

(19) 日本国特許庁(JP)

## (12) 特許公報(B2)

(11) 特許番号

特許第6711828号  
(P6711828)

(45) 発行日 令和2年6月17日(2020.6.17)

(24) 登録日 令和2年6月1日(2020.6.1)

(51) Int.Cl.	F 1
C 12 N 15/13	(2006.01)
C 12 N 15/63	(2006.01)
C 07 K 16/10	(2006.01)
C 12 N 1/15	(2006.01)
C 12 N 1/19	(2006.01)
C 12 N	15/13
C 12 N	15/63
C 07 K	16/10
C 12 N	1/15
C 12 N	1/19

請求項の数 34 (全 81 頁) 最終頁に続く

(21) 出願番号	特願2017-528166 (P2017-528166)
(86) (22) 出願日	平成27年12月18日 (2015.12.18)
(65) 公表番号	特表2018-503361 (P2018-503361A)
(43) 公表日	平成30年2月8日 (2018.2.8)
(86) 國際出願番号	PCT/US2015/066654
(87) 國際公開番号	W02016/100807
(87) 國際公開日	平成28年6月23日 (2016.6.23)
審査請求日	平成30年12月13日 (2018.12.13)
(31) 優先権主張番号	62/094,752
(32) 優先日	平成26年12月19日 (2014.12.19)
(33) 優先権主張国・地域又は機関	米国(US)
(31) 優先権主張番号	62/152,122
(32) 優先日	平成27年4月24日 (2015.4.24)
(33) 優先権主張国・地域又は機関	米国(US)

(73) 特許権者	597160510 リジエネロン・ファーマシューティカルズ ・インコーポレイテッド REGENERON PHARMACEUTICALS, INC. アメリカ合衆国10591-6707ニューヨーク州タリータウン、オールド・ソーミル・リバー・ロード777番
(74) 代理人	100078282 弁理士 山本 秀策
(74) 代理人	100113413 弁理士 森下 夏樹

最終頁に続く

(54) 【発明の名称】インフルエンザ赤血球凝集素に対するヒト抗体

## (57) 【特許請求の範囲】

## 【請求項 1】

A型インフルエンザ赤血球凝集素(HA)に特異的に結合する単離された組換え抗体またはその抗原結合性断片であって、前記抗体が、配列番号18/26および50/66からなる群から選択される重鎖可変領域/軽鎖可変領域(HCVR/LCVR)アミノ酸配列対内の相補性決定領域(CDR)を含む、単離された組換え抗体またはその抗原結合性断片。

## 【請求項 2】

サルおよびマウスにおいて試験した場合に、対照I mAbと称される比較用抗体と比較して1.5倍~2倍の解離半減期の増大を示す、請求項1に記載の単離された抗体またはその抗原結合性断片。

## 【請求項 3】

インフルエンザウイルスに感染した哺乳動物において、感染後48時間の時点で投与した場合に、オセルタミビルと比較して保護の増大を示す、請求項1に記載の単離された抗体またはその抗原結合性断片。

## 【請求項 4】

インフルエンザウイルスに感染した哺乳動物に15mg/kgの単回静脈内用量として投与した場合に、5mg/kg~25mg/kgの用量で1日2回、5日間投与されるオセルタミビルの経口投与と比較して保護の増大を示す、請求項1に記載の単離された抗体またはその抗原結合性断片。

## 【請求項 5】

インフルエンザウイルスに感染した哺乳動物において、感染後 48 時間の時点で 15 mg / kg の単回用量として投与した場合に、100 % の生存率を示す、請求項 1 に記載の単離された抗体またはその抗原結合性断片。

## 【請求項 6】

インフルエンザウイルスに感染した哺乳動物において、15 mg / kg の単回用量として投与した場合に、100 % の生存率を示す、請求項 1 に記載の単離された抗体またはその抗原結合性断片。

## 【請求項 7】

インフルエンザウイルスに感染した哺乳動物において、感染後 72 時間の時点でオセルタミビルと共に投与した場合に、相加的な保護効果を示す、請求項 1 に記載の単離された抗体またはその抗原結合性断片。 10

## 【請求項 8】

オセルタミビルと組み合わせて使用し、前記抗体またはその抗原結合性断片を 7 mg / kg から 15 mg / kg までにわたる単回静脈内用量として投与し、前記オセルタミビルを 25 mg / kg の用量で 1 日 2 回、5 日間、経口投与した場合に、相加的な保護効果を示す、請求項 1 に記載の単離された抗体またはその抗原結合性断片。

## 【請求項 9】

配列番号 18 および 50 からなる群から選択されるアミノ酸配列を含む H C V R を含む、請求項 1 から 8 のいずれか一項に記載の単離された抗体またはその抗原結合性断片。 20

## 【請求項 10】

配列番号 26 および 66 からなる群から選択されるアミノ酸配列を含む L C V R を含む、請求項 1 から 9 のいずれか一項に記載の単離された抗体またはその抗原結合性断片。

## 【請求項 11】

## (a)

配列番号 20 で示されるアミノ酸配列を含む H C D R 1 ;

配列番号 22 で示されるアミノ酸配列を含む H C D R 2 ;

配列番号 24 で示されるアミノ酸配列を含む H C D R 3 ;

配列番号 28 で示されるアミノ酸配列を含む L C D R 1 ;

配列番号 30 で示されるアミノ酸配列を含む L C D R 2 ; および 30

配列番号 32 で示されるアミノ酸配列を含む L C D R 3 ; あるいは

## (b)

配列番号 52 で示されるアミノ酸配列を含む H C D R 1 ;

配列番号 54 で示されるアミノ酸配列を含む H C D R 2 ;

配列番号 56 で示されるアミノ酸配列を含む H C D R 3 ;

配列番号 68 で示されるアミノ酸配列を含む L C D R 1 ;

配列番号 70 で示されるアミノ酸配列を含む L C D R 2 ; および

配列番号 72 で示されるアミノ酸配列を含む L C D R 3

を含む、請求項 1 から 10 のいずれか一項に記載の単離された抗体またはその抗原結合性断片。 40

## 【請求項 12】

(a) 配列番号 20 で示されるアミノ酸配列を含む H C D R 1 、(b) 配列番号 22 で示されるアミノ酸配列を含む H C D R 2 ；(c) 配列番号 24 で示されるアミノ酸配列を含む H C D R 3 ；(d) 配列番号 28 で示されるアミノ酸配列を含む L C D R 1 ；(e) 配列番号 30 で示されるアミノ酸配列を含む L C D R 2 、および (f) 配列番号 32 で示されるアミノ酸配列を含む L C D R 3 を含む、請求項 1 から 11 のいずれか一項に記載の単離された抗体またはその抗原結合性断片。

## 【請求項 13】

配列番号 18 / 26 および 50 / 66 からなる群から選択される H C V R / L C V R アミノ酸配列対を含む、請求項 1 から 12 のいずれか一項に記載の単離された抗体または抗 50

原結合性断片。

【請求項 14】

配列番号 18 / 26 および 50 / 66 からなる群から選択される H C V R / L C V R アミノ酸配列対の C D R を含む抗体または抗原結合性断片と、インフルエンザ H A への結合について競合する、単離された抗体またはその抗原結合性断片。

【請求項 15】

インフルエンザウイルスの宿主細胞への付着および / または侵入を防止する、請求項 1 から 14 のいずれか一項に記載の単離された抗体またはその抗原結合性断片。

【請求項 16】

請求項 1 から 15 のいずれか一項に記載の、インフルエンザ H A に特異的に結合する単離された抗体またはその抗原結合性断片と、薬学的に許容される担体または希釈剤とを含む医薬組成物。 10

【請求項 17】

第 1 および第 2 の請求項 1 に記載の抗体またはその抗原結合性断片を含む医薬組成物であって、

( a ) インフルエンザ H A 上の第 1 のエピトープに結合する前記第 1 の抗体またはその抗原結合性断片と、( b ) インフルエンザ H A 上の第 2 のエピトープに結合する前記第 2 の抗体またはその抗原結合性断片と、( c ) 薬学的に許容される担体または希釈剤とを含む、医薬組成物。

【請求項 18】

配列番号 18 / 26 の H C V R / L C V R アミノ酸配列対をコードするポリヌクレオチド配列を含む単離されたポリヌクレオチド分子。

【請求項 19】

配列番号 50 / 66 の H C V R / L C V R アミノ酸配列対をコードするポリヌクレオチド配列を含む単離されたポリヌクレオチド分子。

【請求項 20】

請求項 18 または 19 に記載のポリヌクレオチド配列を含むベクター。

【請求項 21】

請求項 20 に記載のベクターを発現する細胞。

【請求項 22】

それを必要とする対象においてインフルエンザ感染の少なくとも 1 つの症状を防止する、治療する、または好転させるための、請求項 1 から 15 のいずれか一項に記載の抗体もしくは抗原結合性断片を含む組成物または請求項 16 または 17 に記載の医薬組成物。 30

【請求項 23】

前記少なくとも 1 つの症状が、発熱、咳、体の痛み、鼻漏、息切れ、肺炎または気管支炎からなる群から選択される、請求項 22 に記載の組成物。

【請求項 24】

前記組成物が、それを必要とする前記対象に予防的にまたは治療的に投与されることを特徴とする、請求項 22 に記載の組成物。

【請求項 25】

前記組成物が、免疫無防備状態の個体、高齢の成人 (65 歳を超える)、医療従事者、医学的問題の履歴がある人、基礎をなす医学的状態がある人、心臓の問題がある人、および糖尿病がある人からなる群から選択される対象に予防的に投与されることを特徴とする、請求項 24 に記載の組成物。 40

【請求項 26】

前記組成物が第 2 の治療剤と組み合わせて投与されることを特徴とする、請求項 22 から 25 のいずれか一項に記載の組成物。

【請求項 27】

前記第 2 の治療剤が、抗ウイルス薬、抗炎症薬、インフルエンザ H A に対する異なる抗体、インフルエンザに対するワクチンおよび栄養補助食品からなる群から選択される、請 50

求項2\_6に記載の組成物。

【請求項28】

前記第2の治療剤が、前記抗体と同じ投与経路を通じて、または前記抗体とは異なる投与経路を通じて投与されることを特徴とする、請求項2\_7に記載の組成物。

【請求項29】

前記第2の治療剤が経口投与されることを特徴とする、請求項2\_8に記載の組成物。

【請求項30】

前記抗ウイルス薬がオセルタミビルである、請求項2\_7に記載の組成物。

【請求項31】

前記オセルタミビルが、前記抗体を投与する前、それと同時に、またはその後に投与されることを特徴とする、請求項3\_0に記載の組成物。 10

【請求項32】

前記組成物が皮下、静脈内、皮内、筋肉内、鼻腔内、または経口的に投与されることを特徴とする、請求項2\_2から3\_1のいずれか一項に記載の組成物。

【請求項33】

配列番号1\_8 / 2\_6および5\_0 / 6\_6からなる群から選択されるH C V R / L C V R アミノ酸配列対を含む1つ以上の抗体を含む、請求項1\_6に記載の医薬組成物。

【請求項34】

前記第2の治療剤が、コルチコステロイドおよび抗炎症薬から選択される、請求項2\_6に記載の組成物。 20

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0001】

本発明は、インフルエンザ赤血球凝集素（H A）に特異的に結合するヒト抗体およびその抗原結合性断片、これらの抗体を含む組成物、ならびにこれらの抗体を使用する治療法および診断法に関する。

【0002】

配列表

A S C I I に準拠したテキストファイルの配列表を本明細書と同時に提出する（連邦規則集第37巻1.52（e）および連邦規則集第37巻1.821）。テキストファイルの内容は参照により本明細書に組み込まれる。配列表を含むテキストファイルの名称は「101119W001\_seq1ising」であり、2015年11月18日に作成されたものであり、2.1MBを含有する。 30

【背景技術】

【0003】

インフルエンザは、伝染性の高い疾患であり、パンデミック、エピデミック、リーサージェンスおよびアウトブレイクの波によって特徴付けられる長い歴史を有する。毎年のワクチン接種の試みにもかかわらず、インフルエンザ感染により、実質的な罹患率および死亡率が生じている。

【0004】

インフルエンザウイルスは、A、BおよびCの3つの型からなる。さらに、A型インフルエンザウイルスは、ウイルスの宿主細胞への付着および侵入に必要な表面糖タンパク質である赤血球凝集素（H A）およびノイラミニダーゼ（N A）をコードする2つの遺伝子の抗原性領域内の対立遺伝子の変動に基づいて亜型に分類することができる。 40

【0005】

赤血球凝集素は、2つの構造ドメイン、受容体結合性部位（頻繁に抗原ドリフトを受ける）からなる球状の頭部ドメインと幹領域（インフルエンザウイルスの様々な株の間でより保存されている）を含有する三量体糖タンパク質である。H Aタンパク質は、前駆体（H A 0）として合成され、それがタンパク質プロセシングを受けて2つのサブユニット（H A 1およびH A 2）が生じ、これらが互いに会合して幹／球状頭部構造が形成される。 50

H A 1 ペプチドは、ウイルスの細胞表面への付着に関する。H A 2 ペプチドは、ウイルス膜と細胞膜のエンドソーム内での融合を媒介する幹様構造を形成し、それにより、リボ核タンパク質複合体の細胞質内への放出を可能にする。

【 0 0 0 6 】

現在、赤血球凝集素タンパク質 ( H 1 ~ H 1 8 ) によって定義される亜型が 1 8 種存在する。1 8 種の H A は、2 つのグループに分類することができる。グループ 1 は、H 1 、H 2 、H 5 、H 6 、H 8 、H 9 、H 1 1 、H 1 2 、H 1 3 、H 1 6 、H 1 7 および H 1 8 亜型からなり、グループ 2 は、H 3 、H 4 、H 7 、H 1 0 、H 1 4 および H 1 5 亜型を含む。

【 0 0 0 7 】

新しい異なるエピトープが生じる、抗原ドリフトと称される現象、または H A 分子もしくは N A 分子の突然変異の結果として、同じ亜型の新しい株が生じる可能性がある。この結果、出現が予測されるウイルスに対する新しいワクチンを毎年作製しなくてはならず、これは、高価なだけでなく、非常に非効率的なプロセスである。科学技術的な進歩により、ワクチン組成物用の改善されたインフルエンザ抗原 ( 複数可 ) を作製する能力は改善されているが、インフルエンザの新興の亜型および株に対処するための追加的な保護の供給源をもたらすことが依然として必要とされている。

【 0 0 0 8 】

患者において広範に中和性である抗体を生じさせるための目的の抗原 ( 例えば、H A および / または N A ) を含むワクチン組成物という着想が一般に良好な手法だと考えられているが、ある特定の患者集団ではこの手法の使用が望ましいとは限らない。例えば、ある特定の患者、例えば、高齢者、若年者、免疫無防備状態の患者などでは、目的の抗原を含むワクチン組成物は必ずしも有効ではない。これらの患者集団または有効な免疫応答を開始することができない任意の患者では、グループ 1 および / またはグループ 2 亜型内の様々な株に共通するエピトープを標的とすることが可能な、広範に中和性である抗体をすでに含有する組成物をもたらすことがより有益であり得る。

今まで、インフルエンザウイルスを広範に中和または阻害する抗体を同定することにおける成功は限られている。Okuno らは、A 型インフルエンザ / Okuda / 57 ( H 2 N 2 ) を用いてマウスを免疫して C 1 7 9 と称する抗体を単離し、これは、 in vitro および in vivo において、 H A 2 の保存されたコンフォメーションアルエピトープに結合し、グループ 1 の H 2 、 H 1 および H 5 亜型の A 型インフルエンザウイルスを中和するものであった ( Okuno ら、 ( 1 9 9 3 年 ) J. Virol. 、 6 7 卷 ( 5 号 ) : 2 5 5 2 ~ 2 5 5 8 頁 ) 。 Throsby らは、ヒト B 細胞から、グループ 1 亜型に対して広範な活性を有する 1 3 種のモノクローナル抗体を同定した ( Throsby ら、 ( 2 0 0 8 年 ) 、 PLOS one 、 3 卷 ( 2 号 ) : e 3 9 4 2 頁 ) 。 Sui らは、 H 5 および他のグループ 1 ウィルスに結合するヒトモノクローナル抗体 ( F 1 0 ) を同定した ( Sui ら、 ( 2 0 0 9 年 ) 、 Nat. Struct. Mol. Biol. 、 1 6 卷 ( 3 号 ) : 2 6 5 ~ 2 7 3 頁 ) 。

【先行技術文献】

【非特許文献】

【 0 0 0 9 】

【非特許文献 1 】 Okuno ら、 ( 1 9 9 3 年 ) J. Virol. 、 6 7 卷 ( 5 号 ) : 2 5 5 2 ~ 2 5 5 8 頁

【非特許文献 2 】 Throsby ら、 ( 2 0 0 8 年 ) 、 PLOS one 、 3 卷 ( 2 号 ) : e 3 9 4 2 頁

【非特許文献 3 】 Sui ら、 ( 2 0 0 9 年 ) 、 Nat. Struct. Mol. Biol. 、 1 6 卷 ( 3 号 ) : 2 6 5 ~ 2 7 3 頁

【発明の概要】

【発明が解決しようとする課題】

【 0 0 1 0 】

しかし、この分野の数十年にわたる研究の後、現在、ほんの数種の抗体が、異なる亜型のインフルエンザウイルスを中和する能力を評価するために臨床試験されているが ( 例え

10

20

30

40

50

ば、Crucell Holland ((US2012/0276115、US2014/0065156、US8470327、US2014/0120113、EP2731967、US8691223、US2013/0243792、US2014/0065165、WO2008/028946およびWO2010/130636)；Osaka University (US2011/0319600、EP2380976、US2012/0058124、US2012/0058124)、Celltrion (US2013/0004505、EP2545074、WO2014/158001)；Vanderbilt University (US2013/0289246)、Sealane Biotechnologies (US2012/0128671)、Trelis Bioscience, Inc. (US2012/0020971、EP2582721)；Visterra, Inc. (US2013/0302349)；Burnham Institute/Dana Farber (US2014/011982、EP2222701、WO2010/027818)；Temasek (US8444986、US8574581、US 8637644、US8637645、US8383121、US8540996、US8574830、US8540995)；HUMAB S Biosciences / Institute for Research in Biomedicine (US8871207)；MedImmune (WO2015/051010)；およびGenentech (US2014/0161822)により開発中の抗体を参照されたい)、A型インフルエンザウイルス感染を広範に中和もしくは阻害する、またはこのウイルスの様々な亜型によって引き起こされる疾患を和らげる抗体はいまだに販売されていない。したがって、インフルエンザウイルス感染を防止または処置するために使用することができる、A型インフルエンザウイルスの多数の亜型を中和する新しい抗体を同定することが当技術分野において依然として必要とされている。  
10  
20

#### 【課題を解決するための手段】

##### 【0011】

###### 本発明の概要

本発明は、インフルエンザ赤血球凝集素 (HA) に結合する抗体およびその抗原結合性断片を提供する。本発明の抗体は、とりわけ、インフルエンザ HA の活性を阻害または中和するために有用である。一部の実施形態では、抗体は、インフルエンザウイルスの宿主細胞への付着を遮断するため、および / またはインフルエンザウイルスの宿主細胞への侵入を防止するために有用である。一部の実施形態では、抗体は、ウイルスの細胞間伝達を阻害することによって機能する。ある特定の実施形態では、抗体は、対象におけるインフルエンザウイルス感染の少なくとも 1 つの症状を防止する、処置する、または好転させることにおいて有用である。ある特定の実施形態では、抗体は、インフルエンザウイルス感染を有する、またはそれが生じるリスクがある対象に、予防的にまたは治療的に投与することができる。ある特定の実施形態では、本発明の少なくとも 1 つの抗体を含有する組成物は、ワクチンが禁忌である患者、またはワクチンの効果が少ない対象、例えば、高齢患者、若年患者、ワクチンの任意の 1 つもしくは複数の構成成分に対するアレルギーを有する可能性がある患者、またはワクチン中の免疫原に反応しない可能性がある免疫無防備状態の患者に投与することができる。ある特定の実施形態では、本発明の少なくとも 1 つの抗体を含有する組成物は、インフルエンザのアウトブレイク中に、医療スタッフ、入院患者または養護施設の入所者または他のリスクが高い患者に投与することができる。ある特定の実施形態では、本発明の少なくとも 1 つの抗体を含有する組成物は、毎年のワクチンが有効でないことが予測される場合に、または、主要な抗原シフトを受けた株によるパンデミックの場合に、患者に第一選択処置として投与することができる。  
30  
40  
40

##### 【0012】

本発明の抗体は、全長 (例えば、IgG1 または IgG4 抗体) であってもよく、抗原結合性部分のみを含んでもよく (例えば、Fab、F(ab')<sub>2</sub> または scFv 断片) 、また、機能性に影響を及ぼすため、例えば、宿主における持続を増大させるため、またはエフェクター機能を増大させるもしくは残留するエフェクター機能を排除するために改  
50

変することができる（Reddyら、2000年、J. Immunol.、164巻：1925～1933頁）。ある特定の実施形態では、抗体は二重特異性であってよい。

【0013】

第1の態様では、本発明は、インフルエンザHAに特異的に結合する単離された組換えモノクローナル抗体またはその抗原結合性断片を提供する。

【0014】

一実施形態では、本発明は、A型インフルエンザ赤血球凝集素（HA）に特異的に結合する単離された組換え抗体またはその抗原結合性断片であって、前記抗体が、以下の特性：

（a）完全ヒトモノクローナル抗体であること； 10

（b）リアルタイムバイオレイヤー干渉計に基づくバイオセンサー（Octet HT Xアッセイ）で測定した場合、インフルエンザHAに、 $10^{-9}$  M未満の解離定数（ $K_D$ ）で結合すること；

（c）370分を超える解離半減期（ $t_{1/2}$ ）を示すこと；

（d）H1N1、H5N1、H9N2、H13N6およびH16N3から選択されるグループ1のA型インフルエンザウイルスの、 $130\text{nM}$ 未満の $\text{IC}_{50}$ での中和を示すこと；

（e）インフルエンザウイルス感染細胞の、 $66\text{nM}$ 未満の $\text{EC}_{50}$ での補体媒介性溶解を示す；

（f）ウイルスによる攻撃の前またはその後のいずれかに投与した場合に、インフルエンザウイルス感染の動物モデルにおける生存の増加によって測定される保護を示すこと；または 20

（g）前記抗体またはその抗原結合性フラグメントが、表1または表12に列挙されている重鎖可変領域（HCVR）配列のいずれか1つに含有される3つの重鎖相補性決定領域（CDR）（HCDR1、HCDR2およびHCDR3）と、表1または表12に列挙されている軽鎖可変領域（LCVR）配列のいずれか1つに含有される3つの軽鎖CDR（LCDR1、LCDR2およびLCDR3）とを含むこと

のうちの2つまたはそれ超を有する、単離された組換え抗体またはその抗原結合性断片を提供する。

【0015】

一実施形態では、本発明の抗体は、サルにおいて対照I IgM antibodyと称される比較用抗体の約1.5倍の解離半減期、およびマウスにおいて対照I IgM antibodyの約2倍の解離半減期を示す。

【0016】

ある特定の実施形態では、本発明の抗体は、インフルエンザウイルスに感染した哺乳動物に感染後48時間の時点、または感染後72時間の時点で投与した場合に、オセルタミビルと比較して保護の増大を示す。

【0017】

関連する実施形態では、本発明の抗体は、インフルエンザウイルスに感染した哺乳動物において、皮下または静脈内のいずれかに投与した場合に、および/またはインフルエンザウイルスに感染前に、またはそれに感染した後に投与した場合に、保護の増大を付与する。

【0018】

一実施形態では、本発明の抗体は、感染した哺乳動物に約0.01mg/kgから約50mg/kgまでにわたる単回皮下または静脈内用量として投与した場合に、アイソタイプ（陰性）対照抗体を投与した動物と比較して保護の増大を示す。

【0019】

一実施形態では、本発明の抗体は、インフルエンザウイルスに感染した哺乳動物に、約15mg/kgの単回静脈内用量として投与した場合に、約5mg/kg～約25mg/kgの用量で1日2回、5日間投与されるオセルタミビルの経口投与と比較して保護の増 40 50

大を示す。

【0020】

一実施形態では、本発明の抗体は、インフルエンザウイルスに感染した哺乳動物において、約0.01mg/kgから約2mg/kgまでにわたる単回皮下用量として予防的に投与した場合に、約20%を超える生存率を示す。

【0021】

一実施形態では、本発明の抗体は、インフルエンザウイルスに感染した哺乳動物において、少なくとも感染後24時間までに約7mg/kgから約50mg/kgまでにわたる単回静脈内用量として投与した場合に、約30%を超える生存率を示す。

【0022】

一実施形態では、本発明の抗体は、インフルエンザウイルスに感染した哺乳動物において、約7mg/kg～約50mg/kgの単回静脈内用量として投与した場合に、感染後48時間の時点で投与した場合に、約30%～約60%の生存率を示す。

【0023】

一実施形態では、本発明の抗体は、インフルエンザウイルスに感染した哺乳動物において、感染後48時間またはそれよりも後の時点で約15mg/kg～約30mg/kgの単回静脈内用量として投与した場合に、約60%と等しいまたはそれを超える生存率を示す。

【0024】

一実施形態では、本発明の抗体は、インフルエンザウイルスに感染した哺乳動物において、感染後48時間またはそれよりも後の時点で約15mg/kgの単回静脈内用量として投与した場合に、約100%の生存率を示す。

【0025】

一実施形態では、本発明の抗体は、インフルエンザウイルスに感染した哺乳動物において、約15mg/kgの単回静脈内用量として投与した場合に、オセルタミビルを約25mg/kgの用量で1日2回、5日間、経口投与した場合に観察される40%の生存率と比較して、約100%の生存率を示す。

【0026】

一実施形態では、本発明の抗体は、インフルエンザウイルスに感染した哺乳動物において、感染後48時間超の時点でオセルタミビルと共に投与した場合に、相加的な保護効果をもたらす。

【0027】

一実施形態では、本発明の抗体は、インフルエンザウイルスに感染した哺乳動物において、感染後72時間の時点でオセルタミビルと共に投与した場合に、相加的な保護効果をもたらす。

【0028】

一実施形態では、本発明の抗体は、オセルタミビルと組み合わせて使用し、インフルエンザウイルスに感染した哺乳動物に抗体を約7mg/kgから約15mg/kgまでにわたる単回静脈内用量で投与し、オセルタミビルを約25mg/kgの用量で1日2回、5日間、経口投与した場合に、相加的な保護効果をもたらす。

【0029】

関連する実施形態では、本発明の抗体は、インフルエンザウイルス感染の72時間後にオセルタミビルと組み合わせて使用し、抗体を約7mg/kgから約15mg/kgまでにわたる単回静脈内用量で投与し、オセルタミビルを約25mg/kgの用量で1日2回、5日間、経口投与した場合に、相加的な保護効果をもたらす。

【0030】

一実施形態では、本発明の抗体は静脈内、鼻腔内、皮下、皮内、または筋肉内に投与することができ、オセルタミビルは経口的に投与することができる。

【0031】

一実施形態では、オセルタミビルは、本発明の抗体を投与する前、それと同時に、また

10

20

30

40

50

はその後に投与する。

【0032】

一実施形態では、抗体および/またはオセルタミビルは、単回用量として投与することも複数回用量として投与することもできる。

【0033】

例示的な本発明の抗インフルエンザHA抗体が本明細書の表1および2に列挙されている。表1は、例示的な抗インフルエンザHA抗体の重鎖可変領域(HCVR)、軽鎖可変領域(LCVR)、重鎖相補性決定領域(HCDR1、HCDR2およびHCDR3)、および軽鎖相補性決定領域(LCDR1、LCDR2およびLCDR3)のアミノ酸配列識別子を示す。表2は、例示的な抗インフルエンザHA抗体のHCVR、LCVR、HCDR1、HCDR2、HCDR3、LCDR1、LCDR2およびLCDR3の核酸配列識別子を示す。

10

【0034】

さらなる例示的な本発明の抗インフルエンザHA抗体が本明細書の表12および13に列挙されている。表12は、例示的な抗インフルエンザHA抗体の重鎖可変領域(HCVR)、軽鎖可変領域(LCVR)、重鎖相補性決定領域(HCDR1、HCDR2およびHCDR3)、および軽鎖相補性決定領域(LCDR1、LCDR2およびLCDR3)のアミノ酸配列識別子を示す。表13は、例示的な抗インフルエンザHA抗体のHCVR、LCVR、HCDR1、HCDR2、HCDR3、LCDR1、LCDR2およびLCDR3の核酸配列識別子を示す。

20

【0035】

本発明は、表1または表12に列挙されているHCVRアミノ酸配列のいずれかから選択されるアミノ酸配列、または、その配列と少なくとも90%、少なくとも95%、少なくとも98%もしくは少なくとも99%の配列同一性を有する実質的に類似した配列を含むHCVRを含む抗体またはその抗原結合性断片を提供する。

【0036】

一実施形態では、本発明は、インフルエンザHAに特異的に結合する、配列番号2、18、34、50、74、90、106、122、138、154、170、186、202、218、234、242、250、258、266、274、282および290からなる群から選択されるアミノ酸配列を有するHCVRを含む抗体またはその抗原結合性断片を提供する。

30

【0037】

本発明は、表1または表12に列挙されているLCVRアミノ酸配列のいずれかから選択されるアミノ酸配列、または、その配列と少なくとも90%、少なくとも95%、少なくとも98%もしくは少なくとも99%の配列同一性を有する実質的に類似した配列を含むLCVRを含む抗体またはその抗原結合性断片も提供する。

【0038】

一実施形態では、本発明は、インフルエンザHAに特異的に結合する、配列番号10、26、42、58、66、82、98、114、130、146、162、178、194、210および226からなる群から選択されるアミノ酸配列を有するLCVRを含む抗体またはその抗原結合性断片を提供する。

40

【0039】

本発明は、表1または表12に列挙されているHCVRアミノ酸配列のいずれかと表1または表12に列挙されているLCVRアミノ酸配列のいずれかの対を含むHCVRおよびLCVRアミノ酸配列対(HCVR/LCVR)を含む抗体またはその抗原結合性断片も提供する。ある特定の実施形態によると、本発明は、表1または表12に列挙されている例示的な抗インフルエンザHA抗体のいずれかに含有されるHCVR/LCVRアミノ酸配列対を含む抗体またはその抗原結合性断片を提供する。

【0040】

一実施形態では、インフルエンザHAに特異的に結合する単離された抗体または抗原結

50

合性断片は、配列番号 2 / 1 0、1 8 / 2 6、3 4 / 4 2、5 0 / 5 8、5 0 / 6 6、7 4 / 8 2、7 4 / 6 6、9 0 / 9 8、1 0 6 / 1 1 4、1 2 2 / 1 3 0、1 3 8 / 1 4 6、1 5 4 / 1 6 2、1 7 0 / 1 7 8、1 8 6 / 1 9 4、2 0 2 / 2 1 0、2 1 8 / 2 2 6、2 3 4 / 6 6、2 4 2 / 6 6、2 5 0 / 6 6、2 5 8 / 6 6、2 6 6 / 6 6、2 7 4 / 6 6、2 8 2 / 6 6 および 2 9 0 / 6 6 からなる群から選択される H C V R / L C V R アミノ酸配列対を含む。

【 0 0 4 1 】

ある特定の実施形態では、H C V R / L C V R アミノ酸配列対は、配列番号 1 8 / 2 6 ( 例えれば、H 1 H 1 1 7 2 9 P )、5 0 / 5 8 ( 例えれば、H 1 H 1 1 8 2 9 N )、5 0 / 6 6 ( 例えれば、H 1 H 1 1 8 2 9 N 2 )、または 1 0 6 / 1 1 4 ( 例えれば、H 1 H 1 4 5 7 1 N ) からなる群から選択される。 10

【 0 0 4 2 】

一実施形態では、単離された抗体または抗原結合性断片は、

( a ) 配列番号 4、2 0、3 6、5 2、7 6、9 2、1 0 8、1 2 4、1 4 0、1 5 6、1 7 2、1 8 8、2 0 4、2 2 0、2 3 6、2 4 4、2 5 2、2 6 0、2 6 8、2 7 6、2 8 4、および 2 9 2 からなる群から選択されるアミノ酸配列を有する H C D R 1 ドメイン；

( b ) 配列番号 6、2 2、3 8、5 4、7 8、9 4、1 1 0、1 2 6、1 4 2、1 5 8、1 7 4、1 9 0、2 0 6、2 2 2、2 3 8、2 4 6、2 5 4、2 6 2、2 7 0、2 7 8、2 8 6、および 2 9 4 からなる群から選択されるアミノ酸配列を有する H C D R 2 ドメイン； 20

( c ) 配列番号 8、2 4、4 0、5 6、8 0、9 6、1 1 2、1 2 8、1 4 4、1 6 0、1 7 6、1 9 2、2 0 8、2 2 4、2 4 0、2 4 8、2 5 6、2 6 4、2 7 2、2 8 0、2 8 8、および 2 9 6 からなる群から選択されるアミノ酸配列を有する H C D R 3 ドメイン；

( d ) 配列番号 1 2、2 8、4 4、6 0、6 8、8 4、1 0 0、1 1 6、1 3 2、1 4 8、1 6 4、1 8 0、1 9 6、2 1 2、および 2 2 8 からなる群から選択されるアミノ酸配列を有する L C D R 1 ドメイン；

( e ) 配列番号 1 4、3 0、4 6、6 2、7 0、8 6、1 0 2、1 1 8、1 3 4、1 5 0、1 6 6、1 8 2、1 9 8、2 1 4、および 2 3 0 からなる群から選択されるアミノ酸配列を有する L C D R 2 ドメイン；ならびに 30

( f ) 配列番号 1 6、3 2、4 8、6 4、7 2、8 8、1 0 4、1 2 0、1 3 6、1 5 2、1 6 8、1 8 4、2 0 0、2 1 6 および 2 3 2 からなる群から選択されるアミノ酸配列を有する L C D R 3 ドメインを含む。

【 0 0 4 3 】

一実施形態では、インフルエンザ H A に特異的に結合する単離された抗体または抗原結合性断片は、( a ) 配列番号 2 0 の H C D R 1、( b ) 配列番号 2 2 の H C D R 2；( c ) 配列番号 2 4 の H C D R 3；( d ) 配列番号 2 8 の L C D R 1；( e ) 配列番号 3 0 の L C D R 2、および( f ) 配列番号 3 2 の L C D R 3 を含む。 40

【 0 0 4 4 】

一実施形態では、インフルエンザ H A に特異的に結合する単離された抗体または抗原結合性断片は、( a ) 配列番号 5 2 の H C D R 1、( b ) 配列番号 5 4 の H C D R 2；( c ) 配列番号 5 6 の H C D R 3；( d ) 配列番号 6 8 の L C D R 1；( e ) 配列番号 7 0 の L C D R 2、および( f ) 配列番号 7 2 の L C D R 3 を含む。

【 0 0 4 5 】

一実施形態では、インフルエンザ H A に特異的に結合する単離された抗体または抗原結合性断片は、( a ) 配列番号 5 2 の H C D R 1、( b ) 配列番号 5 4 の H C D R 2；( c ) 配列番号 5 6 の H C D R 3；( d ) 配列番号 6 0 の L C D R 1；( e ) 配列番号 6 2 の L C D R 2、および( f ) 配列番号 6 4 の L C D R 3 を含む。 50

## 【0046】

一実施形態では、インフルエンザH Aに特異的に結合する単離された抗体または抗原結合性断片は、(a)配列番号108のH C D R 1、(b)配列番号110のH C D R 2；(c)配列番号112のH C D R 3；(d)配列番号116のL C D R 1；(e)配列番号118のL C D R 2、および(f)配列番号120のL C D R 3を含む。

## 【0047】

本発明は、表1または表12に列挙されているH C D R 1アミノ酸配列のいずれかから選択されるアミノ酸配列、または、少なくとも90%、少なくとも95%、少なくとも98%または少なくとも99%の配列同一性を有するその実質的に類似した配列を含む重鎖C D R 1 (H C D R 1)を含む抗体またはその抗原結合性断片も提供する。 10

## 【0048】

本発明は、表1または表12に列挙されているH C D R 2アミノ酸配列のいずれかから選択されるアミノ酸配列、または、少なくとも90%、少なくとも95%、少なくとも98%または少なくとも99%の配列同一性を有するその実質的に類似した配列を含む重鎖C D R 2 (H C D R 2)を含む抗体またはその抗原結合性断片も提供する。

## 【0049】

本発明は、表1または表12に列挙されているH C D R 3アミノ酸配列のいずれかから選択されるアミノ酸配列、または、少なくとも90%、少なくとも95%、少なくとも98%または少なくとも99%の配列同一性を有するその実質的に類似した配列を含む重鎖C D R 3 (H C D R 3)を含む抗体またはその抗原結合性断片も提供する。 20

## 【0050】

本発明は、表1または表12に列挙されているL C D R 1アミノ酸配列のいずれかから選択されるアミノ酸配列、または、少なくとも90%、少なくとも95%、少なくとも98%または少なくとも99%の配列同一性を有するその実質的に類似した配列を含む軽鎖C D R 1 (L C D R 1)を含む抗体またはその抗原結合性断片も提供する。

## 【0051】

本発明は、表1または表12に列挙されているL C D R 2アミノ酸配列のいずれかから選択されるアミノ酸配列、または、少なくとも90%、少なくとも95%、少なくとも98%または少なくとも99%の配列同一性を有するその実質的に類似した配列を含む軽鎖C D R 2 (L C D R 2)を含む抗体またはその抗原結合性断片も提供する。 30

## 【0052】

本発明は、表1または表12に列挙されているL C D R 3アミノ酸配列のいずれかから選択されるアミノ酸配列、または、少なくとも90%、少なくとも95%、少なくとも98%または少なくとも99%の配列同一性を有するその実質的に類似した配列を含む軽鎖C D R 3 (L C D R 3)を含む抗体またはその抗原結合性断片も提供する。

## 【0053】

本発明は、表1または表12に列挙されているH C D R 3アミノ酸配列のいずれかと、表1または表12に列挙されているL C D R 3アミノ酸配列のいずれかの対を含むH C D R 3およびL C D R 3アミノ酸配列対 (H C D R 3 / L C D R 3)を含む抗体またはその抗原結合性断片も提供する。ある特定の実施形態によると、本発明は、表1または表12に列挙されている例示的な抗インフルエンザH A抗体のいずれかに含有されるH C D R 3 / L C D R 3アミノ酸配列対を含む抗体またはその抗原結合性断片を提供する。ある特定の実施形態では、H C D R 3 / L C D R 3アミノ酸配列対は、配列番号24/32(例えば、H1H11729P)、56/64(例えば、H1H11829N)、56/72(例えば、H1H11829N2)および112/120(例えば、H1H14571N)からなる群から選択される。 40

## 【0054】

本発明は、表1または表12に列挙されている例示的な抗インフルエンザH A抗体のいずれかに含有される6つのC D R (すなわち、H C D R 1 - H C D R 2 - H C D R 3 - L C D R 1 - L C D R 2 - L C D R 3)のセットを含む抗体またはその抗原結合性断片も提 50

供する。ある特定の実施形態では、H C D R 1 - H C D R 2 - H C D R 3 - L C D R 1 - L C D R 2 - L C D R 3 アミノ酸配列セットは、配列番号 20 - 22 - 24 - 28 - 30 - 32 ( 例えば、H 1 H 1 1 7 2 9 P ) 、 52 - 54 - 56 - 60 - 62 - 64 ( 例えば、H 1 H 1 1 8 2 9 N ) ; 52 - 54 - 56 - 68 - 70 - 72 ( 例えば、H 1 H 1 1 8 2 9 N 2 ) および 108 - 110 - 112 - 116 - 118 および 120 ( 例えば、H 1 H 1 4 5 7 1 N ) からなる群から選択される。

#### 【 0 0 5 5 】

関連する実施形態では、本発明は、表 1 または表 12 に列挙されている例示的な抗インフルエンザ H A 抗体のいずれかによって定義される H C V R / L C V R アミノ酸配列対に含有される 6 つの C D R ( すなわち、H C D R 1 - H C D R 2 - H C D R 3 - L C D R 1 - L C D R 2 - L C D R 3 ) のセットを含む抗体またはその抗原結合性断片を提供する。例えば、本発明は、配列番号 18 / 26 ( 例えば、H 1 H 1 1 7 2 9 P ) 、 50 / 58 ( 例えば、H 1 H 1 1 8 2 9 N ) 、 50 / 66 ( 例えば、H 1 H 1 1 8 2 9 N 2 ) および 106 / 114 ( 例えば、H 1 H 1 4 5 7 1 N ) からなる群から選択される H C V R / L C V R アミノ酸配列対に含有される H C D R 1 - H C D R 2 - H C D R 3 - L C D R 1 - L C D R 2 - L C D R 3 アミノ酸配列セットを含む抗体またはその抗原結合性断片を含む。H C V R および L C V R アミノ酸配列内の C D R を同定するための方法および技法が当技術分野で周知であり、それを使用して、本明細書に開示されている指定の H C V R および / または L C V R アミノ酸配列内の C D R を同定することができる。C D R の境界を同定するために使用することができる例示的な慣例としては、例えば、K a b a t 定義、C h o t h i a 定義、および A b M 定義が挙げられる。一般に述べると、K a b a t 定義は配列の変動性に基づき、C h o t h i a 定義は構造的なループ領域の位置に基づき、A b M 定義は、K a b a t 手法と C h o t h i a 手法の折衷である。例えば、Kabat、「Sequences of Proteins of Immunological Interest」、National Institutes of Health, Bethesda, Md. ( 1991 年 ) ; Al-Lazikani ら、J. Mol. Biol.、273巻 : 927 ~ 948 頁 ( 1997 年 ) ; および Martin ら、Proc. Natl. Acad. Sci. USA、86巻 : 9268 ~ 9272 頁 ( 1989 年 ) を参照されたい。公共のデータベースも、抗体内の C D R 配列を同定するために利用可能である。

#### 【 0 0 5 6 】

本発明は、グリコシリ化パターンが改変された抗インフルエンザ H A 抗体を含む。一部の実施形態では、例えば、抗体依存性細胞傷害 ( A D C C ) 機能を増大させるために、望ましくないグリコシリ化部位を除去するための改変、または、オリゴ糖鎖上に存在するフコース部分を欠く抗体が有用であり得る ( Shield ら、( 2002 年 ) JBC、277巻 : 26733 頁を参照されたい ) 。他の適用では、補体依存性細胞傷害 ( C D C ) を改変するために、ガラクトシリ化の改変を行うことができる。

#### 【 0 0 5 7 】

本発明は、H C V R の C D R および L C V R の C D R を含み、H C V R および L C V R が、それぞれ表 1 または表 12 に列挙されている H C V R および L C V R 配列から選択されるアミノ酸配列を有する抗体またはその抗原結合性断片と、インフルエンザ H A への特異的な結合について競合する抗体およびその抗原結合性断片も提供する。

#### 【 0 0 5 8 】

本発明は、H C V R の C D R および L C V R の C D R を含み、H C V R および L C V R が、それぞれ表 1 または表 12 に列挙されている H C V R および L C V R 配列から選択されるアミノ酸配列を有する、参照抗体またはその抗原結合性断片と、インフルエンザ H A への結合について交差競合する、または、インフルエンザ H A 上の同じエピトープに結合する抗体およびその抗原結合性断片も提供する。

#### 【 0 0 5 9 】

本発明は、インフルエンザ H A の宿主細胞への付着および / または侵入を遮断する単離された抗体およびその抗原結合性断片も提供する。

#### 【 0 0 6 0 】

10

20

30

40

50

ある特定の実施形態では、本発明の抗体または抗原結合性断片は、インフルエンザH A上の第1のエピトープに対する第1の結合特異性および別の抗原に対する第2の結合特異性を含む二重特異性である。

#### 【0061】

第2の態様では、本発明は、抗インフルエンザH A抗体またはその一部をコードする核酸分子を提供する。例えば、本発明は、表1または表12に列挙されているH C V Rアミノ酸配列のいずれかをコードする核酸分子を提供する。ある特定の実施形態では、核酸分子は、表2もしくは表13に列挙されているH C V R核酸配列のいずれかから選択されるポリヌクレオチド配列、または、その配列と少なくとも90%、少なくとも95%、少なくとも98%もしくは少なくとも99%の配列同一性を有する実質的に類似した配列を含む。

10

#### 【0062】

本発明は、表1または表12に列挙されているL C V Rアミノ酸配列のいずれかをコードする核酸分子も提供する。ある特定の実施形態では、核酸分子は、表2もしくは表13に列挙されているL C V R核酸配列のいずれかから選択されるポリヌクレオチド配列、または、その配列と少なくとも90%、少なくとも95%、少なくとも98%もしくは少なくとも99%の配列同一性を有する実質的に類似した配列を含む。

#### 【0063】

本発明は、表1または表12に列挙されているH C D R 1アミノ酸配列のいずれかをコードする核酸分子も提供する。ある特定の実施形態では、核酸分子は、表2もしくは表13に列挙されているH C D R 1核酸配列のいずれかから選択されるポリヌクレオチド配列、または、その配列と少なくとも90%、少なくとも95%、少なくとも98%もしくは少なくとも99%の配列同一性を有する実質的に類似した配列を含む。

20

#### 【0064】

本発明は、表1または表12に列挙されているH C D R 2アミノ酸配列のいずれかをコードする核酸分子も提供する。ある特定の実施形態では、核酸分子は、表2もしくは表13に列挙されているH C D R 2核酸配列のいずれかから選択されるポリヌクレオチド配列、または、その配列と少なくとも90%、少なくとも95%、少なくとも98%もしくは少なくとも99%の配列同一性を有する実質的に類似した配列を含む。

#### 【0065】

30

本発明は、表1または表12に列挙されているH C D R 3アミノ酸配列のいずれかをコードする核酸分子も提供する。ある特定の実施形態では、核酸分子は、表2もしくは表13に列挙されているH C D R 3核酸配列のいずれかから選択されるポリヌクレオチド配列、または、その配列と少なくとも90%、少なくとも95%、少なくとも98%もしくは少なくとも99%の配列同一性を有する実質的に類似した配列を含む。

#### 【0066】

本発明は、表1または表12に列挙されているL C D R 1アミノ酸配列のいずれかをコードする核酸分子も提供する。ある特定の実施形態では、核酸分子は、表2もしくは表13に列挙されているL C D R 1核酸配列のいずれかから選択されるポリヌクレオチド配列、または、その配列と少なくとも90%、少なくとも95%、少なくとも98%もしくは少なくとも99%の配列同一性を有する実質的に類似した配列を含む。

40

#### 【0067】

本発明は、表1または表12に列挙されているL C D R 2アミノ酸配列のいずれかをコードする核酸分子も提供する。ある特定の実施形態では、核酸分子は、表2もしくは表13に列挙されているL C D R 2核酸配列のいずれかから選択されるポリヌクレオチド配列、または、その配列と少なくとも90%、少なくとも95%、少なくとも98%もしくは少なくとも99%の配列同一性を有する実質的に類似した配列を含む。

#### 【0068】

本発明は、表1または表12に列挙されているL C D R 3アミノ酸配列のいずれかをコードする核酸分子も提供する。ある特定の実施形態では、核酸分子は、表2もしくは表1

50

3に列挙されているLCDR3核酸配列のいずれかから選択されるポリヌクレオチド配列、または、その配列と少なくとも90%、少なくとも95%、少なくとも98%もしくは少なくとも99%の配列同一性を有する実質的に類似した配列を含む。

【0069】

本発明は、3つのCDR（すなわち、HCDR1-HCDR2-HCDR3）のセットを含むHCVRをコードする核酸分子であって、HCDR1-HCDR2-HCDR3アミノ酸配列セットが、表1または表12に列挙されている例示的な抗インフルエンザHA抗体のいずれかによって定義される通りである核酸分子も提供する。

【0070】

本発明は、3つのCDR（すなわち、LCDR1-LCDR2-LCDR3）のセットを含むLCVRをコードする核酸分子であって、LCDR1-LCDR2-LCDR3アミノ酸配列セットが、表1または表12に列挙されている例示的な抗インフルエンザHA抗体のいずれかによって定義される通りである核酸分子も提供する。

【0071】

本発明は、HCVRおよびLCVRの両方をコードする核酸分子であって、HCVRが、表1または表12に列挙されているHCVRアミノ酸配列のいずれかのアミノ酸配列を含み、LCVRが、表1または表12に列挙されているLCVRアミノ酸配列のいずれかのアミノ酸配列を含む核酸分子も提供する。ある特定の実施形態では、核酸分子は、表2もしくは表13に列挙されているHCVR核酸配列のいずれかから選択されるポリヌクレオチド配列、または、その配列と少なくとも90%、少なくとも95%、少なくとも98%もしくは少なくとも99%の配列同一性を有する実質的に類似した配列と、表2に列挙されているLCVR核酸配列のいずれかから選択されるポリヌクレオチド配列、または、その配列と少なくとも90%、少なくとも95%、少なくとも98%もしくは少なくとも99%の配列同一性を有する実質的に類似した配列とを含む。ある特定の実施形態では、本発明のこの態様によると、核酸分子は、HCVRおよびLCVRをコードし、HCVRおよびLCVRはどちらも、表1または表12に列挙されている、同じ抗インフルエンザHA抗体に由来する。

【0072】

本発明は、表1または表12に列挙されている重鎖アミノ酸配列のいずれかをコードする核酸分子を提供する。本発明は、表1または表12に列挙されている軽鎖アミノ酸配列のいずれかをコードする核酸分子も提供する。

【0073】

関連する態様では、本発明は、抗インフルエンザHA抗体の重鎖または軽鎖可変領域を含むポリペプチドを発現させることが可能な組換え発現ベクターを提供する。例えば、本発明は、上記の核酸分子のいずれか、すなわち、表1または表12に記載されているHCVR、LCVR、および/またはCDR配列のいずれかをコードする核酸分子を含む組換え発現ベクターを含む。そのようなベクターが導入された宿主細胞、ならびに宿主細胞を抗体または抗体断片の産生を可能にする条件下で培養することによって抗体またはその一部を産生させ、したがって産生した抗体および抗体断片を回収する方法も本発明の範囲内に含まれる。

【0074】

第3の態様では、本発明は、治療有効量の、インフルエンザHAに特異的に結合する少なくとも1つの組換えモノクローナル抗体またはその抗原結合性断片と、薬学的に許容される担体とを含む医薬組成物を提供する。関連する態様では、本発明は、抗インフルエンザHA抗体と第2の治療剤の組合せである組成物を特徴とする。一実施形態では、第2の治療剤は、抗インフルエンザHA抗体と有利に組み合わせられる任意の薬剤である。抗インフルエンザHA抗体と有利に組み合わせられる例示的な薬剤としては、限定することなく、インフルエンザHAに結合し、かつ/もしくはその活性を阻害する他の薬剤（他の抗体またはその抗原結合性断片などを含める）および/または、インフルエンザHAに直接結合はしないが、それにもかかわらず宿主細胞への感染力を含むウイルスの活性を阻害す

10

20

30

40

50

る薬剤が挙げられる。ある特定の実施形態では、本発明は、(a)第1の抗インフルエンザH A抗体またはその抗原結合性断片；(b)第2の抗インフルエンザH A抗体またはその抗原結合性断片であって、第1の抗体が、インフルエンザH A上の第1のエピトープに結合し、第2の抗体がインフルエンザH A上の第2のエピトープに結合し、第1のエピトープと第2のエピトープが別個のものであり、重複していない、第2の抗インフルエンザH A抗体またはその抗原結合性断片；および(c)薬学的に許容される担体または希釈剤を含む医薬組成物を提供する。ある特定の実施形態では、本発明は、(a)第1の抗インフルエンザH A抗体またはその抗原結合性断片；(b)第2の抗インフルエンザH A抗体またはその抗原結合性断片であって、第1の抗体と第2の抗体がインフルエンザH Aへの結合について交差競合しない、第2の抗インフルエンザH A抗体またはその抗原結合性断片；および(c)薬学的に許容される担体または希釈剤を含む医薬組成物を提供する。ある特定の実施形態では、本発明は、(a)第1の抗インフルエンザH A抗体またはその抗原結合性断片；および(b)異なるインフルエンザ抗原と相互作用する第2の抗インフルエンザ抗体またはその抗原結合性断片であって、第1の抗体が、インフルエンザH A上のエピトープに結合し、第2の抗体が、異なるインフルエンザ抗原上のエピトープに結合する、第2の抗インフルエンザ抗体またはその抗原結合性断片；および(c)薬学的に許容される担体または希釈剤を含む医薬組成物を提供する。ある特定の実施形態では、本発明は、(a)第1の抗インフルエンザH A抗体またはその抗原結合性断片；(b)異なるウイルス(非インフルエンザ)抗原と相互作用する、第2の抗体またはその抗原結合性断片であって、第1の抗体が、インフルエンザH A上のエピトープに結合し、第2の抗体が、異なるウイルス(非インフルエンザ)抗原上のエピトープに結合する、第2の抗体またはその抗原結合性断片；および(c)薬学的に許容される担体または希釈剤を含む医薬組成物を提供する。本発明の抗インフルエンザH A抗体を伴う追加的な組み合わせ治療および共製剤化が本明細書の他の箇所に開示されている。  
10

#### 【0075】

第4の態様では、本発明は、インフルエンザH Aに関連する疾患もしくは障害(例えば、対象におけるウイルス感染など)、またはウイルス感染に付随する少なくとも1つの症状を、本発明の抗インフルエンザH A抗体または抗体の抗原結合性部分を使用して処置するための治療方法であって、本発明の抗体または抗体の抗原結合性断片を含む医薬組成物を、それを必要とする対象に治療有効量で投与するステップを含む治療方法を提供する。治療される障害は、インフルエンザH A活性の阻害によって改善される、好転する、阻害される、または防止される任意の疾患または状態である。ある特定の実施形態では、本発明は、A型インフルエンザ感染の少なくとも1つの症状を防止する、処置する、または好転させる方法であって、本発明の抗インフルエンザH A抗体またはその抗原結合性断片を、それを必要とする対象に治療有効量で投与するステップを含む方法を提供する。  
30

#### 【0076】

一部の実施形態では、本発明は、対象におけるインフルエンザ感染の少なくとも1つの症状の重症度、持続時間、または出現の頻度を、本発明の抗インフルエンザH A抗体を投与することによって好転または低下させるための方法であって、少なくとも1つの症状が、頭痛、発熱、疼痛、鼻漏(鼻閉)、悪寒、疲労、衰弱、咽頭炎、咳、息切れ、嘔吐、下痢、肺炎、気管支炎、および死亡からなる群から選択される、方法を提供する。  
40

#### 【0077】

ある特定の実施形態では、本発明は、対象におけるウイルス負荷量を低減する方法であって、対象に、インフルエンザH Aに結合し、インフルエンザH Aの宿主細胞への結合および/または侵入を遮断する、本発明の抗体またはその断片を有効量で投与するステップを含む方法を提供する。

#### 【0078】

ある特定の実施形態では、抗体またはその抗原結合性断片は、インフルエンザ感染を有する、またはそれを有するリスクがある、またはそれが発生する素因がある対象に、予防的にまたは治療的に投与することができる。リスクがある対象としては、これだけに限定  
50

されないが、免疫無防備状態の人、例えば、自己免疫疾患が原因で免疫無防備状態の人、または免疫抑制療法を受けている人（例えば、臓器移植後）、またはヒト免疫不全症候群（HIV）もしくは後天性免疫不全症候群（AIDS）、白血球が枯渇するもしくは破壊される特定の形態の貧血を患っている人、放射線療法もしくは化学療法を受けている人、または炎症性障害を患っている人が挙げられる。インフルエンザ感染が生じるリスクがある他の対象としては、高齢の成人（65歳を超える）、2歳未満の小児、医療従事者、および肺感染症、心疾患または糖尿病などの基礎をなす医学的状態を有する人が挙げられる。また、感染した個体と物理的に接触するまたは密接な物理的近傍になるあらゆる人は、インフルエンザウイルス感染が発生するリスクが上昇している。さらに、例えば、人口密度の高い都市、もしくはインフルエンザウイルスへの感染が確認されたもしくは疑わしい対象の極めて近傍に住んでいる対象は、疾患のアウトブレイクの近傍にあることに起因して、または、例えば、病院職員、医薬研究者、感染地域への渡航者、または航空機を頻繁に利用する人は、職業選択に起因して、インフルエンザ感染にかかるリスクがある。

#### 【0079】

ある特定の実施形態では、本発明の抗体またはその抗原結合性断片を第2の治療剤と組み合わせて、それを必要とする対象に投与する。第2の治療剤は、抗炎症薬（例えば、コルチコステロイド、および非ステロイド性抗炎症薬など）、抗感染薬、インフルエンザHAに対する異なる抗体、異なるインフルエンザ抗原（例えば、ノイラミニダーゼ）に対する抗体、抗ウイルス薬、充血除去薬、抗ヒスタミン薬、インフルエンザに対するワクチン、抗酸化剤などの栄養補助食品、および、インフルエンザ感染の少なくとも1つの症状を好転させるため、または患者におけるウイルス負荷量を低減するために有用な当技術分野で公知の任意の他の薬物または治療からなる群から選択することができる。ある特定の実施形態では、第2の治療剤は、本発明の抗体またはその抗原結合性断片に関連する副作用（複数可）が起こるのであれば、そのようなあらゆる可能性のある副作用（複数可）に対して反作用するまたはそれを低下させる助けとなる薬剤であってよい。抗体またはその断片は、皮下、静脈内、皮内、腹腔内、経口的、鼻腔内、筋肉内、または頭蓋内に投与することができる。一実施形態では、抗体は、対象の血清中の抗体の最大の濃度のために単回静脈内注入として投与することができる。抗体またはその断片は、対象の体重1kg当たり約0.01mg～体重1kg当たり約100mgの用量で投与することができる。ある特定の実施形態では、本発明の抗体は、50mgから5000mgまでの間で構成される1つまたは複数の用量で投与することができる。

#### 【0080】

本発明は、インフルエンザHAの結合および/または活性の遮断が有益であると思われる疾患または障害を治療するための、本発明の抗インフルエンザHA抗体またはその抗原結合性断片の使用も包含する。本発明は、インフルエンザHAの結合および/または活性の遮断が有益であると思われる疾患または障害を治療するための医薬の製造における、本発明の抗インフルエンザHA抗体またはその抗原結合性断片の使用も包含する。

#### 【0081】

他の実施形態は、続く発明の詳細な説明を精査すれば明らかになろう。

本発明の実施形態の例として、以下の項目が挙げられる。

##### (項目1)

A型インフルエンザ赤血球凝集素（HA）に特異的に結合する単離された組換え抗体またはその抗原結合性断片であって、前記抗体が、以下の特性：

- (a) 完全ヒトモノクローナル抗体であること；
- (b) リアルタイムバイオレイヤー干渉計に基づくバイオセンサー（Octet HT Xアッセイ）で測定した場合、インフルエンザHAに、 $10^{-9}$  M未満の解離定数（ $K_D$ ）で結合すること；
- (c) 370分を超える解離半減期（ $t_{1/2}$ ）を示すこと；
- (d) H1N1、H5N1、H9N2、H13N6およびH16N3から選択されるグループ1のA型インフルエンザウイルスの、130nM未満のIC<sub>50</sub>での中和を示すこ

10

20

30

40

50

と；

(e) インフルエンザウイルス感染細胞の、66nM未満のEC<sub>50</sub>での補体媒介性溶解を示すこと；

(f) ウィルスによる攻撃の前またはその後のいずれかに投与した場合に、インフルエンザウイルス感染の動物モデルにおける生存の増加によって測定される保護を示すこと；または

(g) 前記抗体またはその抗原結合性断片が、表1または表12に列挙されている重鎖可変領域(HCVR)配列のいずれか1つに含有される3つの重鎖相補性決定領域(CDR)(HCDR1、HCDR2およびHCDR3)と、表1または表12に列挙されている軽鎖可変領域(LCVR)配列のいずれか1つに含有される3つの軽鎖CDR(LCDR1、LCDR2およびLCDR3)とを含むこと

のうちの2つまたはそれ超を有する、単離された組換え抗体またはその抗原結合性断片。

(項目2)

サルにおいて対照I mAbの約1.5倍の解離半減期、およびマウスにおいて対照I mAbの約2倍の解離半減期を示す、項目1に記載の単離された抗体。

(項目3)

インフルエンザウイルスに感染した哺乳動物において、感染後48時間の時点で投与した場合に、オセルタミビルと比較して保護の増大を示す、項目1に記載の単離された抗体。

(項目4)

インフルエンザウイルスに感染した哺乳動物に約15mg/kgの単回静脈内用量として投与した場合に、約5mg/kg～約25mg/kgの用量で1日2回、5日間投与されるオセルタミビルの経口投与と比較して保護の増大を示す、項目1に記載の単離された抗体。

(項目5)

インフルエンザウイルスに感染した哺乳動物において、感染後48時間の時点で約15mg/kgの単回用量として投与した場合に、約100%の生存率を示す、項目1に記載の単離された抗体。

(項目6)

インフルエンザウイルスに感染した哺乳動物において、約15mg/kgの単回用量として投与した場合に、オセルタミビルを約25mg/kgの用量で1日2回、5日間、経口投与した場合に観察される40%の生存率と比較して、約100%の生存率を示す、項目1に記載の単離された抗体。

(項目7)

インフルエンザウイルスに感染した哺乳動物において、感染後72時間の時点でオセルタミビルと共に投与した場合に、相加的な保護効果を示す、項目1に記載の単離された抗体。

(項目8)

オセルタミビルと組み合わせて使用し、前記抗体を約7mg/kgから約15mg/kgまでにわたる単回静脈内用量として投与し、前記オセルタミビルを約25mg/kgの用量で1日2回、5日間、経口投与した場合に、相加的な保護効果を示す、項目1に記載の単離された抗体。

(項目9)

表1または表12に列挙されているHCVR配列からなる群から選択されるアミノ酸配列を有するHCVRを含む、項目1から8のいずれか一項に記載の単離された抗体またはその抗原結合性断片。

(項目10)

配列番号2、18、34、50、74、90、106、122、138、154、17

0、186、202、218、234、242、250、258、266、274、28

2および290からなる群から選択されるアミノ酸配列を有するHCVRを含む、項目1

10

20

30

40

50

から 9 のいずれか一項に記載の単離された抗体またはその抗原結合性断片。

(項目 1 1 )

表 1 または表 1 2 に列挙されている L C V R 配列からなる群から選択されるアミノ酸配列を有する L C V R を含む、項目 1 から 1 0 のいずれか一項に記載の単離された抗体またはその抗原結合性断片。

(項目 1 2 )

配列番号 1 0 、 2 6 、 4 2 、 5 8 、 6 6 、 8 2 、 9 8 、 1 1 4 、 1 3 0 、 1 4 6 、 1 6 2 、 1 7 8 、 1 9 4 、 2 1 0 および 2 2 6 からなる群から選択されるアミノ酸配列を有する L C V R を含む、項目 1 から 1 1 のいずれか一項に記載の単離された抗体またはその抗原結合性断片。

10

(項目 1 3 )

( a ) 配列番号 4 、 2 0 、 3 6 、 5 2 、 7 6 、 9 2 、 1 0 8 、 1 2 4 、 1 4 0 、 1 5 6 、 1 7 2 、 1 8 8 、 2 0 4 、 2 2 0 、 2 3 6 、 2 4 4 、 2 5 2 、 2 6 0 、 2 6 8 、 2 7 6 、 2 8 4 および 2 9 2 からなる群から選択されるアミノ酸配列を有する H C D R 1 ドメイン；

( b ) 配列番号 6 、 2 2 、 3 8 、 5 4 、 7 8 、 9 4 、 1 1 0 、 1 2 6 、 1 4 2 、 1 5 8 、 1 7 4 、 1 9 0 、 2 0 6 、 2 2 2 、 2 3 8 、 2 4 6 、 2 5 4 、 2 6 2 、 2 7 0 、 2 7 8 、 2 8 6 および 2 9 4 からなる群から選択されるアミノ酸配列を有する H C D R 2 ドメイン；

( c ) 配列番号 8 、 2 4 、 4 0 、 5 6 、 8 0 、 9 6 、 1 1 2 、 1 2 8 、 1 4 4 、 1 6 0 、 1 7 6 、 1 9 2 、 2 0 8 、 2 2 4 、 2 4 0 、 2 4 8 、 2 5 6 、 2 6 4 、 2 7 2 、 2 8 0 、 2 8 8 および 2 9 6 からなる群から選択されるアミノ酸配列を有する H C D R 3 ドメイン；

20

( d ) 配列番号 1 2 、 2 8 、 4 4 、 6 0 、 6 8 、 8 4 、 1 0 0 、 1 1 6 、 1 3 2 、 1 4 8 、 1 6 4 、 1 8 0 、 1 9 6 、 2 1 2 および 2 2 8 からなる群から選択されるアミノ酸配列を有する L C D R 1 ドメイン；

( e ) 配列番号 1 4 、 3 0 、 4 6 、 6 2 、 7 0 、 8 6 、 1 0 2 、 1 1 8 、 1 3 4 、 1 5 0 、 1 6 6 、 1 8 2 、 1 9 8 、 2 1 4 および 2 3 0 からなる群から選択されるアミノ酸配列を有する L C D R 2 ドメイン；

( f ) 配列番号 1 6 、 3 2 、 4 8 、 6 4 、 7 2 、 8 8 、 1 0 4 、 1 2 0 、 1 3 6 、 1 5 2 、 1 6 8 、 1 8 4 、 2 0 0 、 2 1 6 および 2 3 2 からなる群から選択されるアミノ酸配列を有する L C D R 3 ドメイン

30

を含む、項目 1 から 1 2 のいずれか一項に記載の単離された抗体またはその抗原結合性断片。

(項目 1 4 )

( a ) 配列番号 2 0 の H C D R 1 、 ( b ) 配列番号 2 2 の H C D R 2 ； ( c ) 配列番号 2 4 の H C D R 3 ； ( d ) 配列番号 2 8 の L C D R 1 ； ( e ) 配列番号 3 0 の L C D R 2 、および ( f ) 配列番号 3 2 の L C D R 3 を含む、項目 1 から 1 3 のいずれか一項に記載の単離された抗体またはその抗原結合性断片。

(項目 1 5 )

配列番号 2 / 1 0 、 1 8 / 2 6 、 3 4 / 4 2 、 5 0 / 5 8 、 5 0 / 6 6 、 7 4 / 8 2 、 7 4 / 6 6 、 9 0 / 9 8 、 1 0 6 / 1 1 4 、 1 2 2 / 1 3 0 、 1 3 8 / 1 4 6 、 1 5 4 / 1 6 2 、 1 7 0 / 1 7 8 、 1 8 6 / 1 9 4 、 2 0 2 / 2 1 0 、 2 1 8 / 2 2 6 、 2 3 4 / 6 6 、 2 4 2 / 6 6 、 2 5 0 / 6 6 、 2 5 8 / 6 6 、 2 6 6 / 6 6 、 2 7 4 / 6 6 、 2 8 2 / 6 6 および 2 9 0 / 6 6 からなる群から選択される H C V R / L C V R アミノ酸配列対を含む、項目 1 から 1 4 のいずれか一項に記載の単離された抗体または抗原結合性断片。

40

(項目 1 6 )

配列番号 1 8 / 2 6 、 5 0 / 5 8 、 5 0 / 6 6 および 1 0 6 / 1 1 4 からなる群から選択される H C V R / L C V R アミノ酸配列対を含む、項目 1 から 1 5 のいずれか一項に記

50

載の単離された抗体または抗原結合性断片。

(項目 17)

表 1 または表 12 に列挙されている H C V R 配列からなる群から選択されるアミノ酸配列を有する H C V R の C D R ; および表 1 または表 12 に列挙されている L C V R 配列からなる群から選択されるアミノ酸配列を有する L C V R の C D R を含む抗体または抗原結合性断片と、インフルエンザ H A への結合について競合する、単離された抗体またはその抗原結合性断片。

(項目 18)

表 1 または表 12 に列挙されている H C V R 配列からなる群から選択されるアミノ酸配列を含む H C V R の C D R ; および表 1 または表 12 に列挙されている L C V R 配列からなる群から選択されるアミノ酸配列を含む L C V R の C D R を含む抗体または抗原結合性断片と同じエピトープに結合する、単離された組換えヒトモノクローナル抗体またはその抗原結合性断片。

10

(項目 19)

インフルエンザウイルスの宿主細胞への付着および / または侵入を防止する、項目 1 から 18 のいずれか一項に記載の単離された抗体。

(項目 20)

項目 1 から 19 のいずれか一項に記載の、インフルエンザ H A に結合する単離された抗体またはその抗原結合性断片と、薬学的に許容される担体または希釈剤とを含む医薬組成物。

20

(項目 21)

(a) インフルエンザ H A 上の第 1 のエピトープに結合する第 1 の抗体またはその抗原結合性断片と、(b) インフルエンザ H A 上の第 2 のエピトープに結合する第 2 の抗体またはその抗原結合性断片と、(c) 薬学的に許容される担体または希釈剤とを含む医薬組成物。

(項目 22)

項目 1 から 19 のいずれか一項に記載の抗体の H C V R をコードするポリヌクレオチド配列を含む単離されたポリヌクレオチド分子。

(項目 23)

項目 1 から 19 のいずれか一項に記載の抗体の L C V R をコードするポリヌクレオチド配列を含む単離されたポリヌクレオチド分子。

30

(項目 24)

項目 22 または 23 に記載のポリヌクレオチド配列を含むベクター。

(項目 25)

項目 24 に記載のベクターを発現する細胞。

(項目 26)

インフルエンザ感染の少なくとも 1 つの症状を防止する、治療する、または好転させる方法であって、項目 1 から 19 のいずれか一項に記載の抗体もしくは抗原結合性断片または項目 20 または 21 に記載の医薬組成物を、それを必要とする対象に投与するステップを含む方法。

40

(項目 27)

前記少なくとも 1 つの症状が、発熱、咳、体の痛み、鼻漏、息切れ、肺炎または気管支炎からなる群から選択される、項目 26 に記載の方法。

(項目 28)

前記医薬組成物を、それを必要とする前記対象に予防的にまたは治療的に投与する、項目 26 に記載の方法。

(項目 29)

前記医薬組成物を、免疫無防備状態の個体、高齢の成人 (65 歳を超える) 、医療従事者、ならびに医学的問題の履歴または基礎をなす医学的状態 (例えば、心臓の問題、および糖尿病) がある人からなる群から選択される対象に予防的に投与する、項目 28 に記載

50

の方法。

(項目30)

前記医薬組成物を第2の治療剤と組み合わせて投与する、項目26から29のいずれか一項に記載の方法。

(項目31)

前記第2の治療剤が、抗ウイルス薬、抗炎症薬（例えば、コルチコステロイド、および非ステロイド性抗炎症薬など）、インフルエンザHAに対する異なる抗体、インフルエンザに対するワクチン、抗酸化剤などの栄養補助食品およびインフルエンザ感染を処置するための任意の他の緩和療法からなる群から選択される、項目30に記載の方法。

(項目32)

10

前記第2の治療剤を、前記抗体と同じ投与経路を通じて、または前記抗体とは異なる投与経路を通じて投与する、項目31に記載の方法。

(項目33)

前記第2の治療剤を経口投与する、項目32に記載の方法。

(項目34)

前記抗ウイルス薬がオセルタミビルである、項目31に記載の方法。

(項目35)

前記オセルタミビルを、前記抗体を投与する前、それと同時に、またはその後に投与する、項目34に記載の方法。

(項目36)

20

前記医薬組成物を皮下、静脈内、皮内、筋肉内、鼻腔内、または経口的に投与する、項目26から35のいずれか一項に記載の方法。

【図面の簡単な説明】

【0082】

【図1】図1は、マウスにおける重症A型インフルエンザウイルス感染の治療において、感染後48時間の時点におけるH1H11729Pの単回用量により、感染後48時間の時点におけるオセルタミビルよりも高い有効性が示されることを示す。48時間p.i.の時点でもたらされた15mg/kgでのH1H11729Pの単回用量（丸印）は、感染後2日目に開始して1日2回（BID）、5日間、25mg/kg（逆三角形）または5mg/kg（ひし形）で投薬されたオセルタミビル（TAMIFLU（登録商標））よりも有効である。0日目に、マウスに10×MLD<sub>50</sub>のA/Puerto Rico/08/1934(H1N1)を鼻腔内に(IN)感染させた。対照群には、水およびIgG1アイソタイプ（陰性）対照としてCR8020の経口胃管栄養を受けた非感染群（三角形、点線）および感染群（六角形）を含めた。

30

【0083】

【図2】図2は、マウスにおける重症インフルエンザを処置するために、感染後72時間の時点でH1H11729Pの単回用量をオセルタミビルと組み合わせることにより相加的な有効性が観察されたことを示す。マウスに、10×MLD<sub>50</sub>のA/Puerto Rico/08/1934(H1N1)を鼻腔内(IN)感染させた72時間後に、単一の有効未満の用量である7mg/kg（四角、点線）、または15mg/kg（丸印、点線）のH1H11729P、対照IgG（三角形）、25mg/kgで1日2回、5日間のオセルタミビル（ひし形、点線）、または、単回用量の7mg/kgのH1H11729P（四角、実線）もしくは15mg/kgのH1H11729P（丸印、実線）とオセルタミビルのレジメンの組合せを5日間受けさせた。3つの独立した試験（群当たりN=15）の結果が示されている。

40

【0084】

【図3】図3は、H1H11729Pと称される抗体のHCVR、HCDR1、HCDR2、HCDR3、LCVR、LCDR1、LCDR2およびLCDR3アミノ酸配列を示す。

【0085】

50

【図4】図4は、H1H11829N2と称される抗体のHCVR、HCDR1、HCDR2、HCDR3、LCVR、LCDR1、LCDR2およびLCDR3アミノ酸配列を示す。

【発明を実施するための形態】

【0086】

本方法を記載する前に、特定の方法および記載されている実験条件は変動しうるので、本発明はそのような方法および条件に限定されないことが理解されるべきである。本発明の範囲は、添付の特許請求の範囲によってのみ限定されるので、本明細書において使用される用語法は、特定の実施形態を説明するためだけのものであり、限定的なものではないことも理解される。

10

【0087】

別段の定義のない限り、本明細書において使用される全ての科学技術用語は、本発明が属する技術分野の当業者に一般に理解されているものと同じ意味を有する。本明細書に記載されている方法および材料と類似した、またはそれと等しい任意の方法および材料を本発明の実施または試験において使用することができるが、好ましい方法および材料がここに記載されている。

定義

【0088】

「インフルエンザ赤血球凝集素」という用語は、「インフルエンザHA」とも称され、ウイルスの宿主細胞への付着（-2,3-および-2,6-シアル酸へのHA1結合による）および侵入（コンフォメーションの変化による）を媒介する、インフルエンザビリオンの表面上に見いだされる三量体糖タンパク質である。HAは、2つの構造ドメイン：受容体結合性部位（高頻度の抗原性突然変異を受ける）を含有する球状の頭部ドメイン、および幹領域（インフルエンザウイルスの様々な株の間でより保存されている）で構成される。インフルエンザHAは、前駆体（HA0）として合成され、それがタンパク質プロセシングを受けて2つのサブユニット（HA1およびHA2）が産生され、これらが互いに会合して幹／球状頭部構造が形成される。ウイルスHAは、ウイルス上の最も可変性の高い抗原であるが（18種の亜型を2つの群に分類することができる）、幹（HA2）は各群の中で高度に保存されている。

20

【0089】

全長インフルエンザHAのアミノ酸配列は、GenBankにおいて受託番号FJ966082.1として提供されるインフルエンザ分離株H1N1\_A/California/04/2009のアミノ酸配列により例示される。「インフルエンザHA」という用語は、異なるインフルエンザ分離株から単離されたインフルエンザHAのタンパク質バリエント、例えば、GQ149237.1、NC\_002017、KM972981.1なども包含する。「インフルエンザHA」という用語は、組換えインフルエンザHAまたはその断片も包含する。この用語は、例えば、ヒスチジンタグ、マウスまたはヒトFc、またはシグナル配列とカップリングしたインフルエンザHAまたはその断片も包含する。

30

【0090】

「インフルエンザ感染」という用語は、本明細書で使用される場合、「flu」とも特徴付けられ、インフルエンザウイルスによって引き起こされる重症急性呼吸性疾病を指す。この用語は、気道感染症、ならびに高熱、頭痛、全身の疼痛および痛み、疲労および衰弱、一部の例では極度の消耗、鼻づまり、くしゃみ、咽頭炎、胸部不快感、咳、息切れ、気管支炎、肺炎および重症の場合では死亡を含む症状を包含する。

40

【0091】

「抗体」という用語は、本明細書で使用される場合、ジスルフィド結合によって相互接続した2つの重（H）鎖と2つの軽（L）鎖の4つのポリペプチド鎖で構成される免疫グロブリン分子（すなわち、「抗体分子全体」）、ならびにその多量体（例えば、IgM）またはその抗原結合性断片を指すものとする。各重鎖は、重鎖可変領域（「HCVR」または「V<sub>H</sub>」）と重鎖定常領域（ドメインC<sub>H</sub>1、C<sub>H</sub>2およびC<sub>H</sub>3で構成される）と

50

で構成される。各軽鎖は、軽鎖可変領域（「 $V_{H}$ 」または「 $V_{L}$ 」）と軽鎖定常領域（ $C_{L}$ ）とで構成される。 $V_{H}$ 領域および $V_{L}$ 領域は、相補性決定領域（CDR）と称される超可変性の領域と、点在する、フレームワーク領域（FR）と称される、より保存された領域にさらに細分することができる。各 $V_{H}$ および $V_{L}$ は、アミノ末端からカルボキシ末端まで以下の順序で配置された3つのCDRおよび4つのFRで構成される：FR1、CDR1、FR2、CDR2、FR3、CDR3、FR4。本発明のある特定の実施形態では、抗体（またはその抗原結合性断片）のFRは、ヒト生殖細胞系列配列と同一のものであってもよく、天然にまたは人工的に改変されたものであってもよい。アミノ酸コンセンサス配列は、2つまたはそれ超のCDRの並列分析に基づいて定義することができる。

10

#### 【0092】

1つまたは複数のCDR残基の置換または1つまたは複数のCDRの省略も可能である。1つまたは2つのCDRを結合のために分配することができる抗体が科学文献に記載されている。Padlanら（1995年、FASEB J.、9巻：133～139頁）は、公開された結晶構造に基づいて抗体とそれらの抗原の間の接触領域を解析し、CDR残基の約5分の1～3分の1のみが実際に抗原と接触すると結論付けた。Padlanはまた、1つまたは2つのCDRが、抗原と接触するアミノ酸を有さない抗体も多く見出した（Vajdosら、2002年、J Mol Biol、320巻：415～428頁も参照されたい）。

#### 【0093】

抗原と接触しないCDR残基は、以前の試験に基づいて、分子モデリングによって、および/または経験的に、Chothia CDRの外側にあるKabat CDRの領域から同定することができる（例えば、CDRH2の残基H60～H65は、多くの場合に、必要でない）。CDRまたはその残基（複数可）を省略し、通常、別のヒト抗体配列またはそのような配列のコンセンサス内の対応する位置を占有するアミノ酸で置換する。CDR内の置換の位置および置換するアミノ酸も経験的に選択することができる。経験的な置換は保存的置換であっても非保存的置換であってもよい。

20

#### 【0094】

本明細書に開示されている完全ヒト抗インフルエンザHAモノクローナル抗体は、対応する生殖細胞系列配列と比較して、重鎖および軽鎖可変ドメインのフレームワークおよび/またはCDR領域に1つまたは複数のアミノ酸置換、挿入および/または欠失を含み得る。そのような突然変異は、本明細書に開示されているアミノ酸配列を、例えば公共の抗体配列データベースから入手可能な生殖細胞系列配列と比較することによって容易に突きとめることができる。本発明は、本明細書に開示されているアミノ酸配列のいずれかに由来する抗体およびその抗原結合性断片であって、1つまたは複数のフレームワークおよび/またはCDR領域内の1つまたは複数のアミノ酸が、抗体が由来する生殖細胞系列配列の対応する残基（複数可）、または別のヒト生殖細胞系列配列の対応する残基（複数可）、または対応する生殖細胞系列残基（複数可）の保存的アミノ酸置換に突然変異した（そのような配列変化を本明細書では集合的に「生殖細胞系列突然変異」と称する）、抗体およびその抗原結合性断片を含む。当業者は、本明細書に開示されている重鎖可変領域および軽鎖可変領域配列から開始して、1つまたは複数の個々の生殖細胞系列突然変異またはこれらの組合せを含む多数の抗体および抗原結合性断片を容易に作製することができる。ある特定の実施形態では、 $V_{H}$ ドメインおよび/または $V_{L}$ ドメイン内のフレームワークおよび/またはCDR残基の全てが、抗体が由来する元の生殖細胞系列配列に見いだされる残基に復帰突然変異している。他の実施形態では、ある特定の残基のみが、元の生殖細胞系列配列に復帰突然変異している、例えば、FR1の最初の8アミノ酸の範囲内もしくはFR4の最後の8アミノ酸の範囲内にのみ突然変異した残基が見いだされるか、または、CDR1、CDR2またはCDR3の範囲内にのみ突然変異した残基が見いだされる。他の実施形態では、フレームワークおよび/またはCDR残基（複数可）のうちの1つまたは複数が、異なる生殖細胞系列配列（すなわち、抗体が元々由来する生殖細胞系列配列とは異なる生殖細胞系列配列）の対応する残基（複数可）に突然変異している。さらに、

30

40

50

本発明の抗体は、フレームワークおよび／またはCDR領域内に2つまたはそれ超の生殖細胞系列突然変異の任意の組合せを含有し得る、例えば、ある特定の個々の残基は特定の生殖細胞系列配列の対応する残基に突然変異しており、元の生殖細胞系列配列とは異なるある特定の他の残基は維持されているかまたは異なる生殖細胞系列配列の対応する残基に突然変異している。1つまたは複数の生殖細胞系列突然変異を含有する抗体および抗原結合性断片が得られたら、それを、例えば、改善された結合特異性、増大した結合親和性、改善されたまたは増強されたアンタゴニスト性またはアゴニスト性の生物学的性質（場合によっては）、低下した免疫原性などの1つまたは複数の所望の性質について容易に試験することができる。この一般的な様式で得られる抗体および抗原結合性断片は本発明の範囲に包含される。

10

## 【0095】

本発明は、1つまたは複数の保存的置換を有する本明細書に開示されているHCVR、LCVR、および／またはCDRアミノ酸配列のいずれかのバリエントを含む完全ヒト抗インフルエンザHAモノクローナル抗体も包含する。例えば、本発明は、本明細書に開示されているHCVR、LCVR、および／またはCDRアミノ酸配列のいずれかと比較して保存的アミノ酸置換を、例えば10力所またはそれ未満、8力所またはそれ未満、6力所またはそれ未満、4力所またはそれ未満伴うHCVR、LCVR、および／またはCDRアミノ酸配列を有する抗インフルエンザHA抗体を含む。

## 【0096】

「ヒト抗体」という用語は、本明細書で使用される場合、ヒト生殖細胞系列免疫グロブリン配列に由来する可変領域および定常領域を有する抗体を含むものとする。本発明のヒトmAbは、例えば、CDR、特にCDR3に、ヒト生殖細胞系列免疫グロブリン配列によりコードされないアミノ酸残基（例えば、*in vitro*におけるランダム突然変異誘発もしくは部位特異的突然変異誘発によって、または*in vivo*における体細胞突然変異によって突然変異が導入されたもの）を含み得る。しかし、「ヒト抗体」という用語は、本明細書で使用される場合、別の哺乳動物種（例えば、マウス）の生殖細胞系列に由来するCDR配列がヒトFR配列に移植されたmAbを含むことは意図されない。この用語は、非ヒト哺乳動物において、または非ヒト哺乳動物の細胞において組換えにより產生された抗体を包含する。この用語は、ヒト対象から単離されたまたはヒト対象において生成された抗体を含むことは意図されない。

20

## 【0097】

「組換え」という用語は、本明細書で使用される場合、例えばDNAスプライシングおよびトランスジェニック発現を含む、組換えDNA技術として当技術分野で公知の技術または方法によって創出されたか、発現されたか、単離されたか、または得られる、本発明の抗体またはその抗原結合性断片を指す。この用語は、非ヒト哺乳動物（トランスジェニック非ヒト哺乳動物、例えば、トランスジェニックマウスを含む）もしくは細胞（例えば、CHO細胞）発現系において発現された、または組換えコンビナトリアルヒト抗体ライブラリーから単離された抗体を指す。

30

## 【0098】

「特異的に結合する（*specifically binds*）」または「に特異的に結合する（*binds specifically to*）」などの用語は、抗体またはその抗原結合性断片が、抗原と、生理的条件下で比較的安定な複合体を形成することを意味する。特異的な結合は、平衡解離定数が少なくとも約 $1 \times 10^{-8}$  Mまたはそれ未満であることによって特徴付けられ得る（例えば、 $K_D$ が小さいほど、結合が緊密であることが示される）。2つの分子が特異的に結合するかどうかを決定するための方法は、当技術分野で周知であり、それらとして、例えば、平衡透析、表面プラズモン共鳴などが挙げられる。本明細書に記載されている通り、インフルエンザHAに特異的に結合する抗体が、Octet（登録商標）HTXバイオセンサーでのリアルタイム無標識バイオレイヤー干渉アッセイにより同定されている。さらに、インフルエンザHAの1つのドメイン、および1つもしくは複数の追加的な抗原に結合する多重特異性抗体、またはインフルエンザHA

40

50

の 2 つの異なる領域に結合する二重特異性もなお、本明細書で使用される「特異的に結合する」抗体とみなされる。

【 0 0 9 9 】

「高親和性」抗体という用語は、インフルエンザ H A に対して、リアルタイム無標識バイオレイヤー干渉アッセイ、例えば Octet (登録商標) HTXバイオセンサーによって、または表面プラズモン共鳴、例えば BIACORE (商標) によって、または溶液親和性 ELISA によって測定して、少なくとも  $10^{-8}$  M；好ましくは  $10^{-9}$  M；より好ましくは  $10^{-10}$  M、なにより好ましくは  $10^{-11}$  M、なにより好ましくは  $10^{-12}$  M の  $K_D$  で表される結合親和性を有する mAb を指す。

【 0 1 0 0 】

「遅い解離速度 (slow off rate)」、「Koff」または「kd」という用語は、リアルタイム無標識バイオレイヤー干渉アッセイ、例えば、Octet (登録商標) HTXバイオセンサーによって、または表面プラズモン共鳴、例えば、BIACORE (商標) によって決定した場合、抗体がインフルエンザ H A から  $1 \times 10^{-3}$  s<sup>-1</sup> またはそれ未満、好ましくは  $1 \times 10^{-4}$  s<sup>-1</sup> またはそれ未満の速度定数で解離することを意味する。

【 0 1 0 1 】

抗体の「抗原結合性部分」、抗体の「抗原結合性断片」などという用語は、本明細書で使用される場合、抗原に特異的に結合して複合体を形成する、任意の天然に存在するものであるか、酵素によって得られたものであるか、合成されたものであるか、または遺伝子操作されたものであるポリペプチドまたは糖タンパク質を含む。抗体の「抗原結合性断片」または「抗体断片」という用語は、本明細書で使用される場合、インフルエンザ H A に結合する能力を保持する、抗体の 1 つまたは複数の断片を指す。

【 0 1 0 2 】

特定の実施形態では、本発明の抗体または抗体断片は、インフルエンザ H A によって引き起こされる感染を治療するために有用な抗ウイルス薬、第 2 の抗インフルエンザ抗体または任意の他の治療用部分などのリガンドまたは治療用部分などの部分とコンジュゲートすることができる（「免疫コンジュゲート」）。

【 0 1 0 3 】

「単離された抗体」という用語は、本明細書で使用される場合、異なる抗原特異性を有する他の抗体 (Ab) を実質的に含まない抗体を指すことが意図される（例えば、インフルエンザ H A に特異的に結合する単離された抗体、またはその断片は、インフルエンザ H A 以外の抗原に特異的に結合する Ab を実質的に含まない）。

【 0 1 0 4 】

「遮断抗体」または「中和抗体」（または「インフルエンザ H A 活性を中和する抗体」または「アンタゴニスト抗体」）とは、本明細書で使用される場合、インフルエンザ H A に結合することにより、インフルエンザ H A の少なくとも 1 つの生物学的活性の阻害をもたらす抗体を指すことが意図される。例えば、本発明の抗体は、インフルエンザの宿主細胞への付着または侵入を防止または遮断する。さらに、「中和抗体」とは、病原体の、宿主における感染を開始し、かつ / または継続する能力を中和することができる、すなわち、防止する、阻害する、低下させる、妨害するまたは干渉することができる抗体である。「中和抗体」および「中和する抗体 (an antibody that neutralizes)」または「中和する抗体 (antibodies that neutralize)」という用語は、本明細書では互換的に使用される。これらの抗体は、単独または他の抗ウイルス剤と組み合わせて、適切な製剤化の際に、もしくは能動的なワクチン接種に関連して予防剤もしくは治療剤として、または診断ツールとして使用することができる。

【 0 1 0 5 】

「表面プラズモン共鳴」という用語は、例えば、BIACORE (商標) system (Pharmacia Biosensor AB, Uppsala, Sweden およ

10

20

30

40

50

び Piscataway、N.J.)を使用して、バイオセンサーマトリックス内のタンパク質濃度の変更を検出することによってリアルタイム生体分子相互作用を分析することを可能にする光学現象を指す。

【0106】

バイオレイヤー干渉法は、生体分子相互作用を測定するための無標識技術である。バイオレイヤー干渉法は、2つの表面：バイオセンサーの先端上に固定化されたタンパク質の層、および内部参照層から反射する白色光の干渉パターンを分析する光学的な分析技法である。バイオセンサーの先端に結合した分子の数のあらゆる変化により、リアルタイムで測定することができる干渉パターンのシフトが引き起こされる (Abdiche, Y.N.ら、Analytical Biochemistry、(2008年)、377巻(2号)、209~217頁)。本発明のある特定の実施形態では、「リアルタイムバイオレイヤー干渉計に基づくバイオセンサー(Octet HTXアッセイ)」を使用して、ある特定の抗インフルエンザHA抗体の結合特性を評価した。

【0107】

「 $K_D$ 」という用語は、本明細書で使用される場合、特定の抗体 - 抗原相互作用の平衡解離定数を指すことが意図される。

【0108】

「エピトープ」という用語は、パラトープとして公知の抗体分子の可変領域内の特異的な抗原結合性部位と相互作用する抗原性決定因子を指す。単一の抗原は、1つ超のエピトープを有し得る。したがって、異なる抗体は、抗原上の異なる領域に結合し得、また、異なる生物学的効果を有し得る。「エピトープ」という用語は、B細胞および/またはT細胞が応答する抗原上の部位も指す。エピトープとは、抗体が結合する抗原の領域も指す。エピトープは、構造にまたは機能的に定義することができる。機能的エピトープは、一般に、構造的エピトープのサブセットであり、相互作用の親和性に直接寄与する残基を有する。エピトープは、直鎖状ではないアミノ酸で構成されるコンフォメーションなものでもあり得る。ある特定の実施形態では、エピトープは、アミノ酸、糖側鎖、ホスホリル基、もしくはスルホニル基などの、分子化学的に活性な表面の群分けである決定因子を含み得、また、ある特定の実施形態では、特定の3次元の構造特性および/または特定の電荷特性を有し得る。

【0109】

「交差競合する」という用語は、本明細書で使用される場合、抗原に結合し、かつ別の抗体またはその抗原結合性断片の結合を阻害または遮断する抗体またはその抗原結合性断片を意味する。この用語は、2つの抗体の間の両方向の競合、すなわち、第1の抗体が結合し、第2の抗体の結合を遮断すること、およびその逆も包含する。ある特定の実施形態では、第1の抗体および第2の抗体は、同じエピトープに結合し得る。あるいは、第1の抗体および第2の抗体は、異なるが、重複するエピトープに結合し得、したがって、一方の結合により、例えば立体的な障害によって第2の抗体の結合が阻害または遮断される。抗体間の交差競合は、当技術分野で公知の方法によって、例えば、リアルタイム無標識バイオレイヤー干渉アッセイによって測定することができる。2つの抗体間の交差競合は、自己間結合(第1の抗体と第2の抗体が同じ抗体である場合)に起因してバックグラウンドシグナルを下回る第2の抗体の結合として表すことができる。2つの抗体間の交差競合は、例えば、自己間バックグラウンド結合(第1の抗体と第2の抗体が同じ抗体である場合)ベースラインを下回る第2の抗体の%結合として表すことができる。

【0110】

「実質的な同一性」または「実質的に同一の」という用語は、核酸またはその断片について言及する場合に、別の核酸(またはその相補鎖)と、適切なヌクレオチド挿入または欠失を伴って最適にアラインメントした時に、以下に考察する通りFASTA、BLASTまたはGAPなどの任意の周知の配列同一性のアルゴリズムによって測定して、ヌクレオチド配列同一性が、ヌクレオチド塩基の少なくとも約90%、およびより好ましくは少なくとも約95%、96%、97%、98%または99%であることを示す。特定の例で

10

20

30

40

50

は、参照核酸分子と実質的な同一性を有する核酸分子は、参照核酸分子によりコードされるポリペプチドと同じまたは実質的に類似したアミノ酸配列を有するポリペプチドをコードし得る。

#### 【0111】

ポリペプチドに適用される通り、「実質的な類似性」または「実質的に類似した」という用語は、2つのペプチド配列が、例えばプログラムGAPまたはBESTFITにより、初期値のギャップ重みづけ(gap weight)を使用して最適にアラインメントした時に、少なくとも90%の配列同一性、なにより好ましくは少なくとも95%、98%または99%の配列同一性を共有することを意味する。同一でない残基の位置は、保存的アミノ酸置換により異なることが好ましい。「保存的アミノ酸置換」とは、アミノ酸残基が、化学的性質(例えば、電荷または疎水性)が同様の側鎖(R基)を有する別のアミノ酸残基により置換されるものである。一般に、保存的アミノ酸置換ではタンパク質の機能的性質は実質的に変化しない。2つまたはそれ超のアミノ酸配列が保存的置換によって互いと異なる場合には、類似性のパーセントまたは程度を上向きに調整して置換の保存性を補正することができる。この調整を行うための手段は当業者には周知である(例えば、Pearson(1994年)Methods Mol. Biol.、24巻:307~331頁を参照されたい)。側鎖の化学的性質が同様であるアミノ酸の群の例としては、1)脂肪族側鎖:グリシン、アラニン、バリン、ロイシンおよびイソロイシン;2)脂肪族ヒドロキシル側鎖:セリンおよびトレオニン;3)アミドを含有する側鎖:アスパラギンおよびグルタミン;4)芳香族側鎖:フェニルアラニン、チロシンおよびトリプトファン;5)塩基性側鎖:リシン、アルギニン、およびヒスチジン;6)酸性側鎖:アスパラギン酸およびグルタミン酸塩、および7)硫黄を含有する側鎖:システインおよびメチオニンが挙げられる。好ましい保存的アミノ酸置換基は、バリン-ロイシン-イソロイシン、フェニルアラニン-チロシン、リシン-アルギニン、アラニン-バリン、グルタミン酸塩-アスパラギン酸、およびアスパラギン-グルタミンである。あるいは、保存的置き換えは、Gonnetら、(1992年)Science、256巻:1443~45頁に開示されているPAM250対数尤度行列において正の値を有する任意の変化である。「中程度に保存的」な置き換えは、PAM250対数尤度行列において負ではない値を有する任意の変化である。

#### 【0112】

ポリペプチドの配列類似性は、一般には、配列解析ソフトウェアを使用して測定される。タンパク質解析ソフトウェアでは、保存的アミノ酸置換を含む様々な置換、欠失および他の改変に割り当てられる類似性の評価基準を使用して、同様の配列をマッチさせる。例えば、GCGソフトウェアは、初期パラメータを用いて使用して、異なる種の生物体に由来する相同なポリペプチドなどの密接に関連するポリペプチド間、または野生型タンパク質とその突然変異タンパク質の間の配列相同性または配列同一性を決定することができるGAPおよびBESTFITなどのプログラムを含有する。例えば、GCGバージョン6.1を参照されたい。ポリペプチド配列は、GCGバージョン6.1中のプログラムであるFASTAを使用し、初期値または推奨されるパラメータを用いて比較することができる。FASTA(例えば、FASTA2およびFASTA3)により、クエリ配列と検索配列の間で最も良く重複する領域のアラインメントおよびパーセント配列同一性がもたらされる(Pearson(2000年)上記)。本発明の配列を、異なる生物体に由来する多数の配列を含有するデータベースと比較する際の別の好ましいアルゴリズムは、初期パラメータを使用した、コンピュータプログラムBLAST、特にBLASTPまたはTBLASTNである。例えば、Altschulら、(1990年)J. Mol. Biol.、215巻:403~410頁、および(1997年)Nucleic Acids Res.、25巻:3389~3402頁を参照されたい。

#### 【0113】

「治療有効量」という句は、投与に対して所望の効果が生じる量を意味する。正確な量は、処置の目的に左右され、当業者が公知の技法を使用して確認することができる(例えば、Lloyd(1999年)The Art, Science and Technology of Pharmaceutical

10

20

30

40

50

Compoundingを参照されたい)。

【0114】

本明細書で使用される場合、「対象」という用語は、ウイルス感染などの疾患または障害の好転、防止および/または処置を必要とする動物、好ましくは哺乳動物、より好ましくはヒトを指す。対象は、インフルエンザ感染を有する可能性がある、またはインフルエンザウイルス感染が発生する素因がある。「インフルエンザウイルス感染が発生する素因がある」対象、または「インフルエンザウイルス感染にかかるリスクが上昇している可能性がある」対象とは、自己免疫疾患に起因して免疫系が損なわれている対象、免疫抑制療法を受けている人(例えば、臓器移植後)、ヒト免疫不全症候群(HIV)もしくは後天性免疫不全症候群(AIDS)、白血球が枯渇するもしくは破壊される特定の形態の貧血を患っている人、放射線療法もしくは化学療法を受けている人、または炎症性障害を患っている人である。さらに、非常に若いかまたは高齢である対象はリスクが上昇している。感染した個体と物理的に接触するまたは密接な物理的近傍になるあらゆる人は、インフルエンザウイルス感染にかかるリスクが上昇している。さらに、例えば、人口密度の高い都市、もしくはインフルエンザウイルスへの感染が確認されたもしくは疑わしい対象の極めて近傍に住んでいる対象は、疾患のアウトブレイクの近傍にあることに起因して、または、例えば、病院職員、医薬研究者、感染地域への渡航者、または航空機を頻繁に利用する人は、職業選択に起因して、インフルエンザに感染するリスクがある。

10

【0115】

本明細書で使用される場合、「処置する(treat)」、「処置すること(treating)」、または「処置(treatment)」という用語は、それを必要とする対象に本発明の抗体などの治療剤を投与することによりインフルエンザ感染の少なくとも1つの症状または兆候の重症度を低下または好転させることを指す。この用語は、疾患の進行または感染の悪化の阻害を包含する。この用語は、疾患の正の予後、すなわち、本発明の抗体などの治療剤を投与すると、対象が感染を免れる可能性がある、またはウイルス力値が低下するもしくはなくなる可能性があることも包含する。治療剤は、治療用量で対象に投与することができる。

20

【0116】

「防止する(prevent)」、「防止すること(preventing)」または「防止(prevention)」という用語は、本発明の抗体の投与でインフルエンザ感染の顕在化またはインフルエンザ感染のあらゆる症状もしくは兆候を阻害することを指す。この用語は、ウイルスに曝露した対象またはインフルエンザ感染を有するリスクがある対象における感染の拡散の防止を包含する。

30

【0117】

本明細書で使用される場合、「保護効果」は、抗ウイルス剤などの薬剤、または本発明の抗インフルエンザHA抗体などの抗体が、例えば、感染因子に曝露した後の生存の増加、ウイルス負荷量の減少、または感染因子に関連する少なくとも1つの症状の好転の任意の1つまたは複数を示し得るかどうかを決定するための当技術分野で公知の任意の標準手順によって実証することができる。

【0118】

40

本明細書で使用される場合、「抗ウイルス薬」という用語は、対象におけるウイルス感染を処置する、防止する、または好転させるために使用される任意の抗感染薬または治療薬を指す。「抗ウイルス薬」という用語は、TAMIFLU(登録商標)(オセルタミビル)、RELENZA(登録商標)(ザナミビル)、リバビリン、またはインターフェロン-アルファ2bを包含するが、これらに限定されない。本発明では、処置される感染は、インフルエンザウイルスによって引き起こされるものである。

一般的な説明

【0119】

インフルエンザは、Orthomyxoviridae科のRNAウイルス(インフルエンザウイルス)によって引き起こされる感染症である。インフルエンザウイルスは、コ

50

アタンパク質に基づいて、3つの属、A、BおよびCに分類され、これは、さらに、ウイルスエンベロープ糖タンパク質赤血球凝集素(HA)およびノイラミニダーゼ(NA)によって決定される亜型に分けられる。A型インフルエンザウイルスは、様々な哺乳動物種および鳥類種に感染するが、B型およびC型の感染は、ヒトに大きく制限される。あらゆる懸念されるヒト疾患を引き起こすのはA型およびB型のみである。

#### 【0120】

インフルエンザウイルスの突然変異率が高いことおよび遺伝子再集合の頻度が高いことが、HA抗原およびNA抗原の変動性が大きいことに寄与する。小さな変化を引き起こす軽微な点突然変異(「抗原ドリフト」)が比較的多くの場合に起こる。抗原ドリフトにより、ウイルスが免疫認識を逃れることが可能になり、その結果、流行間の年にインフルエンザのアウトブレイクが繰り返される。HA抗原の主要な変化(「抗原シフト」)は、異なるA型インフルエンザ亜型に由来する遺伝子材料の再集合によって引き起こされる。新しいパンデミック株を生じさせる抗原シフトは希な事象であり、例えば、同時感染ブタにおいて、動物亜型とヒト亜型の間での再集合の間に起こる。

10

#### 【0121】

A型インフルエンザウイルスに対する中和抗体応答は、一般には、所与のウイルス亜型に特異的である。A型インフルエンザには、それらの赤血球凝集素(「HA」)タンパク質によって定義される亜型が18種存在する。18種のHA、H1～H18は、2つのグループに分類することができる。グループ1は、H1、H2、H5、H6、H8、H9、H11、H12、H13、H16、H17およびH18亜型からなり、グループ2は、H3、H4、H7、H10、H14およびH15亜型を含む。これらの理由で、全てのA型インフルエンザウイルス亜型ならびにそれらの毎年のバリエントを中和することが可能な、広範に中和性である抗体を誘導するワクチンを有することが高度に望ましい。さらに、広範に中和性であるヘテロサブタイプ抗体は、A型インフルエンザ感染を防止または治療するための医薬として投与することができる。

20

#### 【0122】

HAは、ホモ三量体前駆体ポリペプチドHA0として合成される。各単量体は、翻訳後に独立に切断されて、単一のジスルフィド結合によって連結した2つのポリペプチド、HA1およびHA2を形成し得る。より大きなN末端断片(HAL、320～330アミノ酸)は、受容体結合性部位およびウイルス中和抗体によって認識される大多数の決定因子を含有する膜遠位球状ドメインを形成する。HAのHA1ポリペプチドは、ウイルスの細胞表面への付着に関与する。より小さなC末端部分(HA2、およそ180アミノ酸)は、球状ドメインを細胞膜またはウイルス膜に係留する幹様構造を形成する。HA2ポリペプチドは、ウイルス膜と細胞膜のエンドソーム内での融合を媒介し、それにより、リボ核タンパク質複合体の細胞質内への放出を可能にする。

30

#### 【0123】

A型インフルエンザウイルスの1つ超の亜型を中和する抗体の同定に関しては、ほんの限られた成功しか収められていない。さらに、これまでに同定された抗体の中和の息は細く、また、それらの効力は低い。Okunoらは、インフルエンザウイルスA/Okudai/57(H2N2)を用いてマウスを免疫して、動物モデルにおいて、in vitroおよびin vivoでHA2の保存されたコンフォメーションアルエピトープに結合し、A型インフルエンザウイルスのグループ1のH2、H1およびH5亜型を中和するモノクローナル抗体(C179)を単離した((Okunoら、J. Virol.、67巻：2552～8頁、1993)。

40

#### 【0124】

数十年に及ぶ研究にもかかわらず、A型インフルエンザウイルス感染を広範に中和もししくは阻害する、またはA型インフルエンザウイルスによって引き起こされる疾患を和らげる抗体は販売されていない。したがって、A型インフルエンザウイルスの多数の亜型を中和するものであり、A型インフルエンザ感染を防止または治療するための医薬として使用することができる新しい抗体を同定する必要がある。

50

## 【0125】

感染症を予防または処置するための受動免疫療法が、通常は高力価の中和抗体を含有する回復期ヒト血清の形態で、1世紀超にわたって使用されてきた(Goodら、1991年; Cancer、68巻:1415~1421頁)。現在では、多数の精製モノクローナル抗体が、抗微生物薬として使用するために目下前臨床開発および臨床開発中である(Marascoら、2007年; Nature Biotechnology、25巻:1421~1434頁)。

## 【0126】

本発明者らは、本明細書において、インフルエンザ赤血球凝集素に特異的に結合し、インフルエンザウイルスと宿主細胞の相互作用を調節する完全ヒト抗体およびその抗原結合性断片について記載している。抗インフルエンザH A抗体は、インフルエンザウイルスH Aに高親和性で結合することが可能である。ある特定の実施形態では、本発明の抗体は、インフルエンザH Aに結合し、ウイルスの宿主細胞への付着および/または侵入を遮断することが可能な遮断抗体である。一部の実施形態では、本発明の遮断抗体は、インフルエンザウイルスの細胞への結合を遮断することが可能であり、したがって、宿主細胞のウイルス感染力を阻害または中和することが可能である。一部の実施形態では、遮断抗体は、インフルエンザウイルス感染に罹患している対象を処置するために有用であり得る。抗体は、それを必要とする対象に投与されると、対象におけるインフルエンザなどのウイルスによる感染を低下させることができ。抗体は、対象におけるウイルス負荷量を減少させるために使用することができる。抗体は、単独で使用することもでき、補助療法として、ウイルス感染を処置するための当技術分野で公知の他の治療用部分またはモダリティと共に使用することができる。ある特定の実施形態では、これらの抗体は、ウイルスH Aの幹領域内のエピトープに結合することが可能である。さらに、同定された抗体は、哺乳動物を感染から保護するために予防的に(感染前に)使用することもでき、以前に確立された感染を好転させるため、または感染に付随する少なくとも1つの症状を好転させるために治療的に(感染が確立された後に)使用することもできる。

## 【0127】

例示的なインフルエンザH Aの全長アミノ酸配列は、GenBankにおいて受託番号HC483324.1として示される(PCT公開第WO2010/027818号の配列番号62を参照されたい)。

## 【0128】

ある特定の実施形態では、本発明の抗体は、全長インフルエンザH Aなどの一次免疫原を用いて、または組換え型のインフルエンザH Aまたはその断片を用いて免疫し、その後、二次免疫原を用いて、またはインフルエンザH Aの免疫原的に活性な断片を用いて免疫したマウスから得られる。ある特定の実施形態では、抗体は、インフルエンザワクチン組成物を用いて免疫し、その後、1つまたは複数の組換えによって產生されたH Aペプチドを用いて追加免疫したマウスから得られる。

## 【0129】

免疫原は、インフルエンザH Aの生物学的に活性な断片および/もしくは免疫原性断片、またはインフルエンザH Aの活性断片をコードするDNAであり得る。断片は、H Aタンパク質の幹領域に由来するものであってよい(Suiら、Nature Struct.およびMol. Biol.、2009年2月22日オンライン公開; 1~9頁)。

## 【0130】

ペプチドは、タグ付けまたはKLHなどの担体分子とのコンジュゲーションのために、ある特定の残基の付加または置換を含むように改変することができる。例えば、ペプチドのN末端またはC末端のいずれかにシステインを付加することもでき、リンカー配列を付加して、免疫のために例えばKLHとのコンジュゲーションのためにペプチドを調製することもできる。

## 【0131】

本発明のある特定の抗インフルエンザH A抗体は、in vitroまたはin vivoアッセイによって決定される通り、インフルエンザH Aに結合し、その活性を中和す

10

20

30

40

50

ることが可能である。本発明の抗体の、インフルエンザH Aに結合し、その活性、したがって、ウイルスの宿主細胞への付着および／または侵入、その後に続くウイルス感染を中和する能力は、本明細書に記載されている結合アッセイ、または活性アッセイを含む当業者に公知の任意の標準方法を使用して測定することができる。

【0132】

結合活性を測定するための、非限定的な例示的な *in vitro* アッセイが本明細書の実施例3に例証されている。実施例3では、抗インフルエンザH A抗体のインフルエンザH Aに対する結合親和性および解離定数をリアルタイムバイオレイヤー干渉計に基づくバイオセンサー (Octet HTXアッセイ) によって決定した。実施例4および5では、中和アッセイを使用してインフルエンザウイルスの多様なグループ1株の感染力を決定した。実施例6では、ある特定の抗体が、*in vitro*においてウイルス感染細胞の補体依存性細胞傷害 (CDC) を媒介することが示された。実施例7および10では、本発明のある特定の抗体が、予防的にまたは治療的に投与した場合に *in vivo*においてA型インフルエンザ感染を中和することができるものであることが実証される。

10

【0133】

インフルエンザH Aに特異的な抗体は、追加的な標識または部分を含有しなくてもよく、N末端またはC末端の標識または部分を含有してもよい。一実施形態では、標識または部分はビオチンである。結合アッセイでは、標識（もしあれば）の位置により、ペプチドを結合させる表面に対するペプチドの方向を決定することができる。例えば、表面がアビジンでコーティングされている場合、N末端ビオチンを含有するペプチドは、ペプチドのC末端部分が表面から遠位になるように向き付けられる。一実施形態では、標識は、放射性核種、蛍光色素またはMRIにより検出可能な標識であってよい。ある特定の実施形態では、そのような標識された抗体を、イメージングアッセイを含む診断アッセイにおいて使用することができる。

20

抗体の抗原結合性断片

【0134】

特に他の指示がなければ、「抗体」という用語は、本明細書で使用される場合、免疫グロブリン重鎖2本と免疫グロブリン軽鎖2本で構成される抗体分子（すなわち、「抗体分子全体」）、ならびにその抗原結合性断片を包含すると理解されるものとする。抗体の「抗原結合性部分」、抗体の「抗原結合性断片」などの用語は、本明細書で使用される場合、抗原に特異的に結合して複合体を形成する、任意の天然に存在するものであるか、酵素によって得られたものであるか、合成されたものであるか、または遺伝子操作されたものであるポリペプチドまたは糖タンパク質を含む。抗体の「抗原結合性断片」または「抗体断片」という用語は、本明細書で使用される場合、インフルエンザH Aに特異的に結合する能力を保持する抗体の1つまたは複数の断片を指す。抗体断片とは、Fab断片、F(ab')<sub>2</sub>断片、Fv断片、dAb断片、CDRを含有する断片、または単離されたCDRを含み得る。ある特定の実施形態では、「抗原結合性断片」という用語は、多重特異性抗原結合性分子のポリペプチド断片を指す。抗体の抗原結合性断片は、例えば、抗体分子全体から、タンパク質消化または抗体可変ドメインおよび（任意選択で）定常ドメインをコードするDNAの操作および発現を伴う組換え遺伝子工学技法などの任意の適切な標準技法を使用して引き出すことができる。そのようなDNAは公知であり、かつ／または、例えば商業的な供給源、DNAライブラリー（例えば、ファージ-抗体ライブラリーを含む）から容易に入手可能である、もしくは合成することができる。DNAは、配列決定し、例えば、1つまたは複数の可変ドメインおよび／または定常ドメインを適切なコンフィギュレーションに配置するため、またはコドンを導入するため、システイン残基を創出するため、アミノ酸を修飾する、付加するもしくは欠失させるためなど、化学的にまたは分子生物学的技法を使用することによって操作することができる。

30

【0135】

抗原結合性断片の非限定的な例としては、(i) Fab断片；(ii) F(ab')<sub>2</sub>断片；(iii) Fd断片；(iv) Fv断片；(v) 单鎖Fv(scfv)分子；(vi)

40

50

i) dAb断片；および(viii)抗体の超可変領域(例えば、CDR3ペプチドなどの単離された相補性決定領域(CDR))、または制約されたFR3-CDR3-FR4ペプチドを模倣するアミノ酸残基からなる最小認識単位が挙げられる。ドメイン特異的抗体、単一ドメイン抗体、ドメイン欠失抗体、キメラ抗体、CDR移植抗体、ダイアボディ(diabody)、トリアボディ(triabody)、テトラボディ(tetraabody)、ミニボディ(minibody)、ナノボディ(例えば、一価ナノボディ、二価ナノボディなど)、小モジュラー免疫薬(small modular immunopharmaceutical)(SMIP)、およびサメ可変IgNARドメインなどの他の工学的に操作された分子も、本明細書で使用される「抗原結合性断片」という表現に包含される。

10

## 【0136】

抗体の抗原結合性断片は、一般には、少なくとも1つの可変ドメインを含む。可変ドメインは、任意のサイズまたはアミノ酸組成のものであってよく、一般に、1つまたは複数のフレームワーク配列と隣接しているかまたはインフレームである少なくとも1つのCDRを含む。 $V_H$ ドメインと $V_L$ ドメインが会合した抗原結合性断片では、 $V_H$ ドメインと $V_L$ ドメインは、互いにに対して任意の適切な配置に位置し得る。例えば、可変領域は、二量体であり得、 $V_H$ - $V_H$ 二量体、 $V_H$ - $V_L$ 二量体または $V_L$ - $V_L$ 二量体を含有する。あるいは、抗体の抗原結合性断片は、単量体 $V_H$ ドメインまたは $V_L$ ドメインを含有し得る。

## 【0137】

20

ある特定の実施形態では、抗体の抗原結合性断片は、少なくとも1つの定常ドメインと共有結合により連結した少なくとも1つの可変ドメインを含有し得る。本発明の抗体の抗原結合性断片内に見出すことができる可変ドメインおよび定常ドメインの非限定的な、例示的なコンフィギュレーションとしては、(i) $V_H$ - $C_H$ 1；(ii) $V_H$ - $C_H$ 2；(iii) $V_H$ - $C_H$ 3；(iv) $V_H$ - $C_H$ 1- $C_H$ 2；(v) $V_H$ - $C_H$ 1- $C_H$ 2- $C_H$ 3；(vi) $V_H$ - $C_H$ 2- $C_H$ 3；(vii) $V_H$ - $C_L$ ；(viii) $V_L$ - $C_H$ 1；(ix) $V_L$ - $C_H$ 2；(x) $V_L$ - $C_H$ 3；(xi) $V_L$ - $C_H$ 1- $C_H$ 2；(xii) $V_L$ - $C_H$ 1- $C_H$ 2- $C_H$ 3；(xiii) $V_L$ - $C_H$ 2- $C_H$ 3；および(xiv) $V_L$ - $C_L$ が挙げられる。上に列挙されている例示的なコンフィギュレーションのいずれかを含む、可変ドメインおよび定常ドメインのコンフィギュレーションのいずれにおいても、可変ドメインおよび定常ドメインは、互いに直接連結していてもよく、完全なまたは部分的なヒンジまたはリンカー領域によって連結されていてもよい。ヒンジ領域は、少なくとも2個(例えば、5個、10個、15個、20個、40個、60個またはそれ超)のアミノ酸からなってよく、単一のポリペプチド分子内の隣接する可変ドメインおよび/または定常ドメインの間に柔軟または半柔軟な連結をもたらす。さらに、本発明の抗体の抗原結合性断片は、互いに、かつ/または1つまたは複数の単量体 $V_H$ または $V_L$ ドメインと非共有結合により会合した(例えば、ジスルフィド結合(複数可)による)、上に列挙されている可変ドメインおよび定常ドメインコンフィギュレーションのいずれかのホモ二量体またはヘテロ二量体(または他の多量体)を含んでよい。

30

## 【0138】

40

抗体分子全体と同様に、抗原結合性断片は、单一特異性であっても多重特異性(例えば、二重特異性)であってもよい。多重特異性抗体の抗原結合性断片は、一般には、少なくとも2つの異なる可変ドメインを含み、各可変ドメインが、別々の抗原または同じ抗原上の異なるエピトープに特異的に結合することができる。本明細書に開示されている例示的な二重特異性抗体形式を含む多重特異性抗体形式はいずれも、当技術分野において利用可能な常套的な技法を使用して、本発明の抗体の抗原結合性断片に関する使用に適応させることができる。

## ヒト抗体の調製

## 【0139】

50

トランスジェニックマウスにおいてヒト抗体を生成するための方法は、当技術分野で公

知である。任意のそのような公知の方法を本発明に関して使用して、インフルエンザH Aに特異的に結合するヒト抗体を作出することができる。以下の任意の1つを含む免疫原を使用して、インフルエンザH Aに対する抗体を生成することができる。ある特定の実施形態では、本発明の抗体は、全長のネイティブなインフルエンザH A（例えば、GenBank受託番号F J 9 6 6 0 8 2 . 1を参照されたい）、または弱毒生ウイルスもしくは不活化ウイルス、またはタンパク質もしくはその断片をコードするDNAを用いて免疫したマウスから得られる。あるいは、インフルエンザH Aタンパク質またはその断片は、標準の生化学的技法を使用して作成し、改変し、免疫原として使用することができる。一実施形態では、免疫原は、組換えによって產生されたインフルエンザH Aタンパク質またはその断片である。本発明のある特定の実施形態では、免疫原は、インフルエンザウイルスワクチンであってよい。ある特定の実施形態では、1つまたは複数の追加免疫注射を投与することができる。ある特定の実施形態では、追加免疫注射は、1つもしくは複数のインフルエンザウイルス株、またはこれらの株に由来する赤血球凝集素を含んでよい。例えば、Protein Sciences H1 A / New Caledonia / 20 / 1999、H5 A / Indonesia / 05 / 2005、H3 A / Victoria / 361 / 2011、H7 A / Netherlands / 219 / 2003、またはH9 A / Hong Kong / 1073 / 1988を参照されたい。ある特定の実施形態では、追加免疫注射は、インフルエンザ株の1：1混合物、またはその株に由来する赤血球凝集素の1：1混合物を含有してよい。ある特定の実施形態では、免疫原は、E. coliにおいて、またはチャイニーズハムスター卵巣（CHO）細胞などの任意の他の真核細胞もしくは哺乳動物細胞、またはインフルエンザウイルスそれ自体において発現させた組換えインフルエンザH Aペプチドであってよい。10

#### 【0140】

VELOCIMMUNE（登録商標）技術（例えば、US 6,596,541参照、Regeneron Pharmaceuticals、VELOCIMMUNE（登録商標））またはモノクローナル抗体を生成するための任意の他の公知の方法を使用して、ヒト可変領域およびマウス定常領域を有する、インフルエンザH Aに対する高親和性キメラ抗体を最初に単離する。VELOCIMMUNE（登録商標）技術は、内在性マウス定常領域遺伝子座に作動可能に連結したヒト重鎖可変領域および軽鎖可変領域を含むゲノムを有するトランスジェニックマウスの生成を伴い、したがって、マウスは、抗原刺激に応答して、ヒト可変領域およびマウス定常領域を含む抗体を產生する。抗体の重鎖および軽鎖の可変領域をコードするDNAを単離し、ヒト重鎖および軽鎖定常領域をコードするDNAに作動可能に連結する。次いで、DNAを、完全ヒト抗体を発現することができる細胞において発現させる。20

#### 【0141】

一般に、VELOCIMMUNE（登録商標）マウスを目的の抗原を用いて攻撃し、抗体を発現するマウスからリンパ細胞（例えば、B細胞など）を回収する。リンパ細胞を骨髄腫細胞株と融合して不死ハイブリドーマ細胞株を調製することができ、そのようなハイブリドーマ細胞株をスクリーニングし、選択して、目的の抗原に特異的な抗体を產生するハイブリドーマ細胞株を同定する。重鎖および軽鎖の可変領域をコードするDNAを単離し、望ましいアイソタイプの重鎖および軽鎖の定常領域と連結することができる。そのような抗体タンパク質は、CHO細胞などの細胞において產生させることができる。あるいは、抗原特異的キメラ抗体または軽鎖および重鎖の可変ドメインをコードするDNAを抗原特異的リンパ球から直接単離することができる。30

#### 【0142】

最初に、ヒト可変領域とマウス定常領域とを有する高親和性キメラ抗体を単離する。以下の実験の節と同様に、抗体を特徴付け、親和性、選択性、エピトープなどを含む望ましい特性について選択する。マウス定常領域を所望のヒト定常領域で置き換えて、本発明の完全ヒト抗体、例えば、野生型または改変IgG1またはIgG4を生成する。選択される定常領域は特定の使用に応じて変動し得るが、可変領域には高親和性の抗原結合性および40

標的特異性の特徴が備わっている。

生物学的同等性

【0143】

本発明の抗インフルエンザH A抗体および抗体断片は、記載されている抗体のアミノ酸配列とは異なるが、インフルエンザH Aに結合する能力を保持するアミノ酸配列を有するタンパク質を包含する。そのようなバリアント抗体および抗体断片は、親配列と比較して、1つまたは複数のアミノ酸の付加、欠失、または置換を含むが、記載されている抗体と本質的に同等の生物学的活性を示す。同様に、本発明の抗体をコードするD N A配列は、開示されている配列と比較して1つまたは複数のヌクレオチドの付加、欠失、または置換を含むが、本発明の抗体または抗体断片と本質的に生物学的同等である抗体または抗体断片をコードする配列を包含する。

10

【0144】

2つの抗原結合性タンパク質、または抗体は、例えば、それらが、同じモル濃度の用量で、同様の実験条件下、単回用量または複数回用量のいずれかで投与した場合に、吸收の速度および程度に有意差が示されない医薬等価物または医薬代替物であれば、生物学的同等であるとみなされる。一部の抗体は、それらの吸收の程度が等価であるが、それらの吸收速度は等価でなく、それでも、そのような吸收速度の差が意図的なものであり、標識に反映され、例えば長期使用に関して有効な体内薬物濃度を実現するために必須ではなく、試験される特定の薬品に関して医学的に重要でないことが理由で生物学的同等とみなすことができれば、等価物または医薬代替物とみなされる。

20

【0145】

一実施形態では、2つの抗原結合性タンパク質は、それらの安全性、純度、または効力に臨床的に意味のある差異がなければ、生物学的同等である。

【0146】

一実施形態では、2つの抗原結合性タンパク質は、患者が、参照製品と生物学的製剤の1回または複数回の切り替えを、そのような切り替えを行わずに継続される治療と比較して、免疫原性の臨床的に有意な変化を含む有害作用のリスクの上昇、または効果の減弱の予測を伴わずにに行うことができれば、生物学的同等である。

【0147】

一実施形態では、2つの抗原結合性タンパク質は、その両方が、使用される条件（複数可）について、共通の作用機構（複数可）によって作用するものであれば、そのような機構が分かっている限りでは、生物学的同等である。

30

【0148】

生物学的同等性は、in vivoおよび/またはin vitroにおける方法によって実証することができる。生物学的同等性の評価基準としては、例えば、(a)血液、血漿、血清、または他の生体液中の抗体またはその代謝産物の濃度を時間の関数として測定する、ヒトまたは他の哺乳動物におけるin vivo試験；(b)ヒトin vivo生物学的利用能データと相関し、それが合理的に予測される、in vitro試験；(c)抗体（またはその標的）の適切な急性薬理学的効果を時間の関数として測定する、ヒトまたは他の哺乳動物におけるin vivo試験；および(d)抗体の安全性、有効性、または生物学的利用能または生物学的同等性を確立する、良好に管理された臨床試験が挙げられる。

40

【0149】

本発明の抗体の生物学的同等性バリアントは、例えば、残基もしくは配列の様々な置換を行うこと、または、生物学的活性に必要ではない末端もしくは内部の残基もしくは配列を欠失させることによって構築することができる。例えば、生物学的活性に必須ではないシステイン残基を、欠失させるか、または他のアミノ酸で置き換えて、復元時の不必要的または正しくない分子内ジスルフィド架橋の形成を防止することができる。他の状況では、生物学的同等な抗体とは、抗体のグリコシル化特性を改変するアミノ酸の変化、例えば、グリコシル化を排除または除去する突然変異を含む抗体バリアントを含み得る。

50

## F c バリアントを含む抗インフルエンザ H A 抗体

## 【0150】

本発明のある特定の実施形態によると、例えば、酸性 pHにおいて中性 pHと比較して F c R n 受容体への抗体結合を増強するまたは減弱させる、1つまたは複数の突然変異を含む F c ドメインを含む抗インフルエンザ H A 抗体が提供される。例えば、本発明は、F c ドメインの C<sub>H</sub> 2 領域または C<sub>H</sub> 3 領域に突然変異を含み、この突然変異（複数可）により、酸性環境（例えば、約 5.5 から約 6.0 までの pH 範囲であるエンドソーム内）における F c ドメインの F c R n への親和性が増大している、抗インフルエンザ H A 抗体を包含する。そのような突然変異により、動物に投与した際の抗体の血清中半減期の増大をもたらすことができる。そのような F c 改変の非限定的な例としては、例えば、250 位における改変（例えば、E もしくは Q）；250 位および 428 位における改変（例えば、L もしくは F）；252 位における改変（例えば、L / Y / F / W もしくは T）；254 位における改変（例えば、S もしくは T）；および 256 位における改変（例えば、S / R / E / D もしくは T）；または 428 位および / もしくは 433 位における改変（例えば、H / L / R / S / P / Q もしくは K）および / もしくは 434 位における改変（例えば、A、W、H、F もしくは Y [ N434A、N434W、N434H、N434F もしくは N434Y ]）；または 250 位および / もしくは 428 位における改変；または 307 位もしくは 308 位における改変（例えば、308F、V308F）；および 434 位における改変が挙げられる。一実施形態では、改変は、428L（例えば、M428L）および 434S（例えば、N434S）の改変；428L、259I（例えば、V259I）；および 308F（例えば、V308F）の改変；433K（例えば、H433K）および 434（例えば、434Y）の改変；252、254、および 256（例えば、252Y、254T、および 256E）の改変；250Q および 428L の改変（例えば、T250Q および M428L）；ならびに 307 および / または 308 の改変（例えば、308F または 308P）を含む。さらに別の実施形態では、改変は、265A（例えば、D265A）および / または 297A（例えば、N297A）の改変を含む。

## 【0151】

例えば、本発明は、250Q および 248L（例えば、T250Q および M248L）；252Y、254T および 256E（例えば、M252Y、S254T および T256E）；428L および 434S（例えば、M428L および N434S）；257I および 311I（例えば、P257I および Q311I）；257I および 434H（例えば、P257I および N434H）；376V および 434H（例えば、D376V および N434H）；307A、380A および 434A（例えば、T307A、E380A および N434A）；ならびに 433K および 434F（例えば、H433K および N434F）からなる群から選択される1つまたは複数の突然変異の対または群を含む F c ドメインを含む抗インフルエンザ H A 抗体を包含する。本明細書に開示されている抗体可変ドメイン内の全ての可能性のある前述の F c ドメイン突然変異および他の突然変異の組合せが本発明の範囲内に入るとの企図される。

## 【0152】

本発明は、キメラ重鎖定常（C<sub>H</sub>）領域を含み、キメラ C<sub>H</sub> 領域が、1つ超の免疫グロブリンアイソタイプの C<sub>H</sub> 領域に由来するセグメントを含む抗インフルエンザ H A 抗体も包含する。例えば、本発明の抗体は、ヒト Ig G 1、ヒト Ig G 2 またはヒト Ig G 4 分子に由来する C<sub>H</sub> 2 ドメインの一部または全部を含むキメラ C<sub>H</sub> 領域と、ヒト Ig G 1、ヒト Ig G 2 またはヒト Ig G 4 分子に由来する C<sub>H</sub> 3 ドメインの一部または全部の組み合わせを含み得る。ある特定の実施形態によると、本発明の抗体は、キメラヒンジ領域を有するキメラ C<sub>H</sub> 領域を含む。例えば、キメラヒンジは、ヒト Ig G 1、ヒト Ig G 2 またはヒト Ig G 4 ヒンジ領域に由来する「ヒンジ上部」アミノ酸配列（EU番号付けに従ってアミノ酸残基 216～227 位）と、ヒト Ig G 1、ヒト Ig G 2 またはヒト Ig G 4 ヒンジ領域に由来する「ヒンジ下部」配列（EU番号付けに従ってアミノ酸残基 228

～236位)の組み合わせを含み得る。ある特定の実施形態によると、キメラヒンジ領域は、ヒトIgG1またはヒトIgG4ヒンジ上部に由来するアミノ酸残基およびヒトIgG2ヒンジ下部に由来するアミノ酸残基を含む。本明細書に記載されているキメラC<sub>H</sub>領域を含む抗体は、ある特定の実施形態では、抗体の治療的または薬物動態的性質に悪影響を及ぼすことなく、改変されたFcエフェクター機能を示す(例えば、2013年2月1日出願の米国仮出願第61/759,578号を参照されたい)。

#### 抗体の生物学的特性

##### 【0153】

一般に、本発明の抗体は、インフルエンザHAに結合することによって機能する。例えば、本発明は、インフルエンザHAに(例えば、25または37で)、リアルタイムバイオレイヤー干渉計に基づくバイオセンサー(Octet HTXアッセイ)によって、または表面プラズモン共鳴によって測定して、10nM未満のK<sub>D</sub>で結合する抗体および抗体の抗原結合性断片を包含する。ある特定の実施形態では、抗体またはその抗原結合性断片は、インフルエンザHAに、例えば本明細書に記載されているアッセイ形式、または実質的に類似したアッセイを使用し、表面プラズモン共鳴によって測定して、約5nM未満、約2nM未満、約1nM未満、約500pM未満、250pM未満、または100pM未満のK<sub>D</sub>で結合する。

##### 【0154】

本発明は、例えば、本明細書で定義されているアッセイ形式または実質的に類似したアッセイを使用し、25で表面プラズモン共鳴によって測定して、解離半減期(t<sub>1/2</sub>)が約100分超である、インフルエンザHAに結合する抗体およびその抗原結合性断片も包含する。ある特定の実施形態では、本発明の抗体または抗原結合性断片は、インフルエンザHAに、例えば本明細書で定義されているアッセイ形式(例えば、mAb捕捉形式もしくは抗原捕捉形式)または実質的に類似したアッセイを使用し、25で表面プラズモン共鳴によって測定して、約200分超、約300分超、約400分超、約500分超、約600分超、約700分超、約800分超、約900分超、または約1000分超のt<sub>1/2</sub>で結合する。一実施形態では、本発明の抗体および抗原結合性断片は、インフルエンザHAに、300分超の解離半減期(t<sub>1/2</sub>)で結合する。一実施形態では、本発明の抗体では、サルおよびマウスにおいて試験した場合に、対照IgMAbと称される比較用抗体と比較して約1.5～2倍の解離半減期の増大がもたらされる。

##### 【0155】

本発明は、インフルエンザウイルスのその宿主細胞に対する感染力を中和する抗体またはその抗原結合性断片も包含する。一部の実施形態では、抗体は、様々な代表的なグループ1インフルエンザウイルス(H1N1 A/Puerto Rico/08/1934; H5N1 A/Vietnam/1203/2004; H1N1 A/California/07/2009; H1N1 A/Wisconsin/1933; H1N1 A/Brisbane/59/1997、H9N2 A/Hong Kong/33982/2009、H13N6 a/gull/Maryland/704/1977およびH16N3 A/shorebird/Delaware/172/2006)に対して、例えば実施例4および5で示されるようなマイクロ中和アッセイまたは実質的に類似したアッセイにおいて、約1.6nMから約130nMまでの範囲のIC<sub>50</sub>で中和効力を示す。一実施形態では、インフルエンザウイルスのその宿主細胞に対する感染力を中和する抗体またはその抗原結合性断片は、130nM未満のIC<sub>50</sub>で感染力を中和する。

##### 【0156】

本発明は、感染細胞の補体依存性細胞傷害を、約20nMから約66nMまでにわたるEC<sub>50</sub>で媒介する抗体またはその抗原結合性断片も包含する(実施例6を参照されたい)。一実施形態では、抗体またはその抗原結合性断片は、感染細胞の補体依存性細胞傷害を、66nM未満のEC<sub>50</sub>で媒介する。

##### 【0157】

本発明は、in vivoにおけるA型インフルエンザ感染に対する保護の増大、また

10

20

30

40

50

は強力な中和を示す抗A型インフルエンザHA抗体も包含する。ある特定の抗体は、予防的に（感染前に）または治療的に（感染後に；実施例7を参照されたい）投与した場合に、強力な中和を示す。ある特定の実施形態では、抗体のいくつか（H1H11729PおよびH1H11829N2）では、1mg/kgの単回用量として予防的に投与した場合に、マウスの100%生存が示された。ある特定の抗体では、0.5mg/kgの低さ（H1H11729Pと称される抗体を使用して100%生存）、0.1mg/kgのH1H11729P（40%生存）、または0.05mg/kgのH1H11829N2（20%生存）の用量で予防的に投与した場合に、マウスの有意な生存が示された。有意な生存は、ある特定の例示的な抗体（H1H11829N2およびH1H11729P）を感染後に15mg/kgまたは30mg/kgの用量で投与した場合にも観察された。一実施形態では、本発明の抗体は、インフルエンザに感染している哺乳動物において、抗ウイルス薬であるオセルタミビルと組み合わせると相加的な保護効果を示す。

#### 【0158】

一実施形態では、本発明は、特異的にインフルエンザHAに結合する、単離された組換え抗体またはその抗原結合性断片であって、以下の特性：（a）完全ヒトモノクローナル抗体であること；（b）表面プラズモン共鳴アッセイで測定した場合、インフルエンザHAに、 $10^{-9}$  M未満の解離定数（ $K_D$ ）で結合すること；（c）約370分から1000分超までにわたる解離半減期（ $t_{1/2}$ ）を示すこと；（d）H1N1、H5N1、H9N2、H13N6およびH16N3から選択されるグループ1のA型インフルエンザウイルスの、約1.6nMから約130nMまでにわたるIC<sub>50</sub>での中和を示すこと；（e）インフルエンザウイルス感染細胞の、約20nM～約66nMのEC<sub>50</sub>での補体媒介性溶解を示すこと；または（f）ウイルスによる攻撃の前またはその後のいずれかに投与した場合に、インフルエンザウイルス感染の動物モデルにおける生存の増加によって測定される保護を示すことのうちの2つまたはそれ超を示す単離された組換え抗体またはその抗原結合性断片を提供する。

#### 【0159】

本発明の抗体は、上述の生物学的特性の2つまたはそれ超、またはそれらの任意の組合せを有し得る。本発明の抗体の他の生物学的特性は、本明細書に実施例を含む本開示についての総説から当業者には明らかになろう。

#### エピトープマッピングおよび関連する技術

#### 【0160】

本発明は、インフルエンザHA分子の1つまたは複数のドメイン内に見いだされる1つまたは複数のアミノ酸と相互作用する抗インフルエンザHAウイルス抗体を包含する。抗体が結合するエピトープは、インフルエンザHA分子内に位置する3個またはそれ超（例えば、3個、4個、5個、6個、7個、8個、9個、10個、11個、12個、13個、14個、15個、16個、17個、18個、19個、20個またはそれ超）のアミノ酸の单一の連続した配列からなり得る（例えば、ドメイン内の直鎖状エピトープ）。あるいは、エピトープは、インフルエンザHA分子内に位置する複数の連続していないアミノ酸（またはアミノ酸配列）からなり得る（例えば、コンフォメーションアルエピトープ）。

#### 【0161】

当業者に公知の様々な技法を使用して、抗体が、ポリペプチドまたはタンパク質内の「1つまたは複数のアミノ酸と相互作用する」かどうかを決定することができる。例示的な技法としては、例えば、Antibodies、HarlowおよびLane（Cold Spring Harbor Press、Cold Spring Harbor、NY）に記載されているものなどの常套的な交差遮断アッセイ（cross-blocking assay）が挙げられる。他の方法としては、アラニンスキャニング変異性分析、ペプチドプロット分析（Reineke（2004年）Methods Mol. Biol.、248巻：443～63頁）、ペプチド切断分析結晶学的試験およびNMR分析が挙げられる。さらに、エピトープ切り出し、エピトープ抽出および抗原の化学修飾などの方法を使用することができる（Tomer（2000年）Prot. Sci.、9巻：487～496頁）。抗体が相互作用する、ポリペプチド内のアミノ酸を同定するために使用する

10

20

30

40

50

ことができる別 の方法は、質量分析によって検出される水素 / 重水素交換である。一般に述べると、水素 / 重水素交換方法は、目的のタンパク質を重水素で標識し、その後、重水素で標識したタンパク質に抗体を結合させることを伴う。次に、タンパク質 / 抗体複合体を水に移し、抗体複合体により保護されているアミノ酸内の交換可能なプロトンは、重水素から水素への逆交換を、界面の一部ではないアミノ酸内の交換可能なプロトンよりも遅い速度で受ける。結果として、タンパク質 / 抗体界面の一部を形成するアミノ酸は重水素を保持することができ、したがって、界面に含まれないアミノ酸と比較して高い質量を示す。抗体を解離させた後、標的タンパク質をプロテアーゼによる切断および質量分析に供し、それにより、抗体が相互作用する特異的なアミノ酸に対応する、重水素で標識された残基を明らかにする。例えば、Ehring (1999年) *Analytical Biochemistry*, 267巻: 252 ~ 259頁; EngenおよびSmith (2001年) *Anal. Chem.*, 73巻: 256A ~ 265A頁を参照されたい。

#### 【0162】

「エピトープ」という用語は、B細胞および / またはT細胞が応答する抗原上の部位を指す。B細胞エピトープは、連続したアミノ酸、または、タンパク質の三次フォールディングによって並んだ連続していないアミノ酸のどちらからも形成され得る。連続したアミノ酸から形成されるエピトープは、一般には、変性溶媒に曝露しても保持されるが、三次フォールディングによって形成されるエピトープは、一般には、変性溶媒を用いた処理で失われる。エピトープは、一般には、少なくとも3個、通常は少なくとも5個または8 ~ 10個のアミノ酸を独特の空間的コンフォメーションで含む。

#### 【0163】

抗原構造に基づく抗体プロファイリング (Antigen Structure-based Antibody Profiling) (ASAP) としても公知の修飾補助プロファイリング (Modification-Assisted Profiling) (MAP) は、同じ抗原を対象とする多数のモノクローナル抗体 (mAb) を、化学的にまたは酵素によって修飾した抗原表面への各抗体の結合プロファイルの類似性に応じてカテゴリーに分ける方法である (US2004/0101920を参照されたい)。各カテゴリーは、別のカテゴリーによって表されるエピトープとは明瞭に異なるかまたは部分的に重複する独特のエピトープを反映し得る。この技術により、遺伝的に同一の抗体を迅速にフィルタリングすることが可能になり、したがって、特徴付けの焦点を遺伝的に別個の抗体に合わせることができる。ハイブリドーマスクリーニングに適用する場合には、MAPにより、所望の特性を有するmAbを產生する希少なハイブリドーマクローンの同定を容易にすることができます。MAPを使用して、本発明の抗体を異なるエピトープに結合する抗体の群に分別することができます。

#### 【0164】

ある特定の実施形態では、インフルエンザウイルスHA抗体またはその抗原結合性断片は、天然の形態もしくは組換えによって產生された、インフルエンザHAにおいて例示された領域の任意の1つまたは複数内のエピトープ、またはその断片に結合する。

#### 【0165】

本発明は、同じエピトープ、またはそのエピトープの一部に結合する抗インフルエンザHA抗体を包含する。同様に、本発明は、本明細書に記載されている特定の例示的な抗体のいずれかと、インフルエンザHAまたはその断片への結合について競合する抗インフルエンザHA抗体も包含する。例えば、本発明は、表1および12に記載されている抗体から得られる1つまたは複数の抗体と、インフルエンザHAへの結合について交差競合する抗インフルエンザHA抗体を包含する。

#### 【0166】

抗体が参照抗インフルエンザHA抗体と同じエピトープに結合するかどうか、または結合について競合するかどうかは、当技術分野で公知の常套的な方法を使用することによって容易に決定することができる。例えば、試験抗体が本発明の参照抗インフルエンザHA抗体と同じエピトープに結合するかどうかを決定するために、参照抗体を飽和条件下でイ

10

20

30

40

50

ンフルエンザH Aまたはペプチドに結合させる。次に、試験抗体の、インフルエンザH A分子に結合する能力を評価する。参照抗インフルエンザH A抗体による飽和結合後に試験抗体がインフルエンザウイルスH Aに結合することができれば、試験抗体が参照抗インフルエンザH A抗体とは異なるエピトープに結合すると結論付けることができる。他方では、参照抗インフルエンザH A抗体による飽和結合後に試験抗体がインフルエンザH Aに結合することができなければ、試験抗体は、本発明の参照抗インフルエンザH A抗体が結合したエピトープと同じエピトープに結合する可能性がある。

#### 【0167】

抗体が参照抗インフルエンザH A抗体と結合について競合するかどうかを決定するため 10 に、上記の結合方法を2つの方向で実施する：第1の方向では、参照抗体を飽和条件下でインフルエンザH Aに結合させ、その後、試験抗体のインフルエンザH A分子への結合を評価する。第2の方向では、試験抗体を飽和条件下でインフルエンザH A分子に結合させ、その後、参照抗体のインフルエンザH A分子への結合を評価する。どちらの方向でも第1の（飽和）抗体のみがインフルエンザH A分子に結合することができた場合、試験抗体と参照抗体がインフルエンザH Aへの結合について競合すると結論付けられる。当業者には理解される通り、参照抗体と結合について競合する抗体は、必ずしも参照抗体と同一のエピトープに結合するのではない可能性があり、重複または隣接するエピトープに結合することによって参照抗体の結合を立体的に遮断する可能性もある。

#### 【0168】

2つの抗体は、それぞれが他方の抗体の抗原への結合を競合的に阻害（遮断）する場合 20 、同じまたは重複するエピトープに結合する。すなわち、1倍、5倍、10倍、20倍または100倍過剰の一方の抗体により、他方の結合が、競合結合アッセイで測定した場合、少なくとも50%であるが好ましくは75%、90%またはさらには99%阻害される（例えば、Junghansら、Cancer Res. 1990年、50巻：1495～1502頁を参照されたい）。あるいは、2つの抗体は、一方の抗体の結合を低下させるまたは排除する抗原のアミノ酸突然変異の本質的に全てにより他方の結合も低下するまたは排除される場合、同じエピトープを有する。2つの抗体は、一方の抗体の結合を低下させるまたは排除するアミノ酸突然変異の一部により他方の結合も低下するまたは排除される場合、重複するエピトープを有する。

#### 【0169】

次いで、追加的な常套的な実験（例えば、ペプチド突然変異および結合分析）を実施して、観察された試験抗体の結合の欠如が実際に参照抗体と同じエピトープに結合することに起因するものであるか、または観察された結合の欠如の原因が立体的遮断（もしくは別の現象）であるかどうかを確認することができる。この種の実験は、当技術分野において利用可能なELISA、RIA、表面プラズモン共鳴、フローサイトメトリーまたは任意の他の定量的または定性的抗体結合アッセイを使用して実施することができる。

#### 免疫コンジュゲート

#### 【0170】

本発明は、インフルエンザウイルス感染を処置するためにトキソイドまたは抗ウイルス薬などの治療用部分とコンジュゲートしたヒト抗インフルエンザH Aモノクローナル抗体（「免疫コンジュゲート」）を包含する。本明細書で使用される場合、「免疫コンジュゲート」という用語は、放射性薬剤、サイトカイン、インターフェロン、標的またはレポーター部分、酵素、ペプチドまたはタンパク質または治療剤と化学的にまたは生物学的に連結した抗体を指す。抗体は、その標的と結合することが可能な限りは分子に沿った任意の位置で、放射性薬剤、サイトカイン、インターフェロン、標的またはレポーター部分、酵素、ペプチドまたは治療剤と連結することができる。免疫コンジュゲートの例としては、抗体薬物コンジュゲートおよび抗体-毒素融合タンパク質が挙げられる。一実施形態では、薬剤は、インフルエンザH Aに対する第2の異なる抗体であってよい。ある特定の実施形態では、抗体は、ウイルス感染細胞に特異的な薬剤とコンジュゲートすることができる。抗インフルエンザH A抗体とコンジュゲートすることができる治療用部分の型は、処置 40 50

される状態および実現したい所望の治療効果を考慮にいれる。免疫コンジュゲートを形成するための適切な薬剤の例は当技術分野で公知である；例えば、WO 05 / 103081 を参照されたい。

#### 多重特異性抗体

##### 【0171】

本発明の抗体は、単一特異性、二重特異性、または多重特異性であってよい。多重特異性抗体は、1つの標的ポリペプチドの異なるエピトープに特異的なものであってもよく、1つ超の標的ポリペプチドに特異的な抗原結合性ドメインを含有するものであってもよい。例えば、Tuttら、1991年、J. Immunol.、147巻：60～69頁；Kuferら、2004年、Trends Biotechnol.、22巻：238～244頁を参照されたい。

10

##### 【0172】

本発明の多重特異性抗原結合性分子またはそのバリエントはいずれも、当業者には分かるであろう標準の分子生物学的技法（例えば、組換えDNAおよびタンパク質の発現技術）を使用して構築することができる。

##### 【0173】

一部の実施形態では、インフルエンザHA特異的抗体を、インフルエンザHAの別個のドメインに結合する可変領域が連結して单一の結合性分子内に二重ドメイン特異性が付与された二重特異性形式（「二重特異性」）で生成する。適切に設計された二重特異性体は、特異性および結合活性の両方が増大することにより、全体的なインフルエンザ-HAタンパク質阻害有効性を増強し得る。個々のドメイン（例えば、N末端ドメインのセグメント）に対する特異性を有する可変領域、または1つのドメイン内の異なる領域に結合することが可能な可変領域を、各領域が別々のエピトープまたは1つのドメイン内の異なる領域に同時に結合することを可能にする構造的足場上で対合させる。一実施例では、二重特異性体のために、1つのドメインに対する特異性を有する結合体由来の重鎖可変領域（V<sub>H</sub>）を、第2のドメインに対する特異性を有する一連の結合体由来の軽鎖可変領域（V<sub>L</sub>）で組み換えて、元のV<sub>H</sub>と、そのV<sub>H</sub>についての元の特異性を乱さずに対合させることができ非コグネイトV<sub>L</sub>パートナーを同定する。このように、单一のV<sub>L</sub>セグメント（例えば、V<sub>L</sub>1）を2つの異なるV<sub>H</sub>ドメイン（例えば、V<sub>H</sub>1およびV<sub>H</sub>2）と組み合わせて、2つの結合「アーム」（V<sub>H</sub>1-V<sub>L</sub>1およびV<sub>H</sub>2-V<sub>L</sub>1）で構成される二重特異性体を生成することができる。单一のV<sub>L</sub>セグメントの使用により、二重特異性体を生成するために使用されるクローニング、発現、および精製プロセスにおける系の複雑さが低下し、それにより、単純化され、かつ効率が上昇する（例えば、USSN 13/022759およびUS 2010/0331527を参照されたい）。

20

30

##### 【0174】

あるいは、1つ超のドメイン、および、これだけに限定されないが、例えば、第2の種々の抗インフルエンザHA抗体などの第2の標的に結合する抗体を、本明細書に記載されている技法または当業者に公知の他の技法を使用して二重特異性形式に調製することができる。別個の領域に結合する抗体可変領域を、例えばインフルエンザウイルス上の関連する部位に結合する可変領域と連結して、单一の結合性分子内に二重抗原特異性を付与することができる。この性質の適切に設計された二重特異性体は二重の機能を果たす。細胞外ドメインに対する特異性を有する可変領域を、細胞外ドメインの外部に対する特異性を有する可変領域と組み合わせ、各可変領域が別々の抗原に結合することを可能にすることを可能にする構造的足場上で対合させる。

40

##### 【0175】

本発明に関して使用することができる例示的な二重特異性抗体形式は、第1の免疫グロブリン（Ig）C<sub>H</sub>3ドメインおよび第2のIg C<sub>H</sub>3ドメインの使用を伴い、ここで、第1のIg C<sub>H</sub>3ドメインおよび第2のIg C<sub>H</sub>3ドメインは、少なくとも1つのアミノ酸により互いに異なり、少なくとも1つのアミノ酸の差異により、二重特異性抗体のプロテインAへの結合が、アミノ酸の差異がない二重特異性抗体と比較して低減する。一実施形態では、第1のIg C<sub>H</sub>3ドメインは、プロテインAに結合し、第2のIg

50

$C_H$  3 ドメインは、H 9 5 R の改変 (IMGT エクソン番号付けによる ; EU 番号付けによると H 4 3 5 R ) などの、プロテイン A への結合を低減または消滅させる突然変異を含有する。第 2 の  $C_H$  3 は、Y 9 6 F の改変 (IMGT による ; EU によると Y 4 3 6 F ) をさらに含んでよい。第 2 の  $C_H$  3 に見いだすことができるさらなる改変としては、Ig G 1 抗体の場合では、D 1 6 E、L 1 8 M、N 4 4 S、K 5 2 N、V 5 7 M、および V 8 2 I (IMGT による ; EU によると D 3 5 6 E、L 3 5 8 M、N 3 8 4 S、K 3 9 2 N、V 3 9 7 M、および V 4 2 2 I) ; Ig G 2 抗体の場合では、N 4 4 S、K 5 2 N、および V 8 2 I (IMGT ; EU によると N 3 8 4 S、K 3 9 2 N、および V 4 2 2 I) ; ならびに、Ig G 4 抗体の場合では、Q 1 5 R、N 4 4 S、K 5 2 N、V 5 7 M、R 6 9 K、E 7 9 Q、および V 8 2 I (IMGT による ; EU によると Q 3 5 5 R、N 3 8 4 S、K 3 9 2 N、V 3 9 7 M、R 4 0 9 K、E 4 1 9 Q、および V 4 2 2 I) が挙げられる。上記の二重特異性抗体形式の変形は本発明の範囲内に入るものと企図される。

## 【0176】

本発明に関して使用することができる他の例示的な二重特異性形式としては、限定することなく、例えば、scFv に基づくまたはダイアボディ二重特異性形式、IgG-scFv 融合物、二重可変ドメイン (DVD) - Ig、クアドローマ、ノブイントウホール (knobs-into-holes)、共通軽鎖 (例えば、ノブイントウホールを有する共通軽鎖など)、CrossMab、CrossFab、(SEED) ボディ、ロイシンジッパー、デュオボディ (Duoobody)、IgG1/IgG2、二重作用性 Fab (DAF) - IgG、および Mab<sup>2</sup> 二重特異性形式が挙げられる (前述の形式の概説については、例えば、Kleinら、2012年、mAbs、4巻：6号、1～11頁、およびそこに引用されている参考文献を参照されたい)。二重特異性抗体は、例えば、既定の組成、結合価および幾何学的形状を有する多量体複合体に自己集合する部位特異的な抗体 - オリゴヌクレオチドコンジュゲートを生成するために直交性の化学反応性を有する非天然アミノ酸を使用する場合には、ペプチド / 核酸コンジュゲーションを使用して構築することもできる (例えば、Kazaneら、J. Am. Chem. Soc. [Epub: 2012年12月4日] を参照されたい)。

## 治療的投与および製剤

## 【0177】

本発明は、本発明の抗インフルエンザ HA 抗体またはその抗原結合性断片を含む治療用組成物を提供する。本発明による治療用組成物は、移行、送達、耐容性などの改善をもたらすために製剤に組み入れられた適切な担体、賦形剤、および他の薬剤と共に投与する。多数の適切な製剤は、全ての薬剤学者に公知の処方集 : Remington's Pharmaceutical Sciences、Mack Publishing Company、Easton、PAにおいて見いだすことができる。これらの製剤としては、例えば、散剤、ペースト剤、軟膏剤、ゼリー剤、ワックス剤、油剤、脂質、小胞を含有する脂質 (陽イオン性または陰イオン性) (例えば、LIPOFECT IN (商標) など)、DNA コンジュゲート、無水吸収ペースト剤、水中油型および油中水型乳剤、カーボワックス乳剤 (様々な分子量のポリエチレンリコール)、半固体ゲル剤、ならびにカーボワックスを含有する半固体混合物が挙げられる。Powellら、「Compendium of excipients for parenteral formulations」、PDA (1998年) J. Pharm. Sci. Technol. 52巻：238～311頁も参照されたい。

## 【0178】

抗体の用量は、投与を受ける対象の年齢およびサイズ、標的疾患、状態、投与経路などに応じて変動し得る。本発明の抗体を、成体患者における疾患または障害を処置するため、またはそのような疾患を防止するために使用する場合、本発明の抗体を、通常は体重 1 kg 当たり約 0.1 mg ~ 約 60 mg、より好ましくは体重 1 kg 当たり約 5 mg ~ 約 60 mg、約 10 mg ~ 約 50 mg、または約 20 mg ~ 約 50 mg の単回用量で投与することが有利である。状態の重症度に応じて、処置の頻度および持続時間を調整することができる。ある特定の実施形態では、本発明の抗体またはその抗原結合性断片は、少なくとも約 0.1 mg ~ 約 5000 mg、約 1 ~ 約 2000 mg、約 5 ~ 約 1000 mg、また

10

20

30

40

50

は約10～約500mg、～約100mg、または～約50mgの初回用量で投与することができる。ある特定の実施形態では、初回用量の後に、第2のまたは複数のその後の抗体またはその抗原結合性断片の用量を、初回用量とほぼ同じかまたはそれ未満であってよい量で投与することができ、ここで、その後の用量は、少なくとも1日～3日；少なくとも1週間、少なくとも2週間；少なくとも3週間；少なくとも4週間；少なくとも5週間；少なくとも6週間；少なくとも7週間；少なくとも8週間；少なくとも9週間；少なくとも10週間；少なくとも12週間；または少なくとも14週間の間をあける。

#### 【0179】

様々な送達系が公知であり、それらを使用して本発明の医薬組成物を投与することができる。例えば、リポソーム、微小粒子、マイクロカプセルへの封入、ウイルス突然変異体を発現させることができ可能な組換え細胞、受容体媒介性エンドサイトーシス（例えば、Wuら、（1987年）J. Biol. Chem.、262巻：4429～4432頁を参照されたい）。導入の方法としては、これだけに限定されないが、皮内経路、経皮経路、筋肉内経路、腹腔内経路、静脈内経路、皮下経路、鼻腔内経路、硬膜外経路および経口経路が挙げられる。組成物は、任意の都合のよい経路によって、例えば、注入またはボーラス注射によって、上皮または皮膚粘膜の内層（例えば、口腔粘膜、直腸粘膜および腸粘膜など）を通じた吸收によって投与することができ、また、他の生物学的に活性な薬剤と一緒に投与することができる。投与は、全身的なものであっても局所的なものであってもよい。医薬組成物は、小胞、特にリポソームとして送達することもできる（例えば、Langer（1990年）Science、249巻：1527～1533頁を参照されたい）。

#### 【0180】

本発明の抗体を送達するためのナノ粒子の使用も本明細書において企図される。抗体とコンジュゲートしたナノ粒子は治療への適用および診断への適用のどちらにも使用することができる。抗体とコンジュゲートしたナノ粒子ならびに調製および使用の方法は、参照により本明細書に組み込まれるArruebo, M.ら、2009年（「Antibody-conjugated nanoparticles for biomedical applications」、J. Nanomat. 2009巻、文献番号439389、24頁、doi: 10.1155/2009/439389）により詳細に記載されている。ウイルス感染細胞を標的するために、ナノ粒子を開発し、医薬組成物中に含有される抗体とコンジュゲートすることができる。薬物送達用のナノ粒子は、例えば、そのそれぞれの全体が本明細書に組み込まれる、U.S. 8,257,740、またはU.S. 8,246,995にも記載されている。

#### 【0181】

ある特定の状況では、医薬組成物を制御放出系で送達することができる。一実施形態では、ポンプを使用することができる。別の実施形態では、ポリマー材料を使用することができる。さらに別の実施形態では、制御放出系を組成物の標的の近傍に置くことができ、したがって、全身用量のほんの一部のみが必要になる。

#### 【0182】

注射用調製物は、静脈内、皮下、皮内、頭蓋内、腹腔内および筋肉内への注射、点滴注入などのための剤形を含み得る。これらの注射用調製物は、公知の方法によって調製することができる。例えば、注射用調製物は、例えば、上記の抗体またはその塩を、注射用に従来使用される滅菌水性媒体または油性媒体中に溶解させるか、懸濁させるか、または乳化することによって調製することができる。注射用の水性媒体としては、例えば、生理的食塩水、グルコースおよび他の補助剤を含有する等張性溶液などがあり、これらは、例えばアルコール（例えば、エタノール）、多価アルコール（例えば、プロピレンギリコール、ポリエチレンギリコール）、非イオン性界面活性物質〔例えば、ポリソルベート80、HCO-50（硬化ヒマシ油のポリオキシエチレン（50mol）付加生成物）〕などの適切な可溶化剤と組み合わせて使用することができる。油性媒体としては、例えば、ゴマ油、ダイズ油などが使用されており、これらは、安息香酸ベンジル、ベンジルアルコールなどの可溶化剤と組み合わせて使用することができる。したがって調製された注射剤は、適切なアンプル中に充填することが好ましい。

10

20

30

40

50

## 【0183】

本発明の医薬組成物は、標準の針およびシリンジを用いて皮下または静脈内に送達することができる。さらに、皮下送達に関しては、ペン型送達デバイスが本発明の医薬組成物の送達において容易に適用される。そのようなペン型送達デバイスは、再使用可能であっても使い捨てであってもよい。再使用可能なペン型送達デバイスでは、一般に、医薬組成物を含有する交換可能なカートリッジが利用される。カートリッジ中の医薬組成物が全て投与され、カートリッジが空になったら、空のカートリッジを容易に廃棄し、医薬組成物を含有する新しいカートリッジと交換することができる。次いで、ペン型送達デバイスを再使用することができる。使い捨てペン型送達デバイスでは、交換可能なカートリッジは用いられない。その代わりに、使い捨てペン型送達デバイスにはデバイス内のレザバー中に保持された医薬組成物が充填される。レザバー中の医薬組成物が無くなったら、デバイス全体を廃棄する。

## 【0184】

多数の再使用可能なペン型送達デバイスおよび自動注射器型送達デバイスが本発明の医薬組成物の皮下送達に適用される。例としては、これらに確実には限定されないが、ほんの一部挙げると、AUTOPEN(商標)(Owen Mumford, Inc., Woodstock, UK)、DISETRONIC(商標)ペン(Dise tronic Medical Systems, Burgdorf, Switzerland)、HUMALOG MIX 75/25(商標)ペン、HUMALOG(商標)ペン、HUMALIN 70/30(商標)ペン(Eli Lilly and Co., Indianapolis, IN)、NOVOPEN(商標)I、IIおよびIII(Novo Nordisk, Copenhagen, Denmark)、NOVOPEN JUNIOR(商標)(Novo Nordisk, Copenhagen, Denmark)、BD(商標)ペン(Becton Dickinson, Franklin Lakes, NJ)、OPTIPEN(商標)、OPTIPEN PRO(商標)、OPTIPEN STARLET(商標)、およびOPTICLICK(商標)(Sanofi-Aventis, Frankfurt, Germany)がある。本発明の医薬組成物の皮下送達に適用される使い捨てペン型送達デバイスの例としては、これらに確実には限定されないが、ほんの一部挙げると、SOLOSTAR(商標)ペン(Sanofi-Aventis)、FLEXPEN(商標)(Novo Nordisk)、およびKWIKPEN(商標)(Eli Lilly)、SURECLICK(商標)自動注射器(Amgen, Thousand Oaks, CA)、PENLET(商標)(Hasselmeier, Stuttgart, Germany)、EPIPEN(Dey, L.P.)およびHUMIRA(商標)ペン(Abbott Labs, Abbott Park, IL)がある。

## 【0185】

上記の経口使用または非経口使用のための医薬組成物は、活性成分の用量を適合させるのに適した単位用量の剤形に調製することが有利である。そのような単位用量の剤形としては、例えば、錠剤、ピル剤、カプセル剤、注射(アンプル)、坐剤などが挙げられる。含有される抗体の量は、一般に、単位用量中、剤形当たり約5～約5000mgである。抗体は、特に注射の形態では約5～約500mg含有されることが好ましく、他の剤形に関しては約10～約250mg含有されることが好ましい。

## 抗体の治療的使用

## 【0186】

本発明の抗体は、インフルエンザウイルス感染に関連する疾患または障害または状態を治療および/もしくは防止するため、ならびに/または、そのような疾患、障害または状態に付随する少なくとも1つの症状を好転させるために有用である。

## 【0187】

ある特定の実施形態では、本発明の抗体は、インフルエンザウイルスによって引き起こされる重症かつ急性の呼吸器感染に罹患している対象を処置するために有用である。一部

10

20

30

40

50

の実施形態では、本発明の抗体は、宿主におけるウイルス力値を低下させることまたはウイルス負荷量を減少させることにおいて有用である。一実施形態では、本発明の抗体またはその抗原結合性断片は、インフルエンザウイルスに感染している患者に、治療用量で投与することができる。

【0188】

本発明の1つまたは複数の抗体は、疾患または障害の症状または状態の1つまたは複数を軽減もしくは防止するため、またはその重症度を低下させるために投与することができる。抗体は、これだけに限定されないが、発熱、咳、咽頭炎、頭痛、体の痛み、疲労、極度の消耗、息切れ、気管支炎、肺炎、および死亡を含む、インフルエンザウイルス感染の少なくとも1つの症状を好転させるためまたはその重症度を低下させるために使用することができる。10

【0189】

本明細書では、本発明の1つまたは複数の抗体を、免疫無防備状態の個体、高齢の成人(65歳を超える)、2歳未満の小児、医療従事者、インフルエンザウイルス感染に罹患している患者の極めて近くにいる家族構成員、および病歴(例えば、肺感染症、心疾患または糖尿病のリスクの上昇)を有する患者などの、インフルエンザウイルス感染が発生するリスクがある対象に予防的に使用することも企図される。

【0190】

本発明のさらなる実施形態では、本抗体を、インフルエンザウイルス感染に罹患している患者を処置するための医薬組成物を調製するために使用する。本発明の別の実施形態では、本抗体を、インフルエンザウイルス感染を処置するまたは好転させるために有用な当業者に公知の任意の他の薬剤または任意の他の治療と共に、補助治療として使用する。20

組み合わせ治療

【0191】

組み合わせ治療は、本発明の抗インフルエンザH A抗体、および、本発明の抗体または発明の抗体の生物学的に活性な断片と有利に組み合わせられる任意の追加的な治療剤を含む。本発明の抗体は、インフルエンザウイルスの処置に使用される1つまたは複数の薬物または薬剤(例えば、抗ウイルス剤)と相乗的に組み合わせることができる。

【0192】

例えば例示的な抗ウイルス剤としては、例えば、ワクチン、ノイラミニダーゼ阻害剤またはヌクレオシド類似体が挙げられる。本発明の抗体と組み合わせて使用することができる他の例示的な抗ウイルス剤としては、例えば、ジドブシン、ガンシクロビル(gangcyclovir)、ビダラビン、イドクスウリジン、トリフルリジン、ホスカルネット、アシクロビル、リバビリン、アマンタジン、リマンタジン(remantidine)、サクイナビル、インジナビル、リトナビル、アルファ-インターフェロンおよび他のインターフェロン、ノイラミニダーゼ阻害剤(例えば、ザナミビル(РЕЛЕНЗА(登録商標))、オセルタミビル(TAMIFLU(登録商標))ラニナミビル、ペラミビル)、またはリマンタジンを挙げることができる。30

【0193】

他の例示的な抗ウイルス薬としては、これだけに限定されないが、H A阻害剤、シアル酸阻害剤およびM 2イオンチャネル阻害剤が挙げられる。一実施形態では、M 2イオンチャネル阻害剤は、アマンタジンまたはリマンタジンである。40

【0194】

一部の実施形態では、本発明の抗体は、インフルエンザウイルスに感染している患者におけるウイルス負荷量を減少させるため、または感染の1つまたは複数の症状を好転させるために、第2の治療剤と組み合わせることができる。

【0195】

本発明の抗体は、抗炎症薬(例えば、コルチコステロイド、および非ステロイド性抗炎症薬)、充血除去薬、抗ヒスタミン薬、抗感染薬、インフルエンザウイルスに対する異なる抗体、抗ウイルス薬、FLUMIST(登録商標)またはFLUVIRIN(登録商標)50

)などのインフルエンザウイルスに対するワクチン、抗酸化剤などの栄養補助食品、またはインフルエンザウイルス感染を処置するための任意の他の緩和療法と組み合わせて使用することができる。

#### 【0196】

ある特定の実施形態では、第2の治療剤は、インフルエンザに対する別の抗体である。ある特定の実施形態では、第2の治療剤は、インフルエンザ赤血球凝集素に対する別の抗体である。ある特定の実施形態では、第2の治療剤は、ノイラミニダーゼまたはマトリックスタンパク質2の四量体外部ドメイン(M2eタンパク質)などの異なるインフルエンザタンパク質に対する別の抗体である。ある特定の実施形態では、第2の治療剤は、宿主膜貫通プロテアーゼ、セリン2(TMPRS2)などの異なるタンパク質に対する抗体である。第2の抗体は、ウイルスの異なる亜型または株に由来する1つまたは複数の異なるインフルエンザウイルスタンパク質に特異的なものであってよい。本発明では、インフルエンザウイルスに対して広範な中和活性または阻害活性を有する抗体の組合せ(「カクテル」)の使用が企図される。一部の実施形態では、インフルエンザウイルスの、選択圧力の結果としての迅速な突然変異に起因してエスケープする能力を低下させるために、競合しない抗体を組み合わせ、それを必要とする対象に投与することができる。一部の実施形態では、組合せを構成する抗体は、HAタンパク質上の別個の重複しないエピトープに結合する。組合せを構成する抗体は、ウイルスの宿主細胞への付着および/または侵入および/または宿主細胞との融合を遮断し得る。抗体は、H1、H2、H5、H6、H8、H9、H11、H12、H13、H16、H17またはH18を含むグループ1のA型インフルエンザ亜型の任意の1つまたは複数から選択される赤血球凝集素と相互作用し得、単独で、または上記の薬剤の任意の1つまたは複数と組み合わせて使用すると、これだけに限定されないが、以下:H1N1、H5N1、H9N2、H13N6およびH16N3を含むグループ1インフルエンザ亜型の任意の1つまたは複数を中和し得る。

10

#### 【0197】

本発明では、本発明の抗インフルエンザHA抗体の組合せの使用も企図されており、ここで、組合せは、交差競合しない1つまたは複数の抗体；一部の実施形態では、組合せは、広範な中和活性を有する第1の抗体を、狭いスペクトルの分離株に対する活性を有し、第1の抗体と交差競合しない第2の抗体と共に含む。

20

#### 【0198】

30

本明細書で使用される場合、「組み合わせて」という用語は、本発明の抗インフルエンザHA抗体を投与する前、それと同時に、またはその後に、追加的な治療的に活性な構成成分(複数可)を投与することができることを意味する。「組み合わせて」という用語は、抗インフルエンザHA抗体および第2の治療剤の逐次的投与または同時的投与も包含する。

#### 【0199】

追加的な治療的に活性な構成成分(複数可)は、本発明の抗インフルエンザHA抗体を投与する前に対象に投与することができる。例えば、第1の構成成分を、第2の構成成分の1週間前、72時間前、60時間前、48時間前、36時間前、24時間前、12時間前、6時間前、5時間前、4時間前、3時間前、2時間前、1時間前、30分前、15分前、10分前、5分前、または1分未満前に投与に投与する場合、第1の構成成分が第2の構成成分「の前に」投与されるとみなすことができる。他の実施形態では、追加的な治療的に活性な構成成分(複数可)は、本発明の抗インフルエンザHA抗体を投与した後に対象に投与することができる。例えば、第1の構成成分を、第2の構成成分を投与した1分後、5分後、10分後、15分後、30分後、1時間後、2時間後、3時間後、4時間後、5時間後、6時間後、12時間後、24時間後、36時間後、48時間後、60時間後、72時間後に投与する場合、第1の構成成分は、第2の構成成分「の後に」投与されるとみなされる。さらに他の実施形態では、追加的な治療的に活性な構成成分(複数可)は、本発明の抗インフルエンザHA抗体を投与するのと同時に対象に投与することができる。「同時に」投与するとは、本発明の目的に関して、例えば、抗インフルエンザHA抗

40

50

体および追加的な治療的に活性な構成成分を、単一の剤形として対象に投与すること、または、別々の剤形として互いから約30分またはそれ未満以内に対象に投与することを含む。別々の剤形として投与する場合、各剤形は、同じ経路で投与することができる（例えば、抗インフルエンザH A抗体と追加的な治療的に活性な構成成分の両方を静脈内に投与することができるなど）。あるいは、各剤形は、異なる経路によって投与することができる（例えば、抗インフルエンザH A抗体を静脈内に投与することができ、追加的な治療的に活性な構成成分を経口的に投与することができる）。いずれにしても、構成成分を単一の剤形として同じ経路によって投与すること、別々の剤形として同じ経路によって投与すること、または、別々の剤形として異なる経路によって投与することは、全て、本開示の目的に關して、「同時に投与すること」とみなされる。本開示の目的に關して、抗インフルエンザH A抗体を追加的な治療的に活性な構成成分を投与した「前に」、それと「同時に」またはその「後に」（これらの用語は本明細書において上で定義されている）投与することは、抗インフルエンザH A抗体を、追加的な治療的に活性な構成成分「と組み合わせて」投与することとみなされる。

#### 【0200】

本発明は、本発明の抗インフルエンザH A抗体と、本明細書の他の箇所に記載の追加的な治療的に活性な構成成分（複数可）のうちの1つまたは複数を共に製剤化した医薬組成物を包含する。

#### 投与レジメン

##### 【0201】

ある特定の実施形態によると、本発明の抗インフルエンザH A抗体（または抗インフルエンザH A抗体と本明細書で言及されている追加的な治療的に活性な薬剤のいずれかとの組合せを含む医薬組成物）の単回用量を、それを必要とする対象に投与することができる。本発明のある特定の実施形態によると、抗インフルエンザH A抗体（または抗インフルエンザH A抗体と本明細書で言及されている追加的な治療的に活性な薬剤のいずれかとの組合せを含む医薬組成物）の複数回用量を、対象に既定の時間経過にわたり投与することができる。本発明のこの態様による方法は、対象に本発明の抗インフルエンザH A抗体の複数回用量を逐次的に投与することを含む。本明細書で使用される場合、「逐次的に投与すること」とは、抗インフルエンザH A抗体の各用量を、対象に、異なる時点で、例えば、所定の間隔（例えば、数時間、数日、数週間または数カ月）を空けた異なる日に投与することを意味する。本発明は、患者に、抗インフルエンザH A抗体の単一の初回用量、その後に、抗インフルエンザH A抗体の1つまたは複数の二次用量、および任意選択で、その後に抗インフルエンザH A抗体の1つまたは複数の三次用量を逐次的に投与することを含む方法を包含する。

##### 【0202】

「初回用量」、「二次用量」および「三次用量」という用語は、本発明の抗インフルエンザH A抗体の投与の時間的な順序を指す。したがって、「初回用量」とは、処置レジメンの開始時に投与される用量であり（「ベースライン用量」とも称される）、「二次用量」とは、初回用量の後に投与される用量であり、「三次用量」とは、二次用量の後に投与される用量である。初回用量、二次用量、および三次用量は全て、同じ量の抗インフルエンザH A抗体を含有し得るが、一般には、投与の頻度に関して互いに異なり得る。しかし、ある特定の実施形態では、初回用量、二次用量および/または三次用量に含有される抗インフルエンザH A抗体の量は、処置の過程中、互いに変動する（例えば、必要に応じて上方または下方に調整する）。ある特定の実施形態では、2つまたはそれ超（例えば、2つ、3つ、4つ、または5つ）の用量を処置レジメンの開始時に「ローディング用量」として投与し、続いて、その後の用量をより低い頻度で投与する（例えば、「維持用量」）。

##### 【0203】

本発明のある特定の例示的な実施形態では、二次用量および/または三次用量のそれを、直前の用量の1~48時間後（例えば、1時間後、1時間半後、2時間後、2時間

10

20

30

40

50

半後、3時間後、3時間半後、4時間後、4時間半後、5時間後、5時間半後、6時間後、6時間半後、7時間後、7時間半後、8時間後、8時間半後、9時間後、9時間半後、10時間後、10時間半後、11時間後、11時間半後、12時間後、12時間半後、13時間後、13時間半後、14時間後、14時間半後、15時間後、15時間半後、16時間後、16時間半後、17時間後、17時間半後、18時間後、18時間半後、19時間後、19時間半後、20時間後、20時間半後、21時間後、21時間半後、22時間後、22時間半後、23時間後、23時間半後、24時間後、24時間半後、25時間後、25時間半後、26時間後、26時間半後、またはそれ超)に投与する。「直前の用量」という句は、本明細書で使用される場合、多数回の投与の連続において、連続内の、間に用量を挟まずすぐ次の用量の投与前に患者に投与される抗インフルエンザH A抗体の用量を意味する。

#### 【0204】

本発明のこの態様による方法は、患者に、抗インフルエンザH A抗体の二次用量および/または三次用量を任意の数で投与することを含み得る。例えば、ある特定の実施形態では、単一の二次用量のみを患者に投与する。他の実施形態では、2またはそれ超(例えば、2、3、4、5、6、7、8、またはそれ超)の二次用量を患者に投与する。同様に、ある特定の実施形態では、単一の三次用量のみを患者に投与する。他の実施形態では、2またはそれ超の(例えば、2、3、4、5、6、7、8、またはそれ超)の三次用量を患者に投与する。

#### 【0205】

本発明のある特定の実施形態では、二次用量および/または三次用量を患者に投与する頻度は、処置レジメンの経過にわたって変動し得る。投与の頻度は、処置の過程中に、臨床検査後に個々の患者の必要性に応じて医師が調整することもできる。

#### 抗体の診断への使用

#### 【0206】

本発明の抗インフルエンザH A抗体は、例えば、診断目的で、試料中のインフルエンザH Aを検出および/または測定するために使用することができる。一部の実施形態では、ウイルス感染などの疾患または障害を検出するためのアッセイにおける、本発明の1つまたは複数の抗体の使用が企図される。インフルエンザH Aの例示的な診断アッセイは、例えば、患者から得た試料を、本発明の抗インフルエンザH A抗体と接触させることを含み、ここで、抗インフルエンザH A抗体は、検出可能な標識もしくはレポーター分子で標識するか、または、インフルエンザH Aを患者試料から選択的に単離するための捕捉用リガンドとして使用する。あるいは、標識されていない抗インフルエンザH A抗体を、それ自体が検出可能に標識された二次抗体と組み合わせて診断への適用に使用することができる。検出可能な標識またはレポーター分子は、<sup>3</sup>H、<sup>14</sup>C、<sup>32</sup>P、<sup>35</sup>S、もしくは<sup>1</sup><sup>2</sup><sup>5</sup>Iなどの放射性同位元素；フルオレセインイソチオシアネート、もしくはローダミンなどの蛍光もしくは化学発光部分；またはアルカリホスファターゼ、-ガラクトシダーゼ、西洋ワサビペルオキシダーゼ、もしくはルシフェラーゼなどの酵素であってよい。試料中のインフルエンザH Aを検出または測定するために使用することができる特定の例示的なアッセイとしては、酵素結合免疫吸着検定法(ELISA)、ラジオイムノアッセイ(RIA)、および蛍光活性化細胞選別(FACS)が挙げられる。

#### 【0207】

本発明によるインフルエンザH A診断アッセイにおいて使用することができる試料としては、正常な状態または病態の下にある、患者から得られる、インフルエンザH Aまたはその断片を検出可能な分量で含有する任意の組織または流体試料が挙げられる。一般に、ベースラインまたは標準のインフルエンザH Aのレベルを最初に確立するために、健康な患者(例えば、インフルエンザに関連する疾患を患っていない患者)から得られる特定の試料中のインフルエンザH Aのレベルを測定する。次いで、このベースラインのインフルエンザH Aのレベルを、インフルエンザH Aに関連する状態、またはそのような状態に付随する症状を有する疑いがある個体から得られる試料で測定されたインフルエンザH Aの

10

20

30

40

50

レベルと比較することができる。

【0208】

インフルエンザHAに特異的な抗体は、追加的な標識または部分を含有しなくてもよく、N末端またはC末端の標識または部分を含有してもよい。一実施形態では、標識または部分はビオチンである。結合アッセイでは、標識（もしあれば）の位置により、ペプチドを結合させる表面に対するペプチドの方向を決定することができる。例えば、表面がアビジンでコーティングされている場合には、N末端ビオチンを含有するペプチドは、ペプチドのC末端部分が表面から遠位になるように向き付けられる。

【実施例】

【0209】

10

以下の実施例は、当業者に本発明の方法および組成物の実施および使用の仕方についての完全な開示および記載を提供するために提示するものであり、発明者らが自身の発明とみなすものの範囲を限定するものではない。使用される数字（例えば、量、温度など）に関しては正確さを確実にするための試みが行われているが、いくらかの実験的な誤差および偏差が考慮されるべきである。別段の指定のない限り、部は重量部であり、分子量は平均分子量であり、温度は摂氏度であり、室温は約25°であり、圧力は大気または大気付近の圧力である。

（実施例1）

インフルエンザHAに対するヒト抗体の生成

【0210】

20

ヒト免疫グロブリン重鎖可変領域およびカッパ軽鎖可変領域をコードするDNAを含むVELOCIMMUNE（登録商標）マウスにおいて、インフルエンザHAに対するヒト抗体を生成した。マウスを、インフルエンザワクチン組成物を用いて免疫し、その後、5つの異なる組換え赤血球凝集素タンパク質の、それぞれ1:1の比率での混合物で構成される追加免疫用量を用いて免疫した。追加免疫に含まれる5つの組換え赤血球凝集素タンパク質は、H1 A / New Caledonia / 20 / 1999に由来する赤血球凝集素、H5 A / Indonesia / 05 / 2005に由来する赤血球凝集素、H3 A / Victoria / 361 / 2011に由来する赤血球凝集素、H7 A / Netherlands / 219 / 2003に由来する赤血球凝集素およびH9 A / Hong Kong / 1073 / 1988に由来する赤血球凝集素（Protein Sciences、カタログ番号3006）であった。抗体免疫応答をA型インフルエンザHA特異的イムノアッセイによってモニターした。所望の免疫応答が実現されたら、脾細胞を収集し、マウス骨髄腫細胞と融合してそれらの生存能力を保存し、ハイブリドーマ細胞株を形成した。ハイブリドーマ細胞株をスクリーニングし、選択してインフルエンザHA特異的抗体を産生する細胞株を同定した。この技法および上記の様々な免疫原を使用して、いくつかのキメラ抗体（すなわち、ヒト可変ドメインとマウス定常ドメインを有する抗体）を得た。このように生成した例示的な抗体を、H1H11820N、H1H11829N、H1H11829N2、H2M11830N、H1H11830N2、H1H11903NおよびH1H14571Nと名付けた。

30

【0211】

40

抗インフルエンザHA抗体はまた、米国特許第7582298号に記載の通り、抗原陽性マウスB細胞から、骨髄腫細胞との融合を行わずに直接にも単離した。この方法を使用して、いくつかの完全ヒト抗インフルエンザHA抗体（すなわち、ヒト可変ドメインおよびヒト定常ドメインを有する抗体）を得た。このように生成した例示的な抗体を、H1H11723P、H1H11729P、H1H11704P、H1H11711P、H1H11714P、H1H11717P、H1H11724P、H1H11727P、H1H11730P、H1H11731P2、H1H11734P2、H1H11736P2、H1H11742P2、H1H11744P2、H1H11745P2、H1H11747P2、H1H11748P2と名付けた。

【0212】

50

この実施例の方法に従って生成した例示的な抗体の生物学的性質を下記の実施例に詳細に記載する。

(実施例 2)

重鎖可変領域および軽鎖可変領域のアミノ酸配列およびヌクレオチド配列

【0213】

表1は、本発明の選択された抗インフルエンザH A抗体の重鎖可変領域および軽鎖可変領域およびCDRのアミノ酸配列識別子を示す。対応する核酸配列識別子を表2に記載する。

【表1 - 1】

表1:アミノ酸配列識別子

10

抗体の名称	配列番号							
	HCVR	HCDR1	HCDR2	HCDR3	LCVR	LCDR1	LCDR2	LCDR3
H1H11723P	2	4	6	8	10	12	14	16
H1H11729P	18	20	22	24	26	28	30	32
H1H11820N	34	36	38	40	42	44	46	48
H1H11829N	50	52	54	56	58	60	62	64
H1H11829N2	50	52	54	56	66	68	70	72
H2aM11829N	50	52	54	56	58	60	62	64

【表1 - 2】

20

H2M11830N	74	76	78	80	82	84	86	88
H1H11830N2	74	76	78	80	66	68	70	72
H1H11903N	90	92	94	96	98	100	102	104
H1H14571N	106	108	110	112	114	116	118	120
H2a14571N	106	108	110	112	114	116	118	120
H1H11704P	122	124	126	128	130	132	134	136
H1H11711P	138	140	142	144	146	148	150	152
H1H11714P	154	156	158	160	162	164	166	168
H1H11717P	170	172	174	176	178	180	182	184
H1H11724P	186	188	190	192	194	196	198	200
H1H11727P	202	204	206	208	210	212	214	216
H1H11730P2	218	220	222	224	226	228	230	232
H1H11731P2	234	236	238	240	66	68	70	72
H1H11734P2	242	244	246	248	66	68	70	72
H1H11736P2	250	252	254	256	66	68	70	72
H1H11742P2	258	260	262	264	66	68	70	72
H1H11744P2	266	268	270	272	66	68	70	72
H1H11745P2	274	276	278	280	66	68	70	72
H1H11747P2	282	284	286	288	66	68	70	72
H1H11748P2	290	292	294	296	66	68	70	72

30

## 【表2】

表2:核酸配列識別子

抗体の名称	配列番号							
	HCVR	HCDR1	HCDR2	HCDR3	LCVR	LCDR1	LCDR2	LCDR3
H1H11723P	1	3	5	7	9	11	13	15
H1H11729P	17	19	21	23	25	27	29	31
H1H11820N	33	35	37	39	41	43	45	47
H1H11829N	49	51	53	55	57	59	61	63
H1H11829N2	49	51	53	55	65	67	69	71
H2aM11829N	49	51	53	55	57	59	61	63
H2M11830N	73	75	77	79	81	83	85	87
H1H11830N2	73	75	77	79	65	67	69	71
H1H11903N	89	91	93	95	97	99	101	103
H1H14571N	105	107	109	111	113	115	117	119
H2a14571N	105	107	109	111	113	115	117	119
H1H11704P	121	123	125	127	129	131	133	135
H1H11711P	137	139	141	143	145	147	149	151
H1H11714P	153	155	157	159	161	163	165	167
H1H11717P	169	171	173	175	177	179	181	183
H1H11724P	185	187	189	191	193	195	197	199
H1H11727P	201	203	205	207	209	211	213	215
H1H11730P	217	219	221	223	225	227	229	231
H1H11731P2	233	235	237	239	65	67	69	71
H1H11734P2	241	243	245	247	65	67	69	71
H1H11736P2	249	251	253	255	65	67	69	71
H1H11742P2	257	259	261	263	65	67	69	71
H1H11744P2	265	267	269	271	65	67	69	71
H1H11745P2	273	275	277	279	65	67	69	71
H1H11747P2	281	283	285	287	65	67	69	71
H1H11748P2	289	291	293	295	65	67	69	71

## 【0214】

本明細書では、抗体は、一般に以下の命名法に従って称される：F c接頭辞（例えば、「H 1 H」、「H 2 M」など）、その後に数字の識別子（例えば、表1または2に示されている通り、「1 1 7 2 3」、「1 1 8 3 0」など）、その後に「P」、「P 2」、「N」、「N 2」、または「B」の接尾辞。したがって、この命名法に従って、本明細書では、抗体を、例えば、「H 1 H 1 1 7 2 3 P」、「H 2 M 1 1 8 3 0 N」などと称することができる。本明細書で使用される抗体の名称におけるH 1 HおよびH 2 M接頭辞は、抗体の特定のF c領域アイソタイプを示す。例えば、「H 1 M」抗体はマウスIgG1 F cを有し、「H 2 M」抗体はマウスIgG2 F c（aまたはbアイソタイプ）を有する（抗体の名称の最初の「H」によって示される通り、可変領域は全て完全にヒト可変領域である）。当業者には理解される通り、特定のF cアイソタイプを有する抗体を、異なるF cアイソタイプを有する抗体に変換することができるが（例えば、マウスIgG1 F cを有する抗体を、ヒトIgG4を有する抗体に変換することができる、など）、いずれにしても、表1、2、12または13に示されている数字の識別子によって示される可変ドメイン（CDRを含める）は同じままになり、抗原に対する結合特性は、F cドメインの性質にかかわらず同一であるかまたは実質的に類似したものになることが予測される。

## 比較用抗体

## 【0215】

抗インフルエンザH A抗体対照を比較目的で以下の実施例の一部に含めた。アイソタイプを一致させた陰性対照も実施例において使用した。1つの抗インフルエンザH A比較用抗体は、本明細書では「対照I m A b」と称され、WO 2 0 0 8 / 0 2 8 9 4 6において配列番号65（H C）および配列番号91（L C）として記載されている重鎖（H C）

10

20

30

40

50

アミノ酸配列および軽鎖（L C）アミノ酸配列を有する抗インフルエンザH A抗体であり、C R 6 2 6 1とも称される。WO 2 0 0 8 / 0 2 8 9 4 6に示されている通り、このC R 6 2 6 1抗体は、それぞれ配列番号1、2および3で示される重鎖相補性決定領域（H C D R）アミノ酸配列（H C D R 1、2および3）と、それぞれ配列番号1 3、1 4および1 5で示される軽鎖相補性決定領域（L C D R）アミノ酸配列（L C D R 1、2および3）を有する。

（実施例3）

モノクローナル抗インフルエンザH A抗体のOctet結合親和性および動力学定数  
【0216】

選択された精製抗H Aモノクローナル抗体へのインフルエンザ赤血球凝集素（H A）結合についての平衡解離定数（ $K_D$ 値）を、リアルタイムバイオレイヤー干渉計に基づくバイオセンサー（Octet HTX）アッセイを使用して決定した。抗マウスFc（AMC）捕捉体（capture）または抗ヒトFc（AHC）捕捉体のいずれかでコーティングしたOctetバイオセンサーを使用して、それぞれマウスFc（Ab PID接頭辞H1M、H2aM、H2bM）またはヒトIgG1Fc（Ab PID接頭辞H1H）を伴って発現させた抗H Aモノクローナル抗体を捕捉した。全ての結合試験をHBS-ET Octet速度論緩衝液（10 mMのHEPES、pH 7.4、0.15 MのNaCl、3 mMのEDTA、0.05% v/vの界面活性物質Tween-20、1 mg/mLのBSA）中、25℃、プレートを1000 rpmのスピードで振とうさせながら実施した。抗体が捕捉されたOctetバイオセンサーを、種々の濃度の多様なH A株（300 nM～11.11 nM）を含有するウェル中に7分間浸漬し、その後、抗体が結合したH Aタンパク質をOctet速度論緩衝液中で10分にわたって解離させる。バイオセンサーは、異なるステップの間には必ずOctet速度論緩衝液で洗浄した。速度論的な会合（ $k_a$ ）および解離（ $k_d$ ）速度定数を、Scrubber 2.0c曲線あてはめソフトウェアを使用してデータを処理し、1:1結合モデルあてはめることによって決定した。結合解離平衡定数（ $K_D$ ）および解離半減期（ $t_{1/2}$ ）を反応速度定数から以下の通り算出した：

【数1】

$$K_D(M) = \frac{ka}{kd}, \text{ および } t_{1/2}(\text{分}) = \frac{\ln(2)}{60 \times kd}$$

【0217】

種々なグループ1株のH Aに対する種々の抗H Aモノクローナル抗体結合についての結合速度論パラメータを表3に示す。さらに、同じ抗体について、グループ2赤血球凝集素への結合についての結合パラメータを決定したが、グループ2 H Aへの結合は認められなかった（データは示していない）。

【表3】

表3: 25°Cにおける、種々のグループ1のHA株に対するモノクローナル抗体結合の結合速度論パラメータ

捕捉されたmAb	注射した分析物	捕捉されたmAbの量(nm)	結合した300nMのHA(nm)	$k_a$ (1/Ms)	$k_d$ (1/s)	$K_D$ (M)	$t^{1/2}$ (分)
H2aM11829N	A/California/07/2009 (H1N1)	0.53 ± 0.01	0.62	1.20E+05	1.00E-05*	8.35E-11	1155*
	A/Puerto Rico/08/34 (H1N1)	0.53 ± 0.01	0.59	1.09E+05	1.16E-05	1.06E-10	999
	A/Vietnam/12 03/2004 (H5N1)	0.52 ± 0.01	0.50	3.81E+04	1.99E-05	5.23E-10	580
H1H11729P	A/California/07/2009 (H1N1)	0.65 ± 0.01	0.84	7.35E+04	1.00E-05*	1.36E-10	1155*
	A/Puerto Rico/08/34 (H1N1)	0.67 ± 0.01	0.72	8.26E+04	1.00E-05*	1.21E-10	1155*
	A/Vietnam/12 03/2004 (H5N1)	0.66 ± 0.01	0.62	1.99E+04	3.10E-05	1.56E-09	373
H2aM14571N	A/California/07/2009 (H1N1)	0.51 ± 0.01	0.58	1.05E+05	1.18E-05	1.12E-10	978
	A/Puerto Rico/08/34 (H1N1)	0.5 ± 0.02	0.46	6.80E+04	2.44E-05	3.59E-10	474
	A/Vietnam/12 03/2004 (H5N1)	0.51 ± 0.01	0.31	1.14E+04	1.00E-05*	8.77E-10	1155*

(実施例4)

H A O c t e t 交差競合

## 【0218】

種々の抗インフルエンザHAモノクローナル抗体のパネル間の結合競合を、Octet (登録商標) HTXバイオセンサー (ForteBio, A Division of Pall Life Sciences)においてリアルタイム無標識バイオレイヤー干渉アッセイを使用して決定した。実験全体を、25において、0.01MのHEPES、pH 7.4、0.15MのNaCl、0.05% v/vの界面活性物質Tween-20、および1mg/mLのBSA (HBS-ET Octet緩衝液)中、プレートを1000 rpmのスピードで振とうしながら実施した。2つの抗体が、HA上のそれらのそれぞれのエピトープへの結合について互いと競合することができるかどうかを評価するために、プレミックスアッセイ形式を採用した。グループ1株のHAタンパク質の1つ (California)を使用して種々の抗HAモノクローナル抗体間の交差競合を試験した。これを実現するために、100nMのHA試薬 (Protein Sciences)をまず1μM濃度の種々の抗HAモノクローナル抗体 (以後mAb-2と称する)と少なくとも2時間にわたって予備混合した後に、結合競合アッセイを実行した。抗マウスFcポリクローナル抗体 (Pall ForteBio Corp.、#18-5088; 以後AMCと称する)または抗ヒトFcポリクローナル抗体 (Pall ForteBio Corp.、#18-5060; 以後AHCと称する)のいずれかでコーティングしたOctetバイオセンサーをまず、個々の抗HAモノクローナル抗体の20μg/mL溶液を含有するウェル中に3分間浸して、それぞれマウスFcまたはヒトFcを伴って発

10

20

30

40

50

現させた抗 H A モノクローナル抗体（以後 m A b - 1 と称する）を捕捉した。捕捉ステップ後、 Octet バイオセンサー上の占有されていない抗マウス F c ポリクローナル抗体および抗ヒト F c ポリクローナル抗体を、異なる F c (ヒト Ig G 1 、マウス Ig G 2 a およびマウス Ig G 2 b ) 伴って発現させた無関連のモノクローナル抗体の混合物の 1  $\mu$  M 溶液を含有するウェルに 3 分間浸すことによって飽和させた。最後に、 Octet バイオセンサーを、 100 nM の H A と 1  $\mu$  M 濃度の m A b - 2 を予備混合した試料を含有するウェル中に 5 分間浸漬した。各サイクルの最後に、結合した H A と m A b - 2 の予め形成された複合体と一緒に捕捉された抗 H A モノクローナル抗体を、 20 mM の H<sub>3</sub>PO<sub>4</sub> への浸漬 (drip) 、その後 H B S - E T Octet 緩衝液への浸漬を交互に 20 秒、 3 回を使用して再生させた。実験の全てのステップの間にバイオセンサーを H B S - E T 10 Octet 緩衝液で洗浄した。実験の経過全体にわたってリアルタイム結合応答をモニターし、全てのステップの終了時に結合応答を記録した。分析中、占有されていない捕捉表面への抗 H A モノクローナル抗体の非特異的な結合に起因して引き起こされる自己間バックグラウンド結合シグナル (m A b - 1 = m A b - 2 の場合) をカラム全体から差し引き、交差競合表を作成した（表 4）。 H A と m A b - 2 の予め形成された複合体への m A b - 1 結合の応答を比較し、種々の抗 H A モノクローナル抗体の競合 / 非競合挙動を決定した。

## 【 0219 】

表 4 に示されている通り、左側の欄は A H C Octet バイオセンサーを使用して捕捉される m A b 1 抗体を示し、右側の欄は m A b 1 抗体と交差競合する抗体 (m A b 2) を示す。 20

## 【 表 4 】

表4: HAのH1N1 California株への結合についての種々の  
抗HAモノクローナル抗体のパネル間の交差競合

AHC Octet バイオセンサーを使用して捕捉した第10の mAb (mAb-1)	mAb-1 と競合することが示された mAb-2 抗体
H2aM11829N	H2aM14571N
	H1H11729P
H2aM14571N	H2aM11829N
	H1H11729P
H1H11729P	H2aM11829N
	H2aM14571N

## （実施例 4 ）

選択されたグループ 1 特異的 A 型インフルエンザ赤血球凝集素モノクローナル抗体は、 in vitro において多様なグループ 1 株にわたって A 型インフルエンザの強力な中和を示す。 40

## 細胞生存能力マイクロ中和アッセイ

## 【 0220 】

モノクローナル抗体を、幅広さおよび効力を評価するためにマイクロ中和アッセイで試験した。簡単に述べると、メイディン・ダービー・イヌ腎臓 (MDCK) 細胞を 96 ウェルプレートにウェル当たり細胞  $6.0 \times 10^3$  個でブレーティングした。バックグラウンド対照ウェルとしてウイルス希釈物のみを添加した。細胞を 5% CO<sub>2</sub> 、 37 度 4 ~ 5 時間インキュベートした。モノクローナル抗体をウイルス希釈物中に 4 倍の最終濃度で希釈した。抗体を 2 連で 1 : 3 希釈した。ウイルスを氷上で解凍し、適切な所定の濃度まで希釈した。希釈したウイルスを希釈した m A b に添加した。 m A b - ウイルス混合物をす 50

ぐにM D C K 細胞に移し、5% C O<sub>2</sub>、37℃で72時間インキュベートした。ウイルス対照および非感染細胞対照ウェルも含めた。4日目に、プレートを1200 RPMで3分間遠心分離した。CellTiter-Glo基質100 μLを使用して細胞を溶解させ、発光(Victor X3、PerkinElmer)を使用してATP放出を測定した。非感染対照に対してパーセント生存能力を決定した。非線形4PL回帰を使用して生存能力値を解析して、IC<sub>50</sub>値を決定した(GraphPad Prism)。

## 【0221】

mAbは、様々なH1N1、H5N1、H9N2、H13N6、およびH16N3株を含む広範囲のグループ1のA型インフルエンザウイルスに対して効力を示した(表5)。IC<sub>50</sub>値は、H2aM11829Nについては1.68 nMから48 nMまでにわたり、H1H11729Pについては2.47 nMから129.5 nMまでにわかった。

## 【表5】

表5. 様々な代表的なグループ1インフルエンザ株に対する中和効力(3~5回の実行の平均が示されている)

PID	IC <sub>50</sub> (nM)						
	H1_PR34	H1_WS33	H1_IVR148	H1_CA09	H9_RG26	H13_MD77	H16_DE09
H2aM11829N	3.29	1.68	48.0	3.50	10.2	2.11	7.39
H1H11729P	2.82	2.47	129.5	4.54	14.9	33.8	21.6

## (実施例5)

20

選択されたグループ1特異的A型インフルエンザ赤血球凝集素モノクローナル抗体は、in vitroにおいてA型インフルエンザの強力な中和を示す

## 【0222】

例示的なモノクローナル抗体(mAb)H1H11829N2およびH1H11729Pをin vitroマイクロ中和アッセイのために選択した。簡単に述べると、メイデン・ダービー・イヌ腎臓(MDCK)細胞をプレーティングし、翌日に80~100%集密度が実現されるように一晩インキュベートした。モノクローナル抗体をウイルス感染培地(VIM)中に50 μg/mLまで希釈し、3連または4連で1:2希釈した。H5N1 A/Vietnam/1203/2004またはH1N1 A/California/07/2009をVIM中に希釈し、希釈した抗体を添加し、1時間インキュベートした。次いで、試料をMDCKに移し、48時間インキュベートした。インキュベーション後、上清50 μLを新しい96ウェルプレートに移した。希釈したシチメンチョウまたはウマ赤血球を上清に添加し、室温で30分または60分インキュベートした。赤血球凝集力を、赤血球凝集を完全に阻害した最後の希釈度の逆数として記録した。

30

## 【0223】

例示的な抗体H1H11829N2およびH1H11729Pは、H5N1 A/Vietnam/1203/2004およびH1N1 A/California/07/2009の強力な中和を示す(表6)。例示的な抗体H1H11829N2およびH1H11729PについてのH5N1 A/Vietnam/1203/2004の中和に関する平均IC<sub>90</sub>値は平均で62.50 nMおよび26.05 nM(それぞれ)であった。

40

## 【表6】

表6. H5N1 A/Vietnam/1203/2004およびH1N1 A/California/07/2009を用い、選択されたグループ1赤血球凝集素特異的抗体を用いたマイクロ中和アッセイ後の赤血球凝集素の力値。IC<sub>90</sub>値(nM)が示されている。

抗体番号	IC <sub>90</sub> (nM)		IC <sub>90</sub> (nM)	
	H5N1 A/Vietnam/1203/2004			
	試験 1	試験 2		
H1H11829N2	83.3	41.7	41.7	
H1H11729P	41.7	10.4	83.3	

## (実施例6)

50

A型インフルエンザ特異的モノクローナル抗体を使用した *in vitro* におけるインフルエンザ感染細胞の補体依存性細胞傷害

【0224】

例示的なモノクローナル抗体 (mAb) H1H11829N2 および H1H11729P を *in vitro* 補体依存性細胞傷害 (CDC) アッセイのために選択した。簡単に述べると、メイディン・ダービー・イヌ腎臓 (MDCK) 細胞を 24 時間プレーティングした後、H1N1 A/Puerto Rico/08/1934 を、MOI を 3 として感染させた。20 ~ 25 時間インキュベートした後、細胞を収集し、CDC アッセイ培地に 1 mL 当たり細胞  $1 \times 10^6$  個の濃度で再懸濁させた。希釈した標的細胞 (20  $\mu$ L) を 384 ウェルプレートの各ウェルに添加した。モノクローナル抗体を CDC アッセイ培地中に最終的な出発濃度の 3 倍まで希釈し、次いで、3 連または 4 連で 1 : 2 希釈した。CDC アッセイ培地を、mAb を受けない各ウェルに添加した。プレートを室温、約 500 rpm で約 2 分振とうした。正常なヒト血清補体 (NHS) を CDC アッセイ培地中、最終濃度 (15%) の 3 倍に調製し、20  $\mu$ L を各ウェルに添加した。プレートを室温で 2 時間インキュベートし、この時に溶解試薬、緩衝液および基質を室温にした。溶解試薬を、ジギトニンを CDC アッセイ培地中に希釈することによって調製し、この試薬 5  $\mu$ L を最大溶解対照ウェルに添加して最大シグナル対照を確立した。基質と緩衝液を混ぜ合わせ、20  $\mu$ L を全ウェルに添加し、室温で 10 分間インキュベートした。プレートリーダー (Victor X3、Perkin Elmer) でシグナルを検出した。パーセント特異的溶解を ((mAb + NHS) による溶解) - (NHS のみによる溶解) / ((ジギトニン最大溶解) - (NHS のみによる溶解))  $\times 100$  として算出した。8 点応答曲線にわたる 4 パラメータ非線形回帰によって解析を完了した (GraphPad Prism)。データを個々の試験  $\pm$  標準偏差についてプロットし、データを全ての試験  $\pm$  平均の標準誤差の平均として示した。

【0225】

例示的な抗体 H1H11829N2 および H1H11729P は、感染細胞の強力な補体媒介性溶解を示す。3 つのランダムに選択した試験について表 7 に示す。例示的な抗体 H1H11829N2 および H1H11729P についての平均 EC<sub>50</sub> 値は、それぞれ、平均で 41.88 nM ( $\pm 13.08$  SEM)、H1H11729P については 43.25 nM ( $\pm 3.83$  SEM) であった。

【表 7】

表 7. グループ 1 赤血球凝集素特異的抗体による、H1N1 A/Puerto Rico/08/1934 感染標的細胞のパーセント特異的溶解。それぞれ 3 回の反復についての EC<sub>50</sub> 値 (nM) が示されている。

AbPID	EC <sub>50</sub> (nM)		
	試験 1	試験 2	試験 3
H1H11829N2	65.94	38.75	20.94
H1H11729P	50.83	38.49	40.44
hlgG1 無関連 mAb	> 333	> 333	> 333

(実施例 7)

選択されたグループ 1 特異的 A 型インフルエンザ赤血球凝集素モノクローナル抗体は *in vivo* において A 型インフルエンザ感染の強力な中和を示す  
単回用量予防的マウスモデル

【0226】

例示的なモノクローナル抗体 H2aM11829N、H1H11729P および H2a14571N を、BALB/c マウスを使用した *in vivo* 保護試験のために選択した。簡単に述べると、およそ 6 週齢の雌マウス (およそ 17.5  $\pm$  0.5 g) に、-1 日目に、1 mg / kg の H2aM11829N、H1H11729P、H2a14571N、またはマウスまたはヒトアイソタイプ (陰性対照) 抗体を皮下注射 (SC) した。実験 50

当たり群当たり5匹のマウスを含めた。注射の24時間後(0日目)に、マウスを、H1N1 A / Puerto Rico / 08 / 1934を用い、生理食塩水20μL中10×MLD<sub>50</sub>(800プラーク形成単位; PFU)を鼻腔内に(IN)用いて攻撃した。マウスを毎日計量し、出発時の体重の20%超が失われたら屠殺した。

【0227】

例示的な抗体H2aM11829N、H1H11729PおよびH2a14571Nは、1mg/kgでin vivoにおいてA型インフルエンザ感染の強力な中和を示す。

用量反応予防的マウスモデル

【0228】

例示的なモノクローナル抗体H1H11829N2およびH1H11729Pを、BALB/cマウスを使用した予防的in vivo保護試験のために選択した。簡単に述べると、6週齢の雌マウス(およそ17.5±0.5g)に、-1日目に、1mg/kg、0.5mg/kg、0.1mg/kgもしくは0.05mg/kg、または2mg/kg、0.5mg/kg、0.2mg/kgもしくは0.05mg/kgのH1H11829N2、H1H11729P抗体をSC注射した。実験当たり群当たり5匹のマウスを含めた。担体タンパク質(無関連のhIgG1 mAb)を全ての用量のmAbに1mg/mlで添加した。注射の24時間後(0日目)に、マウスを、生理食塩水20μL中10×MLD<sub>50</sub>(800プラーク形成単位; PFU)のH1N1 A / Puerto Rico / 08 / 1934または生理食塩水20μL中5×MLD<sub>50</sub>(5,000PFU)のH1N1 A / California / 04 / 2009を鼻腔内に用いて攻撃した。マウスを毎日計量し、出発時の体重の20%超が失われたら屠殺した。

【0229】

H1\_P R 3 4を用いて攻撃した場合、例示的な抗体H1H11829N2およびH1H11729Pは、1mg/kgでin vivoにおけるインフルエンザA感染の強力な中和を示す。0.5mg/kgおよび0.1mg/kgでは、H1H11729Pにより、それぞれ100%および40%の生存が示される(表8、9および10)。H1\_C A 0 9を用いて攻撃した場合、例示的な抗体H1H11829N2およびH1H11729Pは、2mg/kg、0.5mg/kgおよび0.2mg/kgでin vivoにおけるインフルエンザA感染の強力な中和を示し、0.05mg/kgで60%生存が示される(表8、9および10)。

【表8】

表8. 10×MLD<sub>50</sub>のH1N1 A/Puerto Rico/08/1934を感染させる前日に、1mg/kgのグループ1赤血球凝集素特異的抗体を予防的にSC投与した後の、実験1におけるマウスのパーセント生存

PID	群当たりのマウスの数	パーセント生存(生存しているマウスの数/群内のマウスの総数)
生理食塩水(非感染)	5	100 (5/5)
H2aM11829N	5	100 (5/5)
H1H11729P	5	100 (5/5)
H2a14571N	ND	ND
hIgG1アイソタイプ対照	5	0 (0/5)
mlgG2a アイソタイプ対照	5	0 (0/5)

10

20

30

40

## 【表9】

表9. 10×MLD<sub>50</sub>のH1N1 A/Puerto Rico/08/1934を感染させる前日に、1mg/kgのグループ1赤血球凝集素特異的抗体を予防的にSC投与した後の、実験2におけるマウスのパーセント生存

PID	群当たりのマウスの数	パーセント生存(生存しているマウスの数/群内のマウスの総数)
生理食塩水(非感染)	5	100 (5/5)
H2aM11829N	5	100 (5/5)
H1H11729P	5	100 (5/5)
H2a14571N	5	100 (5/5)

10

## 【表10】

表10. 10×MLD<sub>50</sub>のH1N1 A/Puerto Rico/08/1934を感染させる前日に、1mg/kg、0.5mg/kg、0.1mg/kgもしくは0.05mg/kgのグループ1赤血球凝集素特異的抗体を予防的にSC投与した後、または、5×MLD<sub>50</sub>のH1N1 A/California/04/2009を感染させる前日に、2mg/kg、0.5mg/kg、0.2mg/kgもしくは0.05mg/kgのグループ1赤血球凝集素特異的抗体を予防的にSC投与した後のマウスのパーセント生存

PID	攻撃ウイルス: H1N1 A/Puerto Rico/08/1934			攻撃ウイルス: H1N1 A/California/04/2009		
	mAbの用量 (mg/kg)	群当たりのマウスの数	パーセント生存(生存しているマウスの数/群内のマウスの総数)	mAbの用量 (mg/kg)	群当たりのマウスの数	パーセント生存(生存しているマウスの数/群内のマウスの総数)
担体タンパク質を伴う生理食塩水(非感染)	N/A	5	100 (5/5)	N/A	5	100 (5/5)
H1H11829N2	1	5	100 (5/5)	2	5	100 (5/5)
	0.5		60 (3/5)	0.5		100 (5/5)
	0.1		0 (0/5)	0.2		100 (5/5)
	0.05		20 (1/5)	0.05		ND
H1H11729P	1	5	100 (5/5)	2	5	100 (5/5)
	0.5		100 (5/5)	0.5		100 (5/5)
	0.1		40 (2/5)	0.2		100 (5/5)
	0.05		0 (0/5)	0.05		60 (3/5)

20

30

## 用量反応治療マウスモデル

## 【0230】

例示的なモノクローナル抗体 H1H11829N2 および H1H11729P を BALB/c マウスを使用した治療的 in vivo 保護試験のために選択した。簡単に述べると、6 週齢の雌マウス ( およそ 17.5 ± 0.5 g ) を、生理食塩水 20 μL 中 10 × MLD<sub>50</sub> ( 800 プラーク形成単位 ; PFU ) の H1N1 A/Puerto Rico/08/1934 または生理食塩水 20 μL 中 5 × MLD<sub>50</sub> ( 5,000 PFU ) の H1N1 A/California/04/2009 を鼻腔内に用いて感染させた。感染後 3 日目、4 日目もしくは 5 日目 ( H1\_P R 3 4 の場合 ) 、または感染後 1 日目、2 日目もしくは 3 日目 ( H1\_C A 0 9 の場合 ) に、別々の群の 5 匹のマウスに、15 mg/kg または 30 mg/kg の H1H11829N2 または H1H11729P 抗体を IV 注射した。マウスを毎日計量し、出発時の体重の > 2 % 超が失われたら屠殺した。

40

## 【0231】

歴史的な H1N1 ウィルス株と現代の H1N1 ウィルス株のどちらを用いて攻撃した場合でも、例示的な抗体 H1H11829N2 および H1H11729P は in vivo

50

において A 型インフルエンザ感染の強力な中和を示す（表 11）。

【表 11 - 1】

表11. 感染の治療的モデルにおけるマウスのパーセント生存。0日目に、マウスに $10 \times \text{MLD}_{50}$ のH1N1 A/Puerto Rico/08/1934または $5 \times \text{MLD}_{50}$ のH1N1 A/California/04/2009を感染させた。3日目、4日目または5日目(H1N1 A/Puerto Rico/08/1934について)または1日目、2日目または3日目(H1N1 A/California/04/2009について)に、マウスに抗体を $15\text{mg/kg}$ または $30\text{mg/kg}$ でIV投与した。

PID	攻撃ウイルス: H1N1 A/Puerto Rico/08/1934 (15 mg/kg mAb)			攻撃ウイルス: H1N1 A/California/04/2009 (30 mg/kg mAb)		
	感染後 の日数	群当たりの マウスの数		感染後 の日数	群当たりの マウスの数	

【表 11 - 2】

			パーセント 生存(生存 しているマウ スの数/群 内のマウス の総数)			パーセント 生存(生存 しているマウ スの数/群 内のマウス の総数)
H1H11829N2	3	5	40 (2/5)	1	5	100 (5/5)
	4		ND	2		0 (0/5)
	5		ND	3		20 (1/5)
H1H11729P	3	5	60 (3/5)	1	5	100 (5/5)
	4		0 (0/5)	2		0 (0/5)
	5		0 (0/5)	3		20 (1/5)

（実施例 8）

選択されたグループ 1 特異的 A 型インフルエンザ赤血球凝集素モノクローナル抗体は H5 疫苗を用いた免疫後に生成される。

【0232】

ヒト免疫グロブリン重鎖可変領域およびカッパ軽鎖可変領域をコードする DNA を含む V E L O C I M M U N E (登録商標) マウスにおいて A 型インフルエンザ HA に対する追加的なヒト抗体を生成した。ナイーブマウスを 4 群に分けた。群 1 および 2 を、三価インフルエンザワクチン (TIV) a f l u r i a (登録商標) 2013 - 2014 製剤 (N D C 3 3 3 2 - 1 1 0 - 1 0 ) を用いて免疫した。群 3 および 4 は免疫しないままにした。およそ 4 週間後に、群 1 および群 3 に、 $50\text{ }\mu\text{g}$  の H5 DNA (H5 A / I n d o n e s i a / 0 5 / 2 0 0 5 ) をコードする V R C 9 1 2 3 ) を筋肉内注射し (Ledgerwood ら、(2011 年) Lancet Infect. Dis.、11巻: 916 ~ 924 頁; Khurana ら、(2013 年) J. Infect. Dis.、208巻: 413 ~ 417 頁; Ledgerwood ら、(2013 年) J. Infect. Dis.、208巻: 418 ~ 422 頁を参照されたい)、群 2 および群 4 には、 $5\text{ }\mu\text{g}$  の H5 一価インフルエンザワクチン (MIV; H5 A / I n d o n e s i a / 0 5 / 2 0 0 5 ) を含有する V R C 3 1 0 ) を筋肉内注射した (Ledgerwood ら、(2011 年) Lancet Infect. Dis.、11巻: 916 ~ 924 頁、Khurana ら、(2013 年) J. Infect. Dis.、208巻: 413 ~ 417 頁; Ledgerwood ら、(2013 年) J. Infect. Dis.、208巻: 418 ~ 422 頁を参照されたい)。およそ 4 週間後、4 群全てを、 $5\text{ }\mu\text{g}$  の H5 一価インフルエンザワクチン (MIV; H5 A / I n d o n e s i a / 0 5 / 2 0 0 5 ) を含有する V R C 3 1 0 ) を用いて免疫した。

【0233】

抗 A 型インフルエンザ HA 抗体を、米国特許第 7 5 8 2 2 9 8 号に記載の通り、T4 ファージフィブリチン (フォールドン (f o l d o n ) ) 陽性マウス B 細胞由来のカルボキシ末端三量体形成ドメインを含有する、受容体結合性部位 (RBS) を突然変異させた、a v i タグを付けた H5 A / I n d o n e s i a / 0 5 / 2 0 0 5 および / または H1

10

20

30

40

50

A / New Caledonia / 20 / 1999 から、骨髓腫細胞との融合を行わずに直接単離した。この方法を使用して、いくつかの追加的な完全ヒト抗 A 型インフルエンザ H A 抗体（すなわち、ヒト可変ドメインおよびヒト定常ドメインを有する抗体）を得た。このように生成した例示的な抗体は、下の表 12（アミノ酸配列識別子）および表 13（核酸配列識別子）に見いだすことができる。試料を、受容体結合性部位（R B S）を突然変異させた、フォールドン、a v i タグを付けた H 5 および H 1 への結合について Luminex によって評価した。予測通り、全てではないが、16 の試料が H 5 タンパク質に 15,000 超の蛍光強度（MFI）で結合した。しかし、ほとんどの場合に、H 1 タンパク質にも結合した試料が H 5 への結合も高かった（すなわち、15,000 MFI 超）。2 つの群のモノクローナル抗体が観察された；H 1 に 15,000 MFI 超で結合したもの（20 の試料）および H 5 に 5000 MFI 超で結合したもの（44 の試料）。

【表 1 2 - 1】

表12:アミノ酸配列識別子

抗体の名称	アミノ酸配列番号								
	HCVR	HCDR1	HCDR2	HCDR3	LCVR	LCDR1	LCDR2	LCDR3	
H1H17952B	298	300	302	304	306	308	310	312	10
H1H17953B	314	316	318	320	322	324	326	328	
H1H17954B	330	332	334	336	338	340	342	344	
H1H17955B	346	348	350	352	354	356	358	360	
H1H17956B	362	364	366	368	370	372	374	376	
H1H17957B	378	380	382	384	386	388	390	392	
H1H17958B	394	396	398	400	402	404	406	408	
H1H17959B	410	412	414	416	418	420	422	424	
H1H17960B	426	428	430	432	434	436	438	440	
H1H17961B	442	444	446	448	450	452	454	456	
H1H17962B	458	460	462	464	466	468	470	472	
H1H17963B	474	476	478	480	482	484	486	488	
H1H17964B	490	492	494	496	498	500	502	504	
H1H17965B	506	508	510	512	514	516	518	520	
H1H17966B	522	524	526	528	530	532	534	536	
H1H17967B	538	540	542	544	546	548	550	552	
H1H17968B	554	556	558	560	562	564	566	568	
H1H17969B	570	572	574	576	578	580	582	584	
H1H17970B	586	588	590	592	594	596	598	600	
H1H17971B	602	604	606	608	610	612	614	616	
H1H17972B	618	620	622	624	626	628	630	632	
H1H17973B	634	636	638	640	642	644	646	648	
H1H17974B	650	652	654	656	658	660	662	664	
H1H17975B	666	668	670	672	674	676	678	680	
H1H17976B	682	684	686	688	690	692	694	696	
H1H17977B	698	700	702	704	706	708	710	712	
H1H17978B	714	716	718	720	722	724	726	728	
H1H17979B	730	732	734	736	738	740	742	744	
H1H17980B	746	748	750	752	754	756	758	760	
H1H17981B	762	764	766	768	770	772	774	776	
H1H17982B	778	780	782	784	786	788	790	792	
H1H17983B	794	796	798	800	802	804	806	808	
H1H17984B	810	812	814	816	818	820	822	824	
H1H17985B	826	828	830	832	834	836	838	840	
H1H17986B	842	844	846	848	850	852	854	856	
H1H17987B	858	860	862	864	866	868	870	872	
H1H17988B	874	876	878	880	882	884	886	888	
H1H17989B	890	892	894	896	898	900	902	904	
H1H17990B	906	908	910	912	914	916	918	920	
H1H17991B	922	924	926	928	930	932	934	936	
H1H17992B	938	940	942	944	946	948	950	952	40

【表 1 2 - 2】

H1H17993B	954	956	958	960	962	964	966	968
H1H17994B	970	972	974	976	978	980	982	984
H1H17995B	986	988	990	992	994	996	998	1000
H1H17996B	1002	1004	1006	1008	1010	1012	1014	1016
H1H17997B	1018	1020	1022	1024	1026	1028	1030	1032
H1H17998B	1034	1036	1038	1040	1042	1044	1046	1048
H1H17999B	1050	1052	1054	1056	1058	1060	1062	1064
H1H18000B	1066	1068	1070	1072	1074	1076	1078	1080
H1H18001B	1082	1084	1086	1088	1090	1092	1094	1096
H1H18002B	1098	1100	1102	1104	1106	1108	1110	1112
H1H18003B	1114	1116	1118	1120	1122	1124	1126	1128
H1H18004B	1130	1132	1134	1136	1138	1140	1142	1144
H1H18005B	1146	1148	1150	1152	1154	1156	1158	1160
H1H18006B	1162	1164	1166	1168	1170	1172	1174	1176
H1H18007B	1178	1180	1182	1184	1186	1188	1190	1192
H1H18008B	1194	1196	1198	1200	1202	1204	1206	1208
H1H18009B	1210	1212	1214	1216	1218	1220	1222	1224
H1H18010B	1226	1228	1230	1232	1234	1236	1238	1240
H1H18011B	1242	1244	1246	1248	1250	1252	1254	1256
H1H18012B	1258	1260	1262	1264	1266	1268	1270	1272
H1H18013B	1274	1276	1278	1280	1282	1284	1286	1288
H1H18014B	1290	1292	1294	1296	1298	1300	1302	1304
H1H18015B	1306	1308	1310	1312	1314	1316	1318	1320
H1H18016B	1322	1324	1326	1328	1330	1332	1334	1336
H1H18017B	1338	1340	1342	1344	1346	1348	1350	1352
H1H18018B	1354	1356	1358	1360	1362	1364	1366	1368
H1H18019B	1370	1372	1374	1376	1378	1380	1382	1384
H1H18020B	1386	1388	1390	1392	1394	1396	1398	1400
H1H18021B	1402	1404	1406	1408	1410	1412	1414	1416
H1H18022B	1418	1420	1422	1424	1426	1428	1430	1432
H1H18023B	1434	1436	1438	1440	1442	1444	1446	1448
H1H18024B	1450	1452	1454	1456	1458	1460	1462	1464
H1H18025B	1466	1468	1470	1472	1474	1476	1478	1480
H1H18026B	1482	1484	1486	1488	1490	1492	1494	1496
H1H18027B	1498	1500	1502	1504	1506	1508	1510	1512
H1H18028B	1514	1516	1518	1520	1522	1524	1526	1528
H1H18029B	1530	1532	1534	1536	1538	1540	1542	1544
H1H18030B	1546	1548	1550	1552	1554	1556	1558	1560
H1H18031B	1562	1564	1566	1568	1570	1572	1574	1576
H1H18032B	1578	1580	1582	1584	1586	1588	1590	1592
H1H18033B	1594	1596	1598	1600	1602	1604	1606	1608
H1H18034B	1610	1612	1614	1616	1618	1620	1622	1624
H1H18035B	1626	1628	1630	1632	1634	1636	1638	1640
H1H18037B	1642	1644	1646	1648	1650	1652	1654	1656
H1H18038B	1658	1660	1662	1664	1666	1668	1670	1672
H1H18039B	1674	1676	1678	1680	1682	1684	1686	1688
H1H18040B	1690	1692	1694	1696	1698	1700	1702	1704

【表 1 2 - 3】

H1H18041B	1706	1708	1710	1712	1714	1716	1718	1720
H1H18042B	1722	1724	1726	1728	1730	1732	1734	1736
H1H18043B	1738	1740	1742	1744	1746	1748	1750	1752
H1H18044B	1754	1756	1758	1760	1762	1764	1766	1768
H1H18045B	1770	1772	1774	1776	1778	1780	1782	1784
H1H18046B	1786	1788	1790	1792	1794	1796	1798	1800
H1H18047B	1802	1804	1806	1808	1810	1812	1814	1816
H1H18048B	1818	1820	1822	1824	1826	1828	1830	1832
H1H18049B	1834	1836	1838	1840	1842	1844	1846	1848
H1H18051B	1850	1852	1854	1856	1858	1860	1862	1864
H1H18052B	1866	1868	1870	1872	1874	1876	1878	1880
H1H18053B	1882	1884	1886	1888	1890	1892	1894	1896
H1H18054B	1898	1900	1902	1904	1906	1908	1910	1912
H1H18055B	1914	1916	1918	1920	1922	1924	1926	1928
H1H18056B	1930	1932	1934	1936	1938	1940	1942	1944
H1H18057B	1946	1948	1950	1952	1954	1956	1958	1960
H1H18058B	1962	1964	1966	1968	1970	1972	1974	1976
H1H18059B	1978	1980	1982	1984	1986	1988	1990	1992
H1H18060B	1994	1996	1998	2000	2002	2004	2006	2008
H1H18061B	2010	2012	2014	2016	2018	2020	2022	2024
H1H18062B	2026	2028	2030	2032	2034	2036	2038	2040
H1H18063B	2042	2044	2046	2048	2050	2052	2054	2056
H1H18064B	2058	2060	2062	2064	2066	2068	2070	2072
H1H18065B	2074	2076	2078	2080	2082	2084	2086	2088
H1H18066B	2090	2092	2094	2096	2098	2100	2102	2104
H1H18067B	2106	2108	2110	2112	2114	2116	2118	2120
H1H18068B	2122	2124	2126	2128	2130	2132	2134	2136
H1H18069B	2138	2140	2142	2144	2146	2148	2150	2152
H1H18070B	2154	2156	2158	2160	2162	2164	2166	2168
H1H18071B	2170	2172	2174	2176	2178	2180	2182	2184
H1H18072B	2186	2188	2190	2192	2194	2196	2198	2200
H1H18073B	2202	2204	2206	2208	2210	2212	2214	2216
H1H18074B	2218	2220	2222	2224	2226	2228	2230	2232
H1H18075B	2234	2236	2238	2240	2242	2244	2246	2248
H1H18076B	2250	2252	2254	2256	2258	2260	2262	2264
H1H18077B	2266	2268	2270	2272	2274	2276	2278	2280
H1H18078B	2282	2284	2286	2288	2290	2292	2294	2296
H1H18079B	2298	2300	2302	2304	2306	2308	2310	2312
H1H18080B	2314	2316	2318	2320	2322	2324	2326	2328
H1H18081B	2330	2332	2334	2336	2338	2340	2342	2344
H1H18082B	2346	2348	2350	2352	2354	2356	2358	2360
H1H18083B	2362	2364	2366	2368	2370	2372	2374	2376
H1H18084B	2378	2380	2382	2384	2386	2388	2390	2392
H1H18085B	2394	2396	2398	2400	2402	2404	2406	2408
H1H18086B	2410	2412	2414	2416	2418	2420	2422	2424
H1H18087B	2426	2428	2430	2432	2434	2436	2438	2440
H1H18088B	2442	2444	2446	2448	2450	2452	2454	2456

【表 1 2 - 4】

H1H18089B	2458	2460	2462	2464	2466	2468	2470	2472
H1H18090B	2474	2476	2478	2480	2482	2484	2486	2488
H1H18091B	2490	2492	2494	2496	2498	2500	2502	2504
H1H18092B	2506	2508	2510	2512	2514	2516	2518	2520
H1H18093B	2522	2524	2526	2528	2530	2532	2534	2536
H1H18094B	2538	2540	2542	2544	2546	2548	2550	2552
H1H18095B	2554	2556	2558	2560	2562	2564	2566	2568
H1H18096B	2570	2572	2574	2576	2578	2580	2582	2584
H1H18097B	2586	2588	2590	2592	2594	2596	2598	2600
H1H18098B	2602	2604	2606	2608	2610	2612	2614	2616
H1H18099B	2618	2620	2622	2624	2626	2628	2630	2632
H1H18100B	2634	2636	2638	2640	2642	2644	2646	2648
H1H18101B	2650	2652	2654	2656	2658	2660	2662	2664
H1H18102B	2666	2668	2670	2672	2674	2676	2678	2680
H1H18103B	2682	2684	2686	2688	2690	2692	2694	2696
H1H18104B	2698	2700	2702	2704	2706	2708	2710	2712
H1H18105B	2714	2716	2718	2720	2722	2724	2726	2728
H1H18107B	2730	2732	2734	2736	2738	2740	2742	2744
H1H18108B	2746	2748	2750	2752	2754	2756	2758	2760
H1H18109B	2762	2764	2766	2768	2770	2772	2774	2776
H1H18110B	2778	2780	2782	2784	2786	2788	2790	2792
H1H18111B	2794	2796	2798	2800	2802	2804	2806	2808
H1H18112B	2810	2812	2814	2816	2818	2820	2822	2824
H1H18113B	2826	2828	2830	2832	2834	2836	2838	2840
H1H18114B	2842	2844	2846	2848	2850	2852	2854	2856
H1H18115B	2858	2860	2862	2864	2866	2868	2870	2872
H1H18116B	2874	2876	2878	2880	2882	2884	2886	2888
H1H18117B	2890	2892	2894	2896	2898	2900	2902	2904
H1H18118B	2906	2908	2910	2912	2914	2916	2918	2920
H1H18119B	2922	2924	2926	2928	2930	2932	2934	2936
H1H18120B	2938	2940	2942	2944	2946	2948	2950	2952
H1H18121B	2954	2956	2958	2960	2962	2964	2966	2968
H1H18122B	2970	2972	2974	2976	2978	2980	2982	2984
H1H18123B	2986	2988	2990	2992	2994	2996	2998	3000
H1H18124B	3002	3004	3006	3008	3010	3012	3014	3016
H1H18125B	3018	3020	3022	3024	3026	3028	3030	3032
H1H18126B	3034	3036	3038	3040	3042	3044	3046	3048
H1H18127B	3050	3052	3054	3056	3058	3060	3062	3064
H1H18128B	3066	3068	3070	3072	3074	3076	3078	3080
H1H18129B	3082	3084	3086	3088	3090	3092	3094	3096
H1H18130B	3098	3100	3102	3104	3106	3108	3110	3112
H1H18131B	3114	3116	3118	3120	3122	3124	3126	3128
H1H18132B	3130	3132	3134	3136	3138	3140	3142	3144
H1H18133B	3146	3148	3150	3152	3154	3156	3158	3160
H1H18134B	3162	3164	3166	3168	3170	3172	3174	3176
H1H18135B	3178	3180	3182	3184	3186	3188	3190	3192
H1H18136B	3194	3196	3198	3200	3202	3204	3206	3208

【表 1 2 - 5】

H1H18137B	3210	3212	3214	3216	3218	3220	3222	3224
H1H18138B	3226	3228	3230	3232	3234	3236	3238	3240
H1H18139B	3242	3244	3246	3248	3250	3252	3254	3256
H1H18140B	3258	3260	3262	3264	3266	3268	3270	3272
H1H18141B	3274	3276	3278	3280	3282	3284	3286	3288
H1H18142B	3290	3292	3294	3296	3298	3300	3302	3304
H1H18143B	3306	3308	3310	3312	3314	3316	3318	3320
H1H18144B	3322	3324	3326	3328	3330	3332	3334	3336
H1H18145B	3338	3340	3342	3344	3346	3348	3350	3352
H1H18146B	3354	3356	3358	3360	3362	3364	3366	3368
H1H18147B	3370	3372	3374	3376	3378	3380	3382	3384
H1H18148B	3386	3388	3390	3392	3394	3396	3398	3400
H1H18149B	3402	3404	3406	3408	3410	3412	3414	3416
H1H18150B	3418	3420	3422	3424	3426	3428	3430	3432
H1H18151B	3434	3436	3438	3440	3442	3444	3446	3448
H1H18152B	3450	3452	3454	3456	3458	3460	3462	3464
H1H18153B	3466	3468	3470	3472	3474	3476	3478	3480
H1H18154B	3482	3484	3486	3488	3490	3492	3494	3496
H1H18155B	3498	3500	3502	3504	3506	3508	3510	3512
H1H18156B	3514	3516	3518	3520	3522	3524	3526	3528
H1H18157B	3530	3532	3534	3536	3538	3540	3542	3544
H1H18158B	3546	3548	3550	3552	3554	3556	3558	3560
H1H18159B	3562	3564	3566	3568	3570	3572	3574	3576
H1H18160B	3578	3580	3582	3584	3586	3588	3590	3592
H1H18161B	3594	3596	3598	3600	3602	3604	3606	3608
H1H18162B	3610	3612	3614	3616	3618	3620	3622	3624
H1H18163B	3626	3628	3630	3632	3634	3636	3638	3640
H1H18164B	3642	3644	3646	3648	3650	3652	3654	3656
H1H18165B	3658	3660	3662	3664	3666	3668	3670	3672
H1H18166B	3674	3676	3678	3680	3682	3684	3686	3688
H1H18167B	3690	3692	3694	3696	3698	3700	3702	3704
H1H18168B	3706	3708	3710	3712	3714	3716	3718	3720
H1H18169B	3722	3724	3726	3728	3730	3732	3734	3736
H1H18170B	3738	3740	3742	3744	3746	3748	3750	3752
H1H18171B	3754	3756	3758	3760	3762	3764	3766	3768
H1H18172B	3770	3772	3774	3776	3778	3780	3782	3784
H1H18173B	3786	3788	3790	3792	3794	3796	3798	3800
H1H18174B	3802	3804	3806	3808	3810	3812	3814	3816
H1H18175B	3818	3820	3822	3824	3826	3828	3830	3832
H1H18176B	3834	3836	3838	3840	3842	3844	3846	3848
H1H18177B	3850	3852	3854	3856	3858	3860	3862	3864
H1H18178B	3866	3868	3870	3872	3874	3876	3878	3880
H1H18179B	3882	3884	3886	3888	3890	3892	3894	3896
H1H18180B	3898	3900	3902	3904	3906	3908	3910	3912
H1H18181B	3914	3916	3918	3920	3922	3924	3926	3928
H1H18182B	3930	3932	3934	3936	3938	3940	3942	3944
H1H18183B	3946	3948	3950	3952	3954	3956	3958	3960

【表 1 2 - 6】

H1H18184B	3962	3964	3966	3968	3970	3972	3974	3976
H1H18185B	3978	3980	3982	3984	3986	3988	3990	3992
H1H18186B	3994	3996	3998	4000	4002	4004	4006	4008
H1H18187B	4010	4012	4014	4016	4018	4020	4022	4024
H1H18188B	4026	4028	4030	4032	4034	4036	4038	4040
H1H18189B	4042	4044	4046	4048	4050	4052	4054	4056
H1H18190B	4058	4060	4062	4064	4066	4068	4070	4072
H1H18191B	4074	4076	4078	4080	4082	4084	4086	4088
H1H18192B	4090	4092	4094	4096	4098	4100	4102	4104
H1H18193B	4106	4108	4110	4112	4114	4116	4118	4120
H1H18194B	4122	4124	4126	4128	4130	4132	4134	4136
H1H18195B	4138	4140	4142	4144	4146	4148	4150	4152
H1H18196B	4154	4156	4158	4160	4162	4164	4166	4168
H1H18197B	4170	4172	4174	4176	4178	4180	4182	4184
H1H18198B	4186	4188	4190	4192	4194	4196	4198	4200
H1H18199B	4202	4204	4206	4208	4210	4212	4214	4216
H1H18200B	4218	4220	4222	4224	4226	4228	4230	4232
H1H18201B	4234	4236	4238	4240	4242	4244	4246	4248
H1H18202B	4250	4252	4254	4256	4258	4260	4262	4264
H1H18203B	4266	4268	4270	4272	4274	4276	4278	4280
H1H18204B	4282	4284	4286	4288	4290	4292	4294	4296
H1H18205B	4298	4300	4302	4304	4306	4308	4310	4312
H1H18206B	4314	4316	4318	4320	4322	4324	4326	4328
H1H18207B	4330	4332	4334	4336	4338	4340	4342	4344
H1H18208B	4346	4348	4350	4352	4354	4356	4358	4360
H1H18209B	4362	4364	4366	4368	4370	4372	4374	4376
H1H18210B	4378	4380	4382	4384	4386	4388	4390	4392
H1H18211B	4394	4396	4398	4400	4402	4404	4406	4408
H1H18212B	4410	4412	4414	4416	4418	4420	4422	4424
H1H18213B	4426	4428	4430	4432	4434	4436	4438	4440
H1H18214B	4442	4444	4446	4448	4450	4452	4454	4456
H1H18216B	4458	4460	4462	4464	4466	4468	4470	4472
H1H18217B	4474	4476	4478	4480	4482	4484	4486	4488
H1H18218B	4490	4492	4494	4496	4498	4500	4502	4504
H1H18219B	4506	4508	4510	4512	4514	4516	4518	4520
H1H18220B	4522	4524	4526	4528	4530	4532	4534	4536
H1H18221B	4538	4540	4542	4544	4546	4548	4550	4552
H1H18222B	4554	4556	4558	4560	4562	4564	4566	4568
H1H18223B	4570	4572	4574	4576	4578	4580	4582	4584
H1H18224B	4586	4588	4590	4592	4594	4596	4598	4600
H1H18225B	4602	4604	4606	4608	4610	4612	4614	4616
H1H18226B	4618	4620	4622	4624	4626	4628	4630	4632
H1H18227B	4634	4636	4638	4640	4642	4644	4646	4648
H1H18228B	4650	4652	4654	4656	4658	4660	4662	4664
H1H18229B	4666	4668	4670	4672	4674	4676	4678	4680
H1H18230B	4682	4684	4686	4688	4690	4692	4694	4696
H1H18231B	4698	4700	4702	4704	4706	4708	4710	4712

【表 1 2 - 7】

H1H18232B	4714	4716	4718	4720	4722	4724	4726	4728
H1H18233B	4730	4732	4734	4736	4738	4740	4742	4744
H1H18234B	4746	4748	4750	4752	4754	4756	4758	4760
H1H18235B	4762	4764	4766	4768	4770	4772	4774	4776
H1H18236B	4778	4780	4782	4784	4786	4788	4790	4792
H1H18237B	4794	4796	4798	4800	4802	4804	4806	4808
H1H18238B	4810	4812	4814	4816	4818	4820	4822	4824
H1H18239B	4826	4828	4830	4832	4834	4836	4838	4840
H1H18240B	4842	4844	4846	4848	4850	4852	4854	4856
H1H18241B	4858	4860	4862	4864	4866	4868	4870	4872
H1H18242B	4874	4876	4878	4880	4882	4884	4886	4888
H1H18243B	4890	4892	4894	4896	4898	4900	4902	4904
H1H18244B	4906	4908	4910	4912	4914	4916	4918	4920
H1H18245B	4922	4924	4926	4928	4930	4932	4934	4936
H1H18246B	4938	4940	4942	4944	4946	4948	4950	4952
H1H18247B	4954	4956	4958	4960	4962	4964	4966	4968
H1H18248B	4970	4972	4974	4976	4978	4980	4982	4984
H1H18249B	4986	4988	4990	4992	4994	4996	4998	5000
H1H18250B	5002	5004	5006	5008	5010	5012	5014	5016
H1H18251B	5018	5020	5022	5024	5026	5028	5030	5032
H1H18252B	5034	5036	5038	5040	5042	5044	5046	5048
H1H18253B	5050	5052	5054	5056	5058	5060	5062	5064
H1H18254B	5066	5068	5070	5072	5074	5076	5078	5080
H1H18255B	5082	5084	5086	5088	5090	5092	5094	5096
H1H18256B	5098	5100	5102	5104	5106	5108	5110	5112
H1H18257B	5114	5116	5118	5120	5122	5124	5126	5128
H1H18258B	5130	5132	5134	5136	5138	5140	5142	5144
H1H18259B	5146	5148	5150	5152	5154	5156	5158	5160
H1H18261B	5162	5164	5166	5168	5170	5172	5174	5176
H1H18262B	5178	5180	5182	5184	5186	5188	5190	5192
H1H18263B	5194	5196	5198	5200	5202	5204	5206	5208
H1H18264B	5210	5212	5214	5216	5218	5220	5222	5224
H1H18265B	5226	5228	5230	5232	5234	5236	5238	5240
H1H18266B	5242	5244	5246	5248	5250	5252	5254	5256
H1H18267B	5258	5260	5262	5264	5266	5268	5270	5272
H1H18268B	5274	5276	5278	5280	5282	5284	5286	5288
H1H18269B	5290	5292	5294	5296	5298	5300	5302	5304
H1H18270B	5306	5308	5310	5312	5314	5316	5318	5320
H1H18271B	5322	5324	5326	5328	5330	5332	5334	5336
H1H18272B	5338	5340	5342	5344	5346	5348	5350	5352
H1H18274B	5354	5356	5358	5360	5362	5364	5366	5368
H1H18275B	5370	5372	5374	5376	5378	5380	5382	5384
H1H18276B	5386	5388	5390	5392	5394	5396	5398	5400
H1H18277B	5402	5404	5406	5408	5410	5412	5414	5416
H1H18278B	5418	5420	5422	5424	5426	5428	5430	5432
H1H18279B	5434	5436	5438	5440	5442	5444	5446	5448
H1H18280B	5450	5452	5454	5456	5458	5460	5462	5464

【表 1 2 - 8】

H1H18281B	5466	5468	5470	5472	5474	5476	5478	5480
H1H18282B	5482	5484	5486	5488	5490	5492	5494	5496
H1H18283B	5498	5500	5502	5504	5506	5508	5510	5512
H1H18284B	5514	5516	5518	5520	5522	5524	5526	5528
H1H18285B	5530	5532	5534	5536	5538	5540	5542	5544
H1H18286B	5546	5548	5550	5552	5554	5556	5558	5560
H1H18287B	5562	5564	5566	5568	5570	5572	5574	5576
H1H18288B	5578	5580	5582	5584	5586	5588	5590	5592
H1H18289B	5594	5596	5598	5600	5602	5604	5606	5608
H1H18290B	5610	5612	5614	5616	5618	5620	5622	5624
H1H18291B	5626	5628	5630	5632	5634	5636	5638	5640
H1H18292B	5642	5644	5646	5648	5650	5652	5654	5656
H1H18293B	5658	5660	5662	5664	5666	5668	5670	5672
H1H18294B	5674	5676	5678	5680	5682	5684	5686	5688
H1H18295B	5690	5692	5694	5696	5698	5700	5702	5704
H1H18297B	5706	5708	5710	5712	5714	5716	5718	5720
H1H18298B	5722	5724	5726	5728	5730	5732	5734	5736
H1H18299B	5738	5740	5742	5744	5746	5748	5750	5752
H1H18300B	5754	5756	5758	5760	5762	5764	5766	5768
H1H18301B	5770	5772	5774	5776	5778	5780	5782	5784
H1H18302B	5786	5788	5790	5792	5794	5796	5798	5800
H1H18303B	5802	5804	5806	5808	5810	5812	5814	5816
H1H18304B	5818	5820	5822	5824	5826	5828	5830	5832
H1H18305B	5834	5836	5838	5840	5842	5844	5846	5848
H1H18306B	5850	5852	5854	5856	5858	5860	5862	5864
H1H18307B	5866	5868	5870	5872	5874	5876	5878	5880
H1H18308B	5882	5884	5886	5888	5890	5892	5894	5896
H1H18309B	5898	5900	5902	5904	5906	5908	5910	5912
H1H18310B	5914	5916	5918	5920	5922	5924	5926	5928
H1H18311B	5930	5932	5934	5936	5938	5940	5942	5944
H1H18312B	5946	5948	5950	5952	5954	5956	5958	5960
H1H18313B	5962	5964	5966	5968	5970	5972	5974	5976
H1H18314B	5978	5980	5982	5984	5986	5988	5990	5992
H1H18315B	5994	5996	5998	6000	6002	6004	6006	6008
H1H18316B	6010	6012	6014	6016	6018	6020	6022	6024
H1H18317B	6026	6028	6030	6032	6034	6036	6038	6040
H1H18318B	6042	6044	6046	6048	6050	6052	6054	6056
H1H18319B	6058	6060	6062	6064	6066	6068	6070	6072
H1H18320B	6074	6076	6078	6080	6082	6084	6086	6088
H1H18321B	6090	6092	6094	6096	6098	6100	6102	6104
H1H18322B	6106	6108	6110	6112	6114	6116	6118	6120
H1H18323B	6122	6124	6126	6128	6130	6132	6134	6136
H1H18324B	6138	6140	6142	6144	6146	6148	6150	6152
H1H18325B	6154	6156	6158	6160	6162	6164	6166	6168
H1H18326B	6170	6172	6174	6176	6178	6180	6182	6184
H1H18327B	6186	6188	6190	6192	6194	6196	6198	6200
H1H18328B	6202	6204	6206	6208	6210	6212	6214	6216

10

20

30

40

【表 1 2 - 9】

H1H18329B	6218	6220	6222	6224	6226	6228	6230	6232
H1H18330B	6234	6236	6238	6240	6242	6244	6246	6248
H1H18331B	6250	6252	6254	6256	6258	6260	6262	6264
H1H18332B	6266	6268	6270	6272	6274	6276	6278	6280
H1H18333B	6282	6284	6286	6288	6290	6292	6294	6296
H1H18334B	6298	6300	6302	6304	6306	6308	6310	6312
H1H18335B	6314	6316	6318	6320	6322	6324	6326	6328

【表 1 3 - 1】

10

表13 核酸配列識別子

抗体の名称	核酸配列番号							
	HCVR	HCDR1	HCDR2	HCDR3	LCVR	LCDR1	LCDR2	LCDR3
H1H17952B	297	299	301	303	305	307	309	311
H1H17953B	313	315	317	319	321	323	325	327
H1H17954B	329	331	333	335	337	339	341	343
H1H17955B	345	347	349	351	353	355	357	359
H1H17956B	361	363	365	367	369	371	373	375
H1H17957B	377	379	381	383	385	387	389	391
H1H17958B	393	395	397	399	401	403	405	407
H1H17959B	409	411	413	415	417	419	421	423
H1H17960B	425	427	429	431	433	435	437	439
H1H17961B	441	443	445	447	449	451	453	455
H1H17962B	457	459	461	463	465	467	469	471
H1H17963B	473	475	477	479	481	483	485	487
H1H17964B	489	491	493	495	497	499	501	503
H1H17965B	505	507	509	511	513	515	517	519
H1H17966B	521	523	525	527	529	531	533	535
H1H17967B	537	539	541	543	545	547	549	551
H1H17968B	553	555	557	559	561	563	565	567
H1H17969B	569	571	573	575	577	579	581	583
H1H17970B	585	587	589	591	593	595	597	599
H1H17971B	601	603	605	607	609	611	613	615
H1H17972B	617	619	621	623	625	627	629	631
H1H17973B	633	635	637	639	641	643	645	647
H1H17974B	649	651	653	655	657	659	661	663
H1H17975B	665	667	669	671	673	675	677	679
H1H17976B	681	683	685	687	689	691	693	695
H1H17977B	697	699	701	703	705	707	709	711
H1H17978B	713	715	717	719	721	723	725	727
H1H17979B	729	731	733	735	737	739	741	743
H1H17980B	745	747	749	751	753	755	757	759
H1H17981B	761	763	765	767	769	771	773	775
H1H17982B	777	779	781	783	785	787	789	791
H1H17983B	793	795	797	799	801	803	805	807
H1H17984B	809	811	813	815	817	819	821	823

20

30

40

【表 1 3 - 2】

H1H17985B	825	827	829	831	833	835	837	839
H1H17986B	841	843	845	847	849	851	853	855
H1H17987B	857	859	861	863	865	867	869	871
H1H17988B	873	875	877	879	881	883	885	887
H1H17989B	889	891	893	895	897	899	901	903
H1H17990B	905	907	909	911	913	915	917	919
H1H17991B	921	923	925	927	929	931	933	935
H1H17992B	937	939	941	943	945	947	949	951
H1H17993B	953	955	957	959	961	963	965	967
H1H17994B	969	971	973	975	977	979	981	983
H1H17995B	985	987	989	991	993	995	997	999
H1H17996B	1001	1003	1005	1007	1009	1011	1013	1015
H1H17997B	1017	1019	1021	1023	1025	1027	1029	1031
H1H17998B	1033	1035	1037	1039	1041	1043	1045	1047
H1H17999B	1049	1051	1053	1055	1057	1059	1061	1063
H1H18000B	1065	1067	1069	1071	1073	1075	1077	1079
H1H18001B	1081	1083	1085	1087	1089	1091	1093	1095
H1H18002B	1097	1099	1101	1103	1105	1107	1109	1111
H1H18003B	1113	1115	1117	1119	1121	1123	1125	1127
H1H18004B	1129	1131	1133	1135	1137	1139	1141	1143
H1H18005B	1145	1147	1149	1151	1153	1155	1157	1159
H1H18006B	1161	1163	1165	1167	1169	1171	1173	1175
H1H18007B	1177	1179	1181	1183	1185	1187	1189	1191
H1H18008B	1193	1195	1197	1199	1201	1203	1205	1207
H1H18009B	1209	1211	1213	1215	1217	1219	1221	1223
H1H18010B	1225	1227	1229	1231	1233	1235	1237	1239
H1H18011B	1241	1243	1245	1247	1249	1251	1253	1255
H1H18012B	1257	1259	1261	1263	1265	1267	1269	1271
H1H18013B	1273	1275	1277	1279	1281	1283	1285	1287
H1H18014B	1289	1291	1293	1295	1297	1299	1301	1303
H1H18015B	1305	1307	1309	1311	1313	1315	1317	1319
H1H18016B	1321	1323	1325	1327	1329	1331	1333	1335
H1H18017B	1337	1339	1341	1343	1345	1347	1349	1351
H1H18018B	1353	1355	1357	1359	1361	1363	1365	1367
H1H18019B	1369	1371	1373	1375	1377	1379	1381	1383
H1H18020B	1385	1387	1389	1391	1393	1395	1397	1399
H1H18021B	1401	1403	1405	1407	1409	1411	1413	1415
H1H18022B	1417	1419	1421	1423	1425	1427	1429	1431
H1H18023B	1433	1435	1437	1439	1441	1443	1445	1447
H1H18024B	1449	1451	1453	1455	1457	1459	1461	1463
H1H18025B	1465	1467	1469	1471	1473	1475	1477	1479
H1H18026B	1481	1483	1485	1487	1489	1491	1493	1495
H1H18027B	1497	1499	1501	1503	1505	1507	1509	1511
H1H18028B	1513	1515	1517	1519	1521	1523	1525	1527
H1H18029B	1529	1531	1533	1535	1537	1539	1541	1543
H1H18030B	1545	1547	1549	1551	1553	1555	1557	1559
H1H18031B	1561	1563	1565	1567	1569	1571	1573	1575

10

20

30

40

【表 1 3 - 3】

H1H18032B	1577	1579	1581	1583	1585	1587	1589	1591
H1H18033B	1593	1595	1597	1599	1601	1603	1605	1607
H1H18034B	1609	1611	1613	1615	1617	1619	1621	1623
H1H18035B	1625	1627	1629	1631	1633	1635	1637	1639
H1H18037B	1641	1643	1645	1647	1649	1651	1653	1655
H1H18038B	1657	1659	1661	1663	1665	1667	1669	1671
H1H18039B	1673	1675	1677	1679	1681	1683	1685	1687
H1H18040B	1689	1691	1693	1695	1697	1699	1701	1703
H1H18041B	1705	1707	1709	1711	1713	1715	1717	1719
H1H18042B	1721	1723	1725	1727	1729	1731	1733	1735
H1H18043B	1737	1739	1741	1743	1745	1747	1749	1751
H1H18044B	1753	1755	1757	1759	1761	1763	1765	1767
H1H18045B	1769	1771	1773	1775	1777	1779	1781	1783
H1H18046B	1785	1787	1789	1791	1793	1795	1797	1799
H1H18047B	1801	1803	1805	1807	1809	1811	1813	1815
H1H18048B	1817	1819	1821	1823	1825	1827	1829	1831
H1H18049B	1833	1835	1837	1839	1841	1843	1845	1847
H1H18051B	1849	1851	1853	1855	1857	1859	1861	1863
H1H18052B	1865	1867	1869	1871	1873	1875	1877	1879
H1H18053B	1881	1883	1885	1887	1889	1891	1893	1895
H1H18054B	1897	1899	1901	1903	1905	1907	1909	1911
H1H18055B	1913	1915	1917	1919	1921	1923	1925	1927
H1H18056B	1929	1931	1933	1935	1937	1939	1941	1943
H1H18057B	1945	1947	1949	1951	1953	1955	1957	1959
H1H18058B	1961	1963	1965	1967	1969	1971	1973	1975
H1H18059B	1977	1979	1981	1983	1985	1987	1989	1991
H1H18060B	1993	1995	1997	1999	2001	2003	2005	2007
H1H18061B	2009	2011	2013	2015	2017	2019	2021	2023
H1H18062B	2025	2027	2029	2031	2033	2035	2037	2039
H1H18063B	2041	2043	2045	2047	2049	2051	2053	2055
H1H18064B	2057	2059	2061	2063	2065	2067	2069	2071
H1H18065B	2073	2075	2077	2079	2081	2083	2085	2087
H1H18066B	2089	2091	2093	2095	2097	2099	2101	2103
H1H18067B	2105	2107	2109	2111	2113	2115	2117	2119
H1H18068B	2121	2123	2125	2127	2129	2131	2133	2135
H1H18069B	2137	2139	2141	2143	2145	2147	2149	2151
H1H18070B	2153	2155	2157	2159	2161	2163	2165	2167
H1H18071B	2169	2171	2173	2175	2177	2179	2181	2183
H1H18072B	2185	2187	2189	2191	2193	2195	2197	2199
H1H18073B	2201	2203	2205	2207	2209	2211	2213	2215
H1H18074B	2217	2219	2221	2223	2225	2227	2229	2231
H1H18075B	2233	2235	2237	2239	2241	2243	2245	2247
H1H18076B	2249	2251	2253	2255	2257	2259	2261	2263
H1H18077B	2265	2267	2269	2271	2273	2275	2277	2279
H1H18078B	2281	2283	2285	2287	2289	2291	2293	2295
H1H18079B	2297	2299	2301	2303	2305	2307	2309	2311
H1H18080B	2313	2315	2317	2319	2321	2323	2325	2327

【表 1 3 - 4】

H1H18081B	2329	2331	2333	2335	2337	2339	2341	2343
H1H18082B	2345	2347	2349	2351	2353	2355	2357	2359
H1H18083B	2361	2363	2365	2367	2369	2371	2373	2375
H1H18084B	2377	2379	2381	2383	2385	2387	2389	2391
H1H18085B	2393	2395	2397	2399	2401	2403	2405	2407
H1H18086B	2409	2411	2413	2415	2417	2419	2421	2423
H1H18087B	2425	2427	2429	2431	2433	2435	2437	2439
H1H18088B	2441	2443	2445	2447	2449	2451	2453	2455
H1H18089B	2457	2459	2461	2463	2465	2467	2469	2471
H1H18090B	2473	2475	2477	2479	2481	2483	2485	2487
H1H18091B	2489	2491	2493	2495	2497	2499	2501	2503
H1H18092B	2505	2507	2509	2511	2513	2515	2517	2519
H1H18093B	2521	2523	2525	2527	2529	2531	2533	2535
H1H18094B	2537	2539	2541	2543	2545	2547	2549	2551
H1H18095B	2553	2555	2557	2559	2561	2563	2565	2567
H1H18096B	2569	2571	2573	2575	2577	2579	2581	2583
H1H18097B	2585	2587	2589	2591	2593	2595	2597	2599
H1H18098B	2601	2603	2605	2607	2609	2611	2613	2615
H1H18099B	2617	2619	2621	2623	2625	2627	2629	2631
H1H18100B	2633	2635	2637	2639	2641	2643	2645	2647
H1H18101B	2649	2651	2653	2655	2657	2659	2661	2663
H1H18102B	2665	2667	2669	2671	2673	2675	2677	2679
H1H18103B	2681	2683	2685	2687	2689	2691	2693	2695
H1H18104B	2697	2699	2701	2703	2705	2707	2709	2711
H1H18105B	2713	2715	2717	2719	2721	2723	2725	2727
H1H18107B	2729	2731	2733	2735	2737	2739	2741	2743
H1H18108B	2745	2747	2749	2751	2753	2755	2757	2759
H1H18109B	2761	2763	2765	2767	2769	2771	2773	2775
H1H18110B	2777	2779	2781	2783	2785	2787	2789	2791
H1H18111B	2793	2795	2797	2799	2801	2803	2805	2807
H1H18112B	2809	2811	2813	2815	2817	2819	2821	2823
H1H18113B	2825	2827	2829	2831	2833	2835	2837	2839
H1H18114B	2841	2843	2845	2847	2849	2851	2853	2855
H1H18115B	2857	2859	2861	2863	2865	2867	2869	2871
H1H18116B	2873	2875	2877	2879	2881	2883	2885	2887
H1H18117B	2889	2891	2893	2895	2897	2899	2901	2903
H1H18118B	2905	2907	2909	2911	2913	2915	2917	2919
H1H18119B	2921	2923	2925	2927	2929	2931	2933	2935
H1H18120B	2937	2939	2941	2943	2945	2947	2949	2951
H1H18121B	2953	2955	2957	2959	2961	2963	2965	2967
H1H18122B	2969	2971	2973	2975	2977	2979	2981	2983
H1H18123B	2985	2987	2989	2991	2993	2995	2997	2999
H1H18124B	3001	3003	3005	3007	3009	3011	3013	3015
H1H18125B	3017	3019	3021	3023	3025	3027	3029	3031
H1H18126B	3033	3035	3037	3039	3041	3043	3045	3047
H1H18127B	3049	3051	3053	3055	3057	3059	3061	3063
H1H18128B	3065	3067	3069	3071	3073	3075	3077	3079

【表 1 3 - 5】

H1H18129B	3081	3083	3085	3087	3089	3091	3093	3095
H1H18130B	3097	3099	3101	3103	3105	3107	3109	3111
H1H18131B	3113	3115	3117	3119	3121	3123	3125	3127
H1H18132B	3129	3131	3133	3135	3137	3139	3141	3143
H1H18133B	3145	3147	3149	3151	3153	3155	3157	3159
H1H18134B	3161	3163	3165	3167	3169	3171	3173	3175
H1H18135B	3177	3179	3181	3183	3185	3187	3189	3191
H1H18136B	3193	3195	3197	3199	3201	3203	3205	3207
H1H18137B	3209	3211	3213	3215	3217	3219	3221	3223
H1H18138B	3225	3227	3229	3231	3233	3235	3237	3239
H1H18139B	3241	3243	3245	3247	3249	3251	3253	3255
H1H18140B	3257	3259	3261	3263	3265	3267	3269	3271
H1H18141B	3273	3275	3277	3279	3281	3283	3285	3287
H1H18142B	3289	3291	3293	3295	3297	3299	3301	3303
H1H18143B	3305	3307	3309	3311	3313	3315	3317	3319
H1H18144B	3321	3323	3325	3327	3329	3331	3333	3335
H1H18145B	3337	3339	3341	3343	3345	3347	3349	3351
H1H18146B	3353	3355	3357	3359	3361	3363	3365	3367
H1H18147B	3369	3371	3373	3375	3377	3379	3381	3383
H1H18148B	3385	3387	3389	3391	3393	3395	3397	3399
H1H18149B	3401	3403	3405	3407	3409	3411	3413	3415
H1H18150B	3417	3419	3421	3423	3425	3427	3429	3431
H1H18151B	3433	3435	3437	3439	3441	3443	3445	3447
H1H18152B	3449	3451	3453	3455	3457	3459	3461	3463
H1H18153B	3465	3467	3469	3471	3473	3475	3477	3479
H1H18154B	3481	3483	3485	3487	3489	3491	3493	3495
H1H18155B	3497	3499	3501	3503	3505	3507	3509	3511
H1H18156B	3513	3515	3517	3519	3521	3523	3525	3527
H1H18157B	3529	3531	3533	3535	3537	3539	3541	3543
H1H18158B	3545	3547	3549	3551	3553	3555	3557	3559
H1H18159B	3561	3563	3565	3567	3569	3571	3573	3575
H1H18160B	3577	3579	3581	3583	3585	3587	3589	3591
H1H18161B	3593	3595	3597	3599	3601	3603	3605	3607
H1H18162B	3609	3611	3613	3615	3617	3619	3621	3623
H1H18163B	3625	3627	3629	3631	3633	3635	3637	3639
H1H18164B	3641	3643	3645	3647	3649	3651	3653	3655
H1H18165B	3657	3659	3661	3663	3665	3667	3669	3671
H1H18166B	3673	3675	3677	3679	3681	3683	3685	3687
H1H18167B	3689	3691	3693	3695	3697	3699	3701	3703
H1H18168B	3705	3707	3709	3711	3713	3715	3717	3719
H1H18169B	3721	3723	3725	3727	3729	3731	3733	3735
H1H18170B	3737	3739	3741	3743	3745	3747	3749	3751
H1H18171B	3753	3755	3757	3759	3761	3763	3765	3767
H1H18172B	3769	3771	3773	3775	3777	3779	3781	3783
H1H18173B	3785	3787	3789	3791	3793	3795	3797	3799
H1H18174B	3801	3803	3805	3807	3809	3811	3813	3815
H1H18175B	3817	3819	3821	3823	3825	3827	3829	3831

【表 1 3 - 6】

H1H18176B	3833	3835	3837	3839	3841	3843	3845	3847
H1H18177B	3849	3851	3853	3855	3857	3859	3861	3863
H1H18178B	3865	3867	3869	3871	3873	3875	3877	3879
H1H18179B	3881	3883	3885	3887	3889	3891	3893	3895
H1H18180B	3897	3899	3901	3903	3905	3907	3909	3911
H1H18181B	3913	3915	3917	3919	3921	3923	3925	3927
H1H18182B	3929	3931	3933	3935	3937	3939	3941	3943
H1H18183B	3945	3947	3949	3951	3953	3955	3957	3959
H1H18184B	3961	3963	3965	3967	3969	3971	3973	3975
H1H18185B	3977	3979	3981	3983	3985	3987	3989	3991
H1H18186B	3993	3995	3997	3999	4001	4003	4005	4007
H1H18187B	4009	4011	4013	4015	4017	4019	4021	4023
H1H18188B	4025	4027	4029	4031	4033	4035	4037	4039
H1H18189B	4041	4043	4045	4047	4049	4051	4053	4055
H1H18190B	4057	4059	4061	4063	4065	4067	4069	4071
H1H18191B	4073	4075	4077	4079	4081	4083	4085	4087
H1H18192B	4089	4091	4093	4095	4097	4099	4101	4103
H1H18193B	4105	4107	4109	4111	4113	4115	4117	4119
H1H18194B	4121	4123	4125	4127	4129	4131	4133	4135
H1H18195B	4137	4139	4141	4143	4145	4147	4149	4151
H1H18196B	4153	4155	4157	4159	4161	4163	4165	4167
H1H18197B	4169	4171	4173	4175	4177	4179	4181	4183
H1H18198B	4185	4187	4189	4191	4193	4195	4197	4199
H1H18199B	4201	4203	4205	4207	4209	4211	4213	4215
H1H18200B	4217	4219	4221	4223	4225	4227	4229	4231
H1H18201B	4233	4235	4237	4239	4241	4243	4245	4247
H1H18202B	4249	4251	4253	4255	4257	4259	4261	4263
H1H18203B	4265	4267	4269	4271	4273	4275	4277	4279
H1H18204B	4281	4283	4285	4287	4289	4291	4293	4295
H1H18205B	4297	4299	4301	4303	4305	4307	4309	4311
H1H18206B	4313	4315	4317	4319	4321	4323	4325	4327
H1H18207B	4329	4331	4333	4335	4337	4339	4341	4343
H1H18208B	4345	4347	4349	4351	4353	4355	4357	4359
H1H18209B	4361	4363	4365	4367	4369	4371	4373	4375
H1H18210B	4377	4379	4381	4383	4385	4387	4389	4391
H1H18211B	4393	4395	4397	4399	4401	4403	4405	4407
H1H18212B	4409	4411	4413	4415	4417	4419	4421	4423
H1H18213B	4425	4427	4429	4431	4433	4435	4437	4439
H1H18214B	4441	4443	4445	4447	4449	4451	4453	4455
H1H18216B	4457	4459	4461	4463	4465	4467	4469	4471
H1H18217B	4473	4475	4477	4479	4481	4483	4485	4487
H1H18218B	4489	4491	4493	4495	4497	4499	4501	4503
H1H18219B	4505	4507	4509	4511	4513	4515	4517	4519
H1H18220B	4521	4523	4525	4527	4529	4531	4533	4535
H1H18221B	4537	4539	4541	4543	4545	4547	4549	4551
H1H18222B	4553	4555	4557	4559	4561	4563	4565	4567
H1H18223B	4569	4571	4573	4575	4577	4579	4581	4583

【表 1 3 - 7】

H1H18224B	4585	4587	4589	4591	4593	4595	4597	4599
H1H18225B	4601	4603	4605	4607	4609	4611	4613	4615
H1H18226B	4617	4619	4621	4623	4625	4627	4629	4631
H1H18227B	4633	4635	4637	4639	4641	4643	4645	4647
H1H18228B	4649	4651	4653	4655	4657	4659	4661	4663
H1H18229B	4665	4667	4669	4671	4673	4675	4677	4679
H1H18230B	4681	4683	4685	4687	4689	4691	4693	4695
H1H18231B	4697	4699	4701	4703	4705	4707	4709	4711
H1H18232B	4713	4715	4717	4719	4721	4723	4725	4727
H1H18233B	4729	4731	4733	4735	4737	4739	4741	4743
H1H18234B	4745	4747	4749	4751	4753	4755	4757	4759
H1H18235B	4761	4763	4765	4767	4769	4771	4773	4775
H1H18236B	4777	4779	4781	4783	4785	4787	4789	4791
H1H18237B	4793	4795	4797	4799	4801	4803	4805	4807
H1H18238B	4809	4811	4813	4815	4817	4819	4821	4823
H1H18239B	4825	4827	4829	4831	4833	4835	4837	4839
H1H18240B	4841	4843	4845	4847	4849	4851	4853	4855
H1H18241B	4857	4859	4861	4863	4865	4867	4869	4871
H1H18242B	4873	4875	4877	4879	4881	4883	4885	4887
H1H18243B	4889	4891	4893	4895	4897	4899	4901	4903
H1H18244B	4905	4907	4909	4911	4913	4915	4917	4919
H1H18245B	4921	4923	4925	4927	4929	4931	4933	4935
H1H18246B	4937	4939	4941	4943	4945	4947	4949	4951
H1H18247B	4953	4955	4957	4959	4961	4963	4965	4967
H1H18248B	4969	4971	4973	4975	4977	4979	4981	4983
H1H18249B	4985	4987	4989	4991	4993	4995	4997	4999
H1H18250B	5001	5003	5005	5007	5009	5011	5013	5015
H1H18251B	5017	5019	5021	5023	5025	5027	5029	5031
H1H18252B	5033	5035	5037	5039	5041	5043	5045	5047
H1H18253B	5049	5051	5053	5055	5057	5059	5061	5063
H1H18254B	5065	5067	5069	5071	5073	5075	5077	5079
H1H18255B	5081	5083	5085	5087	5089	5091	5093	5095
H1H18256B	5097	5099	5101	5103	5105	5107	5109	5111
H1H18257B	5113	5115	5117	5119	5121	5123	5125	5127
H1H18258B	5129	5131	5133	5135	5137	5139	5141	5143
H1H18259B	5145	5147	5149	5151	5153	5155	5157	5159
H1H18261B	5161	5163	5165	5167	5169	5171	5173	5175
H1H18262B	5177	5179	5181	5183	5185	5187	5189	5191
H1H18263B	5193	5195	5197	5199	5201	5203	5205	5207
H1H18264B	5209	5211	5213	5215	5217	5219	5221	5223
H1H18265B	5225	5227	5229	5231	5233	5235	5237	5239
H1H18266B	5241	5243	5245	5247	5249	5251	5253	5255
H1H18267B	5257	5259	5261	5263	5265	5267	5269	5271
H1H18268B	5273	5275	5277	5279	5281	5283	5285	5287
H1H18269B	5289	5291	5293	5295	5297	5299	5301	5303
H1H18270B	5305	5307	5309	5311	5313	5315	5317	5319
H1H18271B	5321	5323	5325	5327	5329	5331	5333	5335

10

20

30

40

【表 1 3 - 8】

H1H18272B	5337	5339	5341	5343	5345	5347	5349	5351
H1H18274B	5353	5355	5357	5359	5361	5363	5365	5367
H1H18275B	5369	5371	5373	5375	5377	5379	5381	5383
H1H18276B	5385	5387	5389	5391	5393	5395	5397	5399
H1H18277B	5401	5403	5405	5407	5409	5411	5413	5415
H1H18278B	5417	5419	5421	5423	5425	5427	5429	5431
H1H18279B	5433	5435	5437	5439	5441	5443	5445	5447
H1H18280B	5449	5451	5453	5455	5457	5459	5461	5463
H1H18281B	5465	5467	5469	5471	5473	5475	5477	5479
H1H18282B	5481	5483	5485	5487	5489	5491	5493	5495
H1H18283B	5497	5499	5501	5503	5505	5507	5509	5511
H1H18284B	5513	5515	5517	5519	5521	5523	5525	5527
H1H18285B	5529	5531	5533	5535	5537	5539	5541	5543
H1H18286B	5545	5547	5549	5551	5553	5555	5557	5559
H1H18287B	5561	5563	5565	5567	5569	5571	5573	5575
H1H18288B	5577	5579	5581	5583	5585	5587	5589	5591
H1H18289B	5593	5595	5597	5599	5601	5603	5605	5607
H1H18290B	5609	5611	5613	5615	5617	5619	5621	5623
H1H18291B	5625	5627	5629	5631	5633	5635	5637	5639
H1H18292B	5641	5643	5645	5647	5649	5651	5653	5655
H1H18293B	5657	5659	5661	5663	5665	5667	5669	5671
H1H18294B	5673	5675	5677	5679	5681	5683	5685	5687
H1H18295B	5689	5691	5693	5695	5697	5699	5701	5703
H1H18297B	5705	5707	5709	5711	5713	5715	5717	5719
H1H18298B	5721	5723	5725	5727	5729	5731	5733	5735
H1H18299B	5737	5739	5741	5743	5745	5747	5749	5751
H1H18300B	5753	5755	5757	5759	5761	5763	5765	5767
H1H18301B	5769	5771	5773	5775	5777	5779	5781	5783
H1H18302B	5785	5787	5789	5791	5793	5795	5797	5799
H1H18303B	5801	5803	5805	5807	5809	5811	5813	5815
H1H18304B	5817	5819	5821	5823	5825	5827	5829	5831
H1H18305B	5833	5835	5837	5839	5841	5843	5845	5847
H1H18306B	5849	5851	5853	5855	5857	5859	5861	5863
H1H18307B	5865	5867	5869	5871	5873	5875	5877	5879
H1H18308B	5881	5883	5885	5887	5889	5891	5893	5895
H1H18309B	5897	5899	5901	5903	5905	5907	5909	5911
H1H18310B	5913	5915	5917	5919	5921	5923	5925	5927
H1H18311B	5929	5931	5933	5935	5937	5939	5941	5943
H1H18312B	5945	5947	5949	5951	5953	5955	5957	5959
H1H18313B	5961	5963	5965	5967	5969	5971	5973	5975
H1H18314B	5977	5979	5981	5983	5985	5987	5989	5991
H1H18315B	5993	5995	5997	5999	6001	6003	6005	6007
H1H18316B	6009	6011	6013	6015	6017	6019	6021	6023
H1H18317B	6025	6027	6029	6031	6033	6035	6037	6039
H1H18318B	6041	6043	6045	6047	6049	6051	6053	6055
H1H18319B	6057	6059	6061	6063	6065	6067	6069	6071
H1H18320B	6073	6075	6077	6079	6081	6083	6085	6087

10

20

30

40

【表 1 3 - 9】

H1H18321B	6089	6091	6093	6095	6097	6099	6101	6103
H1H18322B	6105	6107	6109	6111	6113	6115	6117	6119
H1H18323B	6121	6123	6125	6127	6129	6131	6133	6135
H1H18324B	6137	6139	6141	6143	6145	6147	6149	6151
H1H18325B	6153	6155	6157	6159	6161	6163	6165	6167
H1H18326B	6169	6171	6173	6175	6177	6179	6181	6183
H1H18327B	6185	6187	6189	6191	6193	6195	6197	6199
H1H18328B	6201	6203	6205	6207	6209	6211	6213	6215
H1H18329B	6217	6219	6221	6223	6225	6227	6229	6231
H1H18330B	6233	6235	6237	6239	6241	6243	6245	6247
H1H18331B	6249	6251	6253	6255	6257	6259	6261	6263
H1H18332B	6265	6267	6269	6271	6273	6275	6277	6279
H1H18333B	6281	6283	6285	6287	6289	6291	6293	6295
H1H18334B	6297	6299	6301	6303	6305	6307	6309	6311
H1H18335B	6313	6315	6317	6319	6321	6323	6325	6327

## (実施例 9)

H1H11729Pは、マウスおよび非ヒト靈長類(NHP)において、比較用抗体(对照I mAb)と比較して優れた薬物動態プロファイルを有する

## 【0234】

マウスおよび非ヒト靈長類においてH1H11729Pの薬物動態プロファイルを比較用抗体と比較するための試験を行った。本明細書では対照I mAbと称される1つの抗インフルエンザHA比較用抗体は、WO2008/028946において配列番号65(HC)および配列番号91(LC)として記載されている重鎖(HC)アミノ酸配列および軽鎖(LC)アミノ酸配列を有する抗インフルエンザHA抗体であり、WO2008/028946ではCR6261とも称されている。

## 【0235】

マウスPK実験およびNHP PK実験のどちらについても、循環薬物レベルを、ELISAイムノアッセイを使用した全体的なヒト抗体分析によって決定した。簡単に述べると、ヤギ抗ヒトIgGポリクローナル抗体を96ウェルプレートにコーティングして血清中の試験ヒト抗体を捕捉し、次いで、プレートに結合した抗体を、西洋ワサビおよびTM基質とコンジュゲートしたヤギ抗ヒトIgGポリクローナル抗体を使用して検出した。血清試料は、6用量の段階希釈物、および、それぞれの抗体の標準品の12用量の段階希釈物であった。血清中の薬物抗体濃度を、GraphPad Prismソフトウェアを使用して作成した標準品曲線に基づいて算出した。

## A. マウス試験

## 【0236】

野生型(WT)C57BL/6マウスにおいてH1H11729Pの薬物動態評価を行った。H1H11729Pおよび対照I mAbを、マウス5匹からなる別々の群にそれぞれ1mg/kgの用量でSC投与した。抗体を注射する1日前の血液採取(前血液採取)に加えて、注射の6時間後、1日後、2日後、3日後、4日後、7日後、11日後、14日後、22日後、および30日後に血液採取した。採取血液から血清画分を分離し、分析を行うまで-80で凍結しておいた。

## 結果:

## 【0237】

表14に示されている通り、WTマウスにおけるH1H11729Pの半減期は11.1日であり、対照I mAbの半減期は5.67日であり、これにより、H1H11729Pの性質が比較用抗体と比較して有利であることが実証される。

10

20

30

40

## 【表14】

表14: 非感染野生型マウスにおけるH1H11729Pおよび対照I mAbの薬物動態プロファイルの要約

薬物	T <sub>1/2</sub> (d)	C <sub>max</sub> (μ/mL)	AUC(d <sup>2</sup> μ/mL)
H1H11729P	11.1 ± 0.8	12.0 ± 0.9	147 ± 3.4
対照 I mAb	5.67 ± 0.6	10.4 ± 0.6	93.8 ± 4.8

## B. カニクイザルNHP

## 【0238】

H1H11729Pおよび対照I mAbの薬物動態クリアランス速度の評価を3~5歳の雌カニクイザルにおいて行った。サルを、A型インフルエンザ抗体およびB型インフルエンザ抗体についてプレスクリーニングし、陰性であることが見いだされた。抗体を3匹の動物において試験し、3mg/kg（体積2mL/kgおよび1.5mg/mL）の用量で皮下投与した。血液試料を、投薬前、ならびに注射の1時間後、4時間後、8時間後、および1日後、2日後、3日後、4日後、5日後、10日後、14日後、18日後、21日後、24日後、28日後、35日後、42日後、49日後、56日後、63日後、70日後、84日後、および98日後に採取した。血清を全血から分離し、分析するまで-80で凍結しておいた。循環薬物濃度を、ELISAイムノアッセイを使用した全体的なヒト抗体分析によって決定した。血清中の薬物抗体濃度を、GraphPad Prismソフトウェアを使用して作成した標準品曲線に基づいて算出した。

結果:

## 【0239】

表15に示されている通り、サルにおけるH1H11729Pの半減期は13.4日であり、対照I mAbの半減期は8.05日であり、これにより、H1H11729Pの性質が比較用抗体と比較して有利であることが実証される。

## 【表15】

表15: カニクイザルにおけるH1H11729Pおよび対照I mAbの薬物動態プロファイルの要約

薬物	T <sub>1/2</sub> (d)	C <sub>max</sub> (μg/mL)	AUC(d <sup>2</sup> μg/mL)
H1H11729P	13.4 ± 1.46	41.3 ± 7.84	863 ± 145
対照 I mAb	8.05 ± 2.17	24.9 ± 1.87	320 ± 70.1

## (実施例10)

H1H11729Pにより、マウスにおける致死的なインフルエンザウイルス感染が有效地に処置される

## 【0240】

ヒトにおけるインフルエンザウイルス感染を処置または防止するための改善された標準治療の実質的なまだ対処されていない必要性がある。現在利用可能なのは、2つのクラスの薬物：アダマンタンおよびノイラミニダーゼ阻害剤（NAI）のみである。アダマンタン（アマンタジンおよびリマンタジン）は薬物耐性株の急速な出現を伴っていたことから、これらは、もはやインフルエンザの処置に推奨されるものではない。オセルタミビル（TAMIFLU（登録商標））のようなNAIは、インフルエンザの処置および予防のための最先端の薬物であるが、それらの有効性の範囲は限定的である。NAIについては、抗ウイルス薬を症状が発症してから48時間以内に投与すれば、治療的状況において発熱および疾病症状の持続時間が約1日短縮されることが示されているが、48時間後に投与した場合の有効性に関する臨床的証拠はわずかである。

## 【0241】

重症インフルエンザの処置におけるH1H11729Pのi n v i v oにおける有効

10

20

30

40

50

性を評価するために、以下の目的で実験を行った：

【0242】

試験1：H1H11729Pの単回用量の有効性を、1日2回、5日間もたらされる臨床的な標準治療薬であるオセルタミビル（TAMIFLU（登録商標））と比較して評価すること。

【0243】

試験2：オセルタミビルと組み合わせて投与したH1H11729Pの有効性を決定すること。

【0244】

これらの試験に使用した株には、歴史的な[A / Puerto Rico / 08 / 19 10 34 (H1N1)] A型インフルエンザウイルスグループ1分離株が含まれた。全ての実験を6週齢の野生型(BALB/c)雌マウスにおいて実施した。マウスを、800ブラーク形成単位(PFU)と同等である10×マウスLD<sub>50</sub>(MLD<sub>50</sub>)のA / Puerto Rico / 08 / 19 34 (H1N1)を用いて攻撃した。処置モデルでは、感染後(p.i.)0日目に、マウスを、鼻腔内に(IN)攻撃し、感染後の特定の日(例えば、1日目、2日目、3日目、4日目または5日目)に、固定用量のmAbを静脈内に(IV)を与えた。オセルタミビルを製造者の説明書に従って再懸濁させ、マウスに12時間ごとに(すなわち、1日2回；BID)5日間、経口胃管栄養によって投薬し、第1の用量を感染後2日目または3日目に投与した。マウスをp.i.14日目まで毎日計量し、観察し、出発時の体重の20%が失われたら屠殺した。結果はパーセント生存で報告している。

【0245】

第1の実験では、感染後48時間に開始した(すなわち治療的投与)、H1H11729Pの単回用量(15mg/kg)または1日2回(5日間レジメン)の25mg/kgもしくは5mg/kgのオセルタミビルのいずれかの有効性を試験して、マウスモデルにおけるこの時点での効果を評価した。5mg/kgのオセルタミビルを受けたマウスは全て6日目までに死亡し、一方、25mg/kgの用量では、生存が40%まで改善された。対照的に、H1H11729Pを受けたマウスは全て生存した(図1および表16)。

【0246】

次の実験では、感染後72時間に開始して、H1H11729Pをオセルタミビルと組み合わせて試験した。25mg/kgのオセルタミビルを用いた処置で生存したマウスはおよそ20%のみであったが、H1H11729Pの15mg/kgおよび7mg/kgの単回用量では、生存がそれぞれ60%および36%であった。処置を組み合わせた場合、相加効果が観察された：7mg/kgの単回用量のH1H11729Pとオセルタミビルのレジメンの組み合わせでは、60%生存が示され、15mg/kgの単回用量のH1H11729Pとオセルタミビルのレジメンの組み合わせでは、87%生存がもたらされた(図2および表17)。

【0247】

要約すると、H1H11729Pは、重症の歴史的なインフルエンザ株に感染したマウスの処置においてロバストな有効性を示し、実際、感染後48時間におけるオセルタミビルよりも高い有効性を示した。さらに、H1H11729Pは、オセルタミビルと組み合わせて投与した場合に相加的な有効性を示した。

【表16】

表16: 試験1の結果:マウスにおける重症A型インフルエンザウイルス感染の処置において、48時間のp.i.における単回用量のH1H11729Pは、48時間のp.i.におけるオセルタミビルよりも大きな有効性を示す

PID	群当たりのマウスの数	パーセント生存(生存しているマウスの数/群内のマウスの総数)
経口胃管栄養対照(非感染)	5	100 (5/5)
H1H11729P	5	100 (5/5)
オセルタミビル(25mg/kg, 1日2回×5日間)	5	40 (2/5)
オセルタミビル(5mg/kg, 1日2回×5日間)	5	0 (0/5)
hlgG1 陰性アイソタイプ対照	5	0 (0/5)
経口胃管栄養対照(感染)	5	0 (0/5)

10

【表17】

表17: 試験2の結果:マウスにおける重症インフルエンザを処置するためにp.i.72時間においてH1H11729Pの単回用量をオセルタミビルと組み合わせた場合、相加的な有効性が観察される

PID	群当たりのマウスの数	パーセント生存(生存しているマウスの数/群内のマウスの総数)
H1H11729P (15 mg/kg)	15	60 (9/15)
H1H11729P (7 mg/kg)	15	35.7 (5/15)
H1H11729P (15 mg/kg) + オセルタミビル(25mg/kg, 1日2回×5日間)	15	86.7 (13/15)
H1H11729P (7 mg/kg) + オセルタミビル(25mg/kg, 1日2回×5日間)	15	60 (9/15)
オセルタミビル(25mg/kg, 1日2回×5日間)	15	20 (3/15)
hlgG1 陰性アイソタイプ対照	15	0 (0/15)
経口胃管栄養対照(感染)	15	0 (0/15)

20

30

【図1】

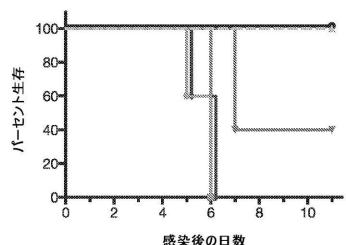


Figure 1

【図2】

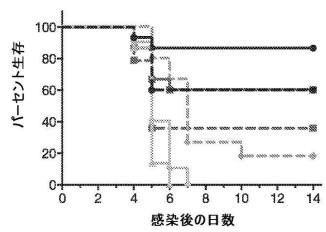


Figure 2

【図3】

Figure 3

配列番号 18 H1H11729P-HCVR
Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Ser Gly Ser Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Gly Thr Phe Ser Ser Tyr Ala Ile Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met Gly Gly Ile Ile Pro Ile Phe Gly Thr Pro Ser Tyr Ala Ala Lys Phe Gln Asp Arg Val Thr Ile Thr Thr Asp Glu Ser Ser Thr Ser Thr Val Tyr Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Gln Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Arg Gln Gln Pro Val Tyr Gln Tyr Asn Met Asp Val Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser
配列番号 20 H1H11729P-HCDR1
Gly Gly Thr Phe Ser Ser Tyr Ala
配列番号 22 H1H11729P-HCDR2
Ile Ile Pro Ile Phe Gly Thr Pro
配列番号 24 H1H11729P-HCDR3
Ala Arg Gln Gln Pro Val Tyr Gln Tyr Asn Met Asp Val
配列番号 26 H1H11729P-LCVR
Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Gly Ile Arg Asn Asn Leu Gly Ile Pro Gln Gln Lys Pro Leu Lys Ala Pro Lys Arg Leu Ile Tyr Ala Ala Ser Ser Leu Gln Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Gln Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Leu Gln Tyr Asn Asn Tyr Pro Trp Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Gln Ile Lys
配列番号 28 H1H11729P-LCDR1
Gln Gly Ile Arg Asn Asn
配列番号 30 H1H11729P-LCDR2
Ala Ala Ser
配列番号 32 H1H11729P-LCDR3
Leu Gln Tyr Asn Asn Tyr Pro Trp Thr

【図4】

Figure 4

配列番号 50 H1H11829N2-HCVR
Gln Val His Leu Val Gln Ser Gly Pro Glu Val Lys Lys Pro Gly Ser Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Val Thr Phe Ile Ser His Ala Ile Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Val Gly Gly Ile Ile Ala Ile Phe Gly Thr Thr Asn Tyr Ala Gln Lys Phe Gln Arg Val Thr Val Thr Asp Lys Ser Thr Asn Thr Val Tyr Met Glu Leu Ser Arg Leu Arg Ser Gln Asp Thr Ala Ile Tyr Tyr Cys Ala Arg Gln Gly Thr Tyr Glu Gly Asn Phe Asp Phe Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
配列番号 52 H1H11829N2-HCDR1
Gly Val Thr Phe Ile Ser His Ala
配列番号 54 H1H11829N2-HCDR2
Ile Ile Ala Ile Phe Gly Thr Thr
配列番号 56 H1H11829N2-HCDR3
Ala Arg Gly Glu Thr Tyr Glu Gly Asn Phe Asp Phe
配列番号 66 H1H11829N2-LCVR
Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Ser Ile Ser Ser Tyr Leu Asn Ile Phe Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Ser Lys Leu Ile Tyr Ala Ala Ser Ser Leu Gln Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Leu Gln Ser Tyr Ser Thr Pro Pro Ile Thr Phe Gly Gln Gly Thr Arg Leu Glu Ile Lys
配列番号 68 H1H11829N2-LCDR1
Gln Ser Ile Ser Ser Tyr
配列番号 70 H1H11829N2-LCDR2
Ala Ala Ser
配列番号 72 H1H11829N2-LCDR3
Gln Gln Ser Tyr Ser Thr Pro Pro Ile Thr

【配列表】

0006711828000001.app

## フロントページの続き

(51) Int.Cl.			F I	
C 1 2 N	1/21	(2006.01)	C 1 2 N	1/21
C 1 2 N	5/10	(2006.01)	C 1 2 N	5/10
A 6 1 K	39/395	(2006.01)	A 6 1 K	39/395
A 6 1 P	31/16	(2006.01)	A 6 1 P	31/16

(72)発明者 パーセル, リサ エー.

アメリカ合衆国 ニューヨーク 10591, タリータウン, オールド ソー ミル リバーロード 777, リジェネロン ファーマシューティカルズ, インコーポレイテッド 気付

(72)発明者 ピアウ, ジョナサン

アメリカ合衆国 ニューヨーク 10591, タリータウン, オールド ソー ミル リバーロード 777, リジェネロン ファーマシューティカルズ, インコーポレイテッド 気付

(72)発明者 オルソン, ウィリアム

アメリカ合衆国 ニューヨーク 10591, タリータウン, オールド ソー ミル リバーロード 777, リジェネロン ファーマシューティカルズ, インコーポレイテッド 気付

審査官 小林 薫

(56)参考文献 国際公開第2014/078268 (WO, A2)

特表2014-523254 (JP, A)

特表2013-531993 (JP, A)

特表2010-502207 (JP, A)

Nat. Struct. Mol. Biol., 2009, Vol.16, No.3, p.265-273

Nature, 2008, Vol.453, p.667-671

(58)調査した分野(Int.Cl., DB名)

C 1 2 N 15/00-15/90

C 0 7 K 1/00-19/00

C A p l u s / R E G I S T R Y / M E D L I N E / E M B A S E / B I O S I S / W P I D S  
(S T N)