

(19) 日本国特許庁(JP)

(12) 公表特許公報(A)

(11) 特許出願公表番号

特表2009-531023

(P2009-531023A)

(43) 公表日 平成21年9月3日(2009.9.3)

(51) Int.Cl.	F I	テーマコード (参考)
C12N 15/09 (2006.01)	C12N 15/00 ZNAA	4B024
C07K 16/24 (2006.01)	C07K 16/24	4B064
C12N 1/15 (2006.01)	C12N 1/15	4B065
C12N 1/19 (2006.01)	C12N 1/19	4C085
C12N 1/21 (2006.01)	C12N 1/21	4H045

審査請求 未請求 予備審査請求 未請求 (全 90 頁) 最終頁に続く

(21) 出願番号 特願2008-556389 (P2008-556389)
 (86) (22) 出願日 平成19年2月21日 (2007.2.21)
 (85) 翻訳文提出日 平成20年10月21日 (2008.10.21)
 (86) 国際出願番号 PCT/US2007/004430
 (87) 国際公開番号 W02007/098170
 (87) 国際公開日 平成19年8月30日 (2007.8.30)
 (31) 優先権主張番号 60/774,596
 (32) 優先日 平成18年2月21日 (2006.2.21)
 (33) 優先権主張国 米国 (US)

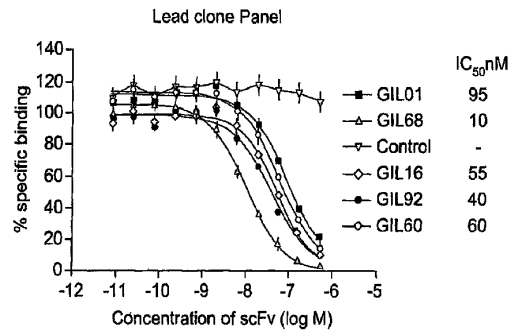
(71) 出願人 591011502
 ワイス
 Wyeth
 アメリカ合衆国07940-0874ニュー
 ジャージー州マディソン、ファイブ・ジ
 ラルダ・ファームズ
 (71) 出願人 508098350
 メドイミュン・リミテッド
 MedImmune Limited
 英国シービー21・6ジーエイチ、ケンプ
 リッジ、グランタ・パーク、ミルスタイン
 ・ビルディング
 (74) 代理人 100081422
 弁理士 田中 光雄

最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 抗体剤ヒトIL-22およびその使用

(57) 【要約】

本願は、ヒトインターロイキン-22 (IL-22) と特異的に結合するヒト抗体およびその抗原結合フラグメントを提供する。これらの抗体はIL-22活性のアンタゴニストとして作用し、それにより、一般に免疫応答、特に、IL-22により媒介されるものを変調することができる。開示される組成物および方法は、例えば、炎症性障害、自己免疫疾患、アレルギー、敗血性ショック、感染性疾患、移植拒絶、癌および他の免疫系障害の診断、治療または予防に使用可能である。



【特許請求の範囲】

【請求項 1】

配列番号 5、6、7、23、24、25、41、42、43、59、60、61、77、78、79、95、96、97、113、114、115、131、132、133、149、150、151、167、168、169、185、186、187、203、204、205、221、222、223、239、240、241、257、258、259、275、276、277、293、294、295、311、312、313、329、330、331、347、348、349、365、366、367、383、384、385、401、402、403、419、420、421、437、438、439、455、456、457、473、474、475、491、492、493、509、510、511、527、528、529、545、546、547、563、564、565、581、582、583、599、600、601、617、618、または 619 で示されるヌクレオチド配列と少なくとも 95% 同一であるアミノ酸配列を含み、IL-22 と特異的に結合する、単離された抗体またはその抗原結合フラグメント。

10

【請求項 2】

配列番号 14、15、16、32、33、34、50、51、52、68、69、70、86、87、88、104、105、106、122、123、124、140、141、142、158、159、160、176、177、178、194、195、196、212、213、214、230、231、232、248、249、250、266、267、268、284、285、286、302、303、304、320、321、322、338、339、340、356、357、358、374、375、376、392、393、394、410、411、412、428、429、430、446、447、448、464、465、466、482、483、484、500、501、502、518、519、520、536、537、538、554、555、556、572、573、574、590、591、592、608、609、610、626、627 または 628 で示されるヌクレオチド配列と少なくとも 95% 同一であるヌクレオチド配列によりコードされるアミノ酸配列を含み、IL-22 と特異的に結合する、単離された抗体またはその抗原結合フラグメント。

20

【請求項 3】

配列番号 5、6、7、23、24、25、41、42、43、59、60、61、77、78、79、95、96、97、113、114、115、131、132、133、149、150、151、167、168、169、185、186、187、203、204、205、221、222、223、239、240、241、257、258、259、275、276、277、293、294、295、311、312、313、329、330、331、347、348、349、365、366、367、383、384、385、401、402、403、419、420、421、437、438、439、455、456、457、473、474、475、491、492、493、509、510、511、527、528、529、545、546、547、563、564、565、581、582、583、599、600、601、617、618、または 619 示されるようなアミノ酸配列を含む、請求項 1 に記載の抗体。

30

40

【請求項 4】

軽鎖可変領域を有する V_L ドメインと重鎖可変領域を有する V_H ドメインとを含み、その重鎖可変領域が配列番号 8、9、10、26、27、28、44、45、46、62、63、64、80、81、82、98、99、100、116、117、118、134、135、136、152、153、154、170、171、172、188、189、190、206、207、208、224、225、226、242、243、244、260、261、262、278、279、280、296、297、298、314、315、316、332、333、334、350、351、352、368、369、370、386、387、388、404、405、406、422、423、424

50

、 440、441、442、458、459、460、476、477、478、494
 、 495、496、512、513、514、530、531、532、548、549
 、 550、566、567、568、584、585、586、602、603、604
 、 620、621または622の1つまたは複数を含む、IL-22と特異的に結合する
 、単離された抗体またはその抗原結合フラグメント。

【請求項5】

軽鎖可変領域が配列番号11、12、13、29、30、31、47、48、49、6
 5、66、67、83、84、85、101、102、103、119、120、121
 、 137、138、139、155、156、157、173、174、175、191
 、 192、193、209、210、211、227、228、229、245、246
 、 247、263、264、265、281、182、183、299、300、301
 、 317、318、319、335、336、337、353、354、355、371
 、 372、373、389、390、391、407、408、409、425、426
 、 427、443、444、445、461、462、463、479、480、481
 、 497、498、499、515、516、517、533、534、535、551
 、 552、553、569、570、571、587、588、589、605、606
 、 607、623、624および625の1つまたは複数を含む、請求項4に記載の抗体
 。

10

【請求項6】

V_Hドメインが配列番号5、23、41、59、77、95、113、131、149
 、 167、185、203、221、239、257、275、293、311、329
 、 347、365、383、401、419、437、455、473、491、509
 、 527、545、563、581、599または617のいずれか1つのアミノ酸配列
 を含み、V_Lドメインが配列番号6、24、42、60、78、96、114、132、
 150、168、186、204、222、240、258、276、294、312、
 330、348、366、384、402、420、438、456、474、492、
 510、528、546、564、582、600または618のいずれか1つのアミノ
 酸配列を含む、請求項5に記載の抗体。

20

【請求項7】

a) V_Hドメインが配列番号167または491で示されるアミノ酸配列を含み、かつ
 b) V_Lドメインが配列番号168または492で示されるアミノ酸配列を含む、
 請求項6に記載の抗体。

30

【請求項8】

a) V_Hドメインが配列番号293または545で示されるアミノ酸配列を含み、かつ
 b) V_Lドメインが配列番号294または546で示されるアミノ酸配列を含む、
 請求項6に記載の抗体。

【請求項9】

a) V_Hドメインが配列番号203または617で示されるアミノ酸配列を含み、かつ
 b) V_Lドメインが配列番号204または618で示されるアミノ酸配列を含む、
 請求項6に記載の抗体。

40

【請求項10】

a) V_Hドメインが配列番号347または599で示されるアミノ酸配列を含み、かつ
 b) V_Lドメインが配列番号348または600で示されるアミノ酸配列を含む、
 請求項6に記載の抗体。

【請求項11】

重鎖可変領域が
 a) 配列番号170または494、
 b) 配列番号171または495、および
 c) 配列番号172または496
 を含む、請求項4に記載の抗体。

50

【請求項 1 2】

重鎖可変領域が

- a) 配列番号 2 9 6 または 5 4 8、
- b) 配列番号 2 8 7 または 5 4 9、および
- c) 配列番号 2 9 8 または 5 0 0

を含む、請求項 4 に記載の抗体。

【請求項 1 3】

重鎖可変領域が

- a) 配列番号 2 0 6 または 6 2 0、
- b) 配列番号 2 0 7 または 6 2 1、および
- c) 配列番号 2 0 8 または 6 2 2

を含む、請求項 4 に記載の抗体。

10

【請求項 1 4】

重鎖可変領域が

- a) 配列番号 3 5 0 または 6 0 2、
- b) 配列番号 3 5 1 または 6 0 3、および
- c) 配列番号 3 5 2 または 6 0 4

を含む、請求項 4 に記載の抗体。

【請求項 1 5】

軽鎖可変領域が

- a) 配列番号 1 7 3 または 4 9 7、
- b) 配列番号 1 7 4 または 4 9 8、および
- c) 配列番号 1 7 5 または 4 9 9

を含む、請求項 1 1 に記載の抗体。

20

【請求項 1 6】

軽鎖可変領域が

- a) 配列番号 2 9 9 または 5 5 1、
- b) 配列番号 3 0 0 または 5 5 2、および
- c) 配列番号 3 0 1 または 5 5 3

を含む、請求項 1 2 に記載の抗体。

30

【請求項 1 7】

軽鎖可変領域が

- a) 配列番号 2 0 9 または 6 2 3、
- b) 配列番号 2 1 0 または 6 2 4、および
- c) 配列番号 2 1 1 または 6 2 5

を含む、請求項 1 3 に記載の抗体。

【請求項 1 8】

軽鎖可変領域が

- a) 配列番号 3 5 3 または 6 0 5、
- b) 配列番号 3 5 4 または 6 0 6、および
- c) 配列番号 3 5 5 または 6 0 7

を含む、請求項 1 4 に記載の抗体。

40

【請求項 1 9】

G I L 0 1、G I L 1 6、G I L 4 5、G I L 6 0、G I L 6 8、G I L 9 2、0 9 7
D 0 9、0 6 2 A 0 9、0 6 2 G 0 5、0 8 7 B 0 3、3 6 7 D 0 4、3 6 8 D 0 4、1
6 6 B 0 6、1 6 6 G 0 5、3 7 5 G 0 6、3 7 6 B 1 0、3 5 4 A 0 8、3 5 5 B 0 6
、3 5 5 E 0 4 または 3 5 6 A 1 1 により認識される I L - 2 2 エピトープと特異的に結
合して、G I L 0 1、G I L 1 6、G I L 4 5、G I L 6 0、G I L 6 8、G I L 9 2、
0 9 7 D 0 9、0 6 2 A 0 9、0 6 2 G 0 5、0 8 7 B 0 3、3 6 7 D 0 4、3 6 8 D 0
4、1 6 6 B 0 6、1 6 6 G 0 5、3 7 5 G 0 6、3 7 6 B 1 0、3 5 4 A 0 8、3 5 5

50

B06、355E04または356A11とヒトIL-22の結合を競合的に阻害する、単離された抗体またはその抗原結合フラグメント。

【請求項20】

配列番号5、6、7、23、24、25、41、42、43、59、60、61、77、78、79、95、96、97、113、114、115、131、132、133、149、150、151、167、168、169、185、186、187、203、204、205、221、222、223、239、240、241、257、258、259、275、276、277、293、294、295、311、312、313、329、330、331、347、348、349、365、366、367、383、384、385、401、402、403、419、420、421、437、438、439、455、456、457、473、474、475、491、492、493、509、510、511、527、528、529、545、546、547、563、564、565、581、582、583、599、600、601、617、618または619で示されるようなV_Hドメイン、V_LドメインまたはF_vフラグメントを含む、請求項19に記載の抗体。

10

【請求項21】

V_Hドメインが配列番号167または491を含む、請求項20に記載の抗体。

【請求項22】

V_Hドメインが配列番号168または492を含む、請求項21に記載の抗体。

【請求項23】

V_Hドメインが配列番号293または545を含む、請求項20に記載の抗体。

20

【請求項24】

V_Hドメインが配列番号294または546を含む、請求項23に記載の抗体。

【請求項25】

V_Hドメインが配列番号203または617を含む、請求項20に記載の抗体。

【請求項26】

V_Hドメインが配列番号204または618を含む、請求項25に記載の抗体。

【請求項27】

V_Hドメインが配列番号347または599を含む、請求項20に記載の抗体。

【請求項28】

V_Hドメインが配列番号348または600を含む、請求項27に記載の抗体。

30

【請求項29】

087B03により認識されるIL-22エピトープと特異的に結合して、087B03とヒトIL-22の結合を競合的に阻害する、請求項19に記載の抗体。

【請求項30】

354A08により認識されるIL-22エピトープと特異的に結合して、354A08とヒトIL-22の結合を競合的に阻害する、請求項19に記載の抗体。

【請求項31】

368D04により認識されるIL-22エピトープと特異的に結合して、368D04とヒトIL-22の結合を競合的に阻害する、請求項19に記載の抗体。

40

【請求項32】

356A11により認識されるIL-22エピトープと特異的に結合して、356A11とヒトIL-22の結合を競合的に阻害する、請求項19に記載の抗体。

【請求項33】

087B03である、請求項22に記載の抗体。

【請求項34】

354A08である、請求項24に記載の抗体。

【請求項35】

368D04である、請求項26に記載の抗体。

【請求項36】

50

356A11である、請求項28に記載の抗体。

【請求項37】

抗体のヒトIL-22に対する会合定数が少なくとも 10^{10} M^{-1} である、請求項1または2の抗体。

【請求項38】

IL-22により媒介されるBAF3細胞の増殖を 150 pM 以下の IC_{50} で遮断し、該BAF3細胞がヒトIL-22受容体を含む、請求項1または2に記載の抗体。

【請求項39】

IL-22により媒介されるHT29細胞からのGRO α 分泌を 150 pM 以下の IC_{50} で遮断する、請求項1または2に記載の抗体。

10

【請求項40】

IL-22と特異的に結合し、その抗体のヒトIL-22に対する会合定数が少なくとも 10^{10} M^{-1} である、単離された抗体またはその抗原結合フラグメント。

【請求項41】

IL-22により媒介されるBAF3細胞の増殖を 150 pM 以下の IC_{50} で遮断し、該BAF3細胞がヒトIL-22受容体を含む、単離された抗体またはその抗原結合フラグメント。

【請求項42】

配列番号1で示される配列中の少なくとも100個の連続するアミノ酸の配列と少なくとも95%同一であるアミノ酸配列と特異的に結合する、請求項1または2に記載の抗体。

20

【請求項43】

IL-22とIL-22R、またはIL-22RとIL-10R2を含む受容体複合体の結合を阻害する、請求項1または2に記載の抗体。

【請求項44】

ヒトである、請求項1または2に記載の抗体。

【請求項45】

IgG1またはIgG4である、請求項1または2に記載の抗体。

【請求項46】

請求項1または2に記載の抗体を含む、医薬組成物。

30

【請求項47】

請求項1または2に記載の抗体をコードする、単離された核酸。

【請求項48】

請求項47に記載の核酸を含む、発現ベクター。

【請求項49】

請求項48に記載のベクターで形質転換された宿主細胞。

【請求項50】

細菌、哺乳類細胞、酵母細胞、植物細胞または昆虫細胞である、請求項49に記載の宿主細胞。

【請求項51】

抗体の発現を可能とする条件下で請求項50に記載の宿主細胞を培養すること、および細胞培養物から抗体を単離することを含む、IL-22と結合する抗体を生産する方法。

40

【請求項52】

配列番号5~13、23~31、41~49、59~67、77~85、95~103、113~121、131~139、149~157、167~175、185~193、203~211、221~229、239~247、257~265、275~283、293~301、311~319、329~337、347~355、365~373、383~391、401~409、419~427、437~445、455~463、473~481、491~499、509~517、527~535、545~553、563~571、581~589、599~607または617~625の1つで示さ

50

れるアミノ酸配列を含むタンパク質をコードする、請求項 47 に記載の核酸。

【請求項 53】

配列番号 14 ~ 22、32 ~ 40、50 ~ 58、68 ~ 76、86 ~ 94、104 ~ 112、122 ~ 130、140 ~ 148、158 ~ 166、176 ~ 184、194 ~ 202、212 ~ 220、230 ~ 238、248 ~ 256、266 ~ 274、284 ~ 292、302 ~ 310、320 ~ 328、338 ~ 346、356 ~ 364、374 ~ 382、392 ~ 400、410 ~ 418、428 ~ 436、446 ~ 454、464 ~ 472、482 ~ 490、500 ~ 508、518 ~ 526、536 ~ 544、554 ~ 562、572 ~ 580、590 ~ 598、608 ~ 616 または 626 ~ 634 の 1 つのヌクレオチド配列を含む、請求項 52 に記載の核酸。

10

【請求項 54】

配列番号 167、168、169、170、171、172、173、174、175、491、492、493、494、495、496、497、498 または 499 で示されるアミノ酸配列を含むタンパク質をコードする、請求項 52 に記載の核酸。

【請求項 55】

配列番号 293、294、295、296、297、298、299、300、301、545、546、547、548、549、550、551、552 または 553 で示されるアミノ酸配列を含むタンパク質をコードする、請求項 52 に記載の核酸。

【請求項 56】

配列番号 203、204、205、206、207、208、209、210、211、617、618、619、620、621、622、623、624 または 625 で示されるアミノ酸配列を含むタンパク質をコードする、請求項 52 に記載の核酸。

20

【請求項 57】

配列番号 347、348、349、350、351、352、353、354、355、599、600、601、602、603、604、605、606 または 697 で示されるアミノ酸配列を含むタンパク質をコードする、請求項 52 に記載の核酸。

【請求項 58】

配列番号 176、177、178、179、180、181、182、183、184、500、501、502、503、504、505、506、507 または 508 のヌクレオチド配列を含む、請求項 53 に記載の核酸。

30

【請求項 59】

配列番号 302、303、304、305、306、307、308、309、310、554、555、556、557、558、559、560、561 または 562 のヌクレオチド配列を含む、請求項 53 に記載の核酸。

【請求項 60】

配列番号 212、213、214、215、216、217、218、219、220、626、627、628、629、630、631、632、633 または 634 のヌクレオチド配列を含む、請求項 53 に記載の核酸。

【請求項 61】

配列番号 356、357、358、359、360、361、362、363、364、608、609、610、611、612、613、614、615 または 616 のヌクレオチド配列を含む、請求項 53 に記載の核酸。

40

【請求項 62】

請求項 1 または 2 に記載の抗体を含む、診断キット。

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0001】

本発明は、インターロイキン - 22 (IL - 22)、特に、ヒト IL - 22 と結合する抗体、例えばヒト抗体、およびその抗原結合フラグメント、ならびに IL - 22 に関連する活性の調節におけるそれらの使用に関する。本明細書に開示される抗体は、IL - 22

50

に関連する障害、例えば、関節炎を含む自己免疫障害の診断、予防および/または治療に有用である。

【背景技術】

【0002】

抗原は免疫応答を誘発し、2つの最大のリンパ球集団であるT細胞とB細胞を活性化する。抗原に出くわした後、T細胞は増殖し、エフェクター細胞へと分化し、一方、B細胞は増殖し、抗体分泌形質細胞へと分化する。これらのエフェクター細胞は、リンパ球および他の細胞により分泌される小タンパク質 (< 約30kDa) であるサイトカインを分泌し、かつ/またはサイトカインに応答する。

【0003】

インターロイキン-22 (IL-22) は、IL-10と配列相同性を示すクラスIIサイトカインである。その発現はT細胞ではIL-9またはConAによりアップレギュレーションされる (Dumoutier L. et al. (2000) Proc Natl Acad Sci USA 97(18):10144-9)。さらなる研究では、IL-22 mRNAの発現がLPS投与に反応してin vivoで誘導されること、およびIL-22が急性期応答の指標であるパラメーターを変調することを示している (Dumoutier L. et al. (2000); Pittman D. et al. (2001) Genes and Immunity 2:172)。さらに、IL-22は、-デフェンシン、S100A7、S100A8およびS100Aを含む、宿主防御に関連する抗微生物ペプチドの発現を増強する。Wolk et al., Immunity, 21:241-54 (2004); Boniface et al., J. Immunol. 174:3695-3702 (2005); Liang et al., J. Exp. Med., 203(10):2271-79 (2006)。考え合わせると、これらの所見は、IL-22は炎症に役割を果たしていることを示す (Kotenko S.V. (2002) Cytokine & Growth Factor Reviews 13(3):223-40)。

10

20

【0004】

IL-22はII型サイトカイン受容体ファミリー (CRF2) の2つのメンバーであるIL-22RおよびIL-10R2からなる受容体複合体と結合すると考えられている (Xie M. H. et al. (2000) J Biol Chem 275(40):31335-9; Kotenko S.V. et al. (2001) J Biol Chem 276(4):2725-32)。IL-22受容体の両鎖はいくつかの器官で構成的に発現される。これらの器官に由来する (derived form) 上皮細胞系統はin vitroでIL-22に反応する (Kotenko S.V. (2002) Cytokine & Growth Factor Reviews 13(3):223-40)。

30

IL-22はJAK/STAT3およびERK経路ならびに他のMAPK経路の中間体の活性化を誘導する (Dumoutier L. et al. (2000) 前掲; Xie M.H. et al. (2000) 前掲; Dumoutier L. et al. (2000) J Immunol 164(4):1814-9; Kotenko S.V. et al. (2001) J Biol Chem 276(4):2725-32; Lejeune, D. et al. (2002) J Biol Chem 277(37):33676-82)。

【0005】

CRF2メンバーは、IFN γ 、IFN α 、血液凝固因子VIIa、IL-10およびIL-10関連タンパク質IL-19、IL-20、IL-22、IL-24、IL-26、ならびに最近同定されたIFN様サイトカインIL-28およびIL-29の受容体である (Kotenko S.V. (2002) Cytokine & Growth Factor Reviews 13(3):223-40; Kotenko, S.V. et al. (2000) Oncogene 19(21):2557-65; Sheppard, P. et al. (2003) Nature Immunology 4(1):63-8; Kotenko, S.V. et al. (2003) Nature Immunology 4(1):69-77)。これらの膜受容体の他、CRF2ファミリーもまた、IL-22に特異的であり、その活性を遮断する可溶性タンパク質、IL-22結合タンパク質 (IL-22BP) を含む (Dumoutier, L. et al. (2001) J Immunol 166(12):7090-5; Kotenko, S.V. et al. (2001) J Immunol 166(12):7096-103; Xu, W. et al (2001) Proc Natl Acad Sci USA 98(17):9511-6; Gruenberg, B.H. et al. (2001) Genes & Immunity 2(6):329-34; Wei C-C et al. (2003) Genes & Immunity 4:204-211)。IL-22受容体複合体はIL-22独自のものであり、各鎖 (すなわち、IL-22RおよびIL-10R2) は他のCRF2メンバーと共通のものであって、IL-20、IL-24 (IL-22R/IL-20R2)、IL-28、IL-29 (IFN γ -R1/IL-10R2) およびIL-10 (

40

50

IL - 10R1 / IL - 10R2)を含む他のサイトカインに対する機能的受容体を規定している(Dumoutier, L. et al. (2001) J. Immunol. 167(7):3545-9; Wang, M. et al. (2002) J Biol Chem 277(9):7341-7; Parrish-Novak, J. et al. (2002) J Biol Chem 277(49) :47517-23; Kotenko, S.V. et al. (1997) EMBO J. 16(19):5894-903; Spencer, S.D. et al. (1998) J Exp Med 187(4):571-8)。

【0006】

CRF2からなる受容体の両鎖はシグナル伝達に必要である。構成受容体の一方の鎖は、サイトカインに対するその高い親和性に基づき、リガンド結合鎖(例えばIFN R1)として歴史上定義されている。他方の鎖(例えばIFN R2)はヘルパー鎖または補助鎖として同定されており、サイトカインだけに最小の親和性を示す(Kotenko, S.V. et al. (2000) Oncogene 19(21):2557-65)。IL - 22については、IL - 22Rは次にIL - 22 / IL - 22R複合体と結合するIL - 10R2を含む高親和性受容体サブユニットである(Li, J. et al. (2004) Int. Immunopharmacol. 4(5):673-708; Logsdon, N. J. et al. (2002) J. Interferon Cytokine Res 22(11):1099-1112)。

【発明の開示】

【発明が解決しようとする課題】

【0007】

本願は、少なくとも1つには、インターロイキン - 22(「IL - 22」)、特に、ヒトIL - 22と高い親和性および特異性で結合する抗体およびその抗原結合フラグメントなどのIL - 22結合剤を提供する。本発明の抗体およびその抗原結合フラグメントはまた、本明細書においてそれぞれ「抗IL - 22抗体」および「そのフラグメント」とも呼ばれる。

【課題を解決するための手段】

【0008】

一態様において、抗体またはそのフラグメントは、IL - 22活性を低減する、阻害する、またはIL - 22活性に拮抗する。このような抗体は、IL - 22活性と拮抗することにより免疫応答またはIL - 22関連障害を調節するために使用することができる。他の実施形態では、抗IL - 22抗体は診断的に、またはIL - 22発現細胞に治療薬もしくは細胞傷害性剤を送達するための標的化抗体として使用することができる。よって、本発明の抗IL - 22抗体はIL - 22関連障害、例えば、自己免疫障害、例えば、関節炎(関節リウマチ、若年性関節リウマチ、変形性関節症、乾癬性関節炎、狼瘡性関連関節炎または強直性脊椎炎)、硬皮症、全身性紅斑性狼瘡(systemic lupus erythematosis)、HIV、シェーグレン症候群、脈管炎、多発性硬化症、自己免疫甲状腺炎、皮膚炎(アトピー性皮膚炎および湿疹性皮膚炎)、重症筋無力症、炎症性腸疾患(IBD)、クローン病、大腸炎、真性糖尿病(I型);例えば、皮膚(例えば、乾癬)、心血管系(例えば、アテローム性動脈硬化症)、神経系(例えば、アルツハイマー病)、肝臓(例えば、肝炎)、腎臓(例えば、腎炎)および膵臓(例えば、膵炎)などの炎症症状;心血管障害、例えば、コレステロール代謝障害、酸素フリーラジカル傷害、虚血;創傷治癒関連の障害;呼吸器系障害、例えば、喘息およびCOPD(例えば、嚢胞性繊維症);急性炎症症状(例えば、内毒素血症、敗血症(sepsis)および敗血症(septicaemia)、毒性ショック症候群および感染症);移植拒絶およびアレルギーを診断、治療および/または予防するのに有用である。一態様において、IL - 22関連障害は関節障害、例えば、関節リウマチ、若年性関節リウマチ、変形性関節症、乾癬性関節炎または強直性脊椎炎の1以上から選択される障害;呼吸器系障害(例えば、喘息、慢性閉塞性肺疾患(COPD));または例えば、皮膚(例えば、乾癬)、心血管系(例えば、アテローム性動脈硬化症)、神経系(例えば、アルツハイマー病)、肝臓(例えば、肝炎)、腎臓(例えば、腎炎)、膵臓(例えば、膵炎)および消化器官(例えば、大腸炎、クローン病およびIBD)などの炎症症状である。

【0009】

よって、一態様において、本発明は、IL - 22、特に、ヒトIL - 22と結合する単

10

20

30

40

50

離された抗体を対象とする。ある特定の実施形態では、抗IL-22抗体は次の特徴のうち少なくとも1つを有し得る(1)モノクローナルまたは単一特異性抗体であること;ヒト抗体であること;(3)in vitro作製抗体であること;(4)in vivo作製抗体(例えば、トランスジェニックマウス系)であること;(5)IL-22と少なくとも $10^{12} M^{-1}$ の会合定数で結合すること;(6)IL-22と少なくとも $10^{11} M^{-1}$ の会合定数で結合すること;(7)IL-22と少なくとも $10^{10} M^{-1}$ の会合定数で結合すること;(8)IL-22と少なくとも $10^9 M^{-1}$ の会合定数で結合すること;(9)IL-22と少なくとも $10^6 M^{-1}$ の会合定数で結合すること;(10)IL-22と500 nM以下の解離定数で結合すること;(11)IL-22と10 nM以下の解離定数で結合すること;(12)IL-22と150 pM以下の解離定数で結合すること;(13)IL-22と60 pM以下の解離定数で結合すること;(14)IL-22とIL-22RまたはIL-22RおよびIL-10R2の受容体複合体の結合を IC_{50} 10 nM以下で阻害すること;(15)IL-22により媒介される、IL-22受容体で操作されたBaF3細胞の増殖を、一態様では1 nM以下の IC_{50} で、別の実施形態では150 pM以下の IC_{50} で、別の実施形態では100 pM以下の IC_{50} で、別の実施形態では10 pM以下の IC_{50} で遮断すること;および(16)IL-22により媒介されるHT29細胞からのGRO α 分泌を、一態様では1 nM以下の IC_{50} で、別の実施形態では150 pM以下の IC_{50} で、別の実施形態では10 pM以下の IC_{50} で遮断すること。IL-22により媒介されるBaF3細胞の増殖およびIL-22により媒介されるHT29細胞からのGRO α の分泌は実施例に記載されるように測定することができる。

【0010】

本発明の抗体の非限定例としての実施形態は、本明細書では、「GIL01」、「GIL16」、「GIL45」、「GIL60」、「GIL68」、「GIL92」、「097D09」、「062A09」、「062G05」、「087B03」、「367D04」、「368D04」、「166B06」、「166G05」、「375G06」、「376B10」、「354A08」、「355B06」、「355E04」および「356A11」と呼ばれる。これらの抗体はジャームラインニングされ(germlined)ていてもされていなくてもよい。別の実施形態では、抗体は356A11、354A08、087B03および368D04から選択される。本発明の抗体は、GIL01、GIL16、GIL45、GIL60、GIL68、GIL92、097D09、062A09、062G05、087B03、367D04、368D04、166B06、166G05、375G06、376B10、354A08、355B06、355E04または356A11が結合するものと同じIL-22エピトープまたは類似のエピトープ(例えば、オーバーラッピングエピトープ)と特異的に結合し得る。他の実施形態では、抗体はIL-22のフラグメント、例えば、配列番号1で示されるアミノ酸配列またはそれと少なくとも85%、90%、95%、96%、97%、98%、99%またはそれ以上同一の配列の、少なくとも10、20、50、75、100、150または200個の連続するアミノ酸のフラグメントと特異的に結合する。他の実施形態では、抗体は、GIL01、GIL16、GIL45、GIL60、GIL68、GIL92、097D09、062A09、062G05、087B03、367D04、368D04、166B06、166G05、375G06、376B10、354A08、355B06、355E04または356A11の少なくとも1つとその標的エピトープの結合を競合的に阻害する。

【0011】

一態様において、本発明の抗体は、GIL01、GIL16、GIL45、GIL60、GIL68、GIL92、097D09、062A09、062G05、087B03、367D04、368D04、166B06、166G05、375G06、376B10、354A08、355B06、355E04または356A11の V_H フラグメントの V_H ドメイン、 V_L ドメインまたはその組合せを含む。例えば、抗体は、表1および7で示されるようなアミノ酸配列(V_H は配列番号5、23、41、59、77、95、

113、131、149、167、185、203、221、239、257、275、293、311、329、347、365、383、401、419、437、455、473、491、509、527、545、563、581、599または617、V_Lは配列番号6、24、42、60、78、96、114、132、150、168、186、204、222、240、258、276、294、312、330、348、366、384、402、420、438、456、474、492、510、528、546、564、582、600または618)またはそれと実質的に同一の配列(例えば、それと約85%、90%、95%、96%、97%、98%、99%またはそれ以上同一であるか、または配列番号5、6、23、24、41、42、59、60、77、78、95、96、113、114、131、132、149、150、167、168、185、186、203、204、221、222、239、240、257、258、275、276、293、294、311、312、329、330、347、348、365、366、383、384、401、402、419、420、437、438、455、456、473、474、491、492、509、510、527、528、545、546、563、564、581、582、599、600、617または618と1、2、5、10または15個のアミノ酸残基だけが異なる配列)を有するV_Hおよび/またはV_Lドメインを含む。

10

【0012】

別の実施形態では、本発明の抗体は、356A11、354A08、087B03および368D04から選択される抗体のF_vフラグメントのV_Hドメイン、V_Lドメインまたはその組合せを含む。この実施形態において、抗体またはその抗原結合フラグメントは

20

【0013】

配列番号167または491で示されるアミノ酸配列を含むV_Hドメインおよび/または配列番号168または492で示されるアミノ酸配列を含むV_Lドメイン(087B03)；

【0014】

配列番号293または545で示されるアミノ酸配列を含むV_Hドメインおよび/または配列番号294または546で示されるアミノ酸配列を有するV_Lドメイン(354A08)；

30

【0015】

配列番号203または617で示されるアミノ酸配列を含むV_Hドメインおよび/または配列番号204または618で示されるアミノ酸配列を含むV_Lドメイン(368D04)；または

【0016】

配列番号347または599で示されるアミノ酸配列を含むV_Hドメインおよび/または配列番号348または600で示されるアミノ酸配列を含むV_Lドメイン(356A11)

を含む。

【0017】

別の実施形態では、抗体は、表1および7で示されるようなヌクレオチド配列(V_Hは配列番号14、32、50、68、86、104、122、140、158、176、194、212、230、248、266、284、302、320、338、356、374、392、410、428、446、464、482、500、518、536、554、572、590、608または626、V_Lは配列番号15、33、51、69、87、105、123、141、159、177、195、213、231、249、267、285、303、321、339、357、375、393、411、429、447、465、483、501、519、537、555、573、591、609または627)またはそれと実質的に同一の配列(例えば、それと少なくとも約85%、90%、95%、96%、97%、98%、99%またはそれ以上同一であるか、または配列

40

50

番号 14、15、32、33、50、51、68、69、86、87、104、105、122、123、140、141、158、159、176、177、194、195、212、213、230、231、248、249、266、267、284、285、302、303、320、321、338、339、356、357、374、375、392、393、410、411、428、429、446、447、464、465、482、483、500、501、518、519、536、537、554、555、572、573、590、591、608、609、626または627と1、2、3、6、15、30または45個のヌクレオチドだけが異なる配列)を有する核酸によりコードされるV_Hおよび/またはV_Lドメインを含む。

【0018】

他の実施形態では、抗体は、表1および7で示されるようなアミノ酸配列(配列番号7、25、43、61、79、97、115、133、151、169、187、205、223、241、259、277、295、313、331、349、367、385、403、421、439、457、475、493、511、529、547、565、583、601または619)またはそれと実質的に同一の配列(例えば、それと少なくとも約85%、90%、95%、96%、97%、98%、99%またはそれ以上同一であるか、または配列番号7、25、43、61、79、97、115、133、151、169、187、205、223、241、259、277、295、313、331、349、367、385、403、421、439、457、475、493、511、529、547、565、583、601または619と1、2、5、10、15、20、30または35個のアミノ酸残基だけが異なる配列)を有するFvドメインを含む。別の実施形態では、本発明の抗体は、356A11(配列番号349または601)、354A08(配列番号295または547)、087B03(配列番号169または493)および368D04(配列番号205または619)から選択される抗体のFvドメインを含む。別の実施形態では、抗体は、表1および7で示されるようなヌクレオチド配列(配列番号16、34、52、70、88、106、124、142、160、178、196、214、232、250、268、286、304、322、340、358、376、394、412、430、448、466、484、502、520、538、556、574、592、610または628)またはそれと実質的に同一の配列(例えば、それと少なくとも約85%、90%、95%、96%、97%、98%、99%またはそれ以上同一であるか、または配列番号16、34、52、70、88、106、124、142、160、178、196、214、232、250、268、286、304、322、340、358、376、394、412、430、448、466、484、502、520、538、556、574、592、610または628と1、2、3、6、15、30、45、60、90または105個のヌクレオチド配列だけが異なる配列)を有する核酸によりコードされるFvドメインを含む。さらに他の実施形態では、抗体は、これらのV_HおよびV_Lドメインの少なくとも1つの相補性決定領域(CDR)を含む。例えば、この抗体は、表1および7で示されるか、または表1および7の配列に含まれるアミノ酸配列(配列番号5、7、8、9、10、23、25、26、27、28、41、43、44、45、46、59、61、62、63、64、77、79、80、81、82、95、97、98、99、100、113、115、116、117、118、131、133、134、135、136、149、151、152、153、154、167、169、170、171、172、185、187、188、189、190、203、205、206、207、208、221、223、224、225、226、239、241、242、243、244、257、259、260、261、262、275、277、278、279、280、293、295、296、297、298、311、313、314、315、316、329、331、332、333、334、347、349、350、351、352、365、367、368、369、370、383、385、386、387、388、401、403、404、405、406、419、421、422、423、424、437、439、440、441、44

10

20

30

40

50

2、455、457、458、459、460、473、475、476、477、478、491、493、494、495、496、509、511、512、513、514、527、529、530、531、532、545、547、548、549、550、563、565、566、567、568、581、583、584、585、586、599、601、602、603、604、617、619、620、621または622)またはそれと実質的に相同な配列(例えば、それと少なくとも約85%、90%、95%、96%、97%、98%、99%またはそれ以上同一の配列)を有するV_Hドメインの1つ、2つまたは3つのCDRを含み得る。別の実施形態では、本発明の抗体は、356A11、354A08、087B03および368D04から選択される抗体のV_Hドメインの1つ、2つまたは3つのCDRを含む。この実施形態では、抗体またはその抗原結合フラグメントは、

【0019】

a) 配列番号170または494; b) 配列番号171または495; および/または
c) 配列番号172または496(087B03);

【0020】

a) 配列番号296または548; b) 配列番号297または549; および/または
c) 配列番号298または550(354A08);

【0021】

a) 配列番号206または620; b) 配列番号207または621; および/または
c) 配列番号208または622(368D04); または

【0022】

a) 配列番号350または602; b) 配列番号351または603; および/または
c) 配列番号352または604(356A11)

を含む重鎖可変領域を含む。

【0023】

別の実施形態では、抗体は、表1および7で示されるか、または表1および7の配列に含まれるアミノ酸配列(配列番号6、7、11、12、13、24、25、29、30、31、42、43、47、48、49、60、61、65、66、67、78、79、83、84、85、96、97、101、102、103、114、115、119、120、121、132、133、137、138、139、150、151、155、156、157、168、169、173、174、175、186、187、191、192、193、204、205、209、210、211、222、223、227、228、229、240、241、245、246、247、258、259、263、264、265、276、277、281、282、283、294、295、299、300、301、312、313、317、318、319、330、331、335、336、337、348、349、353、354、355、366、367、371、372、373、384、385、389、390、391、402、403、407、408、409、420、421、425、426、427、438、439、443、444、445、456、457、461、462、463、474、475、479、480、481、492、493、497、498、499、510、511、515、516、517、528、529、533、534、535、546、547、551、552、553、564、565、569、570、571、582、583、587、588、589、600、601、605、606、607、618、619、623、624または625)またはそれと実質的に同一の配列(例えば、それと少なくとも約85%、90%、95%、96%、97%、98%、99%またはそれ以上同一の配列)を有するV_Lドメインの1つ、2つまたは3つのCDRを含み得る。別の実施形態では、本発明の抗体は、356A11、354A08、087B03および368D04から選択される抗体のV_Lドメインの1つ、2つまたは3つのCDRを含む。この実施形態において、抗体またはその抗原結合フラグメントは、

【0024】

10

20

30

40

50

の上皮細胞に存在するその受容体を介して I L - 2 2 のシグナル伝達を変調することにより、I L - 2 2 関連炎症症状を調節するために使用することができる。

【 0 0 3 2 】

別の態様において、本発明は、I L - 2 2 関連障害を有する対象を治療する方法を対象とする。この方法は、その対象に免疫細胞の少なくとも 1 つの I L - 2 2 活性を阻害するのに十分な量の抗 I L - 2 2 抗体を投与し、それにより I L - 2 2 関連障害を治療することを含む。

【 0 0 3 3 】

この抗 I L - 2 2 抗体は対象に単独または本明細書に記載されるような他の治療薬と組み合わせて投与することができる。対象は哺乳類、例えばヒトであり得る。例えば、この方法は、自己免疫障害、例えば、関節炎（関節リウマチ、若年性関節リウマチ、変形性関節症、乾癬性関節炎、狼瘡性関連関節炎または強直性脊椎炎）、硬皮症、全身性紅斑性狼瘡(systemic lupus erythematosis)、H I V、シェーグレン症候群、脈管炎、多発性硬化症、自己免疫甲状腺炎、皮膚炎（アトピー性皮膚炎および湿疹性皮膚炎）、重症筋無力症、炎症性腸疾患（I B D）、クローン病、大腸炎、真性糖尿病（I 型）；例えば、皮膚（例えば、乾癬）、心血管系（例えば、アテローム性動脈硬化症）、神経系（例えば、アルツハイマー病）、肝臓（例えば、肝炎）、腎臓（例えば、腎炎）および膵臓（例えば、膵炎）などの炎症症状；心血管障害、例えば、コレステロール代謝障害、酸素フリーラジカル傷害、虚血；創傷治癒関連の障害；呼吸器系障害、例えば、喘息および C O P D（例えば、嚢胞性繊維症）；急性炎症症状（例えば、内毒素血症、敗血症(sepsis)および敗血症(septicaemia)、毒性ショック症候群および感染症）；移植拒絶およびアレルギーなどの I L - 2 2 関連障害を有する対象を治療するために使用することができる。一態様において、I L - 2 2 関連障害は関節障害、例えば、関節リウマチ、若年性関節リウマチ、変形性関節症、乾癬性関節炎または強直性脊椎炎の 1 以上から選択される障害；呼吸器系障害（例えば、喘息、慢性閉塞性肺疾患（C O P D））；または例えば、皮膚（例えば、乾癬）、心血管系（例えば、アテローム性動脈硬化症）、神経系（例えば、アルツハイマー病）、肝臓（例えば、肝炎）、腎臓（例えば、腎炎）、膵臓（例えば、膵炎）および消化器官（例えば、大腸炎、クローン病および I B D）などの炎症症状である。

【 0 0 3 4 】

別の態様において、本発明は、対象において急性期応答を低下させる、阻害するまたは低減する方法を対象とする。この方法は、対象に、対象において急性期応答を低下させる、阻害するまたは低減するのに十分な量の I L - 2 2 結合剤、例えば、I L - 2 2 アンタゴニスト（例えば、本明細書に記載されるような抗 I L - 2 2 抗体またはそのフラグメント）を投与することを含む。一態様において、対象は、例えば、呼吸器系障害、炎症性障害および自己免疫障害などを含む I L - 2 2 関連障害に苦しむ哺乳類、例えばヒトである。一態様において、I L - 2 2 結合剤は局部的に、例えば、局所的、皮下または全身循環におけるものでない他の投与により投与される。

【 0 0 3 5 】

別の態様において、I L - 2 2 結合剤を用い、免疫応答の種類を変更し、かつ/または対象を免疫するために用いるワクチン処方物の有効性を高めることができる。例えば、本発明の抗 I L - 2 2 抗体は、ワクチンの有効性を高めるために免疫の前、免疫中、および/または免疫後に投与することができる。一態様において、このワクチン処方物は 1 以上の I L - 2 2 アンタゴニストと例えばウイルス抗原、細菌抗原または腫瘍抗原を含む抗原、すなわち免疫原を含む。別の実施形態では、この I L - 2 2 アンタゴニストと免疫原は、互いに例えば 1 時間以内、3 時間以内、1 日以内または 2 日以内に別に投与する。

【 0 0 3 6 】

別の態様において、本発明は、in vitroにおいてサンプル中の I L - 2 2 の存在を検出するための方法を提供する。サンプルは、血清、血漿、組織および生検などの生体サンプルを含み得る、本方法は、本明細書に記載されるような I L - 2 2 関連障害などの障害を診断するために使用することができる。この方法は、(1) サンプルまたは対照サンプル

10

20

30

40

50

を抗IL-22抗体と接触させることと、(2)抗IL-22抗体とサンプルまたは対照サンプルの複合体の形成を検出することを含み、対照サンプルに対するサンプル中の複合体の形成における統計学的に有意な変化が、そのサンプル中のIL-22の存在の指標となる。

【0037】

別の態様において、本発明は、*in vivo*においてIL-22の存在を検出するための方法(例えば、対象における*in vivo*イメージング)を提供する。この方法は、障害、例えば、本明細書に記載されるようなIL-22関連障害を診断するために使用することができる。この方法は、(1)対象または対照対象に抗IL-22抗体を、IL-22に対する抗体の結合を可能とする条件下で投与することと、(2)抗体とIL-22の間の複合体の形成を検出することを含み、対照、例えば対照対象に対する対象中の複合体の形成における統計学的に有意な変化が、IL-22の存在の指標となる。

10

【0038】

抗体は、結合抗体または非結合抗体の検出を助けるために検出可能物質で直接的または間接的に標識することができる。好適な検出可能物質としては、種々の酵素、補欠分子族、蛍光材料、発光物質および放射性物質がある。

【0039】

別の態様において、本発明は、*in vivo*において薬剤、例えば治療薬または細胞傷害性剤をIL-22発現細胞に送達または標的化するための方法を提供する。この方法は、抗IL-22抗体を対象に、その抗体とIL-22の結合を可能とする条件下で投与することを含む。抗体は毒素などの第二の治療成分と結合させてもよい。

20

【0040】

本開示は、GIL01、GIL16、GIL45、GIL60、GIL68、GIL92、097D09、062A09、062G05、087B03、367D04、368D04、166B06、166G05、375G06、376B10、354A08、355B06、355E04および356A11のV_HおよびV_Lドメインに由来する核酸配列を提供する。また、GIL01、GIL16、GIL45、GIL60、GIL68、GIL92、097D09、062A09、062G05、087B03、367D04、368D04、166B06、166G05、375G06、376B10、354A08、355B06、355E04および356A11由来の少なくとも1つのCDRを含む核酸配列も提供される。本開示はまた、このような核酸を含むベクターおよび宿主細胞も提供する。

30

【0041】

本開示はさらに、GIL01、GIL16、GIL45、GIL60、GIL68、GIL92、097D09、062A09、062G05、087B03、367D04、368D04、166B06、166G05、375G06、376B10、354A08、355B06、355E04または356A11のV_HまたはV_Lドメインに由来するドメインの全てまたは一部を含む新規なV_HおよびV_Lドメインおよび機能的抗体を生産する方法を提供する。

【0042】

本開示のさらなる態様はある部分の本明細書に示されており、ある部分の本明細書から明らかであり、あるいは本発明を実施することにより学ぶことができる。本発明は特許請求の範囲に示され、特に特許請求の範囲で指し示され、本開示は特許請求の範囲を限定するものと考えべきではない。以下の詳細な説明は、本発明の種々の実施形態の例示を含むが、これらは特許請求されるような本発明を限定するものではない。添付の図面は本明細書の一部をなし、説明とともに単に実施例を示すためのものであり、本発明を限定するものではない。

40

【発明を実施するための最良の形態】

【0043】

I. 定義

50

本発明をより容易に理解できるように、特定の用語を最初に定義する。その他の定義は詳細な説明の中に示される。

【0044】

「抗体」とは、免疫グロブリンまたはそのフラグメントを指し、抗原結合フラグメントまたは抗原結合ドメインを含むいずれのポリペプチドも包含する。この用語は、限定されるものではないが、ポリクローナル抗体、モノクローナル抗体、単一特異性抗体、多重特異性抗体、非特異的抗体、ヒト化抗体、ヒト抗体、単鎖抗体、キメラ抗体、合成抗体、組換え抗体、ハイブリッド抗体、突然変異抗体、グラフト抗体および *in vitro* 作製抗体を含む。「抗体」は、「完全な」という用語が付いていなければ、F a b、F (a b ')₂、F v、s c F v、F d、d A b などの抗体フラグメントおよび抗原結合機能を保持する他の抗体フラグメントを含む。一般に、このようなフラグメントは抗原結合ドメインを含む。

10

【0045】

「抗原結合ドメイン」および「抗原結合フラグメント」とは、抗体と抗原の間の特異的結合を担うアミノ酸を含む抗体分子の一部を指す。抗体によって特異的に認識され、結合されるこの抗原の一部は「エピトープ」と呼ばれる。抗原結合ドメインは抗体軽鎖可変領域 (V_L) と抗体重鎖可変領域 (V_H) を含み得るが、両方を含まなくてよい。例えば、F d フラグメントは2つの V_H 領域を有し、完全な抗原結合ドメインのいくつかの抗原結合機能を保持する場合が多い。抗体の抗原結合フラグメントの例としては、(1) V_L、V_H、C_L および C_H 1 ドメインを有する一価フラグメントである F a b フラグメント；(2) ヒンジ領域においてジスルフィド橋により連結された2つの F a b フラグメントを有する二価フラグメントである F (a b ')₂ フラグメント；(3) 2つの V_H ドメインと C_H 1 ドメインを有する F d フラグメント；(4) 抗体の単腕の V_L ドメインと V_H ドメインを有する F v フラグメント；(5) V_H ドメインを有する d A b フラグメント (Ward et al., (1989) Nature 341:544-546)；(6) 単離された相補性決定領域 (C D R)；および (7) 単鎖 F v (s c F v) が挙げられる。F v フラグメントの2つのドメイン V_L と V_H は別の遺伝子によりコードされているが、それらは、組換え法を用い、V_L 領域と V_H 領域が対合して一価分子を形成している単一のタンパク質鎖として生成可能とする合成リンカーによって連結することができる (単鎖 F v (s c F v) として知られる；例えば、Bird et al. (1988) Science 242:423-426; および Huston et al. (1988) Proc. Natl. Acad. Sci. USA 85:5879-5883)。これらの抗体フラグメントは当業者に公知の常法を用いて得られ、それらのフラグメントは完全な抗体の場合と同様にして機能に関して評価される。

20

30

【0046】

「有効量」とは、I L - 2 2 活性を調節して臨床症状を改善する、または所望の生物学的転帰、例えば、T細胞および/またはB細胞の活性の低下、自己免疫の抑制、移植拒絶の抑制などを達成するのに十分な用量または量を指す。

【0047】

「ヒト抗体」とは、例えば、Kabat et al. (Kabat, et al. (1991) Sequences of Proteins of Immunological Interest, Fifth Edition, U.S. Department of Health and Human Services, NIH Publication No. 91-3242参照) を含む、当技術分野で公知のヒト生殖系列免疫グロブリン配列に実質的に相当する可変領域と定常領域を有する抗体を含む。本発明のヒト抗体は、例えば C D R、特に C D R 3 に、ヒト生殖系列免疫グロブリン配列によってはコードされていないアミノ酸残基 (例えば、*in vitro* においてランダム突然変異もしくは部位特異的突然変異誘発により、または *in vivo* において体細胞突然変異により導入された突然変異) を含んでもよい。このヒト抗体は、ヒト生殖系列免疫グロブリン配列によってはコードされていないアミノ酸残基で置換された少なくとも1つ、2つ、3つ、4つ、5つまたはそれを超える位置を有することができる。

40

【0048】

I L - 2 2 活性およびその同族を「阻害する」または I L - 2 2 活性およびその同族と

50

「拮抗する」とは、抗IL-22抗体と結合することによってIL-22の少なくとも1つの活性の低下、阻害またはそうでなければ消失を指し、この低減は同じ抗体の不在下のIL-22の活性に対するものである。この活性は、例えば実施例7および9に記載されているものを含む、当技術分野で公知のいずれかの技術を用いて測定することができる。阻害または拮抗作用は、IL-22ポリペプチドの生物活性の全面的な消失を必ずしも示さない。活性の低下は約10%、20%、30%、40%、50%、60%、70%、80%、90%またはそれ以上であり得る。

【0049】

「インターロイキン-22」または「IL-22」とは、IL-22Rおよび/またはIL-22RとIL-10R2の受容体複合体と結合することができるクラスIIサイトカイン（哺乳類であり得る）を指し、次の特徴の少なくとも1つを有する：（1）天然哺乳類IL-22ポリペプチド（全長または成熟型）のアミノ酸配列またはそのフラグメント、例えば、配列番号1（ヒト）または配列番号3（ネズミ）として示されるアミノ酸配列またはそのフラグメント；（2）配列番号1もしくはそのアミノ酸34~179（ヒト）または配列番号3（ネズミ）もしくはそのフラグメントとして示されるアミノ酸配列と実質的に、例えば、少なくとも85%、90%、95%、96%、97%、98%、99%同一のアミノ酸配列；（3）天然哺乳類IL-22ヌクレオチド配列もしくはそのフラグメント（例えば、配列番号2もしくはヌクレオチド71~610（ヒト）または配列番号4（ネズミ）もしくはそのフラグメント）によりコードされるアミノ酸配列；（4）配列番号2として示されるヌクレオチド配列もしくはそのヌクレオチド71~610（ヒト）または配列番号4（ネズミ）もしくはそのフラグメントと実質的に、例えば、少なくとも85%、90%、95%、96%、97%、98%、99%同一のヌクレオチド配列によりコードされるアミノ酸配列；（5）天然IL-22ヌクレオチド配列もしくはそのフラグメント、例えば、配列番号2（ヒト）または配列番号4（ネズミ）もしくはそのフラグメントと縮重したヌクレオチド配列によりコードされるアミノ酸配列；または（6）ストリンジェント条件、例えば、高ストリンジェント条件下で先のヌクレオチド配列の1つとハイブリダイズするヌクレオチド配列。IL-22は哺乳類起源、例えば、ヒトまたはマウスのIL-22Rおよび/またはIL-22RとIL-10R2の受容体複合体と結合し得る。

【0050】

ヒトIL-22のヌクレオチド配列および推定されるアミノ酸配列はそれぞれ配列番号2および配列番号1で示される。成熟ヒトIL-22のアミノ酸配列は、配列番号1のアミノ酸34~179に相当する。組換えヒトIL-22の分析により、多くの構造ドメインが明らかになっている(Nagem et al. (2002) Structure, 10:1051-62; 米国特許出願第2002/0187512 A1号)。

【0051】

「IL-22活性」とは、細胞上で、IL-22とIL-22RとIL-10R2からなる受容体複合体とが結合した結果として誘発または妨害される少なくとも1つの細胞プロセスを指す。IL-22活性は、限定されるものではないが、（1）IL-22RまたはIL-22RとIL-10R2の受容体複合体（例えば、ヒトIL-10R2を含む、または含まないヒトIL-22R）との結合；（2）シグナル伝達分子（例えば、JAK-1）との会合；（3）STATタンパク質（例えば、STAT5、STAT3またはその組合せ）のリン酸化の刺激；（4）STATタンパク質の活性化；および（5）上皮細胞、繊維芽細胞または免疫細胞の増殖、分化、エフェクター細胞機能、細胞溶解活性、サイトカイン分泌、生存またはその組合せの変調（例えば、増強または低下）。上皮細胞としては、内皮細胞同様、限定されるものではないが、皮膚、消化管、肝臓および腎臓の細胞が挙げられる。繊維芽細胞としては、限定されるものではないが、滑膜繊維芽細胞が挙げられる。免疫細胞はCD8+およびCD4+T細胞、NK細胞、B細胞、マクロファージおよび巨核球を含み得る。IL-22活性は、例えば実施例2および6に記載されるようなIL-22受容体阻害アッセイ、実施例9のGRO α 分泌アッセイまたは実施例7のB

A F 3 増殖アッセイを用い、*in vitro*で測定することができる。また、I L - 2 2 活性は、例えば実施例 1 3 に記載されるような免疫応答または障害の進行をスコア化することにより *in vivo*で測定することもできる。

【0052】

本明細書において「*in vitro*作製抗体」とは、可変領域の全てまたは一部（例えば、少なくとも1つのCDR）が非免疫細胞選択（例えば、*in vitro*ファージディスプレイ、タンパク質チップ、または候補配列をそれらの抗原結合能に関して試験することができる他のいずれかの方法）で作製された抗体を指す。この用語は免疫細胞のゲノム再配列によって生じた配列を含まない。

【0053】

「単離された」とは、その自然環境から実質的に遊離された分子を指す。例えば、単離されたタンパク質は細胞材料またはそれが由来する細胞もしくは組織源に由来する他のタンパク質を実質的に含まない。また、この用語は、単離されたタンパク質が医薬組成物として十分純粋である、または少なくとも70～80%（w/w）の純度、または少なくとも80～90%（w/w）の純度、または少なくとも90～95%の純度、または少なくとも95%、96%、97%、98%、99%または100%（w/w）の純度である調製物も指す。

【0054】

「同一性% (percent identical or percent identity)」とは、少なくとも2つの異なる配列間の類似性を指す。この同一性%は、例えば、Altshul et al. ((1990) J. Mol. Biol., 215:403-410)により記載されたベーシック・ローカル・アライメント・ツール (BLAST); Needleman et al. ((1970) J. Mol. Biol., 48:444-453)のアルゴリズム; またはMeyers et al. ((1988) Comput. Appl. Biosci., 4:11-17)のアルゴリズムなどの標準的なアライメントアルゴリズムにより決定することができる。パラメーターセットは、ギャップ・ペナルティー12、ギャップ・エクステンド・ペナルティー4およびフレームシフト・ギャップ・ペナルティー5のBlosum 62スコアリングマトリックスであり得る。2つのアミノ酸またはヌクレオチド配列間の同一性%はまた、ALIGNプログラム (バージョン2.0) に組み込まれているE. MeyersおよびW. Miller ((1989) CABIOS, 4:11-17)のアルゴリズムを用い、PAM120ウエイト・レジジュ・テーブル、ギャップ・レングス・ペナルティー12およびギャップ・ペナルティー4で決定することもできる。

【0055】

「レパートリー」とは、少なくとも1つの免疫グロブリンをコードする少なくとも1つの配列に完全にまたは部分的に由来する少なくとも1つのヌクレオチド配列を指す。これらの配列は重鎖のV、DおよびJセグメントと軽鎖のVおよびJセグメントの*in vivo*再配列により生じ得る。あるいは、これらの配列は、それに応答して再配列が起こる細胞からも生じ得る（例えば、*in vitro*刺激）。あるいは、これらの配列の一部または全部はDNAスプライシング、ヌクレオチド合成、突然変異誘発および他の方法により得ることもできる（例えば、米国特許第5,565,332号参照）。レパートリーは1つの配列だけを含んでもよいし、または遺伝的に多様なコレクション中のものを含む複数の配列を含んでもよい。

【0056】

「特異的結合」または「特異的に結合する」とは、2つの分子が生理学的条件下で比較的安定な複合体を形成することを指す。特異的結合は、通常中～高い結合能とともに低親和性を有する非特異的結合とか異なり、高親和性と低～中の結合能を特徴とする。一般に、結合は、会合定数 K_A が $10^6 M^{-1}$ より高い場合に特異的であるとみなされる。必要に応じて、非特異的結合は、結合条件を変更することにより、特異的結合に実質的に影響を及ぼすことなく低減することができる。抗体の濃度、溶液のイオン強度、温度、結合させる時間、遮断剤（例えば、血清アルブミン、牛乳カゼイン）の濃度などの適当な結合条件は常法を用いて当業者により至適化することができる。例としての条件が実施例3に示

10

20

30

40

50

されているが、当業者に公知の他の条件も本発明の範囲内にある。

【0057】

本明細書において、「ストリンジェント」とは、ハイブリダイゼーションおよび洗浄の条件を表す。ストリンジェント条件は当業者に公知であり、Current Protocols in Molecular Biology, John Wiley & Sons, N.Y. (1989), 6.3.1-6.3.6に見出せる。その参照物件には水性法と非水性法が記載されているが、いずれも使用可能である。ストリンジェントハイブリダイゼーション条件の一例は、約45℃、6×塩化ナトリウム/クエン酸ナトリウム(SSC)中でハイブリダイゼーション、その後、50℃、0.2×SSC、0.1% SDS中で少なくとも1回の洗浄である。もう1つのストリンジェントハイブリダイゼーション条件の例は、約45℃、6×SSC中でハイブリダイゼーション、その後、55℃、0.2×SSC、0.1% SDS中で少なくとも1回の洗浄である。ストリンジェントハイブリダイゼーション条件の別の例は、約45℃、6×SSC中でハイブリダイゼーション、その後、60℃、0.2×SSC、0.1% SDS中で少なくとも1回の洗浄である。ストリンジェントハイブリダイゼーション条件のさらなる例は、約45℃、6×SSC中でハイブリダイゼーション、その後、65℃、0.2×SSC、0.1% SDS中で少なくとも1回の洗浄である。高ストリンジェント条件は、65℃、0.5Mリン酸ナトリウム、7% SDS中でのハイブリダイゼーション、その後、65℃、0.2×SSC、1% SDS中での少なくとも1回の洗浄を含む。

10

【0058】

「実質的に示されたように」、「実質的に同一の」または「実質的に相同な」とは、示されている配列と比較した際に、関連のアミノ酸配列またはヌクレオチド配列(例えば、CDR、V_HまたはV_Lドメイン)が同一であるか、または(保存的アミノ酸置換により)実質的でない変化しか持たないことを意味する。実質的でない変化は、特定の領域のアミノ酸5個の配列における1または2個の置換といった微細なアミノ酸変化を含む。抗体の場合、第二の抗体は同じ特異性を有し、第一の抗体の少なくとも50%の親和性を有する。

20

【0059】

本明細書に開示される配列と実質的に同一または相同な配列(例えば、少なくとも約85%配列同一性)も本願の一部である。いくつかの実施形態において、配列同一性は約85%、90%、95%、96%、97%、98%、99%またはそれ以上であり得る。あるいは、その核酸セグメントが選択的ハイブリダイゼーション条件(例えば、高ストリンジェントハイブリダイゼーション条件)下でその鎖の相補物とハイブリダイズする際に実質的同一性または相同性が存在する。これらの核酸は全細胞中に存在してもよいし、細胞溶解液に存在してもよいし、または部分精製形態もしくは実質的に純粋な形態であってもよい。

30

【0060】

「治療薬」とは、医学的障害を治療する、または治療を補助する物質である。治療薬としては、限定されるものではないが、抗IL-22抗体のIL-22活性を補足する様式で免疫細胞または免疫応答を変調する物質を含み得る。治療薬の非限定例および使用は本明細書に記載されている。

40

【0061】

本明細書において抗IL-22抗体の「治療上有効な量」とは、障害もしくは再発障害の少なくとも1つの症候の治療、予防、治癒、遅延、その重篤度の軽減、および/または改善、またはこのような処置を行わない場合の予測を超えての、対象の生存の延長において対象(ヒト患者など)へ単回または複数回投与した際に有効である抗体の量を指す。

【0062】

「処置」とは、治療的手段または予防的手段を指す。処置は医学的症状を有する対象またはやがてその症状を受け得る対象に、障害もしくは再発障害の1以上の症候を治療する、予防する、治癒させる、遅延させる、その重篤度を軽減する、および/または改善するため、またはこのような処置を行わない場合の予測を超えて対象の生存を延長させるため

50

に投じることができる。

【0063】

II. 抗IL-22抗体

本開示は新規な抗原結合フラグメントを含む新規な抗IL-22抗体を提供する。

【0064】

抗体またはその抗原結合フラグメントを得るためには、当業者に公知の多くの方法が利用できる。例えば、抗体は組換えDNA法（米国特許第4,816,567号）を用いて作製することができる。モノクローナル抗体も、既知の方法に従ったハイブリドーマの作製（例えば、KohlerおよびMilstein (1975) *Nature*, 256:495-499参照）により作製することができる。このようにして作製されたハイブリドーマを次に、特定の抗原と特異的に結合する抗体を産生する1以上のハイブリドーマを同定するため、酵素結合免疫吸着アッセイ（ELISA）および表面プラズモン共鳴（BIACORE（商標））分析などの標準的な方法を用いてスクリーニングする。例えば、組換え抗原、天然形態、そのいずれかの変異体またはフラグメント、ならびにその抗原ペプチドなど、いずれの形態の特定の抗原でも免疫原として使用可能である。

10

【0065】

抗体を作製する一例としての方法は、タンパク質発現ライブラリー、例えば、ファージまたはリボソームディスプレイライブラリーをスクリーニングすることを含む。ファージディスプレイは、例えば、Ladner et al., 米国特許第5,223,409号; Smith (1985) *Science* 228:1315-1317; Clackson et al. (1991) *Nature*, 352:624-628; Marks et al. (1991) *J. Mol. Biol.*, 222:581-597; WO 92/18619; WO 91/17271; WO 92/20791; WO 92/15679; WO 93/01288; WO 92/01047; WO 92/09690; およびWO 90/02809に記載されている。

20

【0066】

ディスプレイライブラリーの使用の他、特定の抗原を用いて非ヒト動物、例えば齧歯類、例えばマウス、ハムスターまたはラットを免疫することもできる。一態様において、この非ヒト動物は少なくともヒト免疫グロブリン遺伝子の一部を含む。例えば、ヒトIg遺伝子座の大フラグメントを用いて、マウス抗体産生欠陥マウスシステムを操作することができる。ハイブリドーマ技術を用い、所望の特異性を有する遺伝子に由来する抗原特異的モノクローナル抗体を産生し、選択することができる。例えば、XENOMOUSE（商標）、Green et al. (1994) *Nature Genetics* 7:13-21, US 2003-0070185、1996年10月31日公開のWO 96/3409、および1996年4月29日出願のPCT出願第PCT/US 96/05928号参照。

30

【0067】

別の実施形態では、非ヒト動物からモノクローナル抗体を得た後、当技術分野で公知の組換えDNA技術を用い、例えば、ヒト化、脱免疫化、キメラ化などの修飾抗体を作製することができる。キメラ抗体を作製するための種々のアプローチが記載されている。例えば、Morrison et al., *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 81:6851, 1985; Takeda et al., *Nature* 314:452, 1985, Cabilly et al., 米国特許第4,816,567号; Boss et al., 米国特許第4,816,397号; Tanaguchi et al., 欧州特許公報EP 171496; 欧州特許公報0173494、英国特許GB 2177096B参照。ヒト化抗体はまた、例えば、ヒト重鎖および軽鎖遺伝子を発現するが、内因性のマウス免疫グロブリン重鎖および軽鎖遺伝子を発現することができないトランスジェニックマウスを用いて作製することもできる。Winterは、本明細書に記載のヒト化抗体を作製するために使用可能なCDRグラフト法の例を記載している（米国特許第5,225,539号）。特定のヒト抗体のCDRの全てを非ヒトCDRの少なくとも一部で置換することもできるし、CDRの一部だけを非ヒトCDRで置換することもできる。ヒト化抗体の、所定の抗原への結合に必要な数のCDRを置換する必要があるだけである。

40

【0068】

ヒト化抗体またはそのフラグメントは、抗原結合に直接関与しないFv可変ドメインの

50

配列をヒトFv可変ドメイン由来の等価配列で置換することにより作製することができる。ヒト化抗体またはそのフラグメントを作製する方法の例は、Morrison (1985) Science 229:1202-1207およびOi et al. (1986) BioTechniques 4:214;および米国特許第5,585,089号;同第5,693,761号;同第5,693,762号;同第5,859,205号;および同第6,407,213号に提供されている。これらの方法は、重鎖または軽鎖の少なくとも一方に由来する免疫グロブリンFv可変ドメインの全部または一部をコードする核酸配列を単離し、操作し、発現させることを含む。このような核酸は上記のような所定の標的に対する抗体を産生するハイブリドーマから得られるもの、ならびに他の供給源から得られるものであってもよい。このヒト化抗体分子をコードする組換えDNAを次に、適当な発現ベクターにクローニングすることができる。

10

【0069】

ある特定の実施形態では、ヒト化抗体は保存的置換、コンセンサス配列置換、生殖系列置換および/または復帰突然変異の導入により至適化される。このような変更された免疫グロブリン分子は当技術分野で公知のいくつかの技術のいずれによっても作製することができる(例えば、Teng et al., Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A., 80:7308-7312, 1983; Kozbor et al., Immunology Today, 4:7279, 1983; Olsson et al., Meth. Enzymol., 92:3-16, 1982参照)、PCT公報WO92/06193またはEP0239400の教示に従って作製することができる。

【0070】

抗体またはそのフラグメントはまた、WO98/52976およびWO00/34317に開示されている方法によるヒトT細胞エピトープの特異的欠失、すなわち「脱免疫化」によって修飾することができる。要するに、抗体の重鎖および軽鎖可変ドメインを、MHCクラスIIと結合するペプチドに関して分析することができ、これらのペプチドは潜在的T細胞エピトープを表す(WO98/52976およびWO00/34317に定義されている通り)。潜在的T細胞エピトープの検出に関しては、「ペプチドスレッディング」と呼ばれるコンピューターモデリングアプローチを適用することができ、加えて、ヒトMHCクラスII結合ペプチドのデータベースを、WO98/52976およびWO00/34317に記載されているように、V_H配列およびV_L配列中に存在するモチーフに関して検索することができる。これらのモチーフは18の主要MHCクラスII DRアロタイプのいずれとも結合し、よって、潜在的T細胞エピトープを構成する。検出された潜在的T細胞エピトープは、可変ドメイン中の少数のアミノ酸残基を置換すること、または好ましくは、単一アミノ酸置換により削除することができる。一般に、保存的置換が行われる。もっぱらというわけではないが多くの場合、ヒト生殖系列抗体配列中のある位置に共通のアミノ酸を使用することができる。例えば、ヒト生殖系列配列は、Tomlinson, et al. (1992) J. Mol. Biol. 227:776-798; Cook, G. P. et al. (1995) Immunol. Today Vol. 16(5):237-242; Chothia, D. et al. (1992) J. Mol. Biol. 227:799-817;およびTomlinson et al. (1995) EMBO J. 14:4628-4638に開示されている。V_H B A S E ディレクトリは、ヒト免疫グロブリン可変領域配列の包括的ディレクトリを提供する(Tomlinson, LA. et al. MRC Centre for Protein Engineering, Cambridge, UKによりコンパイルされたもの)。これらの配列を、例えば、フレームワーク領域およびCDRに関するヒト配列の供給源として使用することができる。コンセンサスヒトフレームワーク領域は、例えば米国特許第6,300,064号に記載されているように使用することができる。

20

30

40

【0071】

ある種の実施形態では、抗体は変更された免疫グロブリン定常領域またはFc領域を含み得る。例えば、本明細書の技術に従って作製された抗体は、エフェクター細胞の活性、溶解、補体媒介活性、抗体クリアランスおよび抗体半減期などの抗体のいくつかの免疫機能を制御することができる、補体および/またはFc受容体などのエフェクター分子とより強固に、またはより特異的に結合し得る。抗体(例えば、IgG抗体)のFc受容体と結合する典型的なFc領域としては、限定されるものではないが、FcRI、FcRIIおよびFcRIIIおよびFcRnサブクラスの受容体(これらの受容体の対立遺

50

伝子変異体および選択的スプライシング形態を含む)が挙げられる。Fc受容体は、RavetchおよびKinet, *Annu. Rev. Immunol.* 9:457-92, 1991; Capel et al., *Immunomethods* 4:25-34, 1994; およびde Haas et al., *J. Lab. Clin. Med.* 126:330-41, 1995)に総説がある。

【0072】

さらなる抗体作製技術に関しては、*Antibodies: A Laboratory Manual*, Harlow et al. 編, Cold Spring Harbor Laboratory, 1988を参照。本発明は特定の供給源、作製方法または抗体の他の特殊な特徴のいずれにも必ずしも限定されない。

【0073】

抗体は、免疫グロブリンとしても知られ、一般に、各およそ25 kDaの2つの軽(L)鎖と各およそ50 kDaの2つの重(H)鎖からなる四量体グリコシル化タンパク質である。抗体には、 κ および λ と呼ばれる2種類の軽鎖が見られる。重鎖の定常ドメインのアミノ酸配列によって、免疫グロブリンをA、D、E、GおよびMの5つの主要クラスに割り付けることができ、これらのいくつかは、例えばIgG₁、IgG₂、IgG₃、IgG₄、IgA₁およびIgA₂などのサブクラス(イソ型)にさらに分けることができる。各軽鎖はN末端可変(V)ドメイン(VL)と定常(C)ドメイン(CL)を含む。各重鎖はN末端Vドメイン(VH)と3つまたは4つのCドメイン(CH)とヒンジ領域を含む。VHに最も近いCHドメインはCH1と呼ばれる。VHおよびVLドメインは、フレームワーク領域と呼ばれる、比較的保存された配列の4領域(FR1、FR2、FR3およびFR4)からなり、これらは超可変配列の3領域(相補性決定領域、CDR)のスキヤフォールドを形成している。これらのCDRは、抗体と抗原の特異的相互作用を担う残基のほとんどを含んでいる。CDRはCDR1、CDR2およびCDR3と呼ばれる。よって、重鎖のCDR成分はH1、H2およびH3と呼ばれ、軽鎖のCDR成分はL1、L2およびL3と呼ばれる。

【0074】

CDR3は一般に、抗体結合部位内の分子の多様性の最大の源である。例えば、H3は、アミノ酸残基2個といった短い場合、またはアミノ酸26を超える場合もある。クラスの異なる免疫グロブリンのサブユニット構造および三次元構造は当技術分野でよく知られている。抗体構造の総説としては、*Antibodies: A Laboratory Manual*, Cold Spring Harbor Laboratory, Harlow et al. 編, 1988を参照。当業者ならば、例えばCH、VH、CL、VL、CDR、FR構造などの各サブユニット構造は、例えば抗原と結合するVH、VLまたはCDRサブユニットの一部などの活性フラグメント、すなわち、抗原結合フラグメント、または例えばFc受容体および/または補体と結合し、かつ/またはそれを活性化するCHサブユニットの一部を含むことが分かるであろう。CDRは一般に、*Sequences of Proteins of immunological Interest*, US Department of Health and Human Services (1991), Kabat et al. 編に記載されているようなKabatt CDRを指す。抗原結合部位を同定するためのもう1つの標準とは、Chothiaにより記載されているような超可変ループを指す。例えば、Chothia, D. et al. (1992) *J. Mol. Biol.* 227:799-817; およびTomlinson et al. (1995) *EMBO J.* 14:4628-4638参照。さらに別の標準として、Oxford MolecularのAbM抗体モデリングソフトウェアに用いられているAbM定義がある。一般に、例えば、*Protein Sequence and Structure Analysis of Antibody Variable Domains*. In: *Antibody Engineering Lab Manual* (Ed.: Duebel, S. and Kontermann, R., Springer-Verlag, Heidelberg)参照。Kabatt CDRに関して記載されている具体例は、Chothia超可変ループまたはAbM定義ループに関して記載されている類似の関係を用いて実行することができる。

【0075】

Fabフラグメント(Fragment antigen-binding)は、これらの定常領域間のジスルフィド結合により連結されたV_H-C_{H1}およびV_L-C_Lドメインからなる。F_vフラグメントはより小さく、非共有結合したV_HドメインとV_Lドメインからなる。この非共有結合の解離傾向を克服するために、単鎖F_vフラグメント(scF_v)を構築することがで

10

20

30

40

50

きる。この $s c F_v$ は、(1) V_H の C 末端と V_L の N 末端、または (2) V_L の C 末端と V_H の N 末端を連結するフレキシブルポリペプチドを含む。リンカーとしては 15 マー ($Gly_4 Ser$)₃ ペプチドが使用可能であるが、他のリンカーも当技術分野で公知である。

【0076】

組み立ておよび体細胞突然変異後の抗体遺伝子の配列は多様性が高く、これらの多様な遺伝子は 10^{10} の異なる抗体分子をコードすると推計される (Immunoglobulin Genes, 2nd ed., eds. Jonio et al., Academic Press, San Diego, CA, 1995)。

【0077】

「二重特異性」または「二機能的抗体」とは、2つの異なる重鎖/軽鎖対と2つの異なる結合部位を有する人工ハイブリッド抗体である。二重特異性抗体は、ハイブリドーマの融合または Fab' フラグメントの連結を含む様々な方法によって作製することができる。例えば、Songsivilai & Lachmann, Clin. Exp. Immunol. 79:315-321 (1990); Kostelný et al., J. Immunol. 148, 1547-1553 (1992) 参照。一態様において、二重特異性抗体は、Fab' フラグメントなどの第一の結合ドメインポリペプチドが、免疫グロブリン定常領域を介して第二の結合ドメインポリペプチドと連結されたものを含む。

【0078】

Small Modular ImmunoPharmaceuticals (SMIP (商標)) は、結合ドメインポリペプチドを含む変異体分子の例である。SMIP ならびにそれらの使用および応用は、例えば、米国公開特許出願第 2003/0118592 号、同第 2003/0133939 号、同第 2004/0058445 号、同第 2005/0136049 号、同第 2005/0175614 号、同第 2005/0180970 号、同第 2005/0186216 号、同第 2005/0202012 号、同第 2005/0202023 号、同第 2005/0202028 号、同第 2005/0202534 号および同第 2005/0238646 号およびその関連のпатентファミリーに開示されており、全て出典明示によりそのまま本明細書の一部とされる。

【0079】

SMIP (商標) は一般に、免疫グロブリンヒンジまたはヒンジ作用領域ポリペプチドと融合されているか、またはそうでなければ接続されている結合ドメインポリペプチドを含む結合ドメイン-免疫グロブリン融合タンパク質を指し、これはさらに、CH1 以外の、免疫グロブリン重鎖由来の 1 以上の天然または操作型定常領域、例えば、IgG および IgA の CH2 および CH3 領域、または IgE の CH3 および CH4 領域を含む領域と融合されるか、またはそうでなければ接続される (より完全な説明としては、出典明示により本明細書の一部とされる、例えば、Ledbetter, J. et al. による米国第 2005/0136049 号参照)。結合ドメイン-免疫グロブリン融合タンパク質はさらに、ヒンジ領域ポリペプチドと融合されているか、またはそうでなければ接続されている天然または操作型免疫グロブリン重鎖 CH2 定常領域ポリペプチド (または全てもしくは一部が IgE に由来する構築物の場合には CH3) と、CH2 定常領域ポリペプチド (または全てもしくは一部が IgE に由来する構築物の場合には CH3) と融合されているか、またはそうでなければ接続されている天然または操作型免疫グロブリン重鎖 CH3 定常領域ポリペプチド (または全てもしくは一部が IgE に由来する構築物の場合には CH4) を含む領域を含み得る。一般に、このような結合ドメイン-免疫グロブリン融合タンパク質は、抗体依存性細胞媒介細胞傷害性、補体結合、および/または標的、例えば、ヒト IL-22 などの標的抗原との結合からなる群から選択される少なくとも 1 つの免疫活性が可能である。

【0080】

治療タンパク質、すなわち、それが作用する身体の領域に対して、または中間体を介して遠隔作用する身体の領域に対して生物作用を有するタンパク質またはペプチドも、本発明の実施に有用である。治療タンパク質は、ペプチドミメティクスを含み得る。ミメティクスは、タンパク質の二次構造のエレメントを模倣するペプチド含有分子である。例えば

10

20

30

40

50

、出典明示により本明細書の一部とされる、Johnson et al., "Peptide Turn Mimetics" in BIOTECHNOLOGY AND PHARMACY, Pezzuto et al., Eds., Chapman and Hall, New York (1993)参照。ペプチドミメティクスの使用の背後にある基礎的原理は、タンパク質のペプチド主鎖は主としてアミノ酸側鎖を、抗体と抗原の相互作用など、分子の相互作用を助けるよう方向付けるために存在する。ペプチドミメティックは天然分子に類似の分子相互作用を可能とすること考えられる。これらの原理を用い、本明細書に開示される標的ペプチドの天然の特性の多くを有するが、変更され、可能性として改良された特徴を有する、第二世代の分子を工作することができる。

【0081】

治療タンパク質の他の具体例は、融合タンパク質を含む。これらの分子は一般に、N末端またはC末端において第二のポリペプチドまたはタンパク質の全てまたは一部に連結された、標的ペプチド、例えば、IL-22または抗IL-22抗体の全てまたは実質的に一部を有する。例えば、融合には、異種宿主におけるタンパク質の組換え発現を可能とするため、他種に由来するリーダー配列を使用することができる。別の有用な融合には、融合タンパク質の精製を容易にするために、抗体エピトープなどの免疫活性ドメインの付加を含む。融合点またはその付近に切断部位を含めると、精製後の外来ポリペプチドの除去が容易になる。他の有用な融合には、酵素由来の活性部位、グリコシル化ドメイン、細胞標的化シグナルまたはトランスメンブラン領域などの機能的ドメインの連結を含む。融合タンパク質に組み込み得るタンパク質またはペプチドの例としては、細胞増殖抑制タンパク質、細胞致死性タンパク質、プロアポトーシス因子、抗脈管形成因子、ホルモン、サイトカイン、増殖因子、ペプチド薬、抗体、抗体のFabフラグメント、抗原、受容体タンパク質、酵素、レクチン、MHCタンパク質、細胞接着タンパク質および結合タンパク質が含まれる。融合タンパク質を作製する方法は当業者によく知られている。このようなタンパク質は、例えば、二機能性架橋試薬を用いる化学的結合により、または完全融合タンパク質のde novo合成により、または第二のペプチドまたはタンパク質をコードするDNA配列への標的化ペプチドをコードするDNA配列の付着と、その後の完全な融合タンパク質の発現によって生産することができる。

【0082】

一実施形態では、標的化ペプチド、例えば、IL-22または抗IL-22抗体を、2つの定常領域ドメインとヒンジ領域を含むが、可変領域を欠いているFcフラグメントなどの免疫グロブリン重鎖定常領域と融合させる（出典明示により本明細書の一部とされる、米国特許第6,018,026号および同第5,750,375号参照）。このFc領域は天然Fc領域であってもよいし、あるいは治療の質、循環時間、凝集の軽減などの特定の質を改良するために変更されていてもよい。Fc領域に融合されているペプチドおよびタンパク質は一般に非融合対応物よりもin vivoにおいて長い半減期を示す。また、Fc領域との融合により、融合ポリペプチドの二量体形成/多量体形成が可能となる。

【0083】

当業者に知られているように、VHH分子（またはナノボディー）は、出典明示により本明細書の一部とされるWO9404678に記載されているようなラクダ科由来のものなど、本来軽鎖を欠いている免疫グロブリンに由来する重鎖可変ドメインである。このようなVHH分子はラクダ科の種、例えば、ラクダ、ラマ、ヒトコブラクダ、アルパカおよびグアナコで作製された抗体に由来するものであってよく、ラクダ科またはラクダ化可変ドメインと呼ばれることがある。例えば、出典明示により本明細書の一部とされるMuyldermans., J. Biotechnology (2001) 74(4):277-302参照。ラクダ科以外の他種は、本来軽鎖を欠いた重鎖抗体を産生し得る。VHH分子はIgG分子の約10分の1の大きさである。それらは単一のポリペプチドであり、極めて安定であり、極端なpHおよび温度条件にも耐性がある。さらに、それらはプロテアーゼの作用にも耐性があり、従来抗体ではこの限りでない。さらに、VHHのin vitro発現は高収率で、適切に折り畳まれた機能的VHHを産生する。さらに、ラクダ科で生成される抗体は、抗体ライブラリーの使用により、またはラクダ科以外の哺乳類の免疫化により、in vitroで生成された抗体によって

10

20

30

40

50

認識されるもの以外のエピトープを認識する（出典明示により本明細書の一部とされるWO 9749805 参照）。

【0084】

本発明の一態様は、IL-22と結合する抗体および抗原結合フラグメントを含む。本開示はヒト免疫グロブリン遺伝子ライブラリーに由来する新規なCDRを提供する。CDRを担持するための構造は一般に、抗体重鎖もしくは軽鎖またはその一部であり、ここで、CDRは天然CDR領域に局在している。可変ドメインの構造と位置は、Kabat et al., Sequences of Proteins of Immunological Interest, No. 91-3242, National Institutes of Health Publications, Bethesda, MD (1991)に記載されているようにして決定することができる。

10

【0085】

本発明の抗IL-22抗体（それらのscF_vフラグメント、V_HおよびV_LドメインならびにCDRを含む）の例示的实施形態のDNAおよびアミノ酸（AA）配列は図7～10に示され、表1および7に挙げられている。生殖系列化されていない抗体の20の具体例は、GIL01、GIL16、GIL45、GIL60、GIL68、GIL92、097D09、062A09、062G05、087B03、367D04、368D04、166B06、166G05、375G06、376B10、354A08、355B06、355E04および356A11として示される。生殖系列化されていない抗体のV_HおよびV_LドメインにおけるCDRの位置は表2に挙げられている。生殖系列化されている抗体の15の具体例は、GIL01、GIL16、GIL45、GIL60、GIL68、GIL92、062A09、087B03、166B06、166G05、354A08、355B06、355E04、356A11および368D04として示される。

20

【表 1】

表 1 A : 生殖系列化されていない抗体の V_H および V_L ドメイン、F_v および CDR のアミノ酸配列およびヌクレオチド配列

領域	型	GIL01 SEQ ID	GIL16 SEQ ID	GIL45 SEQ ID	GIL60 SEQ ID	GIL68 SEQ ID	GIL92 SEQ ID	097D09 SEQ ID	062A09 SEQ ID	062G05 SEQ ID	087B03 SEQ ID
V _H	AA	NO:5	NO:23	NO:41	NO:59	NO:77	NO:95	NO:113	NO:131	NO:149	NO:167
V _L	AA	NO:6	NO:24	NO:42	NO:60	NO:78	NO:96	NO:114	NO:132	NO:150	NO:168
scF _v	AA	NO:7	NO:25	NO:43	NO:61	NO:79	NO:97	NO:115	NO:133	NO:151	NO:169
H1	AA	NO:8	NO:26	NO:44	NO:62	NO:80	NO:98	NO:116	NO:134	NO:152	NO:170
H2	AA	NO:9	NO:27	NO:45	NO:63	NO:81	NO:99	NO:117	NO:135	NO:153	NO:171
H3	AA	NO:10	NO:28	NO:46	NO:64	NO:82	NO:100	NO:118	NO:136	NO:154	NO:172
L1	AA	NO:11	NO:29	NO:47	NO:65	NO:83	NO:101	NO:119	NO:137	NO:155	NO:173
L2	AA	NO:12	NO:30	NO:48	NO:66	NO:84	NO:102	NO:120	NO:138	NO:156	NO:174
L3	AA	NO:13	NO:31	NO:49	NO:67	NO:85	NO:103	NO:121	NO:139	NO:157	NO:175
V _H	DNA	NO:14	NO:32	NO:50	NO:68	NO:86	NO:104	NO:122	NO:140	NO:158	NO:176
V _L	DNA	NO:15	NO:33	NO:51	NO:69	NO:87	NO:105	NO:123	NO:141	NO:159	NO:177
scF _v	DNA	NO:16	NO:34	NO:52	NO:70	NO:88	NO:106	NO:124	NO:142	NO:160	NO:178
H1	DNA	NO:17	NO:35	NO:53	NO:71	NO:89	NO:107	NO:125	NO:143	NO:161	NO:179
H2	DNA	NO:18	NO:36	NO:54	NO:72	NO:90	NO:108	NO:126	NO:144	NO:162	NO:180
H3	DNA	NO:19	NO:37	NO:55	NO:73	NO:91	NO:109	NO:127	NO:145	NO:163	NO:181
L1	DNA	NO:20	NO:38	NO:56	NO:74	NO:92	NO:110	NO:128	NO:146	NO:164	NO:182
L2	DNA	NO:21	NO:39	NO:57	NO:75	NO:93	NO:111	NO:129	NO:147	NO:165	NO:183
L3	DNA	NO:22	NO:40	NO:58	NO:76	NO:94	NO:112	NO:130	NO:148	NO:166	NO:184

10

20

30

40

【 表 2 】

表 1 B : 生殖系列化されていない抗体の V_H および V_L ドメイン、F_v および CDR のアミノ酸配列およびヌクレオチド配列

領域	型	367D04 SEQ ID	368D04 SEQ ID	166B06 SEQ ID	166G05 SEQ ID	375G06 SEQ ID	376B10 SEQ ID	354A08 SEQ ID	355B06 SEQ ID	355E04 SEQ ID	356A11 SEQ ID
V _H	AA	NO:185	NO:203	NO:221	NO:239	NO:257	NO:275	NO:293	NO:311	NO:329	NO:347
V _L	AA	NO:186	NO:204	NO:222	NO:240	NO:258	NO:276	NO:294	NO:312	NO:330	NO:348
scF _v	AA	NO:187	NO:205	NO:223	NO:241	NO:259	NO:277	NO:295	NO:313	NO:331	NO:349
H1	AA	NO:188	NO:206	NO:224	NO:242	NO:260	NO:278	NO:296	NO:314	NO:332	NO:350
H2	AA	NO:189	NO:207	NO:225	NO:243	NO:261	NO:279	NO:297	NO:315	NO:333	NO:351
H3	AA	NO:190	NO:208	NO:226	NO:244	NO:262	NO:280	NO:298	NO:316	NO:334	NO:352
L1	AA	NO:191	NO:209	NO:227	NO:245	NO:263	NO:281	NO:299	NO:317	NO:335	NO:353
L2	AA	NO:192	NO:210	NO:228	NO:246	NO:264	NO:282	NO:300	NO:318	NO:336	NO:354
L3	AA	NO:193	NO:211	NO:229	NO:247	NO:265	NO:283	NO:301	NO:319	NO:337	NO:355
V _H	DNA	NO:194	NO:212	NO:230	NO:248	NO:266	NO:284	NO:302	NO:320	NO:338	NO:356
V _L	DNA	NO:195	NO:213	NO:231	NO:249	NO:267	NO:285	NO:303	NO:321	NO:339	NO:357
scF _v	DNA	NO:196	NO:214	NO:232	NO:250	NO:268	NO:286	NO:304	NO:322	NO:340	NO:358
H1	DNA	NO:197	NO:215	NO:233	NO:251	NO:269	NO:287	NO:305	NO:323	NO:341	NO:359
H2	DNA	NO:198	NO:216	NO:234	NO:252	NO:270	NO:288	NO:306	NO:324	NO:342	NO:360
H3	DNA	NO:199	NO:217	NO:235	NO:253	NO:271	NO:289	NO:307	NO:325	NO:343	NO:361
L1	DNA	NO:200	NO:218	NO:236	NO:254	NO:272	NO:290	NO:308	NO:326	NO:344	NO:362
L2	DNA	NO:201	NO:219	NO:237	NO:255	NO:273	NO:291	NO:309	NO:327	NO:345	NO:363
L3	DNA	NO:202	NO:220	NO:238	NO:256	NO:274	NO:292	NO:310	NO:328	NO:346	NO:364

10

20

30

40

【表 3】

表 2 : V_HおよびV_Lドメインの生殖系列化されていない抗体アミノ酸配列内のCDRの位置

CDR	GIL01	GIL16	GIL45	GIL60	GIL68	GIL92	097D09	062A09	062G05	087B03
H1	31-35	31-35	31-35	31-35	31-35	31-35	31-35	31-35	31-35	31-35
H2	50-66	50-66	50-66	50-66	50-66	50-66	50-66	50-66	50-66	50-66
H3	99-108	99-108	99-108	99-110	99-108	99-110	99-108	99-108	99-108	99-110
L1	24-34	24-34	23-36	23-36	23-33	23-36	24-34	24-34	24-34	23-36
L2	50-56	50-56	52-58	52-58	49-55	52-58	50-56	50-56	50-56	52-58
L3	89-97	89-97	91-100	91-100	88-98	91-101	89-97	89-97	89-97	91-100

CDR	367D04	368D04	166B06	166G05	375G06	376B10	354A08	355B06	355E04	356A11
H1	31-35	31-35	31-35	31-35	31-35	31-35	30-34	31-35	31-35	31-35
H2	50-66	50-66	50-66	50-66	50-66	50-66	49-65	50-66	50-66	50-66
H3	99-110	99-110	99-108	99-108	99-108	99-108	98-109	99-110	99-110	99-110
L1	23-36	23-36	23-33	23-33	23-33	23-33	23-36	23-36	23-36	22-35
L2	52-58	52-58	49-55	49-55	49-55	49-55	52-58	52-58	52-58	51-58
L3	91-100	91-100	88-98	88-98	88-98	88-98	91-101	91-101	91-101	90-100

10

20

30

40

50

【 0 0 8 6 】

本発明の抗IL-22抗体は所望により、抗体定常領域またはその一部を含み得る。例えば、V_Lドメインは、そのC末端においてC またはC のような軽鎖定常ドメインと結合させることができる。同様に、V_Hドメインまたはその一部は、IgA、IgD、IgE、IgGおよびIgMおならびにいずれかのイソ型サブクラスのような重鎖の全てまたは一部と結合させることができる。定常領域は当技術分野で公知である（例えば、Kaba

t et al., Sequences of Proteins of Immunological Interest, No. 91-3242, National Institutes of Health Publications, Bethesda, MD (1991)参照)。よって、本発明の範囲内の抗体は、当技術分野で公知の定常領域と組み合わせられたV_HおよびV_Lドメインまたはその一部を含む。

【0087】

ある特定の実施形態は、G I L 0 1、G I L 1 6、G I L 4 5、G I L 6 0、G I L 6 8、G I L 9 2、0 9 7 D 0 9、0 6 2 A 0 9、0 6 2 G 0 5、0 8 7 B 0 3、3 6 7 D 0 4、3 6 8 D 0 4、1 6 6 B 0 6、1 6 6 G 0 5、3 7 5 G 0 6、3 7 6 B 1 0、3 5 4 A 0 8、3 5 5 B 0 6、3 5 5 E 0 4または3 5 6 A 1 1由来のF_vフラグメントのV_Hドメイン、V_Lドメインまたはその組合せを含む。別の実施形態は、3 5 6 A 1 1、3 5 4 A 0 8、0 8 7 B 0 3および3 6 8 D 0 4から選択される抗体に由来するF_vフラグメントのV_Hドメイン、V_Lドメインまたはその組合せを含む。さらなる実施形態は、V_HおよびV_Lドメインに由来する1つ、2つ、3つ、4つ、5つまたは6つの相補性決定領域(CDR)を含む。そのCDR配列が配列番号5~13、23~31、41~49、59~67、77~85、95~103、113~121、131~139、149~157、167~175、185~193、203~211、221~229、239~247、257~265、275~283、293~301、311~319、329~337、347~355、365~373、383~391、401~409、419~427、437~445、455~463、473~481、491~499、509~517、527~535、545~553、563~571、581~589、599~607または617~625内に含まれる抗体は、本発明の範囲内に包含される。例えば、一態様において、抗体は、生殖系列化されているまたは生殖系列化されていないG I L 0 1、G I L 1 6、G I L 4 5、G I L 6 0、G I L 6 8、G I L 9 2、0 9 7 D 0 9、0 6 2 A 0 9、0 6 2 G 0 5、0 8 7 B 0 3、3 6 7 D 0 4、3 6 8 D 0 4、1 6 6 B 0 6、1 6 6 G 0 5、3 7 5 G 0 6、3 7 6 B 1 0、3 5 4 A 0 8、3 5 5 B 0 6、3 5 5 E 0 4または3 5 6 A 1 1の、または3 5 6 A 1 1、3 5 4 A 0 8、0 8 7 B 0 3および3 6 8 D 0 4から選択される抗体に由来するV_HドメインのH3フラグメントを含む。

【0088】

ある特定の実施形態では、このV_Hおよび/またはV_Lドメインは生殖系列化されていてもよく、すなわち、これらのドメインのフレームワーク領域(FR)は、生殖系列の細胞によって産生されるものに適合する従来の分子生物学的技術を用いて突然変異させる。他の実施形態では、FR配列はコンセンサス生殖系列配列からの発散を維持している。本発明の一態様において、生殖系列化されている抗体は表7に示される。

【0089】

一態様において、本発明は、生殖系列化されているG I L 0 1、G I L 1 6、G I L 4 5、G I L 6 0、G I L 6 8、G I L 9 2、0 9 7 D 0 9、0 6 2 A 0 9、0 6 2 G 0 5、0 8 7 B 0 3、3 6 7 D 0 4、3 6 8 D 0 4、1 6 6 B 0 6、1 6 6 G 0 5、3 7 5 G 0 6、3 7 6 B 1 0、3 5 4 A 0 8、3 5 5 B 0 6、3 5 5 E 0 4または3 5 6 A 1 1のアミノ酸配列および核酸配列を提供する。生殖系列化されているG I L 0 1、G I L 1 6、G I L 4 5、G I L 6 0、G I L 6 8、G I L 9 2、0 6 2 A 0 9、0 8 7 B 0 3、1 6 6 B 0 6、1 6 6 G 0 5、3 5 4 A 0 8、3 5 5 B 0 6、3 5 5 E 0 4、3 5 6 A 1 1および3 6 8 D 0 4のV_Hドメインのアミノ酸およびヌクレオチド配列は表7および図8に示されている。生殖系列化されているG I L 0 1、G I L 1 6、G I L 4 5、G I L 6 0、G I L 6 8、G I L 9 2、0 6 2 A 0 9、0 8 7 B 0 3、1 6 6 B 0 6、1 6 6 G 0 5、3 5 4 A 0 8、3 5 5 B 0 6、3 5 5 E 0 4、3 5 6 A 1 1および3 6 8 D 0 4のV_Lドメインのアミノ酸配列およびヌクレオチド配列も表7および図8に示されている。

【0090】

一態様において、突然変異誘発を用い、抗体を1以上の生殖系列配列とより類似するようになる。これは、体細胞突然変異誘発またはerror prone PCRによって抗体のフレームワーク領域に突然変異を導入する場合に望ましいものであり得る。V_Hお

10

20

30

40

50

よびV_Lドメインの生殖系列配列は、VBASEデータベース(MRC Center for Protein Engineering, UK)に対してアミノ酸および核酸配列アラインメントを行うことにより同定することができる。VBASEは、GenbankおよびEMBLデータライブラリーの最新公開を含む、1000の公開配列からコンパイルされた全ヒト生殖系列可変領域配列の包括的ディレクトリである。いくつかの実施形態において、scFvのFR領域はVBASEデータベースにおける最も近い一致に従って突然変異され、CDR部分はそのまま維持される。

【0091】

ある特定の実施形態では、本発明の抗体は、GIL01、GIL16、GIL45、GIL60、GIL68、GIL92、097D09、062A09、062G05、087B03、367D04、368D04、166B06、166G05、375G06、376B10、354A08、355B06、355E04または356A11により認識されるエピトープと同じエピトープと特異的に反応し、その結果、それらはGIL01、GIL16、GIL45、GIL60、GIL68、GIL92、097D09、062A09、062G05、087B03、367D04、368D04、166B06、166G05、375G06、376B10、354A08、355B06、355E04または356A11とヒトIL-22の結合を競合的に阻害する。このような抗体は競合的結合アッセイで決定することができる。一態様において、この抗体またはその抗原結合フラグメントは、368D04により認識されるIL-22エピトープと結合し、その結果、この抗体は368D04とヒトIL-22の結合を競合的に阻害する。別の実施形態では、この抗体またはその抗原結合フラグメントは、356A11により認識されるIL-22エピトープと結合し、その結果、この抗体は356A11とヒトIL-22の結合を競合的に阻害する。別の実施形態では、この抗体またはその抗原結合フラグメントは、354A08により認識されるIL-22エピトープと結合し、その結果、この抗体は354A08とヒトIL-22の結合を競合的に阻害する。別の実施形態では、この抗体またはその抗原結合フラグメントは、087B03により認識されるIL-22エピトープと結合し、その結果、この抗体は087B03とヒトIL-22の結合を競合的に阻害する。一態様において、ヒトIL-22に対するこれらの抗体の会合定数(K_A)は少なくとも $10^6 M^{-1}$ である。別の実施形態では、ヒトIL-22に対するこれらの抗体の会合定数は少なくとも $10^9 M^{-1}$ である。他の実施形態では、ヒトIL-22に対するこれらの抗体の会合定数は少なくとも $10^{10} M^{-1}$ 、少なくとも $10^{11} M^{-1}$ または少なくとも $10^{12} M^{-1}$ である。結合親和性は、ELISA、生物特異的相互作用分析などのバイオセンサー技術、または本願に記載されているものを含む他の技術といった当該技術分野で公知の技術を用いて決定することができる。

【0092】

本発明の抗体は、例えば、IL-22の全てまたは一部を含む組換えタンパク質などの他のタンパク質と結合し得ると考えられる。

【0093】

当業者ならば、開示されている抗体は、IL-22といく分ことなるタンパク質を検出、測定および/または阻害するために使用可能であることが分かるであろう。例えば、これらのタンパク質はIL-22のホモログであり得る。抗IL-22抗体は、配列番号1で示される配列中の少なくとも100、80、60、40または20個の連続するアミノ酸のいずれかの配列と少なくとも約60%、70%、80%、90%、95%またはそれ以上同一である配列を含むタンパク質と結合すると考えられる。

【0094】

配列相同性分析の他、エピトープマッピング(例えば、Epitope Mapping Protocols, ed. Morris, Humana Press, 1996参照)ならびに二次元および三次元構造解析を行い、本開示の抗体およびそれらの、抗原との複合体から仮定される特定の3D構造を特定することができる。このような方法としては、限定されるものではないが、X線結晶学(Engstrom (1974) Biochem. Exp. Biol., 11:7-13)および本抗体の仮想表示のコンピューターモデ

10

20

30

40

50

リング(Fletterick et al. (1986) Computer Graphics and Molecular modeling, in Current Communications in Molecular Biology, Cold Spring Harbor Laboratory, Cold Spring Harbor, NY)が含まれる。

【0095】

本開示は、変更された表1 V_H および/または V_L 配列を有する抗体を含む抗IL-22抗体を得るための方法を提供する。このような抗体は、当業者により、当技術分野で公知の技術を用いて誘導することができる。例えば、FR領域および/またはCDR領域にアミノ酸置換、欠失または付加を導入することができる。FRの変化は通常、抗体の安定性および免疫原性を向上させるために設計され、一方、CDRの変化はその抗原に対する抗体の親和性を高めるように設計される。親和性を高める変化は、CDR配列を変更し、その標的に対する抗体の親和性を測定することにより調べることができる(Antibody Engineering, 2nd ed., Oxford University Press, ed. Borrebaeck, 1995参照)。

10

【0096】

そのCDR配列が配列番号5~13、23~31、41~49、59~67、77~85、95~103、113~121、131~139、149~157、167~175、185~193、203~211、221~229、239~247、257~265、275~283、293~301、311~319、329~337、347~355、365~373、383~391、401~409、419~427、437~445、455~463、473~481、491~499、509~517、527~535、545~553、563~571、581~589、599~607または617~625に含まれる、またはそれらの配列内に含まれるものとは実質的でない違いしかない抗体も本発明の範囲内に包含される。一般に、これは、アミノ酸の、類似の電荷、疎水性または立体化学特性を有するアミノ酸での置換を含む。CDR領域とは対照的に、FR領域におけるより著しい置換も、それらが抗体の結合特性に悪影響(例えば、非置換抗体に比べて50%を超える親和性の低下)を及ぼさない限り、可能である。置換は抗体を生殖系列化する、または抗原結合部位を安定化するために行うこともできる。

20

【0097】

保存的変化は、そのような変化が行われた分子のものと同様の機能的特徴および化学的特徴を有する分子を作り出す。これに対し、分子の機能的特徴および化学的特徴における実質的変化は、(1)例えば、シートまたはらせん構造としての、置換領域における分子主鎖の構造、(2)標的部位における分子の電荷もしくは疎水性、または(3)分子の大きさ、の維持に対するそれらの作用が有意に異なるアミノ酸配列における置換を選択することにより達成することができる。

30

【0098】

例えば、「保存的アミノ酸置換」は天然アミノ酸残基を、その位置におけるアミノ酸残基の極性または電荷にほとんど、または全く影響がないような非天然残基での置換を含む。(例えば、MacLennan et al., 1998, Acta Physiol. Scand. Suppl. 643:55-67; Sasaki et al., 1998, Adv. Biophys. 35:1-24参照)。

【0099】

所望のアミノ酸置換(保存的であれ非保存的であれ)は、このような置換が望まれる際に当業者により決定することができる。例えば、アミノ酸置換は、分子配列の重要な残基を同定するため、または本明細書に記載の分子の親和性を増強もしくは低下させるために使用することができる。例としてのアミノ酸置換は、限定されるものではないが、表3に示されるものがある。

40

【表 4】

表 3 : アミノ酸置換

元の残基	典型的な置換基	さらに保存的な置換基
Ala (A)	Val, Leu, Ile	Val
Arg (R)	Lys, Gln, Asn	Lys
Asn (N)	Gln	Gln
Asp (D)	Glu	Glu
Cys (C)	Ser, Ala	Ser
Gln (Q)	Asn	Asn
Gly (G)	Pro, Ala	Ala
His (H)	Asn, Gln, Lys, Arg	Arg
Ile (I)	Leu, Val, Met, Ala, Phe, ノルロイシン	Leu
Leu (L)	ノルロイシン, Ile, Val, Met, Ala, Phe	Ile
Lys (K)	Arg, 1,4 ジアミノ-酪酸, Gln, Asn	Arg
Met (M)	Leu, Phe, Ile	Leu
Phe (F)	Leu, Val, Ile, Ala, Tyr	Leu
Pro (P)	Ala	Gly
Ser (S)	Thr, Ala, Cys	Thr
Thr (T)	Ser	Ser
Trp (W)	Tyr, Phe	Tyr
Tyr (Y)	Trp, Phe, Thr, Ser	Phe
Val (V)	Ile, Met, Leu, Phe, Ala, ノルロイシン	Leu

10

20

30

【0100】

ある特定の実施形態では、保存的アミノ酸置換はまた、生物系における合成によるものではなく、化学的ペプチド合成により一般に組み込まれた非天然アミノ酸残基も包含する。

【0101】

一態様において、変異体 V_H ドメインを作製する方法は、開示されている V_H ドメイン中の少なくとも1個のアミノ酸の付加、欠失もしくは置換すること、または開示されている V_H ドメインと少なくとも1つの V_L ドメインとを組み合わせること、および変異体 V_H ドメインを IL-22 の結合または IL-22 活性の変調に関して試験することを含む。

40

【0102】

変異体 V_L ドメインを作製するための類似の方法は、開示されている V_L ドメイン中の少なくとも1つのアミノ酸を付加、欠失もしくは置換すること、または開示されている V_L ドメインと少なくとも1つの V_H ドメインとを組み合わせること、および変異体 V_L ドメインを IL-22 の結合または IL-22 活性の変調に関して試験することを含む。

【0103】

本開示のさらなる態様は、IL-22 と特異的に結合する抗体または抗原結合フラグメントを作製するための方法を提供する。この方法は、

(a) 少なくとも1つの CDR を欠く、または置換される少なくとも1つの CDR を含む V_H ドメインをコードする核酸の出発レパトリーを提供すること；

50

(b) 出発レパートリーのCDR領域へ、 V_H CDRに関して本明細書に実質的に示されるようなアミノ酸配列をコードする少なくとも1つのドナー核酸を挿入すること、または出発レパートリーのCDR領域を、 V_H CDRに関して本明細書に実質的に示されるようなアミノ酸配列をコードする少なくとも1つのドナー核酸で置換し、生成物レパートリーを得ること；

(c) 生成物レパートリーの核酸を発現させること；

(d) IL-22と結合する特異的抗原結合フラグメントを選択すること；および

(e) 特異的抗原結合フラグメントまたはそれをコードする核酸を回収することを含む。

【0104】

類似の方法では、本発明の少なくとも1つの V_L CDRを、少なくとも1つのCDRを欠く、または置換される少なくとも1つのCDRを含む V_L ドメインをコードする核酸のレパートリーと組み合わせる。この少なくとも1つの V_H または V_L CDRは、配列番号8、9、10、11、12、13、26、27、28、29、30、31、44、45、46、47、48、49、62、63、64、65、66、67、80、81、82、83、84、85、98、99、100、101、102、103、116、117、118、119、120、121、134、135、136、137、138、139、152、153、154、155、156、157、170、171、172、173、174、175、188、189、190、191、192、193、206、207、208、209、210、211、224、225、226、227、228、229、242、243、244、245、246、247、260、261、262、263、264、265、278、279、280、281、282、283、296、297、298、299、300、301、314、315、316、317、318、319、332、333、334、335、336、337、350、351、352、353、354、355、368、369、370、371、372、373、386、387、388、389、390、391、404、405、406、407、408、409、422、423、424、425、426、427、440、441、442、443、444、445、458、459、460、461、462、463、476、477、478、479、480、481、494、495、496、497、498、499、512、513、514、515、516、517、530、531、532、533、534、535、548、549、550、551、552、553、566、567、568、569、570、571、584、585、586、587、588、589、602、603、604、605、606、607、620、621、622、623、624または625に示されているものを含む、表1または7に示されているものなどの、CDR1、CDR2、CDR3または V_H CDRと V_L CDRの組合せを含むその組合せであり得る。

【0105】

一態様において、可変ドメインは、置換されるCDR3を含むか、またはCDR3コード領域を含み、少なくとも1つのドナー核酸は、実質的に配列番号10、13、28、31、46、49、64、67、82、85、100、103、118、121、136、139、154、157、172、175、190、193、208、211、226、229、244、247、262、265、280、283、298、301、316、319、334、337、352、355、370、373、388、391、406、409、424、427、442、445、460、463、478、481、496、499、514、517、532、535、550、553、568、571、586、589、604、607、622または625で示されるようなアミノ酸をコードする。

【0106】

別の実施形態では、可変ドメインは、置換されるCDR1を含むか、またはCDR1コード領域を欠き、少なくとも1つのドナー核酸は、実質的に配列番号8、11、26、29、44、47、62、65、80、83、98、101、116、119、134、1

10

20

30

40

50

37、152、155、170、173、188、191、206、209、224、227、242、245、260、263、278、281、296、299、314、317、332、335、350、353、368、371、386、389、404、407、422、425、440、443、458、461、476、479、494、497、512、515、530、533、548、551、566、569、584、587、602、605、620または623で示されるようなアミノ酸配列をコードする。

【0107】

別の実施形態では、可変ドメインは置換されるCDR2を含むか、またはCDR2コード領域を欠き、少なくとも1つのドナー核酸は、実質的に配列番号9、12、27、30、45、48、63、66、81、84、99、102、117、120、135、138、153、156、171、174、189、192、207、210、225、228、243、246、261、264、279、282、297、300、315、318、333、336、351、354、369、372、387、390、405、408、423、426、441、444、459、462、477、480、495、498、513、516、531、534、549、552、567、570、585、588、603、606、621または624で示されるようなアミノ酸配列をコードする。

10

【0108】

別の実施形態では、可変ドメインは置換されるCDR3を含むか、またはCDR3コード領域を欠き、かつ、さらに置換されるCDR1を含むか、またはCDR1コード領域を含み、少なくとも1つのドナー核酸は、実質的に表1または7で示されるようなアミノ酸配列をコードする。

20

【0109】

別の実施形態では、可変ドメインは置換されるCDR3を含むか、またはCDR3コード領域を欠き、かつ、さらに置換されるCDR2を含むか、またはCDR2コード領域を欠き、少なくとも1つのドナー核酸は、実質的に表1または7で示されるようなアミノ酸配列をコードする。

【0110】

別の実施形態では、可変ドメインは置換されるCDR3を含むか、またはCDR3コード領域を欠き、かつ、さらにCDR1および置換されるCDR2を含むか、またはCDR1およびCDR2コード領域を欠き、少なくとも1つのドナー核酸は、実質的に表1または7で示されるようなアミノ酸配列をコードする。

30

【0111】

組換えDNA戦略を用い、開示されているCDR配列を、個々のCDRを欠くV_HまたはV_Lドメインのレポトリに導入することができる(Marks et al. (BioTechnology (1992) 10: 779-783)。例えば、可変ドメインの5'末端に隣接するプライマーと第3のFRに対するプライマーを用い、CDR3を欠く可変ドメイン配列のレポトリを作製することができる。このレポトリは、開示されている抗体のCDR3と組み合わせることができる。同様の技術を用い、開示されているCDR配列の部分は他の抗体に由来するCDR配列の部分とシャッフルし、IL-22と結合する抗原結合フラグメントのレポトリを提供することができる。いずれのレポトリもファージディスプレイなどの宿主系で発現させることができ(WO92/01047およびその対応する米国特許第5,969,108号に記載)、従って、IL-22と結合する好適な抗原結合フラグメントを選択することができる。

40

【0112】

さらなる別法では、開示されているV_HまたはV_L配列のランダム突然変異誘発を用いて、IL-22となお結合し得る変異体V_HまたはV_Lドメインを作製する。error-prone PCRを用いた技術は、Gram et al. (Proc. Nat. Acad. Sci. U.S.A. (1992) 89: 3576-3580)により記載されている。

【0113】

50

別法では、開示されている V_H または V_L 配列の指定突然変異誘発を用いる。このような技術は Barbas et al. (Proc. Nat. Acad. Sci. U.S.A. (1994) 91 : 3809-3813) および Schier et al. (J. Mol. Biol. (1996) 263:551-567) により開示されている。

【0114】

可変ドメインの一部は、実質的に本明細書に示されるような少なくとも1つのCDR領域と所望により、本明細書に示されるような V_H または V_L ドメイン由来の介在フレームワーク領域を含む。この部分はFR1のC末端半分および/またはFR4のN末端半分を含み得る。可変ドメインのN末端またはC末端の付加的残基は、天然抗体に見られるものと同じ残基でなくてもよい。例えば、組換えDNA技術による抗体の構築は多くの場合、そのリンカーの使用に由来するN末端またはC末端残基を導入する。可変ドメインを他の可変ドメイン(例えば、ダイアポディー)、定常ドメインまたはタンパク質性標識と連結するためにはいくつかのリンカーを使用することができる。

10

【0115】

実施例に示される実施形態は、 V_H および V_L ドメインの「一致」対を含むが、当業者ならば、別の実施形態が、 V_L または V_H ドメインのいずれかに由来するただ1つのCDRを含む抗原結合フラグメントを含み得る。単鎖特異的抗原結合ドメインのいずれか1つを用い、例えば、IL-22と結合し得る2ドメイン特異的抗原結合フラグメントを形成し得る相補的ドメインをスクリーニングすることができる。このスクリーニングは、WO 92/01047に開示されている、いわゆる階層的二重コンビナトリアルアプローチを用いファージディスプレイスクリーニング法によって達成できる。このアプローチでは、H鎖またはL鎖クローンのいずれかを含む個々のコロニーを用い、他の鎖(LまたはH)をコードするクローンの完全ライブラリーを感染させ、得られた2鎖特異的抗原結合ドメインを記載のようなファージディスプレイ技術に従って選択する。

20

【0116】

別のいくつかの実施形態では、抗IL-22抗体は、化学的架橋または組換え法により、タンパク質(例えば、アルブミン)に連結させることができる。開示されている抗体はまた、米国特許第4,640,835号;同第4,496,689号;同第4,301,144号;同第4,670,417号;同第4,791,192号;または同第4,179,337号に示されている方法で種々の非タンパク質性ポリマー(例えば、ポリエチレングリコール、ポリプロピレングリコールまたはポリオキシアルキレン)に連結させることができる。これらの抗体は、例えば、生態循環中でのそれらの半減期を高めるために、ポリマーに共有結合させることにより化学的に修飾することができる。ポリマーおよび結合法の例は米国特許第4,766,106号;同第4,179,337号;同第4,495,285号;および同第4,609,546号に示されている。

30

【0117】

開示されている抗体はそれらのグリコシル化を変更するよう修飾することができ、すなわち、少なくとも1つの炭水化物部分を欠失させるか、または抗体に付加することができる。グリコシル化部位の欠失または付加は、グリコシル化コンセンサス部位を欠失または付加するようにアミノ酸配列を変化させることにより達成することができる。これらは当技術分野で周知である。炭水化物部分を付加する別法は、抗体のアミノ酸残基にグリコシドを化学的または酵素的に結合させることである(WO 87/05330およびAplin et al. (1981) CRC Crit. Rev. Biochem., 22:259-306参照)。炭水化物部分の除去もまた化学的または酵素的に達成することができる(Hakimuddin et al. (1987) Arch. Biochem. Biophys., 259:52; Edge et al. (1981) Anal. Biochem., 118:131; Thotakura et al. (1987) Meth. Enzymol., 138:350参照)。

40

【0118】

抗体定常領域を変更するための方法は当技術分野で公知である。機能の変更された抗体(例えば、細胞上のFcRまたは補体のC1成分などのエフェクターリガンドに対する親和性の変更)は、その抗体の定常部分の少なくとも1つのアミノ酸残基を異なる残基で置換することにより作製することができる(例えば、EP 388,151 A1、米国特許

50

第5, 624, 821号および同第5, 648, 260号参照)。ネズミまたは他種の抗体に適用される場合、類似の機能を低減または排除する類似の種類の変更が挙げられる。

【0119】

例えば、FcR (例えば、FcR1) またはC1qに対する抗体 (例えば、ヒトIgGなどのIgG) のFc領域の親和性を変更することができる。この親和性は、少なくとも1つの特定の残基をその側鎖に適当な官能基を有する少なくとも1つの残基で置換することにより、またはグルタミン酸基もしくはアスパラギン酸基などの荷電官能基、またはおそらくフェニルアラニン、チロシン、トリプトファンまたはアラニンなどの芳香族非極性残基を導入することにより変更することができる (例えば、米国特許第5, 624, 821号参照)。

10

【0120】

例えば、IgG定常領域における残基297 (アスパラギン) のアラニンでの置換はエフェクター細胞の補充を有意に阻害するが、C1qに対する親和性をわずかに低下させる (約3分の1弱い) だけである (例えば、米国特許第5, 624, 821号参照)。重鎖の残基の符番はEUインデックス (Kabat et al., 1991 前掲) の符番である。この変更はグリコシル化部位を破壊し、この炭水化物の存在はFc受容体結合に必要であると考えられる。グリコシル化部位を破壊するこの部位における他の置換は、溶解活性に同様の低下を生じると考えられる。他のアミノ酸置換、例えば、残基318 (G1)、320 (Lys) および322 (Lys) のいずれか1つの、Alaへの変化もまた、IgG抗体のFc領域へのC1q結合を無効にすることが知られている (例えば、米国特許第5, 624, 821号参照)。

20

【0121】

Fc受容体との相互作用が低下した修飾抗体を作製することができる。例えば、ヒトFcR1受容体と結合するヒトIgG₃において、Leu235からGluへの変化はその受容体との相互作用を破壊することが示されている。また、抗体のヒンジ結合領域における隣接または近接部位に対する突然変異 (例えば、残基234、236または237のAlaとの置換) を用いて、FcR1受容体に対する抗体親和性に影響を及ぼすことができる。重鎖における残基の符番はEUインデックス (Kabat et al., 1991 前掲参照) に基づいている。

【0122】

例えば、CH2ドメインのN末端領域において少なくとも1つのアミノ酸を変更することにより抗体の溶解活性を変化させるためのさらなる方法が、Morgan et al.によるWO 94/29351および米国特許第5, 624, 821号に記載されている。

30

【0123】

本発明の抗体は検出可能または機能的標識でタグ付けすることができる。これらの標識としては、放射性標識 (例えば、¹³¹Iまたは⁹⁹Tc)、酵素標識 (例えば、セイヨウワサビペルオキシダーゼまたはアルカリ性ホスファターゼ) および他の化学部分 (例えば、ビオチン) を含む。

【0124】

本発明はまた、IL-22、特に、ヒトIL-22と結合する単離された抗体を特徴とし得る。ある特定の実施形態では、抗IL-22抗体は次の特徴の少なくとも1つを有し得る：(1) モノクローナルまたは単一特異性抗体であること；(2) ヒト抗体であること；(3) in vitro生成抗体であること；(4) in vivo生成抗体 (例えば、トランスジェニックマウス系) であること；(5) IL-22と少なくとも 10^{12} M^{-1} の会合定数で結合すること；(6) IL-22と少なくとも 10^{11} M^{-1} の会合定数で結合すること；(7) IL-22と少なくとも 10^{10} M^{-1} の会合定数で結合すること；(8) IL-22と少なくとも 10^9 M^{-1} の会合定数で結合すること；(9) IL-22と少なくとも 10^6 M^{-1} の会合定数で結合すること；(10) IL-22と500 nM以下の解離定数で結合すること；(11) IL-22と10 nM以下の解離定数で結合すること；(12) IL-22と150 pM以下の解離定数で結合すること；(13) IL-2

40

50

2と60 pM以下の解離定数で結合すること；(14) IL-22と、IL-22RまたはIL-22RとIL-10R2の受容体複合体との結合をIC₅₀ 10 nM以下で阻害すること；(15) IL-22により媒介される、IL-22受容体操作BaF3細胞の増殖を、一態様においてはIC₅₀ 1 nM以下で、別の実施形態ではIC₅₀ 150 pM以下で、別の実施形態ではIC₅₀ 100 pM以下で、別の実施形態ではIC₅₀ 10 pM以下で遮断すること；および(16) IL-22により媒介されるHT29からのGRO α 分泌を、一態様においてはIC₅₀ 1 nM以下で、別の実施形態ではIC₅₀ 150 pM以下で、別の実施形態ではIC₅₀ 10 pM以下で遮断すること。

【0125】

当業者ならば、上記の修飾が全てを網羅するものではないこと、および多くの他の修飾が当技術分野で本開示の教示を鑑みて当業者にとって自明であることが分かるであろう。

【0126】

III. 核酸、クローニングおよび発現系

本開示は、開示されている抗体をコードする単離された核酸を提供する。これらの核酸はDNAを含んでもRNAを含んでもよく、合成（完全または部分的）であっても組換え（完全または部分的）であってもよい。本発明に示されるヌクレオチド配列の参照は、特定の配列を有するDNA分子を包含し、TがUに置換されている特定の配列を有するRNA分子を包含する。

【0127】

また、本明細書に開示されるように、1つ、2つまたは3つのCDR、V_Hドメイン、V_Lドメインまたはその組合せのコード配列、またはそれと実質的に同一の配列（例えば、それと少なくとも85%、90%、95%、96%、97%、98%、99%またはそれ以上同一であるか、または開示されている配列とストリンジェント条件下でハイブリダイズし得る配列）を含む核酸も提供される。

【0128】

一態様において、単離された核酸は、配列番号8~13、26~31、44~49、62~67、80~85、98~103、116~121、134~139、152~157、170~175、188~193、206~211、224~229、242~247、260~265、278~283、296~301、314~319、332~337、350~355、368~373、386~391、404~409、422~427、440~445、458~463、476~481、494~499、512~517、530~535、548~553、566~571、584~589、602~607または620~625のアミノ酸配列から選択される少なくとも1つのCDRを有する抗IL-22抗体の重鎖および軽鎖可変領域をコードするヌクレオチド配列、または本明細書に開示される配列と1または2個のアミノ酸で異なるCDRをコードする配列を有する。

【0129】

この核酸は軽鎖または重鎖可変領域のみをコードすることもできるし、あるいは対応する可変領域と作動可能なように連結された抗体軽鎖または重鎖定常領域をコードすることもできる。一態様において、軽鎖可変領域は または 定常領域から選択される定常領域に連結されている。軽鎖定常領域はヒト または であってもよい。別の実施形態では、重鎖可変領域はIgG（例えば、IgG₁、IgG₂、IgG₃、IgG₄）、IgM、IgA₁、IgA₂、IgDおよびIgEから選択される抗体イソ型の重鎖定常領域と連結されている。重鎖定常領域はIgG（例えば、IgG₁）イソ型であり得る。

【0130】

本発明の核酸組成物は、修飾部位以外の天然配列（cDNAまたはゲノムDNAまたはその混合物の）に多いが、遺伝子配列を提供するための標準的な技術に従って突然変異させることができる。コード配列に関して、これらの突然変異は、所望のようにアミノ酸配列に影響を及ぼすことができる。特に、天然V、D、J、定常、スイッチおよび本明細書に記載の他のこのような配列と実質的に同一であるか、またはそれらに由来するヌクレオ

10

20

30

40

50

チド配列が意図される（ここで、「由来する」とは、配列が同一であるか、または別の配列から改変されたことを示す）。

【0131】

一態様において、この核酸は提供される配列とは異なる（例えば、置換、挿入または欠失により異なる）（例えば、少なくとも1つ、10、20、30または40未満のヌクレオチド、少なくとも1つ、対象核酸の1%、5%、10%または20%のヌクレオチドが異なる）。欠失もしくは挿入、または誤対合からの「ループ状の」外部配列も違いとみなされる。この違いは非必須残基をコードするヌクレオチドであってもよいし、あるいは違いは保存的置換であってもよい。

【0132】

本開示はまた、核酸構築物を、本明細書に記載されるような少なくとも1つの核酸を含むプラスミド、ベクター、転写または発現カセットの形態で提供する。

【0133】

本開示はさらに、本明細書に記載の少なくとも1つの核酸構築物を含む宿主細胞を提供する。

【0134】

また、本明細書に記載の配列を含む核酸からコードされているタンパク質を作製する方法も提供する。この方法は宿主細胞を、それらがその核酸に由来するタンパク質を発現するのに適当な条件下で培養することを含む。発現および産生の後、 V_H または V_L ドメインまたは特異的結合メンバーを好適ないずれかの技術を用いて単離および/または精製し、適宜使用することができる。この方法はまた、scFvをコードする核酸と抗体のFc部分をコードする核酸とを融合させるステップを含み得る。この方法は生殖系列化するステップも含み得る。

【0135】

抗原結合フラグメント、 V_H および/または V_L ドメイン、ならびにコード核酸分子およびベクターは、それらの天然環境から、実質的に純粋もしくは均質な形態で、または核酸の場合には必要な機能を有するポリペプチドをコードする配列以外の起源の核酸または胃を含まないか、もしくは実質的に含まない形態で単離および/または精製することができる。

【0136】

種々の宿主細胞においてポリペプチドをクローニングおよび発現する系は当技術分野で公知である。抗体の産生に好適な細胞は、例えば、Fernandez et al. (1999) Expression Systems, Academic Press, eds.に記載されている。要するに、好適な宿主細胞としては、哺乳類細胞、昆虫細胞、植物細胞、酵母細胞または原核細胞、例えば、大腸菌が挙げられる。当技術分野で異種ポリペプチド発現に利用可能な哺乳類細胞としては、リンパ系細胞系統（例えば、NSO）、HEK293細胞、チャイニーズハムスター卵巣（CHO）細胞、COS細胞、HeLa細胞、ベイビーハムスター腎臓細胞、卵母細胞細胞、およびトランスジェニック動物由来の細胞、例えば、乳房上皮細胞が挙げられる。一態様において、GIL01、GIL16、GIL45、GIL60、GIL68、GIL92、097D09、062A09、062G05、087B03、367D04、368D04、166B06、166G05、375G06、376B10、354A08、355B06、355E04および356A11抗体はHEK293またはCHO細胞で発現される。別の実施形態では、365A11、354A08、087B03および368D04から選択される抗体の選択は、HEK293またはCHO細胞で発現される。他の実施形態では、本発明の抗体をコードする核酸は組織特異的プロモーター（例えば、哺乳類特異的プロモーター）の制御下に置かれ、抗体はトランスジェニック動物で産生される。例えば、これらの抗体はトランスジェニックウシ、ブタ、ウマ、ヒツジ、ヤギまたは齧歯類などのトランスジェニック動物の乳汁中に分泌される。

【0137】

好適なベクターは、プロモーター配列、ターミネーター配列、ポリアデニル化配列、エ

10

20

30

40

50

ンハンサー配列、マーカー遺伝子および他の配列を含む適当な調節配列を含むように選択または構築される。これらのベクターはまた、プラスミドまたはウイルス骨格も含む。詳細については、Sambrook et al., *Molecular Cloning: A Laboratory Manual*, 2nd ed., Cold Spring Harbor Laboratory Press (1989)を参照。DNAの操作、調製、突然変異誘発、シーケンシングおよびトランスフェクションを含む多くの確立された技術が、*Current Protocols in Molecular Biology*, Second Edition, Ausubel et al. eds., John Wiley & Sons (1992)に記載されている。

【0138】

本開示のさらなる態様は核酸を宿主細胞に導入する方法を提供する。真核細胞については、好適なトランスフェクション技術としては、リン酸カルシウム、DEAE-デキストラン、エレクトロポレーション、リポソーム媒介トランスフェクションおよびレトロウイルスまたは他のウイルス、例えば、ワクシニアウイルスまたはバキュロウイルスを用いた形質導入が含まれる。細菌細胞については、好適な技術としては、塩化カルシウム形質転換、エレクトロポレーションおよびバクテリオファージを用いたトランスフェクションが含まれる。DNA導入の後、その核酸を含む細胞を選択するために選択法（例えば、薬剤耐性）を行うことができる。

10

【0139】

IV. 抗IL-22抗体の使用

IL-22に対するアンタゴニストとして働く抗IL-22抗体は、充実組織中の上皮細胞に作用するなどの少なくとも1つのIL-22媒介免疫応答の調節、および例えばT_H17T細胞を含むT細胞のサブセットの発現を遮断するなどの顆粒免疫応答の間接的調節に使用することができる。一態様において、本発明の抗体は、免疫応答を調節するための方法に使用され、その方法は、IL-22と本発明の抗体を接触させ、それにより免疫応答を調節することを含む。一態様において、この免疫応答は細胞増殖、細胞溶解活性、サイトカイン分泌またはケモカイン分泌を含む。

20

【0140】

よって、本発明の抗体は、免疫細胞または造血系細胞（例えば、骨髄、リンパ系の細胞、または赤血球系統もしくはその前駆体細胞）の活性（例えば、増殖、分化および/または生存）を直接的または間接的に阻害するために使用することができ、従って、種々の免疫障害および過剰増殖性障害の治療に使用することができる。治療可能な免疫障害の限定されない例としては、限定されるものではないが、自己免疫障害、例えば、関節炎（関節リウマチ、若年性関節リウマチ、変形性関節症、乾癬性関節炎、狼瘡性関連関節炎または強直性脊椎炎）、硬皮症、全身性紅斑性狼瘡(systemic lupus erythematosis)、HIV、シェーグレン症候群、脈管炎、多発性硬化症、自己免疫甲状腺炎、皮膚炎（アトピー性皮膚炎および湿疹性皮膚炎）、重症筋無力症、炎症性腸疾患（IBD）、クローン病、大腸炎、真性糖尿病（I型）；例えば、皮膚（例えば、乾癬）、心血管系（例えば、アテローム性動脈硬化症）、神経系（例えば、アルツハイマー病）、肝臓（例えば、肝炎）、腎臓（例えば、腎炎）および膵臓（例えば、膵炎）などの炎症症状；心血管障害、例えば、コレステロール代謝障害、酸素フリーラジカル傷害、虚血；創傷治癒関連の障害；呼吸器系障害、例えば、喘息およびCOPD（例えば、嚢胞性繊維症）；急性炎症症状（例えば、内毒素血症、敗血症(sepsis)および敗血症(septicaemia)、毒性ショック症候群および感染症）；移植拒絶およびアレルギーが挙げられる。一態様において、IL-22関連障害は関節障害、例えば、関節リウマチ、若年性関節リウマチ、変形性関節症、乾癬性関節炎または強直性脊椎炎の1以上から選択される障害；呼吸器系障害（例えば、喘息、慢性閉塞性肺疾患（COPD））；または例えば、皮膚（例えば、乾癬）、心血管系（例えば、アテローム性動脈硬化症）、神経系（例えば、アルツハイマー病）、肝臓（例えば、肝炎）、腎臓（例えば、腎炎）、膵臓（例えば、膵炎）および消化器官（例えば、大腸炎、クローン病およびIBD）などの炎症症状；急性炎症症状、例えば、内毒素血症、敗血症(sepsis)および敗血症(septicaemia)、毒性ショック症候群および感染症；多臓器不全；呼吸器系疾患（ARD）；類デンプン症；糸球体硬化症、膜性神経障害、腎臓動脈硬化症、

30

40

50

糸球体腎炎、腎臓の繊維増殖性疾患などの腎症、ならびに他の腎不全および腎腫瘍がある。上皮に対するIL-22の作用のために、抗IL-22抗体は、上皮癌、例えば、癌腫、黒色腫およびその他の治療に使用することができる。これらおよびその他の病態におけるIL-22阻害の原理に関する記載としては、WO03/083062(58~75頁)を参照。

【0141】

多発性硬化症は、炎症と、神経を絶縁し、適切な神経機能に必要とされるミエリン鞘の欠損を特徴とする中枢神経系疾患である。IL-22に依存する免疫応答から生じる炎症は、本発明の抗体および組成物で治療することができる。多発性硬化症の実験的自己免疫脳炎(EAE)マウスモデル(Tuohy et al. (J. Immunol. (1988) 141:1126-1130)、Sobel et al. (J. Immunol. (1984) 132: 2393-2401)およびTraugott (Cell Immunol. (1989) 119:114-129)では、EAEの誘発前に(また同時に)マウスをGIL01、GIL16、GIL45、GIL60、GIL68、GIL92、097D09、062A09、062G05、087B03、367D04、368D04、166B06、166G05、375G06、376B10、354A08、355B06、355E04または356A11注射で処置すると、この疾病の発症を著しく遅延させることができる。これは本発明の抗体の使用を確認するためのモデルとして役立つ。本発明の抗体は同様にヒトにおいて多発性硬化症を治療するために使用することができる。

10

【0142】

関節炎は関節における炎症を特徴とする疾病である。関節リウマチ(RA)は最も多い形態の関節炎であり、結合組織および関節内面の膜である滑膜の炎症を含む。炎症を受けた滑膜はしばしば関節に浸潤し、関節の軟骨および骨を損傷する。IL-22およびIL-22Rタンパク質および/または転写物は双方のヒト疾病に関連する。RA滑膜生検では、IL-22タンパク質はビメンチン⁺滑膜繊維芽細胞といくつかのCD68⁺マクロファージで検出され、一方、IL-22Rは滑膜繊維芽細胞で検出される。滑膜繊維芽細胞をIL-22で処置すると、単球化学遊走物質タンパク質-1であるMCP-1の産生、ならびに全般的な代謝活性が誘導される(Ikeuchi, H., et al. (2005) Arthritis Rheum. 52:1037-46)。IL-22の阻害剤は関節リウマチの症候を改善する(WO2005/000897 A2; 米国特許第6,939,545号)。炎症性サイトカインおよびケモカインの分泌の上昇、さらに重要には、IL-22に依存する免疫応答から起こる疾病の増長は本発明の抗体で治療することができる。同様に、本発明の抗体および組成物はヒトにおいてRAまたはその他の関節性疾患を治療するためにも使用可能である。

20

30

【0143】

移植拒絶は、ドナー由来の組織が宿主の免疫細胞により特異的に「攻撃される」、免疫現象である。主たる「攻撃」細胞はT細胞であり、そのT細胞受容体はドナーのMHC分子を「外来」と認識する。この認識はT細胞を活性化し、T細胞は種々のサイトカインおよび細胞溶解性タンパク質を増殖および分泌し、やがて移植片を破壊する。MLRおよび移植モデルはCurrent Protocols in Immunology, Second Edition, Coligan et al. eds., John Wiley & Sons, 1994; Kasaian et al. (Immunity (2002) 16:559-569); Fulmer et al. (Am. J. Anat. (1963) 113:273-285)およびLenschow et al. (Science (1992) 257:789-792)に記載されている。本発明の抗体および組成物はMLRを低下させるため、ならびに移植拒絶およびIL-22に依存するヒトにおける関連の疾病(例えば、移植片対宿主病)を治療するために使用することができる。

40

【0144】

本発明の抗体はまた、対象において、IL-22および/またはIL-22Rおよび/またはIL-10R2応答細胞を阻害する、またはその過剰増殖を軽減するのに十分な量の抗体を投与し、それらの抗体にその障害を治療または予防させることによる、IL-22応答細胞およびIL-22R/IL-10R2応答細胞の異常な活性に関連のある過剰増殖性障害を治療するために使用することもできる。IL-22およびIL-22R発現は、限定されるものではないが、脾臓、肺、皮膚、消化管、肝臓、腎臓を含むいくつかの

50

組織の上皮細胞を構成している(Kotenko, S.V. et al. (2001) J. Biol. Chem. 276:2725-32; Xie, M.H. et al. (2000) J. Biol. Chem. 275:31335-9; Wolk, K. et al. (2004) Innunity 21:241-54)。さらに、IL-22受容体複合体もまた、罹患関節および正常消化管に由来する繊維芽細胞の表面で発現する(Ikeuchi, H. et al. (2005) Arthritis Rheum. 52:1037-46; Andoh, A. et al. (2005) Gastroenterology 129:969-84)。これらの細胞種の新生物性の派生物はIL-22に対する応答性を助け、その生物内でのこれらの細胞の生存力を変調することができる。従って、IL-22に対する抗体は、このような新生物、例えば、扁平上皮癌、基底細胞癌、移行上皮細胞乳頭腫および癌腫、腺腫、腺癌、形成性胃組織炎、インスリノーマ、グルカゴノーマ、ガストリノーマ、ピポーマ、胆管癌、肝細胞癌、腺様嚢胞癌、虫垂のカルチノイド腫瘍、プロラクチノーマ、膨大細胞種腫、ヒュルトレ細胞腺腫、腎細胞癌、グラビッツ腫瘍、多発性内分泌腺腫、類内膜腺腫、付属器および皮膚付属器新生物、粘膜表皮新生物、嚢胞性、粘液性および血清性新生物、嚢胞腺腫、腹膜偽粘液腫、腺管性、小葉性髄質新生物、腺房細胞新生物、複合上皮新生物、ウォーシク腫瘍、胸腺腫、特殊な性腺新生物、性索間質腫瘍、莢膜腫、顆粒膜細胞腫、男性胚細胞腫、sertoli-leydig細胞腫、傍神経節腫、クロム親和性細胞腫、グロムス腫瘍、色素細胞性母斑(melanocytic nevus)、悪性黒色腫、黒色腫、結節性黒色腫、異形成母斑、悪性黒子、表在拡大型黒色腫または末端黒子型黒色腫の進行を阻害するために症可能である。IL-22受容体ex vivoナイーブまたは活性化免疫細胞では検出されないが、この受容体の調節不全は、このような派生新生細胞をIL-22応答性とする可能性があり、従って、IL-22に対する抗体により阻害される。

10

20

【0145】

別の態様において、本発明は、対象において急性期応答を低下、阻害または軽減する方法を特徴とする。この方法は、その対象に本明細書に記載されるような抗IL-22抗体またはそのフラグメントを、対象の急性期応答を低下、阻害または軽減するのに十分な量で投与することを含む。一態様において、この対象は哺乳類、例えば、呼吸器系障害、炎症性障害および自己免疫障害を含む、本明細書に記載されるようなIL-22関連障害に罹患しているヒトである。一態様において、このIL-22結合剤は、例えば、局所投与、皮下投与、または全身循環ではないその他の投与で局部的に投与する。

【0146】

IL-22は、直接的全身作用とは対照的に、例えば、組織炎症のモジュラーまたはレギュレーターとして作用する(例えば、直接的に作用する)ことにより、その炎症作用を局部的に発揮すると考えられる。よって、例えば、本発明の抗IL-22抗体を用いてIL-22活性を阻害すると、全身性の抗炎症理学療法よりも有効な(例えば、毒性の低い)組織特異的な抗炎症薬が得られる可能性がある。さらに、例えば本明細書に記載の抗IL-22抗体またはそのフラグメントを用いて局部的にIL-22を阻害することにより、全身性の抗炎症理学療法と組み合わせるための有用な候補が得られる可能性がある。

30

【0147】

V. 併用療法

一態様では、少なくとも1つの抗IL-22抗体と少なくとも1つの治療薬を含む医薬組成物を併用療法として投与する。この療法は、免疫障害および炎症性障害などの病態または障害を治療するのに有用である。これに関して「併用」とは、抗体組成物と治療薬が実質的に同時に(同時または逐次のいずれか)与えられることを意味する。一態様において、逐次に与えられる場合、第二の化合物の投与の開始時に、2つの化合物のうち最初のもは処置部位に有効濃度でなお検出可能である。別の実施形態では、逐次に与えられる場合、第二の化合物の投与の開始時に、2つの化合物のうち最初のもは処置部位に有効濃度で検出できない。

40

【0148】

例えば、併用療法は、少なくとも1種類の付加的治療薬と一緒に処方された、および/または同時に投与される少なくとも1種類の抗IL-22抗体を含み得る。これらの付加的治療薬は、下記に詳細に記載されているように、少なくとも1種類のサイトカイン阻害

50

剤、増殖因子阻害剤、免疫抑制剤、抗炎症薬、代謝阻害剤、酵素阻害剤、細胞傷害性剤および細胞増殖抑制剤を含み得る。一態様において、付加的薬剤は、限定されるものではないが、非ステロイド系抗炎症薬（NSAID）；プレドニゾロン、プレドニゾン、コルチゾンおよびトリアムシノロンを含むコルチコステロイド；メトトレキサート、ヒドロキシクロロキン（Plaquenil）およびスルファサラジン、レフルノミド（Arava）などの疾病改善抗リウマチ薬（DMARD）；エタネルセプト（Enbrel）、インフリキシマブ（Remicade）（メトトレキサートを含む、または含まない）およびアダリムマブ（Humira）を含む腫瘍壊死因子阻害剤；抗CD20抗体（例えば、リツキサン）；アナキンラ（Kineret）などの可溶性インターロイキン-1受容体；金、ミノサイクリン（Minocin）；ペニシラミン：ならびにアザチオプリン、シクロホスファミドおよびシクロスポリンを含む細胞傷害性剤を含む、関節炎に対する標準的な処置剤である。このような併用療法は有利には投与する治療薬のより低用量を使用することができ、よって、種々の単独療法に関連する、起こり得る毒性または合併症を回避する。さらに、本明細書に開示される付加的治療薬は、IL-22/IL-22R/IL-10R2経路に加え、またはそれらとは異なる経路に作用し、従って、抗IL-22抗体の作用を増強する、または相乗作用を示すと予測される。

【0149】

抗IL-22抗体と併用される治療薬は自己免疫およびその後の炎症性応答に種々の段階で干渉する薬剤であり得る。一態様において、本明細書に記載の少なくとも1種類の抗IL-22抗体を少なくとも1種類のサイトカインおよび/または増殖因子アンタゴニストと一緒に処方するか、かつ/または同時投与することができる。これらにアンタゴニストとしては、可溶性受容体、ペプチド阻害剤、小分子、リガンド融合物、抗体およびその結合フラグメント（サイトカインまたは増殖因子またはそれらの受容体または他の細胞表面分子と結合する）ならびに「抗炎症性サイトカイン」およびそのアゴニストを含み得る。

【0150】

本明細書に記載の抗IL-22抗体と併用可能な薬剤の限定されない例としては、限定されるものではないが、少なくとも1種類のインターロイキン（例えば、IL-1、IL-2、IL-6、IL-7、IL-8、IL-12（またはそのサブユニットp35もしくはp40の1つ）、IL-13、IL-15、IL-16、IL-17A-F（そのヘテロ二量体、例えば、IL-17A/IL-17Fヘテロ二量体を含む）、IL-18、IL-19、IL-20、IL-21およびIL-23（またはそのサブユニットp19またはp40の1つ））；サイトカイン（例えば、TNF、LT、EMAP-1IおよびGM-CSF）；および増殖因子（例えば、FGFおよびPDGF）のアンタゴニストが挙げられる。これらの薬剤としてはまた、限定されるものではないが、インターロイキン、サイトカインおよび増殖因子の少なくとも1つの受容体のアンタゴニストが含まれる。抗IL-22抗体はまた、CD2、CD3、CD4、CD8、CD20（例えば、リツキサン）、CD25、CD28、CD30、CD40、CD45、CD69、CD80（B7.1）、CD86（B7.2）、CD90またはそれらのリガンド（例えば、CD154（gp39、CD40L））またはLFA-1/ICAM-1およびVLA-4/VICAM-1（Yusuf-Makagiansar et al. (2002) Med Res Rev 22(2): 146-67）などの細胞表面分子に対する阻害剤（例えば、抗体またはその結合フラグメント）と組み合わせることができる。ある特定の実施形態では、本明細書に記載の抗IL-22抗体と併用が可能なアンタゴニストとしては、IL-1、IL-12（またはそのサブユニットp35もしくはp40の1つ）、TNF、IL-15、IL-17A-F（そのヘテロ二量体、例えば、IL-17A/IL-17Fヘテロ二量体を含む）、IL-18、IL-19、IL-20、IL-21およびIL-23（またはそのサブユニットp19もしくはp40の1つ）およびそれらの受容体のアンタゴニストを含み得る。

【0151】

これらの薬剤の例としては、IL-12アンタゴニスト（IL-12（例えば、WO00

10

20

30

40

50

/ 5 6 7 7 2 参照) またはそのサブユニット p 3 5 もしくは p 4 0 の 1 つと結合する抗体など); I L - 1 2 受容体阻害剤 (I L - 1 2 受容体に対する抗体など); および可溶性 I L - 1 2 受容体およびそのフラグメントが含まれる。 I L - 1 5 アンタゴニストの例としては、 I L - 1 5 またはその受容体、 I L - 1 5 受容体の可溶性フラグメントおよび I L - 1 5 - 結合タンパク質に対する抗体が含まれる。 I L - 1 8 アンタゴニストの例としては、 I L - 1 8、 I L - 1 8 受容体の可溶性フラグメントおよび I L - 1 8 結合タンパク質 (I L - 1 8 B P、 Mallet et al. (2001) Circ. Res. 28) に対する抗体が含まれる。 I L - 1 アンタゴニストの例としては、 インターロイキン - 1 変換酵素 (I C E) 阻害剤 (V x 7 4 0 など)、 I L - 1 アンタゴニスト (例えば、 I L - 1 R A (A N I K I N R A、 A M G E N))、 s I L - 1 R I I (I m m u n e x) および抗 I L - 1 受容体抗体が含まれる。

10

【 0 1 5 2 】

一態様において、併用療法としては、 I L - 1 7 A、 I L - 1 7 F、 I L - 1 7 A / I L - 1 7 F ヘテロ二量体または I L - 2 3 (またはそのサブユニット p 1 9 もしくは p 4 0 の 1 つ) の少なくとも 1 つの抗体またはその抗原結合フラグメントまたは可溶性受容体などのアンタゴニストと一緒に処方された、 および / または同時に処方される少なくとも 1 種類の抗 I L - 2 2 抗体が含まれる。

【 0 1 5 3 】

T N F アンタゴニストの例としては、 D 2 E 7 に対する抗体 (ヒト抗 T N F 抗体、 米国特許第 6, 2 5 8, 5 6 2 号、 H u m i r a (商標)、 B A S F) などの T N F (例えば、 ヒト T N F) ; C D P - 5 7 1 / C D P - 8 7 0 / B A Y - 1 0 - 3 3 5 6 (ヒト化抗 T N F 抗体、 C e l l t e c h / P h a r m a c i a) ; c A 2 (キメラ抗 T N F 抗体、 R e m i c a d e (商標)、 C e n t o c o r) ; および抗 T N F 抗体フラグメント (例えば、 C P D 8 7 0) が含まれる。他の例としては、可溶性 T N F 受容体 (例えば、 ヒト p 5 5 または p 7 5) フラグメントおよび誘導体、例えば、 p 5 5 k d T N F R - I g G (5 5 k D T N F 受容体 - I g G 融合タンパク質、 L e n e r c e p t (商標)) および 7 5 k d T N F R - I g G (7 5 k D T N F 受容体 - I g G 融合タンパク質、 E n b r e l (商標)、 I m m u n e x、 例えば、 Arthritis & Rheumatism (1994) Vol. 37, S295; J. Invest. Med. (1996) Vol. 44, 235A参照) が含まれる。さらなる例としては、酵素アンタゴニスト (例えば、 T N F 変換酵素阻害剤 (T A C E)、 例
例えば、 - スルホニルヒドロキサム酸誘導体 (W O 0 1 / 5 5 1 1 2) または N - ヒドロキシホルムアミド阻害剤 (G W 3 3 3 3、 - 0 0 5 または - 0 2 2)) および T N F - b p / s - T N F R (可溶性 T N F 結合タンパク質、 例
例えば、 Arthritis & Rheumatism (1996) Vol. 39, No. 9 (supplement), S284; および Am. J. Physiol. Heart Circ. Physiol. (1995) Vol. 268, pp. 37-42参照) が含まれる。 T N F アンタゴニストは、可溶性 T N F 受容体 (例
例えば、 ヒト p 5 5 または p 7 5) フラグメントおよび誘導体、 例
例えば、 7 5 k d T N F R - I g G ; および T N F 変換酵素 (T A C E) 阻害剤であり得る。

20

30

【 0 1 5 4 】

他の実施形態では、抗本明細書に記載の I L - 2 2 抗体は、次の少なくとも 1 つと組み合わせ投与することができる: I L - 1 3 アンタゴニスト、 例
例えば、 可溶性 I L - 1 3 受容体および / または抗 I L - 1 3 抗体; および I L - 2 アンタゴニスト、 例
例えば、 I L - 2 融合タンパク質 (例
例えば、 D A B 4 8 6 - I L - 2 および / または D A B 3 8 9 - I L - 2、 S e r a g e n (例
例えば、 Arthritis & Rheumatism (1993) Vol. 36, 1223 参照) および抗 I L - 2 R 抗体 (例
例えば、 抗 T a c (ヒト化抗体、 P r o t e i n D e s i g n L a b s、 Cancer Res. 1990 Mar 1;50(5):1495-502参照))。別の組合せとしては、抗 I L - 2 2 抗体と、 I D E C - C E 9 . 1 / S B 2 1 0 3 9 6 (抗 C D 4 抗体、 I D E C / S m i t h K l i n e) などの非枯渴抗 C D 4 阻害剤との組合せが含まれる。さらに他の組合せとしては、 C D 8 0 (B 7 . 1) および C D 8 6 (B 7 . 2) などの共刺激分子のアンタゴニスト (例
例えば、 抗体、 可溶性受容体またはアンタゴニストリガンド) ; I C O S L、 I C O S、 C D 2 8 および C T L A 4 (例
例えば、 C T L A 4 - I g)

40

50

; P - セレクチン糖タンパク質リガンド (P S G L) ; ならびに抗炎症性サイトカインおよびそのアゴニスト (例えば、抗体) を伴う抗 I L - 2 2 抗体が含まれる。抗炎症性サイトカインとしては、I L - 4 (D N A X / S c h e r i n g) ; I L - 1 0 (S C H 5 2 0 0 0 、 組換え I L - 1 0 、 D N A X / S c h e r i n g) ; I L - 1 3 ; および T G F が含まれる。

【 0 1 5 5 】

他の実施形態では、少なくとも 1 種類の抗 I L - 2 2 抗体を少なくとも 1 種類の抗炎症性薬、免疫抑制薬、代謝阻害剤および酵素阻害剤と一緒に処方することができ、かつ/または同時に投与することができる。本明細書に記載の I L - 2 2 アンタゴニストと併用可能な薬剤または阻害剤の非限定例としては、限定されるものではないが、非ステロイド系抗炎症薬 (N S A I D) (イブプロフェン、テニダップ (例えば、Arthritis & Rheumatism (1996) Vol. 39, No. 9 (supplement), S280))、ナプロキセン (例えば、Neuro Report (1996) Vol. 7, pp. 1209-1213)、メロキシカム、ピロキシカム、ジクロフェナクおよびインドメタシン) ; スルファサラジン (例えば、Arthritis & Rheumatism (1996) Vol. 39, No. 9 (supplement), S281) ; コルチコステロイド (プレドニゾロンなど) ; サイトカイン抑制性抗炎症薬 (C S A I D) ; およびヌクレオチド生合成阻害剤 (プリン生合成阻害剤 (例えば、メトトレキサートなどの葉酸拮抗薬) およびレフルノミド (例えば、Arthritis & Rheumatism (1996) Vol. 39, No. 9 (supplement), S131; Inflammation Research (1996) Vol. 45, pp. 103-107)) などのピリミジン生合成阻害剤 (例えば、ジヒドロオロチン酸デヒドロゲナーゼ (D H O D H) 阻害剤の少なくとも 1 つが含まれる。I L - 2 2 / I L - 2 2 R または I L - 2 2 / I L - 1 0 R 2 アンタゴニストと併用するための治療薬としては、N S A I D、C S A I D、D H O D H 阻害剤 (レフルノミドなど) および葉酸拮抗薬 (メトトレキサートなど) を含み得る。

【 0 1 5 6 】

さらなる阻害剤の例としては、コルチコステロイド (経口、吸入および局所注射) ; 免疫抑制薬 (シクロスポリンおよびタクロリムス (F K - 5 0 6) など) ; m T O R 阻害剤 (シロリムス (ラパマイシン) またはラパマイシン誘導体 (例えば、C C I - 7 7 9 (E l i t . L . (2 0 0 2) C u r r e n t O p i n i o n I n v e s t i g . D r u g s 3 (8) : 1 2 4 9 - 5 3 ; H u a n g , S . e t a l . (2 0 0 2) C u r r e n t O p i n i o n I n v e s t i g . D r u g s 3 (2) : 2 9 5 - 3 0 4)) などのエステルラパマイシン誘導体) ; T N F および I L - 1 (例えば、I R A K、N I K、I K K、p 3 8 または M A P キナーゼ阻害剤) などの炎症性サイトカインのシグナル伝達を妨げる薬剤 ; C O X 2 阻害剤 (例えば、セレコキシブおよびその変種 (M K - 9 6 6)、例えば、Arthritis & Rheumatism (1996) Vol. 39, No. 9 (supplement), S81 参照) ; ホスホジエステラーゼ阻害剤 (R 9 7 3 4 0 1 など、例えば、Arthritis & Rheumatism (1996) Vol. 39, No. 9 (supplement), S282 参照) ; ホスホリパーゼ阻害剤 (例えば、トリフルオロメチルケトン類似体 (米国特許第 6 , 3 5 0 , 8 9 2 号) などのサイトゾルホスホリパーゼ 2 (c P L A 2) の阻害剤) ; 血管内皮細胞増殖因子 (V E G F) の阻害剤 ; V E G F 受容体の阻害剤 ; および脈管形成の阻害剤の少なくとも 1 つを含む。抗 I L - 2 2 抗体と併用するための治療薬としては、免疫抑制薬 (シクロスポリンおよびタクロリムス (F K - 5 0 6) など) ; および m T O R 阻害剤 (シロリムス (ラパマイシン) またはラパマイシン誘導体 (例えば、C C I - 7 7 9 などのエステルラパマイシン誘導体) など) ; C O X 2 阻害剤 (セレコキシブおよびその変異体など) ; およびホスホリパーゼ阻害剤 (サイトゾルホスホリパーゼ 2 (c P L A 2) の阻害剤 (例えば、トリフルオロメチルケトン類似体) など) を含み得る。

【 0 1 5 7 】

少なくとも 1 種類の抗 I L - 2 2 抗体と同時投与し得る、および/または一緒に処方し得る治療薬の例としては、限定されるものではないが、T N F アンタゴニスト (抗 T N F 抗体など) ; T N F 受容体の可溶性フラグメント (例えば、ヒト p 5 5 および p 7 5) およびその誘導体 (p 5 5 k d T N F R - I g G (5 5 k D T N F 受容体 - I g G 融合タンパク質、L e n e r c e p t (商標) など) および 7 5 k d T N F R - I g G (7 5

10

20

30

40

50

k D T N F 受容体 - I g G 融合タンパク質、E n b r e l (商標)) ; T N F 酵素アンタゴニスト (T A C E 阻害剤) ; I L - 1 2 のアンタゴニスト (またはそのサブユニット p 3 5 もしくは p 4 0 の 1 つ) 、 I L - 1 5 、 I L - 1 7 A - F (そのヘテロ二量体、例えば、I L - 1 7 A / I L - 1 7 F ヘテロ二量体を含む) 、 I L - 1 8 、 I L - 1 9 、 I L - 2 0 、 I L - 2 1 、 I L - 2 2 および I L - 2 3 (またはそのサブユニット p 1 9 もしくは p 4 0 の 1 つ) ; T 細胞および B 細胞枯渇薬 (抗 C D 4 または抗 C D 2 2 抗体) ; 小分子阻害剤 (メトトレキサートおよびレフルノミドなど) ; シロリムス (ラパマイシン) およびその類似体 (C C I - 7 7 9 など) ; C o x - 2 および c P L A 2 阻害剤 ; p 3 8 、 T P L - 2 、 M k - 2 および N F K B 阻害剤 ; R A G E および可溶性 R A G E ; P - セレクチンおよび P S G L - 1 阻害剤 (抗体および小分子阻害剤) ; およびエストロゲン受容体 (E R B) アゴニストおよび E R B - N F k b アンタゴニストの少なくとも 1 つが挙げられる。少なくとも 1 種類の抗 I L - 2 2 抗体と同時投与され得る、および / または一緒に処方され得る治療薬としては、T N F 受容体の可溶性フラグメント (例えば、ヒト p 5 5 または p 7 5) 、例えば、7 5 k d T N F R - I g G (7 5 k D T N F 受容体 - I g G 融合タンパク質、E m b r e l (商標)) ; メトトレキサート ; レフルノミド ; およびシロリムス (ラパマイシン) およびその類似体 (C C I - 7 7 9 など) の少なくとも 1 つを含み得る。

10

【 0 1 5 8 】

本明細書に開示される抗 I L - 2 2 抗体は、以下にさらに詳しく記載されるように、特定の免疫障害を治療するために他の治療薬と併用することができる。

20

【 0 1 5 9 】

抗 I L - 2 2 抗体と併用可能な関節障害 (例えば、関節リウマチ、炎症性関節炎、関節リウマチ、若年性関節リウマチ、変形性関節症および乾癬性関節炎) の治療のための薬剤の非限定例としては、T N F アンタゴニスト (抗 T N F 抗体など) ; T N F 受容体の可溶性フラグメント (例えば、ヒト p 5 5 および p 7 5) およびその誘導體 (p 5 5 k d T N F R - I g G (5 5 k D T N F 受容体 - I g G 融合タンパク質、L e n e r c e p t (商標) など) および 7 5 k d T N F R - I g G (7 5 k D T N F 受容体 - I g G 融合タンパク質、エンブレル (商標) など)) ; T N F 酵素アンタゴニスト (T A C E 阻害剤など) ; I L - 1 2 のアンタゴニスト (またはサブユニット p 3 5 もしくは p 4 0 の 1 つ) 、 I L - 1 5 、 I L - 1 7 A - F (そのヘテロ二量体、例えば、I L - 1 7 A / I L - 1 7 F ヘテロ二量体を含む) 、 I L - 1 8 、 I L - 1 9 、 I L - 2 0 、 I L - 2 1 、 I L - 2 2 、 I L - 2 3 (またはそのサブユニット p 1 9 もしくは p 4 0 の 1 つ) および I L - 2 4 ; T 細胞および B 細胞枯渇薬 (抗 C D 4 、 抗 C D 2 0 または抗 C D 2 2 抗体など) ; 小分子阻害剤 (メトトレキサートおよびレフルノミドなど) ; シロリムス (ラパマイシン) およびその類似体 (例えば、C C I - 7 7 9) ; C o x - 2 および c P L A 2 阻害剤 ; N S A I D ; p 3 8 、 T P L - 2 、 M k - 2 および N F K B 阻害剤 ; R A G E または可溶性 R A G E ; P - セレクチンまたは P S G L - 1 阻害剤 (小分子阻害剤およびそれに対する抗体など) ; エストロゲン受容体 (E R B) アゴニストおよび E R B - N F K B アンタゴニストの少なくとも 1 つを含み得る。少なくとも 1 種類の I L - 2 2 / I L - 2 2 R / I L - 1 0 R 2 アンタゴニストと同時投与され得る、および / または一緒に処方され得る治療薬としては、T N F 受容体の可溶性フラグメント (例えば、ヒト p 5 5 または p 7 5) 、例えば、7 5 k d T N F R - I g G (7 5 k D T N F 受容体 - I g G 融合タンパク質、エンブレル (商標)) ; メトトレキサート ; レフルノミド ; およびシロリムス (ラパマイシン) またはその類似体 (例えば、C C I - 7 7 9) の少なくとも 1 つを含み得る。

30

40

【 0 1 6 0 】

抗 I L - 2 2 抗体と併用可能な多発性硬化症の治療のための薬剤の非限定例としては、インターフェロン - (例えば、I F N - 1 a および I F N - 1 b) 、コパキソン (C o p a x o n e) 、コルチコステロイド、I L - 1 阻害剤、T N F 阻害剤、C D 4 0 リガンドに対する抗体、C D 8 0 に対する抗体および I L - 1 2 アンタゴニスト (I L - 1 2 と結合する抗体 (またはそのサブユニット p 3 5 もしくは p 4 0 の 1 つ) を含む) が含まれる。

50

【0161】

抗IL-22抗体と併用可能な炎症性腸疾患またはクローン病の治療のための薬剤の非限定例としては、ブデノシド；上皮細胞増殖因子；コルチコステロイド；シクロスポリン；スルファサラジン；アミノサリチレート；6-メルカプトプリン；アザチオプリン；メトロナゾール；リボキシゲナーゼ阻害剤；メサラミン；オルサラジン；バルサラジド；抗酸化薬；トロンボキサン阻害剤；IL-1受容体アンタゴニスト；抗IL-1モノクローナル抗体；抗IL-6モノクローナル抗体；増殖因子；エラスターゼ阻害剤；ピリジニル-イミダゾール化合物；本明細書に記載されるようなTNFアンタゴニスト；IL-4、IL-10、IL-13および/またはTGF β またはそのアゴニスト（例えば、アゴニスト抗体）；IL-11；プレドニゾロン、デキサメタゾンまたはブデソニドのグルココルチコイド-またはデキストランコンジュゲートプロドラッグ；ICAM-1アンチセンスホスホリチオエートオリゴデオキシヌクレオチド（ISIS 2302；Isis Pharmaceuticals, Inc.）；可溶性補体受容体1（TP10；T Cell Sciences, Inc.）；徐放性メサラジン；メトトレキサート；血小板活性化因子（PAF）のアンタゴニスト；シプロフロキサシン；およびリグノカインが含まれる。

10

【0162】

他の実施形態では、抗IL-22抗体は、免疫応答の調節に關与する他の標的に向けられた少なくとも1つの抗体と併用することができる（例えば、移植拒絶または移植片対宿主病）。本発明のIL-22/IL-22R/IL10R2アンタゴニストが併用可能な免疫応答を治療するための薬剤の非限定例としては、細胞表面分子に対する抗体が挙げられ、限定されるものではないが、CD25（IL-2受容体）、CD11a（LFA-1）、CD54（ICAM-1）、CD4、CD45、CD28/CTLA4、CD80（B7-1）、CD86（B7-2）またはその組合せが含まれる。別の実施形態では、抗IL-22抗体は、シクロスポリンAまたはFK506などの少なくとも1種類の一般的な免疫抑制薬と併用可能である。

20

【0163】

よって、本発明のもう1つの態様は、抗IL-22抗体と他の治療薬の組合せ投与を行うためのキットに關する。一態様において、このキットは、医薬担体中に処方された少なくとも1種類の抗IL-22抗体と、1以上の別の医薬製剤として適宜処方された少なくとも1種類の治療薬とを含む。

30

【0164】

VI. 診断的使用

これらの抗体はまた、生体サンプル中のIL-22の存在を検出するためにも使用可能である。これらのタンパク質の存在またはレベルを医学的症状と相関させることにより、当業者は関連の医学的症状を診断することができる。例えば、IL-22は炎症性サイトカイン（IL-1およびTNF α ）により引き起こされるものに関連する変化を誘導し、IL-22の阻害剤は関節リウマチの症状を改善する（WO2005/000897 A2）。本発明の抗体により診断可能な医学的症状としては、多発性硬化症、関節リウマチ、乾癬、炎症性腸疾患、膵炎および移植拒絶が含まれる。

40

【0165】

抗体に基づく検出法は当技術分野で周知であり、ELISA、ラジオイムノアッセイ、免疫プロット、ウエスタンプロット、フローサイトメトリー、免疫蛍光、免疫沈降および他の関連技術が含まれる。これらの抗体は、IL-22を検出するためのこれらの手順の少なくとも1つを組み込んだ診断キットとして提供することができる。このキットは、タンパク質の検出およびキットの使用を助ける他の成分、パッケージング、説明書または他の材料を含み得る。

【0166】

抗体は、リガンド基（例えば、ビオチン）、蛍光団および発色団、放射性同位元素、高電子密度試薬または酵素を含む検出可能なマーカーで修飾することができる。酵素はそれらの活性により検出される。例えば、セイヨウワサビペルオキシダーゼは、テトラメチル

50

ベンジジン (T M B) から、分光光度計で定量可能な青色色素へ変換するその能力により検出される。他の好適な結合相手としては、ビオチンおよびアビジン、 I g G と A タンパク質および当技術分野で公知の他の受容体 - リガンド対が含まれる。

【 0 1 6 7 】

抗体は、とりわけ、別の抗体 (例えば、二重特異性または多重特異性抗体)、毒素、放射性同位元素、細胞傷害剤または細胞増殖抑制剤などの少なくとも 1 つの他の分子存在と機能的に連結することもできる (例えば、化学結合、遺伝子融合、非共有結合またはそれ以外の方法による)。他の入れ替えや可能性も当業者には明らかであり、それらは本発明の範囲内で等価なものともみなされる。

【 0 1 6 8 】

V I I . 医薬組成物および投与方法

本発明のある特定の実施形態は、開示されている抗体を含む組成物を含む。これらの組成物は医薬的使用および患者に対する投与に好適であり得る。これらの組成物は本発明の抗体と医薬賦形剤とを含む。本明細書において「医薬賦形剤」とは、溶媒、分散媒、コーティング剤、抗菌剤および抗真菌剤、等張剤および吸収遅延剤など、医薬投与に適合するものが含まれる。医薬上活性な物質に対するこれらの薬剤の使用は当技術分野で周知である。これらの組成物はまた、補足的、付加的なまたは増強された治療機能を提供する他の有効化合物も含み得る。これらの医薬組成物はまた、投与に関する説明書とともに容器、パックまたはディスペンサーに含まれていてもよい。

【 0 1 6 9 】

本発明の医薬組成物はその意図する投与経路に適合するように処方される。投与を遂行する方法は当業者に知られている。医薬組成物は局所投与または経口投与することもできるし、または粘膜を透過させることもできる。医薬組成物の投与の例としては、経口摂取または吸入が含まれる。投与または、静脈内投与、腹腔内投与、筋肉内投与、腔内投与、皮下投与、皮膚投与または経皮投与であってもよい。

【 0 1 7 0 】

局所的皮内または皮下適用に用いる溶液または懸濁液としては一般に以下の成分：水、生理食塩水、硬化油、ポリエチレングリコール、グリセリン、プロピレングリコールまたは他の合成溶剤などの無菌希釈剤；ベンジルアルコールまたはメチルパラベンなどの抗菌剤；アスコルビン酸または重亜硫酸ナトリウムなどの抗酸化剤；エチレンジアミン四酢酸 (E D T A) などのキレート剤；酢酸、クエン酸またはリン酸などのバッファー；および塩化ナトリウムまたはデキストロースなどの等張剤の少なくとも 1 つを含む。p H は酸または塩基によって調整することができる。このような製剤はアンプル、ディスポーザブルシリンジまたは複数用量バイアルに封入することができる。

【 0 1 7 1 】

静脈内投与に用いる溶液または懸濁液は、生理食塩水、静菌水、C r e m o p h o r E L (商標) (B A S F , P a r s i p p a n y , N J)、エタノールまたはポリオールなどの担体を含む。いずれの場合でも、これらの組成物は無菌かつシリンジ操作が容易な流動性がなければならない。適切な流動性は多くの場合、レシチンまたは界面活性剤を用いて得ることができる。この組成物はまた、製造および保存の条件下で安定でなければならない。微生物の回避は抗菌剤および抗真菌剤、例えば、パラベン、クロロブタノール、フェノール、アスコルビン酸、チメロサルなどで達成することができる。多くの場合、等張剤 (糖)、ポリアルコール (マンニトールおよびソルビトール) または塩化ナトリウムを組成物に含めることができる。組成物の吸収延長は、吸収を遅延させる薬剤、例えば、モノステアリン酸アルミニウムおよびゼラチンを添加することによって達成することができる。

【 0 1 7 2 】

経口組成物としては、不活性希釈剤または可食担体を含む。この組成物はゼラチン中に封入、または錠剤へと打錠することができる。経口投与の目的では、これらの抗体は賦形剤を配合し、錠剤、トローチ剤またはカプセル剤とすることができる。医薬上適合する結合剤またはアジュバント剤を組成物に含めることもできる。錠剤、トローチ剤およびカプ

10

20

30

40

50

セル剤は、(1)微晶質セルロース、トラガカントガムまたはゼラチンなどの結合剤；(2)デンプンまたはラクトースなどの賦形剤、(3)アルギン酸、プリモゲルまたはコーンスターチなどの崩壊剤；(4)ステアリン酸マグネシウムなどの滑沢剤；(5)コロイド状二酸化ケイ素などの磨砕剤；または(6)甘味剤または香味剤を含み得る。

【0173】

この組成物はまた、経粘膜経路または経皮投与により投与することもできる。例えば、Fc部分を含む抗体は、腸、口腔または肺の粘膜を通過し得る(Fc受容体を介する)。経粘膜投与は、ロゼンジ、鼻腔スプレー、吸入剤または坐剤の使用により達成することができる。経皮投与もまた、当技術分野で公知の軟膏、膏薬、ゲルまたはクリームを含む組成物の使用により達成することができる。経粘膜投与または経皮投与では、透過する障壁に適切な透過剤を用いる。吸入による投与では、抗体は、噴射剤(例えば、液体または気体)を含む加圧容器もしくはディスペンサーまたはネブライザーからエアゾールスプレーとして送達される。

10

【0174】

ある特定の実施形態では、本発明の抗体は身体からの急速な排除から抗体を保護するために担体とともに調製する。生分解性ポリマー(例えば、エチレンビニルアセテート、ポリ無水物、ポリグリコール酸、コラーゲン、ポリオルトエステル、ポリ乳酸)が用いられることが多い。このような処方物の調製方法は、当業者に知られている。リポソーム懸濁液も薬学上許容される担体として使用することができる。これらのリポソームは当技術分野で公知の確立された方法(米国特許第4,522,811号)に従って調製することができる。

20

【0175】

本発明の抗体または抗体組成物は、記載されているように治療上有効な量で投与される。治療上有効な量は対象の年齢、状態、性別および医学的症状の重篤度によって異なる場合がある。適当な用量は臨床適応に基づいて医師が決定することができる。これらの抗体または組成物は、最長時間、抗体の循環レベルを最大とするためにポラス投与として与えることもできる。ポラス投与の後に持続的注入を用いることもできる。

【0176】

本明細書において「対象」とは、ヒトおよび非ヒト動物を含むものとする。対象は、IL-22を発現する細胞、例えば、癌細胞または免疫細胞を特徴とする障害を有するヒト患者を含み得る。本発明の「非ヒト動物」とは、非ヒト霊長類、ヒツジ、イヌ、ウシ、ニワトリ、両生類、爬虫類などの全ての脊椎動物を含む。

30

【0177】

対象に投与可能な用量範囲の例は、 $1\mu\text{g}/\text{kg} \sim 20\text{mg}/\text{kg}$ 、 $1\mu\text{g}/\text{kg} \sim 10\text{mg}/\text{kg}$ 、 $1\mu\text{g}/\text{kg} \sim 1\text{mg}/\text{kg}$ 、 $10\mu\text{g}/\text{kg} \sim 1\text{mg}/\text{kg}$ 、 $10\mu\text{g}/\text{kg} \sim 100\mu\text{g}/\text{kg}$ 、 $100\mu\text{g}/\text{kg} \sim 1\text{mg}/\text{kg}$ 、 $250\mu\text{g}/\text{kg} \sim 2\text{mg}/\text{kg}$ 、 $250\mu\text{g}/\text{kg} \sim 1\text{mg}/\text{kg}$ 、 $500\mu\text{g}/\text{kg} \sim 2\text{mg}/\text{kg}$ 、 $500\mu\text{g}/\text{kg} \sim 1\text{mg}/\text{kg}$ 、 $1\text{mg}/\text{kg} \sim 2\text{mg}/\text{kg}$ 、 $1\text{mg}/\text{kg} \sim 5\text{mg}/\text{kg}$ 、 $5\text{mg}/\text{kg} \sim 10\text{mg}/\text{kg}$ 、 $10\text{mg}/\text{kg} \sim 20\text{mg}/\text{kg}$ 、 $15\text{mg}/\text{kg} \sim 20\text{mg}/\text{kg}$ 、 $10\text{mg}/\text{kg} \sim 25\text{mg}/\text{kg}$ 、 $15\text{mg}/\text{kg} \sim 25\text{mg}/\text{kg}$ 、 $20\text{mg}/\text{kg} \sim 25\text{mg}/\text{kg}$ および $20\text{mg}/\text{kg} \sim 30\text{mg}/\text{kg}$ (またはそれを超える)から選択することができる。これらの用量は、用量、投与方法、処置する障害または症候、および個々の対象の特徴に応じて、毎日、毎週、隔週、毎月または例えば隔年などのより低頻度で投与することができる。用量はまた持続的注入(ポンプを介するものなど)により投与することもできる。投与量はまた、投与経路によっても異なる。例えば、皮下投与は静脈内投与よりも高用量を必要とする。

40

【0178】

ある特定の状況では、組成物を投与の容易性および用量の均一性のための単位投与形で処方するのが有利であり得る。本明細書で用いる単位投与形は患者に適した物理的に別個の単位を指す。各投与単位は、治療作用をもたらすように算出された所定量の抗体を担体

50

とともに含む。投与単位は抗体の特徴および達成すべき特定の治療作用によって異なる。

【0179】

組成物の毒性および治療効力は、例えば、LD₅₀（集団の50%に致死的な用量）およびED₅₀（集団の50%に治療上有効な用量）を決定するなど、細胞培養または実験動物における標準的な薬学的手順により決定することができる。毒性と治療作用の間の用量比が治療係数であり、LD₅₀/ED₅₀比として表すことができる。大きな治療係数を示す抗体は毒性が低く、かつ/または治療効果が高い。

【0180】

細胞培養アッセイおよび動物試験から得られたデータは、ヒトにおける用量範囲を処方するために使用することができる。これらの化合物の用量は、毒性がほとんどまたは全く無いED₅₀を含む血中循環抗体濃度の範囲内であればよい。用量はこの範囲で、使用する投与組成物の形態および投与経路によって可変である。本発明で用いる抗体では、治療作用はまず細胞培養アッセイを用いて評価することができる。用量は、IC₅₀（すなわち、症候の最大阻害の半分を達成する抗体の濃度）を含む循環血漿濃度範囲に達するように動物モデルで処方することができる。特定の用量の作用は好適なバイオアッセイによってモニタリングすることができる。好適なバイオアッセイの例としては、DNA複製アッセイ、転写に基づくアッセイ、IL-22/IL-22R結合アッセイ、IL-22/IL-10R2結合アッセイ、IL-22/IL-22R/IL-10R2および他の免疫アッセイが含まれる。

【実施例】

【0181】

実施例1：抗IL-22 scFvの選択
親GIL01およびGIL68の選択

GIL01およびGIL68は、IL-22に対する可溶性選択によりscFvライブラリーから単離したものである。可溶性選択は、N末端His/FLAGタグの付いたタンパク質を含むビオチン化IL-22 (bio-IL-22 H/F) を用いて行った。bio-IL-22 H/Fは、最初、100 nMの濃度で用いた。記載されている (Vaughan et al., 1996) 1.38 × 10¹⁰ ライブラリーの拡張型であるscFvファージミドライブラリーを用い、IL-22に特異的な抗体を選択した。精製したscFvファージ (10¹² transducing units (tu)) を100 μl 3% MPBS (PBS中3%の乳粉) 中で30分間ブロックし、その後、bio-IL-22 H/Fを加え、室温で1時間インキュベートした。ファージ/抗原を、1 mlの3% MPBS中、37 °Cで1時間ブロックした50 μlのDyna1 M280 ストレプトアビジン磁性ビーズに加えた後、室温でさらに15分間インキュベートした。ビーズを、磁気ラックを用いて捕捉し、1 mlの3% MPBS/0.1% (v/v) Tween 20 中で4回洗浄した後、PBS中で3回洗浄した。最後の洗浄後、ビーズを100 μlのPBS中に再懸濁させ、これを用い、対数増殖中の大腸菌 (E. coli) TG-1 細胞5 mlを感染させた。ビーズ上の細胞およびファージを37 °Cで1時間インキュベートし (30分は静置、30分は250 rpmで振盪)、その後、2TYAGプレート上に拡げた。プレートを30 °Cで一晩インキュベートし、翌日、コロニーを可視化した。コロニーをプレートから10 mlの2TY培養液中に掻き取り、-70 °Cで保存のために15%グリセロールを加えた。

【0182】

1回目のパンニング選択からのグリセロール保存培養物にヘルパーファージを重複感染させ、救済し、2回目の選択のためのscFv抗体を発現するファージ粒子を得た。2回目および3回目の可溶性選択を、bio-IL-22 H/Fの濃度を50 nMまで落として上記の通りに行った。

【0183】

親GIL16、GIL45、GIL60およびの単離

GIL16、GIL45、GIL60およびGIL92をscFvライブラリーから、

IL-22 融合タンパク質でのパンニングと bio-IL-22 H/F での可溶性選択の組合せにより単離した。マイクロタイタープレートのウェルを $10 \mu\text{g}/\text{ml}$ (ダルベッコの PBS、pH 7.4) ヒト IL-22 融合タンパク質でコーティングし、4 で一晩インキュベートした。ウェルを PBS 中で洗浄し、3% MPBS 中、37 で 2 時間ブロッキングした。100 μl の 3% MPBS 中、精製ファージ (10^{12} tu) を加えてウェルをブロッキングし、室温で 1 時間インキュベートした。ウェルを PBST (0.1% v/v Tween 20 を含有する PBS) で 10 回洗浄した後、PBS で 10 回洗浄した。結合したファージ粒子を 37 で 30 分間、100 μl トリプシン溶液 (50 mM Tris pH 8、1 mM CaCl_2 中、0.5 $\mu\text{g}/\text{ml}$ トリプシン) で溶出させた。溶出したファージを用い、10 ml の対数増殖中の大腸菌 TG1 を用いた。感染細胞を上記のように 2TY 培養液中、37 で 1 時間増殖させた後、2TY AG プレート上に線条接種し、30 で一晩インキュベートした。出現コロニーをプレートから掻き取り、ファージを上記のように救済した。100 nM bio-IL-22 H/F を用い、2 回目の可溶性選択を上記の通りに行った。

【0184】

実施例 2: scFv は IL-22 と IL-22R の結合を遮断する

親抗体 GIL01、GIL16、GIL45、GIL60、GIL68 および GIL92 に対して阻害アッセイを行い、IL-22 と IL-22R および / または IL-22 受容体複合体の結合を遮断または変更する抗体を同定した。原形質周辺の抽出液を含有する粗 scFv を、bio-IL-22 H/F と ヒト IL-22 受容体タンパク質 (hIL-22R) の結合を阻害する能力に関してスクリーニングした。選択から出現したコロニーを、100 μl 2TY AG を含有する 96 ウェルプレートに採取した。対数増殖中の培養物に 1 mM IPTG を加え、30 で一晩インキュベートすることにより scFv の産生を誘発した。原形質周辺の抽出液を 50 mM MOPS pH 7.4 / 0.5 mM EDTA / 0.5 M ソルビトール中に調製した (Griffiths et al., 1993)。

【0185】

マイクロタイタープレートを室温にて 1.5 時間、1.25 $\mu\text{g}/\text{ml}$ の IL-22 受容体タンパク質抗体 (PBS 中でコーティングした。その後、プレートを PBS 中で 3 回洗浄し、室温にて 1 時間、2% 乳粉を含有する PBS (2% MPBS) でブロッキングした。さらに 3 回洗浄した後、IL-22 受容体タンパク質を含有する 50 μl の 25% 細胞馴化培地を各ウェルに加え、4 で一晩インキュベートした。翌日、25 μl のサンプルおよび 25 μl の bio-IL-22 H/F (PBS / 0.05% BSA / 0.05% Tween 中、54 ng/ml) を洗浄プレートに加え、室温で 1.5 時間インキュベートした。PBST 中で 3 回洗浄した後、bio-IL-22 H/F の結合をユウロピウム-ストレプトアビジンで検出し、TRF を DELFIA (登録商標) 試薬キットおよび Victor 2 (商標) プレートリーダー (Perkin Elmer) で検出した。

【0186】

IL-22 結合の阻害を示したクローンを精製 scFv として再試験した。IL-22 / IL-22R 結合アッセイ (上記) および IL-22 / IL-22 受容体複合体アッセイ (下記) の双方を用いた。アッセイ IC_{50} 値により測定されるクローン能力を確認するために scFv 濃度を滴定した。これらは GraphPad Prism ソフトウェアおよび 4 パラメーターロジスティック方程式曲線の当てはめを用いて求めた。IL-22 受容体複合体アッセイからのサンプルの結果を図 1 に示す。

【0187】

実施例 3: ファージ ELISA による IL-22 結合の証明

IL-22 に対する scFv の特異性を確認するため、IL-22 融合タンパク質、IL-22 H/F および無関連のタンパク質を用い、ファージ ELISA を行った。ファージミドを含む個々の大腸菌コロニーを、1 ウェル当たり 100 μl の 2TY AG を含有する 96 ウェルプレートに接種した。M13K07 ヘルパーファージを、対数増殖中の培養物に多重感染度 (moi) が 10 となるように加え、これらのプレートを 37 でさら

10

20

30

40

50

に1時間インキュベートした。プレートをベンチトップ遠心機にて2000rpmで10分間遠心分離した。上清を除去し、細胞ペレットを100 μ lの2TYAKに再懸濁させ、振盪しながら30で一晚インキュベートした。翌日、プレートを2000rpmで10分間遠心分離し、各ウェルから100 μ lのファージ含有上清を新しい96ウェルプレートに移した。ファージサンプルを室温にて1時間、終濃度3%のMPBS中でブロッキングした。

【0188】

マイクロタイタープレートを1 μ g/ml IL-22融合タンパク質、IL-22H/Fまたは無関連のタンパク質でコーティングし、4で一晚インキュベートした。コーティング後、これらの溶液をウェルから除去し、プレートを室温にて1時間、3%のMPBS中でブロッキングした。プレートをPBSですすいだ後、各ウェルに50 μ lの、予めブロッキングしたファージを加えた。これらのプレートを室温で1時間インキュベートした後、PBSTを3回交換し、その後、PBSを3回交換して洗浄した。各ウェルに、抗M13-HRPコンジュゲート(Pharmacia)の1:5000希釈溶液50 μ lを加え、これらのプレートを室温で1時間インキュベートした。プレートをPBSTで3回、その後、PBSで3回洗浄した。各ウェルに50 μ lのTMB基質を加え、発色するまでインキュベートした。この反応を、25 μ lの0.5M H₂SO₄を添加することにより停止させ、450nmで吸光度を測定した。これらの試験から、scFvクローンとIL-22の特異的結合が確認された。

10

20

【0189】

実施例4：scFvからIgGへの変換

scFvクローン由来の重鎖および軽鎖V領域を、クローン特異的プライマーを用いて増幅させた。PCR産物を適当な制限酵素で消化し、ヒトIgG4重鎖定常ドメインを含有するベクター(V_Hドメインの場合)または適当であればヒトまたは軽鎖定常ドメインを含有するベクター(V_Lドメイン)にサブクローニングした。V_HおよびV_Lセグメントの最も近縁の生殖系列を決定し、この情報を用い、または軽鎖定常ドメインが使用されたかどうかを示した(表4)。V領域ドメインがプラスミドに適切に挿入されていることは、個々の大腸菌コロニー由来のプラスミドDNAをシーケンシングすることによって確認した。プラスミドは大腸菌培養物から標準的な技術により調製し、標準的な技術を用い、重鎖および軽鎖構築物をHEK293EBNA細胞に同時にトランスフェクトした。分泌されたIgGを、Aタンパク質セファロース(Pharmacia)を用いて精製し、バッファをPBSに交換した。

30

40

【表5】

表4：IL-22中和クローンのV_HおよびV_L生殖系列

クローン	V _H 生殖系列	V _L 生殖系列
GIL01	3-11 (DP35)	Vk1:L12
GIL16	1-18 (DP14)	Vk1:L12
GIL45	3-33 (DP50)	VL2:2a2 (DPL11)
GIL60	3-20 (DP32)	VL2:2a2 (DPL11)
GIL68	1-2 (DP8)	VL3:3h
GIL92	1-2 (DP8)	VL1:1e (DPL8)

【0190】

精製IgGの効力を下記のような生化学的IL-22受容体複合体阻害アッセイで確認した。効力の値を得るため、IgG濃度を滴定した。サンプル効力データを表5に示す。

【表 6】

表5: IL-22受容体複合体阻害アッセイにおける IL-22 ScFvおよび IgGの効力

クローン	ScFv 効力(nM)	IgG 効力(nM)
GIL01	104	13
GIL16	49	10
GIL60	43	15
GIL68	7	2
GIL92	16	入手不可
GIL45	358	180

10

【0191】

実施例5: IL-22抗体の最適化

大きなリボソームディスプレイライブラリーを作製し、本質的にHanes et al. (2000)に記載されているように、組換えヒトIL-22を特異的に認識するScFvに関してスクリーニングした。まず、5つの親クローン(GIL01、GIL16、GIL60、GIL68およびGIL92)をリボソームディスプレイ形式に変換し、次に、この鑄型をライブラリーの作製に用いた。DNAレベルで、mRNAへ効率的に転写させるために、5'末端にT7プロモーターを付加した。mRNAレベルで、この構築物は原核生物リボソーム結合部位(Shine-Dalgarno配列)ならびにmRNA安定性のための5'および3'ステムループを含んだ。単鎖の3'末端において、停止コドン除去し、スパーサーとして働かせるためにgIII部分を付加し、リボソームトンネルから離れてScFvを保持させた(Hanes et al. 2000)。

20

【0192】

主要クローンに由来するリボソームディスプレイライブラリーを、PCRを非校正Taq DNAポリメラーゼとともに用い、単鎖相補性決定領域(CDR)の突然変異誘発によって作出した。このライブラリーをbio-IL-22H/Fと、その後、ストレプトアビジンコーティング常磁性ビーズ(Dynal M280)とともにインキュベートする、親和性に基づく選択を行った。三元複合体(mRNA-リボソーム-ScFv)を磁気分離により回収し、結合していない複合体を洗い流した。次に、結合ScFvをコードするmRNAを記載のような(Hanes et al, 2000)RT-PCRにより救済し、この選択プロセスを、bio-IL-22H/Fの濃度を引き下げて(5回で100nM~10pM)繰り返した。

30

【0193】

ライブラリーサイズをさらに大きくするために、Error prone PCRを導入した。使用した誤り率は、CadwellおよびJoyce (1992)の方法に基づく標準的なPCR反応の後に1,000bpあたり平均7.2の突然変異を作り出した。最初のerror prone PCR反応は1回目の選択と2回目の選択の間に行った。

40

【0194】

各親クローンについてのV_H/V_L組換えライブラリーを、2回目の選択または4回目の選択のいずれかの後、V_HおよびV_LCDRリボソームディスプレイ産物から作製した。特定系列のV_HCDR選択産物のV_H部分を、クローン特異的プライマーを用いて特異的にPCR増幅させた。同じ系列のV_LCDR選択産物のV_L部分を別に増幅させた。これらの2つのPCR産物を重複PCR反応により組み換えた。これにより、さらなるリボソームディスプレイ選択に必要な全ての成分を含有するScFv産物の完全ライブラリーを作出した。

【0195】

いくつかのクローンでは、ファージディスプレイライブラリーも用いた。ファージライブラリーは、PCR反応を適当なプライマーとともに用い、単鎖CDRの突然変異誘発に

50

より作出し、上記のように選択した。これらの産物も、リボソームディスプレイ選択産物と合わせ、 V_H / V_L 組換えライブラリーを作出した。4回目のリボソームディスプレイからの V_H 選択産物を、3回目のファージディスプレイからの産物とともに、同じ系列に由来する V_L 産物と組み換えた。これは、クローン特異的プライマーとオーバーラッピングPCRを用いて行い、 V_H / V_L 組換えライブラリーを作製した。可溶性bio.IL-22 H/Fによる選択を上記のようリボソームディスプレイ形式で継続した。選択産物のscFv領域を、生化学的ハイスループットスクリーニング用のscFvを作製するためにpCANTAB6に指定クローニングした。

【0196】

実施例6：至適化クローンの同定

選択産物のハイスループットスクリーニングのため、2つのアッセイを用いた。クローンGIL01、GIL16およびGIL68由来の産物は均一時間分解蛍光アッセイ(HTRF(登録商標)、Cis Biointernational)でスクリーニングし、GIL60およびGIL92産物はDELFLIA(登録商標)(Perkin Elmer)アッセイでスクリーニングした。

【0197】

HTRF(登録商標)エピトープ競合アッセイ

GIL01、GIL16およびGIL68産物クローンの粗scFvを含有する培養上清を上記のように調製し、HTRFアッセイで、bio.IL-22 H/F結合GIL68の阻害に関してスクリーニングした。

【0198】

クリプタート標識GIL68 IgG(Cis Biointernationalからの標識キット)をアッセイバッファー(PBS/0.4M KF/0.05%BSA/0.05%Tween)で400倍希釈した後、7.5nMストレプトアビジンXL665(Xlent、Cis Biointernational)を加えた。この溶液を、Packardブラック384ウェルオペイプレート(Perkin Elmer)中で、粗scFvサンプル(125倍希釈)およびbio.IL-22 H/Fと混合した。プレートを室温で1時間インキュベートした後、Victor 2(商標)プレートリーダー(Perkin Elmer)を用いて読み取った。665nM/620nMの発光比を用いて各ウェルの特異的結合の割合%を算出した。

【0199】

DELFLIA(登録商標)時間分解蛍光アッセイ

GIL60およびGIL92産物クローンをIL-22受容体複合体に対するbio.IL-22 H/F結合の阻害に関してスクリーニングした。

【0200】

マイクロタイプレート(IL-22受容体複合体抗体(PBS中1μg/ml)でコーティングし、室温で1.5時間インキュベートした。プレートをPBSTで3回洗浄し、室温にて1時間、2%MPBSでブロックした。さらに3回洗浄した後、IL-22受容体複合体を含有する希釈細胞馴化培地を加え、4で一晚インキュベートした。粗scFv上清を上記のように調製した。翌日、25μlの希釈scFvサンプルと25μlのbio.IL-22 H/F(6ng/ml)を洗浄プレートに加え、室温で1.5時間インキュベートした。プレートをPBSTで3回洗浄した後、bio.IL-22 H/FとIL-22受容体複合体の結合をユウロピウム-ストレプトアビジンおよびDELFLIA(登録商標)試薬キット(Perkin Elmer)で検出した。時間分解蛍光を、Victor 2(商標)プレートリーダー(Perkin Elmer)を用いて測定した。

【0201】

スクリーニングから確認された陽性クローン由来の精製scFvを、上記のように、DELFLIA(登録商標)IL-22受容体複合体競合アッセイで試験した。アッセイにおいてIC₅₀値により測定されるようなクローン能を確立するために、scFv濃度の滴定を用いた。サンプル結果を図2に示す。14の至適化クローンを097D09、062A09、062G05、087B03、367D04、368D04、166B06、1

10

20

30

40

50

66G05、375G06、376B10、354A08、355B06、355E04
および356A11と呼んだ。

【0202】

実施例7：BAF3-IL-22増殖アッセイにおける至適化クローンのランキング

IL-22により媒介されるBAF3細胞増殖を遮断する抗体の能力を評価するため、増殖アッセイを行った。hIL22R-GFPおよびhIL10R2-YFPでBAF3細胞を同時にトランスフェクトすることにより、hIL22R/hIL10R2を発現するBAF3細胞を作製した。hIL22RとhIL10R2の双方を発現するBAF3細胞(BAF3-IL-22受容体細胞)をFACSにより選別および回収した。

【0203】

BAF3-IL-22受容体細胞は通常、10%FBSおよび1ng/mLネズミIL-3を含むRPMI640で維持した。アッセイ設定の直前に、細胞をアッセイ培地(10%FBS、100U/mlペニシリンおよび100μg/mlストレプトマイシンを含むRPMI1640)で4回洗浄し、アッセイ培地に再懸濁させ、37℃、5%CO₂中で6~8時間インキュベートした。アッセイプレートを調製するため、100μlの細胞(アッセイ培地中1×10⁵/ml)を、96ウェル平底組織培養プレート(Costar)の中央の60ウェルに加えた。試験scFvまたはIgGサンプルは、保存サンプルをアッセイ培地で希釈した後、0.22μMフィルターで濾過することで調製した。連続5倍希釈のサンプルを別の希釈プレートで調製した。細胞を含むウェルを50μlのサンプル、次いで50μlのヒトIL-22(アッセイ培地中40ng/ml)で処理し、その後、37℃、5%CO₂中で40時間インキュベートした。対照ウェルは培地単独、および細胞を単独で、または10ng/mLヒトIL-22の存在下で含んだ。

【0204】

細胞増殖は、20μlのAlamar Blue(Serotec)をウェルに加えた後、37℃、5%CO₂中で5時間±30分間インキュベートすることにより検出した。蛍光の測定(励起=560nm、発光=590nm)前にウェル中のシグナルを一様とするためにプレートを軽くたたくことで混合する。4パラメーターロジスティック曲線の当てはめ(Graphpad Prism 2ソフトウェア)を用いてEC₅₀およびIC₅₀値を評価し、これを用いて抗体のランク付けを行った。至適化scFvおよびIgGに関するサンプル効力データを表6に示す。

10

20

30

【表 7】

表 6. B a F 3 - I L - 2 増殖アッセイにおける s c F v および I g G クロンの I C₅₀ 値

クローン	親クローン	scFvのIC ₅₀ (pM)	IgGのIC ₅₀ (pM)
097D09	GIL01	298±246	197±42
062A09	GIL16	267	83±37
062G05	GIL16	182	112±30
087B03	GIL60	212	105±17
367D04	GIL60	160±49	126±6
368D04	GIL60	186±66	127±10
166B06	GIL68	460	71±23
166G05	GIL68	204	97±23
375G06	GIL68	118±98	100±1
376B10	GIL68	104±47	119±6
354A08	GIL92	219±83	79±15*
355B06	GIL92	183±3	92±14*
355E04	GIL92	192±47	100±14*
356A11	GIL92	124±21	53±5*

10

20

* G I L 9 2 由来クローンを生殖系列化された I g G として試験した。

【 0 2 0 5 】

実施例 8 : 生殖系列化

6つの親クローンに関する配列データを用い、各クローンの重鎖および軽鎖の最も近い生殖系列配列を同定した。標準的な部位特異的突然変異誘発技術を適当な突然変異誘発プライマーとともに用いて適当な突然変異を作出した。配列の突然変異は配列解析により確認した。生殖系列化されたクローンならびにそれらの s c F v および V_H および V_L ドメインの配列を表 7 に示す。生殖系列化された親クローンから精製した s c F v を最初に記載したようなビオチン化 I L - 2 2 結合 I L - 2 2 受容体複合体競合アッセイで試験し、アッセイで I C₅₀ 値により測定されるようなクローン能を確認した。結果を表 8 にまとめる。

30

【表 8】

表7A：生殖系列化された抗体（GIL01、GIL16、GIL45、GIL60、GIL68、GIL92、062A09および087B03）のV_HおよびV_Lドメイン、FvならびにCDRRのアミノ酸配列およびヌクレオチド配列

領域	型	GIL01 SEQ ID	GIL16 SEQ ID	GIL45 SEQ ID	GIL60 SEQ ID	GIL68 SEQ ID	GIL92 SEQ ID	062A09 SEQ ID	087B03 SEQ ID
V _H	AA	NO:365	NO:383	NO:401	NO:419	NO:437	NO:455	NO:473	NO:491
V _L	AA	NO:366	NO:384	NO:402	NO:420	NO:438	NO:456	NO:474	NO:492
scF _v	AA	NO:367	NO:385	NO:403	NO:421	NO:439	NO:457	NO:475	NO:493
H1	AA	NO:368	NO:386	NO:404	NO:422	NO:440	NO:458	NO:476	NO:494
H2	AA	NO:369	NO:387	NO:405	NO:423	NO:441	NO:459	NO:477	NO:495
H3	AA	NO:370	NO:388	NO:406	NO:424	NO:442	NO:460	NO:478	NO:496
L1	AA	NO:371	NO:389	NO:407	NO:425	NO:443	NO:461	NO:479	NO:497
L2	AA	NO:372	NO:390	NO:408	NO:426	NO:444	NO:462	NO:480	NO:498
L3	AA	NO:373	NO:391	NO:409	NO:427	NO:445	NO:463	NO:481	NO:499
V _H	DNA	NO:374	NO:392	NO:410	NO:428	NO:446	NO:464	NO:482	NO:500
V _L	DNA	NO:375	NO:393	NO:411	NO:429	NO:447	NO:465	NO:483	NO:501
scF _v	DNA	NO:376	NO:394	NO:412	NO:430	NO:448	NO:466	NO:484	NO:502
H1	DNA	NO:377	NO:395	NO:413	NO:431	NO:449	NO:467	NO:485	NO:503
H2	DNA	NO:378	NO:396	NO:414	NO:432	NO:450	NO:468	NO:486	NO:504
H3	DNA	NO:379	NO:397	NO:415	NO:433	NO:451	NO:469	NO:487	NO:505
L1		NO:380	NO:398	NO:416	NO:434	NO:452	NO:470	NO:488	NO:506
L2	DNA	NO:381	NO:399	NO:417	NO:435	NO:453	NO:471	NO:489	NO:507
L3	DNA	NO:382	NO:400	NO:418	NO:436	NO:454	NO:472	NO:490	NO:508

【0206】

10

20

30

40

【表 9】

【表 7 B : 生殖系列化された抗体 (166B06、166G05、354A08、355B06、355E04、356A11および
368D04) の V_H および V_L ドメイン、Fv ならびに CDR の アミノ酸配列およびヌクレオチド配列

領域	型	166B06 SEQ ID	166G05 SEQ ID	354A08	355B06 SEQ ID	355E04 SEQ ID	356A11 SEQ ID	368D04 SEQ ID
V _H	AA	NO:509	NO:527	NO:545	NO:563	NO:581	NO:599	NO:617
V _L	AA	NO:510	NO:528	NO:546	NO:564	NO:582	NO:600	NO:618
scF _v	AA	NO:511	NO:529	NO:547	NO:565	NO:583	NO:601	NO:619
H1	AA	NO:512	NO:530	NO:548	NO:566	NO:584	NO:602	NO:620
H2	AA	NO:513	NO:531	NO:549	NO:567	NO:585	NO:603	NO:621
H3	AA	NO:514	NO:532	NO:550	NO:568	NO:586	NO:604	NO:622
L1	AA	NO:515	NO:533	NO:551	NO:569	NO:587	NO:605	NO:623
L2	AA	NO:516	NO:534	NO:552	NO:570	NO:588	NO:606	NO:624
L3	AA	NO:517	NO:535	NO:553	NO:571	NO:589	NO:607	NO:625
V _H	DNA	NO:518	NO:536	NO:554	NO:572	NO:590	NO:608	NO:626
V _L	DNA	NO:519	NO:537	NO:555	NO:573	NO:591	NO:609	NO:627
scF _v	DNA	NO:520	NO:538	NO:556	NO:574	NO:592	NO:610	NO:628
H1	DNA	NO:521	NO:539	NO:557	NO:575	NO:593	NO:611	NO:629
H2	DNA	NO:522	NO:540	NO:558	NO:576	NO:594	NO:612	NO:630
H3	DNA	NO:523	NO:541	NO:559	NO:577	NO:595	NO:613	NO:631
L1	DNA	NO:524	NO:542	NO:560	NO:578	NO:596	NO:614	NO:632
L2	DNA	NO:525	NO:543	NO:561	NO:579	NO:597	NO:615	NO:633
L3	DNA	NO:526	NO:544	NO:562	NO:580	NO:598	NO:616	NO:634

【 0 0 7 1】

10

20

30

40

【表 10】

表 8 : I L - 2 2 受容体競合アッセイにおける生殖系列化されていない、および生殖系列化された親クロンの S c F v 能

親クロン scFv	IL-22競合アッセイにおける平均 IC ₅₀ nM	
	親クロン	完全な生殖系列化
GIL01	124±50	143±45
GIL16	44±1	38±1
GIL60	51±16	82±3
GIL68	9±1	14±1
GIL92	18±2	40±11

10

【 0 2 0 8 】

上記のように生殖系列化された至適化抗体は無かった。8つの生殖系列化された I g G を上記のような B a F 3 - I L - 2 2 増殖アッセイで試験した。代表的な実験からの抗体の I C ₅₀ 値を表 9 に示す。

【 0 2 0 9 】

次に、抗体配列を GENEART North America (28 Kirk Bradden Rd. East, Toronto, ON, Canada M8Y2E6) に送り、そこでそれらは、GENEART の特許至適化アルゴリズムを用い、C H O 細胞において至適化発現のために合成された。

20

【表 11】

表 9 : B a F 3 - I L - 2 2 R 増殖アッセイにおいて生殖系列化された至適化クロンの I g G 能

クロン	親クロン	非生殖系列化 IgGのIC ₅₀ (pM)	生殖系列化 IgGのIC ₅₀ (pM)
087B03	GIL60	72±6	118±19
166B06	GIL68	109±16	169±32
166G05	GIL68	366±226*	109±31
356A11	GIL92	ND	53±5
355B06	GIL92	ND	92±14
355E04	GIL92	ND	100±14
354A08	GIL92	ND	79±15
062A09	GIL16	108±23	入手不可

30

*サンプルは沈殿を含んだ。ND=判定されず

40

【 0 2 1 0 】

実施例 9 : 抗体は I L - 2 2 による誘発される H T 2 9 細胞からの G R O a 分泌を阻害する

I L - 2 2 により誘発される H T 2 9 細胞からの G R O a 分泌を遮断する抗体の能力を評価するため、G R O a アッセイを行った。H T 2 9 細胞を、96 ウェル平底組織培養プレート (Corning Inc. Cat. #3595) にて、D M E M 培地 (D M E M + 1 0 % F B S + 1 0 0 単位 / m l ペニシリンおよびストレプトマイシン + 2 m M グルタミン) 中、 5×10^4 / ウェルで播種した。10 n g / m l I L - 2 2 を、D M E M 培地で連続希釈した抗体と混合し、37 °C で 30 分間インキュベートした。播種 24 時間後に、H T 2 9 細胞から培地を除去し、96 ウェルプレート中、これらの細胞に予め混合した I L - 2 2 と抗体を

50

加えた。

【 0 2 1 1 】

37、5%CO₂で48時間インキュベートした後、培地を採取し、分泌されたGROaを、ヒトGROaイムノアッセイキット(R&D Systems, Cat. DGR00)を製造者の指示に従って用いて試験した。結果を図3に示す。

【 0 2 1 2 】

実施例10：抗体は種々の種のIL-22と結合し、それを阻害する

生殖系列化された、また、生殖系列化されていない最適化抗体の種間交差反応性を次のように判定した：ELISAプレート(Costar, Cat. #3590)を、PBSバッファ中、1μg/mlのラット、マウスまたはヒトIL-22またはヒトIL-26で一晩コーティングした。プレートをPBSTバッファ(PBS中0.05%Tween20)で3回洗浄した後、室温にて1時間、1%BSA(Sigma A8918)/PBSTでブロッキングした。抗体を1μg/mlで加え、25℃で1時間インキュベートした。これらのプレートを洗浄した後、HRPコンジュゲートヤギ抗ヒトIgG抗体(Southern Biotech Association, Cat. #2040-05)を加えた。これらのプレートを25℃で1時間インキュベートした後、PBSTで洗浄し、TMB(KPL, Cat. #50-76-04)で現像した。反応を0.18M H₂SO₄で停止させた。プレートをOD450nmで読み取った。結果を図4に示す。

【 0 2 1 3 】

また、これらの抗体をGROa細胞アッセイおよびBaF3-IL-22増殖アッセイの双方で評価した。表10(a)および10(b)に示されるように、これらの抗体はヒトIL-22受容体を介したヒト、サル、ラットおよびマウスIL-22シグナル伝達の活性を遮断した。356A11および368D04はまた、実施例11にさらに述べられるように、リアルタイム生体特異的相互作用分析(BIA)を用い、ネズミ、ラットおよびサルIL-22に対する種間交差反応性を証明した。

【 0 2 1 4 】

表10(a)．IL-22抗体は、GROa細胞に基づくアッセイ系において示されるように他種のIL-22の遮断に極めて有効である。示されている値はIC₅₀値(pM)を表す。

【表12】

タンパク質ID	ヒトIL-22	ネズミIL-22	ラットIL-22	サルIL-22
356A11	123.64	143.76	210.91	89.57
368D04	154.07	156.25	281.12	184.10
対照1	353.18	468.34	1161.57	343.19
対照2	1955.80	3399.79	10697.17	1459.27

【 0 2 1 5 】

表10(b)．IL-22抗体は、BaF3細胞に基づくアッセイ系において示されるように他種のIL-22の遮断に極めて有効である。

示されている値はIC₅₀値(pM)を表す。

【表13】

タンパク質ID	ヒトIL-22	ネズミIL-22	ラットIL-22	サルIL-22
356A11	3.57	2.53	10.69	2.58
368D04	3.63	1.47	12.07	3.87
対照1	6.40	5 [^] 6	27.37	7.18
対照2	204.98	1033.26	2500.00	134.27

【 0 2 1 6 】

実施例 11 : ラット抗 IL - 22 モノクローナル抗体とヒト抗 IL - 22 モノクローナル抗体の間の結合速度の比較

ヒトモノクローナル抗 IL - 22 抗体 (356A11 および 368D04) およびラットモノクローナル抗 IL - 22 抗体 (W02005 / 000897 および W002 / 068476 から P3 / 3 (Ab - 02) および P3 / 2 (Ab - 04)) のヒト IL - 22 に対する結合速度を、表面プラズモン共鳴技術を用い、リアルタイム生体特異的相互作用分析 (BIA) により評価した。

【 0217 】

ラットモノクローナル抗体のバイオセンサー表面を作製するため、アミン結合を用い、A / G タンパク質 (Pierce #21186, Rockford, IL) を研究級のカルボキシメチルデキストランチップ (CM5) に固定した。この表面を EDC / NHS で活性化させた。A / G タンパク質を酢酸ナトリウムバッファー (pH 4 . 0) 中 50 μ g / ml の濃度で注射した。免疫化は、A / G タンパク質に対して 3000 (RU) を目的としたウィザードツールを用いて行った。残留する活性化基を 1 . 0 M エタノールアミン (pH 8 . 0) でブロックした。最初のフローセルを、内部屈折率、マトリックス効果および非特異的結合に関して補正するための参照表面として用いた。第 2、第 3 および第 4 のフローセルを捕捉分子でコーティングした。A / G タンパク質と結合するラットモノクローナル抗体 Ab - 02 および Ab - 04 を、1 μ g / ml 溶液 30 μ l を注射することにより、A / G タンパク質表面に捕捉させた。基準値と Ab - 02 または Ab - 04 注射が完了してからおよそ 90 秒後の時点の間の正味の違いを用い、結合したリガンドの量を表した。

10

20

【 0218 】

ヒトモノクローナル抗体のバイオセンサー表面を作製するため、ヒトモノクローナル抗体 (356A11 または 368D04) または対照抗体 PD - 1 (# 17) のいずれかを、標準的なアミン結合を用い、研究級のカルボキシメチルデキストランチップ (CM5) に固定した。この表面を EDC / NHS で活性化させた。捕捉抗体を酢酸ナトリウムバッファー (pH 5 . 5) 中 1 μ g / ml の濃度で注射した。残留する活性化基を 1 . 0 M エタノールアミン (pH 8 . 0) でブロックした。最初のフローセルを、内部屈折率、マトリックス効果および非特異的結合に関して補正するための参照表面として用いた。第 2、第 3 および第 4 のフローセルを捕捉分子でコーティングした。

30

【 0219 】

Ab - 02 および Ab - 04 では、ヒト IL - 22 溶液を 300、100、50、25、12.5、6.4、3.2、1.6 および 0 nM 濃度で 30 μ l / 分の流速にて 3 分間、3 回注入し、結合した物質の量を時間の関数としてセンサーグラムに記録した。同じ流速で 10 分間 HBS / EP バッファー中、その後、0.1% TFA 5 μ l の注入、およびグリシン pH 1.5 5 μ l の注入で解離段階をモニタリングし、完全に活性な表面を再生した。

【 0220 】

356A11 および 368D04 では、ヒト IL - 22 溶液を 400、200、100、50、25、12.5、6.25 および 0 nM で、100 μ l / 分の流速 (非特異的結合を回避するために高い流速) にて 3 分間、3 回注入し、結合した物質の量を時間の関数としてセンサーグラムに記録した。同じ流速で 6 分間 HBS / EP バッファー中、その後、グリシン pH 1.5 5 μ l の 2 回の注入で解離段階をモニタリングし、完全に活性な表面を再生した。

40

【 0221 】

速度実験は全て、22.5 にて HBS / EP バッファー中で行った。二重参照を用い、各センサーグラムについてブランクとバッファー効果を差し引いた。対照実験では、最初の注入はバッファーを含んだ。

【 0222 】

速度データは、1 : 1 モデルに当てはめた BIA evaluation ソフトウェア 3.0.2 を用いて分析した。グローバル分析を用い、センサーグラムの適当な領域から、

50

見掛けの解離速度定数 (K_d) および結合速度定数 (K_a) を算出した。抗体と分析物の間の相互作用の親和性定数を、速度定数から次の式： $K_D = K_d / K_a$ (式中、 K_D は解離定数である)、 $K_A = K_a / K_d$ (式中、 K_A は会合定数である) により算出した。Ab-02 および Ab-04 の結合データを表 11A および 11B にまとめる。356A11 および 368D04 の結合データを表 12 にまとめる。

【表 14】

表 11A. ヒト IL-22 と抗 IL-22 抗体 Ab-02 および Ab-04 の間の相互作用の速度パラメーター

	Ab-02 k_a ($M^{-1}s^{-1}$)	Ab-02 k_d (s^{-1})	Ab-04 k_a ($M^{-1}s^{-1}$)	Ab-04 k_d (s^{-1})
タンパク質A/G	2.78 E+05	1.45 E-03	5.15 E+05	1.23 E-03

10

【表 15】

表 11B. ヒト IL-22 に対するラットモノクローナル抗体の速度データ

抗体	K_a (1/Ms)	K_d (1/s)	K_A (1/M)	K_D (M)	Chi2
Ab-02	2.78 E+05	1.45 E-03	1.92 E+08	5.22 E-08	0.49
Ab-04	5.15 E+05	1.23 E-03	4.22 E+08	2.38 E-09	0.53

20

【表 16】

表 12. ヒト IL-22 に対するヒトモノクローナル抗体の速度データ

抗体	K_a (1/Ms)	K_d (1/s)	K_A (1/M)	K_D (M)	Chi2
356A11	7.91 E+04	4.27 E-06	1.85 +10	5.40 E-11	0.223
368D04	1.89 E+05	2.50 E-05	7.56 E+09	1.32 E-10	0.298

30

【0223】

これらの結果は、本発明のヒトモノクローナル抗 IL-22 抗体は、ヒト IL-22 を中和する能力を有すると WO2005/000897 および WO02/068476 に記載されているラットモノクローナル抗 IL-22 抗体 Ab-02 および Ab-04 よりもヒト IL-22 に対して有意に高い親和性を有することを示す。特に、ヒト IL-22 に対する 356A11 の解離定数 ($K_D = 5.40 \times 10^{-11} M$ または $0.054 nM$) は、それぞれ Ab-02 ($K_D = 5.22 \times 10^{-8} M$ または $52 nM$) および Ab-04 ($K_D = 2.38 \times 10^{-9} M$ または $2.38 nM$) の解離定数のおよそ 1000 倍、および 40 倍高い。同様に、368D04 ($K_D = 1.32 \times 10^{-10} M$ または $0.132 nM$) はヒト IL-22 に対して、Ab-02 および Ab-04 よりもそれぞれおよそ 400 倍および 18 倍強い親和性を有する。サル、ネズミおよびラット IL-22 に対

40

50

する 356A11 および 36804 の結合プロフィールはヒト IL-22 のもの（データは示されていない）と類似していた。

【0224】

また、356A11 および 368D04 の結合特異性を、BIA を用いて評価した。ヒト IL-10、ヒト IL-19、ヒト IL-20、ヒト IL-24、ヒト IL-28A、ヒト IL-29、ヒト IFN- γ またはヒト IFN- α と交差反応性を示した抗体は無かった（データは示されていない）。

実施例 12：関節炎治療のためのモデル

【0225】

関節炎は関節の炎症を特徴とする疾病である。関節リウマチ（RA）は最も多い形態の関節炎であり、結合組織および関節内面の膜である滑膜の炎症を含む。炎症を受けた滑膜はしばしば関節に浸潤し、関節の軟骨および骨を損傷する。IL-22 および IL-22R タンパク質および / または転写物は双方ともヒト疾病に関連する。RA 滑膜生検では、IL-22 タンパク質はビメンチン⁺滑膜繊維芽細胞といくらかの CD68⁺マクロファージで検出され、一方、IL-22R は滑膜繊維芽細胞で検出される。滑膜繊維芽細胞を IL-22 で処置すると、単球化学遊走物質タンパク質-1 である MCP-1 の産生、ならびに全般的な代謝活性が誘導される (Ikeuchi, H., et al. (2005) Arthritis Rheum. 52:1037-46)。

10

【0226】

IL-22 を用い、関節内面の膜である滑膜由来の細胞に対するその作用を研究した。ヒト繊維芽細胞様滑膜細胞（HFLS）(Cell Applications (San Diego, CA)) を、関節手術を受けた関節リウマチ患者の滑膜組織から単離する。HFLS をヒト IL-22 とともに 48 時間培養し、上清を取り出し、ケモカインおよびサイトカインに関して ELISA により試験する。IL-22 はケモカイン MCP-1、エオタキシンおよび IP-10 ならびにサイトカイン TNF- α 、IL-6 および IL-8 の HFLS 分泌を高める。これらのケモカインおよびサイトカインはいくつかの活性を介して炎症を促進し、IL-22 により引き起こされる関節における濃度上昇が炎症および RA を悪化させることが当技術分野で知られている。

20

【0227】

IL-22 を用い、CIA（コラーゲン誘導関節炎）の臨床進行を調節する。CIA は関節リウマチを研究するための標準的なマウスおよびラットモデルである（例えば、Holmdahl et al., (2002) Ageing Res. Rev., 1:135 参照）。0 日目に、マウスにフロイントの完全アジュバント中、100 μ g の II 型コラーゲンを注射し、21 日目にこのマウスに、フロイントの不完全アジュバント中、100 μ g の II 型コラーゲンで追加刺激する。21 日目にはまた、マウスに毎日 1 μ g の IL-22 を注射し、毎日、マウスの疾病を調べる。臨床徴候を次のようにスコアリングする：0 = 腫脹なし、1 = 1 ~ 2 箇所 of 指の腫脹または足首の腫脹、2 = 2 箇所を超える指の腫脹または軽度の足の腫脹、3 = 広範囲の足の腫脹および 4 = 足の硬直。コラーゲン注射後に PBS を注射したマウスは徐々に疾病を発症した。コラーゲン注射後に IL-22 を注射したマウスは徐々により重篤な疾病を発症した。IL-22 処置は特に CIA を悪化させるので、抗 IL-22 抗体、例えば、生殖系列化された 087B03、368D04、354A08 または 356A11 による処置は、CIA を抑制または遅延させると予測される。よって、このモデルは RA の治療有効性を予測することから、生殖系列化された、または生殖系列化されていない 087B03、368D04、354A08 または 356A11 を含む抗 IL-22 抗体による処置は、ヒトにおいて RA を抑制または遅延させると予測される。

30

40

【0228】

実施例 13：患者の処置

本発明の抗体で処置可能な患者のタイプとしては、自己免疫障害、呼吸器系障害、皮膚、心血管系、神経系、腎臓、肝臓および膵臓の炎症症状を有する患者または移植患者が挙げられる。087B03、368D04、354A08 および 356A11 を含む本発明

50

の抗体の治療計画および予測される転帰の例を以下に示す。表13のもの以外の用量および

投与頻度も使用可能である。当業者ならば、投与経路または処置する患者の年齢、体重、状態、性別、医学的症状の重篤度などの他の既知の変数に基づき、必要に応じて治療計画を調整することができる。

【表17】

表13：治療計画

障害	治療	用量範囲	頻度	予想結果
多発性硬化症	087B03、368D04、356A11または354A08	250 μ g/kg～2mg/kg	週毎、二週毎または月毎	症状の改善または安定化
関節リウマチ	087B03、368D04、356A11または354A08	250 μ g/kg～2mg/kg	週毎、二週毎または月毎	症状の改善または安定化
乾癬	087B03、368D04、356A11または354A08	250 μ g/kg～2mg/kg	週毎、二週毎または月毎	症状の改善または安定化
I B D	087B03、368D04、356A11または354A08	250 μ g/kg～2mg/kg	月毎、二週毎または月毎	症状の改善または安定化
アルツハイマー病	087B03、368D04、356A11または354A08	250 μ g/kg～2mg/kg	月毎、二週毎または月毎	症状の改善または安定化

10

20

【0229】

本明細書は、本明細書に引用されている参照文献の教示に照らせば最もよく理解される。本明細書内の実施形態は、本発明の実施形態の例を示すものであって、本発明の範囲を限定するものではない。当業者ならば、他の多くの実施形態が本発明に包含されることが容易に分かる。本開示に引用されている全ての刊行物および特許は出典明示によりそのまま本明細書の一部とされる。出典明示により本明細書の一部とされる文書が本明細書に矛盾するか、または一致しない限り、本明細書はこのような文書に取って代わる。本明細書のいずれの参照文献の引用も、そのような参照文献が本発明の先行技術であることを認めるものではない。

30

【0230】

特に断りのない限り、特許請求の範囲を含め、本明細書に用いられる成分、反応条件などの量を表す数字は全て、全ての場合で、「約」という言葉で修飾されるものと理解すべきである。よって、特に断りのない限り、数的パラメータは近似値であり、本発明によって得ようとする所望の特性によって異なる。少なくとも、特許請求の範囲と等価な教義の適用を制限するものではなく、各数的パラメータは有意な桁数および通常の数値化に照らして解釈すべきである。

40

【0231】

特に断りのない限り、一連の要素に先行する「少なくとも」とは、その一連の全ての要素を指すと理解すべきである。当業者ならば、通常の実験だけを用いて、本明細書に記載される本発明の特定の実施形態に対する多くの等価物を認識または確認することができる。このような等価物も特許請求の範囲に包含されるものとする。

【図面の簡単な説明】

【0232】

【図1】IL-22受容体複合体アッセイにおける親抗IL-22 scFvクローンの効力：bio-IL-22結合IL-22受容体複合体DELTA競合アッセイ

50

【図2】IL-22受容体複合体アッセイにおける主要s c F vクローンのプロファイリング：bio-IL-22結合IL-22受容体複合体DELFA競合アッセイ。(A)GIL 1由来。(B)GIL 16由来。(C)GIL 16、GIL 60およびGIL 68由来。(D)GIL 60由来。(E)GIL 68由来。(F)GIL 68由来。(G)GIL 92由来。

【図3】GROa細胞アッセイにおけるIgGの効力。huIL-22 GROaアッセイにおける至適化GIL-IgGs。(A)生殖系列化されたIgG。(B)生殖系列化されていないIgG。

【図4】ELISAによるIL-22抗体の種間交差反応性。至適化GIL-IgGはIL-22と特異的に結合する。(A)生殖系列化されたIgG。(B)生殖系列化されていないIgG。

【図5】ヒトIL-22のアミノ酸配列およびヌクレオチド配列。ヒトIL-22のヌクレオチド配列は配列番号2であり、ポリ(A)テールを含む。開示されるヌクレオチド配列は、オープンリーディングフレームを含み、先のヌクレオチド配列に相当する全長IL-22タンパク質のアミノ酸配列は配列番号1で示される。成熟IL-22のアミノ酸配列は、配列番号1のほぼアミノ酸34~179に相当する。

【図6】マウスIL-22のアミノ酸配列およびヌクレオチド配列。

【図7】V_HおよびV_LドメインおよびCDR(H1、H2、H3、L1、L2およびL3)を含む、生殖系列化されていないGIL01、GIL16、GIL45、GIL60、GIL68、GIL92、097D09、062A09、062G05、087B03、367D04、368D04、166B06、166G05、375G06、376B10、354A08、355B06、355E04および356A11のアミノ酸配列およびヌクレオチド配列。

【図8】V_HおよびV_LドメインおよびCDR(H1、H2、H3、L1、L2およびL3)を含む、生殖系列化されているGIL01、GIL16、GIL45、GIL60、GIL68、GIL92、062A09、087B03、166B06、166G05、354A08、355B06、355E04、356A11および368D04のアミノ酸配列およびヌクレオチド配列。

【図9】下線のCDR(H1、H2、H3、L1、L2およびL3)を含む、生殖系列化されていないGIL01、GIL16、GIL45、GIL60、GIL68、GIL92、097D09、062A09、062G05、087B03、367D04、368D04、166B06、166G05、375G06、376B10、354A08、355B06、355E04および356A11のs c F vのアミノ酸配列およびヌクレオチド配列。

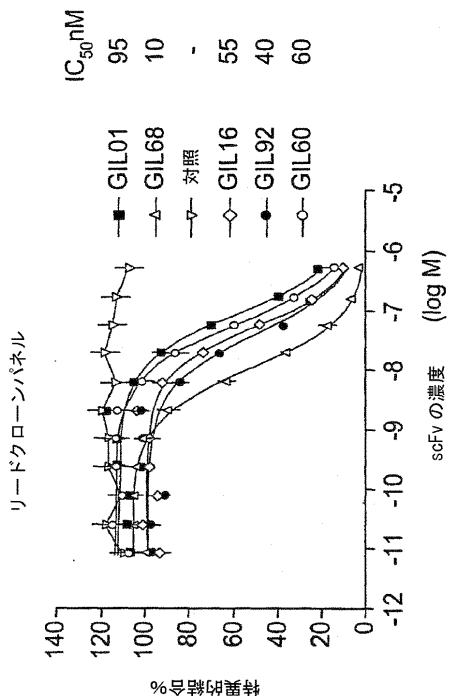
【図10】下線のCDR(H1、H2、H3、L1、L2およびL3)を含む、生殖系列化されているGIL01、GIL16、GIL45、GIL60、GIL68、GIL92、062A09、087B03、166B06、166G05、354A08、355B06、355E04、356A11および368D04のアミノ酸配列およびヌクレオチド配列。

10

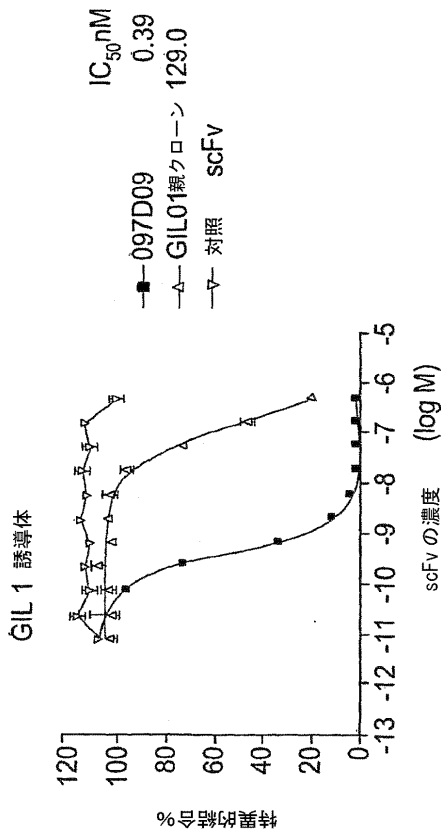
20

30

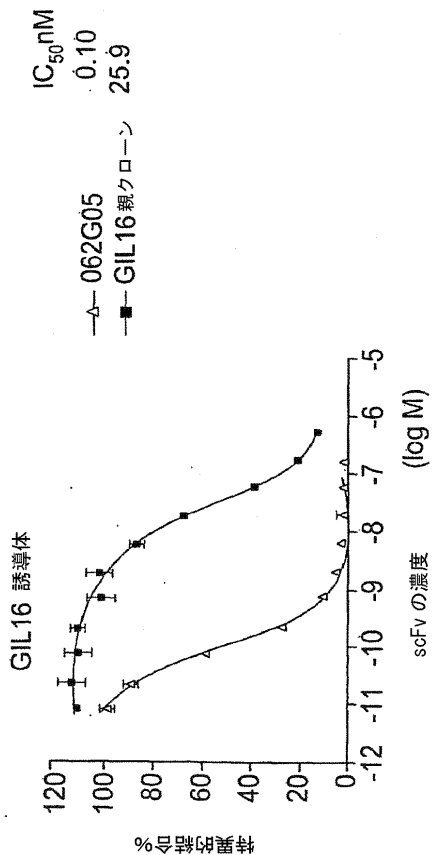
【 図 1 】



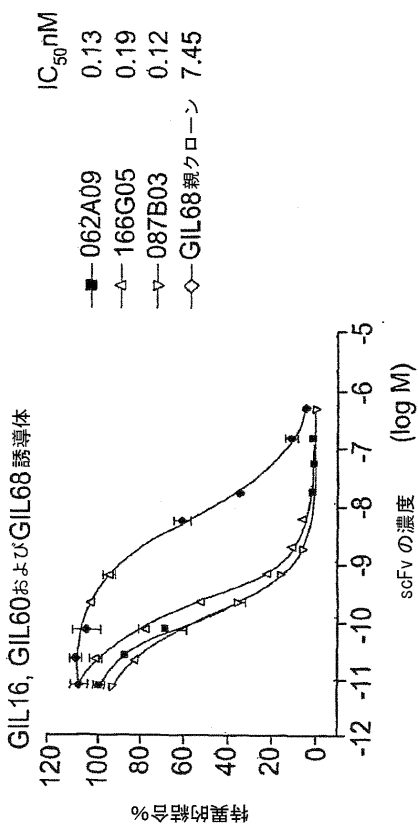
【 図 2 A 】



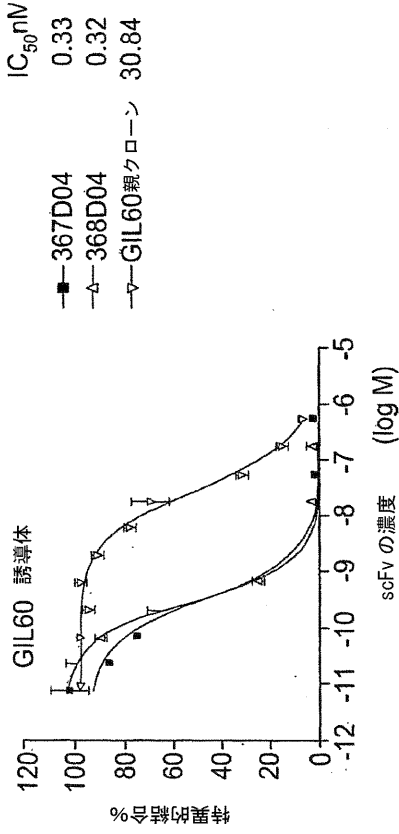
【 図 2 B 】



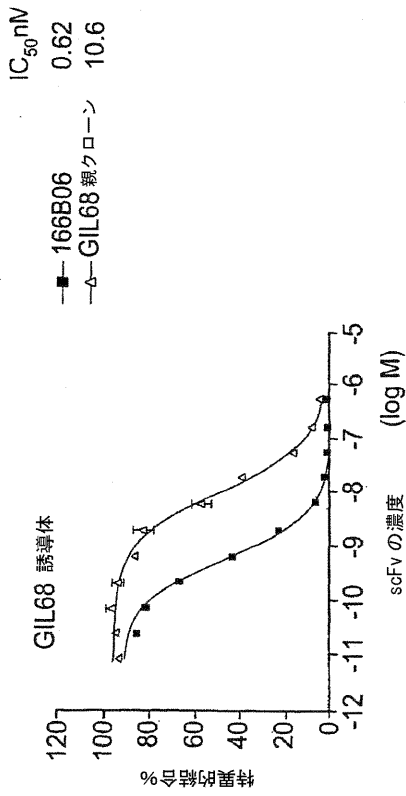
【 図 2 C 】



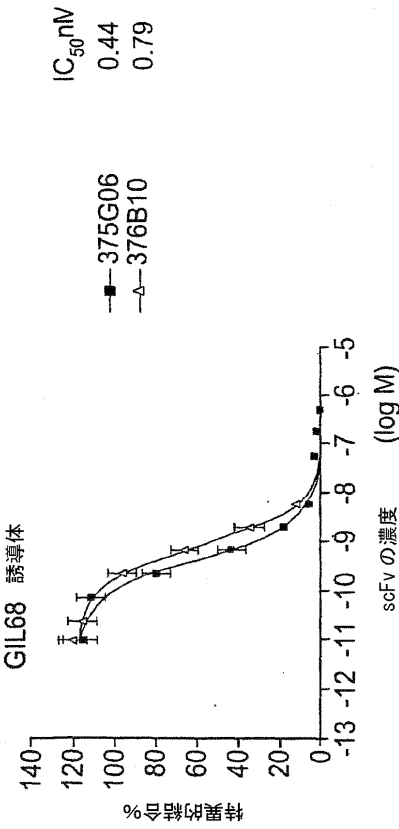
【 図 2 D 】



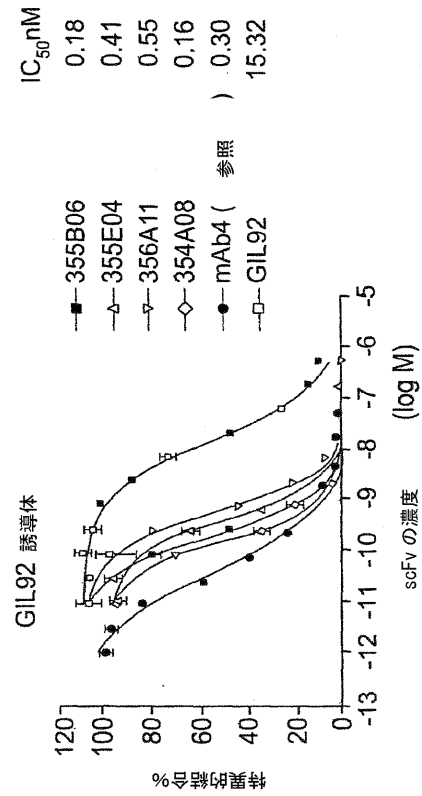
【 図 2 E 】



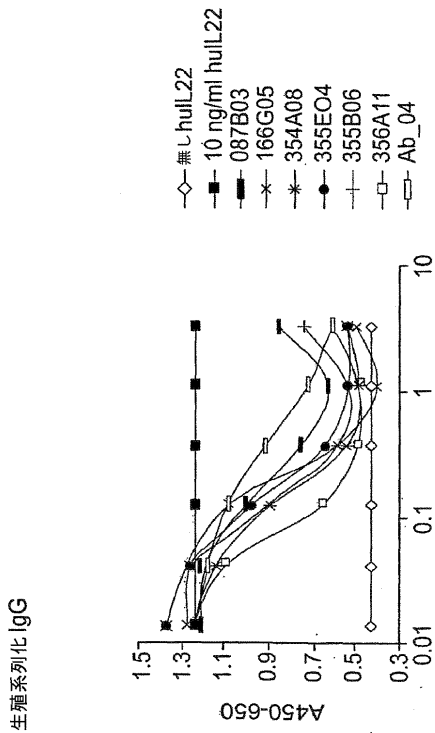
【 図 2 F 】



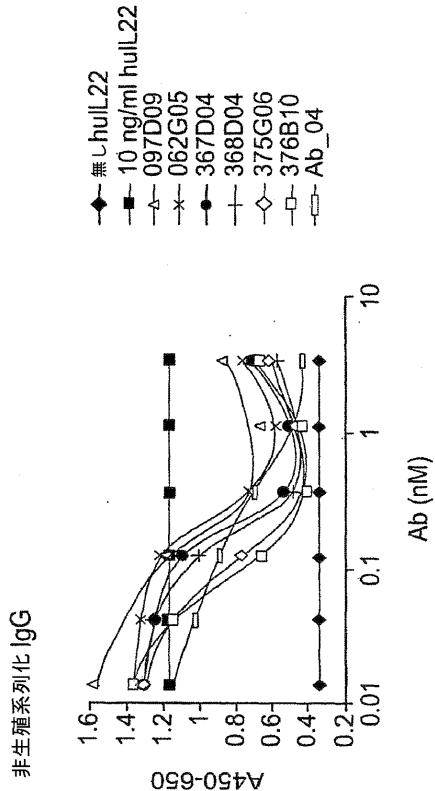
【 図 2 G 】



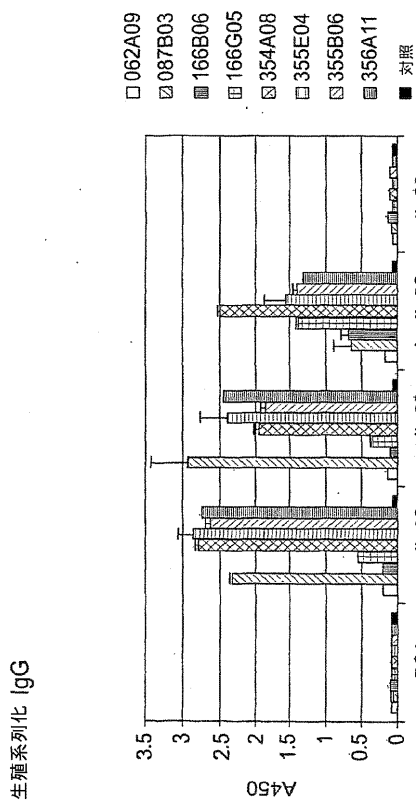
【 図 3 A 】



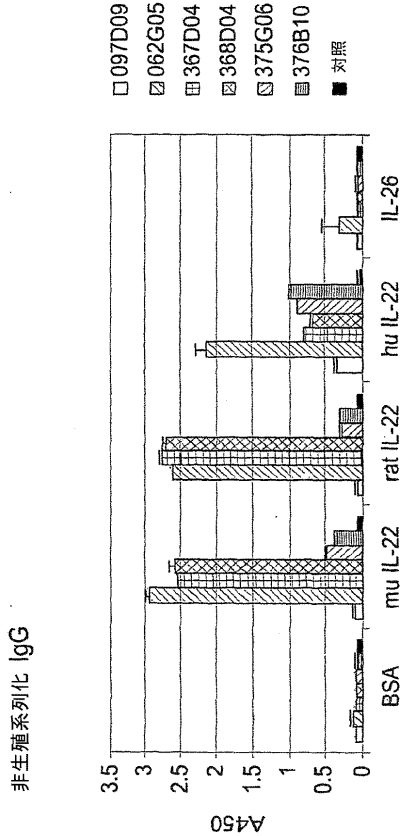
【 図 3 B 】



【 図 4 A 】



【 図 4 B 】



【手続補正書】

【提出日】平成20年10月21日(2008.10.21)

【手続補正1】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】配列表

【補正方法】変更

【補正の内容】

【配列表】

2009531023000001.app

【 国際調査報告 】

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No
PCT/US2007/004430

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER INV. C07K16/24 ADD. C07K14/54		
According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC		
B. FIELDS SEARCHED Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols) C07K A61K		
Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched		
Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practical, search terms used) EPO-Internal, WPI Data		
C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	WO 2005/000897 A (INST GENETICS LLC [US]; LI JING [US]; TAN XIANG-YANG [US]; TOMKINSON K) 6 January 2005 (2005-01-06) cited in the application examples 5,9,11,12,20-22	1-62
A	US 2004/023341 A1 (XU WENFENG [US] ET AL) 5 February 2004 (2004-02-05) examples 16,35-37 claims 1-3 paragraph [0128]	1-62
A	"ANTI-MOUSE IL-22 ANTIBODY" INTERNET CITATION, [Online] 22 August 2002 (2002-08-22), XP002307633 Retrieved from the Internet: URL:http://www.rendsystems.com> [retrieved on 2004-11-25] the whole document	1-62
<input type="checkbox"/> Further documents are listed in the continuation of Box C.		<input checked="" type="checkbox"/> See patent family annex.
* Special categories of cited documents : *A* document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance *E* earlier document but published on or after the international filing date *L* document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified) *O* document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means *P* document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed		*T* later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention *X* document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone *Y* document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art. *&* document member of the same patent family
Date of the actual completion of the international search		Date of mailing of the international search report
25 July 2007		31/07/2007
Name and mailing address of the ISA/ European Patent Office, P.B. 5818 Patentlaan 2 NL - 2280 HV Rijswijk Tel. (+31-70) 340-2040, Tx. 31 651 epo nl, Fax: (+31-70) 340-3016		Authorized officer Bumb, Peter

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

International application No

PCT/US2007/004430

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member(s)	Publication date
WO 2005000897 A	06-01-2005	AU 2004252169 A1 BR PI0411784 A CA 2530386 A1 CN 1839157 A EP 1644415 A2 KR 20060022289 A	06-01-2005 08-08-2006 06-01-2005 27-09-2006 12-04-2006 09-03-2006
US 2004023341 A1	05-02-2004	NONE	

フロントページの続き

(51)Int.Cl.	F I	テーマコード(参考)
C 1 2 N 5/10 (2006.01)	C 1 2 N 5/00	A
C 1 2 P 21/08 (2006.01)	C 1 2 P 21/08	
A 6 1 P 19/02 (2006.01)	A 6 1 P 19/02	
A 6 1 P 37/06 (2006.01)	A 6 1 P 37/06	
A 6 1 K 39/395 (2006.01)	A 6 1 K 39/395	D
G 0 1 N 33/53 (2006.01)	A 6 1 K 39/395	N
	G 0 1 N 33/53	P

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

(74)代理人 100084146

弁理士 山崎 宏

(74)代理人 100116311

弁理士 元山 忠行

(74)代理人 100122301

弁理士 富田 憲史

(72)発明者 リ・ジン

アメリカ合衆国 0 2 4 2 0 マサチューセッツ州レキシントン、ファイファー・レイン 1 0 3 番

(72)発明者 ダビンダー・エス・ギル

アメリカ合衆国 0 1 8 1 0 マサチューセッツ州アンドーバー、シャーロット・ドライブ 2 0 番

(72)発明者 ゲーアトルイダ・エム・ベルドマン

アメリカ合衆国 0 1 7 7 6 マサチューセッツ州サドベリー、ウッドメア・ドライブ 6 0 番

(72)発明者 リネット・エイ・フォーサー

アメリカ合衆国 0 1 7 2 0 マサチューセッツ州アクトン、ハモンド・ストリート 5 7 番

(72)発明者 ビア・バルジ - アーチャー

英国シービー 1・6 ジーエイチ、ケンブリッジ、グランタ・パーク、ミルスタイン・ビルディング

(72)発明者 デイビッド・シー・ロウ

英国シービー 1・6 ジーエイチ、ケンブリッジ、グランタ・パーク、ミルスタイン・ビルディング

(72)発明者 キャロライン・エス・ラッセル

英国シービー 1・6 ジーエイチ、ケンブリッジ、グランタ・パーク、ミルスタイン・ビルディング

(72)発明者 スザンヌ・イー・コーエン

英国シービー 1・6 ジーエイチ、ケンブリッジ、グランタ・パーク、ミルスタイン・ビルディング

(72)発明者 アルバート・ビー・トム

英国シービー 1・6 ジーエイチ、ケンブリッジ、グランタ・パーク、ミルスタイン・ビルディング

(72)発明者 ラルフ・アール・ミンター

英国シービー 1・6 ジーエイチ、ケンブリッジ、グランタ・パーク、ミルスタイン・ビルディング

Fターム(参考) 4B024 AA01 BA44 CA01 GA11 HA15

4B064 AG27 CA19 CC24 DA01 DA13

4B065 AA93Y AB01 AC14 BA02 CA25 CA44 CA46

4C085 AA13 AA14 AA16 BB31 BB41 BB43 BB44 CC22 CC23 DD62

EE01 GG01 GG08 GG10

4H045 AA11 BA10 CA40 DA76 EA20 EA28 EA29 FA74

专利名称(译)	<无法获取翻译>		
公开(公告)号	JP2009531023A5	公开(公告)日	2012-11-15
申请号	JP2008556389	申请日	2007-02-21
[标]申请(专利权)人(译)	惠氏公司 Medoju有限公司排放		
申请(专利权)人(译)	魏斯 MedImmune公司有限公司		
[标]发明人	リジン ダビンダーエスギル ゲーアトルイダエムベルドマン リネットエイフォーサー ピアバルジアアーチャー デイビッドシーロウ キャロラインエスラッセル スザンヌイーコーエン アルバートビートム ラルフアールミンター		
发明人	リ・ジン ダビンダー・エス・ギル ゲーアトルイダ・エム・ベルドマン リネット・エイ・フォーサー ピア・バルジ・アーチャー デイビッド・シー・ロウ キャロライン・エス・ラッセル スザンヌ・イー・コーエン アルバート・ビートム ラルフ・アール・ミンター		
IPC分类号	C12N15/09 C07K16/24 C12N1/15 C12N1/19 C12N1/21 C12N5/10 C12P21/08 A61P19/02 A61P37/06 A61K39/395 G01N33/53		
CPC分类号	A61P19/02 C07K16/244 C07K2317/21 C07K2317/33 C07K2317/622 C07K2317/73 C07K2317/76 C07K2317/92		
FI分类号	C12N15/00.ZNA.A C07K16/24 C12N1/15 C12N1/19 C12N1/21 C12N5/00.A C12P21/08 A61P19/02 A61P37/06 A61K39/395.D A61K39/395.N G01N33/53.P		
F-TERM分类号	4B024/AA01 4B024/BA44 4B024/CA01 4B024/GA11 4B024/HA15 4B064/AG27 4B064/CA19 4B064 /CC24 4B064/DA01 4B064/DA13 4B065/AA93Y 4B065/AB01 4B065/AC14 4B065/BA02 4B065/CA25 4B065/CA44 4B065/CA46 4C085/AA13 4C085/AA14 4C085/AA16 4C085/BB31 4C085/BB41 4C085 /BB43 4C085/BB44 4C085/CC22 4C085/CC23 4C085/DD62 4C085/EE01 4C085/GG01 4C085/GG08 4C085/GG10 4H045/AA11 4H045/BA10 4H045/CA40 4H045/DA76 4H045/EA20 4H045/EA28 4H045 /EA29 4H045/FA74		
代理人(译)	田中，三夫 山崎 宏 富田健二		
优先权	60/774596 2006-02-21 US		
其他公开文献	JP2009531023A		

摘要(译)

本申请提供了特异性结合人白细胞介素-22 (IL-22) 的人抗体及其抗原结合片段。抗体可以充当IL-22活性的拮抗剂，从而通常调节免疫应答，特别是由IL-22介导的免疫应答。所公开的组合物和方法可用于例如诊断，治疗或预防炎性疾病，自身免疫疾病，过敏，脓毒性休克，感染性疾病，移植排斥，癌症和其他免疫系统疾病。