

(19) 日本国特許庁(JP)

(12) 公表特許公報(A)

(11) 特許出願公表番号

特表2019-509737
(P2019-509737A)

(43) 公表日 平成31年4月11日(2019.4.11)

(51) Int.Cl.	F 1	テーマコード (参考)
C 12 N 15/13 (2006.01)	C 12 N 15/13	4 B 06 5
C 07 K 14/495 (2006.01)	C 07 K 14/495	Z N A 4 C 08 4
C 07 K 16/22 (2006.01)	C 07 K 16/22	4 C 08 5
C 07 K 16/28 (2006.01)	C 07 K 16/28	4 H 04 5
C 12 N 5/0783 (2010.01)	C 12 N 5/0783	

審査請求 未請求 予備審査請求 未請求 (全 122 頁) 最終頁に続く

(21) 出願番号	特願2018-547346 (P2018-547346)	(71) 出願人	515120006 スカラー ロック インコーポレイテッド S C H O L A R R O C K, I N C. アメリカ合衆国 O 2 1 3 9 マサチュー セツツ州 ケンブリッジ メモリアル ド ライブ 6 2 0 セカンド フロア
(86) (22) 出願日	平成29年3月10日 (2017.3.10)	(74) 代理人	100078282 弁理士 山本 秀策
(85) 翻訳文提出日	平成30年11月1日 (2018.11.1)	(74) 代理人	100113413 弁理士 森下 夏樹
(86) 國際出願番号	PCT/US2017/021972	(74) 代理人	100181674 弁理士 飯田 貴敏
(87) 國際公開番号	W02017/156500	(74) 代理人	100181641 弁理士 石川 大輔
(87) 國際公開日	平成29年9月14日 (2017.9.14)		
(31) 優先権主張番号	62/307,353		
(32) 優先日	平成28年3月11日 (2016.3.11)		
(33) 優先権主張国	米国 (US)		
(31) 優先権主張番号	62/443,615		
(32) 優先日	平成29年1月6日 (2017.1.6)		
(33) 優先権主張国	米国 (US)		
(31) 優先権主張番号	62/452,866		
(32) 優先日	平成29年1月31日 (2017.1.31)		
(33) 優先権主張国	米国 (US)		

最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 T G F β 1 結合性免疫グロブリンおよびその使用

(57) 【要約】

免疫グロブリン、例えば、G A R P - T G F 1、L T B P 1 - T G F 1、L T B P 3 - T G F 1、および/またはL R R C 3 3 - T G F 1の複合体に特異的に結合する抗体およびその抗原結合性部分などが本明細書に開示される。本出願は、例えば、T G F 1活性を阻害し、がんおよび線維症などのT G F 1関連障害に罹患している被験体を処置するための、これらの免疫グロブリンの使用方法も提供する。一局面では、上記抗体およびその抗原結合性部分が結合するT G F 1のエピトープは、G A R P - T G F 1複合体、L T B P 1 - T G F 1複合体、L T B P 3 - T G F 1複合体、およびL R R C 3 3 - T G F 1複合体のうちの2つまたはそれよりも多くの中に存在する場合に、上記抗体による結合に利用可能である。

【特許請求の範囲】

【請求項 1】

TGF-1のエピトープに特異的に結合する単離された抗体またはその抗原結合性部分であって、前記エピトープは、前記TGF-1が以下のタンパク質複合体：

GARP-TGF-1複合体、
LTBP1-TGF-1複合体、
LTBP3-TGF-1複合体、および
LRRC33-TGF-1複合体

のうちの2つまたはそれよりも多くの中に存在する場合に、前記抗体による結合に利用可能なものであり、

前記抗体は、遊離の成熟TGF-1には結合しない、
抗体またはその抗原結合性部分。

【請求項 2】

前記TGF-1が潜在型TGF-1である、請求項1に記載の抗体またはその抗原結合性部分。

【請求項 3】

前記TGF-1がプロTGF-1である、請求項1に記載の抗体またはその抗原結合性部分。

【請求項 4】

前記抗体が、TGF-2には結合しない、請求項1から3のいずれか一項に記載の抗体またはその抗原結合性部分。

【請求項 5】

TGF-3には結合しない、請求項1から4のいずれか一項に記載の抗体またはその抗原結合性部分。

【請求項 6】

TGF-1のインテグリンに結合する能力を妨げない、請求項1から5のいずれか一項に記載の抗体またはその抗原結合性部分。

【請求項 7】

配列番号5のアミノ酸配列を有する相補性決定領域3(CDR3)を含む重鎖可変領域および配列番号11のアミノ酸配列を有するCDR3を含む軽鎖可変領域を含む、請求項1から6のいずれか一項に記載の抗体またはその抗原結合性部分。

【請求項 8】

配列番号3のアミノ酸配列を有する相補性決定領域2(CDR2)を含む重鎖可変領域および配列番号9のアミノ酸配列を有するCDR2を含む軽鎖可変領域を含む、請求項1から7のいずれか一項に記載の抗体またはその抗原結合性部分。

【請求項 9】

配列番号1のアミノ酸配列を有する相補性決定領域1(CDR1)を含む重鎖可変領域および配列番号7のアミノ酸配列を有するCDR1を含む軽鎖可変領域を含む、請求項1から8のいずれか一項に記載の抗体またはその抗原結合性部分。

【請求項 10】

配列番号13に記載されているアミノ酸配列と少なくとも70%、75%、80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、または99%の同一性を有するアミノ酸配列を含む重鎖可変ドメインおよび配列番号14に記載されているアミノ酸配列と少なくとも70%、75%、80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、または99%の同一性を有するアミノ酸配列を含む軽鎖可変ドメインを含む、請求項1から9のいずれか一項に記載の抗体またはその抗原結合性部分。

【請求項 11】

配列番号13に記載されているアミノ酸配列を含む重鎖可変ドメインおよび配列番号14に記載されているアミノ酸配列を含む軽鎖可変ドメインを含む、請求項1から10のいずれか一項に記載の抗体またはその抗原結合性部分。

10

20

30

40

50

【請求項 1 2】

配列番号 6 のアミノ酸配列を有する C D R 3 を含む重鎖可変領域および配列番号 1 2 のアミノ酸配列を有する C D R 3 を含む軽鎖可変領域を含む、請求項 1 から 6 のいずれか一項に記載の抗体またはその抗原結合性部分。

【請求項 1 3】

配列番号 4 のアミノ酸配列を有する C D R 2 を含む重鎖可変領域および配列番号 1 0 のアミノ酸配列を有する C D R 2 を含む軽鎖可変領域を含む、請求項 1 から 6 、および 1 2 のいずれか一項に記載の抗体またはその抗原結合性部分。

【請求項 1 4】

配列番号 2 のアミノ酸配列を有する C D R 1 を含む重鎖可変領域および配列番号 8 のアミノ酸配列を有する C D R 1 を含む軽鎖可変領域を含む、請求項 1 から 6 、 1 2 および 1 3 のいずれか一項に記載の抗体またはその抗原結合性部分。 10

【請求項 1 5】

配列番号 1 5 に記載されているアミノ酸配列と少なくとも 7 0 % 、 7 5 % 、 8 0 % 、 8 5 % 、 9 0 % 、 9 5 % 、 9 6 % 、 9 7 % 、 9 8 % 、または 9 9 % の同一性を有するアミノ酸配列を含む重鎖可変ドメインおよび配列番号 1 6 に記載されているアミノ酸配列と少なくとも 7 0 % 、 7 5 % 、 8 0 % 、 8 5 % 、 9 0 % 、 9 5 % 、 9 6 % 、 9 7 % 、 9 8 % 、または 9 9 % の同一性を有するアミノ酸配列を含む軽鎖可変ドメインを含む、請求項 1 から 6 、および 1 2 から 1 4 のいずれか一項に記載の抗体またはその抗原結合性部分。

【請求項 1 6】

配列番号 1 5 に記載されているアミノ酸配列を含む重鎖可変ドメインおよび配列番号 1 6 に記載されているアミノ酸配列を含む軽鎖可変ドメインを含む、請求項 1 から 6 、および 1 2 から 1 5 のいずれか一項に記載の抗体またはその抗原結合性部分。 20

【請求項 1 7】

T G F 1 活性化を阻害する、請求項 1 から 1 6 のいずれか一項に記載の抗体またはその抗原結合性部分。

【請求項 1 8】

前記 G A R P - T G F 1 複合体、前記 L T B P 1 - T G F 1 複合体、前記 L T B P 3 - T G F 1 複合体、および / または前記 L R R C 3 3 - T G F 1 複合体からの成熟 T G F 1 の放出を阻害する、請求項 1 から 1 7 のいずれか一項に記載の抗体またはその抗原結合性部分。 30

【請求項 1 9】

T G F 1 の前記エピトープに対する解離定数 (K D) が、少なくとも約 1 0 ^{- 8} M ; 少なくとも約 1 0 ^{- 9} M ; 少なくとも約 1 0 ^{- 1 0} M ; 少なくとも約 1 0 ^{- 1 1} M ; 少なくとも約 1 0 ^{- 1 2} M ; および少なくとも約 1 0 ^{- 1 3} M からなる群より選択される、請求項 1 から 1 8 のいずれか一項に記載の抗体またはその抗原結合性部分。

【請求項 2 0】

ヒト I g G ₁ 定常ドメインまたはヒト I g G ₄ 定常ドメインの免疫グロブリン重鎖定常ドメインを含む、請求項 1 から 1 9 のいずれか一項に記載の抗体またはその抗原結合性部分。 40

【請求項 2 1】

ヒト I g G ₄ 定常ドメインの免疫グロブリン重鎖定常ドメインを含む、請求項 1 から 2 0 のいずれか一項に記載の抗体またはその抗原結合性部分。

【請求項 2 2】

I g G ₁ 様ヒンジが生成され、鎖間ジスルフィド結合の形成が可能になる S e r から P r o への骨格置換を有する、ヒト I g G ₄ 定常ドメインの免疫グロブリン重鎖定常ドメインを含む、請求項 2 1 に記載の抗体またはその抗原結合性部分。

【請求項 2 3】

ヒト I g ラムダ定常ドメインまたはヒト I g カッパ定常ドメインを含む免疫グロブリン軽鎖定常ドメインをさらに含む、請求項 1 から 2 2 のいずれか一項に記載の抗体またはそ 50

の抗原結合性部分。

【請求項 2 4】

2つの重鎖および2つの軽鎖である4つのポリペプチド鎖を有するIgGである、請求項1から23のいずれか一項に記載の抗体。

【請求項 2 5】

ヒト化抗体、ダイアボディ、またはキメラ抗体である、請求項1から24のいずれか一項に記載の抗体。

【請求項 2 6】

ヒト化抗体である、請求項1から25のいずれか一項に記載の抗体。

【請求項 2 7】

ヒト抗体である、請求項1から26のいずれか一項に記載の抗体。

【請求項 2 8】

ヒト生殖系列アミノ酸配列を有するフレームワークを含む、請求項1から27のいずれか一項に記載の抗体。

【請求項 2 9】

Fab断片、F(ab')2断片、scFab断片、またはscFv断片である、請求項1から28のいずれか一項に記載の抗原結合性部分。

【請求項 3 0】

請求項1から29までのいずれか1項に記載の抗体またはその抗原結合性部分と結合について競合する抗TGF-1抗体またはその抗原結合性部分。

【請求項 3 1】

請求項1から29のいずれか一項に記載の抗体またはその抗原結合性部分と同じエピトープに結合する抗TGF-1抗体またはその抗原結合性部分。

【請求項 3 2】

請求項1から31のいずれか一項に記載の抗体またはその抗原結合性部分および薬学的に許容される担体を含む医薬組成物。

【請求項 3 3】

TGF-1活性化を阻害するための方法であって、GARP-TGF-1複合体、LTBP1-TGF-1複合体、LTBP3-TGF-1複合体、またはLRRRC33-TGF-1複合体を請求項1から31のいずれか一項に記載の抗体もしくはその抗原結合性部分または請求項32に記載の医薬組成物に曝露させるステップを含む、方法。

【請求項 3 4】

前記抗体またはその抗原結合性部分が、前記GARP-TGF-1複合体、前記LTBP1-TGF-1複合体、前記LTBP3-TGF-1複合体、および/または前記LRRRC33-TGF-1複合体からの成熟TGF-1の放出を阻害する、請求項33に記載の方法。

【請求項 3 5】

in vitroで実施される、請求項33または34に記載の方法。

【請求項 3 6】

in vivoで実施される、請求項33または34に記載の方法。

【請求項 3 7】

前記GARP-TGF-1複合体または前記LRRRC33-TGF-1複合体が、細胞の外表面に存在する、請求項33から34のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 3 8】

前記細胞が、T細胞、線維芽細胞、マクロファージ、単球、樹状細胞、抗原提示細胞、またはミクログリアである、請求項37に記載の方法。

【請求項 3 9】

前記LTBP1-TGF-1複合体または前記LTBP3-TGF-1複合体が、細胞外マトリクスに結合している、請求項33から36のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 4 0】

10

20

30

40

50

前記細胞外マトリクスが、フィブリリンを含む、請求項 3 9 に記載の方法。

【請求項 4 1】

前記細胞外マトリクスが、RGDモチーフを含むタンパク質を含む、請求項 3 9 または 4 0 に記載の方法。

【請求項 4 2】

被験体におけるTGF-1活性化を低減するための方法であって、前記被験体に、請求項 1 から 3 1 のいずれか一項に記載の抗体もしくはその抗原結合性部分または請求項 3 2 に記載の医薬組成物を有効量で投与し、それにより、前記被験体におけるTGF-1活性化を低減するステップを含む、方法。

【請求項 4 3】

前記被験体が、線維症、筋ジストロフィー、がん、認知症、および骨髄線維症からなる群より選択される状態を有するかまたは有するリスクがある、請求項 4 2 に記載の方法。

【請求項 4 4】

前記被験体が、肝線維症、腎線維症、または肺線維症（例えば、特発性肺線維症）を有するかまたは有するリスクがある、請求項 4 3 に記載の方法。

【請求項 4 5】

前記被験体が、ミオスタチン阻害剤、VEGFアゴニスト、IGF-1アゴニスト、FXRアゴニスト、CCR2阻害剤、CCR5阻害剤、二重CCR2/CCR5阻害剤、リシリオキシダーゼ様-2阻害剤、ASK1阻害剤、アセチル-C_oAカルボキシラーゼ（ACC）阻害剤、p38キナーゼ阻害剤、ピルフェニドン、ニンテダニブ、GDF11阻害剤、またはこれらの任意の組み合わせを含む治療をさらに受ける、請求項 4 4 に記載の方法。

【請求項 4 6】

前記抗体またはその抗原結合性部分が、制御性T細胞の抑制活性を低減する、請求項 4 2 から 4 5 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 4 7】

前記抗体またはその抗原結合性部分が、前記被験体における臓器毒性を誘導しない、請求項 3 3 から 4 6 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 4 8】

前記臓器毒性が、心血管毒性、胃腸毒性、免疫毒性、骨毒性、軟骨毒性、生殖系毒性、または腎毒性を含む、請求項 4 7 に記載の方法。

【請求項 4 9】

がんの処置を必要とする被験体におけるがんを処置するための方法であって、前記被験体に、請求項 1 から 3 1 のいずれか一項に記載の抗体もしくはその抗原結合性部分または請求項 3 2 に記載の医薬組成物を有効量で投与し、それにより、前記被験体におけるがんを処置するステップを含む、方法。

【請求項 5 0】

前記抗体またはその抗原結合性部分を追加的な薬剤または追加的な治療と組み合わせて投与する、請求項 4 9 に記載の方法。

【請求項 5 1】

前記追加的な薬剤がチェックポイント阻害剤である、請求項 4 9 に記載の方法。

【請求項 5 2】

前記追加的な薬剤が、PD-1アンタゴニスト、PDL1アンタゴニスト、PD-L1またはPDL2融合タンパク質、CTLA4アンタゴニスト、GITRアゴニスト、抗ICOS抗体、抗ICOSL抗体、抗B7H3抗体、抗B7H4抗体、抗TIM3抗体、抗LAG3抗体、抗OX40抗体、抗CD27抗体、抗CD70抗体、抗CD47抗体、抗41BB抗体、抗PD-1抗体、腫瘍溶解性ウイルス、およびPARP阻害剤からなる群より選択される、請求項 4 9 に記載の方法。

【請求項 5 3】

前記追加的な治療が、放射線、化学療法剤、またはこれらの組み合わせである、請求項

10

20

30

40

50

4 9 に記載の方法。

【請求項 5 4】

請求項 1 から 3 1 のいずれか一項に記載の抗体またはその抗原結合性部分をコードする核酸。

【請求項 5 5】

請求項 1 から 3 1 のいずれか一項に記載の抗体もしくはその抗原結合性部分または請求項 3 2 に記載の医薬組成物、およびその使用についての指示を含む、キット。

【請求項 5 6】

筋線維傷害を処置するための方法であって、筋線維傷害を有する被験体に、TGF 2 / 3 に対して TGF 1 を選択的に阻害する薬剤を、

10

- i) 筋線維修復を促進する；
- ii) 収縮誘導性損傷から保護する；
- iii) 筋肉の炎症を低減する；および / または、
- iv) 筋肉の線維症を低減する

のに有効な量で投与するステップを含む、方法。

【請求項 5 7】

前記量が、前記被験体において許容されないレベルの有害作用を引き起こさない、請求項 5 6 に記載の方法。

【請求項 5 8】

前記筋線維傷害が、
i) 筋ジストロフィーに関連する；または
ii) 急性筋損傷に関連する、

20

請求項 5 6 または 5 7 に記載の方法。

【請求項 5 9】

前記薬剤が、TGF 1 の活性化を遮断するが、TGF 2 または TGF 3 の活性化を遮断しない、請求項 5 6 から 5 8 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 6 0】

前記薬剤が、モノクローナル抗体である、請求項 5 6 から 5 9 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 6 1】

前記モノクローナル抗体が、GARP - プロTGF 1 潜在型複合体、LRRC33 - プロTGF 1 潜在型複合体、LTBP1 - プロTGF 1 潜在型複合体、LTBP2 - プロTGF 1 潜在型複合体、LTBP3 - プロTGF 1 潜在型複合体、および / または LTBP4 - プロTGF 1 潜在型複合体に結合する、請求項 6 0 に記載の方法。

30

【請求項 6 2】

前記被験体が、ミオスタチン阻害剤をさらに受ける、請求項 5 6 から 6 1 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 6 3】

疾患に関連する TGF 1 の供給源または状況を同定するステップ
をさらに含む、請求項 5 6 から 6 2 のいずれか一項に記載の方法。

40

【請求項 6 4】

TGF シグナル伝達を調節する医薬組成物を生成するための方法であって、
TGF の少なくとも 1 つのアイソフォームのシグナル伝達を調節する 1 つまたは複数の薬剤を提供するステップ；

TGF の全てのアイソフォームに対する前記 1 つまたは複数の薬剤の活性を測定するステップ；

TGF の単一のアイソフォームに特異的である薬剤を選択するステップ；
アイソフォーム特異的 TGF モジュレーターおよび薬学的に許容される賦形剤を含む医薬組成物に製剤化するステップ
を含む、方法。

50

【請求項 6 5】

前記アイソフォーム特異的 TGF モジュレーターが、 TGF 1 特異的モジュレーターである、請求項 6 4 に記載の方法。

【請求項 6 6】

前記 TGF 1 特異的モジュレーターが、 TGF 1 の阻害剤である、請求項 6 5 に記載の方法。

【請求項 6 7】

前記アイソフォーム特異的 TGF モジュレーターが、抗体またはその断片である、請求項 6 4 に記載の方法。

【請求項 6 8】

前記抗体またはその断片が、 TGF 1 のプロ / 潜在型複合体に特異的に結合する、請求項 6 7 に記載の方法。

【請求項 6 9】

前記抗体またはその断片が、前記プロ / 潜在型複合体に存在しない遊離の成熟 TGF 1 には結合しない、請求項 6 8 に記載の方法。

【請求項 7 0】

前記プロ / 潜在型複合体が、 GARP 、 LRR C 33 、 LTB P 1 、 LTB P 2 、 LTB P 3 または LTB P 4 を含む、請求項 6 8 に記載の方法。

【請求項 7 1】

請求項 6 4 に記載の方法によって生成される医薬組成物。

【請求項 7 2】

TGF シグナル伝達に関連する疾患を処置するための方法であって、

それを必要とする被験体に、請求項 7 1 に記載の医薬組成物を、前記疾患を処置するのに有効な量で投与するステップを含み、前記量が、前記疾患を有する患者集団に投与した場合に統計的に有意な臨床的効能および安全性を達成する、方法。

【請求項 7 3】

被験体における有害作用の低減に使用するための TGF 阻害剤であって、アイソフォーム選択的である TGF 阻害剤。

【請求項 7 4】

前記 TGF 阻害剤が、 TGF 1 を特異的に阻害する抗体である、請求項 7 3 に記載の使用。

【発明の詳細な説明】**【技術分野】****【0001】****関連出願**

この出願は、2016年3月11日に出願された米国仮出願第 62/307,353 号、2017年1月6日に出願された米国仮出願第 62/443,615 号および 2017 年 1 月 31 日に出願された米国仮出願第 62/452,866 号（これら各々の全体の内容は、その全容が参考として本明細書に明示的に援用される）に対する優先権を主張する。

【背景技術】**【0002】**

増殖因子のトランスホーミング増殖因子（ TGF ）スーパーファミリーは、これらに限定されないが、細胞増殖の阻害、組織恒常性、細胞外マトリクス（ ECM ）リモデリング、内皮間葉転換（ EMT ）、細胞遊走および浸潤、および免疫調節 / 抑制、ならびに間葉上皮転換を含めた多様な生物学的プロセスを制御するいくつものシグナル伝達カスケードに関与する。 ECM リモデリングとの関連で、 TGF シグナル伝達により線維芽細胞集団および ECM 沈着（例えば、コラーゲン）が増加する可能性がある。免疫系では、 TGF リガンドにより、制御性 T 細胞の機能ならびに免疫前駆細胞の増殖および恒常性

10

20

30

40

50

の維持が調節される。正常な上皮細胞では、TGF- β は、強力な増殖阻害剤および細胞分化のプロモーターである。しかし、腫瘍が発生し進行するにつれ、上皮細胞はTGF- β に対する負の増殖応答を失う頻度が高い。この場面では、TGF- β は、血管新生を刺激し、間質の環境を変化させ、局所および全身免疫抑制を誘導することができるので、腫瘍発生のプロモーターになり得る。これらおよび他の理由で、TGF- β はいくつもの臨床的適応症に関する治療標的になっている。現在までいくつものグループにより多くの努力がなされてきたにもかかわらず、TGF- β 治療薬の臨床開発は困難なものである。

【0003】

ラットおよびイヌを含めた前臨床試験からの観察から、in vivoにおけるTGF- β の阻害に付随するある特定の毒性が明らかになった。さらに、現在までにいくつかのTGF- β 阻害剤が開発されてきたが、TGF- β を標的化する大半の臨床的なプログラムは副作用に起因して中止されている。10

【0004】

例えば、Andersonら(Toxicology Pathology、39巻:916~24頁、2011年)により、前臨床動物モデルにおいてTGF- β I型(ALK5)受容体の小分子阻害剤が出血、炎症、変性および弁間質細胞の増殖を特徴とする心臓弁病変を誘導することが報告された。この毒性は、試験した全ての用量で、全ての心臓弁において観察された。Frazierら(Toxicology Pathology、35巻:284~295頁、2007年)により、ラットにおいて、TGF- β I型(ALK5)受容体の小分子阻害剤であるGW788388を投与すると骨端軟骨異形成が誘導されることが報告された。20

【0005】

Stauberら(J. Clin. Practice、4巻:3号、2014年)により、ラットおよびイヌにおいて、ある特定のがん処置に関して調査されているTGF- β 受容体I型キナーゼの阻害剤であるLY2157299を長期(3か月以上)投与すると心血管系、胃腸系、免疫系、骨/軟骨系、生殖系、および腎臓系が関与する多数の臓器毒性が引き起こされたことが報告された。

【0006】

TGF- β の全てのヒトアイソフォームを中和することができる「汎」TGF- β 抗体であるフレソリムマブ(Fresolimumab)(GC1008)は、カニクイザルを用いた試験において、複数回の投与後に、歯肉、膀胱、および鼻甲介上皮の上皮過形成を誘導することが報告されている(Loonningら、Current Pharmaceutical Biotechnology、12巻:2176~89頁、2011年)。同様に、臨床試験において、当該薬物の複数用量の投与後に種々の皮膚発疹/病変、歯肉出血および疲労が報告されている。フレソリムマブに対する最も注目すべき有害反応は、ヒトがん患者における皮膚の角化棘細胞腫および/または扁平上皮細胞癌の誘導を含む(例えば、Lacoutureら、2015年、Cancer Immunol Immunother、64巻:437~46頁；Stevensonら、2013年、Oncology Immunology、2巻:8号、e26218頁；およびLoonningら、2011年を参照されたい)。臨床試験からの追加的な証拠から、一部の場合ではこの抗体により腫瘍の進行が加速する可能性があることが示唆される(Stevensonら、2013年、Oncology Immunology、2巻:8号、e26218頁)。3040

【0007】

したがって、例えば、がん、線維症および炎症を含めた、TGF- β が関与する疾患および障害を有効かつ安全に処置するために使用することができる、TGF- β シグナル伝達を調節するための新しい方法および組成物が必要である。

【先行技術文献】

【非特許文献】

【0008】

【非特許文献1】Lacoutureら、Cancer Immunol Immunotherapy、50

ther (2015年) 64巻: 437~46頁

【非特許文献2】Stevensonら、Oncology (2013年)

2巻: 8号、e26218頁

【発明の概要】

【課題を解決するための手段】

【0009】

本開示は、TGF 作用のサブセットの選択的調節に関する。本発明は、少なくとも一部において、現在までに分かっているTGF アンタゴニストのアイソフォーム特異性の欠如が、TGF 阻害に付随する毒性の原因の基礎をなす可能性があるという概念に基づく。実際に、本開示の発明者らは、現在までに記載されている大半のTGF 阻害剤が複数のまたは全てのTGF アイソフォームに対して拮抗することを見出した。さらに、当技術分野で記載されている一般的傾向は、TGF の複数のアイソフォームの中和が「最大の治療的効能」を達成するのに必要または有利であると思われるという理由で、TGF の複数のアイソフォームに対して拮抗する阻害剤（例えば、抗TGF 抗体など）が有利であることである（例えば、Bedingerら（2016年）MABS、8巻（2号）: 389~404頁を参照されたい）。

【0010】

この一般的教示とは反対に、本発明の発明者らは、その代わりに、in vivoにおいて公知のTGF アンタゴニストを用いて観察される毒性（例えば、有害作用、副作用）を排除することまたは著しく低減することを目的として、TGF 2および/またはTGF 3にも影響を及ぼす阻害とは対照的に、TGF 1のアイソフォーム特異的阻害を可能にする薬剤を開発しようと努めた。この新規の手法は、少なくとも一部において、TGF 阻害剤の臨床的有用性が、その効能だけでなく、その安全性にも基づくものであり得るという概念に基づく。前例のない特異性の程度を用いて標的を微調整できることにより、臨床の場における効能と安全性/忍容性の両方を達成することができると判断した。

【0011】

したがって、本発明は、TGF シグナル伝達をアイソフォーム特異的に阻害する医薬品により、複数のTGF アイソフォームに影響を及ぼす薬剤と比較して改善された安全性プロファイルがもたらされ得るという認識を包含する。対照的に、当技術分野におけるいくつもの公知のTGF アンタゴニストは、in vivoにおいて効果的であることが示されている用量で、許容されないレベルの毒性を生じる。そのような例では、毒性を回避するために、より少ない投薬を使用することができるが、その低減した用量ではもはや十分なin vivo効能が生じなくなる可能性がある。特定の理論にも拘束されることを望まないが、そのような毒性は、少なくとも一部において、薬剤のアイソフォーム特異性/選択性の欠如によって生じることが予想される。

【0012】

したがって、一態様では、本発明は、被験体におけるTGF 阻害に付随する毒性（例えば、有害作用、望ましくない副作用）を低減するための方法を提供する。本発明によると、本明細書に記載のものなどのTGF 1特異的阻害剤は、より広範な標的（例えば、TGF の1種よりも多くのアイソフォーム）に対する活性を引き出す薬剤と比較して優れた安全性-効能プロファイルを有する。したがって、そのようなTGF 1特異的阻害剤は、それを必要とする被験体に、有害作用を引き起こすことなく、治療有効用量で投与することが可能である。したがって、そのような手法により、患者において効能および安全性/忍容性の両方を達成することができる投薬量の範囲が広がる。したがって、本発明は、TGF 1シグナル伝達に関連する疾患を、被験体にTGF 1アイソフォームに特異的または高度に選択性のあるTGF 阻害剤を有効量で投与することによって処置するための方法を提供する。いくつかの実施形態では、そのようなTGF 1アイソフォーム選択性またはTGF 1アイソフォーム特異的阻害剤は、小分子薬剤または生物製剤（例えば、抗体）であり得る。任意のそのような阻害剤の、被験体におけるTGF 阻害に付随する毒性（例えば、有害作用または副作用）を低減するための使用は本発明に含まれる。

10

20

30

40

50

る。本発明によると、有効量は、i) 効能（例えば、治療的に有益な影響）；およびii) 安全性（例えば、有害作用または副作用が許容されるレベルの範囲内であること）の両方を可能にする投薬量の範囲内である。いくつかの実施形態では、有害作用は、心血管毒性、胃腸毒性、免疫毒性、骨/軟骨毒性、生殖毒性、および腎毒性を含み得る。いくつかの実施形態では、心血管毒性は、これらに限定されないが、心臓弁病変、例えば、弁間質細胞の出血、炎症、変性および増殖を含む。いくつかの実施形態では、有害作用は、出血を含み得る。いくつかの実施形態では、有害作用は、皮膚病変または腫瘍を含み得る。いくつかの実施形態では、有害作用は、腫瘍の進行を含み得る。

【0013】

したがって、いくつかの実施形態では、本発明は、in vivoにおけるTGF-1活性化のステップを選択的に阻害し、TGF-2および/またはTGF-3活性化のステップは阻害しないことを特徴とするアイソフォーム特異的TGF-1阻害剤抗体またはその抗原結合性断片を提供する。そのような抗体またはその断片は、TGF-1阻害が有益である被験体に、許容されないまたは耐えられないレベルの有害作用を引き起こすことなく臨床的効能を達成するのに有効な量で投与され得る。したがって、本発明は、ヒト患者におけるTGF-シグナル伝達に関連する疾患または状態を処置するための効能基準および安全性基準の両方が満たされるように特異的に選択されるTGF-1アイソフォーム特異的阻害剤を教示する。

【0014】

関連する態様では、本発明は、改善された安全性プロファイル（例えば、in vivo毒性の低減）を有するアイソフォーム特異的TGF-モジュレーターの作製方法を提供する。そのような方法では、候補薬剤をアイソフォーム特異性について試験し、選択する必要がある。いくつかの実施形態では、候補薬剤をTGF-2および/またはTGF-3シグナル伝達ではなくTGF-1シグナル伝達に対する特異的な活性について選択する。いくつかの実施形態では、そのような薬剤は、TGF-1アイソフォーム特異的阻害剤である。いくつかの実施形態では、そのような薬剤は、TGF-2および/またはTGF-3ではなくTGF-1に特異的に結合し、その活性化を遮断する抗体またはその抗原結合性断片である。いくつかの実施形態では、そのような抗体またはその抗原結合性断片は、プロ/潜在型複合体と会合していない遊離の成熟TGF-1増殖因子には結合しない。

【0015】

別の態様では、本発明は、TGF-活性化を状況依存的に調節することによってTGF-シグナル伝達のさらなる微調整を達成するための組成物および関連する方法を提供する。

【0016】

TGF-は、いくつもの細胞/組織作用の付与に関与し、そのような作用はそれぞれ、一部において、いわゆる「提示分子」との相互作用によって媒介される。種々の提示分子の発現は細胞型特異的または組織特異的であるので、TGF-は、その特定の提示分子との相互作用（すなわち、「状況」）に応じて細胞作用を付与することが意図されている。したがって、とりわけ、本開示は、特定の状況（すなわち、TGF-と提示分子とを含む複合体）で存在するTGF-に選択的に結合するモノクローナル抗体を提供する。いくつかの実施形態では、そのようなモノクローナル抗体は、以下の複合体：i) TGF-1-GARP；ii) TGF-1-LRRRC33；iii) TGF-1-LTBP1；および、iv) TGF-1-LTBP3のうちの少なくとも1つ、少なくとも2つ、または少なくとも3つに特異的に結合する。いくつかの実施形態では、そのようなモノクローナル抗体は、以下の複合体：i) TGF-1-GARP；ii) TGF-1-LRRRC33；iii) TGF-1-LTBP1；および、iv) TGF-1-LTBP3のうちの1つに特異的に結合する。いくつかの実施形態では、そのようなモノクローナル抗体は、以下の複合体：i) TGF-1-GARP；ii) TGF-1-LRRRC33；iii) TGF-1-LTBP1；および、iv) TGF-1-LTBP3のうちの2つに特異的に結合する。いくつかの実施形態では、そのようなモノクローナル抗体は、以下の複合体：i)

10

20

30

40

50

T G F 1 - G A R P ; i i) T G F 1 - L R R C 3 3 ; i i i) T G F 1 - L T B P 1 ; および、 i v) T G F 1 - L T B P 3 のうちの 3 つに特異的に結合する。いくつかの実施形態では、そのようなモノクローナル抗体は、以下の複合体： i) T G F 1 - G A R P ; i i) T G F 1 - L R R C 3 3 ; i i i) T G F 1 - L T B P 1 ; および、 i v) T G F 1 - L T B P 3 の全てに特異的に結合する。いくつかの実施形態では、そのようなモノクローナル抗体は、遊離の T G F 1 である（例えば、提示分子と複合体を形成していない）成熟 T G F 1 には結合しない。

【 0 0 1 7 】

本開示は、 T G F 1 の小潜在型複合体（例えば、「 C 4 S 」）に結合するモノクローナル抗体を含む。

10

【 0 0 1 8 】

本開示は、特定の状況にある T G F を選択的に標的化し、調節するモノクローナル抗体をさらに提供する。いくつかの実施形態では、そのようなモノクローナル抗体は、特定の状況にある T G F を阻害するかまたは活性化する。

【 0 0 1 9 】

したがって、本発明は、 T G F 活性のサブセットを調節する（活性化するかまたは阻害する）ための組成物および方法を提供する。したがって、本発明は、 T G F に媒介されるシグナル伝達経路のサブセットを、他の T G F に媒介されるシグナル伝達経路に影響を及ぼすことなく選択的に調節することができるモノクローナル抗体を含む。いくつかの実施形態では、 T G F に媒介されるシグナル伝達経路のサブセットは、 i) G A R P に媒介される T G F 作用、 i i) L R R C 3 3 に媒介される T G F 作用、 i i i) L T B P 1 に媒介される T G F 作用、および i v) L T B P 3 に媒介される T G F 作用のうちの少なくとも 1 つ、少なくとも 2 つ、または少なくとも 3 つを含む。いくつかの実施形態では、そのようなモノクローナル抗体は、以下の T G F に媒介されるシグナル伝達経路のうちの 1 つを、他の 3 つ経路は調節することなく、特異的に調節する： i) G A R P に媒介される T G F 作用、 i i) L R R C 3 3 に媒介される T G F 作用、 i i i) L T B P 1 に媒介される T G F 作用、および i v) L T B P 3 に媒介される T G F 作用。いくつかの実施形態では、そのようなモノクローナル抗体は、以下の T G F に媒介されるシグナル伝達経路のうちの 2 つを、他の 2 つの経路は調節することなく、特異的に調節する： i) G A R P に媒介される T G F 作用、 i i) L R R C 3 3 に媒介される T G F 作用、 i i i) L T B P 1 に媒介される T G F 作用、および i v) L T B P 3 に媒介される T G F 作用。いくつかの実施形態では、そのようなモノクローナル抗体は、以下の T G F に媒介されるシグナル伝達経路のうちの 3 つを、他の 1 つの経路は調節することなく、特異的に調節する： i) G A R P に媒介される T G F 作用、 i i) L R R C 3 3 に媒介される T G F 作用、 i i i) L T B P 1 に媒介される T G F 作用、および i v) L T B P 3 に媒介される T G F 作用。いくつかの実施形態では、そのようなモノクローナル抗体は、以下の T G F に媒介されるシグナル伝達経路の全てを特異的に調節する： i) G A R P に媒介される T G F 作用、 i i) L R R C 3 3 に媒介される T G F 作用、 i i i) L T B P 1 に媒介される T G F 作用、および i v) L T B P 3 に媒介される T G F 作用。いくつかの実施形態では、そのようなモノクローナル抗体は、 G A R P に媒介される T G F 作用を特異的に調節する。いくつかの実施形態では、そのようなモノクローナル抗体は、 L R R C 3 3 に媒介される T G F 作用を特異的に調節する。いくつかの実施形態では、そのようなモノクローナル抗体は、 L T B P 1 に媒介される T G F 作用を特異的に調節する。いくつかの実施形態では、そのようなモノクローナル抗体は、 L T B P 3 に媒介される T G F 作用を特異的に調節する。したがって、本発明は、 T G F 活性を状況依存的に選択的に標的化するための方法を提供する。

20

【 0 0 2 0 】

本発明の態様は、ヒト被験体における疾患または障害を処置するための医薬組成物および方法を含む。いくつかの実施形態では、そのような疾患または障害は、免疫制御 / 制御不全に関連する状態、 T 細胞制御 / 制御不全に関連する状態；線維化特徴に関連する状態

30

40

50

(線維症)；および／または腫瘍に関連する状態を含む。

【0021】

本明細書に記載のTGFのプロ／潜在型複合体を特異的に標的化する抗体またはその断片は、すでに放出された遊離の成熟増殖因子を標的化するのとは対照的に、活性化ステップ（すなわち、不活性な潜在型のプレ形態の複合体からの遊離の成熟TGF増殖因子の放出）を調節するものであるので、これらの調節剤の作用様式は、組織内のTGF増殖因子の供給源に依存する。したがって、疾患の状況に関与するTGFの供給源を同定することが、適正な状況にあるTGFを有効に調節する薬剤の選択に役立つことが意図されている。例えば、GARPに媒介されるTGF1作用を伴う疾患表現型を処置するためには、GARP-プロTGF1複合体を特異的に標的化する抗体またはその断片を選択することが望ましい。LRR33に媒介されるTGF1作用を伴う疾患表現型を処置するためには、LRR33-プロTGF1複合体を特異的に標的化する抗体またはその断片を選択することが望ましい。LTBP1に媒介されるTGF1作用を伴う疾患表現型を処置するためには、LTBP1-プロTGF1複合体を特異的に標的化する抗体またはその断片を選択することが望ましい。LTBP2に媒介されるTGF1作用を伴う疾患表現型を処置するためには、LTBP2-プロTGF1複合体を特異的に標的化する抗体またはその断片を選択することが望ましい。LTBP3に媒介されるTGF1作用を伴う疾患表現型を処置するためには、LTBP3-プロTGF1複合体を特異的に標的化する抗体またはその断片を選択することが望ましい。

LTBP4に媒介されるTGF1作用を伴う疾患表現型を処置するためには、LTBP4-プロTGF1複合体を特異的に標的化する抗体またはその断片を選択することが望ましい。複数の（例えば、2つまたはそれよりも多くの）状況によって媒介されるTGF1作用を伴う疾患表現型を処置するためには、対応する複数のTGF1提示の状況を標的化することが可能な抗体またはその断片を選択することが望ましい。

【0022】

ある特定の疾患は、単一のTGF機能の状況に限定されない、TGFシグナル伝達の複数の生物学的役割に関連する。そのような場面では、複数の状況にわたってTGF作用を調節することが有益であり得る。したがって、いくつかの実施形態では、本発明は、TGF1を、状況特異的にではなく、アイソフォーム特異的に標的化し、調節するための方法を提供する。そのような薬剤は、「アイソフォーム特異的、状況許容的」TGF

1モジュレーターと称され得る。いくつかの実施形態では、状況許容的TGF1モジュレーターは、複数の状況（例えば、複数の型のプロ／潜在型TGF1複合体）を標的化する。いくつかの実施形態では、状況許容的TGF1モジュレーターは、全ての状況を包含するように、全ての型のプロ／潜在型TGF1複合体（例えば、GARPと会合したもの、LRR33と会合したもの、LTBPと会合したものなど）を標的化する。

【0023】

状況許容的TGF1モジュレーターは1つよりも多くの型のプロ／潜在型TGF1複合体（すなわち、異なる提示分子を伴う）を標的化することが可能である一方で、いくつかの実施形態では、そのようなモジュレーターは、1つまたは複数の状況を他の状況よりも好み得る。したがって、いくつかの実施形態では、TGF1の活性化を阻害する状況許容的抗体は、そのような抗体が両方の型のプロ／潜在型複合体に結合することができるものであっても、1つの提示分子によって媒介されるTGF1活性化を、別の提示分子よりも優先的に阻害する。いくつかの実施形態では、そのような抗体は、LTBPと会合したTGF1、GARPと会合したTGF1、およびLRR33と会合したTGF1に結合し、その活性化を阻害するが、LTBPと会合したTGF1に対して優先的な阻害活性を有するモノクローナル抗体である。いくつかの実施形態では、そのような抗体は、LTBP1と会合したTGF1、LTBP3と会合したTGF1、GARPと会合したTGF1、およびLRR33と会合したTGF1に結合し、その活性化を阻害するが、LTBP1-およびLTBP-3と会合したTGF1に対して優先的な阻害活性を有するモノクローナル抗体である。いくつかの実施形態では、そのような抗体

10

20

30

40

50

は、L T B P 1と会合したT G F 1、L T B P 3と会合したT G F 1、G A R Pと会合したT G F 1、およびL R R C 3 3と会合したT G F 1に結合し、その活性化を阻害するが、G A R Pと会合したT G F 1およびL R R C 3 3と会合したT G F 1に対して優先的な阻害活性を有するモノクローナル抗体である。いくつかの実施形態では、そのような抗体は、G A R Pと会合したT G F 1およびL R R C 3 3と会合したT G F 1に結合し、その活性化を阻害するが、G A R Pと会合したT G F 1に対して優先的な阻害活性を有するモノクローナル抗体である。いくつかの実施形態では、そのような抗体は、G A R Pと会合したT G F 1およびL R R C 3 3と会合したT G F 1に結合し、その活性化を阻害するが、L R R C 3 3と会合したT G F 1に対して優先的な阻害活性を有するモノクローナル抗体である。

10

【0024】

したがって、本発明によると、T G F 作用のサブセットを標的化するために、種々の選択性の程度を生じさせることができる。T G F のアイソフォーム特異的モジュレーター（T G F の単一のアイソフォームを標的化する）は、汎T G F モジュレーター（T G F の複数のまたは全てのアイソフォームを標的化する）よりも高い選択性をもたらすものである。T G F のアイソフォーム特異的、状況許容的モジュレーター（T G F の単一のアイソフォームの複数の状況を標的化する）は、アイソフォーム特異的モジュレーターよりも大きな選択性をもたらすものである。T G F のアイソフォーム特異的、状況特異的モジュレーター（T G F の単一のアイソフォームの単一の状況を標的化する）は、アイソフォーム特異的、状況許容的モジュレーターよりもはるかに高い選択性をもたらすものである。

20

【0025】

したがって、いくつかの実施形態では、本発明は、まず、疾患に関連するT G F の供給源および／または状況を同定または確認し、次いで、組織内のT G F の特定のサブプールを特異的に標的化する薬剤を選択することを含む、T G F シグナル伝達に関連する疾患を処置するための方法を含む。このように、そのような手法により、T G F の正常な機能は保存しながら、T G F の疾患に関連する機能を優先的に調節することができる事が意図されている。いくつかの実施形態では、疾患に関連するT G F の供給源／状況を同定するために、患部組織に存在するT G F 提示分子（複数可）の発現を評価することができる。一例を挙げると、疾患組織内にL T B Pと会合したT G F 1潜在型複合体およびG A R Pと会合したT G F 1複合体の両方が存在する可能性があり、この2つのうちの後者のみが疾患表現型として発現する可能性がある。その筋書きでは、L T B Pに媒介されるT G F 1シグナル伝達はインタクトに維持しながら、G A R Pに媒介されるT G F 1シグナル伝達を阻害することが望ましい。疾患に関連するT G F 1の供給源／状況の決定は、特定の提示分子（例えば、G A R P、L R R C 3 3、L T B Pなど）を含むT G F 1潜在型複合体に特異的に結合する抗体を使用して行うことができる。T 細胞制御／制御不全に関連する状態の処置に関しては、本発明のいくつかの実施形態は、被験体におけるG A R Pに媒介されるT G F 作用を調節するモノクローナル抗体を有効量で含む組成物の投与を含む。

30

【0026】

免疫制御／制御不全に関連する状態の処置に関しては、本発明のいくつかの実施形態は、被験体におけるG A R Pに媒介されるT G F 作用および／またはL R R C 3 3に媒介されるT G F 作用を調節するモノクローナル抗体を有効量で含む組成物の投与を含む。

40

【0027】

線維症に関連する状態の処置に関しては、本発明のいくつかの実施形態は、被験体におけるL T B P 1に媒介されるT G F 作用および／またはL T B P 3に媒介されるT G F 作用を調節するモノクローナル抗体を有効量で含む組成物の投与を含む。

【0028】

ある特定の型のがんに関連する状態の処置に関しては、本発明のいくつかの実施形態は、被験体におけるG A R Pに媒介されるT G F 作用、L T B P 1に媒介されるT G F

50

作用および／または L T B P 3 に媒介される T G F 作用を調節するモノクローナル抗体を有効量で含む組成物の投与を含む。

【 0 0 2 9 】

本開示の態様は、 G A R P - T G F 1 複合体、 L T B P 1 - T G F 1 複合体、 L T B P 3 - T G F 1 複合体および／または L R R C 3 3 - T G F 1 複合体に特異的に結合する抗体またはその抗原結合性部分などの免疫グロブリンに関する。本明細書に記載の抗体またはその抗原結合性部分は、 T G F 1 が G A R P - T G F 1 複合体、 L T B P 1 - T G F 1 複合体、 L T B P 3 - T G F 1 複合体および／または L R R C 3 3 - T G F 1 に存在する場合に、抗体またはその抗原結合性部分による結合に利用可能な T G F 1 のエピトープに特異的に結合する。

10

【 0 0 3 0 】

一態様では、 T G F 1 のエピトープに特異的に結合する単離された抗体またはその抗原結合性部分であって、エピトープが、 T G F 1 が以下のタンパク質複合体： G A R P - T G F 1 複合体、 L T B P 1 - T G F 1 複合体、 L T B P 3 - T G F 1 複合体、および L R R C 3 3 - T G F 1 複合体のうちの 2 つまたはそれよりも多くに存在する場合に、抗体による結合に利用可能なものであり、抗体が遊離の成熟 T G F 1 には結合しない、単離された抗体またはその抗原結合性部分が本明細書で提供される。

【 0 0 3 1 】

いくつかの実施形態では、 T G F 1 は、潜在型 T G F 1 である。いくつかの実施形態では、 T G F 1 は、プロ T G F 1 である。

20

【 0 0 3 2 】

いくつかの実施形態では、抗体またはその抗原結合性部分は、 T G F 2 には結合しない。いくつかの実施形態では、抗体またはその抗原結合性部分は、 T G F 3 には結合しない。いくつかの実施形態では、抗体またはその抗原結合性部分は、 T G F 1 のインテグリンに結合する能力を妨げない。

【 0 0 3 3 】

いくつかの実施形態では、抗体またはその抗原結合性部分は、配列番号 5 のアミノ酸配列を有する相補性決定領域 3 (C D R 3) を含む重鎖可変領域および配列番号 1 1 のアミノ酸配列を有する C D R 3 を含む軽鎖可変領域を含む。いくつかの実施形態では、抗体またはその抗原結合性部分は、配列番号 3 のアミノ酸配列を有する相補性決定領域 2 (C D R 2) を含む重鎖可変領域および配列番号 9 のアミノ酸配列を有する C D R 2 を含む軽鎖可変領域を含む。いくつかの実施形態では、抗体またはその抗原結合性部分は、配列番号 1 のアミノ酸配列を有する相補性決定領域 1 (C D R 1) を含む重鎖可変領域および配列番号 7 のアミノ酸配列を有する C D R 1 を含む軽鎖可変領域を含む。

30

【 0 0 3 4 】

いくつかの実施形態では、抗体またはその抗原結合性部分は、配列番号 1 3 に記載されているアミノ酸配列と少なくとも 7 0 %、 7 5 %、 8 0 %、 8 5 %、 9 0 %、 9 5 %、 9 6 %、 9 7 %、 9 8 %、または 9 9 % の同一性を有するアミノ酸配列を含む重鎖可変ドメインおよび配列番号 1 4 に記載されているアミノ酸配列と少なくとも 7 0 %、 7 5 %、 8 0 %、 8 5 %、 9 0 %、 9 5 %、 9 6 %、 9 7 %、 9 8 %、または 9 9 % の同一性を有するアミノ酸配列を含む軽鎖可変ドメインを含む。

40

【 0 0 3 5 】

いくつかの実施形態では、抗体またはその抗原結合性部分は、配列番号 1 3 に記載されているアミノ酸配列を含む重鎖可変ドメインおよび配列番号 1 4 に記載されているアミノ酸配列を含む軽鎖可変ドメインを含む。

【 0 0 3 6 】

いくつかの実施形態では、抗体またはその抗原結合性部分は、配列番号 6 のアミノ酸配列を有する C D R 3 を含む重鎖可変領域および配列番号 1 2 のアミノ酸配列を有する C D R 3 を含む軽鎖可変領域を含む。いくつかの実施形態では、抗体またはその抗原結合性部分は、配列番号 4 のアミノ酸配列を有する C D R 2 を含む重鎖可変領域および配列番号 1

50

0 のアミノ酸配列を有する C D R 2 を含む軽鎖可変領域を含む。いくつかの実施形態では、抗体またはその抗原結合性部分は、配列番号 2 のアミノ酸配列を有する C D R 1 を含む重鎖可変領域および配列番号 8 のアミノ酸配列を有する C D R 1 を含む軽鎖可変領域を含む。

【 0 0 3 7 】

いくつかの実施形態では、抗体またはその抗原結合性部分は、配列番号 1 5 に記載されているアミノ酸配列と少なくとも 7 0 %、7 5 %、8 0 %、8 5 %、9 0 %、9 5 %、9 6 %、9 7 %、9 8 %、または 9 9 % の同一性を有するアミノ酸配列を含む重鎖可変ドメインおよび配列番号 1 6 に記載されているアミノ酸配列と少なくとも 7 0 %、7 5 %、8 0 %、8 5 %、9 0 %、9 5 %、9 6 %、9 7 %、9 8 %、または 9 9 % の同一性を有するアミノ酸配列を含む軽鎖可変ドメインを含む。
10

【 0 0 3 8 】

いくつかの実施形態では、抗体またはその抗原結合性部分は、配列番号 1 5 に記載されているアミノ酸配列を含む重鎖可変ドメインおよび配列番号 1 6 に記載されているアミノ酸配列を含む軽鎖可変ドメインを含む。

【 0 0 3 9 】

いくつかの実施形態では、抗体またはその抗原結合性部分は、 T G F 1 活性化を阻害する。

【 0 0 4 0 】

いくつかの実施形態では、抗体またはその抗原結合性部分は、 G A R P - T G F 1 複合体、 L T B P 1 - T G F 1 複合体、 L T B P 3 - T G F 1 複合体、または L R R C 3 3 - T G F 1 複合体からの成熟 T G F 1 の放出を阻害する。
20

【 0 0 4 1 】

いくつかの実施形態では、抗体またはその抗原結合性部分は、少なくとも約 10^{-8} M ; 少なくとも約 10^{-9} M ; 少なくとも約 10^{-10} M ; 少なくとも約 10^{-11} M ; 少なくとも約 10^{-12} M ; および少なくとも約 10^{-13} M からなる群より選択される、 T G F 1 のエピトープに対する解離定数 (K_D) を有する。

【 0 0 4 2 】

いくつかの実施形態では、抗体またはその抗原結合性部分は、ヒト I g M 定常ドメイン、ヒト I g G 定常ドメイン、ヒト I g G 1 定常ドメイン、ヒト I g G 2 定常ドメイン、ヒト I g G 2 A 定常ドメイン、ヒト I g G 2 B 定常ドメイン、ヒト I g G 2 定常ドメイン、ヒト I g G 3 定常ドメイン、ヒト I g G 3 定常ドメイン、ヒト I g G 4 定常ドメイン、ヒト I g A 定常ドメイン、ヒト I g A 1 定常ドメイン、ヒト I g A 2 定常ドメイン、ヒト I g D 定常ドメイン、またはヒト I g E 定常ドメインの免疫グロブリン重鎖定常ドメインを含む。いくつかの実施形態では、抗体またはその抗原結合性部分は、ヒト I g G 1 定常ドメインまたはヒト I g G 4 定常ドメインの免疫グロブリン重鎖定常ドメインを含む。いくつかの実施形態では、抗体またはその抗原結合性部分は、ヒト I g G 4 定常ドメインの免疫グロブリン重鎖定常ドメインを含む。いくつかの実施形態では、抗体またはその抗原結合性部分は、 I g G 1 様ヒンジが生成され、鎖間ジスルフィド結合の形成が可能になる S e r から P r o への骨格置換を有する、ヒト I g G 4 定常ドメインの免疫グロブリン重鎖定常ドメインを含む。
30 40

【 0 0 4 3 】

いくつかの実施形態では、抗体またはその抗原結合性部分は、ヒト I g ラムダ定常ドメインまたはヒト I g カッパ定常ドメインを含む免疫グロブリン軽鎖定常ドメインをさらに含む。

【 0 0 4 4 】

いくつかの実施形態では、抗体は、2つの重鎖および2つの軽鎖である4つのポリペプチド鎖を有する I g G である。

【 0 0 4 5 】

いくつかの実施形態では、抗体は、ヒト化抗体、ダイアボディ (d i a b o d y) 、ま
50

たはキメラ抗体である。いくつかの実施形態では、抗体は、ヒト化抗体である。いくつかの実施形態では、抗体は、ヒト抗体である。いくつかの実施形態では、抗体は、ヒト生殖系列アミノ酸配列を有するフレームワークを含む。

【0046】

いくつかの実施形態では、抗原結合性部分は、F_ab断片、F(a_b')₂断片、s_cF_ab断片、またはs_cF_v断片である。

【0047】

一態様では、本明細書に記載の抗体またはその抗原結合性部分との結合について競合する抗TGF-1抗体またはその抗原結合性部分が本明細書で提供される。

【0048】

別の態様では、本明細書に記載の抗体またはその抗原結合性部分と同じエピトープに結合する抗TGF-1抗体またはその抗原結合性部分が本明細書で提供される。

【0049】

いくつかの実施形態では、抗体またはその抗原結合性部分は、薬物または検出可能な部分とコンジュゲートしている。いくつかの実施形態では、抗体またはその抗原結合性部分は、薬物または検出可能な部分とリンカーを介してコンジュゲートしている。いくつかの実施形態では、リンカーは、切断可能なリンカーである。いくつかの実施形態では、検出可能な部分は、蛍光剤、発光剤、酵素剤、および放射性薬剤からなる群より選択される。

【0050】

一態様では、本明細書に記載の抗体またはその抗原結合性部分、および薬学的に許容される担体を含む医薬組成物が本明細書で提供される。

【0051】

別の態様では、TGF-1活性化を阻害するための方法であって、GARP-TGF-1複合体、LTBP1-TGF-1複合体、LTBP3-TGF-1複合体、またはLRRC33-TGF-1複合体を本明細書に記載の抗体、その抗原結合性部分、または医薬組成物に曝露させることを含む方法が本明細書で提供される。

【0052】

いくつかの実施形態では、抗体またはその抗原結合性部分は、GARP-TGF-1複合体、LTBP1-TGF-1複合体、LTBP3-TGF-1複合体、またはLRRC33-TGF-1複合体からの成熟TGF-1の放出を阻害する。

【0053】

いくつかの実施形態では、方法をin vitroで実施する。いくつかの実施形態では、方法をin vivoで実施する。

【0054】

いくつかの実施形態では、GARP-TGF-1複合体またはLRRC33-TGF-1複合体は、細胞の外表面に存在する。

【0055】

いくつかの実施形態では、細胞は、T細胞、線維芽細胞、マクロファージ、単球、樹状細胞、抗原提示細胞、またはミクログリアである。

【0056】

いくつかの実施形態では、LTBP1-TGF-1複合体またはLTBP3-TGF-1複合体は、細胞外マトリクスに結合している。いくつかの実施形態では、細胞外マトリクスは、フィブリリンを含む。いくつかの実施形態では、細胞外マトリクスは、RGDモチーフを含むタンパク質を含む。

【0057】

別の態様では、被験体におけるTGF-1活性化を低減するための方法であって、被験体に、本明細書に記載の抗体、その抗原結合性部分、または医薬組成物を有効量で投与し、それにより、被験体におけるTGF-1活性化を低減するステップを含む方法が本明細書で提供される。

【0058】

10

20

30

40

50

いくつかの実施形態では、被験体は、線維症を有するかまたは有するリスクがある。いくつかの実施形態では、被験体は、筋ジストロフィーを有する。いくつかの実施形態では、被験体は、デュシェンヌ型筋ジストロフィー（DMD）を有する。いくつかの実施形態では、被験体は、肝線維症、腎線維症、または肺線維症（例えば、特発性肺線維症）を有するかまたは有するリスクがある。いくつかの実施形態では、被験体は、がんを有するかまたは有するリスクがある。いくつかの実施形態では、被験体は、認知症を有するかまたは有するリスクがある。いくつかの実施形態では、被験体は、骨髄線維症を有するかまたはそれが発生するリスクがある。

【0059】

いくつかの実施形態では、被験体は、追加的な治療をさらに受ける。いくつかの実施形態では、追加的な治療は、ミオスタチン阻害剤、VEGFアゴニスト、IGF1アゴニスト、FXRアゴニスト、CCR2阻害剤、CCR5阻害剤、二重CCR2/CCR5阻害剤、リシリオキシダーゼ様-2阻害剤、ASK1阻害剤、アセチル-CoAカルボキシラーゼ（ACC）阻害剤、p38キナーゼ阻害剤、ピルフェニドン、ニンテダニブ、GDF11阻害剤、またはこれらの任意の組み合わせからなる群より選択される。

10

【0060】

いくつかの実施形態では、抗体またはその抗原結合性部分は、制御性T細胞の抑制活性を低減する。

【0061】

いくつかの実施形態では、抗体またはその抗原結合性部分は、被験体における臓器毒性を誘導しない。いくつかの実施形態では、臓器毒性は、心血管毒性、胃腸毒性、免疫毒性、骨毒性、軟骨毒性、生殖系毒性、または腎毒性を含む。

20

【0062】

一態様では、それを必要とする被験体においてがんを処置するための方法であって、被験体に、本明細書に記載の抗体、その抗原結合性部分、または医薬組成物を有効量で投与し、それにより、被験体におけるがんを処置するステップを含む方法が本明細書で提供される。

【0063】

別の態様では、それを必要とする被験体において腫瘍増殖を低減する方法であって、被験体に、本明細書に記載の抗体、その抗原結合性部分、または医薬組成物を有効量で投与し、それにより、被験体における腫瘍増殖を低減するステップを含む方法が本明細書で提供される。

30

【0064】

いくつかの実施形態では、抗体またはその抗原結合性部分を追加的な薬剤または追加的な治療と組み合わせて投与する。いくつかの実施形態では、追加的な薬剤はチェックポイント阻害剤である。いくつかの実施形態では、追加的な薬剤は、PD-1アンタゴニスト、PDL1アンタゴニスト、PD-L1またはPDL2融合タンパク質、CTLA4アンタゴニスト、GITRアゴニスト、抗ICOS抗体、抗ICOSL抗体、抗B7H3抗体、抗B7H4抗体、抗TIM3抗体、抗LAG3抗体、抗OX40抗体、抗CD27抗体、抗CD70抗体、抗CD47抗体、抗41BB抗体、抗PD-1抗体、腫瘍溶解性ウイルス、およびPARP阻害剤からなる群より選択される。いくつかの実施形態では、追加的な治療は、放射線、化学療法薬、またはこれらの組み合わせである。いくつかの実施形態では、追加的な治療は、放射線である。いくつかの実施形態では、追加的な薬剤は、化学療法剤である。いくつかの実施形態では、化学療法剤は、タキソールである。いくつかの実施形態では、追加的な薬剤は、抗炎症剤である。いくつかの実施形態では、追加的な薬剤は、単球/マクロファージ動員および/または組織浸潤のプロセスを阻害するものである。いくつかの実施形態では、追加的な薬剤は、肝星細胞活性化の阻害剤である。いくつかの実施形態では、追加的な薬剤は、ケモカイン受容体アンタゴニスト、例えば、CCR2アンタゴニストおよびCCR5アンタゴニストである。いくつかの実施形態では、そのようなケモカイン受容体アンタゴニストは、CCR2/CCR5アンタゴニストなどの

40

50

二重特異性アンタゴニストである。いくつかの実施形態では、併用療法として投与される追加的な薬剤は、増殖因子の TGF スーパーファミリーのメンバーまたはその制御因子であるまたはそれを含む。いくつかの実施形態では、そのような薬剤は、GDF8 / ミオスタチンおよびGDF11 のモジュレーター（例えば、阻害剤および活性化因子）から選択される。いくつかの実施形態では、そのような薬剤は、GDF8 / ミオスタチンシグナル伝達の阻害剤である。いくつかの実施形態では、そのような薬剤は、プロ / 潜在型ミオスタチン複合体に特異的に結合し、ミオスタチンの活性化を遮断するモノクローナル抗体である。いくつかの実施形態では、プロ / 潜在型ミオスタチン複合体に特異的に結合し、ミオスタチンの活性化を遮断するモノクローナル抗体は、遊離の成熟ミオスタチンには結合しない。

10

【0065】

さらに別の態様では、それを必要とする被験体において腎障害を処置する方法であって、被験体に、本明細書に記載の抗体、その抗原結合性部分、または医薬組成物を有効量で投与し、それにより、被験体における腎障害を処置するステップを含む方法が本明細書で提供される。

【0066】

一態様では、本明細書に記載の抗体またはその抗原結合性部分をコードする核酸が本明細書で提供される。当該核酸を含むベクターも提供される。

【0067】

別の態様では、本明細書に記載の抗体またはその抗原結合性部分をコードする核酸を含む細胞が本明細書で提供される。本明細書に記載の抗体またはその抗原結合性部分をコードする核酸を含むベクターを含む細胞も提供される。

20

【0068】

さらに別の態様では、本明細書に記載の抗体、その抗原結合性部分、または医薬組成物、およびその使用についての指示を含むキットが本明細書で提供される。

【0069】

別の態様では、筋線維傷害を処置するための方法であって、筋線維傷害を有する被験体に、TGF 2 / 3 と比較して TGF 1 を選択的に阻害する薬剤を、i) 筋線維修復を促進する； ii) 収縮誘導性損傷から保護する； iii) 筋肉の炎症を低減する；および / または、iv) 筋肉の線維症を低減するのに有効な量で投与するステップを含む方法が本明細書で提供される。いくつかの実施形態では、量は、被験体において許容されないレベルの有害作用を引き起こすものではない。

30

【0070】

いくつかの実施形態では、筋線維傷害は、i) 筋ジストロフィーに関連する；または、ii) 急性筋損傷に関連する。いくつかの実施形態では、薬剤は、TGF 1 の活性化を遮断するが TGF 2 または TGF 3 の活性化を遮断しない。いくつかの実施形態では、薬剤は、モノクローナル抗体である。いくつかの実施形態では、モノクローナル抗体は、GARP - プロTGF 1 潜在型複合体、LRRC33 - プロTGF 1 潜在型複合体、LTBP1 - プロTGF 1 潜在型複合体、LTBP2 - プロTGF 1 潜在型複合体、LTBP3 - プロTGF 1 潜在型複合体、および / または LTB P 4 - プロTGF 1 潜在型複合体に結合する。いくつかの実施形態では、被験体は、ミオスタチン阻害剤をさらに受ける。

40

【0071】

いくつかの実施形態では、方法は、疾患に関連する TGF 1 の供給源または状況を同定するステップをさらに含む。

【0072】

さらに別の態様では、TGF シグナル伝達を調節する医薬組成物を生成するための方法であって、TGF の少なくとも 1 つのアイソフォームのシグナル伝達を調節する 1 つまたは複数の薬剤を提供するステップ； TGF の全てのアイソフォームに対する 1 つまたは複数の薬剤の活性を測定するステップ； TGF の単一のアイソフォームに特異的で

50

ある薬剤を選択するステップ；アイソフォーム特異的 TGF モジュレーターおよび薬学的に許容される賦形剤を含む医薬組成物に製剤化するステップを含む方法が本明細書で提供される。この方法によって生成される医薬組成物も提供される。

【0073】

いくつかの実施形態では、アイソフォーム特異的 TGF モジュレーターは、TGF 1 特異的モジュレーターである。いくつかの実施形態では、TGF 1 特異的モジュレーターは、TGF 1 の阻害剤である。いくつかの実施形態では、アイソフォーム特異的 TGF モジュレーターは、抗体またはその断片である。いくつかの実施形態では、抗体またはその断片は、TGF 1 のプロ / 潜在型複合体に特異的に結合する。いくつかの実施形態では、抗体またはその断片は、プロ / 潜在型複合体に存在しない遊離の成熟 TGF 1 には結合しない。いくつかの実施形態では、プロ / 潜在型複合体は、GARP、LRR C33、LTBP1、LTBP2、LTBP3 または LTBP4 を含む。
10

【0074】

別の態様では、TGF シグナル伝達に関連する疾患を処置するための方法であって、それを必要とする被験体に、本発明で提供される医薬組成物を、疾患を処置するために有効な量で投与するステップであり、当該量が、疾患を有する患者集団に投与した場合に統計的に有意な臨床的効能および安全性を達成するものである、ステップを含む方法が本明細書で提供される。

【0075】

さらに別の態様では、被験体における有害作用の低減に使用するための TGF 阻害剤であって、アイソフォーム選択的である TGF 阻害剤が本明細書で提供される。いくつかの実施形態では、TGF 阻害剤は、TGF 1 を特異的に阻害する抗体である。
20

【図面の簡単な説明】

【0076】

【図1】図1は、組織微小環境において潜在型複合体に結合した TGF を示す概略図である。

【0077】

【図2】図2Aおよび2Bは、微小環境におけるニッチ調節を示す概略図である。図2Aは、線維性疾患ニッチおよび創傷治癒ニッチにおいて TGF を提示する潜在型トランスホーミング増殖因子ベータ結合性タンパク質 (LTBP) を示す。図2Bは、糖タンパク質 A 反復優性タンパク質 (glycoprotein-A repetitions predominant protein) (GARP) により炎症性ニッチにおける TGF 活性化が調節されることを例示する。
30

【0078】

【図3】図3は、GARP-TGF 1 複合体および LTBP-TGF 1 複合体を作製するためのタンパク質発現プラットフォームを例示する。HEK293に基づく発現系では NiNTA アフィニティー精製およびゲル濾過を使用して数ミリグラム量の精製タンパク質を得る。野生型プロ TGF 1 、LTBP1、sGARP、およびプロ TGF 1 C4S の概略図が示されている。

【0079】

【図4A】図4Aおよび4Bは、sGARP-プロ TGF 1 複合体の精製を示す。図4Aは試料のクロマトグラムであり、図4Bは産物のプロットおよび複合体を例示する概略図を示す。

【図4B】図4Aおよび4Bは、sGARP-プロ TGF 1 複合体の精製を示す。図4Aは試料のクロマトグラムであり、図4Bは産物のプロットおよび複合体を例示する概略図を示す。

【0080】

【図5A】図5Aおよび5Bは、sGARP-TGF 1 LAP 複合体の精製を示す。図5Aは試料のクロマトグラムであり、図5Bは産物のプロットおよび複合体を例示する概略図を示す。
40
50

【図5B】図5Aおよび5Bは、sGARP-TGF-1-LAP複合体の精製を示す。図5Aは試料のクロマトグラムであり、図5Bは産物のプロットおよび複合体を例示する概略図を示す。

【0081】

【図6A】図6Aおよび6Bは、プロTGF-1と複合体を形成したLTPP1の精製を示す。図6Aは試料のクロマトグラムであり、図6Bは産物のプロットおよび複合体を例示する概略図を示す。NRは非還元を表し、Rは還元を表す。

【図6B】図6Aおよび6Bは、プロTGF-1と複合体を形成したLTPP1の精製を示す。図6Aは試料のクロマトグラムであり、図6Bは産物のプロットおよび複合体を例示する概略図を示す。NRは非還元を表し、Rは還元を表す。

10

【0082】

【図7】図7は、Ab1およびAb2によりTGF-1活性の活性化が遮断されることを示すグラフである。

【0083】

【図8】図8は、ヒト細胞におけるAb1の最初の用量反応分析を示す。

【0084】

【図9】図9は、ヒト細胞におけるAb1によるTGF-1阻害を例示するCAGA12レポーター細胞アッセイを示す。

【0085】

【図10】図10は、GARP複合体の阻害により、健康なドナーの血液から単離されたT細胞における制御性T(Treg)細胞の抑制活性が遮断されることを示すグラフである。

20

【0086】

【図11-1】図11A～11Cは、線維芽細胞からのインテグリン媒介性TGF-1放出の阻害を示す。図11Aおよび11Bは、Ab1(図11A)またはAb2(図11B)のいずれかを漸増濃度で使用した、正常なヒト皮膚線維芽細胞(丸)、正常なヒト肺線維芽細胞(四角)、マウスC57BL/6J肺線維芽細胞(逆三角形)、またはマウスDBA2/J筋線維芽細胞(丸)のいずれかにおける内在性TGF-1の阻害を示すグラフである。図11Cは、共培養アッセイ系の概略図を提示する。

30

【図11-2】図11A～11Cは、線維芽細胞からのインテグリン媒介性TGF-1放出の阻害を示す。図11Aおよび11Bは、Ab1(図11A)またはAb2(図11B)のいずれかを漸増濃度で使用した、正常なヒト皮膚線維芽細胞(丸)、正常なヒト肺線維芽細胞(四角)、マウスC57BL/6J肺線維芽細胞(逆三角形)、またはマウスDBA2/J筋線維芽細胞(丸)のいずれかにおける内在性TGF-1の阻害を示すグラフである。図11Cは、共培養アッセイ系の概略図を提示する。

【0087】

【図12】図12Aおよび12Bは、Ab1(図12A)またはAb2(図12B)のいずれかのLRRRC33-プロTGF-1複合体への結合を示す。

【0088】

【図13A】図13Aおよび13Bは、Ab1(「Ab1」)、Ab2(「Ab2」)、アイソタイプ対照IgG1抗体(「アイソタイプ対照」)、またはビヒクル対照(「ビヒクル」)のいずれかを漸増濃度で使用した、SW480/6細胞トランスフェクタントにおけるGARP-TGF-1複合体(図13A)またはLRRRC33-TGF-1複合体(図13B)の阻害を示すグラフである。

40

【図13B】図13Aおよび13Bは、Ab1(「Ab1」)、Ab2(「Ab2」)、アイソタイプ対照IgG1抗体(「アイソタイプ対照」)、またはビヒクル対照(「ビヒクル」)のいずれかを漸増濃度で使用した、SW480/6細胞トランスフェクタントにおけるGARP-TGF-1複合体(図13A)またはLRRRC33-TGF-1複合体(図13B)の阻害を示すグラフである。

【0089】

50

【図14】図14は、恒久的右片側性UOO手術を行い、外科的介入の前にPBS(対照)、30mg/kgのマウスIgG1対照抗体、3mg/kgのAb2、もしくは30mg/kgのAb2のいずれかを腹腔内(i.p.)投与したマウス(2番目の棒～5番目の棒)；またはPBSを投与し、開腹術を行ったマウス(偽対照；最初の棒)由来の腎組織におけるヒドロキシプロリンのレベルを示す棒グラフである。

【0090】

【図15-1】図15A～15Hは、恒久的右片側性UOO手術を行い、外科的介入の前日、次いで外科手術の1日後および3日後にPBS(対照)、30mg/kgのマウスIgG1対照抗体、3mg/kgのAb2、もしくは30mg/kgのAb2のいずれかを腹腔内(i.p.)投与したマウス(各グラフの2番目の棒～5番目の棒)；またはPBSを投与し、開腹術を行ったマウス(偽対照；各グラフの最初の棒)由来の腎組織における、プラスミノーゲン活性化因子阻害因子-1(PAI-1；図15A)、結合組織増殖因子(CTGF；図15B)、TGF-1(図15C)、フィブロネクチン-1(図15D)、-平滑筋アクチン(-SMA；図15E)、単球走化性タンパク質1(MCP-1；図15F)、I型コラーゲンアルファ1(Col1a1；図15G)、またはII型コラーゲンアルファ1鎖(Col3a1；図15H)のいずれかの相対的なmRNAレベルを示す棒グラフである。このデータは、複数回の実験を代表するものである。

【図15-2】図15A～15Hは、恒久的右片側性UOO手術を行い、外科的介入の前日、次いで外科手術の1日後および3日後にPBS(対照)、30mg/kgのマウスIgG1対照抗体、3mg/kgのAb2、もしくは30mg/kgのAb2のいずれかを腹腔内(i.p.)投与したマウス(各グラフの2番目の棒～5番目の棒)；またはPBSを投与し、開腹術を行ったマウス(偽対照；各グラフの最初の棒)由来の腎組織における、プラスミノーゲン活性化因子阻害因子-1(PAI-1；図15A)、結合組織増殖因子(CTGF；図15B)、TGF-1(図15C)、フィブロネクチン-1(図15D)、-平滑筋アクチン(-SMA；図15E)、単球走化性タンパク質1(MCP-1；図15F)、I型コラーゲンアルファ1(Col1a1；図15G)、またはII型コラーゲンアルファ1鎖(Col3a1；図15H)のいずれかの相対的なmRNAレベルを示す棒グラフである。このデータは、複数回の実験を代表するものである。

【図15-3】図15A～15Hは、恒久的右片側性UOO手術を行い、外科的介入の前日、次いで外科手術の1日後および3日後にPBS(対照)、30mg/kgのマウスIgG1対照抗体、3mg/kgのAb2、もしくは30mg/kgのAb2のいずれかを腹腔内(i.p.)投与したマウス(各グラフの2番目の棒～5番目の棒)；またはPBSを投与し、開腹術を行ったマウス(偽対照；各グラフの最初の棒)由来の腎組織における、プラスミノーゲン活性化因子阻害因子-1(PAI-1；図15A)、結合組織増殖因子(CTGF；図15B)、TGF-1(図15C)、フィブロネクチン-1(図15D)、-平滑筋アクチン(-SMA；図15E)、単球走化性タンパク質1(MCP-1；図15F)、I型コラーゲンアルファ1(Col1a1；図15G)、またはII型コラーゲンアルファ1鎖(Col3a1；図15H)のいずれかの相対的なmRNAレベルを示す棒グラフである。このデータは、複数回の実験を代表するものである。

【0091】

【図16】図16は、ピクロシリウスレッドで染色し、カラースペクトル分割を使用した定量的組織学的分析に供した、マウスから収集された右側腎臓の3つの連続切片の複合皮質コラーゲン体積の割合(CVF)を示す。恒久的右片側性UOO手術を行い、外科的介入前にPBS(「Veh」)、30mg/kgのマウスIgG1対照抗体(「IgG Ctr1」)、3mg/kgのAb2(「3 Ab2」)、もしくは30mg/kgのAb2(「30 Ab2」)を腹腔内(i.p.)投与したマウス(各グラフの2番目の棒～5番目の棒)；またはPBSを投与し、開腹術を行ったマウス(「偽」；各グラフの最初の棒)由来のCVF。

【0092】

【図17】図17は、マウスIgG1アイソタイプ対照抗体とラットIgG2a対照抗体

10

20

30

40

50

の組み合わせ（群1；対照）；Ab1とラットIgG2a対照抗体の組み合わせ（群2）；Ab2とラットIgG2a対照抗体の組み合わせ（群3）；マウスIgG1対照抗体と抗PD-1抗体の組み合わせ（群4）；Ab1と抗PD-1抗体の組み合わせ（群5）；Ab2と抗PD-1抗体の組み合わせ（群6）のいずれかを投与したMC38マウス結腸癌同系モデルC57/BL/6マウスのメジアン腫瘍体積を示す。

【0093】

【図18】図18A～18Cは、例示的なモノクローナル抗体の結合特異性を示す。図18Aは、Ab1およびAb2が、ELISAによって測定したところプロTGF-1に特異的に結合するが、プロTGF-2にもプロTGF-3にも成熟TGF-1にも結合しないことを示す。図18Bは、抗体結合特異性を決定するための抗原として使用するために発現させ、精製した、精製LTPB-プロTGF-1の例を示す。図18Cは、LTPB-1-プロTGF-1複合体に特異的に結合する抗体（ELISAによって測定して）の例を示す。

10

【0094】

【図19】図19は、ビヒクル対照（PBS；「対照」）；200mg/kgのLY2109761；300mg/kgのLY2109761；100mg/kgの汎TGF-抗体（「汎TGF-Ab」）；または100mg/kgのAb2のいずれかを用いて処置したラットの生存曲線を示す。

【0095】

【図20】図20は、ビヒクル対照（PBS；「対照」）；200mg/kgのLY2109761；300mg/kgのLY2109761；100mg/kgの汎TGF-抗体（「汎TGF-Ab」）；または100mg/kgのAb2のいずれかを用いて処置したラットの体重（平均／標準偏差）を示す。

20

【0096】

【図21】図21A～21Cは、ビヒクル対照（PBS；「対照」）、200mg/kgのLY2109761、または300mg/kgのLY2109761（図21A）；ビヒクル対照（PBS；「対照」）、または100mg/kgの汎TGF-抗体（「汎TGF-Ab」）；またはビヒクル対照（PBS；「対照」）、または100mg/kgのAb2を用いて処置した個々のラットの体重を示す。

30

【0097】

【図22】図22Aおよび22Bは、Ab1（図22A）またはAb2（図22B）のいずれかを漸増濃度で使用した、プロTGF-1および提示分子（すなわち、GARPまたはLRRRC33）を発現するようにプラスミドを一過性にトランスフェクトしたSW480/6細胞におけるGARP-プロTGF-1複合体またはLRRRC33-プロTGF-1複合体の阻害を示すグラフである。GARP-TGF-1複合体に対するAb1のIC50（μg/mL）は0.445であり、LRRRC33-TGF-1複合体に対するAb1のIC50（μg/mL）は1.325であった。

【0098】

【図23】図23は、200mg/kgのLY2109761（右上のパネル）；100mg/kgの汎TGF-抗体（「汎TGF-Ab」、左下のパネル）；100mg/kgのAb2（右下のパネル）のいずれかを用いて処置したラット、または無処置対照（左上のパネル）の心臓弁に由来するヘマトキシリン・エオシン染色切片の顕微鏡画像を示す。注：右下のパネル（Ab2）は、厚さが不均一なためにより濃く染色された斜めになつた切片である。

40

【発明を実施するための形態】

【0099】

哺乳動物では、トランスホーミング増殖因子-ベータ（TGF-）スーパーファミリーは、少なくとも33種の遺伝子産物で構成される。これらは、骨形態形成タンパク質（BMP）、アクチビン、増殖分化因子（GDF）、ならびにTGF-ファミリーの3種のアイソフォーム：TGF-1、TGF-2、およびTGF-3を含む。TGF-は、細胞増

50

殖の阻害、細胞外マトリクス (ECM) リモデリング、および免疫恒常性などの多様なプロセスにおいて重要な役割を果たすと考えられている。T細胞恒常性に対するTGF 1の重要性は、TGF 1-/-マウスが3~4週間しか生存せず、強力な免疫活性化に起因する多臓器不全で死亡するという知見によって実証される (Kulkarni, A. B. ら、Proc Natl Acad Sci U S A、1993年、90巻(2号)：770~4頁; Shu11, M. M. ら、Nature、1992年、359巻(6397号)：693~9頁)。TGF 2およびTGF 3の役割ははっきりしていない。3種のTGF アイソフォームは、別個の時間的および空間的発現パターンを有する一方で、同じ受容体、TGF RIおよびTGF RIIを通じてシグナル伝達するが、一部の場合、例えばTGF 2シグナル伝達に関しては、ベータグリカンなどのIII型受容体も必要である (Feng, X. H. およびR. Deryck, Ann Rev Cell Dev Biol、2005年、21巻：659~93頁; Massague, J. 、Ann Rev Biochem、1998年、67巻：753~91頁)。TGF RI/IIのリガンド誘導性オリゴマー形成により、SMAD転写因子のリン酸化が誘発され、その結果、Col1a1、Col3a1、ACTA2、およびSERPINE1などの標的遺伝子の転写がもたらされる (Massague, J. 、J. Seoane、およびD. Wotton、Genes Dev、2005年、19巻(23号)：2783~810頁)。SMADに依存しないTGF シグナル伝達経路も、例えば、Marfanマウスのがんまたは大動脈病変において記載されている (Deryck, R. およびY. E. Zhang、Nature、2003年、425巻(6958号)：577~84頁; Holm, T. M. ら、Science、2011年、332巻(6027号)：358~61頁)。

【0100】

ヒトにおけるTGF 経路の生物学的重要性は遺伝子疾患によって検証してきた。カムラチ-エンゲルマン病の結果、TGF B1遺伝子の常染色体優性変異に起因して骨異形成が生じ、それにより、構成的なTGF 1の活性化シグナル伝達が導かれる (Janssens, K. ら、J Med Genet、2006年、43巻(1号)：1~11頁)。ロイス/ディーツ症候群の患者は、大動脈瘤、隔離症、および口蓋垂裂を引き起こす、TGF シグナル伝達経路の構成成分の常染色体優性変異を有する (Van Laer, L. 、H. Dietz、およびB. Loey 、Adv Exp Med Biol、2014年、802巻：95~105頁)。TGF 経路の制御不全は多数の疾患に関係づけられているので、TGF 経路を標的化するいくつかの薬物が開発され、患者において試験してきたが、成功は限られている。

【0101】

本開示の発明者らは、TGF の3種のアイソフォーム全てが、同じ受容体を通じてシグナル伝達し、当該受容体を発現する細胞において下流のエフェクターを伝達することができるが、各TGF アイソフォームは *in vivo* において別個の生物学的效果を生じ得ると判断した。さらに、本発明者らは、少なくとも一部の場合では、増殖因子-受容体相互作用が誘発される方式により、*in vivo* におけるシグナル伝達特異性がさらにもたらされ得ると考察した。この認識を踏まえて、以下に簡単に要約されている通り、現在まで文献に記載されているTGF 阻害剤は特異性を欠くことに留意する。

【0102】

TGF の3種のアイソフォーム全てに結合し、それを阻害するヒト化モノクローナル抗体であるフレソリムマブは、巣状分節状糸球体硬化症、悪性黒色腫、腎細胞癌、および全身性硬化症の患者において臨床的に試験されている (Rice, L. M. ら、J Clin Invest、2015年、125巻(7号)：2795~807頁; Trachtman, H. ら、Kidney Int、2011年、79巻(11号)：1236~43頁; Morris, J. C. ら、PLoS One、2014年、9巻(3号)：e90353頁)。さらなる会社により、TGF アイソフォームに対する選択性の程度が様々な、TGF 増殖因子に対するモノクローナル抗体が開発されている。そのよ

10

20

30

40

50

うな薬剤では、TGF-1に加えて他のTGF-ファミリーメンバーに対する残留活性により *in vivo* における毒性が引き出される可能性がある。本開示の発明者らの知見の限りでは、成熟増殖因子を標的化することでは単一のアイソフォームに対する完全な特異性は達成されておらず、これは、アイソフォーム間の配列同一性の程度が高いことに起因する。

【0103】

TGF-経路を標的化するための他の手法は、Acceleronからの可溶性TGF-RII-FcリガンドトラップであるACE-1332 (Young, L.M.ら、Am J Respir Crit Care Med、2016年、194巻(9号)：1140～1151頁)、またはLillyのガルニセルチブなどのALK5キナーゼの小分子阻害剤を含む。一方でACE-1332はTGF-1およびTGF-3に同等に高い親和性で結合する (Young, L.M.ら、Am J Respir Crit Care Med、2016年、194巻(9号)：1140～1151頁)。ALK5阻害剤は、TGF-R1を通じてシグナル伝達する全ての増殖因子の活性を遮断する。ALK5阻害剤を使用した前臨床試験において実質的な毒性が見出され (Anderton, M.J.ら、Toxicol Pathol、2011年、39巻(6号)：916～24頁；Stauber, A.ら、Clinical Toxicology、2014年、4巻(3号)：1～10頁)、有害作用を低減させながら効能を維持するためには洗練された臨床的投薬スキームが必要である (Herberzt, S.ら、Drug Des Dev Ther、2015年、9巻：4479～99頁)。実際、TGF-シグナル伝達特異性および公知のTGF-阻害剤で観察される毒性に対する可能性のあるその影響に関する問題が、TGF-の遮断が試みられている候補薬物の全てではないが大半において生じている。例えば、TGF-2および/またはTGF-3に対してTGF-1の阻害に起因する毒性がどのくらいであるかに関しては対処されていない。同様に、TGF-シグナル伝達に拮抗するためのやり方の設計または開発においてTGF-活性化の方式は考慮されていない。

【0104】

TGF-1の活性化機構への最近の構造的洞察により、本発明者らがTGF-阻害のための新規のより特異的な手法をとることが可能になった (Shi, M.ら、Nature、2011年、474巻(7351号)：343～9頁)。他のサイトカインとは異なり、TGF-スーパーファミリーメンバーは、活性増殖因子としては分泌されないが、N末端プロドメインおよびC末端増殖因子ドメインからなる二量体プロタンパク質として分泌される。フェーリンプロテアーゼによるプロTGF-1の切断により、ホモ二量体の増殖因子ドメインが潜在型会合ペプチド (LAP) とも称されるプロドメインから分離される。しかし、増殖因子とLAPは非共有結合により会合したままになり、その受容体に結合し、シグナル伝達を誘導することができない潜在型複合体が形成される (図1)。翻訳の間、小潜在型複合体 (small latent complex) (SLC) とも称される潜在型TGF-1は、ジスルフィド架橋によって「提示分子」と連結し、大潜在型複合体 (large latent complex) (LLC) が形成される。これらの分子により、プロTGF-1が特異的な細胞または組織状況で提示されることが可能になる。潜在型TGF-1のN末端付近の2つのシステインは提示分子上の適切な位置にあるシステインと連結する。提示分子の同一性は環境および潜在型TGF-1を産生する細胞型に依存する。例えば、線維芽細胞は、潜在型TGF-結合性タンパク質 (LTBP) に係留された潜在型TGF-1を分泌し、これは、次に細胞外マトリクス (ECM) 内のタンパク質 (すなわち、フィブロネクチン、フィブリリン-1) と会合し、潜在型TGF-1をECMに連結させる (Robertsonら、Matrix Biol、47巻：44～53頁(2015年) (図2A))。活性化された制御性T細胞の表面上で潜在型TGF-1は膜貫通タンパク質GARPと共有結合し (図2B)、最近、GARPと密接に関連するタンパク質LRRK3が、単球、マクロファージおよびミクログリアの表面上のTGF-1のための提示分子として同定された (Wang, R.ら、Mol Biol

10

20

30

40

50

Cell、2012年、23巻(6号):1129~39頁およびT.A. Springer, Int. BMP Conference, 2016年)。

【0105】

哺乳動物では、4種の公知のLTBP、LTBP1~4が存在し、それぞれが複数のスプライスバリエントを有する(Robertson, I.B.ら、Matrix Biol、2015年、47巻:44~53頁)。LTBP2は潜在型TGFと会合しない唯一のLTBPである(Saharinen, J.およびJ. Keski-Oja、Mol Biol Cell、2000年、11巻(8号):2691~704頁)。LTBP1またはLTBP3と潜在型TGF1の会合は十分に検証されているが、TGF提示におけるLTBP4の役割ははっきりしていない。LTBP4と潜在型TGF1の複合体は、LTBP4のTGF結合性ドメインにはいくつかの負に荷電した残基が存在しないことに潜在的に起因してはるかに低い効率で形成されると思われる(Saharinen, J.およびJ. Keski-Oja、Mol Biol Cell、2000年、11巻(8号):2691~704頁; Chen, Y.ら、J Mol Biol、2005年、345巻(1号):175~86頁)。LTBP4S-/マウスおよびLTBP4のヌル変異を有するアーバン・リフキン・デービス症候群(Urban-Rifkin-Davis syndrome)患者のどちらでも、弾性線維アセンブリの破壊が生じる(Urban, Z.ら、Am J Hum Genet、2009年、85巻(5号):593~605頁; Dabovic, B.ら、J Cell Physiol、2015年、230巻(1号):226~36頁)。さらに、LTBP4S-/マウスは、肺中隔形成および弾性線維形成欠陥(elastogenesis defect)を有し、潜在型TGF1との複合体を形成することができないLTBP4を有するトランスジェニックマウスは、明白な表現型を有さない(Dabovic, B.ら、J Cell Physiol、2015年、230巻(1号):226~36頁)。LTBP4が提示分子として機能することによって潜在型TGF1制御に直接関与するかどうかは不明である;その代わりに、LTBP4は、ECMにおける弾性原線維の適切な形成に必要であり得、その欠如はECMにおける欠陥によって潜在型TGF1活性化に間接的に影響を及ぼす。

【0106】

いくつもの研究により、TGF1活性化の機構が明らかになった。3種のインテグリン、V6、V8、およびV1が潜在型TGF1の重要な活性化因子であることが実証されている(Reed, N.I.ら、Sci Transl Med、2015年、7巻(288号):288ra79; Travis, M.A.およびD. Sheppard、Annu Rev Immunol、2014年、32巻:51~82頁; Munger, J.S.ら、Cell、1999年、96巻(3号):319~28頁)。Vインテグリンは、TGF1およびTGF1LAPに存在するRGD配列に高親和性で結合する(Dong, X.ら、Nat Struct Mol Biol、2014年、21巻(12号):1091~6頁)。インテグリンの結合を妨げるが分泌は妨げないTGF1RGD部位における変異を有するトランスジェニックマウスは、TGF1-/マウスを表現型模写する(Yang, Z.ら、J Cell Biol、2007年、176巻(6号):787~93頁)。6インテグリンと8インテグリンの両方を欠くマウスは、多臓器炎症および口蓋裂を含めた、TGF1およびTGF3ノックアウトマウスの必須表現型を全て再現し、これにより、発生および恒常性におけるTGF1活性化に関するこれらの2種のインテグリンの本質的な役割が確認される(Aluwihare, P.ら、J Cell Sci、2009年、122巻(Pt 2号):227~32頁)。潜在型TGF1のインテグリン依存性活性化の鍵は、提示分子との共有結合による係留である;変異誘発によるGARPとTGF1LAPの間のジスルフィド結合の破壊により、複合体の形成は損なわれないが、V6によるTGF1活性化は完全に消滅する(Wang, R.ら、Mol Biol Cell、2012年、23巻(6号):1129~39頁)。最近の潜在型TGF1の構造

10

20

30

40

50

50

により、インテグリンにより活性な TGF-1 が潜在型複合体から放出することがどのように可能になるかが解明される：潜在型 TGF-1 とその提示分子の共有結合性の連結により、潜在型 TGF-1 が、LTBP を通じて ECM に、または GARP もしくは LRRC33 を通じて細胞骨格に固定される。RGD 配列へのインテグリンの結合の結果、LAP の構造に力依存性変化が生じ、それにより、活性な TGF-1 が放出され、近くの受容体に結合することが可能になる (Shi, M. ら、Nature, 2011 年、474 卷 (7351 号) : 343~9 頁)。疾患におけるインテグリン依存性 TGF-1 活性化の重要性も十分に検証されている。V-1 の小分子阻害剤により、ブレオマイシン誘導性肺線維症および四塩化炭素誘導性肝線維症からの保護がなされ (Reed, N. I. ら、Sci Transl Med, 2015 年、7 卷 (288 号) : 288ra79) 10 、また、抗体を用いた V-6 遮断、またはインテグリン-6 発現の欠如により、ブレオマイシン誘導性肺線維症および放射線誘導性線維症が抑制される (Munger, J. S. ら、Cell, 1999 年、96 卷 (3 号) : 319~28 頁) ; Horan, G. S. ら、Am J Respir Crit Care Med, 2008 年、177 卷 (1 号) : 56~65 頁) 20 。インテグリンに加えて、トロンボスpongin-1、およびマトリクスマタロプロテイナーゼ (MMP)、カテーテン D またはカリクレインなどのプロテアーゼによる活性化を含めた他の TGF-1 活性化の機構も関係づけられている。しかし、これらの研究の大多数は、精製されたタンパク質を使用して *in vitro* において実施されたものである；*in vivo* 研究からのこれらの分子の役割に関する証拠は少ない。トロンボスpongin-1 のノックアウトにより、一部の組織において TGF-1-/- 表現型の一部の側面が再現されるが、TGF-1 依存性であることが公知のブレオマイシン誘導性肺線維症において保護的なものではない (Ezzie, M. E. ら、Am J Respir Cell Mol Biol, 2011 年、44 卷 (4 号) : 556~61 頁)。さらに、候補プロテアーゼのノックアウトの結果、TGF-1 表現型は生じなかった (Worthington, J. J. ら、J. E. Klementowicz、および M. A. Travis、Trends Biochem Sci, 2011 年、36 卷 (1 号) : 47~54 頁)。これは、冗長性によって、または、これらの機構が発生および恒常性ではなく特定の疾患において重要であることによって説明することができた。

【0107】

TGF-1 は、線維症、免疫調節およびがんの進行を含めたいくつもの生物学的プロセスに関係づけられている。TGF-1 は、タンパク質の TGF-1 スーパーファミリーの最初に同定されたメンバーである。TGF-1 ならびにアイソフォームである TGF-2 および TGF-3 は、TGF-1 スーパーファミリーの他のメンバーと同様に、最初に不活性な前駆タンパク質形態 (プロ TGF-1 と称される) として発現する。TGF-1 タンパク質 (例えば、TGF-1、TGF-2 および TGF-3) はプロタンパク質転換酵素 (例えば、フューリン) によってタンパク質分解により切断されて、潜在型形態 (潜在型 TGF-1 と称される) が生じる。いくつかの実施形態では、TGF-1 タンパク質 (例えば、TGF-1、TGF-2 および TGF-3) のプロタンパク質形態または潜在型形態は、「プロ / 潜在型 TGF-1 タンパク質」と称され得る。TGF-1 は、例えば、GARP (GARP-TGF-1 複合体を形成するため)、LRR C33 (LRR C33-TGF-1 複合体を形成するため)、LTBP1 (LTBP1-TGF-1 複合体を形成するため)、および / または LTBP3 (LTBP3-TGF-1 複合体を形成するため) を含めた複数の分子との複合体で他の分子に提示され得る。これらの複合体に存在する TGF-1 は、潜在型形態 (潜在型 TGF-1) であっても前駆形態 (プロ TGF-1) であってもよい。

【0108】

本発明は、免疫グロブリン、例えば、(1) GARP タンパク質との複合体中の TGF-1 タンパク質 (例えば、プロ / 潜在型 TGF-1、プロ / 潜在型 TGF-2、およびプロ / 潜在型 TGF-3) に特異的に結合する抗体またはその抗原結合性部分、(2) LTBP1 40 45 50

Pタンパク質（例えば、LTBP1またはLTBP3）との複合体中のTGFタンパク質に特異的に結合する抗体またはその抗原結合性部分、および／または（3）LRRC33タンパク質との複合体中のTGFタンパク質に特異的に結合する抗体またはその抗原結合性部分に関する。いくつかの実施形態では、本明細書に開示されている抗体またはその抗原結合性部分は、TGF1がGARP-TGF1複合体、LTBP1-TGF1複合体、LTBP3-TGF1複合体、および／またはLRRC33-TGF1複合体に存在する場合に抗体またはその抗原結合性部分による結合に利用可能であるTGF1のエピトープに結合する。いかなる特定の理論にも束縛されることを望まないが、本明細書に開示されている抗体およびその抗原結合性部分の、GARPタンパク質、LTBPタンパク質、および／またはLRRC33タンパク質のいずれかとの複合体中に存在するTGFタンパク質（例えば、TGF1）に結合する能力は、TGFタンパク質を状況非依存的に標的化することを可能にするものであり、治療への適用に特に好適である。
10

【0109】

定義

本開示の理解を容易にするために、最初に特定の用語を定義する。これらの定義は、本開示の残りの部分を踏まえて読まれるべきであり、また、当業者に理解される通りである。別段の定義のない限り、本明細書において使用される全ての科学技術用語は、当業者に一般に理解されるものと同じ意味を有する。詳細な説明の全体を通して追加的な定義が記載されている。
20

【0110】

本明細書で使用される場合、「特異的結合」または「特異的に結合する」という用語は、抗体またはその抗原結合性部分と抗原との相互作用が特定の構造（例えば、抗原決定基またはエピトープ）の存在に依存することを意味する。例えば、抗体またはその抗原結合性部分は、タンパク質全般に結合するのではなく、特異的なタンパク質に結合する。いくつかの実施形態では、抗体またはその抗原結合性部分は、標的、例えばTGF1に、当該抗体の標的にに対する K_D が少なくとも約 10^{-4} M、 10^{-5} M、 10^{-6} M、 10^{-7} M、 10^{-8} M、 10^{-9} M、 10^{-10} M、 10^{-11} M、 10^{-12} M、 10^{-13} M、またはそれ未満であれば、特異的に結合する。いくつかの実施形態では、用語「TGF1のエピトープへの特異的結合」、「TGF1のエピトープに特異的に結合する」、「TGF1への特異的結合」、または「TGF1に特異的に結合する」は、本明細書で使用される場合、TGF1に結合し、表面プラズモン共鳴によって決定される解離定数（ K_D ）が 1.0×10^{-7} Mまたはそれ未満である抗体またはその抗原結合性部分を指す。一実施形態では、抗体またはその抗原結合性部分は、TGF1のヒトオルソログおよび非ヒト（例えば、マウス）オルソログの両方に特異的に結合し得る。
30

【0111】

いくつかの実施形態では、抗体またはその抗原結合性部分のGARP-TGF1複合体、LTBP1-TGF1複合体、LTBP3-TGF1複合体、および／またはLRRC33-TGF1複合体に対する結合親和性を、Octetアッセイを使用して決定する。いくつかの実施形態では、Octetアッセイは、抗体と抗原の結合を示す1つまたは複数の動態パラメータを決定するアッセイである。いくつかの実施形態では、Octet（登録商標）system（ForteBio、Menlo Park、CA）を使用して、抗体またはその抗原結合性部分のGARP-TGF1複合体、LTBP1-TGF1複合体、LTBP3-TGF1複合体、および／またはLRRC33-TGF1複合体に対する結合親和性を決定する。例えば、抗体の結合親和性は、ForteBio Octet QK^e dipおよびバイオレイヤー干渉法を利用する読み出し標識フリーアッセイ系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、抗原をバイオセンサー（例えば、ストレプトアビジンでコーティングしたバイオセンサー）に固定化し、抗体および複合体（例えば、ビオチン化GARP-TGF1複合体およびビオチン化LTBP-TGF1複合体）を溶液中に高濃度（50 μg/mL）で存在させて
40

結合相互作用を測定する。いくつかの実施形態では、抗体またはその抗原結合性部分の G A R P - T G F 1 複合体、L T B P 1 - T G F 1 複合体、L T B P 3 - T G F 1 複合体、および / または L R R C 3 3 - T G F 1 複合体に対する結合親和性を、表 6 に概説されているプロトコールを使用して決定する。

【 0 1 1 2 】

本明細書で使用される場合、「G A R P - T G F 1 複合体」という用語は、トランスホーミング増殖因子 - 1 (T G F 1) タンパク質のプロタンパク質形態または潜在型形態と糖タンパク質 A 反復優性タンパク質 (G A R P) とを含むタンパク質複合体を指す。いくつかの実施形態では、T G F 1 タンパク質のプロタンパク質形態または潜在型形態は「プロ / 潜在型 T G F 1 タンパク質」と称され得る。いくつかの実施形態では、G A R P - T G F 1 複合体は、プロ / 潜在型 T G F 1 と 1 つまたは複数のジスルフィド結合を介して共有結合により連結した G A R P を含む。他の実施形態では、G A R P - T G F 1 複合体は、プロ / 潜在型 T G F 1 と非共有結合により連結した G A R P を含む。いくつかの実施形態では、G A R P - T G F 1 複合体は、天然に存在する複合体、例えば細胞内の G A R P - T G F 1 複合体である。例示的な G A R P - T G F 1 複合体が図 3 に示されている。

10

【 0 1 1 3 】

本明細書で使用される場合、「L T B P 1 - T G F 1 複合体」という用語は、トランスホーミング増殖因子 - 1 (T G F 1) タンパク質のプロタンパク質形態または潜在型形態と潜在型 T G F - ベータ結合性タンパク質 1 (L T B P 1) とを含むタンパク質複合体を指す。いくつかの実施形態では、L T B P 1 - T G F 1 複合体は、プロ / 潜在型 T G F 1 と 1 つまたは複数のジスルフィド結合を介して共有結合により連結した L T B P 1 を含む。他の実施形態では、L T B P 1 - T G F 1 複合体は、プロ / 潜在型 T G F 1 と非共有結合により連結した L T B P 1 を含む。いくつかの実施形態では、L T B P 1 - T G F 1 複合体は、天然に存在する複合体、例えば細胞内の L T B P 1 - T G F 1 複合体である。例示的な L T B P 1 - T G F 1 複合体が図 3 に示されている。

20

【 0 1 1 4 】

本明細書で使用される場合、「L T B P 3 - T G F 1 複合体」という用語は、トランスホーミング増殖因子 - 1 (T G F 1) タンパク質のプロタンパク質形態または潜在型形態と潜在型 T G F - ベータ結合性タンパク質 1 (L T B P 3) とを含むタンパク質複合体を指す。いくつかの実施形態では、L T B P 3 - T G F 1 複合体は、プロ / 潜在型 T G F 1 と 1 つまたは複数のジスルフィド結合を介して共有結合により連結した L T B P 3 を含む。他の実施形態では、L T B P 3 - T G F 1 複合体は、プロ / 潜在型 T G F 1 と非共有結合により連結した L T B P 1 を含む。いくつかの実施形態では、L T B P 3 - T G F 1 複合体は、天然に存在する複合体、例えば細胞内の L T B P 3 - T G F 1 複合体である。例示的な L T B P 3 - T G F 1 複合体が図 3 に示されている。

30

【 0 1 1 5 】

本明細書で使用される場合、「L R R C 3 3 - T G F 1 複合体」という用語は、トランスホーミング増殖因子 - 1 (T G F 1) タンパク質のプロタンパク質形態または潜在型形態とロイシンリッチリピートを含有するタンパク質 3 3 (L R R C 3 3 ; 活性酸素種の負の制御因子 (Negative Regulator of Reactive Oxygen Species) または N R R O S としても公知) との間の複合体を指す。いくつかの実施形態では、L R R C 3 3 - T G F 1 複合体は、プロ / 潜在型 T G F 1 と 1 つまたは複数のジスルフィド結合を介して共有結合により連結した L R R C 3 3 を含む。他の実施形態では、L R R C 3 3 - T G F 1 複合体は、プロ / 潜在型 T G F 1 と非共有結合により連結した L R R C 3 3 を含む。いくつかの実施形態では、L R R C 3 3 - T G F 1 複合体は、天然に存在する複合体、例えば細胞内の L R R C 3 3 - T G F 1 複合体である。

40

【 0 1 1 6 】

「抗体」という用語は、標的抗原に特異的に結合する免疫グロブリン分子を指し、例え

50

ば、キメラ抗体、ヒト化抗体、完全ヒト抗体、および二特異性抗体を含む。インタクトな抗体は、一般に、少なくとも2つの全長重鎖および2つの全長軽鎖を含むが、ラクダ科の動物において天然に存在する重鎖のみを含む場合がある抗体などのいくつかの例では、より少ない鎖を含む場合がある。抗体は、単一の供給源のみに由来するものであってもよく、「キメラ」、すなわち、抗体の異なる部分が2つの異なる抗体に由来するものであってよい。抗体またはその抗原結合性部分は、ハイブリドーマにおいて、組換えDNA技術によって、またはインタクトな抗体の酵素的もしくは化学的切断によって作製され得る。抗体という用語は、本明細書で使用される場合、それぞれモノクローナル抗体、二特異性抗体、ミニボディ(minibody)、ドメイン抗体、合成抗体(本明細書では時には「抗体模倣物」と称される)、キメラ抗体、ヒト化抗体、ヒト抗体、抗体融合物(本明細書では時には「抗体コンジュゲート」と称される)を含む。いくつかの実施形態では、この用語は、ペプチボディ(peptibody)も包含する。

【0117】

天然に存在する抗体構造単位は、典型的には、四量体を含む。そのような四量体は、それぞれ、典型的には、2つの同一のポリペプチド鎖の対で構成され、各対が1つの全長「軽」鎖(ある特定の実施形態では、約25kDa)および1つの全長「重」鎖(ある特定の実施形態では、約50~70kDa)を有する。各鎖のアミノ末端部分は、典型的には、一般には抗原認識に関与する約100~110またはそれよりも多くのアミノ酸の可変領域を含む。各鎖のカルボキシ末端部分は、典型的には、エフェクター機能に関与し得る定常領域を規定する。ヒト抗体軽鎖は、典型的には、カッパ軽鎖とラムダ軽鎖に分類される。重鎖は、典型的には、ミュー、デルタ、ガンマ、アルファ、またはイプシロンに分類され、これにより抗体のアイソタイプが規定される。抗体は、任意の型(例えば、IgM、IgD、IgG、IgA、IgY、およびIgE)およびクラス(例えば、IgG1、IgG2、IgG3、IgG4、IgM1、IgM2、IgA1、およびIgA2)のものであってよい。全長軽鎖および重鎖の中で、可変領域および定常領域は、典型的には、約12またはそれよりも多くのアミノ酸の「J」領域によって接合しており、重鎖はまた、約10またはそれよりも多くのアミノ酸の「D」領域を含む(例えば、Fundamental Immunology、第7章(Paul, W.編、第2版、Raven Press, N.Y. (1989年))(その全体が参照により組み込まれる)を参照されたい)。典型的には、各軽鎖/重鎖対の可変領域が抗原結合性部位を形成する。

【0118】

可変領域は、典型的には、比較的保存されたフレームワーク領域(FR)に相補性決定領域またはCDRとも称される超可変領域が3つ接合した、同じ一般構造を示す。典型的には、各対の2つの鎖に由来するCDRはフレームワーク領域によって整列され、これにより、特異的なエピトープへの結合が可能になる。典型的には、軽鎖可変領域および重鎖可変領域はどちらも、N末端からC末端まで、ドメインFR1、CDR1、FR2、CDR2、FR3、CDR3およびFR4を含む。各ドメインへのアミノ酸の割り当ては、典型的には、Kabat Sequences of Proteins of Immunological Interest(National Institutes of Health, Bethesda, Md. (1987年および1991年))、またはChothiaおよびLesk(1987年)J. Mol. Biol.、196巻:901~917頁; Chothiaら(1989年)Nature、342巻:878~883頁の定義に従う。軽鎖のCDRは、CDR-L1、CDR-L2、およびCDR-L3と称される場合もあり、重鎖のCDRは、CDR-H1、CDR-H2、およびCDR-H3と称される場合もある。いくつかの実施形態では、抗体は、重鎖(複数可)のカルボキシ末端からの少数のアミノ酸欠失を含み得る。いくつかの実施形態では、抗体は、重鎖のカルボキシ末端の1~5つのアミノ酸欠失を有する重鎖を含む。ある特定の実施形態では、CDRの最終的な線引きおよび抗体の結合性部位を含む残基の同定は、抗体の構造を解明することおよび/または抗体-リガンド複合体の構造を解明することによって達成される。ある特定の実施形態では、これは、X線結晶構造解析などの、当業者に公知

10

20

30

40

50

の様々な技術のいずれかによって達成され得る。いくつかの実施形態では、種々の分析方法を使用して C D R 領域を同定するかまたは見積もることができる。そのような方法の例は、これらに限定されないが、K a b a t 定義、C h o t h i a 定義、A b M 定義、および c o n t a c t 定義を含む。

【 0 1 1 9 】

結合性タンパク質の「機能的抗原結合性部位」は、標的、抗原、またはリガンドに結合することができる部位である。抗原結合性部位の抗原結合親和性は必ずしも抗原結合性部位が由来する親結合性タンパク質ほど強力ではなくてよいが、抗原に結合する能力は抗原への結合性タンパク質の結合を評価するための公知の種々の方法のいずれか 1 つを使用して測定可能なものでなければならない。さらに、本明細書の多重特異性結合性タンパク質の抗原結合性部位のそれぞれの抗原結合親和性は定量的に同じである必要はない。

10

【 0 1 2 0 】

「可変領域」または「可変ドメイン」という用語は、典型的には、おおよそで、重鎖のアミノ末端の 1 2 0 ~ 1 3 0 アミノ酸および軽鎖の約 1 0 0 ~ 1 1 0 アミノ末端アミノ酸を含む、抗体の軽鎖および / または重鎖の一部を指す。ある特定の実施形態では、異なる抗体の可変領域は、同じ種の抗体の間でさえアミノ酸配列が広範囲にわたって異なる。典型的には、抗体の可変領域により、特定の抗体のその標的に対する特異性が決定される。

【 0 1 2 1 】

免疫グロブリン定常ドメインは、重鎖定常ドメインまたは軽鎖定常ドメインを指す。ヒト I g G 重鎖定常ドメインおよび軽鎖定常ドメインのアミノ酸配列は、当技術分野で公知である。

20

【 0 1 2 2 】

用語「競合する」は、同じエピトープについて競合する抗原結合性タンパク質（例えば、抗体またはその抗原結合性部分）に関して使用される場合、試験されている抗原結合性タンパク質により、参照抗原結合性タンパク質の共通の抗原（例えば、T G F 1 またはその断片）への特異的結合が妨げられるまたは阻害される（例えば、低減する）アッセイによって決定される、抗原結合性タンパク質間の競合を意味する。1 つの抗原結合性タンパク質が別の抗原結合性タンパク質と競合するかどうかを決定するために、多数の型の競合結合アッセイ、例えば、固相直接または間接ラジオイムノアッセイ（R I A ）、固相直接または間接酵素イムノアッセイ（E I A ）、サンドイッチ競合アッセイ；固相直接ビオチン - アビジン E I A ；固相直接標識アッセイ、および固相直接標識サンドイッチアッセイを使用することができる。通常、競合する抗原結合性タンパク質が過剰に存在する場合、当該抗原結合性タンパク質により、参照抗原結合性タンパク質の共通の抗原への特異的結合が、少なくとも 4 0 ~ 4 5 %、4 5 ~ 5 0 %、5 0 ~ 5 5 %、5 5 ~ 6 0 %、6 0 ~ 6 5 %、6 5 ~ 7 0 %、7 0 ~ 7 5 %または 7 5 %またはそれよりも大きく阻害される（例えば、低減する）。いくつかの例では、結合は、少なくとも 8 0 ~ 8 5 %、8 5 ~ 9 0 %、9 0 ~ 9 5 %、9 5 ~ 9 7 %、または 9 7 %またはそれよりも大きく阻害される。

30

【 0 1 2 3 】

用語「抗原」は、抗原結合性タンパク質（例えば、抗体を含む）などの選択的な結合性薬剤が結合することができるエピトープ、例えば、分子もしくは分子の一部、または分子もしくは分子の一部の複合体をもたらす分子構造を指す。したがって、選択的な結合性薬剤は、複合体中の 2 つまたはそれよりも多くの構成成分によって形成される抗原に特異的に結合し得る。いくつかの実施形態では、抗原は、その抗原に結合することができる抗体を産生させるために動物に使用することができるものである。抗原は、異なる抗原結合性タンパク質、例えば、抗体と相互作用することができる 1 つまたは複数のエピトープを保有し得る。

40

【 0 1 2 4 】

本明細書で使用される場合、用語「 C D R 」は、抗体可変配列内の相補性決定領域を指す。重鎖および軽鎖の可変領域のそれぞれに 3 つの C D R が存在し、これらは、可変領域のそれぞれについて C D R 1 、 C D R 2 および C D R 3 と称される。用語「 C D R セット

50

」は、本明細書で使用される場合、抗原に結合することができる单一の可変領域に存在する3つのCDRの群を指す。これらのCDRの正確な境界は、異なるシステムに従って違うように定義されている。Kabatに記載されているシステム(Kabatら(1987年;1991年)Sequences of Proteins of Immunological Interest(National Institutes of Health, Bethesda, Md.)では、任意の抗体の可変領域に適用可能な一義的な残基の番号付けシステムが提供されるだけでなく、3つのCDRを画定する正確な残基境界も提供される。これらのCDRは、Kabat CDRと称され得る。Chothiaおよび共同研究者(ChothiaおよびLesk(1987年)J. Mol. Biol., 196巻:901~917頁;ならびにChothiaら(1989年)Nature, 342巻:877~883頁)は、Kabat CDR内のある特定のサブ部分が、アミノ酸配列のレベルでは大きな多様性を有するにもかかわらずほぼ同一のペプチド骨格コンフォメーションをとることを見出した。これらのサブ部分はL1、L2およびL3またはH1、H2およびH3と名付けられ、「L」および「H」はそれぞれ軽鎖領域および重鎖領域を示す。これらの領域は、Chothia CDRと称することができ、Kabat CDRと重複する境界を有する。Kabat CDRと重複するCDRを規定する他の境界がPadlan(1995年)FASEB J., 9巻:133~139頁およびMacCallum(1996年)J. Mol. Biol., 262巻(5号):732~45頁により記載されている。さらに他のCDR境界の定義は本明細書のシステムのうちの1つに厳密に従わない場合があるが、特定の残基または残基の群またはさらにはCDR全体が抗原結合性に有意な影響を及ぼさないという予測または実験所見を踏まえて短縮または延長され得るとはいえ、それでもなおKabat CDRと重複する。本明細書で使用される方法では、これらのシステムのいずれによって定義されるCDRも利用することができるが、ある特定の実施形態では、KabatまたはChothiaにより定義されるCDRを使用する。

10

20

30

40

50

【0125】

用語「結晶」および「結晶化された」は、本明細書で使用される場合、結晶の形態で存在する結合性タンパク質(例えば、抗体)、またはその抗原結合性部分を指す。結晶は、物質の固体の状態の1つの形態であり、非晶質の固体の状態または液晶の状態などの他の形態とは別個である。結晶は、原子、イオン、分子(例えば、抗体などのタンパク質)、または分子アセンブリ(例えば、抗原/抗体複合体)の規則的な繰り返しの3次元アレイで構成される。これらの3次元アレイは、当技術分野でよく理解されている特定の数学的関係に従って配置されている。結晶中で繰り返される基本単位または構成要素は非対称単位と称される。所与の明確に定義された結晶学的対称性と合致する配置内での非対称単位の繰り返しにより、結晶の「単位格子」がもたらされる。3次元全てでの規則的な並進による単位格子の繰り返しにより結晶がもたらされる。Giege, R. およびDucruix, A. Barrett, Crystallization of Nucleic Acids and Proteins, a Practical Approach、第2版、201~16頁、Oxford University Press, New York, New York(1999年)を参照されたい。

【0126】

用語「エピトープ」は、結合性薬剤、免疫グロブリンまたはT細胞受容体に特異的に結合することができる任意の分子決定基(例えば、ポリペプチド決定基)を含む。ある特定の実施形態では、エピトープ決定基は、アミノ酸、糖側鎖、ホスホリル、またはスルホニルなどの、分子の化学的に活性な表面群分けを含み、ある特定の実施形態では、特定の3次元構造特性および/または特定の電荷特性を有し得る。エピトープは、結合性タンパク質が結合する抗原の領域である。したがって、エピトープは、抗原(またはその断片)の、特異的な結合パートナー上の相補部位に結合することができる領域のアミノ酸残基からなる。抗原断片は、1つよりも多くのエピトープを含有し得る。ある特定の実施形態では、抗体は、タンパク質および/または高分子の複合混合物中のその標的抗原を認識

する場合、抗原に特異的に結合するものである。例えば、抗体は、抗体が交差競合する（一方が、他方の結合または調節作用を妨げる）場合、「同じエピトープに結合する」と言える。さらに、エピトープの構造的な定義（重複、同様、同一）は情報価値があるが、多くの場合、機能的な定義がより関連がある。なぜなら、それらは、構造的（結合）パラメータおよび機能的（調節、競合）パラメータを包含するからである。

【0127】

「処置する（treat）」および「処置（treatment）」という用語は、治療的処置、予防的処置、および被験体で障害または他の危険因子が発生するリスクを低減する適用を包含する。処置は、障害の完全な治癒を必要とするものではなく、症状または基礎をなす危険因子を低減する実施形態を包含する。

10

【0128】

組換えDNA、オリゴヌクレオチド合成、および組織培養物および形質転換（例えば、電気穿孔、リポフェクション）に関する標準の技術を使用することができる。酵素反応および精製技術は、製造者の仕様書に従って、または当技術分野において一般に達成される通りもしくは本明細書に記載の通り実施され得る。前述の技術および手順は、一般に、当技術分野で周知の従来の方法に従って、ならびに本明細書全体を通して引用され考察されている種々の一般的なおよびより具体的な参考文献に記載されている通り実施され得る。例えば、あらゆる目的のために参照により本明細書に組み込まれる、Sambrookら、Molecular Cloning: A Laboratory Manual（第2版、Cold Spring Harbor Laboratory Press、Cold Spring Harbor, N.Y. (1989年)）を参照されたい。特定の定義が提示されていなければ、本明細書に記載されている分析化学、合成有機化学、および医学および製薬化学に関連して利用される命名法、ならびに実験室における手順および技術は、当技術分野で周知であり、一般に使用されるものである。化学合成、化学分析、医薬調製、製剤、および送達、および患者の処置に関する標準の技術を使用することができる。

20

【0129】

抗体の「抗原結合性部分」または「抗原結合性断片」という用語は、本明細書で使用される場合、抗原（例えば、TGF-1）に特異的に結合する能力を保持する、抗体の1つまたは複数の断片を指す。抗原結合性部分は、これらに限定されないが、抗原に特異的に結合して複合体を形成する、任意の天然に存在する、酵素的に得られる、合成、または遺伝子操作されたポリペプチドまたは糖タンパク質を含む。いくつかの実施形態では、抗体の抗原結合性部分は、例えば、全抗体分子から、タンパク質消化、または抗体可変ドメインおよび任意選択で定常ドメインをコードするDNAの操作および発現を伴う組換え遺伝子操作技術などの任意の好適な標準の技術を使用して得られ得る。抗原結合性部分の非限定的例は、(i) VLドメイン、VHドメイン、CLドメインおよびCH1ドメインからなる一価の断片であるFab断片；(ii) ヒンジ領域においてジスルフィド架橋によって連結した2つのFab断片を含む二価の断片であるFab'2断片；(iii) 抗体の単一のアームのVLドメインおよびVHドメインからなるFv断片；(v) 単鎖Fv(scFv)分子（例えば、Birdら(1988年)SCIENCE、242巻：423～426頁；およびHustonら(1988年)PROC. NAT'L. ACADEM. SCI. USA、85巻：5879～5883頁を参照されたい）；(vi) dAb断片（例えば、Wardら(1989年)NATURE、341巻：544～546頁を参照されたい）；ならびに(vii) 抗体の超可変領域（例えば、単離された相補性決定領域(CDR)）を模倣するアミノ酸残基からなる最小認識単位を含む。ダイアボディなどの単鎖抗体の他の形態も包含される。抗体の抗原結合性部分という用語は、他に「scFab」として公知の「単鎖Fab断片」を含み、これは、抗体重鎖可変ドメイン(VH)、抗体定常ドメイン1(CH1)、抗体軽鎖可変ドメイン(VL)、抗体軽鎖定常ドメイン(CL)およびリンカーを含み、前記抗体ドメインと前記リンカーは以下のN末端からC末端方向での順

30

40

50

序： a) V H - C H 1 - リンカー - V L - C L 、 b) V L - C L - リンカー - V H - C H 1 、 c) V H - C L - リンカー - V L - C H 1 または d) V L - C H 1 - リンカー - V H - C L のうちの 1 つを有し、また、前記リンカーは、少なくとも 30 アミノ酸、好ましくは 32 アミノ酸から 50 アミノ酸の間のポリペプチドである。

【 0 1 3 0 】

「単離された抗体」とは、本明細書で使用される場合、異なる抗原特異性を有する他の抗体を実質的に含まない抗体を指す。いくつかの実施形態では、単離された抗体は、他の細胞性材料および／または化学物質を実質的に含まない。

【 0 1 3 1 】

「親和性成熟した」抗体は、その 1 つまたは複数の C D R に 1 つまたは複数の変更を有し、その結果、抗体の抗原に対する親和性がこれらの変更を有さない親抗体と比較して改善された抗体を指す。例示的な親和性成熟した抗体は、標的抗原に対してナノモル濃度またはさらにはピコモル濃度の親和性を有する。親和性成熟した抗体は、当技術分野で公知の手順によって作製される。Marks ら (1992 年) Bio / Technology 、 10 卷 : 779 ~ 783 頁には、 V H および V L ドメインシャッフリングによる親和性成熟が記載されている。 C D R および／またはフレームワーク残基のランダム変異誘発が Barbas ら (1994 年) Proc Natl Acad Sci U S A 、 91 卷 : 3809 ~ 3813 頁 ; Schier ら (1995 年) Gene 、 169 卷 : 147 ~ 155 頁 ; Yelton ら (1995 年) J. Immunol. 、 155 卷 : 1994 ~ 2004 頁 ; Jackson ら (1995 年) J. Immunol. 、 154 卷 (7 号) : 3310 ~ 9 頁 ; および Hawkins ら (1992 年) J. Mol. Biol. 、 226 卷 : 889 ~ 896 頁により説明されており、活性を増強させるアミノ酸残基を用いた選択的変異誘発位置、接触または超変異位置における選択的変異が米国特許第 6,914,128 号に記載されている。

10

20

30

40

【 0 1 3 2 】

「 C D R がグラフトされた抗体」という用語は、 1 つの種に由来する重鎖および軽鎖可変領域配列を含むが、 V H および／または V L の C D R 領域の 1 つまたは複数の配列が別の種の C D R 配列で置き換えられた抗体、例えば、マウス重鎖可変領域および軽鎖可変領域を有し、マウス C D R の 1 つまたは複数 (例えば、 C D R 3) がヒト C D R 配列で置き換えられた抗体などを指す。

【 0 1 3 3 】

「キメラ抗体」という用語は、 1 つの種に由来する重鎖および軽鎖可変領域配列ならびに別の種に由来する定常領域配列を含む抗体、例えば、ヒト定常領域と連結したマウス重鎖可変領域および軽鎖可変領域を有する抗体などを指す。

【 0 1 3 4 】

用語「ヒト抗体」は、本明細書で使用される場合、ヒト生殖系列免疫グロブリン配列に由来する可変領域および定常領域を有する抗体を含むものとする。本開示のヒト抗体は、例えば C D R 、特に C D R 3 に、ヒト生殖系列免疫グロブリン配列によりコードされないアミノ酸残基を含み得る (例えば、 in vitro におけるランダム変異誘発もしくは部位特異的変異誘発によって、または in vivo における体細胞変異によって導入された変異) 。しかし、用語「ヒト抗体」は、本明細書で使用される場合、 C D R 配列が、ヒトフレームワーク配列にグラフトされたマウスなどの別の哺乳動物種の生殖系列に由来する抗体を含むものではない。

【 0 1 3 5 】

用語「ヒト化抗体」は、非ヒト種 (例えば、マウス) に由来する重鎖および軽鎖可変領域配列を含むが、 V H および／または V L 配列の少なくとも一部分がより「ヒト様」になるように、すなわち、ヒト生殖系列可変配列とより類似するように変更された抗体を指す。ヒト化抗体の 1 つの型は、ヒト C D R 配列を非ヒト V H および V L 配列に導入して対応する非ヒト C D R 配列を置き換えた、 C D R がグラフトされた抗体である。「ヒト化抗体」はまた、目的の抗原に免疫特異的に結合し、また、実質的にヒト抗体のアミノ酸配列を

50

有する F R 領域および実質的に非ヒト抗体のアミノ酸配列を有する C D R 領域を含む抗体、またはその変形体、誘導体、類似体もしくは断片である。本明細書で使用される場合、用語「実質的に」は、 C D R に関しては、非ヒト抗体 C D R のアミノ酸配列と少なくとも 80%、少なくとも 85%、少なくとも 90%、少なくとも 95%、少なくとも 98% または少なくとも 99% 同一のアミノ酸配列を有する C D R を指す。ヒト化抗体は、 C D R 領域の全てまたは実質的に全てが非ヒト免疫グロブリン（すなわち、ドナー抗体）のものに対応し、 F R 領域の全てまたは実質的に全てがヒト免疫グロブリンコンセンサス配列のものに対応する少なくとも 1 つ、典型的には 2 つの可変ドメイン（ F a b 、 F a b ' 、 F (a b ') 2 、 F a b C 、 F v ）の実質的に全てを含む。ある実施形態では、ヒト化抗体はまた、典型的には、ヒト免疫グロブリンの免疫グロブリン F c 領域の少なくとも一部分も含む。いくつかの実施形態では、ヒト化抗体は、軽鎖、ならびに重鎖の少なくとも可変ドメインを含有する。抗体はまた、重鎖の C H 1 、ヒンジ、 C H 2 、 C H 3 、および C H 4 領域も含み得る。いくつかの実施形態では、ヒト化抗体は、ヒト化軽鎖のみを含有する。いくつかの実施形態では、ヒト化抗体は、ヒト化重鎖のみを含有する。特定の実施形態では、ヒト化抗体は、軽鎖のヒト化可変ドメインおよび / またはヒト化重鎖のみを含有する。

10

【 0136 】

本明細書で使用される場合、「フレームワーク」または「フレームワーク配列」という用語は、可変領域から C D R を抜いた残りの配列を指す。 C D R 配列の正確な定義は、異なるシステムによって決定され得るので、フレームワーク配列の意味は対応して異なる解釈を受ける。6つの C D R (軽鎖の C D R - L 1 、 C D R - L 2 、および C D R - L 3 および重鎖の C D R - H 1 、 C D R - H 2 、および C D R - H 3) によっても軽鎖および重鎖上のフレームワーク領域が各鎖上の 4 つの小領域 (F R 1 、 F R 2 、 F R 3 および F R 4) に分けられ、 C D R 1 は F R 1 と F R 2 の間に位置付けられ、 C D R 2 は F R 2 と F R 3 の間に位置付けられ、 C D R 3 は F R 3 と F R 4 の間に位置付けられる。特定の小領域が F R 1 、 F R 2 、 F R 3 または F R 4 として明示されなければ、フレームワーク領域は、他者によって言及される通り、单一の天然に存在する免疫グロブリン鎖の可変領域内の F R の混合を表す。本明細書で使用される場合、1つの F R は、フレームワーク領域を構成する 4 つの小領域のうちの 1 つを表し、複数の F R は、フレームワーク領域を構成する 4 つの小領域のうちの 2 つまたはそれよりも多くのを表す。

20

【 0137 】

本明細書で使用される場合、用語「生殖系列抗体遺伝子」または「遺伝子断片」は、特定の免疫グロブリンの発現に関する遺伝子再配列および変異を導く成熟プロセスを受けていない非リンパ系細胞によりコードされる免疫グロブリン配列を指す（例えば、 S h a p i r o ら（ 2002 年） C r i t . R e v . I m m u n o l . 、 22 卷（ 3 号）： 183 ~ 200 頁； M a r c h a l o n i s ら（ 2001 年） A d v . E x p . M e d . B i o l . 、 484 卷： 13 ~ 30 頁を参照されたい）。本開示の種々の実施形態によってもたらされる利点の 1 つは、生殖系列抗体遺伝子では成熟抗体遺伝子よりも種内の個体の特徴となる必須アミノ酸配列構造が保存される可能性が高く、したがって、その種において治療的に使用された場合に外来供給源に由来するものと認識される可能性がより低いという認識に基づく。

30

【 0138 】

本明細書で使用される場合、用語「中和性（ n e u t r a l i z i n g ）」は、結合性タンパク質が抗原に特異的に結合した際に抗原の生物学的活性を打ち消すことを指す。ある実施形態では、中和性結合性タンパク質は、抗原 / 標的、例えば、サイトカイン、キナーゼ、増殖因子、細胞表面タンパク質、可溶性タンパク質、ホスファターゼ、または受容体リガンドに結合し、その生物学的活性を少なくとも約 20% 、 40% 、 60% 、 80% 、 85% 、 90% 、 95% 、 96% 、 97% 、 98% 、 99% またはそれよりも大きく低減する。

40

【 0139 】

50

用語「結合性タンパク質」は、本明細書で使用される場合、これらに限定されないが、抗体またはその抗原結合性部分、D V D - I g T M、T V D - I g、R A b - I g、二特異性抗体および二重特異性抗体を含めた、抗原（例えば、T G F 1）に特異的に結合する任意のポリペプチドを含む。

【0140】

用語「モノクローナル抗体」または「m A b」は、それを含む組成物に関連して使用される場合、実質的に均一な抗体の集団、すなわち、集団を構成する個々の抗体が、微量存在し得る、可能性のある天然に存在する変異以外は同一である集団から得られた抗体調製物を指し得る。モノクローナル抗体は、高度に特異的であり、単一の抗原を対象とする。さらに、典型的には異なる決定基（エピトープ）を対象とする異なる抗体を含むポリクローナル抗体調製物とは対照的に、各m A bは、抗原上の単一の決定基を対象とする。修飾語「モノクローナル」は、抗体を任意の特定の方法によって作製することを必要とするものとは解釈されない。

10

【0141】

用語「組換えヒト抗体」は、本明細書で使用される場合、組換え手段によって調製、発現、創出または単離された全てのヒト抗体、例えば、宿主細胞にトランスフェクトした組換え発現ベクターを使用して発現させた抗体（下の節I I Cにさらに記載されている）、組換えコンビナトリアルヒト抗体ライブラリーから単離された抗体（Hoogenboom, H. R. (1997年) T I B Tech.、15巻：62～70頁；Azzazy, H. およびHighsmith, W. E. (2002年) Clin. Biochem.、35巻：425～445頁；Gavilondo, J. V. およびLarerrick, J. W. (2002年) Biotechniques、29巻：128～145頁；Hoogenboom, H. およびChames, P. (2000年) Immunol. Today、21巻：371～378頁、参照により本明細書に組み込まれる）、ヒト免疫グロブリン遺伝子に関してトランスジェニックである動物（例えば、マウス）から単離された抗体（Taylor, L. D. ら(1992年) Nucleic Acids Res.、20巻：6287～6295頁；Kellermann, S-A. およびGreen, L. L. (2002年) Cur. Opin. in Biotechnol.、13巻：593～597頁；Little, M. ら(2000年) Immunol. Today、21巻：364～370頁を参照されたい）またはヒト免疫グロブリン遺伝子配列から他のDNA配列へのスプライシングを伴う任意の他の手段によって調製、発現、創出または単離された抗体などを含むものとする。そのような組換えヒト抗体は、ヒト生殖系列免疫グロブリン配列に由来する可変領域および定常領域を有する。しかし、ある特定の実施形態では、そのような組換えヒト抗体は、in vitro変異誘発（または、ヒトI g配列に関してトランスジェニックの動物を使用する場合はin vivo体細胞変異誘発）を受け、したがって、組換え抗体のV H領域およびV L領域のアミノ酸配列は、ヒト生殖系列V H配列およびV L配列に由来し、それに関連するが、in vivoにおけるヒト抗体生殖系列レパートリー内では天然に存在しない可能性がある配列である。

20

30

【0142】

本明細書で使用される場合、「二重可変ドメイン免疫グロブリン」または「D V D - I g T M」などは、対になった重鎖D V Dポリペプチドおよび軽鎖D V Dポリペプチドを含み、各対になった重鎖および軽鎖により、2つの抗原結合性部位がもたらされる結合性タンパク質を含む。各結合性部位は、抗原結合性部位当たり抗原結合に関与するC D Rを合計で6つ含む。D V D - I g T Mは、典型的には、少なくとも一部においてC H 3ドメインの二量体化によって互いと結合した2つのアームを有し、D V Dの各アームは二特異性であり、結合性部位を4つ有する免疫グロブリンがもたらされる。D V D - I g T Mは、それぞれが配列表を含め参照により本明細書に組み込まれる米国特許出願公開第2010/0260668号および同第2009/0304693号に提示されている。

40

【0143】

50

本明細書で使用される場合、「三重可変ドメイン免疫グロブリン」または「TVD-Ig」などは、対になった重鎖TVD結合性タンパク質ポリペプチドおよび軽鎖TVD結合性タンパク質ポリペプチドを含み、各対になった重鎖および軽鎖により、3つの抗原結合性部位がもたらされる結合性タンパク質である。各結合性部位は、抗原結合性部位当たり抗原結合に関与するCDRを合計で6つ含む。TVD結合性タンパク質は、少なくとも一部においてCH3ドメインの二量体化によって互いと結合した2つのアームを有し得、TVD結合性タンパク質の各アームは三特異性であり、結合性部位を6つ有する結合性タンパク質がもたらされる。

【0144】

本明細書で使用される場合、「受容体-抗体免疫グロブリン」または「RAb-Ig」などは、一緒になって合計3つの抗原結合性部位を形成する重鎖RAbポリペプチドおよび軽鎖RAbポリペプチドを含む結合性タンパク質である。重鎖RAbポリペプチドおよび軽鎖RAbポリペプチドのそれぞれに存在する抗体重鎖可変ドメインと軽鎖可変ドメインの対合によって合計6つのCDRを有する単一の結合性部位を形成することによって1つの抗原結合性部位が形成され、第1の抗原結合性部位がもたらされる。重鎖RAbポリペプチドおよび軽鎖RAbポリペプチドはそれぞれ、第2および第3の「抗原」結合性部位をもたらす、リガンドに独立に結合する受容体配列を含む。RAb-Igは、典型的には、少なくとも一部においてCH3ドメインの二量体化によって互いと結合した2つのアームを有し、RAb-Igの各アームは三特異性であり、結合性部位を6つ有する免疫グロブリンがもたらされる。RAb-Igは、配列表を含めたその内容全体が参照により本明細書に組み込まれる米国特許出願公開第2002/0127231号に記載されている。

【0145】

用語「二特異性抗体」は、本明細書で使用される場合、および「二特異性半Ig結合性タンパク質」または「二特異性(半Ig)結合性タンパク質」と区別して、クアドローマ技術によって(Milstein, C. および Cuello, A. C. (1983年) Nature、305巻(5934号): 537~540頁を参照されたい)、2つの異なるモノクローナル抗体の化学的なコンジュゲーションによって(Staerz, U. D. ら(1985年) Nature、314巻(6012号): 628~631頁を参照されたい)、またはノブ-イントゥ-ホール(knob-intohole)もしくはFc領域にCH3-CH3二量体化を阻害しない変異を導入し(Holliiger, P. ら(1993年) Proc. Natl. Acad. Sci. USA、90巻(14号): 6444~6448頁を参照されたい)、その結果、1つのみが機能的な二特異性抗体である多数の異なる免疫グロブリン種がもたらされる同様の手法によって作製される全長抗体を指す。分子機能により、二特異性抗体は、その2つの結合性アームのうちの一方(1つのHc/Lcの対)上で1つの抗原(またはエピトープ)に結合し、その第2のアーム(異なるHc/Lcの対)上で異なる抗原(またはエピトープ)に結合する。この定義によると、二特異性抗体は、(特異性およびCDR配列の両方において)2つの別個の抗原結合性アームを有し、それが結合する各抗原に対して一価である。

【0146】

用語「二重特異性抗体」は、本明細書で使用される場合、および二特異性半Ig結合性タンパク質または二特異性結合性タンパク質と区別して、その2つの結合性アーム(Hc/Lcの対)のそれぞれにおいて2つの異なる抗原(またはエピトープ)に結合することができる全長抗体を指す(PCT公開第WO02/02773号を参照されたい)。したがって、二重特異性結合性タンパク質は、同一の特異性および同一のCDR配列を有する2つの同一の抗原結合性アームを有し、それが結合する各抗原に対して二価である。

【0147】

用語「汎TGF抗体」は、TGFの1種よりも多くのアイソフォーム、例えば、TGF-1、TGF-2、およびTGF-3のうちの少なくとも2種に結合することができる任意の抗体を指す。いくつかの実施形態では、汎TGF抗体は、3種全てのアイソフ

10

20

30

40

50

オーム、すなわち、TGF 1、TGF 2、およびTGF 3に結合する。いくつかの実施形態では、汎TGF 抗体は、3種全てのアイソフォーム、すなわち、TGF 1、TGF 2、およびTGF 3に結合し、それを中和する。

【0148】

用語「 K_{on} 」は、本明細書で使用される場合、当技術分野で公知の通り、結合性タンパク質（例えば、抗体）と抗原が会合して、例えば抗体／抗原複合体を形成することについての結合速度定数（on rate constant）を指すものとする。「 K_{on} 」は、本明細書では互換的に使用される用語「結合速度定数（association rate constant）」または「 k_a 」としても公知である。抗体のその標的抗原に対する結合速度または抗体と抗原の複合体の形成速度を示す値は、方程式：抗体（「Ab」）+ 抗原（「Ag」） $Ab - Ag$ によっても示される。
10

【0149】

用語「 K_{off} 」は、本明細書で使用される場合、当技術分野で公知の通り、結合性タンパク質（例えば、抗体）の、例えば抗体／抗原複合体からの解離についての解離速度定数（off rate constant）を指すものとする。「 K_{off} 」は、本明細書では互換的に使用される用語「解離速度定数（dissociation rate constant）」または「 k_d 」としても公知である。抗体のその標的抗原からの解離速度または $Ab - Ag$ 複合体の経時的な遊離の抗体と抗原への分離を示す値は、方程式： $Ab + Ag \rightleftharpoons Ab - Ag$ によって示される。
20

【0150】

本明細書では互換的に使用される用語「平衡解離定数」または「 K_D 」は、平衡状態での滴定測定（titration measurement）において得られる値、または解離速度定数（ k_{off} ）を結合速度定数（ k_{on} ）で割ることによって得られる値を指す。結合速度定数、解離速度定数、および平衡解離定数は、結合性タンパク質、例えば抗体の抗原に対する結合親和性を表すために使用される。結合速度定数および解離速度定数を決定するための方法は当技術分野で周知である。蛍光に基づく技術を使用することにより、高い感度、および平衡状態で生理的緩衝液中の試料を検査する能力がもたらされる。BIAcore（登録商標）（生体分子間相互作用分析）アッセイなどの他の実験手法および計器を使用することができる（例えば、BIAcore International AB、a GE Healthcare company、Uppsala、Swedenから入手可能な計器）。さらに、Sapidyne Instruments（Boise、Idaho）から入手可能なKineXa（登録商標）（Kinetic Exclusion Assay）アッセイも使用することができる。
30

【0151】

用語「リンカー」は、ペプチド結合によって接合した2つまたはそれよりも多くのアミノ酸残基を含み、1つまたは複数の抗原結合性部分を連結するために使用されるポリペプチドを指すために使用される。そのようなリンカーポリペプチドは当技術分野で周知である（例えば、Holliger, P.ら（1993年）Proc. Natl. Acad. Sci. USA、90巻：6444～6448頁；Poljak, R. J.ら（1994年）Structure、2巻：1121～1123頁を参照されたい）。例示的なリンカーは、これらに限定されないが、ASTKGPSVFP LAP（配列番号55）、ASTKGP（配列番号56）；TVAAPSVFIFPP（配列番号57）；TVAAP（配列番号58）；AKTTPKLEEGEFSEAR（配列番号59）；AKTTPKLEEGEFSEARV（配列番号60）；AKTTPKLGG（配列番号61）；SAKTTPKLGG（配列番号62）；SAKTTP（配列番号63）；RADAAP（配列番号64）；RADAAAPT VS（配列番号65）；RADAAAAGGPGS（配列番号66）；RADAAAAA(G4S)4（配列番号67）；SAKTTPKLEEGEFSEARV（配列番号68）；ADAAAP（配列番号69）；ADAAAPT VSIFPP（配列番号70）；QPKAAP（配列番号71）；QPKAAPSVTL FPP（配列番号72）；AKTTPP（配列番号73）；AKTTPPSVTPLAP
40
50

(配列番号74) ; AKTTAP (配列番号75) ; AKTTAPS V Y P LAP (配列番号76) ; GGGGSGGGGS (配列番号77) ; GENKVEYAPA L M A L S (配列番号78) ; G P A K E L T P L K E A K V S (配列番号79) ; G H E A A A V M Q V Q Y P A S (配列番号80) ; T V A A P S V F I F P P T V A A P S V F I F P P (配列番号81) ; および A S T K G P S V F P L A P A S T K G P S V F P L A P (配列番号82) を含む。

【0152】

用語「がん」は、本明細書で使用される場合、典型的には、制御されていない細胞増殖を特徴とする、多細胞性の真核生物における生理的状態を指す。

【0153】

「標識」および「検出可能な標識」または「検出可能な部分」は、例えば、抗体および検体などの特異的な結合対のメンバー間の反応を検出可能にするために、抗体または検体などの特異的な結合パートナーに付着させる部分を意味し、そのように標識された特異的な結合パートナー、例えば、抗体または検体は、「検出可能に標識された」と称される。したがって、用語「標識された結合性タンパク質」は、本明細書で使用される場合、結合性タンパク質の同定をもたらす標識が組み入れられたタンパク質を指す。ある実施形態では、標識は、視覚的または機器による手段、例えば、放射性標識されたアミノ酸の組み入れまたはしるしを付したアビジン（例えば、光学的もしくは比色定量方法によって検出することができる蛍光マーカーもしくは酵素活性を含有するストレプトアビジン）によって検出することができるビオチニル部分のポリペプチドへの付着によって検出可能なシグナルを生じ得る検出可能なマーカーである。ポリペプチドに対する標識の例は、これらに限定されないが、以下を含む：放射性同位元素または放射性核種（例えば、³H、¹⁴C、³⁵S、⁹⁰Y、⁹⁹Tc、¹¹¹In、¹²⁵I、¹³¹I、¹⁷⁷Lu、¹⁶⁶Ho、および¹⁵³S m）；色素原；蛍光標識（例えば、FITC、ローダミン、およびランタニドリン光体）；酵素標識（例えば、西洋ワサビペルオキシダーゼ、ルシフェラーゼ、およびアルカリホスファターゼ）；化学発光マーカー；ビオチニル基；二次レポーターによって認識される所定のポリペプチドエピトープ（例えば、ロイシンジッパー対配列、二次抗体の結合性部位、金属結合性ドメイン、およびエピトープタグ）；ならびにガドリニウムキレートなどの磁気薬剤。イムノアッセイに一般に使用される標識の代表的な例は、光を生じる部分、例えばアクリジニウム化合物、および、蛍光を生じる部分、例えばフルオレセインを含む。他の標識が本明細書に記載されている。この点について、部分自体は検出可能に標識されない場合があるが、さらに別の部分と反応して検出可能になる場合がある。「検出可能に標識した」の使用は、後者の型の検出可能な標識を包含することが意図されている。

【0154】

用語「表面プラズモン共鳴」は、本明細書で使用される場合、例えばBIAcore（登録商標）システム（BIAcore International AB, a GE Healthcare company, Uppsala, Sweden およびPiscataway, NJ）を使用してバイオセンサーマトリクス内のタンパク質濃度の変化を検出することによってリアルタイム二特異性相互作用の分析を可能にする光学現象を指す。さらなる説明については、Joensson, U.ら(1993年)Ann. Biol. Clin.、51巻：19～26頁；Joensson, U.ら(1991年)Biotechniques、11巻：620～627頁；Johnsson, B.ら(1995年)J. Mol. Recognit.、8巻：125～131頁；およびJohnsson, B.ら(1991年)Anal. Biochem.、198巻：268～277頁を参照されたい。

【0155】

「プラスミド」または「ベクター」は、宿主細胞への送達または異なる宿主細胞間の移行のために設計された核酸構築物を含む。「発現プラスミド」または「発現ベクター」は、異種核酸断片を細胞内に組み入れ、発現させる能力を有するプラスミドであり得る。発

現プラスミドは、追加的なエレメントを含んでよく、例えば、発現ベクターは、2つの複製系を有してよく、したがって、2つの生物内で維持されることが可能になる。プラスミドに組み入れられる核酸は、発現制御配列によりそのポリヌクレオチド配列の転写および翻訳を制御および調節する場合、発現制御配列に作動可能に連結されてよい。

【0156】

「核酸」または「核酸配列」は、リボ核酸、デオキシリボ核酸またはその類似体の単位を組み入れる任意の分子、好ましくはポリマー分子であってよい。核酸は、一本鎖または二本鎖のいずれであってもよい。一本鎖核酸は、変性した二本鎖DNAの一方の核酸鎖であってよい。代替的に、一本鎖核酸は、いかなる二本鎖DNAにも由来しない一本鎖核酸であってよい。一態様では、核酸はDNAであってよい。別の態様では、核酸はRNAであってよい。好適な核酸分子は、ゲノムDNAまたはcDNAを含めたDNAである。他の好適な核酸分子は、mRNAを含めたRNAである。

10

【0157】

動作する実施例中または別段の指示がある場合を除き、本明細書において使用される成分の分量または反応条件を表す全ての数字は、全ての場合に、用語「約」によって修飾されると理解されるべきである。用語「約」は、百分率に関連して使用される場合、±1%を意味し得る。

【0158】

本開示のいくつかの実施形態を本明細書において記載し、説明してきたが、機能を行うための、ならびに/あるいは本明細書において記載される結果および/または1つもしくは複数の利点を得るための、多様な他の手段および/または構造は、当業者によって容易に想起され、そのような変更および/または改変のそれぞれは、本開示の範囲内であると考えられる。より一般的には、本明細書において記載される全てのパラメータ、寸法、材料、および構成は、例示的であることを意味し、実際のパラメータ、寸法、材料、および/または構成は、特定の適用または本開示の教示が使用される適用に依存することを、当業者は容易に理解するであろう。当業者は、単なる日常的実験を使用して、本明細書に記載される開示の特異的実施形態に対する多くの同等物を認識するかまたは確認することができる。したがって、前述の実施形態は、単なる例として紹介され、添付の特許請求の範囲およびその同等物の範囲内で、本開示は具体的に記載および特許請求される以外に実践してもよいと理解すべきである。本開示は、本明細書において記載されるそれぞれの個々の特徴、システム、物品、材料、および/または方法を対象とする。さらに、2つまたはそれよりも多くのそのような特徴、システム、物品、材料、および/または方法の任意の組み合わせは、そのような特徴、システム、物品、材料、および/または方法が相互に矛盾しない限り、本開示の範囲に含まれる。

20

【0159】

不定冠詞「1つの(a)」および「1つの(an)」は、本明細書および特許請求の範囲で使用される場合、相反することが明確に示されていなければ、「少なくとも1つの(at least one)」を意味すると理解されるべきである。

30

【0160】

句「および/または(and/or)」は、本明細書および特許請求の範囲で使用される場合、そのようにつなげられた要素、すなわち、一部の場合では接続的に存在し、他の場合では離接的に存在する要素の「いずれかまたは両方(either or both)」を意味すると理解されるべきである。相反することが明確に示されていなければ、「および/または」節によって具体的に同定された要素以外の他の要素が、具体的に同定された要素に関連するか関連しないかにかかわらず、任意選択で存在し得る。したがって、非限定的例として、「Aおよび/またはB(A and/or B)」への言及は、「含む(comprising)」などのオープンエンドの言葉と併せて使用される場合、一実施形態では、A、Bは伴わない(A without B)(任意選択でB以外の要素を含む)；別の実施形態では、B、Aは伴わない(B without A)(任意選択でA以外の要素を含む)；さらに別の実施形態では、AとBの両方(both A and

40

50

d B) (任意選択で他の要素を含む)などを指し得る。

【0161】

本明細書および特許請求の範囲で使用される場合、句「少なくとも1つの(at least one)」は、1つまたは複数の要素の一覧に関しては、要素の一覧中の要素の任意の1つまたは複数から選択された少なくとも1つの要素を意味するが、要素の一覧中に具体的に列挙されているそれをおよび全ての要素の少なくとも1つが必ずしも含まれるのではなく、また、要素の一覧中の要素の任意の組み合わせが排除されるものではないと理解されるべきである。この定義は、句「少なくとも1つの(at least one)」が指す要素の一覧中で具体的に同定されている要素以外の要素が、具体的に同定されている要素に関連するか関連しないかにかかわらず、任意選択で存在し得ることも可能にするものである。したがって、非限定的例として、「AおよびBの少なくとも1つ(at least one of A and B)」(もしくは、同等に、「AまたはBの少なくとも1つ(at least one of A or B)」、または、同等に、「Aおよび/またはBの少なくとも1つ(at least one of A and/or B)」)は、一実施形態では、任意選択で1つよりも多くを含め、少なくとも1つのA、Bは存在しない(および任意選択でB以外の要素を含む)；別の実施形態では、任意選択で1つよりも多くを含め、少なくとも1つのB、Aは存在しない(および任意選択でA以外の要素を含む)；さらに別の実施形態では、任意選択で1つよりも多くを含め、少なくとも1つのA、および任意選択で1つよりも多くを含め、少なくとも1つのB(および任意選択で他の要素を含む)などを指し得る。

【0162】

特許請求の範囲において請求項の要素を修飾するための、例えば「第1の」、「第2の」、「第3の」などの順序を示す用語の使用は、それだけで1つの請求項の要素の別の請求項の要素に対するいかなる優先順位、先行、もしくは順序を示すものでもなく、方法の行為が実施される時間的順序を示すものでもなく、ただ単に、特許請求の範囲の要素を区別するために、ある特定の名称を有する1つの請求項の要素と同じ名称を有する(順序を示す用語が使用されない場合)別の要素を区別するための標識として使用されるものである。

【0163】

本明細書で提供される範囲は、その範囲内の値の全てについて省略したものであることが理解される。例えば、1~50の範囲は、1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、26、27、28、29、30、31、32、33、34、35、36、37、38、39、40、41、42、43、44、45、46、47、48、49、または50からなる群よりのあらゆる数、数の組み合わせ、または部分範囲、例えば、10~20、1~10、30~40などを包含するものと理解される。

【0164】

G A R P - T G F 1複合体、L T B P 1 - T G F 1複合体、L T B P 3 - T G F 1複合体、および/またはL R R C 3 3 - T G F 1複合体に特異的に結合する抗体およびその抗原結合性部分

本発明は、少なくとも一部において、G A R P - T G F 1複合体、L T B P 1 - T G F 1複合体、L T B P 3 - T G F 1複合体、および/またはL R R C 3 3 - T G F 1複合体に存在するT G F 1に結合する抗体およびその抗原結合性部分の発見に基づく。したがって、本発明のいくつかの態様は、T G F 1のエピトープに特異的に結合する抗体またはその抗原結合性部分であって、エピトープが、T G F 1がG A R P - T G F

1複合体、L T B P 1 - T G F 1複合体、L T B P 3 - T G F 1複合体、および/またはL R R C 3 3 - T G F 1複合体に存在する場合に抗体またはその抗原結合性部分による結合に利用可能なものである、抗体またはその抗原結合性部分に関する。いくつかの実施形態では、エピトープは、G A R P、L T B P 1、L T B P 3、および/またはL R R C 3 3との複合体中にある場合のT G F 1のコンフォメーションの変化に起因して

10

20

30

40

50

利用可能になる。いくつかの実施形態では、抗体またはその抗原結合性部分が結合する T G F 1 のエピトープは、T G F 1 が G A R P 、 L T B P 1 、 L T B P 3 、および / または L R R C 3 3 との複合体中にはない場合には利用可能ではない。いくつかの実施形態では、抗体またはその抗原結合性部分は、T G F 2 に特異的に結合しない。いくつかの実施形態では、抗体またはその抗原結合性部分は、T G F 3 に特異的に結合しない。いくつかの実施形態では、抗体またはその抗原結合性部分は、T G F 1 のインテグリンへの結合を妨げない。例えば、いくつかの実施形態では、抗体またはその抗原結合性部分は、T G F 1 のインテグリン結合性部位を遮蔽しない。いくつかの実施形態では、抗体またはその抗原結合性部分は、T G F 1 の活性化を阻害する。いくつかの実施形態では、抗体またはその抗原結合性部分は、G A R P - T G F 1 複合体、L T B P 1 - T G F 1 複合体、L T B P 3 - T G F 1 複合体、および / または L R R C 3 3 - T G F 1 複合体からの成熟 T G F 1 の放出を阻害する。

【 0 1 6 5 】

本明細書で提供される抗体またはその抗原結合性部分は、T G F 1 のエピトープに特異的に結合し、ここで、エピトープは、T G F 1 が G A R P - T G F 1 、 L T B P 1 - T G F 1 複合体、L T B P 2 - T G F 1 複合体、および / または L R R C 3 3 - T G F 1 複合体に存在する場合に抗体またはその抗原結合性部分による結合に利用可能なものである。いくつかの実施形態では、T G F 1 は、天然に存在する哺乳動物アミノ酸配列を含む。いくつかの実施形態では、T G F 1 は、天然に存在するヒトアミノ酸配列を含む。いくつかの実施形態では、T G F 1 は、ヒト、サル、ラットまたはマウスマニノ酸配列を含む。いくつかの実施形態では、本明細書に記載の抗体またはその抗原結合性部分は、T G F 2 に特異的に結合しない。いくつかの実施形態では、本明細書に記載の抗体またはその抗原結合性部分は、T G F 3 に特異的に結合しない。いくつかの実施形態では、本明細書に記載の抗体またはその抗原結合性部分は、T G F 2 にも T G F 3 にも特異的に結合しない。いくつかの実施形態では、本明細書に記載の抗体またはその抗原結合性部分は、配列番号 2 1 に記載されているアミノ酸配列を含む T G F 1 に特異的に結合する。T G F 2 のアミノ酸配列、および T G F 3 アミノ酸配列は、それぞれ配列番号 2 2 および 2 3 に記載されている。いくつかの実施形態では、本明細書に記載の抗体またはその抗原結合性部分は、天然に存在しないアミノ酸配列を含む T G F 1 (そうでなければ、本明細書では、天然に存在しない T G F 1 と称される) に特異的に結合する。例えば、天然に存在しない T G F 1 は、天然に存在する T G F 1 アミノ酸配列と比べて、組換えによって生じた 1 つまたは複数の変異を含み得る。いくつかの実施形態では、T G F 1 、 T G F 2 、または T G F 3 アミノ酸配列は、表 1 に示されている配列番号 2 4 ~ 3 5 に記載されているアミノ酸配列を含む。いくつかの実施形態では、T G F 1 、 T G F 2 、または T G F 3 アミノ酸配列は、表 2 に示されている配列番号 3 6 ~ 4 3 に記載されているアミノ酸配列を含む。

10

20

30

【化1】

TGF β 1

LSTCKTIDMELVKRKRIEAIRGQILSKRLASPPSQGEVPPGPLPEAVLALYNSTRDRV
 AGESAEPEPEPEADYYAKEVTRVLMVETHNEIYDKFKQSTHSIYMFFNTSELREAVPE
 PVLLSRAELRLRLKLKVEQHVELYQKYSNNSWRYLSNRLLAPSDSPEWLSFDVTGV
 VRQWLSRGGEIEGFRLSAHCSCDSRDNTLQVDINGFTGRRGDLATIHMGNRPFLLL
 MATPLERAQHLQSSRHRRALDTNYCFSSTEKNCCVRQLYIDFRKDLGWKWIHEPKG
 YHANFCLGCPYIWSLDTQYSKVLALYNQHNPGASAAPCCVPQALEPLPIVYYVGR
 KPKVEQLSNMIVRSCKCS (配列番号 21)

10

TGF β 2

SLSTCSTLMDQFMRKRIEAIRGQILSKLKLTSPPEDYPEPEEEVPPEVISIYNSTRDLLQ
 EKASRRAAACERERSDEEYYAKEVYKIDMPPFFPSENAIPPTFYRPYFRIVRFDVSAM
 EKNASNLVKAEFRVFRLQNPKARVPEQRIELYQILSKDLTSPTQRYIDSKVVKTRAEG
 GEWLSFDVTDAVHEWLHHKDRNLGFKISLHCPCTFVPSNNYIIPNKSEELEARFAGI
 DGTSTYTSGDQKTIKSTRKKNSGKTPHLLLMLLPSYRLESQQTNRRKKRALDAAYCF
 RNVQDNCCCLRPLYIDFKRDLGWKWIHEPKGYNANFCAGACPYLWSSDTQHSRVSL
 YNTINPEASASPCCVSQDLEPLTILYYIGKTPKIEQLSNMIVKSCKCS (配列番号 22)

20

TGF β 3

SLSLSTCTTLDGFHIKKRVEAIRGQILSKRLLTSPPEPTVMTHVPYQVLALYNSTREL
 LEEMHGGEREEGCTQENTESEYYAKEIHKFDMIQGLAEHNEAVCPKGITSKVFRFNV
 SSVEKNRTNLFRAEFRVLRVPNPSSKRNEQRIELFQILRPDEHIAKQRYIGGKNLPTRG
 TAEWLSFDVTDTVREWLLRRESNLGLEISIHCPCHTFQPNGDILENIHEVMEIKFKGV
 DNEDDHGRGDLGRLKKQKDHHNPHLILMMIPPHRLDNPGQGGQRKKRALDTNYCF
 RNLEENCCVRPLYIDFRQDLGWKVWHEPKGYYANFCSGPCPYLRSADTTHSTVLGL
 YNTLNPEASASPCCVPQDLEPLTILYYVGRTPKVEQLSNMIVVKSCCKCS (配列番号 23)

30

【表1-1】

表1.例示的なTGF β 1、TGF β 2、およびTGF β 3アミノ酸配列

タンパク質	配列	配列番号
プロ TGF β 1	LSTCKTIDMELVKRKRIEAIRGQILSKRLASPPSQGEVP PGPLPEAVLALYNSTRDRVAGESAEPEPEPEADYYAKE VTRVLMVETHNEIYDKFKQSTHSIYMFNTSELREAVP EPVLLSRAELRLRLKLKVEQHVELYQKYSNNSWRYL SNRLLAPSDSPEWLSFDVTGVVRQWLSRGGEIEGFRSL AHCSCDSRDNTLQVDINGFTTGRGGDLATIHMNRPFL LLMATPLERAQHLQSSRHRRALDTNYCFSSTEKNCCVR QLYIDFRKDLGWKWIHEPKGYHANFCLGCPYIWSLDT QYSKVLALYNQHNPAGASAAPCCVPQALEPLPIVYYVG RKPKEQLSNMIVRSCKCS	24
プロ TGF β 1 C4S	LSTSCKTIDMELVKRKRIEAIRGQILSKRLASPPSQGEVP PGPLPEAVLALYNSTRDRVAGESAEPEPEPEADYYAKE VTRVLMVETHNEIYDKFKQSTHSIYMFNTSELREAVP EPVLLSRAELRLRLKLKVEQHVELYQKYSNNSWRYL SNRLLAPSDSPEWLSFDVTGVVRQWLSRGGEIEGFRSL AHCSCDSRDNTLQVDINGFTTGRGGDLATIHMNRPFL LLMATPLERAQHLQSSRHRRALDTNYCFSSTEKNCCVR QLYIDFRKDLGWKWIHEPKGYHANFCLGCPYIWSLDT QYSKVLALYNQHNPAGASAAPCCVPQALEPLPIVYYVG RKPKEQLSNMIVRSCKCS	25
プロ TGF β 1 D2G	LSTCKTIDMELVKRKRIEAIRGQILSKRLASPPSQGEVP PGPLPEAVLALYNSTRDRVAGESAEPEPEPEADYYAKE VTRVLMVETHNEIYDKFKQSTHSIYMFNTSELREAVP EPVLLSRAELRLRLKLKVEQHVELYQKYSNNSWRYL SNRLLAPSDSPEWLSFDVTGVVRQWLSRGGEIEGFRSL AHCSCDSRDNTLQVDINGFTTGRGGDLATIHMNRPFL LLMATPLERAQHLQSSRHGALDTNYCFSSTEKNCCVR QLYIDFRKDLGWKWIHEPKGYHANFCLGCPYIWSLDT QYSKVLALYNQHNPAGASAAPCCVPQALEPLPIVYYVG RKPKEQLSNMIVRSCKCS	26
プロ TGF β 1 C4S D2G	LSTSCKTIDMELVKRKRIEAIRGQILSKRLASPPSQGEVP PGPLPEAVLALYNSTRDRVAGESAEPEPEPEADYYAKE VTRVLMVETHNEIYDKFKQSTHSIYMFNTSELREAVP EPVLLSRAELRLRLKLKVEQHVELYQKYSNNSWRYL SNRLLAPSDSPEWLSFDVTGVVRQWLSRGGEIEGFRSL AHCSCDSRDNTLQVDINGFTTGRGGDLATIHMNRPFL LLMATPLERAQHLQSSRHGALDTNYCFSSTEKNCCVR QLYIDFRKDLGWKWIHEPKGYHANFCLGCPYIWSLDT QYSKVLALYNQHNPAGASAAPCCVPQALEPLPIVYYVG RKPKEQLSNMIVRSCKCS	27
プロ TGF β 2	SLSTCSTLMDQFMRKRIEAIRGQILSKLKLTSPPEDYPE PEEVPPPEVISIYNSTRDLLQEKA SRRAACERERSDEEY YAKEVYKIDMPPFFPSENAIPPTFYRPYFRIVRFDVSAM EKNASNLVKAERFVFRQLQNPKARVPEQRIELYQILSK DLTSPTQRYIDSKVVKTRAEGE WLSFDVTDAVHEWLH HKDRNLGFKISLHCP CCTFVPSNNYIIPNKSEELEARFA GIDGTSTYTSGDQKTIKSTRKKNSGKTPHLLMLPSYR LESQQTNRRKKRALDAAYCFRNVQDNCCRLPLYIDFK	28

10

20

30

40

【表1-2】

	RDLGWKWIHEPKGYNANFCAGACPYLWSSDTQHSRV LSLYNTINPEASASPCCVSQDLEPLTILYYIGKTPKIEQLS NMIVKSCKCS	
プロ TGFβ2 C5S	SLSTSSTLMDQFMRKRIEAIRGQILSKLKLTSPPEDYPE PEEVPPPEVISIYNSTRDLLQEKA SRRAAACERERSDEEY YAKEVYKIDMPPFFPSENAIPPTFYRPyFRIVRFDVSAM EKNASNLVKA EFRVFR LQNP KARV PEQRI LYQIL KSK DLT SPT QRY IDSK VVK TRA E GE W L S F D V T A V H E W L H K D R N L G F K I S L H C P C C T F V P S N Y I I P N K S E E L A R F A G I D G T S T Y T S G D Q K T I K S T R K K N S G K T P H L L M L L P S Y R L E S Q Q T N R R K R A L D A A Y C F R N V Q D N C C L R P L Y I D F K R D L G W K W K I H E P K G Y N A N F C A G A C P Y L W S S D T Q H S R V L S L Y N T I N P E A S A S P C C V S Q D L E P L T I L Y Y I G K T P K I E Q L S N M I V K S C K C S	29
プロ TGFβ2 C5S D2G	SLSTSSTLMDQFMRKRIEAIRGQILSKLKLTSPPEDYPE PEEVPPPEVISIYNSTRDLLQEKA SRRAAACERERSDEEY YAKEVYKIDMPPFFPSENAIPPTFYRPyFRIVRFDVSAM EKNASNLVKA EFRVFR LQNP KARV PEQRI LYQIL KSK DLT SPT QRY IDSK VVK TRA E GE W L S F D V T A V H E W L H K D R N L G F K I S L H C P C C T F V P S N Y I I P N K S E E L A R F A G I D G T S T Y T S G D Q K T I K S T R K K N S G K T P H L L M L L P S Y R L E S Q Q T N R R K G A L D A A Y C F R N V Q D N C C L R P L Y I D F K R D L G W K W K I H E P K G Y N A N F C A G A C P Y L W S S D T Q H S R V L S L Y N T I N P E A S A S P C C V S Q D L E P L T I L Y Y I G K T P K I E Q L S N M I V K S C K C S	30
プロ TGFβ2 D2G	SLSTCSTLMDQFMRKRIEAIRGQILSKLKLTSPPEDYPE PEEVPPPEVISIYNSTRDLLQEKA SRRAAACERERSDEEY YAKEVYKIDMPPFFPSENAIPPTFYRPyFRIVRFDVSAM EKNASNLVKA EFRVFR LQNP KARV PEQRI LYQIL KSK DLT SPT QRY IDSK VVK TRA E GE W L S F D V T A V H E W L H K D R N L G F K I S L H C P C C T F V P S N Y I I P N K S E E L A R F A G I D G T S T Y T S G D Q K T I K S T R K K N S G K T P H L L M L L P S Y R L E S Q Q T N R R K G A L D A A Y C F R N V Q D N C C L R P L Y I D F K R D L G W K W K I H E P K G Y N A N F C A G A C P Y L W S S D T Q H S R V L S L Y N T I N P E A S A S P C C V S Q D L E P L T I L Y Y I G K T P K I E Q L S N M I V K S C K C S	31
プロ TGFβ3	SLSLSTCTTLDGFH I K K K R V E A I R G Q I L S K L R L T S P P E P T V M T H V P Y Q V L A L Y N S T R E L L E E M H G E R E E G C T Q E N T E S E Y Y A K E I H K F D M I Q G L A E H N E L A V C P K G I T S K V F R F N V S S V E K N R T N L F R A E F R V L R V P N P S S K R N E Q R I E L F Q I L R P D E H I A K Q R Y I G G K N L P T R G T A E W L S F D V T D T V R E W L L R R E S N L G L E I S I H C P C H T F Q P N G D I L E N I H E V M E I K F K G V D N E D D H G R G D L G R L K K Q K D H H N P H L I L M M I P P H R L D N P G Q G Q R K K R A L D T N Y C F R N L E E N C C V R P L Y I D F R Q D L G W K W V H E P K G Y Y A N F C A G A C P Y L W S S D T Q H S R V L S L Y N T I N P E A S A S P C C V S Q D L E P L T I L Y Y I G K T P K I E Q L S N M I V K S C K C S	32
プロ TGFβ3 C7S	SLSLSTCTTLDGFH I K K K R V E A I R G Q I L S K L R L T S P P E P T V M T H V P Y Q V L A L Y N S T R E L L E E M H G E R E E G C T Q E N T E S E Y Y A K E I H K F D M I Q G L A E H N E L A V C P K G I T S K V F R F N V S S V E K N R T N L F R A E F R V L R V P N P S S K R N E Q R I E L F Q I L R P D E H I A K Q R Y I G G K N L P T R G T A E W L S F D V T D T V R E W L L R R E S N L G L E I S I H C P C H T F Q P N G D I L E N I H E V M E I K F K G V D N E D D H G R G D L G R L K K Q K D H H N P H L I L M M I P P H R L D N P G Q G Q R K K R A L D T N Y C F R N L E E N C C V R P L Y I D F R Q D L G W K W V H E P K G Y Y A N F C A G A C P Y L W S S D T Q H S R V L S L Y N T I N P E A S A S P C C V S Q D L E P L T I L Y Y I G K T P K I E Q L S N M I V K S C K C S	33

10

20

30

40

【表1-3】

	NPGQGGQRKKRALDTNYCFRNLEENCCVRPLYIDFRQ DLGWKVWHEPKGYYANFCSGPCPYLRSADTTHSTVLG LYNTLNPEASASPCCVPQDLEPLTILYYVGRTPKVEQLS NMVKSKCS	
プロ TGF β 3 C7S D2G	SLSLSTSTTLDFGHIKKKRVEAIRGQILSKLRLTSPPEPT VMTHVPYQVLALYNSTRELLEEMHGEREEGCTQENTE SEYYAKEIHKFDMIQGLAEHNELAVCPKGITSKVFRFN VSSVEKNRTNLRAEFRVLRVNPNSKRNEQRIELFQIL RPDEHIAKQRYIGGKNLPTRGTAEWLSFDVTDTVREWL LRRESNLGLEISIHCPCHTFQPNGDILENIHEVMEIKFKG VDNEDDHGRGDLGRLKKQKDHHNPHLILMMIPPHRLD NPGQGGQRKGALDTNYCFRNLEENCCVRPLYIDFRQD LGWKVWHEPKGYYANFCSGPCPYLRSADTTHSTVLGL YNTLNPEASASPCCVPQDLEPLTILYYVGRTPKVEQLSN MVVKSKCS	34
プロ TGF β 3 D2G	SLSLSTCTTLDFGHIKKKRVEAIRGQILSKLRLTSPPEPT VMTHVPYQVLALYNSTRELLEEMHGEREEGCTQENTE SEYYAKEIHKFDMIQGLAEHNELAVCPKGITSKVFRFN VSSVEKNRTNLRAEFRVLRVNPNSKRNEQRIELFQIL RPDEHIAKQRYIGGKNLPTRGTAEWLSFDVTDTVREWL LRRESNLGLEISIHCPCHTFQPNGDILENIHEVMEIKFKG VDNEDDHGRGDLGRLKKQKDHHNPHLILMMIPPHRLD NPGQGGQRKGALDTNYCFRNLEENCCVRPLYIDFRQD LGWKVWHEPKGYYANFCSGPCPYLRSADTTHSTVLGL YNTLNPEASASPCCVPQDLEPLTILYYVGRTPKVEQLSN MVVKSKCS	35

【表2-1】

表2.例示的な非ヒトアミノ酸配列

タンパク質	種	配列	配列番号
プロ TGF β 1	マウス	LSTCKTIDMELVKRKRIEAIRGQILSKLRLASPPSQGE VPPGPLPEAVLALYNSTRDRVAGESADPEPEPEADY YAKEVTRVLMVDRNNAIYEKTKDISHSIYMFNTSDI REAVPEPPLSRAELRLQRLKSSVEQHVELYQKYSN NSWRYLGNRLLPTDTPEWLSFDVTGVVRQWLNQG DGIQGFRSAHCSCDSKDNKLHVEINGISPKRGGDLG TIHDMDNRPFLLMATPLERAQHLHSSRHRRALDTNY CFSSTEKNCCVRQLYIDFRKDLGWKIHEPKGYHA NFCLGPCPYIWSDLTQYSKVLALYNQHNPAGASAPC CVPQALEPLPIVYYVGRKPKVEQLSNMIVRSCKCS	36
プロ TGF β 1	カニクイザル	LSTCKTIDMELVKRKRIEAIRGQILSKLRLASPPSQGE VPPGPLPEAVLALYNSTRDRVAGESAEPEPEPEADY YAKEVTRVLMVETHNEIYDKFKQSTHSIYMFNTSE LREAVPEPVLLSRAELRLRLKLKVEQHVELYQKYS NSWRYLNSNRLAPSDSPEWLSFDVTGVVRQWLSR GGEIEGFRSAHCSCDSKDNLTQVDINGFTGRRGDL ATIHMNRPFLLMATPLERAQHLQSSRHRRALDTN YCFSTEKNCCVRQLYIDFRKDLGWKIHEPKGYH ANFCLGPCPYIWSDLTQYSKVLALYNQHNPAGASAAP CCVPQALEPLPIVYYVGRKPKVEQLSNMIVRSCKCS	37
TGF β 1 LAP C4S	マウス	LSTSCKTIDMELVKRKRIEAIRGQILSKLRLASPPSQGE VPPGPLPEAVLALYNSTRDRVAGESADPEPEPEADY YAKEVTRVLMVDRNNAIYEKTKDISHSIYMFNTSDI REAVPEPPLSRAELRLQRLKSSVEQHVELYQKYSN NSWRYLGNRLLPTDTPEWLSFDVTGVVRQWLNQG DGIQGFRSAHCSCDSKDNKLHVEINGISPKRGGDLG TIHDMDNRPFLLMATPLERAQHLHSSRHRR	38
TGF β 1 LAP C4S	カニクイザル	LSTSCKTIDMELVKRKRIEAIRGQILSKLRLASPPSQGE VPPGPLPEAVLALYNSTRDRVAGESAEPEPEPEADY YAKEVTRVLMVETHNEIYDKFKQSTHSIYMFNTSE LREAVPEPVLLSRAELRLRLKLKVEQHVELYQKYS NSWRYLNSNRLAPSDSPEWLSFDVTGVVRQWLSR GGEIEGFRSAHCSCDSKDNLTQVDINGFTGRRGDL ATIHMNRPFLLMATPLERAQHLQSSRHRR	39
プロ TGF β 1 C4S D2G	マウス	LSTSCKTIDMELVKRKRIEAIRGQILSKLRLASPPSQGE VPPGPLPEAVLALYNSTRDRVAGESADPEPEPEADY YAKEVTRVLMVDRNNAIYEKTKDISHSIYMFNTSDI REAVPEPPLSRAELRLQRLKSSVEQHVELYQKYSN NSWRYLGNRLLPTDTPEWLSFDVTGVVRQWLNQG DGIQGFRSAHCSCDSKDNKLHVEINGISPKRGGDLG TIHDMDNRPFLLMATPLERAQHLHSSRHGALDTNYC FSSTEKNCCVRQLYIDFRKDLGWKIHEPKGYHANF CLGPCPYIWSDLTQYSKVLALYNQHNPAGASAPCCV PQALEPLPIVYYVGRKPKVEQLSNMIVRSCKCS	40
プロ TGF β 1 C4S	マウス	LSTSCKTIDMELVKRKRIEAIRGQILSKLRLASPPSQGE VPPGPLPEAVLALYNSTRDRVAGESADPEPEPEADY YAKEVTRVLMVDRNNAIYEKTKDISHSIYMFNTSDI REAVPEPPLSRAELRLQRLKSSVEQHVELYQKYSN NSWRYLGNRLLPTDTPEWLSFDVTGVVRQWLNQG	41

10

20

30

40

【表2-2】

		DGIQGFRFSAHCSCKDNKLHVEINGISPKRRGDLG TIHDMNRPFLLMATPLERAQHLHSSRHRRALDTNY CFSSTEKNCCVRQLYIDFRKDLGWKWIHEPKGHA NFCLGPCPYIWSDLTQYSKVLALYNQHNPAGASAPC CVPQALEPLPIVYYVGRKPKVEQLSNMIVRSCKCS	
プロ TGF β 1 C4S	カニクイ ザル	LSTSKTIDMELVKRKRIEAIRGQILSKLRLASPPSQGE VPPGPLPEAVLALYNSTRDRVAGESAEPEPEPEADY YAKEVTRVLMVETHNEIYDKFKQSTHSIYMFNTSE LREAVPEPVLLSRAELRLRLKLKVEQHVELYQKYS NNSWRYLSNRLLAPSDSPEWLSFDVTGVRQWLSR GGEIEGFRLSAHCSCKDNTLQVDINGFTTGRGDL ATIHGMNRPFLLMATPLERAQHLQSSRHRRALDTN YFSSTEKNCCVRQLYIDFRKDLGWKWIHEPKGHA ANFCLGPCPYIWSDLTQYSKVLALYNQHNPAGASAAP CVPQALEPLPIVYYVGRKPKVEQLSNMIVRSCKCS	42 10
プロ TGF β 1 C4S D2G	カニクイ ザル	LSTSKTIDMELVKRKRIEAIRGQILSKLRLASPPSQGE VPPGPLPEAVLALYNSTRDRVAGESAEPEPEPEADY YAKEVTRVLMVETHNEIYDKFKQSTHSIYMFNTSE LREAVPEPVLLSRAELRLRLKLKVEQHVELYQKYS NNSWRYLSNRLLAPSDSPEWLSFDVTGVRQWLSR GGEIEGFRLSAHCSCKDNTLQVDINGFTTGRGDL ATIHGMNRPFLLMATPLERAQHLQSSRHGALDTNY CFSSTEKNCCVRQLYIDFRKDLGWKWIHEPKGHA NFCLGPCPYIWSDLTQYSKVLALYNQHNPAGASAAPC CVPQALEPLPIVYYVGRKPKVEQLSNMIVRSCKCS	43 20
LTBP3	カニクイ ザル	GPAGERGAGGGALARERFKVVFAPVICKRTCLKG QCRDSCQQGSNMTLIGENGHSTDTLTGSFRRVVCP LPCMNGGQCSSRNQCLCPPDFTGRFCQVPAGGAGG GTGGSGPGLSRAGALSTGALPPLAPEGDSVASKHAI YAVQVIADPPGPGEPPAQHAFLVPLGPGQISAEV QAPPPVNVRVHHPPEASVQVHRIESSNAEGAAPSQ HLLPHPKPSHPRPTQKPLGRCFQDTLPKQPCGSNPL PGLTKQEDCCSIGTAWGQSKCHKCPQLQYTGVQK PGPVRGEVGADCPQGYKRLNSTHCQDINECAMPGV CRHGDCLNNPGSYRCVCPGHSLGPSRTQCIADKPE EKSCLCFRLVSPEHQCQHPLTTRQLCCSVGKAW GARCAQRCPADGTAASFKEICPAGKGYHILTSQHQLTIQ GESDFSLFLHPDGPPKPQQLPESPSQAPPEDTEERG VTTDSPVSEERSVQQSHPTATTSPARPYPELISRSPSP TMRWFLPDLPSSRSAVEIAPTQVTETDECRLNQNICG HGECPGPGRCIMNTGGSYNCHNRGYRLHVGAGGR SCVDLNECAKPHLCGGFCINFPGHYKCNCYPGYR LKASRPPVCEIDECRDPSSCPDGKCEKPGSFKIA CQPGYRSQGGGACRDVNECAEGSPCSPGWCENLPG SFRCTCAQGYAPAPDGRSCVDVDECEAGDVCDNGI CTNTPGSFQCQCLSGYHLSRDRSHCEDIDECDFAAC IGGDCINTNGSYRCLCPQGHRLVGGRKCQDIDECTQ DPGLCLPHGACKNLQGSYVCVCDEGFTPTQDQHGC EEVEQPHHKKECYLNFDVTFCDSVLATNVTQQEC CCSLGAGWGDHCEIYPCPVYSSAEFHSLCPDGKGYT QDNNIVNYGIPAHRDIDECMLGAEICKEGKCVNTQ PGYECYCKQGFYYDGNLLECVDVDECLDESNCRNG VCENTRGGYRCACTPPAHEYSPAQRQCLSPPEMDVDE	44 30 40

【表2-3】

		CQDPAACRPGRCVNLPGSYRCECRPPWVPGPSGRDC QLPESPAERAPERRDVCWSQRGEDGMCAGPQAGPA LTFDDCCCRQGRGWGAQCRCPPRGAGSQCPTSQSE SNSFWDTSPLLLKGKPRRDEDSSEEDSDECRCVSGRC VPRPGGAVCECPGGFQLDASRARCVDIDECRELNQR GLLCKSERCVNTSGSFRCVCKAGFARSRPHGACVPQ RRR	
LTBP3	マウス	GPAGERGTGGGGALARERFKVVFAPVICKRTCLKQ CRDSCQQGSNMTLIGENGHSTDTLTGSAFRVVVCPL PCMNGGQCSSRNQCLCPPDFTGRFCQVPAAGTGAG TGSSGPGLARTGAMSTGPLPPLAPEGESVASKHAIYA VQVIADPPGPGEPPAQHAFLVPLGPGQISAEVQAP PPVNVNRVHPPEASVQVHRIEGPNAEGPASSQHLL PHPKPPHPRPPTQKPLGRCFQDTLPKQPCGSNPLPGL TKQEDCCGSIGTAWGQSKCHKCPQLQYTGVQKPVP VRGEVGADCPQGYKRLNSTHCQDINECAMPGNVCH GDCLNNPGSYRCVCPPGHSLGPLAAQCIADKPEEK LCFRLVSTEHQCQHPLTTRLTRQLCCSVGKAWGAR CQRCPADGTAAFKEICPGKGYHILTSQHQLTIQGESD FSLFLHPDGPPKPKQQLPESPSRAPPLEDTEEERGVTM DPPVSEERSVQQSHPTTSPPRPYPELISRSPSPPTFHR FLPDLLPPSRSAVEIAPTQVTETDECRLNQNICKHGQC VPGPSDYSCHCNAGYRSHPQHRYCVDVNECEAEP GPGKGICMNTGGSYNCHCNRGYRLHVGAGGRSCVD LNECAKPHLCGDGGFCINFPGHYKCNCYPGYRLKAS RPPICEDIDECRDPSTCPDGKCENKPGSFKCIACQPGY RSQGGGACRDVNECSEGTPCSPGWCENLPGSYRCTC AQYEPADGLSCIDVDECEAGKVCQDGICTNTPGSF QCQCLSGYHLSRDRSRCEDIDECDFPAACIGGDCINT NGSYRCLCPLGHRLVGGRKCKDIDECSQDPGLCLP HACENLQGSYVCVCDEGFTLTQDHGCEEVEQPHH KKECYLNFDVTFCDSVLATNVTQEQCCSLGAGW GDHCEIYPCPVYSSAEFHSVPDGKRLHSGQQHCEL CIPAHRDIDECLFGAEICKEGKCVNTQPGYECYCKQ GFYYDGNLLECVDVDECLDESNCRNGVCENTRGGY RCACTPPAEYSPAQAQCLIPERWSTPQRDVKCAGAS EERTACVWGPWAGPALTFDDCCCRQPRLTQCRPC PPRGTGSQCPTSQSESNSFWDTSPLLLKGSPRDEDSS EEDSDECRCVSGRCVPRPGGAVCECPGGFQLDASRA RCVDIDECRELNQRGLLCKSERCVNTSGSFRCVCKA GFTRSRPHGPACLSAADDAAIAHTSVIDHRGYFH	45 10 20 30
LTBP1S	カニクイザル	NHTGRIKVVFPSICKVTCTKGSCQNSCEKGNTTLI SENGHAADTLTATNFRVVLCHLPCMNNGQCSSRDK CQCPPNFTGKLCQIPVHGASVPKLYQHSQQPGKALG THVIHSTHTLPLTVTSQQGVVKVFPPNIVNIHVKHPP EASVQIHQVSRIDGPTGQKTKEAQPGQSQVSYQGLP VQKTQTIHSTYSHQQVIPHVPVAAKTQLGRCFQETI GSQCGKALPGLSKQEDCCGTVGTSWGFNKCQKCPK KPSYHGYNQMMECLPGYKRVNNNTFCQDINECQLQG VCPNGECLNTMGSYRCTCKIGFGPDPTFSSCVPDPPV ISEEKGPCYRLVSSGRQCMHPLSVHLTQLCCSVG KAWGPHECKCPLPGTAAFKEICPGGMGYTVSGVHR RRPIHHVGKGPVFVKPKNTQPVAKSTHPPPLPAKE EPVEALTFSEHGPVAEPEVATAPPEKEIPSLSLDQEK	46 40

【表 2 - 4】

		TKLEPGQPQLSPGISTIHLHPQFPVIEKTSPPVPVEA PEASTSSASQVIAPTVTEINECTVNPDICGAGHCINL PVRYTCICYEGYKFSEQQRKCVDIDECQVQHLCSEQ GRCENTEGSFLCICPAGFMASEEGTNCIDVDECLRPD VCGEGHCVNTVGAFRCEYCDSGYRMTQRGRCEDID ECLNPSTCPDEQCVNSPGSYQCVPCTEGFRGWNGQC LDVDECLEPNVCTNGDCSNELEGSYMCSCHKGYTRT PDHKHCKDIDECQQGNLCVNGQCKNTEGSFRCTCG QGYQLSAAKDQCEDIDECQHHHLCAHGQCRNTEGS FQCVCDQGYRASGLGDHCEDINECLEDKSVQRGD CINTAGSYDCTCPDGQLDDNKTQCDINECEHPGLC GPQGECLNTEGSFHCVCQQGFSISADGRTCEDIDECV NNTVCDSHGFCDNTAGSFRCCLCYQGFQAPQDGQGC VDVNECELLSGVCGEAFCENVEGSFLCVCADENQEY SPMTGQCRSRSTDLDVEQPKEEKKECYYNLNDASL CDNVLAPNVTKQECCCTSGAGWGDNCEIFPCPVLGT AEFTEMCPKGKGFVPAGESSSEAGGENYKDAECLL FGQEICKNGFCLNTRPGYECYCKQGTYYDPVKLQCF DMDECQDPSSCIDGQCVNTEGSYNCFCTHPMVLDAS EKRCIRPAESNEQIEETDVYQDLCWEHLSDEYVCSR LVGKQTTYTECCCLYGEAWGMQCALCPMKDSDDY AQLCNIPVTGRRQPYGRDALVDFSEQYAPEADPYFI QDRFLNSFEELQAEECGILNGCENGRCVRVQEGYTC DCFDFGYHLDTAKMTCDVNECDELNNRMSLCKNA KCINTEGSYKCLCLPGYVPSDKPNYCTPLNTALNLE KDSDEL	10
LTBP1S	マウス	NHTGRIKVVFPSICKVTCTKGNCQNSCQKGNTTLI SENGHAADTLTATNFRVVICHLPCMNGGQCSSRDKC QCPPNFTGKLCQIPVLGASMPKLYQHAQQQGKALGS HVIHSTHTLPLTMTSQQGVVKVFPPNIVNIHVKHIPPE ASVQIHQVSRIDSPGGQKVKEAQPQGSQVSYQGLPV QKTQTVHSTYSHQQLIPHVYPVAAKTQLGRCFQETI GSQCGKALPGLSKQEDCCGTVGTSWGFNKCQKCPK KQSYHGYTQMMECLQGYKRVNNNTFCQDINECQLQ GVCPNGECLNTMGSYRCSCMGFGDPDTFSSCVPDP PVISEEKGPCYRLVSPGRHCMHPLSVHLTKQICCCSV GKAWGPHCEKCPPLGTAAFKEICPGGMGYTVSGVH RRRPIHQHIGKEAVYVKPKNTQPVAKSTHPPPLPAKE EPVEALTSSWEHGPRGAEPVVTAPPEKEIPSQLDQE TRLEPGQPQLSPGVSTIHLHPQFPVVVEKTSPPVVE VAPEASTSSASQVIAPTVTEINECTVNPDICGAGHC NLPVRYTCICYEGYKFSEQLRKCVDIDECAQVRHLC SQGRCENTEGSFLCVCAPGMASEEGTNCIDVDECL RPDMCRDGRCINTAGAFRCEYCDSGYRMSRRGYCE DIDECLKPSTCPPEQCVNTPGSYQCVPCTEGFRGW GQCLDVDECLQPKVCTNGSCTNLEGSYMCSCHRGY SPTPDHRHCQDIDECQQGNLCMNGQCRNTDGSFRCT CGQGYQLSAAKDQCEDIDECCEHHHLCSHGQCRNTE GSFQCVNQGYRASVLDHCEDINECLEDSSVCQGG DCINTAGSYDCTCPDGQLNDNKGQCDINECAQPL CGSHGECLNTQGSFHVCEQGFSISADGRTCEDIDEC VNNTVCDSHGFCDNTAGSFRCCLCYQGFQAPQDGQG CVDVNECELLSGVCGEAFCENVEGSFLCVCADENQE YSPMTGQCRSRVTESGVDRQPREEKKECYYNLND	47
			30

【表2-5】

		ASLCDNVLAPNVTKQECCCTSGAGWGDNCEIFPCPV QGTAEFTEMCPRGKGLVPAGESSYDTGGENYKDAD ECLLFGEICKNGYCLNTQPGYECYCKQGTYYDPVK LQCFDMDECQDPNSCIDGQCVNTEGSYNCFTHPM VLDASEKRCVQPTESNEQIEETDVYQDLCWEHLSEE YVCSRPLVKGQTTYECCLLYGEAWGMQCALCPM KDSDDYAQLCNIPVTGRRRPYGRDALVDFSEQYGPE TDPYFIQDRFLNSFEELQAEECGILNGCENGRCVRVQ EGYTCDCFDGYHLDMAKMTCDVNECSELNRMS LCKNAKCINTEGSYKCLCLPGYIPSDKPNYCTPLNSA LNLDKESDLE	10
GARP	マウス	ISQRREQVPCRTVNKEALCHGLLQVPSVLSLDIQA LYLSGNQLQSLVSPPLGFYTALRHLDLSDNQISFLQA GVFQALPYLEHNLNAHNRLATGMALNSGGLGRLPL LVSLDLGNSLHGNLVERLLGETPRLRTLSAENSLT RLARHTFWGMPAVEQLDLHSNVLMDIEDGAFEALP HLTHLNLSRNSLTCISDFSLQQLQVLDLSCNSIEAFQT APEPQAQFQLAWLDLRENKLLHFPDLAVFPRLIYLN VSNNLIQLPAGLPRGSEDLHAPSEGWSASPLSNPSRN ASTHPLSQLNLDLSYNEIELVPASFLEHLSRFLNL SRNCLRSFEARQVDSLPCLVLLDLSHNVLEALELGT KVLGSLQTLLQDNALQELPPYTASLASLQRLNLQ GNQVSPCGGPAEPGPGCVDFSGIPTLHVLNMAGNS MGMLRAGSFLHTPLTELDLSTNPGLDVATGALVGLE ASLEVLELQGNGLTVLVDLPCFLRLKRLNLAENQL SHLPAWTRAVSLEVLDLRNNFSLLPGNAMGGLETS LRRYLQGNPLSCCGNGWLAQLHQGRVDVATQ DLICRFGSQEELSLSLVRPEDCEKGGLKNVNLLSF TLVSAIVLTTLATICFLRRQKLSQQYKA	48 20
sGARP	マウス	ISQRREQVPCRTVNKEALCHGLLQVPSVLSLDIQA LYLSGNQLQSLVSPPLGFYTALRHLDLSDNQISFLQA GVFQALPYLEHNLNAHNRLATGMALNSGGLGRLPL LVSLDLGNSLHGNLVERLLGETPRLRTLSAENSLT RLARHTFWGMPAVEQLDLHSNVLMDIEDGAFEALP HLTHLNLSRNSLTCISDFSLQQLQVLDLSCNSIEAFQT APEPQAQFQLAWLDLRENKLLHFPDLAVFPRLIYLN VSNNLIQLPAGLPRGSEDLHAPSEGWSASPLSNPSRN ASTHPLSQLNLDLSYNEIELVPASFLEHLSRFLNL SRNCLRSFEARQVDSLPCLVLLDLSHNVLEALELGT KVLGSLQTLLQDNALQELPPYTASLASLQRLNLQ GNQVSPCGGPAEPGPGCVDFSGIPTLHVLNMAGNS MGMLRAGSFLHTPLTELDLSTNPGLDVATGALVGLE ASLEVLELQGNGLTVLVDLPCFLRLKRLNLAENQL SHLPAWTRAVSLEVLDLRNNFSLLPGNAMGGLETS LRRYLQGNPLSCCGNGWLAQLHQGRVDVATQ DLICRFGSQEELSLSLVRPEDCEKGGLKNVN	49 30 40

【0166】

いくつかの実施形態では、本明細書に記載の抗体またはその抗原結合性部分は、LTB_{P1}-TGF₁複合体に結合することができる。いくつかの実施形態では、抗原性タンパク質複合体（例えば、LTB_{P1}-TGF₁複合体）は、1つまたは複数のLTB_Pタンパク質（例えば、LTB_{P1}、LTB_{P2}、LTB_{P3}、およびLTB_{P4}）を含み得る。いくつかの実施形態では、LTB_{P1}タンパク質は、天然に存在するタンパク質である。いくつかの実施形態では、LTB_{P1}タンパク質は、天然に存在しないタンパク質で

ある。いくつかの実施形態では、L T B P 1タンパク質は、組換えタンパク質である。そのような組換えL T B P 1タンパク質は、L T B P 1、その選択的にスプライシングされた改变体および/またはその断片を含み得る。組換えL T B P 1タンパク質はまた、1つまたは複数の検出可能な標識を含むように改变されていてもよい。いくつかの実施形態では、L T B P 1タンパク質は、リーダー配列（例えば、ネイティブまたは非ネイティブリーダー配列）を含む。いくつかの実施形態では、L T B P 1タンパク質は、リーダー配列を含まない（すなわち、リーダー配列はプロセシングまたは切断されている）。そのような検出可能な標識としては、これらに限定されないが、ビオチン標識、ポリヒスチジンタグ、m y c タグ、H A タグおよび/または蛍光タグを挙げることができる。いくつかの実施形態では、L T B P 1タンパク質は、哺乳動物L T B P 1タンパク質である。いくつかの実施形態では、L T B P 1タンパク質は、ヒト、サル、マウス、またはラットL T B P 1タンパク質である。いくつかの実施形態では、L T B P 1タンパク質は、表2の配列番号4 6および4 7に記載されているアミノ酸配列を含む。いくつかの実施形態では、L T B P 1タンパク質は、表3の配列番号5 0に記載されているアミノ酸配列を含む。

【0167】

いくつかの実施形態では、本明細書に記載の抗体またはその抗原結合性部分は、L T B P 3 - T G F 1複合体に結合することができる。いくつかの実施形態では、L T B P 3タンパク質は、天然に存在するタンパク質である。いくつかの実施形態では、L T B P 3タンパク質は、天然に存在しないタンパク質である。いくつかの実施形態では、L T B P 3タンパク質は、組換えタンパク質である。そのような組換えL T B P 3タンパク質は、L T B P 3、その選択的にスプライシングされた改变体および/またはその断片を含み得る。いくつかの実施形態では、L T B P 3タンパク質は、リーダー配列（例えば、ネイティブまたは非ネイティブリーダー配列）を含む。いくつかの実施形態では、L T B P 3タンパク質は、リーダー配列を含まない（すなわち、リーダー配列はプロセシングまたは切断されている）。組換えL T B P 3タンパク質はまた、1つまたは複数の検出可能な標識を含むように改变されていてもよい。そのような検出可能な標識は、これらに限定されないが、ビオチン標識、ポリヒスチジンタグ、m y c タグ、H A タグおよび/または蛍光タグを含み得る。いくつかの実施形態では、L T B P 3タンパク質は、哺乳動物L T B P 3タンパク質である。いくつかの実施形態では、L T B P 3タンパク質は、ヒト、サル、マウス、またはラットL T B P 3タンパク質である。いくつかの実施形態では、L T B P 3タンパク質は、表2の配列番号4 4および4 5に記載されているアミノ酸配列を含む。いくつかの実施形態では、L T B P 1タンパク質は、表3の配列番号5 1に記載されているアミノ酸配列を含む。

【0168】

いくつかの実施形態では、本明細書に記載の抗体またはその抗原結合性部分は、G A R P - T G F 1複合体に結合することができる。いくつかの実施形態では、G A R Pタンパク質は、天然に存在するタンパク質である。いくつかの実施形態では、G A R Pタンパク質は、天然に存在しないタンパク質である。いくつかの実施形態では、G A R Pタンパク質は、組換えタンパク質である。そのようなG A R Pは組換え型のものであってよく、本明細書では、組換えG A R Pと称される。いくつかの組換えG A R Pは、野生型G A R Pと比較して1つまたは複数の改变、短縮および/または変異を含んでよい。組換えG A R Pは、可溶性になるように改变されたものであってよい。いくつかの実施形態では、G A R Pタンパク質は、リーダー配列（例えば、ネイティブまたは非ネイティブリーダー配列）を含む。いくつかの実施形態では、G A R Pタンパク質は、リーダー配列を含まない（すなわち、リーダー配列はプロセシングまたは切断されている）。他の実施形態では、組換えG A R Pは、1つまたは複数の検出可能な標識を含むように改变されたものである。さらなる実施形態では、そのような検出可能な標識は、これらに限定されないが、ビオチン標識、ポリヒスチジンタグ、f 1 a g タグ、m y c タグ、H A タグおよび/または蛍光タグを含み得る。いくつかの実施形態では、G A R Pタンパク質は、哺乳動物G A R Pタンパク質である。いくつかの実施形態では、G A R Pタンパク質は、ヒト、サル、マウ

10

20

30

40

50

ス、またはラットG A R Pタンパク質である。いくつかの実施形態では、G A R Pタンパク質は、表2の配列番号48～49に記載されているアミノ酸配列を含む。いくつかの実施形態では、G A R Pタンパク質は、表4の配列番号52および53に記載されているアミノ酸配列を含む。いくつかの実施形態では、本明細書に記載の抗体またはその抗原結合性部分は、T G F 1に状況依存的に結合しない、例えば、T G F 1への結合は、T G F 1分子がG A R Pなどの特定の提示分子と複合体を形成している場合にのみ起こる。その代わりに、抗体およびその抗原結合性部分は、T G F 1に状況非依存的に結合する。言い換えれば、抗体またはその抗原結合性部分は、T G F 1に、T G F 1が任意の提示分子：G A R P、L T B P 1、L T B P 3、および/またはL R C C 3 3と結合している場合に結合する。

10

【0169】

いくつかの実施形態では、本明細書に記載の抗体またはその抗原結合性部分は、L R R C 3 3 - T G F 1複合体に結合することができる。いくつかの実施形態では、L R R C 3 3タンパク質は、天然に存在するタンパク質である。いくつかの実施形態では、L R R C 3 3タンパク質は、天然に存在しないタンパク質である。いくつかの実施形態では、L R R C 3 3タンパク質は、組換えタンパク質である。そのようなL R R C 3 3は組換え型のものであってよく、本明細書では、組換えL R R C 3 3と称される。いくつかの組換えL R R C 3 3タンパク質は、野生型L R R C 3 3と比較して1つまたは複数の改変、短縮および/または変異を含み得る。組換えL R R C 3 3タンパク質は、可溶性になるように改変されたものであってよい。例えば、いくつかの実施形態では、可溶性L R R C 3 3タンパク質(s L R R C 3 3；例えば、配列番号84を参照されたい)を発現させるために、L R R C 3 3の外部ドメインをC末端H i sタグと共に発現させることができる。いくつかの実施形態では、L R R C 3 3タンパク質は、リーダー配列(例えば、ネイティブまたは非ネイティブリーダー配列)を含む。いくつかの実施形態では、L R R C 3 3タンパク質は、リーダー配列を含まない(すなわち、リーダー配列はプロセシングまたは切断されている)。他の実施形態では、組換えL R R C 3 3タンパク質は、1つまたは複数の検出可能な標識を含むように改変されたものである。さらなる実施形態では、そのような検出可能な標識は、これらに限定されないが、ビオチン標識、ポリヒスチジンタグ、f 1 a gタグ、m y cタグ、H Aタグおよび/または蛍光タグを含み得る。いくつかの実施形態では、L R R C 3 3タンパク質は、哺乳動物L R R C 3 3タンパク質である。いくつかの実施形態では、L R R C 3 3タンパク質は、ヒト、サル、マウス、またはラットL R R C 3 3タンパク質である。いくつかの実施形態では、L R R C 3 3タンパク質は、表4の配列番号83、84、および85に記載されているアミノ酸配列を含む。

20

30

【表3-1】

表3.例示的なLTBPアミノ酸配列

タンパク質	配列	配列番号
LTBP1S	NHTGRIKVVFTPSICKVTCTKGSCQNSCEKGNTTTLIS ENGHAAADTLTATNFRVVICHLPQCMNGQCSSRDKCQ CPPNFTGKLCQIPVHGASVPKLYQHSQQPGKALGTHV IHSTHTLPLTVTSQQGVVKVFPPNIVNIHVKHPPPEASV QIHQVSRIDGPTQKTKEAQPQGSQVSYQGLPVQKTQ TIHSTYSHQQVIPHVYPVAAKTQLGRCFQETIGSQCG KALPGLSKQEDCCGTVGTSWGFNKCQKCPKKPSYHG YNQMMECLPGYKRVNNNTFCQDINECQLQGVCPNGE CLNTMGSYRCTCKIGFGPDPTFSSCVPDPPVISEEKGP CYRLVSSGRQCMHPLSVHLTKQLCCSVGKAWGPH CEKCPLPGTAAFKIECPGGMGTVSGVHRRRIHHHV GKGPVFKPKNTQPVAKSTHPPPLPAKEEPVEALTFS REHGPGVAEPEVATAPPEKEIPSQDQEKTKEPGQPQL SPGISTIHLHPQFPVVIEKTSPVPVEVAPEASTSSASQ VIAPTVTEINECTVNPDICGAGHCINLPVRYTCICYE GYRFSEQQRKCVDIDESTQVQHLCSQGRCENTEGSFL CICPAGFMASEEGTNCIDVDECLRPDVCGEGHCVNTV GAFRCEYCDGSYRMTQRGRCEDIDECLNPSTCPDEQC VNSPGSYQCVPCTEGFRGWNQCLDVDECLEPNVCA NGDCSNLEGSYMCSCCHKGYTRTPDHKHCRDIDECQQ GNLCVNGQCKNTEGSFRCTCGQGYQLSAKDQCEDI DECQHRHLCAHGQCRNTEGSFQCVCQCDQGYRASGLG DHCEDINECLEDKSVCQRGDCINTAGSYDCTCPDGQFQ LDDNKTCDINECEHPGLCGPQGECLNTEGSFHVCQ QGFSISADGRTECIDEVNNTVCDSHGFCNTAGSF RCLCYQGFQAPQDGQGVVDNECELLSGVCGEAFCE NVEGSFLCVCADENQEYSPMTGQCRSRTSTDLDVDV DQPKEEKKECYYNLNDASLCDNVLAPNVTQECCT SGVGWGDNCIEFPCPVLGTAEFTEMCPKGKGFPAG ESSSEAGGENYKDADECLFGQEICKNGFCLNTRPGY ECYCKQGTYYDPVKLQCFDMDECQDPSSCIDGQCVN TEGSYNCFTHPMVLDASEKRCIRPAESNEQIEETDV YQDLCWEHLSDEYVCSRPLVGKQTTYTECCCLYGEA WGMQCALCPLKDSDDYAQLCNIPVTGRRQPYGRDA LVDFSEQYTPEADPYFIQDRFLNSFEELQAEECGILNG CENGRCVRVQEGBTDCFDGYHLDTAKMTCVDVNE CDELNNRMSLCKNAKCINTDGSYKCLCLPGYVPSDK PNYCTPLNTALNLEKDSLE	50 10 20 30
LTBP3	GPAGERGAGGGGALARERFKVVFAPVICKRTCLKGQ CRDSCQQGSNMTLIGENGHSTDLTGSGFRVVVCPLP CMNGGQCSSRNQCLCPDFTGRFCQVPAGGAGGGTG GSGPGLSRTGALSTGALPPLAPEGDSVASKHAIYAVQ VIADPPGPGEGPPAQHAAFLVPLGPGQISAEVQAPPPV VNVRVHHPPEASVQVHRIESSNAESAAPSQHLLPHPK PSHPRPPTQKPLGRCFQDTLPKQPCGSNPLPGLTKQED CCGSIGTAWGQSKCHKCPQLQYTGVQKPGPVRGEVG ADCPQGYKRLNSTHCQDINECAMPGVCRHGDCLNNP GSYRCVCPPGHSLGPSRTQCIADKPEEKSLCFRLVSPE	51 40

【表3-2】

HQCQHPLTTRLTRLQLCCSVGKAWGARCQRCPTDGT AAFKEICPAGKGYHILTSQHQLTIQGESDFSLFLHPDG PPKPQQLPESPSQAPPEDTEEERGVTTDPSVSEERSV QQSHIPTATTPARPYPELISRSPSPPTMRWFPLPDLPPRS AVEIAPTQVTETDECRLNQNICGHGECPGPPDYSCH CNPGYRSHPQHRYCVDVNECEAEPCGPGRGICMNTG GSYNCHCNRGYRLHVGAGGRSCVDLNEAKPHLCG DGGFCINFPGHYKCNCYPGYRLKASRPPVCEDIDEGR DPSSCPDGKCENKPGSFKCIACQPGYRSQGGGACRDV NECAEGSPCSPGWCENLPGSFRCTCAQGYAPAPDGRS CLDVDECEAGDVCNDNGICNTPGSFQCQCLSGYHLSR DRSHCEDIDECDFPAAICIGGDCINTNGSYRCLCPQGH RLVGGRKCQDIDECSQDPSLCLPHGACKNLQGSYVC VCDEGFTPTQDQHGCEEVEQPHHKKECYLNFDVT CDSVLATNVTQQECCSLGAGWGDHCEIYPCPVYSS AEFHSLCPDGKGYTQDNNIVNYGIPAHRDIDECLMFG SEICKEGKCVNTQPGYECYCKQGFYYDGNLLECVDV DECLDESNCRNGVCENTRGGYRCACTPPAEYSPAQR QCLSPEEMDVDECQDPAACRPGRCVNLPGSYRCECR PPWVPGPSGRDCQLPESPAERAPERRDVCWSQRGED GMCAGPLAGPALTFDDCCCRQGRGWGAQCRPCPPR GAGSHCPTSQSESNSFWDTSPLLGKPPRDEDSSEEDS DECRCVSGRCVPRPGGAVCECPGGFQLDASRARCVD IDECRELNQRGLLCKSERCVNTSGSFRCVCKAGFARS RPHGACVPQRRR	
--	--

【表4-1】

表4-例示的なGARPアミノ酸配列およびLRRC33アミノ酸配列

タンパク質	配列	配列番号
GARP	AQHQDKVPCMKVDKKVSCQVLGLLQVPSVLPPDTETL DLSGNQLRSILASPLGFYTALRHLDLSTNEISFLQPGAFQ ALTHLEHLSLAHNRLAMATALSAGGLGPLPRVTSDL GNSLYSGLLERLLGEAPSLHTLSAENSLTRLTRHTFRD MPALEQLDLHSNVLMDEDGAFEGLPRLTHLNLSRNSL TCISDFSLQQLRVLDLSCNSIEAFQTASQPQAEFQLTWL DLRENKLLHFPPDLAALPRLIYLNLSNNLIRLPTGPPQDS KGIAHAPSEGWSALPLSAPSGNASGRPLSQLNLDLSYNE IELIPDSFLEHLSLCFLNLSRNCLRTFEARRLGSPLCLM LLDLSHNALETLELGARALGSLRTLLQGNALRDLPPY TFANLASLQRNLQGNRVSPCGGPDEPGPSGCVAFSGIT SLRSLSLVDNEIELLRAGAFLHTPLTELDLSSNPGLEVA TGALGGLEASLEVLAQGNGLMVLQVDLPCFICLKRLN LAENRLSHLPAWTQAVSLEVLDLRNNFSLLPGSAMG GLETSLRRRLYQGNPLSCCGNGWLAAQLHQGRVDVD ATQDLICRFSSQEEVSLSHVRPEDCEKGGLKNINLIIILTF ILVSAILLTAAACCCVRRQKFNQQYKA	52 10
sGARP	AQHQDKVPCMKVDKKVSCQVLGLLQVPSVLPPDTETL DLSGNQLRSILASPLGFYTALRHLDLSTNEISFLQPGAFQ ALTHLEHLSLAHNRLAMATALSAGGLGPLPRVTSDL GNSLYSGLLERLLGEAPSLHTLSAENSLTRLTRHTFRD MPALEQLDLHSNVLMDEDGAFEGLPRLTHLNLSRNSL TCISDFSLQQLRVLDLSCNSIEAFQTASQPQAEFQLTWL DLRENKLLHFPPDLAALPRLIYLNLSNNLIRLPTGPPQDS KGIAHAPSEGWSALPLSAPSGNASGRPLSQLNLDLSYNE IELIPDSFLEHLSLCFLNLSRNCLRTFEARRLGSPLCLM LLDLSHNALETLELGARALGSLRTLLQGNALRDLPPY TFANLASLQRNLQGNRVSPCGGPDEPGPSGCVAFSGIT SLRSLSLVDNEIELLRAGAFLHTPLTELDLSSNPGLEVA TGALGGLEASLEVLAQGNGLMVLQVDLPCFICLKRLN LAENRLSHLPAWTQAVSLEVLDLRNNFSLLPGSAMG GLETSLRRRLYQGNPLSCCGNGWLAAQLHQGRVDVD ATQDLICRFSSQEEVSLSHVRPEDCEKGGLKNIN	53 20 30
LRRC33 (NRROS としても公知; Uniprot受託番号 Q86YC3)	MELLPLWLCLGFHFLTGVWRNRSGTATAASQGVCK LVGGAADCRCGQSLASVPSSLPPHARMLTLDANPLKTL WNHSLQPYPPLLESLSLHSCHLERISRGAFQEQQGHLRSLV LGDNCLENYEETAAALHALPGLRRLDLSGNALTEDM AALMLQNLSSLRVSLAGNTIMRLDDSVFEGLERLREL DLQRNYIFEIEGGAFDGLAELRHNLAFNNLPCIVDFGL TRLRVLNVSYNVLEWFLATGGEAAFELETLDLSHNQLL FFPLLPQYSKLRTLLRDNNMGFYRDLNTSSPREMVA QFLLVVDGNVTNTTVSLWEFSSSDLADLRFLDMSQNQ FQYLPDGFLRKMPSLSHLNHQNCMLTLHIREHEPPGA LTELDLSHNQLSELHLAPGLASCLGSLRLFNLSSNQLLG VPPGLFANARNITLDMSHNQISLCPLPAASDRVGP VDFRNMASLRSLSLEGCGLGALPDCPFQGTSLTYLDLS SNWGVNLNGSLAPLQDVAPMLQVLSLRNMGHLHSSFMA LDFSGFGNLRDLDLSGNCLTFPRFGGSLAETLDLRRN SLTALPQKAVSEQLSRGLRTIYLSQNPYDCCGVDGWG	83 40

【表4-2】

	ALQHGQTVADWAMVTCNLSSKIIRVTELPGGVPRDCK WERLDLGLYLVLILPSCLLVACTVIVLTFKKPLLQV IKSRCHWSSVY	
可溶性 LRRC33 (sLRRC33)	<p>* ネイティブシグナルペプチドを太字で示す。</p> <p>MDMRVPAQLLGLLLLWFSGVLGWRNRSGTATAASQ GVCKLVGGAADCRGQSLASVSSLPPHARMLTLDANP <u>LKTLWNHSLQPYPLLESLSLHSCHLERISRGAFQEKGHL</u> RSLVLGDNCLENYEETAAALHALPGLRRLDLSGNALT EDMAALMLQNLSSLRSVSLAGNTIMRLDDSVFEGLERL RELDLQRNYIFEIEGGAFDGLAELRHLNLAFNNLPCIVD FGLTRLRVLNVSYNVLEWFLATGGEAAFELETLDLSHN QLLFFPLLPQYSKLRTLLRDNNMGFYRDLYNTSSPRE MVAQFLLVDGNVTNITVSLWEFSSSDLADLRFLDMS QNQFQYLPDGFLRKMPSLSHLNHLHQNCMLTLHIREHEP PGALTELDLSHNQLSELHLAPGLASCLGSLRLFNLSNQ LLGVPPGLFANARNITTLDMSHNQISLCPLPAASDRVGP PSCVDFRNMASLRSLSLEGCGGLGALPDPCFQGTSLTYL DLSSNWGVNLNGSLAPLQDVAPMLQVLSLRNMGLHSSF MALDFSGFGNLRDLDLSGNCLTFPRFGGSLAETLDL RRNSLTALPQKAVSEQLSRLRTIYLSQNPYDCCGVDG WGALQHGQTVADWAMVTCNLSSKIIRVTELPGGVPRD CKWERLDLGL<u>HHHHHH</u></p> <p>* 改変されたヒトカッパ軽鎖シグナルペプチドを太字で示す。</p> <p>** ヒスチジンタグは下線付きである。</p>	84
ヒト LRRC33- GARP キメラ	<p>MDMRVPAQLLGLLLLWFSGVLGWRNRSGTATAASQ GVCKLVGGAADCRGQSLASVSSLPPHARMLTLDANP <u>LKTLWNHSLQPYPLLESLSLHSCHLERISRGAFQEKGHL</u> RSLVLGDNCLENYEETAAALHALPGLRRLDLSGNALT EDMAALMLQNLSSLRSVSLAGNTIMRLDDSVFEGLERL RELDLQRNYIFEIEGGAFDGLAELRHLNLAFNNLPCIVD FGLTRLRVLNVSYNVLEWFLATGGEAAFELETLDLSHN QLLFFPLLPQYSKLRTLLRDNNMGFYRDLYNTSSPRE MVAQFLLVDGNVTNITVSLWEFSSSDLADLRFLDMS QNQFQYLPDGFLRKMPSLSHLNHLHQNCMLTLHIREHEP PGALTELDLSHNQLSELHLAPGLASCLGSLRLFNLSNQ LLGVPPGLFANARNITTLDMSHNQISLCPLPAASDRVGP PSCVDFRNMASLRSLSLEGCGGLGALPDPCFQGTSLTYL DLSSNWGVNLNGSLAPLQDVAPMLQVLSLRNMGLHSSF MALDFSGFGNLRDLDLSGNCLTFPRFGGSLAETLDL RRNSLTALPQKAVSEQLSRLRTIYLSQNPYDCCGVDG WGALQHGQTVADWAMVTCNLSSKIIRVTELPGGVPRD CKWERLDLGL<u>IIILTFILVSAILTLAACCC</u><u>VRRQKFNQ</u> <u>QYKA</u></p> <p>* 改変されたヒトカッパ軽鎖シグナルペプチドを太字で示す。</p> <p>** LRRC33 外部ドメインは下線付きである。</p> <p># GARP 膜貫通ドメインをイタリック体で示す。</p> <p>## GARP 細胞内尾部は二重下線付きである。</p>	85

【0170】

いくつかの実施形態では、TGF-1がGARP-TGF-1複合体、LTBP1-T

G F 1 複合体、L T B P 3 - T G F 1 複合体、および／またはL R R C 3 3 - T G F 1 複合体に存在する場合に抗体による結合に利用可能なT G F 1 のエピトープに特異的に結合する本発明の抗体またはその抗原結合性部分、ならびに抗体をコードする本開示の核酸分子は、表 5 に示されている C D R アミノ酸配列の 1 つまたは複数を含む。

【表 5】

表 5. 抗体 Ab1 および Ab2 についての Kabat 番号付けスキームを使用して決定される重鎖(CDRH)および軽鎖(CDRL)の相補性決定領域が示されている。

抗体	Ab1	Ab2
CDRH1 (配列番号 1-2)	SYGMH (配列番号 1)	SDWIG (配列番号 2)
CDRH2 (配列番号 3-4)	VISYDGSNKYYADSVKG (配列番号 3)	VIYPGDSDFTRYSASFQG (配列番号 4)
CDRH3 (配列番号 5-6)	DIRPYGDYSAAFDI (配列番号 5)	AAGIAAAGHVTAFDI (配列番号 6)
CDRL1 (配列番号 7-8)	TGSSGSIASNYVQ (配列番号 7)	KSSQSVLYSSNNKNYLA (配列番号 8)
CDRL2 (配列番号 9-10)	EDNQRPS (配列番号 9)	WASTRES (配列番号 10)
CDRL3 (配列番号 11-12)	QSYDSSNHGGV (配列番号 11)	QQYYSTPVT (配列番号 12)

10

20

30

40

【0171】

いくつかの実施形態では、G A R P - T G F 1 複合体、L T B P 1 - T G F 1 複合体、L T B P 3 - T G F 1 複合体、および／またはL R R C 3 3 - T G F 1 複合体に特異的に結合する本発明の抗体は、表 5 に示されている抗体の任意の 1 つに関して提供されている C D R H 1、C D R H 2、C D R H 3、C D R L 1、C D R L 2、または C D R L 3、またはこれらの組み合わせを含む任意の抗体またはその抗原結合性部分を含む。いくつかの実施形態では、G A R P - T G F 1 複合体、L T B P 1 - T G F 1 複合体、L T B P 3 - T G F 1 複合体、および／またはL R R C 3 3 - T G F 1 複合体に特異的に結合する抗体は、表 5 に示されている抗体の任意の 1 つの C D R H 1、C D R H 2、C D R H 3、C D R L 1、C D R L 2、および C D R L 3 を含む。本発明は、表 5 に示されている抗体のいずれか 1 つに関して提供されている C D R H 1、C D R H 2、C D R H 3、C D R L 1、C D R L 2、または C D R L 3 を含む分子をコードする任意の核酸配列も提供する。抗体重鎖および軽鎖 C D R 3 ドメインは、抗体の抗原に対する結合特異性／親和性において特に重要な役割を果たし得る。したがって、本開示の G A R P - T G F 1 複合体、L T B P 1 - T G F 1 複合体、L T B P 3 - T G F 1 複合体、および／もしくはL R R C 3 3 - T G F 1 複合体に特異的に結合する抗体、またはこれらの抗体もしくはその抗原結合性部分をコードする核酸分子は、表 5 に示されている抗体の少なくとも重鎖および／または軽鎖 C D R 3 を含み得る。

【0172】

本発明の態様は、G A R P - T G F 1 複合体、L T B P 1 - T G F 1 複合体、L T B P 3 - T G F 1 複合体、および／またはL R R C 3 3 - T G F 1 複合体に特異的に結合し、また、6 つの相補性決定領域 (C D R) : C D R H 1、C D R H 2、C D R H 3、C D R L 1、C D R L 2、および C D R L 3 を含む、モノクローナル抗体またはその抗原結合性部分に関する。

【0173】

いくつかの実施形態では、C D R H 1 は、配列番号 1 および 2 のいずれか 1 つに記載されている配列を含む。いくつかの実施形態では、C D R H 2 は、配列番号 3 および 4 のい

50

ずれか 1 つに記載されている配列を含む。いくつかの実施形態では、CDRH3 は、配列番号 5 および 6 のいずれか 1 つに記載されている配列を含む。CDRL1 は、配列番号 7 および 8 のいずれか 1 つに記載されている配列を含む。いくつかの実施形態では、CDRL2 は、配列番号 9 および 10 のいずれか 1 つに記載されている配列を含む。いくつかの実施形態では、CDRL3 は、配列番号 11 および 12 のいずれか 1 つに記載されている配列を含む。

【0174】

いくつかの実施形態では（例えば、表 5 に示されている抗体 Ab1 に関しては）、GARP-TGF-1 複合体、LTPB1-TGF-1 複合体、LTPB3-TGF-1 複合体、および／または LRR33-TGF-1 複合体に特異的に結合する抗体またはその抗原結合性部分は、配列番号 1 に記載されているアミノ酸配列を含む CDRH1、配列番号 3 に記載されているアミノ酸配列を含む CDRH2、配列番号 5 に記載されているアミノ酸配列を含む CDRH3、配列番号 7 に記載されているアミノ酸配列を含む CDRL1、配列番号 9 に記載されているアミノ酸配列を含む CDRL2、および配列番号 11 に記載されているアミノ酸配列を含む CDRL3 を含む。

10

【0175】

いくつかの実施形態では、抗体またはその抗原結合性部分は、配列番号 5 のアミノ酸配列を有する相補性決定領域 3 (CDR3) を含む重鎖可変領域および配列番号 11 のアミノ酸配列を有する CDR3 を含む軽鎖可変領域を含む。いくつかの実施形態では、抗体またはその抗原結合性部分は、配列番号 3 のアミノ酸配列を有する相補性決定領域 2 (CDR2) を含む重鎖可変領域および配列番号 9 のアミノ酸配列を有する CDR2 を含む軽鎖可変領域を含む。いくつかの実施形態では、抗体またはその抗原結合性部分は、配列番号 1 のアミノ酸配列を有する相補性決定領域 1 (CDR1) を含む重鎖可変領域および配列番号 7 のアミノ酸配列を有する CDR1 を含む軽鎖可変領域を含む。

20

【0176】

いくつかの実施形態では、抗体またはその抗原結合性部分は、配列番号 13 に記載されているアミノ酸配列と少なくとも 70%、75%、80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、または 99% の同一性を有するアミノ酸配列を含む重鎖可変ドメインおよび配列番号 14 に記載されているアミノ酸配列と少なくとも 70%、75%、80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、または 99% の同一性を有するアミノ酸配列を含む軽鎖可変ドメインを含む。いくつかの実施形態では、抗体またはその抗原結合性部分は、配列番号 13 に記載されているアミノ酸配列を含む重鎖可変ドメインおよび配列番号 14 に記載されているアミノ酸配列を含む軽鎖可変ドメインを含む。

30

【0177】

いくつかの実施形態では、GARP-TGF-1 複合体、LTPB1-TGF-1 複合体、LTPB3-TGF-1 複合体、および／または LRR33-TGF-1 複合体に特異的に結合する抗体またはその抗原結合性部分は、配列番号 91 に記載されている核酸配列に対して少なくとも 70%、75%、80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、または 99% の同一性を有する核酸配列によりコードされる重鎖可変ドメインアミノ酸配列、および配列番号 92 に記載されている核酸配列に対して少なくとも 70%、75%、80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、または 99% の同一性を有する核酸配列によりコードされる軽鎖可変ドメインアミノ酸配列を含む。いくつかの実施形態では、抗体またはその抗原結合性部分は、配列番号 91 に記載されている核酸配列によりコードされる重鎖可変ドメインアミノ酸配列、および配列番号 92 に記載されている核酸配列によりコードされる軽鎖可変ドメインアミノ酸配列を含む。

40

【0178】

いくつかの実施形態では（例えば、表 5 に示されている抗体 Ab2 に関しては）、GARP-TGF-1 複合体、LTPB1-TGF-1 複合体、LTPB3-TGF-1 複合体、および／または LRR33-TGF-1 複合体に特異的に結合する抗体またはその抗原結合性部分は、配列番号 2 に記載されているアミノ酸配列を含む CDRH1、配列番

50

号3に記載されているアミノ酸配列を含むCDRH2、配列番号6に記載されているアミノ酸配列を含むCDRH3、配列番号8に記載されているアミノ酸配列を含むCDRL1、配列番号10に記載されているアミノ酸配列を含むCDRL2、および配列番号12に記載されているアミノ酸配列を含むCDRL3を含む。

【0179】

いくつかの実施形態では、抗体またはその抗原結合性部分は、配列番号6のアミノ酸配列を有するCDR3を含む重鎖可変領域および配列番号12のアミノ酸配列を有するCDR3を含む軽鎖可変領域を含む。いくつかの実施形態では、抗体またはその抗原結合性部分は、配列番号4のアミノ酸配列を有するCDR2を含む重鎖可変領域および配列番号10のアミノ酸配列を有するCDR2を含む軽鎖可変領域を含む。いくつかの実施形態では、抗体またはその抗原結合性部分は、配列番号2のアミノ酸配列を有するCDR1を含む重鎖可変領域および配列番号8のアミノ酸配列を有するCDR1を含む軽鎖可変領域を含む。

10

【0180】

いくつかの実施形態では、抗体またはその抗原結合性部分は、配列番号15に記載されているアミノ酸配列と少なくとも70%、75%、80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、または99%の同一性を有するアミノ酸配列を含む重鎖可変ドメインおよび配列番号16に記載されているアミノ酸配列と少なくとも70%、75%、80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、または99%の同一性を有するアミノ酸配列を含む軽鎖可変ドメインを含む。いくつかの実施形態では、抗体またはその抗原結合性部分は、配列番号15に記載されているアミノ酸配列を含む重鎖可変ドメインおよび配列番号16に記載されているアミノ酸配列を含む軽鎖可変ドメインを含む。

20

【0181】

いくつかの実施形態では、GARP-TGF1複合体、LTBP1-TGF1複合体、LTBP3-TGF1複合体、および/またはLRRCC33-TGF1複合体に特異的に結合する抗体またはその抗原結合性部分は、配列番号93に記載されている核酸配列に対して少なくとも70%、75%、80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、または99%の同一性を有する核酸配列によりコードされる重鎖可変ドメインアミノ酸配列、および配列番号94に記載されている核酸配列に対して少なくとも70%、75%、80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、または99%の同一性を有する核酸配列によりコードされる軽鎖可変ドメインアミノ酸配列を含む。いくつかの実施形態では、抗体またはその抗原結合性部分は、配列番号93に記載されている核酸配列によりコードされる重鎖可変ドメインアミノ酸配列、および配列番号94に記載されている核酸配列によりコードされる軽鎖可変ドメインアミノ酸配列を含む。

30

【0182】

いくつかの実施例では、GARP-TGF1複合体、LTBP1-TGF1複合体、LTBP3-TGF1複合体、および/またはLRRCC33-TGF1複合体に特異的に結合する本開示の抗体はいずれも、CDRH1、CDRH2、CDRH3、CDRL1、CDRL2、および/またはCDRL3と実質的に同様の1つまたは複数のCDR(例えば、CDRHまたはCDRL)配列を有する任意の抗体(その抗原結合性部分を含む)を含む。例えば、抗体は、配列番号1~12のいずれか1つの対応するCDR領域と比較して最大5つ、4つ、3つ、2つ、または1つのアミノ酸残基の変動を含有する、表5に示されている1つまたは複数のCDR配列(配列番号1~12)を含み得る。表5に列挙されている抗体(例えば、Ab1およびAb2)の重鎖可変領域および軽鎖可変領域の完全なアミノ酸配列、ならびに抗体の重鎖可変領域および軽鎖可変領域をコードする核酸配列を以下に提示する。

40

【化2】

Ab1 - 重鎖可変領域アミノ酸配列

EVQLVESGGGLVQPGRLRLSCAASGFTFSSYGMHWVRQAPGKGLEWVAVISYDGS
 NKYYADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARDIRPYGDYSAAFDI
 WGQGTLVTVSS (配列番号 13)

Ab1 - 重鎖可変領域核酸配列

GAGGTGCAACTCGTGGAGTCAGGCGGTGGACTTGTTCAGCCTGGCGAAGTCTG
 AGACTCTCATGTGCAGCAAGTGGATTCACTTCTCCAGTTACGGCATGCACGTGGG
 TGAGACAGGCGCCTGGAAAGGGTTGGAATGGGTCGCTGTGATCTCTTACGACG
 GGTCAAACAAATATTACGCGGATTCACTGAAAGGGCGGTTCACTATTCACGGG
 ATAACCTCCAAGAACACCCCTGTATCTGCAGATGAATAGCCTGAGGGCAGAGGACA
 CCGCTGTGTACTATTGTGCCCGGGACATAAGGCCTTACGGCGATTACAGCGCCGC
 ATTTGATATTGGGGACAAGGCACCCCTGTGACAGTATCTTCT (配列番号 91)

10

20

Ab1 - 軽鎖可変領域アミノ酸配列

NFMLTQPHSVSESPGKTVTISCTGSSGSIASNYVQWYQQRPGSAPSIVIFEDNQRPSGA
 PDRFSGSIDSSNSASLTISGLKTEDEADYYCQSYDSSNHGGVFGGGTQLTVAL (配列番号 14)

Ab1 - 軽鎖可変領域核酸配列

AATTTATGCTTACCCAACCACATAGTGTGAGTGAGTCTCCGGCAAGACTGTAA
 CAATTTCATGTACCGGCAGCAGTGGCTCCATCGCTAGCAATTATGTCAATGGTA
 CCAACAGCGCCCCGGAGCGCACCTCAATAGTGAATTAGCTGAGGATAACCAACG
 GCCTAGTGGGCTCCGATAGATTAGTGGAGTATAGATAGCTCCTCCAATCT
 GCCTCTCTACCATTAGCGGGCTGAAAACAGAGGATGAAGCCGACTATTACTGCC

30

【化3】

AAAGCTATGATTCTAGCAACCACGGCGGAGTGTGCGGAGGAACACAGCTGA
CAGTCCTAGG (配列番号 92)

Ab1 - 重鎖アミノ酸配列

EVQLVESGGGLVQPGRSLRLSCAASGFTFSSYGMHWVRQAPGKGLEWVAVISYDGS
NKYYADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARDIRPYGDYSAAFDI
WGQGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGAL
TSGVHTFPAPVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTKYTCNVVDHKPSNTKVDKRVESKYG
PPCPPCPAPEFLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSQEDPEVQFNWYVDG
VEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTISK
AKGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTP
PVLDSDGSFFLYSRLTVDKSRWQEGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSG (

配列番号 15)

10

20

Ab1 - 軽鎖アミノ酸配列

NFMLTQPHSVSESPGKTVTISCTGSSGSIASNYVQWYQQRPGSAPSIVIFEDNQRPSGA
PDRFSGSIDSSNSASLTISGLKTEDEADYYCQSYDSSNHGGVFGGGTQLTVLGQPKA
APSVTLFPPSSEELQANKATLVCLISDFYPGAVTVAWKADSSPVKAGVETTPSKQSN
NKYAASSYLSLTPEQWKSHRSYSCQVTHEGSTVEKTVAPTECS (配列番号 16)

30

Ab2 - 重鎖可変領域アミノ酸配列

EVQLVQSGAEMKKPGESLKISCKGSGYNFASDWIGWVRQTPGKGLEWMGVIYPGDS
DTRYASFQGQVTISADKSINTAYLQWSSLKASDTAMYYCASAAGIAAGHVTAFDI
WGQGTMVTVSS (配列番号 17)

Ab2 - 重鎖可変領域核酸配列

GAGGTGCAACTGGTGCAATCCGGAGCCGAGATGAAAAAGCCAGGGGAGAGCCT
GAAGATCTTGTAAAGGGCTCTGGCTATAACTTCGCTAGTGATTGGATCGGATGG
GTGAGGCAAACCCCCGAAAGGGCCTCGAGTGGATGGCGTGATCTACCCCGGC
GACTCCGACACACCGCTATAGCCCTCATTCAGGGCCAGGTACCCATAAGTGTG
ATAATCAATAATACAGCCTACTTGCAATGGTCAAGTCTGAAAGCCTCAGATAC
TGCCATGTACTATTGTGCCCTGCGCCGGCATTGCCGCGCCGGTCACGTCACC
GCCTCGACATTGGGGTCAGGGCACTATGGTCACTGTAAGCTCC (配列番号 18)

40

93)

【化4】

Ab2 - 軽鎖可変領域アミノ酸配列

DIVMTQSPDSLAVSLGERATINCKSSQSVLYSSNNKNYLAWYQQKPGQPPKLLIYWA
STRESGVPDFSGSGSGTDFLTISLQAEDVAVYYCQQYYSTPVTFGQGTKEIK

(配列番号 18)

Ab2 - 軽鎖可変領域核酸配列

GACATAGTCATGACCCAGTCACCTGACTCTTGCCGTGTCTGGGGAGAGAG
CCACAATAAATTGCAAGTCATCACAGAGCGTCCTGTACTCCTCCAATAATAAAAAA
TTACCTGGCCTGGTACCAGCAAAAGCCCGGGCAACCCCCCAAATTGTTGATTAC
TGGGCTAGTACAAGGAATCTGGAGTGCCAGACCGGTTTCTGGTTCTGGATCTG
GTACTGACTTCACCCTGACAATCAGCTCCCTGCAGGCCAAGACGTGGCTGTGA
CTATTGTCAGCAGTACTATAGTACACCAGTTACTTCGGCCAAGGCACTAAACTC
GAAATCAAG (配列番号 94)

10

20

Ab2 - 重鎖アミノ酸配列

EVQLVQSGAEMKKPGESLKISCKGSGYNFASDWIGWVRQTPGKGLEWMGVIYPGDS
DTRYASFQGQVTISADKSINTAYLQWSSLKASDTAMYYCASAAGIAAAGHVTAFDI
WGQGTMVTVSSASTKGPSVPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGAL
TSGVHTFPALQSSGLYSLSSVTVPSLGTKYTCNVDHKPSNTKVDKRVESKYG
PPCPPCPAPEFLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSQEDPEVQFNWYVDG
VEVHNAKTKPREEQFNSTYRVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTISK
AKGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTP
PVLDSDGSFFLYSRLTVDKSRWQEGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSLG (配列番号

30

19)

Ab2 - 軽鎖アミノ酸配列

DIVMTQSPDSLAVSLGERATINCKSSQSVLYSSNNKNYLAWYQQKPGQPPKLLIYWA
STRESGVPDFSGSGSGTDFLTISLQAEDVAVYYCQQYYSTPVTFGQGTKEIKRT
VAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQ
DSKDSTYSLSSTTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFRGEC (配列番号

40

20)

【0183】

いくつかの実施形態では、G A R P - T G F 1 複合体、L T B P 1 - T G F 1 複合体、L T B P 3 - T G F 1 複合体、およびL R R C 3 3 - T G F 1 複合体に特異的に結合する本開示の抗体は、配列番号13もしくは17の重鎖可変ドメインまたは配列番号14もしくは18の軽鎖可変ドメインを含む任意の抗体を含む。いくつかの実施形態では

50

、 G A R P - T G F 1 複合体、 L T B P 1 - T G F 1 複合体、 L T B P 3 - T G F 1 複合体、 および L R R C 3 3 - T G F 1 複合体に特異的に結合する本開示の抗体は、 配列番号 1 3 および 1 4 ； ならびに 1 7 および 1 8 の重鎖可変と軽鎖可変の対を含む任意の抗体を含む。

【 0 1 8 4 】

本開示の態様は、 本明細書に記載のもののいずれかと相同な重鎖可変および / または軽鎖可変アミノ酸配列を有する、 G A R P - T G F 1 複合体、 L T B P 1 - T G F 1 複合体、 L T B P 3 - T G F 1 複合体、 および L R R C 3 3 - T G F 1 複合体に特異的に結合する抗体を提供する。 いくつかの実施形態では、 G A R P - T G F 1 複合体、 L T B P 1 - T G F 1 複合体、 L T B P 3 - T G F 1 複合体、 および L R R C 3 3 - T G F 1 複合体に特異的に結合する抗体は、 配列番号 1 3 もしくは 1 7 の重鎖可変アミノ酸配列、 または配列番号 1 4 もしくは 1 8 の軽鎖可変配列と少なくとも 7 5 % (例えば、 8 0 % 、 8 1 % 、 8 2 % 、 8 3 % 、 8 4 % 、 8 5 % 、 8 6 % 、 8 7 % 、 8 8 % 、 8 9 % 、 9 0 % 、 9 1 % 、 9 2 % 、 9 3 % 、 9 4 % 、 9 5 % 、 9 6 % 、 9 7 % 、 9 8 % 、 または 9 9 %) 同一である重鎖可変配列または軽鎖可変配列を含む。 いくつかの実施形態では、 相同な重鎖可変および / または軽鎖可変アミノ酸配列は、 本明細書で提供される C D R 配列のいずれの中でも変動しない。 例えば、 いくつかの実施形態では、 配列変動の程度 (例えば、 8 0 % 、 8 1 % 、 8 2 % 、 8 3 % 、 8 4 % 、 8 5 % 、 8 6 % 、 8 7 % 、 8 8 % 、 8 9 % 、 9 0 % 、 9 1 % 、 9 2 % 、 9 3 % 、 9 4 % 、 9 5 % 、 9 6 % 、 9 7 % 、 9 8 % 、 または 9 9 %) が、 本明細書で提供される C D R 配列のいずれも除く重鎖可変および / または軽鎖可変アミノ酸配列内に存在し得る。

【 0 1 8 5 】

いくつかの実施形態では、 G A R P - T G F 1 複合体、 L T B P 1 - T G F 1 複合体、 L T B P 3 - T G F 1 複合体、 および / または L R R C 3 3 - T G F 1 複合体に特異的に結合する本開示の抗体は、 配列番号 1 5 もしくは 1 9 の重鎖または配列番号 1 6 もしくは 2 0 の軽鎖を含む任意の抗体またはその抗原結合性部分を含む。 いくつかの実施形態では、 G A R P - T G F 1 複合体、 L T B P 1 - T G F 1 複合体、 L T B P 3 - T G F 1 複合体、 および / または L R R C 3 3 - T G F 1 複合体に特異的に結合する本開示の抗体は、 配列番号 1 5 と 1 6 ； または 1 9 と 2 0 の重鎖と軽鎖の対を含む任意の抗体を含む。

【 0 1 8 6 】

本開示の態様は、 本明細書に記載のもののいずれかと相同な重鎖および / または軽鎖アミノ酸配列を有する、 G A R P - T G F 1 複合体、 L T B P 1 - T G F 1 複合体、 L T B P 3 - T G F 1 複合体、 および / または L R R C 3 3 - T G F 1 複合体に特異的に結合する抗体を提供する。 いくつかの実施形態では、 G A R P - T G F 1 複合体、 L T B P 1 - T G F 1 複合体、 L T B P 3 - T G F 1 複合体、 および / または L R R C 3 3 - T G F 1 複合体に特異的に結合する抗体は、 配列番号 1 5 もしくは 1 9 の重鎖配列または番号 1 6 もしくは 2 0 の軽鎖配列アミノ酸配列と少なくとも 7 5 % (例えば、 8 0 % 、 8 1 % 、 8 2 % 、 8 3 % 、 8 4 % 、 8 5 % 、 8 6 % 、 8 7 % 、 8 8 % 、 8 9 % 、 9 0 % 、 9 1 % 、 9 2 % 、 9 3 % 、 9 4 % 、 9 5 % 、 9 6 % 、 9 7 % 、 9 8 % 、 または 9 9 %) 同一である重鎖配列または軽鎖配列を含む。 いくつかの実施形態では、 相同な重鎖および / または軽鎖アミノ酸配列は、 本明細書で提供される C D R 配列のいずれの中でも変動しない。 例えば、 いくつかの実施形態では、 配列変動の程度 (例えば、 8 0 % 、 8 1 % 、 8 2 % 、 8 3 % 、 8 4 % 、 8 5 % 、 8 6 % 、 8 7 % 、 8 8 % 、 8 9 % 、 9 0 % 、 9 1 % 、 9 2 % 、 9 3 % 、 9 4 % 、 9 5 % 、 9 6 % 、 9 7 % 、 9 8 % 、 または 9 9 %) が、 本明細書で提供される C D R 配列のいずれも除く重鎖および / または軽鎖アミノ酸配列内に存在し得る。

【 0 1 8 7 】

いくつかの実施形態では、 G A R P - T G F 1 複合体、 L T B P 1 - T G F 1 複合体、 L T B P 3 - T G F 1 複合体、 および / または L R R C 3 3 - T G F 1 複合体に

10

20

30

40

50

特異的に結合する本開示の抗体は、配列番号 15 もしくは 19 の重鎖または配列番号 16 もしくは 20 の軽鎖を含む任意の抗体またはその抗原結合性部分を含む。いくつかの実施形態では、G A R P - T G F 1 複合体、L T B P 1 - T G F 1 複合体、L T B P 3 - T G F 1 複合体、および / または L R R C 33 - T G F 1 複合体に特異的に結合する本開示の抗体は、配列番号 15 と 16 ; または 19 と 20 の重鎖と軽鎖の対を含む任意の抗体を含む。

【 0188 】

本開示の態様は、本明細書に記載のもののいずれかと相同な重鎖および / または軽鎖アミノ酸配列を有する、G A R P - T G F 1 複合体、L T B P 1 - T G F 1 複合体、L T B P 3 - T G F 1 複合体、および / または L R R C 33 - T G F 1 複合体に特異的に結合する抗体を提供する。いくつかの実施形態では、G A R P - T G F 1 複合体、L T B P 1 - T G F 1 複合体、L T B P 3 - T G F 1 複合体、および / または L R R C 33 - T G F 1 複合体に特異的に結合する抗体は、配列番号 15 もしくは 19 の重鎖配列または配列番号 16 もしくは 20 の軽鎖アミノ酸配列と少なくとも 75 % (例えは、80 %、81 %、82 %、83 %、84 %、85 %、86 %、87 %、88 %、89 %、90 %、91 %、92 %、93 %、94 %、95 %、96 %、97 %、98 %、または 99 %) 同一である重鎖配列または軽鎖配列を含む。いくつかの実施形態では、相同な重鎖および / または軽鎖アミノ酸配列は、本明細書で提供される C D R 配列のいずれの中でも変動しない。例えは、いくつかの実施形態では、配列変動の程度 (例えは、80 %、81 %、82 %、83 %、84 %、85 %、86 %、87 %、88 %、89 %、90 %、91 %、92 %、93 %、94 %、95 %、96 %、97 %、98 %、または 99 %) が、本明細書で提供される C D R 配列のいずれも除く重鎖および / または軽鎖アミノ酸配列内に存在し得る。

【 0189 】

いくつかの実施形態では、2 個のアミノ酸配列の「パーセント同一性」は K a r l i n および A l t s c h u l l P r o c . N a t l . A c a d . S c i . U S A 90 巻 : 5873 ~ 77 頁、1993 年のとおり改変された K a r l i n および A l t s c h u l l P r o c . N a t l . A c a d . S c i . U S A 87 巻 : 2264 ~ 68 頁、1990 年のアルゴリズムを使用して決定される。そのようなアルゴリズムは、A l t s c h u l l ら、J . M o l . B i o l . 215 巻 : 403 ~ 10 頁、1990 年の N B L A S T および X B L A S T プログラム (バージョン 2.0) に組み込まれる。B L A S T タンパク質検索は、目的のタンパク質分子に相同性のアミノ酸配列を得るために X B L A S T プログラム、スコア = 50 、ワード長 = 3 で実行され得る。2 個の配列間にギャップが存在する場合、ギャップ B L A S T が A l t s c h u l l ら、N u c l e i c A c i d s R e s . 25 巻 (17 号) : 3389 ~ 3402 頁、1997 年に記載のとおり利用され得る。B L A S T およびギャップ B L A S T プログラムを利用する場合、それぞれのプログラム (例えは X B L A S T および N B L A S T) のデフォルトパラメータが使用され得る。

【 0190 】

本明細書に記載の抗体または抗原結合性断片のいずれにおいても、C D R またはフレームワーク配列に、抗体 - 抗原相互作用に関与する可能性が低い残基の位置に 1 つまたは複数の保存的変異を導入することができる。いくつかの実施形態では、C D R またはフレームワーク配列に、結晶構造に基づいて決定される、G A R P - T G F 1 複合体、L T B P 1 - T G F 1 複合体、L T B P 3 - T G F 1 複合体、および L R R C 33 - T G F

1 複合体との相互作用に関与する可能性が低い残基の位置 (複数可) にそのような保存的変異 (複数可) を導入することができる。いくつかの実施形態では、構造的な類似性を共有する別の抗原に関する公知の構造的な情報から、可能性の高い界面 (例えは、抗原 - 抗体相互作用に関与する残基) を推定することができる。

【 0191 】

本明細書において使用される場合、「保存的アミノ酸置換」は、アミノ酸置換が行われ

10

20

30

40

50

るタンパク質の相対電荷またはサイズの特徴を変更しないアミノ酸置換を指す。改変体は、そのような方法をまとめている参考文献、例えば Molecular Cloning : A Laboratory Manual、J. Sambrookら編、第2版、Cold Spring Harbor Laboratory Press、Cold Spring Harbor、New York、1989年またはCurrent Protocols in Molecular Biology、F. M. Ausubelら編、John Wiley & Sons, Inc.、New Yorkにおいて見出されるような当業者に公知のポリペプチド配列を変更するための方法に従って調製されてよい。アミノ酸の保存的置換は、次の群：(a) M、I、L、V；(b) F、Y、W；(c) K、R、H；(d) A、G；(e) S、T；(f) Q、N；および(g) E、D内のアミノ酸の間で行われる置換を含む。
10

【0192】

いくつかの実施形態では本明細書で提供される抗体は、抗体に望ましい特性を付与する変異を含む。例えば、天然 IgG4 mAb で生じることが公知である Fab アーム交換による起こり得る困難な状況を回避するために、本明細書で提供される抗体は、セリン 228 (EU番号付け、Kabat 番号付け残基 241) がプロリンに変換されて IgG1 様 (CPPCP (配列番号 54)) ヒンジ配列が生じる安定化「Adair」変異を含む場合がある (Angalら、「A single amino acid substitution abolishes the heterogeneity of chimeric mouse/human (IgG4) antibody」Mol Immunol 30巻、105~108頁；1993年)。したがって、抗体のいずれかは、安定化「Adair」変異またはアミノ酸配列 CPPCP (配列番号 54) を含んでよい。
20

【0193】

GARP-TGF 1 複合体、LTBP1-TGF 1 複合体、LTBP3-TGF 1 複合体、および / または LRRCS3-TGF 1 複合体に特異的に結合する本開示の抗体は、任意選択で抗体定常領域またはその一部を含んでよい。例えば V_L ドメインは、その C 末端で C または C などの軽鎖定常ドメインに付着され得る。同様に V_H ドメインまたはその一部は、IgA、IgD、IgE、IgG および IgM ならびに任意のアイソタイプサブクラスのような重鎖の全体または一部に付着され得る。抗体は、好適な定常領域を含み得る (例えば Kabat ら、Sequences of Proteins of Immunological Interest、第 91~3242 号、National Institutes of Health Publications、Bethesda, Md. (1991 年) を参照されたい)。したがって、この範囲内の抗体は、任意の好適な定常領域と組み合わされた V_H および V_L ドメイン、またはその抗原結合性部分を含み得る。
30

【0194】

いくつかの実施形態では、GARP-TGF 1 複合体、LTBP1-TGF 1 複合体、LTBP3-TGF 1 複合体、および / または LRRCS3-TGF 1 複合体に特異的に結合する抗体は、配列番号 13~20 の抗体のフレームワーク領域を含んでもよく含まなくてもよい。いくつかの実施形態では、GARP-TGF 1 複合体、LTBP1-TGF 1 複合体、LTBP3-TGF 1 複合体、および / または LRRCS3-TGF 1 複合体に特異的に結合する抗体は、マウス抗体であり、マウスフレームワーク領域配列を含む。
40

【0195】

いくつかの実施形態では、GARP-TGF 1 複合体、LTBP1-TGF 1 複合体、LTBP3-TGF 1 複合体、および / または LRRCS3-TGF 1 複合体に特異的に結合する本開示の抗体は、GARP-TGF 1 複合体、LTBP1-TGF 1 複合体、LTBP3-TGF 1 複合体、および / または LRRCS3-TGF 1 複合体に比較的高い親和性、例えば、 10^{-6} M、 10^{-7} M、 10^{-8} M、 10^{-9} M、
50

10⁻¹⁰ M、10⁻¹¹ Mまたはそれ未満のK_Dで結合し得る。例えば、GARP-TGF 1複合体、LTBP1-TGF 1複合体、LTBP3-TGF 1複合体、および/またはLRRC33-TGF 1複合体に特異的に結合する抗体は、GARP-TGF 1複合体、LTBP1-TGF 1複合体、LTBP3-TGF 1複合体、および/またはLRRC33-TGF 1複合体に、5 pMから500 nMの間、例えば、50 pMから100 nMの間、例えば、500 pMから50 nMの間の親和性で結合し得る。本開示は、GARP-TGF 1複合体、LTBP1-TGF 1複合体、LTBP3-TGF 1複合体、および/またはLRRC33-TGF 1複合体への結合について本明細書に記載の抗体のいずれかと競合し、50 nMまたはそれ未満（例えば、20 nMまたはそれ未満、10 nMまたはそれ未満、500 pMまたはそれ未満、50 pMまたはそれ未満、または5 pMまたはそれ未満）の親和性を有する抗体または抗原結合性断片も含む。GARP-TGF 1複合体、LTBP1-TGF 1複合体、LTBP3-TGF 1複合体、および/またはLRRC33-TGF 1複合体に特異的に結合する抗体の親和性および結合動態は、これらに限定されないが、バイオセンサー技術（例えば、OC-TE-TまたはBIACORE）を含めた任意の好適な方法を使用して試験され得る。

10

【0196】

TGF を阻害する抗体

本発明は、一態様では、機能性抗体を提供する。本明細書で使用される場合、「機能性抗体」とは、その抗原に結合する能力によって1つまたは複数の生物学的活性を付与するものである。機能性抗体は、阻害抗体（または阻害性抗体）および活性化抗体を含み得る。したがって、本開示は、TGF シグナル伝達によって媒介される生物学的プロセスを調節する（例えば、阻害するかまたは活性化する）ことができるTGF 抗体を含む。

20

【0197】

本明細書で使用される場合、「阻害抗体」という用語は、成熟増殖因子の放出を阻害するかまたは増殖因子活性を低減する抗体を指す。阻害抗体は、そのような抗体と会合すると増殖因子の放出または活性を低減する任意のエピトープを標的化する抗体を含む。そのようなエピトープは、抗体が結合すると増殖因子活性の低減を導く、TGF タンパク質（例えば、TGF 1）、増殖因子または他のエピトープのプロドメイン上に存在し得る。本発明の阻害抗体は、これらに限定されないが、TGF 1-阻害抗体を含む。

30

【0198】

本開示の複数の実施形態は、溶液、細胞培養物および/または被験体において、増殖因子シグナル伝達を改変するための、阻害抗体の使用方法を含む。

【0199】

ポリペプチド

本開示のいくつかの態様は、配列番号13、配列番号17、配列番号15、および配列番号19からなる群より選択される配列を有するポリペプチドに関する。いくつかの実施形態では、ポリペプチドは、可変重鎖ドメインまたは重鎖ドメインである。いくつかの実施形態では、ポリペプチドは、配列番号13、配列番号17、配列番号15、および配列番号19に記載されているアミノ酸配列のいずれか1つと少なくとも75%（例えば、80%、81%、82%、83%、84%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、または99%）同一である。

40

【0200】

本開示のいくつかの態様は、配列番号14、配列番号18、配列番号16、および配列番号20からなる群より選択される配列を有するポリペプチドに関する。いくつかの実施形態では、ポリペプチドは、可変軽鎖ドメインまたは軽鎖ドメインである。いくつかの実施形態では、ポリペプチドは、配列番号14、配列番号18、配列番号16、および配列番号20に記載されているアミノ酸配列のいずれか1つと少なくとも75%（例えば、80%、81%、82%、83%、84%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、または99%）同一である。

50

%) 同一である。

【0201】

G A R P - T G F 1 複合体、L T B P 1 - T G F 1 複合体、L T B P 3 - T G F 1 複合体、および / または L R R C 3 3 - T G F 1 複合体に特異的に結合する抗体と競合する抗体

本開示の態様は、本明細書で提供される抗体のいずれかと競合するかまたは交差競合する抗体に関する。用語「競合する」は、抗体に関して本明細書で使用される場合、第1の抗体がエピトープ（例えば、G A R P - T G F 1 複合体、L T B P 1 - T G F 1 複合体、L T B P 3 - T G F 1 複合体、および / または L R R C 3 3 - T G F 1 複合体のエピトープ）に、第2の抗体の結合と十分に類似した様式で結合し、したがって、第1の抗体とそのエピトープの結合の結果が、第2の抗体の存在下では、第2の抗体の非存在下での第1の抗体の結合と比較して検出可能に低下することを意味する。第2の抗体のそのエピトープへの結合も同様に第1の抗体の存在下で検出可能に低下する代替案があり得るが、そうである必要はない。すなわち、第1の抗体は第2の抗体のそのエピトープへの結合を阻害するが、その第2の抗体による第1の抗体のそのそれぞれのエピトープへの結合の阻害は伴わない場合がある。しかし、各抗体が他の抗体のそのエピトープまたはリガンドとの結合を検出可能に阻害する場合、程度が同じであるかより大きいかより小さいかにかかわらず、これらの抗体は、これらのそれぞれのエピトープ（複数可）への結合について互いと「交差競合する」と言える。競合抗体および交差競合抗体のどちらも本開示の範囲内である。そのような競合または交差競合が起こる機構（例えば、立体的な障害、コンフォメーションの変化、または共通のエピトープ、またはその一部への結合）にかかわらず、そのような競合抗体および / または交差競合抗体は本明細書で提供される方法および / または組成物に包含され、有用であり得ることが当業者には理解されよう。

【0202】

本開示の態様は、本明細書で提供される特異的抗体またはその抗原結合性部分のいずれかと競合するかまたは交差競合する抗体に関する。いくつかの実施形態では、抗体またはその抗原結合性部分は、本明細書で提供される抗体のいずれかと同じエピトープまたはその付近に結合する。いくつかの実施形態では、抗体またはその抗原結合性部分は、エピトープから 15 個またはそれ未満のアミノ酸残基以内に結合する場合、エピトープ付近に結合する。いくつかの実施形態では、本明細書で提供される抗体またはその抗原結合性部分のいずれかは、本明細書で提供される抗体のいずれかが結合するエピトープから 1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14 または 15 アミノ酸残基以内に結合する。

【0203】

別の実施形態では、本明細書で提供される抗原（例えば、G A R P - T G F 1 複合体、L T B P 1 - T G F 1 複合体、L T B P 3 - T G F 1 複合体、および / または L R R C 3 3 - T G F 1 複合体）のいずれかへの結合について、 10^{-6} M 未満の抗体とタンパク質の間の平衡解離定数 K_D で競合するかまたは交差競合する抗体またはその抗原結合性部分が本明細書で提供される。他の実施形態では、本明細書で提供される抗原のいずれかへの結合について 10^{-11} M から 10^{-6} M までにわたる K_D で競合するかまたは交差競合する抗体が本明細書で提供される。いくつかの実施形態では、本明細書に記載の抗体またはその抗原結合性部分と結合について競合する抗 T G F 1 抗体またはその抗原結合性部分が本明細書で提供される。いくつかの実施形態では、本明細書に記載の抗体またはその抗原結合性部分と同じエピトープに結合する抗 T G F 1 抗体またはその抗原結合性部分が本明細書で提供される。

【0204】

本明細書で提供される抗体はいずれも任意の好適な方法を使用して特徴付けられ得る。例えば、1つの方法は、抗原が結合するエピトープを同定すること、すなわち「エピトープマッピング」である。例えば、Har low および Lane、Using Antibodies, a Laboratory Manual, Cold Spring H

10

20

30

40

50

arbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, N.Y., 1999年の第11章に記載されるように、抗体 - 抗原複合体の結晶構造の解明、競合アッセイ、遺伝子断片発現アッセイ、および合成ペプチドに基づくアッセイを含む、タンパク質上のエピトープの位置をマッピングし特徴付けるための好適な方法は多く存在する。追加的な例では、エピトープマッピングを使用して抗体が結合する配列を決定することができる。エピトープは、線形エピトープ、すなわち、アミノ酸の单一のストレッチ中に含有されるエピトープであってもよく、必ずしも单一のストレッチ（一次構造線形配列）中に含有されなくてよいアミノ酸の3次元相互作用によって形成されるコンフォメーションナルエピトープであってもよい。いくつかの実施形態では、エピトープは、TGF 1がGARP-TGF 1複合体、LTBP1-TGF 1複合体、LTBP3-TGF 1複合体、および/またはLRRC33-TGF 1複合体中にある場合にのみ本明細書に記載の抗体またはその抗原結合性部分による結合に利用可能になるTGF 1エピトープである。様々な長さのペプチド（例えば、少なくとも4~6アミノ酸長）を単離または合成し（例えば、組換えによって）、抗体を用いた結合アッセイに使用することができる。別の例では、抗体が結合するエピトープを、標的抗原配列に由来する重複するペプチドを使用し、抗体による結合を決定することによって、系統的スクリーニングにおいて決定することができる。遺伝子断片発現アッセイによると、標的抗原をコードするオープンリーディングフレームをランダムにまたは特異的な遺伝子構築によって断片化し、発現した抗原の断片の試験される抗体との反応性を決定する。遺伝子断片を、例えばPCRによって生成し、次いで、in vitroにおいて放射性アミノ酸の存在下で転写およびタンパク質への翻訳を行う。次いで、抗体の放射性標識された抗原断片への結合を免疫沈降およびゲル電気泳動によって決定する。ある特定のエピトープは、ファージ粒子の表面上にディスプレイしたランダムなペプチド配列の大きなライブラリー（ファージライブラリー）を使用することによって同定することもできる。代替的に、重複するペプチド断片の定義されたライブラリーを試験抗体との結合について単純な結合アッセイにおいて試験することができる。追加的な例では、抗原結合性ドメインの変異誘発、ドメインスワッピング実験およびアラニンスキャニング変異誘発を実施して、エピトープ結合に要求される、十分な、および/または必要な残基を同定することができる。例えば、ドメインスワッピング実験は、GARP-TGF 1複合体、LTBP1-TGF 1複合体、LTBP3-TGF 1複合体、および/またはLRRC33-TGF 1複合体の種々の断片が、TGF タンパク質ファミリーの別のメンバー（例えば、GDF11）などの密接に関連するが抗原性において別個のタンパク質に由来する配列で置き換えられた（スワッピングされた）標的抗原の変異体を使用して実施され得る。抗体のGARP-TGF 1複合体、LTBP1-TGF 1複合体、LTBP3-TGF 1複合体、および/またはLRRC33-TGF 1複合体の変異体への結合を評価することにより、抗体結合に対する特定の抗原断片の重要性を評価することができる。

【0205】

代替的に、同じ抗原に結合することが分かっている他の抗体を使用して競合アッセイを実施して、抗体が他の抗体と同じエピトープに結合するかどうかを決定することができる。競合アッセイは当業者には周知である。

【0206】

さらに、本明細書で提供される抗体のいずれかとGARP-TGF 1複合体、LTBP1-TGF 1複合体、LTBP3-TGF 1複合体、および/またはLRRC33-TGF 1複合体内の1つまたは複数の残基との相互作用は、常套的な技術によって決定され得る。例えば、結晶構造を決定することができ、それに応じて、GARP-TGF 1複合体、LTBP1-TGF 1複合体、LTBP3-TGF 1複合体、および/またはLRRC33-TGF 1複合体内の残基と抗体内の1つまたは複数の残基の間の距離を決定することができる。そのような距離に基づいて、GARP-TGF 1複合体、LTBP1-TGF 1複合体、LTBP3-TGF 1複合体、および/またはLRRC33-TGF 1複合体内の特定の残基が抗体内の1つまたは複数の残基と相互作用

10

20

30

40

50

するかどうかを決定することができる。さらに、競合アッセイおよび標的変異誘発アッセイなどの好適な方法を適用して、候補抗体の優先的な結合を決定することができる。

【0207】

G A R P - T G F 1 複合体、L T B P 1 - T G F 1 複合体、L T B P 3 - T G F 1 複合体、および／またはL R R C 3 3 - T G F 1 複合体に結合する抗体の產生

本開示の抗体またはその抗原結合性断片を得るために、多数の方法を使用することができる。例えば、抗体は、組換えDNA法を使用して產生され得る。モノクローナル抗体は、公知の方法に従って、ハイブリドーマの生成によっても產生され得る（例えば、KohlerおよびMilstein（1975年）Nature、256巻：495～499頁を参照されたい）。次いで、このように形成されたハイブリドーマを、酵素結合免疫吸着検定法（ELISA）および表面プラズモン共鳴（例えば、OCTETまたはBIA CORE）分析などの標準の方法を使用してスクリーニングして、指定の抗原に特異的に結合する抗体を產生する1つまたは複数のハイブリドーマを同定する。指定の抗原の任意の形態、例えば、組換え抗原、天然に存在する形態、任意の改変体またはその断片、ならびにその抗原性ペプチド（例えば、線形エピトープとしてまたはコンフォメーションナルエピトープとして足場内の本明細書に記載のエピトープのいずれか）を免疫原として使用することができる。抗体作製の1つの典型的な方法は、抗体またはその断片（例えば、scFv）を発現するタンパク質発現ライブラリー、例えば、ファージまたはリボソームディスプレイライブラリーのスクリーニングを含む。ファージディスプレイは、例えば、Ladnerら、米国特許第5,223,409号；Smith（1985年）Science、228巻：1315～1317頁；Clacksonら、（1991年）Nature、352巻：624～628頁；Marksら、（1991年）J. Mol. Biol.、222巻：581～597頁；WO92/18619；WO91/17271；WO92/20791；WO92/15679；WO93/01288；WO92/01047；WO92/09690；およびWO90/02809に記載されている。

10

20

30

30

40

【0208】

ディスプレイライブラリーの使用に加えて、指定の抗原（例えば、G A R P - T G F 1 複合体、L T B P 1 - T G F 1 複合体、L T B P 3 - T G F 1 複合体、および／またはL R R C 3 3 - T G F 1 複合体）を使用して非ヒト動物、例えば、げっ歯類、例えば、マウス、ハムスター、またはラットを免疫化することができる。一実施形態では、非ヒト動物はマウスである。

【0209】

別の実施形態ではモノクローナル抗体は、非ヒト動物から得られ、次いで好適な組換えDNA技術を使用して改変される（例えばキメラ）。キメラ抗体を作製するための種々のアプローチは記載されている。例えばMorrisonら、Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A. 81巻：6851頁、1985年、Takedaら、Nature 314巻：452頁、1985年、Cabillyら、米国特許第4,816,567号、Bossら、米国特許第4,816,397号、Tanaguchiら、欧州特許公開第EP171496号、欧州特許公開第0173494号、英国特許第GB2177096B号を参照されたい。

【0210】

追加的な抗体產生技術についてAntibodies: A Laboratory Manual、Harlowら編、Cold Spring Harbor Laboratory、1988年を参照されたい。本開示は、抗体のいずれかの特定の供給源、產生の方法または他の特別な特徴に必ずしも限定されない。

【0211】

本開示のいくつかの態様は、ポリヌクレオチドまたはベクターで形質転換された宿主細胞に関する。宿主細胞は、原核または真核細胞であってよい。宿主細胞に存在するポリヌクレオチドまたはベクターは、宿主細胞のゲノムに組み込まれていてもよく、または染色体外に維持されていてもよい。宿主細胞は、細菌性、昆虫、真菌、植物、動物またはヒト

50

細胞などの任意の原核または真核細胞であってよい。いくつかの実施形態では真菌細胞は、例えば *Saccharomyces* 属のもの、具体的には *S. cerevisiae* 種のものである。用語「原核生物」は、抗体または対応する免疫グロブリン鎖の発現のために DNA または RNA 分子で形質転換またはトランスフェクトされ得る全ての細菌を含む。原核生物の宿主は、例えば *E. coli*、*S. typhimurium*、*Serratia marcescens* および *Bacillus subtilis* などのグラム陰性およびグラム陽性細菌を含んでよい。用語「真核生物」は、酵母、高等植物、昆虫ならびに脊椎動物細胞、例えば NSO および CHO 細胞などの哺乳動物細胞を含む。組換え產生手順において用いられる宿主に応じて、ポリヌクレオチドによってコードされる抗体または免疫グロブリン鎖は、グリコシル化されてよい、またはグリコシル化されなくてよい。抗体または対応する免疫グロブリン鎖は、開始メチオニニアミノ酸残基も含んでよい。

10

【0212】

いくつかの実施形態では、ベクターが適切な宿主に組み込まれると、宿主はヌクレオチド配列の高レベル発現に好適な条件下に維持されてよく、所望により、免疫グロブリン軽鎖、重鎖、軽鎖 / 重鎖二量体もしくはインタクト抗体、抗原結合性断片または他の免疫グロブリン形態の回収および精製が続いてよい； *Beychok, Cells of Immunoglobulin Synthesis, Academic Press, N.Y.*、(1979年) を参照されたい。したがって、ポリヌクレオチドまたはベクターは、次に抗体または抗原結合性断片を產生する細胞に導入される。さらに、前述の宿主細胞を含むトランスジェニック動物、好ましくは哺乳動物は、抗体または抗体断片の大規模產生のために使用されてよい。

20

【0213】

形質転換された宿主細胞は、発酵槽で増殖され、最適な細胞増殖を達成するための任意の好適な技術を使用して培養されてよい。発現されると、全抗体、それらの二量体、個々の軽鎖および重鎖、他の免疫グロブリン形態または抗原結合性断片は、硫酸アンモニウム沈殿法、親和性カラム、カラムクロマトグラフィー、ゲル電気泳動などを含む当技術分野の標準的手順により精製されてよい； *Scopes, 'Protein Purification', Springer Verlag, N.Y. (1982年)* を参照されたい。次いで抗体または抗原結合性断片は、増殖培地、細胞溶解物または細胞膜画分から単離されてよい。例えば微生物で発現された抗体または抗原結合性断片の単離および精製は、例えば調製用クロマトグラフィー分離および、例えば抗体の定常領域に対して指向されたモノクローナルまたはポリクローナル抗体の使用を含むものなどの免疫学的分離などの任意の従来の手段によってあってよい。

30

【0214】

本開示の態様は、モノクローナル抗体の無期限に延長される供給源を提供するハイブリドーマに関する。ハイブリドーマの培養物から直接免疫グロブリンを得るための代替法として、不死化ハイブリドーマ細胞は、続く発現および / または遺伝子操作のための再編成重鎖および軽鎖遺伝子座の供給源として使用されてよい。再編成抗体遺伝子は、cDNA を產生するために適切な mRNA から逆転写されてよい。いくつかの実施形態では重鎖定常領域は、異なるアイソタイプのものと交換されるかまたは全体が除去されてよい。可変領域は、一本鎖 Fv 領域をコードするように連結されてよい。複数の Fv 領域は、1つより多い標的への結合能力を付与するために連結されてよく、またはキメラ重鎖および軽鎖組み合わせが用いられてよい。任意の適切な方法は、抗体可変領域のクローニングおよび組換え抗体の生成のために使用されてよい。

40

【0215】

いくつかの実施形態では、重鎖および / または軽鎖の可変領域をコードする適切な核酸が得られ、標準的組換え宿主細胞にトランスフェクトされ得る発現ベクターに挿入される。種々のそのような宿主細胞が使用されてよい。いくつかの実施形態では哺乳動物宿主細胞は、効率的なプロセシングおよび產生のために有利である場合がある。この目的のために有用な典型的な哺乳動物細胞株は、CHO 細胞、293 細胞または NSO 細胞を含む。

50

抗体または抗原結合性断片の產生は、改変組換え宿主を宿主細胞の増殖およびコード配列の発現に適切な培養条件下で培養することによって実行されてよい。抗体または抗原結合性断片は、培養物からそれらを単離することによって回収され得る。発現系は、生じた抗体が培地に分泌されるように、シグナルペプチドを含める形で設計されてよいが；細胞内産生物も可能である。

【0216】

本開示は、本明細書に記載の抗体の免疫グロブリン鎖の少なくとも可変領域をコードするポリヌクレオチドも含む。いくつかの実施形態ではポリヌクレオチドによってコードされる可変領域は、上に記載のハイブリドーマのいずれか1つによって產生された抗体の可変領域のVHおよび／またはVLの少なくとも1つの相補性決定領域(CDR)を含む。

10

【0217】

抗体または抗原結合性断片をコードするポリヌクレオチドは、例えばDNA、cDNA、RNAまたは合成的に產生されたDNAもしくはRNAまたはこれらのポリヌクレオチドのいずれかを単独もしくは組み合わせて含む組換え的に產生されたキメラ核酸分子であってよい。いくつかの実施形態ではポリヌクレオチドは、ベクターの一部である。そのようなベクターは、好適な宿主細胞においておよび好適な条件下でベクターの選択を可能にするマーカー遺伝子などのさらなる遺伝子を含んでよい。

【0218】

いくつかの実施形態ではポリヌクレオチドは、原核または真核細胞での発現を可能にする発現調節配列に作動可能に連結される。ポリヌクレオチドの発現は、ポリヌクレオチドの翻訳可能なmRNAへの転写を含む。真核細胞、好ましくは哺乳動物細胞での発現を確実にする制御エレメントは、当業者に周知である。それらは、転写の開始を促進する制御配列ならびに任意選択で転写の終了および転写物の安定化を促進するポリAシグナルを含んでよい。追加的制御エレメントは、転写および翻訳エンハンサー、ならびに／または天然で関連するもしくは異種性のプロモーター領域を含んでよい。原核生物の宿主細胞での発現を可能にする可能性のある制御エレメントは例えばE.coliにおけるPL、LaC、TrpまたはTacプロモーターを含み、真核宿主細胞での発現を可能にする制御エレメントの例は、酵母におけるAOX1もしくはGAL1プロモーターまたは哺乳動物および他の動物細胞におけるCMVプロモーター、SV40プロモーター、RSVプロモーター(ラウス肉腫ウイルス)、CMVエンハンサー、SV40エンハンサーもしくはグロビンイントロンである。

20

【0219】

転写の開始に関するエレメント以外のそのような制御エレメントはSV40ポリA部位またはtkポリA部位などのポリヌクレオチドの下流の転写終結シグナルも含み得る。さらに、用いられる発現系に応じて、ポリペプチドを細胞コンパートメントに向かわせるまたはそれを培地に分泌することができるリーダー配列を、ポリヌクレオチドのコード配列に加えてよく、以前に記載されている。リーダー配列(複数可)は、翻訳、開始および終止配列と適切なフェーズ(phase)でアセンブルされ、好ましくは、リーダー配列は翻訳されたタンパク質またはその部分の例えば細胞外培地への分泌を導くことができる。望ましい特徴、例えば発現される組換え産物の安定化または精製の簡略化を与えるCまたはN末端識別ペプチドを含む融合タンパク質をコードする異種性ポリヌクレオチド配列を、任意選択で使用してもよい。

30

【0220】

いくつかの実施形態では軽鎖および／または重鎖の少なくとも可変ドメインをコードするポリヌクレオチドは、両方の免疫グロブリン鎖または1つだけの可変ドメインをコードしてよい。同様にポリヌクレオチドは、同じプロモーターの調節下にあってよく、または発現のために別々に調節されてよい。さらにいくつかの態様は、抗体または抗原結合性断片の免疫グロブリン鎖の可変ドメインをコードするポリヌクレオチドを、任意選択で抗体の他の免疫グロブリン鎖の可変ドメインをコードするポリヌクレオチドとの組み合わせで含む、遺伝子工学において従来使用されるベクター、特にプラスミド、コスミド、ウイル

40

50

スおよびバクテリオファージに関する。

【0221】

いくつかの実施形態では発現調節配列は、真核宿主細胞を形質転換またはトランスフェクトできるベクター中の真核プロモーター系として提供されるが、原核生物の宿主のための調節配列も使用されてよい。レトロウイルス、ワクチニアウイルス、アデノ随伴ウイルス、ヘルペスウイルスまたはウシパピローマウイルスなどのウイルス由来の発現ベクターは、ポリヌクレオチドまたはベクターを標的化された細胞集団（例えば抗体または抗原結合性断片を発現するように細胞を操作するため）に送達するために使用されてよい。種々の適切な方法は、組換えウイルス性ベクターを構築するために使用されてよい。いくつかの実施形態ではポリヌクレオチドおよびベクターは、標的細胞への送達のためにリボソームに再構成されてよい。ポリヌクレオチド（例えば配列および発現調節配列をコードする免疫グロブリン鎖の重鎖および/または軽鎖可変ドメイン（複数可））を含有するベクターは、細胞宿主の種類に応じて変化する好適な方法によって宿主細胞に移行されてよい。

10

【0222】

修飾

本開示の抗体またはその抗原結合性部分は、G A R P - T G F 1複合体、L T B P 1 - T G F 1複合体、L T B P 3 - T G F 1複合体、および/またはL R R C 3 3 - T G F 1複合体の検出および単離のために、これらに限定されないが、酵素、補欠分子族、蛍光材料、発光材料、生物発光材料、放射性材料、ポジトロン放出金属、非放射性常磁性金属イオン、および親和性標識を含めた検出可能な標識または検出可能な部分で修飾されてよい。検出可能な物質または部分は、本開示のポリペプチドに直接または好適な技術を使用して中間体（例えばリンカー（例えば、切断可能なリンカー）など）を通じて間接のいずれかでカップリングまたはコンジュゲートされてよい。好適な酵素の非限定的例は、西洋ワサビペルオキシダーゼ、アルカリホスファターゼ、-ガラクトシダーゼ、グルコースオキシダーゼ、またはアセチルコリンエステラーゼを含み；好適な補欠分子族複合体の非限定的例は、ストレプトアビジン/ビオチンおよびアビジン/ビオチンを含み；

20

好適な蛍光材料の非限定的例は、ビオチン、ウンベリフェロン、フルオレセイン、フルオレセインイソチオシアネート、ローダミン、ジクロロトリアジニルアミンフルオレセイン、塩化ダンシル、またはフィコエリトリンを含み；発光材料の例はルミノールを含み；生物発光材料の非限定的例は、ルシフェラーゼ、ルシフェリン、およびエクオリンを含み；好適な放射性材料の例は、例えば、ヨウ素(¹³¹I)、¹²⁵I、¹²³I、¹²¹I)、炭素(¹⁴C)、硫黄(³⁵S)、トリチウム(³H)、インジウム(¹¹⁵mIn)、¹¹³mIn、¹¹²In、¹¹¹In)、およびテクネチウム(⁹⁹Tc、⁹⁹mTc)、タリウム(²⁰¹Tl)、ガリウム(⁶⁸Ga、⁶⁷Ga)、パラジウム(¹⁰³Pd)、モリブデン(⁹⁹Mo)、キセノン(¹³³Xe)、フッ素(¹⁸F)、¹⁵³Sm、¹⁵⁹Gd、¹⁴⁹Pm、¹⁴⁰La、¹⁷⁵Yb、¹⁶⁶Ho、⁹⁰Y、⁴⁷Sr、⁸⁶R、¹⁸⁸Re、¹⁴²Pr、¹⁰⁵Rh、⁹⁷Ru、⁶⁸Ge、⁵⁷Co、⁶⁵Zn、⁸⁵Sr、³²P、¹⁵³Gd、¹⁶⁹Yb、⁵¹Cr、⁵⁴Mn、⁷⁵Se、およびスズ(¹¹³Sn、¹¹⁷Sn)などの放射性金属イオン、例えばアルファ放射体または他の放射性同位元素を含む。検出可能な物質は、G A R P - T G F 1複合体、L T B P 1 - T G F 1複合体、L T B P 3 - T G F 1複合体、および/またはL R R C 3 3 - T G F 1複合体に特異的に結合する本開示の抗体に直接または、好適な技術を使用して中間体（例えばリンカーなど）を通じて間接のいずれかでカップリングまたはコンジュゲートされてよい。検出可能な物質にコンジュゲートされた本明細書で提供される抗体はいずれも、本明細書に記載のものなどの任意の好適な診断アッセイに使用され得る。

30

【0223】

さらに、本開示の抗体またはその抗原結合性部分は薬物で修飾されてよい。薬物は、本開示のポリペプチドに直接、または好適な技術を使用して中間体（例えばリンカー（例えば切断可能なリンカー）など）を通じて間接のいずれかでカップリングまたはコンジュゲ

40

50

ートされてよい。

【0224】

標的化薬剤

いくつかの実施形態では、本開示の方法は、本明細書に開示されている抗体またはその抗原結合性部分を被験体の特定の部位に標的化して、G A R P - T G F 1複合体、L T B P 1 - T G F 1複合体、L T B P 3 - T G F 1複合体、および／またはL R R C 3 3 - T G F 1複合体からの成熟T G F 放出を調節するための、1つまたは複数の標的化薬剤の使用を含む。例えば、L T B P 1 - T G F 1およびL T B P 3 - T G F 1複合体は、典型的には、細胞外マトリクスに局在している。したがって、いくつかの実施形態では、本明細書に開示されている抗体は、抗体をL T B P 1 - T G F 1およびL T B P 3 - T G F 1複合体が存在する部位に局在化させるために、細胞外マトリクス標的化薬剤とコンジュゲートされ得る。そのような実施形態では、抗体の選択的標的化により、L T B P 1 - T G F 1および／またはL T B P 3 - T G F 1複合体の選択的調節が導かれる。いくつかの実施形態では、抗体の選択的標的化により、L T B P 1 - T G F 1および／またはL T B P 3 - T G F 1複合体の選択的阻害が導かれる（例えば、線維症を処置するため）。いくつかの実施形態では、細胞外マトリクス標的化薬剤は、ヘパリン結合性薬剤、マトリクスメタロプロテイナーゼ結合性薬剤、リシリオキシダーゼ結合性ドメイン、フィブリリン結合性薬剤、ヒアルロン酸結合性薬剤、およびその他を含む。

10

【0225】

同様に、G A R P - T G F 1複合体は、典型的には、細胞、例えば活性化されたF O X P 3⁺制御性T細胞（T r e g）の表面に局在している。したがって、いくつかの実施形態では、本明細書に開示されている抗体は、抗体をG A R P - T G F 1複合体が存在する部位に局在化させるために、免疫細胞（例えば、T r e g細胞）結合性薬剤とコンジュゲートされ得る。そのような実施形態では、抗体の選択的標的化により、G A R P - T G F 1複合体の選択的調節が導かれる。いくつかの実施形態では、抗体の選択的標的化により、G A R P - T G F 1複合体の選択的阻害（例えば、例えばがんの処置における免疫調節のための、成熟T G F 1の放出の選択的阻害）が導かれる。そのような実施形態では、T r e g細胞標的化薬剤は、例えば、C C L 2 2およびC X C L 1 2タンパク質またはその断片を含んでよい。

20

【0226】

いくつかの実施形態では、G A R P - T G F 1複合体およびL T B P - T G F 1複合体に選択的に結合する第1の部分と、標的部位の構成成分、例えば、E C Mの構成成分（例えば、フィブリリン）またはT r e g細胞の構成成分（例えば、C T L A - 4）に選択的に結合する第2の部分とを有する二特異性抗体を使用することができる。

30

【0227】

医薬組成物

本発明は、さらに、ヒトおよび非ヒト被験体への投与に好適な医薬として使用される医薬組成物を提供する。G A R P - T G F 1複合体、L T B P 1 - T G F 1複合体、L T B P 3 - T G F 1複合体、および／またはL R R C 3 3 - T G F 1複合体に特異的に結合する1つまたは複数の抗体は、医薬組成物を形成するために、例えば緩衝液を含めた、薬学的に許容される担体（賦形剤）と共に製剤化または混和されてよい。そのような製剤は、T G F シグナル伝達が関与する疾患または障害の処置に使用され得る。いくつかの実施形態では、T G F シグナル伝達に関連するそのような疾患または障害は、1つまたは複数の状況を伴う、すなわち、T G F が特定の型（複数可）の提示分子と会合している。いくつかの実施形態では、そのような状況は、細胞型特異的かつ／または組織特異的に生じる。いくつかの実施形態では、例えば、そのようなT G F シグナル伝達の状況依存性作用は、一部においてG A R P、L R R C 3 3、L T B P 1および／またはL T B P 3に媒介される。

40

【0228】

いくつかの実施形態では、本発明の抗体は、2つまたはそれよりも多くの状況のT G F

50

に特異的に結合し、したがって、抗体は、GARP、LRRC33、LTBP1およびLTBP3のうちの2つまたはそれよりも多くから選択される提示分子との複合体中にあるTGFに結合する。したがって、そのような医薬組成物は、TGF関連適応症（例えば、線維症、免疫障害、および／またはがん）を緩和するために患者に投与され得る。

「許容される」とは、担体が組成物の活性成分と適合性であり（および、好ましくは、活性成分を安定化でき）、処置される被験体に有害でないことを意味する。緩衝液を含めた薬学的に許容される賦形剤（担体）の例は当業者には明らかであり、以前に記載されている。例えば、Remington: The Science and Practice of Pharmacy 第20版（2000年）、Lippincott Williams and Wilkins、K. E. Hoover編を参照されたい。一例では、本明細書に記載の医薬組成物は、GARP-TGF 1複合体、LTBP1-TGF 1複合体、LTBP3-TGF 1複合体、および／またはLRRC33-TGF 1複合体。

10 1複合体に特異的に結合する抗体を1つよりも多く含有し、ここで、これらの抗体は、GARP-TGF 1複合体、LTBP1-TGF 1複合体、LTBP3-TGF 1複合体、および／またはLRRC33-TGF 1複合体の異なるエピトープ／残基を認識する。

【0229】

本方法において使用される医薬組成物は、薬学的に許容される担体、賦形剤、または安定剤を凍結乾燥製剤または水溶液の形態で含むことができる（Remington: The Science and Practice of Pharmacy、第20版（2000年）、Lippincott Williams and Wilkins、K. E. Hoover編）。許容される担体、賦形剤または安定化剤は、使用される投薬量および濃度でレシピエントに無毒性であり、リン酸塩、クエン酸塩、または他の有機酸などの緩衝剤；アルコルビン酸およびメチオニンを含む抗酸化物質；保存剤（オクタデシルジメチルベンジルアンモニウムクロリドなど；塩化ヘキサメトニウム；塩化ベンザルコニウム、塩化ベンゼトニウム；フェノール、ブチルもしくはベンジルアルコール；メチルもしくはプロピルパラベンなどのアルキルパラベン；カテコール；レゾルシノール；シクロヘキサノール；3-ペンタノール；およびm-クレゾール）；低分子量（約10残基未満）ポリペプチド；血清アルブミン、ゼラチンもしくは免疫グロブリンなどのタンパク質；ポリビニルピロリドンなどの親水性ポリマー；グリシン、グルタミン、アスパラギン、ヒスチジン、アルギニンもしくはリシンなどのアミノ酸；单糖類、二糖類およびグルコース、マンノースもしくはデキストランを含む他の炭水化物；EDTAなどのキレート剤；スクロース、マンニトール、トレハロースもしくはソルビトールなどの糖；ナトリウムなどの塩形成対イオン；金属錯体（例えばZnタンパク質錯体）；ならびに／またはTWEEN（商標）、PLURONICS（商標）もしくはポリエチレングリコール（PEG）などの非イオン性界面活性剤を含んでよい。薬学的に許容される賦形剤はさらに本明細書に記載される。

【0230】

いくつかの実施例では、本明細書に記載の医薬組成物は、Epsteinら、Proc. Natl. Acad. Sci. USA、82巻：3688頁（1985年）；Hwangら、Proc. Natl. Acad. Sci. USA、77巻：4030頁（1980年）；ならびに米国特許第4,485,045号および同第4,544,545号に記載されているものなどの任意の好適な方法によって調製することができるGARP-TGF 1複合体、LTBP1-TGF 1複合体、LTBP3-TGF 1複合体、および／またはLRRC33-TGF 1複合体に特異的に結合する抗体を含有するリポソームを含む。循環時間が増強されたリポソームが米国特許第5,013,556号に開示されている。特に有用なリポソームは、ホスファチジルコリン、コレステロールおよびPEG誘導体化ホスファチジルエタノールアミン（PEG-PE）を含む脂質組成物での逆相蒸発法によって生成され得る。リポソームは、望ましい直径を有するリポソームを得るための規定のポアサイズのフィルターを通して押し出される。

10

20

30

40

50

【0231】

G A R P - T G F 1 複合体、L T B P 1 - T G F 1 複合体、L T B P 3 - T G F 1 複合体、および / または L R R C 3 3 - T G F 1 複合体に特異的に結合する抗体は、コロイド薬物送達系（例えばリポソーム、アルブミンミクロスフェア、マイクロエマルジョン、ナノ粒子およびナノカプセル）またはマクロエマルジョン中の、例えばコアセルベーション技術によってまたは界面重合によって調製されたマイクロカプセル、例えばそれぞれヒドロキシメチルセロースもしくはゼラチンマイクロカプセルおよびポリ - (メチルメタクリレート)マイクロカプセルにも捕捉され得る。例示的技術は、以前に記載されており、例えば Remington、The Science and Practice of Pharmacy、第20版、Mack Publishing (2000年) を参照されたい。10

【0232】

他の例では本明細書に記載の医薬組成物は、徐放性形式で製剤化されてよい。徐放性調製物の好適な例は、抗体を含有する固体疎水性ポリマーの半透性マトリクスを含み、マトリクスは成形品、例えばフィルムまたはマイクロカプセルの形態である。徐放性マトリクスの例は、ポリエステル、ハイドロゲル（例えばポリ(2-ヒドロキシエチル-メタクリレート)または、ポリ(ビニルアルコール)、ポリラクチド乳酸（米国特許第3,773,919号）、L-グルタミン酸と7エチル-L-グルタメートとの共重合体、非分解性エチレン酢酸ビニル、LUPRON DEPOT（商標）（乳酸グリコール酸共重合体および酢酸ロイプロリドから構成される注射可能なミクロスフェア）などの分解性乳酸グリコール酸共重合体、スクロースアセテートイソブチレートおよびポリ-D-(-)-3-ヒドロキシ酪酸を含む。20

【0233】

in vivo 投与のために使用される医薬組成物は、無菌でなければならない。これは、例えば無菌濾過膜を通じた濾過によって容易に達成される。治療用抗体組成物は、一般に無菌アクセスポートを有する容器、例えば皮下注射針によって貫通できるストッパーを有する静脈内用溶液バッグまたはバイアルに入れられる。20

【0234】

本明細書に記載の医薬組成物は、経口、非経口もしくは直腸投与または吸入もしくは吹送法による投与のための錠剤、丸剤、カプセル、粉末、顆粒、溶液もしくは懸濁物または座薬などの単位投与形態であってよい。30

【0235】

錠剤などの固体組成物を調製するために主要活性成分は、医薬用担体、例えばコーンデンプン、ラクトース、スクロース、ソルビトール、タルク、ステアリン酸、ステアリン酸マグネシウム、リン酸二カルシウムもしくはガムなどの従来の錠剤化成分、および本開示の化合物の均一な混合物を含有する固体予備製剤組成物を形成するための他の医薬用希釈剤、例えば水、または無毒性の薬学的に許容されるそれらの塩と混合されてよい。これらの予備製剤組成物を均一と称する場合、活性成分が組成物全体に均質に分散されており、それにより組成物が錠剤、丸剤およびカプセルなどの同等に有効な単位投与形態に容易に分割され得ることを意味する。この固体予備製剤組成物は、次いで本開示の活性成分0.1mgから約500mgを含有する上に記載の種類の単位投与形態に分割される。新規組成物の錠剤または丸剤は、長期作用の利点をもたらす投与形態を提供するためにコーティングまたは他の方法で配合されてよい。例えば錠剤または丸剤は、内剤(inner dosage)および外剤(outer dosage)構成成分を含んでよく、後者は前者を覆うエンベロープの形態にある。2個の構成成分は、胃での崩壊に抵抗するために役立ち、内部の構成成分が十二指腸へインタクトなまま通過することまたは放出を遅らせることを可能にする腸溶性層(enteric layer)によって分離されてよい。種々の材料がそのような腸溶性層またはコーティングのために使用されてよく、そのような材料はいくつかのポリマー酸ならびにポリマー酸とセラック、セチルアルコールおよび酢酸セルロースなどの材料との混合物を含む。40

10

20

30

40

50

【0236】

好適な表面活性剤は、具体的にはポリオキシエチレンソルビタン（例えばTween（商標）20、40、60、80または85）および他のソルビタン（例えばSpan（商標）20、40、60、80または85）などの非イオン性剤を含む。表面活性剤を含む組成物は、好都合には0.05から5%の表面活性剤を含み、0.1から2.5%であつてよい。必要に応じて他の成分、例えばマンニトールまたは他の薬学的に許容されるビヒクルが添加されてよいことは理解される。

【0237】

好適なエマルジョンは、Intralipid（商標）、Liposyn（商標）、Infonutrol（商標）、Lipofundin（商標）およびLipiphysan（商標）などの商業的に入手できる脂肪エマルジョンを使用して調製されてよい。活性成分は、予め混合されたエマルジョン組成物に溶解されてよく、または代替的に油（例えばダイズ油、ベニバナ油、綿実油、ゴマ油、コーン油もしくはアーモンド油）およびリン脂質（例えば卵リン脂質、ダイズリン脂質もしくはダイズレシチン）と水とを混合して形成されたエマルジョンに溶解されてもよい。他の成分、例えばグリセロールまたはグルコースが、エマルジョンの張度を調整するために加えられてよいことは理解される。好適なエマルジョンは、典型的には20%まで、例えば5から20%の油を含有する。

10

【0238】

エマルジョン組成物は、GARP-TGF 1複合体、LTBP1-TGF 1複合体、LTBP3-TGF 1複合体、および/またはLRRCS3-TGF 1複合体に特異的に結合する抗体をIntralipid（商標）とまたはその構成成分（ダイズ油、卵リン脂質、グリセロールおよび水）と混合することによって調製されるものであつてよい。

20

【0239】

吸入または吹送法のための医薬組成物は、薬学的に許容される水性もしくは有機溶媒またはそれらの混合物中の溶液および懸濁物ならびに粉末を含む。液体または固体組成物は、上に記載の好適な薬学的に許容される賦形剤を含有してよい。いくつかの実施形態では組成物は、局所または全身性効果のために経口または経鼻呼吸経路によって投与される。

【0240】

好ましくは無菌の薬学的に許容される溶媒中の組成物は、ガスの使用によって噴霧されてよい。噴霧される溶液は、噴霧デバイスから直接吸わされてよい、または噴霧デバイスはフェイスマスク、テントもしくは間欠的陽圧呼吸器に取り付けられてよい。溶液、懸濁物または粉末組成物は、好ましくは経口または経鼻で適切な様式で製剤を送達するデバイスから投与されてよい。

30

【0241】

GARP-TGF 1複合体、LTBP1-TGF 1複合体、LTBP3-TGF 1複合体、および/またはLRRCS3-TGF 1複合体に特異的に結合する抗体およびその抗原結合性部分の使用

いくつかの実施形態では、本開示の抗体、その抗原結合性部分、および組成物は、多種多様な疾患、障害および/または状態を処置するために使用され得る。一部の場合では、そのような疾患、障害および/または状態は、TGF 関連適応症であり得る。本明細書で使用される場合、「TGF 関連適応症」という用語は、TGF ファミリーメンバータンパク質の発現、活性および/または代謝に関連する任意の疾患、障害および/または状態、あるいは1つまたは複数のTGF ファミリーメンバータンパク質の活性および/またはレベルの調節が有益であり得る任意の疾患、障害および/または状態を指す。TGF 関連適応症は、これらに限定されないが、線維症、がん（これらに限定されないが、結腸がん、腎がん、乳がん、悪性黒色腫および神経膠芽腫、化学療法後の迅速な造血の促進、骨治癒、創傷治癒、認知症、骨髄線維症、腎疾患、片側尿管閉塞（UUO）、歯の脱落および/または変性、内皮増殖症候群、喘息およびアレルギー、胃腸障害、加齢貧血、大動脈瘤、希少適応症（例えば、マルファン症候群およびカムラチ・エンゲルマン病など

40

50

)、肥満症、糖尿病、関節炎、多発性硬化症、筋ジストロフィー、筋萎縮性側索硬化症(A L S)パーキンソン病、骨粗鬆症、変形性関節症、骨減少症、メタボリックシンドローム、栄養障害、臓器萎縮、慢性閉塞性肺疾患(C O P D)、ならびに食欲不振を含み得る。追加的な適応症は、それぞれの内容全体が参照により本明細書に組み込まれる米国特許出願公開第 2 0 1 3 / 0 1 2 2 0 0 7 号、米国特許第 8 , 4 1 5 , 4 5 9 号または国際特許出願公開第 W O 2 0 1 1 / 1 5 1 4 3 2 号に開示されている任意の適応症を含み得る。

【 0 2 4 2 】

線維症

いくつかの実施形態では、本開示の抗体および/または組成物は、線維症を変化させるために有用であり得る。いくつかの実施形態では、そのような抗体および/または組成物は、 T G F (例えれば、 T G F 1) のアンタゴニストである。 T G F 1 は、線維化応答の中心的な編成因子(o r c h e s t r a t o r)として認識されている。多数の前臨床モデルにおいて、 T G F 1 を標的化する抗体により、線維症が減少する。そのような抗体および/または抗体に基づく化合物は、 L Y 2 3 8 2 7 7 0 (E l i L i l l y 、 I n d i a n a p o l i s 、 I N) を含む。それぞれの内容全体が参照により本明細書に組み込まれる米国特許第 6 , 4 9 2 , 4 9 7 号、同第 7 , 1 5 1 , 1 6 9 号、同第 7 , 7 2 3 , 4 8 6 号および米国特許出願公開第 2 0 1 1 / 0 0 0 8 3 6 4 号に記載されているものも包含される。

10

【 0 2 4 3 】

本開示の抗体および/または組成物を治療的に使用することができる線維化適応症は、これらに限定されないが、肺適応症(例えれば、特発性肺線維症(I P F)、慢性閉塞性肺障害(C O P D)、アレルギー性喘息、急性肺損傷、好酸性食道炎、肺動脈高血圧症および化学的気体損傷(c h e m i c a l g a s - i n j u r y))、腎臓適応症(例えれば、糖尿病性糸球体硬化症、巣状分節糸球体硬化症(F S G S)、慢性腎疾患、腎移植および慢性拒絶反応に関連する線維症、 I g A 腎症、ならびに溶血性尿毒症症候群)、肝線維症(例えれば、非アルコール性脂肪性肝炎(N A S H)、慢性ウイルス性肝炎、寄生虫血症、先天性代謝異常、アルコール性線維症などの毒素媒介線維症、非アルコール性脂肪性肝炎 - 肝細胞癌(N A S H - H C C)、原発性胆汁性肝硬変、および硬化性胆管炎)、心血管線維症(例えれば、心筋症、肥大性心筋症、アテローム性動脈硬化症および再狭窄)、全身性硬化症、皮膚線維症(例えれば、全身性硬化症における皮膚線維症、びまん性皮膚全身性硬化症、強皮症、病理学的皮膚瘢痕、ケロイド、術後瘢痕、瘢痕修正術、放射線誘導性瘢痕および慢性創傷) およびがんまたは二次性線維症(例えば、骨髄線維症、頭頸部がん、 M 7 急性巨核芽球性白血病および粘膜炎) を含む。本開示の化合物および/または組成物を使用して処置することができる線維症に関連する他の疾患、障害または状態は、これらに限定されないが、マルファン症候群、皮膚硬化症候群(s t i f f s k i n s y n d r o m e)、強皮症、関節リウマチ、骨髄線維症、クローン病、潰瘍性大腸炎、全身性エリテマトーデス、筋ジストロフィー(例えば D M D など)、デュピュイトラン拘縮、カムラチ・エンゲルマン病、神経瘢痕(n e u r a l s c a r r i n g)、認知症、増殖性硝子体網膜症、角膜損傷、緑内障ドレナージ術後の合併症、および多発性硬化症を含む。そのような線維化適応症の多くは、免疫構成成分の関与を示す患部組織(複数可)の炎症も伴う。

20

30

40

【 0 2 4 4 】

本明細書に記載の抗体は、線維症を処置するために使用され得る。いくつかの実施形態では、 T G F 1 アイソフォーム特異的薬剤は、線維症を処置するために有効な量で被験体に投与される。そのような抗体の有効量は、被験体における治療的効能および臨床的安全性の両方を達成するために有効な量である。いくつかの実施形態では、そのような抗体は、 L T B P を含有する、 E C M と会合した T G F 1 によって媒介される T G F 1 の活性化を遮断することができる状況特異的抗体である。いくつかの実施形態では、 L T B P は、 L T B P 1 および/または L T B P 3 である。いくつかの実施形態では、抗体は、 E C M に局在する L T B P に媒介される T G F 1 および免疫細胞に局在する G A R P に

50

媒介される TGF-1 の活性化を遮断することができる状況許容的抗体である。いくつかの実施形態では、抗体は、ECM に局在する LTBP に媒介される TGF-1 および単球 / マクロファージに局在する LRRCS に媒介される TGF-1 の活性化を遮断することができる状況許容的抗体である。いくつかの実施形態では、LTBP は、LTBP1 および / または LTBP3 である。いくつかの実施形態では、線維化微小環境において線維化促進性 M2 様マクロファージ上の LRRCS によって提示される TGF-1 を標的化し、阻害することが有益であり得る。

【0245】

線維症を変化させるための本開示の抗体および / または組成物の効能の決定において有用なアッセイは、これらに限定されないが、当技術分野で公知の線維芽細胞を計数するための組織学的アッセイおよび基本的な免疫組織化学分析を含む。

10

【0246】

がん

本開示の抗体および / または組成物を用いて種々のがんを処置することができる。本明細書で使用される場合、用語「がん」は、周囲組織に浸潤し、新しい身体部位に転移する傾向がある未分化細胞の増殖を特徴とする種々の悪性新生物のいずれかを指し、また、そのような悪性新生物の増殖を特徴とする病的状態も指す。がんは、腫瘍または血液悪性疾患であり得、これらに限定されないが、全ての型のリンパ腫 / 白血病、癌腫および肉腫、例えば、肛門、膀胱、胆管、骨、脳、乳房、子宮頸部 (cervix)、結腸 / 直腸、子宮内膜、食道、眼、胆嚢、頭頸部、肝臓、腎臓、喉頭、肺、縦隔 (胸部)、口、卵巣、脾臓、陰茎、前立腺、皮膚、小腸、胃、脊髄、尾骨、精巣、甲状腺および子宮に見られるがんまたは腫瘍などを含む。

20

【0247】

がんにおいて、TGF- (例えは、TGF-1) は、増殖促進性または増殖阻害性のいずれもあり得る。例として、脾がんでは、SMAD4 野生型腫瘍は、TGF- に応答して増殖の阻害を受ける可能性があるが、疾患が進行するにつれて、典型的には、構成的に活性化された II 型受容体が存在する。さらに、SMAD4 ヌル脾がんが存在する。いくつかの実施形態では、本開示の抗体、その抗原結合性部分、および / または組成物は、1 つまたは複数の形態のがんにおいて一意的に機能する TGF- シグナル伝達経路の構成成分を選択的に標的化するように設計される。白血球細胞 (white blood cell)、すなわち白血球 (leukocyte) の異常な増殖を特徴とする白血病、または血液もしくは骨髄のがんは、急性リンパ芽球性白血病 (ALL)、慢性リンパ球性白血病 (CLL)、急性骨髓性白血病または急性骨髓性白血病 (AML) (第 10 染色体と第 11 染色体の間の転座 [t(10, 11)]、第 8 染色体と第 21 染色体の間の転座 [t(8; 21)]、第 15 染色体と第 17 染色体の間の転座 [t(15; 17)]、および第 16 染色体における逆位 [inv(16)] を伴う AML; 以前に AML に変化する骨髄異形成症候群 (MDS) または骨髄増殖性疾患有したことのある患者を含む、多系列異形成 (multilineage dysplasia) を伴う AML; AML および骨髄異形成症候群 (MDS)、療法関連、このカテゴリーは、以前に化学療法および / または放射線を受け、その後、AML または MDS が発生したことがある患者を含む; d) 上記のカテゴリーに入らない AML の亜型を含む、他にカテゴリー化されない AML; および e) 白血病細胞を骨髄系細胞またはリンパ系細胞のいずれかに分類することができない場合、または両方の型の細胞が存在する場合に生じる、系列が不明瞭な急性白血病) ; ならびに慢性骨髓性白血病 (CML) を含めた 4 つの主要な分類に分けることができる。

30

【0248】

癌腫の型は、これらに限定されないが、乳頭腫 / 癌腫、絨毛癌、卵黄囊腫癌、奇形腫、腺腫 / 腺癌、黒色腫、線維腫、脂肪腫、平滑筋腫、横紋筋腫、中皮腫、血管腫、骨腫、軟骨腫、神経膠腫、リンパ腫 / 白血病、扁平上皮細胞癌、小細胞細胞腫、大細胞未分化癌、基底細胞癌および副鼻腔未分化癌を含む。

40

【0249】

50

肉腫の型は、これらに限定されないが、胞状軟部肉腫などの軟部肉腫、血管肉腫、皮膚線維肉腫、デスマイド腫瘍、線維形成性小円形細胞腫瘍、骨外性軟骨肉腫(extraskeletal chondrosarcoma)、骨外性骨肉腫(extraskeletal osteosarcoma)、線維肉腫、血管外皮腫、血管肉腫、カポジ肉腫、平滑筋肉腫、脂肪肉腫、リンパ管肉腫、リンパ肉腫、悪性線維性組織球腫、神経線維肉腫、横紋筋肉腫、滑膜肉腫、およびアスキン腫瘍(Askin's tumor)、ユーリング肉腫(未分化神経外胚葉性腫瘍)、悪性血管内皮腫、悪性シュワン細胞腫、骨肉腫、および軟骨肉腫を含む。

【0250】

いくつかの実施形態では、本開示の抗体および方法は、これらに限定されないが、結腸がん、腎がん、乳がん、悪性黒色腫および神経膠芽腫を含み得る、1つまたは複数の型のがんまたはがんに関連した状態を処置するために使用され得る(Schlingensiepenら、2008年; Ouhtitら、2013年)。

10

【0251】

いくつかの実施形態では、本明細書に記載のGARP-TGF-1複合体、LTBP1-TGF-1複合体、LTBP3-TGF-1複合体、および/またはLRR33-TGF-1複合体に特異的に結合する抗体またはその抗原結合性部分は、それを必要とする被験体においてがんを処置するための方法であって、がんが処置されるように、抗体またはその抗原結合性部分を被験体に投与するステップを含む方法において使用され得る。ある特定の実施形態では、がんは、結腸がんである。

20

【0252】

いくつかの実施形態では、本明細書に記載のGARP-TGF-1複合体、LTBP1-TGF-1複合体、LTBP3-TGF-1複合体、および/またはLRR33-TGF-1複合体に特異的に結合する抗体またはその抗原結合性部分は、固体腫瘍を処置するための方法において使用され得る。いくつかの実施形態では、固体腫瘍は、一般に高密度であり、治療用分子の透過が難しい、線維形成性腫瘍であり得る。そのような腫瘍のECMの構成成分を標的化することにより、そのような抗体は、高密度の腫瘍組織を「緩め」て崩壊させ、それにより、治療薬の接近を容易にして、その抗がん効果を発揮する。したがって、任意の公知の抗腫瘍薬などの追加的な治療薬を組み合わせて使用することができる。

30

【0253】

いくつかの実施形態では、本明細書に記載のGARP-TGF-1複合体、LTBP1-TGF-1複合体、LTBP3-TGF-1複合体、および/またはLRR33-TGF-1複合体に特異的に結合する抗体またはその抗原結合性部分は、固体腫瘍を有する被験体における固体腫瘍増殖を阻害するかまたは減少させるための方法であって、固体腫瘍増殖が阻害されるかまたは減少されるように抗体またはその抗原結合性部分を被験体に投与するステップを含む方法において使用され得る。ある特定の実施形態では、固体腫瘍は、結腸癌腫瘍である。いくつかの実施形態では、がんを処置するために有用な抗体またはその抗原結合性部分は、TGF-1活性化のアイソフォーム特異的、状況許容的阻害剤である。いくつかの実施形態では、そのような抗体は、GARP-TGF-1複合体、LTBP1-TGF-1複合体、LTBP3-TGF-1複合体、およびLRR33-TGF-1複合体を標的化する。いくつかの実施形態では、そのような抗体は、GARP-TGF-1複合体、LTBP1-TGF-1複合体、およびLTBP3-TGF-1複合体を標的化する。いくつかの実施形態では、そのような抗体は、LTBP1-TGF-1複合体、LTBP3-TGF-1複合体、およびLRR33-TGF-1複合体を標的化する。いくつかの実施形態では、そのような抗体は、GARP-TGF-1複合体およびLRR33-TGF-1複合体を標的化する。

40

【0254】

ある特定の実施形態では、本明細書に記載のGARP-TGF-1複合体、LTBP1-TGF-1複合体、LTBP3-TGF-1複合体、および/またはLRR33-TGF-1複合体を標的化する。

50

G F 1 複合体に特異的に結合する抗体またはその抗原結合性部分は、がんまたは腫瘍を有する被験体に、単独で、または、追加的な薬剤、例えば抗 P D - 1 抗体（例えば抗 P D - 1 アンタゴニスト）と組み合わせてのいずれかで投与される。本発明に包含される他の併用療法は、本明細書に記載の抗体またはその抗原結合性部分を放射線、または化学療法剤と共に投与するものである。例示的な追加的な薬剤は、これらに限定されないが、P D - 1 アンタゴニスト、P D L 1 アンタゴニスト、P D - L 1 またはP D L 2 融合タンパク質、C T L A 4 アンタゴニスト、G I T R アゴニスト、抗 I C O S 抗体、抗 I C O S L 抗体、抗 B 7 H 3 抗体、抗 B 7 H 4 抗体、抗 T I M 3 抗体、抗 L A G 3 抗体、抗 O X 4 0 抗体、抗 C D 2 7 抗体、抗 C D 7 0 抗体、抗 C D 4 7 抗体、抗 4 1 B B 抗体、抗 P D - 1 抗体、腫瘍溶解性ウイルス、およびP A R P 阻害剤を含む。

10

【0255】

骨格筋の状態における T G F の役割

骨格筋において、T G F は、増殖および分化の阻害、萎縮の誘導、および線維症の発生を含めた種々の役割を果たす。T G F により、サテライト細胞増殖が低減し、分化が妨げられる（MyoD およびミオゲニンの阻害によって）（Allen, R. E. およびL. K. J. Cell Physiol, 1987年、133巻（3号）：567～72頁；Brennan, T. J.ら、Proc Natl Acad Sci U S A, 1991年、88巻（9号）：3822～6頁；Massague, J. ら、Proc Natl Acad Sci U S A, 1986年、83巻（21号）：8206～10頁；Olson, E. N. ら、J Cell Biol, 1986年、103巻（5号）：1799～805頁）。これらの初期の論文ではT G F のアイソフォーム（すなわち、T G F 1、2、または3）は特定されていないが、T G F 1 であると推定される。T G F はまた、筋肉線維症にも寄与する；組換えT G F 1 の直接注射により骨格筋線維症が生じ、汎T G F 阻害により急性および慢性的に損傷を受けている筋肉における線維症が減少する（Li, Y. ら、Am J Pathol, 2004年、164巻（3号）：1007～19頁；Mendias, C. L. ら、Muscle Nerve, 2012年、45巻（1号）：55～9頁；Nelson, C. A. ら、Am J Pathol, 2011年、178巻（6号）：2611～21頁）。T G F 1 は、骨格筋内の筋線維、マクロファージ、制御性T細胞、線維芽細胞、および線維細胞によって発現され（Li, Y. ら、Am J Pathol, 2004年、164巻（3号）：1007～19頁；Lemos, D. R. ら、Nat Med, 2015年、21巻（7号）：786～94頁；Villalta, S. A. ら、Sci Transl Med, 2014年、6巻（258号）：258ra142；Wang, X. ら、J Immunol, 2016年、197巻（12号）：4750～4761頁）、発現は損傷の際におよび疾患で増大する（Li, Y. ら、Am J Pathol, 2004年、164巻（3号）：1007～19頁；Nelson, C. A. ら、Am J Pathol, 2011年、178巻（6号）：2611～21頁；Bernascioni, P. ら、J Clin Invest, 1995年、96巻（2号）：1137～44頁；Ishitobi, M. ら、Neuroreport, 2000年、11巻（18号）：4033～5頁）。mdx筋肉ではT G F 2 およびT G F 3 も、T G F 1 より程度は低いが、上方制御される（mRNA レベルで）（Nelson, C. A. ら、Am J Pathol, 2011年、178巻（6号）：2611～21頁；Zhou, L. ら、Neuromuscul Disord, 2006年、16巻（1号）：32～8頁）。Pessina らは、最近、系列追跡実験を使用して、ジストロフィーの筋肉内の多数の起源の細胞がT G F 依存性の経路を介して線維形成性の運命をたどる（Pessina, P. ら、Stem Cell Reports, 2015年、4巻（6号）：1046～60頁）。

20

30

40

【0256】

T G F 1 は、ヒト筋ジストロフィーに関係づけられている。デュシェンヌ型筋ジストロフィー（D M D）は、ジストロフィンが存在しないことによって引き起こされる、重症

50

、進行性であり、最終的に死に至る疾患である (Bushby, K. ら、*Lancet Neurology*、2010年、9巻(1号) : 77~93頁)。ジストロフィンの欠乏の結果、収縮誘導性損傷への感受性が増大し、それにより、継続的な筋肉変性が導かれる (Petrof, B. J. ら、*Proc Natl Acad Sci U S A*、1993年、90巻(8号) : 3710~4頁; Dell'Orusso, C. ら、*J Muscle Res Cell Motil*、2001年、22巻(5号) : 467~75頁; Pratt, S. J. ら、*Cell Mol Life Sci*、2015年、72巻(1号) : 153~64頁)。修復のラウンドの反復が慢性炎症、線維症、サテライト細胞プールの消耗、最終的な可動性の喪失および死亡に寄与する (Bushby, K. ら、*Lancet Neurology*、2010年、9巻(1号) : 77~93頁; McDonald, C. M. ら、*Muscle Nerve*、2013年、48巻(3号) : 343~56頁)。TGF 1の発現はDMDの患者において有意に増大し、これらの患者において観察される線維症の程度と相関する (Bernasconi, P. ら、*J Clin Invest*、1995年、96巻(2号) : 1137~44頁; Chen, Y. W. ら、*Neurology*、2005年、65巻(6号) : 826~34頁)。過剰なECM沈着は筋肉の収縮特性に対して有害な影響を有し、筋線維が血液供給から隔離されるので栄養の利用が制限され得る (Klingler, W. ら、*Acta Myol*、2012年、31巻(3号) : 184~95頁)。最近、追加的なデータにより、TGF 1がさらに筋ジストロフィーに関係づけられた。LTP4の変形体は、マウスおよびヒトにおける疾患の重症度を調節することが見出されている。マウスでは、LTP4の変形体はジストロフィンまたは - サルコグリカンを欠くマウスにおいて保護的である (Coley, W. D. ら、*Hum Mol Genet*、2016年、25巻(1号) : 130~45頁; Heydemann, A. ら、*J Clin Invest*、2009年、119巻(12号) : 3703~12頁)。ヒトでは、2つのグループが独立に、LTP4の変形体がDMDにおいて保護的であり、歩行運動の喪失を数年遅延させることを同定した (Flanigan, K. M. ら、*Ann Neurology*、2013年、73巻(4号) : 481~8頁; van den Bergen, J. C. ら、*J Neurology Neurosurgery Psychiatry*、2015年、86巻(10号) : 1060~5頁)。マウスおよびヒトにおいて遺伝学的変形体の性質は異なるが、どちらの種でも、保護的な変形体により、TGF シグナル伝達の低下がもたらされる (Heydemann, A. ら、*J Clin Invest*、2009年、119巻(12号) : 3703~12頁; Ceco, E. ら、*Sci Transl Med*、2014年、6巻(259号) : 259ra144)。骨格筋生物学におけるTGF 1の機能の多くは、精製された活性増殖因子を動物に注射するかまたは培養物中の細胞に添加する実験から推定されている (Massague, J. ら、*Proc Natl Acad Sci U S A*、1986年、83巻(21号) : 8206~10頁; Li, Y. ら、*Am J Pathol*、2004年、164巻(3号) : 1007~19頁; Mendiola, C. L. ら、*Muscle Nerve*、2012年、45巻(1号) : 55~9頁)。TGF 1の特定の機能に対する細胞の状況の重要性を考慮すると(例えば、Hinckら、*Cold Spring Harb Perspect Biol*、2016年、8巻(12号)を参照されたい)、これらの実験において観察される影響の一部は *in vivo* におけるサイトカインの内在的役割(複数可)を反映しない可能性がある。例えば、ヒト皮膚線維芽細胞を組換えTGF 1、ミオスタチン、またはGDF11で処置すると、*in vivo* におけるこれらのタンパク質の役割はかなり異なるにもかかわらず、これらの細胞においてほぼ同一の遺伝子発現の変化がもたらされる (Tanner, J. W.、Khalil, A.、Hill, J.、Franti, M.、MacDonnell, S. M.、*Growth Differentiation Factor 11 Potentiates Myofibroblast Activation, Fibrosis: From Basic Mechanisms to Targeted Therapies*、2016年: 50

Keystone, CO)。

【0257】

多数の研究者が、*in vivo*における増殖因子の役割を明らかにするためにTGFの阻害剤を使用してきた。mdxマウスを汎TGF中和抗体1D11で処置することにより、線維症の低減（組織学およびヒドロキシプロリン含有量による）、筋傷害の低減（血清中クレアチニナーゼの低減およびより大きな筋線維密度）、ならびに筋肉機能の改善（プレチスモグラフィ、単離されたEDL筋の力発生、および前肢握力の増大）が明白にもたらされる（Nelson, C. A.ら、Am J Pathol, 2011年、178巻（6号）：2611～21頁；Andreetta, F.ら、J Neuroimmunol, 2006年、175巻（1～2号）：77～86頁；Gumucio, J. P.ら、J Appl Physiol (1985年)、2013年、115巻（4号）：539～45頁）。さらに、ドミナントネガティブTGF II型受容体の筋線維特異的発現により、心臓毒損傷後に、および - サルコグリカン - / - マウスにおいて筋傷害からの保護がなされる（Accornero, F.ら、Hum Mol Genet, 2014年、23巻（25号）：6903～15頁）。骨格筋において豊富であり、TGF活性を阻害するプロテオグリカンデコリンにより、mdxマウスにおける、および裂創損傷後の筋線維症が減少する（Li, Y.ら、Mol Ther, 2007年、15巻（9号）：1616～22頁；Gosselin, L. E.ら、Muscle Nerve, 2004年、30巻（5号）：645～53頁）。スラミン（抗腫瘍薬剤）およびロサルタン（アンジオテンシン受容体遮断薬）などの、TGF阻害活性を有する他の分子が、損傷、マルファン症候群、および筋ジストロフィーのマウスモデルにおける筋肉病態の改善および線維症の低減において有効であった（Spurney, C. F.ら、J Cardiovasc Pharmacol Ther, 2011年、16巻（1号）：87～95頁；Taniguti, A. P.ら、Muscle Nerve, 2011年、43巻（1号）：82～7頁；Bedair, H. S.ら、Am J Sports Med, 2008年、36巻（8号）：1548～54頁；Cohn, R. D.ら、Nat Med, 2007年、13巻（2号）：204～10頁）。上記の治療剤は全てTGF 1またはそのシグナル伝達を阻害するものであるが、いずれもTGF 1アイソフォームに特異的ではない。例えば、1D11は、TGF 1、2、および3アイソフォームに結合し、それを阻害する（Dasch, J. R.ら、J Immunol, 1989年、142巻（5号）：1536～41頁）。スラミンは、TGF 1に加えてPDGF、FGF、およびEGFを含めた多数の増殖因子のこれらの受容体に結合する能力を阻害する（Hosang, M.、J Cell Biochem, 1985年、29巻（3号）：265～73頁；Olivier, S.ら、Eur J Cancer, 1990年、26巻（8号）：867～71頁；Scher, H. I.およびW. D. Heston, Cancer Treat Res, 1992年、59巻：131～51頁）。デコリンは、ミオスタチン活性も阻害し、これは、直接結合によるものであり、かつミオスタチン阻害物質であるフォリスタチンの上方制御を通じたものである（Miura, T.ら、Biochem Biophys Res Commun, 2006年、340巻（2号）：675～80頁；Brandan, E.、C. Cabelllo-Verruglio、およびC. Vial、Matrix Biol, 2008年、27巻（8号）：700～8頁；Zhu, J.ら、J Biol Chem, 2007年、282巻（35号）：25852～63頁）。ロサルタンは、IGF-1/AKT/mTOR経路を含めたレニン-アンジオテンシン-アルドステロン系に対するその効果を通じて追加的なシグナル伝達経路に影響を及ぼす（Burks, T. N.ら、Sci Transl Med, 2011年、3巻（82号）：82ra37；Sabharwal, R.およびM. W. Chapleau, Exp Physiol, 2014年、99巻（4号）：627～31頁；McIntyre, M.ら、Pharmacol Ther, 1997年、74巻（2号）：181～94頁）。したがって、これらの療法は全て、これらの治療効果、ならびに毒性の一因となり得る追加的な分子を阻

害するものである。

【0258】

TGF の筋肉恒常性、修復、および再生における仮定される役割を考慮すると、TGF 1シグナル伝達を選択的に調節する本明細書に記載のモノクローナル抗体などの薬剤は、慢性 / 遺伝学的筋ジストロフィーおよび急性筋肉損傷におけるなどの筋線維の傷害を現在までに開発されたより広範に作用するTGF 阻害剤に伴う毒性を伴わずに処置するのに有効であり得る。

【0259】

したがって、本発明は、*in vivo*におけるTGF 作用の全てではなくサブセットを優先的に調節する薬剤を使用して筋線維の傷害を処置するための方法を提供する。そのような薬剤は、TGF 1シグナル伝達を選択的に調節することができる（「アイソフォーム特異的調節」）。いくつかの実施形態では、そのような薬剤は、さらに、特定の状況にあるTGF 1を選択的に調節することができる（「状況特異的調節」）。

10

【0260】

慢性筋疾患における筋線維修復

本発明は、DMD患者における筋肉の質および機能を、線維症を限定し、筋肉の形態および機能の標準化に寄与することによって改善するための方法を包含する。TGF 1は筋形成も阻害するので、TGF 1遮断により、ジストロフィーの筋肉の再生が促進される可能性があり、これにより、さらなる治療的利益が付加される。TGF 1阻害剤は、Exondys 51 (Eteplirsen)などのジストロフィン上方制御療法と組み合わせて使用され得る。筋ジストロフィーにおけるTGF 1阻害の潜在的な治療的利益を考慮すると、(1) TGF 1の役割(複数可)をTGF 2およびTGF 3の役割(複数可)と区別すること、ならびに(2) TGF 1阻害が最も有益になる分子の状況(複数可)を明らかにすることが重要である。上記の通り、汎TGF 阻害剤には著しい毒性が付随し、それにより、これらの化合物の臨床使用は限定されている(Anderson, M. J. ら、*Toxicol Pathol*、2011年、39巻(6号)：916～24頁；Stauber, A. ら、*Clinical Toxicology*、2014年、4巻(3号)：1～10頁)。TGF アイソフォーム(複数可)のいずれによって毒性が引き起こされるかは不明である。記載されている毒性の一部は、免疫系におけるTGF 1阻害に起因する可能性がある。例えば、1D11は、横隔膜における線維症のレベルを有意に低減するが、この処置はまた、筋肉におけるCD4+およびCD8+T細胞の数を増加させ、これは、長期間にわたる処置で有害になり得る、汎TGF 阻害の際の炎症反応の増大を示唆するものである(Andreetta, F. ら、*Neuroimmunol*、2006年、175巻(1～2巻)：77～86頁)。実際に、筋肉からのT細胞の枯渇により、mdxマウスの筋肉病態が改善し、これにより、T細胞により媒介される炎症反応がジストロフィーの筋肉に対して有害であることが示唆される(Spencer, M. J. ら、*Clin Immunol*、2001年、98巻(2号)：235～43頁)。1D11投与に際したT細胞数の増加は、制御性T (Treg)細胞に対するTGF 1の影響に起因する可能性がある。Tregはこれらの細胞表面上にGARPを介してTGF 1を提示し、この複合体からのTGF 1の放出によりTreg抑制活性が増強され、したがって、T細胞媒介性炎症が限定される(Wang, R. ら、*Mol Biol Cell*、2012年、23巻(6号)：1129～39頁；Edwards, J. P. ら、*A. M. Thornton*、およびE. M. Shevach, J. *Immunol*、2014年、193巻(6号)：2843～9頁；Nakamura, K. ら、*J. Immunol*、2004年、172巻(2号)：834～42頁；Nakamura, K. ら、*A. Kitanishi*、およびW. Strober, J. *Exp Med*、2001年、194巻(5号)：629～44頁)。実際に、PC61抗体を使用してTregを枯渇させるとmdxマウスの横隔膜における炎症および筋傷害が増大し、Tregの数および活性を強化することにより、筋傷害が低減する(Villalta, S. A. ら、*Sci Transl Med*、2014年、6

20

30

40

40

50

巻(258号) : 258ra142)。興味深いことに、追加的な免疫抑制性T細胞の集団、Tr1細胞が最近同定された。これらの細胞は、これらの抑制活性に必要な大量のTGF-3を産生する(Gagliani, N.ら、Nat Med、2013年、19巻(6号) : 739~46頁; Okamura, T.ら、Proc Natl Acad Sci U S A、2009年、106巻(33号) : 13974~9頁; Okamura, T.ら、Nat Commun、2015年、6巻: 6329頁)。骨格筋におけるTr1細胞の役割は分かっていないが、D11によるTGF-1およびTGF-3の両方の阻害には、TreregおよびTr1細胞の両方の阻害による付加的な炎症促進効果がある可能性がある。

【0261】

10

TGF-1潜在性および活性化に関する上記の構造的洞察から、TGF-1の活性化を特異的に標的化する薬物を発見するための新規の手法が可能になる(Shi, M.ら、Nature、2011年、474巻(7351号) : 343~9頁)。3種の成熟TGF-增殖因子の間で共有される高い程度の配列同一性は、潜在型複合体には共有されず、これにより、プロTGF-1に非常に特異的な抗体の発見が可能になる。抗体発見のための所有権のある手法を使用して、本発明者らは、プロTGF-1に特異的に結合する抗体(Ab1およびAb2)を同定した(図18A)。in vitro共培養系を使用して、これらの抗体がTGF-1のインテグリン媒介性放出を阻害することが実証された。この系では、ヒト皮膚またはマウス骨格筋由来の線維芽細胞が潜在型TGF-1の供給源であり、これは、活性なTGF-1の放出を可能にするV6を発現する細胞株であり、活性なTGF-1は、次いで、SMAD2/3応答性ルシフェラーゼレポーターを発現する第3の細胞株を使用して測定される(図11A~C)。これらの抗体の1つ、Ab1は、in vivoにおいて試験されており、腎線維症のUUO(片側尿管閉塞)マウスモデルにおける効能が示されている。このモデルでは、マウス(n=10)を9mg/kg/週のAb1で処置することにより、TGF-1応答性遺伝子の上方制御が防止され(図15)、損傷後の線維症の程度が低減した(ピクロシリウスレッド染色による)(図16)。TGF-1特異的療法は、汎TGF-阻害剤と比較して改善された効能および安全性プロファイルを有し得、これは、DMD集団において長期にわたって使用される治療薬に関して重大な側面である。TGF-1阻害性抗体は、特異的なTGF-1阻害がDMDまたは他の筋疾患に対する治療薬としての潜在性を有するかどうかを決定するため、および骨格筋再生におけるTGF-1の役割を明らかにするために使用され得る。

20

30

【0262】

慢性筋線維損傷 対 急性筋線維損傷および最適な治療薬の選択

急性損傷後の正常であるが再生中の筋肉(例えば、他の点では健康な筋肉または運動ニューロンへの外傷性損傷など)では、傷害を受けた組織を取り除くため、およびサテライト細胞活性化に必要な因子(例えば、サイトカイン)を分泌させるためには、最初に炎症性マクロファージが浸潤することが必要であると考えられている。その後、これらの細胞はM2表現型に切り替わって創傷の消散を駆動する。

40

【0263】

対照的に、DMDを含めた疾患などの慢性の状態では、炎症促進性マクロファージが常に優勢であり、M2への切り替えは全く(または少なくとも十分に効率的には)起こらず、炎症促進性マクロファージにより炎症および筋傷害が駆動され続ける。DMDでは、NFkB経路が永久的に活性であり、その結果、構成的な炎症が生じる。したがって、いくつかの実施形態では、慢性炎症を低減させるためにNFkB阻害剤をDMD患者に投与することができる。

【0264】

50

したがって、DMDなどの慢性の状態では、治療上の焦点は、筋肉再生とは対照的に筋肉修復に当てられ得る。これは、DMD筋線維に欠陥があるが、破壊されてはいないこと-DMD筋線維が膜の裂傷、カルシウムトランジエントの制御不全、およびマクロファージからのROS傷害による傷害を受けているからである。比較すると、健康な筋肉への損

傷の場合、治療上の焦点は再生に当てられ得る。例えば、心臓毒モデルでは、筋線維は死滅し、再生させる必要がある。これは、挫滅創などの外傷性損傷後のプロセスをシミュレートするものである。

【0265】

証拠から、L R R C 3 3 がM 2 様表現型（アルギナーゼを高レベルで発現し、i N O S を発現せず、C D 2 0 6 を高レベルで発現することを特徴とする）を有するチオグリコール酸誘導性腹膜マクロファージにおいて発現することが示唆される。

【0266】

L R R C 3 3 が主にM 2 細胞上に発現する場面、およびT G F 1 の提示（「状況」）がこれらの細胞の創傷治癒促進効果に重要である場面では、L R R C 3 3 に媒介されるT G F 1 を活性化して、修復および/または筋形成を促進することが有益であり得る。他方では、L R R C 3 3 が炎症促進性M 1 細胞上にも発現する場面では、特にD M D などのジストロフィーの場合では炎症により線維症が駆動されることを考慮して、L R R C 3 3 に媒介されるT G F 1 阻害することが有益であり得る。したがって、疾患に関連するT G F 1 の供給源/状況を同定することは、どのレベルの選択性を検討すべきか（例えば、アイソフォーム特異的、状況許容的T G F 1 モジュレーター、または、状況特異的T G F 1 モジュレーター；T G F 1 阻害剤または活性化因子など）を伝える、T G F シグナル伝達の適切なモジュレーターの選択における重要なステップであり得る。

10

【0267】

慢性炎症以外のD M D の特質は、過剰かつ進行性の線維症である。進行疾患では、線維症は、実際に個々の筋線維がこれらの血液供給から隔離される可能性があるほどに重症である。線維症はまた、筋肉の収縮特性も変化させる。ヒト患者では、T G F 1 上方制御の程度と線維症の間に強力な相関があり、また、線維症の程度と負の可動性転帰の間に強力な関連性がある。したがって、いくつかの実施形態では、L T B P - プロT G F 1 阻害剤を、線維症の防止および/または低減のために、疾患におけるE C M と会合したT G F 1 作用を選択的に標的化するためにジストロフィー患者に投与することができる。いくつかの実施形態では、本明細書に記載の種々のアイソフォーム選択的薬剤および/または状況選択的薬剤は、線維症を防止し、筋形成を促進するが、免疫系に対しては望ましくない影響を及ぼさないように、T G F 1 の阻害シグナル伝達を達成するため（例えば、G A R P またはL R R C 3 3 を通じて）に使用され得る。

20

【0268】

処置

本明細書に開示されている方法を実施するために、上記の医薬組成物の有効量を、処置を必要とする被験体（例えば、ヒト）に静脈内投与、例えばボーラスとしてまたは一定期間にわたる持続注入によって、筋肉内、腹腔内、脳脊髄内、皮下、関節内、滑液包内、髄腔内、経口、吸入または局所経路によって、などの好適な経路を介して投与することができる。ジェット噴霧器および超音波噴霧器を含めた、液体製剤のための商業的に入手できる噴霧器が投与に有用である。液体製剤は、直接噴霧されてよく、凍結乾燥粉末は再構成後に噴霧され得る。代替的に、G A R P - T G F 1 複合体、L T B P 1 - T G F 1 複合体、L T B P 3 - T G F 1 複合体、および/またはL R R C 3 3 - T G F 1 複合体に特異的に結合する抗体またはその抗原結合性部分は、フルオロカーボン製剤および定量吸入器を使用してエアロゾル化されてよく、または凍結乾燥され破碎された粉末として吸入されてよい。

30

【0269】

本明細書に記載の方法によって処置される被験体は、哺乳動物、より好ましくはヒトであり得る。哺乳動物は、これらに限定されないが、家畜、競技動物、愛玩動物、靈長類、ウマ、イヌ、ネコ、マウスおよびラットを含む。処置を必要とするヒト被験体は、上記のものなどのT G F 関連適応症を有する、そのリスクがある、またはそれを有する疑いがあるヒト患者であり得る。T G F 関連適応症を有する被験体は、日常的な医学的検査、例えば、臨床検査、臓器機能検査、C T スキャン、または超音波によって同定することが

40

50

できる。そのような適応症のいずれかを有する疑いがある被験体は、適応症の1つまたは複数の症状を示し得る。適応症のリスクがある被験体は、その適応症に関する危険因子の1つまたは複数を有する被験体であり得る。

【0270】

本明細書で使用される場合、用語「有効量」および「有効用量」は、その意図された目的（複数可）、すなわち、組織または被験体において、許容されるベネフィット/リスク比で所望の生物学的反応または医学的な反応を満たすために十分な、化合物または組成物の任意の量または用量を指す。例えば、本発明のある特定の実施形態では、意図された目的は、*in vivo*でTGF-1活性化を阻害してTGF-1阻害に関連する臨床的に意味がある転帰を達成することであり得る。当業者によって認識されるとおり、有効量は、処置される特定の状態、状態の重症度、年齢、身体状態、サイズ、性別および体重を含む個々の患者パラメータ、処置の期間、同時に行われている治療（ある場合）の性質、投与の特定の経路ならびに医療関係者の知識および専門的意見内の同様の要因などに応じて変化する。これらの要因は当業者に周知であり、日常的な実験程度で対処され得る。個々の構成成分またはその組み合わせの最大用量、すなわち正当な医学的判断による最高安全用量が使用されることは一般に好ましい。しかし患者が医学的根拠、心理的理由のためにまたは事実上任意の他の理由のためにより低い用量または許容できる用量を主張できることは、当業者によって理解される。

10

【0271】

半減期などの経験的検討事項は、一般に投薬量の決定に寄与する。例えば、ヒト化抗体または完全ヒト抗体などのヒト免疫系に適合性である抗体は、抗体の半減期を延長し、かつ宿主の免疫系によって抗体が攻撃されることを防ぐために使用されてよい。投与の頻度は、治療の経過にわたって決定および調整されてよく、一般に、必ずではないが、TGF関連適応症の処置および/または抑制および/または好転（amelioration）および/または遅延に基づく。代替的に、GARP-TGF-1複合体、LTBP1-TGF-1複合体、LTBP3-TGF-1複合体、および/またはLRR33-TGF-1複合体に特異的に結合する抗体の持続した継続放出製剤も適切である場合がある。徐放を達成するための種々の製剤およびデバイスは、当業者に明らかであり、本開示の範囲内である。

20

【0272】

一例では、本明細書に記載のGARP-TGF-1複合体、LTBP1-TGF-1複合体、LTBP3-TGF-1複合体、および/またはLRR33-TGF-1複合体に特異的に結合する抗体についての投薬量は、抗体の1回または複数回の投与を与えられた個体において経験的に決定され得る。個体は、漸増する投薬量のアンタゴニストを与えられる。効能を評価するために、TGF関連適応症の指標が追跡されてよい。例えば、筋線維傷害、筋線維修復、筋肉における炎症レベル、および/または筋肉における線維症レベルを測定するための方法は、当業者に周知である。

30

【0273】

本発明は、TGFの活性化ステップをアイソフォーム特異的に調節することができる薬剤が、医薬として使用した場合に改善された安全性プロファイルをもたらすという認識を包含する。したがって、本発明は、TGF-1に特異的に結合し、その活性化を阻害するが、TGF-2またはTGF-3には結合せず、それにより、*in vivo*におけるTGF-1シグナル伝達の特異的阻害を付与しながら、TGF-2および/またはTGF-3シグナル伝達が影響を受けることに起因する望ましくない副作用は最小化する、抗体およびその抗原結合性断片を含む。

40

【0274】

いくつかの実施形態では、本明細書に記載の抗体またはその抗原結合性部分は、被験体に投与された場合に毒性ではない。いくつかの実施形態では、本明細書に記載の抗体またはその抗原結合性部分は、被験体に投与された場合に、TGF-1およびTGF-2の両方に特異的に結合する抗体と比較して低減した毒性を示す。いくつかの実施形態では、本

50

明細書に記載の抗体またはその抗原結合性部分は、被験体に投与された場合に、TGF-1およびTGF-3の両方に特異的に結合する抗体と比較して低減した毒性を示す。いくつかの実施形態では、本明細書に記載の抗体またはその抗原結合性部分は、被験体に投与された場合に、TGF-1、TGF-2およびTGF-3に特異的に結合する抗体と比較して低減した毒性を示す。

【0275】

一般に、本明細書に記載の抗体のいずれの投与についても、初回の候補投薬量は約2mg/kgであってよい。本開示の目的のため、典型的な毎日投薬量は、上述の因子に応じて約0.1μg/kg～3μg/kg～30μg/kg～300μg/kg～3mg/kg～30mg/kg～100mg/kgまたはそれよりも多くのいずれかの範囲でよい。
数日間またはそれよりも長い期間にわたる繰り返し投与のためには、状態に応じて、所望の症状の抑制が起こるまで、あるいはTGF-1関連適応症またはその症状を緩和するために十分な治療レベルが達成されるまで、処置を持続する。例示的な投与レジメンは、約2mg/kgの初回用量、続いて毎週の抗体の約1mg/kgの維持用量、または続いて1週おきの約1mg/kgの維持用量の投与を含む。しかし、臨床医が達成したい薬物動態学的減衰のパターンに応じて他の投与レジメンも有用であり得る。例えば、週1～4回の投与が意図される。いくつかの実施形態では、約3μg/mg～約2mg/kgの範囲（例えば、約3μg/mg、約10μg/mg、約30μg/mg、約100μg/mg、約300μg/mg、約1mg/kg、および約2mg/kgなど）の投与が使用されてよい。薬物動態実験により、本明細書に開示されている抗体（例えば、Ab2）の血清中濃度が、前臨床動物モデル（例えば、マウスモデル）への投与後、少なくとも7日間安定したままであることが示されている。いかなる特定の理論にも拘束されることを望まないが、抗体が投与される被験体（例えば、ヒト被験体）において臨床的に有効な血清中濃度を維持しながら抗体をより少ない頻度で投与することができる、この投与後の安定性は有利であり得る。いくつかの実施形態では、投与頻度は、毎週、2週ごと、4週ごと、5週ごと、6週ごと、7週ごと、8週ごと9週ごと、もしくは10週ごとに1回、または毎月、2か月ごと、3か月ごと、またはそれよりも長い期間に1回である。この治療の進行は従来の技術およびアッセイによって容易にモニターすることができる。投与レジメン（用いられる抗体を含む）は時間をわたって変動し得る。

【0276】

いくつかの実施形態では正常体重の成人患者について、約0.3から5.00mg/kgの範囲の用量が投与され得る。特定の投与レジメン、例えば用量、タイミングおよび反復は、特定の個体およびその個体の医療歴および個々の薬剤の特性（薬剤の半減期および他の関連する検討事項など）に依存する。

【0277】

本開示の目的のために、GARP-TGF-1複合体、LTBP1-TGF-1複合体、LTBP3-TGF-1複合体、および/またはLRRC33-TGF-1複合体に特異的に結合する抗体の適切な投薬量は、用いられる特異的抗体（またはその組成物）、適応症の種類および重症度、抗体が予防目的または治療目的で投与されるか、以前の治療、患者の病歴およびアンタゴニストへの応答、ならびに主治医の判断に依存する。いくつかの実施形態では、望ましい結果を達成する投薬量に到達するまで、臨床医は、GARP-TGF-1複合体、LTBP1-TGF-1複合体、LTBP3-TGF-1複合体、および/またはLRRC33-TGF-1複合体に特異的に結合する抗体を投与する。GARP-TGF-1複合体、LTBP1-TGF-1複合体、LTBP3-TGF-1複合体、および/またはLRRC33-TGF-1複合体に特異的に結合する抗体の投与は、投与の目的が治療的または予防的であるかにかかわらず、例えばレシピエントの生理学的状態、および熟練した医師に公知である他の要因に応じて連続的または間欠的であってよい。GARP-TGF-1複合体、LTBP1-TGF-1複合体、LTBP3-TGF-1複合体、および/またはLRRC33-TGF-1複合体に特異的に結合する抗体の投与は、予め選択した期間にわたって本質的に連続的であっても、または間隔をあけた一

10

20

30

30

40

50

連の用量、例えば TGF 関連適応症が発症する前、その間またはその後のいずれかであってもよい。

【0278】

本明細書で使用される場合、用語「処置する」は、TGF 関連適応症、適応症の症状、または適応症に対する素因を有する被験体への、その適応症、その適応症の症状、またはその適応症に対する素因を治癒する (cure)、治す (heal)、緩和する、軽減する、変える、治療する (remedy)、好転させる、改善する、または影響を与えることを目的とした、1つまたは複数の活性剤を含む組成物の適用または投与を指す。

【0279】

GARP-TGF 1複合体、LTPP1-TGF 1複合体、LTPP3-TGF 1複合体、および/または LRRCC33-TGF 1複合体に特異的に結合する抗体を用いて TGF 関連適応症を緩和することは、適応症の発生もしくは進行を遅らせること、または適応症の重症度を低減することを含む。適応症を緩和することは、必ずしも治癒的結果を要求しない。本明細書で使用する場合、TGF 関連適応症の発症を「遅らせること」は、適応症の進行を遅らせる (defer)、妨げる (hinder)、遅くする (slow)、遅らせる (retard)、安定化するおよび/または先に延ばす (postpone) ことを意味する。この遅らせることは、適応症の病歴および/または処置される個体に応じて様々な時間の長さであってよい。適応症の発症を「遅らせる」もしくは緩和する、または適応症の発病 (onset) を遅らせる方法は、方法を使用しない場合と比較して所与の時間枠において適応症の1つもしくは複数の症状の発症の可能性を低減するおよび/または所与の時間枠において症状の程度を低減する方法である。そのような比較は、統計的に有意な結果をもたらすのに十分な数人の被験体を使用する臨床研究に典型的には基づく。

10

20

30

40

【0280】

DBA2/Jマウスは、LTPP4アレルに 40bp の欠失を有する。潜在型 TGFb1 が会合する ECM の制御不全により、Ab1 が結合するエピトープが露出し得る。Ab1 が結合するエピトープが露出した疾患が存在する可能性があり、これらの疾患は、TGFb1 阻害が適応である場合、Ab1 のための治療的機会であり得る。

【0281】

併用療法
本開示は、in vivo での TGF 阻害が有益である可能性がある被験体を処置するための併用療法として使用される医薬組成物および関連する方法を包含する。これらの実施形態のいずれにおいても、そのような被験体は、少なくとも 1 つの TGF 阻害剤、例えば、本明細書に記載の抗体またはその抗原結合性部分を含む第 1 の組成物と、同じまたは重複する疾患または臨床的状態の処置を目的とする少なくとも 1 つのさらなる治療薬を含む第 2 の組成物とを併せて含む併用療法を受けることができる。第 1 の組成物および第 2 の組成物は、どちらも同じ細胞標的に作用するものであってもよく、別個の細胞標的に作用するものであってもよい。いくつかの実施形態では、第 1 の組成物および第 2 の組成物により、疾患または臨床的状態の症状または外観 (aspect) の同じまたは重複するセットを処置または緩和することができる。いくつかの実施形態では、第 1 の組成物および第 2 の組成物により、疾患または臨床的状態の症状または外観の別々のセットを処置または緩和することができる。一例を挙げると、第 1 の組成物により TGF シグナル伝達に関連する疾患または状態を処置することができ、第 2 の組成物により同じ疾患に関連する炎症または線維症を処置することができる、などである。そのような併用療法は、互いに併せて投与することができる。句「と併せて」とは、併用療法に関しては、併用療法を受けている被験体において第 1 の治療の治療効果が第 2 の治療の治療効果と一時的および/または空間的に重複することを意味する。したがって、併用療法は、同時投与用の単一の製剤として製剤化されてもよく、療法の逐次的投与用の別々の製剤として製剤化されてもよい。

【0282】

50

好ましい実施形態では、併用療法により、疾患の処置において相乗効果が生じる。「相乗的」という用語は、各単独療法を総計した相加効果よりも大きな効果（例えば、より大きな效能）を指す。

【0283】

いくつかの実施形態では、本明細書に記載の医薬組成物を含む併用療法により、別の療法（例えば、第2の薬剤の単独療法など）によって生じる効能と全体的に同等の効能が生じるが、第2の薬剤の単独療法と比較して、第2の薬剤に付随する望ましくない有害作用がより少なくなるまたは毒性の重症度がより低くなる。いくつかの実施形態では、そのような併用療法により、第2の薬剤の投薬量をより少なくし、しかし全体的な効能を維持することが可能になる。そのような併用療法は、長期間にわたる処置が保証されているおよび／または小児患者を伴う患者集団に特に好適であり得る。

10

【0284】

したがって、本発明は、TGF-1タンパク質活性化を低減させるため、および本明細書に記載のTGF-1シグナル伝達に関連する疾患または状態を処置または防止するための併用療法に使用するための医薬組成物および方法を提供する。したがって、方法または医薬組成物は、第2の治療をさらに含む。いくつかの実施形態では、第2の治療は、TGF-1シグナル伝達に関連する疾患または状態の処置または防止において有用であり得る。第2の治療は、標的化された疾患に関連する少なくとも1つの症状（複数可）を減弱または処置することができる。第1の治療と第2の治療はこれらの生物学的効果を同様の作用機構によってもしくは無関係の作用機構によって発揮し得る、または第1の治療と第2の治療の一方もしくは両方がこれらの生物学的効果を多数の作用機構によって発揮し得る。

20

【0285】

本明細書に記載の医薬組成物は、記載されている実施形態のそれぞれについて第1の治療と第2の治療を同じ薬学的に許容される担体中に、または異なる薬学的に許容される担体中に有してもよいことが理解されるべきである。第1の治療および第2の治療は、記載されている実施形態の範囲内で同時にまたは逐次的に投与され得ることがさらに理解されるべきである。

【0286】

本発明の1つまたは複数の抗TGF-抗体またはその抗原結合性部分は、追加的な治療剤の1つまたは複数と組み合わせて使用され得る。本発明の抗TGF-抗体と共に使用され得る追加的な治療剤の例は、これらに限定されないが、ミオスタチン阻害剤、VEGFアゴニスト、IGF1アゴニスト、FXRアゴニスト、CCR2阻害剤、CCR5阻害剤、二重CCR2/CCR5阻害剤、リシリオキシダーゼ様-2阻害剤、ASK1阻害剤、アセチル-CO-Aカルボキシラーゼ(ACC)阻害剤、p38キナーゼ阻害剤、ピルフェニドン、ニンテダニブ、GDF11阻害剤などを含む。

30

【0287】

いくつかの実施形態では、追加的な薬剤は、チェックポイント阻害剤である。いくつかの実施形態では、追加的な薬剤は、PD-1アンタゴニスト、PD-L1アンタゴニスト、PD-L1またはPD-L2融合タンパク質、CTLA4アンタゴニスト、GITRアゴニスト、抗ICOS抗体、抗ICOSL抗体、抗B7H3抗体、抗B7H4抗体、抗TIM3抗体、抗LAG3抗体、抗OX40抗体、抗CD27抗体、抗CD70抗体、抗CD47抗体、抗41BB抗体、抗PD-1抗体、腫瘍溶解性ウイルス、およびPARP阻害剤からなる群より選択される。いくつかの実施形態では、追加的な治療は、放射線である。いくつかの実施形態では、追加的な薬剤は化学療法剤である。いくつかの実施形態では、化学療法剤はタキソールである。いくつかの実施形態では、追加的な薬剤は抗炎症剤である。いくつかの実施形態では、追加的な薬剤は、単球／マクロファージ動員および／または組織浸潤のプロセスを阻害する。いくつかの実施形態では、追加的な薬剤は、肝星細胞活性化の阻害剤である。いくつかの実施形態では、追加的な薬剤は、ケモカイン受容体アンタゴニスト、例えば、CCR2アンタゴニストおよびCCR5アンタゴニストである。

40

50

いくつかの実施形態では、そのようなケモカイン受容体アンタゴニストは、CCR2/CCR5アンタゴニストなどの二重特異性アンタゴニストである。いくつかの実施形態では、併用療法として投与される追加的な薬剤は、増殖因子のTGFスーパーファミリーのメンバーまたはその制御因子であるまたはそれを含む。いくつかの実施形態では、そのような薬剤は、GDF8/ミオスタチンおよびGDF11のモジュレーター（例えば、阻害剤および活性化因子）から選択される。いくつかの実施形態では、そのような薬剤は、GDF8/ミオスタチンシグナル伝達の阻害剤である。いくつかの実施形態では、そのような薬剤は、プロ/潜在型ミオスタチン複合体に特異的に結合し、ミオスタチンの活性化を遮断するモノクローナル抗体である。いくつかの実施形態では、プロ/潜在型ミオスタチン複合体に特異的に結合し、ミオスタチンの活性化を遮断するモノクローナル抗体は、遊離の成熟ミオスタチンには結合しない。

10

【0288】

そのような併用療法では、投与される治療剤をより少ない投薬量で有利に利用し、したがって、種々の単独療法に関連する可能性のある毒性または合併症を回避することができる。

【0289】

TGF活性の調節

本開示の方法は、1つまたは複数の生物系において増殖因子活性を調節する方法を含む。そのような方法は、1つまたは複数の生物系を本開示の抗体および/または組成物に接触させることを含み得る。一部の場合では、これらの方法は、生物系における（例えば、細胞ニッチまたは被験体における）遊離の増殖因子のレベルを調節するステップを含む。そのような方法による抗体および/または組成物は、これらに限定されないが、本明細書に記載の組換えタンパク質、タンパク質複合体および/または抗体もしくはその抗原結合性部分を含めた生体分子を含んでよいが、これらに限定されない。

20

【0290】

いくつかの実施形態では、本開示の方法は、本明細書では「阻害方法」と称される、増殖因子活性の低減または排除に使用され得る。そのような方法のいくつかは、TGF複合体における成熟増殖因子の保持（例えば、GARP、LTBP1、LTBP3および/またはLRRC33と複合体を形成したTGF1）および/または増殖因子のTGF複合体への再会合の促進を含み得る。一部の場合では、阻害方法は、GARP-TGF1複合体、LTBP1-TGF1複合体、LTBP3-TGF1複合体、および/またはLRRC33-TGF1複合体に特異的に結合する抗体の使用を含み得る。いくつかの阻害方法によると、1つまたは複数の阻害抗体が提供される。

30

【0291】

いくつかの実施形態では、本開示の抗体、その抗原結合性部分、および組成物は、TGF1活性化を阻害するために使用され得る。いくつかの実施形態では、TGF1活性化を阻害するための方法であって、GARP-TGF1複合体、LTBP1-TGF1複合体、LTBP3-TGF1複合体、および/またはLRRC33-TGF1複合体を本明細書に記載の抗体、その抗原結合性部分、または医薬組成物に曝露させるステップを含む方法が本明細書で提供される。いくつかの実施形態では、抗体、その抗原結合性部分、または医薬組成物が、GARP-TGF1複合体、LTBP1-TGF1複合体、LTBP3-TGF1複合体、および/またはLRRC33-TGF1複合体からの成熟TGF1の放出を阻害する。いくつかの実施形態では、方法はin vitroで実施される。いくつかの実施形態では、方法はin vivoで実施される。いくつかの実施形態では、方法はex vivoで実施される。

40

【0292】

いくつかの実施形態では、GARP-TGF1複合体、LTBP1-TGF1複合体、LTBP3-TGF1複合体、またはLRRC33-TGF1複合体は、細胞の外表面に存在する。いくつかの実施形態では、細胞は、T細胞、線維芽細胞、マクロファージ、単球、またはミクログリアである。

50

【0293】

いくつかの実施形態では、L R R C 3 3 - T G F 1 複合体は、線維化促進性 (M 2 様) マクロファージの外表面に存在する。いくつかの実施形態では、線維化促進性 (M 2 様) マクロファージは線維化微小環境に存在する。いくつかの実施形態では、線維化促進性 (M 2 様) マクロファージの外表面の L R R C 3 3 - T G F 1 複合体を標的化することにより、L T B P 1 - T G F 1 および / または L T B P 1 - T G F 1 複合体を単に標的化することと比較して優れた効果がもたらされる。

【0294】

いくつかの実施形態では、G A R P - T G F 1 複合体、L T B P 1 - T G F 1 複合体、L T B P 3 - T G F 1 複合体、および / または L R R C 3 3 - T G F 1 複合体は、細胞外マトリクスに結合している。いくつかの実施形態では、細胞外マトリクスは、フィブリリンを含む。いくつかの実施形態では、細胞外マトリクスは、R G D モチーフを含むタンパク質を含む。

10

【0295】

いくつかの実施形態では、被験体における T G F 1 タンパク質活性化を低減させるための方法であって、本明細書に記載の抗体、その抗原結合性部分、または医薬組成物を被験体に投与し、それにより、被験体における T G F 1 タンパク質活性化を低減させることを含む方法が本明細書で提供される。いくつかの実施形態では、被験体は、線維症を有するかまたは有するリスクがある。いくつかの実施形態では、被験体は、がんを有するかまたは有するリスクがある。いくつかの実施形態では、被験体は、認知症を有するかまたは有するリスクがある。

20

【0296】

いくつかの実施形態では、本明細書に記載の抗体、またはその抗原結合性部分により、制御性 T 細胞 (T reg) の抑制活性が低減する。

【0297】

T G F 関連適応症に関連する疾患 / 障害の緩和に使用するためのキット

本開示は、T G F 関連適応症に関連する疾患 / 障害の緩和に使用するためのキットも提供する。そのようなキットは、G A R P - T G F 1 複合体、L T B P 1 - T G F 1 複合体、L T B P 3 - T G F 1 複合体、および / または L R R C 3 3 - T G F 1 複合体に特異的に結合する抗体またはその抗原結合性部分、例えば、本明細書に記載のもののいずれかを含む 1 つまたは複数の容器を含んでよい。

30

【0298】

いくつかの実施形態では、キットは、本明細書に記載の方法のいずれかによる使用のための指示を含んでよい。含まれる指示は、本明細書に記載の標的疾患を処置する、発病を遅延させるまたは緩和するための G A R P - T G F 1 複合体、L T B P 1 - T G F 1 複合体、L T B P 3 - T G F 1 複合体、および / または L R R C 3 3 - T G F 1 複合体に特異的に結合する抗体またはその抗原結合性部分の投与の記載を含み得る。キットは、個体が標的疾患を有するかどうかを同定することに基づいて処置に好適な個体を選択する記載をさらに含み得る。さらに他の実施形態では、指示は、標的疾患のリスクがある個体に抗体またはその抗原結合性部分を投与する記載を含む。

40

【0299】

G A R P - T G F 1 複合体、L T B P 1 - T G F 1 複合体、L T B P 3 - T G F 1 複合体、および / または L R R C 3 3 - T G F 1 複合体に特異的に結合する抗体またはその抗原結合性部分の使用に関する指示は、一般に意図される処置のための投薬量、投与スケジュールおよび投与の経路についての情報を含む。容器は、単位用量、バルクパッケージ (例えば、複数用量パッケージ) または部分単位用量であってよい。本開示のキット中に供給される指示は、典型的にはラベルまたはパッケージ挿入物 (例えばキットに含まれる紙のシート) 上の書面での指示であるが、機械で読み出し可能な指示 (例えば磁気または光学保存ディスク上に書き込まれた指示) も許容される。

【0300】

50

ラベルまたはパッケージ挿入物は組成物が TGF に関連適応症に関連する疾患または障害を処置する、発病を遅らせるおよび / または緩和するために使用されることを示す。指示は、本明細書に記載の方法のいずれかを実施するために提供されてよい。

【0301】

本開示のキットは、好適なパッケージ中にある。好適なパッケージは、これらに限定されないが、バイアル、瓶、ジャー、可撓性パッケージ（例えばシールされたマイラーまたはプラスチックバッグ）などを含む。吸入器、鼻投与デバイス（例えばアトマイザー）またはミニポンプなどの注入デバイスなどの特定のデバイスとの組み合わせでの使用のためのパッケージも検討される。キットは、無菌アクセスポートを有してよい（例えば容器は皮下注射針によって貫通できるストッパーを有する静脈内用溶液バッグまたはバイアルであってよい）。容器も無菌アクセスポートを有してよい（例えば容器は皮下注射針によって貫通できるストッパーを有する静脈内用溶液バッグまたはバイアルであってよい）。組成物中の少なくとも 1 つの活性剤は、本明細書に記載の GARP-TGF 1 複合体、LTBP1-TGF 1 複合体、LTBP3-TGF 1 複合体、および / または LRR C33-TGF 1 複合体に特異的に結合する抗体またはその抗原結合性部分である。

10

【0302】

任意選択でキットは、緩衝剤および解釈の情報などの追加的構成成分を提供できる。通常キットは、容器および、容器上にまたは容器に付随してラベルまたはパッケージ挿入物（複数可）を含む。いくつかの実施形態では本開示は、上に記載のキットの内容物を含む製造品を提供する。

20

【0303】

GARP-TGF 1 複合体、LTBP1-TGF 1 複合体、LTBP3-TGF 1 複合体、および / または LRR C33-TGF 1 複合体を検出するためのアッセイ

いくつかの実施形態では、本明細書で提供される方法および組成物は、被験体から得られた試料中の GARP-TGF 1 複合体、LTBP1-TGF 1 複合体、LTBP3-TGF 1 複合体、および / または LRR C33-TGF 1 複合体を検出するための方法に関する。本明細書で使用される場合、「被験体」は、個々の生物、例えば、個々の哺乳動物を指す。いくつかの実施形態では、被験体はヒトである。いくつかの実施形態では、被験体は非ヒト哺乳動物である。いくつかの実施形態では、被験体は非ヒト霊長類である。いくつかの実施形態では、被験体はげっ歯類である。いくつかの実施形態では、被験体はヒツジ、ヤギ、ウシ、家禽、ネコ、またはイヌである。いくつかの実施形態では、被験体は、脊椎動物、両生類、爬虫類、魚類、昆虫、ハエまたは線虫である。いくつかの実施形態では、被験体は実験動物である。いくつかの実施形態では、被験体は遺伝子操作されており、例えば遺伝子操作された非ヒト被験体である。被験体は、いずれの性で任意の発達段階にあってよい。いくつかの実施形態では、被験体は患者または健康なボランティアである。

30

【0304】

いくつかの実施形態では、被験体から得られた試料中の GARP-TGF 1 複合体、LTBP1-TGF 1 複合体、LTBP3-TGF 1 複合体、および / または LRR C33-TGF 1 複合体を検出するための方法は、(a) 抗原が試料中に存在する場合、抗体の抗原への結合に好適な条件下で試料を GARP-TGF 1 複合体、LTBP1-TGF 1 複合体、LTBP3-TGF 1 複合体、および / または LRR C33-TGF 1 複合体に特異的に結合する抗体と接触させ、それにより結合複合体を形成するステップ、および (b) 抗原に結合した抗体のレベルを決定するステップ（例えば結合複合体のレベルを決定するステップ）を含む。

40

【0305】

一実施形態では、係留を提供することによって潜在型 TGF のインテグリンによる活性化を可能にする、表面上に固定化されたビオチン化潜在型 TGF 1 複合体を利用するスクリーニングアッセイ。他に、非インテグリン活性化因子をその系において試験することもできる。読み出しあは、レポーター細胞または他の TGF 依存性の細胞応答を通じた

50

ものであってよい。

【0306】

TGF 活性化を測定するための細胞に基づくアッセイ

TGF の活性化（および、抗体などのTGF 試験阻害剤によるその阻害）は当技術分野で公知の任意の好適な方法によって測定され得る。例えば、TGF のインテグリン媒介性活性化を本明細書により詳細に記載されている「CAGA12」ルシフェラーゼアッセイなどの細胞に基づくアッセイにおいて利用することができる。そのようなアッセイの例示的な実施形態を例示目的で図11Cに示す。示されている通り、そのようなアッセイ系は、以下の構成成分：i) TGF の供給源（組換え、内在性またはトランスフェクトされたもの）；ii) インテグリンの供給源（組換え、内在性またはトランスフェクトされたもの）；およびiii) TGF に応答し、シグナルを読み取り可能な出力（例えば、CAGA12細胞または他のレポーター細胞株におけるルシフェラーゼ活性）に変えることができるTGF 受容体を発現する細胞などの、TGF 活性化に応答するレポーター系を含み得る。いくつかの実施形態では、レポーター細胞株は、TGF 応答性プロモーター（例えば、PAI-1プロモーター）の制御下にあるレポーター遺伝子（例えば、ルシフェラーゼ遺伝子）を含む。いくつかの実施形態では、感度を付与するある特定のプロモーターエレメントをレポーター系に組み入れることができる。いくつかの実施形態では、そのようなプロモーターエレメントはCAGA12エレメントである。アッセイに使用することができるレポーター細胞株は、例えば、参照により本明細書に組み込まれるAbeら（1994年）Anal Biochem.、216巻（2号）：276～84頁に記載されている。いくつかの実施形態では、上述のアッセイの構成成分のそれぞれは同じ供給源（例えば、同じ細胞）から提供される。いくつかの実施形態では、上述のアッセイの構成成分のうちの2つが同じ供給源から提供され、第3のアッセイの構成成分は異なる供給源から供給される。いくつかの実施形態では、3つのアッセイの構成成分は全て異なる供給源から供給される。例えば、いくつかの実施形態では、インテグリンと潜在型TGF 複合体（プロTGF および提示分子）は、同じ供給源（例えば、同じトランスフェクトされた細胞株）からアッセイのために提供される。いくつかの実施形態では、インテグリンとTGF は、別々の供給源（例えば、2つの異なる細胞株、精製されたインテグリンとトランスフェクトされた細胞の組み合わせ）からアッセイのために提供される。細胞がアッセイの構成成分の1つまたは複数の供給源として使用される場合、そのようなアッセイの構成成分は、細胞に対して内在性のもの、細胞において安定に発現するもの、一過性にトランスフェクトされたもの、またはこれらの任意の組み合わせであってよい。本明細書に開示されている抗体Ab1およびAb2を使用したGARP-プロTGF 1複合体またはLRR C33-プロTGF 1複合体のいずれかの阻害が実証されたTGF 活性化を測定するための細胞に基づくアッセイの非限定的な例示的な実施形態からの結果をそれぞれ図22Aおよび図22Bに示す。この例示的なアッセイでは、GARP-TGF 1複合体に対するAb1のIC50（μg/mL）は0.445であり、およびLRR C33-TGF 1複合体に対するAb1のIC50（μg/mL）は1.325であった。

【0307】

当業者は、そのようなアッセイを種々の好適な構成に容易に適合させることができる。例えば、TGF の種々の供給源を検討することができる。いくつかの実施形態では、TGF の供給源は、TGF が発現し、それが沈着する細胞（例えば、初代細胞、繁殖細胞、不死化細胞または細胞株など）である。いくつかの実施形態では、好適な手段を使用したアッセイ系においてTGF の供給源が精製され、かつ/または組換えTGF が固定化される。いくつかの実施形態では、アッセイ系において固定化されたTGF は、アッセイプレート上の細胞外マトリクス（ECM）組成物中に、脱細胞化（de-cellularization）を伴ってまたは伴わずに存在し、線維芽細胞起源のTGF を模倣する。いくつかの実施形態では、TGF は、アッセイに使用される細胞の細胞表面上に存在する。さらに、好適な潜在型TGF 複合体を提供するために、選択された提示

10

20

30

40

50

分子をアッセイ系に含めることができる。当業者は、どの提示分子（複数可）がある特定の細胞または細胞型において存在し得るまたは発現され得るかを容易に決定することができる。そのようなアッセイ系を使用して、試験薬剤（例えば抗体など）の存在下または非存在下でのTGF活性化の相対的变化を容易に測定して、in vitroにおける試験薬剤のTGF活性化に対する効果を評価することができる。例示的な細胞に基づくアッセイからのデータを下の実施例の節に提示する。

【0308】

10 そのような細胞に基づくアッセイは、試験されるTGFアイソフォーム、潜在型複合体の型（例えば、提示分子）などに応じて、いくつものやり方で改変または調整され得る。いくつかの実施形態では、TGFを活性化することができるインテグリンを発現することが分かっている細胞をアッセイにおけるインテグリンの供給源として使用することができる。そのような細胞は、SW480/6細胞（例えば、クローン1E7）を含む。いくつかの実施形態では、インテグリン発現細胞に、目的の提示分子（例えばGARP、LRRC33、LTBP（例えば、LTBP1またはLTBP3）など）をコードするプラスミドと目的のTGFアイソフォームのプロ形態（例えばプロTGF1など）をコードするプラスミドを同時トランスフェクトすることができる。トランスフェクション後、細胞を、トランスフェクトされた遺伝子の発現が可能になるのに十分な時間にわたって（例えば、約24時間）インキュベートし、細胞を洗浄し、試験薬剤（例えば、抗体）の段階希釈物と一緒にインキュベートする。次いで、レポーター細胞株（例えば、CAGA12細胞）をアッセイ系に添加し、その後、適切な時間インキュベートしてTGFシグナル伝達を可能にする。試験薬剤を添加した後のインキュベーション期間（例えば、約18～20時間）後、シグナル／読み出し（例えば、ルシフェラーゼ活性）を好適な手段を使用して検出する（例えば、ルシフェラーゼを発現するレポーター細胞株に関しては、Bright-Glo試薬（Promega）を使用することができる）。いくつかの実施形態では、ルシフェラーゼ蛍光は、Bioteck（Synergy H1）プレートリーダーをオートゲイン設定で使用して検出され得る。

20

20

【0309】

核酸

いくつかの実施形態では、本開示の抗体、その抗原結合性部分、および／または組成物は、核酸分子によりコードされ得る。そのような核酸分子は、限定することなく、DNA分子、RNA分子、ポリヌクレオチド、オリゴヌクレオチド、mRNA分子、ベクター、プラスミドなどを含む。いくつかの実施形態では、本開示は、本開示の化合物および／または組成物をコードする核酸分子を発現するようにプログラミングまたは生成された細胞を含み得る。一部の場合では、本開示の核酸は、コドン最適化された核酸を含む。コドン最適化された核酸を生成する方法は当技術分野で公知であり、これらに限定されないが、それぞれの内容全体が参照により本明細書に組み込まれる米国特許第5,786,464号および同第6,114,148号に記載されているものを含み得る。

30

【0310】

本発明は、いかなる形でも限定されるものではない以下の実施例によってさらに例示される。本出願全体を通して引用されている全ての参考文献、特許および公開特許出願の全内容、ならびに図面は、これにより参照により本明細書に組み込まれる。

40

【実施例】

【0311】

（実施例1：TGF1の阻害）

TGFスーパーファミリーは、活性増殖因子と複合体を形成したプロペプチドを含む（図1）。複合体を安定化する抗体を得て、その結果、より選択的かつ強力な阻害をもたらすための選択戦略を開発した。

【0312】

HEK293に基づく発現系を使用して、NiNTA親和性およびゲル滌過を実施して数ミリグラム量の精製タンパク質を得て、それを使用して、LTBPと複合体を形成した

50

T G F 1 (L T B P - T G F 1 複合体) および G A R P と複合体を形成した T G F 1 (G A R P - T G F 1 複合体) を生成した (図 3) 。製造されるタンパク質の多様性により、種交差反応性の試験およびエピトープマッピングが可能になった。 s G A R P - プロ T G F 複合体 (図 4 A および 4 B) 、 s G A R P - T G F L A P 複合体 (図 5) 、および L T B P 1 - プロ T G F 1 複合体 (図 6) の精製が示されている。

【 0 3 1 3 】

候補抗体を、 *in vitro* 発光アッセイを使用して試験した (図 8) 。スクリーニングにおいて、増殖因子の放出を阻害した抗体は、正常な活性化の刺激に直面するとレポーター細胞を「オフ」にした。 A b 1 および A b 2 は、潜在型 T G F 1 複合体の活性化の阻害剤であり (図 7) 、マウスに対して交差反応性であることが示された。

10

【 0 3 1 4 】

ヒト T G F 1 を発現する細胞における A b 1 の最初の用量反応分析曲線により T G F 1 活性阻害が示された (図 8) 。より感度の高い C A G A 1 2 レポーター細胞株を使用して、 A b 1 は、同様のヒトプロ T G F 1 活性の阻害を示した (図 9) 。さらに、 G A R P 複合体の阻害により、健康なドナーの血液から単離された T 細胞における分裂しているエフェクター T 細胞 (T e f f) のパーセントによって測定される制御性 T 細胞 (T r e g) の抑制活性が遮断されることが示された (図 10) 。

【 0 3 1 5 】

G A R P - プロ T G F 1 阻害剤の親和性をヒト G A R P - プロ T G F 1 細胞に対する O c t e t アッセイによって測定し、一方、活性を、ヒト G A R P - プロ T G F 1 阻害を試験する C A G A 1 2 レポーター細胞によって測定した。抗体 A b 1 および A b 2 の本明細書で提供される複合体に対する親和性を測定するために使用したプロトコールを表 6 に要約する。結果を表 7 に示す。

20

【表 6 - 1】

表 6: Octet 結合アッセイを実施するためのプロトコール

材料:	
<ul style="list-style-type: none"> - 96 ウェル黒色ポリプロピレンプレート - ストレプトアビシンでコーティングした Octet 用チップ - 10×動態緩衝液(PBS 中 1:10 に希釈したもの) 	
1. 必要量のストレプトアビシンチップを 1×動態緩衝液中に浸す; 機械に入れて平衡化する	10
2. 試料プレートのロード:	
<ul style="list-style-type: none"> - 各ウェルに緩衝液または抗体希釈物 200 μl <ul style="list-style-type: none"> a. カラム 1 - ベースライン(緩衝液) b. カラム 2 - ビオチン化タンパク質(例えば、sGARP-プロ TGF β 1 または LTBP1-プロ TGF β 1); 5 μg/mL に希釈したもの c. カラム 3 - ベースライン 2(緩衝液) d. カラム 4 - Ab1 についての抗体の会合 e. カラム 5 - Ab2 についての抗体の会合 f. カラム 6 - 解離 Ab1 (緩衝液) g. カラム 7 - 解離 Ab2 (緩衝液) 	20
3. 96 ウェルプレート中に希釈を行う:	
<ul style="list-style-type: none"> a. A 列で両方の抗体を 1×緩衝液 300 μl 中 50 μg/mL に希釈する。 b. 緩衝液 200 μl を各カラムの残りに添加する c. カラムから 100 μl を移して 3 倍希釈を行う 	
4. 試料プレートを機械内のチッププレートの隣に置く	
5. ソフトウェアをセットアップする	30
<ul style="list-style-type: none"> a. 緩衝液、ロード、試料を指示する(試験抗体当たり 1 アッセイ) b. 設定した時間量に対するプロトコールのステップを指示する(ベースライン、ロード、会合、解離): <ul style="list-style-type: none"> • ベースライン: 60 秒 • ローディング: 300 秒 • ベースライン 2: 60 秒 • 会合: 300 秒 • 解離: 600 秒 	
6. データを解析する	40
<ul style="list-style-type: none"> a. 参照ウェルからベースラインを引く b. 正規化をベースラインの最後の 5 秒に設定する c. 解離に対してアラインメントする d. 会合および解離に関して分析する(1:1 結合モデル、曲線をフィット) e. 最良の R^2 値を決定する; 最良の R^2 値を伴う濃度を含める 	

【表 6 - 2】

- f. 全体的なフィットを選択する
- g. センサーの型によって試料の色を設定する
- h. 分析する
- i. 表を保存し、エクスポートする

【表 7】

表 7: GARP-プロ TGF β 1 阻害剤の親和性および活性

クローン	GARP-プロ TGF β 1 に対する親和性(nM \pm SEM)	GARP-プロ TGF β 1 の阻害(IC50)(nM; 95% CI)	最大効果(%阻害)
Ab1	0.046 \pm 0.043	3.4 (2.1-5.4)	75%
Ab2	0.561 \pm 0.014	3.9 (1.5-10.3)	50%

【0316】

クローンを、結合選択性（表 8）および種交差反応性（表 9）についてさらにスクリーニングした。Ab1 および Ab2 は、TGF β 1、TGF β 2、または TGF β 3 には結合しなかったが、プロ TGF β 1 複合体には結合し、また、種交差反応性を示した。

【表 8】

表 8: GARP-プロ TGF β 1 阻害剤の選択性

クローン	GARP-プロ TGF β 1	LTBP1-プロ TGF β 1	LTBP3-プロ TGF β 1
Ab1	+++	+++	+++
Ab2	+++	+++	+++

【表 9】

表 9: GARP-プロ TGF β 1 阻害剤の種交差反応性

クローン	huGARP-プロ TGF β 1	muGARP-プロ TGF β 1	cyGARP-プロ TGF β 1
Ab1	+++	++	+++
Ab2	+++	+++	+++

+++ KD < 1 nM,

++ KD 1 – 10 nM

+ KD 10 – 100 nM

- 結合なし

【0317】

（実施例 2：Ab1 および Ab2 は、複数の種に由来するプロ TGF β 1 複合体に特異的に結合する）

Ab1 および Ab2 が複数の種に由来するプロ TGF β 1 複合体に特異的に結合することができるかどうかを決定するために、表 6 に記載されている通り Octet 結合アッセイを実施した。表 10（以下）に示されている通り、どちらの抗体も（すなわち、Ab1 も Ab2 も）ヒト LTBP1 - プロ TGF β 1 複合体およびマウス LTBP1 - プロ TGF β 1 複合体、ヒト LTBP3 - プロ TGF β 1 複合体、ならびにヒト GARP - プロ TGF β 1 複合体に特異的に結合した。しかし、ラット LTBP1 - プロ TGF β 1 複合体には Ab2 のみが特異的に結合した。

10

20

30

40

50

【表10】

表10.複数の種に由来するプロTGF β 1複合体に対するAb1およびAb2の親和性

	Ab1 (K _D)	Ab2 (K _D)
ヒト LTBP1-プロ TGF β 1	16±1.3	5.8±0.6
ヒト LTBP3-プロ TGF β 1	85±5.0	122±3.9
マウス LTBP1-プロ TGF β 1	203±13	61±4.0
ラット LTBP1-プロ TGF β 1	結合は検出されず	38±6.8
ヒト GARP-プロ TGF β 1	293±22	58±6.2

10

【0318】

(実施例3: Ab1およびAb2は、ヒト線維芽細胞およびマウス線維芽細胞において内在性TGF-1を阻害する)

Ab1およびAb2が異なる起源の培養された初代線維芽細胞から分泌される内在性TGF-1を阻害することができるかどうかを決定するために、分泌されるTGF-1の活性を、CAGA12合成プロモーターと融合したルシフェラーゼレポーター遺伝子を含む核酸で安定にトランスフェクトし、Ab1またはAb2のいずれかで処理した線維芽細胞と共に培養したミンク肺上皮細胞から生じるルシフェラーゼレベルを測定することによって決定する定量的in vitroアッセイを実施した。図11Aおよび11Bに示されている通り、Ab1およびAb2のどちらによっても、正常なヒト皮膚線維芽細胞、マウスC57BL/6J肺線維芽細胞、およびDBA2/J筋線維芽細胞から分泌される内在性TGF-1が阻害された。各抗体を用いて観察される最大阻害の差異は細胞株特異的であった。

20

【0319】

(実施例4: Ab2はLRRRC33-プロTGF-1に結合する)

Ab1およびAb2がLRRRC33と複合体を形成したプロTGF-1に結合するかどうかを決定するために、Octet結合アッセイを実施した。図12Aおよび12Bに示されている通り、Ab1およびAb2はどちらもLRRRC33-プロTGF-1タンパク質複合体に結合することができる。しかし、Ab1は、LRRRC33-プロTGF-1タンパク質複合体への結合に関して遅い会合速度(on-rate)を示す。Ab1およびAb2のLRRRC33-プロTGF-1タンパク質複合体への結合を、ELISAを使用してさらに確認した。

30

【0320】

(実施例5: Ab1およびAb2により、GARP-プロTGF-1およびLRRRC33-プロTGF-1のどちらの活性も阻害される)

Ab1およびAb2によりGARP-プロTGF-1および/またはLRRRC33-プロTGF-1活性が阻害されるかどうかを決定するために、in vitro細胞に基づくアッセイを実施した。このアッセイ系では、6インテグリンで安定にトランスフェクトされた、操作されたヒト結腸がん細胞株(SW480/6細胞)を、プロTGF-1を発現させるための構築物および提示分子(すなわち、GARPまたはLRRRC33)を発現させるための構築物で同時トランスフェクトした。提示分子を発現させるために、キメラLRRRC33-GARP(配列番号85)またはGARPをコードする構築物を使用した。トランスフェクトされた細胞を、構成成分(インテグリンおよびそれぞれの提示分子と複合体を形成したプロTGF-1)の十分な発現および沈着が可能になるようにインキュベートした。Ab1またはAb2の存在下または非存在下でのTGF-1の活性化を、下流のシグナルトランズダクション経路とカップリングしたTGF受容体を発現するレポーター細胞(CAGA12細胞)を使用してアッセイして抗体の阻害活性を測定した。図13Aおよび13Bに示されている通り、Ab1およびAb2により、GAR

40

50

P - プロ T G F - 1 および L R R C 3 3 - プロ T G F - 1 がどちらも阻害された。

【 0 3 2 1 】

追加的な細胞に基づくアッセイを実施して、抗体 Ab 1 および Ab 2 を使用する G A R P - プロ T G F - 1 複合体または L R R C 3 3 - プロ T G F - 1 複合体のいずれかの阻害を検出した。図 2 2 A および図 2 2 B に示されている通り、Ab 1 および Ab 2 により、G A R P - プロ T G F - 1 および L R R C 3 3 - プロ T G F - 1 がどちらも阻害された。このアッセイでは、G A R P - T G F - 1 複合体に対する Ab 1 の I C 5 0 (μ g / mL) は 0 . 4 4 5 であり、L R R C 3 3 - T G F - 1 複合体に対する Ab 1 の I C 5 0 (μ g / mL) は 1 . 3 2 5 であった。

【 0 3 2 2 】

(実施例 6 : 片側尿管閉塞 (U U O) マウスモデルにおける腎臓バイオマーク - カー および 線維症に対する Ab 2 の効果)

片側尿管閉塞マウスモデルは、末期腎疾患に至る可能性がある一般的な病理学的プロセスである間質性線維症を試験するために広く使用されている (Isakar (2008 年) Contrib. Nephrol. 159 卷 : 109 ~ 21 頁、および Chevalier (1999 年) Pediatr. Nephrol. 13 卷 : 612 ~ 9 頁を参照されたい) 。 U U O マウスは、最小の糸球体病変を伴う、腎臓の筋線維芽細胞活性化、尿細管萎縮および間質性線維症を特徴とする (Lian (2011 年) Acta Pharmacol. Sin. 32 卷 : 1513 ~ 21 頁を参照されたい) 。 T G F - 1 の発現の増大は、U U O マウスにおいて観察される表現型において役割を果たすと考えられる。U U O マウスモデルにおける間質性線維症の症状 (presentation) に対する Ab 2 の効果を評価するために、以下の実験を実施した。

【 0 3 2 3 】

簡単に述べると、マウス (n = 10) を 4 群にした 7 ~ 8 週齢の雄 C D - 1 マウス (Charles River Laboratories) に、Ab 2 (3 mg / kg または 30 mg / kg ; 投与体積 10 mL / kg) 、マウス Ig G 1 対照抗体 (30 mg / kg ; 投与体積 10 mL / kg) 、またはビヒクル対照として PBS のいずれかを腹腔内 (i . p .) 投与した後、外科的介入を行った。処置を、外科手術の 1 日前 (d - 1) 、外科手術の 1 日後 (d 1) 、および外科手術の 3 日後 (d 3) に施行した。0 日目 (d 0) に、マウスをノーズコーンを用いてイソフルラン麻酔により麻酔し、開腹術を実施し、その後、恒久的右片側性 U U O 手術を行った。追加的な対照群のマウス (n = 8) に PBS を上記の通り投与したが、偽外科手術 (すなわち、尿管の閉塞を伴わない) のみを行った。外科手技の完了直後に、全てのマウスが 0 . 0 0 1 mg / kg のブプレノルフィンの皮下注射を 1 回受けた。マウスを外科手術の 5 日後に屠殺し、分析のために組織を回収した。回収後、両側の腎臓を氷冷の 0 . 9 % N a C l 中に入れ、脱被包化 (de - encapsulate) し、秤量した。腎組織のコラーゲン含有量を評価するためのヒドロキシプロリンレベルを評価した。図 1 4 に示されている通り、組織線維症およびコラーゲン沈着のマーカーである腎臓ヒドロキシプロリンレベルは、外科的介入を受けたマウスにおいて偽外科手術を受けたマウスと比較して有意に上昇した。

【 0 3 2 4 】

各右側腎臓の中央横断切片を 10 % 中性緩衝ホルマリン中に 48 時間にわたって浸漬固定し、次いで、それを組織学的処理および分析のために 70 % エタノールに移した。固定された腎臓切片をパラフィン包埋し、切片作製し (より大きく試料採取し、腎臓損傷を表すことを可能にするために、動物の腎臓当たり 3 つの、 200 ~ 250 μ m 離して取得した 5 μ m の連続切片) 、ピクロシリウスレッドで染色し、カラースペクトル分割を使用した定量的組織学的分析に供して、皮質コラーゲン体積の割合 (C V F) を決定した。3 つの連続切片それぞれの C V F スコアの平均を決定することによって各動物について 1 つの複合 C V F スコアを算出した。片側 t 検定を使用して統計解析を実施した。図 1 6 に示されている通り、 C V F によって決定される腎臓皮質線維症は、U U O 閉塞腎臓において対照偽処置マウスと比較して増加した。3 mg / kg または 30 mg / kg の Ab 2 を受け

10

20

30

40

50

たマウスでは、ビヒクリル対照 (P B S) または I g G 対照のいずれかを受けたマウスと比較して C V F の U U O 誘導性増大の有意な減弱が示された。

【 0 3 2 5 】

回収された腎組織におけるプラスミノーゲン活性化因子阻害因子 - 1 (P A I - 1)、結合組織増殖因子 (C T G F)、T G F - 1、フィプロネクチン - 1、- 平滑筋アクチン (- S M A)、単球走化性タンパク質 1 (M C P - 1)、I 型コラーゲンアルファ 1 (C o l 1 a 1)、および I I I 型コラーゲンアルファ 1 鎖 (C o l 3 a 1) の相対的な mRNA 発現レベルを決定した (図 15 A - 15 H)。mRNA レベルを、ハウスキーピング遺伝子ヒポキサンチンホスホリボシリルトランスフェラーゼ 1 (H P R T 1) mRNA レベルを使用して正規化した。さらに、外科的介入の前に 3 mg / kg または 30 mg / kg のいずれかの A b 2 を受けたマウスでは、P A I - 1、C T G F、T G F - 1、フィプロネクチン 1、C o l 1 a 1、および C o l 3 a 1 の mRNA レベルが 30 mg / kg の I g G 1 対照を受けたマウスと比較して有意に低下した。外科的介入前に 3 mg / kg の A b 2 を受けたマウスでは、- S M A の mRNA レベルが 30 mg / kg の I g G 1 対照を受けたマウスと比較して有意に低下した。さらに、外科的介入前に 30 mg / kg の A b 2 を受けたマウスでは、M C P - 1 の mRNA レベルが 30 mg / kg の I g G 1 対照を受けたマウスと比較して有意に低下した。

10

【 0 3 2 6 】

要約すると、U U O マウスモデルでは、A b 2 で処置したマウスにおいて、ヒドロキシプロリンレベルを例外として、有意な効果が観察された。図 15 A ~ 15 H および 16 に示されている通り、A b 2 による処置により、C V F の U U O 誘導性増大が有意に減弱し、また、P A I - 1、C T G F、T G F - 1、フィプロネクチン 1、C o l 1 a 1、および C o l 3 a 1 などの公知の線維症マーカーの遺伝子発現が有意に低下した。これらのデータから、T G F - 1 が腎疾患において役割を果たす T G F の主要な形態であること、ならびに、驚いたことに、T G F - 2 および T G F - 3 は病因に関与しない可能性があることが実証される。

20

【 0 3 2 7 】

(実施例 7 : A b 1 および A b 2 の単独でまたは抗 P D - 1 抗体との組み合わせでの M C 3 8 マウス結腸癌同系マウスモデルにおける腫瘍の進行に対する効果)

A b 1 および A b 2 の、単独でまたは抗 P D - 1 抗体との組み合わせでの、結腸癌腫瘍の進行の低下に対する効果を評価するために、M C 3 8 マウス結腸癌 C 5 7 B L / 6 マウス同系モデルを使用した。

30

【 0 3 2 8 】

腫瘍細胞培養

M C 3 8 マウス結腸癌細胞を、10 % ウシ胎仔血清、100 単位 / mL のペニシリン G ナトリウム、100 µg / mL の硫酸ストレプトマイシン、25 µg / mL のゲンタマイシン、および 2 mM のグルタミンを含有するダルベッコ変形イーグル培地 (D M E M) で増殖させた。細胞培養物を加湿インキュベーター中、37 °C 、5 % C O 2 および 95 % 空気の雰囲気下、組織培養フラスコ中で維持した。

40

【 0 3 2 9 】

i n v i v o 埋め込みおよび腫瘍増殖

埋め込みに使用する M C 3 8 細胞を対数期増殖中に回収し、リン酸緩衝生理食塩水 (P B S) 中に再懸濁させた。腫瘍埋め込みの日に、各試験マウスの右側腹部に 5×10^5 個の細胞 (細胞懸濁物 0.1 mL) を皮下注射し、腫瘍増殖を、平均サイズが 80 ~ 120 mm³ の標的範囲に近づくのをモニターした。試験の 1 日目に指定される 11 日後に、マウスを算出された腫瘍サイズに応じてそれぞれが個々の腫瘍体積が 63 mm³ から 196 mm³ までにわたり、群平均腫瘍体積が 95 ~ 98 mm³ である動物 12 匹からなる群に選別した。カリパスを使用して腫瘍を 2 つの寸法で測定し、式 :

【化5】

$$\text{腫瘍体積 } (\text{mm}^3) = \frac{w^2 \times l}{2}$$

(式中、 w = 腫瘍の幅および l = 腫瘍の長さ、mm単位である)を使用して体積を算出した。腫瘍重量は、1mgが腫瘍体積1mm³と等しいという仮定を用いて推定され得る。

【0330】

処置

簡単に述べると、1日目に、皮下M C 3 8腫瘍(63~172mm³)を有する8週齢の雌C 5 7 B L / 6マウス($n = 12$)にAb1、Ab2、マウスIgG1対照抗体のいずれか(それぞれ投与体積10mL/kg中30mg/kg)を週2回、4週間にわたって腹腔内(i.p.)投与した。対照群の腫瘍が150mm³に達したら(6日目)、マウスにラット抗マウスPD-1抗体(RMP1-14)またはラットIgG2A対照抗体のいずれかを週に2回、2週間にわたってi.p.投与した(各抗体を投与体積10mL/kg中5mg/kgで)。

10

【0331】

群1は、腫瘍増殖対照としての機能を果たし、マウスIgG1アイソタイプ対照抗体とラットIgG2a対照抗体の組み合わせを受けた。群2は、Ab1とラットIgG2a対照抗体の組み合わせを受けた。群3は、Ab2とラットIgG2a対照抗体の組み合わせを受けた。群3は、マウスIgG1対照抗体と抗PD-1抗体の組み合わせを受けた。群4は、Ab1と抗PD-1抗体の組み合わせを受けた。群5は、Ab2と抗PD-1抗体の組み合わせを受けた。群6($n = 16$)は処置せず、試料採取対照群としての機能を果たした。

20

【0332】

エンドポイントおよび腫瘍増殖遅延(TGD)分析

週2回、カリパスを使用して腫瘍を測定し、各動物について、腫瘍がエンドポイント体積1,000mm³に達した時または試験終了時(60日目)のいずれか早い時点で安楽死させた。腫瘍体積エンドポイントにより試験を終了したマウスは、腫瘍の進行(TP)により安楽死させたとして安楽死の日にちと共に記録に残した。各マウスについて、分析のためのエンドポイントまでの時間(TTE)を以下の方程式:

30

【化6】

$$TTE = \frac{\log_{10}(\text{エンドポイント体積}) - b}{M}$$

(式中、TTEは日数で表され、エンドポイント体積はmm³で表され、 b は切片であり、 M は対数変換された腫瘍増殖データセットの線形回帰から得られる線の傾きである)を使用して算出した。データセットは、分析に使用したエンドポイント体積を超えた最初の観察およびこのエンドポイント体積が達成されるすぐ前の3つの連続した観察からなった。算出されるTTEは、通常、腫瘍サイズにより動物を安楽死させた日であるTPよりも小さい。エンドポイント体積に到達しなかった腫瘍を有するマウスには、試験の最終日と等しいTTE値を割り当てた(60日目)。対数変換された算出されたTTEが、エンドポイントに到達するより前の日に先行するかまたは腫瘍体積エンドポイントに到達する日を超える例では、線形補間を実施してTTEを概算した。処置に関連しない(NTR)原因で死亡したものに分類されたマウスはTTE算出(およびさらなる分析の全て)から除外した。TR(処置に関連する)死亡またはNTRm(転移に起因する、処置に関連しない死亡)に分類された動物には死亡日と等しいTTE値を割り当てた。

40

【0333】

処置の転帰を腫瘍増殖遅延(TGD)から評価し、対照群と比較して処置群におけるエンドポイントまでのメジアン時間(TTE)の増大と定義した:

日数で表すと:

50

T G D = T - C 、

または対照群のメジアン T T E に対する百分率として表すと :

【化 7】

$$\% \text{TGD} = \frac{T - C}{C} \times 100$$

(式中、

T = 処置群についてのメジアン T T E 、および

C = 指定の対照群についてのメジアン T T E) 。

【 0 3 3 4 】

10

M T V および退縮応答についての基準

処置の効能は、最終日に試験に残っている動物の腫瘍体積から決定され得る。 M T V (n) を、腫瘍がエンドポイント体積に達しなかった残りの動物の数 (n) での、試験の最終日におけるメジアン腫瘍体積と定義した。

【 0 3 3 5 】

20

処置の効能は、試験中に観察される退縮応答の発生数および大きさからも決定され得る。処置により、動物における腫瘍の部分的退縮 (P R) または完全退縮 (C R) が引き起こされ得る。 P R 応答では、腫瘍体積は、試験の過程中の 3 回の連続した測定に関して、その 1 日目の体積の 50 % またはそれ未満であり、これらの 3 回の測定のうちの 1 回または複数回に関して 13.5 mm^3 と等しいまたはそれよりも大きかった。 C R 応答では、腫瘍体積は、試験の過程中の 3 回の連続した測定に関して 13.5 mm^3 よりも小さかった。試験終了時に C R 応答を有した動物はさらに無腫瘍生存動物 (T F S) に分類した。動物を退縮応答についてモニターした。

【 0 3 3 6 】

腫瘍増殖阻害

腫瘍増殖阻害 (T G I) 分析では処置マウスと対照マウスのメジアン腫瘍体積 (M T V) の差異が評価される。この試験に関して、 T G I を決定するためのエンドポイントは、対照マウスの平均腫瘍体積が 1500 mm^3 に達した日である 29 日目であった。 T G I 分析日の動物の数、 n についてのメジアン腫瘍体積である M T V (n) を各群について決定した。パーセント腫瘍増殖阻害 (% T G I) を、指定の対照群の M T V と薬物処置群の M T V の差異を対照群の M T V に対する百分率として表したものと定義した :

30

【化 8】

40

$$\% \text{TGI} = \left(\frac{\text{MTV}_{\text{対照}} - \text{MTV}_{\text{薬物処置}}}{\text{MTV}_{\text{対照}}} \right) \times 100 = [1 - (\text{MTV}_{\text{薬物処置}} / \text{MTV}_{\text{対照}})] \times 100$$

【 0 3 3 7 】

T G I 分析のためのデータセットは、 T G I 分析日よりも前に処置に関連する (T R) または処置に関連しない (N T R) 原因で死亡したマウス以外の群内全てのマウスを含むものであった。

40

【 0 3 3 8 】

本試験では、 A b 1 および A b 2 を単独でおよび抗 P D - 1 と組み合わせて、 M C 3 8 マウス結腸癌 C 5 7 B L / 6 マウス同系モデルにおいて評価した。 A b 2 を抗 P D - 1 と組み合わせて投与したマウスでは、有意な 29 日目 T G I がもたらされ (P < 0.05 、マン・ホイットニーの U 検定) 、ログランク生存分析 (P < 0.05 、ログランク) を使用して、ビヒクリで処置した対照とは統計的に有意に異なる生存利益が生じた (図 17 を参照されたい) 。 A b 1 または A b 2 とラット I g G 2 a 対照抗体の組み合わせを受けたマウスでは、それぞれ C R が 1 例および P R が 1 例の退縮応答があった。抗 P D - 1 と組み合わせると、 A b 1 および A b 2 の退縮応答は、それぞれ P R が 1 例および C R が 1 例、ならびに C R が 4 例であった。 A b 2 と抗 P D - 1 を組み合わせると、 29 日目に有意

50

な短期の効能が生じ、また、このM C 3 8マウス結腸癌C 5 7 B L / 6マウス同系モデルにおける60日間のT G D試験において全生存利益が生じた。

【0339】

(実施例8:筋ジストロフィーにおけるT G F 1の役割)

T G F は、筋形成の阻害、炎症および筋肉修復の制御、ならびに線維症の促進を含む、骨格筋機能における多数の役割を果たす。T G F 阻害には筋ジストロフィーを含めた広範囲の疾患に対する治療としてかなりの関心が寄せられているが、これらの治療では、分子の状況にかかわらず、T G F 1、T G F 2、およびT G F 3が阻害される。これらの阻害剤の特異性/選択性の欠如により、望ましくない副作用が生じる可能性があり、それにより、効能が不十分な臨床的用量が導かれる。m d xマウスにおいて汎T G F 阻害性分子により筋肉機能が改善され、線維症が低減することが報告されているが、これらの効果がT G F 1、2、または3の不活化に起因するものであるかどうかはまだ対処されていない。

10

【0340】

そのために、T G F 2および3は残しながら潜在型T G F 1のインテグリン媒介性活性化を特異的に遮断する抗体が生成された。ジストロフィーの筋肉における筋肉修復において特異的なT G F 1の役割を確認するために、D 2 . m d xマウスをプロT G F

1特異的抗体で処置する。T G F 1阻害の、収縮誘導性損傷からの保護に対する機能的効果、ならびに同じ損傷方法からの回復に対する機能的効果を評価する。組織学的評価は、処置が筋傷害、線維症、および炎症に影響を及ぼすかどうかを含む。さらに、筋肉における汎T G F 阻害で報告された観察される負の影響(例えば、炎症の増大、筋肉機能の長期欠損)がT G F 1の阻害に起因するものであるのか、またはT G F 2/3の阻害に起因するものであるのかを決定するために、可能性のある毒性を評価することができる。特定の分子の状況にあるT G F 1の阻害がより効果的であり、かつ/または負の影響(有害作用)がより少ないのかどうかを理解するために、このモデルにおけるL T B P -プロT G F 1阻害剤の効能を評価して、免疫細胞に提示されたT G F 1の役割を細胞外マトリクス(E C M)内に存在するT G F 1の役割からデコンボリュートし、より安全かつ/またはより有効な抗線維化治療が潜在的に導かれるようにすることができる。

20

【0341】

ジストロフィーの筋肉は、収縮誘導性損傷に対して高度に感受性である。損傷後、m d xマウス由来の筋肉は、W Tと比較した力生成の有意な低減およびエバンスブルー色素の取り込みの増加(筋線維に対する物理的損傷/傷害の指標となる)を示す(L o v e r i n g, R . M . ら、A r c h P h y s M e d R e h a b i l 、2 0 0 7 年、8 8巻(5号):6 1 7 ~ 2 5 頁)。収縮誘導性損傷の程度を低減するかまたは損傷後の回復を改善する治療剤は、筋ジストロフィー患者に対する有意な臨床的有用性があるものである(B u s h b y, K . ら、L a n c e t N e u r o l 、2 0 1 0 年、9巻(1号):7 7 ~ 9 3 頁)。A b 1およびA b 2を、i)収縮誘導性損傷を防止する能力、ならびにi ii)損傷からの回復を促進する能力について評価する。本発明者らの実験では、B 1 0 バックグラウンドの従来のm d x系統とは対照的に、D 2 . m d x系統を使用することができる。m d xをD B A 2 / Jバックグラウンドと交配することによって生成されたこれらのマウスは、上記のL T B P 4の非保護的改変体を有し、したがって、より重症であり、進行性であり、かつ標準のm d x系統よりもヒト疾患に類似した疾患病態を示す(C o l e y, W . D . ら、H u m M o l G e n e t 、2 0 1 6 年、2 5巻(1号):1 3 0 ~ 4 5 頁)。D 2 . m d xマウスを使用するので、D B A 2 / Jマウスが野生型対照としての機能を果たし得る。D M Dは主に男性に影響を及ぼすので、試験は、雄マウスに焦点を当てることができる。

30

【0342】

A b 1およびA b 2の収縮誘導性損傷を防止する/限定する能力を調査するために、6週齢の雄D 2 . m d xマウス(n = 1 0)を、I g G対照、A b 1、またはA b 2のいずれかを1 0 m g / k g / 週で用いて6週間処置する。公開されている、汎T G F 阻害剤

40

50

を使用した研究との比較を可能にするために、第4の群に1D11を10mg/kg/週で投与する。全ての抗体がmIgG1アイソタイプであり、この用量は、UUOモデルにおいて有効であることが以前に示されている（図15および16）。IgG対照が投与されるWT群も包含される。蛍光顕微鏡による筋線維傷害の評価を可能にするために、屠殺の24時間前にマウスにPBS中1%のエバンスブルー色素（EBD）（体重の1%の体積）を投与する。処置の最後に、マウスをin vivo伸張性収縮プロトコールに供す。腓腹筋の伸張性損傷を、305B筋肉レバーシステム（Aurora Scientific）を用いて、記載の通り行うことができる（Khairallah, R. J.ら、Sci Signal、2012年、5巻（236号）：ra56頁）。簡単に述べると、間に1分間の休止を伴う20回の伸張性収縮を実施し、伸張性フェーズ前のピーク等尺性筋力の低下を筋傷害の指標とみなすことができる。筋力低下の程度およびEBD陽性線維のパーセントを決定することができる。このプロトコールに供されたDBA2/Jマウスは20回の伸張性収縮後に最初の筋力の30~40%を失う。対照的に以前に記載されている通り、D2. md xマウスは同じプロトコール後に最初の筋力の80%を失う（Pratt, S. J.ら、Cell Mol Life Sci、2015年、72巻（1号）：153~64頁；Khairallah, R. J.ら、Sci Signal、2012年、5巻（236号）：ra56頁）。Ab1およびAb2の損傷後の筋力低下を低減する能力を評価することができる。マウスを実験の最後に屠殺し、損傷を受けた腓腹筋および損傷を受けていない腓腹筋の両方を組織学的分析のために採取することができる。両方の筋肉からEBD取り込みを評価することができる。筋線維横断面積および線維症の程度を測定することができる。横断面積を決定するために、筋肉の中腹部由来の切片をフルオロフォアとコンジュゲートしたコムギ胚芽凝集素で染色して細胞膜を可視化することができる。蛍光顕微鏡を使用して切片をデジタル化し、予測ソフトウェアを使用して細胞境界をたどり、不偏の自動測定によって横断面積を決定することができる。線維症を分析するために、切片をピクロシリウスレッド（PSR）で染色し、スライド当たりのPSR+面積をコンピュータで計算することができる。

【0343】

Ab1およびAb2の収縮誘導性損傷からの回復を加速する能力を評価する。12週齢のDBA2/JマウスおよびD2. md xマウスに上記の同じ伸張性収縮プロトコールを受けさせることができる。損傷後、マウスを処置群（n=10）に分類し、IgG対照（WTおよびD2. md xマウスに対して）、1D11、Ab1、またはAb2（D2. md xのみ）のいずれかを投与する。抗体を10mg/kg/週で実験の持続時間にわたって投与する。損傷の7日後および14日後、最大ピーク等尺性筋力、単収縮・強縮比、および力・頻度関係を測定して損傷からの回復に対する処置の効果を評価することができる。Ab1およびAb2は提示分子にかかわらずTGF-1の放出を阻害するが、DMDでは、TGF-1により駆動されるTreg活性が保存されるので細胞外マトリクスからのTGF-1（すなわち、LTBPにより提示される）の選択的放出がより大きく有益である。この問題に取り組むために、特異的なLTBP-プロTGF-1阻害性抗体を、収縮誘導性損傷を妨げる能力および損傷からの回復を加速する能力の両方について評価することもできる。

【0344】

（実施例9：急性損傷後の骨格筋再生におけるTGF-1の役割）

特に筋損傷後の筋線維再生におけるTGF-1の役割を調査することができる。TGF-1特異的抗体を心臓毒損傷モデルにおいて使用して、特に筋線維再生中のTGF-1の役割を決定することができる。再生を組織学的に評価することができ、筋肉の強度および質の機能的評価を行うことができる。筋肉再生に対するTGF-1阻害の潜在的利益を考慮すると、汎TGF-阻害で観察される毒性を伴わずに有益な効果を有する療法の利益は大きい。これにより、サテライト細胞機能に対するTGF-1特異的阻害の効果を調査することが可能になり、サテライト細胞移植試験に関する洞察をもたらすことができる。

【0345】

10

20

30

40

50

上記の通り、TGF-1は、筋芽細胞の増殖および分化の阻害ならびに萎縮および線維症の促進を含む筋肉生物学に対する多数の影響を及ぼすと思われる (Allen, R. E. および L. K. Boxhorn, J. Cell Physiol, 1987年、133巻(3号): 567~72頁; Brennan, T. J. ら、Proc Natl Acad Sci U S A, 1991年、88巻(9号): 3822~6頁; Massague, J. ら、Proc Natl Acad Sci U S A, 1986年、83巻(21号): 8206~10頁; Olson, E. N. ら、J Cell Biol, 1986年、103巻(5号): 1799~805頁; Li, Y. ら、Am J Pathol, 2004年、164巻(3号): 1007~19頁; Mendiass, C. L. ら、Muscle Nerve, 2012年、45巻(1号): 55~9頁; Nelson, C. A. ら、Am J Pathol, 2011年、178巻(6号): 2611~21頁)。しかし、これらの試験では、結果が非生理的になる可能性がある、培養物中の組換えTGF-1を使用するかマウスに注射した。なぜなら、これは、増殖因子がその分子の状況から除かれるからである。代替的に、研究者はTGF-1に選択的でないTGF-1阻害剤を使用した。

【0346】

TGF-1のアイソフォーム特異的影響を評価するために、複数のプロTGF-1抗体(例えば、Ab1およびAb2)を、CTX誘導性損傷後の筋肉再生に影響を及ぼすこれらの能力について調査することができる。これらの抗体は、TGF-1活性化の「アイソフォーム特異的」かつ「状況許容的」阻害剤であり、したがって、任意の提示分子からのTGF-1の放出を特異的に阻害し(TGF-2またはTGF-3とは対照的に)、成熟増殖因子には結合しない(図18A)。

【0347】

雄DBA2/Jマウス(n=10)において右腓腹筋へのCTX注射によって筋肉再生を誘導することができる。損傷の前日、マウスに、10mg/kgのIgG対照、1D11、Ab1、またはAb2を投与することができる。抗体を試験終了まで毎週投与し続ける。損傷の7日後および14日後に、筋力測定値をin vivoで305C筋肉レバーシステム(Aurora Scientific Inc., Aurora, CAN)を用いて測定することができる。簡単に述べると、足底屈筋群について、麻酔したマウスにおける坐骨神経への経皮電気刺激によって収縮を誘発し、次いで、刺激の周波数を増加させながら一連の刺激を行う(パルス0.2ms、連続継続時間(train duration)500ms): 1、10、20、40、60、80、100、150Hz、続いて1Hzで最後の刺激。最大ピーク等尺性筋力、単収縮・強縮比、および力・頻度関係を決定する。筋力測定後、損傷を受けた腓腹筋およびヒラメ筋を採取し、組織学のために調製する。筋線維横断面積および%PSR+面積を上の実施例8に記載されている通り決定することができる。

【0348】

Ab1およびAb2を用いた処置により、線維症の低減および筋肉機能の改善がもたらされ得る。しかし、免疫活性化の制御におけるTGF-1の役割を考慮すると、1D11による処置で報告されている通り、抗体を用いると炎症の増大が観察され得る可能性がある(Andreetta, F. ら、J Neuroimmunol, 2006年、175巻(1~2号): 77~86頁)。炎症の増大によりTGF-1阻害の治療効果が限定される可能性がある場合、その後、毒性を限定し得るさらなる特異性の程度がもたらされるように状況特異的抗体を評価することができる。例えば、上記の読み出しありおよび方法を使用して、TGF-1のLTBPからの放出を阻害する抗体のみを使用することができる。これらの抗体は、TGF-1の、Tregまたはマクロファージからの放出に影響を及ぼすことなく、ECMからの放出のみを限定し得る。

【0349】

(実施例10: 適切なTGF-1阻害性薬剤の選択)

健康な筋肉、再生中の筋肉、および疾患にかかっている筋肉におけるプロTGF-1お

10

20

30

40

50

よびその提示分子の発現解析により、最適な治療手法の選択を補助するための有用な情報がもたらされ得る。筋肉の再生および修復におけるTGF-1阻害の潜在的効果を考慮すると、異なる条件下（健康、急性損傷、および慢性損傷）での骨格筋におけるプロTGF-1提示の状況（例えば、ECM内または免疫細胞上）の理解が、抗体の治療的有用性を伝えるのに役立ち、最終的に臨床的効能と安全性の両方を達成するために必要な特異性/選択性の程度に関する洞察がもたらされ得る。TGF-1提示の性質は、筋肉の健康状態に応じておよび疾患の経過にわたって変動する可能性があり、これは、あらゆるTGF-1標的化療法に意味を持つ可能性がある。これらの分子の発現プロファイルを理解することにより、潜在的な治療用分子に対する適切な投与時間の選択も補助される。ウエスタンプロット、免疫組織化学、および免疫沈降を使用して、正常な筋肉、急性損傷（心臓毒損傷）を受けた筋肉、および長期にわたって再生中の筋肉（D2.mdxマウス）におけるプロTGF-1およびその提示分子の発現を評価することができる。これらの分子の発現は、特に、上記の異なる条件での重要な細胞型または細胞型のサブセット（例えば、サテライト細胞、マクロファージ、線維形成・脂肪生成前駆体（fibro-adipogenic progenitor）など）を調査することができる。

【0350】

mdxマウス由来の筋肉におけるTGF-1アイソフォームの発現は調査されているが、以前の研究は、成熟増殖因子の発現に焦点を合わせたものであった（Nelson, C.A.ら、Am J Pathol, 2011年、178巻（6号）：2611～21頁；Zhou, L.ら、Neuromuscul Disord, 2006年、16巻（1号）：32～8頁）。本明細書に記載のTGF-1抗体の標的特異性を考慮すると、発現パターンを成熟およびプロTGF-1についてだけでなく、同様に提示分子についても調査することが必須であり、それにより、目的のTGF-1のプールの供給源および/または状況に関する情報がもたらされるはずである。理想的には、各構成成分についてだけでなく潜在型複合体の発現パターンについて理解することが望ましい。

【0351】

抗体を目的の標的にするウエスタンプロットおよびIHCのためにスクリーニングする。マウスTGF-1-LAP、LTBP1、LTBP3、およびLTBP4に対する抗体は商業的に入手できる。TGF-1-LAPに対する抗体（クローンTW7-16B4）は広範囲にわたって特徴付けられており、フローサイトメトリーおよびウエスタンプロットのどちらにおいても有効である（Oida, T.およびH.L. Weiner、PLoS One, 2010年、5巻（11号）：e15523頁）。LTBP1に対する抗体（ProteinTech #22065-1-AP）およびLTBP3に対する抗体（Millipore #ABT316）は、LTBP1-プロTGF-1またはLTBP3-プロTGF-1をトランスフェクトしたSW480細胞を使用して内部で検証されており、これらの標的に特異的であることが示されている。これらの抗体のIHCへの有用性を決定することができる。健康なマウス由来の筋肉およびD2.mdxマウス由来の筋肉を切片作製し、抗体を凍結切片およびFFPE切片で試験する。観察されるシグナルが特異的なものであることを確実にするために、100×過剰の精製された標的タンパク質または複合体（自社製、例えば図18B）を用いた条件を含めることによって抗体を検証することができる。

【0352】

以前の研究により、所与の潜在型複合体に特異的に結合するが阻害活性は有さない抗体が同定されている。これらの抗体による抗原結合はELISAによって確認されており（図18Bおよび18C）、IHCにおけるこれらの有用性についても評価することができる（これらのエピトープの三次元構造を考慮すると、これらの抗体はウエスタンプロット試薬として有効である可能性は低い）。バルク組織由来の潜在型TGF-1複合体の存在もウエスタンプロットまたは免疫沈降によって評価することができる。潜在型複合体は、ウエスタンプロットにより、還元条件下および非還元条件下で同じ試料で実行することによって同定することができる。還元条件下では、TGF-1、LAPおよび提示分子は分

離し、3つの分子を同じプロット上で同定することができるが、二色ウエスタンプロット法を使用する。非還元条件では、LAP：提示分子複合体は会合したままであるが、TGF-1は放出される；複合体は空の提示分子よりも遅く移動し、TGF-1-LAPと共に移動する（図18B）。TGF-1と特定の提示分子の直接結合を実証するために、種々の抗体を筋肉由来の潜在型複合体を免疫沈降させるこれらの能力についても評価することができる。

【0353】

適切な抗体が同定されたら、健康な筋肉、再生中の筋肉、およびジストロフィーの筋肉における発現を、利用可能な抗体に応じてウエスタンおよび/またはIHCによって評価する。前脛骨筋（TA）および横隔膜筋を4週齢、8週齢、および12週齢のDBA2/JマウスおよびD2. mdxマウスから採取することができる。再生中の筋肉については、心臓毒を12週齢のDBA2/JマウスのTAに注射し、損傷の3日後、7日後、および14日後に筋肉を採取することができる。各条件/時点について少なくとも4匹のマウスからの組織を使用することができる。種々の分子を発現する細胞集団を同定するために共染色実験も行うことができる（例えば：マクロファージについてはCD11b、TregについてはFoxP3、筋原細胞についてはMyoD）。

10

【0354】

（実施例11：Ab2は、ALK5キナーゼ阻害剤LY2109761および汎TGF抗体と比較して低減した毒性を示す）

Ab2の毒性を小分子TGF-I型受容体（ALK5）キナーゼ阻害剤LY2109761と、および汎TGF抗体（hIgG4）と比較して評価するために、ラットにおいて毒性試験を実施した。簡単に述べると、雌F344/NHsdラットに、3mg/kg（1群、n=5）、30mg/kg（1群、n=5）、もしくは100mg/kg（1群、n=5）、もしくは100mg/kg（1群、n=5）でのAb2；3mg/kg（1群、n=5）、30mg/kg（1群、n=5）、もしくは300mg/kg（1群、n=5）での汎TGF抗体；200mg/kg（1群、n=5）もしくは300mg/kg（1群、n=5）でのLY2109761；またはPBS（pH7.4）ビヒクル対照（1群、n=5）のいずれかを投与した。Ab2、汎TGF抗体またはビヒクル対照のいずれかを受ける動物には静脈内に1回投与し（1日目）、LY2109761を受けるラットには経口胃管栄養によって1日1回、7日間投与した（7回用量）。動物の体重を投与相の1日目、3日目、および7日目に決定した。動物を8日目に屠殺し、剖検を実施した。

20

30

【0355】

図19に示した生存データに示されている通り、Ab2は、他の処置群と比較して低減した毒性を示した。300mg/kgのALK5キナーゼ阻害剤LY2109761を投与した全ての動物が、試験の3日目、6日目、または7日目に瀕死の状態で屠殺されたまたは死亡しているのが見つかった。200mg/kgのLY2109761を投与した動物のうち2匹が試験の7日目に死亡しているのが見つかった。100mg/kgの汎TGF抗体を投与した動物1匹が試験の6日目に死亡しているのが見つかった。100mg/kgまでのAb2を投与した動物は全てが最終的に屠殺するまで生存した。

40

【0356】

さらに、投与相の間の動物の体重をモニターすることによって処置の毒性を評価した。図20および21A～21Cに示されている通り、LY2109761を200mg/kgまたは300mg/kgのいずれかで受けた動物は、試験の過程中、体重の減少を示した。

【0357】

動物の臓器重量も死後に評価した。表11に示されている通り、200mg/kgのLY2109761を投与した動物において心臓重量の増加が観察された。30mg/kgの汎TGF抗体を投与した動物においても心臓重量の増加が観察された。100mg/kgまでのAb2を投与した動物では臓器重量に値する影響は観察されなかった。

【表11】

表11.処置群における臓器重量の変化

用量レベル(mg/kg/日)	処置群					
	ビヒクル 対照 ^a	LY2109761	汎TGF β 抗体			
0	200	300	3	30	100	
心臓						
絶対的重量(g)	0.4084	112	NE	99	123	119
体重比(%)	0.3952	132	NE	96	122	122
脳重量比(%)	26.3420	113	NE	98	123	116

NE=早期死亡に起因して評価されず。

注:各処置群についての絶対的重量および臓器重量の比(身体または脳に対して)の値は対照平均値の百分率として表されている。

^a ビヒクル対照=リン酸緩衝生理食塩水(PBS)、pH7.4

10

20

30

【0358】

100mg/kgまでのAb2または汎TGF β 抗体を投与した動物では肉眼で見える所見は観察されなかつたが、200mg/kgまたは300mg/kgのLY2109761のいずれかを受けた各処置群の動物4匹で異常な形状の胸骨が観察された。300mg/kgのLY2109761を投与した動物1匹で胸腔中の透明な液体(fluid)2.5mLおよび過剰な液体に起因する胸腺の肥大(すなわち、浮腫)が観察され、この動物は試験の3日目に死亡しているのが見つかった。

【0359】

表12に示されている通り、顕微鏡レベルでは、200mg/kgのLY2109761を投与した動物は、心臓弁所見(すなわち、弁膜症)を示した。弁膜症は、出血、内皮過形成、混合炎症細胞浸潤、および/または間質過形成に起因して心臓弁が肥厚することを特徴とする(図23、右上のパネルを参照されたい)。大半の動物は、複数の弁が影響を受けた。さらに、最小~わずかな混合炎症細胞浸潤、最小の出血、および/またはヘマトキシリン・エオシン染色切片における心房の好塩基性染色の増大をもたらす最小の内皮(心内膜)過形成を含めた心房所見が観察された。心筋所見も観察され、大部分が心臓底部におけるものであり、最小~わずかな変性/壞死、わずかな出血、および/またはわずかな混合炎症細胞浸潤からなるものであった。300mg/kgのLY2109761を投与した動物1匹では冠状動脈の炎症を伴うわずかな壞死があった。さらに、200mg/kgのLY2109761を投与した動物2匹では最小の混合炎症細胞浸潤または大動脈根の出血があった。

30

【表12】

表12. LY2109761を受けた動物における微視的な心臓所見

		LY2109761		
用量レベル(mg/kg/日)		0	200	300
<u>心臓</u>				
<u>心臓弁</u>				
弁膜症				
	最小	0	1	2
	わずか	0	3	3
	中程度	0	1	0
				10
<u>心房</u>				
浸潤、混合細胞				
	最小	0	2	3
	わずか	0	0	1
過形成、内皮				
	最小	0	1	3
<u>出血</u>				
	最小	0	1	2
<u>心筋</u>				
変性/壊死				
	最小	0	0	1
	わずか	0	1	1
<u>出血</u>				
	わずか	0	1	0
浸潤、混合細胞				
	わずか	0	0	1
<u>冠状動脈</u>				
炎症を伴う壊死				
	わずか	0	0	1
<u>大動脈根</u>				
出血				
	最小	0	1	0
浸潤、混合細胞				
	最小	0	1	0
				30

【0360】

表13に示されている通り、3 mg / kg の汎TGF抗体を投与した動物は、上記の通り LY2109761を投与した動物に関して記載されているものと同様の心臓弁所見（すなわち、弁膜症）を示した（図23、左下のパネルも参照されたい）。30 mg / kg の汎TGF抗体を投与した動物は、LY2109761を投与した動物に関して記載されているものと同様の心房所見を示した。100 mg / kg の汎TGF抗体を投与した動物は、LY2109761を投与した動物に関して記載されているものと同様の心筋所見を示し、30 mg / kg の汎TGF抗体を投与した動物では心筋の出血があった。100 mg / kg の汎TGF抗体を投与した動物1匹では冠状動脈の出血を伴う中程度の壁内壊死があり、これは、わずかな血管周囲の混合炎症細胞浸潤を伴った。

【表13】

表13.汎TGF β 抗体を受けた動物における微視的な心臓所見

用量レベル(mg/kg/日)	汎TGF β 抗体			
	0	3	30	100
<u>心臓</u>				
<u>心臓弁</u>				
弁膜症				
最小	0	2	0	0
わずか	0	2	4	5
中程度	0	0	1	0
				10
<u>心房</u>				
浸潤、混合細胞				
最小	0	0	1	2
わずか	0	0	1	1
過形成、内皮				
最小	0	0	3	1
出血				
最小	0	0	1	0
<u>心筋</u>				
変性/壊死				
わずか	0	0	0	2
出血				
最小	0	0	2	1
わずか	0	0	1	1
浸潤、混合細胞、底部				
わずか	0	0	0	1
<u>冠状動脈</u>				
出血を伴う壊死				
中程度	0	0	0	1
浸潤、混合細胞、血管周囲				
わずか	0	0	0	1

【0361】

対照的に、100mg/kgのAb2を投与した処置群の動物1匹では、左房室弁の単一の心臓弁リーフレットに最小の混合炎症細胞浸潤があり(図23、右下のパネルを参照されたい)、これは、発生数が単一であり、また、同時発生的な弁所見がないので、バックグラウンド所見と一致した。したがって、Ab2を用いた処置では、驚いたことに、ALK5キナーゼ阻害剤LY2109761を用いた処置または汎TGF β 抗体を用いた処置のいずれと比較しても死亡率の低減および心毒性の低減がもたらされた。

【図 1】

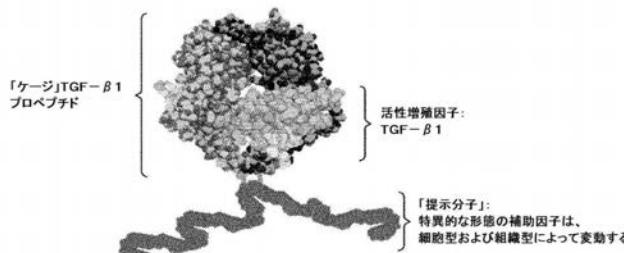


FIG. 1

【図 2】

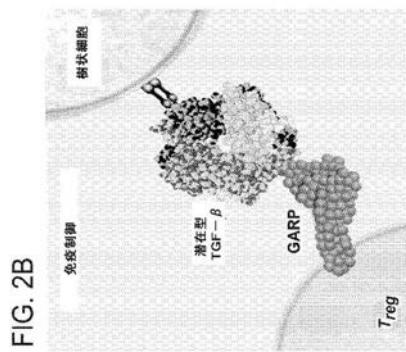


FIG. 2B

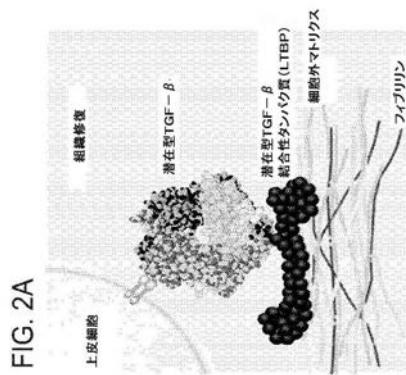


FIG. 2A

【図 3】

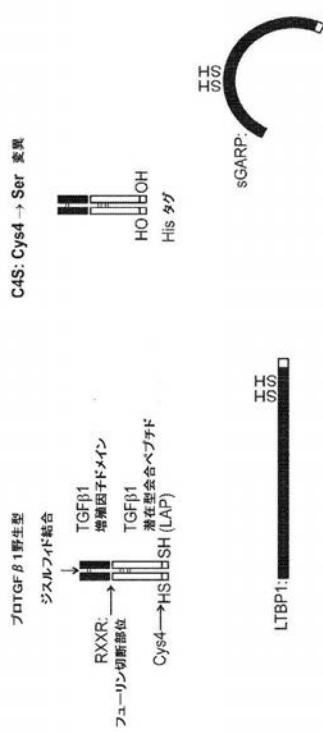
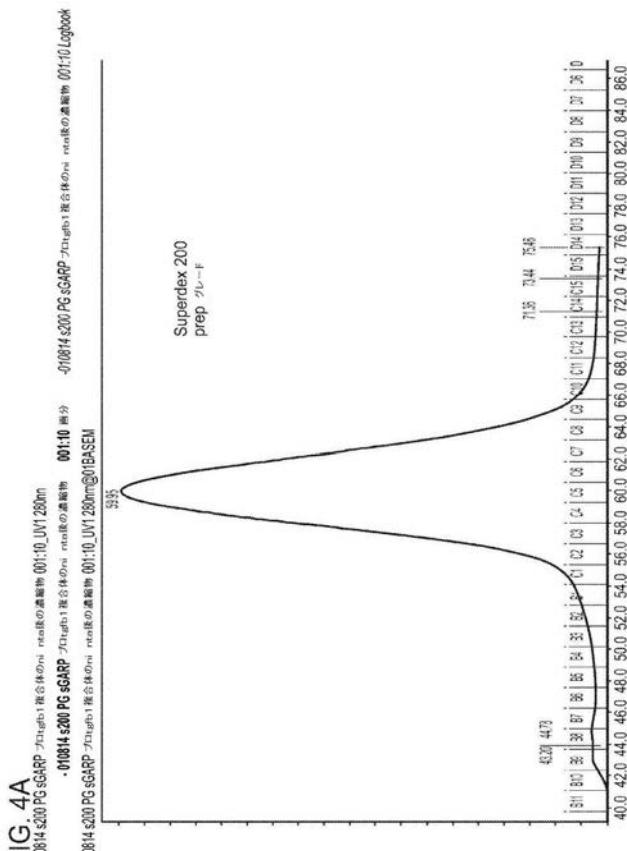


FIG. 3

【図 4 A】



【図 4 B】

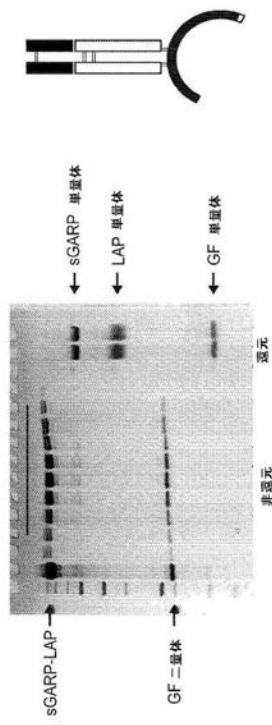


FIG. 4B

【図 5 B】

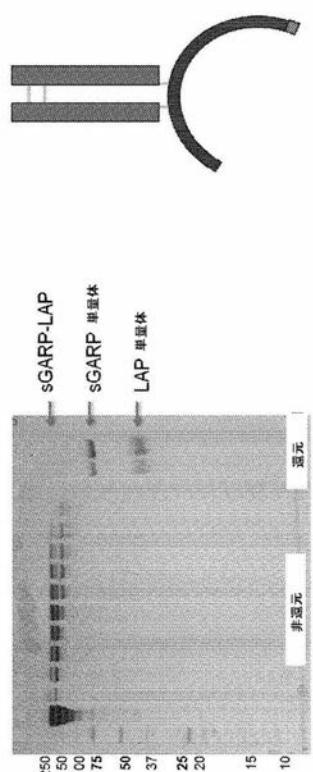


FIG. 5B

【図 5 A】

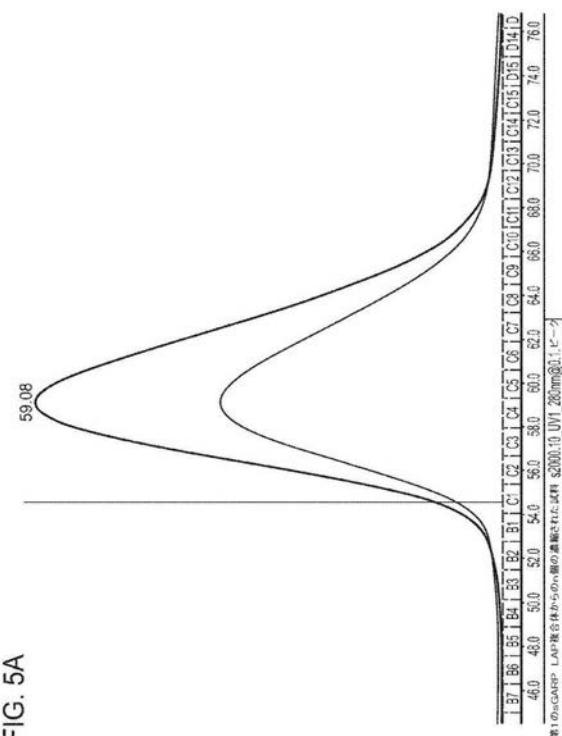


FIG. 5A

【図 6 A】

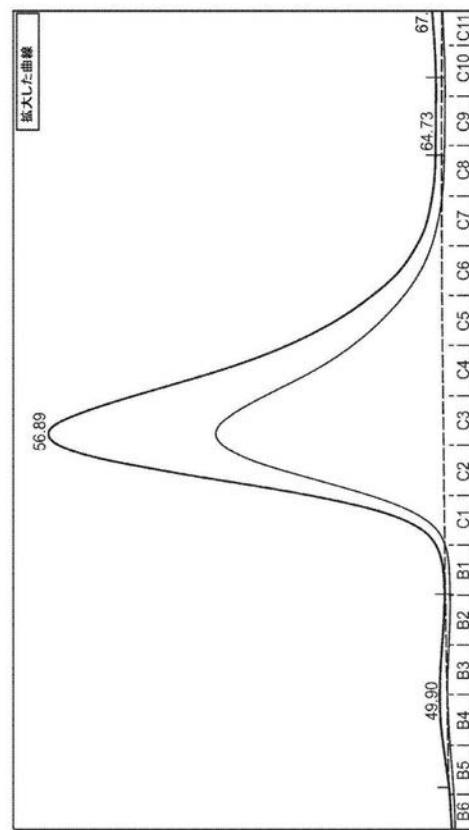


FIG. 6A

【図 6 B】

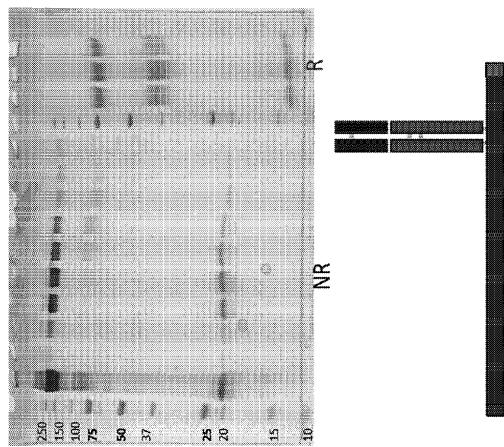


FIG. 6B

【図 7】

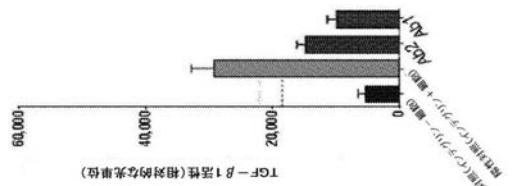


FIG. 7

【図 8】

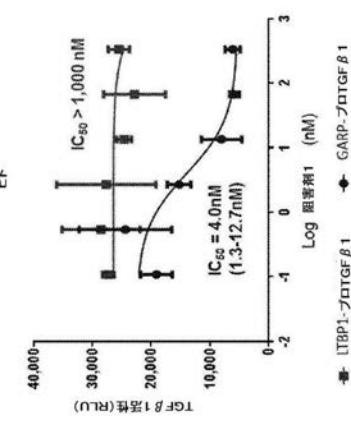


FIG. 8

【図 9】

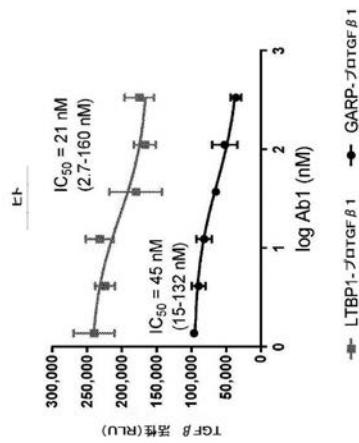
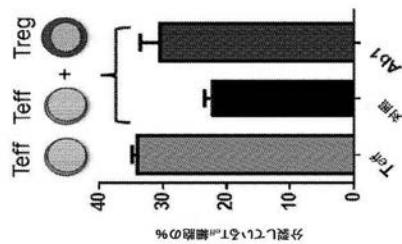


FIG. 9

【図 10】

FIG. 10



【図 11-1】

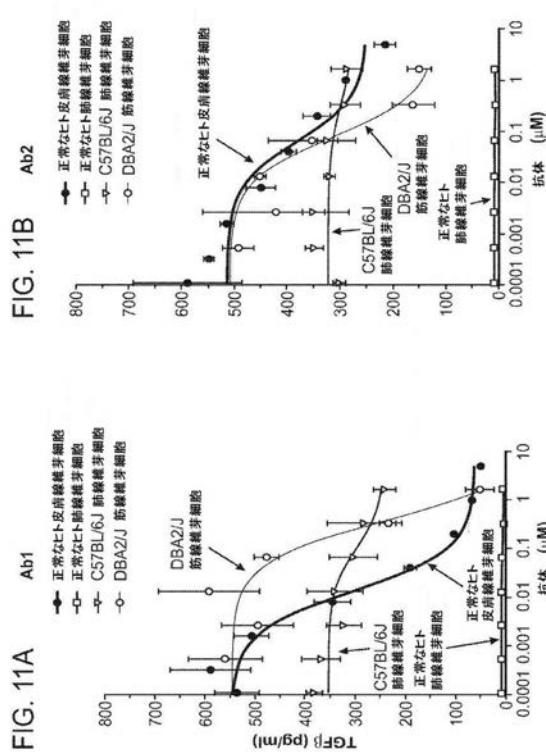
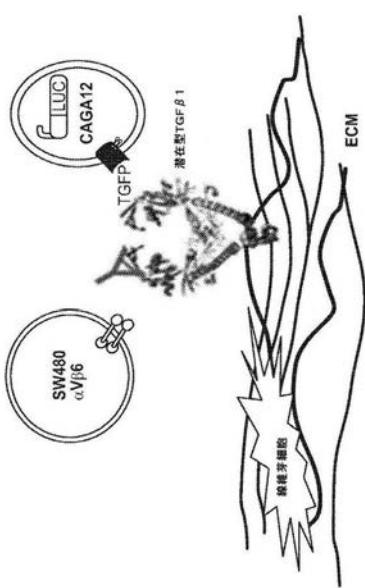


FIG. 11A

FIG. 11B

【図 11-2】

FIG. 11C



【図 12】

FIG. 12A

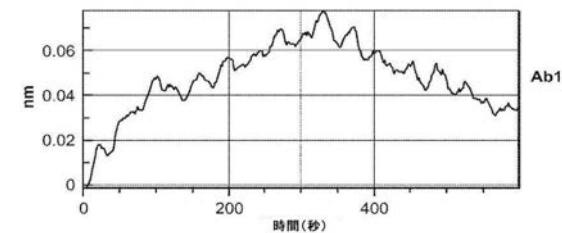
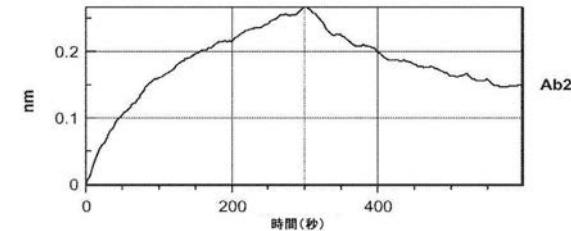
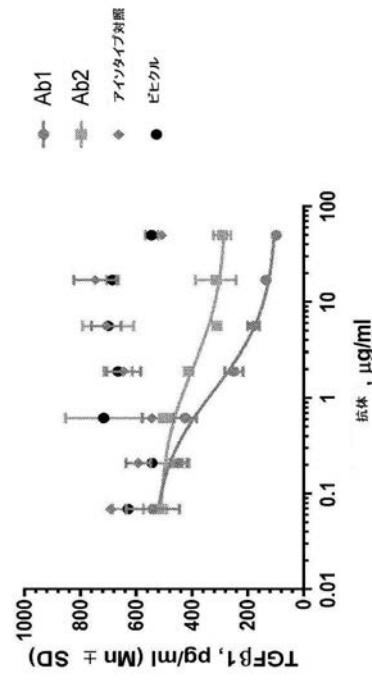


FIG. 12B

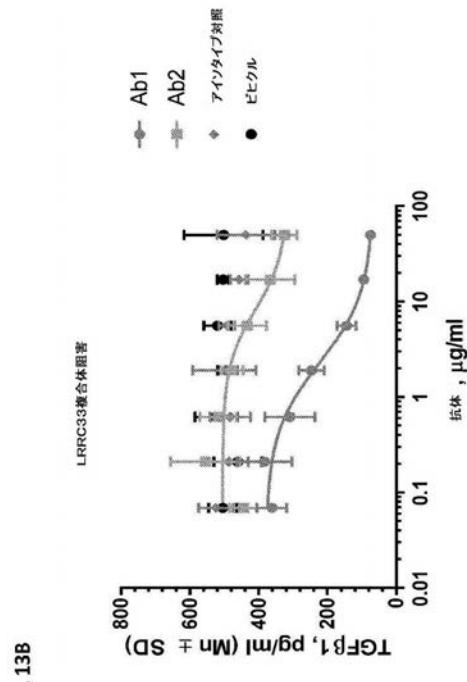


【図 13 A】

FIG. 13A

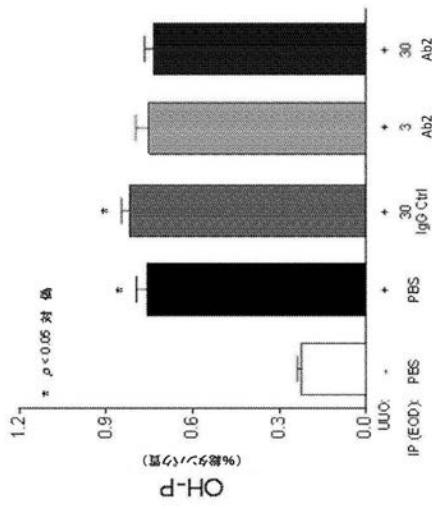


【図 13 B】

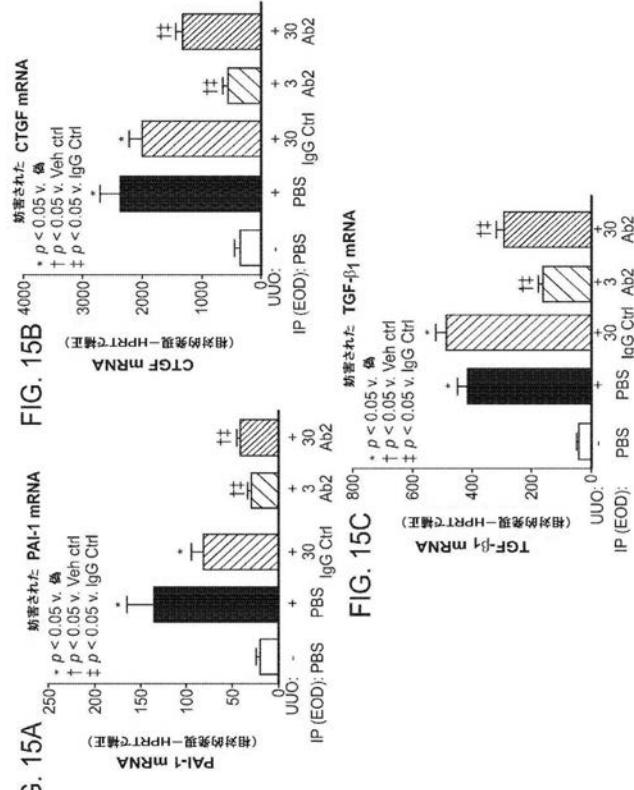


【図 14】

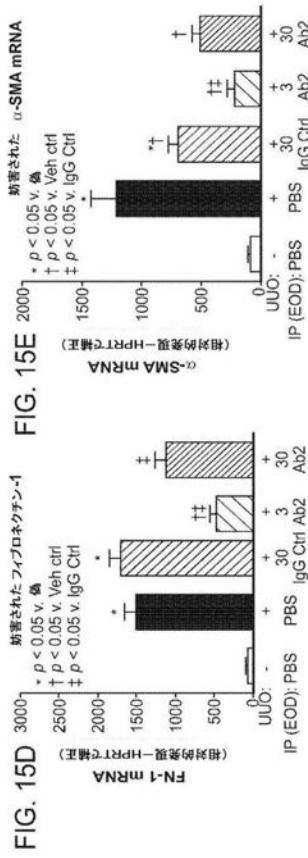
FIG. 14



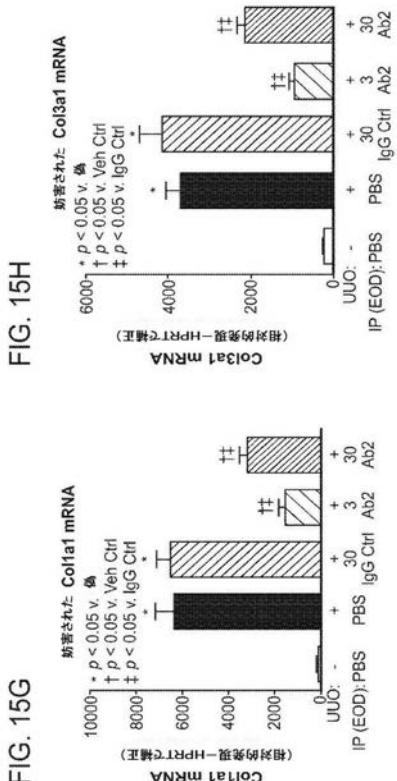
【図 15 - 1】



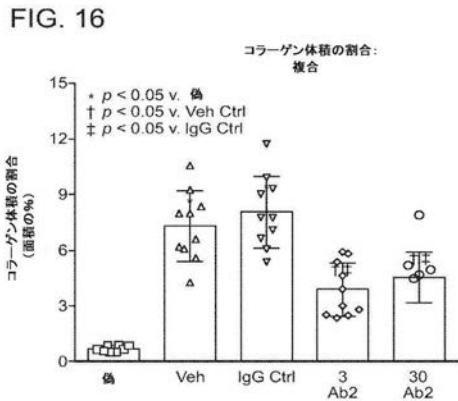
【図 15-2】



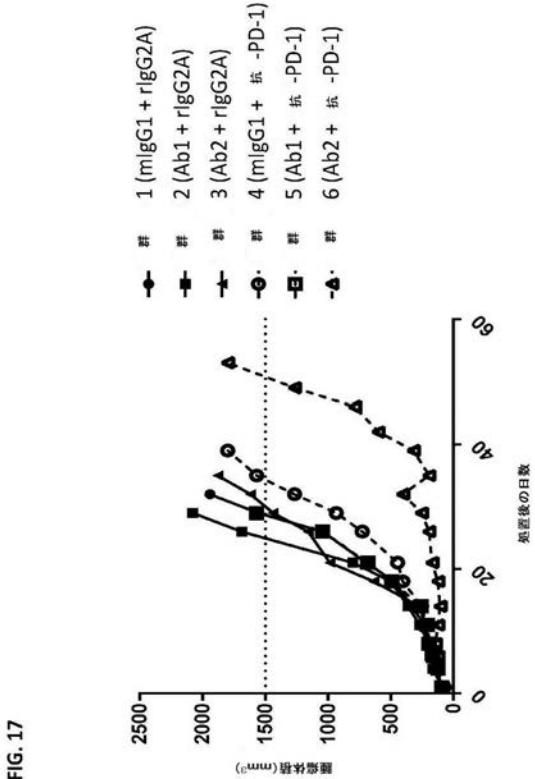
【図 15-3】



【図 16】



【図 17】



【図 18】

FIG. 18B

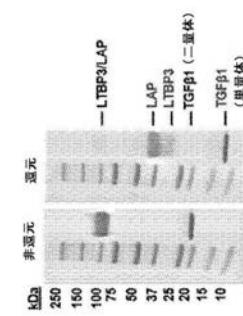


FIG. 18A

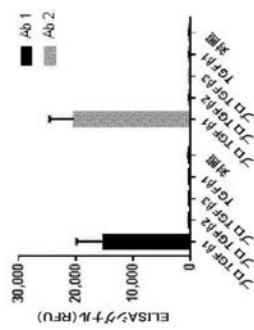
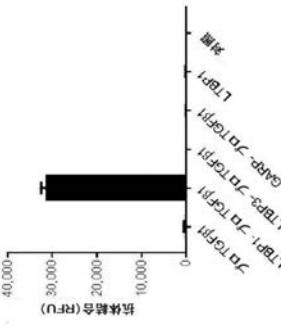
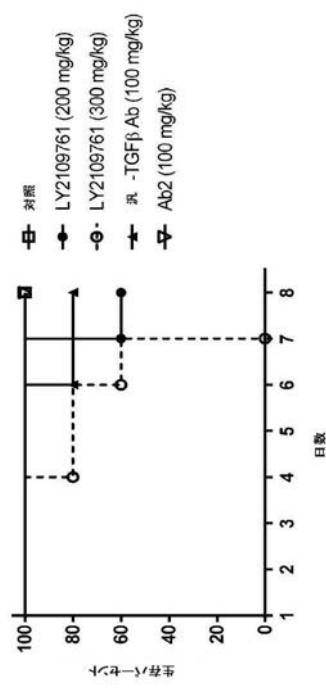


FIG. 18C

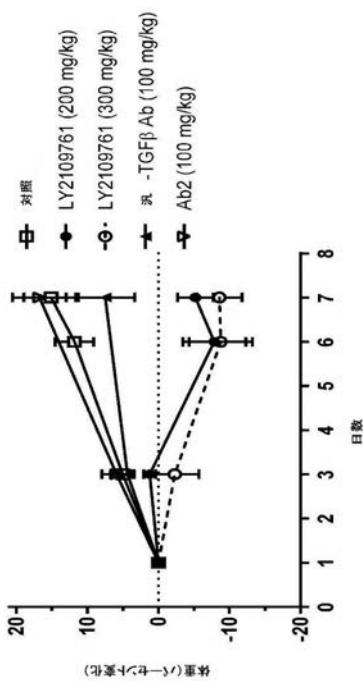


【図 19】

FIG. 19



【図 20】



【図 21】

FIG. 21A

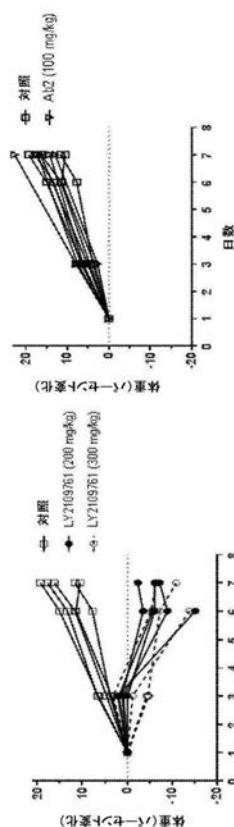


FIG. 20

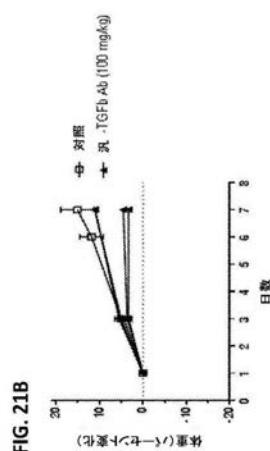
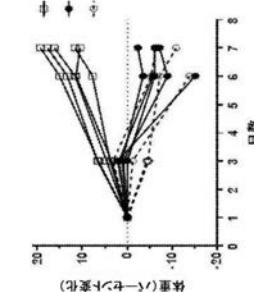
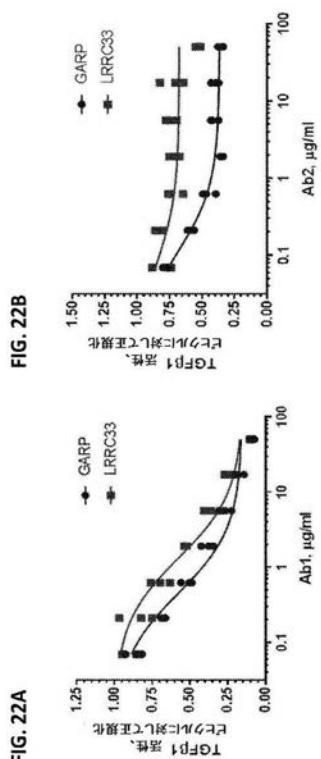


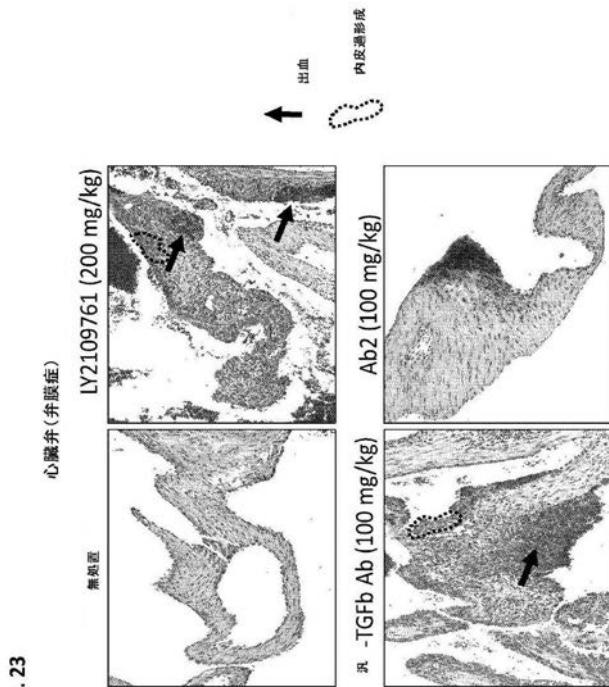
FIG. 21B



【図 2 2】



【図 2 3】



【配列表】

2019509737000001.app

【国際調査報告】

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No
PCT/US2017/021972

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER
INV. C07K16/22
ADD.

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)
C07K A61K

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)

EPO-Internal, Sequence Search, WPI Data

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	WO 2011/102483 A1 (RIKEN [JP]; SUKENAGA YOSHIKAZU [JP]; KOJIMA SOICHI [JP]; HARA MITSUKO) 25 August 2011 (2011-08-25) paragraph [0071]; figure 6a paragraph [0081] paragraph [0076] ----- X.N.: "Human LAP (TGF-[beta]1) Antibody", 1 January 1985 (1985-01-01), XP055383034, Retrieved from the Internet: URL:https://resources.rndsystems.com/pdfs/ datasheets/af-246-na.pdf [retrieved on 2017-06-20] page 1 - page 2 ----- -/-	1-41,54, 55 1-6,54, 55

Further documents are listed in the continuation of Box C.

See patent family annex.

* Special categories of cited documents :

- *A* document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance
- *E* earlier application or patent but published on or after the international filing date
- *L* document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)
- *O* document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means
- *P* document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed

T later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention

X document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone

Y document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art

& document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search

Date of mailing of the international search report

20 June 2017

07/07/2017

Name and mailing address of the ISA/

European Patent Office, P.B. 5818 Patentlaan 2
NL - 2280 HV Rijswijk
Tel. (+31-70) 340-2040,
Fax: (+31-70) 340-3016

Authorized officer

Wagner, René

1

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No
PCT/US2017/021972

C(Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	<p>WO 2014/182676 A2 (SCHOLAR ROCK INC [US]) 13 November 2014 (2014-11-13)</p> <p>page 211 page 213 page 214, paragraph 1 claims 40,41,45</p> <p>-----</p> <p>WO 2013/134365 A1 (LUDWIG INST FOR CANCER RES LTD [US]) 12 September 2013 (2013-09-12)</p> <p>example 2 claim 28 example 3 example 4</p> <p>-----</p> <p>WO 2006/116002 A2 (LILLY CO ELI [US]; DAVIES JULIAN [US]; DICKINSON CRAIG DUANE [US]; HUA) 2 November 2006 (2006-11-02)</p> <p>the whole document</p> <p>-----</p> <p>WO 2015/015003 A1 (UNIVERSITÉ CATHOLIQUE DE LOUVAIN [BE]; LUDWIG INST FOR CANCER RES LTD) 5 February 2015 (2015-02-05)</p> <p>the whole document</p> <p>-----</p> <p>Rui Wang ET AL: "GARP regulates the bioavailability and activation of TGF[β]", <i>Molecular biology of the cell</i>, 1 March 2012 (2012-03-01), pages 1129-1139, XP55094855, United States</p> <p>DOI: 10.1091/mbc.E11-12-1018</p> <p>Retrieved from the Internet: URL:http://www.ncbi.nlm.nih.gov/article.fcgi?artid=3302739&tool=pmcentrez&rendertype=abstract</p> <p>the whole document</p> <p>-----</p> <p>JOHN C. MORRIS ET AL: "Phase I Study of GC1008 (Fresolimumab): A Human Anti-Transforming Growth Factor-Beta (TGF[β]) Monoclonal Antibody in Patients with Advanced Malignant Melanoma or Renal Cell Carcinoma", <i>PLOS ONE</i>, vol. 9, no. 3, 11 March 2014 (2014-03-11), page e90353, XP55171683,</p> <p>DOI: 10.1371/journal.pone.0090353</p> <p>the whole document</p> <p>-----</p>	42-53, 56-63, 68-70
X		64-67, 71-74
A		1-74

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

International application No

PCT/US2017/021972

Patent document cited in search report		Publication date	Patent family member(s)		Publication date
WO 2011102483	A1	25-08-2011	NONE		
WO 2014182676	A2	13-11-2014	AU 2014262843 A1 AU 2017203611 A1 CA 2911514 A1 EP 2981822 A2 JP 2016521283 A SG 11201508681Q A US 2015337034 A1 US 2015361175 A1 US 2015361421 A1 US 2016031980 A1 US 2016289318 A1 WO 2014182676 A2	19-11-2015 15-06-2017 13-11-2014 10-02-2016 21-07-2016 27-11-2015 26-11-2015 17-12-2015 17-12-2015 04-02-2016 06-10-2016 13-11-2014	
WO 2013134365	A1	12-09-2013	EP 2822592 A1 US 2015132319 A1 US 2017137507 A1 WO 2013134365 A1	14-01-2015 14-05-2015 18-05-2017 12-09-2013	
WO 2006116002	A2	02-11-2006	AT 505489 T AU 2006240056 A1 BR P10608376 A2 CA 2607448 A1 CN 101163719 A CY 1111518 T1 DK 1874818 T3 EA 200702278 A1 EP 1874818 A2 ES 2361269 T3 HR P20110334 T1 IL 186775 A JP 5070200 B2 JP 2008538564 A KR 20070114220 A PT 1874818 E RS 51845 B SI 1874818 T1 UA 93201 C2 US 2008050375 A1 US 2010040633 A1 WO 2006116002 A2	15-04-2011 02-11-2006 16-11-2010 02-11-2006 16-04-2008 05-08-2015 14-06-2011 29-08-2008 09-01-2008 15-06-2011 30-06-2011 24-03-2013 07-11-2012 30-10-2008 29-11-2007 05-05-2011 29-02-2012 31-08-2011 25-01-2011 28-02-2008 18-02-2010 02-11-2006	
WO 2015015003	A1	05-02-2015	AU 2014298373 A1 CA 2919765 A1 CN 105658666 A EA 201690314 A1 EP 3027650 A1 JP 2016529892 A KR 20160056880 A SG 11201600741S A US 2016272717 A1 WO 2015015003 A1	18-02-2016 05-02-2015 08-06-2016 29-07-2016 08-06-2016 29-09-2016 20-05-2016 26-02-2016 22-09-2016 05-02-2015	

フロントページの続き

(51) Int.Cl.	F	I	テーマコード(参考)
C 1 2 N 5/0784 (2010.01)	C 1 2 N	5/0784	
C 1 2 N 5/0786 (2010.01)	C 1 2 N	5/0786	
A 6 1 K 39/395 (2006.01)	A 6 1 K	39/395	N
A 6 1 P 21/04 (2006.01)	A 6 1 P	21/04	
A 6 1 P 35/00 (2006.01)	A 6 1 P	35/00	
A 6 1 P 25/28 (2006.01)	A 6 1 P	25/28	
A 6 1 P 7/00 (2006.01)	A 6 1 P	7/00	
A 6 1 P 13/12 (2006.01)	A 6 1 P	13/12	
A 6 1 P 1/16 (2006.01)	A 6 1 P	1/16	
A 6 1 P 11/00 (2006.01)	A 6 1 P	11/00	
A 6 1 K 45/00 (2006.01)	A 6 1 K	45/00	
A 6 1 P 43/00 (2006.01)	A 6 1 P	43/00	1 1 1
A 6 1 P 37/06 (2006.01)	A 6 1 P	43/00	1 2 1
		A 6 1 P	37/06

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

(74) 代理人 230113332

弁護士 山本 健策

(72) 発明者 シュルフ, トーマス

アメリカ合衆国 マサチューセッツ 02140, ケンブリッジ, コテージ パーク アベニュー 18

(72) 発明者 カルヴェン, グレゴリー ジェイ.

アメリカ合衆国 マサチューセッツ 01754, メイナード, ブルックス ストリート 89

(72) 発明者 ダッタ, アビシェク

アメリカ合衆国 マサチューセッツ 02131, ボストン, ヘマン ストリート 48

(72) 発明者 ロング, キンバリー

アメリカ合衆国 マサチューセッツ 02130, ボストン, ジャマイカ プレイス 2

F ターム(参考) 4B065 AA94X CA25 CA44

4C084 AA19 MA02 NA05 NA06 NA07 NA20 ZA151 ZA152 ZA511 ZA512

ZA591 ZA592 ZA751 ZA752 ZA811 ZA812 ZA941 ZA942 ZB081 ZB082

ZB261 ZB262 ZC202 ZC412 ZC75

4C085 AA14 AA16 BB11 BB41 BB43 CC23 EE01 EE03

4H045 AA11 AA20 AA30 BA41 CA40 DA76 EA20 FA74