(19)日本国特許庁(JP)　(12)公開特許公報(A)　(11)特許出願公開番号
特開2017-200482
(P2017-200482A)
(43)公開日　平成29年11月9日(2017.11.9)

(51)Int.Cl.		F I			テーマコード（参考）
C12N 15/09	(2006.01)	C12N	15/00	ZNAA	4B064
C07K 16/24	(2006.01)	C07K	16/24		4B065
C12P 21/08	(2006.01)	C12P	21/08		4C085
C07K 16/46	(2006.01)	C07K	16/46		4H045
C12N 1/15	(2006.01)	C12N	1/15		

審査請求 有　請求項の数 1　ＯＬ　外国語出願　（全 106 頁）　最終頁に続く

(21)出願番号　特願2017-116326 (P2017-116326)
(22)出願日　平成29年6月13日 (2017.6.13)
(62)分割の表示　特願2014-555859 (P2014-555859)の分割
原出願日　平成25年2月6日 (2013.2.6)
(31)優先権主張番号　61/595,658
(32)優先日　平成24年2月6日 (2012.2.6)
(33)優先権主張国　米国 (US)
(31)優先権主張番号　61/680,674
(32)優先日　平成24年8月7日 (2012.8.7)
(33)優先権主張国　米国 (US)

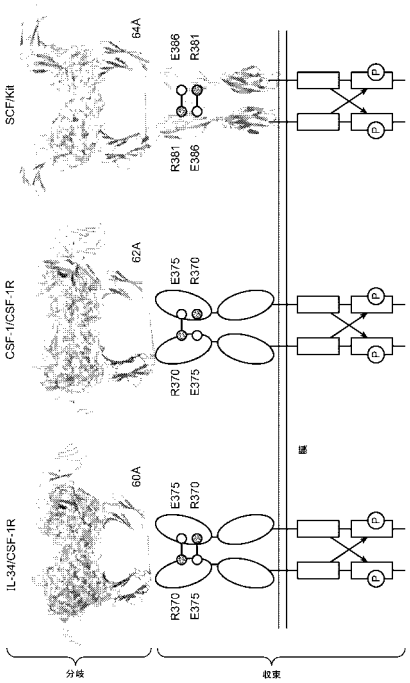
（特許庁注：以下のものは登録商標）
１．ＵＮＩＸ

(71)出願人　509012625
ジェネンテック，　インコーポレイテッド
アメリカ合衆国　カリフォルニア州　サウス　サンフランシスコ　ディーエヌエー　ウェイ　１
(74)代理人　110002077
園田・小林特許業務法人
(72)発明者　マー，　シャオレイ
アメリカ合衆国　カリフォルニア　９４５３０，　エル　サリート，　サン　パブロ　アヴェニュー　１１７２０，　アパートメント　２０４

最終頁に続く

(54)【発明の名称】ＣＳＦ１Ｒ阻害剤を用いるための組成物及び方法

(57)【要約】　（修正有）
【課題】抗ＩＬ－３４抗体抗体を含めたＣＳＦ１－Ｒ経路阻害剤、並びにこれらを用いる、骨髄病原性免疫疾患を治療するための方法を提供する。
【解決手段】抗ＩＬ－３４抗体、二重特異性抗ＩＬ－３４／ＣＳＦ－１抗体、及び抗ＣＳＦ－１Ｒ抗体を含めたＣＳＦ１－Ｒ経路阻害剤。関節リウマチ、炎症性腸疾患、多発性硬化症、マクロファージ活性化症候群（ＭＡＳ）、円板状ループス、サルコイドーシス、血管炎、及び移植片対宿主病である、骨髄病原性免疫疾患を治療するための方法。
【選択図】図６



【特許請求の範囲】
【請求項１】
ヒトＩＬ－３４に結合する単離抗体であって、ヒトＩＬ－３４のアミノ酸残基Ｇｌｕ１０３、Ｌｅｕ１０９、Ｇｌｎ１０６、Ａｓｎ１５０、Ｌｅｕ１２７、Ａｓｎ１２８、Ｓｅｒ１８４、Ｌｅｕ１８６、Ａｓｎ１８７、Ｌｙｓ４４、Ｇｌｕ１２１、Ａｓｐ１０７、Ｇｌｕ１１１、Ｓｅｒ１０４、Ｇｌｎ１２０、Ｔｒｐ１１６、及びＡｓｎ６１のうちの少なくとも一つを含むエピトープに結合し、アミノ酸残基の位置が配列番号１における位置に基づき、前記抗体が、ヒトＩＬ－３４とヒトＣＳＦ－１Ｒとの間の結合を阻害する、抗体。
【請求項２】
ヒトＩＬ－３４に結合する単離抗体であって、ヒトＩＬ－３４のアミノ酸残基Ｇｌｕ１０３～Ａｓｎ１５０のうちの少なくとも一つを含むエピトープに結合し、アミノ酸残基の位置が配列番号１に基づき、前記抗体が、ヒトＩＬ－３４とヒトＣＳＦ－１Ｒとの間の結合を阻害する、抗体。
【請求項３】
ヒトＩＬ－３４のアミノ酸残基Ｇｌｕ１０３、Ｌｅｕ１０９、Ｇｌｎ１０６、及びＡｓｎ１５０のうちの少なくとも一つを含むエピトープに結合し、アミノ酸残基の位置が配列番号１における位置に基づく、請求項１又は請求項２に記載の抗体。
【請求項４】
前記エピトープが、ヒトＩＬ－３４のアミノ酸残基Ｓｅｒ１００、Ｇｌｕ１２３、Ｔｒｐ１１６、Ｔｈｒ１２４、Ｌｅｕ１２７、Ａｓｎ１２８、Ｇｌｎ１３１、及びＴｈｒ１３４のうちの少なくとも一つを更に含み、アミノ酸残基の位置が配列番号１における位置に基づく、請求項３に記載の抗体。
【請求項５】
ヒトＩＬ－３４の１００～１０８、１１６～１３４、１０９、及び１５０位内のアミノ酸に結合し、アミノ酸残基の位置が配列番号１における位置に基づく、請求項３又は請求項４に記載の抗体。
【請求項６】
ヒトＩＬ－３４のアミノ酸残基Ａｓｎ１２８、Ｓｅｒ１８４、Ｌｅｕ１８６、Ａｓｎ１８７、Ｌｙｓ４４、及びＧｌｕ１２１のうちの少なくとも一つを含むエピトープに結合し、アミノ酸残基の位置が配列番号１における位置に基づく、請求項１に記載の抗体。
【請求項７】
前記エピトープが、ヒトＩＬ－３４のアミノ酸残基Ｐｈｅ４０、Ａｓｐ４３、Ｌｅｕ１２５、Ｇｌｎ１８９、Ｔｈｒ３６、及びＶａｌ１８５のうちの少なくとも一つを更に含み、アミノ酸残基の位置が配列番号１における位置に基づく、請求項６に記載の抗体。
【請求項８】
ヒトＩＬ－３４の３６～４４、１２１～１２８、及び１８４～１８７位内のアミノ酸に結合し、アミノ酸残基の位置が配列番号１における位置に基づく、請求項６又は請求項７に記載の抗体。
【請求項９】
ヒトＩＬ－３４のアミノ酸残基Ｇｌｕ１０３～Ｌｅｕ１２７のうちの少なくとも一つを含むエピトープに結合し、アミノ酸残基の位置が配列番号１における位置に基づく、請求項１又は請求項２に記載の抗体。
【請求項１０】
ヒトＩＬ－３４のアミノ酸残基Ａｓｐ１０７、Ｇｌｕ１１１、Ｓｅｒ１０４、Ｇｌｎ１２０、Ｇｌｕ１０３、Ｌｅｕ１０９、Ｔｒｐ１１６、及びＡｓｎ６１のうちの少なくとも一つを含むエピトープに結合し、アミノ酸残基の位置が配列番号１における位置に基づく、請求項１に記載の抗体。
【請求項１１】
前記エピトープが、ヒトＩＬ－３４のアミノ酸残基Ｐｒｏ１５２、Ｖａｌ１０８、Ｌｅ

ｕ１１０、Ｇｌｎ１０６、Ｇｌｕ１２３、Ｌｅｕ１２７、Ｌｙｓ１１７、Ｉｌｅ６０、及びＬｙｓ５５のうちの少なくとも一つを更に含み、アミノ酸残基の位置が配列番号１における位置に基づく、請求項１０に記載の抗体。

【請求項１２】

ヒトＩＬ－３４の５５～６１、１００～１０８、１０９、１１１～１２７、及び１５２位内のアミノ酸に結合し、アミノ酸残基の位置が配列番号１における位置に基づく、請求項１０又は請求項１１に記載の抗体。

【請求項１３】

配列番号３のアミノ酸配列に対する配列同一性が少なくとも９０％である重鎖可変領域配列、及び／又は配列番号４のアミノ酸配列に対する配列同一性が少なくとも９０％である軽鎖可変領域配列を含む、請求項１０から１２の何れか一項に記載の抗体。

【請求項１４】

配列番号３のアミノ酸配列である重鎖可変領域配列、及び／又は配列番号４のアミノ酸配列である軽鎖可変領域配列を含む、請求項１０から１３の何れか一項に記載の抗体。

【請求項１５】

（ａ）アミノ酸配列ＧＬＧＫＧＳＫＲＧＡＭＤＹ（配列番号３３）を含むＨＶＲ－Ｈ３；（ｂ）アミノ酸配列ＱＱＳＦＹＦＰＮＴ（配列番号３９）を含むＨＶＲ－Ｌ３；及び（ｃ）アミノ酸配列ＲＩＳＰＹＹＹＹＳＤＹＡＤＳＶＫＧ（配列番号５２）を含むＨＶＲ－Ｈ２を含む、請求項１０から１２の何れか一項に記載の抗体。

【請求項１６】

（ａ）アミノ酸配列ＳＴＷＩＨ（配列番号５９）を含むＨＶＲ－Ｈ１；（ｂ）アミノ酸配列ＲＩＳＰＹＹＹＹＳＤＹＡＤＳＶＫＧ（配列番号５２）を含むＨＶＲ－Ｈ２；及び（ｃ）アミノ酸配列ＧＬＧＫＧＳＫＲＧＡＭＤＹ（配列番号３３）を含むＨＶＲ－Ｈ３を含む、請求項１０から１２の何れか一項に記載の抗体。

【請求項１７】

（ａ）アミノ酸配列ＲＡＳＱＤＶＳＴＡＶＡ（配列番号５０）を含むＨＶＲ－Ｌ１；（ｂ）アミノ酸配列ＳＡＳＦＬＹＳ（配列番号５３）を含むＨＶＲ－Ｌ２；及び（ｃ）アミノ酸配列ＱＱＳＦＹＦＰＮＴ（配列番号３９）を含むＨＶＲ－Ｌ３を含む、請求項１０から１２及び１６の何れか一項に記載の抗体。

【請求項１８】

ＩＬ－３４の二量体に結合する、請求項１から１７の何れか一項に記載の抗体。

【請求項１９】

ヒトＩＬ－３４二量体の両方のプロトマーにわたるエピトープに結合する、請求項１８に記載の抗体。

【請求項２０】

ヒトＩＬ－３４に結合する単離抗体であって、ヒトＩＬ－３４とヒトＣＳＦ－１Ｒとの間の結合を阻害し、ＩＬ－３４の二量体に結合する抗体。

【請求項２１】

（ａ）アミノ酸配列ＧＬＧＫＧＳＫＲＧＡＭＤＹ（配列番号３３）又はＧＩＮＱＧＳＫＲＧＡＭＤＹ（配列番号３２）を含むＨＶＲ－Ｈ３；（ｂ）アミノ酸配列ＱＱＳＦＹＦＰＮＴ（配列番号３９）又はＱＱＳＹＴＴＰＰＴ（配列番号４３）又はＱＱＹＴＡＬＰＹＴ（配列番号４９）又はＱＱＹＳＤＬＰＹＴ（配列番号４５）又はＱＱＹＳＤＶＰＹＴ（配列番号４７）又はＱＱＳＲＴＡＲＰＴ（配列番号４１）を含むＨＶＲ－Ｌ３；及び（ｃ）アミノ酸配列ＲＩＳＰＹＹＹＹＳＤＹＡＤＳＶＫＧ（配列番号５２）又はＲＩＳＰＹＳＧＹＴＮＹＡＤＳＶＫＧ（配列番号５１）を含むＨＶＲ－Ｈ２を含む、請求項２０に記載の抗体。

【請求項２２】

（ａ）アミノ酸配列ＳＴＷＩＨ（配列番号５９）を含むＨＶＲ－Ｈ１；（ｂ）アミノ酸配列ＲＩＳＰＹＹＹＹＳＤＹＡＤＳＶＫＧ（配列番号５２）又はＲＩＳＰＹＳＧＹＴＮＹＡＤＳＶＫＧ（配列番号５１）を含むＨＶＲ－Ｈ２；及び（ｃ）アミノ酸配列ＧＬＧＫＧ

ＳＫＲＧＡＭＤＹ（配列番号３３）又はＧＩＮＱＧＳＫＲＧＡＭＤＹ（配列番号３２）を含むＨＶＲ－Ｈ３を含む、請求項２０に記載の抗体。

【請求項２３】

（ａ）アミノ酸配列ＲＡＳＱＤＶＳＴＡＶＡ（配列番号５０）を含むＨＶＲ－Ｌ１；（ｂ）アミノ酸配列ＳＡＳＦＬＹＳ（配列番号５３）を含むＨＶＲ－Ｌ２；及び（ｃ）アミノ酸配列ＱＱＳＦＹＦＰＮＴ（配列番号３９）又はＱＱＳＹＴＴＰＰＴ（配列番号４３）又はＱＱＹＴＡＬＰＹＴ（配列番号４９）又はＱＱＹＳＤＬＰＹＴ（配列番号４５）又はＱＱＹＳＤＶＰＹＴ（配列番号４７）又はＱＱＳＲＴＡＲＰＴ（配列番号４１）又はＱＱＳＦＹＦＰＮ（配列番号３８）又はＱＱＳＹＴＴＰＰ（配列番号４２）又はＱＱＹＴＡＬＰＹ（配列番号４８）又はＱＱＹＳＤＬＰＹ（配列番号４４）又はＱＱＹＳＤＶＰＹ（配列番号４６）又はＱＱＳＲＴＡＲＰ（配列番号４０）を含むＨＶＲ－Ｌ３を含む、請求項２０又は請求項２２に記載の抗体。

【請求項２４】

（ａ）アミノ酸配列ＧＬＧＫＧＳＫＲＧＡＭＤＹ（配列番号３３）を含むＨＶＲ－Ｈ３；（ｂ）アミノ酸配列ＱＱＹＳＤＬＰＹＴ（配列番号４５）を含むＨＶＲ－Ｌ３；及び（ｃ）アミノ酸配列ＲＩＳＰＹＳＧＹＴＮＹＡＤＳＶＫＧ（配列番号５１）を含むＨＶＲ－Ｈ２を含む、請求項２０に記載の抗体。

【請求項２５】

（ａ）ＳＴＷＩＨ（配列番号５９）のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｈ１；（ｂ）アミノ酸配列ＲＩＳＰＹＳＧＹＴＮＹＡＤＳＶＫＧ（配列番号５１）を含むＨＶＲ－Ｈ２；及び（ｃ）アミノ酸配列ＧＬＧＫＧＳＫＲＧＡＭＤＹ（配列番号３３）を含むＨＶＲ－Ｈ３を含む、請求項２０に記載の抗体。

【請求項２６】

（ａ）ＲＡＳＱＤＶＳＴＡＶＡ（配列番号５０）のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｌ１；（ｂ）アミノ酸配列ＳＡＳＦＬＹＳ（配列番号５３）を含むＨＶＲ－Ｌ２；及び（ｃ）アミノ酸配列ＱＱＹＳＤＬＰＹＴ（配列番号４５）を含むＨＶＲ－Ｌ３を含む、請求項２０又は請求項２５に記載の抗体。

【請求項２７】

配列番号５のアミノ酸配列に対する配列同一性が少なくとも９０％である重鎖可変領域配列、及び／又は配列番号６のアミノ酸配列に対する配列同一性が少なくとも９０％である軽鎖可変領域配列を含む、請求項２０から２３の何れか一項に記載の抗体。

【請求項２８】

配列番号５のアミノ酸配列である重鎖可変領域配列、及び／又は配列番号６のアミノ酸配列である軽鎖可変領域配列を含む、請求項２０から２３の何れか一項に記載の抗体。

【請求項２９】

配列番号７のアミノ酸配列に対する配列同一性が少なくとも９０％である重鎖可変領域配列、及び／又は配列番号８のアミノ酸配列に対する配列同一性が少なくとも９０％である軽鎖可変領域配列を含む、請求項２０から２３の何れか一項に記載の抗体。

【請求項３０】

配列番号７のアミノ酸配列である重鎖可変領域配列、及び／又は配列番号８のアミノ酸配列である軽鎖可変領域配列を含む、請求項２０から２３の何れか一項に記載の抗体。

【請求項３１】

配列番号９のアミノ酸配列に対する配列同一性が少なくとも９０％である重鎖可変領域配列、及び／又は配列番号１０のアミノ酸配列に対する配列同一性が少なくとも９０％である軽鎖可変領域配列を含む、請求項２０から２３の何れか一項に記載の抗体。

【請求項３２】

配列番号９のアミノ酸配列である重鎖可変領域配列、及び／又は配列番号１０のアミノ酸配列である軽鎖可変領域配列を含む、請求項２０から２３の何れか一項に記載の抗体。

【請求項３３】

配列番号１１のアミノ酸配列に対する配列同一性が少なくとも９０％である重鎖可変領

域配列、及び／又は配列番号１２のアミノ酸配列に対する配列同一性が少なくとも９０％である軽鎖可変領域配列を含む、請求項２０から２６の何れか一項に記載の抗体。
【請求項３４】
配列番号１１のアミノ酸配列である重鎖可変領域配列、及び／又は配列番号１２のアミノ酸配列である軽鎖可変領域配列を含む、請求項２０から２６の何れか一項に記載の抗体。
【請求項３５】
配列番号１３のアミノ酸配列に対する配列同一性が少なくとも９０％である重鎖可変領域配列、及び／又は配列番号１４のアミノ酸配列に対する配列同一性が少なくとも９０％である軽鎖可変領域配列を含む、請求項２０から２３の何れか一項に記載の抗体。
【請求項３６】
配列番号１３のアミノ酸配列である重鎖可変領域配列、及び／又は配列番号１４のアミノ酸配列である軽鎖可変領域配列を含む、請求項２０から２３の何れか一項に記載の抗体。
【請求項３７】
ヒトＩＬ－３４二量体の両方のプロトマーにわたるエピトープに結合する、請求項２０から３６の何れか一項に記載の抗体。
【請求項３８】
ＩＬ－３４活性を中和する、請求項２０から３７の何れか一項に記載の抗体。
【請求項３９】
ヒトＩＬ－３４に結合する単離抗体であって、ヒトＩＬ－３４とヒトＣＳＦ－１Ｒとの間の結合を阻害し、ＩＬ－３４活性を中和する、抗体。
【請求項４０】
（ａ）アミノ酸配列ＳＲＧＡＹＲＦＡＹ（配列番号５６）を含むＨＶＲ－Ｈ３；（ｂ）アミノ酸配列ＱＱＳＹＴＴＰＰＴ（配列番号４３）を含むＨＶＲ－Ｌ３；及び（ｃ）アミノ酸配列ＳＩＴＰＡＳＧＤＴＤＹＡＤＳＶＫＧ（配列番号５４）を含むＨＶＲ－Ｈ２を含む、請求項３９に記載の抗体。
【請求項４１】
（ａ）アミノ酸配列ＳＮＹＩＨ（配列番号５５）を含むＨＶＲ－Ｈ１；（ｂ）アミノ酸配列ＳＩＴＰＡＳＧＤＴＤＹＡＤＳＶＫＧ（配列番号５４）を含むＨＶＲ－Ｈ２；及び（ｃ）アミノ酸配列ＳＲＧＡＹＲＦＡＹ（配列番号５６）を含むＨＶＲ－Ｈ３を含む、請求項３９に記載の抗体。
【請求項４２】
（ａ）アミノ酸配列ＲＡＳＱＤＶＳＴＡＶＡ（配列番号５０）を含むＨＶＲ－Ｌ１；（ｂ）アミノ酸配列ＳＡＳＦＬＹＳ（配列番号５３）を含むＨＶＲ－Ｌ２；及び（ｃ）アミノ酸配列ＱＱＳＹＴＴＰＰＴ（配列番号４３）を含むＨＶＲ－Ｌ３を含む、請求項３９又は請求項４１に記載の抗体。
【請求項４３】
配列番号１５のアミノ酸配列に対する配列同一性が少なくとも９０％である重鎖可変領域配列、及び／又は配列番号１６のアミノ酸配列に対する配列同一性が少なくとも９０％である軽鎖可変領域配列を含む、請求項３９から４２の何れか一項に記載の抗体。
【請求項４４】
配列番号１５のアミノ酸配列である重鎖可変領域配列、及び／又は配列番号１６のアミノ酸配列である軽鎖可変領域配列を含む、請求項３９から４３の何れか一項に記載の抗体。
【請求項４５】
ヒトＣＳＦ－１とヒトＣＳＦ－１Ｒとの間の結合を阻害しない、請求項１から４４の何れか一項に記載の抗体。
【請求項４６】
モノクローナル抗体である、請求項１から４５の何れか一項に記載の抗体。

【請求項４７】
ヒト抗体、ヒト化抗体、又はキメラ抗体である、請求項１から４６の何れか一項に記載の抗体。
【請求項４８】
二重特異性抗体である、請求項１から４７の何れか一項に記載の抗体。
【請求項４９】
二重特異性抗体が、ヒトＣＳＦ－１に対する第２の結合特異性を含む、請求項４８に記載の抗体。
【請求項５０】
ヒトＩＬ－３４（配列番号１）に対する第１の結合特異性と、ヒトＣＳＦ－１に対する第２の結合特異性とを含む、二重特異性抗体。
【請求項５１】
ヒトＩＬ－３４のヒトＣＳＦ－１Ｒへの結合を阻害し、ヒトＣＳＦ－１のヒトＣＳＦ－１Ｒへの結合を阻害する、請求項５０に記載の二重特異性抗体。
【請求項５２】
ヒトＩＬ－３４に結合する抗体断片である、請求項１から５１の何れか一項に記載の抗体。
【請求項５３】
Ｆａｂ断片、Ｆａｂ’断片、Ｆａｂ’－ＳＨ断片、Ｆ（ａｂ’）$_2$断片、Ｆｖ断片、又はｓｃＦｖ断片である、請求項５２に記載の断片。
【請求項５４】
１アーム抗体である、請求項１から５１の何れか一項に記載の抗体。
【請求項５５】
線状抗体である、請求項１から５１の何れか一項に記載の抗体。
【請求項５６】
全長ＩｇＧ１又はＩｇＧ４抗体である、請求項１から５５の何れか一項に記載の抗体。
【請求項５７】
ヒトＣＳＦ－１Ｒに結合する単離抗体であって、ヒトＣＳＦ－１Ｒのアミノ酸残基Ａｒｇ１４４、Ｇｌｎ２４８、Ｇｌｎ２４９、Ｓｅｒ２５０、Ｐｈｅ２５２、及びＡｓｎ２５４のうちの少なくとも一つを含むエピトープに結合し、アミノ酸残基の位置が配列番号２における位置に基づき、前記抗体が、ヒトＩＬ－３４とヒトＣＳＦ－１Ｒとの間の結合を阻害する、抗体。
【請求項５８】
ＣＳＦ－１Ｒのアミノ酸残基Ａｒｇ１４４を含むエピトープに結合し、アミノ酸残基の位置が配列番号２における位置に基づく、請求項５７に記載の抗体。
【請求項５９】
前記エピトープが、ヒトＣＳＦ－１Ｒのアミノ酸残基Ａｒｇ１４２、Ａｒｇ１４６、及びＡｒｇ１５０のうちの少なくとも一つを更に含み、アミノ酸残基の位置が配列番号２における位置に基づく、請求項５８に記載の抗体。
【請求項６０】
前記エピトープが、ヒトＣＳＦ－１Ｒのアミノ酸残基Ｓｅｒ１７２及びＡｒｇ１９２のうちの少なくとも一つを更に含み、アミノ酸残基の位置が配列番号２における位置に基づく、請求項５８又は５９に記載の抗体。
【請求項６１】
前記エピトープが、ヒトＣＳＦ－１Ｒのアミノ酸残基Ａｒｇ１４６、Ｍｅｔ１４９、Ａｒｇ１５０、Ｐｈｅ１６９、Ｉｌｅ１７０、及びＧｌｎ１７３のうちの少なくとも一つを更に含み、アミノ酸残基の位置が配列番号２における位置に基づく、請求項５８から６０の何れか一項に記載の抗体。
【請求項６２】
ヒトＣＳＦ－１Ｒの１４２～１５０及び１６９～１７３位内のアミノ酸に結合し、アミ

ノ酸残基の位置が配列番号２における位置に基づく、請求項５８から６１の何れか一項に記載の抗体。
【請求項６３】
ヒトＣＳＦ－１Ｒのアミノ酸残基Ｇｌｎ２４８、Ｇｌｎ２４９、Ｓｅｒ２５０、Ｐｈｅ２５２、及びＡｓｎ２５４のうちの少なくとも一つを含むエピトープに結合し、アミノ酸残基の位置が配列番号２における位置に基づく、請求項５７に記載の抗体。
【請求項６４】
前記エピトープが、ヒトＣＳＦ－１Ｒのアミノ酸残基Ｔｙｒ２５７を更に含み、アミノ酸残基の位置が配列番号２における位置に基づく、請求項６３に記載の抗体。
【請求項６５】
前記エピトープが、ヒトＣＳＦ－１Ｒのアミノ酸残基Ｐｒｏ２４７、Ｇｌｎ２５８、及びＬｙｓ２５９のうちの少なくとも一つを更に含み、アミノ酸残基の位置が配列番号２における位置に基づく、請求項６３又は６４に記載の抗体。
【請求項６６】
前記エピトープが、ヒトＣＳＦ－１Ｒのアミノ酸残基Ｖａｌ２３１、Ａｓｐ２５１、及びＴｙｒ２５７のうちの少なくとも一つを更に含み、アミノ酸残基の位置が配列番号２における位置に基づく、請求項６３から６５の何れか一項に記載の抗体。
【請求項６７】
ヒトＣＳＦ－１Ｒの２３１、２４８～２５２、及び２５４位内のアミノ酸残基に結合し、アミノ酸残基の位置が配列番号２における位置に基づく、請求項６３から６６の何れか一項に記載の抗体。
【請求項６８】
請求項１から６７の何れか一項に記載の抗体をコードする単離核酸。
【請求項６９】
請求項６８に記載の核酸を含むベクター。
【請求項７０】
請求項６９に記載の核酸を含む宿主細胞。
【請求項７１】
抗体を作製する方法であって、請求項７０に記載の宿主細胞を、抗体が産生されるように培養することを含む、方法。
【請求項７２】
宿主細胞により産生される抗体を回収することを更に含む、請求項７１に記載の方法。
【請求項７３】
請求項１から６７の何れか一項に記載の抗体と薬学的に許容される担体とを含有する薬学的組成物。
【請求項７４】
医薬としての使用のための、請求項１から６７の何れか一項に記載の抗体。
【請求項７５】
骨髄病原性免疫疾患の治療における使用のための、請求項１から６７の何れか一項に記載の抗体。
【請求項７６】
ヒトＩＬ－３４とヒトＣＳＦ－１Ｒとの間の結合の阻害における使用のための、請求項１から６７の何れか一項に記載の抗体。
【請求項７７】
医薬の製造における、請求項１から６７の何れか一項に記載の抗体の使用。
【請求項７８】
医薬が、骨髄病原性免疫疾患を治療するための医薬である、請求項７７に記載の使用。
【請求項７９】
医薬が、ヒトＩＬ－３４とヒトＣＳＦ－１Ｒとの間の結合、及びヒトＣＳＦ１とヒトＣＳＦ１Ｒとの間の結合の両方を阻害する、請求項７７に記載の使用。

【請求項８０】
骨髄病原性免疫疾患を有する個体を治療する方法において、請求項１から６７の何れか一項に記載の抗体の有効量を該個体に投与することを含む、方法。
【請求項８１】
骨髄病原性免疫疾患を有する個体を治療する方法において、請求項１から４７の何れか一項に記載の抗体の有効量を、ヒトＣＳＦ－１に結合する抗体と共に該個体に投与することを含む、方法。
【請求項８２】
前記抗体が、二重特異性抗体であり、ヒトＩＬ－３４及びヒトＣＳＦ－１の活性が阻害される、請求項８０に記載の方法。
【請求項８３】
ヒトＩＬ－３４及びヒトＣＳＦ－１の活性が阻害される、請求項８１に記載の方法。
【請求項８４】
ヒトＩＬ－３４のヒトＣＳＦ－１Ｒへの結合が阻害され、ヒトＣＳＦ－１とヒトＣＳＦ－１Ｒとの結合が阻害される、請求項８２又は請求項８３に記載の方法。
【請求項８５】
骨髄病原性免疫疾患が、関節リウマチ、炎症性腸疾患、多発性硬化症、マクロファージ活性化症候群（ＭＡＳ）、円板状ループス、サルコイドーシス、血管炎、及び移植片対宿主病である、請求項８０から８４の何れか一項に記載の方法。
【請求項８６】
個体におけるヒトＩＬ－３４とヒトＣＳＦ－１Ｒとの間の結合を阻害する方法であって、請求項１から６７の何れか一項に記載の抗体の有効量を個体に投与することを含む、方法。
【請求項８７】
治療される個体において骨髄病原性疾患のためのＴＮＦ療法及び／又はリツキシマブ療法に対する応答が不十分である、請求項８０から８６の何れか一項に記載の方法。
【請求項８８】
請求項１から６７の何れか一項に記載の抗体を含む製造品。
【請求項８９】
請求項１から４７の何れか一項に記載の抗体を含み、ヒトＣＳＦ－１に結合する抗体を更に含む製造品。
【請求項９０】
個体における骨髄病原性免疫疾患を治療するために、有効量の抗体を個体に投与するための指示書を更に含む、請求項８８に記載の製造品。
【請求項９１】
個体における骨髄病原性免疫疾患を治療するために、有効量の、請求項１から４７の何れか一項に記載の抗体及びヒトＣＳＦ－１に結合する抗体を、個体へと投与するための指示書を更に含む、請求項８８に記載の製造品。
【請求項９２】
骨髄病原性免疫疾患が、関節リウマチ、炎症性腸疾患、又は多発性硬化症である、請求項８７から９１の何れか一項に記載の製造品。
【発明の詳細な説明】
【技術分野】
【０００１】
本発明は、抗ＩＬ－３４抗体、二重特異性ＩＬ－３４／ＣＳＦ１抗体及びＣＳＦ１Ｒ抗体を含む、ＣＳＦ１－Ｒ経路阻害剤を用いるための組成物及び方法に関する。
【背景技術】
【０００２】
Ｃ１６ｏｒｆ７７又はＵＮＱ２０３７４としてもまた知られているインターロイキン３４（Ｃｌａｒｋら、Ｇｅｎｏｍｅ　Ｒｅｓ、１３：２２６５～２２７０（２００３））は

近年、ヒト単球増殖スクリーニングにおいて、ＣＳＦ－１Ｒの第２の高アフィニティーリガンドとして同定された（Ｌｉｎら、Ｓｃｉｅｎｃｅ、３２０：８０７～８１１（２００８））。この発見は、多年にわたり、ＣＳＦ－１Ｒヌルマウスにおける、ＣＳＦ－１欠損ＣＳＦ－１ｏｐ／ＣＳＦ－１ｏｐマウスより重度の表現型により予示されていた（Ｄａｉら、Ｂｌｏｏｄ、９９：１１１～１２０（２００２））。ＣＳＦ－１（また、Ｍ－ＣＳＦ（マクロファージコロニー刺激因子）としても知られている）と同様に、よく特徴付けられたＣＳＦ－１ＲのリガンドであるｌＬ－３４は、ヒト単球におけるＥＲＫ１／２のリン酸化を刺激し、ヒト骨髄培養物中の顆粒球マクロファージの前駆体（ＣＦＵ－ＧＭ（顆粒球マクロファージコロニー形成単位））及び巨核球の前駆体（ＣＦＵ－Ｍ（マクロファージコロニー形成単位））の形成を促進する（Ｌｉｎら、Ｓｃｉｅｎｃｅ、３２０：８０７～８１１（２００８））。共通の受容体であり、癌原遺伝子ｃ－ｆｍｓの転写物である、ＣＳＦ－１Ｒにより媒介されて、ＩＬ－３４及びＣＳＦ－１は、単球、マクロファージ、及び破骨細胞などの単核食細胞系統の細胞の分化、増殖、及び生存の鍵となる調節因子として用いられる（Ｄｒｏｉｎら、Ｊｏｕｒｎａｌ ｏｆ ｌｅｕｋｏｃｙｔｅ ｂｉｏｌｏｇｙ、８７：７４５～７４７（２０１０））。

【０００３】

ＩＬ－３４の機能は、ＣＳＦ－１の機能と酷似するが、幾つかの注目すべき差違を伴う。何れのサイトカインも、細胞培養研究における細胞の増殖及び生存を同等に支援する（Ｃｈｉｈａｒａら、Ｃｅｌｌ ｄｅａｔｈ ａｎｄ ｄｉｆｆｅｒｅｎｔｉａｔｏｎ、１７：１９１７～１９２７（２０１０）；Ｗｅｉら、Ｊｏｕｒｎａｌ ｏｆ ｌｅｕｋｏｃｙｔｅ ｂｉｏｌｏｇｙ、８８：４９５～５０５（２０１０））。ＩＬ－３４遺伝子は、ＣＳＦ－１プロモーターの制御下で発現させたところ、ＣＳＦ－１ヌル接合ＣＳＦ－１ｏｐ／ＣＳＦ－１ｏｐマウスの表現型をレスキューすることが可能であった（Ｗｅｉら、Ｊｏｕｒｎａｌ ｏｆ ｌｅｕｋｏｃｙｔｅ ｂｉｏｌｏｇｙ、８８：４９５～５０５（２０１０））。ＩＬ－３４はまた、ＣＳＦ－１に代わって、ＲＡＮＫＬ（核因子κＢ活性化受容体リガンド）誘導性破骨細胞形成も支援することができる（Ｂａｕｄ’ｈｕｉｎら、Ｔｈｅ Ｊｏｕｒｎａｌ ｏｆ ｐａｔｈｏｌｏｇｙ、２２１：７７～８６（２０１０））。しかし、２つの因子は、初代マクロファージにおけるＭＣＰ－１及びエオタクシン２などのケモカインの産生、ＴＦ－１－ｆｍｓ細胞における形態変化、及びＪ７７４Ａ．１細胞の遊走を誘導するそれらの能力が異なると考えられる（Ｃｈｉｈａｒａら、Ｃｅｌｌ ｄｅａｔｈ ａｎｄ ｄｉｆｆｅｒｅｎｔｉａｔｏｎ、１７：１９１７～１９２７（２０１０））。ＩＬ－３４は、ＣＳＦ－１Ｒ及び下流のエフェクターの強力であるが一過性であるチロシンのリン酸化を誘導し、ＣＳＦ－１Ｒの発現を迅速に下方調節することが示されている（Ｃｈｉｈａｒａら、Ｃｅｌｌ ｄｅａｔｈ ａｎｄ ｄｉｆｆｅｒｅｎｔｉａｔｏｎ、１７：１９１７～１９２７（２０１０））。なおさらに、ＩＬ－３４及びＣＳＦ－１は、胚組織及び成体組織のいずれにおいても、発現の示差的な時空パターンを呈示し、これらは、ＣＳＦ－１Ｒの相補的な活性化をもたらす（Ｗｅｉら、Ｊｏｕｒｎａｌ ｏｆ ｌｅｕｋｏｃｙｔｅ ｂｉｏｌｏｇｙ、８８：４９５～５０５（２０１０））。最も顕著なことは、ＩＬ－３４のメッセンジャーＲＮＡは、胚の脳内でＣＳＦ－１Ｒと併せて検出されるが、ＣＳＦ－１のメッセンジャーＲＮＡは、胚の脳内でＣＳＦ－１Ｒと併せては検出されないことであり、これにより、ＣＳＦ－１欠損マウスでもミクログリアは発生するが、ＣＳＦ－１Ｒ欠損マウスではミクログリアが発生しないのはなぜかが説明されうるであろう（Ｇｉｎｈｏｕｘら、Ｓｃｉｅｎｃｅ、３３０：８４１～８４５（２０１０）；Ｍｉｚｕｎｏら、Ｔｈｅ Ａｍｅｒｉｃａｎ ｊｏｕｒｎａｌ ｏｆ ｐａｔｈｏｌｏｇｙ、１７９：２０１６～２０２７（２０１１））。したがって、ＩＬ－３４とＣＳＦ－１とは、互いに相似する一方で、それらの発生上の役割、生物学的活性、及びシグナル活性化の反応速度又は強度において必ずしも同一ではない。

【０００４】

他のタンパク質との察知可能な配列類似性の欠如にもかかわらず、ＩＬ－３４は、フォールド認識法により、ＣＳＦ－１、ＳＣＦ（幹細胞因子）、及びＦｌｔ３Ｌと同じファミ

リーに属する短鎖ヘリックス型サイトカインであることが提起された（Ｇａｒｃｅａｕら、Ｊｏｕｒｎａｌ ｏｆ ｌｅｕｋｏｃｙｔｅ ｂｉｏｌｏｇｙ、８７：７５３～７６４（２０１０））。これら後者の３つの二量体の造血サイトカインは、膜結合形態を有するという点で、ヘリックス型サイトカインの中では固有である（Ｂａｚａｎ、Ｃｅｌｌ、６５：９～１０（１９９１ａ）；Ｈａｎｎｕｍら、Ｎａｔｕｒｅ、３６８：６４３～６４８（１９９４））が、ＩＬ－３４は、疎水性の膜貫通セグメントを欠くという点で異なることが重要である。加えて、ＣＳＦ－１、ＳＣＦ、及びＦｌｔ３Ｌのサイトカイン二量体は、造血サイトカイン受容体（Ｂａｚａｎ、Ｉｍｍｕｎｏｌｏｇｙ ｔｏｄａｙ、１１：３５０～３５４（１９９０））の代わりに、ＰＤＧＦＲ（血小板由来成長因子受容体）サブファミリー（ＩＩＩ／Ｖ型）受容体のチロシンキナーゼ（ＲＴＫ）ファミリー（Ｒｏｓｎｅｔら、Ｃｒｉｔｉｃａｌ ｒｅｖｉｅｗｓ ｉｎ ｏｎｃｏｇｅｎｅｓｉｓ、４：５９５～６１３（１９９３））にも結合する。ＣＳＦ－１、ＳＣＦ、及びＦｌｔ３Ｌのサイトカイン二量体は、ＲＴＫファミリーの活性化リガンドであるＰＤＧＦ及びＶＥＧＦ（血管内皮細胞成長因子）というシスチンノット成長因子の二量体を機能的に模倣する（Ｓａｖｖｉｄｅｓら、Ｎａｔｕｒｅ ｓｔｒｕｃｔｕｒａｌ ｂｉｏｌｏｇｙ、７：４８６～４９１（２０００）；Ｗｉｅｓｍａｎｎら、Ｎａｔｕｒｅ ｓｔｒｕｃｔｕｒａｌ ｂｉｏｌｏｇｙ、７：４４０～４４２（２０００））。このＲＴＫファミリーの全てのメンバーは、それらの細胞外領域における複数のＩｇ様ドメイン、単一の膜貫通セグメント、及び大規模な挿入を伴う細胞質のチロシンキナーゼドメインを含む、類似する全体的アーキテクチャーを共有する。刺激されると、ＣＳＦ－１Ｒは、二量体化し、マクロファージの分化に寄与するＳＨ２含有エフェクタータンパク質のドッキング部位として用いられる、その細胞内ドメイン内のある種のチロシン残基を自己リン酸化させる（Ｐｉｘｌｅｙら、Ｔｒｅｎｄｓ ｉｎ ｃｅｌｌ ｂｉｏｌｏｇｙ、１４：６２８～６３８（２００４））。

【０００５】

ＣＳＦ－１Ｒと複合した二量体のＣＳＦ－１の構造は、一方のＣＳＦ－１プロトマーがＤ２とＤ３との間のくぼみにおいてその受容体に接近する一方で、第２のＣＳＦ－１プロトマーは占有されずにとどまる、非対称の２：１複合体を明示する（Ｃｈｅｎら、Ｐｒｏｃｅｅｄｉｎｇｓ ｏｆ ｔｈｅ Ｎａｔｉｏｎａｌ Ａｃａｄｅｍｙ ｏｆ Ｓｃｉｅｎｃｅｓ ｏｆ ｔｈｅ Ｕｎｉｔｅｄ Ｓｔａｔｅｓ ｏｆ Ａｍｅｒｉｃａ、１０５：１８２６７～１８２７２（２００８））。しかし、ＣＳＦ－１Ｒが、配列同一性が不十分な非近縁のリガンドであるＩＬ－３４もまた認識することが可能な分子的基礎は、本明細書で記載されるまで、捉えどころがないままであった。ＩＬ－３４は、独立に機能することが可能であり、ＣＳＦ－１とは相乗作用しない（Ｌｉｎら、Ｓｃｉｅｎｃｅ、３２０：８０７～８１１（２００８））。実際、ＣＳＦ－１は、ＣＳＦ－１Ｒへの結合についてＩＬ－３４と競合する（Ｗｅｉら、Ｊｏｕｒｎａｌ ｏｆ ｌｅｕｋｏｃｙｔｅ ｂｉｏｌｏｇｙ、８８：４９５～５０５（２０１０））ことから、ＣＳＦ－１Ｒ上の共通のリガンド結合部位が示唆される。しかし、これに対し、ＣＳＦ－１Ｒとその２つのリガンドとの間の、近年の比較配列研究は、ＩＬ－３４のＣＤループ、及びＣＳＦ－１ＲのＤ３とＤ４との間の接合部が、進化において、強い配列保存の相関係数を共有し、したがって、ＣＳＦ－１／ＣＳＦ－１Ｒ複合体により用いられる結合方式とは顕著に異なる固有の結合方式を表す可能性があることを示唆した（Ｇａｒｃｅａｕら、Ｊｏｕｒｎａｌ ｏｆ ｌｅｕｋｏｃｙｔｅ ｂｉｏｌｏｇｙ、８７：７５３～７６４（２０１０））。抗ＣＳＦ－１Ｒ抗体であるｍＡｂ １２－２Ｄ６は、ＩＬ－３４及びＣＳＦ－１の両方の、ＣＳＦ－１Ｒへの結合を遮断するが、別の抗体であるｍＡｂ ２－４Ａ５は、ＣＳＦ－１／ＣＳＦ－１Ｒ間の結合だけを遮断することが報告されたことは興味深い（Ｃｈｉｈａｒａら、Ｃｅｌｌ ｄｅａｔｈ ａｎｄ ｄｉｆｆｅｒｅｎｔｉａｔｏｎ、１７：１９１７～１９２７（２０１０））。これらの結果は、ＩＬ－３４とＣＳＦ－１とは、ＣＳＦ－１Ｒの表面上に重複する結合部位は有するが、同一な結合部位は有さないことを強力に示唆する。

【０００６】

本明細書で引用される、特許出願及び刊行物を含めた全ての参考文献は、出典明示によ

りそれらの全体において本明細書に援用される。

【発明の概要】

【０００７】

本発明は、抗ＩＬ－３４抗体、ＩＬ－３４及びＣＳＦ－１に結合する二重特異性抗体、並びに抗ＣＳＦ－１Ｒ抗体、並びにこれらを用いる方法を提供する。一実施態様では、本発明の抗体は、抗体依存性細胞介在性細胞傷害（ＡＤＣＣ）活性及び／又は補体依存性細胞傷害（ＣＤＣ）活性が低減されている。具体的な一実施態様では、本発明の抗体は、少なくとも一つのＦｃ領域の、以下の残基：２３８、２６５、２６９、２７０、２９７、３２７、及び３２９（ＥＵによる番号付け）のうちの１又は複数における置換を含むことにより、ＡＤＣＣ活性が低減されている。具体的な一実施態様では、ＡＤＣＣ活性を低減するＦｃ領域の置換は、残基２９７における置換である。別の実施態様では、ＡＤＣＣ活性を低減するＦｃ領域の置換は、Ｎ２９７Ｇ又はＮ２９７Ａである。別の実施態様では、ＡＤＣＣを低減するＦｃ置換は、Ｄ２６５Ａである。更に別の実施態様では、ＡＤＣＣ活性を低減するＦｃ置換は、残基２６５及び２９７のアラニンへの置換である。一実施態様では、二重特異性抗ＩＬ－３４／抗ＣＳＦ－１抗体は、ＫＩＨ（ｋｎｏｂ－ｉｎｔｏ－ｈｏｌｅ）二重特異性抗体である。

【０００８】

本明細書では、ヒトＩＬ－３４に結合する単離抗体であって、ヒトＩＬ－３４のアミノ酸残基Ｇｌｕ１０３、Ｌｅｕ１０９、Ｇｌｎ１０６、Ａｓｎ１５０、Ｌｅｕ１２７、Ａｓｎ１２８、Ｓｅｒ１８４、Ｌｅｕ１８６、Ａｓｎ１８７、Ｌｙｓ４４、Ｇｌｕ１２１、Ａｓｐ１０７、Ｇｌｕ１１１、Ｓｅｒ１０４、Ｇｌｎ１２０、Ｔｒｐ１１６、及びＡｓｎ６１のうちの少なくとも一つを含むエピトープに結合し、アミノ酸残基の位置が配列番号１における位置に基づき、抗体が、ヒトＩＬ－３４とヒトＣＳＦ－１Ｒとの間の結合を阻害する、抗体が提示される。

【０００９】

本明細書では、ヒトＩＬ－３４に結合する単離抗体であって、ヒトＩＬ－３４のアミノ酸残基Ｇｌｕ１０３～Ａｓｎ１５０のうちの少なくとも一つを含むエピトープに結合し、アミノ酸残基の位置が、配列番号１に基づき、抗体が、ヒトＩＬ－３４とヒトＣＳＦ－１Ｒとの間の結合を阻害する、抗体が提示される。

【００１０】

幾つかの実施態様では、抗体は、ヒトＩＬ－３４のアミノ酸残基Ｇｌｕ１０３、Ｌｅｕ１０９、Ｇｌｎ１０６、及びＡｓｎ１５０のうちの少なくとも一つを含むエピトープに結合し、アミノ酸残基の位置は、配列番号１における位置に基づく。幾つかの実施態様では、エピトープは、ヒトＩＬ－３４のアミノ酸残基Ｓｅｒ１００、Ｇｌｕ１２３、Ｔｒｐ１１６、Ｔｈｒ１２４、Ｌｅｕ１２７、Ａｓｎ１２８、Ｇｌｎ１３１、及びＴｈｒ１３４のうちの少なくとも一つを更に含み、アミノ酸残基の位置は、配列番号１における位置に基づく。幾つかの実施態様では、抗体は、ヒトＩＬ－３４の１００～１０８、１１６～１３４、１０９、及び１５０位内のアミノ酸に結合し、アミノ酸残基の位置は、配列番号１における位置に基づく。

【００１１】

幾つかの実施態様では、抗体は、ヒトＩＬ－３４のアミノ酸残基Ａｓｎ１２８、Ｓｅｒ１８４、Ｌｅｕ１８６、Ａｓｎ１８７、Ｌｙｓ４４、及びＧｌｕ１２１のうちの少なくとも一つを含むエピトープに結合し、アミノ酸残基の位置は、配列番号１における位置に基づく。幾つかの実施態様では、エピトープは、ヒトＩＬ－３４のアミノ酸残基Ｐｈｅ４０、Ａｓｐ４３、Ｌｅｕ１２５、Ｇｌｎ１８９、Ｔｈｒ３６、及びＶａｌ１８５のうちの少なくとも一つを更に含み、アミノ酸残基の位置は、配列番号１における位置に基づく。幾つかの実施態様では、抗体は、ヒトＩＬ－３４の３６～４４、１２１～１２８、及び１８４～１８７位内のアミノ酸に結合し、アミノ酸残基の位置は、配列番号１における位置に基づく。

【００１２】

幾つかの実施態様では、抗体は、ヒトＩＬ－３４のアミノ酸残基Ｇｌｕ１０３～Ｌｅｕ１２７のうちの少なくとも一つを含むエピトープに結合し、アミノ酸残基の位置は、配列番号１における位置に基づく。幾つかの実施態様では、抗体は、ヒトＩＬ－３４のアミノ酸残基Ａｓｐ１０７、Ｇｌｕ１１１、Ｓｅｒ１０４、Ｇｌｎ１２０、Ｇｌｕ１０３、Ｌｅｕ１０９、Ｔｒｐ１１６、及びＡｓｎ６１のうちの少なくとも一つを含むエピトープに結合し、アミノ酸残基の位置は、配列番号１における位置に基づく。幾つかの実施態様では、エピトープは、ヒトＩＬ－３４のアミノ酸残基Ｐｒｏ１５２、Ｖａｌ１０８、Ｌｅｕ１１０、Ｇｌｎ１０６、Ｇｌｕ１２３、Ｌｅｕ１２７、Ｌｙｓ１１７、Ｉｌｅ６０、及びＬｙｓ５５のうちの少なくとも一つを更に含み、アミノ酸残基の位置は、配列番号１における位置に基づく。幾つかの実施態様では、抗体は、ヒトＩＬ－３４の５５～６１、１００～１０８、１０９、１１１～１２７、及び１５２位内のアミノ酸に結合し、アミノ酸残基の位置は、配列番号１における位置に基づく。

【００１３】

幾つかの実施態様では、抗体は、配列番号３のアミノ酸配列に対する配列同一性が少なくとも９０％である重鎖可変領域配列、及び／又は配列番号４のアミノ酸配列に対する配列同一性が少なくとも９０％である軽鎖可変領域配列を含む。幾つかの実施態様では、抗体は、配列番号３のアミノ酸配列である重鎖可変領域配列、及び／又は配列番号４のアミノ酸配列である軽鎖可変領域配列を含む。幾つかの実施態様では、抗体は、（ａ）アミノ酸配列ＧＬＧＫＧＳＫＲＧＡＭＤＹ（配列番号３３）を含むＨＶＲ－Ｈ３；（ｂ）アミノ酸配列ＱＱＳＦＹＦＰＮＴ（配列番号３９）を含むＨＶＲ－Ｌ３；及び（ｃ）アミノ酸配列ＲＩＳＰＹＹＹＹＳＤＹＡＤＳＶＫＧ（配列番号５２）を含むＨＶＲ－Ｈ２を含む。幾つかの実施態様では、抗体は、（ａ）アミノ酸配列ＳＴＷＩＨ（配列番号５９）を含むＨＶＲ－Ｈ１、（ｂ）アミノ酸配列ＲＩＳＰＹＹＹＹＳＤＹＡＤＳＶＫＧ（配列番号５２）を含むＨＶＲ－Ｈ２；及び（ｃ）アミノ酸配列ＧＬＧＫＧＳＫＲＧＡＭＤＹ（配列番号３３）を含むＨＶＲ－Ｈ３を含む。幾つかの実施態様では、抗体は、（ａ）アミノ酸配列ＲＡＳＱＤＶＳＴＡＶＡ（配列番号５０）を含むＨＶＲ－Ｌ１；（ｂ）アミノ酸配列ＳＡＳＦＬＹＳ（配列番号５３）を含むＨＶＲ－Ｌ２；及び（ｃ）アミノ酸配列ＱＱＳＦＹＦＰＮＴ（配列番号３９）を含むＨＶＲ－Ｌ３を含む。

【００１４】

幾つかの実施態様では、抗体は、（ａ）アミノ酸配列ＧＬＧＫＧＳＫＲＧＡＭＤＹ（配列番号３３）又はＧＩＮＱＧＳＫＲＧＡＭＤＹ（配列番号３２）を含むＨＶＲ－Ｈ３；（ｂ）アミノ酸配列ＱＱＳＦＹＦＰＮＴ（配列番号３９）又はＱＱＳＹＴＴＰＰＴ（配列番号４３）又はＱＱＹＴＡＬＰＹＴ（配列番号４９）又はＱＱＹＳＤＬＰＹＴ（配列番号４５）又はＱＱＹＳＤＶＰＹＴ（配列番号４７）又はＱＱＳＲＴＡＲＰＴ（配列番号４１）を含むＨＶＲ－Ｌ３；及び（ｃ）アミノ酸配列ＲＩＳＰＹＹＹＹＳＤＹＡＤＳＶＫＧ（配列番号５２）又はＲＩＳＰＹＳＧＹＴＮＹＡＤＳＶＫＧ（配列番号５１）を含むＨＶＲ－Ｈ２を含む。幾つかの実施態様では、抗体は、（ａ）アミノ酸配列ＳＴＷＩＨ（配列番号５９）を含むＨＶＲ－Ｈ１；（ｂ）アミノ酸配列ＲＩＳＰＹＹＹＹＳＤＹＡＤＳＶＫＧ（配列番号５２）又はＲＩＳＰＹＳＧＹＴＮＹＡＤＳＶＫＧ（配列番号５１）を含むＨＶＲ－Ｈ２；及び（ｃ）アミノ酸配列ＧＬＧＫＧＳＫＲＧＡＭＤＹ（配列番号３３）又はＧＩＮＱＧＳＫＲＧＡＭＤＹ（配列番号３２）を含むＨＶＲ－Ｈ３を含む。幾つかの実施態様では、抗体は、（ａ）アミノ酸配列ＲＡＳＱＤＶＳＴＡＶＡ（配列番号５０）を含むＨＶＲ－Ｌ１；（ｂ）アミノ酸配列ＳＡＳＦＬＹＳ（配列番号５３）を含むＨＶＲ－Ｌ２；及び（ｃ）アミノ酸配列ＱＱＳＦＹＦＰＮＴ（配列番号３９）又はＱＱＳＹＴＴＰＰＴ（配列番号４３）又はＱＱＹＴＡＬＰＹＴ（配列番号４９）又はＱＱＹＳＤＬＰＹＴ（配列番号４５）又はＱＱＹＳＤＶＰＹＴ（配列番号４７）又はＱＱＳＲＴＡＲＰＴ（配列番号４１）又はＱＱＳＦＹＦＰＮ（配列番号３８）又はＱＱＳＹＴＴＰＰ（配列番号４２）又はＱＱＹＴＡＬＰＹ（配列番号４８）又はＱＱＹＳＤＬＰＹ（配列番号４４）又はＱＱＹＳＤＶＰＹ（配列番号４６）又はＱＱＳＲＴＡＲＰ（配列番号４０）を含むＨＶＲ－Ｌ３を含む。

【００１５】
幾つかの実施態様では、抗体は、（ａ）アミノ酸配列ＧＬＧＫＧＳＫＲＧＡＭＤＹ（配列番号３３）を含むＨＶＲ－Ｈ３；（ｂ）アミノ酸配列ＱＱＹＳＤＬＰＹＴ（配列番号４５）を含むＨＶＲ－Ｌ３；及び（ｃ）アミノ酸配列ＲＩＳＰＹＳＧＹＴＮＹＡＤＳＶＫＧ（配列番号５１）を含むＨＶＲ－Ｈ２を含む。幾つかの実施態様では、抗体は、（ａ）ＳＴＷＩＨ（配列番号５９）のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｈ１；（ｂ）アミノ酸配列ＲＩＳＰＹＳＧＹＴＮＹＡＤＳＶＫＧ（配列番号５１）を含むＨＶＲ－Ｈ２；及び（ｃ）アミノ酸配列ＧＬＧＫＧＳＫＲＧＡＭＤＹ（配列番号３３）を含むＨＶＲ－Ｈ３を含む。幾つかの実施態様では、抗体は、（ａ）ＲＡＳＱＤＶＳＴＡＶＡ（配列番号５０）のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｌ１；（ｂ）アミノ酸配列ＳＡＳＦＬＹＳ（配列番号５３）を含むＨＶＲ－Ｌ２；及び（ｃ）アミノ酸配列ＱＱＹＳＤＬＰＹＴ（配列番号４５）を含むＨＶＲ－Ｌ３を含む。

【００１６】
幾つかの実施態様では、抗体は、配列番号５のアミノ酸配列に対する配列同一性が少なくとも９０％である重鎖可変領域配列、及び／又は配列番号６のアミノ酸配列に対する配列同一性が少なくとも９０％である軽鎖可変領域配列を含む。幾つかの実施態様では、抗体は、配列番号５のアミノ酸配列である重鎖可変領域配列、及び／又は配列番号６のアミノ酸配列である軽鎖可変領域配列を含む。幾つかの実施態様では、抗体は、配列番号７のアミノ酸配列に対する配列同一性が少なくとも９０％である重鎖可変領域配列、及び／又は配列番号８のアミノ酸配列に対する配列同一性が少なくとも９０％である軽鎖可変領域配列を含む。幾つかの実施態様では、抗体は、配列番号７のアミノ酸配列である重鎖可変領域配列、及び／又は配列番号８のアミノ酸配列である軽鎖可変領域配列を含む。幾つかの実施態様では、抗体は、配列番号９のアミノ酸配列に対する配列同一性が少なくとも９０％である重鎖可変領域配列、及び／又は配列番号１０のアミノ酸配列に対する配列同一性が少なくとも９０％である軽鎖可変領域配列を含む。幾つかの実施態様では、抗体は、配列番号９のアミノ酸配列である重鎖可変領域配列、及び／又は配列番号１０のアミノ酸配列である軽鎖可変領域配列を含む。幾つかの実施態様では、抗体は、配列番号１１のアミノ酸配列に対する配列同一性が少なくとも９０％である重鎖可変領域配列、及び／又は配列番号１２のアミノ酸配列に対する配列同一性が少なくとも９０％である軽鎖可変領域配列を含む。幾つかの実施態様では、抗体は、配列番号１１のアミノ酸配列である重鎖可変領域配列、及び／又は配列番号１２のアミノ酸配列である軽鎖可変領域配列を含む。幾つかの実施態様では、抗体は、配列番号１３のアミノ酸配列に対する配列同一性が少なくとも９０％である重鎖可変領域配列、及び／又は配列番号１４のアミノ酸配列に対する配列同一性が少なくとも９０％である軽鎖可変領域配列を含む。幾つかの実施態様では、抗体は、配列番号１３のアミノ酸配列である重鎖可変領域配列、及び／又は配列番号１４のアミノ酸配列である軽鎖可変領域配列を含む。

【００１７】
幾つかの実施態様では、抗体は、（ａ）アミノ酸配列ＳＲＧＡＹＲＦＡＹ（配列番号５６）を含むＨＶＲ－Ｈ３；（ｂ）アミノ酸配列ＱＱＳＹＴＴＰＰＴ（配列番号４３）を含むＨＶＲ－Ｌ３；及び（ｃ）アミノ酸配列ＳＩＴＰＡＳＧＤＴＤＹＡＤＳＶＫＧ（配列番号５４）を含むＨＶＲ－Ｈ２を含む。幾つかの実施態様では、抗体は、（ａ）アミノ酸配列ＳＮＹＩＨ（配列番号５５）を含むＨＶＲ－Ｈ１、（ｂ）アミノ酸配列ＳＩＴＰＡＳＧＤＴＤＹＡＤＳＶＫＧ（配列番号５４）を含むＨＶＲ－Ｈ２；及び（ｃ）アミノ酸配列ＳＲＧＡＹＲＦＡＹ（配列番号５６）を含むＨＶＲ－Ｈ３を含む。幾つかの実施態様では、抗体は、（ａ）アミノ酸配列ＲＡＳＱＤＶＳＴＡＶＡ（配列番号５０）を含むＨＶＲ－Ｌ１；（ｂ）アミノ酸配列ＳＡＳＦＬＹＳ（配列番号５３）を含むＨＶＲ－Ｌ２；及び（ｃ）アミノ酸配列ＱＱＳＹＴＴＰＰＴ（配列番号４３）を含むＨＶＲ－Ｌ３を含む。幾つかの実施態様では、抗体は、配列番号１５のアミノ酸配列に対する配列同一性が少なくとも９０％である重鎖可変領域配列、及び／又は配列番号１６のアミノ酸配列に対する配列同一性が少なくとも９０％である軽鎖可変領域配列を含む。幾つかの実施態様では、抗体は

、配列番号１５のアミノ酸配列である重鎖可変領域配列、及び／又は配列番号１６のアミノ酸配列である軽鎖可変領域配列を含む。幾つかの実施態様では、抗体は、ヒトＣＳＦ－１とヒトＣＳＦ－１Ｒとの間の結合を阻害しない。

【００１８】

幾つかの実施態様では、本明細書で記載される抗ＩＬ－３４抗体は、ＩＬ－３４の二量体に結合する。幾つかの実施態様では、本明細書で記載される抗ＩＬ－３４抗体は、ＩＬ－３４二量体の両方のプロトマーにわたるエピトープに結合する。幾つかの実施態様では、本明細書で記載される抗ＩＬ－３４抗体は、ＩＬ－３４活性を中和する。幾つかの実施態様では、抗ＩＬ－３４抗体は、ヒトＩＬ－３４に結合し、ヒトＩＬ－３４とヒトＣＳＦ－１Ｒとの間の結合を阻害し、及び／又はＩＬ－３４活性を中和する。

【００１９】

幾つかの実施態様では、本明細書で記載される抗ＩＬ－３４抗体は、モノクローナル抗体である。幾つかの実施態様では、本明細書で記載される抗ＩＬ－３４抗体は、ヒト抗体、ヒト化抗体、又はキメラ抗体である。幾つかの実施態様では、抗体は、二重特異性抗体である。幾つかの実施態様では、二重特異性抗体は、ヒトＣＳＦ－１に対する第２の結合特異性を含む。

【００２０】

本明細書では、ヒトＩＬ－３４に対する第１の結合特異性及びヒトＣＳＦ－１に対する第２の結合特異性を含む二重特異性抗体、並びに骨髄病原性免疫疾患及び癌の治療におけるそれらの使用が提示される。幾つかの実施態様では、抗体は、ヒトＩＬ－３４のヒトＣＳＦ－１Ｒへの結合を阻害し、ヒトＣＳＦ－１のヒトＣＳＦ－１Ｒへの結合を阻害する。別の実施態様では、ヒトＩＬ－３４に対する結合特異性及びヒトＣＳＦ－１に対する結合特異性を含む２つのポリペプチドであって、各々がそれぞれ、互いとヘテロ二量体化することが可能なヘテロ多量体化ドメインを有する、２つのポリペプチドが提示される。

【００２１】

幾つかの実施態様では、上記で記載した抗体は、ヒトＩＬ－３４に結合する抗体断片である。幾つかの実施態様では、断片は、Ｆａｂ断片、Ｆａｂ’断片、Ｆａｂ’－ＳＨ断片、Ｆ（ａｂ’）$_2$断片、Ｆｖ断片、又はｓｃＦｖ断片である。

【００２２】

幾つかの実施態様では、本明細書で記載される抗体は、１アーム抗体である。幾つかの実施態様では、本明細書で記載される抗体は、線状抗体である。幾つかの実施態様では、本明細書で記載される抗体は、全長ＩｇＧ１又はＩｇＧ４抗体である。

【００２３】

本明細書では、ヒトＣＳＦ－１Ｒに結合する単離抗体であって、ヒトＣＳＦ－１Ｒのアミノ酸残基Ａｒｇ１４４、Ｇｌｎ２４８、Ｇｌｎ２４９、Ｓｅｒ２５０、Ｐｈｅ２５２、及びＡｓｎ２５４のうちの少なくとも一つを含むエピトープに結合し、アミノ酸残基の位置は、配列番号２における位置に基づき、抗体が、ヒトＩＬ－３４とヒトＣＳＦ－１Ｒとの間の結合を阻害する、抗体も更に提示される。

【００２４】

幾つかの実施態様では、抗体は、ＣＳＦ－１Ｒのアミノ酸残基Ａｒｇ１４４を含むエピトープに結合し、アミノ酸残基の位置は、配列番号２における位置に基づく。幾つかの実施態様では、抗体は、ヒトＣＳＦ－１Ｒのアミノ酸残基Ａｒｇ１４４、Ａｒｇ１４２、Ａｒｇ１４６、及びＡｒｇ１５０のうちの少なくとも一つを含むエピトープに結合し、アミノ酸残基の位置は、配列番号２における位置に基づく。幾つかの実施態様では、エピトープは、ヒトＣＳＦ－１Ｒのアミノ酸残基Ｓｅｒ１７２及びＡｒｇ１９２のうちの少なくとも一つを更に含み、アミノ酸残基の位置は、配列番号２における位置に基づく。幾つかの実施態様では、エピトープは、ヒトＣＳＦ－１Ｒのアミノ酸残基Ａｒｇ１４６、Ｍｅｔ１４９、Ａｒｇ１５０、Ｐｈｅ１６９、Ｉｌｅ１７０、及びＧｌｎ１７３のうちの少なくとも一つを更に含み、アミノ酸残基の位置は、配列番号２における位置に基づく。幾つかの実施態様では、抗体は、１４２～１５０及び１６９～１７３位内のアミノ酸に結合し、ア

ミノ酸残基の位置は、配列番号２における位置に基づく。
【００２５】
幾つかの実施態様では、抗体は、ヒトＣＳＦ－１Ｒのアミノ酸残基Ａｒｇ１４４、Ｇｌｎ２４８、Ｇｌｎ２４９、Ｓｅｒ２５０、Ｐｈｅ２５２、及びＡｓｎ２５４のうちの少なくとも一つを含むエピトープに結合し、アミノ酸残基の位置は、配列番号２における位置に基づく。幾つかの実施態様では、抗体は、ヒトＣＳＦ－１Ｒのアミノ酸残基Ｔｙｒ２５７、Ｇｌｎ２４８、Ｇｌｎ２４９、Ｓｅｒ２５０、Ｐｈｅ２５２、及びＡｓｎ２５４のうちの少なくとも一つを含むエピトープに結合し、アミノ酸残基の位置は、配列番号２における位置に基づく。幾つかの実施態様では、エピトープは、アミノ酸残基Ｐｒｏ２４７、Ｇｌｎ２５８、及びＬｙｓ２５９のうちの少なくとも一つを更に含み、アミノ酸残基の位置は、配列番号２における位置に基づく。幾つかの実施態様では、エピトープは、ヒトＣＳＦ－１Ｒのアミノ酸残基Ｖａｌ２３１、Ａｓｐ２５１、及びＴｙｒ２５７のうちの少なくとも一つを更に含み、アミノ酸残基の位置は、配列番号２における位置に基づく。幾つかの実施態様では、抗体は、２３１、２４８～２５２、及び２５４位内のアミノ酸残基に結合し、アミノ酸残基の位置は、配列番号２における位置に基づく。
【００２６】
本明細書では、本明細書で記載される抗体のうちの何れかをコードする単離核酸も更に提示される。本明細書ではまた、本明細書で提示される核酸のうちの何れかの核酸を含むベクターも提示される。本明細書ではまた、本明細書で提示される核酸を含む宿主細胞も提示される。
【００２７】
本明細書では、抗体を作製する方法であって、抗体が産生されるように、本明細書で提示される宿主細胞のうちの何れかを培養することを含む方法も更に提示される。幾つかの実施態様では、方法は、宿主細胞により産生される抗体を回収することを更に含む。
【００２８】
本明細書ではまた、本明細書で提示される抗体のうちの何れかと、薬学的に許容される担体とを含む薬学的組成物も提示される。
【００２９】
本明細書では、医薬としての使用のための、本明細書で記載される抗体が提示される。本明細書では、骨髄病原性免疫疾患の治療における使用のための、本明細書で記載される抗体が提示される。本明細書では、ヒトＩＬ－３４とヒトＣＳＦ－１Ｒとの間の結合の阻害における使用のための、本明細書で記載される抗体が提示される。
【００３０】
本明細書ではまた、医薬の製造における、本明細書で記載される抗体のうちの何れかの使用も提示される。幾つかの実施態様では、医薬は、骨髄病原性免疫疾患を治療するための医薬である。幾つかの実施態様では、医薬は、ヒトＩＬ－３４とヒトＣＳＦ－１Ｒとの間の結合を阻害するための医薬である。
【００３１】
本明細書では、骨髄病原性の構成要素を伴う炎症性疾患及び／又は自己免疫疾患（「骨髄病原性免疫疾患」）を有する個体を治療する方法であって、有効量の、本明細書で提示される抗体のうちの何れか１つを個体へと投与することを含む方法が提示される。本明細書ではまた、炎症性疾患及び／又は自己免疫疾患を有する個体を治療する方法であって、有効量の、本明細書で提示される抗体又は組合せ療法のうちの何れか１つを個体へと投与することを含む方法も提示される。幾つかの実施態様では、抗体は、ヒトＩＬ－３４及びヒトＣＳＦ－１の活性を阻害する二重特異性抗体である。幾つかの実施態様では、方法は、有効量の、本明細書で提示される抗ＩＬ－３４抗体のうちの何れかを、ヒトＣＳＦ－１に結合する抗体と共に投与することを含む。幾つかの実施態様では、ヒトＩＬ－３４及びヒトＣＳＦ－１の活性が、二重特異性抗ＩＬ－３４及び抗ＣＳＦ１抗体により阻害される。幾つかの実施態様では、活性の阻害は、ヒトＩＬ－３４のヒトＣＳＦ－１Ｒへの結合を阻害すること、及びヒトＣＳＦ－１とヒトＣＳＦ－１Ｒとの結合を阻害することによる。

【００３２】
上記の方法のうちの何れかについての幾つかの実施態様では、骨髄病原性免疫疾患は、関節リウマチ（ＲＡ）、炎症性腸疾患（例えば、クローン病、潰瘍性大腸炎）、多発性硬化症、全身性エリテマトーデス、ループス腎炎、喘息、骨粗鬆症、ページェット病、アテローム性動脈硬化、メタボリック症候群、ＩＩ型糖尿病、マクロファージ活性化症候群（ＭＡＳ）、血管炎（巨細胞性動脈炎、ＡＮＣＡ関連血管炎）、円板状ループス、サルコイドーシス、移植片対宿主病、ＬＳＤ（シスチン蓄積症、シアル酸蓄積症、ゴーシェ病などであるがこれらに限定されないリソソーム蓄積症）、ロザイードルフマン病、ファイサラバード組織球症が含まれるがこれらに限定されない組織球症、Ｈ症候群、インスリン依存型糖尿病を伴う色素性多毛症（ＰＨＩＤ）、心筋梗塞、及び移植片対宿主病である。一実施態様では、血管炎は、顕微鏡的多発性動脈炎、ＣＮＳ血管炎、壊死性血管炎、皮膚性血管炎、もしくは過敏性血管炎、全身性壊死性血管炎、又はチャーグ－シュトラウス血管炎もしくはチャーグ－シュトラウス症候群（ＣＳＳ））などのＡＮＣＡ関連血管炎である。別の実施態様では、血管炎は、大型血管炎又は中型血管炎である。一実施態様では、大型血管炎は、リウマチ性多発性筋痛又は巨細胞性動脈炎又は高安動脈炎である。一実施態様では、中型血管炎は、川崎病又は結節性多発性動脈炎である。具体的な一実施態様では、本発明の抗体（例えば、ＩＬ－３４、二重特異性ＩＬ－３４／ＣＳＦ１抗体、又はＣＳＦ１Ｒ抗体）を用いて、疾患修飾性抗リウマチ薬（ＤＭＡＲＤ）療法への応答が不十分な（ＤＭＡＲＤ－ＩＲ）ＲＡ患者を治療する。さらなる一実施態様では、ＤＭＡＲＤ－ＩＲ患者は以前に抗ＴＮＦ剤で治療されていない（「ＴＮＦナイーブ」）。一実施態様では、ＤＭＡＲＤは、メトトレキサートである。具体的な一実施態様では、本発明の抗体（例えば、ＩＬ－３４抗体、二重特異性ＩＬ－３４／ＣＳＦ１抗体又はＣＳＦ１Ｒ抗体）を用いて、疾患修飾性抗リウマチ薬（ＤＭＡＲＤ）療法への応答が不十分な（ＤＭＡＲＤ－ＩＲ）ＲＡ患者を治療する。さらなる一実施態様では、ＤＭＡＲＤ－ＩＲ患者は以前に抗ＴＮＦ剤で治療されていない（「ＴＮＦナイーブ」）。具体的な一実施態様では、本発明の抗体（例えば、ＩＬ－３４、二重特異性ＩＬ－３４／ＣＳＦ１抗体、又はＣＳＦ１Ｒ抗体）を用いて、抗ＴＮＦ療法（例えば、ＴＮＦＲ－Ｆｃ又は抗ＴＮＦ抗体）への応答が不十分なＲＡ患者を治療する。具体的な一実施態様では、本発明の抗体（例えば、ＩＬ－３４、二重特異性ＩＬ－３４／ＣＳＦ１抗体、又はＣＳＦ１Ｒ抗体）を用いて、骨髄病原性免疫疾患を患う患者であって、抗ＴＮＦ療法（例えば、ＴＮＦＲ－Ｆｃ、抗ＴＮＦ抗体、及びＴＮＦ又はＴＮＦ受容体の低分子阻害剤が含まれるがこれらに限定されない）への応答が不十分な患者を治療する。

【００３３】
本発明の別の実施態様では、本発明のＣＳＦ１－Ｒ経路阻害剤で治療されるＲＡ患者は、ＲＡの骨髄亜型及び／又は線維亜型を有する。一実施態様では、本発明は、それを患う個体における関節リウマチを治療する方法であって、ＣＳＦ１－Ｒ経路阻害剤を、ＲＡの骨髄亜型及び／又は線維亜型を有することが決定された患者へと投与することを含む方法を提供する。一実施態様では、骨髄亜型又は線維亜型は、骨髄亜型遺伝子又は線維亜型遺伝子の遺伝子発現レベル又はタンパク質発現レベルを測定し、ＲＡ個体が、ＲＡの骨髄亜型又は線維亜型を有するのかどうかを決定することにより決定し、ＲＡ個体が、ＲＡの骨髄亜型又は線維亜型を有することの決定により、ＲＡ個体が、ＣＳＦ１－Ｒ経路阻害剤に応答する可能性が高いことが示される。

【００３４】
本発明の一実施態様では、本発明の抗体の薬力学的効果は、抗体による治療の後における患者の血液中の非古典型（ＣＤ１４$^{+}$ＣＤ１６$^{++}$）単球及び／又は中間型（ＣＤ１４$^{++}$ＣＤ１６$^{+}$）単球のレベルの低減をモニタリングすることにより測定しうるであろう。

【００３５】
本明細書では、個体における、ヒトＩＬ－３４とヒトＣＳＦ－１Ｒとの間の結合を阻害する方法であって、有効量の、本明細書で提示される抗体のうちの何れかを個体へと投与

することを含む方法も更に提示される。
【００３６】
本明細書では、本明細書で提示される抗体のうちの何れかを含む製造品も更に提示される。幾つかの実施態様では、製造品は、個体における骨髄病原性免疫疾患を治療するために、有効量の抗体を個体へと投与するための指示書を更に含む。本明細書ではまた、本明細書で提示されるＩＬ－３４抗体のうちの何れかを含み、ヒトＣＳＦ－１に結合する抗体を更に含む製造品も提示される。幾つかの実施態様では、製造品は、個体における骨髄病原性免疫疾患を治療するために、有効量の抗ＩＬ－３４抗体及びヒトＣＳＦ－１に結合する抗体を個体へと投与するための指示書を更に含む。幾つかの実施態様では、骨髄病原性免疫疾患とは、関節リウマチ、炎症性腸疾患、多発性硬化症、全身性エリテマトーデス、ループス腎炎、喘息、骨粗鬆症、ページェット病、アテローム性動脈硬化、メタボリック症候群、ＩＩ型糖尿病、ＬＳＤ（シスチン蓄積症、シアル酸蓄積症、ゴーシェ病などであるがこれらに限定されないリソソーム蓄積症）、ロザイードルフマン病、ファイサラバード組織球症が含まれるがこれらに限定されない組織球症、Ｈ症候群、インスリン依存型糖尿病を伴う色素性多毛症（ＰＨＩＤ）である。
【００３７】
本発明は、ＣＳＦ１－Ｒ経路阻害剤で治療されるＲＡ患者を診断するための方法であって、骨髄亜型遺伝子又は線維亜型遺伝子の遺伝子発現レベル又はタンパク質発現レベルを測定するステップと、ＲＡ個体が、ＲＡの骨髄亜型又は線維亜型を有するのかどうかを決定するステップとを含み、ＲＡ個体が、ＲＡの骨髄亜型又は線維亜型を有することの決定により、ＲＡ個体が、ＣＳＦ１－Ｒ経路阻害剤に応答する可能性が高いことが示される方法を提供する。一実施態様では、方法は、患者におけるＩＬ－３４及び／又はＣＳＦ－１の遺伝子発現レベル又はタンパク質発現レベルを測定するステップも更に含む。一実施態様では、ＣＳＦ－１レベルを、ＲＡ患者の血清又は滑液に由来する生物学的試料中で測定する。別の実施態様では、ＩＬ－３４レベルを、ＲＡ患者の血清中、滑液中、又は組織生検中で測定する。
【００３８】
本明細書ではまた、ＣＳＦ－１Ｒの最初の３つのＩｇＧドメイン（すなわち、Ｎ末端から１番目、２番目、及び３番目のＩｇＧ）を含むポリペプチドであって、ＣＳＦ－１Ｒに由来する他のＩｇＧドメインを含まないポリペプチドも提示される。幾つかの実施態様では、ポリペプチドは、ＩｇＧドメイン間のリンカーを更に含む。幾つかの実施態様では、ポリペプチドは、１又は複数の融合パートナー（例えば、Ｆｃ配列）を更に含む。本明細書ではまた、ポリペプチドをコードする核酸、核酸を含むベクター、及び核酸を含む宿主細胞も提示される。本明細書ではまた、ポリペプチドを作製する方法であって、ポリペプチドを産生する宿主細胞を培養することを含む方法も提示される。本明細書ではまた、本明細書で記載される骨髄病原性免疫疾患を治療するための方法であって、有効量のポリペプチドを個体へと投与することを含む方法も提示される。本明細書ではまた、本明細書で記載されるポリペプチドを含む製造品も提示される。
【００３９】
本明細書で記載される多様な実施態様の特性のうちの１つ、幾つか、又は全てを組み合わせて、本発明の他の実施態様を形成しうることを理解されたい。当業者には、本発明のこれらの態様及び他の態様が明らかであろう。
【図面の簡単な説明】
【００４０】
【図１Ａ】ヒトＩＬ－３４の概略表示である。予測されるＮ結合型グリコシル化部位を、星印で表示する。ＩＬ－３４配列内の、種を越えて保存されるジスルフィド架橋を、破線として示す。
【図１Ｂ】ｈＩＬ－３４ｓが、ヒト単球の生存能力の増進において活性であることを示す図である。
【図１Ｃ】二量体のヒトＩＬ－３４ｓ構造のリボン表示である。末端及び二次構造に標識

する（目視可能な場合）。
【図１Ｄ】マウスＣＳＦ－１構造のリボン表示である。末端及び二次構造に標識する。
【図２Ａ】ｈＩＬ－３４ｓ、ＣＳＦ－１Ｒ　Ｄ１～Ｄ３、及びＣＳＦ－１Ｒ　Ｄ１～Ｄ５、並びにそれらの対応する複合体についての、解析用サイズ除外クロマトグラフィーによる解析を示す図である。クロマトグラムは、方法において記載される独立の試行から重ね合わせて示し、分子量の基準値にも言及する。挿入図：右方に示されるピーク画分に由来する試料についてのＳＤＳ－ＰＡＧＥを示す図である。
【図２Ｂ－１】ＣＳＦ－１Ｒ　Ｄ１～Ｄ５のｈＩＬ－３４ｓへの結合についての等温滴定熱量測定を示す図である。
【図２Ｂ－２】ＣＳＦ－１Ｒ　Ｄ１～Ｄ３のｈＩＬ－３４ｓへの結合についての等温滴定熱量測定を示す図である。
【図２Ｂ－３】ＣＳＦ－１Ｒ　Ｄ１～Ｄ３の、ｈＩＬ－３４ｓからの、ＣＳＦ－１Ｒ　Ｄ１～Ｄ５による置換についての等温滴定熱量測定を示す図である。
【図２Ｃ－１】ＣＳＦ－１Ｒ　Ｄ１～Ｄ３のｈＣＳＦ－１への結合についての熱量測定を示す図である。
【図２Ｃ－２】ＣＳＦ－１Ｒ　Ｄ１～Ｄ５のｈＣＳＦ－１への結合についての熱量測定を示す図である。
【図２Ｄ】パネルＢ及びＣに示した３つのＩＴＣ滴定実験の解析に由来する、シリンジ内のタンパク質及びそれらの濃度、セル内のタンパク質及びそれらの濃度、エンタルピー変化（ΔＨ）、エントロピー変化（ΔＳ）、ギブスの自由エネルギー変化（ΔＧ）、結合アフィニティー（K_D）、及び化学量論比（ｎ）についての概要を示す図である。Ｎ．Ｄ．は、曲線の傾きの大きさに起因する決定不能を示す。
【図３】ＩＬ－３４及びＣＳＦ－１と複合したＣＳＦ－１Ｒについて、部位１の界面と部位２の界面との比較を示す図である。（Ａ～Ｄ）ＩＬ－３４／ＣＳＦ－１Ｒ間界面（Ａ、Ｃ）、又はＣＳＦ－１／ＣＳＦ－１Ｒ間界面（Ｂ、Ｄ）の、部位１及び部位２についての近接図である。鍵となるサイトカイン受容体の相互作用残基をスティックとして示し、水素結合を破線として描き、二次構造エレメントをリボン及びストランド上にマークする。
【図４Ａ】単球生存率アッセイにおける、ＩＬ－３４の生物学的活性の、ＹＷ４０４．３３．５６　Ｆａｂによる阻害を示す図である。
【図４Ｂ】ＹＷ４０４．３３．５６　ＦａｂのＣＤＲループ（Ｈ１～Ｈ３、Ｌ３）の、ｈＩＬ－３４ｓとの相互作用についての近接図（模式図表示）である。界面相互作用に関与する最重要の残基は、スティックモデルで強調する。
【図５】ＩＬ－３４（Ａ）及びＣＳＦ－１（Ｂ）の二次構造上にマッピングされた受容体接触残基を示す図である。部位１及び部位２の界面残基を、卵型の点線で強調する。
【図６】ヒトＩＬ－３４／ＣＳＦ－１Ｒシグナル伝達複合体構造（左）、マウスＣＳＦ－１／ＣＳＦ－１Ｒ（中；ＰＤＢ：３ＥＪＪ）シグナル伝達複合体構造、及びＳＣＦ／Ｋｉｔ（右；ＰＤＢ：２Ｅ９Ｗ）シグナル伝達複合体構造の比較を示す図である。二量体の４ヘリックスバンドルサイトカインを、模式図及び半透明表面として示す。受容体の細胞外ドメインは、リボン表示としてレンダリングするか、又はＣＳＦ－１Ｒ　Ｄ４及びＤ５については、卵型として示す。ＣＳＦ－１Ｒ及びＫｉｔによる受容体同型接触に関与したイオン性対を、丸印として示し、注記する。
【図７Ａ】選択されたＩＬ－３４の哺乳動物相同体（ヒト（Ｈｏｍｏ　ｓａｐｉｅｎｓ）（配列番号６８）；アカゲザル（Ｍａｃａｃａ　ｍｕｌａｔｔａ）（配列番号６９）；イヌ（Ｃａｎｉｓ　ｌｕｐｕｓ　ｆａｍｉｌｉａｒｉｓ）（配列番号７０）；ジャイアントパンダ（Ａｉｌｕｒｏｐｏｄａ　ｍｅｌａｎｏｌｅｕｃａ）（配列番号７１）；ウマ（Ｅｑｕｕｓ　ｃａｂａｌｌｕｓ）（配列番号７２）；ウシ（Ｂｏｓ　ｔａｕｒｕｓ）（配列番号７３）；マウス（Ｍｕｓ　ｍｕｓｃｕｌｕｓ）（配列番号７４）；ラット（Ｒａｔｔｕｓ　ｎｏｒｖｅｇｉｃｕｓ）（配列番号７５）；コンセンサス配列（配列番号７６））の配列アライメントを示す図である。番号付け及び二次構造は、ヒトＩＬ－３４（配列番号６８）に従う。厳密に保存されている残基には、濃いグレーで影をつけ、類似性スコア

により計算して、配列の大半において保存されている残基には、枠囲いする。部位１、部位２、及びＩＬ－３４二量体化界面におけるＩＬ－３４残基はそれぞれ、下方に黒丸印、丸印、及び星印で描示する。三角印は、ジスルフィド結合による対合及びグリコシル化部位を示す。アライメント図は、ＥＳＰＲＩＴプログラム（ウェブサイト：ｅｓｐｒｉｔ．ｉｂｃｐ．ｆｒ／ＥＳＰｒｉｐｔ／ＥＳＰｒｉｐｔ）を用いて作成した。

【図７Ｂ】図７Ａの続きを示す図である。

【図８】単球増殖アッセイにおける、抗ＩＬ－３４　Ａｂである、ＹＷ４０４．３３の中和活性を示す図である。

【図９】単球増殖アッセイにおける、ｍＩＬ－３４の１００ｎｇ／ｍｌの濃度での、抗ＩＬ－３４　Ａｂである、ＹＷ４０４．１、ＹＷ４０４．６、ＹＷ４０４．３３、ＹＷ４０５．１、ＹＷ４０５．３、ＹＷ４０６．１、ＹＷ４０６．９３の中和活性（Ａ）、並びに抗ＩＬ－３４　Ａｂである、ＹＷ４０４．３３、ＹＷ４０４．３３．１２、及びＹＷ４０４．３３．５６の中和活性（Ｂ）を示す図である。

【図１０Ａ】抗ＩＬ－３４　Ａｂである、ＹＷ４０４．１、ＹＷ４０４．３、ＹＷ４０４．３３、ＹＷ４０４．３３．１０、ＹＷ４０４．３３．１２、ＹＷ４０４．３３．１１、ＹＷ４０４．３３．５６、及びＹＷ４０４．３３．９３の可変重鎖配列を示す図である。これらの抗体のアフィニティー成熟のためにターゲティングされるアミノ酸残基を枠囲いする。図１０Ａは、４０４．１（配列番号１５）、４０４．６（配列番号７７）、４０５．３（配列番号２５）、４０４．３３（配列番号５）、４０４．３３．１０（配列番号７）、４０４．３３．１２（配列番号１１）、４０４．３３．１１（配列番号９）、４０４．３３．５６（配列番号３）、及び４０４．３３．９３（配列番号１３）について、ＶＨアミノ酸配列を示す図である。Ｋａｂａｔ　ＨＶＲの間の重鎖フレームワーク領域の配列は、図１０Ａに示される、ＦＲ１配列（配列番号１７）、ＦＲ２配列（配列番号１８）、ＦＲ３（配列番号１９）、及びＦＲ４（配列番号２０）である。

【図１０Ｂ】抗ＩＬ－３４　Ａｂである、ＹＷ４０４．１、ＹＷ４０４．３、ＹＷ４０４．３３、ＹＷ４０４．３３．１０、ＹＷ４０４．３３．１２、ＹＷ４０４．３３．１１、ＹＷ４０４．３３．５６、及びＹＷ４０４．３３．９３の可変軽鎖配列（Ｂ）を示す図である。これらの抗体のアフィニティー成熟のためにターゲティングされるアミノ酸残基を枠囲いする。図１０Ｂは、４０４．１（配列番号１６）、４０４．６（配列番号７８）、４０５．３（配列番号２６）、４０４．３３（配列番号６）、４０４．３３．１０（配列番号８）、４０４．３３．１２（配列番号１２）、４０４．３３．１１（配列番号１０）、４０４．３３．５６（配列番号４）、及び４０４．３３．９３（配列番号１４）について、ＶＬアミノ酸配列を示す図である。Ｋａｂａｔ　ＨＶＲの間の軽鎖フレームワーク領域の配列は、図１０Ｂに示される、ＦＲ１配列（配列番号２１）、ＦＲ２配列（配列番号２２）、ＦＲ３配列（配列番号２３）、及びＦＲ４配列（配列番号２４）である。

【図１１】デキストラン硫酸ナトリウム（ＤＳＳ）誘導性炎症性腸疾患（ＩＢＤ）を伴うＢａｌｂ／ｃマウスであって、対照抗体（抗ブタクサ、ａ－ＲＷ）、シクロスポリン（ＣＳＡ）、抗ＣＳＦ－１抗体（ａ－ＣＳＦ－１）、抗ＩＬ－３４抗体（ａ－ＩＬ－３４）、又は抗ＣＳＦ－１抗体と抗ＩＬ－３４抗体との組合せで処置されたマウスについての組織学スコアを示す図である。

【図１２】ＩＬ－３４及びＣＳＦ－１の血清レベルが、ＤＳＳ誘導性ＩＢＤを伴うＢａｌｂ／ｃマウスであって、対照抗体（ａ－ＲＷ）で処置されたマウスにおいて、対照マウスと比較して上昇したことを示す図である。

【図１３】関節リウマチ患者に由来する血清中、滑液中、及び組織中では、ＣＳＦ－１及びＩＬ－３４が発現することを示す図である。

【図１４】原発性ＴＮＦ－ＮＲ　ＲＡ患者及び続発性ＴＮＦ－ＮＲ　ＲＡ患者には、ＣＳＦ１／ＩＬ３４経路が存在することを示す図である。

【図１５】ａＣＳＦ１＋ａＩＬ３４の組合せによる処置が、炎症の阻害においてＴＮＦＲＩＩ－Ｆｃに匹敵し、ＣＩＡ（骨髄駆動型ＣＩＡ）マウスの骨糜爛の保護において優れていることを示す図である。

【図１６】ＣＳＦ１及びＩＬ－３４の二重の遮断により、モデルにおけるＤＳＳ誘導性大腸炎が阻害されることを示す図である。
【図１７】ＩＢＤ結腸ではＩＬ－３４が発現するが、血清中の発現は低度／検出不能であることを示す図である。
【図１８】関節リウマチ患者及び骨関節炎患者に由来する滑液中では、ＩＬ－３４／ＣＳＦ－１の発現とＴＮＦａの発現との相関が見られないことを示す図である。
【図１９】抗ＣＳＦ１／ＩＬ－３４による組合せ処置のわずか７日後における、関節滑膜に浸潤するマウス骨髄細胞（マクロファージ（Ｍｆ）及び単球）の低減を示す図である。
【発明を実施するための形態】
【００４１】
理論に束縛されずに述べると、ＩＬ－３４及びＣＳＦ－１の両方を阻害して、骨髄病原性免疫疾患を直接治療するコンビナトリアル法は、それらの受容体又はＩＬ－３４もしくはＣＳＦ－１単独を直接ターゲティングするよりも優れていると考えられている。この手法の利点には、以下：より良好な薬物動態特性、より良好な安全性プロファイル、より良好な有効性、より良好な効力、並びに上記の安全性及び有効性の検討事項に基づくより良好な治療域のうちの何れか１つ又はこれらの組合せが含まれるがこれらに限定されないことが予測されている。
【００４２】
定義
「抗ＩＬ－３４抗体」及び「ＩＬ－３４に結合する抗体」という用語は、抗体が、ＩＬ－３４のターゲティングにより診断剤及び／又は治療剤として有用であるように、ＩＬ－３４に十分なアフィニティーで結合することが可能な抗体を指す。幾つかの実施態様では、抗ＩＬ－３４抗体の、非類縁の非ＩＬ－３４タンパク質への結合の程度は、例えば、ＢＩＡＣＯＲＥアッセイ又はＢＬＩアッセイにより測定される、この抗体のＩＬ－３４への結合の約１０％未満である。幾つかの実施態様では、ＩＬ－３４に結合する抗体の解離定数（K_d）は、≦１μＭ、≦５００ｎＭ、≦２５０ｎＭ、≦１００ｎＭ、≦１０ｎＭ、≦１ｎＭ、≦０．１ｎＭ、≦０．０１ｎＭ、又は≦０．００１ｎＭ（例えば、10^{-8}Ｍ以下、例えば、10^{-8}Ｍ～10^{-13}Ｍ、例えば、10^{-9}Ｍ～10^{-13}Ｍ）である。幾つかの実施態様では、抗ＩＬ－３４抗体は、ＩＬ－３４のエピトープであって、異なる種に由来するＩＬ－３４の間で保存されているエピトープに結合する。
【００４３】
本明細書で用いられる「ＩＬ－３４」という用語は、別段に示されない限り、霊長動物（例えば、ヒト）及び齧歯動物（例えば、マウス及びラット）などの哺乳動物を含めた任意の脊椎動物供給源に由来する任意の天然ＩＬ－３４を指す。この用語は、「全長」のプロセシングされていないＩＬ－３４のほか、細胞内のプロセシングから結果として生じるＩＬ－３４の任意の形態も包摂する。この用語はまた、ＩＬ－３４の自然発生の変異体、例えば、スプライス変異体又は対立遺伝子変異体も包摂する。例示的なヒトＩＬ－３４のアミノ酸配列を、配列番号１に示す。幾つかの実施態様では、ヒトＩＬ－３４は、配列番号１に示されるアミノ酸配列であって、８１位におけるアミノ酸Ｑが欠失したアミノ酸配列を含む。

1 MPRGFTWLRY LGIFLGVALG NEPLEMWPLT QNEECTVTGF LRDKLQYRSR
LQYMKHYFPI
61 NYKISVPYEG VFRIANVTRL QRAQVSEREL RYLWVLVSLS ATESVQDVLL
EGHPSWKYLQ
121 EVETLLLNVQ QGLTDVEVSP KVESVLSLLN APGPNLKLVR PKALLDNCFR
VMELLYCSCC
181 KQSSVLNWQD CEVPSPQSCS PEPSLQYAAT QLYPPPPWSP SSPPHSTGSV
RPVRAQGEGL
241 LP （ 配列番号１ ）.

【００４４】
「抗ＣＳＦ－１抗体」及び「ＣＳＦ－１に結合する抗体」という用語は、抗体が、ＣＳＦ－１のターゲティングにより診断剤及び／又は治療剤として有用であるように、ＣＳＦ－１に十分なアフィニティーで結合することが可能な抗体を指す。幾つかの実施態様では、抗ＣＳＦ－１抗体の、非類縁の非ＣＳＦ－１タンパク質への結合の程度は、例えば、ＢＩＡＣＯＲＥアッセイ又はＢＬＩアッセイにより測定される、この抗体のＣＳＦ－１への結合の約１０％未満である。幾つかの実施態様では、ＣＳＦ－１に結合する抗体の解離定数（K_d）は、≦１μＭ、≦５００ｎＭ、≦２５０ｎＭ、≦１００ｎＭ、≦１０ｎＭ、≦１ｎＭ、≦０．１ｎＭ、≦０．０１ｎＭ、又は≦０．００１ｎＭ（例えば、10^{-8}Ｍ以下、例えば、10^{-8}Ｍ～10^{-13}Ｍ、例えば、10^{-9}Ｍ～10^{-13}Ｍ）である。幾つかの実施態様では、抗ＣＳＦ－１抗体は、ＣＳＦ－１のエピトープであって、異なる種に由来するＣＳＦ－１の間で保存されているエピトープに結合する。
【００４５】
本明細書で用いられる「ＣＳＦ－１」という用語は、別段に示されない限り、霊長動物（例えば、ヒト）及び齧歯動物（例えば、マウス及びラット）などの哺乳動物を含めた任意の脊椎動物供給源に由来する任意の天然ＣＳＦ－１を指す。この用語は、「全長」のプロセシングされていないＣＳＦ－１のほか、細胞内のプロセシングから結果として生じるＣＳＦ－１の任意の形態も包摂する。この用語はまた、ＣＳＦ－１の自然発生の変異体、例えば、スプライス変異体又は対立遺伝子変異体も包摂する。例示的なヒトＣＳＦ－１は、Ｔａｋａｈａｓｈｉら、Ｂｉｏｃｈｅｍ．ＢｉｏｐＨｙｓ．Ｒｅｓ．Ｃｏｍｍｕｎ．、１６１（２）、８９２～９０１（１９８９）において記載されている。
【００４６】
「抗ＣＳＦ－１Ｒ抗体」及び「ＣＳＦ－１Ｒに結合する抗体」という用語は、抗体が、ＣＳＦ－１Ｒのターゲティングにより診断剤及び／又は治療剤として有用であるように、ＣＳＦ－１Ｒに十分なアフィニティーで結合することが可能な抗体を指す。幾つかの実施態様では、抗ＣＳＦ－１Ｒ抗体の、非類縁の非ＣＳＦ－１Ｒタンパク質への結合の程度は、例えば、ＢＩＡＣＯＲＥアッセイ又はＢＬＩアッセイにより測定される、この抗体のＣＳＦ－１Ｒへの結合の約１０％未満である。幾つかの実施態様では、ＣＳＦ－１Ｒに結合する抗体の解離定数（K_d）は、≦１μＭ、≦５００ｎＭ、≦２５０ｎＭ、≦１００ｎＭ、≦１０ｎＭ、≦１ｎＭ、≦０．１ｎＭ、≦０．０１ｎＭ、又は≦０．００１ｎＭ（例えば、10^{-8}Ｍ以下、例えば、10^{-8}Ｍ～10^{-13}Ｍ、例えば、10^{-9}Ｍ～10^{-13}Ｍ）である。幾つかの実施態様では、抗ＣＳＦ－１Ｒ抗体は、ＣＳＦ－１Ｒのエピトープであって、異なる種に由来するＩＬ－３４の間で保存されているエピトープに結合する。
【００４７】
本明細書で用いられる「ＣＳＦ－１Ｒ」又は「ＣＳＦ１Ｒ」という用語は、別段に示されない限り、霊長動物（例えば、ヒト）及び齧歯動物（例えば、マウス及びラット）などの哺乳動物を含めた任意の脊椎動物供給源に由来する任意の天然ＣＳＦ－１Ｒを指す。こ

の用語は、「全長」のプロセシングされていないＣＳＦ－１Ｒのほか、細胞内のプロセシングから結果として生じるＣＳＦ－１Ｒの任意の形態も包摂する。この用語はまた、ＣＳＦ－１Ｒの自然発生の変異体、例えば、スプライス変異体又は対立遺伝子変異体も包摂する。例示的なヒトＣＳＦ－１Ｒのアミノ酸配列を、配列番号２に示す。

MGPGVLLLLL VATAWHGQGI PVIEPSVPEL VVKPGATVTL RCVGNGSVEW
DGPPSPHWTL
YSDGSSSILS TNNATFQNTG TYRCTEPGDP LGGSAAIHLY VKDPARPWNV
LAQEVVVFED
QDALLPCLLT DPVLEAGVSL VRVRGRPLMR HTNYSFSPWH GFTIHRAKFI
QSQDYQCSAL
MGGRKVMSIS IRLKVQKVIP GPPALTLVPA ELVRIRGEAA QIVCSASSVD
VNFDVFLQHN
NTKLAIPQQS DFHNNRYQKV LTLNLDQVDF QHAGNYSCVA SNVQGKHSTS
MFFRVVESAY
LNLSSEQNLI QEVTVGEGLN LKVMVEAYPG LQGFNWTYLG PFSDHQPEPK
LANATTKDTY
RHTFTLSLPR LKPSEAGRYS FLARNPGGWR ALTFELTLRY PPEVSVIWTF
INGSGTLLCA
ASGYPQPNVT WLQCSGHTDR CDEAQVLQVW DDPYPEVLSQ EPFHKVTVQS
LLTVETLEHN
QTYECRAHNS VGSGSWAFIP ISAGAHTHPP DEFLFTPVVV ACMSIMALLL
LLLLLLLYKY
KQKPKYQVRW KIIESYEGNS YTFIDPTQLP YNEKWEFPRN NLQFGKTLGA
GAFGKVVEAT
AFGLGKEDAV LKVAVKMLKS TAHADEKEAL MSELKIMSHL GQHENIVNLL
GACTHGGPVL
VITEYCCYGD LLNFLRRKAE AMLGPSLSPG QDPEGGVDYK NIHLEKKYVR
RDSGFSSQGV
DTYVEMRPVS TSSNDSFSEQ DLDKEDGRPL ELRDLLHFSS QVAQGMAFLA
SKNCIHRDVA
ARNVLLTNGH VAKIGDFGLA RDIMNDSNYI VKGNARLPVK WMAPESIFDC
VYTVQSDVWS
YGILLWEIFS LGLNPYPGIL VNSKFYKLVK DGYQMAQPAF APKNIYSIMQ
ACWALEPTHR
PTFQQICSFL QEQAQEDRRE RDYTNLPSSS RSGGSGSSSS ELEEESSSEH
LTCCEQGDIA
QPLLQPNNYQ FC（ 配列番号２ ）

【００４８】

本発明に従う治療剤には、（１又は複数の）ポリペプチド（例えば、抗体、イムノアドヘシン、又はペプチボディー）、アプタマー、又はタンパク質に結合しうる低分子、もし

くは本明細書で同定される標的をコードする核酸分子に結合しうる核酸分子（すなわち、ｓｉＲＮＡ）など、本明細書の上記で同定した標的に結合しうる薬剤が含まれる。

【００４９】

「ＣＳＦ１－Ｒ経路阻害剤」という用語は、ＣＳＦ１－Ｒによるシグナル伝達を阻害する治療剤を指す。一実施態様では、ＣＳＦ１－Ｒ経路阻害剤は、ＣＳＦ－１、ＩＬ－３４、ＣＳＦ１－Ｒ、又はＣＳＦ－１及びＩＬ－３４に結合する。一実施態様では、ＣＳＦ－１、ＩＬ－３４、又はＣＳＦ－１及びＩＬ－３４に結合する薬剤は、このような（１又は複数の）タンパク質の、ＣＳＦ１－Ｒへの結合を阻害する。別の実施態様では、ＣＳＦ１－Ｒに結合する薬剤は、ＣＳＦ１－Ｒの、ＩＬ－３４及びＣＳＦ－１への結合を阻害する。一実施態様では、ＣＳＦ１－Ｒのキナーゼ活性の低減は、ＣＳＦ－１Ｒによるシグナル伝達の低減を示す。一実施態様では、ＣＳＦ１－Ｒ経路阻害剤は、本発明の抗体である。別の実施態様では、ＣＳＦ－１Ｒ経路阻害剤は、ＣＳＦ１－Ｒの低分子阻害剤である。別の実施態様では、ＣＳＦ１－Ｒ経路阻害剤は、Ｆｃへと融合させたＣＳＦ１－Ｒの細胞外ドメインである。

【００５０】

本明細書では、「抗体」という用語が最も広義で用いられ、それらが所望の抗原結合活性を呈示する限りにおいて、モノクローナル抗体、ポリクローナル抗体、多重特異性抗体（例えば、二重特異性抗体）、及び抗体断片が含まれるがこれらに限定されない、多様な抗体構造を包摂する。

【００５１】

「可変領域」又は「可変ドメイン」という用語は、抗体重鎖又は抗体軽鎖のドメインであって、抗体の抗原への結合に関与するドメインを指す。天然抗体の重鎖及び軽鎖の可変ドメイン（それぞれ、ＶＨ及びＶＬ）は一般に、類似する構造であって、各ドメインが、４つずつの保存されたフレームワーク領域（ＦＲ）及び３つずつの超可変領域（ＨＶＲ）を含む構造を有する（例えば、Ｋｉｎｄｔら、「Ｋｕｂｙ　Ｉｍｍｕｎｏｌｏｇｙ」、６版、Ｗ．Ｈ．Ｆｒｅｅｍａｎ　ａｎｄ　Ｃｏ．、９１ページ（２００７）を参照されたい）。単一のＶＨドメイン又はＶＬドメインは、抗原結合特異性を付与するのに十分でありうる。更にまた、特定の抗原に結合する抗体は、抗原に結合する抗体に由来するＶＨドメイン又はＶＬドメインを用い、それぞれの相補的なＶＬドメイン又はＶＨドメインのライブラリーをスクリーニングして単離することもできる。例えば、Ｐｏｒｔｏｌａｎｏら、Ｊ．Ｉｍｍｕｎｏｌ．、１５０：８８０～８８７（１９９３）；Ｃｌａｒｋｓｏｎら、Ｎａｔｕｒｅ、３５２：６２４～６２８（１９９１）を参照されたい。

【００５２】

本明細書で用いられる「超可変領域」又は「ＨＶＲ」という用語は、配列において超可変的であり、及び／又は構造的に規定されたループ（「超可変ループ」）を形成する、抗体可変ドメインの領域の各々を指す。一般に、天然の４本鎖抗体は、６つのＨＶＲ：ＶＨ内の３つ（Ｈ１、Ｈ２、Ｈ３）及びＶＬ内の３つ（Ｌ１、Ｌ２、Ｌ３）を含む。ＨＶＲは一般に、超可変ループに由来するアミノ酸残基、及び／又は「相補性決定領域」（ＣＤＲ）に由来するアミノ酸残基を含み、後者は、配列可変性が最大であり、かつ／もしくは抗原認識に関与する。本明細書で用いられるＨＶＲは、２４～３６位（Ｌ１の場合）、４６～５６位（Ｌ２の場合）、８９～９７位（Ｌ３の場合）、２６～３５Ｂ位（Ｈ１の場合）、４７～６５位（Ｈ２の場合）、及び９３～１０２位（Ｈ３の場合）内に位置する残基を含みうる。例えば、ＨＶＲは、既に記載されている位置における残基：

Ａ）２４～３４（Ｌ１）、５０～５６（Ｌ２）、８９～９７（Ｌ３）、２６～３２（Ｈ１）、５２～５６（Ｈ２）、及び９５～１０２（Ｈ３）（Ｃｈｏｔｈｉａ及びＬｅｓｋ、Ｊ．Ｍｏｌ．Ｂｉｏｌ．、１９６：９０１～９１７（１９８７））；

Ｂ）Ｌ１の２４～３４、Ｌ２の５０～５６、Ｌ３の８９～９７、Ｈ１の３１～３５Ｂ、Ｈ２の５０～６５、及びＨ３の９５～１０２（Ｋａｂａｔら、「Ｓｅｑｕｅｎｃｅｓ　ｏｆ　Ｐｒｏｔｅｉｎｓ　ｏｆ　Ｉｍｍｕｎｏｌｏｇｉｃａｌ　Ｉｎｔｅｒｅｓｔ」、５版、Ｐｕｂｌｉｃ　Ｈｅａｌｔｈ　Ｓｅｒｖｉｃｅ、Ｎａｔｉｏｎａｌ　Ｉｎｓｔｉｔｕｔ

ｅｓ ｏｆ Ｈｅａｌｔｈ、ＢｅｔｈｅＳＤａ、ＭＤ（１９９１））；並びに
Ｃ）３０～３６（Ｌ１）、４６～５５（Ｌ２）、８９～９６（Ｌ３）、３０～３５（Ｈ１）、４７～５８（Ｈ２）、９３～１０１（Ｈ３）（ＭａｃＣａｌｌｕｍら、Ｊ．Ｍｏｌ．Ｂｉｏｌ．、２６２：７３２～７４５（１９９６））を包含しうる。

【００５３】

本明細書では、別段に示されない限り、可変ドメイン内のＨＶＲ残基及び他の残基（例えば、ＦＲ残基）を、Ｋａｂａｔら、前出に従い番号付けする。

【００５４】

ＶＨ内のＣＤＲ１を例外として、ＣＤＲは一般に、超可変ループを形成するアミノ酸残基を含む。ＣＤＲはまた、抗原に接触する残基である「特異性決定残基」又は「ＳＤＲ」も含む。ＳＤＲは、短縮ＣＤＲ又はａ－ＣＤＲと呼ばれるＣＤＲの領域内に含有されている。例示的なａ－ＣＤＲ（ａ－ＣＤＲＬ１、ａ－ＣＤＲＬ２、ａ－ＣＤＲＬ３、ａ－ＣＤＲＨ１、ａ－ＣＤＲＨ２、及びａ－ＣＤＲＨ３）は、Ｌ１のアミノ酸残基３１～３４、Ｌ２の５０～５５、Ｌ３の８９～９６、Ｈ１の３１～３５Ｂ、Ｈ２の５０～５８、及びＨ３の９５～１０２において認められる（Ａｌｍａｇｒｏ及びＦｒａｎｓｓｏｎ、Ｆｒｏｎｔ．Ｂｉｏｓｃｉ．、１３：１６１９～１６３３（２００８）を参照されたい）。本明細書では、別段に示されない限り、可変ドメイン内のＨＶＲ残基及び他の残基（例えば、ＦＲ残基）を、Ｋａｂａｔら、前出に従い番号付けする。

【００５５】

「フレームワーク」又は「ＦＲ」は、超可変領域（ＨＶＲ）残基以外の可変ドメイン残基を指す。可変ドメインのＦＲは一般に、４つのＦＲドメイン：ＦＲ１、ＦＲ２、ＦＲ３、及びＦＲ４からなる。したがって、ＨＶＲ配列及びＦＲ配列は一般に、ＶＨ（又はＶＬ）内の以下の配列：ＦＲ１－Ｈ１（Ｌ１）－ＦＲ２－Ｈ２（Ｌ２）－ＦＲ３－Ｈ３（Ｌ３）－ＦＲ４内にあると考えられる。

【００５６】

「ヒトコンセンサスフレームワーク」とは、ヒト免疫グロブリンＶＬフレームワーク配列又はヒト免疫グロブリンＶＨフレームワーク配列を選択するときに最も一般に生じるアミノ酸残基を表すフレームワークである。一般に、ヒト免疫グロブリンＶＬ配列又はヒト免疫グロブリンＶＨ配列の選択は、可変ドメイン配列の亜群から行われる。一般に、配列の亜群とは、Ｋａｂａｔら、「Ｓｅｑｕｅｎｃｅｓ ｏｆ Ｐｒｏｔｅｉｎｓ ｏｆ Ｉｍｍｕｎｏｌｏｇｉｃａｌ Ｉｎｔｅｒｅｓｔ」、５版、ＮＩＨ Ｐｕｂｌｉｃａｔｉｏｎ、９１～３２４２、Ｂｅｔｈｅｓｄａ ＭＤ（１９９１）、１～３巻における亜群である。幾つかの実施態様では、ＶＬの亜群とは、Ｋａｂａｔら、前出における亜群カッパＩである。幾つかの実施態様では、ＶＨの亜群とは、Ｋａｂａｔら、前出における亜群ＩＩＩである。

【００５７】

本明細書における目的のための「アクセプターのヒトフレームワーク」とは、下記で規定されるヒト免疫グロブリンフレームワーク又はヒトコンセンサスフレームワークに由来する、軽鎖可変ドメイン（ＶＬ）フレームワーク又は重鎖可変ドメイン（ＶＨ）フレームワークのアミノ酸配列を含むフレームワークである。ヒト免疫グロブリンフレームワーク又はヒトコンセンサスフレームワーク「に由来する」アクセプターのヒトフレームワークは、その同じアミノ酸配列を含む場合もあり、アミノ酸配列の変化を含有する場合もある。幾つかの実施態様では、アミノ酸変化の数は、１０以下、９以下、８以下、７以下、６以下、５以下、４以下、３以下、又は２以下である。幾つかの実施態様では、アクセプターのヒトＶＬフレームワークは、配列において、ヒト免疫グロブリンＶＬフレームワーク配列又はヒトコンセンサスフレームワーク配列と同一である。

【００５８】

抗体の「クラス」とは、その重鎖により保有される定常ドメイン又は定常領域の種類を指す。５つの主要な抗体クラス：ＩｇＡ、ＩｇＤ、ＩｇＥ、ＩｇＧ、及びＩｇＭが存在し、これらのうちの幾つかは、サブクラス（アイソタイプ）、例えば、IgG_1、IgG_2

、ＩｇＧ$_3$、ＩｇＧ$_4$、ＩｇＡ$_1$、及びＩｇＡ$_2$へと更に分けることができる。免疫グロブリンの異なるクラスに対応する重鎖定常ドメインは、それぞれ、α、δ、ε、γ、及びμと呼ばれる。

【００５９】

本明細書では、「Ｆｃ領域」という用語を、免疫グロブリン重鎖のＣ末端領域であって、定常領域の少なくとも一部分を含有する領域を定義するのに用いる。この用語は、天然配列のＦｃ領域及び変異体のＦｃ領域を包含する。幾つかの実施態様では、ヒトＩｇＧ重鎖のＦｃ領域は、重鎖のＣｙｓ２２６又はＰｒｏ２３０～カルボキシル末端に及ぶ。しかし、Ｆｃ領域のＣ末端のリシン（Ｌｙｓ４４７）は、存在する場合もあり、存在しない場合もある。本明細書では、別段に指定されない限り、Ｆｃ領域内又は定常領域内のアミノ酸残基の番号付けは、Ｋａｂａｔら、「Ｓｅｑｕｅｎｃｅｓ ｏｆ Ｐｒｏｔｅｉｎｓ ｏｆ Ｉｍｍｕｎｏｌｏｇｉｃａｌ Ｉｎｔｅｒｅｓｔ」、５版、Ｐｕｂｌｉｃ Ｈｅａｌｔｈ Ｓｅｒｖｉｃｅ、Ｎａｔｉｏｎａｌ Ｉｎｓｔｉｔｕｔｅｓ ｏｆ Ｈｅａｌｔｈ、Ｂｅｔｈｅｓｄａ、ＭＤ、１９９１年において記載されている通り、また、ＥＵインデックスとも呼ばれる、ＥＵによる番号付けシステムに従う。

【００６０】

「天然抗体」とは、構造が様々な自然発生の免疫グロブリン分子を指す。例えば、天然ＩｇＧ抗体とは、ジスルフィド結合した２つの同一な軽鎖及び２つの同一な重鎖からなる、約１５０，０００ドルトンのヘテロ四量体の糖タンパク質である。Ｎ末端～Ｃ末端において、各重鎖は、可変重鎖ドメイン又は重鎖可変ドメインともまた呼ばれる可変領域（ＶＨ）に続いて、３つの定常ドメイン（ＣＨ１、ＣＨ２、及びＣＨ３）を有する。同様に、Ｎ末端～Ｃ末端において、各軽鎖も、可変軽鎖ドメイン又は軽鎖可変ドメインともまた呼ばれる可変領域（ＶＬ）に続いて、軽鎖定常（ＣＬ）ドメインを有する。抗体の軽鎖は、その定常ドメインのアミノ酸配列に基づき、カッパ（κ）及びラムダ（λ）と呼ばれる２つの種類のうちの１つへと割り当てることができる。

【００６１】

本明細書で用いられる「モノクローナル抗体」という用語は、実質的に同種の抗体の集団から得られる抗体を指す、すなわち、集団を構成する個別の抗体は、例えば、自然発生の突然変異を含有するか、又はモノクローナル抗体調製物の作製時において生じる、潜在的な変異体抗体（このような変異体一般に少量で存在する）を除き、同一であり、及び／又は同じエピトープに結合する。異なる決定基（エピトープ）を指向する異なる抗体を包含することが典型的なポリクローナル抗体調製物とは対照的に、モノクローナル抗体調製物の各モノクローナル抗体は、抗原上の単一の決定基を指向する。したがって、修飾語である「モノクローナル」とは、実質的に同種の抗体集団から得られるものとしての抗体の特徴を示すものであり、任意の特定の方法による抗体の作製を要請するとはみなされないものとする。例えば、本発明に従い用いられるモノクローナル抗体は、ハイブリドーマ法、組換えＤＮＡ法、ファージディスプレイ法、及びヒト免疫グロブリン遺伝子座の全部又は一部を含有するトランスジェニック動物を使用する方法が含まれるがこれらに限定されない様々な技法（本明細書では、モノクローナル抗体を作製するためのこのような方法及び他の例示的な方法について記載する）により作製することができる。

【００６２】

「キメラ」抗体という用語は、重鎖及び／又は軽鎖の一部分が、特定の供給源又は種に由来する一方で、重鎖及び／又は軽鎖の残余は、異なる供給源又は種に由来する抗体を指す。

【００６３】

「ヒト化」抗体とは、非ヒトＨＶＲに由来するアミノ酸残基と、ヒトＦＲに由来するアミノ酸残基とを含むキメラ抗体を指す。幾つかの実施態様では、ヒト化抗体は、少なくとも一つの可変ドメインであり、典型的には２つの可変ドメインであって、ＨＶＲ（例えば、ＣＤＲ）のうちの全て又は実質的に全てが、非ヒト抗体のＨＶＲに対応し、ＦＲのうちの全て又は実質的に全てが、ヒト抗体のＦＲに対応する可変ドメインのうちの実質的に全

てを含むであろう。ヒト化抗体は場合によって、ヒト抗体に由来する抗体定常領域の少なくとも一部分を含みうる。抗体、例えば、非ヒト抗体の「ヒト化形態」とは、ヒト化を経た抗体を指す。

【００６４】

「ヒト抗体」とは、ヒト又はヒト細胞により産生される抗体のアミノ酸配列、又はヒト抗体レパートリーもしくは他のヒト抗体コード配列を使用する非ヒト供給源に由来する抗体のアミノ酸配列に対応するアミノ酸配列を保有する抗体である。ヒト抗体のこの定義はとりわけ、非ヒト抗原結合残基を含むヒト化抗体を除外する。

【００６５】

「抗体断片」とは、無傷抗体以外の分子であって、無傷抗体が結合する抗原に結合する、無傷抗体の一部分を含む分子を指す。抗体断片の例には、Ｆｖ、Ｆａｂ、Ｆａｂ’、Ｆａｂ’－ＳＨ、Ｆ（ａｂ’）$_2$；ダイアボディー；線状抗体；単鎖抗体分子（例えば、ＳｃＦｖ）；及び抗体断片から形成される多重特異性抗体が含まれるがこれらに限定されない。

【００６６】

本明細書では、「全長抗体」、「無傷抗体」、及び「全抗体」という用語を、天然抗体の構造と実質的に類似する構造を有する抗体、又は本明細書で規定されるＦｃ領域を含有する重鎖を有する抗体を指すように互換的に用いる。

【００６７】

「単離」抗体とは、その天然の環境の構成要素から分離された抗体である。幾つかの実施態様では、抗体を、例えば、電気泳動（例えば、ＳＤＳ－ＰＡＧＥ、等電点電気泳動（ＩＥＦ）、キャピラリー電気泳動）又はクロマトグラフィー（例えば、イオン交換クロマトグラフィー又は逆相ＨＰＬＣ）により決定される、９５％を超えるか又は９９％の純度まで精製する。抗体の純度を評価するための方法の総説については、例えば、Ｆｌａｔｍａｎら、Ｊ．Ｃｈｒｏｍａｔｏｇｒ．Ｂ、８４８：７９～８７（２００７）を参照されたい。

【００６８】

「アフィニティー成熟」抗体とは、１又は複数の超可変領域（ＨＶＲ）内に、１又は複数の改変であって、このような改変を保有しない親抗体と比較して、抗体の抗原に対するアフィニティーの改善を結果としてもたらす、改変を伴う抗体を指す。

【００６９】

「アフィニティー」とは、分子（例えば、抗体）の単一の結合部位と、その結合パートナー（例えば、抗原）との間の非共有結合的相互作用全体を合計した強度を指す。別段に示されない限り、本明細書で用いられる「結合アフィニティー」とは、結合対のメンバー（例えば、抗体及び抗原）の間の１：１の相互作用を反映する、内因性の結合アフィニティーを指す。分子Ｘのそのパートナー Ｙに対するアフィニティーは一般に、解離定数（K_d）により表すことができる。アフィニティーは、本明細書で記載される方法を含め、当技術分野で知られている一般的な方法により測定することができる。結合アフィニティーを測定するための特定の実例的及び例示的な実施態様については、以下で記載する。

【００７０】

基準抗体と「同じエピトープに結合する抗体」とは、競合アッセイにおいて、基準抗体のその抗原への結合を５０％以上遮断する抗体を指し、逆に、競合アッセイにおいて、抗体のその抗原への結合を５０％以上遮断する基準抗体も指す。本明細書では、例示的な競合アッセイが提示される。

【００７１】

「エフェクター機能」とは、抗体のＦｃ領域へと帰することができる生物学的活性であって、抗体のアイソタイプにより変化する生物学的活性を指す。抗体のエフェクター機能の例には、Ｃ１ｑの結合及び補体依存性細胞傷害作用（ＣＤＣ）；Ｆｃ受容体の結合；抗体依存性細胞介在性細胞傷害作用（ＡＤＣＣ）；食作用；細胞表面受容体（例えば、Ｂ細胞受容体）の下方調節；及びＢ細胞の活性化が含まれる。

【００７２】
「ネイキッド抗体」とは、異種部分（例えば、細胞傷害性部分）又は放射性標識へとコンジュゲートされていない抗体を指す。薬学的製剤中には、ネイキッド抗体も存在させることができる。
【００７３】
「単離」核酸とは、その天然の環境の構成要素から分離された核酸分子を指す。単離核酸には、核酸分子を含有することが通例である細胞内に含有される核酸分子も含まれるが、核酸分子は、染色体外又はその天然の染色体上の位置と異なる染色体上の位置にも存在する。
【００７４】
「抗ＩＬ－３４抗体をコードする単離核酸」とは、単一のベクター内又は個別のベクター内のこのような（１又は複数の）核酸分子を含め、抗体の重鎖及び軽鎖（又はその断片）をコードする１又は複数の核酸分子を指し、このような（１又は複数の）核酸分子は、宿主細胞内の１又は複数の位置に存在する。
【００７５】
基準のポリペプチド配列に照らした「アミノ酸配列の同一性パーセント（％）」は、候補配列内のアミノ酸残基であって、最大の配列同一性パーセントを達成するために、配列決定し、必要な場合は、ギャップを導入した後において、基準ポリペプチド配列内のアミノ酸残基と同一なアミノ酸残基の百分率と定義され、任意の保存的置換を配列同一性の一部とは考えない。アミノ酸配列の同一性パーセントを決定することを目的とするアライメントは、当技術分野の範囲内にある多様な手段により、例えば、ＢＬＡＳＴソフトウェア、ＢＬＡＳＴ－２ソフトウェア、ＡＬＩＧＮソフトウェア、又はＭｅｇａｌｉｇｎ（ＤＮＡＳＴＡＲ）ソフトウェアなど、一般に入手可能なコンピュータソフトウェアを用いて達成することができる。当業者は、比較される配列の全長にわたり最適なアライメントを達成するのに必要とされる任意のアルゴリズムを含め、配列決定するのに適切なパラメータを決定することができる。しかし、本明細書の目的では、アミノ酸配列同一性％の値を、配列比較のためのコンピュータプログラムであるＡＬＩＧＮ－２を用いて求める。配列比較のためのコンピュータプログラムであるＡＬＩＧＮ－２は、Ｇｅｎｅｔｅｃｈ，Ｉｎｃ．により作成され、ソースコードは、使用者向け文書と共に、Ｕ．Ｓ．Ｃｏｐｙｒｉｇｈｔ　Ｏｆｆｉｃｅ、Ｗａｓｈｉｎｇｔｏｎ　Ｄ．Ｃ．、２０５５９に提出され、ここで、Ｕ．Ｓ．Ｃｏｐｙｒｉｇｈｔ　Ｒｅｇｉｓｔｒａｔｉｏｎ第ＴＸＵ５１００８７号の下に登録されている。ＡＬＩＧＮ－２プログラムは、Ｇｅｎｅｔｅｃｈ，Ｉｎｃ．、Ｓｏｕｔｈ　Ｓａｎ　Ｆｒａｎｃｉｓｃｏ、Ｃａｌｉｆｏｒｎｉａから一般に入手可能であるか、又はソースコードからコンパイルすることもできる。ＡＬＩＧＮ－２プログラムは、ディジタル式のＵＮＩＸ　Ｖ４．０Ｄを含めた、ＵＮＩＸオペレーションシステム上での使用のためにコンパイルされるものとする。全ての配列比較パラメータは、ＡＬＩＧＮ－２プログラムにより設定されており、変化しない。
【００７６】
アミノ酸配列を比較するためにＡＬＩＧＮ－２を用いる状況では、所与のアミノ酸配列Ａの、所与のアミノ酸配列Ｂに照らした、所与のアミノ酸配列Ｂとの、又は所与のアミノ酸配列Ｂに対するアミノ酸配列同一性％（これは代替的に、所与のアミノ酸配列Ｂに照らした、所与のアミノ酸配列Ｂとの、又は所与のアミノ酸配列Ｂに対する一定のアミノ酸配列同一性％を有するか又は含む所与のアミノ酸配列Ａとも言い表すことができる）を、以下の通りに計算する。
１００×割合Ｘ／Ｙ
［式中、Ｘは、配列アライメントプログラムであるＡＬＩＧＮ－２により、そのプログラムによるＡ及びＢのアライメントにおいて同一なマッチとして評定されたアミノ酸残基の数であり、Ｙは、Ｂ内のアミノ酸残基の総数である］。アミノ酸配列Ａの長さが、アミノ酸配列Ｂの長さと等しくない場合は、ＡのＢに対するアミノ酸配列同一性％は、ＢのＡに対するアミノ酸配列同一性％と等しくないことが察知されるであろう。別段に具体的に言

明されない限り、本明細書で用いられる全てのアミノ酸配列同一性％の値は、直前の段落で記載した通りに、ＡＬＩＧＮ－２コンピュータプログラムを用いて得られる。

【００７７】

本明細書で用いられる「ベクター」という用語は、それが連結された別の核酸を伝搬することが可能な核酸分子を指す。この用語は、自己複製核酸構造としてのベクターのほか、それが導入された宿主細胞のゲノムへと組み込まれるベクターも包含する。ある種のベクターは、それらが作動的に連結された核酸の発現を方向付けることが可能である。本明細書では、このようなベクターを「発現ベクター」と称する。

【００７８】

「宿主細胞」、「宿主細胞系」、及び「宿主細胞培養物」という用語は、互換的に用いられ、このような細胞の子孫細胞を含め、外因性核酸が導入された細胞を指す。宿主細胞は、継代の数を考慮せずに、初代形質転換細胞及びそこから派生した子孫細胞を包含する、「形質転換体」及び「形質転換細胞」を包含する。子孫細胞は、核酸含量が親細胞と完全に同一ではない場合もあり、突然変異も含有しうる。本明細書には、元の形質転換細胞においてスクリーニング又は選択されたのと同じ機能又は生物学的活性を有する突然変異体の子孫細胞も包含される。

【００７９】

本明細書で用いられる「治療（処置）」（及び「～を治療する」又は「～を治療すること」などのその文法的変化形）とは、治療される個体の自然の経過を変化させようとする試みにおける臨床的介入を指し、予防のために実施することもでき、臨床的病態の経過時において実施することもできる。治療の所望の効果には、疾患の発生又は再発の防止、症状の軽減、疾患の任意の直接又は間接の病理学的帰結の縮減、転移の防止、疾患進行の速度の減少、疾患状態の改善又は緩和、及び寛解又は予後の改善が含まれるがこれらに限定されない。幾つかの実施態様では、本発明の抗体を用いて、疾患の発生を遅延させるか、又は疾患の進行を緩徐化する。

【００８０】

「個体」又は「対象」とは、哺乳動物である。哺乳動物には、家畜化動物（例えば、ウシ、ヒツジ、ネコ、イヌ、及びウマ）、霊長動物（例えば、ヒト及びサルなどの非ヒト霊長動物）、ウサギ、及び齧歯動物（例えば、マウス及びラット）が含まれるがこれらに限定されない。幾つかの実施態様では、個体又は対象は、ヒトである。

【００８１】

「薬学的製剤」という用語は、その中に含有される有効成分の生物学的活性が有効となることを可能とするような形態にあり、製剤が投与される対象に対して許容されない形で毒性であるさらなる成分を含有しない調製物を指す。

【００８２】

「薬学的に許容される担体」とは、薬学的製剤中の、有効成分以外の含有物であって、対象に対して非毒性の含有物を指す。薬学的に許容される担体には、緩衝剤、賦形剤、安定化剤、又は保存剤が含まれるがこれらに限定されない。

【００８３】

薬剤、例えば、薬学的製剤の「有効量」とは、所望の治療的結果又は予防的結果を達成するのに必要な投与法で、必要な期間にわたり有効な量を指す。

【００８４】

臨床的文脈において理解される通り、治療剤（例えば、本明細書で提示される抗体）、薬物、化合物、又は薬学的組成物の有効量は、別の薬物、化合物、又は薬学的組成物と共に達成される場合もあり、達成されない場合もある。したがって、「有効量」は、１又は複数の治療剤を投与する文脈で考えることができ、単一の薬剤は、１又は複数の他の薬剤と共に、所望の結果が達成されうるか又は達成される場合、有効量で施されると考えることができる。

【００８５】

本明細書で用いられる「～と共に」とは、別の治療モダリティーに加えた１つの治療モ

ダリティーの投与を指す。したがって、「～と共に」とは、１つの治療モダリティーの、他の治療モダリティーの投与前、他の治療モダリティーの投与時、又は他の治療モダリティーの投与後における、個体への投与を指す。

【００８６】

「添付文書」という用語は、市販の治療用製品パッケージ内に通常組み入れられる指示書であって、適応、用法、投与量、投与、組合せ療法、禁忌、及び／又はこのような治療用製品の使用に関する警告についての情報を含有する指示書を指すのに用いられる。

【００８７】

「炎症性腸疾患」又は「ＩＢＤ」とは、腸を炎症状態とし、一般に腹部の疝痛及び疼痛、下痢、体重の減少、及び腸内出血を含めた症状により顕示される障害群を指す。ＩＢＤの主要な形態は、潰瘍性大腸炎（ＵＣ）及びクローン病である。

【００８８】

本明細書で用いられる「骨髄病原性免疫疾患」とは、骨髄病原性の構成要素を伴う炎症性疾患及び／又は自己免疫疾患を指す。

【００８９】

本明細書で用いられる「ＤＭＡＲＤ」とは、疾患修飾性抗リウマチ薬を指す。ＤＭＡＲＤの例には、アダリムマブ、クロロキン、ヒドロキシクロロキン、スルファサラジン、メトトレキサート、レフルノミド、アザチオプリン、Ｄ－ペニシラミン、金塩（金チオリンゴ酸ナトリウム、オーラノフィン）、金（経口）、金（筋内）、ミノサイクリン、シクロスポリン、エタネルセプト、ゴリムマブ、インフリキシマブ、ミノサイクリン、及びリツキシマブが含まれる。

【００９０】

本明細書で用いられる「Ｆ１」とは、線維芽細胞に富む亜型の１型を指し、「Ｆ２」とは、線維芽細胞に富む亜型の２型を指し、「Ｌ」とは、リンパに富む亜型又はリンパ亜型を指し、「Ｍ」とは、骨髄に富む亜型又は骨髄亜型を指す。まとめて、これらの亜型は、遺伝子発現解析に基づく関節リウマチ患者の４つの分子亜型を同定する。まとめて、Ｆ１亜型及びＦ２亜型を、線維亜型又は「Ｆ」亜型と称する。ＲＡ患者のＬ亜型は一般に、Ｂ細胞、形質細胞、Ｔ細胞、及びマクロファージの関与に特徴的な遺伝子発現パターン、並びにＢ細胞及びＴ細胞の活性化、アイソタイプスイッチ、Ｉｇの分泌、及びサイトカインの産生の証拠を有する。ＲＡ患者の骨髄亜型は一般に、単球、マクロファージ、好中球、及びリンパ球の関与に特徴的な遺伝子発現パターン、並びにマクロファージの活性化、食作用、呼吸バースト、Ｔ細胞の活性化、及びサイトカインの産生の証拠を有する。ＲＡ患者の線維亜型は一般に、線維芽細胞及び骨芽細胞の関与に特徴的な遺伝子発現パターン、並びに骨の形成、成長、及び分化、並びに血管新生の証拠を有する。

【００９１】

文脈により別段であることが明らかに示されない限り、本明細書及び付属の特許請求の範囲で用いられる単数形の「ある１つの（ａ）」、「ある１つの（ａｎ）」、及び「その（ｔｈｅ）」は、複数の言及を包含する。例えば、「抗体」への言及は、モル量など、１つ～多くの抗体への言及であり、当業者に知られているその同等物などを包含する。

【００９２】

本明細書における「約」づきのある値又はパラメータへの言及は、その値又はパラメータ自体を対象とする実施態様を包含する（そしてそれについて記載する）。例えば、「約Ｘ」に言及する記載は、「Ｘ」についての記載を包含する。

【００９３】

本明細書で記載される本発明の態様及び変化形は、態様及び変化形「からなること」、及び／又は態様及び変化形「から本質的になること」を包含することが理解される。

【００９４】

組成物及び方法

本発明は、ＩＬ－３４に結合する抗体、ＩＬ－３４に対する第１の結合特異性及びＣＳＦ－１に対する第２の結合特異性を伴う二重特異性抗体（本明細書では更に、二重特異性

抗ＩＬ－３４／ＣＳＦ－１抗体とも称する）、並びにＣＳＦ－１Ｒに結合する抗体を提供する。本発明の抗体は、例えば、炎症性腸疾患、関節リウマチ、及び多発性硬化症が含まれるがこれらに限定されない骨髄病原性免疫疾患を診断又は治療するのに有用である。幾つかの実施態様では、抗ＩＬ－３４抗体は、哺乳動物（例えば、ヒト）ＩＬ－３４に結合する。幾つかの実施態様では、二重特異性抗ＩＬ－３４／ＣＳＦ－１抗体は、哺乳動物（例えば、ヒト）ＩＬ－３４に対する第１の結合特異性及び哺乳動物（例えば、ヒト）ＣＳＦ－１に対する第２の結合特異性を含む。幾つかの実施態様では、抗ＣＳＦ－１Ｒ抗体は、哺乳動物（例えば、ヒト）ＣＳＦ－１Ｒに結合する。

【００９５】

例示的な抗ＩＬ－３４及びＣＳＦ－１Ｒ抗体

抗ＩＬ－３４抗体

一態様では、本発明は、ＩＬ－３４に結合する単離抗体（例えば、ヒトＩＬ－３４）を提供する。本明細書で記載される抗ＩＬ－３４抗体は、以下の特徴：（ｉ）ＩＬ－３４（例えば、ヒトＩＬ－３４）の、ＣＳＦ－１Ｒ（例えば、ヒトＣＳＦ－１Ｒ）への結合の阻害；（ｉｉ）ＩＬ－３４活性（例えば、ヒトＩＬ－３４活性）の中和；（ｉｉｉ）末梢血単核細胞の、ＩＬ－３４誘導性増殖の阻害；（ｉｖ）ＩＬ－３４（例えば、ヒトＩＬ－３４）の二量体への結合；（ｖ）ＩＬ－３４（例えば、ヒトＩＬ－３４）の両方のプロトマーにわたるエピトープへの結合；（ｖｉ）ＣＳＦ－１（例えば、ヒトＣＳＦ－１）の、ＣＳＦ－１Ｒ（例えば、ヒトＣＳＦ－１Ｒ）への結合の阻害が見られないことのうちの１又は複数を有しうる。幾つかの実施態様では、抗ＩＬ－３４抗体の、非類縁の非ＩＬ－３４タンパク質への結合の程度は、例えば、ＢＩＡＣＯＲＥアッセイ又はバイオレイヤー干渉（ＢＬＩ）アッセイにより測定される、この抗体のＩＬ－３４への結合の約１０％未満である。幾つかの実施態様では、ＩＬ－３４に結合する抗体の解離定数（K_d）は、≦１μＭ、≦５００ｎＭ、≦２５０ｎＭ、≦１００ｎＭ、≦１０ｎＭ、≦１ｎＭ、≦０．１ｎＭ、≦０．０１ｎＭ、又は≦０．００１ｎＭ（例えば、10^{-8}Ｍ以下、例えば、10^{-8}Ｍ～10^{-13}Ｍ、例えば、10^{-9}Ｍ～10^{-13}Ｍ）である。幾つかの実施態様では、抗ＩＬ－３４抗体のK_d値は、約５００ｎＭ未満である。幾つかの実施態様では、抗ＩＬ－３４抗体のK_d値は、約１００ｎＭ又は１０ｎＭ未満である。幾つかの実施態様では、抗ＩＬ－３４抗体のK_d値は、約１ｎＭ未満である。幾つかの実施態様では、ＩＬ－３４抗体のK_d値は、約１００ｐＭ未満である。幾つかの実施態様では、抗ＩＬ－３４抗体のK_dは、約１００～２００ｐＭ、約１００～５００ｐＭ、約１００ｐＭ－１ｎＭ、又は約１ｎＭ～５０ｎＭである。幾つかの実施態様では、抗ＩＬ－３４抗体のK_dは、約１７ｎＭである。幾つかの実施態様では、抗ＩＬ－３４抗体のK_dは、約１２０ｎＭである。幾つかの実施態様では、抗ＩＬ－３４抗体は、異なる種に由来するＩＬ－３４の間で保存されているＩＬ－３４のエピトープに結合する。

【００９６】

一態様では、ヒトＩＬ－３４のアミノ酸残基Ｇｌｕ１０３、Ｌｅｕ１０９、Ｇｌｎ１０６、Ａｓｎ１５０、Ｌｅｕ１２７、Ａｓｎ１２８、Ｓｅｒ１８４、Ｌｅｕ１８６、Ａｓｎ１８７、Ｌｙｓ４４、Ｇｌｕ１２１、Ａｓｐ１０７、Ｇｌｕ１１１、Ｓｅｒ１０４、Ｇｌｎ１２０、Ｔｒｐ１１６、及びＡｓｎ６１のうちの１つ、２つ、３つ、４つ、５つ、６つ、７つ、８つ、９つ、１０、１１、１２、１３、１４、１５、１６、又は１７の少なくとも何れか１つを含むエピトープに結合する抗ＩＬ－３４抗体が本発明において提供される。一態様では、ヒトＩＬ－３４のアミノ酸残基Ｇｌｕ１０３～Ａｓｎ１５０のうちの少なくとも一つを含むエピトープに結合する抗ＩＬ－３４抗体が本発明において提供される。一態様では、ヒトＩＬ－３４のアミノ酸残基Ｇｌｕ１０３、Ｌｅｕ１０９、Ｇｌｎ１０６、及びＡｓｎ１５０のうちの１つ、２つ、又は３つ、又は４つの少なくとも何れか１つを含むエピトープに結合する抗ＩＬ－３４抗体が本発明において提供される。上記の態様のうちの何れかでは、抗ＩＬ－３４抗体は、ヒトＩＬ－３４のアミノ酸残基Ｓｅｒ１００、Ｇｌｕ１２３、Ｔｒｐ１１６、Ｔｈｒ１２４、Ｌｅｕ１２７、Ａｓｎ１２８、Ｇｌｎ１３１、及びＴｈｒ１３４のうちの１つ、２つ、３つ、４つ、５つ、６つ、又は７つ、又は８

つの少なくとも何れか１つを更に含むエピトープに結合しうる。幾つかの実施態様では、抗ＩＬ－３４抗体は、ヒトＩＬ－３４の１００～１０８、１１６～１３４、１０９、及び１５０位内のアミノ酸に結合する。幾つかの実施態様では、抗ＩＬ－３４抗体は、ヒトＩＬ－３４とヒトＣＳＦ－１Ｒとの間の結合を阻害する。幾つかの実施態様では、抗ＩＬ－３４抗体は、ヒトＩＬ－３４活性を中和する。幾つかの実施態様では、抗ＩＬ－３４抗体は、ヒトＩＬ－３４の二量体に結合する。幾つかの実施態様では、抗ＩＬ－３４抗体は、ヒトＩＬ－３４の両方のプロトマーにわたるエピトープに結合する。幾つかの実施態様では、抗ＩＬ－３４抗体は、モノクローナル抗体である。幾つかの実施態様では、抗ＩＬ－３４抗体は、ヒト抗体、ヒト化抗体、又はキメラ抗体である。幾つかの実施態様では、抗ＩＬ－３４抗体は、ヒトＩＬ－３４に結合する抗体断片である。本明細書で用いられる、本明細書における残基位置は、配列番号１における残基位置に対応する。

【００９７】

一態様では、ヒトＩＬ－３４のアミノ酸残基Ｇｌｕ１０３、Ｌｅｕ１０９、Ｇｌｎ１０６、Ａｓｎ１５０、Ｌｅｕ１２７、Ａｓｎ１２８、Ｓｅｒ１８４、Ｌｅｕ１８６、Ａｓｎ１８７、Ｌｙｓ４４、Ｇｌｕ１２１、Ａｓｐ１０７、Ｇｌｕ１１１、Ｓｅｒ１０４、Ｇｌｎ１２０、Ｔｒｐ１１６、及びＡｓｎ６１のうちの１つ、２つ、３つ、４つ、５つ、６つ、７つ、８つ、９つ、１０、１１、１２、１３、１４、１５、又は１６、又は１７の少なくとも何れか１つを含むエピトープに結合する抗ＩＬ－３４抗体が本発明において提供される。一態様では、ヒトＩＬ－３４のアミノ酸残基Ａｓｎ１２８、Ｓｅｒ１８４、Ｌｅｕ１８６、Ａｓｎ１８７、Ｌｙｓ４４、及びＧｌｕ１２１のうちの１つ、２つ、３つ、４つ、又は５つ、又は６つの少なくとも何れか１つを含むエピトープに結合する抗ＩＬ－３４抗体が本発明において提供される。上記の態様のうちの何れかでは、抗ＩＬ－３４抗体は、ヒトＩＬ－３４のアミノ酸残基Ｐｈｅ４０、Ａｓｐ４３、Ｌｅｕ１２５、Ｇｌｎ１８９、Ｔｈｒ３６、及びＶａｌ１８５のうちの１つ、２つ、３つ、４つ、又は５つ、又は６つの少なくとも何れか１つを更に含むエピトープに結合しうる。幾つかの実施態様では、抗ＩＬ－３４抗体は、ヒトＩＬ－３４の３６～４４、１２１～１２８、及び１８４～１８７位内のアミノ酸に結合する。幾つかの実施態様では、抗ＩＬ－３４抗体は、ヒトＩＬ－３４とヒトＣＳＦ－１Ｒとの間の結合を阻害する。幾つかの実施態様では、抗ＩＬ－３４抗体は、ヒトＩＬ－３４活性を中和する。幾つかの実施態様では、抗ＩＬ－３４抗体は、ヒトＩＬ－３４の二量体に結合する。幾つかの実施態様では、抗ＩＬ－３４抗体は、ヒトＩＬ－３４の両方のプロトマーにわたるエピトープに結合する。幾つかの実施態様では、抗ＩＬ－３４抗体は、モノクローナル抗体である。幾つかの実施態様では、抗ＩＬ－３４抗体は、ヒト抗体、ヒト化抗体、又はキメラ抗体である。幾つかの実施態様では、抗ＩＬ－３４抗体は、ヒトＩＬ－３４に結合する抗体断片である。本明細書で用いられる、本明細書における残基位置は、配列番号１における残基位置に対応する。

【００９８】

一態様では、ヒトＩＬ－３４のアミノ酸残基Ｇｌｕ１０３～Ｌｅｕ１２７のうちの少なくとも一つを含むエピトープに結合する抗ＩＬ－３４抗体が本発明において提供される。一態様では、ヒトＩＬ－３４のアミノ酸残基Ａｓｐ１０７、Ｇｌｕ１１１、Ｓｅｒ１０４、Ｇｌｎ１２０、Ｇｌｕ１０３、Ｌｅｕ１０９、Ｔｒｐ１１６、及びＡｓｎ６１のうちの１つ、２つ、３つ、４つ、５つ、６つ、又は７つ、又は８つの少なくとも何れか１つを含むエピトープに結合する抗ＩＬ－３４抗体が本発明において提供される。上記で提示した態様のうちの何れかでは、抗体は、ヒトＩＬ－３４のアミノ酸残基Ｐｒｏ１５２、Ｖａｌ１０８、Ｌｅｕ１１０、Ｇｌｎ１０６、Ｇｌｕ１２３、Ｌｅｕ１２７、Ｌｙｓ１１７、Ｉｌｅ６０、及びＬｙｓ５５のうちの１つ、２つ、３つ、４つ、５つ、６つ、７つ、又は８つ、又は９つの少なくとも何れか１つを更に含むエピトープに結合しうる。幾つかの実施態様では、抗体は、ヒトＩＬ－３４の５５～６１、１００～１０８、１０９、１１１～１２７、及び１５２位内のアミノ酸に結合する。幾つかの実施態様では、抗ＩＬ－３４抗体は、ヒトＩＬ－３４とヒトＣＳＦ－１Ｒとの間の結合を阻害する。幾つかの実施態様では、抗ＩＬ－３４抗体は、ヒトＩＬ－３４活性を中和する。幾つかの実施態様では、抗ＩＬ

－３４抗体は、ヒトＩＬ－３４の二量体に結合する。幾つかの実施態様では、抗ＩＬ－３４抗体は、ヒトＩＬ－３４の両方のプロトマーにわたるエピトープに結合する。幾つかの実施態様では、抗ＩＬ－３４抗体は、モノクローナル抗体である。幾つかの実施態様では、抗ＩＬ－３４抗体は、ヒト抗体、ヒト化抗体、又はキメラ抗体である。幾つかの実施態様では、抗ＩＬ－３４抗体は、ヒトＩＬ－３４に結合する抗体断片である。本明細書で用いられる、本明細書における残基位置は、配列番号１における残基位置に対応する。

【００９９】

一態様では、本発明は、１つ、２つ、３つ、４つ、又は５つ、又は６つのＨＶＲのうちの少なくとも何れか１つを、図１０Ａ及び１０Ｂにおいて示される任意の組合せで含む抗ＩＬ－３４抗体を提供する。幾つかの実施態様では、抗ＩＬ－３４抗体は、（ａ）ＳＴＷＩＨ（配列番号５９）のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｈ１；（ｂ）アミノ酸配列ＲＩＳＰＹＹＹＹＳＤＹＡＤＳＶＫＧ（配列番号５２）を含むＨＶＲ－Ｈ２；（ｃ）アミノ酸配列ＧＬＧＫＧＳＫＲＧＡＭＤＹ（配列番号３３）を含むＨＶＲ－Ｈ３；（ｄ）アミノ酸配列ＲＡＳＱＤＶＳＴＡＶＡ（配列番号５０）を含むＨＶＲ－Ｌ１；（ｅ）アミノ酸配列ＳＡＳＦＬＹＳ（配列番号５３）を含むＨＶＲ－Ｌ２；及び（ｆ）アミノ酸配列ＱＱＳＦＹＦＰＮＴ（配列番号３９）を含むＨＶＲ－Ｌ３から選択される１つ、２つ、３つ、４つ、又は５つ、又は６つのＨＶＲのうちの少なくとも何れか１つを含む。幾つかの実施態様では、抗ＩＬ－３４抗体は、（ａ）アミノ酸配列ＳＴＷＩＨ（配列番号５９）又はＧＦＴＦＳＳＴ（配列番号３０）又はＳＳＴＷＩＨ（配列番号５７）を含むＨＶＲ－Ｈ１、（ｂ）アミノ酸配列ＲＩＳＰＹＹＹＹＳＤＹＡＤＳＶＫＧ（配列番号５２）又はＰＹＹＹＹ（配列番号３７）又はＷＶＡＲＩＳＰＹＹＹＹＳＤ（配列番号６２）を含むＨＶＲ－Ｈ２；（ｃ）アミノ酸配列ＧＬＧＫＧＳＫＲＧＡＭＤＹ（配列番号３３）又はＡＲＧＬＧＫＧＳＫＲＧＡＭＤ（配列番号２８）を含むＨＶＲ－Ｈ３；（ｄ）アミノ酸配列ＲＡＳＱＤＶＳＴＡＶＡ（配列番号５０）又はＳＴＡＶＡＷＹ（配列番号５８）を含むＨＶＲ－Ｌ１；（ｅ）アミノ酸配列ＳＡＳＦＬＹＳ（配列番号５３）又はＬＬＩＹＳＡＳＦＬＹ（配列番号３４）を含むＨＶＲ－Ｌ２；及び（ｆ）ＱＱＳＦＹＦＰＮＴ（配列番号３９）又はＱＱＳＦＹＦＰＮ（配列番号３８）のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｌ３から選択される１つ、２つ、３つ、４つ、又は５つ、又は６つのＨＶＲのうちの少なくとも何れか１つを含む。

【０１００】

幾つかの実施態様では、抗ＩＬ－３４抗体は、（ａ）ＳＴＷＩＨ（配列番号５９）のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｈ１；（ｂ）アミノ酸配列ＲＩＳＰＹＳＧＹＴＮＹＡＤＳＶＫＧ（配列番号５１）を含むＨＶＲ－Ｈ２；（ｃ）アミノ酸配列ＧＬＧＫＧＳＫＲＧＡＭＤＹ（配列番号３３）を含むＨＶＲ－Ｈ３；（ｄ）ＲＡＳＱＤＶＳＴＡＶＡ（配列番号５０）のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｌ１；（ｅ）アミノ酸配列ＳＡＳＦＬＹＳ（配列番号５３）を含むＨＶＲ－Ｌ２；及び（ｆ）アミノ酸配列ＱＱＹＳＤＬＰＹＴ（配列番号４５）を含むＨＶＲ－Ｌ３から選択される１つ、２つ、３つ、４つ、又は５つ、又は６つのＨＶＲのうちの少なくとも何れか１つを含む。幾つかの実施態様では、抗ＩＬ－３４抗体は、（ａ）アミノ酸配列ＳＴＷＩＨ（配列番号５９）又はＧＦＴＦＳＳＴ（配列番号３０）又はＳＳＴＷＩＨ（配列番号５７）を含むＨＶＲ－Ｈ１；（ｂ）アミノ酸配列ＲＩＳＰＹＳＧＹＴＮＹＡＤＳＶＫＧ（配列番号５１）又はＰＹＳＧＹ（配列番号３６）又はＷＶＡＲＩＳＰＹＳＧＹＴＮ（配列番号６１）を含むＨＶＲ－Ｈ２；（ｃ）アミノ酸配列ＧＬＧＫＧＳＫＲＧＡＭＤＹ（配列番号３３）又はＡＲＧＬＧＫＧＳＫＲＧＡＭＤ（配列番号２８）を含むＨＶＲ－Ｈ３；（ｄ）ＲＡＳＱＤＶＳＴＡＶＡ（配列番号５０）又はＳＴＡＶＡＷＹ（配列番号５８）のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｌ１；（ｅ）ＳＡＳＦＬＹＳ（配列番号５３）又はＬＬＩＹＳＡＳＦＬＹ（配列番号３４）のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｌ２；及び（ｆ）アミノ酸配列ＱＱＹＳＤＬＰＹＴ（配列番号４５）又はＱＱＹＳＤＬＰＹ（配列番号４４）を含むＨＶＲ－Ｌ３から選択される１つ、２つ、３つ、４つ、又は５つ、又は６つのＨＶＲのうちの少なくとも何れか１つを含む。

【０１０１】

幾つかの実施態様では、抗ＩＬ－３４抗体は、（ａ）アミノ酸配列ＳＴＷＩＨ（配列番

号５９）を含むＨＶＲ－Ｈ１；（ｂ）アミノ酸配列ＲＩＳＰＹＹＹＹＳＤＹＡＤＳＶＫＧ（配列番号５２）又はＲＩＳＰＹＳＧＹＴＮＹＡＤＳＶＫＧ（配列番号５１）を含むＨＶＲ－Ｈ２；（ｃ）アミノ酸配列ＧＬＧＫＧＳＫＲＧＡＭＤＹ（配列番号３３）又はＧＩＮＱＧＳＫＲＧＡＭＤＹ（配列番号３２）を含むＨＶＲ－Ｈ３；（ｄ）アミノ酸配列ＲＡＳＱＤＶＳＴＡＶＡ（配列番号５０）を含むＨＶＲ－Ｌ１；（ｅ）アミノ酸配列ＳＡＳＦＬＹＳ（配列番号５３）を含むＨＶＲ－Ｌ２；及び（ｆ）アミノ酸配列ＱＱＳＦＹＦＰＮＴ（配列番号３９）又はＱＱＳＹＴＴＰＰＴ（配列番号４３）又はＱＱＹＴＡＬＰＹＴ（配列番号４９）又はＱＱＹＳＤＬＰＹＴ（配列番号４５）又はＱＱＹＳＤＶＰＹＴ（配列番号４７）又はＱＱＳＲＴＡＲＰＴ（配列番号４１）を含むＨＶＲ－Ｌ３から選択される１つ、２つ、３つ、４つ、５つ、又は６つのＨＶＲのうちの少なくとも何れか１つを含む。幾つかの実施態様では、抗ＩＬ－３４抗体は、（ａ）アミノ酸配列ＧＬＧＫＧＳＫＲＧＡＭＤＹ（配列番号３３）又はＧＩＮＱＧＳＫＲＧＡＭＤＹ（配列番号３２）を含むＨＶＲ－Ｈ３；（ｂ）アミノ酸配列ＱＱＳＦＹＦＰＮＴ（配列番号３９）又はＱＱＳＹＴＴＰＰＴ（配列番号４３）又はＱＱＹＴＡＬＰＹＴ（配列番号４９）又はＱＱＹＳＤＬＰＹＴ（配列番号４５）又はＱＱＹＳＤＶＰＹＴ（配列番号４７）又はＱＱＳＲＴＡＲＰＴ（配列番号４１）を含むＨＶＲ－Ｌ３；及び（ｃ）アミノ酸配列ＲＩＳＰＹＹＹＹＳＤＹＡＤＳＶＫＧ（配列番号５２）又はＲＩＳＰＹＳＧＹＴＮＹＡＤＳＶＫＧ（配列番号５１）を含むＨＶＲ－Ｈ２を含む。幾つかの実施態様では、抗ＩＬ－３４抗体は、（ａ）アミノ酸配列ＳＴＷＩＨ（配列番号５９）又はＧＦＴＦＳＳＴ（配列番号３０）又はＳＳＴＷＩＨ（配列番号５７）を含むＨＶＲ－Ｈ１；（ｂ）アミノ酸配列ＲＩＳＰＹＹＹＹＳＤＹＡＤＳＶＫＧ（配列番号５２）又はＲＩＳＰＹＳＧＹＴＮＹＡＤＳＶＫＧ（配列番号５１）又はＰＹＹＹＹ（配列番号３７）又はＰＹＳＧＹ（配列番号３６）又はＷＶＡＲＩＳＰＹＹＹＹＳＤ（配列番号６２）又はＷＶＡＲＩＳＰＹＳＧＹＴＮ（配列番号６１）を含むＨＶＲ－Ｈ２；及び（ｃ）アミノ酸配列ＧＬＧＫＧＳＫＲＧＡＭＤＹ（配列番号３３）又はＧＩＮＱＧＳＫＲＧＡＭＤＹ（配列番号３２）又はＡＲＧＬＧＫＧＳＫＲＧＡＭＤ（配列番号２８）又はＡＲＧＩＮＱＧＳＫＲＧＡＭＤ（配列番号２７）を含むＨＶＲ－Ｈ３；（ｄ）アミノ酸配列ＲＡＳＱＤＶＳＴＡＶＡ（配列番号５０）又はＳＴＡＶＡＷＹ（配列番号５８）を含むＨＶＲ－Ｌ１；（ｅ）アミノ酸配列ＳＡＳＦＬＹＳ（配列番号５３）又はＬＬＩＹＳＡＳＦＬＹ（配列番号３４）を含むＨＶＲ－Ｌ２；及び（ｆ）アミノ酸配列ＱＱＳＦＹＦＰＮＴ（配列番号３９）又はＱＱＳＹＴＴＰＰＴ（配列番号４３）又はＱＱＹＴＡＬＰＹＴ（配列番号４９）又はＱＱＹＳＤＬＰＹＴ（配列番号４５）又はＱＱＹＳＤＶＰＹＴ（配列番号４７）又はＱＱＳＲＴＡＲＰＴ（配列番号４１）又はＱＱＳＦＹＦＰＮ（配列番号３８）又はＱＱＳＹＴＴＰＰ（配列番号４２）又はＱＱＹＴＡＬＰＹ（配列番号４８）又はＱＱＹＳＤＬＰＹ（配列番号４４）又はＱＱＹＳＤＶＰＹ（配列番号４６）又はＱＱＳＲＴＡＲＰ（配列番号４０）を含むＨＶＲ－Ｌ３から選択される１つ、２つ、３つ、４つ、又は５つ、又は６つのＨＶＲのうちの少なくとも何れか１つを含む。

【０１０２】

幾つかの実施態様では、抗ＩＬ－３４抗体は、（ａ）アミノ酸配列ＳＮＹＩＨ（配列番号５５）を含むＨＶＲ－Ｈ１；（ｂ）アミノ酸配列ＳＩＴＰＡＳＧＤＴＤＹＡＤＳＶＫＧ（配列番号５４）を含むＨＶＲ－Ｈ２；（ｃ）アミノ酸配列ＳＲＧＡＹＲＦＡＹ（配列番号５６）を含むＨＶＲ－Ｈ３；（ｄ）アミノ酸配列ＲＡＳＱＤＶＳＴＡＶＡ（配列番号５０）を含むＨＶＲ－Ｌ１；（ｅ）アミノ酸配列ＳＡＳＦＬＹＳ（配列番号５３）を含むＨＶＲ－Ｌ２；及び（ｆ）アミノ酸配列ＱＱＳＹＴＴＰＰＴ（配列番号４３）を含むＨＶＲ－Ｌ３から選択される１つ、２つ、３つ、４つ、又は５つ、又は６つのＨＶＲのうちの少なくとも何れか１つを含む。幾つかの実施態様では、抗ＩＬ－３４抗体は、（ａ）アミノ酸配列ＳＲＧＡＹＲＦＡＹ（配列番号５６）を含むＨＶＲ－Ｈ３；（ｂ）アミノ酸配列ＱＱＳＹＴＴＰＰＴ（配列番号４３）を含むＨＶＲ－Ｌ３；及び（ｃ）アミノ酸配列ＳＩＴＰＡＳＧＤＴＤＹＡＤＳＶＫＧ（配列番号５４）を含むＨＶＲ－Ｈ２を含む。幾つかの実施態様では、抗ＩＬ－３４抗体は、（ａ）アミノ酸配列ＳＮＹＩＨ（配列番号５５）又はＧＦＴＦＴＳＮ（配列番号３１）又はＴＳＮＹＩＨ（配列番号６０）を含むＨＶＲ－Ｈ１

；（ｂ）アミノ酸配列ＳＩＴＰＡＳＧＤＴＤＹＡＤＳＶＫＧ（配列番号５４）又はＰＡＳＧＤ（配列番号３５）又はＷＶＡＳＩＴＰＡＳＧＤＴＤ（配列番号６３）を含むＨＶＲ－Ｈ２；（ｃ）アミノ酸配列ＳＲＧＡＹＲＦＡＹ（配列番号５６）又はＡＲＳＲＧＡＹＲＦＡ（配列番号２９）を含むＨＶＲ－Ｈ３；（ｄ）アミノ酸配列ＲＡＳＱＤＶＳＴＡＶＡ（配列番号５０）又はＳＴＡＶＡＷＹ（配列番号５８）を含むＨＶＲ－Ｌ１；（ｅ）アミノ酸配列ＳＡＳＦＬＹＳ（配列番号５３）又はＬＬＩＹＳＡＳＦＬＹ（配列番号３４）を含むＨＶＲ－Ｌ２；及び（ｆ）アミノ酸配列ＱＱＳＹＴＴＰＰＴ（配列番号４３）又はＱＱＳＹＴＴＰＰ（配列番号４２）を含むＨＶＲ－Ｌ３から選択される１つ、２つ、３つ、４つ、又は５つ、又は６つのＨＶＲのうちの少なくとも何れか１つを含む。

【０１０３】

一態様では、本発明は、（ａ）アミノ酸配列ＳＴＷＩＨ（配列番号５９）を含むＨＶＲ－Ｈ１；（ｂ）アミノ酸配列ＲＩＳＰＹＹＹＹＳＤＹＡＤＳＶＫＧ（配列番号５２）を含むＨＶＲ－Ｈ２；（ｃ）アミノ酸配列ＧＬＧＫＧＳＫＲＧＡＭＤＹ（配列番号３３）を含むＨＶＲ－Ｈ３から選択される少なくとも一つ、少なくとも２つ、又は３つ全てのＶＨ　ＨＶＲ配列を含む抗ＩＬ－３４抗体を提供する。幾つかの実施態様では、抗ＩＬ－３４抗体は、アミノ酸配列ＧＬＧＫＧＳＫＲＧＡＭＤＹ（配列番号３３）を含むＨＶＲ－Ｈ３を含む。幾つかの実施態様では、抗ＩＬ－３４抗体は、（ａ）アミノ酸配列ＧＬＧＫＧＳＫＲＧＡＭＤＹ（配列番号３３）を含むＨＶＲ－Ｈ３、及び（ｂ）アミノ酸配列ＱＱＳＦＹＦＰＮＴ（配列番号３９）を含むＨＶＲ－Ｌ３を含む。幾つかの実施態様では、抗ＩＬ－３４抗体は、（ａ）アミノ酸配列ＧＬＧＫＧＳＫＲＧＡＭＤＹ（配列番号３３）を含むＨＶＲ－Ｈ３；（ｂ）アミノ酸配列ＱＱＳＦＹＦＰＮＴ（配列番号３９）を含むＨＶＲ－Ｌ３；及び（ｃ）アミノ酸配列ＲＩＳＰＹＹＹＹＳＤＹＡＤＳＶＫＧ（配列番号５２）を含むＨＶＲ－Ｈ２を含む。幾つかの実施態様では、抗体は、（ａ）アミノ酸配列ＳＴＷＩＨ（配列番号５９）を含むＨＶＲ－Ｈ１；（ｂ）アミノ酸配列ＲＩＳＰＹＹＹＹＳＤＹＡＤＳＶＫＧ（配列番号５２）を含むＨＶＲ－Ｈ２；及び（ｃ）アミノ酸配列ＧＬＧＫＧＳＫＲＧＡＭＤＹ（配列番号３３）を含むＨＶＲ－Ｈ３を含む。

【０１０４】

別の態様では、本発明は、（ａ）アミノ酸配列ＲＡＳＱＤＶＳＴＡＶＡ（配列番号５０）を含むＨＶＲ－Ｌ１；（ｂ）アミノ酸配列ＳＡＳＦＬＹＳ（配列番号５３）を含むＨＶＲ－Ｌ２；及び（ｃ）アミノ酸配列ＱＱＳＦＹＦＰＮＴ（配列番号３９）を含むＨＶＲ－Ｌ３から選択される少なくとも一つ、少なくとも２つ、又は３つ全てのＶＬ　ＨＶＲ配列を含む抗ＩＬ－３４抗体を提供する。幾つかの実施態様では、抗体は、（ａ）アミノ酸配列ＲＡＳＱＤＶＳＴＡＶＡ（配列番号５０）を含むＨＶＲ－Ｌ１；（ｂ）アミノ酸配列ＳＡＳＦＬＹＳ（配列番号５３）を含むＨＶＲ－Ｌ２；及び（ｃ）アミノ酸配列ＱＱＳＦＹＦＰＮＴ（配列番号３９）を含むＨＶＲ－Ｌ３を含む。

【０１０５】

別の態様では、本発明の抗ＩＬ－３４抗体は、（ａ）（ｉ）アミノ酸配列ＳＴＷＩＨ（配列番号５９）を含むＨＶＲ－Ｈ１、（ｉｉ）アミノ酸配列ＲＩＳＰＹＹＹＹＳＤＹＡＤＳＶＫＧ（配列番号５２）を含むＨＶＲ－Ｈ２、及び（ｉｉｉ）アミノ酸配列ＧＬＧＫＧＳＫＲＧＡＭＤＹ（配列番号３３）を含むＨＶＲ－Ｈ３から選択される少なくとも一つ、少なくとも２つ、又は３つ全てのＶＨ　ＨＶＲ配列を含むＶＨドメイン；並びに（ｂ）（ｉ）アミノ酸配列ＲＡＳＱＤＶＳＴＡＶＡ（配列番号５０）を含むＨＶＲ－Ｌ１、（ｉｉ）アミノ酸配列ＳＡＳＦＬＹＳ（配列番号５３）を含むＨＶＲ－Ｌ２、及び（ｉｉｉ）アミノ酸配列ＱＱＳＦＹＦＰＮＴ（配列番号３９）を含むＨＶＲ－Ｌ３から選択される少なくとも一つ、少なくとも２つ、又は３つ全てのＶＬ　ＨＶＲ配列を含むＶＬドメインを含む。

【０１０６】

別の態様では、本発明は、（ａ）ＳＴＷＩＨ（配列番号５９）のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｈ１；（ｂ）アミノ酸配列ＲＩＳＰＹＹＹＹＳＤＹＡＤＳＶＫＧ（配列番号５２）を含むＨＶＲ－Ｈ２；（ｃ）アミノ酸配列ＧＬＧＫＧＳＫＲＧＡＭＤＹ（配列番号３３）

を含むＨＶＲ－Ｈ３；（ｄ）アミノ酸配列ＲＡＳＱＤＶＳＴＡＶＡ（配列番号５０）を含むＨＶＲ－Ｌ１；（ｅ）アミノ酸配列ＳＡＳＦＬＹＳ（配列番号５３）を含むＨＶＲ－Ｌ２；及び（ｆ）アミノ酸配列ＱＱＳＦＹＦＰＮＴ（配列番号３９）を含むＨＶＲ－Ｌ３を含む抗ＩＬ－３４抗体を提供する。

【０１０７】

一態様では、本発明は、（ａ）アミノ酸配列ＳＴＷＩＨ（配列番号５９）を含むＨＶＲ－Ｈ１；（ｂ）アミノ酸配列ＲＩＳＰＹＳＧＹＴＮＹＡＤＳＶＫＧ（配列番号５１）を含むＨＶＲ－Ｈ２；（ｃ）アミノ酸配列ＧＬＧＫＧＳＫＲＧＡＭＤＹ（配列番号３３）を含むＨＶＲ－Ｈ３から選択される少なくとも一つ、少なくとも２つ、又は３つ全てのＶＨ　ＨＶＲ配列を含む抗ＩＬ－３４抗体を提供する。幾つかの実施態様では、抗ＩＬ－３４抗体は、アミノ酸配列ＧＬＧＫＧＳＫＲＧＡＭＤＹ（配列番号３３）を含むＨＶＲ－Ｈ３を含む。幾つかの実施態様では、抗ＩＬ－３４抗体は、（ａ）アミノ酸配列ＧＬＧＫＧＳＫＲＧＡＭＤＹ（配列番号３３）を含むＨＶＲ－Ｈ３、及び（ｂ）アミノ酸配列ＱＱＹＳＤＬＰＹＴ（配列番号４５）を含むＨＶＲ－Ｌ３を含む。幾つかの実施態様では、抗ＩＬ－３４抗体は、（ａ）アミノ酸配列ＧＬＧＫＧＳＫＲＧＡＭＤＹ（配列番号３３）を含むＨＶＲ－Ｈ３；（ｂ）アミノ酸配列ＱＱＹＳＤＬＰＹＴ（配列番号４５）を含むＨＶＲ－Ｌ３；及び（ｃ）アミノ酸配列ＲＩＳＰＹＳＧＹＴＮＹＡＤＳＶＫＧ（配列番号５１）を含むＨＶＲ－Ｈ２を含む。幾つかの実施態様では、抗体は、（ａ）アミノ酸配列ＳＴＷＩＨ（配列番号５９）を含むＨＶＲ－Ｈ１；（ｂ）アミノ酸配列ＲＩＳＰＹＳＧＹＴＮＹＡＤＳＶＫＧ（配列番号５１）を含むＨＶＲ－Ｈ２；及び（ｃ）アミノ酸配列ＧＬＧＫＧＳＫＲＧＡＭＤＹ（配列番号３３）を含むＨＶＲ－Ｈ３を含む。

【０１０８】

別の態様では、本発明は、（ａ）ＲＡＳＱＤＶＳＴＡＶＡ（配列番号５０）のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｌ１；（ｂ）アミノ酸配列ＳＡＳＦＬＹＳ（配列番号５３）を含むＨＶＲ－Ｌ２；及び（ｃ）アミノ酸配列ＱＱＹＳＤＬＰＹＴ（配列番号４５）を含むＨＶＲ－Ｌ３から選択される少なくとも一つ、少なくとも２つ、又は３つ全てのＶＬ　ＨＶＲ配列を含む抗ＩＬ－３４抗体を提供する。幾つかの実施態様では、抗体は、（ａ）アミノ酸配列ＲＡＳＱＤＶＳＴＡＶＡ（配列番号５０）を含むＨＶＲ－Ｌ１；（ｂ）アミノ酸配列ＳＡＳＦＬＹＳ（配列番号５３）を含むＨＶＲ－Ｌ２；及び（ｃ）アミノ酸配列ＱＱＹＳＤＬＰＹＴ（配列番号４５）を含むＨＶＲ－Ｌ３を含む。

【０１０９】

別の態様では、本発明の抗ＩＬ－３４抗体は、（ａ）（ｉ）アミノ酸配列ＳＴＷＩＨ（配列番号５９）を含むＨＶＲ－Ｈ１、（ｉｉ）アミノ酸配列ＲＩＳＰＹＳＧＹＴＮＹＡＤＳＶＫＧ（配列番号５１）を含むＨＶＲ－Ｈ２、（ｉｉｉ）アミノ酸配列ＧＬＧＫＧＳＫＲＧＡＭＤＹ（配列番号３３）を含むＨＶＲ－Ｈ３から選択される少なくとも一つ、少なくとも２つ、又は３つ全てのＶＨ　ＨＶＲ配列を含むＶＨドメイン；並びに（ｂ）（ｉ）ＲＡＳＱＤＶＳＴＡＶＡ（配列番号５０）のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｌ１；（ｉｉ）アミノ酸配列ＳＡＳＦＬＹＳ（配列番号５３）を含むＨＶＲ－Ｌ２；及び（ｉｉｉ）アミノ酸配列ＱＱＹＳＤＬＰＹＴ（配列番号４５）を含むＨＶＲ－Ｌ３から選択される少なくとも一つ、少なくとも２つ、又は３つ全てのＶＬ　ＨＶＲ配列を含むＶＬドメインを含む。

【０１１０】

別の態様では、本発明は、（ａ）アミノ酸配列ＳＴＷＩＨ（配列番号５９）を含むＨＶＲ－Ｈ１；（ｂ）アミノ酸配列ＲＩＳＰＹＳＧＹＴＮＹＡＤＳＶＫＧ（配列番号５１）を含むＨＶＲ－Ｈ２；（ｃ）アミノ酸配列ＧＬＧＫＧＳＫＲＧＡＭＤＹ（配列番号３３）を含むＨＶＲ－Ｈ３；（ｄ）ＲＡＳＱＤＶＳＴＡＶＡ（配列番号５０）のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｌ１；（ｅ）アミノ酸配列ＳＡＳＦＬＹＳ（配列番号５３）を含むＨＶＲ－Ｌ２；及び（ｆ）アミノ酸配列ＱＱＹＳＤＬＰＹＴ（配列番号４５）を含むＨＶＲ－Ｌ３を含む抗ＩＬ－３４抗体を提供する。

【０１１１】

別の態様では、本発明は、（ａ）アミノ酸配列ＳＮＷＩＨ（配列番号７９）を含むＨＶＲ－Ｈ１、（ｂ）アミノ酸配列ＲＩＳＰＮＳＧＹＴＤＹＡＤＳＶＫＧ（配列番号８０）を含むＨＶＲ－Ｈ２；（ｃ）アミノ酸配列ＳＭＲＡＲＲＧＦＤＹ（配列番号８１）を含むＨＶＲ－Ｈ３；（ｄ）ＲＡＳＱＤＶＳＴＡＶＡ（配列番号５０）のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｌ１；（ｅ）アミノ酸配列ＳＡＳＦＬＹＳ（配列番号５３）を含むＨＶＲ－Ｌ２；及び（ｆ）アミノ酸配列ＱＱＳＹＴＴＰＰＴ（配列番号４３）を含むＨＶＲ－Ｌ３を含む抗ＩＬ－３４抗体を提供する。

【０１１２】

別の態様では、本発明は、本明細書で例示される抗ＩＬ－３４抗体に由来する抗ＩＬ－３４抗体を提供する。

【０１１３】

幾つかの実施態様では、抗ＩＬ－３４抗体は、以下：

ＨＶＲ－Ｈ１：ＳＸ$_1$Ｘ$_2$ＩＨ［配列中、Ｘ$_1$は、Ｎ又はＴであり、Ｘ$_2$は、Ｙ又はＷである］（配列番号６４）；

ＨＶＲ－Ｈ２：Ｘ$_1$ＩＸ$_2$ＰＸ$_3$Ｘ$_4$Ｘ$_5$Ｘ$_6$Ｘ$_7$Ｘ$_8$ＹＡＤＳＶＫＧ［配列中、Ｘ$_1$は、Ｓ又はＲであり；Ｘ$_2$は、Ｔ又はＳであり；Ｘ$_3$は、Ａ又はＹであり；Ｘ$_4$は、Ｓ又はＹであり；Ｘ$_5$は、Ｇ又はＹであり；Ｘ$_6$は、Ｄ又はＹであり；Ｘ$_7$は、Ｔ又はＳであり；Ｘ$_8$は、Ｄ又はＮである］（配列番号６５）；

ＨＶＲ－Ｈ３：ＳＲＧＡＹＲＦＡＹ（配列番号５６）、又はＧＸ$_1$Ｘ$_2$Ｘ$_3$ＧＳＫＲＧＡＭＤＹ［配列中、Ｘ$_1$は、Ｌ又はＩであり；Ｘ$_2$は、Ｇ又はＮであり；Ｘ$_3$は、Ｋ又はＱである］（配列番号６６）；

ＨＶＲ－Ｌ１：ＲＡＳＱＤＶＳＴＡＶＡ（配列番号５０）；

ＨＶＲ－Ｌ２：ＳＡＳＦＬＹＳ（配列番号５３）；

ＨＶＲ－Ｌ３：ＱＱＸ$_1$ＩＸ$_2$ＰＸ$_3$Ｘ$_4$Ｘ$_5$Ｘ$_6$Ｔ［配列中、Ｘ$_1$は、Ｓ又はＹであり；Ｘ$_2$は、Ｙ、Ｔ、Ｓ、Ｆ、又はＲであり；Ｘ$_3$は、Ｔ、Ａ、Ｄ、又はＹであり；Ｘ$_4$は、Ｔ、Ｌ、Ｖ、Ｆ、又はＡであり；Ｘ$_5$は、Ｐ又はＲであり；Ｘ$_6$は、Ｐ、Ｙ、又はＮである］（配列番号６７）

のＨＶＲのうちの何れか１つ、又はこれらのうちの２つ、３つ、４つ、５つ、もしくは６つの任意の組合せを含む。

【０１１４】

幾つかの実施態様では、ＨＶＲ内の１又は複数のアミノ酸残基を置換することができる。幾つかの実施態様では、置換は、本明細書で提示される保存的置換である。

【０１１５】

上記の実施態様のうちの何れかでは、抗ＩＬ－３４抗体をヒト化する。幾つかの実施態様では、抗ＩＬ－３４抗体は、上記の実施態様のうちの何れかにおける通りのＨＶＲを含み、アクセプターのヒトフレームワーク、例えば、ヒト免疫グロブリンフレームワーク又はヒトコンセンサスフレームワークを更に含む。別の実施態様では、抗ＩＬ－３４抗体は、上記の実施態様のうちの何れかにおける通りのＨＶＲを含み、配列番号１７のＦＲ１配列、配列番号１８のＦＲ２配列、配列番号１９のＦＲ３配列、配列番号２０のＦＲ４配列を含むＶＨ、及び／又は配列番号２１のＦＲ１配列、配列番号２２のＦＲ２配列、配列番号２３のＦＲ３配列、配列番号２４のＦＲ４配列を含むＶＬを更に含む。

【０１１６】

別の態様では、抗ＩＬ－３４抗体は、配列番号３のアミノ酸配列（図１０Ａに示されている抗体４０４．３３．５６のＶＨアミノ酸配列）に対する、９０％、９１％、９２％、９３％、９４％、９５％、９６％、９７％、９８％、又は９９％、又は１００％のうちの少なくとも何れか１つの配列同一性を有する重鎖可変ドメイン（ＶＨ）配列を含む。幾つかの実施態様では、９０％、９１％、９２％、９３％、９４％、９５％、９６％、９７％、又は９８％、又は９９％のうちの少なくとも何れか１つの同一性を有するＶＨ配列は、基準配列と比べて、置換（例えば、保存的置換）、挿入、又は欠失を含有するが、この配列を含む抗ＩＬ－３４抗体は、ＩＬ－３４に結合する能力を保持する。幾つかの実施態様

では、配列番号３内の合計１～１０アミノ酸が、置換され、挿入され、及び／又は欠失している。幾つかの実施態様では、置換、挿入、又は欠失は、ＨＶＲ外の領域内で（すなわち、ＦＲ内で）生じる。場合によって、抗ＩＬ－３４抗体は、この配列の翻訳後修飾を含めた、配列番号３内のＶＨ配列を含む。特定の実施態様では、ＶＨは、（ａ）アミノ酸配列ＳＴＷＩＨ（配列番号５９）を含むＨＶＲ－Ｈ１；（ｂ）アミノ酸配列ＲＩＳＰＹＹＹＹＳＤＹＡＤＳＶＫＧ（配列番号５２）を含むＨＶＲ－Ｈ２；（ｃ）アミノ酸配列ＧＬＧＫＧＳＫＲＧＡＭＤＹ（配列番号３３）を含むＨＶＲ－Ｈ３から選択される１つ、２つ、又は３つのＨＶＲを含む。

【０１１７】

別の態様では、配列番号４のアミノ酸配列（図１０Ｂに示されている抗体４０４．３３．５６のＶＬアミノ酸配列）に対する、９０％、９１％、９２％、９３％、９４％、９５％、９６％、９７％、９８％、又は９９％、又は１００％のうちの少なくとも何れか１つの配列同一性を有する軽鎖可変ドメイン（ＶＬ）を含む抗ＩＬ－３４抗体が提供される。幾つかの実施態様では、９０％、９１％、９２％、９３％、９４％、９５％、９６％、９７％、又は９８％、又は９９％のうちの少なくとも何れか１つの同一性を有するＶＬ配列は、基準配列と比べて、置換（例えば、保存的置換）、挿入、又は欠失を含有するが、この配列を含む抗ＩＬ－３４抗体は、ＩＬ－３４に結合する能力を保持する。幾つかの実施態様では、配列番号４内の合計１～１０アミノ酸が、置換され、挿入され、及び／又は欠失している。幾つかの実施態様では、置換、挿入、又は欠失は、ＨＶＲ外の領域内で（すなわち、ＦＲ内で）生じる。場合によって、抗ＩＬ－３４抗体は、この配列の翻訳後修飾を含めた、配列番号４内のＶＬ配列を含む。特定の実施態様では、ＶＬは、（ａ）アミノ酸配列ＲＡＳＱＤＶＳＴＡＶＡ（配列番号５０）を含むＨＶＲ－Ｌ１；（ｂ）アミノ酸配列ＳＡＳＦＬＹＳ（配列番号５３）を含むＨＶＲ－Ｌ２；及び（ｃ）アミノ酸配列ＱＱＳＦＹＦＰＮＴ（配列番号３９）を含むＨＶＲ－Ｌ３から選択される１つ、２つ、又は３つのＨＶＲを含む。

【０１１８】

別の態様では、抗ＩＬ－３４抗体は、配列番号１１のアミノ酸配列（図１０Ａに示されている抗体４０４．３３．１２のＶＨアミノ酸配列）に対する、９０％、９１％、９２％、９３％、９４％、９５％、９６％、９７％、９８％、又は９９％、又は１００％のうちの少なくとも何れか１つの配列同一性を有する重鎖可変ドメイン（ＶＨ）配列を含む。幾つかの実施態様では、９０％、９１％、９２％、９３％、９４％、９５％、９６％、９７％、又は９８％、又は９９％のうちの少なくとも何れか１つの同一性を有するＶＨ配列は、基準配列と比べて、置換（例えば、保存的置換）、挿入、又は欠失を含有するが、この配列を含む抗ＩＬ－３４抗体は、ＩＬ－３４に結合する能力を保持する。幾つかの実施態様では、配列番号１１内の合計１～１０アミノ酸が、置換され、挿入され、及び／又は欠失している。幾つかの実施態様では、置換、挿入、又は欠失は、ＨＶＲ外の領域内で（すなわち、ＦＲ内で）生じる。場合によって、抗ＩＬ－３４抗体は、この配列の翻訳後修飾を含めた、配列番号１１内のＶＨ配列を含む。特定の実施態様では、ＶＨは、（ａ）ＳＴＷＩＨ（配列番号５９）のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｈ１；（ｂ）アミノ酸配列ＲＩＳＰＹＳＧＹＴＮＹＡＤＳＶＫＧ（配列番号５１）を含むＨＶＲ－Ｈ２；（ｃ）アミノ酸配列ＧＬＧＫＧＳＫＲＧＡＭＤＹ（配列番号３３）を含むＨＶＲ－Ｈ３から選択される１つ、２つ、又は３つのＨＶＲを含む。

【０１１９】

別の態様では、配列番号１２のアミノ酸配列（図１０Ｂに示されている抗体４０４．３３．１２のＶＬアミノ酸配列）に対する、９０％、９１％、９２％、９３％、９４％、９５％、９６％、９７％、９８％、又は９９％、又は１００％のうちの少なくとも何れか１つの配列同一性を有する軽鎖可変ドメイン（ＶＬ）を含む抗ＩＬ－３４抗体が提供される。幾つかの実施態様では、９０％、９１％、９２％、９３％、９４％、９５％、９６％、９７％、又は９８％、又は９９％のうちの少なくとも何れか１つの同一性を有するＶＬ配列は、基準配列と比べて、置換（例えば、保存的置換）、挿入、又は欠失を含有するが、

この配列を含む抗ＩＬ－３４抗体は、ＩＬ－３４に結合する能力を保持する。幾つかの実施態様では、配列番号１２内の合計１～１０アミノ酸が、置換され、挿入され、及び／又は欠失している。幾つかの実施態様では、置換、挿入、又は欠失は、ＨＶＲ外の領域内で（すなわち、ＦＲ内で）生じる。場合によって、抗ＩＬ－３４抗体は、この配列の翻訳後修飾を含めた、配列番号１２内のＶＬ配列を含む。特定の実施態様では、ＶＬは、（ａ）ＲＡＳＱＤＶＳＴＡＶＡ（配列番号５０）のアミノ酸配列を含むＨＶＲ－Ｌ１；（ｂ）アミノ酸配列ＳＡＳＦＬＹＳ（配列番号５３）を含むＨＶＲ－Ｌ２；及び（ｃ）アミノ酸配列ＱＱＹＳＤＬＰＹＴ（配列番号４５）を含むＨＶＲ－Ｌ３から選択される１つ、２つ、又は３つのＨＶＲを含む。

【０１２０】

別の態様では、上記で提示した実施態様のうちの何れかにおける通りのＶＨ、及び上記で提示した実施態様のうちの何れかにおける通りのＶＬを含む抗ＩＬ－３４抗体が提供される。幾つかの実施態様では、抗体は、これらの配列の翻訳後修飾を含めた、配列番号３及び配列番号４のそれぞれの中のＶＨ及びＶＬ配列を含む。幾つかの実施態様では、抗体は、これらの配列の翻訳後修飾を含めた、配列番号１１及び配列番号１２のそれぞれの中のＶＨ及びＶＬ配列を含む。幾つかの実施態様では、抗体は、これらの配列の翻訳後修飾を含めた、配列番号５及び配列番号６のそれぞれの中のＶＨ及びＶＬ配列を含む。幾つかの実施態様では、抗体は、これらの配列の翻訳後修飾を含めた、配列番号７及び配列番号８のそれぞれの中のＶＨ及びＶＬ配列を含む。幾つかの実施態様では、抗体は、これらの配列の翻訳後修飾を含めた、配列番号９及び配列番号１０のそれぞれの中のＶＨ及びＶＬ配列を含む。幾つかの実施態様では、抗体は、これらの配列の翻訳後修飾を含めた、配列番号１３及び配列番号１４のそれぞれの中のＶＨ及びＶＬ配列を含む。幾つかの実施態様では、抗体は、これらの配列の翻訳後修飾を含めた、配列番号１５及び配列番号１６のそれぞれの中のＶＨ及びＶＬ配列を含む。幾つかの実施態様では、抗体は、これらの配列の翻訳後修飾を含めた、配列番号７７及び配列番号７８のそれぞれの中のＶＨ及びＶＬ配列を含む。

【０１２１】

さらなる態様では、本発明は、本明細書で提示される抗ＩＬ－３４抗体と同じエピトープに結合する抗体を提供する。例えば、幾つかの実施態様では、配列番号３のＶＨ配列及び配列番号４のＶＬ配列を含む抗ＩＬ－３４抗体、配列番号１１のＶＨ配列及び配列番号１２のＶＬ配列を含む抗ＩＬ－３４抗体、配列番号５のＶＨ配列及び配列番号６のＶＬ配列を含む抗ＩＬ－３４抗体、配列番号７のＶＨ配列及び配列番号８のＶＬ配列を含む抗ＩＬ－３４抗体、配列番号９のＶＨ配列及び配列番号１０のＶＬ配列を含む抗ＩＬ－３４抗体、配列番号１３のＶＨ配列及び配列番号１４のＶＬ配列を含む抗ＩＬ－３４抗体、又は配列番号１５のＶＨ配列及び配列番号１６のＶＬ配列を含む抗ＩＬ－３４抗体から選択される抗ＩＬ－３４抗体と同じエピトープに結合する抗体が提供される。幾つかの実施態様では、抗ＩＬ－３４抗体は、配列番号３のＶＨ配列及び配列番号４のＶＬ配列を含む抗ＩＬ－３４抗体と同じエピトープに結合する。幾つかの実施態様では、抗ＩＬ－３４抗体は、配列番号１１のＶＨ配列及び配列番号１２のＶＬ配列を含む抗ＩＬ－３４抗体と同じエピトープに結合する。幾つかの実施態様では、エピトープは、コンフォメーショナルエピトープである。幾つかの実施態様では、抗ＩＬ－３４抗体は、配列番号７７のＶＨ配列及び配列番号７８のＶＬ配列を含む抗ＩＬ－３４抗体と同じエピトープに結合する。幾つかの実施態様では、エピトープは、コンフォメーショナルエピトープである。幾つかの実施態様では、エピトープは、直鎖状エピトープである。

【０１２２】

本発明のさらなる態様では、上記の実施態様のうちの何れかに従う抗ＩＬ－３４抗体は、キメラ抗体、ヒト化抗体、ヒト抗体を含めたモノクローナル抗体である。幾つかの実施態様では、抗ＩＬ－３４抗体は、抗体断片、例えば、Ｆｖ、Ｆａｂ、Ｆａｂ’、ＳｃＦｖ、ダイアボディー、又は$F(ab')_2$断片である。別の実施態様では、抗体は、本明細書で規定される全長抗体、例えば、無傷ＩｇＧ１もしくはＩｇＧ４抗体、又は他の抗体ク

ラスもしくはアイソタイプである。
【０１２３】
さらなる態様では、上記の実施態様のうちの何れかに従う抗ＩＬ－３４抗体には、下記の１～７節で記載される特色のうちの何れかを、単独又は組合せで組み込むことができる。
【０１２４】
抗ＣＳＦ－１Ｒ抗体
別の態様では、本発明は、ＣＳＦ－１Ｒ（例えば、ヒトＣＳＦ－１Ｒ）に結合する単離抗体を提供する。一態様では、ヒトＣＳＦ－１Ｒのアミノ酸残基Ａｒｇ１４４、Ｇｌｎ２４８、Ｇｌｎ２４９、Ｓｅｒ２５０、Ｐｈｅ２５２、及びＡｓｎ２５４のうちの１つ、２つ、３つ、４つ、又は５つ、又は６つの少なくとも何れか１つを含むエピトープに結合する抗ＣＳＦ－１Ｒ抗体が本発明において提供される。一態様では、ヒトＣＳＦ－１Ｒのアミノ酸残基Ａｒｇ１４４を含むエピトープに結合する抗ＣＳＦ－１Ｒ抗体が本発明において提供される。一態様では、ヒトＣＳＦ－１Ｒのアミノ酸残基Ａｒｇ１４４、Ａｒｇ１４２、Ａｒｇ１４６、及びＡｒｇ２５０のうちの１つ、２つ、又は３つ、又は４つの少なくとも何れか１つを含むエピトープに結合する抗ＣＳＦ－１Ｒ抗体が本発明において提供される。上記の態様のうちの何れかの抗ＣＳＦ－１Ｒ抗体は、ヒトＣＳＦ－１Ｒの少なくとも一つ又は２つのアミノ酸残基Ｓｅｒ１７２及びＡｒｇ１９２を更に含むエピトープに結合しうる。上記の態様のうちの何れかの抗ＣＳＦ－１Ｒ抗体は、ヒトＣＳＦ－１Ｒのアミノ酸残基Ａｒｇ１４６、Ｍｅｔ１４９、Ａｒｇ１５０、Ｐｈｅ１６９、Ｉｌｅ１７０、及びＧｌｎ１７３のうちの１つ、２つ、３つ、４つ、又は５つ、又は６つの少なくとも何れか１つを更に含むエピトープに結合しうる。幾つかの実施態様では、抗ＣＳＦ－１Ｒ抗体は、ＣＳＦ－１Ｒの１４２～１５０及び１６９～１７２位内のアミノ酸に結合する。本明細書で用いられる、本明細書における残基位置は、配列番号２における残基位置に対応する。幾つかの実施態様では、抗ＣＳＦ－１Ｒ抗体は、ヒトＩＬ－３４及び／又はヒトＣＳＦ－１の、ヒトＣＳＦ－１Ｒへの結合を阻害する。
【０１２５】
別の態様では、ヒトＣＳＦ－１Ｒのアミノ酸残基Ａｒｇ１４４、Ｇｌｎ２４８、Ｇｌｎ２４９、Ｓｅｒ２５０、Ｐｈｅ２５２、及びＡｓｎ２５４のうちの１つ、２つ、３つ、４つ、又は５つ、又は６つの少なくとも何れか１つを含むエピトープに結合する抗ＣＳＦ－１Ｒ抗体が本発明において提供される。一態様では、ヒトＣＳＦ－１Ｒのアミノ酸残基Ｇｌｎ２４８、Ｇｌｎ２４９、Ｓｅｒ２５０、Ｐｈｅ２５２、及びＡｓｎ２５４のうちの１つ、２つ、３つ、又は４つ、又は５つの少なくとも何れか１つを含むエピトープに結合する抗ＣＳＦ－１Ｒ抗体が本発明において提供される。一態様では、ヒトＣＳＦ－１Ｒのアミノ酸残基Ｇｌｎ２４８、Ｇｌｎ２４９、Ｓｅｒ２５０、Ｐｈｅ２５２、Ａｓｎ２５４、及びＴｙｒ２５７のうちの１つ、２つ、３つ、４つ、又は５つ、又は６つの少なくとも何れか１つを含むエピトープに結合する抗ＣＳＦ－１Ｒ抗体が本発明において提供される。上記の態様のうちの何れかの抗ＣＳＦ－１Ｒ抗体は、ヒトＣＳＦ－１Ｒのアミノ酸残基Ｐｒｏ２４７、Ｇｌｎ２５８、及びＬｙｓ２５９のうちの少なくとも一つ、少なくとも２つ、又は３つを更に含むエピトープに結合しうる。上記の態様のうちの何れかの抗ＣＳＦ－１Ｒ抗体は、ヒトＣＳＦ－１Ｒのアミノ酸残基Ｖａｌ２３１、Ａｓｐ２５１、及びＴｙｒ２５７のうちの少なくとも一つ、少なくとも２つ、又は３つを更に含むエピトープに結合しうる。幾つかの実施態様では、抗ＣＳＦ－１Ｒ抗体は、ＣＳＦ－１Ｒの２３１、２４８～２５２及び２５４位内のアミノ酸に結合する。本明細書で用いられる、本明細書における残基位置は、配列番号２における残基位置に対応する。幾つかの実施態様では、抗ＣＳＦ－１Ｒ抗体は、ヒトＩＬ－３４及び／又はヒトＣＳＦ－１の、ヒトＣＳＦ－１Ｒへの結合を阻害する。
【０１２６】
本発明のさらなる態様では、上記の実施態様のうちの何れかに従う抗ＣＳＦ１Ｒ抗体は、キメラ抗体、ヒト化抗体、ヒト抗体を含めたモノクローナル抗体である。幾つかの実施

態様では、抗ＣＳＦ－１Ｒ抗体は、抗体断片、例えば、Ｆｖ、Ｆａｂ、Ｆａｂ’、ｓｃＦｖ、ダイアボディー、又はＦ（ａｂ’）$_2$断片である。別の実施態様では、抗体は、本明細書で規定される全長抗体、例えば、無傷ＩｇＧ１もしくはＩｇＧ４抗体、又は他の抗体クラスもしくはアイソタイプである。

【０１２７】

さらなる態様では、上記の実施態様のうちの何れかに従う抗ＣＳＦ－１Ｒ抗体には、下記の１～７節で記載される特色のうちの何れかを、単独又は組合せで組み込むことができる。

【０１２８】

抗体アフィニティー

幾つかの実施態様では、本明細書で提示される抗体の解離定数（K_d）は、≦１μＭ、≦１００ｎＭ、≦１０ｎＭ、≦１ｎＭ、≦０．１ｎＭ、≦０．０１ｎＭ、又は≦０．００１ｎＭ（例えば、10^{-8}Ｍ以下、例えば、10^{-8}Ｍ～10^{-13}Ｍ、例えば、10^{-9}Ｍ～10^{-13}Ｍ）である。

【０１２９】

幾つかの実施態様では、K_dは、放射性標識された抗原結合アッセイ（ＲＩＡ）であって、以下のアッセイで記載される対象の抗体のＦａｂ変化形及びその抗原により実施されるＲＩＡにより測定する。Ｆａｂの抗原に対する、溶液中の結合アフィニティーは、非標識抗原の滴定系列の存在下において、Ｆａｂを、最小濃度の^{125}Ｉ標識された抗原で平衡化し、次いで、結合した抗原を、抗Ｆａｂ抗体でコーティングしたプレートで捕捉することにより測定する（例えば、Ｃｈｅｎら、Ｊ．Ｍｏｌ．Ｂｉｏｌ．、２９３：８６５～８８１（１９９９）を参照されたい）。アッセイのための条件を確立するためには、ＭＩＣＲＯＴＩＴＥＲ（登録商標）マルチウェルプレート（Ｔｈｅｒｍｏ Ｓｃｉｅｎｔｉｆｉｃ）を、５０ｍＭの炭酸ナトリウム（ｐＨ９．６）中に５μｇ／ｍｌの捕捉用抗Ｆａｂ抗体（Ｃａｐｐｅｌ Ｌａｂｓ）で一晩にわたりコーティングし、その後、ＰＢＳ中に２％（ｗ／ｖ）のウシ血清アルブミンにより、室温（約２３℃）で２～５時間にわたりブロッキングする。非吸着型プレート（Ｎｕｎｃ；型番２６９６２０）、１００ｐＭ又は２６ｐＭの［^{125}Ｉ］－抗原を、対象のＦａｂの希釈系列と共に混合する（例えば、Ｐｒｅｓｔａら、Ｃａｎｃｅｒ Ｒｅｓ．、５７：４５９３～４５９９（１９９７）における、抗ＶＥＧＦ抗体であるＦａｂ－１２の評価に準拠する）。次いで、対象のＦａｂを、一晩にわたりインキュベートするが、インキュベーションをいっそう長時間（例えば、約６５時間）にわたり持続して、平衡に達したことを確認することもできる。その後、混合物を、室温での（例えば、１時間にわたる）インキュベーションのための捕捉プレートへと移す。次いで、溶液を除去し、プレートを、ＰＢＳ中に０．１％のポリソルベート２０（ＴＷＥＥＮ－２０（登録商標））で８回にわたり洗浄する。プレートが乾燥したら、ウェル１つ当たり１５０μｌのシンチレーション剤（ＭＩＣＲＯＳＣＩＮＴ－２０（商標）；Ｐａｃｋａｒｄ）を添加し、プレートを、ＴＯＰＣＯＵＮＴ（商標）ガンマカウンター（Ｐａｃｋａｒｄ）上で、１０分間にわたりカウントする。最大の結合の２０％以下を示す濃度の各Ｆａｂを、競合的結合アッセイにおける使用のために選び出す。

【０１３０】

別の実施態様によれば、K_dは、ＢＩＡＣＯＲＥ（登録商標）－２０００又はＢＩＡＣＯＲＥ（登録商標）－３０００（ＢＩＡｃｏｒｅ，Ｉｎｃ．、Ｐｉｓｃａｔａｗａｙ、ＮＪ）を、２５℃で、約１０反応単位（ＲＵ）の固定化抗原ＣＭ５チップと共に用いる、表面プラズモン共鳴アッセイを用いて測定する。略述すると、カルボキシメチル化デキストランバイオセンサーチップ（ＣＭ５；ＢＩＡＣＯＲＥ，Ｉｎｃ）を、販売元の指示書に従い、Ｎ－エチル－Ｎ’－（３－ジメチルアミノプロピル）－カルボジイミドヒドロクロリド（ＥＤＣ）及びＮ－ヒドロキシスクシンイミド（ＮＨＳ）で活性化する。抗原を、１０ｍＭの酢酸ナトリウム、ｐＨ４．８で、５μｇ／ｍｌ（約０．２μＭ）へと希釈してから、５μｌ／分の流量で注入して、約１０反応単位（ＲＵ）のカップリングタンパク質を達成する。抗原を注入した後、１Ｍのエタノールアミンを注入して、非反応基をブロッキン

グした。反応速度を測定するには、２倍の希釈系列（０．７８ｎＭ～５００ｎＭ）のＦａｂを、０．０５％のポリソルベート２０（ＴＷＥＥＮ－２０（商標））界面活性剤（ＰＢＳＴ）と共に、２５℃、約２５μｌ／分の流量でＰＢＳ中に注入する。会合速度（k_{on}）及び解離速度（k_{off}）は、単純一対一ラングミュア結合モデル（ＢＩＡＣＯＲＥ（登録商標）Ｅｖａｌｕａｔｉｏｎ Ｓｏｆｔｗａｒｅ ｖｅｒｓｉｏｎ ３．２）を用いて、会合センサーグラムと解離センサーグラムとを同時に近似することにより計算する。平衡解離定数（K_d）は、比k_{off}/k_{on}として計算する。例えば、Ｃｈｅｎら、Ｊ．Ｍｏｌ．Ｂｉｏｌ．、２９３：８６５～８８１（１９９９）を参照されたい。上記の表面プラズモン共鳴アッセイによるオン速度が$10^6 M^{-1} s^{-1}$を超える場合、オン速度は、ストップフロー装置を装備した分光光度計（Ａｖｉｖ Ｉｎｓｔｒｕｍｅｎｔｓ）又は撹拌型キュベットを伴う８０００シリーズのＳＬＭ－ＡＭＩＮＣＯ（商標）分光光度計（ＴｈｅｒｍｏＳｐｅｃｔｒｏｎｉｃ）などの分光計により測定される、濃度を増大させる抗原の存在下における、ＰＢＳ、ｐＨ７．２中に２０ｎＭの抗抗原抗体（Ｆａｂ形態）の、２５℃における蛍光発光強度（励起波長＝２９５ｎｍ；発光波長＝３４０ｎｍ、１６ｎｍのバンドパス）の増大又は減少を測定する蛍光消光法を用いることにより決定することができる。

【０１３１】

別の実施態様によれば、K_dは、例えば、本明細書で記載されるＢＬＩアッセイを用いて測定する。

【０１３２】

抗体断片

幾つかの実施態様では、本明細書で提示される抗体は、抗体断片である。抗体断片には、Ｆａｂ断片、Ｆａｂ’断片、Ｆａｂ’－ＳＨ断片、$F(ab')_2$断片、Ｆｖ断片、及びｓｃＦｖ断片、並びに下記で記載される他の断片が含まれるがこれらに限定されない。ある種の抗体断片の総説については、Ｈｕｄｓｏｎら、Ｎａｔ．Ｍｅｄ．、９：１２９～１３４（２００３）を参照されたい。ｓｃＦｖ断片の総説については、例えば、Ｐｌｕｅｃｋｔｈｕｎ、「Ｐｈａｒｍａｃｏｌｏｇｙ ｏｆ Ｍｏｎｏｃｌｏｎａｌ Ａｎｔｉｂｏｄｉｅｓ」、１１３巻、Ｒｏｓｅｎｂｕｒｇ及びＭｏｏｒｅ編、（Ｓｐｒｉｎｇｅｒ－Ｖｅｒｌａｇ、Ｎｅｗ Ｙｏｒｋ）、２６９～３１５ページ（１９９４）を参照されたい。また、ＷＯ９３／１６１８５；並びに米国特許第５，５７１，８９４号及び同第５，５８７，４５８号も参照されたい。サルベージ受容体結合エピトープ残基を含み、ｉｎ ｖｉｖｏにおける半減期を延長させたＦａｂ断片及び$F(ab')_2$断片の議論については、米国特許第５，８６９，０４６号を参照されたい。

【０１３３】

ダイアボディーとは、二価又は二重特異性でありうる、２つの抗原結合部位を伴う抗体断片である。例えば、ＥＰ４０４，０９７；ＷＯ１９９３／０１１６１；Ｈｕｄｓｏｎら、Ｎａｔ．Ｍｅｄ．、９：１２９～１３４（２００３）；及びＨｏｌｌｉｎｇｅｒら、Ｐｒｏｃ．Ｎａｔｌ．Ａｃａｄ．Ｓｃｉ．ＵＳＡ、９０：６４４４～６４４８（１９９３）を参照されたい。Ｈｕｄｓｏｎら、Ｎａｔ．Ｍｅｄ．、９：１２９～１３４（２００３）ではまた、トリアボディー及びテトラボディーについても記載されている。

【０１３４】

単一ドメイン抗体とは、抗体の重鎖可変ドメインの全部もしくは一部分、又は軽鎖可変ドメインの全部もしくは一部分を含む抗体断片である。幾つかの実施態様では、単一ドメイン抗体は、ヒト単一ドメイン抗体（Ｄｏｍａｎｔｉｓ，Ｉｎｃ．、Ｗａｌｔｈａｍ、ＭＡ；例えば、米国特許第６，２４８，５１６Ｂ１号を参照されたい）である。

【０１３５】

幾つかの実施態様では、抗体断片は、ｉｎ ｖｉｖｏにおける半減期が無傷抗体と実質的に類似する一価抗体である。例えば、このような抗体断片は、ｉｎ ｖｉｖｏにおける安定性を断片へと付与することが可能なＦｃ配列へと連結された、１つの抗原結合アームを含みうる。一実施態様では、本発明の抗体は、ＷＯ２００５／０６３８１６において記

載されている、１アーム抗体である。一実施態様では、１アーム抗体は、ＷＯ２００５／０６３８１６において記載されている「ノブ」及び「ホール」を構成するＦｃの突然変異を含む。

【０１３６】

抗体断片はまた、例えば、米国特許第５，６４１，８７０号において記載されている「線状抗体」でもありうる。このような線状抗体断片は、単一特異性の場合もあり、二重特異性の場合もある。

【０１３７】

抗体断片は、タンパク質分解による無傷抗体の消化のほか、本明細書で記載される組換え宿主細胞（例えば、大腸菌（Ｅ．ｃｏｌｉ）又はファージ）による産生が含まれるがこれらに限定されない多様な技法により作製することができる。

【０１３８】

キメラ抗体及びヒト化抗体

幾つかの実施態様では、本明細書で提示される抗体は、キメラ抗体である。ある種のキメラ抗体は、例えば、米国特許第４，８１６，５６７号；及びＭｏｒｒｉｓｏｎら、Ｐｒｏｃ．Ｎａｔｌ．Ａｃａｄ．Ｓｃｉ．ＵＳＡ、８１：６８５１～６８５５（１９８４））において記載されている。一例では、キメラ抗体は、非ヒト可変領域（例えば、マウス、ラット、ハムスター、ウサギ、又はサルなどの非ヒト霊長動物に由来する可変領域）とヒト定常領域とを含む。さらなる例では、キメラ抗体は、クラス又はサブクラスを、親抗体のクラス又はサブクラスから変化させた、「クラススイッチ」抗体である。キメラ抗体は、その抗原結合断片を包含する。

【０１３９】

幾つかの実施態様では、キメラ抗体は、ヒト化抗体である。典型的に、非ヒト抗体をヒト化して、非ヒト親抗体の特異性及びアフィニティーを保持する一方で、ヒトに対する免疫原性を低減する。一般に、ヒト化抗体は、１又は複数の可変ドメインであって、ＨＶＲ、例えば、ＣＤＲ（又はその部分）が非ヒト抗体に由来し、ＦＲ（又はその部分）がヒト抗体配列に由来する可変ドメインを含む。ヒト化抗体は場合によってまた、ヒト定常領域の少なくとも一部分も含むであろう。幾つかの実施態様では、ヒト化抗体内の一部のＦＲ残基を、非ヒト抗体（例えば、ＨＶＲ残基が由来する抗体）に由来する、対応する残基で置換して、例えば、抗体の特異性又はアフィニティーを回復又は改善する。

【０１４０】

ヒト化抗体及びそれらを作製する方法は、例えば、Ａｌｍａｇｒｏ及びＦｒａｎｓｓｏｎ、Ｆｒｏｎｔ．Ｂｉｏｓｃｉ．、１３：１６１９～１６３３（２００８）において総説されており、例えば、Ｒｉｅｃｈｍａｎｎら、Ｎａｔｕｒｅ、３３２：３２３～３２９（１９８８）；Ｑｕｅｅｎら、Ｐｒｏｃ．Ｎａｔ’ｌ Ａｃａｄ．Ｓｃｉ．ＵＳＡ、８６：１００２９～１００３３（１９８９）；米国特許第５，８２１，３３７号、同第７，５２７，７９１号、同第６，９８２，３２１号、及び同第７，０８７，４０９号；Ｋａｓｈｍｉｒｉら、Ｍｅｔｈｏｄｓ、３６：２５～３４（２００５）（ＳＤＲ（ａ－ＣＤＲ）移植について記載している）；Ｐａｄｌａｎ、Ｍｏｌ．Ｉｍｍｕｎｏｌ．、２８：４８９～４９８（１９９１）（「表面置換」について記載している）；Ｄａｌｌ’Ａｃｑｕａら、Ｍｅｔｈｏｄｓ、３６：４３～６０（２００５）（「ＦＲシャフリング」について記載している）；及びＯｓｂｏｕｒｎら、Ｍｅｔｈｏｄｓ、３６：６１～６８（２００５）；及びＫｌｉｍｋａら、Ｂｒ．Ｊ．Ｃａｎｃｅｒ、８３：２５２～２６０（２０００）（ＦＲシャフリングのための「誘導選択」法について記載している）において更に記載されている。

【０１４１】

ヒト化のために用いうるヒトフレームワーク領域には、「ベストフィット」法（例えば、Ｓｉｍｓら、Ｊ．Ｉｍｍｕｎｏｌ．、１５１：２２９６（１９９３）を参照されたい）を用いて選択されるフレームワーク領域；軽鎖可変領域又は重鎖可変領域の特定の亜群のヒト抗体のコンセンサス配列に由来するフレームワーク領域（例えば、Ｃａｒｔｅｒら、

Ｐｒｏｃ．Ｎａｔｌ．Ａｃａｄ．Ｓｃｉ．ＵＳＡ、８９：４２８５（１９９２）；及びＰｒｅｓｔａら、Ｊ．Ｉｍｍｕｎｏｌ．、１５１：２６２３（１９９３）を参照されたい）；ヒト成熟（体細胞突然変異させた）フレームワーク領域又はヒト生殖細胞系フレームワーク領域（例えば、Ａｌｍａｇｒｏ及びＦｒａｎｓｓｏｎ、Ｆｒｏｎｔ．Ｂｉｏｓｃｉ．、１３：１６１９～１６３３（２００８）を参照されたい）；及びＦＲライブラリーのスクリーニングに由来するフレームワーク領域（例えば、Ｂａｃａら、Ｊ．Ｂｉｏｌ．Ｃｈｅｍ．、２７２：１０６７８～１０６８４（１９９７）及びＲｏｓｏｋら、Ｊ．Ｂｉｏｌ．Ｃｈｅｍ．、２７１：２２６１１～２２６１８（１９９６）を参照されたい）が含まれるがこれらに限定されない。

【０１４２】

ヒト抗体

幾つかの実施態様では、本明細書で提示される抗体は、ヒト抗体である。ヒト抗体は、当技術分野で知られている多様な技法を用いて作製することができる。ヒト抗体は、ｖａｎ Ｄｉｊｋ及びｖａｎ ｄｅ Ｗｉｎｋｅｌ、Ｃｕｒｒ．Ｏｐｉｎ．Ｐｈａｒｍａｃｏｌ．、５：３６８～７４（２００１）；並びにＬｏｎｂｅｒｇ、Ｃｕｒｒ．Ｏｐｉｎ．Ｉｍｍｕｎｏｌ．、２０：４５０～４５９（２００８）において一般に記載されている。

【０１４３】

ヒト抗体は、抗原による感作に応答して、無傷ヒト抗体又はヒト可変領域を伴う無傷抗体を産生するように改変されたトランスジェニック動物へと免疫原を投与することにより調製することができる。このような動物は、内因性の免疫グロブリン遺伝子座を置きかえるか、又は染色体外に存在するかもしくは動物の染色体へとランダムに組み込まれる、ヒト免疫グロブリン遺伝子座の全部又は一部分を含有することが典型的である。このようなトランスジェニックマウスでは、内因性の免疫グロブリン遺伝子座は一般に不活化されている。トランスジェニック動物からヒト抗体を得るための方法の総説については、Ｌｏｎｂｅｒｇ、Ｎａｔ．Ｂｉｏｔｅｃｈ．、２３：１１１７～１１２５（２００５）を参照されたい。また、例えば、ＸＥＮＯＭＯＵＳＥ（商標）技術について記載している米国特許第６，０７５，１８１号及び同第６，１５０，５８４号；ＨＵＭＡＢ（登録商標）技術について記載している米国特許第５，７７０，４２９号；Ｋ－Ｍ ＭＯＵＳＥ（登録商標）技術について記載している米国特許第７，０４１，８７０号、及びＶＥＬＯＣＩＭＯＵＳＥ（登録商標）技術について記載している米国特許出願公開第ＵＳ２００７／００６１９００号も参照されたい。このような動物により生み出された無傷抗体に由来するヒト可変領域は、例えば、異なるヒト定常領域と組み合わせることにより更に修飾することができる。

【０１４４】

ヒト抗体はまた、ハイブリドーマベースの方法により作製することもできる。ヒトモノクローナル抗体を産生するための、ヒト骨髄腫細胞系及びマウス－ヒトヘテロ骨髄腫細胞系は記載されている（例えば、Ｋｏｚｂｏｒ、Ｊ．Ｉｍｍｕｎｏｌ．、１３３：３００１（１９８４）；Ｂｒｏｄｅｕｒら、「Ｍｏｎｏｃｌｏｎａｌ Ａｎｔｉｂｏｄｙ Ｐｒｏｄｕｃｔｉｏｎ Ｔｅｃｈｎｉｑｕｅｓ ａｎｄ Ａｐｐｌｉｃａｔｉｏｎｓ」、５１～６３ページ（Ｍａｒｃｅｌ Ｄｅｋｋｅｒ，Ｉｎｃ．、Ｎｅｗ Ｙｏｒｋ、１９８７）；及びＢｏｅｒｎｅｒら、Ｊ．Ｉｍｍｕｎｏｌ．、１４７：８６（１９９１）を参照されたい）。また、ヒトＢ細胞ハイブリドーマ技術を介して生み出されたヒト抗体も、Ｌｉら、Ｐｒｏｃ．Ｎａｔｌ．Ａｃａｄ．Ｓｃｉ．ＵＳＡ、１０３：３５５７～３５６２（２００６）において記載されている。さらなる方法には、例えば、米国特許第７，１８９，８２６号（ハイブリドーマ細胞系からのヒトモノクローナルＩｇＭ抗体の作製について記載している）及びＮｉ、Ｘｉａｎｄａｉ Ｍｉａｎｙｉｘｕｅ、２６（４）：２６５～２６８（２００６）（ヒト－ヒトハイブリドーマについて記載している）において記載されている方法が含まれる。また、ヒトハイブリドーマ技術（トリオーマ技術）も、Ｖｏｌｌｍｅｒｓ及びＢｒａｎｄｌｅｉｎ、「Ｈｉｓｔｏｌｏｇｙ ａｎｄ Ｈｉｓｔｏｐａｔｈｏｌｏｇｙ」、２０（３）：９２７～９３７（２００５）；並びにＶｏｌｌｍｅｒｓ及びＢｒ

ａｎｄｌｅｉｎ、Ｍｅｔｈｏｄｓ ａｎｄ Ｆｉｎｄｉｎｇｓ ｉｎ Ｅｘｐｅｒｉｍｅｎｔａｌ ａｎｄ Ｃｌｉｎｉｃａｌ ＰＨａｒｍａｃｏｌｏｇｙ、２７（３）：１８５～９１（２００５）において記載されている。

【０１４５】

ヒト抗体はまた、ヒトに由来するファージディスプレイライブラリーから選択されるＦｖクローンの可変ドメイン配列を単離することにより創成することもできる。次いで、このような可変ドメイン配列を、所望のヒト定常ドメインと組み合わせることができる。ヒト抗体を抗体ライブラリーから選択するための技法については、下記で記載する。

【０１４６】

ライブラリーに由来する抗体

本発明の抗体は、コンビナトリアルライブラリーを、１又は複数の所望の活性を伴う抗体についてスクリーニングすることにより単離することができる。例えば、当技術分野では、ファージディスプレイライブラリーを創成し、このようなライブラリーを、所望の結合特徴を保有する抗体についてスクリーニングするための様々な方法が知られている。このような方法は、例えば、Ｈｏｏｇｅｎｂｏｏｍら、「Ｍｅｔｈｏｄｓ ｉｎ Ｍｏｌｅｃｕｌａｒ Ｂｉｏｌｏｇｙ」、１７８：１～３７（Ｏ’Ｂｒｉｅｎら編、Ｈｕｍａｎａ Ｐｒｅｓｓ、Ｔｏｔｏｗａ、ＮＪ、２００１）において総説されており、例えば、ＭｃＣａｆｆｅｒｔｙら、Ｎａｔｕｒｅ、３４８：５５２～５５４；Ｃｌａｃｋｓｏｎら、Ｎａｔｕｒｅ、３５２：６２４～６２８（１９９１）；Ｍａｒｋｓら、Ｊ．Ｍｏｌ．Ｂｉｏｌ．、２２２：５８１～５９７（１９９２）；Ｍａｒｋｓ及びＢｒａｄｂｕｒｙ、「Ｍｅｔｈｏｄｓ ｉｎ Ｍｏｌｅｃｕｌａｒ Ｂｉｏｌｏｇｙ」、２４８：１６１～１７５（Ｌｏ編、Ｈｕｍａｎａ Ｐｒｅｓｓ、Ｔｏｔｏｗａ、ＮＪ、２００３）；Ｓｉｄｈｕら、Ｊ．Ｍｏｌ．Ｂｉｏｌ．、３３８（２）：２９９～３１０（２００４）；Ｌｅｅら、Ｊ．Ｍｏｌ．Ｂｉｏｌ．、３４０（５）：１０７３～１０９３（２００４）；Ｆｅｌｌｏｕｓｅ、Ｐｒｏｃ．Ｎａｔｌ．Ａｃａｄ．Ｓｃｉ．ＵＳＡ、１０１（３４）：１２４６７～１２４７２（２００４）；及びＬｅｅら、Ｊ．Ｉｍｍｕｎｏｌ．Ｍｅｔｈｏｄｓ、２８４（１～２）：１１９～１３２（２００４）において更に記載されている。

【０１４７】

ある種のファージディスプレイ方法では、ＶＨ遺伝子及びＶＬ遺伝子のレパートリーを、ポリメラーゼ連鎖反応（ＰＣＲ）により個別にクローニングし、ファージライブラリーによりランダムに組み換え、次いで、これを、Ｗｉｎｔｅｒら、Ａｎｎ．Ｒｅｖ．Ｉｍｍｕｎｏｌ．、１２：４３３～４５５（１９９４）において記載されている抗原結合ファージについてスクリーニングすることができる。ファージは、単鎖Ｆｖ（ｓｃＦｖ）断片又はＦａｂ断片としての抗体断片を提示することが典型的である。免疫化された供給源に由来するライブラリーは、ハイブリドーマを構築することを要請せずに、高アフィニティーの抗体を、免疫原へともたらす。代替的に、ナイーブレパートリーをクローニングして（例えば、ヒトから）、Ｇｒｉｆｆｉｔｈｓら、ＥＭＢＯ Ｊ、１２：７２５～７３４（１９９３）により記載されている通り、免疫化を伴わずに、広範な非自己抗原に対する抗体の単一の供給源をもたらすことができ、また、広範な自己抗原に対する抗体の単一の供給源をもたらすこともできる。最後に、ナイーブライブラリーはまた、Ｈｏｏｇｅｎｂｏｏｍ及びＷｉｎｔｅｒ、Ｊ．Ｍｏｌ．Ｂｉｏｌ．、２２７：３８１～３８８（１９９２）により記載されている通り、再配列されていないＶ遺伝子セグメントを幹細胞からクローニングし、ランダム配列を含有するＰＣＲプライマーを用いて、高度に可変的なＣＤＲ３領域をコードさせ、ｉｎ ｖｉｔｒｏにおいて再配列を達成することにより合成的に作製することもできる。ヒト抗体ファージライブラリーについて記載している特許公開には、例えば、米国特許第５，７５０，３７３号、並びに米国特許公開第２００５／００７９５７４号、同第２００５／０１１９４５５号、同第２００５／０２６６０００号、同第２００７／０１１７１２６号、同第２００７／０１６０５９８号、同第２００７／０２３７７６４号、同第２００７／０２９２９３６号、及び同第２００９／０００２３６０号が含まれる。

【０１４８】
本明細書では、ヒト抗体ライブラリーから単離される抗体又は抗体断片を、ヒト抗体又はヒト抗体断片と考える。
【０１４９】
６．多重特異性抗体
二重特異性抗体
二重特異性抗体とは、２つの異なる抗原に対する結合特異性を有するモノクローナル抗体である。幾つかの実施態様では、二重特異性抗体は、ヒト抗体又はヒト化抗体である。幾つかの実施態様では、結合特異性のうちの１つは、ＩＬ－３４（例えば、ヒトＩＬ－３４）に対する結合特異性であり、他の結合特異性は、任意の他の抗原に対する結合特異性である。幾つかの実施態様では、二重特異性抗体は、ＩＬ－３４（例えば、ヒトＩＬ－３４）の２つの異なるエピトープに結合しうる。幾つかの実施態様では、二重特異性抗体は、ＩＬ－３４に対する第１の結合特異性（例えば、ヒトＩＬ－３４）及びＣＳＦ－１に対する第２の結合特異性（例えば、ヒトＣＳＦ－１）を含む。幾つかの実施態様では、二重特異性抗体は、本明細書で記載される抗ＩＬ－３４抗体のうちの何れかと同じＩＬ－３４上のエピトープに結合する。幾つかの実施態様では、二重特異性抗体は、本明細書で記載される抗ＩＬ－３４抗体のうちの何れか１つの１つ、２つ、３つ、４つ、又は５つ、又は６つのＨＶＲのうちの少なくとも何れか１つを含む。二重特異性抗体は、全長抗体として調製することもでき、抗体断片（例えば、Ｆ（ａｂ’）$_2$二重特異性抗体）として調製することもできる。
【０１５０】
当技術分野では、二重特異性抗体を作製するための方法が知られている。従来、二重特異性抗体の組換えによる作製は、２つの重鎖が異なる特異性を有する、２つの免疫グロブリン重鎖－軽鎖対の共発現に基づく（Ｍｉｌｓｔｅｉｎ及びＣｕｅｌｌｏ、Ｎａｔｕｒｅ、３０５：５３７（１９８３））。免疫グロブリン重鎖と免疫グロブリン軽鎖との任意組合せのために、これらのハイブリドーマ（クァドローマ）は、それらのうちの１つだけが適正な二重特異性構造を有する、１０の異なる抗体分子の潜在的な混合物を産生する。通例アフィニティークロマトグラフィーステップによりなされる適正な分子の精製は、かなり煩瑣であり、生成物の収率も低い。同様の手順は、１９９３年５月１３日に公開されたＷＯ９３／０８８２９、及びＴｒａｕｎｅｃｋｅｒら、ＥＭＢＯＪ．、１０：３６５５（１９９１）においても開示されている。
【０１５１】
異なる手法によれば、所望の結合特異性（抗体－抗原間の結合部位）を伴う抗体可変ドメインを、免疫グロブリンの定常ドメイン配列へと融合させる。融合は、例えば、ヒンジ領域、ＣＨ２領域、及びＣＨ３領域のうちの少なくとも一部を含む免疫グロブリン重鎖定常ドメインとの融合である。幾つかの実施態様では、軽鎖への結合に必要な部位を含有する第１の重鎖定常領域（ＣＨ１）が、融合体のうちの少なくとも一つの中に存在する。免疫グロブリン重鎖融合体、及び、所望の場合、免疫グロブリン軽鎖をコードするＤＮＡを、個別の発現ベクターへと挿入し、適切な宿主生物へと共トランスフェクトする。これは、構築において用いられる３つのポリペプチド鎖の比が等しくないときに最適の収率がもたらされる実施態様では、３つのポリペプチド断片の相互の比率の調整に大きな柔軟性をもたらす。しかし、少なくとも２つのポリペプチド鎖の比が等しいときの発現により高い収率が結果としてもたらされる場合、又は比が特定の意義を有さない場合は、２つ又は３つ全てのポリペプチド鎖のコード配列を、１つの発現ベクター内に挿入することも可能である。
【０１５２】
この手法についての幾つかの実施態様では、二重特異性抗体は、一方のアームにおける、第１の結合特異性を伴うハイブリッド体の免疫グロブリン重鎖と、他方のアームにおける、ハイブリッド体の免疫グロブリン重鎖－軽鎖対（第２の結合特異性をもたらす）とからなる。この非対称構造は、二重特異性分子の片方だけに免疫グロブリン軽鎖が存在する

ことにより、容易な分離手段をもたらすので、所望の二重特異性化合物の、望ましくない免疫グロブリン鎖の組合せからの分離を容易とすることが見出された。この手法は、ＷＯ９４／０４６９０において開示されている。二重特異性抗体を創成するさらなる詳細については、例えば、Ｓｕｒｅｓｈら、Ｍｅｔｈｏｄｓ　ｉｎ　Ｅｎｚｙｍｏｌｏｇｙ、１２１：２１０（１９８６）を参照されたい。

【０１５３】

別の手法によれば、抗体分子対の間の界面を操作して、組換え細胞培養物から回収されるヘテロ二量体の百分率を最大化することができる。界面は、抗体定常ドメインのＣＨ３ドメインのうちの少なくとも一部を含む。この方法では、第１の抗体分子の界面に由来する１又は複数の小型のアミノ酸側鎖を、大型の側鎖（例えば、チロシン又はトリプトファン）で置きかえる。大型のアミノ酸側鎖を、小型のアミノ酸側鎖（例えば、アラニン又はトレオニン）で置きかえることにより、（１又は複数の）大型の側鎖とサイズが同一であるか又は類似する補完的「凹部」を、第２の抗体分子の界面上に創出する。これにより、ヘテロ二量体の収率を、ホモ二量体などの他の望ましくない最終生成物を凌駕して増大させるための機構がもたらされる。

【０１５４】

二重特異性抗体には、架橋抗体又は「ヘテロコンジュゲート」抗体が含まれる。例えば、ヘテロコンジュゲート内の抗体のうちの一方を、アビジンへとカップリングさせ、他方の抗体をビオチンへとカップリングさせることができる。このような抗体は、例えば、免疫系細胞に望ましくない細胞をターゲティングさせるため（米国特許第４，６７６，９８０号）に提起されているが、ＨＩＶ感染を治療するため（ＷＯ９１／００３６０、ＷＯ９２／００３７３、及びＥＰ０３０８９）にも提起されている。ヘテロコンジュゲート抗体は、任意の簡便な架橋法を用いて作製することができる。当技術分野では、適切な架橋剤がよく知られており、米国特許第４，６７６，９８０号においても、多数の架橋法と共に開示されている。

【０１５５】

文献には、二重特異性抗体を抗体断片から創成するための技法もまた記載されている。例えば、二重特異性抗体は、化学的連結を用いて調製することができる。Ｂｒｅｎｎａｎら、Ｓｃｉｅｎｃｅ、２２９：８１（１９８５）は、無傷抗体を、タンパク質分解により切断して、Ｆ（ａｂ’）$_2$断片を創成する手順について記載している。これらの断片を、ジチオール錯化剤である亜ヒ酸ナトリウムの存在下で還元して、近接ジチオールを安定化させ、分子間のジスルフィド形成を防止する。次いで、創成されたＦａｂ’断片を、チオニトロベンゾエート（ＴＮＢ）誘導体へと転換する。次いで、Ｆａｂ’－ＴＮＢ誘導体のうちの１つを、メルカプトエチルアミンで還元することにより、Ｆａｂ’－チオールへと再転換し、等モル量の他のＦａｂ’－ＴＮＢ誘導体と共に混合して、二重特異性抗体を形成する。作製された二重特異性抗体は、酵素を選択的に固定化するための薬剤として用いることができる。

【０１５６】

近年の進歩により、大腸菌からのＦａｂ’－ＳＨ断片の直接的な回収が容易となっているが、Ｆａｂ’－ＳＨ断片を化学的にカップリングして、二重特異性抗体を形成することができる。Ｓｈａｌａｂｙら、Ｊ．Ｅｘｐ．Ｍｅｄ．、１７５：２１７～２２５（１９９２）は、完全ヒト化二重特異性抗体であるＦ（ａｂ’）$_2$分子の産生について記載している。各Ｆａｂ’断片は、大腸菌から個別に分泌させ、ｉｎ　ｖｉｔｒｏにおける、二重特異性抗体を形成するように方向付けされた化学的カップリングにかけた。このようにして形成された二重特異性抗体は、ＨＥＲ２受容体を過剰発現させる細胞及び正常なヒトＴ細胞に結合するほか、ヒト乳癌標的に対するヒト細胞傷害性リンパ球の溶解活性を誘発することも可能であった。

【０１５７】

また、二重特異性抗体断片を、組換え細胞培養物から直接作製及び単離するための多様な技法も記載されている。例えば、二重特異性抗体は、ロイシンジッパーを用いて産生さ

れている（Ｋｏｓｔｅｌｎｙら、Ｊ．Ｉｍｍｕｎｏｌ．、１４８（５）：１５４７～１５５３（１９９２））。Ｆｏｓタンパク質及びＪｕｎタンパク質に由来するロイシンジッパーペプチドを、２つの異なる抗体のＦａｂ’部分へと、遺伝子融合により連結した。抗体のホモ二量体がヒンジ領域で還元して、単量体を形成し、次いで、再度酸化させて、抗体のヘテロ二量体を形成した。この方法はまた、抗体のホモ二量体を産生するためにも使用することができる。Ｈｏｌｌｉｎｇｅｒら、Ｐｒｏｃ．Ｎａｔｌ．Ａｃａｄ．Ｓｃｉ．ＵＳＡ、９０：６４４４～６４４８（１９９３）により記載されている「ダイアボディー」技術により、二重特異性抗体断片を作製するための代替的な機構が提供されている。断片は、同じ鎖上の２つのドメインの間の対合を可能とするには短過ぎるリンカーにより軽鎖可変ドメイン（ＶＬ）へと接合された重鎖可変ドメイン（ＶＨ）を含む。したがって、１つの断片のＶＨドメイン及びＶＬドメインは、別の断片の相補的なＶＬドメイン及びＶＨドメインと対合することを強いられ、これにより、２つの抗原結合部位を形成する。また、単鎖Ｆｖ（ｓＦｖ）二量体の使用による、二重特異性抗体断片を作製するための別の戦略も報告されている。Ｇｒｕｂｅｒら、Ｊ．Ｉｍｍｕｎｏｌ．、１５２：５３６８（１９９４）を参照されたい。

【０１５８】

一実施態様によれば、本発明の抗原結合ドメインを含む１つのポリペプチドは、ヘテロ二量体化ドメインを含む。本明細書で用いられる「ヘテロ多量体化ドメイン」とは、ヘテロ多量体の形成を促進し、ホモ多量体の形成を妨害するような、生物学的分子への改変又は付加を指す。ホモ二量体を凌駕してヘテロ二量体を形成するための強力な優先性を有する、任意のヘテロ二量体化ドメインは、本発明の範囲内にある。実例的な例には、例えば、米国特許出願第２００３００７８３８５号（Ａｒａｔｈｏｏｎら；ＫＩＨ（ｋｎｏｂ－ｉｎｔｏ－ｈｏｌｅ）について記載している）；ＷＯ２００７１４７９０１（Ｋｊａｅｒｇａａｒｄら；イオン性相互作用について記載している）；ＷＯ２００９０８９００４（Ｋａｎｎａｎら；静電ステアリング効果について記載している）；ＷＯ２０１１／０３４６０５（Ｃｈｒｉｓｔｅｎｓｅｎら；コイルドコイルについて記載している）が含まれるがこれらに限定されない。また、例えば、ロイシンジッパーについて記載している、Ｐａｃｋ，Ｐ．及びＰｌｕｅｃｋｔｈｕｎ，Ａ．、Ｂｉｏｃｈｅｍｉｓｔｒｙ、３１、１５７９～１５８４（１９９２）；又はヘリックスターンヘリックスモチーフについて記載している、Ｐａｃｋら、Ｂｉｏ／Ｔｅｃｈｎｏｌｏｇｙ、１１、１２７１～１２７７（１９９３）も参照されたい。本明細書では、「ヘテロ多量体化ドメイン」及び「ヘテロ二量体化ドメイン」という語句を互換的に用いる。

【０１５９】

本明細書で言及される「ＫＩＨ（ｋｎｏｂ－ｉｎｔｏ－ｈｏｌｅ）」技術又は「ＫｎＨ」技術という用語は、それらが相互作用する界面において、凸部（ノブ）を一方のポリペプチドへと導入し、凹部（ホール）を他方のポリペプチドへと導入することにより、２つのポリペプチドの対合を、ｉｎ ｖｉｔｒｏ又はｉｎ ｖｉｖｏにおいて、併せて方向付ける技術を指す。例えば、ＫｎＨは、抗体のＦｃ：Ｆｃ結合界面、ＣＬ：ＣＨ１間界面、又はＶＨ／ＶＬ間界面内に導入されている（例えば、ＵＳ２００７／０１７８５５２、ＷＯ９６／０２７０１１、ＷＯ９８／０５０４３１；及びＺｈｕら（１９９７）、Ｐｒｏｔｅｉｎ Ｓｃｉｅｎｃｅ、６：７８１～７８８）。

【０１６０】

多重特異性抗体、例えば、二重特異性抗体を作製するためのさらなる技法には、「ＫＩＨ（ｋｎｏｂ－ｉｎｔｏ－ｈｏｌｅ）」操作（例えば、米国特許第５，７３１，１６８号）、抗体のＦＣヘテロ二量体分子を作製するために静電ステアリング効果を用いる操作（ＷＯ２００９／０８９００４Ａ１）が含まれるがこれらに限定されない。

【０１６１】

価数が２を超える抗体を想定する。例えば、三特異性抗体も調製することができる（Ｔｕｔｔら、Ｊ．Ｉｍｍｕｎｏｌ．、１４７：６０（１９９１））。

【０１６２】

本明細書にはまた、「オクトパス抗体」を含め、３つ以上の機能的な抗原結合部位を伴う操作抗体も包含される（例えば、ＵＳ２００６／００２５５７６Ａ１を参照されたい）。

【０１６３】

本明細書の抗体又は断片にはまた、ＩＬ－３４のほか、別の異なる抗原（例えば、ＣＳＦ－１）にも結合する抗原結合部位を含む、「二重作用型Ｆａｂ」又は「ＤＡＦ」も含まれる（例えば、ＵＳ２００８／００６９８２０を参照されたい）。

【０１６４】

７．抗体変異体

幾つかの実施態様では、本明細書で提示される抗体のアミノ酸配列の変異体が想定される。例えば、抗体の結合アフィニティー及び／又は他の生物学的特性を改善することが所望でありうる。抗体のアミノ酸配列の変異体は、抗体をコードするヌクレオチド配列へと、適切な修飾を導入することにより調製することもでき、ペプチド合成により調製することもできる。このような修飾には、例えば、抗体のアミノ酸配列からの欠失、及び／又は抗体のアミノ酸配列への挿入、及び／又は抗体のアミノ酸配列内の残基の置換が含まれる。最終構築物が所望の特徴、例えば、抗原結合特徴を保有するという条件で、欠失、挿入、及び置換を任意に組み合わせて、最終構築物に到達することができる。

【０１６５】

置換変異体、挿入変異体、及び欠失変異体

幾つかの実施態様では、１又は複数のアミノ酸置換を有する抗体の変異体が提供される。置換突然変異誘発のための対象の部位には、ＨＶＲ及びＦＲを組み入れる。保存的置換を、表１の「好ましい置換」の見出しの下に示す。より実質的な変化を、表１の「例示的な置換」の見出しの下に提示し、下記で更に記載される通り、アミノ酸側鎖のクラスに言及しながら提示する。アミノ酸置換を対象の抗体へと導入し、生成物を所望の活性についてスクリーニングすることができる。例えば、抗原への結合の保持／改善、免疫原性の減少、又はＡＤＣＣもしくはＣＤＣの改善。

表１

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

【０１６６】
アミノ酸は、共通の側鎖特性に従い群分けすることができる。
（１）疎水性：ノルロイシン、Ｍｅｔ、Ａｌａ、Ｖａｌ、Ｌｅｕ、Ｉｌｅ；
（２）中性親水性：Ｃｙｓ、Ｓｅｒ、Ｔｈｒ、Ａｓｎ、Ｇｌｎ；
（３）酸性：Ａｓｐ、Ｇｌｕ；
（４）塩基性：Ｈｉｓ、Ｌｙｓ、Ａｒｇ；
（５）鎖の配向に影響を及ぼす残基：Ｇｌｙ、Ｐｒｏ；
（６）芳香族：Ｔｒｐ、Ｔｙｒ、Ｐｈｅ
【０１６７】
非保存的置換は、これらのクラスのうちの１つのメンバーを、別のクラスに交換することを伴う。
【０１６８】
置換変異体の１つの種類は、親抗体（例えば、ヒト化抗体又はヒト抗体）の１又は複数の超可変領域残基を置換することを伴う。一般に、結果としてもたらされ、さらなる研究のために選択される（１又は複数の）変異体では、ある種の生物学的特性（例えば、アフィニティーの増大、免疫原性の低減）の、親抗体と比べた修飾（例えば、改善）がなされ、及び／又は親抗体のある種の生物学的特性も実質的に保持されるであろう。例示的な置

換変異体は、アフィニティー成熟させた抗体であって、例えば、本明細書で記載されるアフィニティー成熟法など、ファージディスプレイベースのアフィニティー成熟法を用いて簡便に創成しうる抗体である。略述すると、１又は複数のＨＶＲ残基を突然変異させ、ファージ上に提示された変異体抗体を、特定の生物学的活性（例えば、結合アフィニティー）についてスクリーニングする。

【０１６９】

改変（例えば、置換）は、例えば、抗体アフィニティーを改善するために、ＨＶＲ内に施すことができる。このような改変は、ＨＶＲの「ホットスポット」、すなわち、体細胞の成熟過程において突然変異を高頻度で受けるコドンによりコードされる残基（例えば、Ｃｈｏｗｄｈｕｒｙ、Ｍｅｔｈｏｄｓ Ｍｏｌ．Ｂｉｏｌ．、２０７：１７９～１９６（２００８）を参照されたい）、及び／又はＳＤＲ（ａ－ＣＤＲ）に施すことができ、結果としてもたらされる変異体のＶＨ又はＶＬを結合アフィニティーについて調べる。二次ライブラリーからの構築及び再選択によるアフィニティー成熟については、例えば、Ｈｏｏｇｅｎｂｏｏｍら、「Ｍｅｔｈｏｄｓ ｉｎ Ｍｏｌｅｃｕｌａｒ Ｂｉｏｌｏｇｙ」、１７８：１～３７（Ｏ’Ｂｒｉｅｎら編、Ｈｕｍａｎａ Ｐｒｅｓｓ、Ｔｏｔｏｗａ、ＮＪ、（２００１））において記載されている。アフィニティー成熟についての幾つかの実施態様では、様々な方法（例えば、エラープローンＰＣＲ、鎖シャフリング、又はオリゴヌクレオチド指向突然変異誘発）のうちの何れかにより、成熟させるために選び出された可変遺伝子へと多様性を導入する。次いで、二次ライブラリーを創出する。次いで、ライブラリーをスクリーニングして、所望のアフィニティーを伴う任意の抗体の変異体を同定する。多様性を導入する別の方法は、ＨＶＲ指向法を伴うが、この場合、幾つかのＨＶＲ残基（例えば、一度に４～６残基）をランダム化する。抗原結合に関与するＨＶＲ残基は、例えば、アラニン走査突然変異誘発又はモデル化を用いて、特異的に同定することができる。ＣＤＲ－Ｈ３及びＣＤＲ－Ｌ３は特に、ターゲティングされることが多い。

【０１７０】

幾つかの実施態様では、置換、挿入、又は欠失を、このような改変が、抗原に結合する抗体の能力を実質的に低減しない限りにおいて、１又は複数のＨＶＲ内に施すことができる。例えば、結合アフィニティーを実質的に低減しない保存的改変（例えば、本明細書で提示される保存的置換）を、ＨＶＲ内に施すことができる。このような改変は、ＨＶＲ「ホットスポット」又はＳＤＲの外部でありうる。上記で提示した変異体のＶＨ及びＶＬ配列についての幾つかの実施態様では、各ＨＶＲは、不変であるか、又は１つ、２つ、もしくは３つ以下のアミノ酸置換を含有する。

【０１７１】

突然変異誘発のためにターゲティングされうる抗体の残基又は領域を同定するのに有用な方法は、Ｃｕｎｎｉｎｇｈａｍ及びＷｅｌｌｓ（１９８９）、Ｓｃｉｅｎｃｅ、２４４：１０８１～１０８５により記載されている通り、「アラニン走査突然変異誘発」と呼ばれる。この方法では、残基又は標的残基群（例えば、ａｒｇ、ａｓｐ、ｈｉｓ、ｌｙｓ、及びｇｌｕなどの帯電残基）を、同定し、中性アミノ酸又は負に帯電したアミノ酸（例えば、アラニン又はポリアラニン）で置きかえて、抗体の抗原との相互作用が影響を受けるのかどうかを決定する。さらなる置換は、初期の置換に対して機能的な感受性を顕示するアミノ酸位置に導入することができる。代替的に、又は加えて、抗原－抗体複合体の結晶構造を決定して、抗体と抗原との間の接触点を同定する。このような接触残基及び近傍残基は、置換のための候補としてターゲティングするか又は消失させることができる。変異体をスクリーニングして、それらが所望の特性を含有するのかどうかを決定することができる。

【０１７２】

アミノ酸配列の挿入には、アミノ末端及び／又はカルボキシル末端における、長さが１残基～百残基以上を含有するポリペプチドの範囲の融合のほか、配列内における単一又は複数のアミノ酸残基の挿入も含まれる。末端における挿入の例には、Ｎ末端のメチオニル残基を伴う抗体が含まれる。抗体分子の他の挿入変異体には、酵素に対する抗体（例えば

、ＡＤＥＰＴの場合）のＮ末端もしくはＣ末端への融合体、又は抗体の血清半減期を延長するポリペプチドのＮ末端もしくはＣ末端への融合体が含まれる。

【０１７３】

グリコシル化変異体

幾つかの実施態様では、本明細書で提示される抗体を変化させて、抗体がグリコシル化される程度を増大又は減少させる。グリコシル化部位の、抗体への付加又は欠失は、１又は複数のグリコシル化部位を創出又は除去するようにアミノ酸配列を変化させることにより、簡便に達成することができる。

【０１７４】

抗体がＦｃ領域を含む場合、それへと接合された炭水化物を変化させることができる。哺乳動物細胞により産生される天然抗体は、Ｆｃ領域のＣＨ２ドメインのＡｓｎ２９７へのＮ連結により一般に接合された、分枝状、二分枝状のオリゴ糖を含むことが典型的である。例えば、Ｗｒｉｇｈｔら、ＴＩＢＴＥＣＨ、１５：２６～３２（１９９７）を参照されたい。オリゴ糖には、多様な炭水化物、例えば、マンノース、Ｎ－アセチルグルコサミン（ＧｌｃＮＡｃ）、ガラクトース、及びシアル酸のほか、二分枝状オリゴ糖構造の「ステム」内のＧｌｃＮＡｃへと接合されたフコースも含まれうる。幾つかの実施態様では、ある種の特性が改善された抗体の変異体を創出するために、本発明の抗体におけるオリゴ糖の修飾を施すことができる。

【０１７５】

幾つかの実施態様では、Ｆｃ領域へと接合される（直接的に又は間接的に）フコースを欠く炭水化物構造を有する抗体の変異体が提供される。例えば、このような抗体内のフコースの量は、１％～８０％、１％～６５％、５％～６５％又は２０％～４０％でありうる。フコースの量は、例えば、ＷＯ２００８／０７７５４６において記載されているＭＡＬＤＩ－ＴＯＦ質量分析により測定される、Ａｓｎ２９７へと接合された全ての糖構造（例えば、複合体構造、ハイブリッド構造、及び高マンノース構造）の合計と比べた、Ａｓｎ２９７における糖鎖内のフコースの平均量を計算することにより決定する。Ａｓｎ２９７とは、Ｆｃ領域内の２９７位近傍（Ｆｃ領域残基のＥＵによる番号付け）に位置するアスパラギン残基を指すが、Ａｓｎ２９７はまた、抗体内のわずかな配列変化に起因して、２９７位の約±３アミノ酸上流又は下流、すなわち、２９４位と３００位との間に位置する場合もある。このようなフコシル化変異体では、ＡＤＣＣ機能を改善することができる。例えば、米国特許公開第ＵＳ２００３／０１５７１０８号（Ｐｒｅｓｔａ，Ｌ．）；Ｕ．Ｓ．２００４／００９３６２１（協和発酵工業株式会社）を参照されたい。「脱フコシル化」抗体変異体又は「フコース欠損」抗体変異体に関する刊行物の例には、ＵＳ２００３／０１５７１０８；ＷＯ２０００／６１７３９；ＷＯ２００１／２９２４６；ＵＳ２００３／０１１５６１４；ＵＳ２００２／０１６４３２８；ＵＳ２００４／００９３６２１；ＵＳ２００４／０１３２１４０；ＵＳ２００４／０１１０７０４；ＵＳ２００４／０１１０２８２；ＵＳ２００４／０１０９８６５；ＷＯ２００３／０８５１１９；ＷＯ２００３／０８４５７０；ＷＯ２００５／０３５５８６；ＷＯ２００５／０３５７７８；ＷＯ２００５／０５３７４２；ＷＯ２００２／０３１１４０；Ｏｋａｚａｋｉら、Ｊ．Ｍｏｌ．Ｂｉｏｌ．、３３６：１２３９～１２４９（２００４）；Ｙａｍａｎｅ－Ｏｈｎｕｋｉら、Ｂｉｏｔｅｃｈ．Ｂｉｏｅｎｇ．、８７：６１４（２００４）が含まれる。脱フコシル化抗体を産生することが可能な細胞系の例には、タンパク質のフコシル化を欠損させたＬｅｃ１３　ＣＨＯ細胞（Ｒｉｐｋａら、Ａｒｃｈ．Ｂｉｏｃｈｅｍ．ＢｉｏｐＨｙｓ．、２４９：５３３～５４５（１９８６）；米国特許出願第ＵＳ２００３／０１５７１０８Ａ１号、Ｐｒｅｓｔａ，Ｌ；及びＷＯ２００４／０５６３１２Ａ１；Ａｄａｍｓら、Ａｃｔａ　ｃｒｙｓｔａｌｌｏｇｒａｐｈｉｃａ　Ｓｅｃｔｉｏｎ　Ｄ、Ｂｉｏｌｏｇｉｃａｌ　ｃｒｙｓｔａｌｌｏｇｒａｐｈｙ、６６：２１３～２２１（２０１０）、とりわけ、例１１）、及びアルファ－１，６－フコシルトランスフェラーゼ遺伝子であるＦＵＴ８をノックアウトしたＣＨＯ細胞（例えば、Ｙａｍａｎｅ－Ｏｈｎｕｋｉら、Ｂｉｏｔｅｃｈ．Ｂｉｏｅｎｇ．、８７：６１４（２００４）；Ｋａｎｄａ，Ｙ．ら、Ｂｉｏｔｅｃｈｎｏｌ

．Ｂｉｏｅｎｇ．、９４（４）：６８０～６８８（２００６）；及びＷＯ２００３／０８５１０７を参照されたい）などのノックアウト細胞系が含まれる。

【０１７６】

例えば、抗体のＦｃ領域へと接合された二分枝状オリゴ糖が、ＧｌｃＮＡｃにより二分された二分オリゴ糖を伴う抗体の変異体も更に提供される。このような抗体の変異体では、フコシル化を低減し、及び／又はＡＤＣＣ機能を改善することができる。このような抗体の変異体の例は、例えば、ＷＯ２００３／０１１８７８（Ｊｅａｎ－Ｍａｉｒｅｔら）；米国特許第６，６０２，６８４号（Ｕｍａｎａら）；及びＵＳ２００５／０１２３５４６（Ｕｍａｎａら）において記載されている。また、Ｆｃ領域へと接合されたオリゴ糖内に少なくとも一つのガラクトース残基を伴う抗体の変異体も提供される。このような抗体の変異体では、ＣＤＣ機能を改善することができる。このような抗体の変異体は、例えば、ＷＯ１９９７／３００８７（Ｐａｔｅｌら）；ＷＯ１９９８／５８９６４（Ｒａｊｕ，Ｓ．）；及びＷＯ１９９９／２２７６４（Ｒａｊｕ，Ｓ．）において記載されている。

【０１７７】

Ｆｃ領域変異体

幾つかの実施態様では、１又は複数のアミノ酸修飾を、本明細書で提示される抗体のＦｃ領域へと導入し、これにより、Ｆｃ領域変異体を創成することができる。Ｆｃ領域変異体は、１又は複数のアミノ酸位置においてアミノ酸修飾（例えば、置換）を含むヒトＦｃ領域配列（例えば、ヒトＩｇＧ１、ＩｇＧ２、ＩｇＧ３又はＩｇＧ４のＦｃ領域）を含みうる。

【０１７８】

幾つかの実施態様では、本発明は、一部のエフェクター機能は保有するが、全てのエフェクター機能を保有するわけではないことから、抗体のｉｎ　ｖｉｖｏにおける半減期は重要であるが、ある種のエフェクター機能（補体機能及びＡＤＣＣ機能など）は不要であるか又は有害である適用のための所望の候補となる、抗体の変異体を想定する。Ｉｎ　ｖｉｔｒｏ及び／又はｉｎ　ｖｉｖｏの細胞傷害作用アッセイを実行して、ＣＤＣ活性及び／又はＡＤＣＣ活性の低減／枯渇を確認することができる。例えば、Ｆｃ受容体（ＦｃＲ）結合アッセイを実行して、抗体が、ＦｃγＲへの結合は欠く（よって、ＡＤＣＣ活性を欠く可能性が高い）が、ＦｃＲｎへの結合能は保持することを確認することができる。ＡＤＣＣを媒介する主要な細胞であるＮＫ細胞が、ＦｃγＲＩＩＩだけを発現させるのに対し、単球は、ＦｃγＲＩ、ＦｃγＲＩＩ、及びＦｃＲＩＩＩを発現させる。造血細胞上のＦｃＲの発現については、Ｒａｖｅｔｃｈ及びＫｉｎｅｔ、Ａｎｎｕ．Ｒｅｖ．Ｉｍｍｕｎｏｌ．、９：４５７～４９２（１９９１）の４６４ページの表３にまとめられている。対象の分子のＡＤＣＣ活性を評価するためのｉｎ　ｖｉｔｒｏアッセイの非限定的な例は、米国特許第５，５００，３６２号（例えば、Ｈｅｌｌｓｔｒｏｍ，Ｉ．ら、Ｐｒｏｃ．Ｎａｔ’ｌ　Ａｃａｄ．Ｓｃｉ．ＵＳＡ、８３：７０５９～７０６３（１９８６）を参照されたい）及びＨｅｌｌｓｔｒｏｍ，Ｉら、Ｐｒｏｃ．Ｎａｔ’ｌ　Ａｃａｄ．Ｓｃｉ．ＵＳＡ、８２：１４９９～１５０２（１９８５）；米国特許第５，８２１，３３７号（Ｂｒｕｇｇｅｍａｎｎ，Ｍ．ら、Ｊ．Ｅｘｐ．Ｍｅｄ．、１６６：１３５１～１３６１（１９８７）を参照されたい）において記載されている。

【０１７９】

代替的に、非放射性アッセイ法（例えば、フローサイトメトリー用のＡＣＴＩ（商標）非放射性細胞傷害作用アッセイ（Ｃｅｌｌ　Ｔｅｃｈｎｏｌｏｇｙ，Ｉｎｃ．、Ｍｏｕｎｔａｉｎ　Ｖｉｅｗ、ＣＡ）；及びＣｙｔｏＴｏｘ　９６（登録商標）非放射性細胞傷害作用アッセイ（Ｐｒｏｍｅｇａ、Ｍａｄｉｓｏｎ、ＷＩ）を参照されたい）を用いることもできる。このようなアッセイに有用なエフェクター細胞には、末梢血単核細胞（ＰＢＭＣ）及びナチュラルキラー（ＮＫ）細胞が含まれる。代替的に、又は加えて、対象の分子のＡＤＣＣ活性は、ｉｎ　ｖｉｖｏにおいて、例えば、Ｃｌｙｎｅｓら、Ｐｒｏｃ．Ｎａｔ’ｌ　Ａｃａｄ．Ｓｃｉ．ＵＳＡ、９５：６５２～６５６（１９９８）において開示されている動物モデルなどの動物モデルにおいて評価することもできる。また、Ｃ１ｑ結合

アッセイを、実行して、抗体が、Ｃ１ｑに結合することが不可能であり、よって、ＣＤＣ活性を欠くことを確認することもできる。例えば、ＷＯ２００６／０２９８７９及びＷＯ２００５／１００４０２におけるＣ１ｑ及びＣ３ｃ結合ＥＬＩＳＡを参照されたい。補体の活性化を評価するためには、ＣＤＣアッセイを実施することができる（例えば、Ｇａｚｚａｎｏ－Ｓａｎｔｏｒｏら、Ｊ．Ｉｍｍｕｎｏｌ．Ｍｅｔｈｏｄｓ、２０２：１６３（１９９６）；Ｃｒａｇｇ，Ｍ．Ｓ．ら、Ｂｌｏｏｄ、１０１：１０４５～１０５２（２００３）；及びＣｒａｇｇ，Ｍ．Ｓ．及びＭ．Ｊ．Ｇｌｅｎｎｉｅ、Ｂｌｏｏｄ、１０３：２７３８～２７４３（２００４）を参照されたい）。また、当技術分野で知られている方法を用いて、ＦｃＲｎの結合及びｉｎ　ｖｉｖｏにおけるクリアランス／半減期の決定も実施することができる（例えば、Ｐｅｔｋｏｖａ，Ｓ．Ｂ．ら、Ｉｎｔ’ｌ．Ｉｍｍｕｎｏｌ．、１８（１２）：１７５９～１７６９（２００６）を参照されたい）。

【０１８０】

エフェクター機能を低減した抗体には、Ｆｃ領域残基２３８、２６５、２６９、２７０、２９７、３２７、及び３２９のうちの１又は複数を置換した抗体が含まれる（米国特許第６，７３７，０５６号）。このようなＦｃ突然変異体には、残基２６５及び２９７をアラニンへと置換した、いわゆる「ＤＡＮＡ」Ｆｃ突然変異体（米国特許第７，３３２，５８１号）を含め、アミノ酸位置２６５、２６９、２７０、２９７、及び３２７のうちの２つ以上における置換を伴うＦｃ突然変異体が含まれる。

【０１８１】

ＦｃＲへの結合を改善又は減弱したある種の抗体の変異体については記載されている（例えば、米国特許第６，７３７，０５６号；ＷＯ２００４／０５６３１２；及びＳｈｉｅｌｄｓら、Ｊ．Ｂｉｏｌ．Ｃｈｅｍ．、９（２）：６５９１～６６０４（２００１）を参照されたい）。

【０１８２】

幾つかの実施態様では、例えば、米国特許第６，１９４，５５１号；ＷＯ９９／５１６４２；及びＩｄｕｓｏｇｉｅら、Ｊ．Ｉｍｍｕｎｏｌ．、１６４：４１７８～４１８４（２０００）において記載されている通り、Ｆｃ領域に、Ｃ１ｑへの結合及び／又は補体依存性細胞傷害作用（ＣＤＣ）の改変（すなわち、改善又は減弱）を結果としてもたらす改変を施す。

【０１８３】

半減期を延長し、母体のＩｇＧを胎児へと移送する一因となる胎児性Ｆｃ受容体（ＦｃＲｎ）（Ｇｕｙｅｒら、Ｊ．Ｉｍｍｕｎｏｌ．、１１７：５８７（１９７６）及びＫｉｍら、Ｊ．Ｉｍｍｕｎｏｌ．、２４：２４９（１９９４））への結合を改善した抗体は、ＵＳ２００５／００１４９３４Ａ１（Ｈｉｎｔｏｎら）において記載されている。これらの抗体は、その中に、Ｆｃ領域のＦｃＲｎへの結合を改善する１又は複数の置換を伴うＦｃ領域を含む。このようなＦｃ変異体には、Ｆｃ領域残基のうちの１又は複数：２３８、２５６、２６５、２７２、２８６、３０３、３０５、３０７、３１１、３１２、３１７、３４０、３５６、３６０、３６２、３７６、３７８、３８０、３８２、４１３、４２４、又は４３４における置換、例えば、Ｆｃ領域残基４３４の置換を伴うＦｃ変異体（米国特許第７，３７１，８２６号）が含まれる。

【０１８４】

また、Ｆｃ領域変異体の他の例に関する、Ｄｕｎｃａｎら、Ｎａｔｕｒｅ、３２２：７３８～４０（１９８８）；米国特許第５，６４８，２６０号；米国特許第５，６２４，８２１号；及びＷＯ９４／２９３５１も参照されたい。

【０１８５】

システイン操作抗体変異体

幾つかの実施態様では、システインで操作した抗体、例えば、抗体の１又は複数の残基をシステイン残基で置換した「チオｍＡｂ」を創出することが所望でありうる。特定の実施態様では、置換された残基は、抗体の接触可能な部位において生じる。これらの残基をシステインで置換することにより、反応性チオール基をそれにより抗体の接触可能な部位

に配置し、これを用いて、抗体を、薬物部分又はリンカー－薬物部分などの他の部分へとコンジュゲートし、本明細書で更に記載されるイムノコンジュゲートを創出することができる。幾つかの実施態様では、以下の残基：軽鎖のＶ２０５（Ｋａｂａｔによる番号付け）；重鎖のＡ１１８（ＥＵによる番号付け）；及び重鎖Ｆｃ領域のＳ４００（ＥＵによる番号付け）のうちの任意の１又は複数を、システインで置換することができる。システインで操作した抗体は、例えば、米国特許第７，５２１，５４１号において記載される通りに創成することができる。

【０１８６】

抗体誘導体

幾つかの実施態様では、本明細書で提示される抗体を、当技術分野で知られており、たやすく利用可能な、さらなる非タンパク質性部分を含有するように、更に修飾することができる。抗体の誘導体化に適する部分には、水溶性ポリマーが含まれるがこれらに限定されない。水溶性ポリマーの非限定的な例には、ポリエチレングリコール（ＰＥＧ）、エチレングリコール／プロピレングリコールのコポリマー、カルボキシメチルセルロース、デキストラン、ポリビニルアルコール、ポリビニルピロリドン、ポリ－１、３－ジオキソラン、ポリ－１，３，６－トリオキサン、エチレン／無水マレイン酸コポリマー、ポリアミノ酸（ホモポリマー又はランダムコポリマー）、及びデキストラン又はポリ（Ｎ－ビニルピロリドン）ポリエチレングリコール、ポリプロピレングリコールホモポリマー、ポリプロピレンオキシド／エチレンオキシドコポリマー、ポリオキシエチル化ポリオール（例えば、グリセロール）、ポリビニルアルコール、及びこれらの混合物が含まれるがこれらに限定されない。ポリエチレングリコールプロピオンアルデヒドは、水中のその安定性に起因して製造における利点を有しうる。ポリマーは、任意の分子量のポリマーであることが可能であり、分枝状の場合もあり、非分枝状の場合もある。抗体へと接合されるポリマーの数は、変化させることができ、複数のポリマーを接合する場合、それらは、同じ分子の場合もあり、異なる分子の場合もある。一般に、誘導体化のために用いられるポリマーの数及び／又は種類は、改善される抗体の特定の特性又は機能、抗体の誘導体が規定された条件下における治療で用いられるのかどうかなどが含まれるがこれらに限定されない検討事項に基づき決定することができる。

【０１８７】

別の実施態様では、放射線へと曝露することにより選択的に加熱しうる、抗体のコンジュゲート及び非タンパク質性部分が提供される。幾つかの実施態様では、非タンパク質性部分は、カーボンナノチューブである（Ｋａｍら、Ｐｒｏｃ．Ｎａｔｌ．Ａｃａｄ．Ｓｃｉ．ＵＳＡ、１０２：１１６００～１１６０５（２００５））。放射線は、任意の波長の放射線であることが可能であり、これらには、通常の細胞は傷つけないが、非タンパク質性部分を、抗体の非タンパク質性部分に近位の細胞が死滅する温度まで加熱する波長が含まれるがこれらに限定されない。

【０１８８】

組換え法及び組換え組成物

抗体は、例えば、米国特許第４，８１６，５６７号において記載されている組換え法及び組換え組成物を用いて作製することができる。幾つかの実施態様では、本明細書で記載される抗ＩＬ－３４抗体、二重特異性抗ＩＬ－３４／ＣＳＦ－１抗体、又は抗ＣＳＦ－１Ｒ抗体をコードする単離核酸が提供される。このような核酸は、抗体のＶＬを含むアミノ酸配列及び／又は抗体のＶＨを含むアミノ酸配列（例えば、抗体の軽鎖及び／又は重鎖）をコードしうる。幾つかの実施態様では、このような核酸を含む１又は複数のベクター（例えば、発現ベクター）が提供される。幾つかの実施態様では、このような核酸を含む宿主細胞が提供される。幾つかの実施態様では、宿主細胞は、（１）抗体のＶＬを含むアミノ酸配列及び抗体のＶＨを含むアミノ酸配列をコードする核酸を含むベクター、又は（２）抗体のＶＬを含むアミノ酸配列をコードする核酸を含む第１のベクター及び抗体のＶＨを含むアミノ酸配列をコードする核酸を含む第２のベクターを含む（例えば、これらで形質転換されている）。幾つかの実施態様では、宿主細胞は、真核細胞、例えば、チャイニ

ーズハムスター卵巣（ＣＨＯ）細胞又はリンパ細胞（例えば、Ｙ０細胞、ＮＳ０細胞、Ｓｐ２０細胞）である。幾つかの実施態様では、抗ＩＬ－３４抗体、二重特異性抗ＩＬ－３４／ＣＳＦ－１抗体、又は抗ＣＳＦ－１Ｒ抗体を作製する方法であって、抗体の発現に適する条件下で、上記で提示した抗体をコードする核酸を含む宿主細胞を培養することと、場合によって、抗体を宿主細胞（又は宿主細胞の培養培地）から回収することとを含む方法が提供される。

【０１８９】

組換えにより抗ＩＬ－３４抗体、二重特異性抗ＩＬ－３４／ＣＳＦ－１抗体、又は抗ＣＳＦ－１Ｒ抗体を作製するには、例えば、上記で記載した、抗体をコードする核酸を単離し、宿主細胞内のさらなるクローニング及び／又は発現のために、１又は複数のベクターへと挿入する。このような核酸は、従来の手順を用いて（例えば、抗体の重鎖及び軽鎖をコードする遺伝子に特異的に結合することが可能なオリゴヌクレオチドプローブを用いることにより）、たやすく単離及び配列決定することができる。

【０１９０】

抗体コードベクターのクローニング又は発現に適する宿主細胞には、本明細書で記載される原核細胞又は真核細胞が含まれる。例えば、抗体は、特に、グリコシル化及びＦｃエフェクター機能が必要とされない場合は、細菌内で作製することができる。抗体断片及びポリペプチドを細菌内で発現させるには、例えば、米国特許第５，６４８，２３７号、同第５，７８９，１９９号、及び同第５，８４０，５２３号を参照されたい（また、大腸菌内の抗体断片の発現について記載している、Ｃｈａｒｌｔｏｎ、Ｍｅｔｈｏｄｓ ｉｎ Ｍｏｌｅｃｕｌａｒ Ｂｉｏｌｏｇｙ、２４８巻（Ｂ．Ｋ．Ｃ．Ｌｏ編、Ｈｕｍａｎａ Ｐｒｅｓｓ、Ｔｏｔｏｗａ、ＮＪ、２００３）、２４５～２５４ページも参照されたい）。発現の後、抗体は、可溶性画分中の細菌細胞ペーストから単離し、更に精製することができる。

【０１９１】

原核生物に加えて、それらのグリコシル化経路を「ヒト化」させた結果、部分的又は完全なヒトグリコシル化パターンを伴う抗体の産生をもたらす真菌株及び酵母株を含めた、線維状真菌又は線維状酵母などの真核微生物も、抗体コードベクターに適するクローニング宿主又は発現宿主である。Ｇｅｒｎｇｒｏｓｓ、Ｎａｔ．Ｂｉｏｔｅｃｈ．、２２：１４０９～１４１４（２００４）、及びＬｉら、Ｎａｔ．Ｂｉｏｔｅｃｈ．、２４：２１０～２１５（２００６）を参照されたい。

【０１９２】

グリコシル化された抗体の発現に適する宿主細胞はまた、多細胞生物（非脊椎動物及び脊椎動物）にも由来する。非脊椎動物細胞の例には、植物細胞及び昆虫細胞が含まれる。昆虫細胞と共に用いうる多数のバキュロウイルス株、特に、ヨウトガ（Ｓｐｏｄｏｐｔｅｒａ ｆｒｕｇｉｐｅｒｄａ）細胞のトランスフェクションに用いうる多数のバキュロウイルス株が同定されている。

【０１９３】

また、植物細胞培養物も、宿主として使用することができる。例えば、米国特許第５，９５９，１７７号、同第６，０４０，４９８号、同第６，４２０，５４８号、同第７，１２５，９７８号、及び同第６，４１７，４２９号（トランスジェニック植物内で抗体を作製するためのＰＬＡＮＴＩＢＯＤＩＥＳ（商標）技術について記載している）を参照されたい。

【０１９４】

また、脊椎動物細胞も、宿主として用いることができる。例えば、懸濁液中で成長するよう適合させた哺乳動物細胞系は有用でありうる。有用な哺乳動物宿主細胞系の他の例は、ＳＶ４０（ＣＯＳ－７）で形質転換されたサル腎臓ＣＶ１細胞系；ヒト胚腎臓細胞系（例えば、Ｇｒａｈａｍら、Ｊ．Ｇｅｎ Ｖｉｒｏｌ．、３６：５９（１９７７）において記載されている、２９３細胞）；ベビーハムスター腎臓細胞（ＢＨＫ）；マウスセルトリ細胞（例えば、Ｍａｔｈｅｒ、Ｂｉｏｌ．Ｒｅｐｒｏｄ．、２３：２４３～２５１（１９

８０）において記載されている、ＴＭ４細胞）；サル腎臓細胞（ＣＶ１）；アフリカミドリザル腎臓細胞（ＶＥＲＯ－７６）；ヒト子宮頸癌細胞（ＨＥＬＡ）；イヌ腎臓細胞（ＭＤＣＫ）；バッファローラット肝臓細胞（ＢＲＬ　３Ａ）；ヒト肺細胞（Ｗ１３８）；ヒト肝臓細胞（Ｈｅｐ　Ｇ２）；マウス乳癌（ＭＭＴ　０６０５６２）；例えば、Ｍａｔｈｅｒら、Ａｎｎａｌｓ　Ｎ．Ｙ．Ａｃａｄ．Ｓｃｉ．、３８３：４４～６８（１９８２）において記載されている、ＴＲＩ細胞；ＭＲＣ　５細胞；及びＦＳ４細胞である。他の有用な哺乳動物宿主細胞系には、ＤＨＦＲ－ＣＨＯ細胞（Ｕｒｌａｕｂら、Ｐｒｏｃ．Ｎａｔｌ．Ａｃａｄ．Ｓｃｉ．ＵＳＡ、７７：４２１６（１９８０））を含めたチャイニーズハムスター卵巣（ＣＨＯ）細胞；並びにＹ０、ＮＳ０、及びＳｐ２／０などの骨髄腫細胞系が含まれる。抗体の産生に適するある種の哺乳動物宿主細胞系の総説については、例えば、Ｙａｚａｋｉ及びＷｕ、Ｍｅｔｈｏｄｓ　ｉｎ　Ｍｏｌｅｃｕｌａｒ　Ｂｉｏｌｏｇｙ、２４８巻（Ｂ．Ｋ．Ｃ．Ｌｏ編、Ｈｕｍａｎａ　Ｐｒｅｓｓ、Ｔｏｔｏｗａ、ＮＪ）、２５５～２６８ページ（２００３）を参照されたい。

【０１９５】

アッセイ

本明細書で提示される抗ＩＬ－３４抗体、二重特異性抗ＩＬ－３４／ＣＳＦ－１抗体、及び抗ＣＳＦ－１Ｒ抗体は、当技術分野で知られている多様なアッセイにより、同定することもでき、それらの物理的／化学的特性及び／又は生物学的活性についてスクリーニングすることもでき、これらについて特徴付けることもできる。

【０１９６】

結合アッセイ及び他のアッセイ

一態様では、本発明の抗体を、例えば、ＥＬＩＳＡ、ウェスタンブロットなどなど、知られている方法により、その抗原結合活性について調べる。

【０１９７】

別の態様では、競合アッセイを用いて、例えば、本明細書で記載される抗ＩＬ－３４抗体と競合する、抗ＩＬ－３４抗体又は二重特異性抗ＩＬ－３４／ＣＳＦ－１抗体を同定することができる。例えば、ＩＬ－３４への結合について、配列番号５のＶＨ配列及び配列番号６のＶＬ配列を含む抗ＩＬ－３４抗体と競合する抗体である。幾つかの実施態様では、このような競合抗体は、例えば、配列番号５のＶＨ配列及び配列番号６のＶＬ配列を含む抗ＩＬ－３４抗体が結合する、同じエピトープ（例えば、直鎖状エピトープ又はコンフォメーショナルエピトープ）に結合する。抗体が結合するエピトープをマッピングするための詳細な例示的な方法は、Ｍｏｒｒｉｓ（１９９６）「Ｅｐｉｔｏｐｅ　Ｍａｐｐｉｎｇ　Ｐｒｏｔｏｃｏｌｓ」、「Ｍｅｔｈｏｄｓ　ｉｎ　Ｍｏｌｅｃｕｌａｒ　Ｂｉｏｌｏｇｙ」、６６巻（Ｈｕｍａｎａ　Ｐｒｅｓｓ、Ｔｏｔｏｗａ、ＮＪ）において提示されている。

【０１９８】

例示的な競合アッセイでは、固定化ＩＬ－３４を、ＩＬ－３４に結合する第１の標識抗体（例えば、配列番号５のＶＨ配列及び配列番号６のＶＬ配列を含む抗ＩＬ－３４抗体）及びＩＬ－３４への結合について第１の抗体と競合するその能力について調べつつある第２の非標識抗体を含む溶液中でインキュベートする。第２の抗体は、ハイブリドーマ上清中に存在させることができる。対照としては、固定化ＩＬ－３４を、第１の標識抗体は含むが第２の非標識抗体は含まない溶液中でインキュベートする。第１の抗体のＩＬ－３４への結合に対して許容的な条件下におけるインキュベーションの後、過剰な非結合抗体を除去し、固定化ＩＬ－３４と会合した標識の量を測定する。固定化ＩＬ－３４と会合した標識の量が、被験試料において、対照試料と比べて実質的に低減される場合は、これにより、第２の抗体は、ＩＬ－３４への結合について、第１の抗体と競合することが示される。Ｈａｒｌｏｗ及びＬａｎｅ（１９８８）、「Ａｎｔｉｂｏｄｉｅｓ：Ａ　Ｌａｂｏｒａｔｏｒｙ　Ｍａｎｕａｌ」、１４章（Ｃｏｌｄ　Ｓｐｒｉｎｇ　Ｈａｒｂｏｒ　Ｌａｂｏｒａｔｏｒｙ、Ｃｏｌｄ　Ｓｐｒｉｎｇ　Ｈａｒｂｏｒ、ＮＹ）を参照されたい。

【０１９９】

一態様では、生物学的活性を有する抗ＩＬ－３４抗体、二重特異性抗ＩＬ－３４／ＣＳＦ－１抗体、又は抗ＣＳＦ１Ｒ抗体を同定するためのアッセイが提供される。生物学的活性には、例えば、ヒト末梢血単核細胞（ＰＢＭＣ）の増殖の阻害、ＩＬ－３４のＣＳＦ－１Ｒへの結合の阻害、又はＣＳＦ－１のＣＳＦ－１Ｒへの結合の阻害が含まれうる。また、ｉｎ　ｖｉｖｏ及び／又はｉｎ　ｖｉｔｒｏにおいてこのような生物学的活性を有する抗体も提供される。

【０２００】

幾つかの実施態様では、本発明の抗体を、このような生物学的活性について調べる。例えば、抗ＩＬ－３４抗体、二重特異性抗ＩＬ－３４／ＣＳＦ－１抗体、又は抗ＣＳＦ－１Ｒ抗体の中和活性は、ＣｅｌｌＴｉｔｅｒ－Ｇｌｏによる細胞増殖アッセイを用いて測定することができる。末梢血単核細胞（ＰＢＭＣ）などの細胞へと添加する前に、ｈＩＬ－３４又はｍＩＬ－３４を、抗ＩＬ－３４ｍＡｂ、二重特異性抗ＩＬ－３４／ＣＳＦ－１抗体、又は抗ＣＳＦ１抗体の希釈系列と混合する。抗体阻害活性は、プレートを３７℃で７２時間にわたりインキュベートした後で、ＲＬＵを測定することにより得られる。ＩＬ－３４が、７０～８０％の増殖応答を誘発する濃度で存在する場合に、細胞上のＩＬ－３４活性の５０％阻害をもたらすのに要請される抗体濃度として定義される５０％阻害濃度（ＩＣ５０）は、ＫａｌｅｉｄａＧｒａｐｈにより計算することができる。

【０２０１】

ＩＬ－３４又はＣＳＦ－１の、ＣＳＦ－１Ｒへの結合の、本明細書で提示される抗体による阻害は、抗体、例えば、抗ＩＬ－３４抗体、二重特異性ＩＬ－３４／ＣＳＦ－１抗体、又は抗ＣＳＦ－１抗体の希釈系列の存在下で、固定化ＩＬ－３４又は固定化ＣＳＦ－１及び可溶性ＣＳＦ－１Ｒを用いるＥＬＩＳＡアッセイにより調べることができる。

【０２０２】

診断及び検出のための方法及び組成物

幾つかの実施態様では、本明細書で提示される抗ＩＬ－３４抗体及び抗ＣＳＦ－１Ｒのうちの何れかが、生物学的試料中のＩＬ－３４又はＣＳＦ－１Ｒの存在を検出するのに有用である。本明細書で用いられる「～を検出すること」という用語は、定量的検出又は定性的検出を包摂する。幾つかの実施態様では、生物学的試料は、細胞又は組織を含む。

【０２０３】

幾つかの実施態様では、診断又は検出の方法における使用のための抗ＩＬ－３４抗体が提供される。さらなる態様では、生物学的試料中のＩＬ－３４の存在を検出する方法が提供される。幾つかの実施態様では、方法は、生物学的試料を、本明細書で記載される抗ＩＬ－３４抗体と、抗ＩＬ－３４抗体のＩＬ－３４への結合に対して許容的な条件下で接触させることと、抗ＩＬ－３４抗体とＩＬ－３４との間で複合体が形成されるのかどうかを検出することとを含む。このような方法は、ｉｎ　ｖｉｔｒｏ法の場合もあり、ｉｎ　ｖｉｖｏ法の場合もある。幾つかの実施態様では、例えば、ＩＬ－３４が、患者を選択するためのバイオマーカーである場合、抗ＩＬ－３４抗体を用いて、抗ＩＬ－３４抗体による治療に適格な対象を選択する。

【０２０４】

幾つかの実施態様では、診断又は検出の方法における使用のための抗ＣＳＦ－１Ｒ抗体が提供される。さらなる態様では、生物学的試料中のＣＳＦ－１Ｒの存在を検出する方法が提供される。幾つかの実施態様では、方法は、生物学的試料を、本明細書で記載される抗ＣＳＦ－１Ｒ抗体と、抗ＣＳＦ－１Ｒ抗体のＣＳＦ－１Ｒへの結合に対して許容的な条件下で接触させることと、抗ＣＳＦ－１Ｒ抗体とＣＳＦ－１Ｒとの間で複合体が形成されるのかどうかを検出することとを含む。このような方法は、ｉｎ　ｖｉｔｒｏ法の場合もあり、ｉｎ　ｖｉｖｏ法の場合もある。幾つかの実施態様では、例えば、ＣＳＦ－１Ｒが、患者を選択するためのバイオマーカーである場合、抗ＣＳＦ－１Ｒ抗体を用いて、抗ＣＳＦ－１Ｒ抗体による治療に適格な対象を選択する。

【０２０５】

本発明の抗体を用いて診断されうる例示的な障害には、関節リウマチ、炎症性腸疾患、

又は多発性硬化症など、骨髄病原性免疫疾患が含まれる。

【０２０６】

幾つかの実施態様では、標識された抗ＩＬ－３４抗体及び抗ＣＳＦ－１Ｒが提供される。標識には、直接的に検出される標識又は部分（蛍光標識、色素体標識、高電子密度標識、化学発光標識、及び放射性標識など）のほか、例えば、酵素反応又は分子的相互作用を介して間接的に検出される酵素又はリガンドなどの部分が含まれるがこれらに限定されない。例示的な標識には、放射性同位元素である^{32}Ｐ、^{14}Ｃ、^{125}Ｉ、^{3}Ｈ、及び^{131}Ｉ、希土類キレート又はフルオレセインなどのフルオロフォア及びその誘導体、ローダミン及びその誘導体、ダンシル、ウンベリフェロン、ルシフェラーゼ、例えば、ホタルルシフェラーゼ及び細菌ルシフェラーゼ（米国特許第４，７３７，４５６号）、ルシフェリン、２，３－ジヒドロフタラジンジオン、セイヨウワサビペルオキシダーゼ（ＨＲＰ）、アルカリホスファターゼ、β－ガラクトシダーゼ、グルコアミラーゼ、リゾチーム、サッカリドオキシダーゼ、例えば、グルコースオキシダーゼ、ガラクトースオキシダーゼ、及びグルコース－６－リン酸デヒドロゲナーゼ、ＨＲＰ、ラクトペルオキシダーゼ、又はマイクロペルオキシダーゼなど、過酸化水素を用いて色素前駆体を酸化する酵素とカップリングさせた、ウリナーゼ及びキサンチンオキシダーゼなどの複素環オキシダーゼ、ビオチン／アビジン、スピン標識、バクテリオファージ標識、安定性のフリーラジカルなどが含まれるがこれらに限定されない。

【０２０７】

骨髄亜型及び線維亜型についてのバイオマーカー

一実施態様では、ＣＳＦ１－Ｒ経路阻害剤で治療されるＲＡ患者は、ＲＡの骨髄亜型又は線維亜型（Ｆ１及び／又はＦ２）に対応するＲＡ患者である。ある種の実施態様では、Ｍ亜型の治療標的が、ＷＯ２０１１／０２８９４５の表６に列挙されている１つの遺伝子又は遺伝子の組合せから選択される。ある種の実施態様では、Ｍ亜型の治療標的が、ＷＯ２０１１／０２８９４５の表２に列挙されている１つの遺伝子又は遺伝子の組合せから選択される。ある種の実施態様では、Ｍ亜型の治療標的が、ＷＯ２０１１／０２８９４５の表１１に列挙されている１つの遺伝子又は遺伝子の組合せから選択される。ある種の実施態様では、Ｍ亜型の治療標的が、ＷＯ２０１１／０２８９４５の表６に列挙されている１つの遺伝子又は遺伝子の組合せによりコードされる１つのタンパク質又はタンパク質の組合せから選択される。ある種の実施態様では、Ｍ亜型の治療標的が、ＷＯ２０１１／０２８９４５の表２に列挙されている１つの遺伝子又は遺伝子の組合せによりコードされる１つのタンパク質又はタンパク質の組合せから選択される。ある種の実施態様では、Ｍ亜型の治療標的が、ＷＯ２０１１／０２８９４５の表１１に列挙されている１つの遺伝子又は遺伝子の組合せによりコードされる１つのタンパク質又はタンパク質の組合せから選択される。ある種の実施態様では、ＲＡのＭ亜型の治療標的が、ＣＬＥＣ５Ａ、ＣＬＥＣ７Ａ、ＡＬＣＡＭ、ＩＬ１ＲＡＰ、ＩＲＡＫ１、ＮＲＰ２、ＴＲＥＭ１、及びＶＥＧＦのうちの１又は複数から選択される。

【０２０８】

別の態様では、本明細書でＭ亜型として記載されるＲＡのある種の亜型を診断する方法は、ＷＯ２０１１／０２８９４５の表６に列挙されている１つの遺伝子もしくは遺伝子の組合せによる遺伝子発現を測定すること、又はＷＯ２０１１／０２８９４５の表６に列挙されている１つの遺伝子もしくは遺伝子の組合せが発現させるタンパク質の量を測定することを含む。ある種の実施態様では、ＷＯ２０１１／０２８９４５の表６で同定された遺伝子のうちの１もしくは複数、又は前記遺伝子によりコードされるタンパク質は、Ｍ亜型のバイオマーカーである。ある種の実施態様では、Ｍ亜型のＲＡを診断する方法は、ＷＯ２０１１／０２８９４５の表２に列挙されている１つの遺伝子もしくは遺伝子の組合せによる遺伝子発現を測定すること、又はＷＯ２０１１／０２８９４５の表２に列挙されている１つの遺伝子もしくは遺伝子の組合せが発現させるタンパク質を測定することを含む。ある種の実施態様では、ＷＯ２０１１／０２８９４５の表２で同定された遺伝子のうちの１もしくは複数、又は前記遺伝子によりコードされるタンパク質は、Ｍ亜型のバイオマー

カーである。ある種の実施態様では、M亜型のＲＡを診断する方法は、ＷＯ２０１１／０２８９４５の表１１に列挙されている１つの遺伝子もしくは遺伝子の組合せによる遺伝子発現を測定すること、又はＷＯ２０１１／０２８９４５の表１１に列挙されている１つの遺伝子もしくは遺伝子の組合せが発現させるタンパク質を測定することを含む。ある種の実施態様では、ＷＯ２０１１／０２８９４５の表１１で同定された遺伝子のうちの１もしくは複数、又は前記遺伝子によりコードされるタンパク質は、M亜型のバイオマーカーである。ある種の実施態様では、ＲＡのM亜型を診断する方法は、ＡＤＡＭ８、ＣＴＳＢ、ＣＸＣＬ３、ＩＣＡＭ１、ＩＬ１８ＢＰ、ＩＬ１Ｂ、ＩＬ８、ＭＭＰ１２、ＣＣＬ２、ＶＥＧＦＡ、及びＳ１００Ａ１１のうちの１又は複数の遺伝子発現又はタンパク質発現を測定することを含む。

【０２０９】

ある種の実施態様では、Ｆ２亜型の治療標的が、ＷＯ２０１１／０２８９４５の表７に列挙されている１つの遺伝子又は遺伝子の組合せから選択される。ある種の実施態様では、Ｆ２亜型の治療標的が、ＷＯ２０１１／０２８９４５の表３に列挙されている１つの遺伝子又は遺伝子の組合せから選択される。ある種の実施態様では、Ｆ２亜型の治療標的が、ＷＯ２０１１／０２８９４５の表１２に列挙されている１つの遺伝子又は遺伝子の組合せから選択される。ある種の実施態様では、Ｆ２亜型の治療標的が、ＷＯ２０１１／０２８９４５の表７に列挙されている１つの遺伝子又は遺伝子の組合せによりコードされる１つのタンパク質又はタンパク質の組合せから選択される。ある種の実施態様では、Ｆ２亜型の治療標的が、ＷＯ２０１１／０２８９４５の表３に列挙されている１つの遺伝子又は遺伝子の組合せによりコードされる１つのタンパク質又はタンパク質の組合せから選択される。ある種の実施態様では、Ｆ２亜型の治療標的が、ＷＯ２０１１／０２８９４５の表１２に列挙されている１つの遺伝子又は遺伝子の組合せによりコードされる１つのタンパク質又はタンパク質の組合せから選択される。ある種の実施態様では、ＲＡのＦ２亜型の治療標的が、ＩＬ１７Ｄ、ＩＬ１７ＲＣ、ＴＩＭＰ３、及びＴＮＦＲＳＦ１１Ｂのうちの１又は複数から選択される。

【０２１０】

別の態様では、本明細書でＦ２亜型として記載されるＲＡのある種の亜型を診断する方法は、ＷＯ２０１１／０２８９４５の表７に列挙されている１つの遺伝子もしくは遺伝子の組合せによる遺伝子発現を測定すること、又はＷＯ２０１１／０２８９４５の表７に列挙されている１つの遺伝子もしくは遺伝子の組合せが発現させるタンパク質を測定することを含む。ある種の実施態様では、ＷＯ２０１１／０２８９４５の表７で同定された遺伝子のうちの１もしくは複数、又は前記遺伝子によりコードされるタンパク質は、Ｆ２亜型のバイオマーカーである。ある種の実施態様では、Ｆ２亜型のＲＡを診断する方法は、ＷＯ２０１１／０２８９４５の表３に列挙されている１つの遺伝子もしくは遺伝子の組合せによる遺伝子発現を測定すること、又は表３に列挙されている１つの遺伝子もしくは遺伝子の組合せが発現させるタンパク質を測定することを含む。ある種の実施態様では、ＷＯ２０１１／０２８９４５の表３で同定された遺伝子のうちの１もしくは複数、又は前記遺伝子によりコードされるタンパク質は、Ｆ２亜型のバイオマーカーである。ある種の実施態様では、Ｆ２亜型のＲＡを診断する方法は、ＷＯ２０１１／０２８９４５の表１２に列挙されている１つの遺伝子もしくは遺伝子の組合せによる遺伝子発現を測定すること、又はＷＯ２０１１／０２８９４５の表１２に列挙されている１つの遺伝子もしくは遺伝子の組合せが発現させるタンパク質を測定することを含む。ある種の実施態様では、ＷＯ２０１１／０２８９４５の表１２で同定された遺伝子のうちの１もしくは複数、又は前記遺伝子によりコードされるタンパク質は、Ｆ２亜型のバイオマーカーである。ある種の実施態様では、ＲＡのＦ２亜型を診断する方法は、ＦＧＦ１０、ＦＧＦ１８、ＦＧＦ２、ＬＲＰ６、ＴＧＦｂｅｔａ２、ＷＮＴ１１、ＢＭＰ６、ＢＴＣ、ＣＬＵ、ＣＲＬＦ１、ＴＩＭＰ３、ＦＺＤ１０、ＦＺＤ７、ＦＺＤ８、及びＩＬ１７Ｄのうちの１又は複数の遺伝子発現又はタンパク質発現を測定することを含む。

【０２１１】

ある種の実施態様では、Ｆ１亜型の治療標的が、ＷＯ２０１１／０２８９４５の表８に列挙されている１つの遺伝子又は遺伝子の組合せから選択される。ある種の実施態様では、Ｆ１亜型の治療標的が、ＷＯ２０１１／０２８９４５の表４に列挙されている１つの遺伝子又は遺伝子の組合せから選択される。ある種の実施態様では、Ｆ１亜型の治療標的が、ＷＯ２０１１／０２８９４５の表１３に列挙されている１つの遺伝子又は遺伝子の組合せから選択される。ある種の実施態様では、Ｆ１亜型の治療標的が、ＷＯ２０１１／０２８９４５の表８に列挙されている１つの遺伝子又は遺伝子の組合せによりコードされる１つのタンパク質又はタンパク質の組合せから選択される。ある種の実施態様では、Ｆ１亜型の治療標的が、ＷＯ２０１１／０２８９４５の表４に列挙されている１つの遺伝子又は遺伝子の組合せによりコードされる１つのタンパク質又はタンパク質の組合せから選択される。ある種の実施態様では、Ｆ１亜型の治療標的が、ＷＯ２０１１／０２８９４５の表１３に列挙されている１つの遺伝子又は遺伝子の組合せによりコードされる１つのタンパク質又はタンパク質の組合せから選択される。ある種の実施態様では、ＲＡのＦ１亜型の治療標的が、ＣＤＨ１１、ＩＴＧＡ１１、及びＣＬＥＣ１１Ａのうちの１又は複数から選択される。

【０２１２】

別の態様では、本明細書でＦ１亜型として記載されるＲＡのある種の亜型を診断する方法は、ＷＯ２０１１／０２８９４５の表８に列挙されている１つの遺伝子もしくは遺伝子の組合せによる遺伝子発現を測定すること、又はＷＯ２０１１／０２８９４５の表８に列挙されている１つの遺伝子もしくは遺伝子の組合せが発現させるタンパク質を測定することを含む。ある種の実施態様では、ＷＯ２０１１／０２８９４５の表８で同定された遺伝子のうちの１もしくは複数、又は前記遺伝子によりコードされるタンパク質は、Ｆ１亜型のバイオマーカーである。ある種の実施態様では、Ｆ１亜型のＲＡを診断する方法は、ＷＯ２０１１／０２８９４５の表４に列挙されている１つの遺伝子もしくは遺伝子の組合せによる遺伝子発現を測定すること、又はＷＯ２０１１／０２８９４５の表４に列挙されている１つの遺伝子もしくは遺伝子の組合せが発現させるタンパク質を測定することを含む。ある種の実施態様では、ＷＯ２０１１／０２８９４５の表４で同定された遺伝子のうちの１もしくは複数、又は前記遺伝子によりコードされるタンパク質は、Ｆ１亜型のバイオマーカーである。ある種の実施態様では、Ｆ１亜型のＲＡを診断する方法は、ＷＯ２０１１／０２８９４５の表１３に列挙されている１つの遺伝子もしくは遺伝子の組合せによる遺伝子発現を測定すること、又はＷＯ２０１１／０２８９４５の表１３に列挙されている１つの遺伝子もしくは遺伝子の組合せが発現させるタンパク質を測定することを含む。ある種の実施態様では、表１３で同定された遺伝子のうちの１又は複数、又は前記遺伝子によりコードされるタンパク質は、Ｆ１亜型のバイオマーカーである。ある種の実施態様では、ＲＡのＦ１亜型を診断する方法は、ＩＴＧＡ１１、ＭＭＰ１１、ＭＭＰ１３、ＭＭＰ１６、ＭＭＰ２８、ＡＤＡＭ１２、ＡＤＡＭ２２、ＣＴＳＫ、ＣＴＨＲＣ１、ＥＮＰＥＰ、ＰＯＳＴＮ、ＡＮＧＰＴ２、ＳＦＲＰ２、ＴＩＥ１、及びＶＷＦのうちの１又は複数の遺伝子発現又はタンパク質発現を測定することを含む。

【０２１３】

薬学的製剤

本明細書で記載される抗ＩＬ－３４抗体、二重特異性抗ＩＬ－３４／ＣＳＦ－１抗体、又は抗ＣＳＦ－１Ｒ抗体の薬学的製剤は、所望の程度の純度を有するこのような抗体を、１又は複数の任意選択の薬学的に許容される担体（「Ｒｅｍｉｎｇｔｏｎ’ｓ　Ｐｈａｒｍａｃｅｕｔｉｃａｌ　Ｓｃｉｅｎｃｅｓ」、１６版、Ｏｓｏｌ，Ａ．編（１９８０））と、凍結乾燥製剤又は水溶液の形態で混合することにより調製する。薬学的に許容される担体は、用いられる投与量及び濃度でレシピエントに対して一般に非毒性であり、これらには、リン酸、クエン酸、及び他の有機酸などの緩衝剤；アスコルビン酸及びメチオニンを含めた抗酸化剤；保存剤（オクタデシルジメチルベンジルアンモニウムクロリド；塩化ヘキサメトニウム；塩化ベンザルコニウム；ベンゼトニウム塩化物；フェノール、ブチルアルコール、又はベンジルアルコール；メチルパラベン又はプロピルパラベンなどのアル

キルパラベン；カテコール；レゾルシノール；シクロヘキサノール；３－ペンタノール；及びｍ－クレゾールなど）；低分子量（約１０残基未満）のポリペプチド；血清アルブミン、ゼラチン、又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、又はリシンなどのアミノ酸；単糖、二糖、及びグルコース、マンノース、又はデキストリンを含めた他の炭水化物；ＥＤＴＡなどのキレート化剤；スクロース、マンニトール、トレハロース、又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）；及び／又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が含まれるがこれらに限定されない。本明細書の例示的な、薬学的に許容される担体には、可溶性の中性活性ヒアルロニダーゼ糖タンパク質（ｓＨＡＳＥＧＰ）、例えば、ｒＨｕＰＨ２０（ＨＹＬＥＮＥＸ（登録商標）、Ｂａｘｔｅｒ　Ｉｎｔｅｒｎａｔｉｏｎａｌ，Ｉｎｃ．）などのヒト可溶性ＰＨ－２０ヒアルロニダーゼ糖タンパク質などの間質用薬物分散剤が更に含まれる。ｒＨｕＰＨ２０を含めたある種の例示的なｓＨＡＳＥＧＰ及び使用法は、米国特許公開第２００５／０２６０１８６号及び同第２００６／０１０４９６８号において記載されている。一態様では、ｓＨＡＳＥＧＰを、コンドロイチナーゼなどの１又は複数のさらなる糖アミノグリカナーゼと組み合わせる。

【０２１４】

例示的な凍結乾燥抗体製剤は、米国特許第６，２６７，９５８号において記載されている。水性抗体製剤には、米国特許第６，１７１，５８６号及びＷＯ２００６／０４４９０８において記載されている水性抗体製剤が含まれ、後者の製剤には、酢酸ヒスチジン緩衝剤が含まれる。

【０２１５】

本発明における製剤はまた、治療される特定の適応に必要な有効成分として、複数の有効成分、好ましくは互いに有害な影響を及ぼさない相補的活性を伴う有効成分も含有する。例えば、抗ＣＳＦ－１抗体を更に提供することが所望でありうる。このような有効成分は、意図される目的に有効な量の組合せで適切に存在する。

【０２１６】

有効成分は、例えば、コアセルベーション法又は界面重合により調製されるマイクロカプセル、例えば、それぞれ、コロイド状薬物送達系（例えば、リポソーム、アルブミンマイクロスフェア、マイクロエマルジョン、ナノ粒子、及びナノカプセル）内又はマクロエマルジョン中の、ヒドロキシメチルセルロース又はゼラチンマイクロカプセル内及びポリ（メチルメタクリレート）マイクロカプセル内に封入することができる。このような技法は、「Ｒｅｍｉｎｇｔｏｎ’ｓ　Ｐｈａｒｍａｃｅｕｔｉｃａｌ　Ｓｃｉｅｎｃｅｓ」、１６版、Ｏｓｏｌ，Ａ．編（１９８０）においても開示されている。

【０２１７】

徐放調製物を調製することもできる。適する徐放調製物の例には、抗体を含有する疎水性の固体ポリマーによる半透性マトリックスであって、成形品、例えば、フィルム又はマイクロカプセルの形態にあるマトリックスが含まれる。

【０２１８】

ｉｎ　ｖｉｖｏにおける投与のために用いられる製剤は、一般に無菌である。無菌性は、例えば、無菌濾過膜を介する濾過により、たやすく達成することができる。

【０２１９】

治療法及び治療用組成物

本明細書で提示される抗ＩＬ－３４抗体、二重特異性抗ＩＬ－３４／ＣＳＦ－１抗体、又は抗ＣＳＦ－１Ｒ抗体のうちの何れかを、治療法において用いることができる。

【０２２０】

一態様では、医薬としての使用のための抗ＩＬ－３４抗体又は抗ＣＳＦ－１Ｒ抗体が提供される。さらなる態様では、骨髄病原性免疫疾患の治療における使用のための抗ＩＬ－３４抗体又は抗ＣＳＦ－１Ｒ抗体が提供される。幾つかの実施態様では、骨髄病原性免疫疾患とは、関節リウマチ、炎症性腸疾患、多発性硬化症、全身性エリテマトーデス、ルー

プス腎炎、喘息、骨粗鬆症、ページェット病、アテローム性動脈硬化、メタボリック症候群、ＩＩ型糖尿病、ＬＳＤ（シスチン蓄積症、シアル酸蓄積症、ゴーシェ病などであるがこれらに限定されないリソソーム蓄積症）、ロザイードルフマン病、ファイサラバード組織球症が含まれるがこれらに限定されない組織球症、Ｈ症候群、インスリン依存型糖尿病を伴う色素性多毛症（ＰＨＩＤ）である。幾つかの実施態様では、治療法における使用のための抗ＩＬ－３４抗体又は抗ＣＳＦ－１Ｒ抗体が提供される。幾つかの実施態様では、本発明は、骨髄病原性免疫疾患（例えば、関節リウマチ、炎症性腸疾患、又は多発性硬化症）を有する個体を治療する方法であって、有効量の抗ＩＬ－３４抗体又は抗ＣＳＦ－１Ｒ抗体を個体へと投与することを含む方法における使用のための抗ＩＬ－３４抗体又は抗ＣＳＦ－１Ｒ抗体を提供する。幾つかの実施態様では、方法は、有効量の、例えば、下記で記載される、少なくとも一つのさらなる治療剤を個体へと投与することを更に含む。幾つかの実施態様では、本発明は、ＩＬ－３４のＣＳＦ－１Ｒへの結合の阻害における使用のための抗ＩＬ－３４抗体又は抗ＣＳＦ－１Ｒ抗体を提供する。幾つかの実施態様では、本発明は、個体におけるＩＬ－３４のＣＳＦ－１Ｒへの結合を阻害する方法であって、有効量の抗ＩＬ－３４抗体又は抗ＣＳＦ－１Ｒ抗体を個体へと投与して、ＩＬ－３４のＣＳＦ－１Ｒへの結合を阻害することを含む方法における使用のための抗ＩＬ－３４抗体又は抗ＣＳＦ－１Ｒ抗体を提供する。幾つかの実施態様では、本発明は、ＩＬ－３４の活性の中和における使用のための抗ＩＬ－３４抗体又は抗ＣＳＦ－１Ｒ抗体を提供する。幾つかの実施態様では、本発明は、個体におけるＩＬ－３４の活性を中和する方法であって、有効量の抗ＩＬ－３４抗体又は抗ＣＳＦ－１Ｒ抗体を個体へと投与して、ＩＬ－３４の活性を中和することを含む方法における使用のための抗ＩＬ－３４抗体又は抗ＣＳＦ－１Ｒ抗体を提供する。上記の実施態様のうちの何れかに従う「個体」は、ヒトであることが好ましい。

【０２２１】

さらなる態様では、本発明は、医薬の製造又は調製における抗ＩＬ－３４抗体又は抗ＣＳＦ－１Ｒ抗体の使用を提供する。幾つかの実施態様では、医薬は、骨髄病原性免疫疾患を治療するための医薬である。幾つかの実施態様では、骨髄病原性免疫疾患とは、関節リウマチ、炎症性腸疾患、多発性硬化症、全身性エリテマトーデス、ループス腎炎、喘息、骨粗鬆症、ページェット病、アテローム性動脈硬化、メタボリック症候群、ＩＩ型糖尿病、ＬＳＤ（シスチン蓄積症、シアル酸蓄積症、ゴーシェ病などであるがこれらに限定されないリソソーム蓄積症）、ロザイードルフマン病、ファイサラバード組織球症が含まれるがこれらに限定されない組織球症、Ｈ症候群、インスリン依存型糖尿病を伴う色素性多毛症（ＰＨＩＤ）である。幾つかの実施態様では、医薬は、骨髄病原性免疫疾患（例えば、関節リウマチ、炎症性腸疾患、又は多発性硬化症）を治療する方法であって、骨髄病原性免疫疾患（例えば、関節リウマチ、炎症性腸疾患、又は多発性硬化症）を有する個体へと、有効量の医薬を投与することを含む方法における使用のための医薬である。幾つかの実施態様では、方法は、有効量の、例えば、下記で記載される、少なくとも一つのさらなる治療剤を個体へと投与することを更に含む。幾つかの実施態様では、医薬は、個体におけるＩＬ－３４のＣＳＦ－１Ｒへの結合を阻害するための医薬である。幾つかの実施態様では、医薬は、個体におけるＩＬ－３４のＣＳＦ－１Ｒへの結合を阻害する方法であって、個体へと有効量の医薬を投与して、個体におけるＩＬ－３４のＣＳＦ－１Ｒへの結合を阻害することを含む方法における使用のための医薬である。幾つかの実施態様では、医薬は、個体におけるＩＬ－３４の活性を中和するための医薬である。幾つかの実施態様では、医薬は、個体におけるＩＬ－３４の活性を中和する方法であって、個体へと有効量の医薬を投与して、個体におけるＩＬ－３４の活性を中和することを含む方法における使用のための医薬である。上記の実施態様のうちの何れかに従う「個体」は、ヒトでありうる。

【０２２２】

さらなる態様では、本発明は、骨髄病原性免疫疾患を治療するための方法を提供する。幾つかの実施態様では、骨髄病原性免疫疾患とは、関節リウマチ、炎症性腸疾患、多発性硬化症、全身性エリテマトーデス、ループス腎炎、喘息、骨粗鬆症、ページェット病、ア

テローム性動脈硬化、メタボリック症候群、ＩＩ型糖尿病、ＬＳＤ（シスチン蓄積症、シアル酸蓄積症、ゴーシェ病などであるがこれらに限定されないリソソーム蓄積症）、ロザイードルフマン病、ファイサラバード組織球症が含まれるがこれらに限定されない組織球症、Ｈ症候群、インスリン依存型糖尿病を伴う色素性多毛症（ＰＨＩＤ）である。幾つかの実施態様では、方法は、骨髄病原性免疫疾患（例えば、関節リウマチ、炎症性腸疾患、又は多発性硬化症）を有する個体へと、有効量の抗ＩＬ－３４抗体又は抗ＣＳＦ－１Ｒ抗体を投与することを含む。幾つかの実施態様では、方法は、個体へと、有効量の、下記で記載される、少なくとも一つのさらなる治療剤を投与することを更に含む。上記の実施態様のうちの何れかに従う「個体」は、ヒトでありうる。

【０２２３】

さらなる態様では、本発明は、個体におけるＩＬ－３４のＣＳＦ－１Ｒへの結合を阻害するための方法を提供する。幾つかの実施態様では、方法は、個体へと、有効量の抗ＩＬ－３４抗体又は抗ＣＳＦ－１Ｒ抗体を投与して、個体におけるＩＬ－３４のＣＳＦ－１Ｒへの結合を阻害することを含む。さらなる態様では、本発明は、個体におけるＩＬ－３４の活性を中和するための方法を提供する。幾つかの実施態様では、方法は、個体へと、有効量の抗ＩＬ－３４抗体又は抗ＣＳＦ－１Ｒ抗体を投与して、個体におけるＩＬ－３４の活性を中和することを含む。幾つかの実施態様では、「個体」とは、ヒトである。

【０２２４】

一態様では、医薬としての使用のための二重特異性抗ＩＬ－３４／ＣＳＦ－１抗体が提供される。さらなる態様では、骨髄病原性免疫疾患の治療における使用のための二重特異性抗ＩＬ－３４／ＣＳＦ－１抗体が提供される。幾つかの実施態様では、骨髄病原性免疫疾患とは、関節リウマチ、炎症性腸疾患、多発性硬化症、全身性エリテマトーデス、ループス腎炎、喘息、骨粗鬆症、ページェット病、アテローム性動脈硬化、メタボリック症候群、ＩＩ型糖尿病、ＬＳＤ（シスチン蓄積症、シアル酸蓄積症、ゴーシェ病などであるがこれらに限定されないリソソーム蓄積症）、ロザイードルフマン病、ファイサラバード組織球症が含まれるがこれらに限定されない組織球症、Ｈ症候群、インスリン依存型糖尿病を伴う色素性多毛症（ＰＨＩＤ）である。幾つかの実施態様では、治療法における使用のための二重特異性抗ＩＬ－３４／ＣＳＦ－１抗体が提供される。幾つかの実施態様では、本発明は、骨髄病原性免疫疾患（例えば、関節リウマチ、炎症性腸疾患、又は多発性硬化症）を有する個体を治療する方法であって、個体へと、有効量の二重特異性抗ＩＬ－３４／ＣＳＦ－１抗体を投与することを含む方法における使用のための二重特異性抗ＩＬ－３４／ＣＳＦ－１抗体を提供する。幾つかの実施態様では、本発明は、ＩＬ－３４のＣＳＦ－１Ｒへの結合及びＣＳＦ－１のＣＳＦ－１Ｒへの結合の阻害における使用のための二重特異性抗ＩＬ－３４／ＣＳＦ－１抗体を提供する。幾つかの実施態様では、本発明は、個体におけるＩＬ－３４のＣＳＦ－１Ｒへの結合及びＣＳＦ－１のＣＳＦ－１Ｒへの結合を阻害する方法であって、個体へと、有効量の二重特異性抗ＩＬ－３４／ＣＳＦ－１抗体を投与して、ＩＬ－３４のＣＳＦ－１Ｒへの結合及びＣＳＦ－１のＣＳＦ－１Ｒへの結合を阻害することを含む方法における使用のための二重特異性抗ＩＬ－３４／ＣＳＦ－１抗体を提供する。幾つかの実施態様では、本発明は、ＩＬ－３４及び／又はＣＳＦ－１の活性の中和における使用のための二重特異性抗ＩＬ－３４／ＣＳＦ－１抗体を提供する。幾つかの実施態様では、本発明は、個体におけるＩＬ－３４及び／又はＣＳＦ－１の活性を中和する方法であって、個体へと、有効量の二重特異性抗ＩＬ－３４／ＣＳＦ－１抗体を投与して、ＩＬ－３４及び／又はＣＳＦ－１の活性を中和することを含む方法における使用のための二重特異性抗ＩＬ－３４／ＣＳＦ－１抗体を提供する。上記の実施態様のうちの何れかに従う「個体」は、ヒトであることが好ましい。

【０２２５】

さらなる態様では、本発明は、医薬の製造又は調製における、二重特異性抗ＩＬ－３４／ＣＳＦ－１抗体の使用を提供する。幾つかの実施態様では、医薬は、骨髄病原性免疫疾患を治療するための医薬である。幾つかの実施態様では、骨髄病原性免疫疾患とは、関節リウマチ、炎症性腸疾患、多発性硬化症、全身性エリテマトーデス、ループス腎炎、喘息

、骨粗鬆症、ページェット病、アテローム性動脈硬化、メタボリック症候群、ＩＩ型糖尿病、ＬＳＤ（シスチン蓄積症、シアル酸蓄積症、ゴーシェ病などであるがこれらに限定されないリソソーム蓄積症）、ロザイードルフマン病、ファイサラバード組織球症が含まれるがこれらに限定されない組織球症、H症候群、インスリン依存型糖尿病を伴う色素性多毛症（ＰＨＩＤ）である。幾つかの実施態様では、医薬は、骨髄病原性免疫疾患（例えば、関節リウマチ、炎症性腸疾患、又は多発性硬化症）を治療する方法であって、骨髄病原性免疫疾患（例えば、関節リウマチ、炎症性腸疾患、又は多発性硬化症）を有する個体へと、有効量の医薬を投与することを含む方法における使用のための医薬である。幾つかの実施態様では、医薬は、個体におけるＩＬ－３４のＣＳＦ－１Ｒへの結合及びＣＳＦ－１のＣＳＦ－１Ｒへの結合を阻害するための医薬である。幾つかの実施態様では、医薬は、個体におけるＩＬ－３４のＣＳＦ－１Ｒへの結合及びＣＳＦ－１のＣＳＦ－１Ｒへの結合を阻害する方法であって、個体へと有効量の医薬を投与して、個体におけるＩＬ－３４のＣＳＦ－１Ｒへの結合及びＣＳＦ－１のＣＳＦ－１Ｒへの結合を阻害することを含む方法における使用のための医薬である。幾つかの実施態様では、医薬は、個体におけるＩＬ－３４及び／又はＣＳＦ－１の活性を中和するための医薬である。幾つかの実施態様では、医薬は、個体におけるＩＬ－３４及び／又はＣＳＦ－１の活性を中和する方法であって、個体へと、有効量の医薬を投与して、個体におけるＩＬ－３４及び／又はＣＳＦ－１の活性を中和することを含む方法における使用のための医薬である。上記の実施態様のうちの何れかに従う「個体」は、ヒトでありうる。

【０２２６】

さらなる態様では、本発明は、骨髄病原性免疫疾患を治療するための方法を提供する。幾つかの実施態様では、骨髄病原性免疫疾患とは、関節リウマチ、炎症性腸疾患、多発性硬化症、全身性エリテマトーデス、ループス腎炎、喘息、骨粗鬆症、ページェット病、アテローム性動脈硬化、メタボリック症候群、ＩＩ型糖尿病、ＬＳＤ（シスチン蓄積症、シアル酸蓄積症、ゴーシェ病などであるがこれらに限定されないリソソーム蓄積症）、ロザイードルフマン病、ファイサラバード組織球症が含まれるがこれらに限定されない組織球症、H症候群、インスリン依存型糖尿病を伴う色素性多毛症（ＰＨＩＤ）である。幾つかの実施態様では、方法は、骨髄病原性免疫疾患（例えば、関節リウマチ、炎症性腸疾患、又は多発性硬化症）を有する個体へと、有効量の二重特異性抗ＩＬ－３４／ＣＳＦ－１抗体を投与することを含む。上記の実施態様のうちの何れかに従う「個体」は、ヒトでありうる。

【０２２７】

さらなる態様では、本発明は、個体におけるＩＬ－３４のＣＳＦ－１への結合及びＣＳＦ－１のＣＳＦ－１Ｒへの結合を阻害するための方法を提供する。幾つかの実施態様では、方法は、個体へと、有効量の二重特異性抗ＩＬ－３４／ＣＳＦ－１抗体を投与して、個体におけるＩＬ－３４のＣＳＦ－１Ｒへの結合及びＣＳＦ－１のＣＳＦ－１Ｒへの結合を阻害することを含む。さらなる態様では、本発明は、個体におけるＩＬ－３４及び／又はＣＳＦ－１の活性を中和するための方法を提供する。幾つかの実施態様では、方法は、個体へと、有効量の二重特異性抗ＩＬ－３４／ＣＳＦ－１抗体を投与して、個体におけるＩＬ－３４及び／又はＣＳＦ－１の活性を中和することを含む。幾つかの実施態様では、「個体」とは、ヒトである。

【０２２８】

さらなる態様では、本発明は、例えば、上記の治療法のうちの何れかにおける使用のための、本明細書で提示される抗ＩＬ－３４抗体、二重特異性抗ＩＬ－３４／ＣＳＦ－１抗体、又は抗ＣＳＦ－１Ｒ抗体のうちの何れかを含む薬学的製剤を提供する。幾つかの実施態様では、薬学的製剤は、本明細書で提示される抗ＩＬ－３４抗体、二重特異性抗ＩＬ－３４／ＣＳＦ－１抗体、又は抗ＣＳＦ－１Ｒ抗体のうちの何れかと、薬学的に許容される担体とを含む。別の実施態様では、薬学的製剤は、本明細書で提示される抗ＩＬ－３４抗体、二重特異性抗ＩＬ－３４／ＣＳＦ－１抗体、又は抗ＣＳＦ－１Ｒ抗体のうちの何れかと、例えば、下記で記載される、少なくとも一つのさらなる治療剤とを含む。

【０２２９】
本発明の抗体は、治療において、単独で用いることもでき、他の薬剤と組み合わせて用いることもできる。例えば、本発明の抗体は、少なくとも一つのさらなる治療剤と共に共投与することができる。幾つかの実施態様では、さらなる治療剤は、抗ＣＳＦ１－抗体である。
【０２３０】
上記で言及したこのような組合せ療法は、組合せ投与（２つ以上の治療剤を、同じ製剤中又は個別の製剤中に組み入れる）及び個別投与を包摂し、個別投与の場合、本発明の抗体の投与は、さらなる治療剤及び／又はアジュバントの投与前に行うこともでき、これらの投与と同時に行うこともでき、及び／又はこれらの投与後に行うこともできる。
【０２３１】
さらなる態様では、骨髄病原性免疫疾患の治療における使用のための抗ＩＬ－３４抗体及び抗ＣＳＦ－１抗体が提供される。幾つかの実施態様では、骨髄病原性免疫疾患とは、関節リウマチ、炎症性腸疾患、多発性硬化症、全身性エリテマトーデス、ループス腎炎、喘息、骨粗鬆症、ページェット病、アテローム性動脈硬化、メタボリック症候群、ＩＩ型糖尿病、ＬＳＤ（シスチン蓄積症、シアル酸蓄積症、ゴーシェ病などであるがこれらに限定されないリソソーム蓄積症）、ロザイードルフマン病、ファイサラバード組織球症が含まれるがこれらに限定されない組織球症、Ｈ症候群、インスリン依存型糖尿病を伴う色素性多毛症（ＰＨＩＤ）である。幾つかの実施態様では、治療法における使用のための抗ＩＬ－３４抗体及び抗ＣＳＦ－１抗体が提供される。幾つかの実施態様では、本発明は、骨髄病原性免疫疾患（例えば、関節リウマチ、炎症性腸疾患、又は多発性硬化症）を有する個体を治療する方法であって、個体へと、有効量の抗ＩＬ－３４抗体を、抗ＣＳＦ－１抗体と共に投与することを含む方法における使用のための抗ＩＬ－３４抗体及び抗ＣＳＦ－１抗体を提供する。幾つかの実施態様では、本発明は、ＩＬ－３４のＣＳＦ－１Ｒへの結合及びＣＳＦ－１のＣＳＦ－１Ｒへの結合の阻害における使用のための抗ＩＬ－３４抗体及び抗ＣＳＦ－１抗体を提供する。幾つかの実施態様では、本発明は、個体におけるＩＬ－３４のＣＳＦ－１Ｒへの結合及びＣＳＦ－１のＣＳＦ－１Ｒへの結合を阻害する方法であって、個体へと、有効量の抗ＩＬ－３４抗体を、抗ＣＳＦ－１抗体と共に投与して、ＩＬ－３４のＣＳＦ－１Ｒへの結合及びＣＳＦ－１のＣＳＦ－１Ｒへの結合を阻害することを含む方法における使用のための抗ＩＬ－３４抗体及び抗ＣＳＦ－１抗体を提供する。幾つかの実施態様では、本発明は、ＩＬ－３４及び／又はＣＳＦ－１の活性の中和における使用のための抗ＩＬ－３４抗体及び抗ＣＳＦ－１抗体を提供する。幾つかの実施態様では、本発明は、個体におけるＩＬ－３４及び／又はＣＳＦ－１の活性を中和する方法であって、個体へと、有効量の抗ＩＬ－３４抗体を、抗ＣＳＦ－１抗体と共に投与して、ＩＬ－３４及び／又はＣＳＦ－１の活性を中和することを含む方法における使用のための抗ＩＬ－３４抗体及び抗ＣＳＦ－１抗体を提供する。上記の実施態様のうちの何れかに従う「個体」は、ヒトであることが好ましい。
【０２３２】
さらなる態様では、本発明は、骨髄病原性免疫疾患を治療するための方法を提供する。幾つかの実施態様では、骨髄病原性免疫疾患とは、関節リウマチ、炎症性腸疾患、多発性硬化症、全身性エリテマトーデス、ループス腎炎、喘息、骨粗鬆症、ページェット病、アテローム性動脈硬化、メタボリック症候群、ＩＩ型糖尿病、ＬＳＤ（シスチン蓄積症、シアル酸蓄積症、ゴーシェ病などであるがこれらに限定されないリソソーム蓄積症）、ロザイードルフマン病、ファイサラバード組織球症が含まれるがこれらに限定されない組織球症、Ｈ症候群、インスリン依存型糖尿病を伴う色素性多毛症（ＰＨＩＤ）である。幾つかの実施態様では、方法は、骨髄病原性免疫疾患（例えば、関節リウマチ、炎症性腸疾患、又は多発性硬化症）を有する個体へと、有効量の抗ＩＬ－３４抗体を、抗ＣＳＦ－１抗体と共に投与することを含む。上記の実施態様のうちの何れかに従う「個体」は、ヒトでありうる。
【０２３３】

さらなる態様では、本発明は、個体におけるＩＬ－３４のＣＳＦ－１Ｒへの結合及びＣＳＦ－１のＣＳＦ－１Ｒへの結合を阻害するための方法を提供する。幾つかの実施態様では、方法は、個体へと、有効量の抗ＩＬ－３４抗体を、抗ＣＳＦ－１抗体と共に投与して、個体におけるＩＬ－３４のＣＳＦ－１Ｒへの結合及びＣＳＦ－１のＣＳＦ－１Ｒへの結合を阻害することを含む。幾つかの実施態様では、「個体」とは、ヒトである。

【０２３４】

さらなる態様では、本発明は、個体におけるＩＬ－３４及び／又はＣＳＦ－１の活性を中和するための方法を提供する。幾つかの実施態様では、方法は、個体へと、有効量の抗ＩＬ－３４抗体を、抗ＣＳＦ－１抗体と共に投与して、個体におけるＩＬ－３４及び／又はＣＳＦ－１の活性を中和することを含む。幾つかの実施態様では、「個体」とは、ヒトである。

【０２３５】

本明細書で記載される抗ＩＬ－３４抗体、抗ＣＳＦ－１Ｒ抗体、及び二重特異性抗ＩＬ－３４／ＣＳＦ－１抗体を、腫瘍の骨髄支質をターゲティングするために用いることができる。幾つかの実施態様では、癌（結腸癌、肺癌、乳癌、前立腺癌、及び子宮癌など）を治療するために抗体を用いる。幾つかの実施態様では、個体における癌を治療するために、抗体を、個体へと、別の抗癌治療と共に投与する。幾つかの実施態様では、抗癌治療は、Ｈｅｒｃｅｐｔｉｎ（登録商標）、Ａｖａｓｔｉｎ（登録商標）、又はＴａｒｃｅｖａ（登録商標）による治療である。

【０２３６】

本明細書で記載される抗ＩＬ－３４抗体、抗ＣＳＦ－１Ｒ抗体、及び二重特異性抗ＩＬ－３４／ＣＳＦ－１抗体はまた、リソソーム蓄積症（ＬＳＤ）、及び関節リウマチ、炎症性腸疾患（ＩＢＤ、例えば、クローン病、潰瘍性大腸炎）、多発性硬化症が含まれるがこれらに限定されない自己免疫疾患、アテローム性動脈硬化、心筋梗塞、及び狭心症が含まれるがこれらに限定されない血管疾患、骨粗鬆症、アルツハイマー病、糖尿病（１型及び／又は２型）、感染性疾患、並びに癌を治療するためにも用いることができる。

【０２３７】

リソソーム蓄積症（ＬＳＤ）とは、リソソーム機能の欠陥から結果として生じる代謝障害である。リソソーム蓄積症は、体内細胞の特殊な細胞小器官（リソソーム）が機能不全である場合に生じる。ＬＳＤの例には、欠陥がある／欠損するリソソームヒドロラーゼなど、欠損する／欠陥があるタンパク質により引き起こされる疾患（例えば、ガングリオシドーシス、ゴーシェ病、及び多様なニーマン－ピック病などのスフィンゴリピドーシス）、翻訳後修飾されたスルファターゼにより引き起こされる疾患（例えば、多重スルファターゼ欠損症）、欠陥がある／欠損するヌクレオチド／ヌクレオシド輸送体又はＮ－アセチルグルコサミン－１－リン酸トランスフェラーゼなどの膜輸送タンパク質により引き起こされる疾患（例えば、ＩＩ型ムコ脂質症及びＩＩＩＡ型ムコ脂質症）、欠陥がある／欠損するカテプシンＡなどの酵素保護タンパク質により引き起こされる疾患（例えば、変異型ＡＢのＧＭ２－ＡＰ欠損症、Ｃ２型ニーマン－ピック病、ＳＡＰ欠損症）、欠陥がある／欠損するＭ－ＣＳＦＲ、ＥＮＴ３、ＮＰＣ１、及びシアリンなどの膜貫通タンパク質により引き起こされる疾患（例えば、Ｃ１型ニーマン－ピック病、サラ病）が含まれるがこれらに限定されない。ＬＳＤの類型には、脂質蓄積障害（例えば、スフィンゴリピドーシス）、ガングリオシドーシス（例えば、テイ－サックス病）、大脳白質萎縮症、ムコ多糖症（ハンター症候群及びハーラー病を含めた）、糖タンパク質蓄積障害（例えば、ポンペ病）及びムコ脂質症が含まれる。

【０２３８】

以下の通りのより一般的なＬＳＤ：ＧＭ２活性化因子欠損症／ＧＭ２ガングリオシドーシス、アルファ－マンノーシドーシス、アスパルチルグルコサミン尿症、コレステリルエステル蓄積症、慢性ヘキソヘキソサミニダーゼＡ欠損症、シスチン症、ダノン病、ファブリー病、ファーバー病、フコシドーシス、ガラクトシアリドーシス、ゴーシェ病（Ｉ型、ＩＩ型、ＩＩＩ型）、ＧＭ１ガングリオシドーシス（乳児型、後期乳児型／若年型、成年

型／慢性）、Ｉ細胞病／ＩＩ型ムコ脂質症、乳児型遊離シアル酸蓄積症／ＩＳＳＤ、若年型ヘキソヘキソサミニダーゼＡ欠損症、クラッベ病（乳児期発症型、遅発型）、異染性白質ジストロフィー、ムコ多糖症による障害（例えば、偽ハーラー多発性ジストロフィー／ＩＩＩＡ型ムコ脂質症、ＭＰＳＩ（Ｉ型ムコ多糖症）であるハーラー症候群、ＭＰＳＩであるシャイエ症候群、ＭＰＳ　Ｉハーラー－シャイエ症候群、ＭＰＳ　ＩＩであるハンター症候群、Ａ型サンフィリポ症候群／ＭＰＳ　ＩＩＩＡ、Ｂ型サンフィリポ症候群／ＭＰＳ　ＩＩＩＢ、Ｃ型サンフィリポ症候群／ＭＰＳ　ＩＩＩＣ、Ｄ型サンフィリポ症候群／ＭＰＳ　ＩＩＩＤ、Ａ型モルキオ症候群／ＭＰＳ　ＩＶＡ、Ｂ型モルキオ症候群／ＭＰＳ　ＩＶＢ、ＭＰＳ　ＩＸであるヒアルロニダーゼ欠損症、ＭＰＳ　ＶＩであるマロトー－ラミー症候群、ＭＰＳ　ＶＩＩであるスライ症候群、Ｉ型ムコ脂質症／シアリドーシス、ＩＩＩＣ型ムコ脂質症、ＩＶ型ムコ脂質症）、多重スルファターゼ欠損症、ニーマン－ピック病（Ａ型、Ｂ型、Ｃ型）、ニューロンセロイド脂褐素症（例えば、ＣＬＮ６疾患（非定型後期乳児型、遅発型変異体、早期若年型）、バッテン－シュピールマイヤー－フォークト病／若年型ＮＣＬ／ＣＬＮ３疾患、フィンランド変異体による後期乳児型ＣＬＮ５、ヤンスキー－ビールショースキー病／後期乳児型ＣＬＮ２／ＴＰＰ１疾患、クーフス病／成年発症型ＮＣＬ／ＣＬＮ４疾患、ノーザンエピレプシー／変異体後期乳児型ＣＬＮ８、サンタブォーリー－ハルチア病／乳児型ＣＬＮ１／ＰＰＴ疾患、ベーター－マンノーシドーシス）、ポンペ病／ＩＩ型グリコーゲン蓄積症、濃化異骨症、サンドホッフ病／成年発症型／ＧＭ２ガングリオシドーシス、サンドホッフ病／ＧＭ２ガングリオシドーシス（乳児型）、サンドホッフ病／ＧＭ２ガングリオシドーシス（若年型）、シンドラー病、サラ病／シアル酸蓄積症、テイ－サックス病／ＧＭ２ガングリオシドーシス、及びウォルマン病も知られている。

【０２３９】

本明細書で記載される「自己免疫疾患」とは、個体自身の組織もしくは共分泌物から生じ、これに対する疾患もしくは障害、又はその症状もしくはそこから生じる状態である。自己免疫疾患又は障害の例には、関節炎（急性関節リウマチ、慢性関節リウマチなどの関節リウマチ、通風性関節炎、急性通風性関節炎、慢性炎症性関節炎、変性性関節炎、感染性関節炎、ライム関節炎、増殖性関節炎、乾癬性関節炎、脊椎性関節炎、及び若年発症型関節リウマチ、骨関節炎、慢性進行性関節炎、変形性関節炎、慢性原発性多発性関節炎、反応性関節炎、及び強直性脊椎炎）、炎症性過剰増殖性皮膚疾患、尋常性乾癬、滴状乾癬、膿疱性乾癬、及び爪乾癬などの乾癬、接触性皮膚炎、慢性接触性皮膚炎、アレルギー性皮膚炎、アレルギー性接触性皮膚炎、疱疹状皮膚炎、及びアトピー性皮膚炎を含めた皮膚炎、Ｘ連鎖高ＩｇＭ症候群、慢性アレルギー性蕁麻疹、及び慢性自己免疫性蕁麻疹を含めた慢性特発性蕁麻疹などの蕁麻疹、多発性筋炎／皮膚筋炎、若年型皮膚筋炎、中毒性表皮剥離症、強皮症（全身性強皮症を含めた）、全身性硬化症、脊椎眼ＭＳ、原発性進行性ＭＳ（ＰＰＭＳ）、及び再発寛解型ＭＳ（ＲＲＭＳ）などの多発性硬化症（ＭＳ）、進行性全身性硬化症、アテローム性動脈硬化、動脈硬化症、播種性硬化症、及び失調性硬化症などの硬化症、炎症性腸疾患（ＩＢＤ）（例えば、クローン病、自己免疫介在性消化管疾患、潰瘍性大腸炎（ｕｌｃｅｒａｔｉｖｅ　ｃｏｌｉｔｉｓ、ｃｏｌｉｔｉｓ　ｕｌｃｅｒｏｓａ）、顕微鏡的大腸炎、コラーゲン性大腸炎、大腸ポリープ、壊死性腸炎、及び全層性大腸炎などの大腸炎、及び自己免疫性炎症性腸疾患）、壊疽性膿皮症、結節性紅斑、原発性硬化性胆管炎、上強膜炎、成年型呼吸逼迫症候群又は急性呼吸逼迫症候群（ＡＲＤＳ）を含めた呼吸逼迫症候群、髄膜炎、ブドウ膜の全部又は一部の炎症、虹彩炎、脈絡膜炎、自己免疫性血液障害、リウマチ様脊椎炎、突発性難聴、アナフィラキシー並びにアレルギー性及びアトピー性鼻炎などのＩｇＥ介在性疾患、ラスムッセン脳炎並びに辺縁系脳炎及び／又は脳幹脳炎などの脳炎、前部ブドウ膜炎、急性前部ブドウ膜炎、肉芽腫性ブドウ膜炎、非肉芽腫性ブドウ膜炎、水晶体起因性ブドウ膜炎、後部ブドウ膜炎、又は自己免疫性ブドウ膜炎などのブドウ膜炎、原発性ＧＮ、免疫介在性ＧＮ、膜性ＧＮ（膜性腎症）、特発性膜性ＧＮ又は特発性膜性腎症、Ｉ型膜性増殖性ＧＮ及びＩＩ型膜性増殖性ＧＮを含めた膜増殖性（ｍｅｍｂｒａｎｏ－ｐｒｏｌｉｆｅｒａｔｉｖｅ）又は膜性増殖性（ｍｅ

ｍｂｒａｎｏｕｓ ｐｒｏｌｉｆｅｒａｔｉｖｅ）ＧＮ（ＭＰＧＮ）、急速進行性ＧＮなどの慢性糸球体腎炎又は急性糸球体腎炎など、ネフローゼ症候群を伴う糸球体腎炎（ＧＮ）及びネフローゼ症候群を伴わないＧＮ、アレルギー性状態、アレルギー反応、アレルギー性湿疹又はアトピー性湿疹を含めた湿疹、気管支喘息（ａｓｔｈｍａ ｂｒｏｎｃｈｉａｌｅ、ｂｒｏｎｃｈｉａｌ ａｓｔｈｍａ）及び自己免疫性喘息などの喘息、Ｔ細胞の浸潤及び慢性炎症性応答を伴う状態、慢性肺炎症性疾患、自己免疫性心筋炎、白血球接着不全症、皮膚性ＳＬＥなどの全身性エリテマトーデス又は全身性紅斑性狼瘡（ＳＬＥ）、亜急性皮膚性エリテマトーデス、新生児ループス症候群（ＮＬＥ）、播種性エリテマトーデス、ループス（ループス腎炎、ループス脳炎、小児性ループス、非腎性ループス、腎外性ループス、円板状ループス、円形脱毛症を含めた）、小児性インスリン依存型糖尿病（ＩＤＤＭ）を含めた若年発症型（Ｉ型）糖尿病、成年発症型糖尿病（ＩＩ型糖尿病）、自己免疫性糖尿病、特発性尿崩症、サイトカイン及びＴリンパ球により媒介される急性過敏性及び遅発性過敏性と関連する免疫応答、結核、サルコイドーシス、リンパ腫様肉芽腫症、ウェゲナー肉芽腫症を含めた肉芽腫症、無顆粒球症、血管炎（ｖａｓｃｕｌｉｔｉｓ）（大型血管炎（リウマチ性多発性筋痛及び巨細胞性動脈炎又は高安動脈炎を含めた）、中型血管炎（川崎病及び結節性多発性動脈炎を含めた）、顕微鏡的多発性動脈炎、ＣＮＳ血管炎、壊死性血管炎、皮膚性血管炎、又は過敏性血管炎、全身性壊死性血管炎、及びチャーグ－シュトラウス血管炎又はチャーグ－シュトラウス症候群（ＣＳＳ）などのＡＮＣＡ関連血管炎を含めた）を含めた血管炎（ｖａｓｃｕｌｉｔｉｄｅｓ）、側頭動脈炎、再生不良性貧血、自己免疫性再生不良性貧血、クームス陽性貧血、ダイアモンドブラックファン貧血、溶血性貧血又は自己免疫性溶血性貧血（ＡＩＨＡ）を含めた免疫溶血性貧血、悪性貧血（ｐｅｒｎｉｃｉｏｕｓ ａｎｅｍｉａ（ａｎｅｍｉａ ｐｅｒｎｉｃｉｏｓａ））、アジソン病、真正赤血球性貧血又は赤芽球癆（ＰＲＣＡ）、因子ＶＩＩＩ欠損症、Ａ型血友病、自己免疫性好中球減少症、汎血球減少症、白血球減少症、白血球漏出を伴う疾患、ＣＮＳ炎症性障害、敗血症、外傷、又は出血に続発する多臓器不全症候群などの多臓器不全症候群、抗原－抗体複合体介在性疾患、抗糸球体基底膜疾患、抗リン脂質抗体症候群、アレルギー性腎炎、ベーチェット病（Ｂｅｃｈｅｔ’ｓ ｄｉｓｅａｓｅ又はＢｅｈｃｅｔ’ｓ ｄｉｓｅａｓｅ）、キャッスルマン症候群、グッドパスチャー症候群、レイノー症候群、シェーグレン症候群、スチーブンス－ジョンソン症候群、水疱性類天疱瘡及び皮膚類天疱瘡などの類天疱瘡、天疱瘡（を含めた尋常性天疱瘡、落葉状天疱瘡、粘膜性天疱瘡（粘膜性類天疱瘡）、及び紅斑性天疱瘡）、自己免疫性多腺性内分泌障害、ライター病又はライター症候群、免疫複合体腎炎、抗体介在性腎炎、視神経脊髄炎、ＩｇＭ多発神経障害又はＩｇＭ介在性神経障害などの多発神経障害、慢性神経障害、血栓性血小板減少性紫斑病（ＴＴＰ）、及び慢性ＩＴＰ又は急性ＩＴＰを含めた特発性血小板減少性紫斑病（ＩＴＰ）など、自己免疫性血小板減少症又は免疫介在性血小板減少症を含めた血小板減少症（例えば、心筋梗塞患者が発症する）、自己免疫性精巣炎及び自己免疫性卵巣炎を含めた精巣及び卵巣の自己免疫疾患、原発性甲状腺機能低下症、副甲状腺機能低下症、自己免疫性甲状腺炎、橋本病、慢性甲状腺炎（橋本甲状腺炎）、又は亜急性甲状腺炎などの甲状腺炎、自己免疫性甲状腺疾患、特発性甲状腺機能低下症、グレーブス病、自己免疫性多腺性症候群（又は多腺性内分泌障害症候群）などの多腺性症候群を含めた自己免疫性内分泌疾患、ランバート－イートン筋無力症候群又はイートン－ランバート症候群、スティッフマン症候群又はスティッフパーソン症候群などの傍腫瘍性神経症候群を含めた傍腫瘍性症候群、アレルギー性脳脊髄炎（ａｌｌｅｒｇｉｃ ｅｎｃｅｐｈａｌｏｍｙｅｌｉｔｉｓ又はｅｎｃｅｐｈａｌｏｍｙｅｌｉｔｉｓ ａｌｌｅｒｇｉｃａ）及び実験的アレルギー性脳脊髄炎（ＥＡＥ）などの脳脊髄炎、胸腺腫関連重症筋無力症などの重症筋無力症、小脳変性症、神経性筋緊張、オプソクローヌス又はオプソクローヌス－ミオクローヌス症候群（ＯＭＳ）、及び感覚神経障害、多巣性運動神経障害、シーハン症候群、自己免疫性肝炎、慢性肝炎、ルポイド肝炎、巨細胞性肝炎、慢性活動性肝炎又は自己免疫性慢性活動性肝炎、リンパ球様間質性肺炎、非特異性間質性肺炎（ＮＳＩＰ）と対比される閉塞性細気管支炎（非移植）、ギラン－バレー症候群、ベルジェ病（ＩｇＡ腎症）、特発性Ｉｇ

Ａ腎症、線状ＩｇＡ皮膚病、原発性胆汁性肝硬変、肺硬変、自己免疫性腸症症候群、セリアック病（Ｃｅｌｉａｃ ｄｉｓｅａｓｅ、Ｃｏｅｌｉａｃ ｄｉｓｅａｓｅ）、セリアックスプルー（グルテン性腸症）、不応性スプルー、特発性スプルー、寒冷グロブリン血症、筋委縮性側索硬化症（ＡＬＳ；ルーゲーリック病）、冠動脈疾患、自己免疫性内耳疾患（ＡＩＥＤ）、自己免疫性難聴などの自己免疫性耳疾患、オプソクローヌス－ミオクローヌス症候群（ＯＭＳ）、不応性多発性軟骨炎又は再発性多発性軟骨炎などの多発性軟骨炎、肺胞タンパク症、アミロイドーシス、強膜炎、非癌性リンパ球増加症、単クローン性Ｂ細胞性リンパ球増加症（例えば、良性単クローン性ガンマグロブリン血症、及び意義不明の単クローン性ガンマグロブリン血症；ＭＧＵＳ）が含まれる原発性リンパ球増加症、末梢神経障害、傍腫瘍性症候群、てんかん、片頭痛、不整脈、筋障害、難聴、失明、周期性四肢麻痺、及びＣＮＳのチャネル病などのチャネル病、自閉症、炎症性筋疾患、巣状分節性糸球体硬化症（ＦＳＧＳ）、内分泌性眼障害、ブドウ膜網膜炎、脈絡網膜炎、自己免疫性肝障害、線維筋痛症、多発性内分泌不全症、シュミット症候群、副腎炎、胃萎縮、初老性認知症、自己免疫性脱髄疾患などの脱髄疾患、糖尿病性腎症、ドレスラー症候群、円形脱毛症、クレスト症候群（石灰症、レイノー現象、食道運動障害、強指症、及び毛細管拡張症）、男性自己免疫性不妊症及び女性自己免疫性不妊症、混合性結合組織病、シャーガス病、リウマチ熱、反復性流産、農夫肺、多形性紅斑、心切開術後症候群、クッシング症候群、愛鳥家肺、アレルギー性肉芽腫性血管炎、良性リンパ球性血管炎、アルポート症候群、アレルギー性肺胞隔炎及び線維化性肺胞隔炎などの肺胞隔炎、間質性肺疾患、輸血反応、ハンセン病、マラリア、リーシュマニア症、キパノソミアシス（ｋｙｐａｎｏｓｏｍｉａｓｉｓ）、住血吸虫症、回虫症、アスペルギルス症、サンプター症候群、カプラン症候群、デング熱、心内膜炎、心内膜心筋線維症、びまん性間質性肺線維症、間質性肺線維症、特発性肺線維症、嚢胞線維症、眼内炎、持久性隆起性紅斑、胎児赤芽球症、好酸球性筋膜炎、シャルマン症候群、フェルティ症候群、フィラリア症、慢性毛様体炎、異時性毛様体炎、虹彩毛様体炎、又はフックス毛様体炎などの毛様体炎、ヘノッホ－シェーンライン紫斑病、ヒト免疫不全ウイルス（ＨＩＶ）感染症、エコーウイルス感染症、心筋症、アルツハイマー病、パルボウイルス感染症、風疹ウイルス感染症、ワクチン接種後症候群、先天性風疹感染症、エプスタイン－バーウイルス感染症、ムンプス、エバンス症候群、自己免疫性性腺不全症、シドナム舞踏病、溶連菌感染後腎炎、閉塞性血栓性血管炎、甲状腺中毒症、脊髄癆、脈絡膜炎、巨細胞性多発筋痛症、内分泌性眼障害、慢性過敏性肺臓炎、乾性角結膜炎、流行性角結膜炎、特発性ネフローゼ症候群、微小変化型腎症、良性家族性及び虚血再灌流傷害、網膜自己免疫病、関節炎、気管支炎、慢性閉塞性気道疾患、ケイ肺症、アフタ、アフタ性口内炎、動脈硬化性障害、無精子症、自己免疫性溶血、ベック病、寒冷グロブリン血症、デュピュイトラン拘縮、水晶体過敏性眼内炎、アレルギー性腸炎、らい性結節性紅斑、特発性顔面神経麻痺、慢性疲労症候群、リウマチ熱、ハンマン－リッチ病、感覚神経性難聴、発作性ヘモグロビン尿症、性腺機能低下症、限局性回腸炎、白血球減少症、感染性単核球症、横断性脊髄炎、原発性特発性粘液水腫、ネフローゼ、交感性眼炎、肉芽腫性精巣炎、膵炎、急性多発性神経根炎、壊疽性膿皮症、ドケルバン甲状腺炎、後天性脾臓委縮症、抗精子抗体に起因する不妊症、非悪性胸腺腫、めまい、ＳＣＩＤ及びエプスタイン－バーウイルス関連疾患、後天性免疫不全症候群（ＡＩＤＳ）、リーシュマニア（Ｌｅｓｉｈｍａｎｉａ）属寄生虫症などの寄生虫症、中毒性ショック症候群、食中毒、Ｔ細胞の浸潤を伴う状態、白血球接着欠損症、サイトカイン及びＴリンパ球により媒介される急性及び遅発性の過敏症と関連する免疫応答、白血球漏出を伴う疾患、多臓器不全症候群、抗原－抗体複合体介在性疾患、抗糸球体基底膜疾患、アレルギー性腎炎、自己免疫性多腺性内分泌障害、卵巣炎、原発性粘液水腫、自己免疫性萎縮性胃炎、交感性眼炎、リウマチ性疾患、混合性結合組織病、ネフローゼ症候群、膵島炎、多腺性内分泌不全症、末梢神経障害、自己免疫性多腺性症候群Ｉ型、成年期発症型特発性副甲状腺機能低下症（ＡＯＩＨ）、全頭性脱毛症、拡張型心筋症、後天性表皮水疱症（ＥＢＡ）、ヘモクロマトーシス、心筋炎、ネフローゼ症候群、原発性硬化性胆管炎、化膿性副鼻腔炎又は非化膿性副鼻腔炎、急性副鼻腔炎又は慢性副鼻腔炎、篩骨洞炎、前頭洞炎、上顎洞炎、又は

蝶形骨洞炎、好酸球増多症、肺浸潤性好酸球増多症、好酸球増多性筋痛症候群、レフラー症
候群、慢性好酸球性肺炎、熱帯性肺好酸球増多症、気管支肺アスペルギルス症、アスペルギルス腫、又は好酸球を含有する肉芽腫などの好酸球関連障害、アナフィラキシー、血清反応陰性脊椎関節炎、多腺性内分泌性自己免疫疾患、硬化性胆管炎、強膜炎、上強膜炎、慢性粘膜皮膚カンジダ症、ブルトン症候群、乳児期一過性低ガンマグロブリン血症、ウィスコット－アルドリッチ症候群、毛細管拡張性運動失調症、膠原病と関連した自己免疫性障害、リウマチ、神経疾患、虚血再灌流障害、血圧反応の低減、血管機能不全、血管拡張症、組織損傷、心血管虚血症、痛覚過敏、脳虚血症、及び血管新生に随伴する疾患、アレルギー性過敏性障害、糸球体腎炎、再灌流傷害、心筋組織又は他の組織の再灌流傷害、急性炎症性成分を伴う皮膚疾患、急性化膿性髄膜炎又は他の中枢神経系炎症性障害、眼球炎症性障害及び眼窩炎症性障害、顆粒球輸血関連症候群、サイトカイン誘導毒性、急性漿液性炎症、慢性難治性炎症、腎盂炎、肺硬変、糖尿病性網膜症、糖尿病性大動脈障害、動脈内過形成、消化性潰瘍、弁膜炎、並びに子宮内膜症が含まれるがこれらに限定されない。

【０２４０】

本発明の抗体（及び任意のさらなる治療剤）は、非経口投与、肺内投与、及び鼻腔内投与、並びに、局所治療に所望の場合、病変内投与を含めた、任意の適切な手段により投与することができる。非経口注入には、筋内投与、静脈内投与、動脈内投与、腹腔内投与、又は皮下投与が含まれる。投薬は、任意の適する経路、例えば、投与が短期であるのか長期であるのかに部分的に依存して、静脈内注射又は皮下注射などの注射により可能である。本明細書では、多様な時点にわたる単回又は複数回の投与、ボーラス投与、及びパルス注入が含まれるがこれらに限定されない、多様な投薬スケジュールが想定される。

【０２４１】

本発明の抗体は、適正な医療行為にのっとった形で調合、投薬、及び投与されるであろう。この文脈における検討のための因子には、治療される特定の障害、治療される特定の哺乳動物、個々の患者の臨床状態、障害の原因、薬剤の送達部位、投与法、投与のスケジュール決定、及び医療従事者に知られている他の因子が含まれる。抗体は、その必要はないが、場合によって、問題となる障害を防止又は治療するのに現時点で用いられている１又は複数の薬剤と共に調合される。このような他の薬剤の有効量は、製剤中に存在する抗体の量、障害又は処置の種類、及び上記で論じた他の因子に依存する。このような他の薬剤は一般に、本明細書で記載される同じ投与量で、かつ、本明細書で記載される投与経路により、もしくは本明細書で記載される投与量の約１～９９％で、又は適切であることが経験的／臨床的に決定されている任意の投与量で、かつ、任意の経路を介して用いる。

【０２４２】

疾患を防止又は治療するために、本発明の抗体の適切な投与量（単独で用いる場合、又は１又は複数の他のさらなる治療剤と組み合わせて用いる場合の）は、治療される疾患の種類、抗体の種類、疾患の重症度及び経過、抗体が防止的目的で投与されるのか、治療的目的で投与されるのか、既往の治療、患者の臨床的既往歴及び抗体に対する応答、並びに主治医の裁量に依存するであろう。抗体は、一度に、又は一連の処置にわたり、適切な形で患者へと投与する。疾患の種類及び重症度に応じて、約１μｇ／ｋｇ～１５ｍｇ／ｋｇ（例えば、０．１ｍｇ／ｋｇ～１０ｍｇ／ｋｇ）の抗体が、例えば、１回又は複数回の個別の投与による場合であれ、持続的注入による場合であれ、患者へと投与するための初期の候補投与量でありうる。１つの典型的な毎日の投与量となれば、上記で言及した因子に応じて、約１μｇ／ｋｇ～１００ｍｇ／ｋｇ以上の範囲でありうるであろう。数日間以上にわたる反復投与では、状態に応じて、治療は一般に、疾患症状の所望の抑制が生じるまで維持することになろう。１つの例示的な抗体の投与量は、約０．０５ｍｇ／ｋｇ～約１０ｍｇ／ｋｇの範囲であろう。したがって、約０．５ｍｇ／ｋｇ、２．０ｍｇ／ｋｇ、４．０ｍｇ／ｋｇ、又は１０ｍｇ／ｋｇ（又はこれらの任意の組合せ）の１回用量又は複数回用量を、患者へと投与することができる。このような用量は、間欠的に、例えば、毎週又は３週間ごとに（例えば、患者に、約２～約２０回、又は、例えば、約６回用量の抗体

を投与するように）投与することができる。初回の高負荷用量に続いて、１回又は複数回の低用量を投与することができる。例示的な投薬レジメンは、投与することを含む。しかし、他の投与レジメンも有用でありうる。本療法の進捗状況は、従来の技法及びアッセイにより容易にモニタリングされる。

【０２４３】

製造品又はキット

本発明の別の態様では、上記で記載した障害を治療、防止、及び／又は診断するのに有用な材料を含有する製造品又はキットが提供される。製造品は、容器及び容器上の表示又は容器に付随する添付文書を含む。適切な容器には、例えば、ボトル、バイアル、シリンジ、ＩＶ溶液用バッグなどが含まれる。容器は、ガラス又はプラスチックなど、様々な材料から形成することができる。容器は、それ自体で、又は別の組成物と組み合わせて、状態を治療、防止、及び／又は診断するために有効な組成物を保持し、滅菌の接続ポートを有しうる（例えば、容器は、皮下注射針により穿刺可能な止栓を有する静脈内注入溶液用のバッグ又はバイアルでありうる）。組成物中の少なくとも一つの活性薬剤は、本発明の抗体である。表示又は添付文書は、組成物が、選り抜きの状態を治療するために用いられることを示す。また更に、製造品は、（ａ）本発明の抗体を含む組成物をその中に含有する第１の容器；及び（ｂ）細胞傷害剤又は他の形で治療的な薬剤を含む組成物をその中に含有する第２の容器を含みうる。本発明のこの実施態様における製造品は、組成物を、用いて、特定の状態を治療しうることを示す添付文書も更に含みうる。幾つかの実施態様では、製造品は、本明細書で記載される抗ＩＬ－３４抗体を含む。幾つかの実施態様では、製造品は、本明細書で記載される二重特異性ＩＬ－３４／ＣＳＦ－１抗体を含む。幾つかの実施態様では、製造品は、本明細書で記載される抗ＣＳＦ－１Ｒ抗体を含む。幾つかの実施態様では、製造品は、本明細書で記載される抗ＩＬ－３４抗体及び抗ＣＳＦ－１抗体を含む。代替的に、又は加えて、製造品は、注射用静菌水（ＢＷＦＩ）、リン酸緩衝生理食塩液、リンゲル液及びデキストロース溶液など、薬学的に許容される緩衝剤を含む第２の（又は第３の）容器を更に含みうる。製造品には更に、他の緩衝剤、希釈剤、フィルター、注射針、及びシリンジを含め、販売上の観点及び使用者の観点から所望される他の材料も組み入れることができる。

【実施例】

【０２４４】

以下は、本発明の方法及び組成物の実施例である。上記で提示した一般的な記載を踏まえ、他の多様な実施態様も実施しうることが理解される。

【０２４５】

実施例１：ＩＬ－３４、ＩＬ－３４／ＣＳＦ－１Ｒ複合体、及びＩＬ－３４／抗体複合体の構造

方法

タンパク質の発現及び精製

Ｃ末端のＦｌａｇタグ又はＨｉｓ６タグと融合させたヒトＩＬ－３４の活性コア（ｈＩＬ－３４ｓでは、残基Ｎ２１～Ｖ１９３であり、ｈＩＬ－３４ｆｌでは、残基Ｎ２１～Ｐ２４２である）、及びＣ末端のＨｉｓ６タグと接合されたヒトＣＳＦ－１Ｒの細胞外ドメイン（ドメインＤ１～Ｄ３では、残基２０～２９９であり、ドメインＤ１～Ｄ５では、残基２０～５１２である）のコード配列を、ｐＡｃＧＰ６７ベクター（ＢＤ　Ｂｉｏｓｃｉｅｎｃｅｓ）へとクローニングした。組換えバキュロウイルスは、ｓｆ９細胞を、製造元（Ｐｈａｒｍｉｎｇｅｎ）の指示書に従い、ＢａｃｕｌｏＧｏｌｄ（商標）Ｅｘｐｒｅｓｓｉｏｎ　Ｓｙｓｔｅｍを用いて、ＥＳＦ　９２１培地（Ｅｘｐｒｅｓｓｉｏｎ　Ｓｙｓｔｅｍ　ＬＬＣ、Ｗｏｏｄｌａｎｄ、ＣＡ）中のｐＡｃＧＰ６７Ａ構築物及び直鎖化されたバキュロウイルスＤＮＡで共トランスフェクトすることにより創成した。ウイルスは、３ラウンドの増幅を介して発生させ、４ｍｌのラウンド３原液を用いて、１ｍｌ当たり２×１０^{6}個の細胞の密度で、１リットルのＴｎｉ．ＰＲＯ細胞に感染させた。細胞は、２７℃で４８時間にわたり成長させ、遠心分離により培地から除去した。上清を細胞から除

去し、５０ｍＭのトリス－ＨＣｌ、ｐＨ７．５中に１ｍＭのＮｉＣｌ$_2$、５ｍＭのＣａＣｌ$_2$を補充した。上清中のタンパク質は、重力流を用いてＮｉ－ＮＴＡカラム（Ｑｉａｇｅｎ）により捕捉し、３０ｍｌの洗浄緩衝液（５０ｍＭのトリス－ＨＣｌ、ｐＨ７．５、３００ｍＭのＮａＣｌ、１０ｍＭのイミダゾール）で洗浄し、溶出緩衝液（５０ｍＭのトリス－ＨＣｌ、ｐＨ７．５、３００ｍＭのＮａＣｌ、３００ｍＭのイミダゾール）でカラムから溶出させた。タンパク質を濃縮し、５ｍＭのトリス－ＨＣｌ、ｐＨ７．５及び１００ｍＭのＮａＣｌで平衡化させたサイズ除外カラム（ＨｉＬｏａｄ　１６／６０　Ｓｕｐｅｒｄｅｘ　２００、ＧＥ　Ｂｉｏｓｃｉｅｎｃｅｓ）により更に精製した。対象のタンパク質を含有する画分は、ＳＤＳ－ＰＡＧＥにより解析し、プールし、濃度は、２８０ｎｍにおける吸光度により決定した。

【０２４６】

分析用ゲル濾過

１ｍｇ／ｍｌの濃度のタンパク質試料５００μｌを、ＰＢＳで平衡化させたＳｕｐｅｒｄｅｘ　２００　１０／３００　ＧＬカラム（ＧＥ　Ｂｉｏｓｃｉｅｎｃｅｓ）へと、逐次的に注入した。同じカラムを、タンパク質の分子量基準物質（Ｂｉｏ－Ｒａｄ）の混合物により較正し、対象のタンパク質の溶出容量を用いて、それらの対応する分子量を推定した。

【０２４７】

等温滴定熱量測定

ＩＴＣ実験の前に、Ｓｕｐｅｒｄｅｘ　２００　１０／３００　ＧＬカラムを用いて、全てのタンパク質試料を、ＰＢＳ緩衝剤へと緩衝剤交換して、緩衝液の希釈効果を最小化した。ＶＰ－ＩＴＣ　２００熱量測定計（ＭｉｃｒｏＣａｌ、Ｎｏｒｔｈａｍｐｔｏｎ、ＭＡ）上で、熱量測定のための滴定を実行し、ＭｉｃｒｏＣａｌ　Ｏｒｉｇｉｎ　７．０ソフトウェアでデータを処理した。注入物質であるＩＬ－３４タンパク質又はＣＳＦ－１タンパク質を、ＣＳＦ－１Ｒ　Ｄ１～Ｄ３又はＣＳＦ－１Ｒ　Ｄ１～Ｄ５へと、受容体が完全に飽和するまで、多数回の注入過程にわたり添加した。注入物質であるＣＳＦ－１Ｒ　Ｄ１～Ｄ３又はＤ１～Ｄ５を、ＩＬ－３４、ＣＳＦ－１、又はＩＬ－３４／ＣＳＦ－１Ｒ　Ｄ１～Ｄ３複合体を含有する細胞へと、受容体が完全に飽和するまで、多数回の注入過程にわたり添加した。

【０２４８】

Ｂｉｏ－Ｌａｙｅｒ干渉（ＢＬＩ）を用いるアフィニティー測定

ＩＬ－３４又はＣＳＦ－１の、ＣＳＦ－１Ｒ　Ｄ１～Ｄ３への結合

Ｏｃｔｅｔ　ＲＥＤ３８４（商標）ＢＬＩ測定器（ｆｏｒｔｅＢｉｏ）を用いて、結合アッセイを実行した。ビオチン化ＩＬ－３４又はビオチン化ＣＳＦ－１を、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上に固定化し、洗浄し、ＣＳＦ－１Ｒ　Ｄ１～Ｄ３の４倍の希釈系列（ＩＬ－３４のためには、１６００ｎＭ～２５ｎＭであり、ＣＳＦ－１のためには、３２００ｎＭ～５０ｎＭである）を含有する反応緩衝液（１倍濃度の反応速度アッセイ緩衝液、ｆｏｒｔｅＢｉｏ；型番１８－５０３２）へと移した。結合が定常状態に達するまで、会合反応をモニタリングした。その後、結合した材料を、反応緩衝液へと移し、解離反応をモニタリングして、サイトカインとＣＳＦ－１Ｒ　Ｄ１～Ｄ３との間の可逆性の結合を確認した。会合速度（k_{on}）及び解離速度（k_{off}）は、単純な単一部位結合式を用いて計算した。平衡解離定数（K_d）は、比k_{off}/k_{on}として計算した。結合反応速度は、３０℃で測定し、試料は、１０００ｒｐｍで撹拌した。

【０２４９】

また、ＢＩＡＣＯＲＥ３０００を用いて、抗体アフィニティーも査定した。アフィニティーは一般に、ＢＬＩ測定と符合した。抗ヒトＩＬ－３４　ＩｇＧは、約２５０反応単位（ＲＵ）を達成するように、ＣＭ５センサーチップ上にコーティングされた、マウス抗ヒトＩｇＧにより捕捉した。反応速度を測定するために、ヒトＩＬ－３４及びマウスＩＬ－３４の２倍の希釈系列（３．９ｎＭ～５００ｎＭ）を、２５℃のＰＢＴ緩衝液（０．０５％のＴｗｅｅｎ　２０を含むＰＢＳ）中に、３０ｍｌ／分の流量で注入した。会合速度（

k_{on}）及び解離速度（k_{off}）は、単純一対一ラングミュア結合モデル（ＢＩＡｃｏｒｅ Ｅｖａｌｕａｔｉｏｎ Ｓｏｆｔｗａｒｅ ｖｅｒｓｉｏｎ ３．２）を用いて計算した。平衡解離定数（K_D）は、比k_{off}／k_{on}として計算した。

【０２５０】

結晶化及び構造決定

ｈＩＬ－３４ｓ＿ＣＦｌａｇ／ＹＷ４０５．３ Ｆａｂ

等モル比のｈＩＬ－３４ｓ＿ＣＦｌａｇとＹＷ４０５．３ Ｆａｂとを混合し、ＨｉＬｏａｄ １６／６０ Ｓｕｐｅｒｄｅｘ ２００カラムを用いる最後のゲル濾過ステップにかけ、３０ｍｇ／ｍｌまで濃縮してから、結晶化試験を行った。ｈＩＬ－３４ｓ＿ＣＦｌａｇ／ＹＷ４０５．３ Ｆａｂ複合体の斜方晶は、１９℃で、０．２Ｍの酒石酸カリウムナトリウム四水和物、２０％ｗ／ｖのポリエチレングリコール３，３５０を含有するＨａｍｐｔｏｎ Ｒｅｓｅａｒｃｈ Ｉｎｄｅｘ ＨＴ Ｈ０２（８６）から成長させた。

【０２５１】

ｈＩＬ－３４ｓ＿ＣＦｌａｇ

ｈＩＬ－３４ｓ＿ＣＦｌａｇの二次元プレートは、１９℃で、等容量、１０ｍｇ／ｍｌのタンパク質と、０．１ＭのＨｅｐｅｓ、ｐＨ７．５、１０％ｗ／ｖのポリエチレングリコール６，０００、５％ｖ／ｖの（＋／－）－２－メチル－２，４－ペンタンジオール（Ｈａｍｐｔｏｎ Ｒｅｓｅａｒｃｈ Ｃｒｙｓｔａｌ Ｓｃｒｅｅｎ ＨＴ Ｇ０６（７８））を含有する貯留槽溶液とを混合することにより得た。

【０２５２】

ｈＩＬ－３４ｓ＿ＣＨｉｓ／ｈＣＳＦ－１Ｒ Ｄ１～Ｄ３ ＣＨｉｓ

ｈＩＬ－３４ｓ＿ＣＨｉｓとＨＣＳＦ－１Ｒ Ｄ１～Ｄ３＿ＣＨｉｓとを昆虫細胞内で共発現させ、ＨｉＬｏａｄ １６／６０ Ｓｕｐｅｒｄｅｘ ２００カラムを用いるニッケルアフィニティーサイズ除外クロマトグラフィーで精製した。複合体は、２０ｍｇ／ｍｌまで濃縮し、シッティングドロップ蒸気拡散法でスクリーニングした。ｈＩＬ－３４ｓ＿ＣＨｉｓ／ｈＣＳＦ－１Ｒ Ｄ１～Ｄ３ ＣＨｉｓ複合体の紡錘形結晶は、１９℃で、０．１ＭのＣａＡｃｅｔ、０．１ＭのＭｅｓ、ｐＨ６、１５％のＰＥＧ ４００を含有するＱｉａｇｅｎ Ｐｒｏｔｅｉｎ Ｃｏｍｐｌｅｘ ＳＣＲｅｅｎ Ａ０２（２）から成長させた。

【０２５３】

ｈＩＬ－３４ｓ＿ＣＦｌａｇ／ＹＷ４０４．３３．５６ Ｆａｂ

ＹＷ４０４．３３．５６のＦａｂ断片を、ｈＩＬ－３４ｓ＿ＣＦｌａｇと、１：１のモル比で混合し、ＨｉＬｏａｄ １６／６０ Ｓｕｐｅｒｄｅｘ ２００カラムで更に精製し、２０ｍｇ／ｍｌまで濃縮した。単一のｈＩＬ－３４ｓ＿ＣＦｌａｇ／ＹＷ４０４．３３．５６ Ｆａｂ複合体の結晶は、１カ月後に、１９℃で、０．２Ｍの一塩基性リン酸アンモニウム、０．１Ｍのトリス、ｐＨ８．５、５０％ｖ／ｖの（＋／－）－２－メチル－２，４－ペンタンジオールによる貯留槽溶液上で成長させた。

【０２５４】

データ収集

全ての低温安定化結晶を、液体窒素中で瞬時凍結させてから、データ収集を行った。全てのデータセットは、ＡＤＳＣ Ｑ３１５ ＣＣＤ検出器を用いるＡＬＳ ＢＬ ５．０．２により収集した。回折画像は、ＨＫＬ２０００（Ｏｔｗｉｎｏｗｓｋｉら、Ｍｅｔｈｏｄｓ ｉｎ Ｅｎｚｙｍｏｌｏｇｙ、２７６：３０７～３２６（１９９７））を用いてインデクシングし、統合し、スケーリングした。データ収集、位相決定、及び結晶構造の精密化についての全ての統計の概要を、表２に示す。

表2:X線データ収集、位相決定、及び精密化統計

データ収集	hIL-34s	hIL-34s/hCSF-1R	hIL-34s/YW405.3 Fab	hIL-34s/YW404.33.56 Fab
波長(Å)				
空間群	$P2_1$	$P3_121$	C2	$P2_12_12_1$
格子寸法	a=57.694 Å b=77.866 Å c=58.083 Å $\alpha=\gamma=90°$ $\beta=103.245°$	a=b=101.361 Å c=175.252 Å $\alpha=\beta=90°$ $\gamma=120.000°$	a=117.917 Å b=181.822 Å c=79.254 Å $\alpha=\gamma=90°$ $\beta=118.268°$	a=105.549 Å b=122.465 Å c=149.155 Å $\alpha=\beta=\gamma=90°$
分解能(Å)	50.0～1.85 (1.92～1.85)	50.0～3.0 (3.11～3.00)	50.0～2.6 (2.69～2.60)	50.0～3.0 (3.11～3.00)
観測合計反射数	154925	164357	243871	208888
観測独立反射数	42509	21502	44009	38972
I/SigI	11.3 (2.0)	23.5 (2.8)	11.0 (2.3)	16.7 (2.2)
多重度	3.6 (3.2)	7.6 (7.0)	5.5 (5.4)	5.4 (5.0)
完全性(%)	99.8 (99.0)	99.8 (99.8)	99.3 (96.9)	99.6 (99.9)
R_{sym} [a] (%)	9.3 (51.9)	6.1 (62.7)	11.1 (60.9)	8.6 (62.3)
精密化				
分解能(Å)	50.0～1.85	50.0～3.0	50.0～2.6	50.0～3.0
タンパク質原子の数	2614	4724	8729	8948
糖原子の数	78	134	122	111
水の数	486	16	126	50
R_{work}	17.4%	28.4%	22.8%	23.5%
R_{free} [b]	20.3%	31.3%	25.9%	27.3%
rmsdによる結合長	0.015	0.004	0.006	0.006
rmsdによる結合角	1.402	0.881	0.979	0.927
ラマチャンドランプロット				
Most favored (%)	93.9	88.2	89.6	90.5
Additional allowed (%)	6.1	10.6	9.9	8.8
Generously allowed (%)	0.0	0.4	0.1	0.7
Disallowed (%)	0.0	0.8	0.4	0.0

カッコ内の値は、最外殻での分解能を表す

[a] $R_{sym}(i)=\Sigma hkl \Sigma i \mid Ii(hkl)-\langle I(hkl)\rangle \mid / \Sigma hkl \Sigma i Ii(hkl)$[式中、総和は、各反射についてのi回の観測および全てのhklにわたる総和である。$\langle I(hkl)\rangle$は、i回の観測の平均強度である。]$R_{work}=|F_{(obs)}-F_{(calc)}|/F_{(obs)}$

[b] R_{free}は、ランダムに選択された反射であって、精密化において用いられなかった反射のうちの5%について計算される。

【０２５５】

構造の決定及び精密化

１．８５Å、３．０Å、２．６Å、及び３．０Åの完全なデータセットを、ｈ－ＩＬ－３４ｓ、ｈＩＬ－３４ｓ／ＣＳＦ－１Ｒ　Ｄ１～Ｄ３複合体、ｈＩＬ－３４ｓ／ＹＷ４０５．３　Ｆａｂ複合体、及びｈＩＬ－３４ｓ／ＹＷ４０４．３３．５６　Ｆａｂ複合体のそれぞれの単一の結晶から収集した（表２）。

【０２５６】

ｈＩＬ－３４ｓ＿ＣＦｌａｇ／ＹＷ４０５．３　Ｆａｂ及びｈＩＬ－３４ｓ＿ＣＦｌａｇ　ｈＩＬ－３４ｓ＿ＣＦｌａｇ／ＹＷ４０５．３　Ｆａｂ複合体の構造は、ＦａｂのＦｖ領域及びＦｃ領域について逐次的に検索することにより単一のＦａｂ（Ｐｒｏｔｅｉｎ　Ｄａｔａ　Ｂａｎｋ（ＰＤＢ）受託番号：２ＱＱＮ）から創成された検索モデルを伴うＰＨＡＳＥＲプログラム（Ｓｔｏｒｏｎｉら、Ａｃｔａ　ｃｒｙｓｔａｌｌｏｇｒａｐｈｉｃａ　Ｓｅｃｔｉｏｎ　Ｄ、Ｂｉｏｌｏｇｉｃａｌ　ｃｒｙｓｔａｌｌｏｇｒａｐｈｙ、６０：４３２～４３８（２００４））を用いる分子置換により解明した。２　Ｆａｂを含

め単一の明瞭な解が見出されたことから、ＦａｂのＣＤＲ領域の外部のＩＬ－３４については、極めて限定的な電子密度が明らかとなる。この初期解に由来する位相は、ＰＨＥＮＩＸ　ＡｕｔｏＢｕｉｌｄ（Ａｄａｍｓら、Ａｃｔａ　ｃｒｙｓｔａｌｌｏｇｒａｐｈｉｃａ　Ｓｅｃｔｉｏｎ　Ｄ、Ｂｉｏｌｏｇｉｃａｌ　ｃｒｙｓｔａｌｌｏｇｒａｐｈｙ、６６：２１３～２２１（２０１０））のプライムアンドスイッチマッププロットルーチンを用いて、溶媒平滑化、２倍のＮＣＳ平均化をかけることにより根本的に改善した。結果としてもたらされるマップは、Ｃｏｏｔによる、ＩＬ－３４の全骨格の手作業での追跡を可能とするのに十分に高品質のマップであった。この部分的なＩＬ－３４モデルを、分子置換により、ｈＩＬ－３４ｓ＿ＣＦｌａｇの、分解能１．８５Åのデータセットへとフィードし、Ｃｏｏｔを用いるモデルの再構築（Ｅｍｓｌｅｙら、Ａｃｔａ　ｃｒｙｓｔａｌｌｏｇｒａｐｈｉｃａ　Ｓｅｃｔｉｏｎ　Ｄ、Ｂｉｏｌｏｇｉｃａｌ　ｃｒｙｓｔａｌｌｏｇｒａｐｈｙ、６６：４８６～５０１（２０１０））、及びＲｅｆｍａｃを用いる精密化（Ｍｕｒｓｈｕｄｏｖら、Ａｃｔａ　ｃｒｙｓｔａｌｌｏｇｒａｐｈｉｃａ　Ｓｅｃｔｉｏｎ　Ｄ、Ｂｉｏｌｏｇｉｃａｌ　ｃｒｙｓｔａｌｌｏｇｒａｐｈｙ、５３：２４０～２５５（１９９７））に繰り返しかけた。精密化の最終ラウンドでは、４つのＮ－アセチル－グルコサミン基及び４つのマンノース部分を、ＩＬ－３４の残基Ａｓｎ７５へと付加したところ、４８６個の水分子が、最終モデルに組み入れられた。次いで、完成したＩＬ－３４モデルを、２．６Åの分解能で収束する、ｈＩＬ－３４ｓ＿ＣＦｌａｇ／ＹＷ４０５．３　Ｆａｂ複合体構造の再構築及び精密化に用いた。

【０２５７】

ｈＩＬ－３４ｓ＿ＣＨｉｓ／ｈＣＳＦ－１Ｒ　Ｄ１～Ｄ３　ＣＨｉｓ

ｈＩＬ－３４ｓ＿ＣＨｉｓ／ｈＣＳＦ－１Ｒ　Ｄ１～Ｄ３　ＣＨｉｓ複合体の個々の成分を、ｈＩＬ－３４ｓ、マウスＣＳＦ－１Ｒ　Ｄ１～Ｄ２、及びマウスＣＳＦ－１Ｒ　Ｄ３（ＰＤＢ　ＩＤ：３ＥＪＪ）を検索モデルとする、ＰＨＡＳＥＲ分子置換プログラムを用いて逐次的に位置特定した。ＣＳＦ－１Ｒ　Ｄ１～Ｄ３を、ヒトアミノ酸配列に従い再構築及び精密化し、Ｒｅｆｍａｃによるインタラクティブ型の精密化、及びＣｏｏｔによるモデル構築を介して、最終のｈＩＬ－３４ｓ＿ＣＨｉｓ／ｈＣＳＦ－１Ｒ　Ｄ１～Ｄ３　ＣＨｉｓモデルを完成させた。

【０２５８】

ｈＩＬ－３４ｓ＿ＣＦｌａｇ／ＹＷ４０４．３３．５６　Ｆａｂ

遮断Ｆａｂである、ＹＷ４０５．３３．５６と複合したｈＩＬ－３４ｓ＿ＣＦｌａｇを、ｈＩＬ－３４ｓ並びにＦａｂのＦｖ領域及びＦｃ領域の構造を伴うＰＨＡＳＥＲプログラム内に実装された分子置換法により、同様のフレームワークで決定した後、ＹＷ４０４．３３．５６　ＦａｂのＣＤＲ領域を手作業により近似した。収束に達するまで、３．０Åのデータセットを用いて、数ラウンドにわたるモデルの再構築及び構造の精密化を実行した。

【０２５９】

４つの構造全てについての精密化統計及び立体化学解析の概要を、表２に示す。ＭｏｌＰｒｏｂｉｔｙプログラム（Ｃｈｅｎら、Ａｃｔａ　ｃｒｙｓｔａｌｌｏｇｒａｐｈｉｃａ　Ｓｅｃｔｉｏｎ　Ｄ、Ｂｉｏｌｏｇｉｃａｌ　ｃｒｙｓｔａｌｌｏｇｒａｐｈｙ、６６：１２～２１（２０１０））を用いて、最終モデルの品質を精査した。座標は、ｈＩＬ－３４ｓ、ｈＩＬ－３４ｓ／ｈＣＳＦ－１Ｒ　Ｄ１～Ｄ３、ｈＩＬ－３４ｓ／ＹＷ４０４．３３．５６　Ｆａｂ、及びｈＩＬ－３４ｓ／ＹＷ４０５．３のそれぞれについて、受託コードｘｘｘ，ｙｙｙ，ｚｚｚ，ｗｗｗで、Ｐｒｏｔｅｉｎ　Ｄａｔａ　Ｂａｎｋ（ｗｗｗ．ｒｃｓｂ．ｏｒｇ）に寄託した。図は、ＰｙＭｏｌプログラム（ウェブサイト：Ｐｙｍｏｌ．ｓｏｕｒｃｅｆｏｒｇｅ．ｎｅｔ）を用いて作成した。

【０２６０】

ヒト単核細胞及び細胞生存率／増殖アッセイ

ヒト末梢血単核細胞（ＰＢＭＣ）は、Ｆｉｃｏｌｌ上の勾配遠心分離により単離した。細胞生存率／増殖アッセイでは、９６ウェルプレート内のウェル１つ当たり1×10^{4}個

の、単離されたばかりのＰＢＭＣを、希釈系列中のＩＬ－３４（全長形及び短鎖形）又はＣＳＦ－１で刺激した。３７℃で７２時間にわたるインキュベーション後、細胞生存率／増殖を決定するため、細胞内のＡＴＰレベルを、ＣｅｌｌＴｉｔｅｒ－Ｇｌｏ Ｌｕｍｉｎｅｓｃｅｎｔ Ｃｅｌｌ Ｖｉａｂｉｌｉｔｙ Ａｓｓａｙ Ｋｉｔ（Ｐｒｏｍｅｇａ；型番Ｇ７５７１）により測定した。増殖は、相対発光単位（ＲＬＵ）として示した。

【０２６１】

ヒトＩＬ－３４の生物活性の中和

ｈＩＬ－３４活性を中和するのに要請される最適の抗体濃度は、サイトカインの量、細胞型、及びアッセイの種類に依存する。ｈＩＬ－３４又はｍＩＬ－３４の、ＰＢＭＣに対する生物活性を中和する抗体の能力を測定するために、本発明者らは、ＣｅｌｌＴｉｔｅｒ－Ｇｌｏによる細胞増殖アッセイを用いた。ＩＬ－３４の希釈系列に対する細胞の応答に基づき、抗体の中和活性を決定するための、１００ｎｇ／ｍｌというＩＬ－３４量を選択した。５０％阻害濃度（ＩＣ５０）は、ＩＬ－３４が、７０～８０％の増殖応答を誘発する濃度で存在する場合に、細胞上のＩＬ－３４活性の５０％阻害をもたらすのに要請される抗体濃度と定義される。１００ｎｇ／ｍｌのｈＩＬ－３４又はｍＩＬ－３４を、抗ＩＬ－３４ｍＡｂ又は抗ＣＳＦ１抗体の希釈系列と混合してから、１００ｕｌの総容量で細胞へと添加した。抗体阻害活性は、３７℃で７２時間にわたりプレートをインキュベートした後で、ＲＬＵを測定することにより得た。ＩＣ５０値は、ＫａｌｅｉｄａＧｒａｐｈで計算した。

【０２６２】

ファージディスプレイによる抗体の創成

抗ＩＬ－３４抗体を同定するための、ライブラリーの分取及びスクリーニング

マウスＩＬ－３４（ＰＲＯ３０７２７８）を、ライブラリー分取のための抗原として用いた。Ｎｕｎｃ９６ウェルＭａｘｉｓｏｒｐイムノプレートを、４℃で一晩にわたり、標的抗原（１０μｇ／ｍｌ）でコーティングし、室温で１時間にわたり、ファージブロッキング緩衝液であるＰＢＳＴ（リン酸緩衝生理食塩液（ＰＢＳ）及び１％（ｗ／ｖ）のウシ血清アルブミン（ＢＳＡ）及び０．０５％（ｖ／ｖ）のＴｗｅｅｎ－２０）でブロッキングした。選択されたＣＤＲ内に合成による多様性を伴う、ＶＨ（例えば、Ｌｅｅら、Ｊ．Ｉｍｍｕｎｏｌ．Ｍｅｔｈ．、２８４：１１９～１３２、２００４を参照されたい）及びＶＨ／ＶＬ（Ｌｉａｎｇら、Ｊｏｕｒｎａｌ ｏｆ ｍｏｌｅｃｕｌａｒ ｂｉｏｌｏｇｙ、３６６：８１５～８２９（２００７）を参照されたい）のヒト合成抗体ファージライブラリーを、抗原プレートへと個別に添加し、室温で一晩にわたりインキュベートした。翌日、抗原でコーティングしたプレートを、ＰＢＴ（０．０５％のＴｗｅｅｎ－２０を含むＰＢＳ）で１０回にわたり洗浄し、結合したファージを、５０ｍＭのＨＣｌ及び５００ｍＭのＮａＣｌで３０分間にわたり溶出させ、等容量の１Ｍトリス塩基（ｐＨ７．５）で中和した。回収されたファージは、大腸菌ＸＬ－１ Ｂｌｕｅ細胞内で増幅した。後続の選択ラウンドでは、抗体ファージの、抗原でコーティングしたプレートを伴うインキュベーションを、２～３時間へと短縮し、プレート洗浄の厳密性を、段階的に増大させた。

【０２６３】

４ラウンドにわたるパニングの後、著明な濃縮が観察された。９６のクローンの各々を、ＶＨライブラリーの分取及びＶＨ／ＶＬライブラリーの分取から選び、それらがヒト／マウスＩＬ－３４交雑結合剤であるのか、マウスＩＬ－３４特異的結合剤であるのかを決定した。これらのクローンの可変領域は、ＰＣＲにより配列決定して、固有の配列によるクローンを同定した。その後、これらの固有のファージクローンは、個々のクローンのＶＬ領域及びＶＨ領域を、それぞれ、ＬＰＧ３ベクター及びＬＰＧ４ベクターへとクローニングし（Ｃａｒｔｅｒら、Ｐｒｏｃ．Ｎａｔｌ．Ａｃａｄ．Ｓｃｉ．ＵＳＡ、８９：４２８５～４２８９（１９９２））、哺乳動物のＣＨＯ細胞内で一過性に発現させ、プロテインＡカラムで精製することにより、ＩｇＧへと再フォーマットした。

【０２６４】

ＹＷ４０４．３３のアフィニティーを改善するために、ライブラリーを構築する

ファージミドｐＷ０７０３（Ｍ１３バクテリオファージの表面上に一価Ｆａｂを提示するファージミドｐＶ０３５０－２ｂ（Ｌｅｅ、２００４）に由来する）が、アフィニティー成熟のために、ＹＷ４０４．３３の軽鎖可変ドメイン（ＶＬ）及び重鎖可変ドメイン（ＶＨ）を移植するためのライブラリーの鋳型として用いられた。次いで、終止コドンを、ライブラリー鋳型のＣＤＲ－Ｌ３内に組み込んだ。アフィニティー成熟のために、野生型のヌクレオチドを選好する７０：１０：１０：１０の塩基混合によるポイズンドオリゴヌクレオチド戦略（Ｇａｌｌｏｐら、Ｊｏｕｒｎａｌ　ｏｆ　ｍｅｄｉｃｉｎａｌ　ｃｈｅｍｉｓｔｒｙ、３７：１２３３～１２５１（１９９４））を用いることにより選択された位置において、約５０％の突然変異率を導入する、ソフトランダム化戦略を用いた。とりわけ、ＣＤＲ－Ｌ１の２８～３２位、ＣＤＲ－Ｌ２の５０及び５３～５５位、ＣＤＲ－Ｌ３の９１～９４及び９６位、ＣＤＲ－Ｈ１の２８～３５位、ＣＤＲ－Ｈ２の５０～５８位、ＣＤＲ－Ｈ３の９５～１００位における残基をターゲティングした。そして、ソフトランダム化されたＣＤＲループ、Ｌ１／Ｌ２／Ｌ３、Ｌ３／Ｈ１／Ｈ２、及びＬ３／Ｈ３の組合せによる３つの異なるライブラリーを構築した。

【０２６５】

アフィニティーの改善を創成するための、ファージ分取戦略

アフィニティーの改善された選択のために、ファージライブラリーを、最初のラウンドでプレート分取にかけた後、４ラウンドの溶液分取にかけた。最初のラウンドのプレート分取では、３つのライブラリーを、マウスＩＬ－３４でコーティングされたプレート（ＮＵＮＣ；Ｍａｘｉｓｏｒｐプレート）に対して、室温で２時間にわたり分取した。次に、更に４ラウンドの溶液分取を、選択の厳密性を増大させる２つの方法と併せて実行した。それらのうちの第１は、ビオチン化された標的タンパク質の濃度を、５０ｎＭから０．５ｎＭへと低下させることによる、オン速度による選択のための方法であり、それらのうちの第２は、室温で、過剰量（１００～５００倍）の非ビオチン化標的タンパク質を添加して、弱い結合剤を競合除去（ｃｏｍｐｅｔｅ　ｏｆｆ）することによる、オフ速度による選択のための方法である。各ファージライブラリーはまた、非ビオチン化ｍＩＬ－３４と共にインキュベートして、各ラウンドのパニングの濃縮度を推定するためのバックグラウンドのファージ結合としても用いられた。

【０２６６】

ハイスループットのアフィニティースクリーニングＥＬＩＳＡ（単一スポットの競合）

５ラウンドのパニングの後、記載される（Ｓｉｄｕ、２００４）通りに、ハイスループットの一点競合ファージＥＬＩＳＡを用いて、高アフィニティーのクローンについて迅速にスクリーニングした。５ｎＭのｍＩＬ－３４の存在下では、ｍＩＬ－３４の非存在下と対比して、固定化ｍＩＬ－３４に対する結合率が低いクローンを、さらなる特徴付けのために選び出した。

【０２６７】

アフィニティーの測定

ストレプトアビジン（ＳＡ）バイオセンサーチップ（ｆｏｒｔｅＢｉｏ、Ｍｅｎｌｏ　ｐａｒｋ、ＣＡ、ＵＳＡ）を装備したＯｃｔｅｔ　ＱＫを、アフィニティー測定のために用いた。ＳＡバイオセンサーチップは、アッセイ緩衝液（１倍濃度の反応速度アッセイ緩衝液、ｆｏｒｔｅＢｉｏ）中で１０分間にわたり平衡化させてから、解析にかけた。結合反応速度は、３０℃で測定し、試料は、１０００ｒｐｍで撹拌した。ＳＡチップは、５ｕｇ／ｍｌのビオチン化ヒトＩＬ－３４（Ｒ＆Ｄ；型番５２６５－ＩＬ－０１０／ＣＦ）で２００秒間にわたり飽和させたが、この結果として、６つのチップのカラム内で０．２２±０．０２ｎＭの捕捉レベルがもたらされた。抗ＩＬ－３４抗体の３倍の希釈系列（１００ｎＭ、３３．３ｎＭ、１１．１ｎＭ、３．７ｎＭ、１．２ｎＭ）のほか、緩衝剤ブランクを調製した。会合及び解離のいずれも、３００秒間にわたりモニタリングした。全ての反応及び測定は、室温で実施した。データは、Ｏｃｔｅｔデータ解析ソフトウェア６．４（ｆｏｒｔｅＢｉｏ）を用いて解析した。

【０２６８】

結果

本研究では、ヒトＩＬ－３４単独及びＣＳＦ－１Ｒと複合したヒトＩＬ－３４の最初の結晶構造が提示されるが、それらの溶液中の結合特性も特徴付けられた。ＩＬ－３４は、実際に短鎖ヘリックス型サイトカインファミリーに属し、ファミリーメンバーの中でも二量体化界面が最も小さいことが示される。ＩＬ－３４／ＣＳＦ－１Ｒ複合体の構造は、関与するドメインに関して、ＣＳＦ－１複合体について見られたのと同様の、全体的なリガンド／受容体アセンブリーの類似を示した。しかし、関与する受容体ドメインは、異なる界面組成を結果としてもたらす、予測外の再配列を受ける。これらの２つのサイトカインによるシグナル伝達複合体の間で注意深い比較を行うことにより、ＣＳＦ－１Ｒが、２つの構造的に類縁のリガンドであるが、進化の点では疎遠なリガンドであるＩＬ－３４及びＣＳＦ－１に無差別的に結合することを可能とする分子的決定因子についての理解がもたらされた。更にまた、２つのファージに由来する抗ＩＬ－３４モノクローナル抗体のＦａｂ断片と複合したＩＬ－３４の共結晶構造により、それらのそれぞれの非遮断活性及び中和活性の構造的根拠ももたらされたが、これにより、治療剤開発への新たな洞察も与えられる。

【０２６９】

ヒトＩＬ－３４の活性コアの構造

成熟全長ヒトＩＬ－３４は、２２２アミノ酸を含むが、その最後の約５０残基は、Ｊｐｒｅｄ　３（Ｃｏｌｅら、Ｎｕｃｌｅｉｃ　ａｃｉｄｓ　ｒｅｓｅａｒｃｈ、３６：Ｗ１９７～２０１（２００８））及びＰｓｉＰＲＥＤ（ＭｃＧｕｆｆｉｎら、Ｂｉｏｉｎｆｏｒｍａｔｉｃｓ、１６：４０４～４０５（２０００））で弁別可能な微細な二次構造により大きく攪乱されることが予測されている。なお更に、最初の２０２又は１８２残基を含有するＩＬ－３４の構築物は、ＴＦ－１－ｆｍｓ細胞成長の活性化において、全長タンパク質と識別不可能であるのに対し、最初の１６２残基だけを包摂する構築物は、活性の著明な減弱を示した（Ｃｈｉｈａｒａら、Ｃｅｌｌ　ｄｅａｔｈ　ａｎｄ　ｄｉｆｆｅｒｅｎｔｉａｔｏｎ、１７：１９１７～１９２７（２０１０））。加えて、ヒトＩＬ－３４では、７つのシステイン残基（３５、１６８、１７７、１７９、１８０、１９１、及び１９９）が見出されるが、それらのうちの６つ（Ｃ１９９以外の全て）は、種を越えた保存が良好である（図１Ａ、図７）。したがって、成熟ポリペプチドの残基Ｎ２１～Ｖ１９３を含む切断型ＩＬ－３４構築物であって、本明細書でｈＩＬ－３４ｓと称する構築物を、後続の研究のために選び出した。別段に言及しない限り、ｈＩＬ－３４ｓは、Ｃ末端のＦｌａｇタグへと融合させ、昆虫細胞内で組換えにより発現させ、方法において記載されている通りに精製し、後続の全ての研究で用いた。ｈＩＬ－３４ｓは、ＣＳＦ－１と同程度に活性であり、ヒト単球の生存能力を促進するその能力において、組換え全長ＩＬ－３４よりわずかに活性が大きかった（図１Ｂ）。ヒトＩＬ－３４遺伝子は、認識可能な膜会合領域を含有しないが、マウスオルソログは、代替的なＲＮＡスプライシング及びタンパク質分解によるプロセシングの結果として、天然で、ＧＰＩでアンカーされ、可溶性のアイソフォームとして存在する（図１Ａ）。

【０２７０】

ヒトＩＬ－３４の活性コアドメインの構造は、分子置換により、その非遮断抗体であるＹＷ４０５．３　Ｆａｂ断片との複合体から、２．６Åの分解能で決定し（表６）、単一のｈＩＬ－３４ｓ結晶から収集された分解能１．８５Åのデータセットを用いて精密化した（表２）。驚くべきことではないが、構造解析は、ＩＬ－３４が、αＡ、αＢ、αＣ、及びαＤからなる、顕著に異なるアンチパラレルの４ヘリックスバンドルによるサイトカインフォールドを有する（Ｓｐｒａｎｇら、Ｃｕｒｒ　Ｏｐｉｎ　Ｓｔｒｕｃ　Ｂｉｏｌ、３：８１５～８２７（１９９３））が、構造は、このコア部分の外部でも、多数の注目すべき特色を含有することを示した（図１Ｃ）。交差するβ－ストランド１及び２は、ＣＳＦ－１と比較して、はるかに短縮され、３つの短いヘリックス（α１、α２、及びα３）で部分的に置換されている（Ｃｈｅｎら、Ｐｒｏｃｅｅｄｉｎｇｓ　ｏｆ　ｔｈｅ　Ｎａｔｉｏｎａｌ　Ａｃａｄｅｍｙ　ｏｆ　Ｓｃｉｅｎｃｅｓ　ｏｆ　ｔｈｅ　Ｕｎｉｔｅ

ｄ Ｓｔａｔｅｓ ｏｆ Ａｍｅｒｉｃａ、１０５：１８２６７～１８２７２（２００８）；Ｐａｎｄｉｔら、Ｓｃｉｅｎｃｅ、２５８：１３５８～１３６２（１９９２））（図１Ｄ）。更にまた、各プロトマーの極において、二量体界面から離れて位置する２つの分子内ジスルフィド対は、類縁の二量体の「短鎖」ヘリックス型サイトカインであるＣＳＦ－１、ＳＣＦ、及びＦｌｔ３Ｌの構造において見出されるジスルフィド結合と構造的類似性を共有しない（Ｊｉａｎｇら、Ｔｈｅ ＥＭＢＯ Ｊｏｕｒｎａｌ、１９：３１９２～３２０３（２０００）；Ｓａｖｖｉｄｅｓら、Ｎａｔｕｒｅ ｓｔｒｕｃｔｕｒａｌ ｂｉｏｌｏｇｙ、７：４８６～４９１（２０００）；Ｚｈａｎｇら、Ｐｒｏｃｅｅｄｉｎｇｓ ｏｆ ｔｈｅ Ｎａｔｉｏｎａｌ Ａｃａｄｅｍｙ ｏｆ Ｓｃｉｅｎｃｅｓ ｏｆ ｔｈｅ Ｕｎｉｔｅｄ Ｓｔａｔｅｓ ｏｆ Ａｍｅｒｉｃａ、９７：７７３２～７７３７（２０００））。一方のジスルフィド結合（Ｃ３５とＣ１８０との間のジスルフィド結合）は、ヘリックスαＡとαＤとを接合するのに対し、他方のジスルフィド結合（Ｃ１７７とＣ１９１との間のジスルフィド結合）は、αＤを、Ｃ末端のヘリックスα４へと接合する。結果として、α４を含めたＣ末端テールは、ＣＳＦ－１のＣ末端テールと比較して反転され、αＡ及びαＤの表面へとパッキングされる。他の２つのシステインであるＣ１６８及びＣ１７９は、対合されないままとどまり、結果として、ＩＬ－３４の適正なフォールディングには不可欠とならない。全体として、ＰＤＢｅＦＯＬＤによる構造重ね合わせを介して判定される通り（Ｋｒｉｓｓｉｎｅｌら、Ａｃｔａ ｃｒｙｓｔａｌｌｏｇｒａｐｈｉｃａ Ｓｅｃｔｉｏｎ Ｄ、Ｂｉｏｌｏｇｉｃａｌ ｃｒｙｓｔａｌｌｏｇｒａｐｈｙ、６０：２２５６～２２６８（２００４））、ＩＬ－３４は、構造的にはＳＣＦと最も類似する（二乗平均平方根偏差（ｒｍｓｄ：２．６Å）が、機能的に類縁であるＣＳＦ－１との相違は大きい（ｒｍｓｄ：３．２Å）ことが示された。

【０２７１】

この構造解析の結果はまた、非対称ユニット内のＩＬ－３４の２つのプロトマーが、ＣＳＦ－１、ＳＣＦ、及びＦｌｔ３Ｌについて見られるものと類似する形で、非共有結合的二量体へと更にアセンブルされることも示した。ＩＬ－３４二量体を形成するとき、各サブユニットは、一方の単量体に由来するαＡ～β１ループ及びαＢ～αＣループが、他方の単量体の相反的なセグメントとかみ合って、６５６Å^{2}にわたり包埋される。一方のプロトマーのＨ５６、Ｙ５７、Ｆ５８、Ｐ５９、及びＹ６２の側鎖を、近傍の単量体に由来する残基Ｐ１１４’、Ｈ１１３’、Ｌ１１０’、Ｌ１０９’、Ｖ１０８’、Ｙ６２’、Ｐ５９’、及びＦ５８’に対してパッキングすることにより、Ｐ５８／Ｐ５８’を中心として、コンパクトで比較的フラットな疎水性のパッチが形成される。これらの相互作用は、包埋表面積が、それぞれ、１６９０Å^{2}及び１６４０Å^{2}を占める、類縁のＳＣＦ及びＦｌｔ３Ｌの非共有結合的二量体と比較して小さい（１３１０Å^2）にもかかわらず、必須のＩＬ－３４二量体の形成をもたらしうる。ＩＬ－３４二量体の界面における残基は、他の種に由来するオルソログの間で高度に保存されている（図７）。同じ「ヘッドトゥーヘッドの」二量体配置はまた、本明細書で論じられる３つのＩＬ－３４複合体の構造においても存在したので、ｈＩＬ－３４ｓの結晶において観察されるＩＬ－３４の二量体としての組織化は、溶液中のタンパク質の組織化を表す可能性が高い。成熟ＩＬ－３４内のＮ７６に位置する、１つの予測されるＮ結合型グリコシル化部位を、結晶化させた構築物に組み入れ、側鎖へと接合された（ＧｌｃＮＡｃ）２Ｍａｎの電子密度を観察した。結果が、炭水化物の配向は、ＩＬ－３４内に保存される３つの残基であるＥ６９、Ｒ７９、及びＫ１５７により媒介される極性相互作用と併せた、Ｙ６８の芳香環と第２のＧｌｃＮＡｃ残基の疎水性面との間のスタッキング相互作用により固定されることを示したことから、この糖部分は、ＩＬ－３４構造の不可欠の一部であることが示唆される。齧歯動物ＩＬ－３４でも、類似のグリコシル化部位が保存されているが、これはまた、ｈＩＬ－３４ｓの構造では溶媒に接触可能な、ヒトＳ１００と同等の位置において予測される、さらなるＮ結合型グリコシル化部位も含有する。

【０２７２】

ＩＬ－３４／ＣＳＦ－１Ｒ複合体の生物物理的特徴付け

溶液中のｈＩＬ－３４ｓのオリゴマー状態をプローブするため、解析用サイズ除外クロマトグラフィーを用いた（図２Ａ）。ｈＩＬ－３４ｓ単量体の理論的分子量は、２２ｋＤａであるが、タンパク質は、４４ｋＤａの基準物質より早く溶出したことから、ｈＩＬ－３４ｓは、溶液中で二量体を形成し、これは、ｈＩＬ－３４ｓの結晶において観察される２倍の非結晶学的対称性二量体構造と符合することが示される。ＩＬ－３４リガンド／受容体複合体の分子サイズを評価するために、受容体の免疫グロブリンドメインＤ１～Ｄ５（ｈＣＳＦ－１Ｒ　Ｄ１～Ｄ５）を含め、細胞外ドメイン（ＥＣＤ）のほぼ全体を含有する構築物を、ＩＬ－３４と共に、１：１のプロトマーモル比で混合し、同じ技法で解析した。この複合体の見かけのサイズは、２：２の複合体について計算されるサイズと符合した（図２Ａ）。同様に、複合体の形成に必要な最小の受容体構築物の範囲を狭めるために、ｈＩＬ－３４ｓの、最初の３つの免疫グロブリンドメインだけを含有する受容体構築物（ｈＣＳＦ－１Ｒ　Ｄ１～Ｄ３）との混合物を、サイズ除外解析にかけたところ、見かけのサイズが１５８ｋＤａより大きいことが明らかとなり、これは、２：２複合体と符合する（図２Ａ）。

【０２７３】

ＩＬ－３４のＣＳＦ－１Ｒへの結合の化学量論比及びエネルギー論値を正確に決定し、それらをＣＳＦ－１の結合と比較するため、等温滴定熱量測定（ＩＴＣ）により、結合についての熱力学パラメータを評価した（図２Ｂ、Ｄ）。ＣＳＦ－１Ｒ受容体を、ＩＬ－３４サイトカインへと滴定したところ、受容体の全長形態及び切断型形態であるＣＳＦ－１Ｒ　Ｄ１～Ｄ５及びＣＳＦ－１Ｒ　Ｄ１～Ｄ３のいずれも、等モル量のＩＬ－３４単量体で飽和することが確認された。これは、解析用サイズ除外クロマトグラフィーにより決定された見かけのサイズと共に、複合体について、溶液中における２：２のサイトカイン／受容体の化学量論比を強力に裏付けた（図２Ｄ）。高アフィニティーのＩＬ－３４／ＣＳＦ－１Ｒ　Ｄ１～Ｄ５間相互作用は、解離定数を高い精度で決定することを不可能とする急勾配の滴定経過をもたらしたので（図２Ｂ－１パネル）、ＣＳＦ－１Ｒ　Ｄ１～Ｄ５を、ＩＬ－３４の、ＣＳＦ－１Ｒ　Ｄ１～Ｄ３との混合物へと滴定することにより、置換ＩＴＣを実行した（図２Ｂ－３パネル）。本明細書で決定された結合等温線は、ＩＬ－３４のその受容体への結合が、主にエンタルピー項により駆動されることを示した。ＩＬ－３４の、ＣＳＦ－１Ｒ　Ｄ１～Ｄ３及びＣＳＦ－１Ｒ　Ｄ１～Ｄ５の両方への結合の発熱的性格は、ＩＬ－３４／ＣＳＦ－１Ｒ複合体の形成が、鍵となる極性相互作用を伴う可能性が高いことを示した。膜近位ドメインであるＣＳＦ－１Ｒ　Ｄ４～Ｄ５を組み入れることにより、アフィニティー（Ｄ１～Ｄ５及びＤ１～Ｄ３のそれぞれについて、１．６及び９４ｎＭのK_d）の大きな増大がもたらされ、これは、エントロピー的にはわずかに不適であるが、エンタルピー的には著明により好適である。これらの結果は、高アフィニティーのリガンド結合をもたらすには、ｈＣＳＦ－１Ｒ　Ｄ１～Ｄ３で十分であるが、ＣＳＦ－１Ｒ　Ｄ４～Ｄ５は、サイトカイン／受容体によるシグナル伝達複合体の全体が形成されると、ＫＩＴ受容体二量体の完全細胞外ドメインに結合したＳＣＦの複合体構造において見られる（Ｙｕｚａｗａら、Ｃｅｌｌ、１３０：３２３～３３４（２００７））通り、さらなる同型の受容体相互作用部位を含有する可能性が高いことを示唆した。驚くべきことに、よりよく特徴付けられたリガンドＣＳＦ－１は、ｈＣＳＦ－１Ｒ　Ｄ１～Ｄ３及びＣＳＦ－１Ｒ　Ｄ１～Ｄ５のそれぞれへの結合について、ＩＬ－３４と比較して、９．５分の１及び１３分の１のアフィニティーを呈示した（図２Ｃ、Ｄ）。ＩＬ－３４と比較して、結果は、ＣＳＦ－１複合体が、好適なエンタルピー及び好適なエントロピーの両方により駆動されることを示した。ＩＬ－３４と同様にまた、ヒトＣＳＦ－１についての滴定も、受容体の何れの形態についても、２：２のリガンド／受容体化学量論比を示唆した。初期の報告（Ｇｕｉｌｂｅｒｔら、Ｔｈｅ　Ｊｏｕｒｎａｌ　ｏｆ　ｂｉｏｌｏｇｉｃａｌ　ｃｈｅｍｉｓｔｒｙ、２６１：４０２４～４０３２（１９８６））と符合するが、これは、ヒトＣＳＦ－１とマウスＣＳＦ－１との間で鍵となる差違を表す。Ｄ４及びＤ５の非存在下で、マウスＣＳＦ－１は、マウスＣＳＦ－１Ｒとの、２：１の部分的な複合体を形成し、マウスＣＳＦ－１上の受容体の結合表面の半分を、占有されないまま溶液中に放置

することが報告された（Ｃｈｅｎら、Ｐｒｏｃｅｅｄｉｎｇｓ ｏｆ ｔｈｅ Ｎａｔｉｏｎａｌ Ａｃａｄｅｍｙ ｏｆ Ｓｃｉｅｎｃｅｓ ｏｆ ｔｈｅ Ｕｎｉｔｅｄ Ｓｔａｔｅｓ ｏｆ Ａｍｅｒｉｃａ、１０５：１８２６７～１８２７２（２００８））。

【０２７４】

この系におけるサイトカイン／受容体結合の反応速度を更に理解するには、Ｂｉｏ－Ｌａｙｅｒ干渉（ＢＬＩ）法を用いて、受容体の希釈系列により会合速度及び解離速度を測定するために、ビオチン化したＩＬ－３４又はＣＳＦ－１を、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チップ上に固定化した。また、この直交的方法から得られる結果によっても、３．８倍のk_{on}が、わずかに遅いk_{off}とカップリングされていることに主に起因して、ＩＬ－３４（k_{on}＝２．９×１０^{5}ｓ$^{-1}$Ｍ$^{-1}$、k_{off}＝３．５×１０$^{-2}$ｓ$^{-1}$、K_{d}＝１２０ｎＭ）が、ＣＳＦ－１Ｒに、ＣＳＦ－１（k_{on}＝７．７×１０^{4}ｓ$^{-1}$Ｍ$^{-1}$、k_{off}＝５．４×１０$^{-2}$ｓ$^{-1}$、K_{d}＝７２０ｎＭ）より緊密に結合することが確認される。

【０２７５】

ＩＬ－３４／ＣＳＦ－１Ｒ　Ｄ１～Ｄ３複合体の構造

ｈＣＳＦ－１Ｒ　Ｄ１～Ｄ３に結合したｈＩＬ－３４ｓの、３．０Åの分解能による構造を、ｈＩＬ－３４ｓ及びマウスＣＳＦ－１Ｒの構造を検索プローブとして用いる分子置換（Ｃｈｅｎら、Ｐｒｏｃｅｅｄｉｎｇｓ ｏｆ ｔｈｅ Ｎａｔｉｏｎａｌ Ａｃａｄｅｍｙ ｏｆ Ｓｃｉｅｎｃｅｓ ｏｆ ｔｈｅ Ｕｎｉｔｅｄ Ｓｔａｔｅｓ ｏｆ Ａｍｅｒｉｃａ、１０５：１８２６７～１８２７２（２００８））により解明した（表２）。本研究において試みられる全ての生物物理的方法は、ｈＣＳＦ－１Ｒ　Ｄ１～Ｄ３が、溶液中のｈＩＬ－３４ｓとの２：２複合体を形成することを示したが、結晶構造は、１つのＣＳＦ－１Ｒ　Ｄ１～Ｄ３が、非対称ユニット内の１つのｈＩＬ－３４ｓホモ二量体に結合することを明快に明らかにした。構造解析は、隣接するプロトマー上の類似の受容体結合部位が、結晶のパッキングに関与し、この結晶構造形態において予測される２：２複合体の形成を妨げることを示唆した。しかし、この構造は、ＩＬ－３４／受容体間界面を申し分なく明らかにした。これは、ＩＬ－３４が、ＣＳＦ－１ＲのＤ２及びＤ３により形成される凹面に、ＣＳＦ－１Ｒ受容体に結合したときのＣＳＦ－１により用いられる立体配置に相似する立体配置で結合することを示した。ＣＳＦ－１サイトカイン／受容体複合体において見られたのと類似する２部位結合方式が、ＩＬ－３４／ＣＳＦ－１Ｒ間界面においてもまた保存されている。これらの結果は、部位１が、ＩＬ－３４と受容体のＩｇドメインＤ２との間の相互作用を伴い、部位２が、ＩＬ－３４と受容体ドメインＤ３との間の相互作用を伴うことを示した。各部位はそれぞれ、１２８０Å^{2}及び１１６０Å^{2}の総包埋表面積をもたらす。Ｄ２とＤ３との間のリンカーは、構造内で完全に秩序付けられているが、ＩＬ－３４との相互作用を免れることから、ＩＬ－３４／ＣＳＦ－１Ｒ間界面を、２つの空間的に分離された部位へと有効に分解する。

【０２７６】

ＩＬ－３４リガンド／受容体結合部位１

構造解析は、部位１が、ＣＤループ及びＥＦループ（それぞれ、残基１４２～１５０及び１６９～１７３）を含む受容体Ｄ２ドメイン残基により主に形成され、これが、ＩＬ－３４のヘリックスαＢ（残基１００～１０８）、αＣ（１１６～１３４）、介在ループ（残基１０９）、及びα３（残基１５０）（図３Ａ）によりもたらされる、起伏の大きな表面へとドッキングすることを明らかにした。この領域内のＩＬ－３４の負に帯電した表面と、ＣＳＦ－１Ｒ上の正に帯電した表面との間の相補的静電相互作用が、この部位におけるＩＬ－３４への結合を媒介するのに重要であると考えられた。特に、ＣＳＦ－１Ｒの塩基性のアミノ酸Ｒ１４２、Ｒ１４６と、ＩＬ－３４上の酸性アミノ酸Ｅ１０３との間では、中央に位置する塩架橋が形成される。ＣＳＦ－１ＲのＣＤループの縁辺部におけるＲ１４４及びＲ１５０は、Ｎ１５０の側鎖酸素並びにＱ１０６及びＬ１０９それぞれの骨格カルボニル酸素との水素結合相互作用に関与する。ＩＬ－３４内のＬ１２７の脂肪族側鎖により形成される小さな疎水性のパッチは、ＣＳＦ－１ＲのＦ１６９とＩ１７０との間にぴ

ったりと適合する。表３で詳細に示す通り、この部位では、極性相互作用が優越すると考えられる一方で、多数の分子間ファンデルワールス接触もまた、界面を裏打ちしている。

【０２７７】

ＩＬ－３４リガンド／受容体結合部位２

結果は、わずかに小型の部位２が、ＢＣループ及びＤＥループに由来する受容体Ｄ３の残基（それぞれ、残基２３１及び２５４）及びストランドＤ（残基２４８～２５２）により主に形成され、ＩＬ－３４のヘリックスαＡ、αＣ、及びα４（それぞれ、残基３６～４４、１２１～１２８、１８４～１８７）の部分により創成される表面に対してパッキングされることを更に示した（図３Ｃ）。この界面は、ＩＬ－３４の残基Ｆ４０及びＬ１２５、並びにＣＳＦ－１Ｒの残基Ｖ２３１、Ｙ２５７、及びＦ２５２により形成される疎水性帯域で隔てられた、２つの極性相互作用領域へと更に分けることができる。第１の領域は、ＣＳＦ－１Ｒ　Ｄ３　Ｄストランドの先頭部分と、ＩＬ－３４のα４との間の、骨格と側鎖とを組み合わせた水素結合相互作用により形成される。ＩＬ－３４のＮ１８７の側鎖アミドの水素及び酸素は、受容体との最大３つの水素結合であって、ＣＳＦ－１Ｒの、Ｑ２４９の側鎖アミド、並びに骨格のＳ２４８の窒素及びカルボニル酸素を伴う水素結合に関与する。加えて、ＣＳＦ－１ＲのＱ２４８と、ＩＬ－３４のＳ１８４及びＬ１８６との間では、２つの骨格間水素結合も形成される。ＩＬ－３４内のα４領域を構成する残基の欠失は、タンパク質発現レベルの大幅な低減、及びＴＦ－１－ｆｍｓ細胞の増殖を刺激する能力に関する活性の著明な低下を結果としてもたらす（Ｃｈｉｈａｒａら、Ｃｅｌｌ　ｄｅａｔｈ　ａｎｄ　ｄｉｆｆｅｒｅｎｔｉａｔｏｎ、１７：１９１７～１９２７（２０１０））。本研究で報告される結果により、α４に包摂される残基は、ＩＬ－３４の活性コアドメインの不可欠の一部であり、したがって、その活性に重要であることが確認された。部位２内の第２の極性領域は、側鎖により媒介される３つの水素結合であって、ＩＬ－３４のＮ１２８、Ｋ４４、及びＥ１２１の末端側鎖原子と、ＣＳＦ－１Ｒの、Ｙ２５７のヒドロキシル基、Ｆ２５２のカルボニル酸素、及びＮ２５４の骨格アミドとの間の水素結合を包摂する。ファンデルワールス接触により媒介されるさらなる相互作用を、表３に列挙する。

表3:IL-34/CSF-1R間の相互作用およびCSF-1/CSF-1R間の相互作用

CSF-1R D2		**IL-34**		距離(Å)	**CSF-1**		距離(Å)
水素結合および塩架橋(共通)							
Arg142	Nη1				Gln58	Oε1	3.4
	Nη2	Glu103	OE1	3.1			
	Nη2	Glu103	OE2	3.2			
Arg146	Nη1				Gln58	Oε1	2.4
	Nη2	Glu103	OE1	2.6	Asp59	Oδ1	3.4
Arg150	Nη1	Leu109	O	3.2			
	Nη2	Gln106	O	3.5	Asp62	O	3.0
	N				Asp62	Oδ1	3.4
	N				Asp62	Oδ2	3.2
水素結合および塩架橋(固有)							
Arg144	Nη1	Asn150	Oδ1	2.5			
Lys151	Nζ				Glu78	Oε1	3.9
Lys168	Nζ				Glu78	Oε1	3.6
Lys168	Nζ				Glu78	Oε2	3.7
Leu170	O				Asn85	Nδ2	3.1
ファンデルワールス接触(共通)							
Arg146		Ser100, Asn150			Phe55		
Met149 (Leu149)		Glu123			Asp62, Gln81		
Arg150		Trp116			Arg66		
Phe169 (Val169)		Thr124, Leu127, Asn128, Gln131			Glu82		
Ile170 (Leu170)		Glu123, Thr124, Leu127			Glu78		
Gln173 (Asn173)		Leu127			Glu78		
ファンデルワールス接触(固有)							
Lys151					Asp62		
Ser172		Leu127					
Arg192		Thr134					
CSF-1R D3		**IL-34**		距離(Å)	**CSF-1**		距離(Å)
水素結合および塩架橋(共通)							
Tyr257	OH	Asn128	Nδ2	2.7	Met10	O	2.6
水素結合および塩架橋(固有)							
Gln248	N	Ser184	O	2.7			
	O	Leu186	N	2.8			
Gln249	Nε2	Asn187	Oδ1	3.1			
Ser250	N	Asn187	Oδ1	3.0			
	O	Asn187	Nδ2	3.5			
Asp251	Oδ1				Asn13	N	3.0
	Oδ2				Gly14	N	2.9
Phe252	O	Lys44	Nζ	2.6			
Asn254	N	Glu121	Oε2	3.8			
ファンデルワールス接触(共通)							
Val231		Phe40			His6, Met10		
Ser250		Phe40, Asp43			His9		
Asp251		Phe40, Asp43			Gly12		
Phe252		Leu125			Gly14, His15, Arg79		
Tyr257		Phe40, Leu125			His9, His15		
ファンデルワールス接触(固有)							
Gly232					His6		
Phe233					His6		
Pro247		Ser184, Gln189					
Gln248		Thr36, Val185, Asn187					
Gln249		Leu186					

Asn255		Arg79
Gln258	Phe40	
Lys259	Thr36	

【０２７８】

ｍＡｂである、ＹＷ４０４．３３．５６によるＩＬ－３４アンタゴニズムの構造的基礎

ＩＬ－３４及びＣＳＦ－１の個別の機能を腑分けし、ＩＬ－３４シグナル伝達の遮断からの治療的利益を探索するために、ファージディスプレイ技術を用いて、ヒトＩＬ－３４及びマウスＩＬ－３４の両方を特異的にアンタゴナイズする抗体を創成し、ヒト患者及び齧歯動物モデルの両方におけるＩＬ－３４機能の精査を可能とした。ＹＷ４０４．３３は、V_Hファージディスプレイライブラリー及びV_H／V_Lファージディスプレイライブラリーをスクリーニングすることにより同定し、ヒトＩＬ－３４に対するその高度な結合アフィニティー（K_d＝１７ｎＭ、表４）及びその遮断活性に基づき、９６のクローンによるパネルから選択した。その後、方法において記載されているソフトランダム化戦略を用いて、ＹＷ４０４．３３をアフィニティー成熟させた。ＹＷ４０４．３３．５６は、ＢＬＩ実験により測定される通り、親クローンと比較して、結合アフィニティーの１４０倍の改善（K_d＝１２０ｐＭ）を示す。生存率アッセイ（図４Ａ）及びヒト単球増殖アッセイ（図８）では、ＩＬ－３４の生物学的活性が、この抗体により、受容体のＦｃ融合体による場合と同様に完全に遮断されたが、抗ＣＳＦ－１抗体によって完全に遮断されることはなかった。

表4:Octetによる、非中和抗体であるYW405.3/hIL-34、および中和抗体であるYW404.33/hI

L-34、YW404.33.56/hIL-34についての結合反応速度の測定

抗IL-34mAb	$k_{on}(s^{-1}M^{-1})$	k_{off} (s^{-1})	K_d (M)
YW405.3	1.45E+06	4.52E-03	3.12E-09
YW404.33	3.58E+05	6.11E-03	1.71E-08
YW404.33.56	3.38E+06	4.19E-04	1.24E-10

【０２７９】

ＹＷ４０４．３３．５６　ｍＡｂがＩＬ－３４の生物学的活性を遮断する機構をよりよく理解するために、ＹＷ４０４．３３．５６のＦａｂ断片と複合したｈＩＬ－３４ｓの構造を、３．０Åの分解能で解明した（表２）。結晶は、非対称ユニット内の２つのＹＷ４０４．３３．５６　Ｆａｂに結合した１つのｈＩＬ－３４ｓ二量体を含有した。構造解析により、各ＹＷ４０４．３３．５６　Ｆａｂが、２つのＩＬ－３４プロトマーの接合部において、大部分連続的な帯域を認識することが示されたことは興味深い。ＩＬ－３４二量体の側では、界面の大部分（７８６$Å^2$又は７９％）が、一方のプロトマーに由来するヘリックスαＢ、αＣ、及びそれらの介在ループの寄与を受けているのに対し、他方のＩＬ－３４プロトマーαＢ－β１ループによる寄与の割合は小さい（２１５$Å^2$又は２１％）（図４Ｂ）。ＹＷ４０４．３３．５６　Ｆａｂの側では、相互作用の大部分は、重鎖ＣＤＲ－Ｈ１（５５$Å^2$）、重鎖ＣＤＲ－Ｈ２（２６７$Å^2$）、及び重鎖ＣＤＲ－Ｈ３（３１６$Å^2$）により媒介されており、軽鎖ＣＤＲからの寄与（３０３$Å^2$）は小さい。４つの塩架橋（$R50^{YW404.33.56}$－$E111^{IL-34}$、$R100b^{YW404.33.56}$－$E111^{IL-34}$、$R100b^{YW404.33.56}$－$D107^{IL-34}$、及び$K100a^{YW404.33.56}$－$E103^{IL-34}$）は、ＩＬ－３４のαＢとαＣとの間の溝に沿った「静電ジッパー」を形成する。ＩＬ－３４とＹＷ４０４．３３．５６　Ｆａｂとの間のこの強力な静電相補性は、上記で記載したＩＬ－３４／ＣＳＦ－１Ｒ複合体内の部位１の電荷間相互作用を想起させる。加えて、$W33^{YW404.33.56}$、$Y54^{YW404.33.56}$、$K98^{YW404.33.56}$、及び$S100^{YW404.33.56}$は、それぞれ、$D107^{IL-34}$、$D107^{IL-34}$、$S104^{IL-34}$、及び$Q120^{IL-34}$との側鎖特異的な水素結合を形成する。加

えて、表５に詳細に示す通り、他のＹＷ４０４．３３．５６の骨格カルボニル基も、水素結合及び他の幾つかのファンデルワールス相互作用を媒介する。ＩＬ－３４のグリコシル化されたＮ７６の炭水化物鎖は、相互作用界面から離れて伸長し、ＹＷ４０４．３３．５６　Ｆａｂと直接的には接触しない。予測外なことに、この抗体／抗原系では、界面にわたる疎水性のパッキングであって、高アフィニティーのタンパク質間相互作用を媒介することが多いパッキングが存在しない。ＦａｂパラトープとＩＬ－３４エピトープとの間の形状相補性は０．６１であったが、これは、他の抗体／抗原複合体についての平均値（０．６４～０．６８）よりわずかに小さい（Ｌａｗｒｅｎｃｅら、Ｊｏｕｒｎａｌ　ｏｆ　ｍｏｌｅｃｕｌａｒ　ｂｉｏｌｏｇｙ、２３４：９４６～９５０（１９９３））ことから、理論的に述べるならば、ＹＷ４０４．３３．５６　ｍＡｂのパラトープを、更に最適化して、ＩＬ－３４へのより緊密な結合のためのより高度な形状相補性及び化学的相補性を達成しうることが示唆される。

【０２８０】

ＩＬ－３４／ＹＷ４０４．３３．５６複合体内のＩＬ－３４分子と、ＩＬ－３４／ＣＳＦ－１Ｒ複合体内のＩＬ－３４分子とを重ね合わせることにより、Ｆａｂの重鎖及び軽鎖のいずれも、ＣＳＦ－１Ｒと衝突していることが示された。これらの結果は、ＹＷ４０４．３３．５６が、部位１におけるＣＳＦ－１Ｒ　Ｄ２結合の一因となる結合エピトープと大きく重複し、一方のＩＬ－３４プロトマーに由来するヘリックスαＢ及びαＣに由来する残基を包含するエピトープに結合することを示した。ＩＬ－３４／ＣＳＦ－１Ｒ間結合部位１におけるＩＬ－３４に由来する１１残基中の６残基、又は溶媒に接触可能な包埋表面積６００Å^{2}中の２２０Å^{2}は、ＩＬ－３４／Ｆａｂ複合体内のＹＷ４０４．３３．５６との相互作用により占有されている。したがって、ＹＷ４０４．３３．５６のＩＬ－３４への結合は、受容体ＣＳＦ－１Ｒとの会合に対して直接競合することになり、これは、ＩＬ－３４シグナル伝達のＹＷ４０４．３３．５６による阻害の分子機構を説明する。

表5:IL-34/YW404.33.56 Fab間の相互作用

YW404.33.56のH鎖		**IL-34分子A**		**距離(Å)**
水素結合および塩架橋				
Trp33	Nε1	Asp107	Oδ1	3.5
	Nε1	Asp107	Oδ2	3.4
Arg50	Nη1	Glu111	Oε2	3.0
Arg50	Nη2	Glu111	Oε1	3.0
Tyr54	OH	Asp107	Oδ2	3.0
Lys98	Nζ	Ser104	Oγ	3.5
Gly99	N	Asp107	Oδ1	2.4
Ser100	Oγ	Gln120	Oε1	3.0
Lys100A	Nζ	Glu103	Oε1	2.8
Arg100B	Nε	Glu111	Oε2	3.7
Arg100B	Nη1	Asp107	Oδ1	3.4
Arg100B	Nη1	Asp107	O	2.9
Arg100B	Nη2	Leu109	O	2.8
Arg100B	Nη2	Glu111	Oε1	3.9
Arg100B	Nη2	Glu111	Oε2	3.2
ファンデルワールス接触				
Thr28		Pro152		
Tyr54		Val108		
Tyr56		Leu110		
Lys98		Glu103, Asp107		
Gly99		Gln106, Trp116		
Ser100		Gln106, Trp116		
Lys100A		Glu123		
Arg100B		Leu109, Leu110, Trp116		
YW404.33.56のL鎖		**IL-34分子A**		**距離(Å)**
水素結合および塩架橋				
Phe92	O	Trp116	Nε1	3.3
ファンデルワールス接触				
Phe53		Leu127		
Ser91		Trp116		
Phe92		Glu111, Lys117, Gln120		
Phe94		Glu111		
YW404.33.56のH鎖		**IL-34分子B**		**距離(Å)**
水素結合および塩架橋				
Tyr54	O	Asn61	Nδ2	2.7
Tyr55	O	Asn61	Nδ2	3.4
ファンデルワールス接触				
Trp33		Ile60		
Tyr54		Ile60		
Try56		Lys55, Ile60		

表6:IL-34/YW405.3間の相互作用

YW405.3のH鎖		**IL-34分子A**		**距離(Å)**
水素結合および塩架橋				
Trp52A	O	Arg170	Nη2	3.2
Tyr53	O	Arg170	Nε	2.7
	OH	Asn167	Oδ1	2.3
Gly54	O	Lys162	Nζ	2.8
Gly55	O	Tyr47	OH	2.7
Asp56	Oδ1	Lys162	Nζ	3.8
	Oδ1	Tyr47	OH	3.7
	Oδ2	Lys55	Nζ	3.6
Asp98	Oδ1	Lys63	Nζ	2.7
	Oδ1	Arg160	Nη1	2.6
	Oδ2	Lys63	Nζ	3.7
	Oδ2	Arg160	Nη1	3.2
ファンデルワールス接触				
Tyr53		Arg73, Ile74		
Gly54		Tyr47, Asp166		
Tyr99		Arg73		
YW405.3のL鎖		**IL-34分子A**		**距離(Å)**
水素結合および塩架橋				
Tyr32	OH	Leu158	O	3.5
Trp92	O	Arg160	Nη1	3.8
Glu94	N	Asn61	Oδ1	3.5
ファンデルワールス接触				
Tyr32		Lys63		
Trp92		Asn61, Lys63, Leu158		
Ser93		Asn61		
YW405.3のL鎖		**IL-34分子B**		**距離(Å)**
水素結合および塩架橋				
Ser26	O	Asn155	N	2.9
ファンデルワールス接触				
Ala25		Pro154		
Ser26		Pro154		

【０２８１】

考察

受容体への結合時におけるＩＬ－３４内のコンフォメーショナル変化

本研究では、ＩＬ－３４の最初の三次元構造であって、それ自体において解明された三次元構造、及びその受容体であるＣＳＦ－１Ｒとの複合において解明された三次元構造の両方が報告される。その非結合形態におけるＩＬ－３４のプロトマー構造と、ＣＳＦ－１Ｒとの結合形態におけるＩＬ－３４のプロトマー構造とを比較することにより、その受容体へと結合しても、サイトカインの構造は、ほとんど変化しないことが明らかとなった。受容体界面の残基により採用される、側鎖の回転異性体のコンフォメーションさえも、驚くべきことに、遊離状態と結合状態との間でわずかな差違しか示さなかったことから、結合していないＩＬ－３４プロトマーも、受容体への結合と高度に適合性であり、結合の寸前にあることが示される。本明細書で提示される４つの構造の比較に基づく、ＩＬ－３４プロトマー構造の見かけの剛直性は、近年決定されたＦｌｔ３Ｌ構造と符合した（Ｖｅｒｓｔｒａｅｔｅら、Ｂｌｏｏｄ、１１８：６０～６８（２０１１））が、受容体の結合を受け入れるには、著明な局所的構造変化を受けなければならない、塑性の大きなＣＳＦ－１（Ｃｈｅｎら、Ｐｒｏｃｅｅｄｉｎｇｓ ｏｆ ｔｈｅ Ｎａｔｉｏｎａｌ Ａｃａｄｅｍｙ ｏｆ Ｓｃｉｅｎｃｅｓ ｏｆ ｔｈｅ Ｕｎｉｔｅｄ Ｓｔａｔｅｓ ｏｆ Ａｍｅｒｉｃａ、１０５：１８２６７～１８２７２（２００８））又はＳＣＦ（Ｌｉｕら

、Ｔｈｅ ＥＭＢＯ Ｊｏｕｒｎａｌ、２６：８９１～９０１（２００７）；Ｙｕｚａｗａら、Ｃｅｌｌ、１３０：３２３～３３４（２００７））の構造とは全く異なる。にもかかわらず、複合体の形成時の二量体界面近傍では、一方のＩＬ－３４プロトマーの配向の、他方のプロトマーと比べた著明な変化が観察された。αＣの傾斜角により記載すると、受容体の結合又はＹＷ４０４．３３．５６の結合は、ＩＬ－３４プロトマー間の角度の、それぞれ、６．６°又は４．６°の増大を誘導した。以前に、同様のヒンジ様剛体の運動が、ＣＳＦ－１／ＣＳＦ－１Ｒ系、ＳＣＦ／Ｋｉｔ系、及びＦｌｔ３Ｌ／Ｆｌｔ３系において報告された。予測外なことに、別の抗体であるＹＷ４０５．３も、同様の回転を誘発したが、反対方向の回転であった結果、傾斜角の６．４°の減少がもたらされた。このような高度の塑性は、他の二量体の４ヘリックスバンドルのサイトカインでは前例を見ず、小型で極めて疎水性のＩＬ－３４二量体化界面に帰せられる可能性が高い。

【０２８２】

ＣＳＦ－１ＲによるＩＬ－３４及びＣＳＦ－１の二重の認識

ＩＬ－３４とＣＳＦ－１とは、一次配列のレベルではほとんど類似しないが、それらは実際、類似する４ヘリックスバンドルによるコアフォールド、類縁の二量体化、及び受容体への結合界面を採用しており、差違は、コア外のループ及び構造的装飾に割り当てられる（ヘリックス型サイトカイン構造の比較においてしばしばみられる知見である）ことが見出された（Ｂａｚａｎ、Ｎｅｕｒｏｎ、７：１９７～２０８（１９９１ｂ）；Ｈｉｌｌら、Ｊｏｕｒｎａｌ ｏｆ ｍｏｌｅｃｕｌａｒ ｂｉｏｌｏｇｙ、３２２：２０５～２３３（２００２）；Ｒｏｚｗａｒｓｋｉら、Ｓｔｒｕｃｔｕｒｅ、２：１５９～１７３（１９９４））。実際、ヘリックス型サイトカインの祖型に取りつく遺残物（三次元フォールド関係を別とすれば）は、それらのそれぞれの遺伝子のエクソン／イントロン構造における類似性であり（Ｂａｚａｎ、Ｃｅｌｌ、６５：９～１０（１９９１ａ）；Ｂｅｔｔｓら、Ｔｈｅ ＥＭＢＯ Ｊｏｕｒｎａｌ、２０：５３５４～５３６０（２００１））、この点で、ＩＬ－３４遺伝子の構造は、ＣＳＦ－１遺伝子、ＳＣＦ遺伝子、及びＦｌｔ３Ｌ遺伝子と相同である。

【０２８３】

ＩＬ－３４及びＣＳＦ－１のいずれも、ＣＳＦ－１Ｒ受容体に高アフィニティーで結合し、同一ではないにせよ、同様の生物学的活性を誘導した（Ｃｈｉｈａｒａら、Ｃｅｌｌ ｄｅａｔｈ ａｎｄ ｄｉｆｆｅｒｅｎｔｉａｔｏｎ、１７：１９１７～１９２７（２０１０）；Ｌｉｎら、Ｓｃｉｅｎｃｅ、３２０：８０７～８１１（２００８））。この目覚ましい現象が、これらの構造的に類似するが、進化的には相違するリガンドによる受容体の共有を統御する分子機構を決定するために、ヒトＩＬ－３４／ＣＳＦ－１Ｒ複合体構造を、マウスＣＳＦ－１／ＣＳＦ－１Ｒ複合体構造と直接的に比較することにつながっている。この解析は、ＣＳＦ－１Ｒが、その両方のサイトカインとの相互作用に共通の「二重界面モード」を使用することを示した。ＩＬ－３４とＣＳＦ－１Ｒとの間の界面における、溶媒に接触可能な総包埋表面積は、約２４００Å^{2}であり、ＣＳＦ－１／ＣＳＦ－１Ｒ間界面内に包埋される１７００Å^{2}より著明に大きい。ＩＬ－３４と相互作用するＣＳＦ－１Ｒの領域と、ＣＳＦ－１と相互作用するＣＳＦ－１Ｒの領域とは、大きく重複するが、同一ではないことが注目に値する。何れのサイトカインによるシグナル伝達も遮断した抗ＣＳＦ－１Ｒ ｍＡｂのクローンである１２－２Ｄ６（Ｃｈｉｈａｒａら、Ｃｅｌｌ ｄｅａｔｈ ａｎｄ ｄｉｆｆｅｒｅｎｔｉａｔｏｎ、１７：１９１７～１９２７（２０１０））が、ＣＳＦ－１Ｒ受容体の最初の３つのドメイン内の残基１～３０８におけるエピトープを認識することは、この結果と符合する。１２－２Ｄ６は、ＩＬ－３４／ＣＳＦ－１間結合部位と重複する受容体上の部位への結合により機能し、したがって、受容体によるシグナル伝達を、リガンドにかかわらず無効にする可能性が極めて高い。これに対し、ｍＡｂのクローンである２－４Ａ５は、残基３４９～５１２に存在するエピトープを認識することにより、ＣＳＦ－１のＴＦ－１－ｆｍｓ細胞への結合は遮断したが、ＩＬ－３４のＴＦ－１－ｆｍｓ細胞への結合は遮断しなかった（Ｃｈｉｈａｒａら、Ｃｅｌｌ ｄｅａｔｈ ａｎｄ ｄｉｆｆｅｒｅｎｔｉａｔｏｎ、１７：１９１７～１９２７（２０

１０））。このエピトープが、何れのサイトカインのリガンド結合部位からも隔たっていることを考慮すると、ＣＳＦ－１をＩＬ－３４から識別する２－４Ａ５の能力は、依然として不可解である。にもかかわらず、この抗体／ＣＳＦ－１Ｒ複合体の特殊な形状により、立体障害が創出され、これが、ＣＳＦ－１の結合だけに影響を及ぼす可能性はあろう。

【０２８４】

さらなる解析は、ＣＳＦ－１Ｒによる２つのシグナル伝達複合体の間の、相互作用の数及び種類の両方における実質的な差違を明らかにした。ヒトＣＳＦ－１Ｒ及びマウスＣＳＦ－１Ｒの配列は、Ｄ１～Ｄ３内のギャップを伴わずに、７０％を超えて同一であり、したがって、ヒトＩＬ－３４複合体内のＣＳＦ－１Ｒの、マウスＣＳＦ－１複合体のＣＳＦ－１Ｒとの直接的な構造比較を可能とする（Ｃｈｅｎら、Ｐｒｏｃｅｅｄｉｎｇｓ ｏｆ ｔｈｅ Ｎａｔｉｏｎａｌ Ａｃａｄｅｍｙ ｏｆ Ｓｃｉｅｎｃｅｓ ｏｆ ｔｈｅ Ｕｎｉｔｅｄ Ｓｔａｔｅｓ ｏｆ Ａｍｅｒｉｃａ、１０５：１８２６７～１８２７２（２００８））。部位１の界面は、多数の共通の特色を共有する。ＣＳＦ－１ＲのＣＤループと、両方のサイトカインのヘリックスαＢとの間の極性相互作用の大半は、受容体上の塩基性残基の同じ群（Ｒ１４２、Ｒ１４６、及びＲ１５０）により媒介されるが、これにより、この領域における電荷相補性の共有が決定される（図３Ａ、Ｂ）。ＣＳＦ－１Ｒ上のこれらの３つの残基が、不変のまま維持される一方で、他の共通界面の接触部は、他の真核生物種におけるＣＳＦ－１Ｒオルソログの間で大きく相違することは興味深い。ヘリックスαＢの第２のターンの中央に位置する酸性残基（ＩＬ－３４内のＥ１０３及びＣＳＦ－１内のＤ５９）は、両方の構造内の塩架橋に関与する。ＣＳＦ－１ＲのＥＦループと、ＣＳＦ－１内のＮ８５との間の水素結合相互作用の代わりに、近傍のＩＬ－３４／ＣＳＦ－１Ｒ複合体内の疎水性パッチが用いられる。最も際立った差違は、ＣＳＦ－１ＲのＣＤループ及びＥＦループのエッジにある。ＩＬ－３４／ＣＳＦ－１Ｒには、Ｋ１５１$^{ＣＳＦ－１Ｒ}$、Ｋ１６８$^{ＣＳＦ－１Ｒ}$、及びＥ７８$^{ＣＳＦ－１}$の間の２つの接合ループの下方のエッジに位置する塩架橋が存在しない。代わりに、Ｎ１５０$^{ＩＬ－３４}$とＲ１４４$^{ＣＳＦ－１Ｒ}$とを架橋する固有の水素結合が、ＩＬ－３４を、ＣＤループの上方のエッジと近接させる。部位２の界面の間の差違は、なおいっそう著しい。この場合は、ＣＳＦ－１ＲのＣＤループ、Ｄストランド、及びＤＥループと、ＩＬ－３４内のヘリックスαＡ、αＣ、及びα４との間の広範にわたる水素結合ネットワークが、部位２における界面のコアを形成する。しかし、ＣＳＦ－１／ＣＳＦ－１Ｒ複合体では、このような相互作用が全く存在しない結果として、部位２の界面ははるかに小さくなる。しかし、受容体上のＶ２３１を伴う疎水性相互作用は、何れの複合体でも観察される。

【０２８５】

ＣＳＦ－１サイトカイン／受容体複合体と対比したＩＬ－３４サイトカイン／受容体複合体における、ＣＳＦ－１Ｒ受容体Ｄ２～Ｄ３ドメインの配向の大きな再構成

受容体ドメインＤ１及びＤ２の配向は、何れのサイトカイン／受容体複合体でも保存されているが、２つの複合体を比較すると、受容体ドメインＤ３の配向は、Ｄ１～Ｄ２と比べて、著明な２７°の変化を示した。ＩＬ－３４が係合すると、ＣＳＦ－１ＲのＤ２とＤ３との間で回転が誘発され、ＣＳＦ－１への結合形態の、ねじれた立体配置とは著明に異なる、細長い、ほとんど直鎖状の構成がもたらされた。このＣＳＦ－１Ｒの全体的再配向は、少なくとも部分的に、顕著に異なるＩＬ－３４の分子表面であって、本研究で報告される構造において観察される新たな配向を誘導せずにＣＳＦ－１Ｒと立体的に衝突する分子表面に帰することができよう。受容体接触残基を、両方のサイトカインの二次構造上にマッピングすると、何れの相互作用部位も、ＩＬ－３４上では、ＣＳＦ－１におけるより大きく散開することが明確に示された（図５Ａ、Ｂ）。これは、４ヘリックスバンドルコア、すなわち、α３及びα４の外部で顕著に異なる構造的特色に主に起因する。よって、ＩＬ－３４上では、よりフラットな界面が創出され、受容体の拡張型のコンフォメーションが要請されるのに対し、ＣＳＦ－１は、それらのより「屈曲した」配向から創出される、ＣＳＦ－１Ｒ　Ｄ２とＣＳＦ－１Ｒ　Ｄ３との間のくぼみへと突き出ている。ＣＳＦ－１／受容体複合体でも、近接するドメインであるＤ２とＤ３との間の界面は最小限である

が、ＩＬ－３４／受容体複合体では、ＣＳＦ－１／受容体複合体内のＤ３　Ｅ２３０とＤ２　Ｋ１９４との間の唯一の塩架橋が破断することから、Ｄ２及びＤ３は、ＩＬ－３４と結合すると、より拡張型の、ほとんど直鎖状の配置を採用することが可能となる。受容体Ｄ２～Ｄ３のヒンジ配列である^{196}ＮＫＶＩＰＧＰ^{202}が、２つの回転軸点としてのＫ１９７及びＧ２０１を用いて完全に再構成される一方で、Ｎ１９６で終わるＤ１～Ｄ２及びＰ２０２で始まるＤ３は、構造的攪乱を最小限としてそのまま残される。したがって、Ｄ２ドメインとの間の屈曲部の実質的な柔軟性により、ＣＳＦ－１Ｒ分子は、ＩＬ－３４及びＣＳＦ－１によりもたらされる、顕著に異なる結合表面へと適合することが可能となる（図５Ａ、Ｂ）。これに対し、Ｄ４及びＤ５が再編成され、２つのＳＣＦに結合したＫＩＴ分子の間の受容体間相互作用を媒介する、ＫＩＴ受容体のＤ１～Ｄ２～Ｄ３領域は、ＳＣＦと結合すると、剛体として挙動すると考えられた（Ｙｕｚａｗａら、Ｃｅｌｌ、１３０：３２３～３３４（２００７））。Ｋｉｔには、ドメインＤ２～Ｄ３間に、ＣＳＦ－１Ｒには存在しない著明な疎水性の界面が存在する。ドメイン間の柔軟性は、複数のウイルスタンパク質が、侵入のために同じ宿主細胞受容体を使用するときの適合機構として用いられている。２つの構造的に非類縁のタンパク質である麻疹ウイルスのヘマグルチニンと１１／２１型アデノウイルスのノブとは、ＣＤ４６の最初の２つのＳＣＲドメインを共有し、その間のリンカーは、構造的な塑性が大きい（Ｃｕｐｅｌｌｉら、Ｊｏｕｒｎａｌ　ｏｆ　ｖｉｒｏｌｏｇｙ、８４：３１８９～３２００（２０１０）；Ｐｅｒｓｓｏｎら、Ｎａｔｕｒｅ　ｓｔｒｕｃｔｕｒａｌ　＆　ｍｏｌｅｃｕｌａｒ　ｂｉｏｌｏｇｙ、１４：１６４～１６６（２００７）；Ｓａｎｔｉａｇｏら、Ｎａｔｕｒｅ　ｓｔｒｕｃｔｕｒａｌ　＆　ｍｏｌｅｃｕｌａｒ　ｂｉｏｌｏｇｙ、１７：１２４～１２９（２０１０））。なお更に、受容体のドメイン配向の攪乱は、合成のアゴニストペプチド及びアンタゴニストペプチドと複合したエリスロポエチン受容体（ＥＰＯＲ）における１４°の回転により顕示される、顕著な機能的帰結をもたらしうる（Ｌｉｖｎａｈら、Ｎａｔｕｒｅ　ｓｔｒｕｃｔｕｒａｌ　ｂｉｏｌｏｇｙ、５：９９３～１００４（１９９８））。ＩＬ－３４は、ＣＳＦ－１Ｒの、強力であるがより一過性の活性化を誘導し、ＣＳＦ－１Ｒレベルを、ＣＳＦ－１と比較して、より迅速に下方調節することが報告された（Ｃｈｉｈａｒａら、Ｃｅｌｌ　ｄｅａｔｈ　ａｎｄ　ｄｉｆｆｅｒｅｎｔｉａｔｏｎ、１７：１９１７～１９２７（２０１０））。このＣＳＦ－１Ｒ受容体ドメインの再配向によれば、おそらく、これらの２つのサイトカインに対する異なるアフィニティーと組み合わせて、そのシグナル伝達効力が調節されうるであろう。

【０２８６】

サイトカイン／ＣＳＦ－１Ｒシグナル伝達複合体内で間隔が等しいＣＳＦ－１Ｒ　Ｄ３～Ｄ４間接合部は、Ｄ４、Ｄ５を縮重シグナル伝達に向けてプライミングする

受容体により媒介される同型の相互作用であって、ＩＩＩ型ＲＴＫの活性化における不可欠の役割を果たす相互作用が提起されている。このような相互作用は、ＫＩＴ　Ｄ４（Ｙｕｚａｗａら、Ｃｅｌｌ、１３０：３２３～３３４（２００７））及びＶＥＧＦＲ２　Ｄ７（Ｙａｎｇら、Ｐｒｏｃｅｅｄｉｎｇｓ　ｏｆ　ｔｈｅ　Ｎａｔｉｏｎａｌ　Ａｃａｄｅｍｙ　ｏｆ　Ｓｃｉｅｎｃｅｓ　ｏｆ　ｔｈｅ　Ｕｎｉｔｅｄ　Ｓｔａｔｅｓ　ｏｆ　Ａｍｅｒｉｃａ、１０７：１９０６～１９１１（２０１０））の場合には構造的に捕捉されているか、又はＰＤＧＦＲβ（Ｓｈｉｍら、Ｐｒｏｃｅｅｄｉｎｇｓ　ｏｆ　ｔｈｅ　Ｎａｔｉｏｎａｌ　Ａｃａｄｅｍｙ　ｏｆ　Ｓｃｉｅｎｃｅｓ　ｏｆ　ｔｈｅ　Ｕｎｉｔｅｄ　Ｓｔａｔｅｓ　ｏｆ　Ａｍｅｒｉｃａ、１０７：１１３０７～１１３１２（２０１０））の場合には生化学的に特徴付けられている。これらの相互作用の本質は、２つの受容体ＫＩＴのＤ４ドメイン（ＶＥＧＦＲ内のＤ７又はＰＤＧＦＲ内のＤ４）の間のＥＦループ内の相反的塩架橋の対である。ＣＳＦ－１Ｒ　Ｄ４内で保存されるこのイオン性対により中断される、ＣＳＦ－１ＲとＫＩＴとの間の比較的高度な配列同一性に起因して、おそらく、類似する受容体による同型の相互作用もまた、膜を越えてリガンド結合シグナルを中継するときに、ＣＳＦ－１Ｒの二量体化を駆動する。本明細書で記載される生物物理的解析により、溶液中のＩＬ－３４／ＣＳＦ－１Ｒ複合体の２：２の化学量論比が示さ

れることを踏まえるなら、結晶構造において観察される２：１のＩＬ－３４／ＣＳＦ－１Ｒ複合体は、結晶パッキング力の影響を受けた可能性が極めて高い。したがって、２つのＩＬ－３４プロトマーの間の２回対称性を、ＣＳＦ－１Ｒへと適用することにより、予測される完全な２：２のリガンド／受容体シグナル伝達複合体をモデル化した。存在しないＣＳＦ－１Ｒのコピーを、ＩＬ－３４二量体上の非占有部位へと付加すると、この２：２のＩＬ－３４／ＣＳＦ－１Ｒモデルにおける、ＣＳＦ－１Ｒ　Ｄ３の２つのＣ末端の間の距離（６０Å）は、２：２のＣＳＦ－１／ＣＳＦ－１Ｒモデルにおける距離（６２Å）、及び２：２のＳＣＦ／Ｋｉｔ構造における距離（６４Å）と極めて類似する（図６）。まとめると、ＣＳＦ－１Ｒ　Ｄ２～Ｄ３間のヒンジは、２つのサイトカインの顕著に異なる表面トポグラフィーに適合させるために、全く異なるコンフォメーションを採用しうるが、にもかかわらず、Ｄ２～Ｄ３の再配向は、２つのサイトカイン／受容体シグナル伝達複合体内で間隔が等しいＤ３～Ｄ４接合部を結果としてもたらし、ＣＳＦ－１　Ｄ４を、下流において縮重応答を誘発する同型の相互作用のための収束点として提示する。

【０２８７】

ＣＳＦ－１Ｒにおけるリガンド結合の無差別性は、共有の造血サイトカイン受容体とは顕著に異なる機構を使用する

多数の共有サイトカイン受容体については、それらの全ては、少なくとも２つの異なるリガンド結合状態において構造的に捕捉されているので、共通のガンマ鎖（γｃ）、ｇｐ１３０、及びインターフェロンα受容体（ＩＦＮＡＲ１／２）など、サイトカイン結合の無差別性の分子機構が解読されている（Ｔｈｏｍａｓら、Ｃｅｌｌ、１４６：６２１～６３２（２０１１）；Ｗａｎｇら、Ａｎｎｕａｌ　ｒｅｖｉｅｗ　ｏｆ　ｉｍｍｕｎｏｌｏｇｙ、２７：２９～６０（２００９））。γｃ及びｇｐ１３０の何れの細胞外ドメインも、ＩＩＩ型フィブロネクチン（ＦＮＩＩＩ）の２つのＩｇ様ドメインからなる１つのサイトカイン結合相同性領域（ＣＨＲ）を含有する（Ｗａｎｇら、Ａｎｎｕａｌ　ｒｅｖｉｅｗ　ｏｆ　ｉｍｍｕｎｏｌｏｇｙ、２７：２９～６０（２００９））。サイトカイン結合部位は、いずれにも共有されるクラスＩのサイトカイン受容体内のドメイン内接合部に格納されているが、ＩＬ－２／γｃ四元複合体を、ＩＬ－４／γｃ三元複合体と比較して（ＬａＰｏｒｔｅら、Ｃｅｌｌ、１３２：２５９～２７２（２００８）；Ｗａｎｇら、Ｓｃｉｅｎｃｅ、３１０：１１５９～１１６３（２００５））も、リガンド結合していないｇｐ１３０を、３つのｇｐ１３０ファミリーのサイトカイン複合体と比較しても、著明な屈曲部の運動が観察されることはなかった（Ｂｏｕｌａｎｇｅｒら、Ｍｏｌｅｃｕｌａｒ　ｃｅｌｌ、１２：５７７～５８９（２００３ａ）；Ｂｏｕｌａｎｇｅｒら、Ｓｃｉｅｎｃｅ、３００：２１０１～２１０４（２００３ｂ）；Ｂｒａｖｏら、Ｔｈｅ　ＥＭＢＯ　Ｊｏｕｒｎａｌ、１７：１６６５～１６７４（１９９８）；Ｃｈｏｗら、Ｓｃｉｅｎｃｅ、２９１：２１５０～２１５５（２００１））。異なるサイトカインへと結合したときの、γｃ内及びｇｐ１３０内の界面残基の回転異性体状態であってもなお、依然として大きくは変化しない（Ｗａｎｇら、Ａｎｎｕａｌ　ｒｅｖｉｅｗ　ｏｆ　ｉｍｍｕｎｏｌｏｇｙ、２７：２９～６０（２００９））。γｃ及びｇｐ１３０は、共有される疎水性コア領域を周縁部の極性パッチにより取り囲んだ「化学的に不活性の相補性表面」を用いて、それぞれ、短鎖のサイトカイン及び長鎖のサイトカインを認識する（Ｂｏｕｌａｎｇｅｒら、Ｍｏｌｅｃｕｌａｒ　ｃｅｌｌ、１２：５７７～５８９（２００３ａ）；Ｗａｎｇら、Ａｎｎｕａｌ　ｒｅｖｉｅｗ　ｏｆ　ｉｍｍｕｎｏｌｏｇｙ、２７：２９～６０（２００９））。近年決定されたＩ型ＩＦＮ受容体複合体は、パラログであるＩＦＮα２及びＩＦＮωが、ＩＦＮＡＲ１の最初の３つのＦＮＩＩＩドメイン（ＳＤ１～ＳＤ３）と、よりコンパクトなＩＦＮＡＲ２の２つのＦＮＩＩＩ様ドメイン（Ｄ１、Ｄ２）との間に挟み込まれていることを明らかにした（Ｔｈｏｍａｓら、Ｃｅｌｌ、１４６：６２１～６３２（２０１１））。興味深いことに、ＩＦＮに結合するとき、ＩＦＮＡＲ１のＮ末端のＳＤ１ドメインは、ＳＤ２～ＳＤ３セグメントと比べて回転するが、ひとたびＩＦＮに結合してしまうと、ＩＦＮＡＲ１は、結合したサイトカインの識別にかかわらず、ほとんど同一なコンフォメーションを呈示する。ＩＦＮＡＲ１及びＩＦＮＡＲ２のいずれも、交差反応性のた

めに、Ｉ型ＩＦＮの残基表面上の少数の保存的な「アンカー点」に依拠する（Ｔｈｏｍａｓら、Ｃｅｌｌ、１４６：６２１～６３２（２０１１））。しかし、多数のそれほど保存的でないアミノ酸は、受容体に対するそれらの個別の結合アフィニティーを微調整するために、保存的なＩＦＮ結合表面群の一面に散在する。

【０２８８】

比較によれば、ＣＳＦ－１Ｒの無差別性の構造的基礎は、前述した共有サイトカイン受容体とまったく異なる。ＣＳＦ－１Ｒ上のコア及び周縁部の結合界面アーキテクチャーは、クラスＩサイトカイン／受容体の認識パラダイムとある程度類似しているが、ＣＳＦ－１Ｒは、γｃ及びｇｐ１３０において観察される疎水性相互作用の代わりに、部位１内の極性相互作用を、そのコアとして主に用いる。ＣＳＦ－１Ｒは、より大きな程度において、そのコンフォメーション塑性に明確に依拠して、他の共有サイトカイン受容体では見られない交差反応性、構造的適合を可能とする。これは、ＩＬ－３４がＣＳＦ－１と共有する配列同一性は１１％に過ぎず、予測のためのバイオインフォマティクスルーチンによる認識を免れている（より高感度のフォールド認識法（ＪＦＢ；非公開）ならよりよく認識するが）ことを考慮すると、おそらく驚くべきことではない（Ｃｏｎｋｌｉｎら、Ｂｉｏｉｎｆｏｒｍａｔｉｃｓ、２１：１７７６～１７８１（２００５））。ＣＳＦ－１Ｒは、進化において、ドメイン間の構造的塑性と、界面残基の組成変化との組合せにより、ＩＬ－３４及びＣＳＦ－１に対する優れたアフィニティーを維持するように対処している。これは、非近縁のヘリックス型サイトカインによる縮重認識の、他のサイトカイン系で証拠立てられている通り、唯一の機構ではないが、極めて有効な機構をもたらしている。

【０２８９】

実施例２：ヒト抗ＩＬ－３４抗体の特徴付け

方法

競合ＥＬＩＳＡによるエピトープマッピング

ＥＬＩＳＡプレートを、ＰＢＳ中の１Ｈ　ｍｕＩＬ－３４ｆｌａｇ（１ｕｇ／ｍｌ）により、４℃で一晩にわたり、又は室温で２時間にわたりコーティングし、１％のＢＳＡ及び０．１５％のＴｗｅｅｎ２０を含むＰＢＳを用いてブロッキングした。３０ナノモルの濃度のビオチン化されたＹＷ４０４．３３抗体を、３００ナノモルの濃度で始める被験抗ＩＬ－３４抗体の７点の希釈系列へと添加した。抗体混合物を、短時間にわたり室温でプレインキュベートした。次いで、混合物を、コーティングされたＥＬＩＳＡプレートへと添加し、室温で約３０分間～約１時間にわたりインキュベートした。プレートを洗浄し、結合したビオチン化抗体をＳＡ－ＨＲＰで検出した。このアッセイでは、抗ｍｕＩＬ－３４及びＨｅｒｃｅｐｔｉｎを、対照として用いた。

【０２９０】

結果

ヒト抗ＩＬ－３４抗体は、ファージディスプレイ技術を用いて創成し、実施例１で記載した細胞ベースのアッセイにより、ＩＬ－３４活性を中和するそれらの能力について調べた。抗ＩＬ－３４抗体であるＹＷ４０４．１、ＹＷ４０４．６、及びＹＷ４０４．３３の中和活性を、例えば、図９Ａに示す。これらの抗体のヒトＩＬ－３４に対する特異性を、マウスＩＬ－３４に対する特異性と対比して比較したほか、それらの遮断活性、及び結合アフィニティーについても比較した（表７）。更にまた、これらの抗体を、競合ＥＬＩＳＡによって調べ、それらが、ＩＬ－３４上の重複エピトープに結合するのかどうかも決定した（表７）。

表7:YW404.1、YW404.6、YW404.33の比較

	h/m特異性	遮断活性	結合アフィニティー	エピトープ
YW404.1	交雑	++	+++	顕著に異なる
YW404.6	マウス	++	+	YW404.33と重複する
YW404.33	交雑	+++	+++	YW404.6と重複する

【０２９１】
次いで、幾つかのヒト抗ＩＬ－３４抗体を、ソフトランダム化戦略を用いてアフィニティー成熟させ、それらのアフィニティーを、実施例１で記載した通りに測定した。アフィニティー成熟させた抗体を、実施例１で記載した細胞ベースの中和アッセイにより更に調べた。図９Ｂに示す通り、抗ＩＬ－３４　Ａｂである、ＹＷ４０４．３３、ＹＷ４０４．３３．１２、及びＹＷ４０４．３３．５６について、アフィニティーの改善は、細胞遮断活性とよりよく相関した。
【０２９２】
更にまた、単核細胞ＭＮＦＳ６０上のＩＬ－３４の生物活性を中和する抗体の能力に基づき、ＩＣ５０値も決定した。ＭＮＦＳ５０上のｆｌａｇタグづけされたｍＩＬ－３４の生物活性を中和する抗体の能力を測定するには、ＣｅｌｌＴｉｔｅｒ－Ｇｌｏ（登録商標）による細胞増殖アッセイを用いた。ＩＬ－３４の希釈系列に対する細胞の応答に基づき、抗体の中和活性を決定するための、５０ｎｇ／ｍｌというＩＬ－３４量を選択した。５０％阻害濃度（ＩＣ５０）は、ＩＬ－３４が、７０～８０％の増殖応答を誘発する濃度で存在する場合に、細胞上のＩＬ－３４活性の５０％阻害をもたらすのに要請される抗体濃度と定義される。
【０２９３】
５０ｎｇ／ｍｌのｈＩＬ－３４を、抗ＩＬ３４　ｍＡｂの希釈系列と混合してから、１００ｕｌの総容量で細胞へと添加した。抗体阻害活性は、３７℃で７２時間にわたりプレートをインキュベートした後で、ＲＬＵを測定することにより得た。ＩＣ５０は、ＫａｌｅｉｄａＧｒａｐｈで計算した。例えば、抗ＩＬ－３４　ＡｂであるＹＷ４０４．３３．５６、４０４．３３、及びＹＷ４０４．３３．９３のＩＣ５０値は、それぞれ、２０．２１ｎｇ／ｍｌ、７７．４２ｎｇ／ｍｌ、及び３１．６２ｎｇ／ｍｌであった。
【０２９４】
これらの抗体のほか、ＹＷ４０４．１、ＹＷ４０４．６、ＹＷ４０５．３、ＹＷ４０４．３３．１０、ＹＷ４０４．３３．１２、及びＹＷ４０４．３３．１１の重鎖可変領域及び軽鎖可変領域並びにＣＤＲ領域の配列も、図１０Ａ及びＢに示す。
【０２９５】
実施例３：抗ＣＳＦ－１抗体と抗ＩＬ－３４抗体との組合せを用いる、マウスにおけるＤＳＳ誘導性炎症性腸疾患の阻害
方法
処置の前に、Ｂａｌｂ／ｃマウスの体重をあらかじめ測り、これらを無作為化し、以下の通りに処置した。群１（１群当たりのｎ＝８）には、実験を通して、デキストラン硫酸ナトリウム（ＤＳＳ）を含まない通常の飲用水を施した。群２～６には、実験の０日目～６日目において、３％のＤＳＳ（３ｇ／１００ｍｌ（３％）のデキストラン硫酸ナトリウム）を含む飲用水を施した。６日後、群２～６には、屠殺するまで、ＤＳＳを含まない通常の飲用水を施した。群２は、４００ｕｇの抗ブタクサ抗体（ａ－ＲＷ－ｍＩｇＧ２ａ）で、０日目の前日に始めて８日目までの隔日、陰性対照として処置した。群３は、０日目の前日に始めて８日目までの毎日、０．９％の塩化ナトリウム（ＣＳＡ）中に２５ｍｇ／ｋｇのシクロスポリンＡで、腹腔内処置した。群４は、０日目の前日に始めて８日目まで

の隔日、２００ｕｇの抗ＣＳＦ－１抗体（ＡＴＣＣ受託番号：ＣＲＬ－２７０２のラット抗体；クローン５Ａ１）及び２００ｕｇのａ－ＲＷ抗体で処置した。群５は、０日目の前日に始めて８日目までの隔日、２００ｕｇの抗ＩＬ－３４抗体（ＹＷ　４０４．３３．１２）及び２００ｕｇのａ－ＲＷ抗体で処置した。群６は、０日目の前日に始めて８日目までの隔日、２００ｕｇの抗ＣＳＦ－１抗体（ＡＴＣＣ受託番号：ＣＲＬ－２７０２のラット抗体；クローン５Ａ１）及び２００ｕｇの抗ＩＬ－３４抗体（ＹＷ　４０４．３３．１２）で処置した。全てのマウスは、８日目に屠殺し、それらの大腸炎重症度スコアは、陰窩喪失、並びにＴ細胞、Ｂ細胞、及びマクロファージを含めた炎症性細胞の浸潤などのパラメータに基づき決定した。

【０２９６】

結果

ＤＳＳ誘導性ＩＢＤを伴うマウスであって、抗ＩＬ－３４抗体又は抗ＣＳＦ－１抗体で処置されたマウスは、対照のａ－ＲＷ抗体で処置されたマウスと比較して、大腸炎重症度スコアの低減を示した。このＩＢＤモデルでは、抗ＣＳＦ－１抗体と抗ＩＬ－３４抗体との組合せを用いるＣＳＦ－１及びＩＬ－３４の両方の阻害は、なおいっそう有効であった（図１１）。

【０２９７】

ＩＬ－３４及びＣＳＦ－１のＩＢＤにおける関与は、対照（ＤＳＳなし）マウス、及びＤＳＳ誘導性ＩＢＤを伴うマウスであって、対照抗体（ａ－ＲＷ）で処置されたマウスにおけるＩＬ－３４及びＣＳＦ－１の血清レベルを測定することにより更に裏付けられた。ＣＳＦ－１及びＩＬ－３４のレベルは、ＥＬＩＳＡを用いて決定した。ＤＳＳ誘導性ＩＢＤを伴うマウスであって、対照抗体で処置されたマウスは、ＩＬ－３４レベル及びＣＳＦ－１レベルの、対照マウスと比較した上昇を示した（図１２）。

【０２９８】

実施例４－ヒトＲＡ患者におけるＩＬ－３４及びＣＳＦ－１

関節リウマチ患者に由来する血清、滑液、及び組織中のＣＳＦ－１タンパク質、ＩＬ－３４タンパク質、及びＴＮＦアルファタンパク質の発現を、図１３に示す。これらの体液では、ＩＬ－３４が、ＣＳＦ－１及びＴＮＦアルファより低レベルで発現する。ＲＡ患者に由来する滑膜組織の、抗ＩＬ３４抗体によるＩＨＣ染色は、ＩＬ－３４が、組織／細胞外マトリックス（ＥＣＭ）中で濃縮されている可能性が高いことを示す。

【０２９９】

（Ａ）ＴＮＦ遮断に応答したＲＡ患者（ＴＮＦ－Ｒ）もしくはＴＮＦ遮断に応答しなかったＲＡ患者（ＴＮＦ－ＮＲ）、又は（Ｂ）ＴＮＦ遮断による不奏効処置の後にリツキシマブで治療されたＲＡ患者の関節中の骨髄亜型遺伝子の遺伝子発現を測定するマイクロアレイの結果を、図１４に示す。リツキシマブ非応答患者を「リツキシマブＮＲ」とし、リツキシマブ応答患者を「リツキシマブＲ」とする。抗ＴＮＦ応答患者（ＴＮＦ－Ｒ）では、骨髄亜型が濃縮される。結果はまた、原発性及び続発性のＴＮＦ－ＮＲ　ＲＡ患者では、ＣＳＦ１／ＩＬ３４経路が関与していることも示す。ＴＮＦ－ＮＲ及びリツキシマブＮＲでは、ＩＬ３４及びＣＳＦ１の転写物が高レベルで存在するので、ＩＬ３４／ＣＳＦ１経路は、抗ＴＮＦａ療法又はリツキシマブ療法に応答しない患者における病原性に著明に寄与している可能性が高い。これらの患者における両方のサイトカインの遮断は、臨床的利益のために要請される可能性が高い。

【０３００】

実施例５－ＣＩＡモデルにおけるＩＬ－３４及びＣＳＦ－１の両方の阻害

抗ＣＳＦ１抗体による治療の、抗ＩＬ３４抗体による治療との組合せを、マウスＣＩＡモデルにおいて、ＴＮＦＲＩＩ－Ｆｃに対して比較した（図１５）。ＤＢＡ－１Ｊマウスに、ＣＦＡ中のウシＩＩ型コラーゲンを、０及び２１日目にｉ．ｄ．注射した。次いで、関節炎スコアを毎日モニタリングした。抗体による治療は、２４日目又は３１日目に開始し（確立された関節炎：臨床スコア＝４）、終了まで７週間にわたって行った。抗体による治療は、ａ－ブタクサ（抗体のｍＩｇＧ２ａアイソタイプ：対照）、ＴＮＦＲＩＩ－Ｉ

ｇ（ｍＩｇＧ２ａ）、抗ｍｕＣＳＦ１（自家製；ｍＩｇＧ２ａ）、抗ＩＬ３４（ＹＷ４０４．３３．１２；ｍＩｇＧ２ａ）、抗ｍＣＳＦ１＋抗ＩＬ３４（３及び４の組合せ）、抗ｍＣＳＦ１（ＤＡＮＡ）＋抗ＩＬ３４（ＹＷ４０４．３３．１２　ＤＡＮＡ）であり、全ての動物（１群当たりのｎ＝１０）は、動物１匹当たり２００ｕｇの上記の試薬で、毎週３回、終了まで７週間にわたり腹腔内処置した。エンドポイントＰＤには、縦断的臨床スコア、組織病理学（四肢及び類縁の組織）、ＦＡＣＳ（組織単球サブセット及びＭｆ）、及び骨容量（ｕＣＴ）解析が含まれる。

【０３０１】

研究は、ＴＮＦＲＩＩ－Ｆｃに対して、抗ＣＳＦ１抗体と抗ＩＬ－３４抗体との組合せによる、とりわけ、ＡＤＣＣ活性を低減した（すなわち、ＤＡＮＡ突然変異は、Ｆｃ領域におけるＤ２６５Ａ、Ｎ２９７Ａである）抗体による、臨床スコア及び組織学スコア（炎症、線維増殖、軟骨）の同等であるか又は改善傾向の阻害を示す。更にまた、ａＣＳＦ１＋ａＩＬ３４の組合せによる治療は、ＴＮＦＲＩＩ－Ｆｃと比較して、骨糜爛に対する保護において明確に優れており、更にまた、抗ＣＳＦ１と抗ＩＬ－３４抗体との組合せによる治療は、何れかの治療単独より優れてもいる。

【０３０２】

実施例６－さらなるＩＢＤモデルにおけるＩＬ－３４及びＣＳＦ－１の両方の阻害

ＩＢＤについての別のモデルでは、６～８週齢の雌Ｃ５７ＢＬ／６Ｊマウスにおいて、ＤＳＳ誘導性大腸炎を誘導した（図１６）。Ｃ５７Ｂ６マウスに、３％のＤＳＳを、５日間にわたり経口投与して、上皮の損傷、可逆性の体重の減少、及び大腸における好中球浸潤を特徴とする急性大腸炎を誘導した。抗体による治療は、－１日目に開始し、のべ４回の投与を伴った。研究は、解析のために８日目に終了させた。治療群（１群当たりのｎ＝１０）：３％のＤＳＳ＋ａ－ブタクサ（ｍＩｇＧ２ａ対照、マウス１匹当たり４００ｕｇ；腹腔内）、３％のＤＳＳ＋ａ－ｍＣＳＦ１　Ａｂ（自家製、マウス１匹当たり２００ｕｇ；腹腔内）、３％のＤＳＳ＋ａ－ＩＬ３４　Ａｂ（ＹＷ４０４．３３．１２、マウス１匹当たり２００ｕｇ；腹腔内）、３％のＤＳＳ＋ａ－ｍＣＳＦ１／ａ－ＩＬ３４（マウス１匹当たり２００ｕｇ　ａ－ＣＳＦ１及びマウス１匹当たり２００ｕｇ　ａ－ＩＬ３４、；腹腔内）であった。デキサメタゾンは、０．５ｍｇ／ｋｇ、ＱＤで、腹腔内投与した。ナイーブマウスは、ＤＳＳで治療しなかった。抗ブタクサ抗体を、陰性対照として用いた。終了後、このモデルのために、結腸組織学スコアを読み取った。

【０３０３】

ＴＮＦΔＡＲＥ大腸炎マウスの解析は、骨髄細胞の増殖及び活性化がなされるとき、ＣＳＦ－１／ＩＬ－３４及びＣＳＦ－１Ｒのタンパク質及びｍＲＮＡの発現が増大することを示した（データは示さない）。ＴＮＦΔＡＲＥマウスの脾臓では、Ｍｆ及び単球が、著明に増殖及び活性化した。ＴＮＦΔＡＲＥマウスは、野生型（ｗｔ）マウスと比較して、消化管組織で高量のＣＳＦ－１及びＩＬ－３４を産生した。ＴＮＦΔＡＲＥマウスの回腸では、ＣＳＦ－１Ｒ　ｍＲＮＡ、ＣＳＦ１　ｍＲＮＡ、及びＩＬ－３４　ｍＲＮＡの、野生型マウスと比較して高い発現レベルが観察された。

【０３０４】

実施例７－ヒトクローン病患者及びヒトＵＣ患者におけるＩＬ－３４及びＣＳＦ－１

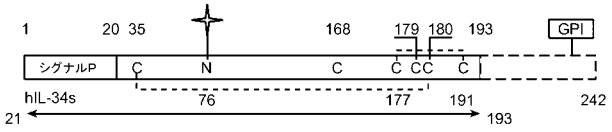
クローン病又は潰瘍性大腸炎を患うヒト患者の血清及び組織に由来するＣＳＦ－１タンパク質及びＩＬ－３４タンパク質の解析は、ＩＬ－３４が、血清中では極めて低レベルで発現するが、組織内では高レベルで発現することを示した。他方、ＣＳＦ－１は、血清中及び組織内で十分に発現する（図１７）。この組織データは、潰瘍性大腸炎及びクローン病を含めた炎症性腸疾患において、ＩＬ－３４及びＣＳＦ１の両方を阻害すれば、何れか単独の阻害剤によるＩＢＤ患者の治療よりも優れているであろうという考えを更に裏付ける。

【０３０５】

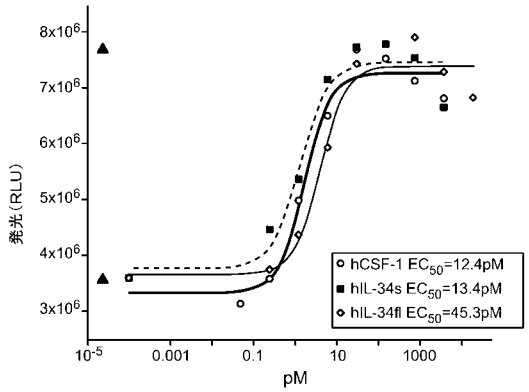
ＲＡ患者では、ＩＬ－３４タンパク質の発現がＣＳＦ１タンパク質の発現より低度であるが、血清中及び滑液中では容易に検出可能である。これらの同じ患者において、ＣＳＦ

－１タンパク質は、血清及び滑液のいずれでも高度に発現した（図１３）。
【０３０６】
ＲＡ患者及び骨関節炎患者の滑液中のＩＬ－３４タンパク質、ＣＳＦ－１タンパク質、及びＴＮＦアルファタンパク質の解析は、関節リウマチ患者及び骨関節炎患者におけるこれらの体液中のＩＬ－３４／ＣＳＦ－１の発現レベルとＴＮＦａの発現レベルとの間では、相関が見られないことを示した（図１８）。したがって、データからは、ＲＡ及び骨関節炎を患う患者であって、それらの類似する表現型にもかかわらず、顕著に異なる分子プロファイル、すなわち、ＣＳＦ－１／ＩＬ－３４の発現と対比して顕著に異なるＴＮＦアルファの発現を示す患者が存在することが示される。
【０３０７】
実施例８－ＩＬ－３４及びＣＳＦ－１の阻害は、骨髄細胞の浸潤を低減する
マウスＣＩＡは、既に言及されている通りに準備した。動物の関節滑膜細胞／組織を、ａ－ＣＳＦ１＋ａ－ＩＬ３４の組合せＡｂ又は抗ブタクサにより、３９日目に始めて７日間で２回にわたり処置されたマウス（確立されたＣＩＡ：臨床スコア＝４）（試料１例当たりのｎ＝３）から収集した。動物は、７日間にわたる処置の後に安楽死させた。関節滑膜組織／細胞を収集し、単一の細胞懸濁液のために、コラゲナーゼにより消化した。細胞は、標識された抗ＣＤ１１ｂ抗体、抗Ｌｙ６Ｃ抗体、抗Ｌｙ６Ｇ抗体、及び抗Ｆ４／８０抗体（ＢＤ　Ｂｉｏｓｙｓｔｅｍから購入）で染色した。標識された細胞は、フローサイトメーターで解析して、骨髄サブセット（Ｍｆ：ＣＤ１１ｂ＋／Ｆ４８０＋、炎症性単球：ＣＤ１１ｂ＋／Ｌｙ６Ｃ＋／Ｌｙ６Ｇｌｏｗ、及び在住単球：ＣＤ１１ｂ＋／Ｌｙ６Ｇ＋／Ｌｙ６Ｃｌｏｗ）を規定した。
【０３０８】
このデータは、何らかの臨床的利益が観察されうる前に既に関節炎性の動物に対する抗ＣＳＦ１／ＩＬ－３４組合せ処置のわずか７日後における関節滑膜に浸潤するマウス骨髄細胞（Ｍｆ及び単球）の低減を示す。これは、組合せ療法による阻害の結果としての骨髄阻害についての主要な機構が、滑膜内の骨髄細胞の遊走、浸潤、及び拡大の低減であることを示す。
【０３０９】
前出の本発明について、理解の明確さを目的とする例示及び例のために、ある程度詳細に記載してきたが、その記載及び実施例は、本発明の範囲を限定するものとみなすべきではない。本明細書で引用される全ての特許及び研究文献の開示は、出典明示によりそれらの全体において明示的に援用される。これらの開示は、Ｍａら、（２０１２）、Ｓｔｒｕｃｔｕｒｅ、２０：６７６～６８７として引用される刊行物と、それらに由来する利益を本出願が主張し、それらの全てが出典明示によりそれらの全体において援用される、２０１２年２月６日に出願された米国仮出願第６１，５９５，６５８号と２０１２年８月７日に出願された米国仮出願第６１／６８０，６７４号とを包含する。

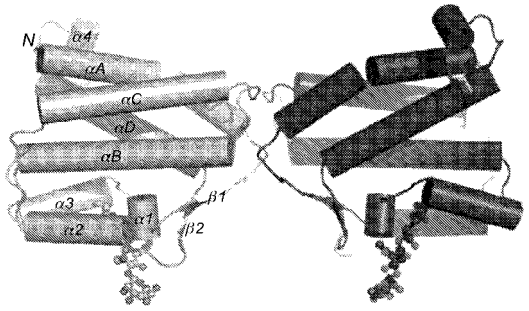
【図１Ａ】



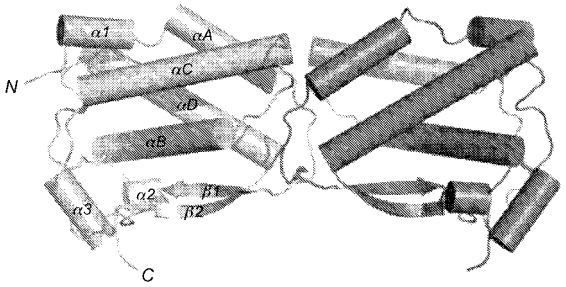
【図１Ｂ】



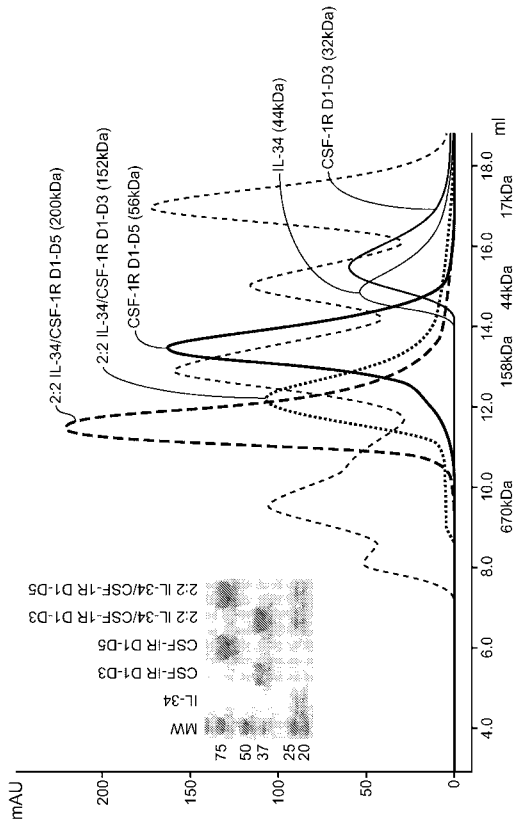
【図１Ｃ】



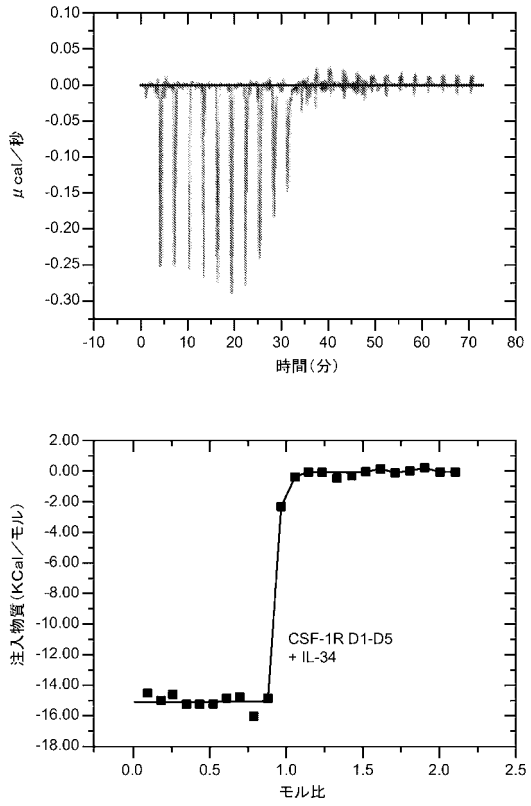
【図１Ｄ】



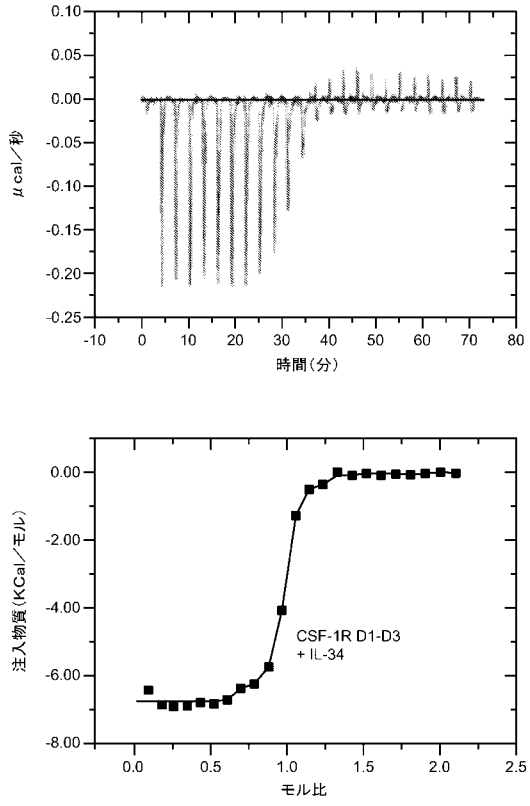
【図２Ａ】



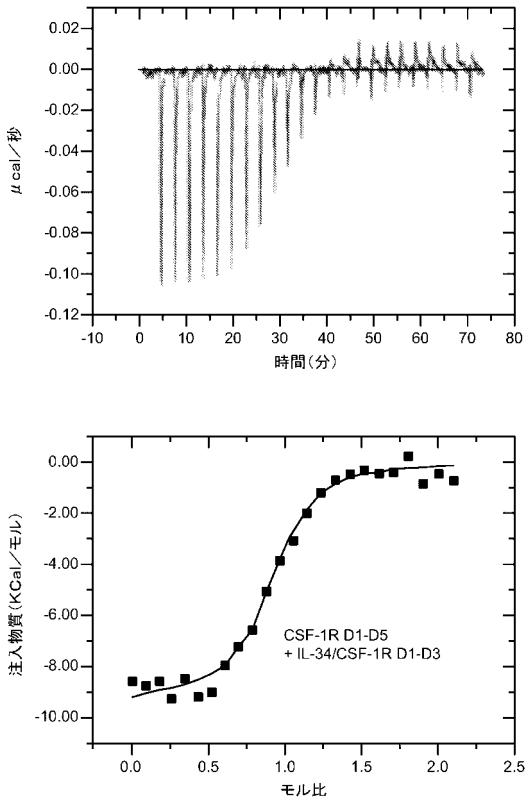
【図２Ｂ－１】



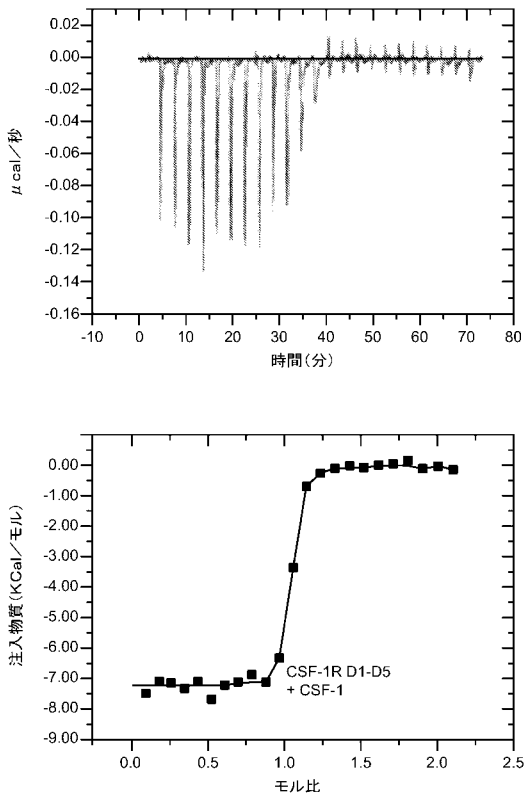
【図２Ｂ－２】



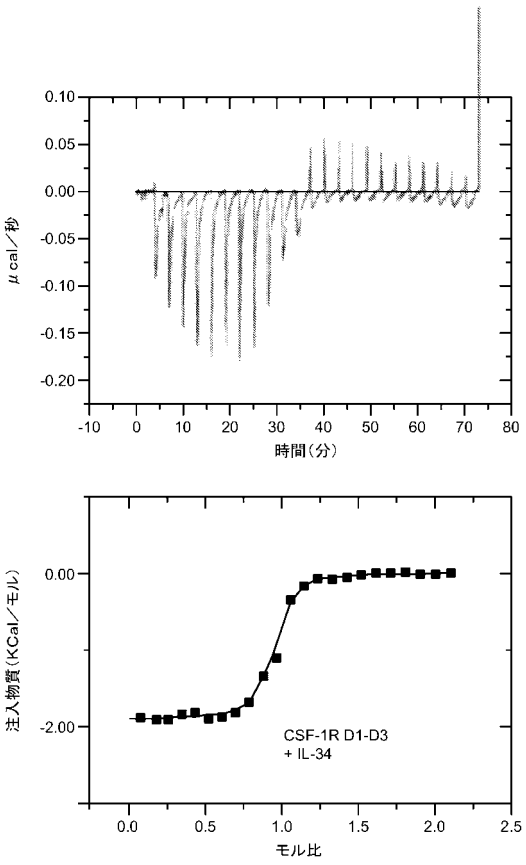
【図２Ｂ－３】



【図２Ｃ－１】



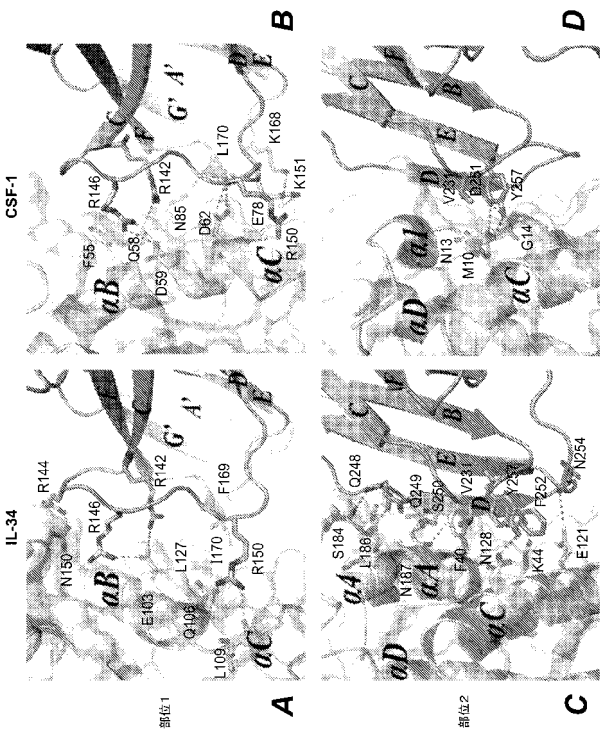
【図２Ｃ－２】



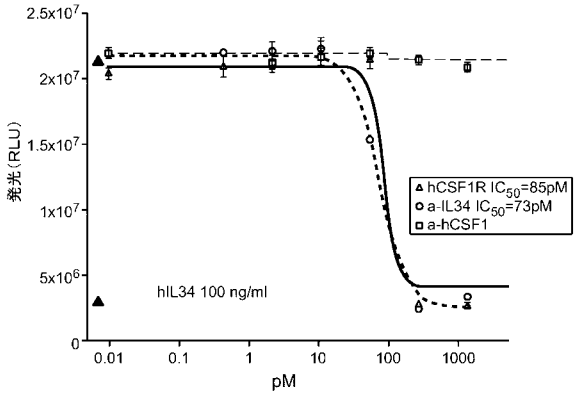
【図２Ｄ】

注入物質	セル	ΔH (kcal/モル)	ΔS (cal/モル/K)	ΔG (Kcal/モル)	K_d (nM)	N
CSF-1R D1-D5 (200μM)	hIL-34s (20μM)	-15.1	N.D.	N.D.	N.D.	0.89
CSF-1R D1-D3 (400μM)	hIL-34s (40μM)	-6.8	9.5	-9.6	94.3	0.94
CSF-1R D1-D5 (150μM)	hIL-34s (15μM) + CSF-1R D1-D3 (20μM)	-15.7	-12.5	-12.0	1.6	0.94
CSF-1R D1-D5 (200μM)	hCSF-1 (20μM)	-7.3	10.7	-10.5	20.2	1.00
CSF-1R D1-D3 (2000μM)	hCSF-1 (200μM)	-1.9	21.2	-8.2	892.9	0.93

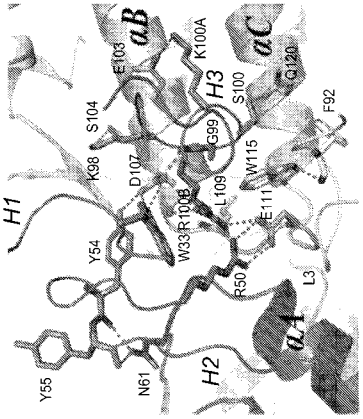
【図３】



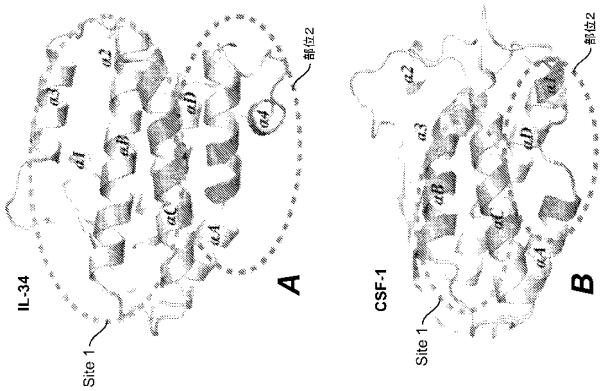
【図４Ａ】



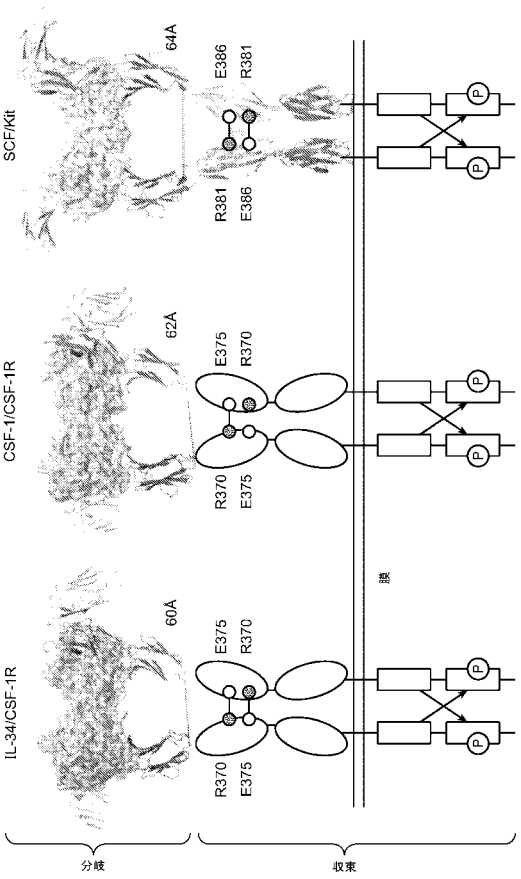
【図４Ｂ】



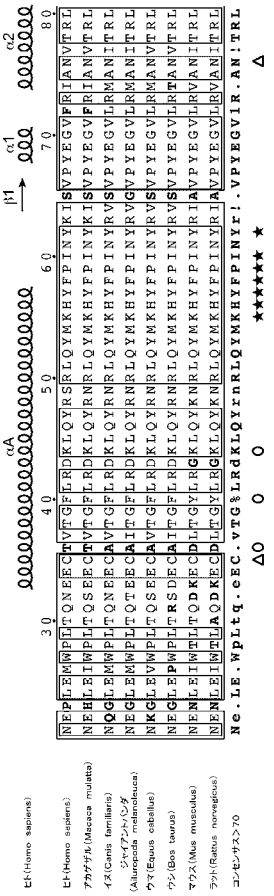
【図５】



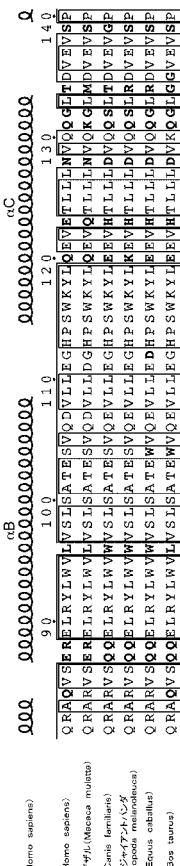
【図６】


IL-34/CSF-1R
60A
CSF-1/CSF-1R
62A
SCF/Kit
64A
R370
E375
R381
E386
分岐
収束

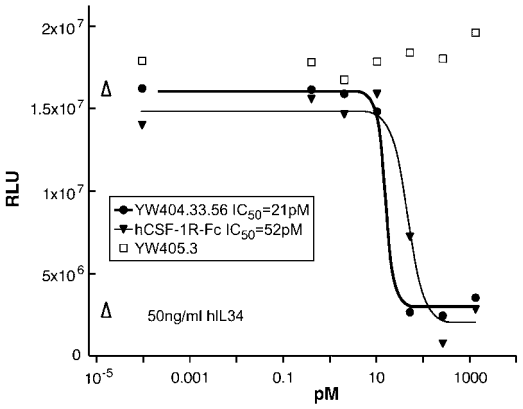
【図７Ａ】



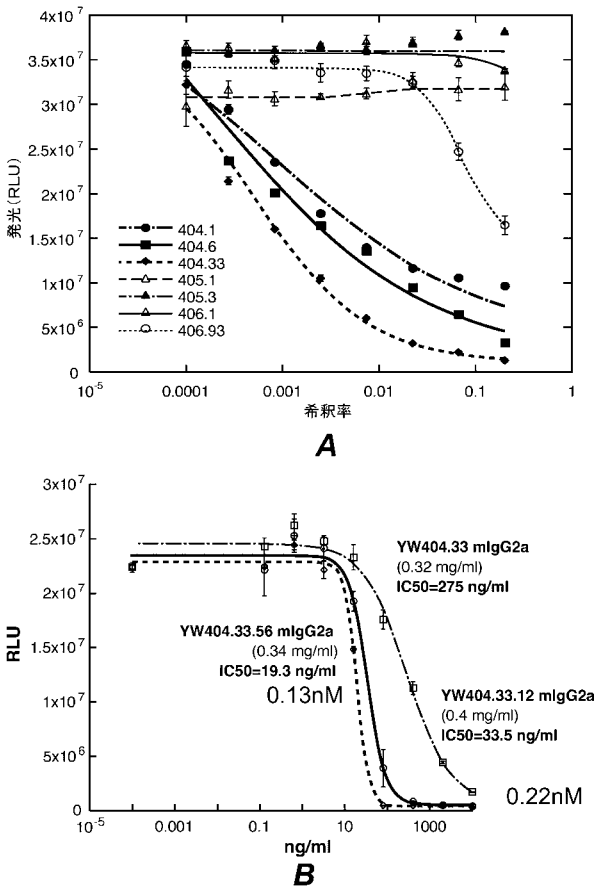
【図７Ｂ】



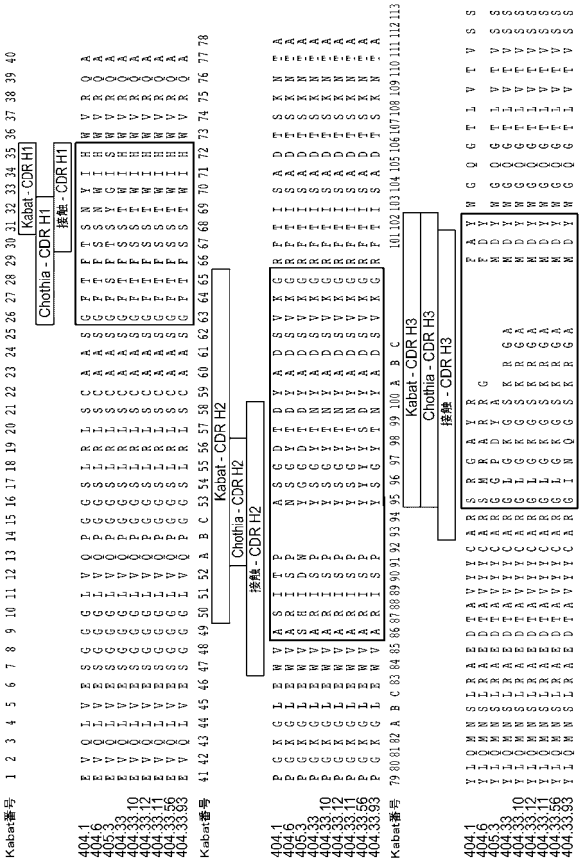
【図８】


RLU
pM
YW404.33.56 IC50=21pM
hCSF-1R-Fc IC50=52pM
YW405.3
50ng/ml hIL34

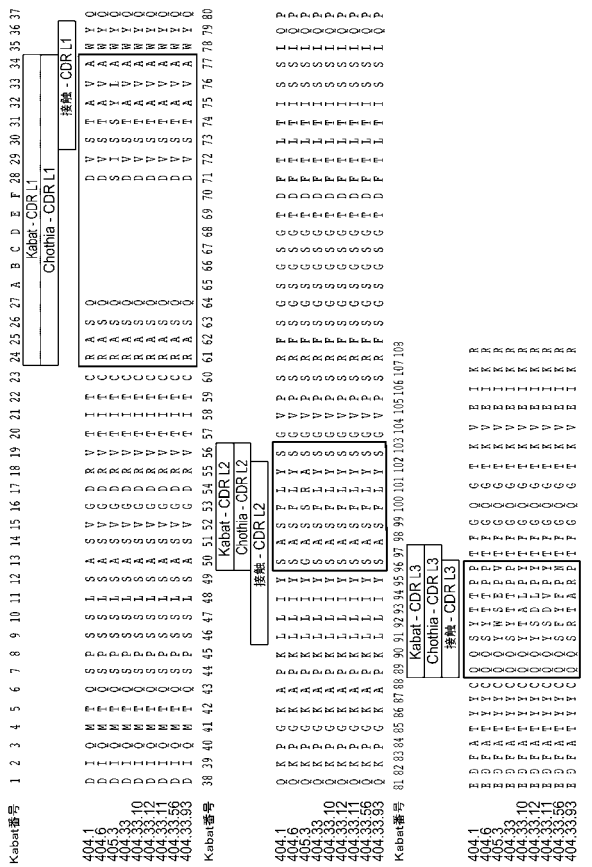
【図９】



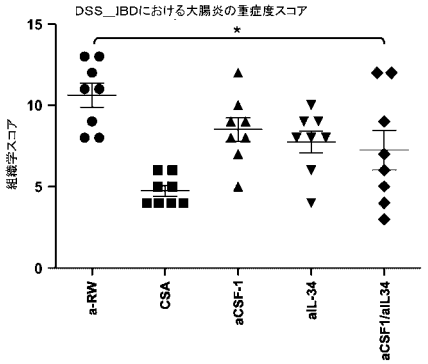
【図１０Ａ】



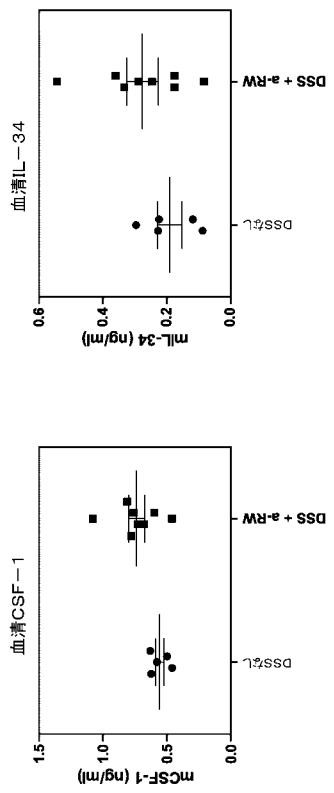
【図１０Ｂ】



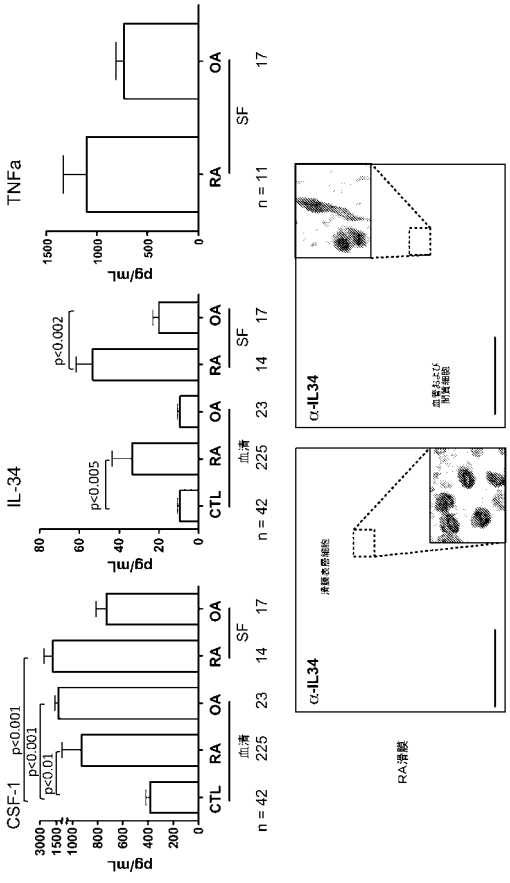
【図１１】



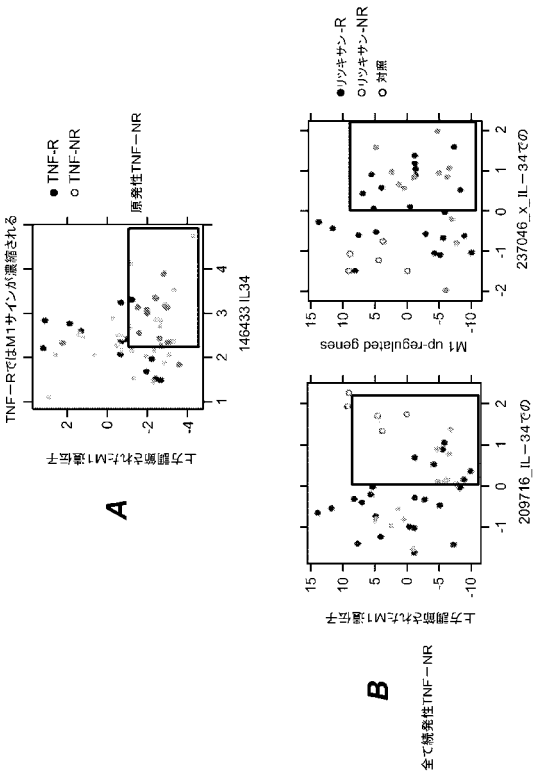
【図１２】



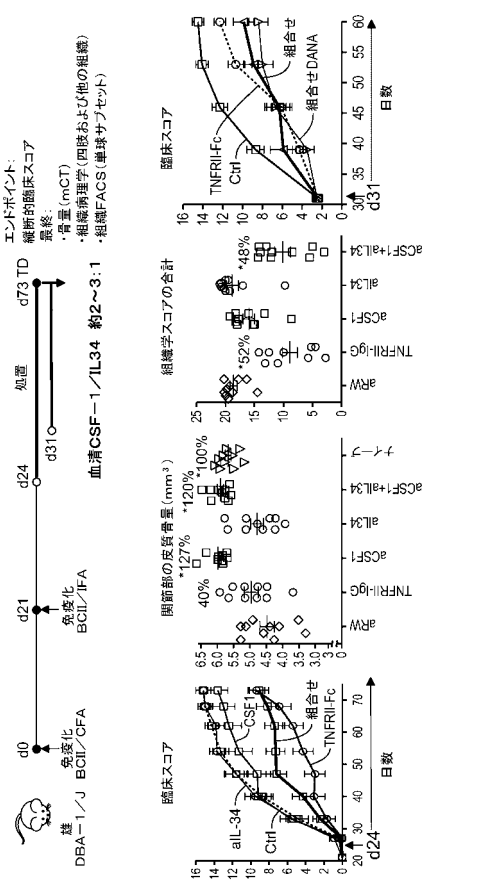
【図１３】



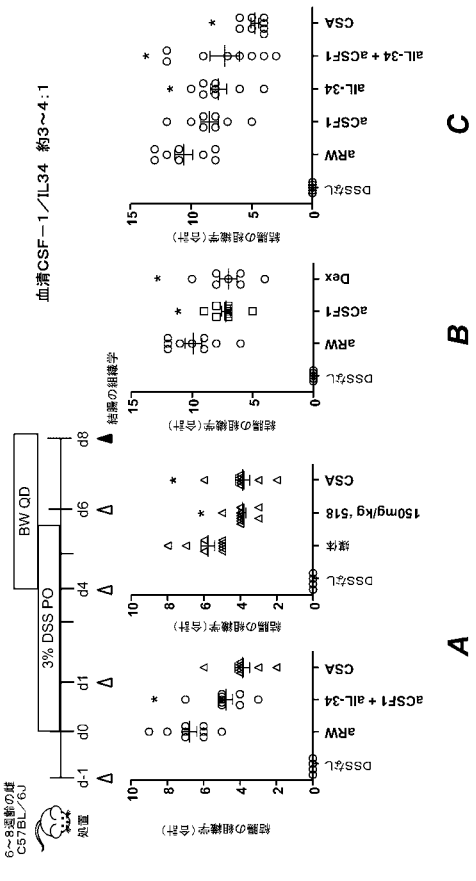
【図１４】



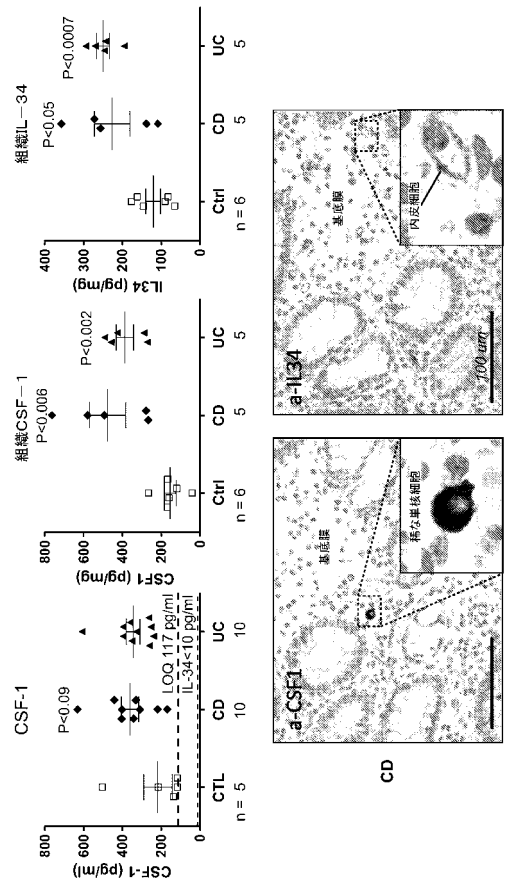
【図１５】



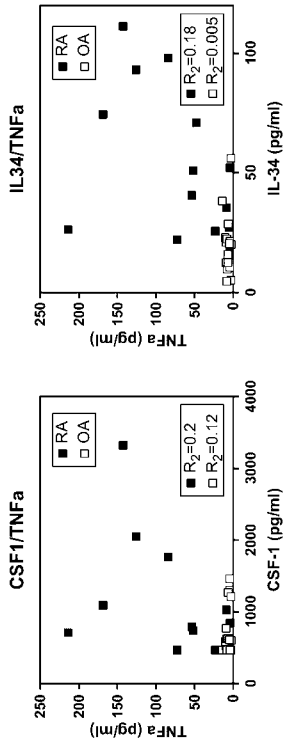
【図１６】



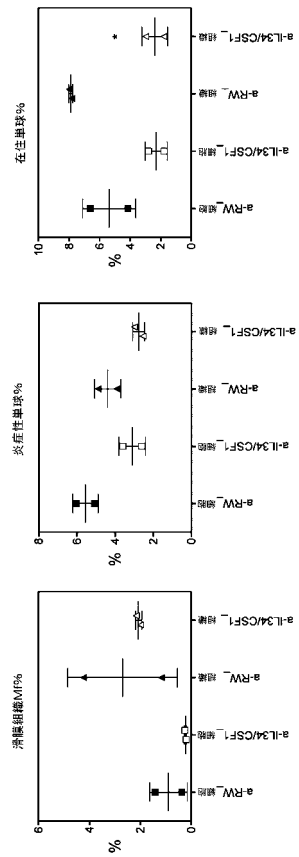
【図１７】



【図１８】



【図１９】



【配列表】
2017200482000001.app
【手続補正書】
【提出日】平成29年7月12日(2017.7.12)
【手続補正１】
【補正対象書類名】特許請求の範囲
【補正対象項目名】全文
【補正方法】変更
【補正の内容】
【特許請求の範囲】
【請求項１】
明細書に記載の発明。

フロントページの続き

(51)Int.Cl.			FI			テーマコード（参考）
C12N	*1/21*	*(2006.01)*	C12N	1/21		
C12N	*1/19*	*(2006.01)*	C12N	1/19		
C12N	*5/10*	*(2006.01)*	C12N	5/10		
A61K	*39/395*	*(2006.01)*	A61K	39/395	N	
A61P	*1/04*	*(2006.01)*	A61P	1/04		
A61P	*19/02*	*(2006.01)*	A61P	19/02		
A61P	*25/00*	*(2006.01)*	A61P	25/00		
A61P	*29/00*	*(2006.01)*	A61P	29/00	１０１	
A61P	*37/06*	*(2006.01)*	A61P	37/06		

(72)発明者　チェン，　ヨンメイ
アメリカ合衆国　カリフォルニア　９４０８０，　サウス　サン　フランシスコ，　ディーエヌエー　ウェイ　１，　シー／オー　ジェネンテック，　インコーポレイテッド
(72)発明者　スターウィッキ，　スコット
アメリカ合衆国　カリフォルニア　９４０８０，　サウス　サン　フランシスコ，　ディーエヌエー　ウェイ　１，　シー／オー　ジェネンテック，　インコーポレイテッド
(72)発明者　ウー，　イェン
アメリカ合衆国　カリフォルニア　９４０８０，　サウス　サン　フランシスコ，　ディーエヌエー　ウェイ　１，　シー／オー　ジェネンテック，　インコーポレイテッド
(72)発明者　マーティン，　フラビウス
アメリカ合衆国　カリフォルニア　９４０８０，　サウス　サン　フランシスコ，　ディーエヌエー　ウェイ　１，　シー／オー　ジェネンテック，　インコーポレイテッド
(72)発明者　リン，　ウェイ　ユイ
アメリカ合衆国　カリフォルニア　９４０８０，　サウス　サン　フランシスコ，　ディーエヌエー　ウェイ　１，　シー／オー　ジェネンテック，　インコーポレイテッド
(72)発明者　スタロヴァスニク，　メリッサ　エー.
アメリカ合衆国　カリフォルニア　９４０８０，　サウス　サン　フランシスコ，　ディーエヌエー　ウェイ　１，　シー／オー　ジェネンテック，　インコーポレイテッド

Ｆターム(参考)　4B064 AG27 CA19 CC24 CE07 CE12 DA01
4B065 AA93X AA94Y AA95X AB01 AC14 BA02 BD14 CA25 CA44
4C085 AA14 AA15 AA16 BB36 CC01 CC02 DD62 EE01 GG01
4H045 AA11 AA20 AA30 BA41 CA40 DA76 EA20 FA74 GA22 GA26

【外国語明細書】
2017200482000001.pdf