

(19)日本国特許庁(JP)

(12)公表特許公報(A)

(11)公表番号  
特表2025-515485  
(P2025-515485A)

(43)公表日 令和7年5月15日(2025.5.15)

|                          |                |                 |
|--------------------------|----------------|-----------------|
| (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 | N 4 C 0 8 5     |
| A 6 1 P 27/02 (2006.01)  | A 6 1 P 27/02  | Z N A 4 H 0 4 5 |
| C 0 7 K 16/18 (2006.01)  | A 6 1 K 39/395 | D               |
|                          | C 0 7 K 16/18  |                 |

審査請求 未請求 予備審査請求 未請求 (全82頁)

|                   |                                                                                                                                                                  |         |                                                                  |
|-------------------|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|---------|------------------------------------------------------------------|
| (21)出願番号          | 特願2024-563560(P2024-563560)                                                                                                                                      | (71)出願人 | 516008350                                                        |
| (86)(22)出願日       | 令和5年4月28日(2023.4.28)                                                                                                                                             |         | アネクソン, インコーポレーテッド                                                |
| (85)翻訳文提出日        | 令和6年10月28日(2024.10.28)                                                                                                                                           |         | アメリカ合衆国 9 4 0 0 5 カリフォルニア州, ブリスベン, ビルディング シー, セカンド フロア シエラ ポイント  |
| (86)国際出願番号        | PCT/US2023/066393                                                                                                                                                |         | パークウェイ 1 4 0 0                                                   |
| (87)国際公開番号        | WO2023/212719                                                                                                                                                    | (74)代理人 | 110002572                                                        |
| (87)国際公開日         | 令和5年11月2日(2023.11.2)                                                                                                                                             |         | 弁理士法人平木国際特許事務所                                                   |
| (31)優先権主張番号       | 63/336,539                                                                                                                                                       | (72)発明者 | イエドノック, テッド                                                      |
| (32)優先日           | 令和4年4月29日(2022.4.29)                                                                                                                                             |         | アメリカ合衆国 9 4 0 0 5 カリフォルニア州, ブリスベン, ビルディング シー, セカンド フロア, シエラ ポイント |
| (33)優先権主張国・地域又は機関 | 米国(US)                                                                                                                                                           |         | パークウェイ 1 4 0 0, アネクソン, インコーポレーテッド                                |
| (81)指定国・地域        | AP(BW,CV,GH,GM,KE,LR,LS,MW,MZ,NA,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,DK,EE,ES,FI,FR,GB,GR,HR,HU,IE,IS,IT,LT,LU,LV | (72)発明者 | テイラー, ロリ                                                         |
|                   | 最終頁に続く                                                                                                                                                           |         | 最終頁に続く                                                           |

(54)【発明の名称】 眼の疾患を治療するための組成物及び方法

(57)【要約】

本開示は、概して、遺伝性網膜疾患（IRD）（例えば、網膜色素変性症、コロイデレミア、スターガルト病、錐体杆体ジストロフィー、レーバー先天性黒内障）、X連鎖性RP、及びアッシャー症候群または網膜剥離を予防する、発症のリスクを低減する、または治療する組成物及び方法に関する。

【選択図】 なし

**【特許請求の範囲】****【請求項 1】**

ヒト患者における遺伝性網膜疾患を治療する方法であって、硝子体注射を介して約 1 mg ～ 約 10 mg の抗 C1q 抗体を含む組成物を前記患者に投与することを含み、

前記抗体が、配列番号 5 のアミノ酸配列を有する HVR-L1、配列番号 6 のアミノ酸を有する HVR-L2、及び配列番号 7 のアミノ酸を有する HVR-L3 を含む軽鎖可変ドメインと、配列番号 9 のアミノ酸配列を有する HVR-H1、配列番号 10 のアミノ酸を有する HVR-H2、及び配列番号 11 のアミノ酸を有する HVR-H3 を含む重鎖可変ドメインと、を含む、前記方法。

**【請求項 2】**

前記遺伝性網膜疾患が、網膜色素変性症である、請求項 1 に記載の方法。

**【請求項 3】**

前記遺伝性網膜疾患が、コロイデレミアである、請求項 1 に記載の方法。

**【請求項 4】**

前記遺伝性網膜疾患が、スターガルト病である、請求項 1 に記載の方法。

**【請求項 5】**

前記遺伝性網膜疾患が、錐体杆体ジストロフィーである、請求項 1 に記載の方法。

**【請求項 6】**

前記遺伝性網膜疾患が、レーバー先天性黒内障である、請求項 1 に記載の方法。

**【請求項 7】**

前記遺伝性網膜疾患が、X連鎖 RP である、請求項 1 に記載の方法。

**【請求項 8】**

前記遺伝性網膜疾患が、アッシャー症候群である、請求項 1 に記載の方法。

**【請求項 9】**

ヒト患者における網膜剥離を治療する方法であって、硝子体注射を介して約 1 mg ～ 約 10 mg の抗 C1q 抗体を含む組成物を前記患者に投与することを含み、

前記抗体が、配列番号 5 のアミノ酸配列を有する HVR-L1、配列番号 6 のアミノ酸を有する HVR-L2、及び配列番号 7 のアミノ酸を有する HVR-L3 を含む軽鎖可変ドメインと、配列番号 9 のアミノ酸配列を有する HVR-H1、配列番号 10 のアミノ酸を有する HVR-H2、及び配列番号 11 のアミノ酸を有する HVR-H3 を含む重鎖可変ドメインと、を含む、前記方法。

**【請求項 10】**

前記抗 C1q 抗体が、網膜剥離手術の前に投与される、請求項 9 に記載の方法。

**【請求項 11】**

前記抗 C1q 抗体が、網膜剥離手術の後に投与される、請求項 9 に記載の方法。

**【請求項 12】**

前記抗 C1q 抗体が、網膜剥離手術と同時に投与される、請求項 9 に記載の方法。

**【請求項 13】**

前記方法が、前記ヒト患者における視力を回復する、請求項 1 ～ 12 のいずれか 1 項に記載の方法。

**【請求項 14】**

前記方法が、前記ヒト患者における視力を改善する、請求項 1 ～ 12 のいずれか 1 項に記載の方法。

**【請求項 15】**

前記抗体が、配列番号 4 及び 35 ～ 38 から選択されるアミノ酸配列と少なくとも約 95 % の相同性を有するアミノ酸配列を含む軽鎖可変ドメインを含み、前記軽鎖可変ドメインが、前記配列番号 5 のアミノ酸配列を有する HVR-L1、前記配列番号 6 のアミノ酸を有する HVR-L2、及び前記配列番号 7 のアミノ酸を有する HVR-L3 を含む、請求項 1 ～ 14 のいずれか 1 項に記載の方法。

**【請求項 16】**

前記軽鎖可変ドメインが、配列番号 4 及び 35～38 から選択されるアミノ酸配列を含む、請求項 15 に記載の方法。

【請求項 17】

前記抗体が、配列番号 8 及び 31～34 から選択されるアミノ酸配列と少なくとも約 95% の相同性を有するアミノ酸配列を含む重鎖可変ドメインを含み、前記重鎖可変ドメインが、前記配列番号 9 のアミノ酸配列を有する HVR-H1、前記配列番号 10 のアミノ酸を有する HVR-H2、及び前記配列番号 11 のアミノ酸を有する HVR-H3 を含む、請求項 1～16 のいずれか 1 項に記載の方法。

【請求項 18】

前記重鎖可変ドメインが、配列番号 8 及び 31～34 から選択されるアミノ酸配列を含む、請求項 17 に記載の方法。

【請求項 19】

前記抗体が、モノクローナル抗体、ヒト化抗体、ヒト抗体、キメラ抗体、抗体断片、またはそれらの抗体誘導体である、請求項 1～18 のいずれか 1 項に記載の方法。

【請求項 20】

前記抗体が、抗体断片であり、前記抗体断片が、Fab 断片、Fab' 断片、F(ab')<sub>2</sub> 断片、Fv 断片、ダイアボディ、または一本鎖抗体分子である、請求項 19 に記載の方法。

【請求項 21】

前記 Fab 断片が、配列番号 39 の重鎖 Fab 断片及び配列番号 40 の軽鎖 Fab 断片を含む、請求項 20 に記載の方法。

【請求項 22】

前記抗体が、1 週間に 1 回投与される、請求項 1～21 のいずれか 1 項に記載の方法。

【請求項 23】

前記抗体が、隔週毎に 1 回投与される、請求項 1～21 のいずれか 1 項に記載の方法。

【請求項 24】

前記抗体が、3 週間毎に 1 回投与される、請求項 1～21 のいずれか 1 項に記載の方法。

【請求項 25】

前記抗体が、1 ヶ月に 1 回投与される、請求項 1～21 のいずれか 1 項に記載の方法。

【請求項 26】

前記抗体が、4 週間毎に 1 回投与される、請求項 1～21 のいずれか 1 項に記載の方法。

【請求項 27】

前記抗体が、6 週間毎に 1 回投与される、請求項 1～21 のいずれか 1 項に記載の方法。

【請求項 28】

前記抗体が、8 週間毎に 1 回投与される、請求項 1～21 のいずれか 1 項に記載の方法。

【請求項 29】

前記抗体が、隔月毎に 1 回投与される、請求項 1～21 のいずれか 1 項に記載の方法。

【請求項 30】

前記抗体が、10 週間毎に 1 回投与される、請求項 1～21 のいずれか 1 項に記載の方法。

【請求項 31】

前記抗体が、12 週間毎に 1 回投与される、請求項 1～21 のいずれか 1 項に記載の方法。

【請求項 32】

前記抗体が、3 ヶ月毎に 1 回投与される、請求項 1～21 のいずれか 1 項に記載の方法。

10

20

30

40

50

## 【請求項 33】

前記抗体が、4ヵ月毎に1回投与される、請求項1～21のいずれか1項に記載の方法。

## 【請求項 34】

前記抗体が、少なくとも3ヵ月間、少なくとも4ヵ月間、少なくとも6ヵ月間、少なくとも7ヵ月間、少なくとも8ヵ月間、少なくとも9ヵ月間、少なくとも10ヵ月間、少なくとも11ヵ月間、または少なくとも12ヵ月間投与される、請求項22～33のいずれか1項に記載の方法。

## 【請求項 35】

前記抗体が、12ヵ月間投与される、請求項22～34のいずれか1項に記載の方法。

10

## 【請求項 36】

前記投与される組成物が、約1mg、約1.5mg、約2mg、約2.5mg、約3mg、約3.5mg、約4mg、約4.5mg、約5mg、約5.5mg、約6mg、約6.5mg、約7mg、約7.5mg、約8mg、約8.5mg、約9mg、約9.5mg、または約10mgの前記抗C1q抗体を含む、請求項1～35のいずれか1項に記載の方法。

## 【請求項 37】

前記組成物が、約1mgの前記抗C1q抗体を投与することを含む、請求項1～36のいずれか1項に記載の方法。

## 【請求項 38】

前記組成物が、約2.5mgの前記抗C1q抗体を投与することを含む、請求項1～36のいずれか1項に記載の方法。

20

## 【請求項 39】

前記組成物が、約5mgの前記抗C1q抗体を投与することを含む、請求項1～36のいずれか1項に記載の方法。

## 【請求項 40】

前記組成物が、約2mgの前記抗C1q抗体を投与することを含む、請求項1～36のいずれか1項に記載の方法。

## 【請求項 41】

前記組成物が、約5mgの前記抗C1q抗体を投与することを含む、請求項1～36のいずれか1項に記載の方法。

30

## 【請求項 42】

前記組成物が、約10mgの前記抗C1q抗体を投与することを含む、請求項1～36のいずれか1項に記載の方法。

## 【請求項 43】

前記組成物が、約1mg～約2.5mg、約2.5mg～約5mg、約5mg～約7.5mg、または約7.5mg～約10mgの前記抗C1q抗体を投与することを含む、請求項1～36のいずれか1項に記載の方法。

## 【発明の詳細な説明】

## 【技術分野】

40

## 【0001】

## 関連出願

本特許出願は、2022年04月29日に出願された米国仮特許出願第63／336,539号の優先権を主張し、その全体が参照により本明細書に組み込まれる。

## 【背景技術】

## 【0002】

遺伝性網膜疾患（IRD）は、重度の視力喪失または失明さえも引き起こし得る疾患の群である。各IRDは、少なくとも1つの遺伝子が正常に機能していないことによって引き起こされる。IRD（網膜色素変性症など）は、全ての年齢の個人に影響を及ぼし、異なる速度で進行する可能性があり、まれである。しかしながら、ほとんどが進行性であり

50

、これは疾患の症状が時間の経過とともに悪化することを意味する。療法に対する現在のアプローチは、遺伝的欠陥を修復することを目的としているが、多数の遺伝的欠陥があり、各欠陥は少数の患者にのみ影響する。承認された唯一の治療であるボレチゲンネパルボク（voretigene neparvovec）-rzyhは、遺伝子変異RPE65に適応されるが、この遺伝子は、IRD患者の1～2%にのみ存在する。別のアプローチは、「人工網膜」と呼ばれるデバイスを使用して、光を電気エネルギーに変換して網膜を直接刺激するが、このアプローチは、疾患の病態生理学に対処していない。現在、IRDのための遺伝子に拠らない承認された治療または療法は存在しない。したがって、IRDを有する患者のための治療のための顕著な満たされていない必要性が存在する。

【0003】

網膜剥離は、網膜が支持組織の下層から剥離する眼の障害である。網膜剥離は、年間10万当たり約10～12症例が発生する。約50%の症例では、中心網膜が剥離し、黄斑剥離網膜剥離（macula-off retinal detachment）をもたらす。中心網膜が剥離すると、網膜の再装着に成功したにもかかわらず、視力の回復は剥離前の視力の約50%に達するだけである。この限られた視力回復の原因は、視細胞変性である。黄斑剥離網膜剥離手術が成功した後、視覚機能を改善するための承認された治療または療法は存在しない。したがって、網膜剥離を有する患者のための治療に対する顕著な満たされていない必要性が存在する。

【発明の概要】

【0004】

本開示は、概して、ヒト患者における遺伝性網膜疾患（IRD）（例えば、網膜色素変性症／杆体錐体ジストロフィー、コロイデレミア、スターガルト病、錐体杆体ジストロフィー、レーバー先天性黒内障、X連鎖性RP、アッシャー症候群）及び／または網膜剥離を予防する、発症のリスクを低減する、または治療する組成物及び方法に関する。いくつかの実施形態では、抗C1q抗体は、網膜剥離手術の前、網膜剥離手術の後、及び／または網膜剥離手術と同時に投与される。そのような方法は、ヒト患者の視力を回復し、及び／またはヒト患者における視力を改善し得る。

【0005】

そのような方法は、患者に、約1mg～約10mgの抗C1q抗体を含む組成物を、硝子体注射を介して投与することを含み、抗体は、配列番号5のアミノ酸配列を有するHVR-L1、配列番号6のアミノ酸を有するHVR-L2、及び配列番号7のアミノ酸を有するHVR-L3を含む軽鎖可変ドメインと、配列番号9のアミノ酸配列を有するHVR-H1、配列番号10のアミノ酸を有するHVR-H2、及び配列番号11のアミノ酸を有するHVR-H3を含む重鎖可変ドメインと、を含む。いくつかの実施形態では、抗体は、配列番号4及び35～38から選択されるアミノ酸配列と少なくとも約95%の同一性を有するアミノ酸配列を含む軽鎖可変ドメインを含み、軽鎖可変ドメインは、配列番号5のアミノ酸配列を有するHVR-L1、配列番号6のアミノ酸を有するHVR-L2、及び配列番号7のアミノ酸を有するHVR-L3を含む。いくつかの実施形態では、軽鎖可変ドメインは、配列番号4及び35～38から選択されるアミノ酸配列を含む。いくつかの実施形態では、抗体は、配列番号8及び31～34から選択されるアミノ酸配列と少なくとも約95%の同一性を有するアミノ酸配列を含む重鎖可変ドメインを含み、重鎖可変ドメインは、配列番号9のアミノ酸配列を有するHVR-H1、配列番号10のアミノ酸を有するHVR-H2、及び配列番号11のアミノ酸を有するHVR-H3を含む。いくつかの実施形態では、重鎖可変ドメインは、配列番号8及び31～34から選択されるアミノ酸配列を含む。いくつかの実施形態では、抗体は、配列番号4及び35～38から選択されるアミノ酸配列と少なくとも約95%の同一性を有するアミノ酸配列を含む軽鎖可変ドメインであって、配列番号5のアミノ酸配列を有するHVR-L1、配列番号6のアミノ酸を有するHVR-L2、及び配列番号7のアミノ酸を有するHVR-L3を含む軽鎖可変ドメインと、配列番号8及び31～34から選択されるアミノ酸配列と少なくとも約95%の同一性を有するアミノ酸配列を含む重鎖可変ドメインであって、配列番号9

10

20

30

40

50

のアミノ酸配列を有するHVR-H1、配列番号10のアミノ酸を有するHVR-H2、及び配列番号11のアミノ酸を有するHVR-H3を含む重鎖可変ドメインと、を含む。いくつかの実施形態では、抗体は、配列番号4及び35～38から選択されるアミノ酸配列を含む軽鎖可変ドメインと、配列番号8及び31～34から選択されるアミノ酸配列を含む重鎖可変ドメインと、を含む。抗体は、モノクローナル抗体、ヒト化抗体、ヒト抗体、キメラ抗体、抗体断片またはそれらの抗体誘導体であってよい。抗体断片は、Fab断片、Fab'断片、F(ab')<sub>2</sub>断片、Fv断片、ダイアボディまたは一本鎖抗体分子であってよい。いくつかの実施形態では、Fab断片は、配列番号39の重鎖Fab断片及び配列番号40の軽鎖Fab断片を含む。

【0006】

いくつかの実施形態では、抗体は、1週間に1回、隔週毎に1回、3週間毎に1回、1ヵ月に1回、4週間毎に1回、6週間毎に1回、8週間毎に1回、隔月毎に1回、10週間毎に1回、12週間毎に1回、3ヵ月毎に1回、または4ヵ月毎に1回投与される。いくつかの実施形態では、抗体は、少なくとも6ヵ月間、少なくとも7ヵ月間、少なくとも8ヵ月間、少なくとも9ヵ月間、少なくとも10ヵ月間、少なくとも11ヵ月間または少なくとも12ヵ月間投与される。

【0007】

いくつかの実施形態では、投与される組成物は、約1mg、約1.5mg、約2mg、約2.5mg、約3mg、約3.5mg、約4mg、約4.5mg、約5mg、約5.5mg、約6mg、約6.5mg、約7mg、約7.5mg、約8mg、約8.5mg、約9mg、約9.5mg、または約10mgの抗C1q抗体を含む。投与される組成物は、約1mg～約5mgの抗C1q抗体を含んでよい。投与される組成物は、約1mg～約2.5mg、約2.5mg～約5mg、約5mg～約7.5mg、または約7.5mg～約10mgの抗C1q抗体を含んでよい。投与される組成物は、約5mgの抗C1q抗体を含んでよい。投与される組成物は、約10mgの抗C1q抗体を含んでよい。

【図面の簡単な説明】

【0008】

【図1A】光曝露後の視細胞損傷及び小膠細胞症を示す。Aは、光損傷後の視細胞シナプス(Basson)及び細胞体(Dapi)の進行性喪失を示す免疫蛍光(IF)画像及び定量化を示す。

【図1B】光曝露後の視細胞損傷及び小膠細胞症を示す。Bは、光損傷後の視細胞シナプス(Basson)及び細胞体(Dapi)の進行性喪失を示す免疫蛍光(IF)画像及び定量化を示す。

【図1C】光曝露後の視細胞損傷及び小膠細胞症を示す。Cは、光損傷後の視細胞シナプス(Basson)及び細胞体(Dapi)の進行性喪失を示す免疫蛍光(IF)画像及び定量化を示す。

【図1D】光曝露後の視細胞損傷及び小膠細胞症を示す。Dは、光損傷後のミクログリア／マクrofージ反応性(Iba1及びCD68)の増加を示すIF画像及び定量化を示す。シナプス層における貪食性ミクログリアの分布は、顕著なシナプス喪失が最初に観察された1日目にピークに達した。

【図1E】光曝露後の視細胞損傷及び小膠細胞症を示す。Eは、光損傷後のミクログリア／マクrofージ反応性(Iba1及びCD68)の増加を示すIF画像及び定量化を示す。シナプス層における貪食性ミクログリアの分布は、顕著なシナプス喪失が最初に観察された1日目にピークに達した。

【図1F】光曝露後の視細胞損傷及び小膠細胞症を示す。Fは、光損傷後のミクログリア／マクrofージ反応性(Iba1及びCD68)の増加を示すIF画像及び定量化を示す。シナプス層における貪食性ミクログリアの分布は、顕著なシナプス喪失が最初に観察された1日目にピークに達した。

【図2A】光曝露後の網膜における補体シグネチャ及びC1q分布を示す。Aは、光損傷後の網膜溶解物中の開始古典的補体成分C1q及びC1s、ならびに下流活性化生成物C

10

20

30

40

50

3 d のレベルの増加を示す E L I S A アッセイを示す。

【図 2 B】光曝露後の網膜における補体シグネチャ及び C 1 q 分布を示す。B は、光損傷後の網膜溶解物中の開始古典的補体成分 C 1 q 及び C 1 s、ならびに下流活性化生成物 C 3 d のレベルの増加を示す E L I S A アッセイを示す。

【図 2 C】光曝露後の網膜における補体シグネチャ及び C 1 q 分布を示す。C は、光損傷後の網膜溶解物中の開始古典的補体成分 C 1 q 及び C 1 s、ならびに下流活性化生成物 C 3 d のレベルの増加を示す E L I S A アッセイを示す。

【図 2 D】光曝露後の網膜における補体シグネチャ及び C 1 q 分布を示す。D は、網膜 C 1 q 分布及びそのミクログリア／マクロファージ (I b a 1) 及びシナプス (B a s s o o n) との共局在を示す I F を示す。

【図 2 E】光曝露後の網膜における補体シグネチャ及び C 1 q 分布を示す。E は、因果関係と一致する、O P L における C 1 q レベルと視細胞シナプス密度との間の有意な負の相関を示す相関分析を示す。

【図 3】光曝露後のミクログリアのシナプス貪食を示す。A は、光損傷した網膜の O P L における C 1 q レベルの増加と、その B a s s o o n + v e シナプスへの近接性を示す I F を示す (i)。B は、光損傷した網膜における C 1 q タグ付きシナプスのミクログリア貪食を示す高解像度及び 3 D 表面レンダリングされた画像を示す。C ~ E は、ナイーブと比較して、光損傷した網膜におけるシナプス密度の有意な減少 (C)、C 1 q タグ付けされたシナプスのパーセンテージの増加 (D)、及びミクログリア貪食された C 1 q タグ付きシナプスの増加 (E) を示す定量的分析を示す。

【図 4】視細胞シナプス上のホスファチジルセリン (P S) 外在化及び C 1 q へのインビトロ結合を示す。A は、光損傷した網膜の O P L における P S の P S V u e 標識を示す I F を示す。B a s s o o n 及び C 1 q に対する P S V u e 近接性を示す 3 D 表面レンダリングされた画像 (i ~ i i) は、シナプス上の P S 外部化を示す。B は、P S 脂質ビーズへの C 1 q の結合を示すアッセイを示す。対照ホスファチジルコリン (P C) ビーズへの結合なし。C ~ D は、血清曝露 P S 脂質ビーズ上の C 1 q 及び C 4 の沈着を示すアッセイを示す。P C ビーズ上では沈着は観察されなかった。E ~ F は、抗 C 1 q 中和抗体の存在下で、血清曝露された P S 脂質ビーズ上の C 1 q 及び C 4 の沈着の低減を示す競合アッセイを示す。

【図 5】抗 C 1 q 処置後の網膜 P K / P D を示す。A ~ D は、抗 C 1 q で処置した動物由来の網膜溶解物中の測定可能な薬物レベル、ならびに抗 C 1 q 処置時の C 1 q、C 1 s 及び C 3 d レベルの有意な低下を示す P K / P D データを示す。

【図 6】ヒト G A 網膜における C 1 q 分布を示す。A ~ B は、健康なドナーと比較して、プレシナプスマーカー V g l u t 1 の免疫反応性の低減 (A) 及び視細胞シナプス層 O P L における C 1 q の標識の増加 (B) を示し、G A 網膜で生じるシナプス喪失及び C 1 q 蓄積を確認する I F を示す。C は、ヒト G A ドナー網膜における視細胞シナプスとの C 1 q の共局在を確認する C 1 q (灰色)、プレシナプスマーカー V g l u t 1 及びポストシナプスマーカー (H O M E R 1) のトリプル免疫標識を示す。

【図 7】ヒト C 1 q 結合アッセイを示す。片側 E L I S A (o n e - s i d e d E L I S A) で、ヒト C 1 q に、M a b 2 - F a b、F a b A 及び M a b 2 を結合させる。酵素を標識した抗ヒト F c または抗ヒトカッパ抗体、その後、酵素基質を用いて、結合した抗体または F a b 分子を検出した。抗体は、ヒト C 1 q に対して同等の結合親和性を示した。M a b 2 - F a b、F a b A 及び M a b 2 の E C 5 0 は、それぞれ 4 . 4、2 . 5 及び 4 . 9 n g / m L (3 4 ~ 9 5 p M の範囲) であった。

【図 8】F a b A は古典的経路を阻害するが、レクチン経路及び補体副経路を阻害しないことを示す。F a b A 及び M a b 2 を、古典的経路、レクチン経路及び補体副経路を阻害する能力について、E u r o d i a g n o s t i c a から E L I S A ベースのアッセイキット (W e i s l a b (商標)) を用いて評価した。ウェルを、古典的経路 (I g M)、レクチン経路 (マンナン) または副経路 (リボ多糖体) の、特定の活性化剤でコーティングし、C 5 b - 9 末端複合体検出抗体を用いて全経路の活性化を評価した。C 5 の阻害

10

20

30

40

50

抗体を、陽性対照として使用した。Fab A及びMab 2は古典的経路を選択的に遮断し、IC50 $\leq$ 0.3 $\mu$ g/mLであり、一方で抗C5は3経路全てを阻害する。

【図9】ヒト血清における、IgM被覆RBCの溶血の阻害を示す。表面反応性ポリクローナルIgM抗体を用いて予め感作処理したヒツジRBCを、37℃で、20～30分間、ヒト血清（100xに希釈）と共培養した。ヘモグロビンの放出を測定することでRBC溶血を定量化し、無処置によって引き起こされる溶血のパーセンテージで表す。

【図10】Mab1-Fab、Mab1、またはMab2で処置した眼の視神経における損傷した軸索の数の低減を示す。各動物の片眼において、1日目に前眼房に、1 $\mu$ Lの6 $\mu$ mポリスチレンビーズ、1 $\mu$ Lの10 $\mu$ mポリスチレンビーズ（Polybead Microspheres; Polysciences, Inc., Warrington, PA, USA）、及び1 $\mu$ Lの粘弾性溶液（10mg/mLのヒアルロン酸ナトリウム; Advanced Medical Optics Inc., USA）を注射して、IOPの上昇を誘発した。対側眼は、対照としての役割を果たすために、触れることなく放置した。抗体Mab2、Mab1、及びMab1-Fab（Mab1の酵素消化由来のFab）、対生理食塩水を、硝子体内にマイクロビーズを注射した眼に、マイクロビーズ注入の1日前及び1週間後に投与した（0日目及び7日目、各注入について2 $\mu$ Lの10mg/mL抗体食塩水、対生理食塩水単独）。損傷の2週間後、動物から視神経を収集し（生理食塩水及び4%のパラホルムアルデヒドによって灌流）、4%のパラホルムアルデヒド及び1%のオスミウムによって後固定し、上昇アルコール濃度において脱水し、1%の酢酸ウラニル/エタノール中に置いた。神経をエポキシ樹脂内に埋め込み、半薄切片（1 $\mu$ m）を切り取った。Stereoinvestigatorソフトウェア（MicroBrightfield, Inc, VT, USA）を使用して、変性した軸索の合計数を推定した。スケールバー=20 $\mu$ m。Mab1-Fab及びMab2はいずれも、視神経における損傷した軸索の形成を顕著に低減し、一方で抗体Mab1も同様の傾向を示した。

【図11A】Mab1抗体を有するマウス光損傷モデルにおける視細胞ニューロン損失及び網膜機能の保護を示す。Aは、Mab1抗体の硝子体内（IVT）投与、及び14日目の網膜機能及び組織像の評価に続く、7日間のマウスにおける光損傷モデルを示す。マウスに、7日目に、IVT投与を介して1 $\mu$ Lの7.5mg/mL Mab1またはアイソタイプ対照抗体を投与した。

【図11B】Mab1抗体を有するマウス光損傷モデルにおける視細胞ニューロン損失及び網膜機能の保護を示す。Bは、Mab1処置が、アイソタイプ対照と比較したときに、網膜の外側核層におけるTunel+ve視細胞の有意な低減をもたらしたことを示す。

【図11C】Mab1抗体を有するマウス光損傷モデルにおける視細胞ニューロン損失及び網膜機能の保護を示す。Cは、Mab1処置が、アイソタイプ対照と比較したときに、外側核層における視細胞列の数の増加をもたらしたことを示す。

【図11D】Mab1抗体を有するマウス光損傷モデルにおける視細胞ニューロン損失及び網膜機能の保護を示す。Dは、Mab1抗体処置が、アイソタイプ対照抗体と比較したときに、14日目の網膜図におけるA波及びB波の有意な増加をもたらしたことを示す。

【図12】単回のIVT注射後の房水中の遊離C1qを示す。

【図13A】免疫蛍光（IF）データを示す。

【図13B】免疫蛍光（IF）データを示す。Bは、処置後3日目の網膜の外側叢状層（OPL）（別名、外側シナプス層）における小膠細胞症の低減を示す。小膠細胞症の低減は、炎症の減少と関連付けられる。

【図13C】免疫蛍光（IF）データを示す。Cは、視細胞シナプスの有意な保存を示し、

【図13D】免疫蛍光（IF）データを示す。Dは、処置後5日目における細胞体の有意な保存を示す。

【図14】A～Bは、網膜における測定可能なPK及び標的係合を示す。

【図15】Aは、免疫蛍光画像の定量化を示す棒グラフである。Bは、C1q阻害剤による処置時の視細胞シナプス（BSNマーカー）の保存を実証する免疫蛍光画像を示す。

10

20

30

40

50

## 【発明を実施するための形態】

## 【0009】

## 総論

本開示は、概して、遺伝性網膜疾患（IRD）（例えば、網膜色素変性症、コロイデレミア、スターガルト病、錐体杆体ジストロフィー、及びレーバー先天性黒内障）または網膜剥離を予防する、発症のリスクを低減する、または治療する組成物及び方法に関する。

## 【0010】

本明細書にて開示されるのは、レクチン経路または補体副経路に影響を及ぼさずに古典的補体カスケードを阻害する、組換えヒト化免疫グロブリンG（IgG1）抗原結合断片（Fab）である。抗C1q Fab（例えば、FabA、配列番号39の重鎖Fab断片、及び配列番号40の軽鎖Fab断片を含む抗C1q Fab）は、遺伝性網膜疾患（IRD）（例えば、網膜色素変性症、コロイデレミア、スターガルト病、錐体杆体ジストロフィー、及びレーバー先天性黒内障）及び網膜剥離の治療のための硝子体内（IVT）投与剤として開発される。マウス抗体M1（配列番号3の重鎖可変ドメイン及び配列番号7の軽鎖可変ドメインを含むMab1抗体）に由来する超可変領域は、ヒトIgG1 Fab断片コンストラクト（FabA）として記載した。Mab1に由来する超可変領域を含む、完全長ヒトIgG4抗体（Mab2、すなわち配列番号8の重鎖可変ドメイン及び配列番号4の軽鎖可変ドメインを含む抗体）も記載した。Mab1及びMab2、更にそれらのFab（Mab1-Fab及びMab2-Fab）は、薬理学試験においてFabAの代用分子として使用した。FabAは、Fc重鎖定常ドメイン2及び3（CH2及びCH3）を欠く一価のFabコンストラクトであるため、Fcドメインとの相互作用を介してC1qに結合することができない。更に、FabAは単一の抗原結合アームしか持たないため、広範囲のFabA濃度にわたって、C1qについてアゴニスト性活性を示さない。

## 【0011】

補体カスケードは先天性免疫の重要な要素であり、異なる3経路、すなわち古典的経路、レクチン経路及び副経路を介して活性化されることができる。3経路全てが補体成分C3の活性化につながり、これにより免疫細胞のリクルート、炎症、膜侵襲複合体を介した細胞膜溶解、及び細胞死へと最終的に導かれる。

## 【0012】

古典的補体カスケードの開始分子であるC1qは、神経変性疾患の開始及び増殖に関与している。C1qを阻害することで、古典的補体カスケードの開始を遮断し、神経細胞膜への損傷を直接的に低減させ、また補体活性化の結果による炎症を低減させることによって、神経細胞及びシナプスの損傷を遅らせる可能性がある。

## 【0013】

Mab2-Fab及び／またはFabAは、Biacore（10pM未満）及び酵素結合免疫吸着アッセイ（ELISA）（40～50pM、図7）によって測定すると、ヒトC1qへの高い親和性結合を示す。Mab1は、C1qの分離した球状頭部ドメインに結合するが、C1qのコラーゲン尾部には結合しない（ELISAによって決定）。この知見と一致して、Mab1は、C1qの球状頭部ドメイン（IgM、C反応性タンパク質〔CRP〕、及びホスファチジルセリン）によって媒介される基質相互作用を阻害し、FabAは、免疫グロブリンM（IgM）でコーティングされた赤血球（RBC）とのC1qの機能的相互作用を阻害する（溶血を遮断する、図9）。抗体Mab1は、C1qを特異的に認識し、その他の補体成分（C3b及びC5）、またはTNFをはじめとするその他のC1q／腫瘍壊死因子（TNF）スーパーファミリーメンバー、及びアディポネクチン、すなわちC1qと球状頭部ドメインで最も高い配列同一性を共有するタンパク質への結合を示さない。これらの結果と一致して、FabAは、マンノース結合レクチン（MBL、C1q／TNFスーパーファミリーの別のメンバー）によって開始されるレクチン補体経路を阻害せず、補体副経路（C3bによって開始される）も阻害しない（図8）。

## 【0014】

## 定義

本明細書で使用される場合、「a」または「an」は、1つ以上を意味することがある。本明細書において請求項（複数可）で使用される場合、「含む」という用語と併せて使用される場合、「a」または「an」という用語は、1つまたは複数を意味し得る。例えば、「抗体」に対する言及は、1つから多くの抗体の言及である。本明細書で使用される場合、「別の」は、少なくとも2番目またはそれ以上を意味し得る。

## 【0015】

本明細書で使用される場合、別の化合物または組成物と「併せた」投与は、同時投与及び／または異なる時点での投与を含む。併せた投与はまた、異なる投薬頻度または間隔、及び同じ投与経路または異なる投与経路を使用することを含む、共製剤としての投与または別々の組成物としての投与を包含する。

10

## 【0016】

「免疫グロブリン」（Ig）という用語は、本明細書では「抗体」と交換可能に使用される。本明細書における用語「抗体」は、最も広義に使用され、モノクローナル抗体、ポリクローナル抗体、少なくとも2つのインタクトな抗体から形成される多重特異性抗体（例えば、二重特異性抗体）、生物学的活性を示す場合に限り抗体断片、及び抗体誘導体を具体的に包含する。

## 【0017】

基本的な4鎖抗体単位は、2つの同一の軽（L）鎖及び2つの同一の重（H）鎖から構成されるヘテロ四量体糖タンパク質である。 $V_H$ 及び $V_L$ が一緒に対合すると、単一の抗原結合部位が形成される。異なるクラスの抗体の構造及び特性については、例えば、Basic and Clinical Immunology, 8th Ed., Daniel P. Stites, Abba I. Terr and Tristram G. Parslow (eds), Appleton & Lange, Norwalk, CT, 1994, page 71 and Chapter 6を参照されたい。

20

## 【0018】

任意の脊椎動物種に由来するL鎖は、それらの定常ドメインのアミノ酸配列に基づいて、カッパ（「κ」）及びラムダ（「λ」）と呼ばれる2つの明確に異なるタイプのうちの1つに割り当てられ得る。それらの重鎖の定常ドメイン（CH）のアミノ酸配列に応じて、免疫グロブリンは、異なるクラスまたはアイソタイプに割り当てられ得る。5つのクラスの免疫グロブリン：IgA、IgD、IgE、IgG、及びIgM（それぞれ、アルファ（「α」）、デルタ（「δ」）、イプシロン（「ε」）、ガンマ（「γ」）及びミュー（「μ」）と標記される重鎖を有する）が存在する。γ及びαクラスは、CH配列及び機能の比較的小さな相違に基づいてサブクラス（アイソタイプ）に更に分類され、例えば、ヒトは、次のサブクラス：IgG1、IgG2、IgG3、IgG4、IgA1、及びIgA2を発現する。異なるクラスの免疫グロブリンのサブユニット構造及び三次元構成はよく知られており、一般に、例えば、Abbas et al., Cellular and Molecular Immunology, 4<sup>th</sup> ed. (W. B. Saunders Co., 2000)に記載されている。

30

## 【0019】

「全長抗体」は通常、2つの同一の軽（L）鎖及び2つの同一の重（H）鎖を含む約150,000ダルトンのヘテロ四量体糖タンパク質である。各軽鎖は、1つの共有ジスルフィド結合によって重鎖に連結されている一方で、ジスルフィド結合の数は、異なる免疫グロブリンアイソタイプの重鎖間で異なる。各重鎖及び軽鎖は、規則的間隔の鎖内ジスルフィド架橋も有する。各重鎖は、一端に可変ドメイン（ $V_H$ ）と、それに続くいくつかの定常ドメインを有する。各軽鎖は、一端に可変ドメイン（ $V_L$ ）を有し、その他端に定常ドメインを有し、軽鎖の定常ドメインは、重鎖の第1の定常ドメインと整列し、軽鎖の可変ドメインは、重鎖の可変ドメインと整列している。特定のアミノ酸残基が軽鎖可変ドメインと重鎖可変ドメインとの間に界面を形成すると考えられている。

40

## 【0020】

50

「単離された」分子または細胞は、それが生成された環境において通常関連する少なくとも1つの混入分子または細胞から同定及び分離された分子または細胞である。好ましくは、単離された分子または細胞は、生成環境に関連する全ての成分と会合しない。単離された分子または細胞は、天然に見られる形態または状況以外の形態である。そのため、単離された分子は、細胞に天然に存在する分子とは区別され；単離された細胞は、組織、器官、または個体に天然に存在する細胞とは区別される。いくつかの実施形態では、単離された分子は、本開示の抗C1q抗体である。他の実施形態では、単離された細胞は、本開示の抗C1q抗体を生成する宿主細胞またはハイブリドーマ細胞である。

#### 【0021】

「単離された」抗体は、その生成環境（例えば、天然または組換え）の成分から同定、分離、及び／または回収されたものである。好ましくは、単離されたポリペプチドは、その生成環境からの全ての他の混入成分と会合しない。組換えトランスフェクション細胞に起因するものなどのその生成環境からの混入成分は、抗体の研究、診断的または治療的使用を典型的に妨げるであろう物質であり、これには酵素、ホルモン、及び他のタンパク質性または非タンパク質性の溶質が含まれ得る。ある特定の好ましい実施形態では、ポリペプチドは、（1）例えば、ローリー法によって決定される、抗体の95重量%超、いくつかの実施形態では、99重量%超になるまで、（2）スピニングカップシークエネーターを使用して、N末端または内部アミノ酸配列の少なくとも15個の残基を得るのに十分な程度まで、または（3）クマシーブルー、または好ましくはシルバー染色を使用して、非還元または還元条件下でSDS-PAGEによって均質性が得られるまで、精製されるであろう。単離された抗体には、抗体の天然環境の少なくとも1つの成分が存在しないため、組換えT細胞内で*in situ*の抗体が含まれる。しかしながら、通常、単離されたポリペプチドまたは抗体は、少なくとも1つの精製工程を含むプロセスによって調製される。

#### 【0022】

抗体の「可変領域」または「可変ドメイン」は、抗体の重鎖または軽鎖のアミノ末端ドメインを指す。重鎖及び軽鎖の可変ドメインは、それぞれ「V<sub>H</sub>」及び「V<sub>L</sub>」と称され得る。これらのドメインは、概して、抗体の最も可変性の高い部分であり（同じクラスの他の抗体と比べて）、抗原結合部位を含有する。

#### 【0023】

「可変」という用語は、可変ドメインのある特定のセグメントが、抗体によって配列が大幅に異なるという事実を指す。Vドメインは、抗原結合を媒介し、特定の抗体の、その特定の抗原に対する特異性を定義する。しかしながら、可変性は、可変ドメイン全体に均等に分布しているわけではない。むしろ、それは、軽鎖可変ドメイン及び重鎖可変ドメインの両方において、超可変領域（HVR）と呼ばれる3つのセグメントに集中している。可変ドメインのより高度に保存された部分は、フレームワーク領域（FR）と呼ばれる。天然重鎖及び軽鎖の可変ドメインは各々、ベーターシート構造を接続し、場合によっては、ベーターシート構造の一部を形成するループを形成する3つのHVRによって接続されたベーターシート立体配置を大いに採用する4つのFR領域を含む。各鎖内のHVRは、FR領域によって近接して互いに結び付いており、他方の鎖のHVRとともに、抗体の抗原結合部位の形成に寄与する（Kabat et al., Sequences of Immunological Interest, Fifth Edition, National Institute of Health, Bethesda, MD (1991)を参照されたい）。定常ドメインは、抗原に対する抗体の結合に直接的に関与しないが、様々なエフェクター機能、例えば、抗体依存性細胞毒性における抗体の関与を示す。

#### 【0024】

本明細書で使用される場合、「CDR」または「相補性決定領域」という用語は、重鎖ポリペプチド及び軽鎖ポリペプチドの可変領域内に見られる非連続的抗原結合部位を意味することが意図されている。CDRは、Kabat et al., J. Biol. Ch

10

20

30

40

50

em. 252:6609-6616 (1977)、Kabat et al., U. S. Dept. of Health and Human Services, "Sequences of proteins of immunological interest" (1991) (本明細書ではKabat 1991とも称される)、Chothia et al., J. Mol. Biol. 196:901-917 (1987) (本明細書ではChothia 1987とも称される)、及びMacCallum et al., J. Mol. Biol. 262:732-745 (1996) (定義には、互いに対して比較した場合にアミノ酸残基の重複またはサブセットが含まれる)に記載されている。それにもかかわらず、抗体もしくはグラフト抗体またはそのバリエーションのCDRを指すためのいずれの定義の適用も、本明細書で定義及び使用される用語の範囲内であることが意図されている。

10

#### 【0025】

本明細書で使用される場合、「CDR-L1」、「CDR-L2」、及び「CDR-L3」という用語は、それぞれ、軽鎖可変領域における第1、第2、及び第3のCDRを指す。本明細書で使用される場合、「CDR-H1」、「CDR-H2」、及び「CDR-H3」という用語は、それぞれ、重鎖可変領域における第1、第2、及び第3のCDRを指す。本明細書で使用される場合、「CDR-1」、「CDR-2」、及び「CDR-3」という用語は、それぞれ、いずれかの鎖の可変領域の第1、第2及び第3のCDRを指す。

#### 【0026】

「モノクローナル抗体」という用語は、本明細書で使用される場合、実質的に同種の抗体の集団から得られる抗体を指す、すなわち、その集団の個々の抗体は、微量で存在し得る天然に存在する変異及び／または翻訳後修飾（例えば、異性化、アミド化）を除いて同一である。モノクローナル抗体は、高度に特異的であり、単一の抗原部位に対して仕向けられている。異なる決定基（エピトープ）に対して仕向けられた異なる抗体を典型的に含むポリクローナル抗体調製物とは対照的に、各モノクローナル抗体は、抗原上の単一の決定基に対して仕向けられている。それらの特異性に加え、モノクローナル抗体は、典型的にはハイブリドーマ培養によって合成され、他の免疫グロブリンが混入されていないので有利である。「モノクローナル」という修飾語は、実質的に同種の抗体集団として得られるという抗体の特徴を示し、任意の特定の方法による抗体の生成を必要とするものと解釈されるべきではない。例えば、本開示に従って使用されるモノクローナル抗体は、例えば、ハイブリドーマ法（例えば、Kohler and Milstein., Nature, 256:495-97 (1975)、Hongo et al., Hybridoma, 14(3):253-260 (1995)、Harlow et al., Antibodies: A Laboratory Manual, (Cold Spring Harbor Laboratory Press, 2d ed. 1988)、Hammerling et al., in: Monoclonal Antibodies and T-Cell Hybridomas 563-681 (Elsevier, N. Y., 1981)）、組換えDNA法（例えば、米国特許第4,816,567号を参照されたい）、ファージディスプレイ技術（例えば、Clackson et al., Nature, 352:624-628 (1991)、Marks et al., J. Mol. Biol. 222:581-597 (1992)、Sidhu et al., J. Mol. Biol. 338(2):299-310 (2004)、Lee et al., J. Mol. Biol. 340(5):1073-1093 (2004)、Fellouse, Proc. Nat'l Acad. Sci. USA 101(34):12467-472 (2004)、及びLee et al., J. Immunol. Methods 284(1-2):119-132 (2004)）、及びヒト免疫グロブリン遺伝子座もしくはヒト免疫グロブリン配列をコードする遺伝子の一部もしくは全てを有する動物においてヒトまたはヒト様抗体を産生するための技術（例えば、WO1998/24893、WO1996/34096、WO1996/33735、WO1991/107

20

30

40

50

41、Jakobovits et al., Proc. Nat'l Acad. Sci. USA 90:2551 (1993)、Jakobovits et al., Nature 362:255-258 (1993)、Bruggemann et al. Year in Immunol. 7:33 (1993)、米国特許第5,545,807号、同第5,545,806号、同第5,569,825号、同第5,625,126号、同第5,633,425号、及び同第5,661,016号、Marks et al., Bio/Technology 10:779-783 (1992)、Lonberg et al., Nature 368:856-859 (1994)、Morrison, Nature 368:812-813 (1994)、Fishwild et al. Nature Biotechnol. 14:845-851 (1996)、Neuberger, Nature Biotechnol. 14:826 (1996)、ならびに Lonberg and Huszar, Intern. Rev. Immunol. 13:65-93 (1995) を参照されたい。

10

【0027】

「全長抗体」、「インタクトな抗体」及び「完全抗体」という用語は、抗体断片または抗体誘導体とは対照的に、実質的にインタクトな形態の抗体を指すために互換的に使用される。具体的には、完全抗体は、Fc領域を含む重鎖及び軽鎖を有するものを含む。定常ドメインは、天然配列定常ドメイン（例えば、ヒト天然配列定常ドメイン）またはそのアミノ酸配列バリエーションであり得る。場合によっては、インタクトな抗体は、1つ以上のエフェクター機能を有し得る。

20

【0028】

抗体の「抗体断片」または「抗原結合断片」または「機能的断片」は、インタクトな抗体の一部、好ましくはインタクトな抗体の抗原結合及び／または可変領域または改変されたFcR結合能力を保持するまたは有する抗体のF領域を含む。抗体断片の例には、Fab、Fab'、F(ab')<sub>2</sub>及びFv断片；ダイアボディ；及び線状抗体が含まれる（米国特許第5,641,870号、実施例2；Zapata et al., Protein Eng. 8(10):1057-1062 (1995) を参照されたい）。抗体断片の追加の例には、抗体誘導体、例えば、抗体断片から形成される一本鎖抗体分子、一価抗体及び多重特異性抗体が含まれる。

【0029】

「抗体誘導体」は、抗体の抗原結合領域を含む任意のコンストラクトである。抗体誘導体の例には、抗体断片から形成される一本鎖抗体分子、一価抗体及び多重特異性抗体が含まれる。

30

【0030】

抗体のパパイン消化により、「Fab」断片と呼ばれる2つの同一の抗原結合断片と、容易に結晶化する能力を反映して表記される1つの残留「Fc」断片とが生成される。Fab断片は、L鎖全体に加えて、H鎖の可変領域ドメイン(V<sub>H</sub>)、及び1つの重鎖の第1の定常ドメイン(C<sub>H1</sub>)からなる。各Fab断片は、抗原結合に関して一価であり、すなわち、単一抗原結合部位を有する。抗体のペプシン処理は、単一の大型F(ab')<sub>2</sub>断片をもたらし、これは、異なる抗原結合活性を有する2つのジスルフィド結合したFab断片にほぼ対応し、依然として抗原を架橋することができる。Fab'断片は、C<sub>H1</sub>ドメインのカルボキシ末端に、抗体ヒンジ領域からの1つ以上のシステインを含む、いくつもの更なる残基を有することにより、Fab断片とは異なる。Fab'-SHは、定常ドメインのシステイン残基（複数可）が遊離チオール基を持つFab'の本明細書における呼称である。F(ab')<sub>2</sub>抗体断片は、元来、間にヒンジシステインを有するFab'断片の対として生成された。抗体断片の他の化学的カップリングも既知である。

40

【0031】

Fc断片は、ジスルフィドによって一緒に保持された両方のH鎖のカルボキシ末端部分を含む。抗体のエフェクター機能は、Fc領域における配列によって決定され、この領域はまた、ある特定の細胞型に見られるFc受容体(FcR)によって認識される。

50

## 【0032】

本明細書における「Fc領域」という用語は、免疫グロブリン重鎖のC末端領域を定義するために使用され、天然配列Fc領域及びバリエーションFc領域が含まれる。免疫グロブリン重鎖のFc領域の境界は様々であり得るが、ヒトIgG重鎖Fc領域は通常、Cys226位のアミノ酸残基から、またはPro230から、そのカルボキシル末端まで伸びると定義される。Fc領域のC末端リジン（EU番号付けシステムによると残基447）は、例えば、抗体の生成もしくは精製の間に、または抗体の重鎖をコードする核酸を組換え操作することによって、除去されてもよい。したがって、インタクトな抗体の組成物は、全K447残基が除去された抗体集団、除去されたK447残基がない抗体集団、及びK447残基を有する抗体と有しない抗体との混合物を有する抗体集団を含んでもよい。本開示の抗体における使用に好適な天然配列のFc領域には、ヒトIgG1、IgG2、IgG3、及びIgG4が含まれる。

10

## 【0033】

「天然配列Fc領域」は、天然で見られるFc領域のアミノ酸配列と同一のアミノ酸配列を含む。天然配列ヒトFc領域には、天然配列ヒトIgG1 Fc領域（非A及びAアロタイプ）、天然配列ヒトIgG2 Fc領域、天然配列ヒトIgG3 Fc領域、及び天然配列ヒトIgG4 Fc領域、ならびにそれらの天然に存在するバリエーションが含まれる。

## 【0034】

「バリエーションFc領域」は、少なくとも1つのアミノ酸修飾、好ましくは1つ以上のアミノ酸置換（複数可）によって天然配列Fc領域のものとは異なるアミノ酸配列を含む。好ましくは、バリエーションFc領域は、天然配列Fc領域または親ポリペプチドのFc領域と比較して少なくとも1つのアミノ酸置換、例えば、天然配列Fc領域中または親ポリペプチドのFc領域中に約1～約10個のアミノ酸置換、及び好ましくは約1～約5個のアミノ酸置換を有する。本明細書におけるバリエーションFc領域は、好ましくは、天然配列Fc領域及び／または親ポリペプチドのFc領域と少なくとも約80%の同一性、ならびに最も好ましくは、それらと少なくとも約90%の同一性、より好ましくは、それらと少なくとも約95%の同一性を保有する。

20

## 【0035】

「Fc受容体」または「FcR」は、抗体のFc領域に結合する受容体を表す。好ましいFcRは、天然配列ヒトFcRである。更に、好ましいFcRは、IgG抗体（ガンマ受容体）に結合し、FcγRI、FcγRII、及びFcγRIIIサブクラスの受容体を含み、これらの受容体の対立遺伝子バリエーション及び選択的スプライシング形態を含むものであり、FcγRII受容体には、FcγRIIA（「活性化受容体」）及びFcγRIIB（「阻害受容体」）が含まれ、これらは主にその細胞質ドメインが異なる類似のアミノ酸配列を有する。活性化受容体FcγRIIAは、その細胞質ドメインに免疫受容体チロシンベースの活性化モチーフ（「ITAM」）を含む。阻害受容体FcγRIIBは、その細胞質ドメインに免疫受容体チロシンベースの阻害モチーフ（「ITIM」）を含む。（例えば、M. Daeron, Annu. Rev. Immunol. 15: 203-234 (1997)を参照されたい）。FcRは、Ravetch and Kinet, Annu. Rev. Immunol. 9: 457-92 (1991)、Capelle et al., Immunomethods 4: 25-34 (1994)、及びde Haas et al., J. Lab. Clin. Med. 126: 330-41 (1995)において検討されている。将来特定されるものを含む他のFcRは、本明細書における「FcR」という用語に包含される。FcRは、抗体の血清半減期を増加させ得る。

30

40

## 【0036】

ヒトFcRn高親和性結合ポリペプチドのインビボでのFcRnへの結合及び血清半減期は、例えば、ヒトFcRnを発現するトランスジェニックマウスもしくはトランスフェクトヒト細胞株において、またはバリエーションFc領域を有するポリペプチドが投与される霊長類においてアッセイすることができる。WO2004/42072 (Presta)

50

は、FcRへの結合が改善また低減された抗体バリエーションについて記載している。また、例えば、Shields et al., J. Biol. Chem. 9 (2) : 6591-6604 (2001) を参照されたい。

【0037】

「Fv」は、完全な抗原認識部位及び抗原結合部位を含有する最小の抗体断片である。この断片は、1つの重鎖可変領域ドメインと1つの軽鎖可変領域ドメインが、非共有結合で緊密に会合した二量体からなる。これらの2つのドメインの折り畳みにより、抗原結合のためのアミノ酸残基を提供し、抗原結合特異性を抗体に与える、6つの超可変ループ（H鎖及びL鎖から各々3つのループ）が生じる。しかしながら、全結合部位よりも低い親和性であるが、単一の可変ドメイン（または抗原に特異的なHVRを3つしか含まないFvの半分）でさえも、抗原を認識し、それに結合する能力を有する。

10

【0038】

「sFv」または「scFv」とも短縮される「一本鎖Fv」は、単一のポリペプチド鎖に接続されるVH抗体ドメイン及びVL抗体ドメインを含む抗体断片である。好ましくは、sFvポリペプチドは、VHドメインとVLドメインとの間にポリペプチドリンカーを更に含んでおり、sFvが抗原結合に所望される構造を形成することを可能にする。sFvの概説については、Pluckthun in The Pharmacology of Monoclonal Antibodies, vol. 113, Rosenburg and Moore eds., Springer-Verlag, New York, pp. 269-315 (1994) を参照されたい。

20

【0039】

「ダイアボディ」という用語は、鎖内ではなく鎖間のVドメイン対合を達成し、それによって二価断片、すなわち、2つの抗原結合部位を有する断片が得られるように、VHドメインとVLドメインとの間に短いリンカー（約5～10個の残基）を用いてsFv断片（前の段落を参照）を構築することによって調製された小さな抗体断片を指す。二重特異性ダイアボディは、2つの抗体のVH及びVLドメインが異なるポリペプチド鎖に存在している、2つの「交差」sFv断片のヘテロ二量体である。ダイアボディは、例えば、EP 404,097、WO 1993/011161、WO/2009/121948、WO/2014/191493、Hollinger et al., Proc. Nat'l Acad. Sci. USA 90:6444-48 (1993) においてより詳細に記載されている。

30

【0040】

本明細書で使用される場合、「キメラ抗体」は、重鎖及び／または軽鎖の一部が、特定の種に由来するか、または特定の抗体クラスもしくはサブクラスに属する抗体内の対応する配列と同一または相同である一方で、鎖（複数可）の残りが、別の種に由来するか、または別の抗体クラスもしくはサブクラスに属する抗体における対応する配列と同一または相同である抗体（免疫グロブリン）、ならびにそのような抗体の断片を指し、これは、それらが所望される生物学的活性を呈する限りにおいてである（米国特許第4,816,567号、Morrisson et al., Proc. Nat'l Acad. Sci. USA, 81:6851-55 (1984)）。本明細書における対象となるキメラ抗体には、PRIMATIZED（登録商標）抗体が含まれ、ここで、この抗体の抗原結合領域は、例えば、マカクザルに目的の抗原で免疫付与を行うことによって生成される抗体に由来する。本明細書で使用される場合、「ヒト化抗体」は、「キメラ抗体」のサブセットである。

40

【0041】

非ヒト（例えば、マウス）抗体の「ヒト化」形態は、非ヒト免疫グロブリンに由来する最小配列を含むキメラ抗体である。いくつかの実施形態では、ヒト化抗体は、レシピエントのHVRからの残基が、所望される特異性、親和性、及び／または能力を有するマウス、ラット、ウサギ、または非ヒト霊長類などの非ヒト種（ドナー抗体）のHVRからの残基で置き換えられている、ヒト免疫グロブリン（レシピエント抗体）である。いくつかの

50

例では、ヒト免疫グロブリンのFR残基は、対応する非ヒト残基に置き換えられる。更に、ヒト化抗体は、レシピエント抗体にもドナー抗体にも見られない残基を含み得る。これらの修飾は、結合親和性などの抗体の性能を更に改良するために行われ得る。一般に、ヒト化抗体は、少なくとも1つ、典型的には2つの可変ドメインの実質的に全てを含むことになり、ここで、超可変ループの全てまたは実質的に全てが、非ヒト免疫グロブリン配列のものに対応し、FR領域の全てまたは実質的に全てが、ヒト免疫グロブリン配列のものに対応するが、FR領域には、結合親和性、異性体化、免疫原性等の抗体の性能を向上させる1つ以上の個々のFR残基置換が含まれてもよい。FRにおけるこれらのアミノ酸置換の数は、典型的には、H鎖では6個以下であり、L鎖では3個以下である。ヒト化抗体はまた、任意選択で、免疫グロブリン定常領域（Fc）、典型的にはヒト免疫グロブリンの免疫グロブリン定常領域（Fc）の少なくとも一部分を含むであろう。更なる詳細については、例えば、Jones et al., Nature 321:522-525 (1986)、Riechmann et al., Nature 332:323-329 (1988)、及びPresta, Curr. Op. Struct. Biol. 2:593-596 (1992)を参照されたい。また、例えば、Vaswani and Hamilton, Ann. Allergy, Asthma & Immunol. 1:105-115 (1998)、Harris, Biochem. Soc. Transactions 23:1035-1038 (1995)、Hurle and Gross, Curr. Op. Biotech. 5:428-433 (1994)、ならびに米国特許第6,982,321号及び同第7,087,409号も参照されたい。

10

20

【0042】

「ヒト抗体」は、ヒトによって生成された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、及び／または本明細書に開示されるヒト抗体を作製する技法のうちのいずれかを使用して作製されたものである。ヒト抗体のこの定義は、非ヒト抗原結合残基を含むヒト化抗体を具体的に除外する。ヒト抗体は、ファージディスプレイライブラリーを含む当該技術分野で既知の様々な技法を使用して生成され得る。Hoogenboom and Winter, J. Mol. Biol., 227:381 (1991)、Markset al., J. Mol. Biol., 222:581 (1991)、Cole et al., Monoclonal Antibodies and Cancer Therapy, Alan R. Liss, p. 77 (1985)、Boerner et al., J. Immunol., 147(1):86-95 (1991)に記載の方法も、ヒトモノクローナル抗体の調製に利用可能である。また、van Dijk and van de Winkel, Curr. Opin. Pharmacol. 5:368-74 (2001)を参照されたい。ヒト抗体は、抗原攻撃に応答してそのような抗体を生成するように改変されているが、その内因性遺伝子座が無効化されているトランスジェニック動物、例えば、免疫化異種マウス（xenomice）に抗原を投与することにより調製され得る（例えば、XENOMOUSE（商標）技術に関しては、米国特許第6,075,181号及び同第6,150,584号を参照されたい）。例えば、ヒトB細胞ハイブリドーマ技術により生成されるヒト抗体についても、Li et al., Proc. Nat'l Acad. Sci. USA, 103:3557-3562 (2006)を参照されたい。

30

40

【0043】

本明細書で使用される場合、「超可変領域」、「HVR」、または「HV」という用語は、配列が超可変性であり、及び／または構造的に定義されたループを形成する抗体可変ドメインの領域を指す。概して、抗体は、6つのHVRを含み、3つがVH（H1、H2、H3）にあり、3つがVL（L1、L2、L3）にある。天然抗体において、H3及びL3は、これらの6つのHVRのうちで最も高い多様性を呈し、特にH3が、抗体に優れた特異性を与える上で特有の役割を果たすと考えられている。例えば、Xu et al., Immunity 13:37-45 (2000)、Johnson and Wu in Methods in Molecular Biology 248:1-25

50

(Lo, ed., Human Press, Totowa, NJ, 2003)) を参照されたい。実際には、重鎖のみからなる天然に存在するラクダ科抗体は、軽鎖の不在下で機能的であり、安定している。例えば、Hamers-Casterman et al., Nature 363: 446-448 (1993) 及び Sheriff et al., Nature Struct Biol. 3: 733-736 (1996) を参照されたい。

#### 【0044】

いくつかのHVR描写が本明細書で使用され、本明細書に包含される。Kabat相補性決定領域(CDR)であるHVRは、配列可変性に基づくものであり、最も一般的に使用されている(上記のKabat et al.,)。Chothiaは、そうではなく、構造的ループの位置を指す(Chothia and Lesk J. Mol. Biol. 196: 901-917 (1987))。AbM HVRは、Kabat CDRとChothia構造的ループとの間の妥協案を示し、Oxford MolecularのAbM抗体モデリングソフトウェアによって使用される。「接触」HVRは、利用可能な複合体結晶構造の分析に基づく。これらのHVRの各々に由来する残基が以下に記載される。

#### 【表1】

| ループ | Kabat    | AbM      | Chothia  | 接触                     |
|-----|----------|----------|----------|------------------------|
| L1  | L24-L34  | L24-L34  | L26-L32  | L30-L36                |
| L2  | L50-L56  | L50-L56  | L50-L52  | L46-L55                |
| L3  | L89-L97  | L89-L97  | L91-L96  | L89-L96                |
| H1  | H31-H35B | H26-H35B | H26-H32  | H30-H35B (Kabat 番号付け)  |
| H1  | H31-H35  | H26-H35  | H26-H32  | H30-H35 (Chothia 番号付け) |
| H2  | H50-H65  | H50-H58  | H53-H55  | H47-H58                |
| H3  | H95-H102 | H95-H102 | H96-H101 | H93-H101               |

#### 【0045】

HVRは、以下のように「伸長HVR」を含み得る：VLにおける24～36または24～34(L1)、46～56または50～56(L2)、及び89～97または89～96(L3)、ならびにVHにおける26～35(H1)、50～65または49～65(好ましい実施形態)(H2)、及び93～102、94～102、または95～102(H3)。可変ドメイン残基は、これらの伸長HVRの定義の各々について上記のKabat et al. に従って番号付けされる。

#### 【0046】

「フレームワーク」または「FR」残基は、本明細書に定義されるHVR残基以外の可変ドメイン残基である。

#### 【0047】

「Kabatにあるような可変ドメイン残基番号付け」または「Kabatにあるようなアミノ酸位置番号付け」という語句、及びそれらの変形は、上記のKabat et al. における抗体の編集物の重鎖可変ドメインまたは軽鎖可変ドメインに使用される番号付けシステムを指す。この番号付けシステムを使用して、実際の直鎖状アミノ酸配列は、可変ドメインのFRもしくはHVRの短縮、またはそれへの挿入に対応するより少ないアミノ酸または追加のアミノ酸を含有し得る。例えば、重鎖可変ドメインは、H2の残基52後に単一のアミノ酸挿入(Kabatに従って残基52a)、及び重鎖FR残基82後に挿入された残基(例えば、Kabatに従って残基82a、82b、及び82c等)を含んでもよい。残基のKabat番号付けは、所与の抗体に対して、抗体の配列と「標

準の」K a b a tによって番号付けされた配列との相同領域での整合によって決定され得る。

【0048】

K a b a t番号付けシステムは、一般に、可変ドメイン内の残基（大体、軽鎖の1～107残基及び重鎖の1～113残基）に言及する際に使用される（例えば、K a b a t e t a l. , Sequences of Immunological Interest, 5th Ed. Public Health Service, National Institutes of Health, Bethesda, Md. (1991)）。「EU番号付けシステム」または「EU指標」は、概して、免疫グロブリン重鎖定常領域内の残基に言及する際に使用される（例えば、上記のK a b a t e t a l. で報告されているEU指標）。「K a b a tにあるようなEU指標」は、ヒトIgG1 EU抗体の残基番号付けを指す。本明細書に別途述べられない限り、抗体の可変ドメインにおける残基番号への言及は、K a b a t番号付けシステムによる残基番号付けを意味する。本明細書で別途述べられない限り、抗体の定常ドメインにおける残基番号への言及は、EU番号付けシステムによる残基番号付けを意味する（例えば、米国特許公開第2010-280227号を参照されたい）。

10

【0049】

「アクセプターヒトフレームワーク」は、本明細書で使用される場合、ヒト免疫グロブリンフレームワークまたはヒトコンセンサスフレームワーク由来のVLフレームワークまたはVHフレームワークのアミノ酸配列を含むフレームワークである。ヒト免疫グロブリンフレームワークまたはヒトコンセンサスフレームワーク「に由来する」アクセプターヒトフレームワークは、それと同じアミノ酸配列を含んでもよく、またはそれは既存のアミノ酸配列変化を含有してもよい。いくつかの実施形態では、既存のアミノ酸変化の数は、10以下、9以下、8以下、7以下、6以下、5以下、4以下、3以下、または2以下である。既存のアミノ酸変化がVHに存在する場合、好ましいそれらの変化が位置71H、73H、及び78Hのうちの3つ、2つ、または1つにのみ存在し、例えば、それらの位置のアミノ酸残基は、71A、73T、及び／または78Aであり得る。いくつかの実施形態では、VLアクセプターヒトフレームワークは、配列において、VLヒト免疫グロブリンフレームワーク配列またはヒトコンセンサスフレームワーク配列と同一である。

20

【0050】

「ヒトコンセンサスフレームワーク」は、ヒト免疫グロブリンVLまたはVHフレームワーク配列の選択において最も一般的に生じるアミノ酸残基を代表する、フレームワークである。概して、ヒト免疫グロブリンVLまたはVH配列の選択は、可変ドメイン配列のサブグループから行われる。概して、配列のサブグループは、K a b a t e t a l. , Sequences of Proteins of Immunological Interest, 5th Ed. Public Health Service, National Institutes of Health, Bethesda, MD (1991)にあるようなサブグループである。例には、VLに関するものが含まれ、サブグループは、上記のK a b a t e t a l. にあるようなサブグループカップI、カップII、カップIIIまたはカップIVであり得る。追加的に、VHについては、サブグループは、上記のK a b a t e t a l. にあるようなサブグループI、サブグループII、またはサブグループIIIであり得る。

30

40

【0051】

指定された位置における「アミノ酸修飾」は、指定された残基の置換もしくは欠失、または指定された残基に隣接する少なくとも1つのアミノ酸残基の挿入を指す。指定された残基に「隣接する」挿入は、その1～2つの残基内への挿入を意味する。挿入は、指定された残基のN末端側またはC末端側であり得る。本明細書における好ましいアミノ酸修飾は、置換である。

【0052】

「親和性成熟」抗体は、その1つ以上のHVRに1つ以上の変化を有し、これらの変化

50

が、それらの変化（複数可）を有しない親抗体と比較して、抗原に対する抗体の親和性の向上をもたらすものである。いくつかの実施形態では、親和性成熟抗体は、標的抗原に対するナノモルまたは更にはピコモルの親和性を有する。親和性成熟抗体は、当該技術分野で既知の手順によって生成される。例えば、Marks et al., Bio/Technology 10:779-783 (1992) は、VHドメイン及びVLドメインシャッフリングによる親和性成熟について記載している。HVR及び／またはフレームワーク残基のランダム変異誘発は、例えば、Barbas et al. Proc Natl. Acad. Sci. USA 91:3809-3813 (1994)、Schier et al. Gene 169:147-155 (1995)、Yelton et al. J. Immunol. 155:1994-2004 (1995)、Jackson et al., J. Immunol. 154(7):3310-9 (1995)、及び Hawkins et al., J. Mol. Biol. 226:889-896 (1992) に記載されている。

10

20

30

40

50

#### 【0053】

本明細書で使用される場合、「特異的に認識する」または「特異的に結合する」という用語は、生物学的分子を含む分子の異種集団の存在下で標的の存在を決定する、標的と抗体との間の引力または結合などの測定可能かつ再生可能な相互作用を指す。例えば、標的またはエピトープに特異的または優先的に結合する抗体は、他の標的または標的の他のエピトープに結合する場合よりも高い親和性、アビディティで、より容易に、及び／またはより長い持続時間でこの標的またはエピトープに結合する抗体である。例えば、第1の標的に特異的または優先的に結合する抗体（または部分）は、第2の標的に特異的または優先的に結合する場合があるか、または結合しない場合があることも理解される。したがって、「特異的結合」または「優先的結合」は、必ずしも排他的結合を必要としない（ただし、それは排他的結合を含むことができる）。標的に特異的に結合する抗体は、少なくとも約  $10^3 \text{ M}^{-1}$  または  $10^4 \text{ M}^{-1}$ 、時には約  $10^5 \text{ M}^{-1}$  または  $10^6 \text{ M}^{-1}$ 、他の例では約  $10^6 \text{ M}^{-1}$  または  $10^7 \text{ M}^{-1}$ 、約  $10^8 \text{ M}^{-1} \sim 10^9 \text{ M}^{-1}$ 、または約  $10^{10} \text{ M}^{-1} \sim 10^{11} \text{ M}^{-1}$  以上の会合定数を有し得る。特定のタンパク質と特異的免疫反応性の抗体を選択するために多様なイムノアッセイ形式が使用され得る。例えば、固相 ELISA イムノアッセイは、タンパク質と特異的免疫反応性のモノクローナル抗体を選択するために日常的に使用される。特異的免疫反応性を判定するために使用され得る免疫測定法形式及び条件の説明については、例えば、Harlow and Lane (1988) Antibodies, A Laboratory Manual, Cold Spring Harbor Publications, New York を参照されたい。

#### 【0054】

「同一性」は、本明細書で使用される場合、アライメントされた配列における任意の特定の位置でアミノ酸残基が配列間で同一であることを示す。「類似性」は、本明細書で使用される場合、アライメントされた配列における任意の特定の位置でアミノ酸残基が配列間で類似するタイプのものであることを示す。例えば、ロイシンは、イソロイシンまたはバリンの代わりに用いられ得る。しばしば互いに置換され得る他のアミノ酸には、以下が含まれるがこれらに限定されない：

- －フェニルアラニン、チロシン及びトリプトファン（芳香族側鎖を有するアミノ酸）；
- －リジン、アルギニン及びヒスチジン（塩基性側鎖を有するアミノ酸）；
- －アスパルテート及びグルタメート（酸性側鎖を有するアミノ酸）；
- －アスパラギン及びグルタミン（アミド側鎖を有するアミノ酸）；及び
- －システイン及びメチオニン（硫黄含有側鎖を有するアミノ酸）

#### 【0055】

同一性及び類似性の程度は、容易に計算することができる。（例えば、Computational Molecular Biology, Lesk, A. M., ed., Oxford University Press, New York, 1988; Bio computing. Informatics and Genome Project

s, Smith, D. W., ed., Academic Press, New York, 1993; Computer Analysis of Sequence Data, Part 1, Griffin, A. M., and Griffin, H. G., eds., Humana Press, New Jersey, 1994; Sequence Analysis in Molecular Biology, von Heinje, G., Academic Press, 1987; 及び Sequence Analysis Primer, Gribskov, M. and Devereux, J., eds., M Stockton Press, New York, 1991を参照されたい)。  
【0056】

本明細書で使用される場合、補体タンパク質と第2のタンパク質との間の「相互作用」は、限定されないが、タンパク質-タンパク質相互作用、物理的相互作用、化学的相互作用、結合、共有結合、及びイオン結合を包含する。本明細書で使用される場合、抗体が2つのタンパク質間の相互作用を破壊する、低減する、または完全に排除する場合、抗体は、2つのタンパク質間の「相互作用を阻害する」。抗体またはその断片が2つのタンパク質のうちの1つに結合する場合、本開示の抗体、またはその断片は、2つのタンパク質間の「相互作用を阻害する」。

【0057】

「遮断」抗体、「アンタゴニスト」抗体、「阻害」抗体、または「中和」抗体は、それが結合する抗原の1つ以上の生物学的活性、例えば、1つ以上のタンパク質との相互作用を阻害または低減する抗体である。いくつかの実施形態では、遮断抗体、アンタゴニスト抗体、阻害抗体、または「中和」抗体は、抗原の1つ以上の生物学的活性または相互作用を実質的にまたは完全に阻害する。

【0058】

「阻害剤」という用語は、標的生体分子の活性または発現を減少させることによるものかどうかにかかわらず、標的生体分子、例えば、mRNAまたはタンパク質の生物学的機能を阻害する能力を有する化合物を指す。阻害剤は、抗体、小分子、または核酸分子であり得る。「アンタゴニスト」という用語は、受容体に結合し、受容体の生物学的反応を阻止または減衰させる化合物を指す。「阻害剤」という用語はまた、「アンタゴニスト」を指し得る。

【0059】

抗体「エフェクター機能」は、抗体のFc領域（天然配列Fc領域またはアミノ酸配列バリエーションFc領域）に帰属する生物学的活性を指し、抗体アイソタイプによって異なる。

【0060】

本明細書で使用される場合、「親和性」という用語は、2つの物質（例えば、抗体及び抗原）の可逆的結合についての平衡定数であり、解離定数(KD)として表される。親和性は、非関連アミノ酸配列に対する抗体の親和性よりも少なくとも1倍高く、少なくとも2倍高く、少なくとも3倍高く、少なくとも4倍高く、少なくとも5倍高く、少なくとも6倍高く、少なくとも7倍高く、少なくとも8倍高く、少なくとも9倍高く、少なくとも10倍高く、少なくとも20倍高く、少なくとも30倍高く、少なくとも40倍高く、少なくとも50倍高く、少なくとも60倍高く、少なくとも70倍高く、少なくとも80倍高く、少なくとも90倍高く、少なくとも100倍高く、または少なくとも1,000倍高く、またはそれ以上であり得る。標的タンパク質に対する抗体の親和性は、例えば、約100ナノモル濃度(nM)～約0.1nM、約100nM～約1ピコモル濃度(pM)、または約100nM～約1フェムトモル濃度(fM)またはそれ以上であり得る。本明細書で使用される場合、「アビディティ」という用語は、2つ以上の物質の複合体が希釈後に解離することに対する抵抗性を指す。「免疫反応性」及び「優先的に結合する」という用語は、抗体及び／または抗原結合断片に関して本明細書で互換的に使用される。

【0061】

「結合」という用語は、例えば、塩架橋及び水架橋などの相互作用を含む、共有結合性

、静電気性、疎水性、ならびにイオン性及び／または水素結合相互作用による、2つの分子間の直接的会合を指す。例えば、対象抗C1q抗体は、補体C1qタンパク質内のエプトープに特異的に結合する。「特異的結合」は、少なくとも約 $10^{-7}$  M以上、例えば、 $5 \times 10^{-7}$  M、 $10^{-8}$  M、 $5 \times 10^{-8}$  M、及びそれより高い親和性での結合を指す。「非特異的結合」は、約 $10^{-7}$  M未満の親和性、例えば、 $10^{-6}$  M、 $10^{-5}$  M、 $10^{-4}$  M等の親和性での結合を指す。

【0062】

「 $k_{on}$ 」という用語は、本明細書で使用される場合、抗原に対する抗体の会合についての速度定数を指すことが意図されている。

【0063】

「 $k_{off}$ 」という用語は、本明細書で使用される場合、抗体／抗原複合体からの抗体の解離についての速度定数を指すことが意図されている。

【0064】

「 $K_D$ 」という用語は、本明細書で使用される場合、抗体－抗原相互作用の平衡解離定数を指すことが意図されている。

【0065】

本明細書で使用される場合、ペプチド、ポリペプチド、または抗体配列に関して、「アミノ酸配列同一性パーセント (%)」及び「相同性」は、配列同一性最大パーセントを達成するために、配列を整合させ、必要に応じてギャップを導入した後の、配列同一性の一部としていずれの保存的置換も考慮しない、特定のペプチドもしくはポリペプチド配列におけるアミノ酸残基と同一である、候補配列におけるアミノ酸残基のパーセンテージを指す。アミノ酸配列同一性パーセントを決定する目的のためのアライメントは、例えば、公共に利用可能なコンピュータソフトウェア、例えば、BLAST、BLAST-2、ALIGNまたはMEGALIGN（商標）（DNASTAR）ソフトウェアを使用して、当該技術分野における技術内の様々な方法で達成され得る。当業者は、比較される配列の全長にわたって最大のアライメントを達成するために必要な任意のアルゴリズムを含む、アライメントを測定するための適切なパラメータを決定することができる。

【0066】

「生物学的試料」は、個体から得られる多様な試料タイプを包含し、診断またはモニタリングアッセイにおいて使用され得る。この定義は、生物学的起源の血液及び他の液体試料、固形組織試料、例えば、生検標本またはそれ由来の組織培養物もしくは細胞、ならびにそれらの子孫を包含する。その定義にはまた、それらの調達後に任意の方法で、例えば、ポリヌクレオチドなどのある特定の成分について試薬での処理、可溶化、または濃縮によって操作された試料が含まれる。「生物学的試料」という用語は、臨床試料を包含し、培養細胞、細胞上清、細胞ライセート、血清、血漿、生体液、及び組織試料も含む。「生物学的試料」という用語は、尿、唾液、脳脊髄液、間質液、眼液、滑液、血液分画、例えば、血漿及び血清などが含まれる。「生物学的試料」という用語はまた、固体組織試料、組織培養試料、及び細胞試料が含まれる。

【0067】

「単離された」核酸分子は、それが生成された環境において通常関連する少なくとも1つの混入核酸分子から同定及び分離された核酸分子である。好ましくは、単離された核酸は、生成環境に関連する全ての成分と会合しない。本明細書におけるポリペプチド及び抗体をコードする単離された核酸分子は、天然に見られる形態または状況以外の形態である。そのため、単離された核酸分子は、細胞において天然に存在する本明細書における任意のポリペプチド及び抗体をコードする核酸とは区別される。

【0068】

用語「ベクター」は、本明細書で使用される場合は、それが連結された別の核酸を輸送することが可能な核酸分子を指すことが意図されている。ベクターの1つのタイプは、「プラスミド」であり、これは、追加のDNAセグメントがライゲーションされ得る環状二本鎖DNAを指す。ベクターの別のタイプは、ファージベクターである。ベクターの別の

10

20

30

40

50

タイプは、ウイルスベクターであり、この場合、追加のDNAセグメントがウイルスゲノム内にライゲーションされ得る。ある特定のベクターは、それらが導入される宿主細胞において自己複製が可能である（例えば、細菌の複製起点を有する細菌ベクター及びエピソード哺乳動物ベクター）。他のベクター（例えば、非エピソード哺乳動物ベクター）は、宿主細胞に導入すると宿主細胞のゲノムに組み込まれ得、それにより宿主ゲノムとともに複製される。更に、ある特定のベクターは、それらが機能可能に連結された遺伝子の発現を指示することが可能である。そのようなベクターは、本明細書で「組換え発現ベクター」、または単純に「発現ベクター」と称される。通常、組換えDNA技術において有用な発現ベクターはしばしば、プラスミドの形態である。本明細書において、「プラスミド」及び「ベクター」は、プラスミドが最も一般的に使用される形態のベクターであるため互換的に使用され得る。

10

【0069】

本明細書で互換的に使用される「ポリヌクレオチド」、または「核酸」は、任意の長さのヌクレオチドのポリマーを指し、DNA及びRNAを含む。ヌクレオチドは、デオキシリボヌクレオチド、リボヌクレオチド、改変ヌクレオチドまたは塩基、及び／またはそれらのアナログ、またはDNAもしくはRNAポリメラーゼによってまたは合成反応によってポリマーに組み込まれ得る任意の基質であり得る。ポリヌクレオチドは、改変ヌクレオチド、例えば、メチル化ヌクレオチド及びそれらのアナログを含み得る。存在する場合、ヌクレオチド構造に対する改変は、ポリマーのアセンブリの前または後に付与され得る。ヌクレオチドの配列は、非ヌクレオチド成分によって隔てられていてもよい。ポリヌクレオチドは、合成後に生成される改変（複数可）、例えば、標識へのコンジュゲーションを含み得る。他のタイプの改変には、例えば、天然に存在するヌクレオチドのうちの1つ以上をアナログと置換する「キャップ」、ヌクレオチド間改変、例えば、非電荷性結合（例えば、メチルホスホン酸塩、ホスホトリエステル、ホスホアミデート、カルバメートなど）によるもの、及び電荷性結合（例えば、ホスホロチオエート、ホスホロジチオエートなど）によるもの、例えば、タンパク質（例えば、ヌクレアーゼ、毒素、抗体、シグナルペプチド、ポリーラーリジンなど）などの懸垂部位を含むもの、挿入剤（例えば、アクリジン、ソラーレンなど）によるもの、キレート剤（例えば、金属、放射活性金属、ホウ素、酸化金属など）を含むもの、アルキル化剤を含むもの、改変結合（例えば、アルファアノマー核酸など）によるもの、ならびにポリヌクレオチド（複数可）の未改変形態が含まれる。更に、糖内に通常存在するヒドロキシル基のうちのいずれかは、例えば、ホスホン酸基、リン酸基により置き換えられるか、標準的な保護基により保護されるか、もしくは活性化されて追加のヌクレオチドへの追加の結合を生成してもよく、または固体もしくは半固体支持体にコンジュゲーションされてもよい。5'及び3'末端OHは、リン酸化され、またはアミンもしくは1～20個の炭素原子の有機キャッピング基部位と置換され得る。他のヒドロキシルもまた、標準的な保護基に誘導体化され得る。ポリヌクレオチドは、例えば、2'-O-メチル、2'-O-アリル、2'-フルオロまたは2'-アジド-リボース、炭素環糖アナログ、 $\alpha$ -アノマー糖、エピマー糖、例えば、アラビノース、キシロースまたはリキソース、ピラノース糖、フラノース糖、セドヘプツロース、アクリル酸アナログ、及び塩基性ヌクレオシドアナログ、例えば、メチルリボシドを含む、当該技術分野において一般的に知られているリボースまたはデオキシリボース糖のアナログ形態を含み得る。1つ以上のホスホジエステル結合は、代替連結基によって置き換えられ得る。これらの代替連結基には、ホスフェートがP(O)S（「チオエート」）、P(S)S（「ジチオエート」）、(O)NR<sub>2</sub>（「アミデート」）、P(O)R、P(O)OR'、CO、またはCH<sub>2</sub>（「ホルムアセタール」）（式中、各RまたはR'は、独立して、H、またはエーテル（-O-）結合を任意に含有する置換もしくは非置換アルキル（1～20C）、アリール、アルケニル、シクロアルキル、シクロアルケニルまたはアラルキルである）によって置き換えられた実施形態が含まれるがこれらに限定されない。ポリヌクレオチドにおける全ての結合が同一である必要はない。先述の記載は、RNA及びDNAを含む、本明細書で言及される全てのポリヌクレオチドに適用される。

20

30

40

50

## 【0070】

「宿主細胞」には、ポリヌクレオチド挿入物の組み込みのためのベクター（複数可）のためのレシピエントであり得るか、またはレシピエントとなっている個々の細胞または細胞培養物が含まれる。宿主細胞には、単一の宿主細胞の子孫が含まれ、子孫は、天然、突然、または意図的変異のため、必ずしも元の親細胞と（形態においてまたはゲノムDNA相補体において）完全に同一である必要はない場合がある。宿主細胞は、本開示のポリヌクレオチド（複数可）でインビボでトランスフェクトされた細胞を含む。

## 【0071】

本明細書で使用される「担体」には、用いられる投薬量及び濃度でそれに曝露されている細胞または哺乳動物に対して非毒性の薬学的に許容される担体、賦形剤、または安定化剤が含まれる。しばしば、生理的に許容される担体は、水性pH緩衝液である。生理的に許容される担体の例には、リン酸塩、クエン酸塩、及び他の有機酸などの緩衝液；アスコルビン酸を含む抗酸化剤；低分子量（約10残基未満）ポリペプチド；血清アルブミン、ゼラチン、または免疫グロブリンなどのタンパク質；ポリビニルピロリドンなどの親水性ポリマー；グリシン、グルタミン、アスパラギン、アルギニン、またはリジンなどのアミノ酸；グルコース、マンノース、またはデキストリンを含む単糖、二糖、及び他の炭水化物；EDTAなどのキレート剤；マンニトールまたはソルビトールなどの糖アルコール；ナトリウムなどの塩形成対イオン；及び／またはTWEEN（商標）、ポリエチレングリコール（PEG）及びPLURONICS（商標）などの非イオン性界面活性剤が含まれる。

## 【0072】

「予防する」という用語は、当該技術分野で認識されており、療法を受けない患者と比べて、遺伝性網膜疾患（IRD）（例えば、網膜色素変性症／杆体錐体ジストロフィー、コロイデレミア、スターガルト病、錐体杆体ジストロフィー、レーバー先天性黒内障、X連鎖性RP、及びアッシャー症候群）または網膜剥離もしくは関連症状などの状態に関連して使用される場合。

## 【0073】

「対象」という用語は、本明細書で使用される場合、生存している哺乳動物を指し、「患者」という用語と互換的に使用され得る。哺乳動物の例には、哺乳動物クラスの任意のメンバー：ヒト、非ヒト霊長類、例えば、チンパンジー、及び他の類人猿及びサル種；牧場動物、例えば、ウシ、ウマ、ヒツジ、ヤギ、ブタ；家庭動物、例えば、ウサギ、イヌ、及びネコ；げっ歯類、例えば、ラット、マウス及びモルモットを含む実験動物などが含まれるがこれらに限定されない。その用語は、特定の年齢または性別を示さない。

## 【0074】

本明細書で使用される場合、「治療すること」または「治療」という用語は、病態の症状、臨床上の徴候、または根底にある病理を低減、停止、または逆行させて、対象の病態を安定化もしくは改善すること、または対象の病態が対象が治療を受けなかった場合と同じ程度悪化する可能性を低減することを含む。

## 【0075】

「回復」は、正常または健康な状態に戻る行為を指す。回復は、部分的（例えば、対象が正常または健康な状態を下回る状態に戻るとき）または完全（例えば、対象が正常または健康な状態と同一またはほぼ同一の状態に戻るとき）であってよい。正常または健康な状態の例は、網膜剥離前の患者の視力である。

## 【0076】

「視力の向上」は、治療前と比べて、視力、感度、及び／または視野の範囲の改善を含む、視覚能力または視覚状態を向上させる行為を指す。

## 【0077】

対象の治療方法に関して化合物の「治療的有効量」という用語は、（哺乳動物、好ましくはヒトに対する）所望の投薬レジメンの一部として投与される場合、例えば、任意の医学的治療に適用可能な妥当な利益／リスク比で、障害または病態が治療されるために、ま

10

20

30

40

50

たは審美目的のために臨床的に許容される標準に従う、症状を軽減する、病態を改善する、または疾患状態の発症を遅らせる調製物における化合物（複数可）の量を指す。本明細書における治療的有効量は、患者の疾患状態、年齢、性別、及び体重、ならびに個体において所望の反応を引き起こすための抗体の能力などの要因に応じて変わり得る。

#### 【0078】

本明細書で使用される場合、特定の疾患、障害、または病態を発症する「リスクのある」個体は、検出可能な疾患または疾患の症状を示してもいなくてもよく、また、本明細書に記載の治療方法の前に検出可能な疾患または疾患の症状を示してもいなくてもよい。「リスクのある」は、当該技術分野で既知であるように、個体が、特定の疾患、障害、または病態の発症と相関する測定可能なパラメータである、1つ以上のリスク因子を有すること

10

#### 【0079】

「慢性」投与は、初期の治療効果（活性）を長期間維持するように、急性モードとは対照的に連続した医薬品（複数可）の投与を指す。「断続的」投与は、中断することなく連続的に投与されず、むしろ本質的に環状／周期的である治療を指す。

#### 【0080】

別途定義されない限り、本明細書で使用される全ての技術用語及び科学用語は、本発明が属する当業者が一般に理解する意味と同一の意味を有する。本明細書に記載のもの類似または同等の任意の方法及び物質も本発明の実践または試験において使用され得るが、好ましい方法及び物質をこれより説明する。本明細書で言及される全ての刊行物は、参照により本明細書に組み込まれ、刊行物が引用されるものに関連する方法及び／または材料、例えば、Sambrook et al., Molecular Cloning: A Laboratory Manual 3d edition (2001) Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, N.Y.; Current Protocols in Molecular Biology (F.M. Ausubel, et al. eds., (2003)); the series Methods in Enzymology (Academic Press, Inc.): PCR 2: A Practical Approach (M. J. MacPherson, B. D. Hames and G. R. Taylor eds. (1995)), Harlow and Lane, eds. (1988) Antibodies, A Laboratory Manual, and Animal Cell Culture (R. I. Freshney, ed. (1987)), Oligonucleotide Synthesis (M. J. Gait, ed., 1984), Methods in Molecular Biology, Humana Press; Cell Biology: A Laboratory Notebook (J. E. Cellis, ed., 1998) Academic Press; Animal Cell Culture (R. I. Freshney), ed., 1987, Introduction to Cell and Tissue Culture (J. P. Mather and P. E. Roberts, 1998) Plenum Press; Cell and Tissue Culture: Laboratory Procedures (A. Doyle, J. B. Griffiths, and D. G. Newell, eds., 1993-8), J. Wiley and Sons; Handbook of Experimental Immunology (D. M. Weir and C. C. Blackwell, eds.); Gene Transfer Vectors for Mammalian Cells (J. M. Miller and M. P. Calos, eds., 1987), PCR: The Polymerase Chain Reaction, (Mullis et al., eds., 1994), Current Protocols in Immunology (

20

30

40

50

J. E. Coligan et al., eds., 1991)、Short Protocols in Molecular Biology (Wiley and Sons, 1999)、Immunobiology (C. A. Janeway and P. Travers, 1997)、Antibodies (P. Finch, 1997)、Antibodies: A Practical Approach (D. Catty., ed., IRL Press, 1988-1989)、Monoclonal Antibodies: A Practical Approach (P. Shepherd and C. Dean, eds., Oxford University Press, 2000)、Using Antibodies: A Laboratory Manual (E. Harlow and D. Lane (Cold Spring Harbor Laboratory Press, 1999)、The Antibodies (M. Zanetti and J. D. Capra, eds., Harwood Academic Publishers, 1995)、及びCancer: Principles and Practice of Oncology (V. T. DeVita et al., eds., J. B. Lippincott Company, 1993)に記載されている広く利用される方法論などを開示し、説明している。

10

【0081】

抗体

本開示で言及される全ての配列は、米国特許出願第14/933,517号、米国特許出願第14/890,811号、米国特許第8,877,197号、米国特許第9,708,394号、米国特許出願第15/360,549号、米国特許第9,562,106号、米国特許第10,450,382号、米国特許第10,457,745号、国際特許出願第PCT/US2018/022462号（これらの各々は、それが開示する抗体及び関連する組成物について参照により本明細書に組み込まれる）から参照により組み込まれる。

20

【0082】

全長抗体は、組換えDNA操作技術の使用によって調製され得る。そのような操作バージョンには、例えば、天然抗体のアミノ酸配列内にまたはアミノ酸配列への挿入、欠失または変化によって天然抗体可変領域から作製されるものが含まれる。このタイプの特定の例には、1つ目の抗体からの少なくとも1つのCDR及び任意に1つ以上のフレームワークアミノ酸及び2つ目の抗体からの可変領域ドメインの残りを含有するそれらの操作された可変領域ドメインが含まれる。抗体をコードするDNAは、全長抗体をコードするDNAの所望の部分以外の全てを欠失させることによって調製され得る。キメラ化抗体をコードするDNAは、ヒト定常領域を実質的にまたは独占的にコードするDNA、及びヒト以外の哺乳動物の可変領域の配列に実質的にまたは独占的に由来する可変領域をコードするDNAを組換えることによって調製され得る。ヒト化抗体をコードするDNAは、対応するヒト抗体領域に実質的にまたは独占的に由来する定常領域及び相補性決定領域(CDR)以外の可変領域をコードするDNA、及びヒト以外の哺乳動物に実質的にまたは独占的に由来するCDRをコードするDNAを組換えることによって調製され得る。

30

【0083】

抗体をコードするDNA分子の好適な供給源には、全長抗体を発現するハイブリドーマなどの細胞が含まれる。例えば、抗体は、抗体の重鎖及び／または軽鎖をコードする発現ベクターを発現する宿主細胞から単離され得る。

40

【0084】

Fab断片が挙げられるがこれらに限定されない抗体断片、及び／または抗体誘導体はまた、抗体可変及び定常領域をコードするDNAの操作及び再発現を含む組換えDNA修飾技術の使用によって調製され得る。標準的な分子生物技術は、所望により、更なるアミノ酸またはドメインを修飾、付加または欠失させるために使用され得る。可変または定常領域に対する任意の変化は、依然として、本明細書で使用される用語「可変」及び「定常」領域に包含される。いくつかの例では、CH1ドメインの翻訳が鎖間システインで停止

50

するように、C<sub>H</sub>1の鎖間システインをコードするコドンの直後に終止コドンを導入することによって抗体断片を生成するためにPCRが使用される。好適なPCRプライマーを設計するための方法は当該技術分野でよく知られており、抗体C<sub>H</sub>1ドメインの配列は容易に利用可能である。いくつかの実施形態では、終止コドンは、部位特異的変異誘発技術を使用して導入され得る。

#### 【0085】

本開示の抗体は、例えば、IgG、IgM、IgA、IgD及びIgEならびにそのサブクラス（例えば、IgG1、IgG2、IgG3及びIgG4を含む）を含む任意の抗体アイソタイプ（「クラス」）に由来し得る。ある特定の好ましい実施形態では、抗体の重鎖及び軽鎖は、IgGに由来する。抗体の重鎖及び／または軽鎖は、マウスIgGまたはヒトIgGに由来し得る。ある特定の他の好ましい実施形態では、抗体の重鎖及び／または軽鎖は、ヒトIgG1に由来する。更に他の好ましい実施形態では、抗体の重鎖及び／または軽鎖は、ヒトIgG4に由来する。

10

#### 【0086】

本開示の抗体は、C1q、C1r、またはC1sに結合し、その生物学的活性を阻害し得る。例えば、（1）自己抗体に対するC1q結合、（2）C1rに対するC1q結合、（3）C1sに対するC1q結合、（4）ホスファチジルセリンに対するC1q結合、（5）ペントラキシン-3に対するC1q結合、（6）C-反応性タンパク質（CRP）に対するC1q結合、（7）球状C1q受容体（gC1qR）に対するC1q結合、（8）補体受容体1（CR1）に対するC1q結合、（9）B-アミロイドに対するC1q結合、または（10）カルレチキュリンに対するC1q結合。他の実施形態では、C1qの生物学的活性は、（1）古典的補体活性化経路の活性化、（2）溶解の減少及び／またはC3沈着の減少、（3）抗体及び補体依存性細胞傷害の活性化、（4）CH50溶血、（5）赤血球溶解の減少、（6）赤血球貪食の減少、（7）樹状細胞浸潤の減少、（8）補体媒介性赤血球溶解の阻害、（9）リンパ球浸潤の減少、（10）マクロファージ浸潤の減少、（11）抗体沈着の減少、（12）好中球浸潤の減少、（13）血小板貪食の減少、（14）血小板溶解の減少、（15）移植片生存の改善、（16）マクロファージ媒介性貪食の減少、（17）自己抗体媒介性補体活性化の減少、（18）輸血反応による赤血球破壊の減少、（19）同種抗体による赤血球溶解の減少、（20）輸血反応による溶血の減少、（21）同種抗体媒介性血小板溶解の減少、（22）貧血の改善、（23）好酸球増多症の減少、（24）赤血球上のC3沈着の減少（例えば、RBC上のC3b、iC3bなどの沈着の減少）、（25）血小板上のC3沈着の減少（例えば、血小板上のC3b、iC3bなどの沈着の減少）、（26）アナフィラトキシン生成の減少、（27）自己抗体媒介性発疹形成の減少、（28）自己抗体誘導性エリテマトーデスの減少、（29）輸血反応による赤血球破壊の減少、（30）輸血反応による血小板溶解の減少、（31）肥満細胞活性化の減少、（32）肥満細胞ヒスタミン放出の減少、（33）血管透過性の減少、（34）移植片内皮上の補体沈着の減少、（35）B細胞抗体生成、（36）樹状細胞成熟、（37）T細胞増殖、（38）サイトカイン生成、（39）ミクログリア活性化、（40）アルツス反応、（41）移植片内皮におけるアナフィラトキシン生成の減少、または（42）補体受容体3（CR3／C3）発現細胞の活性化である。

20

30

40

#### 【0087】

いくつかの実施形態では、CH50溶血は、ヒト、マウス、及び／またはラットCH50溶血を含む。いくつかの実施形態では、抗体は、CH50溶血の少なくとも約50％～少なくとも約95％を中和することが可能である。いくつかの実施形態では、抗体は、CH50溶血の50％、60％、70％、80、90％、または100％を中和することが可能である。抗体はまた、150ng/ml未満、100ng/ml未満、50ng/ml未満、または20ng/ml未満の用量でCH50溶血の少なくとも50％を中和することが可能であり得る。

#### 【0088】

補体活性を測定するための他の*in vitro*アッセイには、補体活性化中に形成す

50

る補体成分または複合体の分割生成物の測定のためのELISAアッセイが含まれる。古典的経路を介する補体活性化は、血清中のC4d及びC4のレベルを追跡することによって測定され得る。代替経路の活性化は、循環におけるBbまたはC3bBbP複合体のレベルを評価することによってELISAで測定され得る。in vitro抗体媒介性補体活性化アッセイもまた、C3a生成の阻害を評価するために使用され得る。

【0089】

本開示の抗体は、モノクローナル抗体、ポリクローナル抗体、組換え抗体、ヒト化抗体、ヒト抗体、キメラ抗体、多重特異性抗体、その抗体断片、またはその誘導体であり得る。いくつかの実施形態では、抗体は、ヒト化抗体である。

【0090】

本開示の抗体はまた、抗体断片、例えば、Fab断片、Fab'断片、F(ab')<sub>2</sub>断片、Fv断片、ダイアボディ、または一本鎖抗体分子であり得る。いくつかの実施形態では、抗体断片は、Fab断片である。

【0091】

いくつかの実施形態では、抗体は、組換え手段によって調製、発現、生成または単離され得るヒトモノクローナル抗体、例えば、(a) ヒト免疫グロブリン遺伝子またはそれから調製されるハイブリドーマのトランスジェニックまたはトランス染色体である動物（例えば、マウス）から単離された抗体（以下に更に記載される）、(b) 抗体を発現するように形質転換された宿主細胞から単離された抗体、例えば、トランスフェクトーマから単離された抗体、(c) 組換えコンビナトリアルヒト抗体ライブラリから単離された抗体、及び(d) ヒト免疫グロブリン遺伝子配列の他のDNA配列へのスプライシングを含む任意の他の手段によって調製、発現、生成または単離された抗体である。そのような組換えヒト抗体は、ヒト生殖系列及び／または非生殖系列免疫グロブリン配列に由来する可変領域及び定常領域を有する。しかしながら、ある特定の実施形態では、そのような組換えヒト抗体は、in vitro変異誘発（または、ヒトIg配列に対してトランスジェニックな動物が使用される場合、in vivo体細胞変異誘発）を受けてもよく、したがって、組換え抗体のV<sub>H</sub>及びV<sub>L</sub>領域のアミノ酸配列は、ヒト生殖系列V<sub>H</sub>及びV<sub>L</sub>配列に由来し、関連しているが、in vivoでヒト抗体生殖系列レパートリー内に自然に存在しなくてもよい配列である。

【0092】

いくつかの実施形態では、抗体は、齧歯類（例えば、マウス、ラット、ハムスター及びモルモット）を(1) ヒト血漿もしくは血清からの精製された補体成分の酵素消化に由来する天然補体成分（例えば、C1q）、あるいは(2) 真核生物系もしくは原核生物系のいずれかによって発現した組換え補体成分、またはその誘導断片で免疫することによって樹立され得るヒト化及び／またはキメラモノクローナル抗体である。他の動物、例えば、非ヒト霊長類、ヒト免疫グロブリンを発現するトランスジェニックマウス、及びヒトBリンパ球が移植された重症複合免疫不全（SCID）マウスが免疫のために使用され得る。

【0093】

ポリクローナル抗体及びモノクローナル抗体は、病原体に対する免疫系の反応において免疫グロブリン（Ig）分子として天然に生成される。ヒト血清において8 mg/mlの濃度を有する優勢的な形式である約150 kDaのIgG1分子は、2つの同一の約50 kDaの重鎖及び2つの同一の約25 kDaの軽鎖から構成される。

【0094】

ハイブリドーマは、免疫された動物からのBリンパ球をミエローマ細胞と融合させることによって従来の手順によって生成され得る。また、抗C1q抗体は、ファージディスプレイシステムにおいてヒトBリンパ球からの組換え一本鎖FvまたはFabライブラリをスクリーニングすることによって生成され得る。ヒトC1qに対するMAbの特異性は、酵素結合免疫吸着アッセイ（ELISA）、ウエスタンブロットティング、または他の免疫化学的技術によって試験され得る。

【0095】

スクリーニングプロセスにおいて同定された抗体の補体活性化に対する阻害活性は、補体副経路の場合は未感作ウサギもしくはモルモット R B C、または古典的補体経路の場合は感作ニワトリもしくはヒツジ R B C を使用して溶血アッセイによって評価され得る。古典的補体経路に特異的な阻害活性を示すそれらのハイブリドーマは、限界希釈によってクローニングされる。抗体は、上述したアッセイによってヒト C 1 q に対する特異性についての特性化のために精製される。

【0096】

抗補体 C 1 q 抗体

本明細書で開示される抗 C 1 q 抗体は、C 1 q の強力な阻害剤であり、任意の期間にわたって C 1 q 機能の継続的阻害のために投薬され、次いでその活性が重要であり得る時点で正常な C 1 q 機能の回復を可能にするために任意選択的に停止される。動物研究において本明細書に開示される抗 C 1 q 抗体で得られた結果は、ヒト化またはヒト抗体、ならびにその断片及び／または誘導体を用いて臨床に容易に進展させることができる。

10

【0097】

C 1 q は、18 個のポリペプチド鎖（6 個の C 1 q の A 鎖、6 個の C 1 q の B 鎖、及び 6 個の C 1 q の C 鎖）からなる 460 k D a の大型多量体タンパク質である。C 1 r 及び C 1 s 補体タンパク質は、C 1 q 尾部領域に結合して C 1 複合体（C 1 q r<sub>2</sub> s<sub>2</sub>）を形成する。

【0098】

本開示の抗体は、古典的補体活性化経路の C 1 複合体における補体因子 C 1 q 及び／または C 1 q を特異的に認識する。結合した補体因子は、限定されないが、任意の哺乳動物生物、例えば、ヒト、マウス、ラット、ウサギ、サル、イヌ、ネコ、ウシ、ウマ、ラクダ、ヒツジ、ヤギ、またはブタを含む補体系を有する任意の生物に由来し得る。

20

【0099】

本明細書で使用される場合、「C 1 複合体」は、限定されないが、1 つの C 1 q タンパク質、2 つの C 1 r タンパク質、及び 2 つの C 1 s タンパク質を含み得るタンパク質複合体（例えば、C 1 q r<sub>2</sub> s<sub>2</sub>）を指す。

【0100】

本明細書に開示される抗 C 1 q 抗体は、C 1 複合体形成を阻害し得る。

【0101】

本明細書で使用される場合、「補体因子 C 1 q」は、野生型配列及び天然に存在するバリエーション配列の両方を指す。

30

【0102】

本開示の抗体によって認識される補体因子 C 1 q の非限定的な例は、3 つのポリペプチド鎖 A、B、及び C を含むヒト C 1 q である：

C 1 q、鎖 A（ホモサピエンス）、受託番号タンパク質

データベース：NP\_\_057075.1；GenBank 番号：NM\_\_015991：

>gi|7705753|ref|NP\_\_057075.1|補体 C 1 q

サブコンポーネントサブユニット A 前駆体 [ホモサピエンス]

（配列番号 1）

40

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

C 1 q、鎖 B（ホモサピエンス）、受託番号タンパク質

データベース：NP\_\_000482.3；GenBank 番号：NM\_\_000491.

50

3：

> g i | 8 7 2 9 8 8 2 8 | r e f | N P \_ 0 0 0 4 8 2 . 3 | 補体 C 1 q  
サブコンポーネントサブユニット B 前駆体 [ホモサピエンス]  
(配列番号 2)

MMMKIPWGSIPVLM L L L L L G L I D I S Q A Q L S C T G P P A I P G I  
P G I P G T P G P D G Q P G T P G I K G E K G L P G L A G D H G E F G E K G D P  
G I P G N P G K V G P K G P M G P K G G P G A P G A P G P K G E S G D Y K A T Q  
K I A F S A T R T I N V P L R R D Q T I R F D H V I T N M N N N Y E P R S G K F  
T C K V P G L Y Y F T Y H A S S R G N L C V N L M R G R E R A Q K V V T F C D Y  
A Y N T F Q V T T G G M V L K L E Q G E N V F L Q A T D K N S L L G M E G A N S  
I F S G F L L F P D M E A .

10

C 1 q、鎖 C (ホモサピエンス)、受託番号タンパク質  
データベース: N P \_ 0 0 1 1 0 7 5 7 3 . 1 ; G e n B a n k 番号:  
N M \_ 0 0 1 1 1 4 1 0 1 . 1 :

> g i | 1 6 6 2 3 5 9 0 3 | r e f | N P \_ 0 0 1 1 0 7 5 7 3 . 1 | 補体 C 1 q  
サブコンポーネントサブユニット C 前駆体 [ホモサピエンス]  
(配列番号 3)

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

20

【0103】

したがって、本開示の抗 C 1 q 抗体は、C 1 q タンパク質のポリペプチド鎖 A、ポリペプチド鎖 B、及び／またはポリペプチド鎖 C に結合し得る。いくつかの実施形態では、本開示の抗 C 1 q 抗体は、ヒト C 1 q またはそのホモログ、例えば、マウス、ラット、ウサギ、サル、イヌ、ネコ、ウシ、ウマ、ラクダ、ヒツジ、ヤギ、またはブタ C 1 q のポリペプチド鎖 A、ポリペプチド鎖 B、及び／またはポリペプチド鎖 C に結合する。いくつかの実施形態では、抗 C 1 q 抗体は、ヒト抗体、ヒト化抗体、キメラ抗体、またはその断片またはその誘導体である。いくつかの実施形態では、抗体は、ヒト化抗体である。いくつかの実施形態では、抗体は、F a b 断片などの抗体断片である。

30

【0104】

以下の 20 段落で挙げられる全ての配列は、米国特許第 9, 708, 394 号（それが開示する抗体及び関連する組成物について参照により本明細書に組み込まれる）から参照により組み込まれる。

【0105】

抗体 M 1 (M a b 1) の軽鎖及び重鎖可変ドメイン配列

標準的な技術を使用して、抗体 M 1 の軽鎖可変ドメイン及び重鎖可変ドメインをコードする核酸及びアミノ酸配列を決定した。抗体 M 1 の軽鎖可変ドメインのアミノ酸配列は、以下である:

40

【0106】

D V Q I T Q S P S Y L A A S P G E T I T I N C R A S K S I N K Y L A W Y Q E K P G K  
T N K L L I Y S G S T L Q S G I P S R F S G S G S G T D F T L T I S S L E P E D F A  
M Y Y C Q Q H N E Y P L T F G A G T K L E L K (配列番号 4)。

【0107】

軽鎖可変ドメインの超可変領域 (H V R) は、太字かつ下線の文字で示されている。いくつかの実施形態では、M 1 軽鎖可変ドメインの H V R - L 1 は配列 R A S K S I N K Y

50

L A（配列番号 5）を有し、M 1 軽鎖可変ドメインの H V R - L 2 は配列 S G S T L Q S（配列番号 6）を有し、M 1 軽鎖可変ドメインの H V R - L 3 は配列 Q Q H N E Y P L T（配列番号 7）を有する。

【0108】

抗体 M 1 の重鎖可変ドメインのアミノ酸配列は、以下である：

【0109】

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

10

【0110】

重鎖可変ドメインの超可変領域（H V R）は、太字かつ下線の文字で示されている。いくつかの実施形態では、M 1 重鎖可変ドメインの H V R - H 1 は配列 G Y H F T S Y W M H（配列番号 9）を有し、M 1 重鎖可変ドメインの H V R - H 2 は配列 V I H P N S G S I N Y N E K F E S（配列番号 10）を有し、M 1 重鎖可変ドメインの H V R - H 3 は配列 E R D S T E V L P M D Y（配列番号 11）を有する。

【0111】

軽鎖可変ドメインをコードする核酸配列は、以下であることが決定された：

G A T G T C C A G A T A A C C C A G T C T C C A T C T T A T C T T G C T G C A T  
C T C C T G G A G A A A C C A T T A C T A T T A A T T G C A G G G C A A G T A A  
G A G C A T T A A C A A A T A T T T A G C C T G G T A T C A A G A G A A A C C T  
G G G A A A A C T A A T A A G C T T C T T A T C T A C T C T G G A T C C A C T T  
T G C A A T C T G G A A T T C C A T C A A G G T T C A G T G G C A G T G G A T C  
T G G T A C A G A T T T C A C T C T C A C C A T C A G T A G C C T G G A G C C T  
G A A G A T T T T G C A A T G T A T T A C T G T C A A C A A C A T A A T G A A T  
A C C C G C T C A C G T T C G G T G C T G G G A C C A A G C T G G A G C T G A A  
A（配列番号 12）。

30

【0112】

重鎖可変ドメインをコードする核酸配列は、以下であることが決定された：

C A G G T C C A A C T G C A G C A G C C T G G G G C T G A G C T G G T A A A G C  
C T G G G G C T T C A G T G A A G T T G T C C T G C A A G T C T T C T G G C T A  
C C A T T T C A C C A G C T A C T G G A T G C A C T G G G T G A A G C A G A G G  
C C T G G A C A A G G C C T T G A G T G G A T T G G A G T G A T T C A T C C T A  
A T A G T G G T A G T A T T A A C T A C A A T G A G A A G T T C G A G A G C A A  
G G C C A C A C T G A C T G T A G A C A A A T C C T C C A G C A C A G C C T A C  
A T G C A A C T C A G C A G C C T G A C A T C T G A G G A C T C G G C G G T C T  
A T T A T T G T G C A G G A G A G A G A T T C T A C G G A G G T T C T C C C  
T A T G G A C T A C T G G G G T C A A G G A A C C T C A G T C A C C G T C T C C  
T C A（配列番号 13）。

40

【0113】

M a b 1 - F a b は、M a b 1（M 1）抗体の F a b である。

【0114】

M a b 3 は、M a b 1 抗体に由来し、マウス実験に最適化されたマウス抗 C 1 q 抗体であり、M a b 3 - F a b は、M a b 3 抗体の F a b である。

【0115】

物質の寄託

以下の物質は、ブダペスト条約に従って A m e r i c a n T y p e C u l t u r e

50

Collection, ATCC Patent Depository, 10801 University Blvd., Manassas, Va. 20110-2209, USA (ATCC) に寄託された：

【表 2】

| 試料 ID                             | 寄託<br>アイソタイプ 日付                    | ATCC<br>アクセッション<br>番号 |
|-----------------------------------|------------------------------------|-----------------------|
| 抗 C1q 抗体 M1 を生成するマウスハイブリドーマ C1qM1 | IgG1、カップ 2013 年 6 月 6 日 PTA-120399 | 7788-1 (M) 051613     |

10

#### 【0116】

培養物の入手が特許出願の係属中及び 30 年間、または最新の請求から 5 年後、または特許の有効期間のうち長い方まで利用可能となることを保証する条件下で M1 抗体を生成するハイブリドーマ細胞株（マウスハイブリドーマ C1qM1 7788-1 (M) 051613）が ATCC に寄託された。寄託物は、その期間中に生存できなくなった場合に置き換えられる。寄託物は、本出願の対応出願、またはその子孫が出願された国における外国特許法によって要求されるように利用可能である。しかしながら、寄託物の利用可能性は、政府の措置によって付与された特許権を逸脱して本発明を実施するためのライセンスを構成するものではないことが理解されるべきである。

20

#### 【0117】

本明細書では、軽鎖可変ドメイン及び重鎖可変ドメインを含む抗 C1q 抗体を投与する方法が開示される。抗体は、少なくともヒト C1q、マウス C1q、またはラット C1q に結合し得る。抗体は、ヒト化抗体、キメラ抗体、またはヒト抗体であり得る。抗体は、モノクローナル抗体、その抗体断片、及び／またはその抗体誘導体であり得る。いくつかの実施形態では、抗体は、ヒト化抗体である。いくつかの実施形態では、抗体は、Fab 断片などの抗体断片である。軽鎖可変ドメインは、受託番号 PTA-120399 で寄託されたハイブリドーマ細胞株によって生成されるモノクローナル抗体 M1 の HVR-L1、HVR-L2、及び HVR-L3 を含む。重鎖可変ドメインは、ATCC 受託番号 PTA-120399 で寄託されたハイブリドーマ細胞株によって生成されたモノクローナル抗体 M1 の HVR-H1、HVR-H2、及び HVR-H3 を含む。

30

#### 【0118】

いくつかの実施形態では、軽鎖可変ドメイン及び重鎖可変ドメインのアミノ酸配列は、HVR-L1 の配列番号 5、HVR-L2 の配列番号 6、HVR-L3 の配列番号 7、HVR-H1 の配列番号 9、HVR-H2 の配列番号 10、及び HVR-H3 の配列番号 11 のうちの 1 つ以上を含む。

40

#### 【0119】

抗体は、好ましくは HVR-L1 RASKSINKYLA（配列番号 5）、HVR-L2 SGSTLQS（配列番号 6）、及び HVR-L3 QQHNEYPLT（配列番号 7）を保持しつつ、配列番号 4 と少なくとも 85%、90%、または 95% 同一の軽鎖可変ドメインアミノ酸配列を含み得る。抗体は、好ましくは HVR-H1 GYHFTSYWMH（配列番号 9）、HVR-H2 VIHPNSGSINYNEKFES（配列番号 10）、及び HVR-H3 ERDSTEVLPM DY（配列番号 11）を保持しつつ、配列番号 8 と少なくとも 85%、90%、または 95% 同一の重鎖可変ドメインアミノ酸配列を含み得る。

#### 【0120】

50

本明細書では、C 1 q と自己抗体との間の相互作用を阻害する抗 C 1 q 抗体を投与する方法が開示される。好ましい実施形態では、抗 C 1 q 抗体は、循環または組織からの C 1 q のクリアランスを引き起こす。

#### 【0121】

いくつかの実施形態では、本開示の抗 C 1 q 抗体は、C 1 q と C 1 s との間の相互作用を阻害する。いくつかの実施形態では、抗 C 1 q 抗体は、C 1 q と C 1 r との間の相互作用を阻害する。いくつかの実施形態では、抗 C 1 q 抗体は、C 1 q と C 1 s との間及び C 1 q と C 1 r との間の相互作用を阻害する。いくつかの実施形態では、抗 C 1 q 抗体は、C 1 q と別の抗体、例えば、自己抗体との間の相互作用を阻害する。好ましい実施形態では、抗 C 1 q 抗体は、循環または組織からの C 1 q のクリアランスを引き起こす。いくつかの実施形態では、抗 C 1 q 抗体は、2.5 : 1、2.0 : 1、1.5 : 1、または 1.0 : 1 未満の化学量論で、それぞれの相互作用を阻害する。いくつかの実施形態では、C 1 q 抗体は、ほぼ等モル濃度の C 1 q 及び抗 C 1 q 抗体において、C 1 q - C 1 s 相互作用などの相互作用を阻害する。他の実施形態では、抗 C 1 q 抗体は、20 : 1 未満、19.5 : 1 未満、19 : 1 未満、18.5 : 1 未満、18 : 1 未満、17.5 : 1 未満、17 : 1 未満、16.5 : 1 未満、16 : 1 未満、15.5 : 1 未満、15 : 1 未満、14.5 : 1 未満、14 : 1 未満、13.5 : 1 未満、13 : 1 未満、12.5 : 1 未満、12 : 1 未満、11.5 : 1 未満、11 : 1 未満、10.5 : 1 未満、10 : 1 未満、9.5 : 1 未満、9 : 1 未満、8.5 : 1 未満、8 : 1 未満、7.5 : 1 未満、7 : 1 未満、6.5 : 1 未満、6 : 1 未満、5.5 : 1 未満、5 : 1 未満、4.5 : 1 未満、4 : 1 未満、3.5 : 1 未満、3 : 1 未満、2.5 : 1 未満、2.0 : 1 未満、1.5 : 1 未満、または 1.0 : 1 未満の化学量論で C 1 q に結合する。ある特定の実施形態では、抗 C 1 q 抗体は、20 : 1 ~ 1.0 : 1 または 1.0 : 1 未満の範囲の結合化学量論で C 1 q に結合する。ある特定の実施形態では、抗 C 1 q 抗体は、6 : 1 ~ 1.0 : 1 または 1.0 : 1 未満の範囲の結合化学量論で C 1 q に結合する。ある特定の実施形態では、抗 C 1 q 抗体は、2.5 : 1 ~ 1.0 : 1 または 1.0 : 1 未満の範囲の結合化学量論で C 1 q に結合する。いくつかの実施形態では、抗 C 1 q 抗体は、C 1 q と C 1 r との間、または C 1 q と C 1 s との間、または C 1 q と C 1 r 及び C 1 s の両方との間の相互作用を阻害する。いくつかの実施形態では、抗 C 1 q 抗体は、C 1 q と C 1 r との間、C 1 q と C 1 s との間、及び／または C 1 q と C 1 r 及び C 1 s の両方との間の相互作用を阻害する。いくつかの実施形態では、抗 C 1 q 抗体は、C 1 q の A 鎖に結合する。他の実施形態では、抗 C 1 q 抗体は、C 1 q の B 鎖に結合する。他の実施形態では、抗 C 1 q 抗体は、C 1 q の C 鎖に結合する。いくつかの実施形態では、抗 C 1 q 抗体は、C 1 q の A 鎖、C 1 q の B 鎖及び／または C 1 q の C 鎖に結合する。いくつかの実施形態では、抗 C 1 q 抗体は、C 1 q の A 鎖、B 鎖、及び／または C 鎖の球状ドメインに結合する。他の実施形態では、抗 C 1 q 抗体は、C 1 q の A 鎖、C 1 q の B 鎖、及び／または C 1 q の C 鎖のコラーゲン様ドメインに結合する。

#### 【0122】

本開示の抗体が 2 つ以上の補体因子間の相互作用、例えば、C 1 q 及び C 1 s の相互作用、または C 1 q と C 1 r との間の相互作用を阻害する場合、抗体の存在下で生じる相互作用は、本開示の抗体が存在しない対照と比べて少なくとも 10 %、少なくとも 20 %、少なくとも 30 %、少なくとも 40 %、少なくとも 50 %、少なくとも 60 %、少なくとも 70 %、少なくとも 80 %、少なくとも 90 %、少なくとも 95 %、または少なくとも 99 % 低減し得る。いくつかの実施形態では、本開示の抗体は、2 つ以上の補体因子間の相互作用を 50 %、60 %、70 %、80 %、90 %、または 100 % 低減させる。ある特定の実施形態では、抗体の存在下で生じる相互作用は、本開示の抗体が存在しない対照と比べて少なくとも 30 % ~ 少なくとも 99 % の範囲の量低減する。

#### 【0123】

いくつかの実施形態では、本開示の抗体は、本開示の抗体が存在しない対照と比べて少なくとも 20 %、少なくとも 30 %、少なくとも 40 %、少なくとも 50 %、少なくとも

60%、少なくとも70%、少なくとも80%、少なくとも90%、少なくとも95%、もしくは少なくとも99%、または少なくとも30%～少なくとも99%の範囲の量、C2またはC4切断を阻害する。C2またはC4切断を測定するための方法は、当該技術分野で周知である。C2またはC4切断に関して、本開示の抗体のEC<sub>50</sub>値は、3 μg/ml、2.5 μg/ml、2.0 μg/ml、1.5 μg/ml、1.0 μg/ml、0.5 μg/ml、0.25 μg/ml、0.1 μg/ml、0.05 μg/ml未満であってもよい。いくつかの実施形態では、本開示の抗体は、およそ等モル濃度のC1q及びそれぞれの抗C1q抗体でC2またはC4切断を阻害する。

【0124】

いくつかの実施形態では、本開示の抗体は、本開示の抗体が存在しない対照と比べて少なくとも20%、少なくとも30%、少なくとも40%、少なくとも50%、少なくとも60%、少なくとも70%、少なくとも80%、少なくとも90%、少なくとも95%、もしくは少なくとも99%、または少なくとも30%～少なくとも99%の範囲の量、自己抗体依存性及び補体依存性細胞傷害(CDC)を阻害する。自己抗体依存性及び補体依存性細胞傷害の阻害に関して本開示の抗体のEC<sub>50</sub>値は、3 μg/ml、2.5 μg/ml、2.0 μg/ml、1.5 μg/ml、1.0 μg/ml、0.5 μg/ml、0.25 μg/ml、0.1 μg/ml、0.05 μg/ml未満であり得る。

【0125】

いくつかの実施形態では、本開示の抗体は、本開示の抗体が存在しない対照と比べて少なくとも20%、少なくとも30%、少なくとも40%、少なくとも50%、少なくとも60%、少なくとも70%、少なくとも80%、少なくとも90%、少なくとも95%、もしくは少なくとも99%、または少なくとも30%～少なくとも99%の範囲の量、補体依存性細胞媒介性細胞傷害(CDCC)を阻害する。CDCCを測定するための方法は、当該技術分野で周知である。CDCC阻害に関して、本開示の抗体のEC<sub>50</sub>値は、3 μg/ml、2.5 μg/ml、2.0 μg/ml、1.5 μg/ml、1.0 μg/ml、0.5 μg/ml、0.25 μg/ml、0.1 μg/ml、0.05 μg/ml未満であってもよい。いくつかの実施形態では、本開示の抗体は、CDCCを阻害するが、抗体依存性細胞傷害(ADCC)を阻害しない。

【0126】

ヒト化抗補体C1q抗体

本開示のヒト化抗体は、古典的補体経路のC1複合体における補体因子C1q及び／またはC1qタンパク質に特異的に結合する。ヒト化抗C1q抗体は、ヒトC1q、ヒト及びマウスC1q、ラットC1q、またはヒトC1q、マウスC1q、及びラットC1qに特異的に結合し得る。

【0127】

以下の16段落で言及される全ての配列は、参照により米国特許出願第14/933,517号から組み込まれ、これは、それが開示する抗体及び関連組成物について参照により本明細書に組み込まれる。

【0128】

いくつかの実施形態では、ヒト重鎖定常領域は、配列番号47のアミノ酸配列、または配列番号47と少なくとも70%、少なくとも約75%、少なくとも約80%、少なくとも約85%、少なくとも約90%の相同性を有するアミノ酸配列を含むヒトIgG4重鎖定常領域である。ヒトIgG4重鎖定常領域は、Kabab番号付けに従って1つ以上の修飾及び／またはアミノ酸置換を有するFc領域を含み得る。そのような場合では、Fc領域は、位置248におけるロイシンからグルタメートへのアミノ酸置換を含み、そのような置換は、Fc領域がFc受容体と相互作用することを阻害する。いくつかの実施形態では、Fc領域は、位置241におけるセリンからプロリンへのアミノ酸置換を含み、そのような置換は、抗体におけるアームスイッチを防止する。

【0129】

ヒトIgG4(S241P L248E)重鎖定常ドメインのアミノ酸配列は、以下で

ある：ASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPV  
TVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLG  
TKTYTCNVDPKPSNTKVDKRVEISKYGPCCPCPAPPEFEGG  
PSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSDQEDPEVQFNV  
YVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVTLHQDWLNGK  
EYKCKVSNKGLPSSIEKTIISKAKGQPREPQVYTLPPSQEE  
MTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPPV  
LDSDGSFFLYSRLTVDKSRWQEGNVFSCSVMHEALHNHYT  
QKSLSLSLGK（配列番号47）。

【0130】

10

抗体は、重鎖可変ドメイン及び軽鎖可変ドメインを含み得、重鎖可変ドメインは、配列番号31～34のうちのいずれか1つから選択されるアミノ酸配列、または配列番号31～34のうちのいずれか1つから選択されるアミノ酸配列と少なくとも約90%の相同性を有するアミノ酸配列を含む。ある特定のそのような実施形態では、軽鎖可変ドメインは、配列番号35～38のうちのいずれか1つから選択されるアミノ酸配列、または配列番号35～38のうちのいずれか1つから選択されるアミノ酸配列と少なくとも約90%の相同性を有するアミノ酸配列を含む。

【0131】

重鎖可変ドメインバリエント1（VH1）のアミノ酸配列は、以下である：

【0132】

20

QVQLVQSGAELKKPGASVKVSCKSSGYHFTSYWMHWVKQAPG  
QGLEWIGV~~IHPNSGS~~INYN~~EKFES~~KATITVDKSTSTAYMQLS  
SLTSEDSAVYYCAG~~ERDSTEVL~~PMDYWGQGTSVTVSS（配列番号  
31）。

VH1の超可変領域（HVR）は、太字かつ下線の文字で示されている。

【0133】

重鎖可変ドメインバリエント2（VH2）のアミノ酸配列は、以下である：

【0134】

30

QVQLVQSGAELKKPGASVKVSCKSSGYHFTSYWMHWVKQAPG  
QGLEWIGV~~IHPNSGS~~INYN~~EKFES~~RATITVDKSTSTAYMELS  
SLRSEDTAVYYCAG~~ERDSTEVL~~PMDYWGQGTTVTVSS（配列番号  
32）。

VH2の超可変領域（HVR）は、太字かつ下線の文字で示されている。

【0135】

重鎖可変ドメインバリエント3（VH3）のアミノ酸配列は、以下である：

【0136】

40

QVQLVQSGAELKKPGASVKVSCKSSGYHFTSYWMHWVKQAPG  
QGLEWIGV~~IHPNSGS~~INYN~~EKFES~~RVITITVDKSTSTAYMELS  
SLRSEDTAVYYCAG~~ERDSTEVL~~PMDYWGQGTTVTVSS（配列番号  
33）。

VH3の超可変領域（HVR）は、太字かつ下線の文字で示されている。

50

【0137】

重鎖可変ドメインバリエーション4 (VH4) のアミノ酸配列は、以下である：

【0138】

QVQLVQSGAELKKPGASVKVSCKSSGYHFTSYWMHWVRQAPG  
QGLEWIGV<sup>IHPNSGS</sup>IN<sup>YNEKFES</sup>RV<sup>ITITVDKSTSTAYMELS</sup>  
SLRSEDTAVYYCAG<sup>ERDSTEVL</sup>PMDYWGQGT<sup>TVT</sup>VSS (配列番号  
34)。

10

VH4の超可変領域 (HVR) は、太字かつ下線の文字で示されている。

【0139】

カッパ軽鎖可変ドメインバリエーション1 (Vk1) のアミノ酸配列は、以下である：

【0140】

DVQITQSPSYLAASLGERATINCRASKSINKYLAWYQQKPGK  
TNKLLIY<sup>SGSTLQS</sup>GIPARFSGSGSGTDFTLT<sup>ISSLEPEDFA</sup>  
MYYC<sup>QQHNEYPLT</sup>FGQG<sup>TKLEIK</sup> (配列番号35)。

20

Vk1の超可変領域 (HVR) は、太字かつ下線の文字で示されている。

【0141】

カッパ軽鎖可変ドメインバリエーション2 (Vk2) のアミノ酸配列は、以下である：

【0142】

DVQITQSPSSLSASLGERATINCRASKSINKYLAWYQQKPGK  
ANKLLIY<sup>SGSTLQS</sup>GIPARFSGSGSGTDFTLT<sup>ISSLEPEDFA</sup>  
MYYC<sup>QQHNEYPLT</sup>FGQG<sup>TKLEIK</sup> (配列番号36)。

30

Vk2の超可変領域 (HVR) は、太字かつ下線の文字で示されている。

【0143】

カッパ軽鎖可変ドメインバリエーション3 (Vk3) のアミノ酸配列は、以下である：

【0144】

DVQITQSPSSLSASLGERATINCRASKSINKYLAWYQQKPGK  
APKLLIY<sup>SGSTLQS</sup>GIPARFSGSGSGTDFTLT<sup>ISSLEPEDFA</sup>  
MYYC<sup>QQHNEYPLT</sup>FGQG<sup>TKLEIK</sup> (配列番号37)。

40

Vk3の超可変領域 (HVR) は、太字かつ下線の文字で示されている。

【0145】

カッパ軽鎖可変ドメインバリエーション4 (Vk4) のアミノ酸配列は、以下である：

【0146】

DIQLTQSPSSLSASLGERATINCRASKSINKYLAWYQQKPGK  
APKLLIY<sup>SGSTLQS</sup>GIPARFSGSGSGTDFTLT<sup>ISSLEPEDFA</sup>  
MYYC<sup>QQHNEYPLT</sup>FGQG<sup>TKLEIK</sup> (配列番号38)。

50

V<sub>K</sub>4の超可変領域（HVR）は、太字かつ下線の文字で示されている。

【0147】

抗体は、HVR-L1 R A S K S I N K Y L A（配列番号5）、HVR-L2 S G S T L Q S（配列番号6）、及びHVR-L3 Q Q H N E Y P L T（配列番号7）を保持しつつ、配列番号35～38と少なくとも85%、90%、または95%同一である軽鎖可変ドメインアミノ酸配列を含み得る。抗体は、好ましくはHVR-H1 G Y H F T S Y W M H（配列番号9）、HVR-H2 V I H P N S G S I N Y N E K F E S（配列番号10）、及びHVR-H3 E R D S T E V L P M D Y（配列番号11）を保持しつつ、配列番号31～34と少なくとも85%、90%、または95%同一の重鎖可変ドメインアミノ酸配列を含み得る。

10

【0148】

いくつかの実施形態では、抗体は、配列番号35の軽鎖可変ドメインアミノ酸配列及び配列番号31の重鎖可変ドメインアミノ酸配列を含む。いくつかの実施形態では、抗体は、配列番号36の軽鎖可変ドメインアミノ酸配列及び配列番号32の重鎖可変ドメインアミノ酸配列を含む。いくつかの実施形態では、抗体は、配列番号37の軽鎖可変ドメインアミノ酸配列及び配列番号33の重鎖可変ドメインアミノ酸配列を含む。いくつかの実施形態では、抗体は、配列番号38の軽鎖可変ドメインアミノ酸配列及び配列番号34の重鎖可変ドメインアミノ酸配列を含む。

【0149】

全長抗体Mab2は、重鎖可変ドメインバリエーション3（VH3）（配列番号33）及びカッパ軽鎖可変ドメインバリエーション3（VK3）（配列番号37）を含む。Mab2-Fabは、Mab2抗体のFabである。

20

【0150】

いくつかの実施形態では、本開示のヒト化抗C1q抗体は、Fab領域を含有する重鎖可変領域及びFc領域を含有する重鎖定常領域を含み、Fab領域は本開示のC1qタンパク質に特異的に結合するが、Fc領域はC1qタンパク質に結合することが不可能である。いくつかの実施形態では、Fc領域は、ヒトIgG1、IgG2、IgG3、またはIgG4アイソタイプに由来する。いくつかの実施形態では、Fc領域は、補体活性を誘導することが不可能であり、及び／または抗体依存性細胞傷害（ADCC）を誘導することが不可能である。いくつかの実施形態では、Fc領域は、限定されないが、アミノ酸置換を含む、1つ以上の修飾を含む。ある特定の実施形態では、本開示のヒト化抗C1q抗体のFc領域は、Kabatat番号付け慣例に従う位置248もしくはKabatat番号付け慣例に従う位置248に対応する位置で、及び／またはKabatat番号付け慣例に従う位置241もしくはKabatat番号付け慣例に従う位置241に対応する位置でアミノ酸置換を含む。いくつかの実施形態では、位置248または位置248に対応する位置でのアミノ酸置換は、Fc領域がFc受容体と相互作用することを阻害する。いくつかの実施形態では、位置248または位置248に対応する位置でのアミノ酸置換は、ロイシンからグルタメートへのアミノ酸置換である。いくつかの実施形態では、位置241または位置241に対応する位置でのアミノ酸置換は、抗体におけるアームスイッチを防止する。いくつかの実施形態では、位置241または位置241に対応する位置でのアミノ酸置換は、セリンからプロリンへのアミノ酸置換である。ある特定の実施形態では、本開示のヒト化抗C1q抗体のFc領域は、配列番号47のアミノ酸配列、または配列番号47のアミノ酸配列に対して少なくとも約70%、少なくとも約75%、少なくとも約80%、少なくとも約85%、少なくとも約90%、または少なくとも約95%の相同性を有するアミノ酸配列を含む。

30

40

【0151】

抗C1q Fab断片（例えば、FabA）

組換えDNA技術の出現の前は、抗体分子の構造を切断し、分子のどの部分がある様々な機能を担っているのかを決定するために、ポリペプチド配列を切断するタンパク質分解酵素（プロテアーゼ）が使用されていた。プロテアーゼパラインでの限定消化は、抗体分

50

子を3つの断片に切断する。F a b断片として知られている2つの断片は同一であり、抗原結合活性を含有する。F a b断片は、抗体分子の2つの同一の腕部に対応し、その各々は、重鎖のV<sub>H</sub>及びC<sub>H</sub>1ドメインと対合した完全軽鎖からなる。他の断片は、抗原結合活性を含まないが、容易に結晶化することが当初観察され、この理由からF c断片（結晶化可能断片）と名付けられた。F a b分子をI g G分子と比較した場合、F a bは、それらのより高い移動性及び組織浸透能力、それらの減少した循環半減期、抗体エフェクター機能を媒介することなく一価で抗原に結合するそれらの能力、ならびにそれらのより低い免疫原性のため、ある特定のインビボ用途についてI g Gよりも優れていることが見出された。

#### 【0152】

F a b分子は、定常ドメインC<sub>H</sub>2及びC<sub>H</sub>3によって短縮された重鎖を有するI g分子の人工の約50kDaの断片である。2つの異好性（V<sub>L</sub>－V<sub>H</sub>及びC<sub>L</sub>－C<sub>H</sub>1）ドメイン相互作用は、F a b分子の2つの鎖の構造の基礎にあり、これはC<sub>L</sub>とC<sub>H</sub>1との間のジスルフィド架橋によって更に安定化される。F a b及びI g Gは、6つの相補性決定領域（CDR）（3つはそれぞれV<sub>L</sub>及びV<sub>H</sub>に由来する（LCDR1、LCDR2、LCDR3及びHC DR1、HC DR2、HC DR3））によって形成される同一の抗原結合部位を有する。CDRは、抗体の超可変抗原結合部位を画定する。最も高い配列バリエーションは、LCDR3及びHC DR3に見られ、これは天然免疫系では、それぞれV<sub>L</sub>及びJ<sub>L</sub>遺伝子またはV<sub>H</sub>、D<sub>H</sub>及びJ<sub>H</sub>遺伝子の再編成によって生成される。LCDR3及びHC DR3は典型的には、抗原結合部位のコアを形成する。6つのCDRを接続し、提示する保存領域は、フレームワーク領域と称される。可変ドメインの三次元構造において、フレームワーク領域は、外側では超可変CDRループによって及び内側では保存ジスルフィド架橋によって連結された2つの対向する逆平行β－シートのサンドイッチを形成する。F a b及びI g Gの抗原結合部位の安定性及び汎用性のこの独自の組み合わせは、疾患の診断、モニタリング、予防、及び治療のための臨床業務においてその成功を強調する。

#### 【0153】

全ての抗C1q抗体F a b断片配列は、参照により米国特許出願第15／360,549号から組み込まれ、これは、それが開示する抗体及び関連組成物について参照により本明細書に組み込まれる。

#### 【0154】

ある特定の実施形態では、本開示は、重鎖（V<sub>H</sub>／C<sub>H</sub>1）及び軽鎖（V<sub>L</sub>／C<sub>L</sub>）を含むC1qタンパク質に結合する抗C1q抗体F a b断片であって、抗C1q抗体F a b断片は、6つの相補性決定領域（CDR）（3つは各々V<sub>L</sub>及びV<sub>H</sub>に由来する）（HC DR1、HC DR2、HC DR3、及びLC DR1、LC DR2、LC DR3）を有する、抗C1q抗体F a b断片を提供する。抗体F a b断片の重鎖は、I g G1の第1の重鎖ドメインの後で切断され（配列番号39）、以下のアミノ酸配列を含む：

#### 【0155】

QVQLVQSGAELKKPGASVKVSCKSSGYHFTSYWMHWVKQAP  
GQGLEWIGV<sup>1</sup>HPNSGS<sup>2</sup>INYNEKFES<sup>3</sup>RVTTITVDKSTSTAYMEL  
SSLRSEDTAVYYCAG<sup>4</sup>ERDSTEVL<sup>5</sup>LPMDYWGQGTTVTVSSASTK  
GPSVFPLAPSSKSTSGGTAA<sup>6</sup>LGCLVKDYFPEPVTVSWNSGAL  
TSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHK  
PSNTKVDKKVEPKSCDKTHT（配列番号39）

#### 【0156】

配列番号39の相補性決定領域（CDR）は、太字かつ下線の文字で示されている。

【0157】

抗体Fab断片の軽鎖ドメインは、以下のアミノ酸配列（配列番号40）を含む：

【0158】

DVQITQSPSSLSASLGERATINCRASKSINKYLAWYQQKPG  
KAPKLLIYSGSTLQSGIPARFSGSGSGTDFTLTISSLEPEDF  
AMYYCQQHNEYPLTFGQGTKLEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQL  
KSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQD  
SKDSTYSLSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSF  
NRGEC（配列番号40）

10

【0159】

配列番号40の相補性決定領域（CDR）は、太字かつ下線の文字で示されている。

【0160】

FabAは、配列番号39を含む重鎖ドメインと、配列番号40を含む軽鎖ドメインと、を含む抗C1q抗体Fab断片である。

【0161】

Mab1-Fabは、Mab1（M1）抗体のFabである。

【0162】

Mab2-Fabは、Mab2抗体のFabである。

【0163】

Mab3-Fabは、Mab3抗体のFabである。

【0164】

核酸、ベクター及び宿主細胞

本開示の方法において使用するのに好適な抗体は、例えば、米国特許第4,816,567号に記載されているように、組換え方法及び組成物を使用して生成され得る。いくつかの実施形態では、本開示の抗体のいずれかをコードするヌクレオチド配列を有する単離された核酸が提供される。そのような核酸は、抗C1q抗体のV<sub>L</sub>/C<sub>L</sub>を含有するアミノ酸配列及び／またはV<sub>H</sub>/C<sub>H1</sub>を含有するアミノ酸配列をコードし得る。いくつかの実施形態では、そのような核酸を含有する1つ以上のベクター（例えば、発現ベクター）が提供される。そのような核酸を含有する宿主細胞も提供され得る。宿主細胞は、（1）抗体のV<sub>L</sub>/C<sub>L</sub>を含有するアミノ酸配列及び抗体のV<sub>H</sub>/C<sub>H1</sub>を含有するアミノ酸配列をコードする核酸を含有するベクター、または（2）抗体のV<sub>L</sub>/C<sub>L</sub>を含有するアミノ酸配列をコードする核酸を含有する第1のベクター及び抗体のV<sub>H</sub>/C<sub>H1</sub>を含有するアミノ酸配列をコードする核酸を含有する第2のベクターを含有し得る（例えば、形質導入されている）。いくつかの実施形態では、宿主細胞は、真核、例えば、チャイニーズハムスター卵巣（CHO）細胞またはリンパ細胞（例えば、Y0、NS0、Sp20細胞）である。いくつかの実施形態では、宿主細胞は、E.coliなどの細菌である。

30

【0165】

抗C1q抗体を作製する方法が本明細書に開示される。本方法は、抗C1q抗体をコードする核酸を含有する本開示の宿主細胞を、抗体の発現に好適な条件下で培養することを含む。いくつかの実施形態では、抗体はその後、宿主細胞（または宿主細胞培地）から回収される。

40

【0166】

本開示のヒト化抗C1q抗体の組換え生成のため、抗体をコードする核酸は単離され、宿主細胞において更なるクローニング及び／または発現のための1つ以上のベクターに挿入される。そのような核酸は、慣用の手順を使用して（例えば、抗体の重鎖及び軽鎖をコードする遺伝子に特異的に結合可能であるオリゴヌクレオチドプローブを使用することによって）、容易に単離され、シーケンシングされ得る。

50

## 【0167】

本開示の抗体、または本明細書に記載のその断片ポリペプチド（抗体を含む）のいずれかをコードする核酸配列を含有する好適なベクターには、限定されないが、クローニングベクター及び発現ベクターが含まれる。好適なクローニングベクターは、標準的な技術に従って構築され得、または当該技術分野で利用可能な多数のクローニングベクターから選択され得る。選択されるクローニングベクターは、使用されることが意図された宿主細胞に応じて変わり得る一方で、有用なクローニングベクターは通常、自己複製する能力を有し、特定の制限エンドヌクレアーゼのための単一の標的を保有し得、及び／またはベクターを含有するクローンを選択する際に使用され得るマーカーのための遺伝子を有し得る。好適な例には、プラスミド及び細菌ウイルス、例えば、pUC18、pUC19、Blue script（例えば、pBS SK+）及びその誘導体、mpl8、mpl9、pBR322、pMB9、ColE1、pCR1、RP4、ファージDNA、及びシャトルベクター、例えば、pSA3及びpAT28が含まれる。これらの及び多くの他のクローニングベクターがBioRad、Stratagene、及びInvitrogenなどの商業的ベンダーから利用可能である。

10

## 【0168】

対象となる核酸を含有するベクターは、エレクトロポレーション、塩化カルシウム、塩化ルビジウム、リン酸カルシウム、DEAE-デキストラン、または他の物質を用いるトランスフェクション；微粒子銃；リポフェクション；及び感染（例えば、ベクターはワクシニアウイルスなどの感染性物質である）を含む、多数の適切な手段のいずれかによって宿主細胞に導入され得る。ベクターまたはポリヌクレオチドを導入する選択はしばしば、宿主細胞の特徴に依存する。いくつかの実施形態では、ベクターは、本開示の抗C1q抗体をコードする1つ以上のアミノ酸配列を含有する核酸を含有する。

20

## 【0169】

抗体をコードするベクターのクローニングまたは発現に好適な宿主細胞には、原核生物細胞または真核生物細胞が含まれる。例えば、本開示の抗C1q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、細菌において生成され得る。細菌における抗体断片及びポリペプチドの発現について、（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；ならびにCharlton, Methods in Molecular Biology, Vol. 248 (B. K. C. Lo, ed., Humana Press, Totowa, NJ, 2003), pp. 245-254は、E. coliにおける抗体断片の発現について記載している）。他の実施形態では、本開示の抗体は、真核細胞、例えば、チャイニーズハムスター卵巣（CHO）細胞またはリンパ細胞（例えば、Y0、NS0、Sp20細胞）において産生され得る（例えば、米国特許出願第14/269,950号、米国特許第8,981,071号、Eur J Biochem. 1991 Jan 1; 195(1): 235-42）。発現後、抗体は、可溶性画分における細菌細胞ペーストから単離され得、更に精製され得る。

30

## 【0170】

薬学的組成物及び投与

40

本開示の抗C1q抗体（例えば、FabA）は、薬学的組成物の形態で投与され得る。

## 【0171】

本開示の抗体、抗体断片及び／または抗体誘導体の治療製剤は、所望の純度を有する抗体を任意の薬学的に許容可能な担体、賦形剤または安定化剤（Remington's Pharmaceutical Sciences 16th edition, Osol, A. Ed. [1980]）と混合することによって保存のために凍結乾燥製剤または水溶液の形態で調製され得る。許容可能な担体、賦形剤、または安定化剤は、用いられる投薬量及び濃度でレシピエントに対して非毒性であり、これには緩衝液、例えば、リン酸塩、クエン酸塩、及び他の有機酸；アスコルビン酸及びメチオニンを含む抗酸化剤；防腐剤（例えば、オクタデシルジメチルベンジルアンモニウムクロリド；塩化ヘキサメトニウ

50

ム；塩化ベンザルコニウム、塩化ベンゼトニウム；フェノール、ブチルまたはベンジルアルコール；アルキルパラベン、例えば、メチルまたはプロピルパラベン；カテコール；レゾルシノール；シクロヘキサノール；3-ペンタノール；及びm-クレゾール）；低分子量（約10残基未満）ポリペプチド；タンパク質、例えば、血清アルブミン、ゼラチン、または免疫グロブリン；親水性ポリマー、例えば、ポリビニルピロリドン；アミノ酸、例えば、グリシン、グルタミン、アスパラギン、ヒスチジン、アルギニン、またはリジン；グルコース、マンノース、またはデキストリンを含む単糖、二糖、及び他の炭水化物；キレート剤、例えば、EDTA；糖類、例えば、スクロース、マンニトール、トレハロースまたはソルビトール；塩形成対イオン、例えば、ナトリウム；金属複合体（例えば、Zn-タンパク質複合体）；及び／または非イオン性界面活性剤、例えば、TWEEN（商標）、PLURONICS（商標）またはポリエチレングリコール（PEG）が含まれる。

10

#### 【0172】

リポフェクションまたはリポソームもまた、抗体または抗体断片、または抗体誘導体を細胞に送達するために使用され得、標的タンパク質の結合ドメインに特異的に結合するエピトープまたは最小断片が好ましい。

#### 【0173】

抗体はまた、例えば、コアセルベーション技術によって、または界面重合によって調製されたマイクロカプセル、例えば、それぞれ、ヒドロキシメチルセルロースまたはゼラチンマイクロカプセル及びポリ-（メチルメタクリレート）マイクロカプセル内に、コロイド薬物送達系（例えば、リポソーム、アルブミンマイクロスフェア、マイクロ乳濁液、ナノ粒子、及びナノカプセル）中、またはマクロ乳濁液中に取り込まれ得る。そのような技術は、Remington's Pharmaceutical Sciences 16th edition, Osol, A. Ed. (1980)に開示されている。

20

#### 【0174】

投与のために使用される製剤は無菌であり得る。これは、滅菌濾過膜を介する濾過によって容易に達成される。

#### 【0175】

持続放出調製物が調製され得る。持続放出調製物の好適な例としては、抗体を含有する固体疎水性ポリマーの半透性マトリックスが挙げられ、これらのマトリックスは、成形物品、例えば、フィルム、またはマイクロカプセルの形態である。持続放出マトリックスの例には、ポリエステル、ヒドロゲル（例えば、ポリ（2-ヒドロキシエチル-メタクリレート）、またはポリ（ビニルアルコール））、ポリラクチド（米国特許第3,773,919号）、L-グルタミン酸とγ-エチル-L-グルタミン酸エステルのコポリマー、非分解性エチレン-酢酸ビニル、分解性乳酸-グリコール酸コポリマー、例えば、LUPRON DEPOT（商標）（乳酸-グリコール酸コポリマー及び酢酸ロイプロリドから構成される注射用マイクロスフェア）、及びポリ-D-（-）-3-ヒドロキシ酪酸が含まれる。エチレン-酢酸ビニル及び乳酸-グリコール酸などのポリマーが100日間にわたる分子の放出を可能にする一方で、ある特定のヒドロゲルは、より短い期間にわたってタンパク質を放出する。

30

#### 【0176】

本開示の抗体、抗体断片及び／または抗体誘導体ならびに組成物は、典型的には硝子体投与によって投与される。

40

#### 【0177】

薬学的組成物はまた、所望の製剤に応じて、動物またはヒト投与のための薬学的組成物を製剤化するために一般的に使用されるビヒクルとして定義される、希釈剤の薬学的に許容可能な非毒性担体を含み得る。希釈剤は、組み合わせの生物学的活性に影響を及ぼさないように選択される。そのような希釈剤の例は、蒸留水、緩衝水、生理的生理食塩水、PBS、リンゲル液、デキストロース溶液、及びハanks溶液である。加えて、薬学的組成物または製剤は、他の担体、アジュバント、または非毒性、非治療性、非免疫原性安定化剤、賦形剤などを含み得る。組成物はまた、およそその生理的条件のための追加の物質、

50

例えば、pH調整及び緩衝剤、毒性調整剤、湿潤剤及び洗浄剤を含み得る。

【0178】

組成物はまた、例えば、抗酸化剤などの多様な安定化剤のいずれかを含み得る。薬学的組成物がポリペプチドを含む場合、ポリペプチドは、ポリペプチドのインビボ安定性を向上させるか、またはそうでなければその薬理学的特性を向上させる（例えば、ポリペプチドの半減期を増加させる、その毒性を低下させる、他の薬物動態及び／または薬力学的特性を向上させる、または溶解性もしくは取り込みを向上させる）様々なよく知られている化合物と複合体化され得る。そのような改変または錯化剤の例には、スルフェート、グルコネート、シトレート及びホスフェートが含まれる。組成物のポリペプチドはまた、それらのインビボ属性を向上させる分子と複合体化され得る。そのような分子には、例えば、炭水化物、ポリアミン、アミノ酸、他のペプチド、イオン（例えば、ナトリウム、カリウム、カルシウム、マグネシウム、マンガン）、及び脂質が含まれる。様々なタイプの投与に好適な製剤に関する更なる指針は、Remington's Pharmaceutical Sciences, Mace Publishing Company, Philadelphia, Pa., 17th ed. (1985)で見ることができる。薬物送達のための方法の簡潔なレビューについては、Langer, Science 249: 1527-1533 (1990)を参照されたい。

10

【0179】

活性成分の毒性及び治療的有効性は、例えば、LD50（集団の50%に対して致死的な用量）及びED50（集団の50%において治療的に有効な用量）を決定することを含む、細胞培養及び／または実験動物における標準的な薬学的手順に従って決定され得る。毒性と治療効果との間の用量比は治療指数であり、それは比LD50/ED50として表され得る。高い治療指数を示す化合物が好ましい。

20

【0180】

細胞培養及び／または動物研究及び／またはヒト臨床試験から得られたデータは、ヒトのための投薬量の範囲を策定する際に使用され得る。活性成分の投薬量は典型的には、低い毒性でED50を含む循環濃度の範囲内に収まる。投薬量は、用いられる投薬形態及び利用される投与経路に応じてこの範囲内で変わり得る。

【0181】

薬学的組成物を製剤化するために使用される成分は、好ましくは、高純度のものであり、潜在的に有害な混入物質を実質的に含まない（例えば、少なくとも国の食品（National Food (NF)）グレード、通常は少なくとも分析グレード、より典型的には少なくとも薬学的グレード）。更に、非経口的使用のために意図される組成物は通常、無菌である。所与の化合物が使用前に合成されなければならない限り、得られる生成物は、合成または精製プロセスの間に存在し得る任意の潜在的に毒性の物質、特に任意のエンドトキシンは典型的には実質的に含まれない。非経口投与のための組成物もまた、典型的には実質的に等張性であり、GMP条件下で生成される。

30

【0182】

本開示の組成物は、任意の医学的に適切な手順、例えば、硝子体注射を使用して投与されてよい。

40

【0183】

治療方法

視細胞網膜疾患における補体の役割は、視細胞変性の複数の前臨床モデルにおいて報告されており、古典的補体経路の遺伝的または薬理学的阻害は、視細胞生存率の増加及び網膜機能の改善をもたらした。しかしながら、C1q及び古典的補体経路が視細胞変性を促進するメカニズムは十分に理解されていない。CNS発達及び疾患におけるミクログリア媒介性シナプス刈り込み（synaptic pruning）におけるC1qの記載された役割に基づいて、C1qは、網膜変性障害における視細胞シナプスにタグ付けし、異常なミクログリア媒介性シナプス除去を介して神経損失に寄与し得る。

【0184】

50

視細胞変性の光酸化光損傷モデルを使用して、視細胞シナプス上のC1q沈着及びC1qタグ付きシナプスのミクログリア貪食の証拠が、本明細書で提供される。網膜及び視細胞シナプスにおけるC1qのレベルと細胞体喪失との間に有意な相関が示される。更に、C1q基質、ホスファチジルセリン（PS）の外部化は、視細胞シナプス上に示され、シナプス上へのC1q動員におけるPSの潜在的な関与を示唆している。そして最後に、抗C1q抗体による硝子体内処置は、光損傷した網膜における補体成分のレベルを低下させた（処置後の標的関与及び神経保護を確認する）。

【0185】

WTと比較して、未処置動物及びIgG R d 1 0 動物の両方からの網膜溶解物において、古典的補体成分C1qのレベルの増加が確認された（図14B）。抗C1q処置は、IgG1処置群及び未処置rd10群と比較して、網膜溶解物中のC1qレベルの低減をもたらした（図14B）、網膜における良好な測定可能なPK及びC1q関与を確認した。視細胞シナプス（BNSマーカー）を、C1q阻害剤による処置時に保存した（図15B）。

10

【0186】

本開示は、概して、ヒト患者における遺伝性網膜疾患（IRD）（例えば、網膜色素変性症、コロイデレミア、スターガルト病、錐体杆体ジストロフィー、及びレーバー先天性黒内障）または網膜剥離を予防する、発症のリスクを低減する、または処置する組成物及び方法に関する。

【0187】

遺伝性網膜疾患（IRD）は、重度の視力喪失または失明さえも引き起こし得る疾患の群である。各IRDは、少なくとも1つの遺伝子が正常に機能していないことによって引き起こされる。IRDは、全ての年齢の個人に影響を及ぼし、異なる速度で進行する可能性があり、まれである。しかしながら、多くは進行性であり、これは疾患の症状が時間の経過とともに悪化することを意味する。

20

【0188】

IRDには多くの種類があり、他にもまだ発見されていないものがある。最も一般的なタイプのIRDには、網膜色素変性症／杆体錐体ジストロフィー、コロイデレミア、スターガルト病、錐体杆体ジストロフィー、レーバー先天性黒内障、X連鎖RP、及びアッシュャー症候群が含まれる。共通経路は、視細胞変性である。

30

【0189】

網膜色素変性症（RP）／杆体錐体ジストロフィーは、網膜に影響を及ぼす60の遺伝子の変型によって引き起こされる関連する眼の疾患の群である。RPを有する人々では、網膜の光感知細胞が徐々に消失するにつれて視力喪失が発生する。疾患の進行の重症度及び速度は、影響を受ける遺伝子に応じて、RPを有する人によって異なり得る。RPは、小児期（早期発症RP）または成人期に最初に現れ得る。RPの最初の徴候は通常、夜盲症と呼ばれる夜間視力の喪失である。その後、RPは、盲点を周辺（側）視力において発達させる。時間が経つにつれて、これらの盲点は、低減した周辺視力に進行する。この疾患は時間の経過とともに進行し、最終的に、読書、運転、顔認識などのタスクに必要な中心視力に影響を与え、トンネルビジョンとも呼ばれる。コロイデレミアは、進行性視力喪失を伴う状態であり、主に男性に影響を及ぼす。この状態の最初の症状は通常、夜盲症であり、これは幼児期に発生する可能性がある。時間が経つにつれて、人はトンネルビジョンを発達させ、詳細を見る能力を失う。これらの視力の問題は、網膜及び近くの血管ネットワーク（脈絡膜と呼ばれる）の細胞の継続的な喪失に起因する。コロイデレミアの視力障害は、時間の経過とともに悪化するが、悪化の速度は、罹患した個人によって異なる。この状態は、成人後期までに完全な視力喪失を引き起こす場合がある。

40

【0190】

スターガルト病は、スターガルト黄斑ジストロフィーとも呼ばれる。この疾患は、網膜中央の小さな領域である黄斑に損傷を引き起こし、鋭くまっすぐな視力をもたらす。この疾患は、典型的には、小児期または青年期に中心視力喪失を引き起こす。時には、視力喪

50

失は、成人期の後半まで気づかれないことがある。疾患を有する人々が全ての視力を失うことはめったにない。

【0191】

錐体杆体ジストロフィー（CRD）は、錐体及び杆体に影響を与える30を超えるIRDの群である。錐体及び杆体は、網膜中で見出される光感受性細胞である。錐体及び杆体の漸進的な劣化により、この状態の人々は、経時的に視力喪失を経験する。最初の症状は通常、小児期に起こり、ぼやけた視力及び光に対する強い感受性（光恐怖症と呼ばれる）が含まれる場合がある。これらの症状に続いて、視力の中心に盲点があり、色が見えなくなり、側面または周辺視力が失われる。この状態のほとんどの個人は、成人中期までに顕著な量の視力を失う。

10

【0192】

レーバー先天性黒内障（LCA）は、主に網膜に影響を及ぼす眼障害である。網膜は、カメラ内のフィルムのように機能し、視覚画像をキャプチャし、電気信号を脳に送信する眼の層である。LCAは、IRDの最も初期の発症形態のうちの1つである。この障害を有する人々は、典型的には、乳児期に始まる重度の視覚障害を有する。LCAは、光恐怖症：光に対する感受性の向上、眼振：制御不能な眼の動き、極度の遠視：本の装丁または時計の文字盤など、物体を近くではっきりと見ることができない、瞳孔反応の遅れ：LCAを有する個人の瞳孔は光に対して正常に反応せず、代わりに、瞳孔の開閉が通常よりも遅くなるか、光にまったく反応しない可能性がある、奇形角膜：角膜は円錐形であり、LCAを伴って異常に薄い場合がある、交差眼（斜視）：目の筋肉が形成されないか、または適切に機能しないため、目は2つの異なる場所を同時に見る、などの他の視覚問題とも関連付けられる。

20

【0193】

X連鎖性RP（XLRP）は、網膜色素変性症（RP）の重篤な形態である。XLRPは、X染色体上に位置する遺伝子の変異と関連付けられ、これは、この状態が主に男性に影響を及ぼすことを意味する。しかしながら、一部の女性キャリアも臨床的に罹患し得るが、通常は男性よりもはるかに重篤な表現型を有する。女性キャリア間の表現型の変動は、他の遺伝的要因及び環境的要因によって調節された、網膜組織の発達中の野生型遺伝子を運ぶX染色体のランダムな不活性化のパターンに起因する。XLRPは、最も一般的には、X染色体上の網膜色素変性症GTPase（RPGR）遺伝子の変異によって引き起こされる。これは、視力喪失の早期発症及び急速な進行を特徴とし、20代の終わりまでに法的失明をもたらす。XLRPのより低頻度の形態は、RP2遺伝子及びOFD1遺伝子の変異によって引き起こされる。RPGR遺伝子の変異は、杆体錐体または錐体杆体ジストロフィー表現型と関連付けられ得る。大部分の症例は、杆体錐体ジストロフィー型の疾患の進行を呈し、中心視力は当初、末梢野の喪失よりも低下している。しかしながら、一部はまた、疾患の早期段階の間に、早期の錐体関与を有し、それに応じて中心視力が損なわれる。中心窩は、最終的に、後続の錐体視細胞変性によって、疾患の後期段階中の全ての症例において影響を受ける。

30

【0194】

Hallgren症候群、Usher-Hallgren症候群、網膜色素異常症候群、または網膜異常症候群としても知られるUsher症候群は、難聴と視覚障害との組み合わせをもたらす少なくとも11個の遺伝子のうちのいずれか1つの突然変異によって引き起こされる、まれな遺伝子障害である。失明の主な原因であり、現在は不治の病である。難聴（deafness）または難聴（hearing loss）、網膜色素変性症（RP）と呼ばれる眼疾患を引き起こす。時には、平衡の問題を引き起こすこともある。アッシャー症候群は、原因遺伝子及び難聴の発症に応じて、3つのサブタイプ（I、II及びIII）に分類される。3つのサブタイプは全て、内耳及び網膜の機能に関与する遺伝子の変異によって引き起こされる。これらの変異は、常染色体劣性パターンで遺伝する。

40

【0195】

50

網膜剥離は、眼の後ろにある神経組織（網膜）の薄い層がその正常な位置から引き離される状況を指す。網膜剥離は、網膜色素上皮（RPE）から網膜視細胞を分離し、これが酸素及び栄養を提供し、廃棄物を除去する。現時点では、網膜はRPEから分離されており、視細胞変性及び結果として生じる視力喪失がある。中枢網膜が剥離され、網膜剥離が処置されない時間が長くなるほど、罹患した眼における永久的な視力喪失のリスクが高くなる。網膜剥離の警告徴候には、浮遊物及び点滅の突然の出現、ならびに視力低下が含まれ得る。網膜剥離は、年間10万症例当たり約10～12症例が発生する。約50%の症例では、中心網膜が剥離する。中心網膜が剥離すると、網膜の再装着に成功したにもかかわらず、視力の回復は剥離前の視力の約50%に達するだけである。この限られた視力回復の原因は、視細胞変性である。

10

#### 【0196】

古典的補体経路の遺伝的障害または薬理的障害により、視細胞生存率の増加及び網膜機能の改善がもたらされた。しかしながら、C1q及び古典的補体経路が視細胞変性を促進するメカニズムは十分に理解されていない。CNS発達及び疾患におけるミクログリア媒介性シナプス刈り込みにおけるC1qの記載された役割に基づいて、C1qによって媒介される視細胞への損傷の3つのメカニズムを仮定する：（1）C1qは、異常なミクログリア媒介性シナプス除去を介して神経損失に寄与する、網膜変性障害における視細胞シナプスにタグ付けする、（2）C1qは、損傷視細胞（ホスファチジルセリン、c-反応性タンパク質、ならびに改変された視細胞膜）の廃棄物によって活性化され、更なるC1qももたらす食細胞の動員からの損傷につながる、（3）古典的補体経路全体の活性化及び細胞溶解を引き起こす膜侵襲複合体（MAC）の形成。

20

#### 【0197】

C1qは、ある種の病原体、自己抗原の変性、抗原結合抗体または細胞表面における特定の分子を認識する。正常な老化では、C1qはシナプス上に蓄積するが、おそらく年齢または神経細胞へのストレスによってこれが弱まり、続いて様々な病態生理学的刺激が古典的補体カスケードの活性化を誘発し、シナプスの不適当な排除につながる可能性がある。シナプス除去を伴うこの異常な炎症反応は、補体媒介神経変性（CMND）と称される。CMNDは、アルツハイマー病、統合失調症、ハンチントン病、前頭側頭型認知症、脊髄性筋萎縮症及び緑内障に関連している。網膜において変性ストレスがあると、C1q活性化によりシナプス排除がもたらされ、RGC及び視神経の欠損に寄与する。

30

#### 【0198】

視細胞変性の光酸化光損傷モデルを使用して、視細胞シナプス上のC1q沈着の証拠を提供し、C1qタグ付きシナプスのミクログリア貪食を実証する。我々は、網膜及び視細胞シナプスにおけるC1qのレベルと細胞体喪失との間の顕著な相関を示す。我々はまた、視細胞シナプス上のC1q基質、ホスファチジルセリン（PS）の外部化を示し、シナプス上へのC1q動員におけるPSの潜在的な関与を示唆している。そして最後に、抗C1q抗体による硝子体内処置が、光損傷した網膜における補体成分のレベルを低下させることを示す。追加的に、ヒト網膜組織地図状萎縮における視細胞シナプス上のC1q沈着を確認し、このメカニズムがヒトに関連していることを示唆した。

40

#### 【0199】

本開示は、概して、ヒト患者における遺伝性網膜疾患（IRD）（例えば、網膜色素変性症、コロイデレミア、スターガルト病、錐体杆体ジストロフィー、及びレーバー先天性黒内障）または網膜剥離を予防する、発症のリスクを低減する、または処置する組成物及び方法に関する。

#### 【0200】

そのような方法は、患者に、硝子体注射を介して、約1mg～約10mgの抗C1q抗体（例えば、約1mg、約1.5mg、約2mg、約2.5mg、約3mg、約3.5mg、約4mg、約4.5mg、約5mg、約5.5mg、約6mg、約6.5mg、約7mg、約7.5mg、約8mg、約8.5mg、約9mg、約9.5mgまたは約10mgの抗C1q抗体）を含む組成物を投与することを含む。そのような方法はまた、患者に

50

、約 1 mg ～ 約 10 mg（例えば、約 1 mg、約 1.5 mg、約 2 mg、約 2.5 mg、約 3 mg、約 3.5 mg、約 4 mg、約 4.5 mg、約 5 mg、約 5.5 mg、約 6 mg、約 6.5 mg、約 7 mg、約 7.5 mg、約 8 mg、約 8.5 mg、約 9 mg、約 9.5 mg、または約 10 mg の抗 C1q 抗体）の抗 C1q 抗体を含む組成物を、硝子体注射を介して投与することを含み、上記抗体は、配列番号 5 のアミノ酸配列を有する HVR-L1、配列番号 6 のアミノ酸を有する HVR-L2、及び配列番号 7 のアミノ酸を有する HVR-L3 を含む軽鎖可変ドメインと、配列番号 9 のアミノ酸配列を有する HVR-H1、配列番号 10 のアミノ酸を有する HVR-H2、及び配列番号 11 のアミノ酸を有する HVR-H3 を含む重鎖可変ドメインと、を含む。投与される組成物は、約 1 mg ～ 約 5 mg の抗 C1q 抗体を含んでよい。投与される組成物は、約 1 mg ～ 約 2.5 mg、約 2.5 mg ～ 約 5 mg、約 5 mg ～ 約 7.5 mg、または約 7.5 mg ～ 約 10 mg の抗 C1q 抗体を含んでよい。投与される組成物は、約 5 mg の抗 C1q 抗体を含んでよい。投与される組成物は、約 10 mg の抗 C1q 抗体を含んでよい。いくつかの実施形態では、抗体は、配列番号 4 及び 35 ～ 38 から選択されるアミノ酸配列と少なくとも約 95 % の相同性を有するアミノ酸配列を含む軽鎖可変ドメインを含み、軽鎖可変ドメインは、配列番号 5 のアミノ酸配列を有する HVR-L1、配列番号 6 のアミノ酸を有する HVR-L2、及び配列番号 7 のアミノ酸を有する HVR-L3 を含む。いくつかの実施形態では、軽鎖可変ドメインは、配列番号 4 及び 35 ～ 38 から選択されるアミノ酸配列を含む。いくつかの実施形態では、抗体は、配列番号 8 及び 31 ～ 34 から選択されるアミノ酸配列と少なくとも約 95 % の相同性を有するアミノ酸配列を含む重鎖可変ドメインを含み、重鎖可変ドメインは、配列番号 9 のアミノ酸配列を有する HVR-H1、配列番号 10 のアミノ酸配列を有する HVR-H2、及び配列番号 11 のアミノ酸配列を有する HVR-H3 を含む。いくつかの実施形態では、重鎖可変ドメインは、配列番号 8 及び 31 ～ 34 から選択されるアミノ酸配列を含む。いくつかの実施形態では、抗体は、配列番号 4 及び 35 ～ 38 から選択されるアミノ酸配列と少なくとも約 95 % の相同性を有するアミノ酸配列を含む軽鎖可変ドメインであって、配列番号 5 のアミノ酸配列を有する HVR-L1、配列番号 6 のアミノ酸を有する HVR-L2、及び配列番号 7 のアミノ酸を有する HVR-L3 を含む軽鎖可変ドメインと、配列番号 8 及び 31 ～ 34 から選択されるアミノ酸配列と少なくとも約 95 % の相同性を有するアミノ酸配列を含む重鎖可変ドメインであって、配列番号 9 のアミノ酸配列を有する HVR-H1、配列番号 10 のアミノ酸を有する HVR-H2、及び配列番号 11 のアミノ酸を有する HVR-H3 を含む重鎖可変ドメインと、を含む。いくつかの実施形態では、抗体は、配列番号 4 及び 35 ～ 38 から選択されるアミノ酸配列を含む軽鎖可変ドメインと、配列番号 8 及び 31 ～ 34 から選択されるアミノ酸配列を含む重鎖可変ドメインと、を含む。いくつかの実施形態では、抗体は、モノクローナル抗体、ヒト化抗体、ヒト抗体、キメラ抗体、抗体断片、またはそれらの抗体誘導体であってよい。抗体断片は、Fab 断片、Fab' 断片、F(ab')<sub>2</sub> 断片、Fv 断片、ダイアボディまたは一本鎖抗体分子であってよい。いくつかの実施形態では、Fab 断片は、配列番号 39 の重鎖 Fab 断片及び配列番号 40 の軽鎖 Fab 断片を含む。

#### 【0201】

いくつかの実施形態では、抗体は、1 週間に 1 回、隔週毎に 1 回、3 週間毎に 1 回、1 カ月に 1 回、4 週間毎に 1 回、6 週間毎に 1 回、8 週間毎に 1 回、隔月毎に 1 回、10 週間毎に 1 回、12 週間毎に 1 回、3 カ月毎に 1 回、または 4 カ月毎に 1 回投与される。いくつかの実施形態では、抗体は、少なくとも 6 カ月間、少なくとも 7 カ月間、少なくとも 8 カ月間、少なくとも 9 カ月間、少なくとも 10 カ月間、少なくとも 11 カ月間または少なくとも 12 カ月間投与される。

#### 【0202】

特定の好ましい実施形態では、FabA は、2.5 mg / 眼の用量で、毎月 1 回、4 週間毎に 1 回、6 週間毎に 1 回、または隔月毎に 1 回、IVT 注射として投与される。

#### 【0203】

特定の好ましい実施形態では、FabA は、5 mg / 眼の用量で、毎月 1 回、4 週間毎

に1回、6週間毎に1回、または隔月毎に、I V T注射として投与される。ある特定の好ましい実施形態では、F a b Aは、5 m g / 眼の用量で、毎月1回または4週間毎に1回、I V T注射として投与される。ある特定の好ましい実施形態では、F a b Aは、5 m g / 眼の用量で、6週間毎に1回、I V T注射として投与される。ある特定の好ましい実施形態では、F a b Aは、5 m g / 眼の用量で、隔月毎に1回または8週間毎に1回、I V T注射として投与される。

【0204】

特定の好ましい実施形態では、F a b Aは、10 m g / 眼の用量で、毎月1回、4週間毎に1回、6週間毎に1回、または隔月毎に1回、I V T注射として投与される。ある特定の好ましい実施形態では、F a b Aは、10 m g / 眼の用量で、毎月1回または4週間毎に1回、I V T注射として投与される。ある特定の好ましい実施形態では、F a b Aは、10 m g / 眼の用量で、6週間毎に1回、I V T注射として投与される。ある特定の好ましい実施形態では、F a b Aは、10 m g / 眼の用量で、隔月毎に1回または8週間毎に1回、I V T注射として投与される。

10

【0205】

F a b Aの注射は、I V T注射を実行する訓練を行い、資格を得た医師が、無菌技術を使用して完了する。

【0206】

抗C1q抗体は、C1qと自己抗体との間またはC1qとC1rとの間、またはC1qとC1sとの間の相互作用を阻害し得、または循環もしくは組織からのC1qのクリアランスを促進し得る。いくつかの実施形態では、抗C1q抗体は、100 n M ~ 0.005 n Mまたは0.005 n M未満の範囲の解離定数(K<sub>D</sub>)を有する。いくつかの実施形態では、抗C1q抗体は、20:1~1.0:1もしくは1.0:1未満の範囲の結合化学量論、6:1~1.0:1もしくは1.0:1未満の範囲の結合化学量論、または2.5:1~1.0:1もしくは1.0:1未満の範囲の結合化学量論でC1qに結合する。

20

【0207】

本方法は、C1qの生物学的活性を阻害する。例えば、(1)自己抗体に対するC1q結合、(2)C1rに対するC1q結合、(3)C1sに対するC1q結合、(4)ホスファチジルセリンに対するC1q結合、(5)ペントラキシン-3に対するC1q結合、(6)C-反応性タンパク質(CRP)に対するC1q結合、(7)球状C1q受容体(gC1qR)に対するC1q結合、(8)補体受容体1(CR1)に対するC1q結合、(9)B-アミロイドに対するC1q結合、または(10)カルレチキュリンに対するC1q結合。他の実施形態では、C1qの生物学的活性は、(1)古典的補体活性化経路の活性化、(2)溶解の減少及び/またはC3沈着の減少、(3)抗体及び補体依存性細胞傷害の活性化、(4)CH50溶血、(5)赤血球溶解の減少、(6)赤血球貪食の減少、(7)樹状細胞浸潤の減少、(8)補体媒介性赤血球溶解の阻害、(9)リンパ球浸潤の減少、(10)マクロファージ浸潤の減少、(11)抗体沈着の減少、(12)好中球浸潤の減少、(13)血小板貪食の減少、(14)血小板溶解の減少、(15)移植片生存の改善、(16)マクロファージ媒介性貪食の減少、(17)自己抗体媒介性補体活性化の減少、(18)輸血反応による赤血球破壊の減少、(19)同種抗体による赤血球溶解の減少、(20)輸血反応による溶血の減少、(21)同種抗体媒介性血小板溶解の減少、(22)貧血の改善、(23)好酸球増多症の減少、(24)赤血球上のC3沈着の減少(例えば、RBC上のC3b、iC3bなどの沈着の減少)、(25)血小板上のC3沈着の減少(例えば、血小板上のC3b、iC3bなどの沈着の減少)、(26)アナフィラトキシン生成の減少、(27)自己抗体媒介性発疹形成の減少、(28)自己抗体誘導性エリテマトーデスの減少、(29)輸血反応による赤血球破壊の減少、(30)輸血反応による血小板溶解の減少、(31)肥満細胞活性化の減少、(32)肥満細胞ヒスタミン放出の減少、(33)血管透過性の減少、(34)移植片内皮上の補体沈着の減少、(35)B細胞抗体生成、(36)樹状細胞成熟、(37)T細胞増殖、(38)サイトカイン生成、(39)ミクログリア活性化、(40)アルツス反応、(41)移植片内

30

40

50

皮におけるアナフィラトキシン生成の減少、または（４２）補体受容体３（ＣＲ３／Ｃ３）発現細胞の活性化である。

【０２０８】

いくつかの実施形態では、ＣＨ５０溶血は、ヒトＣＨ５０溶血を含む。抗体は、ヒトＣＨ５０溶血の少なくとも約５０％～約１００％を中和することが可能であり得る。抗体は、ヒトＣＨ５０溶血の約５０％、約６０％、約７０％、約８０％、約９０％、約１００％を中和することが可能であり得る。抗体は、１５０ｎｇ／ｍｌ未満、１００ｎｇ／ｍｌ未満、５０ｎｇ／ｍｌ未満、または２０ｎｇ／ｍｌ未満の用量でＣＨ５０溶血の少なくとも５０％を中和することが可能であり得る。

【０２０９】

いくつかの実施形態では、抗体は、モノクローナル抗体、ポリクローナル抗体、組換え抗体、ヒト化抗体、ヒト抗体、キメラ抗体、一価抗体、多重特異性抗体、もしくは抗体断片、またはその抗体誘導体である。いくつかの実施形態では、抗体は、ヒト化抗体である。いくつかの実施形態では、抗体は、Ｆａｂ断片などの抗体断片である。抗体断片の例は、Ｆａｂ断片、Ｆａｂ'断片、Ｆ（ａｂ'）<sub>2</sub>断片、Ｆｖ断片、ダイアボディ、及び一本鎖抗体分子である。

【０２１０】

組成物は、インビボ使用のために医師の指導の下で得られ、使用され得ることが企図される。治療剤の投薬量は、疾患の特質、投与の頻度、投与の様式、宿主からの薬剤のクリアランスなどに応じて広く変わり得る。

【０２１１】

本明細書で使用される場合、「慢性投与される」、「慢性治療」、「慢性的に治療すること」、またはその類似する文法的類型は、長期間にわたって患者における全身性補体活性を完全にまたは実質的に抑制するために、患者の眼における治療剤の所定閾値濃度を維持するために用いられる治療レジメンを指す。したがって、抗Ｃ１ｑ抗体で慢性的に処置される患者は、２週以上（例えば、３、４、５、６、７、８、９、１０、１１、１２、１３、１４、１５、１６、１７、１８、１９、２０、２１、２２、２３、２４、２５、２６、２７、２８、２９、３０、３１、３２、３３、３４、３５、３６、３７、３８、３９、４０、４１、４２、４３、４４、４５、４６、４７、４８、４９、５０、５１、もしくは５２週；１、２、３、４、５、６、７、８、９、１０、１１、もしくは１２ヵ月；または１、１．５、２、２．５、３、３．５、４、４．５、５、５．５、６、６．５、７、７．５、８、８．５、９、９．５、１０、１０．５、もしくは１２年、または患者の人生の残りの間）の期間、患者における全身性補体活性を阻害するまたは実質的に阻害する患者の眼における抗体の濃度を維持するのに十分な量の抗体及び投与頻度で処置され得る。いくつかの実施形態では、抗体は、２０％以下（例えば、１９、１８、１７、１６、１５、１４、１３、１２、１１、１０、９、８、７、６、または更に５％未満）で血清溶血活性を維持するのに有効な量及び頻度でそれを必要とする患者に慢性投与され得る。いくつかの実施形態では、抗体は、ＬＤＨについて正常な範囲の少なくとも２０％以内（例えば、１９、１８、１７、１６、１５、１４、１３、１２、１１、１０、９、８、７、６、または更に５％未満）で血清乳酸脱水素酵素（ＬＤＨ）レベルを維持するのに有効な量及び頻度で患者に投与され得る。

【０２１２】

治療剤、例えば抗Ｃ１ｑ抗体は、適切な、薬学的に許容される担体または希釈剤と組み合わせることによって、治療的投与のための種々の製剤中に組み込むことができる。

【実施例】

【０２１３】

実施例１：方法

光酸化白色光損傷モデル

雄のＢａｌｂ／Ｃマウス（１２週齢、Charles River Laboratories）を、実施例２～７に記載の研究で使用した。動物を、光誘導の開始まで３～４

10

20

30

40

50

時間の暗期の単一の延長を用いて、実験のために一晚暗順応させた（急性：25, 000ルクスで4時間、軽度：5000ルクスで30分間）。急性光設定をモデル特性評価に使用した（結果図1）。軽度光設定を他の全ての実験に使用した（結果図2～5）。動物を殺し、ベースライン、1日目、3日目及び7日目に組織を収集した。

#### 【0214】

##### Rd10マウスモデル

Rd10マウスを出生時から暗飼育し、P30－P31の光制御環境（昼間の通常の循環光約200ルクス）でハウジングに移した。

#### 【0215】

抗C1q抗体処置（またはIgG対照抗体）を、P12から開始して100mg/kgの用量で週2回腹腔内（i.p.）に投与した。i.p.注射のために、マウスを手で穏やかに拘束し、8mmの31ゲージ針を使用して腹部を穿刺し、抗体を送達した。動物を殺し、P30、P33、P38で組織を収集した。

#### 【0216】

##### 末端血漿及び眼組織収集

動物を麻酔し、約300～500µlの末端全血を心臓穿刺を介して収集した。血液を直ちにK2EDTAチューブに入れ、5,000xgで10分間遠心分離して血漿を得た。血漿を1.7mLのスナップキャップチューブに移し、ドライアイス上でクライアントに出荷するまで-80℃で保管した。生化学的評価のために、動物を生理食塩水で経心臓的に灌流し、眼を摘出した。網膜/RPEを単離し、秤量し、スナップ冷凍し、-80℃で保管した。病理組織学的評価のために、動物を生理食塩水、続いて4% PFA（最小10分/分50mL）で経心臓的に灌流した。生理食塩水/PFA灌流後、眼を収集した。後部眼カップを4% PFAで2時間固定し、連続スクロース勾配（10%、20%、30%）を介して移し、最適切断温度化合物（OCT）に埋め込み、凍結させた。

#### 【0217】

##### 硝子体注射

動物をイソフルランで鎮静させた。手術顕微鏡下、眼に32G針で硝子体中央部に挿入した。PSVue標識については、組織収集の6時間前に、2µlの1mM PSVueを眼に注射した。対側眼を、非注射対照として使用した。抗C1q処置のために、1µlの最適化されたマウス抗C1q抗体（Mab3、Mab1から最適化）またはIgG1 MOPC対照抗体（7.5µg/µl）を、光曝露の1日前に両側に注射し、ベースライン、3日目及び5日目に組織収集を行った。

#### 【0218】

##### ELISA

動物を生理食塩水で経心臓的に灌流し、眼を摘出した。網膜/RPEを単離し、秤量し、スナップ冷凍し、-80℃で保管した。溶解緩衝液（25mMのHepes、0.1MのNaCl、1%のTriton X100、完全なプロテアーゼ阻害剤カクテル；または10mMのEDTA及びTris緩衝生理食塩水中のThermo Scientific番号A32965）中のベストルモーターを使用して、凍結組織を均質化した。Micro BCAアッセイキット（Thermo Scientific番号23235）を使用して、タンパク質を定量化した。補体シグネチャを、標準的なサンドイッチELISAアッセイを使用して決定した。簡潔に述べると、黒色96ウェルELISAプレート（Costar番号3925）を、75µLの重炭酸塩緩衝液（pH9.4）中の10µg/mLの捕捉抗体で4℃で一晩コーティングした。翌日、プレートをdPBS（pH7.4）で洗浄し、3%ウシ血清アルブミン（BSA、VWR番号28382）を含有するdPBS緩衝液で遮断した。標準物及び試料を、アッセイ緩衝液（0.3%のBSA、0.1%のtween及び0.05%のEDTAを含有するdPBS）中で調製し、遮断溶液を除去した後、プレートに添加した（ウェル当たり75µL）。プレートを、4℃で一晩、300rpmで振とうしてインキュベートした。翌日、プレートを、洗浄緩衝液（0.05% Tweenを含有するdPBS）で3回洗浄し、検出抗体（ウェル当たり7

5  $\mu$ l) とともに、室温で1時間振とうしながらインキュベートした。インキュベーション後、プレートを、アルカリホスファターゼ基質 (Life Technologies、T2214) を添加することによって開発された洗浄緩衝液で3回洗浄し、ルミノメーターを使用して読み取った。PKアッセイについては、マウスC1q (M099、Complement Tech) 及びAPコンジュゲート抗マウス抗体 (115-055-071、Jackson ImmunoResearch) を、それぞれ捕捉抗体及び検出抗体として使用した。C1qアッセイについては、ハウス捕捉抗体 (JL1クローン、Atum) 及び検出抗体 (M1-AP、抗体溶液1:3000) を使用した。C1sアッセイは、抗マウスC1s (LSBio、2  $\mu$ g/ml) 及び抗マウスC1s-AP (LSBio、1:5000) を、それぞれ捕捉抗体及び検出抗体として使用して行った。C3dアッセイは、抗ヒトC3d (Dako、1  $\mu$ g/ml) 及び抗マウスC3 (11H9クローン、Abcam、1:1000) を、それぞれ捕捉抗体及び検出抗体として使用して行った。アルブミンアッセイは、キット (Abcam、ab108792) を用いて行った。標準は、4PLロジスティック適合を使用して適合させ、未知数は濃度に変換し、希釈について補正し、次いでGraphPad Prismを使用してプロットした。

10

【0219】

#### 免疫組織化学

動物を生理食塩水、続いて4% PFA (最小10分/分50ml) で経心臓的に灌流した。生理食塩水/PFA灌流後、眼を収集した。後部眼カップを4% PFAで2時間固定し、連続スクロース勾配 (10%、20%、30%) を介して移し、最適切断温度化合物 (OCT) に埋め込み、凍結させた。埋め込み後、クライオスタットを使用して10  $\mu$ mの厚さの切片を切断し、顕微鏡スライド (Superfrost plus、VWR) に連続して収集し、更に使用するまで-80°Cで保管した。組織学的染色のために、網膜切片をPBS中で洗浄し、遮断緩衝液 (4%口バ血清を含有するPBS、0.3% Triton X-100) 中で1時間遮断し、4°Cで一次抗体とともに一晩インキュベートした。翌日、切片を洗浄し、適切なAlexa-フルオロフォアコンジュゲート二次抗体 (ThermoFisher Scientific) で2時間インキュベートし、洗浄し、Fluoromount G (Southern Biotech) でカバースリップした。全ての洗浄工程は、PBS中で3×10分であった。核をDapiで対比染色した。以下の抗体：社内ウサギ抗C1q (クローン4.8、ATUM、1:500)、マウス抗bassoon (Abcam、1:500)、モルモット抗vGlut1 (Millipore Sigma、1:500)、ニワトリ抗homer1 (Synaptic System、1:500)、ヤギ抗Iba1 (Novus、1:500)、ラット抗CD68 (BioRad、1:200) を使用した。ウサギIgGアイソタイプ抗体 (ThermoFisher) を、C1q染色の陰性対照として使用した。落射蛍光顕微鏡 (Leica) を使用して10倍または20倍の倍率で、また共焦点顕微鏡法 (Leica、Stellaris 5) を使用して63倍の倍率で画像を捕捉した。画像は、ImageJを使用して処理した。

20

30

【0220】

#### C1qシナプス共局在化及び貪食分析

40

切片当たり2つのzスタック画像 (Zスタックサイズ: 0.7  $\mu$ m、12平面) を撮像し、動物当たり少なくとも3つの切片を分析した。各zスタックの3D体積表面レンダリングを作成した (Imaris Software)。関心領域として網膜OPLを選択した。表面レンダリング画像を使用して、ミクログリア表面及び体積、ならびにシナプス要素及びC1q要素を特定した。C1qタグ付きシナプスを近接性に基づいて定量化した (距離 $\leq$ 400  $\mu$ mのC1q及びbassoon要素)。貪食されたシナプスを、オーバーラップ (bassoon-Iba1オーバーラップ比 $\geq$ 70%) に基づいて定量化し、貪食されたC1qタグ付きシナプスの数/シナプスの総数として計算した。

【0221】

#### ホスファチジルセリン (PS) - C1q結合アッセイ

50

ホスファチジルセリン (PS) 及びホスファチジルコリン (PC) 脂質微粒子を、Echelon Biosciences (番号P-B1PS及びP-B1PC) から購入した。精製されたヒトC1qは、補体技術 (番号A099) から購入した。96 (96) ウェル透明丸底プレートをアッセイに使用した (VWR番号353227)。微粒子懸濁液を、製造業者の指示に従って調製した。簡単に述べると、微粒子を最初に徹底的に渦動させて、均一なビーズ懸濁液を保証した。アネキシンV結合緩衝液 (Thermo Fisher番号BMS500BB) 中で洗浄、希釈、滴定、及びインキュベーション工程を行った。全ての洗浄工程を10分間、10,000gの遠心分離速度で行った。ビーズを使用前に20倍希釈した。各試験点について、150µLのビーズ懸濁液 (約100,000ビーズ) を使用した。微粒子を2回洗浄し、結合緩衝液中に再懸濁した。1ウェル当たり50マイクロリットルを反応体積として考慮した。C1q滴定 (1:10希釈、100~0.1µg/mL) を結合緩衝液中で調製した。C1q及び脂質微粒子を1:1の比でウェルに添加し、37℃で30分間インキュベートした。インキュベーション後、微粒子を1体積のフロー緩衝液 (PBS、1% BSA、2mM EDTA) で2回洗浄した。上清をデカントし、抗C1q-APC (Dako、1:1000) を含有するフロー緩衝液 (ウェル当たり100µL) 中に微粒子を再懸濁し、4℃で30分間インキュベートした。インキュベーション後、微粒子を2回洗浄し、フロー緩衝液 (150µL) に再懸濁し、微粒子のための緑色チャンネル (FITC) 及びC1q結合のための遠赤色チャンネル (APC) を利用してフローサイトメトリーを介して分析した。

10

20

【0222】

補体沈着アッセイ

洗浄、希釈、滴定、及びインキュベーションステップを、GVB++緩衝液 (Complement Technology番号B100) 中で行った。PS及びPC脂質微粒子を2回洗浄し、各試験点について約100,000ビーズを考慮して、適切な体積で再懸濁した。ヒト血清滴定を、GVB++中で調製した。96 (96) ウェル透明丸底プレートをアッセイに使用した (VWR 353227)。GVB EDTA (Complement Technologies番号B105) を陰性対照緩衝液として使用した。反応混合物には、緩衝液 (GVB++またはGVB EDTA、+/-滴定抗C1q抗体) : 脂質微粒子 : ヒト血清が1:1:1の比で含まれ、最終体積は33.3µLであった。37℃で30分間インキュベーションした後、プレートをGVB++ (150µL) で2回洗浄した。微粒子を、抗C1q-APC (Dako、1:2000) または抗C4-APC (Dako、1:500) を含有するフロー緩衝液 (PBS、1% BSA、2mM EDTA) 中に再懸濁し、4℃で30分間インキュベートした。インキュベーション後、微粒子を2回洗浄し、フロー緩衝液 (150µL) に再懸濁し、微粒子については緑色チャンネル (FITC) 及びC1qまたはC4沈着については遠赤色チャンネル (APC) を利用してフローサイトメトリーを介して分析した。

30

【0223】

ヒトGADナー組織調達及び免疫組織化学

ヒトドナーの眼は、San Diego Eye Bank (California, USA) から死後24時間以内に得られた。全てのドナーの臨床記録及び家族アンケートを取得した。ヒトの眼を、一晚PBSに移すよりも、4%で2時間固定した。翌日、後眼カップをスクロース30%で24~48時間凍結保護した。次いで、直径6mmの解剖トレフィン (Biomedical Research Instruments, MD, USA) を使用して、黄斑を単離した同トレフィンを使用して、側頭部、鼻、上部領域及び下部領域を試料採取した。網膜試料をOCTに埋め込み、凍結した。埋め込み後、クライオスタットを使用して10µmの厚さの切片を切断し、顕微鏡スライド (Superfrost plus、VWR) に連続して収集し、更に使用するまで-80℃で保管した。ヒトドナー網膜切片の組織学的染色を、マウス試料について上記のように行った。以下の抗体を使用した：ウサギ抗ヒトC1q (Dako、1:500)、モルモット抗vGlut1 (Millipore Sigma、1:500)、鶏抗homer1 (Syn

40

50

aptic System, 1:500)。ウサギIgGアイソタイプ抗体(ThermoFisher)を、C1q染色の陰性対照として使用した。落射蛍光顕微鏡(Leica)を使用して10倍の倍率で、また共焦点顕微鏡法(Leica、Stellaris 5)を使用して63倍の倍率で画像を捕捉した。画像は、ImageJを使用して処理した。

#### 【0224】

##### 統計分析

全てのデータは、平均±標準偏差(SD)として示される。非対合スチューデントt検定、または一元配置分散分析(ANOVA)もしくは二元配置分散分析を使用して、GraphPad Prismを用いて統計分析を行い、続いてBonferroniまたはDunnettまたはSidakまたはTukeyの事後検定を行った。データは、平均±SDとして示す。全てのp値は、図の凡例に示され、0.05未満の場合に統計的に有意であるとみなされた。

10

#### 【0225】

##### 実施例2：光酸化光損傷モデルにおける視細胞シナプスの喪失及び小膠細胞症の増加

プレシナプスマーカーBassoonを使用してシナプスを同定し、落射蛍光を使用してシナプス密度を測定した。視細胞核列の数を、視細胞生存の尺度として使用した。Iba1(ミクログリアにおいて特異的に発現するカルシウム結合タンパク質)を、汎ミクログリア/マクロファージマーカーとして使用した。CD68(リソソームタンパク質)を使用して、反応性貪食ミクログリアを同定した。進行性視細胞シナプス及び細胞体喪失(図1A~1C)、ならびに増加したミクログリア反応性(図1D~1F)は、光酸化損傷後に観察された。特に、シナプス層における貪食ミクログリアの分布は、有意なシナプス喪失が最初に観察されたのと同じ時点の1日目にピークに達した(図1E)。

20

#### 【0226】

##### 実施例3：視細胞変性の光酸化光損傷モデルにおける、視細胞シナプス上のC1qレベルの上昇は、視細胞シナプスの喪失と相関する

開始古典的補体成分C1q及びC1s、ならびに下流活性化生成物C3dのレベルの増加が、標準ELISAによって光曝露された動物由来の網膜溶解物で観察された(図2A~2C)。次に、免疫蛍光によって網膜C1q分布を調査した。図2Dに示されるように、C1q(i)は、Iba1(iii)及びBassoon(iv)と共局在し、ミクログリア/マクロファージにおけるC1q発現及びシナプス上の発現/沈着を確認した。C1q発現と視細胞シナプス密度との間に有意な負の相関が観察され(図2G、ピアソン $r = -0.72$ 、 $p = 0.00003$ )、因果関係を示唆した(図2E)。

30

#### 【0227】

##### 実施例4：光酸化損傷後の視細胞C1qタグ付きプレシナプス要素のミクログリア貪食

C1qタグ付きシナプスのミクログリア貪食を評価するために、我々は、C1q、Bassoon及びIba1について、ナイーブ及び光曝露マウスからの網膜切片をトリプル標識した(図3A)。共焦点顕微鏡を使用して、高解像度撮像を行った。貪食分析は、3D再構成及び表面レンダリングソフトウェアを使用して行った(図3B)。シナプス密度の顕著な低減(図3C)は、ナイーブと比較して、光損傷した網膜におけるC1qタグ付きシナプスのパーセンテージの有意な増加(図3D)及びミクログリア貪食C1qタグ付きシナプスの有意な増加(図3E)と関連付けられた。

40

#### 【0228】

##### 実施例5：ホスファチジルセリンはC1qに結合し、光酸化光損傷後に視細胞シナプス上に外部化される

PS曝露が疾患中に視細胞シナプスで生じるかどうかを試験するために、光損傷モデルにおいてPS結合プローブPSVue(PSVue 550)のIVT投与を行った(Scott-Hewitt Net al, The EMBO Journal, 2020)。網膜組織を処理し、光曝露後3日目にIHCを使用して分析した。PSVue標識の増加は、ナイーブと比較して、光損傷した網膜のOPL及びONLで検出可能であった

50

(図4A)。高解像度共焦点イメージング及び3D再構成／表面レンダリングは、C1q及びBassoonとのPSVue標識の共局在を確認した(図4A)。特に、PSVue陽性表面は、サンドイッチ様式でBassoon及びC1q陽性表面の両方に近接して現れ(図4A iii)、シナプス上のPS外部化及びC1q相互作用を示す。

#### 【0229】

PSがC1qに直接結合し、補体カスケードを活性化するかどうかを評価するために、C1q結合及び補体沈着アッセイを、PS-脂質-緑色-蛍光-微粒子を使用して行った。ホスファチジルコリン(PC)-脂質-緑色-蛍光微粒子を陰性対照として用いた。PCではなくPS脂質微粒子へのC1qの直接結合は、10ng/mLの濃度でのC1qとのインキュベーション後に観察された(図4B)。C1qとC4の両方の沈着は、PS脂質微粒子上で観察されたが、PC脂質微粒子上では観察されなかった。陰性対照群ではほとんどまたはまったく沈着が観察されなかった(図4C及びD)。血清内での抗C1q中和抗体(Mab1-Fab)の滴定は、PS脂質微粒子上でのC1q及びC4の沈着の低減をもたらした(図4E及び4F)、これは、抗C1q抗体の競合結合が、PS媒介性補体活性化を低減したことを示唆する。

#### 【0230】

実施例6：抗C1q硝子体内処置は、光酸化光損傷後の網膜補体成分レベルを低減した中和最適化マウス抗C1q抗体(Mab3、Mab1から最適化)の硝子体内投与を、光損傷への曝露の1日前に行った。検出可能な薬物レベル及び選択された補体成分レベルを、光損傷後3日目に標準ELISAによって評価した。測定可能な薬物レベルは、抗C1q処置を受けた動物由来の網膜溶解物において見出されたが、IgG1処置群または未処置群においては見出されなかった(図5A)。古典的補体成分C1q及びC1s、ならびに下流活性化成分C3dのレベルの増加は、ナイーブと比較して、未処置及びIgG処置の光曝露動物の両方からの網膜溶解物において確認された(図5B～5D)。IgG抗体と比較して、抗C1q処置後にC1q、C1s及びC3dの有意な減少が観察された(図5B～5D)。妥当性検証試験は、標的エンゲージメントを確認し、処置後の神経保護を評価する。

#### 【0231】

実施例7：ヒトGAドナー網膜における視細胞シナプス上のC1q発現及び沈着

GAドナーの眼を調達し、網膜層にわたるC1q分布の組織学的評価を行った。シナプスの完全性を、GAドナーの黄斑領域、対健康なドナー網膜における免疫蛍光によって評価した。プレシナプスマーカーVglut1の免疫反応性の低減及び視細胞シナプス層におけるC1qの標識の増加により、健康なドナーと比較して、GA網膜で生じるシナプスの喪失及びC1qの蓄積が確認された(図6A～6B)。最後に、C1q(灰色)、プレシナプスマーカーVglut1及びポストシナプスマーカー(Homer1)のトリプル免疫標識により、ヒトGAドナー網膜における視細胞シナプスとのC1qの共局在が確認された(図6C)。

#### 【0232】

実施例8：非臨床試験におけるFabAの評価

FabA医薬品は、IVT注射用の無菌等張液である。

#### 【0233】

FabAは、IVT注射用の無菌単回投与バイアルとして提供する。

#### 【0234】

FabAを用いて、広範囲にわたる一連のインビトロ及びインビボ薬理学試験を実施した。

#### 【0235】

抗体Mab1、Mab1-Fab及びMab2は、急性の緑内障マウスモデルにおいて活性であり、網膜神経節細胞及び／または神経線維を欠損から保護した。光酸化光誘発損傷モデルのマウスでは、硝子体内に投与したMab1は、眼内における視細胞欠損及び網膜の機能的結合性に対する保護効果があった。

## 【0236】

F a b A の G L P 試験は、単回投与ラット眼毒性試験、及び3回の反復投与カニクイザル眼毒性試験からなる。毒性試験のための投与経路は、I V T 注射であった。単回投与及び2回投与（毎月1回）のI V T G L P 試験において、カニクイザルにおける毎月1回、5 m g / 眼（ヒト用量10 m g に相当する）、及び単回投与ラット試験における0.05 m g / 眼（ヒト用量10 m g に相当する）の無毒性量（N O A E L）では、F a b A は有害な眼毒性の根拠を示していない。カニクイザルにおける26週間慢性眼毒性試験では、有害な眼の変化を、2回の注射手順と関連付け、及び／または抗薬剤抗体（A D A）媒介のものであり、F a b A I V T 投与の直接的な作用ではないと決定した。

## 【0237】

ラット及びカニクイザルの血清及び硝子体におけるF a b A の薬動力学評価を実施した。硝子体内のC 1 q 濃度を、サルにおけるF a b A のC 1 q 阻害のP D マーカーとして測定した。サルにおけるP K / P D 試験及びT K / P D 試験により、硝子体におけるF a b A 薬剤曝露レベルと一致して、確固たる眼へのP D 作用が示された。

## 【0238】

F a b A 及び前駆体分子の、ヒトC 1 q への結合及び親和性

F a b A 及び前駆体分子の、C 1 q への結合親和性も、E L I S A によって調査した。全ての分子（M a b 2 - F a b 、F a b A 、及びM a b 2 、M a b 1 、及びM a b 1 - F a b ）は、ヒトC 1 q に対する親和性を示し、2.2 ~ 4.9 n g / m L （20 ~ 95 p M ）の範囲の50 % 効果濃度（E C 50）を有した。C 1 q へのF a b A 結合のE C 50 は、2.5 n g / m L である。

## 【0239】

I g M 媒介性赤血球溶血への作用

ヒト血清中のI g M オプソン化R B C の古典的な補体依存性溶血を機能的に阻害するF a b A 、M a b 2 、及びM a b 2 - F a b の活性を測定した（図9）。3分子はほとんど同一の力価を示し、これは同等の結合親和性と一致している。I g M 被覆R B C 溶血に対する、F a b A 阻害の50 % 阻害濃度（I C 50）は、0.62 µ g / m L （約12 n M ）である。

## 【0240】

インビボ薬理学試験

急性の緑内障マウスモデルにおける、抗C 1 q 抗体処置の視神経損傷予防

マウスにおいて、前眼房内へのポリスチレンビーズの注射によって、2週間にわたって、I O P の急上昇、網膜の神経節細胞の欠損、及び視神経損傷を引き起こす。M a b 1 、M a b 1 - F a b 及びM a b 2 を、I O P 上昇の前日及び7日後にマウスに硝子体内投与した。2 µ L の10 m g / m L の抗体または生理食塩水を、各時点で投与した。マウスの眼の5 ~ 10 µ L の硝子体体積を基準として、抗体の濃度は、2000 ~ 4000 µ g / m L であった。損傷後2週間で視神経を収集し、無傷の軸索、及び損傷を受けた軸索の数を定量化した。抗C 1 q 抗体処置は、この緑内障の誘導マウスモデルにおいて、R G C 損失及び／または網膜神経線維損傷に対する保護をもたらした（図10）。

## 【0241】

光酸化光誘発損傷モデルにおける、抗C 1 q 抗体処置の視細胞損傷からの保護

マウスを、天然白色L E D の100,000ルクスに1 ~ 7日間曝露したとき、光酸化損傷により網膜の視細胞欠損がもたらされた。このモデルでは、視細胞死及びミクログリア／マクロファージリクルートメントと相関する、3 ~ 7日にわたる時間依存的なC 1 q a 遺伝子発現の増大があった。C 1 q a - / - マウスは、光損傷誘発の7日後には示さなかったが、14日後の時点で、より少ない視細胞死、視細胞損傷に対するミクログリア／マクロファージ動員の低減、及びより高い視覚機能を示した。光損傷後7日目のM a b 1 抗体のI V T 投与は、視細胞の喪失を低減し、網膜電図によって測定されたように網膜機能を維持した（図11）。マウスに1 µ L の7.5 m g / m L の抗体を投与し、これは硝子体内での750 ~ 1500 u g / m L の濃度に相当する。これに対して、0、4及び8

10

20

30

40

50

日目における、 $100\text{ mg/kg}$ でのMab1の全身送達は、視細胞の欠損または機能に効果がなかった。網膜C1qは、初期のAMDにおける外側の網膜、及びマウス網膜に位置する網膜下のミクログリア／マクロファージによって主に発現した。したがって、抗C1q抗体による保護は、ヒト疾患のGAの病因における、視細胞損傷及び古典的補体カスケードの開始についてのC1qの明確な役割を示唆している。

#### 【0242】

##### 安全性薬理学

26週間のカニクイザルへの、慢性IVT投与に続く全身曝露は、 $86.3\text{ ng/mL}$ を超えず、一方で26週間のカニクイザル試験における、毎週1回のIV投与による同一CDRを有するMab2の全身曝露は、 $200\text{ mg/kg}$ のNOAELで $1\text{ mg/mL}$ を超えた。

10

#### 【0243】

したがって、IV投与後の全長抗体、Mab2の安全性薬理学エンドポイントは、サルでの4週間反復投与GLP毒性試験において毎週最大 $200\text{ mg/kg}$ 、及びサルでの26週間反復投与毒性試験において毎週最大 $200\text{ mg/kg}$ であり、心臓血管系、呼吸器系、または神経系エンドポイントへの治療関連作用の根拠はなく、IVT投与したFabAの全身安全性を裏付けた。

#### 【0244】

追加的に、SC投与後のFabAの安全性薬理学エンドポイントは、サルでの4週間反復投与GLP毒性試験において毎日最大 $20\text{ mg/kg}$ であり、心臓血管系、呼吸器系、または神経系エンドポイントへの治療関連作用の根拠はなく、IVT投与したFabAの全身安全性を裏付けた。

20

#### 【0245】

##### 動物における薬物動態

FabAのPK、TK及びPDを特性決定するように設計した非臨床試験を、ラット及びカニクイザルにおいて実施した。これらの試験には、FabAを用いた、ラット及びカニクイザルにおける単回投与IVT PK試験と、カニクイザルにおける反復投与TK／PD試験とが含まれる。より大規模なTK／PD試験をサルにおいて実施し、ラットまたはサルのいずれの単回投与試験においても眼毒性はなかった。

#### 【0246】

30

##### 薬物動態／毒物動態／薬力学分析

##### 硝子体内のFabAの薬物動態

ラットに、 $0.01\text{ mg/眼}$ （ヒト用量 $2\text{ mg}$ に相当する）、または $0.05\text{ mg/眼}$ （ヒト用量 $10\text{ mg}$ に相当する）の用量で、両側のIVTにFabAを単回投与し、その後、両方の用量レベルで、薬剤は、約12時間の半減期と一致して硝子体から比較的早く排除された。カニクイザルでも両側のIVTにFabAを投与した。薬剤は、 $1\text{ mg/眼}$ （ヒト用量 $2\text{ mg}$ に相当する）及び $5\text{ mg/眼}$ （ヒト用量 $10\text{ mg}$ に相当する）の両方の投与群で、約3日の半減期を伴い、ラットと比較してゆっくりと硝子体から分配された。

#### 【0247】

両方の種において、FabAのIVT PKは、用量に対して線形であった。FabAを、 $1.0\text{ mg/眼}$ （ヒト用量 $2\text{ mg}$ に相当する）、 $2.5\text{ mg/眼}$ （ヒト用量 $5\text{ mg}$ に相当する）、または $5.0\text{ mg/眼}$ （ヒト用量 $10\text{ mg}$ に相当する）の用量で、28日の期間にわたって2回投与した、カニクイザルにおける眼毒性試験からのデータは、殺時（すなわち、2回目の投与後15日及び30日）の硝子体濃度が、単回IVT投与からのデータと通常一致していたことを示している。

40

#### 【0248】

FabAを、毎月 $2.5\text{ mg/眼}$ （ヒト用量 $5\text{ mg}$ に相当する）、毎月 $5\text{ mg/眼}$ （ヒト用量 $10\text{ mg}$ に相当する）、または隔週 $5\text{ mg/眼}$ （いずれの $5\text{ mg/眼}$ の用量も、その後 $2.5\text{ mg/眼}$ に減らし、 $5/2.5\text{ mg/眼}$ と称する）でIVTに投薬したカニクイザルにおける26週間慢性眼毒性試験では、硝子体液FabA濃度は、169日目を通

50

して F a b A を受けた全ての動物では、184 日目に定量化可能であり、全ての動物において、10 週間の投与のない回復期間後の 242 / 243 日目には、定量化限界 (B Q L) より低かった。硝子体液 F a b A 濃度は、高い変動性を示し、投与群間または性別間で明確な差または傾向はなかった。

【0249】

血清中の F a b A の薬物動態

単回 I V T 投与後、血清濃度は硝子体液濃度よりもはるかに低く、 $C_{max}$  血清 /  $C_{max}$  硝子体は、ラットにおいて約 0.003、カニクイザルにおいて 0.000001 であった。28 日の期間にわたって両側の I V T に F a b A を 2 回投与したカニクイザルでは、血清濃度は低く、最も高い平均値ピーク濃度 ( $C_{max}$ ) は  $10.1 \text{ ng/mL}$  であり、それは 2 回目の  $5 \text{ mg/眼}$  (ヒト用量  $10 \text{ mg}$  に相当する) の I V T 投与後に観察された。F a b A が硝子体から血清コンパートメントに分配されるとき、F a b A は、C1q に結合する、または遊離形態のままでアッセイで定量化可能であることができ、 $1 \text{ mg/眼群}$  では定量化できない (すなわち、 $<1.25 \text{ ng/mL}$ )、ならびに  $2.5$  及び  $5.0 \text{ mg/眼}$  の群ではそれぞれ  $3.3$  及び  $10.1 \text{ ng/mL}$  の平均  $C_{max}$  である、低い F a b A 血清濃度をもたらす。

10

【0250】

これに対して、 $10 \text{ mg/kg}$  の用量での F a b A の I V 投与後には、試験した 2 匹のカニクイザルで、F a b A 最大濃度は  $13800$  及び  $17000 \text{ ng/mL}$  であり、濃度はその後、F a b 断片で予期したように、約 2 時間の半減期と一致して極めて迅速に低下した。

20

【0251】

4 週間にわたって週 1 回、 $200 \text{ mg/kg}$  の用量で M a b 2 の全身 I V 投与を行った後に対して、28 日の期間にわたって 2 回の両側の I V T 投与 ( $5 \text{ mg/眼}$ ) 後の血清 F a b A 濃度を比較すると、F a b A 血清曝露は著しく低かった ( $0.00000701$  の F a b A / M a b 2 の  $C_{max}$  比率)。

【0252】

カニクイザルにおける 26 週間の慢性眼毒性試験では、F a b A を、毎月  $2.5 \text{ mg/眼}$ 、毎月  $5/2.5 \text{ mg/眼}$ 、または隔月で  $5/2.5 \text{ mg/眼}$  の用量で I V T に投与した。血清中の F a b A 全身性曝露は低く、局所的投与経路と一致した。85 日目の F a b A 血清濃度は  $86.3 \text{ ng/mL}$  を超えず、最後の投与後の 169 日目においては、F a b A 血清濃度は  $60.8 \text{ ng/mL}$  を超えなかった。用量レベル/レジメン及び評価日を問わず、投与後 24 ~ 48 時間で最大血清 F a b A 濃度を観察した。血清中の F a b A の半減期 ( $T_{1/2}$ ) 値は、隔週  $5/2.5 \text{ mg/眼}$  の投与群の動物における少数の例においてのみ算出可能/報告可能であり、全ての評価日で 49.9 ~ 143 時間の範囲であり、眼の腔から血清への分配の可能性を表している。 $2.5 \text{ mg/眼}$  での毎月の反復 I V T 投与では、血清中の F a b A の蓄積はほとんどなかった。しかしながら、1 日目後の各後続評価日に、この群においてますます多くの計算可能な F a b A 血清濃度が存在した。57 日後の用量レベルの変化に起因して、任意の他の群において 1 日目から蓄積を決定することができなかった。169 日目/85 日目の時間「t」に対する曲線下面積 ( $AUC [0-t]$ ) 比率は、毎月 1 回の  $5/2.5 \text{ mg/眼}$  を投与した雄及び雌では  $0.0407 \sim 0.664$  の範囲であり、隔週の  $5/2.5 \text{ mg/眼}$  を投与した雄及び雌では  $0.132 \sim 7.15$  の範囲であった。カニクイザルにおける慢性 26 週間投与後の F a b A 及び M a b 2 の性別を合わせた平均全身性曝露を比較するとき、隔週  $5/2.5 \text{ mg/眼}$  での両側の I V T 投与後の F a b A 曝露  $AUC_{0-t} (1, 230 \text{ hr} * \text{ng/mL}$  または  $1.23 \text{ hr} * \mu\text{g/mL})$  は、M a b 2 の毎週 1 回の全身性 I V 投与後に得られた、 $200 \text{ mg/kg}$  の  $AUC_{0-t} (3, 150, 000 \text{ hr} * \mu\text{g/mL})$  と比較して、F a b A 血清曝露は著しく低かった ( $0.000000073$  の F a b A / M a b 2 の  $C_{max}$  比、 $0.00000039$  の  $AUC_{0-t}$  比)。

30

40

【0253】

50

## 眼の C 1 q の薬力学

対照動物における平均硝子体遊離 C 1 q 濃度は、 $40.3 \text{ ng/mL}$  であり、一方で  $1 \text{ mg/眼}$  (ヒト用量  $2 \text{ mg}$  に相当する)、または  $5 \text{ mg/眼}$  (ヒト用量  $10 \text{ mg}$  に相当する) のいずれかの F a b A の I V T 単回投与を受けたカニクイザルの硝子体では、遊離 C 1 q 濃度は、試験期間 (30 日) の間、検出限界 ( $< 1.953 \text{ ng/mL}$ ) より低く、完全な C 1 q 抑制を示した。F a b A を、合計 2 回の投与で 28 日毎に受けたサルでは、2 回目の投与後、3 種の用量レベル (すなわち、1、2.5 及び  $5 \text{ mg/眼}$  を 28 日毎に 2 回投与) 全てにおいて、C 1 q は 15 日間抑制されたままであった。2 回目の F a b A 投与の 30 日後、C 1 q は、全ての眼ではないが、一部の眼で検出限界より低いままであった。

10

### 【0254】

2 回目の  $5 \text{ mg/眼}$  の I V T 投与の 15 日後、C 1 q の  $> 80\%$  は、網膜、脈絡膜及び視神経乳頭内の F a b A に結合していた。2 回目の  $5 \text{ mg/眼}$  の投与の 30 日後、C 1 q は、網膜及び脈絡膜においてのみ抑制されたままであった。

### 【0255】

カニクイザルにおける 26 週間の慢性眼毒性試験では、F a b A を、毎月  $2.5 \text{ mg/眼}$ 、毎月  $5/2.5 \text{ mg/眼}$ 、または隔週  $5/2.5 \text{ mg/眼}$  で I V T に投薬した。F a b A を受けた全ての群において、殺剖検で硝子体液 C 1 q 濃度の低下があった。投与の休みを設けた及び/または 10 週間の投与のない回復期間後の動物はそれぞれ、殺剖検及び回復後の剖検で、硝子体液 C 1 q 濃度が回復し、対照群と同等だった。

20

### 【0256】

#### 血清 C 1 q 及び血清溶血の阻害

カニクイザルへの  $5 \text{ mg/眼}$  (ヒト用量  $10 \text{ mg}$  に相当する) の両側の I V T 投与後に、C 1 q 依存性血清溶血は約  $50 \sim 80\%$  阻害され、1 回目の I V T 用量の投与後、およそ  $24 \sim 48$  時間持続し、2 回目の F a b A 用量の投与後、最大 96 時間持続し、その後ベースラインに戻った。

### 【0257】

カニクイザルへの  $10 \text{ mg/kg}$  の単回 I V 投与後、1 時間で、最大の C 1 q 依存性血清溶血の阻害に達した。最大阻害は約 24 時間維持され、F a b A 投与の 120 時間後、ベースラインに戻った。無血清 C 1 q も迅速に減少したが、120 時間までにベースライン値に戻らず、それにより、一部の F a b A は、この時間枠を通じて循環している C 1 q に結合したままだったことが示唆される。

30

### 【0258】

#### 毒性学

F a b A の安全性は、臨床試験における I V T 投与用の F a b A 使用を裏付けるように設計された、包括的な非臨床的眼毒性学プログラムによって裏付けされる。ラット及びカニクイザルで、F a b A を用いた初回の単回投与試験を実施し、これらの種のいずれにおいても眼毒性は観察されなかった。ラット及びサルでの同様の所見、及びインビトロ薬理学データ、サルがラットよりも重要であることを示した及び配列相同性データに基づいて、F a b A の反復投与眼毒性試験にカニクイザルを選択した。

40

### 【0259】

反復投与眼毒性試験には、検眼 (O E)、I O P、網膜電図 (E R G)、眼の組織病理学、ならびに T K 分析用の血清及び硝子体内の F a b A 測定が含まれた。追加的に、F a b A の P D 特性は、硝子体内の C 1 q (全て反復投与試験)、及び眼組織 (2 回投与試験)、及び血清中の C 1 q 依存性溶血の阻害 (2 回投与試験) の測定によって決定した。

### 【0260】

#### 単回投与の毒性

F a b A の I V T 投与は、単回投与 (ラット及びカニクイザル) 眼毒性試験における忍容性が良好であった。これらの試験において、ラット及びカニクイザルの N O A E L は、それぞれ  $0.05 \text{ mg/眼}$  (ヒト用量  $10 \text{ mg}$  に相当する) 及び  $5 \text{ mg/眼}$  (ヒト用量  $1$

50

0 mg に相当する) であると考えられ、これらは各試験において評価した最大用量であり、硝子体体積 (ラット 0.02 mL、サル 2 mL) 用に補正した場合と同等 (2.5 mg/mL) である。

#### 【0261】

スプラーグドーリーラットにおける、硝子体注射による FabA の GLP 単回投与眼毒性試験

この単回投与 GLP ラット眼毒性試験では、若年成体の雄ラットに、ビヒクルまたは FabA を、0.01 mg/眼 (ヒト用量 2 mg に相当する)、及び 0.05 mg/眼 (ヒト用量 10 mg に相当する) の用量で、IVT 注射によって両側に 1 回投与した。FabA 処置済み動物を、1 日目 (投与の 6 時間後)、3 日目、7 日目、10 日目、20 日目、30 日目に 殺し、全てのビヒクル対照動物を 30 日目に 殺した。全ての動物は予定の剖検まで生存した。 10

#### 【0262】

この試験には、標準的な安全性パラメータが含まれた。血液サンプルを 殺時に収集し、TK 分析用に 殺時の硝子体サンプルを得た。追加的に、IOP を含む眼科検査 (OE)、及び眼の組織病理学を評価した。

#### 【0263】

OE、IOP 及び眼の組織病理学を含む、評価を行ったいかなる安全性パラメータにおいても、FabA に関連する変化は認められなかった。

#### 【0264】

FabA への硝子体曝露を、0.01 mg/眼 (ヒト用量 2 mg に相当する)、及び 0.05 mg/眼 (ヒト用量 10 mg に相当する) の両方で、投与後 6 時間 (初回の収集) ~ 144 時間、処置した動物において、TK で確認した。FabA への血清曝露を、0.01 及び 0.05 mg/眼で処置した動物 (投与後 2 ~ 48 時間のみ) において、TK で確認した。 20

#### 【0265】

FabA に関連すると考えられる副作用は、この試験において観察した、評価した最大用量である 0.05 mg/眼を含め、いかなる用量レベルにおいても観察されなかった。これらの結果に基づき、NOAEL は、0.05 mg/眼 (硝子体内の 2.5 mg/mL) であった。 30

#### 【0266】

カニクイザルにおける、硝子体注射による FabA の非 GLP 単回投与眼毒性試験

この単回投与非 GLP カニクイザル眼毒性試験では、若年成体の雌カニクイザルに、ビヒクルまたは FabA を、1 mg/眼 (ヒト用量 2 mg に相当する)、及び 5 mg/眼 (ヒト用量 10 mg に相当する) の用量で、IVT 注射によって両側に投与した。FabA 処置済み動物を、1 日目 (投与の 6 時間後)、3 日目、7 日目、10 日目、20 日目、30 日目に 殺した。全てのビヒクル対照動物を 30 日目に 殺し、全ての動物は予定の剖検まで生存した。

#### 【0267】

この試験では、OE、IOP 及び眼の組織病理学を含む標準的な安全性パラメータを評価した。追加的に、試験全体にわたって血液サンプルを収集し、TK 及び PD のために、殺時の硝子体サンプルを分析した。 40

#### 【0268】

FabA に関連する変化は、炎症を伴わない、有害でない所見に限られていた。これらの所見には、1 mg/眼の投与群での、ブドウ膜における組織球浸潤及び軽度の好塩基球増加が含まれた。5 mg/眼の用量での所見は、ブドウ膜における組織球浸潤及び最小から軽度の好塩基球増加で構成された。

#### 【0269】

OE 及び IOP においては、FabA に関連する変化は観察されなかった。この試験において、FabA に関連すると考えられる副作用は、5 mg/眼 (評価した最大用量) を 50

含め、いかなる用量レベルにおいても観察されなかった。これらの結果に基づき、NOAELは、5mg/眼（硝子体内の2.5mg/mL）であると考えられた。

【0270】

硝子体におけるFabAへの曝露を、全ての処置動物において、試験の間（30日目を通して）、TKで確認した。FabAへの血清曝露は、1mg/眼では存在せず、5mg/眼では低いかつ一時的現象であり、6ng/mL（LLOQ 1.25ng/mL）を超えなかった。Clqは、全てのFabA処置動物の硝子体内に、30日目を通して存在しなかった。

【0271】

反復投与毒性試験

反復投与眼毒性試験では、少なくとも4週間毎に1回、IVT注射によってFabAを投与した。カニクイザルにおけるFabAの反復投与は、忍容性が良好であった。初回の反復投与GLP眼毒性試験では、カニクイザルのNOAELは、評価した最大用量である、毎月の2回投与での5mg/眼（ヒト用量10mgに相当する）であった。カニクイザルにおける26週間慢性眼毒性試験では、有害な眼の変化を、2回の注射手順と関連付け、及び/またはADA媒介のものであり、FabAのIVT投与の直接的な作用ではないと決定した。したがって、NOAELは、カニクイザルにおける隔週または毎月1回、それぞれ13回または7回の投与で、2.5mg/眼（ヒト用量5mgに相当する）であると決定した。

【0272】

カニクイザルにおける、硝子体注射によるFabAの6週間GLP反復投与眼毒性試験

この試験には標準的な安全性パラメータが含まれ、試験を通じて血液サンプルを収集した。TK及びPD分析用に 殺時の硝子体サンプルと、TK及びPD分析用に 殺時の視神経切片も同様に収集した。追加的に、OE、IOP、ERG及び眼の組織病理学も評価した。

【0273】

有害でないと決定したFabAの所見は、1回の高い用量（2.5mg/眼）（ヒト用量5mgに相当する）の雌に限られており、この雌は、炎症を伴わない硝子体の最小の好塩基性/青色染色を有した（好塩基球増加と呼ばれる）。重要なことに、OE、IOP及びERGでは、FabAに関連する変化は認められなかった。全ての処置動物の硝子体におけるFabAへの曝露を、試験及び回復の間（最後の投与から30日目後）、TKによって確認した。

【0274】

血清曝露は、1mg/眼（ヒト用量2mgに相当する）では測定可能ではなく、2.5mg/眼（ヒト用量5mgに相当する）では低いかつ一時的（最初の投与から12～48時間後、最後の投与から6～168時間後）であり、8ng/mL（LLOQ 1.25ng/mL）を超えなかった。FabA濃度が約100ng/mLであったとき、全ての処置動物の硝子体内にClqが存在しないことを、PDによって確認した。FabAのADAを、1mg/眼（ヒト用量2mgに相当する）（12匹の動物のうちの6匹）及び2.5mg/眼（ヒト用量5mgに相当する）（12匹の動物のうちの7匹）の用量の動物において検出したが、血清または硝子体内のFabA曝露への、ADAの明確な影響はなかった。

【0275】

カニクイザルにおける、硝子体注射によるFabAの6週間GLP反復投与眼毒性試験

この6週間GLPカニクイザル眼毒性試験では、若年成体の雄及び雌カニクイザルに、ビヒクルまたはFabAを、5mg/眼（ヒト用量10mgに相当する）の用量で、4週間毎（1日目及び29日目）にIVT注射によって両側に投与し、続いて4週間の回復期間を与えた。全ての主要な試験動物を44日目に 殺し、全ての回復動物を59/60日目に 殺した。全ての主要な試験動物及び回復動物は予定の剖検まで生存した。

【0276】

10

20

30

40

50

この試験には標準的な安全性パラメータが含まれ（全身の組織病理学を除く）、試験を通じて血液サンプルを収集し、TK及びPD分析用に 殺時の硝子体サンプルも同様に収集した。ADA及び房水のサンプルを収集し、保存した。追加的に、OE、IOP、ERG及び眼の組織病理学も評価した。

#### 【0277】

OE、IOP、ERG及び眼の組織病理学を含む、評価を行いたいかなる安全性パラメータにおいても、FabAに関連する変化は認められなかった。炎症を伴わない、硝子体の最小から軽度の好塩基性／青色染色（好塩基球増加と呼ばれる）を処置動物及び対照動物の両方で観察し、したがってFabAに関連しないとみなした。

#### 【0278】

全ての処置動物の硝子体におけるFabAへの曝露を、試験及び回復の間（最後の投与から30日目後）、TKによって確認した。対照動物の血清及び硝子体にはFabAが存在しないことを確認した。全ての処置済みの主要な試験動物において、44日目に硝子体内にC1qが存在しないことをPDによって確認した。59日目に、回復動物4匹のうち2匹は、硝子体内に測定可能なC1qを有した。FabAのADAを、5mg／眼（ヒト用量10mgに相当する）の投与群の動物（10匹の動物のうちの9匹）において検出したが、血清または硝子体内のFabA曝露への、ADAの明確な影響はなかった。

#### 【0279】

C1q依存性溶血の>80%阻害は、FabA投与の24～48時間後に達成され、その後ベースラインに戻った。

#### 【0280】

44日目に、網膜、脈絡膜及び視神経乳頭内のC1q濃度も顕著に低下し、59日目には網膜及び脈絡膜内で低減し続けたが、視神経乳頭では低減しなかった。

#### 【0281】

この試験において、FabAに関連すると考えられる副作用は、5mg／眼（ヒト用量10mgに相当する）（評価した最大用量）を含め、いかなる用量レベルにおいても観察されなかった。これらの結果に基づき、NOAELは、5mg／眼（ヒト用量10mgに相当する）（硝子体内の2.5mg／mL）であった。

#### 【0282】

カニクイザルにおける、10週間の回復期間を設けた、硝子体注射によるFabAの26週間GLP反復投与眼毒性試験

この26週間GLPカニクイザル眼毒性試験では、若年成体の雄及び雌カニクイザルに、ビヒクルまたはFabAを、毎月1回、2.5mg／眼（ヒト用量5mgに相当する）、毎月1回、5mg／眼（ヒト用量10mgに相当する）及び隔週で1回、5mg／眼の用量で、IVT注射によって両側に投与し、続いて10週間の回復期間を与えた。2.5mg／眼に相当した50µLの単回注射、あるいは合計100µLとなる2回注射（10分間隔の2回の50µL注射は、5mg／眼に相当した）は、2週間毎（13回の投与期間）または4週間毎（7回の投与期間）に行った。全ての主要な試験動物を184日目に

殺し、全ての回復動物を242／243日目に 殺した。全ての主要な試験動物及び回復動物は予定の剖検まで生存した。

#### 【0283】

対照群、毎月1回の5mg／眼（ヒト用量10mgに相当する）の投与群、及び隔週の5mg／眼の投与群の動物に、投与しない日または投与停止が発生した。これらの群における2回注射は、OEにより検出された有害な所見のために停止し、これは手順及び高い用量体積に関連するとみなした。試験の71日目から、毎月1回、5mg／眼の投与群に、毎月1回、2.5mg／眼（ヒト用量5mgに相当する）を投与し（毎月1回、5／2.5mg／眼と称する）、更に隔週、5mg／眼の投与群に、隔週で2.5mg／眼を投与した（隔週で5／2.5mg／眼と称する）。これらの投与群（対照群を含む）において、2回注射を停止した後、投与しない日を継続した。2回注射の停止は、後述のように手順及び／またはADAに関連した。毎月1回、2.5mg／眼の投与群（低用量群）に

10

20

30

40

50

は投与しない日はなかった。

【0284】

この試験には標準的な安全性パラメータが含まれ（全身の組織病理学を除く）、試験を通じて血液サンプルを収集し、TK及びPD分析用に 殺時の硝子体サンプルも同様に収集した。ADA及び房水のサンプルを収集し、保存した。追加的に、OE、IOP、ERG、眼の組織病理学、及び眼球内に沈着した免疫複合体検出のための免疫組織化学（IHC）を評価した。

【0285】

体重、摂餌量、網膜電図検査、眼圧測定及び臨床上の病態において、FabA関連の変化は認められなかった。

【0286】

FabAに関連すると考えられる眼の臨床上の徴候及び眼の検査所見は、眼球の混濁（おそらく、前眼房、水晶体包被膜及び／または後眼房における混濁のため）ならびに細胞及び／または色素の存在に限定されていた。血清中にADAが検出されなかった動物（群2動物12匹のうちの4匹、群3動物12匹のうち2匹及び群4動物12匹のうち2匹）におけるこれらの所見の存在は、FabAとの関連を示している。ADA及び潜在的に免疫複合体沈着に関連するとみなされる所見は、より重度となる傾向があり、房水フレア、及び硝子体混濁の存在、瞳孔対光反射の変化、及び網膜血管の減衰が含まれた。

【0287】

雄及び雌のサルへのFabAのIVT投与後に、血清FabA濃度で測定される全身曝露は一時的で低く、85日目の投与後に86.3 ng/mL、または169日目の最後の投与後に60.81 ng/mLを超えなかった。FabAを受けたほとんど全ての処置動物において、169日目を通して、FabAへの曝露をTKによって確認したが、これは投与しない日を設けた一部の動物を除いて、硝子体C1qが検出可能でないことと一致した。10週間の投与のない回復期間後の242/243日目に、FabA硝子体濃度は測定可能でなく、全ての処置投与群においてC1q濃度は検出可能だった。対照動物の血清及び硝子体にはFabAが存在しないことを確認した。

【0288】

血清サンプル中の抗FabA抗体の存在を、群1（対照）動物12匹のうちの4匹、群2動物12匹のうちの8匹、群3動物12匹のうちの10匹、及び群4動物12匹のうちの10匹で確認した。2匹の群1動物の陽性を、1日目の後の動物当たり1回の時点で確認し、一方でFabA処置動物のADA陽性を、3回または4回以上の時点で特定した（主要な試験動物及び回復動物について、それぞれ合計4個または5個のサンプルを収集した）。血清または硝子体内のFabA曝露への、ADAの明確な影響はなかった。

【0289】

184日目の最終的な安楽死で、FabAへのADA媒介性免疫応答に一致する顕微鏡的变化を、毎月及び隔週の5/2.5 mg/眼の投与群（それぞれ中程度及び高い用量群）の右眼で観察した。炎症に関連した眼内の変化には、毛様体及び硝子体腔の軽度の混合細胞浸潤、硝子体腔内の最小から中程度の線維化（投与頻度に比例した重症度）、及び最小から軽度の後方水晶体の変性（投与頻度に比例した重症度）が含まれた。隔週及び毎月の5/2.5 mg/眼の処置群のそれぞれ1匹の雌において、後方の網膜内で最小の血管周囲の単核球浸潤も観察した。隔週及び毎月、5/2.5 mg/眼を投与した動物の眼球周囲の角膜輪部内で、最小から中程度の単核球浸潤も観察し、重症度は投与頻度に比例した。

【0290】

242/243日目の回復後の安楽死において、FabAに対するADA媒介性免疫応答に関連した右眼の顕微鏡的变化は、毎月の5/2.5 mg/眼の投与群では、限定的で軽度だったが、一方で隔週の5/2.5 mg/眼の投与群では、更に変化が持続した、または発生した。硝子体腔及びブドウ膜の最小の組織球浸潤、ならびに硝子体腔の好塩基球増加の高まりは、隔週及び／または毎月のFabA 5/2.5 mg/眼を投与した動物の

10

20

30

40

50

、回復期において限定的だった。これらの変化は、最終的な剖検での対照動物で観察された変化に類似しており、これらの変化は、I V T注射手順に付随する前方の硝子体の、軽度の炎症／破壊に関連するとみなされた。しかしながら、回復期間後のこれらの変化の持続、回復期の対照動物ではこれらの変化が解消したこと、及び隔週及び毎月の5 / 2 . 5 m g / 眼のF a b Aを投与した動物の最終的な剖検での、より重度の炎症性変化の存在は、回復期のこれらの変化が、注射手順の影響が残っているというよりはむしろ、F a b Aに対するA D A媒介性免疫応答に関連する炎症を解消していることを示している可能性があること示した。眼球周囲の角膜輪部の、最小の単核球浸潤は、隔週及び毎月の5 / 2 . 5 m g / 眼を投与した両方の群で持続した。

【0291】

隔週の5 / 2 . 5 m g / 眼の投与群では、硝子体腔の、最小の混合細胞浸潤及び線維化が持続し、一方で網膜の細胞性の穏やかな低下、及びヘモシデリン色素が発生した。また隔週の5 / 2 . 5 m g / 眼の投与群では、網膜の、視神経円板での最小の血管周囲の単核球浸潤も観察した。これらの変化は、F a b Aに対するA D A媒介性応答の続発性であるとみなした。

【0292】

病理学的に有害な顕微鏡的变化は、A D A媒介性炎症の続発性であるとみなし、隔週及び毎月の5 / 2 . 5 m g / 眼の投与群では、硝子体腔内の線維化、水晶体変性、及び網膜の細胞性の低下が含まれた。

【0293】

毎月の2 . 5 m g / 眼の群では、最終的または回復後の安楽死のいずれにおいても、F a b Aに関連した顕微鏡的变化は認められなかった。

【0294】

群1、群3及び群4からの、それぞれ12匹のうち2匹、12匹のうち4匹、及び12匹のうち6匹の動物について、免疫組織化学を実施した。I H Cに選択した、中程度の用量、すなわち毎月5 / 2 . 5 m g / 眼の群（動物4匹のうち2匹）、及び高用量、すなわち隔週の5 / 2 . 5 m g / 眼の投与群（6匹の動物のうちの2匹）の処置動物10匹のうちの4匹の左眼内で、免疫組織化学的に検出した、F a b A、サルI g G、I g M及び／またはC3を含有する顆粒状沈着の存在が、評価により明らかとなった。これらの血管壁内沈着は、右眼のヘマトキシリン - エオジン評価によって観察した沈着に類似して、血管周囲の炎症性細胞浸潤に関連して存在した。右眼内で観察したその他の顕微鏡的变化は、サルにおける、このF a b Aに対する免疫応答に伴う続発性変化と一致した。血清A D A陰性の一部の動物も含め、免疫組織化学に選択した全ての動物において眼の免疫複合体沈着が観察されたわけではなかったが、これは沈着の識別が組織の切片化によって変動し得るため、また血清A D Aが、顕微鏡的根拠を有する動物において、免疫複合体の病態と一致して常に存在するわけではないため、予想外ではなかった。追加的に、投与がない日を複数回設けた一部の動物では、分析前にA D A及び／または免疫複合体が排出されている可能性もある。免疫組織化学的に確認した沈着物の存在は、動物のサブセットにおいてさえ、右眼で観察された、類似の病原的に一致した病態が、F a b Aの免疫応答に関連するようであるという、最も説得力がある根拠の重みであるとみなした。

【0295】

カニクイザルにおける、この26週間慢性眼毒性試験では、有害な眼の変化を、2回の注射手順と関連付け、及び／またはA D A媒介のものであり、F a b AのI V T投与の直接的な作用ではないと決定した。したがって、N O A E Lは、カニクイザルにおける隔週または毎月1回、それぞれ13回または7回の投与で、2 . 5 m g / 眼（ヒト用量5 m gに相当する）であると決定した。

【0296】

実施例9：臨床試験におけるF a b Aの評価

F a b A医薬品は、I V T注射用の無菌等張液である。フェーズ1：ファースト・イン・ヒューマン、非盲検、用量漸増試験（F a b A - G L A - 01）を実施して、原発性開

10

20

30

40

50

放隅角緑内障を有する患者における、F a b Aの単回I V T注射の初期の安全性及び忍容性を評価した。

【0297】

フェーズ1 b：無作為化、二重盲検試験（F a b A－G L A－02）を実施して、原発性開放隅角緑内障を有する患者における、F a b Aの反復I V T注射の安全性及び忍容性を評価した。

【0298】

両方の試験の結果、F a b AのI V Tによる単回投与（1～5 m g／眼）（ヒト用量2～10 m gに相当する）及び反復投与（2.5及び5 m g／眼、4週間間隔で2回投与）は、緑内障患者において忍容性が良好であることが見出され、重篤または重大な有害事象（A E）は報告されなかった。これらの試験で、F a b Aで治療した患者における眼のA Eには、結膜充血、結膜出血及び眼刺激症状が含まれ、治療眼においてのみ生じた。フェーズ1 b試験では、シャム群の患者における眼のA Eには、眼痛、眼の異物感、眼の充血及び霧視が含まれた。F a b AのI V T処置に関連すると考えられる全身性A Eは発生しなかった。

【0299】

F a b A 2.5 m g（ヒト用量5 m gに相当する）、及び5 m g（ヒト用量10 m gに相当する）の単回I V T注射は、房水中の遊離C 1 qを少なくとも29日間阻害した（試験F a b A－G L A－02）。

【0300】

ヒトにおける薬物動態及び薬力学  
眼の薬物動態及び薬力学

F a b A－G L A－02は、房水を採取してP K及びP Dを評価したフェーズ1 b試験である。対象に、シャム、2.5 m g／眼のF a b A（ヒト用量5 m gに相当する）、または5 m g／眼（ヒト用量10 m gに相当する）のF a b Aの、2回のI V T注射を29日間隔で投与した。この試験では、投与前及び最初のF a b A投与から29日後、2回目の投与前に房水を採取した。29日目（D 29）に、全ての治療患者の房水中で遊離F a b Aを検出した。並行して、2.5 m g／眼及び5 m g／眼のF a b Aの両方の用量レベルは、体液中で少なくとも29日間遊離C 1 qを阻害した（図12）。

【0301】

全身の薬物動態及び薬力学

F a b A－G L A－01は、投与前及び投与後3時間で血清F a b A及びC 1 qを採取した、単回投与フェーズ1試験である。F a b A－G L A－02は、29日間隔での2回の投与それぞれの投与前及び投与後3時間において血清及びF a b A及びC 1 qを採取した、複数回投与フェーズ1 b試験である。フェーズ1またはフェーズ1 b臨床試験で試験したいずれの用量レベルにおいても、単回または反復I V T注射後、F a b Aは体循環において通常検出可能ではなかった。同様に、いずれの試験においても、循環遊離C 1 qの変化は検出されなかった。

【0302】

後述のように、5 m g／眼（ヒト用量10 m gに相当する）の用量レベルは、F a b A臨床試験における単回または29日間隔での2回の投与の場合、忍容性が良好であった。上述のように、第1 b相試験において、2.5 m g（5 m gのヒト用量に相当する）及び5 m g（10 m gのヒト用量に相当する）のF a b Aの単回用量は、少なくとも29日間、体液中の遊離C 1 qを阻害した（図12）。

【0303】

安全性及び有効性

フェーズ1用量漸増試験（F a b A－G L A－01）

これは、原発性開放隅角緑内障を有する患者において、F a b Aの単回I V T注射の安全性／忍容性及びP Kを評価する、フェーズ1、非盲検、用量漸増試験であった。適格患者は、試験眼において、H u m p h r e y F i e l d A n a l y z e r－S w e d i

10

20

30

40

50

sh Interactive Threshold Algorithm (HFA-SITA) の 24-2 の速いアルゴリズムを用いて、固視不良のカットオフが 33% 及び偽陽性反応率のカットオフが 33% である、信頼性が高い視野検査を行うことができた、信頼性が高い視野検査で 3 ~ 18 dB の平均偏差を有し、投与前の  $\geq 4$  週間の間、安定な IOP 治療レジメンにおいて、試験眼で  $< 21$  mmHg の IOP を有した成人であった。9 名の患者を、以下のようにコホート毎に 3 名の患者を登録して、3 つのコホートに割り当てた。

- コホート 1 = 1.0 mg / 眼、単回用量 (0.02 mL)  $\times$  1 用量
- コホート 2 = 2.5 mg / 眼、単回用量 (0.05 mL)  $\times$  1 用量
- コホート 3 = 5.0 mg / 眼、単回用量 (0.10 mL)  $\times$  1 用量

10

【0304】

スクリーニングの後、3 名の適格患者を最も低いオープンコホートに登録し、前述の低い用量で忍容性及び短期安全性が示された後にのみ開始される、次のコホートに登録した。各コホートの全患者は、最低 15 日の安全性観察期間を完了する必要がある、その後、次のコホートの患者に注射することが可能となった。試験中に、用量制限毒性 (DLT) は報告されなかった。

【0305】

9 名の患者が登録され、治療を受け、試験を完了した。

【0306】

安全性

20

眼の試験治療下での有害事象 (TEAE) には、結膜充血 (全ての用量レベル)、結膜出血 (2.5 mg / 眼のみ) 及び眼刺激症状 (1 mg / 眼のみ) が含まれ、試験眼においてのみ生じた。

【0307】

この試験で経験された唯一の全身性 TEAE は、副鼻腔炎であった。

●全ての TEAE の重症度は軽度であった。

●重篤または重大な TEAE は認められなかった。

●TEAE のために処置を中止したり、試験から離脱した患者はいなかった。

●9 名の患者のうちの 9 名で、30 分以内に IOP が正常 (注射直前の IOP の 5 mmHg 以内、または  $< 21$  mmHg) に戻った。

30

●抗 FabA 抗体の何らかの根拠を示した患者はいなかった。

【0308】

全体的な概要 / 結論 :

この試験では、安定な緑内障を有する患者において、FabA の単回 IVT 投与は、最大 5 mg / 眼まで忍容性が良好だった。報告された眼の AE は、承認された薬剤の IVT 投与で報告された AE と類似していた。FabA に関する安全性シグナルは観察されなかった。

【0309】

FabA は、体循環において通常検出可能ではなく、単回 IVT 投与後、循環する遊離 C1q の変化は検出されなかった。

40

【0310】

フェーズ 1b (FabA-GLA-02)

これは、原発性開放隅角緑内障を有する患者において、反復 IVT 注射として投与される FabA の 2 回の用量レベル対シャム注射を評価するための、二重盲検、無作為化、シャム対照試験であった。適格患者は、試験眼において、HFA-SITA の速いアルゴリズムを用いて、固視不良のカットオフが 33% 及び偽陽性反応率のカットオフが 33% である、信頼性が高い視野検査を行うことができた、信頼性が高い視野検査で、試験眼において  $-3 \sim -24$  dB の平均偏差を有し、スクリーニング時及び 1 日目に  $< 21$  mmHg の IOP を有し、注射前に、 $\geq 4$  週間の安定な IOP 治療レジメンにあり、試験中に IOP 治療レジメンに予期された変化がなかった成人であった。患者は、4 週間間隔で 2 回の

50

注射を受け、安全性、忍容性、PK、PD、免疫原性の評価及び継続中の探索的評価のために、合計12週間追跡された。患者を、以下のように3つのコホートのうち1つ（コホート毎に5名の患者という計画）に、無作為に割り当てた（1：1：1）。

●用量レベル1＝2.5mg／眼、単回用量（0.05mL）×2用量

●用量レベル2＝5.0mg／眼、単回用量（0.10mL）×2用量

●シャム＝0mg／眼×2用量

#### 【0311】

18名の患者を無作為化（7名を2.5mgのFabA群、5名を5.0mgのFabA群、及び6名をシャム群）し、17名の患者に処置を行った。2.5mgの投与群の患者1名は、無作為化されたが、処置を行わなかった。16名の患者が試験を完了した。

10

#### 【0312】

##### 安全性

FabAで処置した患者が経験した眼のTEAEには、結膜充血（2.5及び5mg／眼）、結膜出血（5mg／眼のみ）、及び眼刺激症状（5mg／眼のみ）が含まれた。これらのTEAEのいずれも、シャム群の患者は経験しなかった。シャム群の患者における眼のTEAEには、眼痛、眼の異物感、眼の充血及び霧視が含まれ、それぞれ1名の患者で発生した。

#### 【0313】

全身性TEAEが試験中に認められたが、研究者が試験治療に関連すると認めたものはなかった。

20

●全てのTEAEの重症度は軽度であった。

●報告されたTEAEのうち1件を除く全ては、最初の用量後、試験処置の2回目の投与前に発生した。

●重篤または重大なTEAEは認められなかった。

●TEAEのために処置を中止したり、試験から離脱した患者はいなかった。

●IOPは、17名のうち16名の患者についてはIVT注射の30分以内に、残りの患者については45分以内に正常（＜21mmHg）に戻った。

●FabAを硝子体内に投与した11名の患者のうち、試験した6名の患者は、少なくとも1時点の間、陽性であった。1名の患者は、ADA陽性で、力価が時間の経過とともに穏やかに上昇し、残りの5名の患者は、投与前を含め全ての時点で陽性であり、時間の経過とともに力価が変化することはなかった。1名のシャム患者は、投与前を含め、全ての時点でADA陽性であり、時間の経過とともに力価が変化することはなかった。まとめると、これらのデータによって、ADA測定値とFabA投与の関係は不明であると示唆される。

30

#### 【0314】

##### 全体的な概要／結論：

安定な緑内障を有する患者において、FabAの4週間間隔の2回のIVT投与は、最大5mg／眼まで忍容性が良好だった。報告された眼のAEは、承認された薬剤のIVT投与で報告されたAEと類似していた。この試験では、FabAに関する安全性シグナルは観察されなかった。

40

#### 【0315】

FabAのIVT単回投与（2.5及び5mg／眼）は、房水中の遊離C1qを少なくとも29日間阻害した。

#### 【0316】

実施例10：加齢黄斑変性（AMD）に二次的な地図状萎縮（GA）を有する患者における硝子体注射によって投与されるFabAの有効性、安全性、及び忍容性の第2相、多施設、無作為化、平行群、二重マスク、4アーム、シャム対照試験

##### 根拠

##### 概要

この試験は、AMDに続発するGAを有する患者において実施する。試験の目的は、毎

50

月1回（E M）または隔月毎1回（E O M）、12ヵ月間のF a b Aの硝子体（I V T）注射が、G A病変の増殖率を低下させるかどうかを決定することである。試験は、30日のスクリーニング期間及び12ヵ月の治療期間、その後の6ヵ月の（治療はなし）追跡期間から構成される。患者の参加期間は合計19ヵ月である。患者は、12ヵ月の治療期間中、治療及び／または安全評価のために、毎月診療所を訪れる。

【0317】

約240名の患者を登録し、約204人の患者を、12月目に主要分析（主要分析は、修正した治療意図〔I T T〕を基準としている）について評価可能であるように、4つの治療アームの1つに無作為に割り当てた。

【0318】

介入群及び継続期間：

試験介入の割り当ては、無作為化を基準とした（2：2：1：1）。患者を以下の治療アームのいずれかに割り当てた。用量レベルは固定され、変更されない。

●アーム1＝F a b A 5.0mg／眼（0.10mL）を毎月1回（E M）、12ヵ月間（12用量）

●アーム2＝F a b A 5.0mg／眼（0.10mL）を隔月毎1回（E O M）、12ヵ月間（6用量）

●アーム3＝シャム注射をE Mで12ヵ月間（12回のシャム注射）

●アーム4＝シャム注射をE O Mで12ヵ月間（6回のシャム注射）

【0319】

注射

F a b A／シャム投与は、注射を行う医師が、無菌技術を使用して完了する。

【0320】

F a b Aに無作為化された全ての患者は、5.0mg／眼のI V T投与（0.10mLの固定した体積）を、毎月1回または隔月毎1回で、12ヵ月間受ける。

【0321】

注射後

薬剤投与の直後に、注射を行う医師は、手動弁の視力、または網膜中心動脈灌流を見ることができるとかを評価する。必要に応じて、硝子体出血などの視力障害のその他の原因を排除する。必要であれば、手動弁の視力または網膜中心動脈灌流が観察されるまで、デジタルマッサージを実行する、更に局所用／経口のI O P下降薬剤を投与する。

【0322】

I O P（眼圧測定）を、薬剤投与の30分後に試験眼でのみ評価し、上昇している場合は、I O P<25mmHgになるまで、その後15分毎に評価する。

【0323】

薬物動態、薬力学及び免疫原性

P K評価（F a b A血清濃度）及びP D評価（血清C 1 q濃度及びその他のバイオマーカーの血漿中濃度）用の血液サンプルを、患者訪問時に、投与前30分及び投与後3時間（±15分）以内に収集する。

【0324】

患者の診療所訪問の間、注射前に、免疫原性試験（A D A）用のサンプルを収集する。追加的に、A D A用のサンプルを、2週目に、診療所または家庭訪問時に収集する。

【0325】

薬物動態：この試験には血清が必要である。F a b Aの血清濃度を測定するために、血液サンプルを収集する。

【0326】

薬力学：この試験には血清及び血漿が必要である。C 1 qの血清濃度と探索的補体バイオマーカーの血漿濃度を分析する。

【0327】

免疫原性：この試験には血清が必要である。免疫原性は、血清の抗薬物（F a b A）抗

10

20

30

40

50

体 (A D A) の分析によって評価する。

【0328】

硝子体注射の手順

F a b A の調製

F a b A の無菌のバイアルから、19ゲージ×1-1/2インチ、5ミクロンのフィルター針を備えた、無菌の1.0ccのシリンジを使用して、F a b Aの全体体積（およそ0.3mL）を引き出す。

【0329】

フィルター針を、30ゲージ×1/2インチの注射針と置き換える。注射の直前に、シリンジからF a b Aの余剰体積を排出して、シリンジ内に必要とされる注射体積のみを残す。

10

F a b Aの投与体積は0.10mLに固定し、毎月1回（EM）で12ヵ月間（12回の投与）、または隔月毎1回（EOM）で12ヵ月間（6回の投与）とする。

【0330】

硝子体注射の準備

1. 試験眼を検査する。

2. 注射前に、試験眼の術前眼圧（IOP）を測定して、記録する。試験眼のみ眼圧測定を実施する。続行するには、IOPは $\leq 21$ mmHgでなければならない。 $> 21$ mmHgである場合、研究者の裁量でF a b A注射の予定を変更し、IOPを管理する。

3. 注射後、後極の視覚化が可能となるように、必要に応じて、注射30分前に、試験眼に局所用塩化フェニレフリン点眼剤2.5%を1滴適用する。

20

4. 注射直前：

●患者に、首が十分に支えられた状態で、検査椅子に横たわってもらう。

【0331】

硝子体注射

1. 注射には、手洗い、無菌手袋及びサージカルマスクが必要である。

2. 試験眼に、局所用プロパラカイン0.5%を適用する。

3. まつげ及び眼瞼の縁に、ポビドンヨード10%を適用する。注射前または注射後のいずれも、マイボーム腺の表出を避けるために、眼瞼の広範囲なマッサージは避ける。

4. 手順の間、目的の注射部位から眼瞼を引き離す。顕微鏡の使用が推奨される。

30

5. 目的の注射部位を含め、結膜表面に、ポビドンヨード5%を適用する。

6. F a b Aの注射：角膜輪部の3.5~4mm後方、垂直直筋と水平直筋の間に、強膜に対して垂直に針を挿入する。針を引き抜いた直後に、注射部位上に無菌綿棒アプリーケーターを適用して、硝子体の逆流を低減させる。

7. シャム注射：シャム注射の調製及び注射後手入りは、F a b Aを用いた注射と同じである。典型的な硝子体注射の位置で、空のシリンジの鈍針を針なしで用いて、圧力を眼に適用することでシャム注射を実施する。

【0332】

硝子体注射後

1. 患者は、注射後、眼の評価及び安全性追跡調査のために、診療所内に留まることになる。

40

2. 直ちに手動弁の視力または網膜中心動脈灌流を評価し、硝子体出血などの視力喪失の他の原因を排除する。他の原因が見つからなければ、手動弁の視力または網膜中心動脈灌流が観察されるまで、デジタルマッサージを実行する、更に局所用／経口のIOP下降薬剤を投与する。

3. 試験眼で、注射後30分でのみIOP測定値を得て、上昇している場合、IOP $< 25$ mmHgになるまで15分毎に測定する。眼圧が15分を超えて30mmHgを上回る場合、医師の裁量で治療するべきである。

4. 局所用抗生物質は必要ない。

【0333】

50

実施例 1 1 : C 1 q は視細胞変性の光損傷モデルにおける視細胞シナプスのミクログリア刈り込みを媒介する

抗 C 1 q 処置 (例えば、M a b 3) は、光損傷モデルにおいて、網膜補体レベルを低減し (図 5 A ~ 5 D)、炎症を低下させ (図 1 3 A 及び 1 3 B)、神経変性を低減する (図 1 3 A 及び 1 3 C ~ 1 3 D)。図 1 3 A ~ 1 3 D は、免疫蛍光 (I F) データを示す。図 1 3 B は、処置後 3 日目の網膜の外側叢状層 (O P L) (別名、外側シナプス層) における小膠細胞症の低減を示す。小膠細胞症の低減は、炎症の減少と関連付けられる。図 1 3 C は、視細胞シナプスの有意な保存を示し、図 1 3 D は、処置後 5 日目における細胞体の有意な保存を示す。保存された視細胞シナプス及び細胞体の処置後の測定は、この光損傷モデルにおいて、抗 C 1 q 処置による治療が神経変性を低減することを実証する。

10

【0 3 3 4】

実施例 1 2 : 抗 C 1 q 硝子体内処置は、r d 1 0 マウスモデルにおける網膜補体成分レベルを低減した。

測定可能な治療 (例えば、M a b 3) レベルは、抗 C 1 q 処置を受けた動物由来の網膜溶解物において見出されたが、I g G 1 処置群または未処置群においては見出されなかった (図 1 4 A)。W T と比較して、未処置動物及び I g G d 1 0 動物の両方からの網膜溶解物において、古典的補体成分 C 1 q のレベルの増加が確認された (図 1 4 B)。抗 C 1 q 処置は、I g G 1 処置及び未処置 r d 1 0 群と比較して、網膜溶解物中の C 1 q レベルの低減をもたらした (図 1 4 B)、網膜中 (及び血漿中、データ図示せず) における良好な測定可能な P K 及び C 1 q 関与を確認した。図 1 5 A は、免疫蛍光画像の定量化を表す棒グラフであり、図 1 5 B は、C 1 q 阻害剤による処置時の視細胞シナプス (B S N マーカー) の保存を示す免疫蛍光画像を示す。これは、視細胞シナプス保護の証拠である。

20

【0 3 3 5】

参照による組み込み

本明細書で引用される特許、公開された特許出願、及び非特許文献の各々は、それらの全体が参照により本明細書に組み込まれる。

【0 3 3 6】

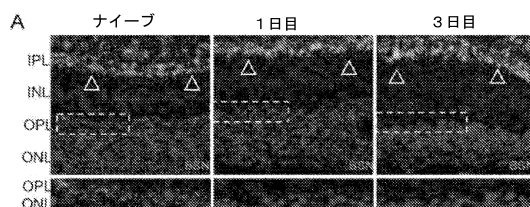
均等物

当業者らは、本明細書に記載の本発明の特定の実施形態に対する多くの均等物を認識するか、または単なる通常の実験のみを使用して確認することができるであろう。そのような均等物は、以下の特許請求の範囲に包含されることが意図されている。

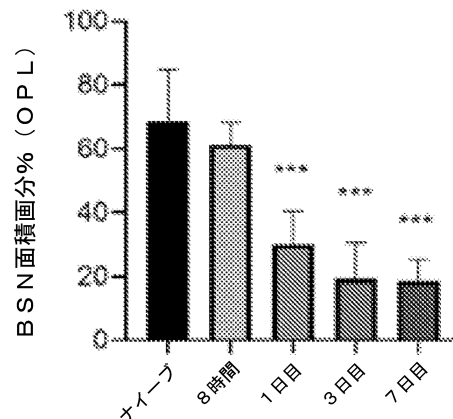
30

【図面】

【図 1 A】



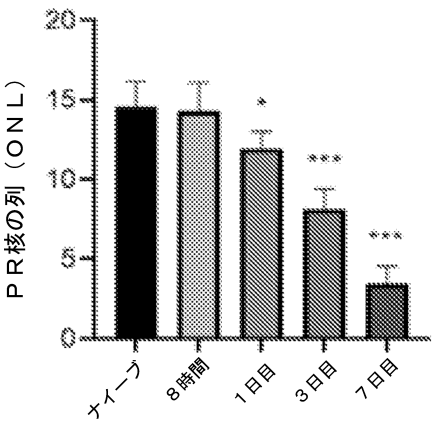
【図 1 B】



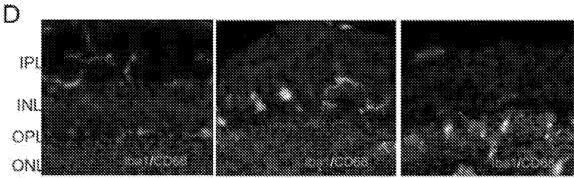
40

50

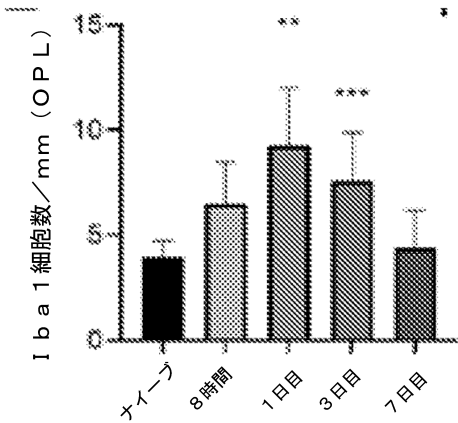
【図 1 C】



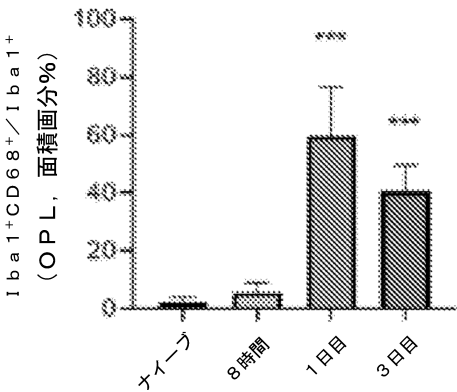
【図 1 D】



【図 1 E】



【図 1 F】



10

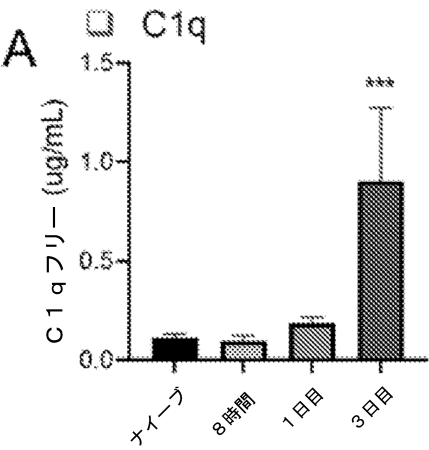
20

30

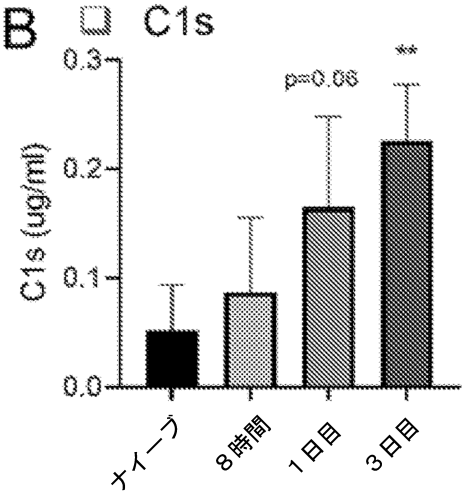
40

50

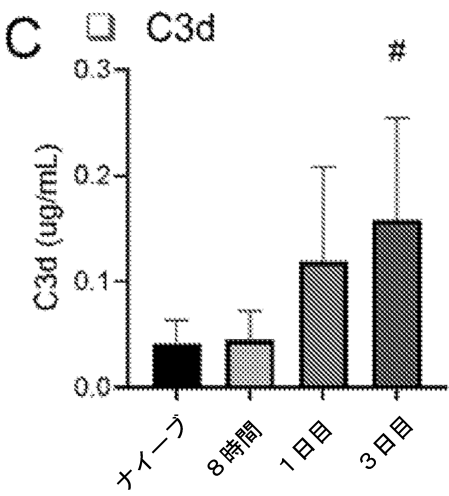
【図 2 A】



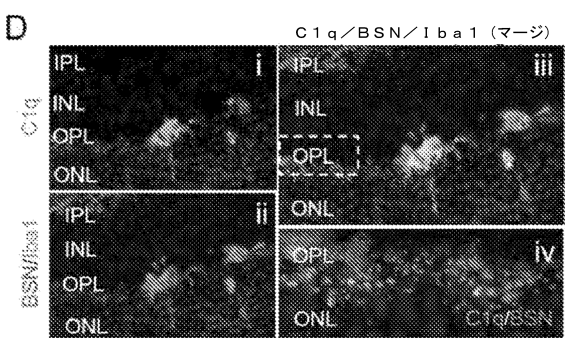
【図 2 B】



【図 2 C】



【図 2 D】



10

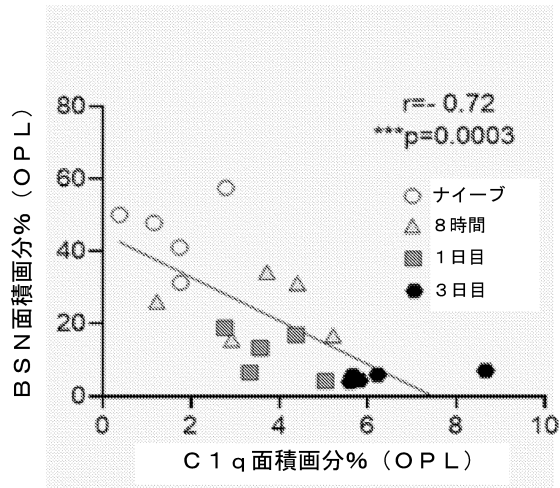
20

30

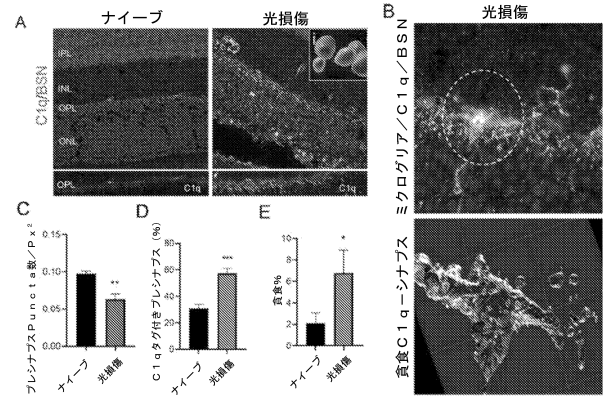
40

50

【図 2 E】

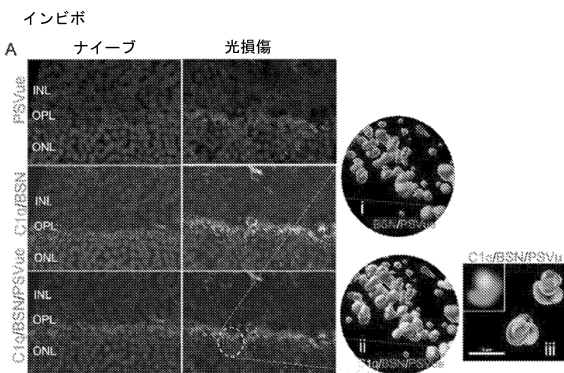


【図 3】

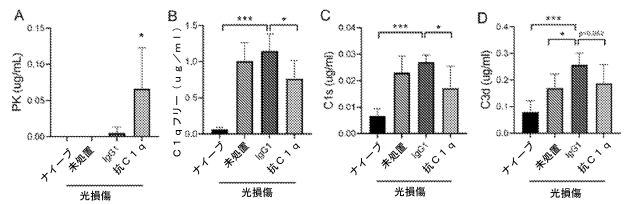


10

【図 4】



【図 5】



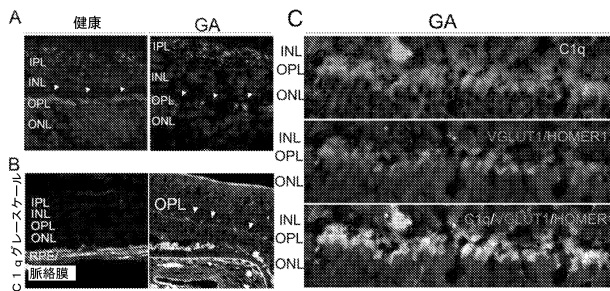
20

30

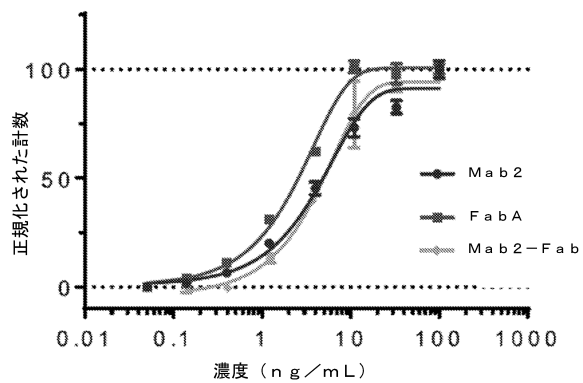
40

50

【図 6】

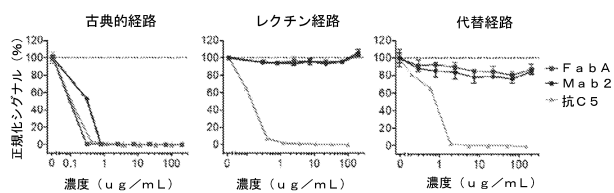


【図 7】

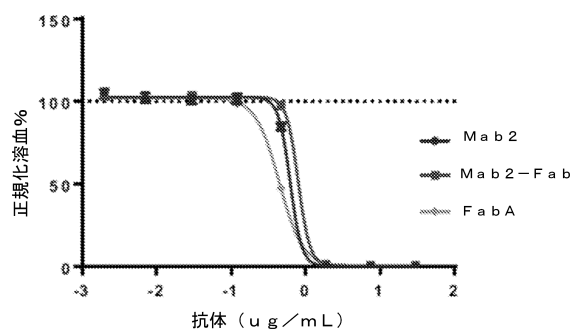


10

【図 8】

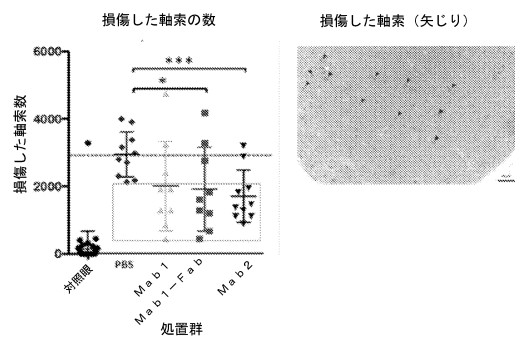


【図 9】

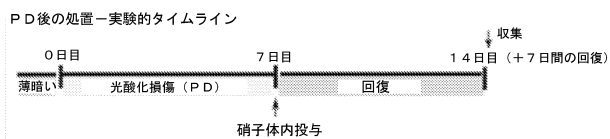


20

【図 10】



【図 11 A】

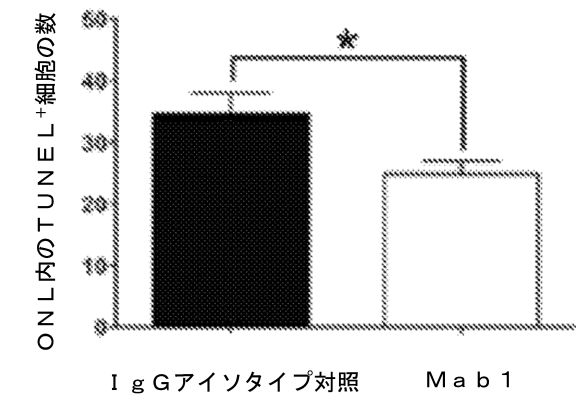


30

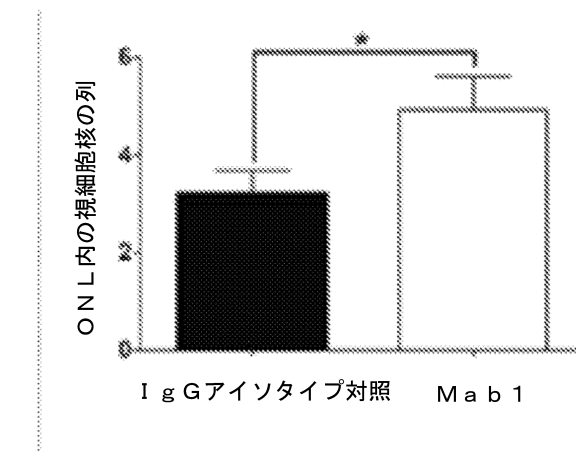
40

50

【図 1 1 B】

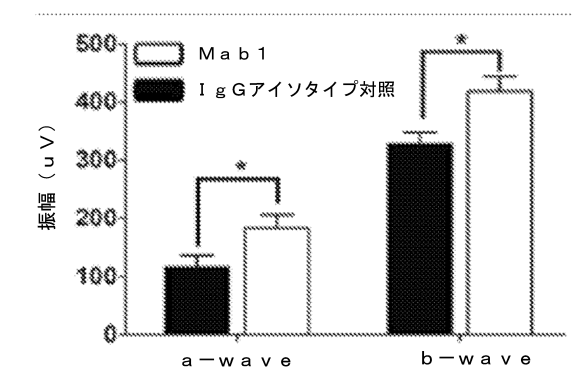


【図 1 1 C】

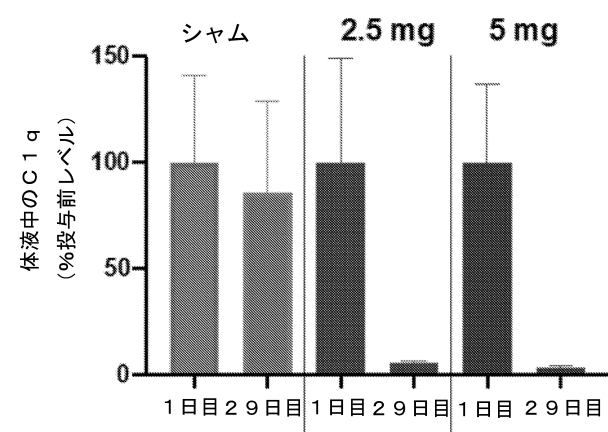


10

【図 1 1 D】



【図 1 2】



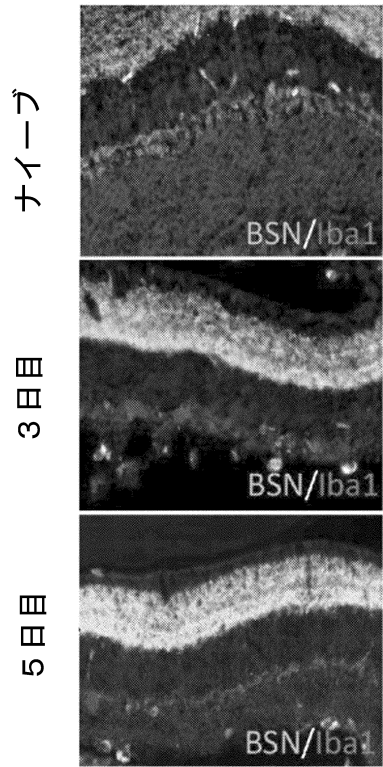
20

30

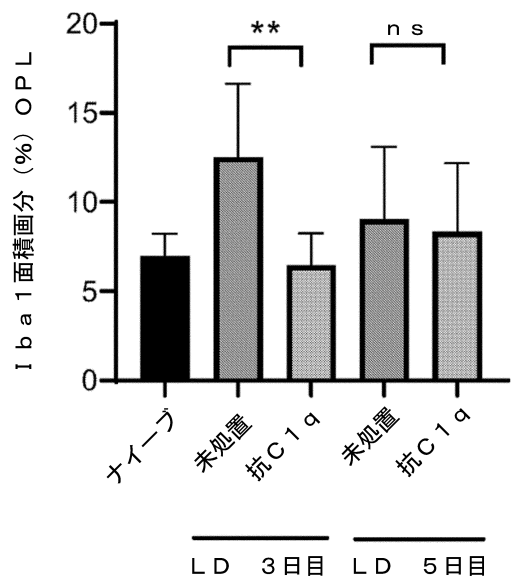
40

50

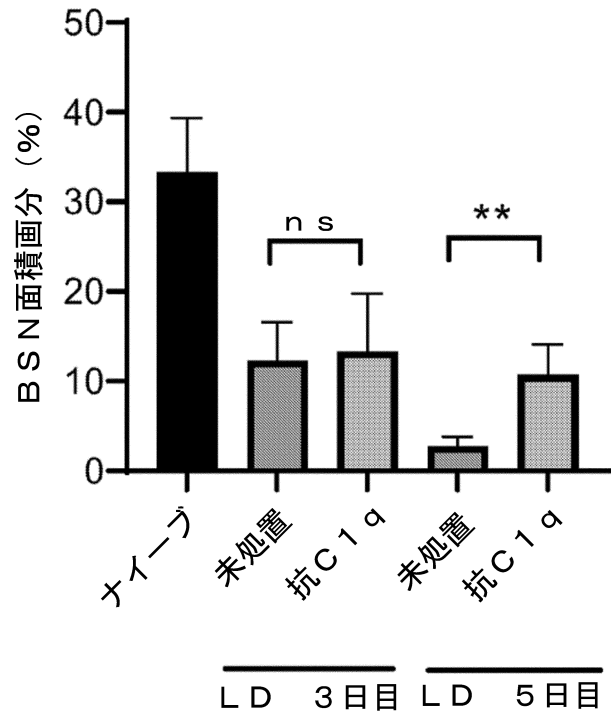
【図 1 3 A】



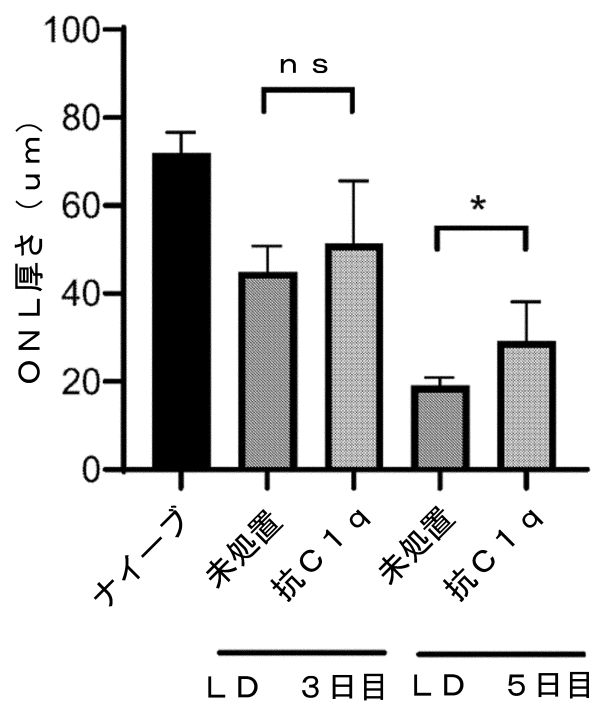
【図 1 3 B】



【図 1 3 C】



【図 1 3 D】



10

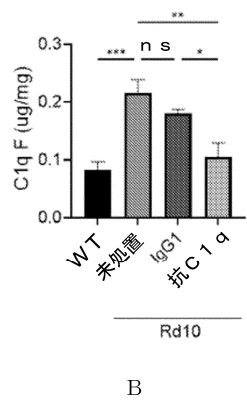
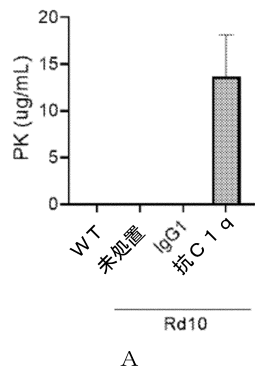
20

30

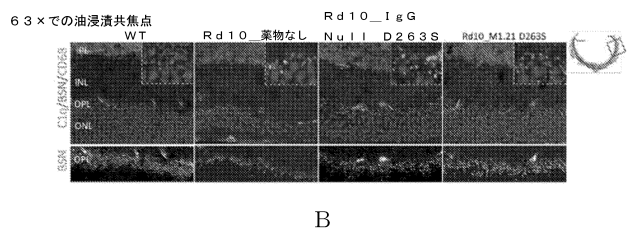
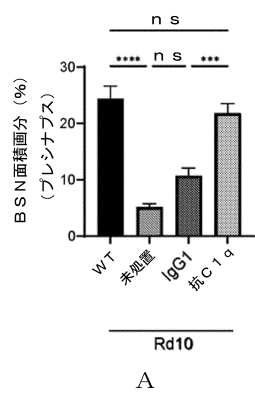
40

50

【図 1 4】



【図 1 5】



【配列表】

202551548500001.xml

【手続補正書】

【提出日】令和6年11月18日(2024.11.18)

【手続補正1】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】0226

【補正方法】変更

【補正の内容】

【0226】

実施例3：視細胞変性の光酸化光損傷モデルにおける、視細胞シナプス上のC1qレベルの上昇は、視細胞シナプスの喪失と相関する

10

開始古典的補体成分C1q及びC1s、ならびに下流活性化生成物C3dのレベルの増加が、標準ELISAによって光曝露された動物由来の網膜溶解物で観察された(図2A～2C)。次に、免疫蛍光によって網膜C1q分布を調査した。図2Dに示されるように、C1q(i)は、Iba1(iii)及びBassoon(iv)と共局在し、ミクログリア／マクロファージにおけるC1q発現及びシナプス上の発現／沈着を確認した。C1q発現と視細胞シナプス密度との間に有意な負の相関が観察され(図2E、ピアソン $r = -0.72$ 、 $p = 0.00003$ )、因果関係を示唆した(図2E)。

20

30

40

50

## 【国際調査報告】

| INTERNATIONAL SEARCH REPORT                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                         | International application No.<br><b>PCT/US2023/066393</b>                   |
|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------------------------------------------------------------------------|
| <b>A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER</b><br><b>A61K 39/395</b> (2023.01)i; <b>A61P 27/02</b> (2023.01)i<br>CPC:A61K 39/395; A61P 27/02<br>According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                              |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                         |                                                                             |
| <b>B. FIELDS SEARCHED</b><br>Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)<br>A61K 39/395; A61P 27/02<br>CPC:A61K 39/395; A61P 27/02<br>Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched<br>Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)<br>Databases consulted: CAPLUS, BIOSIS, EMBASE, MEDLINE, PubMed, Derwent Innovation Search terms used: retinal, retinitis pigmentosa, rod-cone dystrophy, choroideremia, Stargardt, cone-rod dystrophy, leber congenital amaurosis, X-linked RP, Usher Syndrome, c1q, complement                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                         |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                         |                                                                             |
| <b>C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT</b>                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                              |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                         |                                                                             |
| Category*                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                  | Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages                                                                                                                                                                                                                                                                      | Relevant to claim No.                                                       |
| Y                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                          | Jiao, Haihan, et al. "Subretinal macrophages produce classical complement activator C1q leading to the progression of focal retinal degeneration." Molecular neurodegeneration 13.1 (2018): 1-18.# https://doi.org/10.1186/s13024-018-0278-0 (2018/08/20)<br>page 5 left column third para. , page 7 right column –page 9 right column, figures 1 and 4 | 1-8,13-43                                                                   |
| Y                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                          | WO 2007103549 A2 (ARCHEMIX CORP[US]; EPSTEIN DAVID[US]; KURZ JEFF C[US] )<br>13 September 2007 (2007-09-13)<br>examples, claims                                                                                                                                                                                                                         | 1-8,13-43                                                                   |
| Y                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                          | WO 2017091719 A1 (ANNEXON INC[US]) 01 June 2017 (2017-06-01)<br>example, claims                                                                                                                                                                                                                                                                         | 20,21                                                                       |
| P,Y                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                        | WO 2022120137 A1 (ANNEXON INC[US]) 09 June 2022 (2022-06-09)<br>example, claims                                                                                                                                                                                                                                                                         | 1-8,13-43                                                                   |
| <input 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:<br>"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance<br>"D" document cited by the applicant in the international application<br>"E" earlier application or patent but published on or after the international filing date<br>"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)<br>"O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means<br>"P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed<br>"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<br>"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<br>"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<br>"&" document member of the same patent family |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                         |                                                                             |
| Date of the actual completion of the international search<br><b>20 August 2023</b>                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                         |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                         | Date of mailing of the international search report<br><b>21 August 2023</b> |
| Name and mailing address of the ISA/IL<br><b>Israel Patent Office</b><br><b>Technology Park, Bldg.5, Malcha, Jerusalem, 9695101,</b><br><b>Israel</b><br><b>Israel</b><br>Telephone No. <b>972-73-3927172</b><br>Email: <b>pctoffice@justice.gov.il</b>                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                    |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                         | Authorized officer<br><br><b>HOROWITZ Anat</b><br><br>Telephone No.         |

Form PCT/ISA/210 (second sheet) (July 2022)

## INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/US2023/066393

**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 13*ter*.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:

## INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/US2023/066393

**Box No. III      Observations where unity of invention is lacking (Continuation of item 3 of first sheet)**

This International Searching Authority found multiple inventions in this international application, as follows:

[0001] Invention/s 1 : Claim/s 1-8,13-43 : A method of treating an inherited retinal disease in a human patient, comprising administering to the patient a composition comprising about 1 mg to a about 10 mg of an anti-C1q antibody via an intravitreal injection, wherein the antibody comprises a light and heavy chain variable domains comprising HVR as specified in claim 1.

10

[0002] Invention/s 2 : Claim/s 9-43 : A method of treating retinal detachment in a human patient, comprising administering to the patient a composition comprising about 1 mg to a about 10 mg of an anti-C1q antibody via an intravitreal injection, wherein the antibody comprises a light and heavy chain variable domains comprising HVR as specified in claim 9.

[0003] The International Preliminary Examining Authority is of the opinion that the present application does not comply with the requirements of unity as set forth in Article. 3(4)iii and Rule 13 PCT. An international application must relate to one invention only or to a group of inventions so linked as to form a single general inventive concept. Unity of invention is fulfilled only when there is a technical relationship among the inventions, involving one or more of the same special technical features that define a contribution which each of the claimed inventions, considered as a whole, makes over the prior art. The following 2 separate inventions have been identified: Invention 1: Claims Nos. 1-8 (all) 13-43 (partially). A method of treating an inherited retinal disease in a human patient, comprising administering to the patient a composition comprising about 1 mg to a about 10 mg of an anti-C1q antibody via an intravitreal injection, wherein the antibody comprises a light and heavy chain variable domains comprising HVR as specified in claim 1. Invention 2: Claims Nos. 9-12 (all) 13-43 (partially). A method of treating retinal detachment in a human patient, comprising administering to the patient a composition comprising about 1 mg to a about 10 mg of an anti-C1q antibody via an intravitreal injection, wherein the antibody comprises a light and heavy chain variable domains comprising HVR as specified in claim 9. The said Inventions are not linked so as to form a single general inventive concept for the following reasons: The feature that links Invention 1, Invention 2 as defined above is method of treatment of diseases associated to the retina, via an intravitreal injection of the antibody specified in the claims. However, such method had already been documented in the prior art (see D1). Therefore, this feature cannot be accepted to constitute a common special technical feature for the whole scope of the present application that would define an appreciable contribution over the prior art. Consequently, the present application does not meet the requirement of unity of invention, as there is no single inventive concept underlying the plurality of the claimed inventions in the present application, in the sense of Rule 13.1 PCT. Consequently, search and examination of the present application has been restricted to the first mentioned group of inventions (vide supra Invention 1).

20

30

40

## INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/US2023/066393

**Box No. III** Observations where unity of invention is lacking (Continuation of item 3 of first sheet)

1. ☐ As all required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers all searchable claims.
2. ☐ As all searchable claims could be searched without effort justifying additional fees, this Authority did not invite payment of additional fees.
3. ☐ As only some of the required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers only those claims for which fees were paid, specifically claims Nos.:
4. ☒ No required additional search fees were timely paid by the applicant. Consequently, this international search report is restricted to the invention first mentioned in the claims; it is covered by claims Nos.: **1-8,13-43**

**Remark on Protest**

- ☐ The additional search fees were accompanied by the applicant's protest and, where applicable, the payment of a protest fee.
- ☐ The additional search fees were accompanied by the applicant's protest but the applicable protest fee was not paid within the time limit specified in the invitation.
- ☐ No protest accompanied the payment of additional search fees.

**INTERNATIONAL SEARCH REPORT**  
**Information on patent family members**

International application No.

**PCT/US2023/066393**

| Patent document<br>cited in search report |            |    | Publication date<br>(day/month/year) | Patent family member(s) |             |    | Publication date<br>(day/month/year) |
|-------------------------------------------|------------|----|--------------------------------------|-------------------------|-------------|----|--------------------------------------|
| WO                                        | 2007103549 | A2 | 13 September 2007                    | WO                      | 2007103549  | A2 | 13 September 2007                    |
|                                           |            |    |                                      | WO                      | 2007103549  | A3 | 27 December 2007                     |
|                                           |            |    |                                      | AU                      | 2007223796  | A1 | 13 September 2007                    |
|                                           |            |    |                                      | AU                      | 2007223796  | B2 | 24 January 2013                      |
|                                           |            |    |                                      | BR                      | PI0708588   | A2 | 07 June 2011                         |
|                                           |            |    |                                      | CA                      | 2643951     | A1 | 13 September 2007                    |
|                                           |            |    |                                      | CA                      | 2643951     | C  | 05 March 2019                        |
|                                           |            |    |                                      | CA                      | 3009846     | A1 | 13 September 2007                    |
|                                           |            |    |                                      | CA                      | 3009846     | C  | 31 August 2021                       |
|                                           |            |    |                                      | CA                      | 3009854     | A1 | 13 September 2007                    |
|                                           |            |    |                                      | CA                      | 3148917     | A1 | 13 September 2007                    |
|                                           |            |    |                                      | CN                      | 101443050   | A  | 27 May 2009                          |
|                                           |            |    |                                      | CN                      | 104623692   | A  | 20 May 2015                          |
|                                           |            |    |                                      | CY                      | 1115965     | T1 | 25 January 2017                      |
|                                           |            |    |                                      | CY                      | 1117505     | T1 | 26 April 2017                        |
|                                           |            |    |                                      | DK                      | 1991275     | T3 | 08 December 2014                     |
|                                           |            |    |                                      | DK                      | 2596807     | T3 | 07 March 2016                        |
|                                           |            |    |                                      | EP                      | 1991275     | A2 | 19 November 2008                     |
|                                           |            |    |                                      | EP                      | 1991275     | A4 | 08 July 2009                         |
|                                           |            |    |                                      | EP                      | 1991275     | B1 | 05 November 2014                     |
|                                           |            |    |                                      | EP                      | 2596807     | A1 | 29 May 2013                          |
|                                           |            |    |                                      | EP                      | 2596807     | B1 | 16 December 2015                     |
|                                           |            |    |                                      | EP                      | 3034094     | A1 | 22 June 2016                         |
|                                           |            |    |                                      | EP                      | 3360582     | A1 | 15 August 2018                       |
|                                           |            |    |                                      | EP                      | 4159220     | A1 | 05 April 2023                        |
|                                           |            |    |                                      | ES                      | 2527695     | T3 | 28 January 2015                      |
|                                           |            |    |                                      | ES                      | 2562423     | T3 | 04 March 2016                        |
|                                           |            |    |                                      | HK                      | 1127281     | A1 | 25 September 2009                    |
|                                           |            |    |                                      | HK                      | 1181308     | A1 | 08 November 2013                     |
|                                           |            |    |                                      | HK                      | 1225996     | A1 | 22 September 2017                    |
|                                           |            |    |                                      | HU                      | E026496     | T2 | 28 June 2016                         |
|                                           |            |    |                                      | IL                      | 193828      | A  | 31 March 2015                        |
|                                           |            |    |                                      | JP                      | 2009529058  | A  | 13 August 2009                       |
|                                           |            |    |                                      | JP                      | 5406534     | B2 | 05 February 2014                     |
|                                           |            |    |                                      | JP                      | 2013067661  | A  | 18 April 2013                        |
|                                           |            |    |                                      | JP                      | 5746232     | B2 | 08 July 2015                         |
|                                           |            |    |                                      | JP                      | 2014172910  | A  | 22 September 2014                    |
|                                           |            |    |                                      | KR                      | 20080100388 | A  | 17 November 2008                     |
|                                           |            |    |                                      | KR                      | 101513308   | B1 | 28 April 2015                        |
|                                           |            |    |                                      | KR                      | 20140072219 | A  | 12 June 2014                         |
|                                           |            |    |                                      | KR                      | 101584468   | B1 | 13 January 2016                      |
|                                           |            |    |                                      | KR                      | 20150017388 | A  | 16 February 2015                     |
|                                           |            |    |                                      | MX                      | 2008011323  | A  | 18 November 2008                     |
|                                           |            |    |                                      | NZ                      | 571791      | A  | 30 March 2012                        |
|                                           |            |    |                                      | PL                      | 1991275     | T3 | 30 April 2015                        |
|                                           |            |    |                                      | PL                      | 2596807     | T3 | 30 June 2016                         |
|                                           |            |    |                                      | PT                      | 1991275     | E  | 03 February 2015                     |
|                                           |            |    |                                      | PT                      | 2596807     | E  | 18 March 2016                        |
|                                           |            |    |                                      | RU                      | 2008139901  | A  | 20 April 2010                        |
|                                           |            |    |                                      | RU                      | 2477137     | C2 | 10 March 2013                        |

Form PCT/ISA/210 (patent family annex) (July 2022)

10

20

30

40

50

**INTERNATIONAL SEARCH REPORT**  
**Information on patent family members**

International application No.

**PCT/US2023/066393**

| Patent document<br>cited in search report |            |    |              | Publication date<br>(day/month/year) |            | Patent family member(s) |              | Publication date<br>(day/month/year) |                   |
|-------------------------------------------|------------|----|--------------|--------------------------------------|------------|-------------------------|--------------|--------------------------------------|-------------------|
|                                           |            |    |              |                                      |            | RU                      | 2012153978   | A                                    | 20 June 2014      |
|                                           |            |    |              |                                      |            | SG                      | 172686       | A1                                   | 28 July 2011      |
|                                           |            |    |              |                                      |            | SG                      | 2014011290   | A                                    | 27 June 2014      |
|                                           |            |    |              |                                      |            | SG                      | 10201706440R | A                                    | 28 September 2017 |
|                                           |            |    |              |                                      |            | SI                      | 1991275      | T1                                   | 31 March 2015     |
|                                           |            |    |              |                                      |            | SI                      | 2596807      | T1                                   | 31 March 2016     |
|                                           |            |    |              |                                      |            | US                      | 2009269356   | A1                                   | 29 October 2009   |
|                                           |            |    |              |                                      |            | US                      | 2017145416   | A1                                   | 25 May 2017       |
|                                           |            |    |              |                                      |            | ZA                      | 200807620    | B                                    | 30 December 2009  |
| WO                                        | 2017091719 | A1 | 01 June 2017 | WO                                   | 2017091719 | A1                      | 01 June 2017 |                                      |                   |
|                                           |            |    |              |                                      |            | AU                      | 2016361517   | A1                                   | 14 June 2018      |
|                                           |            |    |              |                                      |            | BR                      | 112018010360 | A2                                   | 04 December 2018  |
|                                           |            |    |              |                                      |            | CA                      | 3006092      | A1                                   | 01 June 2017      |
|                                           |            |    |              |                                      |            | CN                      | 108779171    | A                                    | 09 November 2018  |
|                                           |            |    |              |                                      |            | CN                      | 108779171    | B                                    | 05 July 2022      |
|                                           |            |    |              |                                      |            | CN                      | 115260310    | A                                    | 01 November 2022  |
|                                           |            |    |              |                                      |            | EP                      | 3380518      | A1                                   | 03 October 2018   |
|                                           |            |    |              |                                      |            | EP                      | 3380518      | A4                                   | 31 July 2019      |
|                                           |            |    |              |                                      |            | IL                      | 259079       | A                                    | 28 June 2018      |
|                                           |            |    |              |                                      |            | IL                      | 259079       | B                                    | 01 October 2022   |
|                                           |            |    |              |                                      |            | IL                      | 259079       | B2                                   | 01 February 2023  |
|                                           |            |    |              |                                      |            | IL                      | 296130       | A                                    | 01 November 2022  |
|                                           |            |    |              |                                      |            | JP                      | 2019501132   | A                                    | 17 January 2019   |
|                                           |            |    |              |                                      |            | JP                      | 6976943      | B2                                   | 08 December 2021  |
|                                           |            |    |              |                                      |            | KR                      | 20180093955  | A                                    | 22 August 2018    |
|                                           |            |    |              |                                      |            | SG                      | 11201803703U | A                                    | 28 June 2018      |
|                                           |            |    |              |                                      |            | US                      | 2017152309   | A1                                   | 01 June 2017      |
|                                           |            |    |              |                                      |            | US                      | 10723788     | B2                                   | 28 July 2020      |
|                                           |            |    |              |                                      |            | US                      | 2020317765   | A1                                   | 08 October 2020   |
| WO                                        | 2022120137 | A1 | 09 June 2022 | WO                                   | 2022120137 | A1                      | 09 June 2022 |                                      |                   |
|                                           |            |    |              |                                      |            | AU                      | 2021391800   | A1                                   | 22 June 2023      |

Form PCT/ISA/210 (patent family annex) (July 2022)

## フロントページの続き

,MC,ME,MK,MT,NL,NO,PL,PT,RO,RS,SE,SI,SK,SM,TR),OA(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,BB,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,MG,MK,MN,MU,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,WS,ZA,ZM,ZW

(特許庁注：以下のものは登録商標)

## 1. TRITON

アメリカ合衆国 94005 カリフォルニア州, ブリスベン, ビルディング シー, セカンド フロア, シエラ ポイント パークウェイ 1400, アネクソン, インコーポレーテッド

(72)発明者 グローヴァー, アニタ

アメリカ合衆国 94005 カリフォルニア州, ブリスベン, ビルディング シー, セカンド フロア, シエラ ポイント パークウェイ 1400, アネクソン, インコーポレーテッド

(72)発明者 フォン, ドナルド

アメリカ合衆国 94005 カリフォルニア州, ブリスベン, ビルディング シー, セカンド フロア, シエラ ポイント パークウェイ 1400, アネクソン, インコーポレーテッド

F ターム (参考) 4C085 AA13 AA14 AA16 BB11 BB41 BB43 EE01 GG01  
4H045 AA11 AA30 DA76 EA28