

(19)日本国特許庁(JP)

## (12)特許公報(B2)

(11)特許番号  
特許第7622019号  
(P7622019)

(45)発行日 令和7年1月27日(2025.1.27)

(24)登録日 令和7年1月17日(2025.1.17)

(51)国際特許分類

C 0 7 K	16/24 (2006.01)	C 0 7 K	16/24
C 1 2 N	15/13 (2006.01)	C 1 2 N	15/13
A 6 1 K	39/395 (2006.01)	A 6 1 K	39/395
A 6 1 P	37/02 (2006.01)	A 6 1 P	37/02
A 6 1 P	25/28 (2006.01)	A 6 1 P	25/28

請求項の数 18 外国語出願 (全60頁) 最終頁に続く

(21)出願番号 特願2022-172479(P2022-172479)  
 (22)出願日 令和4年10月27日(2022.10.27)  
 (65)公開番号 特開2023-67832(P2023-67832A)  
 (43)公開日 令和5年5月16日(2023.5.16)  
 審査請求日 令和4年11月15日(2022.11.15)  
 (31)優先権主張番号 63/273,216  
 (32)優先日 令和3年10月29日(2021.10.29)  
 (33)優先権主張国・地域又は機関  
 米国(US)

(73)特許権者 594197872  
 イーライ リリー アンド カンパニー  
 アメリカ合衆国 インディアナ州 462  
 85 インディアナポリス リリー コー  
 ポレイ特センター (番地なし)  
 (74)代理人 100145403  
 弁理士 山尾 憲人  
 (74)代理人 100126778  
 弁理士 品川 永敏  
 (74)代理人 100162684  
 弁理士 吳 英燦  
 (72)発明者 シエディド, マルシオ  
 アメリカ合衆国 46206-6288イ  
 ンディアナ州インディアナポリス、ポス  
 ト・オフィス・ボックス6288、イー  
 最終頁に続く

(54)【発明の名称】 インターロイキン-34を標的とする化合物及び方法

## (57)【特許請求の範囲】

## 【請求項1】

ヒトIL-34に結合する抗体であって、前記抗体が、配列番号1を含む重鎖(HC)と、配列番号2を含む軽鎖(LC)と、を含む、抗体。

## 【請求項2】

配列番号11の配列を含む第1の核酸と、配列番号12の配列を含む第2の核酸と、を含む、ベクター。

## 【請求項3】

配列番号11の配列を含む核酸を含む第1のベクターと、配列番号12の配列を含む核酸を含む第2のベクターと、を含む、組成物。

## 【請求項4】

請求項2に記載のベクターを含む、細胞。

## 【請求項5】

配列番号11の配列を含む核酸を含む第1のベクターと、配列番号12の配列を含む核酸を含む第2のベクターと、を含む、細胞。

## 【請求項6】

前記細胞が、哺乳動物細胞である、請求項4に記載の細胞。

## 【請求項7】

抗体を産生するプロセスであって、前記抗体が発現するような条件下で、請求項4～6のいずれか一項に記載の細胞を培養することと、発現した抗体を培養培地から回収すること

とと、を含む、プロセス。

【請求項 8】

請求項 1 に記載の抗体と、薬学的に許容される賦形剤、希釈剤、又は担体と、を含む、医薬組成物。

【請求項 9】

請求項 1 に記載の抗体を含む、免疫介在性疾患の治療剤。

【請求項 10】

前記免疫介在性疾患が、アルツハイマー病、タウオパチー病、シェーグレン症候群 ( S S )、関節リウマチ ( R A )、炎症性腸疾患 ( I B D )、アトピー性皮膚炎、腎疾患、敗血症、及び / 又は非アルコール性脂肪性肝疾患 ( N A F L D ) からなる群から選択される、請求項 9 に記載の治療剤。

10

【請求項 11】

前記免疫介在性疾患が、アルツハイマー病である、請求項 10 に記載の治療剤。

【請求項 12】

免疫介在性疾患の治療のための薬剤の製造における、請求項 1 に記載の抗体の使用。

【請求項 13】

前記免疫介在性疾患が、アルツハイマー病、タウオパチー病、シェーグレン症候群 ( S S )、関節リウマチ ( R A )、炎症性腸疾患 ( I B D )、アトピー性皮膚炎、腎疾患、敗血症、及び / 又は非アルコール性脂肪性肝疾患 ( N A F L D ) からなる群から選択される、請求項 12 に記載の使用。

20

【請求項 14】

前記免疫介在性疾患が、アルツハイマー病である、請求項 12 に記載の使用。

【請求項 15】

体液中のヒト I L - 3 4 レベルを決定する方法であって、

( a ) 前記体液を、配列番号 3 1 のアミノ酸配列からなるヒト I L - 3 4 に特異的に結合する抗ヒト I L - 3 4 診断用モノクローナル抗体又はその抗原結合フラグメントと接触させること、ここで、前記抗体、又はその抗原結合フラグメントが、アミノ酸配列 ( 配列番号 1 ) を含む重鎖 ( H C ) と、アミノ酸配列 ( 配列番号 2 ) を含む軽鎖 ( L C ) と、を含み、

( b ) 適宜、非特異的に結合した任意のモノクローナル抗体又はその抗原結合フラグメントを除去すること、

30

( c ) ヒト I L - 3 4 に特異的に結合するモノクローナル抗体又はその抗原結合フラグメントの量を検出及び / 又は定量化すること、を含む、方法。

【請求項 16】

前記体液が、血液、血清若しくは血漿、又は脳脊髄液であり、前記接触がエクスピボで起こる、請求項 15 に記載の方法。

【請求項 17】

請求項 1 に記載の抗体を含む、A R I A の治療剤。

【請求項 18】

請求項 1 に記載の抗体を含む、A R I A の予防剤。

40

【発明の詳細な説明】

【0 0 0 1】

本開示は、神経炎症及び急性又は慢性炎症性疾患の分野で有用であると期待される、ヒトインターロイキン - 3 4 ( I L - 3 4 ) に対する抗体を含む、化合物、医薬組成物、及び方法に関する。特に、実施形態は、アルツハイマー病、並びに他のタウオパチーに関連する治療及び / 又は診断用途に有用であると期待される。

【0 0 0 2】

認知症の主な原因であるアルツハイマー病 ( A D ) は、65歳から69歳までの人口の1 % で発症し、95歳以上では40 % ~ 50 % に増加する。A D 患者は、認知機能障害及び記憶機能の欠損を含む明白な臨床症状を示す。これらの患者では、A D の存在は、死後

50

の組織病理学的検査で大脳皮質に見られる重度の老人プラーク負荷及び神経原線維変化( NFT )によって確認される。成熟老人プラークは、アミロイド前駆体タンパク質の酵素処理に由来する細胞外 - アミロイドペプチド、及び過剰リン酸化タウタンパク質のフィラメントに由来する細胞内神経原線維変化( NFT )から構成されている。神経原線維変化などの過剰リン酸化タウの凝集体は、アルツハイマー病における認知機能障害の程度に関連している。AD及びその他の様々なタウオパチーでは、タウ凝集体は、疾患のリスク、発症、及び / 又は進行に関連する特定の脳領域及びパターンに現れ、これらの領域及びパターンは、当業者に知られている。

#### 【 0 0 0 3 】

サイトカインは正常な恒常性組織機能を調節し、これらのサイトカインネットワークの調節不全は病的状態に関連している。血液由来の免疫細胞がほとんど循環しない中枢神経系( CNS )は、調節不全のサイトカインネットワークに対して特に脆弱であると思われる。神経変性疾患では、CNS常駐細胞が炎症誘発性サイトカインの主要な産生因子であり、調節不全のサイトカインネットワーク及び神経炎症に寄与し得る。中枢神経系の損傷には、常駐ミクログリア、末梢由来单球、マクロファージ、及び樹状細胞からなる自然免疫応答をもたらす循環する免疫細胞の動員が関与し得る。ミクログリア及びマクロファージの活性化状態は、厳密には炎症促進性又は抗炎症性ではなく、それよりも様々な機能状態を有し得る。ミクログリア及び / 又は末梢由来单球及びマクロファージは、壊死組織片を取り除き、再生と恒常性を促進する抗炎症表現型を獲得する可能性がある。神経機能障害若しくは損傷は、ミクログリアを活性化して炎症誘発性サイトカインを産生し、血流から白血球を動員することもあり得る。アルツハイマー病( AD )などの神経変性状態では、ミクログリアの活性化が頻繁に見られ、細胞外のベータアミロイドプラーク及び過剰リン酸化タウ凝集体の蓄積に対する組織反応を反映している。神経炎症は、神経変性疾患の重要な要素であり、CNS細胞による炎症誘発性サイトカインの産生の上昇を特徴としている( Becher , B . , Spath , S . & Goverman , J . Cytokine networks in neuroinflammation . Nat Rev Immunol 17 , 49 - 59 ( 2017 ) )。神経炎症及びミクログリオーシスは、アルツハイマー病におけるプラーク蓄積、パーキンソン病及びハンチントン病における神経細胞死及び機能障害などの神経変性疾患の根底にあるメカニズムであると考えられている。

#### 【 0 0 0 4 】

ミクログリオーシスには、炎症シグナルに応答したミクログリアの異常な増殖及び / 又は肥大が含まれる。概して、IL - 34 は、炎症及び免疫プロセスの調節において強力で多面的なサイトカインとして作用し、正常組織の恒常性におけるCNS常駐ミクログリアの増殖の重要な調節サイトカインである。IL - 34 は、皮質、前嗅核、及び海馬のニューロンによって発現される。IL - 34 は、CSF - 1 と低い配列相同性を示すが、同様の一般構造を有し、両方のサイトカインが共通の受容体CSF - 1R に結合し、受容体の自己リン酸化及び二量体化を引き起こし、その後複数のシグナル伝達経路が活性化される( A . Freuchet , et al . J . Leukoc Biol 2021 Oct ; 110 ( 4 ) : 771 - 796 )。IL - 34 は、分泌型ホモ二量体サイトカインであり、CSF1R の 2 つの活性化リガンドの 1 つとして作用し、受容体の自己リン酸化及び二量体化を引き起こし、その後複数のシグナル伝達経路が活性化される( 例えば、CSF - 1R によるヘリカルサイトカイン IL - 34 及び CSF - 1 の二重認識の構造的基礎、 Structure 20 , 676 - 687 , and Felix J , De Munck S , Verstraete K , Meuris L , Callewaert N , Elegheert J . et al . を参照 )。ヒト IL - 34 ポリペプチドは、例えば、米国特許第 9 , 770 , 486 号に開示されており、リーダー配列を有する 242 アミノ酸、及び成熟型の 222 アミノ酸からなる( 配列番号 31 )。

#### 【 0 0 0 5 】

抗 IL - 34 抗体は、当技術分野で説明されており、例えば、WO 2016 / 1966

10

20

30

40

50

79は、様々な抗IL-34抗体及びその潜在的使用について詳述している。しかしながら、現在まで、IL-34を標的とするいかなる抗体も、治療的使用には承認されていない。

【0006】

したがって、代替及び/又は改善された抗IL-34抗体、その医薬組成物、並びにIL-34が関与する免疫介在性疾患、及び/若しくは神経炎症性障害などの抗IL-34抗体で治療可能な疾患、及び/若しくはアルツハイマー病に関連する治療及び/又は診断適用のためにそれらを使用する方法に対する満たされていない必要性が依然として存在する。

【発明の概要】

【0007】

本開示発明の実施形態は、新規の抗ヒトIL-34抗体を提供する。いくつかの実施形態によれば、本開示は、軽鎖可変領域(LCVR)と、重鎖可変領域(HCVR)と、を含む抗体を提供し、LCVRは、相補性決定領域(CDR)、LCDR1、LCDR2、及びLCDR3を含み、HCVRは、CDR、HCDR1、HCDR2、及びHCDR3を含み、これらは、表1に提供されるCDRの組み合わせの集団から選択される。本明細書で使用される配列識別子は、表1及び明細書全体に列挙され、配列は、本明細書に提供されるアミノ酸及びヌクレオチド配列表に示す。

【表1】

表1：アミノ酸及びヌクレオチド配列

10

配列	抗体1
HC	配列番号1
LC	配列番号2
HCVR	配列番号3
LCVR	配列番号4
HCDR1	配列番号5
HCDR2	配列番号6
HCDR3	配列番号7
LCDR1	配列番号8
LCDR2	配列番号9
LCDR3	配列番号10
DNA HC	配列番号11
DNA LC	配列番号12

20

30

【0008】

したがって、本開示の実施形態は、ヒトIL-34に結合する抗体を提供し、抗体は、重鎖可変領域(VH)及び軽鎖可変領域(VL)を含み、VHは、重鎖相補性決定領域(HCDR)HCDR1、HCDR2、及びHCDR3を含み、VLは、軽鎖相補性決定領域(LCDR)LCDR1、LCDR2、及びLCDR3を含み、HCDR1は、配列番号5を含み、HCDR2は、配列番号6を含み、HCDR3は、配列番号7を含み、LCDR1は、配列番号8を含み、LCDR2は、配列番号9を含み、LCDR3は、配列番号10を含む。

40

【0009】

したがって、本開示の実施形態は、配列番号4のアミノ酸配列を有するLCVR、及び配列番号3のアミノ酸配列を有するHCVRも提供する。

【0010】

50

したがって、本開示の実施形態は、ヒト I L - 3 4 に結合する抗体を更に提供し、抗体は、配列番号 1 を含む重鎖 (H C ) と、配列番号 2 を含む軽鎖 (L C ) と、を含む。

【 0 0 1 1 】

他の実施形態によれば、本開示はまた、配列番号 4 のアミノ酸配列を有する L C V R と、配列番号 3 のアミノ酸配列を有する H C V R と、を含み、ヒンジ領域及び F c 領域は、配列番号 3 2 及び配列番号 3 3 から選択される、抗体を提供する。

【 0 0 1 2 】

本明細書で使用される場合、「抗体 1 」とは、配列番号 5 の H C D R 1 アミノ酸配列と、配列番号 6 の H C D R 2 アミノ酸配列と、配列番号 7 の H C D R 3 アミノ酸配列と、配列番号 8 の L C D R 1 アミノ酸配列と、配列番号 9 の L C D R 2 アミノ酸配列と、配列番号 1 0 の L C D R 3 アミノ酸配列と、配列番号 3 の H C V R アミノ酸配列と、配列番号 4 の L C V R アミノ酸配列と、配列番号 1 の H C アミノ酸配列と、配列番号 2 の L C アミノ酸配列と、を有する抗体を指す。抗体 1 は、配列番号 1 1 の H C D N A 配列、及び配列番号 1 2 の L C D N A 配列によってコードされ得る。本明細書で配列が示される抗体の各々におけるフレームワーク及び C D R 配列は、特に明記しない限り、N o r t h , e t a l . . J . M o l . B i o l . 2 0 1 1 : 4 0 6 : 2 2 8 - 2 5 6 の方法と一致する注釈規則を使用して注釈が付けられている。

10

【 0 0 1 3 】

他の実施形態によれば、本開示は、配列番号 2 と少なくとも 9 5 % の配列相同性を有するアミノ酸配列を有する L C と、配列番号 1 と少なくとも 9 5 % の配列相同性を有するアミノ酸配列を有する H C と、を含む抗体も提供する。

20

【 0 0 1 4 】

他の実施形態によれば、本開示は、配列番号 2 のアミノ酸配列を有する L C と、配列番号 3 5 のアミノ酸配列を有する H C と、を含む抗体も提供し、本明細書では更に抗体 2 と呼ぶ。

【 0 0 1 5 】

他の実施形態によれば、本開示は、配列番号 2 のアミノ酸配列を有する L C と、配列番号 3 6 のアミノ酸配列を有する H C と、を含む抗体も提供し、本明細書では更に抗体 3 と呼ぶ。

30

【 0 0 1 6 】

他の実施形態によれば、本開示は、配列番号 2 のアミノ酸配列を有する L C と、配列番号 3 7 のアミノ酸配列を有する H C と、を含む抗体も提供し、本明細書では更に抗体 4 と呼ぶ。

【 0 0 1 7 】

各 H C のカルボキシ末端部分は、エフェクター機能を主に担う定常領域を定義し、本開示のいくつかの実施形態では、抗体は、エフェクター機能を低下させる各 H C の定常領域に 1 つ以上の改変を有する。好ましくは、本開示の実施形態は、I g G 4 抗体であり、したがって、I g G 4 F c 領域、又はヒト I g G 4 由来の F c 領域、例えば改変 I g G 4 F c 領域を含む。

40

【 0 0 1 8 】

いくつかの実施形態によれば、エフェクター機能を低下させる両方の H C の定常領域における改変、及びアミノ酸置換が、I g G 4 ヒンジ及び F c 領域に導入される。したがって、いくつかの実施形態は、残基 2 3 0 及び 2 3 1 の両方にアミノ酸アラニンを含む両方の H C の定常領域における改変（抗体 1 の H C 及び配列番号 3 3 にそれぞれ例示される）と、残基 2 2 4 にアミノ酸プロリンを含み、安定性を促進する両方の H C の定常領域における更なる改変（抗体 1 の H C 、及び例えば配列番号：3 2 に例示される）と、残基 4 4 3 のアミノ酸リジンの欠失（H C と配列番号 1 に例示される）と、を有する。

【 0 0 1 9 】

本開示の抗体は、先行技術の抗 I L - 3 4 抗体よりも特に有利な特性の組み合わせを有することが考えられ、例えば以下の特性のうちの 1 つ以上を含むがこれらに限定されない

50

：1) 望ましい結合及び解離速度、2) 抗神経炎症応答及びインビボ有効性を達成するためのヒトIL-34の中和における効力、3) 免疫介在性及び/又は炎症性障害の治療及び/又は予防のための単剤療法としての十分な効力、4) 作用期間の持続、5) 望ましくないサイトカイン放出の誘導を十分に制限すること、6) 免疫原性の許容される低さ(すなわち、ヒトにおける非免疫原性が十分である)、7) 有害な免疫不全の回避；及び/又は8) 熱安定性、溶解性、低自己会合性、並びに炎症性又は神経炎症性障害、例えばADの治療における開発及び/又は使用に許容される薬物動態特性を含むがこれらに限定されない、望ましいインビボ安定性、物理的及び化学的安定性。

【発明を実施するための形態】

【0020】

10

本開示の実施形態は、本明細書に記載の実施形態で提供されるような薬理学的に有利な抗ヒトIL-34抗体を使用して、IL-34の中和を介して、炎症性及び/又は神経炎症性関連障害の予防、ダウンレギュレーション、又は改善に有用な組成物及び方法を提供することによって、先行技術に対して有意な進歩をもたらす。本開示の抗ヒトIL-34抗体は、好ましくは、免疫応答の先天性アームの阻害、及び/又はミクログリオーシス若しくは他の単球の抑止を通じて、免疫及び/又は炎症病理を改善する、又は免疫ホメオスタシスを回復することができる。マクロファージ系統の細胞の活性化及び/又は増殖により、根底にある疾患の病理を直接変更する。そのような抗体の臨床的使用は、治療される疾患の長期持続性につながる可能性がある。

【0021】

20

更に、ヒトIL-34に特異的であり、改善された結合親和性を有し、かつヒトIL-34測定において感度の向上を示す、診断用抗ヒトIL-34抗体、並びに最小限の干渉及び広い希釈直線性をもたらす改善された酵素結合免疫吸着アッセイ(ELISA)アッセイ条件に対する必要性が存在する。本開示のいくつかの局面によれば、配列番号31によって与えられるヒトIL-34に結合する、ヒトIL-34中和抗体を含む抗ヒトIL-34抗体が提供される。インターロイキン34(IL-34；未同定タンパク質C16orf77としても知られる)は、39kDaの単量体からなるホモ二量体として分泌される。既知のサイトカインファミリーには属していない。ヒトIL-34は、20個のAAシグナル配列を含む242個のアミノ酸(AA)前駆体として合成され、222個のAA成熟鎖をもたらす。本明細書で使用される場合、IL-34は成熟鎖を指す。成熟した鎖には、N結合グリコシル化の可能性のある部位が1つ含まれている。IL-34は、心臓、脳、肝臓、腎臓、脾臓、胸腺、精巣、卵巣、小腸、前立腺、結腸などの様々な組織で発現しており、脾臓で最も豊富である。「hIL-34」又は「ヒトIL-34」は、IL-34ポリペプチドに関して本明細書で使用される場合、別段の記載がない限り、野生型ヒトIL-34を指し、好ましくは配列番号31に示されるアミノ酸配列を有し、これは、リーダー配列が除去された成熟IL-34である。(例えば、Lin et al. , Science (2008) Vol. 320, Issue 5877, pp. 807-811を参照)。

30

【0022】

30

例示的なヒトIL-34(配列番号31)は、アミノ酸配列を有する：

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

【0023】

本明細書で使用される場合、「ヒト抗IL34抗体」又は「抗ヒトIL-34抗体」とは、ヒトIL-34に結合する抗体を指す。好ましくは、インビトロ又はインビボで投与された「ヒト抗IL34抗体」又は「抗ヒトIL-34抗体」は、IL-34活性中和及

40

50

び／又は応答プロック、例えば、少なくとも1つの有意に低下した所望の活性、例えば、IL-34反応性分子又は細胞エンドポイントの変化によって証明されるように、IL-34シグナル伝達の望ましい減少をもたらす。例えば、中枢神経系におけるミクログリアの数、密度、又は表現型は、IL-34反応性分子又は細胞効果の可能性の例である。本明細書で使用される場合、「シグナリング」及び「シグナル伝達」及び「IL-34介在」という用語は、IL-34に関連する場合、IL-34の活性に起因する細胞及び／又は細胞間反応を指す。

#### 【0024】

本明細書で使用される場合、「抗体」という用語は、抗原に結合する免疫グロブリン分子を指す。抗体の実施形態には、モノクローナル抗体、ポリクローナル抗体、ヒト抗体、ヒト化抗体、キメラ抗体、又はコンジュゲート抗体が含まれる。抗体は、任意のクラス(例えば、IgG、IgE、IgM、IgD、IgA)、及び任意のサブクラス(例えば、IgG1、IgG2、IgG3、IgG4)のものであってもよい。例示的な抗体は、4つのポリペプチド鎖：鎖間ジスルフィド結合を介して架橋される2つの重鎖(HC)及び2つの軽鎖(LC)から構成された免疫グロブリンG(IgG)型抗体である。LCは、カッパ又はラムダとして分類され、これらは各々、特定の定常領域を特徴とする。本開示の実施形態は、IgG1、IgG2、又はIgG4抗体を含み得、カッパ軽鎖又はラムダ軽鎖を更に含み得る。好ましくは、本開示の抗体は、定常領域である軽鎖定常領域を含む。

10

#### 【0025】

HCは、ガンマ、ミュー、アルファ、デルタ、又はイプシロンとして分類され、それぞれ抗体のアイソタイプをIgG、IgM、IgA、IgD、又はIgEとして定義する。4つのポリペプチド鎖の各々のアミノ末端部分は、抗原認識に主に関与する約100~125個以上のアミノ酸の可変領域を含む。4つのポリペプチド鎖の各々のカルボキシ末端部分は、主にエフェクター機能に関与する定常領域を含有する。各重鎖は、重鎖可変領域(VH)及び重鎖定常領域から構成される。重鎖の定常領域は、CH1、CH2、及びCH3ドメインを含む。CH1は、HCVRの後にあり、CH1及びHCVRは、抗原に結合する抗体の一部である抗原結合(Fab)フラグメントの重鎖部分を形成する。CH2は、ヒンジ領域の後にあり、CH3の前にある。CH3は、CH2の後にあり、重鎖のカルボキシ末端にある。軽鎖の定常領域は、1つのドメインCLを含む。CLは、LCVRの後にあり、CL及びLCVRは、Fabの軽鎖部分を形成する。

20

#### 【0026】

本開示の抗体は、サブクラス、例えば、IgG1、IgG2、IgG3、IgG4に更に分類することができるIgG HCを含み、本開示の実施形態は、例えば、エフェクター機能を増強するか、又は低減する、各HCの定常領域に1つ以上の変更を含み得る。本明細書で使用される「Fc領域」という用語は、抗体重鎖のCH2及びCH3ドメインを含む抗体の領域を指す。任意選択により、Fc領域は、抗体重鎖のヒンジ領域の一部分又はヒンジ領域全体を含み得る。IgG1は、抗体依存性細胞傷害(ADCC)及び補体依存性細胞傷害(CDC)を誘導することが知られており、本明細書に記載のFc変異は、凝集を低減し、ADCC又はCDC活性(又は他の機能)を低減若しくは増強し、及び／又は抗体の薬物動態を変更し得る。本明細書に記載の抗ヒトIL-34抗体の実施形態は、Fc R及びC1q受容体への結合を低減し、それにより、野生型IgG Fc領域を有する抗体によって誘導され得る細胞傷害性を低減又は除去する。したがって、いくつかの実施形態によれば、変異は、本明細書に記載の位置でFc領域に導入される。変更Fc領域を含むそのような抗ヒトIL-34抗体のエフェクター機能を十分に低減又は除去することにより、患者の安全性を改善することができ、本明細書に記載の他の特性と組み合わせて、望ましくない活性を回避しながら有用な活性の改善されたプロファイルを有する治療薬を提供することができる。

30

#### 【0027】

特定の生物学的系において発現する場合、抗体は、Fc領域においてグリコシル化され

40

50

る。典型的には、グリコシル化は、高度に保存されたN-グリコシル化部位の抗体のFc領域に生じる。N-グリカンは、典型的には、アスパラギンに結合する。抗体は、他の位置でもグリコシル化され得る。本開示の抗体は、モノクローナル抗体である。モノクローナル抗体は、単一のコピー又はクローン（例えば、任意の真核生物、原核生物、又はファージクローンを含む）に由来する抗体であり、それが産生される方法ではない。モノクローナル抗体は、例えば、ハイブリドーマ技術、組換え技術、ファージ提示技術、合成技術、例えばCDR移植、又はそのような技術又は当該技術分野で既知の他の技術の組み合わせにより産生することができる。本開示は、本開示の抗体がヒト又はヒト化抗体であることを企図する。モノクローナル抗体の文脈において、「ヒト」及び「ヒト化」という用語は、当業者によく知られている（Weiner L J, J. Immunother. 2006; 29: 1-9; Mallbris L, et al., J. Clin. Aesthet. Dermatol. 2016; 9: 13-15）。本開示の抗体の例示的な実施形態はまた、Fab、Fab'、F(ab')2、Fvフラグメント、scFv抗体フラグメント、ジスルフィド結合Fv(sdFv)、Fdフラグメント及び線状抗体などの、抗原と特異的に相互作用する能力を保持する抗体の少なくとも一部分を含む、抗体フラグメント又は抗原結合フラグメントを含む。

#### 【0028】

各LC及びHCのアミノ末端部分は、その中に含まれるCDRを介した抗原認識を主に担う約100~120アミノ酸の可変領域を含む。VH及びVL領域は、フレームワーク領域（FR）と呼ばれる、より保存されている領域が散在する、相補性決定領域（CDR）と呼ばれる、超可変領域に更に細分され得る。CDRはタンパク質の表面上に露出しており、抗原結合特異性のための抗体の重要な領域である。各VH及びVLは、3つのCDR及び4つのFRから構成されており、FR1、CDR1、FR2、CDR2、FR3、CDR3、FR4の順序でアミノ末端からカルボキシ末端へと配置される。本明細書では、重鎖の3つのCDRを「HCDR1、HCDR2、及びHCDR3」と称し、軽鎖の3つのCDRを「LCDR1、LCDR2、及びLCDR3」と称する。CDRは、抗原との特異的相互作用を形成する残基の大部分を含有する。抗体が特定の抗原に結合する機能的能力は、6つのCDRによって大きく影響される。アミノ酸残基のCDRへの割り当ては、Kabat（Kabat et al., "Sequences of Proteins of Immunological Interest", National Institutes of Health, Bethesda, Md. (1991)）、Chothia（Chothia et al., "Canonical structures for the hypervariable regions of immunoglobulins", Journal of Molecular Biology, 196, 901-917 (1987)、Al-Lazikani et al., "Standard conformations for the canonical structures of immunoglobulins", Journal of Molecular Biology, 273, 927-948 (1997)）、North（North et al., "A New Clustering of Antibody CDR Loop Conformations", Journal of Molecular Biology, 406, 228-256 (2011)）、又はIMGT（www.imgt.orgで利用可能な国際的なIMMunoGENeTicsデータベース；Lefranc et al., Nucleic Acids Res. 1999; 27: 209-212を参照のこと）に記載されているものを含む、周知のスキームに従って行われ得る。

#### 【0029】

本開示の目的のために、別段の指定がある場合を除き、本明細書に記載の抗IL-34抗体、及びLCVR領域及びHCVR領域内のCDRドメインへのアミノ酸の割り当てには、NorthのCDR定義が使用される。以下の表2は、Benchling informatics softwareを使用して生成された、それぞれNorth、Kabat、Chothia、及び/又はIMGTの規則に基づく、抗体1及び/又は本開示

10

20

30

40

50

の抗体の C D R 配列を提供する。

【表 2】

表 2 :

抗体 1(又は本開示の抗体)の例示的な CDR						
Ab	HCDR1	HCDR2	HCDR3	LCDR1	LCDR2	LCDR3
North	AASGFAFSNY AMS (配列番号 5)	AISASGGKTY (配列番号 6)	AKRGYLWHA FDH (配列番号 7)	RASQSVSSL YLA (配列番号 8)	YGASSRAT (配列番号 9)	QVVGSSPPF T (配列番号 10)
Kabat	NYAMS (配列番号 13)	AISASGGKTY YADSVKG (配列番号 14)	RGYLWHAFD H (配列番号 15)	RASQSVSSL YLA (配列番号 16)	GASSRAT (配列番号 17)	QVVGSSPPF T (配列番号 18)
Chothia	GFAFSNY (配列番号 19)	SASGGK (配列番号 20)	RGYLWHAFD H (配列番号 21)	RASQSVSSL YLA (配列番号 22)	GASSRAT (配列番号 23)	QVVGSSPPF T (配列番号 24)
IMGT	GFAFSNYA (配列番号 25)	ISASGGKT (配列番号 26)	AKRGYLWHA FDH (配列番号 27)	QSVSSLY (配列番号 28)	GAS (配列番号 29)	QVVGSSPPF T (配列番号 30)

【 0 0 3 0 】

本開示の抗体の実施形態は、薬理学的に有用かつ重要な活性及び特性の組み合わせを有し、ある点では、ヒト I L - 3 4 に高い親和性及び高い特異性で結合することができ、並びに他の有用な特性を有する。本明細書で使用される「結合する」という用語は、別段の定めがない限り、別のタンパク質又は分子との引力相互作用を形成するタンパク質又は分子の能力を意味し、当該分野で既知である一般的な方法によって決定されるように、2つのタンパク質又は分子の近接をもたらす。ヒト I L - 3 4 に対する抗 I L - 3 4 抗体の親和性に関して本明細書で使用される「特異的に結合する」という語句は、別段の指示がない限り、本質的に本明細書に記載されるように、S P R (表面プラズモン共鳴) バイオセンサー、及び / 又は M S D (M e s o S c a l e D i s c o v e r y) 機器によって測定される溶液平衡滴定 (S E T) の使用によるものを含む、当技術分野で知られている一般的な方法によって決定されるように、好ましくは約  $1 \times 10^{-10}$  M 以下、更により好ましくは、約  $1 \times 10^{-10}$  M ~ 約  $1 \times 10^{-12}$  M の K D を意味することを意図する。「特異的に結合する」という語句はまた、他の抗原と比較して、ヒト I L - 3 4 に対する抗 I L - 3 4 抗体の相対的な親和性を示し、ヒト I L - 3 4 に対する親和性は、ヒト I L - 3 4 の特異的認識をもたらす。

【 0 0 3 1 】

本開示の抗体の実施形態は、本実施形態の配列を含む構築物から、当技術分野で知られている様々な技術によって発現及び生成され得る。「核酸」又は「ポリヌクレオチド」という用語は、本明細書で互換的に使用される場合、天然ヌクレオチド、改変ヌクレオチド、及び / 又はヌクレオチドの類似体を組み込んだ D N A 、 c D N A 、及び R N A 分子等の一本鎖及び / 又は二本鎖ヌクレオチド含有分子を含むヌクレオチドのポリマーを指す。本開示のポリヌクレオチドはまた、例えば D N A 又は R N A ポリメラーゼ反応又は合成反応によってその中に組み込まれた基質も含み得る。本開示の D N A 分子は、本開示の抗体中のポリペプチド(例えば、重鎖、軽鎖、可変重鎖、及び可変軽鎖)のうちの少なくとも1つのアミノ酸配列を有するポリペプチドをコードする天然に存在しないポリヌクレオチド配列を含む、D N A 分子である。

【 0 0 3 2 】

H C V R 又は L C V R 領域をコードする単離 D N A は、それぞれ重鎖又は軽鎖を形成す

10

20

30

40

50

るために、それぞれ H C V R 又は L C V R をコードする D N A を、重鎖又は軽鎖定常領域をコードする別の D N A 分子に作動可能に連結することによって、完全長重鎖遺伝子に変換され得る。ヒト及び他の哺乳動物の重鎖定常領域遺伝子の配列は、当該技術分野において既知である。これらの領域を包含する D N A フラグメントは、例えば、標準的な P C R 増幅によって取得され得る。

【 0 0 3 3 】

本開示のポリヌクレオチドは、配列が発現制御配列に作動可能に連結された後に宿主細胞において発現し得る。発現ベクターは、典型的には、エピソーム、又は宿主染色体 D N A の一体化した部分のいずれかとして、宿主生物中で複製可能である。一般に、発現ベクターは、所望の D N A 配列で形質転換されたそれらの細胞の検出を可能にするために、選択マーカー、例えば、テトラサイクリン、ネオマイシン、及びジヒドロ葉酸レダクターゼを含む。目的のポリヌクレオチド配列（例えば、抗体のポリペプチドをコードするポリヌクレオチド及び発現制御配列）を含むベクターは、細胞宿主のタイプに応じて異なる周知の方法によって宿主細胞に導入され得る。

10

【 0 0 3 4 】

本開示の抗体は、哺乳動物細胞において容易に産生することができ、この非限定的な例は、 C H O 、 N S 0 、 H E K 2 9 3 、又は C O S 細胞を含む。宿主細胞は、当該技術分野において周知の技術を使用して培養される。哺乳動物の抗体発現は、典型的にグリコシリ化をもたらす。抗体のグリコシリ化は、通常、 N 結合又は O 結合のいずれかである。 N 結合グリコシリ化とは、アスパラギン残基の側鎖への炭水化物部分の結合を指す。 O 結合グリコシリ化とは、ヒドロキシアミノ酸への糖、例えば N - アセチルガラクトサミン、ガラクトース、又はキシロースの結合を指す。典型的には、グリコシリ化は、高度に保存された N - グリコシリ化部位（例えば、 I M G T 又は E U I N D E C K S N A N B A R I N G によるところ、 I g G 1 における 2 9 7 位）での抗体の F c 領域に生じる。グリコシリ化部位は、グリコシリ化を変更するために改変することができる（例えば、グリコシリ化をブロック若しくは低減するか、又はアミノ酸配列を変更して追加若しくは多様なグリコシリ化を生成する）。

20

【 0 0 3 5 】

哺乳動物での I g G サブクラスからの抗体の発現は、重鎖の一方又は両方から C 末端アミノ酸のクリッピングを引き起こすことがあり得、例えば、 I g G 1 抗体では、 1 つ又は 2 つの C 末端アミノ酸を除去し得る。 I g G 1 抗体の場合、 C 末端リジンが存在する場合、発現中に重鎖から切り詰められるか、又は切り取られ得る。追加的に、最後から 2 番目のグリシンも、同様に重鎖から切り詰められるか、切り取られ得る。

30

【 0 0 3 6 】

哺乳動物での抗体の発現も、 N 末端アミノ酸の改変をもたらし得る。例えば、重鎖又は軽鎖の最も N 末端のアミノ酸がグルタミンである場合、ピログルタミン酸に改変され得る。

【 0 0 3 7 】

本開示の抗体、又はそれを含む医薬組成物は、非経口経路によって投与されることができ、この非限定的な例は、皮下投与及び静脈内投与である。本開示の抗体は、薬学的に許容される担体、希釈剤、又は賦形剤とともに単回投与又は複数回投与で患者に投与され得る。本開示の医薬組成物は、当該技術分野で周知の方法によって調製することができ（例えば、 Remington: The Science and Practice of Pharmacy , 2 2 n d ed. ( 2 0 1 2 ) , A . L o y d et al . , P h a r m a c e u t i c a l P r e s s ）、本明細書に開示される抗体、及び 1 つ以上の薬学的に許容される担体、希釈剤、又は賦形剤を含む。

40

【 0 0 3 8 】

本発明の抗体実施形態の使用：

いくつかの実施形態によれば、本開示の抗 I L - 3 4 抗体は、免疫介在性疾患の治療に有用である。本明細書で使用する場合、用語「免疫介在性疾患」又は「炎症性疾患又は障害」は、互換的に使用され、 I L - 3 4 阻害により恒常性が高まり、病的反応が少なくな

50

る不適切又は過剰な免疫応答から生じる望ましくない状態を指す。「免疫介在性疾患」又は「炎症性障害」という用語は、ミクログリア又はマクロファージの細胞性免疫応答によって媒介されるか、又は組織球、クッパー細胞、肺胞マクロファージ、腸管マクロファージ、マクロファージ様滑膜細胞、又はランゲルハンス細胞などの同様の組織常細胞型の症状によって媒介されるかに關係なく、そのような状態を含むことを意味する。本明細書に記載される開示の抗体によって治療されることが意図される例示的な疾患には、アルツハイマー病、タウオパチー病、シェーグレン症候群（SS）、関節リウマチ（RA）、炎症性腸疾患（IBD）、アトピー性皮膚炎、腎疾患、敗血症、筋萎縮性側索硬化症（ALS）、及び／又は非アルコール性脂肪性肝疾患（NAFLD）が挙げられる。

【0039】

10

いくつかのより具体的な実施形態では、免疫介在性疾患は、アルツハイマー病（AD）である。本開示の他の実施形態によれば、抗IL-34抗体は、免疫介在性疾患の診断用途に有用である。いくつかの実施形態では、免疫介在性疾患は、AD、シェーグレン症候群（SS）、関節リウマチ（RA）、炎症性腸疾患（IBD）、アトピー性皮膚炎、腎疾患、敗血症、及び／又は非アルコール性脂肪性肝疾患（NAFLD）のうちの少なくとも1つである。

【0040】

本開示は、本開示の抗IL-34抗体と、1つ以上の薬学的に許容される担体、希釈剤、又は賦形剤と、を含む、医薬組成物を更に提供する。更に、本開示は、AD、シェーグレン症候群（SS）、関節リウマチ（RA）、炎症性腸疾患（IBD）、アトピー性皮膚炎、腎疾患、敗血症、及び／又は非アルコール性脂肪性肝疾患（NAFLD）などの免疫介在性疾患を治療する方法であって、治療を必要とする患者に本開示の医薬組成物を投与することを含む、方法を提供する。

20

【0041】

加えて、本開示は、免疫介在性疾患を治療する方法を提供する。より具体的には、本開示は、AD、シェーグレン症候群（SS）、関節リウマチ（RA）、炎症性腸疾患（IBD）、アトピー性皮膚炎、腎疾患、敗血症、及び／又は非アルコール性脂肪性肝疾患（NAFLD）などの免疫介在性疾患を治療する方法であって、治療を必要とする患者に有効量の本開示の抗IL-34抗体を投与することを含む、方法を提供する。

【0042】

30

本開示はまた、治療に使用するための本開示の抗IL-34抗体を提供する。より具体的には、本開示は、AD、シェーグレン症候群（SS）、関節リウマチ（RA）、炎症性腸疾患（IBD）、アトピー性皮膚炎、腎疾患、敗血症、及び／又は非アルコール性脂肪性肝疾患（NAFLD）を含む免疫介在性疾患の治療に使用するための本開示の抗IL-34抗体を提供する。

【0043】

特定の実施形態では、本開示は、AD、シェーグレン症候群（SS）、関節リウマチ（RA）、炎症性腸疾患（IBD）、アトピー性皮膚炎、腎疾患、敗血症、及び／又は非アルコール性脂肪性肝疾患（NAFLD）を含む1つ以上の免疫介在性疾患の治療のための薬剤の製造における本開示の抗IL-34抗体の使用を提供する。

40

【0044】

本開示の抗体は、IL-34が障害の病因に寄与している可能性がある免疫介在性障害の同定に有用である。更なる実施形態では、本開示は、患者の免疫介在性疾患を治療する方法を提供する。そのような方法は、患者試料をIL-34抗体と接触させ、患者試料中のヒトIL-34と抗体との間の結合を検出するステップと、患者試料中のIL-34の存在が健常人において観察される基準値を超えて検出された場合、患者を、免疫介在性疾患を有する、そのリスクがある、そのための治療が必要である、及び／又はそれに関連する症状のリスクがある、と診断するステップと、を含む（例えば、Xie, H. H., et al. Elevated Serum Interleukin-34 Level in Patients with Systemic Lupus Erythemato

50

osus Is Associated with Disease Activity. Sci Rep 8, 3462 (2018) を参照)。本明細書に提供される治療方法のいくつかのより具体的な実施形態によれば、そのような方法は、対照標準を、患者試料を接触させる際に使用されるのと同じ IL-34 の第 1 のエピトープ領域に結合する第 1 の抗体と接触させるステップと、対照標準を、検出可能な標識を有し、患者試料を接触させる際に使用されるのと同じ IL-34 の第 2 のエピトープ領域に結合する第 2 の抗体と接触させるステップと、検出可能なシグナルにより提供されたシグナルを検出するステップと、を更に含む、基準値を決定するステップを更に含む。いくつかの具体的な実施形態では、抗 IL-34 抗体は、表 1 に提供される LC 及び HC CDR の組み合わせを含む。更なる実施形態では、第 2 の抗体は、表 1 に提供される L C V R 及び H C V R の組み合わせを含む。いくつかの実施形態によれば、基準値は、例えば CNS 組織ライセートからの、約 10 ~ 30 pg / mL である。特定の実施形態では、免疫介在性疾患は、AD、シェーグレン症候群 (SS)、関節リウマチ (RA)、炎症性腸疾患 (IBD)、アトピー性皮膚炎、腎疾患、敗血症、及び / 又は非アルコール性脂肪性肝疾患 (NAFLD) のうちの 1 つである。いくつかの実施形態では、患者試料は、CSF、血液、血清、組織ライセート、又は血漿のうちの 1 つである。いくつかの実施形態によれば、本方法は、患者試料を、IL-34 の第 2 のエピトープ領域に結合し、検出可能な標識を有する第 2 の抗 IL-34 抗体と接触させるステップと、検出可能なシグナルにより提供されるシグナルを検出するステップとを更に含む。更なる実施形態では、第 2 の抗体は、表 1 に提供される LC 及び HC CDR の組み合わせを含む。更なる実施形態では、第 2 の抗体は、表 1 に提供される L C V R 及び H C V R の組み合わせを含む。特定の実施形態によれば、第 1 及び第 2 の抗 IL-34 抗体は、一緒にビンに入れられない。

#### 【0045】

いくつかの実施形態によれば、本開示は、患者試料を、IL-34 の第 1 のエピトープ領域に結合する第 1 の抗体と接触させるステップと、患者試料を、IL-34 の第 2 のエピトープ領域に結合し、検出可能な標識を有する第 2 の抗体と接触させるステップと、当該検出可能な標識により提供されたシグナルを検出するステップとを含む、患者試料中の IL-34 を検出する方法を提供する。いくつかの実施形態では、患者試料は、血液、血清、組織ライセート、又は血漿のうちの 1 つである。いくつかのより具体的な実施形態によれば、IL-34 の第 1 のエピトープ領域は、IL-34 の第 2 のエピトープ領域と部分的に重複する。更に、いくつかの実施形態では、第 1 及び第 2 の抗体と接触させる当該ステップは、同時に起こる。いくつかの具体的な実施形態では、第 1 の抗体は、表 1 に提供される LC 及び HC CDR の組み合わせを含む。更なる実施形態では、第 1 の抗体は、表 1 に提供される L C V R 及び H C V R の組み合わせを含む。

#### 【0046】

本開示のいくつかの実施形態によれば、患者試料中の IL-34 を定量化する方法が提供される。そのような方法は、患者試料を、IL-34 の第 1 のエピトープ領域に結合する第 1 の抗体と接触させるステップと、患者試料を、IL-34 の第 2 のエピトープ領域に結合し、検出可能な標識を有する第 2 の抗体と接触させるステップと、当該検出可能な標識によって提供されるシグナルを検出するステップと、対照標準を、IL-34 の同じ第 1 のエピトープ領域に結合する第 1 の抗体と接触させる (患者試料との接触に使用される) ステップと、対照標準を、IL-34 の同じ第 2 のエピトープ領域に結合し (患者試料との接触に使用される) 、検出可能な標識を有する第 2 の抗体と接触させるステップと、当該検出可能なシグナルによって提供されるシグナルを検出するステップと、を含む。いくつかの実施形態では、患者試料は、血液、血清若しくは血漿、又は組織ライセートのうちの 1 つである。いくつかのより具体的な実施形態によれば、IL-34 の第 1 のエピトープ領域は、IL-34 の第 2 のエピトープ領域と部分的に重複する。更に、いくつかの実施形態では、第 1 及び第 2 の抗体と接触させる当該ステップは、同時に起こる。いくつかの具体的な実施形態では、第 1 の抗体は、表 1 に提供される LC 及び HC CDR の組み合わせを含む。更なる実施形態では、第 1 の抗体は、表 1 に提供される L C V R 及び

10

20

30

40

50

H C V R の組み合わせを含む。いくつかの具体的な実施形態では、第 2 の抗体は、表 1 又は本明細書に提供される L C 及び H C C D R の組み合わせを含む。更なる実施形態では、第 2 の抗体は、表 1 に提供される L C V R 及び H C V R の組み合わせを含む。

#### 【 0 0 4 7 】

いくつかの実施形態によれば、免疫介在性疾患を診断する方法が提供される。このような方法は、患者試料を抗 I L - 3 4 抗体と接触させ、患者試料中の I L - 3 4 と抗体との間の結合を検出するステップを含む。いくつかの具体的な実施形態によれば、診断方法は、患者試料中の I L - 3 4 の存在が基準値を超えて検出された場合、患者を、免疫介在性疾患を有する、そのリスクがある、そのための治療が必要である、及び / 又はそれに関連する症状のリスクがある、と診断することを含む。いくつかのより具体的な実施形態によれば、そのような方法は、対照標準を、患者試料を接触させる際に使用されるのと同じ I L - 3 4 の第 1 のエピトープ領域に結合する第 1 の抗体と接触させるステップと、対照標準を、検出可能な標識を有し、患者試料を接触させる際に使用されるのと同じ I L - 3 4 の第 2 のエピトープ領域に結合する第 2 の抗体と接触させるステップと、検出可能なシグナルにより提供されるシグナルを検出するステップと、を更に含む、基準値を決定するステップを更に含む。いくつかの実施形態では、第 1 の抗体は、表 1 に提供される L C 及び H C C D R の組み合わせを含む。いくつかの実施形態によれば、本方法は、患者試料を、I L - 3 4 の第 2 のエピトープ領域に結合し、検出可能な標識を有する第 2 の抗 I L - 3 4 抗体と接触させるステップと、検出可能なシグナルにより提供されるシグナルを検出するステップとを更に含む。いくつかの具体的な実施形態では、抗 I L - 3 4 抗体は、表 1 に提供される L C 及び H C C D R の組み合わせを含む。更なる実施形態では、抗体は、表 1 に提供される L C V R 及び H C V R の組み合わせを含む。より具体的な実施形態によれば、I L - 3 4 の第 1 のエピトープ領域は、I L - 3 4 の第 2 のエピトープ領域と部分的に重複する。特定の実施形態によれば、第 1 及び第 2 の抗体は、一緒にビンに入れられない。更なる実施形態によれば、基準値は、C N S 組織ライセートからの約 1 0 ~ 3 0 p g / m L のおおよその範囲であり、及び / 又は適切な基準群及び試料源について当業者によって決定される。更なる実施形態では、免疫介在性疾患は、A D 、タウオパチー、シェーグレン症候群 ( S S ) 、関節リウマチ ( R A ) 、炎症性腸疾患 ( I B D ) 、アトピー性皮膚炎、腎疾患、敗血症、及び / 又は非アルコール性脂肪性肝疾患 ( N A F L D ) のうちの 1 つである。

#### 【 0 0 4 8 】

一実施形態では、本開示は、体液中のヒト I L - 3 4 レベルを決定する方法であって、( a ) 体液を抗ヒト I L - 3 4 診断用モノクローナル抗体又はその抗原結合フラグメントであって、配列番号 3 1 のアミノ酸配列、抗体、又はその抗原結合フラグメント ( アミノ酸配列 ( 配列番号 8 ) 、 ( 配列番号 9 ) 、及び ( 配列番号 1 0 ) をそれぞれ含む軽鎖相補性決定領域 L C D R 1 、 L C D R 2 、及び L C D R 3 、並びにアミノ酸配列 ( 配列番号 5 ) ( 配列番号 6 ) 、及び ( 配列番号 7 ) をそれぞれ含む重鎖相補性決定領域 H C D R 1 、 H C D R 2 、及び H C D R 3 を含む ) からなるヒト I L - 3 4 に特異的に結合する、抗原結合フラグメントと接触させることと、( b ) 任意選択で、非特異的に結合するモノクローナル抗体又はその抗原結合フラグメントを除去することと、( c ) ヒト I L - 3 4 に特異的に結合したモノクローナル抗体又はその抗原結合フラグメントの量を検出及び / 又は定量化することと、を含む、方法を提供する。好ましくは、当該体液は、血液、血清若しくは血漿、又は脳脊髄液であり、当該接触は、エクスピボで起こる。

#### 【 0 0 4 9 】

タウオパチー疾患には、アルツハイマー病 ( A D ) 、ピック病 ( P i D ) 、進行性核上性麻痺 ( P S P ) 、皮質基底核変性症 ( C B D ) 、嗜銀顆粒性認知症、ダウン症候群、慢性外傷性脳症 ( C T E ) 、外傷性脳損傷 ( T B I ) 、1 7 番染色体に関連するパーキンソニズムを伴う前頭側頭型認知症 ( F T D P - 1 7 ) 、グアムのパーキンソニズム - 認知症複合体、ニーマン - ピック病 C 型、筋強直性ジストロフィーが含まれるが、これらに限定されない ( L i , C . , G o t z , J . T a u - b a s e d t h e r a p i e s i n

10

20

30

40

50

neurodegeneration: opportunities and challenges. *Nat Rev Drug Discov* 16, 863-883 (2017) を参照)。

【0050】

本開示の実施形態では、患者は、本明細書に記載の抗体による治療を必要とする、本明細書に記載の疾患又は障害のうちの1つなどの医学的リスク、状態又は障害を有することが診断されたヒトである。本開示の方法によって治療することができる障害が、アルツハイマー病、タウオバチー病、シェーグレン症候群 (SS)、関節リウマチ (RA)、炎症性腸疾患 (IBD)、アトピー性皮膚炎、腎疾患、敗血症、及び/又は非アルコール性脂肪性肝疾患 (NAFLD) などによって確立され、受け入れられている分類によって知られている場合において、それらの分類は、様々なよく知られた医学書に記載されている。例えば、現在、Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disordersの第5版 (DSM-5) は、本明細書に記載の特定の障害を同定するための診断ツールを提供する。また、International Classification of Diseases第10版 (ICD-10) は、本明細書に記載の特定の障害についての分類を提供する。当業者は、DSM-5及びICD-10に記載のものを含む、本明細書に記載の疾患及び障害についての代替の命名法、疾病分類学、及び分類システムがあり、用語及び分類システムが医科学の進歩とともに進化することを認識するであろう。

【0051】

「治療すること (treating)」(又は「治療する (treat)」又は「治療 (treatment)」)という用語は、対象における既存の症状、障害、状態、又は疾患の進行又は重症度を遅延、妨害、阻止、緩和、停止、軽減、又は反転させることを指す。「対象」という用語は、ヒトを指す。「ヒト対象」及び「患者」という用語は、本開示において互換的に使用される。

【0052】

本明細書で使用される場合、「治療方法」とは、本明細書に記載の疾患又は障害を治療するための組成物の使用、及び/又は本明細書に記載の疾患又は障害を治療するための薬剤の製造における使用及び/又は使用のための組成物の使用に等しく適用可能である。

【0053】

「予防する」又は「予防」という用語は、アルツハイマー病の発症又は進行を予防するために、無症候性対象又は前臨床期アルツハイマー病に罹患している対象への本開示の抗体の予防上の投与を意味する。

【0054】

本明細書で使用される「進行を遅らせる」という用語は、対象における疾患又はその症状の進行を遅らせる又は抑えることを意味する。

【0055】

「Aの沈着を特徴とする疾患」又は「A沈着物を特徴とする疾患」という用語は、脳内又は脳脈管構造内のA沈着物を病理学的に特徴とする疾患である。これには、アルツハイマー病、ダウン症候群、脳アミロイド血管障害などの疾患が含まれる。アルツハイマー病の臨床診断、病期分類又は進行は、既知の技術を使用し、結果を観察することにより、当業者のような担当診断医又は医療専門家によって容易に決定され得る。これは、一般に、の脳ブラークイメージング、精神若しくは認知評価 (例えば、臨床的認知症評定 - ボックスの要約 (CDR-SB)、ミニメンタルステート検査 (MMSE) 若しくはアルツハイマー病評価スケール - 認知 (ADAS-Cog))、又は機能評価 (例えば、アルツハイマー病共同研究 - 日常生活の活動 (ADCS-ADL)) を含む。認知及び機能評価を使用して、患者の認知 (例えば、認知低下) 及び機能 (例えば、機能低下) の変化を決定することができる。したがって、対象は、本明細書に記載の技術に従って、「進行が遅い」認知機能低下を有することが決定され得る。例示的な実施形態において、「進行が遅い」認知機能の低下は、対象のiADRが、例えば所定の期間 (例えば、6、12、18

10

20

30

40

50

又は24ヶ月)にわたって約20未満低下したiADRSによって識別され得る。別の例示的な実施形態では、「進行が遅い」認知機能の低下は、対象がAPOE-4ホモ接合型陰性又はAPOE-4ヘテロ接合型であるAPOE-4ジェノタイピングによって同定することができる。別の例示的な実施形態では、「進行が遅い」認知機能の低下は、MMSEによって特定することができ、対象は、約27のMMSE、又は所与の期間(例えば、6、12、18又は24ヶ月)にわたって約3未満のMMSE低下を有することが決定されている。本明細書で使用される「臨床的アルツハイマー病」は、アルツハイマー病の診断された段階である。これには、前駆期アルツハイマー病、軽度アルツハイマー病、中等度アルツハイマー病及び重度アルツハイマー病と診断された状態が含まれる。「前臨床期アルツハイマー病」という用語は、臨床的アルツハイマー病に先行する段階であり、バイオマーカーの測定可能な変化(アミロイドPETによるCSF A42レベル又は蓄積した脳ブラークなど)は、臨床的アルツハイマー病に進行する、アルツハイマー病の患者の最も初期の徴候を示す。これは通常、記憶喪失及び混乱のような症状が顕著となる前である。前臨床期アルツハイマー病には、1つ又は2つのAPOE e4対立遺伝子を保持するためにADを発症するリスクが高い患者だけでなく、発症前の常染色体優性保因者も含まれる。

#### 【0056】

認知機能低下の低減又は緩徐化は、臨床認知症評価-ボックスの要約、ミニメンタルスケート検査、又はアルツハイマー病評価スケール-認知などの認知評価によって測定できる。機能低下の低減又は緩徐化は、ADCS-ADLなどの機能評価によって測定することができる。

#### 【0057】

本明細書で使用される場合、「mg/kg」とは、キログラム単位の体重に基づいて、対象に投与される抗体又は薬物のミリグラム単位の量を意味する。用量は、一度に与えられる。例えば、体重70kgの対象に対する抗体の10mg/kg用量は、単回投与で投与される抗体の単回700mg用量である。同様に、体重70kgの対象に対する20mg/kg用量の抗体は、単回投与で投与される抗体の1400mg用量となる。

#### 【0058】

本明細書で使用される場合、<sup>18</sup>F-flortaucipirベースの定量分析を用いて、タウ負荷が1.10SUVr(<1.10SUVr)未満である場合、ヒト対象は、「非常に低いタウ」負荷を有する。定量分析は、SUVrの計算を指し、SUVrは、参照領域と比較した場合(参照シグナル強度のパラメトリック評価又はPERSI、Southekal et al., "Flortaucipir F 18 Quantitation Using Parametric Estimation of Reference Signal Intensity," J. Nucl. Med. 59: 944-951 (2018)を参照)、脳内の関心のある特定の標的領域内のカウントを表す(マルチブロック重心判別分析又はMUBADA、Devous et al., "Test-Retest Reproducibility for the Tau PET Imaging Agent Flortaucipir F18," J. Nucl. Med. 59: 937-943 (2018)を参照)。本明細書で使用される場合、タウ負荷が18F-flortaucipirベースの定量分析を用いて1.46SUVr以下(すなわち、1.46SUVr以下)である場合、ヒト対象は、「非常に低いタウから中等度のタウ」負荷を有する。定量分析は、SUVrの計算を指し、SUVrは、参照領域と比較した場合(PERSI、Southekal et al., "Flortaucipir F 18 Quantitation Using Parametric Estimation of Reference Signal Intensity," J. Nucl. Med. 59: 944-951 (2018))、脳内の関心のある特定の標的領域内のカウントを表す(MUBADA、Devous et al., "Test-Retest Reproducibility for the Tau PET Imaging Agent Flortaucipir F18," J. Nucl. Med. 59: 937-943

10

20

30

40

50

(2018) 参照)。

【0059】

本明細書で使用される場合、<sup>18</sup>F-flortaucipirベースの定量分析を用いて、タウ負荷が1.10以上～1.46以下(すなわち、1.10SUVr以下～1.46SUVr以下)である場合、ヒト対象は、「低いタウから中等度のタウ」負荷を有する。定量分析は、SUVrの計算を指し、SUVrは、参照領域と比較した場合(PERSI、Southekal et al., "Flortaucipir F 18 Quantitation Using Parametric Estimation of Reference Signal Intensity," J. Nucl. Med. 59: 944-951 (2018) 参照)、脳内の関心のある特定の標的領域内のカウントを表す(MUBADA、Devous et al., "Test-Retest Reproducibility for the Tau PET Imaging Agent Flortaucipir F 18," J. Nucl. Med. 59: 937-943 (2018) 参照)。「低いタウから中等度のタウ」負荷を有するヒト対象は、「中間」タウ負荷を有することができる。

【0060】

本明細書で使用される場合、<sup>18</sup>F-flortaucipirベースの定量分析を用いて、タウ負荷が1.46SUVrより大きい(すなわち、>1.46SUVr)場合、ヒト対象は、「高度のタウ」負荷を有する。定量分析は、SUVrの計算を指し、SUVrは、参照領域と比較した場合(PERSI、Southekal et al., "Flortaucipir F 18 Quantitation Using Parametric Estimation of Reference Signal Intensity," J. Nucl. Med. 59: 944-951 (2018) 参照)、脳内の関心のある特定の対象領域内のカウントを表す(MUBADA、Devous et al., "Test-Retest Reproducibility for the Tau PET Imaging Agent Flortaucipir F 18," J. Nucl. Med. 59: 937-943 (2018) 参照)。

【0061】

本明細書で使用される「約」という用語は、最長±10%を意味する。

【0062】

本明細書で使用される場合、「自然免疫」という用語は、免疫応答の適応性アームとは対照的に、適応免疫応答(抗体及びT細胞応答)を開始及び維持するために必要とされる免疫応答のアームを含む。

【0063】

「有効量」とは、治療医療専門家によって求められている組織、系、又はヒトの生物学的若しくは医学的応答、又は所望の治療効果を誘発するであろう本開示の抗ヒトIL-34抗体、又はそのような抗体を含む医薬組成物の量を意味する。本明細書で使用される場合、患者の「有効応答」、又は治療に対する患者の応答性という用語は、本開示の抗体の投与の際に患者に付与される臨床上又は治療上の利点を指す。抗体の有効量は、個体の病状、年齢、性別、及び体重、並びに個体における所望の応答を誘発する抗体の能力などの因子に応じて変動し得る。有効量はまた、抗体の任意の毒性効果又は有害効果よりも治療的に有益な効果が上回る量である。そのような利点には、炎症又は免疫活性化のレベルの低下、免疫介在性疾患又は障害の安定化、又は免疫介在性障害の徴候若しくは症状の改善のうちのいずれか1つ以上を含む。代替的に、そのような利点には、移植臓器の免疫寛容の増加、安定した自己免疫疾患若しくは障害、又は自己免疫障害の徴候若しくは症状の改善などのうちのいずれか1つ以上を含む。

【0064】

本明細書に開示される方法の潜在的な利点は、免疫介在性障害又は神経炎症性障害に罹患している患者において、許容される忍容性、毒性、及び/又は有害事象を含む許容される安全性プロファイルで、著しい及び/又は長期にわたる軽減をもたらす可能性であり、

10

20

30

40

50

したがって患者は、全体的な治療方法から利点を得る。本開示の治療の有効性は、様々な免疫介在性障害の治療を評価する際に一般的に使用される様々なエンドポイントによって測定することができる。例えば、免疫細胞活性化マーカー、炎症の尺度、細胞周期依存性バイオマーカーの測定と視覚化、及び／又は様々な炎症又は免疫による反応の測定、又は組織特異的ビオマーカー評価を含む、本開示の任意の特定の療法の有効性を決定することへの他のアプローチを任意選択で使用することができる。

#### 【 0 0 6 5 】

有効量は、既知技術の使用によって、及び同様の状況下で得られた結果を観察することによって、当業者により容易に決定することができる。本開示の抗ヒト I L - 3 4 抗体の有効量は、単回用量又は複数回用量で投与され得る。更に、本開示の抗体の有効量は、一度だけ投与される場合、有効量未満である量の複数回用量で投与され得る。患者のための有効量を決定する際には、これらに限定されないが、患者のサイズ（例えば、重量又は質量）、体表面積、年齢、及び全体的な健康状態；関与する特定の疾患又は障害；疾患又は障害の程度、又は関与、又は重症度；個々の患者の応答；投与される特定の化合物；投与の様式；投与される調製物の生物学的利用能特性；選択される投薬計画；付随する医薬品の使用；並びに診断医に既知の他の関連する状況を含む、多数の因子が担当診断医によって考慮される。

10

#### 【 0 0 6 6 】

毎週、隔週ごと、毎月、又は四半期ごとの非経口（皮下、筋肉内、及び／又は静脈内を含むがこれらに限定されない）用量は、約 0 . 5 m g / k g ~ 約 5 0 m g / k g であり得る。本明細書で使用される場合、「1ヶ月」又はその派生語は、28 ~ 31 の連続した日を含む期間を指す。

20

#### 【 0 0 6 7 】

本明細書に開示される方法の潜在的な利点は、免疫介在性障害又は神経炎症性障害に罹患している患者において、許容できる忍容性、毒性、及び／又は有害事象を含む許容できる安全性プロファイルで、著しい及び／又は長期にわたる軽減をもたらす可能性であり、したがって患者は、治療方法全体から利益を得る、より具体的には、本開示の抗体が、臨床的に望ましくない免疫抑制及び／又は「サイトカインストーム」又は有意なサイトカイン放出などの免疫関連の有害事象を回避しながら、効果的な治療を提供する。本開示の抗体は、サイトカインストーム、又はサイトカインの有害な放出の治療に有用であり得る。本明細書で使用される場合、「著しいサイトカイン放出」は、当業者に知られている方法によって検出することができる測定可能なサイトカインの著しい増加を指す。例えば、著しいサイトカイン放出は、E L I S A によってヒト血液サンプルで検出され得、ここで、刺激されていない血液からのサイトカインレベルは、抗体とともにインキュベートされた血液を伴うサイトカインレベルと比較される。いくつかのそのような試験では、例えば、I L - 6、若しくはI L - 8、又はI F N - のレベルが、刺激されていない血液のレベルと比較して、抗体とともにインキュベートされた血液中で少なくとも3倍高い場合、著しいサイトカイン放出が検出され得る。好ましくは、本明細書の実施形態に記載の免疫介在性障害の治療は、患者が有意なサイトカイン放出を経験しない場合に行われる。

30

#### 【 0 0 6 8 】

40

##### 本開示の抗体の組み合わせ使用：

本開示は更に、本開示の抗体の同時、別々、又は順次組み合わせ、特に抗体 1、及び抗 N 3 p G 1 u A 抗体を提供し、A D などのアミロイドベータ（A ）の沈着を特徴とする疾患を治療するための組み合わせの使用方法に関する。本組み合わせに有用ないくつかの既知の抗 A 抗体には、ドナネマブ、バピヌズマブ、ガンテネルマブ、アデュカヌマブ、G S K 9 3 3 7 7 6、ソラネズマブ、クレネズマブ、ポネズマブ、及びレカネマブ（B A N 2 4 0 1 ）が挙げられる。本開示は更に、抗体 1 及びドナネマブ（C A S 番号 1 9 3 1 9 4 4 - 8 0 - 7、配列番号 3 8 及び 3 9 ）の同時、別々、又は順次組み合わせ、並びにアミロイドベータ（A ）の沈着を特徴とする疾患、例えば A D を治療するためにこれらの組み合わせを使用する方法を提供する（早期アルツハイマー病におけるドナネマブ

50

、 Mintun, M. A. et al, New England Journal of Medicine (2021), 384 (18), 1691-1704)。好ましくは、組み合わせは、ドナネマブによる一連の治療の後に、順次抗体1の使用を提供する。

【0069】

本明細書で使用される場合、「抗N3pGlu A 抗体」、「抗N3pG 抗体」、又は「抗N3pE 抗体」は、互換的に使用され、A 1-40又はA 1-42よりもN3pGlu A に優先的に結合する抗体を指す。当業者は、「抗N3pGlu A 抗体」、並びに「hE8L」、「B12L」及び「R17L」を含むいくつかの特異的抗体が、米国特許第8,679,498 B2号(その全体が参照により本明細書に組み込まれる)に特定され、開示されている(作製及び使用方法とともに)ことを理解し、認識するであろう。例えば、米国特許第8,679,498 B2号の表1を参照されたい。「hE8L」、「B12L」及び「R17L」抗体を含む、米国特許第8,679,498 B2号に開示されている抗体の各々を、本開示の抗N3pGlu A 抗体として、又は本発明の様々な態様に記載されている抗N3pGlu A 抗体の代わりに使用することができる。本組み合わせ方法の抗N3pGlu A 抗体は、それぞれ配列番号40及び41のHC及びLCを含む抗体である。

10

【0070】

抗N3pGlu A 抗体の他の代表的な種には、米国特許第8,961,972号、米国特許第10,647,759号、米国特許第9,944,696号、WO2010/009987A2、WO2011/151076A2、WO2012/136552A1及びその均等物、例えば、米国特許法第112条(f)の下に開示された抗体が挙げられるが、これらに限定されない。

20

【0071】

当業者は、「抗N3pGlu A 抗体」、及びいくつかの特異的抗体が、米国特許第8,961,972号(これによりその全体が参照により本明細書に組み込まれる)、米国特許第10,647,759号(これによりその全体が参照により本明細書に組み込まれる)、及び米国特許第9,944,696号(その全体が参照により本明細書に組み込まれる)において特定され、開示されている(そのような抗体を作製及び使用する方法とともに)ことを理解し、認識するであろう。米国特許第8,961,972号、第9,944,696号、及び同第10,647,759号に開示されている抗N3pGlu A 抗体のいずれも、本開示の抗N3pGlu A 抗体として、又は本発明の様々な態様に記載される抗N3pGlu A 抗体の代わりに使用され得る。

30

【0072】

当業者は、「抗N3pGlu A 抗体」、並びに「抗体VI」、「抗体VII」、「抗体VIII」、「抗体IX」を含むいくつかの特異的抗体が、WO2010/009987A2(その全体が参照により本明細書に組み込まれる)に特定され、開示されている(そのような抗体を作製及び使用する方法とともに)ことを理解し、認識するであろう。これらの4つの抗体(例えば、「抗体VI」、「抗体VII」、「抗体VIII」、「抗体IX」)のそれぞれを、本開示の抗N3pGlu A 抗体として、又は抗N3pGlu A 抗体の代わりに使用することができる。N3pGlu A 抗体は、本発明の様々な態様に記載されている。

40

【0073】

当業者は、「抗N3pGlu A 抗体」、及び「抗体X」及び「抗体XI」を含むいくつかの特異的抗体が、WO2011/151076A2(その全体が参照により本明細書に組み込まれる)に特定され、開示されている(そのような抗体を作製及び使用する方法とともに)ことを理解し、認識するであろう。これらの2つの抗体(例えば、「抗体X」及び「抗体XI」)の各々は、本開示の抗N3pGlu A 抗体として、又は本発明の様々な態様に記載される抗N3pGlu A 抗体の代わりに使用され得る。

【0074】

当業者は、「抗N3pGlu A 抗体」、並びに「抗体XII」及び「抗体XIII」

50

」を含むいくつかの特異的抗体が、WO 2012 / 136552 A1（その全体が参照により本明細書に組み込まれる）において特定され、開示されている（当該抗体を作製及び使用するための方法とともに）ことを理解し、認識するであろう。これらの2つの抗体（例えば、「抗体XII」及び「抗体XIII」）の各々は、本開示の抗N3pGluA抗体として、又は本開示の様々な態様に記載される抗N3pGluA抗体の代わりに使用され得る。

【0075】

本開示の態様は、対象におけるAの沈着を特徴とする疾患を治療する方法のための、本開示の抗体、特に抗体1、及び抗N3pGluA抗体、特にドナネマブの組み合わせの使用を提供し、対象は、i) 脳全体におけるタウレベル/負荷（グローバルタウ）、ii) 脳の領域（例えば、脳の異なる葉）におけるタウレベル/負荷、及び/又は対象のゲノムにおけるAPOE e4の1つ又は2つの対立遺伝子の存在に基づいて選択される。本明細書に開示される組み合わせ方法を使用して治療又は予防され得る疾患には、例えば、アルツハイマー病（AD）、ダウン症候群、及び脳アミロイド血管障害（CAA）が含まれる。本開示はまた、中間脳タウ負荷の存在下で早期症候性アルツハイマー病（AD）を有する対象における疾患の進行を遅らせるための、本明細書において提供される組み合わせの使用に関する。

10

【0076】

N3pGluAに対する抗体は、当技術分野で知られている。例えば、米国特許第8,679,498号（その中に開示された抗N3pGluA抗体を含め、その全体が参照により本明細書に組み込まれる）は、抗N3pGluA抗体、及びアルツハイマー病などの疾患を抗体で治療する方法を開示している。沈着物に見られる、N3pGluAを含むAに対する抗体の長期慢性投与による受動免疫は、様々な動物モデルにおける脳内のA凝集体を破壊し、plaquesのクリアランスを促進することが示されている。ドナネマブ（米国特許第8,679,498号に開示されている。CAS番号1931944-80-7も参照）は、脳内のアミロイドplaquesにのみ存在するアミロイドベータ（N3pGluA）エピトープの3番目のアミノ酸のピログルタミン酸改変に対する抗体である。ドナネマブの作用機序は、ADの重要な病理学的特徴である既存のアミロイドplaquesの標的化及び除去である。ADの第2の神経病理学的特徴は、過剰リン酸化タウタンパク質を含む細胞内神経原線維変化の存在である。Aがタウの病状を引き起こし、Aとタウの間のより複雑で相乗的な相互作用が後の段階で現れ、疾患の進行を促進する可能性がある（Busche et al., "Synergy Between Amyloid- and Tau in Alzheimer's disease", *Nature Neuroscience* 23: 1183-93 (2020)）。

20

【0077】

A抗体の投与は、アミロイド関連の画像異常（ARIA）、血管原性浮腫及び溝浸出液（ARIA-E）を示唆するもの、微小出血及びヘモジデリン沈着物（ARIA-H）、注入部位反応、及び免疫原性のリスクなどの有害事象をヒトにもたらした。例えば、Piazza and Winblad, "Amyloid-Related Imaging Abnormalities (ARIA) in Immunotherapy Trials for Alzheimer's Disease: Need for Prognostic Biomarkers?" *Journal of Alzheimer's Disease*, 52: 417-420 (2016); Sperling, et al., "Amyloid-related Imaging Abnormalities in Patients with Alzheimer's Disease Treated with Bapineuzumab: A Retrospective Analysis," *The Lancet Neurology* 11.3: 241-249 (2012); Brashears et al., "Clinical Evaluation of Amyloid-related Imaging Abnormalities in Bapineuzumab Phase III Studies," *J. of Alzheimer's Disease* 30: 40

30

40

50

er's Disease 66.4:1409-1424 (2018); Budd et al., "Clinical Development of Aducanumab, an Anti-A<sub>β</sub> Human Monoclonal Antibody Being Investigated for the Treatment of Early Alzheimer's Disease," The Journal of Prevention of Alzheimer's Disease 4.4:255 (2017)を参照。

#### 【0078】

ドナネマブ及び抗体1についての本開示の併用治療戦略は、既存の脳アミロイド負荷を有する早期症候性AD患者の集団におけるアミロイドplaquesに特異的なN3pGlu<sub>A</sub>を標的とすること、及びこれらの患者における神経炎症を標的とすることを含む。この理論的根拠は、A<sub>β</sub>の産生及び沈着がADの病因における初期の必要な事象であると述べているADのアミロイド仮説に基づいている。例えば、Selkoe, "The Origins of Alzheimer Disease: A is for Amyloid," JAMA 283:1615-1617 (2000)を参照。この仮説の臨床的支持は、ADの症状が現れる前に実質A<sub>β</sub>レベルが上昇し、脳A<sub>β</sub>を過剰生産するADの遺伝的変異体とA<sub>β</sub>産生を防ぐ遺伝的変異体によって支持されるという実証から得られる。例えば、Jonsson et al., "A Mutation in APP Protects Against Alzheimer's Disease and Age-related Cognitive Decline," Nature 488 (7409): 96-99 (2012)及びFleisher et al., "Associations Between Biomarkers and Age in the Presenilin 1 E280A Autosomal Dominant Alzheimer Disease Kindred: A Cross-sectional Study," JAMA Neurol. 72:316-24 (2015)を参照。したがって、問題のある有害事象を引き起こしたり、増加させたりすることなく、対象を治療するための薬剤の組み合わせの改善が必要とされている。神経炎症は、神経変性疾患の重要な要素であり、CNS細胞による炎症誘発性サイトカインの産生増加を特徴とする。神経炎症及びミクログリオーシスは、アルツハイマー病、及び/又は神経細胞死及び機能障害の根底にある機序であると考えられている。ミクログリオーシスには、炎症シグナルに応答したミクログリアの異常な増殖及び/又は肥大が含まれる。IL-34は、炎症及び免疫プロセスの調節において強力で多面的なサイトカインとして作用し、皮質、前嗅核、及び海馬のニューロンによって発現される。N3pGlu<sub>A</sub>抗体、特にドナネマブによる治療に続いて抗体1による同時、別々、又は好ましくは順次治療は、神経炎症及び/又はミクログリオーシスのAD病因への寄与を改善し、これらの患者の神経変性プロセスの進行を遅らせるか又は予防すると考えられる。

#### 【0079】

本開示の一態様は、タウが低い若しくは中等度、タウが非常に低いから中等度、又はタウが高くないアルツハイマー病患者が、ドナネマブなどの抗N3pGlu<sub>A</sub>抗体及び抗体1などの本開示の抗体を用いる併用療法に反応する。本開示の別の態様は、APOE e4の1つ又は2つの対立遺伝子を有するアルツハイマー病患者が、抗N3pGlu<sub>A</sub>抗体による治療に反応するという概念に基づく。本開示の更に別の態様は、APOE e4の1つ又は2つの対立遺伝子及び低い又は中等度のタウを有する、非常に低いから中等度のタウ、若しくは高いタウを有しないアルツハイマー病患者が、ドナネマブ及び抗体1などの本開示の抗体などの抗N3pGlu<sub>A</sub>抗体による併用治療に反応する。本開示のいくつかの態様は、患者の脳病理に基づいて患者を診断及び治療することを対象とする。脳の病理に基づいて患者を選択することで、臨床試験でより均質な集団が得られるだけでなく、ADの病期とその進行を適切に特定することができる。ADの病期を適切に特定することで、例えば、メモリークリニックへのタイムリーな紹介、正確かつ早期のAD診断、対症療法の開始、将来の計画、ドナネマブなどの抗N3pGlu<sub>A</sub>抗体、及び抗体1などの本開示の抗体の併用療法による疾患改変治療の開始も可能になる。

## 【0080】

本開示のいくつかの態様は、脳内の A<sub>β</sub> 沈着物を特徴とする疾患に罹患しているヒト対象を治療するための組み合わせ実施形態を提供し、対象は、最初にドナネマブなどの抗 N<sub>3</sub>pG1u<sub>A</sub> 抗体を投与され、抗体 1 などの本開示の抗体を用いた同時、別々、又は順次治療と組み合わせて、2段階で投与される。第 1 の段階では、ヒト対象に、1回以上の約 100 mg ~ 約 700 mg の第 1 の用量の抗 N<sub>3</sub>pG1u<sub>A</sub> 抗体を投与し、各第 1 の用量は、約 4 週間に 1 回投与される。第 1 の用量を 1 回以上投与してから約 4 週間後、第 2 のステップにおいて、1回以上の 700 mg 超 ~ 約 1400 mg の第 2 の用量をヒト対象に投与し、各第 2 の用量は 4 週間に 1 回投与される。好ましくは、抗 N<sub>3</sub>pG1u<sub>A</sub> 抗体は、ドナネマブである。抗体 1 は、ドナネマブによる一連の治療の後に、同時に、別々に、又は順次投与される。好ましくは、抗体 1 は、ドナネマブによる一連の治療の後に順次投与される。

10

## 【0081】

治療の組み合わせ方法のいくつかの態様は、i) ヒト対象の脳内の全体的又は全体的なタウ負荷、又は ii) 対象の脳又はその領域若しくは部分におけるタウの広がりに基づいて患者における AD の段階 / 進行を特定することに関する。

## 【0082】

いくつかの実施形態では、患者は、対象の脳内（例えば、脳全体又は脳の一部）に存在するタウの量に基づいて層別化 / 特定 / 選択 / 治療することができる。いくつかの実施形態では、患者は、対象の脳内（例えば、脳全体又は脳の一部）に存在するタウの量、及び APOE<sub>e4</sub> の 1 つ又は 2 つの対立遺伝子の存在に基づいて、層別化 / 特定 / 選択 / 治療することができる。

20

## 【0083】

他の実施形態では、患者は、AD 進行の段階（例えば、脳内のタウの広がりに基づいて）層別化 / 特定 / 選択 / 治療される。例えば、いくつかの段階では、AD 患者におけるタウ負荷は、前頭葉又は後外側側頭領域（PLT）を含まない側頭葉の領域に分離される。AD の別の段階は、AD 患者におけるタウ負荷が後外側側頭（PLT）又は後頭部領域に限定される。AD の更に別の段階は、AD 患者におけるタウ負荷が、PLT 又は後頭領域におけるタウ負荷とともに頭頂若しくは楔前若しくは前頭領域に存在する。いくつかの実施形態では、患者は、AD 進行の段階に基づいて（例えば、脳内のタウの広がりに基づいて）、及び APOE<sub>e4</sub> の 1 つ又は 2 つの対立遺伝子の存在に基づいて、層別化 / 特定 / 選択 / 治療され得る。

30

## 【0084】

脳内のタウの量、脳の一部における AD の進行、及び / 又は APOE<sub>e4</sub> の 1 つ又は 2 つの対立遺伝子の存在に基づく患者の層別化を使用して、例えば、患者がドナネマブなどの抗 N<sub>3</sub>pG1u<sub>A</sub> 抗体と、抗体 1 などの本開示の抗体との併用療法に反応するかどうかを決定することができる。脳内のタウの量、脳の一部における AD の進行、及び / 又は APOE<sub>e4</sub> の 1 つ又は 2 つの対立遺伝子の存在に基づく患者集団の層別化 / 選択は、治療に加えて、臨床試験の設計及び実施中に直面する患者の不均質性及び反復可能性の問題を解決するのにも役立つ。

40

## 【0085】

本開示の他の態様は、ヒト対象の脳内のアミロイドベータ（A<sub>β</sub>）沈着物を特徴とする疾患のために、ドナネマブなどの抗 N<sub>3</sub>pG1u<sub>A</sub> 抗体と、抗体 1 などの本開示の抗体との併用療法又は予防に反応するヒト対象に提供する。本開示のこの態様のいくつかの実施形態では、反応するヒト対象には、低いから中等度のタウ負荷、非常に低いから中等度のタウ負荷、及び / 又は APOE<sub>e4</sub> の 1 つ又は 2 つの対立遺伝子を有するヒト対象が含まれる。本開示のこの態様のいくつかの実施形態では、反応するヒト対象は、高いタウ負荷を有するヒト対象を除外する。本開示のこの態様のいくつかの実施形態では、反応するヒト対象は、高いタウ負担及び / 又は APOE<sub>e4</sub> の 1 つ若しくは 2 つの対立遺伝子を有するヒト対象を除外する。いくつかの実施形態では、ドナネマブなどの抗 N<sub>3</sub>pG

50

l u A 抗体と、抗体 1 などの本開示の抗体との組み合わせは、アミロイドベータ (A) の沈着物を特徴とする疾患の治療又は予防のために、反応するヒト対象に投与される。

【0086】

一態様では、本開示は、抗 N 3 p G l u A 抗体、特にドナネマブ、及び本開示の抗体、特に抗体 1 を使用した、ヒト対象の脳内の A 沈着物を特徴とする疾患に対する同時、別々、又は順次組み合わせる治療又は予防に關し、i) ヒト対象に、1 回以上の約 100 mg ~ 約 700 mg の第 1 の用量の抗 N 3 p G l u A 抗体を投与することであって、各第 1 の用量は約 4 週間に 1 回投与される、投与することと、ii) 1 回以上の第 1 の用量を投与してから約 4 週間に後、1 回以上の 700 mg 超 ~ 約 1400 mg の第 2 の用量の抗 N 3 p G l u A 抗体をヒト対象に投与することであって、各第 2 の用量は約 4 週間に 1 回投与され、抗 N 3 p G l u A 抗体はドナネマブを含み、ヒト対象に本開示の抗体、特に抗体 1 をヒト対象に投与する、投与することと、を含む。好ましくは、抗体 1 は、ドナネマブによる一連の治療の後に順次投与される。

【0087】

今まで、ドナネマブによる治療の臨床的焦点は、既存の脳アミロイド負荷を伴う早期症候性 AD 患者に限定されてきた。しかしながら、AD の第 2 の神経病理学的特徴は、過剰リン酸化タウタンパク質を含む細胞内神経原線維変化の存在である。現在の疾患モデルは、A がタウの病理を引き起こし、A とタウの間のより複雑で相乗的な相互作用が後期段階で現れ、疾患の進行を促進することを示唆している (Busche et al., "Synergy Between Amyloid- and Tau in Alzheimer's disease", *Nature Neuroscience* 23: 1183 - 93 (2020))。

【0088】

現在、AD の疾患改変治療は存在していない。したがって、ヒト対象における A の沈着を特徴とする、AD を含む疾患を治療する改善された方法に対する必要性が存在する。そのような方法は、そのような患者がそのような治療から治療的有用性を有し得るかどうかに基づいて患者を識別するのに役立つはずである。更に、そのような治療及び方法は、細胞傷害性の増加又は他の既知の有害事象に付随してはならない。本開示は、これらの必要性のうちの 1 つ以上を満たす。

【0089】

Doody et al., "Phase 3 Trials of Solanezumab for Mild-to-Moderate Alzheimer's Disease", *NEJM*, 370; 4, 311 - 321 (2014) は、「APOE 4 保因者と非保因者の間で、有効性測定値に対する明確な異なる治療効果は観察されなかった」ことを示している。抗 N 3 p G l u A 抗体を本開示の抗体と組み合わせて、1 つ又は 2 つの APOE e 4 の対立遺伝子を有するヒト対象 (例えば、APOE e 4 の保因者) に投与すると、1 つ以上のそれらの対立遺伝子の非保因者と比較した場合に予想外の有効性が得られると考えられる。したがって、本実施形態は、本開示の抗体、特に抗体 1 と組み合わせて、抗 N 3 p G l u A 抗体、特にドナネマブの同時、別々、又は順次投与を、1 つ又は 2 つの APOE e 4 対立遺伝子を有する患者にそれらの患者の認知機能低下を遅らせる手段として、投与することを含む。

【0090】

特定の実施形態によれば、本開示は、高い神経学的タウ負荷を有することが決定されたヒト対象の脳内のアミロイドベータ (A) 沈着物を特徴とする疾患を治療又は予防する方法であって、同時、別々、又は順次用量で、治療有効量の抗 A 抗体、特にドナネマブと、治療有効量の本開示の抗体、特に抗体 1 と、を投与することを含む、方法を提供する。追加的に、特定の実施形態によれば、本開示は、後外側側頭葉タウ負荷を有することが決定されたヒト対象の脳内の A 沈着物を特徴とする疾患を治療又は予防する組み合わせ方法であって、同時、別々、又は順次用量で、治療有効量の抗 A 抗体、特にドナネマブと、治療有効量の本開示の抗体、特に抗体 1 と、を投与することを含む、方法を提供する。

10

20

30

40

50

## 【0091】

特定の実施形態によれば、本開示は、高い神経学的タウ負荷を有し、かつアポリポタンパク質 E のイプシロン 4 対立遺伝子（本明細書では A P O E e 4 又は A P O E 4 と称する）の 1 つ又は 2 つの対立遺伝子を有することが決定されたヒト対象の脳内の A 沈着物を特徴とする疾患を治療又は予防する組み合わせ方法であって、同時、別々、又は順次用量で、治療有効量の抗 A 抗体、特にドナネマブと、治療有効量の本開示の抗体、特に抗体 1 と、を投与することを含む、方法を提供する。追加的に、特定の実施形態によれば、本開示は、後外側側頭葉タウ負荷を有することが決定されたヒト対象の脳内の A 沈着物を特徴とする疾患を治療又は予防する方法であって、同時、別々、又は順次用量で、治療有効量の抗 A 抗体、特にドナネマブと、治療有効量の本開示の抗体、特に抗体 1 と、を投与することを含む、方法を提供する。

10

## 【0092】

いくつかの実施形態によれば、本開示は、本開示の抗体、特に抗体 1 と同時、別々、又は順次使用するための抗 A 抗体、特にドナネマブと、高い神経学的タウ負荷を有することが決定されたヒト対象の脳内の A 沈着物を特徴とする疾患の治療又は予防のために提供することであって、治療有効量の抗 A の同時、別々、又は順次用量で、治療有効量の抗 A 抗体、特にドナネマブと、治療有効量の本開示の抗体、特に抗体 1 と、を投与することを含む、提供する。いくつかの実施形態では、ヒト対象は、高い神経学的タウ負荷を有する、並びに A P O E e 4 の 1 つ又は 2 つの対立遺伝子を有することが決定されている。

20

## 【0093】

いくつかの実施形態では、本開示は、後外側側頭葉タウ負荷を有することが決定されたヒト対象の脳内の A 沈着物を特徴とする疾患の治療又は予防のために、本開示の抗体、特に抗体 1 と同時、別々、又は順次使用するための抗 A 抗体、特にドナネマブを提供する。いくつかの実施形態では、ヒト対象は、後外側側頭葉タウ負荷を有する、並びに A P O E e 4 の 1 つ又は 2 つの対立遺伝子を有することが決定されている。

## 【0094】

追加的に、いくつかの実施形態では、本開示は、アルツハイマー病（A D）を治療、予防する、又はその進行を遅らせるために、本開示の抗体、特に抗体 1 と同時、別々、又は順次使用するための抗 A 抗体、特にドナネマブを提供する。追加的に、いくつかの実施形態では、本開示は、A D 認知機能低下がゆっくり進行していると決定されたヒト対象において、アルツハイマー病（A D）を治療、予防する、又は進行を遅らせるために、本開示の抗体、特に抗体 1 と同時、別々、又は順次使用するための抗 A 抗体、特にドナネマブを提供する。本開示のいくつかの実施形態は、A D 認知機能低下がゆっくり進行しており、かつ A P O E e 4 の 1 つ又は 2 つの対立遺伝子を有することが決定されたヒト対象において、アルツハイマー病（A D）を治療、予防する、又はその進行を遅らせるために、本開示の抗体、特に抗体 1 と同時、別々、又は順次使用するための抗 A 抗体、特にドナネマブを提供する。

30

## 【0095】

更に、いくつかの実施形態によれば、本開示は、アルツハイマー病の治療又は予防のための薬剤の製造における、本開示の抗体、特に抗体 1 と同時、別々、又は順次組み合わせた、抗 A 抗体、特にドナネマブの使用を提供する。更に、いくつかの実施形態によれば、本開示は、i ) 高い神経学的タウ負荷、又は ii ) 高い神経学的タウ負荷及び A P O E e 4 の 1 つ又は 2 つの対立遺伝子を有することが決定されたヒト対象の脳内の A 沈着物を特徴とする疾患の治療又は予防のための薬剤の製造における、本開示の抗体、特に抗体 1 と同時、別々、又は順次組み合わせた、抗 A 抗体、特にドナネマブの使用を提供する。

40

## 【0096】

いくつかの実施形態では、本開示は、i ) 後外側側頭葉タウ負荷、又は ii ) 後外側側頭葉タウ負荷及び A P O E e 4 の 1 つ又は 2 つの対立遺伝子を有することが決定されたヒト対象の脳内の A 沈着物を特徴とする疾患の治療又は予防のための薬剤の製造における

50

る、本開示の抗体、特に抗体1と同時、別々、又は順次組み合わせた、抗A抗体、特にドナネマブの使用を提供する。更なる実施形態では、本開示は、i) A D 認知機能低下がゆっくりと進行している、又はii) A P O E e 4の1つ又は2つの対立遺伝子を有し、かつA D 認知機能低下がゆっくりと進行していると決定されたヒト対象において、アルツハイマー病(A D)を治療、予防する、又はその進行を遅らせるための薬剤の製造における、本開示の抗体、特に抗体1と同時、別々、又は順次組み合わせた、抗A抗体、特にドナネマブの使用を提供する。

【0097】

本明細書で提供されるいくつかの実施形態によれば、ヒト対象は、後外側側頭葉及び後頭葉のタウ負荷を有することが決定されている。いくつかの実施形態では、ヒト対象は、後外側側頭葉、後頭葉、及び頭頂葉のタウ負荷を有することが決定されている。いくつかの実施形態では、ヒト対象は、後外側側頭葉、後頭葉、頭頂葉、及び前頭葉のタウ負荷を有することが決定されている。いくつかの実施形態では、ヒト対象は、後外側側頭葉、後頭葉、頭頂葉及び/又は前頭葉のタウ負荷のうちの1つ以上を有することが神経学的PETイメージングによって決定されている。いくつかの実施形態では、後外側側頭葉、後頭葉、頭頂葉及び/又は前頭葉のタウ負荷のうちの1つ以上は、1.46 SUV<sub>r</sub>を超える神経学的タウ負荷に対応する。

10

【0098】

本明細書で提供されるいくつかの実施形態によれば、ヒト対象は、APOE e 4の1つ又は2つの対立遺伝子並びに後外側側頭葉及び後頭葉のタウ負荷を有することが決定されている。いくつかの実施形態では、ヒト対象は、APOE e 4の1つ又は2つの対立遺伝子並びに後外側側頭葉、後頭葉及び頭頂葉のタウ負荷を有することが決定されている。いくつかの実施形態では、ヒト対象は、APOE e 4の1つ又は2つの対立遺伝子並びに後外側側頭葉、後頭葉、頭頂葉及び前頭葉のタウ負荷を有することが決定されている。いくつかの実施形態では、ヒト対象は、後外側側頭葉、後頭葉、頭頂葉及び/又は前頭葉タウ負荷のうちの1つ以上を、神経学的PETイメージングによって、並びにAPOE e 4の1つ又は2つの対立遺伝子を有することが決定されている。いくつかの実施形態では、後外側側頭葉、後頭葉、頭頂葉及び/又は前頭葉のタウ負荷のうちの1つ以上は、1.46 SUV<sub>r</sub>を超える神経学的タウ負荷に対応する。

20

【0099】

追加の実施形態によれば、本開示は、アルツハイマー病(A D)認知機能低下がゆっくりと進行していると決定されたヒト対象においてアルツハイマー病(A D)の進行を治療、予防する、又はそれを遅らせる方法を提供し、同時、別々、又は順次用量を投与することを含む、治療有効量の抗A抗体、特にドナネマブ、及び治療有効量の本開示の抗体、特に抗体1を含む。いくつかの実施形態によれば、ヒト対象は、高い神経学的タウ負荷を有することが決定されている。いくつかの実施形態によれば、ヒト対象は、APOE e 4の1つ又は2つの対立遺伝子を有することが決定されている。いくつかの実施形態では、ヒト対象は、後外側側頭葉タウ負荷を有することが決定されている。いくつかの実施形態では、ヒト対象は、後外側側頭葉及び後頭葉のタウ負荷を有することが決定されている。いくつかの実施形態では、ヒト対象は、後外側側頭葉、後頭葉、及び頭頂葉のタウ負荷を有することが決定されている。いくつかの実施形態では、ヒト対象は、後外側側頭葉、後頭葉、頭頂葉、及び前頭葉のタウ負荷を有することが決定されている。いくつかの実施形態では、ヒト対象は、後外側側頭葉タウ負荷及びAPOE e 4の1つ又は2つの対立遺伝子を有することが決定されている。いくつかの実施形態では、ヒト対象は、APOE e 4の1つ又は2つの対立遺伝子並びに後外側側頭葉及び後頭葉のタウ負荷を有することが決定されている。いくつかの実施形態では、ヒト対象は、APOE e 4の1つ又は2つの対立遺伝子並びに後外側側頭葉、後頭葉及び頭頂葉のタウ負荷を有することが決定されている。いくつかの実施形態では、ヒト対象は、APOE e 4の1つ又は2つの対立遺伝子並びに後外側側頭葉、後頭葉、頭頂葉及び前頭葉のタウ負荷を有することが決定されている。

30

40

50

## 【0100】

本明細書で提供される本開示の実施形態によれば、ヒト対象は、A D A S - C o g、i A D L、C D R - S B、M M S E、A P O E - 4 遺伝子型決定及び／又はi A D R S のうちの1つ以上によって、A D 認知機能低下がゆっくりと進行することが決定されている。いくつかの実施形態では、ヒト対象は、i A D R S によってA D 認知機能低下がゆっくりと進行することが決定されている。いくつかの実施形態では、i A D R S は20未満減少した。いくつかの実施形態では、i A D R S は、6ヶ月間にわたり20未満減少した。いくつかの実施形態では、i A D R S は、12ヶ月間にわたり20未満減少した。いくつかの実施形態では、i A D R S は、18ヶ月間にわたり20未満減少した。いくつかの実施形態では、i A D R S は、24ヶ月間にわたり20未満減少した。いくつかの実施形態では、ヒト対象は、A P O E - 4 遺伝子型決定により、A D 認知機能低下がゆっくりと進行することが決定されている。いくつかの実施形態では、ヒト対象は、A P O E - 4 ヘテロ接合体であると決定されている。いくつかの実施形態では、ヒト対象は、A P O E - 4 ホモ接合体陰性であると決定されている。いくつかの実施形態では、ヒト対象は、M M S E によって進行の遅いA D 認知機能低下を有することが決定されている。いくつかの実施形態では、ヒト対象は、27を超えるM M S E を有することが決定されている。いくつかの実施形態では、M M S E は、3未満減少した。いくつかの実施形態では、M M S E は、6ヶ月間にわたり3未満減少した。いくつかの実施形態では、M M S E は、12ヶ月間にわたり3未満減少した。いくつかの実施形態では、M M S E は、18ヶ月間にわたり3未満減少した。いくつかの実施形態では、M M S E は、24ヶ月間にわたり3未満減少した。

10

20

30

## 【0101】

本明細書で提供される本開示の実施形態によれば、ヒト対象は、神経学的P E Tイメージングによって高い神経学的タウ負荷を有することが決定されている。いくつかの実施形態では、ヒト対象は、神経学的P E Tイメージングによって、1.46 S U V r を超える高い神経学的タウ負荷を有することが決定されている。いくつかの実施形態では、ヒト対象は、残基217のスレオニンでリン酸化されたヒトタウ（「h T a u - p T 217」）の定量化によって、高い神経学的タウ負荷を有することが決定されている。いくつかの実施形態では、h T a u - p T 217 は、ヒト対象の生物学的試料において定量化される。いくつかの実施形態では、生物学的試料は、脳脊髄液である。いくつかの実施形態では、生物学的試料は、血液、血漿又は血清のうちの1つである。

## 【0102】

本発明の目的のために、ヒト対象のタウレベル又は負荷（本明細書において互換的に使用される）は、例えば、i ) 神経学的若しくは脳のタウ沈着、i i ) 血液、血清及び／若しくは血漿中のタウ、又はi i i ) 脳脊髄液中のタウを検出又は定量化する技術若しくは方法を使用して決定することができる。いくつかの実施形態では、神経学的タウ負荷（P E Tを介して、又は血液、血清、血漿又は脳脊髄液アッセイを介して決定されるかどうかにかかわらず）を使用して、神経学的タウ負荷（例えば、低い、中等度、又は高い神経学的タウ負荷）に基づいて対象を層別化することができる。

## 【0103】

神経学的タウ負荷は、放射標識されたP E T化合物を用いたタウイメージングなどの方法を使用して決定できる（Leuzy et al. , "Diagnostic Performance of R0948 F18 Tau Positron Emission Tomography in the Differentiation of Alzheimer Disease from Other Neurodegenerative Disorders , " JAMA Neurology 77.8:955-965 (2020) ; Ossenkoppela et al. , "Discriminative Accuracy of [<sup>18</sup>F]-flortaucipir Positron Emission Tomography for Alzheimer Disease vs Other Neurodegenerative Disorders , " JAMA 320, 1151-1162, doi:10.1001/jama.2018.12917

40

50

(2018)、PETリガンドである[<sup>18</sup>F]-flortaucipirを含む) (その全体が参照により本明細書に組み込まれる)。PETタウ画像は、例えば、公開された方法によってSUV<sub>r</sub>(標準化取込値)を推定するため、(Pontecorvo et al., "A Multicentre Longitudinal Study of Flortaucipir (18F) in Normal Ageing, Mild Cognitive Impairment and Alzheimer's Disease Dementia," *Brain* 142: 1723-35 (2019); Devous et al., "Test-Retest Reproducibility for the Tau PET Imaging Agent Flortaucipir F18," *Journal of Nuclear Medicine* 59: 937-43 (2018); Southeekal et al., "Flortaucipir F18 Quantitation Using Parametric Estimation of Reference Signal Intensity," *J. Nucl. Med.* 59: 944-51 (2018)、参照によりその全体が本明細書に組み込まれる)、及び/又は患者を視覚的に評価するため、例えば、患者がADパターンを有するかどうかを決定するため定量的に評価することができる(Fleisher et al., "Positron Emission Tomography Imaging With [<sup>18</sup>F]-flortaucipir and Postmortem Assessment of Alzheimer Disease Neuropathologic Changes," *JAMA Neurology* 77: 829-39 (2020)、参照によりその全体が本明細書に組み込まれる)。SUV<sub>r</sub>値が低いほどタウ負荷が少ないことを示し、SUV<sub>r</sub>値が高いほどタウ負荷が高いことを示す。一実施形態では、flortaucipirスキャンによる定量的評価は、以下に記載される自動画像処理パイプラインによって達成される(Southeekal et al., "Flortaucipir F18 Quantitation Using Parametric Estimation of Reference Signal Intensity," *J. Nucl. Med.* 59: 944-951 (2018)、参照によりその全体が本明細書に組み込まれる)。いくつかの実施形態では、脳内の特定の標的領域内のカウントは(例えば、マルチプロック重心判別分析又はMUBADA、Devous et al., "Test-Retest Reproducibility for the Tau PET Imaging Agent Flortaucipir F18," *J. Nucl. Med.* 59: 937-943 (2018)を参照)(参照によりその全体が本明細書に組み込まれる)、を参照領域と比較し、参照領域は、例えば、小脳全体(whole Cere)、小脳GM(cere Crus)、アトラス-ベースの白質(atlas WM)、対象固有のWM(ss WM、例えば、参照シグナル強度のパラメトリック推定(PERSI)を使用)、Southeekal et al., "Flortaucipir F18 Quantitation Using Parametric Estimation of Reference Signal Intensity," *J. Nucl. Med.* 59: 944-951 (2018)を参照、参照によりその全体が本明細書に組み込まれる)。タウ負荷を決定する例示的な方法は、標準化取込値比(SUV<sub>r</sub>)として報告される定量分析である。これは、参照領域(例えば、PERSIを使用)と比較した場合、脳内の関心のある特定の標的領域内のカウント(例えば、MUBADA)を表す。

#### 【0104】

いくつかの実施形態では、リン酸化タウ(P-タウ、スレオニン181若しくは217でリン酸化されたもの、又はそれらの組み合わせ)を使用して、本開示の目的でタウロード/負荷を測定することができる(Barthelemy et al., "Cerebrospinal Fluid Phospho-tau T217 Outperforms T181 as a Biomarker for the Differential Diagnosis of Alzheimer's Disease and PET Amyloid-positive Patient Identification," A

10

20

30

40

50

lzheimer's Res. Ther. 12, 26, doi: 10.1186/s13195-020-00596-4 (2020); Mattsson et al., "A Deposition is Associated with Increases in Soluble and Phosphorylated Tau that Precede a Positive Tau PET in Alzheimer's Disease," Science Advances 6, eaaz2387 (2020)、参照によりその全体が本明細書に組み込まれる)。特定の実施形態では、残基217のスレオニンでリン酸化されたヒトタウに対する抗体を使用して、対象におけるタウロード/負荷を測定することができる(参照によりその全体が組み込まれる国際特許出願公開第2020/242963号を参照)。本開示は、いくつかの実施形態では、WO2020/242963に開示された抗タウ抗体を使用して、対象におけるタウロード/負荷を測定することを含む。WO2020/242963に開示された抗タウ抗体は、CNSにおいて発現されるヒトタウのアイソフォームに対して作られる(例えば、CNSにおいて発現されるアイソフォームを認識し、もっぱらCNSの外側で発現されるヒトタウのアイソフォームを認識しない)。

#### 【0105】

放射性標識PET化合物を用いたアミロイドイメージング、又はA若しくはAのバイオマーカーを検出する診断法を使用するなどの方法によって脳内でアミロイドが検出された場合、対象はアミロイド沈着物が陽性である。脳アミロイドロード/負荷を測定するために使用できる例示的な方法には、例えば、フロルベタビル(Carpenter, et al., "The Use of the Exploratory IND in the Evaluation and Development of  $^{18}\text{F}$ -PET Radiopharmaceuticals for Amyloid Imaging in the Brain: A Review of One Company's Experience"、The Quarterly Journal of Nuclear Medicine and Molecular Imaging 53.4:387 (2009)、参照によりその全体が本明細書に組み込まれる) ; フロルベタベン(Syed et al., "[ $^{18}\text{F}$ ] Florbetaben: A Review in - Amyloid PET Imaging in Cognitive Impairment," CNS Drugs 29, 605-613 (2015)、参照によりその全体が本明細書に組み込まれる) ; 及びフルテメタモル(Heurling et al., "Imaging - amyloid Using [ $^{18}\text{F}$ ] Flutemetamol Positron Emission Tomography: From Dosimetry to Clinical Diagnosis," European Journal of Nuclear Medicine and Molecular Imaging 43.2:362-373 (2016)、参照によりその全体が本明細書に組み込まれる)。[ $^{18}\text{F}$ ] - フロルベタビルは、前駆期AD又は軽度AD認知症の患者を含む患者の脳ブラーク負荷の定性的及び定量的測定を提供し、脳からのアミロイドブラークの低減を評価するためにも使用できる。

#### 【0106】

追加的に、 - アミロイドの脳脊髄液又は血漿ベースの分析を使用して、アミロイドロード/負荷を測定することもできる。例えば、A 42を使用して脳のアミロイドを測定することができる(Palmqvist, S. et al., "Accuracy of Brain Amyloid Detection in Clinical Practice Using Cerebrospinal Fluid Beta-amyloid 42: a Cross-validation Study Against Amyloid Positron Emission Tomography," JAMA Neurol 71, 1282-1289 (2014)、参照によりその全体が本明細書に組み込まれる)。いくつかの実施形態では、A 42/A 40又はA 42/A 38の比は、アミロイドベータのバイオマーカーとして使用することができる(Janelid

10

20

30

40

50

ze et al., "CSF Abeta42/Abeta40 and Abeta42/Abeta38 Ratios: Better Diagnostic Markers of Alzheimer Disease," *Ann Clin Transl Neurol* 3, 154-165 (2016)、参照によりその全体が本明細書に組み込まれる)。いくつかの実施形態では、CSF又は血漿中に沈着した脳アミロイドplaques又はAを使用して、アミロイドロード/負荷に基づいて対象をグループに層別化することができる。

#### 【0107】

ARIAの治療又は予防のための抗体1の使用:

いくつかの実施形態では、本開示は、ARIAの治療又は予防のための抗体1の使用を提供する。いくつかの治療用アミロイド標的抗体は、ARIA-Eの用量反応関連の増加を示している。例えば、Brashears et al., "Clinical Evaluation of Amyloid-related Imaging Abnormalities in Bapineuzumab Phase III Studies," *J. of Alzheimer's Disease* 66.4:1409-1424 (2018); Budd et al., "Clinical Development of Aducanumab, an Anti-A Human Monoclonal Antibody Being Investigated for the Treatment of Early Alzheimer's Disease," *The Journal of Prevention of Alzheimer's Disease* 4.4:255 (2017)を参照。ARIA-E及びARIA-Hは、アミロイドplaques除去治療と関連付けられている Sperling et al., "Amyloid-related imaging abnormalities in amyloid-modifying therapeutic trials: Recommendations from the Alzheimer's Association Research Roundtable Workgroup," *Alzheimer's & Dementia* 7:367-85 (2011); Sevigny et al., "The Antibody Aducanumab Reduces A Plaques in Alzheimer's Disease," *Nature* 537:50-6 (2016); Ostrowitzki et al., "Mechanism of Amyloid Removal in Patients With Alzheimer Disease Treated With Gantenerumab," *Archives of Neurology* 69:198-207 (2012); Salloway et al., "Two Phase 3 Trials of Bapineuzumab in Mild-to-Moderate Alzheimer's Disease," *New England Journal of Medicine* 370:322-33 (2014); Salloway et al., "A Phase 2 Multiple Ascending Dose Trial of Bapineuzumab in Mild to Moderate Alzheimer Disease," *Neurology* 73:2061-70 (2009)及びSperling et al., "Amyloid-related Imaging Abnormalities in Patients with Alzheimer's Disease Treated with Bapineuzumab: A Retrospective Analysis," *Lancet Neurology* 11:241-9 (2012)、参照によりその全体が本明細書に組み込まれる)。

#### 【0108】

本明細書で使用される「アミロイド関連画像異常」及び「ARIA」は互換的であり、血管原性浮腫及び溝浸出液(ARIA-E)及び微小出血及びヘモジデリン沈着物(ARIA-H)を含み、当業者によって認識される根本的な病理学的状態を表す(例えば、Amyloid-Related Imaging Abnormalities and -Amyloid-Targeting Antibodies, A Systemat

10

20

30

40

50

ic Review, Massimo Filippi, MD; et al., JAMA Neurol. 2022; 79(3): 291-304、及びAmyloid-Related Imaging Abnormalities with Emerging Alzheimer Disease Therapeutics: Detection and Reporting Recommendations for Clinical Practice, P.M. Cogswell, et al., Am J Neuroradiol 43: E19-E35 Sep 2022)を参照)。ARIAは、0~5のスケールでスコア化できる。このような有害事象の正確な原因は、分からぬが、一般に、抗アミロイド抗体治療が脳血管アミロイドとの相互作用を通して血液脳関門を破壊し、この破壊が漏出障壁及び患者の浮腫の発現につながると考えられている。いくつかの可能な作用機序が仮定されており、例えば、血管壁からのアミロイドの除去が神経血管単位を不安定にし、神経血管単位の炎症/浸潤物を局在化し、間質可溶性Aのレベルが高くなることによる脳血管アミロイドレベルの増加など、実質プラーククリアランス又は神経血管単位の星状細胞末端足突起におけるAQP-4の局在変化がある。

#### 【0109】

血管壁(CAA)にアミロイドが沈着すると、血管の完全性が失われ、血管周囲のクリアランスが低減することがあり得、自発的に微小出血に関連し得る。抗アミロイドモノクローナル抗体療法が開始されると、抗体を介したアミロイドplaquesの分解と、実質及び血管のAの動員により、血管周囲ドレナージの負荷が増加する。血管周囲ドレナージ経路の過負荷により、動脈壁へのアミロイド沈着が一時的に増加し得る。同時に、抗体を介した炎症及びアミロイドの分解も血管壁内で起こる。これらのプロセスにより、血管の完全性が更に失われ、血液脳関門が崩壊する。その結果、タンパク性液体及び/又は赤血球が実質及び/又は軟膜腔に漏れ出し、浮腫/浸出液(ARIA-E)又は微小出血/表在性鉄沈着症(ARIA-H)を引き起こす。

#### 【0110】

ARIAの治療又は予防を必要とする患者を特定する方法は、当業者に知られており、例えば、Amyloid-Related Imaging Abnormalities with Emerging Alzheimer Disease Therapeutics: Detection and Reporting Recommendations for Clinical Practice, P.M. Cogswell, et al., Am J Neuroradiol 43: E19-E35 Sep 2022, Detection and Management of Amyloid-Related Imaging Abnormalities in Patients with Alzheimer's Disease Treated with Anti-Amyloid Beta Therapy, J. Barakos et al., J Prev Alz Dis 2022; 2(9): 211-220(参照により本明細書に組み込まれる)、及び本明細書の他の先行する参考文献に記載されている。

#### 【0111】

ARIA-Eは、臨床的に無症候性である患者の定期的なプロトコル指定のサーベイランスMRIで最も頻繁に検出される。ARIA-Eが症候性である場合、その症状は、頭痛又は錯乱などの非局在化が最も一般的であるが、ARIA-Eの後方への関与が相対的に好まれることを考慮して、視覚障害、視空間障害、又は実行困難を追加で含めることができる。ARIA-EのEは、浮腫、浸出液、滲出液を表する。実質へのタンパク性液体の漏出は浮腫を引き起こし、画像の外観は血管原性浮腫に似ており、T2-FLAIRシーケンスで最もよく視覚化される。T2高強度シグナルは、白質、灰白質、又はその両方で発生する。関連する局所腫瘍効果及び脳回転腫脹が存在する可能性がある。所見は、拡散制限がないことにより、細胞障害性浮腫と区別される場合があり、急性梗塞に関連する激しい拡散制限は、ARIAの特徴ではない。漏出が軟膜腔で発生すると、結果は、タンパク性コンテンツに関連するT1短縮のため、T2-FLAIRシーケンスでのみ認識される溝浸出液又は滲出液になる。ARIA-Eは、実質浮腫又は溝浸出液のいずれかとし

10

20

30

40

50

て現れるか、又は両方が一緒に発生する可能性がある。いくつかの抗体試験分析では、溝浸出液が A R I A - E の最も一般的な症状であり、他の分析では実質浮腫であった。A R I A - E は、最も一般的には後頭葉に影響を与え、次に頭頂葉、前頭葉、及び側頭葉に影響を与え、最も少ない頻度で小脳に影響を与える。シグナル異常の強度及びサイズは、皮質 - 皮質下異常の微妙に小さな 1 ~ 2 cm ゾーンから、多発性から半球近くのシグナル T 2 - 高強度シグナルの変化まで、様々である。シグナル異常のこれらの領域は、一般に不明確なマージンを持っているが、まれにマージンを制限し、腫瘍性病変を模倣する場合がある。(例えば、Amyloid-Related Imaging Abnormalities with Emerging Alzheimer Disease Therapeutics: Detection and Reporting Recommendations for Clinical Practice, P. M. Cogswell, et al., Am J Neuroradiol 43: E19 - E35 Sep 2022 を参照)。

#### 【0112】

A R I A - H、出血には、微小出血と表在性鉄沈着症と、が含まれる。ヘム生成物の漏出が実質で発生すると、微小出血が発生する。微小出血は、直径が 10 mm 未満の、T 2 シーケンスの脳実質内の点状で丸みを帯びた、著しく低強度の病巣である。軟髄膜又は軟膜下腔へのヘム生成物の漏出は、脳表面に沿った曲線状の低強度として現れる表在性シデローシスをもたらす。大葉性大出血 (T 1 又は T 2 強調画像で識別可能な出血の病巣、通常はグラジエントリコールエコー [GRE] で直径が 10 mm を超える) は、抗アミロイド剤ではめったに発生せず、発生した場合は CAA などの基礎疾患プロセスの結果であり得る。(例えば、Amyloid-Related Imaging Abnormalities with Emerging Alzheimer Disease Therapeutics: Detection and Reporting Recommendations for Clinical Practice, P. M. Cogswell, et al., Am J Neuroradiol 43: E19 - E35 Sep 2022 を参照)。

#### 【0113】

場合によっては、アポリポタンパク質 E のイプシロン 4 対立遺伝子 (本明細書では A P O E e 4 又は A P O E 4 と呼ばれる) を有する患者では、A R I A - E の発生率が高くなる。A P O E 4 の 1 つ以上のコピーを有する対象は、リスクが高く、予防及び / 又は治療の必要性が高い可能性がある。予防又は治療の必要性のモニタリングには、ジェノタイプ、家族歴、並びに上記の M R I 若しくは C T イメージング、及び A R I A と一致する既知の症状のモニタリングが含まれる。血管又は脳実質のアミロイド疾患有する患者は、A R I A のリスクがあり得、A R I A の予防又は治療のために抗体 1 を必要とする対象である。

#### 【0114】

したがって、A D 患者などの患者において A R I A を治療又は予防する改善された方法が必要とされ、治療用アミロイド標的抗体で治療される。特に、本開示の抗体、特に抗体 1 と、1 つ以上の治療用アミロイド標的抗体との同時、別々、又は順次組み合わせの必要性が存在し、抗体 1 は、A R I A を予防又は治療するために使用される。アミロイド標的治療が A R I A を引き起こし得る既知の抗 A 抗体には、ドナネマブ、バピヌズマブ、ガンテネルマブ、アデュカヌマブ、GSK933776、ソラネズマブ、クレネズマブ、ポネズマブ、及びレカネマブ (BAN2401)、又は抗 N3pGlu A 抗体が含まれる。

#### 【0115】

本開示は更に、A R I A を予防又は治療するための、抗体 1 及び 1 つ以上の治療用アミロイド標的抗体の同時、別々、又は順次組み合わせを提供する。いくつかの実施形態では、治療が A R I A に関連し得る治療用アミロイド標的抗体には、ドナネマブ、バピヌズマブ、ガンテネルマブ、アデュカヌマブ、GSK933776、ソラネズマブ、クレネズマ

10

20

30

40

50

ズ、ボネズマブ、及びレカネマブ (BAN2401)、又は抗N3pG1uA抗体が含まれる。

【0116】

これらの実施形態では、「抗N3pG1uA抗体」、「抗N3pG抗体」、又は「抗N3pE抗体」は互換的に使用することができ、A1-40又はA1-42よりもN3pG1uAに優先的に結合する抗体を指す。当業者は、「抗N3pG1uA抗体」、並びに「hE8L」、「B12L」及び「R17L」を含むいくつかの特異的抗体が、米国特許第8,679,498B2号(参照によりその全体が本明細書に組み込まれる)に特定され、開示されている(作製及び使用方法とともに)ことを理解し、認識するであろう。例えば、米国特許第8,679,498B2号の表1を参照されたい。「hE8L」、「B12L」及び「R17L」抗体を含む、米国特許第8,679,498B2号に開示されている抗体の各々を、本開示の抗N3pG1uA抗体として、又は本発明の様々な態様に記載されている抗N3pG1uA抗体の代わりに使用することができる。本組み合わせ方法の抗N3pG1uA抗体は、それぞれ配列番号40及び41のH C及びL Cを含む抗体である。抗N3pG1uA抗体の他の代表的な種には、米国特許第8,961,972号、米国特許第10,647,759号、米国特許第9,944,696号、WO2010/009987A2、WO2011/151076A2、WO2012/136552A1及びその均等物、例えば、米国特許法第112条(f)の下に開示された抗体が挙げられるが、これらに限定されない。本開示の一態様は、抗N3pG1uA抗体を受けている患者において観察されたARIAの予防又は治療のための抗体1の使用を提供する。

10

20

【0117】

本開示の一態様は、沈着したアミロイドに結合する治療用抗体を受けている患者で観察され、いくつかの臨床開発プログラムで用量制限されているARIAの予防又は治療のための抗体1の使用を提供する。

【0118】

一実施形態において、本開示は、有効量の本開示の抗IL-34抗体を、それを必要としている患者に投与することを含む、ARIAを予防する方法を提供する。一実施形態では、本開示は、有効量の抗体1をそれを、必要とする患者に投与することを含む、ARIAを予防する方法を提供する。一実施形態では、本開示は、ARIAを治療する方法を提供し、有効量の本開示の抗体を、それを必要としている抗IL-34抗体を患者に投与することを含む。一実施形態では、本開示は、ARIAを治療する方法を提供し、有効量の本開示の抗体を、それを必要としている患者に投与することを含む。

30

【0119】

本開示はまた、ARIAの予防又は治療に使用するための本開示の抗IL-34抗体を提供する。本開示は、ARIAの予防又は治療に使用するための抗体1も提供する。

【0120】

特定の実施形態では、本開示は、ARIAの予防又は治療のための薬剤の製造における本開示の抗IL-34抗体の使用を提供する。

【0121】

本開示の抗体を使用する組み合わせ使用及び方法の更なる実施形態を以下に示す。組み合わせの実施形態は、抗体1に言及し得るが、実施形態は、本明細書に記載される本開示の抗体について本明細書に記載される類似の方法、使用、及びすべての制限を更に含む。組み合わせの実施形態は、本明細書に記載の抗N3pG A抗体の各々を指す「抗N3pG A抗体」を指し得るが、しかし明確にするために、これらの実施形態は、類似の方法、使用、及び抗N3pG A抗体の各々について個別に本明細書に記載するすべての限定を更に含み、例えば、ドナネマブと組み合わせて使用するのが好ましい。番号付けされた本開示の更なる実施形態、他の番号付けされた実施形態への内部基準を含む本開示の更なる実施形態を以下に示す。明確にするために、これらの実施形態は、それらが参照する番号付けされた実施形態と一緒に、個別に及び/又は集合的に読まれるべきである。

40

50

以下に記載する実施形態は、26番から始まる。「一連の治療」という用語は、特定の患者又は対象、言及された抗体、言及された用量、言及された頻度及び／又は期間、言及された順序、及びその他の制限を、それぞれの場合に記載されている範囲で指す。

【0122】

本開示の更なる組み合わせ実施形態は、以下を含む。

【0123】

1. ヒト I L - 3 4 に結合する抗体であって、前記抗体が、重鎖可変領域 (V H) と、軽鎖可変領域 (V L) と、を含み、前記 V H が、重鎖相補性決定領域 (H C D R) H C D R 1、H C D R 2、及び H C D R 3 を含み、前記 V L が、軽鎖相補性決定領域 (L C D R) L C D R 1、L C D R 2、及び L C D R 3 を含み、  
10

前記 H C D R 1 が、配列番号 5 を含み、

前記 H C D R 2 が、配列番号 6 を含み、

前記 H C D R 3 が、配列番号 7 を含み、

前記 L C D R 1 が、配列番号 8 を含み、

前記 L C D R 2 が、配列番号 9 を含み、及び

前記 L C D R 3 が、配列番号 10 を含む、抗体。

2. 前記 V H が、配列番号 3 を含み、前記 V L が、配列番号 4 を含む、実施形態 1 に記載の抗体。

3. 前記抗体が、配列番号 1 を含む重鎖 (H C) と、配列番号 2 を含む軽鎖 (L C) と、を含む、実施形態 1 又は 2 に記載の抗体。  
20

4. 配列番号 11 又は 12 をコードする配列を含む、核酸。

5. 実施形態 4 に記載の核酸を含む、ベクター。

6. 前記ベクターが、配列番号 11 をコードする第 1 の核酸配列と、配列番号 12 をコードする第 2 の核酸配列と、を含む、実施形態 5 に記載のベクター。

7. 配列番号 11 をコードする核酸配列を含む第 1 のベクターと、配列番号 12 をコードする核酸配列を含む第 2 のベクターと、を含む、組成物。

8. 実施形態 5 又は 6 に記載のベクターを含む、細胞。

9. 配列番号 11 をコードする核酸配列を含む第 1 のベクターと、配列番号 12 をコードする核酸配列を含む第 2 のベクターと、を含む、細胞。

10. 前記細胞が、哺乳動物細胞である、実施形態 8 又は 9 に記載の細胞。  
30

11. 抗体を產生するプロセスであって、前記抗体が発現するような条件下で、実施形態 8 ~ 10 のいずれか一項に記載の細胞を培養することと、発現した抗体を培養培地から回収することと、を含む、プロセス。

12. 実施形態 11 に記載のプロセスによって產生される、抗体。

13. 実施形態 1 ~ 3 又は 12 のいずれか一項に記載の抗体と、薬学的に許容される賦形剤、希釈剤、又は担体と、を含む、医薬組成物。

14. 免疫介在性疾患の治療を必要とする患者において、それを治療する方法であって、前記対象に、治療有効量の実施形態 1 ~ 3 若しくは 12 のいずれか一項に記載の抗体、又は実施形態 13 に記載の医薬組成物を投与することを含む、方法。

15. 前記免疫介在性疾患が、アルツハイマー病、タウオパチー病、シェーグレン症候群 (S S)、関節リウマチ (R A)、炎症性腸疾患 (I B D)、アトピー性皮膚炎、腎疾患、敗血症、及び／又は非アルコール性脂肪性肝疾患 (N A F L D) からなる群から選択される、実施形態 14 に記載の方法。  
40

16. 前記免疫介在性疾患が、アルツハイマー病である、実施形態 15 に記載の方法。

17. 療法に使用するための、実施形態 1 ~ 3 又は 12 のいずれか一項に記載の抗体。

18. 免疫介在性疾患の治療における使用のための、実施形態 1 ~ 3 若しくは 12 のいずれか一項に記載の抗体、又は実施形態 13 に記載の医薬組成物。

19. 前記免疫介在性疾患が、アルツハイマー病、タウオパチー病、シェーグレン症候群 (S S)、関節リウマチ (R A)、炎症性腸疾患 (I B D)、アトピー性皮膚炎、腎疾患、敗血症、筋萎縮性側索硬化症 (A L S)、及び／又は非アルコール性脂肪性肝疾患 (

N A F L D ) からなる群から選択される、実施形態 1 8 に記載の抗体又は医薬組成物。

2 0 . 前記免疫介在性疾患が、アルツハイマー病である、実施形態 1 8 に記載の抗体又は医薬組成物。

2 1 . 免疫介在性疾患の治療のための薬剤の製造における、実施形態 1 ~ 3 又は 1 2 のいずれか一項に記載の抗体の使用。

2 2 . 前記免疫介在性疾患が、アルツハイマー病、タウオパチー病、シェーグレン症候群 ( S S ) 、関節リウマチ ( R A ) 、炎症性腸疾患 ( I B D ) 、アトピー性皮膚炎、腎疾患、敗血症、及び / 又は非アルコール性脂肪性肝疾患 ( N A F L D ) からなる群から選択される、実施形態 2 1 に記載の使用。

2 3 . 前記免疫介在性疾患が、アルツハイマー病である、実施形態 2 1 に記載の使用。 10

2 4 . 体液中のヒト I L - 3 4 レベルを決定する方法であって、

( a ) 前記体液を、配列番号 3 1 のアミノ酸配列からなるヒト I L - 3 4 に特異的に結合する抗ヒト I L - 3 4 診断用モノクローナル抗体又はその抗原結合フラグメントと接触させること、ここで、前記抗体、又はその抗原結合フラグメントが、アミノ酸配列 ( 配列番号 8 ) 、 ( 配列番号 9 ) 、及び ( 配列番号 1 0 ) をそれぞれ含む軽鎖相補性決定領域 L C D R 1 、 L C D R 2 、及び L C D R 3 と、アミノ酸配列 ( 配列番号 5 ) 、 ( 配列番号 6 ) 、及び ( 配列番号 7 ) をそれぞれ含む重鎖相補性決定領域 H C D R 1 、 H C D R 2 、及び H C D R 3 と、を含み、

( b ) 適宜、非特異的に結合した任意のモノクローナル抗体又はその抗原結合フラグメントを除去することと、 20

( c ) ヒト I L - 3 4 に特異的に結合するモノクローナル抗体又はその抗原結合フラグメントの量を検出及び / 又は定量化することと、を含む、方法。

2 5 . 前記体液が、血液、血清若しくは血漿、又は脳脊髄液であり、前記接触がエクスピボで起こる、実施形態 2 4 に記載の方法。

2 6 . ヒト対象の脳内のアミロイドベータ ( A ) 沈着物を特徴とする疾患を治療又は予防する方法であって、その治療又は予防を必要とするヒト対象に、有効量の抗 N 3 p G A 抗体を、有効量の抗体 1 と同時に、別々に、又は順次組み合わせて投与することを含む、方法。

#### 【 0 1 2 4 】

2 7 . 抗 N 3 p G A 抗体がドナネマブである、実施形態 2 6 に記載の方法。 30

#### 【 0 1 2 5 】

2 8 . 疾患がアルツハイマー病である、実施形態 2 6 に記載の方法。

#### 【 0 1 2 6 】

2 9 . 抗 N 3 p G A 抗体がドナネマブであり、疾患がアルツハイマー病である、実施形態 2 6 の方法。

#### 【 0 1 2 7 】

3 0 . 抗体 1 が、ドナネマブによる一連の治療の後に順次投与される、実施形態 2 9 に記載の方法。

#### 【 0 1 2 8 】

3 1 . ヒト対象の脳内のアミロイドベータ ( A ) 沈着物を特徴とする疾患を治療又は予防する方法であって、 40

i ) ヒト対象に、1回以上の約 1 0 0 m g ~ 約 7 0 0 m g の第 1 の用量の抗 N 3 p G A 抗体を投与することであって、各第 1 の用量が、約 4 週間ごとに 1 回投与されることと、  
i i ) 1回以上の第 1 の用量を投与してから約 4 週間後に、ヒト対象に、1回以上の 7 0 0 m g 超 ~ 約 1 4 0 0 m g の第 2 の用量の抗 N 3 p G A 抗体を投与することであって、各第 2 の用量が、約 4 週間ごとに 1 回投与され、  
抗 N 3 p G 1 u A 抗体が、ドナネマブであり、

i i i ) ヒト対象に、有効量の抗体 1 を同時に、別々に、又は順次投与することと、を含む、方法。

#### 【 0 1 2 9 】

10

20

30

40

50

32. ヒト対象に、第2の用量を投与する前に第1の用量のドナネマブを1回、2回、又は3回投与される、実施形態31に記載の方法。

【0130】

33. ヒト対象に、約700mgの第1の用量のドナネマブを投与する、実施形態31又は32に記載の方法。

【0131】

34. ヒト対象に、1回以上の約800mg、約900mg、約1000mg、約1100mg、約1200mg、約1300mg、又は約1400mgの第2の用量のドナネマブを投与する、実施形態31～33のいずれか1つに記載の方法。

【0132】

35. ヒト対象に、1回以上の約1400mgの第2の用量のドナネマブを投与する、実施形態31～34のいずれか1つに記載の方法。

【0133】

36. 抗N3pG1uA抗体が、最長72週間の一連の治療期間にわたって、又はアミロイドの正常レベルが達成されるまで、ヒト対象に投与される、実施形態31～35のいずれか1つに記載の方法。

【0134】

37. 抗N3pG1uA抗体が、患者のアミロイドセンタークレベルが約25センチロイド以下になるまで、ヒト対象に投与される、実施形態31～36のいずれか1つに記載の方法。

【0135】

38. 抗N3pG1uA抗体が、ヒト対象におけるアミロイドセンタークレベルが2回の連続PETイメージングスキャンで約25センチロイド以下になるまで、一連の治療のためにヒト対象に投与され、適宜、2つの連続PETイメージングスキャンが、少なくとも6ヶ月間隔があるか、又は1回のPETイメージングスキャンで約11センチロイド以下である、実施形態31～36のいずれか1つに記載の方法。

【0136】

39. ヒト対象が、3回の700mgの第1の用量のドナネマブを4週間ごとに1回、次いで1400mgの第2の用量を4週間ごとに1回、最長72週間の一連の治療期間にわたって投与される、実施形態31～36のいずれか1つに記載の方法。

【0137】

40. 対象のアミロイドセンタークレベルが約25センチロイド以下になるまで、ヒト対象が、3回の700mgの第1の用量を4週間ごとに1回、次いで1400mgの第2の用量を4週間ごとに1回投与される、実施形態31～36のいずれか1つに記載の方法。

【0138】

41. 対象のアミロイドセンタークレベルが2回の連続PETイメージングスキャンで約25センチロイド以下になるまで、ヒト対象が、3回の700mgの第1の用量のドナネマブを4週間ごとに1回、次いで1400mgの第2の用量を4週間ごとに1回投与され、適宜、2回の連続PETイメージングスキャンが少なくとも6ヶ月間隔があるか、又は1回のPETイメージングスキャンで約11センチロイド以下である、実施形態31～36のいずれか1つに記載の方法。

【0139】

42. 疾患を治療又は予防するのに十分な一連の治療期間にわたって、ヒト対象にドナネマブの第2の用量を投与する、実施形態31～41のいずれか1つに記載の方法。

【0140】

43. 疾患の治療又は予防が、i)ヒト対象の脳内のA沈着物の低減、及び/又はii)ヒト対象の認知又は機能低下の遅延を引き起こす、実施形態31～42のいずれか1つに記載の方法。

【0141】

44. ヒト対象の脳内のA沈着物の低減が、アミロイドPET脳イメージング又はA

10

20

30

40

50

のバイオマーカーを検出する診断法によって決定される、実施形態 4 3 に記載の方法。

【 0 1 4 2 】

4 5 . 第 2 の用量は、ヒト対象の脳内の A 沈着物が約 2 0 ~ 1 0 0 % 減少するまで、ヒト対象に投与される、実施形態 4 3 又は 4 4 に記載の方法。

【 0 1 4 3 】

4 6 . ヒト対象の脳内の A 沈着物が、約 2 0 %、約 2 5 %、約 3 0 %、約 3 5 %、約 4 0 %、約 4 5 %、約 5 0 %、約 7 5 %、又は約 1 0 0 % 低減する、実施形態 4 5 に記載の方法。

【 0 1 4 4 】

4 7 . ヒト対象の脳内の A 沈着物が、 i ) およその平均で約 2 5 センチロイド ~ 約 1 0 0 センチロイド、 i i ) およその平均で約 5 0 センチロイド ~ 約 1 0 0 センチロイド、 i i i ) 約 1 0 0 センチロイド、又は i v ) 約 8 4 センチロイド 低減するまで、ドナネマブの第 2 の用量をヒト対象に投与する、実施形態 3 1 ~ 4 4 のいずれか 1 つに記載の方法。

【 0 1 4 5 】

4 8 . ヒト対象の脳内の A 沈着を特徴とする疾患が、前臨床アルツハイマー病 ( A D ) 、臨床 A D 、前駆期 A D 、軽度 A D 、中等度 A D 、重度 A D 、ダウン症候群、臨床的脳アミロイド血管症、又は前臨床的脳アミロイド血管症から選択される、実施形態 3 1 ~ 4 7 のいずれか 1 つに記載の方法。

【 0 1 4 6 】

4 9 . ヒト対象が、早期症候性 A D 患者である、実施形態 3 1 ~ 4 8 のいずれか 1 つに記載の方法。

【 0 1 4 7 】

5 0 . ヒト対象が、前駆期 A D 及び A D による軽度の認知症を有する、実施形態 4 9 に記載の方法。

【 0 1 4 8 】

5 1 . ヒト対象が、 i ) 非常に低いから中等度のタウ負荷を有するか、若しくは非常に低いから中等度のタウ負荷を有することが決定されている、 i i ) 低いから中等度のタウ負荷を有するか、若しくは低いから中等度のタウ負荷を有することが決定されている、 i i i ) 非常に低いから中等度のタウ負荷を有するか、若しくは非常に低いから中等度のタウ負荷及び A P O E e 4 の 1 つ又は 2 つの対立遺伝子を有することが決定されている、 i v ) 低いから中等度のタウ負荷を有するか、若しくは低いから中等度のタウ負荷及び A P O E e 4 の 1 つ又は 2 つの対立遺伝子を有することが決定されている、又は v ) A P O E e 4 の 1 つ又は 2 つの対立遺伝子を有する、実施形態 2 6 ~ 5 0 のいずれか 1 つに記載の方法。

【 0 1 4 9 】

5 2 . ヒト対象が、 i ) P E T 脳イメージングによって測定されるタウ負荷が 1 . 4 6 S U V r 以下である場合、非常に低いから中等度のタウ負荷を有するか、又は i i ) P E T 脳イメージングによって測定されるタウ負荷が 1 . 1 0 S U V r ~ 1 . 4 6 S U V r である場合、低いから中等度のタウ負荷を有する、実施形態 5 1 に記載の方法。

【 0 1 5 0 】

5 3 . ヒト対象が、 i ) 高いタウ負荷を有していないか、若しくは高いタウ負荷を有していないと決定されているか、又は i i ) A P O E e 4 の 1 つ又は 2 つの対立遺伝子を保有し、高いタウ負荷を有していないか、若しくは有していないと決定されている、実施形態 2 6 ~ 5 0 のいずれか 1 つに記載の方法。

【 0 1 5 1 】

5 4 . P E T 脳イメージングによって測定されるタウ負荷が、 1 . 4 6 S U V r を超える場合、ヒト対象は、高いタウ負荷を有する、実施形態 5 3 に記載の方法。

【 0 1 5 2 】

5 5 . ヒト対象のタウ負荷が、 P E T 脳イメージング又はタウのバイオマーカーを検出する診断法を使用して決定される、実施形態 5 1 又は 5 3 に記載の方法。

10

20

30

40

50

## 【0153】

56. ヒト対象の脳内のA沈着物を特徴とする疾患の治療又は予防のための薬剤の製造における、抗体1と同時、別々、若しくは順次組み合わせた、抗N3pG1uA抗体の使用であって、

1回以上の約100mg～約700mgの第1の用量の抗N3pG1uA抗体が投与され、各第1の用量が、約4週間ごとに1回投与され、続いて1回以上の700mg超～約1400mgの第2の用量が、1回以上の第1の用量の投与の4週間後に投与され、各第2の用量の抗N3pG1uA抗体が、約4週間ごとに1回投与され、抗N3pG1uA抗体が、ドナネマブである、使用。

## 【0154】

10

57. ヒト対象に、ドナネマブの第2の用量を投与する前に、ドナネマブの第1の用量を1回、2回、又は3回投与する、実施形態56に記載の使用。

## 【0155】

58. ヒト対象に、約700mgのドナネマブの第1の用量を3回投与する、実施形態56又は57に記載の使用。

## 【0156】

59. ヒト対象に、1回以上の約800mg、約900mg、約1000mg、約1100mg、約1200mg、約1300mg、又は約1400mgの第2の用量のドナネマブを投与する、実施形態56～58のいずれか1つに記載の使用。

## 【0157】

20

60. ヒト対象に、1回以上の約1400mgの第2の用量のドナネマブを投与する、実施形態56～59のいずれか1つに記載の使用。

## 【0158】

61. 抗N3pG1uA抗体が、最長72週間の一連の治療期間にわたって、又はアミロイドの正常レベルが達成されるまで、ヒト対象に投与される、実施形態56～60のいずれか1つに記載の使用。

## 【0159】

62. 患者におけるアミロイドセンタークレベルが約25センチロイド以下になるまで、抗N3pG1uA抗体が、ヒト対象に投与される、実施形態56～61のいずれか1つに記載の使用。

30

## 【0160】

63. 患者におけるアミロイドセンタークレベルが2回の連続PETイメージングスキャンで約25センチロイド以下になるまで、抗N3pG1uA抗体が、ヒト対象に投与され、適宜、2回の連続PETイメージングスキャンが、少なくとも6ヶ月間隔があるか、又は1回のPETイメージングスキャンで約11センチロイド以下である、実施形態56～61のいずれか1つに記載の使用。

## 【0161】

64. ヒト対象が、3回の700mgの第1の用量のドナネマブを4週間ごとに1回、次いで1400mgの第2の用量のドナネマブを4週間ごとに1回、最長72週間の期間にわたって投与される、実施形態56～61のいずれか1つに記載の使用。

40

## 【0162】

65. 患者におけるアミロイドセンタークレベルが約25センチロイド以下になるまで、ヒト対象が、3回の700mgの第1の用量のドナネマブを4週間ごとに1回、次いで1400mgの第2の用量のドナネマブを4週間ごとに1回投与される、実施形態56～61のいずれか1つに記載の使用。

## 【0163】

66. 患者におけるアミロイドセンタークレベルが2回の連続PETイメージングスキャンで約25センチロイド以下になるまで、ヒト対象が、3回の700mgの第1の用量のドナネマブを4週間ごとに1回、次いで1400mgの第2の用量のドナネマブを4週間ごとに1回投与され、適宜、2回の連続PETイメージングスキャンが少なくとも6ヶ月

50

間隔があるか、又は1回のP E Tイメージングスキャンで約11センチロイド以下である、実施形態56～61のいずれか1つに記載の使用。

【0164】

67.ヒト対象に、疾患を治療又は予防するのに十分な一連の治療期間にわたってドナネマブの第2の用量を投与する、実施形態56～66のいずれか1つに記載の使用。

【0165】

68.疾患の治療又は予防が、i)ヒト対象の脳内のA沈着物の低減、及び/又はii)ヒト対象における認知若しくは機能低下の遅延を引き起こす、実施形態56～67のいずれか1つに記載の使用。

【0166】

69.ヒト対象の脳内のA沈着物の低減が、アミロイドP E T脳イメージング又はAのバイオマーカーを検出する診断法によって決定される、実施形態68に記載の使用。

【0167】

70.ヒト対象の脳内のA沈着物が約20～100%低減するまで、ドナネマブの第2の用量をヒト対象に投与する、実施形態68又は69に記載の使用。

【0168】

71.ヒト対象の脳内のA沈着物が約20%、約25%、約30%、約35%、約40%、約45%、約50%、約75%、又は約100%低減する、実施形態70に記載の使用。

【0169】

72.患者における脳内のA沈着物が100%低減する、実施形態70又は71に記載の使用。

【0170】

73.ヒト対象の脳内のA沈着物が、i)およその平均で約25センチロイド～約100センチロイド、ii)およその平均で約50センチロイド～約100センチロイド、iii)約100センチロイド、又はiv)約84センチロイド低減するまで、ドナネマブの第2の用量がヒト対象に投与される、実施形態56～72のいずれか1つに記載の使用。

【0171】

74.ヒト対象の脳内のA沈着物を特徴とする疾患が、前臨床アルツハイマー病、臨床A D、前駆期A D、軽度A D、中等度A D、重度A D、ダウントン症候群、臨床的脳アミロイド血管症、又は前臨床的脳アミロイド血管症から選択される、実施形態56～73のいずれか1つに記載の使用。

【0172】

75.ヒト対象が、早期症候性A D患者であるか、又はヒト対象が、前駆期A D若しくはA Dによる軽度の認知症を有する、実施形態56～74のいずれか1つに記載の使用。

【0173】

76.ヒト対象が、i)非常に低いから中等度のタウ負荷を有するか、若しくは非常に低いから中等度のタウ負荷を有することが決定されている、ii)低いから中等度のタウ負荷を有するか、若しくは低いから中等度のタウ負荷を有することが決定されている、iii)非常に低いから中等度のタウ負荷を有するか、若しくは非常に低いから中等度のタウ負荷及びAPOE e 4の1つ又は2つの対立遺伝子を有することが決定されている、iv)低いから中等度のタウ負荷を有するか、若しくは低いから中等度のタウ負荷及びAPOE e 4の1つ又は2つの対立遺伝子を有することが決定されている、又はv) A P O E e 4の1つ又は2つの対立遺伝子を有する、実施形態56～75のいずれか1つに記載の使用。

【0174】

77.ヒト対象が、i)P E T脳イメージングによって測定されるタウ負荷が1.46SUVr以下である場合、非常に低いから中等度のタウ負荷を有するか、又はii)P E T脳イメージングによって測定されるタウ負荷が1.10SUVr～1.46SUVrで

10

20

30

40

50

ある場合、低いから中等度のタウ負荷を有する、実施形態 7 6 の使用。

【 0 1 7 5 】

7 8 . ヒト対象が、 i ) 高いタウ負荷を有していないか、若しくは高いタウ負荷を有していないと決定されているか、又は i i ) A P O E e 4 の 1 つ又は 2 つの対立遺伝子を保有し、高いタウ負荷を有していないか、若しくは高いタウ負荷を有していないと決定されている、実施形態 5 6 ~ 7 5 のいずれか 1 つに記載の使用。

【 0 1 7 6 】

7 9 . P E T 脳イメージングによって測定されるタウ負荷が 1 . 4 6 S U V r を超える場合、ヒト対象は、高いタウ負荷を有する、実施形態 7 8 に記載の使用。

【 0 1 7 7 】

8 0 . ヒト対象のタウ負荷が、タウ P E T 脳イメージング又はタウのバイオマーカーを検出する診断法を使用して決定される、実施形態 7 6 又は 7 8 に記載の使用。

【 0 1 7 8 】

8 1 . 非常に低いから中等度のタウ負荷、若しくは低いから中等度のタウ負荷を有するか、又は i i ) 非常に低いから中等度のタウ負荷、若しくは低いから中等度のタウ負荷及び A P O E e 4 の 1 つ又は 2 つの対立遺伝子を有することが決定されているヒト対象の脳内アミロイドベータ ( A ) 沈着物を特徴とする疾患を治療又は予防する方法であって、 i ) ヒト対象に、 1 回以上の約 1 0 0 m g ~ 約 7 0 0 m g の第 1 の用量のドナネマブを投与すること、ここで、ドナネマブの各第 1 の用量が約 4 週間ごとに 1 回投与され、

i i ) 1 回以上の第 1 の用量を投与した 4 週間後に、ヒト対象に、 1 回以上の 7 0 0 m g 超 ~ 約 1 4 0 0 m g の第 2 の用量のドナネマブを投与することを含み、ここで、各第 2 の用量が、約 4 週間ごとに 1 回投与され、

有効量の抗体 1 と同時に、別々に、又は順次組み合わせる、方法。

【 0 1 7 9 】

8 2 . ヒト対象の脳内のアミロイドベータ ( A ) 沈着物を特徴とする疾患を治療又は予防する方法であって、

ヒト対象が側頭葉、後頭葉、頭頂葉、又は前頭葉にタウ負荷を有する場合、ヒト対象が、脳の側頭葉、後頭葉、頭頂葉、又は前頭葉にタウ負荷を有しているかどうかを決定し、次いで

i ) ヒト対象に、 1 回以上の約 1 0 0 m g ~ 約 7 0 0 m g の第 1 の用量の抗 N 3 p G 1 u A 抗体を投与すること、ここで、各第 1 の用量が、約 4 週間ごとに 1 回投与され、

i i ) 1 回以上の第 1 の用量を投与した約 4 週間後に、ヒト対象に、 1 回以上の 7 0 0 m g 超 ~ 約 1 4 0 0 m g の第 2 の用量の抗 N 3 p G 1 u A 抗体を投与することを含み、ここで、各第 2 の用量が、約 4 週間ごとに 1 回投与され、

有効量の抗体 1 と同時に、別々に、又は順次組み合わせる、方法。

【 0 1 8 0 】

8 3 . ヒト対象が、脳の後外側側頭葉又は側頭葉にタウ負荷を有する、実施形態 8 2 に記載の方法。

【 0 1 8 1 】

8 4 . ヒト対象が、脳の後頭葉にタウ負荷を有する、実施形態 8 2 に記載の方法。

【 0 1 8 2 】

8 5 . ヒト対象が、脳の頭頂葉にタウ負荷を有する、実施形態 8 2 に記載の方法。

【 0 1 8 3 】

8 6 . ヒト対象が、脳の前頭葉にタウ負荷を有する、実施形態 8 2 に記載の方法。

【 0 1 8 4 】

8 7 . ヒト対象が、脳の後外側側頭葉 ( P L T ) 及び / 又は後頭葉にタウ負荷を有する、実施形態 8 2 に記載の方法。

【 0 1 8 5 】

8 8 . ヒト対象が、脳の P L T 若しくは後頭部領域におけるタウ負荷とともに、 i ) 頭頂若しくは楔前領域、又は i i ) 前頭領域におけるタウ負荷を有する、実施形態 8 2 ~ 8

10

20

30

40

50

7 のいずれか 1 つに記載の方法。

【 0 1 8 6 】

8 9 . ヒト対象が、 i ) 前頭葉に隔離されたタウ負荷、又は i i ) 脳の後外側側頭領域 ( P L T ) を含まない側頭葉の領域にタウ負荷を有する、実施形態 8 2 ~ 8 6 のいずれか 1 つに記載の方法。

【 0 1 8 7 】

9 0 . ヒト対象が、脳の後外側側頭葉、後頭葉、及び頭頂葉にタウ負荷を有する、実施形態 8 2 ~ 8 8 のいずれか 1 つに記載の方法。

【 0 1 8 8 】

9 1 . ヒト対象が、脳の後外側側頭葉、後頭葉、頭頂葉、及び前頭葉にタウ負荷を有する、実施形態 8 2 ~ 8 8 のいずれか 1 つに記載の方法。

【 0 1 8 9 】

9 2 . ヒト対象が、脳の後外側側頭葉、後頭葉、頭頂葉及び / 又は前頭葉にタウ負荷を有する、実施形態 8 2 ~ 8 8 のいずれか 1 つに記載の方法。

【 0 1 9 0 】

9 3 . ヒト対象に、第 2 の用量を投与する前に第 1 の用量を 1 回、 2 回、又は 3 回投与する、実施形態 8 2 ~ 9 2 のいずれか 1 つに記載の方法。

【 0 1 9 1 】

9 4 . ヒト対象に、約 7 0 0 m g の第 1 の用量を投与する、実施形態 8 2 ~ 9 3 のいずれか 1 つに記載の方法。

【 0 1 9 2 】

9 5 . ヒト対象に、1 回又は複数回の約 8 0 0 m g 、約 9 0 0 m g 、約 1 0 0 0 m g 、約 1 1 0 0 m g 、約 1 2 0 0 m g 、約 1 3 0 0 m g 、又は約 1 4 0 0 m g の第 2 の用量を投与する、実施形態 8 2 ~ 9 4 のいずれか 1 つに記載の方法。

【 0 1 9 3 】

9 6 . ヒト対象に、1 回以上の約 1 4 0 0 m g の第 2 の用量を投与する、実施形態 8 2 ~ 9 5 のいずれか 1 つに記載の方法。

【 0 1 9 4 】

9 7 . 抗 N 3 p G 1 u A 抗体が、最長 7 2 週間の期間、又はアミロイドの正常レベルが達成されるまで、ヒト対象に投与される、実施形態 8 2 ~ 9 6 のいずれか 1 つに記載の方法。

【 0 1 9 5 】

9 8 . 抗 N 3 p G 1 u A 抗体が、患者のアミロイドセンタークレベルが約 2 5 センチロイド以下になるまで、ヒト対象に投与される、実施形態 8 2 ~ 9 7 のいずれか 1 つの方法。

【 0 1 9 6 】

9 9 . ヒト対象におけるアミロイドセンタークレベルが、2 回の連続 P E T イメージングスキャンで約 2 5 センチロイド以下になるまで、抗 N 3 p G 1 u A 抗体が、ヒト対象に投与され、適宜、2 回の連続 P E T イメージングスキャンが、少なくとも 6 ヶ月間隔があるか、又は 1 回の P E T イメージングスキャンで約 1 1 センチロイド以下である、実施形態 8 2 ~ 9 8 のいずれか 1 つに記載の方法。

【 0 1 9 7 】

1 0 0 . ヒト対象に、7 0 0 m g の第 1 用量を 4 週間ごとに 1 回で 3 回投与し、次いで、 1 4 0 0 m g の第 2 の用量を 4 週間ごとに 1 回、最長 7 2 週間投与する、実施形態 8 2 ~ 9 9 のいずれか 1 つに記載の方法。

【 0 1 9 8 】

1 0 1 . 対象におけるアミロイドセンタークレベルが、約 2 5 センチロイド以下になるまで、ヒト対象に、4 週間ごとに 1 回 7 0 0 m g の第 1 の用量を 3 回投与し、次いで、4 週間ごとに 1 回 1 4 0 0 m g の第 2 の用量を投与する、実施形態 8 2 ~ 1 0 0 のいずれか 1 つに記載の方法。

10

20

30

40

50

## 【0199】

102. 対象におけるアミロイドセンタークレベルが、2回の連続PETイメージングスキャンで約25センチロイドになるまで、ヒト対象に、4週間ごとに1回700mgの第1の用量を3回投与し、次いで、4週間ごとに1回1400mgの第2の用量を投与し、適宜、2回の連続PETイメージングスキャンが、少なくとも6ヶ月間隔があるか、又は1回のPETイメージングスキャンで約11センチロイド以下である、実施形態82～101のいずれか1つに記載の方法。

## 【0200】

103. 疾患を治療又は予防するのに十分な期間、ヒト対象に第2の用量を投与する、実施形態82～102のいずれか1つに記載の方法。

10

## 【0201】

104. 疾患の治療又は予防が、i) ヒト対象の脳内のA沈着物の低減、及び/又はii) ヒト対象の認知又は機能低下の遅延を引き起こす、実施形態82～103のいずれか1つに記載の方法。

## 【0202】

105. ヒト対象の脳内のA沈着物の低減が、アミロイドPET脳イメージング又はAのバイオマーカーを検出する診断法によって決定される、実施形態97に記載の方法。

## 【0203】

106. 第2の用量は、ヒト対象の脳内のA沈着物が約20～100%低減するまで、ヒト対象に投与される、実施形態97又は98に記載の方法。

20

## 【0204】

107. ヒト対象の脳内のA沈着物が、約20%、約25%、約30%、約35%、約40%、約45%、約50%、約75%、又は約100%低減する、実施形態106に記載の方法。

## 【0205】

108. 第2の用量は、ヒト対象の脳内のA沈着物が、i) およそその平均で約25センチロイド～約100センチロイド、ii) およそその平均で約50センチロイド～約100センチロイド、iii) 約100センチロイド、又はiv) 約84センチロイド低減するまで、ヒト対象に投与される、実施形態82～107のいずれか1つに記載の方法。

## 【0206】

109. ヒト対象の脳内のA沈着物を特徴とする疾患が、前臨床アルツハイマー病(AD)、臨床AD、前駆期AD、軽度AD、中等度AD、重度AD、ダウン症候群、臨床的脳アミロイド血管症、又は前臨床的脳アミロイド血管症から選択される、実施形態82～108のいずれか1つに記載の方法。

30

## 【0207】

110. ヒト対象が、早期症候性AD患者である、実施形態82～109のいずれか1つに記載の方法。

## 【0208】

111. ヒト対象が、前駆期AD及びADによる軽度の認知症を有する、実施形態109に記載の方法。

40

## 【0209】

112. ヒト対象が、i) 非常に低いから中等度のタウ負荷を有するか、若しくは非常に低いから中等度のタウ負荷を有することが決定されているか、又はii) 低いから中等度のタウ負荷を有するか、若しくは低いから中等度のタウ負荷を有することが決定されている、実施形態82～111のいずれか1つに記載の方法。

## 【0210】

113. ヒト対象が、i) PET脳イメージングによって測定されるタウ負荷が、1.46 SUVr以下である場合、非常に低いから中等度のタウ負荷を有するか、又はii) PET脳イメージングによって測定されるタウ負荷が、1.10 SUVr～1.46 SUVrである場合、低いから中等度のタウ負荷を有する、実施形態112に記載の方法。

50

## 【0211】

114. ヒト対象が、高いタウ負荷を有していないか、又は高いタウ負荷を有していないと決定されている、実施形態82～113のいずれか1つに記載の方法。

## 【0212】

115. PET脳イメージングによって測定されるタウ負荷が、1.46 SUVrを超える場合、ヒト対象は、高いタウ負荷を有する、実施形態114に記載の方法。

## 【0213】

116. ヒト対象のタウ負荷が、PET脳イメージング又はタウのバイオマーカーを検出する診断法を使用して決定される、実施形態114又は115に記載の方法。

## 【0214】

117. 抗N3pGluA抗体が、ドナネマブを含む、実施形態82～116のいずれか1つに記載の方法。

10

## 【0215】

118. 患者が、APOE e4の1つ又は2つの対立遺伝子を有する、実施形態82～117のいずれか1つに記載の方法。

## 【0216】

119. タウ負荷の更なる増加を減少させる／予防する、又はヒト脳の側頭葉、後頭葉、頭頂葉、又は前頭葉におけるタウ蓄積速度を遅らせる方法であって、抗N3pGluA抗体をヒト対象に有効量の抗体1と同時に、別々に、又は順次組み合わせて投与することを含む、方法。

20

## 【0217】

120. ARIAの治療を必要とする対象において、それを治療する方法であって、治療有効量の抗体1又はその医薬組成物を対象に投与することを含む、方法。

## 【0218】

121. ARIAの予防を必要とする対象において、それを予防する方法であって、治療有効量の抗体1又はその医薬組成物を対象に投与することを含む、方法。

## 【図面の簡単な説明】

## 【0219】

【図1】hCSF1R発現293SRE細胞におけるヒトIL-34誘導ルシフェラーゼレポーター活性の抗体1中和を示す。

30

【図2】NIH-3T3/CSF1R細胞のERKリン酸化を阻害する抗体1の能力を示す。三角形は、アイソタイプ対照抗体で処理した細胞を表し、丸は、抗体1で処理した細胞を表し、星印は、アッセイにIL-34を添加していないこと(アッセイベースライン)を表す。

## 【実施例】

## 【0220】

以下の実施例は、特許請求された発明を説明するために提供され、これを限定するものではない。以下のアッセイの結果は、本開示の抗体1などの例示されるモノクローナル抗体がIL-34に結合及び／又は中和し、したがって、本明細書に記載の免疫介在性及び炎症性疾患を治療するために使用し得ることを示している。

40

## 【0221】

## 実施例1：抗体の生成、発現及び精製

ヒト抗IL-34抗体のパネルを、完全ヒト酵母ディスプレイライブラリーを使用して取得し、効果的なヒトIL-34中和抗体であり得る試薬を特定するためにスクリーニングされる。親和性が改善されたクローンを単離するために、変異を各抗体の個々の相補性決定領域(CDR)に体系的に導入し、得られたライブラリーを、抗原濃度を低下させ、かつ／又は解離の時間の増やしながら、複数ラウンドの選択にかける。個々のバリエントの配列を決定し、使用して、コンビナトリアルライブラリーを構築し、それを、ストリングエンシーを高めながら追加ラウンドの選択にかけて、個々のCDR領域間の相加的又は相乗的な変異のペアリングを特定する。個々のコンビナトリアルクローンを、配列決定し

50

、結合特性を決定する。IL-34に対する親和性を更に高めるために、これらのコンビナトリアルクローニングを追加ラウンドの単一及びコンビナトリアル突然変異誘発にかけてもよい。このスクリーニングをヒト又はカニクイザルIL-34に対して行い、選択した種に対する親和性を高めることができる。選択した抗体を変異誘発して、IL-34に対する結合親和性を維持しながら、異性化などの翻訳後変更を修復することもできる。追加的に、潜在的な免疫原性リスクを低減するために、フレームワーク(FW)又はCDR置換を抗体に対して行って、配列をそれらの生殖系列状態に戻すことができる。

#### 【0222】

例えば、本明細書で抗体1と呼ばれる、改変及び/又は最適化された抗IL-34抗体が得られ、重鎖及び軽鎖の可変領域のアミノ酸配列と、完全な重鎖及び軽鎖アミノ酸配列と、以下の「アミノ酸及びヌクレオチド配列のリスト」と題するセクションにリストされているものと同じものをコードするヌクレオチド配列と、を有する。これらの配列に対応する配列番号、並びに軽鎖及び重鎖のCDRアミノ酸配列を表1に示す。

10

#### 【0223】

本開示の例示される抗IL-34抗体は、本質的に以下のとおりに発現及び精製され得る。HEK293、NS0又はCHOなどの適切な宿主細胞を、最適な所定のHC:LCベクター比(1:3又は1:2又は1:1など)又はHC及びLCの両方をコードする単一のベクター系を使用して抗体を分泌するための発現系で、一時的に又は安定的にトランスフェクトすることができる。

20

#### 【0224】

発現プラスミドは、例えば、抗体1のLC及びHCをコードするDNA(例示される抗体1のHCをコードする配列番号11のDNA配列、及び例示される抗体1のLCアミノ酸配列をコードする配列番号12のDNA配列)を含み、一般的に使用され、かつこの目的のための適切な構築物から表現される。クローニング由来の細胞株を増殖させ、抗体1産生についてスクリーニングし、クローニング由来の細胞株を選択して確立する。この細胞株は、動物成分を含む材料を一切使用せずに生成され、生産に使用される。

30

#### 【0225】

抗体が分泌される浄化された培地は、イオン交換及び疎水性相互作用クロマトグラフィーの混合モード法などの従来の技術によって精製され得る。例えば、培地は、従来の方法を使用して、プロテインA又はプロテインGカラムに適用され、そこから溶離することができ、イオン交換及び疎水性相互作用クロマトグラフィーの混合モード法も使用してよい。可溶性凝集体及び多量体を、サイズ排除、疎水性相互作用、イオン交換、又はヒドロキシアパタイトクロマトグラフィーを含む一般的な技術によって効果的に除去し得る。本開示の例示されるIL-34抗体は、一般的な技術を使用して濃縮及び/又は滅菌濾過される。これらのクロマトグラフィーステップ後の例示される抗体の純度は、95%超である。本開示の例示される抗IL-34抗体は、-70で直ちに凍結され得るか、又は4で数ヶ月間保存され得る。

30

#### 【0226】

##### 実施例2：抗IL-34抗体の特徴付け

##### ヒト及びカニクイザルIL-34に対する結合親和性

40

ヒト及び/又はカニクイザル(cyno)IL-34に対する本開示の抗IL-34モノクローナル抗体の結合親和性は、当技術分野で公知の方法によって決定することができる。手短に言うと、抗体の結合親和性及び動態学は、BIAcore(商標)8K(Cytiva)を37で使用して表面プラズモン共鳴によって評価される。結合親和性は、BIAcore(商標)Sensor Chip Protein A(Cytiva)に抗IL-34抗体を固定化し、HBS-EP+緩衝液(Teknova)で2倍連続希釈した25nM又は12.5nMから開始して、ヒト又はカニクイザルIL-34を流すことによって測定される。各サイクルで、200μLのIL-34を固定化抗体上に100μL/分で流し、次いで20分間解離させる。チップ表面は、pH1.5のグリシン緩衝液50μLで流速100μL/分で再生される。データを1:1のLangmuir結合

50

モデルに適合させて  $k_{on}$ 、 $k_{off}$  を導き出して、 $K_D$  を計算する。表 3 は、例示される抗体 1 についてヒト及びカニクイザル IL-34 のための少なくとも 3 回の実験の平均を示す。

【表 3】

表 3 : 37°Cでの抗体-ヒト及びカニクイザル IL-34 複合体の結合親和性( $K_D$ )

結合親和性及び動態				
抗体	抗原	$K_{on}$ (1/M)	$K_{off}$ (1/秒)	$K_D$ (pM)
例示される抗体 1	ヒト	6.6E+06±3.8E+05	1.7E-04±1.5E-05	25.9±1.7
例示される抗体 1	カニクイザル	6.0E+06±1.5E+06	1.8E-04±1.6E-05	31.0±5.9

【0227】

実施例 3 : 抗ヒト IL-34 抗体のインビトロでの機能的特徴付け

本開示の抗体を、 IL-34 結合及び / 又は活性を中和する能力について試験する。本開示の抗体による IL-34 結合及び / 又は活性の中和は、例えば、以下に記載のように、1つ以上の IL-34 / CSF1R 受容体結合アッセイフォーマット、並びに IL-34 細胞ベースの活性アッセイによって評価され得る。

【0228】

CSF1R から IL-34 を置換する抗体 1 の能力

IL-34 / CSF1R 結合の中和抗体のアッセイは、酵素アッセイを使用して行うことができる。そのようなアッセイは、 IL-34 に結合することができる組換え発現 CSF1R 細胞外ドメインタンパク質を使用することができる。可溶性 IL-34 を捕捉するために、これらのタンパク質を ELISA プレートに結合させることができる。次いで、 IL-34 は、抗原のビオチン化、及びストレプトアビシン / ニュートラアビシン結合ペルオキシダーゼ又はホスファターゼ酵素による検出のいずれかによって検出されることができる。そのような中和アッセイは、結合アッセイに添加する前に、標識された IL-34 ( 並びに IL-34 を標的とする抗体が関与しない対照試料 ) で評価される抗体のプレインキュベーション ( 例えば 1 時間 ) を含む。

【0229】

CSF1R 細胞外ドメインタンパク質 ( hCSF1R\_Fc 、 R & D から市販されている、カタログ番号 329-MR 、カニクイザル CSF1R\_ECD-Fc ( AAA は CSF1R 細胞外ドメインと Fc との間のリンカーである ) ( 配列番号 34 ) ) は、可溶性ビオチン化 IL-34 を捕捉するために 30 nM の濃度で ELISA プレートに結合することができ、1時間結合させた。プレートを洗浄してブロッキングした後、ビオチン化 IL-34 を加え、次いでストレプトアビシン結合ペルオキシダーゼで検出し得る。 CSF1R から IL-34 を置換するのに必要な抗体の濃度を決定するために、 80 % 結合レベル ( EC<sub>80</sub> ) ( 3.7 nM ) に近い標識 IL-34 の濃度を様々な抗体濃度 ( 0 ~ 100 nM ) と組み合わせて使用することができる。1時間のインキュベーション後、 CSF1R に結合した IL-34 は、ストレプトアビシン結合ペルオキシダーゼを介して検出される。抗体をアッセイし ( n = 2 ) 、各濃度での平均及び標準偏差を計算する。 CSF1R から IL-34 を置換する抗体の効力は、 IC<sub>50</sub> ( nM ) として報告され、計算された信頼区間 ( CI ) を表 4 及び表 5 に示す。

10

20

30

40

50

【表 4】

表 4 : ヒト CSF1R からのヒト IL-34 の置換

抗体 1	ヒト CSF1R に結合した ヒト IL-34	
nM	平均	標準偏差
100	0.1633	0.023
33	0.1676	0.076
11.1	0.1997	0.077
3.7	0.2703	0.117
1.2	0.1780	0.029
0.4	0.3116	0.044
0.14	0.8309	0.063
0.05	2.3993	0.010
0.02	3.1070	0.210
0.005	2.9406	0.032
0.002	2.9686	0.001
0.001	3.1566	0.113
IC <sub>50</sub> (nM)	0.07882	
信頼区間	0.06896～0.09007	

10

20

30

40

【表 5】

表 5 : カニクイザル CSF1R からのカニクイザル IL-34 の置換

抗体 1	カニクイザル CSF1R に結合 したカニクイザル IL-34	
nM	平均	標準偏差
100	0.1730	0.054
33	0.1578	0.033
11.1	0.1813	0.033
3.7	0.2183	0.021
1.2	0.3055	0.042
0.4	0.6367	0.058
0.14	1.5441	0.133
0.05	1.6924	0.100
0.02	1.8093	0.166
0.005	1.6164	0.168
0.002	1.5831	0.008
0.001	1.7761	0.024
IC <sub>50</sub> (nM)	0.2996	
信頼区間	0.2405～0.3731	

50

## 【0230】

IL-34は、約50～100pMの親和性でヒトCSF1Rに結合するため、CNSでこのサイトカインを効果的に中和するには高親和性抗体を必要とする。表4の結果は、抗体1がヒトIL-34に対して高い親和性を有し、0.07882nMのIC<sub>50</sub>でヒトCSF1RからIL-34を置換できることを示している。表4の結果は、抗体1がヒトIL-34に対して高い親和性を有し、特に抗体1がヒトIL-34に対してhCSF1Rに匹敵する親和性を示し、したがってそれらがインビボでIL-34を効果的に中和することを可能にする結合特性を有することを示している。IL-34をブロックすることは、いくつかの既存の免疫調節療法に関連する安全性の懸念を回避しながら、疾患改変のための有用な手段を提供すると考えられている。したがって、IL-34を介したシグナル伝達の中和は、神経炎症、ミクログリオーシス、並びにアルツハイマー病、及び他のタウオパチーと炎症性疾患などの神経変性疾患の管理のための治療的なアプローチとなる。（例えば、Lelios, I. et al. Emerging role of IL-34 in health and disease, J Exp Med (2020) 217(3) : e20190290を参照）。

## 【0231】

PathHunter（登録商標）eXpress Dimerization AssayにおけるCSF1Rの二量体化を中和する抗体1の能力：

ヒトIL-34中和は、U2OS CSF1R/CSF1R細胞（Path Hunter（登録商標）eXpress Dimerization Assay、DiscoverX）を96ウェルプレートに播種して、抗IL-34抗体がCSF1Rの二量体化を阻害する能力を評価することによって更に評価できる。これらのアッセイは、b-galactosidase (b-gal) 酵素がProLink (PK) とEnzyme Acceptor (EA)との2つのフラグメントに分割されるEnzyme Fragment Complementation (EFC) 技術を利用している。独立的に、これらのフラグメントにはb-gal活性がないが、しかしタンパク質間相互作用によって補完を強いられると、それらは活性なb-gal酵素を形成する。PathHunter（登録商標）eXpress Dimerizationアッセイは、CSF1R受容体-二量体対の2つのサブユニットのリガンド誘導性二量体化を検出する。細胞は、酵素ドナー (ED) に融合した1つのCSF1R受容体サブユニットと、酵素アクセプター (EA) に融合した第2の二量体パートナーを共発現するように設計されている。ヒトIL-34が受容体サブユニットの1つに結合すると、その二量体パートナーとの相互作用が誘導され、2つの酵素フラグメントの補完が強いられる。これにより、基質を加水分解して化学発光シグナルを生成する機能酵素が形成される。表6に示す相対蛍光単位 (RFU) の低減は、抗体1がヒトIL-34を中和し、化学発光を低減する能力を反映している。抗体1の半最大阻害濃度 (IC<sub>50</sub>) 値は、1.035nMである。ヒトCSF1R-Fcは、このアッセイにおいて陽性対照として使用され、1.025nMのIC<sub>50</sub>でRFU単位を阻害する。表6のデータは、抗体1がヒトIL-34とCSF1Rとの相互作用をブロックする能力を支持し、その能力によりこのアッセイにおいてCSF1Rの二量体化が阻害される。このデータは、ヒトIL-34を中和するための本開示の抗体の使用を支持する。

10

20

30

40

50

## 【表 6】

表 6 : PathHunter (登録商標) eXpress Dimerization Assay における CSF1R の二量体化を中和する抗体 1 の能力

濃度[nM]	hCSF1R-Fc		抗体 1	
	平均 RLU	標準偏差	平均 RLU	標準偏差
0.546329	141750	20954.54	143149.3	9354.359
1.092657	143284.3	20595.3	118715.3	4747.809
2.185315	144715.3	25275.37	129736.3	16011.77
4.370629	143242	28247.42	134560.3	11616.16
8.741259	57958.75	3264.96	44840.33	6203.152
17.48252	28603.25	5328.141	24513.67	4104.652
34.96503	27502	3611.769	20570.33	896.7309
69.93007	33178.5	4226.004	24025	4493.348
139.8601	27519.5	5065.463	21793	1757.859
279.7203	30378.5	6216.018	28330.33	3597.572
IC <sub>50</sub> (nM)	1.025		1.035	

10

20

## 【0232】

## インビトロでの IL-34 誘導応答の阻害

本開示の抗体による IL-34 活性の中和は、例えば以下に記載するように、1つ以上の IL-34 細胞ベースのアッセイによって評価することができる。ヒト IL-34 誘導性ルシフェラーゼレポーター活性を中和する本開示の抗体の能力は、ヒト CSF1R を発現する cDNA でトランスフェクトされた 293 hCSF1R-SRE 細胞で評価することができる（受入：NP-001275634.1）。例えば、ヒト CSF1R (hCSF1R) を安定的に過剰発現する 293/SRE 細胞を 0.05% トリプシン-PBS 中で解離させ、組織培養処理した 96 ウェルプレートに 100 u1 当たり 70,000 細胞で播種する。翌日、増殖培地を除去し、熱不活化 1% FBS (ウシ胎児血清) を添加した DMEM-F12 (ダルベッコ変形イーグル培地：栄養混合物 F-12) で細胞を飢餓状態にする。飢餓の 24 時間後、細胞を 100 ng/ml のヒト IL-34 及び複数濃度の hCSF1R-Fc 又は抗体 1 のいずれかで 6 時間処理する。インキュベーション後、細胞を 50 u1 の Promega (商標) G10 (商標) 溶解緩衝液 (Promega (商標) E266A) で 5 分間穏やかに攪拌しながら溶解する。50 ml の Bright G10 (商標) 発光試薬 (Promega (商標) E2620) を添加し、溶解細胞上で 2 分間インキュベートする。発光を、Perkin Elmer Wallac 1420 Victor 2 (商標) マイクロプレートリーダーで読み取る。表 7 及び図 1 に示す相対蛍光単位 (RFU) の低減は、ヒト IL-34 誘導ルシフェラーゼ活性を中和する抗体 1 の能力を反映している。hIL-34 の中和について、抗体 1 の半最大阻害濃度 (IC<sub>50</sub>) 値は、0.05037 ug/ml である。ヒト CSF1R-Fc は、このアッセイにおいて陽性対照として使用され、0.09603 ug/ml の IC<sub>50</sub> でルシフェラーゼ活性を阻害する。

30

40

50

## 【表 7】

表 7 : 293SRE 細胞を発現する hCSF1R におけるヒト IL-34 誘導ルシフェラーゼレポーター活性の中和

	hCSF1R		抗体 1	
濃度[ug/ml]	平均 LU	標準偏差	平均 LU	標準偏差
20	1691	77.782	1543	9.899
4.000	1737	180.312	1604	63.640
0.800	2244	154.856	2024	14.142
0.160	4819	53.033	3474	80.610
0.032	14728.5	1003.385	12877	186.676
0.006	16495	544.472	15464.5	1830.699
0.001	17608.5	478.711	16380	638.517
IC <sub>50</sub> (ug/ml)	0.09603		0.05037	
CI(ug/ml)	0.06301～0.1464		0.03634～0.06981	
陽性対照(+)IL34	16903.33	2169.549		
陽性対照(-)IL34	3502	344.114		

## 【0233】

NIH-3T3/CSF1R 細胞における ERK リン酸化を阻害する抗 IL-34 抗体の能力 :

IL-34 の中和は、 NIH-3T3/CSF1R における細胞外シグナル調節キナゼ (ERK) リン酸化を阻害する抗 IL-34 抗体の能力を評価することによって決定し得る。このアッセイでは、1日目に 10% FBS を補充した DMEM に細胞を播種し、37℃ で一晩インキュベートする。2日目に、培地を除去し、細胞を無血清 DMEM で洗浄し、更に 24 時間インキュベートする。3日目に、培地を、抗 IL-34 抗体を含む無血清 DMEM に交換する。ヒト又はカニクイザル IL-34 を 5 分間添加して、最終濃度 1 ug / ml にする。ヒト又はカニクイザル IL-34 及びアイソタイプ対照抗体のいずれかが、それぞれ陽性及び陰性対照として機能する。リン / 全 ERK1 / 2 レベルは、 Whole Cell Lysate Kit (Meso Scale Discovery、カタログ番号 K15107D) を使用して電気化学発光シグナルを測定することによって評価する。データを、リン - ERK1 / 2 対全 ERK1 / 2 タンパク質の電気化学発光シグナルの比として計算される。表 8 及び / 又は図 2 に示されるシグナル比の低下は、 IL-34 活性を中和する抗体 1 の能力を反映している。ヒト IL-34 に対する抗体 1 の半最大阻害濃度 (IC<sub>50</sub>) 値は 26 nM であり、カニクイザル IL-34 に対しては 53 nM である。

## 【表 8】

表 8 : NIH-3T3/CSF1R 細胞におけるヒト IL34 による ERK リン酸化を阻害する抗体 1 の能力

濃度(nM)	シグナル比	標準偏差
0	0.139165	0.003242
0.43	0.156491	5.86E-05
2.13	0.141003	0.020171
10.64	0.111073	0.013866
53.2	0.066085	0.004829
266	0.035514	0.001473
1330	0.026086	0.000562
IC <sub>50</sub> (nM)	26	

## 【表 9】

表 9 : NIH-3T3/CSF1R 細胞におけるカニクイザル IL34 による ERK リン酸化を阻害する抗体 1 の能力

濃度(nM)	シグナル比	標準偏差
0	0.120146	0.00083
0.43	0.122052	0.011009
2.13	0.127126	0.000818
10.64	0.12391	0.004007
53.2	0.091267	0.007267
266	0.052691	0.002386
1330	0.049513	0.003252
IC <sub>50</sub> (nM)	53	

## 【0234】

フローサイトメトリーによる、抗 IL-34 抗体のヒト単球における CD163 の IL-34 誘導発現を阻害する能力 :

IL-34 の中和は、フローサイトメトリーによって IL-34 で処理した後のヒト単球における細胞表面抗原 CD163 の発現を測定することによっても評価し得る（例えば、Boulakirba, S., et al. による、IL-34 及び CSF-1 は、同等のマクロファージ分化能力を示すが、分極電位は異なる。Sci Rep 8, 256 (2018) を参照されたい）。CD14 陽性単球を IL-34 で 6 日間処理し、CD163 について抗体を染色した後、フローサイトメトリーで CD163 の発現を評価する。実験では、CD163 を発現する細胞数の変化は、IL-34 処理が単球におけるこの抗原の発現を増加させることを示している。抗体 1 の添加により、CD163 の発現上昇が抑制される。この実験では、アイソタイプが一致した IgG4 抗体を陰性対照として使用する。結果を、表 10 に示す。

## 【0235】

CD14+ヒト単球は、IL-34 (100 ng/ml) の添加によりマクロファージに分化し得る。マクロファージマーカー CD163 は、分化の程度をモニターするために使用できる。このマクロファージへの分化は、抗 IL-34 抗体の添加によって阻害され得る。CD14+ヒト単球を、IL-34 を含む又は含まない 6 ウェルプレートに播種する。細胞を抗 IL-34 抗体、例えば抗体 1、又は 15 μg/ml の IgG4 PAA で合計 6 日間処理し、3 日目に処理をリフレッシュする。6 日目に非酵素的細胞解離緩衝液でプレートから除去し多細胞を収集し、FACS 緩衝液 (PBS + 2% FBS + 0.1% アジ化ナトリウム + 2% EDTA) で洗浄する。製造元の推奨に従って、細胞を TruS tain FcX (カタログ番号 422302) で 30 分間ブロックする。ブロッキング後、細胞を FACS 緩衝液で洗浄し、抗 CD163 - PE 又は IgG4 アイソタイプ対照 - PE で 4°C で 1 時間染色する。インキュベーションの最後に、細胞を洗浄し、最小 10,000 イベントを使用して Accuri でフロー分析を行う。処理ごとに中央値 - PE - A レベルを収集する。

## 【表10】

表10：フローサイトメトリーによるヒト単球におけるIL-34誘導CD163発現の阻害

処置	IgG染色(平均PE-A)	CD163染色(平均PE-A)
(-)IL-34	7,750.56	130,783.14
(+)IL-34	5,204.62	1,245,847.72
(+)IL-34及び抗体1(15ug/ml)	5,693.60	104,350.32
(+)IL-34及びIgG4 PAA(15ug/ml)	6,011.43	715,201.30
無染色細胞	2,622.87	

10

## 【0236】

IL-34に応答した、ヒト単球におけるCD163発現の抗体1による阻害は、IL-34に対する単球/マクロファージ数及び/又は表現型分化応答を調節する本開示の抗体の能力を実証し、神経炎症及び他の炎症状態などの免疫介在性疾患を治療するための本抗体の使用を支持する(例えば、Lelios, I. et al. Emerging role of IL-34 in health and disease, J Exp Med (2020) 217 (3): e20190290を参照)。

## 【0237】

実施例4：抗体1の免疫原性の可能性の特徴付け

20

樹状細胞(DC)内在化アッセイ

単球由来DC培養(MDDC)

標準プロトコルに従って、CD14+単球を末梢血単核細胞(PBMC)から分離させ、培養し、DCに分化させる。手短に言うと、LRS-WBCからFicoll (#17-1440-02、GE Healthcare)及びSepmate 50 (#15450、STEMCELL Technologies)による密度勾配遠心分離を使用してPBMCを分離する。製造元のマニュアルに従って、CD14+マイクロビーズキット(#130-050-201、Miltenyi Biotech)による陽性対照を使用してCD14+単球を分離する。次いで、1000単位/mlのGM-CSF及び600単位/mlのIL-4とともに、細胞を100万/mlで6日間培養して、L-グルタミン及び25mMのHEPESを添加し、10%FBS、1mMのピルビン酸ナトリウム、1×ペニシリン-ストレプトマイシン、1×非必須アミノ酸、及び55μMの2-メルカプトエタノールを補充したRPMI培地(以下、Life Technologiesから購入した完全RPMI培地又は培地と呼ぶ)中で未成熟樹状細胞(MDDC)に誘導する。培地を2日目及び5日目の2回変える。6日目に、セルスクレーパーで細胞を静かに収集し、実験に使用する。MDDCを、顕微鏡による樹状形態、及びフローサイトメトリーによるCD14、CD11c、及びHLA-DRの発現について視覚的に特徴付ける。LPS治療に応答する能力は、フローサイトメトリーを使用してCD80、CD83、及びCD86の増加を測定することによって確認される。

30

## 【0238】

Fab-TAMRA-QSY7の結合

40

F(ab')2フラグメントヤギ抗ヒトIgG(Jackson Immunoresearch)をQSY7-NHS及びTAMRA-SE(Molecular Probes)で二重標識して、試験品の内在化を追跡するためのユニバーサルプローブとして使用するFab-TAMRA-QSY7を取得する。F(ab')2(1.3mg/mlで約1ml)の各バイアルを、Amico Ultra-0.5遠心フィルター装置(#UFC501096、Millipore)を使用して14,000rcfで2分間遠心分離することにより、約2mg/mlに濃縮する。pHを10%(v/v)1M重炭酸ナトリウムで塩基性(>pH8)に調整し、DMSO中10mMのQSY-NHS保存液6.8μlを加えて混合する。反応バイアルを室温で30分間暗所に保つ。中間生成物であるFa

50

b - QSY7を、Zeba Spin脱塩カラム(#89890、Thermo Scientific)を用いて、相対遠心力(RCF)1000で2分間遠心分離することにより精製する。NanoDrop(Thermo Fisher)で280nm及び560nmの吸光度を測定することにより、濃度及び標識度(DOL)を計算する。次いで、再びAmico Ultra-0.5遠心フィルター装置を用いて14,000rcfで2分間遠心分離することにより、Fab-QSY7を約2mg/mlに濃縮する。10%(v/v)1M重炭酸ナトリウムでpHを調整した後、DMSO中の15mMのTAMRA-SE保存液4.3μlを加えて混合する。暗所で室温で30分後に、最終生成物Fab-TAMRA-QSY7を精製し、1000rcfで2分間遠心分離することによりZeba Spin脱塩カラムを使用して収集する。NanoDrop分光光度計で280nm、555nm、及び560nmの吸光度を読み取ることにより、濃度及びDOLを再度定量化する。このプロトコルを使用すると、Fab(1当たり約2つのQSY7と2つのTAMRAと)を含む約1.5mg/mlのFab-TAMRA-QSY7を約300μlが得られる。

#### 【0239】

##### FACSによる標準化内在化試験

個々の試験分子をPBSで1mg/mlに正規化し、次いで完全 RPMI培地で更に8μg/mlに希釈する。Fab-TAMRA-QSY7を完全RPMI培地で5.33μg/mlに希釈する。抗体とFab-TAMRA-QSY7とを等量で混合し、複合体形成のために暗所で、4℃で30分間インキュベートする。MDDCを完全RPMI培地に400万/mlで再懸濁し、抗体/プローブ複合体50μlを加えた96ウェル丸底プレートにウェル当たり50μlで播種する。細胞をCO<sub>2</sub>インキュベーターで、37℃で24時間インキュベートする。細胞を2%FBS PBSで洗浄し、Cytotox Greenのlive/dead色素を含む100μlの2%FBS PBSに再懸濁する。BD LSR Fortessa X-20でデータを収集し、FlowJoで分析する。生單一細胞をゲーティングし、TAMRA蛍光陽性細胞の割合を読み出しとして記録する。

#### 【0240】

##### データ表示及び統計分析

分子は、2連又は3連で3人以上のドナーで試験する。各ドナーについて、TAMRA陽性集団の割合を考慮する。異なるドナーから生成されたデータと分子の比較を可能にするために、正規化された内在化指数(NII)が使用される。内在化シグナルは、次の式を使用して IgG1アイソタイプ(NII=0)及び内部陽性対照PC(NII=100)に対して正規化する。

#### 【数1】

$$100 \times \frac{X_{TAMRA} - IgG1 \text{ アイソタイプ}_{TAMRA}}{PC_{TAMRA} - IgG1 \text{ アイソタイプ}_{TAMRA}}$$

ここで、X<sub>TAMRA</sub>、IgG1アイソタイプ<sub>TAMRA</sub>、及びPC<sub>TAMRA</sub>は、それぞれ試験分子X、IgG1アイソタイプ、及びPCのTAMRA陽性集団のパーセントである。データは、JMP(登録商標)14.1.0又はGraphpad Prism 8.1.2で分析する。TAMRA陽性集団の平均パーセント及びNIIを計算し、報告する。DCなどの抗原提示細胞における内在化の増加は、免疫原性のリスクの増加と関連している。抗体1の二重実験の幾何平均を表11に示す。

#### 【表11】

表11. DC内在化の結果

試験抗体	正規化した内在化指数
抗体1	53.2

10

20

30

40

50

(例えば、Wen, Y., Cahya, S., Zeng, W. et al. Development of a FRET-Based Assay for Analysis of mAbs Internalization and Processing by Dendritic Cells in Preclinical Immunogenicity Risk Assessment. *AAPS J* 22, 68 (2020)を参照)。

【0241】

MAPPsアッセイ(MHC関連ペプチドプロテオミクス)

10人の正常なヒトドナーからの初代ヒト樹状細胞は、以下に記載のように、CD-1陽性細胞の分離によるバフィーコートから調製され、5%血清代替物(Thermo Fisher Scientific、カタログ番号A2596101)を含む完全 RPMI培地で20ng/ml IL-4及び40ng/ml GM-CSFとともに37、5%CO<sub>2</sub>で3日間インキュベートすることによって未成熟樹状細胞に分化させた(Knierman et al., "The Human Leukocyte Antigen Class II Immunopeptidome of the SARS-CoV-2 Spike Glycoprotein", *Cell Reports*, 33, 108454 (2020))。4日目に3マイクロモルの試験抗体を約5×10<sup>6</sup>細胞に添加し、細胞を成熟樹状細胞に形質転換するために5μg/mlのLPSを含む新鮮な培地を5時間のインキュベーション後に交換する。翌日、成熟細胞をプロテアーゼ阻害剤及びDNaseを含む1mlのRIPA緩衝液中で溶解する。ライセートを、サンプル分析まで-80で保存する。

【0242】

自動液体処理システムを使用して、ビオチン化抗H<sub>LA</sub>クラスII抗体(クローンTu39)を使用し、解凍したライセートからH<sub>LA</sub>-II分子を分離する。結合した受容体-ペプチド複合体を、5%酢酸、0.1%TFAで溶出する。溶出したMHC-IIペプチドを、高分子量タンパク質を除去するために、事前に洗浄した10k MWCOフィルターに通す。分離されたMHC-IIペプチドは、Thermo LUMOS質量分析計を備えたThermo easy 1200 nLC-HPLCシステムを使用して、ナノLC/MSによって分析する。この分離では、75μm×7cmのYMC-ODS C18カラムを使用し、流速250nL/分、A溶媒として0.1%ギ酸水溶液、B溶媒として0.1%ギ酸を含む80%アセトニトリルで65分間のグラジエントを行った。質量分析は、解像度240,000のフルスキヤンモードで実行し、続いて、HCD及びET-MSフラグメンテーションによるイオントラップ型ラピッドスキヤンで構成される3秒のデータ依存型MS/MSサイクルを実行する。

【0243】

ペプチドの同定は、テスト抗体配列を含むウシ/ヒトデータベースに対する酵素検索パラメータのない複数の検索アルゴリズムを使用し、内部プロテオミクスパイプライン(Higgs et al., "Label-free LC-MS method for the identification of biomarkers", *Methods in Molecular Biology*, 428, 209-230 (2008))によって生成される。KNIMEワークフローは、試料の識別ファイルを処理するために使用される。試験品から同定されたペプチドは、親配列に対して整列される。非生殖細胞残基を表示するドナーの割合、非生殖細胞残基を含むペプチドを表示する異なる領域の数、及び非生殖細胞残基を含む各領域でのペプチド表示の深さを注釈するすべてのドナーの要約を作成する。非生殖細胞系ペプチドの表示の程度の増加は、免疫原性のリスクの増加と関連している。抗体1の結果を表12に示す。

10

20

30

40

50

## 【表 1 2】

表 1 2 : MAPPs の結果

試験抗体	%非生殖細胞クラスターを持つドナー	#非生殖細胞残基を含むクラスター
抗体 1	66%(6/9)	2

## 【0 2 4 4】

## T 細胞増殖アッセイ

このアッセイは、試験候補又は試験候補のMAPPs 由来ペプチドクラスターの、以下に記載のように細胞増殖を誘導することによる CD4+ T 細胞を活性化する能力を評価する (Walsh et al., "Post-hoc assessment of the immunogenicity of three antibodies reveals distinct immune stimulatory mechanisms", mAbs, 12, 1764829 (2020))。10人の健康なドナーからの凍結保存した PBMC を使用し、PBMC から CD8+ T 細胞を枯渇させ、1 μM カルボキシフルオレセインジアセテートスクシンイミジルエステル (CFSE) で標識した。PBMC を、5%CTS (商標) Immune Cell SR (Gibco、カタログ番号 A2596101) を含む AIM-V 培地 (Life Technologies、カタログ番号 12055-083) に  $4 \times 10^6$  細胞 / ml / ウエルで播種し、様々な試験物質、DM SO 対照、培地対照、及びキーホールリンペットヘモシアニン (KLH; 陽性対照) を含む 2.0 mL で、3 連で試験した。細胞を培養し、CO<sub>2</sub> 5%、37°で 7 日間インキュベートした。7 日目に、ハイスループットサンプラー (HTS) を装備した BD LSR Fortessa (商標) を使用したフローサイトメトリーによる生存率検出のために、試料を次の細胞表面マーカーで染色した：抗 CD3、抗 CD4、抗 CD14、抗 CD19、及び DAPI。FlowJo (登録商標) ソフトウェア (FlowJo、LLC、Treestar) を使用してデータを分析し、細胞分裂指数 (CDI) を計算した。手短に言うと、各試験分子の CDI は、刺激されたウェルで増殖している CFSE<sup>dim</sup> CD4+ T 細胞のパーセントを、刺激されていないウェルで増殖している CFSE<sup>dim</sup> CD4+ T 細胞のパーセントで割ることによって計算した。2.5 以上の CDI は、陽性反応を表すとみなした。すべてのドナーにわたるドナー頻度の割合を評価した。抗体 1 の結果を表 1 3 に示す。

## 【表 1 3】

表 1 3. CD4+T 細胞応答の頻度

試験した分子	%陽性ドナー	CDI の中央値 (陽性ドナー)	CDI の中央値 (全ドナー)	範囲		ドナー数
				高い	低い	
抗体 1	10	2.8	1.0	2.8	0.3	1/10

## 【0 2 4 5】

## 実施例 5 : カニクイザルにおける抗体薬物動態

カニクイザルに、1 mL / kg の容量の PBS (pH 7.4) 中の抗体 1 の 3 mg / kg の単回静脈内 (IV) 用量を投与する。薬物動態学的特徴付けのために、投与後 1、3、6、24、48、72、96、120、168、240、336、408、504 及び 672 時間後に 2 匹の動物 / 時点から血液を採取し、血清に処理する。抗体 1 の血清濃度は、適格な免疫親和性液体クロマトグラフィー質量分析法によって決定される。抗体 1 及びヒト抗体内部標準 (安定同位体標識ヒト IgG) を、ビオチン化ヤギ抗ヒト IgG 抗体を使用して 100% カニクイザル血清から抽出し、続いて Q-Exactive (商標) Orbitrap (登録商標) 質量分析計を使用してトリプシンサロゲートペプチドを定量化する。薬物動態パラメータを、各動物 (N = 2) について非コンパートメント分析 (NCA) を使用して計算し、パラメータを平均値によって要約する。NCA 及び要約統計

10

20

30

40

50

計算は、Phoenixを使用して行う。表14に示すように、抗体1は、カニクイザルにおいて薬物動態プロファイルの拡張を示す。

【表14】

表14：カニクイザルへの単回3mg/kg IV 投与後の抗体1の血漿薬物動態パラメータ。

ルート	用量 (mg/kg)	C <sub>0</sub> ( $\mu$ g/mL)	AUC <sub>0~無限</sub> (時間* $\mu$ g/mL)	CL (mL/時間/kg)	V <sub>ss</sub> (mL/kg)	t <sub>1/2</sub> (時間)
IV	3	77.2	14400	0.209	65.3	216

【0246】

10

アミノ酸及びヌクレオチド配列

抗体1の重鎖（配列番号1）

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

20

抗体1の軽鎖（配列番号2）

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

30

抗体1のHCVR（配列番号3）

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

抗体1のLCVR（配列番号4）

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

40

抗体1のHCDR1（配列番号5）

A A S G F A F S N Y A M S

抗体1のHCDR2（配列番号6）

A I S A S G G K T Y

抗体1のHCDR3（配列番号7）

A K R G Y L W H A F D H

抗体1のLCDR1（配列番号8）

R A S Q S V S S L Y L A

抗体1のLCDR2（配列番号9）

Y G A S S R A T

抗体1のLCDR3（配列番号10）

50

Q V V G S S P P F T

抗体1の重鎖をコードするDNA(配列番号11)

ga a g t c c a g t t g c t g g a a t c t g g c g g c g g t c t c g t t c a g c  
 c a g g g g g c a g c t t g c g t c t t a g t t g t g c a g c a t c c g g g t t  
 t g c c t t t c c a a t t a c g c t a t g t c a t g g g t a a g g c a a g c c  
 c c a g g c a a a g g a c t c g a a t g g g t t c c g c c a t t a g t g c c t  
 c a g g a g g c a a g a c a t a c t a t g c c g a t t c t g t a a a g g g c a g  
 a t t a c t a t a t c t c g g g a c a a t t c t a a a a a t a c a c t c t a t  
 c t t c a g a t g a a t a g c c t t a g a g c t g a a g a t a c c g c t g t c t  
 a c t a c t g t g c c a a a c g t g g c t a c c t t g g c a c g c c t t g a 10  
 t c a c t g g g g t c g g g g t a c t c t c g t a a c t g t a a g c t c c g c c  
 t c c a c c a a g g g c c c a t c g g t c t t c c c g c t a g c g c c c t g c t  
 c c a g g a g c a c c t c c g a g a g c a c a g c c g c c c t g g g c t g c c t  
 g g t c a a g g a c t a c t t c c c g a a c c g g t g a c g g t g t c g t g g  
 a a c t c a g g c g c c t g a c c a g c g g g g t g c a c a c c t t c c c g g  
 c t g t c c t a c a g t c c t c a g g a c t c t a c t c c c t c a g c a g c g t  
 g g t g a c c g t g c c c t c c a g c a g c t t g g g c a c g a a g a c c t a c  
 a c c t g c a a c g t a g a t c a c a a g c c c a g c a a c a c c a a g g t g g  
 a c a a g a g a g t t g a g t c c a a a t a t g g t c c c c a t g c c c a c c  
 c t g c c c a g c a c c t g a g g c c g c c g g g g a c c a t c a g t c t t c 20  
 c t g t t c c c c c a a a a c c c a a g g a c a c t c t c a t g a t c t c c c  
 g g a c c c c t g a g g t c a c g t g c g t g g t g g a c g t g a g c c a  
 g g a a g a c c c c g a g g t c c a g t t c a a c t g g t a c g t g g a t g g c  
 g t g g a g g t g c a t a a t g c c a a g a c a a a g c c c g c g g g a g g a g c  
 a g t t c a a c a g c a c g t a c c g t g t g g t c a g c g t c c c t c a c c g t  
 c c t g c a c c a g g a c t g g c t g a a c g g c a a g g a g t a c a g t g c  
 a a g g t c t c c a a a c a a a g g c c t c c c g t c c t c a t c g a g a a a a  
 c c a t c t c c a a a g c c a a a g g g c a g c c c c g a g a g c c a c a g g t  
 g t a c a c c c t g c c c c a t c c c a g g a g g a g a t g a c c a a g a a c  
 c a g g t c a g c c t g a c c t g c c t g g t c a a a g g c t t c t a c c c c a 30  
 g c g a c a t c g c c g t g g a g t g g g a a a g c a a t g g g c a g c c g g a  
 g a a c a a c t a c a a g a c c a c g c c t c c c g t g c t g g a c t c c g a c  
 g g c t c c t t c c t c t a c a g c a g g c t a a c c g t g g a c a a g a  
 g c a g g t g g c a g g a g g g g a a t g t c t t c a t g c t c c g t g a t  
 g c a t g a g g c t c t g c a c a a c c a c t a c a c a c a g a a g g c c t c  
 t c c c t g t c t c t g g g t 50

抗体1の軽鎖をコードするDNA(配列番号12)

g a a a t a g t t c t c a c t c a g t c c c c t g g g a c a c t c t c c c t g a  
 g t c c a g g a g a a a c g t g c a a c a c t c a g t t g c c g t g c a a g c c a  
 g t c c g t c t c a t c c t t g t a t c t t g c t t g g t a c c a a c a a a a a a  
 c c t g g a c a g g c c c c c g t c t t c t t a t c t a t g g t g c c t c c a 40  
 g t c g c g c a a c t g g t a t t c c c g a c c g g t t c a g c g g c a g t g g  
 g t c c g g c a c t g a c t t c a c c c t g a c t a t a a g t c g g t t g g a g  
 c c a g a g g a c t t t g c c g t g t a c t a t t g c c a a g t g g t g g g a a  
 g c t c c c c t c c c t t c a c t t t c g g c g g a g g g a c c a a g g t a g a  
 a a t c a a a a g a a a c t g t g g c g g c g c a t c t g t c t t c a t c t t c  
 c c g c c a t c t g a t g a g c a g t t g a a a t c c g g a a c t g c c t c t g  
 t t g t g t g c c t g c t g a a t a a c t t c t a t c c c a g a g a g g c c a a  
 a g t a c a g t g g a a g g t g g a t a a c g c c c t c c a a t c g g g t a a c  
 t c c c a g g a g a g t g t c a c a g a g c a g g a c a g g a c a g g a c a g c a 50

c c t a c a g c c t c a g c a g c a c c c t g a c g c t g a g c a a a g c a g a  
 c t a c g a g a a a c a c a a a g t c t a c g c c t g c g a a g t c a c c c a t  
 c a g g g c c t g a g c t c g c c c g t c a c a a a g a g c t t c a a c a g g g  
 g a g a g t g c

抗体 1 (Kabat) の HCDR1 (配列番号 13)

NYAMS

抗体 1 (Kabat) の HCDR2 (配列番号 14)

A I S A S G G K T Y Y A D S V K G

抗体 1 (Kabat) の HCDR3 (配列番号 15)

R G Y L W H A F D H

10

抗体 1 (Kabat) の LCDR1 (配列番号 16)

R A S Q S V S S L Y L A

抗体 1 (Kabat) の LCDR2 (配列番号 17)

G A S S R A T

抗体 1 (Kabat) の LCDR3 (配列番号 18)

Q V V G S S P P F T

抗体 1 (Chothia) の HCDR1 (配列番号 19)

G F A F S N Y

抗体 1 (Chothia) の HCDR2 (配列番号 20)

S A S G G K

20

抗体 1 (Chothia) の HCDR3 (配列番号 21)

R G Y L W H A F D H

抗体 1 (Chothia) の LCDR1 (配列番号 22)

R A S Q S V S S L Y L A

抗体 1 (Chothia) の LCDR2 (配列番号 23)

G A S S R A T

抗体 1 (Chothia) の LCDR3 (配列番号 24)

Q V V G S S P P F T

抗体 1 (IMGT) の HCDR1 (配列番号 25)

G F A F S N Y A

30

抗体 1 (IMGT) の HCDR2 (配列番号 26)

I S A S G G K T

抗体 1 (IMGT) の HCDR3 (配列番号 27)

A K R G Y L W H A F D H

抗体 1 (IMGT) の LCDR1 (配列番号 28)

Q S V S S L Y

抗体 1 (IMGT) の LCDR2 (配列番号 29)

G A S

抗体 1 (IMGT) の LCDR3 (配列番号 30)

Q V V G S S P P F T

40

ヒト IL-34 (配列番号: 31)

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

IgG4 PAA ヒンジ領域 (配列番号 32)

E S K Y G P P C P P C P

IgG4 PAA Fc 領域 (配列番号 33)

50

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

カニクイザルCSF1R ECD-Fcの配列(配列番号34)

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

10

抗体2の重鎖(配列番号35)

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

20

抗体3の重鎖(配列番号36)

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

40

50

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

抗体 4 の重鎖（配列番号 37）

E V Q L L E S G G G L V Q P G G S L R L S C A A S G F A F S N Y A M S W V R Q A  
P G K G L E W V S A I S A S G G K T Y Y A D S V K G R F T I S R D N S K N T L Y  
L Q M N S L R A E D T A V Y Y C A K R G Y L W H A F D H W G R G T L V T V S S A  
S T K G P S V F P L A P C S R S T S E S T A A L G C L V K D Y F P E P V T V S W  
N S G A L T S G V H T F P A V L Q S S G L Y S L S S V V T V P S S N F G T Q T Y  
T C N V D H K P S N T K V D K T V E R K C C V E C P P C P A P P V A G P S V F L  
F P P K P K D T L M I S R T P E V T C V V V D V S H E D P E V Q F N W Y V D G V  
E V H N A K T K P R E E Q F N S T F R V V S V L T V V H Q D W L N G K E Y K C K 10  
V S N K G L P A P I E K T I S K T K G Q P R E P Q V Y T L P P S R E E M T K N Q  
V S L T C L V K G F Y P S D I A V E W E S N G Q P E N N Y K T T P P M L D S D G  
S F F L Y S K L T V D K S R W Q Q G N V F S C S V M H E A L H N H Y T Q K S L S  
L S P G

ドナネマブの重鎖（配列番号 38）

Q V Q L V Q S G A E V K K P G S S V K V S C K A S G Y D F T R Y Y I N W V R Q A  
P G Q G L E W M G W I N P G S G N T K Y N E K F K G R V T I T A D E S T S T A Y  
M E L S S L R S E D T A V Y Y C A R E G I T V Y W G Q G T T V T V S S A S T K G  
P S V F P L A P S S K S T S G G T A A L G C L V K D Y F P E P V T V S W N S G A  
L T S G V H T F P A V L Q S S G L Y S L S S V V T V P S S S L G T Q T Y I C N V 20  
N H K P S N T K V D K K V E P K S C D K T H T C P P C P A P E L L G G P S V F L  
F P P K P K D T L M I S R T P E V T C V V V D V S H E D P E V K F N W Y V D G V  
E V H N A K T K P R E E Q Y N S T Y R V V S V L T V L H Q D W L N G K E Y K C K  
V S N K A L P A P I E K T I S K A K G Q P R E P Q V Y T L P P S R D E L T K N Q  
V S L T C L V K G F Y P S D I A V E W E S N G Q P E N N Y K T T P P V L D S D G  
S F F L Y S K L T V D K S R W Q Q G N V F S C S V M H E A L H N H Y T Q K S L S  
L S P G

ドナネマブの軽鎖（配列番号：39）

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

抗 N 3 p G 抗体の重鎖（配列番号 40）

E V Q L L E S G G G L V Q P G G S L R L S C A A S G F T F S S Y P M S W V R Q A  
P G K G L E W V S A I S G S G G S T Y Y A D S V K G R F T I S R D N S K N T L Y  
L Q M N S L R A E D T A V Y Y C A R E G G S G S Y Y N G F D Y W G Q G T L V T V  
S S A S T K G P S V F P L A P S S K S T S G G T A A L G C L V K D Y F P E P V T  
V S W N S G A L T S G V H T F P A V L Q S S G L Y S L S S V V T V P S S S L G T  
Q T Y I C N V N H K P S N T K V D K K V E P K S C D K T H T C P P C P A P E L L 40  
G G P S V F L F P P K P K D T L M I S R T P E V T C V V V D V S H E D P E V K F  
N W Y V D G V E V H N A K T K P R E E Q Y N S T Y R V V S V L T V L H Q D W L N  
G K E Y K C K V S N K A L P A P I E K T I S K A K G Q P R E P Q V Y T L P P S R  
D E L T K N Q V S L T C L V K G F Y P S D I A V E W E S N G Q P E N N Y K T T P  
P V L D S D G S F F L Y S K L T V D K S R W Q Q G N V F S C S V M H E A L H N H  
Y T Q K S L S L S P G

抗 N 3 p G 抗体の軽鎖（配列番号 41）

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

10

20

30

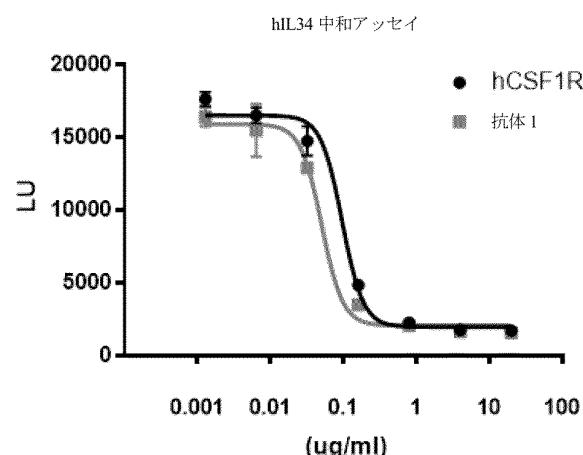
40

50

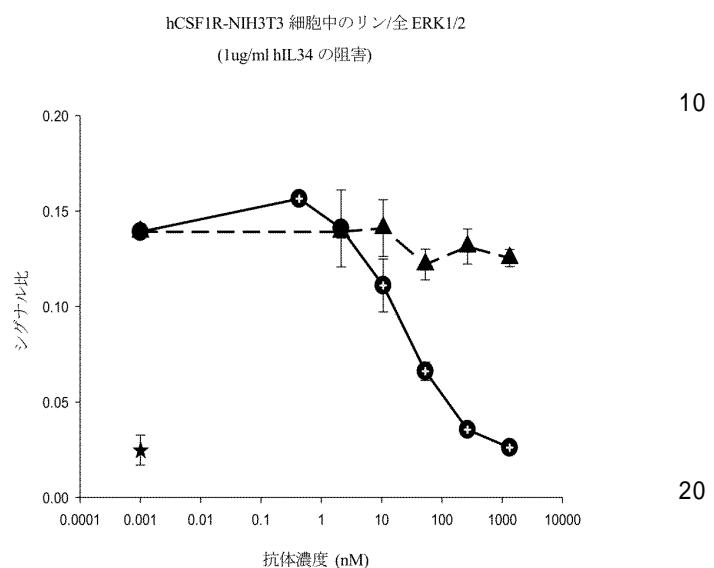
G K A P K L L I Y Q A S T L E S G V P S R F S G S G S G T E F T L T I S S L Q P  
 D D F A T Y Y C Q H Y K G S F W T F G Q G T K V E I K R T V A A P S V F I F P P  
 S D E Q L K S G T A S V V C L L N N F Y P R E A K V Q W K V D N A L Q S G N S Q  
 E S V T E Q D S K D S T Y S L S S T L T L S K A D Y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

【図面】

【図 1】



【図 2】



【配列表】

0007622019000001.xml

30

40

50

## フロントページの続き

## (51)国際特許分類

	F	I	
A 6 1 P	1/16 (2006.01)	A 6 1 P	1/16
A 6 1 P	1/04 (2006.01)	A 6 1 P	1/04
A 6 1 P	13/12 (2006.01)	A 6 1 P	13/12
A 6 1 P	17/00 (2006.01)	A 6 1 P	17/00
A 6 1 P	19/02 (2006.01)	A 6 1 P	19/02
A 6 1 P	25/00 (2006.01)	A 6 1 P	25/00
A 6 1 P	29/00 (2006.01)	A 6 1 P	29/00
A 6 1 P	31/04 (2006.01)	A 6 1 P	31/04
A 6 1 P	43/00 (2006.01)	A 6 1 P	43/00
C 12 N	15/63 (2006.01)	A 6 1 K	39/395
C 12 N	5/10 (2006.01)	C 12 N	15/63
		C 12 N	5/10

ライ・リリー・アンド・カンパニー内

## (72)発明者 フライシャー, アダム エス

アメリカ合衆国4 6 2 0 6 - 6 2 8 8 インディアナ州インディアナポリス、ポスト・オフィス・ボックス6 2 8 8、イーライ・リリー・アンド・カンパニー内

## (72)発明者 ラナン, メーガン ブリタニー

アメリカ合衆国4 6 2 0 6 - 6 2 8 8 インディアナ州インディアナポリス、ポスト・オフィス・ボックス6 2 8 8、イーライ・リリー・アンド・カンパニー内

## (72)発明者 ロー, アルバート

アメリカ合衆国4 6 2 0 6 - 6 2 8 8 インディアナ州インディアナポリス、ポスト・オフィス・ボックス6 2 8 8、イーライ・リリー・アンド・カンパニー内

## (72)発明者 ミンタン, マーク

アメリカ合衆国4 6 2 0 6 - 6 2 8 8 インディアナ州インディアナポリス、ポスト・オフィス・ボックス6 2 8 8、イーライ・リリー・アンド・カンパニー内

## (72)発明者 オブング, ビクター エイチ

アメリカ合衆国4 6 2 0 6 - 6 2 8 8 インディアナ州インディアナポリス、ポスト・オフィス・ボックス6 2 8 8、イーライ・リリー・アンド・カンパニー内

## (72)発明者 レインズ, サラ エリザベス

アメリカ合衆国4 6 2 0 6 - 6 2 8 8 インディアナ州インディアナポリス、ポスト・オフィス・ボックス6 2 8 8、イーライ・リリー・アンド・カンパニー内

## (72)発明者 シムズ, ジョン ランドール, ザ セカンド

アメリカ合衆国4 6 2 0 6 - 6 2 8 8 インディアナ州インディアナポリス、ポスト・オフィス・ボックス6 2 8 8、イーライ・リリー・アンド・カンパニー内

## (72)発明者 スコラ, アンドリュー ディクソン

アメリカ合衆国4 6 2 0 6 - 6 2 8 8 インディアナ州インディアナポリス、ポスト・オフィス・ボックス6 2 8 8、イーライ・リリー・アンド・カンパニー内

## (72)発明者 ウォルシュ, ロビン エリザベス

アメリカ合衆国4 6 2 0 6 - 6 2 8 8 インディアナ州インディアナポリス、ポスト・オフィス・ボックス6 2 8 8、イーライ・リリー・アンド・カンパニー内

## (72)発明者 ウエスト, エリザベス アン

アメリカ合衆国4 6 2 0 6 - 6 2 8 8 インディアナ州インディアナポリス、ポスト・オフィス・ボックス6 2 8 8、イーライ・リリー・アンド・カンパニー内

## (72)発明者 イエ, ミン

アメリカ合衆国4 6 2 0 6 - 6 2 8 8 インディアナ州インディアナポリス、ポスト・オフィス・ボックス6 2 8 8、イーライ・リリー・アンド・カンパニー内

## 審査官 坂崎 恵美子

## (56)参考文献 特表2 0 1 8 - 5 0 8 4 6 7 ( J P , A )

## 特表2 0 1 8 - 5 1 6 9 3 3 ( J P , A )

特表2019-518783 (JP, A)

特表2019-525920 (JP, A)

特表2023-524515 (JP, A)

Immunology Today, 1993年, Vol.14, No.6, p.243-246

J. Mol. Biol., 1992年, Vol.224, No.2, p.487-499

(58)調査した分野 (Int.Cl., DB名)

C12N 15/13

C07K 16/24

JST Plus / JMED Plus / JST7580 (JDreamIII)

Caplus / REGISTRY / MEDLINE / EMBASE / BIOSIS (ST  
N)