(19)日本国特許庁(JP)　(12)公開特許公報(A)　(11)特許出願公開番号
特開2011-155980
(P2011-155980A)
(43)公開日　平成23年8月18日(2011.8.18)

(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
C07K 16/46	(2006.01)	C07K	16/46		4B065
C12P 21/08	(2006.01)	C12P	21/08		4C084
C12N 1/15	(2006.01)	C12N	1/15		4C085

審査請求 有　請求項の数 48　ＯＬ　（全 88 頁）　最終頁に続く

(21)出願番号　特願2011-51866(P2011-51866)
(22)出願日　平成23年3月9日(2011.3.9)
(62)分割の表示　特願2007-527694(P2007-527694)の分割
原出願日　平成17年6月9日(2005.6.9)
(31)優先権主張番号　60/578,473
(32)優先日　平成16年6月9日(2004.6.9)
(33)優先権主張国　米国(US)
(31)優先権主張番号　60/578,736
(32)優先日　平成16年6月9日(2004.6.9)
(33)優先権主張国　米国(US)
(31)優先権主張番号　60/581,375
(32)優先日　平成16年6月22日(2004.6.22)
(33)優先権主張国　米国(US)

(71)出願人　309040701
ワイス・エルエルシー
アメリカ合衆国　ニュージャージー州０７９４０．マジソン，フアイブ　ジラルダ　フアームズ
(74)代理人　100081422
弁理士　田中　光雄
(74)代理人　100084146
弁理士　山崎　宏
(74)代理人　100122301
弁理士　冨田　憲史
(74)代理人　100127638
弁理士　志賀　美苗
(74)代理人　100144923
弁理士　中川　将之

最終頁に続く

(54)【発明の名称】ヒトインターロイキン－１３に対する抗体およびそれらの使用

(57)【要約】
【課題】本発明は、インターロイキン－１３（ＩＬ－１３）、特に、ヒトＩＬ－１３と結合する抗体、例えば、ヒト化抗体およびそれらの抗原結合性フラグメント、ならびにＩＬ－１３により仲介される免疫応答を調節する際のそれらの使用を提供することを目的とする。
【解決手段】抗体またはその抗原結合性フラグメントであって、10^{-7}Ｍ未満のK_DでＩＬ－１３と結合し、規定のの特性を有する抗体またはその抗原結合性フラグメントを提供することにより上記課題を解決する。
【選択図】なし

【特許請求の範囲】
【請求項１】
抗体またはその抗原結合性フラグメントであって、１０$^{-7}$Ｍ未満のＫ$_{D}$でＩＬ－１３と結合し、以下の特性、すなわち
（ａ）重鎖免疫グロブリン可変領域が、ｍＡｂ１３．２の重鎖ＣＤＲ３（配列番号２４）またはｍＡｂ１３．２の対応する重鎖ＣＤＲ３と３つ未満のアミノ酸置換が異なる重鎖ＣＤＲ３を含むこと、
（ｂ）軽鎖免疫グロブリン可変領域が、ｍＡｂ１３．２の軽鎖ＣＤＲ１（配列番号１９）またはｍＡｂ１３．２の対応する軽鎖ＣＤＲ１と３つ未満のアミノ酸置換が異なる軽鎖ＣＤＲ１を含むこと、
（ｃ）重鎖免疫グロブリン可変領域が、ｈ１３．２の重鎖可変ドメイン（配列番号１５、１６または３６）をコードする核酸の相補体と高い厳密性の条件下でハイブリダイズする核酸によりコードされる配列を含むこと、
（ｄ）軽鎖免疫グロブリン可変領域が、ｈ１３．２の軽鎖可変ドメイン（配列番号１１、１２または３５）をコードする核酸の相補体と高い厳密性の条件下でハイブリダイズする核酸によりコードされる配列を含むこと、
（ｅ）重鎖免疫グロブリン可変領域が、ｈ１３．２の重鎖可変ドメイン（配列番号１５、１６または３６）と少なくとも９０％一致していること、
（ｆ）軽鎖免疫グロブリン可変領域が、ｈ１３．２の軽鎖可変ドメイン（配列番号１１、１２または３５）と少なくとも９０％一致していること、
（ｇ）抗体またはその抗原結合性フラグメントが、ヒトＩＬ－１３との結合についてｍＡｂ１３．２と競合すること、
（ｈ）抗体またはその抗原結合性フラグメントが、配列番号３１の残基６８、７２、８８、９１、９２、９３および１０５からなる群から選択されるＩＬ－１３由来の１つまたはそれ以上のアミノ酸残基と接触すること、
（ｉ）重鎖可変領域が、ｍＡｂ１３．２と同一のカノニカル構造を有すること、
（ｊ）軽鎖可変領域が、ｍＡｂ１３．２と同一のカノニカル構造を有すること、
（ｋ）重鎖可変領域および／または軽鎖可変領域が、それぞれ生殖系列遺伝子ＤＰ－５４およびＤＰＫ－９によりコードされるＶＨセグメント由来のＦＲ１、ＦＲ２およびＦＲ３フレームワーク領域または生殖系列遺伝子ＤＰ－５４およびＤＰＫ－９によりコードされるＶＨセグメントと少なくとも９５％一致する配列を有すること、
（ｌ）注入の少なくとも６週後にヒツジモデルにおいて回虫（Ａｓｃａｒｉｓ）抗原への暴露に対する注入後防御効果を付与すること；
の１つまたはそれ以上を有する抗体またはその抗原結合性フラグメント。
【請求項２】
精製された請求項１に記載の抗体またはその抗原結合性フラグメント。
【請求項３】
組換え完全長ＩｇＧである、請求項１に記載の抗体またはその抗原結合性フラグメント。
【請求項４】
ＦａｂまたはｓｃＦｖである、請求項１に記載の抗体またはその抗原結合性フラグメント。
【請求項５】
ヒト生殖系列フレームワーク領域と少なくとも９０％一致するフレームワーク領域を含む、請求項１に記載の抗体またはその抗原結合性フラグメント。
【請求項６】
ヒトフレームワーク領域、ヒトＦｃ領域または両方を含む、請求項１に記載の抗体またはその抗原結合性フラグメント。
【請求項７】
重鎖可変領域が、ｍＡｂ１３．２と同一のカノニカル構造を有し（（ｉ）のように）、

重鎖可変ドメインが、ｍＡｂ１３の少なくとも４つのＩＬ－１３と接触するアミノ酸残基を含む、請求項１に記載の抗体またはその抗原結合性フラグメント。

【請求項８】

９０～１２０ｐＭのK_DでヒトＩＬ－１３と結合する、請求項１に記載の抗体またはその抗原結合性フラグメント。

【請求項９】

$1\times10^{-4}s^{-1}$未満のK_{off}でヒトＩＬ－１３と結合する、請求項１に記載の抗体またはその抗原結合性フラグメント。

【請求項１０】

5×10^{4}～$8\times10^{5}M^{-1}s^{-1}$の$K_{on}$でヒトＩＬ－１３と結合する、請求項１に記載の抗体またはその抗原結合性フラグメント。

【請求項１１】

ＩＬ－４Ｒαと結合するＩＬ－１３の能力を低減する、請求項１に記載の抗体またはその抗原結合性フラグメント。

【請求項１２】

ＩＬ－１３Ｒα１とのインビトロ複合体中にあるＩＬ－１３と結合する、請求項１に記載の抗体またはその抗原結合性フラグメント。

【請求項１３】

２つの免疫グロブリン鎖、すなわち、配列番号９、１０、１１、１２または３５を含む軽鎖および配列番号１３、１４、１５、１６または３６を含む重鎖を含む単離された組換えＩｇＧ抗体。

【請求項１４】

重鎖が配列番号１７をさらに含み、軽鎖が配列番号１８をさらに含む、請求項１３に記載の単離された組換えＩｇＧ抗体。

【請求項１５】

抗体またはその抗原結合性フラグメントであって、以下の特性、すなわち

（ａ）ヒトＩＬ－１３（配列番号３１）の残基８１～９３もしくは１１４～１３２またはそれらの保存的に置換された形態を含むエピトープと特異的に結合すること、

（ｂ）以下のアミノ酸残基、すなわち、配列番号３２の４９位のグルタミン酸、５３位のアスパラギン、６９位のグリシン、７２位のプロリン、７３位のヒスチジン、７４位のリジンおよび８６位のアルギニンのうちの１つまたはそれ以上またはそれらの保存的アミノ酸置換を含むヒトＩＬ－１３のエピトープと特異的に結合すること、

（ｃ）ＩＬ－１３とＩＬ１３Ｒαの複合体と結合すること、

（ｄ）ＩＬ－１３とＩＬ－４Ｒαの間の結合相互作用を妨害すること、

（ｅ）ＩＬ－１３／ＩＬ－１３Ｒα１とＩＬ－４Ｒαの間の結合相互作用を妨害すること、および

（ｆ）ヒトＩＬ－１３と特異的に結合し、前記ヒトとの二次抗体の結合を競合的に阻害する（ここに、前記二次抗体は、ｍＡｂ１３．２、ｃｈ１３．２、ｈ１３．２ｖ１、ｈ１３．２ｖ２またはｈ１３．２ｖ３から選択される）こと；

の１つまたはそれ以上を有する抗体またはその抗原結合性フラグメント。

【請求項１６】

Ｆｃ受容体結合、抗体グリコシル化、システイン残基数、エフェクター細胞機能または補体機能のうちの１つまたはそれ以上を減少させるために変異された定常領域を有する、請求項１５に記載の抗体またはその抗原結合性フラグメント。

【請求項１７】

配列番号１７の１つまたはそれ以上の残基１１６および１１９において変異されたヒトＩｇＧ１定常領域をさらに含む、請求項１５に記載の抗体またはその抗原結合性フラグメント。

【請求項１８】

ヒトκ軽鎖をさらに含む、請求項１５に記載の抗体またはその抗原結合性フラグメント

。
【請求項１９】
配列番号１９のアミノ酸配列、配列番号２０のアミノ酸配列、配列番号２１のアミノ酸配列、配列番号２２のアミノ酸配列、配列番号２３のアミノ酸配列、配列番号２４のアミノ酸配列からなる群から選択されるアミノ酸配列を含む少なくとも１つの相補性決定領域をさらに含む、請求項１５に記載の抗体またはその抗原結合性フラグメント。
【請求項２０】
フラグメントが、ｓｃＦｖ、ＦａｂまたはＦ（ａｂ’）$_2$フラグメントである、請求項１５に記載の抗体またはその抗原結合性フラグメント。
【請求項２１】
ヒトκ定常領域を含む軽鎖またはその活性フラグメントおよびヒトＩｇＧ定常領域を含む重鎖またはその活性フラグメントをさらに含む、請求項１５に記載の抗体またはその抗原結合性フラグメント。
【請求項２２】
前記軽鎖のヒトκ定常領域が、配列番号１８のアミノ酸配列またはその活性フラグメントを含む、請求項２１に記載の抗体またはその抗原結合性フラグメント。
【請求項２３】
前記重鎖のヒトＩｇＧ定常領域が、ＦｃＲおよび補体結合を低減するために変異される、請求項２１に記載の抗体またはその抗原結合性フラグメント。
【請求項２４】
前記重鎖の変異したヒトＩｇＧ定常領域が、配列番号１７のアミノ酸配列またはその活性フラグメントを含む、請求項２３に記載の抗体またはその抗原結合性フラグメント。
【請求項２５】
請求項１または１５に記載の抗体またはその抗原結合性フラグメントおよび薬学的に許容できる担体を含む医薬組成物。
【請求項２６】
皮下、吸入または局所投与に適合している、請求項２５に記載の医薬組成物。
【請求項２７】
（ｉ）重鎖免疫グロブリン可変領域であって、
（ａ）ｍＡｂ１３．２の重鎖ＣＤＲ３（配列番号２４）またはｍＡｂ１３．２の対応するＣＤＲ３と３つ未満のアミノ酸置換が異なるＣＤＲ３を含むか、あるいは
（ｂ）ｈ１３．２の重鎖可変ドメイン（配列番号１５、１６または３６）と少なくとも９０％一致する、重鎖免疫グロブリン可変領域を含む、ポリペプチドをコードするか、あるいは
（ｉｉ）ｈ１３．２の重鎖可変ドメイン（配列番号１５、１６または３６）をコードする核酸の相補体と高い厳密性の条件下でハイブリダイズする配列を含む核酸。
【請求項２８】
（ｉ）軽鎖免疫グロブリン可変領域であって、
（ａ）ｍＡｂ１３．２の軽鎖ＣＤＲ１（配列番号１９）またはｍＡｂ１３．２の対応するＣＤＲ１と３つ未満のアミノ酸置換が異なるＣＤＲ１を含むか、あるいは
（ｂ）ｈ１３．２の軽鎖可変ドメイン（配列番号１１、１２または３５）と少なくとも９０％一致する、軽鎖免疫グロブリン可変領域を含む、ポリペプチドをコードするか、あるいは
（ｉｉ）ｈ１３．２の軽鎖可変ドメイン（配列番号１１、１２または３５）をコードする核酸の相補体と高い厳密性の条件下でハイブリダイズする配列を含む核酸。
【請求項２９】
請求項１または１５に記載の抗体またはその抗原結合性フラグメントをコードする核酸配列を含む宿主細胞。
【請求項３０】
組換え抗体を提供する方法であって、

抗体またはその抗原結合性フラグメントをコードする核酸配列を宿主細胞に提供すること、および
抗体またはその抗原結合性フラグメントが発現される条件下に細胞を維持することを含む方法。
【請求項３１】
宿主細胞または宿主細胞が維持される培地からタンパク質を単離することをさらに含む請求項３０に記載の方法。
【請求項３２】
単離されたタンパク質を医薬組成物として調剤することをさらに含む請求項３１に記載の方法。
【請求項３３】
有効成分として請求項１に記載の抗体またはその抗原結合性フラグメントを含む、ＩＬ－１３関連障害の治療用医薬組成物。
【請求項３４】
ＩＬ－１３関連障害が、喘息性障害、アトピー性障害、慢性閉塞性肺疾患（ＣＯＰＤ）、気道炎症、好酸球増加症、線維症および過剰な粘液産生を含む状態、炎症性状態、自己免疫性状態、腫瘍または癌、ウイルス感染および防御性１型免疫応答の発現の抑制からなる群から選択される請求項３３に記載の医薬組成物。
【請求項３５】
障害が喘息性障害またはアレルギー性鼻炎である、請求項３３に記載の医薬組成物。
【請求項３６】
障害が炎症性腸疾患である、請求項３３に記載の医薬組成物。
【請求項３７】
障害が慢性閉塞性肺疾患（ＣＯＰＤ）である、請求項３３に記載の医薬組成物。
【請求項３８】
障害がアトピー性障害である、請求項３３に記載の医薬組成物。
【請求項３９】
皮下投与、吸入による投与、または局所投与用の、請求項３３に記載の医薬組成物。
【請求項４０】
有効成分として、ＩＬ－１３と結合する抗体を含む、ＩＬ－１３関連障害の治療用医薬組成物であって、下記：
（ｉ）注入の少なくとも６週後にヒツジモデルにおいて回虫（Ａｓｃａｒｉｓ）抗原への暴露に対する注入後防御効果を付与すること、あるいは
（ｉｉ）ＩＬ－１３のＩＬ－４Ｒαとの結合を妨害するが、ＩＬ－１３のＩＬ－１３Ｒα１との結合を妨害しないこと
で示される特性のうちの１つまたはそれ以上を有する医薬組成物。
【請求項４１】
サンプルにおけるＩＬ－１３の存在を検出する方法であって、
（ｉ）サンプルを、抗ＩＬ－１３抗体またはそのフラグメントと接触させること、および
（ｉｉ）抗ＩＬ－１３抗体またはそのフラグメントとサンプルの間の複合体の形成を検出すること（サンプルにおける複合体の形成は、サンプルにおけるＩＬ－１３の存在を示す）を含む方法。
【請求項４２】
サンプルが対象由来である、請求項４１に記載の方法。
【請求項４３】
喘鳴、息切れ、気管支収縮、気道過反応性、肺気量減少、線維症、気道炎症および粘液産生からなる群から選択される喘息の症状を示す対象を治療するための医薬組成物であって、請求項１または１５に記載の抗体を含み、抗体がＩＬ－１３と結合し、機能性ＩＬ－１３シグナル伝達複合体の形成を妨害する、医薬組成物。

【請求項４４】
有効成分として、１０$^{-7}$Ｍ未満のＫ$_{D}$でＩＬ－１３と結合する重鎖免疫グロブリン可変ドメイン配列および軽鎖免疫グロブリン可変ドメイン配列を含む抗体またはその抗原結合性フラグメントと１つまたはそれ以上のさらなる治療剤を含む、ＩＬ－１３関連障害の治療用医薬組成物であって、１つまたはそれ以上のさらなる治療剤が、吸入ステロイド；βアゴニスト；ロイコトリエンアンタゴニストまたはロイコトリエン受容体アンタゴニスト；ＩｇＥ阻害剤；ホスホジエステラーゼ阻害剤；キサンチン；抗コリン薬；肥満細胞安定化薬；ＩＬ－４阻害剤；ＩＬ－５阻害剤；エオタキシン／ＣＣＲ３阻害剤；抗ヒスタミン薬；ＴＮＦアンタゴニスト；ＴＮＦ酵素アンタゴニスト；ＴＧＦ－βアンタゴニスト；インターフェロンガンマ；ペルフェニドン（ｐｅｒｆｅｎｉｄｏｎｅ）；化学療法剤；ＮＳＡＩＤ；免疫調節薬；ｐ３８阻害剤およびＮＦκＢ阻害剤からなる群から選択されるものである、医薬組成物。
【請求項４５】
ＩＬ－１３と同族のＩＬ－１３結合性タンパク質との間の結合相互作用を変調させる方法であって、ＩＬ－１３を、１０$^{-7}$Ｍ未満のＫ$_{D}$でＩＬ－１３と結合する重鎖免疫グロブリン可変ドメイン配列および軽鎖免疫グロブリン可変ドメイン配列を含む抗体またはその抗原結合性フラグメントと接触させることを含む、方法。
【請求項４６】
インビボにおけるＩＬ－１３の存在を検出する方法であって、
（ｉ）抗体またはその抗原結合性フラグメントのＩＬ－１３への結合を可能にする条件下で、対象に１０$^{-7}$Ｍ未満のＫ$_{D}$でＩＬ－１３と結合する重鎖免疫グロブリン可変ドメイン配列および軽鎖免疫グロブリン可変ドメイン配列を含む抗体またはその抗原結合性フラグメントを投与すること、および
（ｉｉ）抗体またはそのフラグメントとＩＬ－１３の間の複合体の形成を検出することを含み、コントロールと比較した場合の対象における複合体の形成の変化がＩＬ－１３の存在を示す、方法。
【請求項４７】
喘息またはアトピー性障害の進行を測定もしくはモニターする方法であって、
（ｉ）サンプルを提供すること；
（ｉｉ）サンプルを、１０$^{-7}$Ｍ未満のＫ$_{D}$でＩＬ－１３と結合する重鎖免疫グロブリン可変ドメイン配列および軽鎖免疫グロブリン可変ドメイン配列を含む抗体またはその抗原結合性フラグメントと接触させること；および
（ｉｉｉ）サンプルにおけるＩＬ－１３のレベルの変化を検出すること
を含む、方法。
【請求項４８】
二重特異性抗体またはの抗原結合性フラグメントである、請求項１または１５に記載の抗体またはその抗原結合性フラグメント。
【発明の詳細な説明】
【技術分野】
【０００１】
本出願は、２００４年６月９日に出願した米国特許出願第６０／５７８，４７３号、２００４年６月２２日に出願した第６０／５８１，３７５号および２００４年６月９日に出願した第６０／５７８，７３６号の優先権を主張するものである。それらすべての全内容は、参照により本明細書に組み込まれるものとする。「Ａｎｔｉ－ＩＬ１３　Ａｎｔｉｂｏｄｉｅｓ　ａｎｄ　Ｃｏｍｐｌｅｘｅｓ」という表題が付けられ、Ｐａｒｒｉｓ，Ｋ．Ｄ．他の名前で２００５年６月９日に出願され、代理人整理番号１６１６３－０２９００１／ＡＭ１０１７５０（本明細書において「出願１６１６３－０２９００１」と呼ばれる）で表記される米国一般特許出願も、参照により組み込まれる。
【０００２】
本出願は、インターロイキン－１３（ＩＬ－１３）、特に、ヒトＩＬ－１３と結合する

抗体、例えば、ヒト化抗体およびそれらの抗原結合性フラグメント、ならびにＩＬ－１３により仲介される免疫応答を調節する際のそれらの使用に関する。本明細書に開示されている抗体は、対象、例えば、ヒト患者において、１つまたはそれ以上のＩＬ－１３関連障害、例えば、呼吸器障害（例えば、喘息）；アトピー性障害（例えば、アレルギー性鼻炎）；皮膚（例えば、アトピー性皮膚炎）および胃腸器官（例えば、炎症性腸疾患（ＩＢＤ））の炎症性および／または自己免疫性状態、ならびに線維性および癌性障害を診断、予防および／または治療するのに有用である。

【背景技術】

【０００３】

インターロイキン－１３（ＩＬ－１３）は、Ｔリンパ球および肥満細胞により分泌されるサイトカインである（ＭｃＫｅｎｚｉｅ他（１９９３）Ｐｒｏｃ．Ｎａｔｌ．Ａｃａｄ．Ｓｃｉ．ＵＳＡ ９０：３７３５－３９；Ｂｏｓｔ他（１９９６）Ｉｍｍｕｎｏｌｏｇｙ ８７：６６３－４１）。ＩＬ－１３は、ＩＬ－４といくつかの生物学的活性を共有している。例えば、ＩＬ－４かＩＬ－１３のどちらかは、Ｂ細胞においてＩｇＥアイソタイプスイッチングを引き起こすことがある（Ｔｏｍｋｉｎｓｏｎ他（２００１）Ｊ．Ｉｍｍｕｎｏｌ．１６６：５７９２－５８００）。さらに、喘息患者では、細胞表面ＣＤ２３および血清ＣＤ２３（ｓＣＤ２３）のレベル増加が報告されている（Ｓａｎｃｈｅｚ－Ｇｕｅｒｒｏ他（１９９４）Ａｌｌｅｒｇｙ ４９：５８７－９２；ＤｉＬｏｒｅｎｚｏ他（１９９９）Ａｌｌｅｒｇｙ Ａｓｔｈｍａ Ｐｒｏｃ．２０：１１９－２５）。さらに、ＩＬ－４かＩＬ－１３のどちらかは、Ｂ細胞および単球上のＭＨＣクラスＩＩおよび低親和性ＩｇＥ受容体（ＣＤ２３）の発現をアップレギュレートすることがあり、これは、抗原提示を増強しマクロファージ機能を調節する結果になる（Ｔｏｍｋｉｎｓｏｎ他、前掲書）。重要なことに、ＩＬ－４かＩＬ－１３のどちらかは、内皮細胞上のＶＣＡＭ－１の発現を高めることがあり、これは、気道組織への好酸球（およびＴ細胞）の優先的動員を容易にする（Ｔｏｍｋｉｎｓｏｎ他、前掲書）。また、ＩＬ－４かＩＬ－１３のどちらかは、気道粘液分泌を増加させることがあり、これは、気道反応性を悪化させることがある（Ｔｏｍｋｉｎｓｏｎ他、前掲書）。これらの知見は、ＩＬ－１３が、Ｔｈ２発生を誘導するのに必要ないか、あるいはＴｈ２発生を誘導することができても、ＩＬ－１３は、気道好酸球増加症およびＡＨＲの発生におけるキープレイヤーであることを示唆している（Ｔｏｍｋｉｎｓｏｎ他、前掲書；Ｗｉｌｌｓ－Ｋａｒｐ他（１９９８）Ｓｃｉｅｎｃｅ ２８２：２２５８－６１）。

【発明の概要】

【０００４】

本出願は、とりわけ、高い親和性および特異性でＩＬ－１３、特に、ヒトＩＬ－１３と結合する、抗体およびそれらの抗原結合性フラグメントが含まれるＩＬ－１３アンタゴニストであるＩＬ－１３結合性物質を提供する。また、本開示の抗体およびそれらの抗原結合性フラグメントは、本明細書においてそれぞれ「抗ＩＬ－１３抗体」および「それらのフラグメント」と呼ばれる。一実施形態において、抗ＩＬ－１３抗体またはそのフラグメントは、少なくとも１つのＩＬ－１３関連活性を低減、中和および／またはアンタゴナイズする。例えば、抗ＩＬ－１３抗体またはそのフラグメントは、ＩＬ－１３、例えば、ＩＬ－１３のエピトープと結合し、相互作用、例えば、ＩＬ－１３とＩＬ－１３受容体複合体（「ＩＬ－１３Ｒ」）、例えば、ＩＬ－１３受容体α１（「ＩＬ－１３Ｒα１」）およびインターロイキン－４受容体α鎖（「ＩＬ－４Ｒα」）、またはそれらのサブユニット（例えば、個別にＩＬ－１３Ｒα１またはＩＬ－４Ｒα）を含む複合体との間の結合を妨害することができる。したがって、本明細書に記載されている抗体およびそれらのフラグメントを用い、相互作用、例えば、ＩＬ－１３とＩＬ－１３受容体複合体、またはそのサブユニットとの間の結合を妨害し、それによって機能性シグナル伝達複合体の形成を妨害することができる。

【０００５】

さらに、我々は、中和抗ＩＬ－１３抗体の投与が、とりわけ、抗原誘発性肺炎症、例え

ば、それぞれ非ヒト霊長類およびヒツジにおいて好酸球増加症および気管支収縮を改善することを明らかにした。したがって、ＩＬ－１３アンタゴニスト、例えば、中和抗Ｌ－１３抗体およびそれらのフラグメントを用い、インビボで少なくとも１つのＩＬ－１３関連活性、例えば、炎症性状態（例えば、肺炎症）を改善することができる。さらに中和抗Ｌ－１３抗体およびそれらのフラグメントを用い、アトピー患者由来の細胞のＩＬ－１３に対する感受性増強を改善することができる。したがって、抗体またはそれらのフラグメントは、季節性アレルギー、例えば、アレルギー性鼻炎の治療に使用することができる。抗ＩＬ－１３抗体またはそれらのフラグメント（本明細書に記載されているフラグメントが含まれる）は、対象、例えば、ヒト患者において、１つまたはそれ以上のＩＬ－１３関連障害、例えば、呼吸器障害（例えば、アレルギー性および非アレルギー性喘息、慢性閉塞性肺疾患（ＣＯＰＤ）が含まれる喘息）、ならびに気道炎症、好酸球増加症、線維症および過剰な粘液産生を含む状態（例えば、嚢胞性線維症および肺線維症）；アトピー性障害（例えば、アレルギー性鼻炎）；皮膚（例えば、アトピー性皮膚炎）、胃腸器官（例えば、炎症性腸疾患（ＩＢＤ））、肝臓（例えば、肝硬変）の炎症性および／または自己免疫性状態；ウイルス感染；強皮症および肝線維症などの他の器官の線維症を診断、治療および／または予防するのに有用である。

【０００６】

したがって、一態様において、本出願は、ＩＬ－１３アンタゴニストなどのＩＬ－１３結合性物質を扱う。ＩＬ－１３結合性物質は、ＩＬ－１３、特に、哺乳類ＩＬ－１３、例えば、ヒト、ヒツジ、または非ヒト霊長類ＩＬ－１３と相互作用する、例えば、それらと結合しかつ／またはそれらを中和するタンパク質、例えば、抗体またはその抗原結合性フラグメント、ペプチド、または骨格ドメインであってよい。抗体は、単離抗体であってよい。一実施形態において、抗体またはそのフラグメントは、中和抗体であり、例えば、中和抗体は、とりわけ、ＣＤ２３発現の誘導；ヒトＢ細胞によるＩｇＥの産生；転写因子、例えば、ＳＴＡＴタンパク質（例えば、ＳＴＡＴ６タンパク質）のリン酸化；インビボでの抗原誘発性好酸球増加症；インビボでの抗原誘発性気管支収縮；またはインビボでの薬物誘発性気道過反応性が含まれるがこれらに限定されない１つまたはそれ以上のＩＬ－１３関連活性を低減および／または阻害する。

【０００７】

本明細書に記載されているＩＬ－１３アンタゴニスト、例えば、抗ＩＬ－１３抗体またはそれらのフラグメントは、高い親和性で、例えば、10^{-7}Ｍ未満、10^{-8}、10^{-9}、10^{-10}、10^{-11}ＭまたはよりＫｄでＩＬ－１３と結合することができる。例えば、抗ＩＬ－１３抗体またはそれらのフラグメントは、５０～５００ｐＭ、例えば、９０～１２０ｐＭ、例えば、９５～１０５ｐＭの親和性でＩＬ－１３と結合することができる。一実施形態において、抗ＩＬ－１３抗体またはそれらのフラグメントは、少なくとも約５０ｎＭ～５ｐＭ、通常は約１００～２５０ｐＭまたはより強いIC_{50}で１つまたはそれ以上のＩＬ－１３関連活性を中和することができる。他の実施形態において、抗ＩＬ－１３抗体またはそれらのフラグメントは、10^{3}～$10^{7}M^{-1}s^{-1}$、通常は10^{4}～$10^{6}M^{-1}s^{-1}$の範囲の速度でＩＬ－１３と会合する。例えば、抗ＩＬ－１３抗体またはそれらのフラグメントは、5×10^{4}～$8\times10^{6}M^{-1}s^{-1}$の範囲の速度でＩＬ－１３と会合することがある。さらに別の実施形態において、抗ＩＬ－１３抗体またはそれらのフラグメントは、10^{-2}～$10^{-6}s^{-1}$、通常は10^{-3}～$10^{-6}s^{-1}$の範囲の、例えば、$5\times10^{-4}s^{-1}$より遅い、例えば、９、８、$6\times10^{-5}s^{-1}$の解離速度を有する。一実施形態において、抗ＩＬ－１３抗体またはそれらのフラグメントは、モノクローナル抗体１３．２（「ｍＡｂ１３．２」）、またはその修飾形態、例えば、キメラ形態（例えば、「ｃｈ１３．２」）、またはそのヒト化形態（例えば、「ｈ１３．２ｖ１」、「ｈ１３．２ｖ２」または「ｈ１３．２ｖ３」）と類似した親和性および／または速度でＩＬ－１３、例えば、ヒトＩＬ－１３と結合する。抗ＩＬ－１３抗体またはそのフラグメントの親和性および結合速度は、例えば、バイオセンサー技術（ＢＩＡＣＯＲＥ（商標））を用いて試験することができる（以下の実施例１．２を参照）。

【０００８】
一実施形態において、抗ＩＬ－１３抗体またはそのフラグメント（例えば、Ｆａｂ、Ｆ（ａｂ’）$_2$、Ｆｖ、または単鎖Ｆｖフラグメント）は、モノクローナル抗体または単一の特異性を持つ抗体である。また、抗体またはそのフラグメントは、ヒト抗体、ヒト化抗体、キメラ抗体、またはインビトロ生成抗体であってよい。一実施形態において、抗ＩＬ－１３抗体またはそのフラグメントは、ヒト化抗体である。一実施形態において、抗体は、効率的にヒトである。

【０００９】
抗ＩＬ－１３抗体の重鎖および軽鎖は、完全長であってよいか（例えば、ある抗体には、少なくとも１つ、好ましくは２つの完全な重鎖および少なくとも１つ、好ましくは２つの完全な軽鎖が含まれてよい）、あるいは抗原結合性フラグメント（例えば、Ｆａｂ、Ｆ（ａｂ’）$_2$、Ｆｖ、または単鎖Ｆｖフラグメント）が含まれてよい。さらに他の実施形態において、抗体は、例えば、ＩｇＧ１、ＩｇＧ２、ＩｇＧ３、ＩｇＧ４、ＩｇＭ、ＩｇＡ１、ＩｇＡ２、ＩｇＤおよびＩｇＥの重鎖定常領域から選択される；特に、例えば、ＩｇＧ１、ＩｇＧ２、ＩｇＧ３およびＩｇＧ４の重鎖定常領域、より詳細には、ＩｇＧ１（例えば、ヒトＩｇＧ１）の重鎖定常領域から選択される重鎖定常領域を有する。別の実施形態において、抗体は、κまたはλ、好ましくはκ（例えば、ヒトκ）の軽鎖定常領域から選択される軽鎖定常領域を有する。一実施形態において、定常領域は、抗体の特性を修飾するため（例えば、Ｆｃ受容体結合、抗体グリコシル化、システイン残基数、エフェクター細胞機能、または補体機能のうちの１つまたはそれ以上を増減するため）、改変、例えば、変異される。例えば、ヒトＩｇＧ１定常領域は、１つまたはそれ以上の残基、例えば、配列番号１７の残基２３４および２３７（例えば、位置番号１のセリンが、残基番号１１９（例えば、ＶＨ鎖の１１８個のアミノ酸に続く）にシフトしている場合の残基２３４および２３７；配列番号１７に示されるように、位置番号１のセリンにより、これらの同一残基は、１１６番および１１９番である）のうちの１つまたはそれ以上において変異させることができる。一実施形態において、抗ＩＬ－１３抗体は、配列番号１７として示されるヒトＩｇＧ１定常領域を含む。別の実施形態において、抗ＩＬ－１３抗体は、配列番号１８として示されるヒトκ配列を含む。

【００１０】
別の実施形態において、ＩＬ－１３アンタゴニスト、例えば、抗ＩＬ－１３抗体またはそのフラグメントは、ＩＬ－１３、特に、哺乳類の、例えば、非ヒト霊長類、ヒツジ、またはヒトＩＬ－１３（例えば、配列番号３１のアミノ酸配列を有するヒトＩＬ－１３（図１１））、または配列番号３１（図１１）の約アミノ酸２０～１３２由来の成熟ヒトＩＬ－１３配列（成熟ヒトＩＬ－１３配列ナンバリングについての配列番号３２も参照）、またはそれらと少なくとも８５％、９０％、９５％、９９％以上一致する配列と特異的に結合する。一実施形態において、抗ＩＬ－１３抗体またはそのフラグメントは、ヒトＩＬ－１３の変異体、例えば、配列番号３１（図１１）の１３０位においてアルギニン（Ｒ）の代わりにグルタミン（Ｑ）を有するヒトＩＬ－１３の変異体と結合する。他の実施形態において、抗体またはそのフラグメントは、ＩＬ－１３のフラグメント、例えば、配列番号３１に示されるアミノ酸配列のうちの少なくとも１０、２０、５０、７５、１００、１２０、または１３０個の隣接アミノ酸のフラグメント、またはそれと少なくとも８５％、９０％、９５％、９９％またはそれ以上一致する配列と特異的に結合する。一実施形態において、抗ＩＬ－１３抗体またはそのフラグメントは、ヒトＩＬ－１３と特異的に結合し、非ヒト種由来のＩＬ－１３と交差反応しない。他の実施形態において、抗ＩＬ－１３抗体またはそのフラグメントは、哺乳類のＩＬ－１３、例えば、ヒト、ヒツジおよび／または非ヒト霊長類ＩＬ－１３のうちの２つ以上の形態と結合する。

【００１１】
一実施形態において、ＩＬ－１３アンタゴニスト、例えば、抗ＩＬ－１３抗体またはそのフラグメントは、エピトープ、例えば、ＩＬ－１３、例えば、特に、哺乳類の、例えば、ヒトＩＬ－１３の直線状または立体構造エピトープと特異的に結合する。一実施形態に

おいて、抗ＩＬ－１３抗体またはそのフラグメントは、ヒトＩＬ－１３（配列番号３１）の残基８１～９３および／または１１４－１３２を含むエピトープ、またはその修飾形態（例えば、そのフラグメントまたは置換（例えば、保存的置換）体）と結合する。別の実施形態において、抗ＩＬ－１３抗体またはそのフラグメントは、以下のアミノ酸残基、すなわち、配列番号３１［成熟配列における位置；配列番号３２］の６８［４９］位のグルタミン酸、７２［５３］位のアスパラギン、８８［６９］位のグリシン、９１［７２］位のプロリン、９２［７３］位のヒスチジン、９３［７４］位のリジンおよび１０５［８６］位のアルギニンのうちの１つまたはそれ以上、またはそれらの保存的アミノ酸置換を含むヒトＩＬ－１３のエピトープと特異的に結合する。

【００１２】

別の実施形態において、ＩＬ－１３アンタゴニスト、例えば、抗ＩＬ－１３抗体またはそのフラグメントは、例えば、ＩＬ－１３およびＩＬ－１３Ｒα１（「ＩＬ－１３／ＩＬ－１３Ｒα１」）；ＩＬ－１３およびＩＬ－４Ｒα（「ＩＬ－１３／ＩＬ－４Ｒα」）；ならびにＩＬ－１３、ＩＬ－１３Ｒα１およびＩＬ－４Ｒα（「ＩＬ－１３／ＩＬ－１３Ｒα１／ＩＬ－４Ｒα」）から選択される複合体と結合する。一実施形態において、ＩＬ－１３アンタゴニスト、例えば、抗ＩＬ－１３抗体またはそのフラグメントは、ＩＬ－１３と結合し、相互作用、例えば、ＩＬ－１３とＩＬ－１３受容体複合体、例えば、ＩＬ－１３Ｒα１およびＩＬ－４Ｒαを含む複合体との間の結合を妨害（例えば、阻害、遮断さもなければ低減）する。他の実施形態において、ＩＬ－１３アンタゴニスト、例えば、抗ＩＬ－１３抗体またはそのフラグメントは、ＩＬ－１３と結合し、相互作用、例えば、ＩＬ－１３とＩＬ－１３受容体複合体のサブユニット、例えば、個別にＩＬ－１３Ｒα１またはＩＬ－４Ｒαとの間の結合を妨害（例えば、阻害、遮断さもなければ低減）する。さらに別の実施形態において、ＩＬ－１３アンタゴニスト、例えば、抗ＩＬ－１３抗体またはそのフラグメントは、ＩＬ－１３と結合し、相互作用、例えば、ＩＬ－１３／ＩＬ－１３Ｒα１とＩＬ－４Ｒαとの間の結合を妨害（例えば、阻害、遮断さもなければ低減）する。別の実施形態において、ＩＬ－１３アンタゴニスト、例えば、抗ＩＬ－１３抗体またはそのフラグメントは、ＩＬ－１３と結合し、相互作用、例えば、ＩＬ－１３／ＩＬ－４ＲαとＩＬ－１３Ｒα１との間の結合を妨害（例えば、阻害、遮断さもなければ低減）する。通常、抗ＩＬ－１３抗体またはそのフラグメントは、相互作用、例えば、ＩＬ－１３／ＩＬ－１３Ｒα１のＩＬ－４Ｒとの結合を妨害（例えば、阻害、遮断さもなければ低減）する。例示的抗体は、三元複合体、ＩＬ－１３／ＩＬ－１３Ｒα１／ＩＬ－４Ｒαの形成を阻害または妨害する。

【００１３】

ＩＬ－１３がＩＬ－１３Ｒ（例えば、ＩＬ－１３受容体複合体）、またはそのサブユニットと結合するのを妨害するＩＬ－１３抗体の例には、「ｍＡｂ１３．２」およびその修飾形態、例えば、キメラ形態またはヒト化形態が含まれる。本明細書において、ｍＡｂ１３．２の重鎖可変領域についてのアミノ酸およびヌクレオチド配列は、それぞれ配列番号１３および配列番号５として示される。本明細書において、ｍＡｂ１３．２の軽鎖可変領域についてのアミノ酸およびヌクレオチド配列は、それぞれ配列番号９および配列番号１として示される。本明細書において、例示的キメラ形態（例えば、ｍＡｂ１３．２の重鎖および軽鎖可変領域を含む形態）は、「ｃｈ１３．２」と呼ばれる。本明細書において、ｃｈ１３．２の重鎖可変領域についてのアミノ酸およびヌクレオチド配列は、それぞれ配列番号１４（例えば、図１５）および配列番号６として示される。本明細書において、ｃｈ１３．２の軽鎖可変領域についてのアミノ酸およびヌクレオチド配列は、それぞれ配列番号１０（例えば、図１６）および配列番号２として示される。本明細書において「ｈ１３．２ｖ１」と呼ばれるｍＡｂ１３．２のヒト化形態は、本明細書においてそれぞれ配列番号１５（図１５）および配列番号７として示される重鎖可変領域についてのアミノ酸およびヌクレオチド配列を有する。本明細書において、ｈ１３．２ｖ１の軽鎖可変領域についてのアミノ酸およびヌクレオチド配列は、それぞれ配列番号１１（図１６）および配列番号３として示される。本明細書において「ｈ１３．２ｖ２」と呼ばれるｍＡｂ１３．２

の別のヒト化形態は、本明細書においてそれぞれ配列番号１６（図１７）および配列番号８として示される重鎖可変領域についてのアミノ酸およびヌクレオチド配列を有する。本明細書において、ｈ１３．２ｖ２の軽鎖可変領域についてのアミノ酸およびヌクレオチド配列は、それぞれ配列番号１２（図１８）および配列番号４として示される。本明細書において「ｈ１３．２ｖ３」と呼ばれるｍＡｂ１３．２の別のヒト化形態は、本明細書においてそれぞれ配列番号３６（図２７）および配列番号３４として示される重鎖可変領域についてのアミノ酸およびヌクレオチド配列を有する。本明細書において、ｈ１３．２ｖ３の軽鎖可変領域についてのアミノ酸およびヌクレオチド配列は、それぞれ配列番号３５（図２８）および配列番号３３として示される。

【００１４】

一実施形態において、ＩＬ－１３アンタゴニスト、例えば、抗体またはそのフラグメントは、ＩＬ－１３、例えば、ヒト、非ヒト霊長類、またはヒツジＩＬ－１３と特異的に結合し、二次抗体がＩＬ－１３、例えば、ＩＬ－１３（例えば、ヒト、非ヒト霊長類、ヒツジＩＬ－１３）上の標的エピトープと結合するのを競合的に阻害する。二次抗体は、本明細書に記載されているように、例えば、ｍＡｂ１３．２、ｃｈ１３．２、ｈ１３．２ｖ１、ｈ１３．２ｖ２および／またはｈ１３．２ｖ３から選択される抗体であってよい。

【００１５】

一実施形態において、ＩＬ－１３抗体またはそのフラグメントは、注射後少なくとも６週目に、ヒツジモデルにおいて回虫属（Ａｓｃａｒｉｓ）抗原への暴露に対する注射後防御効果を付与することができる。

【００１６】

別の実施形態において、抗体またはそのフラグメントは、少なくとも１個の抗原結合性領域、例えば、ｍＡｂ１３．２、ｃｈ１３．２、ｈ１３．２ｖ１、ｈ１３．２ｖ２および／またはｈ１３．２ｖ３から選択される抗体由来の、例えば、可変領域を含む。さらに別の実施形態において、抗体またはそのフラグメントには、本明細書に記載されているように、例えば、ｍＡｂ１３．２、ｃｈ１３．２、ｈ１３．２ｖ１、ｈ１３．２ｖ２および／またはｈ１３．２ｖ３から選択される抗体由来の少なくとも１、２、３または４個の可変領域が含まれる。別の実施形態において、抗体またはそのフラグメントには、本明細書に記載されているように、例えば、ｍＡｂ１３．２、ｃｈ１３．２、ｈ１３．２ｖ１、ｈ１３．２ｖ２および／またはｈ１３．２ｖ３から選択される抗体由来の少なくとも１または２個の重鎖可変領域が含まれる。別の実施形態において、抗体またはそのフラグメントには、本明細書に記載されているように、例えば、ｍＡｂ１３．２、ｃｈ１３．２、ｈ１３．２ｖ１、ｈ１３．２ｖ２および／またはｈ１３．２ｖ３から選択される抗体由来の少なくとも１または２個の軽鎖可変領域が含まれる。さらに別の実施形態において、抗体またはそのフラグメントには、本明細書に記載されているように、例えば、ｍＡｂ１３．２、ｃｈ１３．２、ｈ１３．２ｖ１、ｈ１３．２ｖ２および／またはｈ１３．２ｖ３から選択される抗体の重鎖可変領域由来の少なくとも１、２または３個の相補性決定領域（ＣＤＲ）、または少なくとも特に、ＩＬ－１３と接触するＣＤＲ由来のアミノ酸が含まれる。さらに別の実施形態において、抗体またはそのフラグメントには、本明細書に記載されているように、例えば、ｍＡｂ１３．２、ｃｈ１３．２、ｈ１３．２ｖ１、ｈ１３．２ｖ２および／またはｈ１３．２ｖ３から選択される抗体の軽鎖可変領域由来の少なくとも１、２または３個のＣＤＲが含まれるか、あるいはＩＬ－１３と接触するＣＤＲ由来のアミノ酸が少なくとも含まれる。さらに別の実施形態において、抗体またはそのフラグメントには、本明細書に記載されているように、例えば、ｍＡｂ１３．２、ｃｈ１３．２、ｈ１３．２ｖ１、ｈ１３．２ｖ２および／またはｈ１３．２ｖ３から選択される抗体の重鎖および軽鎖可変領域由来の少なくとも１、２、３、４、５または６個のＣＤＲが含まれる。

【００１７】

１つの好ましい実施形態において、タンパク質には、ｍＡｂ１３．２、ｃｈ１３．２、ｈ１３．２ｖ１、ｈ１３．２ｖ２および／またはｈ１３．２ｖ３由来の６個のＣＤＲすべて、または密接に関連するＣＤＲ、例えば、一致するか、あるいは少なくとも１個のアミ

ノ酸改変であるが、２、３または４個以下の改変（例えば、置換、欠失、または挿入、例えば、保存的置換）を有するＣＤＲが含まれる。所望により、タンパク質には、本明細書に記載されている任意のＣＤＲが含まれてよい。

【００１８】

さらに別の実施形態において、抗体またはそのフラグメントには、本明細書に記載されているように、例えば、ｍＡｂ１３．２、ｃｈ１３．２、ｈ１３．２ｖ１、ｈ１３．２ｖ２および／またはｈ１３．２ｖ３から選択される抗体の重鎖可変領域由来の少なくとも１、２または３個のＣｈｏｔｈｉａ超可変ループか、あるいは、少なくとも特に、ＩＬ－１３と接触する超可変ループ由来のアミノ酸が含まれる。さらに別の実施形態において、抗体またはそのフラグメントには、本明細書に記載されているように、例えば、ｍＡｂ１３．２、ｃｈ１３．２、ｈ１３．２ｖ１、ｈ１３．２ｖ２および／またはｈ１３．２ｖ３から選択される抗体の軽鎖可変領域由来の少なくとも１、２または３個の超可変ループが含まれるか、あるいは、ＩＬ－１３と接触する超可変ループ由来のアミノ酸が少なくとも含まれる。さらに別の実施形態において、抗体またはそのフラグメントには、本明細書に記載されているように、例えば、ｍＡｂ１３．２、ｃｈ１３．２、ｈ１３．２ｖ１、ｈ１３．２ｖ２および／またはｈ１３．２ｖ３から選択される抗体の重鎖および軽鎖可変領域由来の少なくとも１、２、３、４、５または６個の超可変ループが含まれる。

【００１９】

１つの好ましい実施形態において、タンパク質には、ｍＡｂ１３．２、ｃｈ１３．２、ｈ１３．２ｖ１、ｈ１３．２ｖ２および／またはｈ１３．２ｖ３由来の６個の超可変ループすべて、または密接に関連する超可変ループ、例えば、一致するか、あるいは少なくとも１個のアミノ酸改変であるが、２、３または４個以下の改変（例えば、置換、欠失、または挿入、例えば、保存的置換）を有する超可変ループが含まれる。所望により、タンパク質には、本明細書に記載されている任意の超可変ループが含まれてよい。

【００２０】

さらに別の実施形態において、タンパク質には、ｍＡｂ１３．２、ｃｈ１３．２、ｈ１３．２ｖ１、ｈ１３．２ｖ２および／またはｈ１３．２ｖ３の対応する超可変ループと同一のカノニカル構造、例えば、ｍＡｂ１３．２、ｃｈ１３．２、ｈ１３．２ｖ１、ｈ１３．２ｖ２および／またはｈ１３．２ｖ３の重鎖および／または軽鎖可変ドメインの少なくともループ１および／またはループ２と同一のカノニカル構造を有する少なくとも１、２または３個の超可変ループが含まれる。例えば、超可変ループカノニカル構造の説明についてのＣｈｏｔｈｉａ他（１９９２）Ｊ．Ｍｏｌ．Ｂｉｏｌ．２２７：７９９－８１７；Ｔｏｍｌｉｎｓｏｎ他（１９９２）Ｊ．Ｍｏｌ．Ｂｉｏｌ．２２７：７７６－７９８を参照されたい。これらの構造は、これらの参考文献に記載されている表の閲覧により決定することができる。

【００２１】

一実施形態において、軽鎖または重鎖可変フレームワーク（例えば、少なくともＦＲ１、ＦＲ２、ＦＲ３、および所望によりＦＲ４を包含する領域）は、（ａ）ヒト軽鎖または重鎖可変フレームワーク由来のアミノ酸残基のうちの少なくとも８０％、８５％、８７％、９０％、９２％、９３％、９５％、９７％、９８％、または好ましくは１００％が含まれる軽鎖または重鎖可変フレームワーク、例えば、ヒト成熟抗体、ヒト生殖系列配列、ヒトコンセンサス配列、または本明細書に記載されているヒト抗体由来の軽鎖または重鎖可変フレームワーク残基；（ｂ）ヒト軽鎖または重鎖可変フレームワーク由来のアミノ酸残基のうちの２０％～８０％、４０％～６０％、６０％～９０％、または７０％～９５％が含まれる軽鎖または重鎖可変フレームワーク、例えば、ヒト成熟抗体、ヒト生殖細胞系配列、ヒトコンセンサス配列由来の軽鎖または重鎖可変フレームワーク残基；（ｃ）非ヒトフレームワーク（例えば、げっ歯類フレームワーク）；または（ｄ）例えば、抗原決定基または細胞傷害性決定基を除去するために修飾された、例えば、脱免疫化された、または部分的にヒト化された非ヒトフレームワークから選択することができる。一実施形態において、軽鎖または重鎖可変フレームワーク領域（特に、ＦＲ１、ＦＲ２および／またはＦ

Ｒ３）には、ヒト生殖系列遺伝子のＶＨセグメント、例えば、ＤＰ－５４またはＤＰＫ９のフレームワークと少なくとも７０、７５、８０、８５、８７、８８、９０、９２、９４、９５、９６、９７、９８、９９％一致するか、あるいはそれらと一致する軽鎖または重鎖可変フレームワーク配列が含まれる。一実施形態において、重鎖可変領域には、以下の位置、すなわち、（軽鎖の可変ドメインのＦＲにおける）４Ｌ、３５Ｌ、３６Ｌ、３８Ｌ、４３Ｌ、４４Ｌ、５８Ｌ、４６Ｌ、６２Ｌ、６３Ｌ、６４Ｌ、６５Ｌ、６６Ｌ、６７Ｌ、６８Ｌ、６９Ｌ、７０Ｌ、７１Ｌ、７３Ｌ、８５Ｌ、８７Ｌ、９８Ｌおよび／または（重鎖の可変ドメインのＦＲにおける）２Ｈ、４Ｈ、２４Ｈ、３６Ｈ、３７Ｈ、３９Ｈ、４３Ｈ、４５Ｈ、４９Ｈ、５８Ｈ、６０Ｈ、６７Ｈ、６８Ｈ、６９Ｈ、７０Ｈ、７３Ｈ、７４Ｈ、７５Ｈ、７８Ｈ、９１Ｈ、９２Ｈ、９３Ｈおよび／または１０３Ｈ（Ｋａｂａｔナンバリングに従う）のうちの１個またはそれ以上（好ましくは、少なくとも５、１０、１２個、またはすべて）におけるヒト残基またはヒトコンセンサス配列残基が含まれる。

【００２２】

一実施形態において、タンパク質には、少なくとも１つの非ヒトＣＤＲ、例えば、マウスＣＤＲ、例えば、ｍＡｂ１３．２由来のＣＤＲ、またはその変異体および少なくとも１個のアミノ酸、例えば、少なくとも５、８、１０、１２、１５または１８個のアミノ酸によりｍＡｂ１３．２のフレームワークと異なる少なくとも１つのフレームワークが含まれる。例えば、タンパク質には、１、２、３、４、５または６個のそのような非ヒトＣＤＲが含まれ、ＨＣ　ＦＲ１、ＨＣ　ＦＲ２、ＨＣ　ＦＲ３、ＬＣ　ＦＲ１、ＬＣ　ＦＲ２およびＬＣ　ＦＲ３のうちの少なくとも３個における少なくとも１個のアミノ酸差が含まれる。

【００２３】

一実施形態において、抗体の重鎖または軽鎖可変ドメインには、本明細書に記載されている抗体、例えば、ｍＡｂ１３．２、ｃｈ１３．２、ｈ１３．２ｖ１、ｈ１３．２ｖ２および／またはｈ１３．２ｖ３の可変領域と少なくとも８０％、８５％、９０％、９２％、９５％、９７％、９８％、９９％またはそれ以上一致するか；あるいは、本明細書に記載されている抗体、例えば、ｍＡｂ１３．２、ｃｈ１３．２、ｈ１３．２ｖ１、ｈ１３．２ｖ２および／またはｈ１３．２ｖ３の可変領域と少なくとも１または５個の残基だが、４０、３０、２０、または１０未満の残基において異なるアミノ酸配列が含まれる。

【００２４】

一実施形態において、可変ドメインのうちの１つまたは両方には、非ヒト抗体（例えば、ｍＡｂ１３．２などのマウス抗体）とヒト抗体または生殖系列配列の両方から様々に誘導されるフレームワーク領域内のアミノ酸位置が含まれる。例えば、可変ドメインには、アミノ酸残基が、非ヒト抗体とヒト抗体（または、ヒト生殖系列配列）の両方と一致する多くの位置が含まれるはずであるのは、２つがその位置で一致するためである。非ヒトおよびヒトが異なる残りのフレームワーク位置のうち、可変ドメインの位置のうちの少なくとも５０、６０、７０、８０、または９０％は、非ヒトではなくヒト抗体（または、ヒト生殖系列配列）と一致することが好ましい。例えば、そのような残りのフレームワーク位置のうちのどれも、ヒトではなく非ヒト抗体と一致しないか、または少なくとも１、２、３、または４個が、ヒトではなく非ヒト抗体と一致してよい。例えば、ＨＣ　ＦＲ１において、１または２個のそのような位置は、非ヒトであってよく；ＨＣ　ＦＲ２において、１または２個のそのような位置は、非ヒトであってよく；ＦＲ３において、１、２、３、または４個のそのような位置は、非ヒトであってよく；ＬＣ　ＦＲ１において、１、２、３、または４個のそのような位置は、非ヒトであってよく；ＬＣ　ＦＲ２において、１または２個のそのような位置は、非ヒトであってよく；ＬＣ　ＦＲ３において、１または２個のそのような位置は、非ヒトであってよい。

【００２５】

一実施形態において、タンパク質の重鎖または軽鎖可変領域には、本明細書に記載されている核酸配列、または低い厳密性、中間の厳密性、高い厳密性、もしくは極めて高い厳密性条件、または本明細書に記載されている他のハイブリダイゼーション条件の下で本明

細書に記載されている核酸配列（例えば、特異的核酸配列または本明細書に記載されているアミノ酸配列をコードする核酸配列）またはその相補体とハイブリダイズする核酸によりコードされるアミノ酸が含まれる。

【００２６】

別の実施形態において、抗体またはそのフラグメントは、少なくとも１、２、３、または４個の抗原結合性領域、例えば、表３に示されているようなアミノ酸配列（ＶＨについては、配列番号１３、１４、１５、１６、または３６および／または、ＶＬについては、配列番号９、１０、１１、１２または３５）、またはそれと実質的に一致する配列（例えば、それと少なくとも約８５％、９０％、９５％、９９％またはそれ以上一致するか、あるいは、配列番号９、１０、１１、１２、１３、１４、１５、１６、３５、または３６と１、２、５、１０、または１５個以下のアミノ酸残基が異なる配列）を有する可変領域を含む。別の実施形態において、抗体には、表２に示されているようなヌクレオチド配列（ＶＨについては、配列番号５、６、７、８、または３４および／または、ＶＬについては、配列番号１、２、３、４、または３３）、またはそれと実質的に一致する配列（例えば、それと少なくとも約８５％、９０％、９５％、９９％またはそれ以上一致するか、あるいは、配列番号１、２、３、４、５、６、７、８、３３または３４と３、６、１５、３０または４５個以下のヌクレオチドが異なる配列）を有する核酸によりコードされるＶＨおよび／またはＶＬドメインが含まれる。さらに別の実施形態において、抗体またはそのフラグメントは、表１に示されているようなアミノ酸配列（それぞれ、ＶＨ　ＣＤＲ１～３について配列番号２２、２３または２４）、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％、９９％またはそれ以上一致し、かつ／または１つまたはそれ以上の置換、例えば、保存的置換を有する配列）を有する重鎖可変領域由来の少なくとも１、２または３個のＣＤＲを含む。さらに別の実施形態において、抗体またはそのフラグメントは、表１に示されているようなアミノ酸配列（それぞれ、ＶＬ　ＣＤＲ１～３について配列番号１９、２０または２１）、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％、９９％またはそれ以上一致し、かつ／または１つまたはそれ以上の置換、例えば、保存的置換を有する配列）を有する軽鎖可変領域由来の少なくとも１、２または３個のＣＤＲを含む。さらに別の実施形態において、抗体またはそのフラグメントは、表１に示されているようなアミノ酸配列（それぞれ、ＶＨ　ＣＤＲ１～３について配列番号２２、２３または２４；および、それぞれ、ＶＬ　ＣＤＲ１～３について配列番号１９、２０または２１）、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％、９９％またはそれ以上一致し、かつ／または１つまたはそれ以上の置換、例えば、保存的置換を有する配列）を有する重鎖および軽鎖可変領域由来の少なくとも１、２、３、４、５または６個のＣＤＲを含む。

【００２７】

さらに別の実施形態において、抗体またはそのフラグメントは、それぞれ、ＶＨ　Ｃｈｏｔｈｉａ超可変ループ１～３のアミノ酸配列、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％、９９％またはそれ以上一致し、かつ／または１つまたはそれ以上の置換、例えば、保存的置換を有する配列）を有する重鎖可変領域由来の少なくとも１、２または３個のＣｈｏｔｈｉａ超可変ループを含む。さらに別の実施形態において、抗体またはそのフラグメントは、それぞれ、Ｃｈｏｔｈｉａ超可変ループ１～３のアミノ酸配列、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％、９９％またはそれ以上一致し、かつ／または１つまたはそれ以上の置換、例えば、保存的置換を有する配列）を有する軽鎖可変領域由来の少なくとも１、２または３個のＣｈｏｔｈｉａ超可変ループを含む。

【００２８】

別の実施形態において、抗ＩＬ－１３抗体またはそのフラグメントは、配列番号１７に示されているようなアミノ酸配列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％、９９％またはそれ以上一致するか、あるいは、配列番

号１７と１、２、５、１０、５０または１００個以下のアミノ酸残基が異なる配列）を、または対応する位置において有するヒトＩｇＧ１定常領域を含む。別の実施形態において、抗ＩＬ－１３抗体は、配列番号１８に示されているようなアミノ酸配列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％、９９％またはそれ以上一致するか、あるいは、配列番号１８と１、２、５、１０、２０または５０個程度のアミノ酸残基が異なる配列）を有するヒトκ定常鎖を含む。さらに別の実施形態において、抗体またはそのフラグメントは、例えば、本明細書に記載されているように、ヒトＩｇＧ１定常領域およびヒトκ定常鎖を含む。

【００２９】

さらに別の実施形態において、抗ＩＬ－１３抗体またはそのフラグメントは、直線配列ナンバリングスキーム（例えば、図１７も参照）に従って図２９に示される重鎖可変領域の、または重鎖可変ドメイン内のそのようなアミノ酸残基に対応する位置における、例えば、セリン５０（ＣＤＲ２）、セリン５３（ＣＤＲ２）、チロシン１０１（ＣＤＲ３）、チロシン１０２（ＣＤＲ３）、またはそれらの保存的置換から選択される少なくとも１、２、３または４個の残基において水素結合を介してＩＬ－１３、通常はヒトＩＬ－１３と接触する重鎖可変ドメインを含む。一実施形態において、抗体またはそのフラグメントは、直線配列ナンバリングスキーム（例えば、図１７も参照）に従って図２９に示される重鎖可変領域の、または重鎖可変ドメイン内のそのようなアミノ酸残基に対応する位置における、例えば、イソロイシン３０（ＣＤＲ１）、セリン３１（ＣＤＲ１）、アラニン３３（ＣＤＲ１）、トリプトファン４７、セリン５０（ＣＤＲ２）、セリン５２（ＣＤＲ２）、セリン５３（ＣＤＲ２）、チロシン５８（ＣＤＲ２）、ロイシン９８（ＣＤＲ３）、アスパラギン酸９９（ＣＤＲ３）、グリシン１００（ＣＤＲ３）、チロシン１０１（ＣＤＲ３）、チロシン１０２（ＣＤＲ３）、フェニルアラニン１０３（ＣＤＲ３）、またはそれらの保存的置換から選択される少なくとも１、２、３、４、５、６、７、８、９、１０、１１、１２、１３または１４個の残基においてファンデルワールス力を介してＩＬ－１３、通常はヒトＩＬ－１３と接触する重鎖可変領域を含む。別の実施形態において、抗体またはそのフラグメントは、直線配列ナンバリングスキーム（例えば、図１７も参照）に従って図２９に示される重鎖可変領域の、または重鎖可変ドメイン内のそのようなアミノ酸残基に対応する位置における、例えば、セリン５０（ＣＤＲ２）、セリン５３（ＣＤＲ２）、チロシン１０１（ＣＤＲ３）、チロシン１０２（ＣＤＲ３）、またはそれらの保存的置換から選択される少なくとも１、２、３または４個の残基において水素結合を介しおよび、例えば、イソロイシン３０（ＣＤＲ１）、セリン３１（ＣＤＲ１）、アラニン３３（ＣＤＲ１）、トリプトファン４７、セリン５０（ＣＤＲ２）、セリン５２（ＣＤＲ２）、セリン５３（ＣＤＲ２）、チロシン５８（ＣＤＲ２）、ロイシン９８（ＣＤＲ３）、アスパラギン酸９９（ＣＤＲ３）、グリシン１００（ＣＤＲ３）、チロシン１０１（ＣＤＲ３）、チロシン１０２（ＣＤＲ３）、フェニルアラニン１０３（ＣＤＲ３）、またはそれらの保存的置換から選択される少なくとも１、２、３、４、５、６、７、８、９、１０、１１、１２、１３または１４個の残基においてファンデルワールス力を介してＩＬ－１３、通常はヒトＩＬ－１３と接触する重鎖可変領域を含む。

【００３０】

別の実施形態において、抗ＩＬ－１３抗体またはそのフラグメントは、直線配列ナンバリングスキーム（例えば、図１８も参照）に従って図３０に示される軽鎖可変領域の、例えば、アスパラギン３１（ＣＤＲ１）、チロシン３２（ＣＤＲ１）、リジン３４（ＣＤＲ１）、アスパラギン９６（ＣＤＲ３）、アスパラギン酸９８（ＣＤＲ３）、またはそれらの保存的置換から選択される少なくとも１、２、３、４または５個の残基において水素結合を介してＩＬ－１３、通常はヒトＩＬ－１３と接触する軽鎖可変領域を含む。さらに別の実施形態において、抗ＩＬ－１３抗体またはそのフラグメントは、直線配列ナンバリングスキーム（例えば、図１８も参照）に従って図３０に示される軽鎖可変領域の、例えば、アスパラギン３１（ＣＤＲ１）、チロシン３２（ＣＤＲ１）、リジン３４（ＣＤＲ１）、アルギニン５４（ＣＤＲ２）、アスパラギン９６（ＣＤＲ３）、アスパラギン酸９８（

ＣＤＲ３）、トリプトファン１００（ＣＤＲ３）またはそれらの保存的置換から選択される少なくとも１、２、３、４、５、６または７個の残基においてファンデルワールス力を介してＩＬ－１３、通常はヒトＩＬ－１３と接触する軽鎖可変領域を含む。別の実施形態において、抗ＩＬ－１３抗体またはそのフラグメントは、直線配列ナンバリングスキーム（例えば、図１８も参照）に従って図３０に示される軽鎖可変領域の、例えば、アスパラギン３１（ＣＤＲ１）、チロシン３２（ＣＤＲ１）、リジン３４（ＣＤＲ１）、アスパラギン９６（ＣＤＲ３）、アスパラギン酸９８（ＣＤＲ３）、またはそれらの保存的置換から選択される少なくとも１、２、３、４または５個の残基において水素結合を介し、および軽鎖可変領域の、例えば、アスパラギン３１（ＣＤＲ１）、チロシン３２（ＣＤＲ１）、リジン３４（ＣＤＲ１）、アルギニン５４（ＣＤＲ２）、アスパラギン９６（ＣＤＲ３）、アスパラギン酸９８（ＣＤＲ３）、トリプトファン１００（ＣＤＲ３）またはそれらの保存的置換から選択される少なくとも１、２、３、４、５、６または７個の残基においてファンデルワールス力を介してＩＬ－１３、通常はヒトＩＬ－１３と接触する軽鎖可変領域を含む。

【００３１】

別の実施形態において、抗ＩＬ－１３抗体またはそのフラグメントは、本明細書に記載されているような水素結合を介してＩＬ－１３、例えば、ヒトＩＬ－１３と接触する重鎖および軽鎖可変領域を含む。さらに別の実施形態において、抗ＩＬ－１３抗体またはそのフラグメントは、本明細書に記載されているようなファンデルワールス力を介してＩＬ－１３、例えば、ヒトＩＬ－１３と接触する重鎖および軽鎖可変領域を含む。一実施形態において、抗ＩＬ－１３抗体またはそのフラグメントは、本明細書に記載されているような水素結合およびファンデルワールス力を介してＩＬ－１３、例えば、ヒトＩＬ－１３と接触する重鎖および軽鎖可変領域を含む。

【００３２】

さらに別の実施形態において、ＩＬ－１３アンタゴニスト、例えば、抗ＩＬ－１３抗体またはそのフラグメントは、配列番号１４の１３、１９、４０、４２、４４、７５、７７、８３、８７、９２または１１３位に１つまたはそれ以上の変異を有する重鎖可変領域を含む。別の実施形態において、抗ＩＬ－１３抗体またはそのフラグメントの重鎖可変領域は、配列番号１４の３位の変異をさらに含む。一実施形態において、抗ＩＬ－１３抗体またはそのフラグメントの重鎖可変領域は、以下の置換、すなわち、配列番号１４の３位におけるグルタミンによるリジンの置換、１３位におけるグルタミンによるリジンの置換、１９位におけるアルギニンによるリジンの置換、４０位におけるアラニンによるスレオニンの置換、４２位におけるグリシンによるグルタミン酸の置換、４４位におけるグリシンによるアルギニンの置換、７５位におけるリジンによるアルギニンの置換、７７位におけるセリンによるイソロイシンの置換、８３位におけるアスパラギンによるセリンの置換、８７位におけるアラニンによるセリンの置換、９２位におけるバリンによるメチオニンの置換、または１１３位におけるロイシンによるスレオニンの置換のうちの１つまたはそれ以上を含む。

【００３３】

別の実施形態において、ＩＬ－１３アンタゴニスト、例えば、抗ＩＬ－１３抗体またはそのフラグメントは、配列番号１０の３、９、１２、１３、１５、１７、１９、２２、４６、４７、６２、６４、８０、８１、８２、８３、８４、８５、８７または１０８位に１つまたはそれ以上の変異を有する軽鎖可変領域を含む。別の実施形態において、抗ＩＬ－１３抗体またはそのフラグメントの軽鎖可変領域は、配列番号１０の４または７２位に１つまたはそれ以上の変異をさらに含む。一実施形態において、抗ＩＬ－１３抗体またはそのフラグメントの軽鎖可変領域は、以下の置換、すなわち、配列番号１０の３位におけるグルタミンによるバリンの置換、４位におけるメチオニンによるロイシンの置換、９位におけるセリンによるアラニンの置換、１２位におけるセリンによるアラニンの置換、１３位におけるアラニンによるバリンの置換、１５位におけるバリンによるロイシンの置換、１７位におけるアスパラギン酸によるグルタミンの置換、１９位におけるバリンによるア

ラニンの置換、２２位におけるスレオニンによるセリンの置換、４６位におけるリジンによるグルタミンの置換、４７位におけるアラニンによるセリンの置換、６２位におけるバリンによるイソロイシンの置換、６４位におけるセリンによるアラニンの置換、７２位におけるグリシンによるアルギニンの置換、８０位におけるセリンによるアスパラギンの置換、８１位のセリンによるプロリンの置換、８２位におけるロイシンによるバリンの置換、８３位におけるグルタミンによるグルタミン酸の置換、８４位におけるプロリンによるアラニンの置換、８５位におけるグルタミン酸によるアスパラギン酸の置換、８７位におけるフェニルアラニンによるバリンの置換、または１０８位におけるバリンによるロイシンの置換のうちの１つまたはそれ以上を含む。

【００３４】

別の実施形態において、抗体またはその抗原結合性フラグメントには、表１０（出願１６１６３－０２９００１の）±１．５、１．２、１．１または１．０オングストローム以下の二乗平均平方根偏差（ＲＭＳＤ）、表１１（出願１６１６３－０２９００１の）±１．５、１．２、１．１または１．０オングストローム以下のＲＭＳＤまたは表１２（出願１６１６３－０２９００１の）±１．５、１．２、１．１または１．０オングストローム以下のＲＭＳＤに記載されている骨格コンホメーションを有する１つまたはそれ以上のＣＤＲが含まれる。例えば、重鎖可変ドメインのＣＤＲ（例えば、特にＣＤＲ３における、または少なくとも２個のＣＤＲ、例えば、ＣＤＲ１とＣＤＲ３、ＣＤＲ２とＣＤＲ３における、または３個のＣＤＲすべてにおける）のうちの１、２または３個は、それらの構造に対して１．５、１．２、１．１または１．０オングストローム以下のＲＭＳＤを有する。例えば、軽鎖可変ドメインのＣＤＲ（例えば、特にＣＤＲ１における、または少なくとも２個のＣＤＲ、例えば、ＣＤＲ１とＣＤＲ３、ＣＤＲ１とＣＤＲ２における、または３個のＣＤＲすべてにおける）のうちの１、２または３個は、それらの構造に対して１．５、１．２、１．１または１．０オングストローム以下のＲＭＳＤを有する。実施形態において、抗体またはその抗原結合性フラグメントには、全体として、表１０（出願１６１６３－０２９００１の）±１．５、１．２、１．１または１．０オングストローム以下の二乗平均平方根偏差（ＲＭＳＤ）、表１１（出願１６１６３－０２９００１の）±１．５、１．２、１．１または１．０オングストローム以下のＲＭＳＤまたは表１２（出願１６１６３－０２９００１の）±１．５、１．２、１．１または１．０オングストローム以下のＲＭＳＤに記載されているＣＤＲの骨格コンホメーションを有する可変ドメインが含まれる。また、可変ドメインは、例えば、ＣＤＲ領域および／またはフレームワーク領域において、本明細書に記載されている抗体と少なくとも７０％、８０％、８５％、８７％、９０％、９２％、９３％、９５％、９６％、９７％、９８％または９９％一致していてよい。

【００３５】

さらに別の実施形態において、ＩＬ－１３アンタゴニスト、例えば、抗ＩＬ－１３抗体またはそのフラグメントは、配列番号１４の３、１３、１９、４０、４２、４４、７５、７７、８３、８７、９２または１１３位において１つまたはそれ以上の変異（例えば、本明細書に記載されているような変異）を有する重鎖可変領域および配列番号１０の３、４、９、１２、１３、１５、１７、１９、２２、４６、４７、６２、６４、７２、８０、８１、８２、８３、８４、８５、８７または１０８位において１つまたはそれ以上の変異（例えば、本明細書に記載されているような変異）を有する軽鎖可変領域を含む。

【００３６】

ＩＬ－１３アンタゴニスト、例えば、本明細書に記載されている抗ＩＬ－１３抗体またはそのフラグメントは、誘導体化するか、あるいは、別の機能分子、例えば、別のペプチドまたはタンパク質（例えば、Ｆａｂフラグメント）と連結することができる。例えば、融合タンパク質もしくは抗体または抗原結合性部分は、とりわけ、抗体（例えば、二重特異性抗体または多重特異性抗体）、毒素、放射性同位元素、細胞傷害性または細胞増殖抑制性物質などの１つまたはそれ以上の他の分子的実体と機能的に（例えば、化学的カップリング、遺伝子融合、非共有結合性会合または別の方法により）連結することができる。

【００３７】
さらに別の実施形態において、ＩＬ－１３アンタゴニスト、例えば、本明細書に記載されている抗ＩＬ－１３抗体もしくはそのフラグメントは、またはそれらの医薬組成物は、単独で投与されるか、あるいは組合せ療法において、すなわち、他の物質、例えば、ＩＬ－１３関連障害を治療するのに有用である治療薬と組み合わせられる。ＩＬ－１３関連障害の例には、本明細書に記載されているように、呼吸器障害、例えば、喘息（例えば、アレルギー性および非アレルギー性喘息（例えば、低年齢の小児における、例えば、呼吸器合胞体ウイルス（ＲＳＶ）の感染による喘息））、慢性閉塞性肺疾患（ＣＯＰＤ）、ならびに気道炎症、好酸球増加症、線維症および過剰な粘液産生を含む他の状態、例えば、嚢胞性線維症および肺線維症；アトピー性障害、例えば、ＩＬ－１３に対する感受性増加に起因する（例えば、アトピー性皮膚炎、蕁麻疹、湿疹、アレルギー性鼻炎およびアレルギー性胃腸炎）；皮膚（例えば、アトピー性皮膚炎）、胃腸器官（例えば、潰瘍性大腸炎および／またはクローン病などの炎症性腸疾患（ＩＢＤ））、肝臓（例えば、肝硬変、肝細胞癌）および強皮症の炎症性および／または自己免疫性状態；白血病、神経膠芽腫およびリンパ腫、例えば、ホジキンリンパ腫などの腫瘍または癌（例えば、軟組織または固形腫瘍）；ウイルス感染（例えば、ＨＴＬＶ－１から）；他の器官の線維症、例えば、肝臓の線維症（例えば、Ｂ型および／またはＣ型肝炎ウイルスによって引き起こされる線維症）；ならびに防御性１型免疫応答の発現の抑制（例えば、ワクチン接種中の）のうちの１つまたはそれ以上から選択される障害が含まれるが、これらに限定されるものではない。

【００３８】
組合せ療法には、本明細書にさらに記載されているように、１つまたはそれ以上の追加治療薬、例えば、１つまたはそれ以上のサイトカインおよび成長因子阻害剤、免疫抑制薬、抗炎症薬（例えば、全身性抗炎症薬）、代謝阻害剤、酵素阻害剤および／または細胞傷害性もしくは細胞増殖抑制性物質と同時調剤されかつ／または同時投与される１つまたはそれ以上のＩＬ－１３アンタゴニスト、例えば、抗ＩＬ－１３抗体またはそれらのフラグメントが含まれてよい。

【００３９】
１つまたはそれ以上のＩＬ－１３アンタゴニスト、例えば、抗ＩＬ－１３抗体またはそれらのフラグメントと同時投与および／または同時調剤することができる好ましい追加治療薬の例には、吸入ステロイド；βアゴニスト、例えば、短時間作用型または長時間作用型βアゴニスト；ロイコトリエンまたはロイコトリエン受容体のアンタゴニスト；ＡＤＶＡＩＲ（登録商標）などの配合剤；ＩｇＥ阻害剤、例えば、抗ＩｇＥ抗体（例えば、ＸＯＬＡＩＲ（登録商標））；ホスホジエステラーゼ阻害剤（例えば、ＰＤＥ４阻害剤）；キサンチン；抗コリン薬；クロモリンなどの肥満細胞安定化薬；ＩＬ－４阻害剤；ＩＬ－５阻害剤；エオタキシン／ＣＣＲ３阻害剤；および抗ヒスタミン薬のうちの１つまたはそれ以上が含まれるが、これらに限定されるものではない。そのような組合せを用い、喘息および他の呼吸器障害を治療することができる。１つまたはそれ以上の抗ＩＬ－１３抗体またはそのフラグメントと同時投与および／または同時調剤することができる治療薬の追加例には、とりわけ、ＴＮＦアンタゴニスト（例えば、ＴＮＦ受容体の可溶性フラグメント、例えば、ｐ５５またはｐ７５ヒトＴＮＦ受容体またはその誘導体、例えば、７５ｋｄＴＮＦＲ－ＩｇＧ（７５　ｋＤ　ＴＮＦ受容体－ＩｇＧ融合タンパク質、ＥＮＢＲＥＬ（商標））；ＴＮＦ酵素アンタゴニスト、例えば、ＴＮＦα変換酵素（ＴＡＣＥ）阻害剤；ムスカリン受容体アンタゴニスト；ＴＧＦ－βアンタゴニスト；インターフェロンガンマ；ペルフェニドン（ｐｅｒｆｅｎｉｄｏｎｅ）；化学療法剤、例えば、メトトレキセート、レフルノミドまたはシロリムス（ラパマイシン）もしくはその類縁体、例えば、ＣＣＩ－７７９；ＣＯＸ２およびｃＰＬＡ２阻害剤；ＮＳＡＩＤ；免疫調節薬；ｐ３８阻害剤、ＴＰＬ－２、Ｍｋ－２およびＮＦκＢ阻害剤のうちの１つまたはそれ以上が含まれる。

【００４０】
別の態様において、本出願は、組成物、例えば、薬学的に許容できる担体および少なくとも１つのＩＬ－３アンタゴニスト、例えば、本明細書に記載されている抗ＩＬ－１３抗

体またはそのフラグメントが含まれる医薬組成物を提供する。一実施形態において、組成物、例えば、医薬組成物は、前記のＩＬ－３アンタゴニスト、例えば、抗ＩＬ－１３抗体またはそれらのフラグメントのうちの２つまたはさらに１つの組合せを含む。ＩＬ－３アンタゴニスト、例えば、抗ＩＬ－１３抗体またはそのフラグメントと薬物、例えば、治療薬（例えば、本明細書に記載されているように、１つまたはそれ以上のサイトカインおよび成長因子阻害剤、免疫抑制薬、抗炎症薬（例えば、全身性抗炎症薬）、代謝阻害剤、酵素阻害剤および／または細胞傷害性もしくは細胞増殖抑制性物質）との組合せも、本発明の範囲内にある。

【００４１】

また、本出願は、本明細書に記載されているように、抗ＩＬ－１３抗体およびそれらのフラグメント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を含む核酸を扱う。例えば、本出願は、本明細書に記載されているように、例えば、ｍＡｂ１３．２、ｃｈ１３．２、ｈ１３．２ｖ１、ｈ１３．２ｖ２および／またはｈ１３．２ｖ３のうちの１つまたはそれ以上から選択される抗ＩＬ－１３抗体の、それぞれ重鎖および軽鎖可変領域をコードする第一および第二の核酸を扱う。

【００４２】

別の態様において、本出願は、本明細書に記載されている核酸を含む宿主細胞およびベクターを扱う。

【００４３】

例えば、ｍＡｂ１３．２、ｃｈ１３．２、ｈ１３．２ｖ１、ｈ１３．２ｖ２および／またはｈ１３．２ｖ３のうちの１つまたはそれ以上により認識されるＩＬ－１３、例えば、ヒトＩＬ－１３のエピトープが扱われる。一実施形態において、抗ＩＬ－１３抗体またはそのフラグメントは、ヒトＩＬ－１３（配列番号３１）の残基８１～９３および／または１１４～１３２を含むエピトープまたはその修飾形態（例えば、そのフラグメントまたは置換（例えば、保存的置換）形態）と結合する。一実施形態において、ヒトＩＬ－１３のエピトープは、配列番号３２の４９位のグルタミン酸、５３位のアスパラギン、６９位のグリシン、７２位のプロリン、７３位のヒスチジン、７４位のリジンおよび８６位のアルギニンのうちの１つまたはそれ以上、またはそれらの保存的アミノ酸置換を含む。

【００４４】

別の態様において、本出願は、相互作用、例えば、ＩＬ－１３と同族のＩＬ－１３結合性タンパク質、例えば、ＩＬ－１３受容体複合体、例えば、ＩＬ－１３Ｒα１およびＩＬ－４Ｒαを含む複合体またはそのサブユニットとの間の結合を変調する、例えば、妨害する（例えば、阻害する、遮断するか、さもなければ低減する）方法を扱う。変調することは、インビボまたはインビトロで行うことができる。他の実施形態において、ＩＬ－１３アンタゴニスト、例えば、抗ＩＬ－１３抗体またはそのフラグメントは、ＩＬ－１３と結合し、相互作用、例えば、ＩＬ－１３とＩＬ－１３受容体複合体のサブユニット、例えば、個別にＩＬ－１３Ｒα１またはＩＬ－４Ｒαとの間の結合を妨害（例えば、阻害、遮断さもなければ低減）する。さらに別の実施形態において、ＩＬ－１３アンタゴニスト、例えば、抗ＩＬ－１３抗体またはそのフラグメントは、ＩＬ－１３と結合し、相互作用、例えば、ＩＬ－１３／ＩＬ－１３Ｒα１とＩＬ－４Ｒαとの間の結合を妨害（例えば、阻害、遮断さもなければ低減）する。別の実施形態において、ＩＬ－１３アンタゴニスト、例えば、抗ＩＬ－１３抗体またはそのフラグメントは、ＩＬ－１３と結合し、相互作用、例えば、ＩＬ－１３／ＩＬ－４ＲαとＩＬ－１３Ｒα１との間の結合を妨害（例えば、阻害、遮断さもなければ低減）する。通常、抗ＩＬ－１３抗体またはそのフラグメントは、相互作用、例えば、ＩＬ－１３／ＩＬ－１３Ｒα１のＩＬ－４Ｒαとの結合を妨害（例えば、阻害、遮断さもなければ低減）する。

【００４５】

本方法は、インビトロで（例えば、無細胞系で）、培養液中で、例えば、インビトロまたはエクスビボで細胞上に使用することができる。例えば、ＩＬ－１３受容体を発現する細胞を、培養培地中インビトロで培養することができ、接触工程を、培養培地に１つまた

はそれ以上の抗ＩＬ－１３抗体またはそれらのフラグメント、例えば、本明細書に記載されているような抗ＩＬ－１３抗体またはそれらのフラグメントを添加することにより行うことができる。あるいは、この方法を、例えば、インビボ（治療的または予防的）プロトコルの一部として、対象に存在する細胞上で行うことができる。

【００４６】

別の態様において、本出願は、対象において、ＩＬ－１３関連障害を治療する（例えば、治す、抑制する、改善する、その発現を遅らせるか予防する、またはその再発または再燃を予防する）、または予防する方法を扱う。この方法には、ＩＬ－１３結合性物質（特に、アンタゴニスト）、例えば、本明細書に記載されているような抗ＩＬ－１３抗体またはそのフラグメントを、ＩＬ－１３関連障害を治療または予防するのに十分な量で対象に投与することが含まれる。ＩＬ－１３アンタゴニスト、例えば、抗ＩＬ－１３抗体またはそのフラグメントは、単独で、または本明細書に記載されているような他の治療法と組み合わせて対象に投与することができる。一実施形態において、対象は、哺乳類、例えば、本明細書に記載されているような呼吸器障害（例えば、喘息（例えば、アレルギー性および非アレルギー性喘息）、慢性閉塞性肺疾患（ＣＯＰＤ）、ならびに気道炎症、好酸球増加症、線維症および過剰な粘液産生を含む他の状態；アトピー性障害（例えば、アトピー性皮膚炎およびアレルギー性鼻炎）；皮膚、胃腸器官（例えば、潰瘍性大腸炎および／またはクローン病などの炎症性腸疾患（ＩＢＤ））および肝臓（例えば、肝硬変、線維症）の炎症性および／または自己免疫性状態；強皮症；腫瘍または癌、例えば、ホジキンリンパ腫が含まれるＩＬ－１３関連障害の１つまたはそれ以上に苦しむヒトである。したがって、本開示には、本明細書に記載されている治療のためのＩＬ－１３結合性物質（本明細書に記載されている抗ＩＬ－１３抗体またはそのフラグメントなど）の使用および本明細書に記載されている治療のための薬物を調製するためのＩＬ－１３結合性物質（本明細書に記載されている抗ＩＬ－１３抗体またはそのフラグメントなど）の使用が含まれる。

【００４７】

ＩＬ－１３関連障害の例には、本明細書に記載されているように、呼吸器障害、例えば、喘息（例えば、アレルギー性および非アレルギー性喘息（例えば、低年齢の小児における、例えば、呼吸器合胞体ウイルス（ＲＳＶ）の感染による喘息））、慢性閉塞性肺疾患（ＣＯＰＤ）、ならびに気道炎症、好酸球増加症、線維症および過剰な粘液産生を含む他の状態、例えば、嚢胞性線維症および肺線維症；アトピー性障害、例えば、ＩＬ－１３に対する感受性増加に起因する（例えば、アトピー性皮膚炎、蕁麻疹、湿疹、アレルギー性鼻炎およびアレルギー性胃腸炎）；皮膚（例えば、アトピー性皮膚炎）、胃腸器官（例えば、潰瘍性大腸炎および／またはクローン病などの炎症性腸疾患（ＩＢＤ））、肝臓（例えば、肝硬変、肝細胞癌）および強皮症の炎症性および／または自己免疫性状態；白血病、神経膠芽腫およびリンパ腫、例えば、ホジキンリンパ腫などの腫瘍または癌（例えば、軟組織または固形腫瘍）；ウイルス感染（例えば、ＨＴＬＶ－１から）；他の器官の線維症、例えば、肝臓の線維症（例えば、Ｂ型および／またはＣ型肝炎ウイルスによって引き起こされる線維症）；ならびに防御性１型免疫応答の発現の抑制（例えば、ワクチン接種中の）のうちの１つまたはそれ以上から選択される障害が含まれるが、これらに限定されるものではない。

【００４８】

他の実施形態において、本出願は、呼吸器障害、例えば、喘息（例えば、アレルギー性および非アレルギー性喘息）；アレルギー；慢性閉塞性肺疾患（ＣＯＰＤ）；気道炎症、好酸球増加症、線維症および過剰な粘液産生を含む他の状態、例えば、嚢胞性線維症および肺線維症に伴う１つまたはそれ以上の症状を治療する（例えば、低減する、改善する）または予防する方法を提供する。例えば、喘息の症状には、喘鳴、息切れ、気管支収縮、気道過反応性、肺気量減少、線維症、気道炎症および粘液産生が含まれるが、これらに限定されるものではない。本方法は、ＩＬ－１３アンタゴニスト、例えば、ＩＬ－１３抗体またはそのフラグメントを、１つまたはそれ以上の症状を治療（例えば、低減、改善）または予防するのに十分な量で対象に投与することを含む。ＩＬ－１３抗体は、治療的もし

くは予防的に、または両方で投与することができる。ＩＬ－１３アンタゴニスト、例えば、抗ＩＬ－１３抗体またはそのフラグメントを、単独で、または本明細書に記載されているような他の治療法と組み合わせて対象に投与することができる。対象は、哺乳類、例えば、本明細書に記載されているようなＩＬ－１３関連障害に苦しむヒトであることが好ましい。

【００４９】

別の態様において、本出願は、インビトロでサンプル（例えば、血清、血漿、組織、生検などの生物学的サンプル）におけるＩＬ－１３の存在を検出するための方法を提供する。本方法を用い、障害、例えば、免疫細胞関連障害を診断することができる。本方法には、（ｉ）サンプルまたは対照サンプルを、本明細書に記載されているような抗ＩＬ－１３抗体またはそのフラグメントと接触させること；および（ｉｉ）抗ＩＬ－１３抗体またはそのフラグメントとサンプルまたは対照サンプルとの間の複合体の形成を検出することが含まれ、ここで、対照サンプルに比べてサンプル中の複合体の形成における統計的に有意な変化は、サンプル中のＩＬ－１３の存在を示す。

【００５０】

さらに別の態様において、本出願は、インビボで（例えば、対象におけるインビボイメージング）ＩＬ－１３の存在を検出するための方法を提供する。本方法を用い、障害、例えば、ＩＬ－１３関連障害を診断することができる。本方法には、（ｉ）抗体またはフラグメントがＩＬ－１３と結合することができる条件の下で、対象または対照対象に本明細書に記載されているような抗ＩＬ－１３抗体またはそのフラグメントを投与すること；および（ｉｉ）抗体またはフラグメントとＩＬ－１３の間の複合体の形成を検出することが含まれ、ここで、対照対象に比べて対象における複合体の形成における統計的に有意な変化は、ＩＬ－１３の存在を示す。

【００５１】

抗体またはそのフラグメントは、結合または非結合抗体の検出を容易にするため、検出可能な物質で直接的または間接的に標識されることが好ましい。適当な検出可能な物質には、様々な酵素、補欠分子族、蛍光材料、発光材料および放射性材料が含まれる。

【００５２】

インビボでＩＬ－１３を発現する細胞に物質、例えば、治療薬または細胞傷害性物質を送達するか、あるいは標的とするための方法も開示される。

【００５３】

治療的および診断的使用のための本明細書に記載されているＩＬ－１３アンタゴニスト、例えば、抗ＩＬ－１３抗体またはそれらのフラグメントを含むキットも、本出願の範囲内にある。

【００５４】

別の態様において、本出願は、重鎖可変ドメインおよび軽鎖可変ドメインが含まれる抗体を提供するための方法を提供する。この方法には、ＤＰ－５４およびＤＰＫ－９由来の１つまたはそれ以上のフレームワーク領域またはＤＰ－５４およびＤＰＫ－９のうちの１つまたはそれ以上のフレームワーク領域と少なくとも７５、８０、８２、８５、８８、９０、９２、９４、９５、９６、９７または９８％一致するフレームワーク領域を用いることにより抗体（または、そのような抗体をコードする核酸）を調製することが含まれる。一実施形態において、この方法には、それぞれ重鎖可変ドメインおよび軽鎖可変ドメインにＤＰ－５４およびＤＰＫ－９フレームワークが含まれる可変ドメインまたはＤＰ－５４およびＤＰＫ－９のうちの１つまたはそれ以上のフレームワーク領域と少なくとも７５、８０、８２、８５、８８、９０、９２、９４、９５、９６、９７または９８％一致するフレームワーク領域が含まれる可変ドメインのコンテクスト中に非ヒト抗体由来のＣＤＲまたはＣＤＲの部分を操作することが含まれる。そのような可変ドメインが含まれるタンパク質鎖をコードする配列が含まれる核酸は、哺乳類の細胞、例えば、組織培養細胞において発現させることができる。

【００５５】

関連態様において、本出願は、重鎖可変ドメインおよび軽鎖可変ドメインが含まれ、重鎖可変ドメインには、ＤＰ－５４由来の１つまたはそれ以上のフレームワーク領域またはＤＰ－５４のうちの１つまたはそれ以上のフレームワーク領域と少なくとも７５、８０、８２、８５、８８、９０、９２、９４、９５、９６、９７または９８％一致するフレームワーク領域を用いることが含まれ、軽鎖可変ドメインには、ＤＰＫ－９由来の１つまたはそれ以上のフレームワーク領域またはＤＰＫ－９のうちの１つまたはそれ以上のフレームワーク領域と少なくとも７５、８０、８２、８５、８８、９０、９２、９４、９５、９６、９７または９８％一致するフレームワーク領域を用いることが含まれる抗体、例えば、人工抗体を扱う。一般的に、ＣＤＲおよび／または超可変ループのうちの１つまたはそれ以上は、非ヒト、例えば、マウス抗体などの非ヒト抗体由来である。一実施形態において、抗体は、ヒト抗原、例えば、ＩＬ－１３またはＩＬ－１３以外の抗原と結合する。

【００５６】

他の特徴および利点は、以下の詳細にわたる説明および特許請求の範囲から明らかになるはずである。

【図面の簡単な説明】

【００５７】

【図１】ヒトＩＬ　１３と結合するｍＡｂ１３．２の速度パラメーター。６９ＲＵストレプトアビジンチップに固定化されたビオチン化ＩＬ－１３とモノクローナル抗体ｍＡｂ１３．２、モノクローナル抗体ｍＡｂ１３．４またはモノクローナル抗体ｍＡｂ１３．９との間の結合相互作用を、経時的（ｘ軸）なレゾナンスユニット（）（ＲＵ；ｙ軸）として示す。ｍＡｂ１３．２の速度定数も示す。

【００５８】

【図２】ＩＬ－１３と結合するｍＡｂ１３．２の速度パラメーター。様々な投与量のヒトＩＬ－１３とＢＩＡＣＯＲＥ（商標）チップに固定化されたモノクローナル抗体ｍＡｂ１３．２との間の結合相互作用を、経時的（ｘ軸）なレゾナンスディファレンス（ＲＵ；ｙ軸）として示す。ｍＡｂ１３．２の速度定数も示す。

【００５９】

【図３】モノクローナル抗体ｍＡｂ１３．２は、天然ヒトＩＬ－１３と結合する。図は、漸増濃度（ｘ軸）の組換えヒトＩＬ－１３（◆）、組換えマウスＩＬ－１３（●）またはマイトジェン活性化、Ｔｈ２優性型、臍帯血単核細胞から単離された天然ヒトＩＬ－１３（△）の存在下でＦＬＡＧ－ヒトＩＬ－１３と結合しているビオチン化ｍＡｂ１３．２の平均吸光度値（A_{450}；ｙ軸）を示す。

【００６０】

【図４】モノクローナル抗体ｍＡｂ１３．２は、ヒトＩＬ－１３のＡＲＧ変異体と結合し、中和する。（Ａ）ＢＩＡＣＯＲＥ（商標）チップに固定化されたビオチン化ｍＡｂ１３．２を通過させたヒトＩＬ－１３または組換えで発現させたＩＬ－１３のＡＲＧ変異体の応答（ｙ軸）を、時間（ｘ軸）の関数として示す。（Ｂ）漸増濃度のｍＡｂ１３．２（ｘ軸）および組換えヒトＩＬ－１３と組換えで発現させたＩＬ－１３のＡＲＧ変異体のどちらかと共にインキュベートされたＴＦ１細胞の増殖（ｙ軸）を示す。

【００６１】

【図５】モノクローナル抗体ｍＡｂ１３．２は、可溶性ＩＬ－１３受容体のＩＣ５０に匹敵するＩＣ５０でヒトＩＬ－１３の生物活性を阻害する。^{3}Ｈ－チミジン取り込みにより決定されるように、ＩＬ－１３依存性ＴＦ１細胞系の増殖を、ＩＬ－１３および漸増濃度（ｘ軸）のｍＡｂ１３．２か可溶性ＩＬ－１３受容体（ｒｈｕＩＬ－１３Ｒａ２）のどちらかとの３日のインキュベーション後にｃｐｍ（ｙ軸）として測定する。

【００６２】

【図６】モノクローナル抗体ｍＡｂ１３．２は、正常なヒト単球上で、ＩＬ－１３仲介性ＣＤ２３発現を阻害するが、ＩＬ－４仲介性ＣＤ２３発現は阻害しない。（Ａ）健康なドナーから単離された末梢血単核細胞（ＰＢＭＣ）を、指示濃度（ｘ軸）の組換えヒトＩＬ－１３（●）またはＩＬ－４（○）で一夜処理した後に細胞表面ＣＤ２３を発現した単球

の百分率（ｙ軸）を示す。（Ｂ）健康なドナーから単離されたＰＢＭＣを、ＩＬ－１３および指示濃度の精製マウスｍＡｂ１３．２（ｘ軸）で処理した後に細胞表面ＣＤ２３を発現した単球の百分率（ｙ軸）を示す。（Ｃ）健康なドナーから単離されたＰＢＭＣを、ＩＬ－４および指示濃度の精製マウスｍＡｂ１３．２（ｘ軸）で一夜処理した後に細胞表面ＣＤ２３を発現した単球の百分率（ｙ軸）を示す。

【００６３】

【図７】モノクローナル抗体ｍＡｂ１３．２は、ヒトＢ細胞によるＩＬ－１３依存性ＩｇＥ産生を阻害する。培地単独で、またはＰＨＡ、ＩＬ－１３、対照抗体（ｍｓＩｇＧ）、ｍＡｂ１３．２およびｍＡｂ１３．８の様々な組合せで培養されたＰＢＭＣから単離された上清中のＩｇＥの濃度（ｘ軸）を、４５０ｎｍにおける吸光度（ＩｇＥ（Ｏ．Ｄ．４５０）；ｙ軸）として示す。

【００６４】

【図８】モノクローナル抗体ｍＡｂ１３．２は、ヒト上皮細胞によるＩＬ－１３仲介性ＳＴＡＴ６リン酸化を阻害する。（Ａ）指示濃度のＩＬ－１３で処理されたＨＴ－２９細胞から単離された細胞ライセート中のリン酸化ＳＴＡＴ６についてのウエスタンブロット分析を示す。（Ｂ）グラフは、フローサイトメトリー分析により決定されるＨＴ－２９細胞の数（カウント；ｙ軸）示し、細胞を、ＩＬ－１３で処理せず（フィルドヒストグラム）または処理し（アンフィルドヒストグラム）、リン酸化ＳＴＡＴ６に対するＡＬＥＸＡ（商標）　Ｆｌｕｏｒ４８８標識モノクローナル抗体で染色した後の蛍光（ホスホ－ＳＴＡＴ６；ｘ軸）を示した。（Ｃ）グラフは、フローサイトメトリー分析により決定されるＨＴ－２９細胞の数（カウント；ｙ軸）示し、細胞を、未処理のままにするか（フィルドヒストグラム）；あるいはＩＬ－１３（左上のグラフ）、ＩＬ－１３およびｍＡｂ１３．８（左下のグラフ）、ＩＬ－１３およびｍＡｂ１３．２（右上のグラフ）またはＩＬ－１３および対照抗体（ｍｓＧ１）（右下のグラフ）で処理し、ＡＬＥＸＡ（商標）　Ｆｌｕｏｒ４８８で染色した後の蛍光（ホスホ－ＳＴＡＴ６）を示した。

【００６５】

【図９】モノクローナル抗体ｍＡｂ１３．２は、インビボで回虫属（Ａｓｃａｒｉｓ）誘発性肺好酸球増加症を予防する。図は、未処置のカニクイザル（回虫／ＰＢＳ）（●、●）、ｍＡｂ１３．２で前処置されたカニクイザル（回虫／ｍＡｂ１３．２）（◆、◆）または、ｍＡｂ１３．２で前もって処置してブタ回虫（Ａｓｃａｒｉｓ　ｓｕｕｍ）抗原をチャレンジした（回虫／Ａｂから約３カ月後の再チャレンジ）カニクイザル（□、□）から、ブタ回虫（Ａｓｃａｒｉｓ　ｓｕｕｍ）抗原によるチャレンジ（暗記号）前、またはチャレンジまたは再チャレンジから２４時間後（明記号）に採取された気管支肺胞洗浄液（ＢＡＬ）サンプル中に見い出された好酸球の百分率（ｙ軸）を示す。

【００６６】

【図１０】ｍＡｂ１３．２ＦａｂフラグメントのヒトＩＬ－１３との共結晶構造。ｍＡｂ１３．２ＦａｂフラグメントのＸ線結晶学は、軽鎖を暗い影で、重鎖を明るい陰で示す。ＩＬ－１３構造も示す（右に）。また、図は、ＩＬ－１３のＣ－αヘリックスと抗体のＣＤＲループとの相互作用を示す。

【００６７】

【図１１】ｍＡｂ１３．２接触部位を示すヒトＩＬ－１３配列分析。パネルは、ヒトＩＬ－１３のアミノ酸配列を示しており、ここで、矢印は、シグナルペプチド切断部位を示し、４個のαヘリックスには下線が引かれ、ｍＡｂ１３．２Ｆａｂ－ＩＬ－１３共結晶構造由来の抗体接触部位は、明るい長方形で強調表示され、ＡＲＧ変異体残基は、暗い長方形で強調表示されている。

【００６８】

【図１２】ｍＡｂ１３．２のＦａｂフラグメントは、ヒトＩＬ－１３と結合する。図は、（Ａ）ｐＭ抗体または（Ｂ）ｐＭ結合部位として発現される漸増濃度（ｘ軸）の競合する非標識ｍＡｂ１３．２（◆）、ｍＡｂ１３．２Ｆａｂフラグメント（●）または無関係な抗体（＊）の存在下でＦＬＡＧ－ヒトＩＬ－１３と結合しているビオチン化ｍＡｂ１３．

２の平均吸光度値（４５０ｎｍ；ｙ軸）を示す。
【００６９】
【図１３】ｍＡｂ１３．２のＦａｂフラグメントは、ヒト単球によるＩＬ－１３仲介性ＴＦ１増殖およびＩＬ－１３仲介性ＣＤ２３発現を中和する。（Ａ）グラフは、ＩＬ－１３およびｍＡｂ１３．２（◆）かｍＡｂ１３．２　Ｆａｂフラグメント（●）のどちらかにより提供される漸増濃度のコンペティター結合部位（ｘ軸）との３日間のインキュベーション後に得られるＩＬ－１３依存性ＴＦ１細胞系による最大増殖の百分率（ｙ軸）を示す。（Ｂ）図は、健康なドナーから単離された末梢血単核細胞（ＰＢＭＣ）を、１ｎｇ／ｍｌ　ＩＬ－１３およびｍＡｂ１３．２（◆）かｍＡｂ１３．２　Ｆａｂフラグメント（●）のどちらかにより提供される指示濃度のコンペティター結合部位（ｘ軸）で一夜処理した後のフローサイトメトリー分析により決定された細胞表面ＣＤ２３を発現した単球の最大数の百分率（ｙ軸）を示す。
【００７０】
【図１４】マウスモノクローナル抗体ｍＡｂ１３．２のキメラバージョン（ｃｈ１３．２）は、ＩＬ－１３と結合して中和する。（Ａ）ＥＬＩＳＡにより決定される、ＩＬ－１３－ＦＬＡＧおよびビオチン化ｍＡｂ１３．２のみを含有するサンプル（－－）ならびにＩＬ－１３－ＦＬＡＧ、ビオチン化ｍＡＢ１３．２および漸増濃度（ｘ軸）のｍＡｂ１３．８（●）、ｍＡｂ１３．２（○）またはキメラｍＡｂ１３．２（ｃｈ１３．２；□）を含有するサンプルの４５０ｎｍにおける吸光度（A_{450}；ｙ軸）を示す。（Ｂ）健康なドナーから単離されたＰＢＭＣを、１ｎｇ／ｍｌ　ＩＬ－１３および指示濃度（ｘ軸）の精製マウスｍＡｂ１３．２（●）またはキメラｍＡｂ１３．２（ｃｈ１３．２；◆）で一夜処理した後に細胞表面ＣＤ２３を発現した単球の百分率（ｙ軸）を示す。
【００７１】
【図１５】ヒトＤＰ－５４生殖系列遺伝子とｍＡｂ１３．２のキメラバージョンおよびｍＡｂ１３．２の部分ヒト化バージョン（ｈ１３．２ｖ１）の可変重（ＶＨ）鎖アミノ酸配列との比較。図は、アラインメントされ、ＳＥＱＷＥＢ（商標）により比較されているＤＰ－５４、ｍＡｂ１３．２のキメラバージョン（キメラ１３．２）の可変重領域およびｍＡｂ１３．２の部分ヒト化バージョン（ｈ１３．２ｖ１）の可変重領域の相補性決定領域（ＣＤＲ）（四角形で囲まれた領域）およびアミノ酸配列を示し、ここで、ｍＡｂ１３．２の部分ヒト化バージョン（ｈ１３．２ｖ１）について行われたアミノ酸置換は、陰影付きの四角形で示され、未変化のままの残基には下線が引かれている。
【００７２】
【図１６】ヒトＤＰＫ９生殖系列遺伝子とｍＡｂ１３．２のキメラバージョンおよびｍＡｂ１３．２の部分ヒト化バージョン（ｈ１３．２ｖ１）の可変軽（ＶＬ）鎖アミノ酸配列との比較。図は、アラインメントされ、ＳＥＱＷＥＢ（商標）により比較されているＤＰＫ－９、ｍＡｂ１３．２のキメラバージョン（キメラ１３．２）の可変軽領域およびｍＡｂ１３．２の部分ヒト化バージョン（ｈ１３．２ｖ１）の可変軽領域の相補性決定領域（ＣＤＲ）（四角形で囲まれた領域）およびアミノ酸配列を示し、ここで、ｍＡｂ１３．２の部分ヒト化バージョン（ｈ１３．２ｖ１）について行われたアミノ酸置換は、陰影付きの四角形で示され、未変化のままの残基には下線が引かれている。
【００７３】
【図１７】ヒトＤＰ－５４生殖系列遺伝子とｍＡｂ１３．２のキメラバージョンおよびｍＡｂ１３．２の完全ヒト化バージョン（ｈ１３．２ｖ２）の可変重（ＶＨ）鎖アミノ酸配列との比較。図は、アラインメントされ、ＳＥＱＷＥＢ（商標）により比較されているＤＰ－５４、ｍＡｂ１３．２のキメラバージョン（キメラ１３．２）の可変重領域およびｍＡｂ１３．２の完全ヒト化バージョン（ｈ１３．２ｖ２）の可変重領域の相補性決定領域（ＣＤＲ）（四角形で囲まれた領域）およびアミノ酸配列を示し、ここで、ｍＡｂ１３．２の完全ヒト化バージョン（ｈ１３．２ｖ１）について行われたアミノ酸置換は、陰影付きの四角形で示され、未変化のままの残基には下線が引かれている。
【００７４】

【図１８】ヒトＤＰＫ９生殖系列遺伝子とｍＡｂ１３．２のキメラバージョンおよびｍＡｂ１３．２の部分ヒト化バージョン（ｈ１３．２ｖ２）の可変軽（ＶＬ）鎖アミノ酸配列との比較。図は、アラインメントされ、ＳＥＱＷＥＢ（商標）により比較されているＤＰＫ９、ｍＡｂ１３．２のキメラバージョン（キメラ１３．２）の可変軽領域およびｍＡｂ１３．２の完全ヒト化バージョン（ｈ１３．２ｖ２）の可変軽領域の相補性決定領域（ＣＤＲ）（四角形で囲まれた領域）およびアミノ酸配列を示し、ここで、ｍＡｂ１３．２の完全ヒト化バージョン（ｈ１３．２ｖ２）について行われたアミノ酸置換は、陰影付きの四角形で示され、未変化のままの残基には下線が引かれている。

【００７５】

【図１９Ａ】完全ヒト化ｍＡｂ１３．２（ｈ１３．２ｖ２）は、ＩＬ－１３に対して完全な結合活性を保持する。（Ａ）ＩＬ－１３－ＦＬＡＧおよびビオチン化ｍＡｂ１３．２のみを含有するサンプル（－－）ならびにＩＬ－１３－ＦＬＡＧ、ビオチン化ｍＡＢ１３．２および漸増濃度（ｘ軸）のｍＡｂ１３．２（●）、キメラｍＡｂ１３．２（●）、部分ヒト化ｍＡｂ１３．２（ｈ１３．２ｖ１；□）または完全ヒト化ｍＡＢ１３．２（ｈ１３．２ｖ２；△）を含有するサンプルの、ＥＬＩＳＡにより決定された４５０ｎｍにおける吸光度（A_{450}；ｙ軸）を示す。

【図１９Ｂ】完全ヒト化ｍＡｂ１３．２（ｈ１３．２ｖ２）は、ＩＬ－１３に対して完全な結合活性を保持する。（Ｂ）様々な投与量範囲のヒトＩＬ－１３とＢＩＡＣＯＲＥ（商標）チップに固定化された完全ヒト化抗体ｍＡｂ１３．２（ｈ１３．２ｖ２）との間の結合相互作用を、経時的（ｘ軸）なレゾナンスディファレンス（ＲＵ；ｙ軸）として示す。ｈ１３．２ｖ２の速度定数も示す。

【００７６】

【図２０】キメラｍＡｂ１３．２（ｃｈ１３．２）、部分ヒト化ｍＡｂ１３．２（ｈ１３．２ｖ１）および完全ヒト化ｍＡｂ１３．２（ｈ１３．２ｖ２）は、ＩＬ－１３仲介性ＣＤ２３発現およびＳＴＡＴ６のＩＬ－１３仲介性リン酸化を中和することができる。（Ａ）健康なドナーから単離されたＰＢＭＣを、１ｎｇ／ｍｌ　ＩＬ－１３および指示濃度（ｘ軸）のキメラｍＡｂ１３．２（ｃｈ１３．２；◆）、部分ヒト化ｍＡｂ１３．２（ｈ１３．２ｖ１；□）または完全ヒト化ｍＡｂ１３．２（ｈ１３．２ｖ２；●）で一夜処理した後に細胞表面ＣＤ２３を発現した単球の百分率（ｙ軸）を示す。（Ｂ）フローサイトメトリー分析により決定されたＩＬ－１３および指示濃度（ｘ軸）のキメラｍＡｂ１３．２（ｃｈ１３．２；◆）、部分ヒト化ｍＡｂ１３．２（ｈ１３．２ｖ１；□）または完全ヒト化ｍＡｂ１３．２（ｈ１３．２ｖ２；●）とのインキュベーション後にリン酸化ＳＴＡＴ６を発現したＨＴ－２９細胞の百分率を示す。

【００７７】

【図２１】ヒトＩＬ－１３仲介性ＣＤ２３発現を中和する完全ヒト化ｍＡｂ１３．２（ｈ１３．２ｖ２）の能力は、同じことをするｍＡｂ１３．２の能力に匹敵する。（Ａ）組換えヒトＩＬ－１３または（Ｂ）天然ヒトＩＬ－１３および漸増濃度（ｘ軸）のｍＡｂ１３．２（●）または完全ヒト化ｍＡｂ１３．２（ｈ１３．２ｖ２；◆）とのインキュベーション後に細胞表面ＣＤ２３を発現するゲーテッド単球の数を、ＩＬ－１３のみとのインキュベーション後に細胞表面ＣＤ２３を発現する単球の最大数の百分率として表す（％　Ｍａｘ．Ｒｅｓｐｏｎｓｅ；ｙ軸）。

【００７８】

【図２２】非ヒト霊長類またはヒツジＩＬ－１３仲介性ＣＤ２３発現を中和する完全ヒト化ｍＡｂ１３．２（ｈ１３．２ｖ２）の能力は、同じことをするｍＡｂ１３．２の能力に匹敵する。（Ａ）組換え非ヒト霊長類ＩＬ－１３（ｒｅｃＮＨＰ　ＩＬ－１３）または（Ｂ）組換えヒツジＩＬ－１３（ｒｅｃ　Ｓｈｅｅｐ　ＩＬ－１３）および漸増濃度（ｘ軸）のｍＡｂ１３．２（●）または完全ヒト化ｍＡｂ１３．２（ｈ１３．２ｖ２；◆）とのインキュベーション後に細胞表面ＣＤ２３を発現するゲーテッド単球の数を、ＩＬ－１３のみとのインキュベーション後に細胞表面ＣＤ２３を発現する単球の最大数の百分率として表す（％　Ｍａｘ．Ｒｅｓｐｏｎｓｅ；ｙ軸）。

【００７９】
【図２３】完全ヒト化ｍＡｂ１３．２（ｈ１３．２ｖ２）は、ヒツジにおける遅発相気管支収縮を低減する。ブタ回虫（Ａｓｃａｒｉｓ　ｓｕｕｍ）チャレンジの２４時間前（ベースライン）、チャレンジ（回虫）中、およびチャレンジ後数時間（ｘ軸）にわたり測定された気道抵抗百分率（ｙ軸）を、処置されなかった（対照；◆）か、あるいは（Ａ）２０ｍｇ／ｋｇまたは（Ｂ）５ｍｇ／ｋｇ用量にて完全ヒト化ｍＡｂ１３．２（ｈ１３．２ｖ２；■）により予防的に処置されたヒツジについて示す。示されるデータは、１群につき３頭のヒツジのサンプルサイズについての平均±ｓ．ｄ．である。
【００８０】
【図２４】完全ヒト化ｍＡｂ１３．２（ｈ１３．２ｖ２）は、ヒツジにおける気道過反応性を予防する。所与の大きさの応答を引き起こすのに必要とされるカルバコールの用量百分率（ＰＣ４００；ｙ軸）を、（Ａ）２０ｍｇ／ｋｇまたは（Ｂ）５ｍｇ／ｋｇの完全ヒト化ｍＡｂ１３．２（ｈ１３．２ｖ２；■）により予防的に処置されたヒツジまたはブタ回虫（Ａｓｃａｒｉｓ　ｓｕｕｍ）チャレンジ前および後に処置されないままであったヒツジ（対照；■）について示す（ｘ軸）。示されるデータは、１群につき３頭のヒツジのサンプルサイズについての平均±ｓ．ｄ．である。
【００８１】
【図２５】完全ヒト化ｍＡｂ１３．２（ｈ１３．２ｖ２）は、非ヒト霊長類における抗原誘発性肺炎症を予防する。図は、食塩水を静脈内に処置された対照カニクイザル（●）、２ｍｇ／ｋｇのデキサメタゾンを筋肉内に処置された陽性対照カニクイザル（＊）、８ｍｇ／ｋｇの無関係なヒトＩｇＧ（ＩＶＩＧ）で前処置された陰性対照カニクイザル（□）または完全ヒト化ｍＡｂ１３．２（ｈ１３．２ｖ２）を静脈内に前処置されたカニクイザル（▼）から、ブタ回虫（Ａｓｃａｒｉｓ　ｓｕｕｍ）抗原によるチャレンジ前（０）またはチャレンジの２４時間後（２４）に採取された気管支肺胞洗浄液（ＢＡＬ）サンプル中に見い出された細胞の総数（ｙ軸）を示す。また、バーは、各群のＢＡＬサンプル中に見い出された細胞の平均数を示す。対応のないＴ検定を用いて得られたｐ値も示す。
【００８２】
【図２６】ｍＡｂ１３．２のヒト化は、Ｖ－ＢＡＳＥのＶＨ　Ｇｒｏｕｐ３における他のヒト生殖系列遺伝子との配列相同性を基にすることができる。データベース、ＶベースのＶＨグループ３内のヒト生殖系列アミノ酸配列に対するｍＡｂ１３．２のアミノ酸配列のアラインメントを示す。太字の配列は、ｍＡｂ１３．２のヒト化が基にすることができる配列として提案される。
【００８３】
【図２７】ヒトＤＰ－７７生殖系列遺伝子とｍＡｂ１３．２のキメラバージョンおよびｍＡｂ１３．２の完全ヒト化バージョン（ｈ１３．２ｖ３）の可変重（ＶＨ）鎖アミノ酸配列との比較。図は、アラインメントされ、ＳＥＱＷＥＢ（商標）により比較されているＤＰ－７７、ｍＡｂ１３．２のキメラバージョン（キメラ１３．２）の可変重領域およびｍＡｂ１３．２の完全ヒト化バージョン（ｈ１３．２ｖ３）の可変重領域の相補性決定領域（ＣＤＲ）（四角形で囲まれた領域）およびアミノ酸配列を示し、ここで、ｍＡｂ１３．２の完全ヒト化バージョン（ｈ１３．２ｖ３）について行われたアミノ酸置換は、陰影付きの四角形で示され、未変化のままの残基には下線が引かれている。
【００８４】
【図２８】ヒトＢ１生殖系列遺伝子とｍＡｂ１３．２のキメラバージョンおよびｍＡｂ１３．２の完全ヒト化バージョン（ｈ１３．２ｖ３）の可変軽（ＶＬ）鎖アミノ酸配列との比較。図は、アラインメントされ、ＳＥＱＷＥＢ（商標）により比較されているＢ１、ｍＡｂ１３．２のキメラバージョン（キメラ１３．２）の可変軽領域およびｍＡｂ１３．２の完全ヒト化バージョン（ｈ１３．２ｖ３）の可変軽領域の相補性決定領域（ＣＤＲ）（四角形で囲まれた領域）およびアミノ酸配列を示し、ここで、ｍＡｂ１３．２の完全ヒト化バージョン（ｈ１３．２ｖ３）について行われたアミノ酸置換は、陰影付きの四角形で示され、未変化のままの残基には下線が引かれている。

【００８５】
【図２９】様々なスキームによるモノクローナル抗体ｍＡｂ１３．２の可変重鎖アミノ酸配列における各残基についての番号構成。直線配列ナンバリングスキーム、Ｃｈｏｔｈｉａ構造ナンバリングスキームおよびＫａｂａｔ配列ナンバリングスキームによるｍＡｂ１３．２の可変重領域のアミノ酸配列における各残基についての番号構成を示す。
【００８６】
【図３０】様々なスキームによるモノクローナル抗体ｍＡｂ１３．２の可変軽鎖アミノ酸配列における各残基についての番号構成。直線配列ナンバリングスキーム、Ｃｈｏｔｈｉａ構造ナンバリングスキームおよびＫａｂａｔ配列ナンバリングスキームによるｍＡｂ１３．２の可変軽領域のアミノ酸配列における各残基についての番号構成を示す。
【００８７】
【図３１】回虫（Ａｓｃａｒｉｓ）チャレンジ後８週目の回虫（Ａｓｃａｒｉｓ）特異的ＩｇＥの力価は、抗ヒトＩＬ－１３抗体（ｈ１３．２ｖ２）により処置されたカニクイザルにおいて減少した。グラフは、ブタ回虫（Ａｓｃａｒｉｓ　ｓｕｕｍ）抗原のチャレンジ前および８週後のカニクイザルにおける回虫（Ａｓｃａｒｉｓ）特異的ＩｇＥの相対力価（ｙ軸）を示す。チャレンジ前値を「１００」に規格化した。（Ａ）動物を、ヒト化抗ＩＬ－１３抗体（ｈ１３．２ｖ２）で静脈内に処置した。（Ｂ）対照動物には、食塩水または無関係なヒトＩｇＧ（ＩＶＩＧ）を静脈内投与した。
【００８８】
【図３２Ａ】抗ＩＬ－１３抗体（ｈ１３．２ｖ２）は、インビボのアレルゲンチャレンジの後で起こる好塩基球感受性の上昇を予防した。（Ａ）代表的対照動物および抗体処置動物の血液からの最大値の百分率としての投与量依存性ヒスタミン放出（ｙ軸）を、処置前および回虫（Ａｓｃａｒｉｓ）抗原チャレンジ後２４時間および８週の動物について示す。
【図３２Ｂ】抗ＩＬ－１３抗体（ｈ１３．２ｖ２）は、インビボのアレルゲンチャレンジの後で起こる好塩基球感受性の上昇を予防した。（Ｂ）（ａ）に示される投与量範囲にわたる総ヒスタミン放出を、各時点で各動物について決定した。図は、対照群および抗ＩＬ－１３処置群についての各時点での規格化されたヒスタミン放出の平均および標準誤差を示す。Ｐｒｅ＝抗体処置前。時間０＝抗体後２４時間、回虫（Ａｓｃａｒｉｓ）肺チャレンジ前。２４時間、８週および４カ月時点は、回虫（Ａｓｃａｒｉｓ）チャレンジ後の時間を指す。
【００８９】
【図３３】ＩＬ－１３をロードしたＡ３７５細胞とのビオンチン化ｈ１３．２ｖ２の結合。ヒストグラムは、フローサイトメトリー分析により決定された、３ｎｇ／ｍｌヒトＩＬ－１３とのプレインキュベーション後にビオチン化ｈ１３．２ｖ２（０．１μｇ／ｍｌ、１μｇ／ｍｌまたは１０μｇ／ｍｌ）の結合（蛍光；ｘ軸）を示したＡ３７５ヒトメラノーマ細胞の数（カウント；ｙ軸）を示す。
【００９０】
【図３４】ｈ１３．２ｖ２の野生型Ｆｃ復帰変異体は、ＩＬ－１３の存在下でＡＤＣＣを仲介する。（Ａ）指示濃度（ｘ軸）のｈ１３．２ｖ２（Ｌ２３４Ａ／Ｇ２３７Ａ；●）またはその野生型Ｆｃ復帰変異体（○）により処理されたＡ３７５ヒトメラノーマ細胞のクロミウム５１放出の百分率（ｙ軸）を示す。（Ｂ）放出されたクロミウム５１の百分率（ｙ軸）を、ＩＬ－１３の存在または非存在下でｈ１３．２ｖ２の野生型Ｆｃ復帰変異体により処理されたＩＬ－１３をロードされたＡ３７５細胞について示す。
【００９１】
【図３５】ｈ１３．２ｖ２の野生型Ｆｃ復帰変異体は、ＩＬ－１３Ｒα２を発現するＡ３７５細胞のＡＤＣＣを仲介するが、ＩＬ－１３Ｒα１を発現するＨＴ－２９細胞のＡＤＣＣは仲介しない。（Ａ）指示濃度（ｘ軸）のｈ１３．２ｖ２（Ｌ２３４Ａ／Ｇ２３７Ａ；◆）またはその野生型Ｆｃ復帰変異体（◇）により処理されたＩＬ－１３をロードされたＡ３７５ヒトメラノーマ細胞のクロミウム５１放出の百分率（ｙ軸）を示す。（Ｂ）指示

濃度（ｘ軸）のｈ１３．２ｖ２（Ｌ２３４Ａ／Ｇ２３７Ａ；◆）またはその野生型Ｆｃ復帰変異体（◇）により処理されたＩＬ－１３をロードされたＨＴ－２９ヒト上皮細胞のクロミウム５１放出の百分率（ｙ軸）を示す。

【発明を実施するための形態】

【００９２】

ＩＬ－１３結合性物質、例えば、抗ＩＬ－１３抗体およびそれらの抗原結合性フラグメント、その医薬組成物、前記抗体をコードする核酸、ならびに前記核酸配列を含むベクターおよび宿主細胞を開示する。また、前記抗体を作成する方法、ならびにＩＬ－１３、例えば、ヒトＩＬ－１３と結合する抗体を用いて１つまたはそれ以上のＩＬ－１３関連活性を変調し、ＩＬ－１３がその受容体と結合するのを低減または妨害するための方法を開示する。抗ＩＬ－１３抗体を、ＩＬ－１３仲介性障害を緩和するため、例えば、呼吸器障害（例えば、喘息）；アトピー性障害（例えば、アレルギー性鼻炎）；皮膚（例えば、アトピー性皮膚炎）、胃腸器官（例えば、炎症性腸疾患（ＩＢＤ））の炎症性および／または自己免疫性状態、ならびに線維性および癌性障害を治療するために使用することができる。抗ＩＬ－１３抗体は、単独で用いるか、あるいは他の療法と組み合わせて用い、それらの疾患または別の疾患、例えば、アレルギー性反応を治療することができる。

【００９３】

とりわけ、機能性ＩＬ－１３シグナル伝達複合体の形成を妨害する本明細書に記載されている抗体を用いることによるＩＬ－１３活性の低下は、ブタ回虫（Ａｓｃａｒｉｓ　ｓｕｕｍ）に対して生まれつきアレルギーのあるカニクイザルにおける気道炎症を低減することが見い出された（以下の実施例１．４および３．５）。さらに、本明細書に記載されている抗ヒトＩＬ－１３抗体は、ブタ回虫（Ａｓｃａｒｉｓ　ｓｕｕｍ）に対して生まれつきアレルギーのあるヒツジにおける遅発相気管支収縮を予防し、ヒツジにおけるカルバコール誘発性気道過敏反応性を予防する（以下の実施例３．５）。したがって、１つまたはそれ以上のＩＬ－１３関連活性を中和する抗ＩＬ－１３抗体を用い、インビボで１つまたはそれ以上のＩＬ－１３関連活性を低減し、例えば、ＩＬ－１３仲介性障害（例えば、喘息、気道炎症、好酸球増加症、線維症および過剰な粘液産生）を治療または予防することができる。

【００９４】

抗ヒトＩＬ－１３抗体

結合して１つまたはそれ以上のＩＬ－１３関連活性、特にＩＬ－１３のシグナル伝達活性を中和および／または阻害することができる抗体は、アレルギー性喘息、非アレルギー性喘息などのＩＬ－１３仲介性疾患、ならびに線維症、好酸球増加症および粘液産生などの喘息関連病変を治療するのに有用である。

【００９５】

一実施形態において、本明細書に開示されている抗ＩＬ－１３抗体は、単離または精製される。「単離」または「精製」ポリペプチドまたはタンパク質、例えば、「単離抗体」は、それが天然に存在する状態を越える状態まで精製される。例えば、「単離」または「精製」ポリペプチドまたはタンパク質、例えば、「単離抗体」は、タンパク質が由来する細胞もしくは組織源由来の細胞材料または他の夾雑汚染タンパク質のうちの少なくとも１つの成分から分離されるか、あるいは化学的に合成される場合の化学的前駆体もしくは他の化学物質のうちの少なくとも１つの成分から分離されるタンパク質を指す。例えば、単離タンパク質は、他のタンパク質、他の細胞材料または化学的前駆体を実質的に含まないことがある。一部の実施形態において、約５０％未満の非抗体タンパク質（本明細書において「夾雑タンパク質」とも呼ばれる）または化学的前駆体を有する抗体タンパク質の調製は、「実質的に含まれない」と見なされる。他の実施形態において、４０％、３０％、２０％、１０％、より好ましくは５％（乾燥重量で）の非抗体タンパク質または化学的前駆体は、実質的に含まれないと見なされる。抗体タンパク質またはその生物学的活性部分が組換え産生される場合、培養培地が実質的に含まれないことも好ましく、例えば、培養培地は、タンパク質調製物の容量または質量の約３０％未満、２０％未満、より好ましくは

約１０％未満、最も好ましくは約５％未満に相当する。本明細書において「組換え体」と呼ばれるタンパク質またはポリペプチドは、組換え体核酸の発現によって産生されるタンパク質またはポリペプチドである。タンパク質は、標準的方法（例えば、イオン交換および親和性クロマトグラフィーが含まれる）により精製され、特定のタンパク質が、他のタンパク質に対して、または他の生物学的活性成分に対して少なくとも５、１０、２０、２５、５０、７５、８０、９０、９５、９８、９９％の純度である調製物を提供することができる。

【００９６】

本明細書で使用する用語「抗体」には、インタクト抗体、抗体のフラグメント、例えば、Ｆａｂ、Ｆ（ａｂ’）$_2$、Ｆｄ、ｄＡｂおよびｓｃＦｖフラグメント、ならびにそれらの定常領域および／または可変領域において変異した（例えば、キメラ、部分ヒト化または完全ヒト化抗体を作成するため、ならびに望ましい特色、例えば、ＩＬ－１３結合性増強および／またはＦｃＲ結合低下のある抗体を作成するための変異）インタクト抗体およびフラグメントが含まれる。例示的抗体は、ＩＬ－１３と特異的に結合し、例えば、機能性ＩＬ－１３シグナル伝達複合体の形成を妨害し、かつ／または１つまたはそれ以上のＩＬ－１３関連活性を中和または阻害することがある。

【００９７】

本明細書に記載されている抗体は、効率的にヒトであってよい。「効率的ヒト」抗体は、抗体が、正常なヒトにおいて免疫原性応答を引き起こさないように十分な数のヒトアミノ酸位置が含まれる抗体である。タンパク質は、中和抗体応答、例えば、ヒト抗マウス抗体（ＨＡＭＡ）応答を誘起しないことが好ましい。ＨＡＭＡは、多くの環境、例えば、抗体を、例えば、慢性または再発疾患状態の治療において反復投与することが望ましい場合には問題のあることがある。ＨＡＭＡ応答は、血清からの抗体クリアランス増加のため（例えば、Ｓａｌｅｈ他、Ｃａｎｃｅｒ　Ｉｍｍｕｎｏｌ．Ｉｍｍｕｎｏｔｈｅｒ．、３２：１８０－１９０（１９９０）を参照）および潜在的なアレルギー反応のため（例えば、ＬｏＢｕｇｌｉｏ他、Ｈｙｂｒｉｄｏｍａ、５：５１１７－５１２３（１９８６）を参照）反復抗体投与を潜在的に無効にすることがある。

【００９８】

通常、保存的置換には、類似の特徴を持つ別のアミノ酸によるあるアミノ酸の置換、例えば、以下の群、すなわちバリン、グリシン、；グリシン、アラニン；バリン、イソロイシン、ロイシン；アスパラギン酸、グルタミン酸；アスパラギン、グルタミン；セリン、スレオニン；リジン、アルギニン；およびフェニルアラニン、チロシン内の置換が含まれる。

【００９９】

免疫グロブリンとしても知られる抗体は、通常、各々約２５ｋＤａの２本の軽（Ｌ）鎖および各々約５０ｋＤａの２本の重（Ｈ）鎖からなる四量体グリコシル化タンパク質である。λおよびκと名付けられた２タイプの軽鎖が抗体に見い出されることがある。重鎖の定常ドメインのアミノ酸配列に応じて、免疫グロブリンを、５個の主要なクラス、すなわち、Ａ、Ｄ、Ｅ，ＧおよびＭに割り当てることができ、それらのいくつかは、サブクラス（アイソタイプ）、例えば、ＩｇＧ$_1$、ＩｇＧ$_2$、ＩｇＧ$_3$、ＩｇＧ$_4$、ＩｇＡ$_1$およびＩｇＡ$_2$にさらに分けることができる。各軽鎖には、Ｎ末端可変（Ｖ）ドメイン（ＶＬ）および定常（Ｃ）ドメイン（ＣＬ）が含まれる。各重鎖には、Ｎ末端Ｖドメイン（ＶＨ）、３または４個のＣドメイン（ＣＨ）およびヒンジ領域が含まれる。ＶＨに最も近いＣＨドメインは、ＣＨ１と表される。ＶＨおよびＶＬドメインは、フレームワーク領域と呼ばれ、超可変配列の３つの領域（相補性決定領域、ＣＤＲ）の骨格を形成する比較的保存された配列の４領域（ＦＲ１、ＦＲ２、ＦＲ３およびＦＲ４）からなる。ＣＤＲは、抗体と抗原の特異的相互作用を担う大部分の残基を含む。ＣＤＲは、ＣＤＲ１、ＣＤＲ２およびＣＤＲ３と呼ばれる。したがって、重鎖上のＣＤＲ構成要素は、Ｈ１、Ｈ２およびＨ３と呼ばれ、一方、軽鎖上のＣＤＲ構成要素は、Ｌ１、Ｌ２およびＬ３と呼ばれる。通常、ＣＤＲ３は、抗体結合部位の範囲内で最も大きな分子多様性源である。例えば、Ｈ３は、２

個のアミノ酸残基ほどの短さか、あるいは２６個を超えるアミノ酸であってよい。異なるクラスの免疫グロブリンについてのサブユニット構造および三次元立体配置は、当技術分野においてよく知られている。抗体構造の総説については、Ａｎｔｉｂｏｄｉｅｓ：Ａ Ｌａｂｏｒａｔｏｒｙ Ｍａｎｕａｌ、Ｃｏｌｄ Ｓｐｒｉｎｇ Ｈａｒｂｏｒ Ｌａｂｏｒａｔｏｒｙ、Ｈａｒｌｏｗ他編、１９８８を参照されたい。当業者は、各サブユニット構造、例えば、ＣＨ、ＶＨ、ＣＬ、ＶＬ、ＣＤＲ、ＦＲ構造が、活性フラグメント、例えば、抗原と結合するＶＨ、ＶＬまたはＣＤＲサブユニットの部分、すなわち、抗原結合性フラグメント、または、例えば、Ｆｃ受容体および／または補体と結合しかつ／またはそれらを活性化するＣＨサブユニットの部分を含むことを認識しているはずである。通常、ＣＤＲは、Ｓｅｑｕｅｎｃｅｓ ｏｆ Ｐｒｏｔｅｉｎｓ ｏｆ Ｉｍｍｕｎｏｌｏｇｉｃａｌ Ｉｎｔｅｒｅｓｔ、ＵＳ Ｄｅｐａｒｔｍｅｎｔ ｏｆ Ｈｅａｌｔｈ ａｎｄ Ｈｕｍａｎ Ｓｅｒｖｉｃｅｓ（１９９１）、Ｋａｂａｔ他編に記載されているように、Ｋａｂａｔ ＣＤＲを指す。抗原結合部位を特徴付けるための別の基準は、Ｃｈｏｔｈｉａにより記載されているような超可変ループを参照することである。例えば、Ｃｈｏｔｈｉａ，Ｄ．他（１９９２）Ｊ．Ｍｏｌ．Ｂｉｏｌ．２２７：７９９－８１７；およびＴｏｍｌｉｎｓｏｎ他（１９９５）ＥＭＢＯ Ｊ．１４：４６２８－４６３８を参照されたい。さらに別の基準は、Ｏｘｆｏｒｄ Ｍｏｌｅｃｕｌａｒ'ｓ ＡｂＭ抗体モデリングソフトウエアにより使用されるＡｂＭ定義である。一般的には、例えば、Ｐｒｏｔｅｉｎ Ｓｅｑｕｅｎｃｅ ａｎｄ Ｓｔｒｕｃｔｕｒｅ Ａｎａｌｙｓｉｓ ｏｆ Ａｎｔｉｂｏｄｙ Ｖａｒｉｂｌｅ Ｄｏｍａｉｎｓ．（Ａｎｔｉｂｏｄｙ Ｅｎｇｉｎｅｅｒｉｎｇ Ｌａｂ Ｍａｎｕａｌ（Ｄｕｅｂｅｌ，Ｓ．およびＫｏｎｔｅｒｍａｎｎ，Ｒ編、Ｓｐｒｉｎｇｅｒ－Ｖｅｒｌａｇ、Ｈｅｉｄｅｌｂｅｒｇ）を参照されたい。あるいは、Ｋａｂａｔ ＣＤＲに関して記載されている実施形態は、Ｃｈｏｔｈｉａ超可変ループまたはＡｂＭ定義ループに関して同様に記載されている関係を用いて実施することができる。

【０１００】

抗体の用語「抗原結合性フラグメント」内に包含される結合性フラグメントの例には、（ｉ）Ｆａｂフラグメント、ＶＬ、ＶＨ、ＣＬおよびＣＨ１ドメインからなる一価フラグメント；（ｉｉ）Ｆ（ａｂ’）$_2$フラグメント、ヒンジ領域においてジスルフィド架橋により連結されている２つのＦａｂフラグメントを含む二価フラグメント；（ｉｉｉ）ＶＨおよびＣＨ１ドメインからなるＦｄフラグメント；（ｉｖ）抗体の単腕のＶＬおよびＶＨドメインからなるＦｖフラグメント、（ｖ）ＶＨドメインからなるｄＡｂフラグメント（Ｗａｒｄ他（１９８９）Ｎａｔｕｒｅ ３４１：５４４－４６）；および（ｖｉ）単離相補性決定領域（ＣＤＲ）が含まれる。ラクダ抗体およびラクダ化抗体も使用することができる。そのような抗体には、例えば、本明細書に記載されているたった１個の可変ドメイン由来のＣＤＲが含まれてよい。さらに、Ｆｖフラグメントの２つのドメイン、ＶＬおよびＶＨは、別々の遺伝子によりコードされるが、組換え方法を用い、それらを、ＶＬおよびＶＨ領域がペアを組んで一価分子を形成する単一タンパク質鎖（単鎖Ｆｖ（ｓｃＦｖ）として知られる；例えば、Ｂｉｒｄ他（１９８８）Ｓｃｉｅｎｃｅ ２４２：４２３－２６；Ｈｕｓｔｏｎ他（１９８８）Ｐｒｏｃ．Ｎａｔｌ．Ａｃａｄ．Ｓｃｉ．Ｕ．Ｓ．Ａ．８５：５８７９－８３を参照）とすることができる合成リンカーによりＶＬおよびＶＨをつなげることができる。また、そのような単鎖抗体は、抗体の用語「抗原結合性フラグメント」に包含されることが意図されている。これらの抗体フラグメントは、当業者に知られている従来の技法を用いて得られ、フラグメントは、インタクト抗体と同様にして機能が評価される。

【０１０１】

自然系における抗体多様性は、可変領域をコードする複数の生殖系列遺伝子および様々な体細胞イベントの使用により作り出される。体細胞イベントには、完全ＶＨ領域を作るための多様性（Ｄ）を持つ可変遺伝子セグメントおよび結合（Ｊ）遺伝子セグメントの組換え、ならびに完全ＶＬ領域を作るための可変および結合遺伝子セグメントの組換えが含

まれる。組換えプロセス自体は、不正確であってよく、Ｖ（Ｄ）Ｊ結合部においてアミノ酸の喪失または付加をもたらす。これらの多様性機構は、抗原暴露前の発現中のＢ細胞で起きる。抗原刺激後、Ｂ細胞内で発現した抗体遺伝子は、体細胞変異を受ける。生殖系列遺伝子セグメントの推定数に基づき、１．６×１０^{7}個までの異なる抗体にこれらのセグメントのランダム組換えおよびランダムＶＨ－ＶＬ対合が生成する可能性がある（Ｆｕｎｄａｍｅｎｔａｌ　Ｉｍｍｕｎｏｌｏｇｙ、第３版（１９９３）Ｐａｕｌ編、Ｒａｖｅｎ　Ｐｒｅｓｓ、Ｎｅｗ　Ｙｏｒｋ、ＮＹ）。抗体多様性の一因となる他のプロセス（体細胞変異など）を考慮に入れる場合、１０^{10}個以上の異なる抗体が生成すると考えられる（Ｉｍｍｕｎｏｇｌｏｂｕｌｉｎ　Ｇｅｎｅｓ、第２版（１９９５）、Ｊｏｎｉｏ他編、Ａｃａｄｅｍｉｃ　Ｐｒｅｓｓ、Ｓａｎ　Ｄｉｅｇｏ、ＣＡ）。抗体多様性の生成に関与する多くのプロセスのため、同一の抗原特異性を持つ独立して誘導されるモノクローナル抗体が、同一のアミノ酸配列を有することはあり得ない。

【０１０２】

したがって、本開示は、とりわけ、ＩＬ－１３と結合し、例えば、機能性ＩＬ－１３シグナル伝達複合体の形成を妨害する抗体およびそれらの抗原結合性フラグメントを提供する。一般に、本明細書に記載されている抗原結合性フラグメント、例えば、ＣＤＲを含む構造は、抗体重鎖もしくは軽鎖配列またはその活性フラグメントであり、ＣＤＲは、天然に存在するＶＨおよびＶＬのＣＤＲに対応する位置に置かれるものとする。免疫グロブリン可変ドメインの構造および位置は、Ｓｅｑｕｅｎｃｅｓ　ｏｆ　Ｐｒｏｔｅｉｎｓ　ｏｆ　Ｉｍｍｕｎｏｌｏｇｉｃａｌ　Ｉｎｔｅｒｅｓｔ、Ｕ．Ｓ．Ｄｅｐａｒｔｍｅｎｔ　ｏｆ　Ｈｅａｌｔｈ　ａｎｄ　Ｈｕｍａｎ　Ｓｅｒｖｉｃｅｓ（１９９１）、Ｋａｂａｔ他編に記載されているように決定することができる。

【０１０３】

本明細書に開示されている抗体分子（抗原結合性フラグメントが含まれる）、すなわち、ＩＬ－１３と結合し、機能性ＩＬ－１３シグナル伝達複合体の形成を妨害する抗体分子には、マウスモノクローナル抗体、ｍＡｂ１３．２およびその変異体、具体的には、キメラ変異体ｃｈ１３．２、部分ヒト化変異体ｈ１３．２ｖ１および完全ヒト化変異体ｈ１３．２ｖ２およびｈ１３．２ｖ３が含まれるが、これらに限定されるものではない。これらの抗体分子は、喘息（アレルギー性と非アレルギー性の両方）、ならびに喘息関連病変を予防または治療するのに有用である。ｍＡｂ１３．２、ｃｈ１３．２、ｈ１３．２ｖ１、ｈ１３．２ｖ２およびｈ１３．２ｖ３の軽鎖可変領域のアミノ酸配列を、それぞれ配列番号９、１０、１１、１２および３５に示す。ｍＡｂ１３．２、ｃｈ１３．２、ｈ１３．２ｖ１、ｈ１３．２ｖ２およびｈ１３．２ｖ３の重鎖可変領域のアミノ酸配列を、それぞれ配列番号１３、１４、１５、１６および３６に示す。ｍＡｂ１３．２、ｃｈ１３．２、ｈ１３．２ｖ１、ｈ１３．２ｖ２およびｈ１３．２ｖ３の可変軽鎖内の３つの相補性決定領域（ＣＤＲ）のアミノ酸配列を、配列番号１９、２０および２１に示す。ｍＡｂ１３．２、ｃｈ１３．２、ｈ１３．２ｖ１、ｈ１３．２ｖ２およびｈ１３．２ｖ３の可変重鎖内の３つのＣＤＲのアミノ酸配列を、配列番号２２、２３および２４に示す。

【０１０４】

上記に記載されているように、ＣＤＲは、抗原との特異的相互作用を担う大部分の残基を含み、ＶＨおよびＶＬドメイン、すなわち、それぞれ重鎖可変領域および軽鎖可変領域内に含まれる。例示的抗体には、配列番号１９～２４に示されるアミノ酸配列から選択されるアミノ酸配列を含む少なくとも１つのＣＤＲまたは選択された残基、特にそのようなＣＤＲ由来のＩＬ－１３接触残基が含まれる。また、そのような抗体は、ＩＬ－１３と結合し、例えば、機能性ＩＬ－１３シグナル伝達複合体の形成を妨害することができる。本明細書に記載されているＣＤＲの活性フラグメントのアミノ酸配列、すなわち、最小コアＣＤＲ配列を、配列番号２５～３０に示し、表１に開示する。抗体には、配列番号１９～２１または配列番号２５～２７に示されるようなＶＬ鎖のうちの１つまたはそれ以上のＣＤＲが含まれてよい。抗体には、配列番号２２～２４または配列番号２８～３０に示されるようなＶＨ鎖のうちの１つまたはそれ以上のＣＤＲが含まれてよい。さらに、抗体には

、配列番号１９～３０に示されるアミノ酸配列から選択されるアミノ酸配列を有するＶＬおよびＶＨ鎖のうちの１つまたはそれ以上のＣＤＲが含まれてよい。示されるように、Ｘは、任意のアミノ酸、例えば、非システインアミノ酸または表１の左欄内の対応する位置におけるアミノ酸と類似した電荷、疎水性および／または側鎖長を有するアミノ酸であってよい。

【０１０５】

表１．例示的ＣＤＲ

【表１】

CDR配列	最小コアCDR配列
軽鎖CDR1(L1) 配列番号19 24-KASESVDNYGKSLMH-38[1]	 配列番号25 24-xxxxxxxNYxKxxxx-38
軽鎖CDR2(L2) 配列番号20 54-RASNLES-60	 配列番号26 54-Rxxxxxx-60
軽鎖CDR3(L3) 配列番号21 93-QQSNEDPWT-101	 配列番号27 93-xxxNxDxWx-101
重鎖CDR1(H1) 配列番号22 30-ISYAMS-35[2]	 配列番号28 30-ISxAxx-35
重鎖CDR2(H2) 配列番号23 50-SISSGGNTYYPDSVKG-65	 配列番号29 50-SxSSxxxxYxxxxxx-65
重鎖CDR3(H3) 配列番号24 98-LDGYYFGFAY-107	 配列番号30 98-LDGYYFxxxx-107

[1]ＶＬ　ＣＤＲのナンバリングは、図３０におけるように直線配列ナンバリングスキームに従う。

[2]ＶＨ　ＣＤＲのナンバリングは、図２９におけるように直線配列ナンバリングスキームに従う。

【０１０６】

上記に記載されているように、抗原結合性フラグメントは、Ｆｖフラグメントであってよく、ＶＨおよびＶＬドメインが含まれる。したがって、ｍＡｂ１３．３、ｃｈ１３．２、ｈ１３．２ｖ１、ｈ１３．２ｖ２またはｈ１３．２ｖ３のＦｖフラグメントは、本明細書に記載されている抗体を構成することがある。それは、ＩＬ－１３と結合し、機能性ＩＬ－１３シグナル伝達複合体の形成を妨害する。他のフラグメントには、Ｆｖフラグメント、例えば、ｍＡｂ１３．３、ｃｈ１３．２、ｈ１３．２ｖ１、ｈ１３．２ｖ２またはｈ１３．２ｖ３抗体または配列番号１９～３０に示されるアミノ酸配列から選択されるアミノ酸配列を有する１つまたはそれ以上のＣＤＲが含まれる抗体のｓｃＦｖフラグメント、ＦａｂフラグメントおよびＦ（ａｂ’）２フラグメントが含まれる。

【０１０７】

そのような抗体分子は、当業者に知られている方法により作成することができる。例えば、モノクローナル抗体は、知られている方法に従い、ハイブリドーマの作成により産生することができる。次いで、このように形成されるハイブリドーマを、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））分析などの標準的方法を用いてスクリーニングし、ＩＬ－１３と結合し、機能性ＩＬ－１３シグナ

ル伝達複合体の形成を妨害し、１つまたはそれ以上のＩＬ－１３関連活性を中和する抗体を産生する１つまたはそれ以上のハイブリドーマを同定する。組換えＩＬ－１３、天然に存在するＩＬ－１３（すなわち、プロセシングを受けた成熟形態のＩＬ－１３）、その任意の変異体およびＩＬ－１３の抗原ペプチドフラグメントを、免疫原として使用することができる。

【０１０８】

ＩＬ－１３の抗原ペプチドフラグメントは、少なくとも７個の連続するアミノ酸残基を含み、ペプチドに対して産生される抗体が、ＩＬ－１３との特異的免疫複合体を形成するように、エピトープを包含することができる。抗原ペプチドは、少なくとも１０個のアミノ酸残基、より好ましくは少なくとも１５個のアミノ酸残基、より好ましくは少なくとも２０個のアミノ酸残基、最も好ましくは少なくとも３０個のアミノ酸残基を含むことが好ましい。さらに、ＩＬ－１３の抗原ペプチドフラグメントは、ＩＬ－１３受容体結合部位またはＩＬ－４受容体結合部位を含むことが好ましい。

【０１０９】

モノクローナル抗体分泌性ハイブリドーマを調製することの代替案として、モノクローナル抗体を、変異体および／またはそれらの部分が含まれるＩＬ－１３により組換えコンビナトリアル免疫グロブリンライブラリー（例えば、抗体ファージディスプレーライブラリー）をスクリーニングすることにより同定および単離し、それにより、ＩＬ－１３と結合する免疫グロブリンライブラリーメンバーを単離することができる。ファージディスプレーライブラリーを作成およびスクリーニングするための技法および市販キットは、当業者に知られている。さらに、抗体ディスプレーを作成およびスクリーニングする際に使用するのに特に適している方法および試薬の例には、米国特許第５，６５８，７２７号、米国特許第５，６６７，９８８号および米国特許第５，８８５，７９３号に記載されている方法および試薬が含まれる。

【０１１０】

本明細書に記載されているポリクローナル血清および抗体は、ＩＬ－１３、その変異体および／またはそれらの部分により適当な対象を免疫化することにより作成することができる。免疫化された対象における抗体価は、固定化されたＩＬ－１３または他のマーカータンパク質（例えば、ＦＬＡＧ）を用い、酵素結合免疫吸着アッセイ（ＥＬＩＳＡ）などの標準的技法により経時的にモニターすることができる。抗体は、動物または培養培地から単離することができる。ＩｇＧ分画を得るためのタンパク質Ａクロマトグラフィーの使用などのよく知られている技法が含まれる様々な方法を用いて抗体を精製することができる。

【０１１１】

特定の実施形態は、ｍＡｂ１３．２、ｃｈ１３．２、ｈ１３．２ｖ１、ｈ１３．２ｖ２またはｈ１３．２ｖ３のＦｖフラグメントのＶＨおよび／またはＶＬドメインを含む。抗体のフラグメント、例えば、Ｆａｂ、Ｆ（ａｂ’）２、ＦｄおよびｄＡｂフラグメントは、抗体の切断により、または組換え操作により作成することができる。例えば、免疫学的に活性なＦａｂおよびＦ（ａｂ’）２フラグメントは、ペプシンなどの酵素で抗体を処理することにより作成することができる。

【０１１２】

他の実施形態は、配列番号１９～３０に示されるように、これらのＶＨおよびＶＬドメインのいずれかのうちの１つまたはそれ以上の相補性決定領域（ＣＤＲ）を含む。一実施形態は、ｍＡｂ１３．２、ｃｈ１３．２、ｈ１３．２ｖ１、ｈ１３．２ｖ２またはｈ１３．２ｖ３のＶＨドメインのＨ３フラグメントを含む。

【０１１３】

特定の実施形態において、本明細書に記載されているＶＨおよびＶＬドメインを生殖系列化することができ、すなわち、これらのドメインのフレームワーク領域（ＦＲ）を、１つまたはそれ以上の位置において、従来の分子生物学技法を用いて変化させ、ヒト生殖系列遺伝子またはヒト生殖系列遺伝子産物のコンセンサスアミノ酸配列と一致させることが

できる（例えば、フレームワーク位置のうちの少なくとも７０、８０、８５、９０、９５、９７、９８または９９％で）。他の実施形態において、フレームワーク配列は、生殖系列と異なったたままである。

【０１１４】

ヒト生殖系列配列は、例えば、Ｔｏｍｌｉｎｓｏｎ，Ｉ．Ａ．他（１９９２）Ｊ．Ｍｏｌ．Ｂｉｏｌ．２２７：７７６－７９８；Ｃｏｏｋ，Ｇ．Ｐ．他（１９９５）Ｉｍｍｕｎｏｌ．Ｔｏｄａｙ Ｖｏｌ．１６（５）：２３７－２４２；Ｃｈｏｔｈｉａ，Ｄ．他（１９９２）Ｊ．Ｍｏｌ．Ｂｉｏｌ．２２７：７９９－８１７；およびＴｏｍｌｉｎｓｏｎ他（１９９５）ＥＭＢＯ Ｊ．１４：４６２８－４６３８に開示されている。Ｖ ＢＡＳＥディレクトリーは、ヒト免疫グロブリン可変領域配列の総括的ディレクトリーを提供する（Ｔｏｍｌｉｎｓｏｎ，Ｉ．Ａ．他 ＭＲＣ Ｃｅｎｔｒｅ ｆｏｒ Ｐｒｏｔｅｉｎ Ｅｎｇｉｎｅｅｒｉｎｇ、Ｃａｍｂｒｉｄｇｅ、ＵＫにより収集された）。これらの配列は、ヒト配列源として、例えば、フレームワーク領域およびＣＤＲのために使用することができる。例えば、米国特許第６，３００，０６４号に記載されているように、コンセンサスヒトフレームワーク領域も使用することができる。

【０１１５】

さらに、ヒト部分と非ヒト部分の両方を含む本明細書に記載されているキメラ、ヒト化および単鎖抗体は、実施例により詳細に記載されているように、標準的組換えＤＮＡ技法を用いて作成することができる。ヒト化抗体は、ヒト重鎖および軽鎖遺伝子を発現するが、内因性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成することもできる。

【０１１６】

さらに、本明細書に記載されている抗体には、ＩＬ－１３と結合し、機能性ＩＬ－１３シグナル伝達複合体の形成を妨害し、重鎖および軽鎖の定常領域に変異を有する抗体も含まれる。定常領域の特定のフラグメントを変異させ不活性化することが望ましいことがある。例えば、重定常領域における変異を行い、Ｆｃ受容体（ＦｃＲ）および／または補体との結合性が低下した抗体を作成することができ、そのような変異は、当技術分野においてよく知られている。ＩｇＧの重鎖の定常領域のアミノ配列へのそのような変異の例を配列番号１７に示す。ＣＬおよびＣＨサブユニット（例えば、ＣＨ１）の特定の活性フラグメントをお互いと共有結合させる。他の態様は、機能性ＩＬ－１３シグナル伝達複合体の形成を助けるＩＬ－１３のドメインに特異的な抗体抗原結合性ドメインを得るための方法を提供する。

【０１１７】

例示的抗体には、配列番号９、１０、１１、１２または３５に示されるようなＶＬ鎖および／または配列番号１３、１４、１５、１６または３６に示されるようなＶＨ鎖の配列が含まれてよいが、抗原結合性能力を保持するこれらの配列の変異体も含まれてよい。そのような変異体は、当技術分野において知られている技法を用い、提供された配列から誘導することができる。アミノ酸置換、欠失または付加は、ＦＲかＣＤＲのどちらかにおいて行うことができる。フレームワーク領域における変化は、通常、抗体の安定性を改善し抗体の免疫原性を低減するように設計されるが、ＣＤＲにおける変化は、通常、その標的に対する抗体の親和性を高めるように設計される。そのような親和性を高める変化は、通常、ＣＤＲ領域を改変し抗体を試験することにより経験的に決定される。そのような改変は、Ａｎｔｉｂｏｄｙ Ｅｎｇｉｎｅｅｒｉｎｇ、第２版（１９９５）Ｂｏｒｒｅｂａｅｃｋ編、Ｏｘｆｏｒｄ Ｕｎｉｖｅｒｓｉｔｙ Ｐｒｅｓｓに記載されている方法に従って行うことができる。

【０１１８】

本明細書に記載されているＶＨドメインのアミノ酸配列変異体であるＶＨドメインを作成するための例示的方法は、本明細書に開示されているＶＨドメインのアミノ酸配列において１つまたはそれ以上のアミノ酸を付加、欠失、置換または挿入し、所望により、そのようにして提供されたＶＨドメインを１つまたはそれ以上のＶＬドメインと組み合わせ、

ＩＬ－１３との特異的結合についてＶＨドメインまたは１つまたはそれ以上のＶＨ／ＶＬ組合せを試験し、（好ましくは）１つまたはそれ以上のＩＬ－１３関連活性を変調するそのような抗原結合性ドメインの能力を試験する工程を含む。ＶＬドメインは、実質的に本明細書に記載されているようなアミノ酸配列を有することができる。本明細書に開示されているＶＬドメインのうちの１つまたはそれ以上の配列変異体を１つまたはそれ以上のＶＨドメインと組み合わせる類似の方法を用いることができる。

【０１１９】

本発明の他の態様は、ＩＬ－１３と特異的に結合する抗原結合性フラグメントを調製する方法を提供する。この方法は、（ａ）置換されるＣＤＲ３が含まれるか、ＣＤＲ３コード化領域を欠くＶＨドメインをコードする核酸の出発レパートリーを提供すること；（ｂ）そのレパートリーを、配列番号２４の活性フラグメントを含むドナーＣＤＲをコードするドナー核酸、例えば、配列番号３０に示されるアミノ酸配列をコードするドナー核酸と、ＶＨドメインをコードする核酸の生成物レパートリーを提供するため、ドナー核酸がレパートリー内のＣＤＲ３領域内に挿入されるように組み合わせること；（ｃ）生成物レパートリーの核酸を発現させること；（ｄ）ＩＬ－１３に特異的な特異抗体または抗原結合性フラグメントを選択すること；および（ｅ）特異抗体もしくは抗原結合性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。

【０１２０】

別の実施形態において、本明細書に記載されているＶＬ　ＣＤＲ３（すなわち、Ｌ３）を、置換されるＣＤＲ３が含まれるか、ＣＤＲ３コード化領域を欠くＶＬ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類似方法を用いることができる。本明細書に記載されているＣＤＲ（例えば、ＣＤＲ３）のコーディング配列は、組換えＤＮＡ技術を用い、ＣＤＲ（例えば、ＣＤＲ３）を欠く可変ドメインのレパートリー中に導入することができる。例えば、Ｍａｒｋｓ他（Ｂｉｏ／Ｔｅｃｈｎｏｌｏｇｙ（１９９２）１０；７７９－８３）は、可変ドメイン領域の５’末端に向いているか、あるいはそれに隣接するコンセンサスプライマーを、ヒトＶＨ遺伝子の第三のフレームワーク領域に対するコンセンサスプライマーと併せて使用し、ＣＤＲ３を欠くＶＨ可変ドメインのレパートリーを提供する、抗体可変ドメインのレパートリーを作成する方法について記載している。レパートリーは、特定の抗体のＣＤＲ３と組み合わせることができる。類似技法を用い、ＣＤＲ３由来の配列を、ＣＤＲ３を欠くＶＨまたはＶＬドメインのレパートリーと入れ換え、混合した完全ＶＨまたはＶＬドメインを同族のＶＬまたはＶＨドメインと組み合わせ、特異抗原結合性フラグメントを提供することができる。次いで、レパートリーを、ＷＯ９２／０１０４７のファージディスプレーシステムなどの適当な宿主系において提示させ、適当な抗原結合性フラグメントを選択することができる。類似のシャフリングまたはコンビナトリアル技法は、Ｓｔｅｍｍｅｒ（Ｎａｔｕｒｅ（１９９４）３７０：３８９－９１）によっても開示されている。他の代替案は、１つまたはそれ以上の選択されたＶＨおよび／またはＶＬ遺伝子のランダム変異誘発を用い、改変されたＶＨまたはＶＬ領域を作成し、全可変ドメイン内の変異を作成することである。例えば、Ｇｒａｍ他　Ｐｒｏｃ．Ｎａｔ．Ａｃａｄ．Ｓｃｉ．Ｕ．Ｓ．Ａ．（１９９２）８９：３５７６－８０を参照されたい。

【０１２１】

使用することができる別の方法は、ＶＨまたはＶＬ遺伝子のＣＤＲ領域に変異誘発を向けることである。そのような技法は、例えば、Ｂａｒｂａｓ他（Ｐｒｏｃ．Ｎａｔ．Ａｃａｄ．Ｓｃｉ．Ｕ．Ｓ．Ａ．（１９９４）９１：３８０９－１３）およびＳｃｈｉｅｒ他（Ｊ．Ｍｏｌ．Ｂｉｏｌ．（１９９６）２６３：５５１－６７）により開示されている。同様に、１つまたはそれ以上、または３つのＣＤＲすべてを、ＶＨもしくはＶＬドメイン、または他の骨格（フィブロネクチンドメインなど）のレパートリー中に移植することができる。得られるタンパク質を、ＩＬ－１３と結合する能力について評価する。

【０１２２】

一実施形態において、標的と結合する結合性タンパク質を、例えば、変異誘発により修飾し、修飾された結合性タンパク質のプールを提供する。次いで、修飾された結合性タン

パク質を評価し、改変された機能特性（例えば、結合性の改善、安定性の改善、インビボでの長期安定性）を有する１つまたはそれ以上の改変された結合性タンパク質を同定する。一実施において、ディスプレーライブラリー技術を用い、修飾された結合性タンパク質のプールを選択またはスクリーニングする。次いで、第二のライブラリーから、例えば、より高い厳密性またはより競合性の結合および洗浄条件を用いることにより、より高い親和性の結合性タンパク質を同定する。他のスクリーニング技法も使用することができる。

【０１２３】

一部の実施形態において、変異誘発は、結合界面にあることが知られているか、あるいはその可能性のある領域を標的とする。例えば、同定された結合性タンパク質が抗体である場合、変異誘発を、本明細書に記載されているような重鎖または軽鎖のＣＤＲ領域に向けることができる。さらに、変異誘発を、ＣＤＲに近いか、あるいは隣接するフレームワーク領域、例えば、ＣＤＲ接合部の１０、５または３アミノ酸内のフレームワーク領域に向けることができる。抗体の場合、変異誘発を１個または数個のＣＤＲに限定し、例えば、段階的改善を行うことができる。

【０１２４】

一実施形態において、変異誘発を用い、１つまたはそれ以上の生殖系列配列とより類似した抗体を作成する。１つの例示的生殖系列化方法には、単離抗体の配列と類似した（例えば、特定のデータベースにおいて最も類似した）１つまたはそれ以上の生殖系列配列を同定することが含まれてよい。次いで、変異（アミノ酸レベルで）を、増加的に、組み合わせて、または両方で、単離抗体において行うことができる。例えば、一部のまたはすべての可能な生殖系列変異をコードする配列が含まれる核酸ライブラリーを作成する。次いで、変異抗体を評価し、例えば、単離抗体に比べ、１つまたはそれ以上の追加生殖系列残基を有し、依然として有用である（例えば、機能活性を有する）抗体を同定する。一実施形態において、可能な限り多くの生殖系列残基が単離抗体中に導入される。

【０１２５】

一実施形態において、変異誘発を用い、ＣＤＲ領域中に１つまたはそれ以上の生殖系列残基を置換または挿入する。例えば、生殖系列ＣＤＲ残基は、修飾されている可変領域と類似した（例えば、最も類似した）生殖系列配列由来であってよい。変異誘発後、抗体の活性（例えば、結合または他の機能活性）を評価し、１つまたはそれ以上の生殖系列残基が耐容性であるかどうかを決定する。類似の変異誘発を、フレームワーク領域において行うことができる。

【０１２６】

生殖系列配列を選択することは、様々な方法で行うことができる。例えば、生殖系列配列を、それが、選択性または類似性についての所定の基準、例えば、少なくとも特定の同一性百分率、例えば、少なくとも、７５、８０、８５、９０、９１、９２、９３、９４、９５、９６、９７、９８、９９または９９．５％の同一性を満たせば選択することができる。選択は、少なくとも２、３、５または１０個の生殖系列配列を用いて行うことができる。ＣＤＲ１およびＣＤＲ２の場合、類似生殖系列配列を同定することには、１個のそのような配列を選択することが含まれてよい。ＣＤＲ３の場合、類似生殖系列配列を同定することには、１個のそのような配列を選択することが含まれてよいが、アミノ末端部分およびカルボキシ末端部分に対し別々に寄与する２つの生殖系列配列を用いることが含まれてよい。他の実施において、２つを超えるまたは２つの生殖系列配列を用い、例えば、コンセンサス配列を形成する。

【０１２７】

一実施形態において、抗体またはそのフラグメントは、本明細書に記載されている抗体のＣＤＲ配列と実質的にではなく異なるＣＤＲ配列を有する。実質的でない差には、ＣＤＲ、例えば、ＣｈｏｔｈｉａまたはＫａｂａｔ　ＣＤＲの配列における通常は５～７個のアミノ酸のいずれかのうちの１または２個の置換などのわずかなアミノ酸変化が含まれる。通常、アミノ酸は、類似の電荷、疎水的または立体化学的特徴を有する関連アミノ酸により置換される。そのような置換は、当業者の範囲内にあるであろう。ＣＤＲと異なり、

構造フレームワーク領域（ＦＲ）におけるより実質的な変化は、抗体の結合特性に悪影響を及ぼすことなく行うことができる。ＦＲへの変化には、非ヒト由来のフレームワークをヒト化すること、または抗原接触にとって、または結合部位を安定化するのに重要である特定のフレームワーク残基を操作すること、例えば、定常領域のクラスまたはサブクラスを変えること、Ｆｃ受容体結合などのエフェクター機能を改変するかもしれない特定のアミノ酸残基を変えること（Ｌｕｎｄ他（１９９１）Ｊ．Ｉｍｍｕｎｏｌ．１４７：２６５７－６２；Ｍｏｒｇａｎ他（１９９５）Ｉｍｍｕｎｏｌｏｇｙ　８６：３１９－２４）または定常領域の由来する種を変えることが含まれるが、これらに限定されるものではない。抗体は、エフェクター機能、例えば、Ｆｃ受容体結合および補体活性化を低減または改変する重鎖のＣＨ２領域に変異を有することができる。例えば、抗体は、米国特許第５，６２４，８２１号および第５，６４８，２６０号に記載されている変異などの変異を有することができる。例えば、ＩｇＧ１またはＩｇＧ２重鎖において、そのような変異を行い、配列番号１７に示されるアミノ酸配列に似せることができる。また、抗体は、当技術分野において開示されているように、ＩｇＧ４のヒンジ領域における変異などの、免疫グロブリンの２つの重鎖間をジスルフィド結合で安定化する変異を有することができる（例えば、Ａｎｇａｌ他（１９９３）Ｍｏｌ．Ｉｍｍｕｎｏｌ．３０：１０５－０８）。

【０１２８】

ＩＬ－１３結合性タンパク質は、インタクト抗体、抗体のフラグメント、例えば、Ｆａｂ、Ｆ（ａｂ’）２、Ｆｄ、ｄＡｂおよびｓｃＦｖフラグメント、ならびにそれらの定常領域および／または可変領域において変異した（例えば、キメラ、部分ヒト化または完全ヒト化抗体を作成するため、ならびに望ましい特色、例えば、ＩＬ－１３結合性増強および／またはＦｃＲ結合性低下のある抗体を作成するための変異）インタクト抗体およびフラグメントの形態であってよい。

【０１２９】

一部の実施形態において、免疫グロブリン可変ドメインの実質的部分は、ＣＤＲ領域のうちの少なくとも１つ、および所望により、本明細書に記載されているような可変領域由来のそれらの介在性フレームワーク領域を含むことができる。その部分には、ＦＲ１かＦＲ４のどちらか、またはＦＲ１とＦＲ４の両方のうちの少なくとも約５０、６０、７０、８０、８５、８７、８８、９０、９２、９４、９５、９６、９７、９８％が含まれることとする。例えば、連続または不連続であってよい部分には、ＦＲ１のＣ末端５０％およびＦＲ４のＮ末端５０％が含まれてよい。可変ドメインの実質的部分のＮ末端またはＣ末端における追加残基は、天然に存在する可変ドメイン領域と通常は関係のない残基であってよい。例えば、組換えＤＮＡ技法により作成される特異抗原結合性フラグメントの構築は、クローニングまたは他の操作工程を容易にするために導入されるリンカーによりコードされるＮまたはＣ末端残基の導入をもたらすことがある。他の操作工程には、以下でより詳細に議論するように、本明細書に記載されている可変ドメインを、免疫グロブリン重鎖、他の可変ドメイン（例えば、ダイアボディの作成において）が含まれる他のタンパク質配列またはタンパク質標識に結合するためのリンカーの導入が含まれる。

【０１３０】

実施例に例示されている実施形態は、ＶＨドメインとＶＬドメインの「マッチング」ペアを含むが、本発明は、ＶＨドメイン配列かＶＬドメイン配列のどちらか、特にＶＨドメインに由来する単一の可変ドメインを含む結合性フラグメントも包含する。単鎖特異結合性ドメインのどちらかの場合、これらのドメインを用い、ＩＬ－１３と結合することができる２ドメイン特異抗原結合性ドメインを形成することができる相補ドメインをスクリーニングすることができる。これは、いわゆる階層的デュアルコンビナトリアルアプローチ（例えば、ＷＯ９２／０１０４７に開示されているような）を用いるファージディスプレースクリーニング方法により行うことができ、Ｈ鎖クローンかＬ鎖クローンのどちら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に感染させ、参考文献に記載されている技法などのファージディスプレー技法に従い、得られる２重鎖特異抗原結合性ドメインを選択する。この技法は、Ｍａｒｋｓ他、前掲

書にも開示されている。抗体は、放射性核種、薬物、巨大分子または他の物質と化学的方法によりコンジュゲートすることができ、または本明細書に記載されている１つまたはそれ以上のＣＤＲを含む融合タンパク質として作成することができる。

【０１３１】

抗体融合タンパク質は、ＶＨ－ＶＬペアを含有し、これらの鎖（通常ＶＨ）のうちの１つおよび別のタンパク質は、単一ポリペプチド鎖として合成される。これらのタイプの生成物は、それらが、一般的に、追加の機能要素、例えば、小分子の活性部分またはコンジュゲートされた、あるいは縮合された巨大分子の主要な分子構造的特徴を有する点で抗体と異なる。

【０１３２】

上記で概略が説明されたアミノ酸配列への変化の他に、抗体を、グリコシル化、ペグ化するか、あるいはアルブミンまたは非タンパク質ポリマーに連結することができる。例えば、本明細書に開示されている抗体を、米国特許第４，６４０，８３５号；第４，４９６，６８９号；第４，３０１，１４４号；第４，６７０，４１７号；第４，７９１，１９２号；または第４，１７９，３３７号に示されるように、様々な非タンパク質ポリマー、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のうちの１つと連結することができる。抗体は、ポリマーとの共有結合コンジュゲーションにより化学的に修飾され、例えば、それらの循環半減期を増加させる。例示的ポリマーおよびそれらをペプチドに接続する方法は、米国特許第４，７６６，１０６号；第４，１７９，３３７号；第４，４９５，２８５号；および第４，６０９，５４６号にも示されている。

【０１３３】

他の実施形態において、抗体を、改変されたグリコシル化パターンを有する（例えば、本来の、すなわち天然グリコシル化パターンから改変された）ように修飾することができる。この文脈で使用する「改変された」は、除去される１つまたはそれ以上の炭水化物部分を有することおよび／または本来の抗体に追加された１つまたはそれ以上のグリコシル化部位を有することを意味する。本明細書に開示されている抗体へのグリコシル化部位の追加は、グリコシル化部位コンセンサス配列を含むようにアミノ酸配列を改変することにより行うことができ、そのような技法は、当技術分野においてよく知られている。抗体上の炭水化物部分の数を増加させる別の手段は、抗体のアミノ酸残基へのグリコシドの化学的または酵素的カップリングによる。これらの方法は、例えば、ＷＯ８７／０５３３０およびＡｐｌｉｎおよびＷｒｉｓｔｏｎ（（１９８１）ＣＲＣ Ｃｒｉｔ．Ｒｅｖ．Ｂｉｏｃｈｅｍ．２２：２５９－３０６）に記載されている。抗体上に存在する任意の炭水化物部分の除去は、当技術分野において記載されているように、化学的または酵素的に行うことができる（Ｈａｋｉｍｕｄｄｉｎ他（１９８７）Ａｒｃｈ．Ｂｉｏｃｈｅｍ．Ｂｉｏｐｈｙｓ．２５９：５２；Ｅｄｇｅ他（１９８１）Ａｎａｌ．Ｂｉｏｃｈｅｍ．１１８：１３１；およびＴｈｏｔａｋｕｒａ他（１９８７）Ｍｅｔｈ．Ｅｎｚｙｍｏｌ．１３８：３５０）。例えば、サルベージ受容体結合性エピトープを提供することによりインビボ半減期を増加させる修飾についての米国特許第５，８６９，０４６号を参照されたい。

【０１３４】

本明細書に記載されている抗体は、検出可能な、または機能性標識でタグ付けすることもできる。検出可能な標識には、^{131}Ｉまたは^{99}Ｔｃなどの放射性標識が含まれ、これらは、当技術分野において知られている従来の化学反応を用い、本明細書に記載されている抗体に接続することができる。標識には、西洋ワサビペルオキシダーゼまたはアルカリホスファターゼなどの酵素標識も含まれる。標識には、ビオチンなどの化学的部分がさらに含まれ、これは、特異的同族の検出可能な部分、例えば、標識アビジンとの結合を介して検出することができる。

【０１３５】

本明細書に開示されている抗体の結合特性は、以下の方法、すなわち、以下の実施例に記載されているようなＢｉａｃｏｒｅ分析、酵素結合免疫吸着アッセイ（ＥＬＩＳＡ）、

Ｘ線結晶学、配列分析および走査変異誘発、ならびに当技術分野においてよく知られている他の方法が含まれる任意の適当な方法により測定することができる。１つまたはそれ以上のＩＬ－１３関連活性を中和および／または阻害する本明細書に記載されている抗体の能力は、以下の方法、すなわち、以下の実施例に記載されているように、ＩＬ－１３依存性細胞系、例えば、ＴＦＩの増殖を測定するためのアッセイ；ＩＬ－１３仲介性ポリペプチドの発現を測定するためのアッセイ、例えば、ＣＤ２３の発現のフローサイトメトリー分析；下流シグナル伝達分子、例えば、ＳＴＡＴ６の活性を測定するアッセイ；関連動物モデル、例えば、カニクイザルにおいて喘息を予防する本明細書に記載されている抗体の効率を試験するアッセイ、ならびに当技術分野においてよく知られている他のアッセイにより測定することができる。

【０１３６】

関心のあるタンパク質と標的（例えば、ＩＬ－１３）の結合相互作用は、ＳＰＲを用いて分析することができる。ＳＰＲまたは生体分子相互作用解析（ＢＩＡ）は、相互作用物のいずれにも標識することなく、リアルタイムに生体特異性相互作用を検出する。ＢＩＡチップの結合表面における質量の変化（結合事象を示す）は、表面近くで光の屈折率の変化をもたらす（表面プラズモン共鳴（ＳＰＲ）の光学現象）。屈折度の変化は、検出可能なシグナルを生じ、生物学的分子間のリアルタイム反応の徴候として測定される。ＳＰＲを用いるための方法については、例えば、米国特許第５，６４１，６４０号；Ｒａｅｔｈｅｒ（１９８８）Ｓｕｒｆａｃｅ Ｐｌａｓｍｏｎｓ Ｓｐｒｉｎｇｅｒ Ｖｅｒｌａｇ；ＳｊｏｌａｎｄｅｒおよびＵｒｂａｎｉｃｚｋｙ（１９９１）Ａｎａｌ．Ｃｈｅｍ．６３：２３３８－２３４５；Ｓｚａｂｏ他（１９９５）Ｃｕｒｒ．Ｏｐｉｎ．Ｓｔｒｕｃｔ．Ｂｉｏｌ．５：６９９－７０５およびＢＩＡｃｏｒｅ Ｉｎｔｅｒｎａｔｉｏｎａｌ ＡＢ（Ｕｐｐｓａｌａ、Ｓｗｅｄｅｎ）により提供されるオンラインリソースに記載されている。

【０１３７】

ＳＰＲからの情報を用い、生体分子の標的との結合について、平衡解離定数（Ｋｄ）、ならびにＫｏｎおよびＫｏｆｆが含まれる速度パラメーターの正確かつ定量的測度を提供することができる。そのようなデータを用い、様々な生体分子を比較することができる。例えば、多様な鎖のライブラリーから選択される核酸によりコードされるタンパク質を比較し、標的に対して高い親和性を有するか、あるいは遅いＫｏｆｆを有する個々のタンパク質を同定することができる。また、この情報を用い、構造活性相関（ＳＡＲ）を展開することができる。例えば、親タンパク質の成熟したバージョンの速度パラメーターおよび平衡結合パラメーターを、親タンパク質のパラメーターと比較することができる。特定の結合パラメーター、例えば、高い親和性および遅いＫｏｆｆと相関関係がある所与の位置における変異アミノ酸を同定することができる。この情報を、構造モデリングと組み合わせることができる（例えば、ホモロジーモデリング、エネルギー最小化またはＸ線結晶学またはＮＭＲによる構造決定）。結果として、タンパク質とその標的との間の物理的相互作用に対する理解を定式化し、他の設計プロセスを導くために使用することができる。

【０１３８】

他の態様において、本開示は、ＩＬ－１３と結合することができる抗体を選択し、１つまたはそれ以上のＩＬ－１３関連活性を中和および／または阻害する方法を提供する。この方法は、ａ）複数の抗体または抗原結合性フラグメントをＩＬ－１３と接触させること；ｂ）ＩＬ－１３と結合する抗体または抗原結合性フラグメントを選択すること；ｃ）ＩＬ－１３がＩＬ－１３受容体と結合するのを妨げる選択した抗体または抗原結合性フラグメントの能力を試験すること；およびｄ）ＩＬ－１３がその受容体と結合するのを妨げることができる１つまたはそれ以上の抗体または抗原結合性フラグメントを選択することを含む。望ましい場合、１つまたはそれ以上の抗体をさらに修飾することができる。１つまたはそれ以上のそのような抗体を、例えば、医薬組成物として調剤することができる。

【０１３９】

本明細書に開示されている抗ＩＬ－１３抗体は、上清、細胞ライセート中で、または細

胞表面上でＩＬ－１３を単離、精製および／または検出するのにも有用である。本明細書に開示されている抗体を診断的に使用し、臨床試験手順の一部としてＩＬ－１３タンパク質レベルをモニターすることができる。さらに、本明細書に開示されている抗体を、１つまたはそれ以上のＩＬ－１３関連活性の中和および／または阻害を必要とする治療、例えば、アレルギー性または非アレルギー性喘息および関連病変において使用することができる。また、本開示は、ヒトＩＬ－１３を対象とする新規な抗体に関連する新規な単離および精製ポリヌクレオチドおよびポリペプチドを提供する。本明細書に開示されている遺伝子、ポリヌクレオチド、タンパク質およびポリペプチドには、ＩＬ－１３に対するマウス抗体（ｍＡｂ１３．２）およびその変異体が含まれるが、これらに限定されるものではない。

【０１４０】

抗ＩＬ－１３抗体ポリヌクレオチドおよびポリペプチド

例えば、本開示は、１つまたはそれ以上のＩＬ－１３関連活性を変調する（例えば、ＩＬ－１３生物活性を中和する）、ＩＬ－１３に対するマウス抗体（ｍＡｂ１３．２）、ｍＡｂ１３．２のキメラバージョン（ｃｈ１３．２）、ｍＡｂ１３．２の部分ヒト化バージョン（ｈ１３．２ｖ１）およびｍＡｂ１３．２の２つの完全ヒト化バージョン（ｈ１３．２ｖ２およびｈ１３．２ｖ３）の可変領域をコードする精製および単離ポリヌクレオチドを提供する。

【０１４１】

ヌクレオチド配列には、ｍＡｂ１３．２、ｃｈ１３．２、ｈ１３．２ｖ１、ｈ１３．２ｖ２およびｈ１３．２ｖ３の軽鎖可変領域をコードし、それぞれ配列番号１、配列番号２、配列番号３、配列番号４および配列番号３３に示される配列が含まれてよい。また、ヌクレオチド配列には、ｍＡｂ１３．２、ｃｈ１３．２、ｈ１３．２ｖ１、ｈ１３．２ｖ２およびｈ１３．３ｖ３の重鎖可変領域をコードし、それぞれ配列番号５、配列番号６、配列番号７、配列番号８および配列番号３４に示される配列が含まれてよい。また、ポリヌクレオチドには、配列番号１～８、３３および３４に示される配列のいずれか、またはそれらの相補体と厳密な条件下でハイブリダイズし、かつ／またはこれらの配列によりコードされる可変領域の実質的生物学的活性を保持するポリペプチド（すなわち、活性フラグメント）をコードするポリヌクレオチドが含まれてよい。また、ポリヌクレオチドには、少なくとも２１個の連続したヌクレオチドを含む配列番号１～８、３３および３４に示される配列のいずれかのうちの連続部分が含まれてよい。表２は、いくつかの例示的ポリヌクレオチドのヌクレオチド配列についての配列番号を要約している。

【０１４２】

表２：本発明のポリヌクレオチドの配列同定番号（配列番号）

【表２】

	mAB13.2	**ch13.2**	**h13.2v1**	**h13.2v2**	**h13.2v3**
VL領域	配列番号**1**	配列番号**2**	配列番号**3**	配列番号**4**	配列番号**33**
VH領域	配列番号**5**	配列番号**6**	配列番号**7**	配列番号**8**	配列番号**34**

【０１４３】

ｍＡｂ１３．２、ｃｈ１３．２、ｈ１３．２ｖ１、ｈ１３．２ｖ２およびｈ１３．２ｖ３の軽鎖可変領域のアミノ酸配列を、それぞれ配列番号、９、１０、１１、１２および３５に示す。ｍＡｂ１３．２、ｃｈ１３．２、ｈ１３．２ｖ１、ｈ１３．２ｖ２およびｈ１３．２ｖ３の重鎖可変領域のアミノ酸配列を、それぞれ配列番号、１３、１４、１５、１６および３６に示す。本明細書に開示されているポリペプチドには、少なくとも４個の連続するアミノ酸を含み、これらの可変領域の実質的な生物学的活性を保持する（すなわち、活性フラグメント）配列番号９～１６、３５および３６に示される配列のいずれかのう

ちの連続部分も含まれる。本出願のポリペプチドには、５～７個のアミノ酸を含む配列番号９～１６、３５および３６に示される配列のいずれかのうちの連続部分が含まれることが好ましい。本出願のより好ましいポリペプチドには、それぞれｍＡｂ１３．２、ｃｈ１３．２、ｈ１３．２ｖ１、ｈ１３．２ｖ２およびｈ１３．２ｖ３の実質的な生物学的活性を保持する配列番号９および１３、配列番号１０および１４、配列番号１１および１５、配列番号１２および１６、ならびに配列番号３５および３６に示される配列のいずれかのうちの任意の連続部分が含まれる。本明細書に開示されているポリヌクレオチドには、上記に記載されているポリヌクレオチドの他に、配列番号９～１６、３５および３６に示されるアミノ酸配列のいずれか、またはそれらの連続部分をコードし、遺伝コードのよく知られている縮重のためだけで上記に記載されているポリヌクレオチドと異なるポリヌクレオチドも含まれる。表３は、本明細書に開示されているポリペプチドのいくつかのアミノ酸配列についての配列番号を要約している。例えば、表３は、抗体ｍＡｂ１３．２、ｃｈ１３．２、ｈ１３．２ｖ１、ｈ１３．２ｖ２およびｈ１３．２ｖ３の可変軽鎖（ＶＬ）、可変重鎖（ＶＨ）、定常重鎖（ＣＨ）、定常軽鎖（ＣＬ）、可変軽鎖のＣＤＲ１（Ｌ１）、可変軽鎖のＣＤＲ２（Ｌ２）、可変軽鎖のＣＤＲ３（Ｌ３）、可変重鎖のＣＤＲ１（Ｈ１）、可変重鎖のＣＤＲ２（Ｈ２）および可変重鎖のＣＤＲ３（Ｈ３）のアミノ酸配列についての配列番号を要約している。

【０１４４】

表３：例示的ポリペプチドの配列ＩＤ番号（配列番号）

【表３】

	mAb13.2	ch13.2	h13.2v1	h13.2v2	h13.2v3
VL	配列番号9	配列番号10	配列番号11	配列番号12	配列番号35
VH	配列番号13	配列番号14	配列番号15	配列番号16	配列番号36
CH		配列番号17	配列番号17	配列番号17	配列番号17
CL		配列番号18	配列番号18	配列番号18	配列番号18
L1	配列番号19	配列番号19	配列番号19	配列番号19	配列番号19
L2	配列番号20	配列番号20	配列番号20	配列番号20	配列番号20
L3	配列番号21	配列番号21	配列番号21	配列番号21	配列番号21
H1	配列番号22	配列番号22	配列番号22	配列番号22	配列番号22
H2	配列番号23	配列番号23	配列番号23	配列番号23	配列番号23
H3	配列番号24	配列番号24	配列番号24	配列番号24	配列番号24

【０１４５】

本明細書に開示されている単離ポリヌクレオチドは、開示されているポリヌクレオチドをコードする配列と一致するか、あるいは類似した配列を有する核酸を同定および単離するためのハイブリダイゼーションプローブおよびプライマーとして使用することができる。核酸を同定および単離するためのハイブリダイゼーション方法には、ポリメラーゼ連鎖反応（ＰＣＲ）、サザンハイブリダイゼーション、ｉｎ　ｓｉｔｕハイブリダイゼーションおよびノーザンハイブリダイゼーションが含まれ、当業者にはよく知られている。

【０１４６】

ハイブリダイゼーション反応は、異なる厳密性の条件下で行うことができる。ハイブリダイゼーション反応の厳密性には、任意の２つの核酸分子がお互いとハイブリダイズする困難さが含まれる。各々のハイブリダイズするポリヌクレオチドは、厳密性の低い条件、より好ましくは厳密な条件、最も好ましくは極めて厳密な条件下で、その対応するポリヌクレオチドとハイブリダイズすることが好ましい。厳密性条件の例を以下の図４に示す。極めて厳密な条件は、少なくとも、例えば、条件Ａ～Ｆのように厳密であり、厳密な条件は、少なくとも、例えば、条件Ｇ～Ｌのように厳密であり、厳密性の低い条件は、少なくとも、例えば、条件Ｍ～Ｒのように厳密である。

【０１４７】

表４

【表４】

厳密性条件	ポリヌクレオチドハイブリッド	ハイブリッド長(bp)[1]	ハイブリダイゼーション温度および緩衝液[2]	洗浄温度および緩衝液[2]
A	DNA:DNA	>50	65° C; 1X SSCまたは 42° C; 1X SSC,50% ホルムアミド	65° C; 0.3X SSC
B	DNA:DNA	<50	T_B*; 1X SSC	T_B*; 1X SSC
C	DNA:RNA	>50	67° C; 1X SSCまたは 45° C; 1X SSC,50% ホルムアミド	67° C; 0.3X SSC
D	DNA:RNA	<50	T_D*; 1X SSC	T_D*; 1X SSC
E	RNA:RNA	>50	70° C; 1X SSCまたは 50° C; 1X SSC,50% ホルムアミド	70° C; 0.3X SSC
F	RNA:RNA	<50	T_F*; 1X SSC	T_F*; 1X SSC
G	DNA:DNA	>50	65° C; 4X SSCまたは 42° C; 4X SSC,50% ホルムアミド	65° C; 1X SSC
H	DNA:DNA	<50	T_H*; 4X SSC	T_H*; 4X SSC
I	DNA:RNA	>50	67° C; 4X SSCまたは 45° C; 4X SSC,50% ホルムアミド	67° C; 1X SSC
J	DNA:RNA	<50	T_J*; 4X SSC	T_J*; 4X SSC

【表５】

厳密性条件	ポリヌクレオチドハイブリッド	ハイブリッド長(bp)[1]	ハイブリダイゼーション温度および緩衝液[2]	洗浄温度および緩衝液[2]
K	RNA:RNA	>50	70° C; 4X SSCまたは 50° C; 4X SSC,50%ホルムアミド	67° C; 1X SSC
L	RNA:RNA	<50	T_L*; 2X SSC	T_L*; 2X SSC
M	DNA:DNA	>50	50° C; 4X SSCまたは 40° C; 6X SSC,50%ホルムアミド	50° C; 2X SSC
N	DNA:DNA	<50	T_N*; 6X SSC	T_N*; 6X SSC
O	DNA:RNA	>50	55° C; 4X SSCまたは 42° C; 6X SSC,50%ホルムアミド	55° C; 2X SSC
P	DNA:RNA	<50	T_P*; 6X SSC	T_P*; 6X SSC
Q	RNA:RNA	>50	60° C; 4X SSCまたは 45° C; 6X SSC,50%ホルムアミド	60° C; 2X SSC
R	RNA:RNA	<50	T_R*; 4X SSC	T_R*; 4X SSC

[1] ハイブリッド長は、ハイブリダイズするポリヌクレオチドの１つまたはそれ以上のハイブリダイズした領域について予想される長さである。あるポリヌクレオチドを未知の配列の標的ポリヌクレオチドとハイブリダイズする場合、ハイブリッド長は、ハイブリダイズするポリヌクレオチドの長さであると考えられる。既知の配列のポリヌクレオチドがハイブリダイズされる場合、ハイブリッド長は、ポリヌクレオチドの配列をアラインメントし、最適な配列相補性の１つまたはそれ以上の領域を同定することにより決定することができる。

[2] ＳＳＰＥ（１×ＳＳＰＥは、０．１５Ｍ ＮａＣｌ、１０ｍＭ NaH_2PO_4および１．２５ｍＭ ＥＤＴＡ、ｐＨ ７．４である）は、ハイブリダイゼーション緩衝液および洗浄緩衝液においてＳＳＣ（１×ＳＳＣは、０．１５Ｍ ＮａＣｌおよび１５ｍＭクエン酸ナトリウムである）の代用にすることができる；洗浄は、ハイブリダイゼーション終了後１５分間行われる。

T_B*－T_R*：長さが５０塩基対未満であると予想されるハイブリッドについてのハイブリダイゼーション温度は、ハイブリッドの融解温度（T_m）よりも５～１０℃低くなければならず、T_mは、下式に従って決定される。長さが１８塩基対未満のハイブリッドについては、T_m（℃）＝２（Ａ＋Ｔ塩基の数）＋４（Ｇ＋Ｃ塩基の数）。長さが１８～４９塩基対のハイブリッドについては、T_m（℃）＝８１．５＋１６．６（$\log_{10}Na^+$）＋０．４１（％Ｇ＋Ｃ）－（６００／Ｎ）であり、ここで、Ｎは、ハイブリッド中の塩基数であり、Na^+は、ハイブリダイゼーション緩衝液中のナトリウムイオンの濃度である（１×ＳＳＣのNa^+＝０．１６５Ｍ）。

ポリヌクレオチドハイブリダイゼーションについての厳密性条件の追加例は、参照により本明細書に組み込まれているＳａｍｂｒｏｏｋ他、Ｍｏｌｅｃｕｌａｒ Ｃｌｏｎｉｎｇ：Ａ Ｌａｂｏｒａｔｏｒｙ Ｍａｎｕａｌ、Ｃｈｓ．９＆１１、Ｃｏｌｄ Ｓｐｒｉｎｇ Ｈａｒｂｏｒ Ｌａｂｏｒａｔｏｒｙ Ｐｒｅｓｓ、Ｃｏｌｄ Ｓｐｒｉｎｇ Ｈ

ａｒｂｏｒ、ＮＹ（１９８９）およびＡｕｓｕｂｅｌ他、編、Ｃｕｒｒｅｎｔ Ｐｒｏｔｏｃｏｌｓ ｉｎ Ｍｏｌｅｃｕｌａｒ Ｂｉｏｌｏｇｙ、Ｓｅｃｔｓ．２．１０＆６．３－６．４、Ｊｏｈｎ Ｗｉｌｅｙ ＆ Ｓｏｎｓ，Ｉｎｃ．（１９９５）に提供されている。

【０１４８】

本明細書に開示されている単離ポリヌクレオチドは、開示されているポリヌクレオチドの対立遺伝子変異体をコードする配列を有するＤＮＡを同定および単離するためのハイブリダイゼーションプローブおよびプライマーとして使用することができる。対立遺伝子変異体は、開示されているポリヌクレオチドによりコードされるポリペプチドと一致するか、あるいは有意な類似性を有するポリペプチドをコードする、開示されているポリヌクレオチドの天然に存在する代替形態である。対立遺伝子変異体は、開示されているポリヌクレオチドと少なくとも９０％の配列同一性（より好ましくは、少なくとも９５％の同一性；最も好ましくは、少なくとも９９％の同一性）を有することが好ましい。

【０１４９】

また、本明細書に開示されている単離ポリヌクレオチドは、開示されているポリヌクレオチドと相同なポリペプチドをコードする配列を有するＤＮＡを同定および単離するためのハイブリダイゼーションプローブおよびプライマーとして使用することができる。これらの相同体は、開示されているポリペプチドおよびポリヌクレオチドの種とは異なる種から、または同じ種内から単離されるが、開示されているポリヌクレオチドおよびポリペプチドと有意な配列類似性を持つポリヌクレオチドおよびポリペプチドである。ポリヌクレオチド相同体は、開示されているポリヌクレオチドの少なくとも５０％、７０％、７５％、８０％、８５％、８７％、８９％、９０％、９１％、９２％、９３％、９４％、９５％、９６％、９７％、９８％または９９％配列を有することが好ましい。

【０１５０】

また、本明細書に開示されている単離ポリヌクレオチドは、抗体を発現する細胞および組織ならびに抗体が発現される条件を同定するためのハイブリダイゼーションプローブおよびプライマーとして使用することができる。

【０１５１】

本明細書に開示されている単離ポリヌクレオチドは、本明細書に記載されているポリペプチドの組換え産生のための発現制御配列と動作可能に連結することができる。ポリヌクレオチドは、定常領域、例えば、様々な抗体アイソタイプのうちの１つの定常領域をコードするヌクレオチド配列と動作可能に連結することができる。例えば、本明細書に開示されている軽鎖可変領域をコードするポリヌクレオチド（例えば、配列番号１～４および３３に示されるポリヌクレオチドのうちのいずれか１個）を、κ軽鎖（例えば、配列番号１８に示されるような）かλ軽鎖のどちらかの定常領域をコードするヌクレオチド配列（またはその誘導体）と、連結されたヌクレオチドの発現が、ＩＬ－１３と特異的に結合し、機能性ＩＬ－１３シグナル伝達複合体の形成を妨害し、１つまたはそれ以上のＩＬ－１３関連活性を中和するように動作可能に連結することができる。同様に、本明細書に開示されている重鎖可変領域をコードするポリヌクレオチド（例えば、配列番号５～８および３４に示されるポリヌクレオチドのうちのいずれか）を、重鎖アイソタイプ、例えば、ＩｇＭ、ＩｇＤ、ＩｇＥ、ＩｇＧおよびＩｇＡの定常領域をコードするヌクレオチド配列（またはその誘導体）と動作可能に連結することができる。組換えタンパク質を発現する一般的方法は、当技術分野においてよく知られている。そのような組換えタンパク質は、ＩＬ－１３仲介性シグナル伝達に起因する障害（例えば、アレルギー性または非アレルギー性喘息）の治療において使用するために可溶形態で発現することができる。

【０１５２】

本明細書に開示されている組換え発現ベクターは、宿主細胞においてベクターの複製を調節する配列（例えば、複製起点）および選択可能なマーカー遺伝子などの追加配列を運ぶことができる。選択可能なマーカー遺伝子は、ベクターが導入された宿主細胞の選択を容易にする（例えば、米国特許第４，３９９，２１６号、第４，６３４，６６５号および

第５，１７９，０１７号を参照）。例えば、通常、選択可能なマーカー遺伝子は、ベクターが導入された宿主細胞上で、Ｇ４１８、ハイグロマイシンまたはメトトレキセートなどの薬物に対する耐性を付与する。好ましい選択可能なマーカー遺伝子には、ジヒドロ葉酸レダクターゼ（ＤＨＦＲ）遺伝子（メトトレキセート選択／増幅によりｄｈｆｒ－宿主細胞において使用するため）およびｎｅｏ遺伝子（Ｇ４１８選択のため）が含まれる。

【０１５３】

多くの細胞系は、組換え体発現に適している宿主細胞である。哺乳類宿主細胞系には、例えば、ＣＯＳ細胞、ＣＨＯ細胞、２９３Ｔ細胞、Ａ４３１細胞、３Ｔ３細胞、ＣＶ－１細胞、ＨｅＬａ細胞、Ｌ細胞、ＢＨＫ２１細胞、ＨＬ－６０細胞、Ｕ９３７細胞、ＨａＫ細胞、ジャーカット細胞、ならびに一次組織および初代移植片のインビトロ培養液に由来する細胞株が含まれる。

【０１５４】

あるいは、酵母などの下等真核生物（例えば、サッカロミセス（Ｓａｃｃｈａｒｏｍｙｃｅｓ）、ピキア（Ｐｉｃｈｉａ）、クルイベロミセス（Ｋｌｕｙｖｅｒｏｍｙｃｅｓ）菌株およびカンジダ（Ｃａｎｄｉｄａ）菌株）または原核生物（例えば、大腸菌（Ｅｓｃｈｅｒｉｃｈｉａ　ｃｏｌｉ）、枯草菌（Ｂａｃｉｌｌｕｓ　ｓｕｂｔｉｌｉｓ）およびサルモネラ菌（Ｓａｌｍｏｎｅｌｌａ　ｔｙｐｈｉｍｕｒｉｕｍ））においてポリペプチドを組換え的に産生することが可能なことがある。酵母または細菌で作られたポリペプチドを修飾することができる。例えば、適切な部位のグリコシル化。

【０１５５】

また、ポリペプチドを、動物細胞、例えば、昆虫または哺乳類細胞において製造することができる。例えば、ポリペプチドをコードする配列を、バキュロウイルスベクターなどの昆虫発現ベクター中に挿入し、昆虫細胞発現系（例えば、ＭＡＸＢＡＣ（登録商標）キット、Ｉｎｖｉｔｒｏｇｅｎ、Ｃａｒｌｓｂａｄ、ＣＡ）において使用することができる。

【０１５６】

次いで、本明細書に開示されているポリペプチドを、ゲル濾過およびイオン交換クロマトグラフィーなどの知られている精製プロセスを用いて培養培地または細胞抽出物から精製することができる。また、精製には、本明細書に開示されているポリペプチドと結合することが知られている物質による親和性クロマトグラフィーが含まれてよい。

【０１５７】

あるいは、本明細書に開示されているポリペプチドを、精製を容易にする形態で組換え的に発現させることができる。例えば、ポリペプチドを、マルトース結合性タンパク質（ＭＢＰ）、グルタチオン－Ｓ－トランスフェラーゼ（ＧＳＴ）、もしくはチオレドキシン（ＴＲＸ）などのタンパク質との融合物として、またはヘキサ－ヒスチジン、ペンタ－ヒスチジン、または小さなエピトープタグ、例えば、ＦＬＡＧエピトープとの融合物として発現させることができる。

【０１５８】

また、本明細書に開示されているポリペプチドは、開示されているポリペプチドと構造的に異なるが（例えば、わずかに改変された配列を有する）、開示されているポリペプチドと実質的に同一の生化学的特性を有する（例えば、機能的に非必須なアミノ酸残基においてのみ改変されている）分子を包含する。そのような分子には、改変、置換、置き換え、挿入または欠失を含む天然に存在する対立遺伝子変異体および意図的に操作された変異体が含まれる。そのような改変、置換、交換、挿入または欠失のための技法は、当業者によく知られている。

【０１５９】

ＩＬ－１３結合性物質

抗体およびそれらのフラグメントである結合性物質以外の、ＩＬ－１３と結合する結合性物質、特に、ＩＬ－１３との結合についてｍＡｂ１３．２および本明細書に記載されている他の抗体と競合する結合性物質も提供される。例えば、それらの結合性物質は、ＩＬ

－１３上でｍＡｂ１３．２と同一のエピトープまたは重複するエピトープと結合することができる。結合性物質は、ＩＬ－１３活性を阻害または中和することが好ましい。例えば、結合性物質は、ＩＬ－１３のＩＬ－４Ｒαとの結合を阻害し、例えば、ＩＬ－１３のＩＬ－１３Ｒα１との結合を妨げない。そのような結合性物質は、本明細書に記載されている方法、例えば、障害を治療および予防する方法において使用することができる。本明細書に記載されているすべての実施形態は、ＩＬ－１３結合性物質との使用に適合させることができる。

【０１６０】

結合性物質は、本明細書に記載されている可変ドメインを修飾すること、または本明細書に記載されている可変ドメインのうちの１つまたはそれ以上のＣＤＲを別の骨格上に移植することが含まれる多くの手段により同定することができる。また、結合性物質は、例えば、スクリーニングにより、多様なライブラリーから同定することができる。タンパク質ライブラリーをスクリーニングするための一方法は、ファージディスプレーを用いる。タンパク質の特定の領域を改変し、ＩＬ－１３と相互作用するタンパク質を、例えば、固体支持体上の保持により、または他の物理的会合により同定する。ＩＬ－１３上でｍＡｂ１３．２と同一のエピトープまたは重複するエピトープと結合する特定の結合性物質を同定するため、結合性物質を、ｍＡｂ１３．２（または、関連抗体）を添加することにより溶出するか、あるいは、結合性物質を、ｍＡｂ１３．２（または、関連抗体）との競合実験で評価することができる。また、ライブラリーを、ＩＬ－１３およびｍＡｂ１３．２（または、関連抗体）を含む複合体と接触させることにより、他のエピトープと結合する物質のライブラリーを減少させることが可能である。次いで、わずかになったライブラリーを、ＩＬ－１３と接触させ、ＩＬ－１３と結合するが、ｍＡｂ１３．２と結合している場合にはＩＬ－１３と結合しない結合性物質を得ることができる。また、標的としてｍＡｂ１３．２エピトープを含むＩＬ－１３由来のペプチドを使用することが可能である。

【０１６１】

ファージディスプレーについては、例えば、米国特許第５，２２３，４０９号；Ｓｍｉｔｈ（１９８５）Ｓｃｉｅｎｃｅ ２２８：１３１５－１３１７；ＷＯ９２／１８６１９；ＷＯ９１／１７２７１；ＷＯ９２／２０７９１；ＷＯ９２／１５６７９；ＷＯ９３／０１２８８；ＷＯ９２／０１０４７；ＷＯ９２／０９６９０；ＷＯ９０／０２８０９；ＷＯ９４／０５７８１；Ｆｕｃｈｓ他（１９９１）Ｂｉｏ／Ｔｅｃｈｎｏｌｏｇｙ ９：１３７０－１３７２；Ｈａｙ他（１９９２）Ｈｕｍ Ａｎｔｉｂｏｄ Ｈｙｂｒｉｄｏｍａｓ ３：８１－８５；Ｈｕｓｅ他（１９８９）Ｓｃｉｅｎｃｅ ２４６：１２７５－１２８１；Ｇｒｉｆｆｉｔｈｓ他（１９９３）ＥＭＢＯ Ｊ １２：７２５－７３４；Ｈａｗｋｉｎｓ他（１９９２）Ｊ Ｍｏｌ Ｂｉｏｌ ２２６：８８９－８９６；Ｃｌａｃｋｓｏｎ他（１９９１）Ｎａｔｕｒｅ ３５２：６２４－６２８；Ｇｒａｍ他（１９９２）ＰＮＡＳ ８９：３５７６－３５８０；Ｇａｒｒａｒｄ他（１９９１）Ｂｉｏ／Ｔｅｃｈｎｏｌｏｇｙ ９：１３７３－１３７７；Ｒｅｂａｒ他（１９９６）Ｍｅｔｈｏｄｓ Ｅｎｚｙｍｏｌ．２６７：１２９－４９；およびＢａｒｂａｓ他（１９９１）ＰＮＡＳ ８８：７９７８－７９８２に記載されている。酵母表面ディスプレーについては、例えば、ＢｏｄｅｒおよびＷｉｔｔｒｕｐ（１９９７）Ｎａｔ．Ｂｉｏｔｅｃｈｎｏｌ．１５：５５３－５５７に記載されている。ディスプレーの別の形態は、リボソームディスプレーである。例えば、Ｍａｔｔｈｅａｋｉｓ他（１９９４）Ｐｒｏｃ．Ｎａｔｌ．Ａｃａｄ．Ｓｃｉ．ＵＳＡ ９１：９０２２およびＨａｎｅｓ他（２０００）Ｎａｔ Ｂｉｏｔｅｃｈｎｏｌ．１８：１２８７－９２；Ｈａｎｅｓ他（２０００）Ｍｅｔｈｏｄｓ Ｅｎｚｙｍｏｌ．３２８：４０４－３０．およびＳｃｈａｆｆｉｔｚｅｌ他（１９９９）Ｊ Ｉｍｍｕｎｏｌ Ｍｅｔｈｏｄｓ．２３１（１－２）：１１９－３５を参照されたい。

【０１６２】

ＩＬ－１３と結合する結合性物質は、１つの骨格タンパク質の構造的特徴、例えば、折り畳みドメインを有することがある。ある抗体に基づいた例示的骨格ドメインは、モノクローナル抗体の重鎖可変ドメインから３個のβ鎖を除去することにより設計された「ミニ

ボディー」骨格である（Ｔｒａｍｏｎｔａｎｏ他、１９９４、Ｊ．Ｍｏｌ．Ｒｅｃｏｇｎｉｔ．７：９；およびＭａｒｔｉｎ他、１９９４、Ｔｈｅ ＥＭＢＯ Ｊｏｕｒｎａｌ １３、ｐｐ．５３０３－５３０９）。このドメインには、６１個の残基が含まれ、このドメインを用いて、２個の超可変ループ、例えば、本明細書に記載されている可変ドメインまたは本明細書に記載されている変異体の１つまたはそれ以上の超可変ループを提供することができる。別のアプローチにおいて、結合性物質には、Ｖ様ドメインである骨格ドメインが含まれる（Ｃｏｉａ他 ＷＯ９９／４５１１０）。Ｖ様ドメインは、抗体の可変重（ＶＨ）または可変軽（ＶＬ）ドメインと類似した構造的特徴を有するドメインを指す。別の骨格ドメインは、２個のジスルフィド結合によりつなぎ合わされている７４個の残基の６鎖βシートサンドイッチのテンダミスタチン（ｔｅｎｄａｍｉｓｔａｔｉｎ）に由来する（ＭｃＣｏｎｎｅｌｌおよびＨｏｅｓｓ、１９９５、Ｊ．Ｍｏｌ．Ｂｉｏｌ．２５０：４６０）。この親タンパク質には３つのループが含まれる。これらのループを修飾（例えば、本明細書に記載されているＣＤＲまたは超可変ループを用い）または改変し、例えば、ＩＬ－１３と結合するドメインを選択することができる。ＷＯ００／６００７０は、天然に存在するＣＴＬＡ－４の細胞外ドメインに由来するβサンドイッチ構造について記載しており、骨格として使用している。

【０１６３】

ＩＬ－１３結合性物質のためのさらに別の骨格ドメインは、フィブロネクチンＤＩＩＩ型メインまたは関連するフィブロネクチン様タンパク質に基づくドメインである。フィブロネクチンＩＩＩ型（Ｆｎ３）ドメインの全体的な折り畳みは、最小の機能的抗体フラグメントである抗体重鎖の可変領域の全体的な全折り畳みと密接に関連している。Ｆｎ３は、Ｆｎ３が、９個ではなく７個のβ鎖を有していることを除いては、抗体ＶＨドメインのβサンドイッチと類似したβサンドイッチである。Ｆｎ３の末端には３つのループがあり、ＢＣ、ＤＥおよびＦＧループの位置は、抗体のＶＨドメインのＣＤＲ１、２および３の位置にほぼ対応している。Ｆｎ３が有利なのは、ジスルフィド結合を有していないためである。したがって、Ｆｎ３は、抗体およびそれらのフラグメントと異なり、還元条件下で安定である（ＷＯ９８／５６９１５；ＷＯ０１／６４９４２；ＷＯ００／３４７８４を参照）。Ｆｎ３ドメインを、修飾（例えば、本明細書に記載されているＣＤＲまたは超可変ループを用い）または改変し、例えば、ＩＬ－１３と結合するドメインを選択することができる。

【０１６４】

さらに他の例示的骨格ドメインには、Ｔ細胞受容体；ＭＨＣタンパク質；細胞外ドメイン（例えば、フィブロネクチンＩＩＩ型リピート、ＥＧＦリピート）；プロテアーゼ阻害剤（例えば、クニッツドメイン、エコチン（ｅｃｏｔｉｎ）、ＢＰＴＩなど）；ＴＰＲリピート；トレフォイル構造；亜鉛フィンガードメイン；ＤＮＡ結合性タンパク質；特に、単量体ＤＮＡ結合性タンパク質；ＲＮＡ結合性タンパク質；酵素、例えば、プロテアーゼ（特に、不活性化プロテアーゼ）、ＲＮＡ分解酵素；シャペロン、例えば、チオレドキシンおよび熱ショックタンパク質；および細胞内シグナル伝達ドメイン（ＳＨ２およびＳＨ３ドメインなど）が含まれる。ＵＳ２００４０００９５３０は、いくつかの代替骨格の例について記載している。

【０１６５】

小さな骨格ドメインの例には、クニッツドメイン（５８個のアミノ酸、３個のジスルフィド結合）、セイヨウカボチャ（Ｃｕｃｕｒｂｉｄａ ｍａｘｉｍａ）トリプシン阻害剤ドメイン（３１個のアミノ酸、３個のジスルフィド結合）、グアニリンに関連するドメイン（１４個のアミノ酸、２個のジスルフィド結合）、グラム陰性菌由来の耐熱性エンテロトキシンＩＡに関連するドメイン（１８個のアミノ酸、３個のジスルフィド結合）、ＥＧＦドメイン（５０個のアミノ酸、３個のジスルフィド結合）、クリングルドメイン（６０個のアミノ酸、３個のジスルフィド結合）、真菌の炭水化物結合ドメイン（３５個のアミノ酸、２個のジスルフィド結合）、エンドセリンドメイン（１８個のアミノ酸、２個のジスルフィド結合）および連鎖球菌Ｇ ＩｇＧ結合ドメイン（３５個のアミノ酸、ジスルフ

ィド結合なし）が含まれる。小さな細胞内骨格ドメインの例には、ＳＨ２、ＳＨ３およびＥＶＨドメインが含まれる。
一般に、細胞内または細胞外の任意のモジュラードメインを使用することができる。
【０１６６】
骨格ドメインを評価するための例示的基準には、（１）アミノ酸配列、（２）いくつかの相同ドメインの配列、（３）三次元構造および／または（４）一連のｐＨ、温度、塩分、有機溶媒、酸化剤濃度にわたる安定性データが含まれてよい。一実施形態において、骨格ドメインは、小さく安定なタンパク質ドメイン、例えば、１００、７０、５０、４０または３０個未満のアミノ酸のタンパク質である。ドメインには、１つまたはそれ以上のジスルフィド結合が含まれるか、あるいは、金属、例えば、亜鉛をキレートすることがある。
【０１６７】
さらに他の結合性物質は、ペプチド、例えば、３０、２５、２４、２０、１８、１５または１２個未満のアミノ酸であるアミノ酸配列のタンパク質に基づく。ペプチドを、より大きなタンパク質、通常は、ＩＬ－１３、例えば、本明細書に記載されているエピトープと独立して結合することができる領域に組み入れることができる。ペプチドを、ファージディスプレーにより同定することができる。
【０１６８】
ＩＬ－１３結合性物質には、非ペプチド結合および他の化学修飾が含まれてよい。例えば、結合性物質の一部またはすべてを、ペプチドミメティック、例えば、ペプトイドとして合成することができる（例えば、Ｓｉｍｏｎ他（１９９２）Ｐｒｏｃ．Ｎａｔｌ．Ａｃａｄ．Ｓｃｉ．ＵＳＡ ８９：９３６７－７１およびＨｏｒｗｅｌｌ（１９９５）Ｔｒｅｎｄｓ Ｂｉｏｔｅｃｈｎｏｌ．１３：１３２－４を参照）。結合性物質には、１つまたはそれ以上の（例えば、すべてが）非加水分解性の結合が含まれてよい。多くの非加水分解性ペプチド結合は、そのような結合を含むペプチドを合成するための手順と共に、当技術分野において知られている。例示的非加水分解性結合には、－－［CH_2NH］－－還元型アミドペプチド結合、－－［$COCH_2$］－－ケトメチレンペプチド結合、－－［ＣＨ（ＣＮ）ＮＨ］－－（シアノメチレン）アミノペプチド結合、－－［CH_2CH（ＯＨ）］－－ヒドロキシエチレンペプチド結合、－－［CH_2O］－－ペプチド結合および－－［CH_2S］－－チオメチレンペプチド結合が含まれる（米国特許第６，１７２，０４３号を参照）。
【０１６９】
医薬組成物、用量および投与方法
抗ＩＬ－１３抗体（または、他のＩＬ－１３結合性物質）は、例えば、薬学的に許容できる担体との組合せにより、医薬組成物中に組み入れることができる。また、そのような組成物は、例えば、様々な希釈剤、充填剤、塩、緩衝液、安定剤、可溶化剤および当技術分野においてよく知られている他の材料を含有することができる。用語「薬学的に許容できる」は、１つまたはそれ以上の活性成分の生物学的活性の有効性を妨害しない非毒性材料を意味する。担体の特徴は、投与の経路によって異なることがある。
【０１７０】
また、医薬組成物は、以下でより詳細に記載されるような他の抗サイトカイン抗体または他の抗炎症薬などであるがこれらに限定されない他の要素を含有することができる。そのような追加の要素および／または物質を医薬組成物に含め、本明細書に記載されている抗体との相乗効果を生み出すことができる。例えば、アレルギー性喘息の治療において、医薬組成物には、例えば、抗ＩＬ－４抗体またはアレルギー反応を軽減することが知られている薬物も含まれてもよい。
【０１７１】
一実施形態において、医薬組成物には、唯一の生物製剤（例えば、唯一のタンパク質成分）として、または唯一の生物学的活性成分として抗ＩＬ－１３抗体が含まれる。例えば、組成物には、ｗ／ｗベースで２５、２０、１５、１０、５、３、２、１、０．４または

０．１％の他のタンパク質成分が含まれてよい。

【０１７２】

医薬組成物は、抗体が、他の薬学的に許容できる担体の他に、水溶液中でミセル、不溶性単層、液晶またはラメラ層として凝集した形態で存在する脂質などの両親媒性物質と組み合わされているリポソームの形態であってよい。リポソーム調剤に適している脂質には、モノグリセリド、ジグリセリド、スルファチド、リゾレシチン、リン脂質、サポニン、胆汁酸などが含まれるが、これらに限定されるものではない。そのようなリポソーム調剤の調製は、例えば、米国特許第４，２３５，８７１号；第４，５０１，７２８号；第４，８３７，０２８号；および第４，７３７，３２３号に開示されているように、当業者のレベルの範囲内にあり、これらの特許はすべて、参照により本明細書に組み込まれるものとする。

【０１７３】

本明細書で使用する用語「治療有効量」は、意味のある患者の有益性、例えば、そのような状態の症状の改善、そのような状態の治癒またはそのような状態の治癒の速度増加を示すのに十分である医薬組成物または方法の各活性成分の総量を意味する。単独で投与される個々の活性成分に当てはめた場合、この用語は、その成分単独を指す。組合せに当てはめた場合、この用語は、組み合わせて、連続してまたは同時に投与されるか否かにかかわらず、治療効果をもたらす活性成分を合わせた量を指す。

【０１７４】

本明細書に記載されている例示的な治療方法または使用方法を実施するにあたり、ＩＬ－１３と結合し、機能性ＩＬ－１３シグナル伝達複合体の形成を妨害し（例えば、１つまたはそれ以上のＩＬ－１３関連活性を中和または阻害する）治療有効量の抗体を対象、例えば、哺乳類（例えば、ヒト）に投与することができる。抗体を、記載されている方法に従い、単独か、サイトカイン、リンホカインもしくは他の造血因子または抗炎症薬を用いる治療などの他の療法と組み合わせて投与することができる。１つまたはそれ以上の物質と同時投与する場合、抗体を、第二の物質と同時か、または別々に、例えば、順次に投与することができる。別々に、例えば、順次に投与する場合、主治医は、他の物質と組み合わせて抗体を投与する適切な順序を決めるものとする。

【０１７５】

医薬組成物（例えば、ＩＬ－１３と結合する抗体を含有する医薬組成物）の投与は、経口摂取、吸入または皮膚、皮下、もしくは静脈内注射などの様々な従来法で行うことができる。患者への皮下投与が好ましい。

【０１７６】

ＩＬ－１３と結合し、機能性ＩＬ－１３シグナル伝達複合体の形成を妨害する治療有効量の抗体を経口投与する場合、結合性物質は、錠剤、カプセル、粉末、溶液またはエリキシルの形態とする。錠剤形態で投与する場合、医薬組成物は、ゼラチンなどの固体担体または補助剤をさらに含有することができる。錠剤、カプセルおよび粉末は、約５～９５％の結合性物質、好ましくは約２５～９０％の結合性物質を含有する。液体形態で投与する場合、水、石油、ピーナッツ油、鉱油、ダイズ油、もしくはゴマ油などの動物もしくは植物起源の油または合成油を加えることができる。液体形態の医薬組成物は、生理的食塩水、ブドウ糖もしくは他のサッカリド溶液またはエチレングリコール、プロピレングリコールもしくはポリエチレングリコールなどのグリコールをさらに含有することができる。液体形態で投与する場合、医薬組成物は、約０．５～約９５重量％の結合性物質、好ましくは約１～５０％の結合性物質を含有する。

【０１７７】

ＩＬ－１３と結合する治療有効量の抗体を静脈内、皮膚または皮下注射により投与する場合、結合性物質は、パイロジェンフリーの非経口的に許容できる水溶液の形態とする。ｐＨ、等張性、安定性などを十分に顧慮し、そのような非経口的に許容できるタンパク質溶液の調製は、当業者の範囲内にある。静脈内、皮膚または皮下注射に好ましい医薬組成物は、結合性物質の他に、塩化ナトリウム注射液、リンゲル注射液、ブドウ糖注射液、ブ

ドウ糖および塩化ナトリウム注射液、乳酸リンゲル注射液または当技術分野において知られているような他のビヒクルを含有するべきである。また、医薬組成物は、安定剤、保存剤、緩衝液、抗酸化剤または当業者に知られている他の添加剤を含有することができる。

【０１７８】

医薬組成物における抗体（または、他のＩＬ－１３結合性物質）の量は、治療されている状態の性質および重症度および患者が受けた前治療の性質によって異なることがある。最終的に、主治医は、個々の患者を治療するための抗体の量を決定することとする。初めに、主治医は、低用量の抗体を投与し、患者の反応を観察することとする。患者に最適な治療効果が得られるまで、より高用量の抗体を投与することができ、その時点で、用量をさらに増加するのは一般的ではない。例えば、体重１ｋｇ当たり０．１～５０ｍｇ、０．５～５０ｍｇ、１～１００ｍｇ、０．５～２５ｍｇ、０．１～１５ｍｇまたは１～８ｍｇの範囲の用量を投与することができる。医薬組成物は、正常な患者または症状を示さない患者に、例えば、予防的方法で投与することができる。

【０１７９】

吸入

ＩＬ－１３抗体またはそのフラグメントが含まれる組成物は、吸入または肺デリバリーの他の方法のために調剤することができる。したがって、本明細書に記載されている化合物は、肺組織へ吸入により投与することができる。本明細書で使用する用語「肺組織」は、呼吸器管の任意の組織を指し、他に指示されている場所を除いて、上部呼吸器管と下部呼吸器管の両方が含まれる。ＩＬ－１３抗体またはそのフラグメントは、肺疾患を治療するための既存の方法のうちの１つまたはそれ以上と組み合わせて投与することができる。

【０１８０】

一例において、化合物は、ネブライザー用に調剤される。一実施形態において、化合物は、凍結乾燥形態（例えば、室温にて）で保存し、吸入に先立って溶液に再構成することができる。

【０１８１】

医療装置、例えば、インヘイラーを用いる吸入のために化合物を調剤することも可能である（例えば、米国特許第６，１０２，０３５号（粉末インヘイラー）および第６，０１２，４５４号（乾燥粉末インヘイラー）を参照）。インヘイラーには、保存に適しているｐＨの活性化合物用の区切られた区画および中和緩衝液用の別の区画、ならびにアトマイゼーションの直前に化合物を中和緩衝液と混ぜ合わせるための機構が含まれてよい。一実施形態において、インヘイラーは、定量インヘイラーである。

【０１８２】

薬物を局所的に肺気道に送達するのに使用される３つの一般的システムには、乾燥粉末インヘイラー（ＤＰＩ）、定量インヘイラー（ＭＤＩ）およびネブライザーが含まれる。吸入投与の最も人気のある方法において使用されるＭＤＩを用い、可溶化形態で、または分散液として薬物を送達することができる。通常、ＭＤＩは、装置の活性化によりエアゾール化した薬物を呼吸器官中に送り込むフレオンまたは他の比較的高い蒸気圧の噴射剤を含む。ＭＤＩと異なり、ＤＰＩは、通常、薬物を乾燥粉末形態で肺に導入するための患者の吸気努力に全面的に頼っている。ネブライザーは、液体溶液にエネルギーを付与することにより、吸入される薬物エアゾールを形成する。フッ素化学媒体を用いる液体換気または肺洗浄中の薬物の直接肺デリバリーも検討されている。これらおよび他の方法を用い、ＩＬ－１３抗体またはそのフラグメントを送達することができる。一実施形態において、ＩＬ－１３抗体またはそのフラグメントは、ポリマー、例えば、化合物の半減期を安定化または増加させるポリマーと結び付けられる。

【０１８３】

例えば、吸入による投与の場合、ＩＬ－１３抗体またはそのフラグメントは、適当な噴射剤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の形態で送達される。化合物は、乾燥粒子または液体の形態であってよい。化合物が含まれる粒子は、例えば、噴霧乾燥により、ＩＬ－１３抗体またはそのフラグメントの水溶液

を電荷中和剤と共に乾燥し、次いで乾燥粉末から粒子を作成することにより、または有機修飾剤中で水溶液を乾燥し、次いで乾燥粉末から粒子を作成することにより調製することができる。

【０１８４】

化合物は、適当な噴射剤、例えば、ジクロロジフルオロメタン、トリクロロフルオロメタン、ジクロロテトラフルオロエタン、二酸化炭素または他の適当なガスの使用により、加圧パックまたはネブライザーからのエアゾールスプレー提供の形態で好都合に送達することができる。加圧エアゾールの場合、用量単位は、一定量を送達するためのバルブを提供することにより決定することができる。粒子が、調剤された粒子である場合には、ＩＬ－１３抗体またはそのフラグメントとラクトースまたはデンプンなどの適当な粉末基剤の粉末ミックスを含有するインヘイラーまたはインサフレーターにおいて使用するためのカプセルおよびカートリッジを調剤することができる。調剤または非調剤化合物の他に、１００％ＤＰＰＣまたは他の界面活性物質などの他の材料を、ＩＬ－１３抗体またはそのフラグメントと混合し、調剤または非調剤化合物のデリバリーおよび分散を促進することができる。乾燥粒子を調製する方法については、例えば、ＰＣＴ公開ＷＯ０２／３２４０６に記載されている。

【０１８５】

ＩＬ－１３抗体またはそのフラグメントは、投与した場合、速やかに吸収され、速やかな局所的または全身的な治療結果を生み出すことができるように、エアゾールデリバリー用に、例えば、乾燥エアゾール粒子として調剤することができる。投与を調整し、投与から２分、５分、１時間または３時間以内に検出可能な活性を提供することができる。一部の実施形態において、ピーク活性は、さらに速く、例えば、３０分以内または１０分以内にさえ達成することができる。ＩＬ－１３抗体またはそのフラグメントは、より長い生物学的半減期のために調剤することができ（例えば、ＰＥＧなどのポリマーとの会合により）、例えば、化合物が肺から循環に入り、他の器官または特定の標的器官に分布されるように、他の投与方法の代用品として使用することができる。

【０１８６】

一実施形態において、ＩＬ－１３抗体またはそのフラグメントは、ポリペプチドの量の少なくとも５％が、下部呼吸器管または深部肺に送達されるような量で送達される。深部肺は、極めて豊富な毛細血管網を有する。毛細管腔を肺胞空域から分ける呼吸器膜は、極めて薄くかつ極めて透過性である。さらに、肺胞表面の内側を覆う液体層は、肺表面活性物質に富む。他の実施形態において、ＩＬ－１３抗体またはそのフラグメントの組成物の少なくとも、２％、３％、５％、１０％、２０％、３０％、４０％、５０％、６０％、７０％または８０％が、下部呼吸器管または深部肺に送達される。これらの組織のどちらか、または両方へのデリバリーは、化合物の十分な吸収および高いバイオアベイラビリティをもたらす。一実施形態において、化合物は、例えば、インヘイラーまたはネブライザーを用いて一定量で提供される。例えば、化合物は、１パフ当たり少なくとも約０．０２、０．１、０．５、１、１．５、２、５、１０、２０、４０または５０ｍｇ以上の用量単位形態で送達される。パーセントバイオアベイラビリティは、以下の通り、パーセントバイオアベイラビリティ＝（ＡＵＣ非侵襲的／ＡＵＣｉ．ｖ．またはｓ．ｃ．）×（投与量ｉ．ｖ．またはｓ．ｃ．／投与量非侵襲的）×１００で計算することができる。

【０１８７】

必要ではないにしても、界面活性物質などのデリバリーエンハンサーを用い、肺デリバリーをさらに増強することができる。本明細書で使用する「界面活性物質」は、２つの不混和相間の界面と相互作用することにより薬物の吸収を促進する親水性および疎水性部分を有する化合物を指す。界面活性物質は、いくつかの理由、例えば、粒子凝集の低下、マクロファージ食作用の低下などのため、乾燥粒子に有用である。肺界面活性物質と組み合わせる場合、化合物のより十分な吸収が達成できるのは、ＤＰＰＣなどの界面活性物質が、化合物の拡散を容易にするためである。界面活性物質は、当技術分野においてよく知られており、ホスホグリセリド、例えば、ホスファチジルコリン、ジパルミトイルＬ－α－

ホスファチジルコリン（ＤＰＰＣ）およびジホスファチジルグリセロール（ＤＰＰＧ）；ヘキサデカノール；脂肪酸；ポリエチレングリコール（ＰＥＧ）；ポリオキシエチレン－９－ラウリルエーテル；パルミチン酸；オレイン酸；ソルビタントリオレエート（ＳＰＡＮ（商標）８５）；グリココール酸塩；サーファクチン；ポロキサマー；ソルビタン脂肪酸エステル；ソルビタントリオレエート；チロキサポール；およびリン脂質が含まれるが、これらに限定されるものではない。

【０１８８】

安定化および保持

一実施形態において、ＩＬ－１３抗体またはそのフラグメントは、循環における、例えば、血液、血清、リンパ、気管支肺もしくは気管支肺胞洗浄液または他の組織におけるその安定化および／または保持を、例えば、少なくとも１．５、２、５、１０または５０倍改善する部分と物理的に連結される。例えば、ＩＬ－１３抗体またはそのフラグメントを、ポリマー、例えば、ポリアルキレンオキシドまたはポリエチレンオキシドなどの実質的に非抗原性のポリマーと連結することができる。適当なポリマーは、重量によって実質的に異なるはずである。約２００～約３５，０００（または約１，０００～約１５，０００または約２，０００～約１２，５００）の数平均分子量を有するポリマーを使用することができる。例えば、ＩＬ－１３抗体またはそのフラグメントを、水溶性ポリマー、例えば、親水性ポリビニルポリマー、例えば、ポリビニルアルコールおよびポリビニルピロリドンにコンジュゲートさせることができる。そのようなポリマーの非限定的リストには、ポリエチレングリコール（ＰＥＧ）またはポリプロピレングリコールなどのポリアルキレンオキシド、ポリオキシエチル化されたポリオール、それらのコポリマーおよびそれらのブロックコポリマーが含まれるが、ただし、ブロックコポリマーの水溶性は、維持されるものとする。

【０１８９】

ポリマーの分子量は、約５００，０００Ｄａまで及ぶことができ、好ましくは、少なくとも約２０，０００Ｄａまたは少なくとも約３０，０００Ｄａまたは少なくとも約４０，０００Ｄａである。選択される分子量は、得られるコンジュゲートの有効サイズ、ポリマーの性質（例えば、直鎖または分岐）および誘導体化の程度によって異なることがある。共有結合を用い、ＩＬ－１３抗体またはそのフラグメントを、ポリマー、例えば、抗体のＮ末端アミノ基および抗体のリジン残基上に見い出されるεアミノ基、ならびに他のアミノ、イミノ、カルボキシル、スルフヒドリル、ヒドロキシルまたは他の親水基と架橋するポリマーに接続することができる。ＩＬ－１３抗体またはそのフラグメントに接続することができる官能基付きのＰＥＧポリマーは、例えば、Ｓｈｅａｒｗａｔｅｒ　Ｐｏｌｙｍｅｒｓ，Ｉｎｃ．（Ｈｕｎｔｓｖｉｌｌｅ、ＡＬ）から入手できる。ＰＥＧおよび他のポリマーをカップリングするための反応条件は、ＩＬ－１３抗体またはそのフラグメント、ＰＥＧ化の望ましい程度および利用されるポリマーに応じて変わることがある。ＰＥＧ誘導体の選択に関与するいくつかの要素には、望ましい接続点（リジンまたはシステインＲ基など）、誘導体の加水分解安定性および反応性、安定性、結合の毒性および抗原性、分析にとっての適合性などが含まれる。特定の誘導体の具体的な使用説明書は、製造者から入手できる。

【０１９０】

ＩＬ－１３抗体またはそのフラグメントとポリマーのコンジュゲートは、例えば、ゲル濾過またはイオン交換カラムクロマトグラフィー、例えば、ＨＰＬＣにより、未反応出発材料から分離することができる。コンジュゲートの異種分子種は、同じ様にお互いから精製される。異なる分子種（例えば、１つまたはそれ以上のＰＥＧ残基を含む）の分割も、未反応アミノ酸のイオン特性の差により可能である（例えば、ＷＯ９６／３４０１５を参照）。

【０１９１】

抗ＩＬ－１３抗体の治療的および予防的使用

さらに別の態様において、本開示は、ＩＬ－１３と結合しかつ／またはＩＬ－１３を中

和する抗体、例えば、本明細書に記載されている抗体を、その活性を阻害するのに十分な量で投与することによる、インビボでＩＬ－１３の１つまたはそれ以上の関連活性を中和および／または阻害するための方法を扱う。また、そのような抗体を、ＩＬ－１３仲介性炎症反応の阻害を必要とする対象に投与することができる。これらの状態には、例えば、気道炎症、喘息、線維症、好酸球増加症および粘液産生の増加が含まれる。

【０１９２】

我々は、ＩＬ－１３と結合する抗体が、アレルゲンブタ回虫（Ａｓｃａｒｉｓ　ｓｕｕｍ）に暴露されたカニクイザルにおける気道炎症を低減することを明らかにした（実施例３．６）。また、我々は、ヒト末梢血単球におけるＣＤ２３のＩＬ－１３によるアップレギュレーションを立証した。したがって、ＩＬ－１３と結合し、機能性ＩＬ－１３シグナル伝達複合体の形成を妨害し、１つまたはそれ以上のＩＬ－１３関連活性を中和することができる本明細書に開示されている抗体を用い、喘息および／またはその関連症状および／またはアトピー性障害（例えば、ＩＬ－１３に対する感受性増加に起因する）が含まれるＩＬ－１３関連病変を治療または予防するため、インビボでＩＬ－１３仲介性炎症を低減することができる。

【０１９３】

したがって、本明細書に開示されている抗体を用い、本明細書に記載されているように、ＩＬ－１３関連障害、例えば、呼吸器障害、例えば、喘息（例えば、アレルギー性および非アレルギー性喘息（例えば、低年齢の小児における、例えば、呼吸器合胞体ウイルス（ＲＳＶ）の感染による喘息））、慢性閉塞性肺疾患（ＣＯＰＤ）、ならびに気道炎症、好酸球増加症、線維症および過剰な粘液産生を含む他の状態、例えば、嚢胞性線維症および肺線維症；アトピー性障害、例えば、ＩＬ－１３に対する感受性の増加に起因する（例えば、アトピー性皮膚炎、蕁麻疹、湿疹、アレルギー性鼻炎およびアレルギー性胃腸炎）；皮膚（例えば、アトピー性皮膚炎）、胃腸器官（例えば、潰瘍性大腸炎および／またはクローン病などの炎症性腸疾患（ＩＢＤ））、肝臓（例えば、肝硬変、肝細胞癌）および強皮症の炎症性および／または自己免疫性状態；白血病、神経膠芽腫およびリンパ腫、例えば、ホジキンリンパ腫などの腫瘍または癌（例えば、軟組織または固形腫瘍）；ウイルス感染（例えば、ＨＴＬＶ－１から）；他の器官の線維症、例えば、肝臓の線維症（例えば、Ｂ型および／またはＣ型肝炎ウイルスによって引き起こされる線維症）；ならびに防御性１型免疫応答の発現の抑制（例えば、ワクチン接種中の）のうちの１つまたはそれ以上から選択される障害を治療することができる。

【０１９４】

呼吸器障害

ＩＬ－１３アンタゴニスト（例えば、本明細書に記載されている抗体または抗原結合性フラグメントなどのＩＬ－１３結合性物質）を用い、喘息（例えば、アレルギー性および非アレルギー性喘息（例えば、低年齢の小児における、例えば、呼吸器合胞体ウイルス（ＲＳＶ）の感染による））；気管支炎（例えば、慢性気管支炎）；慢性閉塞性肺疾患（ＣＯＰＤ）（例えば、肺気腫（例えば、タバコ誘発性肺気腫）；気道炎症、好酸球増加症、線維症および過剰な粘液産生を含む状態、例えば、嚢胞性線維症、肺線維症およびアレルギー性鼻炎が含まれるがこれらに限定されない呼吸器障害を治療または予防することができる。

【０１９５】

喘息は、無数の条件、例えば、アレルゲンの吸入、上気道感染または耳感染の存在などにより引き起こされることがる（Ｏｐｐｅｒｗａｌｌ（２００３）Ｎｕｒｓ．Ｃｌｉｎ．Ｎｏｒｔｈ　Ａｍ．３８：６９７－７１１）。アレルギー性喘息は、様々な特異的および非特異的刺激に対する気道過敏性（ＡＨＲ）、血清免疫グロブリンＥ（ＩｇＥ）の上昇、過剰な気道粘液産生、浮腫および気管支上皮傷害を特徴とする（Ｗｉｌｌｓ－Ｋａｒｐ、前掲書）。アレルギー性喘息は、アレルゲンが最初期の気道応答を引き起こす時に始まり、遅延性の遅延相気道応答（ＬＡＲ）によりその後数時間続くことが多い（Ｈｅｎｄｅｒｓｏｎ他（２０００）Ｊ．Ｉｍｍｕｎｏｌ．１６４：１０８６－９５）。ＬＡＲの間には

、気道壁および気管支液の至る所に好酸球、リンパ球およびマクロファージの流入が存在する（Ｈｅｎｄｅｒｓｏｎ他、前掲書）。肺好酸球は、アレルギー性喘息の特徴であり、呼吸器上皮への損傷の大半を負っている（Ｌｉ他（１９９９）Ｊ．Ｉｍｍｕｎｏｌ．１６２：２４７７－８７）。

【０１９６】

ＣＤ４＋Ｔヘルパー（Ｔｈ）細胞は、喘息に伴う慢性炎症にとって重要である（Ｈｅｎｄｅｒｓｏｎ他、前掲書）。いくつかの研究は、２型Ｔヘルパー（Ｔｈ２）細胞に対するＣＤ４＋細胞の関与とそれに続く２型サイトカイン（例えば、ＩＬ－４、ＩＬ－５、ＩＬ－１０およびＩＬ－１３）の産生が、ＡＨＲにつながるアレルギー性炎症反応において重要であることを明らかにしている（Ｔｏｍｋｉｎｓｏｎ他（２００１）Ｊ．Ｉｍｍｕｎｏｌ．１６６：５７９２－５８００、その中に引用されている参考文献）。第一に、ＣＤ４＋Ｔ細胞は、マウスモデルにおけるアレルギー誘発性喘息に必要であることが明らかにされた。第二に、２型サイトカインを産生するＣＤ４＋Ｔ細胞は、これらの動物においてばかりではなく、アレルギー性喘息患者においても拡大を起こす。第三に、２型サイトカインレベルは、動物モデルおよび喘息患者の気道組織において増加する。第四に、Ｔｈ２サイトカインは、アレルギー性喘息のマウスモデルにおける好酸球動員において中心的役割を果たすことに関係があり、養子移入されたＴｈ２細胞は、肺ならびに肺好酸球増加症におけるエオタキシン（強力な好酸球化学誘引物質）のレベル増加と関連していた（Ｗｉｌｓ－Ｋａｒｐ他、前掲書；Ｌｉ他、前掲書）。

【０１９７】

本明細書に記載されている喘息を治療または予防するための方法には、外因性喘息（アレルギー性喘息またはアトピー性喘息としても知られる）、内因性喘息（非アレルギー性喘息または非アトピー性喘息としても知られる）または混合型喘息と呼ばれている両方の組合せのための方法が含まれる。外因性すなわちアレルギー性喘息には、例えば、花粉、胞子、牧草または雑草、ペット鱗屑、粉塵、ダニなどのアレルゲンによって引き起こされるか、あるいはそれらに関係する出来事が含まれる。アレルゲンおよび他の刺激物は、それ自体、年間を通じて様々な時点で存在するため、これらのタイプの出来事は、季節性喘息とも呼ばれる。気管支喘息およびアレルギー性気管支肺アスペルギルス症も外因性喘息の群に含まれる。

【０１９８】

本明細書に記載されている物質により治療または軽減することができる障害には、ウイルス（例えば、風邪およびインフルエンザウイルス、呼吸器合胞体ウイルス（ＲＳＶ）、パラミクソウイルス、ライノウイルスおよびインフルエンザウイルス）などの感染物質により引き起こされる呼吸器障害および喘息が含まれる。ＲＳＶ、ライノウイルスおよびインフルエンザウイルス感染は、小児によく見られ、幼児および低年齢の小児における呼吸器管の病気の１つの主要原因である。ウイルス性気管支炎の小児は、慢性の喘鳴および喘息を発症することがあり、それらを、本明細書に記載されている方法を用いて治療することができる。運動および／または冷気により一部の喘息患者において引き起こされることがある喘息状態も含まれる。これらの方法は、煙暴露（例えば、タバコ誘発性および工場煤煙）、ならびに煙、オゾン、毒ガス、二酸化イオウ、亜酸化窒素、塗料、プラスチック、ポリウレタン、ワニスなどからのイソシアネートを含む煙霧、木材、植物または他の有機粉塵などに関係する喘息に有用である。また、これらの方法は、食品添加物、保存剤または薬理作用のある物質に関係する喘息性の出来事に有用である。サイレント喘息または咳型喘息と呼ばれる喘息のタイプを治療、抑制または軽減するための方法も含まれる。

【０１９９】

本明細書に開示されている方法は、気管支収縮を刺激することがある胃食道逆流（ＧＥＲＤ）に伴う喘息の治療および軽減にも有用である。ＧＥＲＤは、身体分泌物の停滞、咳の抑制および寝室におけるアレルゲンおよび刺激物への暴露と並び、喘息状態の一因となることがあり、まとめて夜間（ｎｉｇｈｔｔｉｍｅ）喘息または夜間（ｎｏｃｔｕｒｎａｌ）喘息と呼ばれている。ＧＥＲＤに伴う喘息の治療、抑制または軽減の方法において、

本明細書に記載されているように、治療有効量のＩＬ－１３アンタゴニストを、ＧＥＲＤを治療するための治療有効量の物質と組み合わせて使用することができる。これらの物質には、ＰＲＯＴＯＮＩＸ（登録商標）ブランドの遅延放出性パントプラゾールナトリウム錠剤、ＰＲＩＬＯＳＥＣ（登録商標）ブランドのオメプラゾール遅延放出性カプセル剤、ＡＣＩＰＨＥＸ（登録商標）ブランドのレベプラゾール（ｒｅｂｅｐｒａｚｏｌｅ）ナトリウム遅延放出性錠剤またはＰＲＥＶＡＣＩＤ（登録商標）ブランドの遅延放出性ランソプラゾールカプセル剤のようなプロトンポンプ阻害薬が含まれるが、これらに限定されるものではない。

【０２００】

アトピー性障害およびそれらの症状

「アトピー性の」は、アレルギー反応を発症する遺伝的傾向が存在することが多い一群の疾患を指す。アトピー性障害の例には、アレルギー、アレルギー性鼻炎、アトピー性皮膚炎、喘息および枯草熱が含まれる。喘息は、例えば、気管支過敏性および可逆的気流閉塞などの間欠性呼吸器症状に伴う表現型的に異種性の障害である。喘息の免疫病理組織学的特徴には、例えば、気道上皮の裸出、基底膜下のコラーゲン沈着、浮腫、肥満細胞活性化および炎症性細胞浸潤（例えば、好中球、好酸球およびリンパ球による）が含まれる。さらに、気道炎症は、気道過敏性、気流制限、急性気管支収縮、粘液栓形成、気道壁リモデリングおよび他の呼吸器症状の一因となることがある。ＩＬ－１３アンタゴニスト（例えば、本明細書に記載されている抗体または抗原結合性フラグメントなどのＩＬ－１３結合性物質）を投与し、これらの症状のうちの１つまたはそれ以上を改善することができる。

【０２０１】

アレルギー性鼻炎（枯草熱）の症状には、痒い、鼻水が垂れている、くしゃみを起こす、または詰まった鼻および痒い眼が含まれる。ＩＬ－１３アンタゴニストを投与し、これらの症状のうちの１つまたはそれ以上を改善することができる。アトピー性皮膚炎は、皮膚に影響を及ぼす慢性（持続性）疾患である。アトピー性皮膚炎に関する情報は、例えば、ＮＩＨ　Ｐｕｂｌｉｃａｔｉｏｎ　Ｎｏ．０３－４２７２から入手できる。アトピー性皮膚炎において、皮膚は、極めて痒くなり、発赤、腫脹、ひび割れ、透明液の浸出および最終的には、痂皮および落屑につながることがある。多くの場合、疾患が悪化する期間（増悪またはフレアと呼ばれる）に続いて、皮膚が完全に好転または治癒する時期（寛解と呼ばれる）が存在する。アトピー性皮膚炎は、いくつかのタイプの皮膚の炎症についての一般用語である「湿疹」と呼ばれることが多い。アトピー性皮膚炎は、多くのタイプの湿疹のうちで最も一般的である。アトピー性皮膚炎の例には、アレルギー性接触湿疹（皮膚炎：皮膚が、ツタウルシまたはクリーム剤およびローション剤中の特定の保存剤などの、免疫系が異物として認識する物質と接触した場所の赤色で、痒く、滴を垂らす反応）；接触湿疹（皮膚が、アレルゲン（アレルギーを引き起こす物質）または酸、洗浄剤、もしくは他の化学物質などの刺激物に接触した場所の発赤、痒みおよび灼熱感が含まれる限局性反応）；発汗異常性湿疹（痒く火照る透明な深い疱疹を特徴とする手のひらおよび足の裏の皮膚の刺激）；神経皮膚炎（引っかいた場合に激しくヒリヒリする限局性の痒み（昆虫咬傷など）によって引き起こされる頭部、下肢、手首または前腕の皮膚の鱗屑性斑点）；貨幣状湿疹（炎症を起こした皮膚の貨幣形斑点－痂皮形成性、落屑性および極めて掻痒性になることがある腕、背部、臀部および下肢に最もよく見られる）；脂漏性湿疹（頭皮、顔面およびたまに身体の他の部分の皮膚の黄色がかった油状の鱗屑性斑点）が含まれる。追加の特定の症状には、うっ滞性皮膚炎、アトピー性プリーツ（デニーモルガンひだ）、口唇炎、超直線状手掌（ｈｙｐｅｒｌｉｎｅａｒ　ｐａｌｍｓ）、色素沈着過剰眼瞼（炎症または枯草熱により暗黒色となった眼瞼）、魚鱗癬、毛孔性角化症、苔癬化、丘疹および蕁麻疹が含まれる。ＩＬ－１３アンタゴニスト（例えば、本明細書に記載されている抗体または抗原結合性フラグメントなどのＩＬ－１３結合性物質）を投与し、これらの症状のうちの１つまたはそれ以上を改善することができる。

【０２０２】

アレルギー性鼻炎または他のアレルギー性障害を治療するための例示的方法には、アレルゲンへの暴露に先立つ、例えば、アレルゲンへの季節的暴露に先立つ、例えば、アレルゲン開花に先立つＩＬ－１３アンタゴニストによる開始療法が含まれてよい。そのような療法には、１回またはそれ以上の投与、例えば、一定の間隔をおく投与が含まれてよい。

【０２０３】

癌

ＩＬ－１３およびその受容体は、少なくとも一部のタイプの癌、例えば、造血細胞に由来する癌または脳もしくは神経細胞に由来する癌（例えば、神経膠芽腫）の発生に関与することがある。例えば、ＩＬ－１３シグナル伝達経路の遮断は、例えば、可溶性ＩＬ－１３受容体またはＳＴＡＴ６－／－欠損マウスの使用を介して、それぞれホジキンリンパ腫細胞系または転移性乳癌の腫瘍発症および／または増殖の遅延につながる（Ｔｒｉｅｕ他（２００４）Ｃａｎｃｅｒ　Ｒｅｓ．６４：３２７１－７５；Ｏｓｔｒａｎｄ－Ｒｏｓｅｎｂｅｒｇ他（２０００）Ｊ．Ｉｍｍｕｎｏｌ．１６５：６０１５－６０１９）。ＩＬ－１３Ｒα２を発現する癌（ＨｕｓａｉｎおよびＰｕｒｉ（２００３）Ｊ．Ｎｅｕｒｏｏｎｃｏｌ．６５：３７－４８；Ｍｉｎｔｚ他（２００３）Ｊ．Ｎｅｕｒｏｏｎｃｏｌ．６４：１１７－２３）は、本明細書に記載されている抗ＩＬ－１３抗体により特異的に標的とされることがある。ＩＬ－１３アンタゴニスト、例えば、抗ＩＬ－１３抗体およびそれらのフラグメントは、癌細胞増殖または他の癌細胞活性を阻害するのに有用なことがある。癌は、正常な増殖制御に対する反応性を失い、通常は、対応する正常細胞に比べて調節低下を伴って増殖する１つまたはそれ以上の細胞を指す。

【０２０４】

ＩＬ－１３アンタゴニスト（例えば、本明細書に記載されている抗体または抗原結合性フラグメントなどのＩＬ－１３結合性物質）を治療に使用することができる癌の例には、白血病、例えば、Ｂ細胞慢性リンパ球性白血病、急性骨髄性白血病およびヒトＴ細胞白血病ウイルス１型（ＨＴＬＶ－１）形質転換Ｔ細胞；リンパ腫、例えば、Ｔ細胞リンパ腫、ホジキンリンパ腫；神経膠芽腫；膵臓癌；腎細胞癌；卵巣癌；およびＡＩＤＳカポジ肉腫が含まれる。

【０２０５】

線維症

ＩＬ－１３アンタゴニスト（例えば、本明細書に記載されている抗体または抗原結合性フラグメントなどのＩＬ－１３結合性物質）は、炎症および線維症、例えば、肝臓の線維症を治療するのにも有用である。ＩＬ－１３産生は、肝臓炎症（例えば、ウイルス性肝炎）の肝硬変およびおそらく肝細胞癌への進行と相関関係があるとされている（ｄｅ　Ｌａｌｌａ他（２００４）Ｊ．Ｉｍｍｕｎｏｌ．１７３：１４１７－１４２５）。線維症は、例えば、正常な組織が、炎症後に多い瘢痕組織により置き換えられる場合に起きる。Ｂ型肝炎ウイルスとＣ型肝炎ウイルスは共に、肝臓において線維形成反応を引き起こし、肝硬変に進行することがある。次いで、肝硬変は、肝不全または肝細胞癌などの重症な合併症に発展することがある。本明細書に記載されているＩＬ－１３アンタゴニスト、例えば、抗ＩＬ－１３抗体を用いてＩＬ－１３活性を遮断することは、炎症および線維症、例えば、肝疾患、特にＢ型肝炎およびＣ型肝炎に伴う炎症、線維症および肝硬変を低減することができる。

【０２０６】

炎症性腸疾患

炎症性腸疾患（ＩＢＤ）は、腸の炎症を引き起こす疾患の一般名である。炎症性腸疾患の２つの例は、クローン病および潰瘍性大腸炎である。ＩＬ－１３／ＳＴＡＴ６シグナル伝達は、炎症性腸疾患のモデルであるマウス平滑筋の炎症誘発性収縮性亢進（ｈｙｐｅｒｃｏｎｔｒａｃｔｉｖｉｔｙ）に関与していることが見い出されている（Ａｋｉｈｏ他（２００２）Ａｍ．Ｊ．Ｐｈｙｓｉｏｌ．Ｇａｓｔｒｏｉｎｔｅｓｔ．Ｌｉｖｅｒ　Ｐｈｙｓｉｏｌ．２８２：Ｇ２２６－２３２）。ＩＬ－１３アンタゴニスト（例えば、本明細書に記載されている抗体または抗原結合性フラグメントなどのＩＬ－１３結合性物質）は、

炎症性腸疾患または炎症性腸疾患の１つまたはそれ以上の症状を治療、予防または軽減するのに有用なことがある。

【０２０７】

一実施形態において、本明細書に記載されている抗体、例えば、その医薬組成物は、組合せ療法で投与され、すなわち、他の物質、例えば、アレルギー性および炎症性障害などの病的状態または障害を治療するのに有用である治療薬と組み合わせられる。この文脈における用語「組合せで」は、物質が、実質的に同時に、同時に、あるいは順次にどちらかで与えられることを意味する。順次に与える場合、第二の化合物の投与が始まる時に、２つの化合物のうち第一の化合物が、治療部位において有効な濃度で依然として検出可能であることが好ましい。

【０２０８】

例えば、組合せ療法には、本明細書に記載されている、すなわち、ＩＬ－１３と結合し、機能性ＩＬ－１３シグナル伝達複合体の形成を妨害し、以下でより詳細に記載されているように、１つまたはそれ以上の追加治療薬、例えば、１つまたはそれ以上のサイトカインおよび成長因子阻害剤、免疫抑制薬、抗炎症薬、代謝阻害剤、酵素阻害剤および／または細胞傷害性または細胞増殖抑制性物質と同時調剤および／または同時投与される１つまたはそれ以上の抗体が含まれてよい。さらに、本明細書に記載されている１つまたはそれ以上の抗ＩＬ－１３抗体は、本明細書に記載されている治療薬のうちの２つまたはそれ以上との組合せで使用することができる。そのような組合せ療法は、低用量の投与治療薬を有利に利用するため、様々な単独療法に伴う可能な毒性または合併症を避けることができる。さらに、本明細書に開示されている治療薬は、ＩＬ－１３／ＩＬ－１３受容体経路と異なる経路に作用するため、ＩＬ－１３抗体の効果を増強しかつ／またはＩＬ－１３抗体の効果と相乗することが予想される。

【０２０９】

１つまたはそれ以上のＩＬ－１３アンタゴニスト、例えば、抗ＩＬ－１３抗体またはそれらのフラグメントと同時投与および／または同時調剤することができる好ましい追加治療薬の例には、吸入ステロイド；βアゴニスト、例えば、短時間作用型または長時間作用型βアゴニスト；ロイコトリエンアンタゴニストまたはロイコトリエン受容体アンタゴニスト；ＡＤＶＡＩＲ（登録商標）などの配合剤；ＩｇＥ阻害剤、例えば、抗ＩｇＥ抗体（例えば、ＸＯＬＡＩＲ（登録商標））；ホスホジエステラーゼ阻害剤（例えば、ＰＤＥ４阻害剤）；キサンチン；抗コリン薬；クロモリンなどの肥満細胞安定化薬；ＩＬ－４阻害剤；ＩＬ－５阻害剤；エオタキシン／ＣＣＲ３阻害剤；および抗ヒスタミン薬のうちの１つまたはそれ以上が含まれるが、これらに限定されるものではない。そのような組合せを用い、喘息および他の呼吸器障害を治療することができる。１つまたはそれ以上の抗ＩＬ－１３抗体またはそのフラグメントと同時投与および／または同時調剤することができる治療薬の追加例には、とりわけ、ＴＮＦアンタゴニスト（例えば、ＴＮＦ受容体の可溶性フラグメント、例えば、ｐ５５またはｐ７５ヒトＴＮＦ受容体またはその誘導体、例えば、７５ｋｄ　ＴＮＦＲ－ＩｇＧ（７５　ｋＤ　ＴＮＦ受容体－ＩｇＧ融合タンパク質、ＥＮＢＲＥＬ（商標））；ＴＮＦ酵素アンタゴニスト、例えば、ＴＮＦα変換酵素（ＴＡＣＥ）阻害剤；ムスカリン受容体アンタゴニスト；ＴＧＦ－βアンタゴニスト；インターフェロンガンマ；ペルフェニドン（ｐｅｒｆｅｎｉｄｏｎｅ）；化学療法剤、例えば、メトトレキセート、レフルノミドまたはシロリムス（ラパマイシン）もしくはその類縁体、例えば、ＣＣＩ－７７９；ＣＯＸ２およびｃＰＬＡ２阻害剤；ＮＳＡＩＤ；免疫調節薬；ｐ３８阻害剤、ＴＰＬ－２、Ｍｋ－２およびＮＦκＢ阻害剤のうちの１つまたはそれ以上が含まれる。

【０２１０】

１つまたはそれ以上の他の治療化合物とのＩＬ－１３抗体の併用投与を行うため、またはＥＬＩＳＡキットなどの、生物学的サンプルにおいてＩＬ－１３の存在および／またはレベルを決定するための研究または治療ツールとして抗ＩＬ－１３抗体を用いるためのキットを提供することも可能である。一実施形態において、キットは、医薬担体に調剤され

る１つまたはそれ以上の抗ＩＬ－１３抗体、および、必要に応じて、１つまたはそれ以上の別々の医薬調製物に調剤される少なくとも１つの物質、例えば、治療薬を含む。

【０２１１】

ワクチン調剤

ＩＬ－１３アンタゴニスト（例えば、本明細書に記載されている抗体または抗原結合性フラグメントなどのＩＬ－１３結合性物質）を用い、対象を免疫化するためのワクチン調剤の有効性を高めることができる。例えば、ＩＬ－１３アンタゴニストを、免疫化の前、免疫化中および／または免疫化後に投与し、ワクチン有効性を高めることができる。一実施形態において、ワクチン調剤は、１つまたはそれ以上のＩＬ－１３アンタゴニストおよび抗原、すなわち、免疫原を含有する。別の実施形態において、ＩＬ－１３アンタゴニストおよび免疫原は、お互いに、例えば、１時間、３時間、１日または２日以内に別々に投与される。

【０２１２】

ＩＬ－１３の阻害は、例えば、細胞ワクチン、例えば、癌およびウイルス感染、例えば、レトロウイルス感染、例えば、ＨＩＶ感染などの疾患に対するワクチンの有効性を改善することがある。ワクチンによるＣＤ８$^{+}$細胞傷害性Ｔリンパ球（ＣＴＬ）の誘導は、おそらくサイトカインＩＬ－１３を介し、ＣＤ４$^{+}$Ｔ細胞により抑制的に調節される。ＩＬ－１３の阻害は、ＣＴＬ応答のワクチン誘導を亢進することが明らかにされている（Ａｈｌｅｒｓ他（２００２）Ｐｒｏｃ．Ｎａｔｌ．Ａｃａｄ．Ｓｃｉ．ＵＳＡ ９９：１３０２０－１３０２５）。ＩＬ１３アンタゴニスト、例えば、本明細書に記載されている抗ＩＬ－１３抗体またはそのフラグメント、抗体をワクチンと併せて使用し、ワクチン有効性を高めることができる。癌およびウイルス感染（レトロウイルス（例えば、ＨＩＶ）感染など）は、細胞性ワクチン応答が有効なことがある例示的障害である。ワクチン有効性は、ワクチン接種時にＩＬ－１３シグナル伝達を遮断することにより増強される（Ａｈｌｅｒｓ他（２００２）Ｐｒｏｃ．Ｎａｔｌ．Ａｃａｄ．Ｓｃｉ．ＵＳＡ ９９：１３０２０－１３０２５）。

【０２１３】

ワクチン調剤は、医薬組成物または治療組成物の形態で対象に投与することができる。本明細書に記載されているＩＬ－１３アンタゴニストおよび抗原を含む医薬組成物は、従来の混合、溶解、顆粒化、糖剤製造、粉末化、乳化、カプセル化、封入または凍結乾燥プロセスにより製造することができる。医薬組成物は、本明細書に記載されている抗原およびアンタゴニストを、薬学的に使用することができる調製物への加工するのを容易にする１つまたはそれ以上の薬学的に許容できる担体、希釈剤、賦形剤または補助剤を用い、従来の方法で調剤することができる。適切な調剤は、選択される投与経路によって異なる。全身性調剤には、注射、例えば、皮下、皮内、筋肉内または腹腔内注射による投与のために設計される調剤が含まれる。注射の場合、ワクチン調製物は、水溶液、好ましくは、ハンクス液、リンゲル液、リン酸緩衝食塩水などの生理学的に適合する緩衝液またはその他の生理食塩水緩衝液で調剤することができる。溶液は、懸濁化、安定化および／または分散剤などの調剤物質を含有することができる。あるいは、タンパク質は、使用前の、適当なビヒクル、例えば、滅菌したパイロジェンフリーの水による構成のための粉末形態であってよい。

【０２１４】

有効投与量は、初めに動物モデルを用いて推定することができる。例えば、ある投与量を動物モデルで調剤し、当技術分野においてよく知られている技法を用いて免疫応答の誘導を行うことができる。用量および間隔は、個別に調整することができる。例えば、ワクチンとして使用する場合、ワクチン調剤は、１～３６週の間に約１～３回の投与で投与することができる。１または２回の投与を約３週から約４カ月の間隔で投与し、その後にブースターワクチン接種を定期的に与えることが好ましい。代替プロトコルは、個々の動物にふさわしいことがある。適当な投与量は、上記に記載されているように投与する場合、少なくとも４～１２カ月間、対象を感染から守るのに十分な免疫応答を、免疫化された対

象で産生することができるワクチン調剤の量である。一般に、抗原の量は、宿主１ｋｇ当たり約１ｐｇ～約１００ｍｇ、通常は、約１０ｐｇ～約１ｍｇ、好ましくは約１００ｐｇ～約１μｇの用量範囲である。適当な用量範囲は、注射の経路および患者のサイズによって変わるが、通常、約０．１ｍＬ～約５ｍＬであろう。

【０２１５】

障害を診断、予知およびモニターするための方法

本明細書に記載されているＩＬ－１３と結合するタンパク質、例えば、抗体は、インビトロおよびインビボでの診断上の有用性を有する。例示的方法には、（ｉ）ＩＬ－１３抗体を対象に投与すること；および（ｉｉ）対象においてＩＬ－１３抗体を検出することが含まれる。検出することには、対象におけるＩＬ－１３抗体の位置を決定することが含まれてよい。別の例示的方法には、ＩＬ－１３抗体をサンプル、例えば、対象からのサンプルに接触させることが含まれる。

【０２１６】

別の態様において、本発明は、インビトロ（例えば、組織、生検などの生物学的サンプル）またはインビボ（例えば、対象におけるインビボイメージング）でＩＬ－１３の存在を検出するための診断方法を提供する。この方法には、（ｉ）サンプルをＩＬ－１３抗体と接触させること；および（ｉｉ）ＩＬ－１３抗体とサンプルの間の複合体の形成を検出することが含まれる。また、この方法には、参考サンプル（例えば、対照サンプル）をリガンドと接触させること、および参考サンプルと比べて、リガンドとサンプルの間の複合体の形成の程度を決定することが含まれてよい。対照サンプルまたは対象と比べて、サンプルまたは対象における複合体の形成の変化、例えば、統計的に有意な変化は、サンプルにおけるＩＬ－１３の存在を示すことがある。

【０２１７】

ＩＬ－１３抗体は、結合または非結合タンパク質の検出を容易にするため、検出可能な物質で直接的または間接的に標識することができる。適当な検出可能な物質には、様々な酵素、補欠分子族、蛍光材料、発光材料および放射性材料が含まれる。

【０２１８】

ＩＬ－１３抗体とＩＬ－１３の間の複合体形成は、ＩＬ－１３と結合しているリガンドか非結合リガンドのどちらかを測定または可視化することにより検出することができる。従来の検出アッセイ、例えば、酵素結合免疫吸着アッセイ（ＥＬＩＳＡ）、ラジオイムノアッセイ（ＲＩＡ）または組織の免疫組織化学を使用することができる。ＩＬ－１３抗体を標識することに加え、ＩＬ－１３の存在は、検出可能な物質で標識された標準品および非標識ＩＬ－１３抗体を利用する競合イムノアッセイによりサンプル中でアッセイすることができる。

【０２１９】

喘息の進行を診断、予知およびモニターするための方法

生物学的サンプル中のＩＬ－１３のレベルを測定することにより、喘息および／またはアトピー性障害（例えば、ＩＬ－１３に対する感受性増加に起因する）の進行を診断、予知および／またはモニターすることも可能である。特に、本明細書に開示されている抗体は、ある患者が、アレルギー性喘息を患っているか非アレルギー性喘息を患っているかかを区別する方法において使用することができる。

【０２２０】

アレルギー性および非アレルギー性喘息を診断するためのそのような方法には、生物学的サンプル、例えば、血清、血漿、気管支肺胞洗浄液、喀痰などにおけるＩＬ－１３の変動（例えば、増加または減少）を検出することが含まれてよい。「診断的」すなわち「診断すること」は、病的状態の有無を同定することを意味する。診断的方法は、対象（ヒトまたは非ヒト哺乳類）由来の生物学的サンプル、例えば、気管支肺胞洗浄液中のＩＬ－１３ポリペプチドの試験量を決定し、試験量を、ＩＬ－１３ポリペプチドの正常な量または範囲（すなわち、喘息を患っていないことが知られている１つまたはそれ以上の個体由来の量または範囲）と比較することによりＩＬ－１３の存在を検出するものである。特定の

診断的方法は、喘息の確定診断を提供しないこともあるが、この方法が、診断を助ける陽性徴候を提供すれば十分である。

【０２２１】

喘息および／またはアトピー性障害を予知するための方法には、ｍＲＮＡまたはタンパク質レベルでＩＬ－１３のアップレギュレーションを検出ことが含まれてよい。「予知的」すなわち「予知すること」は、病的状態のあり得る発生および／または重症度を予測することを意味する。予知的方法は、対象由来の生物学的サンプル中のＩＬ－１３の試験量を決定し、試験量を、ＩＬ－１３の予知的量または範囲（すなわち、喘息の様々な重症度の個体由来の量または範囲）と比較するものである。試験サンプルにおけるＩＬ－１３の様々な量は、喘息についての特定の予後と一致する。特定の予知的レベルにおけるＩＬ－１３の量の検出は、対象に予後を提供する。

【０２２２】

また、本発明は、ＩＬ－１３のアップレギュレーションを検出することにより喘息および／またはアトピー性障害の経過をモニターするための方法を提供する。モニターする方法は、第一および第二の時点で対象から採取された生物学的サンプル中のＩＬ－１３の試験量を決定し、それらの量を比較するものである。第一と第二の時点間のＩＬ－１３の量の変化は、喘息および／またはアトピー性障害の経過の変化を示し、量の減少は、喘息の寛解を示し、量の増加は、喘息および／またはアトピー性障害の進行を示す。そのようなモニタリングアッセイは、喘息および／またはアトピー性障害を治療されている患者において特定の治療的介入（例えば、疾患の減弱および／または逆転）の有効性を評価するのにも有用である。

【０２２３】

蛍光団および発色団で標識されたタンパク質リガンドを調製することができる。抗体および他のタンパク質は、約３１０ｎｍまでの波長を有する光を吸収するため、蛍光性部分は、３１０ｎｍ以上、好ましくは４００ｎｍ以上の波長で実質的吸収を有するように選択されなければならない。様々な適当な蛍光剤および発色団は、Ｓｔｒｙｅｒ（Ｓｃｉｅｎｃｅ（１９６８）１６２：５２６）およびＢｒａｎｄ他（Ａｎｎｕａｌ　Ｒｅｖ．Ｂｉｏｃｈｅｍ．（１９７２）４１：８４３　８６８）により記載されている。タンパク質リガンドは、米国特許第３，９４０，４７５号、第４，２８９，７４７号および第４，３７６，１１０号に開示されている手順などの従来に手順により、蛍光性発色団基で標識することができる。上記に記載されている多くの望ましい特性を有する蛍光剤の一群は、キサンテン色素であり、フルオレセインおよびローダミンが含まれる。蛍光性化合物の別の群は、ナフチルアミンである。蛍光団または発色団で標識すれば、タンパク質リガンドを用い、例えば、蛍光顕微鏡（共焦点顕微鏡またはデコンボリューション顕微鏡）を用い、サンプル中のＩＬ－１３の存在または局在化を検出することができる。

【０２２４】

免疫組織化学は、本明細書に記載されているタンパク質リガンドを用いて行うことができる。例えば、抗体の場合、抗体を、標識（精製タグまたはエピトープタグなど）と一緒に合成するか、あるいは、例えば、標識または標識結合基をコンジュゲートすることにより検出可能に標識することができる。例えば、キレート剤を抗体に接続することができる。次いで、抗体を、組織プレパラート、例えば、顕微鏡スライド上にある組織の固定切片と接触させる。結合のためのインキュベーション後、調製物を洗浄し、非結合抗体を除去する。次いで、調製物を、例えば、顕微鏡を用いて解析し、抗体が調製物と結合したかどうかを同定する。

【０２２５】

抗体（または他のポリペプチドまたはペプチド）は、結合の時点で非標識であってよい。結合および洗浄後、検出可能にするために抗体を標識する。

【０２２６】

また、ＩＬ－１３抗体をタンパク質アレイ上に固定化することができる。タンパク質アレイを診断ツールとして使用し、例えば、医学的サンプル（単離細胞、血液、血清、生検

など）をスクリーニングすることができる。また、タンパク質アレイには、例えば、ＩＬ－１３または他の標的分子と結合する他のリガンドが含まれてよい。

【０２２７】

ポリペプチドアレイを作成する方法については、例えば、Ｄｅ　Ｗｉｌｄｔ他（２０００）Ｎａｔ．Ｂｉｏｔｅｃｈｎｏｌ．１８：９８９－９９４；Ｌｕｅｋｉｎｇ他（１９９９）Ａｎａｌ．Ｂｉｏｃｈｅｍ．２７０：１０３－１１１；Ｇｅ（２０００）Ｎｕｃｌｅｉｃ　Ａｃｉｄｓ　Ｒｅｓ．２８、ｅ３、Ｉ－ＶＩＩ；ＭａｃＢｅａｔｈおよびＳｃｈｒｅｉｂｅｒ（２０００）Ｓｃｉｅｎｃｅ　２８９：１７６０－１７６３；ＷＯ０１／４０８０３およびＷＯ９９／５１７７３Ａ１に記載されている。アレイのためのポリペプチドは、例えば、Ｇｅｎｅｔｉｃ　ＭｉｃｒｏＳｙｓｔｅｍｓまたはＢｉｏＲｏｂｏｔｉｃｓ製の市販のロボット装置を用い、高速でスポッとすることができる。アレイ基板は、例えば、ニトロセルロース、プラスチック、ガラス、例えば、表面修飾ガラスであってよい。また、アレイには、多孔性マトリックス、例えば、アクリルアミド、アガロースまたは別のポリマーが含まれてよい。

【０２２８】

例えば、アレイは、例えば、Ｄｅ　Ｗｉｌｄｔ、前掲書に記載されているように、抗体のアレイであってよい。タンパク質リガンドを産生する細胞は、アレイ化フォーマットのフィルター上で生育することができる。ポリペプチド産生が誘導され、発現したポリペプチドは、細胞の位置でフィルターに固定化される。

【０２２９】

タンパク質アレイを標識標的と接触させ、多様性鎖ライブラリーから、各々の固定化ポリペプチドに対する標的の結合の程度を決定することができる。標的が非標識である場合、例えば、標識プローブを用い、サンドイッチ法を使用して非標識標的の結合を検出することができる。

【０２３０】

アレイの各アドレスにおける結合の程度に関する情報は、例えば、コンピューターデータベース中に、プロファイルとして保存することができる。タンパク質アレイを複製で作成して使用し、例えば、標的および非標的の結合プロファイルを比較することができる。したがって、タンパク質アレイを用い、１つまたはそれ以上の分子に関して望ましい結合特性を有する多様性鎖ライブラリーの個々のメンバーを同定することができる。

【０２３１】

ＩＬ－１３抗体を用い、細胞、例えば、サンプル（例えば、患者サンプル）中の細胞を標識することができる。また、リガンドは、蛍光性化合物に接続されるか、接続可能である。次いで、細胞を、選別された（例えば、Ｂｅｃｔｏｎ　Ｄｉｃｋｉｎｓｏｎ　Ｉｍｍｕｎｏｃｙｔｏｍｅｔｒｙ　Ｓｙｓｔｅｍｓ、Ｓａｎ　Ｊｏｓｅ　ＣＡから入手できる選別機を用い；米国特許第５，６２７，０３７号；第５，０３０，００２号；および第５，１３７，８０９号も参照）蛍光性活性化細胞を用いて選別することができる。細胞が選別機を通過すると、レーザービームは、蛍光性化合物を励起し、一方、検出器は、通過する細胞をカウントし、蛍光を検出することにより蛍光性化合物が細胞と接続しているか否かを決定する。各細胞と結合している標識の量を定量して分析し、サンプルを特徴付けることができる。

【０２３２】

また、選別機は、細胞を一方にそらせ、リガンドが結合している細胞をリガンドが結合していない細胞から分離することができる。分離した細胞を培養しかつ／または特徴付けることができる。

【０２３３】

さらに別の実施形態において、本発明は、インビボで対象内のＩＬ－１３の存在を検出するための方法を提供する。この方法には、（ｉ）検出可能なマーカーとコンジュゲートされた抗ＩＬ－１３抗体を対象（例えば、ＩＬ－１３関連障害を有する患者）に投与すること；（ｉｉ）検出可能なマーカーを検出するための手段に対象を暴露することが含まれ

る。例えば、対象は、例えば、ＮＭＲまたは他の断層撮影手段により、撮像される。

【０２３４】

診断イメージングに有用な標識の例には、^{131}Ｉ、^{111}Ｉｎ、^{123}Ｉ、^{99m}Ｔｃ、^{32}Ｐ、^{33}Ｐ、^{125}Ｉ、^{3}Ｈ、^{14}Ｃおよび^{188}Ｒｈなどの放射性標識、フルオレセインおよびローダミンなどの蛍光性標識、核磁気共鳴活性標識、ポジトロン放出断層撮影（「ＰＥＴ」）スキャナーにより検出可能なポジトロン放出同位体、ルシフェリンなどの化学発光剤およびペルオキシダーゼまたはホスファターゼなどの酵素マーカーが含まれる。短距離検出器プローブにより検出可能な同位体などの短距離放射線エミッターも用いることができる。タンパク質リガンドは、知られている技法を用い、そのような試薬で標識することができる。例えば、抗体の放射標識に関する技法についてのＷｅｎｓｅｌおよびＭｅａｒｅｓ（１９８３）Ｒａｄｉｏｉｍｍｕｎｏｉｍａｇｉｎｇ ａｎｄ Ｒａｄｉｏｉｍｍｕｎｏｔｈｅｒａｐｙ、Ｅｌｓｅｖｉｅｒ、Ｎｅｗ ＹｏｒｋおよびＣｏｌｃｈｅｒ他（１９８６）Ｍｅｔｈ．Ｅｎｚｙｍｏｌ．１２１：８０２ ８１６を参照されたい。

【０２３５】

放射標識リガンドは、インビトロの診断テストにも使用することができる。同位体標識リガンドの比活性は、半減期、放射性標識の同位体純度および標識が抗体に組み入れられた方法によって異なる。

【０２３６】

放射性同位体（^{14}Ｃ、^{3}Ｈ、^{35}Ｓ、^{99m}Ｔｃ、^{125}Ｉ、^{32}Ｐ、^{33}Ｐおよび^{131}Ｉなど）でポリペプチドを標識するための手順は、一般的に知られている。例えば、米国特許第４，３０２，４３８号；Ｇｏｄｉｎｇ，Ｊ．Ｗ．（Ｍｏｎｏｃｌｏｎａｌ ａｎｔｉｂｏｄｉｅｓ：ｐｒｉｎｃｉｐｌｅｓ ａｎｄ ｐｒａｃｔｉｃｅ：ｐｒｏｄｕｃｔｉｏｎ ａｎｄ ａｐｐｌｉｃａｔｉｏｎ ｏｆ ｍｏｎｏｃｌｏｎａｌ ａｎｔｉｂｏｄｉｅｓ ｉｎ ｃｅｌｌ ｂｉｏｌｏｇｙ，ｂｉｏｃｈｅｍｉｓｔｒｙ，ａｎｄ ｉｍｍｕｎｏｌｏｇｙ第２版 Ｌｏｎｄｏｎ；Ｏｒｌａｎｄｏ：Ａｃａｄｅｍｉｃ Ｐｒｅｓｓ、１９８６．ｐｐ１２４ １２６）およびその中に引用されている参考文献；ならびにＡ．Ｒ．Ｂｒａｄｗｅｌｌ他、「Ｄｅｖｅｌｏｐｍｅｎｔｓ ｉｎ Ａｎｔｉｂｏｄｙ Ｉｍａｇｉｎｇ」、Ｍｏｎｏｃｌｏｎａｌ Ａｎｔｉｂｏｄｉｅｓ ｆｏｒ Ｃａｎｃｅｒ Ｄｅｔｅｃｔｉｏｎ ａｎｄ Ｔｈｅｒａｐｙ、Ｒ．Ｗ．Ｂａｌｄｗｉｎ他、（編）、ｐｐ６５ ８５（Ａｃａｄｅｍｉｃ Ｐｒｅｓｓ １９８５）を参照されたい。

【０２３７】

本明細書に記載されているＩＬ－１３抗体は、磁気共鳴イメージング（ＭＲＩ）造影剤にコンジュゲートすることができる。一部のＭＲＩ技法は、ＥＰ－Ａ－０５０２８１４に要約されている。

【０２３８】

これらの緩和時間定数の差を造影剤によって増強することができる。そのような造影剤の例には、多くの磁気物質、常磁性物質（主にＴ１を変える）および強磁性または超常磁性（主にＴ２応答を変える）が含まれる。キレート（例えば、ＥＤＴＡ、ＤＴＰＡおよびＮＴＡキレート）を用い、一部の常磁性物質（例えば、Fe^{3+}、Mn^{2+}、Gd^{3+}）に接続し（それらの毒性を軽減）することができる。他の物質は、例えば、直径１０ｍｍ未満～約１０ｎｍで強磁性、反強磁性または超常磁性を有する粒子の形態であってよい。

【０２３９】

また、ＩＬ－１３抗体を、ＮＭＲ活性な^{19}Ｆ原子またはＰｙｋｅｔｔ（（１９８２）Ｓｃｉｅｎｔｉｆｉｃ Ａｍｅｒｉｃａｎ ２４６：７８－８８）により記載されているような複数の原子を含む指示基で標識し、ＩＬ－１３分布を見つけて撮像することができる。

【０２４０】

また、本明細書に記載されている範囲内には、ＩＬ－１３と結合するタンパク質リガンドおよび診断的使用、例えば、インビトロで、例えば、サンプル、例えば、ＩＬ－１３関

連障害を有する患者由来の生検または細胞において、または、例えば、対象を撮像することによりインビボでＩＬ－１３を検出するためのＩＬ－１３抗体（例えば、抗体またはその抗原結合性フラグメントまたは他のポリペプチドもしくはペプチド）の使用のための説明書を含むキットが含まれる。キットは、標識または追加の診断薬などの少なくとも１つの追加試薬を含むことができる。インビボ使用の場合、リガンドは、医薬組成物として調剤することができる。

【０２４１】

キット

ＩＬ－１３アンタゴニスト、例えば、抗ＩＬ－１３抗体またはそのフラグメントは、キットにおいて、例えば、キットの構成要素として提供することができる。例えば、キットには、（ａ）ＩＬ－１３アンタゴニスト、例えば、抗ＩＬ－１３抗体またはそのフラグメント、例えば、ＩＬ－１３抗体またはそのフラグメントが含まれる組成物および、所望により、（ｂ）情報材料が含まれる。情報材料は、本明細書に記載されている方法のための、記述的材料、教育的材料、マーケティング材料または本明細書に記載されている方法および／またはＩＬ－１３アンタゴニスト、例えば、抗ＩＬ－１３抗体またはそのフラグメントの使用に関する他の材料であってよい。

【０２４２】

キットの情報材料は、その形態に限定されるものではない。一実施形態において、情報材料には、化合物の製造、化合物の分子量、濃度、使用期限、バッチまたは製造地情報などに関する情報が含まれてよい。一実施形態において、情報材料は、本明細書に記載されている障害を治療、予防、診断、予知またはモニターするためにリガンドを使用することに関する。

【０２４３】

一実施形態において、情報材料には、本明細書に記載されている方法を行うのに適している方法で、例えば、適当な投与量、剤形または投与方法（例えば、本明細書に記載されている投与量、剤形または投与方法）でＩＬ－１３アンタゴニスト、例えば、抗ＩＬ－１３抗体またはそのフラグメントを投与するための説明書が含まれてよい。別の実施形態において、情報材料には、適当な対象、例えば、ヒト、例えば、アレルギー性喘息、非アレルギー性喘息または他のＩＬ－１３仲介性障害、例えば、アレルギー性および／または炎症性障害またはＨＴＬＶ－１感染を有するか、それらの危険性のあるヒトにＩＬ－１３アンタゴニスト、例えば、抗ＩＬ－１３抗体またはそのフラグメントを投与するための説明書が含まれてよい。ＩＬ－１３産生は、ＨＴＬＶ－１感染と相関関係があるとされている（Ｃｈｕｎｇ他、（２００３）Ｂｌｏｏｄ　１０２：４１３０－３６）。

【０２４４】

例えば、材料には、アレルギー性喘息、非アレルギー性喘息またはＩＬ－１３仲介性障害、例えば、アレルギー性および／または炎症性障害またはＨＴＬＶ－１感染があるか、それらの危険性のあるヒトにＩＬ－１３アンタゴニスト、例えば、抗ＩＬ－１３抗体またはそのフラグメントを投与するための説明書が含まれてよい。

【０２４５】

キットには、ＩＬ－１３アンタゴニスト、例えば、抗ＩＬ－１３抗体またはそのフラグメントを含有する組成物のための１つまたはそれ以上の容器が含まれてよい。一部の実施形態において、キットは、組成物および情報材料のための別々の容器、仕切りまたは区画を含む。例えば、組成物は、ビン、バイアルまたは注射器に入れることができ、情報材料は、プラスチックのスリーブまたはパケットに入れることができる。他の実施形態において、キットの別々の要素は、単一の分割されていない容器内に入れる。例えば、組成物を、ラベルの形態の情報材料を貼り付けたビン、バイアルまたは注射器に入れる。一部の実施形態において、キットには、各々が、ＩＬ－１３アンタゴニスト、例えば、抗ＩＬ－１３抗体またはそのフラグメントの１つまたはそれ以上の単位剤形（例えば、本明細書に記載されている剤形）を含む複数（例えば、一組）の個別容器が含まれる。例えば、キットには、各々が、ＩＬ－１３アンタゴニスト、例えば、抗ＩＬ－１３抗体またはそのフラグ

メントの単一単位投与量または複数の単位投与量を含む複数の注射器、アンプル、ホイルパケット、アトマイザーまたは吸入装置が含まれる。

【０２４６】

所望により、キットには、組成物の投与に適している装置、例えば、注射器、吸入器、ピペット、ピンセット、測定スプーン、点滴器（例えば、点眼器）、綿棒（例えば、木綿製綿棒または木製綿棒）または任意のそのようなデリバリー装置が含まれる。好ましい実施形態において、装置は、リガンドの一定量を分配する埋め込み可能な装置である。

【０２４７】

以下に続く実施例は、本発明の理解を助けるために示されるものであり、決して、本発明の範囲を限定しようと意図するものではなく、限定すると解釈されるべきではない。

【実施例１】

【０２４８】

実施例１

ヒトＩＬ－１３に特異的なマウスモノクローナル抗体の作成

実施例１．１：ヒトＩＬ－１３と結合するマウスモノクローナル抗体（ｍＡｂ１３．２）の単離

ポリクローナル抗血清は、組換えヒトＩＬ－１３（Ｒ＆Ｄ　Ｓｙｓｔｅｍｓ、Ｍｉｎｎｅａｐｏｌｉｓ、ＭＮ）による雌性ＢＡＬＢ／ｃマウスの免疫化により調製した。血清を、ＥＬＩＳＡにより、ヒトＩＬ－１３との結合についてスクリーニングした。高い血清抗体価を示すマウス由来の脾細胞を、Ｐ３Ｘ６３＿ＡＧ８．６５３骨髄腫（ＡＴＣＣ）と融合させ、選択培地にプレートした。融合物を、限界希釈による３回のサブクローニングで単離し、ヒトＩＬ－１３に対する結合親和性を有する抗体の産生についてスクリーニングした。３種のモノクローナル抗体は、ＩＬ－１３と結合し、機能性ＩＬ－１３シグナル伝達複合体の形成を妨害し、１つまたはそれ以上のＩＬ－１３関連活性を中和および／または阻害することができ、抗体ｍＡｂ１３．２（ＩｇＧ１κ）をさらなる研究のために選択した。

【０２４９】

実施例１．２：マウスモノクローナル抗体、ｍＡｂ１３．２は、高い親和性および特異性でヒトＩＬ－１３と結合する

実施例１．１において単離されたマウスモノクローナル抗体、すなわち、ｍＡｂ１３．２が、ヒトＩＬ－１３と高い親和性および特異性で結合することを確認するためのいくつかの措置を講じた。第一に、ヒトＩＬ－１３に対する３種のモノクローナル抗体（ｍＡｂ１３．２、ｍＡｂ１３．４およびｍＡｂ１３．９）のＢＩＡＣＯＲＥ（商標）分析を、ビオチン化ＩＬ－１３が固定化されている６９　ＲＵストレプトアビジンチップを用いて行った。３種の抗体を個別にチップ上へ通すと、各々は、速やかな結合を示した（図１）。緩衝液交換すると、解離は遅かった（図１）。第二に、ｍＡｂ１３．２のＢＩＡＣＯＲＥ（商標）分析を、ｍＡｂ１３．２が固定化されているＢｉａｃｏｒｅチップを用いて行った。様々な濃度のＩＬ－１３をチップ上へ通した。この場合も、速やかな結合および遅い解離が見られた（図２）。第三に、ＥＬＩＳＡによる分析は、ｍＡｂ１３．２が、臍帯血Ｔ細胞に由来する天然ＩＬ－１３が含まれる試験されたすべての形態のヒトＩＬ－１３と結合することを決定した（図３）。プレートは、抗ＦＬＡＧ（商標）　Ｍ２抗体でコーティングした。ＦＬＡＧ－ヒトＩＬ－１３の結合は、ビオチン化ｍＡｂ１３．２およびストレプトアビジン－ペルオキシダーゼで検出した。ＥＬＩＳＡは、ｍＡｂ１３．２とＩＬ－１３の間の結合が、マイトジェン活性化、Ｔｈ２優性型、臍帯血単核細胞から単離された天然ヒトＩＬ－１３および組換えヒトＩＬ－１３と競合することを立証した（図３）。ｍＡｂ１３．２の組換えマウスＩＬ－１３との検出可能な結合は認められなかった（図３）。ＥＬＩＳＡにより見い出された結果を確認するため、モノクローナル抗体、ｍＡｂ１３．２を、Ｂｉａｃｏｒｅチップ上にコーティングし、組換えヒトＩＬ－１３または喘息に苦しむ患者において高頻度で発現される（Ｈｅｉｎｚｍａｎｎ他（２０００）Ｈｕｍ．Ｍｏｌ．Ｇｅｎｅｔ．９：５９４）多形形態のＩＬ－１３（ＡＲＧ変異体）を含有する溶液

をチップ上へ通した。両形態は、速やかな結合および抗体からの検出不可能な解離を示した（図４Ａ）。最後に、ＧＬＰ（優良実験室規範）条件下で行われた予備的な交差反応性研究中に、ｍＡｂ１３．２は、剖検または生検で得られた３７種の正常なヒト組織の一団、すなわち、ＤＣ ＣＰＭＰ Ｇｕｉｄｅｌｉｎｅ ＩＩＩ／５２７１／９４ Ｄｒａｆｔ ５、「モノクローナル抗体の製造および品質管理（Ｐｒｏｄｕｃｔｉｏｎ ａｎｄ ｑｕａｌｉｔｙ ｃｏｎｔｒｏｌ ｏｆ ｍｏｎｏｃｌｏｎａｌ ａｎｔｉｂｏｄｉｅｓ）」のＡｎｎｅｘ ＩＩ中の「交差反応の免疫組織化学的検討に使用すべきヒト組織の提案リスト（ｓｕｇｇｅｓｔｅｄ ｌｉｓｔ ｏｆ ｈｕｍａｎ ｔｉｓｓｕｅｓ ｔｏ ｂｅ ｕｓｅｄ ｆｏｒ ｉｍｍｕｎｏｈｉｓｔｏｃｈｅｍｉｃａｌ ｉｎｖｅｓｔｉｇａｔｉｏｎｓ ｏｆ ｃｒｏｓｓ－ａｃｔｉｖｉｔｙ）」上のすべての組織および１９９７ ＵＳ ＦＤＡ／ＣＢＥＲ「Ｐｏｉｎｔｓ ｔｏ Ｃｏｎｓｉｄｅｒ ｉｎ ｔｈｅ Ｍａｎｕｆａｃｔｕｒｅ ａｎｄ Ｔｅｓｔｉｎｇ ｏｆ Ｍｏｎｏｃｌｏｎａｌ Ａｎｔｉｂｏｄｙ Ｐｒｏｄｕｃｔｓ ｆｏｒ Ｈｕｍａｎ Ｕｓｅ」の表２に推奨されているすべての組織が含まれる組織の一団に対して有意な交差反応性を示さなかった。

【０２５０】

実施例１．３：マウスモノクローナル抗体ｍＡｂ１３．２は、インビトロでＩＬ－１３関連活性を中和する

インビトロで１つまたはそれ以上のＩＬ－１３関連活性を中和するｍＡｂ１３．２の能力を、ＴＦ１バイオアッセイ、ヒト末梢血単球およびヒト末梢血Ｂ細胞を用いて確認した。適切な条件下、ヒトＴＦ１赤白血病細胞系の増殖を、ＩＬ－１３依存性にすることができる。第一に、最適以下の濃度の組換えヒトＩＬ－１３かヒトＩＬ－１３のＡＲＧ変異体のどちらかで誘発されるサイトカイン依存性ＴＦ１細胞系の増殖がｍＡｂ１３．２により阻害されるか否かを決定した。図４Ｂは、ｍＡＢ１３．２が、ＴＦ１増殖を刺激する組換えヒトＩＬ－１３とヒトＩＬ－１３のＡＲＧ変異体の両方の能力を阻害したことを示している。第二に、ＴＦ１細胞系をＩＬ－１３不足とし、次いで、最適以下の濃度の組換えヒトＩＬ－１３に暴露し、精製マウスｍＡｂ１３．２か可溶性ＩＬ－１３受容体（ｒｈｕＩＬ－１３Ｒα２）のどちらかの存在下で増殖を誘導した。細胞を３日間インキュベートし、最後の４時間にわたる^{3}Ｈ－チミジン取り込みを、液体シンチレーションカウンティングにより測定した。最適以下のＩＬ－１３濃度において、ｍＡｂ１３．２は、ＴＦ１増殖の用量依存的阻害を引き起こした（図５）。この効果のＩＣ$_{50}$、２５０ｐＭは、可溶性ｒｈｕＩＬ－１３Ｒα２のＩＣ$_{50}$に極めて匹敵する（図５）。例示的抗体は、この効果について、約５０～５００ｐＭまたは１２０～３００ｐＭまたは２４０～３５０ｐＭのＩＣ$_{50}$を有する。

【０２５１】

ヒト末梢血単球は、低親和性ＩｇＥ受容体（ＣＤ２３）の細胞表面発現を増加させることにより用量依存的にＩＬ－１３またはＩＬ－４に反応するため（図６Ａ）、ヒト単球を用い、このＩＬ－１３関連活性を中和するｍＡｂ１３．２の能力を確認した。ｍＡｂ１３．２が、単球によるＩＬ－１３仲介性ＣＤ２３細胞表面発現を中和するか否かを決定するため、末梢血単核細胞を健康なドナーから単離し、漸増量のＩＬ－１３のみ、漸増量のＩＬ－４のみ、１ｎｇ／ｍｌのＩＬ－１３と漸増量のｍＡｂ１３．２または０．３ｎｇ／ｍｌのＩＬ－４と漸増量のｍＡｂ１３．２と共にインキュベートした。翌日、細胞を収集し、ＣＹＣＨＲＯＭＥ（商標）標識抗ＣＤ１１ｂ（単球マーカー）およびＰＥ標識抗ＣＤ２３で染色した。ゲートされたＣＤ１１ｂ$^{+}$単球を、フローサイトメトリーによりＣＤ２３発現についてアッセイした。予想通り、ｍＡｂ１３．２は、ＩＬ－１３仲介性ＣＤ２３発現を阻害したが（図６Ｂ）、ＩＬ－４誘発性ＣＤ２３発現を阻害しなかった（図６Ｃ）。

【０２５２】

また、ｍＡｂ１３．２の効果を、ヒト末梢血Ｂ細胞によるＩＬ－１３仲介性ＩｇＥ産生のモデルで試験した。ＩＬ－１３およびＴ細胞マイトジェン、ＰＨＡに反応し、ヒトＢ細胞は、ＩｇＥに対するＩｇアイソタイプスイッチ組換えを受け、培養液中により高いＩｇＥレベルをもたらす。この効果は、ＩｇＥ産生Ｂ細胞の頻度増加として観察することがで

きる。健康なドナー由来のＰＢＭＣを、フィーダーとしての自家放射線照射ＰＢＭＣの存在下、マイクロタイターウエル中で培養し、ＰＨＡおよびＩＬ－１３で刺激した。３週間後、各ウエルを、ＥＬＩＳＡによりＩｇＥ濃度についてアッセイした。ＰＨＡ＋ＩＬ－１３は、ＩｇＥ産生Ｂ細胞クローンの頻度を増加させた（図７）。この効果は、ｍＡｂ１３．２により阻害されたが、ＩＬ－１３特異的非中和抗体（ｍＡｂ１３．８）または対照マウスＩｇＧ（ｍｓＩｇＧ）により阻害されず（図７）、ｍＡｂ１３．２が、培養Ｂ細胞によるＩＬ－１３仲介性ＩｇＥアイソタイプスイッチングを効率的に遮断したことを示した。

【０２５３】

最後に、ＩＬ－１３に対する初期細胞応答を遮断するｍＡｂ１３．２の能力を、シグナル伝達性転写因子（ＳＴＡＴ）６リン酸化に対するその効果を調べることにより試験した。その細胞表面受容体とのＩＬ－１３相互作用により、ＳＴＡＴ６は、二量体化し、リン酸化され、細胞質から核に転位し、その場所で、サイトカイン応答性遺伝子の転写を活性化する（Ｍｕｒａｔａ他（１９９５）Ｊ．Ｂｉｏｌ．Ｃｈｅｍ．２７０：３０８２９－３６）。リン酸化ＳＴＡＴ６に対する特異抗体は、ＩＬ－１３暴露の３０分以内のウエスタンブロットおよび／またはフローサイトメトリー分析により、この活性化を検出することができる。

【０２５４】

ＨＴ－２９ヒト上皮細胞系を用い、ＳＴＡＴ６リン酸化をアッセイした。ＨＴ－２９細胞を、３７℃にて３０分間、漸増濃度のＩＬ－１３中でインキュベートした。細胞ライセートのウエスタンブロット分析は、ＳＴＡＴ６の用量依存的ＩＬ－１３仲介性リン酸化を立証した（図８Ａ）。同様に、フローサイトメトリー分析は、３７℃で３０分間、飽和濃度のＩＬ－１３で処理し、固定し、透過化処理し、ホスホ－ＳＴＡＴ６に対してＡＬＥＸＡ（商標）　Ｆｌｕｏｒ　４８８標識ｍＡｂで染色したＨＴ－２９細胞におけるリン酸化ＳＴＡＴ６を立証した（図８Ｂ）。アイソタイプ対照抗体で染色した処理細胞は、蛍光を示さなかった。最後に、細胞を、最適以下の濃度のＩＬ－１３のみ、ＩＬ－１３とｍＡｂ１３．８、ＩＬ－１３とｍＡｂ１３．２またはＩＬ－１３と対照ｍｓＩｇＧ１抗体で処理した場合、フローサイトメトリー分析は、細胞を、ｍＡｂ１３．２の存在下で処理した場合にのみＳＴＡＴ６リン酸化の完全な抑止を示し、すなわち、ｍＡｂ１３．２は、ＳＴＡＴ６リン酸化を遮断したが、ＩＬ－１３特異的非中和抗体（ｍＡｂ１３．８）および対照マウスＩｇＧ１には、効果がなかった（図８Ｃ）。これらの研究は、ｍＡｂ１３．２が、ＩＬ－１３仲介性ＳＴＡＴ６リン酸化を阻害することを立証した。

【０２５５】

実施例１．４：マウスモノクローナル抗体ｍＡｂ１３．２は、インビボでＩＬ－１３関連活性を中和する

インビボで１つまたはそれ以上のＩＬ－１３関連活性を中和するマウスｍＡｂ１３．２の有効性を、ブタ回虫（Ａｓｃａｒｉｓ　ｓｕｕｍ）に対して生まれつきアレルギーのあるカニクイザルにおける抗原誘発性気道炎症のモデルを用いて試験した。このモデルにおいて、ブタ回虫（Ａｓｃａｒｉｓ　ｓｕｕｍ）抗原によるアレルギー性サルのチャレンジは、炎症細胞、特に、好酸球の気道中への流入をもたらす。細胞のこの流入を予防するｍＡｂ１３．２の能力を試験するため、ブタ回虫（Ａｓｃａｒｉｓ　ｓｕｕｍ）抗原によるチャレンジの２４時間前に抗体を投与した。チャレンジの日に、ベースラインの気管支肺胞洗浄液（ＢＡＬ）サンプルを、左肺から採取した。次いで、抗原を、右肺中に気管内注入した。２４時間後、右肺を洗浄し、８ｍｇ／ｋｇの腹水－精製ｍＡｂ１３．２で静脈内処置した動物由来のＢＡＬ液を、未処置の動物由来のＢＡＬ液と比較した。好酸球数は、チャレンジ後に５頭の未処置動物のうちの４頭で増加し、それと比較して、ｍＡｂ１３．２で処置した６頭の動物のうち１頭で増加した（図９）。ＢＡＬ好酸球百分率は、未処置群については有意に増加したが（ｐ＜０．０２）、抗体処置群については有意に増加しなかった。これらの結果は、ｍＡｂ１３．２が、アレルゲンをチャレンジされたアレルギー性動物における気道好酸球増加症を効率的に予防することを裏付けた。

【０２５６】
マウスｍＡｂ１３．２の平均血清半減期は、サルにおいて１週間未満であった。痕跡のｍＡｂ１３．２すべてが血清から消えたであろう３カ月時点で、ｍＡｂ１３．２処置動物にブタ回虫（Ａｓｃａｒｉｓ　ｓｕｕｍ）を再チャレンジし、これらの個体の回虫（Ａｓｃａｒｉｓ）応答性を確認した。処置群における６頭のサルのうちの２頭は、ノンレスポンダーであることが見い出された。
【０２５７】
実施例１．５：マウスモノクローナル抗体ｍＡｂ１３．２は、通常はＩＬ－４Ｒαと結合するＩＬ－１３の領域に結合する
おそらく、ＩＬ－１３関連活性は、ＩＬ－１３Ｒα１およびＩＬ－４Ｒα鎖からなる受容体複合体を介して仲介される。先ず、サイトカインは、細胞の表面上で、比較的低親和性のＩＬ－１３Ｒα１との相互作用を起こす。次いで、ＩＬ－１３／ＩＬ－１３Ｒα１複合体は、ＩＬ－４Ｒαを動員し、完全ＩＬ－１３受容体を形成し、高い親和性でそのリガンド（ＩＬ－１３）と結合する（Ｚｕｒａｗｓｋｉ他（１９９３）ＥＭＢＯ　Ｊ．１２：２６６３；Ｚｕｒａｗｓｋｉ他（１９９５）Ｊ．Ｂｉｏｌ．Ｃｈｅｍ．２７０：２３８６９）。次いで、ＩＬ－１３の高親和性受容体との結合は、ヤヌスキナーゼ－シグナル伝達性転写因子（ＪＡＫ－ＳＴＡＴ）経路が関わるＩＬ－４Ｒα鎖を介し、例えば、ＩＬ－１３に対する初期細胞応答のうちの１つとしてモニターすることができるＳＴＡＴ６のリン酸化を介して下流シグナルを送る（Ｍｕｒａｔａ他、前掲書）。エピトープマッピング、Ｘ線結晶学、さらにはＢＩＡＣＯＲＥ（商標）分析などのいくつかのアプローチを用い、マウスｍＡｂ１３．２とヒトＩＬ－１３の間の相互作用を解明し、さらに、１つまたはそれ以上のＩＬ－１３関連活性を変調するｍＡｂ１３．２の能力の根底にある基盤を調べた。
【０２５８】
ｍＡｂ１３．２とＩＬ－１３の間の相互作用は、Ｘ線結晶学により研究した。腹水由来の全ＩｇＧを、タンパク質Ａカラム上で単離し、パパインで消化し、ｍＡｂ１３．２　Ｆａｂフラグメントを作成し、次いで、高度に精製した。Ｆａｂフラグメント自体を結晶化し、構造解析を、シンクロトロン放射を用い、２．８Åの解像度で入手した。さらに、ｍＡｂ１３．２　Ｆａｂフラグメントを、ヒトＩＬ－１３と共結晶化し、この結晶構造を、１．８Åの解像度で解析した。ｍＡｂ１３．２とＩＬ－１３の間の主要な接触部位は、主に、抗体のＣＤＲループおよびＩＬ－１３のＣヘリックスのＣ末端領域において集まっていると識別された（図１０）。成熟ＩＬ－１３タンパク質、すなわち、シグナルペプチドが切断されているＩＬ－１３タンパク質について図１１に示されるナンバリング配列によると、ｍＡｂ１３．２と接触するＩＬ－１３の主要な残基は、配列番号３２のＧＬＵ４９、ＡＳＮ５３、ＧＬＹ６９、ＰＲＯ７２、ＨＩＳ７３、ＬＹＳ７４およびＡＲＧ８６である。
【０２５９】
ヒトＩＬ－１３と結合するｍＡｂ１３．２　Ｆａｂフラグメントの能力は、ＥＬＩＳＡにより確認された。抗ＦＬＡＧ（商標）　Ｍ２抗体で一夜コーティングされたＥＬＩＳＡプレートへのＦＬＡＧ－ヒトＩＬ－１３の結合は、ビオチン化ｍＡｂ１３．２を用いて検出した。非標識ｍＡｂ１３．２、単離ｍＡｂ１３．２　Ｆａｂフラグメントまたは無関係な抗体を導入し、ＦＬＡＧ－ヒトＩＬ－１３に対するビオチン化ｍＡｂ１３．２の結合と競合させた。データは、非標識ｍＡｂ１３．２およびｍＡｂ１３．２　Ｆａｂフラグメントが、ＦＬＡＧ－ヒトＩＬ－１３との結合についてビオチン化ｍＡｂ１３．２と競合することができたことを示している（図１２）。さらに、非標識ｍＡｂ１３．２と類似した競合の程度を達成するには、より高濃度のＦａｂフラグメントが必要であるように見えるが（図１２Ａ）、この相違は、競合を結合部位の濃度の関数として分析した場合、例えば、各単離Ｆａｂフラグメント当たり１つの結合部位および各非標識ｍＡｂ１３．２当たり２つの結合部位を仮定すれば解決する（図１２Ｂ）。非標識ｍＡｂ１３．２およびｍＡｂ１３．２　Ｆａｂフラグメントと対照的に、無関係な抗体は、ＦＬＡＧ－ヒトＩＬ－１３と

の結合についてビオチン化ｍＡｂ１３．２と競合することができなかった（図１２）。
【０２６０】
インビトロで１つまたはそれ以上のＩＬ－１３関連活性を中和するｍＡｂ１３．２　Ｆａｂフラグメントの能力は、ｍＡｂ１３．２　Ｆａｂフラグメントの非存在下また存在下、上記に記載されているように、ヒト末梢血単球によるＴＦ１細胞の増殖およびＣＤ２３の発現を測定することにより確認された。図１３Ａは、ｍＡｂ１３．２　Ｆａｂフラグメントが、ｍＡｂ１３．２と同様に、結合部位濃度依存的にＴＦ１増殖を刺激する組換えヒトＩＬ－１３の能力を阻害したことを示している。さらに、ｍＡｂ１３．２　Ｆａｂフラグメントは、ｍＡｂ１３．２と同様に、結合部位濃度依存的にＣＤ２３のＩＬ－１３仲介性発現を阻害した（図１３Ｂ）。
【０２６１】
上記に記載されているＸ線結晶学、エピトープマッピング、ＥＬＩＳＡ、ＴＦ１増殖およびＣＤ２３発現分析は、ｍＡｂ１３．２が、ＩＬ－１３ヘリックスのＣ末端領域、すなわち、ＩＬ－４Ｒ結合領域に結合することを示した。この分析を確認するため、ｍＡｂ１３．２とＩＬ－１３の間の相互作用を、ＢＩＡＣＯＲＥ（商標）チップで分析した。この分析は、いくつかのフォーマットで行った。第一に、ＩＬ－４ＲをＢＩＡＣＯＲＥ（商標）チップに結合させ、ＩＬ－１３Ｒα１に予め結合させたＩＬ－１３の複合体をチップ上へ流した。ｍＡｂ１３．２の非存在下では、３分子複合体の形成が立証された。しかしながら、ＩＬ－１３Ｒα１に予め結合させたＩＬ－１３の混合物へのｍＡｂ１３．２の添加は、チップ上のＩＬ－４Ｒとの結合を妨害した。第二に、ｍＡｂ１３．２をチップ上に固定化し、結合ＩＬ－１３を溶液相に加えた。ＩＬ－１３Ｒα１は、結合ＩＬ－１３と相互作用することが認められたが、ＩＬ－４Ｒと結合ＩＬ－１３との相互作用は認められなかった。第三に、ｍＡｂ１３．２は、チップ上に固定化されたＩＬ－１３Ｒα１－ＦｃまたはＩＬ－１３Ｒα１単量体と結合しているＩＬ－１３と結合することが立証された。これらの知見は、ｍＡｂ１３．２が、ＩＬ－１３Ｒα１とのＩＬ－１３相互作用を阻害しないが、ＩＬ－１３Ｒα１のＩＬ－４Ｒαとの相互作用を分断することを裏付けている。この分断は、機能性ＩＬ－１３シグナル伝達複合体の形成を妨害すると考えられる。これらの知見は、この抗体の中和活性についての理論モデルを提供する。
【０２６２】
ｍＡｂ１３．２のＩＬ－１３およびＩＬ－１３Ｒα１との複合体のインビトロでの証明は、ｍＡｂ１３．２が、細胞表面において受容体結合型のＩＬ－１３と結合している可能性を示唆している。細胞に結合したｍＡｂ１３．２が、受容体に結合したＩＬ－１３が飽和している条件下で検出することができるか否かを判定するため、ＨＴ－２９ヒト上皮細胞系を、４℃にて様々な濃度のＩＬ－１３で処理し、続いて、モノクローナル抗体ｍＡｂ１３．２、ｍＡｂ１３．８または対照マウスＩｇＧ１を添加した。結合は、ビオチン化抗マウスＩｇＧ１およびＰＥ－ストレプトアビジンを用いるフローサイトメトリー分析により検出した。ＨＴ－２９細胞は、ＩＬ－１３Ｒα１を発現するが、細胞表面に結合したＩＬ－１３とのｍＡｂ１３．２の結合は、２ｍｇ／ｍｌまでのｍＡｂ１３．２の濃度にて検出されなかった。この知見は、ｍＡｂ１３．２が１つまたはそれ以上のＩＬ－１３関連活性の強力な中和物であるという証明と共に、ＩＬ－１３シグナル伝達複合体、すなわち、ＩＬ－１３受容体の正常な機能が、ｍＡｂ１３．２により分断されることを示している。
【０２６３】
上記に記載されている知見は、マウスモノクローナル抗体ｍＡｂ１３．２が、高い親和性および特異性でＩＬ－１３と結合し、強力な中和活性を示すこと、すなわち、ｍＡｂ１３．２が、試験されたすべてのＩＬ－１３関連活性を効率的に遮断することを裏付けている。これらの知見は、ヒトＩＬ－１３についての、ｍＡｂ１３．２が、ＩＬ－４Ｒα結合部位と相互作用するが、ＩＬ－１３Ｒα１結合部位とは相互作用しないという知見と関連している。
【実施例２】
【０２６４】

実施例２

キメラｍＡｂ１３．２抗体（ｃｈ１３．２）の作成

実施例２．１：キメラｍＡｂ１３．２抗体（ｃｈ１３．２）の単離

ｍＡｂ１３．２をコードする可変重（ＶＨ）および可変軽（ＶＬ）遺伝子を、抗体を産生するハイブリドーマから単離されたｍＲＮＡからクローン化し配列決定した。ＶＨ配列は、ヒトＦｃ受容体および補体成分との結合を低減するための２つの点変異（Ｌ２３４ＡおよびＧ２３７Ａ）を含むヒトＩｇＧ１をコードするｐＥＤ６　ｈｕＩｇＧ１＿ｍｕｔ発現ベクター（配列番号１７；Ｍｏｒｇａｎ他（１９９５）Ｉｍｍｕｎｏｌｏｇｙ　８６：３１９－２４；Ｓｈｉｅｌｄｓ他（２００１）Ｊ．Ｂｉｏｌ．Ｃｈｅｍ．２７６：６５９１－６０４）中にサブクローニングした。ｍＡｂ１３．２のＶＬ配列は、ｐＥＤ６　Ｋａｐｐａ発現ベクター中にサブクローニングした。ｍＡｂ１３．２のＶＨおよびＶＬ配列を含む発現ベクターをＣＯＳ－１細胞中に同時形質移入し、キメラｍＡｂ１３．２抗体（ｃｈ１３．２）を馴化培地から精製した。

【０２６５】

実施例２．２：キメラｍＡｂ１３．２抗体（ｃｈ１３．２）は、インビトロでＩＬ－１３関連活性を中和する

キメラ抗体、ｃｈ１３．２を、ＩＬ－１３結合について試験した。モノクローナル抗体ｍＡｂ１３．２、ｍＡｂ１３．２のキメラ形態（ｃｈ１３．２）および対照抗体（１３．８）を、抗ＦＬＡＧ抗体と共にＥＬＩＳＡプレート上に固定化されたヒトＩＬ－１３－ＦＬＡＧとの結合についてビオチン化マウスｍＡｂ１３．２と競合するそれらの能力について試験した。キメラ抗体、ｃｈ１３．２は、ｍＡｂ１３．２と同様に、ＩＬ－１３と競合的に結合することができた（図１４Ａ）。別の試験において、ヒト末梢血単球を、ＩＬ－１３で一夜処理し、様々な濃度のマウスｍＡｂ１３．２またはｃｈ１３．２の存在下でＣＤ２３発現を誘導した。図１４Ｂに示されるように、ｃｈ１３．２は、ｍＡｂ１３．２と同程度に、単球によるＩＬ－１３仲介性ＣＤ２３発現を妨害した。

【実施例３】

【０２６６】

実施例３

部分および完全ヒト化ｍＡｂ１３．２抗体（ｈ１３．２ｖ１およびｈ１３．２ｖ２）の作成

実施例３．１：部分ヒト化ｍＡｂ１３．２抗体（ｈ１３．２ｖ１）の単離

ｍＡｂ１３．２のヒト化は、アミノ酸配列相同性、ＣＤＲクラスター分析、発現ヒト抗体の中での使用頻度およびヒト抗体の結晶構造に関する入手可能な情報に基づいた。ヒト化は、ヒトＤＰ－５４可変重（ＶＨ）およびＤＰＫ－９可変軽（ＶＬ）生殖系列遺伝子（それぞれ、例えば、図１６および１７に示す）に基づいた。抗体結合、ＶＨ－ＶＬ対合および他の要素に対する可能な影響を考慮に入れ、マウス残基を、若干の例外はあるものの、マウスおよびヒトフレームワーク残基が異なるヒト残基に変異させた。ｃｈ１３．２　ＶＨ鎖アミノ酸配列のヒトＤＰ－５４生殖系列遺伝子の予想アミノ酸配列および得られた部分ヒト化ｈ１３．２ｖ１　ＶＨ鎖アミノ酸配列との比較を図１５に示す。ｃｈ１３．２　ＶＬ鎖アミノ酸配列のヒトＤＰＫ－９の予想アミノ酸配列および得られた部分ヒト化ｈ１３．２ｖ１　ＶＬ鎖との比較を図１６に示す。図１６および１７に見られるように、ｈ１３．２ｖ１　ＶＨおよびＶＬ鎖は、それぞれｃｈ１３．２　ＶＨおよびＶＬ鎖の相補性決定領域（ＣＤＲ）、すなわち抗原結合性領域を保持していた。さらに、ＶＨフレームワーク中の１つの残基およびＶＬフレームワーク中の２つの残基のみをマウスに保ち、抗原結合性領域およびＶＨ－ＶＬ対合を劇的に変化させる危険性を軽減した（図１６および１７）。

【０２６７】

ｍＡｂ１３．２の部分ヒト化は、ヒト生殖系列遺伝子に対応するアミノ酸が、指示されたフレームワーク位置で置換されるように、（マウス）ｍＡｂ１３．２をコードするヌクレオチド配列を変異させることにより行った。導入される各アミノ酸変化について、ＣＨ

Ｏ細胞における発現に最適化されたコドンによる適切なヌクレオチド置換を考案した。ＶＨのヒト化は、ＰＣＲ変異誘発のプロセスにより行い、一度に１つまたは２つのアミノ酸について変異を組み入れるオリゴヌクレオチドプライマーを用い、マウステンプレート遺伝子配列を増幅した。部分ヒト化を行うには、数回のＰＣＲ変異誘発が必要であった。ＶＬのヒト化は、適切なヌクレオチド置換のあるマウスＶＬ配列に対応する９個の重複オリゴヌクレオチドの一団を用い、ＰＣＲにより行った。テンプレートの役割を果たす重複領域およびＰＣＲを用い、センスおよびアンチセンス鎖上のプライマー間のギャップを埋めた。得られた部分ヒト化抗体をｈ１３．２ｖ１と名付けた。ｈ１３．２ｖ１のＶＬおよびＶＨをコードするヌクレオチド配列を、それぞれ配列番号３および配列番号７と命名する。

【０２６８】

実施例３．２：完全ヒト化ｍＡｂ１３．２（ｈ１３．２ｖ２）の単離

図１５および図１６に示すように、ｈ１３．２ｖ１は、フレームワーク領域中に３つのマウス残基、すなわちＶＨ鎖に１つおよびＶＬ鎖に２つを保持していた。ｍＡｂ１３．２ＦａｂとヒトＩＬ－１３の共結晶構造についての予備的作業および分析は、３つの残基すべてをヒトに変異させ得ることを裏付けた。これらは、ＶＨ鎖における３番残基（マウスではＫ、ヒトではＱ）、ＶＬ鎖における４番残基（マウスではＬ、ヒトではＭ）およびＶＬ鎖における７２番残基（生殖系列では６８番；マウスではＲ、ヒトではＧ）であった。したがって、ｍＡｂ１３．２の完全ヒト化バージョン、ｈ１３．２ｖ２を作成するため、ＰＣＲ変異誘発を用い、ｈ１３．２ｖ１のＶＨ鎖における変異Ｋ３Ｑおよびｈ１３．２ｖ１のＶＬ鎖におけるＬ４ＭおよびＲ７２Ｇを導入した。ｈ１３．２ｖ２の最終ＶＨおよびＶＬ配列を、それぞれ図１７および図１８に示す。ｈ１３．２ｖ２のＶＬおよびＶＨをコードするヌクレオチド配列を、それぞれ配列番号４および配列番号８と命名する。

【０２６９】

図２９に示す配列に従い（直線ナンバリングスキームを用い）、ＩＬ－１３との水素結合接触を作るｍＡｂ１３．２重鎖の主要な残基は、ＳＥＲ５０（ＣＤＲ２）、ＳＥＲ５３（ＣＤＲ２）、ＴＹＲ１０１（ＣＤＲ３）およびＴＹＲ１０２（ＣＤＲ３）であることが決定された。さらに、ＩＬ－１３とのファンデルワールス接触を作るｍＡｂ１３．２重鎖の主要な残基は、ＩＬＥ３０（ＣＤＲ１）、ＳＥＲ３１（ＣＤＲ１）、ＡＬＡ３３（ＣＤＲ１）、ＴＲＰ４７、ＳＥＲ５０（ＣＤＲ２）、ＳＥＲ５２（ＣＤＲ２）、ＳＥＲ５３（ＣＤＲ２）、ＴＹＲ５８（ＣＤＲ２）、ＬＥＵ９８（ＣＤＲ３）、ＡＳＰ９９（ＣＤＲ３）、ＧＬＹ１００（ＣＤＲ３）、ＴＹＲ１０１（ＣＤＲ３）、ＴＹＲ１０２（ＣＤＲ３）およびＰＨＥ１０３（ＣＤＲ３）であることが決定された（直線ナンバリングスキームを用いる図２９に基づく）。

【０２７０】

図３０に示す配列に従い（直線ナンバリングスキームを用い）、ＩＬ－１３との水素結合接触を作るｍＡｂ１３．２軽鎖の主要な残基は、ＡＳＮ３１（ＣＤＲ１）、ＴＹＲ３２（ＣＤＲ１）、ＬＹＳ３４（ＣＤＲ１）、ＡＳＮ９６（ＣＤＲ３）およびＡＳＰ９８（ＣＤＲ３）であることが決定された。さらに、ＩＬ－１３とのファンデルワールス接触を作るｍＡｂ１３．２軽鎖の主要な残基は、ＡＳＮ３１（ＣＤＲ１）、ＴＹＲ３２（ＣＤＲ１）、ＬＹＳ３４（ＣＤＲ１）、ＡＲＧ５４（ＣＤＲ２）、ＡＳＮ９６（ＣＤＲ３）、ＡＳＰ９８（ＣＤＲ３）およびＴＲＰ１００（ＣＤＲ３）であることが決定された（直線ナンバリングスキームを用いる図３０に基づく）。

【０２７１】

実施例３．３：完全ヒト化ｍＡｂ１３．２（ｈ１３．２ｖ２）は、ＩＬ－１３との完全な結合活性を保持する

ＩＬ－１３－ＦＬＡＧとの結合についてビオンチン化ｍＡｂ１３．２と競合する完全ヒト化ｍＡｂ１３．２（ｈ１３．２ｖ２）の能力は、実施例２に記載されているようなＥＬＩＳＡにより判定した。データは、ｍＡｂ１３．２のキメラ（ｃｈ１３．２）、部分ヒト化（ｈ１３．２ｖ１）および完全ヒト化バージョンが、同程度までＦＬＡＧ－ヒトＩＬ－

１３との結合について、ビオチン化ｍＡｂ１３．２と競合することができることを立証した（図１９Ａ）。ＢＩＡＣＯＲＥ分析も、ＩＬ－１３が、固定化ｈ１３．２ｖ２に対する速やかな結合および遅い解離を有することを裏付けた（図１９Ｂ）。

【０２７２】

実施例３．４：完全ヒト化ｍＡｂ１３．２（ｈ１３．２ｖ２）は、インビトロでＩＬ－１３関連活性を中和する

さらに、ヒト単球によるＣＤ２３のＩＬ－１３仲介性細胞表面発現を阻害し、ＨＴ－２９細胞におけるＩＬ－１３誘発性ＳＴＡＴ６リン酸化を低減するｍＡｂ１３．２のキメラ（ｃｈ１３．２）、部分ヒト化（ｈ１３．２ｖ１）および完全ヒト化（ｈ１３．２ｖ２）バージョンの能力を、実施例１．３に記載されているように、フローサイトメトリー分析により判定した。手短に言うと、ヒト末梢血単球を、漸増濃度のｃｈ１３．２、ｈ１３．２ｖ１またはｈ１３．２ｖ２の存在下、最適以下の濃度の組換えヒトＩＬ－１３と共に一夜インキュベートした。単球をゲートし、ＩＬ－１３応答性の指標としてのＣＤ２３発現についてアッセイした。フローサイトメトリー分析は、ｍＡｂ１３．２の３種のバージョン、すなわち、ｃｈ１３．２、ｈ１３．２ｖ１およびｈ１３．２ｖ２のすべてが、用量依存的に単球によるＩＬ－１３仲介性ＣＤ２３発現を低減することができることを立証した（図２０Ａ）。

【０２７３】

ＳＴＡＴ６リン酸化について試験するため、ＨＴ－２９ヒト上皮細胞系を、最適以下の用量の組換えヒトＩＬ－１３および漸増濃度のｃｈ１３．２、ｈ１３．２ｖ１またはｈ１３．２ｖ２と共に、３７℃にて３０分間インキュベートし、次いで、リン酸化ＳＴＡＴ６に対するＡＬＥＸＡ（商標）　Ｆｌｕｏｒ４８８標識モノクローナル抗体を用い、リン酸化ＳＴＡＴ６発現についてアッセイした。フローサイトメトリー分析は、ｍＡｂ１３．２の３種のバージョン、すなわち、ｃｈ１３．２、ｈ１３．２ｖ１およびｈ１３．２ｖ２のすべてが、ＩＬ－１３仲介性ＳＴＡＴ６リン酸化を軽減することができることを立証した（図２０Ｂ）。

【０２７４】

ｈ１３．２ｖ２が、インビトロで組換えＩＬ－１３関連および天然ヒトＩＬ－１３関連活性を阻害することできたことから（図２１）、動物モデルにおいてＩＬ－１３関連障害を阻害するその能力について試験した。完全ヒト化ｍＡｂ１３．２、ｈ１３．２ｖ２を試験することに備えて、呼吸器疾患の非ヒト霊長類（ＮＨＰ）およびヒツジモデルにおいて、カニクイザル由来またはヒツジ由来の組換えＩＬ－１３を中和する抗体の能力をアッセイした。ＩＬ－１３を、カニクイザルまたはヒツジからクローン化した。ＮＨＰ　ＩＬ－１３は、大腸菌（Ｅ．ｃｏｌｉ）において発現させ、精製し、組換えヒトＩＬ－１３用としてリフォールディングした。対照的に、組換えヒツジＩＬ－１３は、チャイニーズハムスター卵巣（ＣＨＯ）細胞において発現させた。ＩＬ－１３の組換えＮＨＰカニクイザル形態またはＩＬ－１３の組換えヒツジ形態に関係する１つまたはそれ以上の活性を阻害するｍＡｂ１３．２またはｈ１３．２ｖ２の能力をインビトロで試験した。図２２は、ｈ１３．２ｖ２が、ヒト単球によるＣＤ２３の細胞表面発現を誘導するカニクイザルＮＨＰＩＬ－１３の能力を強力に中和したことを示している。しかしながら、ヒツジＩＬ－１３関連活性の中和が、かなり高濃度の抗体を必要としたように、ｈ１３．２ｖ２は、ヒツジＩＬ－１３を弱く中和したに過ぎなかった（図２２）。

【０２７５】

実施例３．５：完全ヒト化ｍＡｂ１３．２（ｈ１３．２ｖ２）は、喘息のヒツジモデルにおいてＩＬ－１３活性を中和する

ＩＬ－１３のヒツジ形態の生物活性を中和する際の比較的低い効力にもかかわらず、回虫（Ａｓｃａｒｉｓ）誘発性気道過反応性のヒツジモデルにおける有効性についてｈ１３．２ｖ２を試験した。ヒツジを、自然暴露により、線虫寄生虫、ブタ回虫（Ａｓｃａｒｉｓ　ｓｕｕｍ）に感作させた。回虫（Ａｓｃａｒｉｓ）抗原による肺チャレンジを与えると、動物は、抗原チャレンジに対する喘息のヒトの応答と類似した気管支収縮を起こす。

この応答は、即時型反応と、続く、チャレンジの４～５時間後に始まる晩期応答からなる。初期相は、平滑筋応答であると考えられるが、晩期は、炎症反応である。

【０２７６】

回虫（Ａｓｃａｒｉｓ）誘発性気管支収縮を低減するｈ１３．２ｖ２の能力を試験するため、ヒツジに、２０ｍｇ／ｋｇ、５ｍｇ／ｋｇまたは２ｍｇ／ｋｇの抗体を静脈内（ｉ．ｖ．）注入により投与した。注入の２４時間後、動物に、ブタ回虫（Ａｓｃａｒｉｓ ｓｕｕｍ）抗原による気管内チャレンジを行った。結果は、２０ｍｇ／ｋｇまたは５ｍｇ／ｋｇにおけるｈ１３．２ｖ２が、抗原に対する晩期応答を減弱することを示した（図２３）。２ｍｇ／ｋｇのｈ１３．２ｖ２には、おそらく、ヒツジＩＬ－１３に対するｈ１３．２ｖ２の弱い中和活性により、対照と比べて抗原応答に対する有意な効果はなかった。

【０２７７】

さらに、ヒツジにおいて、コリン作動薬、カルバコールの気道チャレンジによって誘発される気道過反応性を低減するｈ１３．２ｖ２の能力を試験した。カルバコールは、強制呼気容量（ＦＥＶ）の減少として測定される気管支収縮を誘発し、所与の応答の大きさを誘発するのに必要とされる刺激の用量（ＰＣ４００）は、通常、健康な対象の場合よりも喘息患者の場合の方が低い。ヒツジは、未処置のままとするか、カルバコール吸入チャレンジの２４時間前に２０ｍｇ／ｋｇ、５ｍｇ／ｋｇまたは２ｍｇ／ｋｇのｈ１３．２ｖ２を静脈内投与し、ＰＣ４００を、ブタ回虫（Ａｓｃａｒｉｓ ｓｕｕｍ）のチャレンジ前後にヒツジで決定した。データは、２０ｍｇ／ｋｇまたは５ｍｇ／ｋｇにおけるｈ１３．２ｖ２が、ブタ回虫（Ａｓｃａｒｉｓ ｓｕｕｍ）のチャレンジによって引き起こされるＰＣ４００の低下を防いだことを示している（図２４）。抗原応答実験の結果と同様、２ｍｇ／ｋｇのｈ１３．２ｖ２には、対照と比べてＰＣ４００に対する有意な効果はなかった。

【０２７８】

実施例３．６：完全ヒト化ｍＡｂ１３．２（ｈ１３．２ｖ２）は、喘息の非霊長類モデルにおいてＩＬ－１３活性を中和する

非ヒト霊長類における回虫（Ａｓｃａｒｉｓ）誘発性肺炎症を予防するｈ１３．２ｖ２の能力を試験するため、対照カニクイザルを、食塩水、８ｍｇ／ｋｇの無関係なヒトＩｇＧ（ＩＶＩＧ）または２ｍｇ／ｋｇのデキサメタゾン（陽性対照として）で筋肉内処置した。試験カニクイザルには、１０ｍｇ／ｋｇのｈ１３．２ｖ２を静脈内投与した。翌日、チャレンジ前のＢＡＬサンプルを左肺から集め、動物の右肺にブタ回虫（Ａｓｃａｒｉｓ ｓｕｕｍ）を気管内にチャレンジした。チャレンジの２４時間後、ＢＡＬサンプルを右肺から集め、細胞浸潤物についてアッセイした。結果は、ｈ１３．２ｖ２よる動物の前処置が、ブタ回虫（Ａｓｃａｒｉｓ ｓｕｕｍ）抗原によって引き起こされる気道炎症を予防することを示した（図２５）。並行実験において、ＩＬ－５およびエオタキシンが、回虫（Ａｓｃａｒｉｓ）チャレンジ後のＢＡＬ中に誘導された。ｈ１３．２ｖ２よる動物の前処置は、ＩＬ－５とエオタキシンの両方の誘導のレベルを低減した。

【０２７９】

ブタ回虫（Ａｓｃａｒｉｓ ｓｕｕｍ）に感作された非ヒト霊長類は、回虫（Ａｓｃａｒｉｓ）抗原に対するＩｇＥを発現する。このＩｇＥは、循環する好塩基球上のＲｃεＲＩと結合するため、回虫（Ａｓｃａｒｉｓ）抗原による末梢血好塩基球のインビトロチャレンジは、脱顆粒およびヒスタミンの放出を引き起こす。繰り返される抗原暴露は、好塩基球過敏化を高め、ヒスタミン放出応答の増強をもたらす。このプロセスに対するｈ１３．２ｖ２の効果を試験するため、ｈ１３．２ｖ２もしくは食塩水または記載されているようなＩＶＩＧ対照を投与したカニクイザルから、回虫（Ａｓｃａｒｉｓ）チャレンジの８週後に採血し、血漿中の全ＩｇＥおよび回虫（Ａｓｃａｒｉｓ）特異的ＩｇＥのレベルを、ＥＬＩＳＡにより測定した。回虫（Ａｓｃａｒｉｓ）特異的ＩｇＥのレベルは、食塩水またはＩＶＩＧで処置した対照動物において、チャレンジの８週後に増加した（図３１Ｂ）。対照的に、ｈ１３．２ｖ２で処置した動物は、回虫（Ａｓｃａｒｉｓ）に特異的な循環ＩｇＥのレベルに有意な低下を示した（図３１Ａ）。処置群のいずれについても全Ｉｇ

Ｅ力価の有意な変化は認められなかった。

【０２８０】

好塩基球ヒスタミン放出に対する効果を評価するため、動物から、回虫（Ａｓｃａｒｉｓ）チャレンジの２４時間後、８週後および４カ月後に採血した。全血に、３７℃にて３０分間、回虫（Ａｓｃａｒｉｓ）抗原をチャレンジし、上清中に放出されるヒスタミンを、ＥＬＩＳＡ（Ｂｅｃｋｍａｎ　Ｃｏｕｌｔｅｒ、Ｆｕｌｌｅｒｔｏｎ、ＣＡ）により定量化した。図３２Ａに示すように、これらの感作動物は、部分的抗原チャレンジ前でさえある程度の回虫（Ａｓｃａｒｉｓ）誘発性好塩基球ヒスタミン放出を示した。チャレンジ後、対照動物は、好塩基球応答性の予想された増加を示した。対照的に、ｈ１３．２ｖ２で処置された動物は、好塩基球感作におけるこの増加を起こすことなく、チャレンジの２～４カ月後に、動物の回虫（Ａｓｃａｒｉｓ）に対するインビトロのヒスタミン放出応答は有意に低かった（図３２Ｂ）。したがって、ｈ１３．２ｖの単回投与は、このモデルにおいて長期の疾患修飾活性を有していた。

【実施例４】

【０２８１】

実施例４

様々なヒト生殖系列遺伝子に基づくｍＡｂ１３．２のヒト化

実施例３は、ＤＰ－５４およびＤＰＫ９生殖系列遺伝子に基づいてｍＡｂ１３．２をヒト化するための方法および結果を提供した。本実施例では、他の生殖系列遺伝子に基づくｍＡｂ１３．２のヒト化について手短に詳述する。

【０２８２】

追加のヒト化戦略を、マウス抗体可変領域の実際のアミノ酸配列に対して高度の相同性、すなわち、配列類似性を有するヒト生殖系列抗体配列、またはそれらのサブグループの分析に基づいて設計した。例えば、Ｖ－ＢＡＳＥのＶＨグループ３は、ｍＡｂ１３．２と高度な類似性を示した。ｍＡｂ１３．２の重鎖可変領域のＣＤＲは、ＶＨグループ３内の生殖系列遺伝子のサブグループ、すなわち、３－５３（ＤＰ－４２）、３－４８（ＤＰ－５１）、３－０９（ＤＰ－３１）、３－１３（ＤＰ－４８）、３－１５（ＤＰ－３８）、３－２０（ＤＰ－３２）、３－２１（ＤＰ－７７）、３－２３（ＤＰ－４７）、３－３０および３－３０．５（ＤＰ－４９）、３－６４（ＤＰ－４５）、３－６６（ＤＰ－８６）および３－７３（ＹＡＣ－９）のうちのどの１つにも移動できると判断した（図２６）。ｍＡｂ１３．２をヒト化するためにも使用することができるＤＰ－６１の配列も図２６に示す。以下の共通アミノ酸置換、すなわち、Ｋ３Ｑ、Ｋ１３ＱまたはＫ１３Ｒ、Ｋ１９Ｒ、Ｔ４０Ａ、Ｅ４２Ｇ、Ｒ４４Ｇ、Ｒ７５Ｋ、Ｉ７７ＳまたはＩ７７Ｔ、Ｓ８３Ｎ、Ｓ８７ＡまたはＳ８７Ｄ、Ｍ９２ＶまたはＭ９２ＬおよびＴ１１３Ｌを、ｍＡｂ１３．２中に導入し、そのＶＨフレームワークを、提案されているヒト生殖系列化フレームワークのいずれかに変換できると判断した。特定の生殖系列遺伝子に基づくヒト化のための個々のアミノ酸置換も描かれており、例えば、ＤＰ－４７に基づくヒト化は、Ｖ５Ｌ、Ａ４９ＳおよびＡ７４Ｓの追加変異を含み、ＤＰ－４２に基づくヒト化は、Ｖ１２Ｉ、Ａ４９ＳおよびＡ７４Ｓの追加変異を含み、ＤＰ－５１に基づくヒト化は、Ａ４９Ｓの追加変異を含み、ＤＰ－４８に基づくヒト化は、Ｐ４１Ｔ、Ｄ７２ＥおよびＥ８８Ｇの追加変異を含み、ＤＰ－５３に基づくヒト化は、Ｅ４６ＶおよびＡ４９Ｓの追加変異を含み、ＤＰ－３２に基づくヒト化は、Ｌ１１Ｖ、Ａ４９ＳおよびＹ９４Ｈの追加変異を含み、ＤＰ－３８に基づくヒト化は、Ａ４９Ｇ、Ａ７４Ｄ、Ｒ７５Ｓ、Ｎ７６Ｋ、Ｒ８６ＫおよびＳ８７Ｔの追加変異を含み、ＤＰ－３１に基づくヒト化は、Ｇ１６Ｒ、Ａ４９ＳおよびＲ９７Ｋの追加変異を含み、ＤＰ－６１に基づくヒト化は、Ｗ４７Ｙ、Ａ４９Ｓ、Ａ７４ＳおよびＴ９０Ｍの追加変異を含み、ＤＰ－４５に基づくヒト化は、Ｅ６Ｑ、Ａ２４Ｇ、Ａ４９ＳおよびＴ９０Ｍの追加変異を含むことがある。例えば、ｍＡｂ１３．２のヒト化が、７９％の配列同一性を有するヒト生殖系列遺伝子ＤＰ－４７に基づく場合、以下の変異、Ｋ３Ｑ、Ｖ５Ｌ、Ｋ１３Ｑ、Ｋ１９Ｒ、Ｔ４０Ａ、Ｅ４２Ｇ、Ｒ４４Ｇ、Ａ４９Ｓ、Ａ７４Ｓ、Ｒ７５Ｋ、Ｉ７７Ｔ、Ｓ８３Ｎ、Ｓ８７Ａ、Ｍ９２ＶおよびＴ１１３Ｌを、ｍＡｂ１３．２中

に導入することができる。ヒト化の間のｍＡｂ１３．２中への共通アミノ酸置換の単独、または特定のヒト生殖系列遺伝子に基づく個々のアミノ酸置換と組み合わせた導入は、活性な抗体をもたらすはずである。例えば、活性抗体、ｈ１３．２ｖ３は、以下に記載するように、ｍＡｂ１３．２のヒト化が３－２１（ＤＰ－７７）に基づく場合に得られる。

【０２８３】

ｍＡｂ１３．２の代替ヒト化は、生殖系列遺伝子ＤＰ－７７およびＢ１に基づく。ＤＰ－７７の予想アミノ酸配列、ｃｈ１３．２の可変重鎖アミノ酸配列および完全ヒト化ｍＡｂ１３．２抗体（ｈ１３．２ｖ３）の重鎖アミノ酸配列の間のアラインメントを図２７に示す。Ｂ１の予想アミノ酸配列、ｃｈ１３．２の可変軽鎖アミノ酸配列およびｈ１３．２ｖ３の可変軽鎖アミノ酸配列の間のアラインメントを図２８に示す。ＤＰ－７７およびＢ１の予想アミノ酸配列は、それぞれｍＡｂ１３．２の可変重鎖と８０．４％のアミノ酸同一性を、ｍＡｂ１３．２の可変軽鎖と７７．５％のアミノ酸同一性を示した。ＤＰ－７７とｍＡｂ１３．２の重鎖（その上にｃｈ１３．２の重鎖）の間およびＢ１とｍＡｂ１３．２の軽鎖（その上にｃｈ１３．２の軽鎖）の間のアミノ酸差は、フレームワーク領域と相補性決定領域の両方に見い出されたが、ＣＤＲにおける差は、未変化のままであった。対照的に、重鎖ｍＡｂ１３．２のフレームワーク領域に見い出されるアミノ酸が、ＤＰ－７７の同じ位置におけるアミノ酸と異なった場合、ｍＡｂ１３．２の可変重鎖のアミノ酸を、ＤＰ－７７中のアミノ酸に変化させた。同様に、ｍＡｂ１３．２の軽鎖のフレームワーク領域に見い出されるアミノ酸が、Ｂ１の同じ位置におけるアミノ酸と異なった場合、ｍＡｂ１３．２の可変軽鎖のアミノ酸を、Ｂ１におけるアミノ酸に変化させた。２回のＰＣＲ変異誘発は、上記に記載されているように、それらの変化を導入した。重鎖および軽鎖における１回目の変化後、実施例２に記載されているようにＥＬＩＳＡを行い、変化が、ＩＬ－１３と結合する抗体の能力に影響を及ぼさないことを保証した。第２回目の変化後、ｍＡｂ１３．２の重鎖および軽鎖内のフレームワーク領域のアミノ酸配列は、それぞれＤＰ－７７およびＢ１のフレームワーク領域のアミノ酸配列と一致した。

【０２８４】

ヒト化ｍＡｂ１３．２抗体、ｈ１３．２ｖ３も、インビトロでＩＬ－１３関連活性を阻害することができた。ｈ１３．２ｖ３を、ＥＬＩＳＡおよびＴＦ１増殖アッセイにより試験し、結合して１つまたはそれ以上のＩＬ－１３関連活性を阻害するその能力を判定した。ｈ１３．２ｖ３は、ｃｈ１３．２およびｈ１３．２ｖ１と比較した場合、ＩＬ－１３との結合についてｍＡｂ１３．２と同様に競合することが立証された。さらに、ｈ１３．２ｖ３は、ｍＡｂ１３．２およびｈ１３．２ｖと同程度にＴＦ１増殖を阻害することができた。

【実施例５】

【０２８５】

実施例５

ｈ１３．２ｖ２の野生型Ｆｃ復帰変異体により仲介されるエフェクター活性

ＩＬ－１３Ｒα１およびＩＬ－４Ｒαポリペプチドが含まれるＩＬ－１３受容体の細胞シグナル伝達形態は、サイトカインに反応する細胞タイプの表面上に見い出される。ＩＬ－１３Ｒα２は、ＩＬ－１３応答性細胞の表面上には通常発現されないが、脳、頭部および頸部の腫瘍で報告されている（Ｋａｗａｋａｍｉ他（２００３）Ｃｌｉｎ．Ｃａｎｃｅｒ　Ｒｅｓ．９：６３８１－８；Ｍｉｎｔｚ他（２００２）Ｎｅｏｐｌａｓｉａ　４：３８８－９９；Ｌｉｕ他（２０００）Ｃａｎｃｅｒ　Ｉｍｍｕｎｏｌ．Ｉｍｍｕｎｏｔｈｅｒ．４９：３１９－２４）。また、ＩＬ－１３Ｒα２発現は、ＩＦＮγで処理した初代ヒト単球（Ｄａｉｎｅｓ他（２００２）Ｊ．Ｂｉｏｌ．Ｃｈｅｍ．２７７：１０３８７－９３）またはＴＮＦαまたはＩＬ－１３で処理した初代ヒト線維芽細胞（Ｙｏｓｈｉｋａｗａ他（２００３）Ｂｉｏｃｈｅｍ．Ｂｉｏｐｈｙｓ．Ｒｅｓ．Ｃｏｍｍｕｎ．３１２：１２４８－５５）上で誘発されることがある。この受容体は、ＩＬ－１３に対するシグナル伝達応答を仲介する能力はないが（Ｋａｗａｋａｍｉ他（２００１）Ｂｌｏｏｄ　９７：２６７３－９）、代わりに、おとり受容体としての役割を果たし、ＩＬ－１３Ｒα１との

生産的ＩＬ－１３相互作用に競合するように見える（Ｆｅｎｇ他（１９９８）Ｌａｂ．Ｉｎｖｅｓｔ．７８：５９１－６０２）。ＩＬ－１３Ｒα２は、ＩＬ－１３に対して高い親和性を有し（Ａｎｄｒｅｗｓ他（２００２）Ｊ．Ｂｉｏｌ．Ｃｈｅｍ．２７７：４６０７３－８）、ｈ１３．２ｖ２結合部位が含まれるとは予測されていないサイトカインのＣ末端領域と主に相互作用するように見える（Ｍａｄｈａｎｋｕｍａｒ他（２００２）Ｊ．Ｂｉｏｌ．Ｃｈｅｍ．２７７：４３１９４－２０５）。したがって、ｈ１３．２ｖ２が、細胞表面上のＩＬ－１３Ｒα２により捕捉されたＩＬ－１３と相互作用するか否かを調べた。Ａ３７５は、ＩＬ－１３Ｒα２を発現するヒトメラノーマ細胞系である。組換えヒトＩＬ－１３（３ｎｇ／ｍｌ）を、４℃にて２０分間、これらの細胞と接触させた。細胞を洗浄し、ビオチン化ｈ１３．２ｖ２の結合について試験した。結果は、ＩＬ－１３の存在下でこれらの細胞への抗体の用量依存的結合を示し、ＩＬ－１３に結合しているｈ１３．２ｖ２は、その受容体に結合していることを示している（図３３）。

【０２８６】

ｈ１３．２ｖ２が、Ｆｃ依存的エフェクター機能を促進するか否かを判定するため、ｈ１３．２ｖ２の変異Ｆｃ残基（Ｌ２３４Ａ／Ｇ２３７Ａ；配列番号１７の残基１１６および１１９）を野生型に戻し、野生型または変異Ｆｃを発現する抗体を発現させ精製した。エフェクター機能は、標的として、ＩＬ－１３をロードしたＡ３７５細胞を用い、抗体依存性細胞傷害アッセイ（ＡＤＣＣ）で試験した。Ａ３７５標的細胞をクロミウム５１で標識し、１０ｎｇ／ｍｌの組換えヒトＩＬ－１３と共にインキュベートした。ＲＯＳＥＴＴＥＳＥＰ（登録商標）Ｈｕｍａｎ　ＮＫ　Ｅｎｒｉｃｈｍｅｎｔ　Ｃｏｃｋｔａｉｌ（ＳｔｅｍＣｅｌｌ　Ｔｅｃｈｎｏｌｏｇｉｅｓ、Ｓｅａｔｔｌｅ、ＷＡ）の処理によりナチュラルキラー（ＮＫ）細胞を富化させたヒトＰＢＭＣをエフェクターとして使用した。エフェクターと標的細胞を一緒に、漸増濃度のｈ１３．２ｖ２またはその野生型Ｆｃ復帰変異体の存在下で３７℃にて５時間インキュベートした。細胞傷害性は、上清中へのクロミウム５１の放出として測定し、ＴＲＩＴＯＮ（登録商標）Ｘ－１００でＡ３７５標的細胞を溶解することにより測定される最大放出の百分率として表した。

【０２８７】

結果は、野生型Ｆｃ復帰変異体は、ＩＬ－１３をロードしたＡ３７５標的細胞のＡＤＣＣを仲介することができるが、ｈ１３．２ｖは仲介することができないことを示した（図３４Ａ）。ＩＬ－１３の非存在下では、細胞傷害性は観察されなかった（図３４Ｂ）。同様な結果は、３人の異なるドナー由来のエフェクター細胞を用いても認められた。これらの結果は、Ｌ２３４ＡおよびＧ２３７Ａ　Ｆｃ変異の存在により、ｈ１３．２ｖ２は、たとえ最適なインビトロ条件下であってもＡＤＣＣを仲介できないことを示している。

【０２８８】

まとめると、これらの知見は、ｈ１３．２ｖ２が、ＩＬ－１３Ｒα２を発現する細胞と結合することができるが（図３３）、ＩＬ－１３Ｒα１を発現する細胞とは結合することができないことを示している。実験を行い、ｈ１３．２ｖ２野生型復帰変異体が、たとえ検出可能な結合が存在しなくても、ＩＬ－１３Ｒα１を発現するＨＴ－２９細胞のＡＤＣＣを仲介するか否かを試験した。ＨＴ－２９細胞を、上記に記載されているように行ったＡＤＣＣアッセイにおける標的として使用した。結果は、ＩＬ－１３Ｒα２を発現するＡ３７５細胞の細胞溶解につながる条件下で、ＩＬ－１３Ｒα１を発現するＨＴ－２９細胞は溶解されないことを示した（図３５）。また、これらの結果は、Ｌ２３４ＡおよびＧ２３７Ａ　Ｆｃ変異が含まれる抗体はＡＤＣＣを誘導しないが、野生型Ｆｃエフェクター機能を持つ抗体は、ＩＬ－１３Ｒα２を発現する特定の癌の治療に有用であることを示している。

【実施例６】

【０２８９】

実施例６

ＣＯＳ細胞におけるヒト化１３．２抗体の発現

哺乳類組換え系におけるヒト化抗ＩＬ－１３抗体の発現を評価するため、マウス１３．

２（配列番号９および配列番号１３）、ｈｕ１３．２Ｖ１（配列番号１１および配列番号１５）およびｈｕ１３．２Ｖ２（配列番号１２および配列番号１６）の可変領域を、ヒトκおよびＩｇＧ１ｍｕｔ定常領域を含むｐＥＤ６発現ベクター中にサブクローニングした。サル腎臓ＣＯＳ－１細胞を、１０％の熱失活したウシ胎児血清、１ｍＭのグルタミンおよび０．１ｍｇ／ｍｌのペニシリン／ストレプトマイシンを含有するＤＭＥ培地（Ｇｉｂｃｏ）中で生育させた。ＣＯＳ細胞の形質移入は、供給業者により推奨されているプロトコルに従い、ＴＲＡＮＳＩＴＩＴ（登録商標）－ＬＴ１　Ｔｒａｎｓｆｅｃｔｉｏｎ試薬（Ｍｉｒｕｓ　Ｂｉｏ　Ｃｏｒｐ．、Ｍａｄｉｓｏｎ、ＷＩ）を用いて行った。形質移入されたＣＯＳ細胞を、１０％ＣＯ２の存在下、３７℃にて２４時間インキュベートし、無菌ＰＢＳで洗浄し、次いで、無血清培地Ｒ１ＣＤ１（Ｇｉｂｃｏ）中で４８時間生育させ、馴化培地における抗体の分泌およびその蓄積を可能にした。１３．２抗体の発現は、標準品として精製されたヒトＩｇＧ１／κ抗体を用いる全ヒトＩｇＧ　ＥＬＩＳＡにより定量化した。キメラ１３．２抗体ならびに両方のヒト化バージョンは、ＣＯＳ細胞において十分に発現した。

【０２９０】

表５．ＣＯＳ細胞におけるヒト化１３．２抗体の一過性発現

【表６】

N	構築物	発現 μg/ml、48時間
1	キメラ13.2	14.5
2	部分ヒト化13.2(V1)	13.2
3	完全ヒト化13.2.2 (V2)	14.9

【図１】

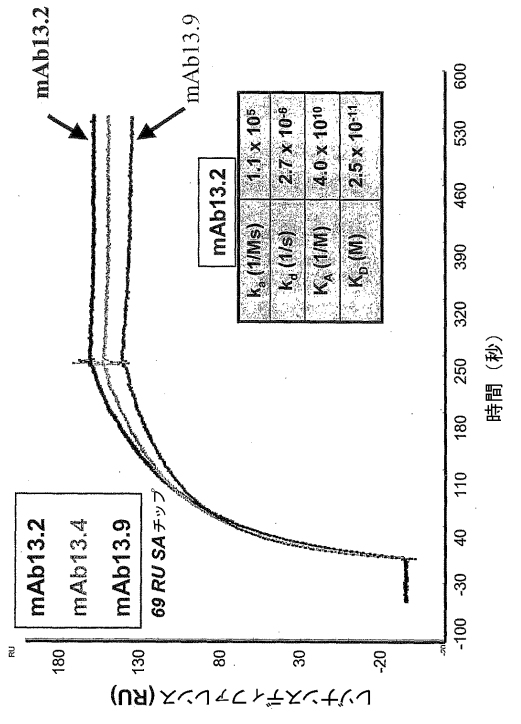


Figure 1

【図２】

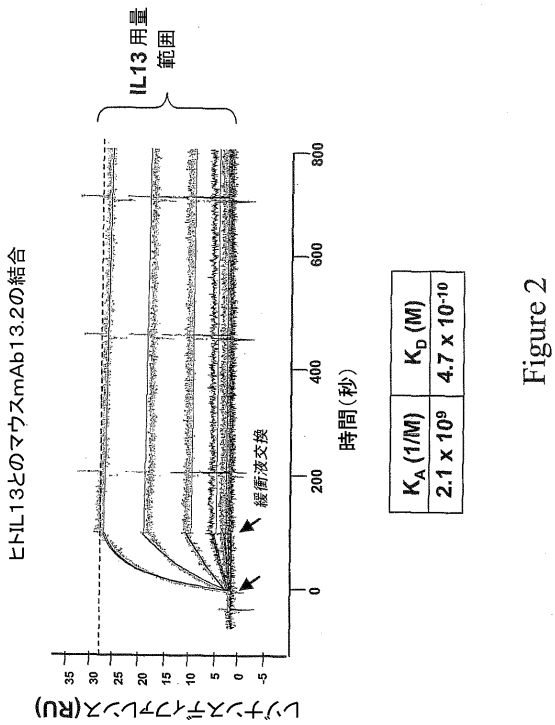


Figure 2

【図３】

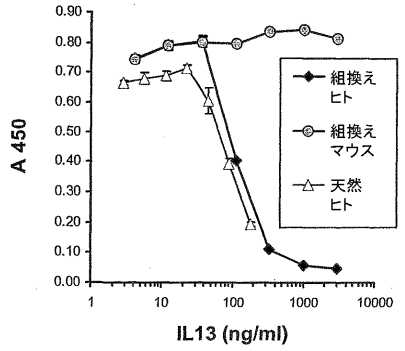


Figure 3

【図４】

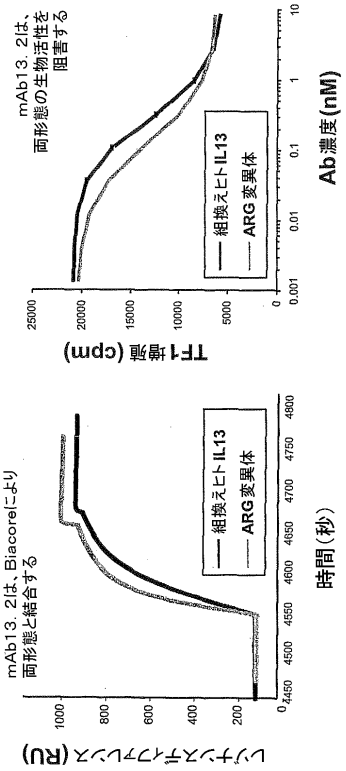


Figure 4B

Figure 4A

【図５】

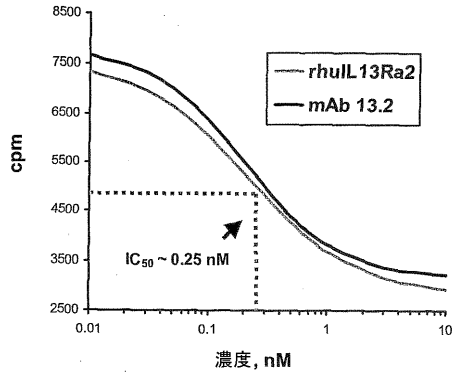


Figure 5

【図６】

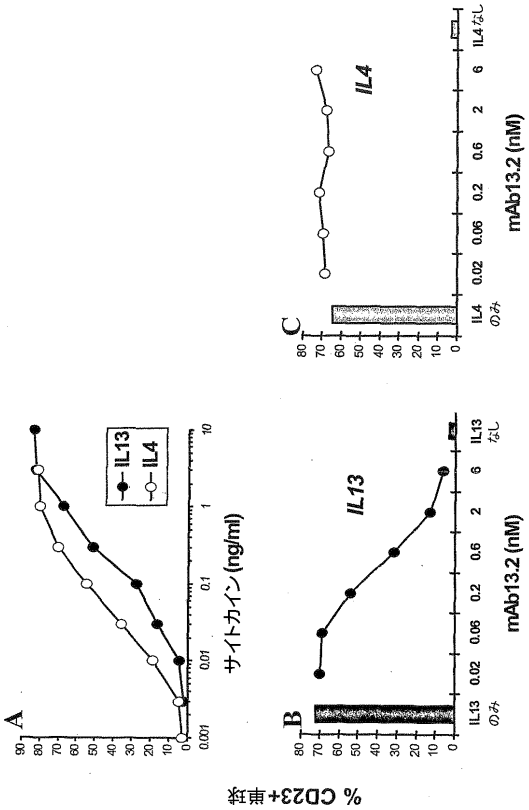


Figure 6

【図７】

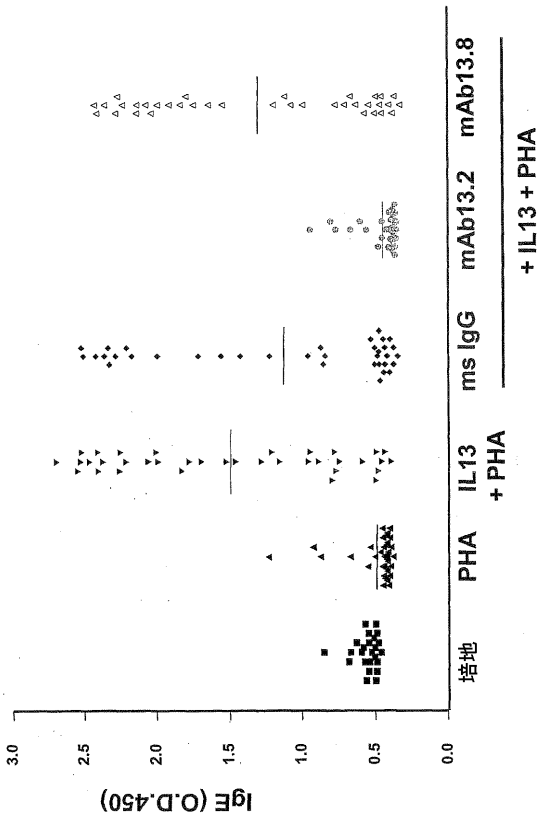


Figure 7

【図８】

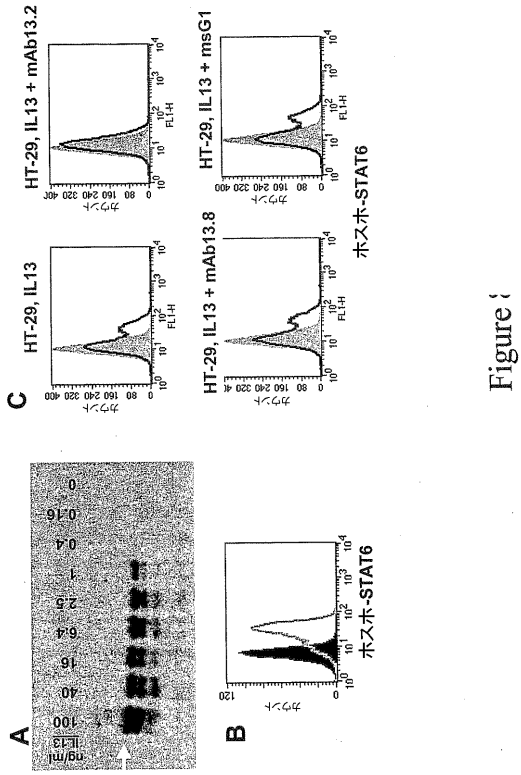


Figure 8

【図９】

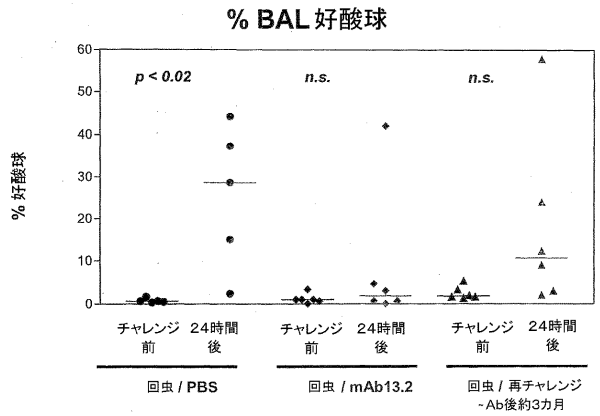


Figure 9

【図１０】

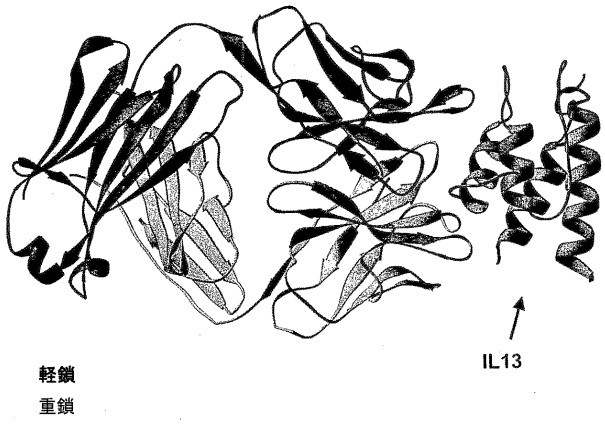


Figure 10

【図１１】

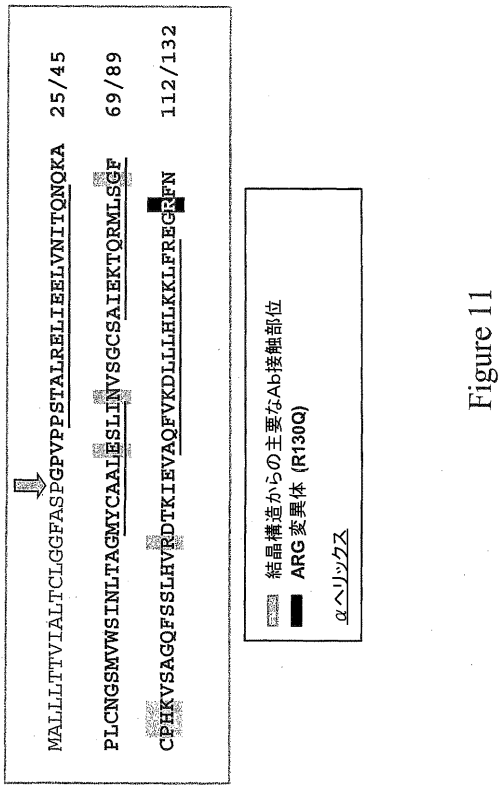


Figure 11

【図１２】

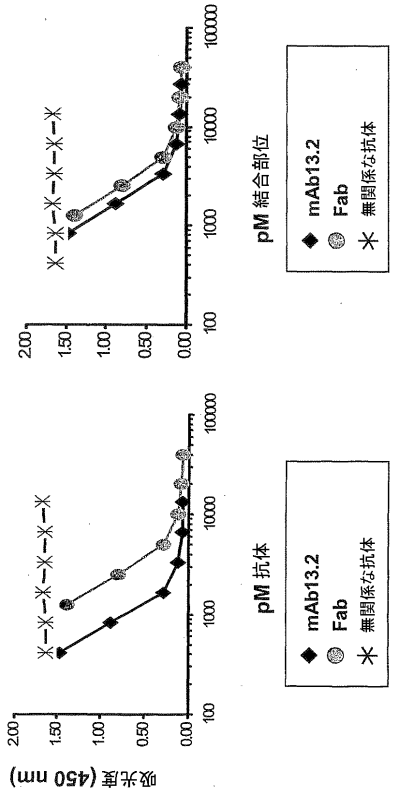


Figure 12A

Figure 12B

【図１３】

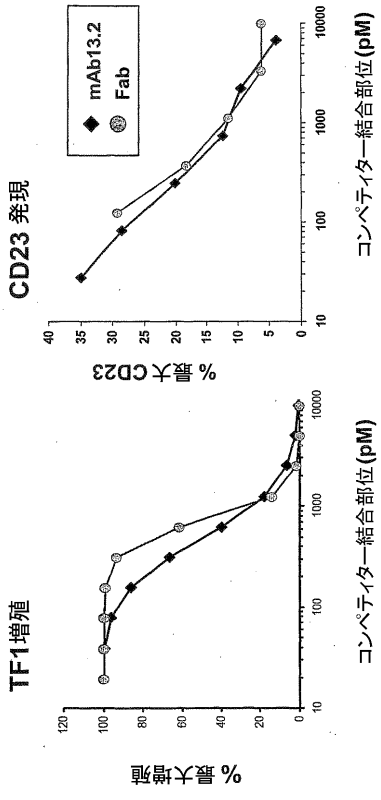


Figure 13A

Figure 13B

【図１４】

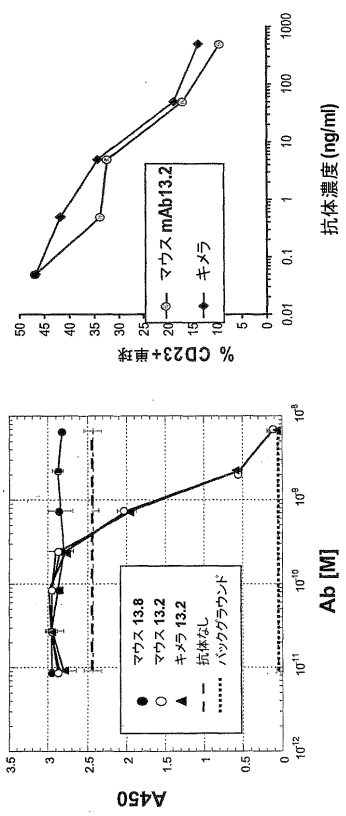


Figure 14A

Figure 14B

【図１５】

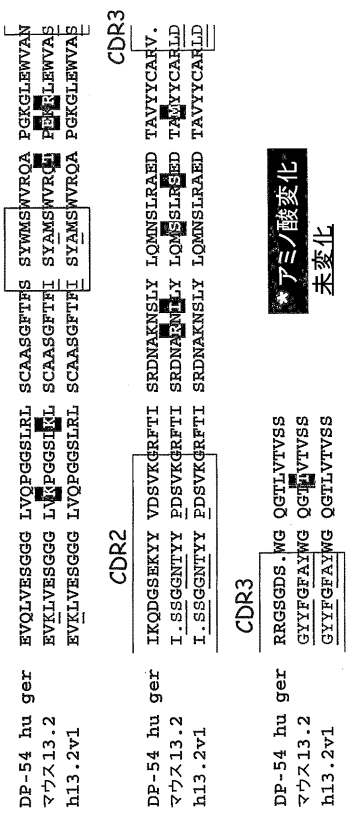


Figure 15

【図１６】

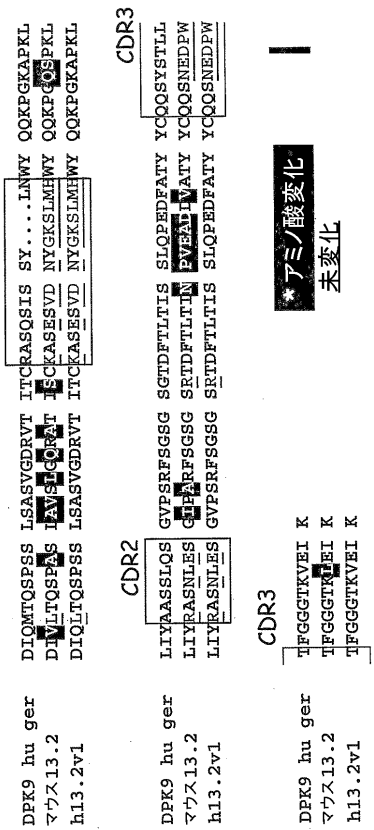


Figure 16

【図１７】

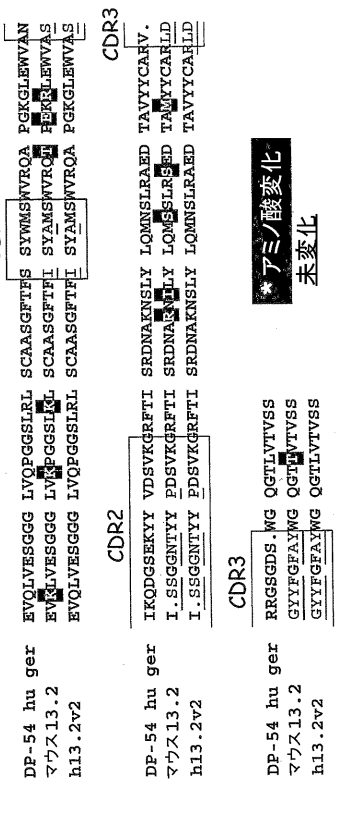


Figure 17

【図１８】

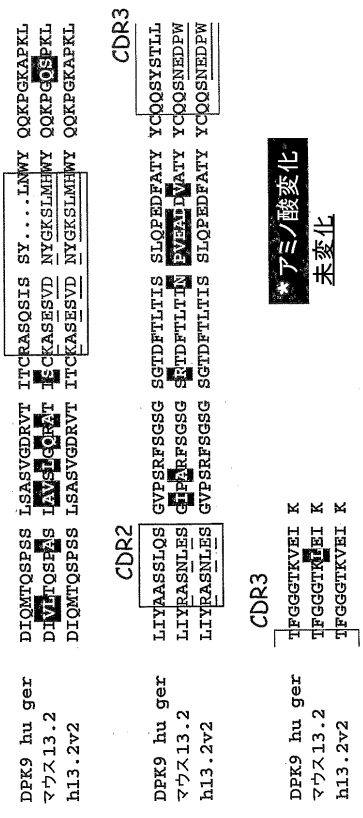


Figure 18

【図１９Ａ】

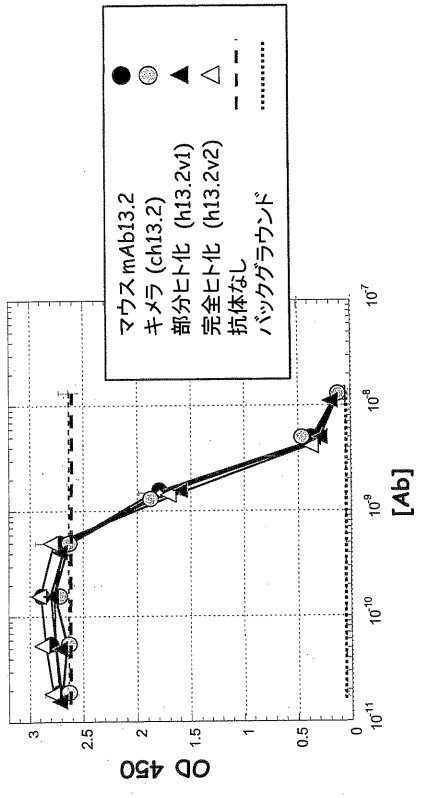
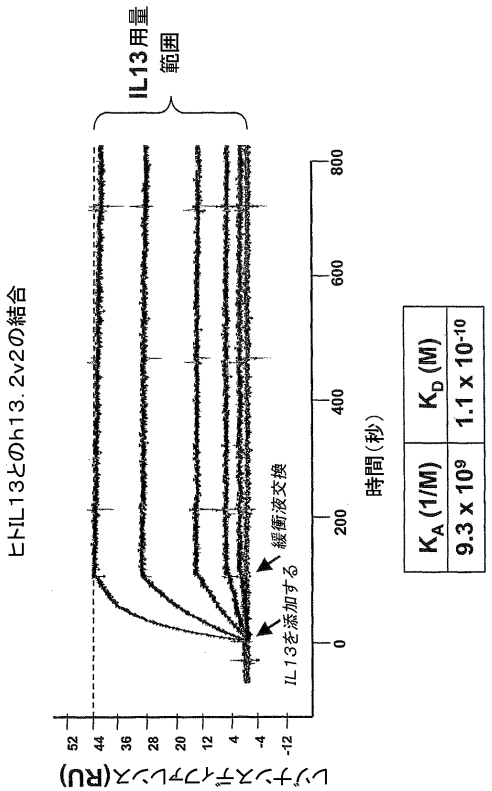


Figure 19A

【図１９Ｂ】



K_A (1/M)	K_D (M)
9.3×10^9	1.1×10^{-10}

Figure 19B

【図２０】

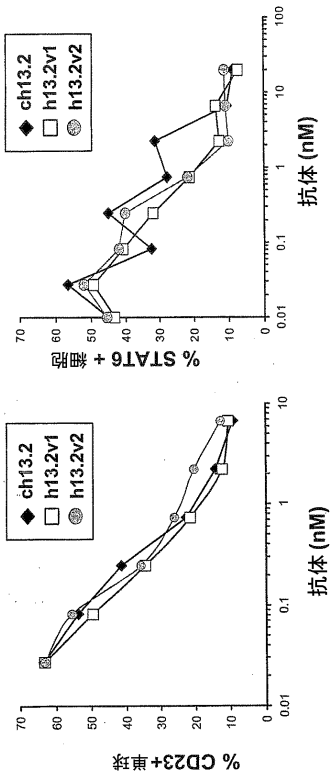


Figure 20A

Figure 20B

【図２１】

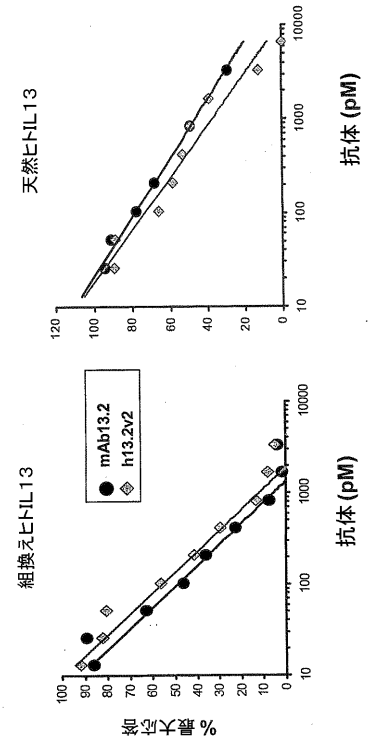


Figure 21A

Figure 21B

【図２２】

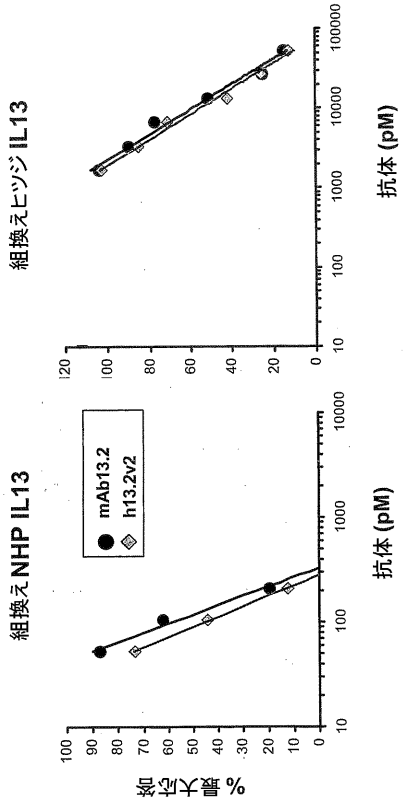


Figure 22A

Figure 22B

【図２３】

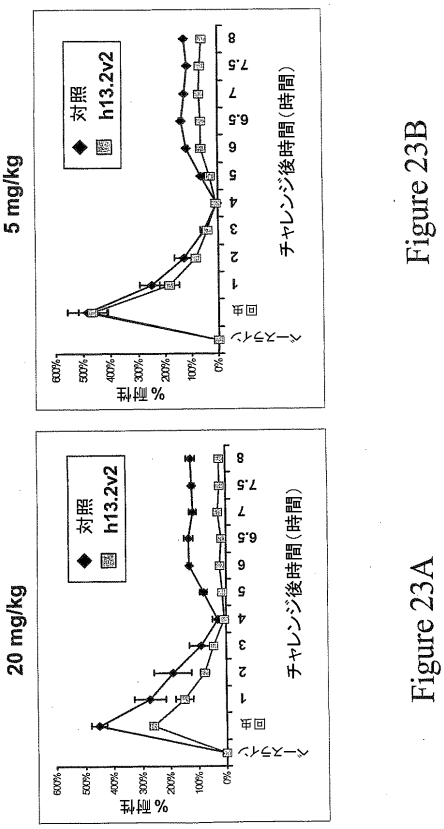


Figure 23A

Figure 23B

【図２４】

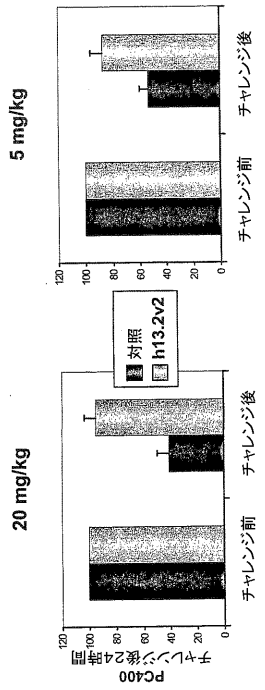


Figure 24A

Figure 24B

【図２５】

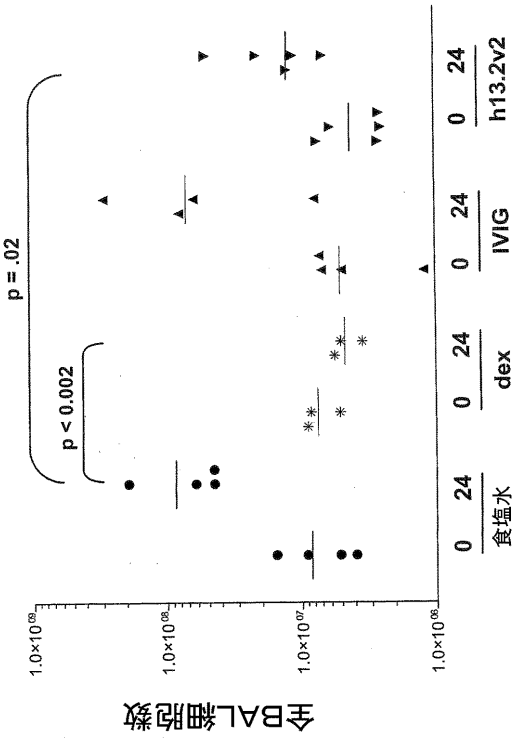


Figure 25

【図２６】

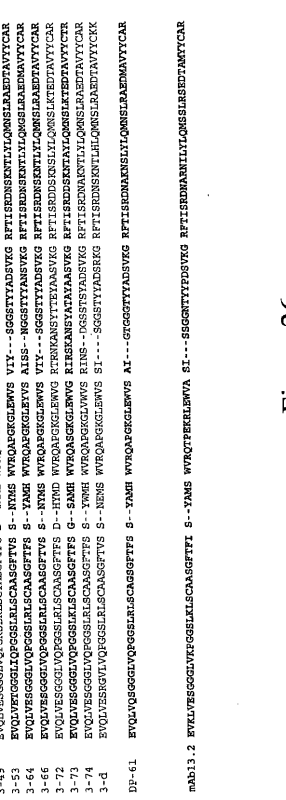


Figure 26

【図２７】

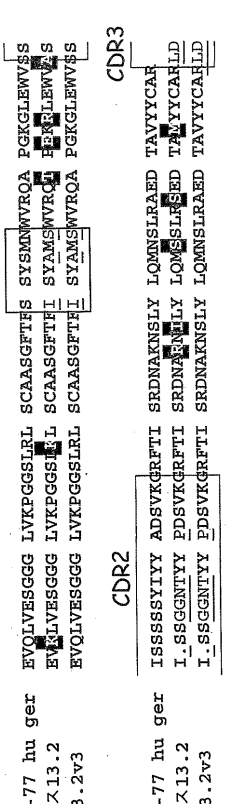


Figure 27

【図２８】

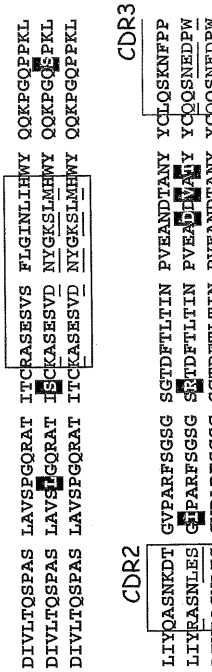
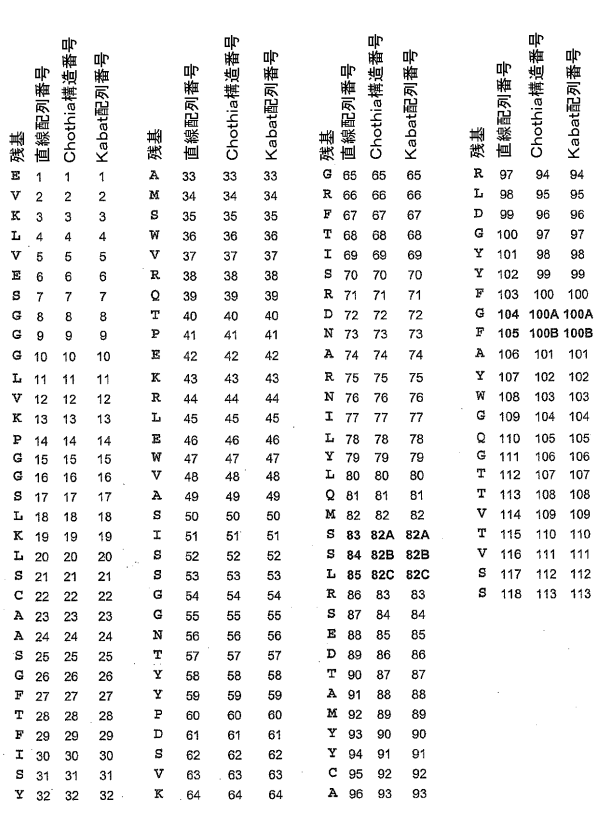


Figure 28

【図２９】



様々なスキームによるmAb13．2可変重鎖のナンバリング
Figure 29

【図３０】

残基	直線配列番号	Chothia構造番号	Kabat配列番号	残基	直線配列番号	Chothia構造番号	Kabat配列番号	残基	直線配列番号	Chothia構造番号	Kabat配列番号	残基	直線配列番号	Chothia構造番号	Kabat配列番号
D	1	1	1	G	**33**	**30C**	29	R	65	61	61	E	97	93	93
I	2	2	2	K	**34**	**30D**	30	F	66	62	62	D	98	94	94
V	3	3	3	S	35	31	31	S	67	63	63	P	99	95	95
L	4	4	4	L	36	32	32	G	68	64	64	W	100	96	96
T	5	5	5	M	37	33	33	S	69	65	65	T	101	97	97
Q	6	6	6	H	38	34	34	G	70	66	66	T	102	98	98
S	7	7	7	W	39	35	35	S	71	67	67	G	103	99	99
P	8	8	8	Y	40	36	36	R	72	68	68	G	104	100	100
A	9	9	9	Q	41	37	37	T	73	69	69	G	105	101	101
S	10	10	10	Q	42	38	38	D	74	70	70	T	106	102	102
L	11	11	11	K	43	39	39	T	75	71	71	K	107	103	103
A	12	12	12	P	44	40	40	T	76	72	72	L	108	104	104
V	13	13	13	G	45	41	41	L	77	73	73	E	109	105	105
S	14	14	14	Q	46	42	42	T	78	74	74	H	110	106	106
L	15	15	15	S	47	43	43	I	79	75	75	K	111	107	107
G	16	16	16	P	48	44	44	N	80	76	76				
Q	17	17	17	K	49	45	45	P	81	77	77				
R	18	18	18	L	50	46	46	V	82	78	78				
A	19	19	19	L	51	47	47	E	83	79	79				
T	20	20	20	H	52	48	48	A	84	80	80				
I	21	21	21	Y	53	49	49	D	85	81	81				
S	22	22	22	R	54	50	50	D	86	82	82				
C	23	23	23	A	55	51	51	V	87	83	83				
K	24	24	24	S	56	52	52	A	88	84	84				
A	25	25	25	N	57	53	53	T	89	85	85				
S	26	26	26	L	58	54	54	Y	90	86	86				
E	27	27	27	E	59	55	55	Y	91	87	87				
S	28	28	**27A**	S	60	56	56	C	92	88	88				
V	29	29	**27B**	G	61	57	57	Q	93	89	89				
D	30	30	**27C**	H	62	58	58	Q	94	90	90				
N	**31**	**30A**	**27D**	P	63	59	59	S	95	91	91				
Y	**32**	**30B**	28	A	64	60	60	N	96	92	92				

様々なスキームによるmAb13．2可変軽鎖のナンバリング
Figure 30

【図３１】

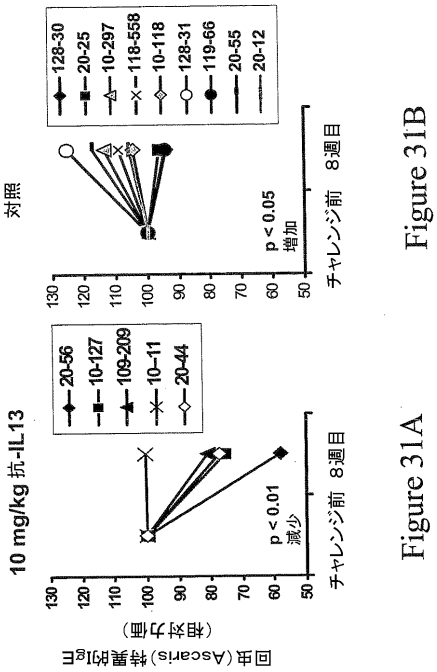


Figure 31A

Figure 31B

【図３２Ａ】

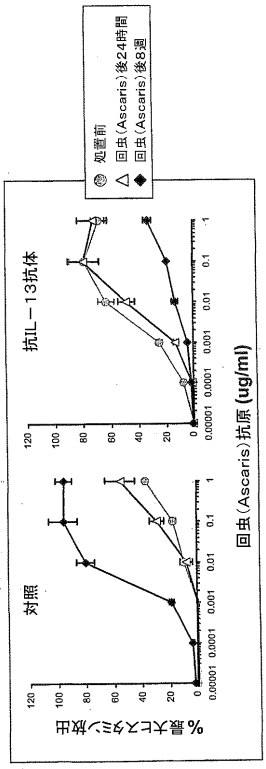


Figure 32A

【図３２Ｂ】

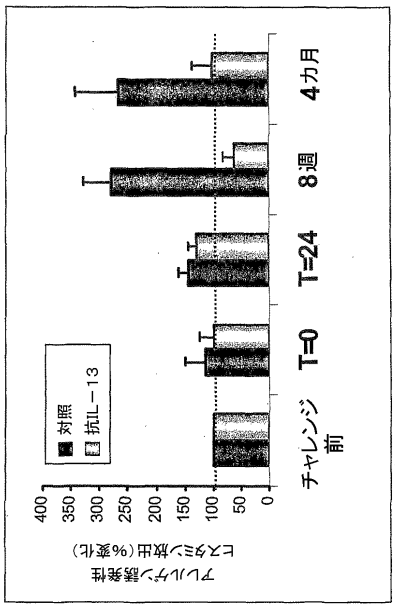


Figure 32B

【図３３】

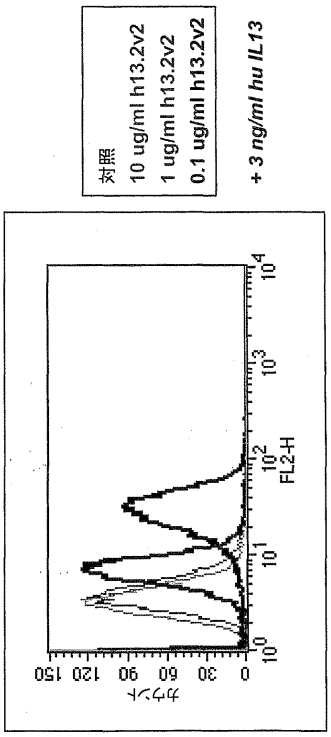


Figure 33

【図３４】

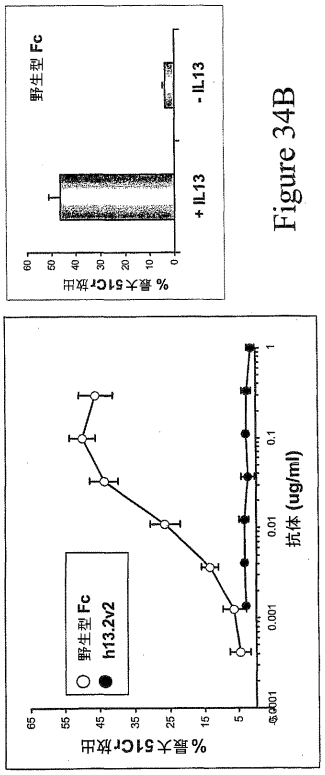


Figure 34A

Figure 34B

【図３５】

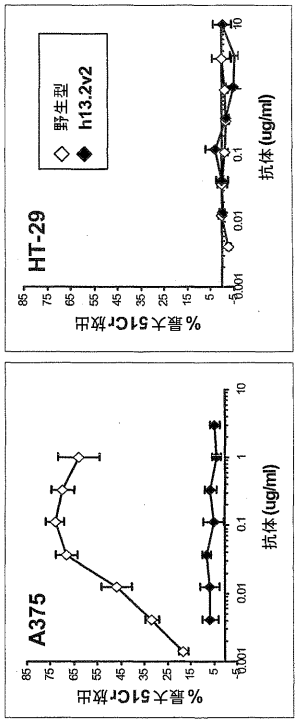


Figure 35A

Figure 35B

【配列表】
2011155980000001.app

フロントページの続き

(51)Int.Cl.			FI			テーマコード（参考）
C12N	*1/19*	*(2006.01)*	C12N	1/19		4H045
C12N	*1/21*	*(2006.01)*	C12N	1/21		
C12N	*5/10*	*(2006.01)*	C12N	5/00	101	
C12N	*15/02*	*(2006.01)*	C12N	15/00	C	
A61K	*39/395*	*(2006.01)*	A61K	39/395	U	
A61P	*43/00*	*(2006.01)*	A61P	43/00	111	
A61P	*11/06*	*(2006.01)*	A61P	11/06		
A61P	*37/08*	*(2006.01)*	A61P	37/08		
A61P	*17/00*	*(2006.01)*	A61P	17/00		
A61P	*11/00*	*(2006.01)*	A61P	11/00		
A61P	*11/04*	*(2006.01)*	A61P	11/04		
A61P	*7/00*	*(2006.01)*	A61P	7/00		
A61P	*29/00*	*(2006.01)*	A61P	43/00	105	
A61P	*37/02*	*(2006.01)*	A61P	43/00	101	
A61P	*35/00*	*(2006.01)*	A61P	29/00		
A61P	*31/12*	*(2006.01)*	A61P	37/02		
A61P	*37/06*	*(2006.01)*	A61P	35/00		
A61P	*11/02*	*(2006.01)*	A61P	31/12		
A61P	*1/04*	*(2006.01)*	A61P	37/06		
A61P	*11/08*	*(2006.01)*	A61P	11/02		
A61K	*45/00*	*(2006.01)*	A61P	1/04		
A61P	*1/16*	*(2006.01)*	A61P	11/08		
G01N	*33/53*	*(2006.01)*	A61P	43/00	121	
			A61K	45/00		
			A61P	1/16		
			G01N	33/53	P	
			G01N	33/53	Q	

(72)発明者 マリオン・ティ・カサイアン
アメリカ合衆国０２１２９マサチューセッツ州チャールズタウン、ナンバー１、コンコード・ストリート１８番
(72)発明者 リュードミラ・チスティアコワ
アメリカ合衆国０１８１０マサチューセッツ州アンドーバー、アボット・ブリッジ・ドライブ１９番
(72)発明者 ヘールトライダ・エム・フェルトマン
アメリカ合衆国０１７７６マサチューセッツ州サドベリー、ウッドミア・ドライブ６０番
(72)発明者 キンバリー・アン・マーケット
アメリカ合衆国０２１４３マサチューセッツ州サマービル、アパートメント１、スプリングフィールド・ストリート６６番
(72)発明者 シャン－ヤン・タン
アメリカ合衆国０１８６７マサチューセッツ州レディング、ガゼボ・サークル８１１番
(72)発明者 デブラ・ディ・ドナルドソン
アメリカ合衆国０２１５５マサチューセッツ州メドフォード、ブレイクリー・ロード１０８番
(72)発明者 ローラ・ロング・リン
アメリカ合衆国０２４９３マサチューセッツ州ウェストン、ゴールデン・ボール・ロード５０番
(72)発明者 タニア・シェーン
アメリカ合衆国０２４６１マサチューセッツ州ニュートン、ウィンチェスター・ストリート３３２

番
(72)発明者 エイミー・セプイ・タム
アメリカ合衆国０２１５５マサチューセッツ州メドフォード、スタージス・ストリート２９番
(72)発明者 エリク・フェイファン
アメリカ合衆国０２４２１マサチューセッツ州レキシントン、ケンドール・ロード４１番
(72)発明者 ナンシー・エル・ウッド
アメリカ合衆国０２１４３マサチューセッツ州サマービル、アサートン・ストリート１８７番
(72)発明者 ロリ・ジェイ・フィッツ
アメリカ合衆国０２１４４マサチューセッツ州サマービル、ナンバー２、コンウェル・アベニュー５４番
(72)発明者 アンジェラ・エム・ウィダム
アメリカ合衆国０１７２０マサチューセッツ州アクトン、チェロキー・ロード１９番
(72)発明者 ケビン・ディ・パリス
アメリカ合衆国０２４６６マサチューセッツ州オーバーンデイル、ウッドバイン・ストリート１１２番
(72)発明者 サミュエル・ジェイ・ゴールドマン
アメリカ合衆国０１７２０マサチューセッツ州アクトン、モーホーク・ドライブ９番

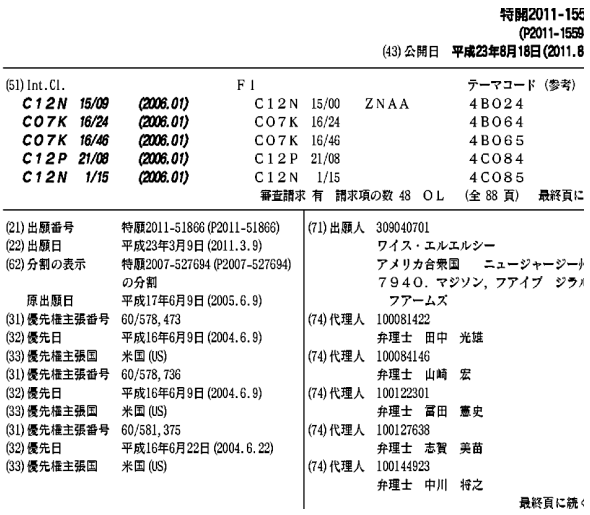
Ｆターム(参考) 4B024 AA01 AA11 BA44 CA05 CA07 DA02 GA11 HA01 HA06
4B064 AG27 CA19 CA20 DA01 DA13
4B065 AA90X AA91Y AB01 AB05 AC14 BA01 BA08 CA25 CA44 CA46
4C084 AA19 AA27 MA02 MA59 MA63 MA66 NA05 ZA341 ZA511 ZA591
ZA611 ZA621 ZA681 ZA891 ZB071 ZB081 ZB111 ZB131 ZB261 ZB331
ZC021 ZC751
4C085 AA14 BB41 BB43 CC23 DD62 DD88 EE01 EE03 GG04 GG10
4H045 AA11 AA20 AA30 BA10 BA41 CA40 DA76 EA22 EA50 FA72
FA74

专利名称(译)	针对人白细胞介素-13的抗体及其用途		
公开(公告)号	JP2011155980A	公开(公告)日	2011-08-18
申请号	JP2011051866	申请日	2011-03-09
[标]申请(专利权)人(译)	惠氏公司		
申请(专利权)人(译)	魏斯，LLC		
[标]发明人	マリオンティカサイアン リュードミラチスティアコワ ヘールトライダエムフェルトマン キンバリーアンマーケット シャンヤンタン デブラディドナルドソン ローラロングリン タニアシェーン エイミーセプイタム エリクフェイファン ナンシーエルウッド ロリジェイフィッツ アンジェラエムウィダム ケビンディパリス サミュエルジェイゴールドマン		
发明人	マリオン·ティ·カサイアン リュードミラ·チスティアコワ ヘールトライダ·エム·フェルトマン キンバリー·アン·マーケット シャン-ヤン·タン デブラ·ディ·ドナルドソン ローラ·ロング·リン タニア·シェーン エイミー·セプイ·タム エリク·フェイファン ナンシー·エル·ウッド ロリ·ジェイ·フィッツ アンジェラ·エム·ウィダム ケビン·ディ·パリス サミュエル·ジェイ·ゴールドマン		
IPC分类号	C12N15/09 C07K16/24 C07K16/46 C12P21/08 C12N1/15 C12N1/19 C12N1/21 C12N5/10 C12N15/02 A61K39/395 A61P43/00 A61P11/06 A61P37/08 A61P17/00 A61P11/00 A61P11/04 A61P7/00 A61P29/00 A61P37/02 A61P35/00 A61P31/12 A61P37/06 A61P11/02 A61P1/04 A61P11/08 A61K45/00 A61P1/16 G01N33/53 C07K16/00		
CPC分类号	A61K2039/505 A61P1/00 A61P1/04 A61P1/16 A61P7/00 A61P11/00 A61P11/02 A61P11/04 A61P11/06 A61P11/08 A61P17/00 A61P27/16 A61P29/00 A61P31/04 A61P31/12 A61P35/00 A61P37/00 A61P37/02 A61P37/06 A61P37/08 A61P43/00 C07K16/244 C07K2299/00 C07K2317/24 C07K2317/55 C07K2317/56 C07K2317/73 C07K2317/732 C07K2317/76 C07K2317/92		
FI分类号	C12N15/00.ZNA.A C07K16/24 C07K16/46 C12P21/08 C12N1/15 C12N1/19 C12N1/21 C12N5/00.101 C12N15/00.C A61K39/395.U A61P43/00.111 A61P11/06 A61P37/08 A61P17/00 A61P11/00 A61P11		

	/04 A61P7/00 A61P43/00.105 A61P43/00.101 A61P29/00 A61P37/02 A61P35/00 A61P31/12 A61P37/06 A61P11/02 A61P1/04 A61P11/08 A61P43/00.121 A61K45/00 A61P1/16 G01N33/53.P G01N33/53.Q C12N15/00.A C12N15/00.AZN.A C12N15/13 C12N5/20
F-TERM分类号	4B024/AA01 4B024/AA11 4B024/BA44 4B024/CA05 4B024/CA07 4B024/DA02 4B024/GA11 4B024/HA01 4B024/HA06 4B064/AG27 4B064/CA19 4B064/CA20 4B064/DA01 4B064/DA13 4B065/AA90X 4B065/AA91Y 4B065/AB01 4B065/AB05 4B065/AC14 4B065/BA01 4B065/BA08 4B065/CA25 4B065/CA44 4B065/CA46 4C084/AA19 4C084/AA27 4C084/MA02 4C084/MA59 4C084/MA63 4C084/MA66 4C084/NA05 4C084/ZA341 4C084/ZA511 4C084/ZA591 4C084/ZA611 4C084/ZA621 4C084/ZA681 4C084/ZA891 4C084/ZB071 4C084/ZB081 4C084/ZB111 4C084/ZB131 4C084/ZB261 4C084/ZB331 4C084/ZC021 4C084/ZC751 4C085/AA14 4C085/BB41 4C085/BB43 4C085/CC23 4C085/DD62 4C085/DD88 4C085/EE01 4C085/EE03 4C085/GG04 4C085/GG10 4H045/AA11 4H045/AA20 4H045/AA30 4H045/BA10 4H045/BA41 4H045/CA40 4H045/DA76 4H045/EA22 4H045/EA50 4H045/FA72 4H045/FA74
代理人(译)	田中，三夫 山崎 宏 富田健二 中川正幸
优先权	60/578473 2004-06-09 US 60/578736 2004-06-09 US 60/581375 2004-06-22 US
其他公开文献	JP2011155980A5
外部链接	Espacenet

摘要(译)

要解决的问题：提供白细胞介素-13（IL-13），特别是与人IL-13结合的抗体，例如人源化抗体及其抗原结合片段，并提供用途因此，在IL-13介导的调节免疫应答中。解决方案：抗体或其抗原结合片段与IL-13结合，K D 小于10 -7 M并提供具有特定特征的抗体或其抗原结合片段。



特開2011-155
(P2011-1559
(43)公開日 平成23年8月18日(2011.8

(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
C07K 16/46	(2006.01)	C07K	16/46		4B065
C12P 21/08	(2006.01)	C12P	21/08		4C084
C12N 1/15	(2006.01)	C12N	1/15		4C085

審査請求 有 請求項の数 48 OL （全 88 頁） 最終頁に

(21)出願番号	特願2011-51866 (P2011-51866)
(22)出願日	平成23年3月9日 (2011.3.9)
(62)分割の表示	特願2007-527694 (P2007-527694)の分割
原出願日	平成17年6月9日 (2005.6.9)
(31)優先権主張番号	60/578,473
(32)優先日	平成16年6月9日 (2004.6.9)
(33)優先権主張国	米国 (US)
(31)優先権主張番号	60/578,736
(32)優先日	平成16年6月9日 (2004.6.9)
(33)優先権主張国	米国 (US)
(31)優先権主張番号	60/581,375
(32)優先日	平成16年6月22日 (2004.6.22)
(33)優先権主張国	米国 (US)

(71)出願人	309040701 ワイス・エルエルシー アメリカ合衆国 ニュージャージー州 ７９４０．マジソン，フアイブ ジラルダ フアームズ
(74)代理人	100081422 弁理士 田中 光雄
(74)代理人	100084146 弁理士 山崎 宏
(74)代理人	100122301 弁理士 冨田 憲史
(74)代理人	100127638 弁理士 志賀 美苗
(74)代理人	100144923 弁理士 中川 将之

最終頁に続く