

(19) 日本国特許庁 (JP)

(12) 特 許 公 報 (B2)

(11) 特許番号

特許第6976943号
(P6976943)

(45) 発行日 令和3年12月8日 (2021. 12. 8)

(24) 登録日 令和3年11月12日 (2021. 11. 12)

(51) Int. Cl.

F I

C O 7 K 16/18 (2006. 01)

C O 7 K 16/18 Z N A

C O 7 K 16/46 (2006. 01)

C O 7 K 16/46

C 1 2 N 1/15 (2006. 01)

C 1 2 N 1/15

C 1 2 N 1/19 (2006. 01)

C 1 2 N 1/19

C 1 2 N 1/21 (2006. 01)

C 1 2 N 1/21

請求項の数 36 (全 54 頁) 最終頁に続く

(21) 出願番号 特願2018-526675 (P2018-526675)
 (86) (22) 出願日 平成28年11月23日 (2016. 11. 23)
 (65) 公表番号 特表2019-501132 (P2019-501132A)
 (43) 公表日 平成31年1月17日 (2019. 1. 17)
 (86) 国際出願番号 PCT/US2016/063587
 (87) 国際公開番号 WO2017/091719
 (87) 国際公開日 平成29年6月1日 (2017. 6. 1)
 審査請求日 令和1年11月21日 (2019. 11. 21)
 (31) 優先権主張番号 62/259, 227
 (32) 優先日 平成27年11月24日 (2015. 11. 24)
 (33) 優先権主張国・地域又は機関
 米国 (US)

微生物の受託番号 ATCC PTA-120399

(73) 特許権者 516008350
 アネクソン、インコーポレーテッド
 アメリカ合衆国 94080 カリフォル
 ニア州、サウス サンフランシスコ、キン
 ボール ウェイ 180、セカンド フロ
 ア
 (74) 代理人 110002572
 特許業務法人平木国際特許事務所
 (72) 発明者 イエドノック、テッド
 アメリカ合衆国 94333 カリフォル
 ニア州、フォレスト ノールズ、アローヨ
 ロード 184

最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 抗補体因子 C1q Fab 断片及びその使用

(57) 【特許請求の範囲】

【請求項 1】

C1qに結合する抗体Fab断片であって、抗体Fab断片が重鎖ドメイン及び軽鎖ドメインを含み、重鎖ドメインが配列番号1を含み、且つ軽鎖ドメインが配列番号2を含む、前記抗体Fab断片。

【請求項 2】

重鎖ドメイン及び軽鎖ドメインを含む抗体Fab断片であって、重鎖ドメインが配列番号1のアミノ酸配列を含み、且つ軽鎖ドメインが配列番号2のアミノ酸配列を含む、前記抗体Fab断片。

【請求項 3】

ATCC受託番号PTA-120399を有するハイブリドーマ細胞株によって産生されるモノクローナル抗体M1のヒトC1q又はマウスC1qとの結合を阻害する、請求項 1 又は 2 記載の抗体Fab断片。

【請求項 4】

IgGクラスのものである、請求項 1 ~ 3 のいずれか 1 項記載の抗体Fab断片。

【請求項 5】

IgGクラスがIgG1である、請求項 4 記載の抗体Fab断片。

【請求項 6】

C1qに特異的に結合し、C1qの生物学的活性を中和する、請求項 1 ~ 5 のいずれか 1 項記載の抗体Fab断片。

【請求項 7】

生物学的活性が、(1)自己抗体へのC1q結合、(2)C1rへのC1q結合、(3)C1sへのC1q結合、(4)ホスファチジルセリンへのC1q結合、(5)ペントラキシン-3へのC1q結合、(6)C反応性タンパク質(CRP)へのC1q結合、(7)球状C1q受容体(gC1qR)へのC1q結合、(8)補体受容体1(CR1)へのC1q結合、(9)ベータ-アミロイドへのC1q結合、(10)カルレティキュリンへのC1q結合、(11)アポトーシス細胞へのC1q結合、(12)神経細胞膜の構成成分へのC1q結合、(13)古典的補体活性化経路の活性化、(14)抗体及び補体依存性細胞傷害の活性化、(15)CH50溶血、(16)シナプス喪失、(17)B細胞抗体産生、(18)樹状細胞成熟、(19)T細胞増殖、(20)サイトカイン産生、(21)ミクログリア活性化、(22)アルサス反応、(23)シナプス若しくは神経終末の食作用、又は(24)補体受容体3(CR3)を発現する細胞の活性化である、請求項 6 記載の抗体Fab断片。

10

【請求項 8】

ヒト化されている、請求項 1 ~ 7 のいずれか 1 項記載の抗体Fab断片。

【請求項 9】

その対応する全長抗体に比較して短い半減期を有する、請求項 1 ~ 8 のいずれか 1 項記載の抗体Fab断片。

【請求項 10】

請求項 1 ~ 9 のいずれか 1 項記載の抗体Fab断片を発現する宿主細胞。

【請求項 11】

請求項 1 ~ 8 のいずれか 1 項記載の抗体Fab断片をコードする核酸配列を含む、単離されたポリヌクレオチド。

20

【請求項 12】

請求項 10 記載の宿主細胞を培養すること、及び抗体Fab断片を単離することを含む、請求項 1 ~ 8 のいずれか 1 項記載の抗体Fab断片を生産する方法。

【請求項 13】

請求項 1 ~ 8 のいずれか 1 項記載の抗体Fab断片及び薬学的に許容される担体を含む医薬組成物。

【請求項 14】

シナプス喪失を患う患者においてシナプス喪失を阻害するための医薬の製造における、請求項 1 ~ 8 のいずれか 1 項から選択される抗体Fab断片の使用。

30

【請求項 15】

該患者が、神経変性障害、中枢神経系障害又は末梢神経系障害の結果としてシナプス喪失を患っている、請求項 14 記載の使用。

【請求項 16】

神経変性障害がアルツハイマー病である、請求項 15 記載の使用。

【請求項 17】

補体活性化に関連する疾患の治療を必要とする個体における補体活性化に関連する疾患の治療のための医薬の製造における、請求項 1 ~ 8 のいずれか 1 項から選択される抗体Fab断片の使用。

40

【請求項 18】

補体活性化に関連する疾患が神経変性障害である、請求項 17 記載の使用。

【請求項 19】

神経変性障害が、シナプスの喪失又は神経接合部喪失に関連する、請求項 18 記載の使用。

【請求項 20】

神経変性障害が、アルツハイマー病、筋萎縮性側索硬化症、多発性硬化症、緑内障、筋緊張性ジストロフィー、ギラン・バレー症候群 (GBS)、重症筋無力症、脊髄性筋萎縮症、ダウン症候群、パーキンソン病、及びハンチントン病から選択される、請求項 18 又は 19 記載の使用。

【請求項 21】

50

補体活性化に関連する疾患が、炎症性疾患、自己免疫疾患、補体関連眼疾患又は代謝性障害である、請求項 1 7 記載の使用。

【請求項 2 2】

炎症性疾患、自己免疫疾患、補体関連眼疾患又は代謝性障害が、糖尿病、肥満、関節リウマチ(RA)、急性呼吸窮迫症候群(ARDS)、虚血及び再灌流後の遠隔組織傷害、皮膚筋炎、天疱瘡、ループス腎炎とその結果生じる糸球体腎炎及び血管炎、心臓麻痺に誘発される冠動脈内皮機能障害、II型膜性増殖性糸球体腎炎、IgA腎症、急性腎不全、寒冷グロブリン血症、抗リン脂質症候群、慢性開放隅角緑内障、急性閉塞隅角緑内障、黄斑変性疾患、加齢黄斑変性(AMD)、脈絡膜血管新生(CNV)、ブドウ膜炎、糖尿病性網膜症、虚血関連網膜症、眼内炎、眼内新生血管疾患、糖尿病性黄斑浮腫、病的近視、フォン・ヒッペル-リンダウ病、眼のヒストプラスマ症、視神経脊髄炎(NMO)、網膜中心静脈閉塞症(CRVO)、角膜血管新生、網膜血管新生、レーベル遺伝性視神経症、視神経炎、ベーチェット網膜症、虚血性視神経症、網膜血管炎、抗好中球細胞質自己抗体血管炎、プルチエル網膜症、シェーグレンドライアイ疾患、ドライAMD、サルコイドーシス、側頭動脈炎、結節性多発動脈炎、多発性硬化症、超急性拒絶反応、慢性閉塞性肺窮迫症候群(COPD)、喘息、誤嚥性肺炎、多発性硬化症、ギラン・バレー症候群、重症筋無力症、水疱性類天疱瘡並びに筋炎から選択される、請求項 2 1 記載の使用。

10

【請求項 2 3】

補体活性化に関連する疾患が、重症筋無力症、1型真性糖尿病、橋本甲状腺炎、アジソン病、セリアック病、クローン病、悪性貧血、尋常性天疱瘡、白斑、自己免疫性溶血性貧血、腫瘍随伴症候群、血管炎病、低補体血症性蕁麻疹様血管炎(HUV)、リウマチ性多発筋痛症、側頭動脈炎、ウェゲナー肉芽腫症、多発性硬化症、ギラン・バレー症候群、水疱性類天疱瘡及び筋炎から選択される自己免疫疾患である、請求項 1 7 記載の使用。

20

【請求項 2 4】

請求項 1 ~ 8 のいずれか 1 項記載の抗体Fab断片、及び補体活性化に関連する疾患の治療又は予防を必要とする個体において補体活性化に関連する疾患を治療又は予防するための抗体Fab断片を使用するための説明書を含む添付文書を含むキット。

【請求項 2 5】

補体活性化に関連する疾患を発症する対象者のリスクを決定するためのキットの調製における請求項 1 ~ 8 のいずれか 1 項記載の抗体Fab断片の使用であって、抗体Fab断片は検出可能な標識を結合しており、且つ補体活性化に関連する疾患を発症するリスクが、参照との比較でC1qの量を比べることに基づき特徴づけされる、前記使用。

30

【請求項 2 6】

対象者が補体活性化に関連する疾患を発症するリスクを減少させるための医薬の製造における請求項 1 ~ 8 のいずれか 1 項記載の抗体Fab断片の使用であって、抗体Fab断片が補体活性化に関連する疾患の発症を予防するか又はそのリスクを減少させ、それによって補体活性化に関連する将来の疾患を予防するか又はそのリスクを減少させる、前記使用。

【請求項 2 7】

シナプス喪失を患う患者においてシナプス喪失を阻害するための、請求項 1 ~ 8 のいずれか 1 項から選択される抗体Fab断片を含む組成物。

40

【請求項 2 8】

該患者が、神経変性障害、中枢神経系障害又は末梢神経系障害の結果としてシナプス喪失を患っている、請求項 2 7 記載の組成物。

【請求項 2 9】

神経変性障害がアルツハイマー病である、請求項 2 8 記載の組成物。

【請求項 3 0】

補体活性化に関連する疾患の治療を必要とする個体における補体活性化に関連する疾患の治療のための、請求項 1 ~ 8 のいずれか 1 項から選択される抗体Fab断片を含む組成物。

【請求項 3 1】

50

補体活性化に関連する疾患が神経変性障害である、請求項 3 0 記載の組成物。

【請求項 3 2】

神経変性障害が、シナプスの喪失又は神経接合部喪失に関連する、請求項 3 1 記載の組成物。

【請求項 3 3】

神経変性障害が、アルツハイマー病、筋萎縮性側索硬化症、多発性硬化症、緑内障、筋緊張性ジストロフィー、ギラン・バレー症候群 (GBS)、重症筋無力症、脊髄性筋萎縮症、ダウン症候群、パーキンソン病、及びハンチントン病から選択される、請求項 3 1 又は 3 2 記載の組成物。

【請求項 3 4】

補体活性化に関連する疾患が、炎症性疾患、自己免疫疾患、補体関連眼疾患又は代謝性障害である、請求項 3 0 記載の組成物。

【請求項 3 5】

炎症性疾患、自己免疫疾患、補体関連眼疾患又は代謝性障害が、糖尿病、肥満、関節リウマチ (RA)、急性呼吸窮迫症候群 (ARDS)、虚血及び再灌流後の遠隔組織傷害、皮膚筋炎、天疱瘡、ループス腎炎とその結果生じる糸球体腎炎及び血管炎、心臓麻痺に誘発される冠動脈内皮機能障害、II 型膜性増殖性糸球体腎炎、IgA 腎症、急性腎不全、寒冷グロブリン血症、抗リン脂質症候群、慢性開放隅角緑内障、急性閉塞隅角緑内障、黄斑変性疾患、加齢黄斑変性 (AMD)、脈絡膜血管新生 (CNV)、ブドウ膜炎、糖尿病性網膜症、虚血関連網膜症、眼内炎、眼内新生血管疾患、糖尿病性黄斑浮腫、病的近視、フォン・ヒッペル-リンダウ病、眼のヒストプラスマ症、視神経脊髄炎 (NMO)、網膜中心静脈閉塞症 (CRVO)、角膜血管新生、網膜血管新生、レーベル遺伝性視神経症、視神経炎、ベーチェット網膜症、虚血性視神経症、網膜血管炎、抗好中球細胞質自己抗体血管炎、プルチエル網膜症、シェーグレンドライアイ疾患、ドライ AMD、サルコイドーシス、側頭動脈炎、結節性多発動脈炎、多発性硬化症、超急性拒絶反応、慢性閉塞性肺窮迫症候群 (COPD)、喘息、誤嚥性肺炎、多発性硬化症、ギラン・バレー症候群、重症筋無力症、水疱性類天疱瘡並びに筋炎から選択される、請求項 3 4 記載の組成物。

【請求項 3 6】

補体活性化に関連する疾患が、重症筋無力症、1 型真性糖尿病、橋本甲状腺炎、アジソン病、セリアック病、クローン病、悪性貧血、尋常性天疱瘡、白斑、自己免疫性溶血性貧血、腫瘍随伴症候群、血管炎病、低補体血症性蕁麻疹様血管炎 (HUV)、リウマチ性多発筋痛症、側頭動脈炎、ウェゲナー肉芽腫症、多発性硬化症、ギラン・バレー症候群、水疱性類天疱瘡及び筋炎から選択される自己免疫疾患である、請求項 3 0 記載の組成物。

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0001】

関連出願への相互参照

本出願は、2015 年 11 月 24 日に出願した米国仮出願第 62/259,227 号に関する優先権の利益を主張し、その全体が参照により本明細書に組み込まれる。

【0002】

技術分野

本発明は、抗補体因子 C 1 q F a b 断片及びその使用に関する。

【背景技術】

【0003】

急性又は慢性の炎症は多くの臨床的障害に共通する構成要素であり、補体系は、変性疾患、癌及び移植拒絶反応を含みます多くの数の炎症状態に関連付けられてきた。補体系は病原体のセンサーとして働き、病気の又は損傷した宿主細胞を認識し、潜在的危険を取り除くために他の免疫防御系と密接に協力する。しかし、不十分な、過剰な、又は制御が不十分な補体活性化は、健康と疾患の間のバランスを傾け、宿主細胞への自己攻撃をもたらし得る。そのような免疫の不均衡は、補体、炎症細胞及び組織損傷の間のサイクルを

10

20

30

40

50

促進し得て、該サイクルは炎症刺激因子を消滅させるのではなく再生成し、臨床合併症を悪化させる。補体の不適切な活性化は、多くの自己免疫性、炎症性及び神経変性疾患、並びに虚血-再灌流損傷及び癌に結び付けられてきた。したがって、補体活性を治療において調節することは、炎症過程の上流での阻害のための魅力的な標的として浮上する。

【発明の概要】

【0004】

本開示は全般的に抗C1q Fab断片とその使用を目的とする。

【0005】

特に補体は侵入する生物に対する炎症と体の保護に関するため、補体は自然免疫系の中心的な構成要素である。補体はまた、自己抗原とアポトーシス細胞の排除に関わり、獲得免疫への橋を形成し、また組織再生と腫瘍成長において重要な役割を果たす。これらの機能を実行するために、補体系は、貪食細胞による破壊のために病原体の細胞表面と相互作用してこれらを標識する可溶性及び細胞表面結合性のタンパク質の相互作用に依存する。補体系は多数の異なる血漿タンパク質から構成され、主に肝臓で産生される。これらのタンパク質のいくらかは、チモーゲンとして公知のプロテアーゼのクラスであり、タンパク質切断によって自分自身により活性化される。これらのチモーゲンは局所性の病原体を見つけるまでは活性にならないまま広く分布し得る。補体系はこのように誘発される酵素カスケードにより活性化される。

【0006】

補体活性化は3つの経路、すなわち、古典的経路、副経路及びレクチン経路により開始される。3つの経路はすべて、パターン認識タンパク質による表面構造の検出に基づく。その上、3つの経路はすべて共通の交差点である補体C3で合流する。C3は急性期反応因子である。活性化した単球とマクロファージによって少量が生成されるが、肝臓が合成の主要部位である。約200kDの一本鎖前駆体（pro-C3）は細胞内に見出され、cDNAはそれが1,663アミノ酸を含むことを示す。これはタンパク質切断によって加工され、成熟タンパク質ではジスルフィド結合によって連結されるアルファ及びベータサブユニットになる。pro-C3は22アミノ酸残基のシグナルペプチド、ベータ鎖（645残基）及びアルファ鎖（992残基）を含有する。2つの鎖は、成熟タンパク質には存在しない4アルギニン残基によって連結されている。

【0007】

古典的経路は、補体タンパク質C1qがパッチ状に表面に結合した抗体（IgM及びIgG）と直接結合すること、並びにC反応性タンパク質、血清アミロイドP、ペントラキシン3、及びアポトーシス細胞又は微生物細胞の表面の他のリガンドへの結合によって活性化される。

【0008】

C1qは18本のポリペプチド鎖（6本のC1q A鎖、6本のC1q B鎖、及び6本のC1q C鎖）からなる460kDaの巨大多量体タンパク質である。C1r及びC1s補体タンパク質はC1q末端領域に結合してC1複合体を形成する。C1q複合体の細胞表面又は抗体Fc領域の補体結合ドメインへの結合は、C1qの立体構造変化を誘導し、C1rの自己触媒酵素活性の活性化をもたらす、これにより次にC1sが切断されて活性型セリンプロテアーゼが生成される。一度活性化されると、C1sはC4などを切断し、補体カスケードの順序をもたらす。最終的にこの経路は、病的細胞を溶解し殺傷する膜侵襲複合体の形成につながる。

【0009】

補体は、それが外来の侵入者と宿主細胞の両方を攻撃し得るという点で非特異的である。正常な条件下では、ニューロンを含む宿主細胞は、C1インヒビター（C1-Inh）などの様々な液相及び膜結合型の補体制御タンパク質によって、潜在的な補体媒介性損傷から保護される。C1-INHはC1rとC1sを活性型C1複合体から解離し、これによって宿主細胞は、膜侵襲複合体に由来する溶解又は損傷から保護される。潜在的な補体媒介性損傷から保護する他のタンパク質としては、C4b結合タンパク質（C4BP）、H因子、（FH）、補体受容体1（CR1；CD35）、補体受容体Ig（CRIg）、崩壊促進因子（DAF；CD55）、膜コファクタータン

10

20

30

40

50

パク質 (MCP ; CD46) 及びCD59が挙げられる。しかし、これらの構成要素の欠損、又は特定の病的状態に対する反応における補体の過剰活性化は、この保護機構を圧倒し得る。そのようなバランスを失した活性化は、ますます多くの数の疾患と病変に関連付けられてきた。

【 0 0 1 0 】

例えば、様々な補体構成要素は、インビトロ及びインビボでニューロン及びグリア細胞により発現される。脳におけるそれらの機能は知られていないが、これらの補体タンパク質の多くの発現は、脳損傷後又は神経変性疾患の病態の過程において血清又は炎症性サイトカインによって上方調節される。培養中のアストロサイトは、C1q、C1r、C1s、C4、C2及びC3、並びにより末端のタンパク質を発現することが報告されている。ニューロンはC4及びC3を発現することが報告されている。C1qは、ニューロンシナプスにおいて発現され、排除のためにこれらのシナプスにマークを付すことが示された。例えば、米国特許公開第2012/0195880号及び第2012/328601号を参照されたい。選択的シナプス喪失は、正常な脳の発達の本質的な側面(「シナプス刈り込み」)であるが、過剰なシナプス喪失は、特に成熟又は加齢脳において、神経変性及び認知低下をもたらす。シナプス補体発現の上昇は、正常な加齢及び神経変性疾患の進行におけるシナプス喪失に寄与することが見出された。逆に、神経補体発現の低下は、神経保護的であることが見出された。シナプス喪失に影響されるニューロンは、中枢神経系のニューロン又は末梢系ニューロンであってもよい。これらの知見に基づいて、C1qなどの補体因子の活性を中和することは、シナプス喪失を防止し、神経変性疾患の進行並びに正常な加齢における認知低下を遅延させる有望な治療戦略として理解される。シナプス喪失を伴い、C1qなどの補体因子の中和を目的とした治療に対して影響を受けやすいと考えられる神経変性疾患としては、アルツハイマー病、筋萎縮性側索硬化症、多発性硬化症、緑内障、筋緊張性ジストロフィー、ダウン症候群、パーキンソン病、ハンチントン病などが含まれる。

【 0 0 1 1 】

その上、アナフィラトキシンC5aは、マウスにおいて腫瘍成長に寄与することが示されている。補体が有害な効果を有するこれらの状況では、適切な補体インヒビターを使用することによってその活性化を調節することが望ましい。現在、多くの補体インヒビターは、免疫原性であり組織浸透性が低いタンパク質性医薬品である。例えば、抗C5 mAbベキセリズマブ (Alexion Pharmaceuticals) の急性心筋梗塞の治療のための使用の失敗は、部分的にその組織浸透性の低さに起因していたかもしれない。タンパク質インヒビターとは対照的に、数種類の低分子量薬 (2kDa未満) が補体インヒビターとして使用されてきており、タンパク質インヒビターと同じ不都合に悩まされていない。しかし、ビスフェノール二硫酸塩、ステロイド及びトリテルペノイドなどの報告されている低分子量薬及び他の低分子インヒビターの多くは、一般的に補体に対して低い効力を有してきた。その上、低分子量及び低分子補体インヒビターは不十分な選択性と高い毒性を含む他の問題を有する。低分子量及び低分子補体インヒビターについての別の課題は、補体カスケードは多数のタンパク質-タンパク質相互作用に依存するため、相互作用表面が酵素ポケットなどに比べて通常はるかに大きく、そのような相互作用に関わるアミノ酸残基がしばしば近接していないということである。加えて、接触表面は通常は浅く、低分子化合物の強固な結合を可能にするいかなる溝も有しない。したがって、すべての生理的な補体制御因子が、プロテアーゼインヒビターC1-Inhを含めて、比較的巨大なタンパク質であるということは有力である。タンパク質性薬、低分子量及び低分子補体インヒビターの前述の課題にも関わらず、補体カスケードの異なる構成要素の阻害を狙った抗体断片 (Fab) は予防上、診断上及び治療上の臨床適用について有利かもしれない。そのようなFab分子は、迅速な除去、より高い組織浸透能力、Fc媒介性エフェクター機能 (CDC、ADCC及び食作用など) 並びにより低い免疫原性を必要とする状況において望ましい。その上、Fab分子はアナフィラキシーを引き起こし得るクロスリンクされた免疫複合体を形成しない。

【 0 0 1 2 】

ある態様では、本開示は補体カスケードのタンパク質に結合する抗体Fab断片を提供す

る。いくつかの実施形態では、抗体Fab断片はC1qタンパク質に結合する。いくつかの実施形態では、抗体Fab断片は重鎖及び軽鎖を含み、ここで重鎖は第1重鎖ドメインの後でトランケートされている。

【0013】

好ましい実施形態では、抗体Fab断片は抗C1q抗体Fab断片である。

【0014】

いくつかの実施形態では、抗体Fab断片は、当技術分野において公知の任意の適切な方法によって調製され得る。例えば、抗体Fab断片は、抗体Fab断片を生成するためにシステインプロテアーゼパピンをを用いる処置など、任意の適切な酵素切断及び/又は消化技術を使用して、任意の全抗体、特に全モノクローナル抗体から取得してもよい。

10

【0015】

一実施形態では、本発明の抗体Fab断片は、抗体可変及び定常領域をコードするDNAの操作と再発現を含む組換えDNA技術の使用によって調製される。さらなるアミノ酸又はドメインを必要に応じて改変し、付加し、又は欠失させるために、標準的な分子生物学的技術を使用してもよい。可変又は定常領域への任意の変更をも、本明細書において使用される「可変」及び「定常」領域という用語に包含される。好ましくは、 C_H1 ドメインの翻訳が鎖間システインで止まるように、 C_H1 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ためにPCRを使用する。好適なPCRプライマーを設計するための方法は、当技術分野で周知であり、抗体 C_H1 ドメインの配列は容易に入手できる。いくつかの実施形態では、部位特異的変異誘発技術を使用して終止コドンを導入してもよい。

20

【0016】

いくつかの場合では、本発明の抗体Fab断片出発物質は、例えばIgG1、IgG2、IgG3及びIgG4を含む、例えばIgG、IgM、IgA、IgD及びIgEとそのサブクラスを含む、任意の抗体アイソタイプ（「クラス」）に由来してもよい。好ましくは、本発明の抗体Fab断片はIgG1に由来する。

【0017】

いくつかの実施形態では、抗体Fab断片出発物質は、例えばマウス、ラット、ウサギ、ブタ、ハムスター、ラクダ、ラマ、ヤギ又はヒトを含む任意の種から取得してもよい。好ましい実施形態では、抗体Fab断片の重鎖と軽鎖はマウスIgG1に由来する。抗体Fab断片の一部は1種類よりも多い種類の種から取得してもよい。例えば、抗体断片はキメラであってもよいし、又はヒト化されてもよい。一例では、定常領域は1つの種に由来し、可変領域は別のものに由来する。別の例では、抗体Fab断片はヒト化されている。

30

【0018】

抗体断片出発物質もまた改変されてもよい。一例では、抗体断片の可変領域は組換えDNA工学技術を使用して生成されている。そのような操作されたバージョンは、例えば、天然抗体の可変領域から、天然抗体のアミノ酸配列における又はそれへの挿入、欠失又は変化によって生成されるものを含む。この種類の特定の例には、1種類の抗体に由来する少なくとも1つのCDR及び場合により1つ以上のフレームワークアミノ酸、及び第2の抗体に由来する可変領域の残りの部分を含有する、操作された可変領域が含まれる。

【0019】

いくつかの実施形態では、抗体Fab断片は、配列番号1に提供されるアミノ酸配列の重鎖、及び配列番号2に提供されるアミノ酸配列の軽鎖を含む。いくつかの実施形態では、配列番号1及び2のアミノ酸をコードするDNA配列が提供される。一実施形態では、配列番号1をコードする核酸配列は配列番号3である。別の実施形態では、配列番号2をコードする核酸配列は配列番号4である。

40

【0020】

重鎖及び軽鎖が配列番号1及び配列番号2の配列にそれぞれ少なくとも90%の同一性又は類似性を有する配列を含む、抗体Fab断片もまた開示される。好ましくは、抗体Fab断片は、配列番号1に対して少なくとも90%、95%又は98%の同一性又は類似性を有する重鎖配列、及び配列番号2に対して少なくとも90%、95%又は98%の同一性又は類似性を有する

50

軽鎖配列を含む。

【 0 0 2 1 】

いくつかの実施形態では、抗体Fab断片はヒトC1q、マウスC1q、イヌC1q、アカゲザルC1q、カニクイザルC1q又はラットC1qに特異的に結合する。いくつかの実施形態では、抗体Fab断片はヒトC1q及びマウスC1qの両方に特異的に結合する。いくつかの実施形態では、抗体Fab断片はヒトC1q及びラットC1qの両方に特異的に結合する。いくつかの実施形態では、抗体Fab断片はヒトC1q及びイヌC1qの両方に特異的に結合する。いくつかの実施形態では、抗体Fab断片はヒトC1q及びアカゲザルC1qの両方に特異的に結合する。いくつかの実施形態では、抗体Fab断片はヒトC1q及びカニクイザルC1qの両方に特異的に結合する。いくつかの実施形態では、抗体Fab断片はマウスC1q及びラットC1qの両方に特異的に結合する。いくつかの実施形態では、抗体Fab断片はマウスC1q及びイヌC1qの両方に特異的に結合する。いくつかの実施形態では、抗体Fab断片はマウスC1q及びアカゲザルC1qの両方に特異的に結合する。いくつかの実施形態では、抗体Fab断片はマウスC1q及びカニクイザルC1qの両方に特異的に結合する。いくつかの実施形態では、抗体Fab断片はラットC1q及びイヌC1qの両方に特異的に結合する。いくつかの実施形態では、抗体Fab断片はラットC1q及びアカゲザルC1qの両方に特異的に結合する。いくつかの実施形態では、抗体Fab断片はラットC1q及びカニクイザルC1qの両方に特異的に結合する。いくつかの実施形態では、抗体Fab断片はイヌC1q及びアカゲザルC1qの両方に特異的に結合する。いくつかの実施形態では、抗体Fab断片はイヌC1q及びカニクイザルC1qの両方に特異的に結合する。いくつかの実施形態では、抗体Fab断片はアカゲザルイヌC1q及びカニクイザルC1qに特異的に結合する。いくつかの実施形態では、抗体Fab断片はヒトC1q、マウスC1q及びノ又はラットC1q、並びに以下のもの：イヌC1q、アカゲザルC1q及びカニクイザルC1qのうち少なくとも1つに結合する。

【 0 0 2 2 】

いくつかの実施形態では、抗体Fab断片はヒトC1q及びマウスC1qの両方に結合する。他の実施形態では、抗体Fab断片はヒトC1q、マウスC1q、ラットC1q、イヌC1q、アカゲザルC1q及びカニクイザルC1qに結合する

【 0 0 2 3 】

いくつかの実施形態では、抗体Fab断片は、ATCC受託番号PTA-120399を有するハイブリドーマ細胞株によって産生される抗体M1と本質的に同じC1qエпитープに結合する。いくつかの場合では、抗体Fab断片は、ATCC受託番号PTA-120399を有するハイブリドーマ細胞株によって産生されるモノクローナル抗体M1のヒトC1q又はマウスC1qとの結合を阻害する。

【 0 0 2 4 】

いくつかの実施形態では、本開示の別の抗体によって結合されるC1qエピトープと同じか又は重なるC1qのエピトープに結合するヒト化抗C1q抗体Fab断片が本明細書において提供される。ある実施形態では、C1qのエピトープに結合するヒト化抗C1q抗体Fab断片は、ATCC受託番号PTA-120399を有するハイブリドーマ細胞株によって産生される抗C1q抗体M1によって結合されるC1qエピトープと同じか又は重なる。いくつかの実施形態では、ヒト化抗C1q抗体Fab断片は、C1qへの結合について本開示の別の抗体と競合する。ある実施形態では、抗C1q抗体Fab断片は、ATCC受託番号PTA-120399を有するハイブリドーマ細胞株によって産生される抗C1q抗体M1又はその抗C1q結合断片と競合する。

【 0 0 2 5 】

抗体重鎖及び軽鎖CDR3ドメインが、抗体の抗原に対する結合特異性／親和性において特に重要な役割を果たすことは当技術分野において周知であるため、本開示の抗体Fab断片は、ATCC受託番号PTA-120399を有するハイブリドーマ細胞株によって産生されるモノクローナル抗体M1の可変領域の重鎖及び軽鎖CDR3を含んでもよい。いくつかの実施形態では、抗体Fab断片はさらに、モノクローナル抗体M1の可変領域のCDR2を含む。いくつかの実施形態では、抗体Fab断片はさらに、モノクローナル抗体M1の可変領域のCDRを含む。いくつかの実施形態では、抗体Fab断片はさらにCDRの任意の組み合わせを含んでもよい。

【 0 0 2 6 】

いくつかの実施形態では、抗体Fab断片は脳浸透性を増加させるように操作されている。いくつかの場合では、抗体Fab断片は、対応する全長抗体と比較してより良い脳浸透性を有する。

【 0 0 2 7 】

いくつかの実施形態では、抗体Fab断片は1つの結合部位だけを有する。いくつかの実施形態では、抗体Fab断片は、米国特許第62/075793から参照によって本明細書に組み入れられる全C1q抗体と、C1qに対して同じ親和性を有する。いくつかの実施形態では、抗体Fab断片は、補体カスケードのタンパク質、例えば、C1q、C4、C2、C3コンバーターゼ、C3a、C5、C3b、C5b、C6、C7、C8及び/又はC9を阻害する。

10

【 0 0 2 8 】

いくつかの実施形態では、抗体断片は、それに対応する全長抗体に比べ、ヒト循環においてより短い半減期を有する。

【 0 0 2 9 】

いくつかの実施形態では、抗体Fab断片は眼の中に直接注入される。いくつかの実施形態では、抗体Fab断片は、眼の疾患又は状態の予防又は治療のために眼の中に注入され、通常は眼球の、眼球内の、及び/又は硝子体内の注入によって投与され得る。使用される他の投与方法は、以下に限定されないが、局所、非経口、皮下、腹腔内、肺内、鼻腔内及び病巣内投与を含む。非経口注入は、筋肉内、静脈内、動脈内、腹腔内、又は皮下投与を含む。

20

【 0 0 3 0 】

本発明の抗体Fab断片は、例えば、慢性開放隅角緑内障、急性閉塞隅角緑内障、ドライ及びウェットの（非滲出性及び滲出性の）形態（AMD-wet）を含むすべての段階の加齢黄斑変性（AMD）などの黄斑変性疾患、地図状萎縮、脈絡膜血管新生（CNV）、ブドウ膜炎、糖尿病性及び他の虚血関連網膜症、眼内炎、及び糖尿病性黄斑浮腫などの他の眼内新生血管疾患、病的近視、フォン・ヒッペル-リндаウ病、眼のヒストプラスマ症、網膜中心静脈閉塞症（CRVO）、角膜血管新生、網膜血管新生、レーベル遺伝性視神経症、視神経炎、ベーチェット網膜症、虚血性視神経症、網膜血管炎、ANCA血管炎、プルチエル網膜症、シェーグレンドライアイ疾患、ドライAMD、サルコイドーシス、側頭動脈炎、結節性多発動脈炎、並びに多発性硬化症などの補体関連眼状態（古典的経路及び副経路を含む、補体が関与する病理のすべての眼状態及び疾患）の予防及び治療に有用である。

30

【 0 0 3 1 】

補体関連眼疾患の好ましい群には、非滲出性（ウェット）及び滲出性（ドライ又は萎縮性）AMDを含む加齢黄斑変性（AMD）、脈絡膜血管新生（CNV）、糖尿病性網膜症（DR）並びに眼内炎が挙げられる。

【 0 0 3 2 】

いくつかの実施形態では、抗体Fab断片は、10pMから20pM、又は1pMから10pM未満の範囲のヒトC1qに対する解離定数（ K_D ）を有する。いくつかの実施形態では、抗体Fab断片は、1pMから200pMまでの範囲のマウスC1qに対する解離定数（ K_D ）を有する。いくつかの実施形態では、抗体Fab断片はC1qに特異的に結合し、その生物学的活性を阻害する。いくつかの実施形態では、生物学的活性が、(1)自己抗体へのC1q結合、(2)C1rへのC1q結合、(3)C1sへのC1q結合、(4)ホスファチジルセリンへのC1q結合、(5)ペントラキシン-3へのC1q結合、(6)C反応性タンパク質（CRP）へのC1q結合、(7)球状C1q受容体（gC1qR）へのC1q結合、(8)補体受容体1（CR1）へのC1q結合、(9)ベータ-アミロイドへのC1q結合、(10)カルレティキュリンへのC1q結合、(11)アポトーシス細胞へのC1q結合、又は(12)神経細胞膜の構成要素へのC1q結合である。

40

【 0 0 3 3 】

いくつかの実施形態において、生物学的活性が、(1)古典的補体活性化経路の活性化、(2)抗体及び補体依存性細胞傷害の活性化、(3)CH50溶血、(4)シナプス喪失、(5)B細胞抗体産生、(6)樹状細胞成熟、(7)T細胞増殖、(8)サイトカイン産生、(9)ミクログリア活性化

50

、(10)アルサス反応、(11)シナプス又は神経終末の食作用、又は(12)補体受容体3(CR3/C3)を発現する細胞の活性化である。

【0034】

いくつかの実施形態において、CH50溶血が、ヒト、マウス、及び/又はラットCH50溶血を含む。いくつかの実施形態において、抗体Fab断片は少なくとも約50%～少なくとも約95%のCH50溶血を中和することができる。いくつかの実施形態において、抗体Fab断片は、150ng未満、100ng未満、50ng未満又は20ng未満の用量で少なくとも50%のCH50溶血を中和することができる。いくつかの実施形態では、抗体Fab断片は、6:1未満～1:1又は2:1未満～1:1の範囲の結合化学量論(binding stoichiometry)でC1qと結合し、生物学的機能を阻害する。

10

【0035】

いくつかの実施形態では、抗体Fab断片はヒト化されている。

【0036】

他の実施形態では、本開示は、先行する実施形態のいずれかの核酸配列を含む単離された宿主細胞を提供する。いくつかの実施形態では、宿主は抗体Fab断片の核酸配列を含むクローニング又は発現ベクターを含む。いくつかの実施形態では、宿主細胞は抗体Fab断片の発現に好適な条件で発現ベクター及び核酸を含んで培養される。いくつかの実施形態では、抗体Fab断片はその後、宿主細胞(又は宿主細胞培地)から回収される。加えて、抗C1q抗体Fab断片を薬学的に許容される担体と組み合わせて含む医薬組成物が提供される。本開示はまた、本明細書において記載される方法のいずれかにおける使用のための抗C1q抗体Fab断片を含むキットを提供する。

20

【0037】

いくつかの場合では、本開示は、補体活性化に関連する疾患の治療又は予防を、そのような治療を必要とする個体において行う方法であって、抗C1q抗体Fab断片を投与することを含む前記方法を提供する。

【0038】

いくつかの実施形態において、補体活性化に関連する疾患が神経変性障害である。いくつかの実施形態では、神経変性障害が、補体受容体3(CR3)/C3又は補体受容体CR1に依存性であるシナプス喪失などのシナプス又は神経接合部の喪失に関連する。いくつかの実施形態において、神経変性障害が、病理学的活性依存性のシナプス刈り込み、ミクログリアによるシナプス食作用に関連する。いくつかの実施形態において、神経変性障害が、アルツハイマー病、筋萎縮性側索硬化症、多発性硬化症、緑内障、筋緊張性ジストロフィー、ギラン・バレー症候群(GBS)、重症筋無力症、水疱性類天疱瘡、脊髄性筋萎縮症、ダウン症候群、パーキンソン病、及びハンチントン病に関連する。

30

【0039】

いくつかの実施形態において、補体活性化に関連する疾患は、糖尿病、肥満、関節リウマチ(RA)、急性呼吸窮迫症候群(ARDS)、虚血及び再灌流後の遠隔組織傷害、心肺バイパス手術中の補体活性化、皮膚筋炎、天疱瘡、ループス腎炎とその結果生じる糸球体腎炎及び血管炎、心肺バイパス、心臓麻痺に誘発される冠動脈内皮機能障害、II型膜性増殖性糸球体腎炎、IgA腎症、急性腎不全、寒冷グロブリン血症、抗リン脂質症候群、慢性開放隅角緑内障、急性閉塞隅角緑内障、黄斑変性疾患、加齢黄斑変性(AMD)、(AMD-wet)、地図状萎縮、脈絡膜血管新生(CNV)、ブドウ膜炎、糖尿病性網膜症、虚血関連網膜症、眼内炎、眼内新生血管疾患、糖尿病性黄斑浮腫、病的近視、フォン・ヒッペル-リンダウ病、眼のヒストプラスマ症、視神経脊髄炎(NMO)、網膜中心静脈閉塞症(CRVO)、角膜血管新生、網膜血管新生、レーベル遺伝性視神経症、視神経炎、ベーチェット網膜症、虚血性視神経症、網膜血管炎、ANCA血管炎、プルチエル網膜症、シェーグレンドライアイ疾患、ドライAMD、サルコイドーシス、側頭動脈炎、結節性多発動脈炎、多発性硬化症、アロ移植、超急性拒絶反応、血液透析、慢性閉塞性肺窮迫症候群(COPD)、喘息、誤嚥性肺炎、多発性硬化症、ギラン・バレー症候群、重症筋無力症、水疱性類天疱瘡並びに筋炎から選択される、炎症性疾患、自己免疫疾患又は代謝性障害である。

40

50

【 0 0 4 0 】

いくつかの実施形態において、補体活性化に関連する疾患が、重症筋無力症、1型真性糖尿病、橋本甲状腺炎、アジソン病、セリアック病、クローン病、悪性貧血、尋常性天疱瘡、白斑、自己免疫性溶血性貧血、腫瘍随伴症候群、血管炎病、低補体血症性蕁麻疹様血管炎(HUV)、リウマチ性多発筋痛症、側頭動脈炎、ウェゲナー肉芽腫症、多発性硬化症、ギラン・バレー症候群、重症筋無力症、水疱性類天疱瘡及び筋炎から選択される自己免疫疾患である。

【 0 0 4 1 】

いくつかの実施形態では、本開示は、a)個体に抗C1q抗体Fab断片を投与し、b)シナプスに結合した抗体Fab断片を検出し、それによって個体におけるシナプスを検出することにより、個体においてシナプスを検出する方法を提供する。いくつかの実施形態では、シナプスに結合した抗体Fab断片は、陽電子放射断層撮影(PET)、X線コンピュータ断層撮影、単一光子放射断層撮影(SPECT)、コンピュータ断層撮影(CT)及びコンピュータ体軸断層撮影(CAT)から選択される画像化手法を使用して検出される。いくつかの実施形態では、シナプスに結合した抗体Fab断片の検出は、個体におけるシナプスの数の定量尺度を提供し、ここで個体におけるシナプスの数は一定期間の間繰り返し測定され、個体におけるシナプスの喪失は経時的に検出され、継時的なシナプスの喪失は神経変性疾患又は自己免疫疾患の治療の有効性の尺度である。

【 0 0 4 2 】

いくつかの実施形態では、本開示は、a)生物学的試料をヒト化抗C1q抗体Fab断片と接触し、b)シナプスに結合した抗体Fab断片を検出し、それによって個体におけるシナプスを検出することにより、生物学的試料におけるシナプスを検出する方法を提供する。いくつかの実施形態では、該方法はさらに、ステップa)の前に個体から生物学的試料を取得するステップを含む。いくつかの実施形態では、生物学的試料は生検標本、組織又は細胞を含む。いくつかの実施形態では、抗体Fab断片は、免疫蛍光顕微鏡法、免疫細胞化学、免疫組織化学、ELISA、FACS解析、免疫沈降、又はマイクロ陽電子放射断層撮影によって検出される。

【 0 0 4 3 】

「同一性」は、本明細書で使用されるとき、整列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意味する。「類似性」は、本明細書で使用されるとき、整列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種類のものであることを意味する。例えば、ロイシンはイソロイシン又はバリンに置換され得る。しばしば互いに置換され得る他のアミノ酸は、以下に限定されないが、以下を含む：

- 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）
- アスパラギン酸及びグルタミン酸（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）、並びに
- 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）。

【 0 0 4 4 】

同一性及び類似性の度合いは容易に計算することができる(Computational Molecular Biology, Lesk, A.M., ed., Oxford University Press, New York, 1988; Biocomputing. Informatics and Genome Projects, 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)。

【 0 0 4 5 】

いくつかの実施形態では、抗体Fab断片は、アルツハイマー病、筋萎縮性側索硬化症、多発性硬化症、緑内障、筋緊張性ジストロフィー、ギラン・バレー症候群(GBS)、重症筋

10

20

30

40

50

無力症、水疱性類天疱瘡、脊髄性筋萎縮症、ダウン症候群、パーキンソン病及びハンチントン病などの神経変性障害といった、多くの疾患又は障害の検出又は治療において有用であり得る。いくつかの実施形態において、抗体Fab断片は、糖尿病、肥満、関節リウマチ(RA)、急性呼吸窮迫症候群(ARDS)、虚血及び再灌流後の遠隔組織傷害、心肺バイパス手術中の補体活性化、皮膚筋炎、天疱瘡、ループス腎炎とその結果生じる糸球体腎炎及び血管炎、心肺バイパス、心臓麻痺に誘発される冠動脈内皮機能障害、II型膜性増殖性糸球体腎炎、IgA腎症、急性腎不全、寒冷グロブリン血症、抗リン脂質症候群、慢性開放隅角緑内障、急性閉塞隅角緑内障、黄斑変性疾患、加齢黄斑変性(AMD)、(AMD-wet)、地図状萎縮、脈絡膜血管新生(CNV)、ブドウ膜炎、糖尿病性網膜症、虚血関連網膜症、眼内炎、眼内新生血管疾患、糖尿病性黄斑浮腫、病的近視、フォン・ヒッペル-リンダウ病、眼のヒストプラスマ症、視神経脊髄炎(NMO)、網膜中心静脈閉塞症(CRVO)、角膜血管新生、網膜血管新生、レーベル遺伝性視神経症、視神経炎、ベーチェット網膜症、虚血性視神経症、網膜血管炎、ANCA血管炎、プルチエル網膜症、シェーグレンドライアイ疾患、ドライAMD、サルコイドーシス、側頭動脈炎、結節性多発動脈炎、多発性硬化症、アロ移植、超急性拒絶反応、血液透析、慢性閉塞性肺窮迫症候群(COPD)、喘息、誤嚥性肺炎、重症筋無力症、1型真性糖尿病、橋本甲状腺炎、アジソン病、セリアック病、クローン病、悪性貧血、尋常性天疱瘡、白斑、自己免疫性溶血性貧血、腫瘍随伴症候群、血管炎病、低補体血症性蕁麻疹様血管炎(HUV)、リウマチ性多発筋痛症、側頭動脈炎、ウェゲナー肉芽腫症又は多発性硬化症、ギラン・バレー症候群、重症筋無力症、水疱性類天疱瘡又は筋炎などの、炎症性疾患、自己免疫疾患又は代謝性障害の検出又は治療に有用であり得る。

10

20

【0046】

いくつかの実施形態では、シナプス喪失の有害な影響を患う個体を保護又は治療する方法が提供される。これらの知見はシナプス喪失を含む神経変性状態を含む、様々な臨床状態について幅広い示唆を有しており、該状態は、アルツハイマー病、筋萎縮性側索硬化症、多発性硬化症、緑内障、筋緊張性ジストロフィー、ダウン症候群、パーキンソン病及びハンチントン病などを含み得る。シナプス喪失は、ニューロンに対して、C1qなどの特定の構成要素を含む補体をブロックする物質を接触させることによって、阻害される。

【0047】

いくつかの実施形態において、(a)対象者に抗C1q抗体断片を投与すること(抗体断片は検出可能な標識に結合している)、(b)検出可能な標識を検出して対象者におけるC1qの量又は位置を測定すること、及び(c)C1qの量又は位置を参照と比較することを含む、補体活性化に関連する疾患を発症する対象者のリスクを決定する方法が提供され、ここで補体活性化に関連する疾患を発症するリスクは、C1qの量の参照との比較に基づいて特徴づけられる。

30

【0048】

いくつかの実施形態では、検出可能な標識は、核酸、オリゴヌクレオチド、酵素、放射性同位元素、ビオチン又は蛍光標識を含む。いくつかの実施形態では、抗体は、ビオチン化の過程を使用してビオチンなどの補酵素で標識される。ビオチンが標識として使用される場合、抗体の検出は、アビジン又はその細菌対応物のストレプトアビジンなどのタンパク質の付加により達成され、これらのいずれかは前述の色素、フルオレセインなどの蛍光マーカー、放射性同位元素又はペルオキシダーゼなどの酵素といった検出可能なマーカーに結合することができる。

40

【0049】

いくつかの実施形態では、検出可能な標識は、X線、CT、MRI、超音波、PET及びSPECTのための造影剤を使用して検出される。

【0050】

いくつかの実施形態では、蛍光標識はフルオレセイン、ローダミン、シアニン色素又はBODIPYから選択される。

【0051】

いくつかの実施形態では、抗C1q抗体断片の投与を含む、補体活性化に関連する疾患を

50

発症する対象者のリスクを減らす方法が提供され、ここで、抗C1q抗体断片は、補体活性化に関連する疾患を発症するリスクを防止するか又は減少させ、それによって補体活性化に関連する将来の疾患を防止するか又はそのリスクを減少させる。

【 0 0 5 2 】

いくつかの実施形態では、抗体Fab断片は、その対応する全長抗体に比較して短い半減期を有する。

本発明はまた、以下に関する。

[項目 1]

C1qに結合する抗体Fab断片。

[項目 2]

重鎖可変ドメイン及び軽鎖可変ドメインを含む、項目 1 記載の抗体Fab断片であって、重鎖可変ドメインが配列番号1を含み、且つ軽鎖可変ドメインが配列番号3を含む、前記抗体Fab断片。

[項目 3]

抗体Fabであって、抗体Fab断片が重鎖及び軽鎖の相補性決定領域（CDR）を含み、並びに

重鎖CDR1配列が配列番号1のアミノ酸残基26～35を含み、重鎖CDR2配列が配列番号1のアミノ酸残基50～66を含み、及び重鎖CDR3配列が配列番号1のアミノ酸残基99～110を含み、並びに

軽鎖CDR1配列が配列番号3のアミノ酸残基24～34を含み、軽鎖CDR2配列が配列番号3のアミノ酸残基50～56を含み、及び軽鎖CDR3配列が配列番号3のアミノ酸残基89～97を含む、前記抗体Fab。

[項目 4]

補体カスケードのタンパク質に結合する抗体Fab断片であって、重鎖可変ドメインが配列番号5～8から選択されるアミノ酸配列、又は配列番号5～8から選択されるアミノ酸配列と少なくとも95%の相同性を有するアミノ酸配列を含む、前記抗体Fab断片。

[項目 5]

軽鎖可変ドメインが配列番号9～12から選択されるアミノ酸配列、又は配列番号9～12から選択されるアミノ酸配列と少なくとも90%の相同性を有するアミノ酸配列を含む、項目 4 記載の抗体Fab断片。

[項目 6]

C1qタンパク質に特異的に結合する抗体Fab断片であって、

a) 配列番号5～8から選択されるアミノ酸配列、若しくは配列番号5～8から選択されるアミノ酸配列に少なくとも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；及び/又は

b) 配列番号9～12から選択されるアミノ酸配列、若しくは配列番号9～12から選択されるアミノ酸配列に少なくとも90%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む、前記抗体Fab断片。

[項目 7]

ATCC受託番号PTA-120399を有するハイブリドーマ細胞株によって産生される抗体M1と同じC1qエпитープに結合する、項目 1 ～ 6 のいずれか一項に記載の抗体Fab断片。

[項目 8]

ATCC受託番号PTA-120399を有するハイブリドーマ細胞株によって産生されるモノクローナル抗体M1のヒトC1q又はマウスC1qとの結合を阻害する、項目 1 ～ 7 のいずれか一項に記載の抗体Fab断片。

[項目 9]

ヒトC1q及びマウスC1qの両方に特異的に結合する、項目 1 ～ 7 のいずれか一項に記載の抗体Fab断片。

[項目 1 0]

ラットC1q、イヌC1q、アカゲザルC1q、若しくはカニクイザルC1q、又はその組み合わせ

10

20

30

40

50

に結合する、項目 1 ~ 7 のいずれか一項に記載の抗体Fab断片。

[項目 1 1]

ヒトC1q、マウスC1q及び / 又はラットC1q、並びに以下のもの：イヌC1q、アカゲザルC1q及びカニクイザルC1qのうち少なくとも1つに結合する、項目 1 ~ 7 のいずれか一項に記載の抗体Fab断片。

[項目 1 2]

IgGクラスのものである、項目 1 ~ 1 1 のいずれか一項に記載の抗体Fab断片。

[項目 1 3]

IgGクラスがIgG1である、項目 1 2 記載の抗体Fab断片。

[項目 1 4]

脳浸透性を増加させるように操作されている、項目 1 ~ 1 3 のいずれか一項に記載の抗体Fab断片。

[項目 1 5]

10pMから20pM又は1pMから10pM未満の範囲のヒトC1qに対する解離定数 (K_D) を有する、項目 1 ~ 1 4 のいずれか一項に記載の抗体Fab断片。

[項目 1 6]

1pMから200pMの範囲のマウスC1qに対する解離定数 (K_D) を有する、項目 1 ~ 1 5 のいずれか一項に記載の抗体Fab断片。

[項目 1 7]

C1qに特異的に結合し、C1qの生物学的活性を中和する、項目 1 ~ 1 4 のいずれか一項に記載の抗体Fab断片。

[項目 1 8]

生物学的活性が、(1)自己抗体へのC1q結合、(2)C1rへのC1q結合、(3)C1sへのC1q結合、(4)ホスファチジルセリンへのC1q結合、(5)ペントラキシン-3へのC1q結合、(6)C反応性タンパク質(CRP)へのC1q結合、(7)球状C1q受容体(gC1qR)へのC1q結合、(8)補体受容体1(CR1)へのC1q結合、(9)ベータ-アミロイドへのC1q結合、(10)カルレティキュリンへのC1q結合、(11)アポトーシス細胞へのC1q結合、又は(12)神経細胞膜の構成成分へのC1q結合である、項目 1 7 記載の抗体Fab断片。

[項目 1 9]

生物学的活性が、(1)古典的補体活性化経路の活性化、(2)抗体及び補体依存性細胞傷害の活性化、(3)CH50溶血、(4)シナプス喪失、(5)B細胞抗体産生、(6)樹状細胞成熟、(7)T細胞増殖、(8)サイトカイン産生、(9)ミクログリア活性化、(10)アルサス反応、(11)シナプス若しくは神経終末の食作用、又は(12)補体受容体3(CR3/C3)を発現する細胞の活性化である、項目 1 7 又は 1 8 に記載の抗体Fab断片。

[項目 2 0]

CH50溶血がヒト、マウス、ラット、イヌ、アカゲザル及び / 又はカニクイザルのCH50溶血を含む、項目 1 9 記載の抗体Fab断片。

[項目 2 1]

少なくとも約50% ~ 少なくとも約90%のCH50溶血を中和することができる、項目 1 9 又は 2 0 に記載の抗体Fab断片。

[項目 2 2]

150ng未満、100ng未満、50ng未満又は20ng未満の用量で少なくとも50%のCH50溶血を中和することができる、項目 1 9 ~ 2 1 のいずれか一項に記載の抗体Fab断片。

[項目 2 3]

6:1未満 ~ 1:1又は2:1未満 ~ 1:1の範囲の結合化学量論 (binding stoichiometry) でC1qに結合し生物学的機能を阻害する、項目 1 9 ~ 2 2 のいずれか一項に記載の抗体Fab断片。

[項目 2 4]

ヒト化されている、項目 1 ~ 2 3 のいずれか一項に記載の抗体Fab断片。

[項目 2 5]

10

20

30

40

50

項目 1 ~ 2 4 のいずれか一項に記載の抗体Fab断片を発現する宿主細胞。	
[項目 2 6]	
項目 1 ~ 2 4 のいずれか一項に記載の抗体Fab断片の重鎖及び / 又は軽鎖領域をコードする、単離されたDNA配列。	
[項目 2 7]	
項目 2 6 記載の1つ以上のDNA配列を含む、クローニングベクター又は発現ベクター。	
[項目 2 8]	
項目 2 6 記載の1つ以上のクローニングベクター又は発現ベクターを含む、項目 2 5 記載の宿主細胞。	
[項目 2 9]	10
項目 1 ~ 2 4 のいずれか一項に記載の抗体Fab断片をコードする核酸配列を含む、単離されたポリヌクレオチド。	
[項目 3 0]	
項目 3 0 記載の宿主細胞を培養すること、及び抗体Fab断片を単離することを含む、項目 1 ~ 2 4 のいずれか一項に記載の抗体Fab断片を生産する方法。	
[項目 3 1]	
項目 1 ~ 2 4 のいずれか一項に記載の抗体Fab断片及び薬学的に許容される担体を含む医薬組成物。	
[項目 3 2]	
有害性シナプス喪失を患う患者に項目 1 ~ 2 4 のいずれか一項から選択される抗体Fab断片を投与することを含む、シナプス喪失を阻害する方法。	20
[項目 3 3]	
該患者が、神経変性障害、中枢神経系障害又は末梢神経系障害の結果としてシナプス喪失を患っている、項目 3 2 記載の方法。	
[項目 3 4]	
神経変性障害がアルツハイマー病である、項目 3 3 記載の方法。	
[項目 3 5]	
さらに神経前駆体又は神経新生エンハンサーの投与を含む、項目 3 2 記載の方法。	
[項目 3 6]	
抗体Fab断片がC1qに結合して補体活性化を阻害する、項目 3 2 記載の方法。	30
[項目 3 7]	
そのような治療を必要とする個体における補体活性化に関連する疾患を治療又は予防する方法であって、項目 3 1 記載の抗体Fab断片を投与することを含む、前記方法。	
[項目 3 8]	
補体活性化に関連する疾患が神経変性障害である、項目 3 7 記載の方法。	
[項目 3 9]	
神経変性障害が、シナプスの喪失又は神経接合部喪失に関連する、項目 3 8 記載の方法。	
[項目 4 0]	
神経変性障害が、補体受容体3(CR3)/C3又は補体受容体CR1に依存性であるシナプス喪失に関連する、項目 3 8 又は 3 9 に記載の方法。	40
[項目 4 1]	
神経変性障害が、病理学的活性依存性のシナプス刈り込みに関連する、項目 3 8 ~ 4 0 のいずれか一項に記載の方法。	
[項目 4 2]	
神経変性障害が、ミクログリアによるシナプス食作用に関連する、項目 3 8 ~ 4 1 のいずれか一項に記載の方法。	
[項目 4 3]	
神経変性障害が、アルツハイマー病、筋萎縮性側索硬化症、多発性硬化症、緑内障、筋緊張性ジストロフィー、ギラン・バレー症候群 (GBS)、重症筋無力症、水疱性類天疱瘡	50

、脊髄性筋萎縮症、ダウン症候群、パーキンソン病、及びハンチントン病から選択される、項目38～42のいずれか一項に記載の方法。

[項目44]

補体活性化に関連する疾患が、炎症性疾患、自己免疫疾患、補体関連眼疾患又は代謝性障害である、項目38記載の方法。

[項目45]

炎症性疾患、自己免疫疾患、補体関連眼疾患又は代謝性障害が、糖尿病、肥満、関節リウマチ(RA)、急性呼吸窮迫症候群(ARDS)、虚血及び再灌流後の遠隔組織傷害、心肺バイパス手術中の補体活性化、皮膚筋炎、天疱瘡、ループス腎炎とその結果生じる糸球体腎炎及び血管炎、心肺バイパス、心臓麻痺に誘発される冠動脈内皮機能障害、II型膜性増殖性糸球体腎炎、IgA腎症、急性腎不全、寒冷グロブリン血症、抗リン脂質症候群、慢性開放隅角緑内障、急性閉塞隅角緑内障、黄斑変性疾患、加齢黄斑変性(AMD)、脈絡膜血管新生(CNV)、ブドウ膜炎、糖尿病性網膜症、虚血関連網膜症、眼内炎、眼内新生血管疾患、糖尿病性黄斑浮腫、病的近視、フォン・ヒッペル-リンダウ病、眼のヒストプラズマ症、視神経脊髄炎(NMO)、網膜中心静脈閉塞症(CRVO)、角膜血管新生、網膜血管新生、レーベル遺伝性視神経症、視神経炎、ベーチェット網膜症、虚血性視神経症、網膜血管炎、ANCA血管炎、プルチエル網膜症、シェーグレンドライアイ疾患、ドライAMD、サルコイドーシス、側頭動脈炎、結節性多発動脈炎、多発性硬化症、アロ移植、超急性拒絶反応、血液透析、慢性閉塞性肺窮迫症候群(COPD)、喘息、誤嚥性肺炎、多発性硬化症、ギラン・バレー症候群、重症筋無力症、水疱性類天疱瘡並びに筋炎から選択される、項目44記載の方法。

[項目46]

補体活性化に関連する疾患が、重症筋無力症、1型真性糖尿病、橋本甲状腺炎、アジソン病、セリアック病、クローン病、悪性貧血、尋常性天疱瘡、白斑、自己免疫性溶血性貧血、腫瘍随伴症候群、血管炎病、低補体血症性蕁麻疹様血管炎(HUV)、リウマチ性多発筋痛症、側頭動脈炎、ウェゲナー肉芽腫症、多発性硬化症、ギラン・バレー症候群、重症筋無力症、水疱性類天疱瘡及び筋炎から選択される自己免疫疾患である、項目38記載の方法。

[項目47]

項目1～24のいずれか一項に記載の抗体Fab断片、及びそのような治療を必要とする個体において補体活性化に関連する疾患を治療又は予防するための抗体Fab断片を使用するための説明書を含む添付文書を含むキット。

[項目48]

(a)検出可能な標識を結合している抗C1q抗体断片を対象者に投与すること；
(b)対象者におけるC1qの量又は位置を測定するために、検出可能な標識を検出すること；及び
(c)C1qの量又は位置を参照と比較し、ここで補体活性化に関連する疾患を発症するリスクが、参照との比較でC1qの量を比べることに基づき特徴づけされることを含む、補体活性化に関連する疾患を発症する対象者のリスクを決定する方法。

[項目49]

検出可能な標識が核酸、オリゴヌクレオチド、酵素、放射性同位元素、ビオチン又は蛍光標識を含む、項目48記載の方法。

[項目50]

検出可能な標識が、X線、CT、MRI、超音波、PET及びSPECTのための造影剤を使用して検出される、項目49記載の方法。

[項目51]

蛍光標識が、フルオレセイン、ローダミン、シアニン色素及びBODIPYから選択される、項目49記載の方法。

[項目52]

抗C1q抗体断片を投与することを含む、対象者が補体活性化に関連する疾患を発症するリスクを減少させる方法であって、抗C1q抗体断片が補体活性化に関連する疾患の発症を

10

20

30

40

50

予防するか又はそのリスクを減少させ、それによって補体活性化に関連する将来の疾患を予防するか又はそのリスクを減少させる、前記方法。

【項目53】

抗体Fab断片がその対応する全長抗体に比べて短い半減期を有する、項目1～52のいずれか一項に記載の抗体Fab断片。

【図面の簡単な説明】

【0053】

【図1A】(A)と(B)の2つのパネルからなる。図1は、M1 FabがM1全抗体と同じ結合親和性を有することを示す。図1Aは、C1qに結合する抗体を測定（抗カップ軽鎖検出）するELISAを示す。図1BはM1全抗体（二価抗体）及びM1 Fab（一価）を示す画像である。

10

【図1B】図1Aの続きである。

【図2】M1 FabがM1全抗体と同じ機能的効力を有することを示す。図2はRBC溶解のC1q活性阻害の標準的な機能的測定を示す。

【発明を実施するための形態】

【0054】

ポリクローナル及びモノクローナル抗体は、天然では病原体への免疫系の反応において免疫グロブリン（Ig）分子として産生される。ヒト血清中における8mg/ml濃度の支配的様式では、～150-kDa IgG1分子は、2つの同一の～50-kDaの重鎖と2つの同一の～25-kDの軽鎖から構成される。

20

【0055】

組換えDNA技術の到来前は、抗体分子の構造を分析し、分子のどの部分がその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）が使用されてきた。プロテアーゼパインを用いる限定消化により、抗体分子は3つの断片に切断される。Fab断片として公知の2つの断片は、同一であり抗原結合活性を含有する。Fab断片は抗体分子の2つの同一なアームに対応し、そのそれぞれは、重鎖のV_H及びC_H1ドメインと対になった完全な軽鎖からなる。その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元来観察され、この理由のためにFc断片（Fragment crystallizable）と名付けられた。Fab分子がIgG分子と比較された場合には、Fabは、その高い移動性及び組織浸透能力、その減少した循環半減期、抗体エフェクター機能を媒介せずに抗原に一価結合するその能力、並びにその低い免疫原性によって、特定のインビボの用途ではIgGより優れていることが見出された。

30

【0056】

Fab分子は、重鎖が定常ドメインC_H2及びC_H3の分だけ短くされた、Ig分子の人工的な～50kDa断片である。2つのヘテロ親和性（V_L-V_H及びC_L-C_H1）ドメイン相互作用が、Fab分子の2本鎖構造を支えており、これはさらにC_LとC_H1の間のジスルフィド架橋によって安定化される。Fab及びIgGは、V_L及びV_Hから3個ずつ（LCDR1、LCDR2、LCDR3及びHCDR1、HCDR2、HCDR3）の6個の相補性決定領域（CDR）により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規定する。最も高い配列のバリエーションはLCDR3及びHCDR3に見出され、これは天然の免疫系ではそれぞれV_L及びJ_L遺伝子又はV_H、D_H及びJ_H遺伝子の再構成によって生成される。LCDR3及びHCDR3は通常は抗原結合部位のコアを形成する。6個のCDRをつなぎ且つ提示する保存領域はフレームワーク領域と呼ばれる。可変領域の3次元構造では、フレームワーク領域は、外側では超可変CDRループにより、及び内側では保存されたジスルフィド架橋により連結された2つの相対する逆平行シートサンドイッチを形成する。Fab及びIgGの抗原結合部位の安定性と多用途性のこの特有な組み合わせが、疾患の診断、監視、予防及び治療の臨床的実践における成功の基礎となる。

40

【0057】

ある実施形態では、本開示は、重鎖（V_H/C_H1）及び軽鎖（V_L/C_L）を含む、C1qタンパク質に結合する抗C1q抗体Fab断片を提供し、ここで抗C1q抗体Fab断片は、V_L及びV_Hから3個ずつ（HCDR1、HCDR2、HCDR3及びLCDR1、LCDR2、LCDR3）の6個の相補性決定領域（CDR）を

50

有する。抗体Fab断片の重鎖はIgG1（配列番号1）の最初の重鎖ドメインの後でトランケートされ、以下のアミノ酸配列：

QVQLVQSGAELKKPGASVKVSCCKSSGYHFTSYWMHWVKQAPGQGLEWIGVIHPN
SGSINYNEKFESRVITITVDKSTSTAYMELSSLRSEDTAVYYCAGERDSTEVLPMDY
 WGQGTTTVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGAL
 TSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCD
 KTHT

を含む。

【 0 0 5 8 】

10

配列番号1の相補性決定領域（CDR）は、太字且つ下線を付された文字列で示されている。

【 0 0 5 9 】

配列番号1に対応するヌクレオチド配列は配列番号3：

CAGGTGCAGCTGGTGCAGTCAGGGGCTGAGCTGAAGAAGCCTGGGGGCTTCAGTG
 AAGGTTTCCTGCAAGTCTTCTGGCTACCATTTCACCAGCTACTGGATGCACTG
 GGTGAAGCAGGCCCCCTGGACAAGGCCTTGAGTGGATTGGAGTGATTCATCCTAA
TAGTGGTAGTATTAACTACAATGAGAAGTTCGAGAGCAGAGTCACAATTACT
 GTAGACAAATCCACCAGCACAGCCTACATGGAGCTCAGCAGCCTGAGATCTGAG
 GACACGGCGGTCTATTATTGTGCAGGAGAGAGAGATTCTACGGAGGTTCTCCC
TATGGACTACTTGGGGTCAAGGAACCACGGTCACCGTCTCCTCAGCGTCCACCAA
 AGGCCCGTCCGTGTTTCCGCTGGCGCCGTCTCCAAATCCACCTCCGGCGGCACC
 GCGGCGCTGGGCTGCCTGGTGAAAGATTATTTCCGGAACCGGTGACCGTGTCTCT
 GGAATTCCGGCGCGCTGACCTCCGGCGTGCATACCTTTCCGGCGGTGCTGCAGTC
 CTCCGGCCTGTATTCCCTGTCTCCGTGGTGACCGTGCCGTCTCCTCCCTGGGCA
 CCCAGACCTATATTGCAATGTGAATCATAAACCGTCCAATACCAAAGTGGATAA
 AAAAGTGGAACCGAAATCCTGCGATAAAACCCATACC

20

である。

【 0 0 6 0 】

配列番号3の相補性決定領域（CDR）は、太字且つ下線を付された文字列で示されている。

30

【 0 0 6 1 】

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2）：

DVQITQSPSSLSASLGERATINCRASKSINKYLAWYQQKPGKAPKLLIYSGSTLQSGI
 PARFSGSGSGTDFTLTISLEPEDFAMYYCQOHNEYPLTFGQGTKLEIKRTVAAPSVF
 IFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTY
 SLSSLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSPVTKSFNRGEC

を含む。

【 0 0 6 2 】

配列番号2の相補性決定領域（CDR）は、太字且つ下線を付された文字列で示されている。

40

【 0 0 6 3 】

配列番号2に対応するヌクレオチド配列は配列番号4：

GATGTCCAGATCACACAGTCTCCATCTTCCCTTTCTGCATCTCTCGGAGAAAGAG
CTACTATTAATTGCAGGGCAAGTAAGAGCATTAAACAAATACTTAGCCTGGTAT
CAACAGAAACCTGGGAAAGCTCCTAAGCTCCTTATCTACTTCTGGCTCCACTTTG
CAATCTGGAATTCCAGCAAGGTTCAAGTGGCAGTGGATCTGGTACAGATTTCACTC
TCACCATCAGTAGCCTGGAGCCTGAAGATTTTGCAATGTATTACTGTCAACAACA
TAATGAATACCCGCTCACGTTCCGGTCAGGGGACCAAGCTGGAGATCAAACGAA
CTGTGGCTGCACCATCTGTCTTCATCTTCCCGCCATCTGATGAGCAGTTGAAATCT
GGAAGTGCCTCTGTTGTGTGCCTGCTGAATAACTTCTATCCCAGAGAGGCCAAAG
TACAGTGGAAAGGTGGATAACGCCCTCCAATCGGGTAACTCCCAGGAGAGTGTCA
CAGAGCAGGACAGCAAGGACAGCACCTACAGCCTCAGCAGCACCCCTGACGCTGA
GCAAAGCAGACTACGAGAAACACAAAGTCTACGCCTGCGAAGTCACCCATCAGG
GCCTGAGCTCGCCCGTCACAAAGAGCTTCAACAGGGGAGAGTGTTAG

10

である。

【 0 0 6 4 】

配列番号4の相補性決定領域（CDR）は、太字且つ下線を付された文字列で示されている。

【 0 0 6 5 】

配列番号5に対応するアミノ酸配列は、

QVQLVQSGAELKKPGASVKVSCCKSSGYHFTSYWMHWVKQAPGQGLEWIGVIHPN
SGSINYNEKFESKATITVDKSTSTAYMQLSSLTSEDSAVYYCAGERDSTEVLPMDY
WGQGTSTVTVSS

20

（配列番号5）である。配列番号5の相補性決定領域（CDR）は、太字且つ下線を付された文字列で示されている。

【 0 0 6 6 】

配列番号6に対応するアミノ酸配列は、

QVQLVQSGAELKKPGASVKVSCCKSSGYHFTSYWMHWVKQAPGQGLEWIGVIHPN
SGSINYNEKFESRATITVDKSTSTAYMELSSLRSEDTAVYYCAGERDSTEVLPMDY
WGQGTSTVTVSS

30

（配列番号6）である。配列番号6の相補性決定領域（CDR）は、太字且つ下線を付された文字列で示されている。

【 0 0 6 7 】

配列番号7に対応するアミノ酸配列は、

QVQLVQSGAELKKPGASVKVSCCKSSGYHFTSYWMHWVKQAPGQGLEWIGVIHPN
SGSINYNEKFESRVITITVDKSTSTAYMELSSLRSEDTAVYYCAGERDSTEVLPMDY
WGQGTSTVTVSS

40

（配列番号7）である。配列番号7の相補性決定領域（CDR）は、太字且つ下線を付された文字列で示されている。

【 0 0 6 8 】

配列番号8に対応するアミノ酸配列は、

QVQLVQSGAELKKPGASVKVSCCKSSGYHFTSYWMHWVRQAPGQGLEWIGVIHPN
SGSINYNEKFESRVITITVDKSTSTAYMELSSLRSEDTAVYYCAGERDSTEVLPMDY
WGQGTSTVTVSS

（配列番号8）である。配列番号8の相補性決定領域（CDR）は、太字且つ下線を付された文字列で示されている。

50

【 0 0 6 9 】

配列番号9に対応するアミノ酸配列は、

DVQITQSPSYLAASLGERATINCRASKSINKYLAWYQQKPGKTNKLLIYSGSTLQSG
IPARFSGSGSGTDFTLTISSELPEDFAMYYCQOHNEYPLTFGQGGTKLEIK

(配列番号9)である。配列番号9の相補性決定領域(CDR)は、太字且つ下線を付された文字列で示されている。

【 0 0 7 0 】

配列番号10に対応するアミノ酸配列は、

DVQITQSPSSLSASLGERATINCRASKSINKYLAWYQQKPGKANKLLIYSGSTLQSGI
PARFSGSGSGTDFTLTISSELPEDFAMYYCQOHNEYPLTFGQGGTKLEIK

10

(配列番号10)である。配列番号10の相補性決定領域(CDR)は、太字且つ下線を付された文字列で示されている。

【 0 0 7 1 】

配列番号11に対応するアミノ酸配列は、

DVQITQSPSSLSASLGERATINCRASKSINKYLAWYQQKPGKAPKLLIYSGSTLQSGI
PARFSGSGSGTDFTLTISSELPEDFAMYYCQOHNEYPLTFGQGGTKLEIK

(配列番号11)である。配列番号11の相補性決定領域(CDR)は、太字且つ下線を付された文字列で示されている。

20

【 0 0 7 2 】

配列番号12に対応するアミノ酸配列は、

DIQLTQSPSSLSASLGERATINCRASKSINKYLAWYQQKPGKAPKLLIYSGSTLQSGI
PARFSGSGSGTDFTLTISSELPEDFAMYYCQOHNEYPLTFGQGGTKLEIK

(配列番号12)である。配列番号12の相補性決定領域(CDR)は、太字且つ下線を付された文字列で示されている。

【 0 0 7 3 】

シナプス喪失の有害な影響を患う個体を保護又は治療する方法が提供される。本明細書において、正常な発生中における未成熟アストロサイトが、特定の補体タンパク質を発現するようにニューロンを誘導するシグナルを産生し、それによってシナプス除去が起きる発生中の窓を可能にすることが示される。発生中のこれらのタンパク質の発現は発生中のシナプス形成の時期を反映し、これは胎生期脳及び生体脳ではオフであるが、出生後の脳では高レベルでオンである。

30

【 0 0 7 4 】

これらの知見は様々な臨床的状態、特にシナプス喪失が関与する神経変性状態に幅広い示唆を有する。シナプス喪失は、補体経路のインヒビター又はアンタゴニストをニューロンに接触させることによって阻害される。例えば、インヒビターは補体カスケードの活性化を遮断することができ、ニューロンにおける特定の補体タンパク質の発現を遮断することができ、補体活性化を誘導するシグナリング分子に干渉することができ、ニューロンにおける補体インヒビターの発現を上方調節することができ、この他ではシナプス喪失における補体の役割を妨げる。例えば生体脳では、シナプス喪失を妨げる能力は、様々な神経変性状態における正常な神経細胞機能を維持するために重要な示唆を有する。

40

【 0 0 7 5 】

定義

本明細書で使用されるとき、「a」又は「an」は1以上を意味し得る。本明細書において請求項(単数または複数)で使用される場合、「含む」という単語と一緒に使用される際には、「a」又は「an」という単語は、1又は1より大きいことを意味し得る。例えば、(an)「抗体」への言及は、1つから多数の抗体への言及であり、当業者に公知のその等価物

50

などを含む。本明細書で使用されるとき、「別の」は、少なくとも第2の、又はその後のものを意味し得る。

【0076】

用語「防止すること（予防すること、妨げること）」は当技術分野で認識されており、てんかん疾患などのある状態に関連して使用される場合には、当技術分野においてよく理解されており、その組成物を受けない対象者に比べて、対象者において医学的な状態の1つ以上の徴候の頻度若しくは重篤度を軽減するか、又はその開始を遅らせる組成物の投与を含む。したがって、てんかん疾患進行の防止は、例えば、治療を受けなかった対照集団に比べて治療を受けた患者集団において神経変性の平均量を（例えば、統計学上及び/又は臨床上で有意な量の分を）遅くするか又は停止することを含む。同様に、神経変性疾患進行の防止には、治療を受けない患者と比べて、治療を受ける患者が障害、例えば認知低下及び/若しくは記憶喪失などを生じる可能性を減少させること、又は障害の発症を遅らせることが含まれる。

10

【0077】

「対象者」という用語は、本明細書で使用されるとき、生体の哺乳類を指し、用語「患者」と互換的に使用され得る。哺乳類の例は、以下に限定されないが、哺乳類の分類の任意のメンバー：ヒト、チンパンジーなどの非ヒト霊長類、並びに他の類人猿及びサル；ウシ、ウマ、ヒツジ、ヤギ、ブタなどの家畜；ウサギ、イヌ及びネコなどの飼育動物；ラット、マウス、モルモットなどを含む実験動物を含む。この用語は特定の年齢や性別を意味しない。

20

【0078】

用語「治療」または「治療すること」は、本明細書で使用されるとき、対象者の状態を安定化若しくは改善するか、又は対象者が治療を受けなかった場合と同程度に対象者の状態が悪化する見込みを減少させるために、状態の症状、臨床上の徴候、又は基礎となる病態を減少、停止又は無効にすることを含む。

【0079】

治療の対象となる方法に関する化合物の「治療上有効量」という用語は、（哺乳類、好ましくはヒトに対して）望ましい投薬レジメンの一部として投与される場合に、治療されるべき障害若しくは状態のための、又は美容上の目的のための臨床上許容される基準にしたがって、例えば任意の医学治療に適用可能な妥当なベネフィット/リスク比で、症状を緩和し、状態を改善し、又は疾患状態の開始を遅らせる、調製物中の化合物の量を指す。本明細書中の治療上有効量は、患者の疾患状態、年齢、性別及び体重、並びに個体において望ましい反応を誘発する抗体の能力などの因子にしたがって変化し得る。

30

【0080】

本明細書で使用するとき、特定の疾患、障害若しくは状態を発症する「危険性(リスク)がある」個体は、検出可能な疾患若しくは疾患の症状を有しても又は有していなくてもよく、本明細書に記載されている治療方法の前に検出可能な疾患若しくは疾患の症状を示していても又は示していなくてもよい。「危険性がある」とは、個体が1つ以上の危険因子を有することを示し、該危険因子は、当該技術分野において公知の特定の疾患、障害又は状態の発症と相関する測定可能なパラメータである。これらの危険因子の1つ以上を有する個体は、これらの危険因子のうち1つ以上を有しない個体よりも、特定の疾患、障害又は状態を発症する確率が高い。

40

【0081】

「慢性的」投与とは、長期間にわたり、初期の治療効果(活性)を維持するように急性様式ではなく連続的様式での医薬(単数又は複数)の投与を指す。「間欠」投与とは、中断することなく連続的に行われえないが、むしろ本質的には周期的である治療を指す。

【0082】

本明細書で使用するとき、別の化合物又は組成物と「併用した」投与は、同時投与及び/又は異なる時点での投与を含む。併用投与にはまた、同時処方としての投与又は別々の組成物としての投与が包含され、異なる投与頻度又は間隔で、並びに同じ投与経路又は異

50

なる投与経路を用いることを含む。

【0083】

シナプス喪失。シナプスは2つのニューロンの間、又は、ニューロンと筋肉細胞の間の神経筋接合部（NMJ）に形成される非対称連絡接合部である。化学シナプスは神経伝達物質の分泌により細胞から細胞への連絡を可能にし、一方で電気シナプスでは信号はイオン性電流を許容する特化した細胞間チャネルであるギャップ結合を通じて伝達される。イオンに加えて、シナプス機能を調節する他の分子（ATP及びセカンドメッセンジャー分子など）がギャップ結合ポアを通して拡散し得る。成熟したNMJでは、シナプス前膜及びシナプス後膜は、基底膜を形成する細胞外タンパク質を含有するシナプス間隙によって隔てられている。シナプス小胞はシナプス前部の放出部位にクラスター化しており、伝達物質受容体はシナプス後膜の接合部ひだにクラスター化しており、グリアの突起が神経終末を囲んでいる。

10

【0084】

シナプス形成は動的過程である。発生中では、最終的に維持されるよりも多くのシナプスが生じる。したがって、過剰なシナプス入力除去は、シナプス回路成熟において重要なステップである。シナプス除去は、シナプス前部と後部のパートナー間の相互作用が関与する競合的過程である。中枢神経系では、神経筋接合部と同様に、シナプス回路の発生過程の活動依存的再構築は、同期活動入力を選択的に安定化し、非同期活動性の入力除去することを含み得る過程によって起きる。シナプス回路の解剖学的精密化は、シナプスの急速な除去を伴う動的過程によって個別の軸索と樹状突起のレベルで起きる。軸索が分枝し再構築する際には、シナプスは、形成し、急速に起きるシナプス除去により解体する。

20

【0085】

正常な発生中の喪失に加えて、シナプス喪失は、多くの神経変性障害に共通する早期の病理学的現象であり、認知低下に最もよく関連する。臨床前のアルツハイマー病（AD）の患者の脳における研究では、遺伝子改変動物モデルにおけるのと同様に、シナプス損傷が疾患進行初期に起きることを示している。脳におけるこのシナプス結合の早期の破壊は、ニューロンの機能不全をもたらす、これは次に、いくつかの神経変性障害で観察される認知症及び/又は運動障害の特徴的な症状につながる。

【0086】

AD及び他の神経変性障害に関わるいくつかの分子はシナプス機能において重要な役割を果たす。例えば、A PPは中枢及び末梢のシナプス部位に優先的な局在を有する。遺伝子改変マウスでは、変異型のA PPの異常発現がアミロイド沈着をもたらすだけでなく、広範なシナプス損傷をももたらす。このシナプス病態は早期に起こり、プラーク形成よりも可溶性A₁₋₄₂のレベルに関連している。遺伝子産物が、シナプス複合体と密接に関連することが示されている他の神経変性疾患は、ハンチントン病（HD）及び筋緊張性ジストロフィー（DM）を含む。ハンチンチンはシナプス小胞タンパク質シナプトフィジンのものと非常によく似た分布を有する膜結合型タンパク質である。ヒト脳における研究では、一部のニューロンの核周囲部、ニューロピル、バリコシティにおいて、神経終末であるらしい点状の染色として、httが検出された。DM遺伝子の遺伝子産物であるセリン/スレオニンキナーゼ（DMK）は、骨格筋の神経筋接合部と、心臓組織の介在板においてシナプス後部に局在することが見出されている。DMKは、小脳、海馬、中脳及び髄質におけるシナプス部位でも見出された。

30

40

【0087】

シナプス喪失を阻害すると、阻害しなければ減少が生じ得る場合に、シナプスの維持又は喪失の減少をもたらす。本明細書で使用される場合、シナプス喪失の「調節」によって、喪失するシナプスの数は特定の状況において要求されるように増強されるか又は抑制されることを意味する。本明細書で使用されるとき、「シナプス喪失の調節因子」という用語は、シナプス喪失を変化させることができる物質を指す。調節因子は、以下に限定されないが、「アクチベーター」と「阻害剤（インヒビター）」の両方を含む。「アクチベーター」

50

ター」又は「アゴニスト」はシナプス喪失を増強する物質である。逆に、「インヒビター」又は「アゴニスト」はシナプス喪失を減少させる。この減少は完全又は部分的であり得る。本明細書で使用されるとき、調節因子は、限定されないが、C1qのアнтаゴニスト及びアゴニストを含む。

【0088】

アゴニスト及びアンタゴニストは、タンパク質、核酸、糖質、抗体、又はタンパク質の効果を減少させる任意の他の分子を含み得る。「類似体」という用語は、対象の分子に構造上類似しているが、参照分子の特定の置換基を別の置換基に置き換えることによって、対象を絞り制御された様式で改変されている分子を指すように本明細書で使用される。出発分子に比べて、類似体は同一の、類似した、又は改善された有用性を示し得る。改善された特性（特定の受容体の種類への効能の上昇、又は標的となる受容体の種類への選択性の上昇及び他の受容体の種類への活性レベルの低下など）を有する公知の化合物の変種を同定するための類似体の合成及び選抜は、薬理化学において周知のアプローチである。

【0089】

補体。補体は、病原体又は細胞の細胞表面と相互作用し、食細胞による破壊のためにそれらに標識を付ける血漿タンパク質の系である。補体系は、主に肝臓によって産生される、多数の異なる血漿タンパク質から構成される。これらのタンパク質の多くは、チモーゲンと呼ばれるプロテアーゼのクラスであり、それ自身がタンパク質切断によって活性化される。これらのチモーゲンは、故に、局所的な病原体によって活性化されるまで不活性化状態で広く分布し得る。補体系は、故に、酵素カスケードを誘導することにより活性化される。

【0090】

古典的経路は、補体タンパク質C1qが細胞表面に直接結合するか、又は細胞表面に結合した抗体に結合することによって活性化される。C1qは18本のポリペプチド鎖（6本のC1q A鎖、6本のC1q B鎖及び6本のC1q C鎖）からなる460kDaの巨大多量体タンパク質である。C1r及びC1s補体タンパク質はC1q末端領域に結合してC1複合体を形成する。C1q複合体の細胞表面又は抗体Fe領域の補体結合ドメインへの結合は、C1qの立体構造変化を誘導し、C1rの自己触媒酵素活性の活性化をもたらす、これにより次にC1sが切断されて活性型セリンプロテアーゼが生成される。一度活性化されると、C1sはC4などを切断し、補体カスケードの逐次活性化をもたらす。最終的にこの経路は、病的細胞を溶解し殺傷する膜侵襲複合体の形成につながる。ニューロンを含む正常細胞は、膜侵襲複合体に由来する溶解又は損傷からそれらを保護するCD59、及びC1rとC1sを活性型C1複合体から解離するC1インヒビター（C1-INH）などの分子を発現する。

【0091】

様々な補体タンパク質が、インビトロ及びインビボでニューロン及びグリア細胞により発現される。脳におけるその機能は知られていない。これらの補体タンパク質の多くの発現は、血清若しくは炎症性サイトカインによって、又は脳損傷後に上方調節される。培養中のアストロサイトは、C1q、C1r、C1s、C4、C2及びC3、並びにより末端のタンパク質を発現することが報告されている。ニューロンはC4及びC3を発現するが、脳損傷後にはC1qを発現するだけであることが報告されている。

【0092】

補体カスケードが開始され得る3つの経路：古典的経路、副経路及びレクチン経路が解明されている。3つの経路はすべて共通の交差点である補体C3で合流する。C3は、急性期の反応因子である。肝臓が主要合成部位であるが、少量が活性化した単球とマクロファージによっても産生される。約200kDの一本鎖前駆体（pro-C3）は細胞内に見出され、eDNAはそれが1,663アミノ酸を含むことを示す。これはタンパク質切断によって加工されて、成熟タンパク質ではジスルフィド結合によって連結されるアルファ及びベータサブユニットになる。pro-C3は22アミノ酸残基のシグナルペプチド、ベータ鎖（645残基）及びアルファ鎖（992残基）を含有する。2つの鎖は、成熟タンパク質には存在しない4アルギニン残基によって連結されている。副経路では補体C3は自発的切断を経て、結果として補体B

がC3bに結合する。Baサブユニットの拡散は結果として活性型副経路C3コンバーターゼ（C3bBb）をもたらす。C3bBbは合体前にプロパージンへの結合によって安定化される。

【0093】

補体の阻害。補体の活性を阻害するいくつかの分子が公知である。公知の化合物に加えて、好適なインヒビターが本明細書に記載される方法により選抜され得る。上述の通り、正常な細胞は補体活性を遮断するタンパク質、例えばCD59、C1インヒビターなどを産生し得る。本発明のいくつかの実施形態では、補体はそのようなポリペプチドをコードする遺伝子の発現を上方調節することにより阻害される。

【0094】

補体活性化を遮断する分子の改変もまた当技術分野で公知である。そのような分子は、限定されないが、可溶性CR1などの改変補体受容体を含む。CR1の最も一般的なアロタイプの成熟タンパク質は1998アミノ酸残基（1930残基の細胞外ドメイン、25残基の膜貫通領域、及び43残基の細胞質ドメイン）を含む。細胞外ドメイン全体は、それぞれ60個から70個のアミノ酸残基からなる短いコンセンサスリピート（SCR）又は補体制御タンパク質リピート（CCPR）と呼ばれる30回繰り返しユニットで構成される。近年のデータは、C1qがヒトCR1に特異的に結合することを示す。したがって、CR1は3つの補体オプソニンのすべて、すなわちC3b、C4b及びC1qを認識する。膜貫通ドメイン及び細胞質ドメインを有しない、可溶性バージョンの組換えヒトCR1（sCR1）が生成されており、天然CR1の公知の機能のすべてを保持することが示されている。虚血/再灌流損傷の動物モデルにおけるsCR1の心保護的役割は確認されている。数種類のヒトC1q受容体（C1qR）が記述されてきた。これらには、C1qのコラーゲン様ドメインに結合するためcC1qRと呼ばれる、遍在的に分布する60-kDaから67-kDaの受容体が含まれる。このC1qRバリエーションはカルレティキュリン（単球の食作用を調節する126-kDa受容体）であることが示された。gC1qRは膜結合型分子ではなく、C1qの球状領域に親和性を有する分泌型可溶性タンパク質であり、補体活性化の液相制御因子として機能し得る。

【0095】

崩壊促進因子（OAF）（CD55）は、4つのSCR、及び広範なO-結合型グリコシル化が可能であるセリン/スレオニン富化ドメインから構成される。OAFはグリコシルホスファチジルイノシトール（GPI）アンカーにより細胞膜に結合しており、そのC4bとC3bに結合する能力によって、C3及びC5コンバーターゼを解離することにより働く。OAFの可溶性バージョン（sDAF）は補体活性化を阻害することが示されている。

【0096】

「セルピン」ファミリーのセリンプロテアーゼインヒビターのメンバーであるC1インヒビターは、液相C1活性化を妨げる高度にグリコシル化された血漿タンパク質である。C1インヒビターはC1r及びC1sの活性部位をブロックしそれらをC1qから解離することによって、古典的経路の補体活性化を制御する。

【0097】

補体活性化のペプチドインヒビターはC5a（van Oostrum et al., 1996）；C5a C末端オクタペプチド（Kawai et al., 1992）；C5a His67改変C末端オクタペプチド類似体（Or et al., 1992）；C089（C5aヘキサペプチド、Kontetis et al., 1994）；C3a C末端（Kretzschmar et al., 1992）；因子B関連ヘキサペプチド（Lesavre et al., 1982）；C1q B鎖らせん領域（Fryer et al., 1997）；DFP（ジイソプロピルフルオロリン酸、Cole et al., 1997）；BCX-14 70（K-76類似体、Kaufman et al., 1995）；TKIX（K-76誘導体）Sindelar et al. 1996）；K-76誘導体、Tanaka 1996）；FUT-175（メシル酸ナファモスタット、Inose et al., 1997）を含む。

【0098】

他の抑制性分子としては、フカン（Fucan）（Charreau et al., 1997）；コンプレスタチン（Complestatin）（Momota et al., 1991）；デコリン（Krumdieck et al., 1992）；ヘパリン（te Velthuis et al., 1996）；LU 1198（Gralinski et al., 1997）；CSPG（Kirschfink et al., 1997）；L-156,602（Tsuji et al., 1992）；CVFb（Jungi and Mc

10

20

30

40

50

Gregor, 1979) ; M5 (Chen and Rael, 1997) が挙げられる。

【 0 0 9 9 】

「補体関連眼状態」という用語は最も広い意味で使用され、補体の古典的経路と副経路、特に副経路を含めて補体が関与するすべての眼状態を含む。補体関連眼状態には、限定されないが、慢性開放隅角緑内障、急性閉塞隅角緑内障、ドライ及びウェットの（非滲出性及び滲出性の）形態を含むすべての段階の加齢黄斑変性(AMD)などの黄斑変性疾患、脈絡膜血管新生(CNV)、ブドウ膜炎、糖尿病性及び他の虚血関連網膜症、並びに他の眼内新生血管疾患、例えば、糖尿病性黄斑浮腫、病的近視、フォン・ヒッペル-リンダウ病、眼のヒストプラスマ症、網膜中心静脈閉塞症(CRVO)、角膜血管新生、網膜血管新生、レーベル遺伝性視神経症、視神経炎、ベーチェット網膜症、虚血性視神経症、網膜血管炎、ANCA血管炎、ブルジェル網膜症、シェーグレンドライアイ疾患、ドライAMD、サルコイドーシス、側頭動脈炎、結節性多発動脈炎、並びに多発性硬化症が含まれる。

10

【 0 1 0 0 】

補体関連眼状態の好ましい群には、非滲出性（ウェット）及び滲出性（ドライ又は萎縮性）のAMDを含む加齢黄斑変性(AMD)、脈絡膜血管新生(CNV)、糖尿病性網膜症（DR）並びに眼内炎が含まれる。

【 0 1 0 1 】

用語「免疫グロブリン」(Ig)は、本明細書において「抗体」と互換的に使用される。本明細書において、用語「抗体」は、最も広い意味で使用され、具体的には、所望の生物学的活性を示す限り、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

20

【 0 1 0 2 】

基本的な4本鎖抗体ユニットは、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 の対は一緒になって、単一の抗原結合部位を形成する。異なるクラスの抗体の構造及び特性について、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。

【 0 1 0 3 】

任意の脊椎動物種由来のL鎖を、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つに割り当てることができる。それらの重鎖(CH)の定常ドメインのアミノ酸配列に応じて、免疫グロブリンを異なるクラス又はアイソタイプに割り当てることができる。免疫グロブリンには5クラス:IgA、IgD、IgE、IgG及びIgMがあり、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 」)と称する重鎖を有する。及び クラスは、CH配列及び機能の相対的にわずかな差異に基づいて、サブクラス(アイソタイプ)にさらに分類され、例えば、ヒトは、以下のサブクラス:IgG1、IgG2、IgG3、IgG4、IgA1及びIgA2を発現する。免疫グロブリンの様々なクラスのサブユニット構造及び三次元立体配置は周知であり、例えば、Abbas et al., Cellular and Molecular Immunology, 4th ed. (W.B. Saunders Co., 2000)に一般的に記載されている。

30

40

【 0 1 0 4 】

「天然抗体」は、通常、2つの同一の軽(L)鎖及び2つの同一の重(H)鎖で構成される約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、一方、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。各重鎖及び軽鎖はまた、規則的に間隔をおいた鎖内ジスルフィド架橋を有する。各重鎖は、一端に可変ドメイン(V_H)、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)、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、軽鎖可変ドメインは、重鎖の可変ドメインと整列する。特定のアミノ酸残基は、軽鎖と重鎖の可変ドメイン間の界面を形成すると考えられる。

50

【0105】

「単離された」分子又は細胞は、それが生成された環境において元来関連付けられる少なくとも1つの夾雑分子又は細胞から同定及び分離される分子又は細胞である。好ましくは、単離された分子又は細胞は、生成環境に関連する全ての成分が付随していない。単離された分子又は細胞は、それが天然に見出される形態又は設定以外の形態にある。したがって、単離された分子は、細胞中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、器官又は個体において天然に存在する細胞と区別される。いくつかの実施形態において、単離された分子は、本開示の抗C1q抗体Fab断片である。他の実施形態では、単離された細胞は本開示の抗C1q抗体Fab断片を生成する宿主細胞又はハイブリドーマ細胞である。

10

【0106】

「単離された」抗体は、その生成環境(例えば、天然又は組換え)の成分から同定、分離及び/又は回収された抗体である。好ましくは、単離されたポリペプチドは、その生成環境に由来する他の全ての夾雑成分が付随していない。その生成環境に由来する夾雑成分、例えば、トランスフェクトされた組換え細胞から生じるものは、典型的には、抗体の研究、診断的又は治療的使用に干渉する物質であり、酵素、ホルモン及び他のタンパク性又は非タンパク性溶質が含まれ得る。好ましい実施形態において、該ポリペプチドは、(1)例えばLowry法によって決定したとき抗体の95重量%を超えるまで、いくつかの実施形態において99重量%を超えるまで、(2)スピニングカップシーケンエーター(Spinning cup sequenator)の使用によってN末端又は内部アミノ酸配列の少なくとも15残基を得るのに十分な程度に、又は(3)非還元又は還元条件下でクーマシーブルー、又は好ましくは銀染色を用いたSDS-PAGEで均質になるまで精製される。単離された抗体には、組換えT細胞内のインサイチュ抗体が含まれる。これは、該抗体の天然の環境の少なくとも1つの成分が存在しないためである。しかしながら、通常、単離されたポリペプチド又は抗体は、少なくとも1つの精製ステップを含む過程によって調製される。

20

【0107】

抗体の「可変領域」又は「可変ドメイン」は、抗体の重鎖又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_H」及び「V_L」と称することができる。これらのドメインは、一般的に、抗体の最可変部分(同じクラスの他の抗体と比較して)であり、抗原結合部位を含む。

30

【0108】

用語「可変」とは、可変ドメインの一定のセグメントが、抗体間で配列に関して広範囲に相違するという事実を指す。Vドメインは抗原結合を媒介し、その特定の抗原に対する特定の抗体の特異性を規定する。しかしながら、可変性は、可変ドメインの全長にわたって均質に分布していない。代わりに、可変性は、軽鎖と重鎖の可変ドメインの両方の超可変領域(HVR)と呼ばれる3つのセグメントに集中する。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。天然の重鎖及び軽鎖の可変ドメインは、各々4つのFR領域を含み、大部分はベータシート立体配置を採り、3つのHVRによって連結され、それらはベータシート構造を連結するループを形成し、いくつかの場合ではベータシート構造の部分形成する。各鎖のHVRは、FR領域によって極めて接近して一緒に保持され、他の鎖の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、抗原への抗体の結合には直接的には関与しないが、抗体依存性細胞傷害への抗体の参加などの多様なエフェクター機能を示す。

40

【0109】

本明細書で使用されるとき、用語「CDR」又は「相補性決定領域」は、重鎖及び軽鎖のポリペプチドの可変領域の中に見出される不連続抗原結合部位を意味することが意図される。CDRは、Kabat et al., J. Biol. Chem. 252:6609-6616 (1977); Kabat et al., U.S. Dept. of Health and Human Services, "Sequences of proteins of immunological in

50

terest” (1991) (本明細書ではKabat 1991とも参照される); by Chothia et al., J. Mol. Biol. 196:901-917 (1987) (本明細書ではChothia 1987とも参照される); 及びMacCallum et al., J. Mol. Biol. 262:732-745 (1996)に記載されており、そこではその定義は、互いに比較した場合に重複する又は一部のアミノ酸残基を含む。それでもなお、抗体若しくは移植抗体又はそのバリエーションを指すためにどちらの定義を適用する場合も、本明細書で規定され使用される用語の範囲内であることが意図される。上記の引用文献の各々により規定されるCDRを包含するアミノ酸残基は、対照として下記の表(X)中に示される。表(X)中に記載されるCDRはKabat 1991に従って規定された。

【0110】

本明細書で使用されるとき、用語「CDR-L1」、「CDR-L2」及び「CDR-L3」は、それぞれ軽鎖可変領域の第1、第2及び第3のCDRを指す。本明細書で使用されるとき、用語「CDR-H1」、「CDR-H2」及び「CDR-H3」は、それぞれ重鎖可変領域の第1、第2及び第3のCDRを指す。本明細書で使用されるとき、用語「CDR-1」、「CDR-2」及び「CDR-3」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。

【0111】

用語「モノクローナル抗体」とは、本明細書で使用する時、実質的に均質な抗体集団から得られる抗体を指す。すなわち、該集団の個々の抗体は、少量で存在し得る天然に存在する可能性がある突然変異及び/又は翻訳後修飾(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、ただ1つの抗原部位に指向される。典型的には種々の決定基(エピトープ)に指向される種々の抗体を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ただ1つの決定基に指向される。それらの特異性に加えて、モノクローナル抗体は、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による夾雑がないという点で有利である。修飾語「モノクローナル」は、実質的に均質な抗体集団から得られるという抗体の特徴を示し、いずれかの具体的な方法による抗体の生成を要求すると解されるべきではない。例えば、本発明に従って用いら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, 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)を参照されたい)、及びヒト免疫グロブリン遺伝子座又はヒト免疫グロブリン配列をコードする遺伝子の部分又は全部を有する動物においてヒト又はヒト様抗体を製造する技術(例えば、WO1998/24893、WO1996/34096、WO1996/33735、WO1991/10741、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、第5,545,806号、第5,569,825号、第5,625,126号、第5,633,425号及び第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)、並びにLonberg and Huszar, Intern. Rev. Immunol. 13: 65-93, (1995)を参照されたい)を含む多様な技術によって作製できる。

【0112】

用語「全長抗体」、「インタクト抗体」及び「全抗体」は、抗体断片とは対照的に、実質的に無傷な形態で、抗体を指すために互換的に使用される。具体的には、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、天然配列の定常ドメイン(例えば、ヒト天然配列の定常ドメイン)又はそのアミノ酸配列バリエーションであってもよい

10

20

30

40

50

。いくつかの場合において、インタクト抗体は、1つ以上のエフェクター機能を有することができる。

【0113】

「抗体断片」は、インタクト抗体の一部、好ましくはインタクト抗体の抗原結合領域及び/又は可変領域を含む。抗体断片の例には、Fab、Fab'、F(ab')₂及びFv断片、ダイアボディ、線状抗体(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)、一本鎖抗体分子及び抗体断片から形成された多重特異性抗体が含まれる。

【0114】

抗体のパパイン消化は、「Fab」断片と呼ばれる2つの同一の抗原結合断片、及び残留物の「Fc」断片(容易に結晶化する能力を反映した呼称)を生じる。Fab断片は、完全なL鎖と併せてH鎖の可変領域ドメイン(V_H)及び1つの重鎖の第1の定常ドメイン(C_H1)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、それはただ1つの抗原結合部位を有する。抗体のペプシン処理は、ただ1つの大きなF(ab')₂断片を生じ、それは大ざっぱに、異なる抗原結合活性を有する2つのジスルフィド連結されたFab断片に対応し、なお抗原を架橋することができる。Fab'断片は、抗体のヒンジ領域に由来する1つ以上のシステインを含むC_H1ドメインのカルボキシ末端にいくつかの追加の残基を有するという点でFab断片と異なる。Fab'-SHは、Fab'についての本明細書における呼称であり、定常ドメインのシステイン残基(単数又は複数)が遊離チオール基を保持する。F(ab')₂抗体断片は、もと

もとFab'断片の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結合物もまた公知である。

【0115】

Fc断片は、ジスルフィドによって一緒に保持された両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領域の配列によって決定され、その領域はまたある種の細胞上で見出されるFc受容体(FcR)によって認識される。

【0116】

本明細書において、用語「Fc領域」は、天然配列Fc領域と変異Fc領域を含む、免疫グロブリン重鎖のC末端領域を規定するために用いられる。免疫グロブリン重鎖のFc領域の境界は変動する可能性があるが、ヒトIgG重鎖Fc領域は、通常、Cys226位のアミノ酸残基又はPro230からそのカルボキシル末端までの一続きの長さで規定される。Fc領域のC末端リジン(EU番号付与システムによる残基447)は、例えば、抗体の製造若しくは精製中に、又は抗体の重鎖をコードする核酸を組換えにより操作することによって除去することができる。したがって、インタクト抗体の組成は、全てのK447残基が除去された抗体集団、K447残基が除去されていない抗体集団、及びK447残基をもつ抗体及びもたない抗体の混合物を有する抗体集団を含むことができる。本発明の抗体で使用するために適切な天然配列のFc領域としては、ヒトIgG1、IgG2、IgG3及びIgG4が含まれる。

【0117】

「天然配列のFc領域」は、天然に見出されるFc領域のアミノ酸配列と同一であるアミノ酸配列を含む。天然配列のヒトFc領域には、天然配列のヒトIgG1 Fc領域(非A及びAアロタイプ)、天然配列のヒトIgG2 Fc領域、天然配列のヒトIgG3 Fc領域、及び天然配列のヒトIgG4 Fc領域並びに天然に存在するそれらのバリエーションが含まれる。

【0118】

「バリエーション(変種)Fc領域」は、少なくとも1つのアミノ酸修飾、好ましくは1個以上のアミノ酸置換(単数又は複数)によって、天然配列の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、天然配列のFc領域又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、天然配列のFc領域又は親ポリペプチドのFc領域において、約1個～約10個のアミノ酸置換、及び好ましくは約1個～約5個のアミノ酸置換を有する。本明細書において、バリエーションFc領域は、好ましくは天然配列のFc領域及び/又は親ポリペプチドのFc領域と少なくとも約80%同一性を有し、最も好ましくは、それと少なくとも約90%同一性、より好ましくは、それと少なくとも約95%

相同性を有する。

【0119】

「Fc受容体」又は「FcR」は、抗体のFc領域と結合する受容体を表す。好ましいFcRは、天然配列のヒトFcRである。さらに、好ましいFcRは、IgG抗体と結合するもの(ガンマ受容体)であり、Fc RI、Fc RII及びFc RIIISubクラスの受容体を含み、これには対立遺伝子バリエーション及びこれらの受容体の別のスプライス型を含む。Fc RII受容体はFc RIIA(「活性化受容体」)及びFc RIIB(「阻害性受容体」)を含み、それらは同様のアミノ酸配列を有し、主としてその細胞質ドメインにおいて相違する。活性化受容体Fc RIIAは、イムノレセプターチロシン系活性化モチーフ(「ITAM」)をその細胞質ドメインに含む。阻害性受容体Fc RIIBは、イムノレセプターチロシン系阻害モチーフ(「ITIM」)をその細胞質ドメインに含む。(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)、Capel et al, *Immunomethods* 4: 25-34 (1994)及びde Haas et al, *J. Lab. Clin. Med.* 126: 330-41 (1995)に概説されている。他のFcRは、将来同定されるものを含み、本明細書において用語「FcR」に包含される。また、FcRは、抗体の血清半減期を増加させ得る。

10

【0120】

FcRnとのインビボでの結合及びヒトFcRn高親和性結合ポリペプチドの血清半減期は、例えば、ヒトFcRnを発現するトランスジェニックマウス若しくは遺伝子導入されたヒト細胞株で、又はバリエーションFc領域を有するポリペプチドを投与した霊長類でアッセイすることができる。WO2004/42072(Presta)は、FcRとの結合が改善された又は低下した抗体バリエーションを記載している。例えば、Shields et al, *J. Biol. Chem.* 9(2): 6591-6604 (2001)も参照されたい。

20

【0121】

「Fv」は、完全な抗原認識部位及び抗原結合部位を含む最小の抗体断片である。この断片は、しっかり固定された非共有結合の1つの重鎖及び1つの軽鎖の可変領域ドメインの二量体からなる。これらの2つのドメインの折りたたみからは、6つの超可変ループ(H鎖及びL鎖からそれぞれ3ループ)が発し、それは、抗原結合のためのアミノ酸残基に寄与し、抗原結合特異性を抗体に付与する。しかしながら、ただ1つの可変ドメイン(又は1つの抗原に特異的な3つのHVRのみを含む半分のF_v)でも、抗原を認識し、結合する能力を有するが、親和性は完全な結合部位よりも低い。

30

【0122】

「一本鎖Fv」は、「sFv」又は「scFv」とも略され、1本のポリペプチド鎖に連結されたV_H及びV_L抗体ドメインを含む抗体断片である。好ましくは、sFvポリペプチドはさらに、抗原結合のためにsFvに所望の構造を形成させることができるポリペプチドリンカーをV_HとV_Lドメインの間に含む。sFvの概説については、Pluckthun in *The Pharmacology of Monoclonal Antibodies*, vol. 113, Rosenberg and Moore eds., Springer-Verlag, New York, pp. 269-315 (1994)を参照されたい。

【0123】

抗体の「機能的断片」は、インタクト抗体の一部を含み、一般的には、インタクト抗体の抗原結合領域若しくは可変領域、又は修飾されたFcR結合能力を保持若しくは有する抗体のF領域が含まれる。抗体断片の例には、線状抗体、一本鎖抗体分子及び抗体断片から形成された多重特異性抗体が含まれる。

40

【0124】

用語「ダイアボディ」は、Vドメインの鎖内ではなく鎖間の対形成が達成されるように、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を生じるように、V_HとV_Lドメインの間に短いリンカー(約5~10残基)を有するsFv断片(先行する段落を参照されたい)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「クロスオーバー」sFv断片のヘテロダイマーであり、2つの抗体のV_H及びV_Lドメインが異なるポリペプチド鎖上に存在する。ダイアボディは、例えば、EP404,097、WO93/11161、Hollinger et al, *Proc. Nat'l. Acad. Sci. USA* 90: 6444-48 (1993)に非

50

常に詳細に記載されている。

【0125】

本明細書で使用する、「キメラ抗体」は、重鎖及び/又は軽鎖の一部が、特定の種に由来する又は特定の抗体クラス若しくはサブクラスに属する抗体の対応する配列と同一又は相同であり、一方、鎖(単数又は複数)の残余部分は、別の種に由来する又は別の抗体クラス若しくはサブクラスに属する抗体の対応する配列と同一又は相同である抗体(免疫グロブリン)、並びに所望の生物学的活性を示す限り、このような抗体の断片を指す(米国特許第4,816,567号、Morrison et al, Proc. Nat'l. Acad. Sci. USA, 81: 6851-55 (1984))。本明細書において対象とするキメラ抗体は、PRIMATIZED(登録商標)抗体を含み、該抗体の抗原結合領域は、例えば、対象とする抗原を用いてマカクザルを免疫することによって産生される抗体由来である。本明細書で使用する、「ヒト化抗体」は、「キメラ抗体」のサブセットである。

10

【0126】

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。一実施形態において、ヒト化抗体は、ヒト免疫グロブリン(レシピエント抗体)であり、レシピエントのHVR由来の残基が、所望の特異性、親和性及び/又は能力を有する非ヒト種(ドナー抗体)、例えば、マウス、ラット、ウサギ又は非ヒト霊長類のHVR由来の残基によって置き換えられる。いくつかの例において、ヒト免疫グロブリンのFR残基は、対応する非ヒト残基によって置き換えられる。さらに、ヒト化抗体は、レシピエント抗体及びドナー抗体で見出されない残基を含むことができる。これらの修飾は、結合親和性などの抗体の性能をさらに洗練するために実施され得る。一般的に、ヒト化抗体は、少なくとも1つの、典型的には2つの可変ドメインの実質的に全部を含み、超可変ループの全部又は実質的に全部が、非ヒト免疫グロブリン配列のものと対応し、FR領域の全部又は実質的に全部が、ヒト免疫グロブリン配列のものであるが、FR領域は、抗体の性能、例えば、結合親和性、異性化、免疫原性などを改善する個々のFR残基の1つ以上の置換を含むことができる。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、場合により、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定常領域の少なくとも一部分を含む。さら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)、並びに米国特許第6,982,321号及び第7,087,409号を参照されたい。

20

30

【0127】

「ヒト抗体」は、ヒトによって産生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ヒト抗体、及び/又は本明細書に開示されるヒト抗体を作製するための技術のいずれかを用いて作製されたヒト抗体である。このヒト抗体の定義は、具体的には、非ヒト抗原結合残基を含むヒト化抗体を除外する。ヒト抗体は、ファージディスプレイライブラリーを含む、当該技術分野において公知の多様な技術を用いて製造することができる。Hogenboom and Winter, J. Mol. Biol., 227:381 (1991)、Marks et al, J. Mol. Biol., 222:581 (1991)。さらにヒトモノクローナル抗体の調製には、Cole et al, Monoclonal Antibodies and Cancer Therapy, Alan R. Liss, p. 77 (1985)、Boerner et al, J. Immunol., 147(1): 86-95 (1991)に記載された方法が利用できる。van Dijk and van de Winkel, Curr. Opin. Pharmacol, 5: 368-74 (2001)も参照されたい。ヒト抗体は、抗原チャレンジに応答してこのような抗体を産生するように修飾されているが、その内在性遺伝子座は不能にされているトランスジェニック動物、例えば、免疫ゼノマウスに抗原を投与することによって調製できる(例えば、XENOMOUSE(商標)技術に関しては米国特許第6,075,181号及び第6,150,584号を参照されたい)。さらに、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関しては、例えば、Li et al, Proc. Nat'l. Acad. Sci. USA, 103:3

40

50

557-3562 (2006)を参照されたい。

【 0 1 2 8 】

用語「超可変領域」、「HVR」又は「HV」は、本明細書で使用する時、配列が超可変である及び/又は構造的に規定されたループを形成する抗体の可変ドメイン領域を指す。一般的に、抗体は、6つのHVRを含み、3つはVHにあり(H1、H2、H3)、3つはVLにある(L1、L2、L3)。天然の抗体では、H3及びL3は6つのHVRで最大の多様性を示し、特に、H3は抗体に精密な特異性を付与する上で固有の役割を果たすと考えられる。例えば、Xu et al, *Immunity* 13:37-45 (2000)、Johnson and Wu, in *Methods in Molecular Biology* 248: 1-25 (Lo, ed., Human Press, Totowa, NJ (2003))を参照されたい。実際に、天然に存在するラクダ科の重鎖のみからなる抗体は、軽鎖の非存在下で機能し、安定である。例えば、Hammers-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。

10

【 0 1 2 9 】

いくつかのHVRの範囲決定が用いられ、本明細書に包含される。Kabatの相補性決定領域(CDR)であるHVRは配列可変性に基づき、最も一般的に用いられている(Kabat et al., 上述)。Chothiaは、むしろ構造的ループの配置に言及する(Chothia and Lesk, *J. Mol. Biol.* 196: 901-917 (1987))。AbM HVRは、Kabat CDRとChothia構造的ループの折衷案を提示し、オックスフォードモレキュラー(Oxford Molecular)のAbM抗体モデリングソフトウェアで用いられている。「接触」HVRは、利用可能な複合結晶構造の分析に基づいている。これらHVRの各々の残基を下記に記す。

20

【 0 1 3 0 】

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

30

【 0 1 3 1 】

HVRは以下の通りの「伸長HVR (extended HVR)」を含むことができる:VLにおいて24-36又は24-34(L1)、46-56又は50-56(L2)及び89-97又は89-96(L3)、並びにVHにおいて26-35(H1)、50-65又は49-65 (好ましい実施形態) (H2) 及び93-102、94-102又は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Kabat et al.(上述)に従って番号付けされる。

40

【 0 1 3 2 】

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

【 0 1 3 3 】

語句「Kabatの可変ドメイン残基の番号付け」又は「Kabatのアミノ酸の位置の番号付け」及びそれらの変型は、抗体の編集に関して重鎖可変ドメイン又は軽鎖可変ドメインについて用いられるKabat et al.(上述)の番号付与システムを指す。この番号付与システムを用いると、実際の直線的なアミノ酸配列は、可変ドメインのFR又はHVRにおける短縮又は挿入に対応してアミノ酸の減少又は付加を含むことができる。例えば、重鎖可変ドメイン

50

は、H2の残基52の後ろに1アミノ酸の挿入(Kabatによる残基52a)及び重鎖FR残基82の後ろに挿入残基(例えば、Kabatによる残基82a、82b及び82cなど)を含むことができる。残基のKabat番号付与は、Kabat番号付与が実施された「標準」配列と所与の抗体の配列の相同性領域におけるアラインメントによって該抗体について決定することができる。

【0134】

Kabat番号付与システムは、一般的に、可変ドメインにおける残基(軽鎖の残基1-107程度及び重鎖の残基1-113程度)に言及する場合に使用される(例えば、Kabat et al., *Sequences of Immunological Interest*, 5th Ed. Public Health Service, National Institutes of Health, Bethesda, Md. (1991))。「EU番号付与システム」又は「EUインデックス」は、一般的に、免疫グロブリン重鎖定常領域における残基に言及するときに使用される(例えば、Kabat et al.(上述)において報告されているEUインデックス)。「KabatにおけるようなEUインデックス」とは、ヒトIgG1 EU抗体の残基番号付与を指す。本明細書において他に記述がなければ、抗体の可変ドメインにおける残基番号への言及は、Kabat番号付与システムによる残基番号付与を意味する。本明細書において他に記述がなければ、抗体の定常ドメインにおける残基番号への言及は、EU番号付与システムによる残基番号付与を意味する(例えば、米国特許公開第2010-280227号を参照されたい)。

【0135】

「アクセプターヒトフレームワーク」は、本明細書で使用する時、ヒト免疫グロブリンのフレームワーク又はヒトコンセンサスフレームワーク由来のVL又は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又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、その同じアミノ酸配列を含んでもよく、又は既存のアミノ酸配列変化を含んでもよい。いくつかの実施形態において、既存のアミノ酸変化の数は、10個以下、9個以下、8個以下、7個以下、6個以下、5個以下、4個以下、3個以下又は2個以下である。既存のアミノ酸変化がVHに存在する場合、好ましくはそれらの変化は、位置71H、73H及び78Hのほんの3つ、2つ又は1つで起こり、例えば、それらの位置でのアミノ酸残基は71A、73T及び/又は78Aであってもよい。一実施形態において、VLアクセプターヒトフレームワークは、VLヒト免疫グロブリンフレームワーク配列又はヒトコンセンサスフレームワーク配列と配列が同一である。

【0136】

「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のVL又はVHフレームワーク配列の選択における最も一般的に存在するアミノ酸残基を示すフレームワークである。一般的に、ヒト免疫グロブリンのVL又はVH配列の選択は、可変ドメイン配列のサブグループに由来する。一般的に、配列のサブグループは、Kabat et al., *Sequences of Proteins of Immunological Interest*, 5th Ed. Public Health Service, National Institutes of Health, Bethesda, MD (1991)におけるようなサブグループである。VLについての例には、Kabat et al.(上述)におけるようなサブグループであり得るカップI、カップII、カップIII又はカップIVが含まれ得る。さらに、VHについては、サブグループは、Kabat et al.(上述)におけるようなサブグループI、サブグループII又はサブグループIIIであり得る。

【0137】

特定の位置の「アミノ酸修飾」は、特定の残基の置換若しくは欠失、又は特定の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。特定の残基に「隣接する」挿入は、その1つ又は2つの残基内の挿入を意味する。挿入は、特定の残基のN末端側又はC末端側であり得る。本明細書では好ましいアミノ酸修飾は置換である。

【0138】

「親和性成熟」抗体は、その1つ以上のHVRにおいて1つ以上の変更を有する抗体であり、該変更は、そのような変更(単数又は複数)をもたない親抗体と比較して、抗原に対する該抗体の親和性の改善をもたらす。一実施形態において、親和性成熟抗体は、標的抗原に対してナノモル親和性又はピコモル親和性さえ有する。親和性成熟抗体は、当該技術分野

10

20

30

40

50

において公知の手法によって製造される。例えば、Marks et al., Bio/Technology 10:779-783 (1992)は、VH及びVLドメインシャッフリングによる親和性成熟を記載している。HV R及び/又はフレームワーク残基のランダム突然変異誘発は、例えば、Barbas et al. Proc Nat. 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。

【0139】

本明細書で使用する時、用語「特異的に認識する」又は「特異的に結合する」とは、測定可能であり、再現性を有する相互作用、例えば、標的と、抗体との間の引力又は結合を指し、生物学的分子を含む不均質な分子集団の存在下で該標的の存在を決定できる。例えば、標的又はエピトープと特異的に又は優先的に結合する抗体は、それが他の標的又は標的の他のエピトープと結合するよりも高い親和性、結合性(avidity)で、より迅速に、及び/又はより長い時間、この標的又はエピトープと結合する抗体である。また、例えば、第1の標的に特異的に又は優先的に結合する抗体(又は部分)は、第2の標的に特異的に又は優先的に結合してもよく又は結合しなくてもよいことが理解される。したがって、「特異的な結合」又は「優先的な結合」は、必ずしも排他的な結合を必要としない(ただし、排他的な結合を含んでもよい)。標的に特異的に結合する抗体は、少なくとも約 10^3 M^{-1} 若しくは 10^4 M^{-1} 、時々約 10^5 M^{-1} 若しくは 10^6 M^{-1} 、他の例においては約 10^6 M^{-1} 若しくは 10^7 M^{-1} 、約 $10^8 \text{ M}^{-1} \sim 10^9 \text{ M}^{-1}$ 、又は約 $10^{10} \text{ M}^{-1} \sim 10^{11} \text{ M}^{-1}$ あるいはそれを超える結合定数を有してもよい。様々なイムノアッセイフォーマットを用いて、特定のタンパク質と特異的に免疫反応する抗体を選択することができる。例えば、固相ELISAイムノアッセイを慣用的に用いて、タンパク質と特異的に免疫反応するモノクローナル抗体を選択する。特異的な免疫反応性を決定するために用いることができるイムノアッセイフォーマット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。

【0140】

本明細書で使用する時、補体タンパク質と第2のタンパク質の間の「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。本明細書で使用する時、抗体は、抗体が2つのタンパク質間の相互作用を破壊し、減少し、又は完全に排除するとき、2つのタンパク質間の「相互作用を阻害する」。本開示の抗体又はその断片は、該抗体又はその断片が2つのタンパク質のうちの1つに結合するとき、2つのタンパク質間の「相互作用を阻害する」。

【0141】

「ブロッキング」抗体、「アンタゴニスト」抗体、「阻害」抗体又は「中和」抗体は、該抗体が結合する抗原の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又は低減する抗体である。いくつかの実施形態において、ブロッキング抗体、アンタゴニスト抗体、阻害抗体又は「中和」抗体は、1つ以上の生物学的活性又は抗原の相互作用を実質的に又は完全に阻害する。

【0142】

抗体の「エフェクター機能」は、抗体のFc領域(天然配列Fc領域又はアミノ酸配列バリエーションFc領域)に起因するそれらの生物学的活性を指し、抗体アイソタイプとともに変動する。

【0143】

本明細書で使用する時、用語「親和性」は、2つの物質(例えば抗体と抗原)の可逆的結合の平衡定数を指し、解離定数(KD)として表される。親和性は、無関係の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倍大きく、少なくとも2倍大きく、少なくとも3倍大きく、少なくとも4倍大きく、少なくとも5倍大きく、少なくとも6倍大きく、少なくとも7倍大きく、少なくとも8倍大きく、少なくとも9倍大きく、少なくとも10倍大き

く、少なくとも20倍大きく、少なくとも30倍大きく、少なくとも40倍大きく、少なくとも50倍大きく、少なくとも60倍大きく、少なくとも70倍大きく、少なくとも80倍大きく、少なくとも90倍大きく、少なくとも100倍大きく、又は少なくとも1,000倍大きく、又はさらに大きくてもよい。標的タンパク質への抗体の親和性は、例えば、約100ナノモラー (nM) から約0.1 nMまで、約100 nMから約1ピコモラー (pM) まで、又は約100 nMから約1フェムトモラー (fM) まで、またはさらに大きくてもよい。本明細書で使用されるとき、用語「結合性 (avidity)」は、2つ以上の物質の複合体の、希釈した後の解離に対する抵抗性を指す。用語「免疫反応性」及び「優先的に結合する」は、本明細書では抗体及び/又は抗原結合性断片に関して互換的に使用される。

【0144】

10

用語「結合する」は、例えば、塩橋及び水橋 (water bridge) などの相互作用を含む、共有結合、静電的、疎水性、及びイオン性並びに/又は水素結合性の相互作用による、2つの分子の間の直接的結合を指す。対象の抗C1s抗体は、補体C1sタンパク質中のエピソード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、 5×10^{-7} M、 10^{-8} M、約 5×10^{-8} M及びそれよりも大きい親和性を有する結合を指す。「非特異的結合」は約 10^{-7} M未満の親和性での結合、例えば、 10^{-6} M、 10^{-5} M、 10^{-4} Mなどの親和性での結合を指す。

【0145】

用語「 k_{on} 」は、本明細書で使用する時、抗原への抗体の結合に関する速度定数を指すことが意図される。

20

【0146】

用語「 k_{off} 」は、本明細書で使用する時、抗体/抗原複合体からの抗体の解離の速度定数を指すことが意図される。

【0147】

用語「 K_D 」は、本明細書で使用する時、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る。

【0148】

本明細書で使用する時、ペプチド、ポリペプチド又は抗体の配列に関して「パーセント (%) アミノ酸配列同一性」及び「相同性」は、配列をアラインさせ、必要な場合にギャップを導入して最大のパーセント配列同一性を達成した後、配列同一性の部分として保存的置換を一切考慮しないで、該特定のペプチド又はポリペプチド配列中のアミノ酸残基と同一である候補配列中のアミノ酸残基のパーセンテージを指す。パーセントアミノ酸配列同一性の決定を目的とするアラインメントは、当該技術分野の技術範囲内である多様な方法、例えば、公開されているコンピュータソフトウェア、例えば、BLAST、BLAST-2、ALIGN又はMEGALIGN(商標)(DNASTAR)ソフトウェアを用いて達成できる。当業者は、アラインメントを測定するために適切なパラメータを決定することができ、それには、比較される配列の全長にわたって最大のアラインメントを達成するために必要な、当該技術分野で公知の任意のアルゴリズムが含まれる。

30

【0149】

「生物学的試料」は個体から取得された多様な試料の種類を含み、診断又は監視のアクセスにおいて使用することができる。この定義には、血液及び他の生物学的起源の液体試料、生検標本又は組織培養又はそれに由来する細胞及びその子孫などの固形組織試料が含まれる。この定義には、試薬による処理、可溶化、又はポリヌクレオチドなどの特定の構成要素の濃縮などにより、その調達後に任意の方法で操作されている試料も含まれる。用語「生物学的試料」には、臨床試料が含まれ、また培養、細胞上清、細胞溶解物、血清、血漿、生物学的液体、及び組織試料における細胞も含む。用語「生物学的試料」には尿、唾液、脳脊髄液、間質液、眼液、滑液、血漿及び血清などの血液分画などが含まれる。用語「生物学的試料」にはまた固形組織試料、組織培養試料、及び細胞試料も含まれる。

40

【0150】

「単離された」核酸分子は、同定されている核酸分子であって、該核酸分子が生成され

50

た環境で通常付随する少なくとも1つの夾雑核酸分子から分離されている核酸分子である。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が付随していない。本明細書の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、それが天然で見出される形態又は設定以外の形態にある。したがって、単離された核酸分子は、細胞内に天然に存在する本明細書の任意のポリペプチド及び抗体をコードする核酸と区別される。

【0151】

用語「ベクター」は、本明細書で使用する時、それが連結されている別の核酸を輸送することができる核酸分子を指すことが意図される。1つのタイプのベクターは「プラスミド」であり、これは、その中に付加的なDNAセグメントを連結させ得る環状の二本鎖DNAを指す。別のタイプのベクターはファージベクターである。別のタイプのベクターはウイルスベクターであり、この場合、付加的なDNAセグメントをウイルスゲノム中に連結させることができる。ある種のベクターは、それらが導入される宿主細胞内で自律複製することができる(例えば、細菌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、宿主細胞内に導入されたときに宿主細胞のゲノム中に組み込まれることができ、それによって、宿主ゲノムとともに複製される。さらに、ある種のベクターは、それらが機能的に連結されている遺伝子の発現を導くことができる。このようなベクターは、本明細書において、「組換え発現ベクター」又は単に「発現ベクター」と呼ばれる。一般に、組換えDNA技術において有用な発現ベクターは、多くの場合、プラスミドの形態である。プラスミドが最も一般的に使用されるベクターの形態であるため、本明細書において、「プラスミド」及び「ベクター」は互換的に使用することができる。

【0152】

「ポリヌクレオチド」又は「核酸」は、本明細書で互換的に使用する時、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、修飾されたヌクレオチド若しくは塩基、及び/又はそれらの類似体、あるいはDNA若しくはRNAポリメラーゼによって又は合成反応によってポリマーに取り込ませることができる任意の基質であることができる。ポリヌクレオチドは、メチル化ヌクレオチド及びそれらの類似体などの修飾されたヌクレオチドを含むことができる。存在する場合、ヌクレオチド構造に対する修飾は、ポリマーのアセンブリの前又は後に与えることができる。ヌクレオチドの配列は、非ヌクレオチド成分によって中断されてもよい。ポリヌクレオチドは、標識とのコンジュゲーションなどの、合成後になされる修飾(単数又は複数)を含むことができる。他の修飾の種類には、例えば、「キャッピング」、天然に存在するヌクレオチドのうちの1つ以上を類似体に置換すること、例えば、非荷電結合(例えば、ホスホン酸メチル、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)を有するもの及び荷電結合(例えば、ホスホロチオエート、ホスホロジチオエートなど)を有するものなどのヌクレオチド間修飾、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(pIy)-L-リジンなど)などのペンダント部分を含有するもの、インターカレーター(例えば、アクリジン、ソラレンなど)を有するもの、キレート剤(例えば、金属、放射性金属、ホウ素、酸化金属など)を含有するもの、アルキル化剤を含有するもの、修飾された連結を有するもの(例えば、アルファアノマー核酸など)、並びにポリヌクレオチド(単数又は複数)の非修飾形態が含まれる。さらに、糖の中に通常存在するヒドロキシル基のうちのいずれかを、例えば、ホスホン酸基、リン酸基によって置き換える、標準的な保護基によって保護する、若しくはさらなるヌクレオチドとのさらなる連結を調製するために活性化することができる、又は固体若しくは半固体の支持体にコンジュゲートさせることができる。5'及び3'末端のOHは、リン酸化するか、又はアミン若しくは1~20個の炭素原子の有機キャップ基部分で置換することができる。他のヒドロキシルを標準的な保護基へと誘導体化することもできる。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-、又は2'-アジド-リボース、炭素環式糖類似体、-アノマー糖、アラビノース、キシロース、又はリキソースなどのエピマー糖、ピラノース糖、フラノース糖、セドヘブツロース、非環状類似体、及びメチルリボ

10

20

30

40

50

シドなどの塩基性ヌクレオシド類似体を含む、当該技術分野において一般に知られているリボース又はデオキシリボース糖の類似形態を含有することもできる。1つ以上のリン酸ジエステル結合を代替の連結基によって置き換えることができる。これらの代替の連結基には、限定されないが、リン酸が、P(O)S(「チオエート」)、P(S)S(「ジチオエート」)、(O)NR₂(「アミデート」)、P(O)R、P(O)OR'、CO、又はCH₂(「ホルムアセタール」)によって置き換えられている実施形態が含まれ、ここで、各々のR又はR'は、独立して、H、又はエーテル(-O-)結合、アリール、アルケニル、シクロアルキル、シクロアルケニル、若しくはアラルキルを場合によって含有する置換若しくは非置換アルキル(1~20個のC)である。ポリヌクレオチド中の全ての連結が同一である必要はない。前述の説明は、RNA及びDNAを含む、本明細書で言及された全てのポリヌクレオチドに適用される。

10

【0153】

「宿主細胞」は、ポリヌクレオチドインサートの組み込み用のベクター(単数又は複数)のレシピエントとすることができる又はそれであった個々の細胞若しくは細胞培養物を含む。宿主細胞は、単一の宿主細胞の子孫を含み、子孫は、天然の、偶発的な又は意図的な突然変異のために、もとの親細胞と必ずしも完全に同一(形態構造において又はゲノムDNA相補体において)でなくてもよい。宿主細胞は、本発明のポリヌクレオチド(単数又は複数)をインピボでトランスフェクトされた細胞を含む。

【0154】

「担体」は、本明細書で使用するとき、薬学的に許容される担体、賦形剤又は安定化剤を含み、採用される用量及び濃度でそれに曝露される細胞又は哺乳動物に対して毒性を示さない。多くの場合、生理学的に許容される担体はpH緩衝水溶液である。生理学的に許容される担体の例には、緩衝剤、例えば、リン酸、クエン酸及び他の有機酸、酸化防止剤、例えば、アスコルビン酸、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、ゼラチン又は免疫グロブリン、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、アルギニン又はリジン、単糖類、二糖類及び他の糖質、例えば、グルコース、マンノース又はデキストリン、キレート剤、例えば、EDTA、糖アルコール、例えば、マンニトール又はソルビトール、塩形成対イオン、例えば、ナトリウム、及び/又は非イオン性界面活性剤、例えば、ツイーン(TWEEN(商標))、ポリエチレングリコール(PEG)及びプルロニック(PLURONICS(商標))が含まれる。

20

30

【0155】

用語「約」は、本明細書で使用するとき、本技術分野における当業者に容易に知られる各値に関する通常の誤差範囲を指す。本明細書における「約」の付いたある値又はパラメータへの言及は、その値又はパラメータそれ自体を対象とする実施形態を含む(及び記載する)。

【0156】

他に定義されない限りは、本明細書中で使用されるすべての技術的及び科学的用語は、本発明が属する技術分野の当業者に一般的に理解される同じ意味を有する。本明細書中に記載されるものと類似した又は等価な任意の方法及び材料は本発明の実施又は試験で使用され得るが、好ましい方法と材料が次に説明される。本明細書中で言及された出版物のすべては、出版物が引用される関連の方法及び/又は材料を開示及び説明するために参照によって本明細書に組み込まれる。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

40

50

., 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 (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)に記載されている幅広く利用される方法論など。

10

【 0 1 5 7 】

治療方法

本発明の方法は、補体のアンタゴニストである薬剤を投与することにより本明細書に開示される疾患に対する免疫応答の調節を提供する。例えば、理論に拘束されることはないが、未成熟のアストロサイトは、発生中のニューロンにおいてC1qタンパク質の発現を誘導する。補体因子などの炎症メディエーターは、健康な脳組織において通常は非常に低いレベルで発現されるが、感染、虚血及び傷害などの脳への多様な侵襲により急速に誘導され得る。C1q、C1r及びC1sの活性化は炎症応答に寄与し、これは発作の発生及び再発並びに発作関連の神経損傷とともにシナプス喪失をもたらす。神経変性疾患の発症過程中には、C1q、C1r及びC1sの過剰発現は、補体活性化のためのシグナル、例えば、 β -アミロイド、APP、IFN γ 、TNF α などのようなサイトカインと関連し得て、また炎症をもたらし得る。

20

【 0 1 5 8 】

補体活性化を阻害する物質を投与することによって、そうでなければ失われるであろうシナプスが維持され得る。そのような物質には、抗C1q抗体Fab断片インヒビター、天然の補体インヒビターの発現を上方調節する物質、ニューロンにおけるC1q、C1r又はC1sの合成を下方調節する物質、補体活性化を遮断する物質、補体活性化のためのシグナルを遮断する物質などが含まれる。

30

【 0 1 5 9 】

本方法はシナプス喪失に関連する状況でニューロン機能維持の改善を促進する。神経結合の維持は、治療されていない患者に比べて神経変性疾患の機能的な改善を提供する。シナプス喪失の防止には、そのような治療を有しない対照に比べて、少なくとも測定可能な改善が含まれ得て、そのような改善は1、2、3、4、5、6日又は少なくとも1週に渡り、例えばシナプスの数の少なくとも10%の改善、少なくとも20%の改善、少なくとも50%の改善である。

40

【 0 1 6 0 】

好ましくは、本発明の物質はいかなる副作用をも最小化すると同時にシナプス喪失を減少させる用量で投与される。組成物はインビボでの使用のためには医師の指示下で取得され、使用されることが考えられる。治療用製剤の用量は、疾患の性質、投与頻度、投与様式、宿主からの物質の除去などによって大きく変わる。

【 0 1 6 1 】

特定の患者に与えられる治療用組成物の有効量は多様な因子に依存し、そのうちのいくつかは患者間で異なる。通常の技術を用いて、能力のある臨床医は、通常の臨床試験の過程において特定の治療用組成物又は造影組成物の用量を調製することができる。

【 0 1 6 2 】

50

治療剤、例えば補体のインヒビター、遺伝子発現のアクチベーターなどは、適切な薬学的に許容される担体又は希釈剤との併用によって治療用投与のための多様な剤形に取り込むことができ、錠剤、カプセル剤、粉末、顆粒剤、軟膏、液剤、坐薬、注射剤、吸入剤、ゲル剤、ミクロスフェア剤及びエアロゾル剤などの固形、半固形、液体またはガス状の形態の調製物に製剤化してもよい。したがって、化合物の投与は、経口、頬側、直腸、非経口、腹腔内、皮内、経皮、髄腔内、経鼻、気管内などの投与を含む多様な方法で達成し得る。活性剤は投与後に全身性であってもよいし、局所投与、壁内投与、又は活性用量をインプラントの部位に保持するように働くインプラントの使用によって局在化させてもよい。

【0163】

例えば、血液脳関門（BBB）を通る薬物送達のための1つの方策はBBBの破壊を必要とし、これはマンニトール又はロイコトリエンなどの浸透圧法によるか、又は生化学的にブラジキニンなどの血管作動性物質の使用による。特定の物質を対象とするためにBBB開放を使用する可能性もまた選択肢である。BBB破壊剤は、組成物を血管内注入により投与する際に本発明の治療用組成物と共に共投与することができる。BBBを通過する他の方策は、グルコース及びアミノ酸担体などの担体媒介性トランスポーター、インスリン又はトランスフェリンに対する受容体媒介性トランスサイトosis、並びにp-糖タンパク質などの活性排出トランスポーターを含む、内在性輸送システムの使用を伴ってもよい。活性輸送成分は、血管の上皮壁を通る輸送を促進するために、本発明における使用のための治療用組成物又は造影組成物にコンジュゲートされてもよい。あるいは、BBBの後ろへの薬物送達は、オンマヤリザーバを通すというように、直接頭蓋へと治療薬又は造影剤を髄腔内に送達することによる。

【0164】

医薬組成物は、所望の剤形に応じて、動物又はヒトへの投与のための医薬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規定される、希釈剤の薬学的に許容される無毒性担体を含むことができる。希釈剤は、組合せ物の生物学的活性に影響を与え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、生理食塩水、PBS、リンガー溶液、デキストロース及びハंक溶液である。さらに、医薬組成物または製剤は、他の担体、アジュバント、又は無毒性で非治療用で非免疫原性の安定剤、賦形剤などを含むことができる。組成物はまた、pH調整剤及び緩衝剤、毒性調整剤、湿潤剤及び界面活性剤などの生理学的条件に近づけるための追加の物質を含むことができる。

【0165】

組成物は、例えば抗酸化剤などの様々な安定化剤のうち任意のものを含むことができる。医薬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での安定性を増強する、又はそうでなければその薬理学的特性を高める（例えば、ポリペプチドの半減期を増加させる、その毒性を低減させる、溶解性又は取り込みを高める）様々な周知の化合物と組み合わせることができる。そのような修飾剤又は組み合わせ剤の例には、硫酸、グルコン酸、クエン酸及びリン酸が含まれる。組成物のポリペプチドはまた、それらのインビボでの属性を高める分子とともに組み合わせることができる。このような分子としては、糖質、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）、及び脂質が挙げられる。

【0166】

様々な種類の投与に適した剤形に関するさらなる指導は、Remington's Pharmaceutical Sciences, Mace Publishing Company, Philadelphia, Pa., 17th ed. (1985)に見出すことができる。薬物送達のための方法の簡単な概説については、Langer, Science 249:1527-1533 (1990)を参照されたい。

【0167】

医薬組成物は、予防上の及び/又は治療上の治療のために投与することができる。活性成分の毒性および治療有効性は、例えばLD₅₀（集団の50%に致死的な用量）及びED₅₀（集団の50%に治療上有効な用量）を決定することを含む、細胞培養及び/又は実験動物にお

10

20

30

40

50

ける標準的な薬学的手順に従って決定することができる。毒性及び治療効果の間の用量比は治療指数であり、これは LD_{50}/ED_{50} の比として表すことができる。大きい治療指数を示す化合物が好ましい。

【0168】

細胞培養及び/又は動物試験から得られるデータは、ヒトのための用量の範囲を定式化
する際に使用することができる。活性成分の用量は、一般的に、毒性の低い ED_{50} を含む循
環濃度の範囲内にある。用量は、採用される投薬形態及び利用される投与経路に依存して
、この範囲内で変化し得る。

【0169】

本明細書に記載される医薬組成物は、様々な異なる方法で投与することができる。例と
しては、経口、鼻腔内、直腸、局所、腹腔内、静脈内、筋肉内、皮下、真皮下、経皮、髄
腔内および頭蓋内の方法により、薬学的に許容される担体を含有する組成物を投与するこ
とが挙げられる。

【0170】

経口投与について、有効成分は、カプセル、錠剤及び粉末などの固体剤形、又はエリキ
シル、シロップ及び懸濁液などの液体剤形で投与することができる。有効成分(単数又は
複数)は、グルコース、ラクトース、スクロース、マンニトール、デンプン、セルロース
又はセルロース誘導体、ステアリン酸マグネシウム、ステアリン酸、サッカリンナトリウ
ム、滑石、炭酸マグネシウムなどの不活性成分及び粉末担体とともにゼラチンカプセルに
封入することができる。望ましい色、味、安定性、緩衝能力、分散又は他の公知の望まし
い特徴を提供するために添加することができる追加の不活性成分の例は、赤色酸化鉄、シ
リカゲル、ラウリル硫酸ナトリウム、二酸化チタン及び食用白色インクである。同様の希
釈剤を使用して、圧縮錠剤を作製することができる。錠剤とカプセルの両方は、数時間に
わたって薬剤の連続放出を提供する徐放製品として製造することができる。圧縮錠剤は、
いかなる不快な味もマスクし、錠剤を大気から保護するために糖衣で被覆され若しくはフ
ィルムで被覆され、又は胃腸管における選択的崩壊に関して腸溶被覆され得る。経口投与
用の液体剤形は、患者の許容性を高めるために着色料及び香味料を含有することができる
。

【0171】

非経口投与に適した製剤には、水性及び非水性、等張滅菌注射溶液が挙げられ、それら
には、酸化防止剤、緩衝剤、静菌剤、及び製剤を意図されたレシビエントの血液と等張に
する溶質、並びに懸濁化剤、可溶化剤、増粘剤、安定化剤及び防腐剤を含み得る水性及び
非水性無菌懸濁液が含まれ得る。

【0172】

医薬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、
潜在的に有害な夾雑物を実質的に含まない(例えば、少なくともナショナルフード(NF)グ
レード、一般には、少なくとも分析グレード、より典型的には少なくとも医薬品グレード
)。さらに、インピボでの使用に意図された組成物は、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程度に、得られた生成物は、典型的には、合成又は
精製プロセス中に存在し得る、いかなる潜在的に有毒な作用物質、特にいかなる内毒素も
実質的に含まない。非経口投与用の組成物はまた、無菌であり、実質的に等張性であり、
GMP条件下で作製される。

【0173】

本発明の組成物は、任意の医学的に適切な手順、例えば、血管内(静脈内、動脈内、毛
細血管内)投与、脳脊髄液への注入、腔内注入または脳内への直接注入を使用して投与さ
れてもよい。髄腔内投与は、公知の技術に従って、オンマヤリザーバの使用により実施し
てもよい(F. Balis et al., Am J. Pediatr. Hematol. Oncol. 11, 74, 76(1989))。

【0174】

治療剤が脳において局所的に投与される場合には、本発明の治療用組成物の投与のため
の1つの方法は、任意の好適な手法、例えば、投与のために腔又はシストの中に、直接注

10

20

30

40

50

入（必要な場合には、注入シリンジの定位固定の位置決定に助けられて）するか又はオンマヤリザーバの先端を配置することによって、その場所の中又は付近に配置することによる。あるいは、対流強化送達カテーテルをその場所の中へ、天然の又は外科的に生成されたシストの中へ、又は正常な脳塊の中へ直接埋め込んでよい。そのような対流強化医薬組成物送達装置は、組成物の脳塊全体への拡散を大きく改善する。これらの送達装置の埋め込まれたカテーテルは、治療用組成物を脳及び/又は腫瘍塊へ送達するために、拡散流ではなく高流動微量注入を利用する（約0.5～15.0 μ l/分の範囲の流速を用いる）。そのような装置は米国特許第5,720,720号に記載され、参照により本明細書に全体が組み入れられる。

【0175】

特定の患者に与えられる治療用組成物の有効量は様々な因子に依存し、そのいくつかは患者間で異なる。能力のある臨床医は患者に投与するための治療剤の有効量を決定することができる。薬剤の用量は、治療、投与経路、治療の性質、患者のその治療に対する反応性などに依存する。LD₅₀動物データ及び他の情報を利用して、臨床医は、投与経路に依存して、個体にとっての最大安全用量を決定することができる。通常の技術を利用して、能力のある臨床医は、通常の臨床試験の過程で特定の治療用組成物の用量を最適化することができる。組成物は、一連の1つより多い投与において対象者に投与することが可能である。治療用組成物のためには、一定の周期的な投与が、時には必要であるか又は望ましいだろう。治療レジメンは薬剤によって変わり、例えば、いくつかの薬剤は長期間、1日又は半日毎に投与してもよいが、より選択的な薬剤は、より特定された時間経過、例えば、1日、2日、3日以上、1週以上、1月以上などで、1日毎、半日毎、半週毎、毎週毎で投与されてもよい。

【0176】

剤形は脳における保持及び安定化のために最適化してもよい。薬剤が頭蓋区画に投与される場合、薬剤は、区画内に保持され、拡散されず又は他には血液脳関門を通過しないことが望ましい。安定化技術は、分子量の増加を達成するために、架橋、多量体化、又はポリエチレングリコール、ポリアクリルアミド、中性タンパク質担体などの基への連結などを含む。

【0177】

保持を増加させるための他の方策には、生分解性又は生侵食性移植体への薬剤の取り込みが含まれる。治療的活性剤の放出速度は、ポリマーマトリックスを通過する輸送速度及び移植体の生分解によって調節される。また、ポリマー障壁を通過する薬物の輸送は、化合物の溶解度、ポリマーの親水性、ポリマーの架橋の程度、ポリマー障壁が薬物に対してより透過性になるような吸水時のポリマーの膨張、移植体の形状などにより影響を受ける。移植体は、移植の部位として選択される領域のサイズ及び形状に見合った大きさのものである。移植体は、粒子、シート、パッチ、ブランク、繊維、マイクロカプセルなどであってもよく、挿入の選択部位と適合する任意のサイズ又は形状であってもよい。

【0178】

移植体は、モノリシックであってもよく、すなわち、活性剤をポリマーマトリックスを介して均一に分布させ又はカプセル化させ、この場合、活性剤のリザーバはポリマーマトリックスによってカプセル化される。採用されるポリマー組成物の選択は、投与部位、治療の所望の期間、患者の耐性、治療されるべき疾患の性質などにより変化する。ポリマーの特徴としては、移植部位での生分解性、目的の薬剤との適合性、カプセル化の容易性、生理学的環境における半減期が含まれる。

【0179】

採用することができる生分解性ポリマー組成物は、分解したとき、単量体を含む生理学的に許容される分解生成物をもたらす有機エステル又はエーテルであり得る。無水物、アミド、オルトエステルなどは、単独で又は他の単量体と組み合わせて、用途を見出すことができる。ポリマーは、縮合ポリマーである。ポリマーは、架橋又は非架橋であってもよい。特に興味深いのは、ヒドロキシ脂肪族カルボン酸のポリマー、ホモポリマー又はコポ

10

20

30

40

50

リマーのいずれか、及び多糖類である。対象とするポリエステルには、D-乳酸、L-乳酸、ラセミ乳酸、グリコール酸、ポリカプロラクトン及びそれらの組合せのポリマーが含まれる。L-ラクテート又はD-ラクテートを採用することによって、ゆっくりと生分解するポリマーが達成され、一方、分解は、ラセミ化合物で実質的に高められる。グリコール酸と乳酸のコポリマーは、特に関心が高く、この場合、生分解速度は乳酸に対するグリコール酸の比率によって調節される。最も急速に分解されるコポリマーは、ほぼ同量のグリコール酸と乳酸を有し、この場合、ホモポリマーのいずれかは分解に対してより抵抗性がある。乳酸に対するグリコール酸の比率はまた移植体における脆性に影響し、この場合、より柔軟な移植体はより大きい形状に望ましい。対象とする多糖類には、アルギン酸カルシウム、及び官能化セルロース、特に約5kD～500kDの分子量である、水不溶性によって特徴付けられるカルボキシメチルセルロースエステルなどがある。生分解性ハイドロゲルはまた、本発明の移植体に採用することができる。ハイドロゲルは、典型的には、液体を吸収する能力によって特徴付けられるコポリマー材料である。採用され得る例示的な生分解性ハイドロゲルは、Heller: Hydrogels in Medicine and Pharmacy, N. A. Peppes ed., Vol. I II, CRC Press, Boca Raton, Fla., 1987, pp 137-149に記載されている。

10

【0180】

本発明はまた、本発明の医薬組成物のうち1つ以上の成分で満たされた1つ以上の容器を含む医薬パック又はキットを提供する。医薬又は生物学的製品の製造、使用又は販売を規制する政府機関によって規定された形態の注意書きがそのような容器（単数又は複数）に付随してもよく、該注意書きはヒトへの投与のための製造、使用又は販売の機関による承認を反映する。

20

【0181】

化合物のスクリーニング

いくつかの実施形態では、候補薬剤はシナプス喪失を調節する能力を求めてスクリーニングされ、該薬物は候補となる補体インヒビター、バリエーション、断片、模倣物、アゴニスト及びアンタゴニストを含んでもよい。そのような化合物スクリーニングはインビトロモデル、遺伝的に改変された細胞若しくは動物、又はタンパク質を使用して行われ得る。この目的には幅広い多様なアッセイが使用され得る。一実施形態では、特定の補体タンパク質、例えばC1q及び補体活性化シグナル（例えばアミロイド、APPなど）を含む、補体のアンタゴニスト又はアゴニストと予想される化合物がインビトロ培養系で、[以下に説明されるように]試験される。

30

【0182】

例えば、候補薬剤は、公知の薬理学、構造解析、コンピューターに基づくモデリングを使用する合理的薬物設計、結合アッセイなどにより、同定してもよい。様々なインビトロモデルが、化合物が補体活性に結合するか又は他の方法で影響するかを決定するために使用され得る。そのような候補化合物が、シナプス喪失を許容する環境中のニューロンに影響するために使用される。そのような化合物はシナプス喪失への影響についてインビボモデルでさらに試験してもよい。

【0183】

スクリーニングはまた、ニューロンでC1q発現を誘導するアストロサイト、例えば未成熟アストロサイトによって産生される分子について行ってもよい。そのようなアッセイでは、ニューロンとアストロサイトの共培養が、C1q発現を誘導する分子の産生又は発現について検証される。例えば、ブロック抗体が、ニューロンにおけるC1q発現の誘導に対する効果を決定するために培養中に添加されてもよい。

40

【0184】

シナプス喪失は、培養中のニューロンに候補薬剤を投与すること、及び薬剤の非存在又は存在下でシナプスの存在を決定することによって定量される。本発明の一実施形態では、ニューロンは、例えば網膜神経節細胞（RGC）の初代培養である。RGCの精製された集団は連続免疫パンニングなどの従来法により取得される。細胞は好適な培地中で培養され、該培地は適切な成長因子、例えばCNTF、BDNFなどを通常含む。神経細胞、例えばRCGは、

50

十分な期間培養され、十分に突起を伸長させ、約1日から1週の期間で候補分子とともに培養される。いくつかの実施形態では、ニューロンは、シナプス喪失のためのシグナリングを誘導するために、生きたアストロサイト細胞フィーダー上で培養される。アストロサイトフィーダー層を培養する方法は当技術分野で公知である。例えば、ニューロンが生存できない培地中で、非接着細胞を除去して、皮質グリアが蒔かれてもよい。

【0185】

シナプスの定量には、培養物は固定され、ブロッッキングされ、さらに洗浄され、次にシナプスタンパク質、例えばシナプトタグミンなどに特異的な抗体で染色し、当技術分野で公知の適切な試薬で可視化される。染色の分析は顕微鏡で行うことができる。一実施形態では、蛍光放出のデジタル画像は、カメラと画像取得ソフトウェアを用いて、使用しない部分の画素値範囲を除去するように調節されており、使用する画素値は画素値範囲全体を利用するように調節されている。

10

【0186】

対応するチャンネルの画像を重ね合わせ、2つの1チャンネル画像をそれぞれのカラーチャンネルとして含むカラー（RGB）画像を生成してもよい。共局在した点は、各画像チャンネルから低周波数バックグラウンドを除くローリングボールバックグラウンドサブトラクショナルアルゴリズムを使用して同定することができる。画像中のすべてのシナプトタグミン、PSD-95及び共局在した点についての数、平均面積、平均最小及び最大画素強度、並びに平均画素強度を解析のためにディスクに記録し保存する。

【0187】

20

用語「薬剤（物質）」は、本明細書で使用されるとき、特に補体経路によって、シナプス喪失を調節する能力を有する任意の分子、例えばタンパク質又は医薬を表す。好ましい実施形態では、薬剤は抗C1q抗体Fab断片である。候補薬剤はまた、遺伝因子、例えばC1q発現を阻害するためのアンチセンス及びRNAi分子、並びに補体インヒビターをコードする構築物、例えばCD59、などを含む。候補薬剤は多数の化学的クラスを含むが、一般的には有機分子であり、50ダルトンよりも大きく約2,500ダルトンよりも小さい分子量を有する小さな有機化合物を含む。候補薬剤には、タンパク質との構造的相互作用、特に水素結合に必要な官能基、及び典型的には少なくともアミン基、カルボニル基、ヒドロキシル基又はカルボキシル基、好ましくはその化学官能基のうち少なくとも2つが含まれる。候補薬剤には、しばしば、1つ以上の上記官能基で置換された、環状炭素構造若しくは複素環構造及び/又は芳香族構造若しくは多環芳香族構造が含まれる。候補薬剤はまた、ペプチド、糖、脂肪酸、ステロイド、プリン、ピリミジン、誘導体、構造類似体又はその組み合わせを含む生体分子から見出される。一般的には、複数のアッセイ混合物が、様々な濃度に対する異なる反応を見るために、異なる薬剤濃度と並行して試験される。一般的には、これらの濃度のうちの1つが陰性対照、すなわち濃度ゼロ又は検出レベル未満のものとして使用される。

30

【0188】

対象となる状態

本明細書で使用される「神経性の」又は「認知の」機能とは、脳におけるシナプスの減少が、患者の考える、機能するなどの能力を増強することを意味する。本明細書で使用されるとき、用語「対象（対象者）」は哺乳類及び非哺乳類を含む。哺乳類の例としては、限定されないが、哺乳類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；農場動物、例えばウシ、ウマ、ヒツジ、ヤギ、ブタ；家畜、例えばウサギ、イヌ及びネコ；齧歯類を含む実験動物、例えばラット、マウス及びモルモットなどが挙げられる。この用語は特定の年齢又は性別を意味しない。

40

【0189】

シナプス喪失を阻害する本方法で対象とする状態には、多様な神経変性状況、例えばアルツハイマー病、ダウン症候群、ハンチントン病、筋萎縮性側索硬化症、多発性硬化症、筋緊張性ジストロフィー、緑内障、パーキンソン病などが含まれる。脈絡膜血管新生(CNV)及び加齢黄斑変性(AMD)の補体関連眼状態もまた含まれる。そのような状態は、シナプ

50

スの維持、又は喪失の低減を可能にする、C1qのインヒビターを含む補体のインヒビターの投与から利益を得る。ニューロンの喪失が起きているいくつかの例では、例えば、ニューロン新生を増加させる薬剤の投与またはレジメン、神経前駆細胞の移植などによりニューロン新生をも増強することが望ましいかもしれない。トロンボスポンジンなどのシナプス形成を促進する薬剤もまた投与してもよい。

【0190】

他の対象となる状態は、自己免疫状態又は補体媒介性眼状態である。

【0191】

加齢黄斑変性(AMD)は世界中で高齢者における失明の主要原因である。AMDは、解像力の高い視力を担う眼網膜の高度に特化した領域である、黄斑変性及び血管新生を伴う変化に起因する中心視力の進行的な喪失を特徴とする。近年の推計では、AMDを原因として1400万人が失明しているか又は重篤に視力が低下していることが示されている。この疾患は、老齢人口及びその家族の身体的及び精神的な健康に極めて大きな影響を有し、大きな公衆衛生上の負担になりつつある。しかし、新しい発見は、早期AMDに付随する関連する細胞の現象、遺伝因子及び生化学的過程、並びにどのようにしてAMDが補体関連眼状態であるのかについて、より明確な像を提供し始めている。2種類のAMD、非滲出性(ドライ)及び滲出性(ウェット)のAMDが存在する。ドライ又は非滲出性の形態には、中心網膜(黄斑)の下にある網膜色素上皮(RPE)の萎縮性及び異常肥大性の変化、並びにRPE上の沈着(ドルーゼン)が関わる。非滲出性AMDの患者はウェット又は滲出性の形態のAMDに進行し得て、そこでは脈絡膜新生血管膜(CNVM)と呼ばれる異常血管が網膜下に発達し、液体と血液を漏出し、最終的には網膜の中及び下に失明を引き起こす円盤状の傷跡を生じる。非滲出性AMDは、通常は滲出性AMDの前兆であり、より一般的である。非滲出性AMDの所見は多様であり、硬性ドルーゼン、柔性ドルーゼン、RPE地図上萎縮及び色素凝集が存在し得る。補体の構成要素がAMDの初期にRPE上に沈着し、ドルーゼンの主要成分である。

【0192】

アルツハイマー病は、大脳皮質及び皮質下の灰白質における過剰な数の老人斑に付随する認知機能の進行性で過酷な喪失であり、この老人斑はまた β -アミロイド及びタウタンパク質からなる神経原線維タングルを含む。一般的な形態は60歳を超える人が罹り、その発生率は年齢が上がるにつれて増加する。これは高齢者における痴呆の65%超を構成する。

【0193】

アルツハイマー病の原因は知られていない。この疾患は、症例の約15~20%が家族性で起きる。残りのいわゆる散発性の症例は、若干の遺伝的決定因子を有する。この疾患は、可変的な晩年浸透度だが大部分の早発性及び一部の晩発性の症例において常染色体優性の遺伝パターンを有する。環境要因は活発な調査の焦点になっている。

【0194】

この疾患の過程で、大脳皮質、海馬および皮質下構造(マイネルト基底核における選択的細胞喪失を含む)、青斑核および背側縫線核の中で、シナプスが、そして最終的にはニューロンが失われる。脳グルコース使用および灌流が、脳の一部の領域(早期疾患では頭頂葉と側頭皮質、後期疾患では前頭前皮質)において減少する。(アミロイドコア周囲の神経突起、アストロサイト、およびグリア細胞から構成される)神経突起斑または老人斑、及び(対らせん状細繊維から構成される)神経原線維タングルは、アルツハイマー病の発病に役割を果たす。老人斑および神経原線維タングルは、正常な加齢に伴って発生するが、アルツハイマー病の患者ではそれらがはるかに多く普及している。

【0195】

筋萎縮性側索硬化症(ALS)は、運動ニューロンを攻撃する急速に進行して常に致死的な神経疾患である。筋力低下及び筋萎縮並びに前角細胞の機能障害の徴候が、最初にほとんどの場合手に認められ、足に認められることはより少ない。発病の箇所はランダムであり、進行は非対称である。痙攣がよく見られ、衰弱より先に生じ得る。希に患者は30年生存し、50%が発病後3年以内に死亡し、20%が5年生存し、10%が10年生存する。診断上の

特徴として、中年期又は成人後期中の発病、及び感覚異常のない進行性で全身性の運動障害が含まれる。この疾患の末期まで、神経伝達速度は正常である。

【0196】

細胞体の面積、シナプスの数及びシナプスの全長の減少が、ALS患者の正常と思われるニューロンにも報告されている。活性領域の可塑性がその限界に達すると、シナプスの継続的な喪失が機能障害の原因になり得ることが示唆されている。シナプス喪失の予防がこれらの患者のニューロン機能を維持し得る。

【0197】

ダウン症候群は、精神遅滞、特有の顔貌、並びに小頭症及び低身長症を含む多くの他の典型的な特徴を通常もたらす染色体障害である。症例の約95%で、余分な21番染色体全体がある。死体解剖では、成体のダウン症候群の脳はアルツハイマー病の典型的な顕微鏡所見を示し、多くの人が関連する臨床的な兆候も発達させる。

【0198】

パーキンソン病は、特発性で徐々に進行する変性中枢神経系障害であり、動作緩慢、筋硬直、休止時振戦、及び姿勢不安定という特徴がある。原発性パーキンソン病では、黒質、青斑核及び他の脳幹ドーパミン作動性細胞集団の色素性ニューロンが失われる。原因は分かっていない。尾状核及び被殻に投射する黒質ニューロンが失われることにより、これらの領域における神経伝達物質ドーパミンが消失する。発症は、一般に40歳以降であり、より高齢の集団で発生率が増加する。

【0199】

続発性パーキンソン症は、他の特発性の変性疾患、薬剤又は外因性毒素により基底核中のドーパミン作用の消失又は干渉に起因する。続発性パーキンソン症の最も一般的な原因は、ドーパミン受容体をブロックすることによりパーキンソン症を引き起こす、抗精神病薬又はレセルピンの摂取である。頻度がより少ない原因には、一酸化炭素中毒又はマンガン中毒、水頭症、構造的病変（腫瘍、中脳又は基底核に影響を及ぼす梗塞）、硬膜下血腫、及び線条体黒質変性症を含む変性疾患が含まれる。

【0200】

筋緊張性ジストロフィーは、ジストロフィー性の筋力低下及び筋緊張を特徴とする常染色体優性多系統障害である。分子欠損は、染色体19qのミオトニンプロテインキナーゼ遺伝子の3'非翻訳領域の伸長トリヌクレオチド（CTG）反復である。症状はあらゆる年齢で生じる場合があり、臨床重症度の範囲は広い。筋緊張は手の筋肉で顕著であり、軽度な症例でも眼瞼下垂が一般的である。重度な症例では、著しい末梢の筋低下が、多くの場合、白内障、早期の脱毛、斧状顔貌、不整脈、精巣萎縮及び内分泌異常（例えば糖尿病）と共に生じる。精神遅滞は一般的である。重症の人は、50代前半までに死亡する。

【0201】

緑内障は、網膜神経節細胞（RGC）に影響を及ぼす一般的な神経変性疾患である。どのようにRGCが緑内障において死ぬのかを決定するために多大な努力が行われている。RGCを含めて、シナプス及び樹状突起における区画化した変性プログラムの存在を示す証拠がある。インビトロの研究及び緑内障の遺伝性マウスモデルからの近年のデータは、分子的に異なる変性経路がRGC細胞体とRGC軸索の破壊の基礎となっていることを示唆する。様々な神経変性疾患では、軸索、樹状突起及びシナプスは細胞が死ぬよりかなり前にしばしば変性し、これが臨床上の症状と兆候を生じるのに重要であるという証拠が増加している。

【0202】

ハンチントン病（HD）は、情緒異常、行動異常及び精神異常の発症、過去に習得した知的機能又は認知機能の喪失、並びに動作異常（運動障害）を特徴とする遺伝性の進行性神経変性障害である。HDの古典的な徴候として、顔、腕、脚又は体幹に影響を及ぼし得る付随性で急速且つ不規則な痙攣様運動である舞蹈病の発症、並びに思考過程能力及び後天性の知的能力を徐々に失うこと（認知症）が含まれる。記憶、抽象的思考及び判断の障害；時間、場所又はアイデンティティの不適切な知覚（失見当識）；激越の増加；及び人格変化（人格の崩壊）がある場合がある。症状は典型的には30歳代又は40歳代の間に明らかに

10

20

30

40

50

なるが、発病の年齢は不定的であり、幼年期から成人後期（例えば70歳代又は80歳代）の範囲内である。

【0203】

HDは、常染色体優性形質として家族内に伝わる。4番染色体（4p16.3）の遺伝子内の異常に長い配列、又はコードされた命令の「繰返し」の結果として障害が生じる。HDに関連する神経系機能の進行性喪失は、基底核及び大脳皮質を含む脳のある領域のニューロンの喪失に起因する。

【0204】

多発性硬化症は、寛解及び再発性の悪化と共に、中枢神経系の機能障害の様々な症状及び徴候を特徴とする。最も一般的な主症状は、一又は複数の四肢、体幹又は顔の一侧における感覚異常；脚又は手の衰弱又は失調；又は、視覚障害、例えば一方の目の部分盲及び痛み（球後視神経炎）、視覚の薄暗さ又は暗点である。他の一般的な早期症状は、眼筋麻痺による複視（double vision）（複視（diplopia））、一又は複数の四肢の一時的な衰弱、肢の僅かな硬直又は異常な疲労感、軽微な歩行障害、膀胱制御困難、回転性めまい、及び軽微な情緒障害であり、全ての症状は、散在性の中枢神経系障害を示し、疾患が認識される前の数ヶ月前又は数年前に生じることが多い。過剰な熱が症状及び徴候を際立たせる場合がある。

【0205】

経過は非常に異なり、予測不能であり、ほとんどの患者で弛張性である。最初、特に疾患が球後視神経炎と共に生じた場合、数ヶ月又は数年もの寛解が発症を区切る場合がある。しかしながら、一部の患者は頻繁に発作を起こし、急速に無能力になり、少数の患者では経過が急速に進行し得る。

【0206】

本発明の方法は、中枢神経系への細胞又は組織の移植と併用する用途を見出すことができ、そのような移植には、胎児組織に見出されるものなどの神経前駆体、神経幹細胞、胎生幹細胞又は他の細胞、及び神経の修復若しくは補強のために考えられた組織が含まれる。神経幹細胞／神経前駆細胞は、当技術分野において記述されており、様々な治療プロトコルにおけるその使用が広く議論されてきた。例えば、とりわけ、米国特許第6,638,501号、Bjornson et al.；米国6,541,255、Snyder et al.；米国6,498,018、Carpenter；米国特許出願第20020012903号、Goldman et al.；Palmer et al. (2001) Nature 411 (6833):42-3；Palmer et al. (1997) Mol Cell Neurosci. 8(6):389-404；Svendsen et al. (1997) Exp. Neurol. 148(1):135-46及びShihabuddin (1999) Mol Med Today. 5(11):474-80があり、それぞれが本明細書に具体的に参照によって組み入れられる。

【0207】

神経幹細胞及び神経前駆細胞は、散在した中枢神経系領域へのよく確立された移動経路に沿った移動、微小環境の手がかりに反応して発生上及び領域上で適切な複数の細胞種へ分化すること、並びに宿主前駆体とその子孫との非破壊的で非腫瘍形成性の散在を含む、正常な発生の側面に関わり得る。ヒトNSCは、これらの散在した場所において、インビボで外来性の導入遺伝子を発現することが可能である。したがって、これらの細胞は、脊髄、脳及び末梢神経系への外傷；アルツハイマー病、ハンチントン病、パーキンソン病を含む変性障害の治療；大うつ病を含む感情障害；脳卒中などを含む、様々な状態の治療において用途が見出される。シナプス喪失強化因子により、ニューロンの機能的結合が強化され、臨床上の結果の改善が提供される。

【0208】

医薬組成物

本発明の抗体Fab断片は、医薬組成物の形態で、補体関連眼状態の治療のために投与されてもよい。

【0209】

本発明の抗体Fab断片の治療用組成物は、所望の純度を有する抗体Fab断片を、場合によって薬学的に許容される担体、賦形剤又は安定剤（Remington's Pharmaceutical Science

10

20

30

40

50

s 16th edition, Osol, A. Ed. [1980])とともに混合することによって、凍結乾燥剤形又は水溶液の形態で貯蔵用に調製される。許容される担体、賦形剤又は安定剤は、採用される用量と濃度でレシピエントに無毒性であり、リン酸、クエン酸、及びその他の有機酸などの緩衝剤；アスコルビン酸及びメチオニンなどの酸化防止剤；保存剤（オクタデシルジメチルベンジルアンモニウムクロライド；塩化ヘキサメトニウム；塩化ベンザルコニウム、塩化ベンゼトニウム；フェノール、ブチル若しくはベンジルアルコール；メチル若しくはプロピルパラベンなどのアルキルパラベン；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-クレゾールなど）；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、若しく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、ヒスチジン、アルギニン、若しくはリジンなどのアミノ酸；グルコース、マンノース、若しくはデキストリンを含む、単糖類、二糖類、及びその他の炭水化物；EDTAなどのキレート化剤；スクロース、マンニトール、トレハロース若しくはソルビトールなどの糖類；ナトリウムなどの塩形成対イオン；金属錯体（例えば、Zn-タンパク質錯体）；並びにノ又はツイーン（TWEEN（商標））、プルロニック（PLURONICS（商標））、若しくはポリエチレングリコール（PEG）などの非イオン性界面活性剤を含有する。

【0210】

リポフェクション又はリポソームもまた、抗体Fab断片を細胞内に送達するために使用することができ、ここで、標的タンパク質の結合ドメインに特異的に結合する最小断片が好ましい。

【0211】

抗体Fab断片はまた、例えば、コアセルベーション技術によって、又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マイクロカプセル又はゼラチン-マイクロカプセル及びポリ-（メチルメタクリレート）マイクロカプセルに取り込むことができ、コロイド薬剤送達系（例えば、リポソーム、アルブミン小球体、マイクロエマルジョン、ナノ粒子及びナノカプセル）又はマクロエマルジョンに取り込むことができる。このような技術は、Remington's Pharmaceutical Sciences 16th edition, Osol, A. Ed. (1980)に開示される。

【0212】

インビボ投与のために使用される製剤は無菌でなければならない。これは、無菌濾過膜を通る濾過によって容易に達成される。

【0213】

徐放調製物が調製できる。徐放調製物の適切な例は、抗体Fab断片を含有する固体疎水性ポリマーの半透過性マトリックスを含み、これらのマトリックスは造形品の形態、例えば、フィルムまたはマイクロカプセルである。徐放マトリックスの例は、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）又はポリ（ビニルアルコール））、ポリラクチド（米国特許第3,773,919号）、L-グルタミン酸とエチル-L-グルタミン酸塩のコポリマー、非分解性エチレン-酢酸ビニル、LUPRON DEPOT（商標）（乳酸-グリコール酸コポリマーおよび酢酸ロイプロリドから構成される注射可能なミクロスフェア）などの分解性乳酸-グリコール酸コポリマー、及びポリ-D-(-)-3-ヒドロキシ酪酸を含む。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は、100日以上の間分子を放出できる一方で、特定のヒドロゲルは、より短い期間でタンパク質を放出する。

【0214】

眼疾患又は状態の予防又は治療のための本発明の化合物は、通常、眼、眼内及びノ又は硝子体内の注入によって投与される。他の方法による投与もまた使用され、限定されるものではないが、局所、非経口、皮下、腹腔内、肺内、鼻腔内および病巣内投与を含む。非経口の注入は、筋肉内、静脈内、動脈内、腹腔内又は皮下の投与を含む。

【0215】

眼、眼内又は硝子体内投与用製剤は、当技術分野において公知の方法によって、当技術

10

20

30

40

50

分野において公知の材料を使用して調製できる。効率的な治療のための主要な要件は、眼を通る適切な浸透である。薬剤を局所的に送達できる眼の前方の疾患とは異なり、網膜疾患はより部位特異的な手法が要求される。点眼剤及び軟膏は、眼球の背面にはほとんど浸透せず、血液-眼関門(blood-ocular barrier)が、全身性投与薬剤の眼組織への浸透を妨げる。したがって、AMD及びCNVなどの網膜疾患を治療するための薬剤送達に選択される方法は、通常は直接的な硝子体内注入である。硝子体内注入は、通常は患者の状態並びに送達薬剤の特性及び半減期に依存した間隔で反復される。眼内(例えば、硝子体内)浸透のため、通常はより小型の分子が好ましい。

【0216】

AMD又はCNVなどの補体関連眼状態の治療の有効性は、眼内疾患の評価に一般的に使用される、様々な評価項目によって測定できる。例えば、失明が評価できる。失明は、限定されるものではないが、例えば、ベースラインから所望の時点までの最も良い矯正視力(BCVA)の平均的变化による測定(例えば、BCVAは、糖尿病網膜症の早期治療研究(Early Treatment Diabetic Retinopathy Study)(ETDRS)の視力検査表及び検査距離4メートルにおける評価に基づく)、ベースラインと比較した所望の時点での視力において15文字未満喪失する対象の割合の測定、ベースラインと比較した所望の時点での視力において15文字以上増える対象の割合の測定、所望の時点で視力がSnellen20/2000と等価か又はそれより悪い対象の割合の測定、NEI視覚機能質問表(NEI Visual Functioning Questionnaire)の評価、例えばフルオレセイン眼底血管造影法による、所望の時点のCNVのサイズ及びCNVの漏出量の測定などによって評価できる。限定されるものではないが、例えば、眼検査の実施、眼内圧測定、視力評価、細隙灯圧(slitlamp pressure)測定、眼内炎症の評価などを含む眼の評価が実施できる。

【0217】

核酸、ベクター及び宿主細胞

本開示の抗体Fab断片は、例えば、米国特許第4,816,567号に記載されているように、組換え法及び組成物を用いて生成することができる。いくつかの実施形態において、本開示の抗体Fab断片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。このような核酸は、抗C1q抗体の V_L/C_L を含むアミノ酸配列及び/又は V_H/C_H1 を含むアミノ酸配列をコードすることができる。いくつかの実施形態において、このような核酸を含む1つ以上のベクター(例えば、発現ベクター)が提供される。いくつかの実施形態において、そのような核酸を含む宿主細胞も提供される。いくつかの実施形態において、宿主細胞は、(1)抗体の V_L/C_L を含むアミノ酸配列及び抗体の V_H/C_H1 を含むアミノ酸配列をコードする核酸を含むベクター、又は(2)抗体の V_L/C_L を含むアミノ酸配列をコードする核酸を含む第1のベクター及び抗体の V_H/C_H1 を含むアミノ酸配列をコードする核酸を含む第2のベクター、を含む(例えば、それで形質導入されている)。いくつかの実施形態において、宿主細胞は、真核生物であり、例えば、チャイニーズハムスター卵巣(CHO)細胞又はリンパ系細胞(例えば、Y0、NS0、Sp20細胞)である。

【0218】

本開示の抗C1q抗体Fab断片を作製する方法が提供される。いくつかの実施形態において、方法は、抗体Fab断片の発現に適した条件下で、抗C1q抗体Fab断片をコードする核酸を含有する本開示の宿主細胞を培養することを含む。いくつかの実施形態において、抗体Fab断片は、その後、宿主細胞(又は宿主細胞培養地)から回収される。

【0219】

本開示のヒト化抗C1q抗体Fab断片の組換え産生のために、抗C1q抗体Fab断片をコードする核酸を単離し、宿主細胞におけるさらなるクローニング及び/又は発現のための1つ以上のベクターに挿入する。このような核酸は、従来の手順を使用して(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することができ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、配列決定され得る。

【0220】

本明細書に記載されている、本開示の抗C1q抗体Fab断片又はそれら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む適切なベクターは、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を含む。適切なクローニングベクターは、標準的な技術に従って構築することができ、又は当該技術分野において利用可能な多数のクローニングベクターから選択することができる。使用を意図された宿主細胞に応じて、選択されたクローニングベクターが変化し得る一方で、有用なクローニングベクターは、一般的に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単一の標的を有し得、及び/又はベクターを含むクローンの選択に使用することができるマーカー遺伝子を担持することができる。適切な例としては、プラスミド及び細菌ウイルス、例えば、pUC18、pUC19、Bluescript(例えば、pBS SK+)及びその誘導体、mpl8、mpl9、pBR322、pMB9、ColE1、pCR1、RP4、ファージDNA、並びにpSA3及びpAT28などのシャトルベクターが挙げられる。これら及び多くの他のクローニングベクターは、BioRad、Stratagene及びInvitrogenなどの市販業者から入手可能である。

10

【0221】

発現ベクターは、一般的に、本開示の核酸を含む複製可能なポリヌクレオチド構築物である。発現ベクターは、エピソームとして又は染色体DNAの不可欠な部分として宿主細胞中で複製することができる。適切な発現ベクターとしては、限定されないが、PCT公開第W087/04462号に開示されているプラスミド、ウイルスベクター、例えば、アデノウイルス、アデノ随伴ウイルス、レトロウイルス、コスミド、及び発現ベクター(単数又は複数)が挙げられる。ベクター成分は、一般的に、限定されないが、以下:シグナル配列、複製起点、1つ以上のマーカー遺伝子、適切な転写調節エレメント(例えば、プロモーター、エンハンサー及びターミネーター)、の1つ以上を含み得る。発現(すなわち、翻訳)に関して、リボソーム結合部位、翻訳開始部位及び終止コドンなどの1つ以上の翻訳調節エレメントも通常必要とされる。

20

【0222】

対象とする核酸を含むベクターは、いくつか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、手段としては、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-デキストラン又は他の物質を採用す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、ベクターがワクシニアウイルスなどの感染性病原体である場合)が含まれる。ベクター又はポリヌクレオチドの導入の選択は、多くの場合、宿主細胞の特徴に依存する。いくつかの実施形態において、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む核酸を含む。

30

【0223】

抗体Fab断片をコードするベクターのクローニング又は発現に適した宿主細胞には、原核細胞又は真核細胞が含まれる。例えば、本開示の抗C1q抗体Fab断片は、特に、グリコシル化及びFcエフェクター機能が必要ない場合、細菌中で産生され得る。細菌における抗体断片及びポリペプチドの発現に関して、(例えば、米国特許第5,648,237号、第5,789,199号及び第5,840,523号、並びに大腸菌における抗体断片の発現を記載するCharlton, Methods in Molecular Biology, Vol. 248 (B.K.C. Lo, ed., Humana Press, Totowa, NJ, 2003), pp. 245-254)。発現後、抗体は、可溶性画分中の細菌細胞ペーストから単離されてもよく、さらに精製することができる。

40

【0224】

原核生物に加えて、糸状菌又は酵母などの真核微生物はまた、部分的又は完全なヒトグリコシル化パターンを有する抗体の産生をもたらす、グリコシル化経路が「ヒト化」されている、真菌及び酵母菌株などの抗体をコードするベクター用の適したクローニング又は発現宿主である(例えば、Gerngross, Nat. Biotech. 22:1409-1414 (2004)及びLi et al., Nat. Biotech. 24:210-215 (2006))。

【0225】

また、グリコシル化抗体Fab断片の発現に適した宿主細胞は、多細胞生物(無脊椎動物及び脊椎動物)に由来することができる。無脊椎動物細胞の例としては、植物及び昆虫細胞が含まれる。特にスポドプテラ・フルギペルダ(Spodoptera frugiperda)細胞のトランス

50

フェクションのために、昆虫細胞と組み合わせて使用することができる多数のバキュロウイルス株が同定されている。植物細胞培養物はまた宿主として利用することができる(例えば、トランスジェニック植物において抗体を産生するためのPLANTIBODIES(商標)技術を記載する米国特許第5,959,177号、第6,040,498号、第6,420,548号、第7,125,978号及び第6,417,429号)。

【0226】

また、脊椎動物細胞を宿主として使用することができる。例えば、懸濁液中で増殖するように適合された哺乳動物細胞株は有用であり得る。有用な哺乳動物宿主細胞株の他の例は、SV40によって形質転換されたサル腎臓CV1株(COS-7)、ヒト胚腎臓株(例えば、Graham et al., J. Gen. Virol. 36:59 (1977)に記載されている293又は293細胞)、ベビーハムスター腎臓細胞(BHK)、マウスセルトリ細胞(例えば、Mather, Biol. Reprod. 23:243-251 (1980)に記載されるTM4細胞)、サル腎臓細胞(CV1)、アフリカミドリザル腎臓細胞(VERO-76)、ヒト子宮頸癌細胞(HELA)、イヌ腎臓細胞(MDCK)、バッフアローラット肝臓細胞(BRL 3A)、ヒト肺細胞(W138)、ヒト肝臓細胞(Hep G2)、マウス乳房腫瘍(MMT 060562)、例えば、Mather et al., Annals N.Y. Acad. Sci. 383:44-68 (1982)に記載されているTRI細胞、MRC 5細胞、及びFS4細胞である。他の有用な哺乳動物宿主細胞株としては、DHFR-CHO細胞(Urtaub et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA 77:4216 (1980))を含むチャイニーズハムスター卵巣(CHO)細胞、並びにY0、NS0及びSp2/0などの骨髓腫細胞株が挙げられる。抗体産生に適した特定の哺乳動物宿主細胞株の概説については、例えば、Yazaki and Wu, Methods in Molecular Biology, Vol. 248 (B.K.C. Lo, ed., Humana Press, Totowa, NJ), pp. 255-268 (2003)を参照されたい。

【0227】

併用療法

本開示の補体インヒビターは、限定されないが、自己免疫疾患及び/又は神経変性疾患を含む、本明細書で開示される任意の疾患に対して、免疫抑制治療などの任意の付加的な治療と一緒に使用され得る。

【0228】

いくつかの実施形態において、本開示の抗体は、補体活性化の副経路の阻害剤を併用して投与される。このような阻害剤としては、限定されないが、因子B遮断抗体、因子D遮断抗体、可溶性、膜結合、タグ化又は融合タンパク質形態のCD59、DAF、CR1、CR2、Crry、又はC3の切断をブロックするコンプスタチン様ペプチド、非ペプチドC3aRアンタゴニスト、例えばSB290157、コブラ毒因子又は非特異的補体阻害剤、例えばナファモスタットメシル酸塩(FUTHAN、FUT-175)、アプロチニン、K-76モノカルボン酸(MX-1)及びヘパリンが挙げられ得る(例えば、T.E. Molines & M. Kirschfink, Molecular Immunology 43 (2006) 107-121を参照されたい)。いくつかの実施形態において、本開示の抗体は、自己抗体とその自己抗原の間の相互作用の阻害剤を併用して投与される。このような阻害剤は、ペプチド又はRNA由来のミモトープ、例えばAQP4抗原のミモトープなどの精製された可溶性形態の自己抗原又は抗原模倣物を含むことができる。あるいは、このような阻害剤は、古典的補体経路を誘発することなく、自己抗原を認識し、自己抗体の結合を防ぐブロッキング剤を含むことができる。このようなブロッキング剤としては、例えば、自己抗原結合RNAアプタマー又はそれらのFcドメインにおいて機能性C1q結合部位を欠損している抗体(例えば、Fab断片又はC1qに結合しないように他に操作された抗体)が含まれ得る。

【0229】

キット

本発明はまた、本開示の抗体Fab断片を含むキットを提供する。本発明のキットは、当技術分野で公知の方法に従う使用のための精製された抗C1q抗体Fab断片及び説明書を含む1つ以上の容器を含む。一般的に、これらの説明書は、当技術分野で公知の任意の方法に従って、疾患を治療又は診断するための阻害剤の投与の説明を含む。キットは、その個体が疾患及び疾患の段階を有するかどうかを同定することに基づいて、治療に適した個体を選択する説明をさらに含んでもよい。

【0230】

説明書は、一般的に、意図された治療のための用量、投薬スケジュール及び投与経路に関する情報を含む。容器は、単位用量、バルクパッケージ(例えば、複数用量パッケージ)又はサブユニット用量であってもよい。本発明のキットに付属される説明書は、典型的には、ラベル又は添付文書(例えば、キットに含まれる紙シート)の指示書であるが、機械によって読むことができる説明書(例えば、磁気又は光学記憶ディスク上に担持された説明書)も許容される。

【0231】

ラベル又は添付文書は、組成物が、具体的な疾患を治療するために使用されることを示す。説明書は、本明細書に記載されている方法のいずれかを実施するために提供されてもよい。

10

【0232】

本発明のキットは、適切なパッケージの状態にある。適切なパッケージには、限定されないが、バイアル、ボトル、ジャー、フレキシブルパッケージング(例えば、密封されたマイラー(Mylar)又はプラスチックバッグ)などが挙げられる。また、吸入器、経鼻投与デバイス(例えば、アトマイザー)又は注入デバイス、例えばミニポンプなどの特定のデバイスと組み合わせて使用するためのパッケージが企図される。キットは無菌アクセスポートを有してもよい(例えば、容器は、静脈内溶液バッグ又は皮下注射針によって貫通可能なストッパーを有するバイアルであってもよい)。容器はまた無菌アクセスポートを有してもよい(例えば、容器は、静脈内溶液バッグ又は皮下注射針によって貫通可能なストッパーを有するバイアルであってもよい)。組成物中の少なくとも1つの活性剤は古典的補体経路の阻害剤である。容器は、第2の薬学的活性剤をさらに含んでもよい。

20

【0233】

キットは、場合により、緩衝液及び解釈的情報などの追加の要素を提供することができる。通常、キットは、容器と、容器上又は容器に関連するラベル若しくは添付文書(単数又は複数)を含む。

【実施例】

【0234】

実施例1：C1q結合アッセイ

Fab及び全長抗体のヒトC1qへの結合を評価するために直接ELISAを使用した(図1)。手短に述べると、黒96穴プレート(#3925、コーニング)を、炭酸水素緩衝液(pH9.4)(サーモサイエンティフィック)中のヒトC1q(2 µg/mL)(Complement Technology)で、4で一晩被覆した。翌日プレートをdPBSで3回洗浄し、3% BSA/PBSで1時間室温(RT)にてブロッキングを行った。M1、M1-Fabの希釈系列をdPBS 0.3% BSA、0.1% Tween緩衝液(50 µL/ウェル)中で調製した。1時間RTにてインキュベーションした後、マウスカップ又はマウスFC、ヒトカップ及びヒトFC(Jackson ImmunoResearch)に対するアルカリホスファターゼ(AP)コンジュゲート2次抗体をそれぞれ2000~4000倍で加える。RTにて追加して1時間のインキュベーション後、プレートをdPBS 0.05% Tweenで3回洗浄し、AP基質(サーモサイエンティフィック)で発光を生じさせた。発光カウントをEnvisionプレートリーダー(パーキンエルマー)を使用して測定した。カウントを濃度の関数としてプロットし、C1q結合のためのEC50を得るために4パラメーターロジスティックフィットを使用した。図1に示されるように、M1 FabはM1全抗体と同じ結合親和性を有する。図1 BはM1全抗体(二価)及びM1 Fab(一価)を示す。M1全抗体は、C1qへの結合についてM1抗体Fabより高い結合性(avidity)を示し得る。

30

40

【0235】

実施例2：溶血

抗C1q抗体のRBC溶血を抑制する能力を、補体源として増感ヒツジRBCと正常ヒト血清を使用して決定した(図2)。手短に述べれば、GVB++緩衝液(Complement Technology)で50倍希釈した正常ヒト血清中で、抗体(M1全IgG、M1-Fab、ヒト化M1及びヒト化M1-Fab)を、10000~10ng/mLの範囲で滴定した。次に、50 µLの希釈血清を50 µLの希釈ヒツジRBC

50

(~ 1 億細胞/mL) (Complement Technology) で混合した。試料を37℃にて30分インキュベートした。次にプレートを2000rpmで5分遠心し、上清を回収し、吸光を415nmで読み取った。GVB++緩衝液単独におけるバックグラウンド溶血を含む対照を使用し、最大溶血を水を使用して誘導した。生の吸光度からバックグラウンドを引き、最大溶血に対して標準化し、濃度の関数としてプロットした。溶血阻害のためのIC₅₀は、4パラメーターロジスティックフィットを使用して決定した。図2に示されるように、M1 FabはM1全抗体と同じ機能的効力を有する。M1全抗体は、C1qの複数の機能的な頭部に関与する能力のため(図1B)、及び他の頭部の立体障害となるより大きなサイズのために、より高い効力を示すことが予想された。

【0236】

10

参照による組み込み

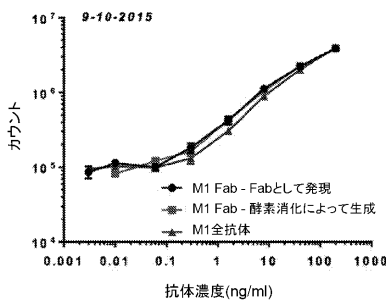
本明細書において引用される各々の特許、公開特許出願及び非特許文献はここに参照によってその全体が組み込まれる。

【0237】

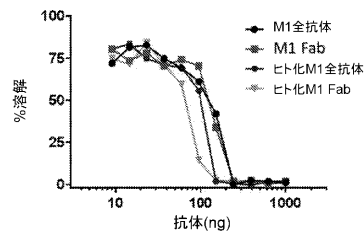
等価物

当業者は、本明細書に記載される発明の特定の実施形態の多くの等価物を、通常の実験に過ぎないものを使用して認識するか、又は確認することができる。そのような等価物は以下の特許請求の範囲によって含まれることが意図される。

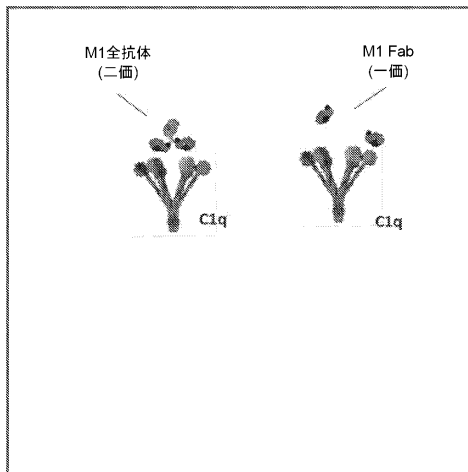
【図1A】



【図2】



【図1B】



【配列表】

0006976943000001.app

フロントページの続き

(51)Int.Cl.

F I

C 1 2 N	5/10	(2006.01)	C 1 2 N	5/10	
C 1 2 N	15/13	(2006.01)	C 1 2 N	15/13	
C 1 2 N	15/63	(2006.01)	C 1 2 N	15/63	Z
C 1 2 P	21/08	(2006.01)	C 1 2 P	21/08	
A 6 1 K	39/395	(2006.01)	A 6 1 K	39/395	N
A 6 1 P	1/04	(2006.01)	A 6 1 P	1/04	
A 6 1 P	3/00	(2006.01)	A 6 1 P	3/00	
A 6 1 P	3/04	(2006.01)	A 6 1 P	3/04	
A 6 1 P	3/10	(2006.01)	A 6 1 P	3/10	
A 6 1 P	7/06	(2006.01)	A 6 1 P	7/06	
A 6 1 P	9/10	(2006.01)	A 6 1 P	9/10	
A 6 1 P	11/00	(2006.01)	A 6 1 P	9/10	1 0 3
A 6 1 P	11/06	(2006.01)	A 6 1 P	11/00	
A 6 1 P	13/12	(2006.01)	A 6 1 P	11/06	
A 6 1 P	17/00	(2006.01)	A 6 1 P	13/12	
A 6 1 P	19/02	(2006.01)	A 6 1 P	17/00	
A 6 1 P	21/02	(2006.01)	A 6 1 P	19/02	
A 6 1 P	21/04	(2006.01)	A 6 1 P	21/02	
A 6 1 P	25/00	(2006.01)	A 6 1 P	21/04	
A 6 1 P	25/14	(2006.01)	A 6 1 P	25/00	
A 6 1 P	25/16	(2006.01)	A 6 1 P	25/14	
A 6 1 P	25/28	(2006.01)	A 6 1 P	25/16	
A 6 1 P	27/02	(2006.01)	A 6 1 P	25/28	
A 6 1 P	27/04	(2006.01)	A 6 1 P	27/02	
A 6 1 P	27/06	(2006.01)	A 6 1 P	27/04	
A 6 1 P	29/00	(2006.01)	A 6 1 P	27/06	
A 6 1 P	35/00	(2006.01)	A 6 1 P	29/00	
A 6 1 P	37/02	(2006.01)	A 6 1 P	29/00	1 0 1
A 6 1 P	37/06	(2006.01)	A 6 1 P	35/00	
G 0 1 N	33/53	(2006.01)	A 6 1 P	37/02	
G 0 1 N	33/532	(2006.01)	A 6 1 P	37/06	
G 0 1 N	33/536	(2006.01)	G 0 1 N	33/53	R
			G 0 1 N	33/532	A
			G 0 1 N	33/536	B
			G 0 1 N	33/536	C
			G 0 1 N	33/536	D
			G 0 1 N	33/536	E

(72)発明者 サンカラナラヤナン, セテュ

アメリカ合衆国 9 4 5 5 5 カリフォルニア州, フリーモント, フォールスタッフ アベニュー
4 7 2 0

(72)発明者 ローセンタール, アーノン

アメリカ合衆国 9 4 0 6 2 カリフォルニア州, ウッドサイド, ノルマンディー レーン 1 5
0

(72)発明者 レヴィテン, マイケル

アメリカ合衆国 9 4 0 6 2 カリフォルニア州, エメラルド ヒルズ, ライブ オーク レーン
5 0 2

審査官 山内 達人

(56)参考文献 国際公開第2015/006504(WO, A1)

THE JOURNAL OF IMMUNOLOGY, 1986年, Vol.137, No.1, p.255-262

(58)調査した分野(Int.Cl., DB名)

C07K

C12N

A61K

A61P

CAPLUS/REGISTRY(STN)