(19)日本国特許庁(JP)　　(12)公表特許公報(A)　　(11)公表番号
特表2023-524668
(P2023-524668A)
(43)公表日　令和5年6月13日(2023.6.13)

(51)国際特許分類		FI			テーマコード（参考）
Ａ６１Ｋ	*39/395 (2006.01)*	Ａ６１Ｋ	39/395	Ｕ	４Ｃ０８５
Ａ６１Ｐ	*19/02 (2006.01)*	Ａ６１Ｐ	19/02	ＺＮＡ	４Ｃ０８６
Ａ６１Ｐ	*29/00 (2006.01)*	Ａ６１Ｐ	29/00		４Ｈ０４５
Ａ６１Ｐ	*43/00 (2006.01)*	Ａ６１Ｐ	43/00	１２１	
Ａ６１Ｋ	*31/519 (2006.01)*	Ａ６１Ｋ	31/519		

審査請求　未請求　予備審査請求　未請求　（全158頁）　最終頁に続く

(21)出願番号　特願2022-565551(P2022-565551)
(86)(22)出願日　令和3年4月26日(2021.4.26)
(85)翻訳文提出日　令和4年11月18日(2022.11.18)
(86)国際出願番号　PCT/IB2021/053429
(87)国際公開番号　WO2021/220140
(87)国際公開日　令和3年11月4日(2021.11.4)
(31)優先権主張番号　63/015,889
(32)優先日　令和2年4月27日(2020.4.27)
(33)優先権主張国・地域又は機関
米国(US)
(31)優先権主張番号　63/015,894
(32)優先日　令和2年4月27日(2020.4.27)
(33)優先権主張国・地域又は機関
米国(US)
(31)優先権主張番号　63/015,902
最終頁に続く

(71)出願人　509087759
ヤンセン バイオテツク，インコーポレーテツド
アメリカ合衆国ペンシルベニア州１９０４４ホーシヤム・リツジビユードライブ８００／８５０
(74)代理人　100092783
弁理士　小林 浩
(74)代理人　100095360
弁理士　片山 英二
(74)代理人　100093676
弁理士　小林 純子
(74)代理人　100120134
弁理士　大森 規雄
(74)代理人　100149010
最終頁に続く

(54)【発明の名称】　若年性特発性関節炎を治療するための材料及び方法

(57)【要約】
本発明は、若年性特発性関節炎（ＪＩＡ）の治療、特に多関節型若年性特発性関節炎（ｐＪＩＡ）の治療に使用するための、抗ＴＮＦ抗体、例えば、配列番号３６のアミノ酸配列を含む重鎖（ＨＣ）及び配列番号３７のアミノ酸配列を含む軽鎖（ＬＣ）を有する抗ＴＮＦ抗体ゴリムマブを用いた組成物及び方法に関する。

10

20

【特許請求の範囲】
【請求項１】
小児患者における若年性特発性関節炎（juvenile idiopathic arthritis：ＪＩＡ）を治療する方法であって、前記方法は、静脈内（ＩＶ）用量の抗ＴＮＦ抗体を前記小児患者に投与することを含み、前記抗ＴＮＦ抗体は、配列番号３６のアミノ酸配列を含む重鎖（ＨＣ）及び配列番号３７のアミノ酸配列を含む軽鎖（ＬＣ）を含み、前記小児患者の５０％超は、治療から５２週間後、ＪＩＡ米国リウマチ学会（JIA American College of Rheumatology：ＪＩＡ　ＡＣＲ）３０、ＪＩＡ　ＡＣＲ　５０、及びＪＩＡ　ＡＣＲ７０の基準を満たす、方法。
【請求項２】
前記小児患者が、２～１８歳未満である、請求項１に記載の方法。
【請求項３】
前記若年性特発性関節炎（ＪＩＡ）が、多関節型若年性特発性関節炎（polyarticular juvenile idiopathic arthritis：ｐＪＩＡ）である、請求項１に記載の方法。
【請求項４】
前記ＩＶ用量が、第０週目、第４週目、及びその後は８週間毎に、前記抗ＴＮＦ抗体の８０ｍｇ／ｍ^{2}である、請求項１に記載の方法。
【請求項５】
前記方法が、メトトレキサート（ＭＴＸ）を前記小児患者に投与することを更に含む、請求項１に記載の方法。
【請求項６】
小児患者における若年性特発性関節炎（ＪＩＡ）を治療する方法であって、前記方法が、静脈内（ＩＶ）用量の抗ＴＮＦ抗体を前記小児患者に投与することを含み、前記抗ＴＮＦ抗体が、配列番号３６のアミノ酸配列を含む重鎖（ＨＣ）及び配列番号３７のアミノ酸配列を含む軽鎖（ＬＣ）を含み、前記小児患者の２０％超が、治療から５２週間後、低疾患活動性について若年性関節炎疾患活動性スコア計数７１関節（ＪＡＤＡＳ　７１）を有する、方法。
【請求項７】
前記小児患者が、２～１８歳未満である、請求項６に記載の方法。
【請求項８】
前記若年性特発性関節炎（ＪＩＡ）が、多関節型若年性特発性関節炎（ｐＪＩＡ）である、請求項６に記載の方法。
【請求項９】
前記ＩＶ用量が、第０週目、第４週目、及びその後は８週間毎に、前記抗ＴＮＦ抗体の８０ｍｇ／ｍ^{2}である、請求項６に記載の方法。
【請求項１０】
前記方法が、メトトレキサート（ＭＴＸ）を前記小児患者に投与することを更に含む、請求項６に記載の方法。
【請求項１１】
小児患者における若年性特発性関節炎（ＪＩＡ）を治療する方法であって、前記方法が、静脈内（ＩＶ）用量の抗ＴＮＦ抗体を前記小児患者に投与することを含み、前記抗ＴＮＦ抗体が、配列番号３６のアミノ酸配列を含む重鎖（ＨＣ）及び配列番号３７のアミノ酸配列を含む軽鎖（ＬＣ）を含み、前記小児患者が、治療から５２週間後、ＪＩＡ米国リウマチ学会（ＪＩＡ　ＡＣＲ）の非活動性疾患の基準を満たす、方法。
【請求項１２】
前記小児患者の３０％超が、治療の５２週間後にＪＩＡ　ＡＣＲ非活動性疾患の基準を満たす、請求項１１に記載の方法。
【請求項１３】
前記小児患者が、２～１８歳未満である、請求項１１に記載の方法。
【請求項１４】

前記若年性特発性関節炎（ＪＩＡ）が、多関節型若年性特発性関節炎（ｐＪＩＡ）である、請求項１１に記載の方法。
【請求項１５】
前記ＩＶ用量が、第０週目、第４週目、及びその後は８週間毎に、前記抗ＴＮＦ抗体の８０ｍｇ／ｍ^{2}である、請求項１１に記載の方法。
【請求項１６】
前記方法が、メトトレキサート（ＭＴＸ）を前記小児患者に投与することを更に含む、請求項１１に記載の方法。
【請求項１７】
小児患者における若年性特発性関節炎（ＪＩＡ）を治療する方法であって、前記方法が、静脈内（ＩＶ）用量の抗ＴＮＦ抗体を前記小児患者に投与することを含み、前記抗ＴＮＦ抗体が、配列番号３６のアミノ酸配列を含む重鎖（ＨＣ）及び配列番号３７のアミノ酸配列を含む軽鎖（ＬＣ）を含み、前記小児患者が、治療から５２週間後、ＪＩＡ米国リウマチ学会（ＪＩＡ　ＡＣＲ）の臨床的寛解の基準を満たす、方法。
【請求項１８】
前記小児患者の１０％超が、治療の５２週間後にＪＩＡ　ＡＣＲ臨床的寛解の基準を満たす、請求項１７に記載の方法。
【請求項１９】
前記小児患者が、２～１８歳未満である、請求項１７に記載の方法。
【請求項２０】
前記若年性特発性関節炎（ＪＩＡ）が、多関節型若年性特発性関節炎（ｐＪＩＡ）である、請求項１７に記載の方法。
【請求項２１】
前記ＩＶ用量が、第０週目、第４週目、及びその後は８週間毎に、前記抗ＴＮＦ抗体の８０ｍｇ／ｍ^{2}である、請求項１７に記載の方法。
【請求項２２】
前記方法が、メトトレキサート（ＭＴＸ）を前記小児患者に投与することを更に含む、請求項１７に記載の方法。
【発明の詳細な説明】
【技術分野】
【０００１】
（関連出願の相互参照）
ｐｏｌｙ－ＪＩＡ／統合／２８週／ｎ＝１２７
本出願は、２０２１年４月２０日付で作成された、「ＪＢＩ６３０７ＵＳＮＰ１Ｓｅｑ Ｌｉｓｔｉｎｇ．ｔｘｔ」というファイル名のＡＳＣＩＩ形式の配列表としてＥＦＳ－Ｗｅｂを介して電子的に提出された、２５ｋｂのサイズを有する配列表を含む。ＥＦＳ－Ｗｅｂを介して提出された配列表は、本明細書の一部であり、参照によりその全体が本明細書に組み込まれる。
【０００２】
（発明の分野）
本発明は、若年性特発性関節炎（ＪＩＡ）の治療、特に多関節型若年性特発性関節炎（ｐＪＩＡ）の治療に使用するための、抗ＴＮＦ抗体、例えば、配列番号３６のアミノ酸配列を含む重鎖（ＨＣ）及び配列番号３７のアミノ酸配列を含む軽鎖（ＬＣ）を有する抗ＴＮＦ抗体ゴリムマブを用いた組成物及び方法に関する。
【背景技術】
【０００３】
ＴＮＦαは、１７ｋＤのタンパク質サブユニットの可溶性ホモ三量体である。ＴＮＦの膜結合型の２６ｋＤの前駆体形態も存在する。
【０００４】
単球又はマクロファージ以外の細胞もＴＮＦαを産生する。例えば、ヒト非単球腫瘍細

胞株はＴＮＦα並びにＣＤ４＋及びＣＤ８＋末梢血Ｔリンパ球を産生し、いくつかの培養されたＴ及びＢ細胞株もＴＮＦαを産生する。

【０００５】

ＴＮＦαは、軟骨及び骨の分解、接着分子の誘導、血管内皮細胞で凝血促進活性を誘導する、好中球及びリンパ球の接着を増大させる、並びにマクロファージ、好中球及び血管内皮細胞からの血小板活性化因子の放出を刺激するなど、組織損傷をもたらす炎症誘発作用を引き起こす。

【０００６】

ＴＮＦαは、感染、免疫障害、腫瘍性病態、自己免疫病態及び移植片対宿主病態に関連している。ＴＮＦαとがん及び感染性病態との関連は、宿主の異化状態に関連していることが多い。がん患者は、通常食欲不振に関連する体重減少に悩まされる。

【０００７】

がん及びその他の疾患に関連する大幅な衰弱は、「悪液質」として知られる。悪液質は、悪性腫瘍の成長に応答する、進行性の体重減少、食欲不振、及び除脂肪体重の持続的衰えを含む。悪液質状態は、多くのがん罹患率及び死亡率の原因となる。ＴＮＦαが、がん、感染性病態及びその他の異化状態における悪液質に関与するという証拠がある。

【０００８】

ＴＮＦαは、発熱、倦怠感、食欲不振、及び悪液質を含む、グラム陰性敗血症及び内毒素ショックにおいて中心的な役割を果たすと考えられている。内毒素は、単球／マクロファージ生成並びにＴＮＦα及びその他のサイトカインの分泌を強く活性化する。ＴＮＦα及びその他の単球由来サイトカインは、内毒素に対する代謝及び神経ホルモン応答を媒介する。ヒトボランティアへの内毒素投与は、発熱、頻脈、増加した代謝速度、及びストレスホルモン放出など、インフルエンザのような症状を伴う急性疾病をもたらす。ＴＮＦαの循環が、グラム陰性敗血症に罹患した患者において増加する。

【０００９】

したがって、ＴＮＦαは、炎症性疾患、自己免疫疾患、ウイルス、細菌及び寄生虫感染、悪性腫瘍、並びに／又は神経変性疾患に関連付けられており、関節リウマチ及びクローン病などの疾患における特定の生物学的治療に有用な標的である。炎症の抑制、並びに関節リウマチ及びクローン病における再発後の良好な再治療による有益な作用が、ＴＮＦαに対するモノクローナル抗体を用いた非盲検試験で報告されている。炎症の抑制による関節リウマチにおける有益な結果も無作為化二重盲検プラセボ対照試験で報告されている。

【００１０】

ＴＮＦに対する中和抗血清又はｍＡｂは、ヒト以外の哺乳動物において、実験的内毒素血症及び菌血症における致死的攻撃後の有害な生理学的変化を抑止し、死亡を阻止することが示されている。この作用は、例えば、げっ歯類致死率アッセイ及び霊長類病理モデル系において示されている。

【００１１】

ｈＴＮＦの推定受容体結合座位が開示されており、ＴＮＦのアミノ酸１１～１３、３７～４２、４９～５７及び１５５～１５７からなるＴＮＦαの受容体結合座位が開示されている。

【００１２】

非ヒト哺乳動物、キメラ、ポリクローナル（例えば、抗血清）、及び／又はモノクローナル抗体（Ｍａｂ）並びに断片（例えば、タンパク質分解消化又はその融合タンパク質生成物）は、ある特定の疾患を治療する試みのために一部の事例において調査されている有力な治療薬である。しかしながら、かかる抗体又は断片は、ヒトに投与された場合、免疫応答を誘発する場合がある。かかる免疫応答は、血液循環からの抗体又は断片の免疫複合媒介クリアランスをもたらし、反復投与を、治療に適さないものとし得、それにより、患者に対する治療的利益が低減し、抗体又は断片の再投与が制限される。例えば、非ヒト部分を含む抗体又は断片の反復投与は、血清病及び／又はアナフィラキシをもたらし得る。これら及びその他の問題を回避するために、当該技術分野において周知のように、キメラ

化及びヒト化を含む、かかる抗体及びその部分の免疫原性を低減するための多くのアプローチが取られてきた。しかしながら、これら及びその他のアプローチは尚も、多少の免疫原性、低親和性、低結合活性を有する、又は細胞培養、スケールアップ、生成及び／若しくは低収率における問題を伴う抗体又は断片をもたらし得る。したがって、かかる抗体又は断片は、治療用タンパク質としての製造又は使用に理想的にはあまり適していない可能性がある。

【００１３】

これらの問題のうちの１つ以上を解消するＴＮＦ阻害剤が提供されることが求められており、現在市販されている抗ＴＮＦ抗体及び他のＴＮＦ阻害剤、例えば、ＲＥＭＩＣＡＤＥ（登録商標）（インフリキシマブ）、ＨＵＭＩＲＡ（登録商標）（アダリムマブ）、及びシンポニー（登録商標）（ゴリムマブ）の開発につながった。他のＴＮＦ阻害剤としては、例えば、ＣＩＭＺＩＡ（登録商標）（セルトリズマブペゴル）、ＰＥＧ化抗体断片、及びＥＮＢＲＥＬ（登録商標）（エタネルセプト）、可溶性ＴＮＦ受容体融合タンパク質が挙げられる。ＴＮＦ阻害剤のレビューについては、例えば、Ｌｉｓら、「Ａｒｃｈ　Ｍｅｄ　Ｓｃｉ．」（２０１４年１２月２２日）第１０巻第６号第１１７５～１１８５頁を参照されたい。

【発明の概要】

【課題を解決するための手段】

【００１４】

簡単にするために、参照により本明細書に組み込まれる、本明細書に添付の独立及び従属請求項によって、全般的及び好ましい実施形態がそれぞれ定義される。他の好ましい実施形態、特性、及び利点は、添付の図面と併せて、以下の発明を実施するための形態から明らかになるであろう。

【００１５】

ある特定の実施形態では、本発明は、小児患者における若年性特発性関節炎（ＪＩＡ）を治療する方法であって、方法は、静脈内（ＩＶ）用量の抗ＴＮＦ抗体を小児患者に投与することを含み、抗ＴＮＦ抗体は、配列番号３６のアミノ酸配列を含む重鎖（ＨＣ）及び配列番号３７のアミノ酸配列を含む軽鎖（ＬＣ）を含み、小児患者は、治療から５２週間後、ＪＩＡ米国リウマチ学会（ＪＩＡ　ＡＣＲ）の非活動性疾患の基準を満たす、方法を提供する。

【００１６】

ある特定の実施形態では、本発明は、小児患者における若年性特発性関節炎（ＪＩＡ）を治療する方法であって、方法は、静脈内（ＩＶ）用量の抗ＴＮＦ抗体を小児患者に投与することを含み、抗ＴＮＦ抗体は、配列番号３６のアミノ酸配列を含む重鎖（ＨＣ）及び配列番号３７のアミノ酸配列を含む軽鎖（ＬＣ）を含み、小児患者の３０％超は、治療から５２週間後、ＪＩＡ　ＡＣＲの非活動性疾患の基準を満たす、方法を提供する。

【００１７】

ある特定の実施形態では、本発明は、小児患者における若年性特発性関節炎（ＪＩＡ）を治療する方法であって、方法は、静脈内（ＩＶ）用量の抗ＴＮＦ抗体を小児患者に投与することを含み、抗ＴＮＦ抗体は、配列番号３６のアミノ酸配列を含む重鎖（ＨＣ）及び配列番号３７のアミノ酸配列を含む軽鎖（ＬＣ）を含み、小児患者は、治療から５２週間後、ＪＩＡ米国リウマチ学会（ＪＩＡ　ＡＣＲ）の非活動性疾患の基準を満たし、当該小児患者は、２～１８歳未満である、方法を提供する。

【００１８】

ある特定の実施形態では、本発明は、小児患者における若年性特発性関節炎（ＪＩＡ）を治療する方法であって、方法は、静脈内（ＩＶ）用量の抗ＴＮＦ抗体を小児患者に投与することを含み、抗ＴＮＦ抗体は、配列番号３６のアミノ酸配列を含む重鎖（ＨＣ）及び配列番号３７のアミノ酸配列を含む軽鎖（ＬＣ）を含み、小児患者は、治療から５２週間後、ＪＩＡ米国リウマチ学会（ＪＩＡ　ＡＣＲ）の非活動性疾患の基準を満たし、当該若年性特発性関節炎（ＪＩＡ）は、多関節型若年性特発性関節炎（ｐＪＩＡ）である、方法

を提供する。
【００１９】
ある特定の実施形態では、本発明は、小児患者における若年性特発性関節炎（ＪＩＡ）を治療する方法であって、方法は、静脈内（ＩＶ）用量の抗ＴＮＦ抗体を小児患者に投与することを含み、抗ＴＮＦ抗体は、配列番号３６のアミノ酸配列を含む重鎖（ＨＣ）及び配列番号３７のアミノ酸配列を含む軽鎖（ＬＣ）を含み、小児患者は、治療から５２週間後、ＪＩＡ米国リウマチ学会（ＪＩＡ　ＡＣＲ）の非活動性疾患の基準を満たし、ＩＶ用量は、第０週目、第４週目、及びその後は８週間毎に、抗ＴＮＦ抗体の８０ｍｇ／ｍ^{2}である、方法を提供する。
【００２０】
ある特定の実施形態では、本発明は、小児患者における若年性特発性関節炎（ＪＩＡ）を治療する方法であって、方法は、静脈内（ＩＶ）用量の抗ＴＮＦ抗体を小児患者に投与することを含み、抗ＴＮＦ抗体は、配列番号３６のアミノ酸配列を含む重鎖（ＨＣ）及び配列番号３７のアミノ酸配列を含む軽鎖（ＬＣ）を含み、小児患者は、治療から５２週間後、ＪＩＡ米国リウマチ学会（ＪＩＡ　ＡＣＲ）の非活動性疾患の基準を満たし、方法は、メトトレキサート（ＭＴＸ）を小児患者に投与することを更に含む、方法を提供する。
【００２１】
ある特定の実施形態では、本発明は、小児患者における若年性特発性関節炎（ＪＩＡ）を治療するための方法であって、方法は、静脈内（ＩＶ）用量の抗ＴＮＦ抗体を含む組成物を小児患者に投与することを含み、抗ＴＮＦ抗体は、配列番号３６のアミノ酸配列を含む重鎖（ＨＣ）及び配列番号３７のアミノ酸配列を含む軽鎖（ＬＣ）を含み、小児患者は、治療から５２週間後、ＪＩＡ米国リウマチ学会（ＪＩＡ　ＡＣＲ）の非活動性疾患の基準を満たす、方法を提供する。
【００２２】
ある特定の実施形態では、本発明は、小児患者における若年性特発性関節炎（ＪＩＡ）を治療するための方法であって、方法は、静脈内（ＩＶ）用量の抗ＴＮＦ抗体を含む組成物を小児患者に投与することを含み、抗ＴＮＦ抗体は、配列番号３６のアミノ酸配列を含む重鎖（ＨＣ）及び配列番号３７のアミノ酸配列を含む軽鎖（ＬＣ）を含み、小児患者の３０％超は、治療から５２週間後、ＪＩＡ　ＡＣＲの非活動性疾患の基準を満たす、方法を提供する。
【００２３】
ある特定の実施形態では、本発明は、小児患者における若年性特発性関節炎（ＪＩＡ）を治療するための方法であって、方法は、静脈内（ＩＶ）用量の抗ＴＮＦ抗体を含む組成物を小児患者に投与することを含み、抗ＴＮＦ抗体は、配列番号３６のアミノ酸配列を含む重鎖（ＨＣ）及び配列番号３７のアミノ酸配列を含む軽鎖（ＬＣ）を含み、小児患者は、治療から５２週間後、ＪＩＡ米国リウマチ学会（ＪＩＡ　ＡＣＲ）の非活動性疾患の基準を満たし、当該小児患者は、２～１８歳未満である、方法を提供する。
【００２４】
ある特定の実施形態では、本発明は、小児患者における若年性特発性関節炎（ＪＩＡ）を治療するための方法であって、方法は、静脈内（ＩＶ）用量の抗ＴＮＦ抗体を含む組成物を小児患者に投与することを含み、抗ＴＮＦ抗体は、配列番号３６のアミノ酸配列を含む重鎖（ＨＣ）及び配列番号３７のアミノ酸配列を含む軽鎖（ＬＣ）を含み、小児患者は、治療から５２週間後、ＪＩＡ米国リウマチ学会（ＪＩＡ　ＡＣＲ）の非活動性疾患の基準を満たし、当該若年性特発性関節炎（ＪＩＡ）は、多関節型若年性特発性関節炎（ｐＪＩＡ）である、方法を提供する。
【００２５】
ある特定の実施形態では、本発明は、小児患者における若年性特発性関節炎（ＪＩＡ）を治療するための方法であって、方法は、静脈内（ＩＶ）用量の抗ＴＮＦ抗体を含む組成物を小児患者に投与することを含み、抗ＴＮＦ抗体は、配列番号３６のアミノ酸配列を含む重鎖（ＨＣ）及び配列番号３７のアミノ酸配列を含む軽鎖（ＬＣ）を含み、小児患者は

、治療から５２週間後、ＪＩＡ米国リウマチ学会（ＪＩＡ　ＡＣＲ）の非活動性疾患の基準を満たし、ＩＶ用量の組成物は、第０週目、第４週目、及びその後は８週間毎に、抗ＴＮＦ抗体の８０ｍｇ／ｍ^{2}である、方法を提供する。

【００２６】

ある特定の実施形態では、本発明は、小児患者における若年性特発性関節炎（ＪＩＡ）を治療するための方法であって、方法は、静脈内（ＩＶ）用量の抗ＴＮＦ抗体を含む組成物を小児患者に投与することを含み、抗ＴＮＦ抗体は、配列番号３６のアミノ酸配列を含む重鎖（ＨＣ）及び配列番号３７のアミノ酸配列を含む軽鎖（ＬＣ）を含み、小児患者は、治療から５２週間後、ＪＩＡ米国リウマチ学会（ＪＩＡ　ＡＣＲ）の非活動性疾患の基準を満たし、方法は、メトトレキサート（ＭＴＸ）を小児患者に投与することを更に含む、方法を提供する。

【００２７】

ある特定の実施形態では、本発明は、小児患者における若年性特発性関節炎（ＪＩＡ）を治療する方法であって、方法は、静脈内（ＩＶ）用量の抗ＴＮＦ抗体を小児患者に投与することを含み、抗ＴＮＦ抗体は、配列番号３６のアミノ酸配列を含む重鎖（ＨＣ）及び配列番号３７のアミノ酸配列を含む軽鎖（ＬＣ）を含み、小児患者は、治療から５２週間後、ＪＩＡ米国リウマチ学会（ＪＩＡ　ＡＣＲ）の臨床的寛解の基準を満たす、方法を提供する。

【００２８】

ある特定の実施形態では、本発明は、小児患者における若年性特発性関節炎（ＪＩＡ）を治療する方法であって、方法は、静脈内（ＩＶ）用量の抗ＴＮＦ抗体を小児患者に投与することを含み、抗ＴＮＦ抗体は、配列番号３６のアミノ酸配列を含む重鎖（ＨＣ）及び配列番号３７のアミノ酸配列を含む軽鎖（ＬＣ）を含み、小児患者の１０％超は、治療から５２週間後、ＪＩＡ　ＡＣＲの臨床的寛解の基準を満たす、方法を提供する。

【００２９】

ある特定の実施形態では、本発明は、小児患者における若年性特発性関節炎（ＪＩＡ）を治療する方法であって、方法は、静脈内（ＩＶ）用量の抗ＴＮＦ抗体を小児患者に投与することを含み、抗ＴＮＦ抗体は、配列番号３６のアミノ酸配列を含む重鎖（ＨＣ）及び配列番号３７のアミノ酸配列を含む軽鎖（ＬＣ）を含み、小児患者は、治療から５２週間後、ＪＩＡ米国リウマチ学会（ＪＩＡ　ＡＣＲ）の臨床的寛解の基準を満たし、当該小児患者は、２～１８歳未満である、方法を提供する。

【００３０】

ある特定の実施形態では、本発明は、小児患者における若年性特発性関節炎（ＪＩＡ）を治療する方法であって、方法は、静脈内（ＩＶ）用量の抗ＴＮＦ抗体を小児患者に投与することを含み、抗ＴＮＦ抗体は、配列番号３６のアミノ酸配列を含む重鎖（ＨＣ）及び配列番号３７のアミノ酸配列を含む軽鎖（ＬＣ）を含み、小児患者は、治療から５２週間後、ＪＩＡ米国リウマチ学会（ＪＩＡ　ＡＣＲ）の臨床的寛解の基準を満たし、当該若年性特発性関節炎（ＪＩＡ）は、多関節型若年性特発性関節炎（ｐＪＩＡ）である、方法を提供する。

【００３１】

ある特定の実施形態では、本発明は、小児患者における若年性特発性関節炎（ＪＩＡ）を治療する方法であって、方法は、静脈内（ＩＶ）用量の抗ＴＮＦ抗体を小児患者に投与することを含み、抗ＴＮＦ抗体は、配列番号３６のアミノ酸配列を含む重鎖（ＨＣ）及び配列番号３７のアミノ酸配列を含む軽鎖（ＬＣ）を含み、小児患者は、治療から５２週間後、ＪＩＡ米国リウマチ学会（ＪＩＡ　ＡＣＲ）の臨床的寛解の基準を満たし、ＩＶ用量は、第０週目、第４週目、及びその後は８週間毎に、抗ＴＮＦ抗体の８０ｍｇ／ｍ^{2}である、方法を提供する。

【００３２】

ある特定の実施形態では、本発明は、小児患者における若年性特発性関節炎（ＪＩＡ）を治療する方法であって、方法は、静脈内（ＩＶ）用量の抗ＴＮＦ抗体を小児患者に投与

することを含み、抗ＴＮＦ抗体は、配列番号３６のアミノ酸配列を含む重鎖（ＨＣ）及び配列番号３７のアミノ酸配列を含む軽鎖（ＬＣ）を含み、小児患者は、治療から５２週間後、ＪＩＡ米国リウマチ学会（ＪＩＡ　ＡＣＲ）の臨床的寛解の基準を満たし、方法は、メトトレキサート（ＭＴＸ）を小児患者に投与することを更に含む、方法を提供する。

【００３３】

ある特定の実施形態では、本発明は、小児患者における若年性特発性関節炎（ＪＩＡ）を治療するための方法であって、方法は、静脈内（ＩＶ）用量の抗ＴＮＦ抗体を含む組成物を小児患者に投与することを含み、抗ＴＮＦ抗体は、配列番号３６のアミノ酸配列を含む重鎖（ＨＣ）及び配列番号３７のアミノ酸配列を含む軽鎖（ＬＣ）を含み、小児患者は、治療から５２週間後、ＪＩＡ米国リウマチ学会（ＪＩＡ　ＡＣＲ）の臨床的寛解の基準を満たす、方法を提供する。

【００３４】

ある特定の実施形態では、本発明は、小児患者における若年性特発性関節炎（ＪＩＡ）を治療するための方法であって、方法は、静脈内（ＩＶ）用量の抗ＴＮＦ抗体を含む組成物を小児患者に投与することを含み、抗ＴＮＦ抗体は、配列番号３６のアミノ酸配列を含む重鎖（ＨＣ）及び配列番号３７のアミノ酸配列を含む軽鎖（ＬＣ）を含み、小児患者の３０％超は、治療から５２週間後、ＪＩＡ　ＡＣＲの非活動性疾患の基準を満たす、方法を提供する。

【００３５】

ある特定の実施形態では、本発明は、小児患者における若年性特発性関節炎（ＪＩＡ）を治療するための方法であって、方法は、静脈内（ＩＶ）用量の抗ＴＮＦ抗体を含む組成物を小児患者に投与することを含み、抗ＴＮＦ抗体は、配列番号３６のアミノ酸配列を含む重鎖（ＨＣ）及び配列番号３７のアミノ酸配列を含む軽鎖（ＬＣ）を含み、小児患者は、治療から５２週間後、ＪＩＡ米国リウマチ学会（ＪＩＡ　ＡＣＲ）の臨床的寛解の基準を満たし、当該小児患者は、２～１８歳未満である、方法を提供する。

【００３６】

ある特定の実施形態では、本発明は、小児患者における若年性特発性関節炎（ＪＩＡ）を治療するための方法であって、方法は、静脈内（ＩＶ）用量の抗ＴＮＦ抗体を含む組成物を小児患者に投与することを含み、抗ＴＮＦ抗体は、配列番号３６のアミノ酸配列を含む重鎖（ＨＣ）及び配列番号３７のアミノ酸配列を含む軽鎖（ＬＣ）を含み、小児患者は、治療から５２週間後、ＪＩＡ米国リウマチ学会（ＪＩＡ　ＡＣＲ）の臨床的寛解の基準を満たし、当該若年性特発性関節炎（ＪＩＡ）は、多関節型若年性特発性関節炎（ｐＪＩＡ）である、方法を提供する。

【００３７】

ある特定の実施形態では、本発明は、小児患者における若年性特発性関節炎（ＪＩＡ）を治療するための方法であって、方法は、静脈内（ＩＶ）用量の抗ＴＮＦ抗体を含む組成物を小児患者に投与することを含み、抗ＴＮＦ抗体は、配列番号３６のアミノ酸配列を含む重鎖（ＨＣ）及び配列番号３７のアミノ酸配列を含む軽鎖（ＬＣ）を含み、小児患者は、治療から５２週間後、ＪＩＡ米国リウマチ学会（ＪＩＡ　ＡＣＲ）の臨床的寛解の基準を満たし、ＩＶ用量の組成物は、第０週目、第４週目、及びその後は８週間毎に、抗ＴＮＦ抗体の８０ｍｇ／ｍ^{2}である、方法を提供する。

【００３８】

ある特定の実施形態では、本発明は、小児患者における若年性特発性関節炎（ＪＩＡ）を治療するための方法であって、方法は、静脈内（ＩＶ）用量の抗ＴＮＦ抗体を含む組成物を小児患者に投与することを含み、抗ＴＮＦ抗体は、配列番号３６のアミノ酸配列を含む重鎖（ＨＣ）及び配列番号３７のアミノ酸配列を含む軽鎖（ＬＣ）を含み、小児患者は、治療から５２週間後、ＪＩＡ米国リウマチ学会（ＪＩＡ　ＡＣＲ）の臨床的寛解の基準を満たし、方法は、メトトレキサート（ＭＴＸ）を小児患者に投与することを更に含む、方法を提供する。

【００３９】

ある特定の実施形態では、本発明は、小児患者における若年性特発性関節炎（ＪＩＡ）を治療する方法であって、方法は、静脈内（ＩＶ）用量の抗ＴＮＦ抗体を小児患者に投与することを含み、抗ＴＮＦ抗体は、配列番号３６のアミノ酸配列を含む重鎖（ＨＣ）及び配列番号３７のアミノ酸配列を含む軽鎖（ＬＣ）を含み、小児患者の５０％超は、治療から５２週間後、ＪＩＡ米国リウマチ学会（ＪＩＡ　ＡＣＲ）３０、ＪＩＡ　ＡＣＲ５０、及びＪＩＡ　ＡＣＲ７０の基準を満たす、方法を提供する。

【００４０】

ある特定の実施形態では、本発明は、小児患者における若年性特発性関節炎（ＪＩＡ）を治療する方法であって、方法は、静脈内（ＩＶ）用量の抗ＴＮＦ抗体を小児患者に投与することを含み、抗ＴＮＦ抗体は、配列番号３６のアミノ酸配列を含む重鎖（ＨＣ）及び配列番号３７のアミノ酸配列を含む軽鎖（ＬＣ）を含み、小児患者の５０％超は、治療から５２週間後、ＪＩＡ米国リウマチ学会（ＪＩＡ　ＡＣＲ）３０、ＪＩＡ　ＡＣＲ５０、及びＪＩＡ　ＡＣＲ７０の基準を満たし、当該小児患者は、２～１８歳未満である、方法を提供する。

【００４１】

ある特定の実施形態では、本発明は、小児患者における若年性特発性関節炎（ＪＩＡ）を治療する方法であって、方法は、静脈内（ＩＶ）用量の抗ＴＮＦ抗体を小児患者に投与することを含み、抗ＴＮＦ抗体は、配列番号３６のアミノ酸配列を含む重鎖（ＨＣ）及び配列番号３７のアミノ酸配列を含む軽鎖（ＬＣ）を含み、小児患者の５０％超は、治療から５２週間後、ＪＩＡ米国リウマチ学会（ＪＩＡ　ＡＣＲ）３０、ＪＩＡ　ＡＣＲ５０、及びＪＩＡ　ＡＣＲ７０の基準を満たし、当該若年性特発性関節炎（ＪＩＡ）は、多関節型若年性特発性関節炎（ｐＪＩＡ）である、方法を提供する。

【００４２】

ある特定の実施形態では、本発明は、小児患者における若年性特発性関節炎（ＪＩＡ）を治療する方法であって、方法は、静脈内（ＩＶ）用量の抗ＴＮＦ抗体を小児患者に投与することを含み、抗ＴＮＦ抗体は、配列番号３６のアミノ酸配列を含む重鎖（ＨＣ）及び配列番号３７のアミノ酸配列を含む軽鎖（ＬＣ）を含み、小児患者の５０％超は、治療から５２週間後、ＪＩＡ米国リウマチ学会（ＪＩＡ　ＡＣＲ）３０、ＪＩＡ　ＡＣＲ５０、及びＪＩＡ　ＡＣＲ７０の基準を満たし、ＩＶ用量は、第０週目、第４週目、及びその後は８週間毎に、抗ＴＮＦ抗体の８０ｍｇ／ｍ^{2}である、方法を提供する。

【００４３】

ある特定の実施形態では、本発明は、小児患者における若年性特発性関節炎（ＪＩＡ）を治療する方法であって、方法は、静脈内（ＩＶ）用量の抗ＴＮＦ抗体を小児患者に投与することを含み、抗ＴＮＦ抗体は、配列番号３６のアミノ酸配列を含む重鎖（ＨＣ）及び配列番号３７のアミノ酸配列を含む軽鎖（ＬＣ）を含み、小児患者の５０％超は、治療から５２週間後、ＪＩＡ米国リウマチ学会（ＪＩＡ　ＡＣＲ）３０、ＪＩＡ　ＡＣＲ５０、及びＪＩＡ　ＡＣＲ７０の基準を満たし、方法は、メトトレキサート（ＭＴＸ）を小児患者に投与することを更に含む、方法を提供する。

【００４４】

ある特定の実施形態では、本発明は、小児患者における若年性特発性関節炎（ＪＩＡ）を治療する方法であって、方法は、静脈内（ＩＶ）用量の抗ＴＮＦ抗体を小児患者に投与することを含み、抗ＴＮＦ抗体は、配列番号３６のアミノ酸配列を含む重鎖（ＨＣ）及び配列番号３７のアミノ酸配列を含む軽鎖（ＬＣ）を含み、小児患者の２０％超は、治療から５２週間後、低疾患活動性について若年性関節炎疾患活動性スコア計数７１関節（ＪＡＤＡＳ　７１）を有する、方法を提供する。

【００４５】

ある特定の実施形態では、本発明は、小児患者における若年性特発性関節炎（ＪＩＡ）を治療する方法であって、方法は、静脈内（ＩＶ）用量の抗ＴＮＦ抗体を小児患者に投与することを含み、抗ＴＮＦ抗体は、配列番号３６のアミノ酸配列を含む重鎖（ＨＣ）及び配列番号３７のアミノ酸配列を含む軽鎖（ＬＣ）を含み、小児患者の２０％超は、治療か

ら５２週間後、低疾患活動性について若年性関節炎疾患活動性スコア計数７１関節（ＪＡＤＡＳ　７１）を有し、当該小児患者は、２～１８歳未満である、方法を提供する。

【００４６】

ある特定の実施形態では、本発明は、小児患者における若年性特発性関節炎（ＪＩＡ）を治療する方法であって、方法は、静脈内（ＩＶ）用量の抗ＴＮＦ抗体を小児患者に投与することを含み、抗ＴＮＦ抗体は、配列番号３６のアミノ酸配列を含む重鎖（ＨＣ）及び配列番号３７のアミノ酸配列を含む軽鎖（ＬＣ）を含み、小児患者の２０％超は、治療から５２週間後、低疾患活動性について若年性関節炎疾患活動性スコア計数７１関節（ＪＡＤＡＳ　７１）を有し、当該若年性特発性関節炎（ＪＩＡ）は、多関節型若年性特発性関節炎（ｐＪＩＡ）である、方法を提供する。

【００４７】

ある特定の実施形態では、本発明は、小児患者における若年性特発性関節炎（ＪＩＡ）を治療する方法であって、方法は、静脈内（ＩＶ）用量の抗ＴＮＦ抗体を小児患者に投与することを含み、抗ＴＮＦ抗体は、配列番号３６のアミノ酸配列を含む重鎖（ＨＣ）及び配列番号３７のアミノ酸配列を含む軽鎖（ＬＣ）を含み、小児患者の２０％超は、治療から５２週間後、低疾患活動性について若年性関節炎疾患活動性スコア計数７１関節（ＪＡＤＡＳ　７１）を有し、ＩＶ用量は、第０週目、第４週目、及びその後は８週間毎に、抗ＴＮＦ抗体の８０ｍｇ／ｍ^{2}である、方法を提供する。

【００４８】

ある特定の実施形態では、本発明は、小児患者における若年性特発性関節炎（ＪＩＡ）を治療する方法であって、方法は、静脈内（ＩＶ）用量の抗ＴＮＦ抗体を小児患者に投与することを含み、抗ＴＮＦ抗体は、配列番号３６のアミノ酸配列を含む重鎖（ＨＣ）及び配列番号３７のアミノ酸配列を含む軽鎖（ＬＣ）を含み、小児患者の２０％超は、治療から５２週間後、低疾患活動性について若年性関節炎疾患活動性スコア計数７１関節（ＪＡＤＡＳ　７１）を有し、方法は、メトトレキサート（ＭＴＸ）を小児患者に投与することを更に含む、方法を提供する。

【００４９】

ある特定の実施形態では、本発明は、小児患者における若年性特発性関節炎（ＪＩＡ）を治療するための方法であって、方法は、静脈内（ＩＶ）用量の抗ＴＮＦ抗体を含む組成物を小児患者に投与することを含み、抗ＴＮＦ抗体は、配列番号３６のアミノ酸配列を含む重鎖（ＨＣ）及び配列番号３７のアミノ酸配列を含む軽鎖（ＬＣ）を含み、小児患者の５０％超は、治療から５２週間後、ＪＩＡ米国リウマチ学会（ＪＩＡ　ＡＣＲ）３０、ＪＩＡ　ＡＣＲ　５０、及びＪＩＡ　ＡＣＲ　７０の基準を満たす、方法を提供する。

【００５０】

ある特定の実施形態では、本発明は、小児患者における若年性特発性関節炎（ＪＩＡ）を治療するための方法であって、方法は、静脈内（ＩＶ）用量の抗ＴＮＦ抗体を含む組成物を小児患者に投与することを含み、抗ＴＮＦ抗体は、配列番号３６のアミノ酸配列を含む重鎖（ＨＣ）及び配列番号３７のアミノ酸配列を含む軽鎖（ＬＣ）を含み、小児患者の５０％超は、治療から５２週間後、ＪＩＡ米国リウマチ学会（ＪＩＡ　ＡＣＲ）の３０、ＪＩＡ　ＡＣＲ　５０、及びＪＩＡ　ＡＣＲ　７０の基準を満たし、当該小児患者は、２～１８歳未満である、方法を提供する。

【００５１】

ある特定の実施形態では、本発明は、小児患者における若年性特発性関節炎（ＪＩＡ）を治療するための方法であって、方法は、静脈内（ＩＶ）用量の抗ＴＮＦ抗体を含む組成物を小児患者に投与することを含み、抗ＴＮＦ抗体は、配列番号３６のアミノ酸配列を含む重鎖（ＨＣ）及び配列番号３７のアミノ酸配列を含む軽鎖（ＬＣ）を含み、小児患者の５０％超は、治療から５２週間後、ＪＩＡ米国リウマチ学会（ＪＩＡ　ＡＣＲ）の３０、ＪＩＡ　ＡＣＲ　５０、及びＪＩＡ　ＡＣＲ　７０の基準を満たし、当該若年性特発性関節炎（ＪＩＡ）は、多関節型若年性特発性関節炎（ｐＪＩＡ）である、方法を提供する。

【００５２】

ある特定の実施形態では、本発明は、小児患者における若年性特発性関節炎（ＪＩＡ）を治療するための方法であって、方法は、静脈内（ＩＶ）用量の抗ＴＮＦ抗体を含む組成物を小児患者に投与することを含み、抗ＴＮＦ抗体は、配列番号３６のアミノ酸配列を含む重鎖（ＨＣ）及び配列番号３７のアミノ酸配列を含む軽鎖（ＬＣ）を含み、小児患者の５０％超は、治療から５２週間後、ＪＩＡ米国リウマチ学会（ＪＩＡ　ＡＣＲ）の３０、ＪＩＡ　ＡＣＲ　５０、及びＪＩＡ　ＡＣＲ　７０の基準を満たし、ＩＶ用量の組成物は、第０週目、第４週目、及びその後は８週間毎に、抗ＴＮＦ抗体の８０ｍｇ／ｍ^{2}である、方法を提供する。

【００５３】

ある特定の実施形態では、本発明は、小児患者における若年性特発性関節炎（ＪＩＡ）を治療するための方法であって、方法は、静脈内（ＩＶ）用量の抗ＴＮＦ抗体を含む組成物を小児患者に投与することを含み、抗ＴＮＦ抗体は、配列番号３６のアミノ酸配列を含む重鎖（ＨＣ）及び配列番号３７のアミノ酸配列を含む軽鎖（ＬＣ）を含み、小児患者の５０％超は、治療から５２週間後、ＪＩＡ米国リウマチ学会（ＪＩＡ　ＡＣＲ）の３０、ＪＩＡ　ＡＣＲ　５０、及びＪＩＡ　ＡＣＲ　７０の基準を満たし、方法は、メトトレキサート（ＭＴＸ）を小児患者に投与することを更に含む、方法を提供する。

【００５４】

ある特定の実施形態では、本発明は、小児患者における若年性特発性関節炎（ＪＩＡ）を治療するための方法であって、方法は、静脈内（ＩＶ）用量の抗ＴＮＦ抗体を含む組成物を小児患者に投与することを含み、抗ＴＮＦ抗体は、配列番号３６のアミノ酸配列を含む重鎖（ＨＣ）及び配列番号３７のアミノ酸配列を含む軽鎖（ＬＣ）を含み、小児患者の２０％超は、治療から５２週間後、低疾患活動性について若年性関節炎疾患活動性スコア計数７１関節（ＪＡＤＡＳ　７１）を有する、方法を提供する。

【００５５】

ある特定の実施形態では、本発明は、小児患者における若年性特発性関節炎（ＪＩＡ）を治療するための方法であって、方法は、静脈内（ＩＶ）用量の抗ＴＮＦ抗体を含む組成物を小児患者に投与することを含み、抗ＴＮＦ抗体は、配列番号３６のアミノ酸配列を含む重鎖（ＨＣ）及び配列番号３７のアミノ酸配列を含む軽鎖（ＬＣ）を含み、小児患者の２０％超は、治療から５２週間後、低疾患活動性について若年性関節炎疾患活動性スコア計数７１関節（ＪＡＤＡＳ　７１）を有し、当該小児患者は、２～１８歳未満である、方法を提供する。

【００５６】

ある特定の実施形態では、本発明は、小児患者における若年性特発性関節炎（ＪＩＡ）を治療するための方法であって、方法は、静脈内（ＩＶ）用量の抗ＴＮＦ抗体を含む組成物を小児患者に投与することを含み、抗ＴＮＦ抗体は、配列番号３６のアミノ酸配列を含む重鎖（ＨＣ）及び配列番号３７のアミノ酸配列を含む軽鎖（ＬＣ）を含み、小児患者の２０％超は、治療から５２週間後、低疾患活動性について若年性関節炎疾患活動性スコア計数７１関節（ＪＡＤＡＳ　７１）を有し、当該若年性特発性関節炎（ＪＩＡ）は、多関節型若年性特発性関節炎（ｐＪＩＡ）である、方法を提供する。

【００５７】

ある特定の実施形態では、本発明は、小児患者における若年性特発性関節炎（ＪＩＡ）を治療するための方法であって、方法は、静脈内（ＩＶ）用量の抗ＴＮＦ抗体を含む組成物を小児患者に投与することを含み、抗ＴＮＦ抗体は、配列番号３６のアミノ酸配列を含む重鎖（ＨＣ）及び配列番号３７のアミノ酸配列を含む軽鎖（ＬＣ）を含み、小児患者の２０％超は、治療から５２週間後、低疾患活動性について若年性関節炎疾患活動性スコア計数７１関節（ＪＡＤＡＳ　７１）を有し、ＩＶ用量の組成物は、第０週目、第４週目、及びその後は８週間毎に、抗ＴＮＦ抗体の８０ｍｇ／ｍ^{2}である、方法を提供する。

【００５８】

ある特定の実施形態では、本発明は、小児患者における若年性特発性関節炎（ＪＩＡ）を治療するための方法であって、方法は、静脈内（ＩＶ）用量の抗ＴＮＦ抗体を含む組成

物を小児患者に投与することを含み、抗ＴＮＦ抗体は、配列番号３６のアミノ酸配列を含む重鎖（ＨＣ）及び配列番号３７のアミノ酸配列を含む軽鎖（ＬＣ）を含み、小児患者の２０％超は、治療から５２週間後、低疾患活動性について若年性関節炎疾患活動性スコア計数７１関節（ＪＡＤＡＳ　７１）を有し、方法は、メトトレキサート（ＭＴＸ）を小児患者に投与することを更に含む、方法を提供する。

【図面の簡単な説明】

【００５９】

【図１】ハイブリドーマ細胞上清中のＴＮＶ　ｍＡｂが組換えＴＮＦ受容体へのＴＮＦα結合を阻害する能力のアッセイを示すグラフ表示を示す。既知量のＴＮＶ　ｍＡｂを含有する様々な量のハイブリドーマ細胞上清を、固定濃度（５ｎｇ／ｍＬ）の^{125}Ｉ標識ＴＮＦαと共にプレインキュベートした。混合物を、組換えＴＮＦ受容体／ＩｇＧ融合タンパク質ｐ５５－ｓｆ２で予めコーティングされた９６ウェルのＯｐｔｉｐｌａｔｅに移した。ｍＡｂの存在下でｐ５５受容体に結合したＴＮＦαの量は、未結合の材料を洗い流し、γ計数器を使用して計数した後に決定した。これらの実験において８つのＴＮＶ　ｍＡｂ試料を試験したが、簡潔化のため、ＤＮＡ配列分析により、他のＴＮＶ　ｍＡｂのうちの１つと同一であることを示したｍＡｂのうちの３つは、ここに示されていない。各試料を二重に試験した。示される結果は、２つの独立した実験を代表する。

【図２Ａ】ＴＮＶ　ｍＡｂ重鎖可変領域のＤＮＡ配列を示す。示される生殖系列遺伝子は、ＤＰ－４６遺伝子である。「ＴＮＶｓ」は、示される配列がＴＮＶ１４、ＴＮＶ１５、ＴＮＶ１４８、及びＴＮＶ１９６の配列であることを示す。ＴＮＶ配列の最初の３つのヌクレオチドは、翻訳開始Ｍｅｔコドンを定義する。ＴＮＶ　ｍＡｂ遺伝子配列中の点線は、ヌクレオチドが生殖系列配列中のものと同じであることを示す。ＴＮＶ配列の最初の１９のヌクレオチド（下線付き）は、可変領域をＰＣＲ増幅するために使用されたオリゴヌクレオチドに対応する。成熟ｍＡｂで始まるアミノ酸翻訳（一文字表記）は、生殖系列遺伝子についてのみ示される。生殖系列アミノ酸翻訳における３つのＣＤＲドメインは、太字で示され、下線付きである。ＴＮＶ１４８（Ｂ）と標識された行は、示される配列がＴＮＶ１４８及びＴＮＶ１４８Ｂの両方に関することを示す。生殖系列ＤＮＡ配列（ＣＤＲ３）中のギャップは、その当時、知られていないか又は生殖系列遺伝子に存在しない配列に起因する。ＴＮＶ　ｍＡｂ重鎖は、Ｊ６結合領域を使用する。

【図２Ｂ】ＴＮＶ　ｍＡｂ重鎖可変領域のＤＮＡ配列を示す。示される生殖系列遺伝子は、ＤＰ－４６遺伝子である。「ＴＮＶｓ」は、示される配列がＴＮＶ１４、ＴＮＶ１５、ＴＮＶ１４８、及びＴＮＶ１９６の配列であることを示す。ＴＮＶ配列の最初の３つのヌクレオチドは、翻訳開始Ｍｅｔコドンを定義する。ＴＮＶ　ｍＡｂ遺伝子配列中の点線は、ヌクレオチドが生殖系列配列中のものと同じであることを示す。ＴＮＶ配列の最初の１９のヌクレオチド（下線付き）は、可変領域をＰＣＲ増幅するために使用されたオリゴヌクレオチドに対応する。成熟ｍＡｂで始まるアミノ酸翻訳（一文字表記）は、生殖系列遺伝子についてのみ示される。生殖系列アミノ酸翻訳における３つのＣＤＲドメインは、太字で示され、下線付きである。ＴＮＶ１４８（Ｂ）と標識された行は、示される配列がＴＮＶ１４８及びＴＮＶ１４８Ｂの両方に関することを示す。生殖系列ＤＮＡ配列（ＣＤＲ３）中のギャップは、その当時、知られていないか又は生殖系列遺伝子に存在しない配列に起因する。ＴＮＶ　ｍＡｂ重鎖は、Ｊ６結合領域を使用する。

【図３】ＴＮＶ　ｍＡｂ軽鎖可変領域のＤＮＡ配列を示す。示される生殖系列遺伝子は、ヒトκ生殖系列可変領域遺伝子のＶｇ／３８Ｋファミリーの代表的なメンバーである。ＴＮＶ　ｍＡｂ遺伝子配列中の点線は、ヌクレオチドが生殖系列配列中のものと同じであることを示す。ＴＮＶ配列の最初の１６のヌクレオチド（下線付き）は、可変領域をＰＣＲ増幅するために使用されたオリゴヌクレオチドに対応する。成熟ｍＡｂのアミノ酸翻訳（一文字表記）は、生殖系列遺伝子についてのみ示される。生殖系列アミノ酸翻訳における３つのＣＤＲドメインは、太字で示され、下線付きである。ＴＮＶ１４８（Ｂ）と標識された行は、示される配列がＴＮＶ１４８及びＴＮＶ１４８Ｂの両方に関することを示す。生殖系列ＤＮＡ配列（ＣＤＲ３）中のギャップは、知られていないか又は生殖系列遺伝子

に存在しない配列のためである。ＴＮＶ　ｍＡｂ軽鎖は、Ｊ３結合領域を使用する。
【図４】ＴＮＶ　ｍＡｂ重鎖可変領域の推定アミノ酸配列を示す。示されるアミノ酸配列（一文字表記）は、非クローン化ＰＣＲ生成物及びクローン化ＰＣＲ生成物の両方から決定されたＤＮＡ配列から推定された。分泌シグナル配列（シグナル）、フレームワーク（ＦＷ）及び相補性決定領域（ＣＤＲ）ドメインに分割したアミノ配列が示される。ＤＰ－４６生殖系列遺伝子のアミノ酸配列は、各ドメインの上の行に示されている。点線は、ＴＮＶ　ｍＡｂにおけるアミノ酸が生殖系列遺伝子と同一であることを示す。ＴＮＶ１４８（Ｂ）は、示される配列がＴＮＶ１４８及びＴＮＶ１４８Ｂの両方に関することを示す。「ＴＮＶ」は、異なる配列が示されない限り、示される配列が全てのＴＮＶ　ｍＡｂに関することを示す。生殖系列配列（ＣＤＲ３）中の破線は、配列が知られていないか又は生殖系列遺伝子に存在しないことを示す。
【図５】ＴＮＶ　ｍＡｂ軽鎖可変領域の推定アミノ酸配列を示す。示されるアミノ酸配列（一文字表記）は、非クローン化ＰＣＲ生成物及びクローン化ＰＣＲ生成物の両方から決定されたＤＮＡ配列から推定された。分泌シグナル配列（シグナル）、フレームワーク（ＦＷ）及び相補性決定領域（ＣＤＲ）ドメインに分割したアミノ配列が示される。Ｖｇ／３８Ｋ型軽鎖生殖系列遺伝子のアミノ酸配列は、各ドメインの上の行に示される。点線は、ＴＮＶ　ｍＡｂにおけるアミノ酸が生殖系列遺伝子と同一であることを示す。ＴＮＶ１４８（Ｂ）は、示される配列がＴＮＶ１４８及びＴＮＶ１４８Ｂの両方に関することを示す。「Ａｌｌ」は、示される配列がＴＮＶ１４、ＴＮＶ１５、ＴＮＶ１４８、ＴＮＶ１４８Ｂ、及びＴＮＶ１８６に関することを示す。
【図６】ｒＴＮＶ１４８Ｂ発現Ｃ４６６細胞を作製するために使用された重鎖及び軽鎖発現プラスミドの概略図を示す。ｐ１７８３は重鎖プラスミドであり、ｐ１７７６は軽鎖プラスミドである。ｒＴＮＶ１４８Ｂ可変及び定常領域コードドメインは、黒色のボックスで示される。Ｊ－Ｃイントロンの免疫グロブリンエンハンサは、灰色のボックスで示される。関連する制限部位が示される。Ａｂ遺伝子の転写が時計方向に進むように配向されたプラスミドが示される。プラスミドｐ１７８３の長さは１９．５３ｋｂであり、プラスミドｐ１７７６の長さは１５．０６ｋｂである。両プラスミドの完全なヌクレオチド配列は既知である。ｐ１７８３の可変領域コード配列は、ＢｓｉＷＩ／ＢｓｔＢＩ制限断片を置き換えることにより、別の重鎖可変領域配列に容易に置き換えることができる。ｐ１７７６の可変領域コード配列は、ＳａｌＩ／ＡｆｌＩＩ制限断片を置き換えることにより、別の可変領域配列に置き換えることができる。
【図７】５つのｒＴＮＶ１４８Ｂ生成細胞株の成長曲線分析のグラフ表示を示す。３０ｍＬの容量中に１．０×10^5細胞／ｍＬの生存細胞密度を有するように、Ｔ７５フラスコ内のＩ５Ｑ＋ＭＨＸ培地に細胞を播種することにより、０日目に培養を開始した。これらの試験に使用された細胞培養物は、トランスフェクション及びサブクローニングが行われるため、連続培養であった。その後、Ｔフラスコ内の細胞を充分に再懸濁し、０．３ｍｌの培養物のアリコートを取り出した。成長曲線試験は、細胞計数が１．５×10^5細胞／ｍＬ未満に低下したときに終了した。アリコート中の生細胞数をトリパンブルー排除により決定し、残りのアリコートは後のｍＡｂ濃度決定のために保管された。ヒトＩｇＧのＥＬＩＳＡが、同じ時に全ての試料アリコートに対して行われた。
【図８】様々なＭＨＸ選択物濃度の存在下での細胞成長速度の比較のグラフ表示を示す。細胞サブクローンＣ４６６Ａ及びＣ４６６Ｂを、無ＭＨＸ培地（ＩＭＤＭ、５％ＦＢＳ、２ｍＭグルタミン）に解凍し、更に２日間培養した。次いで、両細胞培養物を、ＭＨＸ無し、０．２×ＭＨＸ又は１×ＭＨＸのいずれかを含有した３つの培養に分割した。１日後、新しいＴ７５フラスコに、１×10^5細胞／ｍＬの開始密度で培養物を播種し、細胞を１週間、２４時間間隔で計数した。最初の５日間の倍加時間は、ＳＯＰ　ＰＤ３２．０２５の式を使用して計算し、バーの上に示す。
【図９】２つのｒＴＮＶ１４８Ｂ生成細胞株からの経時的なｍＡｂ生成の安定性のグラフ表示を示す。トランスフェクション及びサブクローニングを行った後、連続培養にあった細胞のサブクローンを使用して、２４ウェル培養皿中での長期連続培養を開始した。ＭＨ

Ｘ選択物を伴う又は伴わないＩ５Ｑ培地中で細胞を培養した。細胞を、４～６日毎に培養物を分けることにより連続して継代して、新たな生存培養物を維持し、同時に前の培養物を消耗させた。消耗した細胞上清のアリコートは、培養物が消耗した直後に回収し、ｍＡｂ濃度が決定されるまで保管した。ヒトＩｇＧのＥＬＩＳＡが、同じ時に全ての試料アリコートに対して行われた。

【図１０】実施例４の対照と比較した、本発明の抗ＴＮＦ抗体に応答した関節炎マウスモデルマウスＴｇ１９７の体重変化を示す。およそ４週齢のＴｇ１９７試験マウスを性別及び体重に基づき９つの処置群のうちの１つに割り当て、ＤｕｌｂｅｃｃｏのＰＢＳ（Ｄ－ＰＢＳ）、又は１ｍｇ／ｋｇ若しくは１０ｍｇ／ｋｇのいずれかの本発明の抗ＴＮＦ抗体（ＴＮＶ１４、ＴＮＶ１４８、又はＴＮＶ１９６）の単回腹腔内ボーラス投与で処置した。体重を投与前からの変化として分析したとき、１０ｍｇ／ｋｇのｃＡ２で処置した動物は、試験を通してＤ－ＰＢＳで処置した動物よりも一貫して高い体重増加を示した。この体重増加は、３～７週目で有意であった。１０ｍｇ／ｋｇのＴＮＶ１４８で処置した動物も、試験の７週目に有意な体重増加を達成した。

【図１１Ａ】実施例４に示す関節炎指数に基づく疾患重症度の進行を表す。１０ｍｇ／ｋｇのｃＡ２処置群の関節炎指数は、３週目から始まり、残りの試験（７週目）を通して継続するＤ－ＰＢＳ対照群よりも低い。１ｍｇ／ｋｇのＴＮＶ１４で処置した動物及び１ｍｇ／ｋｇのｃＡ２で処置した動物は、Ｄ－ＰＢＳ処置群と比較したとき、３週目以降のＡＩにおいて有意な減少を示すことができなかった。各々を類似の用量のその他のものと比較したとき（１０ｍｇ／ｋｇのＴＮＶ１４、１４８及び１９６と比較した１０ｍｇ／ｋｇのｃＡ２）、１０ｍｇ／ｋｇの処置群の間に有意差はなかった。１ｍｇ／ｋｇの処置群を比較したとき、１ｍｇ／ｋｇのＴＮＶ１４８は、１ｍｇ／ｋｇのｃＡ２よりも３、４及び７週目で有意に低いＡＩを示した。１ｍｇ／ｋｇのＴＮＶ１４８も、１ｍｇ／ｋｇのＴＮＶ１４で処置した群よりも３及び４週目で有意に低かった。ＴＮＶ１９６は試験の６週目までＡＩにおいて有意な減少を示したが（Ｄ－ＰＢＳで処置した群と比較したとき）、ＴＮＶ１４８はこの試験の終了時に有意のままであった唯一の１ｍｇ／ｋｇ処置群であった。

【図１１Ｂ】実施例４に示す関節炎指数に基づく疾患重症度の進行を表す。１０ｍｇ／ｋｇのｃＡ２処置群の関節炎指数は、３週目から始まり、残りの試験（７週目）を通して継続するＤ－ＰＢＳ対照群よりも低い。１ｍｇ／ｋｇのＴＮＶ１４で処置した動物及び１ｍｇ／ｋｇのｃＡ２で処置した動物は、Ｄ－ＰＢＳ処置群と比較したとき、３週目以降のＡＩにおいて有意な減少を示すことができなかった。各々を類似の用量のその他のものと比較したとき（１０ｍｇ／ｋｇのＴＮＶ１４、１４８及び１９６と比較した１０ｍｇ／ｋｇのｃＡ２）、１０ｍｇ／ｋｇの処置群の間に有意差はなかった。１ｍｇ／ｋｇの処置群を比較したとき、１ｍｇ／ｋｇのＴＮＶ１４８は、１ｍｇ／ｋｇのｃＡ２よりも３、４及び７週目で有意に低いＡＩを示した。１ｍｇ／ｋｇのＴＮＶ１４８も、１ｍｇ／ｋｇのＴＮＶ１４で処置した群よりも３及び４週目で有意に低かった。ＴＮＶ１９６は試験の６週目までＡＩにおいて有意な減少を示したが（Ｄ－ＰＢＳで処置した群と比較したとき）、ＴＮＶ１４８はこの試験の終了時に有意のままであった唯一の１ｍｇ／ｋｇ処置群であった。

【図１１Ｃ】実施例４に示す関節炎指数に基づく疾患重症度の進行を表す。１０ｍｇ／ｋｇのｃＡ２処置群の関節炎指数は、３週目から始まり、残りの試験（７週目）を通して継続するＤ－ＰＢＳ対照群よりも低い。１ｍｇ／ｋｇのＴＮＶ１４で処置した動物及び１ｍｇ／ｋｇのｃＡ２で処置した動物は、Ｄ－ＰＢＳ処置群と比較したとき、３週目以降のＡＩにおいて有意な減少を示すことができなかった。各々を類似の用量のその他のものと比較したとき（１０ｍｇ／ｋｇのＴＮＶ１４、１４８及び１９６と比較した１０ｍｇ／ｋｇのｃＡ２）、１０ｍｇ／ｋｇの処置群の間に有意差はなかった。１ｍｇ／ｋｇの処置群を比較したとき、１ｍｇ／ｋｇのＴＮＶ１４８は、１ｍｇ／ｋｇのｃＡ２よりも３、４及び７週目で有意に低いＡＩを示した。１ｍｇ／ｋｇのＴＮＶ１４８も、１ｍｇ／ｋｇのＴＮＶ１４で処置した群よりも３及び４週目で有意に低かった。ＴＮＶ１９６は試験の６週目

までＡＩにおいて有意な減少を示したが（Ｄ－ＰＢＳで処置した群と比較したとき）、ＴＮＶ１４８はこの試験の終了時に有意のままであった唯一の１ｍｇ／ｋｇ処置群であった。

【図１２】実施例５の対照と比較した、本発明の抗ＴＮＦ抗体に応答した関節炎マウスモデルマウスＴｇ１９７の体重変化を示す。およそ４週齢のＴｇ１９７試験マウスを体重に基づき８つの処置群のうちの１つに割り当て、対照品（Ｄ－ＰＢＳ）、又は３ｍｇ／ｋｇの抗体（ＴＮＶ１４、ＴＮＶ１４８）（０週目）の腹腔内ボーラス投与で処置した。注射は１、２、３、及び４週目に全ての動物において繰り返された。群１～６は、試験品の有効性に関して評価された。群７及び８の動物から得られた血清試料は、２、３及び４週目のＴＮＶ１４又はＴＮＶ１４８の免疫応答誘導及び薬物動態クリアランスに関して評価された。

【図１３Ａ】関節炎指数に基づく実施例５の疾患の重症度の進行を表すグラフである。１０ｍｇ／ｋｇのｃＡ２で処置した群の関節炎指数は、２週目から始まり、残りの試験全体を通して（５週目）継続してＤ－ＰＢＳ対照群よりも有意に低かった。１ｍｇ／ｋｇ又は３ｍｇ／ｋｇのｃＡ２で処置した動物及び３ｍｇ／ｋｇのＴＮＶ１４で処置した動物は、ｄ－ＰＢＳ対照群と比較したときに、試験を通して任意の時点でＡＩにおいて任意の有意な減少を達成することができなかった。３ｍｇ／ｋｇのＴＮＶ１４８で処置した動物は、ｄ－ＰＢＳで処置した群と比較したとき、３週目から始まり、５週目まで継続する有意な減少を示した。１０ｍｇ／ｋｇのｃＡ２で処置した動物は、試験の４及び５週目でより低い用量の両ｃＡ２（１ｍｇ／ｋｇ及び３ｍｇ／ｋｇ）と比較したとき、ＡＩにおいて有意な減少を示し、又３～５週目でＴＮＶ１４で処置した動物よりも有意に低かった。３ｍｇ／ｋｇの処置群のいずれかの間に有意差はなかったようだが、３ｍｇ／ｋｇのＴＮＶ１４で処置した動物に関するＡＩは、ある時点で１０ｍｇ／ｋｇよりも有意に高く、一方ＴＮＶ１４８で処置した動物は、１０ｍｇ／ｋｇのｃＡ２で処置した動物と有意に異ならなかった。

【図１３Ｂ】関節炎指数に基づく実施例５の疾患の重症度の進行を表すグラフである。１０ｍｇ／ｋｇのｃＡ２で処置した群の関節炎指数は、２週目から始まり、残りの試験全体を通して（５週目）継続してＤ－ＰＢＳ対照群よりも有意に低かった。１ｍｇ／ｋｇ又は３ｍｇ／ｋｇのｃＡ２で処置した動物及び３ｍｇ／ｋｇのＴＮＶ１４で処置した動物は、ｄ－ＰＢＳ対照群と比較したときに、試験を通して任意の時点でＡＩにおいて任意の有意な減少を達成することができなかった。３ｍｇ／ｋｇのＴＮＶ１４８で処置した動物は、ｄ－ＰＢＳで処置した群と比較したとき、３週目から始まり、５週目まで継続する有意な減少を示した。１０ｍｇ／ｋｇのｃＡ２で処置した動物は、試験の４及び５週目でより低い用量の両ｃＡ２（１ｍｇ／ｋｇ及び３ｍｇ／ｋｇ）と比較したとき、ＡＩにおいて有意な減少を示し、又３～５週目でＴＮＶ１４で処置した動物よりも有意に低かった。３ｍｇ／ｋｇの処置群のいずれかの間に有意差はなかったようだが、３ｍｇ／ｋｇのＴＮＶ１４で処置した動物に関するＡＩは、ある時点で１０ｍｇ／ｋｇよりも有意に高く、一方ＴＮＶ１４８で処置した動物は、１０ｍｇ／ｋｇのｃＡ２で処置した動物と有意に異ならなかった。

【図１３Ｃ】関節炎指数に基づく実施例５の疾患の重症度の進行を表すグラフである。１０ｍｇ／ｋｇのｃＡ２で処置した群の関節炎指数は、２週目から始まり、残りの試験全体を通して（５週目）継続してＤ－ＰＢＳ対照群よりも有意に低かった。１ｍｇ／ｋｇ又は３ｍｇ／ｋｇのｃＡ２で処置した動物及び３ｍｇ／ｋｇのＴＮＶ１４で処置した動物は、ｄ－ＰＢＳ対照群と比較したときに、試験を通して任意の時点でＡＩにおいて任意の有意な減少を達成することができなかった。３ｍｇ／ｋｇのＴＮＶ１４８で処置した動物は、ｄ－ＰＢＳで処置した群と比較したとき、３週目から始まり、５週目まで継続する有意な減少を示した。１０ｍｇ／ｋｇのｃＡ２で処置した動物は、試験の４及び５週目でより低い用量の両ｃＡ２（１ｍｇ／ｋｇ及び３ｍｇ／ｋｇ）と比較したとき、ＡＩにおいて有意な減少を示し、又３～５週目でＴＮＶ１４で処置した動物よりも有意に低かった。３ｍｇ／ｋｇの処置群のいずれかの間に有意差はなかったようだが、３ｍｇ／ｋｇのＴＮＶ１４

で処置した動物に関するＡＩは、ある時点で１０ｍｇ／ｋｇよりも有意に高く、一方ＴＮＶ１４８で処置した動物は、１０ｍｇ／ｋｇのｃＡ２で処置した動物と有意に異ならなかった。

【図１４】実施例６の対照と比較した、本発明の抗ＴＮＦ抗体に応答した関節炎マウスモデルマウスＴｇ１９７の体重変化を示す。およそ４週齢のＴｇ１９７試験マウスを性別及び体重に基づき６つの処置群のうちの１つに割り当て、３ｍｇ／ｋｇ又は５ｍｇ／ｋｇのいずれかの抗体（ｃＡ２又はＴＮＶ１４８）の単回腹腔内ボーラス投与で処置した。この試験は、Ｄ－ＰＢＳ及び１０ｍｇ／ｋｇのｃＡ２対照群を利用した。

【図１５】実施例６に示す関節炎指数に基づく疾患の重症度の進行を表す。全ての処置群が初期の時点で多少の保護作用を示し、５ｍｇ／ｋｇのｃＡ２及び５ｍｇ／ｋｇのＴＮＶ１４８は、１～３週目にＡＩにおいて有意な減少を示し、全ての処置群が２週目で有意な減少を示した。実験の後期に、５ｍｇ／ｋｇのｃＡ２で処置した動物は多少の保護作用を示し、４、６及び７週目で有意に減少した。低用量（３ｍｇ／ｋｇ）のｃＡ２及びＴＮＶ１４８は両方とも、６週目で有意な減少を示し、全ての処置群が７週目で有意な減少を示した。試験の終わりで（８週目）有意な減少を維持することができた処置群はなかった。任意の時点で処置群のいずれかの間（食塩水対照群は除く）に有意差はなかった。

【図１６】実施例７の対照と比較した、本発明の抗ＴＮＦ抗体に応答した関節炎マウスモデルマウスＴｇ１９７の体重変化を示す。ＴＮＶ１４８（ハイブリドーマ細胞に由来する）及びｒＴＮＶ１４８Ｂ（トランスフェクトした細胞に由来する）の単回腹腔内投与の有効性を比較するために。およそ４週齢のＴｇ１９７試験マウスを性別及び体重に基づき９つの処置群のうちの１つに割り当て、ＤｕｌｂｅｃｃｏのＰＢＳ（Ｄ－ＰＢＳ）、又は１ｍｇ／ｋｇの抗体（ＴＮＶ１４８、ｒＴＮＶ１４８Ｂ）の単回腹腔内ボーラス投与で処置した。

【図１７】実施例７に示す関節炎指数に基づく疾患の重症度の進行を表す。１０ｍｇ／ｋｇのｃＡ２処置群の関節炎指数は、４週目から始まり、残りの試験（８週目）を通して継続するＤ－ＰＢＳ対照群よりも低い。ＴＮＶ１４８で処置した群及び１ｍｇ／ｋｇのｃＡ２で処置した群は両方とも、４週目でＡＩにおける有意な減少を示した。以前の試験（Ｐ－０９９－０１７）は、ＴＮＶ１４８が単回の１ｍｇ／ｋｇの腹腔内ボーラス後の関節炎指数の減少にわずかにより効果的であることを示したが、この試験では、両バージョンのＴＮＶ抗体で処置した群からのＡＩがわずかに高いことを示した。１ｍｇ／ｋｇのｃＡ２で処置した群（６週目を除く）は、１０ｍｇ／ｋｇのｃＡ２群と比較したとき、有意に増加せず、ＴＮＶ１４８で処置した群は、７及び８週目で有意に高かったが、１ｍｇ／ｋｇのｃＡ２、１ｍｇ／ｋｇのＴＮＶ１４８及び１ｍｇ／ｋｇのＴＮＶ１４８Ｂの間には試験の任意の時点でＡＩにおいて有意差はなかった。

【図１８】ｐＪＩＡの臨床試験設計の図である。ＤＢＬ＝データベースロック、ＬＴＥ＝長期延長、ＭＳＥ＝主要二次エンドポイント、ＰＥ＝一次評価項目である。ゴリムマブ８０ｍｇ／ｍ^{2}のＩＶ注入は、示された時間に矢印でマークされている。患者は、市販のＭＴＸも、試験組み入れの時点と同じ週１回のＢＳＡベースの用量で少なくとも第２８週目まで投与された。

【図１９】試験全体を通した患者の傾向の図を示す。＊１人の患者が１を超える不適格理由を有していたので、最大５１にする。ＡＥ、有害事象；ＪＩＡ、若年性特発性関節炎；ｎ、患者数。

【図２０Ａ】ｐｏｌｙ－ＪＩＡ患者及び成人ＲＡ参照集団での２８週目の年齢群別における、観察された定常状態の血清トラフゴリムマブ濃度（μｇ／ｍＬ）（Ａ）及び血清ゴリムマブ濃度のモデル予測ＡＵＣｓｓ（μｇ・日／ｍＬ）（Ｂ）を示す。ボックス内の水平線は中央値を表し、ボックスの下端は第１の四分位群を表し、ボックスの上端は第３の四分位群を表す。ひげは１．５×四分位内範囲内の最端の観察を表す。ＡＵＣｓｓ、定常状態の曲線下面積；ＪＩＡ、若年性特発性関節炎；ｎ、集団内の患者数、ＲＡ、関節リウマチ；ＷＫ、週。

【図２０Ｂ】ｐｏｌｙ－ＪＩＡ患者及び成人ＲＡ参照集団での２８週目の年齢群別におけ

る、観察された定常状態の血清トラフゴリムマブ濃度（μｇ／ｍＬ）（Ａ）及び血清ゴリムマブ濃度のモデル予測ＡＵＣｓｓ（μｇ・日／ｍＬ）（Ｂ）を示す。ボックス内の水平線は中央値を表し、ボックスの下端は第１の四分位群を表し、ボックスの上端は第３の四分位群を表す。ひげは１．５×四分位内範囲内の最端の観察を表す。ＡＵＣｓｓ、定常状態の曲線下面積；ＪＩＡ、若年性特発性関節炎；ｎ、集団内の患者数、ＲＡ、関節リウマチ；ＷＫ、週。

【図２１Ａ】５２週目までの臨床的有効性；ＪＩＡ　ＡＣＲ３０／５０／７０／９０レスポンダーの百分率（Ａ）、ＪＩＡ　ＡＣＲ非活動性疾患又は薬剤に対する臨床的寛解を有する患者の百分率（Ｂ）、平均（標準偏差）ＣＨＡＱ及び疼痛スコアの親評価（Ｃ）、並びに平均（９５％信頼区間）ＪＡＤＡＳ７１スコア（Ｄ）を示す。（Ａ）については、ＪＩＡ　ＡＣＲ３０、５０、７０、及び９０の全時点においてＮ＝１２７；ＩＴＴの原則に従って、ＮＲＩ及びＬＯＣＦ当たりの欠落データを処理した。（Ｂ）については、非活動性疾患及び薬剤での臨床的寛解の全時点においてＮ＝１２７。薬剤での臨床的寛解は、ｐｏｌｙ－ＪＩＡ薬の投薬中に、６ヶ月以上の期間にわたって各来院時に非活動性疾患として定義された（少なくとも２４週間前を包含する全ての来院が非活動性疾患基準を満たす必要があった）。非活動性疾患及び臨床的寛解については、ＩＴＴの原則に従って、ＬＯＣＦ及びＮＲＩ毎に欠落したデータを処理した。（Ｃ）について、疼痛及びＣＨＡＱスコアは観察されたデータに基づいた。（Ｄ）について、ＪＡＤＡＳスコアは観察されたデータに基づいた。９５％信頼区間は平均±１．９６×ＳＤ／√Ｎの正常な近似値に基づいている。ＡＣＲ、米国リウマチ学会；ＢＳＬ、ベースライン；ＣＨＡＱ、小児健康調査質問票（Ｃｈｉｌｄｈｏｏｄ Ｈｅａｌｔｈ Ａｓｓｅｓｓｍｅｎｔ Ｑｕｅｓｔｉｏｎｎａｉｒｅ）；ＨＤＡ、高疾患活動性；ＩＤ、非活動性疾患；ＩＴＴ、治療意図；ＪＡＤＡＳ、若年性関節炎疾患活動性スコア；ＪＩＡ、若年性特発性関節炎；ＬＤＡ、低疾患活動性；ＬＯＣＦ、最終観測値繰越；Ｎ、全治療患者；ｎ、評価可能な患者数；ＮＲＩ、ノンレスポンダーの補完；ＳＤ、標準偏差。

【図２１Ｂ】５２週目までの臨床的有効性；ＪＩＡ　ＡＣＲ３０／５０／７０／９０レスポンダーの百分率（Ａ）、ＪＩＡ　ＡＣＲ非活動性疾患又は薬剤に対する臨床的寛解を有する患者の百分率（Ｂ）、平均（標準偏差）ＣＨＡＱ及び疼痛スコアの親評価（Ｃ）、並びに平均（９５％信頼区間）ＪＡＤＡＳ７１スコア（Ｄ）を示す。（Ａ）については、ＪＩＡ　ＡＣＲ３０、５０、７０、及び９０の全時点においてＮ＝１２７；ＩＴＴの原則に従って、ＮＲＩ及びＬＯＣＦ当たりの欠落データを処理した。（Ｂ）については、非活動性疾患及び薬剤での臨床的寛解の全時点においてＮ＝１２７。薬剤での臨床的寛解は、ｐｏｌｙ－ＪＩＡ薬の投薬中に、６ヶ月超の期間にわたって各来院時に非活動性疾患として定義された（少なくとも２４週間前を包含する全ての来院が非活動性疾患基準を満たす必要があった）。非活動性疾患及び臨床的寛解については、ＩＴＴの原則に従って、ＬＯＣＦ及びＮＲＩ毎に欠落したデータを処理した。（Ｃ）について、疼痛及びＣＨＡＱスコアは観察されたデータに基づいた。（Ｄ）について、ＪＡＤＡＳスコアは観察されたデータに基づいた。９５％信頼区間は平均±１．９６×ＳＤ／√Ｎの正常な近似値に基づいている。ＡＣＲ、米国リウマチ学会；ＢＳＬ、ベースライン；ＣＨＡＱ、小児健康調査質問票（Ｃｈｉｌｄｈｏｏｄ Ｈｅａｌｔｈ Ａｓｓｅｓｓｍｅｎｔ Ｑｕｅｓｔｉｏｎｎａｉｒｅ）；ＨＤＡ、高疾患活動性；ＩＤ、非活動性疾患；ＩＴＴ、治療意図；ＪＡＤＡＳ、若年性関節炎疾患活動性スコア；ＪＩＡ、若年性特発性関節炎；ＬＤＡ、低疾患活動性；ＬＯＣＦ、最終観測値繰越；Ｎ、全治療患者；ｎ、評価可能な患者数；ＮＲＩ、ノンレスポンダーの補完；ＳＤ、標準偏差。

【図２１Ｃ】５２週目までの臨床的有効性；ＪＩＡ　ＡＣＲ３０／５０／７０／９０レスポンダーの百分率（Ａ）、ＪＩＡ　ＡＣＲ非活動性疾患又は薬剤に対する臨床的寛解を有する患者の百分率（Ｂ）、平均（標準偏差）ＣＨＡＱ及び疼痛スコアの親評価（Ｃ）、並びに平均（９５％信頼区間）ＪＡＤＡＳ７１スコア（Ｄ）を示す。（Ａ）については、ＪＩＡ　ＡＣＲ３０、５０、７０、及び９０の全時点においてＮ＝１２７；ＩＴＴの原則に従って、ＮＲＩ及びＬＯＣＦ当たりの欠落データを処理した。（Ｂ）については、非活動性疾患及び薬剤での臨床的寛解の全時点においてＮ＝１２７。薬剤での臨床的寛解は、ｐ

ｏｌｙ－ＪＩＡ薬の投薬中に、６ヶ月超の期間にわたって各来院時に非活動性疾患として定義された（少なくとも２４週間前を包含する全ての来院が非活動性疾患基準を満たす必要があった）。非活動性疾患及び臨床的寛解については、ＩＴＴの原則に従って、ＬＯＣＦ及びＮＲＩ毎に欠落したデータを処理した。（Ｃ）について、疼痛及びＣＨＡＱスコアは観察されたデータに基づいた。（Ｄ）について、ＪＡＤＡＳスコアは観察されたデータに基づいた。９５％信頼区間は平均±１．９６×ＳＤ／√Ｎの正常な近似値に基づいている。ＡＣＲ、米国リウマチ学会；ＢＳＬ、ベースライン；ＣＨＡＱ、小児健康調査質問票（Ｃｈｉｌｄｈｏｏｄ Ｈｅａｌｔｈ Ａｓｓｅｓｓｍｅｎｔ Ｑｕｅｓｔｉｏｎｎａｉｒｅ）；ＨＤＡ、高疾患活動性；ＩＤ、非活動性疾患；ＩＴＴ、治療意図；ＪＡＤＡＳ、若年性関節炎疾患活動性スコア；ＪＩＡ、若年性特発性関節炎；ＬＤＡ、低疾患活動性；ＬＯＣＦ、最終観測値繰越；Ｎ、全治療患者；ｎ、評価可能な患者数；ＮＲＩ、ノンレスポンダーの補完；ＳＤ、標準偏差。

【図２１Ｄ】５２週目までの臨床的有効性；ＪＩＡ　ＡＣＲ３０／５０／７０／９０レスポンダーの百分率（Ａ）、ＪＩＡ　ＡＣＲ非活動性疾患又は薬剤に対する臨床的寛解を有する患者の百分率（Ｂ）、平均（標準偏差）ＣＨＡＱ及び疼痛スコアの親評価（Ｃ）、並びに平均（９５％信頼区間）ＪＡＤＡＳ７１スコア（Ｄ）を示す。（Ａ）については、ＪＩＡ　ＡＣＲ３０、５０、７０、及び９０の全時点においてＮ＝１２７；ＩＴＴの原則に従って、ＮＲＩ及びＬＯＣＦ当たりの欠落データを処理した。（Ｂ）については、非活動性疾患及び薬剤での臨床的寛解の全時点においてＮ＝１２７。薬剤での臨床的寛解は、ｐｏｌｙ－ＪＩＡ薬の投薬中に、６ヶ月超の期間にわたって各来院時に非活動性疾患として定義された（少なくとも２４週間前を包含する全ての来院が非活動性疾患基準を満たす必要があった）。非活動性疾患及び臨床的寛解については、ＩＴＴの原則に従って、ＬＯＣＦ及びＮＲＩ毎に欠落したデータを処理した。（Ｃ）について、疼痛及びＣＨＡＱスコアは観察されたデータに基づいた。（Ｄ）について、ＪＡＤＡＳスコアは観察されたデータに基づいた。９５％信頼区間は平均±１．９６×ＳＤ／√Ｎの正常な近似値に基づいている。ＡＣＲ、米国リウマチ学会；ＢＳＬ、ベースライン；ＣＨＡＱ、小児健康調査質問票（Ｃｈｉｌｄｈｏｏｄ Ｈｅａｌｔｈ Ａｓｓｅｓｓｍｅｎｔ Ｑｕｅｓｔｉｏｎｎａｉｒｅ）；ＨＤＡ、高疾患活動性；ＩＤ、非活動性疾患；ＩＴＴ、治療意図；ＪＡＤＡＳ、若年性関節炎疾患活動性スコア；ＪＩＡ、若年性特発性関節炎；ＬＤＡ、低疾患活動性；ＬＯＣＦ、最終観測値繰越；Ｎ、全治療患者；ｎ、評価可能な患者数；ＮＲＩ、ノンレスポンダーの補完；ＳＤ、標準偏差。

【発明を実施するための形態】

【００６０】

本発明は、配列番号３６を含む重鎖（ＨＣ）及び配列番号３７を含む軽鎖（ＬＣ）を有する抗ＴＮＦ抗体を含む組成物、及びかかる抗ＴＮＦ抗体を生成するための製造プロセスを提供する。

【００６１】

本明細書で使用するとき、「抗腫瘍壊死因子α抗体」、「抗ＴＮＦ抗体」、「抗ＴＮＦ抗体部分」若しくは「抗ＴＮＦ抗体断片」、及び／又は「抗ＴＮＦ抗体変異体」などは、本発明の抗体の中に組み込むことができる、重鎖若しくは軽鎖の少なくとも１つの相補性決定領域（ＣＤＲ）若しくはそのリガンド結合部分、重鎖若しくは軽鎖可変領域、重鎖若しくは軽鎖定常領域、フレームワーク領域、又はこれらの任意の部分、あるいはＴＮＦ受容体又は結合タンパク質の少なくとも一つの部分などであるがこれらに限定されない免疫グロブリン分子の少なくとも一部を含む分子を含む、任意のタンパク質又はペプチド含有分子を含む。かかる抗体は、任意選択的に、特定のリガンドに更に影響を及ぼし、これらに限定されないが、かかる抗体は、インビトロで、その場で、及び／又はインビボで、少なくとも１つのＴＮＦ活性若しくは結合、又はＴＮＦ受容体活性若しくは結合を調節、減少、増加、拮抗、作動、軽減、緩和、遮断、阻害、抑止、及び／又は干渉する。非限定的な例として、本発明の好適な抗ＴＮＦ抗体、特定された部分又は変異体は、少なくとも１つのＴＮＦ又はその特定された部分、変異体若しくはドメインに結合することができる。好適な抗ＴＮＦ抗体、特定された部分又は変異体はまた、任意選択的に、ＲＮＡ、ＤＮＡ、若しくはタンパク質合成、ＴＮＦ放出、ＴＮＦ受容体シグナル伝達、膜ＴＮＦ切断、Ｔ

ＮＦ活性、ＴＮＦ生成、及び／又は合成などであるがこれらに限定されない、ＴＮＦ活性又は機能のうちの少なくとも１つに影響を及ぼすこともできる。「抗体」という用語は、更に、抗体、その消化断片、特定部分及び変異体を包含することを意図し、これには抗体模倣薬が挙げられ、あるいは抗体の構造及び／若しくは機能を模倣する抗体の部分若しくはその特定断片若しくは一部を含み、単鎖抗体及びその断片が挙げられる。機能断片としては、哺乳動物のＴＮＦに結合する抗原結合断片が挙げられる。例えば、Ｆａｂ（例えば、パパイン消化による）、Ｆａｂ’（例えば、ペプシン消化及び部分的還元による）及びＦ（ａｂ’）$_2$（例えば、ペプシン消化による）、ｆａｃｂ（例えば、プラスミン消化による）、ｐＦｃ’（例えば、ペプシン又はプラスミン消化による）、Ｆｄ（例えば、ペプシン消化、部分的還元及び再集合による）、Ｆｖ又はｓｃＦｖ（例えば、分子生物学的技術による）断片が挙げられるがこれらに限定されない、ＴＮＦ又はその部分に結合することができる抗体断片が、本発明に包含される（例えば、上記のＣｏｌｌｉｇａｎ，Ｉｍｍｕｎｏｌｏｇｙを参照のこと）。

【００６２】

かかる断片は、当該技術分野において既知であるように、及び／又は本明細書に記載されるように、酵素切断、合成又は組換え技術により産生することができる。抗体は、天然の終止部位の上流に１つ又は２つ以上の終止コドンが導入された抗体遺伝子を使用して、様々な切断型でも産生され得る。例えば、Ｆ（ａｂ’）$_2$重鎖部分をコードする遺伝子の組み合わせは、重鎖のＣＨ$_1$ドメイン及び／又はヒンジ領域をコードするＤＮＡ配列を含むよう設計することができる。抗体の様々な部分を従来の技術により化学的に結合でき、又は遺伝子工学技術を用いて隣接タンパク質（ｃｏｎｔｉｇｕｏｕｓ ｐｒｏｔｅｉｎ）として調製できる。

【００６３】

本明細書で使用するとき、用語「ヒト抗体」は、実質的にタンパク質の全ての部分（例えば、ＣＤＲ、フレームワーク、Ｃ$_L$、Ｃ$_H$ドメイン（例えば、Ｃ$_H$１、Ｃ$_H$２、及びＣＨ３）、ヒンジ（Ｖ$_L$、Ｖ$_H$））がヒトにおいて実質的に非免疫原性であり、有する配列の変化又は変異がごく軽微なものである抗体を指す。同様に、霊長類（サル、ヒヒ、チンパンジーなど）、げっ歯類（マウス、ラット、ウサギ、モルモット、ハムスタなど）、及びその他の哺乳動物を指定された抗体は、かかる種、亜属、属、亜科、科に特異的な抗体を指す。更に、キメラ抗体は、上記の任意の組み合わせを含む。かかる変化又は変異は、任意選択的に及び好ましくは、改変していない抗体に比べて、ヒト又は他の種における免疫原性を保持するか又は低減させる。したがって、ヒト抗体は、キメラ抗体又はヒト化抗体とは異なる。ヒト抗体は、機能的に再構成されたヒト免疫グロブリン（例えば、重鎖及び／又は軽鎖）遺伝子を発現することができる、ヒト以外の動物、又は原核若しくは真核細胞により産生され得ることが指摘される。更に、ヒト抗体が単鎖抗体である場合、天然のヒト抗体では見られないリンカペプチドを含み得る。例えば、Ｆｖは、重鎖の可変領域と軽鎖の可変領域とを接続する２～約８個のグリシン又は他のアミノ酸残基などのリンカペプチドを含み得る。かかるリンカペプチドはヒト由来のものと見なされる。

【００６４】

また、少なくとも２つの異なる抗原に対して結合特異性を有するモノクローナル、好ましくはヒト又はヒト化抗体である、二重特異的、例えば、ＤｕｏＢｏｄｙ（登録商標）（二重特異的抗体）、異種特異的、異種結合性、又は類似の抗体を使用してもよい。この場合では、結合特異性のうち一方は少なくとも１つのＴＮＦタンパク質に対するものであり、他方は任意のその他の抗原に対するものである。二重特異的抗体の製造方法は、当該技術分野において既知である。従来、二重特異的抗体の組換え体生成は、２種の免疫グロブリン重鎖－軽鎖対の共発現に基づくが、ここで２本の重鎖は異なる特異性を有する（Ｍｉｌｓｔｅｉｎ及びＣｕｅｌｌｏ、「Ｎａｔｕｒｅ」第３０５巻第５３７頁（１９８３年））。免疫グロブリン重鎖及び軽鎖の無作為な組み合わせのために、これらのハイブリドーマ（クアドローマ）は１０種の異なる抗体分子の可能な混合物を産生し、これらのうち１種のみが正しい二重特異的構造を有する。通常、親和性クロマトグラフィ工程によって行

われる正しい分子の精製は、生成物の収率が低くて手間がかかるため、二重特異性抗体の生成を促進するための異なる手法が開発されている。

【００６５】

完全長二重特異性抗体は、例えば、インビトロでの無細胞環境において又は共発現を使用して、異なる特異性を有する２つの抗体半分子のヘテロ二量体形成に好都合になるように各半分子における重鎖ＣＨ３界面に置換を導入することによって、２つの一特異性二価抗体間でのＦａｂアーム交換（又は半分子交換）を使用して生成され得る。Ｆａｂアーム交換反応は、ジスルフィド結合異性化反応及びＣＨ３ドメインの解離－会合の結果である。親単一特異性抗体のヒンジ領域における重鎖ジスルフィド結合は減少する。親単一特異性抗体のうち１つの得られた遊離システインは、第２の親単一特異性抗体分子のシステイン残基と重鎖内ジスルフィド結合を形成し、同時に、親抗体のＣＨ３ドメインは、解離－会合により解放及び再形成する。ＦａｂアームのＣＨ３ドメインは、ホモ二量体形成よりもヘテロ二量体形成に有利となるように操作されてもよい。得られた生成物は、それぞれ異なるエピトープに結合することができる、２つのＦａｂアーム又は半分子を有する二重特異性抗体である。

【００６６】

本明細書で使用されるとき、「ホモ二量体形成」は、同一のＣＨ３アミノ酸配列を有する２本の重鎖の相互作用を意味する。本明細書で使用されるとき、「ホモ二量体」は、同一のＣＨ３アミノ酸配列を有する２本の重鎖を有する抗体を意味する。

【００６７】

本明細書で使用されるとき、「ヘテロ二量体形成」は、同一でないＣＨ３アミノ酸配列を有する２本の重鎖の相互作用を意味する。本明細書で使用されるとき、「ヘテロ二量体」は、同一でないＣＨ３アミノ酸配列を有する２本の重鎖を有する抗体を意味する。

【００６８】

「ノブインホール（knob-in-hole）」戦略（例えば、国際公開第２００６／０２８９３６号を参照のこと）を使用して、完全長二重特異性抗体を生成することができる。簡潔に述べると、ヒトＩｇＧにおけるＣＨ３ドメインの界面を形成する選択されたアミノ酸は、ヘテロ二量体形成を促進するように、ＣＨ３ドメイン相互作用に影響を及ぼす位置において変異され得る。小さな側鎖を有するアミノ酸（ホール）が、第１の抗原に特異的に結合する抗体の重鎖内に導入され、大きな側鎖を有するアミノ酸（ノブ）が、第２の抗原に特異的に結合する抗体の重鎖内に導入される。２つの抗体の共発現後に、ヘテロ二量体が、「ホール」を有する重鎖と「ノブ」を有する重鎖との優先的な相互作用の結果として形成される。ノブ及びホールを形成する例示的なＣＨ３置換の対は、Ｔ３６６Ｙ／Ｆ４０５Ａ、Ｔ３６６Ｗ／Ｆ４０５Ｗ、Ｆ４０５Ｗ／Ｙ４０７Ａ、Ｔ３９４Ｗ／Ｙ４０７Ｔ、Ｔ３９４Ｓ／Ｙ４０７Ａ、Ｔ３６６Ｗ／Ｔ３９４Ｓ、Ｆ４０５Ｗ／Ｔ３９４Ｓ、及びＴ３６６Ｗ／Ｔ３６６Ｓ＿Ｌ３６８Ａ＿Ｙ４０７Ｖである（第１の重鎖の第１のＣＨ３ドメインにおける修飾された位置／第２の重鎖の第２のＣＨ３ドメインにおける修飾された位置として表す）。

【００６９】

他の戦略、例えば、１つのＣＨ３表面における正に荷電した残基及び第２のＣＨ３表面における負に荷電した残基を置換することによる静電的相互作用を使用する重鎖ヘテロ二量体形成の促進が、米国特許出願公開第２０１０／００１５１３３号、米国特許出願公開第２００９／０１８２１２７号、米国特許出願公開第２０１０／０２８６３７号、又は米国特許出願公開第２０１１／０１２３５３２号に記載されるように使用されてもよい。他の戦略では、ヘテロ二量体形成は、米国特許出願公開第２０１２／０１４９８７６号又は同第２０１３／０１９５８４９号に記載されるように、次の置換：Ｌ３５１Ｙ＿Ｆ４０５Ａ＿Ｙ４０７Ｖ／Ｔ３９４Ｗ、Ｔ３６６Ｉ＿Ｋ３９２Ｍ＿Ｔ３９４Ｗ／Ｆ４０５Ａ＿Ｙ４０７Ｖ、Ｔ３６６Ｌ＿Ｋ３９２Ｍ＿Ｔ３９４Ｗ／Ｆ４０５Ａ＿Ｙ４０７Ｖ、Ｌ３５１Ｙ＿Ｙ４０７Ａ／Ｔ３６６Ａ＿Ｋ４０９Ｆ、Ｌ３５１Ｙ＿Ｙ４０７Ａ／Ｔ３６６Ｖ＿Ｋ４０９Ｆ、Ｙ４０７Ａ／Ｔ３６６Ａ＿Ｋ４０９Ｆ、又はＴ３５０Ｖ＿Ｌ３５１Ｙ＿Ｆ４０５Ａ＿

Ｙ４０７Ｖ／Ｔ３５０Ｖ＿Ｔ３６６Ｌ＿Ｋ３９２Ｌ＿Ｔ３９４Ｗ（第１の重鎖の第１のＣＨ３ドメインにおける修飾された位置／第２の重鎖の第２のＣＨ３ドメインにおける修飾された位置として表す）により促進することができる。

【００７０】

上述された方法に加えて、二重特異性抗体は、国際公開第２０１１／１３１７４６号に記載される方法に従って、インビトロでの無細胞環境において、２つの単一特異的ホモ二量体抗体のＣＨ３領域中に非対称な変異を導入し、ジスルフィド結合を異性化させる還元条件下において、２つの親単一特異性ホモ二量体抗体から二重特異性ヘテロ二量体抗体を形成することにより生成され得る。本方法において、第１の単一特異性二価抗体及び第２の単一特異性二価抗体は、ヘテロ二量体の安定性を促進するＣＨ３ドメインにおいてある特定の置換を有するように改変されるが、これらの抗体は、ヒンジ領域におけるシステインがジスルフィド結合を異性化させるために十分な還元条件下において共にインキュベーションされ、それにより、Ｆａｂアーム交換により二重特異性抗体が生成される。インキュベート条件は、最適には、非還元条件に戻され得る。使用され得る例示的な還元剤は、２－メルカプトエチルアミン（２－ＭＥＡ）、ジチオスレイトール（ＤＴＴ）、ジチオエリスリトール（ＤＴＥ）、グルタチオン、トリス（２－カルボキシエチル）ホスフィン（ＴＣＥＰ）、Ｌ－システイン、及びベータ－メルカプトエタノールであり、好ましくは、２－メルカプトエチルアミン、ジチオスレイトール、及びトリス（２－カルボキシエチル）ホスフィンからなる群から選択される還元剤である。例えば、少なくとも２０℃の温度において、少なくとも２５ｍＭの２－ＭＥＡの存在下又は少なくとも０．５ｍＭのジチオスレイトールの存在下で、ｐＨ５～８、例えば、ｐＨ７．０又はｐＨ７．４において、少なくとも９０分のインキュベートが使用されてもよい。

【００７１】

本発明の方法及び組成物において有用である抗ＴＮＦ抗体（ＴＮＦ抗体とも称される）は、ＴＮＦへの高親和性結合、並びに任意選択的に及び好ましくは低毒性を有することを任意選択的に特徴とし得る。具体的には、可変領域、定常領域、及びフレームワークなどの個々の構成要素が、個々に及び／又は集合的に、任意選択的に及び好ましくは、低い免疫原性を有する、本発明の抗体、その特定された断片、又は変異体が本発明において有用である。本発明で使用することができる抗体は、症状の測定可能な緩和並びに低い及び／又は許容できる毒性を備えて、長期間患者を治療する能力をもとに、任意選択的に特徴とし得る。低い若しくは許容できる免疫原性、及び／又は高い親和性、並びに他の好適な特性が、得られる治療結果に寄与することができる。「低い免疫原性」は、本明細書では、治療される患者の約７５％未満、若しくは好ましくは約５０％未満で有意にＨＡＨＡ、ＨＡＣＡ若しくはＨＡＭＡ応答が増加する、及び／又は治療される患者において低い力価（二重抗原酵素イムノアッセイで測定したとき約３００未満、好ましくは約１００未満）が増加することとして定義される（Ｅｌｌｉｏｔｔら、「Ｌａｎｃｅｔ」第３４４巻第１１２５～１１２７頁（１９９４年）、参照により全体が本明細書に組み込まれる）。

【００７２】

有用性：本発明の単離核酸は、細胞、組織、器官又は動物（哺乳類及びヒトを含む）において測定し、又は作用して、免疫障害若しくは疾患、循環器障害若しくは疾患、感染性、悪性及び／若しくは神経性障害又は疾患のうちの少なくとも１つから選択されるがこれらに限定されない、少なくとも１つのＴＮＦ状態を診断、監視、調節、治療、緩和、発生を予防するのを助ける、又はその症状を低減するために使用され得る、少なくとも１つの抗ＴＮＦ抗体又はその特定された変異体を生成するために使用され得る。

【００７３】

かかる方法は、症状、作用、又は機序のかかる調節、治療、緩和、予防、若しくは低減を必要としている細胞、組織、器官、動物又は患者に、少なくとも１つの抗ＴＮＦ抗体を含む有効量の組成物又は医薬組成物を投与することを含み得る。有効量は、本明細書に記載される、又は関連分野で知られている、既知の方法を使用して行い決定して、単回（例えば、ボーラス）、複数回、若しくは持続投与当たり約０．００１～５００ｍｇ／ｋｇの

量、又は単回、複数回、若しくは持続投与当たり０．０１～５０００μｇ／ｍＬの血清濃度を達成する量、又はこの中の任意の有効範囲若しくは値を含み得る。引用文献。本明細書で引用する全ての刊行物又は特許は、参照によりその全体が本明細書に組み込まれ、本発明の時点での最高水準を示し、かつ／又は本発明の説明及び使用可能性を提供する。刊行物とは、電子形式若しくは印刷形式で記録されたものを全て含む任意のメディア形式で利用可能な、任意の科学刊行物若しくは特許公報又は任意の他の情報を指す。以下の文献は、参照により全体が本明細書に組み込まれる：Ａｕｓｕｂｅｌら編、「Ｃｕｒｒｅｎｔ Ｐｒｏｔｏｃｏｌｓ ｉｎ Ｍｏｌｅｃｕｌａｒ Ｂｉｏｌｏｇｙ」、Ｊｏｈｎ Ｗｉｌｅｙ＆Ｓｏｎｓ，Ｉｎｃ．，ＮＹ，ＮＹ（１９８７～２００１年）、Ｓａｍｂｒｏｏｋら、「Ｍｏｌｅｃｕｌａｒ Ｃｌｏｎｉｎｇ：Ａ Ｌａｂｏｒａｔｏｒｙ Ｍａｎｕａｌ」、第２版、Ｃｏｌｄ Ｓｐｒｉｎｇ Ｈａｒｂｏｒ，ＮＹ（１９８９年）、Ｈａｒｌｏｗ及びＬａｎｅ、「ａｎｔｉｂｏｄｉｅｓ」、ａ Ｌａｂｏｒａｔｏｒｙ Ｍａｎｕａｌ，Ｃｏｌｄ Ｓｐｒｉｎｇ Ｈａｒｂｏｒ，ＮＹ（１９８９年）、Ｃｏｌｌｉｇａｎら編、「Ｃｕｒｒｅｎｔ Ｐｒｏｔｏｃｏｌｓ ｉｎ Ｉｍｍｕｎｏｌｏｇｙ」、Ｊｏｈｎ Ｗｉｌｅｙ＆Ｓｏｎｓ，Ｉｎｃ．，ＮＹ（１９９４～２００１）、Ｃｏｌｌｉｇａｎら、「Ｃｕｒｒｅｎｔ Ｐｒｏｔｏｃｏｌｓ ｉｎ Ｐｒｏｔｅｉｎ Ｓｃｉｅｎｃｅ」、Ｊｏｈｎ Ｗｉｌｅｙ＆Ｓｏｎｓ，ＮＹ，ＮＹ，（１９９７～２００１年）。

【００７４】

本発明の抗体：配列番号１、２及び３の重鎖可変ＣＤＲ領域の全て、並びに／又は配列番号４、５及び６の軽鎖可変ＣＤＲ領域の全てを含む、本発明の少なくとも１つの抗ＴＮＦ抗体は、任意選択的に、当該技術分野において周知であるように、細胞株、混合細胞株、不死化細胞又は不死化細胞のクローン集団により産生され得る。例えば、Ａｕｓｕｂｅｌら編、「Ｃｕｒｒｅｎｔ Ｐｒｏｔｏｃｏｌｓ ｉｎ Ｍｏｌｅｃｕｌａｒ Ｂｉｏｌｏｇｙ」、Ｊｏｈｎ Ｗｉｌｅｙ＆Ｓｏｎｓ，Ｉｎｃ．，ＮＹ、ＮＹ（１９８７～２００１年）、Ｓａｍｂｒｏｏｋら、「Ｍｏｌｅｃｕｌａｒ Ｃｌｏｎｉｎｇ：Ａ Ｌａｂｏｒａｔｏｒｙ Ｍａｎｕａｌ」第２版、Ｃｏｌｄ Ｓｐｒｉｎｇ Ｈａｒｂｏｒ，ＮＹ（１９８９年）、Ｈａｒｌｏｗ及びＬａｎｅ、「ａｎｔｉｂｏｄｉｅｓ」、ａ Ｌａｂｏｒａｔｏｒｙ Ｍａｎｕａｌ，Ｃｏｌｄ Ｓｐｒｉｎｇ Ｈａｒｂｏｒ，ＮＹ（１９８９年）、Ｃｏｌｌｉｇａｎら編、「Ｃｕｒｒｅｎｔ Ｐｒｏｔｏｃｏｌｓ ｉｎ Ｉｍｍｕｎｏｌｏｇｙ」、Ｊｏｈｎ Ｗｉｌｅｙ＆Ｓｏｎｓ，Ｉｎｃ．，ＮＹ（１９９４～２００１）、Ｃｏｌｌｉｇａｎら、「Ｃｕｒｒｅｎｔ Ｐｒｏｔｏｃｏｌｓ ｉｎ Ｐｒｏｔｅｉｎ Ｓｃｉｅｎｃｅ」、Ｊｏｈｎ Ｗｉｌｅｙ＆Ｓｏｎｓ，ＮＹ，ＮＹ，（１９９７～２００１）を参照されたい。

【００７５】

ヒトＴＮＦタンパク質又はその断片に特異的なヒト抗体は、単離された及び／若しくはＴＮＦタンパク質、又はそれらの一部分（合成ペプチドなどの合成分子を含む）などの適切な免疫原性抗原に対して生じ得る。他の特異的な又は一般的な哺乳動物の抗体も同様に生じ得る。免疫原性を持つ抗原の調製及びモノクローナル抗体の生成は、任意の好適な技術を使用して行うことができる。

【００７６】

１つのアプローチでは、ハイブリドーマは、適切な不死化細胞株（例えば、Ｓｐ２／０、Ｓｐ２／０－ＡＧ１４、ＮＳＯ、ＮＳ１、ＮＳ２、ＡＥ－１、Ｌ．５、＞２４３、Ｐ３Ｘ６３Ａｇ８．６５３、Ｓｐ２ ＳＡ３、Ｓｐ２ ＭＡＩ、Ｓｐ２ ＳＳ１、Ｓｐ２ ＳＡ５、Ｕ９３７、ＭＬＡ １４４、ＡＣＴ ＩＶ、ＭＯＬＴ４、ＤＡ－１、ＪＵＲＫＡＴ、ＷＥＨＩ、Ｋ－５６２、ＣＯＳ、ＲＡＪＩ、ＮＩＨ ３Ｔ３、ＨＬ－６０、ＭＬＡ １４４、ＮＡＭＡＩＷＡ、ＮＥＵＲＯ ２Ａなどであるがこれらに限定されない骨髄腫細胞株、又はヘテロミローマ（ｈｅｔｅｒｏｍｙｌｏｍａｓ）、その融合産物、又はそれらに由来する任意の細胞若しくは融合細胞、又は当該技術分野において既知の任意の他の好適な細胞株を融合させることにより産生される。例えば、ｗｗｗ．ａｔｃｃ．ｏｒｇ、ｗｗｗ．ｌｉｆｅｔｅｃｈ．ｃｏｍ．などを参照のこと。単離若しくはクローニングされた脾臓、末梢

血、リンパ、扁桃、又はその他の免疫若しくはＢ細胞含有細胞などであるがこれらに限定されない抗体産生細胞、あるいは組換え若しくは内因性、ウイルス、細菌、藻類、原核生物、両生類、昆虫類、爬虫類、魚類、哺乳動物、げっ歯類、ウマ、ヒツジ、ヤギ、ヒツジ、霊長類、真核生物、ゲノムＤＮＡ、ｃＤＮＡ、ｒＤＮＡ、ミトコンドリアＤＮＡ若しくはＲＮＡ、葉緑体ＤＮＡ若しくはＲＮＡ、ｈｎＲＮＡ、ｍＲＮＡ、ｔＲＮＡ、一本鎖、二本鎖若しくは三本鎖、ハイブリダイズなど、又はそれらの組み合わせのような、内因性若しくは異種の核酸のいずれかとして、重鎖若しくは軽鎖定常若しくは可変若しくはフレームワーク若しくはＣＤＲ配列を発現する任意のその他の細胞を有する。例えば、上記のＡｕｓｕｂｅｌ、及び上記のＣｏｌｌｉｇａｎ，Ｉｍｍｕｎｏｌｏｇｙの第２章を参照されたい。なお両文献は、参照により全体が本明細書に組み込まれる。

【００７７】

抗体産生細胞は、目的の抗原で免疫されたヒト又は他の好適な動物の末梢血、又は好ましくは脾臓若しくはリンパ節から得ることもできる。任意の他の好適な宿主細胞を使用して、本発明の抗体、特定された断片又はその変異体をコードする異種核酸若しくは内在核酸を発現させることもできる。融合細胞（ハイブリドーマ）又は組換え細胞は、選択的培養条件又は他の好適な既知の方法を使用して単離し、限界希釈若しくは細胞選別又は他の既知の方法によってクローニングすることができる。所望の特異性を有する抗体を産生する細胞は、好適なアッセイ（例えば、ＥＬＩＳＡ）によって選択することができる。

【００７８】

ペプチド又はタンパク質ライブラリから組換え抗体を選択する方法が挙げられるがこれらに限定されない、必要とされる特異性を有する抗体を産生又は単離するのに好適なその他の方法を使用することができる（例えば、バクテリオファージ、リボソーム、オリゴヌクレオチド、ＲＮＡ、ｃＤＮＡなどのディスプレイライブラリであるがこれらに限定されず、例えば、Ｃａｍｂｒｉｄｇｅ ａｎｔｉｂｏｄｙ Ｔｅｃｈｎｏｌｏｇｉｅｓ，Ｃａｍｂｒｉｄｇｅｓｈｉｒｅ，ＵＫ、ＭｏｒｐｈｏＳｙｓ，Ｍａｒｔｉｎｓｒｅｉｄ／Ｐｌａｎｅｇｇ，ＤＥ、Ｂｉｏｖａｔｉｏｎ，Ａｂｅｒｄｅｅｎ，Ｓｃｏｔｌａｎｄ，ＵＫ、ＢｉｏＩｎｖｅｎｔ，Ｌｕｎｄ，Ｓｗｅｄｅｎ、Ｄｙａｘ Ｃｏｒｐ．，Ｅｎｚｏｎ，Ａｆｆｙｍａｘ／Ｂｉｏｓｉｔｅ、Ｘｏｍａ，Ｂｅｒｋｅｌｅｙ，ＣＡ、Ｉｘｓｙｓ．から入手可能である）。例えば、欧州特許第３６８，６８４号、国際出願第ＧＢ９１／０１１３４号、国際出願第ＧＢ９２／０１７５５号、国際出願第ＧＢ９２／００２２４０号、国際出願第ＧＢ９２／００８８３号、国際出願第ＧＢ９３／００６０５号、米国特許出願第０８／３５０２６０号（５／１２／９４）、国際出願第ＧＢ９４／０１４２２号、国際出願第ＧＢ９４／０２６６２号、国際出願第ＧＢ９７／０１８３５号、（ＣＡＴ／ＭＲＣ）、国際公開第９０／１４４４３号、国際公開第９０／１４４２４号、国際公開第９０／１４４３０号、国際出願第ＵＳ９４／１２３４号、国際公開第９２／１８６１９号、国際公開第９６／０７７５４号（Ｓｃｒｉｐｐｓ）、欧州特許第６１４　９８９号（ＭｏｒｐｈｏＳｙｓ）、国際公開第９５／１６０２７号（ＢｉｏＩｎｖｅｎｔ）、国際公開第８８／０６６３０号、国際公開第９０／３８０９号（Ｄｙａｘ）、米国特許第４，７０４，６９２号（Ｅｎｚｏｎ）、国際出願第ＵＳ９１／０２９８９号（Ａｆｆｙｍａｘ）、国際公開第８９／０６２８３号、欧州特許第３７１９９８号、欧州特許第５５０４００号、（Ｘｏｍａ）、欧州特許第２２９０４６号、国際出願第ＵＳ９１／０７１４９号（Ｉｘｓｙｓ）、又は確率論的に生成されるペプチド若しくはタンパク質－米国特許第５７２３３２３号、同第５７６３１９２号、同第５８１４４７６号、同第５８１７４８３号、同第５８２４５１４号、同第５９７６８６２号、国際公開第８６／０５８０３号、欧州特許第５９０６８９号（Ｉｘｓｙｓ、現在はＡｐｐｌｉｅｄ Ｍｏｌｅｃｕｌａｒ Ｅｖｏｌｕｔｉｏｎ（ＡＭＥ）、各々は、参照により全体が本明細書に組み込まれる）を参照されたく、又は当該技術分野において既知であり、かつ／又は本明細書に記載される、ヒト抗体のレパートリを生成することができるトランスジェニック動物の免疫に依存する（例えば、ＳＣＩＤマウス、Ｎｇｕｙｅｎら、「Ｍｉｃｒｏｂｉｏｌ．Ｉｍｍｕｎｏｌ．第４１巻第９０１～９０７頁（１９９７年）、Ｓａｎｄｈｕ ｅｔ ａｌ．，Ｃｒｉｔ．Ｒｅｖ．Ｂｉｏｔ

ｅｃｈｎｏｌ．１６：９５－１１８　（１９９６）；Ｅｒｅｎｅｔ　ａｌ．，Ｉｍｍｕｎｏｌ．９３：１５４－１６１　（１９９８）、各々は、参照により全体が組み込まれる）。かかる技術には、リボソームディスプレイ（Ｈａｎｅｓ　ｅｔ　ａｌ．，Ｐｒｏｃ．Ｎａｔｌ．Ａｃａｄ．Ｓｃｉ．ＵＳＡ」第９４巻第４９３７～４９４２頁（１９９７年５月）、Ｈａｎｅｓ　ｅｔ　ａｌ．，Ｐｒｏｃ．Ｎａｔｌ．Ａｃａｄ．Ｓｃｉ．ＵＳＡ，９５：１４１３０－１４１３５　（Ｎｏｖ．１９９８））；単一細胞抗体産生技術（例えば、選択リンパ球抗体方法（「ＳＬＡＭ」）（米国特許第５，６２７，０５２号、Ｗｅｎら、「Ｊ．Ｉｍｍｕｎｏｌ．」第１７巻第８８７～８９２頁（１９８７年）；Ｂａｂｃｏｏｋ　ｅｔ　ａｌ．，Ｐｒｏｃ．Ｎａｔｌ．Ａｃａｄ．Ｓｃｉ．ＵＳＡ　９３：７８４３－７８４８　（１９９６））；ゲルマイクロドロップレット及びフローサイトメトリ（Ｐｏｗｅｌｌら、「Ｂｉｏｔｅｃｈｎｏｌ．」第８巻第３３３～３３７頁（１９９０年）、ＯｎｅＣｅｌｌ　Ｓｙｓｔｅｍｓ（Ｃａｍｂｒｉｄｇｅ、ＭＡ）；Ｇｒａｙ　ｅｔ　ａｌ．，Ｊ．Ｉｍｍ．Ｍｅｔｈ．第１８２巻第１５５～１６３頁（１９９５年）；Ｋｅｎｎｙら　ｅｔ　ａｌ．，Ｂｉｏ／Ｔｅｃｈｎｏｌ．第１３巻第７８７～７９０頁（１９９５年）、Ｂ細胞選択物（Ｓｔｅｅｎｂａｋｋｅｒｓ　ｅｔ　ａｌ．，Ｍｏｌｅｃ．Ｂｉｏｌ．Ｒｅｐｏｒｔｓ　１９：１２５－１３４　（１９９４）；Ｊｏｎａｋ　ｅｔ　ａｌ．，Ｐｒｏｇｒｅｓｓ　Ｂｉｏｔｅｃｈ，Ｖｏｌ．５，Ｉｎ　Ｖｉｔｒｏ　Ｉｍｍｕｎｉｚａｔｉｏｎ　ｉｎ　Ｈｙｂｒｉｄｏｍａ　Ｔｅｃｈｎｏｌｏｇｙ，Ｂｏｒｒｅｂａｅｃｋ，ｅｄ．，Ｅｌｓｅｖｉｅｒ　Ｓｃｉｅｎｃｅ　Ｐｕｂｌｉｓｈｅｒｓ　Ｂ．Ｖ．，Ａｍｓｔｅｒｄａｍ、Ｎｅｔｈｅｒｌａｎｄｓ（１９８８年））が挙げられるが、これらに限定されない。

【００７９】

ヒト以外の抗体又はヒト抗体を工学的処理又はヒト化する方法も同様に使用でき、当該技術分野において周知である。一般に、ヒト化又は工学処理された抗体は、例えば、マウス、ラット、ウサギ、非ヒト霊長類、又はその他の哺乳動物などであるがこれらに限定されない、非ヒトの供給源からの１つ又は２つ以上のアミノ酸残基を有する。これらのヒトアミノ酸残基は、しばしば「インポート」残基と呼ばれ、典型的には既知のヒト配列の「インポート」可変領域、定常領域又はその他のドメインから採取される。

【００８０】

既知のヒトＩｇ配列は、数多くの刊行物及びウェブサイトに開示されており、例えば、
ｗｗｗ．ｎｃｂｉ．ｎｌｍ．ｎｉｈ．ｇｏｖ／ｅｎｔｒｅｚ／ｑｕｅｒｙ．ｆｃｇｉ；
ｗｗｗ．ａｔｃｃ．ｏｒｇ／ｐｈａｇｅ／ｈｄｂ．ｈｔｍｌ；
ｗｗｗ．ｓｃｉｑｕｅｓｔ．ｃｏｍ／；
ｗｗｗ．ａｂｃａｍ．ｃｏｍ／；
ｗｗｗ．ａｎｔｉｂｏｄｙｒｅｓｏｕｒｃｅ．ｃｏｍ／ｏｎｌｉｎｅｃｏｍｐ．ｈｔｍｌ；
ｗｗｗ．ｐｕｂｌｉｃ．ｉａｓｔａｔｅ．ｅｄｕ／～ｐｅｄｒｏ／ｒｅｓｅａｒｃｈ_ｔｏｏｌｓ．ｈｔｍｌ；
ｗｗｗ．ｍｇｅｎ．ｕｎｉ－ｈｅｉｄｅｌｂｅｒｇ．ｄｅ／ＳＤ／ＩＴ／ＩＴ．ｈｔｍｌ；
ｗｗｗ．ｗｈｆｒｅｅｍａｎ．ｃｏｍ／ｉｍｍｕｎｏｌｏｇｙ／ＣＨ０５／ｋｕｂｙ０５．ｈｔｍ；
ｗｗｗ．ｌｉｂｒａｒｙ．ｔｈｉｎｋｑｕｅｓｔ．ｏｒｇ／１２４２９／Ｉｍｍｕｎｅ／Ａｎｔｉｂｏｄｙ．ｈｔｍｌ；
ｗｗｗ．ｈｈｍｉ．ｏｒｇ／ｇｒａｎｔｓ／ｌｅｃｔｕｒｅｓ／１９９６／ｖｌａｂ；
ｗｗｗ．ｐａｔｈ．ｃａｍ．ａｃ．ｕｋ／～ｍｒｃ７／ｍｉｋｅｉｍａｇｅｓ．ｈｔｍｌ；
ｗｗｗ．ａｎｔｉｂｏｄｙｒｅｓｏｕｒｃｅ．ｃｏｍ／；
ｗｗｗ．ｍｃｂ．ｈａｒｖａｒｄ．ｅｄｕ／ＢｉｏＬｉｎｋｓ／Ｉｍｍｕｎｏｌｏｇｙ．ｈｔｍｌ．
ｗｗｗ．ｉｍｍｕｎｏｌｏｇｙｌｉｎｋ．ｃｏｍ／；

ｗｗｗ．ｐａｔｈｂｏｘ．ｗｕｓｔｌ．ｅｄｕ／～ｈｃｅｎｔｅｒ／ｉｎｄｅｘ．ｈｔｍｌ；
ｗｗｗ．ｂｉｏｔｅｃｈ．ｕｆｌ．ｅｄｕ／～ｈｃｌ／；
ｗｗｗ．ｐｅｂｉｏ．ｃｏｍ／ｐａ／３４０９１３／３４０９１３．ｈｔｍｌ；
ｗｗｗ．ｎａｌ．ｕｓｄａ．ｇｏｖ／ａｗｉｃ／ｐｕｂｓ／ａｎｔｉｂｏｄｙ／；
ｗｗｗ．ｍ．ｅｈｉｍｅ－ｕ．ａｃ．ｊｐ／～ｙａｓｕｈｉｔｏ／Ｅｌｉｓａ．ｈｔｍｌ；
ｗｗｗ．ｂｉｏｄｅｓｉｇｎ．ｃｏｍ／ｔａｂｌｅ．ａｓｐ；
ｗｗｗ．ｉｃｎｅｔ．ｕｋ／ａｘｐ／ｆａｃｓ／ｄａｖｉｅｓ／ｌｉｎｋｓ．ｈｔｍｌ；
ｗｗｗ．ｂｉｏｔｅｃｈ．ｕｆｌ．ｅｄｕ／～ｆｃｃｌ／ｐｒｏｔｏｃｏｌ．ｈｔｍｌ；
ｗｗｗ．ｉｓａｃ－ｎｅｔ．ｏｒｇ／ｓｉｔｅｓ＿ｇｅｏ．ｈｔｍｌ；
ｗｗｗ．ａｘｉｍｔ１．ｉｍｔ．ｕｎｉ－ｍａｒｂｕｒｇ．ｄｅ／～ｒｅｋ／ＡＥＰＳｔａｒｔ．ｈｔｍｌ；
ｗｗｗ．ｂａｓｅｒｖ．ｕｃｉ．ｋｕｎ．ｎｌ／～ｊｒａａｔｓ／ｌｉｎｋｓ１．ｈｔｍｌ；
ｗｗｗ．ｒｅｃａｂ．ｕｎｉ－ｈｄ．ｄｅ／ｉｍｍｕｎｏ．ｂｍｅ．ｎｗｕ．ｅｄｕ／；
ｗｗｗ．ｍｒｃ－ｃｐｅ．ｃａｍ．ａｃ．ｕｋ／ｉｍｔ－ｄｏｃ／ｐｕｂｌｉｃ／ＩＮＴＲＯ．ｈｔｍｌ；
ｗｗｗ．ｉｂｔ．ｕｎａｍ．ｍｘ／ｖｉｒ／Ｖ＿ｍｉｃｅ．ｈｔｍｌ；ｉｍｇｔ．ｃｎｕｓｃ．ｆｒ：８１０４／；
ｗｗｗ．ｂｉｏｃｈｅｍ．ｕｃｌ．ａｃ．ｕｋ／～ｍａｒｔｉｎ／ａｂｓ／ｉｎｄｅｘ．ｈｔｍｌ；ａｎｔｉｂｏｄｙ．ｂａｔｈ．ａｃ．ｕｋ／；
ｗｗｗ．ａｂｇｅｎ．ｃｖｍ．ｔａｍｕ．ｅｄｕ／ｌａｂ／
ｗｗｗ．ａｂｇｅｎ．ｈｔｍｌ；
ｗｗｗ．ｕｎｉｚｈ．ｃｈ／～ｈｏｎｅｇｇｅｒ／ＡＨＯｓｅｍｉｎａｒ／Ｓｌｉｄｅ０１．ｈｔｍｌ；
ｗｗｗ．ｃｒｙｓｔ．ｂｂｋ．ａｃ．ｕｋ／～ｕｂｃｇ０７ｓ／；
ｗｗｗ．ｎｉｍｒ．ｍｒｃ．ａｃ．ｕｋ／ＣＣ／ｃｃａｅｗｇ／ｃｃａｅｗｇ．ｈｔｍ；
ｗｗｗ．ｐａｔｈ．ｃａｍ．ａｃ．ｕｋ／～ｍｒｃ７／ｈｕｍａｎｉｓａｔｉｏｎ／ＴＡＨＨＰ．ｈｔｍｌ；
ｗｗｗ．ｉｂｔ．ｕｎａｍ．ｍｘ／ｖｉｒ／ｓｔｒｕｃｔｕｒｅ／ｓｔａｔ＿ａｉｍ．ｈｔｍｌ；
ｗｗｗ．ｂｉｏｓｃｉ．ｍｉｓｓｏｕｒｉ．ｅｄｕ／ｓｍｉｔｈｇｐ／ｉｎｄｅｘ．ｈｔｍｌ；
ｗｗｗ．ｃｒｙｓｔ．ｂｉｏｃ．ｃａｍ．ａｃ．ｕｋ／～ｆｍｏｌｉｎａ／Ｗｅｂ－ｐａｇｅｓ／Ｐｅｐｔ／ｓｐｏｔｔｅｃｈ．ｈｔｍｌ；
ｗｗｗ．ｊｅｒｉｎｉ．ｄｅ／ｆｒｐｒｏｄｕｃｔｓ．ｈｔｍｌ；
ｗｗｗ．ｐａｔｅｎｔｓ．ｉｂｍ．ｃｏｍ／ｉｂｍ．ｈｔｍｌ．、Ｋａｂａｔら、「Ｓｅｑｕｅｎｃｅｓ ｏｆ Ｐｒｏｔｅｉｎｓ ｏｆ Ｉｍｍｕｎｏｌｏｇｉｃａｌ Ｉｎｔｅｒｅｓｔ」、Ｕ．Ｓ．Ｄｅｐｔ．Ｈｅａｌｔｈ（１９８３年）があり、各々は、参照により全体が本明細書に組み込まれる。

【００８１】

かかるインポートされた配列は、免疫原性を低減させるため、あるいは、当該技術分野において既知のように、結合、親和性、結合速度定数、解離速度定数、結合活性、特異性、半減期、又は任意の他の好適な特性を低減、増強又は改変するために使用することができる。一般に、非ヒト若しくはヒトＣＤＲ配列の一部又は全ては、可変及び定常領域の非

ヒト配列がヒト若しくは他のアミノ酸に置き換えられる間も維持される。抗体はまた、任意選択的に、抗原に対する高い親和性及び他の好ましい生物学的特性を保持したままで、ヒト化され得る。この目的を達成するために、任意選択的に、ヒト化抗体を、親配列及びヒト化配列の三次元モデルを使用した、親配列及び様々な概念的ヒト化産物の分析プロセスによって調製することが可能である。三次元の免疫グロブリンモデルが一般的に利用可能であり、当業者によく知られている。選択された免疫グロブリン配列候補について確率の高い三次元立体構造を図示及び表示するコンピュータプログラムを利用可能である。これらの表示を調べることにより、免疫グロブリン配列候補の機能において残基が示す可能性の高い働きの解析、すなわち免疫グロブリン候補の抗原結合能に影響する残基の解析が可能となる。このようにして、標的抗原に対する親和性の増大など、望ましい抗体特性が達成されるように、コンセンサス配列及びインポート配列から、ＦＲ残基を選択し組み合わせることができる。一般的に、ＣＤＲ残基は、抗原結合に直接的にかつほとんど実質的に影響する。本発明の抗体のヒト化又は工学的処理は、Ｗｉｎｔｅｒ（Ｊｏｎｅ ｅｔ ａｌ．，Ｎａｔｕｒｅ ３２１：５２２ （１９８６）；Ｒｉｅｃｈｍａｎｎ ｅｔ ａｌ．，Ｎａｔｕｒｅ ３３２：３２３ （１９８８）；Ｖｅｒｈｏｅｙｅｎ ｅｔ ａｌ．，Ｓｃｉｅｎｃｅ ２３９：１５３４ （１９８８）），Ｓｉｍｓ ｅｔ ａｌ．，Ｊ．Ｉｍｍｕｎｏｌ．１５１：２２９６ （１９９３）；Ｃｈｏｔｈｉａ ａｎｄ Ｌｅｓｋ，Ｊ．Ｍｏｌ．Ｂｉｏｌ．１９６：９０１ （１９８７），Ｃａｒｔｅｒ ｅｔ ａｌ．，Ｐｒｏｃ．Ｎａｔｌ．Ａｃａｄ．ＳＣｉ．Ｕ．Ｓ．Ａ．８９：４２８５ （１９９２）；Ｐｒｅｓｔａ ｅｔ ａｌ．，Ｊ．Ｉｍｍｕｎｏｌ．第１５１巻第２６２３頁（１９９３年）、米国特許第５７２３３２３号、同第５９７６８６２号、同第５８２４５１４号、同第５８１７４８３号、同第５８１４４７６号、同第５７６３１９２号、同第５７２３３２３号、同第５，７６６８８６号、同第５７１４３５２号、同第６２０４０２３号、同第６１８０３７０号、同第５６９３７６２号、同第５５３０１０１号、同第５５８５０８９号、同第５２２５５３９号、同第４８１６５６７号、国際出願第：ＵＳ９８／１６２８０号、ＵＳ９６／１８９７８号、ＵＳ９１／０９６３０号、ＵＳ９１／０５９３９号、ＵＳ９４／０１２３４号、ＧＢ８９／０１３３４号、ＧＢ９１／０１１３４号、ＧＢ９２／０１７５５号、国際公開第９０／１４４４３号、同第９０／１４４２４号、同第９０／１４４３０号、欧州特許第２２９２４６号（各々、参照により全体が明細書に組み込まれ、その中に引用される文献を含む）に記載されるものなどであるがこれらに限定されない、任意の既知の方法を使用して行うことができる。

【００８２】

抗ＴＮＦ抗体は、任意選択的に、本明細書に記載されかつ／又は当該技術分野において既知である、ヒト抗体のレパートリを生成することができるトランスジェニック動物（例えば、マウス、ラット、ハムスタ、非ヒト霊長類など）の免疫により生成することもできる。ヒト抗ＴＮＦ抗体を産生する細胞をかかる動物から単離し、本明細書に記載される方法などの好適な方法を使用して不死化してもよい。

【００８３】

ヒト抗原に結合するヒト抗体のレパートリを産生することができるトランスジェニックマウスは、既知の方法によって作成することができる（例えば、これらに限定されないが、Ｌｏｎｂｅｒｇらに発行された米国特許第５，７７０，４２８号、同第５，５６９，８２５号、同第５，５４５，８０６号、同第５，６２５，１２６号、同第５，６２５，８２５号、同第５，６３３，４２５号、同第５，６６１，０１６号、及び同第５，７８９，６５０号、Ｊａｋｏｂｏｖｉｔｓらの国際公開第９８／５０４３３号、Ｊａｋｏｂｏｖｉｔｓらの国際公開第９８／２４８９３号、Ｌｏｎｂｅｒｇらの国際公開第９８／２４８８４号、Ｌｏｎｂｅｒｇらの国際公開第９７／１３８５２号、Ｌｏｎｂｅｒｇらの国際公開第９４／２５５８５号、Ｋｕｃｈｅｒｌａｐａｔｅらの国際公開第９６／３４０９６号、Ｋｕｃｈｅｒｌａｐａｔｅらの欧州特許第０４６３１５１（Ｂ１）号、Ｋｕｃｈｅｒｌａｐａｔｅらの欧州特許第０７１０７１９（Ａ１）号、Ｓｕｒａｎｉらの米国特許第５，５４５，８０７号、Ｂｒｕｇｇｅｍａｎｎらの国際公開第９０／０４０３６号、Ｂｒｕｇｇｅ

ｍａｎｎらの欧州特許第０４３８４７４（Ｂ１）号、Ｌｏｎｂｅｒｇらの欧州特許第０８１４２５９（Ａ２）号、Ｌｏｎｂｅｒｇらのイギリス特許第２２７２４４０（Ａ）号、Ｌｏｎｂｅｒｇら、「Ｎａｔｕｒｅ」第３６８巻第８５６～８５９頁（１９９４年）、Ｔａｙｌｏｒら、「Ｉｎｔ．Ｉｍｍｕｎｏｌ．」第６巻第４号第５７９～５９１頁（１９９４年）、Ｇｒｅｅｎら、「Ｎａｔｕｒｅ　Ｇｅｎｅｔｉｃｓ」第７巻第１３～２１頁（１９９４年）、Ｍｅｎｄｅｚら、「Ｎａｔｕｒｅ　Ｇｅｎｅｔｉｃｓ」第１５巻第１４６～１５６頁（１９９７年）、Ｔａｙｌｏｒら、「Ｎｕｃｌｅｉｃ　Ａｃｉｄｓ　Ｒｅｓｅａｒｃｈ」第２０巻第２３号第６２８７～６２９５頁（１９９２年）、Ｔｕａｉｌｌｏｎら、「Ｐｒｏｃ　Ｎａｔｌ　Ａｃａｄ　Ｓｃｉ　ＵＳＡ」第９０巻第８号第３７２０～３７２４頁（１９９３年）、Ｌｏｎｂｅｒｇら、「Ｉｎｔ　Ｒｅｖ　Ｉｍｍｕｎｏｌ」第１３巻第１号第６５～９３頁（１９９５年）、及びＦｉｓｈｗａｌｄら、「Ｎａｔ　Ｂｉｏｔｅｃｈｎｏｌ」第１４巻第７号８４５－８５１　（１９９６）、これらは、参照により各全体が本明細書に組み込まれる）によって生成することができる。一般に、これらのマウスは、機能的に再構成された、又は機能的な再構成を受けることができる少なくとも１つのヒト免疫グロブリン遺伝子座に由来するＤＮＡを含む、少なくとも１つの導入遺伝子を含む。かかるマウスの内因性免疫グロブリン遺伝子座を破壊又は欠失させて、マウスの、内因性遺伝子によりコードされている抗体の産生能を除去することができる。

【００８４】

類似のタンパク質又は断片への特異的結合についての抗体のスクリーニングは、ペプチドディスプレイライブラリを使用して首尾よく達成することができる。この方法は、望ましい機能又は構造を持つ個々のメンバーについてペプチドの多数の試料採集をスクリーニングすることを伴う。ペプチドディスプレイライブラリの抗体スクリーニングは、当該技術分野において周知である。ディスプレイされたペプチド配列の長さは、３～５０００個以上のアミノ酸であり、頻繁には５～１００個のアミノ酸長、多くは約８～２５個のアミノ酸長であり得る。ペプチドライブラリを作成する直接化学合成法に加えて、いくつかの組換えＤＮＡ方法も記述されている。１つのタイプは、バクテリオファージ又は細胞の表面上でのペプチド配列のディスプレイを含む。各バクテリオファージ又は細胞は、特定のディスプレイされたペプチド配列をコードするヌクレオチド配列を含有する。かかる方法は、国際出願公開第９１／１７２７１号、同第９１／１８９８０号、同第９１／１９８１８号、及び同第９３／０８２７８号に記載されている。ペプチドライブラリを作成するための他のシステムは、インビトロでの化学合成法及び組換え法の両方の態様を有する。国際出願公開第９２／０５２５８号、同第９２／１４８４３号、及び同第９６／１９２５６号を参照されたい。米国特許第５，６５８，７５４号及び同第５，６４３，７６８号も参照されたい。ペプチドディスプレイライブラリ、ベクタ、及びスクリーニングキットは、Ｉｎｖｉｔｒｏｇｅｎ（Ｃａｒｌｓｂａｄ，ＣＡ）及びＣａｍｂｒｉｄｇｅ　ａｎｔｉｂｏｄｙ　Ｔｅｃｈｎｏｌｏｇｉｅｓ（Ｃａｍｂｒｉｄｇｅｓｈｉｒｅ，ＵＫ）のような供給元から市販されている。例えば、Ｅｎｚｏｎに譲渡された米国特許第４７０４６９２号、同第４９３９６６６号、同第４９４６７７８号、同第５２６０２０３号、同第５４５５０３０号、同第５５１８８８９号、同第５５３４６２１号、同第５６５６７３０号、同第５７６３７３３号、同第５７６７２６０号、同第５８５６４５６号、Ｄｙａｘに譲渡された米国特許第５２２３４０９号、同第５４０３４８４号、同第５５７１６９８号、同第５８３７５００号、Ａｆｆｙｍａｘに譲渡された米国特許第５４２７９０８号、同第５５８０７１７号、Ｃａｍｂｒｉｄｇｅ　ａｎｔｉｂｏｄｙ　Ｔｅｃｈｎｏｌｏｇｉｅｓに譲渡された米国特許第５８８５７９３号、Ｇｅｎｅｎｔｅｃｈに譲渡された米国特許第５７５０３７３号、Ｘｏｍａに譲渡された米国特許第５６１８９２０号、同第５５９５８９８号、同第５５７６１９５号、同第５６９８４３５号、同第５６９３４９３号、同第５６９８４１７号、上記のＣｏｌｌｉｇａｎ、上記のＡｕｓｕｂｅｌ、又は上記のＳａｍｂｒｏｏｋを参照されたい。なお、上記特許及び刊行物の各々は、参照により全体が本明細書に組み込まれる。

【００８５】

本発明の抗体は又、かかる抗体を乳中に産生するヤギ、ウシ、ウマ、ヒツジなどのトランスジェニック動物又は哺乳動物を提供するために、核酸をコードする少なくとも１つの抗ＴＮＦ抗体を使用して調製することもできる。かかる動物は、既知の方法を使用して準備することができる。例えば、これらに限定されないが、米国特許第５，８２７，６９０号、同第５，８４９，９９２号；同第４，８７３，３１６号；同第５，８４９，９９２号；同第５，９９４，６１６号；同第５，５６５，３６２号；同第５，３０４，４８９号などを参照されたい（それらの各々は、参照により全体が本明細書に組み込まれる）。

【００８６】

本発明の抗体は、植物部分又はそれから培養された細胞において、かかる抗体、特定された部分又は変異体を産生するトランスジェニック植物及び培養された植物細胞（例えば、タバコ及びトウモロコシであるが、これらに限定されない）を提供するために、少なくとも１つの抗ＴＮＦ抗体コード核酸を使用して更に調製することができる。非限定的な例として、例えば、誘導プロモータを用い、組換えタンパク質を発現するトランスジェニックタバコ葉をうまく使用して大量の組換えタンパク質が提供されてきた。例えば、Ｃｒａｍｅｒ　ｅｔ　ａｌ．，Ｃｕｒｒ．Ｔｏｐ．Ｍｉｃｒｏｂｏｌ．Ｉｍｍｕｎｏｌ．２４０：９５－１１８　（１９９９）及びその中で引用される文献を参照されたい。また、トランスジェニックトウモロコシは、他の組換え系において生成されるタンパク質又は天然資源から精製されるタンパク質に等しい生物学的活性を有する哺乳動物タンパク質を、商業生成レベルで発現するために使用されてきた。例えば、Ｈｏｏｄ　ｅｔ　ａｌ．，Ａｄｖ．Ｅｘｐ．Ｍｅｄ．Ｂｉｏｌ．」第４６４巻第１２７～１４７頁（１９９９年）及びその中で引用される文献を参照のこと。抗体は、タバコ種子及びポテト塊茎を含む、一本鎖抗体（ｓｃＦｖ）などの抗体断片を含むトランスジェニック植物種子からも大量に産生されてきた。例えば、Ｃｏｎｒａｄら、「Ｐｌａｎｔ　Ｍｏｌ．Ｂｉｏｌ．」第３８巻第１０１～１０９頁（１９９８年）及びその中で引用される文献を参照のこと。したがって、本発明の抗体は、既知の方法により、トランスジェニック植物を使用して産生することもできる。例えば、Ｆｉｓｃｈｅｒ　ｅｔ　ａｌ．，Ｂｉｏｔｅｃｈｎｏｌ．Ａｐｐｌ．Ｂｉｏｃｈｅｍ．３０：９９－１０８　（Ｏｃｔ．，１９９９），Ｍａ　ｅｔ　ａｌ．，Ｔｒｅｎｄｓ　Ｂｉｏｔｅｃｈｎｏｌ．１３：５２２－７　（１９９５）；Ｍａ　ｅｔ　ａｌ．，Ｐｌａｎｔ　Ｐｈｙｓｉｏｌ．１０９：３４１－６　（１９９５）；Ｗｈｉｔｅｌａｍ　ｅｔ　ａｌ．，Ｂｉｏｃｈｅｍ．Ｓｏｃ．Ｔｒａｎｓ．２２：９４０－９４４　（１９９４）及びこれらの中で引用される文献も参照されたい。上記文献の各々は、参照によりその全体が本明細書に組み込まれる。

【００８７】

本発明の抗体は、広範囲にわたる親和性（K_D）でヒトＴＮＦに結合することができる。好ましい実施形態では、本発明の少なくとも１つのヒトｍＡｂは、任意選択的にヒトＴＮＦに高い親和性で結合することができる。例えば、ヒトｍＡｂは、ヒトＴＮＦを約10^{-7}Ｍ以下、例えば０．１～９．９（又はその中の任意の範囲若しくは値）Ｘ10^{-7}、10^{-8}、10^{-9}、10^{-10}、10^{-11}、10^{-12}、10^{-13}又はその中の任意の範囲若しくは値など（ただしこれらに限定されない）のK_Dで結合することができる。

【００８８】

抗原に対する抗体の親和性又は結合活性は、任意の好適な方法を用いて実験により求めることができる。（例えば、Ｂｅｒｚｏｆｓｋｙら、「Ａｎｔｉｂｏｄｙ－Ａｎｔｉｇｅｎ　Ｉｎｔｅｒａｃｔｉｏｎｓ」、Ｉｎ　Ｆｕｎｄａｍｅｎｔａｌ　Ｉｍｍｕｎｏｌｏｇｙ、Ｐａｕｌ，Ｗ．Ｅ．編、Ｒａｖｅｎ　Ｐｒｅｓｓ：Ｎｅｗ　Ｙｏｒｋ，ＮＹ（１９８４年）、Ｋｕｂｙ，Ｊａｎｉｓ、「Ｉｍｍｕｎｏｌｏｇｙ」、Ｗ．Ｈ．Ｆｒｅｅｍａｎ　ａｎｄ　Ｃｏｍｐａｎｙ：Ｎｅｗ　Ｙｏｒｋ，ＮＹ（１９９２年）、及び本明細書に記載される方法を参照されたい）。特定の抗体抗原相互作用について測定される親和性は、異なる条件（例えば、塩濃度、ｐＨ）下で測定された場合に異なり得る。したがって、親和性及び他の抗原結合パラメータ（例えば、K_D、K_a、K_d）の測定は、好ましくは、抗体及び抗原の標準溶液、並びに本明細書で記載される緩衝剤などの標準緩衝剤を用いて行

われる。

【００８９】

核酸分子。配列番号１、２、３、４、５、６、７、８のうちの少なくとも１つの隣接アミノ酸の少なくとも７０～１００％をコードするヌクレオチド配列、特定された断片、変異体若しくはそれらのコンセンサス配列、又はこれらの配列のうちの少なくとも１つを含む寄託ベクタなどの本明細書に提供される情報を使用して、配列番号１、２及び３の重鎖可変ＣＤＲ領域の全て並びに／又は配列番号４、５及び６の軽鎖可変ＣＤＲ領域の全てを含む少なくとも１つの抗ＴＮＦ抗体をコードする本発明の核酸分子は、本明細書に記載される又は当該技術分において既知の方法を使用して得ることができる。

【００９０】

本発明の核酸分子は、ｍＲＮＡ、ｈｎＲＮＡ、ｔＲＮＡ若しくは任意の他の形態のようなＲＮＡの形態、又はクローニングにより得られる若しくは合成的に産生されるｃＤＮＡ及びゲノムＤＮＡが挙げられるがこれらに限定されないＤＮＡの形態、又はこれらの任意の組み合わせであってもよい。ＤＮＡは、３本鎖、２本鎖若しくは１本鎖、又はこれらの任意の組み合わせであってもよい。ＤＮＡ又はＲＮＡの少なくとも１本の鎖の任意の部分は、センス鎖としても知られるコード鎖であってもよいし、又はアンチセンス鎖と呼ばれる、非コード鎖であってもよい。

【００９１】

本発明の単離された核酸分子は、任意選択的に１つ又は２つ以上のイントロンを有するオープンリーディングフレーム（ＯＲＦ）、例えば、これらに限定されないが、少なくとも１つの重鎖（例えば、配列番号１～３）若しくは軽鎖（例えば、配列番号４～６）のＣＤＲ１、ＣＤＲ２、及び／又はＣＤＲ３のような、少なくとも１つのＣＤＲの少なくとも１つの特定された部分を含む核酸分子、抗ＴＮＦ抗体若しくは可変領域のコード配列（例えば、配列番号７、８）を含む核酸分子、並びに上述の核酸分子とは実質的に異なるが、遺伝子コードの縮重により、本明細書に記載されかつ／又は当該技術分野において既知である少なくとも１つの抗ＴＮＦ抗体を尚もコードするヌクレオチド配列を含む核酸分子を含み得る。当然のことながら、遺伝子コードは、当該技術分野において周知である。したがって、当業者には、本発明の特定の抗ＴＮＦ抗体をコードする、かかる縮重核酸変異体を生成することは、日常的であろう。例えば、上記のＡｕｓｕｂｅｌらを参照されたく、かかる核酸変異体は、本発明に含まれる。本発明の単離核酸分子の非限定的な例としては、それぞれ、ＨＣ　ＣＤＲ１、ＨＣ　ＣＤＲ２、ＨＣ　ＣＤＲ３、ＬＣ　ＣＤＲ１、ＬＣ　ＣＤＲ２、ＬＣ　ＣＤＲ３、のＨＣ可変領域及びＬＣ可変領域をコードする核酸の非限定的な例に対応する、配列番号１０、１１、１２、１３、１４、１５が挙げられる。

【００９２】

本明細書に示されるように、抗ＴＮＦ抗体をコードする核酸を含む本発明の核酸分子としてとしては、それ自体で抗体断片のアミノ酸配列をコードするもの、抗体の全長若しくは抗体の一部をコードする配列、抗体、断片若しくは部分のコード配列、並びに追加の配列、例えば、少なくとも１つのイントロンなど、前述の追加のコード配列を伴って、又は伴わずに、非コード５’及び３’配列、例えば、スプライシング及びポリアデニル化シグナル（例えば、ｍＲＮＡのリボソーム結合及び安定性）を含む、転写、ｍＲＮＡプロセシングにおいて役割を果たす転写された非翻訳配列を含むがこれに限定されない追加の非コード配列と共に、少なくとも１つのシグナルリーダ若しくは融合ペプチドのコード配列、追加のアミノ酸、例えば、追加の機能を提供するアミノ酸をコードする追加のコード配列を挙げることができるが、これらに限定されない。したがって、抗体をコードする配列はマーカ配列に融合させることができ、例えば、マーカ配列は、これを融合させた抗体断片又は部分を含む抗体の精製を促進するペプチドをコードする配列である。

【００９３】

本明細書に記載されるポリヌクレオチドに選択的にハイブリダイズするポリヌクレオチド。本発明は、本明細書で開示されるポリヌクレオチドに対して、選択的なハイブリダイゼーション条件下でハイブリダイズする単離核酸を提供する。したがって、本実施形態の

ポリヌクレオチドは、かかるポリヌクレオチドを含む核酸を単離、検出、及び／又は定量するために使用することができる。例えば、本発明のポリヌクレオチドを使用して、寄託されたライブラリにおける部分長又は完全長クローンを同定、単離、又は増幅することができる。いくつかの実施形態においては、ポリヌクレオチドは、単離された、又はそうでなければヒト若しくは哺乳動物の核酸ライブラリのｃＤＮＡに相補的な、ゲノム配列又はｃＤＮＡ配列である。

【００９４】

好ましくは、ｃＤＮＡライブラリは、完全長配列の少なくとも８０％、好ましくは完全長配列の少なくとも８５％又は９０％、及びより好ましくは完全長配列の少なくとも９５％を含む。このｃＤＮＡライブラリは、稀な配列の発現量を増大させるよう正規化することができる。相補配列に対する配列同一性が低い配列を使用する、低又は中ストリンジェンシーのハイブリダイゼーション条件が典型的なものであるが、これに限定されない。同一性がより高い配列には、任意選択的に、中及び高ストリンジェンシーの条件を使用することができる。低ストリンジェンシー条件は、約７０％の配列同一性を持つ配列の選択的ハイブリダイゼーションを可能にし、オーソロガス又はパラロガス配列を同定するために利用できる。

【００９５】

任意選択的に、本発明のポリヌクレオチドは、本明細書に記載されているポリヌクレオチドによってコード化される抗体の少なくとも一部をコードすることになる。本発明のポリヌクレオチドは、本発明の抗体をコードするポリヌクレオチドに対する選択的ハイブリダイゼーションのために利用可能な核酸配列を包含する。例えば、上記のＡｕｓｕｂｅｌ、上記のＣｏｌｌｉｇａｎを参照されたい。各々は、参照により全体が本明細書に組み込まれる。

【００９６】

核酸の構築。本発明の単離核酸は、当該技術分野にて周知のように、（ａ）組換え方法、（ｂ）合成技術、（ｃ）精製技術、又はこれらの組み合わせを使用して作製することができる。

【００９７】

核酸には、本発明のポリヌクレオチドに加えて、都合よく配列を含ませることができる。例えば、１つ又は２つ以上のエンドヌクレアーゼ制限部位を含むマルチクローニングサイトを核酸に挿入して、ポリヌクレオチドの単離に役立てることができる。また、翻訳可能な配列を挿入して、本発明の翻訳されたポリヌクレオチドの単離に役立てることができる。例えば、ヘキサヒスチジンマーカ配列は、本発明のタンパク質を精製するのに便利な手段を提供する。本発明の核酸（コード配列を除く）は、任意選択的に、本発明のポリヌクレオチドのクローニング及び／又は発現のためのベクタ、アダプタ又はリンカである。

【００９８】

かかるクローニング配列及び／又は発現配列に追加の配列を付加して、クローニング及び／又は発現におけるそれらの機能を最適化すること、ポリヌクレオチドの単離に役立てること、又は細胞へのポリヌクレオチドの導入を改善することができる。クローン化ベクタ、発現ベクタ、アダプタ、及びリンカの使用は、当該技術分野において周知である。（例えば、上記のＡｕｓｕｂｅｌ、又は上記のＳａｍｂｒｏｏｋを参照のこと）。

【００９９】

核酸を構築するための組換え方法。ＲＮＡ、ｃＤＮＡ、ゲノムＤＮＡ、又はこれらの任意の組み合わせのような本発明の単離核酸組成物は、当業者に既知の任意の数のクローニング手順を用いて生物源から得ることができる。いくつかの実施形態において、本発明のポリヌクレオチドに対してストリンジェントな条件下で選択的にハイブリダイズするオリゴヌクレオチドプローブが、ｃＤＮＡ又はゲノムＤＮＡライブラリ内の望ましい配列の同定に使用される。ＲＮＡの単離、並びにｃＤＮＡ及びゲノムライブラリの構築は、当業者には周知である。（例えば、上記のＡｕｓｕｂｅｌ、又は上記のＳａｍｂｒｏｏｋを参照のこと）。

【０１００】
核酸のスクリーニング及び単離方法。本明細書で開示されているような、本発明のポリヌクレオチドの配列に基づいたプローブを用いて、ｃＤＮＡ又はゲノムライブラリをスクリーニングすることができる。プローブを使用して、ゲノムＤＮＡ又はｃＤＮＡ配列にハイブリダイズさせて、同じ又は異なる生体の相同遺伝子を単離することができる。当業者であれば、アッセイに様々な度合のハイブリダイゼーションストリンジェンシーを用いることができ、ハイブリダイゼーション又は洗浄媒質のいずれかをストリンジェントなものにできることは明らかであろう。ハイブリダイゼーション条件がストリンジェントになるほど、二重鎖の形成が生じる際のプローブと標的との間の相補性の度合が大きくなるはずである。ストリンジェンシーの程度は、温度、イオン強度、ｐＨ、及びホルムアミドのような部分的に変性する溶媒の存在、のうちの１つ又は２つ以上によって制御され得る。例えば、ハイブリダイゼーションのストリンジェンシーは、例えば、０％～５０％の範囲内でのホルムアミド濃度の操作により反応溶液の極性を変えることにより首尾よく変更される。検出可能な結合に必要とされる相補性（配列同一性）の程度は、ハイブリダイゼーション媒質及び／又は洗浄媒質のストリンジェンシーによって異なる。相補性の程度は、最適には１００％、又は７０～１００％、又はその中の任意の範囲若しくは値である。しかしながら、プローブ及びプライマ中の配列のわずかな違いは、ハイブリダイゼーション及び／又は洗浄媒質のストリンジェンシーを低減させることで埋め合わせることができることを理解すべきである。

【０１０１】
ＲＮＡ又はＤＮＡの増幅方法は当該技術分野において周知であり、本明細書で紹介する教示及び指針に基づいて、過度の実験無しに、本発明に従って使用可能である。

【０１０２】
ＤＮＡ又はＲＮＡ増幅の既知の方法としては、ポリメラーゼ連鎖反応（ＰＣＲ）及び関連する増幅プロセス（例えば、Ｍｕｌｌｉｓらの米国特許第４，６８３，１９５号、同第４，６８３，２０２号、同第４，８００，１５９号、同第４，９６５，１８８号、Ｔａｂｏｒらの米国特許第４，７９５，６９９号及び同第４，９２１，７９４号、Ｉｎｎｉｓの米国特許第５，１４２，０３３号、Ｗｉｌｓｏｎらの米国特許第５，１２２，４６４号、Ｉｎｎｉｓの米国特許第５，０９１，３１０号、Ｇｙｌｌｅｎｓｔｅｎらの米国特許第５，０６６，５８４号、Ｇｅｌｆａｎｄらの米国特許第４，８８９，８１８号、Ｓｉｌｖｅｒらの米国特許第４，９９４，３７０号、Ｂｉｓｗａｓの米国特許第４，７６６，０６７号、Ｒｉｎｇｏｌｄの米国特許第４，６５６，１３４号を参照されたい）、及び二本鎖ＤＮＡ合成のためのテンプレートとして標的配列に対してアンチセンスＲＮＡを使用するＲＮＡ介在増幅（Ｍａｌｅｋらの米国特許第５，１３０，２３８号、商標名ＮＡＳＢＡを持つ）が挙げられるが、これらに限定されない（これらの文献の全内容は、参照により本明細書に組み込まれる）。（例えば、上記のＡｕｓｕｂｅｌ、又は上記のＳａｍｂｒｏｏｋを参照されたい。）

【０１０３】
例えば、ポリメラーゼ連鎖反応（ＰＣＲ）技術を用いて、ゲノムＤＮＡ又はｃＤＮＡライブラリから直接、本発明のポリヌクレオチド及び関連する遺伝子の配列を増幅することができる。ＰＣＲ及び他のインビトロ増幅方法はまた、例えば、発現すべきタンパク質をコードする核酸配列をクローニングすること、試料中の所望のｍＲＮＡの存在を検出するため、核酸の配列決定のため、又は他の目的のためのプローブとして用いる核酸を作製することに関し有用であり得る。インビトロでの増幅方法によって当業者を導くのに充分な技術の例は、上記のＢｅｒｇｅｒ、上記のＳａｍｂｒｏｏｋ、及び上記のＡｕｓｕｂｅｌ、並びにＭｕｌｌｉｓらの米国特許第４，６８３，２０２号（１９８７）、及びＩｎｎｉｓら、「ＰＣＲ Ｐｒｏｔｏｃｏｌｓ Ａ Ｇｕｉｄｅ ｔｏ Ｍｅｔｈｏｄｓ ａｎｄ Ａｐｐｌｉｃａｔｉｏｎｓ」、Ａｃａｄｅｍｉｃ Ｐｒｅｓｓ Ｉｎｃ編、Ｓａｎ Ｄｉｅｇｏ，ＣＡ（１９９０年）に見られる。ゲノムＰＣＲ増幅用の市販キットは当該技術分野において既知である。例えば、Ａｄｖａｎｔａｇｅ－ＧＣ Ｇｅｎｏｍｉｃ ＰＣＲ

Ｋｉｔ（Ｃｌｏｎｔｅｃｈ）を参照されたい。加えて、例えば、Ｔ４遺伝子３２タンパク質（Ｂｏｅｈｒｉｎｇｅｒ　Ｍａｎｎｈｅｉｍ）を用いて、長いＰＣＲ産物の収率を改善することができる。

【０１０４】

核酸を構築するための合成方法。本発明の単離核酸は、既知の方法による直接化学合成によっても調製可能である（例えば、上記のＡｕｓｕｂｅｌらを参照）。化学合成は、一般に、相補的配列とのハイブリダイゼーションによって、又は１本鎖をテンプレートとして使用するＤＮＡポリメラーゼとの重合によって、２本鎖ＤＮＡに変換可能な１本鎖オリゴヌクレオチドを産生する。当業者であれば、ＤＮＡの化学合成は約１００以上の塩基の配列に限定され得るものの、より長い配列は、より短い配列の連結反応によって得ることができることを認識するであろう。

【０１０５】

組換え発現カセット。本発明は、本発明の核酸を含む組換え発現カセットを更に提供する。本発明の核酸配列、例えば本発明の抗体をコードするｃＤＮＡ又はゲノム配列を用いて、少なくとも１つの所望の宿主細胞に導入できる組換え発現カセットを構築することができる。組換え発現カセットは、典型的には、意図される宿主細胞においてポリヌクレオチドの転写を導く、転写開始調節配列に機能的に連結される、本発明のポリヌクレオチドを含む。異種及び非異種（すなわち、内因性）プロモータの両方を使用して、本発明の核酸の発現を導くことができる。

【０１０６】

いくつかの実施形態では、プロモータ、エンハンサ、又は他の要素として機能する単離核酸を、本発明のポリヌクレオチドの発現を上方又は下方調節するために、本発明のポリヌクレオチドの非異種形の適切な位置（上流、下流、又はイントロン内）に導入することができる。例えば、インビボ又はインビトロで、変異、欠失及び／又は置換により、内因性プロモータを変えることができる。

【０１０７】

ベクタ及び宿主細胞。本発明は、本発明の単離核酸分子を含むベクタ、組換えベクタで遺伝子工学処理された宿主細胞、及び当該技術分野において周知である組換え技術による少なくとも１つの抗ＴＮＦ抗体の生成にも関する。例えば、上記のＳａｍｂｒｏｏｋら、上記のＡｕｓｕｂｅｌらを参照されたく、各々は、参照により全体が本明細書に組み込まれる。

【０１０８】

ポリヌクレオチドは、任意選択的に、宿主の増殖についての選択マーカを含有するベクタに結合することができる。一般に、プラスミドベクタは、リン酸カルシウム沈殿物のような沈殿物内、又は荷電脂質との複合体内に導入される。ベクタがウイルスである場合は、適切なパッケージング細胞株を用いてインビトロでこれをパッケージングし、その後、宿主細胞内に形質導入することができる。

【０１０９】

ＤＮＡ挿入物は、適切なプロモータに機能的に連結されるべきである。発現コンストラクトは、転写開始部位、転写終結部位、及び転写された領域内では翻訳のためのリボソーム結合部位を更に含む。構築物により発現される成熟した転写産物のコード部分は、好ましくは、最初に翻訳開始部位を含み、翻訳されるｍＲＮＡの最後に終止コドン（例えば、ＵＡＡ、ＵＧＡ又はＵＡＧ）が適切に位置することになる。哺乳動物又は真核生物の細胞の発現ではＵＡＡ及びＵＡＧが好ましい。

【０１１０】

発現ベクタは、好ましくは少なくとも１つの選択マーカを含むが、これは任意選択的である。かかるマーカは、例えば、真核細胞培養のためのメトトレキサート（ＭＴＸ）、ジヒドロ葉酸レダクターゼ（ＤＨＦＲ、米国特許第４，３９９，２１６号、同第４，６３４，６６５号、同第４，６５６，１３４号、同第４，９５６，２８８号、同第５，１４９，６３６号、同第５，１７９，０１７号、アンピシリン、ネオマイシン（Ｇ４１８）、マイ

コフェノール酸又はグルタミンシンセターゼ（ＧＳ）（米国特許第５，１２２，４６４号、同第５，７７０，３５９号、同第５，８２７，７３９号）抵抗性遺伝子、並びに大腸菌（Ｅ．ｃｏｌｉ）及び他の細菌又は原核生物における培養のためのテトラサイクリン又はアンピシリン抵抗性遺伝子を含むが、これらに限定されない（上記特許は、参照により全体が本明細書に組み込まれる）。上記の宿主細胞に対して適切な培養培地及び条件は、当該技術分野において既知である。好適なベクタは、当業者にとって容易に明白となるであろう。宿主細胞へのベクタコンストラクトの導入は、リン酸カルシウムトランスフェクション、ＤＥＡＥ－デキストラン媒介トランスフェクション、カチオン性脂質媒介トランスフェクション、エレクトロポレーション、形質導入、感染又は他の既知の方法により影響を受け得る。かかる方法については、上記のＳａｍｂｒｏｏｋ、第１～４章及び第１６～１８章、上記のＡｕｓｕｂｅｌ、第１、９、１３、１５、１６章など、当該技術分野において記載されている。

【０１１１】

本発明の少なくとも１つの抗体は、融合タンパク質などの修飾された形態で発現され得、分泌シグナルだけでなく、追加の異種機能領域も含み得る。例えば、追加アミノ酸の領域、特に荷電アミノ酸を抗体のＮ末端に追加して、精製中又は後続の処理及び保存中に、宿主細胞における安定性及び持続性を改善することができる。また、ペプチド部分を本発明の抗体に追加して、精製を促進することもできる。抗体又は少なくとも１つのその断片の最終調製前に、かかる領域を除去することができる。かかる方法は、上記のＳａｍｂｒｏｏｋ、第１７．２９～１７．４２章及び第１８．１～１８．７４章、上記のＡｕｓｕｂｅｌ、第１６、１７及び１８章などの多くの標準的な実験室マニュアルに記載されている。

【０１１２】

当業者であれば、本発明のタンパク質をコードする核酸の発現に利用可能な多数の発現系について精通している。

【０１１３】

別の方法としては、本発明の核酸は、本発明の抗体をコードする内因性ＤＮＡを含む宿主細胞内で、（操作により）オン切換えすることにより、宿主細胞中で発現させることができる。かかる方法は、米国特許第５，５８０，７３４号、同第５，６４１，６７０号、同第５，７３３，７４６号、及び同第５，７３３，７６１号に記載されているように、当該技術分野において周知であり、上記特許は参照により全体が本明細書に組み込まれる。

【０１１４】

抗体、その特定された部分又は変異体の産生に有用な細胞培養物の一例は、哺乳動物細胞である。哺乳動物細胞系は、しばしば細胞からなる単層形態を取るが、哺乳動物細胞の懸濁液又はバイオリアクタも使用可能である。無傷なグリコシル化タンパク質を発現可能ないくつかの好適な宿主細胞株が当該技術分野において開発されており、これにはＣＯＳ－１（例えば、ＡＴＣＣ　ＣＲＬ　１６５０）、ＣＯＳ－７（例えば、ＡＴＣＣ　ＣＲＬ－１６５１）、ＨＥＫ２９３、ＢＨＫ２１（例えば、ＡＴＣＣ　ＣＲＬ－１０）、ＣＨＯ（例えば、ＡＴＣＣ　ＣＲＬ１６１０）及びＢＳＣ－１（例えば、ＡＴＣＣ　ＣＲＬ－２６）細胞株、Ｃｏｓ－７細胞、ＣＨＯ細胞、ｈｅｐ　Ｇ２細胞、Ｐ３Ｘ６３Ａｇ８．６５３、ＳＰ２／０－Ａｇ１４、２９３細胞、ＨｅＬａ細胞などが挙げられ、これらは例えば、Ａｍｅｒｉｃａｎ　Ｔｙｐｅ　Ｃｕｌｔｕｒｅ　Ｃｏｌｌｅｃｔｉｏｎ，Ｍａｎａｓｓａｓ，ＶＡから容易に入手できる。好ましい宿主細胞としては、ＣＨＯ細胞、並びに骨髄腫及びリンパ腫細胞などのリンパ系に由来する細胞が挙げられる。特に好ましい宿主細胞は、ＣＨＯ細胞、Ｐ３Ｘ６３Ａｇ８．６５３細胞（ＡＴＣＣ登録番号ＣＲＬ－１５８０）及びＳＰ２／０－Ａｇ１４細胞（ＡＴＣＣ登録番号ＣＲＬ－１８５１）である。

【０１１５】

これらの細胞の発現ベクタは、複製起点、プロモータ（例えば、後期又は初期ＳＶ４０プロモータ、ＣＭＶプロモータ（米国特許第５，１６８，０６２号、同第５，３８５，８３９号）、ＨＳＶ　ｔｋプロモータ、ｐｇｋ（ホスホグリセレートキナーゼ）プロモータ

、ＥＦ－１αプロモータ（米国特許第５，２６６，４９１号）、少なくとも１つのヒト免疫グロブリンプロモータ、エンハンサ、及び／又はリボソーム結合部位、ＲＮＡスプライス部位、ポリアデニル化部位（例えば、ＳＶ４０ラージＴ　Ａｇポリ付加部位）、並びに転写終結配列などのプロセシング情報部位などであるがこれらに限定されない、発現制御配列のうちの１つ又は２つ以上を含み得る。例えば、上記のＡｕｓｕｂｅｌら、上記のＳａｍｂｒｏｏｋらを参照されたい。本発明の核酸又はタンパク質の生成に有用なその他の細胞は既知であり、並びに／あるいは例えば、Ａｍｅｒｉｃａｎ　Ｔｙｐｅ　Ｃｕｌｔｕｒｅ　Ｃｏｌｌｅｃｔｉｏｎの細胞株及びハイブリドーマのカタログ又はその他の既知の若しくは商業的供給源から入手可能である。

【０１１６】

真核宿主細胞が利用されるとき、典型的には、ベクタ内にポリアデニル化又は転写終結配列が組み込まれる。終結配列の一例は、ウシ成長ホルモン遺伝子からのポリアデニル化配列である。転写の正確なスプライシングのための配列も、同様に含むことができる。スプライシング配列の一例は、ＳＶ４０由来のＶＰ１イントロンである（Ｓｐｒａｇｕｅ，ｅｔ　ａｌ．，Ｊ．Ｖｉｒｏｌ．４５：７７３－７８１　（１９８３））。加えて、当該技術分野において既知であるように、宿主細胞内の複製を制御するための遺伝子配列をベクタ内に組み込むことができる。

【０１１７】

抗体の精製。抗ＴＮＦ抗体は、プロテインＡ精製、硫酸アンモニウム又はエタノール沈殿、酸抽出、アニオン又はカチオン交換クロマトグラフィ、ホスホセルロースクロマトグラフィ、疎水性相互作用クロマトグラフィ、アフィニティクロマトグラフィ、ヒドロキシルアパタイトクロマトグラフィ及びレクチンクロマトグラフィが挙げられるがこれらに限定されない周知の方法により、組換え細胞培養物から回収し、精製することができる。高速液体クロマトグラフィ（「high performance liquid chromatography、ＨＰＬＣ」）を精製に利用することもできる。例えば、Ｃｏｌｌｉｇａｎ、Ｃｕｒｒｅｎｔ　Ｐｒｏｔｏｃｏｌｓ　ｉｎ　Ｉｍｍｕｎｏｌｏｇｙ又はＣｕｒｒｅｎｔ　Ｐｒｏｔｏｃｏｌｓ　ｉｎ　Ｐｒｏｔｅｉｎ　Ｓｃｉｅｎｃｅ，Ｊｏｈｎ　Ｗｉｌｅｙ　＆　Ｓｏｎｓ，ＮＹ，ＮＹ（１９９７－２００１）の、例えば、第１、４、６、８、９、１０章を参照されたく、各々は参照により全体が本明細書に組み込まれる。

【０１１８】

本発明の抗体には、天然に精製された生成物、化学合成手順の生成物、並びに例えば、酵母、高等植物、昆虫及び哺乳動物細胞を含む、真核宿主から組換え技法により産生された産物が含まれる。組換体産生手順に用いられる宿主に応じて、本発明の抗体は、グリコシル化されてもグリコシル化されなくてもよいが、グリコシル化されるのが好ましい。かかる方法は、上記のＳａｍｂｒｏｏｋ、上記のＡｕｓｕｂｅｌ、第１０、１２、１３、１６、１８、及び２０章、上記のＣｏｌｌｉｇａｎ，Ｐｒｏｔｅｉｎ　Ｓｃｉｅｎｃｅ、第１２～１４章などの多くの標準的な実験室マニュアルに記載されており、全て参照により全体が本明細書に組み込まれる。

【０１１９】

例示的な抗ＴＮＦ抗体

配列番号１、２及び３の重鎖可変ＣＤＲ領域の全て並びに／又は配列番号４、５及び６の軽鎖可変ＣＤＲ領域の全てを含む本発明の単離された抗体は、任意の好適なポリヌクレオチドによってコード化される本明細書で開示される抗体のアミノ酸配列、又は任意の単離又は調製された抗体を含む。好ましくは、ヒト抗体又は抗原結合断片は、ヒトＴＮＦに結合し、それにより、タンパク質の少なくとも１つの生物学的活性を部分的又は実質的に中和する。少なくとも１つのＴＮＦタンパク質又は断片の少なくとも１つの生物学的活性を部分的に又は好ましくは実質的に中和する抗体又はその特定された部分若しくは変異体は、タンパク質又は断片に結合し、それによりＴＮＦのＴＮＦ受容体への結合を通して、又は他のＴＮＦ依存性若しくは介在性機序を通して介在される活性を阻害することができる。本明細書で使用するとき、「中和抗体」という用語は、アッセイに応じて約２０～１

２０％、好ましくは少なくとも約１０、２０、３０、４０、５０、５５、６０、６５、７０、７５、８０、８５、９０、９１、９２、９３、９４、９５、９６、９７、９８、９９、１００％又はそれ以上、ＴＮＦ依存性活性を阻害することができる抗体を指す。ＴＮＦ依存性活性を阻害する抗ＴＮＦ抗体の能力は、好ましくは、本明細書に記載され、かつ／又は当該技術分野において既知の、少なくとも１つの好適なＴＮＦタンパク質又は受容体アッセイによって評価される。本発明のヒト抗体は、任意のクラス（ＩｇＧ、ＩｇＡ、ＩｇＭ、ＩｇＥ、ＩｇＤなど）又はアイソタイプのものであってもよく、κ又はλ軽鎖を含み得る。一実施形態において、ヒト抗体は、ＩｇＧ重鎖又は規定された断片、例えば、ＩｇＧ１、ＩｇＧ２、ＩｇＧ３又はＩｇＧ４のうちの少なくとも１つのアイソタイプを含む。このタイプの抗体は、本明細書に記載されかつ／又は当該技術分野において既知の、少なくとも１つのヒト軽鎖（例えば、ＩｇＧ、ＩｇＡ）及びＩｇＭ（例えば、γ１、γ２、γ３、γ４）導入遺伝子を含む、トランスジェニックマウス又は他のトランスジェニック非ヒト哺乳動物を用いることによって調製することができる。別の実施形態において、抗ヒトＴＮＦヒト抗体は、ＩｇＧ１重鎖及びＩｇＧ１軽鎖を含む。

【０１２０】

本明細書で使用するとき、「抗体」又は「複数の抗体」という用語は、２００９年のバイオロジクス価格競争・イノベーション法（ＢＰＣＩ　Ａｃｔ）並びに同様の世界的な法律及び規則で承認されたバイオシミラ抗体分子を含む。ＢＰＣＩ　Ａｃｔの下で、抗体は、臨床的に不活性な構成成分のわずかな違いにも関わらず、基準品と「非常に類似」しており、安全性、純度、効力の点で基準品と同等の臨床結果が得られると「予想される」ことをデータが示す場合、バイオシミラであることが実証され得る（Ｅｎｄｏｃｒｉｎｅ　Ｐｒａｃｔｉｃｅ：２０１８年２月、第２４巻第２号第１９５～２０４頁）。これらのバイオシミラ抗体分子は、短縮された承認経路を提供し、それにより、出願人は、法的な承認を確保するために、イノベータの基準品の臨床データに依存している。臨床試験の成功に基づいてＦＤＡに承認されたオリジナルのイノベータ基準抗体と比較して、バイオシミラ抗体分子は、本明細書では、「バイオ後続品」と呼ばれる。本明細書に提示されるように、ＳＩＭＰＯＮＩ（登録商標）（ゴリムマブ）は、臨床試験の成功に基づいてＦＤＡに承認されたオリジナルのイノベータ参照抗ＴＮＦ抗体である。ゴリムマブは、２００９年から米国で販売されている。

【０１２１】

例示的な配列

様々な実施形態において、ＴＮＦ阻害剤は、抗ＴＮＦ抗体ＳＩＭＰＯＮＩ（登録商標）（ゴリムマブ）、又は以下に示す配列を含むその抗原結合断片を含む。抗ＴＮＦ抗体ＳＩＭＰＯＮＩ（登録商標）（ゴリムマブ）及び他の抗ＴＮＦ抗体に関する更なる情報については、例えば、米国特許第７，２５０，１６５号、同第７，６９１，３７８号、同第７，５２１，２０６号、同第７，８１５，９０９号、同第７，８２０，１６９号、同第８，２４１，８９９号、同第８，６０３，７７８号、同第９，３２１，８３６号、及び同第９，８２８，４２４号を参照されたい。

【０１２２】

例示的な抗ＴＮＦ抗体の配列例－ＳＩＭＰＯＮＩ（登録商標）（ゴリムマブ）

重鎖ＣＤＲ（ＨＣＤＲ）及び軽鎖ＣＤＲ（ＬＣＤＲ）は、Ｋａｂａｔにより定義される。

【０１２３】

ＣＤＲに下線が付されたゴリムマブ重鎖（ＨＣ）のアミノ酸配列：（配列番号３６）

【０１２４】

```
  1 QVQLVESGGG VVQPGRSLRL SCAASGFIFS SYAMHWVRQA PGNGLEWVAF MSYDGSNKKY
 61 ADSVKGRFTI SRDNSKNTLY LQMNSLRAED TAVYYCARDR GIAAGGNYYY YGMDVWGQGT
121 TVTVSSASTK GPSVFPLAPS SKSTSGGTAA LGCLVKDYFP EPVTVSWNSG ALTSGVHTFP
181 AVLQSSGLYS LSSVVTVPSS SLGTQTYICN VNHKPSNTKV DKKVEPKSCD KTHTCPPCPA
241 PELLGGPSVF LFPPKPKDTL MISRTPEVTC VVVDVSHEDP EVKFNWYVDG VEVHNAKTKP
301 REEQYNSTYR VVSVLTVLHQ DWLNGKEYKC KVSNKALPAP IEKTISKAKG QPREPQVYTL
361 PPSRDELTKN QVSLTCLVKG FYPSDIAVEW ESNGQPENNY KTTPPVLDSD GSFFLYSKLT
421 VDKSRWQQGN VFSCSVMHEA LHNHYTQKSL SLSPGK   456
```

【０１２５】

ＣＤＲに下線が付されたゴリムマブ軽鎖（ＬＣ）のアミノ酸配列：（配列番号３７）

【０１２６】

```
  1 EIVLTQSPAT LSLSPGERAT LSCRASQSVY SYLAWYQQKP GQAPRLLIYD ASNRATGIPA
 61 RFSGSGSGTD FTLTISSLEP EDFAVYYCQQ RSNWPPFTFG PGTKVDIKRT VAAPSVFIFP
121 PSDEQLKSGT ASVVCLLNNF YPREAKVQWK VDNALQSGNS QESVTEQDSK DSTYSLSSTL
181 TLSKADYEKH KVYACEVTHQ GLSSPVTKSF NRGEC
```

【０１２７】

ＣＤＲに下線が付されたゴリムマブ可変重鎖（ＶＨ）のアミノ酸配列：（配列番号３８）

【０１２８】

```
  1 QVQLVESGGG VVQPGRSLRL SCAASGFIFS SYAMHWVRQA PGNGLEWVAF MSYDGSNKKY
 61 ADSVKGRFTI SRDNSKNTLY LQMNSLRAED TAVYYCARDR GIAAGGNYYY YGMDVWGQGT
121 TVTVSS
```

【０１２９】

ＣＤＲに下線が付されたゴリムマブ可変軽鎖（ＶＬ）のアミノ酸配列：（配列番号３９）

【０１３０】

```
  1 EIVLTQSPAT LSLSPGERAT LSCRASQSVY SYLAWYQQKP GQAPRLLIYD ASNRATGIPA
 61 RFSGSGSGTD FTLTISSLEP EDFAVYYCQQ RSNWPPFTFG PGTKVDIKRT V
```

【０１３１】

ゴリムマブ重鎖の相補性決定領域１（ＨＣＤＲ１）のアミノ酸配列：（配列番号４０）

ＳＹＡＭＨ

【０１３２】

ゴリムマブ抗体重鎖の相補性決定領域２（ＨＣＤＲ２）のアミノ酸配列：（配列番号４１）

ＦＭＳＹＤＧＳＮＫＫＹＡＤＳＶＫＧ

【０１３３】

ゴリムマブ重鎖の相補性決定領域３（ＨＣＤＲ３）のアミノ酸配列：（配列番号４２）

ＤＲＧＩＡＡＧＧＮＹＹＹＹＧＭＤＶ

【０１３４】

ゴリムマブ軽鎖の相補性決定領域１（ＬＣＤＲ１）のアミノ酸配列：（配列番号４３）

ＲＡＳＱＳＶＹＳＹＬＡ

【０１３５】

ゴリムマブ軽鎖の相補性決定領域２（ＬＣＤＲ２）のアミノ酸配列：（配列番号４４）
ＤＡＳＮＲＡＴ

【０１３６】

ゴリムマブ軽鎖の相補性決定領域３（ＬＣＤＲＬ）のアミノ酸配列：（配列番号４５）
ＱＱＲＳＮＷＰＰＦＴ

【０１３７】

本発明の少なくとも１つの抗体は、少なくとも１つのＴＮＦタンパク質、サブユニット、断片、部分、又はそれらの任意の組み合わせに特異的な少なくとも１つの特定のエピトープに結合する。この少なくとも１つのエピトープは、このタンパク質の少なくとも一部を含む少なくとも１つの抗体結合領域を含むことができ、このエピトープは、好ましくは、このタンパク質の少なくとも１つの細胞外部分、可溶性部分、親水性部分、外部部分、又は細胞質顆粒部分から構成されている。少なくとも１つの特定されたエピトープは、配列番号９の隣接アミノ酸の特定された部分全体に対する少なくとも１～３個のアミノ酸の少なくとも１つのアミノ酸配列の任意の組み合わせを含むことができる。

【０１３８】

一般に、本発明のヒト抗体又は抗原結合断片は、少なくとも１つのヒト相補性決定領域（ＣＤＲ１、ＣＤＲ２及びＣＤＲ３）又は少なくとも１つの重鎖可変領域の変異体、及び少なくとも１つのヒト相補性決定領域（ＣＤＲ１、ＣＤＲ２及びＣＤＲ３）又は少なくとも１つの軽鎖可変領域の変異体を含む抗原結合領域を含む。非限定的な例として、抗体又は抗原結合部分若しくは変異体は、配列番号３のアミノ酸配列を有する重鎖ＣＤＲ３及び／又は配列番号６のアミノ酸配列を有する軽鎖ＣＤＲ３のうちの少なくとも１つを含み得る。特定の実施形態では、抗体又は抗原結合断片は、対応するＣＤＲ１、２及び／又は３のアミノ酸配列（例えば、配列番号１、２及び／又は３）を有する少なくとも１つの重鎖ＣＤＲ（すなわち、ＣＤＲ１、ＣＤＲ２及び／又はＣＤＲ３）の少なくとも一部を含む抗原結合領域を有することができる。別の特定の実施形態において、抗体又は抗原結合部分若しくは変異体は、対応するＣＤＲ１、２及び／又は３のアミノ酸配列（例えば、配列番号４、５、及び／又は６）を有する少なくとも１つの軽鎖ＣＤＲ（すなわち、ＣＤＲ１、ＣＤＲ２及び／又はＣＤＲ３）の少なくとも一部を含む抗原結合領域を有することができる。好ましい実施形態において、抗体又は抗原結合断片の３つの重鎖ＣＤＲ及び３つの軽鎖ＣＤＲは、本明細書に記載される、ｍＡｂ　ＴＮＶ１４８、ＴＮＶ１４、ＴＮＶ１５、ＴＮＶ１９６、ＴＮＶ１１８、ＴＮＶ３２、及びＴＮＶ８６のうちの少なくとも１つの対応するＣＤＲのアミノ酸配列を有する。かかる抗体は、組換えＤＮＡ技術に関する従来技術を使用して抗体をコードする（すなわち、１つ又は２つ以上の）核酸分子を調製して発現させることによって、又は任意の他の好適な方法を使用することによって、従来技術を使用して抗体の様々な部分（例えば、ＣＤＲ、フレームワーク）を一緒に化学的に結合させることにより調製できる。

【０１３９】

抗ＴＮＦ抗体は、規定されたアミノ酸配列を有する重鎖又は軽鎖可変領域のうちの少なくとも１つを含むことができる。例えば、好ましい実施形態において、抗ＴＮＦ抗体は、任意選択的に配列番号７のアミノ酸配列を有する重鎖可変領域及び／又は所望により配列番号８のアミノ酸配列を有する少なくとも１つの軽鎖可変領域のうちの少なくとも１つを含む。ヒトＴＮＦに結合し、規定された重鎖又は軽鎖可変領域を含む抗体は、好適な方法、例えば、当該技術分野において既知でありかつ／又は本明細書に記載される、ファージディスプレイ（Ｋａｔｓｕｂｅ，Ｙ．ら、「Ｉｎｔ　Ｊ　Ｍｏｌ．Ｍｅｄ」第１巻第５号８６３－８６８（１９９８））又はトランスジェニック動物を採用する方法など、好適な方法を使用して調製することができる。例えば、機能的に再配列されたヒト免疫グロブリン重鎖導入遺伝子と、機能的な再配列を受けることが可能なヒト免疫グロブリン軽鎖遺伝子座からのＤＮＡを含む導入遺伝子と、を含むトランスジェニックマウスを、ヒトＴＮＦ又はその断片で免疫して抗体の生成を誘発することができる。所望する場合、抗体産生細胞を単離することができ、本明細書に記載されるように、かつ／又は当該技術分野におい

て既知であるように、ハイブリドーマ又は他の不死化させた抗体産生細胞を調製することができる。あるいは、抗体、特定された部分又は変異体は、好適な宿主細胞内で、コード核酸又はその一部分を使用して発現させることができる。

【０１４０】

本発明はまた、本明細書に記載されるアミノ酸配列と実質的に同じである配列中のアミノ酸を含む抗体、抗原結合断片、免疫グロブリン鎖及びＣＤＲに関する。好ましくは、かかる抗体又は抗原結合断片及びかかる鎖若しくはＣＤＲを含む抗体は、高い親和性（例えば、K_Dが約10^{-9}Ｍ以下）で、ヒトＴＮＦに結合することができる。本明細書に記載されている配列と実質的に同じであるアミノ酸配列としては、保存的アミノ酸置換並びにアミノ酸欠失及び／又は挿入を含む配列が挙げられる。保存的アミノ酸置換は、第１のアミノ酸を、第１のアミノ酸のものに類似する化学的及び／又は物理的特性（例えば、電荷、構造、極性、疎水性／親水性）を有する第２のアミノ酸で置換することを指す。保存的置換は、１個のアミノ酸を、以下の群内の別のアミノ酸で置き換えることを含む：リジン（Ｋ）、アルギニン（Ｒ）及びヒスチジン（Ｈ）；アスパラギン酸塩（Ｄ）及びグルタミン酸塩（Ｅ）；アスパラギン（Ｎ）、グルタミン（Ｑ）、セリン（Ｓ）、スレオニン（Ｔ）、チロシン（Ｙ）、Ｋ、Ｒ、Ｈ、Ｄ、及びＥ；アラニン（Ａ）、バリン（Ｖ）、ロイシン（Ｌ）、イソロイシン（Ｉ）、プロリン（Ｐ）、フェニルアラニン（Ｆ）、トリプトファン（Ｗ）、メチオニン（Ｍ）、システイン（Ｃ）、及びグリシン（Ｇ）；Ｆ、Ｗ、及びＹ；Ｃ、Ｓ、及びＴ。

【０１４１】

アミノ酸コード。本発明の抗ＴＮＦ抗体を構成するアミノ酸は、略されることが多い。アミノ酸表記は、その一文字コード、その三文字コード、名称、又は３つのヌクレオチドのコドンによりアミノ酸を表記することにより示すことができ、当該技術分野においてよく理解されている（Ａｌｂｅｒｔｓ，Ｂ．ら、「Ｍｏｌｅｃｕｌａｒ　Ｂｉｏｌｏｇｙ　ｏｆ　Ｔｈｅ　Ｃｅｌｌ」第３版、Ｇａｒｌａｎｄ　Ｐｕｂｌｉｓｈｉｎｇ，Ｉｎｃ．，Ｎｅｗ　Ｙｏｒｋ（１９９４年）を参照されたい）。

【０１４２】

【表１】

一文字表記	三文字表記	名称	3つのヌクレオチドコドン
A	Ala	アラニン	GCA、GCC、GCG、GCU
C	Cys	システイン	UGC、UGU
D	Asp	アスパラギン酸	GAC、GAU
E	Glu	グルタミン酸	GAA、GAG
F	Phe	フェニルアラニン	UUC、UUU
G	Gly	グリシン	GGA、GGC、GGG、GGU
H	His	ヒスチジン	CAC、CAU
I	Ile	イソロイシン	AUA、AUC、AUU
K	Lys	リジン	AAA、AAG
L	Leu	ロイシン	UUA、UUG、CUA、CUC、CUG、CUU
M	Met	メチオニン	AUG
N	Asn	アスパラギン	AAC、AAU
P	Pro	プロリン	CCA、CCC、CCG、CCU
Q	Gln	グルタミン	CAA、CAG
R	Arg	アルギニン	AGA、AGG、CGA、CGC、CGG、CGU
S	Ser	セリン	AGC、AGU、UCA、UCC、UCG、UCU
T	Thr	トレオニン	ACA、ACC、ACG、ACU
V	Val	バリン	GUA、GUC、GUG、GUU
W	Trp	トリプトファン	UGG
Y	Tyr	チロシン	UAC、UAU

【０１４３】

本発明の抗ＴＮＦ抗体は、本明細書で特定されるように、自然変異又はヒトによる操作のいずれかによる、１つ又は２つ以上のアミノ酸の置換、欠失、又は付加を含み得る。

【０１４４】

当然のことながら、当業者が行い得るアミノ酸置換の数は、上述のものを含む数多くの要因に依存する。概して、任意の所与の抗ＴＮＦ抗体、断片又は変異体についてのアミノ酸置換、挿入、又は欠失の数は、本明細書で特定されるように、４０、３０、２０、１９、１８、１７、１６、１５、１４、１３、１２、１１、１０、９、８、７、６、５、４、３、２、１、例えば、１～３０、又はこの中の任意の範囲若しくは値を超えない。

【０１４５】

機能上不可欠である本発明の抗ＴＮＦ抗体内のアミノ酸は、部位特異的変異誘発又はアラニンスキャニング変異誘発などの、当該技術分野において既知の方法により特定することができる（例えば、上記のＡｕｓｕｂｅｌ、第８，１５章；Ｃｕｎｎｉｎｇｈａｍ及びＷｅｌｌｓ，Ｓｃｉｅｎｃｅ　２４４：１０８１－１０８５　（１９８９））。後者の手順では、分子内の残基毎に単個のアラニンによる変異を導入する。次いで、結果として得られた変異分子は、例えば、少なくとも１つのＴＮＦ中和活性などがあるがこれに限定されない生物学的活性について試験される。抗体結合にとってきわめて重要である部位も、結晶化、核磁気共鳴又は光親和性標識などの構造分析によって特定することができる（Ｓｍｉｔｈら、「Ｊ．Ｍｏｌ．Ｂｉｏｌ．」第２２４巻第８９９～９０４頁（１９９２年）及びｄｅ　Ｖｏｓら、「Ｓｃｉｅｎｃｅ」第２５５巻第３０６～３１２頁（１９９２年））。

【０１４６】

本発明の抗ＴＮＦ抗体は、配列番号１、２、３、４、５、６のうちの少なくとも１つの隣接アミノ酸のうちの１個～全てから選択された、少なくとも１つの部分、配列又は組み合わせを含むことができるが、これらに限定されない。

【０１４７】

抗ＴＮＦ抗体は更に、任意選択的に、配列番号７、８のうちの少なくとも１つの、隣接アミノ酸の７０～１００％の少なくとも１つのポリペプチドを含み得る。

【０１４８】

一実施形態では、免疫グロブリン鎖又はその一部分（例えば、可変領域、ＣＤＲ）のアミノ酸配列は、配列番号７、８のうちの少なくとも１つの対応する鎖のアミノ酸配列と、約７０～１００％の同一性（例えば、７０、７１、７２、７３、７４、７５、７６、７７、７８、７９、８０、８１、８２、８３、８４、８５、８６、８７、８８、８９、９０、９１、９２、９３、９４、９５、９６、９７、９８、９９、１００、又はこの中の任意の範囲若しくは値）を有する。例えば、軽鎖可変領域のアミノ酸配列を、配列番号８の配列と比較することができ、又は重鎖ＣＤＲ３のアミノ酸配列を配列番号７と比較することができる。好ましくは、７０～１００％のアミノ酸同一性（すなわち、９０、９１、９２、９３、９４、９５、９６、９７、９８、９９、１００、又はこの中の任意の範囲若しくは値）は、当該技術分野において既知であるように、好適なコンピュータアルゴリズムを使用して決定される。

【０１４９】

例示的な重鎖及び軽鎖可変領域の配列は、配列番号７、８に示されている。本発明の抗体又はその特定された変異体は、本発明の抗体から任意の数の隣接アミノ酸残基を含み得、その数は、抗ＴＮＦ抗体における隣接残基数の１０～１００％からなる整数の群から選択される。任意選択的に、隣接アミノ酸のこの部分配列は、少なくとも約１０、２０、３０、４０、５０、６０、７０、８０、９０、１００、１１０、１２０、１３０、１４０、１５０、１６０、１７０、１８０、１９０、２００、２１０、２２０、２３０、２４０、２５０以上のアミノ酸長、又はその中の任意の範囲若しくは値である。更に、かかる部分配列の数は、少なくとも２、３、４、又は５などの、１～２０からなる群から選択される任意の整数であり得る。

【０１５０】

当業者には明らかとなるように、本発明には、本発明の少なくとも１つの生物学的活性抗体が含まれている。生物学的活性抗体は、天然（非合成）、内因性又は関連する及び既知の抗体のものの、少なくとも２０％、３０％又は４０％、及び好ましくは少なくとも５０％、６０％又は７０％、及び最も好ましくは少なくとも８０％、９０％又は９５％～１００％の比活性を有する。酵素活性及び基質特異性のアッセイ及び定量化測定の方法は、当業者には周知である。

【０１５１】

別の態様では、本発明は、有機部分の共有結合により修飾される、本明細書に記載されるヒト抗体及び抗原結合断片に関する。かかる修飾は、改善された薬物動態特性（例えば、インビボでの血清半減期の増大）を有する抗体又は抗原結合断片を産生することができる。有機部分は、直鎖又は分枝鎖親水性ポリマー基、脂肪酸基、又は脂肪酸エステル基であることができる。特定の実施形態では、親水性ポリマー基は、分子量が約８００～約１２０，０００ダルトンであって、ポリアルカングリコール（例えば、ポリエチレングリコール（ＰＥＧ）、ポリプロピレングリコール（ＰＰＧ））、炭水化物ポリマー、アミノ酸ポリマー又はポリビニルピロリドンであり得、脂肪酸基又は脂肪酸エステル基は、約８～約４０個の炭素原子を含み得る。

【０１５２】

本発明の修飾された抗体及び抗原結合断片は、直接的又は間接的に抗体に共有結合される、１つ又は２つ以上の有機部分を含み得る。本発明の抗体又は抗原結合断片に結合される各有機部分は、独立して、親水性ポリマー基、脂肪酸基、又は脂肪酸エステル基であり得る。本明細書で使用するとき、「脂肪酸」という用語は、モノカルボン酸及びジカルボン酸を包含する。本明細書で使用するとき、「親水性ポリマー基」という用語は、オクタンよりも水に対する溶解度が高い有機ポリマーを意味する。例えば、ポリリシンは、オクタンよりも水に対する溶解度が高い。よって、ポリリシンの共有結合により修飾された抗体は、本発明に包含される。本発明の抗体を修飾するのに好適な親水性ポリマーは、直線

状又は分岐状であり得、例えば、ポリアルカングリコール（例えば、ＰＥＧ、モノメトキシ－ポリエチレングリコール（ｍＰＥＧ）、ＰＰＧなど）、炭水化物（例えば、デキストラン、セルロース、オリゴ糖、多糖など）、親水性アミノ酸のポリマー（例えば、ポリリシン、ポリアルギニン、ポリアスパラギン酸など）、ポリアルカンオキシド（例えば、ポリエチレンオキシド、ポリプロピレンオキシドなど）、及びポリビニルピロリドンを含む。好ましくは、本発明の抗体を修飾する親水性ポリマーは、個別の分子体として、約８００～約１５０，０００ダルトンの分子量を有する。例えば、PEG_{5000}及び$PEG_{20,000}$を使用することができ、下付き文字は、ポリマーの平均分子量（ダルトン）である。親水性ポリマー基は、１～約６個のアルキル基、脂肪酸基又は脂肪酸エステル基で置換することができる。脂肪酸又は脂肪酸エステル基で置換される親水性ポリマー類は、好適な方法を利用することによって調製することができる。例えば、アミン基を含むポリマーを、脂肪酸又は脂肪酸エステルのカルボン酸塩に連結させることができ、脂肪酸又は脂肪酸エステル上の活性化カルボン酸塩（例えば、Ｎ，Ｎ－カルボニルジイミダゾールで活性化されている）をポリマー上のヒドロキシル基に連結させることができる。

【０１５３】

本発明の抗体を修飾するために好適な脂肪酸及び脂肪酸エステルは、飽和されてもよいし、又は１つ又は２つ以上の不飽和単位を含有してもよい。本発明の抗体を修飾するのに好適な脂肪酸としては、例えば、ｎ－ドデカン酸塩（C_{12}、ラウリン酸塩）、ｎ－テトラデカン酸塩（C_{14}、ミリスチン酸塩）、ｎ－オクタデカン酸塩（C_{18}、ステアリン酸塩）、ｎ－エイコサン酸塩（C_{20}、アラキジン酸塩）、ｎ－ドコサン酸塩（C_{22}、ベヘン酸）、ｎ－トリアコンタン酸塩（C_{30}）、ｎ－テトラコンタン酸塩（C_{40}）、シス－Δ９－オクタデカン酸塩（C_{18}、オレイン酸塩）、全てのシス－Δ５，８，１１，１４－エイコサテトラエン酸塩（C_{20}、アラキドン酸塩）、オクタンジオン酸、テトラデカンジオン酸、オクタデカンジオン酸、ドコサンジオン酸などが挙げられる。好適な脂肪酸エステルは、直鎖又は分枝鎖の低級アルキル基を含む、ジカルボン酸のモノエステルを含む。低級アルキル基は、１～約１２個、好ましくは１～約６個の炭素原子を含み得る。

【０１５４】

修飾ヒト抗体及び抗原結合断片は、１つ又は２つ以上の修飾剤と反応させるなど、好適な方法を使用して調製することができる。本明細書で使用されるとき、「修飾剤」という用語は、活性化基を含む好適な有機基（例えば、親水性ポリマー、脂肪酸、脂肪酸エステル）を意味する。「活性化基」とは、適切な条件下で第２の化学基と反応し、これにより修飾剤と第２の化学基との間に共有結合を形成することのできる、化学部分又は官能基である。例えば、アミン反応性活性化基は、トシル酸塩、メシル酸塩、ハロ（クロロ、ブロモ、フルオロ、ヨード）などの求電子性基、Ｎ－ヒドロキシスクシニミジルエステル（ＮＨＳ）などを含む。チオール類と反応可能な活性化基としては、例えば、マレイミド、ヨードアセチル、アクリロリル、ピリジルジスルフィド、５－チオール－２－ニトロ安息香酸チオール（ＴＮＢ－チオール）などが挙げられる。アルデヒド官能基は、アミン－又はヒドラジド－含有分子と連結することができ、アジド基は、三価リン基と反応してホスホルアミデート又はホスホルイミド結合を形成することができる。分子中に活性化基を導入するための好適な方法が、当該技術分野において既知である（例えば、Ｈｅｒｍａｎｓｏｎ，Ｇ．Ｔ．、「Ｂｉｏｃｏｎｊｕｇａｔｅ　Ｔｅｃｈｎｉｑｕｅｓ」、Ａｃａｄｅｍｉｃ　Ｐｒｅｓｓ：Ｓａｎ　Ｄｉｅｇｏ，ＣＡ（１９９６年）を参照されたい）。活性化基は、有機基（例えば、親水性ポリマー、脂肪酸、脂肪酸エステル）に直接的に、又はリンカ部分、例えば、二価のC_1～C_{12}基（ここで、１つ又は２つ以上の炭素原子は酸素、窒素、又は硫黄などのヘテロ原子で置換され得る）を介して、結合することができる。好適なリンカ部分は、例えば、テトラエチレングリコール、－（CH_2）$_3$－、－ＮＨ－（CH_2）$_6$－ＮＨ－、－（CH_2）$_2$－ＮＨ－及び－CH_2－Ｏ－CH_2－CH_2－Ｏ－CH_2－CH_2－Ｏ－ＣＨ－ＮＨ－を含む。リンカ部分を含む修飾剤は、例えば１－エチル－３－（３－ジメチルアミノプロピル）カルボジイミド（ＥＤＣ）の存在下で、モノ－

Ｂｏｃ－アルキルジアミン（例えば、モノ－Ｂｏｃ－エチレンジアミン、モノ－Ｂｏｃ－ジアミノヘキサン）を脂肪酸と反応させることにより、遊離アミンと脂肪酸カルボキシレートとの間のアミド結合を形成することによって産生可能である。Ｂｏｃ保護基を、トリフルオロ酢酸（ＴＦＡ）処理により産物から除去し、記載されているように別のカルボン酸塩にカップリングできる一級アミンを露出させることができ、又はこれを無水マレイン酸と反応させ、得られる生成物を環化させて脂肪酸の活性化マレイミド誘導体を生成することができる。（例えば、参照により教示の全体が本明細書に組み込まれる、Ｔｈｏｍｐｓｏｎらの国際公開第９２／１６２２１号を参照のこと。）

【０１５５】

本発明の修飾された抗体は、ヒト抗体又は抗原結合断片を修飾剤と反応させることによって生成することができる。例えば、有機部分は、アミン反応性修飾剤、例えば、ＰＥＧのＮＨＳエステルを利用して、部位特異的なものではない方法で抗体に結合させることができる。抗体又は抗原結合断片のジスルフィド結合（例えば、鎖内ジスルフィド結合）を還元することによって、修飾されたヒト抗体又は抗原結合断片を調製することもできる。このとき、還元された抗体又は抗原結合断片をチオール反応性修飾剤と反応させて、本発明の修飾された抗体を産生することが可能である。本発明の抗体の特定の部位に結合される有機部分を含む修飾されたヒト抗体及び抗原結合断片は、逆タンパク質分解（Ｆｉｓｃｈら、「Ｂｉｏｃｏｎｊｕｇａｔｅ　Ｃｈｅｍ．」第３巻第１４７～１５３頁（１９９２年）、Ｗｅｒｌｅｎら、「Ｂｉｏｃｏｎｊｕｇａｔｅ　Ｃｈｅｍ．」第５巻第４１１～４１７頁（１９９４年）、Ｋｕｍａｒａｎら、「Ｐｒｏｔｅｉｎ　Ｓｃｉ．」第６巻第１０号２２３３－２２４１　（１９９７）；Ｉｔｏｈら、「Ｂｉｏｏｒｇ．Ｃｈｅｍ．」第２４巻第１号第５９～６８頁（１９９６年）、Ｃａｐｅｌｌａｓら、「Ｂｉｏｔｅｃｈｎｏｌ．Ｂｉｏｅｎｇ．」第５６巻第４号第４５６～４６３頁（１９９７年））及びＨｅｒｍａｎｓｏｎ，Ｇ．Ｔ．、「Ｂｉｏｃｏｎｊｕｇａｔｅ　Ｔｅｃｈｎｉｑｕｅｓ」、Ａｃａｄｅｍｉｃ　Ｐｒｅｓｓ：Ｓａｎ　Ｄｉｅｇｏ，ＣＡ（１９９６年）に記載される方法などの好適な方法を使用して調製することができる。

【０１５６】

抗Ｔｎｆ抗体組成物に対する抗イディオタイプ抗体。モノクローナル又はキメラ抗ＴＮＦ抗体に加えて、本発明は、本発明のかかる抗体に特異的な抗イディオタイプ（抗Ｉｄ）抗体にも関する。抗Ｉｄ抗体は、一般に別の抗体の抗原結合領域に関連する固有の決定基を認識する抗体である。抗Ｉｄは、Ｉｄ抗体源と同じ種及び遺伝子型の動物（例えばマウス株）を、抗体又はそのＣＤＲ含有領域により免疫することによって調製することができる。免疫された動物は、免疫する抗体のイディオタイプ決定基を認識かつ応答し、抗Ｉｄ抗体を産生する。抗Ｉｄ抗体は、更に別の動物で免疫応答を誘導する「免疫原」としても使用され得、いわゆる抗－抗Ｉｄ抗体を生成する。

【０１５７】

抗Ｔｎｆ抗体組成物。本発明はまた、本明細書に記載され、かつ／又は当該技術分野において既知であるように、非自然発生組成物、混合物、又は形態で提供される少なくとも１つ、少なくとも２つ、少なくとも３つ、少なくとも４つ、少なくとも５つ、少なくとも６つ、又はそれ以上のその抗ＴＮＦ抗体を含む、少なくとも１つの抗ＴＮＦ抗体組成物も提供する。かかる組成物は、配列番号１、２、３、４、５、６、７、８の隣接アミノ酸の７０～１００％、又はその特定される断片、ドメイン若しくは変異体からなる群から選択される抗ＴＮＦ抗体のアミノ酸配列の少なくとも１つ又は２つの完全長、Ｃ及び／若しくはＮ末端欠失変異体、ドメイン、断片、又はその特定される変異体を含む非自然発生組成物を含む。好ましい抗ＴＮＦ抗体組成物は、配列番号１、２、３、４、５、６の７０～１００％の抗ＴＮＦ抗体、又はその特定された断片、ドメイン若しくは変異体の、少なくとも１つのＣＤＲ又はＬＢＲ含有部分として少なくとも１つ又は２つの完全長、断片、ドメイン、又は変異体を含む。更に好ましい組成物は、配列番号１、２、３、４、５、６の７０～１００％、又は特定された断片、ドメイン若しくはその変異体のうちの少なくとも１つを４０～９９％含む。このような組成物の百分率は、当該技術分野において既知である

ように、又は本明細書に記載されるように、重量、体積、濃度、容量モル濃度、あるいは液体若しくは乾燥溶液、混合物、懸濁液、エマルジョン、又はコロイドとしての重量モル濃度によるものである。

【０１５８】

本発明の抗ＴＮＦ抗体組成物は更に、かかる調節、治療又は療法を必要としている細胞、組織、器官、動物又は患者に対する少なくとも１つの抗ＴＮＦ抗体を含み、任意選択的に、少なくとも１つのＴＮＦ拮抗薬（例えば、ＴＮＦ抗体若しくは断片、可溶性ＴＮＦ受容体若しくは断片、それらの融合タンパク質、又は小分子ＴＮＦ拮抗薬などであるが、これらに限定されない）、抗リウマチ薬（例えば、メトトレキサート、オーラノフィン、アウロチオグルコース、アザチオプリン、エタネルセプト、金チオリンゴ酸ナトリウム、硫酸ヒドロキシクロロキン、レフルノミド、スルファサラジン）、筋弛緩剤、麻酔薬（narcotic）、非ステロイド性抗炎症薬（ＮＳＡＩＤ）、鎮痛剤、麻酔薬（anesthetic）、鎮静剤、局所麻酔薬、神経筋ブロッカ、抗菌剤（例えば、アミノグリコシド、抗真菌剤、駆虫薬、抗ウイルス剤、カルバペネム、セファロスポリン、フルオロキノロン、マクロライド、ペニシリン、スルホンアミド、テトラサイクリン、その他の抗菌剤）、抗乾癬剤、コルチコステロイド、アナボリックステロイド、糖尿病関連薬、ミネラル、栄養薬、甲状腺薬、ビタミン、カルシウム関連ホルモン、止瀉剤、鎮咳剤、制吐剤、抗潰瘍剤、緩下剤、抗凝固薬、エリスロポイエチン（例えば、エポエチンα）、フィルグラスチム（例えばＧ－ＣＳＦ、Ｎｅｕｐｏｇｅｎ）、サルグラモスチム（ＧＭ－ＣＳＦ、Ｌｅｕｋｉｎｅ）予防接種、免疫グロブリン、免疫抑制薬（例えば、バシリキシマブ、シクロスポリン、ダクリズマブ）、成長ホルモン、ホルモン補充薬、エストロゲン受容体調節薬、散瞳薬、毛様筋調節薬、アルキル化剤、抗代謝剤、有糸分裂阻害剤、放射性医薬品、抗うつ薬、抗躁病薬、抗精神病薬、抗不安薬、催眠薬、交感神経作動薬、刺激薬、ドネペジル、タクリン、喘息薬、β作動薬、吸入ステロイド、ロイコトリエン阻害薬、メチルキサンチン、クロモリン、エピネフリン又は類似薬、ドルナーゼα（Ｐｕｌｍｏｚｙｍｅ）、サイトカイン又はサイトカイン拮抗薬から選択される少なくとも１つを更に含む、任意の好適かつ有効量の組成物又は医薬組成物のうちの少なくとも１つを含み得る。このようなサイトカインの非限定的な例としては、ＩＬ－１～ＩＬ－２３のいずれかが挙げられるが、これらに限定されない。好適な投与量は、当該技術分野において周知である。例えば、Ｗｅｌｌｓら編、「Ｐｈａｒｍａｃｏｔｈｅｒａｐｙ Ｈａｎｄｂｏｏｋ」第２版、Ａｐｐｌｅｔｏｎ ａｎｄ Ｌａｎｇｅ、Ｓｔａｍｆｏｒｄ，ＣＴ（２０００年）、「ＰＤＲ Ｐｈａｒｍａｃｏｐｏｅｉａ，Ｔａｒａｓｃｏｎ Ｐｏｃｋｅｔ Ｐｈａｒｍａｃｏｐｏｅｉａ ２０００」特別版、Ｔａｒａｓｃｏｎ Ｐｕｂｌｉｓｈｉｎｇ、Ｌｏｍａ Ｌｉｎｄａ，ＣＡ（２０００年）を参照されたく、これらの各々は、参照により全体が本明細書に組み込まれる。

【０１５９】

このような抗がん剤又は抗感染薬は、本発明の少なくとも１つの抗体と関連、結合、同時処方、又は併用される毒素分子も含み得る。毒素は、病態細胞又は組織を選択的に死滅させるように、任意選択的に作用させることができる。病態細胞は、がん細胞又は他の細胞であり得る。このような毒素は、これらに限定するものではないが、例えば、リシン、ジフテリア毒素、ヘビ毒素、又は細菌毒素の少なくとも１つから選択される、毒素の少なくとも１つの機能的細胞傷害性ドメインを含む、精製若しくは組換え毒素又は毒素断片であり得る。毒素という用語はまた、ヒト及び他の哺乳動物において、死に至り得る毒素性ショックを含む、任意の病態をもたらし得る任意の自然発生、変異、又は組換えの細菌又はウイルスによって産生される内毒素及び外毒素の両方を含む。かかる毒素としては、腸管毒素原性大腸菌（E.coli）熱不安定性エンテロトキシン（ＬＴ）、熱安定性エンテロトキシン（ＳＴ）、赤痢菌細胞毒素、アエロモナス属エンテロトキシン、毒素性ショック症候群毒素－１（ＴＳＳＴ－１）、ブドウ球菌エンテロトキシンＡ（ＳＥＡ）、Ｂ（ＳＥＢ）、又はＣ（ＳＥＣ）、連鎖球菌エンテロトキシンなどを挙げることができるが、これらに限定されない。かかる細菌としては、腸管毒素原性大腸菌（Ｅ．ｃｏｌｉ）（ＥＴＥ

Ｃ）、腸管出血性大腸菌（E.coli）（例えば血清型０１５７の株：Ｈ７）、ブドウ球菌（Staphylococcus）種（例えば、黄色ブドウ球菌、スタフィロコッカス－ピオゲネス（Staphylococcus aureus））、赤痢菌（Shigella）種（例えば、志賀赤痢菌（Shigella dysenteriae）、フレクスナー赤痢菌（Shigella flexneri）、ボイド赤痢菌（Shigella boydii）及びソンネ赤痢菌（Shigella sonnei））、サルモネラ（Salmonella）種（例えば、腸チフス菌、サルモネラコレラ－スイス、サルモネラエンテリティディス）、クロストリジウム種（例えば、クロストリジウム－パーフリンジェンス（Clostridium perfringens）、クロストリジウム－ディフィシル（Clostridium dificile）、クロストリジウム－ボツリヌス（Clostridium botulinum））、カンピロバクタ（Camphlobacter）種（例えば、カンピロバクター－ジュジュニ（Camphlobacter jejuni）、カンピロバクター－フィータス（Camphlobacter fetus））、ヘリコバクタ（Heliocbacter）種（例えば、ヘリコバクター－ピロリ（Heliocbacter pylori））、アエロモナス（Aeromonas）種（例えば、アエロモナス－ソブリア（Aeromonas sobria）、アエロモナス－ハイドロフィラ（Aeromonas hydrophila）、アエロモナス－キャビエ（Aeromonas caviae））、プレシオモナス－シゲロイデス（Pleisomonas shigelloides）、腸炎エルシニア（Yersinia enterocolitica）、ビブリオ（Vibrio）種（例えば、コレラ菌（Vibrio cholerae）、ビブリオ－パラヘモリティカス（Vibrio parahemolyticus））、クレブシエラ（Klebsiella）種、緑膿菌（Pseudomonas aeruginosa）、及び連鎖球菌（Streptococci）の種の株が挙げられるが、これらに限定されない。例えば、Ｓｔｅｉｎ編、「ＩＮＴＥＲＮＡＬ　ＭＥＤＩＣＩＮＥ」第３版第１～１３頁、Ｌｉｔｔｌｅ，Ｂｒｏｗｎ　ａｎｄ　Ｃｏ．，Ｂｏｓｔｏｎ（１９９０年）、Ｅｖａｎｓら編、「Ｂａｃｔｅｒｉａｌ　Ｉｎｆｅｃｔｉｏｎｓ　ｏｆ　Ｈｕｍａｎｓ：Ｅｐｉｄｅｍｉｏｌｏｇｙ　ａｎｄ　Ｃｏｎｔｒｏｌ」第２版第２３９～２５４頁、Ｐｌｅｎｕｍ　Ｍｅｄｉｃａｌ　Ｂｏｏｋ　Ｃｏ．、Ｎｅｗ　Ｙｏｒｋ（１９９１年）、Ｍａｎｄｅｌｌら、「Ｐｒｉｎｃｉｐｌｅｓ　ａｎｄ　Ｐｒａｃｔｉｃｅ　ｏｆ　Ｉｎｆｅｃｔｉｏｕｓ　Ｄｉｓｅａｓｅｓ」第３版、Ｃｈｕｒｃｈｉｌｌ　Ｌｉｖｉｎｇｓｔｏｎｅ，Ｎｅｗ　Ｙｏｒｋ（１９９０年）、Ｂｅｒｋｏｗら編、「Ｔｈｅ　Ｍｅｒｃｋ　Ｍａｎｕａｌ」第１６版、Ｍｅｒｃｋ　ａｎｄ　Ｃｏ．，Ｒａｈｗａｙ，Ｎ．Ｊ．（１９９２年）、Ｗｏｏｄｓ、「ＦＥＭＳ　Ｍｉｃｒｏｂｉｏｌｏｇｙ　Ｉｍｍｕｎｏｌｏｇｙ」第７６巻第１２１～１３４頁（１９９１年）、Ｍａｒｒａｃｋら、「Ｓｃｉｅｎｃｅ」第２４８巻第７０５～７１１頁（１９９０年）を参照のこと（これらの文献の内容は、参照により全体が本明細書に組み込まれる）。

【０１６０】

本発明の抗ＴＮＦ抗体化合物、組成物又は混合物は更に、希釈剤、結合剤、安定剤、緩衝剤、塩、親油性溶媒、保存剤、アジュバントなどであるがこれらに限定されない、任意の好適な助剤のうちの少なくとも１つを含み得る。薬学的に許容される助剤が好ましい。かかる滅菌溶液を調製する非限定的な例及びその方法は、当該技術分野において周知であり、例えば、Ｇｅｎｎａｒｏ編、「Ｒｅｍｉｎｇｔｏｎ’ｓ　Ｐｈａｒｍａｃｅｕｔｉｃａｌ　Ｓｃｉｅｎｃｅｓ」第１８版、Ｍａｃｋ　Ｐｕｂｌｉｓｈｉｎｇ　Ｃｏ．（Ｅａｓｔｏｎ，ＰＡ）（１９９０年）などであるが、これに限定されない。当該技術分野において周知、又は本明細書に記載されるように、抗ＴＮＦ抗体、断片、又は変異体組成物の投与方法、溶解度、及び／又は安定性に好適な薬学的に許容できる担体を、日常的に選択することができる。

【０１６１】

本組成物において有用な製薬学的添加物及び添加剤は、これらに限定されないが、タンパク質、ペプチド、アミノ酸、脂質及び炭水化物（例えば、単糖類、二糖、三糖、四糖、及びオリゴ糖を含む糖類、アルジトール、アルドン酸、エステル化糖などの誘導体化糖、並びに多糖類又は糖ポリマー）を含み、これらは、単独で又は組み合わせて存在してよく、単独で又は組み合わせて１～９９．９９重量％又は体積％含まれる。例示的なタンパク質添加物には、ヒト血清アルブミン（ＨＳＡ）などの血清アルブミン、組換えヒトアルブ

ミン（ｒＨＡ）、ゼラチン、カゼインなどを含む。緩衝能においても機能し得る代表的なアミノ酸／抗体構成要素には、アラニン、グリシン、アルギニン、ベタイン、ヒスチジン、グルタミン酸、アスパラギン酸、システイン、リシン、ロイシン、イソロイシン、バリン、メチオニン、フェニルアラニン、アスパルテームなどが挙げられる。好ましいアミノ酸の１つはグリシンである。

【０１６２】

本発明に使用するのに好適な炭水化物添加物としては、例えば、フルクトース、マルトース、ガラクトース、グルコース、Ｄ－マンノース、ソルボースなどの単糖類、ラクトース、スクロース、トレハロース、セロビオースなどの二糖類、ラフィノース、メレジトース、マルトデキストリン、デキストラン、デンプン類などの多糖類、マンニトール、キシリトール、マルチトール、ラクチトール、キシリトールソルビトール（グルシトール）、ミオイノシトールなどのアルジトールが挙げられる。本発明で使用するのに好ましい炭水化物添加物は、マンニトール、トレハロース、及びラフィノースである。

【０１６３】

抗ＴＮＦ抗体組成物は、緩衝剤又はｐＨ調整剤も含み得、典型的には、緩衝剤は、有機酸又は塩基から調製される塩である。代表的な緩衝剤としては、クエン酸、アスコルビン酸、グルコン酸、炭酸、酒石酸、コハク酸、酢酸、又はフタル酸の塩などの有機酸塩、トリス、トロメタミン塩酸塩、又はリン酸緩衝剤が挙げられる。本組成物における使用に好ましい緩衝剤は、クエン酸塩などの有機酸塩である。

【０１６４】

加えて、本発明の抗ＴＮＦ抗体組成物は、ポリビニルピロリドン、フィコール（ポリマー糖）、デキストレート（例えば、２－ヒドロキシプロピル－β－シクロデキストリンなどのシクロデキストリン）、ポリエチレングリコール、着香剤、抗菌剤、甘味料、抗酸化剤、帯電防止剤、界面活性剤（例えば、「ＴＷＥＥＮ２０」及び「ＴＷＥＥＮ８０」などのポリソルベート）、脂質（例えば、リン脂質、脂肪酸）、ステロイド（例えば、コレステロール）、及びキレート剤（例えば、ＥＤＴＡ）などのポリマー添加物／添加剤を含み得る。

【０１６５】

本発明による抗ＴＮＦ抗体、部分又は変異体組成物における使用に適したこれら及び追加の既知の製薬学的添加物及び／又は添加剤は、当該技術分野において既知であり、例えば、「Ｒｅｍｉｎｇｔｏｎ：Ｔｈｅ　Ｓｃｉｅｎｃｅ＆Ｐｒａｃｔｉｃｅ　ｏｆ　Ｐｈａｒｍａｃｙ」、１９th　ｅｄ．，Ｗｉｌｌｉａｍｓ＆Ｗｉｌｌｉａｍｓ，（１９９５）、及び「Ｐｈｙｓｉｃｉａｎ’ｓ　Ｄｅｓｋ　Ｒｅｆｅｒｅｎｃｅ」、５２nd　ｅｄ，Ｍｅｄｉｃａｌ　Ｅｃｏｎｏｍｉｃｓ，Ｍｏｎｔｖａｌｅ，ＮＪ（１９９８）に列挙されており、これらの開示は、参照により全体が本明細書に組み込まれる。好ましい担体又は添加物材料は、炭水化物（例えば、単糖類及びアルジトール）及び緩衝剤（例えば、クエン酸）又はポリマー剤である。

【０１６６】

製剤。上述したとおり、本発明は、好ましくは、生理食塩水又は選択された塩を含むリン酸緩衝剤である安定した製剤、並びに保存剤を含有する保存溶液及び製剤、並びに薬学的に許容できる製剤中に少なくとも１つの抗ＴＮＦ抗体を含む薬剤学的又は獣医学的用途に好適な多用途保存製剤を提供する。保存製剤は、水性希釈剤中に、少なくとも１つの既知の、すなわち少なくとも１つのフェノール、ｍ－クレゾール、ｐ－クレゾール、ｏ－クレゾール、クロロクレゾール、ベンジルアルコール、硝酸フェニル水銀、フェノキシエタノール、ホルムアルデヒド、クロロブタノール、塩化マグネシウム（例えば、六水和物）、アルキルパラベン（メチル、エチル、プロピル、ブチルなど）、塩化ベンザルコニウム、塩化ベンゼトニウム、デヒドロ酢酸ナトリウム、及びチメロサール、又はそれらの混合物からなる群から任意選択的に選択される保存剤を含有する。当該技術分野において既知であるように、０．００１～５％、又は０．００１、０．００３、０．００５、０．００９、０．０１、０．０２、０．０３、０．０５、０．０９、０．１、０．２、０．３、０

．４．、０．５、０．６、０．７、０．８、０．９、１．０、１．１、１．２、１．３、１．４、１．５、１．６、１．７、１．８、１．９、２．０、２．１、２．２、２．３、２．４、２．５、２．６、２．７、２．８、２．９、３．０、３．１、３．２、３．３、３．４、３．５、３．６、３．７、３．８、３．９、４．０、４．３、４．５、４．６、４．７、４．８、４．９、又はその中の任意の範囲若しくは値などであるがこれらに限定されない、その中の任意の範囲若しくは値の、任意の好適な濃度又は混合物が使用され得る。非限定的な例としては、保存剤無添加、０．１～２％のｍ－クレゾール（例えば、０．２、０．３．０．４、０．５、０．９、１．０％）、約０．１～３％のベンジルアルコール（例えば、０．５、０．９、１．１、１．５、１．９、２．０、２．５％）、０．００１～０．５％のチメロサール（例えば、０．００５、０．０１）、０．００１～２．０％のフェノール（例えば、０．０５、０．２５、０．２８、０．５、０．９、１．０％）、０．０００５～１．０％のアルキルパラベン（例えば、０．０００７５、０．０００９、０．００１、０．００２、０．００５、０．００７５、０．００９、０．０１、０．０２、０．０５、０．０７５、０．０９、０．１、０．２、０．３、０．５、０．７５、０．９、１．０％）などが挙げられる。

【０１６７】

上述のとおり、本発明は、包装材と、任意選択的に水性希釈剤中に処方された緩衝剤及び／又は保存剤を伴う少なくとも１つの抗ＴＮＦ抗体の溶液を含む少なくとも１つのバイアルと、を含む製品を提供し、この包装材は、かかる溶液を１、２、３、４、５、６、９、１２、１８、２０、２４、３０、３６、４０、４８、５４、６０、６６、７２時間以上にわたり保持することができることを記したラベルを含む。本発明は、包装材と、凍結乾燥された少なくとも１つの抗ＴＮＦ抗体を含む第１のバイアルと、処方された緩衝剤又は保存剤の水性希釈剤を含む第２のバイアルと、を含む製品を更に含み、この包装材は、少なくとも１つの抗ＴＮＦ抗体を水性希釈剤で再構成して、２４時間以上にわたって保持することができる溶液を形成するように患者に指示するラベルを含む。

【０１６８】

本発明に従って使用される少なくとも１つの抗ＴＮＦ抗体は、本明細書に記載されるか又は当該技術分野において既知の、哺乳類細胞又はトランスジェニック調製物から産生することを含む組換え手段により産生してもよいし、又は他の生物源から精製してもよい。

【０１６９】

本発明の製品中に含まれる、少なくとも１つの抗ＴＮＦ抗体の範囲は、湿式／乾式系の場合、再構成時に約１．０μｇ／ｍｌ～約１０００ｍｇ／ｍｌの範囲の濃度が得られる量で含まれるが、これより低い濃度及び高い濃度でも作業可能であり、これらの濃度は意図される送達ビヒクルによって決まり、例えば溶液製剤では、経皮パッチ、肺、経粘膜、又は浸透圧性若しくはマイクロポンプ方法とは異なる。

【０１７０】

好ましくは、水性希釈剤は任意選択的に、医薬的に許容される保存剤を更に含む。好ましい保存剤には、フェノール、ｍ－クレゾール、ｐ－クレゾール、ｏ－クレゾール、クロロクレゾール、ベンジルアルコール、アルキルパラベン（メチル、エチル、プロピル、ブチルなど）、塩化ベンザルコニウム、塩化ベンゼトニウム、デヒドロ酢酸ナトリウム及びチメロサール又はこれらの混合物からなる群から選択されるものが含まれる。製剤中で使用される保存剤の濃度は、抗菌効果を生み出すのに充分な濃度である。かかる濃度は選択された保存剤によって異なり、当業者により容易に決定される。

【０１７１】

他の添加物、例えば、等張剤、緩衝剤、抗酸化剤、保存剤エンハンサは、任意選択的に及び好ましくは希釈剤に添加することができる。グリセリンなどの等張剤が、既知の濃度で一般に使用される。好ましくは、生理学的に耐性の緩衝剤を添加して、改善されたｐＨ制御を提供する。製剤は、約ｐＨ４～約ｐＨ１０、及び好ましくは約ｐＨ５～約ｐＨ９の範囲、及び最も好ましくは約６．０～約８．０の範囲などの、広範囲のｐＨ範囲を対象とすることができる。好ましくは、本発明の製剤は、約６．８～約７．８のｐＨを有する。

好適な緩衝剤には、リン酸塩緩衝剤を含み、最も好ましくは、リン酸ナトリウム、特にリン酸塩緩衝生理食塩水（ＰＢＳ）を含む。

【０１７２】

他の添加剤、例えばＴｗｅｅｎ２０（ポリオキシエチレン（２０）ソルビタンモノラウレート）、Ｔｗｅｅｎ４０（ポリオキシエチレン（２０）ソルビタンモノパルミテート）、Ｔｗｅｅｎ８０（ポリオキシエチレン（２０）ソルビタンモノオレエート）、Ｐｌｕｒｏｎｉｃ　Ｆ６８（ポリオキシエチレンポリオキシプロピレンブロックコポリマー）、及びＰＥＧ（ポリエチレングリコール）などの、薬学的に許容できる可溶化剤、又はポリソルベート２０若しくは８０又はポロキサマー１８４若しくは１８８、Ｐｌｕｒｏｎｉｃ（登録商標）ポリオールなどの非イオン性界面活性剤、その他のブロックコポリマー、並びにＥＤＴＡ及びＥＧＴＡなどのキレート剤を製剤又は組成物に任意選択的に添加することで、凝集を低減させることができる。これらの添加剤は、製剤を投与するためにポンプ又はプラスチック容器が使用される場合に特に有用である。医薬的に許容される界面活性剤の存在により、タンパク質が凝集する傾向が軽減される。

【０１７３】

本発明の製剤は、少なくとも１つの抗ＴＮＦ抗体と、フェノール、ｍ－クレゾール、ｐ－クレゾール、ｏ－クレゾール、クロロクレゾール、ベンジルアルコール、アルキルパラベン（メチル、エチル、プロピル、ブチルなど）、塩化ベンザルコニウム、塩化ベンゼトニウム、デヒドロ酢酸ナトリウム、及びチメロサール又はこれらの混合物からなる群から選択される保存剤と、を水性希釈剤中で混合することを含むプロセスにより調製することができる。少なくとも１つの抗ＴＮＦ抗体と保存剤との水性希釈剤中での混合は、従来の溶解及び混合手順を使用して実施される。好適な製剤を調製するために、例えば、緩衝溶液中の一定量の少なくとも１つの抗ＴＮＦ抗体を、所望の濃度のタンパク質及び保存剤を提供するのに充分な量の緩衝溶液中で所望の保存剤と組み合わせる。このプロセスの変化形態は、当業者によって認識されるであろう。例えば、構成成分の添加順序、追加の添加剤の使用の有無、製剤調製時の温度及びｐＨは全て、使用する投与濃度及び投与手段に関して最適化することのできる因子である。

【０１７４】

特許請求される製剤は、透明な溶液として、又は水、保存剤及び／若しくは賦形剤、好ましくはリン酸塩緩衝剤及び／若しくは生理食塩水、並びに選択された塩を水性希釈剤中に含有する第２のバイアルで再構成される、凍結乾燥された少なくとも１つの抗ＴＮＦ抗体のバイアルを含むデュアルバイアル（dual vial）として患者に提供することができる。単一溶液バイアル又は再構成を必要とするデュアルバイアルはいずれも複数回再利用することができ、単一又は複数の患者治療サイクルを満たすことができ、したがって、現在使用できるよりも便利な治療レジメンを提供することができる。

【０１７５】

特許請求される本製品は、即時から２４時間以上の期間にわたる投与に有用である。したがって、本発明により特許請求される製品は、患者に大きな利益を提供する。本発明の製剤は、任意選択的に、約２～約４０℃の温度で安全に保存することができ、タンパク質の生物学的活性を長期間保持することができ、したがって、包装ラベルで、溶液を６、１２、１８、２４、３６、４８、７２、又は９６時間以上保持及び／又は使用し得ることを示すことができる。保存されている希釈剤を使用する場合には、かかるラベルに最高１～１２か月、半年、１年半、及び／又は２年までの使用を含むことができる。

【０１７６】

本発明の少なくとも１つの抗ＴＮＦ抗体の溶液は、少なくとも１つの抗体を水性希釈剤中で混合することを含むプロセスにより調製することができる。混合は、従来の溶解及び混合手順を使用して実施される。好適な希釈剤を調製するために、例えば、水又は緩衝剤中の一定量の少なくとも１つの抗体を、所望の濃度のタンパク質、及び任意選択的に保存剤又は緩衝剤を提供するのに充分な量で組み合わせる。このプロセスの変化形態は、当業者によって認識されるであろう。例えば、構成成分の添加順序、追加の添加剤の使用の有

無、製剤調製時の温度及びｐＨは全て、使用する投与濃度及び投与手段に関して最適化することのできる因子である。

【０１７７】

特許請求される製品は、透明な溶液として、又は水性希釈剤を含有する第２のバイアルで戻される、凍結乾燥された少なくとも１つの抗ＴＮＦ抗体のバイアルを含むデュアルバイアルとして、患者に提供することができる。単一溶液バイアル又は再構成を必要とするデュアルバイアルはいずれも複数回再利用することができ、単一又は複数の患者治療サイクルを満たすことができ、したがって、現在使用できるよりも便利な治療レジメンを提供する。

【０１７８】

特許請求される製品は、透明な溶液、又は水性希釈剤を含有する第２のバイアルで戻される、凍結乾燥された少なくとも１つの抗ＴＮＦ抗体のバイアルを含むデュアルバイアルを、薬局、診療所、又はその他のかかる機関及び施設に提供することによって、患者に対し間接的に提供することができる。この場合の透明溶液は最高１リットル又は更にはそれ以上の容量であってもよく、この大きな容器からより少量の少なくとも１つの抗体溶液を１回又は複数回取り出してより小さなバイアルに移し、かつ薬局又は診療所により顧客及び／又は患者に提供できる。

【０１７９】

これらの単一バイアルシステムを含む承認済みデバイスとしては、Ｂ－Ｄ（登録商標）（ペン型インジェクタデバイス）、ＮＯＶＯＰＥＮ（登録商標）（ペン型インジェクタデバイス）、ＡＵＴＯＰＥＮ（登録商標）（ペン型インジェクタデバイス）、ＯＰＴＩＰＥＮ（登録商標）（ペン型インジェクタデバイス）、ＧＥＮＯＴＲＯＰＩＮ　ＰＥＮ（登録商標）（ペン型インジェクタデバイス）、－ＨＵＭＡＴＲＯＰＥＮ（登録商標）（ペン型インジェクタデバイス）、ＢＩＯＪＥＣＴＯＲ（登録商標）（ペン型インジェクタデバイス）、Ｒｅｃｏ－Ｐｅｎ、Ｈｕｍａｊｅｃｔ、Ｊ－ｔｉｐ　Ｎｅｅｄｌｅ－Ｆｒｅｅ　Ｉｎｊｅｃｔｏｒ、Ｉｎｔｒａｊｅｃｔ、Ｍｅｄｉ－Ｊｅｃｔなどの溶液を送達するためのペン型インジェクタデバイスが挙げられ、例えば、以下により製造又は開発されている：

Ｂｅｃｔｏｎ　Ｄｉｃｋｅｎｓｅｎ（Ｆｒａｎｋｌｉｎ　Ｌａｋｅｓ，ＮＪ，ｗｗｗ．ｂｅｃｔｏｎｄｉｃｋｅｎｓｏｎ．ｃｏｍ），

Ｄｉｓｅｔｒｏｎｉｃ（Ｂｕｒｇｄｏｒｆ，Ｓｗｉｔｚｅｒｌａｎｄ，ｗｗｗ．ｄｉｓｅｔｒｏｎｉｃ．ｃｏｍ；

Ｂｉｏｊｅｃｔ，Ｐｏｒｔｌａｎｄ，Ｏｒｅｇｏｎ（ｗｗｗ．ｂｉｏｊｅｃｔ．ｃｏｍ）、

Ｗｅｓｔｏｎ　Ｍｅｄｉｃａｌ（Ｐｅｔｅｒｂｏｒｏｕｇｈ，ＵＫ，ｗｗｗ．ｗｅｓｔｏｎ－ｍｅｄｉｃａｌ．ｃｏｍ），

Ｍｅｄｉ－Ｊｅｃｔ　Ｃｏｒｐ（Ｍｉｎｎｅａｐｏｌｉｓ，ＭＮ，ｗｗｗ．ｍｅｄｉｊｅｃｔ．ｃｏｍ）により製造された又は開発されたものがある。

【０１８０】

併用バイアル系を含む承認済みデバイスとしては、ＨＵＭＡＴＲＯＰＥＮ（登録商標）（ペン型インジェクタデバイス）などの、再構成した溶液を送達するためのカートリッジ内で凍結乾燥された薬剤を再構成するためのペン型インジェクタシステムが挙げられる。

【０１８１】

ここで特許請求される製品は、包装材を含む。包装材は、規制当局によって必要とされる情報に加えて、製品を使用することができる条件を提供する。本発明の包装材は、少なくとも１つの抗ＴＮＦ抗体を水性希釈剤で再構成して溶液を形成し、２～２４時間以上の期間にわたって、この溶液を湿式／乾式の２つのバイアル製品に使用する、という指示を患者に提供する。単一バイアルの溶液製品の場合、ラベルは、この溶液が２～２４時間以上にわたって使用できることを示す。ここで特許請求される製品は、ヒト用医薬製品用途に有用である。

【０１８２】

本発明の製剤は、少なくとも１つの抗ＴＮＦ抗体及び選択された緩衝剤、好ましくは生理食塩水又は選択された塩を含有するリン酸塩緩衝剤を混合することを含むプロセスにより調製することができる。少なくとも１つの抗体と緩衝剤との水性希釈剤中での混合は、従来の溶解及び混合手順を使用して実施される。好適な製剤を調製するために、例えば、水又は緩衝剤中の一定量の少なくとも１つの抗体を、所望の濃度のタンパク質及び緩衝剤を提供するのに充分な量の水中で所望の緩衝剤と組み合わせる。このプロセスの変化形態は、当業者によって認識されるであろう。例えば、構成成分の添加順序、追加の添加剤の使用の有無、製剤調製時の温度及びｐＨは全て、使用する投与濃度及び投与手段に関して最適化することのできる因子である。

【０１８３】

特許請求される安定又は保存製剤は、透明な溶液として、又は水性希釈剤中に保存剤若しくは緩衝剤及び添加物を含有する第２のバイアルで再構成される、凍結乾燥された少なくとも１つの抗ＴＮＦ抗体のバイアルを含むデュアルバイアルとして、患者に提供することができる。単一溶液バイアル又は再構成を必要とするデュアルバイアルはいずれも複数回再利用することができ、単一又は複数の患者治療サイクルを満たすことができ、したがって、現在使用できるよりも便利な治療レジメンを提供する。

【０１８４】

本明細書に記載される安定若しくは保存製剤又は溶液のいずれかの少なくとも１つの抗ＴＮＦ抗体は、当該技術分野において周知のように、ＳＣ若しくはＩＭ注射、経皮、経肺、経粘膜、埋め込み、浸透圧ポンプ、カートリッジ、マイクロポンプ、又は当業者により理解される他の手段などの様々な送達方法を介して、本発明に従って対象に投与することができる。

【０１８５】

療法適用。本発明は、当該技術分野において既知である、又は本明細書に記載されるように、本発明の少なくとも１つの二重インテグリン抗体を使用して、細胞、組織、器官、動物又は患者における少なくとも１つのＴＮＦ関連疾患を調節又は治療するための方法も提供する。

【０１８６】

本発明は、肥満、免疫関連疾患、循環器疾患、感染症、悪性疾患又は神経学的疾患のうち少なくとも１つを含むがこれらに限定されない、細胞、組織、器官、動物又は患者における少なくとも１つのＴＮＦ関連疾患を調節又は治療するための方法も提供する。

【０１８７】

本発明は、関節リウマチ、若年性、全身性発症若年性関節リウマチ、強直性脊椎炎、強直性脊椎炎、胃潰瘍、血清反応陰性関節症、変形性関節炎、炎症性腸疾患、潰瘍性大腸炎、全身性エリテマトーデス、抗リン脂質症候群、虹彩毛様体炎／ブドウ膜炎／視神経炎、特発性肺線維症、全身性血管炎／ヴェグナー肉芽腫症、サルコイドーシス、精巣炎／精管切除修復術、アレルギー性／アトピー性疾患、喘息、アレルギー性鼻炎、皮膚炎、アレルギー性接触性皮膚炎、アレルギー性結膜炎、過敏性肺炎、移植、器官移植拒絶反応、移植片対宿主病、全身性炎症反応症候群、敗血症症候群、グラム陽性菌敗血症、グラム陰性菌敗血症、培養陰性敗血症、真菌敗血症、好中球減少性発熱、尿性敗血症、髄膜炎菌血症、外傷／出血、熱傷、電離放射線曝露、急性膵炎、成人呼吸窮迫症候群、アルコール性肝炎、慢性炎症性病変、サルコイドーシス、クローン病変、鎌状赤血球貧血症、糖尿病、ネフローゼ、アトピー性疾患、過敏性反応、アレルギー性鼻炎、枯草熱、通年性鼻炎、結膜炎、子宮内膜症、喘息、じん麻疹、全身性アナフィラキシ、皮膚炎、悪性貧血、溶血性疾患、血小板減少症、任意の器官又は組織の移植片拒絶反応、腎移植拒絶反応、心臓移植拒絶反応、肝臓移植拒絶反応、膵臓移植拒絶反応、肺移植拒絶反応、骨髄移植（ＢＭＴ）拒絶反応、皮膚同種移植拒絶反応、軟骨移植拒絶反応、骨移植片拒絶反応、小腸移植拒絶反応、胎児胸腺移植拒絶反応、副甲状腺移植拒絶反応、任意の器官又は組織の異種移植拒絶反応、同種移植拒絶反応、抗受容体過剰反応、グレーブス病、レイノー病、Ｂ型インスリン抵抗性糖尿病、喘息、重症筋無力症、抗体媒介性細胞障害、ＩＩＩ型過敏症反応、全身性

エリテマトーデス、ＰＯＥＭＳ症候群（多発性神経障害、臓器肥大、内分泌障害、単クローン性免疫グロブリン血症、及び皮膚症状症候群）、多発性神経障害、臓器肥大、内分泌障害、単クローン性免疫グロブリン血症、皮膚症状症候群、抗リン脂質症候群、天疱瘡、強皮症、混合性結合組織病、特発性アジソン病、真性糖尿病、慢性活動性肝炎、原発性胆汁性肝硬変、白斑、血管炎、ＭＩ後心臓切開術症候群、ＩＶ型過敏症、接触性皮膚炎、過敏性肺炎、同種移植拒絶反応、細胞内生物による肉芽腫、薬物過敏、代謝性／特発性ウィルソン病、ヘマクロマトーシス、α－１－アンチトリプシン欠乏症、糖尿病性網膜症、橋本甲状腺炎、骨粗鬆症、原発性胆汁性肝硬変、甲状腺炎、脳脊髄炎、悪液質、嚢胞性線維症、新生児慢性肺疾患、慢性閉塞性肺疾患（ＣＯＰＤ）、家族性血食組織のリンパ組織球増多症、皮膚科学的状態、乾癬症、脱毛症、ネフローゼ症候群、腎炎、糸球体腎炎、急性腎不全、血液透析、尿毒症、毒性、子癇前症、ｏｋｔ３療法、抗ｃｄ３療法、サイトカイン療法、化学療法、放射線療法（例えば、無力症、貧血、悪液質などが挙げられるがこれらに限定されない）、慢性サリチル酸塩中毒などの少なくとも１つが挙げられるがそれらに限定されない、細胞、組織、器官、動物又は患者における少なくとも１つの免疫関連疾患を調節又は治療するための方法も提供する。例えば、「Ｍｅｒｃｋ　Ｍａｎｕａｌ」第１２版～第１７版、Ｍｅｒｃｋ＆Ｃｏｍｐａｎｙ、Ｒａｈｗａｙ，ＮＪ（１９７２年、１９７７年、１９８２年、１９８７年、１９９２年、１９９９）、「Ｐｈａｒｍａｃｏｔｈｅｒａｐｙ　Ｈａｎｄｂｏｏｋ」Ｗｅｌｌｓら編、第２版、Ａｐｐｌｅｔｏｎ　ａｎｄ　Ｌａｎｇｅ、Ｓｔａｍｆｏｒｄ，Ｃｏｎｎ．（１９９８年、２０００年）を参照されたく、それぞれは参照することにより全体が組み込まれる。

【０１８８】

本発明は、心機能不全症候群（cardiac stun syndrome）、心筋梗塞、うっ血性心不全、卒中、虚血発作、出血、動脈硬化症、アテローム性動脈硬化症、再狭窄、糖尿病性動脈硬化性疾患、高血圧、動脈性高血圧、腎血管性高血圧、失神、ショック、心血管系の梅毒、心不全、肺性心、原発性肺高血圧、不整脈、心房異所性拍動、心房粗動、心房細動（持続性又は発作性）、還流後症候群、心肺バイパス炎症応答、無秩序型又は多源性心房頻脈、規則的狭ＱＲＳ頻脈（regular narrow QRS tachycardia）、固有不整脈（specific arrhythmias）、心室細動、ヒス束不整脈（His bundle arrhythmias）、房室ブロック、脚ブロック、心筋虚血性疾患、冠動脈疾病、狭心症、心筋梗塞、心筋症、拡張型うっ血性心筋症、拘束型心筋症、心臓弁膜症、心内膜炎、心膜疾患、心臓腫瘍、大動脈瘤及び末梢動脈瘤、大動脈切開、大動脈の炎症、腹部大動脈及びその分岐の閉塞、末梢血管障害、閉塞性動脈障害、末梢アテローム性動脈硬化症、閉塞性血栓性血管炎、機能性末梢動脈障害、レイノー現象及び疾患、先端チアノーゼ、紅痛症、静脈性疾患、静脈血栓症、静脈瘤、動静脈瘻、リンパ浮腫、脂肪性浮腫、不安定狭心症、再灌流傷害、ポンプ後症候群（post pump syndrome）、虚血再灌流傷害などのうちの少なくとも１つを含むがこれらに限定されない、細胞、組織、器官、動物又は患者における、少なくとも１つの循環器疾患を調節又は治療するための方法も提供する。かかる方法は、少なくとも１つの抗ＴＮＦ抗体を含む有効量の組成物又は医薬組成物を、かかる調節、治療又は療法を必要としている細胞、組織、器官、動物又は患者に投与することを、任意選択的に含み得る。

【０１８９】

本発明は、急性又は慢性細菌感染、細菌、ウイルス及び真菌感染を含む急性及び慢性寄生又は感染プロセス、ＨＩＶ感染／ＨＩＶ神経障害、髄膜炎、肝炎（Ａ、Ｂ又はＣなど）、敗血症性関節炎、腹膜炎、肺炎、喉頭蓋炎、大腸菌０１５７：ｈ７、溶血性尿毒症性症候群／塞栓性血小板減少性紫斑病、マラリア、デング出血熱、リーシュマニア症、ハンセン病、中毒性ショック症候群、連鎖球菌筋炎、ガス壊疽、結核菌、マイコバクテリウム－アビウム－イントラセルラーレ、ニューモシスティスカリニ肺炎、骨盤内炎症性疾患、精巣炎／精巣上体炎、レジオネラ、ライム病、ａ型インフルエンザ、エプスタイン－バーウイルス、ウイルス関連血球貪食症候群、ウイルス性脳炎／無菌性髄膜炎などのうちの少なくとも１つを含むがこれらに限定されない、細胞、組織、器官、動物又は患者において少

なくとも１つの感染症を調節又は治療するための方法も提供する。

【０１９０】

本発明は、白血病、急性白血病、急性リンパ球性白血病（ＡＬＬ）、Ｂ細胞、Ｔ細胞又はＦＡＢ　ＡＬＬ、急性骨髄性白血病（ＡＭＬ）、慢性骨髄性白血病（ＣＭＬ）、慢性リンパ球性白血病（ＣＬＬ）、有毛細胞白血病、骨髄異形成症候群（ＭＤＳ）、リンパ腫、ホジキン病、悪性リンパ腫、非ホジキンリンパ腫、バーキットリンパ腫、多発性骨髄腫、カポジ肉腫、直腸結腸がん、膵臓がん、鼻咽頭がん、悪性組織球増殖症、悪性の腫瘍随伴症候群／高カルシウム血症、固形腫瘍、腺がん、肉腫、悪性黒色腫、血管腫、転移性疾患、がん関連骨吸収、がん関連骨痛などのうちの少なくとも１つを含むがこれらに限定されない、細胞、組織、器官、動物又は患者における少なくとも１つの悪性疾患を調節又は治療するための方法も提供する。

【０１９１】

本発明は、神経変性疾患、多発性硬化症、片頭痛、エイズ痴呆症候群、脱髄疾患、例えば、多発性硬化症及び急性横断性脊髄炎、錐体外路及び小脳障害、例えば、皮質脊髄系の病変、大脳基底核の障害若しくは小脳障害、多動性運動障害、例えば、ハンチントン舞踏病及び老年性舞踏病、薬剤誘発性運動障害、例えば、ＣＮＳドーパミン受容体を遮断する薬物により誘発されるもの、運動低下性運動障害、例えば、パーキンソン病、進行性核上性麻痺、小脳の構造病変、脊髄小脳変性症、例えば、脊髄性運動失調症、フリードライヒ失調症、小脳皮質変性症、多系統変性症（Ｍｅｎｃｅｌ、Ｄｅｊｅｒｉｎｅ－Ｔｈｏｍａｓ，Ｓｈｉ－Ｄｒａｇｅｒ及びＭａｃｈａｄｏ－Ｊｏｓｅｐｈ）、全身性疾患（レフスム病、無βリポタンパク血症、運動失調症、毛細血管拡張症、及びミトコンドリア多系統障害）、脱髄性コア障害（demyelinating core disorder）、例えば、多発性硬化症、急性横断性脊髄炎及び運動単位の障害、例えば、神経性筋萎縮症（前角細胞変性症、例えば、筋萎縮性側索硬化症、乳児脊髄性筋萎縮症及び若年性脊髄性筋萎縮症）、アルツハイマー病、中年層のダウン症候群、びまん性レヴィー小体病、レヴィー小体型の老人性痴呆症、ウェルニッケコルサコフ症候群、慢性アルコール中毒、クロイツフェルト－ヤコブ病、亜急性硬化性全脳炎、ハレルフォルデン－スパッツ病、並びにボクサー認知症などのうちの少なくとも１つを含むがこれらに限定されない、細胞、組織、器官、動物又は患者における少なくとも１つの神経学的疾患を調節又は治療するための方法も提供する。任意選択的に、少なくとも１つのＴＮＦ抗体又は特定された部分又は変異体を含む有効量の組成物又は医薬組成物を、このような調節、治療又は療法を必要としている細胞、組織、器官、動物又は患者に対し投与する工程を含むことができる。例えば、「Ｍｅｒｃｋ　Ｍａｎｕａｌ」第１６版、Ｍｅｒｃｋ＆Ｃｏｍｐａｎｙ、Ｒａｈｗａｙ，ＮＪ（１９９２年）を参照のこと。

【０１９２】

本発明のいずれの方法も、かかる調節、治療、又は療法を必要としている細胞、組織、器官、動物又は患者に、少なくとも１つの抗ＴＮＦ抗体を含む有効量の組成物又は医薬組成物を投与することを含み得る。かかる方法は、任意選択的に、かかる免疫疾患の治療のための同時投与又は併用療法を更に含み得、この少なくとも１つの抗ＴＮＦ抗体、特定された部分又はその変異体の投与は、少なくとも１つのＴＮＦ拮抗薬（例えば、ＴＮＦ抗体若しくは断片、可溶性ＴＮＦ受容体若しくは断片、その融合タンパク質、又は低分子ＴＮＦ拮抗薬などであるが、これらに限定されない）、抗リウマチ薬（例えば、メトトレキサート、オーラノフィン、アウロチオグルコース、アザチオプリン、エタネルセプト、金チオリンゴ酸ナトリウム、硫酸ヒドロキシクロロキン、レフルノミド、スルファサラジン）、筋弛緩薬、麻薬、非ステロイド性抗炎症薬（ＮＳＡＩＤ）、鎮痛薬、麻酔薬、鎮静薬、局所麻酔薬、神経筋遮断剤、抗菌薬（例えば、アミノグリコシド、抗真菌薬、駆虫薬、抗ウイルス薬、カルバペナム、セファロスポリン、フルオロキノロン、マクロライド、ペニシリン、スルホンアミド、テトラサイクリン、その他の抗菌薬）、抗乾癬剤、コルチコステロイド、アナボリックステロイド、糖尿病関連薬、ミネラル、栄養薬、甲状腺薬、ビタミン、カルシウム関連ホルモン、止瀉薬、鎮咳薬、制吐剤、抗潰瘍剤、緩下剤、抗凝固薬

、エリスロポエチン（例えば、エポエチンα）、フィルグラスチム（例えば、Ｇ－ＣＳＦ、Ｎｅｕｐｏｇｅｎ）、サルグラモスチム（ＧＭ－ＣＳＦ、Ｌｅｕｋｉｎｅ）、免疫化薬、免疫グロブリン、免疫抑制薬（例えば、バシリキシマブ、シクロスポリン、ダクリズマブ）、成長ホルモン、ホルモン補充薬、エストロゲン受容体調節薬、散瞳薬、毛様筋麻痺薬、アルキル化剤、抗代謝剤、有糸分裂阻害剤、放射性医薬品、抗うつ薬、抗躁病薬、抗精神病薬、抗不安薬、催眠薬、交感神経作動薬、刺激薬、ドネペジル、タクリン、喘息薬、β作動薬、吸入ステロイド、ロイコトリエン阻害剤、メチルキサンチン、クロモリン、エピネフリン若しくは類似体、ドルナーゼα（Ｐｕｌｍｏｚｙｍｅ）、サイトカイン若しくはサイトカイン拮抗薬から選択される少なくとも１つを投与する前に、同時に、及び／又は後に投与することを更に含む。好適な投与量は、当該技術分野において周知である。例えば、Ｗｅｌｌｓら編、「Ｐｈａｒｍａｃｏｔｈｅｒａｐｙ Ｈａｎｄｂｏｏｋ」第２版、Ａｐｐｌｅｔｏｎ ａｎｄ Ｌａｎｇｅ、Ｓｔａｍｆｏｒｄ，ＣＴ（２０００年）、「ＰＤＲ Ｐｈａｒｍａｃｏｐｏｅｉａ，Ｔａｒａｓｃｏｎ Ｐｏｃｋｅｔ Ｐｈａｒｍａｃｏｐｏｅｉａ ２０００」特別版、Ｔａｒａｓｃｏｎ Ｐｕｂｌｉｓｈｉｎｇ、Ｌｏｍａ Ｌｉｎｄａ，ＣＡ（２０００年）を参照されたく、これらの各々は、参照により全体が本明細書に組み込まれる。

【０１９３】

本発明の組成物、併用療法、同時投与、デバイス及び／又は方法（本発明の少なくとも１つの抗体、その特定された部分及びその変異体を更に含む）に好適なＴＮＦ拮抗薬は、抗ＴＮＦ抗体、その抗原結合断片、及びＴＮＦに特異的に結合する受容体分子、ＴＮＦ合成、ＴＮＦ放出、若しくは標的細胞に対するその作用を阻止及び／又は阻害する化合物、例えば、サリドマイド、テニダプ、ホスホジエステラーゼ阻害剤（例えば、ペントキシフィリン及びロリプラム）、Ａ２ｂアデノシン受容体作動薬及びＡ２ｂアデノシン受容体エンハンサ、ＴＮＦ受容体シグナル伝達を阻止及び／又は阻害する化合物、例えば、マイトジェン活性化タンパク質（ＭＡＰ）キナーゼ阻害剤、膜ＴＮＦ切断を遮断及び／又は阻害する化合物、例えば、メタロプロテイナーゼ阻害剤、ＴＮＦ活性を遮断及び／又は阻害する化合物、例えば、アンジオテンシン変換酵素（ＡＣＥ）阻害剤（例えば、カプトプリル）、並びにＴＮＦ生成及び／又は合成を遮断及び／又は阻害する化合物、例えば、ＭＡＰキナーゼ阻害剤を含むが、これらに限定されない。

【０１９４】

本明細書で使用されるとき、「腫瘍壊死因子抗体」、「ＴＮＦ抗体」、「ＴＮＦα抗体」又は「断片」などは、インビトロ、その場で、及び／又は好ましくはインビボで、ＴＮＦα活性を減少、遮断、阻害、抑止又は干渉する。例えば、本発明の好適なＴＮＦヒト抗体は、ＴＮＦαに結合することができ、抗ＴＮＦ抗体、その抗原結合断片、及びＴＮＦαに特異的に結合する特定された変異体又はそのドメインを含む。好適なＴＮＦ抗体又は断片は、ＴＮＦ ＲＮＡ、ＤＮＡ、若しくはタンパク質合成、ＴＮＦ放出、ＴＮＦ受容体シグナル伝達、膜ＴＮＦ切断、ＴＮＦ活性、ＴＮＦ生成及び／又は合成を、減少、遮断、抑止、干渉、阻止及び／又は阻害することもできる。

【０１９５】

キメラ抗体ｃＡ２は、Ａ２と呼ばれる高親和性中和マウス抗ヒトＴＮＦαＩｇＧ１抗体の抗原結合可変領域及びヒトＩｇＧ１のκ免疫グロブリンの定常領域からなる。ヒトＩｇＧ１ Ｆｃ領域は、同種の抗体のエフェクタ機能を改善し、循環血清半減期を増加させ、抗体の免疫原性を減少させる。キメラ抗体ｃＡ２の結合活性及びエピトープの特異性は、マウス抗体Ａ２の可変領域に由来する。特定の実施形態において、マウス抗体Ａ２の可変領域をコードする核酸の好ましい供給源は、Ａ２ハイブリドーマ細胞株である。

【０１９６】

キメラＡ２（ｃＡ２）は、天然及び組換えの両方のヒトＴＮＦαの細胞傷害性作用を用量依存的に中和する。キメラ抗体ｃＡ２と組換えヒトＴＮＦαとの結合アッセイから、キメラ抗体ｃＡ２の親和性定数は、１．０４ｘｌ０^{10}Ｍ$^{-1}$であると計算された。競合阻害によるモノクローナル抗体の特異性及び親和性を決定するための好ましい方法は、Ｈａ

ｒｌｏｗら、「ａｎｔｉｂｏｄｉｅｓ：Ａ Ｌａｂｏｒａｔｏｒｙ Ｍａｎｕａｌ」、Ｃｏｌｄ Ｓｐｒｉｎｇ Ｈａｒｂｏｒ Ｌａｂｏｒａｔｏｒｙ Ｐｒｅｓｓ、Ｃｏｌｄ Ｓｐｒｉｎｇ Ｈａｒｂｏｒ，Ｎｅｗ Ｙｏｒｋ（１９８８年）、Ｃｏｌｌｉｇａｎら編、「Ｃｕｒｒｅｎｔ Ｐｒｏｔｏｃｏｌｓ ｉｎ Ｉｍｍｕｎｏｌｏｇｙ」、Ｇｒｅｅｎｅ Ｐｕｂｌｉｓｈｉｎｇ Ａｓｓｏｃ．ａｎｄ Ｗｉｌｅｙ Ｉｎｔｅｒｓｃｉｅｎｃｅ，Ｎｅｗ Ｙｏｒｋ（１９９２～２０００年）、Ｋｏｚｂｏｒら、「Ｉｍｍｕｎｏｌ．Ｔｏｄａｙ」第４巻第７２～７９頁（１９８３年）、Ａｕｓｕｂｅｌら編、「Ｃｕｒｒｅｎｔ Ｐｒｏｔｏｃｏｌｓ ｉｎ Ｍｏｌｅｃｕｌａｒ Ｂｉｏｌｏｇｙ」Ｗｉｌｅｙ Ｉｎｔｅｒｓｃｉｅｎｃｅ、Ｎｅｗ Ｙｏｒｋ（１９８７～２０００年）、及びＭｕｌｌｅｒ、「Ｍｅｔｈ．Ｅｎｚｙｍｏｌ．」第９２巻第５８９～６０１頁（１９８３年）に見ることができ、これらの参照文献は、参照により全体が本明細書に組み込まれる。

【０１９７】

特定の実施形態において、マウスモノクローナル抗体Ａ２は、ｃ１３４Ａと呼ばれる細胞株によって産生される。キメラ抗体ｃＡ２は、ｃ１６８Ａと呼ばれる細胞株によって産生される。

【０１９８】

本発明において使用することができるモノクローナル抗ＴＮＦ抗体の更なる例は、当該技術分野において記載されている（例えば、米国特許第５，２３１，０２４号、Ｍｏｌｌｅｒ，Ａ．ら、「Ｃｙｔｏｋｉｎｅ」第２巻第３号１６２－１６９　（１９９０）；米国出願第０７／９４３，８５２号（１９９２年９月１１日出願）、Ｒａｔｈｊｅｎら、国際公開第９１／０２０７８号（１９９１年２月２１日公開）、Ｒｕｂｉｎら、ＥＰＯ特許公開第０　２１８　８６８号（１９８７年４月２２日公開）、Ｙｏｎｅら、ＥＰＯ特許公開第０　２８８　０８８号（１９８８年１０月２６日）、Ｌｉａｎｇら、「Ｂｉｏｃｈｅｍ．Ｂｉｏｐｈｙｓ．Ｒｅｓ．Ｃｏｍｍ．」第１３７巻第８４７～８５４頁（１９８６年）；Ｍｅａｇｅｒら、「Ｈｙｂｒｉｄｏｍａ」第６巻第３０５～３１１頁（１９８７年）、Ｆｅｎｄｌｙら、「Ｈｙｂｒｉｄｏｍａ」第６巻第３５９～３６９頁（１９８７年）、Ｂｒｉｎｇｍａｎら、「Ｈｙｂｒｉｄｏｍａ」第６巻第４８９～５０７頁（１９８７年）及びＨｉｒａｉら、「Ｊ．Ｉｍｍｕｎｏｌ．Ｍｅｔｈ．第９６巻第５７～６２頁（１９８７年）を参照のこと。これらの参照文献は、参照により全体が本明細書に組み込まれる）。

【０１９９】

ＴＮＦ受容体分子。本発明に有用な好ましいＴＮＦ受容体分子は、ＴＮＦαに高い親和性で結合し（例えば、Ｆｅｌｄｍａｎｎら、国際公開第９２／０７０７６号（１９９２年４月３０日公開）、Ｓｃｈａｌｌら、「Ｃｅｌｌ」第６１巻第３６１～３７０頁（１９９０年）、及びＬｏｅｔｓｃｈｅｒら、「Ｃｅｌｌ」第６１巻第３５１～３５９頁（１９９０年）を参照のこと。これらの参照文献は、参照により全体が本明細書に組み込まれる）、任意選択的に低い免疫原性を有するものである。特に、５５ｋＤａ（ｐ５５　ＴＮＦ－Ｒ）及び７５ｋＤａ（ｐ７５　ＴＮＦ－Ｒ）のＴＮＦ細胞表面受容体は、本発明において有用である。受容体の細胞外ドメイン（ＥＣＤ）又はその機能的部分を含むこれらの受容体の切断型（例えば、Ｃｏｒｃｏｒａｎら、「Ｅｕｒ．Ｊ．Ｂｉｏｃｈｅｍ．」第２２３巻第８３１～８４０頁（１９９４年）を参照のこと）も本発明において有用である。ＥＣＤを含むＴＮＦ受容体の切断型は、尿及び血清中で、３０ｋＤａ及び４０ｋＤａのＴＮＦα阻害結合タンパク質として検出されている（Ｅｎｇｅｌｍａｎｎ，Ｈ．ら、「Ｊ．Ｂｉｏｌ．Ｃｈｅｍ．」第２６５巻第１５３１～１５３６頁（１９９０年））。ＴＮＦ受容体多量体分子及びＴＮＦ免疫受容体融合分子、並びにそれらの誘導体及び断片又は部分は、本発明の方法及び組成物において有用であるＴＮＦ受容体分子の更なる例である。本発明に使用することができるＴＮＦ受容体分子は、症状の良好から優れた緩和及び低毒性で患者を長期間治療する能力を特徴とする。低い免疫原性及び／又は高い親和性並びにその他の未定義の特性は、得られる治療結果に寄与し得る。

【０２００】

本発明において有用なＴＮＦ受容体多量体分子は、ポリエチレングリコール（ＰＥＧ）

などの、１つ又は２つ以上のポリペプチドリンカ又はその他の非ペプチドリンカを介して連結された２つ以上のＴＮＦ受容体のＥＣＤの全て又は機能的部分を含む。多量体分子は、多量体分子の発現をもたらすための分泌タンパク質のシグナルペプチドを更に含むことができる。これらの多量体分子及びそれらの生成方法は、米国出願第０８／４３７，５３３号（１９９５年５月９日出願）に記載されており、その内容は、参照により全体が本明細書に組み込まれる。

【０２０１】

本発明の方法及び組成物において有用なＴＮＦ免疫受容体融合分子は、１つ又は２つ以上の免疫グロブリン分子の少なくとも１つの部分及び１つ又は２つ以上のＴＮＦ受容体の全て又は機能的部分を含む。これらの免疫受容体融合分子は、単量体又はヘテロ若しくはホモ多量体として集合させることができる。免疫受容体融合分子は、一価であっても多価であってもよい。かかるＴＮＦ免疫受容体融合分子の例は、ＴＮＦ受容体／ＩｇＧ融合タンパク質である。ＴＮＦ免疫受容体融合分子及びそれらの生成方法は、当該技術分野において記載されている（Ｌｅｓｓｌａｕｅｒら、「Ｅｕｒ．Ｊ．Ｉｍｍｕｎｏｌ．」第２１巻第２８８３～２８８６頁（１９９１年）、Ａｓｈｋｅｎａｚｉら、「Ｐｒｏｃ．Ｎａｔｌ．Ａｃａｄ．Ｓｃｉ．ＵＳＡ」第８８巻第１０５３５～１０５３９頁（１９９１年）；Ｐｅｐｐｅｌら、「Ｊ．Ｅｘｐ．Ｍｅｄ．」第１７４巻第１４８３～１４８９頁（１９９１年）、Ｋｏｌｌｓら、「Ｐｒｏｃ．Ｎａｔｌ．Ａｃａｄ．Ｓｃｉ．ＵＳＡ」第９１巻第２１５～２１９頁（１９９４年）、Ｂｕｔｌｅｒら、「Ｃｙｔｏｋｉｎｅ」第６巻第６号第６１６～６２３頁（１９９４年）、Ｂａｋｅｒら、「Ｅｕｒ．Ｊ．Ｉｍｍｕｎｏｌ．」第２４巻第２０４０～２０４８頁（１９９４年）、Ｂｅｕｔｌｅｒら、米国特許第５，４４７，８５１号及び米国出願第０８／４４２，１３３号（１９９５年５月１６日出願）、これらの参照文献の各々は、参照により全体が本明細書に組み込まれる）。免疫受容体融合分子の生成方法は、Ｃａｐｏｎら、米国特許第５，１１６，９６４号、Ｃａｐｏｎら、米国特許第５，２２５，５３８号及びＣａｐｏｎら、「Ｎａｔｕｒｅ」第３３７巻第５２５～５３１頁（１９８９年）にも見ることができ、これらの参照文献は参照により全体が本明細書に組み込まれる。

【０２０２】

ＴＮＦ受容体分子の機能的等価物、誘導体、断片、又は領域は、本発明に使用することができるＴＮＦ受容体分子に機能的に類似するのに充分な大きさ及び配列のものである（例えば、ＴＮＦαに高い親和性で結合し、低い免疫原性を有する）、ＴＮＦ受容体分子の部分、又はＴＮＦ受容体分子をコード化するＴＮＦ受容体分子配列の部分を指す。ＴＮＦ受容体分子の機能的等価物は又、本発明に使用することができるＴＮＦ受容体分子に機能的に類似する（例えば、ＴＮＦαに高い親和性で結合し、低い免疫原性を有する）修飾されたＴＮＦ受容体分子も含む。例えば、ＴＮＦ受容体分子の機能的等価物は「ＳＩＬＥＮＴ」コドン、又は１つ又は２つ以上のアミノ酸置換、欠失、若しくは付加（例えば、１個の酸性アミノ酸を別の酸性アミノ酸の代わりに用いるか、又は同じ若しくは異なる疎水性アミノ酸をコードする１つのコドンを、疎水性アミノ酸をコードする別のコドンの代わりに用いる）を含有し得る。Ａｕｓｕｂｅｌら、「Ｃｕｒｒｅｎｔ Ｐｒｏｔｏｃｏｌｓ ｉｎ Ｍｏｌｅｃｕｌａｒ Ｂｉｏｌｏｇｙ」、Ｇｒｅｅｎｅ Ｐｕｂｌｉｓｈｉｎｇ Ａｓｓｏｃ．ａｎｄ Ｗｉｌｅｙ－Ｉｎｔｅｒｓｃｉｅｎｃｅ，Ｎｅｗ Ｙｏｒｋ（１９８７～２０００年）を参照のこと。

【０２０３】

サイトカインは、いかなる既知のサイトカインも包含する。例えば、ＣｏｐｅｗｉｔｈＣｙｔｏｋｉｎｅｓ．ｃｏｍを参照されたい。サイトカイン拮抗薬としては、任意の抗体、断片若しくは模倣薬、任意の可溶性受容体、断片若しくは模倣薬、任意の低分子拮抗薬、又はそれらの任意の組み合わせが挙げられるが、これらに限定されない。

【０２０４】

療法による治療。本発明の任意の方法は、かかる調節、治療又は療法を必要としている細胞、組織、器官、動物又は患者に、少なくとも１つの抗ＴＮＦ抗体を含む有効量の組成

物又は医薬組成物を投与することを含む、ＴＮＦ媒介障害を治療するための方法を含み得る。かかる方法は、任意選択的に、かかる免疫疾患の治療のための同時投与又は併用療法を更に含み得、この少なくとも１つの抗ＴＮＦ抗体、特定された部分又はその変異体の投与は、少なくとも１つのＴＮＦ拮抗薬（例えば、ＴＮＦ抗体若しくは断片、可溶性ＴＮＦ受容体若しくは断片、その融合タンパク質、又は低分子ＴＮＦ拮抗薬などであるが、これらに限定されない）、抗リウマチ薬（例えば、メトトレキサート、オーラノフィン、アウロチオグルコース、アザチオプリン、エタネルセプト、金チオリンゴ酸ナトリウム、硫酸ヒドロキシクロロキン、レフルノミド、スルファサラジン）、筋弛緩薬、麻薬、非ステロイド性抗炎症薬（ＮＳＡＩＤ）、鎮痛薬、麻酔薬、鎮静薬、局所麻酔薬、神経筋ブロッカ、抗菌薬（例えば、アミノグリコシド、抗真菌薬、駆虫薬、抗ウイルス薬、カルバペナム、セファロスポリン、フルオロキノロン、マクロライド、ペニシリン、スルホンアミド、テトラサイクリン、他の抗菌薬）、抗乾癬剤、コルチコステロイド、アナボリックステロイド、糖尿病関連薬、ミネラル、栄養薬、甲状腺薬、ビタミン、カルシウム関連ホルモン、止瀉薬、鎮咳薬、制吐剤、抗潰瘍剤、緩下剤、抗凝固薬、エリスロポエチン（例えば、エポエチンα）、フィルグラスチム（例えば、Ｇ－ＣＳＦ、Ｎｅｕｐｏｇｅｎ）、サルグラモスチム（ＧＭ－ＣＳＦ、Ｌｅｕｋｉｎｅ）、予防接種、免疫グロブリン、免疫抑制薬（例えば、バシリキシマブ、シクロスポリン、ダクリズマブ）、成長ホルモン、ホルモン補充薬、エストロゲン受容体調節薬、散瞳薬、毛様筋麻痺薬、アルキル化剤、抗代謝剤、有糸分裂阻害剤、放射性医薬品、抗うつ薬、抗躁病薬、抗精神病薬、抗不安薬、催眠薬、交感神経作動薬、刺激薬、ドネペジル、タクリン、喘息薬、β作動薬、吸入ステロイド、ロイコトリエン阻害剤、メチルキサンチン、クロモリン、エピネフリン若しくは類似体、ドルナーゼα（Ｐｕｌｍｏｚｙｍｅ）、サイトカイン若しくはサイトカイン拮抗薬から選択される少なくとも１つの前に、同時に、及び／又は後に投与することを更に含む。

【０２０５】

本明細書で使用するとき、用語「安全」は、それが本発明の抗ＴＮＦ抗体（例えば、抗ＴＮＦ抗体ゴリムマブ）による組成物、用量、投与レジメン、治療又は方法に関する場合、良好なリスクに対する、標準的なケア又は他の抗ＴＮＦ剤などの別の比較薬と比較した有害事象（adverse events、ＡＥ）及び深刻な有害事象（serious adverse events、ＳＡＥ）の許容可能な頻度及び／又は許容可能な重症度による利益比を指す。有害事象とは、医薬品を投与された患者における好ましくない医療上の出来事である。具体的には、本発明の抗ＴＮＦ抗体による組成物、用量、投与レジメン、治療又は方法に関する場合の安全は、例えば、注入反応、肝胆検査値異常、ＴＢを含む感染、及び悪性腫瘍を含む有害事象の許容可能な頻度及び／又は許容可能な重症度を指す。

【０２０６】

組成物、用量、投与レジメン、治療又は方法の文脈において本明細書で使用される場合、「効果」及び「効果的な」という用語は、本発明の抗ＴＮＦ抗体（例えば、抗ＴＮＦ抗体ゴリムマブ）による特定の組成物、用量、投与量、治療又は方法の有効性を指す。有効性は、本発明の薬剤に応答した、疾患の経過中の変化に基づいて測定され得る。例えば、本発明の抗ＴＮＦ抗体は、治療されている障害の重症度を反映する少なくとも１つの指標において改善、好ましくは持続的な改善を引き起こすのに充分な量及び時間で、患者に投与される。その治療の量及び時間が充分であるかどうかを判定するために、対象の疾病、疾患又は病状の程度を反映する様々な指標が評価され得る。かかる指標には、例えば、疾患重篤度、症状、又は対象となっている障害の発現についての、臨床的に認識されている指標が含まれる。改善の程度は、一般に、医師又は他の適切に訓練された個人によって決定され、彼らは臨床症状の改善を示す徴候、症状、生検、若しくは他の試験結果、又は疾患活動性の任意の他の尺度に基づいて決定し得る。例えば、本発明の抗ＴＮＦ抗体は、若年性特発性関節炎（ＪＩＡ）、特に多関節型若年性特発性関節炎（ｐＪＩＡ）に関する患者の状態の改善を得るために投与することができる。ＪＩＡ及び／又はｐＪＩＡの治療における有効性は、例えば、非活動性疾患の基準を満たす患者、ＪＩＡ　ＡＣＲ３０、ＪＩＡ　ＡＣＲ５０、ＪＩＡ　ＡＣＲ７０、及び／又はＪＩＡ　ＡＣＲ９０から選択されるＪ

ＩＡ米国リウマチ学会（ＪＩＡ　ＡＣＲ）応答に対応するベースラインからの改善を有する患者、及び／又はＪＡＤＡＳ１０、ＪＡＤＡＳ２７、及び／又はＪＡＤＡＳ７１から選択される若年性関節炎疾患活動性スコア（ＪＡＤＡＳ）のベースラインからの減少を有する患者によって決定することができる。

【０２０７】

本明細書で使用するとき、特に断りがない限り、用語「臨床的に証明された」（独立して、又は用語「安全（性）」及び／又は「有効（性）」を修飾するために使用される）は、米国食品医薬品局、ＥＭＥＡ、又は対応する国家規制機関の承認基準を満たしている臨床試験によって証明されていることを意味するものとする。例えば、臨床試験は、薬剤の効果を臨床的に証明するために使用される、適切なサイズの無作為化二重盲検試験であってもよい。

【０２０８】

典型的には、病態の治療は、組成物中に含有される比活性に応じ、平均して、合計、１回の投与当たり患者の体重１ｋｇ当たり少なくとも約０．０１～５００ミリグラムの範囲の少なくとも１つの抗ＴＮＦ抗体、好ましくは、単回又は複数回投与当たり患者の体重１ｋｇ当たり少なくとも約０．１～１００ミリグラムの範囲の抗体の、少なくとも１つの抗ＴＮＦ抗体組成物の安全かつ有効な量又は投与量を投与することにより達成される。あるいは、有効な血清濃度は、単回又は複数回投与当たり、０．１～５０００μｇ／ｍＬの血清濃度を含み得る。好適な投与量は、医療実践者には既知であり、当然のことながら、具体的な疾患状態、投与される組成物の比活性、及び治療を受けている具体的な患者に依存する。場合によっては、望ましい治療量を得るために、反復投与、すなわち、特定の監視された量又は定量の反復個別投与を提供することが必要となる場合があり、この場合、個別投与は、望ましい日用量又は作用が得られるまで繰り返される。

【０２０９】

好ましい用量は、任意選択的に、０．１、０．２、０．３、０．４、０．５、０．６、０．７、０．８、０．９、１、２、３、４、５、６、７、８、９、１０、１１、１２、１３、１４、１５、１６、１７、１８、１９、２０、２１、２２、２３、２４、２５、２６、２７、２８、２９、３０、３１、３２、３３、３４、３５、３６、３７、３８、３９、４０、４１、４２、４３、４４、４５、４６、４７、４８、４９、５０、５１、５２、５３、５４、５５、５６、５７、５８、５９、６０、６２、６３、６４、６５、６６、６７、６８、６９、７０、７１、７２、７３、７４、７５、７６、７７、７８、７９、８０、８１、８２、８３、８４、８５、８６、８７、８８、８９、９０、９１、９２、９３、９４、９５、９６、９７、９８、９９及び／若しくは１００～５００ｍｇ／ｋｇ／投与、又はその任意の範囲、値若しくは分画を含むか、あるいは単回若しくは複数回投与当たり０．１、０．５、０．９、１．０、１．１、１．２、１．５、１．９、２．０、２．５、２．９、３．０、３．５、３．９、４．０、４．５、４．９、５．０、５．５、５．９、６．０、６．５、６．９、７．０、７．５、７．９、８．０、８．５、８．９、９．０、９．５、９．９、１０、１０．５、１０．９、１１、１１．５、１１．９、２０、１２．５、１２．９、１３．０、１３．５、１３．９、１４．０、１４．５、１５、１５．５、１５．９、１６、１６．５、１６．９、１７、１７．５、１７．９、１８、１８．５、１８．９、１９、１９．５、１９．９、２０、２０．５、２０．９、２１、２２、２３、２４、２５、２６、２７、２８、２９、３０、３５、４０、４５、５０、５５、６０、６５、７０、７５、８０、８５、９０、９６、１００、２００、３００、４００、５００、６００、７００、８００、９００、１０００、１５００、２０００、２５００、３０００、３５００、４０００、４５００及び／若しくは５０００μｇ／ｍＬの血清濃度、又はその任意の範囲、値若しくは分画を得るように含み得る。

【０２１０】

あるいは、投与される用量は、特定の薬剤の薬力学的特徴並びにその投与方法及び経路、レシピエントの年齢、健康状態及び体重、症状の性質及び程度、同時治療の種類、治療頻度、並びに所望の作用などの既知の因子により異なり得る。活性成分の投与量は、通常

、体重１キログラム当たり約０．１～１００ミリグラムであり得る。通常、投与当たり１キログラム当たり０．１～５０、好ましくは０．１～１０ミリグラム又は徐放性形態が、望ましい結果を得るために有効である。

【０２１１】

非限定的な例として、ヒト又は動物の治療は、単回、注入又は反復投与を使用して、１、２、３、４、５、６、７、８、９、１０、１１、１２、１３、１４、１５、１６、１７、１８、１９、２０、２１、２２、２３、２４、２５、２６、２７、２８、２９、３０、３１、３２、３３、３４、３５、３６、３７、３８、３９若しくは４０日目のうちの少なくとも１日に、あるいは又は追加的に、１、２、３、４、５、６、７、８、９、１０、１１、１２、１３、１４、１５、１６、１７、１８、１９、２０、２１、２２、２３、２４、２５、２６、２７、２８、２９、３０、３１、３２、３３、３４、３５、３６、３７、３８、３９、４０、４１、４２、４３、４４、４５、４６、４７、４８、４９、５０、５１若しくは５２週目のうちの少なくとも１週に、あるいは又は追加的に、１、２、３、４、５、６、７、８、９、１０、１１、１２、１３、１４、１５、１６、１７、１８、１９若しくは２０年目のうちの少なくとも１年に、又はこれらの任意の組み合わせで、１日当たり０．１～１００ｍｇ／ｋｇ、例えば、０．５、０．９、１．０、１．１、１．５、２、３、４、５、６、７、８、９、１０、１１、１２、１３、１４、１５、１６、１７、１８、１９、２０、２１、２２、２３、２４、２５、２６、２７、２８、２９、３０、４０、４５、５０、６０、７０、８０、９０、又は１００ｍｇ／ｋｇの、本発明の少なくとも１つの抗体の１回又は周期的な投与量として提供され得る。

【０２１２】

体内投与に好適な剤形（組成物）は、一般に、１単位又は容器当たり約０．１ミリグラム～約５００ミリグラムの活性成分を含有する。これらの医薬組成物において、活性成分は、組成物の総重量に基づいて、通常、約０．５～９９．９９９重量％の量で存在する。

【０２１３】

非経口投与には、抗体は、薬学的に許容できる非経口ビヒクルと合わせて、又は別途供給される、溶液、懸濁液、エマルジョン若しくは凍結乾燥粉末として、処方することができる。かかるビヒクルの例は、水、生理食塩水、リンゲル液、デキストロース溶液、及び１～１０％ヒト血清アルブミンである。リポソーム及び固定油などの非水性ビヒクルを使用することもできる。ビヒクル又は凍結乾燥粉末は、等張性及び化学安定性を維持する添加剤（例えば、等張性に関しては塩化ナトリウム、マンニトール、化学安定性に関しては緩衝剤及び保存剤）を含有することができる。製剤は、既知の又は好適な技術によって滅菌される。

【０２１４】

好適な薬学的担体は、この分野での標準的参考テキストであるＲｅｍｉｎｇｔｏｎ’ｓ Ｐｈａｒｍａｃｅｕｔｉｃａｌ Ｓｃｉｅｎｃｅｓ，Ａ．Ｏｓｏｌの最新版の中で記載されている。

【０２１５】

代替的投与。製薬学的に有効な量の、本発明による少なくとも１つの抗ＴＮＦ抗体を投与するために、本発明により、多くの既知の及び開発された投与方法を使用することができる。以下の記述では経肺投与が使用されているが、本発明に従って他の投与方式を使用して、好適な結果を得てもよい。

【０２１６】

本発明のＴＮＦ抗体は、担体中で、溶液、エマルジョン、コロイド若しくは懸濁液として、又は乾燥粉末として、吸入によるか、又は本明細書に記載される若しくは当該技術分野において既知である他の方法による投与に適した様々なデバイス及び方法のいずれかを使用して、送達することができる。

【０２１７】

非経口製剤及び投与。非経口投与用製剤は、一般的な添加物として滅菌水又は生理食塩水、ポリエチレングリコールなどのポリアルキレングリコール、植物に由来する油、水素

化ナフタレンなどを含有し得る。注射用の水性又は油性懸濁液は、既知の方法に従って、適切な乳化剤又は加湿剤及び懸濁剤を使用することによって調製可能である。注射剤は、例えば、水溶液、無菌注射液、又は溶媒中懸濁液などの非毒性の非経口投与可能な希釈剤であってよい。使用可能なビヒクル又は溶媒としては、水、リンゲル液、等張生理食塩水などが可能であり、通常の溶媒又は懸濁溶媒としては、無菌の不揮発性油を使用することができる。これらの目的では、天然又は合成若しくは半合成の、脂肪油又は脂肪酸、天然又は合成若しくは半合成の、モノグリセリド又はジグリセリド又はトリグリセリドを含む、あらゆる種類の不揮発性油及び脂肪酸を使用することができる。非経口投与は当該技術分野において既知であり、従来の注射手段、米国特許第５，８５１，１９８号に記載されているようなガス加圧式無針注射デバイス、及び米国特許第５，８３９，４４６号に記載されているようなレーザ穿孔機デバイスが挙げられるが、これらに限定されず、これらは参照によって全体が本明細書に組み込まれる。

【０２１８】

代替的送達。本発明は更に、非経口、皮下、筋肉内、静脈内、関節内、気管支内、腹内、包内、軟骨内、洞内、腔内、小脳内、脳室内、結腸内、頚管内、胃内、肝内、心筋内、骨内、骨盤内、心膜内、腹腔内、胸膜内、前立腺内、肺内、直腸内、腎臓内、網膜内、脊髄内、滑液嚢内、胸郭内、子宮内、膀胱内、ボーラス、膣内、直腸、口腔内、舌下、鼻腔内、又は経皮手段による少なくとも１つの抗ＴＮＦ抗体の投与に関する。少なくとも１つの抗ＴＮＦ抗体組成物は、非経口（皮下、筋肉内又は静脈内）又は任意のその他の投与、特に、液体溶液若しくは懸濁液の形態で使用するために、特に、クリーム及び座薬などであるがこれらに限定されない半固体形態で、膣若しくは直腸の投与における使用のために、錠剤若しくはカプセルなどであるがこれらに限定されない形態で、口腔若しくは舌下投与用に、あるいは粉末、点鼻剤若しくはエアロゾル、又はある特定の薬剤などであるがこれらに限定されない形態で、鼻腔内に、あるいは皮膚構造を改変するか、又は経皮パッチ中の薬物濃度を増加させるかのいずれかのために、ジメチルスルホキシドなどの化学的促進剤を用いて（Ｊｕｎｇｉｎｇｅｒら、Ｉｎ「Ｄｒｕｇ　Ｐｅｒｍｅａｔｉｏｎ　Ｅｎｈａｎｃｅｍｅｎｔ」；Ｈｓｉｅｈ，Ｄ．Ｓ．，Ｅｄｓ．，ｐｐ．５９－９０（Ｍａｒｃｅｌ　Ｄｅｋｋｅｒ，Ｉｎｃ．Ｎｅｗ　Ｙｏｒｋ　１９９４、参照により全体が本明細書に組み込まれる）、又はタンパク質及びペプチドを含有する製剤の皮膚への適用を可能にする酸化剤を用いて（国際公開第９８／５３８４７号）、又はエレクトロポレーションなどの一過性の輸送経路を作り出すための、若しくはイオントフォレシスなどの皮膚を通して荷電薬物の移動度を増加させるための電界の適用、又は超音波導入などの超音波の適用（米国特許第４，３０９，９８９号及び同第４，７６７，４０２号）を用いて、ゲル、軟膏、ローション、懸濁液若しくはパッチ送達系などであるが、これらに限定されない、経皮的に、調製することができる（上記の刊行物及び特許は、参照により全体が本明細書に組み込まれる）。

【０２１９】

経肺／鼻腔内投与。経肺投与のためには、好ましくは、少なくとも１つの抗ＴＮＦ抗体組成物は、肺の下気道又は洞に達するのに有効な粒径で送達される。本発明により、少なくとも１つの抗ＴＮＦ抗体は、吸入により治療薬を投与するための、当該技術分野において既知の様々な吸入又は鼻腔内デバイスのいずれかにより送達することができる。患者の洞腔又は肺胞内にエアロゾル化した製剤を被着させることができるこれらのデバイスとしては、定量吸入器、ネブライザ、乾燥粉末発生器、噴霧器などが挙げられる。抗体の経肺又は鼻腔内投与を目的とするのに適したその他のデバイスも、当該技術分野において既知である。かかるデバイスは全てエアロゾル中の抗体を分配するための投与に適した製剤を使用することができる。このようなエアロゾルは、溶液（水性及び非水性の両方）又は固体粒子のいずれかで構成され得る。ＶＥＮＴＯＬＩＮ（登録商標）（定量吸入器）のような定量吸入器は、典型的には噴射ガスを使用し、吸気時の作動を必要とする（例えば、国際公開第９４／１６９７０号、国際公開第９８／３５８８８号を参照のこと）。Ｔｕｒｂｕｈａｌｅｒ（商標）（Ａｓｔｒａ）、Ｒｏｔａｈａｌｅｒ（登録商標）（Ｇｌａｘｏ）

、ＤＩＳＫＵＳ（登録商標）（吸入器）（Ｇｌａｘｏ）、ＳＰＩＲＯＳ（登録商標）（吸入器）（Ｄｕｒａ）、Ｉｎｈａｌｅ　Ｔｈｅｒａｐｅｕｔｉｃｓにより市販されているデバイス、及びＳｐｉｎｈａｌｅｒ（登録商標）パウダ吸入器（Ｆｉｓｏｎｓ）などの乾燥粉末吸入器は、混合粉末の呼気作動を使用する（米国特許第４６６８２１８号（Ａｓｔｒａ）、欧州特許第２３７５０７号（Ａｓｔｒａ）、国際公開第９７／２５０８６号（Ｇｌａｘｏ）、国際公開第９４／０８５５２号（Ｄｕｒａ）、米国特許第５４５８１３５号（Ｉｎｈａｌｅ）、国際公開第９４／０６４９８号（Ｆｉｓｏｎｓ）、参照により全体が本明細書に組み込まれる）。ＡＥＲＸ（登録商標）（ネブライザ）（Ａｒａｄｉｇｍ）、ＵＬＴＲＡＶＥＮＴ（登録商標）（ネブライザ）（Ｍａｌｌｉｎｃｋｒｏｄｔ）、及びＡｃｏｒｎ　ＩＩネブライザ（Ｍａｒｑｕｅｓｔ　Ｍｅｄｉｃａｌ　Ｐｒｏｄｕｃｔｓ）（米国特許第５４０４８７１号（Ａｒａｄｉｇｍ）、国際公開第９７／２２３７６号）（上記の文献は参照により全体が本明細書に組み込まれる）などのネブライザは溶液からエアロゾルを生じさせるのに対し、定量吸入器、乾燥粉末吸入器などは小粒子エアロゾルを発生させる。市販の吸入デバイスのこれらの具体例は、本発明の実施に適した特定のデバイスを代表するものとして意図されており、本発明の範囲を制限するものとして意図されているものではない。好ましくは、少なくとも１つの抗ＴＮＦ抗体を含む組成物は、乾燥粉末吸入器又は噴霧器によって送達される。本発明の少なくとも１つの抗体を投与するための吸入デバイスには、複数の望ましい特徴が存在する。例えば、吸入デバイスによる送達は、有利に信頼性が高く、再現可能であり、かつ正確である。吸入デバイスは任意選択的に、うまく呼吸できるように、例えば、約１０μｍ未満、好ましくは約１～５μｍの小さな乾燥粒子を送達することができる。

【０２２０】

スプレーでのＴＮＦ抗体組成物の投与。ＴＮＦ抗体組成物タンパク質を含むスプレーは、少なくとも１つの抗ＴＮＦ抗体の懸濁液又は溶液に加圧下でノズルを通過させることにより生じさせることができる。ノズルの大きさ及び構成、適用される圧力並びに液体供給速度は、所望の出力及び粒径を達成するように選定することができる。例えば、キャピラリ又はノズルフィードと共に電界により電気スプレーを作製することができる。有利なことに、噴霧器により送達される少なくとも１つの抗ＴＮＦ抗体組成物タンパク質の粒子は、約１０μｍ未満、好ましくは約１μｍ～約５μｍ、最も好ましくは約２μｍ～約３μｍの範囲の粒径を有する。

【０２２１】

噴霧器と共に使用するのに適した少なくとも１つの抗ＴＮＦ抗体組成物タンパク質の製剤は、典型的には、水溶液中に、例えば、０．１、０．２．、０．３、０．４、０．５、０．６、０．７、０．８、０．９、１、２、３、４、５、６、７、８、９、１０、１１、１２、１３、１４、１５、１６、１７、１８、１９、２０、２１、２２、２３、２４、２５、２６、２７、２８、２９、３０、４０、４５、５０、６０、７０、８０、９０、又は１００ｍｇ／ｍＬ若しくは１００ｍｇ／ｇｍであるがこれらに限定されない、１ｍｌ若しくは１ｍｇ／ｇｍの溶液当たり約０．１ｍｇ～約１００ｍｇ、又はその中の任意の範囲若しくは値の少なくとも１つの抗ＴＮＦ抗体組成物タンパク質の濃度で抗体組成物タンパク質を含む。この製剤は、添加物、緩衝剤、等張剤、保存剤、界面活性剤、及び好ましくは亜鉛などの薬剤を含み得る。この製剤は、添加物、還元剤、バルクタンパク質又は炭水化物などの抗体組成物タンパク質を安定化させるための賦形剤又は薬剤も含み得る。抗体組成物タンパク質の処方において有用なバルクタンパク質には、アルブミン、プロタミンなどが挙げられる。抗体組成物タンパク質の処方において有用な典型的な炭水化物としては、ショ糖、マンニトール、乳糖、トレハロース、グルコースなどが挙げられる。抗体組成物タンパク質製剤は、エアロゾル形成時の溶液の霧化により引き起こされる抗体組成物タンパク質の表面誘発性の凝集を低減又は阻止することができる界面活性剤も含み得る。ポリオキシエチレン脂肪酸エステル及びアルコール、並びにポリオキシエチレンソルビトール脂肪酸エステルのような様々な従来の界面活性剤を使用することができる。量は一般に、製剤の０．００１～１４重量％の範囲にわたる。本発明の目的上とりわけ好ましい界面

活性剤は、ポリオキシエチレンソルビタンモノオレエート、ポリソルベート８０、ポリソルベート２０などである。ＴＮＦ抗体又は特定された部分若しくは変異体などのタンパク質の製剤には、当該技術分野において既知の更なる薬剤も又製剤中に含むことができる。

【０２２２】

ネブライザによるＴＮＦ抗体組成物の投与。抗体組成物タンパク質は、ジェットネブライザ又は超音波ネブライザなどのネブライザにより投与することができる。典型的には、ジェットネブライザでは、オリフィスを通して高速の空気ジェットを作り出すのに圧縮空気供給源を使用する。ガスがノズルを超えて膨張する際に低圧領域が作り出され、それが液体リザーバに接続された毛細管を通して抗体組成物タンパク質の溶液を引き出す。毛細管からの液体流は、それが管を出る際に不安定な糸状体及び液滴に剪断されてエアロゾルを作り出す。ある範囲の構成、流速及びバッフル型を、所定のジェットネブライザからの所望の性能の特徴を達成するのに使用することができる。超音波ネブライザにおいては、高周波電気エネルギーを使用して、典型的には圧電変換器を使用して、振動性の機械的エネルギーを作り出す。このエネルギーが、直接又はカップリング液を通じてのいずれかで抗体組成物タンパク質の製剤に伝播されて、抗体組成物タンパク質を含むエアロゾルを作り出す。有利なことに、ネブライザにより送達される抗体組成物タンパク質の粒子は、約１０μｍ未満、好ましくは約１μｍ～約５μｍ、最も好ましくは約２μｍ～約３μｍの範囲の粒径を有する。

【０２２３】

ジェット又は超音波のいずれかのネブライザでの使用に適した少なくとも１つの抗ＴＮＦ抗体の製剤は、典型的には、溶液１ｍｌ当たり約０．１ｍｇ～約１００ｍｇの少なくとも１つの抗ＴＮＦ抗体タンパク質の濃度を含む。この製剤は、添加物、緩衝剤、等張剤、保存剤、界面活性剤、及び好ましくは亜鉛などの薬剤を含み得る。この製剤は、緩衝剤、還元剤、バルクタンパク質、又は炭水化物などの少なくとも１つの抗ＴＮＦ抗体組成物タンパク質の安定化のための添加物又は薬剤も含み得る。少なくとも１つの抗ＴＮＦ抗体組成物タンパク質の処方において有用なバルクタンパク質には、アルブミン、プロタミンなどが挙げられる。少なくとも１つの抗ＴＮＦ抗体の処方において有用な典型的な炭水化物としては、ショ糖、マンニトール、乳糖、トレハロース、グルコースなどが挙げられる。少なくとも１つの抗ＴＮＦ抗体製剤は、エアロゾル形成時に溶液の霧化により引き起こされる少なくとも１つの抗ＴＮＦ抗体の表面誘発性の凝集を低減又は阻止し得る界面活性剤も含み得る。ポリオキシエチレン脂肪酸エステル及びアルコール、並びにポリオキシエチレンソルビタル脂肪酸エステルのような様々な従来の界面活性剤を使用することができる。量は、一般に製剤の０．００１～４重量％の範囲である。本発明の目的上とりわけ好ましい界面活性剤は、ポリオキシエチレンソルビタンモノオレエート、ポリソルベート８０、ポリソルベート２０などである。抗体タンパク質などのタンパク質の製剤には、当該技術分野において既知の更なる薬剤も又製剤中に含むことができる。

【０２２４】

定量吸入器によるＴＮＦ抗体組成物の投与。定量吸入器（ＭＤＩ）では、噴射剤、少なくとも１つの抗ＴＮＦ抗体及び任意の添加物又はその他の添加剤が、液化圧縮ガスを含む混合物としてキャニスタ内に収容される。絞り弁の作動により、好ましくは、約１０μｍ未満、好ましくは約１μｍ～約５μｍ、最も好ましくは約２μｍ～３μｍの範囲のサイズの粒子を含有するエアロゾルとしての混合物が放出される。ジェット粉砕、噴霧乾燥、臨界点凝結などを含む、当業者に既知の様々な方法により産生された抗体組成物タンパク質の製剤を用いることにより、所望のエアロゾル粒径を得ることができる。好ましい定量吸入器としては、３Ｍ又はＧｌａｘｏにより製造されかつヒドロフルオロカーボン噴射剤を使用するものが挙げられる。

【０２２５】

定量吸入器デバイスで使用するための少なくとも１つの抗ＴＮＦ抗体の製剤は、一般に、少なくとも１つの抗ＴＮＦ抗体を、例えば、界面活性剤の助けを借りて噴射剤中に懸濁した非水性溶媒中の懸濁液として含有する微粉を含む。噴射剤は、トリクロロフルオロメ

タン、ジクロロジフルオロメタン、ジクロロテトラフルオロエタノール及び１，１，１，２－テトラフルオロエタン、ＨＦＡ－１３４ａ（ヒドロフルオロアルカン－１３４ａ）、ＨＦＡ－２２７（ヒドロフルオロアルカン－２２７）などが挙げられる、クロロフルオロカーボン、ヒドロクロロフルオロカーボン、ヒドロフルオロカーボン、又は炭化水素のような本目的上使用される任意の従来の物質であることができる。好ましくは、噴射剤はヒドロフルオロカーボンである。界面活性剤は、少なくとも１つの抗ＴＮＦ抗体を噴射剤中の懸濁液として安定化させる、活性薬剤を化学的分解に対して保護するなどのために選択することができる。好適な界面活性剤には、ソルビタントリオレエート、ダイズレシチン、オレイン酸などが挙げられる。場合によっては、エタノールなどの溶媒を使用する溶液エアロゾルが好ましい。タンパク質の製剤には、当該技術分野で既知の更なる薬剤を製剤中に含んでもよい。

【０２２６】

当業者は、本発明の方法が、本明細書に記載されないデバイスを介する少なくとも１つの抗ＴＮＦ抗体組成物の経肺投与により達成され得ることを認識するであろう。

【０２２７】

経口製剤及び投与。経口のための製剤は、腸壁の浸透性を人工的に増加させるためのアジュバント（例えば、レゾルシノール、並びにポリオキシエチレンオレイルエーテル及びｎ－ヘキサデシルポリエチレンエーテルなどの非イオン性界面活性剤）の同時投与、並びに酵素的分解を阻害するための酵素阻害剤（例えば、膵トリプシン阻害剤、ジイソプロピルフルオロリン酸（ＤＦＦ）及びトラシロール）の同時投与による。経口投与のための固体型剤形の活性成分化合物は、ショ糖、乳糖、セルロース、マンニトール、トレハロース、ラフィノース、マルチトール、デキストラン、デンプン、寒天、アルギン酸塩、キチン、キトサン、ペクチン、トラガカントガム、アラビアゴム、ゼラチン、コラーゲン、カゼイン、アルブミン、合成又は半合成ポリマー、及びグリセリドなどの、少なくとも１つの添加剤と混合することができる。これらの剤形はまた、他の種類の添加剤、例えば、不活性希釈剤、滑沢剤（ステアリン酸マグネシウム）、パラベン、保存剤（ソルビン酸、アスコルビン酸、α－トコフェロールなど）、抗酸化剤（システインなど）、崩壊剤、結合剤、増粘剤、緩衝剤、甘味剤、着香剤、香料などを含有し得る。

【０２２８】

錠剤及び丸剤は腸溶コーティング調製物に更に加工することができる。経口投与のための液体調製物には、医学的用途に許容できるエマルジョン、シロップ、エリキシル剤、懸濁剤及び溶液調製物が挙げられる。これらの調製物は、当該分野で通例に使用される不活性希釈剤、例えば水を含有することができる。リポソームはインスリン及びヘパリンの薬物送達系としても記述されている（米国特許第４，２３９，７５４号）。より最近では、混合アミノ酸の人工的ポリマーのミクロスフェア（プロテイノイド）が、医薬品を送達するために使用されている（米国特許第４，９２５，６７３号）。更に、米国特許第５，８７９，６８１号及び米国特許第５，５，８７１，７５３号に記載される担体化合物が、生物学的活性薬剤を経口で送達するのに使用されることは、当該技術分野において既知である。

【０２２９】

粘膜製剤及び投与。粘膜表面を通る吸収のため、少なくとも１つの抗ＴＮＦ抗体を投与するための組成物及び方法は、複数のサブミクロン粒子と、粘膜付着性巨大分子と、生物活性ペプチドと、エマルジョン粒子の粘膜付着を達成することにより粘膜表面を通る吸収を促進する水性連続相と、を含む、エマルジョンを含む（米国特許第５，５１４，６７０号）。本発明のエマルジョンの適用に適する粘膜表面には、角膜、結膜、口腔内、舌下、鼻、膣、肺、胃、腸、及び直腸投与経路を挙げることができる。膣又は直腸投与のための製剤、例えば座薬は、添加物として、例えば、ポリアルキレングリコール、ワセリン、カカオバターなどを含有し得る。鼻内投与のための処方は固体であってよく、添加物として、例えば乳糖を含有することができ、又は水性若しくは油性溶液の点鼻薬であることができる。口腔内投与のために、添加物として、糖、ステアリン酸カルシウム、ステアリン酸

マグネシウム、αデンプン（pregelinatined starch）などが挙げられる（米国特許第５，８４９，６９５号）。

【０２３０】

経皮製剤及び投与。経皮投与のために、少なくとも１つの抗ＴＮＦ抗体を、リポソーム若しくはポリマーナノ粒子、微小粒子、マイクロカプセル又はミクロスフェア（特に明示しない限り、集合的に微小粒子と称する）などの送達デバイス中にカプセル化する。ポリ乳酸、ポリグリコール酸及びそれらのコポリマーなどのポリヒドロキシ酸、ポリオルトエステル、ポリ無水物及びポリホスファゼンなどの合成ポリマー、並びにコラーゲン、ポリアミノ酸、アルブミン及びその他のタンパク質などの天然ポリマー、アルギン酸塩及びその他の多糖類並びにそれらの組み合わせから作製される微小粒子を含む多くの好適なデバイスが既知である（米国特許第５，８１４，５９９号）。

【０２３１】

長時間投与及び製剤。本発明の化合物を、単回投与により、長期間にわたり、例えば、１週～１年間、被験体に送達することが時折望ましい場合がある。様々な徐放、デポー又は埋め込み剤形を利用することができる。例えば、剤形は、体液において溶解度が低い化合物の薬学的に許容できる非毒性塩、例えば、（ａ）リン酸、硫酸、クエン酸、酒石酸、タンニン酸、パモ酸、アルギン酸、ポリグルタミン酸、ナフタレンモノ－又はジスルホン酸、ポリガラクツロン酸などの多塩基酸との酸付加塩、（ｂ）亜鉛、カルシウム、ビスマス、バリウム、マグネシウム、アルミニウム、銅、コバルト、ニッケル、カドミウムなどの多価金属カチオン、又は例えば、Ｎ，Ｎ’－ジベンジル－エチレンジアミン若しくはエチレンジアミンから形成された有機カチオンを有する塩、あるいは（ｃ）（ａ）及び（ｂ）の組み合わせ、例えば、タンニン酸亜鉛塩を含有し得る。加えて、本発明の化合物、又は好ましくは前述したものなどの比較的不溶性の塩を、注射に好適な例えば、ゴマ油と共に、例えば、モノステアリン酸アルミニウムゲルなどのゲル中で処方することができる。とりわけ好ましい塩は、亜鉛塩、亜鉛タンニン酸塩、パモ酸塩などである。別の種類の注射用徐放デポー製剤は、例えば米国特許第３，７７３，９１９号に記載されるポリ乳酸／ポリグリコール酸ポリマーなどのゆっくりと分解する非毒性の非抗原性ポリマー中にカプセル化されるために分散された化合物又は塩を含有する。化合物、又は好ましくは上述したものなどの比較的不溶性の塩は、特に動物での使用のために、コレステロールマトリックスのシラスティックペレット中に処方することもできる。更なる徐放デポー又は注入処方、例えば、気体又は液体リポソームは、文献（米国特許第５，７７０，２２２号、及び「Ｓｕｓｔａｉｎｅｄ ａｎｄ Ｃｏｎｔｒｏｌｌｅｄ Ｒｅｌｅａｓｅ Ｄｒｕｇ Ｄｅｌｉｖｅｒｙ Ｓｙｓｔｅｍｓ」、Ｊ．Ｒ．Ｒｏｂｉｎｓｏｎ編、Ｍａｒｃｅｌ Ｄｅｋｋｅｒ，Ｉｎｃ．，Ｎ．Ｙ．，１９７８）で既知である。

【０２３２】

本発明を全般的に記述したことから、同様物は、具体的説明として提供されるが制限することを意図していない以下の実施例を参照することにより、より容易に理解されるであろう。

【０２３３】

実施例１：哺乳類細胞におけるＴＮＦ抗体のクローニング及び発現。

典型的な哺乳動物発現ベクタは、ｍＲＮＡの転写の開始を媒介する少なくとも１つのプロモータ要素、抗体コード配列、並びに転写の終結及び転写物のポリアデニル化に必要なシグナルを含む。付加的な要素には、エンハンサ、コザック配列並びにＲＮＡスプライシングのためのドナー及びアクセプタ部位に隣接している介在配列が含まれる。高効率の転写は、ＳＶ４０からの初期及び後期プロモータ、レトロウイルス、例えば、ＲＳＶ、ＨＴＬＶＩ、ＨＩＶＩからの長末端反復（ＬＴＲＳ）、及びサイトメガロウイルス（ＣＭＶ）の初期プロモータで達成することができる。しかしながら、細胞要素を使用することもできる（例えば、ヒトアクチンプロモータ）。本発明の実施において使用するのに好適な発現ベクタとしては、例えば、ｐＩＲＥＳ１ｎｅｏ、ｐＲｅｔｒｏ－Ｏｆｆ、ｐＲｅｔｒｏ－Ｏｎ、ＰＬＸＳＮ若しくはｐＬＮＣＸ（Ｃｌｏｎｅｔｅｃｈ Ｌａｂｓ，Ｐａｌｏ Ａ

ｌｔｏ，ＣＡ）、ｐｃＤＮＡ３．１（＋／－）、ｐｃＤＮＡ／Ｚｅｏ（＋／－）又はｐｃＤＮＡ３．１／Ｈｙｇｒｏ（＋／－）（Ｉｎｖｉｔｒｏｇｅｎ）、ＰＳＶＬ及びＰＭＳＧ（Ｐｈａｒｍａｃｉａ，Ｕｐｐｓａｌａ，Ｓｗｅｄｅｎ）、ｐＲＳＶｃａｔ（ＡＴＣＣ３７１５２）、ｐＳＶ２ｄｈｆｒ（ＡＴＣＣ　３７１４６）並びにｐＢＣ１２ＭＩ　（ＡＴＣＣ　６７１０９）などのベクタが挙げられる。使用することができる哺乳動物の宿主細胞には、ヒトＨｅｌａ２９３、Ｈ９及びＪｕｒｋａｔ細胞、マウスＮＩＨ３Ｔ３及びＣ１２７細胞、Ｃｏｓ１、Ｃｏｓ７及びＣＶ１、ウズラＱＣ１－３細胞、マウスＬ細胞及びチャイニーズハムスタ卵巣（ＣＨＯ）細胞が含まれる。

【０２３４】

あるいは、遺伝子を、染色体に組み込まれた遺伝子を含有する安定した細胞株において発現させることができる。ｄｈｆｒ、ｇｐｔ、ネオマイシン、又はハイグロマイシンなどの選択マーカとの共トランスフェクションは、トランスフェクトされた細胞の特定及び単離を可能にする。

【０２３５】

トランスフェクトされた遺伝子はまた、大量のコード化された抗体を発現するために増幅され得る。ＤＨＦＲ（ジヒドロ葉酸レダクターゼ）マーカは、目的の遺伝子の数百又は更には数千のコピーを有する細胞株を開発するのに有用である。別の有用な選択マーカは、酵素グルタミンシンターゼ（ＧＳ）である（Ｍｕｒｐｈｙら、「Ｂｉｏｃｈｅｍ．Ｊ．」第２２７巻第２７７～２７９頁（１９９１年）、Ｂｅｂｂｉｎｇｔｏｎら、「Ｂｉｏ／Ｔｅｃｈｎｏｌｏｇｙ」第１０巻第１６９～１７５頁（１９９２年））。これらのマーカを使用して、哺乳動物細胞を選択的培地中で成長させ、最も高い耐性を有する細胞が選択される。これらの細胞株は、染色体に組み込まれた増幅遺伝子を含有する。チャイニーズハムスタ卵巣（ＣＨＯ）及びＮＳＯ細胞が抗体の生成に使用されることが多い。

【０２３６】

発現ベクタｐＣ１及びｐＣ４は、ラウス肉腫ウイルスの強いプロモータ（ＬＴＲ）（Ｃｕｌｌｅｎら、「Ｍｏｌｅｃ．Ｃｅｌｌ．Ｂｉｏｌ．」第５巻第４３８～４４７頁（１９８５年））に加え、ＣＭＶエンハンサ（Ｂｏｓｈａｒｔら、「Ｃｅｌｌ」第４１巻第５２１～５３０頁（１９８５年））の断片を含有する。例えば、制限酵素切断部位ＢａｍＨＩ、ＸｂａＩ及びＡｓｐ７ｌ８を伴う複数のクローニング部位は、目的の遺伝子のクローニングを容易にする。ベクタは更に、ラットプレプロインスリン遺伝子の３’イントロン、ポリアデニル化及び終結シグナルを含有する。

【０２３７】

ＣＨＯ細胞におけるクローニング及び発現。ベクタｐＣ４は、ＴＮＦ抗体の発現に使用される。プラスミドｐＣ４は、プラスミドｐＳＶ２－ｄｈｆｒ（ＡＴＣＣ受託番号３７１４６）の誘導体である。このプラスミドは、ＳＶ４０初期プロモータの制御下でマウスＤＨＦＲ遺伝子を含有する。これらのプラスミドでトランスフェクトされる、ジヒドロ葉酸活性を欠くチャイニーズハムスタ卵巣細胞又はその他の細胞は、化学療法剤メトトレキサートを補充した選択的培地（例えば、α－ＭＥＭ、Ｌｉｆｅ　Ｔｅｃｈｎｏｌｏｇｉｅｓ，Ｇａｉｔｈｅｒｓｂｕｒｇ，ＭＤ）中で細胞を成長させることによって選択することができる。メトトレキサート（ＭＴＸ）に耐性の細胞におけるＤＨＦＲ遺伝子の増幅は、充分に文書化されている（例えば、Ｆ．Ｗ．Ａｌｔら、「Ｊ．Ｂｉｏｌ．Ｃｈｅｍ．」２５３：１３５７－１３７０　（１９７８）；Ｊ．Ｌ．Ｈａｍｌｉｎ及びＣ．Ｍａ、「Ｂｉｏｃｈｅｍ．ｅｔ　Ｂｉｏｐｈｙｓ．Ａｃｔａ」第１０９７巻第１０７～１４３頁（１９９０年）、及びＭ．Ｊ．Ｐａｇｅ及びＭ．Ａ．Ｓｙｄｅｎｈａｍ、「Ｂｉｏｔｅｃｈｎｏｌｏｇｙ」第９巻第６４～６８頁（１９９１年）を参照のこと）。増大したＭＴＸ濃度において成長した細胞は、ＤＨＦＲ遺伝子の増幅の結果として、標的酵素であるＤＨＦＲの過剰生成により、薬物に対する耐性を発達させる。第２の遺伝子がＤＨＦＲ遺伝子に連結されている場合、通常、共増幅され、過剰発現される。このアプローチを使用して、増幅遺伝子の１，０００を超えるコピーを有する細胞株を開発することができることが、当該技術分野において知られている。続いて、メトトレキサートを回収する際、宿主細胞の１つ

又は２つ以上の染色体に組み込まれた増幅遺伝子を含有する細胞株が得られる。

【０２３８】

プラスミドｐＣ４は、目的の遺伝子を発現するために、ラウス肉腫ウイルスの長末端反復（ＬＴＲ）の強いプロモータ（Ｃｕｌｌｅｎら、「Ｍｏｌｅｃ．Ｃｅｌｌ．Ｂｉｏｌ．」第５巻第４３８～４４７頁（１９８５年））に加え、ヒトサイトメガロウイルス（ＣＭＶ）の即初期遺伝子のエンハンサ（Ｂｏｓｈａｒｔら、「Ｃｅｌｌ」第４１巻第５２１～５３０頁（１９８５年））から単離された断片を含有する。プロモータの下流は、遺伝子の組み込みを可能にするＢａｍＨＩ、ＸｂａＩ及びＡｓｐ７１８制限酵素切断部位である。これらのクローニング部位の後に、プラスミドは、ラットプレプロインスリン遺伝子の３’イントロン及びポリアデニル化部位を含有する。他の高効率のプロモータ、例えば、ヒトβアクチンプロモータ、ＳＶ４０初期若しくは後期プロモータ、又は他のレトロウイルス、例えばＨＩＶ及びＨＴＬＶＩからの長末端反復も発現のために使用することができる。ＣｌｏｎｔｅｃｈのＴｅｔ－Ｏｆｆ及びＴｅｔ－Ｏｎ遺伝子発現系、並びに類似の系を使用して、哺乳類細胞において調節された方法で、ＴＮＦを発現させることができる（Ｍ．Ｇｏｓｓｅｎ及びＨ．Ｂｕｊａｒｄ、「Ｐｒｏｃ．Ｎａｔｌ．Ａｃａｄ．Ｓｃｉ．ＵＳＡ」第８９巻第５５４７～５５５１頁（１９９２年））。ｍＲＮＡのポリアデニル化のために、例えば、ヒト成長ホルモン又はグロビン遺伝子からの他のシグナルも使用することができる。染色体に組み込まれた目的の遺伝子を有する安定した細胞株は、ｇｐｔ、Ｇ４１８又はハイグロマイシンなどの選択マーカとの共トランスフェクションの際に選択することもできる。最初に１つを超える選択マーカ、例えばＧ４１８、に加えてメトトレキサートを使用するのが有利である。

【０２３９】

このプラスミドｐＣ４を制限酵素で消化した後に、当該技術分野において既知の手順により、子ウシ腸ホスファターゼを使用して脱リン酸化する。次に、ベクタは１％アガロースゲルから単離される。

【０２４０】

次に、単離された可変及び定常領域コードＤＮＡ及び脱リン酸化ベクタをＴ４　ＤＮＡリガーゼで連結する。次に、大腸菌ＨＢ１０１又はＸＬ－１　Ｂｌｕｅ細胞を形質転換し、例えば、制限酵素分析を使用して、プラスミドｐＣ４に挿入された断片を含有する細菌を特定する。

【０２４１】

トランスフェクションには、活性ＤＨＦＲ遺伝子が欠損しているチャイニーズハムスタ卵巣（ＣＨＯ）細胞が使用される。５μｇの発現プラスミドｐＣ４は、リポフェクチンを使用して、０．５μｇのプラスミドｐＳＶ２－ｎｅｏで共トランスフェクトされる。プラスミドｐＳＶ２－ｎｅｏは、優性の選択マーカである、Ｇ４１８を含む一群の抗生物質に対して耐性を付与する酵素をコードするＴｎ５からのｎｅｏ遺伝子を含有する。１μｇ／ｍＬのＧ４１８で補充したαマイナスＭＥＭに細胞を播種する。２日後、細胞をトリプシン処理し、ハイブリドーマクローニングプレート（Ｇｒｅｉｎｅｒ，Ｇｅｒｍａｎｙ）中の、１０、２５、又は５０ｎｇ／ｍＬのメトトレキサート＋１μｇ／ｍＬのＧ４１８で補充したαマイナスＭＥＭに播種する。約１０～１４日後、単一クローンをトリプシン処理した後、異なる濃度のメトトレキサート（５０ｎＭ、１００ｎＭ、２００ｎＭ、４００ｎＭ、８００ｎＭ）を使用して、６ウェルペトリ皿又は１０ｍＬフラスコに播種する。次に、最高濃度のメトトレキサートで成長させているクローンを、更に高い濃度のメトトレキサート（１ｍＭ、２ｍＭ、５ｍＭ、１０ｍＭ、２０ｍＭ）を含む新しい６ウェルプレートに移す。１００～２００ｍＭの濃度で成長するクローンが得られるまで同じ手順を繰り返す。所望の遺伝子生成物の発現は、例えば、ＳＤＳ－ＰＡＧＥ及びウエスタンブロットによって、又は逆相ＨＰＬＣ分析によって分析される。

【０２４２】

実施例２：トランスジェニックマウスを使用する、ヒトＴＮＦと反応する高親和性ヒトＩｇＧモノクローナル抗体の生成。

概要。ヒト重鎖及び軽鎖免疫グロブリン遺伝子を含有するトランスジェニックマウスを使用して、１つ又は２つ以上のＴＮＦ媒介性疾患の治療のための、ＴＮＦ作用を阻害するために治療的に使用することができる高親和性の完全ヒトモノクローナル抗体を生成する。重鎖及び軽鎖両方のヒト可変及び定常領域抗体導入遺伝子を含有する（ＣＢＡ／ＪｘＣ５７／ＢＬ６／Ｊ）$Ｆ_2$ハイブリッドマウスをヒト組換えＴＮＦで免疫する（Ｔａｙｌｏｒら、「Ｉｎｔｌ．Ｉｍｍｕｎｏｌ．」第６巻第５７９～５９１頁（１９９３年）；Ｌｏｎｂｅｒｇら、「Ｎａｔｕｒｅ」第３６８巻第８５６～８５９頁（１９９４年）、Ｎｅｕｂｅｒｇｅｒ，Ｍ．、「Ｎａｔｕｒｅ　Ｂｉｏｔｅｃｈ．」第１４巻第８２６頁（１９９６年）、Ｆｉｓｈｗｉｌｄら、「Ｎａｔｕｒｅ　Ｂｉｏｔｅｃｈｎｏｌｏｇｙ」第１４巻第８４５～８５１頁（１９９６年））。いくつかの融合物が完全ヒトＴＮＦ反応性ＩｇＧモノクローナル抗体の１つ又は２つ以上のパネルを生み出した。完全ヒト抗ＴＮＦ抗体を更に特徴付けする。全てはＩｇＧ１κである。かかる抗体は、およそ$１ｘ１０^{９}$～$９ｘ１０^{１２}$の親和性定数を有することが分かっている。これらの完全ヒトモノクローナル抗体の予期せぬ高親和性により、それらはＴＮＦ関連疾患、病態、又は障害における治療用途のための好適な候補となる。

【０２４３】

略語。ＢＳＡ－ウシ血清アルブミン、$ＣＯ_2$－二酸化炭素、ＤＭＳＯ－ジメチルスルホキシド、ＥＩＡ－酵素イムノアッセイ、ＦＢＳ－ウシ胎児血清、$Ｈ_2Ｏ_2$－過酸化水素、ＨＲＰ－西洋わさびペルオキシダーゼ、ＩＤ－皮内、Ｉｇ－免疫グロブリン、ＴＮＦ－組織壊死因子α、ＩＰ－腹腔内、ＩＶ－静脈内、Ｍａｂ又はｍＡｂ－モノクローナル抗体、ＯＤ－光学密度、ＯＰＤ－ｏフェニレンジアミン二塩酸塩、ＰＥＧ－ポリエチレングリコール、ＰＳＡ－ペニシリン、ストレプトマイシン、アンホテリシン、ＲＴ－室温、ＳＱ－皮下、ｖ／ｖ－単位容量当たりの容量、ｗ／ｖ－単位容量当たりの重量。

【０２４４】

材料及び方法

動物。ヒト抗体を発現し得るトランスジェニックマウスは、当該技術分野において既知であり、（例えば、ＧｅｎＰｈａｒｍ　Ｉｎｔｅｒｎａｔｉｏｎａｌ，Ｓａｎ　Ｊｏｓｅ，ＣＡ、Ａｂｇｅｎｉｘ，Ｆｒｅｅｍｏｎｔ，ＣＡなどから）市販されており、これはヒト免疫グロブリンを発現するが、マウスＩｇＭ又はＩｇκを発現しない。例えば、かかるトランスジェニックマウスは、Ｖ（Ｄ）Ｊ結合、重鎖クラススイッチ及び体細胞変異を受けてヒト配列免疫グロブリンのレパートリを生成する、ヒト配列導入遺伝子を含有する（Ｌｏｎｂｅｒｇら、「Ｎａｔｕｒｅ」第３６８巻第８５６～８５９頁（１９９４年））。軽鎖導入遺伝子は、例えば、部分的に、生殖系列ヒトＶκ領域のほぼ半分を含む酵母人工染色体クローンに由来し得る。加えて、重鎖導入遺伝子は、ヒトμ及びヒトγ１の両方（Ｆｉｓｈｗｉｌｄら、「Ｎａｔｕｒｅ　Ｂｉｏｔｅｃｈｎｏｌｏｇｙ」第１４巻第８４５～８５１頁（１９９６年））並びに／又はγ３定常領域をコードすることができる。適切な遺伝子型系統由来のマウスを免疫付与及び融合プロセスにおいて使用して、ＴＮＦに対する完全ヒトモノクローナル抗体を生成することができる。

【０２４５】

免疫付与。１つ又は２つ以上の免疫付与スケジュールは、抗ＴＮＦヒトハイブリドーマを生成するために使用することができる。以下の例示的な免疫付与プロトコルに従って、最初のいくつかの融合を行うことができるが、他の類似の既知のプロトコルを使用することもできる。数匹の１４～２０週齢の雌及び／又は外科的に去勢した雄のトランスジェニックマウスに対して、最終容量１００～４００μＬ（例えば、２００）で等量のＴＩＴＥＲＭＡＸ又は完全フロイントアジュバントで乳化した１～１０００μｇの組換えヒトＴＮＦをＩＰ又はＩＤに接種する。各マウスは、任意選択的に、２ＳＱ部位の各々に１００μＬの生理学的生理食塩水中１～１０μｇを受けることもできる。その後、マウスは、１～７、５～１２、１０～１８、１７～２５及び／又は２１～３４日後にＩＰ（１～４００μｇ）及びＳＱ（１～４００μｇｘ２）により等量のＴＩＴＥＲＭＡＸ又は完全フロイントアジュバントで乳化したＴＮＦで、免疫化され得る。抗凝固薬無しで１２～２５及び２５

～４０日後に眼窩後方穿刺によりマウスを出血させることができる。次に、血液を室温で１時間凝固させ、血清を回収し、既知の方法によりＴＮＦ　ＥＩＡアッセイを使用して滴定する。反復注射が力価の増加を生じなければ、融合を行う。その際、マウスに、１００μＬの生理学的生理食塩水に希釈した１～４００μｇのＴＮＦの最終ＩＶブースタ注射を与えることができる。３日後、マウスを頸椎脱臼により安楽死させ、脾臓を無菌的に除去し、１００Ｕ／ｍＬのペニシリン、１００μｇ／ｍＬのストレプトマイシン及び０．２５μｇ／ｍＬのアンホテリシンＢ（ＰＳＡ）を含有する、１０ｍＬの冷リン酸塩緩衝生理食塩水（ＰＢＳ）中に浸漬することができる。ＰＳＡ－ＰＢＳで脾臓を無菌灌流することにより、脾細胞を採取する。細胞を冷ＰＳＡ－ＰＢＳ中で１回洗浄し、トリパンブルー染料排除を使用して計数し、２５ｍＭヘペスを含有するＲＰＭＩ　１６４０培地に再懸濁する。

【０２４６】

細胞融合。既知の、例えば、当該技術分野で従来の方法に従い、１：１～１：１０のマウス骨髄腫細胞対生脾臓細胞比率で融合を行うことができる。非限定的な例として、脾臓細胞及び骨髄腫細胞は一緒にペレット化することができる。次に、３０秒かけてペレットを３７℃でゆっくり１ｍＬの５０％（ｗ／ｖ）ＰＥＧ／ＰＢＳ溶液（ＰＥＧ分子量１，４５０、Ｓｉｇｍａ）に再懸濁することができる。その後、１分かけて２５ｍＭヘペスを含有する１０．５ｍＬのＲＰＭＩ　１６４０培地（３７℃）をゆっくり添加することによって、融合を停止させることができる。融合細胞を５分間５００～１５００ｒｐｍで遠心分離する。その後、細胞をＨＡＴ培地（２５ｍＭヘペス、１０％胎児クローンＩ血清（Ｈｙｃｌｏｎｅ）、１ｍＭピルビン酸ナトリウム、４ｍＭ　Ｌ－グルタミン、１０μｇ／ｍＬのゲンタマイシン、２．５％Ｏｒｉｇｅｎ培養サプリメント（Ｆｉｓｈｅｒ）、１０％６５３調整ＲＰＭＩ１６４０／ヘペス培地、５０μＭ　２－メルカプトエタノール、１００μＭヒポキサンチン、０．４μＭアミノプテリン及び１６μＭチミジンを含有するＲＰＭＩ　１６４０培地）に再懸濁した後、１５の９６ウェル平底組織培養プレートに２００μＬ／ウェルで平板培養する。次に、７～１０日間、５％CO_2及び９５％空気を含有する加湿した３７℃のインキュベータにプレートを配置する。

【０２４７】

マウス血清におけるヒトＩｇＧ抗ＴＮＦ抗体の検出。固相ＥＩＡを使用して、ヒトＴＮＦに特異的なヒトＩｇＧ抗体についてマウス血清をスクリーニングすることができる。簡潔に、ＰＢＳ中２μｇ／ｍＬのＴＮＦで一晩プレートをコーティングすることができる。０．０２％（ｖ／ｖ）Ｔｗｅｅｎ２０を含有する０．１５Ｍ生理食塩水で洗浄した後、ウェルをＰＢＳ中１％（ｗ／ｖ）ＢＳＡ、２００μＬ／ウェルで、室温で１時間遮断することができる。プレートは、直ちに使用するか、又は後に使用するために－２０℃で凍結する。マウス血清希釈物を、５０μＬ／ウェルでＴＮＦコーティングしたプレート上で、室温で１時間インキュベートする。プレートを洗浄した後、１％ＢＳＡ－ＰＢＳ中に１：３０，０００で希釈したＦｃ特異的な５０μＬ／ウェルＨＲＰ標識ヤギ抗ヒトＩｇＧにより、室温で１時間プローブする。プレートを再度洗浄することができ、１００μＬ／ウェルのクエン酸塩－リン酸塩基質溶液（０．１Ｍクエン酸及び０．２Ｍリン酸ナトリウム、０．０１％　H_2O_2及び１ｍｇ／ｍＬ　ＯＰＤ）を１５分かけて室温で添加する。次に、２５μＬ／ウェルで反応停止溶液（４Ｎ硫酸）を添加し、自動プレート分光光度計により４９０ｎｍでＯＤを読み取る。

【０２４８】

ハイブリドーマ上清における完全ヒト免疫グロブリンの検出。好適なＥＩＡを使用して、完全ヒト免疫グロブリンを分泌する成長陽性ハイブリドーマを検出することができる。簡潔に、９６ウェルのポップアウトプレート（ＶＷＲ、６１０７４４）を、４℃で一晩、炭酸ナトリウム緩衝剤中１０μｇ／ｍＬのヤギ抗ヒトＩｇＧ　Ｆｃでコーティングすることができる。プレートを洗浄し、３７℃で１時間、１％ＢＳＡ－ＰＢＳで遮断し、直ちに使用するか、又は－２０℃で凍結する。未希釈ハイブリドーマ上清を、プレート上で、３７℃で１時間インキュベートする。プレートを洗浄し、１％ＢＳＡ－ＰＢＳ中に１：１０，０００で希釈したＨＲＰ標識ヤギ抗ヒトκにより、３７℃で１時間プローブする。次に

、上述のように、プレートを基質溶液と共にインキュベートする。

【０２４９】

完全ヒト抗ＴＮＦ反応性の決定。上記のハイブリドーマは、好適なＲＩＡ又は他のアッセイを使用してＴＮＦに対する反応性について同時にアッセイすることができる。例えば、上記のように、上清をヤギ抗ヒトＩｇＧ　Ｆｃプレート上でインキュベートし、洗浄した後、室温で１時間、ウェル当たり適切な計数で、放射線標識されたＴＮＦでプローブする。ウェルをＰＢＳで２回洗浄し、好適な計数器を使用して、結合した放射線標識されたＴＮＦを定量化する。

【０２５０】

ヒトＩｇＧ１κ抗ＴＮＦ分泌ハイブリドーマを細胞培養において拡張し、限定希釈により系列的にサブクローニングすることができる。結果として得られたクローン集団を拡張し、凍結培地（９５％ＦＢＳ、５％ＤＭＳＯ）中で凍結保存し、液体窒素中で保管する。

【０２５１】

アイソタイプ。抗体のアイソタイプの決定は、特定の滴定に対するマウス免疫血清をスクリーニングするために使用されたものと類似の形式のＥＩＡを使用して達成することができる。上述のように９６ウェルプレート上にＴＮＦをコーティングすることができ、２μｇ／ｍＬの精製された抗体を、室温で１時間、プレート上でインキュベートすることができる。プレートを洗浄し、１％ＢＳＡ－ＰＢＳ中に１：４０００で希釈したＨＲＰ標識ヤギ抗ヒトＩｇＧ$_1$又はＨＲＰ標識ヤギ抗ヒトＩｇＧ$_3$で、室温で１時間プローブする。プレートを再度洗浄し、上述のように基質溶液と共にインキュベートする。

【０２５２】

ヒトＴＮＦによるヒト抗ヒトＴＮＦ抗体の結合動力学。抗体の結合特徴は、例えば、ＴＮＦ捕捉ＥＩＡ及びＢＩＡｃｏｒｅ技術を使用して好適に評価することができる。精製されたヒトＴＮＦ抗体の段階的濃度は、上述のように、アッセイにおいて、２μｇ／ｍＬのＴＮＦでコーティングされたＥＩＡプレートへの結合について評価することができる。その後、相対結合効率を示す片対数プロットとしてＯＤを表すことができる。

【０２５３】

定量的結合定数は、例えば、以下のように、又は任意のその他の既知の好適な方法によって得ることができる。ＢＩＡｃｏｒｅ　ＣＭ－５（カルボキシメチル）チップをＢＩＡｃｏｒｅ　２０００ユニットに配置する。ＨＢＳ緩衝剤（０．０１Ｍ　ＨＥＰＥＳ、０．１５Ｍ　ＮａＣｌ、３ｍＭ　ＥＤＴＡ、０．００５％ｖ／ｖ　Ｐ２０界面活性剤、ｐＨ７．４）を、安定したベースラインが得られるまで、５μｌ／分でチップのフローセル上に流す。２００μＬの水中１５ｍｇのＥＤＣ（Ｎ－エチル－Ｎ’－（３－ジメチル－アミノプロピル）－カルボジイミド塩酸塩）の溶液（１００μＬ）を、２００μＬの水中２．３ｍｇのＮＨＳ（Ｎ－ヒドロキシコハク酸イミド）の１００μＬの溶液に添加する。結果として得られた溶液の４０μＬをチップ上に注入する。６μＬのヒトＴＮＦの溶液（１０ｍＭ酢酸ナトリウム中１５μｇ／ｍＬ、ｐＨ４．８）をチップ上に注入し、約５００ＲＵの増加をもたらす。緩衝剤をＴＢＳ／Ｃａ／Ｍｇ／ＢＳＡ泳動緩衝剤（２０ｍＭトリス、０．１５Ｍ塩化ナトリウム、２ｍＭ塩化カルシウム、２ｍＭ酢酸マグネシウム、０．５％トリトンＸ－１００、２５μｇ／ｍＬ　ＢＳＡ、ｐＨ７．４）に変更し、一晩チップ上に流してそれを平衡化し、全ての未反応のコハク酸エステルを加水分解又はキャップする。

【０２５４】

３３．３３、１６．６７、８．３３、及び４．１７ｎＭで泳動緩衝剤中に抗体を溶解する。流量を３０μＬ／分に調整し、器具の温度を２５℃に調整する。１つはＴＮＦが固定化され（試料）、２つ目は非誘導化フローセル（ブランク）である、２つのフローセルを動態実行に使用する。各抗体濃度を１２０μＬ、フローセル上に３０μＬ／分で注入し（会合相）、続いて３６０秒間連続して緩衝剤を流す（解離相）。各３０μＬの２Ｍチオシアン酸グアニジンを２回順次注入することにより、チップの表面を再生する（組織壊死因子α／抗体複合体の解離）。

【０２５５】

データの分析は、当該技術分野において既知であるＢＩＡ評価３．０又はＣＬＡＭＰ２．０を使用して行われる。各抗体濃度について、ブランクセンソグラムを試料センソグラムから減ずる。解離（k_d，sec^{-1}）及び会合（k_a，$mol^{-1}\ sec^{-1}$）の両方についてグローバルフィットを行い、解離定数（K_D，ｍｏｌ）を算出する（k_d/k_a）。抗体親和性が充分に高いため、捕捉された抗体のＲＵが１００超である場合、抗体の追加希釈が実行される。

【０２５６】

結果と考察

抗ヒトＴＮＦモノクローナル抗体の生成。いくつかの融合を行い、ヒトＴＮＦに特異的な数十の抗体を生み出す各融合物を１５のプレート（１４４０ウェル／融合物）に播種する。これらのうち、いくつかは、ヒト及びマウスＩｇ鎖の組み合わせからなることが分かる。残りのハイブリドーマは、ヒト重鎖及び軽鎖のみからなる抗ＴＮＦ抗体を分泌（ｓｅｃｒｅｔ）する。ヒトハイブリドーマの全てがＩｇＧ１κであることが予想される。

【０２５７】

ヒト抗ヒトＴＮＦ抗体の結合動力学。ＥＬＩＳＡ分析は、これらのハイブリドーマのほとんど又は全てからの精製された抗体が、濃度依存的にＴＮＦに結合することを確認する。図１及び図２Ａ～図２Ｂは、これらの抗体の相対的結合効率の結果を示す。この場合、抗体のその同族抗原（エピトープ）に対する結合活性度を測定する。ＴＮＦを直接ＥＩＡプレートに結合すると、タンパク質の変性を引き起こし得、見かけ上の結合親和性は、未変性タンパク質への結合を反映することができないことに留意するべきである。５０パーセントの結合が広範な濃度にわたって見られる。

【０２５８】

定量的結合定数はヒト抗体のＢＩＡｃｏｒｅ分析を使用して得られ、ヒトモノクローナル抗体のいくつかが$1x10^{-9}$～$7x10^{-12}$の範囲のK_Dを有して非常に高い親和性であることを明らかにする。

【０２５９】

結論。

いくつかの融合は、ヒトＴＮＦで免疫化されるヒト可変及び定常領域抗体導入遺伝子を含有するハイブリッドマウスからの脾細胞を利用して行われる。ＩｇＧ１κアイソタイプのいくつかの完全ヒトＴＮＦ反応性ＩｇＧモノクローナル抗体のセットを生成した。完全ヒト抗ＴＮＦ抗体を更に特徴付けする。生成された抗体のうちのいくつかは、$1x10^{9}$～$9x10^{12}$の親和性定数を有する。これらの完全ヒトモノクローナル抗体の予期せぬ高親和性により、それらはＴＮＦ依存疾患、病態又は関連状態における治療用途に好適なものとなる。

【０２６０】

実施例３：ヒトＴＮＦαに反応性のヒトＩｇＧモノクローナル抗体の生成。

概要。重鎖及び軽鎖両方のヒト可変及び定常領域抗体導入遺伝子を含有する（ＣＢＡ／ＪｘＣ５７ＢＬ／６Ｊ）F_2ハイブリッドマウス（１～４）を組換えヒトＴＮＦαで免疫化した。ＧｅｎＴＮＶと命名された１つの融合が、固定化された組換えヒトＴＮＦαに結合する完全ヒトＩｇＧ１κモノクローナル抗体を８つ生み出した。特定直後、８つの細胞株は、更に特徴付けするためにＭｏｌｅｃｕｌａｒ　Ｂｉｏｌｏｇｙに譲渡された。これらＭａｂは配列が完全にヒトであるため、それらはヒトにおけるｃＡ２（Ｒｅｍｉｃａｄｅ）よりも免疫原性が低いと予想される。

【０２６１】

略語。ＢＳＡ－ウシ血清アルブミン、CO_2－二酸化炭素、ＤＭＳＯ－ジメチルスルホキシド、ＥＩＡ－酵素イムノアッセイ、ＦＢＳ－ウシ胎児血清、H_2O_2－過酸化水素、ＨＣ－重鎖、ＨＲＰ－西洋わさびペルオキシダーゼ、ＩＤ－皮内、Ｉｇ－免疫グロブリン、ＴＮＦ－組織壊死因子α、ＩＰ－腹腔内、ＩＶ－静脈内、Ｍａｂ－モノクローナル抗体、ＯＤ－光学密度、ＯＰＤ－ｏフェニレンジアミン二塩酸塩、ＰＥＧ－ポリエチレングリコール、ＰＳＡ－ペニシリン、ストレプトマイシン、アンホテリシン、ＲＴ－室温、ＳＱ

－皮下、ＴＮＦα－腫瘍壊死因子α、ｖ／ｖ－単位容量当たりの容量、ｗ／ｖ－単位容量当たりの重量。

【０２６２】

序論。ヒト重鎖及び軽鎖免疫グロブリン遺伝子を含有するトランスジェニックマウスを利用して、組換えヒトＴＮＦαに特異的な完全ヒトモノクローナル抗体を生成した。ｃＡ２（Ｒｅｍｉｃａｄｅ）は、血清半減期が増加し、免疫原性に関する副作用が減少する利益を有して、ＴＮＦα媒介性疾患に関与する炎症性プロセスを治療的に阻害するために使用されるため、これらの固有の抗体を使用することができると期待される。

【０２６３】

本明細書で定義されるとき、用語「半減期」は、薬物の血漿濃度（例えば、治療用の抗ＴＮＦα抗体）が、１消失半減期後に半減することを示す。したがって、それぞれの後続の半減期では、より少ない薬物が消失する。１半減期後に体内に残っている薬物の量は５０％であり、２半減期後では２５％、といった具合である。薬物の半減期は、そのクリアランス及び分布容積に依存する。消失半減期は、体内の薬物の量とは無関係であると考えられる。

【０２６４】

材料及び方法。

動物。ヒト免疫グロブリンを発現するが、マウスＩｇＭ又はＩｇκを発現しないトランスジェニックマウスは、ＧｅｎＰｈａｒｍ　Ｉｎｔｅｒｎａｔｉｏｎａｌにより開発されてきた。これらのマウスは、Ｖ（Ｄ）Ｊ結合、重鎖クラススイッチ及び体細胞変異を受けて抗原特異的ヒト免疫グロブリン（１）のレパートリを生成する、機能性ヒト抗体導入遺伝子を含有する。軽鎖導入遺伝子は、部分的に、生殖系列ヒトＶκ遺伝子座のほぼ半分を含む酵母人工染色体クローンに由来する。いくつかのＶＨ遺伝子に加えて、重鎖（ＨＣ）導入遺伝子は、ヒトμ及びヒトγ１（２）、並びに／又はγ３定常領域の両方をコードする。本明細書に記載されるモノクローナル抗体を生成するための免疫付与及び融合プロセスにおいて、ＨＣｏ１２／ＫＣｏ５遺伝子型系統由来のマウスを使用した。

【０２６５】

ヒトＴＮＦαの精製。セファロース４Ｂ（Ｐｈａｒｍａｃｉａ）に連結されたＴＮＦα受容体－Ｆｃ融合タンパク質（ｐ５５－ｓｆ２）（５）を充填したカラムを使用して、アフィニティクロマトグラフィにより、ヒトＴＮＦαを、Ｃ２３７Ａ細胞からの組織培養上清から精製した。細胞上清を、その容量の９分の１の１０ｘＤｕｌｂｅｃｃｏのＰＢＳ（Ｄ－ＰＢＳ）と混合し、４ｍＬ／分で、４℃でカラムを通過させた。次に、ＰＢＳでカラムを洗浄し、０．１Ｍクエン酸ナトリウム、ｐＨ３．５でＴＮＦαを溶出し、２Ｍトリス　ＨＣｌ、ｐＨ８．５で中和した。精製されたＴＮＦαは、１０ｍＭトリス、０．１２Ｍ塩化ナトリウム、ｐＨ７．５に緩衝剤交換され、０．２ｕｍのシリンジフィルタを通して濾過された。

【０２６６】

免疫付与。およそ１６週齢の雌のＧｅｎＰｈａｒｍマウスを、０、１２及び２８日目に等量のＴｉｔｅｒｍａｘアジュバントで乳化した合計１００μｇのＴＮＦα（ロットＪＧ１０２２９８又はＪＧ１０２０９８）で、ＩＰ（２００μＬ）及びＩＤ（尾の付け根にて１００μＬ）により免疫化した。抗凝固薬無しで２１及び３５日目に眼窩後方穿刺によりマウスを出血させた。血液を室温で１時間凝固させ、血清を回収し、ＴＮＦα固相ＥＩＡアッセイを使用して滴定した。２８日目の注射後、マウスを７週間休ませた後に、ＧｅｎＴＮＶと命名された融合を行った。その後、ＴＮＦαに対して１：１６０の特定のヒトＩｇＧ力価を有するマウスに、１００μＬの生理学的生理食塩水で希釈した５０μｇのＴＮＦαの最終ＩＶブースタ注射を与えた。３日後、マウスを頸椎脱臼により安楽死させ、脾臓を無菌的に除去し、１００Ｕ／ｍＬのペニシリン、１００μｇ／ｍＬのストレプトマイシン、及び０．２５μｇ／ｍＬのアンホテリシンＢ（ＰＳＡ）を含有する、１０ｍＬの冷リン酸塩緩衝生理食塩水（ＰＢＳ）中に浸漬した。ＰＳＡ－ＰＢＳで脾臓を無菌灌流することにより、脾細胞を採取した。細胞を冷ＰＳＡ－ＰＢＳ中で１回洗浄し、Ｃｏｕｌｔｅ

ｒ計数器を使用して計数し、２５ｍＭヘペスを含有するＲＰＭＩ　１６４０培地に再懸濁した。

【０２６７】

細胞株。Ｃｅｌｌ　Ｂｉｏｌｏｇｙ　Ｓｅｒｖｉｃｅｓ（ＣＢＳ）グループは、９７年５月１４日に、Ｃｅｎｔｏｃｏｒ’ｓ　Ｐｒｏｄｕｃｔ　Ｄｅｖｅｌｏｐｍｅｎｔグループから非分泌マウス骨髄腫融合パートナ６５３を受け取った。細胞株を、１０％（ｖ／ｖ）ＦＢＳ（Ｃｅｌｌ　Ｃｕｌｔｕｒｅ　Ｌａｂｓ）、１ｍＭピルビン酸ナトリウム、０．１ｍＭ　ＮＥＡＡ、２ｍＭ　Ｌ－グルタミン（全てＪＲＨ　Ｂｉｏｓｃｉｅｎｃｅｓから）で補充したＲＰＭＩ培地（ＪＲＨ　Ｂｉｏｓｃｉｅｎｃｅｓ）中で拡張し、９５％ＦＢＳ及び５％ＤＭＳＯ（Ｓｉｇｍａ）中で凍結保存した後、ＣＢＳの蒸気相液体窒素冷凍庫に保管した。細胞バンクは無菌であり（Ｑｕａｌｉｔｙ　Ｃｏｎｔｒｏｌ　Ｃｅｎｔｏｃｏｒ，Ｍａｌｖｅｒｎ）、マイコプラズマ（Ｂｉｏｎｉｑｕｅ　Ｌａｂｏｒａｔｏｒｉｅｓ）がなかった。細胞は融合まで対数増殖期培養物内で維持された。融合前に、それらをＰＢＳ中で洗浄し、計数し、トリパンブルー染料排除により生存率を決定した（９５％超）。

【０２６８】

ヒトＴＮＦαは、組換え細胞株により産生され、Ｃ２３７Ａと命名され、ＣｅｎｔｏｃｏｒのＭｏｌｅｃｕｌａｒ　Ｂｉｏｌｏｇｙで産生された。細胞株を、５％（ｖ／ｖ）ＦＢＳ（Ｃｅｌｌ　Ｃｕｌｔｕｒｅ　Ｌａｂｓ）、２ｍＭ　Ｌ－グルタミン（全てＪＲＨ　Ｂｉｏｓｃｉｅｎｃｅｓから）及び０．５：ｇ／ｍＬのマイコフェノール酸で補充したＩＭＤＭ培地（ＪＲＨ　Ｂｉｏｓｃｉｅｎｃｅｓ）中で拡張し、９５％ＦＢＳ及び５％ＤＭＳＯ（Ｓｉｇｍａ）中で凍結保存した後、ＣＢＳ（１３）の蒸気相液体窒素冷凍庫に保管した。細胞バンクは無菌であり（Ｑｕａｌｉｔｙ　Ｃｏｎｔｒｏｌ　Ｃｅｎｔｏｃｏｒ，Ｍａｌｖｅｒｎ）、マイコプラズマ（Ｂｉｏｎｉｑｕｅ　Ｌａｂｏｒａｔｏｒｉｅｓ）がなかった。

【０２６９】

細胞融合。細胞融合は、１：１の比率の６５３マウス骨髄腫細胞及びマウス生脾臓細胞を使用して行った。簡潔に、脾臓細胞及び骨髄腫細胞を一緒にペレット化した。３０秒間かけてペレットを３７℃でゆっくり１ｍＬの５０％（ｗ／ｖ）ＰＥＧ／ＰＢＳ溶液（ＰＥＧ分子量１，４５０ｇ／モル、Ｓｉｇｍａ）に再懸濁した。１分かけて１０．５ｍＬのＲＰＭＩ培地（添加剤無し）（ＪＲＨ）（３７℃）をゆっくり添加することにより、融合を停止させた。融合細胞を５分間７５０ｒｐｍで遠心分離した。その後、細胞をＨＡＴ培地（１０％ウシ胎児血清（ＪＲＨ）、１ｍＭピルビン酸ナトリウム、２ｍＭ　Ｌ－グルタミン、１０μｇ／ｍＬのゲンタマイシン、２．５％Ｏｒｉｇｅｎ培養サプリメント（Ｆｉｓｈｅｒ）、５０μＭ　２－メルカプトエタノール、１％　６５３調整ＲＰＭＩ培地、１００μＭヒポキサンチン、０．４μＭアミノプテリン及び１６μＭチミジンを含有するＲＰＭＩ／ＨＥＰＥＳ培地）に再懸濁した後、５つの９６ウェル平底組織培養プレートを２００μＬ／ウェルで平板培養した。次に、７～１０日間、５％CO_2及び９５％空気を含有する加湿した３７℃のインキュベータにプレートを配置した。

【０２７０】

マウス血清におけるヒトＩｇＧ抗ＴＮＦα抗体の検出。固相ＥＩＡを使用して、ヒトＴＮＦαに特異的なヒトＩｇＧ抗体についてマウス血清をスクリーニングした。簡潔に、ＰＢＳ中１μｇ／ｍＬのＴＮＦαで一晩プレートをコーティングした。０．０２％（ｖ／ｖ）Ｔｗｅｅｎ２０を含有する０．１５Ｍ生理食塩水で洗浄した後、ウェルをＰＢＳ中１％（ｗ／ｖ）ＢＳＡ、２００μＬ／ウェルで、室温で１時間遮断した。プレートは、直ちに使用するか、又は後に使用するために－２０℃で凍結されるかのいずれかにした。マウス血清を、５０μＬ／ウェルで、室温で１時間、２倍階段希釈法で、ヒトＴＮＦαコーティングされたプレート上でインキュベートした。プレートを洗浄した後、１％ＢＳＡ－ＰＢＳ中に１：３０，０００で希釈したＦｃ特異的（Ａｃｃｕｒａｔｅ）な５０μＬ／ウェルのＨＲＰ標識ヤギ抗ヒトＩｇＧにより、室温で１時間プローブする。プレートを再度洗浄

し、１００μＬ／ウェルのクエン酸塩－リン酸塩基質溶液（０．１Ｍクエン酸及び０．２Ｍリン酸ナトリウム、０．０１％　H_2O_2及び１ｍｇ／ｍＬ　ＯＰＤ）を１５分かけて室温で添加した。次いで、２５μＬ／ウェルで反応停止溶液（４Ｎ硫酸）を添加し、自動プレート分光光度計を使用して４９０ｎｍでＯＤを読み取った。

【０２７１】

ハイブリドーマ上清における完全ヒト免疫グロブリンの検出。ＧｅｎＰｈａｒｍマウスは、マウス及びヒト免疫グロブリン鎖の両方を生成することができるため、２つの別個のＥＩＡアッセイを使用して、ヒト軽鎖及びヒト重鎖の両方の存在について成長陽性ハイブリドーマクローンを試験した。プレートを上述のようにコーティングし、未希釈のハイブリドーマ上清を３７℃で１時間、プレート上でインキュベートした。プレートを洗浄し、３７℃で１時間、１％　ＢＳＡ－ＨＢＳＳ中で１：１０，０００に希釈したＨＲＰ抱合ヤギ抗ヒトκ（Ｓｏｕｔｈｅｒｎ　Ｂｉｏｔｅｃｈ）抗体、又は１％　ＢＳＡ－ＨＢＳＳ中で１：３０，０００に希釈したＨＲＰ抱合ヤギ抗ヒトＩｇＧ　Ｆｃ特異的抗体のいずれかでプローブした。次に、上述のように、プレートを基質溶液と共にインキュベートした。抗ヒトκ及び抗ヒトＩｇＧ　Ｆｃ　ＥＩＡ形式の両方で陽性シグナルをもたらさなかったハイブリドーマクローンは廃棄された。

【０２７２】

アイソタイプ。抗体のアイソタイプの決定は、特定の力価に対するマウス免疫血清をスクリーニングするために使用されたものと類似の形式のＥＩＡを使用して達成した。４Ｅ℃で一晩、炭酸ナトリウム緩衝剤中１０：ｇ／ｍＬのヤギ抗ヒトＩｇＧ（Ｈ＋Ｌ）でＥＩＡプレートをコーティングし、上述のように遮断した。２４ウェル培養物からの希釈無しの上清を、室温で１時間、プレート上でインキュベートした。プレートを洗浄し、１％ＢＳＡ－ＰＢＳ中に１：４０００で希釈したＨＲＰ標識ヤギ抗ヒトIgG_1、IgG_2、IgG_3又はIgG_4（Ｂｉｎｄｉｎｇ　Ｓｉｔｅ）で、室温で１時間プローブした。プレートを再度洗浄し、上述のように基質溶液と共にインキュベートした。

【０２７３】

結果及び考察。完全ヒト抗ヒトＴＮＦαモノクローナル抗体の生成。組換えヒトＴＮＦαタンパク質で免疫化されたＧｅｎＰｈａｒｍマウスから、ＧｅｎＴＮＶと命名された融合を１回行った。この融合から、１９６の成長陽性ハイブリッドがスクリーニングされた。ヒトＴＮＦαと反応性の完全ヒトＩｇＧ抗体を分泌した８つのハイブリドーマ細胞株を特定した。これらの８つの細胞株はそれぞれ、ヒトＩｇＧ１κアイソタイプの免疫グロブリンを分泌し、限界希釈により全てを２回サブクローニングして、安定した細胞株を得た（９０％超均質）。細胞株名及びそれぞれのＣコード表記を表１に列挙する。細胞株の各々は、液体窒素中に保管された１２－バイアル研究細胞バンクにおいて凍結された。

【０２７４】

８つの細胞株の各々の２４ウェル培養皿のウェルから回収した親細胞は、トランスフェクション及び更なる特徴付けのために、１９９９年２月１８日にＭｏｌｅｃｕｌａｒ　Ｂｉｏｌｏｇｙグループに引き渡された。

【０２７５】

【表２】

表１：ＧｅｎＴＮＶ細胞株表記

名称	Cコード表記
GenTNV14. 17. 12	C414A
GenTNV15. 28. 11	C415A
GenTNV32. 2. 16	C416A
GenTNV86. 14. 34	C417A
GenTNV118. 3. 36	C418A
GenTNV122. 23. 2	C419A
GenTNV148. 26. 12	C420A
GenTNV196. 9. 1	C421A

【０２７６】

結論。

ＧｅｎＴＮＶ融合は、Ｃｅｎｔｏｃｏｒで調製された組換えヒトＴＮＦαで免疫化されたヒト可変及び定常領域抗体導入遺伝子を含有するハイブリッドマウスからの脾細胞を利用して行われた。ＩｇＧ１κアイソタイプの８つの完全ヒトＴＮＦα反応性ＩｇＧモノクローナル抗体を生成した。更なる特徴付け及び開発のために、親細胞株をＭｏｌｅｃｕｌａｒ　Ｂｉｏｌｏｇｙグループに移した。これらの新しいヒト抗体のうちの１つは、Ｒｅｍｉｃａｄｅと比較して、免疫原性及びアレルギー型合併症が減少する利益の可能性を有して、抗炎症に有用であり得る。

【０２７７】

参考文献：

Ｔａｙｌｏｒら．Ｉｎｔｅｒｎａｔｉｏｎａｌ　Ｉｍｍｕｎｏｌｏｇｙ　６：５７９－５９１（１９９３）。

Ｌｏｎｂｅｒｇら、「Ｎａｔｕｒｅ」第３６８巻第８５６～８５９頁（１９９４年）。

Ｎｅｕｂｅｒｇｅｒ，Ｍ．、「Ｎａｔｕｒｅ　Ｂｉｏｔｅｃｈｎｏｌｏｇｙ」第１４巻第８２６頁（１９９６年）。

Ｆｉｓｈｗｉｌｄら、「Ｎａｔｕｒｅ　Ｂｉｏｔｅｃｈｎｏｌｏｇｙ」第１４巻第８４５～８５１頁（１９９６年）。

Ｓｃａｌｌｏｎら、「Ｃｙｔｏｋｉｎｅ」第７巻第７５９～７７０頁（１９９５年）。

【０２７８】

実施例４：ヒト抗ＴＮＦα抗体を発現する細胞株のクローニング及び調製。

概要。ＴＮＶ表記の８つのヒトモノクローナル抗体（ｍＡｂ）のパネルは、明らかに高結合活性で固定化されたヒトＴＮＦαに結合することが認められた。８つのｍＡｂのうちの７つは、組換えＴＮＦ受容体へのヒトＴＮＦαの結合を効率的に遮断することを示した。７つのｍＡｂをコードするＤＮＡの配列分析は、全てのｍＡｂがヒトＶ領域を有していることを確認した。ＤＮＡ配列は、３対のｍＡｂが互いに同一であり、そのため８つのｍＡｂの元のパネルがＴＮＶ１４、ＴＮＶ１５、ＴＮＶ１４８、及びＴＮＶ１９６で表される４つの別個のｍＡｂのみを含有していることも明らかにした。ｍＡｂの推定アミノ酸配列の分析及びインビトロＴＮＦα中和データの結果に基づいて、ｍＡｂ　ＴＮＶ１４８及びＴＮＶ１４を更なる試験のために選択した。

【０２７９】

ＴＮＶ１４８重鎖の位置７５（フレームワーク３）のプロリン残基がデータベース検索中同じサブグループの他のヒト抗体のその位置に見られなかったため、それを既知の生殖系列フレームワークｅ配列と一致させるために、部位特異的ＤＮＡ変異誘発を行って、その位置にセリン残基をコード化した。セリン修飾ｍＡｂはＴＮＶ１４８Ｂと表記された。ＴＮＶ１４８Ｂ及びＴＮＶ１４の重鎖及び軽鎖可変領域をコード化するＰＣＲ増幅ＤＮＡを、別のヒトｍＡｂ（１２Ｂ７５）の最近クローニングされた重鎖及び軽鎖遺伝子に基づいた（国際公開第０２／１２５００号として公開された、「ＩＬ－１２　Ａｎｔｉｂｏｄ

ｉｅｓ，Ｃｏｍｐｏｓｉｔｉｏｎｓ，Ｍｅｔｈｏｄｓ　ａｎｄ　Ｕｓｅｓ」と題される、２０００年１０月７日出願の米国特許出願第６０／２３６，８２７号、参照により全体が本明細書に組み込まれる）、新しく調製した発現ベクタ内にクローニングした。

【０２８０】

Ｐ３Ｘ６３Ａｇ８．６５３（６５３）細胞又はＳｐ２／０－Ａｇ１４（Ｓｐ２／０）マウス骨髄腫細胞を、それぞれの重鎖及び軽鎖発現プラスミドでトランスフェクトし、高レベルの組換えＴＮＶ１４８Ｂ及びＴＮＶ１４（ｒＴＮＶ１４８Ｂ及びｒＴＮＶ１４）ｍＡｂを生成する細胞株について２回のサブクローニングによりスクリーニングした。経時的なｍＡｂ産生の成長曲線及び安定性の評価は、６５３トランスフェクタントクローンＣ４６６Ｄ及びＣ４６６Ｃが使用済培養物において安定しておよそ１２５：ｇ／ｍＬのｒＴＮＶ１４８Ｂ　ｍＡｂを産生し、一方Ｓｐ２／０トランスフェクタント１．７３－１２－１２２（Ｃ４６７Ａ）が使用済培養物において安定しておよそ２５：ｇ／ｍＬのｒＴＮＶ１４８Ｂ　ｍＡｂを産生したことを示した。同様の分析が、Ｓｐ２／０トランスフェクタントクローンＣ４７６Ａが使用済培養物において１８：ｇ／ｍＬのｒＴＮＶ１４を産生したことを示した。

【０２８１】

序論。ヒトＴＮＦα免疫化ＧｅｎＰｈａｒｍ／Ｍｅｄａｒｅｘマウス（ＨＣｏ１２／ＫＣｏ５遺伝子型）由来の８つのｍＡｂのパネルは、ヒトＴＮＦαに結合しかつ完全ヒトＩｇＧ１κアイソタイプを有することを前に示した。単純な結合アッセイを使用して、ＴＮＦαが組換えＴＮＦ受容体に結合するのを遮断する能力を評価することにより、本発明の例示的なｍＡｂがＴＮＦα中和活性を有する可能性があるかどうかを決定した。これらの結果、ＤＮＡ配列結果、及びｍＡｂのいくつかのインビトロ特徴付けに基づいて、更に特徴付けされるｍＡｂとしてＴＮＶ１４８が選択された。

【０２８２】

ＴＮＶ１４８　ｍＡｂをコードするＤＮＡ配列をクローニングし、好適な定常領域をコードする遺伝子発現ベクタ内に合うように修飾し、充分に特徴付けされた６５３及びＳｐ２／０マウス骨髄腫細胞内に導入し、結果として得られたトランスフェクトされた細胞株を、元のハイブリドーマ細胞株の４０倍のｍＡｂを産生するサブクローンが特定されるまでスクリーニングした。

【０２８３】

材料及び方法。

試薬及び細胞。ＴＲＩＺＯＬ試薬はＧｉｂｃｏ　ＢＲＬから購入した。プロテイナーゼＫはＳｉｇｍａ　Ｃｈｅｍｉｃａｌ　Ｃｏｍｐａｎｙから得た。逆転写酵素はＬｉｆｅ　Ｓｃｉｅｎｃｅｓ，Ｉｎｃ．から得た。Ｔａｑ　ＤＮＡポリメラーゼはＰｅｒｋｉｎ　Ｅｌｍｅｒ　Ｃｅｔｕｓ又はＧｉｂｃｏ　ＢＲＬのいずれかから得た。制限酵素はＮｅｗ　Ｅｎｇｌａｎｄ　Ｂｉｏｌａｂｓから購入した。ＱＩＡｑｕｉｃｋ　ＰＣＲ　Ｐｕｒｉｆｉｃａｔｉｏｎ　ＫｉｔはＱｉａｇｅｎから得た。ＱｕｉｋＣｈａｎｇｅ　Ｓｉｔｅ－Ｄｉｒｅｃｔｅｄ　Ｍｕｔａｇｅｎｅｓｉｓ　ＫｉｔはＳｔｒａｔａｇｅｎｅから購入した。Ｗｉｚａｒｄプラスミドミニプレップキット及びＲＮａｓｉｎはＰｒｏｍｅｇａからであった。ＯｐｔｉｐｌａｔｅｓはＰａｃｋａｒｄから得た。^{125}ＩｏｄｉｎｅはＡｍｅｒｓｈａｍから購入した。カスタムオリゴヌクレオチドはＫｅｙｓｔｏｎｅ／Ｂｉｏｓｏｕｒｃｅ　Ｉｎｔｅｒｎａｔｉｏｎａｌから購入した。この作業で使用したオリゴヌクレオチドの名称、識別番号、及び配列を表２に示す。

【０２８４】

表２．ＴＮＶ　ｍＡｂ遺伝子をクローニング、工学処理、又は配列決定するために使用されたオリゴヌクレオチド。

オリゴヌクレオチド５’１４ｓ及びＨｕＨ－Ｊ６によりコード化されるアミノ酸を配列の上に示す。「Ｍ」アミノ酸残基は翻訳開始コドンを表す。オリゴヌクレオチド５’１４ｓ及びＨｕＨ－Ｊ６の下線付き配列は、それぞれ、ＢｓｉＷＩ及びＢｓｔＢＩ制限部位を示す。ＨｕＨ－Ｊ６の斜線はエクソン／イントロン境界に対応する。配列がマイナス鎖に

対応するオリゴヌクレオチドは、３’－５’配向で書かれていることに留意する。

【０２８５】

【表３】

名称	I.D.	配列
HG1-4b	119	3'-TTGGTCCAGTCGGACTGG-5' （配列番号10）
HG1-5b	354	3'-CACCTGCACTCGGTGCTT-5' （配列番号11）
HG1hg	360	3'-CACTGTTTTGAGTGTGTACGGGCTTAAGTT-5' （配列番号12）
HG1-6	35	3'-GCCGCACGTGTGGAAGGG-5' （配列番号13）
HCK1-3E	117	3'-AGTCAAGGTCGGACTGGCTTAAGTT-5' （配列番号14）
HuK-3'Hd	208	3'-GTTGTCCCCTCTCACAATCTTCGAATTT-5' （配列番号15）
HVKRNAseq	34	3'-GGCGGTAGACTACTCGTC-5' （配列番号16）
BsiWI		M D W T W S I （配列番号17）
5'14s	366	5-TTTCGTACGCCACCATGGACTGGACCTGGAGCATC-3' （配列番号18）
5'46s	367	5'-TTTCGTACGCCACCATGGGGTTTGGGCTGAGCTG-3' （配列番号19）
5'47s	368	5'-TTTCGTACGCCACCATGGAGTTTGGGCTGAGCATG-3' （配列番号20）
5'63s	369	5'-TTTCGTACGCCACCATGAAACACCTGTGGTTCTTC-3' （配列番号21）
5'73s	370	5'-TTTCGTACGCCACCATGGGGTCAACCGCCATCCTC-3' （配列番号22）
BstBI		T V T V S （配列番号23）
HuH-J6	388	3'GTGCCAGTGGCAGAGGAGTCCATTCAAGCTTAAGTT-5' （配列番号24）
SalI		M D M R V （配列番号25）
LK7s	362	5'-TTTGTCGACACCATGGACATGAGGGTCC(TC)C-3' （配列番号26）
LVgs	363	5'-TTTGTCGACACCATGGAAGCCCCAGCTC-3' （配列番号27）
Afl2		T K V D I K （配列番号28）
HuL-J3	380	3'CTGGTTTCACCTATAGTTTG/CATTCAGAATTCGGCGCCTTT （配列番号29）
V148-QC1	399	5'-CATCTCCAGAGACAATtCCAAGAACACGCTGTATC-3' （配列番号30）
V148-QC2	400	3'-GTAGAGGTCTCTGTTAaGGTTCTTGTGCGACATAG-5' （配列番号31）

【０２８６】

６５３マウス骨髄腫細胞の凍結バイアルを１つ得た。バイアルをその日に解凍し、Ｔフラスコ中のＩＭＤＭ、５％ＦＢＳ、及び２ｍＭグルタミン（培地）中で拡張させた。これらの細胞は、本明細書に記載される抗ＴＮＦ　ＤＮＡで２～３週間後にトランスフェクトされるまで、連続培養において維持された。解凍した５日後に培養物のいくつかを採取し、遠心分離によりペレット化し、９５％ＦＢＳ、５％ＤＭＳＯに再懸濁し、３０のバイアルに等分し、凍結し、後に使用するために保管した。同様に、Ｓｐ２／０マウス骨髄腫細

胞の凍結バイアルを１つ得た。バイアルを解凍し、上述のように新しい凍結物（freeze-down）を調製し、凍結バイアルをＣＢＣの冷凍庫ボックスＡＡ及びＡＢ内で保管した。これらの細胞を解凍し、本明細書に記載される全てのＳｐ２／０トランスフェクションに使用した。

【０２８７】

受容体へのＴＮＦの結合の阻害のためのアッセイ。ＴＮＶ　ｍＡｂを含有するハイブリドーマ細胞上清を使用して、ｍＡｂが組換えＴＮＦ受容体融合タンパク質ｐ５５－ｓｆ２への^{125}Ｉ標識ＴＮＦαの結合を遮断する能力についてアッセイした（Ｓｃａｌｌｏｎら（１９９５年）「Ｃｙｔｏｋｉｎｅ」第７巻第７５９～７７０頁）。３７℃で１時間インキュベートする間に、ＰＢＳ中０．５：ｇ／ｍＬで５０：Ｌのｐ５５－ｓｆ２をＯｐｔｉｐｌａｔｅｓに添加してウェルをコーティングした。ＰＢＳ／０．１％ＢＳＡを希釈剤として使用して、８つのＴＮＶ細胞上清の系列希釈を、９６ウェル丸底プレートにおいて調製した。抗ＩＬ－１８　ｍＡｂを含有する細胞上清が陰性対照として含まれ、ｃＡ２（抗ＴＮＦキメラ抗体、Ｒｅｍｉｃａｄｅ、米国特許第５，７７０，１９８号、参照により全体が本明細書に組み込まれる）でスパイクされた同じ抗ＩＬ－１８上清が陽性対照として含まれた。最終ＴＮＦα濃度が５ｎｇ／ｍＬとなるように、^{125}Ｉ標識ＴＮＦα（５８：Ｃｉ／：ｇ，Ｄ．Ｓｈｅａｌｙ）を１００：Ｌの細胞上清に添加した。混合物を室温で１時間プレインキュベートした。コーティングされたＯｐｔｉｐｌａｔｅｓを洗浄して未結合のｐ５５－ｓｆ２を除去し、５０：Ｌの^{125}Ｉ－ＴＮＦα／細胞上清混合物をＯｐｔｉｐｌａｔｅｓに移した。室温で２時間後、ＰＢＳ－Ｔｗｅｅｎで３回、Ｏｐｔｉｐｌａｔｅｓを洗浄した。１００：ＬのＭｉｃｒｏｓｃｉｎｔ－２０を添加し、ＴｏｐＣｏｕｎｔ　γ計数器を使用して結合したｃｐｍを決定した。

【０２８８】

Ｖ遺伝子の増幅及びＤＮＡ配列分析。ＲＮＡの調製のために、ハイブリドーマ細胞をＰＢＳで１回洗浄した後にＴＲＩＺＯＬ試薬を添加した。7×10^{6}～1.7×10^{7}の細胞を１ｍＬのＴＲＩＺＯＬに再懸濁した。２００μＬのクロロホルムの添加後に管を激しく振った。試料を４°℃で１０分間遠心分離した。水相を新しいｍｉｃｒｏｆｕｇｅ管に移し、等量のイソプロパノールを添加した。管を激しく振り、室温で１０分間インキュベートした。次いで、試料を４°℃で１０分間遠心分離した。ペレットを１ｍｌの７０％エタノールで１回洗浄し、真空乾燥機で短時間乾燥させた。ＲＮＡペレットを４０μＬのＤＥＰＣ処理水で再懸濁した。ＲＮＡ調製物の品質は、１％アガロースゲル中で０．５μＬを分画することによって決定された。ＲＮＡは使用するまで－８０°℃の冷凍庫に保存した。

【０２８９】

重鎖及び軽鎖のｃＤＮＡを調製するために、１１．５μＬの容量に３μＬのＲＮＡ及び１μｇのオリゴヌクレオチド１１９（重鎖）又はオリゴヌクレオチド１１７（軽鎖）のいずれか（表１を参照のこと）を含む混合物を調製した。混合物を水浴中、７０°℃で１０分間インキュベートし、次に氷上で１０分間冷却した。２．５μＬの１０×逆転写酵素緩衝剤、１０μＬの２．５ｍＭ　ｄＮＴＰ、１μＬの逆転写酵素（２０単位）、及び０．４μＬのリボヌクレアーゼ阻害剤ＲＮａｓｉｎ（１単位）から構成される別個の混合物を調製した。１３．５μＬのこの混合物を、１１．５μＬの冷ＲＮＡ／オリゴヌクレオチド混合物に添加し、反応物を４２°℃で４０分間インキュベートした。次に、ｃＤＮＡ合成反応物を、使用するまで－２０°℃の冷凍庫に保存した。

【０２９０】

未精製の重鎖及び軽鎖のｃＤＮＡをテンプレートとして使用して、可変領域コード配列をＰＣＲ増幅した。重鎖ＤＮＡの増幅をプライムする能力について、５つのオリゴヌクレオチド対（３６６／３５４、３６７／３５４、３６８／３５４、３６９／３５４、及び３７０／３５４、表１）を同時に試験した。軽鎖ＤＮＡの増幅をプライムする能力について、２つのオリゴヌクレオチド対（３６２／２０８及び３６３／２０８）を同時に試験した。総容量５０μＬにおいて２単位のＰＬＡＴＩＮＵＭ（商標）高忠実度（ＨＩＦＩ）Ｔａ

ｑ　ＤＮＡポリメラーゼを使用して、ＰＣＲ反応を行った。各反応物は、２μＬのｃＤＮＡ反応物、１０ピコモルの各オリゴヌクレオチド、０．２ｍＭのｄＮＴＰ、５μＬの１０×ＨＩＦＩ緩衝剤、及び２ｍＭの硫酸マグネシウムを含んでいた。サーマルサイクラプログラムは、９５°℃で５分間、続いて３０サイクル（９４°℃で３０秒間、６２°℃で３０秒間、６８°℃で１．５分間）であった。次に、６８°℃で１０分間の最終インキュベーションを行った。

【０２９１】

直接ＤＮＡ配列決定のためのＰＣＲ生成物を調製するために、製造業者のプロトコルに従い、ＱＩＡｑｕｉｃｋ（商標）ＰＣＲ　Ｐｕｒｉｆｉｃａｔｉｏｎ　Ｋｉｔを使用してそれらを精製した。５０μＬの滅菌水を使用してスピンカラムからＤＮＡを溶出させた後、真空乾燥機を使用して１０μＬの容量まで乾燥させた。次に、総容量２０μＬの、１μＬの精製されたＰＣＲ生成物、１０μＭオリゴヌクレオチドプライマ、４μＬのＢｉｇＤｙｅ　Ｔｅｒｍｉｎａｔｏｒ（商標）ｒｅａｄｙ　ｒｅａｃｔｉｏｎ　ｍｉｘ、及び１４μＬの滅菌水でＤＮＡ配列決定反応物を設定した。オリゴヌクレオチド対３６７／３５４で作製された重鎖ＰＣＲ生成物は、オリゴヌクレオチドプライマ１５９及び３６０を用いて配列決定された。オリゴヌクレオチド対３６３／２０８で作製された軽鎖ＰＣＲ生成物は、オリゴヌクレオチド３４及び１６３を用いて配列決定された。配列決定用のサーマルサイクラプログラムは、２５サイクル（９６°℃で３０秒間、５０°℃で１５秒間、６０°℃で４分間）、続いて４°℃で一晩であった。反応生成物は、ポリアクリルアミドゲルを介して分画され、ＡＢＩ　３７７　ＤＮＡシーケンサを使用して検出された。

【０２９２】

アミノ酸を変更するための部位特異的変異誘発。ＴＮＶ１４８　ｍＡｂにおいてＰｒｏ^{75}をセリン残基に置き換えるために、ＴＮＶ１４８重鎖可変領域ＤＮＡ配列の単一ヌクレオチドを変更した。相補的オリゴヌクレオチド３９９及び４００（表１）を設計し、製造業者により説明されるように、ＱｕｉｋＣｈａｎｇｅ（商標）部位特異的変異誘発法を使用して、この変更を起こさせた。１５％ポリアクリルアミドゲルにより２つのオリゴヌクレオチドを最初に分画し、主要バンドを精製した。１０ｎｇ又は５０ｎｇのいずれかのＴＮＶ１４８重鎖プラスミドテンプレート（ｐ１７５３）、５μＬの１０×反応緩衝剤、１μＬのｄＮＴＰミックス、１２５ｎｇのプライマ３９９、１２５ｎｇのプライマ４００、及び１μＬのＰｆｕ　ＤＮＡポリメラーゼを使用して、変異誘発反応物を調製した。滅菌水を添加して総容量を５０μＬにした。次に、反応混合物を、９５°℃で３０秒間インキュベートするようにプログラムされたサーマルサイクラでインキュベートし、次に、９５°℃で３０秒間、５５°℃で１分間、６４°℃で１分間、６８°℃で７分間、続いて３０°℃で２分間（１サイクル）の一連のインキュベーションで１４回サイクルした。これらの反応物は、変異原性オリゴヌクレオチドを、その他の点では同一の新しく合成されたプラスミドに組み込むように設計された。元のＴＮＶ１４８プラスミドを除去するために、元のメチル化プラスミドのみを切断する１μＬのＤｐｎＩエンドヌクレアーゼを添加した後、試料を３７°℃で１時間インキュベートした。次に、１μＬの反応物を使用して、標準的な熱ショック方法によりＥｐｉｃｕｒｉａｎ　Ｃｏｌｉ　ＸＬ１－Ｂｌｕｅスーパーコンピテント大腸菌（Ｅ．ｃｏｌｉ））を形質転換し、ＬＢ－アンピシリン寒天プレート上で平板培養した後に形質転換された細菌を特定した。製造業者により説明されるＷｉｚａｒｄ（商標）キットを使用して、プラスミドミニプレップを調製した。Ｗｉｚａｒｄ（商標）カラムから試料を溶出した後、エタノールでプラスミドＤＮＡを沈殿させてプラスミドＤＮＡを更に精製し、その後２０μＬの滅菌水に再懸濁した。次に、ＤＮＡ配列分析を行って、所望の塩基変更を有するプラスミドクローンを特定し、他の塩基変更が不注意にＴＮＶ１４８コード配列内に導入されなかったことを確認した。セクション４．３に記載される同じパラメータを使用して、１μＬのプラスミドを、３μＬのＢｉｇＤｙｅミックス、１μＬのｐＵＣ１９フォワードプライマ、及び１０μＬの滅菌水で調製されたサイクル配列決定反応物に供した。

【０２９３】

１２Ｂ７５遺伝子からの発現ベクタの構築。いくつかの組換えＤＮＡ工程を行って、前にクローニングされた１２Ｂ７５コード重鎖及び軽鎖遺伝子のゲノムコピーから、それぞれ、新しいヒトＩｇＧ１発現ベクタ及び新しいヒトκ発現ベクタを調製した（これは、国際公開第０２／１２５００号として公開された、「ＩＬ－１２　Ａｎｔｉｂｏｄｉｅｓ，Ｃｏｍｐｏｓｉｔｉｏｎｓ，Ｍｅｔｈｏｄｓ　ａｎｄ　Ｕｓｅｓ」と題される、２０００年１０月７日出願の米国特許出願第６０／２３６，８２７号に開示されており、その全体は参照により本明細書に組み込まれる）。最終ベクタは、任意の適切に設計されたＰＣＲ増幅可変領域で、既存の可変領域配列の簡単な一工程置換を可能にするように設計された。

【０２９４】

プラスミドｐ１５６０の１２Ｂ７５重鎖遺伝子を修飾するために、プロモータ及び可変領域を含有する６．８５ｋｂのＢａｍＨＩ／ＨｉｎｄＩＩＩ断片をｐ１５６０からｐＵＣ１９に移してｐ１７４３を作製した。ｐ１５６０と比較してサイズがより小さいこのプラスミドは、製造業者のプロトコルに従い、翻訳開始部位のすぐ上流に固有のＢｓｉＷＩクローニング部位を導入するための、ＱｕｉｋＣｈａｎｇｅ（商標）変異誘発の使用（オリゴヌクレオチドＢｓｉＷＩ－１及びＢｓｉＷＩ－２を使用する）を可能にした。結果として得られたプラスミドはｐ１７４７と呼ばれた。ＢｓｔＢＩ部位を可変領域の３’端に導入するために、５’オリゴヌクレオチドプライマはＳａｌＩ及びＢｓｔＢＩ部位で設計された。このプライマをｐＵＣリバースプライマと共に使用してｐ１７４７から２．７５ｋｂの断片を増幅した。次に、この断片を１２Ｂ７５可変領域の自然に生じるＳａｌＩ部位及びＨｉｎｄＩＩＩ部位にクローニングして戻し、それにより固有のＢｓｔＢ１部位を導入した。ｐ１７５０と表記される結果として得られた中間ベクタは、ＢｓｉＷＩ及びＢｓｔＢＩ端を有する可変領域断片を受容することができた。定常領域も１２Ｂ７５遺伝子に由来する重鎖ベクタのバージョンを調製するために、ｐ１７５０のＢａｍＨＩ－ＨｉｎｄＩＩＩインサートは、ＨｉｎｄＩＩＩ部位の下流にＥｃｏＲＩ部位を有するためにｐＢＲ３２２に移された。次に、結果として得られたプラスミドｐ１７６８を、ＨｉｎｄＩＩＩ及びＥｃｏＲＩで消化し、ｐ１５６０からｐＢＣに大きなＢａｍＨＩ－ＢａｍＨＩ断片をクローニングすることによって得られたサブクローンであるｐ１７４４からの５．７ｋｂのＨｉｎｄＩＩＩ　ＥｃｏＲＩ断片にライゲートした。次に、結果として得られたプラスミドｐ１７８４は、ＢｓｉＷＩ及びＢｓｔＢＩ端を有するＴＮＶ　Ａｂ　ｃＤＮＡ断片のベクタとして使用された。追加の作業は、１２Ｂ７５遺伝子からのＩｇＧ１定常領域を含み、１２Ｂ７５重鎖Ｊ－Ｃイントロンをどの程度含有するかによって互いに異なる、発現ベクタｐ１７８８及びｐ１７９８を調製するために行われた。

【０２９５】

プラスミドｐ１５５８の１２Ｂ７５軽鎖遺伝子を修飾するために、１２Ｂ７５プロモータ及び可変領域を含有する５．７ｋｂのＳａｌＩ／ＡｆｌＩＩ断片を、ｐ１５５８からプラスミドＬ２８のＸｈｏＩ／ＡｆｌＩＩ部位に移した。この新しいプラスミドｐ１７４５は、変異誘発工程のためのより小さなテンプレートを提供した。オリゴヌクレオチド（Ｃ３４０ｓａｌＩ及びＣ３４０ｓａｌ２）を使用して、ＱｕｉｋＣｈａｎｇｅ（商標）変異誘発により、可変領域の５’端に固有のＳａｌＩ制限部位を導入した。結果として得られた中間ベクタｐ１７４６は、可変領域断片がクローニングされ得る固有のＳａｌＩ及びＡｆｌＩＩ制限部位を有していた。ｐ１７４６にクローニングされた任意の可変領域断片は、軽鎖遺伝子の３’半分と結合されることが好ましいであろう。この目的のために使用され得る１２Ｂ７５軽鎖遺伝子の３’半分からの制限断片を調製するために、オリゴヌクレオチドＢＡＨＮ－１及びＢＡＨＮ－２を互いにアニールして、制限部位ＢｓｉＷ１、ＡｆｌＩＩ、ＨｉｎｄＩＩ、及びＮｏｔＩを含有し、ＫｐｎＩ及びＳａｃＩ部位にライゲートされ得る端部を含有する二本鎖リンカを形成した。このリンカをｐＢＣのＫｐｎＩ部位とＳａｃＩ部位との間にクローニングして、プラスミドｐ１７５７を得た。ｐ１５５８をＡｆｌＩＩで消化した後、ＨｉｎｄＩＩＩで部分的に消化することにより生成された、１２Ｂ７５軽鎖定常領域を含有する７．１ｋｂの断片を、ｐ１７５７のＡｆｌＩＩ部位とＨｉ

ｎｄＩＩ部位との間にクローニングしてｐ１７６２を得た。この新しいプラスミドは、プロモータ及び可変領域を含有するＢｓｉＷＩ／ＡｆｌＩＩ断片が遺伝子の２つの半分を結合して移入できるＢｓｉＷＩ及びＡｆｌＩＩの固有の部位を含有していた。

【０２９６】

発現プラスミドのｃＤＮＡクローニング及びアセンブリ。ＤＮＡ端部を更に埋めるために、全てのＲＴ－ＰＣＲ反応物（上記を参照のこと）をＫｌｅｎｏｗ酵素で処理した。重鎖ＰＣＲ断片を制限酵素ＢｓｉＷＩ及びＢｓｔＢＩで消化した後、プラスミドＬ２８（１２Ｂ７５系中間ベクタｐ１７５０は未だ調製されていなかったため、Ｌ２８を使用した）のＢｓｉＷＩ部位とＢｓｔＢＩ部位との間にクローニングした。クローニングされたインサートのＤＮＡ配列分析は、結果として得られたコンストラクトが正しく、ＰＣＲ増幅中に誤差が導入されなかったことを示した。これらのＬ２８プラスミドコンストラクト（ＴＮＶ１４、ＴＮＶ１５、ＴＮＶ１４８、ＴＮＶ１４８Ｂ、及びＴＮＶ１９６）に割り当てられた識別番号を表３に示す。

【０２９７】

ＴＮＶ１４、ＴＮＶ１４８、及びＴＮＶ１４８Ｂ重鎖のＢｓｉＷＩ／ＢｓｔＢＩインサートは、Ｌ２８ベクタから新しく調製された中間ベクタｐ１７５０に移された。これらの中間プラスミドに割り当てられた識別番号を表２に示す。このクローニング工程及び後続の工程は、ＴＮＶ１５及びＴＮＶ１９６には行われなかった。次に、可変領域は、２つの異なるヒトＩｇＧ１発現ベクタ内に移された。制限酵素ＥｃｏＲＩ及びＨｉｎｄＩＩＩを使用して、可変領域を、Ｃｅｎｔｏｃｏｒの以前使用されたＩｇＧ１ベクタｐ１０４内に移した。Ｇｍ（ｆ＋）アロタイプのＩｇＧ１をコードする、結果として得られた発現プラスミドは、ｐ１７８１（ＴＮＶ１４）、ｐ１７８２（ＴＮＶ１４８）、及びｐ１７８３（ＴＮＶ１４８Ｂ）と表記された（表２を参照のこと）。可変領域は、１２Ｂ７５（ＧｅｎＰｈａｒｍ）遺伝子に由来するＩｇＧ１定常領域の上流にもクローニングされた。Ｇ１ｍ（ｚ）アロタイプのＩｇＧ１をコードするこれらの発現プラスミドも表３に列記される。

【０２９８】

表３．様々な重鎖及び軽鎖プラスミドのプラスミド識別番号。

Ｌ２８ベクタ又はｐＢＣベクタは、初期のＡｂ　ｃＤＮＡクローンを表す。これらのプラスミドのインサートは、中間プラスミドを作製するために不完全な１２Ｂ７５系ベクタに移された。１つの追加の移動工程により、線形化された後に細胞に導入されたか、又は細胞のトランスフェクション前にｍＡｂ遺伝子インサートを精製するために使用されたかのいずれかであった最終発現プラスミドがもたらされた。ＮＤ＝実施せず。

【０２９９】

【表４】

	Gm(f+)		G1m(z)	
Mab	128ベクタ プラスミドID	中間体 プラスミドID	発現 プラスミドID	発現 プラスミドID
		重鎖		
TNV14	p1751	p1777	p1781	p1786
TNV15	p1752	(ND)	(ND)	(ND)
TNV148	p1753	p1778	p1782	p1787
TNV148B	p1760	p1779	p1783	p1788
TNV196	p1754	(ND)	(ND)	(ND)
		pBCベクタ プラスミドID	中間体 プラスミドID	発現 プラスミドID
		軽鎖		
TNV14		p1748	p1755	p1775
TNV15		p1748	p1755	p1775
TNV148		p1749	p1756	p1776
TNV196		p1749	p1756	p1776

【０３００】

軽鎖ＰＣＲ生成物を制限酵素ＳａｌＩ及びＳａｃＩＩで消化した後、プラスミドｐＢＣのＳａｌＩ部位とＳａｃＩＩ部位との間にクローニングした。１つのアミノ酸で異なる２つの異なる軽鎖バージョンは、ｐ１７４８及びｐ１７４９と表記された（表２）。ＤＮＡ配列分析により、これらのコンストラクトが正しい配列を有することが確認された。次に、ｐ１７４８及びｐ１７４９のＳａｌＩ／ＡｆｌＩＩ断片を、中間ベクタｐ１７４６のＳａｌＩ部位とＡｆｌＩＩ部位との間にクローニングして、それぞれｐ１７５５及びｐ１７５６を作製した。次に、軽鎖遺伝子のこれらの５’等分を、ＢｓｉＷＩ／ＡｆｌＩＩ断片をｐ１７５５及びｐ１７５６から新しく調製されたコンストラクトｐ１７６２に移すことにより遺伝子の３’等分に結合し、それぞれ最終発現プラスミドｐ１７７５及びｐ１７７６を作製した（表２）。

【０３０１】

細胞のトランスフェクション、スクリーニング及びサブクローニング。合計１５のマウス骨髄腫細胞のトランスフェクションを様々なＴＮＶ発現プラスミドで行った（表３を参照のこと）。これらのトランスフェクションは、（１）宿主細胞がＳｐ２／０又は６５３であるか、（２）重鎖定常領域がＣｅｎｔｏｃｏｒの以前のＩｇＧ１ベクタ又は１２Ｂ７５重鎖定常領域でコード化されたか、（３）ｍＡｂがＴＮＶ１４８Ｂ、ＴＮＶ１４８、ＴＮＶ１４、又は新しいＨＣ／ＬＣの組み合わせであったか、（４）ＤＮＡが、線形化プラスミド又は精製されたＡｂ遺伝子インサートであるかどうか、及び（５）重鎖遺伝子における完全なＪ－Ｃイントロン配列が存在又は不在であるかどうかにより区別された。加えて、トランスフェクションのいくつかは、多数のクローンをスクリーニングすることができる可能性を増大させるために繰り返された。

【０３０２】

Ｓｐ２／０細胞及び６５３細胞は各々、前に記載された標準条件下で（ＫｎｉｇｈｔＤＭら（１９９３年）「Ｍｏｌｅｃｕｌａｒ　Ｉｍｍｕｎｏｌｏｇｙ」第３０巻第１４４３～１４５３頁）、エレクトロポレーションにより重鎖及び軽鎖ＤＮＡ（それぞれ８～１２：ｇ）の混合物でトランスフェクトされた。トランスフェクション番号１、２、３、及び１６に関して、トランスフェクション前に制限酵素で消化することにより、適切な発現プラスミドが線形化された。例えば、ＳａｌＩ及びＮｏｔＩ制限酵素は、それぞれＴＮＶ１４８Ｂ重鎖プラスミドｐ１７８３及び軽鎖プラスミドｐ１７７６を線形化するために使用された。残りのトランスフェクションに関して、ＢａｍＨＩで重鎖プラスミドを、そしてＢｓｉＷＩ及びＮｏｔＩで軽鎖プラスミドを消化することにより、ｍＡｂ遺伝子のみを

含有するＤＮＡインサートをプラスミドベクタから分離した。次に、アガロースゲル電気泳動及びＱｉｅｘ精製樹脂により、ｍＡｂ遺伝子インサートを精製した。精製された遺伝子インサートでトランスフェクトされた細胞は、選択マーカ源として、３～５：ｇのＰｓｔＩ線形化ｐＳＶ２ｇｐｔプラスミド（ｐ１３）で同時にトランスフェクトされた。エレクトロポレーション後に、９６ウェル組織培養皿中のＩＭＤＭ、１５％ＦＢＳ、２ｍＭグルタミン中に細胞を播種し、５％CO_2のインキュベータにおいて、３７℃でインキュベートした。２日後、等量のＩＭＤＭ、５％ＦＢＳ、２ｍＭグルタミン、２×ＭＨＸ選択物（１×ＭＨＸ＝０．５：ｇ／ｍＬのマイコフェノール酸、２．５：ｇ／ｍＬのヒポキサンチン、５０：ｇ／ｍＬのキサンチン）を添加し、コロニが形成される間、更に２～３週間プレートをインキュベートした。

【０３０３】

コロニを有するウェルから回収された細胞上清を、記載されるようにＥＬＩＳＡによりヒトＩｇＧについてアッセイした。簡潔に言うと、ポリクローナルヤギ抗ヒトＩｇＧ　Ｆｃ断片でコーティングされた９６ウェルＥＩＡプレート内で、様々な希釈の細胞上清をインキュベートした後、アルカリホスファターゼ抱合ヤギ抗ヒトＩｇＧ（Ｈ＋Ｌ）及び適切な色基質を使用して結合ヒトＩｇＧを検出した。細胞上清において測定された同じ精製されたｍＡｂを標準として使用した標準曲線は、上清中のヒトＩｇＧの定量化を可能にするために各ＥＩＡプレートに含まれた。最もヒトＩｇＧを生成しているように見えたそれらのコロニ中の細胞を、使用済培養物における更なる生成判断のために２４ウェルプレート内に継代し、生成が最も高い親クローンを特定した。

【０３０４】

生成が最も高い親クローンをサブクローニングして、生成がより高いサブクローンを特定し、より均質な細胞株を調製した。９６ウェル組織培養プレートに、ＩＭＤＭ、５％ＦＢＳ、２ｍＭグルタミン、１×ＭＨＸの、ウェル当たり１つの細胞又はウェル当たり４つの細胞を播種し、コロニが現れるまで、１２～２０日間、５％CO_2インキュベータにおいて３７℃でインキュベートした。ウェル当たり１つのコロニを含有するウェルから細胞上清を回収し、上述のようにＥＬＩＳＡにより分析した。選択したコロニを２４ウェルプレートに継代し、培養物を消耗させた後、それらの上清におけるヒトＩｇＧレベルを定量化することにより、生成が最も高いサブクローンを特定した。このプロセスは、選択された初回のサブクローンを２回目のサブクローニングに供したときに繰り返された。２回目の最良のサブクローンを開発の細胞株として選択した。

【０３０５】

細胞サブクローンの特徴付け。２回目の最良のサブクローンを選択し、成長曲線を行って、ｍＡｂの生成レベル及び細胞成長特徴を評価した。Ｔ７５フラスコに、３０ｍＬのＩＭＤＭ、５％ＦＢＳ、２ｍＭグルタミン、及び１×ＭＨＸ（又は無血清培地）中1×10^5細胞／ｍＬで播種した。３００μＬのアリコートを２４時間間隔で取り出し、生細胞密度を測定した。生細胞数が1×10^5細胞／ｍＬ未満になるまで分析を継続した。回収された細胞上清のアリコートは、存在する抗体の濃度についてアッセイされた。標準としてｒＴＮＶ１４８Ｂ又はｒＴＮＶ１４　ＪＧ９２３９９を使用して、ＥＬＩＳＡアッセイを行った。ポリクローナルヤギ抗ヒトＩｇＧ　ＦｃでコーティングされたＥＬＩＳＡプレート上で試料を１時間インキュベートし、結合ｍＡｂを、１：１０００希釈のアルカリホスファターゼ抱合ヤギ抗ヒトＩｇＧ（Ｈ＋Ｌ）で検出した。

【０３０６】

様々な量のＭＨＸ選択物の存在下での成長速度を比較する目的のため、２つの細胞株について異なる成長曲線分析も行われた。細胞株Ｃ４６６Ａ及びＣ４６６Ｂを、無ＭＨＸ培地（ＩＭＤＭ、５％ＦＢＳ、２ｍＭグルタミン）に解凍し、更に２日間培養した。その後、両細胞培養物を、ＭＨＸ無し、０．２×ＭＨＸ、又は１×ＭＨＸ（１×ＭＨＸ＝０．５：ｇ／ｍＬのマイコフェノール酸、２．５：ｇ／ｍＬのヒポキサンチン、５０：ｇ／ｍＬのキサンチン）のいずれかを含有する３つの培養物に分けた。１日後、新しいＴ７５フラスコに、1×10^5細胞／ｍＬの開始密度で培養物を播種し、細胞を１週間、２４時間間

隔で計数した。ｍＡｂ生成のためのアリコートは回収されなかった。ＳＯＰ　ＰＤ３２．０２５に提供される式を使用して、これらの試料についての倍加時間を算出した。

【０３０７】

経時的なｍＡｂ生成の安定性を評価するために、追加の試験が行われた。ＭＨＸ選択物を有する、又は有しないのいずれかで、２４ウェルプレート中のＩＭＤＭ、５％ＦＢＳ、２ｍＭグルタミン中で培養物を成長させた。培養物がコンフルエントになったら、新しい培養物に分割し、その後、古い培養物は消耗させた。この時、上清のアリコートを取り、４°℃で保存した。５５～７８日の期間にわたって、アリコートを取り出した。この期間の終了時に、上に概説するように、抗ヒトＩｇＧ　Ｆｃ　ＥＬＩＳＡにより、存在する抗体の量について上清を試験した。

【０３０８】

結果及び考察。

組換え受容体へのＴＮＦ結合の阻害。

ハイブリドーマ細胞上清に含有される８つのＴＮＶ　ｍＡｂが、受容体へのＴＮＦα結合を阻害することができるかどうかを決定するために、簡単な結合アッセイが行われた。ヒトＩｇＧの標準ＥＬＩＳＡ分析により、それぞれの細胞上清におけるＴＮＶ　ｍＡｂの濃度を最初に決定した。次に、組換えｐ５５ＴＮＦ受容体／ＩｇＧ融合タンパク質ｐ５５－ｓｆ２をＥＩＡプレート上にコーティングし、様々な量のＴＮＶ　ｍＡｂの存在下で、^{125}Ｉ標識ＴＮＦαをｐ５５受容体に結合させた。図１に示すように、８つのＴＮＶｍＡｂのうちの１つ（ＴＮＶ１２２）を除くすべてが、ｐ５５受容体へのＴＮＦαの結合を効率的に遮断した。実際、ＴＮＶ　ｍＡｂは、陰性対照ハイブリドーマ上清にスパイクされたｃＡ２陽性対照ｍＡｂよりもＴＮＦα結合を阻害するのにより有効であるように見えた。これらの結果は、ＴＮＶ　ｍＡｂが細胞系アッセイ及びインビボでＴＮＦαの生物活性を遮断する可能性が高く、したがって、追加の分析が必要であることを示すと解釈された。

【０３０９】

ＤＮＡ配列の分析。

ＲＮＡがヒトｍＡｂをコードすることの確認。

受容体結合アッセイにおいてＴＮＦα遮断活性を示した７つのＴＮＶ　ｍＡｂ（ＴＮＶ１４、ＴＮＶ１５、ＴＮＶ３２、ＴＮＶ８６、ＴＮＶ１１８、ＴＮＶ１４８、及びＴＮＶ１９６）を特徴付ける際の最初の工程として、これらのｍＡｂを産生する７つのハイブリドーマ細胞株から全ＲＮＡを単離した。次に、各ＲＮＡ試料を使用して、各ｍＡｂの完全なシグナル配列、完全な可変領域配列、及び定常領域配列の一部を含むヒト抗体重鎖又は軽鎖ｃＤＮＡを調製した。次に、これらのｃＤＮＡ生成物をＰＣＲ反応で増幅させ、最初に断片をクローニングすることなくＰＣＲ増幅ＤＮＡを直接配列決定した。配列決定した重鎖ｃＤＮＡは、マウスに存在する５つのヒト生殖系列遺伝子のうちの１つであるＤＰ－４６と９０％超同一であった（図２Ａ～図２Ｂ）。同様に、配列決定した軽鎖ｃＤＮＡは、マウスに存在するヒト生殖系列遺伝子のうちの１つと１００％又は９８％のいずれかと同一であった（図３）。これらの配列結果は、ｃＤＮＡに転写され配列決定されたＲＮＡ分子がヒト抗体重鎖及びヒト抗体軽鎖をコード化したことを確認した。可変領域がシグナル配列コード配列の５’端にマッピングされるオリゴヌクレオチドを使用してＰＣＲ増幅されたため、シグナル配列の最初の数個のアミノ酸は元のＴＮＶ翻訳生成物の実際の配列ではない可能性があるが、組換えＴＮＶ　ｍＡｂの実際の配列を表すことに留意するべきである。

【０３１０】

固有の中和ｍＡｂ。

各ｍＡｂの重鎖及び軽鎖両方の可変領域全体のｃＤＮＡ配列の分析は、ＴＮＶ３２がＴＮＶ１５と同一であり、ＴＮＶ１１８がＴＮＶ１４と同一であり、ＴＮＶ８６がＴＮＶ１４８と同一であることを明らかにした。受容体結合アッセイの結果は、ＤＮＡ配列分析と一致していた、すなわち、ＴＮＶ８６及びＴＮＶ１４８の両方が、ＴＮＦ結合の遮断にお

いてＴＮＶ１１８及びＴＮＶ１４の両方よりもおよそ４倍良好であった。したがって、後続の作業は、４つの固有のＴＮＶ　ｍＡｂである、ＴＮＶ１４、ＴＮＶ１５、ＴＮＶ１４８、及びＴＮＶ１９６にのみ焦点を当てた。

【０３１１】

４つのｍＡｂの関連性

ＤＮＡ配列結果は、４つのＴＮＶ　ｍＡｂの重鎖をコードする遺伝子が全て互いに高度に相同であり、全てが同じ生殖系列遺伝子ＤＰ－４６に由来するように見えることを明らかにした（図２Ａ～図２Ｂ）。加えて、重鎖ＣＤＲ３配列の各々が非常に類似し、同じ長さのものであること、およびそれらが全てＪ６エクソンを使用することを理由に、それらは、単一のＶＤＪ遺伝子再配列事象、続く各ｍＡｂを固有のものにする体細胞変化から生じたようであった。ＤＮＡ配列分析は、４つのｍＡｂにおいて２つの別個の軽鎖遺伝子のみが存在したことを明らかにした（図３）。ＴＮＶ１４及びＴＮＶ１５における軽鎖可変領域コード配列は、互いに同一であり、ヒトκ鎖のＶｇ／３８　Ｋファミリーの代表的な生殖系列配列と同一である。ＴＮＶ１４８及びＴＮＶ１９６軽鎖コード配列は、互いに同一であるが、２つのヌクレオチド位置での生殖系列配列が異なる（図３）。

【０３１２】

４つのｍＡｂの推定アミノ酸配列は、実際のｍＡｂの関連性を明らかにした。４つのｍＡｂは、４つの別個の重鎖（図４）を含有するが、別個の軽鎖は２つのみである（図５）。ＴＮＶ　ｍＡｂ配列と生殖系列配列との間の差異は、大半はＣＤＲドメインに限定されていたが、ｍＡｂ重鎖のうちの３つもフレームワーク領域において生殖系列配列とは異なっていた（図４）。ＤＰ－４６生殖系列コードＡｂフレームワーク領域と比較して、ＴＮＶ１４は同一であり、ＴＮＶ１５は１つのアミノ酸が異なり、ＴＮＶ１４８は２つのアミノ酸が異なり、ＴＮＶ１９６は３つのアミノ酸が異なっていた。

【０３１３】

ｃＤＮＡのクローニング、部位特異的変異誘発、及び最終発現プラスミドのアセンブリ。ｃＤＮＡのクローニング。ＰＣＲ増幅可変領域のＤＮＡ配列に基づいて、クローニングされるコード配列を発現ベクタ内に適応させる目的のため、新しいオリゴヌクレオチドは別のＰＣＲ増幅を行うように命じられた。重鎖の場合、この２回目のＰＣＲの生成物は制限酵素ＢｓｉＷＩ及びＢｓｔＢＩで消化され、プラスミドベクタＬ２８（表２に示されるプラスミド識別番号）にクローニングされた。軽鎖の場合、２回目のＰＣＲ生成物はＳａｌＩ及びＡｆｌＩＩで消化され、プラスミドベクタｐＢＣにクローニングされた。次に、個々のクローンを配列決定して、それらの配列が、異種の可能性のある分子集団の各位置での最も豊富なヌクレオチドを明らかにするＰＣＲ生成物の直接配列決定から得られた前回の配列と同一であることを確認した。

【０３１４】

ＴＮＶ　１４８を変化させる部位特異的変異誘発。ｍＡｂ　ＴＮＶ１４８及びＴＮＶ１９６は、ＴＮＦα生理活性の中和において、次に最良のｍＡｂ（ＴＮＶ１４）よりも４倍強力であることが一貫して観察された。しかしながら、上述のように、ＴＮＶ１４８及びＴＮＶ１９６重鎖フレームワーク配列は、生殖系列フレームワーク配列とは異なる。ＴＮＶ１４８重鎖配列と他のヒト抗体との比較は、多くの他のヒトｍＡｂがフレームワーク１の位置２８でＩｌｅ残基を含有し（成熟配列のみ計数）、一方でフレームワーク３の位置７５でのＰｒｏ残基は、その位置では稀なアミノ酸であったことを示した。

【０３１５】

ＴＮＶ１９６重鎖の類似の比較は、フレームワーク３で生殖系列配列とは異なる３つのアミノ酸がヒトｍＡｂにおいて希であり得ることを示唆した。これらの差異は、ヒトに投与された場合、ＴＮＶ１４８及びＴＮＶ１９６を免疫原性にする可能性があった。ＴＮＶ１４８は、関心のアミノ酸残基を１個しか有しておらず、この残基はＴＮＦα結合に重要ではないと考えられているため、部位特異的変異誘発技術を使用して、生殖系列Ｓｅｒ残基が位置７５でＰｒｏ残基の代わりにコード化されるように、ＴＮＶ１４８重鎖コード配列（プラスミドｐ１７５３の）の単一のヌクレオチドを変更した。結果として得られたプ

ラスミドはｐ１７６０と呼ばれた（表２を参照のこと）。結果として得られた遺伝子及びｍＡｂは、それを元のＴＮＶ１４８遺伝子及びｍＡｂと区別するためにＴＮＶ１４８Ｂと呼ばれた（図５を参照のこと）。

【０３１６】

最終発現プラスミドのアセンブリ。ゲノム断片として前にクローニングされた１２Ｂ７５重鎖及び軽鎖遺伝子に基づいた新しい抗体発現ベクタを調製した。異なるＴＮＶ発現プラスミドが調製されたが（表２を参照のこと）、それぞれの場合において、５’フランキング配列、プロモータ、及びイントロンエンハンサは、それぞれの１２Ｂ７５遺伝子に由来した。軽鎖発現プラスミドに関して、完全なＪ－Ｃイントロン、定常領域コード配列、及び３’フランキング配列も１２Ｂ７５の軽鎖遺伝子に由来した。最終生成細胞株（ｐ１７８１及びｐ１７８３、以下を参照のこと）をもたらした重鎖発現プラスミドに関して、ヒトＩｇＧ１定常領域コード配列は、Ｃｅｎｔｏｃｏｒの前に使用された発現ベクタ（ｐ１０４）に由来した。重要なことには、ここで報告される最終生成細胞株は、元のハイブリドーマ由来ＴＮＶ　ｍＡｂ（Ｇ１ｍ（ｚ））とは異なるアロタイプ（Ｇｍ（ｆ＋））のＴＮＶ　ｍＡｂを発現する。これは、ＧｅｎＰｈａｒｍマウスに由来する１２Ｂ７５重鎖遺伝子はＣＨ１ドメインのＣ末端部でＡｒｇ残基をコードするが、ＣｅｎｔｏｃｏｒのＩｇＧ１発現ベクタｐ１０４はその位置でＬｙｓ残基をコードするためである。Ｊ－Ｃイントロン、完全定常領域コード配列、及び３’フラランキング配列が１２Ｂ７５重鎖遺伝子に由来する他の重鎖発現プラスミド（例えば、ｐ１７８６及びｐ１７８８）が調製されたが、これらの遺伝子でトランスフェクトされた細胞株は、生成細胞株として選択されなかった。ベクタは、最終発現プラスミドをもたらす後のＰＣＲ増幅Ｖ領域の一工程クローニングを可能にするように慎重に設計された。

【０３１７】

ＰＣＲ増幅可変領域ｃＤＮＡは、Ｌ２８又はｐＢＣベクタから、プロモータ領域及びＪ－Ｃイントロンの一部を提供する中間段階の１２Ｂ７５系ベクタに移された（プラスミド識別番号に関しては表２を参照のこと）。次に、抗体遺伝子の５’半分を含有する制限断片を、これらの中間段階のベクタから、それぞれの遺伝子の３’半分を提供する最終発現ベクタに移して、最終発現プラスミド（プラスミド識別番号に関しては表２を参照のこと）を形成した。

【０３１８】

細胞のトランスフェクション及びサブクローニング。発現プラスミドは、制限消化によって線形化されたか、又は各プラスミド中の抗体遺伝子インサートがプラスミド骨格鎖から精製されたかのいずれかであった。Ｓｐ２／０及び６５３マウス骨髄腫細胞は、エレクトロポレーションにより重鎖ＤＮＡ及び軽鎖ＤＮＡでトランスフェクトされた。１５の異なるトランスフェクションが行われ、そのほとんどはＡｂで規定されるように固有であり、遺伝子が線形化された全プラスミド又は精製された遺伝子インサート上にあるかどうかに関わらずＡｂ遺伝子の特定の特徴であり、宿主細胞株であった（表４に要約される）。マイコフェノール酸に耐性のクローンからの細胞上清を、ヒトＩｇＧの存在についてＥＬＩＳＡによりアッセイし、精製されたｒＴＮＶ１４８Ｂを参照標準曲線として使用して定量化した。

【０３１９】

産生が最も高いｒＴＮＶ１４８Ｂ細胞株

ｒＴＮＶ１４８Ｂトランスフェクション２からの、産生が最高の６５３親株のうちの１０（使用済２４ウェル培養物において５～１０：ｇ／ｍＬを産生）をサブクローニングして、産生がより高い細胞株についてスクリーニングし、より均質な細胞集団を調製した。親株２．３２０、２．３２０－１７、及び２．３２０－２０のサブクローンのうちの２つは、使用済２４ウェル培養物においておよそ５０：ｇ／ｍＬを産生し、これは、それらの親株に対して５倍の増加であった。サブクローニングした株２．３２０－１７及び２．３２０－２０の２回目のサブクローニングがもたらした。

【０３２０】

各ｍＡｂをコードする重鎖及び軽鎖プラスミドの識別番号を示す。精製されたｍＡｂ遺伝子インサートで行われたトランスフェクションの場合、ｇｐｔ選択マーカの供給源としてプラスミドｐ１３（ｐＳＶ２ｇｐｔ）が含まれた。重鎖定常領域は、Ｒｅｍｉｃａｄｅをコードするために使用された同じヒトＩｇＧ１発現ベクタ（「旧」）又は１２Ｂ７５（ＧｅｎＰｈａｒｍ／Ｍｅｄａｒｅｘ）重鎖遺伝子内に含有される定常領域（「新規」）のいずれかによりコード化された。Ｈ１／Ｌ２は、ＴＮＶ１４重鎖及びＴＮＶ１４８軽鎖で構成される「新規」ｍＡｂを指す。プラスミドｐ１７８３及びｐ１８０１は、それらの重鎖遺伝子がＪ－Ｃイントロンをどの程度含有するかによってのみ異なる。細胞クローンの遺伝子名の最初の数字を定義するトランスフェクション番号は右側に示される。本明細書に記載されるｒＴＮＶ１４８Ｂ生成細胞株Ｃ４６６（Ａ、Ｂ、Ｃ、Ｄ）及びＣ４６７Ａは、それぞれトランスフェクション番号２及び１に由来した。ｒＴＮＶ１４生成細胞株Ｃ４７６Ａはトランスフェクション番号３に由来した。

【０３２１】

【表５】

表４．細胞トランスフェクションの要約。

トランスフェクション番号	プラスミド		HC		DNA	
mAb	HC／LC／gpt	ベクタ	フォーマット	Sp2／0	653	
rTNV148B	1783／1776	旧	線状	1	2	
rTNV14	1781／1775	旧	線状	3	ー	
rTNV148B	1788／1776／13	新	インサート	4，6	5，7	
rTNV14	1786／1775／13	新	インサート	8，10	9，11	
rTNV148	1787／1776／13	新	インサート	12	17	
rH1／L2	1786／1776／13	新	インサート	13	14	
rTNV148B	1801／1776	旧	線状	16		

【０３２２】

使用済の２４ウェル培養上清でのＥＬＩＳＡアッセイは、これらの２回目のサブクローンが全て９８～１２４：ｇ／ｍＬを産生したことを示し、これは初回のサブクローンに対して少なくとも２倍の増加であった。これらの６５３細胞株に、表５に示されるように、Ｃコード表記を割り当てた。

【０３２３】

ｒＴＮＶ１４８Ｂトランスフェクション１からの生成が最高のＳｐ２／０親株のうちの３つをサブクローニングした。親株１．７３の２回のサブクローニングは、使用済２４ウェル培養物において２５：ｇ／ｍＬを産生したクローンの特定につながった。このＳｐ２／０細胞株をＣ４６７Ａと表記した（表５）。

【０３２４】

産生が最も高いｒＴＮＶ１４細胞株

ｒＴＮＶ１４トランスフェクション３からの生成が最高のＳｐ２／０親株のうちの３つを１回サブクローニングした。サブクローン３．２７－１は、産生が１９：ｇ／ｍＬであり、使用済の２４ウェル培養物において最も高い生産体であることが分かった。この細胞株をＣ４７６Ａと表記した（表５）。

【０３２５】

表５．選択された生成細胞株及びそれらのＣコードの要約。

元のクローン名の最初の１桁は、細胞株がどのトランスフェクションに由来するかを示す。本明細書に報告されるＣコード細胞株の全てが制限酵素で線形化された重鎖及び軽鎖全プラスミドでのトランスフェクションに由来した。

【０３２６】

【表６】

	オリジナル		使用済の24ウェル	
mAb	クローン名	Cコード	宿主細胞	生成量
rTNV148B	2.320－17－36	C466A	653	103:g／mL
	2.320－20－111	C466B	653	102:g／mL
	2.320－17－4	C466C	653	98:g／mL
	2.320－20－99	C466D	653	124:g／mL
	1.73－12－122	C476A	Sp2／0	25:g／mL
rTNV14	3.27－1	C476A	Sp2／0	19:g／mL

【０３２７】

サブクローニングされた細胞株の特徴付け

細胞株の成長特徴をより慎重に特徴付けし、大規模でｍＡｂ生成レベルを決定するために、Ｔ７５培養物を使用して成長曲線分析を行った。結果は、細胞株の４つのＣ４６６シリーズの各々が１．０×１０^{6}～１．２５×１０^{6}細胞／ｍＬのピーク細胞密度及び１１０～１４０：ｇ／ｍＬの最大ｍＡｂ蓄積レベルに達したことを示した（図７）。対照的に、生成が最高のＳｐ２／０サブクローンＣ４６７Ａは、２．０×１０^{6}細胞／ｍＬのピーク細胞密度及び２５：ｇ／ｍＬの最大ｍＡｂ蓄積レベルに達した（図７）。成長曲線分析は、ｒＴＮＶ１４－生成細胞株Ｃ４７６Ａに対して行われなかった。

【０３２８】

更なる成長曲線分析を行って、異なる濃度のＭＨＸ選択物における成長速度を比較した。この比較は、ＭＨＸの不在下で培養されたＣ４６６細胞が、通常量のＭＨＸ（１×）で培養された同じ細胞よりも速く成長しているように思われる近年の観測によって促された。マイコフェノール酸などの化合物の細胞傷害性濃度は数桁の大きさ以上に測定される傾向にあるため、より低い濃度のＭＨＸを使用することにより、ｍＡｂ生成の安定性を犠牲にすることなく細胞の倍加時間を大幅に速くし得ることが可能であると考えられた。細胞株Ｃ４６６Ａ及びＣ４６６Ｂは、ＭＨＸ無し、０．２×ＭＨＸ、又は１×ＭＨＸのいずれかで培養された。生細胞の計数は、７日間、２４時間間隔で行われた。結果により、ＭＨＸ濃度依存性細胞成長率が明らかになった（図８）。細胞株Ｃ４６６Ａは、１×ＭＨＸにおいて２５．０時間の倍加時間を示したが、ＭＨＸ無しではわずか２０．７時間の倍加時間を示した。同様に、細胞株Ｃ４６６Ｂは、１×ＭＨＸにおいて３２．４時間の倍加時間を示したが、ＭＨＸ無しではわずか２２．９時間の倍加時間を示した。重要なことには、０．２Ｘ　ＭＨＸにおける両細胞株の倍加時間は、１Ｘ　ＭＨＸよりもＭＨＸなしで観測されたものとより類似していた（図８）。この観測は、倍加時間が重要なパラメータであるバイオリアクタにおいて、増強された細胞性能がより少ないＭＨＸを使用することにより実現され得る可能性を示す。しかしながら、安定性試験結果（以下を参照のこと）は、細胞株Ｃ４６６ＤがＭＨＸの不在下でも少なくとも６０日間、ｒＴＮＶ１４８Ｂを安定して生成することが可能であることを示唆するが、安定性試験はまた、ＭＨＸの不在と比較して、細胞がＭＨＸの存在下で培養されたとき、より高いｍＡｂ生成レベルも示した。

【０３２９】

およそ６０日の期間にわたって様々な細胞株からのｍＡｂの生成を評価するために、ＭＨＸ選択物を含有する又は含有しない、いずれかの培養物で安定性試験を行った。細胞株の全てが高ｍＡｂ生成を維持したわけではなかった。培養のちょうど２週間後、クローンＣ４６６Ａの生成は試験開始時よりもおよそ４５％少なかった。クローンＣ４６６Ｂからの生成も大幅に低下したように思われた。しかしながら、クローンＣ４６６Ｃ及びＣ４６６Ｄは、かなり安定した生成を維持し、Ｃ４６６Ｄは最も高い絶対生成レベルを示した（図９）。

【０３３０】

結論

ヒトＴＮＦαに対する８つのヒトｍＡｂの初期パネルから、タンパク質配列及びＴＮＦ

中和効力を含むいくつかの基準に基づいて、ＴＮＶ１４８Ｂ並びにＴＮＶ１４が好ましいものとして選ばれた。１００：ｇ／ｍＬ超のｒＴＮＶ１４８Ｂ及び１９：ｇ／ｍＬ超のｒＴＮＶ１４を産生する細胞株を調製した。

【０３３１】

実施例５：単回ボーラス注射を使用した抗ＴＮＦ抗体及び対照を使用した関節炎マウスの試験

およそ４週齢のＴｇ１９７試験マウスを性別及び体重に基づき９つの処置群のうちの１つに割り当て、ＤｕｌｂｅｃｃｏのＰＢＳ（Ｄ－ＰＢＳ）、又は１ｍｇ／ｋｇ若しくは１０ｍｇ／ｋｇのいずれかの本発明の抗ＴＮＦ抗体（ＴＮＶ１４、ＴＮＶ１４８、又はＴＮＶ１９６）の単回腹腔内ボーラス投与で処置した。

【０３３２】

結果：体重を投与前からの変化として分析したとき、１０ｍｇ／ｋｇのｃＡ２で処置した動物は、試験を通してＤ－ＰＢＳで処置した動物よりも一貫して高い体重増加を示した。この体重増加は、３～７週目で有意であった。１０ｍｇ／ｋｇのＴＮＶ１４８で処置した動物も、試験の７週目に有意な体重増加を達成した。（図１０を参照されたい）。

【０３３３】

図１１Ａ～Ｃは、関節炎指数に基づく疾患の重症度の進行を表す。１０ｍｇ／ｋｇのｃＡ２処置群の関節炎指数は、３週目から始まり、残りの試験（７週目）を通して継続するＤ－ＰＢＳ対照群よりも低い。１ｍｇ／ｋｇのＴＮＶ１４で処置した動物及び１ｍｇ／ｋｇのｃＡ２で処置した動物は、Ｄ－ＰＢＳ処置群と比較したとき、３週目以降のＡＩにおいて有意な減少を示すことができなかった。各々を類似の用量のその他のものと比較したとき（１０ｍｇ／ｋｇのＴＮＶ１４、１４８及び１９６と比較した１０ｍｇ／ｋｇのｃＡ２）、１０ｍｇ／ｋｇの処置群の間に有意差はなかった。１ｍｇ／ｋｇの処置群を比較したとき、１ｍｇ／ｋｇのＴＮＶ１４８は、１ｍｇ／ｋｇのｃＡ２よりも３、４及び７週目で有意に低いＡＩを示した。１ｍｇ／ｋｇのＴＮＶ１４８も、１ｍｇ／ｋｇのＴＮＶ１４で処置した群よりも３及び４週目で有意に低かった。ＴＮＶ１９６は試験の６週目までＡＩにおいて有意な減少を示したが（Ｄ－ＰＢＳで処置した群と比較したとき）、ＴＮＶ１４８はこの試験の終了時に有意のままであった唯一の１ｍｇ／ｋｇ処置群であった。

【０３３４】

実施例６：複数ボーラス投与として抗ＴＮＦ抗体及び対照を使用した関節炎マウスの試験

およそ４週齢のＴｇ１９７試験マウスを体重に基づき８つの処置群のうちの１つに割り当て、対照品（Ｄ－ＰＢＳ）、又は３ｍｇ／ｋｇの抗体（ＴＮＶ１４、ＴＮＶ１４８）（０週目）の腹腔内ボーラス投与で処置した。注射は１、２、３、及び４週目に全ての動物において繰り返された。群１～６は、試験品の有効性に関して評価された。群７及び８の動物から得られた血清試料は、２、３及び４週目のＴＮＶ１４又はＴＮＶ１４８の免疫応答誘導及び薬物動態クリアランスに関して評価された。

【０３３５】

結果：体重を投与前からの変化として分析したとき、有意差は認められなかった。１０ｍｇ／ｋｇのｃＡ２で処置した動物は、試験を通してＤ－ＰＢＳで処置した動物よりも一貫して高い体重増加を示した。（図１２を参照されたい）。

【０３３６】

図１３Ａ～図Ｃは、関節炎指数に基づく疾患の重症度の進行を表す。１０ｍｇ／ｋｇのｃＡ２で処置した群の関節炎指数は、２週目から始まり、残りの試験全体を通して（５週目）継続してＤ－ＰＢＳ対照群よりも有意に低かった。１ｍｇ／ｋｇ又は３ｍｇ／ｋｇのｃＡ２で処置した動物及び３ｍｇ／ｋｇのＴＮＶ１４で処置した動物は、ｄ－ＰＢＳ対照群と比較したときに、試験を通して任意の時点でＡＩにおいて任意の有意な減少を達成することができなかった。３ｍｇ／ｋｇのＴＮＶ１４８で処置した動物は、ｄ－ＰＢＳで処置した群と比較したとき、３週目から始まり、５週目まで継続する有意な減少を示した。１０ｍｇ／ｋｇのｃＡ２で処置した動物は、試験の４及び５週目でより低い用量の両ｃＡ

２（１ｍｇ／ｋｇ及び３ｍｇ／ｋｇ）と比較したとき、ＡＩにおいて有意な減少を示し、また３～５週目で、ＴＮＶ１４で処置した動物よりも有意に低かった。３ｍｇ／ｋｇの処置群のいずれかの間に有意差はなかったようだが、３ｍｇ／ｋｇのＴＮＶ１４で処置した動物に関するＡＩは、ある時点で１０ｍｇ／ｋｇよりも有意に高く、一方ＴＮＶ１４８で処置した動物は、１０ｍｇ／ｋｇのｃＡ２で処置した動物と有意に異ならなかった。

【０３３７】

実施例７：単回腹腔内ボーラス投与として抗ＴＮＦ抗体及び対照を使用した関節炎マウスの試験

およそ４週齢のＴｇ１９７試験マウスを性別及び体重に基づき６つの処置群のうちの１つに割り当て、３ｍｇ／ｋｇ又は５ｍｇ／ｋｇのいずれかの抗体（ｃＡ２又はＴＮＶ１４８）の単回腹腔内ボーラス投与で処置した。この試験は、Ｄ－ＰＢＳ及び１０ｍｇ／ｋｇのｃＡ２対照群を利用した。

【０３３８】

体重を投与前からの変化として分析したとき、全ての処置は似たような体重増加を達成した。３又は５ｍｇ／ｋｇのＴＮＶ１４８又は５ｍｇ／ｋｇのｃＡ２のいずれかで処置した動物は、試験の早期（２及び３週目）に体重量が有意に増加した。ＴＮＶ１４８で処置した動物のみが後の時点において有意な体重増加を維持した。３及び５ｍｇ／ｋｇのＴＮＶ１４８で処置した動物はどちらも、７週目で有意を示し、３ｍｇ／ｋｇのＴＮＶ１４８で処置した動物は注射の８週間後に尚も有意に上昇した。（図１４を参照されたい）。

【０３３９】

図１５は、関節炎指数に基づく疾患の重症度の進行を表す。全ての処置群が初期の時点で多少の保護作用を示し、５ｍｇ／ｋｇのｃＡ２及び５ｍｇ／ｋｇのＴＮＶ１４８は、１～３週目にＡＩにおいて有意な減少を示し、全ての処置群が２週目で有意な減少を示した。実験の後期に、５ｍｇ／ｋｇのｃＡ２で処置した動物は多少の保護作用を示し、４、６及び７週目で有意に減少した。低用量（３ｍｇ／ｋｇ）のｃＡ２及びＴＮＶ１４８は両方とも、６週目で有意な減少を示し、全ての処置群が７週目で有意な減少を示した。試験の終わりで（８週目）有意な減少を維持することができた処置群はなかった。任意の時点で処置群のいずれかの間（食塩水対照群は除く）に有意差はなかった。

【０３４０】

実施例８：抗ＴＮＦ抗体と修飾された抗ＴＮＦ抗体との間の単回腹腔内ボーラス投与として抗ＴＮＦ抗体及び対照を使用した関節炎マウスの試験

ＴＮＶ１４８（ハイブリドーマ細胞に由来する）及びｒＴＮＶ１４８Ｂ（トランスフェクトした細胞に由来する）の単回腹腔内投与の有効性を比較するために。およそ４週齢のＴｇ１９７試験マウスを性別及び体重に基づき９つの処置群のうちの１つに割り当て、Ｄｕｌｂｅｃｃｏ＝Ｓ　ＰＢＳ（Ｄ－ＰＢＳ）又は１ｍｇ／ｋｇの抗体（ＴＮＶ１４８、ｒＴＮＶ１４８Ｂ）の単回腹腔内ボーラス投与で処置した。

【０３４１】

体重を投与前からの変化として分析したとき、１０ｍｇ／ｋｇのｃＡ２で処置した動物は、試験を通してＤ－ＰＢＳで処置した動物よりも一貫して高い体重増加を示した。この体重増加は、１週目及び３～８週目で有意であった。１ｍｇ／ｋｇのＴＮＶ１４８で処置した動物も、試験の５、６及び８週目に有意な体重増加を達成した。（図１６を参照されたい）。

【０３４２】

図１７は、関節炎指数に基づく疾患の重症度の進行を表す。１０ｍｇ／ｋｇのｃＡ２処置群の関節炎指数は、４週目から始まり、残りの試験（８週目）を通して継続するＤ－ＰＢＳ対照群よりも低かった。ＴＮＶ１４８で処置した群及び１ｍｇ／ｋｇのｃＡ２で処置した群は両方とも、４週目でＡＩにおける有意な減少を示した。以前の試験（Ｐ－０９９－０１７）は、ＴＮＶ１４８が単回の１ｍｇ／ｋｇの腹腔内ボーラス後の関節炎指数の減少にわずかにより効果的であることを示したが、この試験では、両バージョンのＴＮＶ抗体で処置した群からのＡＩがわずかに高いことを示した。１ｍｇ／ｋｇのｃＡ２で処置し

た群（６週目を除く）は、１０ｍｇ／ｋｇのｃＡ２群と比較したとき、有意に増加せず、ＴＮＶ１４８で処置した群は、７及び８週目で有意に高かったが、１ｍｇ／ｋｇのｃＡ２、１ｍｇ／ｋｇのＴＮＶ１４８及び１ｍｇ／ｋｇのＴＮＶ１４８Ｂの間には試験の任意の時点でＡＩにおいて有意差はなかった。

【０３４３】

実施例９：ＧＯ－ＶＩＶＡ：メトトレキサート療法にもかかわらず、活動性の多関節型若年性特発性関節炎を有する小児被験者における静脈内ゴリムマブ（ヒト抗ＴＮＦα抗体）の多施設共同非盲検試験

概要

ゴリムマブは、高い親和性及び特異性でヒト腫瘍壊死因子α（ＴＮＦα）に結合し、ＴＮＦαの生物活性を中和する完全ヒトモノクローナル抗体（ｍＡｂ）である。ＴＮＦαは主要な炎症メディエーターであり、リウマチ性関節炎（ＲＡ）及び若年性特発性関節炎（ＪＩＡ）などの疾患の病態生理学に高レベルのＴＮＦαの関与が示されている。静脈内（ＩＶ）投与用のＳＩＭＰＯＮＩ（登録商標）（ゴリムマブ）が、多関節型ＪＩＡ（ｐＪＩＡ）を有する患者における代替的な投与経路（他の入手可能な抗ＴＮＦα剤と比較して）及び便宜のよい投与レジメン（すなわち、８週毎の投与［ｑ８ｗ］）を与えるものとして治験依頼者により開発されている。

【０３４４】

目的及び仮説

主目的

この試験の主目的は、２ヶ月以上にわたるメトトレキサート（ＭＴＸ）療法にもかかわらず、５つ以上の関節が活動性の関節炎を有することによって発現されるｐＪＩＡを有する被験者（年齢２歳～１８歳未満）へのゴリムマブの静脈内投与後の薬物動態（ＰＫ）を評価することである。

【０３４５】

副次的目的

この試験の副次的目的は、ＰＫ、有効性（徴候及び症状の緩和、身体機能、及び生活の質）、安全性（有害事象［ＡＥ］、重篤なＡＥ［ＳＡＥ］、及び検査パラメータの評価）、並びに免疫原性（ゴリムマブに対する抗体）に関して、ｐＪＩＡを有する被験者におけるゴリムマブの静脈内投与（ＩＶ）を評価することである。

【０３４６】

仮説

この試験では、正式な仮説の検証は計画されていない。

【０３４７】

試験設計の概要

これは、ＭＴＸによる現在の治療にもかかわらず、活動性のｐＪＩＡを有する被験者におけるＩＶゴリムマブのＰＫ、安全性、及び有効性を評価するための第３相非盲検単群多施設共同試験である。試験対象母集団は、ＭＴＸを投与中の、年齢２歳～１８歳未満、少なくとも３ヶ月のｐＪＩＡ歴を有し、５つ以上の関節に活動性関節炎を有するｐＪＩＡを有する被験者を含む。約１２０人の被験者を第０週目に組み入れて第５２週目に約１００人の被験者が試験に残るようにする。組み入れパターンは、約１０％が２歳～６歳以下、約２０％が６歳～１２歳以下、及び約７０％が１２歳～１８歳未満の被験者集団を与えることが予想される。

【０３４８】

全ての被験者は、第０週目、第４週目、第２８週目まではｑ８ｗ（±３日）、その後はｑ８ｗ（±１週間）で、８０ｍｇ／ｍ^{2}のゴリムマブをＩＶ注入（３０±１０分間かけて）として投与される（最大単回用量２４０ｍｇ［最大体表面積（ＢＳＡ）３．０ｍ^2×８０ｍｇ／ｍ^2］）。市販のＭＴＸは、第２８週目まで、ＢＳＡ＜１．６７ｍ^{2}の被験者では１０～３０ｍｇ／ｍ^2／週の安定用量で、又はＢＳＡ≧１．６７ｍ^{2}の被験者では１５ｍｇ／週の安定最小用量で投与する（文書化された安全上の理由からより低い用量のＭＴ

Ｘが投与されない限り、又は文書化された国又は施設の規制が、ＢＳＡ≧１．６７ｍ^{2}の被験者において１５ｍｇ／週以上の用量を禁止していない限り）。第５２週目で試験を完了する被験者には、試験の長期延長（ＬＴＥ）相に入る選択肢を与える。ＬＴＥの間、全ての被験者に８０ｍｇ／ｍ^{2}のゴリムマブのＩＶ投与をｑ８ｗ（±１週間；最大単回用量２４０ｍｇ）で、第２４４週目まで継続する。第２４４週目の来院を完了した全ての被験者は、第２５２週目の安全性フォローアップ来院に参加することが予想される。第２５２週目以降のゴリムマブ（ｐＪＩＡ兆候に適応される薬剤商品化が行われる前に完全な２５２週間の試験を完了した被験者について）は、被験者の国においてｐＪＩＡに対する薬剤の使用が承認及び販売されるまで、又は小児にとって有益であることが証明されている限りにおいて（被験者が市販薬を入手できない場合）提供される。

【０３４９】

この試験は、全ての被験者が同じＢＳＡベース用量のＩＶゴリムマブを投与される非盲検試験であるため、外部のデータ監視委員会は設置されない。

【０３５０】

試験の終了は、ＬＴＥの最後の被験者の最後のフォローアップ評価として定義される。

【０３５１】

対象集団

試験の被験者は、組み入れ時に体重が１５ｋｇを超えており年齢は２～１８歳未満で必要がある。

【０３５２】

疾患の発症が被験者の１６回目の誕生日の前であった必要があり、少なくとも３ヶ月の期間にわたるものである必要があり、以下のサブタイプのうちの１つの活動性ｐＪＩＡである必要がある。すなわち、リウマチ因子陽性又は陰性のｐＪＩＡ；３ヶ月以上にわたる全身症状がないが、３ヶ月以上にわたる多関節炎を伴う全身性ＪＩＡ；長期化したオリゴ関節性ＪＩＡ；付着部炎関連関節炎又は多関節型若年性乾癬性関節炎（ＰｓＡ）。

【０３５３】

被験者は、スクリーニング及び組み入れ時に米国リウマチ学会（American College of Rheumatology、ＡＣＲ）基準によって定義される活動性関節炎を有する５つ以上の関節を有している必要がある。被験者は、週用量１０ｍｇ／ｍ^{2}以上の（スクリーニングの前２ヶ月以上にわたる）経口、筋肉内、又は皮下ＭＴＸを現在使用中にもかかわらず、活動性ｐＪＩＡを有している必要がある。

【０３５４】

用量及び投与

ゴリムマブ

本試験は１つの能動的治療群を有し、全ての被験者は８０ｍｇ／ｍ^{2}のゴリムマブＩＶ注入を、第０週目、第４週目、並びに第２８週目まではｑ８ｗ（±３日）、及びその後、第２４４週目まではｑ８ｗ（±１週）で投与される。ＢＳＡを各来院時に計算し、ゴリムマブの用量を必要に応じて調整して用量を８０ｍｇ／ｍ^{2}に維持する。ＢＳＡは、Ｍｏｓｔｅｌｌｅｒの式：ＢＳＡ（ｍ^2）＝（［身長（ｃｍ）ｘ体重（ｋｇ）］／３６００）$^{1/2}$を用いて計算される。最大単回用量は、ゴリムマブ２４０ｍｇである。

【０３５５】

メトトレキサート

被験者は、市販のＭＴＸを、試験組み入れの時点と同じＢＳＡベースの用量（ＢＳＡ＜１．６７ｍ^{2}の被験者には１週当たり１０～３０ｍｇ／ｍ^2、又はＢＳＡ≧１．６７ｍ^{2}の被験者には少なくとも１５ｍｇ／週）で少なくとも第２８週目まで投与される。ＭＴＸによる不耐性又はＡＥが発生しない限り、第２８週目の来院まで被験者が同じＭＴＸの用量及び投与経路を維持するようにあらゆる努力を払う必要がある。

【０３５６】

被験者はまた、週１回、５ｍｇ以上の市販の葉酸又は週１回のＭＴＸ投与の翌日にフォリン酸（ＭＴＸの用量の半分）も投与される。１２歳未満の小児では、葉酸又はフォリン

酸の投与は、医師の判断による。
【０３５７】
有効性評価及び評価項目
有効性評価は、以下を含む。
●関節評価（活動性関節の数及び制限を有する可動域を伴う関節の数）
●医師による疾患活動性の全般的評価
●小児健康調査質問票（ＣＨＡＱ；全体的な健康状態の親／被験者による評価、及び疼痛の親／被験者による評価を含む）
●ＣＲＰ
【０３５８】
一次有効性評価項目又は主要二次評価項目は計画されていない。他の有効性評価項目としては以下が挙げられる。
●ＪＩＡ ＡＣＲ３０、５０、７０、及び９０レスポンダーである被験者の経時的な割合
●ＣＨＡＱにおけるベースラインからの経時変化
●経時的なＣＲＰ濃度
●経時的な非活動性疾患を有する被験者の割合
●経時的なｐＪＩＡ薬剤に対する臨床的寛解における被験者の割合
●各来院時のｐＪＩＡコアセットにおけるベースラインからの改善
●第５２週目までの疾患サブタイプ及び／又は年齢によるＪＩＡ ＡＣＲ３０、ＪＩＡ ＡＣＲ５０、ＪＩＡ ＡＣＲ７０及びＪＩＡ ＡＣＲ９０レスポンダーである被験者の経時的割合
●若年性関節炎疾患活動性スコア（ＪＡＤＡＳ）１０、２７、及び７１のベースラインからの経時的変化
●ＪＡＤＡＳ１０、２７、及び７１の疾患活動性に達する被験者の経時的割合
【０３５９】
薬物動態評価及び評価項目
血清ゴリムマブ濃度を、第０、第４、第８、第１２、第２０、第２８、第５２、第１００、第１４８、第１９６及び第２４４週目に評価し、経時的に要約する。第２８週目までのデータを用いて母集団のＰＫ分析を行ってゴリムマブのＰＫを特徴付けるとともに、ｐＪＩＡを有する小児集団におけるＰＫの重要な共変数を特定する。
【０３６０】
第５２週目まで及びＬＴＥを通じてゴリムマブ濃度を要約し、ＰＫ曝露を評価する。
【０３６１】
本試験における一次評価項目は、第２８週目のＰＫ曝露（第２８週目におけるトラフ濃度）及び８週間の１回投与間隔にわたる定常状態のベイズ法による曲線下面積［ＡＵＣｓｓ］（母集団のＰＫモデリング及びシミュレーションから）である。
【０３６２】
主要な二次評価項目は以下の通りである。
●第５２週目のＰＫ曝露（第５２週目におけるトラフ濃度）及び第５２週目のベイズ法によるＡＵＣｓｓ（母集団のＰＫモデリング及びシミュレーションから）。
【０３６３】
安全性の評価
安全評価には以下の評価が含まれる。ＡＥ；注入反応；アレルギー反応；臨床検査（血液学、化学、及び妊娠検査）；バイタルサイン；身体検査；身長及び体重；ブドウ膜炎；及び結核の早期検出。
【０３６４】
免疫原性評価
ゴリムマブに対する抗体を、第０、第４、第８、第１２、第２８、第５２、第１００、第１４８、第１９６週目及び第２４４週目に全ての被験者から採取した血清試料で評価する。

【０３６５】
統計的方法
対象情報
人口統計学及びベースライン疾患特性及び以前の服薬データを、試験薬剤が投与されているか否かに関わらず、試験に組み入れられた全ての被験者について要約する。試験薬剤の少なくとも１回の投与を受けた全の被験者について薬物動態データを要約する。有効性分析を、試験に組み入れられた全ての被験者について要約する。安全性評価を、治療を行った全ての被験者について要約する。
【０３６６】
サンプルサイズ
試料サイズは、統計的考慮事項に基づくものではない。目標は、母集団ＰＫモデルを構築するのに十分であり、かつ実行可能であれば、曝露応答モデルを構築するのに十分な試料サイズを得ることである。更に、妥当な安全性評価を与える試料サイズも考慮した。これらの考慮事項により、２０人の被験者が脱落するか又はＰＫ試料を提供しない場合に約１００人の被験者の試料サイズが第５２週目で試験に留まっていると仮定して、約１２０人の被験者の試料サイズを選択した。この試料サイズは、ＰＫ時点の疎なサンプリング、並びに約１００人の被験者からの１年の安全性データを提供することを考慮して、母集団ＰＫモデルを構築するのに十分であると考えられる。
【０３６７】
有効性解析
一次有効性評価項目の分析も主要な二次有効性評価項目の分析も計画されていない。
【０３６８】
試験に組み入れられた全ての被験者について以下を要約する。
●ＪＩＡ ＡＣＲ３０、５０、７０、及び９０レスポンダーである被験者の経時的な割合
●ＣＨＡＱにおけるベースラインからの経時変化
●経時的なＣＲＰ濃度
●経時的な非活動性疾患を有する被験者の割合
●経時的なｐＪＩＡ薬剤（ＡＣＲ基準）に対する臨床的寛解における被験者の割合
●経時的なｐＪＩＡコアセットにおけるベースラインからの改善
●第５２週目までの疾患サブタイプ及び／又は年齢によるＪＩＡ ＡＣＲ３０、５０、７０及び９０レスポンダーである被験者の経時的割合
●ＪＡＤＡＳ１０、２７、及び７１スコアにおけるベースラインからの経時的な変化
●ＪＡＤＡＳ１０、２７、及び７１の経時的な疾患活動性に達する被験者の割合
【０３６９】
薬物動態の分析
本試験の主要目的は、ＪＩＡ集団におけるゴリムマブＰＫ曝露（第２８週目のトラフ濃度及び母集団のＰＫモデリング及びシミュレーションからの８週間の投与間隔にわたるベイズ法によるＡＵＣｓｓ）を特徴付けることである。
【０３７０】
血清ゴリムマブ濃度を経時的に要約する。更に、第２８週目までのデータに対する母集団のＰＫ分析を行ってゴリムマブのＰＫを特徴付けるとともに、ＪＩＡを有する小児集団におけるＰＫの重要な共変数を特定及び定量化する。クリアランス及び分布容積は、非線形混合効果モデリング（ＮＯＮＭＥＭ）アプローチを用いて推定される。
【０３７１】
安全性分析
安全性は、第２５２週目までのＡＥ、臨床検査、及びバイタルサインの所見の要約を評価することによって評価される。
【０３７２】
免疫原性の分析
ゴリムマブが投与され、ゴリムマブに対する抗体を検出するために適当な試料を採取し

た全ての被験者（すなわち、最初のゴリムマブ投与後に少なくとも１つの試料を採取した被験者）について、試験中のゴリムマブに対する抗体の生成及び力価を経時的に要約する。

【０３７３】

薬物動態／薬力学的解析

血清ゴリムマブ濃度と有効性との関係を調べる。適当なＰＫ／薬物動態（ＰＤ）モデルを調査し、曝露応答関係を記述するために開発する。

【０３７４】

時間及びイベントのスケジュール

【０３７５】

【表７－１】

表6：第52週目までのスクリーニング													
	スクリーニング期間（－6週間）	週0[a]	週4[a]	週8[a]	週12[a]	週16[a]	週20[a]	週24[a]	週28[a]	週36[a]	週44[a]	週52[a]	最終的な安全性フォローアップ来院[b]
手順及び評価													
管理的													
インフォームドコンセント／同意	X												
医療履歴／人口統計データ	X												
併用薬コレクション	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X
組み入れ／除外基準	X	X											
試験薬剤													
試験薬剤のIV投与		X	X		X		X		X	X	X	X	
安全性													
システムレビュー	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X
身体検査[c]	X			X			X			X			
体重測定値	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	
身長測定値	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	
バイタルサイン	X	X[d]	X[d]	X	X[d]	X	X[d]	X	X[d]	X[d]	X[d]	X[d]	X
日常検査分析	X	X	X		X		X		X	X	X	X	X
B型肝炎ウイルススクリーニング	X												
C型肝炎ウイルススクリーニング	X												
QuantiFERON（登録商標）－TB GOLD検査[e]	X											X[f]	
TB評価（質問票）	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X
胸部X線[g]	X												
ブドウ膜炎の評価[h]	X						X				X		X
リウマチ因子	X												
ANA／抗dsDNA抗体	X							X				X	X
妊娠検査（血清）[i]	X												
妊娠検査（尿）[i]		X	X		X		X		X	X	X	X	
注入反応の評価[j]		X	X		X		X		X	X	X	X	
有害事象	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X
有効性													
関節評価	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X
JIA評価[k、l]		X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X
CRP	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X

【０３７６】

【表７－２】

（表６の続き）

表6：第52週目までのスクリーニング

	スクリーニング期間（－6週間）	週0[a]	週4[a]	週8[a]	週12[a]	週16[a]	週20[a]	週24[a]	週28[a]	週36[a]	週44[a]	週52[a]	最終的な安全性フォローアップ来院[b]
薬物動態													
ゴリムマブ濃度[m、n]		2X	2X	X	2X		X		X			X	X
母集団PK[o]		←X°→											
免疫原性													
ゴリムマブに対する抗体[n]		X	X	X	X				X			X	X

a．全ての計画された来院は、第28週目までは予定された来院の前後3日以内、及び第28週目後～第52週目までは前後1週間以内に行われる必要がある。
b．第52週目の前に試験薬剤投与を中止したが同意を撤回していない全ての被験者は、最後の注入の約8週間後に、最終的な安全性来院のために試験施設に戻る必要がある（セクション10．2）。
c．全ての身体検査での皮膚検査、及びおよそ6ヶ月毎のタナー分類を含む。
d．バイタルサインは、注入前15分及び30分（注入中は15分間隔）、並びに60分及び90分（注入後の1時間の観察期間中）に測定される必要がある。
e．QuantiFERON（登録商標）－TB Gold検査がその国で承認／登録されていないか、又はツベルクリン皮膚検査が現地の健康機関によって義務付けられている国ではツベルクリン皮膚検査も実施されるべきである。
f．潜在性TBの履歴を有する、及び潜在性TBの治療を継続中であるか、又は十分な治療を完了したとの文書がある被験者では、検査は必要ではない。
g．TBのリスクを有するJIAの子供における免疫抑制剤の開始についての現地及び国の規制に従った胸部X線スクリーニング。
h．評価（身体検査及び面談に基づく）は、全ての被験者において少なくとも6ヶ月毎に治験責任医師によって実施される必要がある。加えて、全ての被験者は、指定の間隔（JIAのサブタイプ、ANAの検査結果、JIA発症時の年齢、及びJIAの期間に基づく）で試験中に眼科医／検眼医によって実施される細隙灯評価を行うことが求められる。
i．妊娠の可能性を有する（すなわち、初経後）の全ての女性被験者は、スクリーニング中、及び試験薬の投与前の全ての来院において妊娠について陰性である必要がある。
j．被験者は、注入反応の症状について試験薬剤の投与後、少なくとも60分間観察される。
k．JIAの評価は、以下を含む。小児健康調査質問票（Physician Global Assessment of Disease Activity，Childhood Health Assessment Questionnaire（CHAQ）、及び朝のこわばりの持続時間。CHAQは、被験者の認識への影響を防止するため、その来院における任意の検査、手順、又は他の相談の前に記入される必要がある。
l．CHAQは、親又は介護者によって記入され、好ましくは、全ての来院で同じ親又は介護者が記入すべきである。試験組み入れ時に15歳以上18歳未満の被験者は、親／介護者と一緒に評価を完了してもよい。
m．第0、第4及び第12週目の来院時に血清ゴリムマブ濃度の2つの試料（上記のスケジュール中、「2×」で示される）を採取する。注入の直前に1つの試料を採取し、注入の終了の約1時間後（例えば、±10分）にもう一方を採取する。残りの来院のそれぞれでは、血清ゴリムマブの試料を1つのみ採取するが、これはその来院で試験薬剤の注入が投与される場合には注入の直前に採取される必要がある。注入後試料は、IV注入ラインとは異なる腕から抜き取るか、あるいは薬剤投与に使用されるものと同じアクセスラインを使用する場合には、IV注入ラインをフラッシュして残留している可能性のある残留薬剤を除去し、試料を得る前に1mLの血液を引き込んでから捨てる必要がある。
n．同じ血清試料を、ゴリムマブの濃度の測定及びゴリムマブに対する抗体の検出に使用することができる。試験薬剤投与が行われる来院において、ゴリムマブ濃度及びゴリムマブに対する抗体を評価するための全ての血液試料は、試験薬剤の投与前に採取される必要がある。
o．母集団PKの血清ゴリムマブ濃度の1つの追加の試料を、第0週目、第4週目、及び第8週目の来院時以外の第0週目～第8週目の任意の時点で全ての被験者から採取する。この試料は、試験薬剤投与の少なくとも24時間前又は後に採取される必要があり、定期計画された来院（例えば、第8週目）で採取しないこととする。

略語：ANA＝抗核抗体、CHAQ＝小児健康調査質問票（Childhood Health Assessment Questionnaire）；CRP＝C反応性タンパク質、dsDNA＝二本鎖デオキシリボ核酸、IV＝静脈内、PK＝薬物動態、TB＝結核。

【０３７７】

【表８－１】

表7:第60週目～第156週目(長期延長)														
	週60[a]	週68[a]	週76[a]	週84[a]	週92[a]	週100[a]	週108[a]	週116[a]	週124[a]	週132[a]	週140[a]	週148[a]	週156[a]	最終的な安全性フォローアップ来院[b]
手順及び評価														
管理的														
併用薬コレクション	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X
試験薬剤														
試験薬剤のIV投与	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	
安全性														
システムレビュー	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X
身体検査[c]	X			X			X			X			X	
体重測定値	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	
身長測定値	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	
バイタルサイン	X[d]	X[d]	X[d]	X[d]	X[d]	X[d]	X[d]	X[d]	X[d]	X[d]	X[d]	X[d]	X[d]	X
日常検査分析			X			X			X			X		X
ANA／抗dsDNA抗体			X			X			X			X		X
QuantiFERON(登録商標)－TB Gold検査[e]						X[f]						X[f]		
TB評価(質問票)	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X
胸部X線[g]	X													
ブドウ膜炎の評価[h]		X			X			X			X			X
妊娠検査(尿)[i]	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	
注入反応の評価[j]	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	
有害事象	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X
有効性														
関節評価		X		X		X		X		X		X		X
JIA評価[k、l]		X		X		X		X		X		X		X
CRP		X		X		X		X		X		X		X
薬物動態														
ゴリムマブ濃度[m]						X						X		X

【０３７８】

【表８－２】

（表７の続き）

表7：第60週目～第156週目（長期延長）														
	週60[a]	週68[a]	週76[a]	週84[a]	週92[a]	週100[a]	週108[a]	週116[a]	週124[a]	週132[a]	週140[a]	週148[a]	週156[a]	最終的な安全性フォローアップ来院[b]
免疫原性														
ゴリムマブに対する抗体[m]						X						X		X

a．全ての計画された来院は、予定された来院の前後１週間に行われる必要がある。
b．第１５６週目の前に試験薬剤投与を中止したが同意を撤回していない全ての被験者は、最後の注入の約８週間後に、最終的な安全性来院のために試験施設に戻る必要がある（セクション１０．２）。
c．全ての身体検査での皮膚検査、及びおよそ6ヶ月毎のタナー分類を含む。
d．バイタルサインは、注入前１５分及び３０分（注入中は１５分間隔）、並びに６０分及び９０分（注入後の１時間の観察期間中）に測定される必要がある。
e．QuantiFERON（登録商標）－TB Gold検査が承認／登録されていないか、又はツベルクリン皮膚検査が現地の健康機関によって義務付けられている国ではツベルクリン皮膚検査も実施されるべきである。
f．潜在性TBの履歴を有する、及び潜在性TBの治療を継続中であるか、又は十分な治療を完了したとの文書がある被験者では、検査は必要ではない。
g．TBのリスクを有するJIAの子供における免疫抑制剤の開始についての現地及び国の規制に従った胸部X線スクリーニング。
h．評価（身体検査及び面談に基づく）は、全ての被験者において少なくとも6ヶ月毎に治験責任医師によって実施される必要がある。加えて、全ての被験者は、指定の間隔（JIAのサブタイプ、ANAの検査結果、JIA発症時の年齢、及びJIAの期間に基づく）で試験中に眼科医／検眼医によって実施される細隙灯評価を行うことが求められる。
i．妊娠の可能性を有する（すなわち、初経後）の全ての女性被験者は、試験薬の投与前の全ての来院において妊娠について陰性である必要がある。
j．被験者は、注入反応の症状について試験薬剤の投与後、少なくとも６０分間観察される。
k．JIAの評価は、以下を含む。小児健康調査質問票（Physician Global Assessment of Disease Activity, Childhood Health Assessment Questionnaire（CHAQ）、及び朝のこわばりの持続時間。CHAQは、被験者の認識への影響を防止するため、その来院における任意の検査、手順、又は他の相談の前に記入される必要がある。
l．CHAQは、親又は介護者によって記入され、好ましくは、全ての来院で同じ親又は介護者が記入すべきである。試験組み入れ時に１５歳以上１８歳未満の被験者は、親／介護者と一緒に評価を完了してもよい。
m．同じ血清試料を、ゴリムマブの濃度の測定及びゴリムマブに対する抗体の検出に使用することができる。試験薬剤投与が行われる来院において、ゴリムマブ濃度及びゴリムマブに対する抗体を評価するための全ての血液試料は、試験薬剤の投与前に採取される必要がある。

略語：ANA＝抗核抗体、CHAQ＝小児健康調査質問票（Childhood Health Assessment Questionnaire）；CRP＝C反応性タンパク質、dsDNA＝二本鎖デオキシリボ核酸、IV＝静脈内；TB＝結核。

【０３７９】

【表９－１】

表8:第164週目～第252週目(長期延長の続き)													
	週164[a]	週172[a]	週180[a]	週188[a]	週196[a]	週204[a]	週212[a]	週220[a]	週228[a]	週236[a]	週244[a]	週252[a]	最終的な安全性フォローアップ来院[b]
手順及び評価													
管理的													
併用薬コレクション	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X
試験薬剤													
試験薬剤のIV投与	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X		
安全性													
システムレビュー	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X
身体検査[c]			X			X			X			X	
体重測定値	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X		
身長測定値	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X		
バイタルサイン	X[d]	X[d]	X[d]	X[d]	X[d]	X[d]	X[d]	X[d]	X[d]	X[d]	X[d]	X	X
日常検査分析		X			X			X			X		X
ANA／抗dsDNA抗体		X			X			X			X		
QuantiFERON(登録商標)－TB Gold検査[e]					X[f]						X[f]		
TB評価(質問票)	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X
胸部X線[g]	X												
ブドウ膜炎の評価[h]	X			X			X			X		X	X
妊娠検査(尿)[i]	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X		
注入反応の評価[j]	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X		
有害事象	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X
有効性													
関節評価	X		X		X		X		X		X		X
JIA評価[k、l]	X		X		X		X		X		X		X
CRP	X		X		X		X		X		X		X
薬物動態													
ゴリムマブ濃度[m]					X						X		X

【０３８０】

【表９－２】

（表８の続き）

表8：第164週目～第252週目（長期延長の続き）

	週164[a]	週172[a]	週180[a]	週188[a]	週196[a]	週204[a]	週212[a]	週220[a]	週228[a]	週236[a]	週244[a]	週252[a]	最終的な安全性フォローアップ来院[b]
免疫原性													
ゴリムマブに対する抗体[m]					X						X		X

a．全ての計画された来院は、予定された来院の前後１週間に行われる必要がある。
b．第２４４週目の前に試験薬剤投与を中止したが同意を撤回していない全ての被験者は、最後の注入の約８週間後に、最終的な安全性来院のために試験施設に戻る必要がある（セクション１０．２）。
c．皮膚検査及びタナー分類を含む。
d．バイタルサインは、注入前１５分及び３０分（注入中は１５分間隔）、並びに６０分及び９０分（注入後の１時間の観察期間中）に測定される必要がある。
e．QuantiFERON（登録商標）－TB Gold検査が承認／登録されていないか、又はツベルクリン皮膚検査が現地の健康機関によって義務付けられている国ではツベルクリン皮膚検査も実施されるべきである。
f．潜在性TBの履歴を有する、及び潜在性TBの治療を継続中であるか、又は十分な治療を完了したとの文書がある被験者では、検査は必要ではない。
g．TBのリスクを有するJIAの小児における免疫抑制剤の開始についての現地及び国の規制に従った胸部X線スクリーニング。
h．評価（身体検査及び面談に基づく）は、全ての被験者において少なくとも6ヶ月毎に治験責任医師によって実施される必要がある。加えて、全ての被験者は、指定の間隔（JIAのサブタイプ、ANAの検査結果、JIA発症時の年齢、及びJIAの期間に基づく）で試験中に眼科医／検眼医によって実施される細隙灯評価を行うことが求められる。
i．妊娠の可能性を有する（すなわち、初経後）の全ての女性被験者は、試験薬の投与前の全ての来院において妊娠について陰性である必要がある。
j．被験者は、注入反応の症状について試験薬剤の投与後、少なくとも６０分間観察される。
k．JIAの評価は、以下を含む。小児健康調査質問票（Physician Global Assessment of Disease Activity, Childhood Health Assessment Questionnaire（CHAQ）、及び朝のこわばりの持続時間。CHAQは、被験者の認識への影響を防止するため、その来院における任意の検査、手順、又は他の相談の前に記入される必要がある。
l．CHAQは、親又は介護者によって記入され、好ましくは、全ての来院で同じ親又は介護者が記入すべきである。試験組み入れ時に１５歳以上１８歳未満の被験者は、親／介護者と一緒に評価を完了してもよい。
m．同じ血清試料を、ゴリムマブの濃度の測定及びゴリムマブに対する抗体の検出に使用することができる。試験薬剤投与が行われる来院において、ゴリムマブ濃度及びゴリムマブに対する抗体を評価するための全ての血液試料は、試験薬剤の投与前に採取される必要がある。

略語：ANA＝抗核抗体、CHAQ＝小児健康調査質問票（Childhood Health Assessment Questionnaire）；CRP＝C反応性タンパク質、dsDNA＝二本鎖デオキシリボ核酸、IV＝静脈内；TB＝結核。

【０３８１】

略語：

【０３８２】

【表１０－１】

ACR	米国リウマチ学会
AE	有害事象
ALT	アラニンアミノトランスフェラーゼ
ANA	抗核抗体
ARC	予測される事象の評価委員会
AS	強直性脊椎炎
AST	アスパラギン酸アミノトランスフェラーゼ
BCG	カルメット・ゲラン桿菌
β－hCG	β－ヒト線毛性性腺刺激ホルモン
BSA	体表面積
CHAQ	小児健康調査質問票
CL／BSA	体表面積正規化薬物クリアランス
CL／F	見かけ上の全身クリアランス
CRF	症例報告書
CRP	C反応性タンパク質
DAS	疾患活動性指数スコア
DMARD	疾患修飾性抗リウマチ薬
DNA	デオキシリボ核酸
DRC	データ検証委員会
dsDNA	二本鎖デオキシリボ核酸
eDC	電子データ収集
FDA	米国食品医薬品局
GCP	医薬品の臨床試験の実施基準
HAQ	健康評価質問票
HAQ－DI	健康評価質問表障害指数
HBsAg	HBV表面抗原
HBV	B型肝炎ウイルス
HIV	ヒト免疫不全ウイルス
HLA－B27	ヒト白血球抗原B27
HLA－DR4	ヒト白血球抗原DR4
HLA－DR5	ヒト白血球抗原DR5
HLA－DR8	ヒト白血球抗原DR8
ICH	医薬品規制調和国際会議
IEC	独立倫理委員会
IL－1β	インターロイキン－1β
IL－6	インターロイキン－6
IRB	治験審査委員会
JADAS	若年性関節炎疾患活動性スコア
JIA	若年性特発性関節炎
LFT	肝臓機能検査
LTE	長期延長
mAb	モノクローナル抗体

【０３８３】

【表１０－２】
（上記表の続き）

MedDRA	医薬規制用語集
MTX	メトトレキサート
NSAID	非ステロイド性抗炎症薬
PD	薬力学
PED	小児科
pJIA	多関節型若年性特発性関節炎
PK	薬物動態
PQC	製品品質への苦情
PPD	精製タンパク質誘導体
PRCSG	小児リウマチ共同試験グループ
PRINTO	小児リウマチ国際研究機関
PRO	患者報告アウトカム
PsA	乾癬性関節炎
q4w	４週間毎
q8w	８週間毎
RA	関節リウマチ
RBC	赤血球
RF	リウマチ因子
SAE	重篤な有害事象
SC	皮下
SF－36	36項目略式健康調査
SI	国際単位系
SOC	系／器官分類
TB	結核
TNFα	腫瘍壊死因子α
URTI	上気道感染症
US	米国
VAS	視覚的アナログスケール
vdH－S	ファン･デル･ハイデ改変シャープ法
V／F	見かけの分布容積
Vss	定常状態における分布容積
WBC	白血球

【０３８４】
１．　序論
ＳＩＭＰＯＮＩ（登録商標）（ゴリムマブ）は、免疫グロブリンＧ１の重鎖アイソタイプ（Ｇ１ｍ［ｚ］アロタイプ）及びκ軽鎖アイソタイプを有する完全ヒトモノクローナル抗体（ｍＡｂ）である。ゴリムマブの分子量は、１４９，８０２～１５１，０６４ダルトンの範囲である。ゴリムマブは、配列番号３６を含む重鎖（ＨＣ）及び配列番号３７を含む軽鎖（ＬＣ）を有する。ゴリムマブの分子量は、１４９，８０２～１５１，０６４ダルトンの範囲である。
【０３８５】
ゴリムマブは、高い親和性及び特異性を有し、ヒト腫瘍壊死因子α（ＴＮＦα）の可溶性の形態及び膜貫通型の生物活性形態の両方を有する高親和性の安定な複合体を形成し、この複合体は、ＴＮＦαの受容体への結合を防止し、ＴＮＦαの生理活性を中和する。他のＴＮＦαスーパーファミリーリガンドに対する結合は観察されなかった。具体的には、ゴリムマブは、ヒトリンパ球に結合しない、又は中和しない。ＴＮＦαは、自己会合して生物活性ホモトリマーを形成し、タンパク質分解によって細胞表面から急速に放出される膜貫通タンパク質として、主として活性化された単球、マクロファージ及びＴ細胞により合成される。ＴＮＦαのｐ５５又はｐ７５　ＴＮＦ受容体のいずれかへの結合により、受容体細胞質ドメインがクラスター化し、シグナル伝達が開始される。腫瘍壊死因子は、様

々な刺激に応答して生成され、続いて、カスケード依存性アポトーシス経路並びに転写因子核因子（ＮＦ）－κＢ及び活性化因子タンパク質－１（ＡＰ－１）の活性化による炎症応答を促進する、主要なセンチネルサイトカインとして同定されている。腫瘍壊死因子αはまた、胚中心での免疫細胞の組織化における役割を介して免疫応答を調節する。ＴＮＦαの発現の上昇は、リウマチ性関節炎（ＲＡ）などの慢性炎症性疾患、並びに乾癬性関節炎（ＰｓＡ）及び強直性脊椎炎（ＡＳ）などの脊椎関節症に関連している。ＴＮＦαは、これらの疾患に特徴的な関節性炎症及び構造的損傷の重要なメディエーターである。

【０３８６】

抗ＴＮＦα剤の臨床試験で実証されているように、ＴＮＦα活性を遮断することで、過剰なＴＮＦαによって引き起こされる有害な作用を防止することができる。静脈内（ＩＶ）投与用のＳＩＭＰＯＮＩ（登録商標）（ゴリムマブ）が、多関節型ＪＩＡ（ｐＪＩＡ）を有する患者における代替的な投与経路（他の入手可能な抗ＴＮＦα剤と比較して）及び便宜のよい投与レジメン（すなわち、８週毎の投与［ｑ８ｗ］）を与えるものとして開発されている。

【０３８７】

１．１．　背景

１．１．１．　若年性特発性関節炎

若年性特発性関節炎は、１６歳未満で発症し、６週間を超えて持続する原因不明の関節炎の全ての形態を包含する除外診断である[18]。これは子供における最も一般的な慢性リウマチ疾患であり、国際リウマチ学会（ＩＬＡＲ）分類に従って、別個の臨床所見及び特性により特徴付けられる７つのサブタイプ（全身性関節炎、オリゴ関節炎、リウマチ因子［ＲＦ］陰性多発性関節炎、ＲＦ陽性多発性関節炎、付着部炎関連関節炎、乾癬性関節炎、未分化型関節炎）に分類される[16]。

【０３８８】

ＪＩＡの不均質性は、複数の因子が疾患の病因及び発病機序に寄与していることを示しており、遺伝因子及び環境因子の両方の関与が示されている。これらには、誘発機構としての感染症の関与、ヒト白血球抗原（ＨＬＡ）及び非ＨＬＡ分子と疾患発症との間のリンク、並びに組織炎症及び関節破壊につながる免疫異常が挙げられる。疾患発症における感染の役割は依然、証明されていない[18]。しかしながらＪＩＡでは、ＨＬＡ－ＤＲ５及びＨＬＡ－ＤＲ８遺伝子座抗原が、オリゴ関節性関節炎を有する若年女子における関連寄与因子としての関与が示されているのに対して、ＨＬＡ－ＤＲ４は、より年長の子供におけるＲＦ陽性多関節型関節炎への関与が示されており、ＨＬＡ－Ｂ２７は、オリゴ関節性疾患を有するより年長の男子における関与が示されている[15、17]。

【０３８９】

ＪＩＡの病因及び発病機序は依然として明らかではないが、成人ＲＡの進行に役割を担っているものと同じ細胞型及び基礎となる機構がおそらくは関与していると考えられる[15]。関与する細胞実体としては、多くの炎症性サイトカイン及び炎症のメディエーターを生成するマクロファージが含まれる。ＴＮＦαなどのマクロファージ由来サイトカインは、ＲＡを有する患者の関節における慢性炎症プロセスの誘導及び持続において、また、この疾患の全身性の発現[6]において極めて重要な役割を果たしているようであるが、全身性ＪＩＡにおけるＴＮＦαの役割についてはそれほどの確証はない[3]。

【０３９０】

いくつかの試験は、ＲＡを有する成人において上昇した炎症性サイトカイン（例えば、インターロイキン－１　β［ＩＬ－１β、インターロイキン－６［ＩＬ－６］、及びＴＮＦα）のレベルは、ＪＩＡを有する患者の滑液及び血清中においても上昇していることが示されている[9、19、12、3、20]。これらの試験により、様々なＪＩＡのサブグループを有する患者間で異なるサイトカインプロファイルも見出されている。

【０３９１】

若年性特発性関節炎は、子供における短期及び長期の障害の重要な原因である[14]が、療法における新たな進歩によって臨床的に重要な前進が示されてきた。過去１０年では、

患者の４０％～６０％が、フォローアップにおけるＪＩＡの薬剤の投与期間中に非活動性疾患又は臨床的寛解を有することが試験により示されている。機能的転帰は過去１０年間で改善され、重度の機能的障害を有する患者は２．５％～１０％となっている[18]。しかしながら、特に重篤なＪＩＡの合併症として、直線的増殖抑制、骨粗鬆症、局所成長障害、マクロファージ活性化症候群、及び虹彩毛様体炎がある[18]。

【０３９２】

ＪＩＡにおける治療の目的は、疾患を完全に制御すること、小児の身体的及び心理的完全性を維持すること、並びに、疾患又はその療法に関連する任意の長期的な結果を予防することである。ＪＩＡの治療薬の主なものとしては、ＮＳＡＩＤ、関節内及び全身性コルチコステロイド、メトトレキサート（ＭＴＸ）、及び他のＤＭＡＲＤがあった。生物学的薬剤の導入により、従来の抗リウマチ剤に耐性を有するＪＩＡ患者の治療の重要な新たな治療選択肢が提供された[18]。現在、ｐＪＩＡの治療用に承認されている生物学的療法としては、エタネルセプト、アダリムマブ、アバタセプト、及びトシリズマブがあり、カナキヌマブ及びトシリズマブが全身性ＪＩＡに対して承認されている。

【０３９３】

１．１．２．　リウマチ性関節炎及び若年性特発性関節炎におけるゴリムマブ臨床試験

ＳＣ注射として投与されるゴリムマブは、ＲＡ、ＰｓＡ、強直性脊椎炎（ＡＳ）、及び潰瘍性大腸炎を有する成人において有効であることが実証されている。静脈内ゴリムマブもまた、ＲＡを有する成人において有効であることが証明されている。他の抗ＴＮＦα剤は、ＪＩＡによる被験者の治療に有効であった。治験依頼者は、ＳＣゴリムマブのＢＳＡベースの投与量の試験を実施して（ＣＮＴＯ１４８ＪＩＡ３００１）、若年性ＰｓＡを含む複数のＪＩＡのサブタイプの治療におけるＳＣゴリムマブの使用に伴う利益及びリスクを評価した。

【０３９４】

成人におけるＩＶゴリムマブのＣＮＴＯ１４８ＡＲＴ３００１試験の結果、及びＪＩＡを有する被験者におけるＳＣゴリムマブのＣＮＴＯ１４８ＪＩＡ３００１試験の結果を以下に記載する。

【０３９５】

１．１．２．１．　成人リウマチ性関節炎における静脈内ゴリムマブ

無作為化プラセボ対照多施設二重盲検試験であるＣＮＴＯ１４８ＡＲＴ３００１の主要目的は、ＭＴＸ療法にもかかわらず活動性ＲＡを有する成人被験者における、ＭＴＸ単独と比較したゴリムマブ２ｍｇ／ｋｇ＋ＭＴＸのＩＶ投与の臨床的有効性を評価することであった。およそ５６４人の被験者を計画し、５９２人を無作為化した。

【０３９６】

被験者は、併用ＭＴＸ療法にもかかわらず、スクリーニング及びベースライン時に６個以上の圧痛関節及び６個以上の腫脹関節として定義される活動性ＲＡを有しており、スクリーニング前の少なくとも３ヶ月間、ＲＡの診断を有した１８歳以上の男女とした。スクリーニング時に、被験者は、Ｃ反応性タンパク質（ＣＲＰ）測定値が≧１．０ｍｇ／ｄＬ（正常値の上限＝１．０ｍｇ／ｄＬ）である必要があり、かつＲＦ陽性である必要がある。

【０３９７】

ゴリムマブに対して無作為化した被験者に、３０±１０分間の注入時間にわたって２ｍｇ／ｋｇのゴリムマブを静脈内投与した。更に、被験者を、試験全体を通じて安定した用量の市販のＭＴＸ（１５ｍｇ～２５ｍｇ／週）に維持した。

【０３９８】

無作為化は、１．５ｍｇ／ｄＬ未満又は１．５ｍｇ／ｄＬ以上のスクリーニングＣＲＰに基づいて階層化した。被験者を、第０週目、第４週目、その後、８週毎（ｑ８ｗ）にゴリムマブ＋ＭＴＸ又はプラセボ＋ＭＴＸに対して２：１で無作為化した。試験全体の治療期間は、１２週間の安全性フォローアップ期間を伴う１００週間とした。

【０３９９】

全体で５９２人の被験者のうちの５７０人（９６％）が２４週の試験を完了した。残りの２２人（４％）の被験者は、第２４週目の前に試験を中止した。最も多くの中止はＡＥによるものであった（ゴリムマブ＋ＭＴＸ群の９人［２．３％］の被験者及びプラセボ＋ＭＴＸ群における２人［１．０％］の被験者）。

【０４００】

プラセボ＋ＭＴＸ群の被験者（２４．９％、ｐ＜０．００１）と比較して、ゴリムマブ＋ＭＴＸ群の被験者の有意に大きな割合（５８．５％）が一次評価項目、すなわち第１４週目のＡＣＲ２０応答を達成した。治療効果は、スクリーニング時にＣＲＰ　≧１．５ｍｇ／ｄＬ又は＜１．５ｍｇ／ｄＬのいずれかを有した被験者で一貫していた。ゴリムマブ＋ＭＴＸ群とプラセボ＋ＭＴＸ群との間で、ＡＣＲ２０レスポンダーの割合に有意な差が早くも第２週目に観察された。主要二次有効性評価項目も達成された。プラセボ＋ＭＴＸ群の被験者（４０．１％、ｐ＜０．００１）と比較して、第１４週目（８１．３％）でゴリムマブ＋ＭＴＸ群の被験者の有意に大きい割合が、良好な、又は中程度の疾病活動性指数スコア（ＤＡＳ）２８応答（ＣＲＰを用いた）を有した。

【０４０１】

プラセボ＋ＭＴＸ群（０．１２５、ｐ＜０．００１）の被験者と比較して、ゴリムマブ＋ＭＴＸ群（０．５００）の被験者では、第１４週目における健康評価質問票の機能障害指数（ＨＡＱ－ＤＩ）の障害スコアが有意に高かった。また、第１４週目（それぞれ４３．１％と比較して６８．４％、ｐ＜０．００１）及び第２４週目（それぞれ４５．２％と比較して６７．６％、ｐ＜０．００１）の両方で、プラセボ＋ＭＴＸ群と比較してゴリムマブ＋ＭＴＸ群で、ＨＡＱ－ＤＩの臨床的に関連した改善率（０．２５以上）に有意差が認められた。ゴリムマブ＋ＭＴＸを投与された被験者は、プラセボ＋ＭＴＸを投与した被験者（１３．２％、ｐ＜０．００１）と比較して、第２４週目に有意に高いＡＣＲ５０応答率（３４．９％）を示した。

【０４０２】

小さい母集団サイズ（すなわち、１５人未満の被験者）のサブグループを除いて、人口統計学、ベースライン臨床特性、及びＲＡに対する薬剤への以前の曝露のサブグループ内で一貫した治療利益が観察された。

【０４０３】

３６項目のショートフォーム健康調査（ＳＦ－３６）の精神的及び身体的要素のサマリースコア並びにＳＦ－３６フォームの８つのスケール全ての統計的に有意に高い改善が、第１２週目のプラセボ＋ＭＴＸ治療に対して、ゴリムマブ＋ＭＴＸ治療で観察された（全ての比較でｐ＜０．００１）。これらの改善は第２４週目まで維持された。

【０４０４】

ＣＮＴＯ１４８ＡＲＴ３００１では第１６週目（早期離脱前のプラセボ対照期間）までプラセボ群の被験者の４３．７％及びゴリムマブ群の４７．３％がＡＥを有し、最も高いＡＥの発生率は、感染症及び寄生虫症の器官別大分類（ＳＯＣ）におけるものであり、それぞれプラセボ群及びゴリムマブ群で２０．８％及び２４．３％であり、上気道感染症（ＵＲＴＩ）が最も頻繁に報告されたＡＥであった（それぞれプラセボ群及びゴリムマブ群で５．６％及び５．１％）。第１１２週目まで、ゴリムマブ治療被験者の７９．１％がＡＥを有した。最も高いＡＥの発生率は、感染症及び寄生虫症ＳＯＣであり（５０．５％）、ＵＲＴＩが最も頻繁に報告されたＡＥであった（１１．５％）。

【０４０５】

ＣＮＴＯ１４８ＡＲＴ３００１の第１６週目まで、プラセボ群の被験者の１．０％及びゴリムマブ群の被験者の３．８％がＳＡＥを有した。各ＳＯＣ内のＳＡＥの発生率は１．０％未満であり、複数の被験者でＳＡＥは発生しなかった。第１１２週目まで、ゴリムマブ治療被験者の１８．２％がＳＡＥを有した。最も高いＳＡＥの発生率は、感染症及び寄生虫症ＳＯＣ（５．５％）及び筋骨格系及び結合組織障害ＳＯＣ（３．４％）で生じ、最も頻繁に報告されたＳＡＥはＲＡ（２．１％）であった。

【０４０６】

第２４週目までに、ＣＮＴＯ１４８ＡＲＴ３００１試験で患者１人が死亡した。この被験者は、プラセボ＋ＭＴＸによる治療に対して無作為化され、ゴリムマブの投与を受けず、推定される脳血管発作（脳卒中）により死亡した。第１１２週目までに、更に５人の被験者がＣＮＴＯ１４８ＡＲＴ３００１試験で死亡した。プラセボ＋ＭＴＸによる治療に対して無作為化された２人の被験者が、いずれもゴリムマブ２ｍｇ／ｋｇ＋ＭＴＸに切り替えた後に死亡した。死亡原因は突然死であり（ｎ＝１）、重度の脱水、クロストリジウム・ディフィシル（Clostridium difficile）大腸炎、及び心房細動（ｎ＝１）の合併症であった。２ｍｇ／ｋｇのゴリムマブ＋ＭＴＸによる治療に対して無作為化された３人の被験者が試験中に死亡した。報告された死亡原因は、急性腹部症候群（後に腹膜結核［ＴＢ］、ｎ＝１と診断）、推定心筋梗塞（ＭＩ、ｎ＝１）、及びアシネトバクター・バウマニ（Acinetobacter baumannii）による化膿性肺膿瘍に続発する敗血症性ショック（ｎ＝１）であった。

【０４０７】

試験ＣＮＴＯ１４８ＡＲＴ３００１の第１６週目までに悪性腫瘍は報告されなかった。試験薬剤の投与前にプラセボ＋ＭＴＸ群で治療以外の原因による肺腺癌の１症例が報告された。プラセボ対照期間（第２４週目）を通じてゴリムマブ群で１例の悪性腫瘍（乳癌）が報告された。第１１２週目までに、基底細胞癌、慢性リンパ性白血病の家族歴を有する被験者における慢性リンパ性白血病、子宮頸部上皮内癌、ボーエン病、及び基底細胞癌を含む５例の更なる悪性腫瘍が報告された。第１１２週目までリンパ腫の症例は報告されなかった。

【０４０８】

ＣＮＴＯ１４８ＡＲＴ３００１の第１６週目までに、ゴリムマブ群の被験者の０．８％が、虫垂炎、菌血症、及び間質肺疾患（の合併症）を含む重篤な感染症を有した。プラセボ群に重篤な感染を有した被験者はいなかった。第１１２週目までに、ゴリムマブ治療被験者の６．２％が重篤な感染症を有した。複数の被験者で生じた重篤な感染症として、肺炎（ｎ＝５）、ＵＴＩ（ｎ＝４）、及び丹毒（ｎ＝２）があった。

【０４０９】

ＣＮＴＯ１４８ＡＲＴ３００１における第１６週目まで、プラセボ群の被験者の０．５％及びゴリムマブ群における被験者の２．５％が注入反応を有した。第１１２週目まで、ゴリムマブ治療被験者の３．９％が注入反応を有し、注入の０．４％で注入反応の合併症がみられた。全てのプラセボ注入は、真のマッチングさせたプラセボではなく、０．９％の通常の生理食塩水のみで構成されたものである点に留意されたい。試験薬剤の中断を必要とする重篤な注入反応は認められなかった。試験薬との関連のないアナフィラキシーの例があった。

【０４１０】

４１．５６μｇ／ｍＬの血清ゴリムマブピーク濃度中央値（すなわち、注入後ゴリムマブ濃度）が、第０週目、第４週目、その後のｑ８ｗ（±１週間）投与の２ｍｇ／ｋｇゴリムマブのＩＶ投与後の第４週目に観察された。このピークは、４週間毎（ｑ４ｗ）の５０ｍｇのＳＣゴリムマブ投与について報告されたものよりも高い。ＭＴＸと共に２ｍｇ／ｋｇのＩＶゴリムマブをｑ８ｗで投与した被験者の血清ゴリムマブトラフ濃度中央値は、第１２週目で０．２８μｇ／ｍＬ、第２０週目で０．２２μｇ／ｍＬであった。これらのレベルは、ＳＣゴリムマブ５０ｍｇで報告されたものと同様である。ゴリムマブへの全体的な曝露量は、同様の曝露期間にわたるＳＣゴリムマブ５０ｍｇの曝露量の約３倍である。

【０４１１】

ＩＶゴリムマブプログラムからのデータは、プラセボを投与した被験者と比較して、ゴリムマブで治療した被験者においてより低い放射線学的進行を示した。ゴリムマブ＋ＭＴＸ治療群とプラセボ＋ＭＴＸとの間で第２４週目に合計ファン・デル・ハイデ改変シャープ（ｖｄＨ－Ｓ）スコアのベースラインからの変化に有意な差が認められた（プラセボ＋ＭＴＸ：１．０９±３．１９４、ゴリムマブ２ｍｇ／ｋｇ＋ＭＴＸ：０．０３±１．８９９［Ｐ＜０．００１］）。ＩＶゴリムマブに有利な有意差はまた、びらん及び関節裂隙狭

小化スコアのベースラインからの変化においても観察された。最小の検出可能な変化に基づく放射線学的進行を有する被験者の割合は、合計ｖｄＨ－Ｓスコア（ｐ＜０．００１）並びにびらん（ｐ＝０．００１）及び関節裂隙狭小化測定値（ｐ＝０．０１）の両方についてプラセボ＋ＭＴＸと比較した場合にゴリムマブ＋ＭＴＸで治療した被験者で有意に低かった。

【０４１２】

１．１．２．２．　若年性特発性関節炎における皮下ゴリムマブ

ＣＮＴＯ１４８ＪＩＡ３００１は、ＭＴＸによる現在の治療にもかかわらず活動性ｐＪＩＡを有する小児被験者における４週間毎（ｑ４ｗ）に投与したＢＳＡベースの３０ｍｇ／ｍ^2（最大５０ｍｇ／用量まで）のＳＣゴリムマブの無作為化治療中止二重盲検プラセボ対照並行群多施設試験であった。試験対象母集団は、ＭＴＸを投与中の、年齢２歳～１８歳未満、少なくとも６ヶ月のｐＪＩＡ歴を有し、５つ以上の関節に活動性関節炎を有するｐＪＩＡを有する被験者を含む。全ての被験者に、第０週目～第１６週目までの試験の能動的治療部分においてＳＣゴリムマブを投与した。第１６週目にＪＩＡ　ＡＣＲ３０レスポンダーを無作為化して、プラセボ又はゴリムマブを３２週間投与した。この３２週間の期間中にフレアを経験した、プラセボに対して無作為化した被験者でゴリムマブ療法を再開した。プラセボ対照期間は第４８週目までとし、第４８週目～第２４８週目まで長期延長を計画した。

【０４１３】

約１７０人の被験者を計画し、１７３人の被験者を試験に組み入れた。１７３人の被験者の全てを、第４８週目の有効性及び安全性分析に含めた。１７３人の被験者のうち１９人は、１６週目に試験薬剤を中止し（以下に起因：有効性の欠如［ｎ＝１４］；ＡＥ［ｎ＝４］；同意の撤回［ｎ＝１］）、１５４人の被験者は、無作為化治療中止に入った（７６人がプラセボ及び７８人がゴリムマブ継続）。

【０４１４】

組み入れられた１７３人の被験者のベースライン疾患特性は、ＣＮＴＯ１４８ＪＩＡ３００１における数値的に低いＣＲＰ／ＥＳＲレベルの平均及び中央値を除いて、ｐＪＩＡにおける抗ＴＮＦα剤の他の臨床試験と同等の中等度～重度のＪＩＡを有する集団から構成された。

【０４１５】

第１６週目にＪＩＡ　ＡＣＲ３０レスポンダーであった被験者の割合は、８７．３％であった。更に、第１６週目のＪＩＡ　ＡＣＲ５０、ＪＩＡ　ＡＣＲ７０、及びＪＩＡ　ＡＣＲ９０レスポンダーの割合は、それぞれ７９．２％、６５．９％、及び３６．４％であった。

【０４１６】

この試験は、第１６週目でＪＩＡ　ＡＣＲ３０レスポンダーであり、かつ第１６週目～第４８週目の間に疾患のフレアを経験しなかった被験者の割合が、第１６週目～第４８週目の間にプラセボの投与に対して無作為化された被験者と比較して、第１６週目～第４８週目の間に継続したゴリムマブ治療に対して無作為化された被験者で有意に異ならなかったため（５２．６％に対して５９％、ｐ＝０．４１）、一次及び主要な二次評価項目を満たさなかった。全ての感度分析及び主要な二次評価項目は、治療群間で統計的に有意な差がないことを示した。治験依頼者は、予め指定された有効性評価項目が満たされなかったため、試験の長期延長を早期に中止した。

【０４１７】

０．１～１．０ｍｇ／ｄＬの範囲の第０週目のＣＲＰレベルに基づいてフレア率を評価した事後解析によれば、一般に、より高いベースラインＣＲＰレベルを有する被験者間では、継続したゴリムマブ療法を受けた被験者で、第１６週目にプラセボに対して無作為化された被験者よりもフレアエピソードが有意に少なかったことが示された。

【０４１８】

第４８週目までの観察されたデータに基づいてＪＩＡ　ＡＣＲ応答率を分析したところ

（第０週目をベースラインとして使用し、第４８週目までの各来院時の薬剤／プラセボ効果を比較した）、８９％～９５．９％のＪＩＡ　ＡＣＲ３０応答率及び５３．４％～５６．２％のＪＩＡ　ＡＣＲ９０応答速度が第４８週目に得られた。第４８週目までのコアセットの改善は、第１６週目にプラセボに対して無作為化された被験者と比較して、第１６週目にゴリムマブに無作為化された被験者において全ての来院で同様であり、いずれも疾患における臨床的に有意な改善を示し、例えば、医師による疾患活動性の全般的評価（Ｐｈｙｓｉｃｉａｎ Ｇｌｏｂａｌ Ａｓｓｅｓｓｍｅｎｔ ｏｆ Ｄｉｓｅａｓｅ Ａｃｔｉｖｉｔｙ）における９４．６％及び９５．１％の改善率中央値、及び活動性関節の数における９０．９％及び１００％の改善率中央値を示した。

【０４１９】

薬物動態（ＰＫ）及び免疫原性データを、ＣＮＴＯ１４８ＪＩＡ３００１の第４８週目まで収集した。ゴリムマブ３０ｍｇ／ｍ^{2}をＳＣで投与し、能動的治療の継続に対して無作為化されたｐＪＩＡを有する被験者では、第１２週目、第２４週目、及び第４８週目におけるトラフゴリムマブ濃度中央値はそれぞれ１．１６μｇ／ｍＬ、１．１２μｇ／ｍＬ、及び０．９５μｇ／ｍＬであり、定常状態レベルが第４８週目まで維持されたことを示した。更に、定常状態のゴリムマブのトラフ濃度は、ｐＪＩＡを有する被験者の異なる年齢群、体重四分位群、ボディマス指数四分位群、及び体重分類群にわたって同様であった。全体として、これらの濃度は、ＳＣゴリムマブで治療したＣ０５２４Ｔ０６の成人活動性ＲＡ集団（ＭＴＸにもかかわらず）で観察されたＰＫ曝露量と同様であり、したがって、３０ｍｇ／ｍ^{2}ＳＣ、ｑ４ｗのＢＳＡベースのゴリムマブレジメンが、ゴリムマブ５０ｍｇをＳＣ、ｑ４ｗで投与した成人ＲＡ集団でみられる濃度と同等の濃度を生じるのに十分であったという仮説を支持した。更に、ＰＫ及び有効性分析は、定常状態のゴリムマブのトラフ濃度四分位群の４つのサブグループにおけるｐＪＩＡを有する被験者で、同様の有効性（ＪＩＡ　ＡＣＲ３０応答及びフレア率により測定される）がみられたことを示した。更に、フレアを経験した被験者としなかった被験者との間で明らかなＰＫの差は認められなかった。

【０４２０】

免疫原性に関して、最近開発された薬剤耐性イムノアッセイ分析を使用したところ、被験者の４０．１％でゴリムマブに対する抗体が生じていた。新しい薬剤耐性イムノアッセイは、成人ゴリムマブＲＡ試験で以前に使用されているアッセイと比較してより感度が高く、検出可能な血清ゴリムマブレベルにもかかわらず、ゴリムマブに対する抗体を検出することができる。ゴリムマブ３０ｍｇ／ｍ^{2}ＳＣ＋ＭＴＸに無作為化され、これを継続した被験者のうち、３０．８％がゴリムマブに対する抗体を生じたが、抗体の力価は低くなる傾向があった。ＰＫ、有効性、及び安全性に対する免疫原性の効果を評価したところ、抗ゴリムマブ抗体の陽性状態は、力価レベルが１：１００より大きい場合に定常状態のゴリムマブのトラフ濃度を低下させることが見出された。しかしながら、有効性に対する抗体の効果は感度が低く、見かけの有効性の低下と相関させるには１：１０００超のより高い力価を必要とする。１：１０００より大きい力価の抗ゴリムマブ抗体を生じたのはＪＩＡを有する被験者のわずかに約５％であったため、免疫原性はＣＮＴＯ１４８ＪＩＡ３００１で一次評価項目が達成されなかったことに寄与する因子ではないものと判断された。更に、抗ゴリムマブ抗体の陽性状態は、注射部位反応の高い発生率とは関連していないとみられた。

【０４２１】

第４８週目までにＡＥを報告した被験者の割合は８７．９％であった。最も一般的に報告されているＡＥの器官別大分類は、感染症及び寄生虫症（６７．１％）であり、主に上気道感染及び鼻咽頭炎であった。プラセボに対して無作為化された被験者（８２．９％）及び継続したゴリムマブ治療に対して無作為化された被験者（７８．２％）で第１６週目～第４８週目に報告されたＡＥに顕著な差はなかった。しかしながら、試験の無作為化治療中止部分の全ての被験者を、再無作為化の前１６週間にわたってゴリムマブに曝露した点に留意されたい。重篤な有害事象が被験者の１３．３％で報告された。最も一般的に報

告されたＳＡＥは、ＪＩＡ（６．４％）の悪化であった。被験者の２．９％で重篤な感染（肺炎、尿路感染症、帯状疱疹、上気道感染症、及び腎盂腎炎）が報告され、第４８週目までに死亡、悪性腫瘍、又は脱髄事象はみられなかった。活動性ＴＢの報告はなく、重篤な日和見感染症も報告されなかった。第４８週目までに、異常なアラニンアミノトランスフェラーゼ（ＡＬＴ）測定値を有する（かつ肝機能検査［ＬＦＴ］に影響を及ぼし得る潜在性ＴＢに対する併用治療を行っていない）被験者の数は２９．５％（５１／１６７）であり、５１人の被験者のうち、３９人が３×ＵＬＮ未満の上昇を示した。

【０４２２】

２人の被験者でＡＬＴ上昇が８×ＵＬＮを上回ったが、いずれの被験者も肝毒性と一致するＨｙ’ｓ　Ｌａｗの基準を満たさなかった。被験者はＴＢ予防薬を投与されておらず、被験者のうちの１人は、既に異常なベースラインＡＬＴを有していた。ＬＦＴ異常を有する全ての被験者は、ＭＴＸ投与量を変えて保存的な管理を行ったが、１人の被験者は高いＬＦＴのために中止した。

【０４２３】

第４８週目までの注射部位反応を伴う注射の発生率は０．８％であり、ゴリムマブ処理を再開したプラセボに対して無作為化された被験者で血清病様反応のＳＡＥ報告が１例あった。

【０４２４】

ＣＮＴＯ１４８ＪＩＡ３００１試験はその評価項目を満たさなかったものの、ＪＩＡＡＣＲ応答速度を第４８週目までに観察されたデータとして分析した場合（第０週目をベースラインとして使用し、第４８週目までの各来院時の薬剤／プラセボ効果を比較）、試験は、ｐＪＩＡを有する小児においてＳＣゴリムマブにより得られるかもしれない有効性の可能性を示した。したがって、これは、ＭＴＸに対して不適切な応答を有するｐＪＩＡを有する被験者におけるＩＶゴリムマブの試験に対する支持を与えるものである。

【０４２５】

１．２．　試験の全体的な理論的根拠

静脈内ゴリムマブは、ＲＡを有する成人の治療において有効であることが実証されている（セクション１．１．２．１）。抗ＴＮＦα剤をはじめとする他の生物製剤が、ｐＪＩＡを有する被験者の治療に有効であることが示されている。ｐＪＩＡの治療には生物学的注入療法があるが、現在、この状態に対して承認されている静脈内投与による抗ＴＮＦα剤は存在しない。小児についてこの試験で提案され、ＲＡを有する成人で試験された、８週毎の３０分間の注入による方法は、薬物療法の更なる医師による精査が必要とされるか又は求められる患者の集団に適切であり得る。特に小児集団では、他の生物学的薬剤と比較して、薬物投与の回数の減少（すなわち、８週毎の維持スケジュールとする）は利便性を高め、苦痛を減らす（より少ない回数のＩＶ投与による）ことができる。更に、従来の抗ＴＮＦα剤が有効でない患者において異なる抗ＴＮＦα剤に切り替えることで、疾患の更なる症状緩和をもたらし得る。

【０４２６】

本試験の主目的は、ｐＪＩＡにおけるＩＶゴリムマブのＰＫを特徴付けるとともに、これらの被験者におけるＩＶゴリムマブの安全性及び有効性を評価することである。本試験は、若年性ＰｓＡを含むＪＩＡの複数のサブタイプを有する被験者、並びに以前に抗ＴＮＦα投与歴のある被験者（試験対象母集団の最大３０％）を含む。

【０４２７】

この試験は、ＭＴＸ治療、並びに非ステロイド性抗炎症剤、コルチコステロイド、及び／又は抗ＴＮＦα剤による以前の治療に不十分な応答を有するｐＪＩＡを有する被験者におけるＢＳＡベース（８０ｍｇ／ｍ^2；体重７０ｋｇの成人ＲＡ患者における２ｍｇ／ｋｇ用量と同等であると予想される）のＩＶゴリムマブに応じたＰＫデータを得るように設計されたものであり、その意図は、ＭＴＸ治療に対して不十分な応答を有する成人ＲＡ被験者における体重ベースの（２ｍｇ／ｋｇ）用量のＩＶゴリムマブでみられる応答との類似性を実証することである。ｐＪＩＡを有する被験者における８０ｍｇ／ｍ^{2}の用量は、

成人ＲＡ集団におけるＣＮＴＯ１４８ＡＲＴ３００１で試験した２ｍｇ／ｋｇの用量に基づいたものである。

【０４２８】

２．　目的及び仮説

２．１．　目的

主目的

この試験の主目的は、２ヶ月以上にわたるＭＴＸ療法にもかかわらず、５つ以上の関節が活動性の関節炎を有することによって発現されるｐＪＩＡを有する被験者（年齢２歳～１８歳未満）へのゴリムマブの静脈内投与後のＰＫを評価することである。

【０４２９】

副次的目的

この試験の副次的目的は、ＰＫ、有効性（徴候及び症状の緩和、身体機能、及び生活の質）、安全性（ＡＥ、ＳＡＥ、及び検査パラメータの評価）、並びに免疫原性（ゴリムマブに対する抗体）に関して、ｐＪＩＡを有する被験者におけるゴリムマブの静脈内投与（ＩＶ）を評価することである。

【０４３０】

２．２．　仮説

この試験では、正式な仮説の検証は計画されていない。

【０４３１】

３．　試験設計及び理論的根拠

３．１．　試験設計の概要

これは、ＭＴＸによる現在の治療にもかかわらず、活動性のｐＪＩＡを有する被験者におけるＩＶゴリムマブのＰＫ、安全性、及び有効性を評価するための第３相非盲検単群多施設共同試験である。試験対象母集団は、ＭＴＸを投与中の、年齢２歳～１８歳未満、少なくとも３ヶ月のｐＪＩＡ歴を有し、５つ以上の関節に活動性関節炎を有するｐＪＩＡを有する被験者を含む。約１２０人の被験者を第０週目に組み入れて第５２週目に約１００人の被験者が試験に残るようにする。組み入れパターンは、約１０％が２歳～６歳以下、約２０％が６歳～１２歳以下、及び約７０％が１２歳～１８歳未満の被験者集団を与えることが予想される。

【０４３２】

全ての被験者は、第０週目、第４週目、第２８週目までは８週間毎（ｑ８ｗ；±３日）、その後は第２４４週目までｑ８ｗ（±１週間）で、８０ｍｇ／ｍ^2（最大単回用量２４０ｍｇ）のゴリムマブをＩＶ注入として３０±１０分間かけて投与される。体表面積は、各来院で測定された被験者の身長及び体重に基づいて計算し、必要に応じてゴリムマブのＢＳＡベースの用量を調節して８０ｍｇ／ｍ^{2}の用量を維持する。被験者はまた、市販のＭＴＸも、セクション６．２に概説されるように試験組み入れの時点と同じＢＳＡベースの用量（ＢＳＡ＜１．６７ｍ^{2}の被験者には１週当たり１０～３０ｍｇ／ｍ^{2}のＭＴＸ、又はＢＳＡ≧１．６７ｍ^{2}の被験者には最小で１５ｍｇ／週）で第２８週目まで週１回投与される。

【０４３３】

被験者がＢＳＡに基づいて８０ｍｇ／ｍ^{2}のゴリムマブの用量に維持されるようにあらゆる努力が払われるべきであり、８０ｍｇ／ｍ^{2}を下回る量への減少若しくはそれを上回る量への増加、又は投与間隔の短縮（例えば８週間から６週間への）はいずれの来院においても許可されない。

【０４３４】

この試験は、全ての被験者に同じＢＳＡベース用量のＩＶゴリムマブを投与する非盲検試験である。安全性データは、試験の医療監視員によって常法により評価される。したがって、外部のデータ監視委員会は設置されない。

【０４３５】

図１８に、試験計画の概略を示す。

【０４３６】
３．１．１．　第０週目～第２８週目
第２８週目までは、４週間毎に治験実施施設で被験者を監視し、疾患活動性及び安全性を評価する。
【０４３７】
試験対象母集団の５０％超が、第２８週目に治療に対する適切な応答（米国リウマチ学会の小児３０％改善率（Ａｍｅｒｉｃａｎ　Ｃｏｌｌｅｇｅ　ｏｆ　Ｒｈｅｕｍａｔｏｌｏｇｙ　Ｐｅｄｉａｔｒｉｃ　３０％）［ＪＩＡ　ＡＣＲ　３０］の応答）を達成した場合、試験を中止する。
【０４３８】
全ての被験者が第２８週目の来院を完了した後、データベースをロックしてＰＫ、安全性、及び有効性を評価する。更なる安全性、有効性、及びＰＫデータベースのロックは、現在、第５２週目に計画されている。最後のデータベースのロックは、第２５２週目に行われる。
【０４３９】
バックグラウンド薬剤への変更が必要となる安全性の懸念（例えば、肝機能検査の上昇）がない限り、セクション８に示されるパラメータを超える用量（例えば、１０ｍｇ／日以下のプレドニゾン、又は０．２０ｍｇ／ｋｇ／日以下のいずれか低い方）の増加又は減少及び／又は第０週目～第２８週目の間の投与経路に関してバックグラウンド薬剤（すなわち、ＭＴＸ、他のＤＭＡＲＤ、コルチコステロイド、及びＮＳＡＩＤ）に変更を行うべきではない。
【０４４０】
被験者がフォローアップ不能となった場合、試験施設担当者により、被験者と連絡を取って中止／離脱の理由を決定するためのあらゆる可能な取り組みが行われる必要がある。フォローアップのために取られた措置は文書化される必要がある。
【０４４１】
被験者が試験を完了する前に離脱する場合、離脱の理由をＣＲＦ及び原文書に文書化する。中止した対象に割り当てられた試験薬は、別の対象に割り当てられなくてもよい。離脱する対象は交代されない。
【０４４２】
３．１．２．　第２８週目～第５２週目
第２８週目～第５２週目までは、８週間毎（±１週間）に注入を継続して行う。しかしながら、被験者を治験実施施設で能動的に監視し、疾患の活動及び安全性を第０週目～第２８週目における４週間毎ではなく８週間毎に治験実施施設で評価する。上述したように、第２８週目の後、被験者に、セクション８で概説されるように、ＭＴＸ、他のＤＭＡＲＤ、コルチコステロイド、及びＮＳＡＩＤを変更／追加することを許可する。
【０４４３】
３．１．３．　第５２週目～第２５２週目（長期延長）
第５２週目でこの試験を完了する被験者には、試験の長期延長（ＬＴＥ）相に入る選択肢を与える。長期延長に入らないことを選んだ被験者は、試験薬剤の最後の投与後に更に８週間の安全性フォローアップ来院を完了することを奨励される。
【０４４４】
長期延長の間、全ての被験者に第２４４週目までゴリムマブの投与をｑ８ｗ（±１週間）で継続する。２５２週間の全治験期間を完了し、薬剤が有益であることが証明されているが、薬剤がｐＪＩＡ兆候への適応用に市販されていない子供（又は患者が薬物の支払いをするための保険資格を有さない場合）には、ＩＶゴリムマブは、治験依頼者によって引き続き提供される。第５２週目～第２５２週目の間、疾患活動性を監視及び評価し、１６週間毎にＣＲＦに文書化し、注入及び安全測定は治験実施施設において８週間毎に行う。
【０４４５】
上述のように、第２８週目の後、被験者にＭＴＸ、他のＤＭＡＲＤ、コルチコステロイ

ド、及びＮＳＡＩＤ（セクション８に概説されるような、これらのクラスの薬剤のＢＳＡベースの用量の増加又は減少を含む）を変更／追加することを許可する（適切な場合）。

【０４４６】

第２４４週目の来院を完了した全ての被験者は、第２５２週目の安全性フォローアップ来院に参加することが予想される。第２４４週目の前の任意の時点で試験薬剤を中止する被験者も、試験薬剤の最後の投与の約８週間後に安全性フォローアップ来院のために戻ることが予想される。

【０４４７】

最後のデータベースのロックは、第２５２週目に行われる。

【０４４８】

３．１．４．　試験終了の定義

試験の終了は、長期延長の最後の被験者の最後のフォローアップ評価として定義される。

【０４４９】

３．２．　試験設計の理論的根拠

３．２．１．　盲検、対照、試験相／期間、治療群

これは、ｐＪＩＡを有する被験者におけるＩＶゴリムマブのＰＫを評価するための単群非盲検試験であり、全ての被験者に第５２週目まで同じＢＳＡベースの用量のＩＶゴリムマブを投与する。第５２週目でこの試験を完了する被験者には、第２５２週目まで試験の長期延長相に入る選択肢を与える。

【０４５０】

３．２．２．　用量の選択

成人用の薬剤用量と異なり、小児用の薬剤用量（非経口）は、子供の成熟する臓器系において変化が生じることから、異なる年齢の子供で観察されるＰＫの変動を管理するために、一般的に体重ベース（ｍｇ／ｋｇ）又はＢＳＡベース（ｍｇ／ｍ^2）の用量として個々に計算される[10、22]。他の承認された抗ＴＮＦα剤（例えば、アダリムマブ及びエタネルセプト）に対する体重ベース又はＢＳＡベースの用量の正規化による成人から小児被験者への用量の外挿の効果的な結果は、リウマチ疾患における抗ＴＮＦα剤に対する臨床応答は成人と子供とで似ているという仮定を支持するものである。すなわち、成人と子供の間で固有のＰＫ差が考慮された後では、成人及び子供の両方で同様の薬物曝露により同様の薬物応答が予想される。

【０４５１】

２４週間にわたる、ＲＡを有する成人における第３相ＩＶ試験（ＣＮＴＯ１４８ＡＲＴ３００１）からのデータは、第０週目、第４週目、及びその後のｑ８ｗ（±１週間）のゴリムマブ２ｍｇ／ｋｇが、ほとんどの成人のＲＡの治療用の最適用量レジメンであることを示している。小児の場合、ゴリムマブ８０ｍｇ／ｍ^2（２ｍｇ／ｋｇ／１．７３ｍ^2）は、体重７０ｋｇの成人被験者（１．７３ｍ^{2}のＢＳＡを有する）における２ｍｇ／ｋｇに概ね相当する。したがって、今回の試験（ＣＮＴＯ１４８ＪＩＡ３００３）では、ゴリムマブ８０ｍｇ／ｍ^{2}の用量が、ｐＪＩＡ集団におけるゴリムマブの安全性及び有効性を評価するために選択されている。

【０４５２】

３．２．３．　理論的根拠

ｐＪＩＡ集団におけるＩＶゴリムマブの非盲検試験設計は、成人ＲＡ及びｐＪＩＡにおける他の抗ＴＮＦα剤の試験からのデータ、成人ＲＡにおけるＩＶゴリムマブの治験依頼者の試験（ＣＮＴＯ１４８ＡＲＴ３００１）からのＰＫ及び有効性データ、ｐＪＩＡにおけるＳＣゴリムマブを用いた治験依頼者の経験（ＣＮＴＯ１４８ＪＩＡ３００１）、並びに小児リウマチ国際研究機関（Ｐｅｄｉａｔｒｉｃ　Ｒｈｅｕｍａｔｏｌｏｇｙ　Ｉｎｔｅｒｎａｔｉｏｎａｌ　Ｔｒｉａｌｓ　Ｏｒｇａｎｉｓａｔｉｏｎ、ＰＲＩＮＴＯ）及び小児リウマチ共同試験グループ（Ｔｈｅ　Ｐｅｄｉａｔｒｉｃ　Ｒｈｅｕｍａｔｏｌｏｇｙ　Ｃｏｌｌａｂｏｒａｔｉｖｅ　Ｓｔｕｄｙ　Ｇｒｏｕｐ、ＰＲＣＳＧ）からのフィー

ドバックに基づく。
【０４５３】
治験依頼者は、ＲＡを有する成人患者用のＩＶゴリムマブ（静脈内使用用のＳＩＭＰＯＮＩ　ＡＲＩＡ／ＳＩＭＰＯＮＩ）の承認の根拠となったピボタル試験であった、提案された非盲検ＣＮＴＯ１４８ＪＩＡ３００３試験から得られたＰＫデータを利用して、ＲＡにおけるＣＮＴＯ１４８ＡＲＴ３００１試験からの成人ＰＫデータに対して外挿する。更に、有効性（ＰＤ）データを収集して、対症的な曝露応答の評価を調べる。
【０４５４】
４．　対象集団
適格対象のためのスクリーニングは、試験薬の投与前６週間以内に実施される。
【０４５５】
この試験に対象を登録するための組み入れ基準及び除外基準は、以下の２つのサブセクションに記述される。以下の組み入れ又は除外基準について疑問がある場合、治験責任医師は、この試験に対象を登録する前に適切な治験依頼者担当者に相談する必要がある。
【０４５６】
対象選択の統計的考慮事項の考察については、セクション１１．２のサンプルサイズ決定を参照する。
【０４５７】
組み入れ及び除外基準からの逸脱は、試験の科学的完全性、規制の許容性、又は被験者の安全性を損なう可能性があるため、容認されない。したがって、プロトコルで指定される基準の遵守は不可欠である。
【０４５８】
約１２０人の被験者がこの試験に組み入れられる。試験治療を中止するか又は試験参加から離脱する組み入れ被験者は、新たな被験者と交代されない。
【０４５９】
除外につながる異常スクリーニング値の再試験は、適格性を再評価するために、スクリーニング期間中に計画されていない来院を用いて１回のみ許可される。これは、被験者の安全性に予想される影響がない場合にのみ考慮されるべきである。
【０４６０】
４．１．　組み入れ基準
各可能性のある対象は、この試験に登録されるには下記の基準全てを満たす必要がある。
１．被験者は、スクリーニング時及び第０週目に年齢２歳～１８歳未満、体重１５ｋｇ超である必要がある。
２．診断は、ＪＩＡ　ＩＬＡＲ診断基準に従って行われる必要があり、疾患の発症は、被験者の１６回目の誕生日の前であった必要がある。
３．以下のサブタイプのうちの１つの活動性ＪＩＡ：
ａ．スクリーニング前に３ヶ月以上のリウマチ因子陽性又は陰性のｐＪＩＡ、又は
ｂ．３ヶ月以上にわたる全身症状がないが、スクリーニング前に３ヶ月以上の多発性関節炎を有する全身性ＪＩＡ、又は
ｃ．スクリーニング前に３ヶ月以上の拡張オリゴ関節ＪＩＡ、又は
ｄ．スクリーニング前に３ヶ月以上の多関節型若年性乾癬性関節炎、又は、
ｅ．スクリーニング前に３ヶ月以上の付着部炎関連関節炎。
４．スクリーニング前の少なくとも２ヶ月間のＭＴＸに対する不応答又は不適切な応答。
５．被験者は、ＡＣＲ基準（すなわち、腫脹がある、又は腫脹がない場合には、運動痛又は圧痛を伴う可動域の制限を有する関節）により定義される活動性関節炎を有する５つ以上の関節をスクリーニング時及び第０週目に有する必要がある。
６．被験者は、試験対象母集団の約３０％を除いて、０．１ｍｇ／ｄＬ以上のスクリーニングＣＲＰを有する必要がある。

７．被験者は、スクリーニングの前２ヶ月以上にわたる経口、筋肉内、又は皮下ＭＴＸを現在使用中にもかかわらず、活動性ｐＪＩＡを有する必要がある。ＢＳＡ＜１．６７ｍ^{2}の被験者では、ＭＴＸ用量は、１週当たり１０～３０ｍｇ／ｍ^{2}である必要があり、スクリーニング前の４週間以上にわたって安定である必要がある。ＢＳＡ≧１．６７ｍ^{2}の被験者では、ＭＴＸ用量は、最低１５ｍｇ／週である必要があり、スクリーニング前の４週間以上にわたって安定である必要がある。週当たり１０ｍｇ／ｍ^{2}を超える用量（ＢＳＡが１．６７ｍ^{2}未満の被験者）若しくは１５ｍｇ／週以上（ＢＳＡが１．６７ｍ^{2}以上の被験者）で不耐容が確認された場合、又は確認された国若しくは施設の規制により、ＢＳＡが１．６７ｍ^{2}以上の被験者に週１５ｍｇ以上のＭＴＸを使用することが禁止されている場合には、被験者は、より低用量のＭＴＸで試験に参加することができる。

８．コルチコステロイドを使用する場合、試験薬剤の初回投与前の２週間以上にわたり１０ｍｇ／日以下のプレドニゾン等価物又は０．２０ｍｇ／ｋｇ／日（いずれか低い方）の安定用量である必要がある。コルチコステロイドを現在使用していない場合、その被験者に初回用量投与の少なくとも２週間前にコルチコステロイドが投与されていない必要がある。全身に発症したＪＩＡを有するが全身性症状のない被験者には、スクリーニング前の少なくとも３日間にわたって安定した用量のコルチコステロイドが投与される必要がある。

９．ＮＳＡＩＤを使用する場合、スクリーニング前の２週間以上にわたって安定した用量が投与される必要がある。ＮＳＡＩＤを現在使用していない場合、スクリーニング前の少なくとも２週間は服用されていない必要がある。

１０．被験者は、以下のＴＢスクリーニング基準に従って適格とみなされる。

ａ．スクリーニング前に、潜在性又は活動性ＴＢの病歴がないこと。活動性ＴＢの徴候がない潜在性ＴＢのための治療を現在受けている被験者、又は潜在性ＴＢの履歴を有し、かつ試験薬剤の初回投与前３年以内に潜在性ＴＢのための適切な治療を完了しているという文書を有する被験者については、例外が認められる。過去の抗結核治療の妥当性を検証し、適切な文書を提供することは、治験責任医師の責任である。

ｂ．医療履歴及び／又は身体検査の際に活動性ＴＢを示唆する徴候又は症状を有しないこと。

ｃ．活動性ＴＢを有する人と最近密接な接触がなかったこと、又はかかる接触があった場合は、ＴＢ専門医師に紹介して追加評価を受け、保証された場合は、試験薬剤の初回投与前に、潜在性ＴＢのための適切な治療を受けること。

ｄ．試験薬剤の初回投与前６週間以内に、ＱｕａｎｔｉＦＥＲＯＮ（登録商標）（ＴＢ　Ｇｏｌｄ検査）の陰性結果を有するか、又は活動性ＴＢが除外され、潜在性ＴＢに対する適切な治療（セクション９．１．２）が試験薬剤の初回投与前に開始されている、新たに特定されたＱｕａｎｔｉＦＥＲＯＮ（登録商標）（ＴＢ　Ｇｏｌｄ検査）の陽性結果を有する。ＱｕａｎｔｉＦＥＲＯＮ（登録商標）（ＴＢ　Ｇｏｌｄ検査）がその国で承認／登録されていないか、又はツベルクリン皮膚検査が現地の健康機関によって義務付けられている場合には、試験薬剤の初回投与前６週間以内に、ツベルクリン皮膚検査陰性、又は活動性ＴＢが除外され、潜在性ＴＢに対する適切な治療が試験薬剤の初回投与の前に開始されている、新たに特定されたツベルクリン皮膚検査陽性が更に必要とされる。

ｅ．不明確な結果は、セクション９．１．２に概説される指示に従って取り扱うべきである。活動性ＴＢが除外され、その胸部Ｘ線写真がＴＢ（活動性又は古い、非活動性ＴＢ）を示唆する異常を示しておらず、被験者が治験責任医師によって判定されるＴＢについての更なる危険因子を有しない場合、継続的に不明確なＱｕａｎｔｉＦＥＲＯＮ（登録商標）（ＴＢ　Ｇｏｌｄ検査）の結果を有する被験者は、潜在性ＴＢの治療を受けずに組み入れることができる。この判定は、治験依頼者のメディカルモニタに速やかに報告され、対象の原文書に記録され、治験責任医師によって頭文字で略式署名される必要がある。

ｆ．ＱｕａｎｔｉＦＥＲＯＮ（登録商標）（ＴＢ　Ｇｏｌｄ検査）及びツベルクリン皮膚検査は、潜在性ＴＢの履歴及び潜在性ＴＢのための進行中の治療、又は上記のように十分な治療を完了したという文書を有する被験者に対しては、スクリーニング時に必要と

されない。潜在性ＴＢのための更なる治療を開始するために、上記のように十分な治療を完了したことを実証した被験者は必須ではない。

ｇ．国又は現地のガイドラインが、抗ＴＮＦα療法の開始前の必要なスクリーニングプロセスとして胸部Ｘ線検査を推奨していない場合を除き、胸部Ｘ線写真（後前方向像）を試験薬剤の初回投与前３ヶ月以内に撮影し、有資格の放射線医が読影する必要があり、現時点での活動性ＴＢ又は過去の非活動性ＴＢのエビデンスがない必要がある。胸部Ｘ線写真（後前方向像と横方向像の両方）は、ＴＢについてのツベルクリン皮膚検査及び／又はＱｕａｎｔｉＦＥＲＯＮ（登録商標）（ＴＢ　Ｇｏｌｄ検査）のいずれかが陽性である全ての場合で、スクリーニングプロセスの一環として行われる必要がある。

１１．被験者は、スクリーニング時に行われる身体検査、病歴、バイタルサインに基づいて医学的に安定している必要がある。異常がある場合、それらは試験対象母集団における基礎疾患と一致する必要がある。

１２．女子は、以下のいずれかである必要がある。

●妊娠する可能性がないこと：初経前、永久的に不妊であること（例えば、卵管閉塞、子宮摘出、両側卵管切除）、若しくはそれら以外で、妊娠できないこと、

又は、

●妊娠する可能性があり、かつ性的に活動的である場合、臨床試験に参加している被験者に対する避妊方法の使用に関する地方条例に従う受胎調節の非常に効果的な方法：例えば、避妊の経口、注射、又は埋め込み式ホルモン方法の確立された使用を実施していること；子宮内避妊用具（ＩＵＤ）又は子宮内システム（ＩＵＳ）の配置；バリア方法：殺精子フォーム／ジェル／フィルム／クリーム／座薬を有するコンドーム又は殺精子フォーム／ジェル／フィルム／クリーム／座薬を有する閉塞キャップ（横隔膜又は頸部／ボールトキャップ）、男性パートナーの断種（精管切除したパートナーは、その対象の唯一のパートナーであるべきである）；真の禁欲（これが被験者の好みの通常の生活様式と一致している場合、治験責任医師の判断による／現地の規制に従う）。妊娠可能性のある女子は、試験中、及び試験薬の最後の用量を受けた後６ヶ月間、生殖補助の目的で卵（卵子、卵母細胞）を提供しないことに同意する必要がある。

注：試験開始後に妊娠の可能性が変わる場合（例えば、異性と性的関係を持たない女子が性的に活動的になる、初経前の女子が初経を経るなど）、女子は、上述のように、高度に有効な避妊方法を開始する必要がある。

１３．妊娠の可能性がある女子は、スクリーニング時の血清β－ヒト線毛性性腺刺激ホルモン［β－ｈＣＧ］検査が陰性である必要があり、ゴリムマブ注入が行われる各試験来院時の尿妊娠検査が陰性である必要がある。

１４．男子は禁欲を実施するか、又は、妊娠可能性のある女子と性的に活発であり、精管切除を受けていない場合は、試験中及び試験薬の最後の投薬後６ヶ月間は、例えば、殺精子剤フォーム／ジェル／フィルム／クリーム／座薬付きのコンドーム又はパートナーによる殺精子剤フォーム／ジェル／フィルム／クリーム／座薬付きの閉塞キャップ（隔壁又は頚管／ボールトキャップ）の使用といった、受胎調節の障壁法を使用することに同意する必要があり、また全ての男子は、精子の提供をしない必要がある。

１５．被験者のスクリーニング臨床検査は、以下の基準を満たす必要がある。

ａ．ヘモグロビン：≧８．０ｇ／ｄＬ（ＳＩ：≧８０ｇ／Ｌ；女子及び男子、２～１１歳）

≧８．５ｇ／ｄＬ（ＳＩ：≧８５ｇ／Ｌ；女子、１２～１８歳）

≧９．０ｇ／ｄＬ（ＳＩ：≧９０ｇ／Ｌ；男子、１２～１８歳）

ｂ．白血球（ＷＢＣ）≧３．０×10^3細胞／μＬ（ＳＩ：≧３．０×10^9細胞／Ｌ）

ｃ．好中球≧１．５×10^3細胞／μＬ（ＳＩ：≧１．５×10^9細胞／Ｌ）

ｄ．血小板≧１４０×10^3細胞／μＬ（ＳＩ：≧１４０×10^9細胞／Ｌ）

ｅ．血清トランスミナーゼ濃度は中央検査室の正常値上限の１．２倍を超えない：

－アスパラギン酸アミノトランスフェラーゼ（ＡＳＴ）

○≦６７ＩＵ／Ｌ（女子、２～４歳未満）
○≦５８ＩＵ／Ｌ（女子、４～７歳未満）
○≦４８ＩＵ／Ｌ（女子、７～１８歳）
○≦８３ＩＵ／Ｌ（男子、２～４歳未満）
○≦７１ＩＵ／Ｌ（男子、４～７歳未満）
○≦４８ＩＵ／Ｌ（男子、７～１８歳）
－アラニンアミノトランスフェラーゼ（ＡＬＴ）
○≦４１ＩＵ／Ｌ（女子、２～１８歳）
○≦４１ＩＵ／Ｌ（男子、２～１０歳未満）
○≦５２ＩＵ／Ｌ（男子、１０～１８歳）

ｆ．血清クレアチニンは以下を超えない。
－０．５ｍｇ／ｄＬ（ＳＩ：４４μｍｏｌ／Ｌ；２～５歳）
－０．７ｍｇ／ｄＬ（ＳＩ：６２μｍｏｌ／Ｌ；６～１０歳）
－１．０ｍｇ／ｄＬ（ＳＩ：８８μｍｏｌ／Ｌ；１１～１２歳）
－１．２ｍｇ／ｄＬ（ＳＩ：１０６μｍｏｌ／Ｌ；１３歳以上）

１６．被験者は、第０週目の前に免疫抑制被験者に対する現行の現地の免疫化ガイドラインと一致して、全ての免疫化を最新の状態にしている必要がある。

１７．被験者が１８歳になるまで、親又は保護者が各試験来院に被験者に付き添う必要がある。

１８．被験者及び被験者の親（該当する場合）は、試験来院スケジュールを遵守することができ、他のプロトコル要件を理解の上、遵守できる必要がある。

１９．対象は、このプロトコルに指定された禁止事項及び制限事項を守る意思があり、それが可能である必要がある。

２０．各被験者（又は被験者の法的代理人）は、被験者が試験の目的とそれに必要な手順を理解し、試験に参加する意思があることを示すＩＣＦに署名する必要がある。また、セクション１６．２．３．「インフォームドコンセント」に記載されているように、試験の性質を理解することができる子供（一般的には７歳以上及び現地の規制に従う）は、その同意も必要とされる。

【０４６１】

４．２．　除外基準

以下の基準のうちのいずれかを満たす任意の可能性のある対象は、この試験の参加から除外される。

【０４６２】

投与された併用薬物療法又は過去の薬物療法：

１．被験者が、最初の試験薬剤投与前の４週間以内に、ＤＭＡＲＤ及び／又は免疫抑制療法を開始している。

２．被験者が、最初の試験薬剤投与前の４週間の間に関節内、筋肉内又は静脈内コルチコステロイド（筋肉内コルチコトロピンを含む）による治療を受けている。

３．被験者が、最初の試験薬剤投与前の３ヶ月以内に、ウステキヌマブ及びＡＢＴ－８７４を含むがこれらに限定されない、ＩＬ－１２又はＩＬ－２３の低減を目的としたいずれかの治療薬による治療を受けている。

４．被験者が、最初の試験薬剤投与前の１２ヶ月の間にナタリズマブ、エファリズマブ、又はＢ細胞若しくはＴ細胞を枯渇させる治療薬（例えば、リツキシマブ、アレムツズマブ、又はビシリズマブ）による治療を受けているか、又はこれらの薬剤のいずれかを投与した後の標的リンパ球の持続的枯渇のエビデンスをスクリーニング時に有する。

５．被験者が、第１の試験薬剤投与前の３ヶ月以内にアルファセプトによる治療を受けている。

６．被験者が、最初の試験薬剤投与前の８週間以内にアバタセプトによる治療を受けている。

７．被験者が、最初の試験薬投与前の４週間以内にレフルノミドによる治療を受けてい

る（薬物排出処置を受けているかに関係なく）か、又は最初の試験薬投与前の４～１２週間にレフルノミドが投与され、薬物排出処置を受けていない。

８．被験者が、シクロホスファミド、ナイトロジェンマスタード、クロラムブシル、又は他のアルキル化剤を含む細胞傷害性剤による治療を受けている。

９．被験者が、最初の試験薬剤投与の３ヶ月前から最後の試験薬投与の３ヶ月後までに、生ウイルスワクチン又は生菌ワクチンの接種を受けているか、又は受けることが予想される。

１０．被験者が、スクリーニングの１２ヶ月以内にＢＣＧワクチン接種を受けているか、又は最後の試験薬投与後の１２ヶ月以内にＢＣＧワクチン接種を受ける予定がある。

１１．被験者が、最初の試験薬剤投与の１週間以内にＩＬ－１ｒａ（アナキンラ）の投与を受けている。

１２．被験者が、インフリキシマブ、エタネルセプト、アダリムマブ、又はセルトリズマブ・ペゴールを含むがこれらに限定されないＴＮＦαの減少を目的とする２種より多い治療薬による治療を以前に受けている。

１３．被験者が抗ＴＮＦα剤による治療を以前に受けている場合、抗ＴＮＦα剤の中断の理由が、その抗ＴＮＦα剤のクラスと一致する重度の又は重篤な有害事象ではあり得ない。

１４．被験者が、試験剤薬の最初の投与の６週間以内にアダリムマブ又はセルトリズマブ・ペゴールの投与を受けているか、又は４週間以内にエタネルセプトの投与を受けている。

１５．被験者が、試験薬剤の最初の投与の８週間以内にインフリキシマブ又はトシリズマブの投与を受けている。

１６．被験者が、ＩＶ又はＳＣゴリムマブ投与をこれまでに受けている。

１７．被験者が、試験薬剤の最初の投与の２週間以内に、トファシチニブを含むがこれらに限定されないヤーヌスキナーゼ（ＪＡＫ）阻害剤の投与を受けている。

１８．被験者が、最初の試験薬投与前の４ヶ月以内にカナキヌマブの投与を受けている。

１９．被験者が、肝硬変、肝線維症、ＡＬＴ及びＡＳＴの持続的上昇（６ヶ月以内の５回の検査のうちの３回よりも多くで上昇）、ＭＴＸ肺炎、重症粘膜潰瘍、難治性の吐き気、嘔吐／下痢、臨床的に有意な骨髄抑制のエビデンス、重度の頭痛、重度の骨痛、又は外傷性骨折を含むがこれらに限定されない、ＭＴＸに関連する現在の副作用、又はＭＴＸによる治療を除外する状態を有する。

２０．被験者が、計画された最初の試験薬投与前の３ヶ月又は５半減期（いずれか長い方）以内に治験薬（治験ワクチンを含む）の投与を受けているか若しくは侵襲性の治験医療デバイスを使用したか、又は治験に現在組み込まれている。

感染症、又は感染しやすい素質：

２１．被験者が、スクリーニングの前に、ヒストプラスマ症又はコクシジオイデス症を含む活発な肉芽腫性感染症の病歴を有する。潜在的ＴＢの病歴の適格性に関する情報は、組み入れ基準（セクション４．１）を参照されたい。

２２．被験者が、Ｂ型肝炎ウイルスについて陽性である。

２３．被験者が、Ｃ型肝炎ウイルス（ＨＣＶ）に対する抗体について血清反応陽性である。

２４．被験者が、ヒト免疫不全ウイルス（ＨＩＶ）による感染の既知の履歴を有する。

２５．被験者が、スクリーニング前の６か月以内に、非結核性抗酸菌症又は日和見感染症（例えば、サイトメガロウイルス、ニューモシスティス症、アスペルギロシス症）を有している。

２６．被験者が、感染した関節プロテーゼの病歴を有するか、又はそのプロテーゼが取り外されていない、若しくは交換されていなければ、関節プロテーゼの疑わしい感染に対する抗生物質の投与を受けている。

２７．被験者が、重篤な感染症（肝炎、肺炎、若しくは腎盂腎炎を含むが、これらに限

定されない）を有している若しくは有していたか、又は最初の試験薬剤投与前の２ヶ月間に感染のために入院したか若しくはＩＶ抗生物質の投与を受けている。

２８．被験者が、慢性腎感染症、慢性胸部感染症（例えば、気管支拡張症）、副鼻腔炎、再発性尿路感染症（例えば、再発性腎盂腎炎）、開放、排膿、若しくは感染した皮膚創傷、又は潰瘍が挙げられるがこれらに限定されない、慢性又は再発性の感染症の履歴があるか又は進行中である。

２９．被験者が、ＴＢを含む悪性疾患又は現在の活動性感染症の異常な示唆を示す、試験薬剤の初回投与前の３ヶ月以内の胸部Ｘ線写真を有する（適用可能な場合）。

悪性腫瘍、又は高い悪性腫瘍の可能性：

３０．被験者が、既知の悪性腫瘍又は悪性腫瘍の病歴を有する。

３１．被験者が、リンパ腫を含むリンパ増殖性疾患の病歴、又は異常な大きさ若しくは位置のリンパ節腫脹などのリンパ増殖性疾患を示唆する徴候、又はｐＪＩＡ若しくは全身症状を伴わずに全身に発症するＪＩＡと一致しない臨床的に有意な脾腫を有する。

合併する医学的状態又は過去の医療履歴：

３２．被験者が、重度の進行性又は制御不能な肝不全若しくは腎不全の病歴を有するか、又は顕著な心臓、血管、肺、胃腸、内分泌、神経学的、血液学的、精神的、又は代謝的な障害を有する。

３３．被験者が、ゴリムマブ又はその賦形剤に対する既知のアレルギー、過敏症、若しくは不耐性を有するか、又は被験者が、免疫グロブリンに対する既知のアレルギー、過敏症、若しくは不耐性を有する。

３４．被験者が、物質乱用（薬物又はアルコール）の問題を有しているか、又は有していた。

３５．被験者が、マクロファージ活性化症候群の病歴を有する。

３６．被験者が、全身性エリテマトーデス、又はライム病を含むがこれらに限定されない、ゴリムマブ療法による利益の評価を混乱させる可能性がある別の炎症性疾患を有する。

３７．被験者が、動けないか、ほとんど若しくは完全に寝たきりか、又は車椅子が必須であるか、又は年齢に応じたセルフケアの能力をほとんど若しくはまったく有してない。

３８．被験者が、多発性硬化症などの脱髄疾患の既知の病歴を有する。

３９．被験者が、うっ血性心不全の病歴、又は同時診断を有する。

【０４６３】

その他

４０．対象は、治験責任医師の意見によって、参加が対象の利益を最優先にしていない（例えば、健康状態を損なう）か、又はプロトコル指定の評価を妨げる、制限する、若しくは混乱させ得るような任意の状況を有する。

４１．被験者が、この試験に組み込まれている間、妊娠している若しくは母乳を与えている、又は試験薬の最後の投薬後６カ月以内に妊娠する計画をしている女子である。

４２．被験者が、この試験に組み込まれている間、又は試験薬の最後の投与の後６ヶ月以内に、父親となる計画をしている男子である。

４３．被験者が、低い忍容性又はアクセスが困難であるために、複数回の静脈穿刺を行うことができない、又は行う意思がない。

４４．対象が、治験責任者又は試験実施機関の被雇用者であり、その治験責任者又は試験実施機関の指示に基づいて提示試験又は他の試験に直接的に関与している者、並びにそのような被雇用者又は治験責任者の家族である。

４５．被験者が、スクリーニング前の３ヶ月以内に活動性のブドウ膜炎を有する。

４６．ＢＳＡ＞３．０ｍ^{2}の被験者。

【０４６４】

注記：治験責任医師は、全ての試験登録基準がスクリーニング時に満たされていることを確認するべきである。スクリーニング後であるが、第１の用量の試験薬が投与される前に、被験者の状態が変化（検査結果又は追加の医療記録の受領を含む）して、全ての適格

性基準を満たすことができなくなった場合、被験者は、試験への参加から除外されるべきである。セクション１７．４「原文書」は、組み入れ基準を満たすことを支援するための必要な文書を記載している。

【０４６５】

４．３．　禁止事項及び制限事項

可能性のある対象は、試験期間中に参加のために適格であるために、以下の禁止及び制限をいとわず順守することができる必要がある。

１．被験者は、スクリーニング前の３ヶ月、試験中、又は試験薬剤の最後の投与後の３ヶ月以内に、生ウイルスワクチン又は生菌ワクチンの接種を受けていない必要がある。

２．被験者は、スクリーニング前の１２ヶ月、試験中、又は試験薬剤の最後の投与後の１２ヶ月以内に、ＢＣＧワクチン接種を受けていない必要がある。

３．女子は、性的に活発で妊娠可能性がある場合は、試験中及び試験のＬＴＥ段階を含む最後の試験薬剤の投与後の６ヶ月間は、高度に有効な避妊方法を継続する必要がある。女子は、試験中及び試験のＬＴＥ段階を含む最後の試験薬剤の投与後の６ヶ月間は、生殖補助の目的で卵（卵子、卵母細胞）を提供しない必要がある。

４．男子は、妊娠可能性がある女子との性行為に活動的であり、精管切除を受けていない場合、試験中及び試験のＬＴＥ段階を含む最後の試験薬剤の投与後の６ヶ月間は、受胎調節の二重障壁法を使用する必要がある。男子は、試験中及び試験のＬＴＥ段階を含む最後の試験薬剤の投与後の６ヶ月間は精子を提供しない必要があり、妊娠又は子作りを計画しないことに同意する必要がある。

５．ｐＪＩＡの治療のためのコルチコステロイドの筋肉内投与は、この試験中は許可されない。ｐＪＩＡ以外の状態の治療のために気管支又は鼻吸入によって投与されるコルチコステロイドは、試験期間の全体を通じて必要に応じて投与されてもよい。更なる詳細については、セクション８を参照されたい。

６．被験者は、試験中、治験薬、他の免疫抑制剤（限定するものではないが、シクロホスファミドなど）、又はｐＪＩＡに対する他の生物製剤を服用しない必要がある。

【０４６６】

５．　治療割り付け及び盲検化

これは、非盲検試験である。全ての被験者は、ゴリムマブ８０ｍｇ／ｍ^{2}を、第０週目、第４週目、並びに第２８週目まではｑ８ｗ（±３日）、及び第２４４週目まではｑ８ｗ（±１週間）で投与される。

【０４６７】

これは非盲検試験であるため、盲検手順は適用可能ではない。

【０４６８】

６．　用量及び投与

６．１．　ゴリムマブ

本試験は１つの能動的治療群を有し、全ての被験者は８０ｍｇ／ｍ^2（最大単回用量２４０ｍｇ）のゴリムマブＩＶ注入を、第０週目、第４週目、並びに第２８週目まではｑ８ｗ（±３日）、及びその後、第２４４週目まではｑ８ｗ（±１週）で投与される。ゴリムマブ注入は、バイアル中のゴリムマブの５０ｍｇ／４ｍＬ液と、０．９％生理食塩水の１００ｍＬ注入バッグを使用して、滅菌条件下で薬剤師によって調製される。被験者は、８０ｍｇ／ｍ^{2}のゴリムマブＩＶ注入を３０±１０分かけて投与される。注入は、治験責任医師によって適切と見なされる場合、注入反応のエビデンスがあれば減速することができるが、注入速度の全ての変化は、ＣＲＦに記録される必要がある。体表面積を各来院時に計算し、ゴリムマブの用量を必要に応じて調節して用量を８０ｍｇ／ｍ^{2}に維持する。体表面積は、Ｍｏｓｔｅｌｌｅｒの式：ＢＳＡ（ｍ^2）＝（［身長（ｃｍ）ｘ体重（ｋｇ）］／３６００）$^{1/2}$を用いて計算される。更なる詳細については、治験実施施設ＩＰマニュアル（Site IP Manual）を参照されたい。

【０４６９】

６．２．　メトトレキサート

被験者は、市販のＭＴＸを、試験組み入れの時点と同じＢＳＡベースの用量（ＢＳＡ＜１．６７ｍ^{2}の被験者には１週当たり１０～３０ｍｇ／ｍ^2、又はＢＳＡ≧１．６７ｍ^{2}の被験者には少なくとも１５ｍｇ／週）で第２８週目まで投与される。絶対用量は、第２８週目までベースラインから安定した状態に維持される必要がある。

【０４７０】

ＭＴＸによる不耐性又はＡＥが発生しない限り、第２８週目の来院まで被験者が同じＭＴＸの用量及び投与経路を維持するようにあらゆる努力を払う必要がある（セクション８）。ＭＴＸ毒性が生じた場合にＭＴＸの用量を調整するガイドラインは、治験センターファイル（Trial Center File）に含まれる。

【０４７１】

被験者には、週１回、総用量５ｍｇ以上の市販の葉酸又は週１回のＭＴＸ投与の翌日にフォリン酸（ＭＴＸの用量の半分）も投与する。１２歳未満の小児では、葉酸又はフォリン酸の投与は、医師の判断による。

【０４７２】

第２８週目の後、ＭＴＸ投与の変更が許可される（例えば、用量の増加又は減少、投与経路の変更、又は中止）。

【０４７３】

７．　治療コンプライアンス

試験施設担当者は、割り付けられた治療が確実に遵守されるようにする。治験実施施設の担当者は、各来院時に試験注入を投与し、投与された注入量を記録する。

【０４７４】

全ての被験者は、治験依頼者によって指定された施設監視担当者によって監視される。これらのモニタリング来院の間、全ての手順はプロトコルを遵守しているかについて評価される。計画された時間帯（ｗｉｎｄｏｗ）の外で投与された治療、並びに行われなかった来院をＣＲＦに記録する。被験者のチャートを見直し、ＣＲＦに以前入力されたデータと比較して正確性を担保する。

【０４７５】

８．　試験前治療及び併用治療

試験薬剤の最初の用量の前に投与される試験前ＪＩＡ薬はスクリーニング時に記録される必要がある。全ての併用療法は、試験薬の最初の用量の投与から開始して試験全体を通じて記録される必要がある。

【０４７６】

試験薬とは異なるすべての療法（ワクチン、ビタミン、ハーブ栄養補助食品を含む処方薬又は市販薬、電気刺激及び鍼治療などの非薬理療法）は、ＣＲＦに記録される必要がある。記録される情報には、薬物の種類の説明、治療期間、投与レジメン、投与経路、及びその適応が含まれる。有効な既存の療法の改変は、被験者が試験に入る明示的な目的で行われるべきではない。

【０４７７】

コルチコステロイド又はＮＳＡＩＤＳを使用する場合、被験者には、組み入れ基準８及び９（セクション４．１）に従った試験組み入れの前に、これらの薬剤の安定な用量が投与されている必要がある。被験者は、除外基準１２（セクション４．２）に従った試験組み入れの前に、ＴＮＦαを減少させることを目的とした２つ以下の治療薬で以前に治療されていてもよい。被験者は、除外基準１～２０（セクション４．２）に概説されるような禁止された治療薬を開始していなくともよく、これにより治療されていなくてもよい。

【０４７８】

被験者には、スクリーニング前の２ヶ月以上にわたってＭＴＸが投与されている必要がある。ＢＳＡ＜１．６７ｍ^{2}の被験者では、ＭＴＸ用量は、１週当たり１０～３０ｍｇ／ｍ^{2}である必要があり、スクリーニング前の４週間以上にわたって安定である必要がある。ＢＳＡ≧１．６７ｍ^{2}の被験者では、ＭＴＸ用量は、最低１５ｍｇ／週のＭＴＸである必要があり、スクリーニング前の４週間以上にわたって安定である必要がある。この規則

の例外については、組み入れ基準７を参照されたい。試験組み入れの時点でコルチコステロイドを投与している被験者（ｓＪＩＡを有する者を除く）は、スクリーニング前の２週間以上にわたって安定用量が投与されている必要があり、その用量は、１０ｍｇ／日以下のプレドニゾン又はプレドニゾン等価物又は０．２０ｍｇ／ｋｇ／日（いずれか低い方）である必要がある。全身に発症したＪＩＡを有するが３ヶ月以上の全身性症状のない被験者には、スクリーニング前の３日間にわたって安定したコルチコステロイドが投与される必要があり、全身症状を呈していない必要がある。ＮＳＡＩＤ療法を受けている場合、用量は、スクリーニング前の２週間以上にわたって安定している必要がある。

【０４７９】

バックグラウンド薬剤への変更が必要となる安全性の懸念（例えば、肝機能検査の上昇）がない限り、用量（例えば、１０ｍｇ／日以下のプレドニゾン、又は０．２０ｍｇ／ｋｇ／日以下のいずれか低い方）の増加又は減少及び／又は第０週目～第２８週目の間の投与経路に関してバックグラウンド薬剤（すなわち、ＭＴＸ、他のＤＭＡＲＤ、コルチコステロイド、及びＮＳＡＩＤ）に変更を行わない必要がある。第２８週目の後、被験者は、投与量の増加若しくは減少、投与経路の変化、又はこれらのクラスの薬剤の中止を含む、ＭＴＸ、他のＤＭＡＲＤ、コルチコステロイド、及びＮＳＡＩＤの変更／追加を許可される。

【０４８０】

ｐＪＩＡの治療のためのコルチコステロイドの筋肉内投与は、この試験中は許可されない。ｐＪＩＡ以外の状態の治療のために気管支又は鼻吸入によって投与されるコルチコステロイドは、試験期間の全体を通じて必要に応じて投与されてもよい。

【０４８１】

ＩＶコルチコステロイドの使用を避けるためにあらゆる努力を払う必要がある。外科手術前の予防的療法（ストレス用量コルチコステロイド）又は限定的感染症、喘息の憎悪、若しくはｐＪＩＡ以外の任意の状態の治療などの理由から、短期間（２週間以下）の経口又はＩＶコルチコステロイドを必要とする被験者の場合、コルチコステロイド療法は、治療に当たる医師の意見に基づき、適切な代替治療がない状況に限定されるべきであり、ＣＲＦに文書化される必要がある。

【０４８２】

被験者は、第５２週目までの試験中に、臨床的に必要とされる場合、コルチコステロイドの関節内注射を受けてもよい。しかしながら、関節内注射の回数は、任意の２４週の期間で２回に制限されるべきである。すなわち、被験者が２回の関節内注射を受け、２４週間よりも長い時間が経過したならば、被験者は、別の２４週の期間の間に最大２回の更なる関節内注射を受けてもよい。

【０４８３】

第５２週目の後では、注射される関節の数は、２４週間当たり２回の注射に限定されない。治験依頼者には、禁止療法が投与されるいかなる事例も事前に（又はその後できるだけ早く）通知される必要がある（セクション４．３）。

【０４８４】

９．　試験評価

９．１．　試験の手順

９．１．１．　概論

「時間及びイベントスケジュール」に、この試験に適用可能な有効性、ＰＫ、免疫原性、及び安全性の測定の頻度及びタイミングを要約する（表６、表７、及び表８）。全ての計画された試験来院は、第２８週目までは予定された来院の前後３日以内、及び第２８週目～第２４４週目までは前後１週間以内に行われる必要がある。推奨される許容可能な時間帯が順守できない場合、治験依頼者には、訪問を予定に入れる前に連絡する必要がある。

【０４８５】

小児健康調査質問票（ＣＨＡＱ）は、その来院に対して任意の試験、手順、又は他の相

談前に実施されて、被験者の認識に影響を及ぼすことを防止するべきである。更なる詳細については、ＰＲＯユーザマニュアルを参照する。

【０４８６】

全ての計画されていなかった来院において、治験責任医師は以下の評価を行う。

●システムレビュー
●バイタルサイン
●ＴＢ質問票
●有害事象
●併用薬レビュー
●安全性実験室評価

【０４８７】

治験責任医師によって必要と判断されるか、又は地方規制によって必要とされる場合、追加の血清又は尿妊娠検査が実施されて、被験者の試験への参加中の任意の時点で妊娠がないことを確証することができる。

【０４８８】

試験のために各被験者から採取される全血量は、約１４９．４ｍＬである（表１）。反復又は予定されていない試料は、安全上の理由で、又は試料に関する技術的問題のために採取され得る。

【０４８９】

【表１１】

表１：第２５２週目までに各被験者から採取されるおよその血液の量

サンプルの種類	試料当たりのおよその容量（mL）	対象当たりのサンプル数	血液のおよその総容量（mL）[a、b]
安全性（スクリーニング及び治療後評価を含む）			
－血液学	１．２	１７	２０．４
－血清化学	１．１	１７	１８．７
血清学（B型肝炎及びC型肝炎）	２．０	１	２．０
血清β－hCG妊娠検査	１．１	１	１．１
－QuantiFERON（登録商標）（TB Gold検査）	３．０	６	１８．０
－リウマチ因子	１．１	１	１．１
－抗dsDNA抗体	１．１	１１	１２．１
－ANA抗体	１．１	１１	１２．１
有効性（CRP）	１．１	２４	２６．４
PK及び免疫原性（ゴリムマブに対する抗体）	２．５	１５	３７．５
およその合計			１４９．４

a．試料当たりの血液の量を乗じた試料の数として計算される。
b．安全上の理由で、又は試料に関する技術的問題のために、反復試料又は計画されていなかった試料を採取してもよい。
注：血液試料採取に留置静脈内カニューレを使用してもよい。

略語：ANA＝抗核抗体、β－hCG＝β－ヒト線毛性性腺刺激ホルモン、CRP＝C反応性タンパク質、dsDNA＝二本鎖デオキシリボ核酸、PK＝薬物動態、TB＝結核。

【０４９０】

９．１．２．　スクリーニング段階

書面によるインフォームドコンセント／同意が得られた後、かつ第０週目の前６週間の期間内に、被験者の適格性を確立する全てのスクリーニング評価が行われる。組み入れ基準の全てを満たし、かつ除外基準のいずれも満たさない対象が、試験に登録される。各被験者について、試験の「時間及びイベントスケジュール」を遵守するためにあらゆる努力を払う必要がある（表）。

【０４９１】

妊娠する可能性のある女子は、スクリーニング時に陰性の血清β－ｈＣＧ妊娠検査、及

び試験薬剤の各投与の前に陰性の尿妊娠検査を有する必要がある。性的に活発な被験者は、高度に効果的な避妊方法を使用し、試験期間中にわたって、及び試験薬剤の最後の投与後６ヶ月間にわたって避妊法の使用を継続することに同意する必要がある。各対象によって使用される避妊法は、文書化される必要がある。

【０４９２】

被験者は、スクリーニング時にＴＢの検査を受ける必要があり、被験者の病歴評価は、ＴＢの履歴、又は活動性ＴＢを有する個人への既知の個人的曝露に関する特定の質問を含んでいる必要がある。被験者は、胸部Ｘ線検査結果及びツベルクリン皮膚又は他のＴＢ試験に対する応答を含む、ＴＢの過去の試験に関して質問されるべきである（セクション４．１）。

【０４９３】

ＱｕａｎｔｉＦＥＲＯＮ（登録商標）（ＴＢ　Ｇｏｌｄ検査）の陰性結果（及びＱｕａｎｔｉＦＥＲＯＮ（登録商標）（ＴＢ　Ｇｏｌｄ検査）が承認／登録されていないか、又はツベルクリン皮膚試験が現地の保健機関によって義務付けられている国においては、ツベルクリン皮膚試験の陰性結果）を有する被験者は、スクリーニング手順を継続するのに適格である。新たに特定されたＱｕａｎｔｉＦＥＲＯＮ（登録商標）－ＴＢ　Ｇｏｌｄ（及び／又はツベルクリン皮膚検査）の結果の陽性結果を有する被験者は、活動性ＴＢを除外するための評価を受け、潜在性ＴＢに対する適切な治療を開始する必要がある。潜在性ＴＢのための適切な治療は、免疫不全患者に対する現地の国のガイドラインに従って定義される。免疫不全患者に対する現地の国のガイドラインが存在しない場合、米国ガイドラインに従う必要があり、又は、被験者は試験から除外される。

【０４９４】

最初のＱｕａｎｔｉＦＥＲＯＮ（登録商標）（ＴＢ　Ｇｏｌｄ検査）結果が不明確である被験者は、試験を繰り返す必要がある。２回目のＱｕａｎｔｉＦＥＲＯＮ（登録商標）（ＴＢ　Ｇｏｌｄ検査）の結果も不明確である場合、被験者は、活動性ＴＢが除外され、胸部Ｘ線写真がＴＢ（活動性又は古い、非活動性ＴＢ）を示唆する異常を示さず、被験者が治験責任医師によって判断されるＴＢの更なるリスク因子を有しない場合、潜在性ＴＢの治療なしで組み入れることができる。この判定は、治験依頼者のメディカルモニタに速やかに報告され、対象の原文書に記録され、治験責任医師によって頭文字で略式署名される必要がある。

【０４９５】

除外につながる異常スクリーニング値の再試験は、適格性を再評価するために、スクリーニング期間中に計画されていない来院を用いて１回のみ許可される。これは、被験者の安全性に予想される影響がない場合にのみ考慮されるべきである。

【０４９６】

９．１．３．　治療段階：第０週目～第２８週目

第０週目に開始して、適格被験者は、第０週目、第４週目、及び第２８週目まではｑ８ｗ（±３日）で８０ｍｇ／ｍ^{2}のゴリムマブをＩＶ注入として３０±１０分間かけて投与される（セクション６．１）。被験者は更に、市販のＭＴＸを試験組み入れの時点と同じＢＳＡベースの用量で少なくとも第２８週目まで週１回、及び市販の葉酸５ｍｇ以上を週１回またはフォリン酸（ＭＴＸの用量の半分）をＭＴＸ投与の翌日に投与される（セクション６．２）。１２歳未満の小児では、葉酸又はフォリン酸の投与は、医師の判断による。

【０４９７】

被験者は、「時間及びイベントスケジュール」に従って安全性、有効性、ＰＫ、及び免疫原性の評価が行われる（表）。母集団ＰＫの血清ゴリムマブ濃度の１つの追加の試料を、第０週目、第４週目、及び第８週目の来院時以外の第０週目～第８週目の任意の時点で全ての被験者から採取する。この試料は、試験薬剤投与の少なくとも２４時間前又は後に採取される必要があり、定期計画された来院（例えば、第８週目）で採取しないこととする。

【０４９８】
９．１．４．　治療段階：第２８週目後～第５２週目
第２８週目の後、被験者は、第５２週目までｑ８ｗ（±１週）で８０ｍｇ／ｍ^{2}のゴリムマブをＩＶ注入として３０±１０分間かけて引き続き投与される（セクション６．１）。被験者は更に、市販のＭＴＸを試験組み入れの時点と同じＢＳＡベースの用量で週１回、及び市販の葉酸５ｍｇ以上を週１回、又は投与する場合葉酸（ＭＴＸの用量の半分；セクション６．２）をＭＴＸ投与の翌日に投与され得る。しかしながら、ＭＴＸ、他のＤＭＡＲＤ、コルチコステロイド、及び／又はＮＳＡＩＤの増加、減少、又は中止は、２８週目以降に許容される。これらの薬剤の全ての変更及び変更の理由は、ｅＣＲＦに文書化される必要がある。
【０４９９】
被験者は、「時間及びイベントスケジュール」に従って安全性、有効性、ＰＫ、及び免疫原性の評価が行われる（表）。
【０５００】
治療の終了／早期離脱
被験者が、第５２週目の前に試験薬剤を中止する場合、被験者は、試験薬剤の最後の投与の約８週間後に最終的な安全性フォローアップ来院のために戻る必要がある（セクション１０．２）。被験者が、第５２週目の前に試験参加から離脱する場合、被験者の同意の撤回の前に治療終了時の評価を得るためにあらゆる努力を払う必要がある。
【０５０１】
９．１．５．　長期延長段階：第５２週目の後～第２５２週目
第５２週目の来院後に長期延長に入った被験者は、第２４４週目まで８０ｍｇ／ｍ^{2}のゴリムマブをＩＶ注入としてｑ８ｗ（±１週）で３０±１０分間かけて引き続き投与される。
【０５０２】
被験者は、「時間及びイベントスケジュール」に従って安全性、有効性、ＰＫ、及び免疫原性の評価が行われる（表７及び表）。同意を撤回することなく、第２４４週目の前に試験薬剤の投与を中止した被験者は、最後の試験薬注入の約８週間後に最終的な安全性フォローアップ来院のために戻る必要がある（セクション１０．２）。
【０５０３】
被験者は、ＴＢの兆候及び症状について引き続き評価される必要がある（セクション９．４）。
【０５０４】
９．２．　有効性
９．２．１．　評価
「時間及びイベントスケジュール」に、この試験に適用可能な有効性測定の頻度及びタイミングを要約する（表、表７及び表）。
【０５０５】
９．２．１．１．　関節評価
標準的なＰＲＩＮＴＯ／ＰＲＣＳＧ関節評価法に従って、７５個の関節のそれぞれを圧痛について評価し、６８個の関節を腫脹及び疼痛、並びに運動制限について評価する。関節評価の実施に少なくとも１年の経験を有する一貫した関節評価者が各試験センターにおいて指定され、全ての関節評価を行う。
【０５０６】
訓練は、被験者組み入れの開始前に各部位から単一の一貫した関節評価者に提供され、施設の関節評価者がＰＲＩＮＴＯ又はＰＲＣＳＧによって提供される認証された訓練を受けていない限り、この訓練は必須である。以前の臨床試験において一貫した関節評価者が治験依頼者によって訓練されていた場合、関節評価者はこの訓練を免除されてもよい。治験依頼者又はＰＲＩＮＴＯ／ＰＲＣＳＧ訓練の文書は、治験センターのファイルに維持される。可能であれば、試験の一貫した関節評価者は、試験中に変更されるべきではない。

しかしながら、治験依頼者によって提供される、一貫した関節評価者の訓練に参加した各治験実施施設からの評価者は、評価者の欠席時に代わりを務めるための１名の追加の評価者を訓練することができる。

【０５０７】

訓練される追加の一貫した関節評価者も、関節評価者として１年以上の経験を有するか、又は治験依頼者によって承認されていることが予想される。治験実施施設から指定された一貫した関節評価者が治験実施施設の追加の評価者を訓練する場合、訓練を文書化した書面を治験実施施設の治験センターファイルに保管される必要がある。更に、治験実施施設において複数人の一貫した関節評価者が試験中に関節評価を実施する場合、各来院においてその治験実施施設で関節評価を実施する全ての一貫した関節評価者の氏名を治験センターファイルに記載し、原文書に文書化する必要がある。

【０５０８】

被験者のベースライン関節評価を実施する一貫した関節評価者が、第２４４週目の最後の有効性評価までの全ての後続の来院におけるその被験者の関節評価も実施することが好ましい。

【０５０９】

評価不可能な関節

臨床診療においては過去に、又は試験参加中に外科的に改変された（すなわち、プロテーゼ配置）、又は医学的に治療された（すなわち、関節内注射）関節を「評価不能」と特定することは妥当かもしれないが、本試験の目的における「評価不能」の指定は若干異なる。関節は、関節を評価することが物理的に不可能である場合にのみ（すなわち、ギプスによってアクセス不可能な関節、切断により存在しない関節、アクセスが不可能であるように変形した関節）、一貫した関節評価者によってｅＰＲＯ装置において「評価不可能」として指定されるべきである。

【０５１０】

９．２．１．２．　米国リウマチ学会応答

ＪＩＡ　ＡＣＲ３０応答基準[5]は、以下の６つの項目のうちの少なくとも３つにおけるベースラインからの３０％の改善（すなわち、スコアの減少）、及び以下の項目のうちの１つ以下における３０％以上の悪化として定義される。

●医師による疾患活動性の全般的評価

●全体的な健康状態の親／被験者による評価

●活動性関節の数（腫脹、又は腫脹がない場合には、運動痛又は圧痛を伴う可動域の制限のいずれかとして定義される）

●可動域が制限された関節の数

●ＣＨＡＱによる身体機能

●ＣＲＰ

【０５１１】

ＪＩＡ　ＡＣＲ５０応答、ＪＩＡ　ＡＣＲ７０応答、及びＪＩＡ　ＡＣＲ９０応答は、上記の６つの項目の少なくとも３つにおけるベースラインからのそれぞれ５０％の改善、７０％の改善、及び９０％の改善、及び上記の項目のうちの１つ以下における３０％以上の悪化として定義される。

【０５１２】

非活動性疾患

非活動性疾患は、以下の全ての存在によって示される。

●活動性関節炎を有する関節なし

●ＪＩＡに起因する発熱、発疹、漿膜炎、脾腫、肝腫大、又は一般化リンパ節症なし

●活動性ブドウ膜炎なし

●正常なＣＲＰ（基礎炎症性疾患を有しない被験者について０．２８７ｍｇ／ｄＬ以下）

●活動性疾患がないことを示す、医師による疾患活動性の全般的評価（５ｍｍ未満）

●朝のこわばりの持続時間が１５分未満

【０５１３】

ＪＩＡ薬剤投与中の臨床的寛解

ＪＩＡ薬剤投与中の臨床的寛解は、薬剤投与中の６ヶ月以上の期間にわたる各来院における非活動性疾患として定義される。

【０５１４】

９．２．１．３．　医師による疾患活動性の全般的評価

医師による疾患活動性の全般的評価は１００ｍｍＶＡＳである。医師は、患者の現在の関節炎活動性を評価したＶＡＳを記入する必要がある。スケールのアンカーは、「関節炎活動性がない」～「極めて活動性の関節炎」である。より低いスコアは、疾患活動性がより低いことを示す。子供の評価のための変数のコアセットにこの尺度を含めるためのプロセスは、文献に記載されている[5]。

【０５１５】

９．２．１．４．　小児健康調査質問票

被験者の機能状態のＣＨＡＱによる評価を行う[21]。８つの機能領域（身支度、起床、食事、歩行、衛生、伸展、握力、及び日常生活活動）における作業を行ううえで被験者が有する困難の程度を評価するために、親／被験者がこの質問票を記入する。各機能領域における応答は、０（困難を伴わない）、１（いくらかの困難を伴う）、２（大きな困難を伴う）、３（作業を行えない）、又は４（該当せず）としてスコア付けされる。より低いスコアは、特定の機能領域における改善された機能及び作業成果を示す。

【０５１６】

更に、ＣＨＡＱは２つのＶＡＳ質問を含み、１つが被験者の痛みのレベルを評価するために使用され、１つが被験者の全体的な健康状態を評価するために使用される。ＣＨＡＱの特性は評価されており、その有効性は検証されている[21]。ＣＨＡＱは疾患の変化に応答性を示すことが示されている[21]。０．１８８の減少が、有意な臨床的改善であるとされている[1]。

【０５１７】

親／被験者による痛みの評価

痛みは、「痛みなし」（０ｍｍ）～「非常に重度の痛み」（１００ｍｍ）までの範囲のＶＡＳスケールを使用して、前の週において被験者が経験した平均の痛みとして評価される。この評価は、圧痛及び膨潤した関節検査の前に、親（介護者）／被験者によって記入される必要がある。

【０５１８】

全体的な健康状態の親／被験者による評価

全体的な健康状態の親／被験者による評価は、０～１００ｍｍ　ＶＡＳである。親／被験者は、関節炎が子供／自身に及ぼすあらゆる影響を検討し、次いで被験者の健康状態を示すことを求めるＶＡＳを記入する。スケールのアンカーは、「非常によい」（０ｍｍ）～「非常に悪い」（１００ｍｍ）である。スコアが低いほど、健康状態がより良いことを示す。子供の評価のための変数のコアセットにこの尺度を含めるためのプロセスは、文献に記載されている[5]。

【０５１９】

試験組み入れ時に１５歳～１８歳未満の被験者は、親／介護者と一緒にＣＨＡＱを記入してもよい。好ましくは、試験開始時の評価を記入するのと同じ人（例えば、親、介護人、又は被験者）が試験全体を通じて評価を記入するべきである。

【０５２０】

９．２．１．５．　Ｃ反応性タンパク質

Ｃ反応性タンパク質は、ｐＪＩＡを有する患者における炎症のマーカーとして有用であることが示されており、ＪＩＡ　ＡＣＲ３０コア評価の一部となっている。Ｃ反応性タンパク質は、検証済みの高感度ＣＲＰアッセイを使用して中央検査機関によってアッセイされる。

【０５２１】
９．２．１．６．　若年性関節炎疾患活動性スコア（ＪＡＤＡＳ）
近年、ｐＪＩＡの複合的疾患活動性スコアとして、若年性関節炎疾患活動性スコア（Ｊｕｖｅｎｉｌｅ Ａｒｔｈｒｉｔｉｓ Ｄｉｓｅａｓｅ Ａｃｔｉｖｉｔｙ Ｓｃｏｒｅ；ＪＡＤＡＳ）が開発された。検証分析においてＪＡＤＡＳは、疾患転帰を予測する能力を含む、良好な計測特性を有することが見出された。ＪＡＤＡＳ（ＣＲＰを使用するために改変された）は、以下の変数を評価することによって計算される。すなわち、（１）１００ｍｍの水平ＶＡＳ上で測定される、医師による疾患活動性の全般的評価（いずれもＶＡＳで０＝活動性なし、１００＝最大活動性）、（２）２１個の数字が付けられた円及び１００ミリメートルの水平線の視覚的アナログスケール[4]で測定される健康状態及び痛みの親／子供による評価、（３）７１、２７、又は１０個の関節で評価される活動性関節の数（それぞれＪＡＤＡＳ７１、ＪＡＤＡＳ２７、及びＪＡＤＡＳ１０）、及び、（４）ＣＲＰは、ＪＡＤＡＳ－ＥＳＲで使用される切り捨てＥＳＲと同様、次式：（ＣＲＰ［ｍｇ／Ｌ］－１０／１０）に従って０スケールに切り捨てた。計算に先立ち、１０ｍｇ／Ｌ未満のＣＲＰ値を１０に変換し、１１０ｍｇ／Ｌよりも大きいＣＲＰ値を１１０に変換する[13]。
【０５２２】
ＪＡＤＡＳは４つの項目のスコアの合計として計算され、ＪＡＤＡＳ７１、及びＪＡＤＡＳ２７、及びＪＡＤＡＳ１０について、それぞれ０～１０１、０～５７、及び０～４０の全般スコアを与える。
【０５２３】
ＪＡＤＡＳ１０、２７、及び７１最少疾患活動性の状態[2、11]を、以下の全てが存在するものとして定義した。すなわち、多発性関節炎を患う患者において、医師による疾患活動性の全般的評価≦３．５、親による健康状態の全般的評価≦２．５、及び腫脹関節数≦１。
【０５２４】
ＪＡＤＡＳ非活動性疾患の基準は、合計ＪＡＤＡＳスコアが１以下として定義される。
【０５２５】
９．２．２．　評価項目
一次評価項目
本試験における一次評価項目は、第２８週目のＰＫ曝露（第２８週目におけるトラフ濃度）及び８週間の１回投与間隔にわたる定常状態のベイズ法によるＡＵＣｓｓ（母集団のＰＫモデリング及びシミュレーションから）である。
【０５２６】
主要な二次評価項目
主要な二次評価項目は以下を含む。
【０５２７】
第５２週目のＰＫ曝露（第５２週目におけるトラフ濃度）及び第５２週目のベイズ法によるＡＵＣｓｓ（母集団のＰＫモデリング及びシミュレーションから）。
【０５２８】
他の評価項目
他の評価項目は以下を含む。
●ＪＩＡ　ＡＣＲ３０、５０、７０、及び９０レスポンダーである被験者の経時的割合
●ＣＨＡＱにおけるベースラインからの経時的変化
●経時的なＣＲＰ濃度
●非活動性疾患を有する被験者の経時的割合
●経時的なｐＪＩＡ薬剤に対する臨床的寛解における被験者の割合
●各来院時のｐＪＩＡコアセットにおけるベースラインからの改善
●第５２週目までの疾患サブタイプ及び／又は年齢によるＪＩＡ　ＡＣＲ３０、５０、７０及び９０レスポンダーである被験者の経時的割合
●ＪＡＤＡＳ１０、２７、及び７１スコアにおけるベースラインからの経時的な変化

●ＪＡＤＡＳ１０、２７、及び７１の疾患活動性を達成する被験者の経時的割合

【０５２９】

９．３．　薬物動態及び免疫原性

９．３．１．　評価

血清試料を使用してゴリムマブのＰＫ、並びに免疫原性（ゴリムマブに対する抗体）を評価する。静脈血液試料を採取し、各血清試料を３つのアリコートに分割する（薬物動態、試験薬に対する抗体、及びバックアップに各１つずつ）。被験者の機密は保持される。試料は、ＩＶラインとは異なる腕から抜き取るか、あるいは薬剤投与に使用されるものと同じＩＶラインを使用する場合には、ラインをフラッシュして各ＰＫ試料を抜き取る前に残留している可能性のある残留薬剤を除去する必要がある。ＰＫ試料を抜き取るためにＩＶラインを使用する場合、試料を得る前に最初の１ｍＬの血液を抜き取って廃棄するべきである。静脈内ラインのメンテナンスは、標準的なケアに従って行われる必要がある。血清濃度及びゴリムマブに対する抗体が評価される各来院において、十分な量の１回分の採血を使用することができる。

【０５３０】

９．３．２．　分析手順

薬物動態

治験依頼者により、又は治験依頼者の監督下で、検証済みの特異的かつ高感度の方法を用いて血清試料を分析してゴリムマブの濃度を決定する。

【０５３１】

免疫原性

治験依頼者により、又は治験依頼者の監督下で検証済みのアッセイ法を用いてゴリムマブに対する抗体の検出及び特性決定を行う。ゴリムマブに対する抗体を検出するために採取された全ての試料をゴリムマブの血清濃度についても評価することで抗体データの解釈が可能となる。

【０５３２】

９．３．３．　薬物動態パラメータ

血清ゴリムマブ濃度を、第０、４、８、１２、２０、２８、５２、１００、１４８、１９６及び２４４週目に評価し、経時的に要約する。

【０５３３】

注入前（注入直前）及び注入後（注入の１時間後）試料を、第０週目、第４週目、及び第１２週目に採取し、追加の無作為母集団ＰＫ試料を、第０週目、第４週目、及び第８週目の来院時以外の第０週目～第８週目の任意の時点で採取し、試験薬剤投与の少なくとも２４時間前又は後に採取する。残りの来院のそれぞれでは、血清ゴリムマブの試料を１つのみ採取するが、これはその来院で試験薬剤の注入が投与される場合には注入の直前に採取される必要がある。注入後試料は、ＩＶ注入ラインとは異なる腕から抜き取るか、あるいは薬剤投与に使用されたものと同じアクセスラインを使用する場合には、ＩＶ注入ラインをフラッシュして残留している可能性のある残留薬剤を除去し、試料を得る前に１ｍＬの血液を引き込んでから捨てる必要がある。

【０５３４】

第２８週目までのデータを用いて母集団のＰＫ分析を行ってゴリムマブのＰＫを特徴付けるとともに、ｐＪＩＡを有する小児集団におけるＰＫの重要な共変数を特定する。更に、母集団ＰＫモデルを使用して、小児及び成人におけるＰＫの類似性を評価する。クリアランス及び分布容積は、ＮＯＮＭＥＭアプローチを用いて推定される。更に、曝露応答分析を行って曝露量と有効性との間の関係を調査し特徴付ける。

【０５３５】

９．３．４．　免疫原性評価（ゴリムマブに対する抗体）

ゴリムマブに対する抗体を、「時間及びイベントスケジュール」に従って（すなわち、第０、第４、第８、第１２、第２８、第５２、第１００、第１４８、第１９６週目及び第２４４週目に）全ての被験者から採取した血清試料で評価する。更に、血液試料はまた、

治療を中止するか、又は試験から離脱した被験者からも最終来院時に採取する必要がある。これらの試料は、治験依頼者又は治験依頼者の指定担当者により検査される。

【０５３６】

血清試料は、ゴリムマブに結合する抗体についてスクリーニングされ、確認された陽性試料の力価を報告する。他の分析を行って、ゴリムマブに対する抗体の安定性を検証し、及び／又は、ゴリムマブの免疫原性を更に特徴付けることができる。

【０５３７】

試験中のゴリムマブに対する抗体の生成率を決定する。

【０５３８】

９．４．　安全性評価

試験中に発生するあらゆる臨床上関連する変化は、ＣＲＦの有害事象のセクションに記録される必要がある。

【０５３９】

試験の最後に／早期離脱時に持続しているあらゆる臨床上の有意な異常は、解決まで又は臨床上安定した評価項目に達するまで、治験責任医師によってフォローされる。

【０５４０】

本試験は、「時間及びイベントスケジュール」に示される時点に従って、安全性及び忍容性の以下の評価を含む。

【０５４１】

有害事象

有害事象は、試験の持続期間にわたって、被験者（又は、適切な場合、介護人、代理人、又は被験者の法的に認められる代表者）によって報告される。有害事象は、セクション１２、「有害事象の報告」に指定されるように、治験責任医師によってフォローされる。

【０５４２】

臨床検査

血清化学検査及び血液学用の血液サンプルを収集する。治験責任医師は、検査報告を検討し、この検討内容を文書化し、試験の間に生じたあらゆる臨床的に関連する変化をＣＲＦの有害事象のセクションに記録する必要がある。検査報告は、原文書と共に提出される必要がある。

【０５４３】

以下の検査が各中央検査機関によって行われる。

【０５４４】

【表１２】

● 血液学パネル

－ヘモグロビン	－WBC（好中球、リンパ球、単球、好酸球、好塩基球［%、絶対］）
－ヘマトクリット値	－血小板数
－RBC	－平均赤血球容積
－平均赤血球ヘモグロビン	－平均赤血球ヘモグロビン濃度
－RBC形態	－WBC形態（存在する場合）

● 血清化学パネル

－ナトリウム	－総ビリルビン
－カリウム	－ビリルビン（直接及び間接）
－尿素窒素	－カルシウム
－クレアチニン	－リン
－グルコース	－アルブミン
－AST	－総タンパク質
－ALT	
－アルカリホスファターゼ	－尿酸
－重炭酸塩	－塩化物

● 妊娠可能な女子の血清妊娠検査はスクリーニング時に行われる。
● 妊娠可能な女子の尿妊娠検査は「時間及びイベントスケジュール」に従って行われる。
● 治験責任医師によって必要と判断されるか、又は現地規制によって求められる場合、追加の血清又は尿妊娠検査を行って試験全体を通じて妊娠がないことを確証することができる。
● スクリーニング時のB型肝炎表面抗原（HBsAg）、B型肝炎表面抗体（抗HBs）、及びB型肝炎コア抗体（全抗HBc）の血清学。
● スクリーニング時のHCV抗体の血清学。

【０５４５】

バイタルサイン

脈拍／心拍数、呼吸数、温度、及び血圧測定を、「時間及びイベントスケジュール」に従って行う（表、表７、及び表）。

【０５４６】

バイタルサインは、注入前１５分及び３０分（注入中は１５分間隔）、並びに６０分及び９０分（注入後の１時間の観察期間中）に測定される必要がある。

【０５４７】

身体検査

毎回の身体検査における皮膚検査及び性成熟度についての少なくとも６ヶ月毎のタナー分類を含む身体検査を、「時間及びイベントスケジュール」に従って実施する。システムレビューを全ての来院で実施して新たな症状を評価し、必要に応じて治験責任医師の判断で完全な身体検査を行ってもよい。試験終了時に持続しているあらゆる臨床上重要な異常は、解消まで又は臨床上安定した評価項目に達するまで、治験責任医師によってフォローされる。

【０５４８】

身長及び体重

スクリーニング時、並びに「時間及びイベントスケジュール」で指定された全ての時点で身長を測定する。体重は、各体重測定で較正されたスケールを使用して、「時間及びイベントスケジュール」で指定された時点で測定される。被験者は、靴並びに屋外用衣類及び装具を外すよう指示される。

【０５４９】

ブドウ膜炎の評価

全ての被験者は、スクリーニング時に、及びその後は少なくとも６ヶ月毎に、身体検査及び面談に基づいて治験責任医師により新たに発症したブドウ膜炎について評価される。これは、眼の充血、光感受性、視力の変化、及び飛蚊症を含むがこれらに限定されないブ

ドウ膜炎の兆候及び症状の評価からなる。臨床標準の変化に基づいて、検査をより頻回に行うことができる。

【０５５０】

加えて、全ての被験者は、指定の間隔（ＪＩＡのサブタイプ、ＡＮＡの検査結果、ＪＩＡ発症時の年齢、及びＪＩＡの期間に基づく）で試験中に眼科医／検眼医によって実施される細隙灯評価を行うことが求められる。

【０５５１】

被験者が試験中にブドウ膜炎を発症した場合、被験者の試験への継続的な参加は、治験責任医師及び治験依頼者の判断による。

【０５５２】

注入反応の評価

注入が開始される前に、適切な担当者、薬剤（例えば、エピネフリン、吸入型β－アゴニスト、抗ヒスタミン剤、及びコルチコステロイド）、及びアナフィラキシーを治療するための他の要件が提供される必要がある。被験者は、治験責任医師の判断に基づいて注入を開始する前に予防薬（例えば、ジフェンヒドラミン）を予め投与することができるが、これは必須ではない。しかしながら、予防用のコルチコステロイドは許容されない。前投薬はｅＣＲＦに記録される必要がある。

【０５５３】

治験責任医師又は有資格の被指名者が「時間及びイベントスケジュール」に従って注入反応について被験者を評価する。

【０５５４】

注入反応は、注入中、又は注入の完了の１時間以内に生じる、なんらかの好ましくない又は意図されない徴候である。全ての被験者は、注入反応の症状について慎重に観察される必要がある。被験者は、注入反応の症状について試験薬剤のＩＶ投与の完了後、少なくとも６０分間観察される。注入反応が観察された場合、被験者は治験責任医師の判断で治療される必要がある。

【０５５５】

治験責任医師は、ＡＥページに注入反応を記録する。注入反応が観察されない場合、治験責任医師はそのことを被験者の医療記録（ソースデータ）に記載する。

【０５５６】

アレルギー反応

試験の全体を通じて、全ての被験者は、注入の完了後少なくとも６０分間にわたって、アレルギー反応（例えば、じん麻疹、痒み、発疹）の症状について慎重に観察される必要がある。軽度又は中度のアレルギー反応が観察された場合、承認された小児用量でアセトアミノフェン又はＮＳＡＩＤ及びジフェンヒドラミンを投与することができる。

【０５５７】

喘鳴及び／又は呼吸困難を伴う気管支痙攣を引き起こし、補助換気を必要とする注入後の重度の反応、又は４０ｍｍ水銀（Ｈｇ）よりも大きい収縮期血圧の低下を伴う症候性低血圧を有する被験者は、追加の試験薬剤の注入を投与することは許可されない。かかる反応の場合、適切な医学的治療を施す必要がある。

【０５５８】

活動性結核の早期検出

試験参加中のＴＢ、再活性化又は新規ＴＢ感染の早期検出を助けるため、被験者は、計画された来院時（「時間及びイベントスケジュール」を参照）に、又は約８～１２週間毎に電話連絡によって、活動性ＴＢの徴候及び症状について評価される必要がある。評価において使用するために、以下の一連の質問が提案される。

●「あなたの子供に１４日よりも長い期間の新たな咳、又は慢性的な咳の変化がありましたか？」

●「あなたの子供は以下の症状のいずれかを有していますか？」

－持続する発熱ですか？

－意図的でない体重減少ですか？
－寝汗ですか？
●「あなたの子供は活動性ＴＢを有する個人と密接な接触をしましたか？」（接触が「密接」と見なされるべきかに関して不確実性が存在する場合、ＴＢ専門医に相談するべきである）。

【０５５９】
評価により、被験者がＴＢの再活性化又は新たなＴＢ感染を有する疑いが生じた場合、試験薬剤の投与を中断する必要があり、可能な場合はＴＢ専門医への相談を含む速やかな徹底した調査が行われる必要がある。

【０５６０】
治験責任医師は、免疫不全を有する被験者におけるＴＢの再活性化は、播腫性疾患として、又は肺外特徴（extrapulmonary features）を伴って発現することがあると認識するべきである。活動性ＴＢのエビデンスを有する被験者は、試験薬剤を直ちに中止する必要があり、適切な治療を仰ぐ必要がある。

【０５６１】
年に１回のＱｕａｎｔｉＦＥＲＯＮ（登録商標）－ＴＢ　Ｇｏｌｄ検査（及びツベルクリン皮膚検査）は、潜在性ＴＢの履歴、及び潜在性ＴＢの進行中の治療、又はＴＢの適切な治療を完了したことの文書を有する被験者では求められない。

【０５６２】
試験の実施中に活動性ＴＢを有する個人と密接に接触した経験を有する被験者は、被験者が活動性ＴＢを発症するリスクを判定し、潜在性ＴＢの治療が正当であるかどうかを判定するために、反復胸部Ｘ線検査、反復ＱｕａｎｔｉＦＥＲＯＮ（登録商標）（ＴＢ　Ｇｏｌｄ検査）、ＱｕａｎｔｉＦＥＲＯＮ（登録商標）（ＴＢ　Ｇｏｌｄ検査）が承認／登録されていない国においては反復ツベルクリン皮膚試験、及び、可能であれば、ＴＢ専門医への紹介を行う必要がある。ＱｕａｎｔｉＦＥＲＯＮ（登録商標）（ＴＢ　Ｇｏｌｄ検査）（及びツベルクリン皮膚検査）は、潜在性ＴＢの病歴、及び潜在性ＴＢの進行中の治療、又はＴＢの適切な治療を完了したことの文書を有する被験者では反復される必要はない。ＱｕａｎｔｉＦＥＲＯＮ（登録商標）（ＴＢ　Ｇｏｌｄ検査）の結果が不明確である場合、試験は、セクション９．１．２に概説されるように反復される必要がある。被験者は、プロトコルに従って計画された全ての後続の試験来院のために戻ることを奨励されることとする。

【０５６３】
９．５．　サンプルの採取及び取り扱い
試料採取の正確な日付及び時間は、ＣＲＦ又は検査請求フォームに記録される必要がある。

【０５６４】
全ての試料採取のタイミング及び頻度については「時間及び事象のスケジュール」を参照されたい。

【０５６５】
試料の採取、取り扱い、保管及び輸送に関する指示は、提供される検査室マニュアルに示される。試料の採取、取り扱い、保管、及び輸送は、検査室マニュアルに示されるように、指定された、また適用可能な場合には、制御された温度条件下で行われる必要がある。

【０５６６】
１０．　対象の完了／離脱
１０．１．　完了
被験者は、第５２週目の評価を完了した場合に主試験を完了したものとみなされる。被験者は、第２５２週目の評価を完了した場合に長期延長を完了したものとみなされる。

【０５６７】
１０．２．　試験治療の中断

対象の試験治療が治療レジメンの終了前に中断される必要がある場合、これは、試験からの対象の自動脱退をもたらさない。

【０５６８】

以下のいずれかが生じる場合、被験者の試験治療は、永続的に中止される必要がある。

●治験責任医師が、安全性の理由（例えば、有害事象）で、試験治療を中止することが被験者の最良の利益であると考える。

●女性被験者が妊娠した場合。

●喘鳴、及び／又は補助換気を必要とする呼吸困難、及び／又は試験薬剤投与後に生じる症候性低血圧を伴う、及び伴わない、気管支痙攣を引き起こす反応（新たに発症する試験薬剤関連及び既存の喘息の深刻な憎悪の両方）。

●試験薬剤の注入の１～１４日後に生じる、発熱及び／又は発疹を伴う筋肉痛及び／又は関節痛をもたらす反応（血清病を示唆し、他の認識された臨床的症候群の徴候及び症状を表すものではない）。これらは、掻痒、顔、手、又は唇の浮腫、嚥下障害、じんま疹、咽頭炎、及び／又は頭痛を含む他の事象を伴う場合がある。

●日和見感染症。

●悪性腫瘍。

●被験者が、試験中の任意の時点でうっ血性心不全を発症する。

●脱髄疾患。

●被験者が、試験薬剤の投与の同意を撤回する。

●プロトコル禁止薬剤の開始。

●被験者は、以下のＴＢスクリーニング基準に従って不適格であると見なされる。

－活動性ＴＢの診断が行われる。

－被験者は、フォローアップ評価質問及び／若しくは身体検査に基づき活動性ＴＢを示唆する症状を有するか、又は活動性ＴＢを有する人と最近密接に接触していて、追加の評価を受け続けることができないか、若しくは続けない。

－評価が行われる被験者が、活動性ＴＢが除外され得、潜在性ＴＢの適切な治療が、試験薬剤の次の投与前に開始され、完了まで継続され得ない限り、現在の活動性ＴＢのエビデンスを示す胸部Ｘ線写真、及び／又は陽性のＱｕａｎｔｉＦＥＲＯＮ（登録商標）（ＴＢ　Ｇｏｌｄ検査）結果（又はＱｕａｎｔｉＦＥＲＯＮ（登録商標）（ＴＢ　Ｇｏｌｄ検査）が承認／登録されていないか、若しくはツベルクリン皮膚検査が現地の保健機関によって義務付けられている国では陽性のツベルクリン皮膚検査の結果）を有する。不明確なＱｕａｎｔｉＦＥＲＯＮ（登録商標）（ＴＢ　Ｇｏｌｄ検査）の結果は、セクション９．１．２と同様に扱われる必要がある。活動性ＴＢが除外され、その胸部Ｘ線写真がＴＢ（活動性又は古い、非活動性ＴＢ）を示唆する異常を示しておらず、対象が治験責任医師によって判定されるＴＢの更なる危険因子を有しない場合、継続的に不明確なＱｕａｎｔｉＦＥＲＯＮ（登録商標）（ＴＢ　Ｇｏｌｄ検査）の結果を有する対象は、潜在性ＴＢの治療を受けずに継続することができる。この判定は、治験依頼者のメディカルモニタに速やかに報告され、対象の原文書に記録され、治験責任医師によって頭文字で略式署名される必要がある。

－潜在性ＴＢのための治療を受けている被験者は、この治療を早期に中断するか、又は治療に不適合である。

【０５６９】

試験中に試験薬剤の注入を中止した全ての被験者は、最後の注入が投与された後、約８週間フォローされる。

【０５７０】

注：最後の試験薬剤の注入の約８週間後の来院は、「最終的な安全性フォローアップ来院」と呼ばれ、計画された又は計画されていなかった来院で行われ得る。

【０５７１】

試験薬剤の注入を中止するが、試験参加を終了しない被験者は、最終的な安全性フォローアップ来院において以下の評価が行われる。

●安全性評価（バイタルサイン、システムレビュー、ＡＥの検証、ＴＢの評価、ブドウ膜炎の評価、及び日常検査分析のための血液試料の採取、及びＡＮＡ／抗二本鎖デオキシリボ核酸（ｄｓＤＮＡ）抗体及びゴリムマブに対する抗体の存在の判定）。
●併用薬レビュー。
●有効性評価（関節評価、ＪＩＡ評価、及びＣＲＰの血液試料の収集）。
●最終的な安全性フォローアップ来院において、全ての被験者についてゴリムマブ濃度を測定するために採血された血液試料。

【０５７２】

試験の終了前に被験者が試験治療を中止した場合、試験薬剤の最後の注入の約８週間後に評価を行う必要がある。

【０５７３】

１０．３．　試験からの離脱

以下の理由のいずれかの場合、対象は試験から離脱させられる。
●フォローアップ不能
●同意の撤回
●死亡

【０５７４】

被験者が試験の終了前に試験治療を中止した場合、試験薬剤の最後の注入の約８週間後に最終的な安全性フォローアップ来院において治療終了時の評価を得る必要がある。

【０５７５】

対象がフォローアップまで失われた場合、対象に接触し、中止／離脱の理由を決定するために、試験実施機関の担当者によってあらゆる合理的な努力を行う必要がある。フォローアップのために取られた措置は文書化される必要がある。

【０５７６】

被験者が試験を完了する前に離脱する場合、離脱の理由をＣＲＦ及び原文書に文書化する。中止した対象に割り当てられた試験薬は、別の対象に割り当てられなくてもよい。離脱する対象は交代されない。

【０５７７】

試験の終了前に被験者が試験から離脱する場合、同意の撤回前に治療終了時の評価を得る必要がある。

【０５７８】

１１．　統計的方法

統計解析は、治験依頼者によって、又は治験依頼者の権限のもとで行われる。効力及び安全性データを分析するために使用される統計的方法の一般的な記述が、下記に示される。統計解析計画には、具体的な詳細が提供される。

【０５７９】

概して、連続変数の平均、中央値、標準偏差、四分位内範囲、最小値及び最大値などの記述統計、並びにカテゴリー変数の数及び百分率を使用してデータを要約する。

【０５８０】

１１．１．　対象情報

試験に組み入れられる全ての被験者について、ベースライン記述統計が提供される。

【０５８１】

被験者のベースラインデータ、人口統計学及びベースライン疾患特性を要約する。ベースライン測定値は、第０週目の試験薬剤投与の時点の前に測定された最も近い測定値として定義される。

【０５８２】

人口統計学及び被験者のベースライン疾患特性及び以前の服薬データを、試験薬剤が投与されているか否かに関わらず、試験に組み入れられた全ての被験者について要約する。試験薬剤の少なくとも１回の投与を受けた全の被験者について薬物動態データを要約する。特に指定されない限り、有効性分析を、試験に組み入れられた全ての被験者について要

約する。安全性評価を、治療を行った全ての被験者について要約する。

【０５８３】

１１．２．　サンプルサイズの決定

試料サイズは、統計的考慮事項に基づくものではない。この試験の試料サイズを決定する目的で、小児集団におけるＰＫの変動を考慮した。目標は、母集団ＰＫを構築するのに十分であり、かつ実行可能であれば、曝露応答モデルを構築するのに十分な試料サイズを得ることである。更に、妥当な安全性評価を与える試料サイズも考慮した。これらの考慮事項により、２０人の被験者が脱落するか又はＰＫ試料を与えなかった場合に、ＰＫ時点の疎なサンプリングを考慮すると、約１００人の被験者の試料サイズが母集団ＰＫモデルを構築するのに十分であり、約１００人の被験者から１年間の安全性データを得るのに十分であると考えられるという仮定の下で約１２０人の被験者の試料サイズが選択された。

【０５８４】

１１．３．　有効性解析

一次評価項目分析

一次有効性評価項目の分析は計画されていない。

【０５８５】

主要な二次評価項目の分析

主要な二次有効性評価項目の分析は計画されていない。

【０５８６】

他の有効性評価項目

試験に組み入れられた全ての被験者について以下を要約する。

●ＪＩＡ ＡＣＲ３０、５０、７０、及び９０レスポンダーである被験者の経時的な割合

●非活動性疾患を有する被験者の経時的割合

●経時的なｐＪＩＡ薬剤（ＡＣＲ基準）に対する臨床的寛解における被験者の割合

●経時的なｐＪＩＡコアセットにおけるベースラインからの改善

●第５２週目までの疾患サブタイプ及び／又は年齢によるＪＩＡ　ＡＣＲ３０、５０、７０及び９０レスポンダーである被験者の経時的割合

●ＣＨＡＱにおけるベースラインからの経時的変化

●経時的なＣＲＰ濃度

●ＪＡＤＡＳ１０、２７、及び７１スコアにおけるベースラインからの経時的変化

●ＪＡＤＡＳ１０、２７、及び７１の疾患活動性を達成する被験者の経時的割合

【０５８７】

１１．４．　薬物動態の分析

本試験の主要目的は、ｐＪＩＡ集団におけるゴリムマブＰＫ曝露（第２８週目のトラフ濃度及び母集団のＰＫモデリング及びシミュレーションからの８週間の投与間隔にわたるベイズ法によるＡＵＣｓｓ）を特徴付けることである。

【０５８８】

血清ゴリムマブ濃度を経時的に要約する。更に、第２８週目までのデータに対する母集団のＰＫ分析を行ってゴリムマブのＰＫを特徴付けるとともに、ｐＪＩＡを有する小児集団におけるＰＫの重要な共変数を特定及び定量化する。クリアランス及び分布容積は、ＮＯＮＭＥＭアプローチを用いて推定される。詳細は、母集団ＰＫ分析計画に提供され、分析の結果は別の報告書に提示される。

【０５８９】

ＰＫ曝露の測定を、ＩＶゴリムマブの投与後の小児集団においてグラフで評価し（定常状態のC_{max}、C_{min}、及びＡＵＣを含むがこれらに限定されない）、ＣＮＴＯ１４８ＡＲＴ３００１の成人からのＰＫ曝露と比較する。小児被験者と成人被験者との間の類似性を、観察された濃度の記述統計に加えて、目視検査による母集団ＰＫモデリングからの箱ひげ図の生成によって評価する。

【０５９０】

要約第５２週目まで及びＬＴＥを通じてゴリムマブ濃度を要約し、ＰＫ曝露を評価する

。
【０５９１】
１１．５．　免疫原性の分析
ゴリムマブが投与され、ゴリムマブに対する抗体を検出するために適当な試料を採取した全ての被験者（すなわち、最初のゴリムマブ投与後に少なくとも１つの試料を採取した被験者）について、試験中のゴリムマブに対する抗体の生成及び力価を経時的に要約する。
【０５９２】
１１．６．　薬物動態／薬力学的解析
血清ゴリムマブ濃度と有効性との関係を調べる。適当なＰＫ／ＰＤモデルを調査し、曝露応答関係を記述するために開発する。
【０５９３】
１１．７．　安全性分析
有害事象
治験責任医師によりＣＲＦで有害事象を特定するために使用される用語は、医薬規制用語集（ＭｅｄＤＲＡ）を使用して逐語的にコード化される。治療段階中の発症を伴う全ての報告された有害事象（すなわち、治療段階中に発生した有害事象、及びベースラインから悪化した有害事象）は、分析に含まれる。各有害事象について、特定の事象の少なくとも１回の発生があった被験者の百分率を治療群ごとに要約する。
【０５９４】
有害事象のために死亡した、治療を中止した、又は重度若しくは重篤な有害事象を有した被験者の要約、リスト、データセット、又は被験者のナラティブが適宜与えられてもよい。
【０５９５】
以下の分析を使用してこの治験の被験者の安全性を評価する。
●ＡＥの発生及び種類
●ＳＡＥの発生及び種類
●合理的に関連するＡＥの発生及び種類
●注入反応の発生
●ＡＮＡ及び抗ｄｓＤＮＡ抗体の発生
●ゴリムマブに対する抗体の発生
●著しく異常な実験室（血液学及び化学）パラメータの発生
【０５９６】
臨床検査
臨床検査の種類ごとに検査データをまとめる。基準範囲及び著しく異常な結果（「統計分析プラン」に示される）は、検査データの要約に使用する。ベースライン結果からの変化は、治療前対治療後のクロス集計で提示される（正常範囲よりも下、正常範囲内、及び正常範囲を超えるクラスにより）。異常の頻度集計を行う。あらゆる著しく異常な検査結果を有する被験者のリストも与えられる。
【０５９７】
バイタルサイン
脈拍／心拍数、呼吸数、体温、及び血圧（収縮期及び拡張期）値の記述統計、並びにベースラインからの変化を、「イベントのスケジュール」の計画された各時点で要約する。
【０５９８】
１１．８．　暫定分析
中間分析は計画されていない。
【０５９９】
１１．９．　データ監視委員会
この試験は、全ての被験者に同じ用量のＩＶゴリムマブを投与する非盲検試験である。したがって、外部のデータ監視委員会は利用されない。安全性データは、試験の医療監視

員及びＤＲＣチャーターに定義される内部データ検証委員会によって常法により評価される。更に、データは治験運営委員会によって検証されてもよい。

【０６００】

１２．　有害事象の報告

臨床試験からの安全性情報の適時の、正確、かつ完全な報告及び分析は、被験者、治験責任医師、及び治験依頼者の保護にとって重要であり、世界中の規制機関によって命じられている。治験依頼者は、安全性情報の適切な報告を確実にするために世界的な規制要件に準拠して標準業務手順書を確立し、治験依頼者又はその関連会社によって行われる全ての臨床試験は、これらの手順書に従って行われる。

【０６０１】

１２．１．　定義

１２．１．１．　有害事象の定義及び分類

有害事象

有害事象とは、医薬品（治験用又は非治験用医薬品）を投与された臨床試験対象における任意の好ましくない医療上の出来事である。有害事象は、必ずしも治療と因果関係を有するわけではない。したがって、有害事象とは、医薬品（治験用又は非治験用医薬品）の使用と時間的に関連のある、あらゆる好ましくない、意図しない徴候（例えば、臨床検査値の異常）、症状又は疾患のことであり得、医薬品（治験用又は非治験用医薬品）との因果関係の有無は問わない。（医薬品規制調和国際会議（［International Conference on Harmonisation、ＩＣＨ］による定義）

【０６０２】

これには、新たな発症又はベースライン状態からの重症度若しくは頻度における悪化である任意の発症、あるいは検査室試験の異常を含む診断手順の異常な結果が含まれる。

【０６０３】

注記：治験依頼者は、ＩＣＦの署名から開始して、有害事象を収集する（最後の有害事象記録の時間については、セクション１２．３．１「全ての有害事象」を参照）。

【０６０４】

重大な有害事象

ヒト使用のための医薬品の安全性情報監視のＩＣＨ及び欧州連合ガイドライン（ICH and EU Guidelines on Pharmacovigilance for Medicinal Products for Human Use）に基づく重篤な有害事象とは、任意の用量で、

●死に至る

●生命を脅かすもの（被験者は、その事象の時点で死亡のリスクがあった。「命に関わる」とは、仮により重度であれば死を招いたかもしれない事象を指すわけではない。）

●入院又は現行の入院期間の延長が必要となる

●持続的又は重大な障害／能力障害に至る

●先天異常／先天性欠損を来す

●医薬品を介した任意の感染因子の疑いのある伝播を来す

●医学的に重要である＊

＊直ちに生命を脅かしたり、又は死や入院に至らなくとも、緊急報告が、被験者を危険にさらす恐れがあったり、又は上記の定義に挙げられている他の結果のうちの１つを防止するための介入が必要となり得る重要な医学的事象などの他の状況においても適切であるかどうかを決定する際に、医学的及び科学的判断を実行する必要がある。これらは通常、重篤であるとみなされる必要がある。

【０６０５】

試験薬と事象（例えば、アナフィラキシーによる死）との間の因果関係を示唆する証拠が存在する重篤かつ予期せぬ有害事象が発生した場合、それが試験評価項目の構成要素（例えば、総死亡率）である場合であっても、その事象は、重篤かつ予期せぬ疑われる有害反応として報告される必要がある。

【０６０６】

未記載の（予測できない）有害事象／安全に関する参考情報
性質又は重症度が適用可能な製品参照安全性情報と一致しない場合、有害事象は、記載されていないと見なされる。
【０６０７】
製造承認を有するＭＴＸについては、有害事象の予測性は、その国の製薬業者によって提供されるパッケージラベルに有害事象が記載されているかどうかによって決定される。
【０６０８】
薬剤の使用に関連する有害事象
セクション１２．１．２に記載される定義によって、因果関係が考えられるか、因果関係がおそらくあるか、又は因果関係がある可能性が極めて高い場合、有害事象は薬剤の使用に関連していると考えられる。
【０６０９】
１２．１．２．　因果関係の定義
関連なし（Not Related）
薬剤の使用に関連しない有害事象。
【０６１０】
ほぼ関連なし（Doubtful）
代替的な説明がより可能性が高い有害事象、例えば、併用薬、併発症、又は時間の関係は、因果関係がおそらくないことを示唆する。
【０６１１】
可能性あり（Possible）
薬剤の使用に起因し得る有害事象。代替的な説明、例えば、併用薬、併発症は決定的ではない。時間の関係は合理的であり、したがって、因果関係を除外することができない。
【０６１２】
多分関連あり（Probable）
薬剤の使用に起因し得る有害事象。時間の関係は、示唆的である（例えば、薬剤の投与中断によって確認される）。代替的な説明、例えば、併用薬、併発症は可能性が低い。
【０６１３】
非常に可能性が高い（Very Likely）
有害事象は、可能性のある有害反応として記載され、代替的な説明、例えば、併用薬、併発症によって合理的に説明することができない。時間の関係は、非常に示唆的である（例えば、薬剤の投与中断及び再開によって確認される）。
【０６１４】
１２．１．３．　重症度基準
重症度グレードの評価は、以下の全般的なカテゴリー記述子を使用して行われる：
軽度：容易に耐容され、最小限の不快感を引き起こし、日常活動を妨害しない症状の認識。
【０６１５】
中等度：普段の活動の妨害を引き起こすような十分な不快感が存在する。
【０６１６】
重度：機能の重大な障害又は機能不全を引き起こす、極度な苦痛。正常な日常活動が妨害される。
【０６１７】
治験責任医師は、被験者が直接経験していない事象の重症度（例えば、検査値異常）を評価する際に臨床的判断を使用する必要がある。
【０６１８】
１２．２．　特別な報告状況
緊急報告及び／又は安全性評価を必要とし得る治験依頼者試験薬に対する関心の安全性事象としては、以下が挙げられるが、これらに限定されない：
●治験依頼者治験薬の過剰投与

●治験依頼者治験薬の乱用／誤用の疑い
●治験依頼者治験薬への不注意又は偶発的曝露
●治験依頼者治験薬の予想される薬理学的作用の任意の不全（すなわち、効果の欠如）
●治験依頼者治験薬の使用からの予想外の治療的又は臨床的利益
●治験依頼者製剤に関与する投薬エラー（治験依頼者治験薬への被験者／患者の曝露を伴うか又は伴わない、例えば、名前の混乱）

【０６１９】

特別な報告状況は、ＣＲＦに記録する必要がある。重篤な有害事象の基準を満たす任意の特別な報告状況は、ＣＲＦの重篤な有害事象ページに記録する必要がある。

【０６２０】

１２．３．　手順

１２．３．１．　全ての有害事象

重篤であるか重篤でないかにかかわらず、全ての有害事象及び特別な報告状況は、署名され、かつ日付を記入したＩＣＦが取得された時間から、被験者の最後の試験関連処置の完了まで（安全性フォローアップのための連絡を含み得る）報告される。試験の終了の３０日以内に、治験責任医師に自発的に報告されたものを含む重篤な有害事象は、「重篤な有害事象フォーム」を使用して報告される必要がある。治験依頼者は、プロトコルに指定された時間枠を超えて、治験責任医師によって自発的に報告される任意の安全性情報を評価する。

【０６２１】

重篤な有害事象の定義を満たす全ての事象は、それらがプロトコルに固有の評価であるかどうかにかかわらず、重篤な有害事象として報告される。

【０６２２】

全ての有害事象は、重篤性、重症度、又は試験薬との推定される関係にかかわらず、医療専門用語を使用して原文書ＣＲＦに記録される必要がある。可能な場合はいつでも、徴候及び症状が、共通の病因のためである場合、診断を行う必要がある（例えば、咳、鼻水、くしゃみ、咽頭炎、及び鼻詰まりが「上気道感染」として報告される必要がある）。治験責任医師は、試験療法に対する有害事象の関係に関する意見をＣＲＦに記録する必要がある。有害事象管理に必要な全ての測定は、原文書に記録され、治験依頼者命令に従って報告される必要がある。

【０６２３】

治験依頼者は、規制当局への有害事象の適切な報告の責任を負う。治験依頼者はまた、治験責任医師（及び必要な場合、治験施設の所長）に、記載されておらず（予想されておらず）かつ試験薬の使用に関連する全ての重篤な有害事象を報告する。治験責任医師（又は必要な場合、治験依頼者）は、別途必要とされ、ＩＥＣ／ＩＲＢによって文書化されない限り、プロトコルを承認した適切な独立倫理委員会／施設内審査委員会（Independent Ethics Committee/Institutional Review Board）（ＩＥＣ／ＩＲＢ）に報告する必要がある。

【０６２４】

非盲検試験を含む外来期を有する全ての試験では、被験者に、「ウォレット（試験）カード」が提供される必要があり、以下を示す試験の継続期間にわたってこのカードを携行するように指示される必要がある。

●試験番号
●対象が臨床試験に参加していることを現地語で説明した文書
●治験責任医師の名前及び２４時間連絡可能な電話番号
●現地治験依頼者の名前及び２４時間連絡可能な電話番号（医療スタッフ用のみ）
●施設番号
●対象番号
●その他、盲検を緊急中断するために必要な情報

【０６２５】

１２．３．２．　重篤な有害事象

試験中に生じる全ての重篤な有害事象は、試験施設担当者により、その事象の認識後２４時間以内に、適切な治験依頼者連絡担当者に報告される必要がある。

【０６２６】

重篤な有害事象に関する情報は、「重篤な有害事象フォーム」を使用して治験依頼者に送信され、これは、試験施設から医師によって全て記入及び署名され、２４時間以内に治験依頼者に送信される必要がある。重篤な有害事象の初期及びフォローアップ報告は、ファクシミリ（ファックス）によって行われるべきである。

【０６２７】

試験の終了までに解明されていないか、又は試験における被験者の参加の中断時に解明されていない全ての重篤な有害事象は、以下のいずれかが生じるまで追跡される必要がある。

●事象が軽快する

●事象が安定する

●ベースライン値／ステータスが利用可能である場合、事象がベースラインに戻る

●事象が、治験薬以外の薬剤、又は試験実施とは無関係な要因に起因する可能性がある

●いかなる追加情報も得られる可能性が低くなる（被験者又は医療従事者が、追加情報を提供することを断り、フォローアップの取り組みによる適切な注意の表明後にフォローアップ（経過観察）不能となる）

【０６２８】

医薬品による感染因子の疑わしい伝播は、重篤な有害事象として報告される。被験者の試験参加の過程で生じる入院（又は入院の延長）を必要とするいずれの事象も、以下の入院を除いて重篤な有害事象として報告される必要がある：

●急性疾患又は有害事象の治療を行うことを意図しない入院（例えば、長期療養施設における配置待機などの社会的理由）

●試験に入る前に計画された手術又は処置（ＣＲＦに文書化される必要がある）。注：ＩＣＦの署名の前に計画された入院であり、入院計画目的の基礎疾患が悪化していなかった場合、重篤な有害事象とはみなされない。最初に計画された入院の延長をもたらすいかなる有害事象があれば、新しい重篤な有害事象として報告される。

【０６２９】

試験薬の最後の投与から２ヶ月以内の試験における被験者の死亡の原因は、事象が予測されるか、又は試験薬に関連しているかどうかにかかわらず、重篤な有害事象であると見なされる。

【０６３０】

１２．３．３．　妊娠

全ての妊娠の最初の報告は、適切な妊娠通知フォームを使用して、その事象の認識の２４時間以内に、試験施設担当者によって治験依頼者に報告される必要がある。異常な妊娠結果（例えば、自然流産、死産、及び先天異常）は、重篤な有害事象と見なされ、「重篤な有害事象フォーム」を使用して報告される必要がある。試験中に妊娠した任意の被験者は、更なる試験治療を中止する必要がある。

【０６３１】

精子に対する試験薬の影響は不明であるため、試験に含まれている男性被験者のパートナーにおける妊婦は、適切な妊娠通知フォームを使用して、その事象の認識から２４時間以内に、試験施設担当者によって報告されることになる。

【０６３２】

妊娠の結果及び乳児のあらゆる出生後遺症の結果に関するフォローアップ情報が必要とされる。

【０６３３】

１２．４．　特に関心となる事象

この臨床試験に参加している被験者における試験薬の最初投与後に生じる、新たに特定

された悪性腫瘍又は活動性ＴＢの症例は、セクション１２．３の手順に従って、治験責任医師によって報告される必要がある。治験責任医師はまた、ほとんどの国では、活動性ＴＢが報告可能な疾患と見なされることも助言されている。これらの事象は、重篤な有事事象の定義を満たす場合にのみ重篤であると見なされるべきである。

【０６３４】

１３．　治験薬情報

１３．１．　試験薬の物理的記述

試験製品であるゴリムマブは、単回使用バイアル中で４ｍＬ（５０ｍｇ、１２．５ｍｇ／ｍＬ）の体積でＩＶ注入用の滅菌液として供給される。各バイアルは、ｐＨ５．５のヒスチジン、ソルビトール、及びポリソルベート８０の水性媒体中にゴリムマブを含む。防腐剤は存在しない。これは、治験依頼者の責任の下で製造及び提供される。

【０６３５】

ＭＴＸ（経口又は注射可能）は、治験依頼者によって供給されず、むしろ商業薬剤から取得される必要がある。

【０６３６】

１３．２．　調製、取り扱い、及び保管

ガラスバイアル中の液体試験薬剤は、そのまま使用可能な状態で供給される。試験施設では、ゴリムマブ溶液のバイアルは、２℃～８℃（３５．６°Ｆ～４６．４°Ｆ）の範囲の調節された温度で、固定された冷蔵庫内に保管される必要がある。

【０６３７】

若年性特発性関節炎患者における静脈内ゴリムマブの薬物動態、有効性、及び安全性：非盲検第３相試験の結果

患者及び方法

目的

２８週間の治療及び５２週間の治療を通じた、現在のメトトレキサート（ＭＴＸ）療法にもかかわらず活動性の多関節型若年性特発性関節炎（ｐｏｌｙ－ＪＩＡ）を有する小児患者における静脈内（ＩＶ）ゴリムマブの薬物動態（ＰＫ）、有効性、及び安全性を評価すること。

【０６３８】

患者及び試験設計

これは、９ヶ国の３３施設で実施された第３相非盲検単群国際試験であった。適格患者は、スクリーニング及び組み入れ時に２～１８歳未満、体重１５ｋｇ超であり、スクリーニング前にメトトレキサート（ＭＴＸ；１０ｍｇ／ｍ^{2}以上）による治療を２ヶ月以上受けていたにもかかわらず、少なくとも３ヶ月のｐｏｌｙ－ＪＩＡ及び活動性関節炎（５つ以上の活動性関節）の既往歴を有し、１６歳の誕生日前に疾患が発症した。Ｐｏｌｙ－ＪＩＡには、ＪＩＡ国際リウマチ学会（ＩＬＡＲ）分類基準に従って分類された以下の分類群のうちの１つが含まれ得た：長期化したオリゴ関節性ＪＩＡ、リウマチ因子（ＲＦ）陽性若しくはＲＦ陰性ｐｏｌｙ－ＪＩＡ、３ヶ月以上にわたって全身性症状がない全身性ＪＩＡ、付着部炎関連関節炎、又は多関節型若年性乾癬性関節炎。

【０６３９】

全ての適格患者は、０週目及び４週目に８０ｍｇ／ｍ^{2}のゴリムマブ（２４０ｍｇの最大単回用量）ＩＶ（３０±１０分超）を投与され、次いで、２８週目まで８週毎（ｑ８ｗ；±３日）、及び５２週目までにｑ８ｗ（±１週）で投与された（図１８）。体表面積（ＢＳＡ）を各来院時に計算し、ゴリムマブのＩＶ用量を必要に応じて調節して用量を８０ｍｇ／ｍ^{2}に維持した。市販のＭＴＸを、試験組み入れ時と同じＢＳＡベースの用量（ＢＳＡ＜１．６７ｍ^{2}の患者では１０～３０ｍｇ／ｍ^2、又はＢＳＡ≧１．６７ｍ^{2}の患者では最小用量１５ｍｇ／週）で、少なくとも２８週目まで毎週投与した。２８週目の後、患者は、ＭＴＸ、他のＤＭＡＲＤ、グルココルチコイド、及びＮＳＡＩＤを変更又は追加することを許可された。第５２週目で試験を完了する患者には、進行中である試験の長期延長相に入る選択肢を与えた。

【０６４０】
患者は医学的に安定している必要があり、スクリーニング前の３ヶ月以内に活動性ブドウ膜炎を有し得ず、重大な同時病状を有し得なかった。患者を結核についてスクリーニングし、活動性結核のエビデンスを有する患者を除外した。潜在性結核を有する患者は、現在潜在性結核の治療を受けている場合に適格であった。妊娠可能性のある患者は、スクリーニング時及び各来院時に妊娠検査が陰性である必要があり、性的に活発な患者は、非常に効果的な受胎調節法を使用することに同意する必要がある。
【０６４１】
患者がグルココルチコイド又はＮＳＡＩＤを用いた場合（プレドニゾン等価物について、１０ｍｇ以下／日又は０．２０ｍｇ／ｋｇ／日（いずれか少ない方））、用量は、ゴリムマブの最初のＩＶ投与又はスクリーニングの前に、それぞれ、２週間以上安定している必要がある。患者の最大３０％は、２つ以下の抗ＴＮＦ剤に以前に曝露されている可能性があった。ゴリムマブの初回ＩＶ投与の前にｂ－ＤＭＡＲＤ又は小分子治療薬で治療された患者は、特定のウォッシュアウト期間を観察する必要があった。第１の試験薬剤投与についてのウォッシュアウト期間は、インターロイキン（ＩＬ）－１ｒａで１週間、ヤーヌスキナーゼ阻害剤で２週間、関節内、筋肉内、若しくはＩＶグルココルチコイド、レフルノミド、エタネルセプト、又はＤＭＡＲＤ開始で４週間、アダリムマブ又はセルトリズマブ・ペゴールで６週間、アバタセプト、インフリキシマブ、又はトシリズマブで８週間、ＩＬ－１２／２３阻害剤、アルファセプト、生ウイルス若しくは生菌ワクチンの接種、治験薬、又は医療デバイスで３ヶ月、カナキヌマブで４ヶ月、及びＢ細胞若しくはＴ細胞を枯渇させるカルメット・ゲラン桿菌ワクチン接種又は薬剤で１２ヶ月であった。細胞傷害性剤は禁止された。
【０６４２】
独立倫理委員会又は治験審査委員会が各施設について試験プロトコルを承認し、この試験はヘルシンキ宣言を起源とし、医薬品の臨床試験の実施に関する基準及び適用可能な規制条件と一致する倫理的原則に従って行われた。この試験は、ＣｌｉｎｉｃａｌＴｒｉａｌｓ．ｇｏｖ（ＮＣＴ０２２７７４４４）で登録された。７歳以上の患者が同意し、親、法的保護者、又は法的に許容される代表者が試験参加のための書面によるインフォームドコンセントを提出した。
【０６４３】
試験評価
血清ゴリムマブ濃度は、０、４、８、１２、２０、２８、及び５２週目に測定した。注入前及び注入後の試料を、第０週目、第４週目、及び第１２週目に採取し、追加の無作為母集団ＰＫ試料を、第０週目、第４週目、及び第８週目の来院時以外の第０週目～第８週目の任意の時点で採取し、試験薬剤投与の少なくとも２４時間前又は後に採取した。注入前試料は、８、２０、２８、及び５２週目にのみ採取した。血清試料は、検証された特異的かつ高感度の方法を用いて分析した。
【０６４４】
有効性評価には、測定値のＪＩＡコアセット（医師による全体的な疾患活動性の全般的評価［医学博士（ＭＤ）による疾患活動性全般）；「関節炎活動性なし」から「極めて活動性の関節炎」までの０～１０ｃｍの視覚的アナログスケール（ＶＡＳ）］、活動性関節炎を有する関節の数［腫脹、又は腫脹が存在しない場合、可動域の制限を有する関節及び痛みを同時に伴う関節］、可動域の制限を有する関節の数、小児健康調査質問票の異文化適合され検証されたバージョン［ＣＨＡＱ；ＶＡＳ（０～１０ｃｍ）を用いた全体的な健康及び疼痛の親の評価を含む］、及びＣ反応性タンパク質［ＣＲＰ；基礎炎症性疾患を有しない患者では、正常≦０．２８７ｍｇ／ｄＬ］）、及び朝のこわばりの持続時間が含まれた。
【０６４５】
安全性評価は来院時毎に実施し、これは日常的な実験室評価を含んだ。任意の有害事象（ＡＥ）が逐語的な用語として報告され、医薬規制用語集（ＭｅｄＤＲＡ）バージョン２

１．１に従ってコード化された。ゴリムマブに対する抗体は、検証された非常に敏感な薬物耐性酵素イムノアッセイ法を用いて、０、４、８、１２、２８、及び５２週目に収集された血清試料において評価された。ゴリムマブに特異的な抗体を有する試料は抗薬物抗体（ＡＤＡ）陽性として分類した。５２週目までの初回ゴリムマブ投与後の任意の時点においてＡＤＡ陽性（治療ブースト［ベースライン試料がＡＤＡ陽性であった場合は力価の増加］又は治療誘導）と分類された試料を有する患者を、ゴリムマブに対する抗体について陽性と分類した。ＡＤＡ陽性と分類されたベースライン試料を有し、治療後に力価の増加がない患者を、ゴリムマブに対する抗体について陰性と分類した。抗核抗体（ＡＮＡ）／抗二本鎖ＤＮＡ（ｄｓＤＮＡ）抗体の存在を、ベースライン、第２４週目、及び第５２週目に収集した血清試料で評価した。

【０６４６】

試験評価項目

本試験の一次評価項目は、第２８週目のＰＫ曝露（第２８週目におけるトラフ濃度）、及び８週間の１回投与間隔にわたるモデル予測定常状態の第２８週目の曲線下面積（ＡＵＣｓｓ）（母集団のＰＫモデリング及びシミュレーションから）であった。主要二次評価項目は、第５２週目のＰＫ曝露（第５２週目のトラフ濃度）及び第５２週目のモデル予測ＡＵＣｓｓであった。

【０６４７】

有効性評価項目は、初回ＩＶゴリムマブ投与（０週目）の前に行われた最も近い評価に対して計算された、ＪＩＡ米国リウマチ学会（ＡＣＲ）３０、５０、７０、及び９０応答（残りのＪＩＡコア測定値の１つ超において３０％以上の悪化を伴わずに、３つ以上において、ベースラインから３０％、５０％、７０％、又は９０％の改善として定義）；ＪＩＡ　ＡＣＲ非活動性疾患の修正版（活動性関節炎及び活動性ブドウ膜炎を有しない関節として定義）；ＪＩＡに起因する発熱、発疹、漿膜炎、脾腫、肝腫大、又は一般化リンパ節症なし；正規化ＣＲＰ；ＭＤ全般５ｍｍ以下［疾患活動性なし］；及び１５分未満の朝のこわばりの持続時間）；ｐｏｌｙ－ＪＩＡ薬剤投与における臨床的寛解（薬剤投与中の６ヶ月以上にわたる各来院における非活動性疾患として定義）、並びに若年性関節炎疾患活動性スコア計数７１関節（ＪＡＤＡＳ　７１；カットオフ値は、高疾患活動性［ＨＤＡ］では１０．５超、中程度疾患活動性［ＭＤＡ］では３．９～１０．５、低疾患活動性［ＬＤＡ］では１．１～３．８、及び非活動性疾患［ＩＤ］では１以下であった）を含んだ。

【０６４８】

統計分析：

この試験は臨床試験報告に関する統合基準（ＣＯＮＳＯＲＴ）声明の勧告に従っており、結果は完全な分析セットについて報告された。少なくとも１用量の試験薬剤を投与された全患者を、ＰＫ（分析に十分なＰＫ試料を有していた場合）、有効性、及び安全性分析に含めた。第２８週目までのデータを用いて母集団のＰＫ分析を行って、ゴリムマブのＰＫを特徴付け、ｐｏｌｙ－ＪＩＡを有する小児患者におけるＰＫの重要な共変数を特定した。母集団ＰＫモデルを使用して、小児におけるＰＫの成人のＰＫとの類似性を評価した。クリアランス及び分布容積は、非線形混合効果モデリング（ＮＯＮＭＥＭ）アプローチを用いて推定された。曝露応答分析もまた行って曝露量と有効性との間の関係を調査し特徴付けた。小児集団におけるＰＫ曝露の測定値を、第０週目、第４週目、及びその後は８週間毎にＩＶゴリムマブ２ｍｇ／ｋｇを投与され、参照集団として使用されたＲＡを有する成人における、以前の試験からのＰＫ曝露と比較した。

【０６４９】

バイナリ複合有効性評価項目の分析のために、補完ルール（完全に欠落したデータについてはノンレスポンダーの補完［ＮＲＩ］、欠落した構成要素については最終観測値繰越［ＬＯＣＦ］）を使用して、治療意図（ＩＴＴ）の原則に従って欠落データを補完した。連続評価項目又は欠落濃度データについての補完はなかった。正式な仮説検定は実施しなかった。概して、平均、中央値、標準偏差、四分位内範囲、並びに最小値及び最大値などの記述統計を使用して連続変数のデータを要約し、数及び百分率を使用してカテゴリー変

数のデータを要約した。

【０６５０】

結果

患者の傾向及び疾患の特性

スクリーニングされた１８０人の患者のうち、１２７人（７１％）が、組み込まれ、少なくとも１用量のＩＶゴリムマブを投与され、完全分析データセットに含められた（図１９）。１２７名の治療患者のうち、１１３名（８９％）が５２週目まで試験に残った。ＡＥが試験中止の主な理由であった。

【０６５１】

ｐｏｌｙ－ＪＩＡのベースライン人口統計、疾患特徴、及び以前の治療を、表９に要約する。ベースライン時の年齢中央値は１３歳であり、患者の大部分は女性（７３％）及び白人（６７％）であり、体重中央値は４２．４ｋｇであった。患者の大部分は、ＲＦ陰性（４３％）及びＲＦ陽性（３５％）のｐｏｌｙ－ＪＩＡとして分類された。最も一般的な従前の薬物はＮＳＡＩＤ（９４％）及び全身性グルココルチコイド（５７％）であった。以前に抗ＴＮＦ療法を受けた２５人の患者のうち、ほとんど（８０％）がエタネルセプトを投与されていた。ベースライン時に、７２％の患者がＮＳＡＩＤを服用しており、３７％が経口グルココルチコイドを服用しており、１０％がＭＴＸ以外のｓ－ＤＭＡＲＤを服用していた。ベースライン時に、１２１名（９９％）の患者が、ＪＡＤＡＳ７１によって測定されるような高疾患活動性を有していた（表１０）。

【０６５２】

【表１３】

表９．ベースライン人口統計、疾患特性、及び以前の関節炎治療

特性	ゴリムマブ（N＝127）
年齢（歳）	13．0（8．0、15．0）
女性、n（%）	93（73．2）
人種、n（%）	
白人	85（66．9）
その他	28（22．0）
ヒスパニック又はラテンアメリカ系、n（%）	63（49．6）
体重（kg）	42．4（29．2、57．0）
BSA、m^2	1．3（1．0、1．6）
疾患の持続時間（年）	1．4（0．5、4．0）
ILAR分類、n（%）	
多関節リウマチ因子－陰性	54（42．5）
多関節リウマチ因子－陽性	44（34．6）
付着部炎関連関節炎	12（9．4）
拡張オリゴ関節炎	8（6．3）
若年性乾癬性関節炎	5（3．9）
全身症状はないが、多関節型を有する全身性	4（3．1）
ANA陽性、n（%）	64（50．4）
以前の関節処置又は注射、n（%）	26（20．5）
ステロイド関節注射	25（96．2）
その他[a]	10（38．5）
ベースラインJIA薬[b]	
メトトレキサート、n（%）	127（100）
メトトレキサート用量、mg／m^2／週	13．6（4．5）
メトトレキサート以外のs－DMARD、n（%）	13（10．2）
経口グルココルチコイド、n（%）	47（37．0）
プレドニゾン又は等価物の用量、mg／kg／日	0．16（0．1）
NSAID、n（%）	92（72．4）
以前のJIA薬、[c]n（%）	
メトトレキサート	127（100）
メトトレキサート以外のs－DMARD[d]	25（19．7）
抗TNF療法	25（19．7）
抗TNF療法以外のb－DMARD	3（2．4）
全身性グルココルチコイド	72（56．7）
NSAID	119（93．7）

特に明記しない限り、値は中央値（IQ範囲）である。
[a]関節穿刺、関節鏡検査（外科又は診断）、骨切り術、腱の外科手術
[b]ベースラインJIA薬は、最初の試験薬剤投与の前及び後の両方で使用される任意の薬剤である
[c]以前のJIA投薬は、開始日が最初の試験薬剤投与の日より前の任意の投薬である
[d]含まれる免疫抑制剤シクロスポリン（n＝2）及びアザチオプリン（n＝1）
ANA、抗核抗体；b－DMARD、生物学的疾患変性抗リウマチ薬；BSA、体表面積；DMARD、疾患変性抗リウマチ薬；ILAR、国際リウマチ学会；IQ、四分位間；JIA、若年性特発性関節炎；N、全治療患者；n、患者数；NSAID、非ステロイド性抗炎症薬；s－DMARD、合成疾患変性抗リウマチ薬；TNF、腫瘍壊死因子

【０６５３】

【表１４】

表１０．ＪＩＡコアセットの測定値及び他の疾患活動性パラメータの要約（Ｎ＝１２７）

特性	ベースライン	第４週目	第２８週目	第５２週目
JIAコアセット測定				
疾患活動性のMD全般、VAS 0～10cm	５．５（４．５、６．８）[a]	２．２（１．０、３．８）	０．５（０．１、１．２）	０．３（０．０、１．４）
全体的な健康状態の親による評価、VAS ０～１０cm	５．４（３．３、６．９）	２．６（１．１、５．０）	１．７（０．３、４．８）	１．１（０．２、４．２）
活動性関節の数	１４．０（９．０、２２．０）	６．０（２．０、１１．０）	１．０（０．０、４．０）	０．０（０．０、３．０）
可動域が制限された関節の数	１０．０（４．０、１８．０）	３．０（０．０、９．０）	１．０（０．０、４．０）	１．０（０．０、５．０）
CHAQ、０～３スコア	１．２５（０．８、１．９）	０．９（０．４、１．４）	０．４（０．０、１．１）	０．４（０．０、１．１）
CRP、mg／dL[b]	０．５（０．１、１．１）	０．１（０．０、０．３）	０．１（０．０、０．７）	０．１（０．０、０．６）
朝のこわばりの持続時間、分	４０（２０、６０）	５（０、３０）	０（０、１５）	０（０、１５）
JADAS71、平均（９５％信頼区間）	２８．４（２６．１、３０．７）	１４．６（１２．４、１６．８）	６．８（５．２、８．３）	５．４（３．９、６．９）
JADAS71 高疾患活動性＞１０．５、n（％）	１２１（９９．２）	７３（５８．９）	２３（２０．２）	１６（１４．５）
JADAS71 中程度疾患活動性３．９～１０．５、n（％）	１（０．８）	３２（２５．８）	３７（３２．５）	３２（２９．１）
JADAS71 低疾患活動性１．１～３．８、n（％）	０	１５（１２．１）	２７（２３．７）	２３（２０．９）
JADAS71 非活動性疾患≦１、n（％）	０	４（３．２）	２７（２３．７）	３９（３５．５）

特に明記しない限り、全ての値は中央値（IQ範囲）である。
[a]n＝１２２
[b]正常は０．２８７mg／dL以下である。
９５％信頼区間は、次の正常な近似値に基づいている：平均±１．９６×SD／√N
CHAQ、小児健康調査質問票；CRP、C反応性タンパク質；IQ、四分位間；JADAS ７１、評価された若年性関節炎疾患活動性スコア７１関節；JIA、若年性特発性関節炎；MD、医学博士；VAS、視覚的アナログスケール

【０６５４】

薬物動態及び免疫原性

全体として、第０週目、第４週目、及びその後はｑ８ｗでのＩＶゴリムマブ８０ｍｇ／ｍ^{2}の投与後のｐｏｌｙ－ＪＩＡ患者におけるＰＫ曝露は、成人ＲＡ参照集団におけるＰＫ曝露と同様であった（図２０Ａ及び図２０Ｂ）。ｐｏｌｙ－ＪＩＡ患者における定常状態トラフのゴリムマブ濃度の全体的な中央値は、第２８週目で０．４０μｇ／ｍＬ（平均±ＳＤ：０．５０±０．４３μｇ／ｍＬ）、第５２週目で０．４５μｇ／ｍＬ（平均±ＳＤ：０．５２±０．４８μｇ／ｍＬ）であった。全体的な定常状態のトラフゴリムマブ濃度の中央値は、第２８週目の小児の年齢分類群で同程度であり、成人ＲＡ対照集団における第３６週目のトラフゴリムマブ濃度の中央値（０．３１μｇ／ｍＬ；平均値±ＳＤ　０．４１±０．５２μｇ／ｍＬ）と同程度であった（図２０Ａ）。観察された中央値トラフゴリムマブ濃度もまた、第２８週目の体重四分位群にわたって同様であった。

【０６５５】

８週間の投与間隔にわたるｐｏｌｙ－ＪＩＡ患者の集団ＰＫモデル予測中央値の全ＡＵＣｓｓは、第２８週目で３９９μｇ・日／ｍＬ、及び第５２週目で４２１μｇ・日／ｍＬであった。これらの値は小児年齢分類群にわたって一貫していた（図２０Ｂ）。ｐｏｌｙ－ＪＩＡ患者におけるモデル予測ＡＵＣｓｓ値は、成人ＲＡ参照集団で観察されたＡＵＣｓｓ（２４８μｇ・ｄａｙ／ｍＬ）よりわずかに高かった（図２０Ｂ）。しかしながら、モノクローナル抗体は、ＰＫに中程度から高程度の変動性を有することが示されている。

【０６５６】

５２週目まで、適切な試料を有する１２５名の治療患者のうち３９名（３１％）がゴリムマブに対する抗体について陽性であり、２４名（１９％）が中和抗体について陽性であった。ゴリムマブに対する抗体のピーク力価は、５人の患者で１０未満、１７人の患者で１０以上～１００未満、１３人の患者で１００以上～１０００未満、４人の患者で１０００以上であった。トラフゴリムマブ濃度の中央値は、抗体陽性患者では抗体陰性患者よりも低い傾向があった（第５２週目で０．００［ｎ＝３２］対０．６１μｇ／ｍＬ［ｎ＝６３］）。

【０６５７】

有効性

表１０に示すように、ＪＩＡ　ＡＣＲ構成項目スコアのベースラインからの改善は第４週目に早くも観察され、第２８週目～第５２週目まで維持された。第２８週目及び第５２週目で、それぞれ、改善パーセントの中央値は、疾患活動性のＭＤ全般では９２％及び９６％、全体的な健康状態の親による評価では６３％及び７０％、活動性関節の数では９４％及び１００％、可動域の制限を有する関節の数では８９％及び８５％、ＣＨＡＱによる身体機能では５７％及び６３％、並びにＣＲＰでは５３％及び４８％であった。

【０６５８】

同様に、ＪＩＡ　ＡＣＲ３０、５０、７０、及び９０の応答が第４週目に早くも観察され、患者の５０％超が少なくともＪＩＡ　ＡＣＲ５０を達成した（図２１Ａ）。第２８週目に、患者の７０％が少なくともＪＩＡ　ＡＣＲ７０応答を達成し、ほぼ半分（４７％）がＪＩＡ　ＡＣＲ９０応答を達成した。これらの応答率は第５２週目まで維持された。第２８週目及び第５２週目まで、一貫して高いＪＩＡ　ＡＣＲ応答率が、ＪＩＡ　ＡＣＲ３０、５０、７０、及び９０について血清トラフゴリムマブ濃度四分位群にわたって観察された（データ示さず）。第５２週目では、血清トラフゴリムマブ濃度の中央値は、ノンレスポンダー（０．０４μｇ／ｍＬ、ｎ＝１２）よりもＪＩＡ　ＡＣＲ３０レスポンダー（０．４７μｇ／ｍＬ、ｎ＝８３）で高かった。１２人のうち６人がゴリムマブ抗体について陽性であった。

【０６５９】

異なるｐｏｌｙ－ＪＩＡサブタイプ間のＪＩＡ　ＡＣＲ３０、５０、７０、及び９０応答率は、全体集団で観察されたものと概ね類似していた；しかしながら、応答率は、全身症状はないが多関節型を有する全身性ｐｏｌｙ－ＪＩＡの患者では概して低く（第５２週目に、２５％が少なくともＪＩＡ　ＡＣＲ７０応答を達成した）、拡張オリゴ関節炎又は若年性乾癬性関節炎の患者では概して高かった（第５２週目に、８８％及び８０％がそれぞれ、少なくともＪＩＡ　ＡＣＲ７０応答を達成した）。これらのサブタイプはまた、他のサブタイプよりも患者が少なかったことに留意すべきである（表９）。第５２週目のＪＩＡ　ＡＣＲ３０応答率もまた、以前抗ＴＮＦ療法を受けた患者と受けていない患者とで類似していた（両方の群で７６％）。

【０６６０】

ＪＩＡ　ＡＣＲ非活動性疾患は、第４週目に早くも患者の４％によって達成され、第２８週目に２９％まで、及び第５２週目に３４％まで増加した（図２１Ｂ）。投薬中の臨床的寛解は、第２８週目に早くも患者の２％によって、及び第５２週目に患者の１３％によって達成された（図２１Ｂ）。ＣＨＡＱスコアのベースラインからの平均改善は、第４週目に早くも観察され（０．３４）、第２８週目に０．６２まで増加し、第５２週目まで安定したままであった（図２１Ｃ）。改善のパターンは患者の疼痛の親による評価について同様であった（図２１Ｃ）。

【０６６１】

平均ＪＡＤＡＳ７１スコアの低下が第４週目に早くも観察され、第５２週目まで続いた（図２１Ｄ）。ＪＡＤＡＳ７１におけるベースラインからの平均減少は、第２８週目で－２１．２８及び第５２週目で－２２．１８であった。第４週目に早くも、ＬＤＡが患者の１２％によって達成され、ＩＤが患者の３％によって達成された（表１０）。第５２週目までに、患者の２１％がＬＤＡを達成し、３６％がＩＤを達成した。

【０６６２】
安全性
第５２週まで、ほとんどの患者（８５％）が少なくとも１つのＡＥを経験し、７％が少なくとも１つの重篤なＡＥ（ＳＡＥ）を経験し、９％が中止につながる少なくとも１つのＡＥを経験した（表１１）。治療された患者の過半数（６５％）が１つ以上の感染症を経験し、患者の６％が１つ以上の重篤な感染症を経験し、１人の患者が日和見感染症を経験した。注入反応を有する患者の割合は低く、いずれの反応も重症ではないか又は治療の中止につながらず、注入反応に対してのゴリムマブに対する抗体の影響はなかった。活動性結核、脱髄性事象、又はアナフィラキシ若しくは血清病反応は報告されなかった。全身性エリテマトーデスが１名の患者において報告された。この事象は非重篤であり、ゴリムマブに関連しないと考えられた。第５２週目まで死亡は報告されなかったが、敗血症性ショックに起因（おそらく、腸壁を通じた細菌移行をもたらす便秘に起因）する１名の死亡が第５２週目以降に報告された。その患者は第７６週目にＩＶゴリムマブの最後の用量を投与され、第７８週目に死亡した。この事象は、重篤で強度が重度であり、おそらくゴリムマブに関連していると考えられた。

【０６６３】
ＡＥは、概ね、ゴリムマブ及び他の抗ＴＮＦ療法について確立された安全性プロファイルと一致していた。第５２週目でＡＥの発生率が最も高かったＭｅｄＤＲＡ器官別大分類（ＳＯＣ）は、感染症及び寄生虫症（６７％）であった（表１１）。最も一般的に報告されているＡＥは、上気道感染症（２１．３％）及び鼻咽頭炎（１８％）であった。第５２週目までに９名（７％）の患者がＳＡＥを経験した。播種性帯状疱疹、気管支拡張症の感染増悪、敗血症、水痘、菌状息肉腫、自殺念慮、蜂巣炎、肺炎、連鎖球菌性肺炎、及び胸水を各々経験した患者は、１名（１％）であった（同じ患者で連鎖球菌性肺炎及び複数の胸水が報告された）。水痘、蜂巣炎、及び肺炎を除くこれらの事象の全てが、ＩＶゴリムマブの永続的な中止をもたらした。新たに発症した両眼での前部ブドウ膜炎は、１名の患者において第５２週目までに報告された。発生は初期／非常に軽度と考えられ、治療を必要としなかった。

【０６６４】
第２４週目に評価された１１５人の患者のうち、５７人がベースライン時にＡＮＡ陰性であり、１３人（２３％）が第２４週目に新たにＡＮＡ陽性になった。第５２週目に評価された１１０人の患者のうち、５１人がベースライン時にＡＮＡ陰性であり、１３人（２６％）の患者が５２週目に新たにＡＮＡ陽性になった。これらの新たに陽性になった患者のうち、７名は第２４週目にＡＮＡ陰性であり、６名はＡＮＡ陽性であった。第２４週目にＡＮＡ陽性であった患者６人が５２週目にＡＮＡ陰性になり、１人が試験を中止した。第２４週目に、力価は１１名の患者で１：４０であり、２名の患者で１：１６０であった。第５２週目に、力価は８名の患者で１：４０であり、３名の患者で１：８０であり、２名の患者で１：１６０であった。アッセイは試験全体を通して安定に維持された。第２４週及び第５２週に新たに陽性になった患者のいずれも、ベースライン、第２８週、又は第５２週ではＡＮＡ陽性の病歴を有しておらず、抗ｄｓＤＮＡ抗体について陽性であった者はいなかった。

【０６６５】

【表１５】

表１１．５２週目までの有害事象の要約

	ゴリムマブ（Ｎ＝１２７）
フォローアップの平均持続時間、週	４９．８
平均曝露、投与回数	６．６
１≧のＡＥのために試験薬剤を中止した患者	１１（８．７）
≧１のＡＥを有する患者	１０８（８５．０）
≧１の重篤なＡＥを有する患者	５（３．９）
≧１のＳＡＥを有する患者	９（７．１）
１００患者人年曝露あたりのＡＥ、ｎ（９５％ＣＩ）	３５９．６（３２６．７、３９４．９）
１００患者人年曝露あたりのＳＡＥ、ｎ（９５％ＣＩ）	８．２（４．０、１５．１）
死亡[a]	０
≧１の感染症を有する患者	８３（６５．４）
１≧の重篤な感染症	７（５．５）
１≧の日和見感染症	１（０．８）
１００患者人年曝露あたりの感染症、ｎ（９５％ＣＩ）	１５１．４（１３０．３、１７４．９）
１００患者人年曝露あたりの重篤な感染症、ｎ（９５％ＣＩ）	６．６（２．８、１３．０）
１≧の注入関連反応を有する患者	３（２．４）
１≧の悪性腫瘍を有する患者[b]	１（０．８）
活動性結核を有する患者	０
ＡＮＡ／抗ｄｓＤＮＡ抗体[c]	１３（２５．５）
ＳＯＣ及び関連ＰＴによる一般的なＡＥ（患者の５％以上で発生）	
感染症及び体内侵入	８５（６６．９）
上気道感染症	２７（２１．３）
鼻咽頭炎	２３（１８．１）
胃腸障害	３０（２３．６）
悪心	１１（８．７）
嘔吐	１０（７．９）
腹痛	８（６．３）
筋骨格及び結合組織障害	２４（１８．９）
若年性特発性関節炎	１４（１１．０）
神経系障害	２０（１５．７）
頭痛	１４（１１．０）
治験	１３（１０．２）
アラニンアミノトランスフェラーゼ増加	７（５．５）

特に明記しない限り、全ての値はｎ（％）である。
[a]第７８週目に敗血症ショックによる１例の死亡が報告された。
[b]菌状息肉腫
[c]新たに発生；ベースライン時にＡＮＡ陰性であった５１名の患者のうち
ＡＥ、有害事象；ＡＮＡ、抗核抗体；ａｎｔｉ－ｄｓＤＮＡ、抗二本鎖デオキシリボ核酸；ＣＩ、信頼区間；Ｎ、全治療患者；ｎ、患者数；ＰＴ、優先使用語；ＳＡＥ、重篤な有害事象；ＳＯＣ、器官別大分類

【０６６６】

考察

ｐｏｌｙ－ＪＩＡを有する小児患者におけるこの非盲検第３相試験では、ＩＶゴリムマブ＋ＭＴＸは、ＲＡを有する成人において有効であることが見出されたＰＫ曝露と同様のＰＫ曝露を提供した。血清ゴリムマブ濃度及びＡＵＣｓｓのトラフ中央値は、概して経時的に維持され、年齢群及び体重四分位群にわたって類似しており、ＢＳＡベースの投与が、ｐｏｌｙ－ＪＩＡ年齢及び体重範囲全体にわたって類似したＰＫ曝露を達成するために適切であったことを示していた。

【０６６７】

特に、トラフレベルが比較的低く、したがって試験ごとに大きく変化する場合、定常状

態のトラフレベルの交差試験比較は困難であり得ることが十分に認識された。試験間の変動性を交差試験比較の文脈に入れるために、ｐｏｌｙ－ＪＩＡで観察された定常状態のトラフ濃度もまた、ＲＡ、乾癬性関節炎、及び強直性脊椎炎を含むＩＶゴリムマブを用いた３つ全ての成人第３相試験と比較した。第２８週目のｐｏｌｙ－ＪＩＡ患者における定常状態のトラフ血清ゴリムマブ濃度の中央値（平均±ＳＤ）である０．４０μｇ／ｍＬ（０．５０±０．４３μｇ／ｍＬ）は、ゴリムマブのＩＶ投与を受けた第３６週目のＲＡ、乾癬性関節炎、又は強直性脊椎炎を有する成人について、観察された範囲内であった（それぞれ、０．３１［０．４１±０．５２］、０．６１［０．６９±０．５８］、及び０．７１［０．７４±０．５１］μｇ／ｍＬ）。試験間の変動性を考慮すると、これらのＰＫデータは、この試験において子供で観察された定常状態のゴリムマブ濃度が概ね成人ＲＡ参照集団で観察された濃度と類似していたという結論を裏付けている。

【０６６８】

注目すべきことに、この小児試験における最大体重四分位群の患者は、７３ｋｇ（範囲：５７．００～１４２．７０ｋｇ）の平均体重を有し、これは、成人ＲＡ参照集団の平均体重（７２ｋｇ；範囲：３９．００～１２５．００ｋｇ）と同様であった。加えて、成人ＲＡ試験で使用された２ｍｇ／ｋｇ用量と小児試験で使用された８０ｍｇ／ｍ^{2}用量との総用量差の計算値から、体重四分位群が最も高い群では用量差が小さく（平均２％；範囲：－１３％～１６％）、この群のｐｏｌｙ－ＪＩＡ患者は成人ＲＡ参照集団と同程度のゴリムマブ用量を投与されたことが実証された。したがって、最大体重四分位群からのＰＫ曝露は、異なる年齢及び体重サブグループにわたるＰＫ比較のための内部参照を提供することにより、全てのｐｏｌｙ－ＪＩＡサブグループにおけるＰＫ曝露が成人ＲＡ参照集団におけるＰＫ曝露と類似していたことを実証する。

【０６６９】

ＩＶゴリムマブは、第５２週まで概ね維持されたｐｏｌｙ－ＪＩＡの臨床徴候及び症状の減少をもたらした。一貫して高いＪＩＡ　ＡＣＲ３０、５０、７０、及び９０の応答率が、ＪＩＡ　ＡＣＲ応答及びｐｏｌｙ－ＪＩＡサブタイプについてのトラフ血清ゴリムマブ濃度四分位群にわたって、並びに以前の抗ＴＮＦ曝露を受けた患者及び受けていない患者において、全体的に観察された。本試験においてＩＶゴリムマブで観察されたＪＩＡ　ＡＣＲ応答率及び他の臨床応答は、同様の第３相ｐｏｌｙ－ＪＩＡ試験におけるＳＣゴリムマブ及び他のｂ－ＤＭＡＲＤについて報告されたものと一致する。

【０６７０】

トラフゴリムマブ濃度の中央値は、ＡＤＡ陽性患者ではＡＤＡ陰性患者と比較して低く、ＪＩＡ　ＡＣＲ３０ノンレスポンダーではレスポンダーと比較して低かった。ＪＩＡ　ＡＣＲ３０のノンレスポンダー全体におけるゴリムマブ濃度の中央値が低かったのは、１２人のＪＩＡ　ＡＣＲ３０ノンレスポンダーのうち６人がＡＤＡ陽性であり、定量下限未満のゴリムマブ濃度の中央値を有していたためであった。しかしながら、第５２週の１２人のノンレスポンダーのうち６人もまたＡＤＡ陰性であったので、ＡＤＡの状態が有効性プロファイルに影響を及ぼしたとは考えられない。加えて、ＪＩＡ　ＡＣＲ３０応答率は、ＡＤＡ陽性患者とＡＤＡ陰性患者とで類似していた（それぞれ、７９％対７４％）。

【０６７１】

第５２週目までのｐｏｌｙ－ＪＩＡ患者におけるＩＶゴリムマブの全体的な安全性プロファイルは、リウマチ性疾患の成人患者におけるＩＶゴリムマブ及びｐｏｌｙ－ＪＩＡ患者におけるＳＣゴリムマブの安全性プロファイルと一致していた。第５２週目まで死亡はなかったが、ＩＶゴリムマブにおそらく関連すると考えられた１人の死亡が第７８週目に報告された。同様の第３相ｐｏｌｙ－ＪＩＡ試験において、ＳＣゴリムマブ及び他のｂ－ＤＭＡＲＤでは死亡は報告されなかった。１３名の患者が第５２週目に新たにＡＮＡ抗体を生じ、これらの患者のいずれも抗ｄｓＤＮＡ抗体を有していなかった。

【０６７２】

登録目的の試験に関与する企業は、薬物提供の代替方法が特定されるまで、治験に組み込まれた子供に薬物を提供し続けるべきであるということが、ＰＲＩＮＴＯ及びＰＲＣＳ

Ｇネットワークの倫理的要件である。以前に報告されたように、この要件は、子供がｂ－ＤＭＡＲＤの高いコストをカバーするために公的又は私的な保険をかけていないことがある、資金の少ない国にとって特に重要である。この試験では、試験に組み込まれた１８歳に達した子供については、第２５２週間後に薬物の提供を停止した。ＩＶゴリムマブは、試験に参加している多くの国（９ヶ国のうち７ヶ国）でＲＡ、ＰｓＡ、又はＡＳのために現在市販されている。

【０６７３】

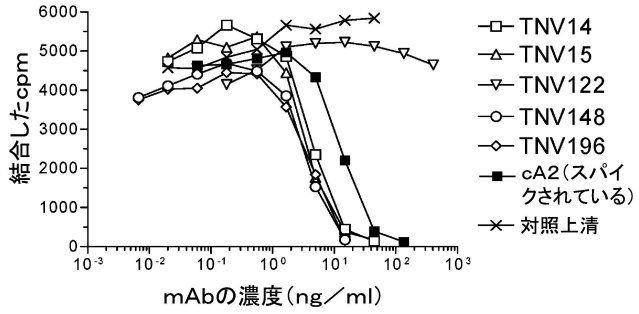
この試験の制限は、その非盲検、非無作為化、及び非制御設計である。この試験は、成人における有効性試験の結果を外挿することを意図してこのように設計された。

【０６７４】

結論として、週１回のＭＴＸを用いた第０週目及び第４週目、次いで第５２週目までのｑ８ｗでのＩＶゴリムマブ８０ｍｇ／ｍ^{2}は、抗ＴＮＦ療法に以前曝露された患者のサブセットを含む、活動性ｐｏｌｙ－ＪＩＡ患者における臨床的有効性のための適切なＰＫ曝露を提供した。このＩＶゴリムマブレジメンもまた、この患者集団において良好に忍容された。

【図面】

【図１】



【図２Ａ】

```
TNVs        ATGGGGTTTGGGCTGAGCTGGGTTTTCCTCGTTGCTCTTTTAAGA

                          Q  V  Q  L  V  E  S  G  G  G  V
生殖系列                  CAGGTGCAGCTGGTGGAGTCTGGGGGAGGCGTG
TNVs        GGTGTCCAGTGT.............................
TNV148(B)   GGTGTCCAGTGT.....A.......................

             V  Q  P  G  R  S  L  R  L  S  C  A  A  S  G
生殖系列    GTCCAGCCTGGGAGGTCCCTGAGACTCTCCTGTGCAGCCTCTGGA
TNVs        .........................................

             F  T  F  S  S  Y  A  M  H  W  V  R  Q  A  P
生殖系列    TTCACCTTCAGTAGCTATGCTATGCACTGGGTCCGCCAGGCTCCA
TNV14,15    .........................................
TNV148(B)   ....T.....................................
TNV196      ..................C......................

             G  K  G  L  E  W  V  A  V  I  S  Y  D  G  S
生殖系列    GGCAAGGGGCTGGAGTGGGTGGCAGTTATATCATATGATGGAAGC
TNV14       ......................A....C.T...........T
TNV15       ......................T......T...........T
TNV148(B)   .....C................T....G..............
TNV196      ......................T.....................

             N  K  Y  Y  A  D  S  V  K  G  R  F  T  I  S   配列番号7
生殖系列    AATAAATACTACGCAGACTCCGTGAAGGGCCGATTCACCATCTCC  配列番号34
TNV14       .GC...A.G.....G.............A................
TNV15       ..C...A.G......................C............
TNV148(B)   ......A.G.....................................
TNV196      ......A.G.C............................G.....
```

【図２Ｂ】

```
                R  D  N  S  K  N  T  L  Y  L  Q  M  N  S  L
生殖系列        AGAGACAATTCCAAGAACACGCTGTATCTGCAAATGAACAGCCTG
TNV14           .............................................
TNV15           ..................G..........................
TNV148          .........C..................................
TNV148B         .............................................
TNV196          ........................T....................

                R  A  E  D  T  A  V  Y  Y  C  A  R
生殖系列        AGAGCTGAGGACACGGCTGTGTATTACTGTGCGAGA
TNV14,15        ..................................GATCGAGGT
TNV148(B)       .............................................A
TNV196          ......................T......................

                                   Y  Y  Y  Y  Y  G  M  D  V  W
生殖系列                        TACTACTACTACTACGGTATGGACGTCTGG
TNV14           ATATCAGCAGGTGGAA.............................
TNV15           G.C............A.T..T........................
TNV148(B)       ...G...........A..............................
TNV196          ..TGG..........A..............................

                G  Q  G  T  T  V  T  V  S  S      配列番号7
生殖系列        GGGCAAGGGACCACGGTCACCGTCTCCTCAG   配列番号34
TNV14           ..C..........................
TNV15           ..C..........................
TNV148(B)       ..C..........................
TNV196          ..C..G.......................
```

【図３】

```
TNVs            ATGGAAGCCCCAGCTCAGCTTCTCTTCCTCCTGCTACTCTGGCTC

                E  I  V  L  T  Q  S  P  A  T
生殖系列        GAAATTGTGTTGACACAGTCTCCAGCCACC
TNVs            CCAGATACCACCGGA..............................

                L  S  L  S  P  G  E  R  A  T  L  S  C  R  A
生殖系列        CTGTCTTTGTCTCCAGGGGAAAGAGCCACCCTCTCCTGCAGGGCC
TNVs            .............................................

                S  Q  S  V  S  S  Y  L  A  W  Y  Q  Q  K  P
生殖系列        AGTCAGAGTGTTAGCAGCTACTTAGCCTGGTACCAACAGAAACCT
TNV14,15        .............................................
TNV148,196      ............TA...............................

                G  Q  A  P  R  L  L  I  Y  D  A  S  N  R  A
生殖系列        GGCCAGGCTCCCAGGCTCCTCATCTATGATGCATCCAACAGGGCC
TNVs            .............................................

                T  G  I  P  A  R  F  S  G  S  G  S  G  T  D
生殖系列        ACTGGCATCCCAGCCAGGTTCAGTGGCAGTGGGTCTGGGACAGAC
TNVs            .............................................

                F  T  L  T  I  S  S  L  E  P  E  D  F  A  V
生殖系列        TTCACTCTCACCATCAGCAGCCTAGAGCCTGAAGATTTTGCAGTT
TNVs            .............................................

                Y  Y  C  Q  Q  R  S  N  W  P  P  F  T  F  G
                                                配列番号8
生殖系列        TATTACTGTCAGCAGCGTAGCAACTGGCCTCCATTCACTTTCGGC
配列番号35
TNVs            ...............................A.............

                P  G  T  K  V  D  I  K  R
生殖系列        CCTGGGACCAAAGTGGATATCAAACGT
TNVs            ............................
```

【図４】

```
生殖系列        MGFGLSWVFLVALLRGVQC              シグナル   配列番号32
TNVs            ...................

生殖系列        QVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAASGFTFS   FR1   配列番号7
TNVs            ............................
TNV148(B)       ............................I..

生殖系列        SYAMH                            CDR1  配列番号1
TNVs            .....

生殖系列        WVRQAPGKGLEWVA                   FR2   配列番号7
TNVs            ..............
TNV148(B)       .......N......

生殖系列        VISYDGSNKYYADSVKG                CDR2  配列番号2
TNV14 I.L....S.K.....D
TNV15           F.L......K.......
TNV148(B)       FM.......K.......
TNV196          F........KS......

生殖系列        RFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAR FR3   配列番号7
TNV14           ................................
TNV15           ............A...................
TNV148          ........P.......................
TNV148B         ................................
TNV196          ...V.........F.............F....

生殖系列        --------YYYYYGMDV
TNV14           DRGISAGGN........                CDR3  配列番号3
TNV15           ...V....N........
TNV148(B)       ....A...N........
TNV196          ....G...N........

生殖系列        WGQGTTVTVSS                      J6    配列番号7
TNVs            ...........
```

【図５】

```
TNVs            MEAPAQLLFLLLLWLPDTTG             シグナル   配列番号33

生殖系列        EIVLTQSPATLSLSPGERATLSC          FR1   配列番号8
TNVs            ........................

生殖系列        RASQSVSSYLA                      CDR1  配列番号4
TNV14           ...........
TNV15           ...........
TNV148(B)       ......Y....
TNV196          ......Y....

生殖系列        WYQQKPGQAPRLLIY                  FR2   配列番号8
TNVs            ...............

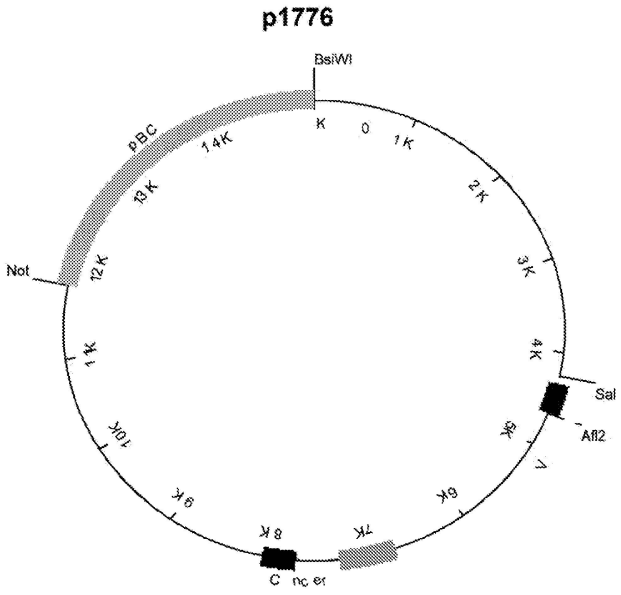
生殖系列        DASNRAT                          CDR2  配列番号5
TNVs            .......

生殖系列        GIPARFSGSGSGTDFTLTISSLEPEDFAVYYC FR3   配列番号8
TNVs            ................................

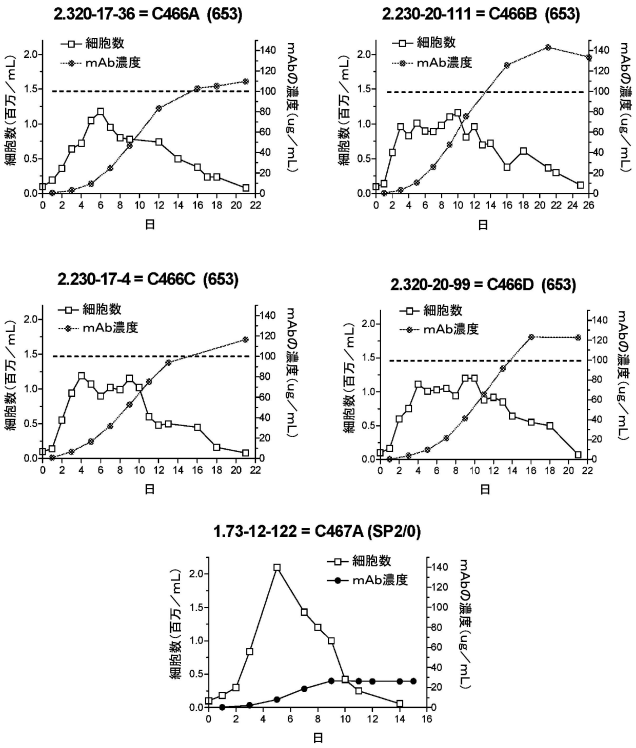
生殖系列        QQRSNWPPFT                       CDR3  配列番号6
TNVs            ..........

生殖系列        FGPGTKVDIK                       J3    配列番号8
TNVs            ..........
```

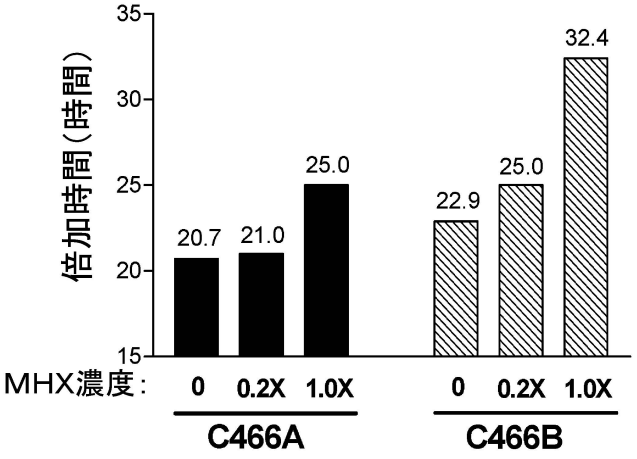
【図６】


p1776
BsiWI
Not
Sal
Afl2
pBC
14K
13K
12K
1K
2K
3K
4K
5K
6K
7K
8K
9K
10K

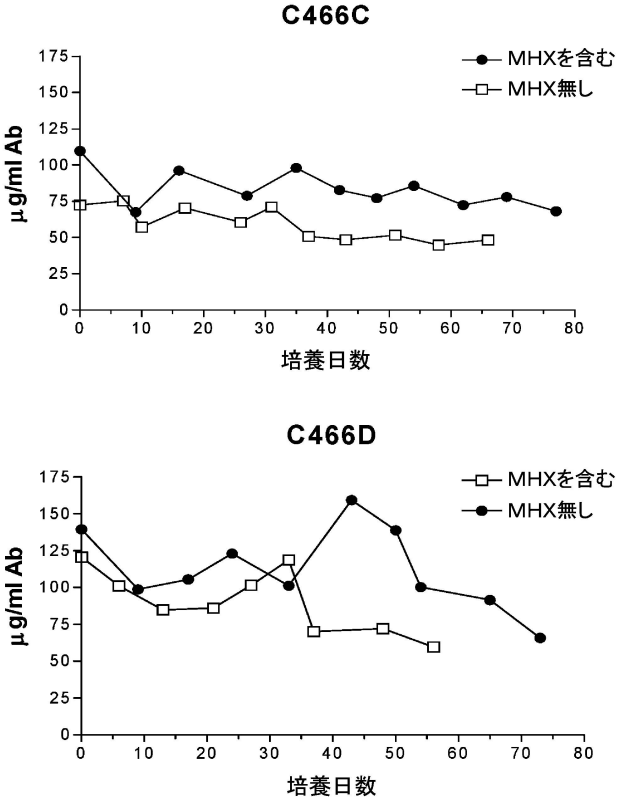
【図７】


2.320-17-36 = C466A (653)
2.230-20-111 = C466B (653)
2.230-17-4 = C466C (653)
2.320-20-99 = C466D (653)
1.73-12-122 = C467A (SP2/0)
細胞数
mAb濃度
細胞数(百万／mL)
mAbの濃度(ug／mL)
日

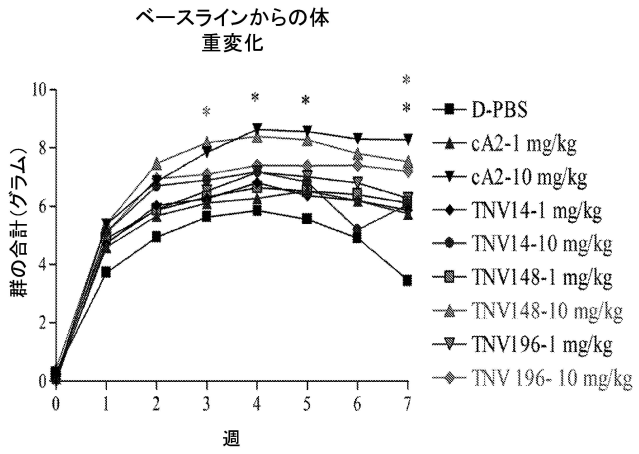
【図８】


倍加時間(時間)
20.7
21.0
25.0
22.9
25.0
32.4
MHX濃度:
0
0.2X
1.0X
0
0.2X
1.0X
C466A
C466B

【図９】


C466C
MHXを含む
MHX無し
μg/ml Ab
培養日数
C466D
MHXを含む
MHX無し
μg/ml Ab
培養日数

【図１０】



【図１１Ａ】

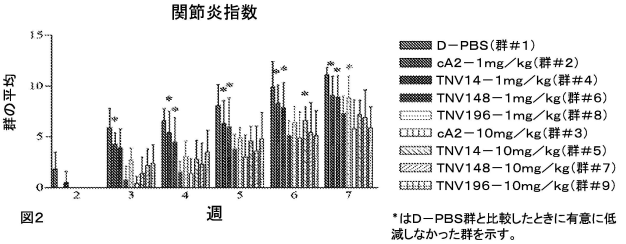


図2

*はD－PBS群と比較したときに有意に低減しなかった群を示す。

印がない群は全て有意である（p＜0. 050）。

【図１１Ｂ】

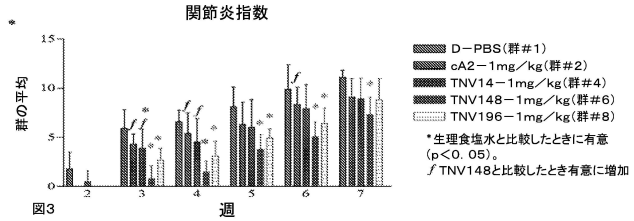


図3

*生理食塩水と比較したときに有意（p＜0. 05）。

ƒTNV148と比較したとき有意に増加

【図１１Ｃ】

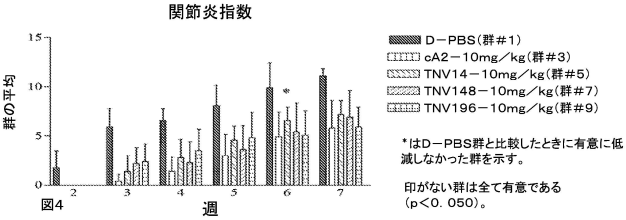
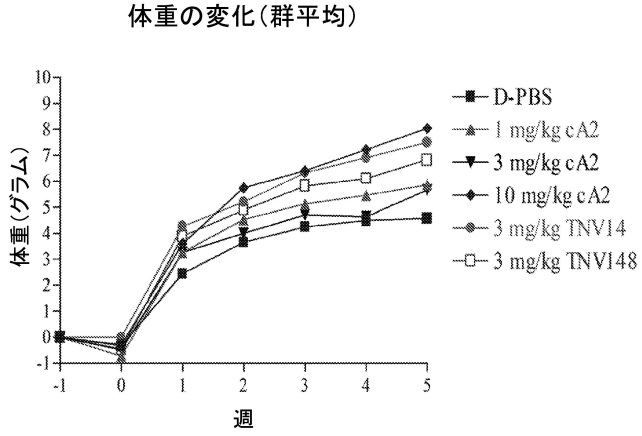


図4

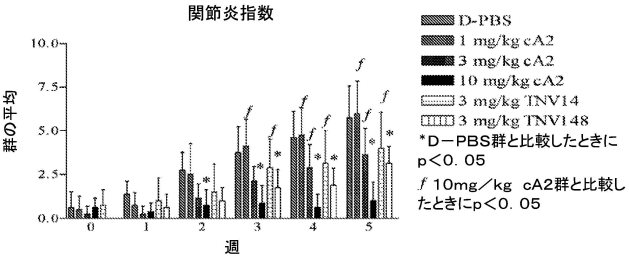
*はD－PBS群と比較したときに有意に低減しなかった群を示す。

印がない群は全て有意である（p＜0. 050）。

【図１２】



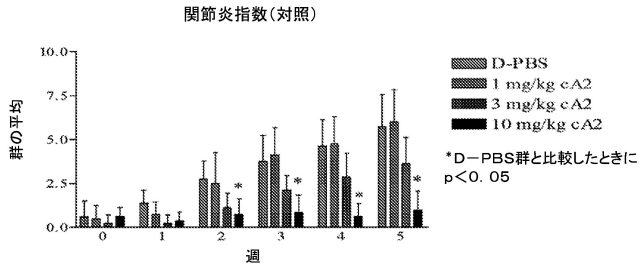
【図１３Ａ】



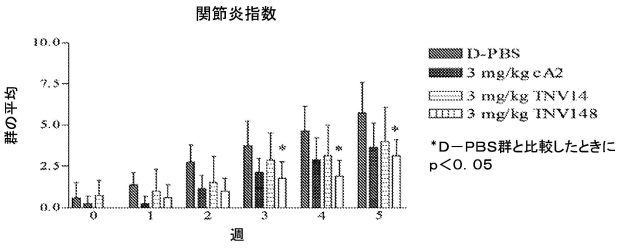
*D－PBS群と比較したときにp＜0. 05

ƒ10mg／kg cA2群と比較したときにp＜0. 05

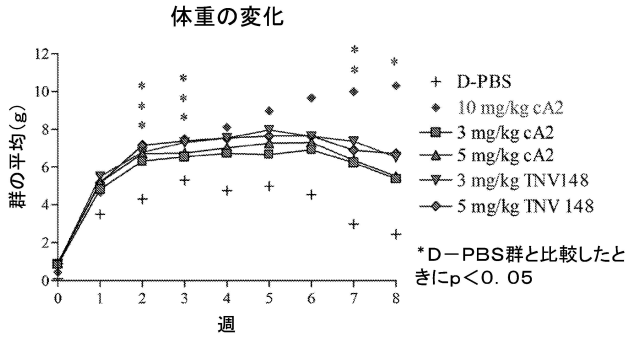
【図１３Ｂ】



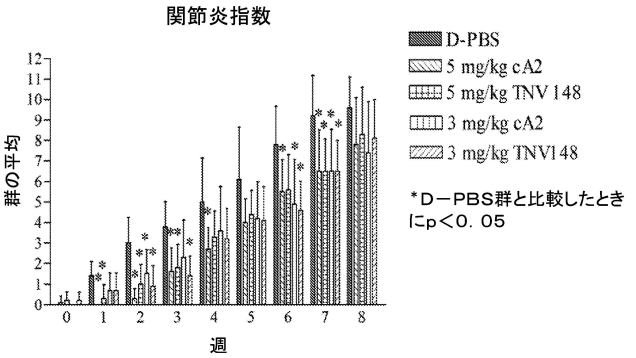
【図１３Ｃ】



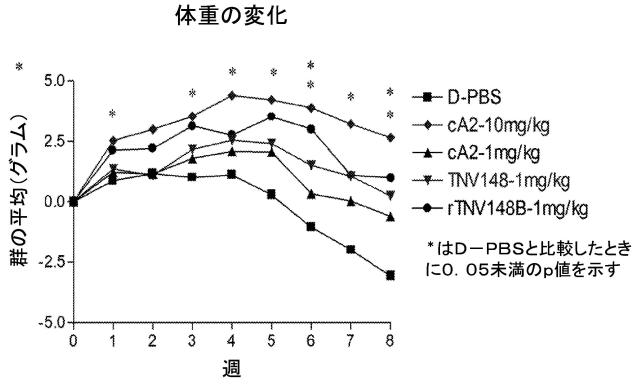
【図１４】



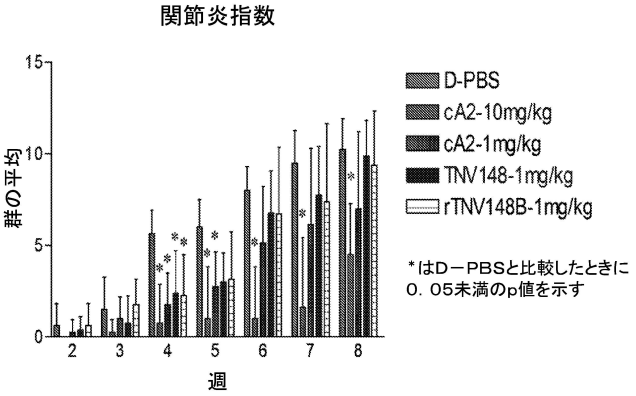
【図１５】



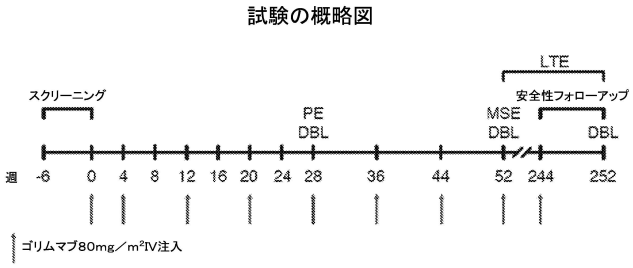
【図１６】



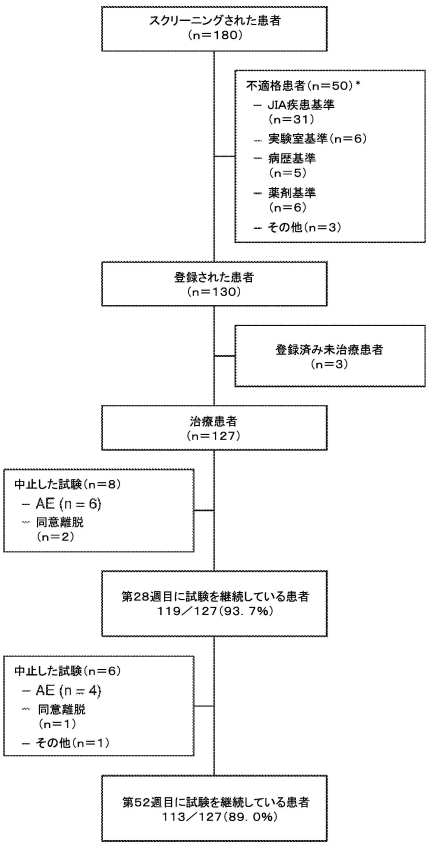
【図１７】



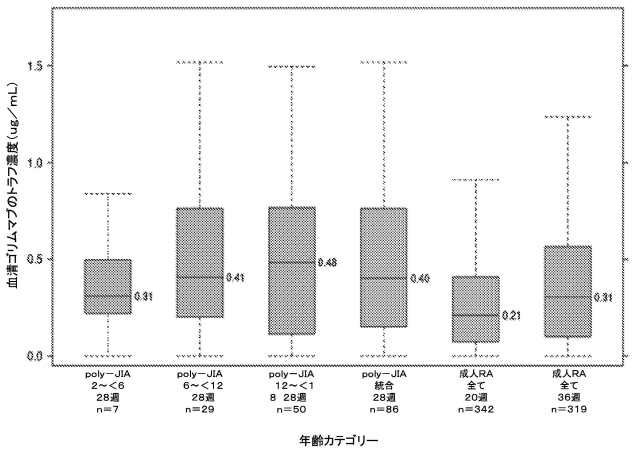
【図１８】



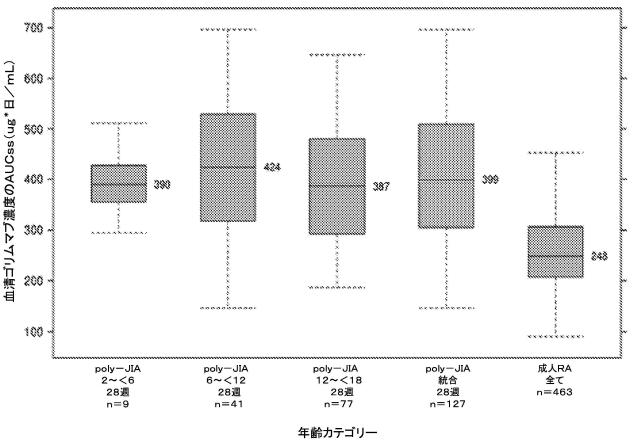
【図１９】



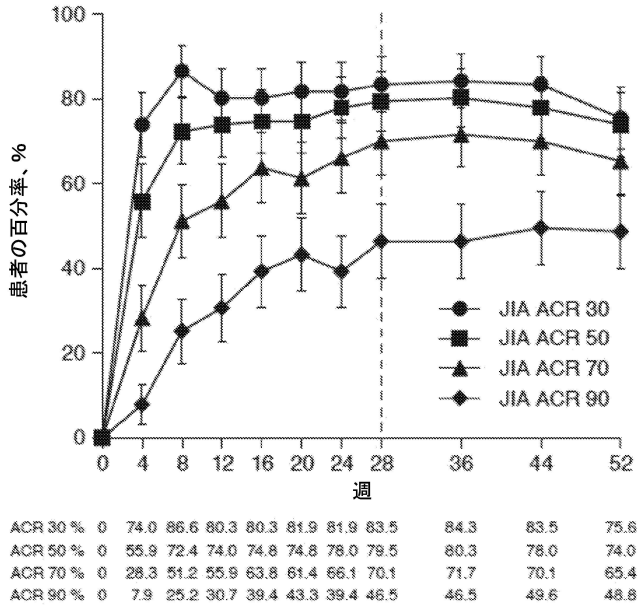
【図２０Ａ】



【図２０Ｂ】

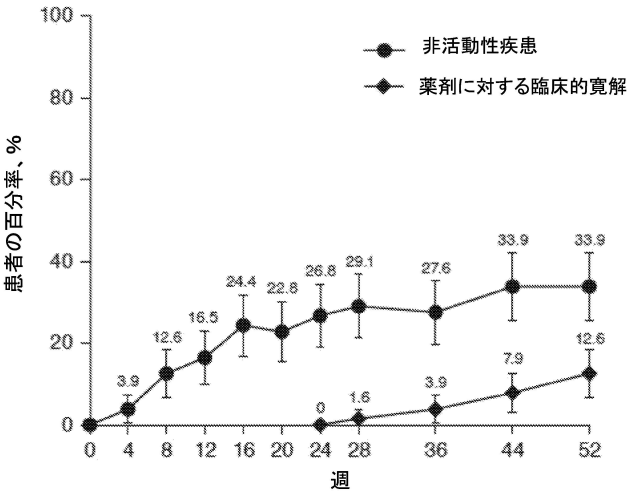


【図２１Ａ】

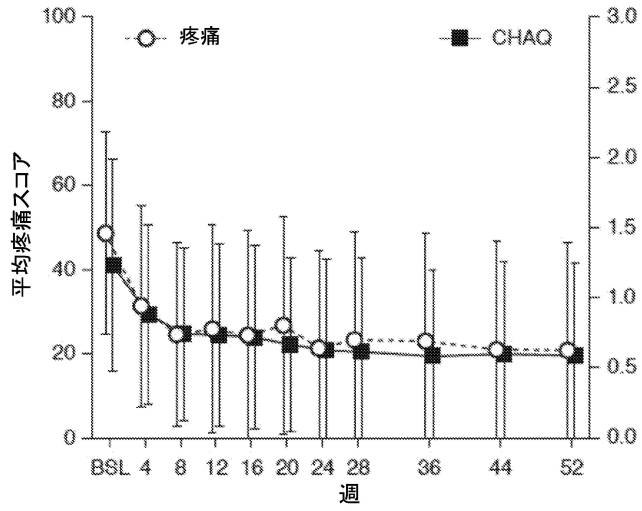


ACR 30 %	0	74.0	86.6	80.3	80.3	81.9	81.9	83.5	84.3	83.5	75.6
ACR 50 %	0	55.9	72.4	74.0	74.8	74.8	78.0	79.5	80.3	78.0	74.0
ACR 70 %	0	28.3	51.2	55.9	63.8	61.4	66.1	70.1	71.7	70.1	65.4
ACR 90 %	0	7.9	25.2	30.7	39.4	43.3	39.4	46.5	46.5	49.6	48.8

【図２１Ｂ】

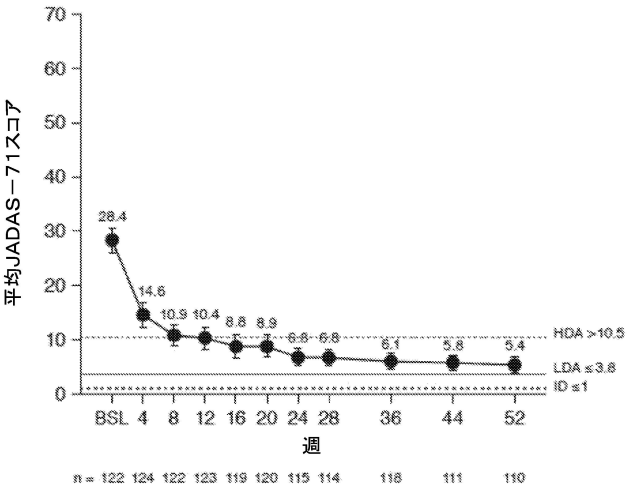


【図２１Ｃ】



疼痛 n=	127	126	124	124	123	120	115	118	118	113	112
平均	48.6	31.4	24.7	25.9	24.4	25.8	21.4	23.3	23.0	21.0	20.9
CHAQ n=	127	126	123	124	121	119	114	117	117	112	111
平均	1.23	0.88	0.74	0.74	0.72	0.67	0.62	0.62	0.58	0.60	0.59

【図２１Ｄ】



n =	122	124	122	123	119	120	115	114	118	111	110

【配列表】

<u>2023524668000001.app</u>

【国際調査報告】

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.
PCT/IB 21/53429

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

IPC - C07K 16/24, A61K 39/395, A61P 19/02, A61K 31/519, A61K 9/00 (2021.01)

CPC - A61K 2039/505, A61K 2039/545, A61K 2039/54, A61K 2039/55, A61K 39/3955, C07K 16/241, C07K 2317/56, C07K 2317/76, C07K 2317/21, A61K 31/519, A61P 19/02, A61K 9/0019

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

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)
See Search History document

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

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

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	BRUNNER, et al. Subcutaneous golimumab for children with active polyarticular-course juvenile idiopathic arthritis: results of a multicentre, double-blind, randomised-withdrawal trial. Ann Rheum Dis. 2018, Vol 77, No 1, pp 21-29; Abstract; pg 21, col 2 to pg 22, col 1; pg 24, col 2; pg 27, col 1, Table 2	1-22
A	RINGOLD, et al. 2019 American College of Rheumatology/Arthritis Foundation Guideline for the Treatment of Juvenile Idiopathic Arthritis: Therapeutic Approaches for Non-Systemic Polyarthritis, Sacroiliitis, and Enthesitis. Arthritis Rheumatol. 2019, Vol 71, No 6, pp 846-863; pg 724, Table 3; pg 725, col 1; pg 727, Table 5	1-22
A	DIENER, et al. Comparison of adverse events of biologicals for treatment of juvenile idiopathic arthritis: a systematic review. Expert Opin Drug Saf. 2019, Vol 18, No 8, pp 719-732; Abstract; pg 724	1-22
A	XU, et al. Population Pharmacokinetics and Exposure-Response Modeling Analyses of Golimumab in Children With Moderately to Severely Active Ulcerative Colitis. J Clin Pharmacol. 2019, Vol 59, No 4, pp 590-604; Abstract; pg 596, Fig 1	1-22

☐ Further documents are listed in the continuation of Box C. ☐ See patent family annex.

* Special categories of cited documents:
"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance
"D" document cited by the applicant in the international application
"E" earlier application or patent but published on or after the international filing date
"L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)
"O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means
"P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed
"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention
"X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone
"Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art
"&" document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search	Date of mailing of the international search report
21 June 2021	JUL 22 2021
Name and mailing address of the ISA/US Mail Stop PCT, Attn: ISA/US, Commissioner for Patents P.O. Box 1450, Alexandria, Virginia 22313-1450 Facsimile No. 571-273-8300	Authorized officer Kari Rodriquez Telephone No. PCT Helpdesk: 571-272-4300

Form PCT/ISA/210 (second sheet) (July 2019)

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.
PCT/IB 21/53429

Box No. I Nucleotide and/or amino acid sequence(s) (Continuation of item 1.c of the first sheet)

1. With regard to any nucleotide and/or amino acid sequence disclosed in the international application, the international search was carried out on the basis of a sequence listing:

   a. ☒ forming part of the international application as filed:

      ☒ in the form of an Annex C/ST.25 text file.

      ☐ on paper or in the form of an image file.

   b. ☐ furnished together with the international application under PCT Rule 13*ter*.1(a) for the purposes of international search only in the form of an Annex C/ST.25 text file.

   c. ☐ furnished subsequent to the international filing date for the purposes of international search only:

      ☐ in the form of an Annex C/ST.25 text file (Rule 13*ter*.1(a)).

      ☐ on paper or in the form of an image file (Rule 13*ter*.1(b) and Administrative Instructions, Section 713).

2. ☐ In addition, in the case that more than one version or copy of a sequence listing has been filed or furnished, the required statements that the information in the subsequent or additional copies is identical to that forming part of the application as filed or does not go beyond the application as filed, as appropriate, were furnished.

3. Additional comments:

フロントページの続き

(51)国際特許分類			FI		テーマコード（参考）
C07K	*16/24*	*(2006.01)*	C07K	16/24	
C12N	*15/13*	*(2006.01)*	C12N	15/13	

(32)優先日　令和2年4月27日(2020.4.27)
(33)優先権主張国・地域又は機関
米国(US)
(81)指定国・地域　AP(BW,GH,GM,KE,LR,LS,MW,MZ,NA,RW,SD,SL,ST,SZ,TZ,UG,ZM,ZW),EA(AM,AZ,BY,KG,KZ,RU,TJ,TM),EP(AL,AT,BE,BG,CH,CY,CZ,DE,DK,EE,ES,FI,FR,GB,GR,HR,HU,IE,IS,IT,LT,LU,LV,MC,MK,MT,NL,NO,PL,PT,RO,RS,SE,SI,SK,SM,TR),OA(BF,BJ,CF,CG,CI,CM,GA,GN,GQ,GW,KM,ML,MR,NE,SN,TD,TG),AE,AG,AL,AM,AO,AT,AU,AZ,BA,BB,BG,BH,BN,BR,BW,BY,BZ,CA,CH,CL,CN,CO,CR,CU,CZ,DE,DJ,DK,DM,DO,DZ,EC,EE,EG,ES,FI,GB,GD,GE,GH,GM,GT,HN,HR,HU,ID,IL,IN,IR,IS,IT,JO,JP,KE,KG,KH,KN,KP,KR,KW,KZ,LA,LC,LK,LR,LS,LU,LY,MA,MD,ME,MG,MK,MN,MW,MX,MY,MZ,NA,NG,NI,NO,NZ,OM,PA,PE,PG,PH,PL,PT,QA,RO,RS,RU,RW,SA,SC,SD,SE,SG,SK,SL,ST,SV,SY,TH,TJ,TM,TN,TR,TT,TZ,UA,UG,US,UZ,VC,VN,WS,ZA,ZM,ZW

（特許庁注：以下のものは登録商標）
１．ＴＷＥＥＮ

弁理士　星川 亮
(72)発明者　ベンズリー，カレン
アメリカ合衆国 １９４７７ ペンシルベニア州，スプリング ハウス，マッキーン ロード １４００
(72)発明者　クラーク，マイケル
アメリカ合衆国 ０８８６９ ニュージャージー州，サウス ラリタン ２０２ ユーエス ルート ９２０
(72)発明者　ル，ジョスリン
アメリカ合衆国 １９４７７ ペンシルベニア州，スプリング ハウス，マッキーン ロード １４００
(72)発明者　シュー，ジェンファ
アメリカ合衆国 １９４７７ ペンシルベニア州，スプリング ハウス，マッキーン ロード １４００

Ｆターム（参考）　4C085　AA14 BB36 CC23 EE01 EE03 GG02
4C086　AA01 AA02 CB09 GA16 MA02 MA04 NA05 ZA96 ZB11 ZC75
4H045　AA11 AA20 AA30 BA10 DA76 EA20 FA74