 9 9 1)]

30

m A b モノクローナル抗体 (M a b または M A b も同様)

P C R ポリメラーゼ連鎖反応

P K 薬物動態

V 領域 異なる抗体間で配列が可変である I g G 鎖のセグメント。

V H 免疫グロブリン重鎖可変領域

V L 免疫グロブリン軽鎖可変領域

V 1 免疫グロブリンラムダ軽鎖可変領域

V k 免疫グロブリンカッパ軽鎖可変領域

【0051】

40

定義

本発明がより容易に理解され得るように、特定の技術的および科学的用語を以下に具体的に定義する。本明細書の他の箇所で具体的に定義されていない限り、本明細書で 사용되는他の全ての技術用語および科学用語は、本発明が属する技術分野の当業者によって一般的に理解される意味を有する。

【0052】

添付の特許請求の範囲を含む本明細書で使用される場合、「1つの(a)」、「1つの(an)」、および「その(the)」等の単語の単数形は、文脈が明らかにそうでないことを指示しない限り、それらの対応する複数の言及を含む。

【0053】

50

分子の「活性」は、リガンドまたは受容体への分子の結合、触媒活性；遺伝子発現または細胞シグナル伝達、分化、成熟を刺激する能力；抗原活性、他の分子の活性の調節等を説明する、またはそれらを指す。分子の「活性」はまた、細胞間相互作用、例えば接着を調節もしくは維持する活性、または細胞、例えば細胞膜もしくは細胞骨格の構造を維持する活性を指し得る。「活性」はまた、比活性、例えば、[触媒活性] / [mgタンパク質]、または[免疫活性] / [mgタンパク質]、生物学的区画中の濃度等を意味し得る。「活性」は、自然免疫系または適応免疫系の構成成分の調節を指し得る。

【0054】

「投与」および「治療」は、動物、例えばイヌ被験体、細胞、組織、器官または生物学的流体に適用される場合、外因性の医薬、治療、診断剤または組成物と、動物、例えばイヌ対象、細胞、組織、器官または生物学的流体との接触を指す。細胞の治療は、細胞への試薬の接触、ならびに流体が細胞と接触している流体への試薬の接触を包含する。

10

【0055】

「投与」および「治療」はまた、例えば、試薬、診断、結合化合物または別の細胞による細胞の *in vitro* および *ex vivo* での治療を意味する。「対象」という用語は、任意の生物、好ましくは動物、より好ましくは哺乳動物（例えば、イヌ、ネコまたはヒト）、最も好ましくはイヌを含む。

【0056】

「治療する」または「治療」は、治療剤、例えば本発明の c F c 融合タンパク質を含む組成物を、1つ以上の症状を有するか、または薬剤が治療活性を有する状態を有すると疑われるイヌ対象または患者の内部または外部に投与することを意味する。

20

【0057】

典型的には、治療剤は、治療された対象または集団における1つ以上の疾患/状態症状を、任意の臨床的に測定可能な程度までそのような（1または複数の）症状の退縮を誘導するか、またはそのような症状の進行を阻害することによるかどうかにかかわらず、緩和および/または改善するのに有効な量で投与される。任意の特定の疾患/状態症状を緩和するのに有効な治療剤の量（「治療有効量」とも呼ばれる）は、患者の疾患状態、年齢および体重（例えば、イヌ）、ならびに対象において所望の応答を誘発する医薬組成物の能力等の要因に従って変動し得る。疾患/状態症状が緩和または改善されたかどうかは、その症状の重症度または進行状態を評価するために獣医または他の熟練したヘルスケア提供者によって通常使用される任意の臨床測定によって評価することができる。本発明の実施形態（例えば、治療方法または製造品）は、全ての対象において（1または複数の）標的疾患/状態症状を軽減するのに有効ではないかもしれないが、それは、当該分野で公知の任意の統計学的検定、例えば、スチューデントの t 検定、カイ二乗検定、マン・ホイットニーによる U 検定、クラスカル・ウォリス検定（H 検定）、ヨンクヒール・タープストラ検定およびウィルコクソン検定によって決定されるように、統計学的に有意な数の対象において（1または複数の）標的疾患/状態症状を軽減するはずである。

30

【0058】

ヒト、獣医学的（例えば、イヌ）または研究対象に適用される「治療」は、治療的処置ならびに研究および診断の用途を指す。ヒト、獣医学的（例えば、イヌ）、もしくは研究対象、または細胞、組織、もしくは器官に適用される「治療」は、本発明の抗体および/または融合タンパク質と、例えばイヌもしくは他の動物対象、細胞、組織、生理学的区画、または生理学的流体との接触を包含する。

40

【0059】

本明細書で使用される場合、「ネコ」という用語は、ネコ科の任意のメンバーを指す。このファミリーのメンバーには、野生、動物園、および家庭のメンバー（イエネコ、純血および/または雑種コンパニオンキャット、ショーキャット、実験室キャット、クローンキャット、および野生または野生のキャットを含む）が含まれる。

【0060】

本明細書で使用される場合、「イヌ」という用語は、特に明記しない限り、全ての家畜

50

イヌ、イヌ (*Canis lupus familiaris*) またはイヌ (*Canis familiaris*) を含む。

【0061】

イヌ IgG の 4 つの既知の IgG 重鎖サブタイプおよび 2 つの既知の軽鎖サブタイプが存在する。4 つの IgG 重鎖は、A、B、C および D と呼ばれる。これらの重鎖は、IgG-A (または IgGA)、IgG-B (または IgGB)、IgG-C (または IgGC) および IgG-D (または IgGD) と呼ばれるイヌ IgG の 4 つの異なるサブクラスを表す。各重鎖は、1 つの変域ドメイン (VH) と、CH1、CH2、および CH3 と呼ばれる 3 つの定常ドメインとからなる。CH1 ドメインは、「ヒンジ」または代替的には「ヒンジ領域」と呼ばれるアミノ酸配列を介して CH2 ドメインに接続している。これらの 4 つの重鎖 IgG の DNA およびアミノ酸配列は、Tang et al. [Vet. Immunol. Immunopathol. 80: 259-270 (2001)] によって最初に同定された。これらの重鎖 IgG のアミノ酸および DNA 配列は、GenBank データベースからも入手可能である。例えば、IgG-A 重鎖のアミノ酸配列はアクセッション番号 AAL35301.1 を有し、IgG-B はアクセッション番号 AAL35302.1 を有し、IgG-C はアクセッション番号 AAL35303.1 を有し、IgG-D はアクセッション番号 (AAL35304.1) を有する。イヌ抗体はまた、2 種類の軽鎖、カッパおよびラムダを含有する。これらの軽鎖の DNA およびアミノ酸配列は、GenBank Database から入手することができる。例えば、カッパ軽鎖アミノ酸配列はアクセッション番号 ABY 57289.1 を有し、ラムダ軽鎖はアクセッション番号 ABY 55569.1 を有する。

10

20

【0062】

「Fc 領域」または単に「Fc」と略記される「フラグメント結晶化可能領域」は、Fc 受容体と呼ばれる細胞表面受容体と相互作用する抗体の CH2-CH3 部分に対応する。本明細書で使用される場合、「イヌフラグメント結晶化可能領域」は、「cFc 領域」または単に「cFc」と互換的に省略され、イヌ抗体由来のイヌフラグメント結晶化可能領域に対応する。4 つのイヌ IgG の各々のイヌフラグメント結晶化可能領域 (cFc) は、Tang et al. [Vet. Immunol. Immunopathol. 80: 259-270 (2001); see also, Bergeron et al., Vet. Immunol. Immunopathol. 157: 31-41 (2014)] によって最初に記載された。

30

【0063】

本明細書で使用される場合、イヌインターロイキン-4 受容体アルファ、イヌインターロイキン-13 受容体アルファ1、またはイヌインターロイキン-13 受容体アルファ2等の膜貫通インターロイキンの「細胞外ドメイン」または「ECD」は、細胞を取り囲む環境に自然に突出するインターロイキタンパク質の部分の部分を指す。ECD は、インターロイキンの膜貫通部分を含まない。イヌインターロイキン-4 受容体アルファの ECD は、イヌ IL-4 に結合する。イヌインターロイキン-13 受容体アルファ1 およびイヌインターロイキン-13 受容体アルファ2 の ECD は両方とも IL-13 に結合する。

【0064】

本明細書で使用される場合、「人工タンパク質」および「人工タンパク質分子」は互換的に使用され、人工融合タンパク質等の天然には存在しないタンパク質 (またはタンパク質の多量体、例えば二量体、ヘテロ二量体、四量体およびヘテロ四量体等) を示す。

40

【0065】

本明細書で使用される場合、「融合タンパク質」は、ペプチド結合によって互いに結合された 2 つ以上の異なるタンパク質由来のアミノ酸配列を含む人工タンパク質である。

【0066】

本明細書で使用される場合、「cFc 融合タンパク質」は、ヒンジ領域、例えば IgGB ヒンジ領域-CH2-CH3 を含むことができる IgG 抗体の cFc を別の生物学的に活性なタンパク質ドメインと結合させて、固有の構造および治療上の有用性を有する分子

50

を生成する人工タンパク質である。例えば、イヌ I L - 1 3 R 2 - c F c 融合タンパク質は、イヌ I g G F c (c F c) の N 末端に連結されたイヌ I L - 1 3 R 2 の細胞外ドメイン (E C D) を含む。I L - 1 3 R 2 の E C D は、イヌヒンジ領域によって c F c の N 末端に連結され得る。本発明の c F c 融合タンパク質は、I g G B ヒンジ領域および I g G B c F c の使用によって例示されるが、決してそのように限定されず、むしろ、それらは、I g G A、I g G C および I g G D の c F c を有し、ならびに I g G A、I g G C および I g G D のヒンジ領域を有してもよい対応する融合タンパク質を含む。したがって、イヌ F c 融合タンパク質 c I L - 4 R - c I g G B - F c は、c I L - 4 R - c I g G A - F c、c I L - 4 R - c I g G C - F c および c I L - 4 R - c I g G D - F c も含む c I L - 4 R - c F c 属の 1 種である。

10

【 0 0 6 7 】

本発明の c F c 融合タンパク質の特定の成分 (例えば、イヌ E C D、イヌヒンジ領域、または c F c) は、「イヌにおいて天然に見られるタンパク質のアミノ酸配列と同一のアミノ酸配列を含む」は、イヌに見られる対応するタンパク質の領域の対応するアミノ酸配列と同一のアミノ酸配列からなり、その天然に存在する変異体を含む。例えば、c F c 融合タンパク質の成分が c F c 自体であり、c F c が「イヌにおいて天然に見られるタンパク質のアミノ酸配列と同一のアミノ酸配列を含む」場合、c F c 融合タンパク質の c F c 領域のアミノ酸配列は、イヌ抗体の天然に存在するイヌ c F c 領域またはその変異体のアミノ酸配列と同一である。

【 0 0 6 8 】

20

本明細書で使用される場合、「イヌにおいて天然に見られるタンパク質のアミノ酸配列と同一のアミノ酸配列のみから構成される」c F c 融合タンパク質は、その天然に存在する変異体を含む、イヌに見られるタンパク質の対応する領域のアミノ酸配列と個々に同一のアミノ酸配列からなる c F c 融合タンパク質の成分のみからなる。例えば、c F c 融合タンパク質が、3つの成分、すなわちイヌヒンジ領域によって c F c の N 末端に連結された c I L - 1 3 R 2 の E C D からなる c I L - 1 3 R 2 - c F c 融合タンパク質であり、「イヌにおいて天然に見られるタンパク質のアミノ酸配列と同一のアミノ酸配列のみから構成」される場合、c I L - 1 3 R 2 - c F c 融合タンパク質の 3 つ全ての成分の個々のアミノ酸配列：(i) c I L - 1 3 R 2 の E C D のアミノ酸配列、(i i) c F c のアミノ酸配列、および (i i i) イヌヒンジ領域のアミノ酸配列は、イヌにおいて天然に見られるタンパク質 (その天然に存在する変異体を含む) の対応する領域のアミノ酸配列と個々に同一である。

30

【 0 0 6 9 】

本明細書で使用される場合、本発明の c F c 融合タンパク質の「唯一のリンカー」という用語は、そのリンカーがその c F c 融合タンパク質における唯一のリンカーであることを示す。例えば、そのイヌヒンジ領域が、イヌヒンジ領域によって c F c の N 末端に連結された c I L - 1 3 R 2 の E C D を含む c F c 融合タンパク質によって含まれる唯一のリンカーである場合、そのイヌヒンジ領域は唯一のリンカーである。

【 0 0 7 0 】

本明細書で使用される場合、「イヌインターロイキン - 1 3 受容体アルファ 1 - イヌフラグメント結晶化可能領域融合タンパク質」、「イヌインターロイキン - 1 3 受容体アルファ 1 - c F c 融合タンパク質」、「イヌ I L - 1 3 R 1 - c F c 融合タンパク質」、または「c I L - 1 3 R 1 - c F c 融合タンパク質」は全て互換的に使用され、ペプチド結合を介してイヌ I g G F c (c F c) に結合した c I L - 1 3 R 1 [またはイヌインターロイキン - 1 3 (c I L - 1 3) に結合する E C D のフラグメント] の細胞外ドメイン (E C D) を含む。特有の実施形態では、c I L - 1 3 R 1 - c F c 融合タンパク質は、c I L - 1 3 R 1 の E C D (または c I L - 1 3 に結合する E C D のフラグメント) を c F c に連結するイヌヒンジ領域を更に含む。c I L - 1 3 R 1 - c F c 融合タンパク質は、遺伝子工学を介して c F c (連結ヒンジ領域の有無にかかわらず) と共に c I L - 1 3 R 1 E C D (または c I L - 1 3 に結合する E C D のフラグメント) を

40

50

コードする化学合成核酸から生成することができる。

【0071】

本明細書で使用される場合、「イヌインターロイキン-13受容体アルファ2-イヌフラグメント結晶化可能領域融合タンパク質」、「イヌインターロイキン-13受容体アルファ2-cFc融合タンパク質」、「イヌIL-13R₂-cFc融合タンパク質」または「cIL-13R₂-cFc融合タンパク質」は全て互換的に使用され、ペプチド結合を介してイヌIgGFc(cFc)に結合したcIL-13R₂[またはイヌインターロイキン-13(cIL-13)に結合するECDのフラグメント]の細胞外ドメイン(ECD)を含む。特有の実施形態では、cIL-13R₂-cFc融合タンパク質は、cIL-13R₂のECD(またはcIL-13に結合するECDのフラグメント)をcFcに連結するイヌヒンジ領域を更に含む。cIL-13R₂-cFc融合タンパク質は、遺伝子操作によってcFc(連結ヒンジ領域の有無にかかわらず)と共にcIL-13R₂ ECD(またはcIL-13に結合するECDのフラグメント)をコードする化学合成核酸から生成することができる。

【0072】

本明細書で使用される場合、「イヌインターロイキン-4受容体アルファ-イヌフラグメント結晶化可能領域融合タンパク質」、「イヌインターロイキン-4受容体アルファ-cFc融合タンパク質」、「イヌIL-4R-cFc融合タンパク質」または「cIL-4R-cFc融合タンパク質」は全て互換的に使用され、ペプチド結合を介してイヌIgGFc(cFc)に結合したcIL-4R[またはイヌインターロイキン-4(cIL-4)に結合するECDのフラグメント]の細胞外ドメイン(ECD)を含む。特有の実施形態では、cIL-4R-cFc融合タンパク質は、cIL-4RのECD(またはcIL-4に結合するECDのフラグメント)をcFcに連結するイヌヒンジ領域を更に含む。cIL-4R-cFc融合タンパク質は、遺伝子工学を介してcFc(連結ヒンジ領域の有無にかかわらず)と共にcIL-4R ECD(またはcIL-4に結合するECDのフラグメント)をコードする化学合成核酸から生成することができる。

【0073】

本明細書で使用される場合、「cIL-4に結合するcIL-4RのECDのフラグメント」(または交換可能に、cIL-4に結合するcIL-4RのECDの「そのフラグメント」)を含むcIL-4R-cFc融合タンパク質は、全長ECDを含む対応するcIL-4R-cFc融合タンパク質の結合親和性よりも最大で100倍低いcIL-4に対する結合親和性を有する、すなわち、解離定数は最大で10²倍高い(例えば、10⁻⁹Mと比較して10⁻⁷M)。特定の実施形態では、cIL-4に結合するcIL-4RのECDのフラグメントを含むcIL-4R-cFc融合タンパク質は、全長ECDを含む対応するcIL-4R-cFc融合タンパク質の結合親和性よりも最大で10倍低いcIL-4に対する結合親和性を有する、すなわち、解離定数は最大で10倍高い。更に他の実施形態では、cIL-4に結合するcIL-4RのECDのフラグメントを含むcIL-4R-cFc融合タンパク質は、全長ECDを含む対応するcIL-4R-cFc融合タンパク質の結合親和性よりも最大で5倍低いcIL-4に対する結合親和性を有する、すなわち、解離定数は最大で5倍高い。

【0074】

本明細書で使用される場合、「cIL-13に結合するcIL-13R₂のECDのフラグメント」(または互換的に、cIL-13に結合するcIL-13R₂のECDの「そのフラグメント」)を含むcIL-13R₂-cFc融合タンパク質は、全長ECDを含む対応するcIL-13R₂-cFc融合タンパク質の結合親和性よりも最大で100倍低いcIL-13に対する結合親和性を有する、すなわち、解離定数は最大で10²倍高い。特定の実施形態では、cIL-13に結合するcIL-13R₂のECDのフラグメントを含むcIL-13R₂-cFc融合タンパク質は、全長ECDを含む対応するcIL-13R₂-cFc融合タンパク質の結合親和性よりも最大で10倍

低い c I L - 1 3 に対する結合親和性を有する、すなわち、解離定数は最大で 1 0 倍高い。更に他の実施形態では、c I L - 1 3 に結合する c I L - 1 3 R 2 の E C D のフラグメントを含む c I L - 1 3 R 2 - c F c 融合タンパク質は、全長 E C D を含む対応する c I L - 1 3 R 2 - c F c 融合タンパク質の結合親和性よりも最大で 5 倍低い c I L - 1 3 に対する結合親和性を有する、すなわち、解離定数は最大で 5 倍高い。

【 0 0 7 5 】

本明細書で使用される場合、「c I L - 1 3 に結合する c I L - 1 3 R 1 の E C D のフラグメント」(または互換的に、c I L - 1 3 に結合する c I L - 1 3 R 1 の E C D の「そのフラグメント」)を含む c I L - 1 3 R 1 - c F c 融合タンパク質は、全長 E C D を含む対応する c I L - 1 3 R 1 - c F c 融合タンパク質の結合親和性よりも最大で 1 0 0 倍低い c I L - 1 3 に対する結合親和性を有する、すなわち、解離定数は最大で 1 0 ² 倍高い。特定の実施形態では、c I L - 1 3 に結合する c I L - 1 3 R 1 の E C D のフラグメントを含む c I L - 1 3 R 1 - c F c 融合タンパク質は、全長 E C D を含む対応する c I L - 1 3 R 1 - c F c 融合タンパク質の結合親和性よりも最大で 1 0 倍低い c I L - 1 3 に対する結合親和性を有する、すなわち、解離定数は最大で 1 0 倍高い。更に他の実施形態では、c I L - 1 3 に結合する c I L - 1 3 R 1 の E C D のフラグメントを含む c I L - 1 3 R 1 - c F c 融合タンパク質は、全長 E C D を含む対応する c I L - 1 3 R 1 - c F c 融合タンパク質の結合親和性よりも最大で 5 倍低い c I L - 1 3 に対する結合親和性を有する、すなわち、解離定数は最大で 5 倍高い。

10

【 0 0 7 6 】

本明細書で使用される場合、本発明のイヌインターロイキン受容体 - c F c 融合タンパク質の「ホモ二量体」は、同じ E C D (または対応するリガンドに結合するその E C D のフラグメント)を最小限に有する 2 つの単量体融合タンパク質の二量体である。2 つの単量体融合タンパク質はまた、一般に、同じ c F c および同じヒンジ領域を有する。例えば、イヌインターロイキン受容体 - c F c 融合タンパク質が c I L - 4 R - c F c 融合タンパク質である場合、E C D は I L - 4 R E C D であり、リガンドは c I L - 4 である。ホモ二量体の 2 つのモノマーは、各モノマーのヒンジ領域内のシステイン残基によって形成されるジスルフィド結合によって一緒に保持される。例えば、c I L - 4 R - c F c 融合タンパク質のホモ二量体は、2 つの c I L - 4 R - c F c 融合タンパク質モノマーを含み、c I L - 1 3 R 2 - c F c 融合タンパク質のホモ二量体は、2 つの c I L - 1 3 R 2 - c F c 融合タンパク質モノマーを含む。

20

30

【 0 0 7 7 】

本明細書で使用される場合、本発明のイヌインターロイキン受容体 - c F c 融合タンパク質の「ヘテロ二量体」は、異なる E C D (またはそれぞれの E C D の対応するリガンドに結合するそれぞれの E C D のフラグメント)を有する 2 つの単量体融合タンパク質の二量体である。2 つの単量体融合タンパク質は、一般に同じ c F c を有するが、特定の例では、2 つの単量体を一緒に保つための修飾のためにわずかに異なり得る。例えば、c I L - 4 R - c F c 融合タンパク質および c I L - 1 3 R 2 - c F c 融合タンパク質のヘテロ二量体は、1 つの c I L - 4 R - c F c 融合タンパク質モノマーおよび 1 つの c I L - 1 3 R 2 - c F c 融合タンパク質モノマーを含み、一方、c I L - 4 R - c F c 融合タンパク質および c I L - 1 3 R 1 - c F c 融合タンパク質のヘテロ二量体は、1 つの c I L - 4 R - c F c 融合タンパク質モノマーおよび 1 つの c I L - 1 3 R 1 - c F c 融合タンパク質モノマーを含む。そのような一実施形態は、c I L - 4 R - c F c - Z W - A および c I L - 1 3 R 1 - c F c - Z W - B のヘテロ二量体である c I L - 4 R - 1 3 R 1 _ Z W 1 - c F c である。別のそのような実施形態は、c I L - 4 R - c F c - Z W - A および c I L - 1 3 R 2 - c F c - Z W - B のヘテロ二量体である c I L - 4 R - 1 3 R 2 _ Z W 1 - c F c である。

40

【 0 0 7 8 】

本明細書で使用される場合、「抗体」という用語は、所望の生物学的活性を示す任意の形態の抗体を指す。抗体は、モノマー、二量体、またはより大きな多量体であり得る。し

50

たがって、それは最も広い意味で使用され、限定されないが、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、多重特異性抗体（例えば、二重特異性抗体）、イヌ化抗体、完全イヌ抗体、キメラ抗体およびラクダ化単ドメイン抗体を具体的に包含する。「親抗体」は、イヌ治療用抗体として使用するための抗体のイヌ化等の意図された使用のための抗体の改変の前に免疫系を抗原に曝露することによって得られる抗体である。

【0079】

本明細書で使用される場合、例えばイヌ受容体のその結合パートナー（リガンド）に対して「遮断」または「遮断している」または「結合を遮断する」本発明の c F c 融合タンパク質または本発明で使用される抗体は、標準的な結合アッセイ（例えば、B I A C o r e（登録商標）、E L I S A またはフローサイトメトリー）で決定されるように、イヌ受容体のそのイヌリガンドへの結合、およびその逆の結合を（部分的または完全に）ブロックする抗体および/または融合タンパク質である。

10

【0080】

典型的には、本発明の抗体または抗原結合フラグメントは、その活性がモルベースで発現される場合、（親抗体と比較した場合）そのイヌ抗原結合活性の少なくとも10%を保持する。好ましくは、本発明の抗体または抗原結合フラグメントは、親抗体としてイヌ抗原結合親和性の少なくとも20%、50%、70%、80%、90%、95%または100%またはそれ以上を保持する。本発明の抗体または抗原に結合するフラグメントは、その生物学的活性を実質的に変化させない保存的または非保存的アミノ酸置換（抗体の「保存的変異体」または「機能保存変異体」と呼ばれる）を含み得ることも意図される。

20

【0081】

「単離抗体」は、精製状態を指し、そのような文脈において、分子が、核酸、タンパク質、脂質、炭水化物等の他の生物学的分子、または細胞残屑および増殖培地等の他の材料を実質的に含まないことを意味する。一般に、「単離」という用語は、本明細書に記載の結合化合物の実験的または治療的使用を実質的に妨げる量で存在しない限り、そのような材料が完全に存在しないこと、または水、緩衝液もしくは塩が存在しないことを指すことを意図しない。

【0082】

本明細書で使用される場合、「キメラ抗体」は、第1の抗体由来の可変ドメインおよび第2の抗体由来の定常ドメインを有する抗体であり、第1および第2の抗体は異なる種に由来する[米国特許第4,816,567号；およびMorrisson et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA 81:6851-6855(1984)]。典型的には、可変ドメインは、げっ歯類等の実験動物「親抗体」からの抗体から得られ、定常ドメイン配列は、動物対象抗体、例えばヒトまたはイヌから得られ、その結果、得られたキメラ抗体は、親（例えば、げっ歯類）抗体よりも、ヒトまたはイヌ対象においてそれぞれ有害な免疫応答を誘発する可能性が低くなる。

30

【0083】

本明細書で使用される場合、「イヌ化抗体」という用語は、イヌおよび非イヌ（例えば、ラット）抗体の両方からの配列を含む抗体の形態を指す。一般に、イヌ化抗体は、少なくとも1つ以上の、典型的には2つの可変ドメインの実質的に全てを含み、超可変ループの全てまたは実質的に全てが非イヌ免疫グロブリン（例えば、以下に例示されるような6つのCDRを含む）のものに対応し、フレームワーク（FR）領域の全てまたは実質的に全て（および典型的には残りのフレームの全てまたは実質的に全て）がイヌ免疫グロブリン配列のものである。本明細書で例示されるように、イヌ化抗体は、イヌフレームまたは改変イヌフレームと共に、ラット抗イヌ抗原抗体由来の3つの重鎖CDRおよび3つの軽鎖CDRの両方を含む。改変されたイヌフレームは、例えば、イヌ抗原へのその結合および/またはイヌ抗原の天然結合パートナーへのそのイヌ抗原の結合を遮断する能力を増加させるために、イヌ化抗体の有効性を更に最適化する、本明細書に例示される1つ以上のアミノ酸変化を含む。イヌIL-31およびIL-31R に結合するイヌ化マウス抗体

40

50

またはラット抗イヌ抗体には、イヌIgGA、IgGB、IgGCまたはIgGDの重鎖を含む本発明で使用するための抗体が含まれるが、これらに限定されない。

【0084】

各軽鎖/重鎖対の可変領域は、抗体結合部位を形成する。したがって、一般に、インタクティブな抗体は2つの結合部位を有する。二機能性抗体または二重特異性抗体を除いて、2つの結合部位は、一般に、同じである。

【0085】

典型的には、重鎖および軽鎖の両方の可変ドメインは、比較的保存されたフレームワーク領域(FR)内に位置する、相補性決定領域(CDR)とも呼ばれる3つの超可変領域を含む。CDRは通常、フレームワーク領域によってアライメントされ、特定のエピトープへの結合を可能にする。一般に、N末端からC末端に向かって、軽鎖可変ドメインおよび重鎖可変ドメインの両方が、FR1、CDR1、FR2、CDR2、FR3、CDR3およびFR4を含む。各ドメインへのアミノ酸の割り当ては、一般に、Sequence of Proteins of Immunological Interest [Kabat, et al.; National Institutes of Health, Bethesda, Md.; 5th ed.; NIH Publ. No. 91-3242 (1991); Kabat, Adv. Prot. Chem. 32: 1-75 (1978); Kabat, et al., J. Biol. Chem. 252: 6609-6616 (1977); Chothia, et al., J. Mol. Biol. 196: 901-917 (1987)、またはChothia, et al., Nature 342: 878-883 (1989)]に従う。

【0086】

本明細書で使用される場合、「超可変領域」という用語は、抗原結合に關与する抗体のアミノ酸残基を指す。超可変領域は、「相補性決定領域」または「CDR」由来のアミノ酸残基[すなわち、軽鎖可変ドメイン中のCDRL1(またはLCDR1)、CDRL2(またはLCDR2)およびCDRL3(またはLCDR3)と、重鎖可変ドメイン中のCDRH1(またはHCDR1)、CDRH2(またはHCDR2)およびCDRH3(またはHCDR3)]を含む。[抗体のCDR領域を配列によって定義する、Kabat et al. Sequences of Proteins of Immunological Interest, 5th Ed. Public Health Service, National Institutes of Health, Bethesda, Md. (1991)を参照; 抗体のCDR領域を構造によって定義する、Chothia and Lesk, J. Mol. Biol. 196: 901-917 (1987)も参照]。

【0087】

本明細書で使用される場合、「フレームワーク」または「FR」残基という用語は、本明細書でCDR残基として定義される超可変領域残基以外の可変ドメイン残基を指す。

【0088】

本明細書で使用される場合、「イヌフレーム」という用語は、本明細書でCDR残基として定義される超可変領域残基以外のイヌ抗体の重鎖および軽鎖のアミノ酸配列を指す。イヌ化抗体に関して、大部分の実施形態では、天然のイヌCDRのアミノ酸配列は、両方の鎖において対応する外来CDR(例えば、マウス抗体またはラット抗体由来のもの)で置き換えられる。イヌ抗体の重鎖および/または軽鎖は、例えば、下記に例示されるように、および/または、米国特許第10,106,607号B2に開示されるように、イヌ抗体内の外来CDRのコンフォメーションを保存するために、および/または、Fc機能を改変するために、いくつかの外来非CDR残基を含有してもよい。

【0089】

本明細書で使用される場合、「抗搔痒剤」は、かゆみを阻害、軽減、および/または予防する傾向がある化合物、高分子、および/または製剤である。抗搔痒剤は、口語的に痒み止め薬と呼ばれる。

10

20

30

40

50

【 0 0 9 0 】

本明細書で使用される場合、「抗搔痒抗体」は、特にアトピー性皮膚炎に関して、ヒト、イヌおよび/またはネコ等の哺乳動物を含む動物において抗搔痒剤として作用することができる抗体である。特有の実施形態では、抗搔痒抗体は、IL-31またはその受容体IL-31R等のIL-31シグナル伝達経路の特定のタンパク質に結合する。抗搔痒抗体のその対応する抗原(例えば、IL-31またはIL-31R)への結合は、例えばIL-31とIL-31Rとの結合を阻害し、この経路の成功したシグナル伝達を妨害および/または防止し、それにより、IL-31シグナル伝達経路によって引き起こされるそう痒を阻害、軽減および/または防止する。

【 0 0 9 1 】

本明細書で使用される場合、「抗炎症剤」は、炎症を引き起こす体内の特定の物質の相互作用を遮断することによって炎症を軽減する化合物、高分子、および/または製剤である。抗炎症剤は、特にアトピー性皮膚炎に関して、ヒト、イヌおよび/またはネコ等の哺乳動物を含む動物において抗炎症剤として作用することができるcFc融合タンパク質であり得る。特有の実施形態では、抗炎症性cFc融合タンパク質は、IL-4またはIL-13等のIL-4/IL-13シグナル伝達経路中の特定のタンパク質に結合する。抗炎症性cFc融合タンパク質のその対応する抗原(例えば、IL-4)への結合は、例えばIL-4とIL-4Rとの結合を阻害し、この経路のシグナル伝達を妨害および/または防止し、それによってアトピー性皮膚炎に関連する慢性炎症を妨害または防止する。cIL-4R-cFc融合タンパク質のホモ二量体とcIL-13R₂-cFc融合タンパク質のホモ二量体との組み合わせは、アトピー性皮膚炎の治療において抗炎症剤として作用する。

【 0 0 9 2 】

本明細書で使用される場合、「二重特異性融合タンパク質」は、隣接したタンパク質、例えばペプチド結合を介して互いに接合された2つの異なる生物学的に活性なタンパク質ドメイン、例えばcIL-4RのECD、cIL-13R₁のECD、cFcおよび任意のリンカーであり得る人工タンパク質である。代替的には、二重特異性融合タンパク質は、2つの異なる生物学的に活性なタンパク質ドメインが、ペプチド結合を介して融合パートナーと個々に結合しているが、共有結合または非共有結合のいずれかであり得る非ペプチド結合によってヘテロ二量体融合タンパク質において結合しているヘテロ二量体融合タンパク質であり得る。例えば、cIL-4R-cFc融合タンパク質モノマーおよびcIL-13R₂-cFc融合タンパク質モノマーのヘテロ二量体等の異なるECDを有する2つの単量体融合タンパク質を組み合わせることによって形成されるヘテロ二量体。

【 0 0 9 3 】

「相同性」とは、2つのポリヌクレオチド配列間または2つのポリペプチド配列が最適にアラインメントされている場合の2つのポリペプチド配列間の配列類似性を指す。2つの比較された配列の両方の位置が同じ塩基またはアミノ酸モノマーサブユニットによって占められている場合、例えば2つのDNA分子のそれぞれの位置がアデニンによって占められている場合、分子はその位置で相同である。相同性のパーセントは、2つの配列が共有する相同位置の数を比較した位置の総数で割って100を掛けたものである。例えば、配列が最適にアラインメントされたときに、2つの配列中の10個の位置のうち6個が一致または相同である場合、2つの配列は60%相同である。一般に、比較は、2つの配列が最大パーセントの相同性を与えるようにアラインメントされたときに行われる。

【 0 0 9 4 】

「単離された核酸分子」は、単離されたポリヌクレオチドが自然界で見出されるか、または自然界では連結されていないポリヌクレオチドに連結されているポリヌクレオチドの全部または一部に関連しない、ゲノム、mRNA、cDNAもしくは合成起源またはそれらの何らかの組み合わせのDNAまたはRNAを意味する。本開示の目的のために、特定のヌクレオチド配列「を含む核酸分子」はインタクトな染色体を包含しないことを理解さ

10

20

30

40

50

りたい。指定された核酸配列「を含む」単離された核酸分子は、指定された配列に加えて、最大10または更には最大20またはそれを越える他のタンパク質もしくはその一部またはフラグメントのコード配列を含み得るか、または列挙された核酸配列のコード領域の発現を制御する作動可能に連結された調節配列を含み得るか、および/またはベクター配列を含み得る。

【0095】

「制御配列」という語句は、特定の宿主生物における作動可能に連結されたコード配列の発現に必要なDNA配列を指す。原核生物に適した制御配列には、例えば、プロモーターが含まれ、オペレーター配列、およびリボソーム結合部位が含まれてもよい。真核細胞は、プロモーター、ポリアデニル化シグナルおよびエンハンサーを使用することが公知である。

10

【0096】

核酸は、別の核酸配列と機能的関係にある場合、「作動可能に連結される」である。例えば、プレ配列または分泌リーダーのためのDNAは、ポリペプチドの分泌に参与するプレタンパク質として発現される場合、ポリペプチドのためのDNAに作動可能に連結されているか、プロモーターまたはエンハンサーは、配列の転写に影響を及ぼす場合、コード配列に作動可能に連結されているか、またはリボソーム結合部位は、翻訳を促進するように配置されている場合、コード配列に作動可能に連結されている。一般に、「作動可能に連結される」とは、連結されているDNA配列が隣接していることを意味し、分泌リーダーの場合、隣接しており、読み取り段階にあることを意味する。しかしながら、エンハンサーは隣接している必要はない。連結は、好都合な制限部位でのライゲーションによって達成される。そのような部位が存在しない場合、合成オリゴヌクレオチドアダプターまたはリンカーが従来慣例に従って使用される。

20

【0097】

本明細書で使用される場合、「細胞」、「細胞株」および「細胞培養物」という表現は互換的に使用され、そのような呼称は全て子孫を含む。したがって、「形質転換体」および「形質転換細胞」という用語は、移入の回数にかかわらず、初代対象細胞およびそれ由来する培養物を含む。意図的または不注意な突然変異のために、全ての子孫が正確に同一のDNA含有量を有するわけではないことも理解される。最初に形質転換された細胞においてスクリーニングされたものと同じ機能または生物学的活性を有する変異子孫が含まれる。明確な指定が意図されている場合、それは文脈から明らかであろう。

30

【0098】

配列同一性は、2つの配列が最適にアラインメントされたときに、2つのポリペプチドのアミノ酸が等価な位置で同じである程度を指す。本明細書で使用される場合、両方の配列のアミノ酸残基が同一である場合、1つのアミノ酸配列は第2のアミノ酸配列に対して100%「同一」である。したがって、2つのアミノ酸配列のアミノ酸残基の50%が同一である場合、アミノ酸配列は第2のアミノ酸配列に対して50%「同一」である。配列比較は、所与のタンパク質、例えばタンパク質、または比較されるポリペプチドの一部に含まれるアミノ酸残基の隣接ブロックにわたって行われる。特有の実施形態では、そうでなければ2つのアミノ酸配列間の対応関係を変化させ得る選択された欠失または挿入が考慮される。

40

【0099】

配列類似性には、同一の残基および同一でない生化学的に関連するアミノ酸が含まれる。同様の特性を共有し、交換可能であり得る生化学的に関連するアミノ酸。

【0100】

「保存的に改変された変異体」または「保存的置換」は、タンパク質の生物学的活性を変化させることなく変化が頻繁に起こり得るような、類似の特徴（例えば、電荷、側鎖サイズ、疎水性/親水性、主鎖立体配座および剛性等）を有する他のアミノ酸によるタンパク質中のアミノ酸の置換を指す。当業者は、一般に、ポリペプチドの非必須領域における単一アミノ酸置換が生物学的活性を実質的に変化させないことを認識する[例えば、Wa

50

tson et al., Molecular Biology of the Gene, The Benjamin/Cummings Pub. Co., p. 224 (4th Ed.; 1987)]. さらに、構造的または機能的に類似したアミノ酸の置換は、生物学的活性を破壊する可能性が低い。例示的な保存的置換を下記の表 A に直接示す。

【0101】

【表1】

表 A

例示的な保存的アミノ酸置換

元の残基	保存的置換
Ala (A)	Gly; Ser
Arg (R)	Lys; His
Asn (N)	Gln; His
Asp (D)	Glu; Asn
Cys (C)	Ser; Ala
Gln (Q)	Asn
Glu (E)	Asp; Gln
Gly (G)	Ala
His (H)	Asn; Gln
Ile (I)	Leu; Val
Leu (L)	Ile; Val
Lys (K)	Arg; His
Met (M)	Leu; Ile; Tyr
Phe (F)	Tyr; Met; Leu
Pro (P)	Ala; Gly
Ser (S)	Thr
Thr (T)	Ser
Trp (W)	Tyr; Phe
Tyr (Y)	Trp; Phe
Val (V)	Ile; Leu

10

20

30

【0102】

本発明の c F c 融合タンパク質の機能保存的変異体も本発明によって企図される。本明細書で使用される場合、「機能保存的変異体」は、抗原親和性および/または特異性等の所望の特性を変化させることなく1つ以上のアミノ酸残基が変化した c F c 融合タンパク質を指す。そのような変異体としては、アミノ酸を、上記の表 A の保存的アミノ酸置換等の同様の特性を有するもので置き換えることが挙げられるが、これらに限定されない。

40

【0103】

核酸

本発明は、本発明の c F c 融合タンパク質、および本発明で使用される抗体（例えば、以下の実施例を参照）と共に本発明の c F c 融合タンパク質を含む組成物を含む。

【0104】

提供される c F c 融合タンパク質をコードする核酸および本発明で使用される免疫グロブリンポリペプチドも本発明に含まれ、比較が B L A S T アルゴリズムによって行われる

50

場合、本明細書において提供されるイヌ化抗体のアミノ酸配列と少なくとも約70%同一、好ましくは少なくとも約80%同一、より好ましくは少なくとも約90%同一、最も好ましくは少なくとも約95%同一（例えば、95%、96%、97%、98%、99%、100%）であるアミノ酸配列を含み、アルゴリズムのパラメータは、それぞれの参照配列の全長にわたってそれぞれの配列間の最大一致を与えるように選択される。本発明は更に、融合タンパク質および/または免疫グロブリンポリペプチドをコードする核酸を提供し、比較がBLASTアルゴリズムを用いて行われる場合、参照アミノ酸配列のいずれかと少なくとも約70%の類似性、好ましくは少なくとも約80%の類似性、より好ましくは少なくとも約90%の類似性、最も好ましくは少なくとも約95%の類似性（例えば、95%、96%、97%、98%、99%、100%）であるアミノ酸配列を含み、アルゴリズムのパラメータは、それぞれの参照配列の全長にわたってそれぞれの配列間の最大一致を与えるように選択される。

10

【0105】

本明細書で使用される場合、ヌクレオチドおよびアミノ酸の配列同一性パーセントは、アライメントデフォルトパラメータおよび同一性のデフォルトパラメータを用いて、C、MacVector (MacVector, Inc. ノースカロライナ州ケアリー 27519)、Vector NTI (Informax, Inc., メリーランド州)、Oxford Molecular Group PLC (1996) および Clustal W アルゴリズムを使用して決定することができる。これらの市販のプログラムを使用して、同じまたは類似のデフォルトパラメータを使用して配列類似性を決定することもできる。代替的には、例えば、デフォルトパラメータを使用する GCG (Genetics Computer Group, GCG パッケージのプログラムマニュアル、バージョン7、 Wisconsin 州 マディソン) パイルアッププログラムを使用して、デフォルトフィルタ条件下での Advanced Blast 検索を使用することができる。

20

【0106】

以下の参考文献は、配列分析にしばしば使用される BLAST アルゴリズムに関する：BLAST ALGORITHMS: Altschul, S.F., et al., J. Mol. Biol. 215: 403 - 410 (1990); Gish, W., et al., Nature Genet. 3: 266 - 272 (1993); Madden, T.L., et al., Meth. Enzymol. 266: 131 - 141 (1996); Altschul, S.F., et al., Nucleic Acids Res. 25: 3389 - 3402 (1997); Zhang, J., et al., Genome Res. 7: 649 - 656 (1997); Wootton, J.C., et al., Comput. Chem. 17: 149 - 163 (1993); Hancock, J.M. et al., Comput. Appl. Biosci. 10: 67 - 70 (1994); ALIGNMENT SCORING SYSTEMS: Dayhoff, M.O., et al., "A model of evolutionary change in proteins." in Atlas of Protein Sequence and Structure, vol. 5, suppl. 3. M.O. Dayhoff (ed.), pp. 345 - 352, (1978); Natl. Biomed. Res. Found., Washington, DC; Schwartz, R.M., et al., "Matrices for detecting distant relationships." in Atlas of Protein Sequence and Structure, vol. 5, suppl. 3. (1978), M.O. Dayhoff (ed.), pp. 353 - 358 (1978), Natl. Biomed. Res. Found., Washington, DC; Altschul, S.F., J. Mol. Biol. 219: 555 - 565 (1991); States, D.J., et al., Methods 3: 66 - 70 (1991); Henikoff, S., et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA 89: 10915 - 10919 (1992); Altschul, S.F., et al., J. Mol. E

30

40

50

vol. 36: 290 - 300 (1993); ALIGNMENT STATISTICS: Karlin, S., et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA 87: 2264 - 2268 (1990); Karlin, S., et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA 90: 5873 - 5877 (1993); Dembo, A., et al., Ann. Prob. 22: 2022 - 2039 (1994); および Altschul, S. F. "Evaluating the statistical significance of multiple distinct local alignments." in Theoretical and Computational Methods in Genome Research (S. Suhai, ed.), pp. 1 - 14, Plenum, New York (1997)。

【0107】

本発明の cFc 融合タンパク質（および本発明で使用される抗体）は、当技術分野で公知の方法によって組換え生産することができる。本明細書に開示される抗体またはフラグメントの発現のための宿主として利用可能な哺乳動物細胞株は当技術分野で周知であり、American Type Culture Collection (ATCC) から入手可能な多くの不死化細胞株を含む。これらには、とりわけ、チャイニーズハムスター卵巣 (CHO) 細胞、NSO、SP2 細胞、HeLa 細胞、ベビーハムスター腎臓 (BHK) 細胞、サル腎臓細胞 (COS)、ヒト肝細胞癌細胞（例えば、Hep G2）、A549 細胞、3T3 細胞、HEK-293 細胞およびいくつかの他の細胞株が含まれる。哺乳動物宿主細胞には、ヒト、マウス、ラット、イヌ、サル、ブタ、ヤギ、ウシ、ウマおよびハムスターの細胞が含まれる。どの細胞株が高い発現レベルを有するかを決定することによって、特に好ましい細胞株を選択する。使用され得る他の細胞株は、Sf9 細胞、両生類細胞、細菌細胞、植物細胞および真菌細胞等の昆虫細胞株である。重鎖またはその抗原結合部分もしくはフラグメント、軽鎖および/またはその抗原結合フラグメントをコードする組換え発現ベクターを哺乳動物宿主細胞に導入する場合、抗体は、宿主細胞における抗体の発現、またはより好ましくは、宿主細胞が成長している培地への抗体の分泌を可能にするのに十分な期間にわたって宿主細胞を培養することによって産生される。

【0108】

抗体は、標準的なタンパク質精製方法を使用して培養培地から回収することができる。さらに、産生細胞株からの本発明の抗体（またはそれからの他の部分）の発現は、いくつかの公知の技術を用いて増強することができる。例えば、グルタミンシンターゼ遺伝子発現系 (GS 系) は、特定の条件下で発現を増強するための一般的なアプローチである。GS 系は、欧州特許第 0216846 号、第 0256055 号、および第 0323997 号、ならびに欧州特許出願第 89303964.4 号に関連して全体的または部分的に論じられている。

【0109】

医薬組成物および投与

本発明の cFc 融合タンパク質を含む医薬組成物または無菌組成物を調製するために、単独で、または本発明で使用される抗体と共に、薬学的に許容され得る担体または賦形剤と混合することができる [例えば、Remington's Pharmaceutical Sciences and U.S. Pharmacopeia: National Formulary, Mack Publishing Company, Easton, PA (1984) を参照]。

【0110】

治療剤および診断剤の製剤は、例えば、凍結乾燥粉末、スラリー、水溶液または懸濁液の形態の許容され得る担体、賦形剤または安定剤と混合することによって調製され得る [例えば、Hardman, et al. (2001) Goodman and Gilman's The Pharmacological Basis of Therapeutics, McGraw-Hill, New York, NY; Gennaro (2001) Remington's Pharmaceutical Sciences, Mack Publishing Company, Easton, PA]。

00) Remington: The Science and Practice of Pharmacy, Lippincott, Williams, and Wilkins, New York, NY; Avis, et al. (eds.) (1993) Pharmaceutical Dosage Forms: Parenteral Medications, Marcel Dekker, NY; Lieberman, et al. (eds.) (1990) Pharmaceutical Dosage Forms: Tablets, Marcel Dekker, NY; Lieberman, et al. (eds.) (1990) Pharmaceutical Dosage Forms: Disperse Systems, Marcel Dekker, NY; Weiner and Kotkoskie (2000) Excipient Toxicity and Safety, Marcel Dekker, Inc., New York, NY]。一実施形態では、本発明のcFc融合タンパク質を含む医薬組成物を、pH5~6の酢酸ナトリウム溶液中で適切な濃度に希釈し、等張性のためにNaClまたはスクロースを添加する。安定性を高めるために、ポリソルベート20またはポリソルベート80等の追加の薬剤を添加してもよい。

【0111】

単独でまたは別の薬剤と組み合わせて投与される抗体組成物の毒性および治療有効性は、例えば、LD₅₀ (集団の50%に対して致死的な用量) およびED₅₀ (集団の50%において治療有効な用量) を決定するための、細胞培養物または実験動物における標準的な薬学的手順によって決定することができる。毒性効果と治療効果との間の用量比は、治療指数 (LD₅₀ / ED₅₀) である。特定の態様では、高い治療指数を示す抗体が望ましい。これらの細胞培養アッセイおよび動物研究から得られたデータは、イヌにおける使用のための投薬量の範囲を定式化するために使用することができる。そのような化合物の投与量は、好ましくは、毒性がほとんどまたは全くないED₅₀を含む循環濃度の範囲内にある。投与量は、使用される剤形および投与経路に応じて、この範囲内で変動し得る。

【0112】

投与様式は様々であり得る。適切な投与経路としては、経口、直腸、経粘膜、腸、非経口、筋肉内、皮下、皮内、髄内、髄腔内、直接脳室内、静脈内、腹腔内、鼻腔内、眼内、吸入、吹送、局所、皮膚、経皮、または動脈内が挙げられる。特有の実施形態では、本発明のcFc融合タンパク質を含む医薬組成物は、注射等の侵襲的経路によって投与され得る。本発明の更なる実施形態では、本発明のcFc融合タンパク質を含む医薬組成物は、静脈内、皮下、筋肉内、動脈内、または吸入 (エアロゾル送達) によって投与される。非侵襲的経路 (例えば、経口; 例えば、丸剤、カプセル剤または錠剤) による投与も本発明の範囲内である。

【0113】

組成物は、当技術分野で公知の医療機器を用いて投与することができる。例えば、本発明の医薬組成物は、例えばプレフィルドシリンジまたは自動注射器を含む皮下注射針での注射によって投与することができる。本明細書に開示される医薬組成物はまた、無針皮下注射装置、例えば、米国特許第6,620,135号; 第6,096,002号; 第5,399,163号; 第5,383,851号; 第5,312,335号; 第5,064,413号; 第4,941,880号; 第4,790,824号または第4,596,556号に開示されている装置を用いて投与されてもよい。

【0114】

本明細書に開示される医薬組成物はまた、注入によって投与され得る。医薬組成物を投与する周知のインプラントおよびモジュールの例としては、米国特許第4,487,603号 (制御された速度で薬剤を分配するための植込み型微量注入ポンプを開示する); 米国特許第4,447,233号 (正確な注入速度で薬剤を送達するための薬剤注入ポンプを開示する); 米国特許第4,447,224号 (連続薬物送達のための可変流量植込み型注入装置を開示する); 米国特許第4,439,196号 (マルチチャンバ区画を有する浸透圧薬物送達システムを開示する) が挙げられる。他の多くのそのようなインプラン

ト、送達システム、およびモジュールは、当業者に周知である。

【0115】

代替的には、本発明のcFc融合タンパク質（および場合により本発明で使用される抗体）を含む組成物を、全身的ではなく局所的に、しばしばデポ製剤または持続放出製剤で投与してもよい。

【0116】

投与レジメンは、治療用抗体および/またはcFc融合タンパク質の血清または組織ターオーバー速度、症状のレベル、治療用抗体および/またはcFc融合タンパク質の免疫原性、ならびに生物学的マトリックス中の標的細胞の接近可能性を含むいくつかの因子に依存する。好ましくは、投与レジメンは、標的疾患/状態の改善をもたらすのと同時に望ましくない副作用を最小限に抑えるのに十分な治療用抗体および/またはcFc融合タンパク質を送達する。したがって、送達される生物学的製剤の量は、部分的には、特定の治療用抗体および/または融合タンパク質ならびに治療される状態の重症度に依存する。適切な用量の治療用抗体を選択する際の指針が利用可能である[例えば、Wawrzyniak Antibody Therapy, Bios Scientific Pub. Ltd, Oxfordshire, UK (1996); Kresina (ed.) Monoclonal Antibodies, Cytokines and Arthritis, Marcel Dekker, New York, NY (1991); Bach (ed.) Monoclonal Antibodies and Peptide Therapy in Autoimmune Diseases, Marcel Dekker, New York, NY (1993); Baert, et al. New Engl. J. Med. 348: 601 - 608 (2003); Milgrom et al. New Engl. J. Med. 341: 1966 - 1973 (1999); Slamon et al. New Engl. J. Med. 344: 783 - 792 (2001); Beniaminovitz et al. New Engl. J. Med. 342: 613 - 619 (2000); Ghosh et al. New Engl. J. Med. 348: 24 - 32 (2003); Lipsky et al. New Engl. J. Med. 343: 1594 - 1602 (2000)]。

【0117】

適切な用量の決定は、例えば、治療に影響を及ぼすことが当技術分野で知られているまたは疑われるパラメータまたは因子を使用して、獣医によって行われる。一般に、用量は、最適用量よりも幾分少ない量で始まり、その後、任意の負の副作用に対して所望のまたは最適な効果が達成されるまで、少しずつ増加する。重要な診断手段には、症状のものが含まれる。

【0118】

本発明のcFc融合タンパク質を含む組成物は、単独で、または本発明で使用される抗体と共に、連続注入によって、または例えば、毎日、週に1~7回、毎週、隔週、毎月、隔月、四半期ごと、半年ごと等に投与される用量によって提供され得る。用量は、例えば、静脈内、皮下、局所、経口、経鼻、直腸、筋肉内、脳内、脊髄内、または吸入によって提供され得る。総毎週用量は、一般に少なくとも0.05 µg/kg体重、より一般的には少なくとも0.2 µg/kg、0.5 µg/kg、1 µg/kg、10 µg/kg、100 µg/kg、0.25 mg/kg、1.0 mg/kg、2.0 mg/kg、5.0 mg/ml、10 mg/kg、25 mg/kg、50 mg/kgまたはそれ以上である[例えば、Yang, et al. New Engl. J. Med. 349: 427 - 434 (2003); Herold, et al. New Engl. J. Med. 346: 1692 - 1698 (2002); Liu, et al. J. Neurol. Neurosurg. Psych. 67: 451 - 456 (1999); Portielji, et al. Cancer Immunol. Immunother. 52: 133 - 144 (2003)を参照]。イヌの血清中の本発明のcFc融合タンパク質の所定の標的濃度、例えば0.1、0.3、1、3、10、30、100、300 µg/ml以上を達成する

ための用量も提供され得る。他の実施形態では、本発明の c F c 融合タンパク質は、10、20、50、80、100、200、500、1000 または 2500 mg / 対象で、毎週、隔週、「4週間毎に」、毎月、隔月または四半期ごとに皮下または静脈内投与される。

【0119】

本明細書で使用される場合、「阻害する」または「治療する」または「治療」は、障害もしくは状態に関連する症状の発症の延期および/またはそのような障害もしくは状態の症状の重症度の低下を含む。この用語は更に、既存の制御されないまたは望ましくない症状を改善すること、追加の症状を予防すること、およびそのような症状の根本的な原因を改善または予防することを含む。したがって、この用語は、障害、状態および/もしくは症状を有するか、またはそのような障害、疾患もしくは症状を発症する可能性を有する脊椎動物対象（例えば、イヌ）に有益な結果が与えられたことを意味する。

10

【0120】

本明細書で使用される場合、「治療有効量」、「治療有効用量」および「有効量」という用語は、単独でまたは追加の治療剤と組み合わせて細胞、組織または対象、例えばイヌに投与した場合に、疾患もしくは状態の1つ以上の症状またはそのような疾患もしくは状態の進行の測定可能な改善を引き起こすのに有効な本発明の c F c 融合タンパク質の量を指す。治療有効用量は更に、症状の少なくとも部分的な改善、例えば関連する医学的状態の治療、治癒、予防もしくは改善、またはそのような状態の治療、治癒、予防もしくは改善の速度の増加をもたらすのに十分な抗体および/または融合タンパク質の量を指す。組み合わせに適用される場合、治療有効用量は、組み合わせて投与されるか、連続的に投与されるか、または同時に投与されるかにかかわらず、治療効果をもたらす有効成分の組み合わせ量を指す。有効量の治療薬は、診断尺度またはパラメータの少なくとも10%、通常、少なくとも20%、好ましくは少なくとも約30%、より好ましくは少なくとも40%、最も好ましくは少なくとも50%の改善をもたらすであろう。有効量はまた、症状の重症度を評価するために主観的尺度が使用される場合に主観的尺度の改善をもたらすことができる。

20

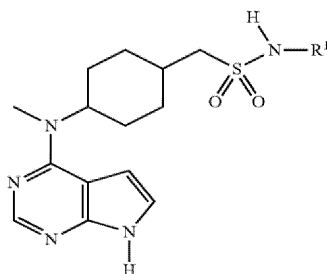
【0121】

他の併用療法

本発明の c F c 融合タンパク質を含む組成物（本発明で使用される抗体を含むまたは含まない）は、1つ以上の追加の治療成分を含むことができる。治療成分のそのようなファミリーの1つは、ヤヌスキナーゼ（JAK）阻害剤である。このタイプの特有の実施形態では、JAK阻害剤は、

30

【化4】



40

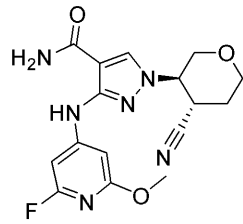
（式中、R¹は、ヒドロキシで置換されていてもよいC₁~4アルキルである）の化学式およびその薬学的に許容され得る塩 [米国特許第 8, 133, 899号 ; 米国特許第 8, 987, 283号] を含む。より具体的には、JAK阻害剤は、オクラシチニブであり、更により具体的には、オクラシニウムマレエートである。

【0122】

JAK3と比較してJAK1を優先的に阻害する代替のJAK阻害剤は、1 - [(3 R , 4 S) - 4 - シアノテトラヒドロピラン - 3 - イル] - 3 - [(2 - フルオロ - 6 - メ

50

トキシ - 4 - ピリジル) アミノ] ピラゾール - 4 - カルボキサミドであり、
【化 5】



10

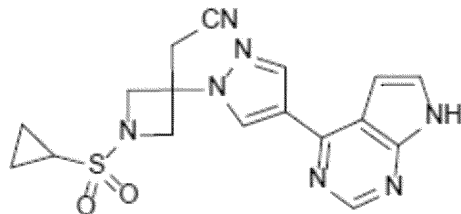
の化学式、およびその薬学的に許容され得る塩 [国際公開第 2 0 1 8 / 1 0 8 9 6 9 号を参照] を含む。

【 0 1 2 3 】

更に別の代替の J A K 阻害剤は、3 - アゼチジンアセトニトリル、1 - (シクロプロピルスルホニル) - 3 - [4 - (7 H - ピロロ [2 , 3 - d] ピリミジン - 4 - イル) - 1 H - ピラゾール - 1 - イル] - (供元 : C A S) { 1 - (シクロプロパンスルホニル) - 3 - [4 - (7 H - ピロロ [2 , 3 - d] ピリミジン - 4 - イル) - 1 H - ピラゾール - 1 - イル] アゼチジン - 3 - イル } アセトニトリル (供給元 : U S A N P r o g r a m c h e m i c a l c o n s u l t a n t) と呼ばれ、

【化 6】

20



の化学式、およびその薬学的に許容され得る塩 [米国特許出願公開第 2 0 2 0 / 0 3 3 9 5 8 5 号を参照] を含む。

30

【 0 1 2 4 】

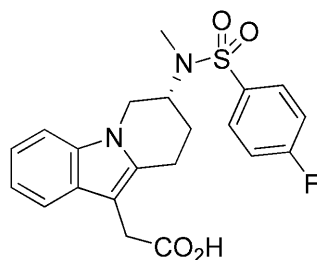
本発明の組成物に添加され得る別の治療成分は、脾臓チロシンキナーゼ (S Y K) 阻害剤であり得る。そのような S Y K 阻害剤の 1 つは、(1 S , 4 R) - 4 - ヒドロキシ - 2 , 2 - ジメチル - 4 - { 5 - [3 - メチル - 5 - (4 - メチル - ピリミジン - 2 - イルアミノ) - フェニル] - 1 , 3 - チアゾール - 2 - イル } - シクロヘキサンカルボン酸またはその薬学的に許容され得る塩 [例えば、米国特許第 8 , 7 5 9 , 3 6 6 号を参照] である。

【 0 1 2 5 】

さらに、本発明の組成物に添加することができる更に別の治療成分は、

【化 7】

40



の化学式およびその薬学的に許容され得る塩を含む T H 2 細胞上で発現される化学誘引物質受容体相同分子に対するアンタゴニスト [米国特許第 7 , 6 9 6 , 2 2 2 号、米国特

50

許第 8, 546, 422 号、米国特許第 8, 637, 541 号、国際公開第 2010/099039 号、国際公開第 2010/031183 号、および米国特許第 8, 546, 422 号も参照] であり得る。

【0126】

これらの追加の治療成分は、本発明の抗体および/または融合タンパク質を含む組成物の投与前、投与と併せて、または投与後に、イヌ対象に投与することができる。

【0127】

上記の JAK 阻害剤、SYK 阻害剤、または化学誘引物質受容体相同分子の予防的または治療的用量の大きさは、当然のことながら、治療される状態の性質および重症度、ならびに特定の阻害剤およびその投与経路によって変化する。これはまた、個々のイヌの年齢、体重、全般的な健康状態、性別、食事、投与時間、排泄速度、薬物の組み合わせおよび応答を含む様々な因子に従って変動する。一般に、1日用量は、イヌの体重 1 kg 当たり約 0.001 mg ~ 約 100 mg、好ましくは体重 1 kg 当たり 0.01 mg ~ 約 10 mg である。別の実施形態では、1日用量は、イヌの体重 1 kg 当たり約 0.2 mg ~ 約 1.0 mg / kg である。別の実施形態では、1日用量は、イヌの体重 1 kg 当たり約 0.1 mg ~ 約 3.0 mg / kg である。一方、場合によっては、これらの制限外の投与量を使用する必要があり得る。単一剤形を生成するために担体材料と組み合わせることができる有効成分の量は、治療される宿主および特定の投与様式に応じて変化する。例えば、経口投与を意図した製剤は、全組成物の約 5 ~ 約 99.95 パーセントで変動し得る適切で便利な量の担体材料と配合された 0.05 mg ~ 5 g の活性剤を含有し得る。投薬単位形態は、一般に、約 0.1 mg ~ 約 0.4 g の有効成分、典型的には 0.5 mg、1 mg、2 mg、5 mg、10 mg、25 mg、50 mg、100 mg、200 mg または 400 mg を含有する。

【0128】

[実施例]

[実施例 1]

ホモ二量体 Fc 融合タンパク質

組換え融合タンパク質の生成:

下記の表 2 B および表 2 C に列挙される組換え融合タンパク質を、選択された融合タンパク質のための正確なアミノ酸配列をそれらに提供した後、商業的製造業者から得た。アミノ酸配列は、GenBank 等の公的に入手可能なタンパク質データベースから得ることができ、例えば、全長アミノ酸配列のアクセッション番号には、イヌ (*Canis lupus familiaris*) インターロイキン - 4 受容体サブユニットアルファアイソフォーム X1 のアクセッション番号 XP_022275636.1、イヌ (*Canis lupus familiaris*) インターロイキン - 13 受容体サブユニットアルファ - 1 アイソフォーム X2 のアクセッション番号 XP_038306633.1、およびイヌ (*Canis lupus familiaris*) インターロイキン - 13 受容体サブユニットアルファ - 2 前駆体のアクセッション番号 NP_001003075.1 が含まれる。典型的には、これらの融合タンパク質を組換え生産するために、イヌ融合タンパク質をコードする DNA を化学合成し、次いで適切な発現ベクター (例えば、pcDNA3.4 発現ベクター) にクローニングして、CHO または HEK-293 細胞等の細胞内でタンパク質を生産する。したがって、市販の製造業者は、融合タンパク質のアミノ酸配列をコードする最適なヌクレオチド配列を選択し、核酸を化学的に合成し、対応する組換え融合タンパク質を産生する発現ベクターに核酸を挿入し、次いで発現した融合タンパク質を精製する。核酸配列は、典型的には、以下の工程を必要とするプロセスで商業的供給業者において製造される:

1. 標的遺伝子配列に基づいて、約 100 ヌクレオチドの長さを有するいくつかのオリゴヌクレオチドを設計および合成する (合成された重複オリゴヌクレオチドは、ECD、ヒンジ領域、および cFc を含む);

2. ポリメラーゼ連鎖反応 (PCR) を使用してオリゴヌクレオチドと一緒に構築して

10

20

30

40

50

全長遺伝子配列を得る；および

3. DNAゲル抽出キットを使用してPCR産物を精製し、その後のクローニング工程でインサートとして使用する。この場合、組換え融合タンパク質をCHO細胞で産生し、プロテインAカラムクロマトグラフィーを使用して精製した。

【0129】

本発明のcFc融合タンパク質をコードする核酸は、選択されたイヌインターロイキン受容体の細胞外ドメイン(ECD)またはそのフラグメント、すなわちcIL-4R、cIL-13R₁またはcIL-13R₂のコード配列、およびイヌIgGヒンジ領域のコード配列をイヌIgG(cFc)と共に含む。得られた融合タンパク質は、N末端からC末端の順序で、ECD、ヒンジ領域(太字)、およびcFcを含む。cFcおよびヒンジ領域は、イヌIgGA、IgGB、IgGCまたはIgGDに由来し得る。cFc融合タンパク質は、in vivoでの半減期の延長を可能にするため、または抗体依存性細胞傷害性(ADCC)もしくは補体媒介性細胞傷害性(CDC)[例えば、米国特許第10,106,607号B2を参照]等のいくつかのエフェクター機能を排除するためのアミノ酸置換を有してもよい。

10

【0130】

ホモ二量体の2つのモノマーは、各モノマーのヒンジ領域内のシステイン残基によって形成されるジスルフィド結合によって一緒に保持される。ホモ二量体タンパク質は、別個の宿主細胞(CHO細胞等)で作製され、次いで、それらのそれぞれの産生細胞からの精製後に組み合わせることができる。ホモ二量体タンパク質は、IV、SC、IPまたはIM等の様々な経路を介してイヌに投与することができる。ホモ二量体タンパク質は、0.1ug/kg~20mg/kgまたはそれを超える範囲の用量で投与され得る。典型的には、ホモ二量体タンパク質は、0.1mg/kg~10mg/kgの範囲の用量で投与され得る。

20

【0131】

本発明のホモ二量体Fc融合タンパク質の例は、以下のとおりである： cIL-4R - cIgGB - Fc [配列番号5]

【数1】

VKVLHEPSCFSDYISTSVQCWKMDHPTNCSAELRLSYQLDFMGSENHTCVPENREDSVCVC SMPIDDAVEA
DVYQLDLWAGQQLLWSGSFQPSKHVKPRTPGNLTVHPNISHTWLLMWTNPYPTE NHLHSELTYMVNVSN
DNDP EDFKVYNVTYMGPTLR LAASTLKSGASYSARVRAWAQTYNSTWSDWSPSTTWLNYYEPWEQHLP **PKREN**
GRVPRPPDCPKCPAPEMLGGPSVFI FPPKPKDTLLIARTPEVTCVVVDLDPEDPEVQISWFVDGKQMQTAK
TQPREEQFNGTYRVVSVLPIGHQDWLKGKQFTCKVNNKALPSPIERTISKARGQAHQPSVYVLPSPREELS
KNTVSLTCLIKDFFPDIDVEWQSNQQE PESKYRTT PPQLDEDGSYFLYSKLSVDKSRWQRGDTFICAVM
HEALHNHYTQESLSHSPGK

30

【0132】

cIL-13R₁ - cIgGB - Fc [配列番号6]

【数2】

GGVAAPTETQPPVTNLSVSVENLCTVIWTDWDPPEGASPNCTLRYF SHFDNKQDKKIAPETHRSKEVPLNER
ICLQVGSQCSTNESDNPSILVEKCTPPPEGDPE SAVTELQCVWHNLSYMKCTWLPGRNTSPDTNYTLYYWH
SSLGKILQCEDIYREGQHIGCSFALTNLKDSSFEQHSVQIVVKDNAGKIRPSFNIVPLTSHVKPDPPHIKR
LFFQNGNLVQWKNPQNFYSRCLSYQVEVNNSQTETNDIFYVEEAKCQNSEFEGNLEGTICFMVPGVLPDT
LNTVRIRVRTNKLCYEDDKLWSNWSQAMSIGENTDPT **PKRENGRVPRPPDCPKCPAPEML**GGPSVFI FPPK
PKDTLLIARTPEVTCVVVDLDPEDPEVQISWFVDGKQMQTAKTQPREEQFNGTYRVVSVLPIGHQDWLKGK
QFTCKVNNKALPSPIERTISKARGQAHQPSVYVLPSPREELSKNTVSLTCLIKDFFPDIDVEWQSNQQE
PESKYRTT PPQLDEDGSYFLYSKLSVDKSRWQRGDTFICAVMHEALHNHYTQESLSHSPGK

40

【0133】

cIL-13R₂ - cIgGB - Fc [配列番号7]

【数3】

50

SMLSNAEIKVNPPQDFEIVDPGYLGYLSLQWQPPLFPDNFKECTIEYELKYRNIDSENWKTIIITKNLHYKD
 GFDLNKGIEAKINTLLPAQCTNGSEVRSSWAETTYWTSPQGNRETQIDMDCVYYNWQYLVCSSWKPGMGVH
 FDTNYQLFYWYEGLDHSAECTDYIKVNGKNMGCRFPYLESSDYKDFYICVNGSSSQPIRPSYFI FQLQNI
 VKPMPDYLSTLVKNSEEINLKWNPKGPIPAKCFIYEIEFTEDGTTWVTTTVEVEIQITRTSNESQKLCF
 LVRSKVNIYCSDDGIWSEWSDEQCWKGDIWKET**PKRENGRVPRPPDCPKCPAPEML**GGPSVFI FPPKPKDT
 LLIARTPEVTCVVVDLDPEDPEVQISWFVDGKQMOTAKTQPREEQFNGTYRVVSVLPIGHQDWLKGKQFTC
 KVNKALPSPIERTISKARGQAHQPSVYVLPSSREELSKNTVSLTCLIKDFFPDIDVEWQSNQQEPESK
 YRTTPQLDEDEGSYFLYSKLSVDKSRWQRGDTFICAVMHEALHNHYTQESLSHSPGK

【 0 1 3 4 】

10

[実施例 2]

半減期が延長されたホモ二量体 c F c 融合タンパク質

いわゆる新生児型 F c 受容体 (F c R n) と I g G 抗体との間の相互作用の構造および特徴を理解することは、 I g G 抗体および F c 融合タンパク質の血清半減期を改善する抗体または F c 工学研究の基礎を提供した。タンパク質の血清半減期延長およびそのようなタンパク質の血清半減期を延長するアプローチの背後にある機構は、いくつかの研究者によって記載された [例えば、 K o e t a l . , B i o D r u g s 3 5 : 1 4 7 - 1 5 7 (2 0 2 1) を参照] 。半減期が延長された相同タンパク質は、上記の実施例 1 に記載されているように、所望のアミノ酸配列をコードするヌクレオチド配列から合成され、組換え生産される。

20

【 0 1 3 5 】

i n v i v o 半減期が延長された組換え c F c 融合タンパク質の例を以下に提供する。これらの例では、イヌ c F c は I g G B であるが、本発明の c F c 融合タンパク質における代替 c F c 、すなわち I g G A 、 I g G C および I g G D の使用も本発明の一部である。

【 0 1 3 6 】

イヌ I g G - B F c は、以下に提供される配列番号 5 1 のアミノ酸配列を含むものとして、 T a n g e t a l . [V e t I m m u n o l o g y & I m m u n o p a t h o l o g y , 8 0 : 2 5 9 - 2 7 0 (2 0 0 1)] によって最初に定義された。

【 0 1 3 7 】

30

【 数 4 】

1 50
 LGGPSVFIFP PKPKDILLIA RTPEVTCVVV **D**LDPEDPEVQ ISWFVDGKQM
 ↳ CH2

51 100
 QTAKTQPREE QF**N**NGTYRVVS VLPIGHQDWL KGKQFTCKVN NKALPSPIER

101 150
 TISKARGQAH QPSVYVLPSS REELSKNTVS LTCLIKDFFP PDIDVEWQSN
 ↳ CH3

40

151 200
 GQQEPESKYR TTPPQLDEDEG SYFLYSKLSV DKSRWQRGDT FICAVMHEAL

201 215

HNHYTQKSLS HSPGK [配列番号: 51]

50

[配列番号 5 1]

【 0 1 3 8 】

組換え融合タンパク質の c F c 部分のアミノ酸配列は、弱酸性 p H (例 えば、 p H 6 . 0) では野生型 c F c よりも高い親和性結合を F c R n にもたらすと同時に、中性 p H (例 えば、 p H 7 . 0 ~ 7 . 2) では野生型 c F c が示すものと同様の結合親和性を有するアミノ酸置換 (太字および下線) を含む。各配列のヒンジ領域は太字であるが、下線が引かれていない。

【 0 1 3 9 】

c I L - 4 R - c I g G B - F c - Y T E [配列番号 8] C H 2 ナンバリング (L 1 8 Y / A 2 0 T / T 2 2 E)

【 数 5 】

VKVLHEPSCFSDYISTSVCQWKMDHPTNCSAELRLSYQLDFMGSENHTCVPENREDSVVCVCSMPIDDAVEA
DVYQLDLWAGQQLLWSGSFQPSKHVKPRTPGNLTVHPNISHTWLLMWTNPYPPTENHLHSELTYMVNVSNDN
DPEDFKVYNVTYMGPTLRLAASLTLSKSGASYSARVRAWAQTYNSTWSDWSPSTTWLNYEPWEQHLP**PKREN**
GRVPRPPDCPKCPAPEMLGGPSVFI FPPKPKDTYITREPEVTCVVVDLDPEDPEVQISWFVDGKQMOTAK
TQPREEQFNGTYRVVSVLPIGHQDWLKGKQFTCKVNNKALPSPIERTISKARGQAHQPSVYVLPSPREELS
KNTVSLTCLIKDFPPDIDVEWQSNQQEPESESKYRTTPPQLDEDGSYFLYSKLSVDKSRWQRGDTFICAVM
HEALHNHYTQESLSHSPGK

10

【 0 1 4 0 】

c I L - 1 3 R 1 - c I g G B - F c - Y T E [配列番号 9] C H 2 ナンバリング (L 1 8 Y / A 2 0 T / T 2 2 E)

【 数 6 】

GGVAAPTETQPPVTNLSVSVENLCTVIWTDWDPPEGASPNCTLRYFSHFDNKQDKKIAPETHRSKEVPLNER
ICLQVGSQCSTNESDNPSILVEKCTPPPEGDPESAVTELCVWHNLSYMKCTWLPGRNTSPDTNYTLYYWH
SSLGKILQCEDIYREGQHIGCSFALTNLKDSSFEQHSVQIVVKDNAGKIRPSFNIVPLTSHVKPDPPIKIR
LFFQNGNLYVQWKNPQNFYSRCLSYQVEVNNSQTETNDIFYVEEAKCQNSEFEGNLEGTICFMVPGVLPDT
LNTVRIRVRTNKLCEYEDDKLWSNWSQAMSIGENTDPT**PKRENGRVPRPPDCPKCPAPEML**GGPSVFI FPPK
PKDTYITREPEVTCVVVDLDPEDPEVQISWFVDGKQMOTAKTQPREEQFNGTYRVVSVLPIGHQDWLKGK
QFTCKVNNKALPSPIERTISKARGQAHQPSVYVLPSPREELSKNTVSLTCLIKDFPPDIDVEWQSNQQE
PESESKYRTTPPQLDEDGSYFLYSKLSVDKSRWQRGDTFICAVMHEALHNHYTQESLSHSPGK

20

30

【 0 1 4 1 】

c I L - 1 3 R 2 - c I g G B - F c - Y T E [配列番号 1 0] C H 2 ナンバリング (L 1 8 Y / A 2 0 T / T 2 2 E)

【 数 7 】

SMLSNAEIKVNPPQDFEIVDPGYLGYSLQWQPPLFPDNFKECTIEYELKYRNIDSENWKTIIITKNLHYKD
GFDLNKGIEAKINTLLPAQCTNGSEVRSSWAETTYWTSPQGNRETKIQDMDCVYYNWQYLVCSSWKPGMGVH
FDTNYQLFYWYEGLDHSAECTDYIKVNGKNMGCRRFPYLESSDYKDFYICVNGSSESQPIRPSYFIFQLQNI
VKPMPDYLSTLVKNSEEINLKWNMPKGP I PAKCFIYEIEFTEDGTTWVTTTTVENEIQITRITSNESQKLCF
LVRSKVNIYCSDDGIWSEWSDEQCWKGDIWKET**PKRENGRVPRPPDCPKCPAPEML**GGPSVFI FPPKPKD
TYITREPEVTCVVVDLDPEDPEVQISWFVDGKQMOTAKTQPREEQFNGTYRVVSVLPIGHQDWLKGKQFTC
KVNNKALPSPIERTISKARGQAHQPSVYVLPSPREELSKNTVSLTCLIKDFPPDIDVEWQSNQQEPESEK
YRTTPPQLDEDGSYFLYSKLSVDKSRWQRGDTFICAVMHEALHNHYTQESLSHSPGK

40

【 0 1 4 2 】

c I L - 4 R - c I g G B - F c - H [配列番号 1 1] C H 2 ナンバリング (N 2 0 2 H)

【 数 8 】

50

VKVLHEPSCFSDYISTSVCQWKMDHPTNCSAELRLSYQLDFMGSENHTCVPENREDSVVCVCSMPIDDAVEA
 DVYQLDLWAGQQLLWGSFQPSKHVKPRTPGNLTVHPNISHTWLLMWTNPYPTENHLHSELTYMVNVSNDN
 DPEDFKVYNVTYMGPTLRLAASTLKSGASY SARVRAWAQTYNSTWSDWSPSTTWLNYEPEWEQHLP**PKREN**
GRVPRPPDCPKCPAPEMLGGPSVFI FPPKPKDTLLIARTPEVTCVVVDLDPEDPEVQISWFVDGKQMOTAK
 TQPREEQFNGTYRVVSVLPIGHQDWLKGKQFTCKVNNKALPSP IERTISKARGQAHQPSVYVLPSPREELS
 KNTVSLTCLIKDFPPDIDVEWQSNQQEPESESKYRTTPPQLDEDGSYFLYSKLSVDKSRWQRGDTFICAVM
 HEALTHHHYTQESLSHSPGK

【 0 1 4 3 】

c I L - 4 R - c I g G B - F c - Y D [配列番号 1 2] C H 2 ナンバリング (L 1 10
 8 Y / T 2 2 D)

【 数 9 】

VKVLHEPSCFSDYISTSVCQWKMDHPTNCSAELRLSYQLDFMGSENHTCVPENREDSVVCVCSMPIDDAVEA
 DVYQLDLWAGQQLLWGSFQPSKHVKPRTPGNLTVHPNISHTWLLMWTNPYPTENHLHSELTYMVNVSNDN
 DPEDFKVYNVTYMGPTLRLAASTLKSGASY SARVRAWAQTYNSTWSDWSPSTTWLNYEPEWEQHLP**PKREN**
GRVPRPPDCPKCPAPEMLGGPSVFI FPPKPKDTLYIARDPEVTCVVVDLDPEDPEVQISWFVDGKQMOTAK
 TQPREEQFNGTYRVVSVLPIGHQDWLKGKQFTCKVNNKALPSP IERTISKARGQAHQPSVYVLPSPREELS
 KNTVSLTCLIKDFPPDIDVEWQSNQQEPESESKYRTTPPQLDEDGSYFLYSKLSVDKSRWQRGDTFICAVM
 HEALTHNNHYTQESLSHSPGK

20

【 0 1 4 4 】

c I L - 1 3 R 2 - c I g G B - F c - Y D [配列番号 1 3] C H 2 ナンバリング (L 1 8 Y / T 2 2 D)

【 数 1 0 】

SMLSNAEIKVNPPQDFEIVDPGYLGYLSLQWQPPLFPDNFKECTIEYELKYRNIDSENWKTIIITKNLHYKD
 GFDLNKGIKAKINTLLPAQCTNGSEVRSSWAETTYWTSPOGQNETKIQDMDCVYYNWQYLVCVSWKPGMGVH
 FDTNYQLFYWYEGLDHSAECTDYIKVNGKNMGRFPYLESSDYKDFYICVNGSSESQPIRPSYFIFQLQNI
 VKPMPPDYLSLTVKNSEEINLKWNPKGPIPAKCFIYEIEFTEDGTTWVTTTTVENEIQITRTSNESQKLCF
 LVR.SKVNIYCSDDGIWSEWSDEQCWKGDIWKET**PKRENGRVPRPPDCPKCPAPEML**GGPSVFI FPPKPKDT
 LYIARDPEVTCVVVDLDPEDPEVQISWFVDGKQMOTAKTQPREEQFNGTYRVVSVLPIGHQDWLKGKQFTC
 KVNNKALPSP IERTISKARGQAHQPSVYVLPSPREELSKNTVSLTCLIKDFPPDIDVEWQSNQQEPESESK
 YRTTPPQLDEDGSYFLYSKLSVDKSRWQRGDTFICAVMHEALTHNNHYTQESLSHSPGK

30

【 0 1 4 5 】

太字のアミノ酸残基はヒンジ領域であり、太字および下線のアミノ酸残基は融合タンパク質の *in vivo* 半減期を増加させるための置換である。

【 0 1 4 6 】

[実施例 3]

二重特異性 F c 融合タンパク質

40

二重特異性 c F c 融合タンパク質は、二重特異性 c F c 融合タンパク質の 2 つのモノマーの各々が異なる標的タンパク質に結合するため、一般に、ホモ二量体 c F c 融合タンパク質よりも良好な代替物と考えられる。理論的には、これにより、全体的な製造コストを大幅に低減することができる。したがって、生成された 1 つのそのような二重特異性 c F c 融合タンパク質は、N 末端から C 末端の順序で、I L - 1 3 R 1 の E C D、I g G B のヒンジ領域および I g G B の c F c を含む第 1 のモノマーからなるヘテロ二量体を含んでいたのに対し、第 2 のモノマーは、N 末端から C 末端の順序で、c I L - 4 R の E C D、I g G B のヒンジ領域および I g G B の c F c を含む。別の二重特異性 c F c 融合タンパク質は、N 末端から C 末端の順序で、I L - 1 3 R 2 の E C D、I g G B のヒンジ領域および I g G B の c F c を含む第 1 のモノマーからなるヘテロ二量体を含み、一方、

50

第 2 のモノマーは、N 末端から C 末端の順序で、c I L - 4 R の E C D、I g G B のヒンジ領域および I g G B の c F c を含んでいた。

【 0 1 4 7 】

ヘテロ二量体タンパク質は、上記の実施例 1 に記載されたものと同様の所望のアミノ酸配列をコードするヌクレオチド配列から合成され、組換え生産される。ヘテロ二量体タンパク質は、I V、S C、I P または I M 等の様々な経路を介してイヌに投与される。ヘテロ二量体タンパク質は、0.1 μg/kg ~ 20 mg/kg またはそれを超える範囲の用量で投与され得る。典型的には、ヘテロ二量体タンパク質は、0.1 mg/kg ~ 10 mg/kg の範囲の用量で投与され得る。

【 0 1 4 8 】

二重特異性融合タンパク質を形成するためには、2 つの F c 融合タンパク質のホモ二量体よりもヘテロ二量体の形成を促進するために、各結合パートナーの融合タンパク質の F c 部分にアミノ酸置換を行うことが重要である。ヘテロ二量体形成を促進するために使用され得るイヌ F c 融合タンパク質の F c 部分における特定のアミノ酸置換のいくつかの可能性のある方法または組み合わせを以下の表 1 に提供する。これらの置換は、F c のヘテロ二量体化のためのノブ・イントゥ・ホール法に有利であるか、またはヘテロ二量体化を可能にするための異なる F c 鎖間の静電引力に有利である [これらのアミノ酸置換の包括的な考察については、Moore et al., Methods, 154: 38 - 50 (2019) and Brinkmann & Kontermann, MABS, 9: 182 - 212 (2017) を参照]。

【 0 1 4 9 】

1 つの二重特異性融合タンパク質 c I L - 4 R - 1 3 R 1 __ Z W 1 - c F c は、c I L - 4 R - c I g G B - F c - Z W - A および c I L - 1 3 R 1 - c I g G B - F c - Z W - B のヘテロ二量体である。別の二重特異性融合タンパク質 c I L - 4 R - 1 3 R 2 __ Z W 1 - c F c は、c I L - 4 R - c I g G B - F c - Z W - A と、c I L - 1 3 R 2 - c I g G B - F c - Z W - B とのヘテロ二量体である。

【 0 1 5 0 】

【 表 2 】

表 1

イヌ IgG-B Fc のアミノ酸置換
(配列番号 2 または配列番号 51)

番号	鎖 A	鎖 B
(1)	T132W	T132S/L134A/Y175V
(2)	T132W/S120C	T132S/L134A/Y175V/Y115C
(3)	K177D/R160D	D167K/E122K
(4)	S130H/F173A	Y115T/T162F
(5)	F173L	K177R
(6)	L117Y/F173A/Y175V	T132L/R160L/T162W
(7)	K126E/K177W	S113R/D167V/F173T
(8)	K126E/K177W/Y115C	S113R/D167V/F173T/S120C
(9)	K136E/K177W	E123N/D167V/F173T
(10)	K126D/D167M/Y175A	Q111R/S113R/T132V/K177V
(11)	Y115S/K136Y/T132M/K177V	E122G/E123D/S130Q/Y175A
(12)	L117D/L134E	L117K/T132K
(13)	L134D/K136S	E122Q/S130K

10

20

30

40

50

【 0 1 5 1 】

本発明の二重特異性 F c 融合タンパク質のモノマーの例を以下に列挙し、アミノ酸置換を太字および下線で示す：

【 0 1 5 2 】

c I L - 4 R - c I g G B - F c - Z W - A [配列番号 1 8]

【 数 1 1 】

VKVLHEPSCFSDYISTSVCQWKMDHPTNCSAELRLSYQLDFMGSENHTCVPENREDSVCVCSMPIDDAVEA
DVYQLDLWAGQQLLWSGSFQPSKHVKPRTPGNLTVHPNISHTWLLMWTNPYPTEHHLHSELTYMVNVSN
DPEDFKVYNVTYMGPTLRLAASTLKSGASYSARVRAWAQTYNSTWSDWSPSTTWLNYYEPWEQHLPKREN
GRVPRPPDCPKCPAPEMLGGPSVFI FPPKPKDTLLIARTPEVTCVVVDLDPEDPEVQISWFVDGKQMOTAK
TQPREEQFNGTYRVVSVLPIGHQDWLKGKQFTCKVNNKALPSPIERTISKARGQAHQPSVYVYPPSREELS
KNTVSLTCLIKDFFPDIDVEWQSNQQEPEPESKYRTTPQLDEDGSYALVSKLSVDKSRWQRGDTFICAVM
HEALHNHYTQESLSHSPGK

10

【 0 1 5 3 】

c I L - 1 3 R 1 - c I g G B - F c - Z W - B [配列番号 1 9]

【 数 1 2 】

GGVAAPTETQPPVTNLSVSVENLCTVIWTDWPEGASPNCNTLRYFSHFQDNKQDKKIAPETHRSKEVPLNER
ICLQVGSQCSTNESDNPSILVEKCTPPPEGDPESAVTELCVWHNLSYMKCTWLPGRNTSPDTNYTLYYWH
SSLGKILQCEDIYREGQHIGCSFALTNLKDSSFEQHSVQIVVKDNAGKIRPSFNIVPLTSHVKPDPPIK
LFFQNGNLYVQWKNPQNFYSRCLSYQVEVNNSQTETNDIFYVEEAKCQNSEFEGNLEGTICFMVPGVLPDT
LNTVRIRVRTNKLCYEDDKLWSNWSQAMSIGENTDPTPKRENGRVPRPPDCPKCPAPEMLGGPSVFI FPPK
PKDTLLIARTPEVTCVVVDLDPEDPEVQISWFVDGKQMOTAKTQPREEQFNGTYRVVSVLPIGHQDWLKGK
QFTCKVNNKALPSPIERTISKARGQAHQPSVYVLPSPREELSKNTVSLLCLIKDFFPDIDVEWQSNQQE
PESKYLTWPPQLDEDGSYFLYSKLSVDKSRWQRGDTFICAVMHEALHNHYTQESLSHSPGK

20

【 0 1 5 4 】

c I L - 1 3 R 2 - c I g G B - F c - Z W - B [配列番号 2 0]

【 数 1 3 】

SMLSNAEIKVNPQDFEIVDPGYLGYLSLQWQPPLFPDNFKECTIEYELKYRNIDSENWKTIIITKNLHYKD
GFDLNKGIKINTLLPAQCTNGSEVRSSWAETTYWTSPQGNRETQIDMDCVYYNWQYLVCSSWKPGMGVH
FDTNYQLFYWYEGLDHSAECTDYIKVNGKNMGCRFPYLESSDYKDFYICVNGSSSQPIRPSYFIFQLQNI
VKPMPPDYLSLTVKNSEEINLKWMPKGPPIPAKCFIYEIEFTEDGTTWVTTTVENEIQITRTSNESQKLCF
LVRSKVNIYCSDDGIWSEWSDEQCWKGDWIKETPKRENGRVPRPPDCPKCPAPEMLGGPSVFI FPPKPKDT
LLIARTPEVTCVVVDLDPEDPEVQISWFVDGKQMOTAKTQPREEQFNGTYRVVSVLPIGHQDWLKGKQFTC
KVNNKALPSPIERTISKARGQAHQPSVYVLPSPREELSKNTVSLLCLIKDFFPDIDVEWQSNQQEPEPE
SYLTWPPQLDEDGSYFLYSKLSVDKSRWQRGDTFICAVMHEALHNHYTQESLSHSPGK

30

【 0 1 5 5 】

4つのイヌ I g G の従来技術のアミノ酸配列：

c I g G A [配列番号 1] 従来技術

40

【 数 1 4 】

LGGPSVLI FPPKPKDILRITRTPPEVTCVVLDLGGREDPEVQISWFVDGKEVHTAKTQSREQQFNGTYRVVSV
LPIEHQDWLTGKEFKCRVNHIDLPSPIERTISKARGRAHKPSVYVLPSPKELSSSDTVSITCLIKDFYPP
DIDVEWQSNQQEPEPERKHRMTPPQLDEDGSYFLYSKLSVDKSRWQQGDPFTCAVMHETLQNHYTDLSSLHS
PGK

【 0 1 5 6 】

c I g G B [配列番号 2] 従来技術

【 数 1 5 】

50

LGGPSVFIFPPKPKDILLIARTPEVTCVVVDLDPEDPEVQISWFVDGKQMOTAKTQPREEQFNGTYRVVSV
LPIGHQDWLKGKQFTCKVNNKALPSPIERTISKARGQAHQPSVYVLPSPREELSKNTVSLTCLIKDFFPPD
IDVEWQSNQGQEPESKYRTTPPQLDEDGSYFLYSKLSVDKSRWQRGDTFICAVMHEALHNHYTQESLSHSP
GK

【 0 1 5 7 】

c I g G C [配列番号 3] 従来技術

【 数 1 6 】

LGGPSVFIFPPKPKDILVTARTPTVTCVVVDLDPENPEVQISWFVDSKQVQTANTQPREEQSNGTYRVVSV
LPIGHQDWLKGKQFKCKVNNKALPSPIEIIISKTPGQAHQPNVYVLPSPRDEMSSKNTVTLTCLVKDFFPPE
IDVEWQSNQGQEPESKYRMTTPPQLDEDGSYFLYSKLSVDKSRWQRGDTFICAVMHEALHNHYTQISLSHSP
GK

10

【 0 1 5 8 】

c I g G D [配列番号 4] 従来技術

【 数 1 7 】

LGGPSVFIFPPKPKDILRITRTPETITCVVLDLGGREDPEVQISWFVDGKEVHTAKTQPREEQFNSTYRVVSV
LPIEHQDWLTGKEFKCRVNHIGLPSPIERTISKARGQAHQPSVYVLPSPKELSSSDTVTLTCLIKDFFPP
EIDVEWQSNQGQEPESKYHTTAPQLDEDGSYFLYSKLSVDKSRWQQGDTFTCAVMHEALQNHYTDLSSLHS
PGK

20

【 0 1 5 9 】

4 つのイヌ I g G のイヌ I g G ヒンジ領域の従来技術のアミノ酸配列：

c I g G A ヒンジ領域 [配列番号 2 1] 従来技術

【 数 1 8 】

FNECRCTDTPPCPVPEP

【 0 1 6 0 】

c I g G B ヒンジ領域 [配列番号 2 2] 従来技術

【 数 1 9 】

PKRENGRVPRPPDCPKCPT²PEM

30

² このトレオニン (T) は、アラニン (A) としても同定されている。

【 0 1 6 1 】

c I g G C ヒンジ領域 [配列番号 2 3] 従来技術

【 数 2 0 】

AKECECKCNCNNCPGCGL

40

【 0 1 6 2 】

c I g G D ヒンジ領域 [配列番号 2 4] 従来技術

【 数 2 1 】

PKESTCKCISPCVPES

【 0 1 6 3 】

c I L - 4 R 、 c I L - 1 3 R₁ および c I L - 1 3 R₂ の E C D の従来技術の
アミノ酸配列

c I L - 4 R [配列番号 4 8] 従来技術

【 数 2 2 】

50

VKVLHEPSCFSDYISTSVQCQWKMDHPTNCSAELRLSYQLDFMGSENHTCVPENREDSVVCVCSMPIDDAVEA
 DVYQLDLWAGQQLLWSGSFQPSKHVKPRTPGNLTVHPNISHTWLLMWTNPYPPTENHLHSELTYMVNVSNND
 DPEDFKVYNVTYMGPTLRLAASLTKSGASYSARVRAWAQTYNSTWSDWSPSTTWLNYEPWEQHLP

【 0 1 6 4 】

c I L - 1 3 R 1 [配列番号 4 9] 従来技術

【 数 2 3 】

GGVAAPTETQPPVTNLSVSVENLCTVIWTDWDPPEGASPNCTLRYFSHFNDKQDKKIAPETHRSKEVPLNER
 ICLQVGSQCSTNESDNPSILVEKCTPPPEGDPESAATELQCVWHNLSYMKCTWLPGRNTSPDTNYTLYYWH
 SSLGKILQCEDIYREGQHIGCSFALTNLKDSSFEQHSVQIVVKDNAGKIRPSFNIVPLTSHVKPDPPIKR
 LFFQNGNLYVQWKNPQNFYSRCLSYQVEVNNSQTETNDIFYVEEAKCQNSEFEGNLEGTICFMVPGVLPDT
 LNTVRIVRVTKLKYEDDKLWSNWSQAMSIGENTDPT

10

【 0 1 6 5 】

c I L - 1 3 R 2 [配列番号 5 0] 従来技術

【 数 2 4 】

SMLSNAEIKVNPPQDFEIVDPGYLGYLSLQWQPPLFPDNFKECTIEYELKYRNIDSENWKTIIITKNLHYKD
 GFDLNKGIKINTLLPAQCTNGSEVRSSWAETTYWTSPQGNRETQIDMDCVYYNWQYLVCSWKPGMGVH
 FDTNYQLFYWYEGLDHSAECTDYIKVNGKNMGCRFPYLESSDYKDFYICVNGSSESQPIRPSYFIFQLQNI
 VKPMPPDYLSLTVKNSEEINLKNMMPKGPPIPAKCFIYEIEFTEDGTTWVTTTVENEIQITRSTNESQKLCF
 LVRSKVNIYCSDDGIWSEWSDEQCWKGDWIKET

20

【 0 1 6 6 】

【 表 3 】

表 2A

イヌ cFc 領域およびヒンジ領域

IgG cFc またはヒンジ領域	配列番号
IgGA cFc(従来技術)	1
IgGB cFc(従来技術)	2
IgGC cFc(従来技術)	3
IgGD cFc(従来技術)	4
IgGA ヒンジ領域(従来技術)	21
IgGB ヒンジ領域(従来技術)	22
IgGC ヒンジ領域(従来技術)	23
IgGD ヒンジ領域(従来技術)	24

30

【 0 1 6 7 】

40

【表 4】

表 2B

ホモ二量体融合タンパク質

cFc 融合タンパク質	配列番号
cIL-4R α -cIgGB-Fc	5
cIL-13R α 1-cIgGB-Fc	6
cIL-13R α 2-cIgGB-Fc	7
cIL-4R α -cIgGB-Fc-YD	8
cIL-13R α 1-cIgGB-Fc-YTE	9
cIL-13R α 2-cIgGB-Fc-YTE	10
cIL-4R α -cIgGB-Fc-H	11
cIL-4R α -cIgGB-Fc-YD	12
cIL-13R α 2-cIgGB-Fc-YD	13

10

【0168】

【表 5】

表 2C

ヘテロ二量体融合タンパク質配列

cFc 融合タンパク質	配列番号
cIL-4R α -cIgGB-Fc-ZW-A	18
cIL-13R α 1-cIgGB-Fc-ZW-B	19
cIL-13R α 2-cIgGB-Fc-ZW-B	20

20

【0169】

[実施例 4]

cFc 融合タンパク質のイヌIL-4およびIL-13への結合

30

方法：

以下の表3および表4に提供されるcFc融合タンパク質の結合定数を、OCTET（登録商標）HTXを使用して決定した。全ての動態測定を、SA（登録商標）バイオセンサおよびDATA ACQUISITION（登録商標）12.0ソフトウェアを使用してOCTET（登録商標）HTXによって行った。10 μ g/mLのビオチン標識抗原、イヌIL-4（cIL-4）またはイヌIL-13（cIL-13）のいずれかをSA（登録商標）バイオセンサに120秒間ロードした。次に、ブロッキング相のために、バイオセンサを1 \times pH7.0のTBS/カゼイン緩衝液に60秒間入れた。会合段階のために、抗原をロードしたバイオセンサを、1 \times pH7.0のTBS/カゼイン緩衝液中のcIL-4抗原またはcIL-13抗原を認識する1 μ Mから15.6nMまでの野生型受容体Fc融合物、二重特異性受容体Fc融合物またはFcRn変異体受容体Fc融合物の2倍連続希釈物に30秒間入れた。最後のウェルは緩衝液のみであり、そのセンサを参照センサの減算に使用した。最後に、バイオセンサを1 \times pH7.0のTBS/カゼイン緩衝液に120秒間入れて解離相とした。次いで、Data Analysis 12.0ソフトウェアを使用して結果を分析し、1:1結合モデルを使用して曲線をフィッティングした。

40

【0170】

結果：

cIL-4R - cFcおよびcIL-13R 1 - cFc、ならびにcIL-13R 2 - cFcホモ二量体およびヘテロ二量体融合タンパク質の会合速度定数（ka）、解

50

離速度定数 (k_{dis}) および解離定数 (KD) を以下の表 3 および表 4 に示す。以下の表 3 から分かるように、 $cIL-4$ を有する改変されていない $cIL-4R-cFc$ ホモ二量体の結合定数 (KD) は、約 $1 \times 10^{-12} M$ であった。顕著に対照的に、 $cIL-4$ を有するヘテロ二量体二重特異性 $cIL4R-IL13R-1_ZW1-cFc$ の KD は、約 $10,000$ 倍高かった (約 $1 \times 10^{-8} M$)。換言すれば、ホモ二量体 $cIL-4R-cFc$ は、ヘテロ二量体二重特異性 $cIL4R-IL13R-1_ZW1-cFc$ よりも約 4 桁強く $cIL-4$ に結合する。注目すべきことに、改変されたホモ二量体 $cIL-4R-cFc-H$ のイヌ $cIL-4$ (1×10^{-10}) への結合についての KD は、改変されていない $cIL-4R-cFc$ ホモ二量体の KD よりもおよそ 2 桁高く、改変されたホモ二量体 $cIL-4R-cFc-YTE$ の $cIL-4$ (1×10^{-11}) への結合の KD は、改変されたホモ二量体の KD よりもおよそ 1 桁高かった。さらに、 $cIL-4$ へのヘテロ二量体二重特異性 $cIL4R-IL13R-2_ZW1-cFc$ の結合は、このアッセイによって検出不能であった。したがって、ホモ二量体 $cIL-4R-cFc$ を改変してその半減期を増加させると、ホモ二量体 $cIL-4R-cFc-NH$ および $cIL-4R-cFc-YTE$ それぞれに対する $cIL-4$ に対する親和性が約 $10 \sim 100$ 倍低下したが、 $cIL4R-IL13R-1_ZW1-cFc$ ヘテロ二量体は、改変されていない $cIL-4R-cFc$ ホモ二量体と比較して $cIL-4$ に対する親和性が約 4 桁低下したことを示し、二量体 $cIL4R-IL13R-2_ZW1-cFc$ の $cIL-4$ に対する親和性は非常に低く、この実験手順では検出できなかった。

10

20

【0171】

【表6】

表 3

IL-4 結合力学特性

cFc 融合タンパク質	KD (M)	k_a ($M^{-1}s^{-1}$)	k_{dis} (s^{-1})
$cIL-4R\alpha-cFc$	1.18E-12	7.03E+05	8.30E-07
$cIL-4R\alpha-cFc-YTE$	1.11E-11	8.30E+05	9.23E-06
$cIL-4R\alpha-cFc-H$	1.26E-10	7.85E+05	9.88E-05
$cIL4R\alpha-IL13R\alpha 1_ZW1-cFc$	9.85E-09	2.37E+05	2.34E-03
$cIL4R\alpha-IL13R\alpha 2_ZW1-cFc$	ND	ND	ND

30

ND=結合は検出されない

【0172】

$cIL-13$ との改変されていない $cIL-13R-1-cFc$ の結合定数 (KD) は、約 $5 \times 10^{-9} M$ (以下の表 4 を参照) であった。 $cIL-13R-1-cFc$ を改変してその半減期を更に増加させる、すなわち $cIL-13R-1-cFc-YTE$ を作製すると、 $cIL-13$ に対する親和性が約 4 倍減少し、すなわち KD が $2 \times 10^{-8} M$ に増加した。特に、ヘテロ二量体二重特異性 $cIL4R-IL13R-1_ZW1-cFc$ は、改変されていない $cIL-13R-1-cFc$ よりも 8 倍強い $cIL-13$ (約 $4 \times 10^{-10} M$ 、以下の表 4 を参照) 結合を示した。これは、 $cIL-4$ に全く同じヘテロ二量体が結合する場合とは直接対照的であり、上記で指摘したように、結合は、対応する $cIL-4R-cFc$ ホモ二量体に対してほぼ 4 桁減少した (上記の表 3 を参照)。これらの結果は、ヘテロ二量体を形成すると、ヘテロ二量体の 2 つの個々のモノマーのそれぞれの結合パートナーに対する結合親和性に劇的な差が生じ得ることを示している。

40

【0173】

以下の表 4 から、改変されていない $cIL-13R-2-cFc$ は、約 $7.5 \times 10^{-$

50

10^{-13} MのKDを有するcIL-13に極めて強く結合することが明らかである。実際、cIL-13R α 2-cFcホモ二量体とcIL-13との結合は、cIL-13R α 1-cFcホモ二量体とcIL-13との結合よりも3~4桁強い。cIL-13R α 2-cFcをcIL-13R α 2-cFc-YTEまたはcIL-13R α 2-cFc-YDのいずれかに改変してその半減期を延ばすと、cIL-13に対する結合親和性がわずかに増加した、すなわちKDが二分の一(約 4.0×10^{-13} Mまで)減少した。驚くべきことに、cIL-13R α 2-cFc-YTEまたはcIL-13R α 2-cFc-YDの両方のホモ二量体は、約 4×10^{-9} M(以下の表4を参照)のKDを有するヘテロ二量体二重特異性cIL-4R α -IL13R α 2-ZW1-cFcよりも約4桁強くcIL-13に結合する。

【0174】

【表7】

表4

IL-13 結合力学特性

cFc 融合タンパク質	KD (M)	ka (M ⁻¹ s ⁻¹)	kdis (s ⁻¹)
cIL-13R α 1-cFc	5.37E-09	5.80E+04	3.12E-04
cIL-13R α 1-cFc-YTE	1.65E-08	6.65E+04	1.10E-03
cIL4R α -IL13R α 1-ZW1-cFc	4.15E-10	9.44E+04	3.91E-05
cIL-13R α 2-cFc	7.44E-13	1.00E+06	7.45E-07
cIL-13R α 2-cFc-YTE	4.32E-13	1.17E+06	5.04E-07
cIL-13R α 2-cFc-YD	4.40E-13	1.15E+06	5.07E-07
cIL-4R α -IL13R α 2-ZW1-cFc	4.15E-09	3.26E+04	1.35E-04

【0175】

要約すると、IL-4に対する結合親和性は、cIL-4R α -cFcのホモ二量体が、cIL-13R α 1-cFc-ZW-BまたはcIL-13R α 2-cFc-ZW-Bのいずれかを含むcIL-4R α -cFc-ZW-Aのヘテロ二量体で置き換えられ、それぞれcIL4R α -IL13R α 1-ZW1-cFcおよびcIL-4R α -IL13R α 2-ZW1-cFcを形成する場合に有意に低下するが、親和性の低下は、cIL-4R α -IL13R α 2-ZW1-cFcヘテロ二量体の場合に実質的に大きい。一方、IL-13の対応する結合親和性は、cIL-13R α 1-cFcのホモ二量体がcIL4R α -IL13R α 1-ZW1-cFcヘテロ二量体で置き換えられた場合に増大し、一方、IL-13の結合親和性は、cIL-13R α 2-cFcのホモ二量体がcIL-4R α -IL13R α 2-ZW1-cFcヘテロ二量体で置き換えられた場合に実質的に低下する。

【0176】

[実施例5]

cFc融合タンパク質によるSTAT-6リン酸化の阻害

DH82細胞におけるSTAT-6リン酸化の阻害によって測定される、IL-4およびIL-13によって媒介されるシグナル伝達を遮断するcFc融合タンパク質の能力を以下のように決定した:

【0177】

材料:

1. 活発に増殖しているDH82細胞: Merck Animal Health Lot: 628-011、24Oct14

2. HBSS、1X: Corning、カタログ21-022-CM

3. AlphaLISA p-STAT6 (Tyr641) アッセイキット: Per

50

kin Elmer、カタログALSU - PST6 - A10K

4. 組換えイヌIL - 4 : R&D Systems、カタログ : 752 - CL / CF

5a. IL - 4研究のためのcFc融合タンパク質試料

(i) cIL4R - cFc

(ii) cIL4R - IL13R 1__ZW1 - cFc

(iii) cIL4R - IL13R 2__ZW1 - cFc

5b. IL - 13研究のためのcFc融合タンパク質試料 :

(i) cIL13R 1 - cFc

(ii) cIL13R 2 - cFc

(iii) cIL4R - IL13R 1__ZW1 - cFc

(iv) cIL4R - IL13R 2__ZW1 - cFc

6. Perkin Elmer (登録商標) Envisionについて

【0178】

方法 :

1. 組織培養プレートにウェルあたり 1×10^5 個のDH82細胞 (2.5×10^5 細胞/mLの密度で40 μ L)を播種し、37 で2時間インキュベートした。

2. cFc融合タンパク質を2000 nM (ウェル中の最終濃度500 nM)に予備希釈し、次いで、ハンス平衡塩類溶液(HBSS)で3倍段階希釈した。DH82細胞を含む組織培養プレート上のそれぞれの位置に20 μ L / ウェルを移すことによってタンパク質を添加した。

3. (a) イヌIL - 4をHBSS中10 ng/mL (ウェル中2.5 ng/mL)に希釈し、プレートの各ウェルに20 μ L添加した。プレートを37 で15分間インキュベートするか、または、代替的に、

(b) イヌIL - 13をHBSS中20 ng/mL (ウェル中5 ng/mL)に希釈し、20 μ Lをプレートの各ウェルに添加した。プレートを37 で15分間インキュベートした。

4. プレートをインキュベーターから取り出し、AlphaLISA (登録商標) p - STAT - 6アッセイキットからの20 μ Lの4 x 溶解緩衝液をプレートの各ウェルに加えた。プレートを350 rpmのプレートシェーカー上で室温にて10分間攪拌した。

5. アクセプターミックスをAlphaLISA (登録商標) p - STAT6アッセイキットから調製し、1ウェル当たり15 μ Lを、96ウェルの1/2エリアプレート中の30 μ Lの細胞溶解物に添加した。プレートを密封し、350 rpmで2分間攪拌し、次いで、室温で1時間インキュベートした。

6. ドナーミックスを、AlphaLISA (登録商標) p - STAT6アッセイキットから、照明を抑えた実験室で調製し、15 μ L / ウェルを各プレートに添加した。プレートを密封し、箔で覆い、350 rpmで2分間攪拌し、次いで、室温で1時間インキュベートした。

7. プレートを、Perkin Elmer (登録商標) EnvisionのAlphaScreen設定を使用して読み取った。

【0179】

結果 :

(a) DH82におけるcIL4R - cFc、cIL4R - IL13R 1__ZW1 - cFc、およびcIL4R - IL13R 2__ZW1 - cFcによるIL - 4媒介STAT6リン酸化の阻害についてのIC50を以下の表5Aに提供する。見て分かるように、ホモ二量体cIL - 4R - cFcおよびヘテロ二量体二重特異性cIL - 4R - IL - 13R 1__ZW1 - cFcの両方が、それぞれ約80 pMおよび約50 pMの濃度でIL - 4媒介STAT6リン酸化の50%を阻害するのに対して、cIL - 4R - IL - 13R 2__ZW1 - cFcは、cIL4R - cFcまたはcIL4R - IL13R 1__ZW1 - cFcのいずれよりも3桁超高い濃度(すなわち、約0.2 μ M)でIL - 4媒介STAT6リン酸化の50%を阻害する。興味深いことに、ヘテロ

10

20

30

40

50

二量体 cIL-4R α -IL13R2 コンストラクトとは直接対照的に、ヘテロ二量体 cIL-4R α -IL13R1 コンストラクトは、ホモ二量体 cIL-4R α -cFc よりも cIL-4 (表4を参照) に対して強くないにしても、少なくとも同様に結合し、この関係は表5Aの IC₅₀ データと一致する。

(b) DH82細胞における cIL13R1-cFc、cIL13R2-cFc、cIL4R α -IL13R1_ZW1-cFc、および cIL4R α -IL13R2_ZW1-cFc による cIL-13 介在性 STAT6 リン酸化の阻害についての IC₅₀ を以下の表5Bに提供する。見て分かるように、cIL-13R2-cFc は、約 165 pM の濃度で cIL-13 媒介 STAT6 リン酸化の 50% を阻害するが、cIL13R1-cFc、cIL4R α -IL13R1_ZW1-cFc、および cIL4R α -IL13R2_ZW1-cFc は全て、ナノモル濃度をはるかに超える cIL-13 媒介 STAT6 リン酸化の 50% を阻害する。したがって、cIL-13 介在性 STAT6 リン酸化の 50% を阻害する cIL-4R α -IL-13R1_ZW1-cFc の濃度は、cIL-13R1-cFc の場合よりも 6 倍低い、依然として cIL-13R2-cFc の場合よりも約 20 倍高いのに対して、cIL-13 介在性 STAT6 リン酸化の 50% を阻害する cIL-4R α -IL-13R2_ZW1-cFc の濃度は、cIL-13R2-cFc の場合よりも約 200 倍高い。したがって、改変されていない cIL-13R2-cFc ホモ二量体は、驚くべきことに、cIL-4R α -IL-13R2_ZW1-cFc よりも cIL-13 により強く結合する(上記の表4を参照) だけでなく、cIL-4R α -IL-13R2_ZW1-cFc について見出される濃度よりも実質的に低い濃度で cIL-13 媒介 STAT6 リン酸化も一貫して阻害する(以下の表5Bを参照)。

【0180】

【表8】

表 5A

IL-4 IC₅₀

cFc 融合タンパク質	IL-4 IC ₅₀ (nM)
cIL-4R α -cFc	0.084
cIL-4R α -IL-13R α 1_ZW1-cFc	0.046
cIL-4R α -IL-13R α 2_ZW1-cFc	183.8

【0181】

【表9】

表 5B

IL-13 IC₅₀

cFc 融合タンパク質	IL-13 IC ₅₀ (nM)
cIL-13R α 1-cFc	18.44
cIL-13R α 2-cFc	0.165
cIL-4R α -IL-13R α 1_ZW1-cFc	3.025
cIL-4R α -IL-13R α 2_ZW1-cFc	29.45

【0182】

以下の表6は、得られた結果を要約しており、様々な結合パートナーの解離定数をそれぞれの IC₅₀ と相関する。図から分かるように、最適なサイトカイントラップは、cIL-13R2-cFc のホモ二量体を含む cIL-4R α -cFc のホモ二量体である。

。

10

20

30

40

50

【 0 1 8 3 】

【 表 1 0 】

表 6

概要の表

cFc 融合タンパク質	形態	IL-4 (KD)	IL-4 (IC ₅₀)	IL-13 (KD)	IL-13 (IC ₅₀)
cIL-4R α -cFc	ホモ二量体	1×10^{-12} M	8×10^{-11} M		
cIL-4R α -IL-13R α 1	ヘテロ二量体	1×10^{-8} M	5×10^{-11} M	4×10^{-10} M	3×10^{-9} M
cIL-4R α -IL-13R α 2	ヘテロ二量体	ND	2×10^{-7} M	4×10^{-9} M	3×10^{-8} M
cIL-13R α 1-cFc	ホモ二量体			5×10^{-9} M	2×10^{-8} M
cIL-13R α 2-cFc	ホモ二量体			7×10^{-13} M	2×10^{-10} M

ND=結合は検出されない

10

【 0 1 8 4 】

[実施例 6]

イヌIL-31に対する従来技術のイヌ化抗体

本発明において有用であり得る抗体は、米国特許第9,206,253号B2および米国特許第10,150,810号B2に記載されているものである。好ましくは、これらの抗体は、以下の軽鎖および重鎖配列を有する：

20

【 0 1 8 5 】

マウス抗体クローンM14およびイヌIgG-Bからのイヌ化重鎖配列：

[配列番号14] 従来技術

【 数 2 5 】

```
EVQLVESGPSLVKPGGSLRLTCSVTGDSITSGYWNWIRKFPGNKLEYMGYISYSGITDYNPSLKSRTISR
DTSKNQYYLQLNSVTTEDTATYYCARYGNYGYAMDYWGQGLVTVSSASTTAPSVFPLAPSCGSTSGSTVA
LACLVSQYFPEPVTVSWNSGSLTSGVHTFPSVLQSSGLYSLSSMVTVPSSRWPSETFTCNVAHPASKTKVD
KPVPKRENGRVPRPPDCPKCPAPEMLGGPSVFI FPPKPKDTLLIARTPEVTCVWDLDPEDPEVQISWFVDG
KQMQTAKTQPREEQFAGTYRWSVLP IGHQDWLKGKQFTCKVNNKALPSPERTISKARGQAHQPSVYVLP
SREELSKNTVSLTCLIKDFPPDIDVEWQSQEQEPESKYRTPPQLDEGDFLYSKLSVDKSRWQRGDT
FICAVMHEALHNHYTQESLSHSPGK
```

30

【 0 1 8 6 】

マウス抗体クローンM14およびイヌ軽鎖定常領域由来のイヌ化軽鎖配列： [配列番号15] 従来技術

【 数 2 6 】

```
DIVMTQSPASLSVSLGQRATISCRASESVDTYGNFSFMHWYQQKPGQSPKLLIYRASNLKESGIPARFGGSGS
GTDFTLTIDPVQADDVATYYCQQSYEDPWTFGGGTKLEIKRNDAPAVYLFQPSPDQLHTGSASWCLLNSF
YPKDINVKWKVDGVIQDTGIQESVTEQDKDSTYLSSTLTMSSTEYLSHELYSCEITHKSLPSTLIKSFQR
SECQRVD
```

40

【 0 1 8 7 】

Z-HC：イヌ化重鎖配列： [配列番号16] 従来技術

【 数 2 7 】

50

EVQLVESGGDLVPGGSLRLSCVASGFTFSNYGMSWVRQAPGKGLQWVATISYGGSYTYYPDNIKGRFTIS
 RDNAKNTLYLQMNSLRAEDTAMYCVRGYGYDTMDYWGQGLVTVSSASTTAPSVFPLAPSCGSTSGSTVA
 LACLVSGYFPEPVTVSWNSGSLTSGVHTFPSVLQSSGLYSLSSMVTVPSSRWPSETFTCNVAHPASKTKVD
 KPVPKRENGRVPRPPDCPKCPAPEMLGGPSVFI FPPKPKDTHLIARTPEVTCVVVDLDPEDPEVQISWFDV
 GKQMQTAKTQPREEQFNGTYRVVSVLP IGHQDWLKGKQFTCKVNNKALPSPIERTISKARGQAHQPSVYVL
 PPSREELSKNTVSLTCLIKDFPPDIDVEWQSNQQEPEPSKYRTPPQLDEDGSYFLYSKLSVDKSRWQRG
 DTFICAVMHEALHNHYTQESLSHSPG

【 0 1 8 8 】

Z - LC : イヌ化軽鎖配列 : [配列番号 1 7] 従来技術

10

【 数 2 8 】

EIVMTQSPASLSLSQEEKVTITCKASQSVSFAGTGLMHWYQQKPGQAPKLLIYRASNLEAGVPSRFSGSGS
 GTDFSFTISSLEPEDVAVYYCQQSREYPWTFGQGTKLEIKRNDAQPAVYLFQPSPDQLHTGSASVVCLLNS
 FYPKDIVKWKVDGVIQDTGIQESVTEQDKDSTYSLSSLTMSSTEYLSHELYSCEITHKSLPSTLIKSFQ
 RSEC

【 0 1 8 9 】

【 表 1 1 】

表 7

20

従来技術の IL-31 抗体配列:

	配列番号	HC	LC
イヌ化マウス抗体クローン M14 およびイヌ IgG-B	14	√	
イヌ化マウス抗体クローン M14 およびイヌ LC 定常領域	15		√
Z-HC:イヌ化 HC 配列	16	√	
Z-LC:イヌ化 LC 配列	17		√

【 0 1 9 0 】

[実施例 7]

30

IL - 31 R に対するイヌ化抗体

イヌ IL - 31 R に対するラットモノクローナル抗体 :

イヌ IL - 31 R に対するモノクローナル抗体を、(毎回 25 μg の抗原 / 動物を使用
 して) イヌ IL - 31 R の細胞外ドメイン (ECD) でラットを 3 ~ 4 週間にわた
 って複数回免疫することによって産生させた。免疫後、血清を各動物から回収し、E L I S
 A によってイヌ IL - 31 R ECD に対して試験した。最も高い IL - 31 R E
 CD 反応性を有する動物のリンパ節細胞を骨髓腫 S P 2 / 0 細胞株と融合させて、ハイ
 ブリドーマを産生した。融合の約 10 日後、成長中のハイブリドーマ由来の上清を、IL -
 31 R ECD タンパク質被覆プレート上で、以下に記載されるプロトコルを使用して
 E L I S A によってスクリーニングした。3 つのラットモノクローナル抗体、4 4 E 3、
 1 0 A 1 2 および 2 8 F 1 2 をイヌ化のために選択した。これらのイヌ化抗体は、イヌ I
 L - 31 R に強固に結合する。

40

【 0 1 9 1 】

E L I S A の手順 :

1 . 96 ウェルのハーフエリアプレートを、25 μL / ウェルの IL - 31 R (P
 B S 緩衝液中 1 μg / mL) でコーティングする。プレートを 4 で一晩インキュベート
 する。

2 . プレートを P B S T (P B S + 0 . 0 5 % T w e e n 2 0) で 3 回 洗 浄 する

3 . ブロッキング緩衝液 (5 % F B S を含む P B S) により、25 u l / ウェルで
 プレートを室温で 30 分間ブロッキングする。

50

4. 25 μ l / ウェルハイブリドーマ上清を96ウェルプレートに移し、室温で60分間インキュベートする。
5. PBSTによってプレートを3回洗浄する。
6. 25 μ l / ウェルの抗ラットIgG - HRPコンジュゲート、ブロッキング緩衝液中1:4000希釈液をプレートに添加し、室温で60分間インキュベートする。
7. プレートをPBSTで5回洗浄する。
8. 20~30分間の比色反応のために、TMB系試薬をプレートに添加する。
9. 0.16M硫酸で反応を停止する。
10. プレートリーダーによってプレートを読み取る。

この手順を使用して、イヌIL-31R と反応するいくつかのハイブリドーマ分泌抗体を同定した。 10

【0192】

イヌ化抗体の作製およびイヌIL-31R へのイヌ化抗体の結合：

イヌIL-31R と反応性の選択されたラット抗体のHCおよびLCのヌクレオチド配列および推定アミノ酸配列を決定した。各抗体について3つのHC CDRおよび3つのLC CDRを表すアミノ酸配列も決定した。これらのCDRを使用して、イヌIL-31R ECDに結合するイヌ化抗体を開発した。IL-31R に対するイヌ化抗体の結合を以下のようにELISAによって決定した：

【0193】

材料：

1. 抗イヌIgG (cFc特異的) - ペルオキシダーゼ (Sigma - Aldrich SAB3700109 - 1.5MG)
2. TMB - ELISA基質 (Thermo - Fisherカタログ番号34028)
3. PBS pH7.4 (Thermo - Fisherカタログ番号10010001)
4. Tween20を含むトリス緩衝生理食塩水 (TBST) (Sigma - Aldrich T9039 - 10PAK)

【0194】

方法：

1. 1 μ g / mL、100 μ l / ウェルのPBS緩衝液中のcIL-31R によって免疫プレートをコーティングする。プレートを37 で1~2時間または4 で一晩インキュベートする。 30
2. TBST緩衝液でプレートを3回洗浄する。
3. ブロッキング緩衝液 (TBST中0.5%BSA) によってプレートを室温で45~60分間ブロッキングする。
4. 抗cIL31-R 抗体を希釈プレート中のブロッキング緩衝液で三倍希釈し、希釈した抗体をcIL-31R 被覆プレートに移し、室温で45~60分間インキュベートする。
5. TBSTでプレートを3回洗浄する。
6. 1:2000希釈HRPコンジュゲート抗イヌIgG Fcをプレートに添加し、室温で45~60分間インキュベートする。 40
7. TBSTによってプレートを3回洗浄する。
8. TMB - ELISA基質を比色反応のためにプレートに10~15分間添加する。
9. 1M H₃PO₄によって反応を停止させる。
10. プレートを450nMでプレートリーダーによって読み取る。

【0195】

結果：

図1は、ELISAによって評価される、関連するキメラ抗イヌIL-31R 抗体およびイヌ化抗イヌIL-31R 抗体の結合活性を示す。ラット抗体44E2の異なる設計をELISAで評価した。ELISAの結果は、全てのイヌ化抗体が、キメラ44E2 50

抗体の EC50 に類似する EC50 で イヌ IL - 31 R に結合するが、c44E2 H5k1 は、対応するキメラ44E2抗体の EC50 に最も類似する EC50 で イヌ IL - 31 R に結合することを示している。

【0196】

図2は、ELISAによって評価される、関連するキメラ抗イヌIL-31R抗体およびイヌ化抗イヌIL-31R抗体の結合活性を示す。ラット抗体10A12の異なる設計をELISAで評価した。ELISAの結果は、イヌ化抗体の1つ(c10A12 H2L6)が、対応するキメラ10A12抗体のEC50よりも更に低いEC50でイヌIL-31Rに結合することを示している。

【0197】

図3は、ELISAによって評価される、関連するキメラ抗イヌIL-31R抗体およびイヌ化抗イヌIL-31R抗体の結合活性を示す。ラット抗体28F12の異なる設計をELISAで評価した。ELISAの結果は、イヌ化抗体がイヌIL-31Rに結合し、キメラ28F12抗体のEC50よりも更に低いEC50を有することを示している。

【0198】

以下は、本発明で使用されるキメラ抗体(ラット-イヌ)およびイヌ化抗体のアミノ酸配列の例である。CDRを表すアミノ酸に下線を引く。

【0199】

r10A12VH-cIgG Bm [配列番号25]

【数29】

EVQLVESGGGLVKPGRSMKLSCAASGFTFSNYYMAWVRQAPTKGLEWVASISTGGGNTYYRDSVKGRFTIS
RDNAKRTLYLQMDSLRSEDATATYCGRHGTLYFDYWGQGVMTVSSASTTAPSVFPLAPSCGSTSGSTVAL
ACLVSGYFPEPVTVSWNSGSLTSGVHTFPSVLQSSGLYSLSSMVTVPSSRWPSETFTCNVAHPASKTKVDK
PVPKRENGRVPRPPDCPKCPAPEMLGGPSVFIFFPKPKDTHLIARTPEVTCVVVALDPEDPEVQISWFVDG
KQMQTAKTQPREEQFAGTYRVVSVLPIGHQDWLKGKQFTCKVNNKALPSPIERTISKARGQAHQPSVYVLP
PSREELSKNTVSLTCLIKDFFPDIDVEWQSNQEQEPESKYRTTPPQLDEDGSYFLYSKLSVDKSRWQRGD
TFICAVMHEALHNHYTQESLSHSPGK

【0200】

c10A12VH1-cIgG Bm [配列番号26]

【数30】

EVQLVESGGDLVKPGGSLRLSCLVASGFTFSNYYMAWVRQAPGKGLQWVASISTGGGNTYYRDSVKGRFTIS
RDNAKNTLYLQMNLSRAEDTAMYYCAKHGTLYFDYWGQGLVTVSSASTTAPSVFPLAPSCGSTSGSTVAL
ACLVSGYFPEPVTVSWNSGSLTSGVHTFPSVLQSSGLYSLSSMVTVPSSRWPSETFTCNVAHPASKTKVDK
PVPKRENGRVPRPPDCPKCPAPEMLGGPSVFIFFPKPKDTHLIARTPEVTCVVVALDPEDPEVQISWFVDG
KQMQTAKTQPREEQFAGTYRVVSVLPIGHQDWLKGKQFTCKVNNKALPSPIERTISKARGQAHQPSVYVLP
PSREELSKNTVSLTCLIKDFFPDIDVEWQSNQEQEPESKYRTTPPQLDEDGSYFLYSKLSVDKSRWQRGD
TFICAVMHEALHNHYTQESLSHSPGK

【0201】

c10A12VH2-cIgG Bm [配列番号27]

【数31】

EVQLVESGGDLVKPGGSLRLSCLVASGFTFSNYYMAWVRQAPGKGLQWVASISTGGGNTYYRDSVKGRFTIS
RDNAKNTLYLQMNLSRAEDTAMYYCARHGTLYFDYWGQGLVTVSSASTTAPSVFPLAPSCGSTSGSTVAL
ACLVSGYFPEPVTVSWNSGSLTSGVHTFPSVLQSSGLYSLSSMVTVPSSRWPSETFTCNVAHPASKTKVDK
PVPKRENGRVPRPPDCPKCPAPEMLGGPSVFIFFPKPKDTHLIARTPEVTCVVVALDPEDPEVQISWFVDG
KQMQTAKTQPREEQFAGTYRVVSVLPIGHQDWLKGKQFTCKVNNKALPSPIERTISKARGQAHQPSVYVLP
PSREELSKNTVSLTCLIKDFFPDIDVEWQSNQEQEPESKYRTTPPQLDEDGSYFLYSKLSVDKSRWQRGD
TFICAVMHEALHNHYTQESLSHSPGK

10

20

30

40

50

【 0 2 0 2 】

r 1 0 A 1 2 V L - c C 1 [配列番号 2 8]

【 数 3 2 】

QFTLTQPKSVSGSLRSTITIPCERSSGDIGDSYVSWYQQHLGRPPINVIYVDDQRPSEVSDRFSGSIDSSS
NSASLTITDLQMDDEADYFCQSYDSNIDGPVFGGGTKLTVLGQPKASPSVTLFPPSSEELGANKATLVCLI
SDFYPSGVTVAWKADGSPVTQGVETTKPSKQSNNKYAASSYLSLTPDKWKSHSSFCLVTHEGSTVEKKVA
PAECS

【 0 2 0 3 】

c 1 0 A 1 2 V L 4 - c C 1 [配列番号 2 9]

【 数 3 3 】

QSVLTQPASVSGSLGQRTISCERSSGDIGDSYVSWYQQLPKAPSLLIYVDDQRPSPGVPERFSGSKSGSS
NSATLLITGLQAEDEADYFCQSYDSNIDGPVFGGGTHLTVLGQPKASPSVTLFPPSSEELGANKATLVCLI
SDFYPSGVTVAWKADGSPVTQGVETTKPSKQSNNKYAASSYLSLTPDKWKSHSSFCLVTHEGSTVEKKVA
PAECS

10

【 0 2 0 4 】

c 1 0 A 1 2 V L 5 - c C 1 [配列番号 3 0]

【 数 3 4 】

QPVLTPPPSLASLGTTARLTCERSSGDIGDSYVSWYQQKPGSPPRDLLYVDDQRPSPGVSKSFSGSKDTSA
NAGLLLI SGLQPEDEADYFCQSYDSNIDGPVFGGGTHLTVLGQPKASPSVTLFPPSSEELGANKATLVCLI
SDFYPSGVTVAWKADGSPVTQGVETTKPSKQSNNKYAASSYLSLTPDKWKSHSSFCLVTHEGSTVEKKVA
PAECS

20

【 0 2 0 5 】

c 1 0 A 1 2 V L 6 - c C 1 [配列番号 3 1]

【 数 3 5 】

QPVLTPPPSLASLGTTARLTCERSSGDIGDSYVSWYQQKPGSPPRDVIYVDDQRPSEVSKSFSGSKDTSA
NAGLLLI SGLQPEDEADYFCQSYDSNIDGPVFGGGTHLTVLGQPKASPSVTLFPPSSEELGANKATLVCLI
SDFYPSGVTVAWKADGSPVTQGVETTKPSKQSNNKYAASSYLSLTPDKWKSHSSFCLVTHEGSTVEKKVA
PAECS

30

【 0 2 0 6 】

r 2 8 F 1 2 V H - c I g G B m [配列番号 3 2]

【 数 3 6 】

EVQLVESDGGLAQPGRSLKLSAASGFTFSDYYMAWVRQAPTKGLEWVATISYDGSSTYYRDSVGRFTIS
RDNASTLYLQMDSLRSEDATYYCARGPLTDWAPNWFAYWGQTLVTVSSASTTAPSVFPLAPSCGSTSG
STVALACLVSGYFPEPVTVSWNSGSLTSGVHTFPSVLQSSGLYSLSSMVTVPSSRWPSETFTCNVAHPASK
TKVDKPVKRENGRVPRPPDCPKCPAPEMLGGPSVFI FPPKPKDTLLIARTPEVTCVVVALDPEDPEVQIS
WFVDGKQMOTAKTQPREEQFAGTYRVVSVLPIGHQDWLKGKQFTCKVNNKALPSPIERTISKARGQAHQPS
VYVLPSSREELSKNTVSLTCLIKDFPPDIDVEWQSNQQEPESESKYRTPPQLDEDGSYFLYSKLSVDKSR
WQRGDTFICAVMHEALHNHYTQESLSHSPGK

40

【 0 2 0 7 】

c 2 8 F 1 2 V H 1 - c I g G B m [配列番号 3 3]

【 数 3 7 】

50

EVQLVESGGDLVKPGGSLRLSCVASGFTFSDYYMAWVRQAPGKGLQWVATISYDGSSTYYRDSVGRFTIS
 RDNAKNTLYLQMNSLRAEDTAMY YCAKGPLTDWAPNWFAYWGQGLVTVSSASTTAPSVFPLAPSCGSTSG
 STVALACLVSGYFPEPVTVSWNSGSLTSGVHTFPSVLQSSGLYSLSSMVTVPSSRWPSETFTCNVAHPASK
 TKVDKPVPKRENGRVPRPPDCPKCPAPEMLGGPSVFI FPPKPKDTLLIARTPEVTCVVVALDPEDPEVQIS
 WFVDGKQMOTAKTQPREEQFAGTYRVVSVLP IGHQDWLKGKQFTCKVNNKALPSP IERTISKARGQAHQPS
 VYVLPSPREELSKNTVSLTCLIKDFFPPDIDVEWQSNQQEPESKYRTT PPQLDEDGSYFLYSKLSVDKSR
 WQRGDTFICAVMHEALHNHYTQESLSHSPGK

【 0 2 0 8 】

c 2 8 F 1 2 V H 2 - c I g G B m [配列番号 3 4]

10

【 数 3 8 】

EVQLVESGGDLVKPGGSLRLS CAASGFTFSDYYMAWVRQAPGKGLQWVATISYDGSSTYYRDSVGRFTIS
 RDNAKNTLYLQMNSLRAEDTAMY YCARGPLTDWAPNWFAYWGQGLVTVSSASTTAPSVFPLAPSCGSTSG
 STVALACLVSGYFPEPVTVSWNSGSLTSGVHTFPSVLQSSGLYSLSSMVTVPSSRWPSETFTCNVAHPASK
 TKVDKPVPKRENGRVPRPPDCPKCPAPEMLGGPSVFI FPPKPKDTLLIARTPEVTCVVVALDPEDPEVQIS
 WFVDGKQMOTAKTQPREEQFAGTYRVVSVLP IGHQDWLKGKQFTCKVNNKALPSP IERTISKARGQAHQPS
 VYVLPSPREELSKNTVSLTCLIKDFFPPDIDVEWQSNQQEPESKYRTT PPQLDEDGSYFLYSKLSVDKSR
 WQRGDTFICAVMHEALHNHYTQESLSHSPGK

【 0 2 0 9 】

r 2 8 F 1 2 V L - c C k [配列番号 3 5]

20

【 数 3 9 】

DIQMTQSPASLSASLGETVTITCQTSEDIYSGLAWYQQKPGKSPQFLIYGASRLEDGVPSPRFSGSGSGTQY
 SLKISSMQTEDEGVYFCQQGLKY PNTFGAGTKLELKRNDAPAVYLFQPSPDQLHTGSASVVCLLNSFYPK
 DINVKWKVDGVIQDTGIQESVTEQDKDSTYSLSSSTLTMSSTEYLSHELYSCEITHKSLPSTLIKSFQRSEC
 QRVD

【 0 2 1 0 】

c 2 8 F 1 2 V L 1 - c C k [配列番号 3 6]

30

【 数 4 0 】

DIVMTQTPLSLSVSPGETASIS CQTSEDIYSGLAWFRQKPGQSPQRLIYGASRLEDGVPDRFSGSGSGTDF
 TLRISTVEADDTGVYFCQQGLKY PNTFGAGTKVELKRNDAPAVYLFQPSPDQLHTGSASVVCLLNSFYPK
 DINVKWKVDGVIQDTGIQESVTEQDKDSTYSLSSSTLTMSSTEYLSHELYSCEITHKSLPSTLIKSFQRSEC
 QRVD

【 0 2 1 1 】

c 2 8 F 1 2 V L 2 - c C k [配列番号 3 7]

40

【 数 4 1 】

EIVMTQSPASLSLSQEEKVTITCQTSEDIYSGLAWYQQKPGQAPKLLIYGASRLEDGVPSPRFSGSGSGTDF
 SFTISSLEPEDVAVYFCQQGLKY PNTFGAGTKVELKRNDAPAVYLFQPSPDQLHTGSASVVCLLNSFYPK
 DINVKWKVDGVIQDTGIQESVTEQDKDSTYSLSSSTLTMSSTEYLSHELYSCEITHKSLPSTLIKSFQRSEC
 QRVD

【 0 2 1 2 】

c 2 8 F 1 2 V L 3 - c C k [配列番号 3 8]

【 数 4 2 】

DIVMTQSPASLSLSQEEKVTITCQTSEDIYSGLAWYQQKPGQAPKLLIYGASRLEDGVPSPRFSGSGSGTDF
 SFTISSLEPEDVAVYFCQQGLKY PNTFGAGTKVELKRNDAPAVYLFQPSPDQLHTGSASVVCLLNSFYPK
 DINVKWKVDGVIQDTGIQESVTEQDKDSTYSLSSSTLTMSSTEYLSHELYSCEITHKSLPSTLIKSFQRSEC
 QRVD

50

【 0 2 1 3 】

c 2 8 F 1 2 V L 4 - c C k [配列番号 3 9]

【 数 4 3 】

DIVMTQTPLSLSVSPGETASISCSQTSEDIYSGLAWFRQKPGQSPQLLIYGASRLEDGVPDRFSGSGSGTDF
TLRISTVEADDTGVYFCQQGLKYENTFGAGTKVELKRNDACPAVYLFQPSDQLHTGSASVVCLLNSFYPK
DINVKWKVDGVIQDTGIQESVTEQDKDSTYSLSSLTMTSSTEYLSHELYSCEITHKSLPSTLIKSFQRSEC
QRVD

10

【 0 2 1 4 】

r 4 4 E 2 V H - c I g G B m [配列番号 4 0]

【 数 4 4 】

QVQLKESGPGLVQPSQTLSTCTVSGFSLTNSGVSWVRQPPGKLEWIAAISSGGSTYNSVLKSRLSISR
DTSKSQVFLKMNSLQTEDTAIYFCTRRLSGYNYVPFAYWGQGLVTVSSASTTAPSVFPLAPSCGSTSGST
VALACLVSQYFPEPVTVSWNSGSLTSGVHTFPSVLQSSGLYSLSSMVTVPSSRWPSETFTCNVAHPASKTK
VDKPVPKRENGRVPRPPDCPKCPAPEMLGGPSVFI FPPKPKDTLLIARTPEVTCVVVALDPEDPEVQISWF
VDGKQMOTAKTQPREEQFAGTYRVVSVLPIGHQDWLKGKQFTCKVNNKALPSPPIERTISKARGQAHQPSVY
VLPPSREELSKNTVSLTCLIKDFPPDIDVEWQSNQQEPEESKYRTTTPQLDEDGSYFLYSKLSVDKSRWQ
RGDTFICAVMHEALHNHYTQESLSHSPGK

20

【 0 2 1 5 】

c 4 4 E 2 V H 1 - c I g G B m [配列番号 4 1]

【 数 4 5 】

EVQLVESGGDLVKPEGSLRLSCVVSQFTFSSNGVSWVRQAPGKGLQVVAAISSGGSTYNSVLKSRFTISR
DNAKNTLYLQMNLSLRTEDTAVYYCAKRLSGYNYVPFAYWGQGLVTVSSASTTAPSVFPLAPSCGSTSGST
VALACLVSQYFPEPVTVSWNSGSLTSGVHTFPSVLQSSGLYSLSSMVTVPSSRWPSETFTCNVAHPASKTK
VDKPVPKRENGRVPRPPDCPKCPAPEMLGGPSVFI FPPKPKDTLLIARTPEVTCVVVALDPEDPEVQISWF
VDGKQMOTAKTQPREEQFAGTYRVVSVLPIGHQDWLKGKQFTCKVNNKALPSPPIERTISKARGQAHQPSVY
VLPPSREELSKNTVSLTCLIKDFPPDIDVEWQSNQQEPEESKYRTTTPQLDEDGSYFLYSKLSVDKSRWQ
RGDTFICAVMHEALHNHYTQESLSHSPGK

30

【 0 2 1 6 】

c 4 4 E 2 V H 4 - c I g G B m [配列番号 4 2]

【 数 4 6 】

ELTLQESGPGLVKPSQTLSTCVVSGGSVTSNGVSWIRQRPRGRLEWMAAISSGGSTYNSVLKSRISITA
DTAKNQFSLQLSSMTTEDTAVYYCARRLSGYNYVPFAYWGQGLVTVSSASTTAPSVFPLAPSCGSTSGST
VALACLVSQYFPEPVTVSWNSGSLTSGVHTFPSVLQSSGLYSLSSMVTVPSSRWPSETFTCNVAHPASKTK
VDKPVPKRENGRVPRPPDCPKCPAPEMLGGPSVFI FPPKPKDTLLIARTPEVTCVVVALDPEDPEVQISWF
VDGKQMOTAKTQPREEQFAGTYRVVSVLPIGHQDWLKGKQFTCKVNNKALPSPPIERTISKARGQAHQPSVY
VLPPSREELSKNTVSLTCLIKDFPPDIDVEWQSNQQEPEESKYRTTTPQLDEDGSYFLYSKLSVDKSRWQ
RGDTFICAVMHEALHNHYTQESLSHSPGK

40

【 0 2 1 7 】

c 4 4 E 2 V H 5 - c I g G B m [配列番号 4 3]

【 数 4 7 】

50

ELTLQESGPGLVKPSQTL~~SLTCTVSGFSLT~~SN~~GV~~SWIRQRPRGRGLEWMAISSGGSTYYNSVLKSRISITA
 DTAKNQFSLQLSSMTT~~EDTAVYYCAR~~LSGYNVVFAYWGQTLVTVSSASTTAPSVFPLAPSCGSTSGST
 VALACLVSGYFPEPVTVSWNSGSLTSGVHTFPSVLQSSGLYSLSSMVTVPSSRWPSETFTCNVAHPASKTK
 VDKPVPKRENGRVP~~PPDCPKCPAPEMLGGPSVFI~~FPPKPKDTLLIARTPEVTCVVVALDPEDPEVQISWF
 VDGKQMOTAKTQPREEQFAGTYRVVSVLPIGHQDWLKGKQFTCKVNNKALPSP~~PIERTISKARGQA~~HQPSVY
 VLPPSREELSKNTVSLTCLIKDFFPDIDVEWQSN~~QQEPE~~SKYRTT~~PPQLDE~~DGSYFLYSKLSVDKSRWQ
 RGDTFICAVMHEALHNHYTQESLSHSPGK

【 0 2 1 8 】

r 4 4 E 2 V L - c C k [配列番号 4 4]

10

【 数 4 8 】

DIQMTQSPSLLSASVGD~~RVTLNCKASQNIYKHLAWC~~QQKLGEPNLLISNANSLQTGIPSRFSGSGSGTDF
 TLTISSLQPEDVATYFC~~QYYSGDT~~FGAGTKLELKRND~~AQPAVYLFQ~~PSPDQLHTGSASVVCLLNSFYPKD
 INVKWKVDGVIQDTGIQESVTEQDKDSTYSL~~SSTLTMSSTEYLSHELYSCEITHKSLP~~STLIKS~~FQRSECQ~~
 RVD

【 0 2 1 9 】

c 4 4 E 2 V L 1 - c C k [配列番号 4 5]

20

【 数 4 9 】

EIVMTQSPASLSLSQEEKVTITCKASQNIYKHLAWYQKPGQAPKLLIYNANSLQTGVPSRFSGSGSGTDF
 SFTISSLEPEDVAVYFC~~QYYSGDT~~FGAGTKVELKRND~~AQPAVYLFQ~~PSPDQLHTGSASVVCLLNSFYPKD
 INVKWKVDGVIQDTGIQESVTEQDKDSTYSL~~SSTLTMSSTEYLSHELYSCEITHKSLP~~STLIKS~~FQRSECQ~~
 RVD

【 0 2 2 0 】

c 4 4 E 2 V L 2 - c C k [配列番号 4 6]

30

【 数 5 0 】

EIVMTQSPASLSLSQEEKVTITCKASQNIYKHLAWYQKPGQAPKLLIYNANSLQTGIPSRFSGSGSGTDF
 SFTISSLEPEDVAVYFC~~QYYSGDT~~FGAGTKVELKRND~~AQPAVYLFQ~~PSPDQLHTGSASVVCLLNSFYPKD
 INVKWKVDGVIQDTGIQESVTEQDKDSTYSL~~SSTLTMSSTEYLSHELYSCEITHKSLP~~STLIKS~~FQRSECQ~~
 RVD

【 0 2 2 1 】

c 4 4 E 2 V L 4 - c C k [配列番号 4 7]

40

【 数 5 1 】

EIVMTQSPGSLAGSAGESVSINCKASQNIYKHLAWYQKPGERPKLLIYNANSLQTGVPARFSSSGSGTDF
 TLTINNLAEDVGDYFC~~QYYSGDT~~FGAGTKVELKRND~~AQPAVYLFQ~~PSPDQLHTGSASVVCLLNSFYPKD
 INVKWKVDGVIQDTGIQESVTEQDKDSTYSL~~SSTLTMSSTEYLSHELYSCEITHKSLP~~STLIKS~~FQRSECQ~~
 RVD

【 0 2 2 2 】

50

【表 1 2】

表 8

IL-31R 抗体配列

	配列番号	HC	LC
r10A12VH-cIgGBm	25	√	
c10A12VH1-cIgGBm	26	√	
c10A12VH2-cIgGBm	27	√	
r10A12VL-cCl	28		√
c10A12VL4-cCl	29		√
c10A12VL5-cCl	30		√
c10A12VL6-cCl	31		√
r28F12VH-cIgGBm	32	√	
c28F12VH1-cIgGBm	33	√	
c28F12VH2-cIgGBm	34	√	
r28F12VL-cCk	35		√
c28F12VL1-cCk	36		√
c28F12VL2-cCk	37		√
c28F12VL3-cCk	38		√
c28F12VL4-cCk	39		√
r44E2VH-cIgGBm	40	√	
c44E2VH1-cIgGBm	41	√	
c44E2VH4-cIgGBm	42	√	
c44E2VH5-cIgGBm	43	√	
r44E2VL-cCk	44		√
c44E2VL1-cCk	45		√
c44E2VL2-cCk	46		√
c44E2VL4-cCk	47		√

10

20

【0 2 2 3】

30

【表 1 3】

表 9

IL-13 および IL-4 受容体 α タンパク質の EDC の従来技術の配列

ECD	配列番号
cIL-4R α	48
cIL-13R α 1	49
cIL-13R α 2	50

40

【0 2 2 4】

本発明は、本明細書に記載の特定の実施形態によって範囲が限定されるものではない。実際、本明細書に記載されたものに加えて、本発明の様々な変更は、前述の説明から当業者には明らかになるであろう。そのような修正は、添付の特許請求の範囲内に含まれることが意図されている。

50

【 図面 】

【 図 1 】

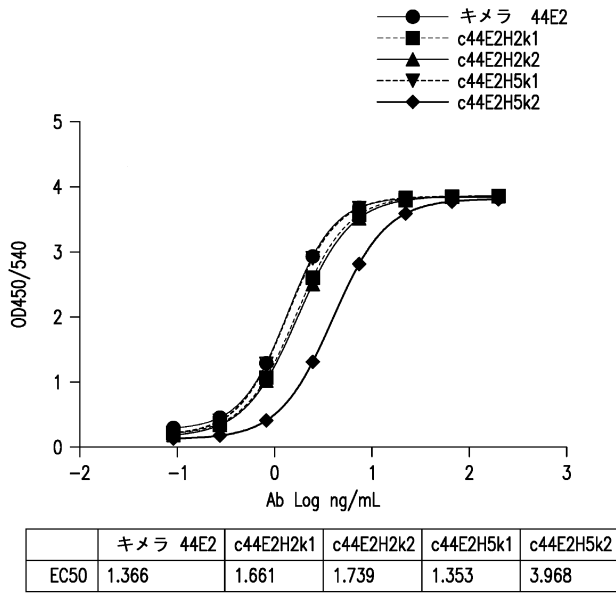


FIG.1

【 図 2 】

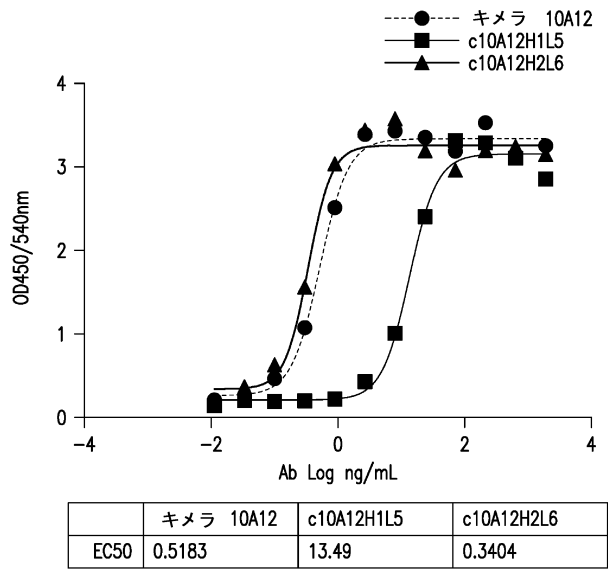


FIG.2

10

20

【 図 3 】

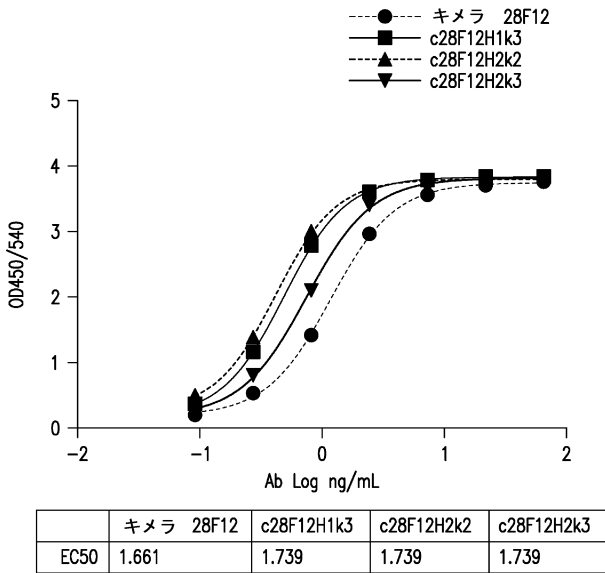


FIG.3

30

40

【 配列表 】

2024532158000001.xml

50

【 国際調査報告 】

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No
PCT/EP2022/073147

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER		
INV. C07K16/28 C07K16/24 C07K14/715		
ADD.		
According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC		
B. FIELDS SEARCHED		
Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols) C07K		
Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched		
Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used) EPO-Internal, BIOSIS, EMBASE, WPI Data		
C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
Y	AUDREY LE FLOC'H ET AL: "Dual blockade of IL-4 and IL-13 with dupilumab, an IL-4R[alpha] antibody, is required to broadly inhibit type 2 inflammation", ALLERGY, WILEY-BLACKWELL PUBLISHING LTD, UNITED KINGDOM, vol. 75, no. 5, 3 January 2020 (2020-01-03), pages 1188-1204, XP071463316, ISSN: 0105-4538, DOI: 10.1111/ALL.14151 e.g. Figure 3B,C; the whole document	1-21
Y	WO 2009/122748 A1 (UNIV KYUSHU [JP]; INOUE HIROMASA [JP] ET AL.) 8 October 2009 (2009-10-08) e.g. FIG. 4 (d); the whole document	1-21
----- -/--		
<input checked="" type="checkbox"/> Further documents are listed in the continuation of Box C. <input checked="" type="checkbox"/> See patent family annex.		
* Special categories of cited documents :		
"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance	"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention	
"E" earlier application or patent but published on or after the international filing date	"X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone	
"L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)	"Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art	
"O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means	"&" document member of the same patent family	
"P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed		
Date of the actual completion of the international search 23 December 2022	Date of mailing of the international search report 09/01/2023	
Name and mailing address of the ISA/ European Patent Office, P.B. 5618 Patentlaan 2 NL - 2280 HV Rijswijk Tel. (+31-70) 340-2040, Fax: (+31-70) 340-3016	Authorized officer Gruber, Andreas	

10

20

30

40

2

50

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No PCT/EP2022/073147

C(Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
Y	WO 2019/086676 A1 (CONSEJO SUPERIOR INVESTIGACION [ES]) 9 May 2019 (2019-05-09) e.g. page 19, paragraph 2; the whole document -----	1-21
Y	US 7 666 622 B2 (REGENERON PHARMA [US]) 23 February 2010 (2010-02-23) e.g. column 8, paragraph 2; the whole document -----	1-21
Y	CA 2 914 170 A1 (ABBVIE BAHAMAS LTD [BS]) 23 October 2008 (2008-10-23) e.g. claim 62; the whole document -----	1-21
A	GONÇALVES FRANCISCA ET AL: "Selective IL-13 inhibitors for the treatment of atopic dermatitis", DRUGS IN CONTEXT, vol. 10, 30 March 2021 (2021-03-30), pages 1-17, XP055962946, DOI: 10.7573/dic.2021-1-7 Retrieved from the Internet: URL:https://www.drugsincontext.com/wp-content/uploads/2021/04/dic.2021-1-7.pdf> e.g. section 'Tralokinumab' starting on page 9; table 1; the whole document -----	1-21
A	RATNARAJAH KAYADRI ET AL: "Inhibition of IL-13: A New Pathway for Atopic Dermatitis", JOURNAL OF CUTANEOUS MEDICINE AND SURGERY, vol. 25, no. 3, 1 May 2021 (2021-05-01), pages 315-328, XP093008365, CA ISSN: 1203-4754, DOI: 10.1177/1203475420982553 e.g. page 317, right-hand column, paragraph 2; section 'Clinical Efficacy in AD' starting on page 321; Figure 2; the whole document -----	1-21
A	US 2020/048325 A1 (ZHAN HANGJUN [US] ET AL) 13 February 2020 (2020-02-13) e.g. claims 1,2,6,22,23,33-35; the whole document -----	1-21
	-/--	

2

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

page 2 of 3

50

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No
PCT/EP2022/073147

C(Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	<p>BITTON ALMOG ET AL: "A key role for IL-13 signaling via the type 2 IL-4 receptor in experimental atopic dermatitis", SCIENCE IMMUNOLOGY, vol. 5, no. 44, 14 February 2020 (2020-02-14), page eaaw2938, XP055834011, DOI: 10.1126/sciimmunol.aaw2938 e.g. page 10, right-hand column, paragraph 2; the whole document</p> <p>-----</p>	1-21
Y	<p>WO 2020/086886 A1 (KINDRED BIOSCIENCES INC [US]) 30 April 2020 (2020-04-30) e.g. claims 1,7,14,33-35; paragraph 3; the whole document</p> <p>-----</p>	1-21

10

20

30

40

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/EP2022/073147

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

- 1. With regard to any nucleotide and/or amino acid sequence disclosed in the international application, the international search was carried out on the basis of a sequence listing:
 - a. forming part of the international application as filed.
 - b. furnished subsequent to the international filing date for the purposes of international search (Rule 13ter.1(a)).
 - accompanied by a statement to the effect that the sequence listing does not go beyond the disclosure in the international application as filed.
- 2. With regard to any nucleotide and/or amino acid sequence disclosed in the international application, this report has been established to the extent that a meaningful search could be carried out without a WIPO Standard ST.26 compliant sequence listing.
- 3. Additional comments:

10

20

30

40

50

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

International application No

PCT/EP2022/073147

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member(s)	Publication date
WO 2009122748 A1	08-10-2009	JP WO2009122748 A1 WO 2009122748 A1	28-07-2011 08-10-2009
WO 2019086676 A1	09-05-2019	CA 3117137 A1 EP 3480212 A1 US 2021363224 A1 WO 2019086676 A1	09-05-2019 08-05-2019 25-11-2021 09-05-2019
US 7666622 B2	23-02-2010	US 2007087411 A1 WO 2007047791 A2	19-04-2007 26-04-2007
CA 2914170 A1	23-10-2008	AU 2007351514 A1 BR PI0716438 A2 CA 2662701 A1 CA 2914170 A1 CN 101512008 A CN 104774266 A CO 6160238 A2 CR 10656 A CR 20140465 A DK 3339445 T3 EP 2064336 A2 EP 3339445 A1 EP 3524685 A1 EP 3910065 A1 ES 2661032 T3 ES 2817756 T3 ES 2902063 T3 GT 200900051 A HK 1256740 A1 HU E052220 T2 IL 197213 A IL 226291 A JP 5981964 B2 JP 2010502224 A JP 2014237671 A KR 20090058016 A KR 20150056666 A KR 20160065216 A LT 3339445 T MX 349810 B MY 161894 A MY 188368 A NO 343547 B1 NZ 599144 A PL 3339445 T3 PT 3339445 T RU 2009113026 A RU 2012142311 A RU 2016132208 A SG 174782 A1 SG 10201508485U A SI 3339445 T1 TW 200831533 A TW 201522372 A UA 102503 C2 UA 115964 C2 US 2008171014 A1	23-10-2008 04-03-2014 23-10-2008 23-10-2008 19-08-2009 15-07-2015 20-05-2010 22-05-2009 03-12-2014 19-10-2020 03-06-2009 27-06-2018 14-08-2019 17-11-2021 27-03-2018 08-04-2021 24-03-2022 24-08-2010 04-10-2019 28-04-2021 27-06-2013 31-05-2016 31-08-2016 28-01-2010 18-12-2014 08-06-2009 26-05-2015 08-06-2016 26-10-2020 14-08-2017 15-05-2017 06-12-2021 01-04-2019 25-10-2013 14-12-2020 01-09-2020 20-10-2010 10-04-2014 06-02-2018 28-10-2011 27-11-2015 31-12-2020 01-08-2008 16-06-2015 25-07-2013 25-01-2018 17-07-2008

Form PCT/ISA/210 (patent family annex) (April 2005)

page 1 of 2

10

20

30

40

50

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

International application No
PCT/EP2022/073147

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member(s)	Publication date
		US 2011165066 A1	07-07-2011
		US 2014099313 A1	10-04-2014
		US 2017340737 A1	30-11-2017
		US 2019008966 A1	10-01-2019
		WO 2008127271 A2	23-10-2008
		ZA 200901526 B	28-11-2018
		ZA 201104939 B	28-03-2012

US 2020048325 A1	13-02-2020	AU 2018254542 A1	21-11-2019
		BR 112019021812 A2	26-05-2020
		CA 3059731 A1	25-10-2018
		CN 110770250 A	07-02-2020
		EP 3612555 A1	26-02-2020
		JP 2020517262 A	18-06-2020
		KR 20200006528 A	20-01-2020
		RU 2019137211 A	21-05-2021
		US 2020048325 A1	13-02-2020
		WO 2018195388 A1	25-10-2018

WO 2020086886 A1	30-04-2020	EP 3870601 A1	01-09-2021
		US 2021395340 A1	23-12-2021
		WO 2020086886 A1	30-04-2020

10

20

30

40

50

フロントページの続き

(51)国際特許分類

F I

テーマコード (参考)

A 6 1 K 31/4439(2006.01) A 6 1 K 31/4439
 C 0 7 K 19/00 (2006.01) C 0 7 K 19/00
 C 0 7 K 14/715 (2006.01) C 0 7 K 14/715
 C 0 7 K 16/00 (2006.01) C 0 7 K 16/00
 C 0 7 K 16/24 (2006.01) C 0 7 K 16/24
 C 0 7 K 16/28 (2006.01) C 0 7 K 16/28

Z N A

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

弁理士 安藤 健司

(74)代理人 100183519

弁理士 櫻田 芳恵

(74)代理人 100196483

弁理士 川寄 洋祐

(74)代理人 100160749

弁理士 飯野 陽一

(74)代理人 100160255

弁理士 市川 祐輔

(74)代理人 100216839

弁理士 大石 敏幸

(74)代理人 100146318

弁理士 岩瀬 吉和

(74)代理人 100127812

弁理士 城山 康文

(72)発明者 モーザー, モハマド

アメリカ合衆国、ネブラスカ・68022、エルクホーン、ウェスト・センター・ロード・21401

(72)発明者 ジャン, ユアンジェン

アメリカ合衆国、ウィスコンシン・07033、ケニルワース、ギャロッピング・ヒル・ロード・2000

(72)発明者 スタウファー, セス・ディー

アメリカ合衆国、ネブラスカ・68022、エルクホーン、ウェスト・センター・ロード・21401

(72)発明者 チャオ, ジソン

アメリカ合衆国、ネブラスカ・68022、エルクホーン、ウェスト・センター・ロード・21401

F ターム (参考) 4C084 AA01 AA02 AA19 BA01 BA08 BA23 DA46 NA05 NA14 ZA891
ZA892 ZB131 ZB132 ZC202 ZC611 ZC612 ZC751

4C085 AA33 BB11 BB31 BB42 CC21 CC22 EE01 EE03

4C086 AA01 AA02 BC36 CB05 GA07 GA08 MA02 MA04 NA05 ZA89
ZB13 ZC20 ZC61 ZC75

4H045 AA10 AA11 AA30 BA41 CA40 DA02 DA50 DA76 EA28 FA72
FA74