

(19) 日本国特許庁(JP)

(12) 公表特許公報(A)

(11) 特許出願公表番号

特表2013-507929

(P2013-507929A)

(43) 公表日 平成25年3月7日(2013.3.7)

(51) Int.Cl.	F I	テーマコード (参考)
C 1 2 N 15/09 (2006.01)	C 1 2 N 15/00 Z N A A	4 B O 2 4
C O 7 K 16/24 (2006.01)	C O 7 K 16/24	4 B O 6 4
C O 7 K 16/46 (2006.01)	C O 7 K 16/46	4 B O 6 5
C 1 2 N 1/15 (2006.01)	C 1 2 N 1/15	4 C O 7 6
C 1 2 N 1/19 (2006.01)	C 1 2 N 1/19	4 C O 8 4
審査請求 未請求 予備審査請求 有 (全 84 頁) 最終頁に続く		

(21) 出願番号 特願2012-534395 (P2012-534395)
 (86) (22) 出願日 平成22年10月15日 (2010.10.15)
 (85) 翻訳文提出日 平成24年6月1日 (2012.6.1)
 (86) 国際出願番号 PCT/US2010/052849
 (87) 国際公開番号 WO2011/047266
 (87) 国際公開日 平成23年4月21日 (2011.4.21)
 (31) 優先権主張番号 61/251, 856
 (32) 優先日 平成21年10月15日 (2009.10.15)
 (33) 優先権主張国 米国 (US)

(71) 出願人 391008788
 アボット・ラボラトリーズ
 ABBOTT LABORATORIES
 アメリカ合衆国 イリノイ州 アボット
 パーク アボット パーク ロード 10
 0
 (74) 代理人 110001173
 特許業務法人川口国際特許事務所
 (72) 発明者 シエ, チャンーミン
 アメリカ合衆国、マサチューセッツ・02
 459、ニュートン、オールド・フィール
 ド・ロード・22

最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 IL-1 結合蛋白質

(57) 【要約】

本発明は IL - 1 結合蛋白質、IL - 1 と結合するキメラ抗体、CDR 移植抗体及びヒト化抗体を記載する。本発明の結合蛋白質は IL - 1 に対する親和性が高く、IL - 1 活性を中和させる。本発明の結合蛋白質は全長抗体、あるいはその IL - 1 結合部分であり得る。本発明の結合蛋白質の作製方法と使用方法も記載する。本発明の IL - 1 結合蛋白質は IL - 1 活性が有害である疾患又は障害に罹患したヒト対象等において IL - 1 を検出するため、及び IL - 1 活性を阻害するために有用である。

【特許請求の範囲】

【請求項 1】

I L - 1 と結合することが可能な抗体又はその抗原結合部分であって、配列番号 2 8、配列番号 2 9、配列番号 3 0、配列番号 3 1、配列番号 3 2、配列番号 3 3、配列番号 3 4、配列番号 3 5、配列番号 3 6、配列番号 3 7、配列番号 3 8、配列番号 3 9 及び配列番号 4 0 から構成される群から選択されるアミノ酸配列を含む I L - 1 と結合することが可能な前記抗体又はその抗原結合部分。

【請求項 2】

I L - 1 と結合することが可能な抗体又はその抗原結合部分であって、配列番号 2 6 の残基 3 1 ~ 3 5 (C D R - H 1)、配列番号 2 6 の残基 5 0 ~ 6 5 (C D R - H 2)、配列番号 2 6 の残基 9 8 ~ 1 1 1 (C D R - H 3)、配列番号 2 7 の残基 2 4 ~ 3 4 (C D R - L 1)、配列番号 2 7 の残基 5 0 ~ 5 6 (C D R - L 2)、及び配列番号 2 7 の残基 8 9 ~ 9 7 (C D R - L 3) から構成される群から選択されるアミノ酸配列を含む少なくとも 1 個の C D R を含む前記抗体又はその抗原結合部分。

10

【請求項 3】

少なくとも 3 個の C D R を含む請求項 2 に記載の結合蛋白質。

【請求項 4】

少なくとも 3 個の C D R が可変ドメイン C D R セットから選択され、前記可変ドメイン C D R セットが、配列番号 2 6 の残基 3 1 ~ 3 5 (C D R - H 1)、配列番号 2 6 の残基 5 0 ~ 6 5 (C D R - H 2) 及び配列番号 2 6 の残基 9 8 ~ 1 1 1 (C D R - H 3) を含む V H C D R セットと、配列番号 2 7 の残基 2 4 ~ 3 4 (C D R - L 1)、配列番号 2 7 の残基 5 0 ~ 5 6 (C D R - L 2) 及び配列番号 2 7 の残基 8 9 ~ 9 7 (C D R - L 3) を含む V L C D R セットから構成される群から選択される請求項 3 に記載の結合蛋白質。

20

【請求項 5】

少なくとも 2 個の可変ドメイン C D R セットを含む請求項 4 に記載の結合蛋白質。

【請求項 6】

少なくとも 2 個の可変ドメイン C D R セットが、配列番号 2 6 の残基 3 1 ~ 3 5 (C D R - H 1)、配列番号 2 6 の残基 5 0 ~ 6 5 (C D R - H 2) 及び配列番号 2 6 の残基 9 8 ~ 1 1 1 (C D R - H 3) を含む V H C D R セットと、配列番号 2 7 の残基 2 4 ~ 3 4 (C D R - L 1)、配列番号 2 7 の残基 5 0 ~ 5 6 (C D R - L 2) 及び配列番号 2 7 の残基 8 9 ~ 9 7 (C D R - L 3) を含む V L C D R セットである請求項 5 に記載の結合蛋白質。

30

【請求項 7】

更にヒトアクセプターフレームワークを含む請求項 6 に記載の結合蛋白質。

【請求項 8】

ヒトアクセプターフレームワークが配列番号 1 0 ~ 1 7 及び配列番号 1 8 ~ 2 5 から構成される群から選択されるアミノ酸配列を含む請求項 7 に記載の結合蛋白質。

【請求項 9】

前記ヒトアクセプターフレームワークが少なくとも 1 カ所のフレームワーク領域アミノ酸置換を含み、前記フレームワークのアミノ酸配列がヒトアクセプターフレームワークの配列と少なくとも 6 5 % 一致しており、ならびにヒトアクセプターフレームワークと一致する少なくとも 7 0 個のアミノ酸残基を含む請求項 7 又は 8 に記載の結合蛋白質。

40

【請求項 10】

ヒトアクセプターフレームワークがキー残基に少なくとも 1 カ所のフレームワーク領域アミノ酸置換を含み、前記キー残基が C D R に隣接する残基、グリコシル化部位残基、希少残基、ヒト I L - 1 と相互作用することが可能な残基、C D R と相互作用することが可能な残基、カノニカル残基、重鎖可変領域と軽鎖可変領域の間の接触残基、パーニアゾン内の残基、及び C h o t h i a の定義による重鎖可変領域 C D R 1 と K a b a t の定義による第 1 番目の重鎖フレームワークの間でオーバーラップする領域における残基から構成される群から選択される請求項 8 に記載の結合蛋白質。

50

【請求項 1 1】

キー残基が、キー残基を含んでいてもよく、前記キー残基が 1 H、1 2 H、2 4 H、2 7 H、2 9 H、3 7 H、4 8 H、4 9 H、6 7 H、7 1 H、7 3 H、7 6 H、7 8 H、9 4 H、1 L、2 L、3 L、4 L、4 3 L、4 9 L、6 4 L 及び 8 3 L から構成される群から選択されるから構成される群から選択される請求項 1 0 に記載の結合蛋白質。

【請求項 1 2】

コンセンサスヒトアクセプターを含む請求項 1 1 に記載の結合蛋白質。

【請求項 1 3】

配列番号 2 8、配列番号 2 9、配列番号 3 0、配列番号 3 1、配列番号 3 2 及び配列番号 3 3 から構成される群から選択されるアミノ酸配列を含む可変重鎖ポリペプチドと、配列番号 3 4、配列番号 3 5、配列番号 3 6、配列番号 3 7、配列番号 3 8、配列番号 3 9 及び配列番号 4 0 から構成される群から選択されるアミノ酸配列を含む可変軽鎖ポリペプチドを含む請求項 1 に記載の結合蛋白質。

10

【請求項 1 4】

前記結合蛋白質が配列番号 3 0 と配列番号 3 6、配列番号 3 0 と配列番号 3 7、配列番号 3 0 と配列番号 3 9、配列番号 3 0 と配列番号 4 0、配列番号 3 3 と配列番号 3 6、配列番号 3 3 と配列番号 3 7、配列番号 3 3 と配列番号 3 9、配列番号 3 3 と配列番号 4 0 から構成される群から選択される夫々のアミノ酸配列を含む可変重鎖ポリペプチドと可変軽鎖ポリペプチドを含む請求項 1 3 の結合蛋白質。

【請求項 1 5】

免疫グロブリン分子、ジスルフィド結合 F v、モノクローナル抗体、s c F v、キメラ抗体、シングルドメイン抗体、C D R 移植抗体、ダイアボディ、ヒト化抗体、多重特異性抗体、F a b、二重特異性抗体、D V D - I g 蛋白質、F a b'、二特異性抗体、F (a b') 2 及び F v から構成される群から選択される請求項 1 の結合蛋白質。

20

【請求項 1 6】

ヒト I g M 定常ドメイン、ヒト I g G 4 定常ドメイン、ヒト I g G 1 定常ドメイン、ヒト I g E 定常ドメイン、ヒト I g G 2 定常ドメイン、ヒト I g G 3 定常ドメイン及びヒト I g A 定常ドメインから構成される群から選択される重鎖免疫グロブリン定常領域を含む請求項 1 の結合蛋白質。

【請求項 1 7】

更に配列番号 2 及び配列番号 3 から構成される群から選択されるアミノ酸配列をもつ重鎖定常領域を含む請求項 1 の結合蛋白質。

30

【請求項 1 8】

更に配列番号 4 及び配列番号 5 から構成される群から選択されるアミノ酸配列をもつ軽鎖定常領域を含む請求項 1 の結合蛋白質。

【請求項 1 9】

ヒト I L - 1 の生物学的機能を変調させることが可能である請求項 1 の結合蛋白質。

【請求項 2 0】

ヒト I L - 1 を中和させることが可能である請求項 1 の結合蛋白質。

【請求項 2 1】

表面プラズモン共鳴法により測定した場合に前記ターゲットに対して少なくとも約 $1 0^2 \text{ M}^{-1} \text{ s}^{-1}$ 、少なくとも約 $1 0^3 \text{ M}^{-1} \text{ s}^{-1}$ 、少なくとも約 $1 0^4 \text{ M}^{-1} \text{ s}^{-1}$ 、少なくとも約 $1 0^5 \text{ M}^{-1} \text{ s}^{-1}$ 、及び少なくとも約 $1 0^6 \text{ M}^{-1} \text{ s}^{-1}$ から構成される群から選択されるオン速度定数 (K o n) をもつ請求項 1 の結合蛋白質。

40

【請求項 2 2】

表面プラズモン共鳴法により測定した場合に前記ターゲットに対して最大で約 $1 0^{-3} \text{ s}^{-1}$ 、最大で約 $1 0^{-4} \text{ s}^{-1}$ 、最大で約 $1 0^{-5} \text{ s}^{-1}$ 、及び最大で約 $1 0^{-6} \text{ s}^{-1}$ から構成される群から選択されるオフ速度定数 (K o f f) をもつ請求項 1 の結合蛋白質。

【請求項 2 3】

50

前記ターゲットに対して最大で約 10^{-7} M、最大で約 10^{-8} M、最大で約 10^{-9} M、最大で約 10^{-10} M、最大で約 10^{-11} M、最大で約 10^{-12} M、及び最大で約 10^{-13} M から構成される群から選択される解離定数 (KD) をもつ請求項 1 の結合蛋白質。

【請求項 24】

IL-1 に対して約 1.31×10^{-10} M、約 1.47×10^{-10} M、約 1.61×10^{-10} M、約 1.86×10^{-10} M、約 2.02×10^{-10} M、約 2.06×10^{-10} M、約 2.3×10^{-10} M、及び約 2.84×10^{-10} M から構成される群から選択される解離定数 (KD) をもつ請求項 23 の結合蛋白質。

【請求項 25】

更に免疫接着分子、イメージング剤、治療剤及び細胞傷害性物質から構成される群から選択される作用剤を含む請求項 1 の結合蛋白質。

【請求項 26】

前記作用剤が放射性ラベル、酵素、蛍光ラベル、発光ラベル、生物発光ラベル、磁気ラベル及びビオチンから構成される群から選択されるイメージング剤である請求項 25 の結合蛋白質。

【請求項 27】

前記イメージング剤が ^3H 、 ^{14}C 、 ^{35}S 、 ^{90}Y 、 ^{99}Tc 、 ^{111}In 、 ^{125}I 、 ^{131}I 、 ^{177}Lu 、 ^{166}Ho 及び ^{153}Sm から構成される群から選択される放射性ラベルである請求項 25 の結合蛋白質。

【請求項 28】

前記作用剤が代謝拮抗剤、アルキル化剤、抗生物質、成長因子、サイトカイン、抗血管新生剤、抗有糸分裂剤、アントラサイクリン、毒素及びアポトーシス誘導剤から構成される群から選択される治療剤又は細胞傷害性物質である請求項 25 の結合蛋白質。

【請求項 29】

ヒトグリコシル化パターンをもつ請求項 1 の結合蛋白質。

【請求項 30】

結晶化結合蛋白質である請求項 1 の結合蛋白質。

【請求項 31】

前記結晶化結合蛋白質が無担体薬剤制御放出結晶化結合蛋白質である請求項 30 の結合蛋白質。

【請求項 32】

可溶性対応物よりも長いインビボ半減期をもつ請求項 31 の結合蛋白質。

【請求項 33】

生物活性を保持する請求項 31 の結合蛋白質。

【請求項 34】

請求項 1 の結合蛋白質アミノ酸配列をコードする単離核酸。

【請求項 35】

請求項 1 の結合蛋白質アミノ酸配列をコードする単離核酸を含むベクター。

【請求項 36】

p c DNA、p T T、p T T 3、p E F B O S、p B V、p J V、p H y b E 及び p B J から構成される群から選択される請求項 35 のベクター。

【請求項 37】

請求項 35 のベクターを含む宿主細胞。

【請求項 38】

原核細胞である請求項 37 の宿主細胞。

【請求項 39】

大腸菌である請求項 38 の宿主細胞。

【請求項 40】

真核細胞である請求項 37 の宿主細胞。

10

20

30

40

50

- 【請求項 4 1】
前記真核細胞が原生生物細胞、動物細胞、植物細胞及び真菌細胞から構成される群から選択される請求項 4 0 の宿主細胞。
- 【請求項 4 2】
前記真核細胞が哺乳動物細胞、鳥類細胞及び昆虫細胞から構成される群から選択される動物細胞である請求項 4 0 の宿主細胞。
- 【請求項 4 3】
CHO 又は COS 細胞である請求項 4 0 の宿主細胞。
- 【請求項 4 4】
HEK 293 - 6 E 細胞である請求項 4 1 の宿主細胞。 10
- 【請求項 4 5】
酵母細胞である請求項 4 0 の宿主細胞。
- 【請求項 4 6】
前記酵母細胞がサッカロミセス・セルビシエ (*Saccharomyces cerevisiae*) である請求項 4 5 の宿主細胞。
- 【請求項 4 7】
昆虫 Sf 9 細胞である請求項 4 0 の宿主細胞。
- 【請求項 4 8】
IL - 1 と結合することが可能な蛋白質の作製方法であって、IL - 1 と結合することが可能な結合蛋白質を産生させるために十分な条件下で請求項 3 7 の宿主細胞を培養培地で培養する段階を含む前記方法。 20
- 【請求項 4 9】
請求項 4 8 の方法により作製された蛋白質。
- 【請求項 5 0】
結合蛋白質の放出用組成物であって、
(a) 請求項 3 0 の結晶化結合蛋白質と成分を含有する製剤；及び
(b) 少なくとも 1 種のポリマー担体
を含む前記組成物。
- 【請求項 5 1】
前記ポリマー担体がポリ(アクリル酸)、ポリ(シアノアクリレート)、ポリ(アミノ酸)、ポリ(酸無水物)、ポリ(デブシペプチド)、ポリ(エステル)、ポリ(乳酸)、ポリ(乳酸・グリコール酸コポリマー)ないし PLGA、ポリ(b - ヒドロキシブチレート)、ポリ(カプロラクトン)、ポリ(ジオキサノン)、ポリ(エチレングリコール)、ポリ[(ヒドロキシプロピル)メタクリルアミド]、ポリ[(オルガノ)ホスファゼン]、ポリ(オルトエステル)、ポリ(ビニルアルコール)、ポリ(ビニルピロリドン)、マレイン酸無水物・アルキルビニルエーテルコポリマー、ブルロニックポリオール、アルブミン、アルギン酸塩、セルロース及びセルロース誘導体、コラーゲン、フィブリン、ゼラチン、ヒアルロン酸、オリゴ糖、グリコサミノグリカン及び硫酸化多糖、並びにそのブレンド及びコポリマーから構成される群から選択されるポリマーである請求項 5 0 の組成物。 30
- 【請求項 5 2】
前記成分がアルブミン、スクロース、トレハロース、ラクチトール、ゼラチン、ヒドロキシプロピル - b - シクロデキストリン、メトキシポリエチレングリコール及びポリエチレングリコールから構成される群から選択される請求項 5 0 の組成物。 40
- 【請求項 5 3】
有効量の請求項 5 0 の組成物を哺乳動物に投与する段階を含む哺乳動物の治療方法。
- 【請求項 5 4】
請求項 1 の結合蛋白質と、医薬的に許容可能な担体を含有する医薬組成物。
- 【請求項 5 5】
前記医薬的に許容可能な担体が前記結合蛋白質の吸収又は分散を強化するために有用な 50

アジュバントとして機能する請求項 5 4 の医薬組成物。

【請求項 5 6】

前記アジュバントがヒアルロニダーゼである請求項 5 5 の医薬組成物。

【請求項 5 7】

更に I L - 1 活性が有害である障害を治療するための少なくとも 1 種の別の作用剤を含有する請求項 5 4 の医薬組成物。

【請求項 5 8】

前記別の作用剤が治療剤、イメージング剤、細胞傷害性物質、血管新生阻害剤、キナーゼ阻害剤、共刺激分子遮断薬、接着分子遮断薬、抗サイトカイン抗体又はその機能的フラグメント、メトトレキサート、シクロスポリン、ラバマイシン、F K 5 0 6、検出可能なラベル又はレポーター、T N F アンタゴニスト、抗リウマチ薬、筋肉弛緩剤、麻薬、非ステロイド性抗炎症薬 (N S A I D)、鎮痛剤、麻酔剤、鎮静剤、局所麻酔剤、神経筋遮断薬、抗微生物薬、乾癬治療薬、コルチコステロイド、アナボリックステロイド、エリスロポエチン、免疫化、免疫グロブリン、免疫抑制剤、成長ホルモン、ホルモン補充薬、放射性薬剤、抗鬱剤、抗精神病薬、刺激剤、喘息薬、アゴニスト、吸入ステロイド、経口ステロイド、エピネフリン又はそのアナログ、サイトカイン及びサイトカインアンタゴニストから構成される群から選択される請求項 5 7 の医薬組成物。

【請求項 5 9】

ヒト I L - 1 活性を低下させる方法であって、ヒト I L - 1 活性を低下させるように請求項 1 の結合蛋白質とヒト I L - 1 を接触させる段階を含む前記方法。

【請求項 6 0】

I L - 1 活性が有害である障害に罹患したヒト対象におけるヒト I L - 1 活性を低下させる方法であって、ヒト対象におけるヒト I L - 1 活性を低下させるように請求項 1 の結合蛋白質をヒト対象に投与する段階を含む前記方法。

【請求項 6 1】

治療を実現するように請求項 1 の結合蛋白質を対象に投与することにより、I L - 1 活性が有害である疾患又は障害に対して対象を治療する方法。

【請求項 6 2】

前記障害が関節リウマチ、変形性関節症、若年性慢性関節炎、敗血症性関節炎、ライム関節炎、乾癬性関節炎、反応性関節炎、脊椎関節症、全身性エリテマトーデス、クローン病、潰瘍性大腸炎、炎症性腸疾患、インスリン依存性糖尿病、甲状腺炎、喘息、アレルギー疾患、乾癬、強皮症皮膚炎、移植片対宿主病、臓器移植拒絶反応、臓器移植に伴う急性又は慢性免疫疾患、サルコイドーシス、アテローム性動脈硬化症、播種性血管内凝固症候群、川崎病、グレーブス病、ネフローゼ症候群、慢性疲労症候群、ウェグナー肉芽腫症、シェーンライン・ヘノッフ紫斑病、腎臓の顕微鏡的血管炎、慢性活動性肝炎、ブドウ膜炎、敗血症性ショック、毒素性ショック症候群、敗血症症候群、悪液質、感染症、寄生虫症、後天性免疫不全症候群、急性横断性脊髄炎、ハンチントン舞蹈病、パーキンソン病、アルツハイマー病、脳卒中、原発性胆汁性肝硬変、溶血性貧血、悪性腫瘍、心不全、心筋梗塞、アジソン病、散発性 I 型多腺性内分泌不全症及び I I 型多腺性内分泌不全症、シュミット症候群、成人 (急性) 呼吸窮迫症候群、脱毛症、先天性脱毛症、血清反応陰性関節症、関節症、ライター病、乾癬性関節症、潰瘍性大腸炎性関節症、腸病性滑膜炎、クラミジア、エルシニア及びサルモネラ関連関節症、脊椎関節症、アテローム性疾患 / 動脈硬化症、アトピー性アレルギー、自己免疫性水疱症、尋常性天疱瘡、落葉状天疱瘡、類天疱瘡、線状 I g A 病、自己免疫性溶血性貧血、クームス陽性溶血性貧血、後天性悪性貧血、若年性悪性貧血、筋痛性脳炎 / ロイヤルフリー病、慢性粘膜皮膚カンジダ症、巨細胞性動脈炎、原発性硬化性肝炎、特発性自己免疫性肝炎、後天性免疫不全症候群、後天性免疫不全症関連疾患、B 型肝炎、C 型肝炎、分類不能型免疫不全症 (分類不能型低ガンマグロブリン血症)、拡張型心筋症、女性不妊症、卵巣不全、早発卵巣不全、線維性肺疾患、特発性線維化性肺炎、炎症後間質性肺疾患、間質性肺炎、結合組織病関連間質性肺疾患、混合性結合組織病関連肺疾患、全身性硬化症関連間質性肺疾患、関節リウマチ関連間質性肺疾患

10

20

30

40

50

、全身性エリテマトーデス関連肺疾患、皮膚筋炎/多発性筋炎関連肺疾患、 쇼ーグレン病関連肺疾患、強直性脊椎炎関連肺疾患、血管炎性びまん性肺疾患、ヘモジデリン沈着症関連肺疾患、薬物誘発性間質性肺疾患、線維症、放射線線維症、閉塞性細気管支炎、慢性好酸球性肺炎、リンパ球浸潤性肺疾患、感染後間質性肺疾患、通風性関節炎、自己免疫性肝炎、1型自己免疫性肝炎(古典的自己免疫性肝炎ないしルポイド肝炎)、2型自己免疫性肝炎(抗LKM抗体肝炎)、自己免疫介在性低血糖症、黒色表皮腫を伴うB型インスリン抵抗性、副甲状腺機能低下症、臓器移植に伴う急性免疫疾患、臓器移植に伴う慢性免疫疾患、変形性関節症、原発性硬化性胆管炎、1型乾癬、2型乾癬、特発性白血球減少症、自己免疫性好中球減少症、腎疾患NOS、糸球体腎炎、腎臓の顕微鏡的血管炎、ライム病、円板状エリテマトーデス、特発性ないしNOS男性不妊症、精子自己免疫、多発性硬化症(全サブタイプ)、交感性眼炎、結合組織病続発性肺高血圧症、グッドパスチャー症候群、結節性多発動脈炎の肺症状、急性リウマチ熱、リウマチ性脊椎炎、スティル病、全身性硬化症、 쇼ーグレン症候群、高安病/動脈炎、自己免疫性血小板減少症、特発性血小板減少症、自己免疫性甲状腺疾患、甲状腺機能亢進症、甲状腺腫性自己免疫性甲状腺機能低下症(橋本病)、萎縮性自己免疫性甲状腺機能低下症、原発性粘液水腫、水晶体起因性ブドウ膜炎、原発性血管炎、白斑急性肝疾患、慢性肝疾患、アルコール性肝硬変、アルコール誘発性肝傷害、胆汁鬱滞症、特異体質性肝疾患、薬物誘発性肝炎、非アルコール性脂肪肝炎、アレルギー及び喘息、B群連鎖球菌(GBS)感染症、精神障害(例えば鬱病及び統合失調症)、Th2型及びTh1型細胞介在性疾患、急性及び慢性疼痛(各種疼痛)、癌(例えば肺癌、乳癌、胃癌、膀胱癌、結腸癌、膵臓癌、卵巣癌、前立腺癌及び直腸癌)及び血液悪性疾患(白血病及びリンパ腫)、無リポ蛋白血症、先端チアノーゼ、急性及び慢性寄生虫又は感染プロセス、急性白血病、急性リンパ芽球性白血病(ALL)、急性骨髄性白血病(AML)、急性又は慢性細菌感染症、急性膵炎、急性腎不全、腺癌、心房異所性拍動、エイズ痴呆合併症、アルコール誘発性肝炎、アレルギー性結膜炎、アレルギー性接触皮膚炎、アレルギー性鼻炎、同種移植片拒絶反応、1アンチトリプシン欠損症、筋萎縮性側索硬化症、貧血、狭心症、前角細胞変性、抗CD3抗体療法、抗リン脂質抗体症候群、抗受容体過敏反応、大動脈及び末梢動脈瘤、大動脈解離、動脈性高血圧、動脈硬化症、動静脈瘻、運動失調症、心房細動(持続性又は発作性)、心房粗動、房室ブロック、B細胞リンパ腫、骨移植拒絶反応、骨髄移植(BMT)拒絶反応、脚ブロック、パーキットリンパ腫、火傷、心不整脈、心臓性失神症候群、心臓腫瘍、心筋症、心肺バイパス炎症反応、軟骨移植拒絶反応、小脳皮質変性、小脳障害、無秩序型ないし多源性心房頻拍、化学療法関連障害、慢性骨髄性白血病(CML)、慢性アルコール依存症、慢性炎症性疾患、慢性リンパ性白血病(PLL)、慢性閉塞性肺疾患(COPD)、慢性サリチル酸中毒、結腸直腸癌、鬱血性心不全、結膜炎、接触皮膚炎、肺性心、冠動脈疾患、クロイツェルフェルト・ヤコブ病、培養陰性敗血症、嚢胞性線維症、サイトカイン療法関連障害、拳闘家痴呆、脱髄疾患、 Dengue出血熱、皮膚炎、皮膚疾患、糖尿病、真性糖尿病、糖尿病性動脈硬化症、びまん性レビー小体病、拡張型鬱血性心筋症、基底核障害、中高年ダウン症候群、CNSドーパミン受容体を遮断する薬物により誘発される薬物誘発性運動障害、薬物過敏症、湿疹、脳脊髄炎、心内膜炎、内分泌障害、喉頭蓋炎、エプスタイン・バーウイルス感染症、肢端紅痛症、錐体外路及び小脳障害、家族性血球貪食リンパ組織球症、胎児胸腺移植拒絶反応、フリードリヒ運動失調症、機能性末梢動脈障害、真菌性敗血症、ガス壊疽、胃潰瘍、糸球体腎炎、任意臓器又は組織の移植片拒絶反応、グラム陰性菌敗血症、グラム陽性菌敗血症、細胞内生物による肉芽腫、ヘアリー細胞白血病、ハレルフォルデン・スパッツ病、橋本甲状腺炎、花粉症、心臓移植拒絶反応、ヘモクロマトーシス、血液透析、溶血性尿毒症症候群/血栓性血小板減少性紫斑病、出血、A型肝炎、ヒス束不整脈、HIV感染症/HIV神経障害、ホジキン病、運動過多性運動障害、過敏反応、過敏性肺炎、高血圧、運動低下性運動障害、視床下部-下垂体-副腎軸評価、特発性アジソン病、特発性肺線維症、抗体介在性細胞傷害、無力症、小児脊髄性筋萎縮症、大動脈炎症、A型インフルエンザ、電離放射線被爆、虹彩毛様体炎/ブドウ膜炎/視神経炎、虚血再灌流傷害、虚血性脳卒中、若年性関節リウマチ、若年性脊髄性筋萎縮症、カボジ肉腫、腎

10

20

30

40

50

移植拒絶反応、レジオネラ症、リーシュマニア症、ハンセン病、皮質脊髄系傷害、脂肪性浮腫、肝移植拒絶反応、リンパ水腫、マラリア、悪性リンパ腫、悪性組織球症、悪性メラノーマ、髄膜炎、髄膜炎菌血症、代謝性／特発性偏頭痛、ミトコンドリア多系統疾患、混合性結合組織病、モノクローナル免疫グロブリン血症、多発性骨髄腫、多系統変性症（Mencel Dejerine - Thomas Shi - Drager及びMachado - Joseph）、重症筋無力症、マイコバクテリウム・アビウム・イントラセルラー菌感染症、ヒト型結核菌感染症、骨髄異形成症候群、心筋梗塞、心筋虚血障害、上咽頭癌、新生児慢性肺疾患、腎炎、ネフロゼ、神経変性疾患、I型神経原性筋委縮症、好中球減少時の発熱、非ホジキンリンパ腫、腹部大動脈とその分枝の閉塞、閉塞性動脈障害、OKT3（登録商標）療法、精巣炎／副睾丸炎、精巣炎／精管切除再吻合術、臓器腫大、骨粗鬆症、膵臓移植拒絶反応、膵臓癌、腫瘍随伴症候群／悪性腫瘍による高カルシウム血症、副甲状腺移植拒絶反応、骨盤内炎症性疾患、通年性鼻炎、心膜疾患、末梢アテローム性動脈硬化性疾患、末梢血管障害、腹膜炎、悪性貧血、ニューモシスチス・カリニ肺炎、肺炎、POEMS症候群（多発ニューロパシー、臓器腫大、内分泌障害、モノクローナル免疫グロブリン血症及び皮膚変化症候群）、滯流後症候群、ポストポンプ症候群、MI心膜切開後症候群、子癇前症、進行性核上性麻痺、原発性肺高血圧症、放射線療法、レイノー現象、レイノー病、レフサム病、規則的で狭いQRS幅の頻拍、腎血管性高血圧症、再滯流傷害、拘束型心筋症、肉腫、強皮症、老人性舞蹈病、レビー小体型老人性痴呆症、血清反応陰性関節症、ショック、鎌状赤血球貧血、皮膚同種移植片拒絶反応、皮膚変化症候群、小腸移植拒絶反応、充実性腫瘍、特異的不整脈、脊髄性運動失調症、脊髄小脳変性症、連鎖球菌性筋炎、小脳の構造傷害、亜急性硬化性汎脳炎、失神、心血管系梅毒、全身性アナフィラキシー、全身性炎症反応症候群、全身型発症若年性関節リウマチ、T細胞性ないしFAB ALL、毛細血管拡張症、閉塞性血栓性血管炎、血小板減少症、中毒症、移植、外傷／出血、III型過敏反応、IV型過敏反応、不安定狭心症、尿毒症、尿路性敗血症、蕁麻疹、心臓弁膜症、静脈瘤、血管炎、静脈疾患、静脈血栓症、心室細動、ウイルス及び真菌感染症、ウイルス性脳炎／無菌性髄膜炎、ウイルス関連血球貪食症候群、ウェルニッケ・コルサコフ症候群、ウィルソン病、任意臓器又は組織の異種移植片拒絶反応、急性冠症候群、急性特発性多発性神経炎、急性炎症性脱髄性多発根神経炎、急性虚血、成人スティル病、円形脱毛症、アナフィラキシー、抗リン脂質抗体症候群、再生不良性貧血、動脈硬化症、アトピー性湿疹、アトピー性皮膚炎、自己免疫性皮膚炎、連鎖球菌感染に伴う自己免疫疾患、自己免疫性腸症、自己免疫性聴力低下、自己免疫性リンパ球増殖症候群（ALPS）、自己免疫性心筋炎、自己免疫性早発卵巣不全、眼瞼炎、気管支拡張症、水疱性類天疱瘡、心臓血管疾患、劇症型抗リン脂質抗体症候群、セリアック病、頸椎症、慢性虚血、癬痕性類天疱瘡、多発性硬化症の危険を伴う最初のエピソードからなる症候群（CIS）、結膜炎、小児期発症型精神障害、慢性閉塞性肺疾患（COPD）、涙嚢炎、皮膚筋炎、糖尿病網膜症、真性糖尿病、椎間板ヘルニア、椎間板脱出、薬物誘発性免疫性溶血性貧血、心内膜炎、子宮内膜炎、眼内炎、上強膜炎、多形性紅斑、重症多形性紅斑、妊娠性類天疱瘡、ギラン・バレー症候群（GBS）、花粉症、ヒューズ症候群、特発性パーキンソン病、特発性間質性肺炎、IgE介在型アレルギー、免疫性溶血性貧血、封入体筋炎、感染性眼炎症性疾患、炎症性脱髄疾患、炎症性心疾患、炎症性腎疾患、IPF／UIP、虹彩炎、角膜炎、乾性角結膜炎、クスマウル病ないしクスマウル・マイヤー病、ランドリー麻痺、ランゲルハンス細胞組織球症、網状皮斑、黄斑変性症、顕微鏡的多発血管炎、ベヒテレフ病、運動ニューロン障害、粘膜類天疱瘡、多臓器不全、重症筋無力症、骨髄異形成症候群、心筋炎、神経根障害、神経障害、非A非B肝炎、視神経炎、骨溶解症、少関節型JRA、末梢動脈閉塞性疾患（PAOD）、末梢血管疾患（PVD）、末梢動脈疾患（PAD）、静脈炎、結節性多発動脈炎（ないし結節性動脈周囲炎）、多発性軟骨炎、リウマチ性多発筋痛症、白毛症、多関節型JRA、多腺性内分泌不全症候群、多発性筋炎、リウマチ性多発筋痛症（PMR）、ポストポンプ症候群、原発性パーキンソン病、前立腺炎、純赤血球形成不全症、原発性副腎不全、再発性視神経脊髄炎、再狭窄、リウマチ性心臓病、SAPHO（滑膜炎、座瘡、膿疱症、骨化症及び骨炎）、強皮症、続発性アミ

10

20

30

40

50

ロイドーシス、ショック肺、強膜炎、座骨神経痛、続発性副腎不全、シリコン関連結合組織病、スネッドン・ウィルキンソン皮膚病、強直性脊椎炎、スティーブンス・ジョンソン症候群（SJS）、全身性炎症反応症候群、側頭動脈炎、トキシプラズマ性網膜炎、中毒性表皮壊死、横断性脊髄炎、TRAPS（腫瘍壊死因子1型受容体（TNFR）関連周期性症候群）、黒色表皮症を伴うB型インスリン抵抗性、1型アレルギー反応、II型糖尿病、蕁麻疹、通常型間質性肺炎（UIP）、血管炎、春季カタル、ウイルス性網膜炎、フオート・小柳・原田症候群（VKH症候群）、滲出型黄斑変性症、並びに創傷治癒から構成される群から選択される請求項61の方法。

【請求項63】

IL-1 が有害である障害に罹患した患者の治療方法であって、第2の作用剤の投与前、投与と同時に又は投与後に請求項1の結合蛋白質を投与する段階を含み、前記第2の作用剤がTNFアンタゴニスト；TNF受容体の可溶性フラグメント；ENBREL（登録商標）；TNF酵素アンタゴニスト；TNF変換酵素（TACE）阻害剤；ムスカリン受容体アンタゴニスト；TGF-アンタゴニスト；インターフェロン；ピルフェニドン；化学療法剤、メトトレキサート；レフルノミド；シロリムス（ラパマイシン）又はそのアナログ、CCI-779；COX2又はcPLA2阻害剤；NSAID；免疫調節剤；p38阻害剤；TPL-2、MK-2及びNFkB阻害剤；ブデノシド；上皮成長因子；コルチコステロイド；シクロスポリン；スルファサラジン；アミノサリチル酸塩；6-メルカプトプリン；アザチオプリン；メトロニダゾール；リボキシゲナーゼ阻害剤；メサラミン；オルサラジン；バルサラジド；抗酸化剤；トロンボキサン阻害剤；IL-1受容体アンタゴニスト；抗IL-1b抗体；抗IL-6抗体；成長因子；エラスターゼ阻害剤；ピリジニルイミダゾール化合物；TNF、LT、IL-1、IL-2、IL-3、IL-4、IL-5、IL-6、IL-7、IL-8、IL-9、IL-10、IL-11、IL-12、IL-14、IL-15、IL-16、IL-17、IL-18、IL-19、IL-20、IL-21、IL-22、IL-23、IL-24、IL-25、IL-26、IL-27、IL-28、IL-29、IL-30、IL-31、IL-32、IL-33、EMAP-II、GM-CSF、FGF又はPDGFの抗体又はアゴニスト；CD2、CD3、CD4、CD8、CD25、CD28、CD30、CD40、CD45、CD69、CD90又はそのリガンドの抗体；FK506；ラパマイシン；ミコフェノール酸モフェチル；イブプロフェン；プレドニゾロン；ホスホジエステラーゼ阻害剤；アデノシンアゴニスト；抗血栓剤；補体阻害剤；アドレナリン作動薬；IRAK、NIK、IKK、p38又はMAPキナーゼ阻害剤；IL-1b変換酵素阻害剤；TNFa変換酵素阻害剤；T細胞シグナル伝達阻害剤；メタロプロテイナーゼ阻害剤；6-メルカプトプリン；アンジオテンシン変換酵素阻害剤；可溶性サイトカイン受容体；可溶性p55TNF受容体；可溶性p75TNF受容体；sIL-1RI；sIL-1RII；sIL-6R；抗炎症性サイトカイン；並びにTGFbから構成される群から選択される前記方法。

【請求項64】

対象に投与する前記段階が非経口、皮下、筋肉内、静脈内、関節内、気管支内、腹腔内、関節包内、軟骨内、体腔内、腔内、小脳内、脳室内、結腸内、子宮頸管内、胃内、肝内、心筋内、骨内、骨盤内、心膜内、腹膜内、胸膜内、前立腺内、肺内、直腸内、腎内、網膜内、脊髄内、滑膜内、胸腔内、子宮内、膀胱腔内、ポラス、膈、直腸、口腔、舌下、鼻腔内及び経皮から選択される少なくとも1種の方法により実施される請求項61の方法。

【請求項65】

サンプル中のヒトIL-1の検出方法であって、
 (i) サンプルを請求項1に記載のIL-1結合蛋白質又はそのIL-1結合部分と接触させる段階と；
 (ii) 抗IL-1結合蛋白質又はその結合部分とサンプル中のIL-1の複合体の

10

20

30

40

50

形成を検出する段階であって、サンプル中の複合体の形成が対照サンプル中又は初期時点で採取した別の試験サンプル中の複合体の形成に比較して統計的に有意に変化していることが、サンプル中にヒトIL-1 が存在することを示す、段階を含む前記方法。

【請求項66】

サンプルが全血、血漿、血清、尿、唾液及び組織生検から構成される群から選択される請求項65に記載の方法。

【請求項67】

ヒト被験者におけるヒトIL-1 の検出方法であって、
(i) 請求項1に記載のIL-1 結合蛋白質又はそのIL-1 結合部分をヒトIL-1 と結合させる条件下で前記IL-1 結合蛋白質又はそのIL-1 結合部分を試験被験者又は対照被験者に投与する段階と；

(ii) 結合蛋白質又はその結合部分とIL-1 の複合体の形成を検出する段階であって、試験被験者における複合体の形成が対照被験者又は初期時点の試験被験者における複合体の形成に比較して統計的に有意に変化していることが、IL-1 が存在することを示す段階

を含む前記方法。

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0001】

本発明はIL-1結合蛋白質、特にIL-1介在性疾患の予防及び/又は治療におけるその使用に関する。

【背景技術】

【0002】

インターロイキン1(IL-1)や腫瘍壊死因子(TNF)等のサイトカインは炎症プロセスのメディエーターである単球やマクロファージ等の各種細胞により産生される分子である。インターロイキン1は発熱、(例えば線維芽細胞、筋肉細胞及び内皮細胞における)プロスタグランジン合成、Tリンパ球活性化、及びインターロイキン2産生を含む多様な生物学的及び生理的作用をもつサイトカインである。

【0003】

インターロイキン1スーパーファミリー：IL-1スーパーファミリーの当初のメンバーはIL-1、IL-1及びIL-1受容体アンタゴニスト(IL-1RA)である。IL-1及びIL-1は感染に対する免疫防御に關与する炎症誘発性サイトカインである。IL-1Rは受容体結合に関してIL-1及びIL-1と競合し、免疫活性化におけるそれらの役割を妨害する分子である。近年では、IL-18(Dinarello(1994)FASEB J. 8(15):1314-3225; Huisling et al.(2004)Dev. Comp. Immunol. 28(5):395-413参照)や、IL-1、IL-1又はIL-1RAに対して構造相同性をもつ他の6種類の遺伝子を含む他の分子もIL-1スーパーファミリーに加えられている。後者の6種類のメンバーはIL1F5、IL1F6、IL1F7、IL1F8、IL1F9及びIL1F10と呼ばれる。これに伴い、IL-1、IL-1及びIL-1RAは夫々IL-1F1、IL-1F2及びIL-1F3と改名されるようになった(Sims et al.(2001)Trends Immunol. 22(10):536-537; Dunn et al.(2001)Trends Immunol. 22(10):533-536参照)。IL-33又はIL-1F11と呼ばれるIL-1ファミリーの別の推定メンバーも記載されているが、この名称はHGNC遺伝子ファミリー名称データベースで公式に採用されていない。

【0004】

IL-1及びIL-1はいずれもマクロファージ、単球及び樹状細胞により産生される。これらは感染に対する生体の炎症応答の重要な部分を形成する。これらのサイトカ

10

20

30

40

50

インは内皮細胞上の接着因子の発現を増加し、病原体と戦う細胞である白血球を感染部位に移動させ、視床下部体温調節中枢をリセットさせ、発熱として発現される体温上昇をもたらす。従って、IL-1は内因性発熱物質と呼ばれる。体温上昇は生体の免疫系が感染と戦うのに役立つ。IL-1は造血の調節にも重要である。IL-1は各種免疫応答、炎症プロセス及び造血に關与する多面的サイトカインである。IL-1は活性化されたマクロファージにより産生され、IL-2放出、B細胞成熟及び増殖、並びに線維芽細胞増殖因子活性を誘導することにより胸腺細胞増殖を刺激する。IL-1蛋白質は炎症応答に關与しており、内因性発熱物質とみなされ、滑膜細胞からのプロスタグランジンとコラゲナーゼの放出を刺激すると報告されている。この蛋白質はプロ蛋白質として産生され、カルパインにより蛋白質分解プロセッシングされ、未だ十分に研究されていないメカニズムで放出される。この遺伝子と他の8種類のインターロイキン1ファミリー遺伝子は染色体2上にサイトカイン遺伝子クラスターを形成する。IL-1とその疾患誘発作用は *Belgauf's, Lexikon Zytokine (Cytokine Dictionary), Medikon Verlag, Munich 1992* とその引用文献に詳細に記載されている。IL-1の望ましくない作用についても、例えば *Oppenheim et al. (1986) Immunol. Today 7: 45-56*、*Durum et al. (1985) Ann. Rev. Immunol. 3: 263-287* 及び *Synnons et al. (1989) Lymphokine Res. 8: 365-372* に記載されている。IL-1は軟骨吸収を促進するのに効果があることから当初は「カタボリン」と呼ばれたが、滑膜細胞でコラゲナーゼとプロスタグランジンに刺激作用を与えることから「単核球細胞因子」(MCF)とも呼ばれ、急性期反応に刺激作用を与える「白血球内因性因子」(LEM)とも呼ばれる。更に、IL-1は単球、マクロファージ、線維芽細胞、内皮細胞及びリンパ球等の多数の異なる細胞により合成され、多くの細胞はIL-1に特異的な受容体をもつため、IL-1は広範な生物活性をもつ。従って、IL-1は各種障害及び障害の症状の誘因として中心的な位置を占める。これらの障害は治療法が殆ど又は全く存在しない重度の障害が大半である。これらの遺伝子の多型は関節リウマチとアルツハイマー病に關係があることが示唆されている。IL-1全般は関節炎、肺線維症、中枢神経系疾患、糖尿病及び所定の心血管疾患を含む多数のヒト疾患に關係があるとされている。

10

20

30

【0005】

末梢組織におけるIL-1産生は発熱を伴う痛覚過敏(疼痛感覚増大)にも關係があるとされている(*Morgan et al. (2004) Brain Res. 1022(1-2): 96-100*)。大半の場合、これらの2種類のIL-1は同一の細胞受容体と結合する。この受容体は所定の他の受容体とほぼ共通の経路を介して細胞内シグナルを伝達する2つの同一ではないが、近縁のサブユニットから構成される。これらはTollファミリーの先天性免疫受容体とIL-18の受容体を含む。IL-1及びIL-1は更に、発熱、徐波睡眠及び好中球増加症の誘導、Tリンパ球及びBリンパ球活性化、線維芽細胞増殖、所定細胞に対する細胞傷害性、コラゲナーゼの誘導、肝臓における急性期蛋白質の合成、並びにコロニー刺激因子及びコラーゲンの産生増加を含む同様の生物学的性質をもつ。

40

【0006】

これらの2種類の異なるIL-1をコードするcDNAが単離・発現されており、これらのcDNAはIL-1(*Auron et al. (1984) Proc. Natl. Acad. Sci. USA 81: 7909*)及びIL-1(*Lomedico et al. (1984) Nature 312: 458*)と呼ばれる2種類の異なる遺伝子産物に相当する。IL-1はmRNAレベル及び蛋白質レベルの両者でヒト単球により産生される優勢形態である。これらの2種類のヒトIL-1のアミノ酸相同度は26%に過ぎない。これらの2種類のIL-1はポリペプチド配列が異なるが、構造類似性があり(*Auron et al. (1985) J. Mol. Cell Immunol. 2: 169*)、アミノ酸相同性はIL-1分子の不連続領域に限定される。

50

【0007】

IL-1 及び IL-1 は前駆体ペプチドとして産生される。換言するならば、これらは長い蛋白質として産生された後、プロセッシングされ、成熟蛋白質と呼ばれる短い活性分子を放出する。例えば成熟型 IL-1 はカスパーゼ1又はインターロイキン1変換酵素(ICE)と呼ばれるカスパーゼファミリー蛋白質の所定のメンバーによる開裂後に Pro-IL-1 から放出される。ヒト IL-1 スーパーファミリーの各メンバーの成熟形の三次元構造は樽型蛋白質を形成する12~14本の鎖から構成される。

【先行技術文献】

【非特許文献】

【0008】

【非特許文献1】Dinarelli (1994) FASEB J. 8 (15): 1314-3225

【非特許文献2】Huisling et al. (2004) Dev. Comp. Immunol. 28 (5): 395-413

【非特許文献3】Sims et al. (2001) Trends Immunol. 22 (10): 536-537

【非特許文献4】Dunn et al. (2001) Trends Immunol. 22 (10): 533-536

【非特許文献5】Ibelgafts, Lexikon Zytokine (Cytokine Dictionary), Medikon Verlag, Munich 1992

【非特許文献6】Oppenheim et al. (1986) Immunol. Today 7: 45-56

【非特許文献7】Durum et al. (1985) Ann. Rev. Immunol. 3: 263-287

【非特許文献8】Synnons et al. (1989) Lymphokine Res. 8: 365-372

【非特許文献9】Morgan et al. (2004) Brain Res. 1022 (1-2): 96-100

【非特許文献10】Auron et al. (1984) Proc. Natl. Acad. Sci. USA 81: 7909

【非特許文献11】Lomedico et al. (1984) Nature 312: 458

【非特許文献12】Auron et al. (1985) J. Mol. Cell Immunol. 2: 169

【発明の概要】

【発明が解決しようとする課題】

【0009】

IL-1 関連疾患に対する新規治療用途と、サンプル及び組織中における IL-1 の検出用途において、IL-1 と結合する改良型抗体が当分野で必要とされている。

【課題を解決するための手段】

【0010】

本発明はヒト IL-1 と結合することができる蛋白質、高い親和性で結合することができる蛋白質、及び IL-1 と結合してこれを中和させることができる蛋白質である新規ファミリーの結合蛋白質を提供し、モノクローナル抗体(mAb)、CDR移植抗体、ヒト化抗体、親和性成熟抗体及びそのフラグメントを含む。本発明はヒト IL-1 を阻害するための治療手段を提供し、更に、IL-1 濃度上昇を伴う疾患及び障害、特に炎症性障害を治療するための組成物及び方法を提供する。本発明は更に IL-1 と結合することが可能な抗体又はその抗原結合部分を提供し、IL-1 と結合することが可能な前記抗体又はその抗原結合部分は配列番号28、配列番号29、配列番号30、配列番号

10

20

30

40

50

3 1、配列番号 3 2、配列番号 3 3、配列番号 3 4、配列番号 3 5、配列番号 3 6、配列番号 3 7、配列番号 3 8、配列番号 3 9 及び配列番号 4 0 から構成される群から選択されるアミノ酸配列を含む。別の実施形態において、本発明はサンプル、混合物及び組織中のヒト I L - 1 の検出及び / 又は測定手段を提供する。

【 0 0 1 1 】

本発明の 1 態様において、単離結合蛋白質はヒト I L - 1 と結合することができ、配列番号 2 6 の残基 3 1 ~ 3 5 (C D R - H 1)、配列番号 2 6 の残基 5 0 ~ 6 5 (C D R - H 2)、配列番号 2 6 の残基 9 8 ~ 1 1 1 (C D R - H 3)、配列番号 2 7 の残基 2 4 ~ 3 4 (C D R - L 1)、配列番号 2 7 の残基 5 0 ~ 5 6 (C D R - L 2)、及び配列番号 2 7 の残基 8 9 ~ 9 7 (C D R - L 3) から構成される群から選択されるアミノ酸配列を含む少なくとも 1 個の C D R を含む。

10

【 0 0 1 2 】

別の実施形態において、結合蛋白質は可変ドメイン C D R セットから選択される少なくとも 3 個の C D R を含み、前記可変ドメイン C D R セットは配列番号 2 6 の残基 3 1 ~ 3 5 (C D R - H 1)、配列番号 2 6 の残基 5 0 ~ 6 5 (C D R - H 2)、及び配列番号 2 6 の残基 9 8 ~ 1 1 1 (C D R - H 3) を含む V H C D R セットと、配列番号 2 7 の残基 2 4 ~ 3 4 (C D R - L 1)、配列番号 2 7 の残基 5 0 ~ 5 6 (C D R - L 2)、及び配列番号 2 7 の残基 8 9 ~ 9 7 (C D R - L 3) を含む V L C D R セットから構成される群から選択される。

20

【 0 0 1 3 】

1 実施形態において、結合蛋白質は 3 個の C D R からなる重鎖可変領域 (V H) セットと、3 個の C D R からなる軽鎖可変領域 (V L) セットを含む。

【 0 0 1 4 】

本発明の別の実施形態において、上記 1 個以上の C D R を含む I L - 1 結合蛋白質は更に対応するヒト重鎖アクセプターフレームワーク配列 (C D R - H 1、C D R - H 2 及び C D R - H 3 配列の場合) 及び / 又は対応するヒト軽鎖アクセプターフレームワーク配列 (C D R - L 1、C D R - L 2 及び C D R - L 3 配列の場合) を含む。1 実施形態において、本発明の結合蛋白質のヒト重鎖アクセプターフレームワーク配列は表 3 のヒト重鎖アクセプターフレームワーク配列のいずれかから選択され、本発明の結合蛋白質のヒト軽鎖アクセプターフレームワーク配列は表 4 のヒト軽鎖アクセプターフレームワーク配列のいずれかから選択される。従って、1 実施形態において、本発明の結合蛋白質のヒトアクセプターフレームワーク配列は配列番号 1 0 ~ 1 7 (ヒト重鎖アクセプターフレームワーク配列) 及び配列番号 1 8 ~ 2 5 (ヒト軽鎖アクセプターフレームワーク配列) から構成される群から選択される。1 実施形態において、ヒトアクセプターフレームワーク配列は配列番号 1 0 ~ 1 3 (重鎖)、1 4 ~ 1 7 (重鎖)、1 8 ~ 2 1 (軽鎖)、及び 2 2 ~ 2 5 (軽鎖) から構成される群から選択される。

30

【 0 0 1 5 】

I L - 1 結合蛋白質は少なくとも 1 カ所のフレームワーク領域 (F R) アミノ酸置換を含むヒトアクセプターフレームワークを含むことができ、前記フレームワークのアミノ酸配列は前記ヒトアクセプターフレームワークの配列と少なくとも 6 5 % 一致し、前記ヒトアクセプターフレームワークと一致する少なくとも 7 0 個のアミノ酸残基を含む。

40

【 0 0 1 6 】

別の実施形態において、本発明の I L - 1 結合蛋白質はヒトアクセプターフレームワークを含み、前記アクセプターフレームワークはキー残基に少なくとも 1 カ所のフレームワーク領域アミノ酸置換を含み、前記キー残基は、
C D R に隣接する残基 ;
グリコシル化部位残基 ;
希少残基 (r a r e r e s i d u e) ;
ヒト I L - 1 と相互作用することが可能な残基 ;
C D R と相互作用することが可能な残基 ;

50

カノニカル残基；

重鎖可変領域と軽鎖可変領域の間の接触残基 (c o n t a c t r e s i d u e) ；

パーニアゾン内の残基；及び

C h o t h i a の定義による重鎖可変領域 C D R 1 と K a b a t の定義による最初の重鎖フレームワークの間でオーバーラップする領域における残基

から構成される群から選択される。

【 0 0 1 7 】

1 実施形態において、I L - 1 結合蛋白質はキー残基を含むことができ、前記キー残基は 1 H、1 2 H、2 4 H、2 7 H、2 9 H、3 7 H、4 8 H、4 9 H、6 7 H、7 1 H、7 3 H、7 6 H、7 8 H、9 4 H、1 L、2 L、3 L、4 L、4 3 L、4 9 L、6 4 L、8 3 L (いずれも K a b a t ナンパリング) から構成される群から選択される。更に別の実施形態において、本発明の I L - 1 結合蛋白質は本願に記載するコンセンサスヒト可変ドメインであるコンセンサスヒト可変ドメインを含む。別の態様において、本発明は配列番号 2 8、配列番号 2 9、配列番号 3 0、配列番号 3 1、配列番号 3 2、配列番号 3 3、配列番号 3 4、配列番号 3 5、配列番号 3 6、配列番号 3 7、配列番号 3 8、配列番号 3 9 及び配列番号 4 0 から構成される群から選択されるアミノ酸配列を含む少なくとも 1 個の可変ドメインを含む I L - 1 結合蛋白質を提供する。

10

【 0 0 1 8 】

別の態様において、本発明は配列番号 2 8、配列番号 2 9、配列番号 3 0、配列番号 3 1、配列番号 3 2 及び配列番号 3 3 から構成される群から選択されるアミノ酸配列を含む重鎖可変領域ポリペプチドを含む I L - 1 結合蛋白質を提供し、前記結合蛋白質はヒト I L - 1 と結合することができる。別の態様において、本発明は配列番号 3 4、配列番号 3 5、配列番号 3 6、配列番号 3 7、配列番号 3 8、配列番号 3 9 及び配列番号 4 0 から構成される群から選択されるアミノ酸配列を含む可変軽鎖ポリペプチドを含む I L - 1 結合蛋白質を提供し、前記結合蛋白質はヒト I L - 1 と結合することができる。

20

【 0 0 1 9 】

更に別の態様において、本発明は配列番号 2 8、配列番号 2 9、配列番号 3 0、配列番号 3 1、配列番号 3 2 及び配列番号 3 3 から構成される群から選択されるアミノ酸配列を含む重鎖可変領域ポリペプチドと、配列番号 3 4、配列番号 3 5、配列番号 3 6、配列番号 3 7、配列番号 3 8、配列番号 3 9 及び配列番号 4 0 から構成される群から選択されるアミノ酸配列を含む可変軽鎖ポリペプチドを含む結合蛋白質を提供し、前記結合蛋白質はヒト I L - 1 と結合することができる。

30

【 0 0 2 0 】

更に別の態様において、結合蛋白質は配列番号 3 0 と配列番号 3 6、配列番号 3 0 と配列番号 3 7、配列番号 3 0 と配列番号 3 9、及び配列番号 3 0 と配列番号 4 0 から構成される群から選択される重鎖可変領域ポリペプチドと軽鎖可変領域ポリペプチドを含む。

【 0 0 2 1 】

更に別の態様において、結合蛋白質は配列番号 3 3 と配列番号 3 6、配列番号 3 3 と配列番号 3 7、配列番号 3 3 と配列番号 3 9、及び配列番号 3 3 と配列番号 4 0 から構成される群から選択される可変重鎖ポリペプチドと可変軽鎖ポリペプチドを含む。

40

【 0 0 2 2 】

別の態様において、本発明は上記結合蛋白質を提供し、前記結合蛋白質は免疫グロブリン分子、ジスルフィド結合 F v、モノクローナル抗体、s c F v、キメラ抗体、シングルドメイン抗体、C D R 移植抗体、ダイアボディ、ヒト化抗体、多重特異性抗体、F a b、二重特異性抗体、D V D - I g (登録商標) 結合蛋白質、F a b '、二特異性抗体、F (a b ') 2 及び F v である。

【 0 0 2 3 】

別の態様において、上記結合蛋白質はヒト I g M 定常ドメイン、ヒト I g G 4 定常ドメイン、ヒト I g G 1 定常ドメイン、ヒト I g E 定常ドメイン、ヒト I g G 2 定常ドメイン、ヒト I g G 3 定常ドメイン及びヒト I g A 定常ドメインから構成される群から選択され

50

る重鎖免疫グロブリン定常領域を含む。更に別の態様において、本発明の結合蛋白質は更に配列番号2及び配列番号3から構成される群から選択されるアミノ酸配列をもつ重鎖定常領域を含み、更に配列番号4及び配列番号5から構成される群から選択されるアミノ酸配列をもつ軽鎖定常領域を含む。

【0024】

本発明の別の態様において、本発明の結合蛋白質はヒトIL-1の生物学的機能を変調させることができ、更にヒトIL-1を中和させることができる。

【0025】

本発明の1態様において、本発明の結合蛋白質は表面プラズモン共鳴法により測定した場合に前記ターゲットに対して少なくとも約 $10^2 \text{ M}^{-1} \text{ s}^{-1}$ 、少なくとも約 $10^3 \text{ M}^{-1} \text{ s}^{-1}$ 、少なくとも約 $10^4 \text{ M}^{-1} \text{ s}^{-1}$ 、少なくとも約 $10^5 \text{ M}^{-1} \text{ s}^{-1}$ 、及び少なくとも約 $10^6 \text{ M}^{-1} \text{ s}^{-1}$ から構成される群から選択されるオン速度定数(Kon)をもつ。

10

【0026】

別の態様において、本発明のIL-1結合蛋白質は表面プラズモン共鳴法により測定した場合に前記ターゲットに対して最大で約 10^{-3} s^{-1} 、最大で約 10^{-4} s^{-1} 、最大で約 10^{-5} s^{-1} 、及び最大で約 10^{-6} s^{-1} から構成される群から選択されるオフ速度定数(Koff)をもつ。

【0027】

更に別の態様において、本発明のIL-1結合蛋白質はIL-1ターゲット分子に対して最大で約 10^{-7} M 、最大で約 10^{-8} M 、最大で約 10^{-9} M 、最大で約 10^{-10} M 、最大で約 10^{-11} M 、最大で約 10^{-12} M 、及び最大で約 10^{-13} M から構成される群から選択される解離定数(KD)をもつ。更に、結合蛋白質はIL-1に対して約 $1.31 \times 10^{-10} \text{ M}$ 、約 $1.47 \times 10^{-10} \text{ M}$ 、約 $1.61 \times 10^{-10} \text{ M}$ 、約 $1.86 \times 10^{-10} \text{ M}$ 、約 $2.02 \times 10^{-10} \text{ M}$ 、約 $2.06 \times 10^{-10} \text{ M}$ 、約 $2.3 \times 10^{-10} \text{ M}$ 、及び約 $2.84 \times 10^{-10} \text{ M}$ から構成される群から選択される解離定数(KD)をもつ。

20

【0028】

本発明の別の態様において、本発明の結合蛋白質は更に免疫接着分子、イメージング剤、治療剤及び細胞傷害性物質から構成される群から選択される作用剤を含む。イメージング剤は当分野で公知の任意イメージング剤とすることができ、限定されないが、放射性ラベル(限定されないが、³H、¹⁴C、³⁵S、⁹⁰Y、⁹⁹Tc、¹¹¹In、¹²⁵I、¹³¹I、¹⁷⁷Lu、¹⁶⁶Ho及び¹⁵³Smが挙げられる)、酵素、蛍光ラベル、発光ラベル、生物発光ラベル、磁気ラベル又はビオチン分子が挙げられる。治療剤又は細胞傷害性物質としては、代謝拮抗剤、アルキル化剤、抗生物質、成長因子、サイトカイン、抗血管新生剤、抗有糸分裂剤、アントラサイクリン、毒素及びアポトーシス誘導剤が挙げられる。

30

【0029】

別の態様において、本発明のIL-1結合蛋白質はグリコシル化されている。1実施形態において、グリコシル化はヒトグリコシル化パターンである。

40

【0030】

本発明の1態様において、IL-1結合蛋白質は結晶である。1実施形態において、結晶は無担体薬剤制御放出結晶である。別の実施形態において、結晶化結合蛋白質はその可溶性対応物よりもインビボ半減期が長い。更に別の実施形態において、結晶化結合蛋白質は結晶化後に生物活性を保持する。

【0031】

本発明の1態様は上記に開示した結合蛋白質のいずれか1種又はその抗原結合部分をコードする単離核酸に関する。1実施形態において、本発明は本願に記載するCDR-H1、CDR-H2及び/又はCDR-H3を含む重鎖可変ドメイン(VH)を含むポリペプチド；本願に記載するCDR-L1、CDR-L2及び/又はCDR-L3を含む軽鎖可

50

変ドメイン (VL) を含むポリペプチド ; あるいは両者ポリペプチドの組合せから構成される群から選択されるポリペプチドをコードする単離核酸を提供する。

【0032】

本発明の別の実施形態は上記に開示した単離核酸を含むベクターを提供し、前記ベクターは p cDNA、pTT (Durocher et al. (2002) Nucl. Acids Res. 30 (2e9) : 1-9)、pTT3 (pTTに多重クローニング部位を付加したもの)、pEFBOS (Mizushima and Nagata (1990) Nucl. Acids Res. 18 (17) : 5322)、pBV、pJV、pBJ及びpHybEから構成される群から選択される。

【0033】

別の態様では、本願に開示するベクターで宿主細胞を形質転換する。1実施形態において、宿主細胞は原核細胞であり、限定されないが、大腸菌が挙げられる。別の実施形態において、宿主細胞は真核細胞であり、限定されないが、原生動物細胞、動物細胞、植物細胞及び真菌細胞が挙げられる。別の実施形態において、宿主細胞は哺乳動物細胞 (限定されないが、CHO細胞及びCOS細胞が挙げられる)、又は真菌細胞 (例えばサッカロミセス・セルビシエ (Saccharomyces cerevisiae))、又は昆虫細胞 (例えば Sf9) である。

【0034】

別の態様において、本発明はIL-1 と結合する結合蛋白質の作製方法として、IL-1 と結合する結合蛋白質を産生させるために十分な条件下で上記に開示した宿主細胞のいずれか1種を培養培地で培養する段階を含む方法を提供する。別の実施形態において、本発明は本願に開示する方法により作製された結合蛋白質を提供する。

【0035】

1実施形態において、本発明は結合蛋白質の放出用組成物を提供し、前記組成物は本願に開示する結晶化結合蛋白質、結晶化抗体構築物又は結晶化抗体コンジュゲート及び成分を含有する製剤と、少なくとも1種のポリマー担体を含む。1実施形態において、ポリマー担体はポリ (アクリル酸)、ポリ (シアノアクリレート)、ポリ (アミノ酸)、ポリ (酸無水物)、ポリ (デプシペプチド)、ポリ (エステル)、ポリ (乳酸)、ポリ (乳酸・グリコール酸コポリマー) ないしPLGA、ポリ (b-ヒドロキシブチレート)、ポリ (カプロラクトン)、ポリ (ジオキサノン)、ポリ (エチレングリコール)、ポリ [(ヒドロキシプロピル)メタクリルアミド]、ポリ [(オルガノ)ホスファゼン]、ポリ (オルトエステル)、ポリ (ビニルアルコール)、ポリ (ビニルピロリドン)、マレイン酸無水物・アルキルビニルエーテルコポリマー、プルロニックポリオール、アルブミン、アルギン酸塩、セルロース及びセルロース誘導体、コラーゲン、フィブリン、ゼラチン、ヒアルロン酸、オリゴ糖、グリコサミノグリカン、硫酸化多糖、そのブレンド及びコポリマーから構成される群から選択される1種以上のポリマーである。別の態様において、成分はアルブミン、スクロース、トレハロース、ラクチトール、ゼラチン、ヒドロキシプロピル-b-シクロデキストリン、メトキシポリエチレングリコール及びポリエチレングリコールから構成される群から選択される。別の実施形態において、本発明は有効量の本願に開示する組成物を哺乳動物に投与する段階を含む哺乳動物の治療方法を提供する。

【0036】

本発明は更に本願に開示するIL-1 結合蛋白質 (又はそのIL-1 結合部分) と、医薬的に許容可能な担体を含有する医薬組成物を提供する。このような本発明の医薬組成物は更に少なくとも1種の別の作用剤を含有することができる。特定実施形態において、本発明の医薬組成物はIL-1 活性が有害である障害を治療するための少なくとも1種の別の作用剤を含有する。別の実施形態において、別の作用剤は治療剤、イメージング剤、細胞傷害性物質、血管新生阻害剤、キナーゼ阻害剤、共刺激分子遮断薬、接着分子遮断薬、抗サイトカイン抗体、抗サイトカイン抗体の機能的フラグメント、メトトレキサート、シクロスポリン、ラパマイシン、FK506、検出可能なラベル又はレポーター、TNFアンタゴニスト、抗リウマチ薬、筋肉弛緩剤、麻薬、非ステロイド性抗炎症薬 (NS

10

20

30

40

50

A I D)、鎮痛剤、麻酔剤、鎮静剤、局所麻酔剤、神経筋遮断薬、抗微生物薬、乾癬治療薬、コルチコステロイド、アナボリックステロイド、エリスロポエチン、免疫、免疫グロブリン、免疫抑制剤、成長ホルモン、ホルモン補充薬、放射性薬剤、抗鬱剤、抗精神病薬、刺激剤、喘息薬、アゴニスト、吸入ステロイド、経口ステロイド、エピネフリン又はそのアナログ、サイトカイン及びサイトカインアンタゴニストから構成される群から選択される。

【0037】

別の態様において、本発明はヒトIL-1 活性の阻害方法として、ヒトIL-1 活性を阻害するようにヒトIL-1 を本願に開示する結合蛋白質と接触させる段階を含む方法を提供する。別の態様において、本発明はヒトIL-1 活性が有害である障害に罹患したヒト対象におけるヒトIL-1 活性の阻害方法として、ヒト対象におけるヒトIL-1 活性を阻害し、治療を達成するように、本願に開示する結合蛋白質をヒト対象に投与する段階を含む方法を提供する。

10

【0038】

別の態様において、本発明は対象におけるIL-1 関連障害の治療（例えば治癒、抑制、改善、阻害、遅延、又は発症予防もしくは再発ないし回帰予防）方法を提供する。1実施形態において、前記方法はIL-1 関連障害を治療又は予防するために十分な量の本願に記載するIL-1 結合蛋白質（例えば抗IL-1 抗体又はそのフラグメント等のIL-1 アンタゴニスト）を対象に投与する段階を含む。IL-1 アンタゴニストは対象に単独で投与してもよいし、本願に記載する他の治療手段と併用投与してもよい。

20

【0039】

本発明の1態様では、所望標的抗原（又はそのエピトープ）を検出するために抗体を利用する当分野で入手可能な各種抗体系免疫検出システムの任意のものを使用してヒトIL-1 を検出するためにIL-1 結合蛋白質又はその結合部分を利用することができる。このような免疫検出システムとしては、限定されないが、免疫沈降法、イムノプロットティング（ウェスタンブロット、イムノドットプロット）、酵素免疫測定法（ELISA）、放射免疫測定法（RIA）、組織免疫組織化学法、表面プラズモン共鳴法（SPR）、サンドイッチイムノアッセイ、アフィニティー法（例えばアフィニティービーズ、アフィニティーカラム）、免疫競合アッセイ、（シリコンチップに固定化した結合蛋白質を利用する）イムノチップアッセイ、及び蛍光活性化セルソーティング（FACS）が挙げられる。所定の免疫検出システムでは、固定化した結合蛋白質が特定の免疫検出システムで使用時にヒトIL-1 と結合するその能力を保持するように、抗体分子を固体支持体に固定化するために当分野で利用可能な方法を使用して本願に記載するIL-1 結合蛋白質（又はその結合部分）を固体支持体に固定化する。このような固体支持体としては、限定されないが、セルロース濾紙（例えばセルロース、ニトロセルロース、酢酸セルロースフィルター）、ナイロンフィルター又はメンブレン、（例えばマイクロタイタープレート又はディップスティックの）プラスチック表面、ガラス支持体（例えばビーズ、スライド、ガラスウール）、ポリマー粒子（例えばアガロース、ポリアクリルアミド）及びシリコンチップが挙げられる。

30

【0040】

別の態様において、本発明はインビトロサンプル（例えば全血、血清、血漿、尿、唾液、組織生検等の生体サンプル）中のIL-1 の存在の検出方法を提供する。前記方法は疾患又は障害（例えば免疫細胞関連障害）を診断するために使用することができる。前記方法は、（i）試験サンプル又は対照サンプルを本願に記載するIL-1 結合蛋白質（又はその結合部分）と接触させる段階と；（ii）結合蛋白質又はその結合部分と試験サンプル又は対照サンプルの複合体の形成を検出する段階であり、試験サンプル中の複合体の形成が対照サンプル中又は初期時点で採取した別の試験サンプル中の複合体の形成と比較して統計的に有意に変化していることが、サンプル中にIL-1 が存在することを示す、段階を含む。

40

【0041】

50

更に別の態様において、本発明はインビボでのIL-1の存在の検出(例えば対象におけるインビボイメージング)方法を提供する。前記方法は疾患又は障害(例えばIL-1関連障害)を診断するために使用される。前記方法は、(i)本願に記載するIL-1結合蛋白質又はその結合部分をIL-1と結合させる条件下で前記結合蛋白質又はその結合部分を試験被験者又は対照被験者に投与する段階と；(ii)結合蛋白質又はその結合部分とIL-1の複合体の形成を検出し、試験被験者における複合体の形成が対照被験者又は初期時点の試験被験者における複合体の形成に比較して統計的に有意に変化した場合には、IL-1が存在すると判定する段階を含む。

【0042】

別の態様において、本発明の結合蛋白質は関節リウマチ、変形性関節症、若年性慢性関節炎、敗血症性関節炎、ライム関節炎、乾癬性関節炎、反応性関節炎、脊椎関節症、全身性エリテマトーデス、クローン病、潰瘍性大腸炎、炎症性腸疾患、インスリン依存性糖尿病、甲状腺炎、喘息、アレルギー疾患、乾癬、強皮症皮膚炎、移植片対宿主病、臓器移植拒絶反応、臓器移植に伴う急性又は慢性免疫疾患、サルコイドーシス、アテローム性動脈硬化症、播種性血管内凝固症候群、川崎病、グレーブス病、ネフローゼ症候群、慢性疲労症候群、ウェグナー肉芽腫症、シェーンライン・ヘノッホ紫斑病、腎臓の顕微鏡的血管炎、慢性活動性肝炎、ブドウ膜炎、敗血症性ショック、毒素性ショック症候群、敗血症症候群、悪液質、感染症、寄生虫症、後天性免疫不全症候群、急性横断性脊髄炎、ハンチントン舞蹈病、パーキンソン病、アルツハイマー病、脳卒中、原発性胆汁性肝硬変、溶血性貧血、悪性腫瘍、心不全、心筋梗塞、アジソン病、散発性I型多腺性内分泌不全症及びII型多腺性内分泌不全症、シュミット症候群、成人(急性)呼吸窮迫症候群、脱毛症、先天性脱毛症、血清反応陰性関節症、関節症、ライター病、乾癬性関節症、潰瘍性大腸炎性関節症、腸病性滑膜炎、クラミジア、エルシニア及びサルモネラ関連関節症、脊椎関節症、アテローム性疾患/動脈硬化症、アトピー性アレルギー、自己免疫性水疱症、尋常性天疱瘡、落葉状天疱瘡、類天疱瘡、線状IgA病、自己免疫性溶血性貧血、クームス陽性溶血性貧血、後天性悪性貧血、若年性悪性貧血、筋痛性脳炎/ロイヤルフリー病、慢性粘膜皮膚カンジダ症、巨細胞性動脈炎、原発性硬化性肝炎、特発性自己免疫性肝炎、後天性免疫不全症候群、後天性免疫不全症関連疾患、B型肝炎、C型肝炎、分類不能型免疫不全症(分類不能型低ガンマグロブリン血症)、拡張型心筋症、女性不妊症、卵巣不全、早発卵巣不全、線維性肺疾患、特発性線維化性肺炎、炎症後間質性肺疾患、間質性肺炎、結合組織病関連間質性肺疾患、混合性結合組織病関連肺疾患、全身性硬化症関連間質性肺疾患、関節リウマチ関連間質性肺疾患、全身性エリテマトーデス関連肺疾患、皮膚筋炎/多発性筋炎関連肺疾患、 쇼ーグレン病関連肺疾患、強直性脊椎炎関連肺疾患、血管炎性びまん性肺疾患、ヘモジデリン沈着症関連肺疾患、薬物誘発性間質性肺疾患、線維症、放射線線維症、閉塞性細気管支炎、慢性好酸球性肺炎、リンパ球浸潤性肺疾患、感染後間質性肺疾患、通風性関節炎、自己免疫性肝炎、1型自己免疫性肝炎(古典的自己免疫性肝炎ないしルポイド肝炎)、2型自己免疫性肝炎(抗LKM抗体肝炎)、自己免疫介在性低血糖症、黒色表皮腫を伴うB型インスリン抵抗性、副甲状腺機能低下症、臓器移植に伴う急性免疫疾患、臓器移植に伴う慢性免疫疾患、変形性関節症、原発性硬化性胆管炎、1型乾癬、2型乾癬、特発性白血球減少症、自己免疫性好中球減少症、腎疾患NOS、糸球体腎炎、腎臓の顕微鏡的血管炎、ライム病、円板状エリテマトーデス、特発性ないしNOS男性不妊症、精子自己免疫、多発性硬化症(全サブタイプ)、交感性眼炎、結合組織病続発性肺高血圧症、グッドパスチャー症候群、結節性多発動脈炎の肺症状、急性リウマチ熱、リウマチ性脊椎炎、スティル病、全身性硬化症、ショーグレン症候群、高安病/動脈炎、自己免疫性血小板減少症、特発性血小板減少症、自己免疫性甲状腺疾患、甲状腺機能亢進症、甲状腺腫性自己免疫性甲状腺機能低下症(橋本病)、萎縮性自己免疫性甲状腺機能低下症、原発性粘液水腫、水晶体起因性ブドウ膜炎、原発性血管炎、白斑急性肝疾患、慢性肝疾患、アルコール性肝硬変、アルコール誘発性肝傷害、胆汁鬱滞症、特異体質性肝疾患、薬物誘発性肝炎、非アルコール性脂肪肝炎、アレルギー及び喘息、B群連鎖球菌(GBS)感染症、精神障害(例えば鬱病及び統合失調症)、Th2型及びTh1型細胞介在性疾患、

急性及び慢性疼痛（各種疼痛）、癌（例えば肺癌、乳癌、胃癌、膀胱癌、結腸癌、膵臓癌、卵巣癌、前立腺癌及び直腸癌）及び血液悪性疾患（白血病及びリンパ腫）、無リポ蛋白血症、先端チアノーゼ、急性及び慢性寄生虫又は感染プロセス、急性白血病、急性リンパ芽球性白血病（ALL）、急性骨髄性白血病（AML）、急性又は慢性細菌感染症、急性膵炎、急性腎不全、腺癌、心房異所性拍動、エイズ痴呆合併症、アルコール誘発性肝炎、アレルギー性結膜炎、アレルギー性接触皮膚炎、アレルギー性鼻炎、同種移植片拒絶反応、1アンチトリプシン欠損症、筋萎縮性側索硬化症、貧血、狭心症、前角細胞変性、抗CD3抗体療法、抗リン脂質抗体症候群、抗受容体過敏反応、大動脈及び末梢動脈瘤、大動脈解離、動脈性高血圧、動脈硬化症、動静脈瘻、運動失調症、心房細動（持続性及び発作性）、心房粗動、房室ブロック、B細胞リンパ腫、骨移植拒絶反応、骨髄移植（BMT）拒絶反応、脚ブロック、パーキットリンパ腫、火傷、心不整脈、心臓性失神症候群、心臓腫瘍、心筋症、心肺バイパス炎症反応、軟骨移植拒絶反応、小脳皮質変性、小脳障害、無秩序型ないし多源性心房頻拍、化学療法関連障害、慢性骨髄性白血病（CML）、慢性アルコール依存症、慢性炎症性疾患、慢性リンパ性白血病（CLL）、慢性閉塞性肺疾患（COPD）、慢性サリチル酸中毒、結腸直腸癌、鬱血性心不全、結膜炎、接触皮膚炎、肺性心、冠動脈疾患、クロイツェルフェルト・ヤコブ病、培養陰性敗血症、嚢胞性線維症、サイトカイン療法関連障害、拳闘家痴呆、脱髄疾患、デング出血熱、皮膚炎、皮膚疾患、糖尿病、真性糖尿病、糖尿病性動脈硬化症、びまん性レビー小体病、拡張型鬱血性心筋症、基底核障害、中高年ダウン症候群、CNSドーパミン受容体を遮断する薬物により誘発される薬物誘発性運動障害、薬物過敏症、湿疹、脳脊髄炎、心内膜炎、内分泌障害、喉頭蓋炎、エプスタイン・パールウイルス感染症、肢端紅痛症、錐体外路及び小脳障害、家族性血球貪食リンパ組織球症、胎児胸腺移植拒絶反応、フリードリヒ運動失調症、機能性末梢動脈障害、真菌性敗血症、ガス壊疽、胃潰瘍、糸球体腎炎、任意臓器又は組織の移植片拒絶反応、グラム陰性菌敗血症、グラム陽性菌敗血症、細胞内生物による肉芽腫、ヘアリー細胞白血病、ハレルフォルデン・スパッツ病、橋本甲状腺炎、花粉症、心臓移植拒絶反応、ヘモクロマトーシス、血液透析、溶血性尿毒症症候群/血栓性血小板減少性紫斑病、出血、A型肝炎、ヒス束不整脈、HIV感染症/HIV神経障害、ホジキン病、運動過多性運動障害、過敏反応、過敏性肺炎、高血圧、運動低下性運動障害、視床下部-下垂体-副腎軸評価、特発性アジソン病、特発性肺線維症、抗体介在性細胞傷害、無力症、小児脊髄性筋萎縮症、大動脈炎症、A型インフルエンザ、電離放射線被爆、虹彩毛様体炎/ブドウ膜炎/視神経炎、虚血再灌流傷害、虚血性脳卒中、若年性関節リウマチ（JRA）、若年性脊髄性筋萎縮症、カポジ肉腫、腎移植拒絶反応、レジオネラ症、リーシュマニア症、ハンセン病、皮質脊髄系傷害、脂肪性浮腫、肝移植拒絶反応、リンパ水腫、マラリア、悪性リンパ腫、悪性組織球症、悪性メラノーマ、髄膜炎、髄膜炎菌血症、代謝性/特発性偏頭痛、ミトコンドリア多系統疾患、混合性結合組織病、モノクローナル免疫グロブリン血症、多発性骨髄腫、多系統変性症（Mencel Dejerine - Thomas Shi - Drager及びMachado - Joseph）、重症筋無力症、マイコバクテリウム・アビウム・イントラセラーレ菌感染症、ヒト型結核菌感染症、骨髄異形成症候群、心筋梗塞、心筋虚血障害、上咽頭癌、新生児慢性肺疾患、腎炎、ネフローゼ、神経変性疾患、I型神経原性筋萎縮症、好中球減少時の発熱、非ホジキンリンパ腫、腹部大動脈とその分枝の閉塞、閉塞性動脈障害、OKT3（登録商標）療法、精巣炎/副睾丸炎、精巣炎/精管切除再吻合術、臓器腫大、骨粗鬆症、膵臓移植拒絶反応、膵臓癌、腫瘍随伴症候群/悪性腫瘍による高カルシウム血症、副甲状腺移植拒絶反応、骨盤内炎症性疾患、通年性鼻炎、心膜疾患、末梢アテローム性動脈硬化性疾患、末梢血管障害、腹膜炎、悪性貧血、ニューモシスチス・カリニ肺炎、肺炎、POEMS症候群（多発ニューロパシー、臓器腫大、内分泌障害、モノクローナル免疫グロブリン血症及び皮膚変化症候群）、灌流後症候群、ポストポンプ症候群、MI心膜切開後症候群、子癇前症、進行性核上性麻痺、原発性肺高血圧症、放射線療法、レイノー現象、レイノー病、レフサム病、規則的で狭いQRS幅の頻拍、腎血管性高血圧症、再灌流傷害、拘束型心筋症、肉腫、強皮症、老人性舞蹈病、レビー小体型老人性痴呆症、血清反応陰性関節症、ショック、鎌状赤血球貧血

10

20

30

40

50

、皮膚同種移植片拒絶反応、皮膚変化症候群、小腸移植拒絶反応、充実性腫瘍、特異的不整脈、脊髄性運動失調症、脊髄小脳変性症、連鎖球菌性筋炎、小脳の構造傷害、亜急性硬化性汎脳炎、失神、心血管系梅毒、全身性アナフィラキシー、全身性炎症反応症候群、全身型発症若年性関節リウマチ、T細胞性ないしF A B A L L、毛細血管拡張症、閉塞性血栓性血管炎、血小板減少症、中毒症、移植、外傷/出血、I I I型過敏反応、I V型過敏反応、不安定狭心症、尿毒症、尿路性敗血症、蕁麻疹、心臓弁膜症、静脈瘤、血管炎、静脈疾患、静脈血栓症、心室細動、ウイルス及び真菌感染症、ウイルス性脳炎/無菌性髄膜炎、ウイルス関連血球貪食症候群、ウェルニッケ・コルサコフ症候群、ウィルソン病、任意臓器又は組織の異種移植片拒絶反応、急性冠症候群、急性特発性多発性神経炎、急性炎症性脱髄性多発根神経炎、急性虚血、成人スティル病、円形脱毛症、アナフィラキシー、抗リン脂質抗体症候群、再生不良性貧血、動脈硬化症、アトピー性湿疹、アトピー性皮膚炎、自己免疫性皮膚炎、連鎖球菌感染に伴う自己免疫疾患、自己免疫性腸症、自己免疫性聴力低下、自己免疫性リンパ球増殖症候群(A L P S)、自己免疫性心筋炎、自己免疫性早発卵巣不全、眼瞼炎、気管支拡張症、水疱性類天疱瘡、心臓血管疾患、劇症型抗リン脂質抗体症候群、セリアック病、頸椎症、慢性虚血、瘢痕性類天疱瘡、多発性硬化症の危険を伴う最初のエピソードからなる症候群(C I S)、結膜炎、小児期発症型精神障害、慢性閉塞性肺疾患(C O P D)、涙嚢炎、皮膚筋炎、糖尿病網膜症、真性糖尿病、椎間板ヘルニア、椎間板脱出、薬物誘発性免疫性溶血性貧血、心内膜炎、子宮内膜炎、眼内炎、上強膜炎、多形性紅斑、重症多形性紅斑、妊娠性類天疱瘡、ギラン・バレー症候群(G B S)、花粉症、ヒューズ症候群、特発性パーキンソン病、特発性間質性肺炎、I g E介在型アレルギー、免疫性溶血性貧血、封入体筋炎、感染性眼炎症性疾患、炎症性脱髄疾患、炎症性心疾患、炎症性腎疾患、I P F / U I P、虹彩炎、角膜炎、乾性角結膜炎、クスマウル病ないしクスマウル・マイヤー病、ランドリー麻痺、ランゲルハンス細胞組織球症、網状皮斑、黄斑変性症、顕微鏡的多発血管炎、ベヒテレフ病、運動ニューロン障害、粘膜類天疱瘡、多臓器不全、重症筋無力症、骨髄異形成症候群、心筋炎、神経根障害、神経障害、非A非B肝炎、視神経炎、骨溶解症、少関節型J R A、末梢動脈閉塞性疾患(P A O D)、末梢血管疾患(P V D)、末梢動脈疾患(P A D)、静脈炎、結節性多発動脈炎(ないし結節性動脈周囲炎)、多発性軟骨炎、リウマチ性多発筋痛症、白毛症、多関節型J R A、多腺性内分泌不全症候群、多発性筋炎、リウマチ性多発筋痛症(P M R)、ポストポンプ症候群、原発性パーキンソン病、前立腺炎、純赤血球形成不全症、原発性副腎不全、再発性視神経脊髄炎、再狭窄、リウマチ性心臓病、S A P H O(滑膜炎、座瘡、膿疱症、骨化症及び骨炎)、強皮症、続発性アミロイドーシス、ショック肺、強膜炎、座骨神経痛、続発性副腎不全、シリコン関連結合組織病、スネッドン・ウィルキンソン皮膚病、強直性脊椎炎、スティーブンス・ジョンソン症候群(S J S)、全身性炎症反応症候群、側頭動脈炎、トキソプラズマ性網膜炎、中毒性表皮壊死、横断性脊髄炎、T R A P S(腫瘍壊死因子1型受容体(T N F R)関連周期性症候群)、黒色表皮症を伴うB型インスリン抵抗性、1型アレルギー反応、I I型糖尿病、蕁麻疹、通常型間質性肺炎(U I P)、血管炎、春季カタル、ウイルス性網膜炎、フォークト・小柳・原田症候群(V K H症候群)、滲出型黄斑変性症、並びに創傷治癒から構成される群から選択される障害の治療に有用である。

【0043】

1態様において、本発明の結合蛋白質は関節リウマチ、変形性関節症、クローン病、多発性硬化症、インスリン依存性糖尿病及び乾癬を治療するために使用される。別の態様において、本発明の結合蛋白質は自己免疫疾患、特に炎症を伴う自己免疫疾患(例えば強直性脊椎炎、アレルギー、自己免疫性糖尿病、自己免疫性ブドウ膜炎)に罹患したヒトを治療するためにも使用される。

【0044】

別の態様において、本発明はヒトI L - 1 が有害である障害に罹患した患者の治療方法として、上記のように、第2の作用剤の投与前、投与と同時に又は投与後に上記結合蛋白

10

20

30

40

50

質のいずれか 1 種を投与する段階を含む方法を提供する。別の実施形態において、1 種以上の IL - 1 アンタゴニスト（例えば抗 IL - 1 抗体又はそのフラグメント）と併用投与及び/又は合剤化することができる別の治療剤としては、限定されないが、TNF アンタゴニスト；TNF 受容体の可溶性フラグメント；ENBREL（登録商標）（エタネルセプト）；TNF 酵素アンタゴニスト；TNF 変換酵素（TACE）阻害剤；ムスカリン受容体アンタゴニスト；TGF - アンタゴニスト；インターフェロン；ピルフェニドン；化学療法剤、メトトレキサート；レフルノミド；シロリムス（ラパマイシン）又はそのアナログ、CCI - 779；COX2 又は cPLA2 阻害剤；NSAID；免疫調節剤；p38 阻害剤；TPL - 2、MK - 2 及び NFkB 阻害剤；ブデノシド；上皮成長因子；コルチコステロイド；シクロスポリン；スルファサラジン；アミノサリチル酸塩；6 -メルカプトプリン；アザチオプリン；メトロニダゾール；リポキシゲナーゼ阻害剤；メサラミン；オルサラジン；バルサラジド；抗酸化剤；トロンボキサン阻害剤；IL - 1 受容体アンタゴニスト；抗 IL - 1 抗体；抗 IL - 6 抗体；成長因子；エラスターゼ阻害剤；ピリジニルイミダゾール化合物；TNF、LT、IL - 1、IL - 1、IL - 2、IL - 3、IL - 4、IL - 5、IL - 6、IL - 7、IL - 8、IL - 9、IL - 10、IL - 11、IL - 12、IL - 14、IL - 15、IL - 16、IL - 17、IL - 18、IL - 19、IL - 20、IL - 21、IL - 22、IL - 23、IL - 24、IL - 25、IL - 26、IL - 27、IL - 28、IL - 29、IL - 30、IL - 31、IL - 32、IL - 33、EMAP - II、GM - CSF、FGF 又は PDGF の抗体又はアゴニスト；CD2、CD3、CD4、CD8、CD25、CD28、CD30、CD40、CD45、CD69、CD90 又はそのリガンドの抗体；FK506；ラパマイシン；ミコフェノール酸モフェチル；イブプロフェン；プレドニゾロン；ホスホジエステラーゼ阻害剤；アデノシンアゴニスト；抗血栓剤；補体阻害剤；アドレナリン作動薬；IRAK、NIK、IKK、p38 又は MAPキナーゼ阻害剤；IL - 1 変換酵素阻害剤；TNF 変換酵素阻害剤；T細胞シグナル伝達阻害剤；メタロプロテイナーゼ阻害剤；6 -メルカプトプリン；アンジオテンシン変換酵素阻害剤；可溶性サイトカイン受容体；可溶性 p55 TNF 受容体；可溶性 p75 TNF 受容体；sIL - 1RI；sIL - 1RII；sIL - 6R；抗炎症性サイトカイン；IL - 4；IL - 10；IL - 11；並びに TGF が挙げられる。

10

20

30

40

50

【0045】

1 実施形態において、本願に開示する医薬組成物は非経口、皮下、筋肉内、静脈内、関節内、気管支内、腹腔内、関節包内、軟骨内、体腔内、腔内、小脳内、脳室内、結腸内、子宮頸管内、胃内、肝内、心筋内、骨内、骨盤内、心膜内、腹膜内、胸膜内、前立腺内、肺内、直腸内、腎内、網膜内、脊髄内、滑膜内、胸腔内、子宮内、膀胱腔内、ポラス、膈、直腸、口腔、舌下、鼻腔内及び経皮経路から構成される群から選択される少なくとも 1 種の方法により対象に投与される。

【0046】

本発明の 1 態様は本発明の少なくとも 1 種の IL - 1 結合蛋白質に対する少なくとも 1 種の IL - 1 抗イディオタイプ抗体を提供する。前記抗イディオタイプ抗体は、限定されないが、重鎖もしくは軽鎖の少なくとも 1 個の相補性決定領域（CDR）もしくはそのリガンド結合部分、重鎖もしくは軽鎖可変領域、重鎖もしくは軽鎖定常領域、フレームワーク領域、又は本発明の結合蛋白質に組込むことができるその任意部分等の免疫グロブリン分子の少なくとも一部を含む任意蛋白質又はペプチド含有分子を含む。

【発明を実施するための形態】

【0047】

本発明はヒト IL - 1 と結合する IL - 1 結合蛋白質、特に抗 IL - 1 抗体又はその抗原結合部分に関する。本発明の各種態様は抗体及び抗体フラグメントとその医薬組成物、並びに前記抗体及びその IL - 1 結合部分を作製するための核酸、組換え発現ベクター及び宿主細胞に関する。ヒト IL - 1 を検出するため、インビトロ又はインビボヒト IL - 1 活性を阻害するため、及び遺伝子発現を調節するために本発明の結合蛋白質

質を使用する方法も本発明に含まれる。

【0048】

本願で特に定義しない限り、本発明に関連して使用する科学技術用語は当業者に広く理解されている意味である。用語の意味と範囲は明瞭であるが、潜在的に曖昧な場合には、辞書又は外部の定義よりも本願に記載する定義を優先する。更に、内容からそうでないと判断される場合を除き、単数形用語は複数形を含み、複数形用語は単数形を含む。本願では、特に指定しない限り、「又は」なる用語は「及び/又は」を包含する。更に、「含む」なる用語と他の語形（例えば「含んでいる」や「含まれる」）の使用は非限定的である。また、特に指定しない限り、「要素」又は「成分」等の用語は1単位からなる要素及び成分と、2個以上のサブユニットからなる要素及び成分の両者を意味する。

10

【0049】

一般に、本願に記載する細胞及び組織培養、分子生物学、免疫学、微生物学、遺伝学、蛋白質及び核酸化学並びに核酸ハイブリダイゼーションに関連して使用する術語とその技術は当分野で周知であり、広く使用されている。特に指定しない限り、本発明の方法及び技術は当分野で周知の慣用方法に従い、本明細書の随所に引用及び説明する各種一般資料及び特定資料に記載されているように一般に実施される。酵素反応及び精製技術は製造業者の指示に従うか、当分野で広く実施されている方法に従うか、又は本願の記載に従って実施される。本願に記載する分析化学、有機合成化学、及び医薬化学に関連して使用する術語とその実験手順及び技術は当分野で周知であり、広く使用されている。化学合成、化学分析、医薬製造、製剤化及び送達並びに患者の治療には標準技術を使用する。

20

【0050】

本発明を理解し易くするために、選択用語を以下に定義する。

【0051】

「ポリペプチド」なる用語はアミノ酸の任意ポリマー鎖を意味する。「ペプチド」及び「蛋白質」なる用語はポリペプチドなる用語と同義に使用し、同様にアミノ酸のポリマー鎖を意味する。「ポリペプチド」なる用語は天然又は人工蛋白質、蛋白質フラグメント及び蛋白質配列のポリペプチドアナログを包含する。ポリペプチドはモノマーでもポリマーでもよい。

【0052】

「単離蛋白質」又は「単離ポリペプチド」なる用語はその起源又は由来源によりその天然状態でこれに結合している天然結合成分と結合していない蛋白質又はポリペプチド、同一種に由来する他の蛋白質を実質的に含まない蛋白質又はポリペプチド、別の種に由来する細胞により発現される蛋白質又はポリペプチド、あるいは自然界に存在しない蛋白質又はポリペプチドを意味する。従って、化学的に合成されるポリペプチド又はその天然由来源である細胞とは異なる細胞系で合成されるポリペプチドはその天然結合成分から「単離」される。当分野で周知の蛋白質精製技術を使用して、単離により蛋白質が天然結合成分を実質的に含まないようにすることもできる。

30

【0053】

「回収」なる用語は例えば当分野で周知の蛋白質精製技術を使用して、単離によりポリペプチド等の化学種が天然結合成分を実質的に含まないようにする方法を意味する。

40

【0054】

「ヒトIL-1」（本願ではhIL-1又はIL-1と略称する）なる用語は各種免疫応答、炎症プロセス及び造血に關与する多面的サイトカインを包含する。ヒトIL-1なる用語は標準組換え発現法により作製することができる組換えヒトIL-1（rhIL-1）を包含する。

【0055】

【表 1】

表 1: ヒト IL-1β の配列

蛋白質	配列番号	アミノ酸配列
		123456789012345678901234567890
ヒト IL-1β	配列番号1	APVRSLNCTLRDSQQKSLVMSGPYELKALH LQGQDMEQQVVFMSFVQGEESNDKIPVAL GLKEKNLYLSCVLKDDKPTLQLESVDPKNY PKKKMEKRFVFNKIEINNKLFEFESAQFPNW YISTSQAENMPVFLGGTKGGQDITDFTMQF VSS

10

【0056】

「生物活性」とは IL-1 の固有の全生物学的性質を意味する。IL-1 の生物学的性質としては限定されないが、IL-1 受容体との結合が挙げられる（他の例としては、発熱、徐波睡眠及び好中球増加症の誘導、Tリンパ球及びBリンパ球活性化、線維芽細胞増殖、所定細胞に対する細胞傷害性、コラゲナーゼの誘導、肝臓における急性期蛋白質の合成、並びにコロニー刺激因子及びコラーゲンの産生増加が挙げられる）。

【0057】

抗体、蛋白質又はペプチドと第2の化学種の相互作用に関する「特異的結合」又は「特異的に結合する」なる用語は相互作用が化学種上の特定構造（例えば抗原決定基又はエピトープ）の存在に依存することを意味し、例えば、抗体は蛋白質一般ではなく特定蛋白質構造を認識してこれと結合する。抗体がエピトープ「A」に特異的である場合、標識した「A」と抗体を含有する反応混合物中にエピトープA（即ち遊離した未標識のA）を含む分子が存在するならば、標識したAの抗体結合量は減少する。

20

【0058】

「抗体」なる用語は2本の重（H）鎖と2本の軽（L）鎖の4本のポリペプチド鎖から構成される任意の免疫グロブリン（Ig）分子、又はIg分子の本質的なエピトープ結合特徴を保持するその任意の機能的フラグメント、突然変異体、変異体もしくは誘導体を広義に意味する。このような突然変異体、変異体又は誘導体抗体フォーマットは当分野で公知であり、その非限定的な実施形態について以下に記載する。

【0059】

全長抗体において、各重鎖は重鎖可変領域（本願ではHCVR又はVHと略称する）と重鎖定常領域から構成される。重鎖定常領域はCH1、CH2及びCH3の3個のドメインから構成される。各軽鎖は軽鎖可変領域（本願ではLCVR又はVLと略称する）と軽鎖定常領域から構成される。軽鎖定常領域は1個のドメインCLから構成される。VH及びVL領域は更に相補性決定領域（CDR）と呼ばれる超可変領域とその間に配置されたフレームワーク領域（FR）と呼ばれる保存度の高い領域に区分することができる。各VH及びVLはアミノ末端からカルボキシ末端に向かってFR1、CDR1、FR2、CDR2、FR3、CDR3、FR4の順に配置された3個のCDRと4個のFRから構成される。免疫グロブリン分子は任意型（例えばIgG、IgE、IgM、IgD、IgA及びIgY）、クラス（例えばIgG1、IgG2、IgG3、IgG4、IgA1及びIgA2）又はサブクラスとすることができる。

30

40

【0060】

抗体の「抗原結合部分」なる用語は抗原（例えばhIL-1）と特異的に結合する能力を保持する抗体の1個以上のフラグメントを意味する。抗体の抗原結合機能は全長抗体のフラグメントにより実施可能である。このような抗体の実施形態は更に2種以上の異なる抗原と特異的に結合する二特異性、二重特異性又は多重特異性フォーマットでもよい。抗体の「抗原結合部分」なる用語に含まれる結合フラグメントの例としては、(i) VL、VH、CL及びCH1ドメインから構成される1価フラグメントであるFabフラグメント；(ii) ヒンジ領域でジスルフィド橋により結合した2個のFabフラグメントからなる2価フラグメントであるF(ab')₂フラグメント；(iii) VHドメインと

50

CH1ドメインから構成されるFdフラグメント；(iv)抗体の単一アームのVLドメインとVHドメインから構成されるFvフラグメント；(v)単一可変ドメインから構成されるdAbフラグメント(Ward et al., (1989) Nature 341:544-546, PCT公開第WO90/05144号)；並びに(vi)単離された相補性決定領域(CDR)が挙げられる。更に、Fvフラグメントの2個のドメインVL及びVHは別々の遺伝子によりコードされるが、組換え法を使用して合成リンカーにより結合し、VL領域とVH領域が対合して1価分子を形成する単一蛋白鎖として作製することができる(1本鎖Fv(scFv)と言う；例えばBird et al. (1988) Science 242:423-426；及びHouston et al. (1988) Proc. Natl. Acad. Sci. USA 85:5879-5883参照)。このような1本鎖抗体(scFv)も抗体の「抗原結合部分」なる用語に含むものとする。ダイアボディ等の他の形態の1本鎖抗体も含む。ダイアボディはVH領域とVL領域が1本のポリペプチド鎖上で発現される2価の二特異性抗体であるが、非常に短いリンカーを使用するため、同一鎖上の2領域間で対合することができず、これらの領域は別の鎖の相補性領域と対合し、2個の抗原結合部位を形成する(例えばHolliger, et al. (1993) Proc. Natl. Acad. Sci. USA 90:6444-6448；Poljak, et al. (1994) Structure 2:1121-1123参照)。このような抗体結合部分は当分野で公知である(Kontermann and Dubel eds., Antibody Engineering (2001) Springer-Verlag, New York, 790 pp. (ISBN 3-540-41354-5))。 10 20

【0061】

「抗体構築物」なる用語はリンカーポリペプチド又は免疫グロブリン定常領域に結合した1個以上の本発明の抗原結合部分を含むポリペプチドを意味する。リンカーポリペプチドはペプチド結合により結合した2個以上のアミノ酸残基を含み、1個以上の抗原結合部分と結合するために使用される。このようなリンカーポリペプチドは当分野で周知である(例えばHolliger et al. (1993) Proc. Natl. Acad. Sci. USA 90:6444-6448；Poljak et al. (1994) Structure 2:1121-1123参照)。免疫グロブリン定常領域とは重鎖又は軽鎖定常領域を意味する。ヒトIgG重鎖()及び軽鎖()及び()定常領域アミノ酸配列は当分野で公知であり、表2に示す。 30

【0062】

【表 2】

表 2: ヒト IgG 重鎖及び軽鎖定常領域の配列

蛋白質	配列番号	配列
		123456789012345678901234567890
Ig γ 1定常領域	配列番号 2	ASTKGPSVFFLAPSSKSTSGGTAALGCLVK DYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSS GLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPS NTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGG PSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVS HEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYN STYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKA LPAPIEKTIKAKGQPREPQVYTLPPSREE MTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQP ENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRW QQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK
Ig γ 1定常領域 突然変異体	配列番号 3	ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVK DYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSS GLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPS NTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPEAAGG PSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVS HEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYN STYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKA LPAPIEKTIKAKGQPREPQVYTLPPSREE MTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQP ENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRW QQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK
Ig κ 定常領域	配列番号 4	TVAAPSVEIFPPSDEQLKSGTASVVCLLN FYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDS KDSTYLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTH QGLSSPVTKSFNRGEC
Ig λ 定常領域	配列番号 5	QPKAAPSVTLFPPSSEELQANKATLVCLIS DFYPGAVTVAWKADSSPVKAGVETTPSKQ SNNKYAASSYLSLTPEQWKSHRSYSQCQVTH EGSTVEKTVAPTECS

10

20

【0063】

更に、抗体又はその抗原結合部分は抗体又はその抗原結合部分と1種以上の他の蛋白質又はペプチドの共有的又は非共有的結合により形成される大きな免疫接着分子の一部でもよい。このような免疫接着分子の例としてはストレプトアビジンコア領域を使用して形成される四量体 scFv 分子 (Kipriyanov et al. (1995) Human Antibod. and Hybridomas 6:93-101) や、システイン残基、マーカーペプチド及びC末端ポリヒスチジンタグを使用して形成される2価ビオチン化 scFv 分子 (Kipriyanov et al. (1994) Mol. Immunol. 31:1047-1058) が挙げられる。Fab 及び F(ab')₂ フラグメント等の抗体の抗原結合部分は夫々全長抗体のパイン又はペプシン消化等の慣用技術を使用して全長抗体から作製することができる。更に、抗体、その抗原結合部分及び免疫接着分子は本願に記載するような標準組換え DNA 技術を使用して取得することができる。

30

40

【0064】

「単離抗体」とは異なる抗原特異性をもつ他の抗体を実質的に含まない抗体を意味する (例えば hIL-1 と特異的に結合する単離抗体は hIL-1 以外の抗原と特異的に結合する抗体を実質的に含まない)。しかし、hIL-1 と特異的に結合する単離抗体は他の抗原 (例えば他の種に由来する IL-1 分子) と交差反応性をもつ場合がある。更に、単離抗体は他の細胞材料及び / 又は化学物質を実質的に含まない場合がある。

【0065】

「ヒト抗体」なる用語はヒト生殖細胞系列免疫グロブリン配列に由来する可変領域と定常領域をもつ抗体を包含するものとする。本発明のヒト抗体はヒト生殖細胞系列免疫グロ

50

ブリン配列によりコードされないアミノ酸残基（例えばランダムもしくは部位特異的突然変異誘発によりインビトロで導入される突然変異又は体細胞突然変異によりインビボで導入される突然変異）を例えばCDR、特にCDR3に含んでいてもよい。他方、「ヒト抗体」なる用語は別の哺乳動物種（例えばマウス）の生殖細胞系列に由来するCDR配列をヒトフレームワーク配列に移植した抗体を包含しない。

【0066】

「組換えヒト抗体」なる用語は組換え手段により作製、発現、創製又は単離された全ヒト抗体を包含し、例えば、宿主細胞にトランスフェクトした組換え発現ベクターを使用して発現させた抗体（下記セクションII Cに詳述）、組換えコンビナトリアルヒト抗体ライブラリーから単離された抗体（Hoogenboom (1997) Trends Biotechnol. 15: 62-70; Azzazy and Highsmith (2002) Clin. Biochem. 35: 425-445; Gavilondo and Larrick (2000) BioTechniques 29: 128-145; Hoogenboom and Chames (2000) Immunology Today 21: 371-378）、ヒト免疫グロブリン遺伝子にトランスジェニックな動物（例えばマウス）から単離された抗体（例えばTaylor et al. (1992) Nucl. Acids Res. 20: 6287-6295; Kellermann and Green (2002) Curr. Opin. Biotechnol. 13: 593-597; Little et al. (2000) Immunol. Today 21: 364-370参照）、あるいはヒト免疫グロブリン遺伝子配列を他のDNA配列にスプライシングする他の任意手段により作製、発現、創製又は単離された抗体が挙げられる。このような組換えヒト抗体はヒト生殖細胞系列免疫グロブリン配列に由来する可変領域と定常領域をもつ。しかし、所定実施形態において、このような組換えヒト抗体はインビトロ突然変異誘発（又は、ヒトIg配列にトランスジェニックな動物を使用する場合には、インビボ体細胞突然変異誘発）を受け、従って、組換え抗体のVH領域とVL領域のアミノ酸配列は、ヒト生殖細胞系列VH及びVL配列に由来し、これらの配列に近縁の配列であるが、天然ではヒト抗体生殖細胞系列レパートリー内にインビボで存在しない場合もある配列である。

【0067】

「キメラ抗体」なる用語はある種に由来する重鎖及び軽鎖可変領域配列と、別の種に由来する定常領域配列を含む抗体（例えばマウス重鎖及び軽鎖可変領域をヒト定常領域に融合した抗体）を意味する。

【0068】

「CDR移植抗体」なる用語はある種に由来する重鎖及び軽鎖可変領域を含むが、VH及び/又はVL領域のCDR領域の1個以上の配列を別の種のCDR配列で置換した抗体（例えばヒトCDRの1個以上（例えばCDR3）を例えばヒトIL-1に対するマウスモノクローナル抗体から得られるようなマウスCDR配列で置換したヒト重鎖及び軽鎖可変領域をもつ抗体）を意味する。

【0069】

「CDR」なる用語は抗体可変領域配列内の相補性決定領域を意味する。重鎖及び軽鎖可変領域の各々に3個のCDRが存在し、可変領域の各々についてCDR1、CDR2及びCDR3と呼ばれる。「CDRセット」なる用語は抗原結合部位の単一可変領域（即ちVH又はVL）に存在する3個1組のCDRを意味する。これらのCDRの厳密な境界は種々のシステムにより種々に定義されている。Kabataにより記載されているシステム（Kabata et al. (1987, 1991) Sequences of Proteins of Immunological Interest (National Institutes of Health, Bethesda, Maryland) は抗体の任意可変領域に適用可能な明確な残基ナンバリングシステムを規定するのみならず、3個のCDRを定義する厳密な残基境界を規定する。これらのCDRをKabata CDRと言う場合がある。Chothiaら（Chothia and Lesk (19

10

20

30

40

50

87) *J. Mol. Biol.* 196: 901-917 及び *Chothia et al.* (1989) *Nature* 342: 877-883) は *Kabat CDR* 内の所定のサブ部分がアミノ酸配列レベルでは多様性に富んでいるにも拘わらず、ほぼ同一のペプチド主鎖構造をとることを見いだした。これらのサブ部分は *L1*、*L2* 及び *L3* 又は *H1*、*H2* 及び *H3* と呼ばれ、ここで「*L*」及び「*H*」は夫々軽鎖領域と重鎖領域を表す。これらの領域を *Chothia CDR* と呼ぶ場合があり、その境界は *Kabat CDR* とオーバーラップする。*Kabat CDR* とオーバーラップする *CDR* を定義する他の境界は *Padlan et al.* (1995) *FASEB J.* 9: 133-139 及び *MacCallum* (1996) *J. Mol. Biol.* 262(5): 732-745 に記載されている。上記システムの1種に厳密には従わないとしても、*Kabat CDR* とオーバーラップする更に他の *CDR* 境界定義もあり、特定残基もしくは残基群又は *CDR* 全体が抗原結合に有意に影響を与えないという予想又は実験結果に基づいて短くしたもののや長くしたものがあ。本願で使用方法はこれらのシステムのいずれに従って定義された *CDR* も使用することができるが、所定実施形態は *Kabat* 又は *Chothia* の定義による *CDR* を使用する。

10

20

30

40

50

【0070】

「*Kabat* ナンバリング」、「*Kabat* 定義」及び「*Kabat* ラベリング」なる用語を本願では同義に使用する。これらの用語は当分野で認識されている通り、抗体又はその抗原結合部分の重鎖及び軽鎖可変領域において他のアミノ酸残基よりも可変度の高い(即ち超可変性)アミノ酸残基のナンバリングシステムを意味する(*Kabat et al.* (1971) *Ann. NY Acad. Sci.* 190: 382-391 及び *Kabat et al.* (1991) *Sequences of Proteins of Immunological Interest, Fifth Edition, U. S. Department of Health and Human Services, NIH Publication No. 91-3242*)。重鎖可変領域の場合、超可変領域は *CDR1* のアミノ酸 31~35 位、*CDR2* のアミノ酸 50~65 位、及び *CDR3* のアミノ酸 95~102 位に位置する。軽鎖可変領域の場合、超可変領域は *CDR1* のアミノ酸 24~34 位、*CDR2* のアミノ酸 50~56 位、及び *CDR3* のアミノ酸 89~97 位に位置する。

【0071】

過去20年間にわたる重鎖及び軽鎖可変領域のアミノ酸配列の広範な公共データベースの発展と分析の結果、可変領域配列内のフレームワーク領域(*FR*)配列と *CDR* 配列の典型的境界が解明され、当業者は *Kabat* ナンバリング、*Chothia* ナンバリング又は他のシステムに従って *CDR* を正確に決定できるようになった。例えば *Martin, In Kontermann and Dubel, eds., Antibody Engineering (Springer-Verlag, Berlin, 2001), chapter 31, pages 432-433* 参照。重鎖可変領域(*VH*)と軽鎖可変領域(*VL*)のアミノ酸配列内の *Kabat CDR* のアミノ酸配列の有用な決定方法を以下に挙げる。

【0072】

CDR-L1 アミノ酸配列を同定するためには、
VL 領域のアミノ末端から約24番目のアミノ酸残基から出発する；
CDR-L1 配列の前の残基は常にシステイン(*C*)である；
CDR-L1 配列の後の残基は常にトリプトファン(*W*)残基であり、典型的には *Trp-Tyr-Gln* (*W-Y-Q*) であるが、*Trp-Leu-Gln* (*W-L-Q*)、*Trp-Phe-Gln* (*W-F-Q*) 及び *Trp-Tyr-Leu* (*W-Y-L*) でもよい；
長さは典型的には10~17アミノ酸残基である。

【0073】

CDR-L2 アミノ酸配列を同定するためには、

常にCDR - L 1の末端から16番目の残基から出発する；

CDR - L 2配列の前の残基は一般にI l e - T y r (I - Y)であるが、V a l - T y r (V - Y)、I l e - L y s (I - K)及びI l e - P h e (I - F)でもよい；

長さは常に7アミノ酸残基である。

【0074】

CDR - L 3アミノ酸配列を同定するためには、

常にCDR - L 2の末端から33番目のアミノ酸から出発する；

CDR - L 3アミノ酸配列の前の残基は常にシステイン (C) である；

CDR - L 3配列の後の残基は常にP h e - G l y - X - G l y (F - G - X - G) (配列番号6) であり、ここでXは任意アミノ酸である；

長さは典型的には7 ~ 11アミノ酸残基である。

【0075】

CDR - H 1アミノ酸配列を同定するためには、

V H領域のアミノ末端から約31番目のアミノ酸残基で常にシステイン (C) から9番目の残基から出発する；

CDR - H 1配列の前の残基は常にC y s - X - X - X - X - X - X - X (配列番号7) であり、ここでXは任意アミノ酸である；

CDR - H 1配列の後の残基は常にT r p (W) であり、典型的にはT r p - V a l (W - V) であるが、T r p - I l e (W - I) 及びT r p - A l a (W - A) でもよい；

長さは典型的には5 ~ 7アミノ酸残基である。

【0076】

CDR - H 2アミノ酸配列を同定するためには、

常にCDR - H 1の末端から15番目のアミノ酸残基から出発する；

CDR - H 2配列の前の残基は典型的にはL e u - G l u - T r p - I l e - G l y (L - E - W - I - G) (配列番号8) であるが、他の変形でもよい；

CDR - H 2配列の後の残基はL y s / A r g - L e u / I l e / V a l / P h e / T h r / A l a - T h r / S e r / I l e / A l a (K / R - L / I / V / F / T / A - T / S / I / A) である；

長さは典型的には16 ~ 19アミノ酸残基である。

【0077】

CDR - H 3アミノ酸配列を同定するためには、

常にCDR - H 2の末端から33番目のアミノ酸残基で常にシステイン (C) から3番目の残基から出発する；

CDR - H 3配列の前の残基は常にC y s - X - X (C - X - X) (ここでXは任意アミノ酸である) であり、典型的にはC y s - A l a - A r g (C - A - R) である；

CDR - H 3配列の後の残基は常にT r p - G l y - X - G l y (W - G - X - G) (配列番号9) であり、ここでXは任意アミノ酸である；

長さは典型的には3 ~ 25アミノ酸残基である。

【0078】

「アクセプター」及び「アクセプター抗体」なる用語はフレームワーク領域の1個以上のアミノ酸配列の少なくとも80%、少なくとも85%、少なくとも90%、少なくとも95%、少なくとも98%又は100%を提供又はコードする抗体又は核酸配列を意味する。所定実施形態において、「アクセプター」なる用語は定常領域を提供又はコードする抗体アミノ酸又は核酸配列を意味する。更に別の実施形態において、「アクセプター」なる用語はフレームワーク領域と定常領域の1個以上を提供又はコードする抗体アミノ酸又は核酸配列を意味する。特定実施形態において、「アクセプター」なる用語はフレームワーク領域の1個以上のアミノ酸配列の少なくとも80%、少なくとも85%、少なくとも90%、少なくとも95%、少なくとも98%又は100%を提供又はコードするヒト抗体アミノ酸又は核酸配列を意味する。この実施形態によると、アクセプターはヒト抗体の1個以上の特定位置に存在しない少なくとも1個、少なくとも2個、少なくとも3個、少

10

20

30

40

50

なくとも4個、少なくとも5個、又は少なくとも10個のアミノ酸残基を含むことができる。アクセプターフレームワーク領域及び/又はアクセプター定常領域は例えば生殖細胞系抗体遺伝子、成熟抗体遺伝子、機能的抗体（例えば当分野で周知の抗体、開発中の抗体又は市販抗体）から入手又は取得することができる。

【0079】

「カノニカル」残基なる用語は Chothia et al. (1987) J. Mol. Biol. 196:901-917; Chothia et al. (1992) J. Mol. Biol. 227:799により定義されているように特定カノニカルCDR構造を定義するCDR又はフレームワークにおける残基を意味する。Chothiaらによると、多くの抗体のCDRの必須部分はアミノ酸配列レベルでは多様性に富んでいるにも拘わらず、ほぼ同一のペプチド主鎖構造をとる。各カノニカル構造はループを形成するアミノ酸残基の連続セグメントについて主に1組のペプチド主鎖ねじれ角を指定する。

10

【0080】

「ドナー」及び「ドナー抗体」なる用語は1個以上のCDRを提供する抗体を意味する。1実施形態において、ドナー抗体はフレームワーク領域の取得源又は入手源である抗体とは異なる種に由来する抗体である。ヒト化抗体に関連して「ドナー抗体」なる用語は1個以上のCDRを提供する非ヒト抗体を意味する。

【0081】

「フレームワーク」又は「フレームワーク配列」なる用語は可変領域からCDRを除いた残りの配列を意味する。CDR配列の厳密な定義は種々のシステムにより決定することができるので、フレームワーク配列の意味は相応に種々に解釈される。6個のCDR（軽鎖のCDR-L1、L2及びL3と重鎖のCDR-H1、H2及びH3）は軽鎖及び重鎖のフレームワーク領域を更に各鎖で4個のサブ領域（FR1、FR2、FR3及びFR4）に分割し、CDR1はFR1とFR2の間、CDR2はFR2とFR3の間、CDR3はFR3とFR4の間に位置する。個々のサブ領域をFR1、FR2、FR3又はFR4と特定せずに、単にフレームワーク領域と言う場合もあるが、その場合には、1本の天然に存在する免疫グロブリン鎖の可変領域内のFR全体を意味する。FRとは4個のサブ領域の1個を意味し、FRsとはフレームワーク領域を構成する4個のサブ領域の2個以上を意味する。

20

【0082】

ヒト重鎖及び軽鎖アクセプター配列は当分野で公知である。本発明の1実施形態において、ヒト重鎖及び軽鎖アクセプター配列は表3及び表4に記載する配列から選択される。

30

【0083】

【表3】

表3: 重鎖アクセプター配列

配列番号	蛋白質領域	配列
		12345678901234567890123456789012
10	VH4-59 FR1	QVQLQESGPGLVKPSSETLSLTCTVSGGSIS
11	VH4-59 FR2	WIRQPPGKLEWIG
12	VH4-59 FR3	RVTISVDTSKNQFSLKLSVTAADT AVYYCAR
13	JH4 FR4	WGQGLVTVSS
14	VH3-53 FR1	EVQLVESGGGLIQPGGSLRLSCAASGFTVS
15	VH3-53 FR2	WVRQAPGKLEWVS
16	VH3-53 FR3	RFTISRDN SKNTLYLQMN SLRAEDT AVYYCAR
17	hJH4 FR4	WGQGLVTVSS

40

【0084】

【表 4】

表 4: 軽鎖アクセプター配列

配列番号	蛋白質領域	配列
		12345678901234567890123456789012
18	018 FR1	DIQMTQSPSSLSASVGDRTITC
19	018 FR2	WYQQKPGKAPKLLIY
20	018 FR3	GVPSRFGSGSGTDFTFITISLQPEDATYYC
21	JK2 FR4	FGQGTKLEIK
22	A14 FR1	DVVMTQSPAFLSVTPGEKVTITC
23	A14 FR2	WYQQKPDQAPKLLIK
24	A14 FR3	GVPSRFGSGSGTDFTFITISLEAEDAATYYC
25	JK2 FR4	FGQGTKLEIK

10

【0085】

「生殖細胞系抗体遺伝子」又は「遺伝子フラグメント」なる用語は特定の免疫グロブリンの発現のために遺伝子再構成と突然変異を誘導する成熟プロセスを受けていない非リンパ細胞によりコードされる免疫グロブリン配列を意味する（例えば Shapiro et al. (2002) Crit. Rev. Immunol. 22 (3): 183-200; Marchalonis et al. (2001) Adv. Exp. Med. Biol. 484: 13-30 参照）。本発明の各種実施形態により提供される利点の1つは生殖細胞系抗体遺伝子が成熟抗体遺伝子よりも種における個体の必須アミノ酸配列構造特徴を保存する傾向が強く、従ってこの種で治療に使用した場合に外来源に由来するとみなしにくいという認識に起因する。

20

【0086】

「キー」残基なる用語は抗体、特にヒト化抗体の結合特異性及び/又は親和性に強く影響する可変領域内の所定の残基を意味する。キー残基としては限定されないが、CDRに隣接する残基、潜在グリコシル化部位残基（N-グリコシル化部位でもO-グリコシル化部位でもよい）、希少残基、抗原と相互作用することが可能な残基、CDRと相互作用することが可能な残基、カノニカル残基、重鎖可変領域と軽鎖可変領域の間の接触残基、バーニアゾーン内の残基、及び Chothia の定義による重鎖可変領域 CDR1 と Kabat の定義による最初の重鎖フレームワークの間でオーバーラップする領域における残基の1種以上が挙げられる。

30

【0087】

「ヒト化抗体」なる用語は非ヒト種（例えばマウス）に由来する重鎖及び軽鎖可変領域配列を含むが、VH及び/又はVL配列の少なくとも一部が「ヒト類似性」を増すように、即ちヒト生殖細胞系可変配列との類似性を増すように改変された抗体を意味する。ヒト化抗体の1例は対応する非ヒトフレームワーク（FR）配列に置換するように非ヒトCDR配列をヒトVH及びVL配列に導入したCDR移植抗体である。例えば、「ヒト化抗体」は目的抗原と免疫特異的に結合し、実質的にヒト抗体のアミノ酸配列をもつフレームワーク（FR）領域と、実質的に非ヒト抗体のアミノ酸配列をもつ相補性決定領域（CDR）を含む抗体又はその変異体、誘導體、アナログもしくはフラグメントである。CDRに関連して「実質的に」なる用語は非ヒト抗体CDRのアミノ酸配列と少なくとも80%、少なくとも85%、少なくとも90%、少なくとも95%、少なくとも98%又は少なくとも99%一致するアミノ酸配列をもつCDRを意味する。ヒト化抗体はCDR領域の全部又は実質的に全部が非ヒト免疫グロブリン（即ちドナー抗体）のCDR領域に対応し、フレームワーク領域の全部又は実質的に全部がヒト免疫グロブリンコンセンサス配列のフレームワーク領域である少なくとも1個、典型的には2個の可変ドメイン（Fab、Fab'、F(ab')₂、FabC、Fv）の実質的に全部を含む。1実施形態において、ヒト化抗体は更に免疫グロブリン定常領域（Fc）、典型的にはヒト免疫グロブリンの定常領域の少なくとも一部を含む。所定実施形態において、ヒト化抗体は軽鎖と重鎖の少

40

50

なくとも可変ドメインを含む。抗体は更に重鎖のCH1、ヒンジ、CH2、CH3及びCH4領域を含むことができる。所定実施形態において、ヒト化抗体はヒト化軽鎖のみを含む。所定実施形態において、ヒト化抗体はヒト化重鎖のみを含む。特定実施形態において、ヒト化抗体は軽鎖のヒト化可変ドメイン及び/又はヒト化重鎖のみを含む。

【0088】

ヒト化抗体はIgM、IgG、IgD、IgA及びIgEを含む任意クラスの免疫グロブリンと、限定されないが、IgG1、IgG2、IgG3及びIgG4を含む任意アイソタイプから選択することができる。ヒト化抗体は2種以上のクラス又はアイソタイプに由来する配列を含むことができ、当分野で周知の技術を使用して所望エフェクター機能を最適化するように特定定常領域を選択することができる。

10

【0089】

ヒト化抗体のフレームワーク領域とCDR領域は親配列に厳密に対応する必要はなく、例えばその部位のCDR又はフレームワーク残基がドナー抗体又はコンセンサスフレームワークのいずれにも対応しないように少なくとも1個のアミノ酸残基の置換、挿入及び/又は欠失によりドナー抗体CDR又はコンセンサスフレームワークを突然変異誘発してもよい。しかし、1実施形態において、このような突然変異は広範にならない。通常では、ヒト化抗体残基の少なくとも80%、少なくとも85%、少なくとも90%、少なくとも95%が親FR及びCDR配列に対応する。「コンセンサスフレームワーク」なる用語はコンセンサス免疫グロブリン配列中のフレームワーク領域を意味する。「コンセンサス免疫グロブリン配列」なる用語は近縁免疫グロブリン配列のファミリーに最高頻度で存在するアミノ酸(又はヌクレオチド)から形成される配列を意味する(例えばWinnaker(1987)From Genes to Clones(Verlagsgesellschaft, Weinheim, Germany参照)。従って、「コンセンサス免疫グロブリン配列」は「コンセンサス可変ドメイン」及び/又は「コンセンサス定常ドメイン」を含むことができる。更に、「コンセンサス可変ドメイン」は1個以上の「コンセンサスフレームワーク領域」及び/又は1個以上の「コンセンサスCDR」を含むことができる。免疫グロブリンファミリーにおいて、コンセンサス配列における各位置はこのファミリーでこの位置に最高頻度で存在するアミノ酸により占有される。2種類のアミノ酸が等頻度で存在する場合には、どちらをコンセンサス配列に加えてもよい。

20

【0090】

「パーニア」ゾーンなる用語はFoot and Winter(1992)J. Mol. Biol. 224:487-499に記載されているようにCDR構造を調整することができる、抗原に合わせて微調整することができるフレームワーク残基のサブセットを意味する。パーニアゾーン残基はCDRの基層を形成し、CDRの構造と抗体の親和性に影響を与える可能性がある。

30

【0091】

「多価結合蛋白質」なる用語は本明細書では2個以上の抗原結合部位を含む結合蛋白質の意味で使用される。多価結合蛋白質は3個以上の抗原結合部位をもつように構築され、一般に天然抗体以外のものである。「多重特異性結合蛋白質」なる用語は2種以上の近縁又は非近縁ターゲットと結合することが可能な結合蛋白質を意味する。二重可変ドメイン(DVD)結合蛋白質は2個以上の抗原結合部位を含む結合蛋白質であり、4価以上の多価結合蛋白質である。このようなDVD結合蛋白質は単一特異性、即ち1種類の抗原と結合可能でもよいし、多重特異性、即ち2種類以上の抗原と結合可能でもよい。2本の重鎖DVDポリペプチドと2本の軽鎖DVDポリペプチドを含むDVD結合蛋白質をDVD-Ig(登録商標)分子と言う。DVD-Ig分子の各半分は重鎖DVD-Igポリペプチドと、軽鎖DVDポリペプチドと、2個の抗原結合部位を含む。各結合部位は重鎖可変ドメインと軽鎖可変ドメインを含み、抗原結合部位当たり合計6個のCDRが抗原結合に関与する。DVD結合蛋白質とDVD結合蛋白質の作製方法は本願に組込まれる米国特許第7,612,181号に開示されている。

40

【0092】

50

本発明の1態様はヒトIL-1 と結合することが可能な結合蛋白質を含むDVD結合蛋白質に関する。別の態様において、DVD結合蛋白質はIL-1 と第2のターゲットとに結合することが可能である。1実施形態において、DVD結合蛋白質はIL-1 とIL-1 とに結合することが可能である。

【0093】

「中和」なる用語は結合蛋白質がサイトカインと特異的に結合する場合のサイトカインの生物活性の中和を意味する。1実施形態において、中和結合蛋白質はhIL-1 と結合することによりhIL-1 の生物活性を阻害する中和抗体である。中和結合蛋白質はhIL-1 と結合し、hIL-1 の生物活性を少なくとも約20%、少なくとも約40%、少なくとも約60%、少なくとも約80%、少なくとも約85%、少なくとも約85%、少なくとも約90%、少なくとも約95%、又は少なくとも約100%低下させることが好ましい。中和結合蛋白質によるhIL-1 の生物活性の阻害は当分野で周知のhIL-1 生物活性の1種以上の指標を測定することにより判定することができる。

10

【0094】

「エピトープ」なる用語は免疫グロブリン又はT細胞受容体と特異的に結合することが可能な任意ポリペプチド決定基を包含する。所定実施形態において、エピトープ決定基はアミノ酸、糖側鎖、ホスホリル又はスルホニル等の化学的に活性な表面分子群を含み、所定実施形態では、特異的三次元構造特徴及び/又は特異的電荷特徴をもつ場合がある。エピトープは抗体と結合する抗原の1領域である。従って、エピトープは特異的結合パートナー上の相補的部位と結合することが分かっている抗原(又はそのフラグメント)の1領域のアミノ酸残基から構成される。抗原フラグメントは2個以上のエピトープを含むことができる。所定実施形態において、抗体は蛋白質及び/又は巨大分子の複雑な混合物中でそのターゲット抗原を認識するときに抗原と特異的に結合すると言う。抗体が交差競合する(一方が他方の結合又は変調作用を妨害する)場合に抗体は「同一エピトープと結合する」と言う。更に、エピトープの構造定義(オーバーラップ、類似、一致)も有益であるが、機能定義のほうが構造(結合)パラメータと機能(変調、競合)パラメータを含むため、適切であることが多い。

20

【0095】

「表面プラズモン共鳴」なる用語は例えばBIACORE(登録商標)システム(GE Healthcareの子会社であるBiacore International AB, Uppsala, Sweden及びPiscataway, New Jersey)を使用してバイオセンサーマトリックス内の蛋白質濃度の変化の検出によりリアルタイム生体特異的相互作用の分析を可能にする光学現象を意味する。更に詳細については、Jonsson, U. et al. (1993) Ann. Biol. Clin. 51: 19-26; Jonsson, U. et al. (1991) BioTechniques 11: 620-627; Johnson, B. et al. (1995) J. Mol. Recognit. 8: 125-131; 及びJohnson, B. et al. (1991) Anal. Biochem. 198: 268-277 参照。

30

【0096】

「Kon」なる用語は当分野で公知の通り、結合蛋白質(例えば抗体)が抗原と会合して例えば抗体/抗原複合体を形成するオン速度定数を意味する。「Kon」は「オン速度定数」又は「ka」の用語でも呼ばれ、本願では同義に使用する。抗体とその標的抗原の結合速度ないし抗体と抗原の間の複合体形成速度を表すこの数値は式:

40

抗体(「Ab」)+抗原(「Ag」) Ab-Ag
でも示される。

【0097】

「Koff」なる用語は当分野で公知の通り、結合蛋白質(例えば抗体)が例えば抗体/抗原複合体から解離するオフ速度定数を意味する。「Koff」は「オフ速度定数」又は「kd」の用語でも呼ばれ、本願では同義に使用する。この数値は下式:

Ab+Ag Ab-Ag

50

により示されるように、抗体がその標的抗原から解離する速度ないし A b - A g 複合体が経時的に遊離抗体及び抗原に分離する速度を表す。

【0098】

「平衡解離定数」又は「KD」なる用語は本願では同義に使用し、平衡状態における滴定測定で得られる数値又はオフ速度定数 (koff) をオン速度定数 (kon) で割ることにより得られる数値を意味する。オン速度定数、オフ速度定数及び平衡解離定数は抗原に対する抗体の結合親和性を表すために使用される。オン速度定数とオフ速度定数の測定方法は当分野で周知である。蛍光技術を使用すると、高感度を得られ、平衡状態の生理的緩衝液中のサンプルを試験することができる。BIA CORE (登録商標) (生体分子相互作用分析) アッセイ等の他の実験アプローチ及び機器 (例えば GE Health careの子会社である Biacore International AB, Uppsala, Sweden から市販されている機器) も使用できる。更に、Sapidyne Instruments (Boise, Idaho) から市販されている KinExA (登録商標) (動的排除アッセイ) も使用することができる。

10

【0099】

「標識結合蛋白質」なる用語は結合蛋白質を識別できるようにラベルを付加した蛋白質を意味する。1 態様において、ラベルは検出可能なマーカーであり、例えば放射性標識アミノ酸を付加する方法や、標識アビジン (例えば蛍光マーカー又は光学的方法もしくは比色法により検出可能な酵素活性を付加したストレプトアビジン) により検出可能なビオチニル部分をポリペプチドに結合する方法が挙げられる。ポリペプチドのラベルの例としては限定されないが、放射性同位体ないし放射性核種 (例えば ^3H 、 ^{14}C 、 ^{35}S 、 ^{90}Y 、 ^{99}Tc 、 ^{111}In 、 ^{125}I 、 ^{131}I 、 ^{177}Lu 、 ^{166}Ho 、及び ^{153}Sm)、蛍光ラベル (例えば FITC、ローダミン及びランタニド蛍光体)、酵素ラベル (例えば西洋ワサビペルオキシダーゼ、ルシフェラーゼ、アルカリホスファターゼ)、化学発光マーカー、ビオチニル基、二次レポーターにより認識される所定ポリペプチドエピトープ (例えばロイシンジッパー対配列、二次抗体の結合部位、金属結合ドメイン及びエピトープタグ) 及び磁性物質 (例えばガドリニウムキレート) が挙げられる。

20

【0100】

「抗体コンジュゲート」なる用語は第 2 の化学部分 (例えば治療剤や細胞傷害性物質) と化学的に結合した結合蛋白質 (例えば抗体) を意味する。「作用剤」なる用語は化合物、化合物の混合物、生体巨大分子又は生体材料から作製された抽出物を意味する。1 態様において、治療剤又は細胞傷害性物質としては限定されないが、百日咳毒素、タキソール、サイトカラシン B、グラミシジン D、臭化エチジウム、エメチン、マイトマイシン、エトポシド、テノポシド、ピンクリスチン、ピンブラスチン、コルヒチン、ドキシソルピシン、ダウノルピシン、ジヒドロキシアントラシンジオン、ミトキサントロン、ミトラマイシン、アクチノマイシン D、1 - デヒドロテストステロン、グルココルチコイド、プロカイン、テトラカイン、リドカイン、プロプラノロール及びピューロマイシン並びにそのアナログ又はホモログが挙げられる。

30

【0101】

「結晶」及び「結晶化」なる用語は結晶形態で存在する抗体又はその抗原結合部分を意味する。結晶は物質の固体状態の 1 形態であり、アモルファス固体状態や液体結晶状態等の他の形態から区別される。結晶は原子、イオン、分子 (例えば抗体等の蛋白質)、又は分子集合体 (例えば抗原 / 抗体複合体) の規則的な反復三次元配列から構成される。これらの三次元配列は当分野で周知の特定の数学的關係に従って配置されている。結晶中で反復している基本単位ないし構成単位を非対称単位と言う。所定の明確な結晶対称性に一致する配置で非対称単位が反復することにより、結晶の「単位格子」を構成する。単位格子が全 3 方向に規則的変換により反復することにより、結晶を構成する。Giege and Ducruix (1999) Chapter 1, In Crystallization of Nucleic Acids and Proteins, a Practical Approach, 2nd ed., (Ducruix and Giege

40

50

e, eds.) (Oxford University Press, New York, 1999) pp. 1 - 16 参照。

【0102】

「ポリヌクレオチド」なる用語はリボヌクレオチドもしくはデオキシヌクレオチドのいずれか又はこれらのいずれかの型のヌクレオチドの修飾物の2個以上のヌクレオチドのポリマー形態を意味する。この用語は1本鎖形態と2本鎖形態のDNA又はRNAを含むが、1実施形態では2本鎖DNAである。

【0103】

「単離ポリヌクレオチド」なる用語は自然界で結合しているポリヌクレオチド、自然界で機能的に連結しているポリヌクレオチド、又はより長い配列の一部として自然界に存在するポリヌクレオチドの全部又は一部と結合していない(例えばゲノム、cDNAもしくは合成由来又はその組合せの)ポリヌクレオチドを意味する。

10

【0104】

「ベクター」なる用語はこれに連結した別の核酸を輸送することが可能な核酸分子を意味する。ベクターの1例は別のDNAセグメントをライゲーションすることができる環状2本鎖DNAループを意味する「プラスミド」である。ベクターの別の例は別のDNAセグメントをウイルスゲノムにライゲーションすることができるウイルスベクターである。所定のベクターはこれらのベクターを導入する宿主細胞で自律複製することができる(例えば細菌複製起点をもつ細菌ベクターやエピソーム哺乳動物ベクター)。他のベクター(例えば非エピソーム哺乳動物ベクター)も宿主細胞に導入後に宿主細胞のゲノムに組み込むことができ、宿主ゲノムと共に複製される。更に、所定のベクターはこれらのベクターを機能的に連結した遺伝子の発現を誘導することができる。このようなベクターを本願では「組換え発現ベクター」(又は単に「発現ベクター」と言う。一般に、組換えDNA技術で有用な発現ベクターはプラスミド形態であることが多い。プラスミドは最も広く使用されている形態のベクターであるので、本明細書では、「プラスミド」と「ベクター」を同義に使用する場合がある。しかし、本発明はウイルスベクター(例えば複製欠損型レトロウイルス、アデノウイルス及びアデノ随伴ウイルス)等の同等機能をもつこのような形態の発現ベクターも包含するものとする。

20

【0105】

「機能的に連結」なる用語は成分をその目的通りに機能できるように配置することを意味する。コーディング配列と「機能的に連結」された制御配列は制御配列に適合可能な条件下でコーディング配列の発現が達成されるようにライゲーションされている。「機能的に連結」された配列としては、目的遺伝子に隣接するように配置された発現制御配列と、イントランスで作用する発現制御配列、即ち目的核酸とは異なる核酸分子に配置されているが、目的核酸に対する制御機能を発揮する発現制御配列と、目的核酸と同一の核酸分子上ではあるが、目的核酸から所定の距離を隔てて配置された発現制御配列が挙げられる。「発現制御配列」なる用語はこの配列がライゲーションされたコーディング配列の発現とプロセッシングを行うために必要なポリヌクレオチド配列を意味する。発現制御配列としては、適切な転写開始配列、終結配列、プロモーター配列及びエンハンサー配列; 効率的なRNAプロセッシングシグナル(例えばスプライシングシグナルやポリアデニル化シグナル); 細胞質mRNAを安定化させる配列; 翻訳効率を向上させる配列(即ちコザックコンセンサス配列); 蛋白質安定性を増加する配列; 更には所望により、蛋白質分泌を増加する配列が挙げられる。このような制御配列の種類は宿主生物により異なり、原核生物では、このような制御配列としては一般にプロモーター、リボソーム結合部位及び転写終結配列が挙げられ、真核生物では、一般にこのような制御配列としてはプロモーターと転写終結配列が挙げられる。「制御配列」なる用語はその存在が発現とプロセッシングに必須である成分を包含するものとし、更に存在していると有利である別の成分(例えばリーダー配列や融合パートナー配列)も包含することができる。

30

40

【0106】

「形質転換」とは外来DNAが宿主細胞に導入される任意プロセスを意味する。形質転

50

換は外来核酸配列を例えば原核又は真核宿主細胞に挿入するために当分野で周知の各種方法を使用して天然又は人工条件下に実施することができる。方法は形質転換する宿主細胞に基づいて選択され、限定されないが、ウイルス感染、エレクトロポレーション、リポフェクション及び粒子撃ち込みが挙げられる。このような「形質転換」細胞としては、挿入されたDNAが自律複製プラスミド又は宿主染色体の一部として複製できる安定型形質転換細胞が挙げられる。更に、挿入されたDNA又はRNAを限定期間だけ一過的に発現する細胞も挙げられる。

【0107】

「組換え宿主細胞」（又は単に「宿主細胞」）なる用語は外来DNAが導入された細胞を意味する。当然のことながら、このような用語は特定対象細胞のみならず、このような細胞の子孫も意味する。後続世代には突然変異又は環境影響により所定の変異が生じる場合があるので、このような子孫は実際には親細胞と同一でない場合もあるが、「宿主細胞」なる用語の範囲に含まれる。1態様において、宿主細胞としては生物界の任意のものから選択される原核細胞と真核細胞が挙げられる。真核細胞としては原生生物細胞、真菌細胞、植物細胞及び動物細胞が挙げられる。別の実施形態において、宿主細胞としては限定されないが、原核細胞株である大腸菌；哺乳動物細胞株であるCHO、HEK293及びCOS；昆虫細胞株であるSf9；並びに真菌細胞であるサッカロミセス・セルビシエ（*Saccharomyces cerevisiae*）が挙げられる。

10

【0108】

組換えDNA、オリゴヌクレオチド合成、並びに組織培養及び形質転換（例えばエレクトロポレーション及びリポフェクション）には標準技術を使用することができる。酵素反応及び精製技術は製造業者の指示に従うか、当分野で広く実施されている方法に従うか、又は本願の記載に従って実施することができる。上記技術及び手順は当分野で周知の慣用方法に従い、本明細書の随所に引用及び説明する各種一般資料及び特定資料に記載されているように一般に実施することができる。例えばSambrook et al. *Molecular Cloning: A Laboratory Manual*, 2nd ed. (Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, New York 1989) 参照。

20

【0109】

「トランスジェニック生物」なる用語は細胞にトランスジーンを導入した生物を意味し、生物（又は生物の祖先）に導入されたトランスジーンはこの生物で天然には発現されないポリペプチドを発現する。「トランスジーン」はトランスジェニック生物の発生源である細胞のゲノムに安定的且つ機能的に組込まれ、トランスジェニック生物の1種以上の細胞種又は組織においてコードされる遺伝子産物の発現を誘導するDNA構築物である。

30

【0110】

「調節」及び「変調」なる用語は同義に使用し、目的分子の活性（例えばhIL-1の生物活性）の変更又は改変を意味する。変調は目的分子の所定活性又は機能の強さの増減とすることができる。分子の典型的な活性及び機能としては限定されないが、結合特性、酵素活性、細胞受容体活性化及びシグナル伝達が挙げられる。

40

【0111】

これに対応して、「モジュレーター」なる用語は目的分子の活性又は機能（例えばhIL-1の生物活性）を変更又は改変することが可能な化合物である。例えば、モジュレーターはモジュレーターの不在下で観察される活性又は機能の強さに比較して分子の所定活性又は機能の強さを増減させることができる。所定実施形態において、モジュレーターは分子の少なくとも1種の活性又は機能の強さを低下させる阻害剤である。典型的な阻害剤としては限定されないが、蛋白質、ペプチド、抗体、ペプチボディ、糖質又は有機小分子が挙げられる。ペプチボディは例えばPCT公開第WO01/83525号に記載されている。

【0112】

「アゴニスト」なる用語は目的分子と接触した場合に、アゴニストの不在下で観察され

50

る活性又は機能の強さに比較して分子の所定活性又は機能の強さを増加するモジュレーターを意味する。特定の目的アゴニストとしては限定されないが、IL-1 ポリペプチド又はhIL-1 と結合するポリペプチド、核酸、糖質もしくは他の任意分子が挙げられる。

【0113】

「アンタゴニスト」又は「阻害剤」なる用語は目的分子と接触した場合に、アンタゴニストの不在で観察される活性又は機能の強さに比較して分子の所定活性又は機能の強さを低下させるモジュレーターを意味する。アンタゴニストとしては、IL-1 の生物活性又は免疫活性を阻害又は変調させるものが挙げられる。IL-1 のアンタゴニスト及び阻害剤としては限定されないが、IL-1 と結合する蛋白質、核酸、糖質又は他の任意分子が挙げられる。

10

【0114】

「有効量」なる用語は障害又はその1種以上の症状の重篤度及び/又は持続期間を低減又は改善するため、障害の進行を予防するため、障害の軽減を誘導するため、障害に関連する1種以上の症状の再発、発現、発症又は進行を予防するため、障害を検出するため、あるいは別の療法(例えば予防剤又は治療剤)の予防又は治療効果を強化又は改善するために十分な療法の量を意味する。

【0115】

「サンプル」なる用語はその最も広義な意味で使用する。「生体サンプル」としては限定されないが、生体又はかつての生体に由来する任意量の物質が挙げられる。このような生体としては限定されないが、ヒト、マウス、ラット、サル、イヌ、ウサギ及び他の動物が挙げられる。このような物質としては限定されないが、血液、血清、尿、滑液、細胞、臓器、組織、骨髄、リンパ節及び脾臓が挙げられる。

20

【0116】

I. ヒトIL-1 と結合する抗体

本発明の1態様は高い親和性でIL-1 と結合し、オフ速度が低く、中和能が高い単離モノクローナル抗体又はその抗原結合部分を提供する。本発明の第2の態様はIL-1 と結合するキメラ抗体を提供する。本発明の第3の態様はIL-1 と結合するCDR移植抗体又はその抗原結合部分を提供する。本発明の第4の態様はIL-1 と結合するヒト化抗体又はその抗原結合部分を提供する。1実施形態において、抗体又はその部分は単離抗体である。1実施形態において、本発明の抗体は中和ヒト抗IL-1 抗体である。

30

【0117】

A. 抗IL-1 抗体の作製方法

本発明の抗体は当分野で公知の多数の技術の任意のものにより作製することができる。

【0118】

1. ハイブリドーマ技術を使用した抗IL-1 モノクローナル抗体

モノクローナル抗体はハイブリドーマ技術、組換え技術及びファージディスプレイ技術又はその組合せの使用を含む当分野で公知の多様な技術を使用して作製することができる。例えば、モノクローナル抗体は例えばHarlow and Lane, *Antibodies: A Laboratory Manual*, 2nd ed., (Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, 1988); Hammerling et al., eds., "Monoclonal Antibodies and T-Cell Hybridomas," In *Research Monographs in Immunology*, vol. 3 (J. L. Turk, General Editor) (Elsevier, N. Y., 1981) pp. 563-587に教示されている当分野で公知の技術等のハイブリドーマ技術を使用して産生させることができる。「モノクローナル抗体」なる用語はハイブリドーマ技術により産生される抗体に限定されない。「モノクローナル抗体」なる用語は任意真核、原核又はファージクローン等の単クローンに由来する抗体を意味し

40

50

、その産生方法に限定されない。

【0119】

ハイブリドーマ技術を使用した特定抗体の産生及びスクリーニング方法は当分野で常法であり、周知である。1実施形態において、本発明はモノクローナル抗体の作製方法と、本発明の抗体を分泌するハイブリドーマ細胞を培養する段階を含む方法により産生された抗体を提供し、前記ハイブリドーマは本発明の抗原を免疫したマウスから単離した脾細胞を骨髓腫細胞と融合した後に、本発明のポリペプチドと結合することが可能な抗体を分泌するハイブリドーマクローンについて融合から得られたハイブリドーマをスクリーニングすることにより作製される。要約すると、マウスにIL-1 抗原を免疫すればよい。特定実施形態では、免疫応答を刺激するためのアジュバントと共にIL-1 抗原を投与する。このようなアジュバントとしては完全もしくは不完全フロイントアジュバント、RIBI (ムラミルジペプチド) 又はISCOM (免疫刺激複合体) が挙げられる。このようなアジュバントはポリペプチドを局所堆積層に隔離することにより迅速分散を防ぐものでもよいし、マクロファージや免疫系の他の成分に対して化学走化性の因子を分泌するように宿主を刺激する物質を含有するものでもよい。1実施形態において、ポリペプチドを投与する場合には、免疫スケジュールは数週間にわたってポリペプチドを2回以上投与する。

10

【0120】

動物にIL-1 抗原を免疫後、動物から抗体及び/又は抗体産生細胞を採取することができる。動物から採血又は動物を屠殺することにより抗IL-1 抗体を含有する血清を採取する。血清は動物から採取したまま使用してもよいし、血清から免疫グロブリンフラクションを採取してもよいし、血清から抗IL-1 抗体を精製してもよい。こうして得られた血清又は免疫グロブリンはポリクローナルであるので、不均質な一連の特性をもつ。

20

【0121】

免疫応答が検出されたら(例えば抗原IL-1 に特異的な抗体がマウス血清中に検出されたら)マウス脾臓を抽出し、脾細胞を単離する。次に脾細胞を周知技術により任意の適切な骨髓腫細胞(例えばATCCから入手可能な細胞株SP20に由来する細胞)と融合する。ハイブリドーマを選択し、限界希釈法によりクローニングする。次に、IL-1 と結合することが可能な抗体を分泌する細胞についてハイブリドーマクローンを当分野で公知の方法によりアッセイする。陽性ハイブリドーマクローンをマウスに免疫することにより、一般に高濃度の抗体を含有する腹水を作製することができる。

30

【0122】

別の実施形態では、免疫した動物から抗体産生不死化ハイブリドーマを作製することができる。免疫後に動物を屠殺し、脾臓B細胞を当分野で周知のように不死化骨髓腫細胞と融合する。(例えばHarlow and Lane, 前出参照)。特定実施形態において、骨髓腫細胞は免疫グロブリンポリペプチドを分泌しない(非分泌型細胞株)。融合及び抗体選択後、IL-1 もしくはその一部又はIL-1 発現細胞を使用してハイブリドーマをスクリーニングする。特定実施形態では、酵素免疫測定法(ELISA)又は放射免疫測定法(RIA)を使用して初期スクリーニングを実施する。ELISAスクリーニング法の1例はPCT公開第WO00/37504号に記載されている。

40

【0123】

抗IL-1 抗体を産生するハイブリドーマを選択し、クローニングし、以下に詳述するように活発なハイブリドーマ増殖、高い抗体産生及び望ましい抗体特性を含む望ましい特性について更にスクリーニングする。ハイブリドーマを培養し、同系動物、免疫系を欠損する動物(例えばヌードマウス)でインビボ増殖させるか、あるいは細胞培養でインビトロ増殖させる。ハイブリドーマの選択、クローニング及び増殖方法は当業者に周知である。

【0124】

1実施形態において、ハイブリドーマはマウスハイブリドーマである。別の実施形態に

50

において、ハイブリドーマは非ヒト非マウス種（例えばラット、ヒツジ、ブタ、ヤギ、ウシ又はウマ）で産生される。更に別の実施形態において、ハイブリドーマは抗IL-1抗体を発現するヒト細胞にヒト非分泌型骨髓腫を融合したヒトハイブリドーマである。

【0125】

特定エピトープを認識する抗体フラグメントは公知技術により作製することができる。例えば、本発明のFab及びF(ab')₂フラグメントは(Fabフラグメントを作製するためには)パパン又は(F(ab')₂フラグメントを作製するためには)ペプシン等の酵素を使用して免疫グロブリン分子の蛋白質分解開裂により作製することができる。F(ab')₂フラグメントは可変領域と、軽鎖定常領域と、重鎖のCH1ドメインを含む。

10

【0126】

2. SLAMを使用した抗IL-1モノクローナル抗体

本発明の別の態様では、米国特許第5,627,052号、PCT公開第WO92/02551号及びBabcock et al. (1996) Proc. Natl. Acad. Sci. USA 93:7843-7848に記載されているように、選択的リンパ球抗体法(SLAM)と当分野で呼ばれる手順を使用して単一単離リンパ球から組換え抗体を作製する。この方法では、抗原特異的溶血ブランクアッセイを使用して目的抗体を分泌する単一細胞(例えば免疫動物に由来するリンパ球)をスクリーニングし、リンカー(例えばビオチン)を使用して抗原IL-1又はそのフラグメントをヒツジ赤血球と共役し、これを使用してIL-1に対して特異性の抗体を分泌する単一細胞を同定する。目的の抗体分泌細胞の同定後、重鎖及び軽鎖可変領域cDNAを逆転写酵素-PCRにより細胞からレスキューした後、これらの可変領域をCOS又はCHO細胞等の哺乳動物宿主細胞で適切な免疫グロブリン定常領域(例えばヒト定常領域)のコンテキストにおいて発現させることができる。インビボ選択したリンパ球に由来する増幅免疫グロブリン配列をトランスフェクトした宿主細胞をその後、例えばトランスフェクトした細胞をパニングすることにより更にインビトロ解析及び選択し、IL-1に対する抗体を発現する細胞を単離することができる。増幅した免疫グロブリン配列をPCT公開第WO97/29131号及びWO00/56772号に記載されている方法等のインビトロ親和性成熟法等により更にインビトロ操作することができる。

20

【0127】

3. トランスジェニック動物を使用した抗IL-1モノクローナル抗体

本発明の別の実施形態では、ヒト免疫グロブリン遺伝子座の一部又は全部を含む非ヒト動物にIL-1抗原を免疫することにより抗体を産生させる。1実施形態において、非ヒト動物はヒト免疫グロブリン遺伝子座の大きなフラグメントを含み且つマウス抗体産生を欠損する遺伝子組換えマウス系列であるXENOMOUSE(登録商標)トランスジェニックマウスである。例えば、Green et al. (1994) Nature Genet. 7:1321並びに米国特許第5,916,771号;5,939,598号;5,985,615号;5,998,209号;6,075,181号;6,091,001号;6,114,598号及び6,130,364号参照。更にPCT公開第WO91/10741号;WO94/02602号;WO96/34096号;WO96/33735号;WO98/16654号;WO98/24893号;WO98/50433号;WO99/45031号;WO99/53049号;WO00/09560号;及びWO00/37504号も参照。XENOMOUSE(登録商標)トランスジェニックマウスは完全ヒト抗体の成人様ヒトレパートリーを産生し、抗原特異的ヒトモノクローナル抗体を産生する。XENOMOUSE(登録商標)トランスジェニックマウスはヒト重鎖遺伝子座と軽鎖遺伝子座のメガベースサイズの生殖細胞系列構成YACフラグメントの導入によりヒト抗体レパートリーの約80%を含む。Mendez et al. (1997) Nature Genet. 15:146-156及びGreen and Jakobovits (1998) J. Exp. Med. 188:483-495参照。

30

40

50

【0128】

4. 組換え抗体ライブラリーを使用した抗IL-1モノクローナル抗体

抗体ライブラリーをスクリーニングして所望の結合特異性をもつ抗体を同定するインビトロ法を使用して本発明の抗体を作製することもできる。組換え抗体ライブラリーのこのようなスクリーニング方法は当分野で周知であり、例えば米国特許第5,223,409号; PCT公開第WO92/18619号、WO91/17271号、WO92/20791号、WO92/15679号、WO93/01288号、WO92/01047号、WO92/09690号、WO97/29131号; Fuchs et al. (1991) Bio/Technology 9:1369-1372; Hay et al. (1992) Hum. Antibod. Hybridomas 3:81-85; Huse et al. (1989) Science 246:1275-1281; McCafferty et al. (1990) Nature 348:552-554; Griffiths et al. (1993) EMBO J. 12:725-734; Hawkins et al. (1992) J. Mol. Biol. 226:889-896; Clackson et al. (1991) Nature 352:624-628; Gram et al. (1992) Proc. Natl. Acad. Sci. USA 89:3576-3580; Garrard et al. (1991) Bio/Technology 9:1373-1377; Hoogenboom et al. (1991) Nucl. Acids Res. 19:4133-4137; Barbas et al. (1991) Proc. Natl. Acad. Sci. USA 88:7978-7982 及び米国特許公開第2003/0186374号に記載されている方法が挙げられる。

【0129】

組換え抗体ライブラリーはIL-1又はIL-1の一部を免疫した対象に由来することができる。あるいは、組換え抗体ライブラリーはナイーブ対象、即ちIL-1を免疫していない対象に由来するもの(例えばヒトIL-1を免疫していないヒト対象に由来するヒト抗体ライブラリー)でもよい。ヒトIL-1を含むペプチドで組換え抗体ライブラリーをスクリーニングし、IL-1を認識する抗体を選択することにより本発明の抗体を選択する。このようなスクリーニング及び選択を実施するための方法は前段落に挙げた資料に記載されているように当分野で周知である。hIL-1に対する特定の結合親和性をもつ本発明の抗体(例えば特定の k_{off} 速度定数でヒトIL-1から解離する抗体)を選択するためには、当分野で公知の表面プラズモン共鳴法を使用して所望の k_{off} 速度定数をもつ抗体を選択することができる。hIL-1に対する特定の中和活性をもつ本発明の抗体(例えば特定のIC₅₀をもつ抗体)を選択するためには、hIL-1活性の阻害を判定するための当分野で公知の標準方法を使用することができる。

【0130】

1態様において、本発明はヒトIL-1と結合する単離抗体又はその抗原結合部分に関する。特定実施形態において、抗体は中和抗体である。各種実施形態において、抗体は組換え抗体又はモノクローナル抗体である。

【0131】

例えば、本発明の抗体は当分野で公知の各種ファージディスプレイ法を使用して作製することもできる。ファージディスプレイ法では、機能的抗体ドメインをコードするポリヌクレオチド配列を保持するファージ粒子表面にこれらのドメインを提示させる。特に、このようなファージを利用してレパートリー又はコンビナトリアル抗体ライブラリー(例えばヒト又はマウス)から発現される抗原結合ドメインを提示させることができる。抗原(例えば標識抗原又は固体表面もしくはビーズに固定化もしくは捕捉した抗原)を使用して、目的抗原と結合する抗原結合ドメインを発現するファージを選択又は同定することができる。これらの方法で使用されるファージは典型的にはファージ遺伝子III又は遺伝子VII蛋白質と組換え融合したFab、Fv又はジスルフィド安定化Fv抗体ドメインをもつファージから発現されるfd及びM13結合ドメインを含む線維状ファージである

。本発明の抗体を作製するために使用することができるファージディスプレイ法の例としては、Brinkmann et al. (1995) J. Immunol. Methods 182: 41 - 50; Ames et al. (1995) J. Immunol. Methods 184: 177 - 186; Kettleborough et al. (1994) Eur. J. Immunol. 24: 952 - 958; Persic et al. (1997) Gene 187 9 - 18; Burton et al. (1994) Adv. Immunol. 57: 191 - 280; PCT出願第PCT/GB91/01134号; PCT公開第WO90/02809号; WO91/10737号; WO92/01047号; WO92/18619号; WO93/11236号; WO95/15982号; WO95/20401号; 並びに米国特許第5,698,426号; 5,223,409号; 5,403,484号; 5,580,717号; 5,427,908号; 5,750,753号; 5,821,047号; 5,571,698号; 5,427,908号; 5,516,637号; 5,780,225号; 5,658,727号; 5,733,743号及び5,969,108号に開示されている方法が挙げられる。

10

【0132】

ファージ選択後、ファージに由来する抗体コーディグ領域を単離し、これを使用してヒト抗体又は他の任意の所望抗原結合フラグメントを含む全長抗体を作製し、例えば本願に詳述するように、哺乳動物細胞、昆虫細胞、植物細胞、酵母及び細菌等の任意の所望宿主で発現させることができる。例えば、PCT公開第WO92/22324号; Mullinax et al. (1992) BioTechniques 12(6): 864 - 869; Sawai et al. (1995) Am. J. Reprod. Immunol. 34: 26 - 34; 及びBetter et al. (1988) Science 240: 1041 - 1043に開示されている方法等の当分野で公知の方法を使用してFab、Fab'及びF(ab')₂フラグメントを組換え作製するための技術を利用することもできる。1本鎖Fv及び抗体を作製するために使用することができる技術の例としては、米国特許第4,946,778号及び5,258,498号; Huston et al. (1991) Methods Enzymol. 203: 46 - 88; Shu et al. (1993) Proc. Natl. Acad. Sci. USA 90: 7995 - 7999; 並びにSkerra et al. (1988) Science 240: 1038 - 1041に記載されている技術が挙げられる。

20

30

【0133】

ファージディスプレイ法により組換え抗体ライブラリーをスクリーニングする代わりに、大規模コンビナトリアルライブラリーをスクリーニングするための当分野で公知の他の方法を本発明の二重特異性抗体の同定に適用することもできる。代替発現システムの1例はPCT公開第WO98/31700号及びRoberts and Szostak (1997) Proc. Natl. Acad. Sci. USA 94: 12297 - 12302に記載されているように、組換え抗体ライブラリーをRNA-蛋白質融合体として発現させるシステムである。このシステムでは、ペプチドアクセプター抗生物質であるピュロマイシンをその3'末端に付加した合成mRNAのインビトロ翻訳により、mRNAとこのmRNAによりコードされるペプチド又は蛋白質の共有結合的融合体を形成する。従って、コードされるペプチド又は蛋白質(例えば抗体又はその部分)の特性(例えば二重特異性抗原と抗体又はその部分の結合)に基づいてmRNAの複雑な混合物(例えばコンビナトリアルライブラリー)から特定mRNAを集積させることができる。このようなライブラリーのスクリーニングから回収された抗体又はその部分をコードする核酸配列を上記のような組換え手段により(例えば哺乳動物宿主細胞で)発現させることができ、更に、最初に選択した配列に突然変異を導入したmRNA-ペプチド融合体のスクリーニンググラウンドの追加又は上記のような組換え抗体の他のインビトロ親和性成熟法により更に親和性成熟させることができる。

40

【0134】

別のアプローチでは、当分野で公知の酵母ディスプレイ法を使用して本発明の抗体を作

50

製することもできる。酵母ディスプレイ法では、遺伝子法を使用して抗体ドメインを酵母細胞壁に結合した後に酵母表面に提示させる。特に、このような酵母はレパトリー又はコンビナトリアル抗体ライブラリー（例えばヒト又はマウス）から発現される抗原結合ドメインを提示させるために利用することができる。本発明の抗体を作製するために使用することができる酵母ディスプレイ法の例としては、米国特許第6,699,658号に開示されている方法が挙げられる。

【0135】

B. 組換えIL-1 抗体の産生

本発明の抗体は当分野で公知の多数の技術の任意のものにより産生させることができる。例えば、重鎖と軽鎖をコードする発現ベクターを標準技術により宿主にトランスフェクトして宿主細胞から発現させる。「トランスフェクション」なる用語の各種語形は原核又は真核宿主細胞に外来DNAを導入するために広く使用されている多様な技術（例えばエレクトロポレーション、リン酸カルシウム共沈法、DEAE-デキストラントランスフェクション等）を包含するものとする。原核宿主細胞でも真核宿主細胞でも本発明の抗体を発現させることができるが、真核細胞（特に哺乳動物細胞）のほうが原核細胞よりも正しく折り畳まれた免疫学的に活性な抗体を組立・分泌し易いので、真核細胞で抗体を発現させることが好ましく、哺乳動物宿主細胞で発現させることが最も好ましい。

【0136】

本発明の組換え抗体を発現させるための典型的な哺乳動物宿主細胞としては、チャインーズハムスター卵巣（CHO細胞）（例えばKaufman and Sharp (1982) J. Mol. Biol. 159: 601-621に記載されているようなDHFR選択マーカーと併用されるUrlaub and Chasin, (1980) Proc. Natl. Acad. Sci. USA 77: 4216-4220に記載のdhfr-CHO細胞を含む）、NS0骨髓腫細胞、COS細胞及びSP2細胞が挙げられる。抗体遺伝子をコードする組換え発現ベクターを哺乳動物宿主細胞に導入する場合には、宿主細胞で抗体を発現させるため、又は宿主細胞を増殖させる培養培地中に抗体を分泌させるために十分な時間にわたって宿主細胞を培養することにより抗体を産生させる。標準蛋白質精製法を使用して培養培地から抗体を回収することができる。

【0137】

FabフラグメントやscFv分子等の機能的抗体フラグメントを作製するために宿主細胞を使用することもできる。当然のことながら、上記手順の変法も本発明の範囲に含まれる。例えば、本発明の抗体の軽鎖及び/又は重鎖の機能的フラグメントをコードするDNAを宿主細胞にトランスフェクトすることが望ましい場合がある。目的抗原との結合に不要な軽鎖及び重鎖の一方又は両方をコードするDNAの一部又は全部を除去するために組換えDNA技術を使用してもよい。このような短縮型DNA分子から発現される分子も本発明の抗体に含まれる。更に、標準化学架橋法により本発明の抗体を第2の抗体に架橋することにより、一方の重鎖と一方の軽鎖が本発明の抗体であり、他方の重鎖と軽鎖が他のヒトIL-1 抗原に特異的である二機能性抗体を作製することもできる。

【0138】

本発明の抗体又はその抗原結合部分の特定の組換え発現システムでは、抗体重鎖と抗体軽鎖の両者をコードする組換え発現ベクターをリン酸カルシウムトランスフェクションによりdhfr-CHO細胞に導入する。組換え発現ベクター内で、抗体重鎖及び軽鎖遺伝子は遺伝子の高レベル転写を誘導するように各々CMVエンハンサー/AdMLPプロモーター調節エレメントと機能的に連結されている。組換え発現ベクターは更に、メトトレキサート選択/増幅を使用してベクターをトランスフェクトしたCHO細胞の選択を可能にするDHFR遺伝子を保持する。選択された形質転換宿主細胞を培養し、抗体重鎖及び軽鎖を発現させ、無傷の抗体を培養培地から回収する。標準分子生物学技術を使用して組換え発現ベクターを作製し、宿主細胞にトランスフェクトし、形質転換細胞を選択し、宿主細胞を培養し、培養培地から抗体を回収する。更に、本発明は本発明の組換え抗体が合成されるまで適切な培養培地で本発明の宿主細胞を培養することにより本発明の組換え抗

10

20

30

40

50

体を合成する方法を提供する。本方法は更に培養培地から組換え抗体を単離する段階を含むことができる。

【0139】

1. 抗IL-1 抗体

表5は本発明のマウス抗hIL-1 モノクローナル抗体(mAb)のVH領域とVL領域のアミノ酸配列を示す。

【0140】

【表5】

表5: マウス抗ヒト IL-1β のVH領域とVL領域のアミノ酸配列

配列番号	蛋白質領域	アミノ酸配列 123456789012345678901234567890
26	1B12.4H4 VH	QVHLKESGPGLVAPSQSLSTCTVSGFSLT DYGVS WIRQPPGKLEWL G LIWGGGDTYYN S PLKSRLSIRKDNSKSOVFLKMNSLQDDT AVYYCAK Q RTLWGYD L YGM D YWGQTSVTV SS
27	1B12.4H4 VL	ETTVTQSPASLSMAIGKVTIRC I T S T D ID V DMN W Y Q Q K PGEP P KL L IS Q GN T LR P GVPS RFSSSGSGTDFVFIENMLSE D VADYY C L Q S DN L PL T FGAGTKLE L K

10

20

【0141】

2. 抗IL-1 キメラ抗体

キメラ抗体は抗体の異なる部分が異なる動物種に由来する分子であり、例えばマウスモノクローナル抗体に由来する可変領域とヒト免疫グロブリン定常領域をもつ抗体が挙げられる。キメラ抗体の作製方法は当分野で公知であり、下記実施例に記載する。例えば、Morrisson (1985) Science 229: 1202-1207; Oiet al. (1986) BioTechniques 4: 214-221; Gillies et al. (1989) J. Immunol. Methods 125: 191-202; 並びに米国特許第5,807,715号; 4,816,567号; 及び4,816,397号参照。更に、適切な抗原特異性のマウス抗体分子に由来する遺伝子を適切な生物活性のヒト抗体分子に由来する遺伝子とスプライシングすることにより「キメラ抗体」を作製するために開発された技術も使用できる (Morrisson et al. (1984) Proc. Natl. Acad. Sci. USA 81: 6851-6855; Neuberger et al. (1984) Nature 312: 604-608; 及びTakeda et al. (1985) Nature 314: 452-454)。

30

【0142】

3. 抗IL-1 CDR移植抗体

本発明のCDR移植抗体はヒト抗体に由来する重鎖及び軽鎖可変領域配列を含み、VH及び/又はVLのCDR領域の1個以上が本発明のマウス抗体のCDR配列で置換されている。任意ヒト抗体に由来するフレームワーク配列をCDR移植の鑄型として使用することができる。しかし、このようなフレームワークに直接鎖置換すると、抗原に対する結合親和性が多少低下することが多い。元のマウス抗体に対するヒト抗体の相同性が高いほど、マウスCDRとヒトフレームワークの結合によりCDRに歪みが導入されて親和性が低下する可能性は低くなる。従って、1実施形態において、CDR以外のマウス可変領域フレームワークに置換するために選択されるヒト可変領域フレームワークはマウス抗体可変領域フレームワークに対して少なくとも約65%、少なくとも約70%、少なくとも約75%、少なくとも約80%、少なくとも約85%、少なくとも約90%、少なくとも約95%、約100%の配列一致度をもつ。CDR移植抗体の作製方法は当分野で公知であり

40

50

、実施例にはこのようなCDR移植抗体のヒト化と共に詳細に記載しており（EP特許第EP 0 239 400号；PCT公開第WO91/09967号；米国特許第5,225,539号；5,530,101号；及び5,585,089号も参照）、更にベニリング又はリサーフェシング（EP特許第EP 0 592 106号及びEP 0 519 596号；Padlan(1991)Mol.Immunol.28(4/5):489-498；Studnicka et al.(1994)Protein Eng.7(6):805-814；Roguska et al.(1994)Proc.Natl.Acad.Sci.USA 91:969-973）やチェーンシャフリング（米国特許第5,565,352号）も記載されている。

【0143】

4. 抗IL-1 ヒト化抗体

ヒト化抗体は非ヒト種に由来する1個以上の相補性決定領域（CDR）とヒト免疫グロブリン分子に由来するフレームワーク領域をもつ抗体分子である。公知ヒトIg配列は例えばwww.ncbi.nlm.nih.gov/entrez-/query.fcgi；www.atcc.org/phage/hdb.html；www.sciquest.com/；www.abcam.com/；www.antibodyresource.com/onlinecomp.html；www.public.iastate.edu/.about.pedro/research_tools.html；www.mgen.uni-heidelberg.de/SD/IT/IT.html；www.whfreeman.com/immunology/CH-05/kuby05.htm；www.library.thinkquest.org/12429/Immune/Antibody.html；www.hhmi.org/grants/lectures/1996/vlab/；www.path.cam.ac.uk/.about.mrc7/m-ikeimages.html；www.antibodyresource.com/；mcb.harvard.edu/BioLinks/Immuno-logy.html. www.immunologylink.com/；pathbox.wustl.edu/.about.hcenter/index.html；www.biotech.ufl.edu/.about.hcl/；www.pebio.com/pa/340913/340913.html-；www.nal.usda.gov/awic/pubs/antibody/；www.mehime-u.ac.jp/.about.yasuhito-/Elisa.html；www.biodesign.com/table.asp；www.icnet.uk/axp/facs/davies/links.html；www.biotech.ufl.edu/.about.fccl/protocol.html；www.isac-net.org/sites__geo.html；aximtl.imt.uni-marburg.de/.about.rek/AEP-Start.html；baserv.uci.kun.nl/.about.jraats/links1.html；www.recab.uni-hd.de/immuno.bme.nwu.edu/；www.mrc-cpe.cam.ac.uk/imt-doc/public/INTRO.html；www.ibt.unam.mx/vir/V_mice.html；imgt.cnusc.fr:8104/；www.biochem.ucl.ac.uk/.about.martin/abs/index.html；antibody.bath.ac.uk/；abgen.cvm.tamu.edu/lab/wwwabgen.html；www.unizh.ch/.about.honegger/AHOseminar/Slide01.html；www.cryst.bbk.ac.uk/.about.ubcg07s/；www.nimr.mrc.ac.uk/CC/ccaewg/ccaewg.htm；www.path.cam.ac.uk/.about.mrc7/h-humanisation/TAHHP.html；www.ibt.unam.mx/vir/structure/stat__aim.html；www.biosci.missouri.edu/smithgp/index.

10

20

30

40

50

html;www.cryst.bioc.cam.ac.uk/.abo-ut.fm
 olina/Web-pages/Pept/spottech.html;www.j
 erini.de/fr/products.htm;www.patents.ibm.
 com/ibm.html.Kabat et al., Sequences of P
 roteins of Immunological Interest, U.S. De
 pt. Health (1983)に開示されている。このようなインポート配列を使用し
 て免疫原性を低下させたり、結合、親和性、オン速度、オフ速度、アビディティ、特異性
 、半減期、又は当分野で公知の他の適切な任意特性を低下、増加又は改変することができ
 る。

【0144】

抗原結合を改変、例えば改善するためには、ヒトフレームワーク領域のフレームワーク
 残基をCDRドナー抗体に由来する対応する残基で置換すればよい。これらのフレームワ
 ーク置換は当分野で周知の方法により同定され、例えば抗原結合に重要なフレームワーク
 残基を同定するにはCDR残基とフレームワーク残基の相互作用のモデル化を使用し、特
 定位置の異常なフレームワーク残基を同定するには配列比較を使用する。(例えば米国特
 許第5,585,089号及びRiechmann et al.(1988) Nature 332:323-327参照)。三次元免疫グロブリンモデルは広く入手可能であ
 り、当業者に周知である。選択された候補免疫グロブリン配列の推定三次元配座構造を
 図解表示するコンピュータプログラムも入手可能である。これらの表示を精査すると、候
 補免疫グロブリン配列の機能に残基が果たす可能性のある役割を分析することができ、
 即ち候補免疫グロブリンがその抗原と結合する能力に影響を与える残基を分析することが
 できる。こうして、標的抗原に対する親和性の増加等の所望抗体特性が得られるようにコン
 センサ配列とインポート配列からFR残基を選択し、組み合わせることができる。一般
 に、CDR残基は抗原結合への影響に直接且つ最も実質的に関与している。当分野で公知
 の各種技術を使用して抗体をヒト化することができ、限定されないが、Jones et
 al.(1986) Nature 321:522-525; Verhoeyen et
 al.(1988) Science 239:1534-1536; Sims et
 al.(1993) J. Immunol. 151:2296-2308; Chothia
 and Lesk(1987) J. Mol. Biol. 196:901-917; C
 arter et al.(1992) Proc. Natl. Acad. Sci. USA
 89:4285-4289; Presta et al.(1993) J. Immun
 ol. 151:2623-2632; Padlan(1991) Mol. Immunol
 . 28(4/5):489-498; Studnicka et al.(1994) P
 rotein Eng. 7(6):805-814; Roguska et al.(1
 994) Proc. Natl. Acad. Sci. USA 91:969-973; P
 C
 T公開第WO91/09967号、WO99/06834号(PCT/US98/162
 80)、WO97/20032号(PCT/US96/18978)、WO92/112
 72号(PCT/US91/09630)、WO92/03461号(PCT/US91
 /05939)、WO94/18219号(PCT/US94/01234)、WO92
 /01047号(PCT/GB91/01134)、WO93/06213号(PCT/
 GB92/01755)、WO90/14443号、WO90/14424号及びWO9
 0/14430号;ヨーロッパ公開第EP 0592106号、EP 0519596号
 及びEP 0239400号;米国特許第5,565,332号;5,723,323号
 ;5,976,862号;5,824,514号;5,817,483号;5,814,
 476号;5,763,192号;5,723,323号;5,766,886号;5,
 714,352号;6,204,023号;6,180,370号;5,693,762
 号;5,530,101号;5,585,089号;5,225,539号;及び4,8
 16,567号に記載されている技術が挙げられる。

【0145】

C. 抗体産生及び抗体産生細胞株

10

20

30

40

50

1実施形態において、本発明の抗IL-1抗体は例えば当分野で公知の数種のインビトロ及びインビボアッセイのいずれか1種により判定した場合に、IL-1活性を低下又は中和させる高い能力を示す。1実施形態において、本発明の抗IL-1抗体は更にIL-1活性を低下又は中和させる高い能力を示す。

【0146】

特定実施形態において、単離抗体又はその抗原結合部分はヒトIL-1と結合し、前記抗体又はその抗原結合部分は表面プラズモン共鳴法により測定した場合に約 0.1 s^{-1} 以下の k_{off} 速度定数でヒトIL-1から解離するか、又は約 $1 \times 10^{-6} \text{ M}$ 以下の IC_{50} でヒトIL-1活性を阻害する。あるいは、抗体又はその抗原結合部分は表面プラズモン共鳴法により測定した場合に約 $1 \times 10^{-2} \text{ s}^{-1}$ 以下の k_{off} 速度定数でヒトIL-1から解離することができるか、又は約 $1 \times 10^{-7} \text{ M}$ 以下の IC_{50} でヒトIL-1活性を阻害することができる。あるいは、抗体又はその抗原結合部分は表面プラズモン共鳴法により測定した場合に約 $1 \times 10^{-3} \text{ s}^{-1}$ 以下の k_{off} 速度定数でヒトIL-1から解離することができるか、又は約 $1 \times 10^{-8} \text{ M}$ 以下の IC_{50} でヒトIL-1を阻害することができる。あるいは、抗体又はその抗原結合部分は表面プラズモン共鳴法により測定した場合に約 $1 \times 10^{-4} \text{ s}^{-1}$ 以下の k_{off} 速度定数でヒトIL-1から解離することができるか、又は約 $1 \times 10^{-9} \text{ M}$ 以下の IC_{50} でIL-1活性を阻害することができる。あるいは、抗体又はその抗原結合部分は表面プラズモン共鳴法により測定した場合に約 $1 \times 10^{-5} \text{ s}^{-1}$ 以下の k_{off} 速度定数でヒトIL-1から解離することができるか、又は約 $1 \times 10^{-10} \text{ M}$ 以下の IC_{50} でIL-1活性を阻害することができる。あるいは、抗体又はその抗原結合部分は表面プラズモン共鳴法により測定した場合に約 $1 \times 10^{-5} \text{ s}^{-1}$ 以下の k_{off} 速度定数でヒトIL-1から解離することができるか、又は約 $1 \times 10^{-11} \text{ M}$ 以下の IC_{50} でヒトIL-1活性を阻害することができる。

10

20

30

40

50

【0147】

所定実施形態において、抗体はIgG1、IgG2、IgG3、IgG4、IgA、IgE、IgM又はIgD定常領域等の重鎖定常領域を含む。1実施形態において、重鎖定常領域はIgG1重鎖定常領域又はIgG4重鎖定常領域である。更に、抗体は軽鎖定常領域又は軽鎖定常領域のいずれかである軽鎖定常領域を含むことができる。1実施形態において、抗体は軽鎖定常領域を含む。あるいは、抗原結合部分は例えばFabフラグメント又は1本鎖Fvフラグメントとすることができる。

【0148】

抗体エフェクター機能を改変するためにFc部分のアミノ酸残基を置換することは当分野で公知である(米国特許第5,648,260号及び5,624,821号)。抗体のFc部分は数種の重要なエフェクター機能(例えばサイトカイン誘導、抗体依存性細胞介在性細胞傷害作用(ADCC)、貪食作用、補体依存性細胞傷害作用(CDC)及び抗体と抗原-抗体複合体の半減期/クリアランス率)を提供する。これらのエフェクター機能は治療目的に応じて治療用抗体に望ましい場合もあるが、不要又は有害な場合もある。所定のヒトIgGアイソタイプ、特にIgG1及びIgG3は夫々FcR及び補体C1qとの結合を介してADCC及びCDCを提供する。新生児型Fc受容体(FcRn)は抗体の循環半減期を決定する必須成分である。更に別の実施形態では、抗体のエフェクター機能を改変するように、抗体の定常領域(例えば抗体のFc領域)の少なくとも1個のアミノ酸を置換する。

【0149】

1実施形態は本発明の抗体又はその抗原結合部分を誘導体化又は別の機能的分子(例えば別のペプチド又は蛋白質)と結合した標識結合蛋白質を提供する。例えば、別の抗体(例えば二特異性抗体又はダイアボディ)、検出可能な物質、細胞傷害性物質、薬剤、及び/又は抗体もしくはその抗原結合部分と別の分子(例えばストレプトアビジンコア領域又はポリヒスチジンタグ)との結合を媒介することができる蛋白質もしくはペプチド等の1個以上の他の分子種と本発明の抗体又はその抗原結合部分を(化学的カップリング、遺伝

子融合、非共有結合又は他の方法により) 機能的に連結することにより、本発明の標識結合蛋白質を誘導することができる。

【0150】

本発明の抗体又はその抗原結合部分を誘導体化することができる有用な検出可能な物質としては蛍光化合物が挙げられる。典型的な検出可能な蛍光物質としてはフルオレセイン、イソチオシアン酸フルオレセイン、ローダミン、5-ジメチルアミン-1-ナフタレンスルホニルクロリド、フィコエリスリン等が挙げられる。アルカリホスファターゼ、西洋ワサビペルオキシダーゼ、グルコースオキシダーゼ等の検出可能な酵素で抗体を誘導体化することもできる。検出可能な酵素で抗体を誘導体化する場合には、検出可能な反応生成物を生成するために酵素により使用される他の試薬を加えることにより検出する。例えば、検出可能な物質として西洋ワサビペルオキシダーゼを使用する場合には、過酸化水素とジアミノベンジジンを加えると、検出可能な着色反応生成物が得られる。抗体をビオチンで誘導体化し、アビジン又はストレプトアビジン結合の間接測定により検出することもできる。

10

【0151】

本発明の別の実施形態は結晶化結合蛋白質を提供する。1実施形態において、本発明は本願に開示する全長抗IL-1抗体及びそのフラグメントの結晶と、前記結晶を含有する製剤及び組成物に関する。1実施形態において、結晶化結合蛋白質は結合蛋白質の可溶性対応物よりもインビボ半減期が長い。別の実施形態において、結合蛋白質は結晶化後に生物活性を保持する。

20

【0152】

本発明の結晶化結合蛋白質は当分野で公知の方法に従い、PCT公開第WO02/72636号に開示されているように作製することができる。

【0153】

本発明の別の実施形態は抗体又はその抗原結合部分が1個以上の糖質残基を含むグリコシル化結合蛋白質を提供する。初期インビボ蛋白質産生は更に翻訳後修飾と呼ばれるプロセッシングを受ける場合がある。特に、糖質(グリコシル)残基が酵素により付加される場合があり、このプロセスをグリコシル化と言う。その結果として得られる蛋白質は共有結合したオリゴ糖側鎖をもち、グリコシル化蛋白質又は糖蛋白質と呼ばれる。蛋白質グリコシル化は目的蛋白質のアミノ酸配列と、蛋白質が発現される宿主細胞に依存する。生物によって異なるグリコシル化酵素(例えばグリコシルトランスフェラーゼやグリコシダーゼ)が産生され、利用可能な基質(例えばヌクレオチド糖)も異なる。このような因子により、蛋白質グリコシル化パターンとグリコシル残基の組成は特定蛋白質が発現される宿主系により異なる。本発明で有用なグリコシル残基としては限定されないが、グルコース、ガラクトース、マンノース、フコース、n-アセチルグルコサミン及びシアル酸が挙げられる。1実施形態において、グリコシル化結合蛋白質はグリコシル化パターンがヒトであるようなグリコシル残基を含む。

30

【0154】

蛋白質グリコシル化の相違の結果、蛋白質特性が相違することは当業者に知られている。例えば、酵母等の微生物宿主で産生され、酵母内在経路を利用してグリコシル化された治療用蛋白質の効力はCHO細胞株等の哺乳動物細胞で発現される同一蛋白質の効力よりも低いと思われる。このような糖蛋白質はヒトでも免疫原性の可能性があり、投与後のインビボ半減期が短いと思われる。ヒト及び他の動物における特定受容体は特定グリコシル残基を認識し、血流からの蛋白質の迅速なクリアランスを促進する場合がある。他の有害な作用としては、蛋白質フォールディング、溶解度、プロテアーゼ感受性、トラフィッキング、輸送、区画化、分泌、他の蛋白質もしくは因子による認識、抗原性又はアレルゲン性の変化が挙げられる。従って、医師は特定のグリコシル化組成及びパターン(例えばヒト細胞又は所期対象動物の種特異的細胞で産生されるものと同一又は少なくとも同様のグリコシル化組成及びパターン)をもつ治療用蛋白質を選択すると思われる。

40

【0155】

50

異種グリコシル化酵素を発現するように宿主細胞を遺伝子改変することにより、宿主細胞と異なるグリコシル化蛋白質を発現させることができる。当分野で公知の技術を使用して医師はヒト蛋白質グリコシル化を示す抗体又はその抗原結合部分を作製することができる。例えば、酵母株で産生されるグリコシル化蛋白質（糖蛋白質）が動物細胞、特にヒト細胞と同一の蛋白質グリコシル化を示すように、非天然グリコシル化酵素を発現するように酵母株が遺伝子改変されている（米国特許第7,449,308号及び7,029,872号）。

【0156】

更に、当業者に自明の通り、ライブラリーのメンバー宿主細胞が変異グリコシル化パターンをもつ目的蛋白質を産生するように、各種グリコシル化酵素を発現するように遺伝子改変した宿主細胞ライブラリーを使用して目的蛋白質を発現させることもできる。その後、医師は特定の新規グリコシル化パターンをもつ目的蛋白質を選択・単離することができる。1実施形態において、特に選択された新規グリコシル化パターンをもつ蛋白質は生物学的性質が改善又は改変されている。

10

【0157】

D. 抗IL-1 抗体の使用

本発明の結合抗体（例えば抗IL-1 抗体）及びその抗原結合部分はヒトIL-1 と結合することができるので、当分野で入手可能な多様な抗体系免疫検出システムの任意のものを使用して（例えば全血、血清、血漿、尿、唾液、組織サンプル等の生体サンプル中で）IL-1 を検出するために使用することができる。このような免疫検出システムとしては、限定されないが、免疫沈降法、イムプロットイング（ウェスタンブロット）、酵素免疫測定法（ELISA）、放射免疫測定法（RIA）、組織免疫組織化学法、表面プラズモン共鳴法（SPR）、サンドイッチイムノアッセイ、抗体系アフィニティー法（例えばアフィニティービーズ、アフィニティーカラム）、免疫競合アッセイ、イムノチップアッセイ（結合蛋白質をシリコンチップに固定化）、及び蛍光活性化セルソーティング（FACS）が挙げられる。所定の免疫検出システムでは、固定化した結合蛋白質が特定の免疫検出システムで使用中にヒトIL-1 と結合するその能力を保持するように、抗体分子を固体支持体に固定化するために当分野で利用可能な方法を使用して本発明のIL-1 結合蛋白質（又はその結合部分）（又はその部分）を固体支持体に固定化する。このような固体支持体としては、限定されないが、セルロース濾紙（例えばセルロース、ニトロセルロース、酢酸セルロース）、ナイロンフィルター、プラスチック表面（例えばマイクロタイタープレート、抗体ディップスティック）、ガラス支持体（例えばフィルター、ビーズ、スライド、グラスウール）、ポリマー粒子（例えばアガロース、ポリアクリルアミド）及びシリコンチップが挙げられる。例えば、インビトロサンプル（例えば全血、血清、血漿、組織、尿、唾液、組織生検等の生体サンプル）中のIL-1 の存在の検出方法で免疫検出システムを使用することができる。このような方法は疾患又は障害（例えば免疫細胞関連障害）を診断するために使用することができる。前記方法は、（i）試験サンプル又は対照サンプルを本願に記載するIL-1 結合蛋白質又はそのIL-1 結合部分と接触させる段階と；（ii）試験サンプル又は対照サンプル中で抗IL-1 結合蛋白質（又はその結合部分）とIL-1 の複合体の形成を検出し、対照サンプル中に比較して（又は初期時点で採取した別の試験サンプル中の複合体の形成に比較して）試験サンプル中の複合体の形成が統計的に有意に変化した場合には、サンプル中にIL-1 が存在すると判定する段階を含む。

20

30

40

【0158】

別の例として、インビボでのヒトIL-1 の存在の検出（例えば対象におけるインビボイメージング）方法を使用することができる。前記方法は疾患又は障害（例えばIL-1 関連障害）を診断するために使用することができる。前記方法は、（i）本願に記載するIL-1 結合蛋白質又はそのIL-1 結合部分をIL-1 と結合させる条件下で前記結合蛋白質又はそのIL-1 結合部分を試験被験者又は対照被験者に投与する段階と；（ii）結合蛋白質又はその結合部分とIL-1 の複合体の形成を検出し、試験

50

被験者における複合体の形成が対照被験者又は初期時点の試験被験者における複合体の形成に比較して統計的に有意に変化した場合には、IL-1 が存在すると判定する段階を含む。

【0159】

本発明によるサンプル（例えば生体サンプル）中のIL-1 の検出方法は、サンプルを本願に記載するIL-1 結合蛋白質（又はそのIL-1 結合部分）と接触させる段階と、IL-1 に結合した結合蛋白質（又はその結合部分）又は結合していない結合蛋白質（又は結合していないその結合部分）を検出することにより、サンプル中のIL-1 を検出する段階を含む。結合した結合蛋白質又は結合していない結合蛋白質（又はその部分）の検出を容易にするために結合蛋白質（又はその部分）を検出可能な物質で直接又は間接的に標識する。このような検出可能な物質は当分野で公知であり、非限定的な例として、各種酵素、補欠分子族、蛍光材料、発光材料及び放射性材料が挙げられる。適切な酵素の例としては西洋ワサビペルオキシダーゼ、アルカリホスファターゼ、 β -ガラクトシダーゼ又はアセチルコリンエステラーゼが挙げられる。適切な補欠分子族複合体の例としてはストレプトアビジン/ビオチンとアビジン/ビオチンが挙げられる。適切な蛍光材料の例としてはウンベリフェロン、フルオレセイン、イソチオシアン酸フルオレセイン、ローダミン、ジクロロトリアジニルアミンフルオレセイン、ダンシルクロリド又はフィコエリスリンが挙げられる。発光材料の1例としてはルミノールが挙げられる。適切な放射性材料の例としては放射性同位体 ^3H 、 ^{14}C 、 ^{35}S 、 ^{90}Y 、 ^{99}Tc 、 ^{111}In 、 ^{125}I 、 ^{131}I 、 ^{177}Lu 、 ^{166}Ho 及び ^{153}Sm が挙げられる。

10

20

【0160】

抗体を標識する代わりに、検出可能な物質で標識した組換えヒト（rh）IL-1 標準と未標識IL-1 結合蛋白質（又はそのIL-1 結合部分）を利用する競合イムノアッセイによりサンプル（例えば生物体液）中でヒトIL-1 をアッセイすることもできる。このアッセイでは、サンプルと標識rhIL-1 標準とIL-1 結合蛋白質を混合し、未標識結合蛋白質に結合した標識rhIL-1 標準の量を測定する。サンプル中のヒトIL-1 の量はIL-1 結合蛋白質に結合した標識rhIL-1 標準の量に反比例する。同様に、検出可能な物質で標識したrhIL-1 標準と本願に記載する未標識IL-1 結合蛋白質を利用する競合イムノアッセイによりサンプル中でヒトIL-1 をアッセイすることもできる。

30

【0161】

1実施形態において、本発明のIL-1 結合蛋白質とそのIL-1 結合部分はインビトロ及びインビボの両方でIL-1 活性を中和させることができる。従って、本発明のこのような結合蛋白質とそのIL-1 結合部分は、例えばIL-1 を含有する細胞培養液や、本発明の結合蛋白質と交差反応するIL-1 をもつヒト対象又は他の哺乳動物対象においてIL-1 活性を阻害するために使用することができる。1実施形態において、本発明はIL-1 活性の阻害方法として、IL-1 活性を阻害するようにIL-1 を本発明の結合蛋白質又はその結合部分と接触させる段階を含む方法を提供する。例えば、IL-1 を含有するか又は含有する疑いのある細胞培養液において、培養液中のIL-1 活性を阻害するために本発明の結合蛋白質（又はその結合部分）を培養培地に添加することができる。

40

【0162】

別の実施形態において、本発明は対象、有利にはIL-1 活性が有害である疾患又は障害に罹患した対象におけるIL-1 活性を低下させる方法を提供する。本発明は前記疾患又は障害に罹患した対象におけるIL-1 活性を低下させる方法として、対象におけるIL-1 活性を低下させるように本発明の結合蛋白質又はその抗原結合部分を対象に投与する段階を含む方法を提供する。1実施形態において、IL-1 はヒトIL-1 であり、対象はヒト対象である。あるいは、対象は本発明の結合蛋白質が結合することができるIL-1 を発現する哺乳動物でもよい。更に、対象は（例えばIL-1 の投与又はIL-1 トランスジェンの発現により）IL-1 を導入した哺乳動物でもよい

50

。本発明の結合蛋白質は治療目的でヒト対象に投与することができる。更に、本発明の結合蛋白質は結合蛋白質が獣医学的目的のため又はヒト疾患の動物モデルとして結合することができる IL - 1 を発現する非ヒト哺乳動物に投与することもできる。後者に関して、このような動物モデルは本発明の抗体の治療効力の評価（例えば投与量及び投与時間の試験）に有用であると思われる。

【 0 1 6 3 】

「IL - 1 活性が有害である障害」なる用語はこの障害に罹患した対象における IL - 1 の存在が障害の病態生理の原因であるか又は障害の増悪に寄与する因子であることが分かっているか又はその疑いのある疾患及び他の障害を包含する。従って、IL - 1 活性が有害である障害は IL - 1 活性の低下が障害の症状及び / 又は進行を緩和すると予想される障害である。このような障害は例えば障害に罹患した対象の体液中の IL - 1 濃度の上昇（例えば対象の血清、血漿、滑液等における IL - 1 濃度の上昇）により判断することができ、例えば上記のような抗 IL - 1 結合蛋白質を使用して検出することができる。本発明の結合蛋白質で治療することができる障害の非限定的な例としては、本発明の結合蛋白質の医薬組成物に関する下記セクションに記載する障害が挙げられる。

10

【 0 1 6 4 】

E . 医薬組成物

本発明は本発明の結合蛋白質（例えば抗体又はその抗原結合部分）と医薬的に許容可能な担体を含む医薬組成物も提供する。本発明の結合蛋白質を含む医薬組成物は限定されないが、障害の診断、検出もしくは監視、障害もしくはその 1 種以上の症状の予防、治療、抑制、管理もしくは改善、及び / 又は研究に利用される。特定実施形態において、組成物は 1 種以上の本発明の結合抗体を含む。別の実施形態において、医薬組成物は 1 種以上の本発明の結合蛋白質と、IL - 1 活性が有害である障害を治療するための 1 種以上の本発明の結合蛋白質以外の 1 種以上の予防剤又は治療剤を含む。特に、予防剤又は治療剤は障害又はその 1 種以上の症状の予防、治療、管理又は改善に有用であることが知られているか又は従来からもしくは現在使用されているものとする。これらの実施形態によると、組成物は更に担体、希釈剤又は賦形剤から構成することができる。

20

【 0 1 6 5 】

本発明の結合蛋白質は対象に投与するのに適した医薬組成物に配合することができる。典型的には、医薬組成物は本発明の結合蛋白質（例えば抗体又はその抗原結合部分）と医薬的に許容可能な担体を含む。「医薬的に許容可能な担体」なる用語は生理的に適合可能な全溶媒、分散媒、コーティング、抗細菌剤及び抗真菌剤、等張剤及び吸収遅延剤等を包含する。医薬的に許容可能な担体の例としては水、生理食塩水、リン酸緩衝生理食塩水、デキストロース、グリセロール、エタノール等の 1 種以上とその組み合わせが挙げられる。例えば糖類、多価アルコール（例えばマンニトール、ソルビトール）、又は塩化ナトリウム等の等張剤を組成物に加えることが好ましい場合もある。医薬的に許容可能な担体としては更に抗体又はその抗原結合部分の保存期間又は効力を増す微量の助剤（例えば湿潤剤、乳化剤、防腐剤又は緩衝剤）も挙げられる。

30

【 0 1 6 6 】

各種送達システムが公知であり、1 種以上の本発明の結合蛋白質あるいは 1 種以上の本発明の抗体と障害又はその 1 種以上の症状を予防、管理、治療又は改善するために有用な予防剤又は治療剤の併用剤を投与するために使用することができ、例えばリポソーム、微粒子、マイクロカプセル封入、抗体又は抗体フラグメントを発現することが可能な組換え細胞、受容体介在型エンドサイトーシス（例えば Wu and Wu (1987) J . B i o l . C h e m . 2 6 2 : 4 4 2 9 - 4 4 3 2 参照）、レトロウイルス又は他のベクターの一部としての核酸の構築等が挙げられる。本発明の予防剤又は治療剤の投与方法としては限定されないが、非経口投与（例えば皮内、筋肉内、腹膜内、静脈内及び皮下）、硬膜外投与、腫瘍内投与及び粘膜投与（例えば鼻腔内及び経口経路）が挙げられる。更に、例えばインヘラー又はネブライザーの使用やエアロゾル化剤の配合により、肺投与を利用することもできる。例えば米国特許第 6 , 0 1 9 , 9 6 8 号 ; 5 , 9 8 5 , 3 2 0 号 ; 5

40

50

、985,309号；5,934,272号；5,874,064号；5,855,913号；5,290,540号；及び4,880,078号；並びにPCT公開第WO92/19244号；WO97/32572号；WO97/44013号；WO98/31346号；及びWO99/66903号参照。1実施形態では、Alkermes AIR（登録商標）薬物肺送達技術（Alkermes, Inc., Cambridge, Massachusetts）を使用して本発明の結合蛋白質、併用療法剤又は本発明の組成物を投与する。予防剤又は治療剤は任意の適切な経路、例えば輸液又はボラス注射、上皮又は皮膚粘膜内壁（例えば口腔粘膜、直腸及び腸粘膜等）吸収により投与することができ、他の生物活性剤と共に投与することができる。投与は全身でも局所でもよい。

【0167】

特定実施形態では、処置を必要とする領域に本発明の予防剤又は治療剤を例えば局所輸液、注射又はインプラントにより局所投与することが望ましい場合がある。インプラントは多孔性材料でも無孔性材料でもよく、例えばシラスチック膜、ポリマー、繊維性マトリックス（例えばTISSUE（登録商標））又はコラーゲンマトリックス等の膜及びマトリックスが挙げられる。1実施形態では、障害又はその症状を予防、治療、管理及び/又は改善するために有効量の1種以上の本発明の抗体であるアンタゴニストを対象の患部に局所投与する。別の実施形態では、障害又はその1種以上の症状を予防、治療、管理及び/又は改善するために有効量の1種以上の本発明の抗体を本発明の結合蛋白質以外の有効量の1種以上の療法（例えば1種以上の予防剤又は治療剤）と患部に局所併用投与する。

【0168】

別の実施形態では、予防剤又は治療剤を制御放出又は持続放出システムで送達することができる。1実施形態では、制御又は持続放出を実現するためにポンプを使用することができる（Langer（1990）*Science* 249:1527-1533；Sefton（1987）*CRC Crit. Rev. Biomed. Eng.* 14:201-240；Buchwald et al.（1980）*Surgery* 88:507-516；Saudek et al.（1989）*N. Engl. J. Med.* 321:574-579参照）。別の実施形態では、本発明の療法剤の制御又は持続放出を実現するためにポリマー材料を使用することができる（例えば*Medical Applications of Controlled Release*, (Langer and Wise, eds.) (CRC Press, Inc., Boca Raton, 1984)；*Controlled Drug Bioavailability, Drug Product Design and Performance*, (Smolen and Ball, eds.) (Wiley, New York, 1984)；Langer and Peppas（1983）*J. Macromol. Sci. Rev. Macromol. Chem. Phys.* C23:61-126参照；更にLevy et al.（1985）*Science* 228:190-192；During et al.（1989）*Ann. Neurol.* 25:351-356；Howard et al.（1989）*J. Neurosurg.* 71:105-112）；米国特許第5,679,377号；5,916,597号；5,912,015号；5,989,463号；及び5,128,326号；並びにPCT公開第WO99/15154号及びWO99/20253号も参照）。持続放出製剤で使用されるポリマーの例としては限定されないが、ポリ（2-ヒドロキシエチルメタクリレート）、ポリ（メチルメタクリレート）、ポリ（アクリル酸）、ポリ（エチレン・酢酸ビニルコポリマー）、ポリ（メタクリル酸）、ポリグリコリド（PLG）、ポリ酸無水物、ポリ（N-ビニルピロリドン）、ポリ（ビニルアルコール）、ポリアクリルアミド、ポリ（エチレングリコール）、ポリラクチド（PLA）、ポリ（ラクチド・グリコリドコポリマー）（PLGA）及びポリオルトエステルが挙げられる。1実施形態において、持続放出製剤で使用されるポリマーは不活性であり、浸出性不純物を含まず、保存安定性であり、無菌であり、生分解性である。更に別の実施形態では、制御又は持続放出システムを予防又は治療ターゲットに近接配置し、全身

10

20

30

40

50

投与量のごく一部で済ますことができる（例えば、Goodson, J. M., Chapter 6, In Medical Applications of Controlled Release, Vol. II, Applications and Evaluation, (Langer and Wise, eds.) (CRC Press, Inc., Boca Raton, 1984), pp. 115 - 138 参照）。

【0169】

制御放出システムはLanger (1990) Science 249: 1527 - 1533に記載されている。1種以上の本発明の治療剤を含有する持続放出製剤を製造するためには、当業者に公知の任意技術を使用することができる。例えば米国特許第4,526,938号; PCT公開第WO91/05548号及びWO96/20698号; 並びにNing et al. (1996) Radiother. Oncol. 39: 179 - 189; Song et al. (1996) PDA J. Pharm. Sci. Technol. 50: 372 - 377; Cleek et al. (1997) Proceed Int'l Symp. Control. Rel. Bioact. Mater. 24: 853 - 854; 及びLam et al. (1997) Proceed. Int'l Symp. Control Rel. Bioact. Mater. 24: 759 - 760 参照。

【0170】

本発明の組成物が予防剤又は治療剤をコードする核酸である特定実施形態では、適切な核酸発現ベクターの一部として核酸を構築し、例えばレトロウイルスベクターの使用（米国特許第4,980,286号参照）、又は直接注射、又は微粒子撃ち込みの使用（例えば遺伝子銃; Biolistic, Dupont）、又は脂質もしくは細胞表面受容体もしくはトランスフェクト剤のコーティングにより細胞内に取込むように投与するか、あるいは核に侵入することが知られているホモオボックス様ペプチドに結合して投与することにより、核酸によりコードされる予防剤又は治療剤の発現を促進するように核酸をインピボ投与することができる（例えばJoliot et al. (1991) Proc. Natl. Acad. Sci. USA 88: 1864 - 1868 参照）。あるいは、核酸を細胞内に導入し、相同組換えにより発現させるために宿主細胞DNA内に組み込むこともできる。

【0171】

本発明の医薬組成物はその所期投与経路に適合可能に製剤化される。投与経路の例としては限定されないが、非経口（例えば静脈内、皮内、皮下）、経口、鼻腔内（例えば吸入）、経皮（例えば局所）、経粘膜及び直腸投与が挙げられる。特定実施形態において、組成物はヒトに静脈内、皮下、筋肉内、経口、鼻腔内又は局所投与するのに適した医薬組成物として常法に従って製剤化される。典型的には、静脈内投与用組成物は滅菌等張水性緩衝液に溶解した溶液である。必要に応じて、溶解補助剤や、注射部位の痛みを緩和するための局所麻酔剤（例えばリドカイン）を組成物に更に添加してもよい。

【0172】

本発明の組成物を局所投与する場合には、組成物は軟膏、クリーム、経皮パッチ、ローション、ジェル、シャンプー、スプレー、エアゾール、溶液、エマルジョン又は当業者に周知の他の剤形に製剤化することができる。例えばRemington's Pharmaceutical Sciences and Introduction to Pharmaceutical Dosage Forms, 19th ed., (Mack Publishing Co., Easton, Pennsylvania, 1995) 参照。非スプレー型の局所剤形には、局所塗布に適合可能な担体又は1種以上の賦形剤を含有しており、好ましくは水よりも動粘度の高い粘性～半固体又は固体剤形が典型的に利用される。他の適切な製剤としては限定されないが、懸濁液剤、散剤、リニメント剤、膏剤等が挙げられる。1実施形態では、このような製剤を滅菌するか又は各種性質（例えば浸透圧）に影響を与えるための助剤（例えば防腐剤、安定剤、湿潤剤、緩衝剤又は塩）と混合する。他の適切な局所剤形としては、活性成分を例えば固体又は液体不活性担体

と共に加圧揮発性物質（例えばFREON（登録商標）等のガス噴射剤）との混合物又はスクイズボトルにパッケージングしたスプレー型エアゾール製剤が挙げられる。所望により、モイスタライザーやヒューメクタントも医薬組成物及び製剤に添加してもよい。このような補助成分の例は当分野で周知である。

【0173】

本発明の方法が組成物の鼻腔内投与を含む場合には、組成物はエアゾール形態、スプレー、ミスト又は滴剤として製剤化することができる。特に、本発明に従って使用する予防剤又は治療剤は適切な噴射剤（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、二酸化炭素又は他の適切なガス）を利用して加圧パック又はネブライザーからエアゾールスプレー製剤として簡便に送達することができる。加圧エアゾールの場合には、一定量を送達するためのバルブを配置することにより用量単位を定量することができる。化合物と適切な粉末基剤（例えばラクトースや澱粉）の粉末混合物を充填したインヘラー又はインサフレーター用の（例えばゼラチンから構成される）カプセル及びカートリッジとして製剤化することもできる。

10

【0174】

本発明の方法が経口投与を含む場合には、錠剤、カプセル剤、カシェ剤、ゲルカップ剤、溶液剤、懸濁液剤等の剤形に組成物を経口製剤化することができる。錠剤又はカプセル剤は結合剤（例えばプレゲル化トウモロコシ澱粉、ポリビニルピロリドン又はヒドロキシプロピルメチルセルロース）、増量剤（例えばラクトース、微結晶セルロース又はリン酸水素カルシウム）、ジャガイモ澱粉又は繊維素グリコール酸ナトリウム）、又は湿潤剤（例えばラウリル硫酸ナトリウム）等の医薬的に許容可能な賦形剤と共に慣用手段により製造することができる。錠剤は当分野で周知の方法によりコーティングしてもよい。経口投与用液体製剤は限定されないが、溶液剤、シロップ剤又は懸濁液剤の形態をとることができる、あるいは使用前に水又は他の適切な溶媒で再構成する乾燥製剤の形態でもよい。このような液体製剤は懸濁剤（例えばソルビトールシロップ、セルロース誘導体又は水素化食用脂肪）、乳化剤（例えばレシチン又はアラビアガム）、非水性溶媒（例えばアーモンド油、油性エステル、エチルアルコール又は分留植物油）、及び防腐剤（例えばp-ヒドロキシ安息香酸メチル、p-ヒドロキシ安息香酸プロピル又はソルビン酸）等の医薬的に許容可能な助剤と共に慣用手段により製造することができる。製剤には更に緩衝塩類、香味剤、着色剤及び甘味剤を適宜添加してもよい。経口投与用製剤は予防剤又は治療剤を遅延放出、制御放出又は持続放出するように製剤化すると適切な場合がある。

20

30

【0175】

本発明の方法は例えばインヘラー又はネブライザー、エアロゾル化剤を配合した組成物の使用による肺投与を含むことができる。例えば米国特許第6,019,968号;5,985,320号;5,985,309号;5,934,272号;5,874,064号;5,855,913号;5,290,540号;及び4,880,078号;並びにPCT公開第WO92/19244号、WO97/32572号、WO97/44013号、WO98/31346号及びWO99/66903号参照。特定実施形態では、Alkermes AIR（登録商標）薬物肺送達技術（Alkermes, Inc., Cambridge, Massachusetts）を使用して本発明の抗体、併用療法剤及び/又は本発明の組成物を投与する。

40

【0176】

本発明の方法は（例えばボラス注射又は連続輸液による）注射による非経口投与用に製剤化された組成物の投与を含むことができる。注射用製剤は防腐剤を添加した単用量形態（例えばアンプル又はマルチドーズ容器）とすることができる。組成物は油性又は水性媒体中の懸濁液、溶液又はエマルション等の形態をとることができ、懸濁剤、安定剤及び/又は分散剤等の助剤を添加することができる。あるいは、活性成分は使用前に適切な溶媒（例えば滅菌ピロジェンフリー水）で再構成する粉末状でもよい。

【0177】

本発明の方法は更にデポー製剤として製剤化された組成物の投与も含むことができる。

50

このような長時間作用型製剤は（例えば皮下又は筋肉内）移植又は筋肉内注射により投与することができる。従って、例えば、組成物は（例えば許容可能な油中のエマルジョンとして）適切なポリマーもしくは疎水性材料又はイオン交換樹脂を使用して製剤化してもよいし、難溶性誘導体として（例えば難溶性塩として）製剤化してもよい。

【0178】

本発明の方法は中性又は塩形態として製剤化された組成物の投与を含む。医薬的に許容可能な塩としては塩酸、リン酸、酢酸、蔞酸、酒石酸等から誘導される塩等のアニオンと共に形成される塩と、ナトリウム、カリウム、アンモニウム、カルシウム、水酸化第2鉄、イソプロピルアミン、トリエチルアミン、2-エチルアミノエタノール、ヒスチジン、プロカイン等から誘導される塩等のカチオンと共に形成される塩が挙げられる。

10

【0179】

一般に、組成物の成分は単位用量形態（例えば活性剤の量を指示するアンプル又はサシエット等の密封容器に収容した乾燥凍結乾燥粉末又は無水濃縮物）で別々又は混合物として提供される。投与方法が輸液の場合には、滅菌医薬グレード水又は生理食塩水を充填した輸液ボトルにより組成物を分配することができる。投与方法が注射の場合には、成分を投与前に混合できるように注射用滅菌水又は生理食塩水のアンプルを提供することができる。

【0180】

特に、本発明は薬剤の量を指示するアンプル又はサシエット等の密封容器に本発明の予防剤又は治療剤又は医薬組成物の1種以上をパッケージングすることも提案する。1実施形態では、密封容器に収容した乾燥滅菌凍結乾燥粉末又は無水濃縮物として本発明の予防剤又は治療剤又は医薬組成物の1種以上を提供し、対象に投与するのに適した濃度まで（例えば水又は生理食塩水で）再構成することができる。1実施形態では、密封容器に収容した乾燥滅菌凍結乾燥粉末として本発明の予防剤又は治療剤又は医薬組成物の1種以上を少なくとも5mg、少なくとも約10mg、少なくとも約15mg、少なくとも約25mg、少なくとも約35mg、少なくとも約45mg、少なくとも約50mg、少なくとも約75mg、又は少なくとも約100mgの単位用量で提供する。本発明の凍結乾燥予防剤又は治療剤又は医薬組成物はその当初の容器に約2～約8で保存すべきであり、本発明の予防剤又は治療剤又は医薬組成物は再構成後1週間以内、5日以内、72時間以内、48時間以内、24時間以内、12時間以内、6時間以内、5時間以内、3時間以内、又は1時間以内に投与すべきである。代替実施形態では、薬剤の量と濃度を指示する密封容器に本発明の予防剤又は治療剤又は医薬組成物の1種以上を液体形態で提供する。1実施形態では、投与する組成物の液体形態を密封容器に少なくとも約0.25mg/ml、少なくとも約0.5mg/ml、少なくとも約1mg/ml、少なくとも約2.5mg/ml、少なくとも約5mg/ml、少なくとも約8mg/ml、少なくとも約10mg/ml、少なくとも約15mg/kg、少なくとも約25mg/ml、少なくとも約50mg/ml、少なくとも約75mg/ml又は少なくとも約100mg/mlで提供する。液体形態はその当初の容器に約2～約8で保存すべきである。

20

30

【0181】

本発明の結合蛋白質は非経口投与に適した医薬組成物に配合することができる。1態様では、抗体約0.1～約250mg/mlを含有する注射溶液として結合蛋白質を製造する。注射溶液はフリント又はアンバーバイアル、アンプル又はプレフィルドシリンジに収容した液体又は凍結乾燥剤形から構成することができる。緩衝液はL-ヒスチジン（約1～約50mM）とすることができ、最適値約5～約10mM、pH5.0～7.0（最適値約pH6.0）とすることができ、他の適切な緩衝液としては限定されないが、琥珀酸ナトリウム、クエン酸ナトリウム、リン酸ナトリウム又はリン酸カリウムが挙げられる。約0～約300mM（例えば液体剤形では約150mM）の濃度の溶液の毒性を調節するためには塩化ナトリウムを使用することができる。凍結乾燥剤形には凍害保護剤として主に約0～約10%スクロース（例えば約0.5～約1.0%）を添加することができる。他の適切な凍害保護剤としてはトレハロースとラクトースが挙げられる。凍結乾燥剤形

40

50

にはバルク剤として主に約 1 ~ 約 10 % マンニトール (例えば約 2 ~ 約 4 %) を添加することができる。液体及び凍結乾燥剤形の両方で安定剤として主に約 1 ~ 約 50 mM L - メチオニン (最適値約 5 ~ 約 10 mM) を使用することができる。他の適切なバルク剤としてはグリシン、アルギニンが挙げられ、約 0 ~ 約 0.05 % ポリソルベート 80 (最適値約 0.005 ~ 約 0.01 %) として添加することができる。その他の界面活性剤としては限定されないが、ポリソルベート 20 及び B R I J 界面活性剤が挙げられる。

【0182】

本発明の組成物は各種形態を取ることができる。これらの形態としては、例えば液体、半固体及び固体剤形が挙げられ、例えば溶液剤 (例えば注射溶液及び輸液溶液)、分散液剤、懸濁液剤、錠剤、ピル、散剤、リポソーム及び座剤が挙げられる。特定剤形は所期投与方法及び治療用途により異なる。典型的な組成物は他の抗体をヒトに受動免疫するために使用されている組成物と同様の組成物等の注射溶液又は輸液溶液の形態である。投与方法は非経口投与 (例えば静脈内、皮下、腹腔内、筋肉内) である。1 実施形態では、静脈内輸液又は注射により抗体を投与する。別の実施形態では、筋肉内又は皮下注射により抗体を投与する。

10

【0183】

治療用組成物は典型的には製造及び保存条件下で無菌安定でなければならない。組成物は溶液、マイクロエマルジョン、分散液、リポソーム、又は高薬剤濃度に適した他の注文構造として製剤化することができる。滅菌注射溶液は必要量の活性化化合物 (例えば抗体又はその抗原結合部分) を必要に応じて上記成分の 1 種又はその組み合わせと共に適切な溶媒に加えた後に濾過滅菌することにより製造することができる。一般に、分散液は塩基性分散媒と上記から選択される必要な他の成分を含有する滅菌媒体に活性化化合物を加えることにより製造される。滅菌注射溶液の調製用滅菌凍結乾燥粉末の場合には、典型的な製造方法は真空乾燥と噴霧乾燥であり、活性成分と乾燥前の滅菌濾過溶液からの任意の他の所望成分の粉末を得る。例えばレシチン等のコーティングの使用、分散液の場合には必要な粒度の維持及び界面活性剤の使用により、溶液の適正な流動性を維持することができる。吸収を遅らせる物質 (例えばモノステアリン酸塩やゼラチン) を組成物に加えることにより、注射用組成物の長期吸収を実現できる。

20

【0184】

本発明の結合蛋白質は当分野で公知の各種方法により投与することができるが、多くの治療用途に典型的な投与経路 / 方法は皮下注射、静脈内注射又は輸液である。当業者に自明の通り、投与経路及び / 又は方法は所望結果により異なる。所定実施形態では、化合物の迅速な放出を防止する担体を活性化化合物に配合することができ、例えばインプラント、経皮パッチ及びマイクロカプセル送達システム等の制御放出製剤が挙げられる。エチレン酢酸ビニル、ポリ酸無水物、ポリグリコール酸、コラーゲン、ポリオルトエステル及びポリ乳酸等の生分解性生体適合性ポリマーを使用することができる。このような製剤の多数の製造方法が特許登録されており、あるいは一般に当業者に公知である。例えば、Sustained and Controlled Release Drug Delivery Systems, J. R. Robinson, ed., Marcel Dekker, Inc., New York, 1978 参照。

30

40

【0185】

所定実施形態では、本発明の抗体又はその抗原結合部分を例えば不活性希釈剤又は同化性可食性担体と共に経口投与することができる。化合物 (及び所望により他の成分) をハード又はソフトシェルゼラチンカプセルに封入してもよいし、錠剤に圧縮してもよいし、対象の食事に直接添加してもよい。経口治療投与には、化合物に賦形剤を添加し、内服錠、口腔錠、トローチ剤、カプセル剤、エリキシル剤、懸濁液剤、シロップ剤、ウェハース剤等の形態で使用することができる。本発明の化合物を非経口投与以外の方法で投与するためには、その不活性化を防止するための材料を化合物にコーティングしたり、化合物と併用投与することが必要な場合がある。

【0186】

50

補助活性化化合物も組成物に添加することができる。所定実施形態では、IL-1 活性が有害である障害の治療に有用な1種以上の別の治療剤と本発明の結合蛋白質（例えば抗体）又はその抗原結合部分を合剤化及び/又は併用投与する。例えば、他のターゲットと結合する1種以上の別の抗体（例えば他のサイトカインと結合するか又は細胞表面分子と結合する抗体）と本発明の抗hIL-1 結合蛋白質又はその抗原結合部分を合剤化及び/又は併用投与することができる。更に、1種以上の本発明の結合蛋白質を上記治療剤の2種以上と併用することもできる。このような併用療法は治療剤の投与用量を減らし、各種単独療法に伴う可能性のある毒性や合併症を避けることができるという利点がある。

【0187】

所定実施形態では、本願に記載するIL-1 結合蛋白質又はそのIL-1 結合部分を当分野で公知の半減期延長用担体に結合する。このような担体としては、限定されないが、Fcドメイン、ポリエチレングリコール及びデキストランが挙げられる。このような担体は例えば米国特許第6,660,843号及びPCT公開第WO99/25044号に記載されている。

10

【0188】

特定実施形態では、遺伝子治療により障害又はその1種以上の症状を治療、予防、管理又は改善するために、本発明の結合蛋白質又は本発明の別の予防剤もしくは治療剤の1種以上のポリペプチドをコードするヌクレオチド配列を含む核酸配列を投与する。遺伝子治療とは、発現された核酸又は発現可能な核酸を対象に投与することにより実施される治療を意味する。本発明のこの実施形態において、核酸はこれらの核酸によりコードされるポリペプチドであって、予防効果又は治療効果をもたらす本発明の結合蛋白質又は予防剤もしくは治療剤の結合ポリペプチドを産生する。

20

【0189】

本発明によると、当分野で入手可能な任意遺伝子治療法を使用することができる。遺伝子治療法の一般論については、Goldspiel et al. (1993) Clin. Pharm. 12: 488-505; Wu and Wu (1991) Biotherapy 3: 87-95; Tolstoshev (1993) Ann. Rev. Pharmacol. Toxicol. 32: 573-596; Mulligan (1993) Science 260: 926-932; 及びMorgan and Anderson (1993) Ann. Rev. Biochem. 62: 191-217; Robinson, C. (1993) Trends Biotechnol. 11(5): 155参照。使用することができ、組換えDNA技術分野で広く知られている方法はAusubel et al. (eds.), Current Protocols in Molecular Biology (John Wiley & Sons, New York, 1993); 及びKriegler, Gene Transfer and Expression, A Laboratory Manual, (Stockton Press, New York, 1990)に記載されている。各種遺伝子治療法の詳細な記載はUS2005/0042664に開示されている。

30

【0190】

IL-1 は免疫及び炎症要素を伴う各種疾患に関連する病理に重要な役割を果たす。これらの疾患としては、限定されないが、後天性免疫不全症候群、後天性免疫不全症関連疾患、後天性悪性貧血、急性冠症候群、急性及び慢性疼痛（各種疼痛）、急性特発性多発性神経炎、臓器移植に伴う急性免疫疾患、臓器移植に伴う急性又は慢性免疫疾患、急性炎症性脱髄性多発根神経炎、急性虚血、急性肝疾患、急性リウマチ熱、急性横断性脊髄炎、アジソン病、成人（急性）呼吸窮迫症候群、成人スティル病、アルコール性肝硬変、アルコール誘発性肝傷害、アレルギー疾患、アレルギー、脱毛症、円形脱毛症、アルツハイマー病、アナフィラキシー、強直性脊椎炎、強直性脊椎炎関連肺疾患、抗リン脂質抗体症候群、再生不良性貧血、動脈硬化症、関節症、喘息、アテローム性疾患/動脈硬化症、アテローム性動脈硬化症、アトピー性アレルギー、アトピー性湿疹、アトピー性皮膚炎、萎縮性自己免疫性甲状腺機能低下症、自己免疫性水疱症、自己免疫性皮膚炎、自己免疫性糖尿

40

50

病、連鎖球菌感染に伴う自己免疫疾患、自己免疫性腸症、自己免疫性溶血性貧血、自己免疫性肝炎、自己免疫性聴力低下、自己免疫性リンパ球増殖症候群（ALPS）、自己免疫介在性低血糖症、自己免疫性心筋炎、自己免疫性好中球減少症、自己免疫性早発卵巣不全、自己免疫性血小板減少症（AITP）、自己免疫性甲状腺疾患、自己免疫性ブドウ膜炎、閉塞性細気管支炎、ベーチェット病、眼瞼炎、気管支拡張症、水疱性類天疱瘡、悪液質、心臓血管疾患、劇症型抗リン脂質抗体症候群、セリアック病、頸椎症、クラミジア感染症、胆汁鬱滞症、慢性活動性肝炎、慢性好酸球性肺炎、慢性疲労症候群、臓器移植に伴う慢性免疫疾患、慢性虚血、慢性肝疾患、慢性粘膜皮膚カンジダ症、瘢痕性類天疱瘡、多発性硬化症の危険を伴う最初のエピソードからなる症候群（CIS）、分類不能型免疫不全症（分類不能型低ガンマグロブリン血症）、結合組織病関連間質性肺疾患、結膜炎、クームス陽性溶血性貧血、小児期発症型精神障害、慢性閉塞性肺疾患（COPD）、クローン病、特発性自己免疫性肝炎、特発性線維化性肺肺炎、涙嚢炎、鬱病、強皮症皮膚炎、皮膚筋炎、皮膚筋炎/多発性筋炎関連肺疾患、糖尿病網膜症、真性糖尿病、拡張型心筋症、円板状エリテマトーデス、椎間板ヘルニア、椎間板脱出、播種性血管内凝固症候群、薬物誘発性肝炎、薬物誘発性間質性肺疾患、薬物誘発性免疫性溶血性貧血、心内膜炎、子宮内膜炎、眼内炎、腸病性滑膜炎、上強膜炎、多形性紅斑、重症多形性紅斑、女性不妊症、線維症、線維性肺疾患、妊娠性類天疱瘡、巨細胞性動脈炎（GCA）、糸球体腎炎、甲状腺腫性自己免疫性甲状腺機能低下症（橋本病）、グッドパスチャー症候群、通風性関節炎、移植片対宿主病（GVHD）、グレーブス病、B群連鎖球菌（GBS）感染症、ギラン・バレー症候群（GBS）、ヘモジデリン沈着症関連肺疾患、花粉症、心不全、溶血性貧血、シェーンライン・ヘノッフ紫斑病、B型肝炎、C型肝炎、ヒューズ症候群、ハンチントン舞踏病、甲状腺機能亢進症、副甲状腺機能低下症、特発性白血球減少症、特発性血小板減少症、特発性パーキンソン病、特発性間質性肺炎、特異体質性肝疾患、I g E 介在型アレルギー、免疫性溶血性貧血、封入体筋炎、感染症、感染性眼炎症性疾患、炎症性腸疾患、炎症性脱髄疾患、炎症性心疾患、炎症性腎疾患、インスリン依存性糖尿病、間質性肺炎、I P F / U I P、虹彩炎、若年性慢性関節炎、若年性悪性貧血、若年性関節リウマチ（JRA）、川崎病、角膜炎、乾性角結膜炎、クスマウル病ないしクスマウル・マイヤー病、ランドリー麻痺、ランゲルハンス細胞組織球症、線状I g A 病、網状皮斑、ライム関節炎、リンパ球浸潤性肺疾患、黄斑変性症、特発性ないしN O S 男性不妊症、悪性腫瘍、腎臓の顕微鏡的血管炎、顕微鏡的多発血管炎、混合性結合組織病関連肺疾患、ベヒテレフ病、運動ニューロン障害、粘膜類天疱瘡、多発性硬化症（全サブタイプ：一次性進行型、二次性進行型、再発寛解型等）、多臓器不全、筋痛性脳炎/ロイヤルフリー病、重症筋無力症、骨髄異形成症候群、心筋梗塞、心筋炎、ネフローゼ症候群、神経根障害、神経障害、非アルコール性脂肪肝炎、非A非B肝炎、視神経炎、臓器移植拒絶反応、変形性関節症、骨溶解症、卵巣癌、卵巣不全、膵炎、寄生虫症、パーキンソン病、少関節型JRA、類天疱瘡、落葉状天疱瘡、尋常性天疱瘡、末梢動脈閉塞性疾患（PAOD）、末梢血管疾患（PVD）、末梢動脈疾患（PAD）、水晶体起因性ブドウ膜炎、静脈炎、結節性多発動脈炎（ないし結節性動脈周囲炎）、多発性軟骨炎、リウマチ性多発筋痛症、白毛症、多関節型JRA、多腺性内分泌不全症候群、多発性筋炎、I型多腺性内分泌不全症及びII型多腺性内分泌不全症、リウマチ性多発筋痛症（PMR）、感染後間質性肺疾患、炎症後間質性肺疾患、ポストポンプ症候群、早発卵巣不全、原発性胆汁性肝硬変、原発性粘液水腫、原発性パーキンソン病、原発性硬化性胆管炎、原発性硬化性肝炎、原発性血管炎、前立腺癌及び直腸癌及び血液悪性疾患（白血病及びリンパ腫）、前立腺炎、乾癬、1型乾癬、2型乾癬、乾癬性関節炎、乾癬性関節症、結合組織病続発性肺高血圧症、結節性多発動脈炎の肺症状、純赤血球形成不全症、原発性副腎不全、放射線線維症、反応性関節炎、ライター病、再発性視神経脊髄炎、腎疾患NOS、再狭窄、関節リウマチ、関節リウマチ関連間質性肺疾患、リウマチ性心臓病、SAPHO（滑膜炎、座瘡、膿疱症、骨化症及び骨炎）、サルコイドーシス、統合失調症、シュミット症候群、強皮症、続発性アミロイドーシス、ショック肺、強膜炎、座骨神経痛、続発性副腎不全、敗血症症候群、敗血症性関節炎、敗血症性ショック、血清反応陰性関節症、シリコン関連結合組織病、ショーグレン病関連肺

10

20

30

40

50

疾患、ショーグレン症候群、スネッドン・ウィルキンソン皮膚病、精子自己免疫、脊椎関節症、強直性脊椎炎、スティーブンス・ジョンソン症候群（SJS）、ステイル病、脳卒中、交感性眼炎、全身性炎症反応症候群、全身性エリテマトーデス、全身性エリテマトーデス関連肺疾患、全身性硬化症、全身性硬化症関連間質性肺疾患、高安病/動脈炎、側頭動脈炎、Th2型及びTh1型細胞介在性疾患、甲状腺炎、毒素性ショック症候群、トキソプラズマ性網膜炎、中毒性表皮壊死、横断性脊髄炎、TRAPS（腫瘍壊死因子1型受容体（TNFR）関連周期性症候群）、黒色表皮症を伴うB型インスリン抵抗性、1型アレルギー反応、1型自己免疫性肝炎（古典的自己免疫性肝炎ないしルポイド肝炎）、2型自己免疫性肝炎（抗LKM抗体肝炎）、II型糖尿病、潰瘍性大腸炎性関節症、潰瘍性大腸炎、蕁麻疹、通常型間質性肺炎（UIP）、ブドウ膜炎、血管炎性びまん性肺疾患、血管炎、春季カタル、ウイルス性網膜炎、白斑、フォークト・小柳・原田症候群（VKH症候群）、ウェグナー肉芽腫症、滲出型黄斑変性症、創傷治癒、エルシニア及びサルモネラ関連関節症が挙げられる。

10

【0191】

特定実施形態において、本発明のIL-1結合蛋白質又はその抗原結合部分は関節リウマチ、変形性関節症、クローン病、多発性硬化症、インスリン依存性糖尿病及び乾癬を治療するために使用される。

【0192】

本発明のIL-1結合蛋白質及びその抗原結合部分は自己免疫疾患、特に炎症を伴う自己免疫疾患（例えば強直性脊椎炎、アレルギー、自己免疫性糖尿病及び自己免疫性ブドウ膜炎）に罹患したヒトを治療するために使用することもできる。

20

【0193】

本発明のIL-1結合蛋白質又はその抗原結合部分は自己免疫性疾患及び炎症性疾患の治療に有用な1種以上の別の治療剤と併用投与することもできる。

【0194】

本発明のIL-1結合蛋白質又はその抗原結合部分はこのような疾患を治療するために単独又は組み合わせて使用することができる。当然のことながら、本発明の結合蛋白質又はその抗原結合部分は単独で使用してもよいし、別の作用剤（例えば治療剤）と併用してもよく、前記別の作用剤はその所期目的に合わせて当業者により選択される。例えば、別の作用剤は本発明の抗体により治療される疾患又は病態を治療するために有用であると当分野で認められている治療剤とすることができる。別の作用剤は治療用組成物に有益な属性を付与する作用剤（例えば組成物の粘性に作用する作用剤）でもよい。

30

【0195】

本発明の併用剤は本願に記載するIL-1結合蛋白質又はその抗原結合フラグメントと、以下に挙げる少なくとも1種の別の作用剤を含有する。形成される組成物はその所期機能を実施できるように併用するのであれば、併用剤は2種以上の別の作用剤、例えば2種又は3種の別の作用剤を含有することもできる。

【0196】

典型的な併用剤は本願に記載するIL-1結合蛋白質又はその抗原結合フラグメントと、非ステロイド性抗炎症薬（NSAID）（例えばイブプロフェン）を含有する。他の典型的な併用剤は本願に記載する抗体又はその抗原結合フラグメントと、プレドニゾン等のコルチコステロイドを含有する。患者に本発明の抗IL-1結合蛋白質と併用投与する際に必要なステロイド用量を徐々に減らすことによりステロイド使用の副作用を減らすか又はなくすことができる。本発明の抗体又は抗体部分と併用することができる関節リウマチ治療剤の非限定的な例としては、サイトカイン抑制性抗炎症薬（CSAID）、他のヒトサイトカイン又は成長因子（例えばTNF、LT、IL-1、IL-2、IL-3、IL-4、IL-5、IL-6、IL-7、IL-8、IL-15、IL-16、IL-18、IL-21、インターフェロン、EMAP-II、GM-CSF、FGF及びPDGF）の抗体又はアンタゴニストが挙げられる。本発明の抗体又はその抗原結合部分は細胞表面分子（例えばCD2、CD3、CD4、CD8、CD25、CD28、CD3

40

50

0、CD40、CD45、CD69、CD80(B7.1)、CD86(B7.2)、CD90、CTLA)又はそのリガンド(例えばCD154(gp39又はCD40L))に対する抗体と併用することができる。

【0197】

本発明のIL-1a結合蛋白質又はその抗原結合フラグメントと併用する典型的な治療剤は自己免疫とそれに続く炎症カスケードの種々の点に介入し、このような治療剤としては、例えば、キメラ、ヒト化又はヒトTNF抗体、D2E7(PCT公開第WO97/29131号)、CA2(REMICADE(登録商標))、CDP571、及び可溶性p55又はp75TNF受容体、その誘導體(p75TNFRIGG(ENBRELE(登録商標))又はp55TNFRIGG(レネルセプト))等のTNFアンタゴニストが挙げられ、更にTNFa変換酵素(TACE)阻害剤及び他のIL-1阻害剤(インターロイキン1変換酵素阻害剤、IL-1RA等)も挙げられる。抗体及びその抗原結合フラグメントと併用する他の作用剤としては、インターロイキン11、IL-1a機能に平行、依存又は協調して作用する作用剤(例えばIL-18アンタゴニスト(例えばIL-18結合蛋白質、例えば抗体又は可溶性IL-18受容体又はその抗原結合フラグメント))が挙げられる。抗体及びその抗原結合フラグメントと併用する他の作用剤としては、非枯渇性抗CD4阻害剤、共刺激経路CD80(B7.1)又はCD86(B7.2)のアンタゴニスト(例えば抗体、可溶性受容体、拮抗性リガンド又はその抗原結合フラグメント)が挙げられる。

10

【0198】

本発明の結合蛋白質又はその抗原結合部分は例えばメトトレキサート、6-MP、アザチオプリンスルファサラジン、メサラジン、オルサラジン、クロロキン/ヒドロキシクロロキン、ペンシラミン、金チオリンゴ酸塩(筋肉内及び経口)、アザチオプリン、コルヒチン、コルチコステロイド(経口、吸入及び局所注射)、 β 2アドレナリン受容体アゴニスト(サルブタモール、テルブタリン、サルメテロール)、キササンチン(テオフィリン、アミノフィリン)、クロモグリケート、ネドクロミル、ケトチフェン、イプラトロピウム及びオキシトロピウム、シクロスポリン、FK506、ラパマイシン、ミコフェノール酸モフェチル、レフルノミド、NSAID(例えばイブプロフェン)、コルチコステロイド(例えばプレドニゾロン)、ホスホジエステラーゼ阻害剤、アデノシンアゴニスト、抗血栓剤、補体阻害剤、アドレナリン作動薬、炎症誘発性サイトカイン(例えばTNF又はIL-1)によるシグナル伝達を妨害する作用剤(例えばIRAK、NIK、IKK、p38又はMAPキナーゼ阻害剤)、IL-1変換酵素阻害剤、TNF変換酵素(TACE)阻害剤、T細胞シグナル伝達阻害剤(例えばキナーゼ阻害剤)、メタロプロテイナーゼ阻害剤、スルファサラジン、アザチオプリン、6-メルカプトプリン、アンジオテンシン変換酵素阻害剤、可溶性サイトカイン受容体とその誘導體(例えば可溶性p55又はp75TNF受容体と誘導體p75TNFRIGG(ENBRELE(登録商標))及びp55TNFRIGG(レネルセプト)、sIL-1RI、sIL-1RII、sIL-6R)、抗炎症性サイトカイン(例えばIL-4、IL-10、IL-11、IL-13及びTGF)、セレコキシブ、葉酸、硫酸ヒドロキシクロロキン、ロフェコキシブ、エタネルセプト、インフリキシマブ、ナプロキセン、バルデコキシブ、スルファサラジン、メチルプレドニゾロン、メロキシカム、酢酸メチルプレドニゾロン、金チオリンゴ酸ナトリウム、アスピリン、トリアムシノロンアセトニド、ナブシル酸プロポキシフェン/アセトアミノフェン、葉酸塩、ナブメトン、ジクロフェナク、ピロキシカム、エトドラク、ジクロフェナクナトリウム、オキサプロジン、塩酸オキシコドン、重酒石酸ヒドロコドン/アセトアミノフェン、ジクロフェナクナトリウム/ミソプロストール、フェンタニル、アナキントラ(ヒト組換え)、塩酸トラマドール、サルサレート、スリダク、シアノコバラミン/葉酸/ピリドキシン、アセトアミノフェン、アレンドロン酸ナトリウム、プレドニゾロン、硫酸モルヒネ、塩酸リドカイン、インドメタシン、硫酸グルコサミン/コンドロイチン、塩酸アミトリプチリン、スルファジアジン、塩酸オキシコドン/アセトアミノフェン、塩酸オロパタジン、ミソプロストール、ナプロキセンナトリウム、オメプラゾール、シ

20

30

40

50

クロホスファミド、リツキシマブ、IL-1 TRAP、MRA、CTLA4-IG、IL-18 BP、抗IL-18、抗IL15、BIRB-796、SCIO-469、VX-702、AMG-548、VX-740、ロフルミラスト、IC-485、CDC-801及びメソプラム等の関節リウマチ治療剤と併用することもできる。

【0199】

本発明のIL-1 結合蛋白質（例えば抗体）又はその抗原結合部分と併用することができる炎症性腸疾患治療剤の非限定的な例としては、ブデソニド、上皮成長因子、コルチコステロイド、シクロスポリン、スルファサラジン、アミノサリチル酸塩、6-メルカプトプリン、アザチオプリン、メトロニダゾール、リポキシゲナーゼ阻害剤、メサラミン、オルサラジン、バルサラジド、抗酸化剤、トロンボキサン阻害剤、IL-1受容体アンタゴニスト、抗IL-1 モノクローナル抗体、抗IL-6モノクローナル抗体、成長因子、エラスターゼ阻害剤、ピリジニルイミダゾール化合物、他のヒトサイトカイン又は成長因子（例えばTNF、LT、IL-1、IL-2、IL-6、IL-7、IL-8、IL-15、IL-16、IL-17、IL-18、EMAP-II、GM-CSF、FGF及びPDGF）の抗体又はアンタゴニストが挙げられる。本発明の抗体又はその抗原結合部分はCD2、CD3、CD4、CD8、CD25、CD28、CD30、CD40、CD45、CD69、CD90等の細胞表面分子及びそのリガンドの抗体と併用することができる。本発明の結合蛋白質又はその抗原結合部分はメトトレキサート、シクロスポリン、FK506、ラパマイシン、ミコフェノール酸モフェチル、レフルノミド、NSAID（例えばイブプロフェン）、コルチコステロイド（例えばプレドニゾロン）、ホスホジエステラーゼ阻害剤、アデノシンアゴニスト、抗血栓剤、補体阻害剤、アドレナリン作動薬、炎症誘発性サイトカイン（例えばTNF 又はIL-1）によるシグナル伝達を妨害する作用剤（例えばIRAK、NIK、IKK、p38又はMAPキナーゼ阻害剤）、IL-1 変換酵素阻害剤、TNF 変換酵素阻害剤、T細胞シグナル伝達阻害剤（例えばキナーゼ阻害剤）、メタロプロテイナーゼ阻害剤、スルファサラジン、アザチオプリン、6-メルカプトプリン、アンジオテンシン変換酵素阻害剤、可溶性サイトカイン受容体とその誘導体（例えば可溶性p55又はp75TNF受容体、sIL-1RI、sIL-1RII、sIL-6R）及び抗炎症性サイトカイン（例えばIL-4、IL-10、IL-11、IL-13及びTGF β ）等の作用剤と併用することもできる。

【0200】

本願に記載するIL-1 結合蛋白質又はその抗原結合部分と併用することができるクローン病治療剤の典型例としては、TNFアンタゴニスト（例えば抗TNF抗体、D2E7（PCT公開第WO97/29131号；HUMIRA（登録商標））、CA2（REMICADE（登録商標））、CDP571、TNFR-Ig構築物（p75TNFR IgG（ENBREL（登録商標））及びp55TNFR IgG（レネルセプト））阻害剤及びPDE4阻害剤）が挙げられる。本発明の結合蛋白質又はその抗原結合部分はコルチコステロイド（例えばブデソニド及びデキサメタゾン）と併用することができる。本発明の結合蛋白質又はその抗原結合部分はスルファサラジン、5-アミノサリチル酸及びオルサラジン等の作用剤や、炎症誘発性サイトカイン（例えばIL-1）の合成又は作用を妨害する作用剤（例えばIL-1 変換酵素阻害剤及びIL-1RA）と併用することもできる。本発明の結合蛋白質又はその抗原結合部分はT細胞シグナル伝達阻害剤（例えばチロシンキナーゼ阻害剤）、6-メルカプトプリンと併用することもできる。本発明の結合蛋白質又はその抗原結合部分はIL-11と併用することもできる。本発明の結合蛋白質又はその抗原結合部分はメサラミン、プレドニゾン、アザチオプリン、メルカプトプリン、インフリキシマブ、琥珀酸メチルプレドニゾロンナトリウム、ジフェノキシレート/硫酸アトロピン、塩酸ロペラミド、メトトレキサート、オメプラゾール、葉酸塩、シプロフロキサシン/デキストロース-水、重酒石酸ヒドロコドン/アセトアミノフェン、塩酸テトラサイクリン、フルオシノニド、メトロニダゾール、チメロサル/硼酸、コレステラミン/スクロース、塩酸シプロフロキサシン、硫酸ヒオスシアミン、塩酸メペリジン、塩酸ミダゾラム、塩酸オキシコドン/アセトアミノフェン、塩酸プロメタジン、リン酸ナト

リウム、スルファメトキサゾール/トリメトプリム、セレコキシブ、ポリカルボフィル、ナブシル酸プロボキシフェン、ヒドロコルチゾン、マルチビタミン、バルサラジド2ナトリウム、リン酸コデイン/アセトアミノフェン、塩酸コレセベラム、シアノコバラミン、葉酸、レボフロキサシン、メチルプレドニゾロン、ナタリズマブ及びインターフェロンと併用することができる。

【0201】

本発明のIL-1 結合蛋白質又は抗原結合部分と併用することができる多発性硬化症治療剤の非限定的な例としては、コルチコステロイド、プレドニゾロン、メチルプレドニゾロン、アザチオプリン、シクロホスファミド、シクロスポリン、メトトレキサート、4-アミノピリジン、チザニジン、インターフェロン 1a (AVONEX (登録商標); Biogen)、インターフェロン 1b (BETASERON (登録商標); Chiron/Berlex)、インターフェオン n3 (Interferon Sciences/Fujimoto)、インターフェオン (Alfa Wassermann/J&J)、インターフェオン 1A-IF (Serono/Inhale Therapeutics)、ペグインターフェオン 2b (Enzon/Schering-Plough)、コポリマー1 (Cop-1; COPAXONE (登録商標); Teva Pharmaceutical Industries, Inc.)、高圧酸素、静脈内免疫グロブリン、クラドリピン、他のヒトサイトカイン又は成長因子とその受容体 (例えばTNF、LT、IL-1、IL-2、IL-6、IL-7、IL-8、IL-1A、IL-15、IL-16、IL-18、EMAP-II、GM-CSF、FGF及びPDGF) の抗体又はアンタゴニストが挙げられる。本発明の抗体又はその抗原結合部分はCD2、CD3、CD4、CD8、CD19、CD20、CD25、CD28、CD30、CD40、CD45、CD69、CD80、CD86、CD90等の細胞表面分子又はそのリガンドに対する抗体と併用することができる。本発明の抗体又はその抗原結合部分はFK506、ラパマイシン、ミコフェノール酸モフェチル、レフルノミド、NSAID (例えばイブプロフェン)、ホスホジエステラーゼ阻害剤、アデノシンアゴニスト、抗血栓剤、補体阻害剤、アドレナリン作動薬、炎症誘発性サイトカイン (例えばTNF 又はIL-1) によるシグナル伝達を妨害する作用剤 (例えばIRAK、NIK、IKK、p38又はMAPキナーゼ阻害剤)、IL-1b変換酵素阻害剤、TACE阻害剤、T細胞シグナル伝達阻害剤 (例えばキナーゼ阻害剤)、メタロプロテインナーゼ阻害剤、スルファサラジン、アザチオプリン、6-メルカプトプリン、アンジオテンシン変換酵素阻害剤、可溶性サイトカイン受容体とその誘導體 (例えば可溶性p55又はp75TNF受容体、sIL-1RI、sIL-1RII、sIL-6R)、抗炎症性サイトカイン (例えばIL-4、IL-10、IL-13及びTGF)、COPAXONE (登録商標)、及びカスパーゼ阻害剤 (例えばカスパーゼ1の阻害剤) 等の作用剤と併用することもできる。

【0202】

本発明のIL-1 結合蛋白質又はその抗原結合部分はアレムツズマブ、ドロナビノール、Unimed、ダクリズマブ、ミトキサントロン、塩酸キサリプロデン、ファミプリジン、酢酸グラチラマー、ナタリズマブ、シンナビドール、a-イムノカインNNS03、ABR-215062、Anergix.MS、ケモカイン受容体アンタゴニスト、BBR-2778、カラグアリン、CPI-1189、LEM (リボソーム封入ミトキサントロン)、THC、CBD (カンナビノイドアゴニスト)、MBP-8298、メソプラム (PDE4阻害剤)、MNA-715、抗IL-6受容体抗体、ニューロバクス、ピルフェニドン・アロトラップ1258 (RDP-1258)、sTNF-R1、タラムパネル、テリフルノミド、TGF-2、チプリモチド、VLA-4アンタゴニスト (例えばTR-14035、VLA4 Ultrahaler、Antegran-ELAN/Biogen)、インターフェオン アンタゴニスト、IL-4アゴニスト等の作用剤と併用することもできる。

【0203】

本発明のIL-1 結合蛋白質又はその抗原結合部分と併用することができる狭心症の

治療又は予防用治療剤の非限定的な例としては、アスピリン、ニトログリセリン、一硝酸イソソルビド、琥珀酸メトプロロール、アテノロール、酒石酸メトプロロール、ベシル酸アムロジピン、塩酸ジルチアゼム、二硝酸イソソルビド、重硫酸クロピドグレル、ニフェジピン、アトルバスタチンカルシウム、塩化カリウム、フロセミド、シンバスタチン、塩酸ベラパミル、ジゴキシン、塩酸プロプラノロール、カルベジロール、リシノプリル、スピロラクトン、ヒドロクロロチアジド、マレイン酸エナラプリル、ナドロール、ラミプリル、エノキサパリンナトリウム、ヘパリンナトリウム、バルサルタン、塩酸ソタロール、フェノフィブラート、エゼチミブ、ブメタニド、ロサルタンカリウム、リシノプリル/ヒドロクロロチアジド、フェロジピン、カプトプリル及びフマル酸ビソプロロールが挙げられる。

10

【0204】

本発明の結合蛋白質又はその抗原結合部分と併用することができる強直性脊椎炎の治療又は予防用治療剤の非限定的な例としては、イブプロフェン、ジクロフェナク・ミソプロストール合剤、ナプロキセン、メロキシカム、インドメタシン、ジクロフェナク、セレコキシブ、ロフェコキシブ、スルファサラジン、メトトレキサート、アザチオプリン、ミノサイクリン、プレドニゾン、エタネルセプト及びインフリキシマブが挙げられる。

【0205】

本発明のIL-1 結合蛋白質又はその抗原結合部分と併用することができる喘息の治療又は予防用治療剤の非限定的な例としては、アルブテロール、サルメテロール/フルチカゾン、モンテルカストナトリウム、プロピオン酸フルチカゾン、ブデソニド、プレドニゾン、キシナホ酸サルメテロール、塩酸レバルブテロール、硫酸アルブテロール/イプラトロピウム、リン酸プレドニゾロンナトリウム、トリアムシノロンアセトニド、ジプロピオン酸ベクロメタゾン、臭化イプラトロピウム、アジスロマイシン、酢酸ピルブテロール、プレドニゾン、テオフィリン無水物、琥珀酸メチルプレドニゾロンナトリウム、クラリスロマイシン、ザフィルルカスト、フマル酸ホルモテロール、インフルエンザウイルスワクチン、メチルプレドニゾン、アモキシシリン三水和物、フルニソリド、アレルギー注射、クロモリンナトリウム、塩酸フェキソフェナジン、フルニソリド/メントール、アモキシシリン/クラブラン酸塩、レボフロキサシン、インヘラー補助器具、グアイフェネシン、デキサメタゾンリン酸ナトリウム、塩酸モキシフロキサシン、塩酸ドキシサイクリン、グアイフェネシン/d-メトルファン、p-エフェドリン/コデイン/クロルフェニラミン、ガチフロキサシン、塩酸セチリジン、フランカルボン酸モメタゾン、キシナホ酸サルメテロール、ベンゾナテート、セファレキシン、p-エフェドリン/ヒドロコドン/クロルフェニラミン、塩酸セチリジン/プソイドエフェドリン、フェニレフリン/コデイン/プロメタジン、コデイン/プロメタジン、セフプロジル、デキサメタゾン、グアイフェネシン/プソイドエフェドリン、クロルフェニラミン/ヒドロコドン、ネドクロミルナトリウム、硫酸テルブタリン、エピネフリン、メチルプレドニゾン及び硫酸メタプロテレノールが挙げられる。

20

30

【0206】

本発明のIL-1 結合蛋白質又はその抗原結合部分と併用することができるCOPDの治療又は予防用治療剤の非限定的な例としては、硫酸アルブテロール/イプラトロピウム、臭化イプラトロピウム、サルメテロール/フルチカゾン、アルブテロール、キシナホ酸サルメテロール、プロピオン酸フルチカゾン、プレドニゾン、テオフィリン無水物、琥珀酸メチルプレドニゾロンナトリウム、モンテルカストナトリウム、ブデソニド、フマル酸ホルモテロール、トリアムシノロンアセトニド、レボフロキサシン、グアイフェネシン、アジスロマイシン、ジプロピオン酸ベクロメタゾン、塩酸レバルブテロール、フルニソリド、セフトリアキソンナトリウム、アモキシシリン三水和物、ガチフロキサシン、ザフィルルカスト、アモキシシリン/クラブラン酸塩、フルニソリド/メントール、クロルフェニラミン/ヒドロコドン、硫酸メタプロテレノール、メチルプレドニゾン、フランカルボン酸モメタゾン、p-エフェドリン/コデイン/クロルフェニラミン、酢酸ピルブテロール、p-エフェドリン/ロラタジン、硫酸テルブタリン、臭化チオトロピウム、(R

40

50

, R) - ホルモテロール、TgAAT、シロミラスト及びロフルミラストが挙げられる。

【0207】

本発明のIL-1 結合蛋白質又はその抗原結合部分と併用することができるHCVの治療又は予防用治療剤の非限定的な例としては、インターフェロン 2a、インターフェロン 2b、インターフェロン con1、インターフェロン n1、ペグ化インターフェロン 2a、ペグ化インターフェロン 2b、リバビリン、ペグインターフェロン 2b+リバビリン、ウルソデオキシコール酸、グリチルリチン酸、チマルファシン、マキサミン、VX-497並びにHCVポリメラーゼ、HCVプロテアーゼ、HCVヘリカーゼ、HCV IRES (内部リボソーム進入部位)をターゲットとする介入によりHCVを治療するために使用される任意化合物が挙げられる。

10

【0208】

本発明の結合蛋白質又はその抗原結合部分と併用することができる特発性肺線維症の治療又は予防用治療剤の非限定的な例としては、プレドニゾン、アザチオプリン、アルブテロール、コルヒチン、硫酸アルブテロール、ジゴキシン、インターフェロン、琥珀酸メチルプレドニゾンナトリウム、ロラゼパム、フロセミド、リシノプリル、ニトログリセリン、スピロラクトン、シクロホスファミド、臭化イプラトロピウム、アクチノマイシンd、アルテブラーゼ、プロピオン酸フルチカゾン、レボフロキサシン、硫酸メタプロテレノール、硫酸モルヒネ、塩酸オキシコドン、塩化カリウム、トリアムシノロンアセトニド、タクロリムス無水物、カルシウム、インターフェロン、メトトレキサート、ミコフェノール酸モフェチル及びインターフェロン 1bが挙げられる。

20

【0209】

本発明のIL-1 結合蛋白質又はその抗原結合部分と併用することができる心筋梗塞の治療又は予防用治療剤の非限定的な例としては、アスピリン、ニトログリセリン、酒石酸メトプロロール、エノキサパリンナトリウム、ヘパリンナトリウム、重硫酸クロピドグレル、カルベジロール、アテノロール、硫酸モルヒネ、琥珀酸メトプロロール、ワルファリンナトリウム、リシノプリル、一硝酸イソソルビド、ジゴキシン、フロセミド、シンバスタチン、ラミプリル、テネクテブラーゼ、マレイン酸エナラプリル、トルセミド、レタパーゼ、ロサルタンカリウム、塩酸キナプリル/炭酸マグネシウム、ブメタニド、アルテブラーゼ、エナラプリラート、塩酸アミオダロン、塩酸チロフィバンm水和物、塩酸ジルチアゼム、カプトプリル、イルベサルタン、バルサルタン、塩酸プロプラノロール、フォシノプリルナトリウム、塩酸リドカイン、エプチフィバチド、セファゾリンナトリウム、硫酸アトロピン、アミノカプロン酸、スピロラクトン、インターフェロン、塩酸ソタロール、塩化カリウム、ドクサートナトリウム、塩酸ドブタミン、アルブラゾラム、プラバスタチンナトリウム、アトルバスタチンカルシウム、塩酸ミダゾラム、塩酸メペリジン、二硝酸イソソルビド、エプネフリン、塩酸ドーパミン、ピパリルジン、ロスバスタチン、エゼチミブ/シンバスタチン、アバシミブ及びカリボリドが挙げられる。

30

【0210】

本発明のIL-1 結合蛋白質又はその抗原結合部分と併用することができる乾癬の治療又は予防用治療剤の非限定的な例としては、カルシポトリエン、プロピオン酸クロベタゾール、トリアムシノロンアセトニド、プロピオン酸ハロベタゾール、タザロテン、メトトレキサート、フルオシノニド、高用量ジプロピオン酸ベタメタゾン、フルオシノロンアセトニド、アシトレチン、タールシャンプー、吉草酸ベタメタゾン、フランカルボン酸モメタゾン、ケトコナゾール、プラモキシノ/フルオシノロン、吉草酸ヒドロコルチゾン、フルランドレノリド、尿素、ベタメタゾン、プロピオン酸クロベタゾール/エモリエント、プロピオン酸フルチカゾン、アジスロマイシン、ヒドロコルチゾン、保湿剤、葉酸、デソニド、ピメクロリムス、コールタール、二酢酸ジフロラゾン、葉酸エタネルセプト、乳酸、メトクスサレン、ヒドロコルチゾン/次没食子酸ピスマス/酸化亜鉛/レゾルシノール、酢酸メチルプレドニゾン、プレドニゾン、日焼け止め剤、ハルシノニド、サリチル酸、アントラリン、ピバル酸クロコルトロン、石炭抽出物、コールタール/サリチル酸、コールタール/サリチル酸/硫黄、デゾキシメタゾン、ジアゼパム、エモリエント、フル

40

50

オシノニド/エモリエント、鉱油/ひまし油/乳酸ナトリウム、鉱油/ピーナッツ油、石油/ミリスチン酸イソプロピル、プソラレン、サリチル酸、石鹼/トリプロムサラン、チメロサル/硼酸、セレコキシブ、インフリキシマブ、シクロスポリン、アレファセプト、エファリズマブ、タクロリムス、ピメクロリムス、P U V A、U V B 及びスルファサラジンが挙げられる。

【0211】

本発明の I L - 1 結合蛋白質又はその抗原結合部分と併用することができる乾癬性関節炎の治療又は予防用治療剤の非限定的な例としては、メトトレキサート、エタネルセプト、ロフェコキシブ、セレコキシブ、葉酸、スルファサラジン、ナプロキセン、レフルノミド、酢酸メチルプレドニゾロン、インドメタシン、硫酸ヒドロキシクロロキン、プレドニゾン、スリダク、高用量ジプロピオン酸ベタメタゾン、インフリキシマブ、メトトレキサート、葉酸塩、トリアムシノロンアセトニド、ジクロフェナク、ジメチルスルホキシド、ピロキシカム、ジクロフェナクナトリウム、ケトプロフェン、メロキシカム、メチルプレドニゾロン、ナブメトン、トルメチンナトリウム、カルシボトリエン、シクロスポリン、ジクロフェナクナトリウム/ミソプロストール、フルオシノニド、硫酸グルコサミン、金チオリンゴ酸ナトリウム、重酒石酸ヒドロコドン/アセトアミノフェン、イブプロフェン、リセドロン酸ナトリウム、スルファジアジン、チオグアニン、バルデコキシブ、アレファセプト及びエファリズマブが挙げられる。

10

【0212】

本発明の I L - 1 結合蛋白質又はその抗原結合部分と併用することができる再狭窄の治療又は予防用治療剤の非限定的な例としては、シロリムス、バクリタキセル、エベロリムス、タクロリムス、A B T - 5 7 8 及びアセトアミノフェンが挙げられる。

20

【0213】

本発明の I L - 1 結合蛋白質又はその抗原結合と併用することができる座骨神経痛の治療又は予防用治療剤の非限定的な例としては、重酒石酸ヒドロコドン/アセトアミノフェン、ロフェコキシブ、塩酸シクロベンザプリン、メチルプレドニゾロン、ナプロキセン、イブプロフェン、塩酸オキシコドン/アセトアミノフェン、セレコキシブ、バルデコキシブ、酢酸メチルプレドニゾロン、プレドニゾン、リン酸コデイン/アセトアミノフェン、塩酸トラマドール/アセトアミノフェン、メタキサロン、メロキシカム、メトカルバモール、塩酸リドカイン、ジクロフェナクナトリウム、ガバペンチン、デキサメタゾン、カリソプロドール、ケトロラクトロメタミン、インドメタシン、アセトアミノフェン、ジアゼパム、ナブメトン、塩酸オキシコドン、塩酸チザニジン、ジクロフェナクナトリウム/ミソプロストール、ナブシル酸プロポキシフェン/アセトアミノフェン、アスピリン/オキシコドン/テレフタル酸オキシコドン、イブプロフェン/重酒石酸ヒドロコドン、塩酸トラマドール、エトドラク、塩酸プロポキシフェン、塩酸アミトリプチリン、カリソプロドール/リン酸コデイン/アスピリン、硫酸モルヒネ、マルチビタミン、ナプロキセンナトリウム、クエン酸オルフェナドリン及びテマゼパムが挙げられる。

30

【0214】

本発明の I L - 1 結合蛋白質又はその抗原結合部分と併用することができる全身性エリテマトーデス (S L E) の治療又は予防用治療剤の非限定的な例としては、N S A I D (例えばジクロフェナク、ナプロキセン、イブプロフェン、ピロキシカム、インドメタシン)、C O X 2 阻害剤 (例えばセレコキシブ、ロフェコキシブ、バルデコキシブ)、抗マラリア剤 (例えばヒドロキシクロロキン)、細胞傷害性物質 (例えばアザチオプリン、シクロホスファミド、ミコフェノール酸モフェチル、メトトレキサート)、P D E 4 阻害剤又はプリン合成阻害剤 (例えば C E L L C E P T (登録商標)) が挙げられる。本発明の結合蛋白質又はその抗原結合部分はスルファサラジン、5 - アミノサリチル酸、オルサラジン、イムラン及び炎症誘発性サイトカイン (例えば I L - 1) の合成、産生又は作用を妨害する物質 (例えば I L - 1 変換酵素阻害剤等のカスパーゼ阻害剤や I L - 1 r a) 等の作用剤と併用することもできる。本発明の結合蛋白質又はその抗原結合部分は T 細胞シグナル伝達阻害剤 (例えばチロシンキナーゼ阻害剤) 又は T 細胞活性化分子をターゲッ

40

50

トとする分子（例えばCTLA-4-IgG又は抗B7ファミリー抗体、及び抗PD-1ファミリー抗体）と併用することもできる。本発明の結合蛋白質又はその抗原結合部分はIL-11又は抗サイトカイン抗体（例えばフォントリズマブ（抗IFN γ 抗体））又は抗受容体受容体抗体（例えば抗IL-6受容体抗体やB細胞表面分子に対する抗体）と併用することができる。本発明の結合蛋白質又はその抗原結合部分はLJP394（アベチムス）、B細胞を枯渇化又は不活性化させる作用剤（例えばリツキシマブ（抗CD20抗体）、リンフォスタットB（抗BlyS抗体）、TNFアンタゴニスト（例えば抗TNF抗体、D2E7（PCT公開第WO97/29131号；HUMIRA（登録商標））、CA2（REMICADE（登録商標））、CDP571、TNFR-Ig構築物（p75TNFRIGG（ENBREX（登録商標））及びp55TNFRIGG（レネルセプト））と併用することもできる。

【0215】

本発明の医薬組成物は「治療有効量」又は「予防有効量」の本発明のIL-1結合蛋白質又はその抗原結合部分を含有することができる。「治療有効量」とは、必要な用量と期間で所望治療結果を達成するために有効な量を意味する。本願に記載する結合蛋白質又はその抗原結合部分の治療有効量は当業者が決定することができ、個体の疾患状態、年齢、性別及び体重や、抗体又はその抗原結合部分が個体に所望応答を誘発する能力等の因子により変動し得る。治療有効量は抗体又はその抗原結合部分の治療に有益な作用が毒性又は有害作用を上回る量でもある。「予防有効量」とは、必要な用量と期間で所望予防結果を達成するために有効な量を意味する。一般に、予防用量は初期疾患ステージ又はそれ以前の対象で使用するの、予防有効量は治療有効量よりも少なくなる。

【0216】

最適所望応答（例えば治療又は予防応答）が得られるように投与レジメンを調整することができる。例えば、単回ボラスを投与してもよいし、時間をかけて数回に分けて投与してもよいし、治療状況の緊急性に依りて用量を相対的に増減してもよい。投与し易さと用量の均等性の点から非経口組成物を用量単位形態に製剤化すると特に有利である。本願で使用する用量単位形態とは、治療する哺乳動物対象に単位用量として投与するのに適した物理的に別個の単位を意味し、各単位は所望治療効果を生じるように計算された所定量の活性化化合物を必要な医薬担体と共に含有する。本発明の用量単位形態の仕様は（a）活性化化合物の固有特性及び達成すべき特定治療又は予防効果と、（b）個体の過敏症の治療用としてこのような活性化化合物を配合する技術に内在する問題により決定され、これらに直接依存する。

【0217】

本発明のIL-1結合蛋白質又はその抗原結合部分の治療有効量又は予防有効量の非限定的な範囲の1例は約0.1～約20mg/kg、約1～約10mg/kgである。用量値は緩和しようとする病態の種類と重篤度により変動し得る。任意特定対象の特定投与レジメンは個体の必要と組成物の投与者又は投与監理者の専門的判断に従って時間と共に調整すべきである。本願に記載する用量範囲は例示に過ぎず、特許請求の範囲に記載する組成物の範囲又は実施を制限するものではない。

【0218】

当業者に容易に理解される通り、本願に記載する本発明の組成物及び方法の他の適切な変形及び応用も自明であり、本発明の範囲又は本願に開示する実施形態から逸脱せずに適切な等価物を使用して実施することができる。以下の実施例は例証のみを目的とし、本発明を限定するものではないが、本発明は以下の実施例を参照することにより更に明瞭に理解されよう。

【実施例】

【0219】

実施例1：抗ヒトIL-1モノクローナル抗体の作製

マウス抗ヒトIL-1モノクローナル抗体は以下のように得られる。

【0220】

10

20

30

40

50

実施例 1.1: ヒト IL-1 抗原によるマウスの免疫

組換え精製ヒト IL-1 (R&D Systems, Minneapolis, MN, USA) 20 µg を完全フロイントアジュバント又は Immuno easy アジュバント (Qiagen, Valencia, CA) と混合し、6~8 週齢 Balb/C マウス 5 匹、C57B/6 マウス 5 匹、及び A/J マウス 5 匹に 1 日目に皮下注射する。24 日目、38 日目、及び 49 日目に、不完全フロイントアジュバント又は Immuno easy アジュバントと混合した組換え精製ヒト IL-1 変異体 20 µg を同一マウスに皮下注射する。84 日目、又は 112 日目、又は 144 日目に組換え精製ヒト IL-1 変異体 1 µg を静脈内注射する。

【0221】**実施例 1.2: ハイブリドーマの作製**

Kohler, G. and Milstein (1975) Nature 256: 495 に記載されている慣用方法に従い、実施例 1.1 に記載した免疫マウスから得られた脾細胞を SP2/0-Ag-14 細胞と 5:1 の比で融合し、ハイブリドーマを作製する。96 ウェルプレートでアザセリンとヒポキサンチンを加えた選択培地に融合物を脾細胞 2.5×10^6 個/ウェルの密度で撒く。融合後 7~10 日に肉眼的ハイブリドーマコロニーが認められる。ハイブリドーマコロニーを含む各ウェルからの上清を (実施例 3.1 に記載するように) IL-1 に対する抗体の存在について ELISA により試験する。次に IL-1 特異活性を示す上清を (実施例 3.2 に記載するように) IL-8 に関する MRC-5 バイオアッセイで IL-1 を中和させる能力について試験する。

【0222】**実施例 1.3: 抗ヒト IL-1 モノクローナル抗体の同定及び特性決定**

IL-1 と結合し、IL-1 と特異的に結合することが可能な抗体、特に MRC-5 バイオアッセイで 5 nM 又は 5 nM 未満の IC_{50} 値で結合することが可能な抗体を産生するハイブリドーマを増殖させ、限界希釈法によりクローニングする。

【0223】

10% 低 IgG 胎仔ウシ血清 (Hyclone #SH30151, Logan, UT) を含有する培地でハイブリドーマ細胞を増殖させる。平均して (クローン集団に由来する) 各ハイブリドーマ上清 250 mL を回収し、濃縮し、標準方法によるプロテイン A アフィニティークロマトグラフィーにより精製する。実施例 3.2 に記載するような MRC-5 バイオアッセイを使用して精製 mAb が IL-1 活性を阻害する能力を判定する。

【0224】**実施例 1.4: 各マウス抗ヒト IL-1 モノクローナル抗体の可変領域のアミノ酸配列の決定**

各アミノ酸配列決定のために、ハイブリドーマ細胞約 10×10^6 個を遠心により単離し、製造業者の指示に従って Trizol (Gibco BRL/Invitrogen, Carlsbad, CA.) で処理し、全長 RNA を単離する。製造業者の指示に従って Superscript First-Strand Synthesis System (Invitrogen, Carlsbad, CA) を使用し、全長 RNA を第 1 鎖 DNA 合成に供する。Oligo(dT) を第 1 鎖合成のプライマーに使用し、ポリ(A)⁺ RNA について選択する。次にマウス免疫グロブリン可変領域の増幅用に設計されたプライマー (Ig-Primer Sets, Novagen, Madison, WI) を使用して第 1 鎖 cDNA 産物を PCR により増幅する。PCR 産物をアガロースゲル上で分離し、切り出し、精製後、TOPO クローニングキットで pCR2.1-TOPO ベクター (Invitrogen, Carlsbad, CA) にクローニングし、化学的にコンピテントな TOP10 大腸菌 (Invitrogen, Carlsbad, CA) に形質転換する。形質転換細胞でコロニー PCR を実施し、インサートを含むクローンを同定する。QIAprep Miniprep キット (Qiagen, Valencia, CA) を使用してインサートを含むクローンからプラスミド DNA を単離する。プラスミド内のインサートを両鎖でシーケンシングし、M13 フォワードプライマーと M13 リバ

10

20

30

40

50

ースプライマー (Fermentas Life Sciences, Hanover MD) を使用して重鎖可変領域又は軽鎖可変領域 DNA 配列を決定する。抗 IL-1 モノクローナル抗体の重鎖可変領域配列と軽鎖可変領域配列を表 5 に示す。

【0225】

実施例 2 : 組換え抗ヒト IL-1 抗体

実施例 2.1 : 組換えキメラ抗ヒト IL-1 抗体の構築及び発現

マウス抗ヒト IL-1 モノクローナル抗体 1B12.4H4 の重鎖定常領域をコードする DNA を、細菌中で相同組換えにより 2 カ所のヒンジ領域アミノ酸突然変異を含むヒト IgG1 定常領域をコードする cDNA フラグメントで置換した。これらの突然変異は 234 位 (EU ナンバリング) のロイシン アラニン変異と 235 位のロイシン アラニン変異である (Lund et al. (1991) J. Immunol. 147: 2657)。これらの抗体の各々の軽鎖定常領域をヒト定常領域で置換した。pHybE 発現プラスミド (米国特許公開第 US 20090239259 号) にライゲーションしたキメラ重鎖及び軽鎖 cDNA のコトランスフェクションにより全長キメラ抗体を HEK293-6E 細胞で一過的に発現させた。組換えキメラ抗体を含む細胞上清をプロテイン A セファロースクロマトグラフィーにより精製し、結合した抗体を酸緩衝液の添加により溶出させた。抗体を中和させ、PBS で透析した。

10

【0226】

キメラ 1B12.4H4 をコードする重鎖 cDNA を 1B12.4H4 キメラ軽鎖 cDNA と共に (どちらも pHybE ベクターにライゲーションして) HEK293-6E 細胞にコトランスフェクションした。組換えキメラ抗体を含む細胞上清をプロテイン A セファロースクロマトグラフィーにより精製し、結合した抗体を酸緩衝液の添加により溶出させた。抗体を中和させ、PBS で透析した。次に実施例 3.2 に記載するように IL-1 誘導下の MRC-5 細胞による IL-8 の産生を阻害する能力について精製キメラ抗ヒト IL-1 モノクローナル抗体を試験した。

20

【0227】

実施例 2.2 : ヒト化抗ヒト IL-1 抗体の構築及び発現

実施例 2.2.1 : ヒト抗体フレームワークの選択

Huang et al. (2005) Methods 36: 35-42 の方法に従って VH 及び VL CDR のカノニカル構造を決定した。カノニカル構造によると、適切なアクセプターヒト VH フレームワーク配列は 3-13、3-53、3-66、4-34 及び 4-59 であり、適切なアクセプターヒト VL フレームワーク配列は Vk1、一部の Vk3、Vk5 及び Vk6 サブグループを含んでいた。1B12 VH 領域のアミノ酸 109-122 と hJH1-6 配列のアラインメントに基づき、hJH4 をアクセプターヒト FR4 配列として選択した。

30

【0228】

CDR 又はフレームワーク残基を「X」で漸次置換することにより更に 4 種類の VH 配列 (1B12 VH_x、-x_x、-x_{xx} 及び -x_{xxx}) を作製した。1B12 VH_s は VH 配列から D 領域と J 領域を除去したものである。5 種類の配列を NTI (登録商標) ソフトウェア (Invitrogen, Carlsbad, CA) の Align X プログラムでヒト VH 配列と整列させた。フレームワーク全体又はループコンフォメーションに重要な特定残基と VH/VL 境界のみに着目すると、VH4-59 が 1B12 VH 配列と最良の総合相同期度であった。1B12 VHCDR 配列を移植するためのアクセプターヒト生殖細胞系フレームワークとしてこのフレームワークを選択した。別の VH ファミリーに由来する代替アクセプターヒトフレームワークとして VH3-53 を選択した。VH4 配列を整列させ、ヒト化配列の免疫原性の可能性を最小限にするために VH4 コンセンサス配列に変異させることができる VH4-59 内のフレームワーク残基を同定した。VH4-59 の配列アラインメントの結果、VH4-59 を VH4 コンセンサス配列にするためにフレームワーク残基変異を導入する必要はないことが分かった。配列アラインメントの結果、アクセプターフレームワークとして使用する VH4-59 配列はドミナ

40

50

ントコンセンサスであることが分かった。同様に、全VH3配列を整列させ、免疫原性の可能性を最小限にするためにVH3コンセンサス配列に変異させることができるVH3-53内のフレームワーク残基を同定した。2カ所のVH3コンセンサス変異(I12V及びV29F)が同定された。アラインメントの結果、アクセプターフレームワークとして使用するVH3-53配列は3種類の公知VH3-53多型に由来する最初の配列であることも分かった。免疫原性の可能性が低いか又はVH4-59生殖細胞系列配列に由来する天然ヒトVH配列に対する総合一致度がより良好な他のヒト化1B12 V H配列を作製するために、9種類の候補復帰突然変異のうち1~8種類をQ1E変異の不在下又は任意組合せでその存在下に含む第1組の配列を作製することができる。

【0229】

VH4-59に由来するヒト抗体における候補復帰突然変異の割合を調べるために、VH4-59に由来するヒトVH配列をNCBI IgBlastデータベースからバッチファスタファイルにダウンロードし、ClustalWにより整列させ、ロゴバーにより視覚化した。出力epsファイルをAdobe Illustratorにより編集し、ギャップ、シグナルペプチド、CDR3の大半及び定常領域配列を除去した。この分析は候補復帰突然変異とマウスVHCDR残基がVH4-59に由来する可能性のある825種類の天然ヒト抗体に出現するか否かを判断するために有用であった。9種類の候補復帰突然変異(G27F、I29L、I48L、V67L、V71K、T73N、N76S、F78V及びR94K)のうち、G27F、I29L、V67L、N76S、F78V及びR94Kはこれらの配列のうち1%を上回る配列で認められた。

【0230】

免疫原性の可能性が低いか又はVH3-53生殖細胞系列配列に由来する天然ヒトVH配列に対する総合一致度がより良好な他のヒト化1B12 V H配列を作製するために、10種類の候補復帰突然変異のうち1~9種類をI12V及びV29Fの2種類のVH3フレームワークコンセンサス変異のうち0~2種類と任意組合せで含む第2組の配列を作製することができる。VH3-53に由来するヒトVH配列をNCBI IgBlastデータベースからバッチファスタファイルにダウンロードし、ClustalWにより整列させ、ロゴバーにより視覚化した。出力epsファイルをAdobe Illustratorにより編集し、ギャップ、シグナルペプチド及び定常領域配列を除去した。この分析は10種類の候補復帰突然変異とマウスVHCDR残基がVH3-53に由来する可能性のある174種類の天然ヒト抗体に出現するか否かを判断するために有用であった。10種類の候補復帰突然変異(A24V、F29L、V37I、V48L、S49G、F67L、R71K、N76S、L78V及びR94K)のうち、A24V、F29L、R71K、N76S、L78V及びR94Kはこれらの配列のうち1%を上回る配列で認められた。

【0231】

VL配列におけるループ構造とVH/VL境界に対応する残基についてはPCT公開第WO2008021156号にまとめられている。CDR又はフレームワーク残基を「X」で漸次置換することにより更に4種類のVL配列(1B12VLx、-xx、-xxx及び-xxxx)を作製した。1B12VLsはVL配列からJ領域を除去したものである。5種類の配列をVector NTI(登録商標)ソフトウェアのAlign XプログラムでヒトVk配列と整列させた。2-1-1カノニカルCDR構造をもつヒトVk生殖細胞系列配列のみに着目した。ヒトVk生殖細胞系列1-33/O18を1B12.4H4 VLヒト化のアクセプターフレームワークとして選択した。別のサブグループに由来するヒト化のパックアップアクセプターフレームワークとしてヒトVk生殖細胞系列6D41/A14を選択した。全ヒトVk1生殖細胞系列配列を整列させ、免疫原性の可能性を最小限にするためにVk1コンセンサスに変異させるべき1-33/O18内の潜在的フレームワーク残基を同定した。2種類のVk1コンセンサス変異(F73L及びI83F)が同定された。これらの変異はヒト化1B12 VL配列の免疫原性の可能性を最小限にした。Vk6サブグループには異なる生殖細胞系列配列が2種類しか存在しな

10

20

30

40

50

ったので、6D41/A14には同一分析を実施しなかった。

【0232】

より良好なIgG機能を達成するため、又は免疫原性の可能性を低下させるため、又はO18生殖細胞系列配列に由来する天然ヒトVL配列に対する総合一致度をより良好にするために、7種類の候補復帰突然変異(I2T、M4V、A43P、Y49S、G64S、D1E及びQ3T)のうちの1~6種類をI83F V k 1コンセンサス変異の不在下又は任意組合せでその存在下に含む第1組の他の配列を作製することができる。より良好なIgG機能を達成するため、又は免疫原性の可能性を低下させるため、又は6D41/A14生殖細胞系列配列に由来する天然ヒトVL配列に対する総合一致度をより良好にするために、7種類の候補復帰突然変異(V2T、M4V、A43P、K49S、G64S、D1E及びV3T)のうちの1~6種類を任意組合せで含む第2組の他の配列を作製することができる。

10

【0233】

1-33/O18に由来するヒトVk配列をNCBI IgBlastデータベースから1個のバッチファスタファイルにダウンロードし、ClustalWにより整列させ、ロゴパーにより視覚化した。出力epsファイルをAdobe Illustratorにより編集し、ギャップ、シグナルペプチド及び定常領域配列を除去した。この分析は候補復帰突然変異とマウスVHCDR残基が1-33/O18に由来する可能性のある260種類の天然ヒト抗体に出現するか否かを判断するために有用であった。7種類の候補復帰突然変異のうち、D1EとY49Sはこれらの配列のうちの1%を上回る配列で認められた。

20

【0234】

実施例2.2.2: 抗ヒトIL-1モノクローナル抗体1B12.4H4のヒト化

表5に示す抗IL-1抗体1B12.4H4__からの重鎖CDR配列を2種類のヒトフレームワークにインシリコ移植した。第1組はmAb h1B12VH.1z、h1B12VH.1及びh1B12VH.1aを含む。h1B12VH.1zはVH4-59及びJH4フレームワーク配列を含むCDR移植ヒト化1B12 VHである。h1B12VH.1はN末端ピログルタミン酸形成を防ぐために更にQ1Eフレームワーク変異を加えたヒト化デザインである。h1B12VH.1aはQ1E変異と可能な全フレームワーク復帰突然変異G27F、I29L、I48L、V67L、V71K、T73N、N76S、F78V及びR94Kを含むヒト化デザインである。

30

【0235】

第2組はmAb h1B12VH.2z、h1B12VH.2及びh1B12VH.2aを含む。h1B12VH.2zはVH3-53及びhJH4フレームワーク配列を含むCDR移植ヒト化1B12 VHである。h1B12VH.2はI12V及びV29F VH3フレームワークコンセンサス変異を含むヒト化デザインである。h1B12VH.2aはVH3フレームワークコンセンサス変異と可能な全フレームワーク復帰突然変異A24V、F29L(FはVH3コンセンサス配列である)、V37I、V48L、S49G、F67L、R71K、N76S、L78V及びR94Kを含むヒト化デザインである。これらの候補構築物にN結合型グリコシル化パターン(N-{P}-S/T)は認められなかった。全復帰突然変異が必要なわけではないと思われる。第1組のI48L、V71K及びT73Nと、第2組のF29L、V37I、V48L、S49G及びF67Lの復帰突然変異はヒト抗体では出現しない。必要に応じてその後の親和性成熟プロセス中に所定の復帰突然変異を除去してもよい。

40

【0236】

表5に示す抗IL-1抗体1B12.4H4__からの軽鎖CDR配列を2種類のヒトフレームワークにインシリコ移植した。第1組はmAb h1B12VL.1z、h1B12VL.1、h1B12VL.1a及びh1B12VL.1bを含む。h1B12VL.1zはO18及びJk2フレームワーク配列を含む直接CDR移植ヒト化1B12 VLである。h1B12VL.1はI83F V k 1フレームワークコンセンサス変異を含

50

むヒト化デザインである。h 1 B 1 2 V L . 1 a はコンセンサス変異と 5 種類のフレームワーク復帰突然変異 (I 2 T、M 4 V、A 4 3 P、Y 4 9 S、G 6 4 S) を含むヒト化デザインである。h 1 B 1 2 V L . 1 b はコンセンサス変異と 7 種類のフレームワーク復帰突然変異 (上記 5 種類に加え、他の 2 種類の N 末端復帰突然変異 D 1 E 及び Q 3 T) を含むヒト化デザインである。第 2 組は m A b h 1 B 1 2 V L . 2、h 1 B 1 2 V L . 2 a 及び h 1 B 1 2 V L . 2 b を含む。h 1 B 1 2 V L . 2 は A 1 4 及び J k 2 フレームワーク配列を含む直接 C D R 移植ヒト化 1 B 1 2 V L である。h 1 B 1 2 V L . 2 a は 5 種類のフレームワーク復帰突然変異 (V 2 T、M 4 V、A 4 3 P、K 4 9 S、G 6 4 S) を含むヒト化デザインである。h 1 B 1 2 V L . 2 b は 7 種類のフレームワーク復帰突然変異 (上記 5 種類に加え、他の 2 種類の N 末端復帰突然変異 D 1 E 及び V 3 T) を含むヒト化デザインである。候補構築物に N 結合型グリコシル化パターン (N - { P } - S / T) は認められなかった。全復帰突然変異が必要なわけではないと思われる。第 1 組の復帰突然変異 I 2 T、Q 3 T、M 4 V、A 4 3 P 及び G 6 4 S はヒト抗体では出現しない。6 D 4 1 / A 1 4 生殖細胞系列配列に由来するヒト抗体は極僅かである。必要に応じてその後の親和性成熟プロセス中に所定の復帰突然変異を除去してもよい。

10

【 0 2 3 7 】

表 6 は本発明のヒト化抗 h I L - 1 抗体の V H 領域及び V L 領域のアミノ酸配列の一覧である。

【 0 2 3 8 】

【表 6】

20

表 6: ヒト化 1B12 VH/VL 変異体のアミノ酸配列の一覧

配列番号	蛋白質領域	配列
		123456789012345678901234567890
28	h1B12.4H4VH.1z	QVQLQESGPGLVKPSSETLSLTCTVSGGSIS DYGVSWIRQPPGKGLEWIGLIWGGDITYYN SPLKSRVTISVDTSKNQFSLKLSVTAADT AVYYCAR QRTLWGYDLYGMDY WGQGLVTVSS
29	h1B12.4H4VH.1	EVQLQESGPGLVKPSSETLSLTCTVSGGSIS DYGVSWIRQPPGKGLEWIGLIWGGDITYYN SPLKSRVTISVDTSKNQFSLKLSVTAADT AVYYCAR QRTLWGYDLYGMDY WGQGLVTVSS
30	h1B12.4H4VH.1a	EVQLQESGPGLVKPSSETLSLTCTVSGFSLIS DYGVSWIRQPPGKGLEWLGLIWGGDITYYN SPLKSRLTISKDNSKQVSLKLSVTAADT AVYYCAK QRTLWGYDLYGMDY WGQGLVTVSS

30

配列番号	蛋白質領域		配列
			123456789012345678901234567890
31	h1B12.4H4VH.2z		EVQLVESGGGLIQPGGSLRRLSCAASGFTVS DYGVSWVRQAPGKGLEWVSLIWGGDITYN SPLKSRFTISRDNKNTLYLQMNSLRAEDT AVYYCAR QRTLWGYDLYGMDYWGQGTLVTV SS
32	h1B12.4H4VH.2		EVQLVESGGGLVQPGGSLRRLSCAASGFTFS DYGVSWVRQAPGKGLEWVSLIWGGDITYN SPLKSRFTISRDNKNTLYLQMNSLRAEDT AVYYCAR QRTLWGYDLYGMDYWGQGTLVTV SS
33	h1B12.4H4VH.2a		EVQLVESGGGLVQPGGSLRRLSCAVSGFTLS DYGVSWIRQAPGKGLEWLGLIWGGDITYN SPLKSRFTISRDNKNTLYLQMNSLRAEDT AVYYCAK QRTLWGYDLYGMDYWGQGTLVTV SS
34	h1B12.4H4VL.1		DIQMTQSPSSLSASVGRVITTCITSTDDID VDMN WYQQKPGKAPKLLIY QGNTLRPGVPS RFGSGSGTDFFTISSLQPEDFATYYC LQ SDNLPLT FGQGTKLEIK
35	h1B12.4H4VL.1z		DIQMTQSPSSLSASVGRVITTCITSTDDID VDMN WYQQKPGKAPKLLIY QGNTLRPGVPS RFGSGSGTDFFTISSLQPEDFATYYC LQ SDNLPLT FGQGTKLEIK
36	h1B12.4H4VL.1a		DTQVTQSPSSLSASVGRVITTCITSTDDID VDMN WYQQKPGKPPKLLIS QGNTLRPGVPS RFSSSGSGTDFFTISSLQPEDFATYYC LQ SDNLPLT FGQGTKLEIK
37	h1B12.4H4VL.1b		ETTQVTQSPSSLSASVGRVITTCITSTDDID VDMN WYQQKPGKPPKLLIS QGNTLRPGVPS RFSSSGSGTDFFTISSLQPEDFATYYC LQ SDNLPLT FGQGTKLEIK
38	h1B12.4H4VL.2		DVVMTQSPAFLSVTPGEKVTITTCITSTDDID VDMN WYQQKPDQAPKLLIK QGNTLRPGVPS RFGSGSGTDFFTISSLEAEDAATYYC LQ SDNLPLT FGQGTKLEIK
39	h1B12.4H4VL.2a		DTVVTQSPAFLSVTPGEKVTITTCITSTDDID VDMN WYQQKPDQPPKLLIS QGNTLRPGVPS RFSSSGSGTDFFTISSLEAEDAATYYC LQ SDNLPLT FGQGTKLEIK
40	h1B12.4H4VL.2b		ETTQVTQSPAFLSVTPGEKVTITTCITSTDDID VDMN WYQQKPDQPPKLLIS QGNTLRPGVPS RFSSSGSGTDFFTISSLEAEDAATYYC LQ SDNLPLT FGQGTKLEIK

10

20

30

40

50

【0239】

実施例2.2.3: ヒト化抗体の構築

標準DNA合成又は増幅技術を使用して核酸を合成するために上記配列を使用し、細胞で発現させるために標準組換えDNA技術を使用して所望抗体フラグメントを発現ベクターに組立てることができる。例えば、核酸配列から核酸コドンを決し、Blue Heron Biotechnology, Inc. (www.blueheronbio.com) Bothell, WA USAによりオリゴヌクレオチドDNAを合成する。オリゴヌクレオチドを300~2,000塩基対2本鎖DNAフラグメントに組立て、プラスミドベクターにクローニングし、配列を確認する。クローニングしたフラグメントを酵素法により組立てて全長遺伝子を得、発現ベクターにサブクローニングする(7,306,914; 7,297,541; 7,279,159; 7,150,969; 20080

1 1 5 2 4 3 ; 2 0 0 8 0 1 0 2 4 7 5 ; 2 0 0 8 0 0 8 1 3 7 9 ; 2 0 0 8 0 0 7 5 6
 9 0 ; 2 0 0 8 0 0 6 3 7 8 0 ; 2 0 0 8 0 0 5 0 5 0 6 ; 2 0 0 8 0 0 3 8 7 7 7 ; 2
 0 0 8 0 0 2 2 4 2 2 ; 2 0 0 7 0 2 8 9 0 3 3 ; 2 0 0 7 0 2 8 7 1 7 0 ; 2 0 0 7 0
 2 5 4 3 3 8 ; 2 0 0 7 0 2 4 3 1 9 4 ; 2 0 0 7 0 2 2 5 2 2 7 ; 2 0 0 7 0 2 0 7 1
 7 1 ; 2 0 0 7 0 1 5 0 9 7 6 ; 2 0 0 7 0 1 3 5 6 2 0 ; 2 0 0 7 0 1 2 8 1 9 0 ; 2
 0 0 7 0 1 0 4 7 2 2 ; 2 0 0 7 0 0 9 2 4 8 4 ; 2 0 0 7 0 0 3 7 1 9 6 ; 2 0 0 7 0
 0 2 8 3 2 1 ; 2 0 0 6 0 1 7 2 4 0 4 ; 2 0 0 6 0 1 6 2 0 2 6 ; 2 0 0 6 0 1 5 3 7
 9 1 ; 2 0 0 3 0 2 1 5 4 5 8 ; 及び 2 0 0 3 0 1 5 7 6 4 3 参照)。

【 0 2 4 0 】

例えば、インシリコ構築した上記ヒト化抗体を p H y b E ベクター (米国特許公開第 U
 S 2 0 0 9 / 0 2 3 9 2 5 9 号) の多重クローニング部位に挿入することができる。細菌
 コロニーを単離し、プラスミド DNA を抽出し、c DNA インサートを完全にシーケンシ
 ングする。各抗体に対応する正しいヒト化重鎖及び軽鎖を H E K 2 9 3 - 6 E 細胞にコ
 ントランスフェクションし、全長ヒト化抗ヒト I L - 1 抗体を一過的に産生させる。重鎖移
 植 c DNA と軽鎖移植 c DNA を含む p H y b E ベクターを H E K 2 9 3 - 6 E 細胞にコ
 ントランスフェクションした。組換えキメラ抗体を含む細胞上清をプロテイン A セファロー
 スクロマトグラフィーにより精製し、結合した抗体を酸緩衝液の添加により溶出させる。
 抗体を中和させ、P B S で透析する。ヒト化抗体を表 7 に示す。

10

【 0 2 4 1 】

V H 及び V L シャフリングに基づくヒト化 1 B 1 2 抗体の各種組合せを表 7 に示す。

20

【 0 2 4 2 】

【 表 7 】

表 7: VH 及び VH シャフリングに基づくヒト化 1B12 抗体の組合せ

	1B12 VL	h1B12 VL.1z	h1B12 VL.1	h1B12 VL.1a	h1B12 VL.1b	h1B12 VL.2	h1B12 VL.2a	h1B12 VL.2b
1B12VH								
h1B12VH.1z								
h1B12VH.1								
h1B12VH.1a				1	2		3	4
h1B12VH.2z								
h1B12VH.2								
h1B12VH.2a				5	6		7	8

30

40

【 0 2 4 3 】

表 8 は機能的特性決定のために I g G 発現ベクターにクローニングしたマウスモノク
 ロナル抗体 1 B 1 2 のヒト化可変領域を示す。C D R を太字で示す。

【 0 2 4 4 】

【表 8】

表 8: マウスモノクローナル抗体 1B12 のヒト化可変領域

配列番号	蛋白質領域			配列
				123456789012345678901234567890
30	1B12.1 VH			EVQLQESGPGLVKPSSETLSLTCTVSGFSLSDYGVSWIRQPPGKGLEWLG LIWGGDITYN SPLKS RLTISKDNSKSVSLKLSVTAADT AVYYCAK QRTLWGYDLYGMDY WGQGLTVTVSS
41	1B12.1 VH	CDR H1	配列番号26の 残基31-35	DYGVS
42	1B12.1 VH	CDR H2	配列番号26の 残基50-65	LIWGGDITYNSPLKS
43	1B12.1 VH	CDR H3	配列番号26の 残基98-111	QRTLWGYDLYGMDY
36	1B12.1 VL			DTQVTQSPSSLSASVGDVVTITC ITSTDID VDMN WYQKPGKPPKLLIS QGNTLR PGVPS RFSSSGSGTDFTFITISSLQPEDFATYY CLQ SDNLPLT FGQGTKLEIK
44	1B12.1 VL	CDR L1	配列番号27の 残基24-34	ITSTDIDVDMN
45	1B12.1 VL	CDR L2	配列番号27の 残基50-56	QGNTLRP
46	1B12.1 VL	CDR L3	配列番号27の 残基89-97	LQSDNLPLT
30	1B12.2 VH			EVQLQESGPGLVKPSSETLSLTCTVSGFSLSDYGVSWIRQPPGKGLEWLG LIWGGDITYN SPLKS RLTISKDNSKSVSLKLSVTAADT AVYYCAK QRTLWGYDLYGMDY WGQGLTVTVSS
41	1B12.2 VH	CDR H1	配列番号26の 残基31-35	DYGVS
42	1B12.2 VH	CDR H2	配列番号26の 残基50-65	LIWGGDITYNSPLKS

10

20

30

40

配列番号	蛋白質領域			配列
				123456789012345678901234567890
43	1B12.2 VH	CDR H3	配列番号26の 残基98-111	QRTLWGYDLYGMDY
37	1B12.2 VL			ETTVTQSPSSLSASVGDRTITC ITSTDID VDMN WYQQKPGKPKLLIS QGNTLRP GVPS RFSSSGSGTDFTFTISSLQPEDFATYY CLQ SDNLPLT FGQGTKLEIK
44	1B12.2 VL	CDR L1	配列番号27の 残基24-34	ITSTDIDVDMN
45	1B12.2 VL	CDR L2	配列番号27の 残基50-56	QGNTLRP
46	1B12.2 VL	CDR L3	配列番号27の 残基89-97	LQSDNLPLT
30	1B12.3 VH			EVQLQESGPGLVKPSSETLSLTCTVSGFSL DYGVS WIRQPPGKGLEWLG LIWGGDYYN SPLKS RLTISKDNSKSVSLKLSVTAADT AVYYCAK QRTLWGYDLYGMDY WGQGTLVTV SS
41	1B12.3 VH	CDR H1	配列番号26の 残基31-35	DYGVS
42	1B12.3 VH	CDR H2	配列番号26の 残基50-65	LIWGGDYYNSPLKS
43	1B12.3 VH	CDR H3	配列番号26の 残基98-111	QRTLWGYDLYGMDY
39	1B12.3 VL			DTVVTQSPAFLSVTPGEKVTITC ITSTDID VDMN WYQQKPDQPPKLLIS QGNTLRP GVPS RFSSSGSGTDFTFTISSLEAEDAATYY CLQ SDNLPLT FGQGTKLEIK
44	1B12.3 VL	CDR L1	配列番号27の 残基24-34	ITSTDIDVDMN
45	1B12.3 VL	CDR L2	配列番号27の 残基50-56	QGNTLRP
46	1B12.3 VL	CDR L3	配列番号27の 残基89-97	LQSDNLPLT

10

20

30

40

配列番号	蛋白質領域			配列
				123456789012345678901234567890
30	1B12.4 VH			EVQLQESGPGGLVVKPSETLSLTCTVSGFSLSDYGVSWIRQPPGKGLEWLG LIWGGD TYYN SPLK SRLTISKDNSKQVSLKLSVTAADTAVYYCAK QRTLWGYDLYGMDY WGQGLVTVSS
41	1B12.4 VH	CDR H1	配列番号26の 残基31-35	DYGV S
42	1B12.4 VH	CDR H2	配列番号26の 残基50-65	LIWGGD TYYN SPLK S
43	1B12.4 VH	CDR H3	配列番号26の 残基98-111	QRTLWGYDLYGMDY
40	1B12.4 VL			ETTVTQSPAFLSVTPGEKVTITC ITSTDID VDMN WYQ KPDQPPKLLIS QGN TLRPGVPSRFSSSGSGTDFFTTISSELAEDAATYY CLQ SDNL PLT FGQGTKLEIK
44	1B12.4 VL	CDR L1	配列番号27の 残基24-34	ITSTDID VDMN
45	1B12.4 VL	CDR L2	配列番号27の 残基50-56	QGN TLRP
46	1B12.4 VL	CDR L3	配列番号27の 残基89-97	LQSDNLPLT
33	1B12.5 VH			EVQLVESGGGLVQPGGSLRSLCAVSGFTLSDYGVSWIRQAPGKGLEWLG LIWGGD TYYN SPLK SRLTISKDNSKSTVYLMNSLRAEDTAVYYCAK QRTLWGYDLYGMDY WGQGLVTVSS
41	1B12.5 VH	CDR H1	配列番号26の 残基31-35	DYGV S
42	1B12.5 VH	CDR H2	配列番号26の 残基50-65	LIWGGD TYYN SPLK S
43	1B12.5 VH	CDR H3	配列番号26の 残基98-111	QRTLWGYDLYGMDY
36	1B12.5 VL			DTQVTQSPSSLSASVGDVRTITC ITSTDID VDMN WYQ KPGKPPKLLIS QGN TLRPGVPSRFSSSGSGTDFFTTISLQPEDFATYY CLQ SDNL PLT FGQGTKLEIK

10

20

30

40

配列番号	蛋白質領域			配列
				123456789012345678901234567890
44	1B12.5 VL	CDR L1	配列番号27の 残基24-34	ITSTDIDVDMN
45	1B12.5 VL	CDR L2	配列番号27の 残基50-56	QGNTLRP
46	1B12.5 VL	CDR L3	配列番号27の 残基89-97	LQSDNLPLT
33	1B12.6 VH			EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAVSGFTLS DYGVSWIRQAPGKGLEWLGLIWGGGDTYYN SPLKSRLTISKDNSKSTVYLMNSLRAEDT AVYYCAK QRTLWGYDLYGMDY WGQGTLLVTV SS
41	1B12.6 VH	CDR H1	配列番号26の 残基31-35	DYGVS
42	1B12.6 VH	CDR H2	配列番号26の 残基50-65	LIWGGGDTYYNSPLKS
43	1B12.6 VH	CDR H3	配列番号26の 残基98-111	QRTLWGYDLYGMDY
37	1B12.6 VL			ETTVTQSPSSLSASVGDRTITC ITSTDID VDMN WYQQKPKPKLLIS QGNTLRP GVPS RFSSSGSGTDFTFITISLQPEDFATYY CLQ SDNLPLT FGQGTKLEIK
44	1B12.6 VL	CDR L1	配列番号27の 残基24-34	ITSTDIDVDMN
45	1B12.6 VL	CDR L2	配列番号27の 残基50-56	QGNTLRP
46	1B12.6 VL	CDR L3	配列番号27の 残基89-97	LQSDNLPLT
33	1B12.7 VH			EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAVSGFTLS DYGVSWIRQAPGKGLEWLGLIWGGGDTYYN SPLKSRLTISKDNSKSTVYLMNSLRAEDT AVYYCAK QRTLWGYDLYGMDY WGQGTLLVTV SS
41	1B12.7 VH	CDR H1	配列番号26の 残基31-35	DYGVS

10

20

30

40

配列番号	蛋白質領域			配列
				123456789012345678901234567890
42	1B12.7 VH	CDR H2	配列番号26の 残基50-65	LIWGGGDTYYNSPLKS
43	1B12.7 VH	CDR H3	配列番号26の 残基98-111	QRTLWGYDLYGMDY
39	1B12.7 VL			DTVVTQSPAFLSVTPGEKVTITC ITSTDID VDMN WYQQKPDQPPKLLISQGNL RP GVPS RFSSSGSGTDFTF T ISSLEAEDAAT YYCLQ SDNL PL TFGQ GTKLEIK
44	1B12.7 VL	CDR L1	配列番号27の 残基24-34	ITSTDIDVDMN
45	1B12.7 VL	CDR L2	配列番号27の 残基50-56	QGNL RP
46	1B12.7 VL	CDR L3	配列番号27の 残基89-97	LQSDNL PLT
33	1B12.8 VH			EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAVSGFTLS DYGV SWIRQAPGKGLEWLGLIWGGDTYYN SPLKSRLTISKDNSKSTVYLQMN SLRAEDT AVYYCAK QRTLWGYDLYGMDY WGQGT LVTV SS
41	1B12.8 VH	CDR H1	配列番号26の 残基31-35	DYGV S
42	1B12.8 VH	CDR H2	配列番号26の 残基50-65	LIWGGGDTYYNSPLKS
43	1B12.8 VH	CDR H3	配列番号26の 残基98-111	QRTLWGYDLYGMDY
40	1B12.8 VL			ETTVTQSPAFLSVTPGEKVTITC ITSTDID VDMN WYQQKPDQPPKLLISQGNL RP GVPS RFSSSGSGTDFTF T ISSLEAEDAAT YYCLQ SDNL PL TFGQ GTKLEIK
44	1B12.8 VL	CDR L1	配列番号27の 残基24-34	ITSTDIDVDMN
45	1B12.8 VL	CDR L2	配列番号27の 残基50-56	QGNL RP

10

20

30

40

配列番号	蛋白質領域		配列
			123456789012345678901234567890
46	1B12.8 VL	CDR L3	配列番号27の 残基89-97 LQSDNLPLT

【0245】

実施例3：ヒトIL-1 抗体の機能的特性決定

実施例3.1：IL-1 酵素免疫測定法プロトコル

抗IL-1 mAbがヒトIL-1 と結合するか否かを判定するために、Pierce Coatバッファー（Jackson ImmunoResearch, West Grove, PA）で2 µg/mlに希釈した抗ヒトFc抗体の存在下でELISAプレート（Nunc, MaxiSorp, Rochester, NY）を一晩4 にてインキュベートした。プレートを洗浄バッファー（0.05% Tween 20を添加したPBS）で5回洗浄し、superblockブロッキングバッファー（Thermo scientific, #37515）200 µl/ウェルで25 にて1時間ブロックした。プレートをタッピングしてブロッキングバッファーを除去し、10% superblock、0.5% tween-20を添加したPBS中各抗体2 µg/mlを各ウェルに100 µlずつ加え、25 にて1時間インキュベートした。ウェルを1xPBSTで5回洗浄し、1 µg/ml ビオチン化抗原を（10% superblock、0.05% tween 20を添加したPBS中にµg~pgの範囲で）6倍系列希釈で滴定した。次に抗原の各希釈液をプレートに加え、1時間25 にてインキュベートした。ウェルを1xPBSTで5回洗浄し、ポリHRPストレプトアビジン（KPL #474-3000, Gaithersburg, MD）の存在下で1時間25 にてインキュベートした。ウェルを1xPBSTで5回洗浄し、ULTRA-TMB ELISA（Pierce, Rockford, IL）100 µl/ウェルを加えた。発色後に1N HCLで反応を停止し、450nmの吸光度を測定した。結果を表9に示すが、数値からヒト抗IL-1 抗体はヒトIL-1 と結合することが判る。

【0246】

【表9】

表9: ELISAによるヒト化抗体とヒトIL-1βの結合

抗-IL-1β mAb	hIL-1β ELISAにおけるEC50 (pM)
1B12.1	39.9
1B12.2	37.6
1B12.3	43.8
1B12.4	37.8
1B12.5	48.8
1B12.6	45.9
1B12.7	58.2
1B12.8	47.9

【0247】

実施例3.2：ヒト化IL-1 抗体の中和能

本発明における抗ヒトIL-1 抗体の機能的活性を試験するために、抗体がIL-1 活性を阻害する能力を測定するMRC-5アッセイで抗体を使用した。MRC-5細胞株は用量依存的にヒトIL-1 に応答してIL-8を産生するヒト肺線維芽細胞株である。MRC-5細胞を先ずATCCから入手し、10% FBS完全MEM中で継代培養し、5% CO₂ インキュベーターで37 にて増殖させた。IL-1 に対する抗体の中和能を判定するために、抗体（50 u l）を96ウェルプレートに加え（1 × 10⁻⁷

~ 1×10^{-15} M の終濃度範囲)、ヒト IL-1 (終濃度 50 pg/mL) 50 μ l と共に 37 °C, 5% CO₂ 下で 1 時間プレインキュベートした。次に (24 時間前に 1 E5/ml の濃度で細胞 100 μ l/ウェルを撒いた) MRC-5 細胞に抗原抗体複合体 (100 μ l) を加えた。アッセイプレートを 5% CO₂ インキュベーターで 37 °C にて一晩インキュベートした。IL-8 産生を阻害するその能力により抗体力価を判定した。ヒト IL-8 産生を化学発光アッセイにより測定した。表 10 はヒト IL-1 に対する抗体力価をまとめる。

【0248】

【表 10】

表 10: ヒト化 IL-1 β 抗体の中和能

抗-IL-1 β mAb	ヒトIL-1 β に対する力価 IC ₅₀ (pM)
1B12.1	151
1B12.2	146
1B12.3	303
1B12.4	597
1B12.5	319
1B12.6	378
1B12.7	581
1B12.8	484

10

20

【0249】

実施例 3.3: 表面プラズモン共鳴法による IL-1 抗体の親和性測定

BIACORE (登録商標) アッセイ (Biacore, Inc., Piscataway, NJ) はオン速度定数とオフ速度定数の動的測定により抗体の親和性を測定する。25 °C のランニング HBS-EP (10 mM HEPES [pH 7.4], 150 mM NaCl, 3 mM EDTA 及び 0.005% 界面活性剤 P20) を使用して Biacore (登録商標) 3000 計器 (Biacore (登録商標) AB, Uppsala, Sweden) で表面プラズモン共鳴法測定により組換え精製ヒト IL-1 と抗体の結合を測定した。特に指定しない限り、全薬品は Biacore (登録商標) AB (Uppsala, Sweden) から入手した。ヤギ抗マウス IgG (Fc) フラグメント特異的ポリクローナル抗体 (Pierce Biotechnology Inc, Rockford, Illinois) 約 5000 RU を 10 mM 酢酸ナトリウム (pH 4.5) で希釈し、標準アミンカップリングキットを製造業者の指示と手順に従って 25 μ g/ml で使用して CM5 研究グレードバイオセンサーチップに直接固定化した。バイオセンサー表面の未反応部分をエタノールアミンでブロックした。フローセル 2 及び 4 の修飾カルボキシメチルデキストラン表面を反応表面として使用した。フローセル 1 及び 3 のヤギ抗マウス IgG を固定していない未修飾カルボキシメチルデキストランを参照表面として使用した。動的分析のために、Biacore Evaluation 4.0.1 ソフトウェアを使用することにより (グローバルフィット分析を使用して)、1:1 ラングミュア結合モデルから誘導した速度方程式を全 8 種の注入液の会合相と解離相に同時にフィットさせた。ヤギ抗マウス IgG 特異的反応表面に固定するために精製抗体を HEPES 緩衝生理食塩水で希釈した。リガンドとして捕捉するマウス抗体 (25 μ g/ml) を反応マトリックスに流速 5 μ l/分で注入した。25 μ l/分の連続流量下にオン速度定数とオフ速度定数 k_{on} (単位 $M^{-1} s^{-1}$) 及び k_{off} (単位 s^{-1}) を測定した。速度定数は 10 ~ 200 nM の 10 種の異なる抗原濃度で動的結合測定を行うことにより誘導した。次に、抗体と標的抗原の反応の平衡解離定数 (単位 M) を式 $K_D = k_{off} / k_{on}$ により動的な速度定数から計算した。時間の関数として結合を記録し、動的な速度定数を計算する。このアッセイでは、 $10^6 M^{-1} s^{-1}$ 程度の高いオン速度と $10^{-6} s^{-1}$ 程度の低いオフ速度を測定することができる。表 11 はヒト抗 IL-1 抗体の親和性測定値を示す。

30

40

【0250】

50

【表 1 1】

表 11: **Biacore**によるヒトIL-1 β に対するヒト化抗体の親和性

	K_a (1/Ms)	K_d (1/s)	K_D (M)
1B12.1	5.55E+06	1.03E-03	1.86E-10
1B12.2	6.13E+06	0.90E-03	1.47E-10
1B12.3	5.73E+06	1.18E-03	2.06E-10
1B12.4	6.01E+06	0.97E-03	1.61E-10
1B12.5	6.24E+06	1.44E-03	2.31E-10
1B12.6	6.20E+06	1.25E-03	2.02E-10
1B12.7	5.76E+06	1.64E-03	2.84E-10
1B12.8	5.94E+06	1.37 E-03	2.30E-10

10

【0 2 5 1】

本発明は分子生物学分野で周知の技術全体を組込む。これらの技術としては限定されないが、以下の刊行物に記載されている技術が挙げられる。

Ausubel et al. eds., Short Protocols In Molecular Biology (4th Ed. 1999) John Wiley & Sons, NY (ISBN 0-471-32938-X).

Lu and Weiner eds., Cloning and Expression Vectors for Gene Function Analysis (2001) BioTechniques Press, Westborough, MA, 298 pp. (ISBN 1-881299-21-X).

20

Kontermann and Dubel eds., Antibody Engineering (2001) Springer-Verlag, NY, 790 pp. (ISBN 3-540-41354-5).

Old and Primrose, Principles of Gene Manipulation: An Introduction To Genetic Engineering (3d Ed. 1985) Blackwell Scientific Publications, Boston, MA. Studies in Microbiology; V. 2: 409 pp. (ISBN 0-632-01318-4).

30

Sambrook et al., Molecular Cloning: A Laboratory Manual, 2d ed. (Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, NY), Vols. 1-3 (ISBN 0-87969-309-6).

Winnacker, From Genes To Clones: Introduction To Gene Technology (1987) VCH Publishers, NY (translated by Horst Ibelgauf), 634 pp. (ISBN 0-89573-614-4).

【0 2 5 2】

参照による組込み

40

本願の随所に引用する場合もある全引用資料（文献、特許、特許出願及びウェブサイト）とその引用資料は全目的でその内容全体を特に本願に組込む。特に指定しない限り、本発明の実施には、当分野で周知の免疫学、分子生物学及び細胞生物学の慣用技術を利用する。

【0 2 5 3】

等価物

本発明はその趣旨又は本質的特徴から逸脱せずに他の特定形態で実施することもできる。従って、上記実施形態はあらゆる点において例証とみなすべきであり、本願に記載する発明を限定するものではない。従って、本発明の範囲は上記記載ではなく、特許請求の範囲に指定され、従って、特許請求の範囲と等価の意味及び範囲内に該当する全変更も本願

50

に含むものとする。

【配列表】

2013507929000001.app

【 国際調査報告 】

INTERNATIONAL SEARCH REPORT		International application No. PCT/US 10/52849
A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER IPC(8) - A61K 39/395, G01N 33/53 (2011.01) USPC - 424/158.1, 424/178.1, 435/7.1 According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC		
B. FIELDS SEARCHED Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols) IPC(8) - A61K 39/395, G01N 33/53 (2011.01) USPC - 424/158.1, 424/178.1, 435/7.1 Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched USPC - 424/1.49, 424/9.1, 435/69.1, 530/391.1, 530/391.3, 530/391.7, 536/23.53 Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used) PUBWEST (PGPB,USPT,USOC,EPAB,JPAB), GOOGLE SCHOLAR: IL-1beta, antibody, humanized, CDRs of SEQ ID NOs: 26 and 27, 1B12, 1H, 12H, 24H, 27H, 29H, 37H, 48H, 49H, 67H, 71H, 73H, 76H, 78H, 94H, 1L, 2L, 3L, 4L, 43L, 49L, 64L, 83L.		
C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X — Y	US 2007/0071675 A1 (WU et al.) 29 March 2007 (29.03.2007) SEQ ID NO 9; SEQ ID NO: 10 or Table 1 or Table 2 or para [0108]	2-7 ----- 8-12
Y	US 2005/0042664 A1 (WU et al.) 24 February 2005 (24.02.2005) para [0016]; [0080]; abstract; SEQ ID NO: 258	8-12
A	US 2008/0118506 A1 (WU et al.) 22 May 2008 (22.05.2008) SEQ ID NO: 9	1 and 13-67
A	WO 2008/055206 A2 (WU et al.) 8 May 2008 (08.05.2008) SEQ ID NO: 9	1 and 13-67
<input type="checkbox"/> Further documents are listed in the continuation of Box C. <input type="checkbox"/>		
* Special categories of cited documents: "A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance "E" earlier application or patent but published on or after the international filing date "L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified) "O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means "P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed "I" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention "X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone "Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art "G" document member of the same patent family		
Date of the actual completion of the international search 18 Feb 2011 (18.02.2011)		Date of mailing of the international search report 28 FEB 2011
Name and mailing address of the ISA/US Mail Stop PCT, Attn: ISA/US, Commissioner for Patents P.O. Box 1450, Alexandria, Virginia 22313-1450 Facsimile No. 571-273-3201		Authorized officer: Lee W. Young PCT Helpdesk: 571-272-4300 PCT OSP: 571-272-7774

フロントページの続き

(51)Int.Cl.			F I			テーマコード(参考)		
C 1 2 N	1/21	(2006.01)	C 1 2 N	1/21		4 C 0 8 5		
C 1 2 N	5/10	(2006.01)	C 1 2 N	5/00	1 0 2	4 C 0 8 6		
A 6 1 K	47/32	(2006.01)	C 1 2 N	5/00	1 0 1	4 C 2 0 6		
A 6 1 K	47/34	(2006.01)	A 6 1 K	47/32		4 H 0 4 5		
A 6 1 K	47/42	(2006.01)	A 6 1 K	47/34				
A 6 1 K	47/36	(2006.01)	A 6 1 K	47/42				
A 6 1 K	47/38	(2006.01)	A 6 1 K	47/36				
A 6 1 K	47/26	(2006.01)	A 6 1 K	47/38				
A 6 1 K	47/40	(2006.01)	A 6 1 K	47/26				
A 6 1 K	39/39	(2006.01)	A 6 1 K	47/40				
A 6 1 K	38/46	(2006.01)	A 6 1 K	39/39				
A 6 1 K	45/00	(2006.01)	A 6 1 K	37/54				
A 6 1 P	43/00	(2006.01)	A 6 1 K	45/00				
A 6 1 K	31/519	(2006.01)	A 6 1 P	43/00	1 2 1			
A 6 1 K	38/00	(2006.01)	A 6 1 K	31/519				
A 6 1 K	31/436	(2006.01)	A 6 1 K	37/02				
A 6 1 K	31/706	(2006.01)	A 6 1 K	31/436				
A 6 1 K	31/137	(2006.01)	A 6 1 K	31/706				
A 6 1 P	29/00	(2006.01)	A 6 1 K	31/137				
A 6 1 P	19/02	(2006.01)	A 6 1 P	43/00	1 1 1			
A 6 1 P	17/06	(2006.01)	A 6 1 P	29/00	1 0 1			
A 6 1 P	37/02	(2006.01)	A 6 1 P	19/02				
A 6 1 P	1/04	(2006.01)	A 6 1 P	17/06				
A 6 1 P	3/10	(2006.01)	A 6 1 P	37/02				
A 6 1 P	5/14	(2006.01)	A 6 1 P	1/04				
A 6 1 P	11/06	(2006.01)	A 6 1 P	3/10				
A 6 1 P	37/08	(2006.01)	A 6 1 P	29/00				
A 6 1 P	37/06	(2006.01)	A 6 1 P	5/14				
A 6 1 P	9/10	(2006.01)	A 6 1 P	11/06				
A 6 1 P	7/02	(2006.01)	A 6 1 P	37/08				
A 6 1 P	13/12	(2006.01)	A 6 1 P	37/06				
A 6 1 P	35/00	(2006.01)	A 6 1 P	9/10	1 0 1			
A 6 1 P	1/16	(2006.01)	A 6 1 P	7/02				
A 6 1 P	27/02	(2006.01)	A 6 1 P	13/12				
A 6 1 P	31/00	(2006.01)	A 6 1 P	35/00				
A 6 1 P	33/00	(2006.01)	A 6 1 P	1/16				
A 6 1 P	31/18	(2006.01)	A 6 1 P	27/02				
A 6 1 P	25/00	(2006.01)	A 6 1 P	31/00				
A 6 1 P	25/14	(2006.01)	A 6 1 P	33/00				
A 6 1 P	25/16	(2006.01)	A 6 1 P	31/18				
A 6 1 P	25/28	(2006.01)	A 6 1 P	25/00				
A 6 1 P	9/00	(2006.01)	A 6 1 P	25/14				
A 6 1 P	7/06	(2006.01)	A 6 1 P	25/16				
A 6 1 P	9/04	(2006.01)	A 6 1 P	25/28				
A 6 1 P	9/08	(2006.01)	A 6 1 P	9/00				
A 6 1 P	11/00	(2006.01)	A 6 1 P	7/06				
A 6 1 P	17/14	(2006.01)	A 6 1 P	9/04				

A 6 1 P 17/04	(2006.01)	A 6 1 P 9/08	
A 6 1 P 31/10	(2006.01)	A 6 1 P 11/00	
A 6 1 P 31/20	(2006.01)	A 6 1 P 17/14	
A 6 1 P 31/14	(2006.01)	A 6 1 P 17/04	
A 6 1 P 15/08	(2006.01)	A 6 1 P 31/10	
A 6 1 P 15/00	(2006.01)	A 6 1 P 31/20	
A 6 1 P 21/00	(2006.01)	A 6 1 P 31/14	
A 6 1 P 5/18	(2006.01)	A 6 1 P 15/08	
A 6 1 P 7/00	(2006.01)	A 6 1 P 15/00	
A 6 1 P 25/18	(2006.01)	A 6 1 P 21/00	
A 6 1 P 25/24	(2006.01)	A 6 1 P 5/18	
A 6 1 P 25/04	(2006.01)	A 6 1 P 7/00	
A 6 1 P 35/02	(2006.01)	A 6 1 P 25/18	
A 6 1 P 1/18	(2006.01)	A 6 1 P 25/24	
A 6 1 P 11/02	(2006.01)	A 6 1 P 25/04	
A 6 1 P 9/12	(2006.01)	A 6 1 P 35/02	
A 6 1 P 9/06	(2006.01)	A 6 1 P 1/18	
A 6 1 P 17/02	(2006.01)	A 6 1 P 11/02	
A 6 1 P 25/32	(2006.01)	A 6 1 P 9/12	
A 6 1 P 31/16	(2006.01)	A 6 1 P 9/06	
A 6 1 P 33/06	(2006.01)	A 6 1 P 17/02	
A 6 1 P 21/04	(2006.01)	A 6 1 P 25/32	
A 6 1 P 31/04	(2006.01)	A 6 1 P 31/16	
A 6 1 K 38/21	(2006.01)	A 6 1 P 33/06	
A 6 1 K 31/4418	(2006.01)	A 6 1 P 21/04	
A 6 1 K 31/42	(2006.01)	A 6 1 P 31/04	
A 6 1 K 31/635	(2006.01)	A 6 1 K 37/66	G
A 6 1 K 31/606	(2006.01)	A 6 1 K 31/4418	
A 6 1 K 31/52	(2006.01)	A 6 1 K 31/42	
A 6 1 K 31/4164	(2006.01)	A 6 1 K 31/635	
A 6 1 K 31/343	(2006.01)	A 6 1 K 31/606	
A 6 1 K 31/192	(2006.01)	A 6 1 K 31/52	
A 6 1 K 31/573	(2006.01)	A 6 1 K 31/4164	
G 0 1 N 33/53	(2006.01)	A 6 1 K 31/343	
C 1 2 P 21/08	(2006.01)	A 6 1 K 31/192	
		A 6 1 K 31/573	
		G 0 1 N 33/53	P
		C 1 2 P 21/08	

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

(72)発明者 ウー, チヨンビン

アメリカ合衆国、マサチューセッツ・0 1 5 4 5、シユルーズベリー、プロスペクト・ストリート
・ 3 8 6

(72)発明者 ミラー, レニー

アメリカ合衆国、コネチカット・0 6 2 5 5、ノース・グローブナーデール、ブライン・ロード・
4 7

(72)発明者 アンブロシ, ドミニク・ジエイ

アメリカ合衆国、マサチューセッツ・0 1 5 4 5、シユルーズベリー、アーバー・ドライブ・4 2
3 1

F ターム(参考) 4B024 AA01 AA11 BA56 CA04 CA07 DA03 EA04
4B064 AG27 CA10 CA19 CC24 DA01 DA13
4B065 AA26X AA80X AA91X AA93X AA93Y AB01 AC14 BA02 CA25 CA44
CA46
4C076 BB13 BB15 BB16 BB22 BB24 BB25 BB29 BB30 CC01 CC04
CC07 CC10 CC11 CC15 CC16 CC17 CC27 DD67A EE06A EE09A
EE12A EE13A EE23A EE31A EE36A EE37A EE42A EE43
4C084 AA02 AA19 BA44 CA62 DA11 MA02 MA05 MA57 MA59 MA60
MA66 NA05 NA14 ZA12 ZA16 ZA18 ZA33 ZA34 ZA40 ZA42
ZA45 ZA55 ZA59 ZA68 ZA75 ZA82 ZA92 ZA94 ZA96 ZB07
ZB08 ZB11 ZB13 ZB15 ZB27 ZB35 ZB38 ZB39 ZC06 ZC31
ZC35 ZC39 ZC55 ZC752
4C085 AA38 EE03 EE06 FF24 GG02 GG04 GG06
4C086 AA01 AA02 BA06 BC07 BC17 BC38 CB07 CB09 CB22 DA10
DA17 DA20 EA05 MA02 MA03 MA05 MA09 MA10 MA57 MA58
MA59 MA60 MA63 MA66 NA05 NA14 ZA12 ZA16 ZA18 ZA33
ZA34 ZA40 ZA42 ZA45 ZA55 ZA59 ZA68 ZA75 ZA82 ZA92
ZA94 ZA96 ZB07 ZB08 ZB11 ZB13 ZB15 ZB27 ZB35 ZB38
ZB39 ZC06 ZC31 ZC35 ZC39 ZC55 ZC75
4C206 AA01 AA02 DA24 FA14 HA05 KA01 MA02 MA05 MA10 MA14
MA17 MA21 MA77 MA79 MA86 NA05 NA14 ZA92 ZB13 ZB15
ZC35 ZC75
4H045 AA11 AA30 BA10 BA41 BA50 BA53 DA76 EA22 FA74

专利名称(译)	IL-1结合蛋白质		
公开(公告)号	JP2013507929A	公开(公告)日	2013-03-07
申请号	JP2012534395	申请日	2010-10-15
[标]申请(专利权)人(译)	雅培公司		
申请(专利权)人(译)	雅培制药		
[标]发明人	シエチャンミン ウーチヨンビン ミラーレニー アンブロシドミニクジエイ		
发明人	シエ,チャン-ミン ウー,チヨンビン ミラー,レニー アンブロシ,ドミニク・ジエイ		
IPC分类号	C12N15/09 C07K16/24 C07K16/46 C12N1/15 C12N1/19 C12N1/21 C12N5/10 A61K47/32 A61K47/34 A61K47/42 A61K47/36 A61K47/38 A61K47/26 A61K47/40 A61K39/39 A61K38/46 A61K45/00 A61P43/00 A61K31/519 A61K38/00 A61K31/436 A61K31/706 A61K31/137 A61P29/00 A61P19/02 A61P17/06 A61P37/02 A61P1/04 A61P3/10 A61P5/14 A61P11/06 A61P37/08 A61P37/06 A61P9/10 A61P7/02 A61P13/12 A61P35/00 A61P1/16 A61P27/02 A61P31/00 A61P33/00 A61P31/18 A61P25/00 A61P25/14 A61P25/16 A61P25/28 A61P9/00 A61P7/06 A61P9/04 A61P9/08 A61P11/00 A61P17/14 A61P17/04 A61P31/10 A61P31/20 A61P31/14 A61P15/08 A61P15/00 A61P21/00 A61P5/18 A61P7/00 A61P25/18 A61P25/24 A61P25/04 A61P35/02 A61P1/18 A61P11/02 A61P9/12 A61P9/06 A61P17/02 A61P25/32 A61P31/16 A61P33/06 A61P21/04 A61P31/04 A61K38/21 A61K31/4418 A61K31/42 A61K31/635 A61K31/606 A61K31/52 A61K31/4164 A61K31/343 A61K31/192 A61K31/573 G01N33/53 C12P21/08		
CPC分类号	A61P1/00 A61P1/04 A61P1/16 A61P1/18 A61P3/00 A61P11/00 A61P11/02 A61P11/06 A61P13/12 A61P15/00 A61P15/08 A61P17/00 A61P17/02 A61P17/04 A61P17/06 A61P17/14 A61P19/02 A61P21/00 A61P21/04 A61P25/00 A61P25/04 A61P25/14 A61P25/16 A61P25/18 A61P25/24 A61P25/28 A61P25/32 A61P27/02 A61P29/00 A61P31/00 A61P31/04 A61P31/10 A61P31/14 A61P31/16 A61P31/18 A61P31/20 A61P33/00 A61P33/06 A61P35/00 A61P35/02 C07K16/245 C07K2317/24 C07K2317/56 C07K2317/565 C07K2317/76 C07K2317/92 G01N2333/545 A61K39/3955 A61K45/06 C12N9/96		
FI分类号	C12N15/00.ZNA.A C07K16/24 C07K16/46 C12N1/15 C12N1/19 C12N1/21 C12N5/00.102 C12N5/00.101 A61K47/32 A61K47/34 A61K47/42 A61K47/36 A61K47/38 A61K47/26 A61K47/40 A61K39/39 A61K37/54 A61K45/00 A61P43/00.121 A61K31/519 A61K37/02 A61K31/436 A61K31/706 A61K31/137 A61P43/00.111 A61P29/00.101 A61P19/02 A61P17/06 A61P37/02 A61P1/04 A61P3/10 A61P29/00 A61P5/14 A61P11/06 A61P37/08 A61P37/06 A61P9/10.101 A61P7/02 A61P13/12 A61P35/00 A61P1/16 A61P27/02 A61P31/00 A61P33/00 A61P31/18 A61P25/00 A61P25/14 A61P25/16 A61P25/28 A61P9/00 A61P7/06 A61P9/04 A61P9/08 A61P11/00 A61P17/14 A61P17/04 A61P31/10 A61P31/20 A61P31/14 A61P15/08 A61P15/00 A61P21/00 A61P5/18 A61P7/00 A61P25/18 A61P25/24 A61P25/04 A61P35/02 A61P1/18 A61P11/02 A61P9/12 A61P9/06 A61P17/02 A61P25/32 A61P31/16 A61P33/06 A61P21/04 A61P31/04 A61K37/66.G A61K31/4418 A61K31/42 A61K31/635 A61K31/606 A61K31/52 A61K31/4164 A61K31/343 A61K31/192 A61K31/573 G01N33/53.P C12P21/08		
F-TERM分类号	4B024/AA01 4B024/AA11 4B024/BA56 4B024/CA04 4B024/CA07 4B024/DA03 4B024/EA04 4B064/AG27 4B064/CA10 4B064/CA19 4B064/CC24 4B064/DA01 4B064/DA13 4B065/AA26X 4B065/AA80X 4B065/AA91X 4B065/AA93X 4B065/AA93Y 4B065/AB01 4B065/AC14 4B065/BA02 4B065/CA25 4B065/CA44 4B065/CA46 4C076/BB13 4C076/BB15 4C076/BB16 4C076/BB22 4C076/BB24 4C076/BB25 4C076/BB29 4C076/BB30 4C076/CC01 4C076/CC04 4C076/CC07 4C076/CC10 4C076/CC11 4C076/CC15 4C076/CC16 4C076/CC17 4C076/CC27 4C076/DD67A 4C076/EE06A 4C076/EE09A		

4C076/EE12A 4C076/EE13A 4C076/EE23A 4C076/EE31A 4C076/EE36A 4C076/EE37A 4C076/EE42A 4C076/EE43 4C084/AA02 4C084/AA19 4C084/BA44 4C084/CA62 4C084/DA11 4C084/MA02 4C084/MA05 4C084/MA57 4C084/MA59 4C084/MA60 4C084/MA66 4C084/NA05 4C084/NA14 4C084/ZA12 4C084/ZA16 4C084/ZA18 4C084/ZA33 4C084/ZA34 4C084/ZA40 4C084/ZA42 4C084/ZA45 4C084/ZA55 4C084/ZA59 4C084/ZA68 4C084/ZA75 4C084/ZA82 4C084/ZA92 4C084/ZA94 4C084/ZA96 4C084/ZB07 4C084/ZB08 4C084/ZB11 4C084/ZB13 4C084/ZB15 4C084/ZB27 4C084/ZB35 4C084/ZB38 4C084/ZB39 4C084/ZC06 4C084/ZC31 4C084/ZC35 4C084/ZC39 4C084/ZC55 4C084/ZC752 4C085/AA38 4C085/EE03 4C085/EE06 4C085/FF24 4C085/GG02 4C085/GG04 4C085/GG06 4C086/AA01 4C086/AA02 4C086/BA06 4C086/BC07 4C086/BC17 4C086/BC38 4C086/CB07 4C086/CB09 4C086/CB22 4C086/DA10 4C086/DA17 4C086/DA20 4C086/EA05 4C086/MA02 4C086/MA03 4C086/MA05 4C086/MA09 4C086/MA10 4C086/MA57 4C086/MA58 4C086/MA59 4C086/MA60 4C086/MA63 4C086/MA66 4C086/NA05 4C086/NA14 4C086/ZA12 4C086/ZA16 4C086/ZA18 4C086/ZA33 4C086/ZA34 4C086/ZA40 4C086/ZA42 4C086/ZA45 4C086/ZA55 4C086/ZA59 4C086/ZA68 4C086/ZA75 4C086/ZA82 4C086/ZA92 4C086/ZA94 4C086/ZA96 4C086/ZB07 4C086/ZB08 4C086/ZB11 4C086/ZB13 4C086/ZB15 4C086/ZB27 4C086/ZB35 4C086/ZB38 4C086/ZB39 4C086/ZC06 4C086/ZC31 4C086/ZC35 4C086/ZC39 4C086/ZC55 4C086/ZC75 4C206/AA01 4C206/AA02 4C206/DA24 4C206/FA14 4C206/HA05 4C206/KA01 4C206/MA02 4C206/MA05 4C206/MA10 4C206/MA14 4C206/MA17 4C206/MA21 4C206/MA77 4C206/MA79 4C206/MA86 4C206/NA05 4C206/NA14 4C206/ZA92 4C206/ZB13 4C206/ZB15 4C206/ZC35 4C206/ZC75 4H045/AA11 4H045/AA30 4H045/BA10 4H045/BA41 4H045/BA50 4H045/BA53 4H045/DA76 4H045/EA22 4H045/FA74

优先权 61/251856 2009-10-15 US

外部链接 Espacenet

摘要(译)

本发明描述了IL-1 β 结合蛋白，结合IL-1 β 的嵌合抗体，CDR-移植抗体和人源化抗体。本发明的结合蛋白对IL-1 β 具有高亲和力并中和IL-1 β 活性。本发明的结合蛋白可以是全长抗体或其IL-1 β 结合部分。还描述了制备和使用本发明的结合蛋白的方法。本发明的IL-1 β 结合蛋白可用于检测患有IL-1 β 活性有害的疾病或病症的人受试者中的IL-1 β 和抑制IL-1 β 活性。

蛋白質	配列番号	アミノ酸配列
		123456789012345678901234567890
ヒト IL 1 β	配列番号1	APVRSIMCTLRDSQQKSLVMSGPLYELKALH LQQQDMEQQVVFMSFVQGEESNDKIPVAL GLKEKNLYLSCVLKDDKPTLQLESVDPKNY PKKKMEKRFVFNKIEINNKLEFESAQFPNW YISTSQAENMPVFLGGTKGGQDITDFTIQF VSS