

(19)日本国特許庁(JP)

(12)特許公報(B2)

(11)特許番号
特許第7689955号
(P7689955)

(45)発行日 令和7年6月9日(2025.6.9)

(24)登録日 令和7年5月30日(2025.5.30)

(51)国際特許分類	F I		
C 0 7 K 16/08 (2006.01)	C 0 7 K 16/08	Z N A	
C 1 2 P 21/08 (2006.01)	C 1 2 P 21/08		
A 6 1 P 31/22 (2006.01)	A 6 1 P 31/22		
A 6 1 K 39/395 (2006.01)	A 6 1 K 39/395	S	
G 0 1 N 33/569 (2006.01)	G 0 1 N 33/569	J	
請求項の数 19 (全24頁) 最終頁に続く			

(21)出願番号	特願2022-526794(P2022-526794)	(73)特許権者	520233342
(86)(22)出願日	令和2年11月3日(2020.11.3)		チューハイ トリノマブ ファーマシュー ティカル カンパニー, リミティド
(65)公表番号	特表2023-500387(P2023-500387 A)		中華人民共和国, チューハイ, チンワン ディストリクト, チューハイ アベニュー ナンバー 6 3 6 6, プラント ビルディ ング 6, 1 / フロア, ルーム 1 1 0
(43)公表日	令和5年1月5日(2023.1.5)	(74)代理人	100099759
(86)国際出願番号	PCT/CN2020/126159		弁理士 青木 篤
(87)国際公開番号	WO2021/093639	(74)代理人	100123582
(87)国際公開日	令和3年5月20日(2021.5.20)		弁理士 三橋 真二
審査請求日	令和5年6月15日(2023.6.15)	(74)代理人	100117019
(31)優先権主張番号	201911095151.9		弁理士 渡辺 陽一
(32)優先日	令和1年11月11日(2019.11.11)	(74)代理人	100141977
(33)優先権主張国・地域又は機関	中国(CN)		弁理士 中島 勝
最終頁に続く			

(54)【発明の名称】 抗水痘帯状疱疹ウイルス抗体

(57)【特許請求の範囲】

【請求項1】

単離された抗水痘帯状疱疹ウイルス(VZV)モノクローナル抗体及びその抗原結合断片であって、

(i) SEQ ID NO: 19に含まれる重鎖可変領域の3つの相補性決定領域CDR、及びSEQ ID NO: 20に含まれる軽鎖可変領域の3つの相補性決定領域CDR、又は

(ii) SEQ ID NO: 21に含まれる重鎖可変領域の3つの相補性決定領域CDR、及びSEQ ID NO: 22に含まれる軽鎖可変領域の3つの相補性決定領域CDR、又は

(iii) SEQ ID NO: 23に含まれる重鎖可変領域の3つの相補性決定領域CDR、及びSEQ ID NO: 24に含まれる軽鎖可変領域の3つの相補性決定領域CDR、又は

(iv) SEQ ID NO: 25に含まれる重鎖可変領域の3つの相補性決定領域CDR、及びSEQ ID NO: 26に含まれる軽鎖可変領域の3つの相補性決定領域CDR、を含む、単離された抗水痘帯状疱疹ウイルス(VZV)モノクローナル抗体及びその抗原結合断片。

【請求項2】

重鎖可変領域及び軽鎖可変領域を含む、単離された抗VZVモノクローナル抗体又はその抗原結合断片であって、

(i) 前記重鎖可変領域が、SEQ ID NO: 7に含まれるアミノ酸配列を含むCDR1、SEQ ID NO: 8に含まれるアミノ酸配列を含むCDR2、及びSEQ ID NO: 9に含まれるアミノ酸配列を含むCDR3を含み、かつ、前記軽鎖可変領域が、SEQ ID NO: 10に含まれるアミノ酸配列を含むCDR1、SEQ ID NO: 11に含まれるアミノ酸配列を含むCDR2、及びSEQ ID NO: 12に含まれるアミノ酸配列を含むCDR3を含む；又は

(ii) 前記重鎖可変領域が、SEQ ID NO: 1に含まれるアミノ酸配列を含むCDR1、SEQ ID NO: 2に含まれるアミノ酸配列を含むCDR2、及びSEQ ID NO: 3に含まれるアミノ酸配列を含むCDR3を含み、かつ、前記軽鎖可変領域が、SEQ ID NO: 4に含まれるアミノ酸配列を含むCDR1、SEQ ID NO: 5に

10

含まれるアミノ酸配列を含むCDR2、及びSEQ ID NO: 6に含まれるアミノ酸配列を含むCDR3を含む；又は

(iii) 前記重鎖可変領域が、SEQ ID NO: 13に含まれるアミノ酸配列を含むCDR1、SEQ ID NO: 14に含まれるアミノ酸配列を含むCDR2、及びSEQ ID NO: 15に含まれるアミノ酸配列を含むCDR3を含み、かつ、前記軽鎖可変領域が、SEQ ID NO: 16に含まれるアミノ酸配列を含むCDR1、SEQ ID NO: 17に含まれるアミノ酸配列を含むCDR2、及びSEQ ID NO: 18に含まれるアミノ酸配列を含むCDR3を含む、

単離された抗VZVモノクローナル抗体又はその抗原結合断片。

【請求項3】

20

重鎖可変領域及び軽鎖可変領域を含み、

(i) 前記重鎖可変領域が、SEQ ID NO: 21に含まれるアミノ酸配列を含み、及び前記軽鎖可変領域が、SEQ ID NO: 22に含まれるアミノ酸配列を含む；又は

(ii) 前記重鎖可変領域が、SEQ ID NO: 19に含まれるアミノ酸配列を含み、及び前記軽鎖可変領域が、SEQ ID NO: 20に含まれるアミノ酸配列を含む；又は

(iii) 前記重鎖可変領域が、SEQ ID NO: 23に含まれるアミノ酸配列を含み、及び前記軽鎖可変領域が、SEQ ID NO: 24に含まれるアミノ酸配列を含む；又は

(iv) 前記重鎖可変領域が、SEQ ID NO: 25に含まれるアミノ酸配列を含み、及び前記軽鎖可変領域が、SEQ ID NO: 26に含まれるアミノ酸配列を含む、

30

請求項1又は2に記載の単離された抗VZVモノクローナル抗体又はその抗原結合断片。

【請求項4】

前記抗体が、ヒトモノクローナル抗体である、請求項1～3のいずれか一項に記載の単離された抗VZVモノクローナル抗体又はその抗原結合断片。

【請求項5】

前記抗原結合断片が、Fab、Fab'-SH、Fv、scFv及び(Fab')₂断片からなる群から選択される、請求項1～4のいずれか一項に記載の単離された抗VZVモノクローナル抗体又はその抗原結合断片。

【請求項6】

ヒト抗体生殖系列コンセンサス配列に由来する重鎖及び軽鎖定常領域配列を含み、前記重鎖及び軽鎖定常領域配列の少なくとも一部が前記ヒト重鎖及び軽鎖コンセンサス定常領域配列である、請求項1～5のいずれか一項に記載の単離された抗VZVモノクローナル抗体又はその抗原結合断片。

40

【請求項7】

請求項1～6のいずれか一項に記載の単離された抗VZVモノクローナル抗体又はその抗原結合断片をコードする単離された核酸。

【請求項8】

請求項7に記載の核酸を含むベクター。

【請求項9】

請求項7に記載の核酸又は請求項8に記載のベクターを含む、宿主細胞。

50

【請求項 10】

抗VZVモノクローナル抗体又はその抗原結合断片を調製する方法であって、請求項1～6のいずれか一項に記載の抗VZV又はその抗原結合断片をコードする核酸を発現するのに適した条件下で、請求項9に記載の宿主細胞を培養することを含む、方法。

【請求項 11】

請求項10に記載の方法により調製された、抗VZVモノクローナル抗体又はその抗原結合断片。

【請求項 12】

請求項1～6及び11のいずれか一項に記載の抗VZVモノクローナル抗体又はその抗原結合断片を含む、医薬組成物。

10

【請求項 13】

水痘帯状疱疹ウイルス感染又は水痘帯状疱疹ウイルス疾患の検出、治療、予防及び/又は緩和のための医薬又は薬剤の調製のための、請求項1～6及び11のいずれか一項に記載の抗VZVモノクローナル抗体又はその抗原結合断片。

【請求項 14】

水痘帯状疱疹ウイルスに感染されたヒト個体を治療するための、請求項12に記載の医薬組成物。

【請求項 15】

水痘帯状疱疹ウイルス感染に対するヒト個体の抵抗性を増強するための、請求項12に記載の医薬組成物。

20

【請求項 16】

前記個体が、免疫無防備状態である、請求項14又は15に記載の医薬組成物。

【請求項 17】

前記個体が、新生児、未熟児、分娩中の女性、並びに臓器移植手術、血液系悪性腫瘍、悪性腫瘍、ネフローゼ症候群及び同様のものにより免疫抑制剤、細胞傷害剤又は放射線治療ほかを受けている免疫機能不全の対象である、請求項14又は15に記載の医薬組成物。

【請求項 18】

対象における水痘帯状疱疹ウイルスを中和するための、請求項12に記載の医薬組成物。

【請求項 19】

試料における水痘帯状疱疹ウイルスを中和するためのインビトロ方法であって、請求項1～6及び11のいずれか一項に記載の抗VZVモノクローナル抗体又はその抗原結合部位の適正量を試料に添加することを含む、方法。

30

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0001】

エンベロープウイルスである水痘帯状疱疹ウイルス(VZV)は、ヒト単純ヘルペスウイルスに属する。VZVは、高い種特異性があり、その自然な感染は、ヒト及びゴリラのみで起こる。VZVのエンベロープ上にはgE、gB、gH、gI、gC、及びgLなどの種々の糖タンパク質が存在する。VZV糖タンパク質は、細胞へのウイルス進入に関与するだけでなく、感染細胞から未感染細胞に移入される可能性があり、ウイルスへの液性及び細胞免疫応答を開始する可能性がある。

40

【背景技術】

【0002】

VZVは、最初の感染により結膜及び呼吸器粘膜を通して体に侵入し、小児に共通する高伝染性疾患である水疱瘡、即ち水痘の一次感染を引き起こす。健常な小児では、水疱瘡は、約4～5日の期間の自己限定性疾患である。しかし免疫欠損性の小児及び無免疫の新生児では、水疱瘡感染は、ウイルス性肺炎、脳炎ほかの重篤な合併症を引き起こす場合があり、致命的結果につながる可能性もある。少数の成人は、水疱瘡に感染し、重度の症状を示し、肺炎を併発することが多く(20%～30%)、高い死亡率である。妊婦の場合、水疱瘡は、重篤な状態に加えて、胎児奇形、流産又は死産を引き起こす可能性もある。

50

試験では、妊娠中の水痘の発生率は0.1%~0.7%であることが示されている。最初の感染が、妊娠6か月以内に起こる場合、子宮内感染率は、約25%であり、先天性水痘症候群の発生率は、感染した胎児の約12%である。

【0003】

VZVはまた、ガングリオンの中に潜伏して存在する可能性がある。加齢、疾患又は薬物による免疫弱化又は免疫抑制などの要因が、潜伏性ウイルスを再活性化させて、神経に沿って分布する帯状疱疹、即ち帯状疱疹（帯状ヘルペス）の回帰感染を引き起こすであろう。VZV回帰感染は、皮膚病変、並びに肺、脳、肝臓、腎臓、心臓及び目などの臓器への損傷の異常な播種感染を引き起こす可能性がある。VZVは多くの場合、帯状疱疹後神経痛を伴い、重度の場合、死亡することさえある。帯状疱疹後神経痛の疼痛は、重度であり、数年間持続して患者の生活の質に大きく影響を及ぼす可能性がある。帯状疱疹及び帯状疱疹後神経痛の発生率は、年齢と共に上昇し、高齢者社会ではより大きな社会的負担を引き起こす。

10

【0004】

現在、VZVウイルス感染で最も重要な予防的措置は、ワクチン接種である。VZVウイルスの一次感染及び回帰感染により引き起こされる2種の臨床症状では、水痘ワクチン及び帯状疱疹ワクチンが、予防のために現在利用可能である。他の治療法は主に、アシクロビル、ファムシクロビル、パラシクロビル、アシクロビル、ピダラビン、及び同様のものの使用をはじめとし、抗ウイルス薬に基づく。それゆえ現在のところ、効果的かつ特異的治療は、存在しない。

20

【0005】

現在のところ、ウイルス中和抗体に基づく抗体療法が、多くの疾患の治療に適用されてきた。VZVウイルス感染では、米国FDAが、VZV感染の高リスク人口、主に妊婦及び新生児における使用のために、カナダのCangeneにより生成される水痘帯状疱疹免疫グロブリン（VZIG）を認可した。しかし、VZV免疫グロブリンは、自身の希少な供給源を用いるバッチ間変動を伴う血液製剤であり、空白期間及び病原伝播のリスクがある。加えて、このタイプの製品は、血液由来病原、例えばHIV、B型肝炎ウイルス、C型肝炎ウイルスほかの伝播などの安全性問題を伴い、そのため適用には欠点がある。現在のところ、VZV免疫グロブリン関係の薬剤は、中国及びほとんどの国々で市販されていない。

30

【0006】

これまでのところ、既存のワクチン及び全身抗ウイルス薬が、VZV感染を予防及び制御し得るが、それらは、VZV感染の種々の合併症を排除することができない。それゆえ、VZVを効果的に検出して宿主のVZV感染及び宿主間伝播を遮断することができる、VZVに対する効果的な中和抗体を見出すことが、依然として必要とされている。加えて、VZV感染の治療のための改善された方法、特にVZV感染に対する緊急介入に適した方法が、依然として必要とされている。本出願で提供される抗VZV抗体及びその組成物は、上述の要件を満たす。

【発明の概要】

【発明が解決しようとする課題】

40

【0007】

本発明は、高い親和性でVZVに結合することが可能な新しい中和抗VZV抗体、該抗体を含む組成物、キット、抗VZV抗体の使用、並びに該抗体の使用及び調製の方法を提供する。

【課題を解決するための手段】

【0008】

一態様において、本発明は、単離された抗VZV抗体及びその抗原断片を提供する。具体的実施形態において、抗VZV抗体及びその抗原断片は、表Iに示された任意の抗体のVH領域配列から選択される1つ、2つ又は3つのCDR（好ましくは3つのCDR）を含む。他の実施形態において、本発明の抗体は、表Iに示された任意の抗体のVL領域配

50

列から選択される1つ、2つ又は3つのCDR（好ましくは3つのCDR）を含む。幾つかの実施形態において、本発明の抗体は、表Iに示された任意の抗体の6つのCDR領域配列を含む。好ましい実施形態において、抗体のCDR配列は、表IIに示されたCDR配列である。

【0009】

幾つかの実施形態において、本発明の抗VZV抗体又はその抗原結合断片は、A)重鎖相補性決定領域(CDR)：(i)SEQ ID NO：1、7及び13から選択されるアミノ酸配列、又はSEQ ID NO：1、7若しくは13に関して1以上及び5以下のアミノ酸置換（保存的置換など）、欠失若しくは挿入を含む配列を含む、CDR1、(ii)SEQ ID NO：2、8及び14から選択されるアミノ酸配列、又はSEQ ID NO：2、8若しくは14に関して1以上及び5以下のアミノ酸置換（保存的置換など）、欠失若しくは挿入を含む配列を含む、CDR2、(iii)SEQ ID NO：3、9及び15から選択されるアミノ酸配列、又はSEQ ID NO：3、9若しくは15に関して1以上及び5以下のアミノ酸置換（保存的置換など）、欠失若しくは挿入を含む配列を含む、CDR3と、B)軽鎖相補性決定領域(CDR)：(i)SEQ ID NO：4、10及び16から選択されるアミノ酸配列、又はSEQ ID NO：4、10若しくは16に関して1以上及び5以下のアミノ酸置換（保存的置換など）、欠失若しくは挿入を含む配列を含む、CDR1、(ii)SEQ ID NO：5、11及び17から選択されるアミノ酸配列、又はSEQ ID NO：5、11若しくは17に関して1以上及び5以下のアミノ酸置換（保存的置換など）、欠失若しくは挿入を含む配列を含む、CDR2、(iii)SEQ ID NO：6、12及び18から選択されるアミノ酸配列、又はSEQ ID NO：6、12若しくは18に関して1以上及び5以下のアミノ酸置換（保存的置換など）、欠失若しくは挿入を含む配列を含む、CDR3と、を含み、修飾されたCDRを含む抗VZV抗体が、依然としてVZVに結合する能力を有する。

【0010】

幾つかの実施形態において、本発明の抗VZV抗体又はその抗原結合断片は、A)重鎖相補性決定領域(CDR)：(i)SEQ ID NO：1のアミノ酸配列からなるCDR1、(ii)SEQ ID NO：2のアミノ酸配列からなるCDR2、(iii)SEQ ID NO：3のアミノ酸配列からなるCDR3と、B)軽鎖相補性決定領域(CDR)：(i)SEQ ID NO：4のアミノ酸配列からなるCDR1、(ii)SEQ ID NO：5のアミノ酸配列からなるCDR2、(iii)SEQ ID NO：6のアミノ酸配列からなるCDR3と、を含む。

【0011】

幾つかの実施形態において、本発明の抗VZV抗体又はその抗原結合断片は、A)重鎖相補性決定領域(CDR)：(i)SEQ ID NO：7のアミノ酸配列からなるCDR1、(ii)SEQ ID NO：8のアミノ酸配列からなるCDR2、(iii)SEQ ID NO：9のアミノ酸配列からなるCDR3と、B)軽鎖相補性決定領域(CDR)：(i)SEQ ID NO：10のアミノ酸配列からなるCDR1、(ii)SEQ ID NO：11のアミノ酸配列からなるCDR2、(iii)SEQ ID NO：12のアミノ酸配列からなるCDR3と、を含む。

【0012】

幾つかの実施形態において、本発明の抗VZV抗体又はその抗原結合断片は、A)重鎖相補性決定領域(CDR)：(i)SEQ ID NO：13のアミノ酸配列からなるCDR1、(ii)SEQ ID NO：14のアミノ酸配列からなるCDR2、(iii)SEQ ID NO：15のアミノ酸配列からなるCDR3と、B)軽鎖相補性決定領域(CDR)：(i)SEQ ID NO：16のアミノ酸配列からなるCDR1、(ii)SEQ ID NO：17のアミノ酸配列からなるCDR2、(iii)SEQ ID NO：18のアミノ酸配列からなるCDR3と、を含む。

【0013】

幾つかの実施形態において、本発明の抗VZV抗体又はその抗原結合断片は、SEQ

I D N O : 1 9、2 1、2 3 又は 2 5 から 選 択 さ れ る ア ミ ノ 酸 配 列 に 対 し て 少 な く と も 7 5 %、7 6 %、7 7 %、7 8 %、7 9 %、8 0 %、8 1 %、8 2 %、8 3 %、8 4 %、8 5 %、8 6 %、8 7 %、8 8 %、8 9 %、9 0 %、9 1 %、9 2 %、9 3 %、9 4 %、9 5 %、9 6 %、9 7 %、9 8 % 又 は 9 9 % の 同 一 性 又 は よ り 高 い 同 一 性 を 有 す る ア ミ ノ 酸 配 列 を 含 む、又 は そ れ か ら な る、重 鎖 可 変 領 域 V H を 含 み、該 V H を 含 む 抗 V Z V 抗 体 は、V Z V に 結 合 す る 能 力 を 有 す る。幾 つ か の 実 施 形 態 に お い て、本 発 明 の 抗 V Z V 抗 体 又 は そ の 抗 原 結 合 断 片 は、表 I I に 示 さ れ た 任 意 の 抗 体 の 6 つ の C D R を 含 み、S E Q I D N O : 1 9、2 1、2 3 又 は 2 5 から 選 択 さ れ る ア ミ ノ 酸 配 列 に 対 し て 少 な く と も 7 5 %、7 6 %、7 7 %、7 8 %、7 9 %、8 0 %、8 1 %、8 2 %、8 3 %、8 4 %、8 5 %、8 6 %、8 7 %、8 8 %、8 9 %、9 0 %、9 1 %、9 2 %、9 3 %、9 4 %、9 5 %、9 6 %、9 7 %、9 8 % 又 は 9 9 % の 同 一 性 を 有 す る、重 鎖 可 変 領 域 V H を 含 み、該 V H を 含 む 抗 V Z V 抗 体 は、V Z V に 結 合 す る 能 力 を 有 す る。幾 つ か の 実 施 形 態 に お い て、抗 V Z V 抗 体 の 重 鎖 可 変 領 域 V H は、S E Q I D N O : 1 9、2 1、2 3 又 は 2 5 から 選 択 さ れ る ア ミ ノ 酸 配 列 に 関 し て 1 つ 又 は 複 数 の 置 換 (保 存 的 置 換 な ど)、挿 入 又 は 欠 失 を 有 す る ア ミ ノ 酸 配 列 を 含 み、該 V H を 含 む 抗 V Z V 抗 体 は、V Z V に 結 合 す る 能 力 を 有 す る。

10

【 0 0 1 4 】

幾 つ か の 実 施 形 態 に お い て、本 発 明 の 抗 V Z V 抗 体 又 は そ の 抗 原 結 合 断 片 は、S E Q I D N O : 2 0、2 2、2 4 又 は 2 6 から 選 択 さ れ る ア ミ ノ 酸 配 列 に 対 し て 少 な く と も 7 5 %、7 6 %、7 7 %、7 8 %、7 9 %、8 0 %、8 1 %、8 2 %、8 3 %、8 4 %、8 5 %、8 6 %、8 7 %、8 8 %、8 9 %、9 0 %、9 1 %、9 2 %、9 3 %、9 4 %、9 5 %、9 6 %、9 7 %、9 8 % 又 は 9 9 % の 同 一 性 又 は よ り 高 い 同 一 性 を 有 す る ア ミ ノ 酸 配 列 を 含 む、又 は そ れ か ら な る 軽 鎖 可 変 領 域 V L を 含 み、該 V L を 含 む 抗 V Z V 抗 体 は、V Z V に 結 合 す る 能 力 を 有 す る。幾 つ か の 実 施 形 態 に お い て、本 発 明 の 抗 V Z V 抗 体 又 は そ の 抗 原 結 合 断 片 は、表 I I に 示 さ れ た 任 意 の 抗 体 の 6 つ の C D R を 含 み、S E Q I D N O : 2 0、2 2、2 4 又 は 2 6 から 選 択 さ れ る ア ミ ノ 酸 配 列 に 対 し て 少 な く と も 7 5 %、7 6 %、7 7 %、7 8 %、7 9 %、8 0 %、8 1 %、8 2 %、8 3 %、8 4 %、8 5 %、8 6 %、8 7 %、8 8 %、8 9 %、9 0 %、9 1 %、9 2 %、9 3 %、9 4 %、9 5 %、9 6 %、9 7 %、9 8 % 又 は 9 9 % の 同 一 性 を 有 す る、軽 鎖 可 変 領 域 V L を 含 み、該 V L を 含 む 抗 V Z V 抗 体 は、V Z V に 結 合 す る 能 力 を 有 す る。幾 つ か の 実 施 形 態 に お い て、抗 V Z V 抗 体 の 軽 鎖 可 変 領 域 V L は、S E Q I D N O : 2 0、2 2、2 4 又 は 2 6 から 選 択 さ れ る ア ミ ノ 酸 配 列 に 関 し て 1 つ 又 は 複 数 の 置 換 (保 存 的 置 換 な ど)、挿 入 又 は 欠 失 を 有 す る ア ミ ノ 酸 配 列 を 含 み、該 V L を 含 む 抗 V Z V 抗 体 は、V Z V に 結 合 す る 能 力 を 有 す る。

20

30

【 0 0 1 5 】

幾 つ か の 実 施 形 態 に お い て、本 発 明 の 抗 V Z V 抗 体 又 は そ の 抗 原 結 合 断 片 は、重 鎖 可 変 領 域 (V H) 及 び 軽 鎖 可 変 領 域 (V L) を 含 み、

1) 該 重 鎖 可 変 領 域 V H は、S E Q I D N O : 1 9、2 1、2 3 若 し く は 2 5 から 選 択 さ れ る ア ミ ノ 酸 配 列 に 対 し て 少 な く と も 7 5 %、7 6 %、7 7 %、7 8 %、7 9 %、8 0 %、8 1 %、8 2 %、8 3 %、8 4 %、8 5 %、8 6 %、8 7 %、8 8 %、8 9 %、9 0 %、9 1 %、9 2 %、9 3 %、9 4 %、9 5 %、9 6 %、9 7 %、9 8 % 若 し く は 9 9 % の 同 一 性 若 し く は よ り 高 い 同 一 性 を 有 す る ア ミ ノ 酸 配 列 を 含 み、若 し く は そ れ か ら な り、該 軽 鎖 可 変 領 域 V L は、S E Q I D N O : 2 0、2 2、2 4 若 し く は 2 6 から 選 択 さ れ る ア ミ ノ 酸 配 列 に 対 し て 少 な く と も 7 5 %、7 6 %、7 7 %、7 8 %、7 9 %、8 0 %、8 1 %、8 2 %、8 3 %、8 4 %、8 5 %、8 6 %、8 7 %、8 8 %、8 9 %、9 0 %、9 1 %、9 2 %、9 3 %、9 4 %、9 5 %、9 6 %、9 7 %、9 8 % 若 し く は 9 9 % の 同 一 性 若 し く は よ り 高 い 同 一 性 を 有 す る ア ミ ノ 酸 配 列 を 含 む、若 し く は そ れ か ら な る か、又 は

40

【 0 0 1 6 】

2) 該 重 鎖 可 変 領 域 V H は、表 I I に 示 さ れ た 任 意 の 抗 体 の 6 つ の C D R を 含 み、S E

50

Q I D N O : 1 9、2 1、2 3若しくは2 5から選択されるアミノ酸配列に対して少なくとも7 5 %、7 6 %、7 7 %、7 8 %、7 9 %、8 0 %、8 1 %、8 2 %、8 3 %、8 4 %、8 5 %、8 6 %、8 7 %、8 8 %、8 9 %、9 0 %、9 1 %、9 2 %、9 3 %、9 4 %、9 5 %、9 6 %、9 7 %、9 8 %若しくは9 9 %の同一性を有し、該軽鎖可変領域V Lは、表I Iに示された任意の抗体の6つのC D Rを含み、S E Q I D N O : 2 0、2 2、2 4若しくは2 6から選択されるアミノ酸配列に対して少なくとも7 5 %、7 6 %、7 7 %、7 8 %、7 9 %、8 0 %、8 1 %、8 2 %、8 3 %、8 4 %、8 5 %、8 6 %、8 7 %、8 8 %、8 9 %、9 0 %、9 1 %、9 2 %、9 3 %、9 4 %、9 5 %、9 6 %、9 7 %、9 8 %若しくは9 9 %の同一性を有し、該V H及びV Lを含む抗V Z V抗体は、V Z Vに結合する能力を有するか、又は

10

【0 0 1 7】

3) 該重鎖可変領域V Hは、S E Q I D N O : 1 9、2 1、2 3若しくは2 5から選択されるアミノ酸配列に関して1つ又は複数の置換(保存的置換など)、挿入若しくは欠失を有するアミノ酸配列を含み、若しくはそれからなり、該軽鎖可変領域V Lは、S E Q I D N O : 2 0、2 2、2 4若しくは2 6から選択されるアミノ酸配列に関して1つ若しくは複数の置換(保存的置換など)、挿入若しくは欠失を有するアミノ酸配列を含み、若しくはそれからなり、該V H及びV Lを含む抗V Z V抗体は、V Z Vに結合する能力を有する。

【0 0 1 8】

好ましい実施形態において、本発明は、重鎖可変領域V Hが、S E Q I D N O : 1 9で示されるアミノ酸配列を含み、又はそれからなり、軽鎖可変領域V Lが、S E Q I D N O : 2 0で示されるアミノ酸配列を含む、又はそれからなる、抗V Z V抗体又はその抗原結合断片を提供する。

20

【0 0 1 9】

好ましい実施形態において、本発明は、重鎖可変領域V Hが、S E Q I D N O : 2 1で示されるアミノ酸配列を含み、又はそれからなり、軽鎖可変領域V Lが、S E Q I D N O : 2 2で示されるアミノ酸配列を含む、又はそれからなる、抗V Z V抗体又はその抗原結合断片を提供する。

【0 0 2 0】

好ましい実施形態において、本発明は、重鎖可変領域V Hが、S E Q I D N O : 2 3で示されるアミノ酸配列を含み、又はそれからなり、軽鎖可変領域V Lが、S E Q I D N O : 2 4で示されるアミノ酸配列を含む、又はそれからなる、抗V Z V抗体又はその抗原結合断片を提供する。

30

【0 0 2 1】

好ましい実施形態において、本発明は、重鎖可変領域V Hが、S E Q I D N O : 2 5で示されるアミノ酸配列を含み、又はそれからなり、軽鎖可変領域V Lが、S E Q I D N O : 2 6で示されるアミノ酸配列を含む、又はそれからなる、抗V Z V抗体又はその抗原結合断片を提供する。

【0 0 2 2】

幾つかの実施形態において、上述の抗V Z V抗体又はその抗原結合断片は、ヒト抗体生殖系列コンセンサス配列に由来する重鎖及び/又は軽鎖定常領域配列をさらに含む。

40

【0 0 2 3】

幾つかの実施形態において、本発明の抗体はまた、V Z Vに結合するために先に記載された抗体のいずれかと競合する抗体、及び先に記載された抗体のいずれかと同じV Z Vのエピトープに結合する抗体を包含する。

【0 0 2 4】

幾つかの実施形態において、抗V Z V抗体のフレームワーク領域の少なくとも一部が、ヒトコンセンサスフレームワーク配列である。一実施形態において、本発明の抗V Z V抗体はまた、その抗体断片、好ましくはF a b、F a b' - S H、F v、s c F v及び(F a b')断片から選択される抗体断片を包含する。

50

【 0 0 2 5 】

幾つかの実施形態において、本発明の抗VZV抗体は、VZVを中和することにおける使用のための中和抗体である。

【 0 0 2 6 】

一態様において、本発明は、先の抗VZV抗体又はその断片のいずれかをコードする核酸を提供する。一実施形態において、該核酸を含むベクターが、提供される。一実施形態において、ベクターは、発現ベクターである。一実施形態において、該ベクターを含む宿主細胞が、提供される。一実施形態において、宿主細胞は、真核生物性である。別の実施形態において、宿主細胞は、抗体又はその抗原結合断片を調製するのに適した哺乳動物細胞又は他の細胞から選択される。別の実施形態において、宿主細胞は、原核生物性である。

10

【 0 0 2 7 】

一実施形態において、本発明は、抗VZV抗体又はその抗原結合断片を調製する方法を提供し、該方法は、該抗体又はその抗原結合断片をコードする核酸を発現するのに適した条件下で宿主細胞を培養すること、及び場合により、該抗体又はその抗原結合断片を単離すること、を含む。特定の実施形態において、該方法は、抗VZV抗体又はその抗原結合断片を宿主細胞から回収することをさらに含む。

【 0 0 2 8 】

一実施形態において、本発明は、本発明の方法により調製された抗VZV抗体又はその抗原結合断片を提供する。

【 0 0 2 9 】

幾つかの実施形態において、本発明は、本明細書に記載された任意の抗VZV抗体又はその抗原結合断片を含む組成物を提供し、好ましくは該組成物は、医薬組成物である。一実施形態において、該組成物は、医薬担体をさらに含む。一実施形態において、該組成物に含まれる抗VZV抗体又はその抗原結合断片は、カップリング部分にカップリングされる。幾つかの実施形態において、本発明は、該組成物に含まれる抗VZV抗体及びその抗原結合断片が、該抗体又はその抗原結合断片の半減期を延長することが可能なカップリング部分にカップリングされることを提供する。

20

【 0 0 3 0 】

別の態様において、本明細書で提供されるのは、任意の抗VZV抗体又はその断片を含む組成物である。幾つかの実施形態において、該組成物は、医薬的に許容できる担体、賦形剤、又は希釈剤をさらに含む。幾つかの実施形態において、該組成物は、医薬組成物である。

30

【 0 0 3 1 】

一態様において、本発明は、対象又は試料に含有されるVZVを中和する方法に関し、該方法は、(a)該対象又は試料を本明細書に記載された任意の抗VZV抗体又はその断片と接触させること、並びに(b)抗VZV抗体又はその断片及びVZVにより形成された複合体を検出すること、を含む。好ましい実施形態において、本発明の抗VZV抗体及びその抗原結合断片は、検出可能な標識をさらに含む。本発明はまた、対象においてVZVを中和するための組成物又は薬品又はキットの調製における任意の抗VZV抗体又はその断片の使用に関する。

40

【 0 0 3 2 】

別の態様において、本発明は、対象においてVZV感染、又はVZV感染に係する1つ若しくは複数の疾患若しくは症状(例えば、水疱瘡、带状疱疹)を予防又は治療する方法に関し、該方法は、本明細書に記載された任意の抗VZV抗体若しくはその断片の有効量を該対象に投与すること、又は本発明の医薬組成物を投与すること、を含む。一実施形態において、該対象は、新生児、未熟児、分娩中の女性、並びに臓器移植手術、血液癌、悪性腫瘍、ネフローゼ症候群及び同様のものにより免疫抑制剤、細胞傷害剤又は放射線治療ほかを受けている免疫機能不全の対象である。

【 0 0 3 3 】

本発明は、VZV感染、又はVZV感染に係する1つ若しくは複数の疾患若しくは症

50

状の治療又は予防のための医薬の調製における本明細書に記載された任意の抗VZV抗体又はその断片の使用にも関する。幾つかの実施形態において、VZVに関係する状態は、水疱瘡又は带状疱疹である。

【0034】

別の態様において、本発明は、対象において免疫応答又は機能を上昇、増強又は刺激するための方法に関し、該方法は、本明細書に記載された任意の抗VZV抗体又はその断片の有効量を該対象に投与し、それにより該対象において免疫応答又は機能を上昇、増強又は刺激することを含む。

【0035】

別の態様において、医薬としての使用のための本明細書に記載された任意の抗VZV抗体又はその断片。

10

【0036】

別の態様において、本発明は、本発明の抗VZV抗体及びその抗原結合断片を使用して、対象からの試料中のVZVの存在及び/又はレベルを検出することを含む、対象がVZVに感染されているかどうかを診断するための方法を提供する。好ましい実施形態において、本発明の抗VZV抗体及びその抗原結合断片は、検出可能な標識をさらに含む。

【0037】

別の態様において、本発明は、診断キット、検出キット及び治療キットなどの本発明の抗体又は組成物を含むキットを提供する。

【0038】

20

本発明はまた、本明細書に記載された実施形態のいずれかの任意の組み合わせを包含する。本明細書に記載された任意の実施形態又はその任意の組み合わせは、本明細書に記載された発明のあらゆる抗VZV抗体又はその断片、方法及び使用に適用可能である。

【発明の効果】

【0039】

本発明は、特異的にVZVを認識すること/VZVに結合することが可能な完全ヒト抗体及びその抗原結合断片を提供する。完全なヒト抗体及びその抗原結合断片は、中和効果を有してVZV感染を阻害し得る中和抗体であり、該抗体及びその抗原結合断片は、良好な親和性、強力な特異性、異種血清に無応答であること、及び他の感染性疾患を伝播するリスクがないことを有し、水疱瘡及び带状疱疹などのVZV感染、又は該感染に関係する疾患若しくは症状を予防及び治療するために対象において使用され得る。

30

【図面の簡単な説明】

【0040】

【図1】精製抗体のSDS-PAGE検査の結果。レーン1、4及び7は、それぞれ非還元完全ヒトVZVモノクローナル抗体TRN1024、TRN1025及びTRN1026を表し、レーン3、6及び9は、それぞれ還元された完全ヒトVZVモノクローナル抗体TRN1024、TRN1025及びTRN1026を表し、レーン2、5、及び8は、Markタンパク質を表す。

【図2】3種の完全ヒトVZVモノクローナル抗体株TRN1024、TRN1025及びTRN1026のELISAアッセイの結果。

40

【図3】3種の完全ヒトVZVモノクローナル抗体株TRN1024、TRN1025及びTRN1026のフィッティングされた結合及び解離センシングダイアグラム。

【図4】3種の完全ヒトVZVモノクローナル抗体TRN1024、TRN1025及びTRN1026の抗核抗体抵抗性テスト(Anti-nuclear resistance test)の結果。

【発明を実施するための形態】

【0041】

1.1 定義

本発明を以下に詳細に記載する前に、本明細書に記載された具体的方法論、プロトコル、及び試薬は、変動し得るため、本発明がこれらに限定されないことが、理解されるべきである。本明細書で用いられた用語が、具体的実施形態を記載することを目的とするに過

50

ぎず、本発明の範囲を限定する意図はなく、添付の特許請求の範囲のみにより限定されることが、理解されるべきである。他に定義されなければ、本明細書で用いられる全ての技術的及び科学的用語は、本発明が属する技術分野の当業者に共通して理解されるものと同じ意味を有する。

【0042】

本明細書を解釈する目的で、以下の定義が用いられ、単数で用いられる用語は、複数も含む場合があり、適宜、その逆もあり得る。本明細書で用いられる用語が、特定の実施形態を記載することを目的とし、限定的であることを意図しないことが、理解される。

【0043】

数値に関連して用いられる場合の用語「約」は、指定された数値より5%低い下限から指定された数値から5%高い上限の間の範囲内の数値を包含することを意味する。

10

【0044】

用語「及び/又は」は、利用可能な選択肢のどちらか又は両方を意味することが理解されるべきである。

【0045】

本明細書で用いられる通り用語「含むこと」又は「包含すること」は、述べられた要素、整数又はステップを含むが任意の他の要素、整数又はステップを除外しないことを意味する。用語「含むこと」又は「包含すること」が、本明細書で用いられる場合、他に指定されない限り、それは、述べられた要素、整数又はステップからなる状況も包含する。例えば特異的配列を「含む」抗体可変領域を参照する場合、特異的配列からなる抗体可変領域を包含することも意図する。

20

【0046】

用語「抗体」は、本明細書では最も広義に用いられ、所望の抗原結合活性を示す限り、非限定的にモノクローナル抗体、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）、及び抗体断片をはじめとする種々の抗体構造を包含する。インタクト抗体は一般に、少なくとも2つの完全長重鎖及び2つの完全長軽鎖を含有するが、幾つかの例では、より少ない鎖を含み得、例えばラクダの体内で自然発生する抗体は、重鎖のみを含有し得る。

【0047】

本明細書で用いられる通りの「モノクローナル抗体」又は「mAb」は、例えば真核生物、原核生物、ファージクローンに由来する、単一抗体又はクローン抗体をいい、即ち、通常は非常に少量で存在する可能な変異抗体（例えば、自然発生する突然変異（複数可）、又はモノクローナル抗体製品の生成の際に生成される突然変異（複数可）を含有する変更体）を除き、集団を構成する抗体のそれぞれは、同一であり、そして/又は同一エピトープに結合する。修飾語「モノクローナル」は、実質的に均質な抗体集団から得られた抗体の特徴をいい、抗体を生成するための任意の特異的方法を必要とすると解釈されるべきでない。モノクローナル抗体は、例えばハイブリドーマ技術、組換え技術、ファージディスプレイ技術、CDRグラフトイングなどの合成技術、又は当該技術分野で公知のそのような、若しくは他の技術の組み合わせにより、生成され得る。

30

【0048】

当業者は、「完全抗体」（本明細書では「全抗体」と互換的に用いられ得る）は、少なくとも2つの重鎖（H）及び2つの軽鎖（L）を含むことが理解されよう。各重鎖は、N末端からC末端まで、重鎖可変領域（本明細書ではVHと略される）及び重鎖定常領域で構成される。重鎖定常領域は、3つのドメインCH1、CH2及びCH3で構成される。各軽鎖は、軽鎖可変領域（本明細書ではVLと略される）及び軽鎖定常領域で構成される。軽鎖定常領域は、1つのドメインCLからなる。VH及びVL領域はさらに、相補性決定領域（CDR）及び介入するフレームワーク領域（FR）に分別され得る。VH及びVLのそれぞれは、アミノ末端からカルボキシル末端まで以下の順に配列される3つのCDR及び4つのFRで構成される：FR1、CDR1、FR2、CDR2、FR3、CDR3及びFR4。

40

50

【0049】

「自然抗体」は、様々な構造を有する自然発生の免疫グロブリン分子をいう。「Fcドメインの自然配列」は、天然に見出されるFcドメインのアミノ酸配列と同じアミノ酸配列を含有する。ヒトFcドメインの自然配列としては、例えばヒトIgG1 Fcドメインの自然配列（非A及びAアロタイプ）；ヒトIgG2 Fcドメインの自然配列；ヒトIgG3 Fcドメインの自然配列；及びヒトIgG4 Fcドメインの自然配列；並びにそれらの自然発生した変異体が挙げられる。

【0050】

「ヒト抗体」は、ヒト若しくはヒト細胞により生成された抗体、又はヒト抗体ライブラリー若しくは他のヒト抗体コード配列を利用する非ヒト供給源由来の抗体、のアミノ酸配列に対応するアミノ酸配列を有する抗体をいう。ヒト抗体のためのそのような定義は、具体的には非ヒト抗原結合残基（複数可）を含有するヒト化抗体を除外する。

10

【0051】

用語「中和抗体」は、病原体に結合すること、及び病原体の悪性（例えば、細胞に感染する能力）を排除すること又は有意に低減することが可能な抗体又は抗体断片をいう。そのような中和抗体は通常、細胞を殺傷すること、病原体が細胞に侵入するのを予防することにおいて役割を担う。

【0052】

幾つかの実施形態において、本発明は、抗VZV抗体の断片を包含する。抗体断片の例としては、Fv、Fab、Fab'、Fab'-SH、F(ab₂)₂ジアボディ、直鎖状抗体、一本鎖抗体分子（scFvなど）；及び抗体断片により形成された多重特異性抗体が挙げられるが、これらに限定されない。パパインによる抗体の消化は、「Fab」断片と呼ばれる、それぞれが単一の抗原結合部位を有する2つの同一の抗原結合断片と、名称が即座に結晶化する能力を反映する、残りの「Fc」断片と、をもたらす。ペプシン処理は、2つの抗原結合部位を有し、抗原を架橋することが依然として可能である、F(ab')₂断片をもたらす。

20

【0053】

「相補性決定領域」又は「CDR領域」又は「CDR」又は「超可変領域」は、主にエピトープへの結合を担う抗体可変領域内のアミノ酸配列である。重鎖及び軽鎖CDRは通常、CDR1、CDR2及びCDR3と称され、N末端から順にナンバリングされる。

30

【0054】

所与のVH又はVLアミノ酸配列のCDR配列を決定するための種々のスキームが、当該技術分野で周知であり：Kabab相補性決定領域（CDR）は、配列変異性に基づいて決定され、最も共通して用いられ（Kabab et al., Sequences of Proteins of Immunological Interest, 5th Edition, Public Health Service, National Institutes of Health, Bethesda, Md. (1991)）、Chothiaは、構造環の位置を参照し（Chothia et al., (1987) J. Mol. Biol. 196:901-917; Chothia et al. (1989) Nature 342:877-883）、AbMHVRは、Kabab HVRとChothia構造環の折衷案であり、Oxford MolecularのAbM Antibody Modeling Softwareにより用いられる。「コンタクト（Contact）」HVRは、利用可能な複合的結晶構造の分析に基づく。CDRを決定する異なるスキームによれば、これらのHVR/CDRのそれぞれの残基は、以下の通りである。

40

【表 1】

CDR	Kabat スキーム	AbM スキーム	Chothia スキーム	コンタクトスキーム
CDR1	L24-L34	L24-L34	L26-L32	L30-L36
CDR2	L50-L56	L50-L56	L50-L52	L46-L55
CDR3	L89-L97	L89-L97	L91-L96	L89-L96
CDR1	H31-H35B (Kabat ナンバリングシステム)	H26-H35B	H26-H32	H30-H35B
CDR1	H31-H35 (Chothia ナンバリングシステム)	H26-H35	H26-H32	H30-H35
CDR2	H50-H65	H50-H58	H53-H55	H47-H58
CDR3	H95-H102 (Kabat ナンバリングシステム)	H95-H102	H96-H101	H93-H101

10

【0055】

一実施形態において、本発明の抗体 CDR は、Kabat ナンバリングシステムによる以下の Kabat 残基位置にある CDR 配列である：

V_L 内の 24 ~ 34 位 (CDR1)、50 ~ 56 位 (CDR2)、及び 89 ~ 97 位 (CDR3) と、V_H 内の 27 ~ 35 位 (CDR1)、50 ~ 65 位 (CDR2)、及び 93 ~ 102 位 (CDR3)。

20

【0056】

CDR は、参照 CDR 配列 (例えば、本発明の例示的 CDR のいずれか) と同じ Kabat ナンバリング位置に基づいて決定することもできる。

【0057】

抗体に関する用語「変異体」は、本明細書において、1 ~ 30、又は 1 ~ 20、又は 1 ~ 10 など、1 つ又は 2 つ又は 3 つ又は 4 つ又は 5 つなどの少なくとも 1 つのアミノ酸置換、欠失、及び / 又は挿入に供されている標的抗体領域 (複数可) (例えば、重鎖可変領域又は軽鎖可変領域又は重鎖 CDR 領域又は軽鎖 CDR 領域) の中にアミノ酸改変 (複数可) を有する抗体をいい、該変異体は、基本的に改変前の抗体分子の生物学的特性を保持する。一態様において、本発明は、本明細書に記載された抗体のいずれかの変異体を包含する。一実施形態において、抗体の変異体は、改変前に抗体の少なくとも 60%、70%、80%、90%、又は 100% の生物活性 (例えば、抗原結合能) を保持する。抗体重鎖可変領域又は軽鎖可変領域又は各 CDR 領域が個別に又は集会的に変換され得ることが、理解され得る。幾つかの実施形態において、1 つ又は複数又は 3 つ全ての重鎖 CDR の中に発生したアミノ酸改変 (複数可) は、1、2、3、4、5、6、7、8、9 又は 10 以下である。好ましくはアミノ酸改変 (複数可) は、アミノ酸置換 (複数可)、好ましくは保存的置換 (複数可) である。

30

【0058】

用語「保存的置換」は、同じ分類に属する別のアミノ酸によるアミノ酸の置換をいい、例えば酸性アミノ酸が、別の酸性アミノ酸により置換されている、塩基性アミノ酸が、別の塩基性アミノ酸により置換されている、又は中性アミノ酸が、別の中性アミノ酸により置換されている。例示的置換は、以下の表に示される。

40

50

【表 2】

元の残基	例示的置換	好ましい保存的置換
Ala (A)	Val; Leu; Ile	Val
Arg (R)	Lys; Gln; Asn	Lys
Asn (N)	Gln; His; Asp, Lys; Arg	Gln
Asp (D)	Glu; Asn	Glu
Cys (C)	Ser; Ala	Ser
Gln (Q)	Asn; Glu	Asn
Glu (E)	Asp; Gln	Asp
Gly (G)	Ala	Ala
His (H)	Asn; Gln; Lys; Arg	Arg
Ile (I)	Leu; Val; Met; Ala; Phe; ノルロイシン	Leu
Leu (L)	ノルロイシン; Ile; Val; Me t; Ala; Phe	Ile
Lys (K)	Arg; Gln; Asn	Arg
Met (M)	Leu; Phe; Ile	Leu
Phe (F)	Trp; Leu; Val; Ile; Ala; T yr	Tyr
Pro (P)	Ala	Ala
Ser (S)	Thr	Thr
Thr (T)	Val; Ser	Ser
Trp (W)	Tyr; Phe	Tyr
Tyr (Y)	Trp; Phe; Thr; Ser	Phe
Val (V)	Ile; Leu; Met; Phe; Ala; ノルロイシン	Leu

【0059】

幾つかの実施形態において、抗体変異体は、抗体の標的領域内の親抗体に対して少なくとも80%、90%又は95%又は99%又はより高いアミノ酸配列同一性を有する。

【0060】

本明細書で用いられる通りの用語「ベクター」は、連結される別の核酸を増大させることが可能な核酸分子をいう。この用語は、自己複製核酸構造としてのベクター、及び導入された宿主細胞のゲノムに取り込まれたベクターを包含する。特定のベクターは、動作可能に連結された核酸の発現を方向づけることが可能である。そのようなベクターは、本明細書では「発現ベクター」と称される。

【0061】

用語「宿主細胞」、「宿主細胞株」及び「宿主細胞培養物」は、互換的に用いられ、そのような細胞の子孫をはじめとする、外来核酸が導入される細胞をいう。宿主細胞としては、初代形質転換細胞、及び継代数にかかわらずそれから誘導された子孫を包含する「形

質転換体」及び「形質転換細胞」を包含する。子孫は、核酸内容物が親細胞と完全に同一でなくてもよく、突然変異を含有してもよい。元々形質転換されている細胞で分泌又は選択されるのと同じ機能又は生物活性を有する突然変異体子孫は、本明細書に包含される。

【0062】

抗体又はベクターをコードする核酸をクローニング又は発現するための適切な宿主細胞としては、本明細書に記載された通りの原核又は真核細胞が挙げられる。該抗体は、特にグリコシル化及びFcエフェクター機能が必要とされない場合、例えば細菌中で、生成され得る。細菌中の抗体断片及びポリペプチドの発現については、例えば米国特許第5,648,237号、同第5,789,199号及び同第5,840,523号明細書を参照されたい、そしてE. コリ中の抗体断片の発現を記載しているCharlton, *Methods in Molecular Biology*, Volume 248 (B. K. C. Lo, ed., Humana Press, Totowa, NJ, 2003)、Pages 245 - 254も参照されたい。発現の後、抗体は、可溶性断片中の細菌ペーストから単離され得、さらに精製され得る。

10

【0063】

一実施形態において、宿主細胞は、真核生物性である。別の実施形態において、宿主細胞は、酵母細胞、哺乳動物細胞、又は抗体若しくはその抗原結合断片を調製するのに適した他の細胞から選択される。例えば、グリコシル化経路がヒト化されていて部分又は完全にヒトのグリコシル化パターンを有する抗体の生成をもたらす真菌及び酵母をはじめとする糸状菌又は酵母などの真核微生物は、抗体をコードするベクターのための適切なクローニング又は発現宿主である。Gerngross, *Nat. Biotech.* 22: 1409 - 1414 (2004)、及びLi et al., *Nat. Biotech.* 24: 210 - 215 (2006)を参照されたい。グリコシル化抗体を発現するのに適した宿主細胞は、多細胞生物体（無脊椎動物及び脊椎動物）にも由来する。脊椎動物の細胞もまた、宿主として用いられ得る。例えば、懸濁液中での生育に適するように修飾された哺乳動物細胞株が、用いられ得る。有用な哺乳動物宿主細胞株の他の例が、SV40で形質転換されたサル腎臓CV1株(COS-7)；ヒト胎児腎臓株（例えば、Graham et al., *J. Gen Virol.* 36: 59 (1977)などに記載された293又は293細胞）及び同様のものである。他の有用な哺乳動物宿主細胞株としては、DHFR-CHO細胞をはじめとするチャイニーズハムスター卵巣(CHO)細胞(Urlaub et al., *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 77: 216 (1980))；並びにY0、NS0及びSp2/0などの骨髓腫細胞株が挙げられる。抗体生成に適した特定の哺乳動物宿主細胞株のレビューについては、例えばYazaki and Wu, *Methods in Molecular Biology*, Volume 248 (B. K. C. Lo, ed., Humana Press, ニュージャージー州トトワ)、pages 255 - 268 (2003)を参照されたい。

20

30

【0064】

「単離された」抗体は、自然環境の成分から分離された抗体である。幾つかの実施形態において、抗体は、例えば電気泳動（例えば、SDS-PAGE、等電点電気泳動(IEF)、キャピラリー電気泳動）又はクロマトグラフィー（例えば、イオン交換又は逆相HPLC）により決定されて、95%又は99%を超える純度まで精製される。抗体の純度を評定するための方法のレビューについては、例えばFlatman et al., *J. Chromatogr.* B848: 79 - 87 (2007)を参照されたい。

40

【0065】

「単離された」核酸は、自然環境の成分から分離された核酸分子をいう。単離された核酸は、通常は核酸分子を含有する細胞の中に含有されるが、染色体外、又は天然の染色体部位と異なる染色体部位に存在する核酸分子を包含する。

【0066】

参照ポリペプチド配列に関する「アミノ酸配列同一性パーセント(%)」は、配列をア

50

ライメントし、必要に応じてギャップを導入して最大配列同一性パーセントを実現した後の、配列同一性の一部としての任意の保存的置換を考慮しない、参照ポリペプチド配列中のアミノ酸残基と同一である候補配列内のアミノ酸残基のパーセンテージとして定義される。アミノ酸配列同一性パーセントを決定する目的でのアライメントは、当該技術分野の様々な方法で、例えばBLAST、BLAST-2、ALIGN又はMEGALIGN(DNASTAR)ソフトウェアなどの公的に入手可能なコンピュータソフトウェアを利用して、実現され得る。当業者は、比較される配列の全長にわたり最大アライメントを実現するのに必要となる任意のアルゴリズムをはじめとする、配列をアライメントするための適正なパラメータを決定することができる。

【0067】

配列同一性のパーセンテージが、この出願で参照される場合、これらのパーセンテージは、他に具体的に示されない限り、より長い配列の全長に相対的に計算される。より長い配列の全長に相対的な計算は、核酸配列及びポリペプチド配列の両方に適用される。

【0068】

「親和性」又は「結合親和性」は、結合対のメンバー（例えば、抗体と抗原）の間の相互作用を反映する固有の結合親和性をいう。分子XとそのパートナーYとの親和性は通常、平衡解離定数(K_D)により表され得る。平衡解離定数は、解離速度定数と結合速度定数（それぞれ k_{dis} 及び k_{on} ）の比率である。親和性は、先行技術で知られる方法及び本明細書に記載された方法をはじめとする当該技術分野で公知の共通する方法により測定され得る。

【0069】

「イムノコンジュゲート」は、非限定的に担体をはじめとする1種又は複数の異種分子にコンジュゲートされた抗体をいう。

【0070】

用語「医薬組成物」は、内部に含有される有効成分の生物活性を効果的にさせるような形態で、投与される対象にとって許容できない毒性となる追加的成分を含有しない製剤をいう。

【0071】

別の態様において、本発明は、VZV又はその免疫学的に活性の断片に結合する1種又は複数のモノクローナル抗体を含む医薬組成物を提供する。本発明により提供される抗VZV抗体又は医薬組成物が、組み合わせの投与のために製剤中の適切な担体、賦形剤及び他の試薬に取り込まれ、それにより改善された移入、送達、忍容性及び同様のものを提供し得ることが、理解されるべきである。

【0072】

用語「医薬的に許容できる担体」は、治療薬と共に投与される希釈剤、アジュバント（例えば、完全又は不完全フロイントアジュバント）、賦形剤、又はビヒクルをいう。

【0073】

本発明における使用に適した医薬的に許容できる担体は、開示された抗体の薬物送達に適した従来組成物及び製剤、例えば”Handbook of Pharmaceutical Excipients”, 7th edition, R.C. Rowe, P. J. Seskey and S.C. Owen, Pharmaceutical Press, London, Chicago;及び”Remington's Pharmaceutical Sciences”, E.W. Martin, Mack Publishing Co, Easton, PA, 21st edition, 2012に記載された医薬製剤のための賦形剤であってもよい。

【0074】

幾つかの実施形態において、担体の性質は、用いられる具体的投与様式に依存する。例えば非経口調製物は通常、注射液を担体として含む。注射液は、水、生理学的生理食塩水、油性又は水性媒体中のエマルジョンほかの医薬的及び生理学的に許容できる液体を包含し、懸濁液、防腐剤、賦形剤、安定化剤、界面活性剤、キレート化剤及び/又は結合剤な

10

20

30

40

50

どの薬剤を含有してもよい。幾つかの実施形態において、医薬的に許容できる担体は、低分子量のポリペプチド、タンパク質（例えば、血清アルブミン及びゼラチン）、アミノ酸（例えば、グリシン、グルタミン、アスパラギン、グルタミン酸塩、アスパラギン酸、メチオニン、アルギニン、及びリシン）、糖類及び炭水化物（例えば、多糖類及び単糖類）、並びに糖アルコール（例えば、マンニトール及びソルビトール）も挙げられる。注射用の水性溶液を調製する場合、生理学的生理食塩水、並びにグルコースと、D-ソルビトール、D-マンノース、D-マンニトール及び塩化ナトリウムなどの他のアジュバントとを含む等張溶液が、用いられ得、必要に応じて、アルコール（例えば、エタノール）、ポリオール（例えば、プロポレングリコール及びPEG）、及び非イオン性界面活性剤（例えば、ポリソルベート80、ポリソルベート20、ポロキサマー188、及びHCO-50）などの適正な可溶化剤と混和して用いられ得る。固体組成物（例えば、粉末、丸薬、錠剤又はカプセル形態）では、従来の非毒性固体担体として、例えば医薬品グレードのマンニトール、ラクトース、デンプン又はステアリン酸マグネシウムを挙げることができる。固体組成物は、投与の直前に液体媒体中の注射液としても製剤され得る（例えば、凍結乾燥組成物Herceptin（商標））。

10

【0075】

本発明の医薬組成物は、非限定的に経口、静脈内、筋肉内、頭蓋内、経皮、局所、鼻内及び他の投与様式をはじめとする様々な経路で投与され得る。

【0076】

用語「有効量」は、単一又は複数の用量で投与された後に予測された効果を実現する、又は少なくとも一部実現するのに十分な量又は投薬量をいい、「治療有効量」は、対象の症状（複数可）の改善（例えば、1つ又は複数の改善）及び/又は症状（複数可）の進行の遅延、並びに同様のものをはじめとする、治療される対象における所望の効果を発生する量をいう。防護に有効な量は、疾患の発生を予防する、遮断する、又は遅延させるのに十分な量をいう。有効量を決定することは、完全に当業者の能力の範囲内であり、例えば治療有効量は、含まれる具体的疾患、疾患の度合い又は重症度、個々の患者の応答、投与される特異的抗体、投与様式、投与される調製物の生物学的利用性プロファイル、選択された投薬レジメン、並びに任意の併用療法の利用ほかに依存する。

20

【0077】

本明細書で用いられる通り「治療」は、既存の症状、障害、状態、又は疾患の進行又は重症度を緩和にすること、妨害すること、遮断すること、軽減すること、停止させること、低減すること、又は逆行させることをいう。

30

【0078】

用語「水疱瘡」は、発熱と、多数の赤い斑点及び丘疹、ヘルペス並びにかさぶたの全身の出現を主な特徴とする水痘帯状疱疹ウイルス（VZV）の一次感染により引き起こされる急性感染性疾患をいう。

【0079】

用語「帯状疱疹」は、ガングリオンの中に存在する潜伏性VZVウイルスの再活性化により引き起こされ、潜伏性VZVウイルスが神経軸に沿って神経が分布する皮膚に遊走して増殖する状態をいう。

40

【0080】

用語「対象」又は「個体」は、霊長類（例えば、ヒト、及びサルなどの非ヒト霊長類）である。特定の実施形態において、個体又は対象は、ヒトである。

【0081】

1.2 本発明の例示的な抗VZV抗体の配列

50

【表 3】

表 I : 各抗体の重鎖可変領域及び軽鎖可変領域の配列

TRN1024	VH	QVQLVQSGGGLVQPGGSLRLSCEASGFTFSSYWMSWVRQAPGKGLEWVANIKQDGSEKY YVDSVKGRFSISRDNANKSLYLQMNLSLRVEDTAVYYCAREGGGGQKWRLEYGMDVWGGG TTVIVSS (SEQ ID NO:19)
	VL	DIVMTQSPATLSVSPGERATLSCRASQSVSSNLAWYQQKPGQAPRLLISGASTRATGIP ARFSGSGSGTEFTLTISLQSEDFAIYYCQQYNNWPPYTFGGGTKLEIR (SEQ ID N O:20)
TRN1025	VH	QVQLVQSGGGLVQPGGSLRLSCVASGFTFSSYAMTWVRQAPGKGLEWVSTISGSGGSTF YADSVRGRFTISRDNANKSLYLQMNLSLRAEDTAVYYCAKDRSYGGNQPFYDYGQGT VSS (SEQ ID NO:21)
	VL	EIVLTQSPDSLAVSLGERATINCKSSQSVLYSSNKNYLAWYQQKPGQPPKLLIYWAST RQSGVPDRFSGSGSGTDFTLTVSSSLQAEDVAVYYCQQYYSTPFTFGGGTKVEIK (SEQ ID NO:22)
TRN1026	VH	QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSKASGRTFSSYAYSWVRQAPGGGLEWMGRVIPVLGITN YAPKFQGKVTITVDKVTSTAFLELTGLKSDDTAVYYCARVSDVLTGALDYWGGGT VSS (SEQ ID NO:23)
	VL	QSVLTQPPSVSGSPGQSVTISCTGTRSDVGSNHRVAWFQQSPGTAPKLMIYEVTNRPSG VPDRFSGSKSGNTASLTISGLQAEDVAVYYCQSSYTTSTWVFGGGTKLTVL (SEQ ID NO:24)
TRN1026 由来の抗体	VH	QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSKASGRTFSSYAYSWVRQAPGGGLEWMGRVIPVLGITN YAPKFQDKVTITADKVTSTAFLELTGLKSDDTAVYYCARVSDVLTGALDYWGGGT VSS (SEQ ID NO:25)
	VL	QSVLTQPPSVSGSPGQSVTISFTGTRSDVGSNHRVAWFQQSPGTAPKLMIYEVTNRPSG VPDRFSGSKSGNTASLTISGLQAEDVAVYYCQSSYTTSTWVFGGGTKLTVL (SEQ ID NO:26)

10

20

【表 4】

表 I I : 各抗体の C D R 配列

抗体		CDR	SEQ ID NO	配列
TRN1024	VH	CDR1	SEQ ID NO:1	GFTFSSYW
		CDR2	SEQ ID NO:2	IKQDGSEK
		CDR3	SEQ ID NO:3	AREGGGGQKWRLEYGMDV
	VL	CDR1	SEQ ID NO:4	QSVSSN
		CDR2	SEQ ID NO:5	GAS
		CDR3	SEQ ID NO:6	QQYNNWPPYT
TRN1025	VH	CDR1	SEQ ID NO:7	GFTFSSYA
		CDR2	SEQ ID NO:8	ISGSGGST
		CDR3	SEQ ID NO:9	AKDRSYGGNQPFDY
	VL	CDR1	SEQ ID NO:10	QSVLYSSNKNY
		CDR2	SEQ ID NO:11	WAS
		CDR3	SEQ ID NO:12	QQYYSTPFT
TRN1026	VH	CDR1	SEQ ID NO:13	GRTFSSYA
		CDR2	SEQ ID NO:14	VIPVLGIT
		CDR3	SEQ ID NO:15	ARVSDVLTGALDY
	VL	CDR1	SEQ ID NO:16	RSDVGSNHR
		CDR2	SEQ ID NO:17	EVT
		CDR3	SEQ ID NO:18	SSYTTSTWV

30

40

【実施例】

50

【0082】

本発明は、以下の実施例によりさらに例証される。しかし実施例が限定的手法というよりむしろ例証で記載されていて、様々な改良が当業者によりなされ得ることが、理解されるべきである。

【0083】

本発明は、相反することが明白に示されない限り、当該技術分野における化学、生化学、有機化学、分子生物学、微生物学、組換えDNA技術、遺伝子学、免疫学及び細胞生物学の従来法により実行されるであろう。これらの方法の記載は、例えば、Sambrook et al., Molecular Cloning: A Laboratory Manual (3rd edition, 2001); Sambrook et al., Molecular Cloning: A Laboratory Manual (2nd edition, 1989); Maniatis et al., Molecular Cloning: A Laboratory Manual (1982); Ausubel et al., Current Protocols in Molecular Biology (John Wiley and Sons, July 2008改訂); Short Protocols in Molecular Biology: A Compendium of Methods from Current Protocols in Molecular Biology, Greene Pub. Associates and Wiley-Interscience; Glover, DNA Cloning: A Practical Approach, vol. I & II (IRL Press, Oxford, 1985); Anand, Techniques for the Analysis of Complex Genomes, (Academic Press, New York, 1992); Transcription and Translation (B. Hames & S. Higgins, Eds., 1984); Perbal, A Practical Guide to Molecular Cloning (1984); Harlow and Lane, Antibodies, (Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, NY, 1998) Current Protocols in Immunology Q.E. Coligan, A.M. Kruisbeek, D.H. Margulies, E.M. Shevach and W. Strober, eds., 1991); Annual Review of Immunology; 及び Advances in Immunology などの雑誌において見出され得る。

【0084】

実施例1 形質細胞の選別

志願者に水痘ワクチン (Merck、Zostavax) が製造業者のプロトコルに従ってワクチン接種されて、血液試料がワクチン接種後7日目に採取され、形質細胞及びPBMC細胞がそれぞれ密度勾配遠心分離により分離された。具体的方法は、取得された特許の中国特許出願公告第107760690B号明細書で参照された。VZV gH/gLタンパク質複合体 (CAMBRIDGE BIO、Cat No: 01-11-0045) が、ELISAのための抗原として選択されて、血清抗体力価を検出し、最高の抗体力価及び有意な倍率変動 (50倍希釈、OD値 > 2.0) を有した試料が、フローサイトメトリー用を選択された。単一の形質細胞が、CD3/CD14/CD16/cd235a-CD19+ CD20+/-CD38hi CD27hiのゲートでのフローサイトメトリーを通して選別され、特異的な形質細胞の集団が分離されて、VZVに対する完全ヒトモノクローナル抗体の遺伝子配列が単離された。具体的方法は、取得された発明特許の中国特許出願公告第107760690B号明細書で参照された。

【0085】

実施例2 標的抗体の可変領域遺伝子の単離

最初に、cDNA (第一の鎖) が、定常領域のためのプライマー (中国特許出願公告第

10

20

30

40

50

107760690B号明細書に開示されたプライマー情報を参照)及びSuper script III逆転写酵素(Invitrogen、カリフォルニア州カールスバッド)での逆転写により実施例1で得られた形質細胞から合成された。抗体遺伝子はその後、以下のPCR手順に従って単離された: PCRの第一ラウンドでは、逆転写反応産物5 μ l、Taq酵素5単位、0.2mM dNTP、並びに抗体サブタイプ重鎖及び軽鎖定量領域(配列)のそれぞれためのプライマー0.5 μ Mが、システム50 μ l中に含有され、反応条件: 予備変性では95 $^{\circ}$ Cで5分、その後、各サイクルを95 $^{\circ}$ C \times 30秒、55 $^{\circ}$ C \times 60秒、72 $^{\circ}$ C \times 90秒とするPCRを35サイクル、そして伸長のために72 $^{\circ}$ Cで7分。PCRの第二ラウンドでは、第一ラウンドのPCR産物2.5 μ l、Taq Plus酵素5単位、0.2mM dNTP、並びに抗体サブタイプ重鎖及び軽鎖可変領域のそれぞれためのプライマー0.5 μ Mが、システム50 μ l中に含有され、反応条件: 予備変性では95 $^{\circ}$ Cで5分、その後、各サイクルを95 $^{\circ}$ C \times 30秒、58 $^{\circ}$ C \times 60秒、72 $^{\circ}$ C \times 90秒とするPCRを35サイクル、そして伸長のために72 $^{\circ}$ Cで7分。得られたPCR産物が、1.2%アガロースゲル電気泳動により同定された。

【0086】

陽性と同定されて、重鎖及び軽鎖が一对にマッチングされ得る抗体遺伝子のPCR産物が、Qiagen PCR産物精製キットで精製され、それぞれ前方及び後方から配列決定されて、IMG Tオンラインサーバ(<http://imgt.cines.fr/>)で解析された。

【0087】

実施例3 発現のための組換え抗体の構築

抗体可変領域遺伝子の得られたPCR産物が、TAクローニング法を利用することによりヒトIgG1定常領域を含有するpcDNA3.3ベクターにライゲートされて、水痘帯状疱疹ウイルスに対する完全ヒト中和抗体のための発現ベクターを構築し、その後、発現ベクターが、ベクターの増幅のためにDH5 α コンピテント細菌の中に形質転換され、組換えプラスミドが、抽出された。HEK293細胞が、得られた組換えプラスミド及びトランスフェクション試薬Polyfectでコトランスフェクトされ、37 $^{\circ}$ C、8%CO₂のインキュベータで培養された。対合された重鎖及び軽鎖遺伝子のための発現ベクターが、細胞内で発現された。96時間の培養後に、上清が採取された。細胞片が遠心分離により廃棄され、上清がプロテインAアフィニティークロマトグラフィーにより精製された。精製された抗体が、SDS-PAGEによりテストされた。図1に示される通り、結果は、抗体TRN1024、TRN1025、及びTRN1026の非還元のパンドが135~180KDの間にあることを示した。重鎖及び軽鎖バンドが、還元後に明確に観察され、即ち、水痘帯状疱疹ウイルスに対する標的抗体、つまり組換え体の完全ヒト中和抗体が、観察された。

【0088】

実施例4 組換え抗体の結合活性の検出

この実験では、先の実施例から得られた組換え抗体が、ELISAアッセイによりテストされ、結合活性を決定した。

【0089】

96ウェルELISAプレートが、100ng/ウェルVZV gH/gLタンパク質複合体により4 $^{\circ}$ Cで一晩コーティングされ、その後、ブロッキング溶液により室温で2時間ブロッキングされた。その後、本発明の組換え抗体及び陰性対照(VZVに無関係の抗体である抗狂犬病ウイルス抗体TRN006)を含有するHEK293細胞培養上清100 μ Lが、96ウェルプレートに添加されて、37 $^{\circ}$ Cで1時間インキュベートされた。ブロッキング溶液で1:10000希釈されたヤギ抗IgG-Fab-HRP 100 μ Lが各ウェルに添加され、37 $^{\circ}$ Cで1時間インキュベートされた。反応が終了された後、OD値が検出され、結果が計算された。そしてVZV gH/gLタンパク質に結合することが可能な3種の完全ヒトVZVモノクローナル抗体TRN1024、TRN1025、及びTRN1026が、0.002 μ g/mLという低いEC50であることが明らかとなり(図2に示される)、本発明で得られた抗体がVZV gH/gLタンパク質に特異

的に結合することが可能であることが示された。

【 0 0 9 0 】

実施例 5 組換え抗体の親和性の検出

本発明の抗体は、KD値の決定のために表面プラズモン共鳴技術（機器、BIA CORE E 3 0 0 0）で測定された。キャプチャー分子がCM5チップにカップリングされて、チップのデキストラン表面を活性化し、カップリング量が注入時間によって決定された。調製された抗体がリガンドとして用いられ、計算されたシグナル値が用いられて、モノクローナル抗体の注入濃度及び接触時間を決定した。分析物として用いられるVZV gH/gLタンパク質複合体（CAMBRIDGE BIO、Cat No: 01-11-0045）が、HBS-E P緩衝液で希釈され、その後、上昇濃度の分析物が、チップ内を流され、それによりシグナル曲線をそれぞれもたらした。各濃度が、1サイクルと見なされた。1サイクルが完了された後、チップが、10 mmol/Lグリシン塩酸で再生されて、抗原が結合されていない元の状態を回復した。BiaCore X-100 Systemソフトウェアが、解析に用いられた。具体的手順は、以下の通りであった：

【 0 0 9 1 】

抗ヒトIgG (Fc) が、アミノカップリングを利用することによりCM5チップの2チャンネルのそれぞれにカップリングされた。キャプチャーされたTRN1024、TRN1025、及びTRN1026では、濃度は、1 µg/mLであり、結合時間は、60秒であった。図3に示された通り、結合されたVZV gH/gLタンパク質複合体の最小及び最大濃度は、それぞれ1.56 µg/mL及び200 µg/mLであり、結合時間は、90秒であり、解離時間は、600秒であった。再生溶液は、3M MgCl₂であり、再生時間は、30秒であった。

【 0 0 9 2 】

結合速度 (ka)、解離速度 (kd) 及び平衡解離定数は、結合及び解離センサーグラムを同時にフィッティングすることにより計算された（図3）。結果が、以下の表に示される。3株の抗体TRN1024、TRN1025、及びTRN1026の全てが、より高い親和性を有し、即ち、本発明の抗体は、抗原に効率的に結合し得る。

【表5】

リガンド	分析物	ka (1/Ms)	kd (1/s)	KD (M)
TRN1026	gHgL-Cambridge	1.03E+05	2.74E-04	2.66E-09
TRN1025	gHgL-Cambridge	3.11E+04	4.16E-04	1.34E-08
TRN1024	gHgL-Cambridge	1.69E+04	6.21E-04	3.67E-08

【 0 0 9 3 】

実施例 6 組換え抗体のインビトロ中和活性の同定

ヒト胎児肺線維芽細胞（MRC-5）が、抗体の中和活性を決定するのに用いられた。従来法に従い、細胞がVZVウイルスに感染された後に酵素免疫測定法により検出された。シグナルを有する陽性細胞の数が、感染細胞の数であり、感染実験で用いられたVZVウイルスの単位と見なすことができた。VZVウイルスの力価が、勾配希釈スポットカウントの方法により決定された。翌日の中和実験での使用のために、上記の通りの感染されたMRC-5細胞が、従来法により消化され、その後、従来の培養用の96ウェルプレートに播種された。実験当日に、抗体TRN1024、TRN1025、及びTRN1026のそれぞれが、100 µg/mLから出発してPBS溶液で2倍希釈され、合計で10種の勾配希釈とし、PBS溶液中の抗体勾配希釈のそれぞれが、50 µL/ウェルの濃度で新しい96ウェルプレートに添加された。その後、100CCID₅₀（50%細胞培

養物感染用量)のVZV Ok a標準株50 μ Lが各ウェルに添加され、中和が37で1時間行われ、その後、中和溶液が、前日に培養されたMRC-5細胞を含有する96ウェルプレートに添加された。ウイルス培地100 μ Lが各ウェルに補充され、細胞の病理学的状態が、連日観察された。

【0094】

結果は、本発明の抗体がVZV Ok a標準株の活性を明白に中和し得、MRC-5細胞のアポトーシスを阻害し得るが、抗体の添加を行わなかった対照がウイルスの活性を中和し得ないことを示した。計算の後、3種の抗体TRN1024、TRN1025、及びTRN1026の中和力価が1.56 μ g/mLに達し、3種の抗体がVZVウイルスで感染された細胞を特異的に認識し得、ウイルスを中和して細胞全体へのウイルス伝播を阻害することに役割を担い得ることを示した。

10

【0095】

実施例7 組換え抗体の抗核抗体抵抗性の検出

Hep-2細胞は、ヒト喉頭癌上皮細胞である。抗核抗体の検出のための国際標準法は、豊富な抗原領域(約100~150タイプ)、強い抗原特異性及び高い抗原含量が理由でHep-2細胞を基質として用いる間接的免疫蛍光法である。この実施例では、Hep-2細胞への抗体の染色応答が、抗体が自己免疫応答を有するかどうかを決定する免疫蛍光法により検出された。抗核抗体(ANA)検出キット(200名用)が検出に用いられ、蛍光顕微鏡下で観察が実施された。結果が、図4に示された。抗体TRN1024、TRN1025、及びTRN1026(100 μ g/mL)の実験群及び陰性対照群はいずれも、Hep-2細胞に特異的な蛍光(GFP)を示さず、即ち該抗体は、Hep-2細胞の抗原に結合しないが、明白なGFP蛍光が、陽性対照群で観察された。このことは、本発明の抗体がHep-2細胞への自己免疫応答を有さないことを示している。

20

【0096】

実施例8 臨床試料由来のウイルスを中和するインビトロテスト

流体が、水痘又は帯状疱疹ウイルスを有する患者のヘルペスから採取され、ウイルスが臨床試料から単離され(単離の方法は、Liu J, Wang M, Gan L et al. Genotyping of Clinical Varicella-Zoster Virus Isolates Collected in China[J]. Journal of Clinical Microbiology, 2009, 47(5):1418-1423./Liu J J, Wang M L, Gan L et al. [Seroepidemiology of varicella-zoster virus infection measured by the fluorescent antibody to membrane antigen test][J]. Zhonghua liu xing bing xue za zhi = Zhonghua liu xing bing xue zazhi, 2009, 30(4):371で参照された)、10種のVZV臨床単離物が単離された。VZVのこれらの臨床単離物が、ウイルス培養に供されて、無細胞ウイルス(CFV)を調製した。3株の抗体TRN1024、TRN1025、及びTRN1026のインビトロ中和能力が、従来ブランク減少中和テスト(ゴールドスタンダード)により決定され、VarizIG(Cangene、免疫グロブリン)が、陽性対照として用いられ、無関係の抗体TRN006が、陰性対照として用いられた。結果は、3種の抗体TRN1024、TRN1025、及びTRN1026の全てがこれらの10種のinnVZV臨床単離物を特異的に認識及び中和し得ることを示し、臨床的有意性を示唆した。

30

40

【0097】

実施例9 インビボ予防テスト

この実施例では、VZV Ok a株ウイルス感染に対する3種の抗体株TRN1024、TRN1025、及びTRN1026のインビボ予防機能が、調査された。4週齢300~350gモルモットが、選択され、ブランク群、対照群(VarizIG)及び実験群(TRN1026、5mg/kg)に割り付けられた。最初に、等量の生理食塩水、V

50

a r i Z I G及びT R N 1 0 2 6 が、投与され、1日後に、各動物に、V Z V O k a ウイルス株（A T C Cから入手可能）に感染された 1×10^6 P B M C $50 \mu\text{L}$ が静脈内注射された。血中ウイルス量が、採血により1、3及び7日目に決定された（ウイルスの遺伝子コピー数が検出された）。ウイルス遺伝子コピー数の結果は、実験群及び対照群がブランク群に比較して有意に低いウイルス量を示すことを示し、低用量の抗体がV Z V ウイルス攻撃に対してモルモットを保護し得ること、即ち本発明の組換え抗V Z V抗体がインビボ活性及び保護的効果を有することを示している。

【 0 0 9 8 】

実施例 1 0 組換え抗体の可変領域配列の同一性の分析

本出願者は、本発明で発見された抗体配列について、重鎖可変領域及び/又は軽鎖可変領域のフレームワーク領域に導入された置換（保存的置換など）、挿入又は欠失の1つ又は複数のアミノ酸配列修飾が抗原への可変領域の結合能力に実質的に影響を及ぼさないことを発見した。本出願の抗体T R N 1 0 2 6では、重鎖可変領域配列（V H）が、S E Q I D N O : 2 3に示される通りであり、軽鎖可変領域配列（V L）が、S E Q I D N O : 2 4に示される通りである。例として、抗体T R N 1 0 2 6の可変領域のフレームワーク領域における置換（保存的置換など）、挿入又は欠失の1つ又は複数のアミノ酸配列修飾を組み込むことで生じた抗体誘導体は、抗V Z V抗体の結合活性を依然として保持する。例えば、S E Q I D N O : 2 5で示される通りのV H及びS E Q I D N O : 2 6で示される通りのV Lを有する抗体T R N 1 0 2 6に由来する抗体変異体が発現され、培養上清がそれから採取されて、E I L I S Aにより結合活性を決定した。結果は、抗体T R N 1 0 2 6に由来する抗体変異体がV Z V g H / g Lタンパク質複合体への結合活性を依然として保持し、 $0.05 \mu\text{g} / \text{mL}$ もの低いE C 5 0であることを示した。抗体可変領域のフレームワーク領域における置換（保存的置換など）、挿入又は欠失の1つ又は複数のアミノ酸配列修飾が組換え抗体の能力及び機能に影響を及ぼさないことが、認められ得る。

10

20

30

40

50

【 図面 】

【 図 1 】

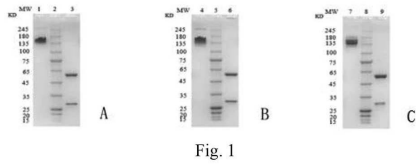


Fig. 1

【 図 2 】

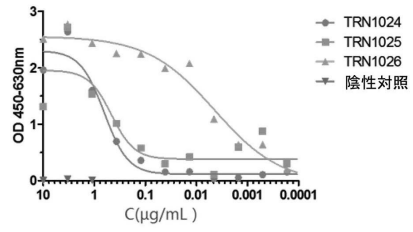


Fig. 2

10

【 図 3 】

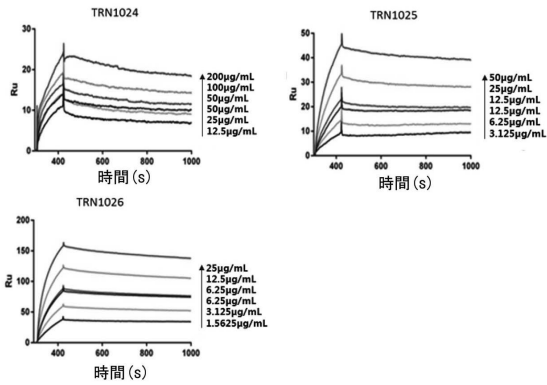


Fig. 3

【 図 4 】

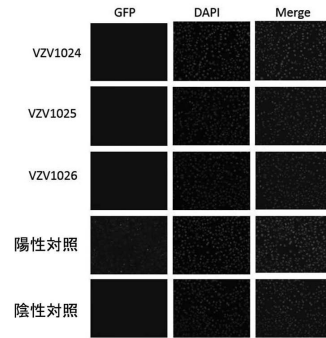


Fig. 4

20

【 配列表 】

[0007689955000001.app](#)

30

40

50

フロントページの続き

(51)国際特許分類

F I

C 1 2 N	15/63	(2006.01)	C 1 2 N	15/63	Z
C 1 2 N	1/15	(2006.01)	C 1 2 N	1/15	
C 1 2 N	1/19	(2006.01)	C 1 2 N	1/19	
C 1 2 N	1/21	(2006.01)	C 1 2 N	1/21	
C 1 2 N	5/10	(2006.01)	C 1 2 N	5/10	
C 1 2 N	15/13	(2006.01)	C 1 2 N	15/13	

(74)代理人 100138210

弁理士 池田 達則

(72)発明者 リャオ ホアシン

中華人民共和国, カントン 5 1 9 0 9 0 , チューハイ, チンワン ディストリクト, チューハイ
アベニュー 6 3 6 6 , ワークショップ 6 , ルーム 1 1 0

(72)発明者 ワン ユエミン

中華人民共和国, カントン 5 1 9 0 9 0 , チューハイ, チンワン ディストリクト, チューハイ
アベニュー 6 3 6 6 , ワークショップ 6 , ルーム 1 1 0

(72)発明者 チョン ウェイホン

中華人民共和国, カントン 5 1 9 0 9 0 , チューハイ, チンワン ディストリクト, チューハイ
アベニュー 6 3 6 6 , ワークショップ 6 , ルーム 1 1 0

(72)発明者 リー チアチー

中華人民共和国, カントン 5 1 9 0 9 0 , チューハイ, チンワン ディストリクト, チューハイ
アベニュー 6 3 6 6 , ワークショップ 6 , ルーム 1 1 0

審査官 野村 英雄

(56)参考文献

BIRLEA, M., et al. , JOURNAL OF VIROLOGY , 2013年 , Vol.87, No.1 , pp.415-421 , DOI: 1
0.1128/JVI.02561-12SUZUKI, K., et al. , JOURNAL OF MEDICAL VIROLOGY , 2007年 , Vol.79 , pp.852-862 , D
OI: 10.1002/jmv.20838SULLIVAN, N.L., et al. , JOURNAL OF VIROLOGY , 2018年 , Vol.92, No.14 , e00269(pp.1-
18) , DOI: 10.1128/JVI.00269-18KAUSMALLY, L., et al. , JOURNAL OF GENERAL VIROLOGY , 2004年 , Vol.85 , pp.3493-3
500 , DOI: 10.1099/vir.0.80406-0

(58)調査した分野 (Int.Cl. , D B 名)

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

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

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

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

P u b M e d