

(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2014-531210

(P2014-531210A)

(43) 公表日 平成26年11月27日(2014.11.27)

(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 0 2 4
C 1 2 N 1/15 (2006.01)	C 1 2 N 1/15	4 B 0 6 5
C 1 2 N 1/19 (2006.01)	C 1 2 N 1/19	4 C 0 8 4
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 1	4 C 0 8 7

審査請求 未請求 予備審査請求 未請求 (全 161 頁) 最終頁に続く

(21) 出願番号 特願2014-532188 (P2014-532188)
 (86) (22) 出願日 平成24年9月28日 (2012. 9. 28)
 (85) 翻訳文提出日 平成26年5月27日 (2014. 5. 27)
 (86) 国際出願番号 PCT/AU2012/001161
 (87) 国際公開番号 WO2013/044298
 (87) 国際公開日 平成25年4月4日 (2013. 4. 4)
 (31) 優先権主張番号 2011904042
 (32) 優先日 平成23年9月30日 (2011. 9. 30)
 (33) 優先権主張国 オーストラリア (AU)
 (31) 優先権主張番号 61/541, 590
 (32) 優先日 平成23年9月30日 (2011. 9. 30)
 (33) 優先権主張国 米国 (US)

(71) 出願人 500468537
 テバ・ファーマシューティカルズ・オース
 トラリア・ピーティワイ・リミテッド
 オーストラリア・ニュー・サウス・ウェー
 ルズ・2 1 1 3・マクアリー・パーク・エ
 ッピング・ロード・3 7・レヴェル・2
 (74) 代理人 100108453
 弁理士 村山 靖彦
 (74) 代理人 100064908
 弁理士 志賀 正武
 (74) 代理人 100089037
 弁理士 渡邊 隆
 (74) 代理人 100110364
 弁理士 実広 信哉

最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 T L 1 a に対する抗体およびその使用

(57) 【要約】

本開示は、TNF様リガンド1a(TL1a)と特異的に結合し、TL1aと細胞死受容体3(DR3)の相互作用を阻害し、TL1aとデコイ受容体3(DcR3)の相互作用は阻害しない抗体の抗原結合ドメインを含むTL1a結合性タンパク質を提供する。本開示は、TL1a結合性タンパク質の使用も提供する。

【特許請求の範囲】

【請求項1】

TNF様リガンド1a(TL1a)と特異的に結合し、TL1aと細胞死受容体3(DR3)の相互作用を阻害し、TL1aとデコイ受容体3(DcR3)の相互作用は阻害しない抗体の抗原結合ドメインを含む、単離または組換えTL1a結合性タンパク質。

【請求項2】

TL1aとDcR3の相互作用を検出可能に低減しない、請求項1に記載のTL1a結合性タンパク質。

【請求項3】

ヒトTL1aおよびシクロヘキシミドの存在下で培養されたTF-1細胞のアポトーシスのレベルを低下させ、約1.5nM～約10fMの有効濃度(EC₅₀)を有する、請求項1または請求項2に記載のTL1a結合性タンパク質。

10

【請求項4】

抗体の抗原結合ドメインを含む単離または組換えTL1a結合性タンパク質であって、抗原結合ドメインは、TL1aと特異的に結合し、ビオチン化TL1aと、抗体のFc領域と融合しているDR3(「DR3/Fc」)を含むポリペプチドとの相互作用を、競合ELISAにおいて、約2.5nM、または約1.0nM、または約0.5nM、または約0.1nM～約10fMのEC₅₀で阻害し、

DR3/Fcは、約2μg/mLの濃度で固体または半固体基板上に固定化され、ビオチン化TL1aを、約1μg/mLの濃度で約30分間、約10μg/mL～約0.01μg/mLの濃度範囲のTL1a結合性タンパク質と接触させ、次いで、固定化されたDR3/Fcと接触させ、

20

TL1a結合性タンパク質は、TL1a結合性タンパク質の不在下でのビオチン化TL1aのDcR3/Fcとの結合のレベルと比較して、競合ELISAにおいて、ビオチン化TL1aと、抗体のFc領域と融合しているDcR3(「DcR3/Fc」)を含むポリペプチドとの相互作用を検出可能に低減せず、DcR3/Fcは、約2μg/mLの濃度で固体または半固体基板上に固定化され、ビオチン化TL1aを、約1μg/mLの濃度で約30分間、約10μg/mL～0.01μg/mLの濃度のTL1a結合性タンパク質と接触させ、次いで、固定化されたDcR3/Fcと接触させる、単離または組換えTL1a結合性タンパク質。

【請求項5】

抗体の抗原結合ドメインを含む単離または組換えTL1a結合性タンパク質であって、抗原結合ドメインは、TL1aと特異的に結合し、ビオチン化TL1aと、抗体のFc領域と融合しているDR3(「DR3/Fc」)を含むポリペプチドとの相互作用を、競合ELISAにおいて約2.5nMまたは1.5nMまたは1.0nMまたは0.5nM～約10fMのEC₅₀で阻害し、

30

DR3/Fcは、約2μg/mLの濃度で固体または半固体基板上に固定化され、ビオチン化TL1aを、約1μg/mLの濃度で約30分間、約10μg/mL～約0.01μg/mLの濃度範囲のTL1a結合性タンパク質と接触させ、次いで、固定化されたDR3/Fcと接触させ、

TL1a結合性タンパク質は、TL1a結合性タンパク質の不在下でのビオチン化TL1aのDcR3/Fcとの結合のレベルと比較して、競合ELISAにおいて、ビオチン化TL1aと、抗体のFc領域と融合しているDcR3(「DcR3/Fc」)を含むポリペプチドとの相互作用を検出可能に低減せず、DcR3/Fcは、約2μg/mLの濃度で固体または半固体基板上に固定化され、ビオチン化TL1aを、約1μg/mLの濃度で約30分間、約10μg/mL～0.01μg/mLの濃度のTL1a結合性タンパク質と接触させ、次いで、固定化されたDcR3/Fcと接触させ、

40

TL1a結合性タンパク質は、ヒト細胞によって産生されたヒトTL1aおよびシクロヘキシミドの存在下で培養されたTF-1細胞のアポトーシスのレベルを、約1.5nMまたは1.0nMまたは0.5nMまたは0.1nMまたは0.05nM～約10fMのEC₅₀で低下させ、

約7.5×10⁴個のTF-1細胞を、約5μg/mL以下の濃度のTL1a結合性タンパク質とともに、培養物1mLあたり約100ngのヒトTL1aおよび約10μg/mlのシクロヘキシミドと約4～5時間接触させる、単離または組換えTL1a結合性タンパク質。

【請求項6】

フローサイトメトリーを使用して測定される、約10nMまたは5.0nMまたは1.0nMまたは0.5nMまたは0.1nM～約10fMのEC₅₀で、細胞の表面上のTL1aと結合する、請求項1から5のいずれ

50

れか一項に記載のTL1a結合性タンパク質。

【請求項7】

抗体の抗原結合ドメインを含む単離または組換えTL1a結合性タンパク質であって、抗原結合ドメインは、TL1aと特異的に結合し、TL1a結合性タンパク質は、TL1aとDR3の相互作用を阻害し、TL1aとDcR3の相互作用は阻害せず、TL1a結合性タンパク質は、位置32のアルギニンがアラニンで置換されており、および/または位置85のアルギニンがアラニンで置換されている、配列番号202に示される配列を含む可溶性ヒトTL1aの突然変異型と、前記タンパク質が、配列番号202に示される配列を含む可溶性ヒトTL1aと結合するレベルよりも少なくとも75%低いレベルで結合し、

TL1aの突然変異型は、約1 µg/mLの濃度で固体または半固体基板上に固定化され、次いで、10 µg/mLの濃度のTL1a結合性タンパク質を固定された突然変異体TL1aと接触させる、単離または組換えTL1a結合性タンパク質。

10

【請求項8】

TL1a結合性タンパク質が、配列番号202に示されるアミノ酸配列を含むヒトTL1aの、少なくとも位置32のアミノ酸残基アルギニンおよび位置85のアルギニンで結合する、請求項1から7のいずれか一項に記載のTL1a結合性タンパク質。

【請求項9】

抗原結合ドメインが、以下の可変領域の対のうちの一つにおける6つのCDRを含む、請求項1から8のいずれか一項に記載のTL1a結合性タンパク質：

(i) 配列番号42に示される配列を含む重鎖可変領域(V_H)および配列番号46に示される配列を含む軽鎖可変領域(V_L)；

20

(ii) 配列番号106に示される配列に対して少なくとも約95%同一である配列を含む核酸または中程度から高度にストリンジェントな条件下でそれとハイブリダイズする核酸によってコードされる V_H および配列番号107に示される配列に対して少なくとも約95%同一である配列を含む核酸または中程度から高度にストリンジェントな条件下でそれとハイブリダイズする核酸によってコードされる V_L ；

(iii) 配列番号175に示される配列を含む V_H および配列番号188に示される配列を含む V_L ；

(iv) 配列番号222に示される配列に対して少なくとも約95%同一である配列を含む核酸または中程度から高度にストリンジェントな条件下でそれとハイブリダイズする核酸によってコードされる V_H および配列番号228に示される配列に対して少なくとも約95%同一である配列を含む核酸または中程度から高度にストリンジェントな条件下でそれとハイブリダイズする核酸によってコードされる V_L ；

30

(v) 配列番号176に示される配列を含む V_H および配列番号189に示される配列を含む V_L ；

(vi) 配列番号223に示される配列に対して少なくとも約95%同一である配列を含む核酸または中程度から高度にストリンジェントな条件下でそれとハイブリダイズする核酸によってコードされる V_H および配列番号228に示される配列に対して少なくとも約95%同一である配列を含む核酸または中程度から高度にストリンジェントな条件下でそれとハイブリダイズする核酸によってコードされる V_L ；

(vii) 配列番号177に示される配列を含む V_H および配列番号190に示される配列を含む V_L ；

(viii) 配列番号224に示される配列に対して少なくとも約95%同一である配列を含む核酸または中程度から高度にストリンジェントな条件下でそれとハイブリダイズする核酸によってコードされる V_H および配列番号229に示される配列に対して少なくとも約95%同一である配列を含む核酸または中程度から高度にストリンジェントな条件下でそれとハイブリダイズする核酸によってコードされる V_L ；

40

(ix) 配列番号178に示される配列を含む V_H および配列番号191に示される配列を含む V_L ；

(x) 配列番号224に示される配列に対して少なくとも約95%同一である配列を含む核酸または中程度から高度にストリンジェントな条件下でそれとハイブリダイズする核酸によってコードされる V_H および配列番号230に示される配列に対して少なくとも約95%同一である配列を含む核酸または中程度から高度にストリンジェントな条件下でそれとハイブリダイズする核酸によってコードされる V_L ；

50

(xi) 配列番号179に示される配列を含む V_H および配列番号192に示される配列を含む V_L ;

(xii) 配列番号224に示される配列に対して少なくとも約95%同一である配列を含む核酸または中程度から高度にストリンジェントな条件下でそれとハイブリダイズする核酸によってコードされる V_H および配列番号231に示される配列に対して少なくとも約95%同一である配列を含む核酸または中程度から高度にストリンジェントな条件下でそれとハイブリダイズする核酸によってコードされる V_L ;

(xiii) 配列番号180に示される配列を含む V_H および配列番号193に示される配列を含む V_L ;

(xiv) 配列番号224に示される配列に対して少なくとも約95%同一である配列を含む核酸または中程度から高度にストリンジェントな条件下でそれとハイブリダイズする核酸によってコードされる V_H および配列番号228に示される配列に対して少なくとも約95%同一である配列を含む核酸または中程度から高度にストリンジェントな条件下でそれとハイブリダイズする核酸によってコードされる V_L ;

10

(xv) 配列番号181に示される配列を含む V_H および配列番号194に示される配列を含む V_L ;

(xvi) 配列番号225に示される配列に対して少なくとも約95%同一である配列を含む核酸または中程度から高度にストリンジェントな条件下でそれとハイブリダイズする核酸によってコードされる V_H および配列番号230に示される配列に対して少なくとも約95%同一である配列を含む核酸または中程度から高度にストリンジェントな条件下でそれとハイブリダイズする核酸によってコードされる V_L ;

(xvii) 配列番号183に示される配列を含む V_H および配列番号196に示される配列を含む V_L ;

20

(xviii) 配列番号226に示される配列に対して少なくとも約95%同一である配列を含む核酸または中程度から高度にストリンジェントな条件下でそれとハイブリダイズする核酸によってコードされる V_H および配列番号230に示される配列に対して少なくとも約95%同一である配列を含む核酸または中程度から高度にストリンジェントな条件下でそれとハイブリダイズする核酸によってコードされる V_L ;

(xix) 配列番号185に示される配列を含む V_H および配列番号198に示される配列を含む V_L ;

(xx) 配列番号226に示される配列に対して少なくとも約95%同一である配列を含む核酸または中程度から高度にストリンジェントな条件下でそれとハイブリダイズする核酸によってコードされる V_H および配列番号232に示される配列に対して少なくとも約95%同一である配列を含む核酸または中程度から高度にストリンジェントな条件下でそれとハイブリダイズする核酸によってコードされる V_L ;

30

(xxi) 配列番号186に示される配列を含む V_H および配列番号199に示される配列を含む V_L ;
ならびに

(xxii) 配列番号227に示される配列に対して少なくとも約95%同一である配列を含む核酸または中程度から高度にストリンジェントな条件下でそれとハイブリダイズする核酸によってコードされる V_H および配列番号232に示される配列に対して少なくとも約95%同一である配列を含む核酸または中程度から高度にストリンジェントな条件下でそれとハイブリダイズする核酸によってコードされる V_L ;

(xxiii) 配列番号187に示される配列を含む V_H および配列番号200に示される配列を含む V_L ;または

40

(xxiv) 配列番号227に示される配列に対して少なくとも約95%同一である配列を含む核酸または中程度から高度にストリンジェントな条件下でそれとハイブリダイズする核酸によってコードされる V_H および配列番号233に示される配列に対して少なくとも約95%同一である配列を含む核酸または中程度から高度にストリンジェントな条件下でそれとハイブリダイズする核酸によってコードされる V_L 。

【請求項10】

抗原結合ドメインが

(i) 配列番号42、175～181、183または185～187のいずれか1つに示される配列を含むか、または配列番号222～227のいずれか1つに示される配列に対して少なくとも約95%同一で

50

ある配列を含む核酸によってコードされる重鎖可変領域(V_H)および/または

(ii) 配列番号46、188～194、196または198～200のいずれか1つに示される配列を含むか、または配列番号228～233のいずれか1つに示される配列に対して少なくとも約95%同一である配列を含む核酸によってコードされる軽鎖可変領域(V_L)を含む、請求項1から9のいずれか一項に記載のTL1a結合性タンパク質。

【請求項11】

抗原結合ドメインが、少なくとも重鎖可変領域(V_H)および軽鎖可変領域(V_L)を含み、 V_H および V_L が、Fvを形成する、請求項1から9のいずれか一項に記載の抗体の抗原結合ドメインを含むTL1a結合性タンパク質。

【請求項12】

以下の V_H および V_L の対のいずれか1つを含む、請求項11に記載のTL1a結合性タンパク質:

(i) 配列番号42に示される配列を含む重鎖可変領域(V_H)および配列番号46に示される配列を含む軽鎖可変領域(V_L);

(ii) 配列番号106に示される配列に対して少なくとも約95%同一である配列を含む核酸または中程度から高度にストリンジェントな条件下でそれとハイブリダイズする核酸によってコードされる V_H および配列番号107に示される配列に対して少なくとも約95%同一である配列を含む核酸または中程度から高度にストリンジェントな条件下でそれとハイブリダイズする核酸によってコードされる V_L ;

(iii) 配列番号175に示される配列を含む V_H および配列番号188に示される配列を含む V_L ;

(iv) 配列番号222に示される配列に対して少なくとも約95%同一である配列を含む核酸または中程度から高度にストリンジェントな条件下でそれとハイブリダイズする核酸によってコードされる V_H および配列番号228に示される配列に対して少なくとも約95%同一である配列を含む核酸または中程度から高度にストリンジェントな条件下でそれとハイブリダイズする核酸によってコードされる V_L ;

(v) 配列番号176に示される配列を含む V_H および配列番号189に示される配列を含む V_L ;

(vi) 配列番号223に示される配列に対して少なくとも約95%同一である配列を含む核酸または中程度から高度にストリンジェントな条件下でそれとハイブリダイズする核酸によってコードされる V_H および配列番号228に示される配列に対して少なくとも約95%同一である配列を含む核酸または中程度から高度にストリンジェントな条件下でそれとハイブリダイズする核酸によってコードされる V_L ;

(vii) 配列番号177に示される配列を含む V_H および配列番号190に示される配列を含む V_L ;

(viii) 配列番号224に示される配列に対して少なくとも約95%同一である配列を含む核酸または中程度から高度にストリンジェントな条件下でそれとハイブリダイズする核酸によってコードされる V_H および配列番号229に示される配列に対して少なくとも約95%同一である配列を含む核酸または中程度から高度にストリンジェントな条件下でそれとハイブリダイズする核酸によってコードされる V_L ;

(ix) 配列番号178に示される配列を含む V_H および配列番号191に示される配列を含む V_L ;

(x) 配列番号224に示される配列に対して少なくとも約95%同一である配列を含む核酸または中程度から高度にストリンジェントな条件下でそれとハイブリダイズする核酸によってコードされる V_H および配列番号230に示される配列に対して少なくとも約95%同一である配列を含む核酸または中程度から高度にストリンジェントな条件下でそれとハイブリダイズする核酸によってコードされる V_L ;

(xi) 配列番号179に示される配列を含む V_H および配列番号192に示される配列を含む V_L ;

(xii) 配列番号224に示される配列に対して少なくとも約95%同一である配列を含む核酸または中程度から高度にストリンジェントな条件下でそれとハイブリダイズする核酸によってコードされる V_H および配列番号231に示される配列に対して少なくとも約95%同一である配列を含む核酸または中程度から高度にストリンジェントな条件下でそれとハイブリダイズする核酸によってコードされる V_L ;

(xiii) 配列番号180に示される配列を含む V_H および配列番号193に示される配列を含む V_L ;

;

10

20

30

40

50

(xiv) 配列番号224に示される配列に対して少なくとも約95%同一である配列を含む核酸または中程度から高度にストリンジェントな条件下でそれとハイブリダイズする核酸によってコードされる V_H および配列番号228に示される配列に対して少なくとも約95%同一である配列を含む核酸または中程度から高度にストリンジェントな条件下でそれとハイブリダイズする核酸によってコードされる V_L ;

(xv) 配列番号181に示される配列を含む V_H および配列番号194に示される配列を含む V_L ;

(xvi) 配列番号225に示される配列に対して少なくとも約95%同一である配列を含む核酸または中程度から高度にストリンジェントな条件下でそれとハイブリダイズする核酸によってコードされる V_H および配列番号230に示される配列に対して少なくとも約95%同一である配列を含む核酸または中程度から高度にストリンジェントな条件下でそれとハイブリダイズする核酸によってコードされる V_L ;

10

(xvii) 配列番号183に示される配列を含む V_H および配列番号196に示される配列を含む V_L ;

(xviii) 配列番号226に示される配列に対して少なくとも約95%同一である配列を含む核酸または中程度から高度にストリンジェントな条件下でそれとハイブリダイズする核酸によってコードされる V_H および配列番号230に示される配列に対して少なくとも約95%同一である配列を含む核酸または中程度から高度にストリンジェントな条件下でそれとハイブリダイズする核酸によってコードされる V_L ;

(xix) 配列番号185に示される配列を含む V_H および配列番号198に示される配列を含む V_L ;

(xx) 配列番号226に示される配列に対して少なくとも約95%同一である配列を含む核酸または中程度から高度にストリンジェントな条件下でそれとハイブリダイズする核酸によってコードされる V_H および配列番号232に示される配列に対して少なくとも約95%同一である配列を含む核酸または中程度から高度にストリンジェントな条件下でそれとハイブリダイズする核酸によってコードされる V_L ;

20

(xxi) 配列番号186に示される配列を含む V_H および配列番号199に示される配列を含む V_L ; ならびに

(xxii) 配列番号227に示される配列に対して少なくとも約95%同一である配列を含む核酸または中程度から高度にストリンジェントな条件下でそれとハイブリダイズする核酸によってコードされる V_H および配列番号232に示される配列に対して少なくとも約95%同一である配列を含む核酸または中程度から高度にストリンジェントな条件下でそれとハイブリダイズする核酸によってコードされる V_L ;

30

(xxiii) 配列番号187に示される配列を含む V_H および配列番号200に示される配列を含む V_L ; または

(xxiv) 配列番号227に示される配列に対して少なくとも約95%同一である配列を含む核酸または中程度から高度にストリンジェントな条件下でそれとハイブリダイズする核酸によってコードされる V_H および配列番号233に示される配列に対して少なくとも約95%同一である配列を含む核酸または中程度から高度にストリンジェントな条件下でそれとハイブリダイズする核酸によってコードされる V_L 。

【請求項 13】

(a) 以下:

40

- (i) 配列番号144に示されるアミノ酸配列を含む重鎖FR1;
- (ii) 配列番号43に示される配列を含む重鎖CDR1;
- (iii) 配列番号145に示されるアミノ酸配列を含む重鎖FR2;
- (iv) 配列番号142に示される配列を含む重鎖CDR2;
- (v) 配列番号146に示されるアミノ酸配列を含む重鎖FR3;
- (vi) 配列番号143に示される配列を含む重鎖CDR3; および
- (vii) 配列番号147に示されるアミノ酸配列を含む重鎖FR4

を含む重鎖可変領域(V_H)と、

(b) 以下:

- (i) 配列番号148に示されるアミノ酸配列を含む軽鎖FR1;

50

- (ii) 配列番号139に示される配列を含む軽鎖CDR1;
- (iii) 配列番号149に示されるアミノ酸配列を含む軽鎖FR2;
- (iv) 配列番号140に示される配列を含む軽鎖CDR2;
- (v) 配列番号150に示されるアミノ酸配列を含む軽鎖FR3;
- (vi) 配列番号141に示される配列を含む軽鎖CDR3;および
- (vii) 配列番号151に示されるアミノ酸配列を含む軽鎖FR4

を含む軽鎖可変領域と

を含む、請求項1に記載のTL1a結合性タンパク質。

【請求項14】

V_H および V_L が、単一ポリペプチド鎖中にあり、TL1a結合性タンパク質が、

- (i) 一本鎖Fv断片(scFv);
- (ii) 二量体scFv(di-scFv);
- (iii) Fcまたは重鎖定常ドメイン(C_H)₂および/もしくは C_H ₃と連結している(i)もしくは(ii);または

(iv) 免疫エフェクター細胞と結合するタンパク質と連結している(i)もしくは(ii)であるか、または

V_L および V_H が、別個のポリペプチド鎖中にあり、TL1a結合性タンパク質が、

- (i) ダイアボディー;
- (ii) トリアボディー;
- (iii) テトラボディー;
- (iv) Fab;
- (v) $F(ab')_2$;
- (vi) Fv;

(vii) Fcもしくは重鎖定常ドメイン(C_H)₂および/もしくは C_H ₃と連結している(i)~(vi)の1つ;

(viii) 免疫エフェクター細胞と結合するタンパク質と連結している(i)~(vi)の1つ;または

(ix) 抗体

である、請求項11から13のいずれか一項に記載のTL1a結合性タンパク質。

【請求項15】

キメラである、脱免疫化されている、ヒト化されている、合成されている、ヒトのまたは霊長類化されている、請求項1から14のいずれか一項に記載のTL1a結合性タンパク質。

【請求項16】

化合物とコンジュゲートしている、請求項1から15のいずれか一項に記載のTL1a結合性タンパク質。

【請求項17】

請求項1から16のいずれか一項に記載のTL1a結合性タンパク質をコードするか、またはそのポリペプチドをコードする単離または組換え核酸。

【請求項18】

配列番号106、107または222~233のいずれか1つに示される配列に対して少なくとも95%同一である配列または中程度から高度にストリンジェントな条件下でそれとハイブリダイズする核酸を含む、請求項17に記載の単離または組換え核酸。

【請求項19】

以下:

(i) 配列番号106に示される配列に対して少なくとも約95%同一である配列を含む核酸または中程度から高度にストリンジェントな条件下でそれとハイブリダイズする核酸および配列番号107に示される配列に対して少なくとも約95%同一である配列を含む核酸または中程度から高度にストリンジェントな条件下でそれとハイブリダイズする核酸;

(ii) 配列番号222に示される配列に対して少なくとも約95%同一である配列を含む核酸または中程度から高度にストリンジェントな条件下でそれとハイブリダイズする核酸および

10

20

30

40

50

配列番号228に示される配列に対して少なくとも約95%同一である配列を含む核酸または中程度から高度にストリンジェントな条件下でそれとハイブリダイズする核酸;

(iii) 配列番号223に示される配列に対して少なくとも約95%同一である配列を含む核酸または中程度から高度にストリンジェントな条件下でそれとハイブリダイズする核酸および配列番号228に示される配列に対して少なくとも約95%同一である配列を含む核酸または中程度から高度にストリンジェントな条件下でそれとハイブリダイズする核酸;

(iv) 配列番号224に示される配列に対して少なくとも約95%同一である配列を含む核酸または中程度から高度にストリンジェントな条件下でそれとハイブリダイズする核酸および配列番号229に示される配列に対して少なくとも約95%同一である配列を含む核酸または中程度から高度にストリンジェントな条件下でそれとハイブリダイズする核酸;

(v) 配列番号224に示される配列に対して少なくとも約95%同一である配列を含む核酸または中程度から高度にストリンジェントな条件下でそれとハイブリダイズする核酸および配列番号230に示される配列に対して少なくとも約95%同一である配列を含む核酸または中程度から高度にストリンジェントな条件下でそれとハイブリダイズする核酸;

(vi) 配列番号224に示される配列に対して少なくとも約95%同一である配列を含む核酸または中程度から高度にストリンジェントな条件下でそれとハイブリダイズする核酸および配列番号231に示される配列に対して少なくとも約95%同一である配列を含む核酸または中程度から高度にストリンジェントな条件下でそれとハイブリダイズする核酸;

(vii) 配列番号224に示される配列に対して少なくとも約95%同一である配列を含む核酸または中程度から高度にストリンジェントな条件下でそれとハイブリダイズする核酸および配列番号228に示される配列に対して少なくとも約95%同一である配列を含む核酸または中程度から高度にストリンジェントな条件下でそれとハイブリダイズする核酸;

(viii) 配列番号225に示される配列に対して少なくとも約95%同一である配列を含む核酸または中程度から高度にストリンジェントな条件下でそれとハイブリダイズする核酸および配列番号230に示される配列に対して少なくとも約95%同一である配列を含む核酸または中程度から高度にストリンジェントな条件下でそれとハイブリダイズする核酸;

(ix) 配列番号226に示される配列に対して少なくとも約95%同一である配列を含む核酸または中程度から高度にストリンジェントな条件下でそれとハイブリダイズする核酸および配列番号230に示される配列に対して少なくとも約95%同一である配列を含む核酸または中程度から高度にストリンジェントな条件下でそれとハイブリダイズする核酸;

(x) 配列番号226に示される配列に対して少なくとも約95%同一である配列を含む核酸または中程度から高度にストリンジェントな条件下でそれとハイブリダイズする核酸および配列番号232に示される配列に対して少なくとも約95%同一である配列を含む核酸または中程度から高度にストリンジェントな条件下でそれとハイブリダイズする核酸;

(xi) 配列番号227に示される配列に対して少なくとも約95%同一である配列を含む核酸または中程度から高度にストリンジェントな条件下でそれとハイブリダイズする核酸および配列番号232に示される配列に対して少なくとも約95%同一である配列を含む核酸または中程度から高度にストリンジェントな条件下でそれとハイブリダイズする核酸;または

(xii) 配列番号227に示される配列に対して少なくとも約95%同一である配列を含む核酸または中程度から高度にストリンジェントな条件下でそれとハイブリダイズする核酸および配列番号233に示される配列に対して少なくとも約95%同一である配列を含む核酸または中程度から高度にストリンジェントな条件下でそれとハイブリダイズする核酸

のうち1つまたは複数を含む、請求項17または18に記載の単離または組換え核酸。

【請求項20】

プロモーターと作動可能に連結している、請求項17から19のいずれか一項に記載の核酸を含む発現構築物。

【請求項21】

請求項1から16のいずれか一項に記載のTL1a結合性タンパク質を発現する単離細胞または請求項1から16のいずれか一項に記載のTL1a結合性タンパク質を発現するよう遺伝子改変された組換え細胞。

10

20

30

40

50

【請求項 2 2】

請求項1から16のいずれか一項に記載のタンパク質または請求項17から19のいずれか一項に記載の核酸または請求項20に記載の発現構築物または請求項21に記載の細胞と、適した担体とを含む組成物。

【請求項 2 3】

細胞、組織、臓器または対象において、少なくとも1種のTL1a媒介性状態の症状を治療または防止するための方法であって、細胞、組織、臓器または対象に、請求項1から16のいずれか一項に記載のタンパク質または請求項17から19のいずれか一項に記載の核酸または請求項20に記載の発現構築物または請求項21に記載の細胞または請求項22に記載の組成物を投与することを含む、方法。

10

【請求項 2 4】

医療における、請求項1から16のいずれか一項に記載のTL1a結合性タンパク質または請求項17から19のいずれか一項に記載の核酸または請求項20に記載の発現構築物または請求項21に記載の細胞または請求項22に記載の組成物の使用。

【請求項 2 5】

TL1a媒介性状態の症状の治療または防止のための薬物の製造における、請求項1から16のいずれか一項に記載のTL1a結合性タンパク質または請求項17から19のいずれか一項に記載の核酸または請求項20に記載の発現構築物または請求項21に記載の細胞の使用。

【請求項 2 6】

TL1a媒介性状態の症状の治療または防止において使用するための、請求項1から16のいずれか一項に記載のTL1a結合性タンパク質または請求項17から19のいずれか一項に記載の核酸または請求項20に記載の発現構築物または請求項21に記載の細胞または請求項22に記載の組成物。

20

【請求項 2 7】

サンプルにおいてTL1aを検出するための方法であって、抗原-タンパク質複合体が形成するよう、サンプルを請求項1から16のいずれか一項に記載のTL1a結合性タンパク質と接触させることと、複合体を検出することとを含み、複合体を検出することが、サンプル中のTL1aを示す、方法。

【請求項 2 8】

対象においてTL1aを検出するための方法であって、対象において、請求項1から16のいずれか一項に記載のTL1a結合性タンパク質を検出することを含み、タンパク質が検出可能な標識とコンジュゲートしている、方法。

30

【請求項 2 9】

対象においてTL1a媒介性状態を診断するための方法であって、請求項27または28に記載の方法を実施することを含み、TL1aの検出が、TL1a媒介性状態を示す、方法。

【請求項 3 0】

サンプル中のTL1aのレベルを決定することを含み、対照サンプルと比較した、サンプル中のTL1aのレベルの増大または減少が、TL1a媒介性状態を示す、請求項29に記載の方法。

【請求項 3 1】

TL1a媒介性状態が、自己免疫疾患である、請求項23、29もしくは30のいずれか一項に記載の方法または請求項25もしくは26に記載の使用。

40

【請求項 3 2】

TL1a媒介性状態が、潰瘍性大腸炎、クローン病、過敏性腸症候群、関節リウマチ、多発性関節炎、多発性硬化症、ブドウ膜炎、喘息または慢性閉塞性肺疾患である、請求項23、29、30もしくは31のいずれか一項に記載の方法または請求項25、26のいずれか一項に記載の使用。

【請求項 3 3】

複数のTL1a結合性タンパク質から、TL1aと特異的に結合し、TL1aと細胞死受容体3(DR3)の相互作用を阻害し、TL1aとデコイ受容体3(DcR3)の相互作用は阻害しないTL1a結合性タンパク質を選択する方法であって、

50

TL1a結合性タンパク質がムテインと結合するのを可能にするのに十分な条件下で、複数のTL1a結合性タンパク質を、配列番号202のアミノ酸位置32のアルギニンがアラニンで置換されており、および/またはアミノ酸位置85のアルギニンがアラニンで置換されているTL1aムテインと接触させて、TL1a結合性タンパク質-TL1aムテイン複合体およびTL1aムテインと結合しない枯渴した複数のTL1a結合性タンパク質を形成することと、

枯渴した複数のTL1a結合性タンパク質から、TL1aムテインと結合しないTL1a結合性タンパク質を収集することとを含み、収集されたTL1a結合性タンパク質は、TL1aと特異的に結合し、TL1aとDR3の相互作用を阻害し、TL1aとDcR3の相互作用を阻害しない、方法。

【請求項 3 4】

配列番号42のV_Hおよび配列番号46のV_Lを含むTL1a結合性抗体。

10

【請求項 3 5】

配列番号175のV_Hおよび配列番号188のV_Lを含むTL1a結合性抗体。

【請求項 3 6】

配列番号176のV_Hおよび配列番号189のV_Lを含むTL1a結合性抗体。

【請求項 3 7】

配列番号177のV_Hおよび配列番号190のV_Lを含むTL1a結合性抗体。

【請求項 3 8】

配列番号178のV_Hおよび配列番号191のV_Lを含むTL1a結合性抗体。

【請求項 3 9】

配列番号179のV_Hおよび配列番号192のV_Lを含むTL1a結合性抗体。

20

【請求項 4 0】

配列番号180のV_Hおよび配列番号193のV_Lを含むTL1a結合性抗体。

【請求項 4 1】

配列番号181のV_Hおよび配列番号194のV_Lを含むTL1a結合性抗体。

【請求項 4 2】

配列番号183のV_Hおよび配列番号196のV_Lを含むTL1a結合性抗体。

【請求項 4 3】

配列番号185のV_Hおよび配列番号198のV_Lを含むTL1a結合性抗体。

【請求項 4 4】

配列番号186のV_Hおよび配列番号199のV_Lを含むTL1a結合性抗体。

30

【請求項 4 5】

配列番号187のV_Hおよび配列番号200のV_Lを含むTL1a結合性抗体。

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0001】

関連出願データ

本願は、2011年9月30日に出願された「Antibodies against TL1a and uses thereof」と題された豪州特許出願第2011904042号および2011年9月30日に出願された「Antibodies against TL1a and uses thereof」と題された米国特許出願第61/541,590号からの優先権を主張する。それらの出願の全内容は、参照により本明細書に組み込まれる。

40

【0002】

配列表

本願は、電子的形態での配列表とともに出願される。配列表の全内容は、参照により本明細書に組み込まれる。

【0003】

本開示は、TL1aと結合するタンパク質と、例えば、治療、予防、診断または予後における、その使用とに関する。

【背景技術】

【0004】

TNF様リガンド1a(TL1a、同義語:TNFスーパーファミリーメンバー15(TNFSF15);TL1およ

50

びVEGI)は、抗原提示細胞(樹状細胞、B細胞およびマクロファージを含めた)、CD4⁺およびCD8⁺T細胞および内皮細胞によって発現される腫瘍壊死因子スーパーファミリーのメンバーであり、細胞表面に発現されるか、または可溶性サイトカインとして分泌され得る。TL1aの受容体、細胞死受容体3(DR3)は、CD4⁺およびCD8⁺T細胞、NK細胞、NKT細胞およびFOXP3⁺調節T(Treg)細胞を含めた種々細胞によって発現される。

【0005】

TL1aはまた、DR3の競合阻害剤であるデコイ受容体(DcR3)と結合できる。DcR3はまた、Fas-リガンド(Fas-L)のデコイ受容体およびT-細胞上でヘルペスウイルス侵入メディエーターとの結合について糖タンパク質Dと競合するリンホトキシン様誘導性タンパク質(LIGHT)としても作用する。したがって、DcR3は、いくつかのシグナル変換経路の重要なレギュレーターである。

10

【0006】

TL1a/DR3シグナル伝達経路は、ヒト疾患と関連しているいくつかの生物学的システムに参与している。例えば、TL1aは、免疫性において、また血管新生において役割を果たすとわかっている。

【0007】

研究者らは、TL1aおよび/またはDR3欠損マウスを使用して、この経路の阻害は、実験的自己免疫性脳脊髄炎(EAE;多発性硬化症のモデル)、大腸炎、炎症性腸疾患、喘息および関節炎などのいくつかの免疫媒介性状態において予防的または治療的利益を提供し得ることも示した。TL1aはまた、泡沫細胞およびアテローム斑の形成を促進することもわかっている。

20

【先行技術文献】

【特許文献】

【0008】

【特許文献1】US20090280116

【特許文献2】PCT/US2007/008231

【特許文献3】US6300064

【特許文献4】US5885793

【特許文献5】US6204023

【特許文献6】US6291158

30

【特許文献7】US6248516

【特許文献8】US7270969

【特許文献9】US5516637

【特許文献10】US6423538

【特許文献11】US5225539

【特許文献12】US6054297

【特許文献13】US7566771

【特許文献14】US5585089

【特許文献15】US7732578

【特許文献16】US5565332

40

【特許文献17】WO2007/019620

【特許文献18】US6113898

【特許文献19】US6331415

【特許文献20】US5807715

【特許文献21】US4816567

【特許文献22】US4816397

【特許文献23】US5844094

【特許文献24】US2008152586

【特許文献25】US5260203

【特許文献26】US5837821

50

- 【特許文献 2 7】US5731168
- 【特許文献 2 8】US4676980
- 【特許文献 2 9】EP19930302894
- 【特許文献 3 0】US7217797
- 【特許文献 3 1】US7217798
- 【特許文献 3 2】US20090041770
- 【特許文献 3 3】US2005037000
- 【特許文献 3 4】US6737056
- 【特許文献 3 5】US7317091
- 【特許文献 3 6】WO2008/129058 10
- 【特許文献 3 7】WO2008/142124
- 【特許文献 3 8】US6602684
- 【特許文献 3 9】US20050123546
- 【特許文献 4 0】WO1997/30087
- 【特許文献 4 1】WO1999/22764
- 【特許文献 4 2】US20070135620
- 【特許文献 4 3】US7083784
- 【特許文献 4 4】WO2010/080538
- 【特許文献 4 5】US4554101
- 【特許文献 4 6】WO1999/058661 20
- 【特許文献 4 7】US20090247455
- 【特許文献 4 8】WO2010/059821
- 【特許文献 4 9】PCT/IB2005/000204
- 【特許文献 5 0】US7229619
- 【特許文献 5 1】US7205159
- 【特許文献 5 2】US20030124619
- 【特許文献 5 3】US20040228761
- 【特許文献 5 4】US20040265926
- 【特許文献 5 5】US4593089
- 【特許文献 5 6】US4751190 30
- 【特許文献 5 7】US5571728
- 【特許文献 5 8】US6248597
- 【特許文献 5 9】US20090317388
- 【特許文献 6 0】WO2009/064854
- 【特許文献 6 1】米国特許出願公開US200900280116
- 【特許文献 6 2】US6,180,370
- 【非特許文献】
- 【0 0 0 9】
- 【非特許文献 1】Sambrook、Fritsch & Maniatis、Molecular Cloning: A Laboratory Manual、Cold Spring Harbor Laboratories、New York、Second Edition (1989年)、I、II およびIII巻の全部 40
- 【非特許文献 2】Benny K.C.Lo、Antibody Engineering: Methods and Protocols、(2004年) Humana Press、248巻
- 【非特許文献 3】DNA Cloning: A Practical Approach、IおよびII巻(D. N. Glover編、1985年)、IRL Press、Oxford、本文全部
- 【非特許文献 4】Oligonucleotide Synthesis: A Practical Approach (M. J. Gait編、1984年) IRL Press、Oxford、本文全部および特に、Gaitによるpp1-22; Atkinsonらによるpp35-81; Sproatらによるpp83-115; およびWuらによるpp135-151
- 【非特許文献 5】4. Nucleic Acid Hybridization: A Practical Approach (B. D. Hames & S. J. Higgins編、1985年) IRL Press、Oxford、本文全部 50

- 【非特許文献6】 Immobilized Cells and Enzymes: A Practical Approach (1986年) IRL Press、Oxford、本文全部
- 【非特許文献7】 Perbal, B., A Practical Guide to Molecular Cloning (1984年)
- 【非特許文献8】 Methods In Enzymology (S. ColowickおよびN. Kaplan編、Academic Press、Inc.)、シリーズ全部
- 【非特許文献9】 J.F. Ramalho Ortigao, 「The Chemistry of Peptide Synthesis」 In: Knowledge database of Access to Virtual Laboratory website (Interactiva、Germany)
- 【非特許文献10】 Sakakibara Biochem. Biophys. Res. Commun. 73: 336 ~ 342頁、1976年 10
- 【非特許文献11】 Merrifield J. Am. Chem. Soc. 85: 2149 ~ 2154頁、1963年
- 【非特許文献12】 BaranyおよびMerrifield (1979年) in The Peptides (Gross, E.およびMeienhofer, J.編)、2巻、1 ~ 284頁、Academic Press、New York. 12. Wunsch、E.編(1974年) Synthese von Peptiden in Houben-Weyls Methoden der Organischen Chemie (Muller、E.編)、15巻、第4版、第1部および第2部、Thieme、Stuttgart
- 【非特許文献13】 Bodanszky、M. (1984年) Principles of Peptide Synthesis、Springer-Verlag、Heidelberg
- 【非特許文献14】 Bodanszky、M. & Bodanszky、A. (1984年) The Practice of Peptide Synthesis、Springer-Verlag、Heidelberg
- 【非特許文献15】 Bodanszky Int. J. Peptide Protein Res. 25: 449 ~ 474頁、1985年 20
- 【非特許文献16】 Handbook of Experimental Immunology、I ~ IV巻(D. M. WeirおよびC. C. Blackwell編、1986年、Blackwell Scientific Publications)
- 【非特許文献17】 Animal Cell Culture: Practical Approach、第3版(John R. W. Masters編、2000年)、ISBN 0199637970、本文全部
- 【非特許文献18】 <http://www.bioinfo.org.uk/mdex.html>
- 【非特許文献19】 ChothiaおよびLesk J. Mol. Biol. 196:901 ~ 917頁、1987年
- 【非特許文献20】 Chothiaら、Nature 342: 877 ~ 883頁、1989年
- 【非特許文献21】 Al-Lazikaniら、J. Mol. Biol. 273: 927 ~ 948頁、1997年
- 【非特許文献22】 HonnegherおよびPlukthun J. Mol. Biol. 309: 657 ~ 670頁、2001年
- 【非特許文献23】 Giudicelliら、Nucleic Acids Res. 25: 206 ~ 211頁 1997年 30
- 【非特許文献24】 Padlanら、FASEB J.、9: 133 ~ 139頁、1995年
- 【非特許文献25】 Antibodies: A Laboratory Manual、Cold Spring Harbor Laboratory、1988年
- 【非特許文献26】 Lonbergら、Nature 368:856 ~ 859頁、1994年
- 【非特許文献27】 KohlerおよびMilstein、Nature 256:495 ~ 497頁、1975年
- 【非特許文献28】 Largaespadaら、Curr. Top. Microbiol. Immunol.、166:91 ~ 96頁、1990年
- 【非特許文献29】 SambrookおよびRussell編、Molecular Cloning: A Laboratory Manual、第3版、1 ~ 3巻、Cold Spring Harbor Laboratory Press、2001年
- 【非特許文献30】 Scopes (In: Protein purification: principles and practice、第3版、Springer Verlag、1994年) 40
- 【非特許文献31】 Jonesら、J. Immunol. Methods 354:85 ~ 90、2010年
- 【非特許文献32】 Jostockら、J. Immunol. Methods、289:65 ~ 80頁、2004年
- 【非特許文献33】 Ausubelら、(In: Current Protocols in Molecular Biology. Wiley Interscience、ISBN 047 150338、1987年)
- 【非特許文献34】 Sambrookら、(In:Molecular Cloning:Molecular Cloning:A Laboratory Manual、Cold Spring Harbor Laboratories、New York、Third Edition 2001)
- 【非特許文献35】 Shalabyら、J. Exp. Med.、175:217 ~ 225頁、1992年
- 【非特許文献36】 Yumane-Ohnukiら、Biotechnol. Bioengineer. 87:614 ~ 622頁、2004年

- 【非特許文献 3 7】Mori ̄、Biotechnol. Bioengineer.、88:901 ~ 908頁、2004年
- 【非特許文献 3 8】Kanda ̄、J. Biotechnol.、130: 300 ~ 310頁、2007年
- 【非特許文献 3 9】Umana ̄、Nat. Biotechnol. 17:176 ~ 180頁、1999年
- 【非特許文献 4 0】Natsume ̄、Cancer Res. 68: 3863 ~ 3872頁、2008年
- 【非特許文献 4 1】Hellstrom ̄ Proc. Natl Acad. Sci. USA 83: 7059 ~ 7063頁、1986年
- 【非特許文献 4 2】Bruggemann ̄、J. Exp. Med. 166: 1351 ~ 1361頁、1987年
- 【非特許文献 4 3】Gazzano-Santoro ̄、J. Immunol. Methods 202: 163、1996年
- 【非特許文献 4 4】Kabat ̄、Sequences of Proteins of Immunological Interest Washington DC United States Department of Health and Human Services、1987年および/または1991年 10
- 【非特許文献 4 5】Kabat ̄、Sequences of Proteins of Immunological Interest Washington DC United States Department of Health and Human Services、2001年
- 【非特許文献 4 6】Edelman ̄、Proc. Natl. Acad. USA、63: 78 ~ 85頁、1969年
- 【非特許文献 4 7】NeedlemanおよびWunsch. Mol. Biol. 48、443 ~ 453頁、1970年
- 【非特許文献 4 8】Doolittle J. Mol. Biol.、157:105 ~ 132頁、1982年
- 【非特許文献 4 9】Thie ̄、Methods Mol. Biol. 525:309 ~ 322頁、2009年)
- 【非特許文献 5 0】Kopsidas ̄、Immunol. Lett. 107:163 ~ 168頁、2006年
- 【非特許文献 5 1】Kopsidas ̄ BMC Biotechnology、7:18頁、2007年
- 【非特許文献 5 2】Stemmer、Nature 370:389 ~ 91頁、1994年 20
- 【非特許文献 5 3】Dieffenbach(編)およびDveksler(編)(In:PCR Primer: A Laboratory Manual、Cold Spring Harbor Laboratories、NY、1995年
- 【非特許文献 5 4】Marsh ̄、Hum. Mol. Genet. 9:13 ~ 25頁、2000年
- 【非特許文献 5 5】Kogan ̄、Nanomedicine (Lond). 2:287 ~ 306頁、2007年
- 【非特許文献 5 6】Scope (In:Protein purification:principles and practice、第3版、Springer Verlag、1994年)
- 【非特許文献 5 7】Bagley ̄、Cancer Res 63:5866頁、2003年
- 【非特許文献 5 8】Kanai ̄、Inflamm. Bowel Dis. 12:89 ~ 99頁、2006年
- 【非特許文献 5 9】TsunodaおよびFujinami、J. Neuropathol. Exp. Neurol. 55:673 ~ 686頁、1996年 30
- 【非特許文献 6 0】Sakaguchi ̄、Nature 426:454 ~ 460頁、1995年
- 【非特許文献 6 1】Bendele J. Musculoskel. Neuron. Interact. 1:377 ~ 385頁、2001年
- 【非特許文献 6 2】Caspi、Curr Protoc Immunol Chapter 15: unit 15.6、2003年
- 【非特許文献 6 3】RichおよびMyszka Curr. Opin. Biotechnol 11: :54頁、2000年
- 【非特許文献 6 4】Englebienne Analyst. 123: 1599頁、1998年
- 【非特許文献 6 5】Kim ̄、Eur. J. Immunol. 24:2429頁、1994年
- 【非特許文献 6 6】Kim ̄、Eur. J. of Immunol. 24: 542頁、1994年
- 【非特許文献 6 7】Remington's Pharmaceutical Science、第16版、Mack、Ed. 1980年
- 【非特許文献 6 8】Bull ̄、J. Exp. Med. 205: 2457頁、2008年
- 【非特許文献 6 9】Takedatsu ̄、Gastroenterology 135:552頁、2008年 40
- 【非特許文献 7 0】Durocher ̄、Nucl. Acids Res.、30: E9、2002年
- 【非特許文献 7 1】MarksおよびBradbury (Methods Mol. Biol. 248: 161 ~ 176頁、2004年
- 【非特許文献 7 2】Wang ̄、Journal of Pharmaceutical Sciences 96:1 ~ 26頁、2006年
- 【非特許文献 7 3】Altschul ̄、J Mol Biol 215: 403 ~ 410頁、1990年
- 【非特許文献 7 4】Thie ̄、Methods Mol. Biol. 525:309 ~ 322頁、xv、2009年
- 【非特許文献 7 5】Kolkmanおよび Stemmer、Nat. Biotechnol. 19: 423 ~ 428頁、2001年
- 【非特許文献 7 6】Greener ̄、In Vitro Mutagenesis Protocols(Humana press、NJ)1966年
- 【非特許文献 7 7】Peled ̄、Annu. Rev. Immunol.26:481 ~ 511頁、2008年 50

【非特許文献78】Benhar, Expert Opin. Biol. Ther. 7:763~779頁、2007年

【非特許文献79】Wirtzら, Nat. Protoc. 2:541~546頁、2007年

【非特許文献80】Racke, Curr. Protoc. Neurosci. 第9章、単元97、2001年

【発明の概要】

【発明が解決しようとする課題】

【0010】

以上から当業者には明らかであろうが、TL1aは、いくつかの重要なヒト疾患に関与している生物学的プロセスにおいて重要な役割を果たす。したがって、TL1a活性を阻害する化合物は、例えば、その治療的、予防的、診断的および予後的使用のために望ましいものである。

10

【課題を解決するための手段】

【0011】

本発明者らは、TL1aと特異的に結合して、TL1aとDcR3の相互作用を阻害することなく、TL1aとDR3の相互作用を阻害(それによって、TL1a活性を中和)できる抗体の抗原結合ドメインを含むTL1a結合性タンパク質を製造した。いかなる理論または作用様式にも拘束されることを望むものではないが、本発明者らは、このようなTL1a結合性タンパク質は、DcR3およびTL1aのホメオスタシス相互作用を大幅に乱すことなく、DR3を介したTL1aのシグナル伝達を低減または防止できる可能性があるとして結論を下した。これは、TL1a-DR3相互作用に対するDcR3の天然の拮抗効果は保ち、このことは、DcR3がまた、その受容体(それぞれ、FasおよびH-VEM)との結合に利用可能な遊離Fas-LおよびLIGHTの量も調節するので有利であり得る。癌の調査監視においてFas媒介性死滅は一定の役割を果たすので、Fas-Lと結合するDcR3の量の増大の可能性ある下流の結果は、癌に対する感受性の増大を含み得る。やはり、理論または作用様式に拘束されることを望むものではないが、TL1aとDR3の相互作用を特異的に阻害するが、DcR3とはそうではないタンパク質は、疾患の治療において有利であり得るが、安全性は損なわない。

20

【0012】

本発明者らによって同定されたTL1a結合性タンパク質のサブクラスはまた、低濃度のヒトTL1aによって誘導されるTF-1細胞のアポトーシスを阻害または防止することがわかった。すなわち、抗体は、低い有効濃度またはEC₅₀を有していた。TL1a活性(例えば、TF-1細胞のTL1a誘導性アポトーシス)を阻害または防止できるTL1a結合性タンパク質は、本明細書において高度に強力なTL1a結合性タンパク質と呼ばれることもある。

30

【0013】

本発明者らはまた、TL1aと特異的に結合し、TL1aのDcR3と相互作用する能力を阻害することなく、TL1aのDR3との相互作用を阻害する高度に強力なTL1a結合性タンパク質によって結合されるTL1aの領域も同定した。

【0014】

本発明者らによって同定されたTL1a結合性タンパク質は、種々の治療的/予防的/診断的/予後的使用の基礎を形成する。これは、大腸炎の承認されたモデルを、この状態のケアの現行の標準と少なくとも同等の有効性を示すタンパク質を用いて治療するための、本開示のTL1a結合性タンパク質の本発明者らの使用によって実証される。

40

【0015】

したがって、本開示は、抗体の抗原結合ドメインを含む、単離または組換えTL1a結合性タンパク質を提供し、ここで、抗原結合ドメインは、TL1aと特異的に結合し、TL1a結合性タンパク質は、TL1aとDR3の相互作用を阻害し、TL1aとDcR3の相互作用を阻害しない。

【0016】

一例では、TL1a結合性タンパク質は、TL1aとDcR3の相互作用を検出可能に低減しない。例えば、TL1aとDcR3の相互作用に対するTL1a結合性タンパク質の効果は、競合酵素結合免疫吸着検定法(ELISA)を使用して評価される。例えば、TL1a結合性タンパク質を、TL1a(例えば、ヒトTL1a)とともにインキュベートし、次いで、抗体のFc領域と融合しているDcR3(例えば、ヒトDcR3(hDcR3)) (「DcR3/Fc」)を含むポリペプチドと接触させ、結合しているT

50

L1aのレベルを検出する。一例では、タンパク質の存在下または不在下で、結合しているTL1aのレベルは、大幅には異ならない、および/または EC_{50} の算出を可能にするほど十分に異ならない。

【0017】

一例では、タンパク質の不在下での結合のレベルのパーセンテージとして表される、TL1a結合性タンパク質の存在下でのTL1aとDcR3(またはDcR3/Fc)の相互作用の阻害のレベルは、25%以下または22%以下または20%以下または18%以下または15%以下または12%以下または10%以下または7%以下または5%以下である。

【0018】

一例では、TL1a結合性タンパク質の、TL1aとDR3またはDcR3の相互作用を阻害する能力は、DcR3/Fcまたは抗体のFc領域と融合しているDR3(例えば、ヒトDR3(hDR3))(DR3/Fc)を含むポリペプチドを、約 $2\mu\text{g/ml}$ の濃度で固体または半固体表面(例えば、ELISAプレート)に固定化することによって評価される。次いで、TL1a結合性タンパク質を、ビオチン化ヒトTL1a(約 $1\mu\text{g/ml}$ の濃度の)と約30分間接触させ、次いで、固定化されたDcR3/FcまたはDR3/Fcに添加する。洗浄した後、結合しているTL1aを検出する。結合または阻害パーセンテージを決定するために、TL1a結合性タンパク質の不在下でのTL1aの固定化されたDcR3/FcまたはDR3/Fcとの最大結合のパーセンテージとして表すことによってデータを正規化する。TL1a結合性タンパク質の複数の濃度で、阻害のレベルを算出することによって EC_{50} を決定できる。

10

【0019】

一例では、TL1a結合性タンパク質は、TL1aとDR3(またはDR3/Fc)の相互作用を阻害するが、TL1aとDcR3(またはDcR3/Fc)は阻害しない。

20

【0020】

例えば、TL1a結合性タンパク質は、DR3/FcとTL1aの相互作用を、約 20nM ~約 10fM の EC_{50} または 15nM 以下、例えば、 11nM 以下、例えば、 5nM 以下などの 20nM 以下の EC_{50} で阻害する。一例では、 EC_{50} は、 5nM 以下である。例えば、 EC_{50} は、 3nM 以下である。例えば、 EC_{50} は、 2.5nM 以下である。例えば、 EC_{50} は、 1nM 以下である。例えば、 EC_{50} は、 0.5nM 以下である。一例では、 EC_{50} は、競合酵素結合免疫吸着検定法(ELISA)を使用して評価される。例えば、種々の濃度のTL1a結合性タンパク質を、TL1a(例えば、ヒトTL1a)(例えば、約 $1\mu\text{g/ml}$ のTL1a)とともにインキュベートし、次いで、DR3/Fc(例えば、約 $2\mu\text{g/ml}$ のDR3/Fc)と接触させ、結合しているTL1aのレベルを検出する。TL1aとの結合の半数阻害が検出されるタンパク質の濃度は、 EC_{50} と考えられる。

30

【0021】

一例では、TL1a結合性タンパク質は、TL1aとDR3の相互作用を干渉することによって、細胞中でまたは細胞上でTL1a活性を中和する。

【0022】

一例では、TL1a結合性タンパク質は、TL1aの細胞外ドメイン、例えば、ヒトTL1aの細胞外ドメインと結合する。

【0023】

一例では、TL1a結合性タンパク質は、哺乳類細胞、例えば、ヒト細胞によって産生されたヒトTL1aと結合する。

40

【0024】

本開示の例示的TL1a結合性タンパク質は、哺乳類細胞(例えば、ヒト細胞)によって産生されたヒトTL1a(例えば、培養物 1mL あたり約 100ng のヒトTL1a)などのヒトTL1aおよびシクロヘキシミドの存在下で培養されたTF-1細胞のアポトーシスのレベルを低下させる。例えば、約 7×10^4 ~ 8×10^4 個TF-1細胞(例えば、 7.5×10^4 個細胞)を、培養物 1mL あたり約 $1\mu\text{g}$ のヒトTL1aおよびシクロヘキシミドと接触させる。例えば、TL1a結合性タンパク質は、TF-1細胞のアポトーシスのレベルを、 25nM 以下の EC_{50} (すなわち、TL1a結合性タンパク質によって達成されるTF-1細胞のTL1a誘導性アポトーシスの最大阻害の50%を達成するTL1a結合性タンパク質の濃度)で低下させる。一例では、 EC_{50} は、 5nM 以下である。一例では、 EC

50

EC_{50} は、2nM以下である。一例では、 EC_{50} は、1.5nM以下または1.2nM以下または1.1nM以下である。一例では、 EC_{50} は、1nM以下である。一例では、 EC_{50} は、0.75nM以下である。一例では、 EC_{50} は、0.3nM以下である。一例では、 EC_{50} は、0.1nM以下である。一例では、 EC_{50} は、約1nM～約50fM、例えば、約1nM～約100fMなどの約1.5nM～約10fMである。

【0025】

一例では、TL1a結合性タンパク質は、細胞の表面上のTL1aと、例えば、フローサイトメトリーを使用して決定されるような約10nM以下の EC_{50} (すなわち、TL1a結合性タンパク質によって達成される細胞との最大結合の50%を達成するTL1a結合性タンパク質の濃度)で結合する。一例では、約 2×10^5 ～ 3×10^5 個細胞(例えば、 2.5×10^5 個細胞)を用いてフローサイトメトリーを実施する。一例では、 EC_{50} は、5nM以下である。一例では、 EC_{50} は、2nM以下である。一例では、 EC_{50} は、約10.0nMまたは5.0nMまたは1.0nMまたは0.5nMまたは0.1nM～約10fMである。

10

【0026】

本開示はまた、抗体の抗原結合ドメインを含む単離または組換えTL1a結合性タンパク質を提供し、これでは、抗原結合ドメインは、競合ELISAにおいて、TL1aと特異的に結合し、ビオチン化TL1aとDR3/Fcの相互作用を、1nM以下または約2.5nMもしくは約1.0nMもしくは約0.5nMもしくは約0.1nM～約10fMなどの約2.5nM以下の EC_{50} で阻害し、

DR3/Fcは、約 $2 \mu\text{g/mL}$ の濃度で固体または半固体基板(例えば、ELISAプレートなどの固体基板)上に固定化され、ビオチン化TL1aを、約 $1 \mu\text{g/mL}$ の濃度で約30分間、約 $10 \mu\text{g/mL}$ ～約 $0.01 \mu\text{g/mL}$ の濃度範囲のTL1a結合性タンパク質と接触させ、次いで、固定化されたDR3/Fcと接触させ、

20

TL1a結合性タンパク質は、TL1a結合性タンパク質の不在下でのビオチン化TL1aのDcR3/Fcとの結合のレベルと比較して競合ELISAにおいて、ビオチン化TL1aとDcR3/Fcの相互作用を検出可能に低減せず、DcR3/Fcは、約 $2 \mu\text{g/mL}$ の濃度で固体または半固体基板(例えば、ELISAプレートなどの固体基板)上に固定化され、ビオチン化TL1aを、約 $1 \mu\text{g/mL}$ の濃度で約30分間、約 $10 \mu\text{g/mL}$ ～ $0.1 \mu\text{g/mL}$ の濃度のTL1a結合性タンパク質と接触させ、次いで、固定化されたDcR3/Fcと接触させる。

本開示はまた、抗体の抗原結合ドメインを含む単離または組換えTL1a結合性タンパク質であって、抗原結合ドメインは、競合ELISAにおいて、TL1aと特異的に結合し、ビオチン化TL1aとDR3/Fcの相互作用を、1nM以下または約2.5nMもしくは約1.0nMもしくは約0.5nMもしくは約0.1nM～約10fMなどの約2.5nM以下の EC_{50} で阻害し、

30

DR3/Fcは、約 $2 \mu\text{g/mL}$ の濃度で固体または半固体基板(例えば、ELISAプレートなどの固体基板)上に固定化され、ビオチン化TL1aを、約 $1 \mu\text{g/mL}$ の濃度で約30分間、約 $10 \mu\text{g/mL}$ ～約 $0.01 \mu\text{g/mL}$ の濃度範囲のTL1-a結合性タンパク質と接触させ、次いで、固定化されたDR3/Fcと接触させ、

TL1a結合性タンパク質は、TL1a結合性タンパク質の不在下でのビオチン化TL1aのDcR3/Fcとの結合のレベルと比較して競合ELISAにおいて、ビオチン化TL1aとDcR3/Fcの相互作用を検出可能に低減せず、DcR3/Fcは、約 $2 \mu\text{g/mL}$ の濃度で固体または半固体基板(例えば、ELISAプレートなどの固体基板)上に固定化され、ビオチン化TL1aを、約 $1 \mu\text{g/mL}$ の濃度で約30分間、約 $10 \mu\text{g/mL}$ ～ $0.1 \mu\text{g/mL}$ の濃度のTL1a結合性タンパク質と接触させ、次いで、固定化されたDcR3/Fcと接触させ、

40

TL1a結合性タンパク質は、ヒト細胞によって産生されたヒトTL1aおよびシクロヘキシミドの存在下で培養されたTF-1細胞のアポトーシスのレベルを、25nM以下または約1.5nMまたは1.0nMまたは0.5nMまたは0.1nMまたは0.05nMから約10fMの EC_{50} (すなわち、TL1a結合性タンパク質によって達成されるTF-1細胞のTL1a誘導性アポトーシスの最大阻害の50%を達成するTL1a結合性タンパク質の濃度)で低下させ、

約 7.5×10^4 個のTF-1細胞を、約 $5 \mu\text{g/mL}$ 以下の濃度のTL1a結合性タンパク質とともに、培養物1mLあたり約100ngのヒトTL1aおよび約 $10 \mu\text{g/mL}$ のシクロヘキシミドと約4～5時間接触させる、TL1a結合性タンパク質を提供する。

【0027】

50

一例では、TL1aは、1部位でビオチン化される、すなわち、ビオチンは、TL1a中の1個のアミノ酸のみと連結される。

【0028】

一例では、TL1a結合性タンパク質は、TL1a結合性タンパク質の不在下でのビオチン化TL1aのDcR3/Fcとの結合のレベルと比較して競合ELISAにおいて、ビオチン化TL1aとDcR3/Fcの相互作用を検出可能に低減せず、ビオチン化TL1aを、約1 μ g/mLの濃度で約30分間、約100 μ g/mLの濃度のTL1a結合性タンパク質と接触させ、次いで、固定されたDcR3/Fcと接触させる。

【0029】

一例では、TL1a結合性タンパク質は、TL1a結合性タンパク質の不在下でのビオチン化TL1aのDcR3/Fcとの結合のレベルと比較して、競合ELISAにおいて、ビオチン化TL1aとDcR3/Fcの相互作用を検出可能に低減せず、ビオチン化TL1aを、約1 μ g/mLの濃度で約30分間、約10 μ g/mLの濃度のTL1a結合性タンパク質と接触させ、次いで、固定されたDcR3/Fcと接触させる。

【0030】

一例では、TL1a結合性タンパク質は、TF-1細胞のアポトーシスのレベルを、22nM以下のEC₅₀で低下させる。一例では、EC₅₀は、10nM以下である。一例では、EC₅₀は、5nM以下である。一例では、EC₅₀は、2nM以下である。一例では、EC₅₀は、1.5nM以下または1.2nM以下または1.1nM以下である。一例では、EC₅₀は、1nM以下である。一例では、EC₅₀は、0.75nM以下である。一例では、EC₅₀は、0.3nM以下である。一例では、EC₅₀は、0.1nM以下である。

【0031】

本開示は、さらにまたはあるいは、抗体の抗原結合ドメインを含む単離または組換えTL1a結合性タンパク質であって、抗原結合ドメインは、TL1aと特異的に結合し、TL1a結合性タンパク質は、TL1aとDR3の相互作用を阻害し、TL1aとDcR3の相互作用を阻害せず、TL1a結合性タンパク質は、位置32のアルギニンがアラニンで置換されている、および/または位置85のアラニンがアラニンで置換されている、配列番号202に示される配列を含む可溶性ヒトTL1aの突然変異型と、TL1a結合性タンパク質が、配列番号202に示される配列を含む可溶性ヒトTL1aと結合するレベルよりも少なくとも75%低いレベルで結合する、TL1a結合性タンパク質を提供する。

【0032】

一例では、可溶性ヒトTL1aの突然変異型が、約1 μ g/mLの濃度で固体または半固体基板(例えば、ELISAプレートなどの固体基板)上に固定化され、次いで、約10 μ g/mL～約0.01 μ g/mLの濃度範囲のTL1a結合性タンパク質を固定された突然変異体TL1aと接触させる。

【0033】

一例では、TL1a結合性タンパク質は、位置32のアルギニンがアラニンで置換されている、および/または位置85のアルギニンがアラニンで置換されている、配列番号202に示される配列を含む可溶性ヒトTL1aの突然変異型と、タンパク質が、配列番号202に示される配列を含む可溶性ヒトTL1aと結合するレベルの25%以下であるレベルで結合する。例えば、TL1a結合性タンパク質の、可溶性ヒトTL1aの突然変異型との結合のレベルは、TL1a結合性タンパク質が10 μ g/mLの濃度で試験される場合には、タンパク質が可溶性ヒトTL1aと結合するレベルの25%以下である。

【0034】

本開示は、さらにまたはあるいは、抗体の抗原結合ドメインを含む単離または組換えTL1a結合性タンパク質であって、抗原結合ドメインは、TL1aと特異的に結合し、TL1a結合性タンパク質は、TL1aとDR3の相互作用を阻害し、TL1aとDcR3の相互作用は阻害せず、TL1a結合性タンパク質は、位置32のアルギニンがアラニンと置換されており、および/または位置85のアルギニンがアラニンと置換されている、配列番号202に示される配列を含む可溶性ヒトTL1aの突然変異型と、タンパク質が、配列番号202に示される配列を含む可溶性ヒトTL1aと結合するレベルよりも少なくとも75%低いレベルで結合し、

10

20

30

40

50

TL1aの突然変異型は、約1 $\mu\text{g/mL}$ の濃度で固体または半固体基板上に固定化され、次いで、10 $\mu\text{g/mL}$ の濃度のTL1a結合性タンパク質を固定された突然変異体TL1aと接触させる、TL1a結合性タンパク質を提供する。

【0035】

一例では、可溶性ヒトTL1aの突然変異型は、位置32のアルギニンがアラニンで置換されている、配列番号202に示される配列を含む。

【0036】

一例では、可溶性ヒトTL1aの突然変異型は、位置85のアルギニンがアラニンで置換されている、配列番号202に示される配列を含む。

【0037】

一例では、可溶性ヒトTL1aの突然変異型は、位置32のアルギニンがアラニンで置換されている、および位置85のアルギニンがアラニンで置換されている配列番号202に示される配列を含む。

【0038】

一例では、TL1a結合性タンパク質の、可溶性ヒトTL1aの突然変異型との結合のレベルは、タンパク質が、配列番号202に示される配列を含む可溶性ヒトTL1aと結合するレベルよりも少なくとも80%または85%または90%または95%低い。

【0039】

一例では、TL1a結合性タンパク質は、可溶性ヒトTL1aの突然変異型と検出可能に結合しない。

【0040】

一例では、TL1a結合性タンパク質の、可溶性ヒトTL1aまたはその突然変異型との結合は、表面プラズモン共鳴を使用して評価される。例えば、可溶性ヒトTL1aまたはその突然変異型が固定化され(例えば、約1 $\mu\text{g/mL}$ の濃度で)、TL1a結合性タンパク質(例えば、約500 ng/mL の濃度で)を、固定化された可溶性ヒトTL1aまたはその突然変異型と接触させ、結合を表面プラズモン共鳴によって検出する。可溶性ヒトTL1aまたはその突然変異型との結合のレベルを比較することによって、比較を行って、タンパク質が可溶性ヒトTL1aと結合するレベルより少なくとも75%低いレベルで結合するTL1a結合性タンパク質を決定することができる。

【0041】

一例では、TL1a結合性タンパク質の、可溶性ヒトTL1aまたはその突然変異型との結合は、ELISAを使用して評価される。例えば、可溶性ヒトTL1aまたはその突然変異型が固定化され(例えば、約1 $\mu\text{g/mL}$ の濃度で)、TL1a結合性タンパク質(例えば、約10 $\mu\text{g/mL}$ の濃度で)を固定化された可溶性ヒトTL1aまたはその突然変異型と接触させ、結合を、ELISA(例えば、当技術分野における標準方法を使用して)によって検出する。

【0042】

一例では、TL1a結合性タンパク質は、配列番号202の位置32のアルギニンおよび配列番号202の位置85のアルギニンに対応する残基を含むTL1a内のエピトープと結合する。一例では、エピトープは、立体構造エピトープである。

【0043】

一例では、TL1a結合性タンパク質は、配列番号202に示されるようなアミノ酸配列を含むヒトTL1aの、少なくとも位置32のアミノ酸残基アルギニンおよび位置85のアルギニンで結合する。

【0044】

以上の段落に示される結合特徴を有する例示的TL1a結合性タンパク質は、本明細書における記載から当業者には明らかとなり、以下の V_H および V_L の対を含むものが挙げられる：

(i) 配列番号94に示される配列を含む V_H および配列番号95に示される配列を含む V_L ；

(ii) 配列番号137に示される配列を含む V_H および配列番号138に示される配列を含む V_L ；

(iii) 配列番号162に示される配列を含む V_H および配列番号172に示される配列を含む V_L ；

または

10

20

30

40

50

(iv) 配列番号173に示される配列を含む V_H および配列番号174に示される配列を含む V_L 。

【0045】

以上の配列内にある V_H および V_L は、本明細書における記載から当業者には明らかとなり、変更すべきところは変更して、本開示のこの例に適用されるととらなければならない。

【0046】

一例では、本開示のTL1a結合性タンパク質は、ヒト、カニクイザルまたはアカゲザル由来のTL1aとDR3の相互作用を阻害する。このようなTL1a結合性タンパク質は、ヒト疾患の動物モデルにおける特性決定にとって有用である。

【0047】

一例では、本開示のTL1a結合性タンパク質は、マウス、ブタ、ウサギまたはモルモット由来のTL1aとDR3の相互作用を検出可能に阻害しない。例えば、TL1a結合性タンパク質は、例えば、本明細書に記載されるアッセイを使用して決定されるような、関連TL1aの存在下で培養されたTF-1細胞のアポトーシスのレベルを検出可能に阻害しない。

【0048】

一例では、本開示のTL1a結合性タンパク質は、ラット由来のTL1aとDR3の相互作用を検出可能に阻害する。例えば、TL1a結合性タンパク質は、例えば、本明細書に記載されたアッセイを使用して決定されるような、関連TL1aの存在下で培養されたTF-1細胞のアポトーシスのレベルを検出可能に阻害する。

【0049】

一例では、本開示のTL1a結合性タンパク質は、配列番号123のアミノ酸72～251からなるTL1aのアイソフォームと、および/または配列番号123のアミノ酸84～251からなるTL1aのアイソフォームと検出可能に結合する。

【0050】

例えば、結合は、TL1aのアイソフォームが $1\mu\text{g/ml}$ の濃度で固定化され、TL1a結合性タンパク質をアイソフォームと接触させ、結合のレベルが評価されるELISAによって評価される。

【0051】

本開示は、さらにまたはあるいは、以下のいずれか1つまたは複数を含む抗体の抗原結合ドメインを含む、単離または組換えTL1a結合性タンパク質を提供する：

- (i) 配列番号94に示される配列を含む V_H および配列番号95に示される配列を含む V_L ；
 - (ii) 配列番号137に示される配列を含む V_H および配列番号138に示される配列を含む V_L ；
 - (iii) 配列番号162に示される配列を含む V_H および配列番号172に示される配列を含む V_L ；
- または
- (iv) 配列番号173に示される配列を含む V_H および配列番号174に示される配列を含む V_L 。

【0052】

本開示は、さらにまたはあるいは、以下のうちいずれか1つまたは複数を含む抗体の抗原結合ドメインを含む、単離または組換えTL1a結合性タンパク質を提供する：

- (i) 配列番号2に示される配列を含む V_H および配列番号6に示される配列を含む V_L ；
- (ii) 配列番号10に示される配列を含む V_H および配列番号14に示される配列を含む V_L ；
- (iii) 配列番号18に示される配列を含む V_H および配列番号22に示される配列を含む V_L ；
- (iv) 配列番号26に示される配列を含む V_H および配列番号30に示される配列を含む V_L ；
- (v) 配列番号34に示される配列を含む V_H および配列番号38に示される配列を含む V_L ；
- (vi) 配列番号42に示される配列を含む V_H および配列番号46に示される配列を含む V_L ；
- (vii) 配列番号50に示される配列を含む V_H および配列番号54に示される配列を含む V_L ；
- (viii) 配列番号58に示される配列を含む V_H および配列番号46に示される配列を含む V_L ；
- (ix) 配列番号42に示される配列を含む V_H および配列番号62に示される配列を含む V_L ；
- (x) 配列番号66に示される配列を含む V_H および配列番号62に示される配列を含む V_L ；
- (xi) 配列番号70に示される配列を含む V_H および配列番号62に示される配列を含む V_L ；
- (xii) 配列番号74に示される配列を含む V_H および配列番号62に示される配列を含む V_L ；

10

20

30

40

50

(xlvii) 配列番号177に示される配列を含む V_H および配列番号190に示される配列を含む V_L ;

(xlviii) 配列番号178に示される配列を含む V_H および配列番号191に示される配列を含む V_L ;

(xlix) 配列番号179に示される配列を含む V_H および配列番号192に示される配列を含む V_L ;

(l) 配列番号180に示される配列を含む V_H および配列番号193に示される配列を含む V_L ;

(li) 配列番号181に示される配列を含む V_H および配列番号194に示される配列を含む V_L ;

(lii) 配列番号182に示される配列を含む V_H および配列番号195に示される配列を含む V_L ;

(liii) 配列番号183に示される配列を含む V_H および配列番号196に示される配列を含む V_L ;

(liv) 配列番号184に示される配列を含む V_H および配列番号197に示される配列を含む V_L ;

(lv) 配列番号185に示される配列を含む V_H および配列番号198に示される配列を含む V_L ;

(lvi) 配列番号186に示される配列を含む V_H および配列番号199に示される配列を含む V_L ;

または

(lvii) 配列番号187に示される配列を含む V_H および配列番号200に示される配列を含む V_L 。

【0053】

特定の実施例では、

(i) 配列番号42に示される配列を含む V_H および配列番号46に示される配列を含む V_L ;

(ii) 配列番号106に示される配列に対して少なくとも約95%同一である配列を含む核酸または中程度から高度にストリンジェントな条件下でそれとハイブリダイズする核酸によってコードされる V_H および配列番号107に示される配列に対して少なくとも約95%同一である配列を含む核酸または中程度から高度にストリンジェントな条件下でそれとハイブリダイズする核酸によってコードされる V_L ;

(iii) 配列番号175に示される配列を含む V_H および配列番号188に示される配列を含む V_L ;

(iv) 配列番号222に示される配列に対して少なくとも約95%同一である配列を含む核酸または中程度から高度にストリンジェントな条件下でそれとハイブリダイズする核酸によってコードされる V_H および配列番号228に示される配列に対して少なくとも約95%同一である配列を含む核酸または中程度から高度にストリンジェントな条件下でそれとハイブリダイズする核酸によってコードされる V_L ;

(v) 配列番号176に示される配列を含む V_H および配列番号189に示される配列を含む V_L ;

(vi) 配列番号223に示される配列に対して少なくとも約95%同一である配列を含む核酸または中程度から高度にストリンジェントな条件下でそれとハイブリダイズする核酸によってコードされる V_H および配列番号228に示される配列に対して少なくとも約95%同一である配列を含む核酸または中程度から高度にストリンジェントな条件下でそれとハイブリダイズする核酸によってコードされる V_L ;

(vii) 配列番号177に示される配列を含む V_H および配列番号190に示される配列を含む V_L ;

(viii) 配列番号224に示される配列に対して少なくとも約95%同一である配列を含む核酸または中程度から高度にストリンジェントな条件下でそれとハイブリダイズする核酸によってコードされる V_H および配列番号229に示される配列に対して少なくとも約95%同一である配列を含む核酸または中程度から高度にストリンジェントな条件下でそれとハイブリダイズする核酸によってコードされる V_L ;

(ix) 配列番号178に示される配列を含む V_H および配列番号191に示される配列を含む V_L ;

(x) 配列番号224に示される配列に対して少なくとも約95%同一である配列を含む核酸または中程度から高度にストリンジェントな条件下でそれとハイブリダイズする核酸によってコードされる V_H および配列番号230に示される配列に対して少なくとも約95%同一である配列を含む核酸または中程度から高度にストリンジェントな条件下でそれとハイブリダイズする核酸によってコードされる V_L ;

(xi) 配列番号179に示される配列を含む V_H および配列番号192に示される配列を含む V_L ;

(xii) 配列番号224に示される配列に対して少なくとも約95%同一である配列を含む核酸または中程度から高度にストリンジェントな条件下でそれとハイブリダイズする核酸によってコードされる V_H および配列番号231に示される配列に対して少なくとも約95%同一である配列を含む核酸または中程度から高度にストリンジェントな条件下でそれとハイブリダイズする核酸によってコードされる V_L ;

(xiii) 配列番号180に示される配列を含む V_H および配列番号193に示される配列を含む V_L ;

(xiv) 配列番号224に示される配列に対して少なくとも約95%同一である配列を含む核酸または中程度から高度にストリンジェントな条件下でそれとハイブリダイズする核酸によってコードされる V_H および配列番号228に示される配列に対して少なくとも約95%同一である配列を含む核酸または中程度から高度にストリンジェントな条件下でそれとハイブリダイズする核酸によってコードされる V_L ;

(xv) 配列番号181に示される配列を含む V_H および配列番号194に示される配列を含む V_L ;

(xvi) 配列番号225に示される配列に対して少なくとも約95%同一である配列を含む核酸または中程度から高度にストリンジェントな条件下でそれとハイブリダイズする核酸によってコードされる V_H および配列番号230に示される配列に対して少なくとも約95%同一である配列を含む核酸または中程度から高度にストリンジェントな条件下でそれとハイブリダイズする核酸によってコードされる V_L ;

(xvii) 配列番号183に示される配列を含む V_H および配列番号196に示される配列を含む V_L ;

(xviii) 配列番号226に示される配列に対して少なくとも約95%同一である配列を含む核酸または中程度から高度にストリンジェントな条件下でそれとハイブリダイズする核酸によってコードされる V_H および配列番号230に示される配列に対して少なくとも約95%同一である配列を含む核酸または中程度から高度にストリンジェントな条件下でそれとハイブリダイズする核酸によってコードされる V_L ;

(xix) 配列番号185に示される配列を含む V_H および配列番号198に示される配列を含む V_L ;

(xx) 配列番号226に示される配列に対して少なくとも約95%同一である配列を含む核酸または中程度から高度にストリンジェントな条件下でそれとハイブリダイズする核酸によってコードされる V_H および配列番号232に示される配列に対して少なくとも約95%同一である配列を含む核酸または中程度から高度にストリンジェントな条件下でそれとハイブリダイズする核酸によってコードされる V_L ;

(xxi) 配列番号186に示される配列を含む V_H および配列番号199に示される配列を含む V_L ;

(xxii) 配列番号227に示される配列に対して少なくとも約95%同一である配列を含む核酸または中程度から高度にストリンジェントな条件下でそれとハイブリダイズする核酸によってコードされる V_H および配列番号232に示される配列に対して少なくとも約95%同一である配列を含む核酸または中程度から高度にストリンジェントな条件下でそれとハイブリダイズする核酸によってコードされる V_L ;

(xxiii) 配列番号187に示される配列を含む V_H および配列番号200に示される配列を含む V_L ;ならびに

(xxiv) 配列番号227に示される配列に対して少なくとも約95%同一である配列を含む核酸または中程度から高度にストリンジェントな条件下でそれとハイブリダイズする核酸によってコードされる V_H および配列番号233に示される配列に対して少なくとも約95%同一である配列を含む核酸または中程度から高度にストリンジェントな条件下でそれとハイブリダイズする核酸によってコードされる V_L

からなる群から選択される配列をそれぞれ含む V_H および V_L を含む抗体の抗原結合ドメインを含む単離または組換えTL1a結合性タンパク質が提供される。

【0054】

本開示は、さらにまたはあるいは、配列番号42に示される配列を含む V_H および配列番号46に示される配列を含む V_L を含む抗体の抗原結合ドメインを含む単離または組換えTL1a結合性タンパク質であって、 V_H および/または V_L は、以下の置換または置換の群のうち1つま

10

20

30

40

50

たは複数を含む、TL1a結合性タンパク質を提供する：

- (i) V_H は、配列番号42の位置16にアラニンを含む；
- (ii) V_H は、配列番号42の位置100にアラニンを含み、 V_L は、配列番号46の位置76にトレオニンを含む；
- (iii) V_H は、配列番号42の位置100にセリンを含み、 V_L は、配列番号46の位置76にトレオニンを含む；
- (iv) V_H は、配列番号42の位置100にヒスチジンを含み、 V_L は、配列番号46の位置76にトレオニンを含む；
- (v) V_H は、配列番号42の位置100にロイシンを含み、 V_L は、配列番号46の位置76にトレオニンを含む；
- (vi) V_H は、配列番号42の位置100にアスパラギン酸を含み、 V_L は、配列番号46の位置76にトレオニンを含む；
- (vii) V_H は、配列番号42の位置100にチロシンを含み、 V_L は、配列番号46の位置76にトレオニンを含む；
- (viii) V_H は、配列番号42の位置100にプロリンを含み、 V_L は、配列番号46の位置76にトレオニンを含む；
- (ix) V_H は、配列番号42の位置100にグルタミンを含み、 V_L は、配列番号46の位置76にトレオニンを含む；
- (x) V_H は、配列番号42の位置100にリシンを含み、 V_L は、配列番号46の位置76にトレオニンを含む；
- (xi) V_H は、配列番号42の位置101にアラニンを含み、 V_L は、配列番号46の位置76にトレオニンを含む；
- (xii) V_H は、配列番号42の位置101にセリンを含み、 V_L は、配列番号46の位置76にトレオニンを含む；
- (xiii) V_H は、配列番号42の位置101にヒスチジンを含み、 V_L は、配列番号46の位置76にトレオニンを含む；
- (xiv) V_H は、配列番号42の位置101にロイシンを含み、 V_L は、配列番号46の位置76にトレオニンを含む；
- (xv) V_H は、配列番号42の位置101にアスパラギン酸を含み、 V_L は、配列番号46の位置76にトレオニンを含む；
- (xvi) V_H は、配列番号42の位置101にチロシンを含み、 V_L は、配列番号46の位置76にトレオニンを含む；
- (xvii) V_H は、配列番号42の位置101にグルタミンを含み、 V_L は、配列番号46の位置76にトレオニンを含む；
- (xviii) V_H は、配列番号42の位置101にリシンを含み、 V_L は、配列番号46の位置76にトレオニンを含む；
- (xix) V_H は、配列番号42の位置102にアラニンを含み、 V_L は、配列番号46の位置76にトレオニンを含む；
- (xx) V_H は、配列番号42の位置102にセリンを含み、 V_L は、配列番号46の位置76にトレオニンを含む；
- (xxi) V_H は、配列番号42の位置102にヒスチジンを含み、 V_L は、配列番号46の位置76にトレオニンを含む；
- (xxii) V_H は、配列番号42の位置102にロイシンを含み、 V_L は、配列番号46の位置76にトレオニンを含む；
- (xxiii) V_H は、配列番号42の位置102にチロシンを含み、 V_L は、配列番号46の位置76にトレオニンを含む；
- (xxiv) V_H は、配列番号42の位置102にプロリンを含み、 V_L は、配列番号46の位置76にトレオニンを含む；
- (xxv) V_H は、配列番号42の位置102にグルタミンを含み、 V_L は、配列番号46の位置76にトレオニンを含む；

10

20

30

40

50

(xxvi) V_H は、配列番号42の位置102にリシンを含み、 V_L は、配列番号46の位置76にトレオニンを含む；

(xxvii) V_H は、配列番号42の位置103にアラニンを含み、 V_L は、配列番号46の位置76にトレオニンを含む；

(xxviii) V_H は、配列番号42の位置103にセリンを含み、 V_L は、配列番号46の位置76にトレオニンを含む；

(xxix) V_H は、配列番号42の位置103にヒスチジンを含み、 V_L は、配列番号46の位置76にトレオニンを含む；

(xxx) V_H は、配列番号42の位置103にロイシンを含み、 V_L は、配列番号46の位置76にトレオニンを含む；

(xxxi) V_H は、配列番号42の位置103にアスパラギン酸を含み、 V_L は、配列番号46の位置76にトレオニンを含む；

(xxxii) V_H は、配列番号42の位置103にチロシンを含み、 V_L は、配列番号46の位置76にトレオニンを含む；

(xxxiii) V_H は、配列番号42の位置103にプロリンを含み、 V_L は、配列番号46の位置76にトレオニンを含む；

(xxxiv) V_H は、配列番号42の位置103にグルタミンを含み、 V_L は、配列番号46の位置76にトレオニンを含む；

(xxxv) V_H は、配列番号42の位置103にリシンを含み、 V_L は、配列番号46の位置76にトレオニンを含む；

(xxxvi) V_H は、配列番号42の位置104にセリンを含み、 V_L は、配列番号46の位置76にトレオニンを含む；

(xxxvii) V_H は、配列番号42の位置104にヒスチジンを含み、 V_L は、配列番号46の位置76にトレオニンを含む；

(xxxviii) V_H は、配列番号42の位置104にロイシンを含み、 V_L は、配列番号46の位置76にトレオニンを含む；

(xxxix) V_H は、配列番号42の位置104にアスパラギン酸を含み、 V_L は、配列番号46の位置76にトレオニンを含む；

(xl) V_H は、配列番号42の位置104にチロシンを含み、 V_L は、配列番号46の位置76にトレオニンを含む；

(xli) V_H は、配列番号42の位置104にプロリンを含み、 V_L は、配列番号46の位置76にトレオニンを含む；

(xlii) V_H は、配列番号42の位置104にグルタミンを含み、 V_L は、配列番号46の位置76にトレオニンを含む；

(xliiii) V_H は、配列番号42の位置104にリシンを含み、 V_L は、配列番号46の位置76にトレオニンを含む；

(xliv) V_H は、配列番号42の位置105にアラニンを含み、 V_L は、配列番号46の位置76にトレオニンを含む；

(xlv) V_H は、配列番号42の位置105にヒスチジンを含み、 V_L は、配列番号46の位置76にトレオニンを含む；

(xlvi) V_H は、配列番号42の位置105にロイシンを含み、 V_L は、配列番号46の位置76にトレオニンを含む；

(xlvii) V_H は、配列番号42の位置105にアスパラギン酸を含み、 V_L は、配列番号46の位置76にトレオニンを含む；

(xlviii) V_H は、配列番号42の位置105にチロシンを含み、 V_L は、配列番号46の位置76にトレオニンを含む；

(xlix) V_H は、配列番号42の位置105にプロリンを含み、 V_L は、配列番号46の位置76にトレオニンを含む；

(l) V_H は、配列番号42の位置105にグルタミンを含み、 V_L は、配列番号46の位置76にトレオニンを含む；

10

20

30

40

50

(li) V_H は、配列番号42の位置105にリシンを含み、 V_L は、配列番号46の位置76にトレオニンを含む；

(lii) V_H は、配列番号42の位置107にアラニンを含み、 V_L は、配列番号46の位置76にトレオニンを含む；

(liii) V_H は、配列番号42の位置107にセリンを含み、 V_L は、配列番号46の位置76にトレオニンを含む；

(liv) V_H は、配列番号42の位置107にヒスチジンを含み、 V_L は、配列番号46の位置76にトレオニンを含む；

(lv) V_H は、配列番号42の位置107にロイシンを含み、 V_L は、配列番号46の位置76にトレオニンを含む；

(lvi) V_H は、配列番号42の位置107にアスパラギン酸を含み、 V_L は、配列番号46の位置76にトレオニンを含む；

(lvii) V_H は、配列番号42の位置107にチロシンを含み、 V_L は、配列番号46の位置76にトレオニンを含む；

(lviii) V_H は、配列番号42の位置107にプロリンを含み、 V_L は、配列番号46の位置76にトレオニンを含む；

(lix) V_H は、配列番号42の位置107にグルタミンを含み、 V_L は、配列番号46の位置76にトレオニンを含む；

(lx) V_H は、配列番号42の位置107にリシンを含み、 V_L は、配列番号46の位置76にトレオニンを含む；

(lxi) V_H は、配列番号42の位置41にトレオニンを含み、 V_L は、配列番号46の位置23にアラニンを含む；

(lxii) V_H は、配列番号42の位置41にトレオニンを含み、 V_L は、配列番号46の位置28にアスパラギン酸を含む；

(lxiii) V_H は、配列番号42の位置41にトレオニンを含み、 V_L は、配列番号46の位置33にチロシンを含む；

(lxiv) V_H は、配列番号42の位置41にトレオニンを含み、 V_L は、配列番号46の位置34にアスパラギン酸を含む；

(lxv) V_H は、配列番号42の位置41にトレオニンを含み、 V_L は、配列番号46の位置53にアスパラギン酸を含む；

(lxvi) V_H は、配列番号42の位置41にトレオニンを含み、 V_L は、配列番号46の位置54にセリンを含む；

(lxvii) V_H は、配列番号42の位置41にトレオニンを含み、 V_L は、配列番号46の位置82にアラニンを含む；

(lxviii) V_H は、配列番号42の位置41にトレオニンを含み、 V_L は、配列番号46の位置95にセリンを含む；

(lixix) V_H は、配列番号42の位置41にトレオニンを含み、 V_L は、配列番号46の位置96にセリンを含む；

(lxx) V_H は、配列番号42の位置41にトレオニンを含み、 V_L は、配列番号46の位置76にトレオニンを含む；

(lxxi) V_H は、配列番号42の位置47にセリンを含み、 V_L は、配列番号46の位置23にトレオニンを含む；

(lxxii) V_H は、各々、配列番号42に対して位置41にプロリン、位置72にアラニン、位置73にアスパラギン酸、位置74にアルギニンおよび位置76にトレオニンを含み、 V_L は、配列番号46の位置76にトレオニンを含む；

(lxxiii) V_H は、各々、配列番号42に対して位置41にプロリン、位置51にロイシンおよび位置102にグルタミン酸を含み、 V_L は、各々、配列番号46に対して位置24にセリンおよび位置76にトレオニンを含む；

(lxxiv) V_H は、各々、配列番号42に対して位置41にプロリン、位置51にロイシンおよび位置102にグルタミン酸を含み、 V_L は、各々、配列番号46に対して位置23にトレオニン、

10

20

30

40

50

位置24にセリンおよび位置76にトレオニンを含む；

(Ixxv) V_H は、各々、配列番号42に対して位置41にプロリン、位置51にロイシンおよび位置102にグルタミン酸を含み、 V_L は、各々、配列番号46に対して位置23にトレオニンおよび位置76にトレオニンを含む；

(Ixxvi) V_H は、各々、配列番号42に対して位置41にプロリン、位置51にロイシンおよび位置102にグルタミン酸を含み、 V_L は、配列番号46の位置76にトレオニンを含む；

(Ixxvii) V_H は、各々、配列番号42に対して位置41にプロリン、位置51にロイシン、位置102にグルタミン酸および位置105にアラニンを含み、 V_L は、各々、配列番号46に対して位置23にトレオニン、位置24にセリンおよび位置76にトレオニンを含む；

(Ixxviii) V_H は、各々、配列番号42に対して位置41にプロリン、位置51にロイシン、位置102にグルタミン酸、および位置105にアラニンを含み、 V_L は、配列番号46の位置76にトレオニンを含む；

(Ixxix) V_H は、各々、配列番号42に対して位置41にプロリン、位置72にアラニン、位置73にアスパラギン酸、位置74にアルギニンおよび位置76にトレオニンを含み、 V_L は、各々、配列番号46に対して位置23にトレオニン、位置24にセリンおよび位置76にトレオニンを含む；

(Ixxx) V_H は、各々、配列番号42に対して位置41にプロリン、位置72にアラニン、位置73にアスパラギン酸、位置74にアルギニンおよび位置76にトレオニンを含み、 V_L は、各々、配列番号46に対して位置23にトレオニン、位置24にセリン、位置76にトレオニンおよび位置51にグルタミン酸を含む；

(Ixxxi) V_H は、各々、配列番号42に対して位置41にプロリン、位置51にロイシン、位置72にアラニン、位置73にアスパラギン酸、位置74にアルギニン、位置76にトレオニン、位置102にグルタミン酸および位置105にアラニンを含み、 V_L は、各々、配列番号46に対して位置23にトレオニン、位置24にセリン、位置76にトレオニンおよび位置51にグルタミン酸を含む；ならびに

(Ixxxii) V_H は、各々、配列番号42に対して位置41にプロリン、位置51にロイシン、位置72にアラニン、位置73にアスパラギン酸、位置74にアルギニン、位置76にトレオニン、位置102にグルタミン酸および位置105にアラニンを含み、 V_L は、各々、配列番号46に対して位置23にトレオニン、位置24にセリン、位置76にトレオニンおよび位置51にグリシンを含む。

【 0 0 5 5 】

一例では、TL1a結合性タンパク質は、以下のいずれか1つまたは複数を含む抗体の抗原結合ドメインを含む：

(i) 配列番号26に示される配列を含む V_H および配列番号30に示される配列を含む V_L ；

(ii) 配列番号34に示される配列を含む V_H および配列番号38に示される配列を含む V_L ；ならびに

(iii) 配列番号42に示される配列を含む V_H および配列番号46に示される配列を含む V_L 。

【 0 0 5 6 】

特定の実施例では、

(i) 配列番号42に示される配列を含む V_H および配列番号46に示される配列を含む V_L ；

(ii) 配列番号175に示される配列を含む V_H および配列番号188に示される配列を含む V_L ；

(iii) 配列番号176に示される配列を含む V_H および配列番号189に示される配列を含む V_L ；

(iv) 配列番号177に示される配列を含む V_H および配列番号190に示される配列を含む V_L ；

(v) 配列番号178に示される配列を含む V_H および配列番号191に示される配列を含む V_L ；

(vi) 配列番号179に示される配列を含む V_H および配列番号192に示される配列を含む V_L ；

(vii) 配列番号180に示される配列を含む V_H および配列番号193に示される配列を含む V_L ；

(viii) 配列番号181に示される配列を含む V_H および配列番号194に示される配列を含む V_L ；

；

(ix) 配列番号183に示される配列を含む V_H および配列番号196に示される配列を含む V_L ；

(x) 配列番号185に示される配列を含む V_H および配列番号198に示される配列を含む V_L ；

10

20

30

40

50

(xi) 配列番号186に示される配列を含む V_H および配列番号199に示される配列を含む V_L ；
ならびに

(xii) 配列番号187に示される配列を含む V_H および配列番号200に示される配列を含む V_L からなる群から選択される配列をそれぞれ含む V_H および V_L を含む抗体の抗原結合ドメインを含む単離または組換えTL1a結合性タンパク質が提供される。

【0057】

一例では、本開示のTL1a結合性タンパク質は、上記で列挙された抗体の可変領域のCDR3を含む抗原結合ドメインを含む。例えば、CDR3は、カバット(Kabat)番号付けシステムに従って定義され、配列番号5、9、13、17、21、25、29、33、37、41、45、49、53、57、61、65、69、73、77、81、85、89、93のいずれか1つに示される配列、または「CDR3」として名前を付けられ、図1A～図1H中もしくは図9Bもしくは図9C中で太字文字列で示される配列、または配列番号175～187のいずれか1つのアミノ酸99～108もしくは配列番号188～200もしくは234のいずれか1つのアミノ酸91～100を含む配列を含む。

10

【0058】

例えば、CDR3は、カバット(Kabat)番号付けシステムに従って定義され、配列番号45もしくは49に示される配列または配列番号175～181、183もしくは185～187のいずれか1つのアミノ酸99～108もしくは配列番号188～194、196もしくは198～200のいずれか1つのアミノ酸91～100を含む配列を含む。

【0059】

別の例では、CDR3(例えば、HCDR3)は、増強されたコチア(Chothia)番号付けシステムに従って定義され、「CDR3」として名前を付けられ、図1A、図1C、図1Dまたは図1Eまたは図9Bのいずれか1つにおいて下線が引かれた文字列で示される配列を含む。

20

【0060】

一例では、CDR3は、配列 $EVPX_1TAX_2FEY$ (配列番号143)を含み、式中、 X_1 は、アスパラギン酸またはグルタミン酸であり、 X_2 は、セリンまたはアラニンである。

【0061】

一例では、CDR3は、配列 $EX_1PX_2X_3AX_4FX_5Y$ (配列番号235)を含み、式中、 X_1 は、バリン、アラニン、セリン、ヒスチジン、アスパラギン酸、ロイシン、チロシン、プロリン、グルタミンまたはリシンからなる群から選択されるアミノ酸であり；

X_2 は、アラニン、セリン、ヒスチジン、リシン、グルタミン酸またはアスパラギン酸からなる群から選択されるアミノ酸であり；

30

X_3 は、アラニン、セリン、アスパラギン酸、チロシンまたはトレオニンからなる群から選択されるアミノ酸であり；

X_4 は、セリン、アラニン、ヒスチジン、ロイシン、アスパラギン酸またはチロシンからなる群から選択されるアミノ酸であり；

X_5 は、アラニン、セリン、ヒスチジン、ロイシン、アスパラギン酸、プロリン、グルタミン、グルタミン酸またはリシンからなる群から選択されるアミノ酸である。

【0062】

一例では、CDR3(例えば、LCDR3)は、配列番号141に示される配列(または図1Fまたは図9C中で「コンセンサス」と名前を付けられた配列の、太字の文字列のCDR3として名前を付けられた配列)を含む。

40

【0063】

例えば、抗原結合ドメインは、抗体の可変領域の3つのCDRを含む。

【0064】

本開示のいくつかの例では、抗原結合ドメインは、配列番号2、6、10、14、18、22、26、30、34、38、42、46、50、54、58、62、66、70、74、78、82、86、90、94、95、137、138、152～200または234のいずれか1つに示されるアミノ酸配列を含む可変領域の3つのCDRを含む抗体可変領域である。

【0065】

いくつかの例では、抗原結合ドメインは、

50

(a) 配列番号42に示される配列を含み、以下の置換または置換の群:

- (i) 配列番号42の位置16にアラニン;
- (ii) 配列番号42の位置100にアラニン;
- (iii) 配列番号42の位置100にセリン;
- (iv) 配列番号42の位置100にヒスチジン;
- (v) 配列番号42の位置100にロイシン;
- (vi) 配列番号42の位置100にアスパラギン酸;
- (vii) 配列番号42の位置100にチロシン;
- (viii) 配列番号42の位置100にプロリン;
- (ix) 配列番号42の位置100にグルタミン;
- (x) 配列番号42の位置100にリシン;
- (xi) 配列番号42の位置101にアラニン;
- (xii) 配列番号42の位置101にセリン;
- (xiii) 配列番号42の位置101にヒスチジン;
- (xiv) 配列番号42の位置101にロイシン;
- (xv) 配列番号42の位置101にアスパラギン酸;
- (xvi) 配列番号42の位置101にチロシン;
- (xvii) 配列番号42の位置101にグルタミン;
- (xviii) 配列番号42の位置101にリシン;
- (xix) 配列番号42の位置102にアラニン;
- (xx) 配列番号42の位置102にセリン;
- (xxi) 配列番号42の位置102にヒスチジン;
- (xxii) 配列番号42の位置102にロイシン;
- (xxiii) 配列番号42の位置102にチロシン;
- (xxiv) 配列番号42の位置102にプロリン;
- (xxv) 配列番号42の位置102にグルタミン;
- (xxvi) 配列番号42の位置102にリシン;
- (xxvii) 配列番号42の位置103にアラニン;
- (xxviii) 配列番号42の位置103にセリン;
- (xxix) 配列番号42の位置103にヒスチジン;
- (xxx) 配列番号42の位置103にロイシン;
- (xxxi) 配列番号42の位置103にアスパラギン酸;
- (xxxii) 配列番号42の位置103にチロシン;
- (xxxiii) 配列番号42の位置103にプロリン;
- (xxxiv) 配列番号42の位置103にグルタミン;
- (xxxv) 配列番号42の位置103にリシン;
- (xxxvi) 配列番号42の位置104にセリン;
- (xxxvii) 配列番号42の位置104にヒスチジン;
- (xxxviii) 配列番号42の位置104にロイシン;
- (xxxix) 配列番号42の位置104にアスパラギン酸;
- (xl) 配列番号42の位置104にチロシン;
- (xli) 配列番号42の位置104にプロリン;
- (xlii) 配列番号42の位置104にグルタミン;
- (xliii) 配列番号42の位置104にリシン;
- (xliv) 配列番号42の位置105にアラニン;
- (xlv) 配列番号42の位置105にヒスチジン;
- (xlvi) 配列番号42の位置105にロイシン;
- (xlvii) 配列番号42の位置105にアスパラギン酸;
- (xlviii) 配列番号42の位置105にチロシン;
- (xlix) 配列番号42の位置105にプロリン;

10

20

30

40

50

- (I) 配列番号42の位置105にグルタミン;
 (Ii) 配列番号42の位置105にリシン;
 (Iii) 配列番号42の位置107にアラニン;
 (Iiii) 配列番号42の位置107にセリン;
 (Iiv) 配列番号42の位置107にヒスチジン;
 (Iv) 配列番号42の位置107にロイシン;
 (Ivi) 配列番号42の位置107にアスパラギン酸;
 (Ivii) 配列番号42の位置107にチロシン;
 (Iviii) 配列番号42の位置107にプロリン;
 (Iix) 配列番号42の位置107にグルタミン; 10
 (Ix) 配列番号42の位置107にリシン;
 (Ixii) 配列番号42の位置41にトレオニン;
 (Ixiii) 配列番号42の位置47にセリン;
 (Ixiiii) 各々、配列番号42に対して位置41にプロリン、位置72にアラニン、位置73にアスパラギン酸および位置74にアルギニンおよび位置76にトレオニン;
 (Ixv) 各々、配列番号42に対して位置41にプロリン、位置51にロイシンおよび位置102にグルタミン酸;
 (Ixvi) 各々、配列番号42に対して位置41にプロリン、位置51にロイシン、位置102にグルタミン酸および位置105にアラニン; 20
 (Ixvii) 位置41にプロリン、位置51にロイシン、位置72にアラニン、位置73にアスパラギン酸、位置74にアルギニン、位置76にトレオニン、位置102にグルタミン酸および位置105にアラニン
 のうち1つまたは複数を含む V_H ;または
 (b) 配列番号46に示される配列を含み、以下の置換または置換の群:
 (i) 配列番号46の位置76にトレオニン;
 (ii) 配列番号46の位置23にトレオニン;
 (iii) 配列番号46の位置28にアスパラギン;
 (iv) 配列番号46の位置33にチロシン;
 (v) 配列番号46の位置34にアスパラギン酸;
 (vi) 配列番号46の位置53にアスパラギン; 30
 (vii) 配列番号46の位置54にセリン;
 (viii) 配列番号46の位置82にアラニン;
 (ix) 配列番号46の位置95にセリン;
 (x) 配列番号46の位置96にセリン;
 (xi) 各々、配列番号46に対して位置23にトレオニン、位置24にセリンおよび位置76にトレオニン;
 (xii) 各々、配列番号46に対して位置23にトレオニンおよび位置76にトレオニン;
 (xiii) 各々、配列番号46に対して位置23にトレオニン、位置24にセリン、位置76にトレオニンおよび位置51にグルタミン酸;もしくは
 (xiv) 各々、配列番号46に対して位置23にトレオニン、位置24にセリン、位置76にトレオニンおよび位置51にグリシン 40
 のうち1つまたは複数を含む V_L
 を含む可変領域の3つのCDRを含む抗体可変領域である。
 【0066】
 例えば、抗原結合ドメインは、配列番号2、10、18、26、34、42、50、58、66、70、74、78、86、90、94、137、152、154~162、173、175~187または234のいずれか1つに示されるアミノ酸配列の3つのCDRを含む V_H である。
 【0067】
 一例では、CDRは、カバット(Kabat)番号付けシステムに従って定義される。
 【0068】 50

例えば、TL1a結合性タンパク質は、以下のとおりであるCDRを含むV_Hを含む：

(i) 配列番号3に示される配列を含むCDR1、配列番号4に示される配列を含むCDR2(CDR2アミノ酸配列の5個のC末端アミノ酸のうち任意の1個または複数が、任意のその他の天然に生じるアミノ酸で置換されている)および配列番号5に示される配列を含むCDR3(または図1A中、抗体C336の太字の文字列で、CDR1、2および3として名前を付けられた配列)；

(ii) 配列番号11に示される配列を含むCDR1、配列番号12に示される配列を含むCDR2(CDR2アミノ酸配列の5個のC末端アミノ酸のうち任意の1個または複数が、任意のその他の天然に生じるアミノ酸で置換されている)および配列番号13に示される配列を含むCDR3(または図1A中、抗体C334の太字の文字列で、CDR1、2および3として名前を付けられた配列)；

(iii) 配列番号19に示される配列を含むCDR1、配列番号20に示される配列を含むCDR2(CDR2アミノ酸配列の5個のC末端アミノ酸のうち任意の1個または複数が、任意のその他の天然に生じるアミノ酸で置換されている)および配列番号21に示される配列を含むCDR3(または図1A中、抗体C333の太字の文字列で、CDR1、2および3として名前を付けられた配列)；

(iv) 配列番号27に示される配列を含むCDR1、配列番号28に示される配列を含むCDR2(CDR2アミノ酸配列の5個のC末端アミノ酸のうち任意の1個または複数が、任意のその他の天然に生じるアミノ酸で置換されている)および配列番号29に示される配列を含むCDR3(または図1A中、抗体C323の太字の文字列で、CDR1、2および3として名前を付けられた配列)；

(v) 配列番号35に示される配列を含むCDR1、配列番号36に示される配列を含むCDR2(CDR2アミノ酸配列の5個のC末端アミノ酸のうち任意の1個または複数が、任意のその他の天然に生じるアミノ酸で置換されている)および配列番号37に示される配列を含むCDR3(または図1A中、抗体C321の太字の文字列で、CDR1、2および3として名前を付けられた配列)；

(vi) 配列番号43に示される配列を含むCDR1、配列番号44に示される配列を含むCDR2(CDR2アミノ酸配列の5個のC末端アミノ酸のうち任意の1個または複数が、任意のその他の天然に生じるアミノ酸で置換されている)および配列番号45に示される配列を含むCDR3(または図1A中、抗体C320の太字の文字列で、CDR1、2および3として名前を付けられた配列)；

(vii) 配列番号51に示される配列を含むCDR1、配列番号52に示される配列を含むCDR2(CDR2アミノ酸配列の5個のC末端アミノ酸のうち任意の1個または複数が、任意のその他の天然に生じるアミノ酸で置換されている)および配列番号53に示される配列を含むCDR3(または図1A中、抗体C319の太字の文字列で、CDR1、2および3として名前を付けられた配列)；

(viii) 配列番号67に示される配列を含むCDR1、配列番号68に示される配列を含むCDR2(CDR2アミノ酸配列の5個のC末端アミノ酸のうち任意の1個または複数が、任意のその他の天然に生じるアミノ酸で置換されている)および配列番号69に示される配列を含むCDR3(または図1C中、抗体C320-90の太字の文字列で、CDR1、2および3として名前を付けられた配列)；

(ix) 配列番号71に示される配列を含むCDR1、配列番号72に示される配列を含むCDR2(CDR2アミノ酸配列の5個のC末端アミノ酸のうち任意の1個または複数が、任意のその他の天然に生じるアミノ酸で置換されている)および配列番号73に示される配列を含むCDR3(または図1C中、抗体C320-103の太字の文字列で、CDR1、2および3として名前を付けられた配列)；

(x) 配列番号75に示される配列を含むCDR1、配列番号76に示される配列を含むCDR2(CDR2アミノ酸配列の5個のC末端アミノ酸のうち任意の1個または複数が、任意のその他の天然に生じるアミノ酸で置換されている)および配列番号77に示される配列を含むCDR3(または図1C中、抗体C320-114の太字の文字列で、CDR1、2および3として名前を付けられた配列)；

(xi) 配列番号79に示される配列を含むCDR1、配列番号80に示される配列を含むCDR2(CDR2アミノ酸配列の5個のC末端アミノ酸のうち任意の1個または複数が、任意のその他の天然に生じるアミノ酸で置換されている)および配列番号81に示される配列を含むCDR3(または図1C中、抗体C320-115の太字の文字列で、CDR1、2および3として名前を付けられた配列)；

(xii) 配列番号87に示される配列を含むCDR1、配列番号88に示される配列を含むCDR2(CDR2アミノ酸配列の5個のC末端アミノ酸のうち任意の1個または複数が、任意のその他の天然に生じるアミノ酸で置換されている)および配列番号89に示される配列を含むCDR3(または図1C中、抗体C320-129の太字の文字列で、CDR1、2および3として名前を付けられた配列)

10

20

30

40

50

);

(xiii) 配列番号91に示される配列を含むCDR1、配列番号92に示される配列を含むCDR2(CDR2アミノ酸配列の5個のC末端アミノ酸のうち任意の1個または複数が、任意のその他の天然に生じるアミノ酸で置換されている)および配列番号93に示される配列を含むCDR3(または図1C中、抗体C320-130の太字の文字列で、CDR1、2および3として名前を付けられた配列);

(xiv) 配列番号175~187のいずれか1つのアミノ酸31~35に示される配列を含むCDR1、配列番号175~187のいずれか1つのアミノ酸50~66(CDR2アミノ酸配列の5個のC末端アミノ酸のうち任意の1個または複数が、任意のその他の天然に生じるアミノ酸で置換されている)および配列番号175~187のいずれか1つのアミノ酸99~108を含むCDR2;ならびに

(xv) 配列番号175~187のいずれか1つのアミノ酸26~35に示される配列を含むCDR1、配列番号175~187のいずれか1つのアミノ酸50~66(CDR2アミノ酸配列の5個C末端アミノ酸のいずれか1個または複数が、任意のその他の天然に生じるアミノ酸で置換されている)および配列番号175~187のいずれか1つのアミノ酸99~108を含むCDR2。

【0069】

例えば、TL1a結合性タンパク質は、以下のとおりであるCDRを含むV_Hを含む:

(i) 配列番号43に示される配列を含むCDR1、配列番号44に示される配列を含むCDR2(CDR2アミノ酸配列の5個のC末端アミノ酸のうち任意の1個または複数が、任意のその他の天然に生じるアミノ酸で置換されている)および配列番号45に示される配列を含むCDR3(または図1A中、抗体C320の太字の文字列で、CDR1、2および3として名前を付けられた配列);

(ii) 配列番号175~181、183もしくは185~187のいずれか1つのアミノ酸31~35に示される配列を含むCDR1、配列番号175~181、183もしくは185~187のいずれか1つのアミノ酸50~66(CDR2アミノ酸配列の5個のC末端アミノ酸のうち任意の1個または複数が、任意のその他の天然に生じるアミノ酸で置換されている)および配列番号175~181、183もしくは185~187のいずれか1つのアミノ酸99~108を含むCDR2;または

(iii) 配列番号175~181、183もしくは185~187のいずれか1つのアミノ酸26~35に示される配列を含むCDR1、配列番号175~181、183もしくは185~187のいずれか1つのアミノ酸50~66(CDR2アミノ酸配列の5個のC末端アミノ酸のうち任意の1個または複数が、任意のその他の天然に生じるアミノ酸で置換されている)および配列番号175~181、183もしくは185~187のいずれか1つのアミノ酸99~108を含むCDR2。

【0070】

一例では、TL1a結合性タンパク質は、以下のとおりであるCDRを含むV_Hを含む:

(i) 配列番号43に示される配列(または図1E中、「コンセンサス」と名前を付けられた配列の太字の文字列でCDR1として名前が付けられた配列)を含むCDR1;

(ii) 配列WX₁NPNSGNTGYAQKFQG(配列番号142)(式中、X₁は、メチオニンまたはロイシンである)(図1Eまたは図9B中、「コンセンサス」と名前を付けられた配列の太字の文字列でCDR2として名前が付けられた配列)を含むCDR2;

(iii) 配列EVPX₁TAX₂FEY(配列番号143)(式中、X₁は、アスパラギン酸またはグルタミン酸であり、X₂は、セリンまたはアラニンである)(または図1Eまたは図9B中、「コンセンサス」と名前を付けられた配列の太字の文字列でCDR3として名前を付けられた配列)を含むか、または配列EX₁PX₂X₃AX₄FX₅Y(配列番号235)(式中、

X₁は、バリン、アラニン、セリン、ヒスチジン、アスパラギン酸、ロイシン、チロシン、プロリン、グルタミンまたはリシンからなる群から選択されるアミノ酸であり;

X₂は、アラニン、セリン、ヒスチジン、リシン、グルタミン酸またはアスパラギン酸からなる群から選択されるアミノ酸であり;

X₃は、アラニン、セリン、アスパラギン酸、チロシンまたはトレオニンからなる群から選択されるアミノ酸であり;

X₄は、セリン、アラニン、ヒスチジン、ロイシン、アスパラギン酸またはチロシンからなる群から選択されるアミノ酸であり;

X₅は、アラニン、セリン、ヒスチジン、ロイシン、アスパラギン酸、プロリン、グルタ

10

20

30

40

50

ミン、グルタミン酸またはリシンからなる群から選択されるアミノ酸である)を含むCDR3。

【0071】

CDR3中に含めるのに適したさらなる残基が、本明細書に記載されており、変更すべきところは変更して、本開示のこの例に適用されるととられなければならない。

【0072】

一例では、CDRは、増強されたコチア(Chothia)番号付けシステムに従って定義される。例えば、TL1a結合性タンパク質は、図1A中、抗体336、334、333、323、321、320または319における、または図1C中の抗体C320-90、C320-103、C320-114、C320-115、C320-129またはC320-130における、または図1Cもしくは図1Eもしくは図9B中、「コンセンサス」と名前をつけられた配列における下線を引いた文字列において、CDR1、2および3として名前を付けられたCDRを含むV_Hを含む。

10

【0073】

一例では、TL1a結合性タンパク質は、以下をさらに含む：

- (i) 配列番号144に示されるアミノ酸配列を含む重鎖FR1；
- (ii) 配列番号145に示されるアミノ酸配列を含む重鎖FR2；
- (iii) 配列番号146に示されるアミノ酸配列を含む重鎖FR3；および
- (iv) 配列番号147に示されるアミノ酸配列を含む重鎖FR4。

【0074】

一例では、TL1a結合性タンパク質は、以下を含む：

- (i) 配列番号144に示されるアミノ酸配列を含む重鎖FR1；
- (ii) 配列番号43に示される配列を含む重鎖CDR1；
- (iii) 配列番号145に示されるアミノ酸配列を含む重鎖FR2；
- (iv) 配列番号142に示される配列を含む重鎖CDR2；
- (v) 配列番号146に示されるアミノ酸配列を含む重鎖FR3；
- (vi) 配列番号143または235に示される配列を含む重鎖CDR3；および
- (vii) 配列番号147に示されるアミノ酸配列を含む重鎖FR4。

20

【0075】

例えば、抗原結合ドメインは、配列番号6、14、22、30、38、46、54、62、82、95、153、163～172、174または188～200のいずれか1つに示されるアミノ酸配列の3つのCDRを含むV_Lである。一例では、CDRは、カバット(Kabat)番号付けシステムに従って定義される。例えば、TL1a結合性タンパク質は、以下のとおりであるCDRを含むV_Lを含む：

30

(i) 配列番号7に示される配列を含むCDR1、配列番号8に示される配列を含むCDR2および配列番号9に示される配列を含むCDR3(または図1B中、抗体C336の太字の文字列でCDR1、2および3として名前を付けられた配列)；

(ii) 配列番号15に示される配列を含むCDR1、配列番号16に示される配列を含むCDR2および配列番号17に示される配列を含むCDR3(または図1B中、抗体C334の太字の文字列でCDR1、2および3として名前を付けられた配列)；

(iii) 配列番号23に示される配列を含むCDR1、配列番号24に示される配列を含むCDR2および配列番号25に示される配列を含むCDR3(または図1B中、抗体C333の太字の文字列でCDR1、2および3として名前を付けられた配列)；

40

(iv) 配列番号31に示される配列を含むCDR1、配列番号32に示される配列を含むCDR2および配列番号33に示される配列を含むCDR3(または図1B中、抗体C323の太字の文字列でCDR1、2および3として名前を付けられた配列)；

(v) 配列番号39に示される配列を含むCDR1、配列番号40に示される配列を含むCDR2および配列番号41に示される配列を含むCDR3(または図1B中、抗体C321の太字の文字列でCDR1、2および3として名前を付けられた配列)；

(vi) 配列番号47に示される配列を含むCDR1、配列番号48に示される配列を含むCDR2および配列番号49に示される配列を含むCDR3(または図1B中、抗体C320の太字の文字列でCDR1、2および3として名前を付けられた配列)；

50

(vii) 配列番号55に示される配列を含むCDR1、配列番号56に示される配列を含むCDR2および配列番号57に示される配列を含むCDR3(または図1B中、抗体C319の太字の文字列でCDR1、2および3として名前を付けられた配列);

(viii) 配列番号83に示される配列を含むCDR1、配列番号84に示される配列を含むCDR2および配列番号85に示される配列を含むCDR3(または図1F中、抗体C320-120の太字の文字列でCDR1、2および3として名前を付けられた配列);または

(ix) 配列番号188~200のいずれか1つのアミノ酸23~36を含むCDR1、配列番号188~200のいずれか1つのアミノ酸52~58を含むCDR2および配列番号188~200のいずれか1つのアミノ酸91~100を含むCDR3。

【0076】

一例では、TL1a結合性タンパク質は、以下のとおりであるCDRを含む V_L を含む:

(i) 配列 X_1X_2 SSSDIGAGLGVH(配列番号139)(式中、 X_1 は、アラニンまたはトレオニンであり; X_2 は、グリシンまたはセリンである)(または図9C中、「コンセンサス」と名前を付けられた配列の太字の文字列でCDR1として名前を付けられた配列)を含むCDR1;

(ii) 配列番号140に示される配列を含むCDR2;および

(iii) 配列番号141に示される配列を含むCDR3。

【0077】

一例では、TL1a結合性タンパク質は、以下をさらに含む:

(i) 配列番号148に示されるアミノ酸配列を含む軽鎖FR1;

(ii) 配列番号149に示されるアミノ酸配列を含む軽鎖FR2;

(iii) 配列番号150に示されるアミノ酸配列を含む軽鎖FR3;および

(iv) 配列番号151に示されるアミノ酸配列を含む軽鎖FR4。

【0078】

一例では、TL1a結合性タンパク質は、以下を含む:

(i) 配列番号148に示されるアミノ酸配列を含む軽鎖FR1;

(ii) 配列番号139に示される配列を含む軽鎖CDR1;

(iii) 配列番号149に示されるアミノ酸配列を含む軽鎖FR2;

(iv) 配列番号140に示される配列を含む軽鎖CDR2;

(v) 配列番号150に示されるアミノ酸配列を含む軽鎖FR3;

(vi) 配列番号141に示される配列を含む軽鎖CDR3;および

(vii) 配列番号151に示されるアミノ酸配列を含む軽鎖FR4。

【0079】

一例では、CDRは、増強されたコチア(Chothia)番号付けシステムに従って定義される。例えば、TL1a結合性タンパク質は、図1B中、抗体336、334、333、323、321、320または319における、または図1F中の抗体C320-120における、または図1Hおよび図9中、「コンセンサス」と名前をつけられた配列における下線を引いた文字列において、CDR1、2および3として名前を付けられたCDRを含む V_L を含む。

【0080】

一例では、抗原結合ドメインは、以下の可変領域の対のうちの1つにおける6つのCDRを含む:

(i) 配列番号2に示される配列を含む V_H および配列番号6に示される配列を含む V_L ;

(ii) 配列番号10に示される配列を含む V_H および配列番号14に示される配列を含む V_L ;

(iii) 配列番号18に示される配列を含む V_H および配列番号22に示される配列を含む V_L ;

(iv) 配列番号26に示される配列を含む V_H および配列番号30に示される配列を含む V_L ;

(v) 配列番号34に示される配列を含む V_H および配列番号38に示される配列を含む V_L ;

(vi) 配列番号42に示される配列を含む V_H および配列番号46に示される配列を含む V_L ;

(vii) 配列番号50に示される配列を含む V_H および配列番号54に示される配列を含む V_L ;

(viii) 配列番号58に示される配列を含む V_H および配列番号46に示される配列を含む V_L ;

(ix) 配列番号42に示される配列を含む V_H および配列番号62に示される配列を含む V_L ;

(x) 配列番号66に示される配列を含む V_H および配列番号62に示される配列を含む V_L ;

10

20

30

40

50

- (xlvii) 配列番号177に示される配列を含むV_Hおよび配列番号190に示される配列を含むV_L;
 - (xlviii) 配列番号178に示される配列を含むV_Hおよび配列番号191に示される配列を含むV_L;
 - (xlix) 配列番号179に示される配列を含むV_Hおよび配列番号192に示される配列を含むV_L;
 - (l) 配列番号180に示される配列を含むV_Hおよび配列番号193に示される配列を含むV_L;
 - (li) 配列番号181に示される配列を含むV_Hおよび配列番号194に示される配列を含むV_L;
 - (lii) 配列番号182に示される配列を含むV_Hおよび配列番号195に示される配列を含むV_L;
 - (liii) 配列番号183に示される配列を含むV_Hおよび配列番号196に示される配列を含むV_L;
 - (liv) 配列番号184に示される配列を含むV_Hおよび配列番号197に示される配列を含むV_L;
 - (lv) 配列番号185に示される配列を含むV_Hおよび配列番号198に示される配列を含むV_L;
 - (lvi) 配列番号186に示される配列を含むV_Hおよび配列番号199に示される配列を含むV_L;
- または
- (lvii) 配列番号187に示される配列を含むV_Hおよび配列番号200に示される配列を含むV_L。

10

20

30

40

50

【0081】

一例では、抗原結合ドメインは、配列番号42に示される配列を含むV_Hおよび配列番号46に示される配列を含むV_Lを含む抗体の6つのCDRを含み、V_Hおよび/またはV_Lは、以下の置換または置換の群のうち1つまたは複数を含む:

- (i) V_Hは、配列番号42の位置16にアラニンを含む;
- (ii) V_Hは、配列番号42の位置100にアラニンを含み、V_Lは、配列番号46の位置76にトレオニンを含む;
- (iii) V_Hは、配列番号42の位置100にセリンを含み、V_Lは、配列番号46の位置76にトレオニンを含む;
- (iv) V_Hは、配列番号42の位置100にヒスチジンを含み、V_Lは、配列番号46の位置76にトレオニンを含む;
- (v) V_Hは、配列番号42の位置100にロイシンを含み、V_Lは、配列番号46の位置76にトレオニンを含む;
- (vi) V_Hは、配列番号42の位置100にアスパラギン酸を含み、V_Lは、配列番号46の位置76にトレオニンを含む;
- (vii) V_Hは、配列番号42の位置100にチロシンを含み、V_Lは、配列番号46の位置76にトレオニンを含む;
- (viii) V_Hは、配列番号42の位置100にプロリンを含み、V_Lは、配列番号46の位置76にトレオニンを含む;
- (ix) V_Hは、配列番号42の位置100にグルタミンを含み、V_Lは、配列番号46の位置76にトレオニンを含む;
- (x) V_Hは、配列番号42の位置100にリシンを含み、V_Lは、配列番号46の位置76にトレオニンを含む;
- (xi) V_Hは、配列番号42の位置101にアラニンを含み、V_Lは、配列番号46の位置76にトレオニンを含む;
- (xii) V_Hは、配列番号42の位置101にセリンを含み、V_Lは、配列番号46の位置76にトレオニンを含む;
- (xiii) V_Hは、配列番号42の位置101にヒスチジンを含み、V_Lは、配列番号46の位置76にトレオニンを含む;
- (xiv) V_Hは、配列番号42の位置101にロイシンを含み、V_Lは、配列番号46の位置76にトレオニンを含む;

(xv) V_H は、配列番号42の位置101にアスパラギン酸を含み、 V_L は、配列番号46の位置76にトレオニンを含む；

(xvi) V_H は、配列番号42の位置101にチロシンを含み、 V_L は、配列番号46の位置76にトレオニンを含む；

(xvii) V_H は、配列番号42の位置101にグルタミンを含み、 V_L は、配列番号46の位置76にトレオニンを含む；

(xviii) V_H は、配列番号42の位置101にリシンを含み、 V_L は、配列番号46の位置76にトレオニンを含む；

(xix) V_H は、配列番号42の位置102にアラニンを含み、 V_L は、配列番号46の位置76にトレオニンを含む；

(xx) V_H は、配列番号42の位置102にセリンを含み、 V_L は、配列番号46の位置76にトレオニンを含む；

(xxi) V_H は、配列番号42の位置102にヒスチジンを含み、 V_L は、配列番号46の位置76にトレオニンを含む；

(xxii) V_H は、配列番号42の位置102にロイシンを含み、 V_L は、配列番号46の位置76にトレオニンを含む；

(xxiii) V_H は、配列番号42の位置102にチロシンを含み、 V_L は、配列番号46の位置76にトレオニンを含む；

(xxiv) V_H は、配列番号42の位置102にプロリンを含み、 V_L は、配列番号46の位置76にトレオニンを含む；

(xxv) V_H は、配列番号42の位置102にグルタミンを含み、 V_L は、配列番号46の位置76にトレオニンを含む；

(xxvi) V_H は、配列番号42の位置102にリシンを含み、 V_L は、配列番号46の位置76にトレオニンを含む；

(xxvii) V_H は、配列番号42の位置103にアラニンを含み、 V_L は、配列番号46の位置76にトレオニンを含む；

(xxviii) V_H は、配列番号42の位置103にセリンを含み、 V_L は、配列番号46の位置76にトレオニンを含む；

(xxix) V_H は、配列番号42の位置103にヒスチジンを含み、 V_L は、配列番号46の位置76にトレオニンを含む；

(xxx) V_H は、配列番号42の位置103にロイシンを含み、 V_L は、配列番号46の位置76にトレオニンを含む；

(xxxi) V_H は、配列番号42の位置103にアスパラギン酸を含み、 V_L は、配列番号46の位置76にトレオニンを含む；

(xxxii) V_H は、配列番号42の位置103にチロシンを含み、 V_L は、配列番号46の位置76にトレオニンを含む；

(xxxiii) V_H は、配列番号42の位置103にプロリンを含み、 V_L は、配列番号46の位置76にトレオニンを含む；

(xxxiv) V_H は、配列番号42の位置103にグルタミンを含み、 V_L は、配列番号46の位置76にトレオニンを含む；

(xxxv) V_H は、配列番号42の位置103にリシンを含み、 V_L は、配列番号46の位置76にトレオニンを含む；

(xxxvi) V_H は、配列番号42の位置104にセリンを含み、 V_L は、配列番号46の位置76にトレオニンを含む；

(xxxvii) V_H は、配列番号42の位置104にヒスチジンを含み、 V_L は、配列番号46の位置76にトレオニンを含む；

(xxxviii) V_H は、配列番号42の位置104にロイシンを含み、 V_L は、配列番号46の位置76にトレオニンを含む；

(xxxix) V_H は、配列番号42の位置104にアスパラギン酸を含み、 V_L は、配列番号46の位置76にトレオニンを含む；

10

20

30

40

50

(xi) V_H は、配列番号42の位置104にチロシンを含み、 V_L は、配列番号46の位置76にトレオニンを含む；

(xii) V_H は、配列番号42の位置104にプロリンを含み、 V_L は、配列番号46の位置76にトレオニンを含む；

(xiii) V_H は、配列番号42の位置104にグルタミンを含み、 V_L は、配列番号46の位置76にトレオニンを含む；

(xiv) V_H は、配列番号42の位置104にリシンを含み、 V_L は、配列番号46の位置76にトレオニンを含む；

(xv) V_H は、配列番号42の位置105にアラニンを含み、 V_L は、配列番号46の位置76にトレオニンを含む；

(xvi) V_H は、配列番号42の位置105にヒスチジンを含み、 V_L は、配列番号46の位置76にトレオニンを含む；

(xvii) V_H は、配列番号42の位置105にロイシンを含み、 V_L は、配列番号46の位置76にトレオニンを含む；

(xviii) V_H は、配列番号42の位置105にアスパラギン酸を含み、 V_L は、配列番号46の位置76にトレオニンを含む；

(xix) V_H は、配列番号42の位置105にチロシンを含み、 V_L は、配列番号46の位置76にトレオニンを含む；

(i) V_H は、配列番号42の位置105にプロリンを含み、 V_L は、配列番号46の位置76にトレオニンを含む；

(ii) V_H は、配列番号42の位置105にグルタミンを含み、 V_L は、配列番号46の位置76にトレオニンを含む；

(iii) V_H は、配列番号42の位置105にリシンを含み、 V_L は、配列番号46の位置76にトレオニンを含む；

(iv) V_H は、配列番号42の位置107にアラニンを含み、 V_L は、配列番号46の位置76にトレオニンを含む；

(v) V_H は、配列番号42の位置107にセリンを含み、 V_L は、配列番号46の位置76にトレオニンを含む；

(vi) V_H は、配列番号42の位置107にヒスチジンを含み、 V_L は、配列番号46の位置76にトレオニンを含む；

(vii) V_H は、配列番号42の位置107にロイシンを含み、 V_L は、配列番号46の位置76にトレオニンを含む；

(viii) V_H は、配列番号42の位置107にアスパラギン酸を含み、 V_L は、配列番号46の位置76にトレオニンを含む；

(ix) V_H は、配列番号42の位置107にチロシンを含み、 V_L は、配列番号46の位置76にトレオニンを含む；

(x) V_H は、配列番号42の位置107にプロリンを含み、 V_L は、配列番号46の位置76にトレオニンを含む；

(xi) V_H は、配列番号42の位置107にグルタミンを含み、 V_L は、配列番号46の位置76にトレオニンを含む；

(xii) V_H は、配列番号42の位置107にリシンを含み、 V_L は、配列番号46の位置76にトレオニンを含む；

(xiii) V_H は、配列番号42の位置41にトレオニンを含み、 V_L は、配列番号46の位置23にアラニンを含む；

(xiv) V_H は、配列番号42の位置41にトレオニンを含み、 V_L は、配列番号46の位置28にアスパラギン酸を含む；

(xv) V_H は、配列番号42の位置41にトレオニンを含み、 V_L は、配列番号46の位置33にチロシンを含む；

(xvi) V_H は、配列番号42の位置41にトレオニンを含み、 V_L は、配列番号46の位置34にアスパラギン酸を含む；

10

20

30

40

50

(I xv) V_H は、配列番号42の位置41にトレオニンを含み、 V_L は、配列番号46の位置53にアスパラギンを含む；

(I xvi) V_H は、配列番号42の位置41にトレオニンを含み、 V_L は、配列番号46の位置54にセリンを含む；

(I xvii) V_H は、配列番号42の位置41にトレオニンを含み、 V_L は、配列番号46の位置82にアラニンを含む；

(I xviii) V_H は、配列番号42の位置41にトレオニンを含み、 V_L は、配列番号46の位置95にセリンを含む；

(I xix) V_H は、配列番号42の位置41にトレオニンを含み、 V_L は、配列番号46の位置96にセリンを含む；

(I xx) V_H は、配列番号42の位置41にトレオニンを含み、 V_L は、配列番号46の位置76にトレオニンを含む；

(I xxi) V_H は、配列番号42の位置47にセリンを含み、 V_L は、配列番号46の位置23にトレオニンを含む；

(I xxii) V_H は、各々、配列番号42に対して位置41にプロリン、位置72にアラニン、位置73にアスパラギン酸および位置74にアルギニンおよび位置76にトレオニンを含み、 V_L は、配列番号46の位置76にトレオニンを含む；

(I xxiii) V_H は、各々、配列番号42に対して位置41にプロリン、位置51にロイシンおよび位置102にグルタミン酸を含み、 V_L は、各々、配列番号46に対して位置24にセリンおよび位置76にトレオニンを含む；

(I xxiv) V_H は、各々、配列番号42に対して位置41にプロリン、位置51にロイシンおよび位置102にグルタミン酸を含み、 V_L は、各々、配列番号46に対して位置23にトレオニン、位置24にセリンおよび位置76にトレオニンを含む；

(I xxv) V_H は、各々、配列番号42に対して位置41にプロリン、位置51にロイシンおよび位置102にグルタミン酸を含み、 V_L は、各々、配列番号46に対して位置23にトレオニンおよび位置76にトレオニンを含む；

(I xxvi) V_H は、各々、配列番号42に対して位置41にプロリン、位置51にロイシンおよび位置102にグルタミン酸を含み、 V_L は、配列番号46の位置76にトレオニンを含む；

(I xxvii) V_H は、各々、配列番号42に対して位置41にプロリン、位置51にロイシン、位置102にグルタミン酸および位置105にアラニンを含み、 V_L は、各々、配列番号46に対して位置23にトレオニン、位置24にセリンおよび位置76にトレオニンを含む；

(I xxviii) V_H は、各々、配列番号42に対して位置41にプロリン、位置51にロイシン、位置102にグルタミン酸および位置105にアラニンを含み、 V_L は、配列番号46の位置76にトレオニンを含む；

(I xxix) V_H は、各々、配列番号42に対して位置41にプロリン、位置72にアラニン、位置73にアスパラギン酸、位置74にアルギニンおよび位置76にトレオニンを含み、 V_L は、各々、配列番号46に対して位置23にトレオニン、位置24にセリンおよび位置76にトレオニンを含む；

(I xxx) V_H は、各々、配列番号42に対して位置41にプロリン、位置72にアラニン、位置73にアスパラギン酸、位置74にアルギニンおよび位置76にトレオニンを含み、 V_L は、各々、配列番号46に対して位置23にトレオニン、位置24にセリン、位置76にトレオニンおよび位置51にグルタミン酸を含む；

(I xxxi) V_H は、各々、配列番号42に対して位置41にプロリン、位置51にロイシン、位置72にアラニン、位置73にアスパラギン酸、位置74にアルギニン、位置76にトレオニン、位置102にグルタミン酸および位置105にアラニンを含み、 V_L は、各々、配列番号46に対して位置23にトレオニン、位置24にセリン、位置76にトレオニンおよび位置51にグルタミン酸を含む；または

(I xxxii) V_H は、各々、配列番号42に対して位置41にプロリン、位置51にロイシン、位置72にアラニン、位置73にアスパラギン酸、位置74にアルギニン、位置76にトレオニン、位置102にグルタミン酸および位置105にアラニンを含み、 V_L は、各々、配列番号46に対して

10

20

30

40

50

位置23にトレオニン、位置24にセリン、位置76にトレオニンおよび位置51にグリシンを含む。

【0082】

一例では、抗原結合ドメインは、以下の可変領域の対のうち1つの6つのCDRを含む：

(i) 配列番号42に示される配列を含む V_H および配列番号46に示される配列を含む V_L ；

(ii) 配列番号106に示される配列に対して少なくとも約95%同一である配列を含む核酸または中程度から高度にストリンジェントな条件下でそれとハイブリダイズする核酸によってコードされる V_H および配列番号107に示される配列に対して少なくとも約95%同一である配列を含む核酸または中程度から高度にストリンジェントな条件下でそれとハイブリダイズする核酸によってコードされる V_L ；

10

(iii) 配列番号175に示される配列を含む V_H および配列番号188に示される配列を含む V_L ；

(iv) 配列番号222に示される配列に対して少なくとも約95%同一である配列を含む核酸または中程度から高度にストリンジェントな条件下でそれとハイブリダイズする核酸によってコードされる V_H および配列番号228に示される配列に対して少なくとも約95%同一である配列を含む核酸または中程度から高度にストリンジェントな条件下でそれとハイブリダイズする核酸によってコードされる V_L ；

(v) 配列番号176に示される配列を含む V_H および配列番号189に示される配列を含む V_L ；

(vi) 配列番号223に示される配列に対して少なくとも約95%同一である配列を含む核酸または中程度から高度にストリンジェントな条件下でそれとハイブリダイズする核酸によってコードされる V_H および配列番号228に示される配列に対して少なくとも約95%同一である配列を含む核酸または中程度から高度にストリンジェントな条件下でそれとハイブリダイズする核酸によってコードされる V_L ；

20

(vii) 配列番号177に示される配列を含む V_H および配列番号190に示される配列を含む V_L ；

(viii) 配列番号224に示される配列に対して少なくとも約95%同一である配列を含む核酸または中程度から高度にストリンジェントな条件下でそれとハイブリダイズする核酸によってコードされる V_H および配列番号229に示される配列に対して少なくとも約95%同一である配列を含む核酸または中程度から高度にストリンジェントな条件下でそれとハイブリダイズする核酸によってコードされる V_L ；

(ix) 配列番号178に示される配列を含む V_H および配列番号191に示される配列を含む V_L ；

(x) 配列番号224に示される配列に対して少なくとも約95%同一である配列を含む核酸または中程度から高度にストリンジェントな条件下でそれとハイブリダイズする核酸によってコードされる V_H および配列番号230に示される配列に対して少なくとも約95%同一である配列を含む核酸または中程度から高度にストリンジェントな条件下でそれとハイブリダイズする核酸によってコードされる V_L ；

30

(xi) 配列番号179に示される配列を含む V_H および配列番号192に示される配列を含む V_L ；

(xii) 配列番号224に示される配列に対して少なくとも約95%同一である配列を含む核酸または中程度から高度にストリンジェントな条件下でそれとハイブリダイズする核酸によってコードされる V_H および配列番号231に示される配列に対して少なくとも約95%同一である配列を含む核酸または中程度から高度にストリンジェントな条件下でそれとハイブリダイズする核酸によってコードされる V_L ；

40

(xiii) 配列番号180に示される配列を含む V_H および配列番号193に示される配列を含む V_L ；

(xiv) 配列番号224に示される配列に対して少なくとも約95%同一である配列を含む核酸または中程度から高度にストリンジェントな条件下でそれとハイブリダイズする核酸によってコードされる V_H および配列番号228に示される配列に対して少なくとも約95%同一である配列を含む核酸または中程度から高度にストリンジェントな条件下でそれとハイブリダイズする核酸によってコードされる V_L ；

(xv) 配列番号181に示される配列を含む V_H および配列番号194に示される配列を含む V_L ；

(xvi) 配列番号225に示される配列に対して少なくとも約95%同一である配列を含む核酸または中程度から高度にストリンジェントな条件下でそれとハイブリダイズする核酸によ

50

ってコードされる V_H および配列番号230に示される配列に対して少なくとも約95%同一である配列を含む核酸または中程度から高度にストリンジェントな条件下でそれとハイブリダイズする核酸によってコードされる V_L ;

(xvii) 配列番号183に示される配列を含む V_H および配列番号196に示される配列を含む V_L ;

(xviii) 配列番号226に示される配列に対して少なくとも約95%同一である配列を含む核酸または中程度から高度にストリンジェントな条件下でそれとハイブリダイズする核酸によってコードされる V_H および配列番号230に示される配列に対して少なくとも約95%同一である配列を含む核酸または中程度から高度にストリンジェントな条件下でそれとハイブリダイズする核酸によってコードされる V_L ;

10

(xix) 配列番号185に示される配列を含む V_H および配列番号198に示される配列を含む V_L ;

(xx) 配列番号226に示される配列に対して少なくとも約95%同一である配列を含む核酸または中程度から高度にストリンジェントな条件下でそれとハイブリダイズする核酸によってコードされる V_H および配列番号232に示される配列に対して少なくとも約95%同一である配列を含む核酸または中程度から高度にストリンジェントな条件下でそれとハイブリダイズする核酸によってコードされる V_L ;

(xxi) 配列番号186に示される配列を含む V_H および配列番号199に示される配列を含む V_L ;
ならびに

(xxii) 配列番号227に示される配列に対して少なくとも約95%同一である配列を含む核酸または中程度から高度にストリンジェントな条件下でそれとハイブリダイズする核酸によってコードされる V_H および配列番号232に示される配列に対して少なくとも約95%同一である配列を含む核酸または中程度から高度にストリンジェントな条件下でそれとハイブリダイズする核酸によってコードされる V_L ;

20

(xxiii) 配列番号187に示される配列を含む V_H および配列番号200に示される配列を含む V_L ;または

(xxiv) 配列番号227に示される配列に対して少なくとも約95%同一である配列を含む核酸または中程度から高度にストリンジェントな条件下でそれとハイブリダイズする核酸によってコードされる V_H および配列番号233に示される配列に対して少なくとも約95%同一である配列を含む核酸または中程度から高度にストリンジェントな条件下でそれとハイブリダイズする核酸によってコードされる V_L 。

30

【0083】

一例では、TL1a結合性タンパク質は、以下の6つのCDRを含む:

(i) 配列番号43に示される配列(または図1E中、「コンセンサス」と名前を付けられた配列の太字の文字列でCDR1として名前を付けられた配列)を含む重鎖CDR1;

(ii) 配列 $WX_1NPNSGNTGYAQKFQG$ (配列番号142)(式中、 X_1 は、メチオニンまたはロイシンである)(図1E中、「コンセンサス」と名前を付けられた配列の太字の文字列でCDR2として名前を付けられた配列)を含む重鎖CDR2;

(iii) 配列 $EVPX_1TAX_2FEY$ (配列番号143)(式中、 X_1 は、アスパラギン酸またはグルタミン酸であり、 X_2 は、セリンまたはアラニンである)(または図9B中、「コンセンサス」と名前を付けられた配列の太字の文字列でCDR3として名前を付けられた配列)を含むか、または配列 $EX_1PX_2X_3AX_4FX_5Y$ (配列番号235)(式中、

40

X_1 は、バリン、アラニン、セリン、ヒスチジン、アスパラギン酸、ロイシン、チロシン、プロリン、グルタミンまたはリシンからなる群から選択されるアミノ酸であり;

X_2 は、アラニン、セリン、ヒスチジン、リシン、グルタミン酸またはアスパラギン酸からなる群から選択されるアミノ酸であり;

X_3 は、アラニン、セリン、アスパラギン酸、チロシンまたはトレオニンからなる群から選択されるアミノ酸であり;

X_4 は、セリン、アラニン、ヒスチジン、ロイシン、アスパラギン酸またはチロシンからなる群から選択されるアミノ酸であり;

X_5 は、アラニン、セリン、ヒスチジン、ロイシン、アスパラギン酸、プロリン、グルタ

50

ミン、グルタミン酸またはリシンからなる群から選択されるアミノ酸である)を含む重鎖CDR3;

(iv) 配列 X_1X_2 SSSDIGAGLGVH(配列番号139)(式中、 X_1 は、アラニンまたはトレオニンであり; X_2 は、グリシンまたはセリンである)(または図9C中、「コンセンサス」と名前を付けられた配列の太字の文字列でCDR1として名前を付けられた配列)を含むCDR1;

(v) 配列番号48に示される配列を含むCDR2;および

(vi) 配列番号49に示される配列を含むCDR3。

【0084】

一例では、TL1a結合性タンパク質は、以下を含む:

(a)

(i) 配列番号144に示されるアミノ酸配列を含む重鎖FR1;

(ii) 配列番号43に示される配列を含む重鎖CDR1;

(iii) 配列番号145に示されるアミノ酸配列を含む重鎖FR2;

(iv) 配列番号142に示される配列を含む重鎖CDR2;

(v) 配列番号146に示されるアミノ酸配列を含む重鎖FR3;

(vi) 配列番号143または235に示される配列を含む重鎖CDR3;および

(vii) 配列番号147に示されるアミノ酸配列を含む重鎖FR4

を含む V_H ;ならびに

(b)

(i) 配列番号148に示されるアミノ酸配列を含む軽鎖FR1;

(ii) 配列番号139に示される配列を含む軽鎖CDR1;

(iii) 配列番号149に示されるアミノ酸配列を含む軽鎖FR2;

(iv) 配列番号48に示される配列を含む軽鎖CDR2;

(v) 配列番号150に示されるアミノ酸配列を含む軽鎖FR3;

(vi) 配列番号49に示される配列を含む軽鎖CDR3;および

(vii) 配列番号151に示されるアミノ酸配列を含む軽鎖FR4

を含む V_L 。

【0085】

重鎖CDR3中に含めるのに適したさらなる残基は、本明細書に記載されており、変更すべきところは変更して、本開示のこの例に適用されるととられなければならない。

【0086】

一例では、CDRは、カバット(Kabat)番号付けシステムに従って定義される。カバット(Kabat)番号付けシステムに従って定義された例示的CDRは、上記および/または太字の文字列でCDR1~3として名前を付けられ、図1A~図1H、図9Bまたは図9C中に記載されており、変更すべきところは変更して、本開示のこの例に適用されるととられる。

【0087】

一例では、CDRは、増強されたコチア(Chothia)番号付けシステムに従って定義される。増強されたコチア(Chothia)番号付けシステムに従って定義された例示的CDRは、上記および/または下線が引かれた文字列でCDR1~3として名前を付けられ図1A~図1H中に記載されており、変更すべきところは変更して、本開示のこの例に適用されるととられる。

【0088】

一例では、TL1a結合性タンパク質は、抗体の可変領域を含む。

【0089】

一例では、TL1a結合性タンパク質は、配列番号2、10、18、26、34、42、50、58、66、70、74、78、86、90、94、137、152、154~162、173、175~187もしくは234のいずれか1つに示される配列または以上のいずれか1つに対して少なくとも約80%の同一性を有する配列を含む V_H を含む。一例では、 V_H は、配列番号26、34、42または94のいずれか1つに示される配列または以上のいずれか1つに対して少なくとも約80%の同一性を有する配列を含む。一例では、 V_H は、配列番号42、175~181、183または185~187のいずれか1つに示される配列または以上のいずれか1つに対して少なくとも約80%の同一性を有する配列を含む。

10

20

30

40

50

【 0 0 9 0 】

一例では、TL1a結合性タンパク質は、配列番号94、137、152、162または173に示される配列を含む V_H を含む。一例では、 V_H は、配列番号42、58、66、70、74、78、86または90のいずれか1つに示される配列を含む。一例では、 V_H は、配列番号42に示される配列を含む。

【 0 0 9 1 】

一例では、TL1a結合性タンパク質は、配列番号42に示される配列を含み、以下の置換または置換の群のうち1つまたは複数を含む V_H を含む：

- (i) 配列番号42の位置16にアラニン;
- (ii) 配列番号42の位置100にアラニン; 10
- (iii) 配列番号42の位置100にセリン;
- (iv) 配列番号42の位置100にヒスチジン;
- (v) 配列番号42の位置100にロイシン;
- (vi) 配列番号42の位置100にアスパラギン酸;
- (vii) 配列番号42の位置100にチロシン;
- (viii) 配列番号42の位置100にプロリン;
- (ix) 配列番号42の位置100にグルタミン;
- (x) 配列番号42の位置100にリシン;
- (xi) 配列番号42の位置101にアラニン;
- (xii) 配列番号42の位置101にセリン; 20
- (xiii) 配列番号42の位置101にヒスチジン;
- (xiv) 配列番号42の位置101にロイシン;
- (xv) 配列番号42の位置101にアスパラギン酸;
- (xvi) 配列番号42の位置101にチロシン;
- (xvii) 配列番号42の位置101にグルタミン;
- (xviii) 配列番号42の位置101にリシン;
- (xix) 配列番号42の位置102にアラニン;
- (xx) 配列番号42の位置102にセリン;
- (xxi) 配列番号42の位置102にヒスチジン;
- (xxii) 配列番号42の位置102にロイシン; 30
- (xxiii) 配列番号42の位置102にチロシン;
- (xxiv) 配列番号42の位置102にプロリン;
- (xxv) 配列番号42の位置102にグルタミン;
- (xxvi) 配列番号42の位置102にリシン;
- (xxvii) 配列番号42の位置103にアラニン;
- (xxviii) 配列番号42の位置103にセリン;
- (xxix) 配列番号42の位置103にヒスチジン;
- (xxx) 配列番号42の位置103にロイシン;
- (xxx i) 配列番号42の位置103にアスパラギン酸;
- (xxx ii) 配列番号42の位置103にチロシン; 40
- (xxx iii) 配列番号42の位置103にプロリン;
- (xxx iv) 配列番号42の位置103にグルタミン;
- (xxx v) 配列番号42の位置103にリシン;
- (xxx vi) 配列番号42の位置104にセリン;
- (xxx vii) 配列番号42の位置104にヒスチジン;
- (xxx viii) 配列番号42の位置104にロイシン;
- (xxx ix) 配列番号42の位置104にアスパラギン酸;
- (xl) 配列番号42の位置104にチロシン;
- (xli) 配列番号42の位置104にプロリン;
- (xli i) 配列番号42の位置104にグルタミン; 50

- (xliv) 配列番号42の位置105にアラニン;
- (xlv) 配列番号42の位置105にヒスチジン;
- (xlvi) 配列番号42の位置105にロイシン;
- (xlvii) 配列番号42の位置105にアスパラギン酸;
- (xlviii) 配列番号42の位置105にチロシン;
- (xlix) 配列番号42の位置105にプロリン;
- (l) 配列番号42の位置105にグルタミン;
- (li) 配列番号42の位置105にリシン;
- (lii) 配列番号42の位置107にアラニン;
- (liii) 配列番号42の位置107にセリン;
- (liv) 配列番号42の位置107にヒスチジン;
- (lv) 配列番号42の位置107にロイシン;
- (lvi) 配列番号42の位置107にアスパラギン酸;
- (lvii) 配列番号42の位置107にチロシン;
- (lviii) 配列番号42の位置107にプロリン;
- (lix) 配列番号42の位置107にグルタミン;
- (lx) 配列番号42の位置107にリシン;
- (lxi) 配列番号42の位置41にトレオニン;
- (lxii) 配列番号42の位置47にセリン;

10

20

(lxiii) 各々、配列番号42に対して位置41にプロリン、位置72にアラニン、位置73にアスパラギン酸、位置74にアルギニンおよび位置76にトレオニン;

(lxiv) 各々、配列番号42に対して位置41にプロリン、位置51にロイシンおよび位置102にグルタミン酸;

(lxv) 各々、配列番号42に対して位置41にプロリン、位置51にロイシン、位置102にグルタミン酸および位置105にアラニン;

(lxvi) 位置41にプロリン、位置51にロイシン、位置72にアラニン、位置73にアスパラギン酸、位置74にアルギニン、位置76にトレオニン、位置102にグルタミン酸および位置105にアラニン;または

(lxvii) 以上のいずれか1つに対して少なくとも約80%の同一性を有する配列。

30

【0092】

一例では、TL1a結合性タンパク質は、配列番号96、98、100、102、104、106、108、110、112、113、114、115、117、118もしくは222~227のいずれか1つに示される配列またはそれらに対して少なくとも約80%同一である配列を含む核酸または中程度から高度にストリンジентな条件下でそれとハイブリダイズする核酸によってコードされる V_H を含む。

【0093】

一例では、TL1a結合性タンパク質は、配列番号106もしくは222~227に示される配列またはそれに対して少なくとも約80%同一である配列を含む核酸または中程度から高度にストリンジентな条件下でそれとハイブリダイズする核酸によってコードされる V_H を含む。

40

【0094】

一例では、TL1a結合性タンパク質は、配列番号6、14、22、30、38、46、54、62、82、95、138、153、163もしくは174のいずれか1つに示される配列または以上のいずれか1つに対して少なくとも約80%の同一性を有する配列を含む V_L を含む。一例では、 V_L は、配列番号30、38、46、188~194、196もしくは198~200のいずれか1つに示される配列または以上のいずれか1つに対して少なくとも約80%の同一性を有する配列を含む。

【0095】

一例では、TL1a結合性タンパク質は、配列番号95、138、153、163または174に示される配列を含む V_L を含む。一例では、TL1a結合性タンパク質は、配列番号46、62または82のいずれか1つに示される配列を含む V_L を含む。一例では、TL1a結合性タンパク質は、配列番

50

号46に示される配列を含む V_L を含む。

【0096】

一例では、TL1a結合性タンパク質は、配列番号46に示される配列を含み、以下の置換または置換の群のうち1つまたは複数を含む V_L を含む：

- (i) 配列番号46の位置76にトレオニン；
- (ii) 配列番号46の位置23にトレオニン；
- (iii) 配列番号46の位置28にアスパラギン；
- (iv) 配列番号46の位置33にチロシン；
- (v) 配列番号46の位置34にアスパラギン酸；
- (vi) 配列番号46の位置53にアスパラギン；
- (vii) 配列番号46の位置54にセリン；
- (viii) 配列番号46の位置82にアラニン；
- (ix) 配列番号46の位置95にセリン；
- (x) 配列番号46の位置96にセリン；
- (xi) 各々、配列番号46に対して位置23にトレオニン、位置24にセリンおよび位置76にトレオニン；
- (xii) 各々、配列番号46に対して位置23にトレオニンおよび位置76にトレオニン；
- (xiii) 各々、配列番号46に対して位置23にトレオニン、位置24にセリン、位置76にトレオニンおよび位置51にグルタミン酸；
- (xiv) 各々、配列番号46に対して位置23にトレオニン、位置24にセリン、位置76にトレオニンおよび位置51にグリシン；または
- (xv) 以上のいずれか1つに対して少なくとも約80%の同一性を有する配列。

【0097】

一例では、TL1a結合性タンパク質は、配列番号97、99、101、103、105、107、109、111、116もしくは228～233のいずれか1つに示される配列またはそれに対して少なくとも約80%同一である配列を含む核酸または中程度から高度にストリンジェントな条件下でそれとハイブリダイズする核酸によってコードされる V_L を含む。

【0098】

一例では、タンパク質は、配列番号107もしくは228～233に示される配列またはそれに対して少なくとも約80%同一である配列を含む核酸または中程度から高度にストリンジェントな条件下でそれとハイブリダイズする核酸によってコードされる V_L を含む。

【0099】

一例では、TL1a結合性タンパク質は、重鎖定常領域またはFcまたは重鎖定常ドメイン(C_H)₂および/または C_H ₃または免疫エフェクター細胞と結合するタンパク質と所望により連結しているドメイン抗体である。

【0100】

一例では、本開示のTL1a結合性タンパク質は、少なくとも V_H および V_L を含み、 V_H および V_L は、結合して抗原結合ドメインを含むFvを形成する。例えば、TL1a結合性タンパク質は、 V_H および V_L の以下の対のいずれか1つを含む：

- (i) 配列番号2に示される配列を含む V_H および配列番号6に示される配列を含む V_L ；
- (ii) 配列番号10に示される配列を含む V_H および配列番号14に示される配列を含む V_L ；
- (iii) 配列番号18に示される配列を含む V_H および配列番号22に示される配列を含む V_L ；
- (iv) 配列番号26に示される配列を含む V_H および配列番号30に示される配列を含む V_L ；
- (v) 配列番号34に示される配列を含む V_H および配列番号38に示される配列を含む V_L ；
- (vi) 配列番号42に示される配列を含む V_H および配列番号46に示される配列を含む V_L ；
- (vii) 配列番号50に示される配列を含む V_H および配列番号54に示される配列を含む V_L ；
- (viii) 配列番号58に示される配列を含む V_H および配列番号46に示される配列を含む V_L ；
- (ix) 配列番号42に示される配列を含む V_H および配列番号62に示される配列を含む V_L ；
- (x) 配列番号66に示される配列を含む V_H および配列番号62に示される配列を含む V_L ；
- (xi) 配列番号70に示される配列を含む V_H および配列番号62に示される配列を含む V_L ；

;

(xlvi) 配列番号177に示される配列を含む V_H および配列番号190に示される配列を含む V_L ;

(xlviii) 配列番号178に示される配列を含む V_H および配列番号191に示される配列を含む V_L ;

(xlix) 配列番号179に示される配列を含む V_H および配列番号192に示される配列を含む V_L ;

;

(l) 配列番号180に示される配列を含む V_H および配列番号193に示される配列を含む V_L ;

(li) 配列番号181に示される配列を含む V_H および配列番号194に示される配列を含む V_L ;

(lii) 配列番号182に示される配列を含む V_H および配列番号195に示される配列を含む V_L ;

(liii) 配列番号183に示される配列を含む V_H および配列番号196に示される配列を含む V_L ;

;

(liv) 配列番号184に示される配列を含む V_H および配列番号197に示される配列を含む V_L ;

(lv) 配列番号185に示される配列を含む V_H および配列番号198に示される配列を含む V_L ;

(lvi) 配列番号186に示される配列を含む V_H および配列番号199に示される配列を含む V_L ;

または

(lvii) 配列番号187に示される配列を含む V_H および配列番号200に示される配列を含む V_L 。

10

20

30

40

50

【 0 1 0 1 】

一例では、TL1a結合性タンパク質は、 V_H および V_L の以下の対のいずれか1つを含む：

(i) 配列番号26に示される配列を含む V_H および配列番号30に示される配列を含む V_L ;

(ii) 配列番号34に示される配列を含む V_H および配列番号38に示される配列を含む V_L ;

(iii) 配列番号42に示される配列を含む V_H および配列番号46に示される配列を含む V_L ;

(iv) 配列番号175に示される配列を含む V_H および配列番号188に示される配列を含む V_L ;

(v) 配列番号176に示される配列を含む V_H および配列番号189に示される配列を含む V_L ;

(vi) 配列番号177に示される配列を含む V_H および配列番号190に示される配列を含む V_L ;

(vii) 配列番号178に示される配列を含む V_H および配列番号191に示される配列を含む V_L ;

(viii) 配列番号179に示される配列を含む V_H および配列番号192に示される配列を含む V_L ;

;

(ix) 配列番号180に示される配列を含む V_H および配列番号193に示される配列を含む V_L ;

(x) 配列番号181に示される配列を含む V_H および配列番号194に示される配列を含む V_L ;

(xi) 配列番号183に示される配列を含む V_H および配列番号196に示される配列を含む V_L ;

(xii) 配列番号185に示される配列を含む V_H および配列番号198に示される配列を含む V_L ;

(xiii) 配列番号186に示される配列を含む V_H および配列番号199に示される配列を含む V_L ;

;または

(xiv) 配列番号187に示される配列を含む V_H および配列番号200に示される配列を含む V_L 。

【 0 1 0 2 】

一例では、TL1a結合性タンパク質は、配列番号94に示される配列を含む V_H および配列番号95に示される配列を含む V_L を含む。

【 0 1 0 3 】

一例では、TL1a結合性タンパク質は、配列番号137に示される配列を含む V_H および配列番号138に示される配列を含む V_L を含む。

【 0 1 0 4 】

一例では、TL1a結合性タンパク質は、配列番号152に示される配列を含む V_H および配列番号153に示される配列を含む V_L を含む。

【 0 1 0 5 】

一例では、TL1a結合性タンパク質は、配列番号173に示される配列を含む V_H および配列番号174に示される配列を含む V_L を含む。

【 0 1 0 6 】

一例では、TL1a結合性タンパク質は、 V_H および V_L の以下の対のいずれか1つを含む：

- (i) 配列番号58に示される配列を含む V_H および配列番号46に示される配列を含む V_L ；
- (ii) 配列番号42に示される配列を含む V_H および配列番号62に示される配列を含む V_L ；
- (iii) 配列番号66に示される配列を含む V_H および配列番号62に示される配列を含む V_L ；
- (iv) 配列番号70に示される配列を含む V_H および配列番号62に示される配列を含む V_L ；
- (v) 配列番号74に示される配列を含む V_H および配列番号62に示される配列を含む V_L ；
- (vi) 配列番号78に示される配列を含む V_H および配列番号62に示される配列を含む V_L ；
- (vii) 配列番号58に示される配列を含む V_H および配列番号82に示される配列を含む V_L ；
- (viii) 配列番号86に示される配列を含む V_H および配列番号46に示される配列を含む V_L ；
- (ix) 配列番号90に示される配列を含む V_H および配列番号46に示される配列を含む V_L ；ま

または

- (x) 配列番号58に示される配列を含む V_H および配列番号62に示される配列を含む V_L 。

【 0 1 0 7 】

例えば、TL1a結合性タンパク質は、配列番号42に示される配列を含む V_H および配列番号46に示される配列を含む V_L を含み、 V_H および/または V_L は、以下の置換または置換の群のうち1つまたは複数を含む：

- (i) V_H は、配列番号42の位置16にアラニンを含む；
- (ii) V_H は、配列番号42の位置100にアラニンを含み、 V_L は、配列番号46の位置76にトレオニンを含む；
- (iii) V_H は、配列番号42の位置100にセリンを含み、 V_L は、配列番号46の位置76にトレオニンを含む；
- (iv) V_H は、配列番号42の位置100にヒスチジンを含み、 V_L は、配列番号46の位置76にトレオニンを含む；
- (v) V_H は、配列番号42の位置100にロイシンを含み、 V_L は、配列番号46の位置76にトレオニンを含む；
- (vi) V_H は、配列番号42の位置100にアスパラギン酸を含み、 V_L は、配列番号46の位置76にトレオニンを含む；
- (vii) V_H は、配列番号42の位置100にチロシンを含み、 V_L は、配列番号46の位置76にトレオニンを含む；
- (viii) V_H は、配列番号42の位置100にプロリンを含み、 V_L は、配列番号46の位置76にトレオニンを含む；
- (ix) V_H は、配列番号42の位置100にグルタミンを含み、 V_L は、配列番号46の位置76にトレオニンを含む；
- (x) V_H は、配列番号42の位置100にリシンを含み、 V_L は、配列番号46の位置76にトレオニンを含む；
- (xi) V_H は、配列番号42の位置101にアラニンを含み、 V_L は、配列番号46の位置76にトレオニンを含む；
- (xii) V_H は、配列番号42の位置101にセリンを含み、 V_L は、配列番号46の位置76にトレオニンを含む；
- (xiii) V_H は、配列番号42の位置101にヒスチジンを含み、 V_L は、配列番号46の位置76にトレオニンを含む；
- (xiv) V_H は、配列番号42の位置101にロイシンを含み、 V_L は、配列番号46の位置76にトレオニンを含む；
- (xv) V_H は、配列番号42の位置101にアスパラギン酸を含み、 V_L は、配列番号46の位置76にトレオニンを含む；
- (xvi) V_H は、配列番号42の位置101にチロシンを含み、 V_L は、配列番号46の位置76にトレオニンを含む；
- (xvii) V_H は、配列番号42の位置101にグルタミンを含み、 V_L は、配列番号46の位置76にトレオニンを含む；
- (xviii) V_H は、配列番号42の位置101にリシンを含み、 V_L は、配列番号46の位置76にトレ

オニンを含む；

(xix) V_H は、配列番号42の位置102にアラニンを含み、 V_L は、配列番号46の位置76にトレオニンを含む；

(xx) V_H は、配列番号42の位置102にセリンを含み、 V_L は、配列番号46の位置76にトレオニンを含む；

(xxi) V_H は、配列番号42の位置102にヒスチジンを含み、 V_L は、配列番号46の位置76にトレオニンを含む；

(xxii) V_H は、配列番号42の位置102にロイシンを含み、 V_L は、配列番号46の位置76にトレオニンを含む；

(xxiii) V_H は、配列番号42の位置102にチロシンを含み、 V_L は、配列番号46の位置76にトレオニンを含む；

(xxiv) V_H は、配列番号42の位置102にプロリンを含み、 V_L は、配列番号46の位置76にトレオニンを含む；

(xxv) V_H は、配列番号42の位置102にグルタミンを含み、 V_L は、配列番号46の位置76にトレオニンを含む；

(xxvi) V_H は、配列番号42の位置102にリシンを含み、 V_L は、配列番号46の位置76にトレオニンを含む；

(xxvii) V_H は、配列番号42の位置103にアラニンを含み、 V_L は、配列番号46の位置76にトレオニンを含む；

(xxviii) V_H は、配列番号42の位置103にセリンを含み、 V_L は、配列番号46の位置76にトレオニンを含む；

(xxix) V_H は、配列番号42の位置103にヒスチジンを含み、 V_L は、配列番号46の位置76にトレオニンを含む；

(xxx) V_H は、配列番号42の位置103にロイシンを含み、 V_L は、配列番号46の位置76にトレオニンを含む；

(xxxi) V_H は、配列番号42の位置103にアスパラギン酸を含み、 V_L は、配列番号46の位置76にトレオニンを含む；

(xxxii) V_H は、配列番号42の位置103にチロシンを含み、 V_L は、配列番号46の位置76にトレオニンを含む；

(xxxiii) V_H は、配列番号42の位置103にプロリンを含み、 V_L は、配列番号46の位置76にトレオニンを含む；

(xxxiv) V_H は、配列番号42の位置103にグルタミンを含み、 V_L は、配列番号46の位置76にトレオニンを含む；

(xxxv) V_H は、配列番号42の位置103にリシンを含み、 V_L は、配列番号46の位置76にトレオニンを含む；

(xxxvi) V_H は、配列番号42の位置104にセリンを含み、 V_L は、配列番号46の位置76にトレオニンを含む；

(xxxvii) V_H は、配列番号42の位置104にヒスチジンを含み、 V_L は、配列番号46の位置76にトレオニンを含む；

(xxxviii) V_H は、配列番号42の位置104にロイシンを含み、 V_L は、配列番号46の位置76にトレオニンを含む；

(xxxix) V_H は、配列番号42の位置104にアスパラギン酸を含み、 V_L は、配列番号46の位置76にトレオニンを含む；

(xl) V_H は、配列番号42の位置104にチロシンを含み、 V_L は、配列番号46の位置76にトレオニンを含む；

(xli) V_H は、配列番号42の位置104にプロリンを含み、 V_L は、配列番号46の位置76にトレオニンを含む；

(xlii) V_H は、配列番号42の位置104にグルタミンを含み、 V_L は、配列番号46の位置76にトレオニンを含む；

(xliii) V_H は、配列番号42の位置104にリシンを含み、 V_L は、配列番号46の位置76にトレ

10

20

30

40

50

オニンを含む；

(xliv) V_H は、配列番号42の位置105にアラニンを含み、 V_L は、配列番号46の位置76にトレオニンを含む；

(xlv) V_H は、配列番号42の位置105にヒスチジンを含み、 V_L は、配列番号46の位置76にトレオニンを含む；

(xlvi) V_H は、配列番号42の位置105にロイシンを含み、 V_L は、配列番号46の位置76にトレオニンを含む；

(xlvii) V_H は、配列番号42の位置105にアスパラギン酸を含み、 V_L は、配列番号46の位置76にトレオニンを含む；

(xlviii) V_H は、配列番号42の位置105にチロシンを含み、 V_L は、配列番号46の位置76にトレオニンを含む；

(xlix) V_H は、配列番号42の位置105にプロリンを含み、 V_L は、配列番号46の位置76にトレオニンを含む；

(l) V_H は、配列番号42の位置105にグルタミンを含み、 V_L は、配列番号46の位置76にトレオニンを含む；

(li) V_H は、配列番号42の位置105にリシンを含み、 V_L は、配列番号46の位置76にトレオニンを含む；

(lii) V_H は、配列番号42の位置107にアラニンを含み、 V_L は、配列番号46の位置76にトレオニンを含む；

(liii) V_H は、配列番号42の位置107にセリンを含み、 V_L は、配列番号46の位置76にトレオニンを含む；

(liv) V_H は、配列番号42の位置107にヒスチジンを含み、 V_L は、配列番号46の位置76にトレオニンを含む；

(lv) V_H は、配列番号42の位置107にロイシンを含み、 V_L は、配列番号46の位置76にトレオニンを含む；

(lvi) V_H は、配列番号42の位置107にアスパラギン酸を含み、 V_L は、配列番号46の位置76にトレオニンを含む；

(lvii) V_H は、配列番号42の位置107にチロシンを含み、 V_L は、配列番号46の位置76にトレオニンを含む；

(lviii) V_H は、配列番号42の位置107にプロリンを含み、 V_L は、配列番号46の位置76にトレオニンを含む；

(lix) V_H は、配列番号42の位置107にグルタミンを含み、 V_L は、配列番号46の位置76にトレオニンを含む；

(lx) V_H は、配列番号42の位置107にリシンを含み、 V_L は、配列番号46の位置76にトレオニンを含む；

(lxi) V_H は、配列番号42の位置41にトレオニンを含み、 V_L は、配列番号46の位置23にアラニンを含む；

(lxii) V_H は、配列番号42の位置41にトレオニンを含み、 V_L は、配列番号46の位置28にアスパラギン酸を含む；

(lxiii) V_H は、配列番号42の位置41にトレオニンを含み、 V_L は、配列番号46の位置33にチロシンを含む；

(lxiv) V_H は、配列番号42の位置41にトレオニンを含み、 V_L は、配列番号46の位置34にアスパラギン酸を含む；

(lxv) V_H は、配列番号42の位置41にトレオニンを含み、 V_L は、配列番号46の位置53にアスパラギン酸を含む；

(lxvi) V_H は、配列番号42の位置41にトレオニンを含み、 V_L は、配列番号46の位置54にセリンを含む；

(lxvii) V_H は、配列番号42の位置41にトレオニンを含み、 V_L は、配列番号46の位置82にアラニンを含む；

(lxviii) V_H は、配列番号42の位置41にトレオニンを含み、 V_L は、配列番号46の位置95に

10

20

30

40

50

セリンを含む；

(Ixxix) V_H は、配列番号42の位置41にトレオニンを含み、 V_L は、配列番号46の位置96にセリンを含む；

(Ixxx) V_H は、配列番号42の位置41にトレオニンを含み、 V_L は、配列番号46の位置76にトレオニンを含む；

(Ixxxi) V_H は、配列番号42の位置47にセリンを含み、 V_L は、配列番号46の位置23にトレオニンを含む；

(Ixxxi) V_H は、各々、配列番号42に対して位置41にプロリン、位置72にアラニン、位置73にアスパラギン酸、位置74にアルギニンおよび位置76にトレオニンを含み、 V_L は、配列番号46の位置76にトレオニンを含む；

(Ixxiii) V_H は、各々、配列番号42に対して位置41にプロリン、位置51にロイシンおよび位置102にグルタミン酸を含み、 V_L は、各々、配列番号46に対して位置24にセリンおよび位置76にトレオニンを含む；

(Ixxiv) V_H は、各々、配列番号42に対して位置41にプロリン、位置51にロイシンおよび位置102にグルタミン酸を含み、 V_L は、各々、配列番号46に対して位置23にトレオニン、位置24にセリンおよび位置76にトレオニンを含む；

(Ixxv) V_H は、各々、配列番号42に対して位置41にプロリン、位置51にロイシンおよび位置102にグルタミン酸を含み、 V_L は、各々、配列番号46に対して位置23にトレオニンおよび位置76にトレオニンを含む；

(Ixxvi) V_H は、各々、配列番号42に対して位置41にプロリン、位置51にロイシンおよび位置102にグルタミン酸を含み、 V_L は、配列番号46の位置76にトレオニンを含む；

(Ixxvii) V_H は、各々、配列番号42に対して位置41にプロリン、位置51にロイシン、位置102にグルタミン酸および位置105にアラニンを含み、 V_L は、各々、配列番号46に対して位置23にトレオニン、位置24にセリンおよび位置76にトレオニンを含む；

(Ixxviii) V_H は、各々、配列番号42に対して位置41にプロリン、位置51にロイシン、位置102にグルタミン酸および位置105にアラニンを含み、 V_L は、配列番号46の位置76にトレオニンを含む；

(Ixxix) V_H は、各々、配列番号42に対して位置41にプロリン、位置72にアラニン、位置73にアスパラギン酸、位置74にアルギニンおよび位置76にトレオニンを含み、 V_L は、各々、配列番号46に対して位置23にトレオニン、位置24にセリンおよび位置76にトレオニンを含む；

(Ixxx) V_H は、各々、配列番号42に対して位置41にプロリン、位置72にアラニン、位置73にアスパラギン酸、位置74にアルギニンおよび位置76にトレオニンを含み、 V_L は、各々、配列番号46に対して位置23にトレオニン、位置24にセリン、位置76にトレオニンおよび位置51にグルタミン酸を含む；

(Ixxxi) V_H は、各々、配列番号42に対して位置41にプロリン、位置51にロイシン、位置72にアラニン、位置73にアスパラギン酸、位置74にアルギニン、位置76にトレオニン、位置102にグルタミン酸および位置105にアラニンを含み、 V_L は、各々、配列番号46に対して位置23にトレオニン、位置24にセリン、位置76にトレオニンおよび位置51にグルタミン酸を含む；ならびに

(Ixxxii) V_H は、各々、配列番号42に対して位置41にプロリン、位置51にロイシン、位置72にアラニン、位置73にアスパラギン酸、位置74にアルギニン、位置76にトレオニン、位置102にグルタミン酸および位置105にアラニンを含み、 V_L は、各々、配列番号46に対して位置23にトレオニン、位置24にセリン、位置76にトレオニンおよび位置51にグリシンを含む。

【 0 1 0 8 】

一例では、 V_H および V_L は、単一ポリペプチド鎖中にある。例えば、TL1a結合性タンパク質は、

(i) 一本鎖Fv断片(scFv)；

(ii) 二量体scFv(di-scFv)；

10

20

30

40

50

(iii)重鎖定常領域またはFcまたは重鎖定常ドメイン(C_H)₂および/もしくはC_H3と連結している(i)または(ii)の一方;または

(iv)免疫エフェクター細胞と結合するタンパク質と連結している(i)または(ii)の一方である。

【0109】

別の例では、V_LおよびV_Hは、別個のポリペプチド鎖中にある。例えば、TL1a結合性タンパク質は、

(i)ダイアボディー;

(ii)トリアボディー;

(iii)テトラボディー;

(iv)Fab;

(v)F(ab')₂;

(vi)Fv;

(vii)重鎖定常領域またはFcまたは重鎖定常ドメイン(C_H)₂および/もしくはC_H3と連結している(i)から(vi)のうち1つ;または

(viii)免疫エフェクター細胞と結合するタンパク質と連結している(i)から(vi)のうち1つ

である。

【0110】

本開示の例示的形態では、TL1a結合性タンパク質は、抗体である。

【0111】

本開示の例示的TL1a結合性タンパク質は、キメラである、脱免疫化されている(de-immunized)、ヒト化されている、ヒトの、合成されている、または霊長類化されている。

【0112】

一例では、本開示は、抗原結合ドメインを含む抗体を提供し、抗原結合ドメインは、TL1aと特異的に結合し、抗体は、TL1aとDR3の相互作用を阻害し、TL1とDcR3の相互作用を阻害せず、抗原結合ドメインは、

(i)配列番号2に示される配列を含むV_Hおよび配列番号6に示される配列を含むV_L;

(ii)配列番号10に示される配列を含むV_Hおよび配列番号14に示される配列を含むV_L;

(iii)配列番号18に示される配列を含むV_Hおよび配列番号22に示される配列を含むV_L;

(iv)配列番号26に示される配列を含むV_Hおよび配列番号30に示される配列を含むV_L;

(v)配列番号34に示される配列を含むV_Hおよび配列番号38に示される配列を含むV_L;

(vi)配列番号42に示される配列を含むV_Hおよび配列番号46に示される配列を含むV_L;

(vii)配列番号50に示される配列を含むV_Hおよび配列番号54に示される配列を含むV_L;

(viii)配列番号58に示される配列を含むV_Hおよび配列番号46に示される配列を含むV_L;

(ix)配列番号42に示される配列を含むV_Hおよび配列番号62に示される配列を含むV_L;

(x)配列番号66に示される配列を含むV_Hおよび配列番号62に示される配列を含むV_L;

(xi)配列番号70に示される配列を含むV_Hおよび配列番号62に示される配列を含むV_L;

(xii)配列番号74に示される配列を含むV_Hおよび配列番号62に示される配列を含むV_L;

(xiii)配列番号78に示される配列を含むV_Hおよび配列番号62に示される配列を含むV_L;

(xiv)配列番号58に示される配列を含むV_Hおよび配列番号82に示される配列を含むV_L;

(xv)配列番号86に示される配列を含むV_Hおよび配列番号46に示される配列を含むV_L;

(xvi)配列番号90に示される配列を含むV_Hおよび配列番号46に示される配列を含むV_L;

(xvii)配列番号58に示される配列を含むV_Hおよび配列番号62に示される配列を含むV_L;

(xviii)配列番号154に示される配列を含むV_Hおよび配列番号164に示される配列を含むV_L;

L;

(xix)配列番号155に示される配列を含むV_Hおよび配列番号163に示される配列を含むV_L;

(xx)配列番号156に示される配列を含むV_Hおよび配列番号165に示される配列を含むV_L;

(xxi)配列番号157に示される配列を含むV_Hおよび配列番号166に示される配列を含むV_L;

(xxii)配列番号158に示される配列を含むV_Hおよび配列番号167に示される配列を含むV_L

10

20

30

40

50

- ;
- (xxiii) 配列番号159に示される配列を含む V_H および配列番号168に示される配列を含む V_L ;
- ;
- (xxiv) 配列番号160に示される配列を含む V_H および配列番号169に示される配列を含む V_L ;
- ;
- (xxv) 配列番号161に示される配列を含む V_H および配列番号170に示される配列を含む V_L ;
- (xxvi) 配列番号234に示される配列を含む V_H および配列番号169に示される配列を含む V_L ;
- ;
- (xxvii) 配列番号154に示される配列を含む V_H および配列番号46に示される配列を含む V_L ;
- ;
- (xxviii) 配列番号155に示される配列を含む V_H および配列番号46に示される配列を含む V_L ;
- ;
- (xxix) 配列番号156に示される配列を含む V_H および配列番号46に示される配列を含む V_L ;
- (xxx) 配列番号157に示される配列を含む V_H および配列番号46に示される配列を含む V_L ;
- (xxxi) 配列番号158に示される配列を含む V_H および配列番号46に示される配列を含む V_L ;
- (xxxii) 配列番号159に示される配列を含む V_H および配列番号46に示される配列を含む V_L ;
- ;
- (xxxiii) 配列番号160に示される配列を含む V_H および配列番号46に示される配列を含む V_L ;
- ;
- (xxxiv) 配列番号161に示される配列を含む V_H および配列番号46に示される配列を含む V_L ;
- ;
- (xxxv) 配列番号234に示される配列を含む V_H および配列番号46に示される配列を含む V_L ;
- (xxxvi) 配列番号42に示される配列を含む V_H および配列番号164に示される配列を含む V_L ;
- ;
- (xxxvii) 配列番号42に示される配列を含む V_H および配列番号165に示される配列を含む V_L ;
- ;
- (xxxviii) 配列番号42に示される配列を含む V_H および配列番号166に示される配列を含む V_L ;
- (xxxix) 配列番号42に示される配列を含む V_H および配列番号167に示される配列を含む V_L ;
- ;
- (xl) 配列番号42に示される配列を含む V_H および配列番号168に示される配列を含む V_L ;
- (xli) 配列番号42に示される配列を含む V_H および配列番号169に示される配列を含む V_L ;
- (xlii) 配列番号42に示される配列を含む V_H および配列番号170に示される配列を含む V_L ;
- (xliii) 配列番号42に示される配列を含む V_H および配列番号171に示される配列を含む V_L ;
- ;
- (xliv) 配列番号42に示される配列を含む V_H および配列番号172に示される配列を含む V_L ;
- (xlv) 配列番号175に示される配列を含む V_H および配列番号188に示される配列を含む V_L ;
- (xlvi) 配列番号176に示される配列を含む V_H および配列番号189に示される配列を含む V_L ;
- ;
- (xlvii) 配列番号177に示される配列を含む V_H および配列番号190に示される配列を含む V_L ;
- ;
- (xlviii) 配列番号178に示される配列を含む V_H および配列番号191に示される配列を含む V_L ;
- (xlix) 配列番号179に示される配列を含む V_H および配列番号192に示される配列を含む V_L ;
- ;
- (l) 配列番号180に示される配列を含む V_H および配列番号193に示される配列を含む V_L ;
- (li) 配列番号181に示される配列を含む V_H および配列番号194に示される配列を含む V_L ;
- (lii) 配列番号182に示される配列を含む V_H および配列番号195に示される配列を含む V_L ;
- (liii) 配列番号183に示される配列を含む V_H および配列番号196に示される配列を含む V_L ;
- ;

10

20

30

40

50

- (liv) 配列番号184に示される配列を含むV_Hおよび配列番号197に示される配列を含むV_L;
 - (lv) 配列番号185に示される配列を含むV_Hおよび配列番号198に示される配列を含むV_L;
 - (lvi) 配列番号186に示される配列を含むV_Hおよび配列番号199に示される配列を含むV_L;
- または
- (lvii) 配列番号187に示される配列を含むV_Hおよび配列番号200に示される配列を含むV_Lのいずれか1つを含む。

【0113】

一例では、抗体は、以下のV_HおよびV_Lの対のいずれか1つを含む:

- (i) 配列番号26に示される配列を含むV_Hおよび配列番号30に示される配列を含むV_L;
- (ii) 配列番号34に示される配列を含むV_Hおよび配列番号38に示される配列を含むV_L; ならびに
- (iii) 配列番号42に示される配列を含むV_Hおよび配列番号46に示される配列を含むV_L。

10

【0114】

一例では、抗体は、以下のV_HおよびV_Lの対のうちいずれか1つを含む:

- (i) 配列番号42に示される配列を含むV_Hおよび配列番号46に示される配列を含むV_L;
- (ii) 配列番号106に示される配列に対して少なくとも約95%同一である配列を含む核酸または中程度から高度にストリンジェントな条件下でそれとハイブリダイズする核酸によってコードされるV_Hおよび配列番号107に示される配列に対して少なくとも約95%同一である配列を含む核酸または中程度から高度にストリンジェントな条件下でそれとハイブリダイズする核酸によってコードされるV_L;
- (iii) 配列番号175に示される配列を含むV_Hおよび配列番号188に示される配列を含むV_L;
- (iv) 配列番号222に示される配列に対して少なくとも約95%同一である配列を含む核酸または中程度から高度にストリンジェントな条件下でそれとハイブリダイズする核酸によってコードされるV_Hおよび配列番号228に示される配列に対して少なくとも約95%同一である配列を含む核酸または中程度から高度にストリンジェントな条件下でそれとハイブリダイズする核酸によってコードされるV_L;
- (v) 配列番号176に示される配列を含むV_Hおよび配列番号189に示される配列を含むV_L;
- (vi) 配列番号223に示される配列に対して少なくとも約95%同一である配列を含む核酸または中程度から高度にストリンジェントな条件下でそれとハイブリダイズする核酸によってコードされるV_Hおよび配列番号228に示される配列に対して少なくとも約95%同一である配列を含む核酸または中程度から高度にストリンジェントな条件下でそれとハイブリダイズする核酸によってコードされるV_L;
- (vii) 配列番号177に示される配列を含むV_Hおよび配列番号190に示される配列を含むV_L;
- (viii) 配列番号224に示される配列に対して少なくとも約95%同一である配列を含む核酸または中程度から高度にストリンジェントな条件下でそれとハイブリダイズする核酸によってコードされるV_Hおよび配列番号229に示される配列に対して少なくとも約95%同一である配列を含む核酸または中程度から高度にストリンジェントな条件下でそれとハイブリダイズする核酸によってコードされるV_L;
- (ix) 配列番号178に示される配列を含むV_Hおよび配列番号191に示される配列を含むV_L;
- (x) 配列番号224に示される配列に対して少なくとも約95%同一である配列を含む核酸または中程度から高度にストリンジェントな条件下でそれとハイブリダイズする核酸によってコードされるV_Hおよび配列番号230に示される配列に対して少なくとも約95%同一である配列を含む核酸または中程度から高度にストリンジェントな条件下でそれとハイブリダイズする核酸によってコードされるV_L;
- (xi) 配列番号179に示される配列を含むV_Hおよび配列番号192に示される配列を含むV_L;
- (xii) 配列番号224に示される配列に対して少なくとも約95%同一である配列を含む核酸または中程度から高度にストリンジェントな条件下でそれとハイブリダイズする核酸によってコードされるV_Hおよび配列番号231に示される配列に対して少なくとも約95%同一である配列を含む核酸または中程度から高度にストリンジェントな条件下でそれとハイブリダイズする核酸によってコードされるV_L;

20

30

40

50

(xiii) 配列番号180に示される配列を含む V_H および配列番号193に示される配列を含む V_L ;

(xiv) 配列番号224に示される配列に対して少なくとも約95%同一である配列を含む核酸または中程度から高度にストリンジェントな条件下でそれとハイブリダイズする核酸によってコードされる V_H および配列番号228に示される配列に対して少なくとも約95%同一である配列を含む核酸または中程度から高度にストリンジェントな条件下でそれとハイブリダイズする核酸によってコードされる V_L ;

(xv) 配列番号181に示される配列を含む V_H および配列番号194に示される配列を含む V_L ;

(xvi) 配列番号225に示される配列に対して少なくとも約95%同一である配列を含む核酸または中程度から高度にストリンジェントな条件下でそれとハイブリダイズする核酸によってコードされる V_H および配列番号230に示される配列に対して少なくとも約95%同一である配列を含む核酸または中程度から高度にストリンジェントな条件下でそれとハイブリダイズする核酸によってコードされる V_L ;

(xvii) 配列番号183に示される配列を含む V_H および配列番号196に示される配列を含む V_L ;

(xviii) 配列番号226に示される配列に対して少なくとも約95%同一である配列を含む核酸または中程度から高度にストリンジェントな条件下でそれとハイブリダイズする核酸によってコードされる V_H および配列番号230に示される配列に対して少なくとも約95%同一である配列を含む核酸または中程度から高度にストリンジェントな条件下でそれとハイブリダイズする核酸によってコードされる V_L ;

(xix) 配列番号185に示される配列を含む V_H および配列番号198に示される配列を含む V_L ;

(xx) 配列番号226に示される配列に対して少なくとも約95%同一である配列を含む核酸または中程度から高度にストリンジェントな条件下でそれとハイブリダイズする核酸によってコードされる V_H および配列番号232に示される配列に対して少なくとも約95%同一である配列を含む核酸または中程度から高度にストリンジェントな条件下でそれとハイブリダイズする核酸によってコードされる V_L ;

(xxi) 配列番号186に示される配列を含む V_H および配列番号199に示される配列を含む V_L ;

(xxii) 配列番号227に示される配列に対して少なくとも約95%同一である配列を含む核酸または中程度から高度にストリンジェントな条件下でそれとハイブリダイズする核酸によってコードされる V_H および配列番号232に示される配列に対して少なくとも約95%同一である配列を含む核酸または中程度から高度にストリンジェントな条件下でそれとハイブリダイズする核酸によってコードされる V_L ;

(xxiii) 配列番号187に示される配列を含む V_H および配列番号200に示される配列を含む V_L ; または

(xxiv) 配列番号227に示される配列に対して少なくとも約95%同一である配列を含む核酸または中程度から高度にストリンジェントな条件下でそれとハイブリダイズする核酸によってコードされる V_H および配列番号233に示される配列に対して少なくとも約95%同一である配列を含む核酸または中程度から高度にストリンジェントな条件下でそれとハイブリダイズする核酸によってコードされる V_L 。

【 0 1 1 5 】

一例では、抗体は、配列番号94に示される配列を含む V_H および配列番号95に示される配列を含む V_L を含む。

【 0 1 1 6 】

一例では、抗体は、 V_H および V_L の以下の対のいずれか1つを含む：

(i) 配列番号58に示される配列を含む V_H および配列番号46に示される配列を含む V_L ;

(ii) 配列番号42に示される配列を含む V_H および配列番号62に示される配列を含む V_L ;

(iii) 配列番号66に示される配列を含む V_H および配列番号62に示される配列を含む V_L ;

(iv) 配列番号70に示される配列を含む V_H および配列番号62に示される配列を含む V_L ;

(v) 配列番号74に示される配列を含む V_H および配列番号62に示される配列を含む V_L ;

(vi) 配列番号78に示される配列を含む V_H および配列番号62に示される配列を含む V_L ;

(vii) 配列番号58に示される配列を含むV_Hおよび配列番号82に示される配列を含むV_L;
 (viii) 配列番号86に示される配列を含むV_Hおよび配列番号46に示される配列を含むV_L;
 (ix) 配列番号90に示される配列を含むV_Hおよび配列番号46に示される配列を含むV_L;ま
 たは

(x) 配列番号58に示される配列を含むV_Hおよび配列番号62に示される配列を含むV_L。

【0117】

本開示はまた、配列番号42のV_Hおよび配列番号46のV_Lを含むTL1a結合性抗体も提供する。

【0118】

本開示はまた、配列番号175のV_Hおよび配列番号188のV_Lを含むTL1a結合性抗体も提供する。

10

【0119】

本開示はまた、配列番号176のV_Hおよび配列番号189のV_Lを含むTL1a結合性抗体も提供する。

【0120】

本開示はまた、配列番号177のV_Hおよび配列番号190のV_Lを含むTL1a結合性抗体も提供する。

【0121】

本開示はまた、配列番号178のV_Hおよび配列番号191のV_Lを含むTL1a結合性抗体も提供する。

20

【0122】

本開示はまた、配列番号179のV_Hおよび配列番号192のV_Lを含むTL1a結合性抗体も提供する。

【0123】

本開示はまた、配列番号180のV_Hおよび配列番号193のV_Lを含むTL1a結合性抗体も提供する。

【0124】

本開示はまた、配列番号181のV_Hおよび配列番号194のV_Lを含むTL1a結合性抗体も提供する。

【0125】

本開示はまた、配列番号183のV_Hおよび配列番号196のV_Lを含むTL1a結合性抗体も提供する。

30

【0126】

本開示はまた、配列番号185のV_Hおよび配列番号198のV_Lを含むTL1a結合性抗体も提供する。

【0127】

本開示はまた、配列番号186のV_Hおよび配列番号199のV_Lを含むTL1a結合性抗体も提供する。

【0128】

本開示はまた、配列番号187のV_Hおよび配列番号200のV_Lを含むTL1a結合性抗体も提供する。

40

【0129】

以上のリストに示される抗体は、以下の利点のうち1つまたは複数を提供する:

(i) 本明細書に記載される方法によって決定されるように、DR3とのTL1a相互作用を阻害するが、TL1aとDcR3の相互作用を阻害しない;

(ii) TL1a結合性タンパク質の不在下でのアポトーシスのレベルと比較して、TF-1細胞(例えば、約 7×10^4 個の細胞~ 8×10^4 個の細胞(例えば、 7.5×10^4 個の細胞))のアポトーシスのレベルを、約2nM未満(約1.5nMもしくは1.2nMもしくは1.1nM未満;または1nM以下など)のEC₅₀で低下させ;または

(iii) 細胞の表面上のTL1aと、例えば、約 2×10^5 ~ 3×10^5 個細胞(例えば、 2.5×10^5 個細胞

50

胞)で実施したフローサイトメトリーを使用して評価されるように、約10nM未満、例えば、約5nMまたは3nMまたは2nM未満のEC₅₀で結合する。

【0130】

一例では、抗体は、配列番号137に示される配列を含むV_Hおよび配列番号138に示される配列を含むV_Lを含む。

【0131】

一例では、TL1a結合性タンパク質は、配列番号152に示される配列を含むV_Hおよび配列番号153に示される配列を含むV_Lを含む。

【0132】

一例では、TL1a結合性タンパク質は、配列番号162に示される配列を含むV_Hおよび配列番号172に示される配列を含むV_Lを含む。

10

【0133】

一例では、TL1a結合性タンパク質は、配列番号163に示される配列を含むV_Hおよび配列番号174に示される配列を含むV_Lを含む。

【0134】

例えば、抗体は、配列番号42に示される配列を含むV_Hおよび配列番号46に示される配列を含むV_Lを含み、V_Hおよび/またはV_Lは、以下の置換または置換の群のうち1つまたは複数を含む：

(i)V_Hは、配列番号42の位置16にアラニンを含む；

(ii)V_Hは、配列番号42の位置100にアラニンを含み、V_Lは、配列番号46の位置76にトレオニンを含む；

20

(iii)V_Hは、配列番号42の位置100にセリンを含み、V_Lは、配列番号46の位置76にトレオニンを含む；

(iv)V_Hは、配列番号42の位置100にヒスチジンを含み、V_Lは、配列番号46の位置76にトレオニンを含む；

(v)V_Hは、配列番号42の位置100にロイシンを含み、V_Lは、配列番号46の位置76にトレオニンを含む；

(vi)V_Hは、配列番号42の位置100にアスパラギン酸を含み、V_Lは、配列番号46の位置76にトレオニンを含む；

(vii)V_Hは、配列番号42の位置100にチロシンを含み、V_Lは、配列番号46の位置76にトレオニンを含む；

30

(viii)V_Hは、配列番号42の位置100にプロリンを含み、V_Lは、配列番号46の位置76にトレオニンを含む；

(ix)V_Hは、配列番号42の位置100にグルタミンを含み、V_Lは、配列番号46の位置76にトレオニンを含む；

(x)V_Hは、配列番号42の位置100にリシンを含み、V_Lは、配列番号46の位置76にトレオニンを含む；

(xi)V_Hは、配列番号42の位置101にアラニンを含み、V_Lは、配列番号46の位置76にトレオニンを含む；

(xii)V_Hは、配列番号42の位置101にセリンを含み、V_Lは、配列番号46の位置76にトレオニンを含む；

40

(xiii)V_Hは、配列番号42の位置101にヒスチジンを含み、V_Lは、配列番号46の位置76にトレオニンを含む；

(xiv)V_Hは、配列番号42の位置101にロイシンを含み、V_Lは、配列番号46の位置76にトレオニンを含む；

(xv)V_Hは、配列番号42の位置101にアスパラギン酸を含み、V_Lは、配列番号46の位置76にトレオニンを含む；

(xvi)V_Hは、配列番号42の位置101にチロシンを含み、V_Lは、配列番号46の位置76にトレオニンを含む；

(xvii)V_Hは、配列番号42の位置101にグルタミンを含み、V_Lは、配列番号46の位置76に

50

トレオニンを含む；

(xviii) V_H は、配列番号42の位置101にリシンを含み、 V_L は、配列番号46の位置76にトレオニンを含む；

(xix) V_H は、配列番号42の位置102にアラニンを含み、 V_L は、配列番号46の位置76にトレオニンを含む；

(xx) V_H は、配列番号42の位置102にセリンを含み、 V_L は、配列番号46の位置76にトレオニンを含む；

(xxi) V_H は、配列番号42の位置102にヒスチジンを含み、 V_L は、配列番号46の位置76にトレオニンを含む；

(xxii) V_H は、配列番号42の位置102にロイシンを含み、 V_L は、配列番号46の位置76にトレオニンを含む；

(xxiii) V_H は、配列番号42の位置102にチロシンを含み、 V_L は、配列番号46の位置76にトレオニンを含む；

(xxiv) V_H は、配列番号42の位置102にプロリンを含み、 V_L は、配列番号46の位置76にトレオニンを含む；

(xxv) V_H は、配列番号42の位置102にグルタミンを含み、 V_L は、配列番号46の位置76にトレオニンを含む；

(xxvi) V_H は、配列番号42の位置102にリシンを含み、 V_L は、配列番号46の位置76にトレオニンを含む；

(xxvii) V_H は、配列番号42の位置103にアラニンを含み、 V_L は、配列番号46の位置76にトレオニンを含む；

(xxviii) V_H は、配列番号42の位置103にセリンを含み、 V_L は、配列番号46の位置76にトレオニンを含む；

(xxix) V_H は、配列番号42の位置103にヒスチジンを含み、 V_L は、配列番号46の位置76にトレオニンを含む；

(xxx) V_H は、配列番号42の位置103にロイシンを含み、 V_L は、配列番号46の位置76にトレオニンを含む；

(xxxi) V_H は、配列番号42の位置103にアスパラギン酸を含み、 V_L は、配列番号46の位置76にトレオニンを含む；

(xxxii) V_H は、配列番号42の位置103にチロシンを含み、 V_L は、配列番号46の位置76にトレオニンを含む；

(xxxiii) V_H は、配列番号42の位置103にプロリンを含み、 V_L は、配列番号46の位置76にトレオニンを含む；

(xxxiv) V_H は、配列番号42の位置103にグルタミンを含み、 V_L は、配列番号46の位置76にトレオニンを含む；

(xxxv) V_H は、配列番号42の位置103にリシンを含み、 V_L は、配列番号46の位置76にトレオニンを含む；

(xxxvi) V_H は、配列番号42の位置104にセリンを含み、 V_L は、配列番号46の位置76にトレオニンを含む；

(xxxvii) V_H は、配列番号42の位置104にヒスチジンを含み、 V_L は、配列番号46の位置76にトレオニンを含む；

(xxxviii) V_H は、配列番号42の位置104にロイシンを含み、 V_L は、配列番号46の位置76にトレオニンを含む；

(xxxix) V_H は、配列番号42の位置104にアスパラギン酸を含み、 V_L は、配列番号46の位置76にトレオニンを含む；

(xl) V_H は、配列番号42の位置104にチロシンを含み、 V_L は、配列番号46の位置76にトレオニンを含む；

(xli) V_H は、配列番号42の位置104にプロリンを含み、 V_L は、配列番号46の位置76にトレオニンを含む；

(xlii) V_H は、配列番号42の位置104にグルタミンを含み、 V_L は、配列番号46の位置76に

10

20

30

40

50

トレオニンを含む；

(xliii) V_H は、配列番号42の位置104にリシンを含み、 V_L は、配列番号46の位置76にトレオニンを含む；

(xliv) V_H は、配列番号42の位置105にアラニンを含み、 V_L は、配列番号46の位置76にトレオニンを含む；

(xlv) V_H は、配列番号42の位置105にヒスチジンを含み、 V_L は、配列番号46の位置76にトレオニンを含む；

(xlvi) V_H は、配列番号42の位置105にロイシンを含み、 V_L は、配列番号46の位置76にトレオニンを含む；

(xlvii) V_H は、配列番号42の位置105にアスパラギン酸を含み、 V_L は、配列番号46の位置76にトレオニンを含む； 10

(xlviii) V_H は、配列番号42の位置105にチロシンを含み、 V_L は、配列番号46の位置76にトレオニンを含む；

(xlix) V_H は、配列番号42の位置105にプロリンを含み、 V_L は、配列番号46の位置76にトレオニンを含む；

(l) V_H は、配列番号42の位置105にグルタミンを含み、 V_L は、配列番号46の位置76にトレオニンを含む；

(li) V_H は、配列番号42の位置105にリシンを含み、 V_L は、配列番号46の位置76にトレオニンを含む；

(lii) V_H は、配列番号42の位置107にアラニンを含み、 V_L は、配列番号46の位置76にトレオニンを含む； 20

(liii) V_H は、配列番号42の位置107にセリンを含み、 V_L は、配列番号46の位置76にトレオニンを含む；

(liv) V_H は、配列番号42の位置107にヒスチジンを含み、 V_L は、配列番号46の位置76にトレオニンを含む；

(lv) V_H は、配列番号42の位置107にロイシンを含み、 V_L は、配列番号46の位置76にトレオニンを含む；

(lvi) V_H は、配列番号42の位置107にアスパラギン酸を含み、 V_L は、配列番号46の位置76にトレオニンを含む；

(lvii) V_H は、配列番号42の位置107にチロシンを含み、 V_L は、配列番号46の位置76にトレオニンを含む； 30

(lviii) V_H は、配列番号42の位置107にプロリンを含み、 V_L は、配列番号46の位置76にトレオニンを含む；

(lix) V_H は、配列番号42の位置107にグルタミンを含み、 V_L は、配列番号46の位置76にトレオニンを含む；

(lx) V_H は、配列番号42の位置107にリシンを含み、 V_L は、配列番号46の位置76にトレオニンを含む；

(lxi) V_H は、配列番号42の位置41にトレオニンを含み、 V_L は、配列番号46の位置23にアラニンを含む；

(lxii) V_H は、配列番号42の位置41にトレオニンを含み、 V_L は、配列番号46の位置28にアスパラギン酸を含む； 40

(lxiii) V_H は、配列番号42の位置41にトレオニンを含み、 V_L は、配列番号46の位置33にチロシンを含む；

(lxiv) V_H は、配列番号42の位置41にトレオニンを含み、 V_L は、配列番号46の位置34にアスパラギン酸を含む；

(lxv) V_H は、配列番号42の位置41にトレオニンを含み、 V_L は、配列番号46の位置53にアスパラギンを含む；

(lxvi) V_H は、配列番号42の位置41にトレオニンを含み、 V_L は、配列番号46の位置54にセリンを含む；

(lxvii) V_H は、配列番号42の位置41にトレオニンを含み、 V_L は、配列番号46の位置82に 50

アラニンを含む；

(Ixxviii) V_H は、配列番号42の位置41にトレオニンを含み、 V_L は、配列番号46の位置95にセリンを含む；

(Ixxix) V_H は、配列番号42の位置41にトレオニンを含み、 V_L は、配列番号46の位置96にセリンを含む；

(Ixxx) V_H は、配列番号42の位置41にトレオニンを含み、 V_L は、配列番号46の位置76にトレオニンを含む；

(Ixxxi) V_H は、配列番号42の位置47にセリンを含み、 V_L は、配列番号46の位置23にトレオニンを含む；

(Ixxxii) V_H は、各々、配列番号42に対して位置41にプロリン、位置72にアラニン、位置73にアスパラギン酸、位置74にアルギニンおよび位置76にトレオニンを含み、 V_L は、配列番号46の位置76にトレオニンを含む；

(Ixxxiii) V_H は、各々、配列番号42に対して位置41にプロリン、位置51にロイシンおよび位置102にグルタミン酸を含み、 V_L は、各々、配列番号46に対して位置24にセリンおよび位置76にトレオニンを含む；

(Ixxxiv) V_H は、各々、配列番号42に対して位置41にプロリン、位置51にロイシンおよび位置102にグルタミン酸を含み、 V_L は、各々、配列番号46に対して位置23にトレオニン、位置24にセリンおよび位置76にトレオニンを含む；

(Ixxxv) V_H は、各々、配列番号42に対して位置41にプロリン、位置51にロイシンおよび位置102にグルタミン酸を含み、 V_L は、各々、配列番号46に対して位置23にトレオニンおよび位置76にトレオニンを含む；

(Ixxxvi) V_H は、各々、配列番号42に対して位置41にプロリン、位置51にロイシンおよび位置102にグルタミン酸を含み、 V_L は、配列番号46の位置76にトレオニンを含む；

(Ixxxvii) V_H は、各々、配列番号42に対して位置41にプロリン、位置51にロイシン、位置102にグルタミン酸および位置105にアラニンを含み、 V_L は、各々、配列番号46に対して位置23にトレオニン、位置24にセリンおよび位置76にトレオニンを含む；

(Ixxxviii) V_H は、各々、配列番号42に対して位置41にプロリン、位置51にロイシン、位置102にグルタミン酸および位置105にアラニンを含み、 V_L は、配列番号46の位置76にトレオニンを含む；

(Ixxxix) V_H は、各々、配列番号42に対して位置41にプロリン、位置72にアラニン、位置73にアスパラギン酸、位置74にアルギニンおよび位置76にトレオニンを含み、 V_L は、各々、配列番号46に対して位置23にトレオニン、位置24にセリンおよび位置76にトレオニンを含む；

(Ixxxx) V_H は、各々、配列番号42に対して位置41にプロリン、位置72にアラニン、位置73にアスパラギン酸、位置74にアルギニンおよび位置76にトレオニンを含み、 V_L は、各々、配列番号46に対して位置23にトレオニン、位置24にセリン、位置76にトレオニンおよび位置51にグルタミン酸を含む；

(Ixxxxi) V_H は、各々、配列番号42に対して位置41にプロリン、位置51にロイシン、位置72にアラニン、位置73にアスパラギン酸、位置74にアルギニン、位置76にトレオニン、位置102にグルタミン酸および位置105にアラニンを含み、 V_L は、各々、配列番号46に対して位置23にトレオニン、位置24にセリン、位置76にトレオニンおよび位置51にグルタミン酸を含む；または

(Ixxxxii) V_H は、各々、配列番号42に対して位置41にプロリン、位置51にロイシン、位置72にアラニン、位置73にアスパラギン酸、位置74にアルギニン、位置76にトレオニン、位置102にグルタミン酸および位置105にアラニンを含み、 V_L は、各々、配列番号46に対して位置23にトレオニン、位置24にセリン、位置76にトレオニンおよび位置51にグリシンを含む。

【 0 1 3 5 】

一例では、本開示のTL1a結合性タンパク質は、IgG1、IgG2、IgG3、IgG4、IgD、IgM、IgEおよびIgAからなる群から選択されるヒトまたは非ヒト霊長類重鎖免疫グロブリン定常領

域を含む。例示的重鎖免疫グロブリン定常領域は、IgG定常領域、例えば、ヒトIgG1定常領域などのIgG1定常領域である。例えば、ヒトIgG1定常領域は、配列番号134に示される配列を含むFc領域を含む。一例では、ヒトまたは非ヒト霊長類重鎖免疫グロブリン定常領域は、C末端リシン残基を欠く。

【0136】

別の例では、本開示のTL1a結合性タンパク質は、 または からなる群から選択されるヒトまたは非ヒト霊長類軽鎖免疫グロブリン定常領域を含む。一例では、TL1a結合性タンパク質は、配列番号135()または配列番号136()に示される配列を含むヒト軽鎖定常領域を含む。

【0137】

本開示はまた、本開示のTL1a結合性タンパク質をコードする単離もしくは組換え核酸またはそれらに対して少なくとも約80%の同一性を有する配列または中程度から高度にストリンジентな条件下でそれとハイブリダイズする配列も提供する。この関連で、本開示は、本明細書に記載された特定の例示された核酸に制限されず、遺伝暗号の縮重の結果として本開示のTL1a結合性タンパク質をコードするいずれの核酸も包含する。例えば、核酸は、特定の細胞種における発現に対して最適化されたコドンであり得る。

【0138】

一例では、核酸は、配列番号96~118のいずれか1つに示される配列またはそれに対して少なくとも約80%の同一性を有する配列または中程度から高度にストリンジентな条件下でそれとハイブリダイズする配列を含む。

【0139】

一例では、核酸は、配列番号102に示される配列またはそれに対して少なくとも約80%の同一性を有する配列または中程度から高度にストリンジентな条件下でそれとハイブリダイズする配列を含む。

【0140】

一例では、核酸は、配列番号103に示される配列またはそれに対して少なくとも約80%の同一性を有する配列または中程度から高度にストリンジентな条件下でそれとハイブリダイズする配列を含む。

【0141】

一例では、核酸は、配列番号102に示される配列および配列番号103に示される配列またはそれらに対して少なくとも約80%の同一性を有する配列または中程度から高度にストリンジентな条件下でそれらとハイブリダイズする配列を含む。

【0142】

一例では、核酸は、配列番号104に示される配列またはそれに対して少なくとも約80%の同一性を有する配列または中程度から高度にストリンジентな条件下でそれとハイブリダイズする配列を含む。

【0143】

一例では、核酸は、配列番号105に示される配列またはそれに対して少なくとも約80%の同一性を有する配列または中程度から高度にストリンジентな条件下でそれとハイブリダイズする配列を含む。

【0144】

一例では、核酸は、配列番号104に示される配列および配列番号105に示される配列またはそれらに対して少なくとも約80%の同一性を有する配列または中程度から高度にストリンジентな条件下でそれらとハイブリダイズする配列を含む。

【0145】

一例では、核酸は、配列番号106に示される配列またはそれに対して少なくとも約80%の同一性を有する配列または中程度から高度にストリンジентな条件下でそれとハイブリダイズする配列を含む。

【0146】

一例では、核酸は、配列番号107に示される配列またはそれに対して少なくとも約80%の

10

20

30

40

50

配列番号232に示される配列に対して少なくとも約95%同一である配列を含む核酸または中程度から高度にストリンジェントな条件下でそれとハイブリダイズする核酸;

(xi) 配列番号227に示される配列に対して少なくとも約95%同一である配列を含む核酸または中程度から高度にストリンジェントな条件下でそれとハイブリダイズする核酸および配列番号232に示される配列に対して少なくとも約95%同一である配列を含む核酸または中程度から高度にストリンジェントな条件下でそれとハイブリダイズする核酸;または

(xii) 配列番号227に示される配列に対して少なくとも約95%同一である配列を含む核酸または中程度から高度にストリンジェントな条件下でそれとハイブリダイズする核酸および配列番号233に示される配列に対して少なくとも約95%同一である配列を含む核酸または中程度から高度にストリンジェントな条件下でそれとハイブリダイズする核酸。

10

【0150】

例示的核酸の配列およびそれらの組み合わせが表1に示されており、個々の配列各々およびそれらの組合せに対して文献の支持を提供するよう、とられなければならない。

【0151】

一例では、このような核酸は、核酸が、プロモーターと作動可能に連結している発現構築物中に含まれる。このような発現構築物は、ベクター、例えば、プラスミド中にあり得る。

【0152】

単一ポリペプチドTL1a結合性タンパク質を対象とする開示の例において、発現構築物は、そのポリペプチド鎖をコードする核酸と連結しているプロモーターを含み得る。

20

【0153】

TL1a結合性タンパク質を形成する複数のポリペプチドを対象とする例では、本開示の発現構築物は、プロモーターと作動可能に連結している、ポリペプチドの1つ(例えば、 V_H を含む)をコードする核酸と、プロモーターと作動可能に連結しているポリペプチドの別の1つ(例えば、 V_L を含む)をコードする核酸を含む。

【0154】

別の例では、発現構築物は、例えば、5'から3'の順に以下の作動可能に連結している成分を含むパイシストロン性発現構築物である:

(i) プロモーター

(ii) 第1のポリペプチドをコードする核酸;

(iii) 配列内リボソーム進入部位;および

(iv) 第2のポリペプチドをコードする核酸。

30

【0155】

例えば、第1のポリペプチドは、 V_H を含み、第2のポリペプチドは、 V_L を含み、または第1のポリペプチドは、 V_L を含み、第2のポリペプチドは、 V_H を含む。

【0156】

本開示はまた、一方が第1のポリペプチド(例えば、 V_H を含む)をコードし、もう一方が、第2のポリペプチド(例えば、 V_L を含む)をコードする、別個の発現構築物も考慮する。例えば、本開示はまた、

(i) ポリペプチド(例えば、プロモーターと作動可能に連結している V_H を含む)をコードする核酸を含む第1の発現構築物と、

(ii) ポリペプチド(例えば、プロモーターと作動可能に連結している V_L を含む)をコードする核酸を含む第2の発現構築物と

を含む組成物であって、

第1および第2のポリペプチドが会合して、本開示のTL1a結合性タンパク質を形成する組成物を提供する。

40

【0157】

本開示はまた、本開示のTL1a結合性タンパク質を発現する単離細胞または本開示のTL1a結合性タンパク質を発現するよう遺伝子改変された組換え細胞も提供する。

【0158】

50

一例では、細胞は、本開示の発現構築物または
(i)プロモーターと作動可能に連結しているポリペプチド(例えば、 V_H を含む)をコードする核酸を含む第1の発現構築物と、
(ii)プロモーターと作動可能に連結しているポリペプチド(例えば、 V_L を含む)をコードする核酸を含む第2の発現構築物と
を含み、

第1および第2のポリペプチドは会合して、本開示のTL1a結合性タンパク質を形成する。

【0159】

本開示の細胞の例として、細菌細胞、酵母細胞、昆虫細胞または哺乳類細胞が挙げられる。例示的細胞は、哺乳類である。

【0160】

本開示は、本開示のTL1a結合性タンパク質を製造する方法をさらに提供する。例えば、このような方法は、TL1a結合性タンパク質が製造されるのに十分な条件下で本開示の発現構築物を維持することを含む。

【0161】

一例では、本開示のTL1a結合性タンパク質を製造する方法は、本開示の細胞を、タンパク質が製造され、所望により、分泌されるのに十分な条件下で培養することを含む。

【0162】

一例では、本開示のTL1a結合性タンパク質を製造する方法は、タンパク質を単離することをさらに含む。

【0163】

本開示はまた、本開示のTL1a結合性タンパク質、核酸、発現構築物または細胞および適した担体を含む組成物を提供する。一例では、組成物は、本開示のTL1a結合性タンパク質および適した担体を含む。一例では、担体は、医薬上許容され、例えば、組成物は、医薬組成物である。

【0164】

本開示はまた、本開示のTL1a結合性タンパク質、核酸、発現構築物、細胞または組成物を、細胞、組織、臓器または対象に投与することを含む、細胞、組織、臓器または対象において、状態(例えば、TL1a媒介性状態)の症状を治療または防止する方法を提供する。一例では、本開示は、対象に、本開示のTL1a結合性タンパク質、核酸、発現構築物、細胞または組成物を投与することを含む、対象において、状態(例えば、TL1a媒介性状態)を治療または防止する方法を提供する。この関連で、状態を防止する方法は、多発性硬化症などの再発回復型を有する状態の再発を防止できる。例えば、回復の間にタンパク質が投与され、それによって再発を防止する。

【0165】

本開示はまた、対象に、本開示のTL1a結合性タンパク質、核酸、発現構築物、細胞または組成物を投与することを含む、対象において血管新生を誘導または増強する方法を提供する。

【0166】

本開示はまた、医薬における本開示のTL1a結合性タンパク質、核酸、発現構築物、細胞または組成物の使用を提供する。

【0167】

本開示はまた、状態(例えば、TL1a媒介性状態)の症状を治療または防止するための、または状態(例えば、TL1a媒介性状態)を治療または防止するための、または対象において血管新生を誘導または増強するための、薬物の製造または防止における、TL1a結合性タンパク質、核酸、発現構築物または細胞の使用を提供する。

【0168】

本開示はまた、対象において、状態(例えば、TL1a媒介性状態)の症状の治療もしくは防止において使用するために、または状態(例えば、TL1a媒介性状態)を治療もしくは防止するために、または血管新生を誘導もしくは増強するために、TL1a結合性タンパク質、核酸

10

20

30

40

50

、発現構築物または細胞を提供する。

【0169】

一例では、本開示の治療または予防の方法は、例えば、本明細書に記載された方法を実施することによって状態を診断することをさらに含む。

【0170】

一例では、本開示の治療または予防の方法は、対象におけるTL1aのレベルを検出することおよびTL1aのレベルが、十分に低減されない場合または状態と関連しないレベルに低減されない場合には、本開示のTL1a結合性タンパク質、核酸、発現構築物、細胞または組成物のさらなる用量を投与することをさらに含む。

【0171】

本開示はまた、細胞、組織、臓器または対象において、TL1aとDR3の相互作用を阻害する(また、一例では、TL1aとDcR3の相互作用を阻害しない)方法を提供し、方法は、細胞、組織、臓器または対象に、本開示のTL1a結合性タンパク質、核酸、発現構築物、細胞または組成物を投与することを含む。一例では、対象は、状態(例えば、TL1a媒介性状態)を患う。

10

【0172】

本開示はまた、サンプルにおいてTL1aを検出する方法を提供し、方法は、抗原-タンパク質複合体が形成するよう、サンプルを本開示のTL1a結合性タンパク質と接触させることと、複合体を検出することとを含み、複合体を検出することは、サンプル中のTL1aを示す。

20

【0173】

本開示はまた、対象においてTL1aを検出する方法を提供し、方法は、対象において本開示のTL1a結合性タンパク質を検出することを含み、タンパク質は、検出可能な標識とコンジュゲートされている。一例では、方法は、対象にタンパク質を投与することを含む。

【0174】

本開示はまた、対象においてTL1a媒介性状態を診断する方法を提供し、方法は、対象から得たサンプルにおいてTL1aを検出するための本開示の方法を実施することを含み、サンプル中のTL1aの検出は、TL1a媒介性状態を示す。

【0175】

一例では、方法は、サンプル中のTL1aのレベルを決定することを含み、対照サンプルと比較したサンプル中のTL1aのレベルの増大または低減が、TL1a媒介性状態を示す。

30

【0176】

一例では、例えば、書面または機械可読形式の、TL1aを検出するか、または状態を診断/予後診断する方法の結果が提供される。

【0177】

本開示はまた、TL1aを検出するか、または本開示の状態を診断/予後診断する方法の結果を得ることと、治療用または予防用組成物を投与することまたはこのような投与を推奨することとを含む方法を提供する。一例では、組成物は、本開示の組成物である。

【0178】

治療、防止、診断または予後診断されるべき例示的状态は、 T_H17 媒介性状態、炎症状態、自己免疫状態または不十分な血管新生と関連しているか、もしくはそれによって引き起こされる状態である。適した状態は、本明細書に記載されている。

40

【0179】

一例では、治療、防止、診断または予後診断されるべき状態は、自己免疫疾患である。例えば、状態は、ブドウ膜炎、潰瘍性大腸炎、クローン病、過敏性腸症候群、関節リウマチ、多発性関節炎、多発性硬化症、喘息または慢性閉塞性肺疾患である。

【0180】

一例では、状態は、大腸炎、例えば、潰瘍性大腸炎またはクローン病などの炎症性腸状態である。

【0181】

50

本開示はまた、複数のTL1a結合性タンパク質から、TL1aと特異的に結合し、TL1aとDR3の相互作用を阻害し、TL1aとDcR3の相互作用を阻害しないTL1a結合性タンパク質を選択する方法を提供し、方法は、

TL1a結合性タンパク質のムテインとの結合を可能にするのに十分な条件下で、複数のTL1a結合性タンパク質を、配列番号202のアミノ酸位置32のアルギニンがアラニンで置換されており、および/またはアミノ酸位置85のアルギニンがアラニンで置換されているTL1aムテインと接触させて、TL1a結合性タンパク質-TL1aムテイン複合体およびTL1aムテインと結合しない枯渴した複数のTL1a結合性タンパク質と形成することと、

枯渴した複数のTL1a結合性タンパク質から、TL1aムテインと結合しないTL1a結合性タンパク質を収集することとを含み、収集されたTL1a結合性タンパク質は、TL1aと特異的に結合し、TL1aとDR3の相互作用を阻害し、TL1aとDcR3の相互作用を阻害しない。

10

【0182】

本開示はまた、複数のTL1a結合性タンパク質から、TL1aと特異的に結合し、TL1aとDR3の相互作用を阻害し、TL1aとDcR3の相互作用を阻害しないTL1a結合性タンパク質を単離する方法を提供し、方法は、複数のTL1a結合性タンパク質から、配列番号202のアミノ酸位置32のアルギニンがアラニンで置換されており、および/またはアミノ酸位置85のアルギニンがアラニンで置換されているTL1aムテインとは結合しない、1種または複数のTL1a結合性タンパク質を単離することを含む。

【0183】

複数のTL1a結合性タンパク質が、ファージディスプレイ、リボソーム(riboosome)ディスプレイまたは酵母ディスプレイライブラリーなどの抗体または抗原結合ドメインのライブラリー中に存在し得る。複数のTL1a結合性タンパク質が、抗血清中に存在し得る。複数のTL1a結合性タンパク質が、ハイブリドーマ培養上清中に存在し得る。

20

【0184】

本開示はまた、アミノ酸位置32のアルギニンがアラニンで置換されており、および/またはアミノ酸位置85のアルギニンがアラニンで置換されている配列番号202に示される配列を含む単離ポリペプチドを提供する。

【図面の簡単な説明】

【0185】

【図1A】抗体の可変領域の配列を示す図表示のうち、ヒト抗TL1a抗体のV_H領域の配列を示す図である。四角で囲まれた領域は、カバット(Kabat)番号付けシステムおよび増強されたコチア(Chothia)番号付けシステムによって定義されるようなCDR(示されるように)を含有する。カバット(Kabat)番号付けシステムによって定義されるCDRは、太字で示されている。増強されたコチア(Chothia)番号付けシステムによって定義されるCDRは、下線が引かれている。

30

【図1B】抗体の可変領域の配列を示す図表示のうち、ヒト抗TL1a抗体のV_L領域の配列を示す図である。四角で囲まれた領域は、カバット(Kabat)番号付けシステムおよび増強されたコチア(Chothia)番号付けシステムによって定義されるようなCDR(示されるように)を含有する。カバット(Kabat)番号付けシステムによって定義されるCDRは、太字で示されている。増強されたコチア(Chothia)番号付けシステムによって定義されるCDRは、下線が引

40

【図1C】抗体の可変領域の配列を示す図表示のうち、抗TL1a抗体C320およびそのいくつかの誘導体のV_H領域の配列を示す図である。四角で囲まれた領域は、カバット(Kabat)番号付けシステムおよび増強されたコチア(Chothia)番号付けシステムによって定義されるようなCDR(示されるように)を含有する。カバット(Kabat)番号付けシステムによって定義されるCDRは、太字で示されている。増強されたコチア(Chothia)番号付けシステムによって定義されるCDRは、下線が引かれている。

【図1D】抗体の可変領域の配列を示す図表示のうち、C320のV_HCDR1、2および3がグラフトされている、選択されたヒト抗体のV_H配列のアラインメントを示す図である。図に示されているアラインメントにおいて、同一アミノ酸は、ピリオド、すなわち「.」によって

50

示されている。四角で囲まれた領域は、カバット(Kabat)番号付けシステムおよび増強されたコチア(Chothia)番号付けシステムによって定義されるようなCDR(示されるように)を含有する。カバット(Kabat)番号付けシステムによって定義されるCDRは、太字で示されている。増強されたコチア(Chothia)番号付けシステムによって定義されるCDRは、下線が引かれている。

【図1E】抗体の可変領域の配列を示す図表示のうち、C320の誘導体のV_H領域のコンセンサス配列を示す図である。図に示されているアラインメントにおいて、同一アミノ酸は、ピリオド、すなわち「.」によって示されている。四角で囲まれた領域は、カバット(Kabat)番号付けシステムおよび増強されたコチア(Chothia)番号付けシステムによって定義されるようなCDR(示されるように)を含有する。カバット(Kabat)番号付けシステムによって定義されるCDRは、太字で示されている。増強されたコチア(Chothia)番号付けシステムによって定義されるCDRは、下線が引かれている。

10

【図1F】抗体の可変領域の配列を示す図表示のうち、抗TL1a抗体C320およびその誘導体のV_L領域の配列を示す図である。図に示されているアラインメントにおいて、同一アミノ酸は、ピリオド、すなわち「.」によって示されている。四角で囲まれた領域は、カバット(Kabat)番号付けシステムおよび増強されたコチア(Chothia)番号付けシステムによって定義されるようなCDR(示されるように)を含有する。カバット(Kabat)番号付けシステムによって定義されるCDRは、太字で示されている。増強されたコチア(Chothia)番号付けシステムによって定義されるCDRは、下線が引かれている。

【図1G】抗体の可変領域の配列を示す図表示のうち、C320のV_L CDR1、2および3がグラフィートされている抗体のヒトV_L配列のアラインメントを示す図である。図に示されているアラインメントにおいて、同一アミノ酸は、ピリオド、すなわち「.」によって示されている。四角で囲まれた領域は、カバット(Kabat)番号付けシステムおよび増強されたコチア(Chothia)番号付けシステムによって定義されるようなCDR(示されるように)を含有する。カバット(Kabat)番号付けシステムによって定義されるCDRは、太字で示されている。増強されたコチア(Chothia)番号付けシステムによって定義されるCDRは、下線が引かれている。

20

【図1H】抗体の可変領域の配列を示す図表示のうち、C320の誘導体のV_L領域のコンセンサス配列を示す図である。図に示されているアラインメントにおいて、同一アミノ酸は、ピリオド、すなわち「.」によって示されている。四角で囲まれた領域は、カバット(Kabat)番号付けシステムおよび増強されたコチア(Chothia)番号付けシステムによって定義されるようなCDR(示されるように)を含有する。カバット(Kabat)番号付けシステムによって定義されるCDRは、太字で示されている。増強されたコチア(Chothia)番号付けシステムによって定義されるCDRは、下線が引かれている。

30

【図2】さまざまな抗TL1a抗体の、TF-1細胞のTL1a誘導性アポトーシスを阻害する能力を実証する効力アッセイの結果を示すグラフ表示である。TF-1細胞においてTL1a誘導性アポトーシスを阻害する能力について5 μg/mlの抗TL1a抗体をスクリーニングした。

【図3】高度に強力な抗TL1a抗体を同定するためのアッセイの結果のグラフ表示である。表された結果は、種々の濃度の試験抗体で達成されたTF-1細胞のTL1a誘導性アポトーシスの阻害のレベルを示す(試験された最大濃度5 μg/mL)。これらのレベルによって、TF-1細胞のTL1a誘導性アポトーシスの阻害について抗TL1a抗体のEC₅₀を決定することが可能となり、相対的な効力に基づく機能比較が可能となる。

40

【図4A】種々の濃度の試験抗体(試験した最大濃度25 μg/mL)で達成されたTL1aとDR3の相互作用の阻害のレベルを示すグラフ表示である。抗体C320、C321およびC323は、多数の濃度でTL1aとDR3の間の相互作用を阻害した。

【図4B】種々の濃度の試験抗体(試験された最大濃度25 μg/mL)で達成されたTL1aとDcR3の相互作用の阻害のレベルを示すグラフ表示である。抗体C320、C321およびC323は、10 μg/mL以下の抗体濃度ではTL1aとDcR3の間の相互作用を検出可能に阻害しなかった。

【図4C】種々の濃度の試験抗体(試験された最大濃度10 μg/mL)で達成されたTL1aとDR3の相互作用の阻害のレベルを示すグラフ表示である。抗体C320-0、C320-168およびC320-1

50

79は、多数の濃度でTL1aとDR3の間の相互作用を阻害した。抗体1B4およびC300-25は、比較目的で含まれている。

【図4D】種々の濃度の試験抗体(試験された最大濃度100 µg/mL)で達成されたTL1aとDcR3の相互作用の阻害のレベルを示すグラフ表示である。抗体C320-0、C320-168およびC320-179は、TL1aとDcR3の間の相互作用を検出可能に阻害しなかった。抗体1B4およびC300-25は、種々の濃度でTL1aとDcR3の間の相互作用を阻害し、比較目的で含まれている。

【図5A】種々の濃度の試験抗体の、可溶性ヒトTL1a(配列番号202;一番上のパネル)および残基32のアルギニンがアラニンで置換されている可溶性ヒトTL1a(R32Aムテイン、下のパネル)との結合を示す2つのグラフ表示を含む。抗体C320-0、C320-168およびC320-179はすべて、種々の濃度でTL1aと結合したが、R32AムテインTL1aとは結合しなかった。抗TL1a抗体1B4および16H2(US20090280116に記載されるような)は、種々の濃度でTL1aおよびR32AムテインTL1aの両方と結合した。アイソタイプ対照抗体は、いずれの形態のTL1aとも結合しなかった。

【図5B】種々の濃度の試験抗体の、残基85のアルギニンがアラニンで置換されている可溶性ヒトTL1a(R85Aムテイン、一番上のパネル)ならびに残基32および残基85のアルギニンがアラニンで置換されている可溶性ヒトTL1a(R32A+R85Aムテイン、下のパネル)との結合を示すグラフ表示である。抗体C320-0、C320-168およびC320-179は、R85AまたはR32A+R85AムテインTL1aのいずれかと結合しなかった。抗TL1a抗体1B4および16H2(US20090280116に記載されるような)は、種々の濃度でR85AまたはR32A+R85AムテインTL1aの両方と結合した。アイソタイプ対照抗体は、いずれの形態のTL1aとも結合しなかった。

【図5C】1 µg/mlの濃度の可溶性ヒトTL1a、R32AムテインTL1aおよびR85AムテインTL1aの、受容体DR3およびDcR3との結合を示すグラフ表示である。TL1aは、両受容体と同等に十分に結合した。R32AおよびR85AムテインTL1aは、TL1aが結合したのと同様の程度にDcR3と結合したが、TL1aのDcR3との結合のおよそ50%以下のレベルでDR3と結合した。

【図5D】は、残基R32およびR85が各モノマー上で黒色で強調された、三量体ヒトTL1a(PDB:3K51)(灰色)のX線結晶構造を表す図表示である。

【図6】抗体C320、C321、C323および1B4の、細胞表面TL1aと結合する能力を示すグラフ表示である。結合は、結果が平均蛍光強度(MFI)として示されるフローサイトメトリーを使用して評価した。アイソタイプ対照を除くすべての抗体が、TL1aと結合した。

【図7A】マイトジェン(コンカナバリンA)によって刺激された末梢血単核細胞(PBMC)による細胞表面TL1aの産生を示すグラフ表示である。影を付けたグラフは、アイソタイプ対照抗体を表し、線グラフは、キメララット/ヒト抗ヒトTL1aによって検出されたような細胞表面TL1aを表す。

【図7B】マイトジェン(コンカナバリンA)刺激が増大するにつれたPBMCにおいて分泌されるTL1aの産生の増大を示すグラフ表示である。

【図8A】抗TL1a抗体(試験された最大濃度50 µg/mL)の、内因性ヒトTL1aによって誘導されるインターフェロン(IFN- γ)産生を阻害する能力を示すグラフ表示である。内因性TL1aは、刺激されたPBMCによるサイトカイン産生を増強した。抗体C320およびC323は、IFN- γ の産生を阻害した。抗体1B4は、比較目的で含まれている。

【図8B】抗TL1a抗体(試験された最大濃度50 µg/mL)の、内因性ヒトTL1aによって誘導されたIL-13産生を阻害する能力を示すグラフ表示である。内因性TL1aは、刺激されたPBMCによるサイトカイン産生を増強した。抗体C320およびC323は、IL-13の産生を阻害した。抗体1B4は、比較目的で含まれている。

【図9A】最高相同性の生殖系列配列、IGLV1-40*01に対するC320の軽鎖配列のアラインメントを示す図表示である。任意の同一アミノ酸は、ピリオド、すなわち「.」によって示されている。CDR領域中のアミノ酸配列の相違が同定されている。

【図9B】本明細書において同定された抗体のV_H領域のアラインメントを示す図表示である。

【図9C】本明細書において同定された抗体のV_L領域のアラインメントを示す図表示である。

10

20

30

40

50

【図9D】C320-168、C320-163およびC320-170を比較する等電点電気泳動ゲルの結果を示す写真表示のコピーである。C320-163およびC320-170について可視化された1~2種のアイソフォームと比較して、C320-168は、5~6種の別個の荷電したアイソフォームを有する。

【図9E】種々の濃度(試験された最大濃度10 μ g/mL)の抗体C320-168、C320-179およびC320-183の、TF-1細胞のTL1a誘導性アポトーシスを中和する能力を示すグラフ表示である。抗体C320-0および1B4は、比較のために含まれている。すべての抗体が、複数の濃度でTF-1細胞のTL1a誘導性アポトーシスを阻害する。

【図10A】DNBS誘導性大腸炎後の日数における、ラットの潰瘍のある結腸の総面積(cm^2)を示すグラフ表示である。ラットは、0および4日目に抗体C320-168(10mg/kg)、ピヒクル(陰性対照)を用いて、または0日からの毎日のスルファサラジン(治療化合物の標準)を用いて処理した(各処理群の結果が示されている)。C320-168は、ピヒクル処理された動物と比較して平均潰瘍面積を、スルファサラジンと匹敵する程度に低減した。

【図10B】オキサザロン(oxazalone)誘導性大腸炎後の日数における、ラットの体重変化(g)を示すグラフ表示である。ラットは、0および4日目に抗体C320-168(10mg/kg)またはアイソタイプ対照(10mg/kg)を用いて、または0日からの毎日のスルファサラジン(SoC(5-ASA);治療化合物の標準)を用いて処理した(各処理群の結果が示されている)。C320-168は、アイソタイプ対照抗体と比較して体重減少を、スルファサラジンと匹敵する程度に回復させた。

【図10C】オキサザロン(oxazalone)誘導性大腸炎後の日数における、ラットの便の硬さ(DAI-疾患活性指数)を示すグラフ表示である。ラットは、0および4日目に抗体C320-168(10mg/kg)またはアイソタイプ対照(10mg/kg)を用いて、または0日からの毎日のスルファサラジン(SoC(5-ASA);治療化合物の標準)を用いて処理した(各処理群の結果が示されている)。C320-168は、アイソタイプ対照抗体と比較して、疾患の臨床徴候(便の硬さ)を改善した。

【図11A】デキストラン硫酸ナトリウム(DSS)誘導性大腸炎後の日数における、ラットの便の硬さ(DAI-疾患活性指数)を示すグラフ表示である。ラットは、疾患誘導の4日後から週に2回の抗体C320-168(10mg/kg)またはアイソタイプ対照(10mg/kg)を用いて、または疾患誘導の4日後から毎日のスルファサラジン(SoC(5-ASA);治療化合物の標準)を用いて処理した(各処理群の結果が示されている)。C320-168は、アイソタイプ対照抗体と比較して疾患の臨床徴候(便の硬さ)を、スルファサラジンと同様の程度に改善した。

【図11B】DSS誘導性大腸炎後の日数における、ラットの体重変化(%)を示すグラフ表示である。ラットは、疾患誘導の4日後から週に2回の抗体C320-168(10mg/kg)またはアイソタイプ対照(10mg/kg)を用いて、または疾患誘導の4日後から毎日のスルファサラジン(SoC(5-ASA);治療化合物の標準)を用いて処理した(各処理群の結果が示されている)。C320-168は、アイソタイプ対照抗体と比較して体重減少を、スルファサラジンと同様の程度に回復させた。

【図12】抗体の異なるTL1aアイソフォームとの結合を同定するためのELISAアッセイの結果を示すグラフ表示である。C320-168およびC320-179は両方とも、可溶性の切断されたTL1aの長い(72-251)および短い(84-251)アイソフォームと結合した。

【発明を実施するための形態】

【0186】

全般

本明細書を通じて、別に具体的に記載されない限り、または文脈から別のものが必要とされない限り、単一のステップ、組成物、ステップの群または組成物の群への言及は、それらのステップ、組成物、ステップの群または組成物の群のうち1つおよび複数(すなわち、1つまたは複数)を包含すると取られるものとする。したがって、本明細書において、単数形「a(1つの)」、「an(1つの)」および「the(その)」は、文脈から明確に別のものが指示されない限り、複数の態様を含む。例えば、「a(1つの)」への言及は、単一ならびに2以上を含み、「an(1つの)」への言及は、単一ならびに2以上を含み、「the(その)」への言及は、単一ならびに2以上を含むなど。

10

20

30

40

50

【0187】

本明細書に記載された本開示の各例は、特に断りのない限り、変更すべきところは変更して、各例およびどの例にも適用されなければならない。

【0188】

当業者には理解されるであろうが、本明細書の開示は、具体的に記載されるもの以外の変法および改変を受け入れる余地がある。本開示は、すべてのこのような変法および改変を含むということは理解されなければならない。本開示はまた、個別にか、またはまとめて、本明細書において言及されるか、または示されるステップ、特徴、組成物および化合物のすべてならびにありとあらゆる組成物または前記のステップもしくは特徴のうち2つ以上を含む。

10

【0189】

本開示は、単に例示目的のために意図される、本明細書に記載された特定の例による範囲に限定されてはならない。機能的に同等な生成物、組成物および方法は明確に、本明細書に記載されるような本開示の範囲内にある。

【0190】

本開示は、特に断りのない限り、分子生物学、微生物学、ウイルス学、組換えDNA技術、溶液中でのペプチド合成、固相ペプチド合成および免疫学の従来技術を使用して、過度の実験を行うことなく実施される。このような手順は、例えば、Sambrook、Fritsch & Maniatis、*Molecular Cloning: A Laboratory Manual*、Cold Spring Harbor Laboratories、New York、Second Edition (1989年)、I、IIおよびIII巻の全部; Benny K.C.Lo、*Antibody Engineering: Methods and Protocols*、(2004年) Humana Press、248巻; *DNA Cloning: A Practical Approach*、IおよびII巻(D. N. Glover編、1985年)、IRL Press、Oxford、本文全部; *Oligonucleotide Synthesis: A Practical Approach* (M. J. Gait編、1984年) IRL Press、Oxford、本文全部および特に、Gaitによるpp1-22; Atkinsonらによるpp35-81; Sproatらによるpp83-115; およびWuらによるpp135-151; 4. *Nucleic Acid Hybridization: A Practical Approach* (B. D. Hames & S. J. Higgins編、1985年) IRL Press、Oxford、本文全部; *Immobilized Cells and Enzymes: A Practical Approach* (1986年) IRL Press、Oxford、本文全部; Perbal、B.、*A Practical Guide to Molecular Cloning* (1984年); *Methods In Enzymology* (S. ColowickおよびN. Kaplan編、Academic Press、Inc.)、シリーズ全部; J.F. Ramalho Ortigao、「The Chemistry of Peptide Synthesis」In: Knowledge database of Access to Virtual Laboratory website (Interactiva、Germany); Sakakibara *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 73: 336~342頁、1976年; Merrifield J. *Am. Chem. Soc.* 85: 2149~2154頁、1963年; BaranyおよびMerrifield (1979年) in *The Peptides* (Gross、E. およびMeienhofer、J. 編)、2巻、1~284頁、Academic Press、New York. 12. Wunsch、E. 編(1974年) *Synthese von Peptiden in Houben-Weyls Methoden der Organischen Chemie* (Muler、E. 編)、15巻、第4版、第1部および第2部、Thieme、Stuttgart; Bodanszky、M. (1984年) *Principles of Peptide Synthesis*、Springer-Verlag、Heidelberg; Bodanszky、M. & Bodanszky、A. (1984年) *The Practice of Peptide Synthesis*、Springer-Verlag、Heidelberg; Bodanszky *Int. J. Peptide Protein Res.* 25: 449~474頁、1985年; *Handbook of Experimental Immunology*、I~IV巻(D. M. WeirおよびC. C. Blackwell編、1986年、Blackwell Scientific Publications); ならびに *Animal Cell Culture: Practical Approach*、第3版(John R. W. Masters編、2000年)、ISBN 0199637970、本文全部に記載されている。

20

30

40

【0191】

用語「および/または」、例えば、「Xおよび/またはY」は、「XおよびY」または「XまたはY」のいずれかを意味すると理解されなければならない、両方の意味またはいずれかの意味への明確な支持を提供するととられなければならない。

【0192】

本明細書を通じて、語句「含む(comprise)」または「含む(comprises)」もしくは「含んでいる(comprising)」などの変形は、記載された要素、整数もしくはステップまたは要

50

素、整数もしくはステップの群を含むが、任意のその他の要素、整数もしくはステップまたは要素、整数もしくはステップの群を排除しないことを暗示すると理解される。

【0193】

配列表の番号一覧

配列番号1:N末端HISおよびFLAGタグを有するヒトTL1a細胞外ドメインのアミノ酸配列

配列番号2:C336 V_Hのアミノ酸配列

配列番号3:C336 HCDR1のアミノ酸配列

配列番号4:C336 HCDR2のアミノ酸配列

配列番号5:C336 HCDR3のアミノ酸配列

配列番号6:C336 V_Lのアミノ酸配列

10

配列番号7:C336 LCDR1のアミノ酸配列

配列番号8:C336 LCDR2のアミノ酸配列

配列番号9:C336 LCDR3のアミノ酸配列

配列番号10:C334 V_Hのアミノ酸配列

配列番号11:C334 HCDR1のアミノ酸配列

配列番号12:C334 HCDR2のアミノ酸配列

配列番号13:C334 HCDR3のアミノ酸配列

配列番号14:C334 V_Lのアミノ酸配列

配列番号15:C334 LCDR1のアミノ酸配列

配列番号16:C334 LCDR2のアミノ酸配列

20

配列番号17:C334 LCDR3のアミノ酸配列

配列番号18:C333 V_Hのアミノ酸配列

配列番号19:C333 HCDR1のアミノ酸配列

配列番号20:C333 HCDR2のアミノ酸配列

配列番号21:C333 HCDR3のアミノ酸配列

配列番号22:C333 V_Lのアミノ酸配列

配列番号23:C333 LCDR1のアミノ酸配列

配列番号24:C333 LCDR2のアミノ酸配列

配列番号25:C333 LCDR3のアミノ酸配列

配列番号26:C323 V_Hのアミノ酸配列

30

配列番号27:C323 HCDR1のアミノ酸配列

配列番号28:C323 HCDR2のアミノ酸配列

配列番号29:C323 HCDR3のアミノ酸配列

配列番号30:C323 V_Lのアミノ酸配列

配列番号31:C323 LCDR1のアミノ酸配列

配列番号32:C323 LCDR2のアミノ酸配列

配列番号33:C323 LCDR3のアミノ酸配列

配列番号34:C321 V_Hのアミノ酸配列

配列番号35:C321 HCDR1のアミノ酸配列

配列番号36:C321 HCDR2のアミノ酸配列

40

配列番号37:C321 HCDR3のアミノ酸配列

配列番号38:C321 V_Lのアミノ酸配列

配列番号39:C321 LCDR1のアミノ酸配列

配列番号40:C321 LCDR2のアミノ酸配列

配列番号41:C321 LCDR3のアミノ酸配列

配列番号42:C320 V_Hのアミノ酸配列

配列番号43:C320 HCDR1のアミノ酸配列

配列番号44:C320 HCDR2のアミノ酸配列

配列番号45:C320 HCDR3のアミノ酸配列

配列番号46:C320 V_Lのアミノ酸配列

50

配列番号47:C320 LCDR1のアミノ酸配列	
配列番号48:C320 LCDR2のアミノ酸配列	
配列番号49:C320 LCDR3のアミノ酸配列	
配列番号50:C319 V_H のアミノ酸配列	
配列番号51:C319 HCDR1のアミノ酸配列	
配列番号52:C319 HCDR2のアミノ酸配列	
配列番号53:C319 HCDR3のアミノ酸配列	
配列番号54:C319 V_L のアミノ酸配列	
配列番号55:C319 LCDR1のアミノ酸配列	
配列番号56:C319 LCDR2のアミノ酸配列	10
配列番号57:C319 LCDR3のアミノ酸配列	
配列番号58:C320-3 V_H のアミノ酸配列	
配列番号59:C320-3 HCDR1のアミノ酸配列	
配列番号60:C320-3 HCDR2のアミノ酸配列	
配列番号61:C320-3 HCDR3のアミノ酸配列	
配列番号62:C320-5 V_L のアミノ酸配列	
配列番号63:C320-5 LCDR1のアミノ酸配列	
配列番号64:C320-5 LCDR2のアミノ酸配列	
配列番号65:C320-5 LCDR3のアミノ酸配列	
配列番号66:C320-90 V_H のアミノ酸配列	20
配列番号67:C320-90 HCDR1のアミノ酸配列	
配列番号68:C320-90 HCDR2のアミノ酸配列	
配列番号69:C320-90 HCDR3のアミノ酸配列	
配列番号70:C320-103 V_H のアミノ酸配列	
配列番号71:C320-103 HCDR1のアミノ酸配列	
配列番号72:C320-103 HCDR2のアミノ酸配列	
配列番号73:C320-103 HCDR3のアミノ酸配列	
配列番号74:C320-114 V_H のアミノ酸配列	
配列番号75:C320-114 HCDR1のアミノ酸配列	
配列番号76:C320-114 HCDR2のアミノ酸配列	30
配列番号77:C320-114 HCDR3のアミノ酸配列	
配列番号78:C320-115 V_H のアミノ酸配列	
配列番号79:C320-115 HCDR1のアミノ酸配列	
配列番号80:C320-115 HCDR2のアミノ酸配列	
配列番号81:C320-115 HCDR3のアミノ酸配列	
配列番号82:C320-120 V_L のアミノ酸配列	
配列番号83:C320-120 LCDR1のアミノ酸配列	
配列番号84:C320-120 LCDR2のアミノ酸配列	
配列番号85:C320-120 LCDR3のアミノ酸配列	
配列番号86:C320-129 V_H のアミノ酸配列	40
配列番号87:C320-129 HCDR1のアミノ酸配列	
配列番号88:C320-129 HCDR2のアミノ酸配列	
配列番号89:C320-129 HCDR3のアミノ酸配列	
配列番号90:C320-130 V_H のアミノ酸配列	
配列番号91:C320-130 HCDR1のアミノ酸配列	
配列番号92:C320-130 HCDR2のアミノ酸配列	
配列番号93:C320-130 HCDR3のアミノ酸配列	
配列番号94:C320および誘導体の V_H コンセンサス配列のアミノ酸配列	
配列番号95:C320および誘導体の V_L コンセンサス配列のアミノ酸配列	
配列番号96:C336の V_H をコードするヌクレオチド配列	50

配列番号97:C336のV _L をコードするヌクレオチド配列	
配列番号98:C334のV _H をコードするヌクレオチド配列	
配列番号99:C334のV _L をコードするヌクレオチド配列	
配列番号100:C333のV _H をコードするヌクレオチド配列	
配列番号101:C333のV _L をコードするヌクレオチド配列	
配列番号102:C323のV _H をコードするヌクレオチド配列	
配列番号103:C323のV _L をコードするヌクレオチド配列	
配列番号104:C321のV _H をコードするヌクレオチド配列	
配列番号105:C321のV _L をコードするヌクレオチド配列	
配列番号106:C320のV _H をコードするヌクレオチド配列	10
配列番号107:C320のV _L をコードするヌクレオチド配列	
配列番号108:C319のV _H をコードするヌクレオチド配列	
配列番号109:C319のV _L をコードするヌクレオチド配列	
配列番号110:C320-3のV _H をコードするヌクレオチド配列	
配列番号111:C320-5のV _L をコードするヌクレオチド配列	
配列番号112:C320-90のV _H をコードするヌクレオチド配列	
配列番号113:C320-103のV _H をコードするヌクレオチド配列	
配列番号114:C320-114のV _H をコードするヌクレオチド配列	
配列番号115:C320-115のV _H をコードするヌクレオチド配列	
配列番号116:C320-120のV _L をコードするヌクレオチド配列	20
配列番号117:C320-129のV _H をコードするヌクレオチド配列	
配列番号118:C320-130のV _H をコードするヌクレオチド配列	
配列番号119:ヒト化抗体1B4のV _H のアミノ酸配列	
配列番号120:ヒト化抗体1B4のV _L のアミノ酸配列	
配列番号121:ヒト化抗体1B4のV _H をコードするヌクレオチド配列	
配列番号122:ヒト化抗体1B4のV _L をコードするヌクレオチド配列	
配列番号123:ヒトTL1aのアミノ酸配列(2011年5月8日現在でGenBank遺伝子受託番号9966に由来する)	
配列番号124:マウスTL1a細胞外ドメインのアミノ酸配列	
配列番号125:カニクイザル/アカゲザルTL1a細胞外ドメインのアミノ酸配列	30
配列番号126:ラットTL1a細胞外ドメインのアミノ酸配列	
配列番号127:ウサギTL1a細胞外ドメインのアミノ酸配列	
配列番号128:モルモットTL1a細胞外ドメインのアミノ酸配列	
配列番号129:ヒト細胞死受容体3のアミノ酸配列(2011年5月8日現在でGenBank遺伝子受託番号8718に由来する)	
配列番号130:ヒトデコイ受容体3のアミノ酸配列(2011年5月8日現在でGenBank遺伝子受託番号8771に由来する)	
配列番号131:TL1aの領域の配列	
配列番号132:TL1aの領域の配列	
配列番号133:TL1aの領域の配列	40
配列番号134:ヒトIgG1 Fc領域のアミノ酸配列	
配列番号135:ヒト 定常領域のアミノ酸配列	
配列番号136:ヒト 定常領域のアミノ酸配列	
配列番号137:C320および誘導体のV _H コンセンサス配列のアミノ酸配列	
配列番号138:C320および誘導体のV _L コンセンサス配列のアミノ酸配列	
配列番号139:C320および誘導体のLCDR1コンセンサス配列のアミノ酸配列	
配列番号140:C320および誘導体のLCDR2コンセンサス配列のアミノ酸配列	
配列番号141:C320および誘導体のLCDR3コンセンサス配列のアミノ酸配列	
配列番号142:C320および誘導体のHCDR2コンセンサス配列のアミノ酸配列	
配列番号143:C320および誘導体のHCDR3コンセンサス配列のアミノ酸配列	50

- 配列番号144:C320および誘導体のHFR1コンセンサス配列のアミノ酸配列
 配列番号145:C320および誘導体のHFR2コンセンサス配列のアミノ酸配列
 配列番号146:C320および誘導体のHFR3コンセンサス配列のアミノ酸配列
 配列番号147:C320および誘導体のHFR4コンセンサス配列のアミノ酸配列
 配列番号148:C320および誘導体のLFR1コンセンサス配列のアミノ酸配列
 配列番号149:C320および誘導体のLFR2コンセンサス配列のアミノ酸配列
 配列番号150:C320および誘導体のLFR3コンセンサス配列のアミノ酸配列
 配列番号151:C320および誘導体のLFR4コンセンサス配列のアミノ酸配列
 配列番号152:C320および誘導体のV_Hコンセンサス配列のアミノ酸配列
 配列番号153:C320および誘導体のV_Lコンセンサス配列のアミノ酸配列 10
 配列番号154:抗体1TZGのFR上にグラフトされたC320由来のCDRを含むV_Hのアミノ酸配列
 。
 配列番号155:抗体1RHHのFR上にグラフトされたC320由来のCDRを含むV_Hのアミノ酸配列
 。
 配列番号156:抗体2DD8のFR上にグラフトされたC320由来のCDRを含むV_Hのアミノ酸配列
 。
 配列番号157:抗体2JB5のFR上にグラフトされたC320由来のCDRを含むV_Hのアミノ酸配列
 。
 配列番号158:抗体3FKUのFR上にグラフトされたC320由来のCDRを含むV_Hのアミノ酸配列 20
 。
 配列番号159:抗体3GBMのFR上にグラフトされたC320由来のCDRを含むV_Hのアミノ酸配列
 。
 配列番号160:抗体3LMJのFR上にグラフトされたC320由来のCDRを含むV_Hのアミノ酸配列
 。
 配列番号161:抗体3P30のFR上にグラフトされたC320由来のCDRを含むV_Hのアミノ酸配列
 。
 配列番号162:C320および誘導体のV_Hコンセンサス配列のアミノ酸配列
 配列番号163:抗体1RHHのFR上にグラフトされたC320由来のCDRを含むV_Lのアミノ酸配列
 。
 配列番号164:抗体1TZGLのFR上にグラフトされたC320由来のCDRを含むV_Lのアミノ酸配列 30
 。
 配列番号165:抗体2DD8のFR上にグラフトされたC320由来のCDRを含むV_Lのアミノ酸配列
 。
 配列番号166:抗体2JB5のFR上にグラフトされたC320由来のCDRを含むV_Lのアミノ酸配列
 。
 配列番号167:抗体3FKUのFR上にグラフトされたC320由来のCDRを含むV_Lのアミノ酸配列
 。
 配列番号168:抗体3GBMのFR上にグラフトされたC320由来のCDRを含むV_Lのアミノ酸配列
 。
 配列番号169:抗体3LMJのFR上にグラフトされたC320由来のCDRを含むV_Lのアミノ酸配列 40
 。
 配列番号170:抗体3P30のFR上にグラフトされたC320由来のCDRを含むV_Lのアミノ酸配列
 。
 配列番号171:抗体3IYWのFR上にグラフトされたC320由来のCDRを含むV_Lのアミノ酸配列
 。
 配列番号172:C320および誘導体のV_Lコンセンサス配列のアミノ酸配列
 配列番号173:C320および誘導体のV_Hコンセンサス配列のアミノ酸配列
 配列番号174:C320および誘導体のV_Lコンセンサス配列のアミノ酸配列
 配列番号175:抗体C320-162のV_Hのアミノ酸配列
 配列番号176:抗体C320-163のV_Hのアミノ酸配列 50

配列番号177:抗体C320-164のV _H のアミノ酸配列	
配列番号178:抗体C320-165のV _H のアミノ酸配列	
配列番号179:抗体C320-166のV _H のアミノ酸配列	
配列番号180:抗体C320-167のV _H のアミノ酸配列	
配列番号181:抗体C320-168のV _H のアミノ酸配列	
配列番号182:抗体C320-169のV _H のアミノ酸配列	
配列番号183:抗体C320-170のV _H のアミノ酸配列	
配列番号184:抗体C320-171のV _H のアミノ酸配列	
配列番号185:抗体C320-172のV _H のアミノ酸配列	
配列番号186:抗体C320-179のV _H のアミノ酸配列	10
配列番号187:抗体C320-183のV _H のアミノ酸配列	
配列番号188:抗体C320-162のV _L のアミノ酸配列	
配列番号189:抗体C320-163のV _L のアミノ酸配列	
配列番号190:抗体C320-164のV _L のアミノ酸配列	
配列番号191:抗体C320-165のV _L のアミノ酸配列	
配列番号192:抗体C320-166のV _L のアミノ酸配列	
配列番号193:抗体C320-167のV _L のアミノ酸配列	
配列番号194:抗体C320-168のV _L のアミノ酸配列	
配列番号195:抗体C320-169のV _L のアミノ酸配列	
配列番号196:抗体C320-170のV _L のアミノ酸配列	20
配列番号197:抗体C320-171のV _L のアミノ酸配列	
配列番号198:抗体C320-172のV _L のアミノ酸配列	
配列番号199:抗体C320-179のV _L のアミノ酸配列	
配列番号200:抗体C320-183のV _L のアミノ酸配列	
配列番号201:生殖系列配列 IGLV1-40*1のアミノ酸配列	
配列番号202:可溶性ヒトTL1aのアミノ酸配列	
配列番号203:C320のV _H 中のN結合型グリコシル化部位のアミノ酸配列	
配列番号204:C320のV _H 中のN結合型グリコシル化部位に対応する1TZGのV _H に由来するアミノ酸配列	
配列番号205:C320-168のV _H に由来するペプチドのアミノ酸配列	30
配列番号206:C320-168のV _L に由来するペプチドのアミノ酸配列	
配列番号207:インフルエンザペプチドのアミノ酸配列	
配列番号208:C320-168のV _L に由来する突然変異体ペプチドのアミノ酸配列	
配列番号209:C320-168のV _L に由来する突然変異体ペプチドのアミノ酸配列	
配列番号210:C320-168のV _L に由来する突然変異体ペプチドのアミノ酸配列	
配列番号211:C320-168のV _L に由来する突然変異体ペプチドのアミノ酸配列	
配列番号212:C320-168のV _L に由来する突然変異体ペプチドのアミノ酸配列	
配列番号213:C320-168のV _L に由来する突然変異体ペプチドのアミノ酸配列	
配列番号214:C320-168のV _L に由来する突然変異体ペプチドのアミノ酸配列	
配列番号215:C320-168のV _L に由来する突然変異体ペプチドのアミノ酸配列	40
配列番号216:C320-168のV _L に由来する突然変異体ペプチドのアミノ酸配列	
配列番号217:C320-168のV _L に由来する突然変異体ペプチドのアミノ酸配列	
配列番号218:C320-168のV _L に由来する突然変異体ペプチドのアミノ酸配列	
配列番号219:C320-168のV _L に由来する突然変異体ペプチドのアミノ酸配列	
配列番号220:C320-168のV _L に由来する突然変異体ペプチドのアミノ酸配列	
配列番号221:C320-168のV _L に由来する突然変異体ペプチドのアミノ酸配列	
配列番号222:抗体C320-162のV _H をコードするヌクレオチド配列	
配列番号223:抗体C320-163のV _H をコードするヌクレオチド配列	
配列番号224:抗体C320-164、C320-165、C320-166およびC320-167のV _H をコードするヌクレオチド配列	50

配列番号225: 抗体C320-168およびC320-169のV_Hをコードするヌクレオチド配列
 配列番号226: 抗体C320-170およびC320-172のV_Hをコードするヌクレオチド配列
 配列番号227: 抗体C320-179およびC320-183のV_Hをコードするヌクレオチド配列
 配列番号228: 抗体C320-162、C320-163、C320-167およびC320-169のV_Lをコードするヌクレオチド配列
 配列番号229: 抗体C320-164のV_Lをコードするヌクレオチド配列
 配列番号230: 抗体C320-165、C320-168およびC320-170のV_Lをコードするヌクレオチド配列
 配列番号231: 抗体C320-166のV_Lをコードするヌクレオチド配列
 配列番号232: 抗体C320-172およびC320-179のV_Lをコードするヌクレオチド配列
 配列番号233: 抗体C320-183のV_Lをコードするヌクレオチド配列
 配列番号234: C320-13およびC320-22のアミノ酸配列
 配列番号235: C320および誘導体のHCDR3のコンセンサスのアミノ酸配列。

10

【0194】

選択された定義

命名法目的で、制限ではなく、ヒトTL1aのアミノ酸配列が、配列番号123に示されている。ヒトTL1aのさらなる配列は、Genbank遺伝子受託番号9966に示されている。したがって、一例では、ヒトTL1aのアミノ酸配列は、配列番号123に示される配列を含む。TL1aのその他のアイソフォームが記載されている: 72~251(配列番号123の位置72~251)、84~251(配列番号123の位置84~251); 101~251またはVEGI-174(配列番号123の位置101~251)および86~251またはVEGI-192(配列番号123中の位置86~251)。種々の種に由来するTL1aの細胞外ドメインの配列は、配列番号1(アミノ酸16~184; ヒト)、配列番号124(マウス)、配列番号125(カニクイザル/アカゲザル)、配列番号126(ラット)、配列番号127(ウサギ)および配列番号128(モルモット)に示される。TL1aは、一般に、対象においてホモ三量体を形成し、DR3を介してシグナルを送る。本開示の例示的TL1a結合性タンパク質は、その組換え型を含めたヒトTL1a(ヒトTL1aと本明細書において略された)と結合するか、または特異的に結合する。

20

【0195】

命名法目的で、制限ではなく、ヒトDR3の配列は、配列番号129に示されている。ヒトDR3のさらなる配列は、Genbank遺伝子受託番号8718に示されている。一例では、本開示によって包含されるDR3は、配列番号129に示される配列を含むヒトDR3である。

30

【0196】

命名法目的で、制限ではなく、ヒトDcR3の配列は、配列番号130に示されている。ヒトDcR3のさらなる配列は、Genbank遺伝子受託番号8771に示されている。一例では、本開示によって包含されるDcR3は、配列番号130に示される配列を含むヒトDcR3である。

【0197】

用語「単離タンパク質」または「単離ポリペプチド」は、その起源または誘導の供給源に基づいて、その天然状態では、付随する天然に会合している成分と会合していない; 同一供給源に由来するその他のタンパク質を実質的に含まないタンパク質またはポリペプチドを意味するものとする。タンパク質は、当技術分野で公知のタンパク質精製技術を使用する単離によって、天然に会合している成分を実質的に含まないように、または実質的に精製されるようにされ得る。「実質的に精製された」とは、タンパク質が、混入物質を実質的に含まない、例えば、混入物質を少なくとも約70%または75%または80%または85%または90%または95%または96%または97%または98%または99%含まないことを意味する。

40

【0198】

用語「組換え体」は、人為的遺伝子組換えの産物を意味すると理解されなければならない。したがって、抗原結合ドメインを含む組換えタンパク質との関連で、この用語は、B細胞成熟の際に起こる天然組換えの産物である、対象の身体内に天然に生じる抗体は包含しない。しかし、このような抗体が単離されると、抗原結合ドメインを含む単離タンパク質と考えられなければならない。同様に、タンパク質をコードする核酸が、組換え手段を

50

使用して単離および発現される場合には、得られたタンパク質は、抗体抗原結合ドメインを含む組換えタンパク質である。組換えタンパク質はまた、例えば、それが発現される細胞、組織または対象内にある場合に、人為的組換え手段によって発現されるタンパク質も包含する。

【0199】

用語「TL1a結合性タンパク質」は、本明細書において記載された、および/または特許請求された方法でTL1aと結合できる、単一ポリペプチド鎖(すなわち、ペプチド結合によって連結している、一連の連続するアミノ酸)または互いに共有結合によって、もしくは非共有結合によって連結している一連のポリペプチド鎖(すなわち、ポリペプチド複合体)を含むととられなければならない。例えば、一連のポリペプチド鎖は、適した化学結合またはジスルフィド結合を使用して共有結合によって連結され得る。非共有結合の例として、水素結合、イオン結合、ファンデルワールス力および疎水性相互作用が挙げられる。

10

【0200】

用語「ポリペプチド」または「ポリペプチド鎖」は、ペプチド結合によって連結している一連の連続するアミノ酸を意味すると前段落から理解される。

【0201】

本明細書において、用語「抗原結合ドメイン」は、抗原、すなわち、 V_H もしくは V_L 、または V_H および V_L の両方を含むFvと特異的に結合できる抗体の領域を意味するととられなければならない。抗原結合ドメインは、全抗体との関連にある必要はない、例えば、単離形態(例えば、ドメイン抗体)または例えば、scFvなどの本明細書に記載されるような別の形態であってもよい。

20

【0202】

本開示の目的上、用語「抗体」は、Fv内に含有される抗原結合ドメインによって、1種または少数の密接に関連している抗原(例えば、TL1a)と特異的に結合できるタンパク質を含む。この用語は、4鎖の抗体(例えば、2つの軽鎖および2つの重鎖)、組換え抗体または修飾された抗体(例えば、キメラ抗体、ヒト化抗体、ヒト抗体、CDRグラフト化抗体、霊長類化抗体、脱免疫化抗体、合成抗体、半抗体(half-antibody)、二重特異性抗体)を含む。抗体は、一般に、定常領域または定常断片または結晶化可能な断片(Fc)に配置され得る定常ドメインを含む。抗体の例示的形態は、その基本単位として4鎖構造を含む。全長抗体は、共有結合によって連結している2つの重鎖(約50~70kD)と、2つの軽鎖(各約23kDa)とを含む。軽鎖は、一般に、可変領域(存在する場合には)と、定常ドメインとを含み、哺乳類では、軽鎖または軽鎖のいずれかである。重鎖は、一般に、可変領域と、さらなる定常ドメインとヒンジ領域によって連結している1つまたは2つの定常ドメインとを含む。哺乳類の重鎖は、以下の種類、 μ 、 δ 、 γ 、 ϵ 、または μ のうち1つのものである。各軽鎖はまた、重鎖のうち1つと共有結合によって連結している。例えば、2つの重鎖および重鎖と軽鎖は、鎖間ジスルフィド結合によって、また非共有結合による相互作用によって一緒になっている。鎖間ジスルフィド結合の数は、種々の種類の抗体の間で変わり得る。各鎖は、N末端可変領域(各々が約110個のアミノ酸の長さである V_H または V_L)およびC末端に1つまたは複数の定常ドメインを有する。軽鎖の定常ドメイン(約110個のアミノ酸の長さである C_L)は、重鎖の第1の定常ドメイン(330~440個のアミノ酸の長さである C_H1)に対してアラインされ、ジスルフィド結合される。軽鎖可変領域は、重鎖の可変領域とアラインされる。抗体重鎖は、2以上のさらなる C_H ドメイン(例えば、 C_H2 、 C_H3 など)を含み得、 C_H1 および C_H2 定常ドメインの間にヒンジ領域を含み得る。抗体は、任意の種類(例えば、IgG、IgE、IgM、IgD、IgAおよびIgY)、クラス(例えば、IgG₁、IgG₂、IgG₃、IgG₄、IgA₁およびIgA₂)またはサブクラスのものであり得る。一例では、抗体は、ネズミ科動物(マウスまたはラット)の抗体または霊長類(ヒトなど)抗体である。一例では、抗体重鎖は、C末端リシン残基を失っている。一例では、抗体は、ヒト化されている、合成ヒト化されている、キメラ、CDRグラフト化または脱免疫化されている。

30

40

【0203】

本明細書において、「可変領域」とは、抗原と特異的に結合でき、相補性決定領域(CDR

50

)のアミノ酸配列;すなわち、CDR1、CDR2およびCDR3およびフレームワーク領域(FR)を含む、本明細書に定義されたような抗体の軽鎖および/または重鎖の部分を目指す。例えば、可変領域は、3つのCDRとともに、3または4つのFR(例えば、FR1、FR2、FR3および所望により、FR4)を含む。 V_H とは、重鎖の可変領域を目指す。 V_L とは、軽鎖の可変領域を目指す。

【0204】

本明細書において、用語「相補性決定領域」(別名CDR;すなわち、CDR1、CDR2およびCDR3)とは、その存在が、特定の抗原結合への主要な貢献者である抗体可変領域のアミノ酸残基を目指す。各可変領域ドメイン(V_H または V_L)は、通常、CDR1、CDR2およびCDR3として同定される3つのCDR領域を有する。一例では、CDRおよびFRに割り当てられるアミノ酸位置は、カバット(Kabat)Sequences of Protein of Immunological Interest、National Institutes of Health、Bethesda、Md.、1987年および1991年(本明細書において「カバット(Kabat)番号付けシステム」とも呼ばれる)に従って定義される。別の例では、CDRおよびFRに割り当てるアミノ酸位置は、増強されたコチア(Chothia)番号付けシステム(<http://www.bioinfo.org.uk/mdex.html>)に従って定義される。カバット(Kabat)Aの番号付けシステムによれば、 V_H FRおよびCDRは、以下のとおりに位置づけられる:残基1~30(FR1)、31~35(CDR1)、36~49(FR2)、50~65(CDR2)、66~94(FR3)、95~102(CDR3)および103~113(FR4)。カバット(Kabat)の番号付けシステムによれば、 V_L FRおよびCDRは、以下のとおりに位置づけられる:残基1~23(FR1)、24~34(CDR1)、35~49(FR2)、50~56(CDR2)、57~88(FR3)、89~97(CDR3)および98~107(FR4)。本開示は、カバット(Kabat)番号付けシステムによって定義されるようなFRおよびCDRに制限されず、カノニカル番号付けシステムまたはChothiaおよびLesk J. Mol. Biol. 196:901~917頁、1987年;Chothiaら、Nature 342: 877~883頁、1989年;および/またはAl-Lazikaniら、J. Mol. Biol. 273: 927~948頁、1997年のもの;HonnegherおよびPlukthun J. Mol. Biol. 309: 657~670頁、2001年の番号付けシステム;またはGiudicelliら、Nucleic Acids Res. 25: 206~211頁 1997年において論じられたIMGTシステムを含めたすべての番号付けシステムを含む。一例では、CDRは、カバット(Kabat)番号付けシステムに従って定義される。所望により、カバット(Kabat)番号付けシステムに従う重鎖CDR2は、本明細書において列挙された5個のC末端アミノ酸を含まないか、またはそれらのアミノ酸のうち任意の1つもしくは複数が、別の天然に生じるアミノ酸で置換される。さらなる、または代替の選択肢では、軽鎖CDR1は、本明細書において列挙された4個のN末端アミノ酸を含まないか、またはそれらのアミノ酸のうち任意の1つもしくは複数が、別の天然に生じるアミノ酸で置換される。この関連で、Padlanら、FASEB J.、9: 133~139頁、1995年は、重鎖CDR2の5個のC末端アミノ酸および/または軽鎖CDR1の4個のN末端アミノ酸は、一般に、抗原結合に関与していないことを確立した。

【0205】

「フレームワーク領域」(FR)は、CDR残基以外の可変領域残基である。

【0206】

本明細書において、用語「Fv」は、複数のポリペプチドからなるにせよ、単一のポリペプチドからなるにせよ、 V_L および V_H が会合し、抗原結合ドメインを有する、すなわち、抗原と特異的に結合できる複合体を形成する任意のタンパク質を意味するととらなければならない。抗原結合ドメインを形成する V_H および V_L は、単一ポリペプチド鎖にあり得るか、または異なるポリペプチド鎖にあり得る。さらに、本開示のFv(ならびに本開示の任意のタンパク質)は、同一抗原と結合する場合もしない場合もある複数の抗原結合ドメインを有し得る。この用語は、抗体に直接由来する断片ならびに組換え手段を使用して製造されたこのような断片に対応するタンパク質を包含すると理解されなければならない。いくつかの例では、 V_H は、重鎖定常ドメイン(C_H)1と連結されていない、および/または V_L は、軽鎖定常ドメイン(C_L)と連結されていない。ポリペプチドまたはタンパク質を含有する例示的Fvとして、Fab断片、Fab'断片、F(ab')断片、scFv、ダイアボディー、トリアボディー、テトラボディーまたは高次複合体または定常領域もしくはそのドメイン、例えば、 C_H 2もしくは C_H 3ドメインと連結している以上のもののいずれか、例えば、ミニボディーが挙げられる。「Fab断片」は、抗体の一価抗原結合断片からなり、無傷の軽鎖および重鎖の

一部からなる断片が得られるよう酵素パピンをを用いる全抗体の消化によって製造され得るか、または組換え手段を使用して製造され得る。抗体の「Fab'断片」は、無傷の軽鎖と、 V_H および単一定常ドメインを含む重鎖の一部からなる分子が得られるよう、ペプシンを用いて全抗体を処理することと、続いて還元することによって得ることができる。この方法で処理された抗体あたり、2つのFab'断片が得られる。Fab'断片はまた、組換え手段によって製造され得る。抗体の「F(ab')₂断片」は、2つのジスルフィド結合によって一緒になっている2つのFab'断片の二量体からなり、酵素ペプシンを用いて全抗体分子を処理し、その後の還元は行わないことによって得られる。「Fab₂」断片は、例えば、ロイシンジッパーまたは C_H3 ドメインを使用して連結している2つのFab断片を含む組換え断片である。「一本鎖Fv」または「scFv」は、軽鎖の可変領域および重鎖の可変領域が、適した、柔軟なポリペプチドリンカーによって共有結合によって連結している抗体の可変領域断片(Fv)を含有する組換え分子である。

10

【0207】

本明細書において、用語「結合する」とは、TL1a結合性タンパク質またはその抗原結合ドメインの抗原との相互作用に関連して、相互作用が、抗原上の特定の構造(例えば、抗原決定基またはエピトープ)の存在に依存していることを意味する。例えば、抗体は、タンパク質を全般的にではなく、特定のタンパク質構造を認識し、結合する。抗体が、エピトープ「A」と結合する場合には、標識された「A」および抗体を含有する反応物中のエピトープ「A」を含有する分子(または遊離の標識されていない「A」)の存在は、抗体と結合している標識された「A」の量を低減させる。

20

【0208】

本明細書において、用語「特異的に結合する(specifically binds)」または「特異的に結合する(binds specifically)」は、本開示のタンパク質は、特定の抗原またはそれを発現する細胞と、別の抗原または細胞と反応または会合するよりも頻繁に、より迅速に、より長い期間および/またはより高い親和性で反応または会合することを意味するととらなければならない。例えば、ある抗原と特異的に結合するタンパク質は、その抗原と、その他の抗原と結合するよりも大きな親和性、結合力で、より迅速に、および/またはより長い期間結合する。例えば、あるタンパク質は、TL1a(例えば、ヒトTL1a)と、その他のTNFスーパーファミリーリガンドと、または多反応性天然抗体によって(すなわち、ヒトにおいて天然に見られる種々の抗原と結合するとわかっている天然に存在する抗体によって)よく認識される抗原と結合するよりも実質的により大きな親和性で結合する。例えば、第1の抗原と特異的に結合するタンパク質は、第2の抗原と特異的に結合する場合も特異的に結合しない場合もあるということも、この定義を読み取ることによって理解される。そのようなものとして「特異的結合」は、排他的な結合または別の抗原の検出可能でない結合を必ずしも必要とせず、これは、用語「選択的結合」によって意味される。一例では、本開示のTL1a結合性タンパク質の抗原との「特異的結合」とは、タンパク質が、50nM以下などの100nM以下、例えば、15nM以下または10nM以下または5nM以下などの20nM以下の平衡定数(K_D)で抗原と結合することを意味する。

30

【0209】

本明細書において、用語「検出可能に結合しない」とは、TL1a結合性タンパク質、例えば、抗体が、バックグラウンドを超えて20%または10%または6%または5%未満のレベルで候補抗原と結合することを意味すると理解されなければならない。バックグラウンドは、TL1a結合性タンパク質の不在下で、および/または陰性対照タンパク質(例えば、アイソタイプ対照抗体)の存在下で検出される結合シグナルのレベルおよび/または陰性対照抗原の存在下で検出される結合のレベルであり得る。結合のレベルは、例えば、抗原が固定化され、TL1a結合性タンパク質と接触されるELISAを使用して検出される。

40

【0210】

本明細書において、用語「エピトープ」(別名「抗原決定基」)は、抗体の抗原結合ドメインを含むタンパク質が結合するTL1aの領域を意味すると理解されなければならない。この用語は、タンパク質が接触する特定の残基または構造に必ずしも制限されない。例えば

50

、この用語は、タンパク質によって接触されるアミノ酸および/またはこの領域の外側の少なくとも5~10個または2~5個または1~3個のアミノ酸に広がる領域を含む。いくつかの例では、エピトープは、直鎖の一連のアミノ酸である。エピトープはまた、TL1aがフォールディングされると互いに近接して位置する一連の不連続のアミノ酸、すなわち「立体構造エピトープ」を含む場合もある。当業者ならばまた、用語「エピトープ」は、ペプチドまたはポリペプチドに制限されないということは承知するであろう。例えば、用語「エピトープ」は、糖側鎖、ホスホリル側鎖またはスルホニル側鎖などの分子の化学的に活性な表面基を含み、特定の例では、特定の三次元構造特徴および/または電荷特徴を有し得る。エピトープまたはエピトープを含むペプチドまたはポリペプチドは、エピトープに対する抗体を作製するために動物に投与され得る。

10

【0211】

本明細書において、用語「TL1aとDR3相互作用を阻害する」とは、TL1aとDR3の結合を測定するアッセイにおいて、約13nM未満、例えば、約7nM未満、例えば、約5nM未満、例えば、約3nM未満などの約10nM未満のタンパク質が、結合の50%を阻害できる(すなわち、EC₅₀を有する)ことを意味すると理解されなければならない。

【0212】

本明細書において、用語「TL1aとDcR3の相互作用を阻害しない」とは、本明細書に記載されたTL1a結合性タンパク質は、TL1aとDcR3の相互作用を阻害しない(すなわち、例えば、本明細書に記載されたELISAアッセイを使用して、相互作用がもはや検出可能ではないような)ことを意味すると理解される。例えば、100 µg/mlの濃度で、タンパク質は、TL1aとDcR3の相互作用を完全に阻害しない。いくつかの例では、タンパク質は、例えば、10 µg/mlまたは100 µg/mlの濃度で試験された場合に、TL1aとDcR3の相互作用を約20%または15%または10%未満低減する。

20

【0213】

本明細書において、用語「検出可能に低減しない」とは、本明細書に記載されたタンパク質が、10 µg/mlまたは100 µg/mlの濃度で試験された場合に、TL1a(またはそのビオチン化形態)のDcR3との結合を、タンパク質の不在下での相互作用のレベルを超えて、またはバックグラウンド相互作用のレベルを超えて、20%または8%または6%または5%または4%または3%または2%以下に低減することを意味すると理解されなければならない。バックグラウンドは、タンパク質の不在下で、および/または陰性対照タンパク質(例えば、アイソタイプ対照抗体)の存在下で検出された結合シグナルのレベルであり得る。

30

【0214】

本明細書において、用語「中和する」は、TL1a結合性タンパク質が、細胞におけるTL1a媒介性活性を低減または防止できることを意味するととらなければならない。中和を決定する方法は、当技術分野で公知である、および/または本明細書に記載されている。例えば、TF-1細胞を、TL1a結合性タンパク質の存在下または不在下で、ヒトTL1a(例えば、哺乳類細胞によって発現された)などのTL1aおよびシクロヘキシミドと接触させる。タンパク質の不在下でのレベルと比較して、細胞のアポトーシスのレベルを低下させるTL1a結合性タンパク質は、TL1a活性を「中和する」と考えられる。

【0215】

本明細書において、用語「状態」とは、正常な機能の破壊または干渉を指し、任意の特定の状態に制限されず、疾患または障害を含む。

40

【0216】

本明細書において、「TL1a関連状態」とは、TL1aまたはTL1aを発現する細胞によって引き起こされるか、またはそれと関連している任意の状態を指す。当業者ならば、本明細書の開示に基づいて、および/または本明細書に記載されるようなTL1a関連状態を診断するためのアッセイを実施することによって、このような状態を容易に決定できる。この関連で、いくつかの例では、状態は、炎症状態、自己免疫状態および血管新生を増強することによって治療され得る状態である。例示的状态の説明は本明細書に含まれている。

【0217】

50

本明細書において、用語「防止すること(preventing)」、「防止する(prevent)」または「防止(prevention)」は、本開示のタンパク質を投与し、それによって、状態の少なくとも1種の症状の発生を停止するか、または妨げることを含む。この用語はまた、再発を防止するか、または妨げるための、緩解における対象の治療を包含する。例えば、再発寛解型多発性硬化症を患っている対象が、それによって再発を防止するために緩解の間に治療される。

【0218】

本明細書において、用語「治療すること(treating)」、「治療する(treat)」または「治療(treatment)」は、本明細書に記載されたタンパク質を投与し、それによって、特定の疾患または状態の少なくとも1種の症状を低減または排除することを含む。

10

【0219】

本明細書において、用語「対象」は、哺乳類などの任意の動物を意味するととられなければならない。一例では、哺乳類は、ヒトまたは非ヒト霊長類である。一例では、哺乳類は、ヒトである。

【0220】

「サンプル」への本明細書における言及は、それだけには限らないが、体液(例えば、血液または血清もしくは血漿などの血液画分、涙、尿、滑液または脳脊髄液)、細胞物質(例えば、組織吸引物)、組織生検試料または外科的試料などの対象に由来する任意のサンプルへの言及と理解されなければならない。いくつかの例では、「サンプル」は、血清、血漿、PBMCまたはパフィーコート画分のうち任意の1種または複数である。

20

【0221】

本明細書において、用語「診断」およびそれだけには限らないが、「診断する(diagnose)」、「診断された(diagnosed)」または「診断している(diagnosing)」などのその変形は、臨床状態の任意の一次診断または再発性疾患の診断を含む。

【0222】

「予後」、「予後診断している(prognosing)」およびその変形は、本明細書において、回復もしくは再発の機会または治療の結果を含めた、起こりそうな疾患の結果または経過を指す。

【0223】

用語「発現構築物」は、広い意味でとられなければならないが、本明細書に記載されるような1種または複数の核酸と作動可能に連結している1種または複数のプロモーター配列を含む核酸を含む。

30

【0224】

用語「発現ベクター」とは、さらに、核酸を発現可能な形式で維持およびまたは複製できる発現構築物を含む核酸を指す。例えば、発現ベクターは、プラスミド、バクテリオファージ、ファージミド、コスミド、ウイルスサブゲノムまたはゲノム断片を含み得る。適当なベクターの選択は、当業者の知識の範囲内にある。

【0225】

本明細書において、用語「プロモーター」は、広い意味でとられなければならないが、例えば、発達刺激および/または外部刺激に応じて、または組織特異的方法で核酸の発現を変更するさらなる調節エレメント(例えば、上流活性化配列、転写因子結合部位、エンハンサーおよびサイレンサー)とともに、またはそれを伴わずに、正確な転写開始に必要である、TATAボックスまたは開始エレメントを含めたゲノム遺伝子の転写調節配列を含む。本関連では、用語「プロモーター」は、作動可能に連結される核酸の発現を付与、活性化もしくは増強する組換え核酸、合成核酸もしくは融合核酸または誘導体を記載するためにも使用される。例示的プロモーターは、発現をさらに増強する、ならびに/または前記核酸の空間的発現および/もしくは時間的発現を変更する1種または複数の特定の調節エレメントのさらなるコピーを含有し得る。

40

【0226】

本明細書において、用語「と作動可能に連結される」とは、核酸の発現がプロモーター

50

によって制御されるよう、核酸に対してプロモーターを配置することを意味する。プロモーターは、例えば、配列内リボソーム進入部位を介して多数の核酸と作動可能に連結され得る。

【0227】

抗体抗原結合ドメインを含むタンパク質

抗体

免疫処置に基づく方法

抗体を作製するために、所望により、任意の適したまたは所望のアジュバントおよび/または医薬上許容される担体とともに製剤された、TL1aまたはその断片もしくは一部を有するエピトープまたはその修飾された形態(例えば、マウスTL1aタンパク質内にヒトエピトープを含む融合タンパク質)またはそれをコードする核酸を、注射用組成物の形態で対象(例えば、マウス、ラット、ニワトリなどといった非ヒト動物対象)に投与する。例示的非ヒト動物として、ネズミ科動物(例えば、ラットまたはマウス)などの哺乳類がある。注射は、鼻腔内、筋肉内、皮下、静脈内、皮内、腹腔内またはその他の公知の経路によってであり得る。所望により、TL1aまたはその断片もしくは一部を有するエピトープまたはそれをコードする核酸を、多数回投与してもよい。抗体を調製し、特性決定する手段は、当技術分野で公知である(例えば、Antibodies: A Laboratory Manual、Cold Spring Harbor Laboratory、1988年参照のこと)。

10

【0228】

ポリクローナル抗体の製造は、免疫処置後種々の点で免疫処置された動物の血液をサンプリングすることによってモニタリングできる。所望の抗体力価を達成するために必要とされる場合には、第2の、追加免疫注射を与えてもよい。追加免疫および力価測定プロセスは、適した力価が達成されるまで反復される。所望のレベルの免疫原性が得られた時点で、免疫処置された動物を出血させ、血清を単離し、保存し、および/または動物をモノクローナル抗体(mAb)を作製するために使用する。

20

【0229】

モノクローナル抗体は、本開示によって考慮される例示的抗体である。一般に、モノクローナル抗体の製造は、抗体産生細胞を刺激するのに十分な条件下で、TL1aまたはその断片もしくは一部を有するエピトープまたはそれをコードする核酸を用いて対象(例えば、げっ歯類、例えば、マウスまたはラット)を免疫処置することを含む。いくつかの例では、ヒト免疫グロブリンタンパク質を発現するが、マウス免疫グロブリンタンパク質は発現しないよう遺伝子改変されたマウスを、抗体を産生するよう免疫処置する(例えば、PCT/US2007/008231および/またはLonbergら、Nature 368:856~859頁、1994年に記載される)。免疫処置後、抗体産生性体細胞(例えば、Bリンパ球)を、不死細胞、例えば、不死骨髄腫細胞と融合する。このような融合細胞(ハイブリドーマ)を製造するための種々の方法は、当技術分野で公知であり、例えば、KohlerおよびMilstein、Nature 256:495~497頁、1975年に記載されている。次いで、抗体産生に十分な条件下でハイブリドーマ細胞を培養してもよい。

30

【0230】

本開示は、抗体を製造するためのその他の方法、例えば、ABL-MYC技術(例えば、Largae spadaら、Curr. Top. Microbiol. Immunol、166:91~96頁、1990年に記載されるような)を考慮する。

40

【0231】

次いで、本明細書に記載される方法に基づいて、適した抗体を選択する。

【0232】

ライブラリーベースの方法

本開示はまた、抗体またはその抗原結合ドメインを含む(例えば、その可変領域を含む)タンパク質のライブラリーをスクリーニングして、本開示のTL1a結合性タンパク質を同定することを包含する。

【0233】

50

本開示によって考慮されるライブラリーの例として、天然ライブラリー(抗原投与されていない対象から得られた)、免疫処置されたライブラリー(抗原を用いて免疫処置された対象から得た)または合成ライブラリーが挙げられる。抗体またはその領域(例えば、可変領域)をコードする核酸は、従来技術(例えば、SambrookおよびRussell編、Molecular Cloning: A Laboratory Manual、第3版、1~3巻、Cold Spring Harbor Laboratory Press、2001年に開示されるような)によってクローニングされ、当技術分野で公知の方法を使用して、タンパク質をコードし、ディスプレイするために使用される。タンパク質のライブラリーを製造するためのその他の技術は、例えば、US6300064(例えば、Morphosys AGのHuCALライブラリー);US5885793;US6204023;US6291158またはUS6248516に記載されている。

【0234】

本開示のTL1a結合性タンパク質は、可溶性分泌タンパク質であり得るか、または細胞もしくは粒子(例えば、ファージまたはその他のウイルス、リボソームまたは孢子)の表面上で融合タンパク質として提示され得る。種々のディスプレイライブラリー形式が、当技術分野で公知である。例えば、ライブラリーは、*in vitro*ディスプレイライブラリー(例えば、US7270969に記載されるような、例えば、リボソームディスプレイライブラリー、共有結合ディスプレイライブラリーまたはmRNAディスプレイライブラリー)である。さらに別の例では、ディスプレイライブラリーは、ファージディスプレイライブラリーであり、これでは、抗体の抗原結合ドメインを含むタンパク質は、例えば、US6300064;US5885793;US6204023;US6291158またはUS6248516に記載されるようにファージ上で発現される。その他のファージディスプレイ法は、当技術分野で公知であり、本開示によって考慮される。同様に、細胞ディスプレイの方法、例えば、US5516637に記載されるような、細菌ディスプレイライブラリー;例えば、US6423538に記載されるような酵母ディスプレイライブラリーまたは哺乳類ディスプレイライブラリーが、本開示によって考慮される。

【0235】

ディスプレイライブラリーをスクリーニングする方法は、当技術分野で公知である。一例では、本開示のディスプレイライブラリーは、例えば、Scopes (In: Protein purification: principles and practice、第3版、Springer Verlag、1994年)に記載されるようなアフィニティー精製を使用してスクリーニングされる。アフィニティー精製の方法は、通常、ライブラリーによってディスプレイされた抗原結合ドメインを含むタンパク質を、標的抗原(例えば、TL1a)と接触させること、洗浄後、抗原と結合したままであるそれらのドメインを溶出することを含む。

【0236】

スクリーニングによって同定された任意の可変領域またはscFvは、必要に応じて、容易に修飾されて完全抗体になる。可変領域またはscFvを完全抗体に修飾または再編成するための例示的方法は、例えば、Jonesら、J. Immunol. Methods 354:85~90、2010年;またはJostockら、J. Immunol. Methods、289:65~80頁、2004年に記載されている。あるいは、またはさらに、例えば、Ausubelら、(In: Current Protocols in Molecular Biology. Wiley Interscience、ISBN 047 150338、1987年)および/または(Sambrookら、(In: Molecular Cloning: Molecular Cloning: A Laboratory Manual、Cold Spring Harbor Laboratories、New York、Third Edition 2001)に記載されるような標準クローニング法が使用される。

【0237】

脱免疫化された、キメラである、CDRグラフト化、ヒト化、合成ヒト化(synhumanized)、霊長類化された、ヒトおよび複合TL1a結合性タンパク質

本開示のTL1a結合性タンパク質は、ヒト抗体由来のFRにグラフトされたか、もしくはそれに挿入された非ヒト種(例えば、マウスまたはラットまたは非ヒト霊長類)由来の抗体に由来するCDRを含むか、または別の種類の抗体(例えば、別の種類のヒト抗体)由来のFRにグラフトされたか、もしくはそれに挿入されたある種の抗体(例えば、ある種のヒト抗体)由来の抗体に由来するCDRを含む、CDRグラフト化されたタンパク質であり得る。この用語はまた、例えば、1種または複数のCDRグラフト化可変領域と、1種または複数の、例えば

10

20

30

40

50

、ヒト可変領域、キメラ可変領域、合成ヒト化可変領域または霊長類化可変領域とを含む複合タンパク質も包含する。このようなタンパク質は、C320-16～C320-33と命名された抗体によって本明細書に例示されている。

【0238】

本開示のTL1a結合性タンパク質は、ヒト化タンパク質であり得る。

【0239】

用語「ヒト化タンパク質」は、ヒト抗体由来のFRにグラフトされたか、またはそれに挿入された非ヒト種(例えば、マウスまたはラットまたは非ヒト霊長類)由来の抗体に由来するCDRを含むヒト様可変領域を含むタンパク質を指すと理解されなければならない(この種の抗体はまた、「CDRグラフト化抗体」と呼ばれる)。ヒト化タンパク質はまた、ヒトタンパク質の1個または複数の残基が、1個または複数のアミノ酸置換によって修飾されている、および/またはヒトタンパク質の1個または複数のFR残基が、対応する非ヒト残基によって置換されているタンパク質も含む。ヒト化タンパク質はまた、ヒト抗体にも、非ヒト抗体にも見られない残基も含み得る。タンパク質の任意のさらなる領域(例えば、Fc領域)は、全般的にヒトである。ヒト化は、当技術分野、例えば、US5225539、US6054297、US7566771またはUS5585089において公知の方法を使用して実施され得る。用語「ヒト化タンパク質」はまた、例えば、US7732578に記載されるような超ヒト化タンパク質を包含する。この用語はまた、例えば、1種または複数のヒト化可変領域と、1種または複数の、例えば、ヒト可変領域、キメラ可変領域、合成ヒト化可変領域または霊長類化可変領域とを含む複合タンパク質も包含する。

10

20

【0240】

一例では、ヒト化TL1a結合性タンパク質は、本明細書に開示された軽鎖配列中の27dから34、50から55および89から96の間の領域と、本明細書に開示された重鎖配列中の31から35b、50から58および95から101とを含む(カバット(Kabat)番号付けシステムに従う番号付け)。この関連で、Padlanら、FASEB J.、9巻:133～139、1995年は、これらの領域が、抗原と結合または接触する可能性が最も高いものであるという証拠を示す。

【0241】

本開示のTL1a結合性タンパク質は、ヒトタンパク質であり得る。用語「ヒトタンパク質」とは、本明細書において、ヒトにおいて、例えば、ヒト生殖系細胞または体細胞において見られるか、またはこのような領域を使用して製造されたライブラリーに由来する可変領域と、所望により、定常抗体領域とを有するタンパク質を指す。「ヒト」抗体は、ヒト配列によってコードされないアミノ酸残基、例えば、*in vitro*でのランダムまたは部位指定突然変異によって導入された突然変異(特に、保存的置換を含む突然変異またはタンパク質の少数の残基、例えば、タンパク質の1、2、3、4もしくは5個の残基における突然変異)を含み得る。これらの「ヒト抗体」は、必ずしもヒトの免疫応答の結果として作製される必要はなく、むしろ、それらは、組換え手段(例えば、ファージディスプレイライブラリーをスクリーニングすること)を使用して、ならびに/またはヒト抗体定常および/もしくは可変領域をコードする核酸を含むトランスジェニック動物(例えば、マウス)によって、ならびに/または案内された選択(例えば、US5565332に記載されるような)を使用して作製されたものであってもよい。この用語はまた、このような抗体の親和性成熟した形態も包含する。本開示の目的上、ヒトタンパク質はまた、ヒト抗体由来のFRまたはヒトFRのコンセンサス配列に由来する配列を含むFRを含み、CDRの1種または複数が、例えば、US6300064および/またはUS6248516に記載されるようにランダムまたはセミランダムであるタンパク質を含むと考えられる。

30

40

【0242】

例示的ヒトTL1a結合性タンパク質は、可変領域の以下の対を含む抗体である：

- (i) 配列番号2に示される配列を含む V_H および配列番号6に示される配列を含む V_L ；
- (ii) 配列番号10に示される配列を含む V_H および配列番号14に示される配列を含む V_L ；
- (iii) 配列番号18に示される配列を含む V_H および配列番号22に示される配列を含む V_L ；
- (iv) 配列番号26に示される配列を含む V_H および配列番号30に示される配列を含む V_L ；

50

- (xli) 配列番号42に示される配列を含む V_H および配列番号169に示される配列を含む V_L ;
- (xlii) 配列番号42に示される配列を含む V_H および配列番号170に示される配列を含む V_L ;
- (xliii) 配列番号42に示される配列を含む V_H および配列番号171に示される配列を含む V_L ;
- ;
- (xliv) 配列番号42に示される配列を含む V_H および配列番号172に示される配列を含む V_L ;
- (xlv) 配列番号175に示される配列を含む V_H および配列番号188に示される配列を含む V_L ;
- (xlvi) 配列番号176に示される配列を含む V_H および配列番号189に示される配列を含む V_L ;
- ;
- (xlvii) 配列番号177に示される配列を含む V_H および配列番号190に示される配列を含む V_L ;
- (xlviii) 配列番号178に示される配列を含む V_H および配列番号191に示される配列を含む V_L ;
- (xlix) 配列番号179に示される配列を含む V_H および配列番号192に示される配列を含む V_L ;
- ;
- (l) 配列番号180に示される配列を含む V_H および配列番号193に示される配列を含む V_L ;
- (li) 配列番号181に示される配列を含む V_H および配列番号194に示される配列を含む V_L ;
- (lii) 配列番号182に示される配列を含む V_H および配列番号195に示される配列を含む V_L ;
- (liii) 配列番号183に示される配列を含む V_H および配列番号196に示される配列を含む V_L ;
- ;
- (liv) 配列番号184に示される配列を含む V_H および配列番号197に示される配列を含む V_L ;
- (lv) 配列番号185に示される配列を含む V_H および配列番号198に示される配列を含む V_L ;
- (lvi) 配列番号186に示される配列を含む V_H および配列番号199に示される配列を含む V_L ;
- (lvii) 配列番号187に示される配列を含む V_H および配列番号200に示される配列を含む V_L ;

【 0 2 4 3 】

さらなる例示的ヒトTL1a結合性タンパク質は、配列番号42に示される配列を含む V_H および配列番号46に示される配列を含む V_L を含む抗体であり、 V_H および/または V_L は、以下の置換または置換の群のうち1つまたは複数を含む：

- (i) V_H は、配列番号42の位置16にアラニンを含む;
- (ii) V_H は、配列番号42の位置100にアラニンを含み、 V_L は、配列番号46の位置76にトレオニンを含む;
- (iii) V_H は、配列番号42の位置100にセリンを含み、 V_L は、配列番号46の位置76にトレオニンを含む;
- (iv) V_H は、配列番号42の位置100にヒスチジンを含み、 V_L は、配列番号46の位置76にトレオニンを含む;
- (v) V_H は、配列番号42の位置100にロイシンを含み、 V_L は、配列番号46の位置76にトレオニンを含む;
- (vi) V_H は、配列番号42の位置100にアスパラギン酸を含み、 V_L は、配列番号46の位置76にトレオニンを含む;
- (vii) V_H は、配列番号42の位置100にチロシンを含み、 V_L は、配列番号46の位置76にトレオニンを含む;
- (viii) V_H は、配列番号42の位置100にプロリンを含み、 V_L は、配列番号46の位置76にトレオニンを含む;
- (ix) V_H は、配列番号42の位置100にグルタミンを含み、 V_L は、配列番号46の位置76にトレオニンを含む;
- (x) V_H は、配列番号42の位置100にリシンを含み、 V_L は、配列番号46の位置76にトレオニンを含む;
- (xi) V_H は、配列番号42の位置101にアラニンを含み、 V_L は、配列番号46の位置76にトレオニンを含む;
- (xii) V_H は、配列番号42の位置101にセリンを含み、 V_L は、配列番号46の位置76にトレオ

ニンを含む；

(xiii) V_H は、配列番号42の位置101にヒスチジンを含み、 V_L は、配列番号46の位置76にトレオニンを含む；

(xiv) V_H は、配列番号42の位置101にロイシンを含み、 V_L は、配列番号46の位置76にトレオニンを含む；

(xv) V_H は、配列番号42の位置101にアスパラギン酸を含み、 V_L は、配列番号46の位置76にトレオニンを含む；

(xvi) V_H は、配列番号42の位置101にチロシンを含み、 V_L は、配列番号46の位置76にトレオニンを含む；

(xvii) V_H は、配列番号42の位置101にグルタミンを含み、 V_L は、配列番号46の位置76にトレオニンを含む；

(xviii) V_H は、配列番号42の位置101にリシンを含み、 V_L は、配列番号46の位置76にトレオニンを含む；

(xix) V_H は、配列番号42の位置102にアラニンを含み、 V_L は、配列番号46の位置76にトレオニンを含む；

(xx) V_H は、配列番号42の位置102にセリンを含み、 V_L は、配列番号46の位置76にトレオニンを含む；

(xxi) V_H は、配列番号42の位置102にヒスチジンを含み、 V_L は、配列番号46の位置76にトレオニンを含む；

(xxii) V_H は、配列番号42の位置102にロイシンを含み、 V_L は、配列番号46の位置76にトレオニンを含む；

(xxiii) V_H は、配列番号42の位置102にチロシンを含み、 V_L は、配列番号46の位置76にトレオニンを含む；

(xxiv) V_H は、配列番号42の位置102にプロリンを含み、 V_L は、配列番号46の位置76にトレオニンを含む；

(xxv) V_H は、配列番号42の位置102にグルタミンを含み、 V_L は、配列番号46の位置76にトレオニンを含む；

(xxvi) V_H は、配列番号42の位置102にリシンを含み、 V_L は、配列番号46の位置76にトレオニンを含む；

(xxvii) V_H は、配列番号42の位置103にアラニンを含み、 V_L は、配列番号46の位置76にトレオニンを含む；

(xxviii) V_H は、配列番号42の位置103にセリンを含み、 V_L は、配列番号46の位置76にトレオニンを含む；

(xxix) V_H は、配列番号42の位置103にヒスチジンを含み、 V_L は、配列番号46の位置76にトレオニンを含む；

(xxx) V_H は、配列番号42の位置103にロイシンを含み、 V_L は、配列番号46の位置76にトレオニンを含む；

(xxxi) V_H は、配列番号42の位置103にアスパラギン酸を含み、 V_L は、配列番号46の位置76にトレオニンを含む；

(xxxii) V_H は、配列番号42の位置103にチロシンを含み、 V_L は、配列番号46の位置76にトレオニンを含む；

(xxxiii) V_H は、配列番号42の位置103にプロリンを含み、 V_L は、配列番号46の位置76にトレオニンを含む；

(xxxiv) V_H は、配列番号42の位置103にグルタミンを含み、 V_L は、配列番号46の位置76にトレオニンを含む；

(xxxv) V_H は、配列番号42の位置103にリシンを含み、 V_L は、配列番号46の位置76にトレオニンを含む；

(xxxvi) V_H は、配列番号42の位置104にセリンを含み、 V_L は、配列番号46の位置76にトレオニンを含む；

(xxxvii) V_H は、配列番号42の位置104にヒスチジンを含み、 V_L は、配列番号46の位置76

10

20

30

40

50

にトレオニンを含む；

(xxxviii) V_H は、配列番号42の位置104にロイシンを含み、 V_L は、配列番号46の位置76にトレオニンを含む；

(xxxix) V_H は、配列番号42の位置104にアスパラギン酸を含み、 V_L は、配列番号46の位置76にトレオニンを含む；

(xl) V_H は、配列番号42の位置104にチロシンを含み、 V_L は、配列番号46の位置76にトレオニンを含む；

(xli) V_H は、配列番号42の位置104にプロリンを含み、 V_L は、配列番号46の位置76にトレオニンを含む；

(xlii) V_H は、配列番号42の位置104にグルタミンを含み、 V_L は、配列番号46の位置76にトレオニンを含む；

(xliii) V_H は、配列番号42の位置104にリシンを含み、 V_L は、配列番号46の位置76にトレオニンを含む；

(xliv) V_H は、配列番号42の位置105にアラニンを含み、 V_L は、配列番号46の位置76にトレオニンを含む；

(xlv) V_H は、配列番号42の位置105にヒスチジンを含み、 V_L は、配列番号46の位置76にトレオニンを含む；

(xlvi) V_H は、配列番号42の位置105にロイシンを含み、 V_L は、配列番号46の位置76にトレオニンを含む；

(xlvii) V_H は、配列番号42の位置105にアスパラギン酸を含み、 V_L は、配列番号46の位置76にトレオニンを含む；

(xlviii) V_H は、配列番号42の位置105にチロシンを含み、 V_L は、配列番号46の位置76にトレオニンを含む；

(xlix) V_H は、配列番号42の位置105にプロリンを含み、 V_L は、配列番号46の位置76にトレオニンを含む；

(l) V_H は、配列番号42の位置105にグルタミンを含み、 V_L は、配列番号46の位置76にトレオニンを含む；

(li) V_H は、配列番号42の位置105にリシンを含み、 V_L は、配列番号46の位置76にトレオニンを含む；

(lii) V_H は、配列番号42の位置107にアラニンを含み、 V_L は、配列番号46の位置76にトレオニンを含む；

(liii) V_H は、配列番号42の位置107にセリンを含み、 V_L は、配列番号46の位置76にトレオニンを含む；

(liv) V_H は、配列番号42の位置107にヒスチジンを含み、 V_L は、配列番号46の位置76にトレオニンを含む；

(lv) V_H は、配列番号42の位置107にロイシンを含み、 V_L は、配列番号46の位置76にトレオニンを含む；

(lvi) V_H は、配列番号42の位置107にアスパラギン酸を含み、 V_L は、配列番号46の位置76にトレオニンを含む；

(lvii) V_H は、配列番号42の位置107にチロシンを含み、 V_L は、配列番号46の位置76にトレオニンを含む；

(lviii) V_H は、配列番号42の位置107にプロリンを含み、 V_L は、配列番号46の位置76にトレオニンを含む；

(lix) V_H は、配列番号42の位置107にグルタミンを含み、 V_L は、配列番号46の位置76にトレオニンを含む；

(lx) V_H は、配列番号42の位置107にリシンを含み、 V_L は、配列番号46の位置76にトレオニンを含む；

(lxi) V_H は、配列番号42の位置41にトレオニンを含み、 V_L は、配列番号46の位置23にアラニンを含む；

(lxii) V_H は、配列番号42の位置41にトレオニンを含み、 V_L は、配列番号46の位置28にア

10

20

30

40

50

スパラギン酸を含む；

(Ixxiii) V_H は、配列番号42の位置41にトレオニンを含み、 V_L は、配列番号46の位置33にチロシンを含む；

(Ixxiv) V_H は、配列番号42の位置41にトレオニンを含み、 V_L は、配列番号46の位置34にアスパラギン酸を含む；

(Ixxv) V_H は、配列番号42の位置41にトレオニンを含み、 V_L は、配列番号46の位置53にアスパラギン酸を含む；

(Ixxvi) V_H は、配列番号42の位置41にトレオニンを含み、 V_L は、配列番号46の位置54にセリンを含む；

(Ixxvii) V_H は、配列番号42の位置41にトレオニンを含み、 V_L は、配列番号46の位置82にアラニンを含む；

(Ixxviii) V_H は、配列番号42の位置41にトレオニンを含み、 V_L は、配列番号46の位置95にセリンを含む；

(Ixxix) V_H は、配列番号42の位置41にトレオニンを含み、 V_L は、配列番号46の位置96にセリンを含む；

(Ixxx) V_H は、配列番号42の位置41にトレオニンを含み、 V_L は、配列番号46の位置76にトレオニンを含む；

(Ixxxi) V_H は、配列番号42の位置47にセリンを含み、 V_L は、配列番号46の位置23にトレオニンを含む；

(Ixxxii) V_H は、各々、配列番号42に対して位置41にプロリン、位置72にアラニン、位置73にアスパラギン酸、位置74にアルギニンおよび位置76にトレオニンを含み、 V_L は、配列番号46の位置76にトレオニンを含む；

(Ixxxiii) V_H は、各々、配列番号42に対して位置41にプロリン、位置51にロイシンおよび位置102にグルタミン酸を含み、 V_L は、各々、配列番号46に対して位置24にセリンおよび位置76にトレオニンを含む；

(Ixxxiv) V_H は、各々、配列番号42に対して位置41にプロリン、位置51にロイシンおよび位置102にグルタミン酸を含み、 V_L は、各々、配列番号46に対して位置23にトレオニン、位置24にセリンおよび位置76にトレオニンを含む；

(Ixxxv) V_H は、各々、配列番号42に対して位置41にプロリン、位置51にロイシンおよび位置102にグルタミン酸を含み、 V_L は、各々、配列番号46に対して位置23にトレオニンおよび位置76にトレオニンを含む；

(Ixxxvi) V_H は、各々、配列番号42に対して位置41にプロリン、位置51にロイシンおよび位置102にグルタミン酸を含み、 V_L は、配列番号46の位置76にトレオニンを含む；

(Ixxxvii) V_H は、各々、配列番号42に対して位置41にプロリン、位置51にロイシン、位置102にグルタミン酸および位置105にアラニンを含み、 V_L は、各々、配列番号46に対して位置23にトレオニン、位置24にセリンおよび位置76にトレオニンを含む；

(Ixxxviii) V_H は、各々、配列番号42に対して位置41にプロリン、位置51にロイシン、位置102にグルタミン酸および位置105にアラニンを含み、 V_L は、配列番号46の位置76にトレオニンを含む；

(Ixxxix) V_H は、各々、配列番号42に対して位置41にプロリン、位置72にアラニン、位置73にアスパラギン酸、位置74にアルギニンおよび位置76にトレオニンを含み、 V_L は、各々、配列番号46に対して位置23にトレオニン、位置24にセリンおよび位置76にトレオニンを含む；

(Ixxxx) V_H は、各々、配列番号42に対して位置41にプロリン、位置72にアラニン、位置73にアスパラギン酸、位置74にアルギニンおよび位置76にトレオニンを含み、 V_L は、各々、配列番号46に対して位置23にトレオニン、位置24にセリン、位置76にトレオニンおよび位置51にグルタミン酸を含む；

(Ixxxxi) V_H は、各々、配列番号42に対して位置41にプロリン、位置51にロイシン、位置72にアラニン、位置73にアスパラギン酸、位置74にアルギニン、位置76にトレオニン、位置102にグルタミン酸および位置105にアラニンを含み、 V_L は、各々、配列番号46に対して

10

20

30

40

50

位置23にトレオニン、位置24にセリン、位置76にトレオニンおよび位置51にグルタミン酸を含む；ならびに

(Ixxxii) V_H は、各々、配列番号42に対して位置41にプロリン、位置51にロイシン、位置72にアラニン、位置73にアスパラギン酸、位置74にアルギニン、位置76にトレオニン、位置102にグルタミン酸および位置105にアラニンを含み、 V_L は、各々、配列番号46に対して位置23にトレオニン、位置24にセリン、位置76にトレオニンおよび位置51にグリシンを含む。

【0244】

所望により、 V_H は、重鎖定常領域、例えば、IgG1重鎖定常領域と連結している。一例では、重鎖定常領域は、C末端リシン残基を欠く。

【0245】

所望により、 V_L は、軽鎖定常領域と連結している。

【0246】

本開示のTL1a結合性タンパク質は、合成ヒト化タンパク質であり得る。用語「合成ヒト化タンパク質」とは、WO2007/019620に記載された方法によって調製されたタンパク質を指す。合成ヒト化TL1a結合性タンパク質は、抗体の可変領域を含み、可変領域は、新世界霊長類抗体可変領域由来のFRおよび非新世界霊長類抗体可変領域由来のCDRを含む。例えば、合成ヒト化TL1a結合性タンパク質は、抗体の可変領域を含み、可変領域は、新世界霊長類抗体可変領域由来のFRおよびマウスまたはラット抗体由来のCDRを含む。一例では、合成ヒト化TL1a結合性タンパク質は、可変領域の一方または両方が合成ヒト化されているTL1a結合性抗体である。この用語はまた、例えば、1種または複数の合成ヒト化可変領域と、1種または複数の、例えば、ヒト可変領域またはヒト化可変領域またはキメラ可変領域を含む複合タンパク質を包含する。

【0247】

本開示のTL1a結合性タンパク質は、霊長類化タンパク質であり得る。「霊長類化タンパク質」は、非ヒト霊長類(例えば、カニクイザルマカク)の免疫処置後に生じた抗体に由来する可変領域を含む。所望により、非ヒト霊長類抗体の可変領域は、霊長類化抗体を製造するためにヒト定常領域と連結される。霊長類化抗体を製造するための例示的方法は、US 6113898に記載されている。この用語はまた、例えば、1種または複数の霊長類化可変領域と、1種または複数の、例えば、ヒト可変領域またはヒト化可変領域またはキメラ可変領域を含む複合タンパク質も包含する。

【0248】

一例では、本開示のTL1a結合性タンパク質は、キメラタンパク質である。用語「キメラタンパク質」とは、抗原結合ドメインが、特定の種(例えば、マウスまたはラットなどのネズミ科動物)に由来するか、または特定の抗体クラスもしくはサブクラスに属するが、タンパク質の残部は、別の種(例えば、ヒトまたは非ヒト霊長類など)に由来するタンパク質に由来するか、または別の抗体クラスもしくはサブクラスに属するタンパク質を指す。一例では、キメラタンパク質は、非ヒト抗体(例えば、ネズミ科動物抗体)由来の V_H および/または V_L を含み、抗体の残りの領域が、ヒト抗体に由来するキメラ抗体である。このようなキメラタンパク質の製造は、当技術分野で公知であり、標準手段(例えば、US6331415；US5807715；US4816567およびUS4816397に記載されるような)によって達成され得る。この用語はまた、例えば、1種または複数のキメラ可変領域と、1種または複数の、例えば、ヒト可変領域またはヒト化可変領域またはキメラ可変領域を含む複合タンパク質を包含する。

【0249】

本開示はまた、例えば、WO2000/34317およびWO2004/108158に記載されるような、脱免疫化TL1a結合性タンパク質も考慮する。脱免疫化抗体およびタンパク質は、1種または複数のエピトープ、例えば、B細胞エピトープまたはT細胞エピトープが除去(すなわち、突然変異)されており、その結果、対象が、抗体またはタンパク質に対して免疫応答を起こす可能性が低減されている。例えば、本開示のTL1a結合性タンパク質が、1種または複数

10

20

30

40

50

のBまたはT細胞エピトープを同定するよう分析され、エピトープ内の1個または複数のアミノ酸残基が突然変異され、それによってTL1a結合性タンパク質の免疫原性が低減される。本発明者らは、このような技術を使用して、MHCクラスII分子と結合すると予測されるエピトープを同定し、対象において免疫応答を誘導する可能性の低いTL1a結合性タンパク質を同定した。

【0250】

以上の開示から、「複合」タンパク質は、ある形態の V_H (例えば、ヒト)と、別の形態の V_L (例えば、ヒト化)を含むということが当業者には理解されるであろう。本開示は、 V_H および V_L の形態のすべての組み合わせを明確に包含する。

【0251】

抗原結合ドメインを含むその他のTL1a結合性タンパク質

本開示はまた、以下などの抗体の可変領域または抗原結合ドメインを含むその他のTL1a結合性タンパク質も考慮する：

- (i) 抗体の V_H または V_L のすべてまたは一部を含む単一ポリペプチド鎖である単一ドメイン抗体(例えば、US6248516参照のこと)；
- (ii) 例えば、US5844094および/またはUS2008152586に記載されるようなダイアボディー、トリアボディーおよびテトラボディー；
- (iii) 例えば、US5260203に記載されるようなscFv；
- (iv) 例えば、US5837821に記載されるようなミニボディー；
- (v) US5731168に記載されるような「鍵と鍵穴」二重特異性タンパク質；
- (vi) 例えば、US4676980に記載されるようなヘテロコンジュゲートタンパク質；
- (vii) 例えば、US4676980に記載されるような、化学架橋剤を使用して製造されたヘテロコンジュゲートタンパク質；
- (viii) 例えば、Shalabyら、J. Exp. Med.、175:217~225頁、1992年に記載されるようなFab'-SH断片；または
- (ix) Fab₃(例えば、EP19930302894に記載されるような)。

【0252】

定常ドメイン融合物

本開示は、抗体の抗原結合ドメインと、定常領域またはFcまたはそのドメイン、例えば、 C_H2 および/または C_H3 ドメインを含むTL1a結合性タンパク質を包含する。適した定常領域および/またはドメインは、当業者には明らかであり、および/またはこのようなポリペプチドの配列は、公的に利用可能なデータベースから容易に入手可能である。Kabatらはまた、いくつかの適した定常領域/ドメインの説明も提供している。

【0253】

定常領域および/またはそのドメインは、二量体化、血清半減期の延長(例えば、FcRnとの結合による)、抗体依存性細胞細胞毒性(ADCC)、補体依存性細胞毒性(CDC)、抗体依存性細胞食作用(ADCP)などの生物活性を提供するのに有用である。

【0254】

本開示はまた、例えば、US7217797；US7217798；またはUS20090041770(増大された半減期を有する)またはUS2005037000(増大されたADCC)に記載されるような、突然変異体定常領域またはドメインを含むTL1a結合性タンパク質も考慮する。

【0255】

本開示の抗体の重鎖定常領域のC末端リシンまたは定常領域もしくはFcを含む本開示のTL1a結合性タンパク質は、例えば、抗体の製造または精製の間、または抗体の重鎖またはタンパク質をコードする核酸を組換え操作することによって除去される場合がある。したがって、全抗体またはタンパク質は、すべてのC末端リシン残基が除去されている抗体もしくはタンパク質集団、C末端リシン残基が除去されていない抗体もしくはタンパク質集団またはC末端リシン残基を有する抗体と有さない抗体の混合物を有する抗体もしくはタンパク質集団を含み得る。いくつかの例では、抗体またはタンパク質集団は、重鎖定常領域の1つにおいてC末端リシン残基が除去されている抗体またはタンパク質をさらに含み

10

20

30

40

50

得る。同様に、抗体またはタンパク質の組成物は、同一のものまたはC末端リシン残基を有するか有さない抗体もしくはタンパク質集団の同様の混合物を含み得る。

【0256】

エフェクター機能の増強

一例では、本開示のTL1a結合性タンパク質は、エフェクター機能または増強されたエフェクター機能を誘導し得る。

【0257】

本開示との関連で、「エフェクター機能」とは、細胞の死滅をもたらす抗体のFc領域(天然配列Fc領域またはアミノ酸配列変異体Fc領域)と結合する細胞またはタンパク質によって媒介される生物活性を指す。抗体によって誘導されるエフェクター機能の例として、補体依存性細胞毒性;抗体依存性細胞媒介性細胞毒性(ADCC);抗体依存性細胞食作用(ADCP);およびB細胞活性化が挙げられる。

10

【0258】

一例では、本開示のTL1a結合性タンパク質は、ADCCまたはCDCなどのエフェクター機能を誘導できるような方法で細胞の表面上のTL1aと結合する。

【0259】

例えば、TL1a結合性タンパク質は、ADCCおよび/またはCDCなどのエフェクター機能を誘導するのに十分な時間、細胞の表面上のTL1aと結合しているままである。

【0260】

一例では、本開示のTL1a結合性タンパク質は、例えば、修飾されたFc領域によって、または免疫エフェクター細胞と結合できる領域を含むことによって増強されたエフェクター機能を誘導できる。例えば、エフェクター機能のレベルは、ヒトIgG1またはIgG3 Fc領域によって誘導されるレベルと比較して高められる。本開示のTL1a結合性タンパク質によって誘導されるエフェクター機能を増強することは、例えば、TL1aの作用を遮断することによってだけでなく、状態を引き起こす細胞を死滅または枯渇させることによって、例えば、自己反応性T細胞を死滅させることによって治療的または予防的効果の増強をもたらすし得る。

20

【0261】

一例では、本開示のTL1a結合性タンパク質のFc領域は、修飾を有さないFc領域と比較して、誘導できるエフェクター機能のレベルを高めるよう修飾される。このような修飾は、アミノ酸レベルおよび/または二次構造レベルおよび/または三次構造レベルで、および/またはFc領域のグリコシル化にであり得る。

30

【0262】

当業者ならば、より大きなエフェクター機能が、いくつかの方法のいずれでも、例えば、効果のレベルが大きいほど、より持続した効果またはより迅速な効果が表れ得るということは理解するであろう。

【0263】

一例では、Fc領域は、増強されたエフェクター機能を誘導するその能力を高める1つまたは複数のアミノ酸修飾を含む。一例では、Fc領域は、より大きな親和性で1つまたは複数のFc Rs、例えば、Fc RIIIと結合する。一例では、Fc領域は、カバット(Kabat)のEU指数に従って番号付けされた230、233、234、235、239、240、243、264、266、272、274、275、276、278、302、318、324、325、326、328、330、332および335からなる群から選択される位置に少なくとも1つのアミノ酸置換を含む。一例では、Fc領域は、カバット(Kabat)のEU指数に従って番号付けされた以下のアミノ酸置換S239D/I332Eを含む。このFc領域は、野生型Fc領域と比較して、Fc RIIIaに対する親和性の約14倍の増大および野生型Fc領域と比較して約3.3倍増大したADCCを誘導する能力を有する。一例では、Fc領域は、カバット(Kabat)のEU指数に従って番号付けされた以下のアミノ酸置換S239D/A330L/I332Eを含む。このFc領域は、野生型Fc領域と比較して、Fc RIIIaに対する親和性の約138倍の増大および野生型Fc領域と比較して約323倍増大したADCCを誘導する能力を有する。

40

【0264】

50

Fc領域のエフェクター機能を誘導する能力を増大するさらなるアミノ酸置換は、当技術分野で公知であり、および/または例えば、US6737056またはUS7317091に記載されている。

【0265】

一例では、Fc領域のグリコシル化は、増強されたエフェクター機能を誘導するその能力を増大するよう変更される。この関連で、哺乳類細胞によって産生される天然抗体は、通常、一般に、N結合型によってFc領域のC_H2ドメインのAsn297と結合している、分岐した、二分岐のオリゴ糖を含む。オリゴ糖は、種々の炭水化物、例えば、マンノース、N-アセチルグルコサミン(GlcNAc)、ガラクトースおよびシアル酸ならびに二分岐オリゴ糖構造の「幹」においてGlcNAcと結合しているフコースを含み得る。いくつかの例では、本開示のFc領域は、Fc領域と(直接的にまたは間接的に)結合しているフコースを欠く炭水化物構造を含む、すなわち、Fc領域は、「脱フコシル化されている(脱フコシル化)」。このような変異体は、ADCCを誘導する改善された能力を有し得る。脱フコシル化抗体を製造する方法は、-1,6-フコシルトランスフェラーゼ(FUT8)を発現できない細胞株において、抗体またはその抗原結合断片を発現させること(例えば、Yumane-Ohnukiら、*Biotechnol. Bioengineer.* 87:614~622頁、2004年に記載されるような)、FUT8に対する低分子干渉RNAを発現する細胞において抗体またはその抗原結合断片を発現させること(例えば、Moriら、*Biotechnol. Bioengineer.*、88:901~908頁、2004年に記載されるような)、グアノシン二リン酸(GDP)-マンノース4,6-デヒドラターゼ(GMD)を発現できない細胞において抗体またはその抗原結合断片を発現させること(例えば、Kandaら、*J. Biotechnol.*、130:300~310頁、2007年に記載されるような)を含む。本開示はまた、例えば、-(1,4)-N-アセチルグルコサミニルトランスフェラーゼIII(GnT-III)を発現するよう修飾された細胞株を使用して製造された、フコシル化のレベルが低下したタンパク質の使用も考慮する(例えば、Umanaら、*Nat. Biotechnol.* 17:176~180頁、1999年に記載されるような)。

10

20

【0266】

その他の方法は、増強されたFc媒介性エフェクター機能を誘導できる抗体を本質的に産生する細胞株の使用を含む(例えば、ウイルスワクチンの製造のためのアヒル胚由来幹細胞、WO2008/129058;トリEBX(登録商標)細胞における組換えタンパク質製造、WO2008/142124)。

【0267】

本開示のTL1a結合性タンパク質はまた、例えば、Fc領域と結合している二分岐オリゴ糖が、GlcNAcによって二分されている二分されたオリゴ糖を有するものも含む。このようなタンパク質は、低減したフコシル化および/または改善されたADCC機能を有し得る。このようなタンパク質の例は、例えば、US6602684およびUS20050123546に記載されている。

30

【0268】

Fc領域と結合しているオリゴ糖中に少なくとも1つのガラクトース残基を有するTL1a結合性タンパク質もまた考慮される。このようなタンパク質は、改善されたCDC機能を有し得る。このようなタンパク質は、例えば、WO1997/30087およびWO1999/22764に記載されている。

【0269】

TL1a結合性タンパク質はまた、増強されたレベルのCDCを誘導できるFc領域も含み得る。例えば、IgG1とIgG3のハイブリッドは、増強されたCDC活性を有する抗体を製造する(Natsumeら、*Cancer Res.* 68:3863~3872頁、2008年)。

40

【0270】

TL1a結合性タンパク質はまた、あるいは、例えば、CD3またはCD16との結合によって免疫エフェクター細胞と結合するタンパク質(例えば、抗体可変領域)と融合されてもよい、または、それとコンジュゲートされてもよい。

【0271】

エフェクター機能を決定する方法は、当技術分野で公知である。一例では、ADCC活性のレベルは、⁵¹Cr放出アッセイ、ユウロピウム放出アッセイまたは³⁵S放出アッセイを使用

50

して評価される。これらのアッセイの各々では、TL1aを発現する細胞が、列挙された化合物のうち1つまたは複数とともに、化合物が細胞に取り込まれるのに十分な時間、条件下で培養される。³⁵S放出アッセイの場合には、細胞は、³⁵S標識されたメチオニンおよび/またはシステインとともに、標識されたアミノ酸が新規に合成されるタンパク質中に組み込まれるのに十分な時間、培養され得る。次いで、細胞は、タンパク質の存在下または不在下で、また免疫エフェクター細胞、例えば、PBMCおよび/またはNK細胞の存在下で培養される。次いで、細胞培養培地中の⁵¹Cr、ユウロピウムおよび/または³⁵Sの量が検出され、タンパク質の不在下と比較した、タンパク質の存在下での増大が、結合分子/剤が、エフェクター機能を有することを示す。タンパク質によって誘導されるADCCのレベルを評価するためのアッセイを開示する例示的刊行物として、Hellstromら Proc. Natl Acad. Sci. USA 83: 7059~7063頁、1986年およびBruggemannら、J. Exp. Med. 166: 1351~1361頁、1987年が挙げられる。

10

【0272】

タンパク質によって誘導されるADCCのレベルを評価するためのその他のアッセイとして、フローサイトメトリーのためのACTI(商標)非放射性細胞毒性アッセイ(CellTechnology、Inc. CA、USA)またはCytoTox 96(登録商標)非放射性細胞毒性アッセイ(Promega、WI、USA)が挙げられる。

【0273】

あるいは、またはさらに、TL1a結合性タンパク質のエフェクター機能は、例えば、US7317091に記載されるような1種または複数のFcRsに対するその親和性を決定することによって評価される。

20

【0274】

C1q結合アッセイはまた、TL1a結合性タンパク質がC1qと結合でき、CDCを誘導し得ることを確認するために実施され得る。補体活性化を評価するために、CDCアッセイが実施され得る(例えば、Gazzano-Santoroら、J. Immunol. Methods 202: 163、1996年を参照のこと)。

【0275】

別の例では、TL1a結合性タンパク質は、タンパク質の半減期を増大する1つまたは複数のアミノ酸置換を含む。例えば、TL1a結合性タンパク質は、新生児Fc領域(FcRn)に対する定常領域の親和性を増大する1つまたは複数のアミノ酸置換を含む定常領域を含む。例えば、定常領域は、エンドソームにおけるFc/FcRn結合を促進するよう、低pH、例えば、約pH6.0でFcRnに対する増大した親和性を有する。一例では、定常領域は、約pH7.4でのその親和性と比較して、約pH6でFcRnに対する増大した親和性を有し、これが、細胞再循環後の血液中へのFcの再放出を促進する。これらのアミノ酸置換は、血液からのクリアランスを低減することによって、TL1a結合性タンパク質の半減期の延長にとって有用である。

30

【0276】

例示的アミノ酸置換として、EU番号付けシステムに従うT250Qおよび/またはM428LまたはT252A、T254SおよびT266FまたはM252Y、S254TおよびT256EまたはH433KおよびN434Fが挙げられる。さらなる、または代替アミノ酸置換は、例えば、US20070135620またはUS7083784に記載されている。

40

【0277】

安定化されたTL1a結合性タンパク質

本開示のTL1a結合性タンパク質を中和することは、IgG4定常領域または安定化されたIgG4定常領域を含み得る。用語「安定化されたIgG4定常領域」は、Fabアーム交換またはFabアーム交換を受ける傾向または半抗体の形成または半抗体を形成する傾向を低減するよう修飾されているIgG4定常領域を意味すると理解される。「Fabアーム交換」とは、IgG4重鎖および結合している軽鎖(半分子)が、別のIgG4分子由来の重鎖-軽鎖対と交換される、ヒトIgG4のタンパク質修飾の1種を指す。したがって、IgG4分子は、2種の別個の抗原を認識する(二重特異性分子をもたらす)2種の別個のFabアームを獲得し得る。Fabアーム交換は、in vivoで天然に起こり、精製血液細胞または還元グルタチオンなどの還元剤によっ

50

てin vitroで誘導され得る。「半抗体」は、IgG4抗体が解離して、各々単一の重鎖および単一の軽鎖を含有する2つの分子を形成する場合に形成する。

【0278】

一例では、安定化されたIgG4定常領域は、カバット(Kabat)のシステム(Kabatら、Sequences of Proteins of Immunological Interest Washington DC United States Department of Health and Human Services、1987年および/または1991年)に従って、ヒンジ領域の位置241にプロリンを含む。この位置は、EU番号付けシステム(Kabatら、Sequences of Proteins of Immunological Interest Washington DC United States Department of Health and Human Services、2001年およびEdelmanら、Proc. Natl. Acad. USA、63: 78~85頁、1969年)に従ってヒンジ領域の位置228に対応する。ヒトIgG4では、この残基は、一般にセリンである。セリンのプロリンとの置換後、IgG4ヒンジ領域は、配列CPPCを含む。この関連で、当業者ならば、「ヒンジ領域」は、抗体の2つのFabアームに移動性を付与する、FcおよびFab領域を連結する、抗体重鎖定常領域のプロリンリッチ部分であることは承知している。ヒンジ領域は、重鎖間ジスルフィド結合に関与しているシステイン残基を含む。一般に、カバット(Kabat)の番号付けシステムに従って、ヒトIgG1のGlu226からPro243に広がっていると定義されている。その他のIgGアイソタイプのヒンジ領域は、重鎖間ジスルフィド(S-S)結合を形成する最初および最後のシステイン残基を同一位置に置くことによってIgG1配列とアラインされ得る(例えば、WO2010/080538を参照のこと)。

10

【0279】

突然変異体TL1a結合性タンパク質

20

本開示はまた、本明細書に開示される配列に対して少なくとも80%の同一性を有する、TL1結合性タンパク質またはそれをコードする核酸を提供する。一例では、本開示のTL1a結合性タンパク質または核酸は、本明細書に開示される配列に対して少なくとも約85%または90%または95%または97%または98%または99%同一である配列を含み、ここで、タンパク質は、TL1aと特異的に結合し、TL1aとDR3の相互作用を阻害し、TL1aとDcR3の相互作用を阻害しない。

【0280】

あるいは、またはさらに、TL1a結合性タンパク質は、任意の例に従って本明細書に記載されるV_HまたはV_LのCDRに対して少なくとも約80%または85%または90%または95%または97%または98%または99%同一であるCDR(例えば、3つのCDR)を含み、ここで、タンパク質は、TL1aと特異的に結合し、TL1aとDR3の相互作用を阻害でき、タンパク質は、TL1aとDcR3の相互作用を阻害しない。この関連で、本発明者らは、そのCDR内に多様な配列を有する多数の抗体を製造した。タンパク質TL1aの結合を調べる方法およびTL1aとDR3またはTL1aとDcR3の相互作用を調べる方法は、本明細書に記載されている。

30

【0281】

例えば、本発明者らは、カバット(Kabat)番号付けシステムに従ってそのHCDR1において60%の同一性を共有するTL1a結合性タンパク質のグループおよびカバット(Kabat)番号付けシステムに従ってそのHCDR1において80%の同一性を共有するタンパク質の別のサブグループを同定した。

【0282】

40

本発明者らはまた、カバット(Kabat)番号付けシステムに従ってそのHCDR2において40%の同一性または47%の同一性を共有するTL1a結合性タンパク質のサブクラスを同定した。

【0283】

本明細書に論じられるように、重鎖CDR2の5個のC末端残基は、保存的または非保存的アミノ酸置換に突然変異され得る(残基の31%)ということもまた当技術分野で公知である(Padlanら、FASEB J. 9:133~139頁、1995年)。したがって、タンパク質は、本明細書に開示される重鎖CDR2配列に対して少なくとも約69%の同一性を有するCDR2を含み得る。

【0284】

本発明者らはまた、本明細書に記載される抗体C320の可変領域の変異体を含むタンパク質のクラスを同定した。これらの変異体によって、機能を失うことなく置換され得る可変

50

領域内の部位の同定が可能となる。

【0285】

例えば、本発明者らは、機能を失うことなく置換され得る、配列番号42に示される配列を含む V_H 中のいくつかの残基を同定した。したがって、本開示は、配列番号42に示される配列に対して少なくとも約86%の同一性を有する V_H を含むタンパク質を包含する。この関連で、本発明者らは、本明細書に列挙された機能を保持する、約17のアミノ酸置換を有する(すなわち、それに対して約86%の同一性を有する)配列番号42の修飾された形態を製造した。この関連で、本発明者らはまた、本明細書に列挙された機能を保持するそれに対して約90または94%の同一性を有する配列番号42の修飾された形態も製造した。一例では、配列は、配列番号42に示される配列に対して少なくとも約95%または96%または97%または98%の同一性を有する。この関連で、本発明者らは、配列番号42に示される配列に対して約97%または98%または99%の同一性を有するタンパク質を製造した。一例では、配列は、配列番号42に示される配列に対して少なくとも約99%の同一性を有する。一例では、配列は、配列番号42に示される配列に対して少なくとも約99.2%の同一性を有する。

10

【0286】

一例では、TL1a結合性タンパク質は、配列番号42と比較して、1から17の間のアミノ酸置換を含む。例えば、TL1a結合性タンパク質は、配列番号42と比較して、1または2または3または4または5または6または7または8または9または10または11または12または13または14または15または16または17のアミノ酸置換を含む。

【0287】

一例では、TL1a結合性タンパク質は、配列番号42と比較して、FRにおいて、1から17のアミノ酸置換を含む。例えば、TL1a結合性タンパク質は、配列番号42と比較して、FRにおいて、1または2または3または4または5または6または7または8または9または10または11または12または13または14または15または16または17のアミノ酸置換を含む。一例では、置換は、配列番号42の位置73ではない。

20

【0288】

一例では、TL1a結合性タンパク質は、配列番号42と比較して、CDR3において、1から3のアミノ酸置換を含む。例えば、TL1a結合性タンパク質は、配列番号42と比較して、CDR3において、1または2または3のアミノ酸置換を含む。一例では、置換は、配列番号42の位置99または101または104または108のうち1つまたは複数ではない。

30

【0289】

一例では、TL1a結合性タンパク質は、タンパク質のグリコシル化を防止または低減するために1つまたは複数の置換を含み、置換は、配列番号42のアミノ酸72から76の間である。例えば、タンパク質は、配列番号42の位置71にアルギニンの代わりにアラニンおよび/または位置72にアスパラギンの代わりにアスパラギン酸および/または位置73にトレオニンの代わりにアルギニンおよび/または位置75にイソロイシンの代わりにトレオニンを含む。

【0290】

一例では、タンパク質の V_H は、グリコシル化されず、および/またはN結合型グリコシル化のためのコンセンサス部位を含まない。

40

【0291】

一例では、本開示のTL1a結合性タンパク質は、配列番号42に示される配列の突然変異体を含み、突然変異体配列は、配列番号42の位置16にセリンを少なくとも含む。

【0292】

一例では、本開示のTL1a結合性タンパク質は、配列番号42に示される配列の突然変異体を含み、突然変異体配列は、位置41にプロリンを少なくとも含む。

【0293】

一例では、本開示のTL1a結合性タンパク質は、配列番号42に示される配列の突然変異体を含み、突然変異体配列は、位置74にアルギニンを少なくとも含む。

【0294】

50

一例では、本開示のTL1a結合性タンパク質は、配列番号42に示される配列の突然変異体を含み、突然変異体配列は、配列番号42の位置49にグルタミン酸またはグリシンを少なくとも含む。

【0295】

一例では、本開示のTL1a結合性タンパク質は、配列番号42に示される配列の突然変異体を含み、突然変異体配列は、各々配列番号42に対して、位置41にプロリンおよび位置51にロイシンおよび位置102にグルタミン酸を少なくとも含む。

【0296】

一例では、本開示のTL1a結合性タンパク質は、配列番号42に示される配列の突然変異体を含み、突然変異体配列は、各々配列番号42に対して、位置41にプロリンおよび位置51にロイシンおよび位置72にアラニンおよび位置73にアスパラギン酸および位置74にアルギニンおよび位置102にグルタミン酸および位置105にアラニンを少なくとも含む。

【0297】

一例では、本開示のTL1a結合性タンパク質は、配列番号42に示される配列の突然変異体を含み、突然変異体配列は、各々配列番号42に対して、位置41にプロリンおよび位置51にロイシンおよび位置72にアラニンおよび位置73にアスパラギン酸および位置74にアルギニンおよび位置76にトレオニンおよび位置102にグルタミン酸および位置105にアラニンを少なくとも含む。

【0298】

本発明者らは、置換され得るHCDR2内の部位を同定した。したがって、Padlanら、前掲の知見を加味して、本開示は、配列番号44に示される配列に対して少なくとも約65%同一の配列を有するCDR2を含む V_H を含むタンパク質を提供する。一例では、同一性パーセンテージは、少なくとも約70%または75%または80%または90%である。一例では、同一性パーセンテージは、少なくとも約94%である。

【0299】

本発明者らは、置換され得るHCDR3内の多数の部位を同定した。したがって、本開示は、配列番号45に示される配列に対して少なくとも約60%同一の配列を有するCDR3を含む V_H を含むタンパク質を提供する。一例では、同一性パーセンテージは、本明細書に例示されるように、配列番号45に示される配列に対して少なくとも約70%同一である。一例では、同一性パーセンテージは、少なくとも約75%または80%または90%である。一例では、同一性パーセンテージは、少なくとも約90%である。

【0300】

一例では、配列番号45の突然変異型は、配列番号45の位置1にグルタミン酸および/または配列番号45の位置3にプロリンおよび/または配列番号45の位置6にアラニンを含む。所望により、突然変異型は、配列番号45の位置8にフェニルアラニンおよび/または配列番号45の位置10にチロシンをさらに含む。

【0301】

突然変異され得るさらなる残基は、図1C~図1Eに、また配列番号94、137、152、162および173に示されている。

【0302】

一例では、本発明者らは、機能を失うことなく置換され得る、配列番号46に示される配列を含む V_L 中のいくつかの残基を同定した。したがって、本開示は、配列番号46に示される配列に対して少なくとも約95%の同一性を有する V_L を含むタンパク質を包含する。例えば、本発明者らは、機能を失うことなく、 V_L 中に突然変異した32個の残基を有し、これは、本開示が、配列番号46に示される配列に対して少なくとも約71%の同一性を有するタンパク質を提供することを意味する。一例では、同一性パーセンテージは、少なくとも約75%または80%または90%または95%または97%である。一例では、同一性パーセンテージは、少なくとも約98%である。一例では、同一性パーセンテージは、少なくとも約99%である。一例では、同一性パーセンテージは、少なくとも約99.1%である。

【0303】

10

20

30

40

50

一例では、TL1a結合性タンパク質は、配列番号42と比較して、1から17のアミノ酸置換を含む。例えば、TL1a結合性タンパク質は、配列番号46と比較して、1または2または3または4または5または6または7または8または9または10または11または12または13または14または15または16または17または18または19または20または21または22または23または24または25または26または27または28または29または30または31または32のアミノ酸置換を含む。

【0304】

一例では、TL1a結合性タンパク質は、配列番号46と比較して、FRにおいて1から32のアミノ酸置換を含む。例えば、TL1a結合性タンパク質は、配列番号46と比較して、FRにおいて、1または2または3または4または5または6または7または8または9または10または11または12または13または14または15または16または17または18または19または20または21または22または23または24または25または26または27または28または29または30または31または32のアミノ酸置換を含む。

10

【0305】

一例では、TL1a結合性タンパク質は、配列番号46と比較して、CDRにおいて、1から3のアミノ酸置換を含む。例えば、TL1a結合性タンパク質は、配列番号46と比較して、CDRにおいて、1または2または3のアミノ酸置換を含む。一例では、置換は、配列番号46の位置34、54、94のうち1つまたは複数ではない。

【0306】

一例では、本開示のTL1a結合性タンパク質は、配列番号46に示される配列の突然変異体を含み、突然変異体配列は、配列番号46の位置24にセリンを少なくとも含む。

20

【0307】

一例では、本開示のTL1a結合性タンパク質は、配列番号46に示される配列の突然変異体を含み、突然変異体配列は、配列番号46の位置76にトレオニンを少なくとも含む。

【0308】

一例では、本開示のTL1a結合性タンパク質は、配列番号46に示される配列の突然変異体を含み、突然変異体配列は、配列番号46の位置81にグルタミンを少なくとも含む。

【0309】

一例では、本開示のTL1a結合性タンパク質は、配列番号46に示される配列の突然変異体を含み、突然変異体配列は、各々配列番号46に対して、位置23にトレオニンおよび位置24にセリンおよび位置76にトレオニンを少なくとも含む。

30

【0310】

一例では、本開示のTL1a結合性タンパク質は、配列番号46に示される配列の突然変異体を含み、突然変異体配列は、各々配列番号46に対して、位置23にトレオニンおよび位置24にセリンおよび位置76にトレオニンおよび位置51にグルタミン酸を少なくとも含む。

【0311】

本発明者らは、置換され得るLCDR1内の複数の部位を同定した。したがって、本開示は、配列番号47に示される配列に対して少なくとも約60%同一の配列を有するCDR1を含む V_L を含むタンパク質を提供する。一例では、同一性パーセンテージは、少なくとも約70%または75%または80%または90%である。例えば、本発明者らは、配列番号47に示される配列を含むLCDR1内の2つの部位を突然変異させ、このようにして、列挙された配列に対して少なくとも約86%の同一性を有するタンパク質を製造した。一例では、同一性パーセンテージは、少なくとも約90%である。

40

【0312】

一例では、本開示のTL1a結合性タンパク質は、配列番号42に示される配列を含む V_H および配列番号46に示される配列を含む V_L を含み、 V_H および/または V_L は、以下の置換または置換の群のうち1つまたは複数を含む：

- (i) V_H は、少なくとも配列番号42の位置16にセリンを含む；
- (ii) V_L は、少なくとも配列番号46の位置76にトレオニンを含む；
- (iii) V_L は、少なくとも配列番号46の位置81にグルタミンを含む；

50

(iv) V_H は、少なくとも、各々配列番号42に対して、位置41にプロリンおよび位置51にロイシンおよび位置102にグルタミン酸および位置105にアラニンを含み、 V_L は、少なくとも、各々配列番号46に対して、位置23にトレオニンおよび位置24にセリンおよび位置76にトレオニンを含む;または

(v) VH は、少なくとも、各々配列番号42に対して、位置41にプロリンおよび位置51にロイシンおよび位置72にアラニンおよび位置73にアスパラギン酸および位置74にアルギニンおよび位置102にグルタミン酸および位置105にアラニンを含み、 VL は、少なくとも、各々配列番号46に対して、位置23にトレオニンおよび位置24にセリンおよび位置76にトレオニンおよび位置51にグルタミン酸を含む。

【0313】

別の例では、本開示の核酸は、本明細書に示され、TL1aと特異的に結合し、TL1aとDR3の相互作用を阻害できるTL1a結合性タンパク質をコードする配列に対して、少なくとも約80%または85%または90%または95%または97%または98%または99%同一である配列を含み、タンパク質は、TL1aとDcR3の相互作用を阻害しない。本開示はまた、遺伝暗号の縮重の結果として本明細書に例示される配列とは異なる、本開示のTL1a結合性タンパク質をコードする核酸も包含する。

【0314】

核酸またはポリペプチドの同一性%は、ギャップ作製ペナルティ=5およびギャップ伸長ペナルティ=0.3を用い、GAP(NeedlemanおよびWunsch, Mol. Biol. 48, 443~453頁、1970年)解析(GCGプログラム)によって決定される。クエリー配列は、少なくとも50個の残基の長さであり、GAP解析は、少なくとも50個の残基の領域にわたって2種の配列をアラインする。例えば、クエリー配列は、少なくとも100個の残基の長さであり、GAP解析は、少なくとも100個の残基の領域にわたって2種の配列をアラインする。例えば、2種の配列は、その全長にわたってアラインされる。

【0315】

上記で論じたように、本開示はまた、ストリンジェントなハイブリダイゼーション条件下で、本明細書に記載されたTL1a結合性タンパク質をコードする核酸、例えば、抗体C319、C320、C321、C323、C333、C334、C336、C320-3、C320-5、C320-90、C320-103、C320-114、C320-115、C320-120、C320-129、C320-130、C320-135、C320-162、C320-163、C320-164、C320-165、C320-166、C320-167、C320-168、C320-169、C320-170、C320-171、C320-172、C320-179またはC320-183の V_H または V_L をコードする核酸とハイブリダイズする核酸を考慮する。「中程度にストリンジェント」は、ハイブリダイゼーションおよび/または洗浄が、45 ~ 65 の温度で2×SSCバッファー、0.1%(w/v)SDS中で実施される、または同等の条件と本明細書において定義される。「高度にストリンジェント」は、ハイブリダイゼーションおよび/または洗浄が0.1×SSCバッファー、0.1%(w/v)SDSまたは低塩濃度中および少なくとも65 の温度で実施される、または同等の条件と本明細書において定義される。ストリンジェント度合の特定のレベルへの本明細書における言及は、当業者に公知のSSC以外の洗浄/ハイブリダイゼーション溶液を使用する同等の条件を包含する。例えば、二本鎖核酸の鎖が解離する温度(融解温度または T_m としても知られる)を算出する方法は、当技術分野で公知である。核酸の T_m と同様である(例えば、5 内または10 内)またはそれと同等である温度は、高度にストリンジェントであると考えられる。中程度にストリンジェントとは、核酸の算出された T_m の10 から20 または10 から15 内であると考えられなければならない。

【0316】

本開示はまた、本明細書に示される配列と比較して、1種または複数の保存的アミノ酸置換を含む、本開示のTL1a結合性タンパク質の突然変異体形態を考慮する。いくつかの例では、TL1a結合性タンパク質は、10以下、例えば、9または8または7または6または5または4または3または2または1つの保存的アミノ酸置換を含む。「保存的アミノ酸置換」は、アミノ酸残基が同様の側鎖および/または疎水性親水性指標および/または親水性を有するアミノ酸残基で置換されるものである。

10

20

30

40

50

【0317】

同様の側鎖を有するアミノ酸残基のファミリーは、当技術分野で定義されており、塩基性側鎖(例えば、リシン、アルギニン、ヒスチジン)、酸性側鎖(例えば、アスパラギン酸、グルタミン酸)、非荷電極性側鎖(例えば、グリシン、アスパラギン、グルタミン、セリン、トレオニン、チロシン、システイン)、非極性側鎖(例えば、アラニン、バリン、ロイシン、イソロイシン、プロリン、フェニルアラニン、メチオニン、トリプトファン)、一分岐側鎖(例えば、トレオニン、バリン、イソロイシン)および芳香族側鎖(例えば、チロシン、フェニルアラニン、トリプトファン、ヒスチジン)を含む。疎水性親水性指数は、例えば、KyteおよびDoolittle *J. Mol. Biol.*, 157:105~132頁、1982年に記載されており、親水性指数は、例えば、US4554101に記載されている。

10

【0318】

本開示はまた、非保存的アミノ酸変化も考慮する。例えば、荷電アミノ酸の、別の荷電アミノ酸での、および中性または正に荷電したアミノ酸での置換は特に興味深い。いくつかの例では、TL1a結合性タンパク質は、10以下、例えば、9または8または7または6または5または4または3または2または1つの非保存的アミノ酸置換を含む。

【0319】

一例では、突然変異は、本開示のTL1a結合性タンパク質の抗原結合ドメインのFR内で生じる。別の例では、突然変異は、本開示のTL1a結合性タンパク質のCDR内で生じる。

【0320】

TL1a結合性タンパク質の突然変異体形態を製造する例示的方法として、以下が挙げられる：

20

- ・DNA (Thieら、*Methods Mol. Biol.* 525:309~322頁、2009年)またはRNA(Kopsidasら、*Immunol. Lett.* 107:163~168頁、2006年;Kopsidasら *BMC Biotechnology*, 7:18頁、2007年;およびWO1999/058661)の突然変異誘発；

- ・ポリペプチドをコードする核酸の、変異誘発細胞、例えば、XL-1Red、XL-mutSおよびXL-mutS-Kanr細菌細胞(Stratagene)への導入；

- ・例えば、Stemmer、*Nature* 370:389~91頁、1994年に開示されるようなDNAシャッフリング；および

- ・例えば、Dieffenbach(編)およびDveksler(編)(*In:PCR Primer: A Laboratory Manual*、Cold Spring Harbor Laboratories、NY、1995年)に記載されるような部位特異的突然変異誘発。

30

【0321】

本開示の突然変異体TL1a結合性タンパク質の生物活性、例えば、抗原結合を調べる例示的方法は、当業者には明らかであり、および/または本明細書に記載されている。例えば、抗原結合、結合の競合阻害、親和性、会合、解離および治療効力を調べる方法は、本明細書に記載されている。

【0322】

例示的TL1a結合性タンパク質

本発明者らによって製造されたTL1a結合性タンパク質を含有する例示的可変領域およびそのコーディング核酸は、Table 1および2(表1および2)に記載されている。

40

【0323】

【表 1 A】

Table 1: 例示的TL1a結合性タンパク質およびコードする核酸の配列

	抗体名	V _H アミノ酸 配列番号	V _H 鎖ヌクレ オチド配列 番号	V _L アミノ酸 配列番号	V _L 鎖ヌクレ オチド配列 番号
1	C336	2	96	6	97
2	C334	10	98	14	99
3	C333	18	100	22	101
4	C323	26	102	30	103
5	C321	34	104	38	105
6	C320	42	106	46	107
7	C319	50	108	54	109
8	C320-3	58	110	46	107
9	C320-5	42	106	62	111
10	C320-90	66	112	62	111
11	C320-103	70	113	62	111
12	C320-114	74	114	62	111
13	C320-115	78	115	62	111
14	C320-120	58	110	82	116
15	C320-129	86	117	46	107
16	C320-130	90	118	46	107
17	C320-135	58	110	62	111
18	C320-7	154		164	
19	C320-8	155		163	
20	C320-9	156		165	
21	C320-10	157		166	
22	C320-11	158		167	
23	C320-12	159		168	
24	C320-13	234		169	
25	C320-14	160		170	
26	C320-15	161		171	
27	C320-16	154		46	
28	C320-17	155		46	
29	C320-18	156		46	
30	C320-19	157		46	
31	C320-20	158		46	
32	C320-21	159		46	
33	C320-22	234		46	
34	C320-23	160		46	

10

20

30

40

【表 1 B】

35	C320-24	161		46	
36	C320-25	42		164	
37	C320-26	42		163	
38	C320-27	42		165	
39	C320-28	42		166	
40	C320-29	42		167	
41	C320-30	42		168	
42	C320-31	42		169	
43	C320-32	42		170	
44	C320-33	42		171	
45	C320-162	175	222	188	228
46	C320-163	176	223	189	228
47	C320-164	177	224	190	229
48	C320-165	178	224	191	230
49	C320-166	179	224	192	231
50	C320-167	180	224	193	228
51	C320-168	181	225	194	230
52	C320-169	182	225	195	228
53	C320-170	183	226	196	230
54	C320-171	184		197	
55	C320-172	185	226	198	232
56	C320-179	186	227	199	232
57	C320-183	187	227	200	233

10

20

30

【 0 3 2 5 】

【表 2 A】

Table 2: 例示的TL1a結合性タンパク質のV_H(配列番号42に対する)およびV_L(配列番号46に対する)におけるアミノ酸置換

	抗体名	V _H 置換 ¹	V _L 置換 ¹
1	C320-2	A16S	なし
2	C320-53	E99S	A76T
3	C320-54	E99H	A76T
4	C320-55	E99L	A76T
5	C320-56	E99D	A76T
6	C320-57	E99Y	A76T
7	C320-58	E99P	A76T
8	C320-59	E99Q	A76T
9	C320-60	E99K	A76T
10	C320-61	V100A	A76T
11	C320-62	V100S	A76T
12	C320-63	V100H	A76T
13	C320-64	V100L	A76T
14	C320-65	V100D	A76T
15	C320-66	V100Y	A76T
16	C320-67	V100P	A76T
17	C320-68	V100Q	A76T
18	C320-69	V100K	A76T
19	C320-70	P101A	A76T
20	C320-71	P101S	A76T
21	C320-72	P101H	A76T
22	C320-73	P101L	A76T
23	C320-74	P101D	A76T
24	C320-75	P101Y	A76T
25	C320-76	P101Q	A76T
26	C320-77	P101K	A76T
27	C320-78	D102A	A76T
28	C320-79	D102S	A76T
29	C320-80	D102H	A76T
30	C320-81	D102L	A76T
31	C320-82	D102Y	A76T
32	C320-83	D102P	A76T
33	C320-84	D102Q	A76T
34	C320-85	D102K	A76T
35	C320-86	T103A	A76T

10

20

30

40

【表 2 B】

36	C320-87	T103S	A76T
37	C320-88	T103H	A76T
38	C320-89	T103L	A76T
39	C320-90	T103D	A76T
40	C320-91	T103Y	A76T
41	C320-92	T103P	A76T
42	C320-93	T103Q	A76T
43	C320-94	T103K	A76T
44	C320-95	A104S	A76T
45	C320-96	A104H	A76T
46	C320-97	A104L	A76T
47	C320-98	A104D	A76T
48	C320-99	A104Y	A76T
49	C320-100	A104P	A76T
50	C320-101	A104Q	A76T
51	C320-102	A104K	A76T
52	C320-103	S105A	A76T
53	C320-104	S105H	A76T
54	C320-105	S105L	A76T
55	C320-106	S105D	A76T
56	C320-107	S105Y	A76T
57	C320-108	S105P	A76T
58	C320-109	S105Q	A76T
59	C320-110	S105K	A76T
60	C320-111	E107A	A76T
61	C320-112	E107S	A76T
62	C320-113	E107H	A76T
63	C320-114	E107L	A76T
64	C320-115	E107D	A76T
65	C320-116	E107Y	A76T
66	C320-117	E107P	A76T
67	C320-118	E107Q	A76T
68	C320-119	E107K	A76T
69	C320-120	T41P	A23T
70	C320-121	T41P	D28N
71	C320-122	T41P	L33Y
72	C320-123	T41P	G34D
73	C320-124	T41P	Y53N

10

20

30

40

【表 2 C】

74	C320-125	T41P	Y54S
75	C320-126	T41P	P82A
76	C320-127	T41P	G95S
77	C320-128	T41P	T96S
78	C320-129	D102E	なし
79	C320-130	M51L	なし
80	C320-131	なし	D49E
81	C320-135	T41P	A76T
82	C320-162	T41P+M51L+S75A+D102E	A76T
83	C320-163	T41P+R72A+N73D+T74R+I76T	A76T
84	C320-164	T41P+M51L+D102E	G24S+A76T
85	C320-165	T41P+M51L+D102E	A23T+G24S+A76T
86	C320-166	T41P+M51L+D102E	A23T+A76T
87	C320-167	T41P+M51L+D102E	A76T
98	C320-168	T41P+M51L+D102E+S105A	A23T+G24S+A76T
89	C320-169	T41P+M51L+D102E+S105A	A76T
90	C320-170	T41P+R72A+N73D+T74R+I76T	A23T+G24S+A76T
91	C320-171	T41P+R72A+N73D+T74R+I76T	A23T+G24S+A76T+Y51P
92	C320-172	T41P+R72A+N73D+T74R+I76T	A23T+G24S+A76T+Y51E
93	C320-179	T41P+M51L+R72A+N73D+T74R+I76T +D102E+S105A	A23T+G24S+A76T+Y51E
94	C320-183	T41P+M51L+R72A+N73D+T74R+I76T +D102E+S105A	A23T+G24S+A76T+Y51G

¹ 置換は、配列番号42または46中の残基;配列番号42または46中の位置;置換されたアミノ酸として列挙されている。すなわち、V_H中のA16Sは、配列番号42の位置16に、TL1a結合性タンパク質ではセリンで置換されているアラニンがあることを意味する。

【 0 3 2 8 】

タンパク質を製造する方法

組換え発現

本明細書において論じられるように、本開示のTL1a結合性タンパク質(および/またはこのようなTL1a結合性タンパク質中に含まれるポリペプチド)をコードする核酸が、プロモーターと作動可能に連結され、それによって、その発現を促進するように発現構築物中に導入される。発現構築物を製造する方法、例えば、発現構築物/ベクターへのクローニングは、当技術分野で公知であり、および/またはAusubelら(In: Current Protocols in Molecular Biology, Wiley Interscience, ISBN 047 150338, 1987)およびSambrookら(In: Molecular Cloning: Molecular Cloning: A Laboratory Manual, Cold Spring Harbor Laboratories, New York, 第3版 2001年)およびUS7270969に記載されている。

【 0 3 2 9 】

一例では、本開示のTL1a結合性タンパク質は、細菌細胞において発現される。例えば、大腸菌(*E. coli*)、スタフィロコッカス(*Staphylococcus*)種、コリネバクテリウム(*Corynebacterium*)種、サルモネラ(*Salmonella*)種、バチルス(*Bacillus*)種およびシュードモナス(*Pseudomonas*)種を含む群から選択される細菌細胞などの細菌細胞における発現にとって適した通常のプロモーターとして、それだけには限らないが、*lacZ*、*lpp*、温度感受性(L

または_Rプロモーター、T7、T3、SP6またはIPTG誘導性tacプロモーターもしくはlacUV5プロモーターなどの半人工プロモーターなどのプロモーターが挙げられる。

【0330】

別の例では、TL1a結合性タンパク質は、酵母細胞において発現される。ピキア・パストリス(*Pichia pastoris*)、サッカロミセス・セレビシエ(*Saccharomyces cerevisiae*)および*S. ポンベ*(*pombe*)などの酵母細胞における発現に適した通常のプロモーターとして、それだけには限らないが、以下の遺伝子ADH1、GAL1、GAL4、CUP1、PHO5、*nmt*、RPR1またはTEF1に由来するプロモーターが挙げられる。

【0331】

さらなる例では、TL1a結合性タンパク質は、昆虫細胞において発現される。昆虫細胞における発現にとって適した通常のプロモーターとして、それだけには限らないが、OPE12プロモーター、ボンビックス・ムリ(*Bombyx mori*)から単離された昆虫アクチンプロモーター、ショウジョウバエ種(*Drosophila sp.*) *dsh*プロモーターが挙げられる(Marshら、Hum. Mol. Genet. 9:13~25頁、2000年)。

10

【0332】

本開示のTL1a結合性タンパク質はまた、植物細胞において発現され得る。植物細胞においてペプチドを発現するためのプロモーターは、当技術分野で公知であり、それだけには限らないが、オオムギ(*Hordeum vulgare*)アミラーゼ遺伝子プロモーター、カリフラワーモザイクウイルス35Sプロモーター、ノパリンシンターゼ(NOS)遺伝子プロモーターおよびオーキシン誘導性植物プロモーターP1およびP2が挙げられる。

20

【0333】

一例では、本開示のTL1a結合性タンパク質は、哺乳類細胞において、または哺乳類において発現される。哺乳類細胞における発現に適した通常のプロモーターとして、例えば、レトロウイルスLTRエレメント、SV40初期プロモーター、SV40後期プロモーター、CMV IE(サイトメガロウイルス最初期)プロモーター、EF₁プロモーター(ヒト延長因子1由来)、EM7プロモーター、UbCプロモーター(ヒトユビキチンC由来)からなる群から選択されるプロモーターが挙げられる。有用な哺乳類宿主細胞株の例として、SV40によって形質転換されたサル腎臓CV1株(COS-7);ヒト胚性腎臓株(HEK-293細胞);ベビーハムスター腎臓細胞(BHK);チャイニーズハムスター卵巣細胞(CHO);アフリカミドリザル腎臓細胞(VERO-76);または骨髄腫細胞(例えば、NS/O細胞)が挙げられる。

30

【0334】

発現構築物/ベクターのその他のエレメントが当技術分野で公知であり、例えば、エンハンサー、転写終結コドン、ポリアデニル化配列、選択可能なマーカーまたは検出可能なマーカーをコードする核酸および複製起源が挙げられる。

【0335】

一例では、発現構築物は、バイシストロン性発現構築物である。「バイシストロン性」とは、核酸の異なる領域に由来する2種の別個のポリペプチドをコードできる単一核酸分子、例えば、ポリペプチドを含有するV_Hおよびポリペプチドを含有するV_Lを、別個のポリペプチドとしてコードできる単一核酸を意味する。一般に、別個のポリペプチドを各々コードする領域は、配列内リボソーム進入部位(IRES)によって分かれており、IRESの領域5'は、転写終結配列を含まない。例示的IRESは、例えば、US20090247455に記載されている。

40

【0336】

適した発現構築物を製造した後、当技術分野で公知の任意の方法を使用して適した細胞中に導入される。例示的方法として、中でも、マイクロインジェクション、DEAE-デキストランによって媒介されるトランスフェクション、市販の試薬などを使用してリボソームによって媒介されるトランスフェクション、PEG媒介性DNA取り込み、エレクトロポレーションおよびDNAがコーティングされたタングステンまたは金粒子を使用することなどによる微粒子銃(Agracetec Inc., WI, USA)が挙げられる。

【0337】

50

次いで、本開示のTL1a結合性タンパク質を製造するために使用される細胞が、本開示のTL1a結合性タンパク質を製造するために当技術分野で公知の条件下で培養される。

【0338】

本開示によって無細胞発現系、例えば、TNT T7およびTNT T3系(Promega)、pEXP1-DESTおよびpEXP2-DESTベクター(Invitrogen)も考慮される。

【0339】

タンパク質精製

製造/発現後、本開示のTL1a結合性タンパク質は、当技術分野で公知の方法を使用して精製される。このような精製によって、非特異的タンパク質、酸、脂質、炭水化物などを実質的に含まない本開示のタンパク質が提供される。一例では、タンパク質は、調製物中にあり、調製物中のタンパク質の約90%(例えば、95%、98%または99%)超が、本開示のTL1a結合性タンパク質である。

10

【0340】

本開示の単離TL1a結合性タンパク質を得るために、それだけには限らないが、種々の高圧(または高性能)液体クロマトグラフィー(HPLC)およびサイズ排除クロマトグラフィー、イオン交換クロマトグラフィー、疎水性相互作用クロマトグラフィー、混合様式クロマトグラフィー、相分離法、電気泳動分離、沈殿法、塩溶/塩析法、イムノクロマトグラフィーなどの非HPLCポリペプチド単離プロトコールおよび/またはその他の方法を含めた、ペプチド精製の標準法が使用される。

【0341】

一例では、標識を含む融合タンパク質を単離するためにアフィニティー精製が有用である。アフィニティークロマトグラフィーを使用してタンパク質を単離する方法は、当技術分野で公知であり、例えば、Scopes(In: Protein purification: principles and practice, 第3版、Springer Verlag、1994年)に記載されている。例えば、標識(ポリヒスチジンタグの場合には、これは、例えば、ニッケル-NTAであり得る)と結合する抗体または化合物を、固相支持体上に固定化する。次いで、タンパク質を含むサンプルを、固定された抗体または化合物と、結合が起こるのに十分な時間、条件下で接触させる。洗浄して、任意の結合していないタンパク質または非特異的に結合しているタンパク質を除去した後、タンパク質を溶出する。

20

【0342】

抗体のFc領域を含むTL1a結合性タンパク質の場合には、アフィニティー精製に、プロテインAまたはプロテインGまたはそれらの修飾された形態が使用され得る。プロテインAは、ヒト 1、 2または 4重鎖Fc領域を含む精製タンパク質を単離するのに有用である。プロテインGは、すべてのマウスFcアイソタイプに、またヒト 3のために推奨される。

30

【0343】

コンジュゲート

一例では、本開示のTL1a結合性タンパク質は、化合物とコンジュゲートされる。例えば、化合物は、放射性同位元素、検出可能な標識、治療的化合物、コロイド、毒素、核酸、ペプチド、タンパク質、対象におけるTL1a結合性タンパク質の半減期を増大する化合物およびそれらの混合物からなる群から選択される。

40

【0344】

その他の化合物は、TL1a結合性タンパク質と直接的に、または間接的に結合され得る(例えば、間接的結合の場合にはリンカーを含み得る)。化合物の例として、放射性同位元素(例えば、ヨウ素-131、イットリウム-90またはインジウム-111)、検出可能な標識(例えば、フルオロフォアまたは蛍光ナノ結晶または量子ドット)、治療的化合物(例えば、化学療法薬または抗炎症薬)、コロイド(例えば、金)、毒素(例えば、リシンまたはテタヌストキソイド)、核酸、ペプチド(例えば、血清アルブミン結合ペプチド)、タンパク質(例えば、抗体の抗原結合ドメインを含むタンパク質または血清アルブミン)、対象におけるTL1a結合性タンパク質の半減期を増大する化合物(例えば、ポリエチレングリコールまたはこの活性を有するその他の水溶性ポリマー)およびそれらの混合物が挙げられる。本開示のT

50

L1a結合性タンパク質とコンジュゲートされ得る例示的化合物およびこのようなコンジュゲーションの方法は、当技術分野で公知であり、例えば、WO2010/059821に記載されている。

【0345】

TL1a結合性タンパク質は、ナノ粒子(例えば、Koganら、Nanomedicine (Lond). 2:287~306頁、2007年に概説されるような)とコンジュゲートされ得る。ナノ粒子は、金属性ナノ粒子であり得る。

【0346】

TL1a結合性タンパク質は、抗体にターゲティングされる細菌ミニ細胞(例えば、PCT/I B2005/000204に記載されるような)に含まれ得る。

【0347】

本開示のTL1a結合性タンパク質にコンジュゲートされ得るいくつかの例示的化合物は、Table 3(表3)に列挙される。

【0348】

【表3】

Table 3. コンジュゲーションにおいて有用な化合物

群	詳細
放射性同位元素(直接的または間接的のいずれか)	<ul style="list-style-type: none"> ^{123}I, ^{125}I, ^{130}I, ^{133}I, ^{135}I, ^{47}Sc, ^{72}As, ^{72}Sc, ^{90}Y, ^{88}Y, ^{97}Ru, ^{100}Pd, $^{101\text{m}}\text{Rh}$, $^{101\text{m}}\text{Rh}$, ^{119}Sb, ^{128}Ba, ^{197}Hg, ^{211}At, ^{212}Bi, ^{153}Sm, ^{169}Eu, ^{212}Pb, ^{109}Pd, ^{111}In, ^{67}Gu, ^{68}Gu, ^{67}Cu, ^{75}Br, ^{76}Br, ^{77}Br, $^{99\text{m}}\text{Tc}$, ^{11}C, ^{13}N, ^{15}O, ^{18}I, ^{188}Re, ^{203}Pb, ^{64}Cu, ^{105}Rh, ^{198}Au, ^{199}Ag or ^{177}Lu
半減期延長物質	<ul style="list-style-type: none"> ポリエチレングリコール グリセロール グルコース
蛍光プローブ	<ul style="list-style-type: none"> フィコエリトリン(PE) アロフィコシアニン(APC) アレクサフルオル(Alexa Fluor)488 Cy5.5
生物製剤	<ul style="list-style-type: none"> ウミシイタケ(Renilla)ルシフェラーゼ、GFPなどの蛍光タンパク質 免疫調節物質またはサイトカイン、例えば、インターフェロンなどのタンパク質 毒素 免疫グロブリンまたは抗体または抗体可変領域 アルブミンまたはアルブミンと結合する抗体可変領域またはペプチドなどの半減期延長物質
化学療法薬	<ul style="list-style-type: none"> タキソール 5-FU ドキソルビシン イダルビシン

【0349】

スクリーニングアッセイ

本開示の抗体結合ドメインを含むTL1a結合性タンパク質は、例えば、以下に記載されるように生物活性について容易にスクリーニングされる。

【0350】

結合アッセイ

アッセイの1つの形態は、例えば、Scope (In:Protein purification:principles and practice、第3版、Springer Verlag、1994年)に記載されるような抗原結合アッセイである。このような方法は、一般に、TL1a結合性タンパク質を標識することおよび固定された抗原と接触させることを含む。洗浄して、非特異的に結合しているタンパク質を除去した後、標識の量および結果として、結合しているタンパク質が検出される。もちろん、TL1a結合性タンパク質を固定し、抗原を標識してもよい。例えば、本明細書に記載されるか、または例示されるようなパニング型アッセイも使用してもよい。あるいは、またはさらに、表面プラズモン共鳴アッセイを使用してもよい。

10

【0351】

一例では、結合アッセイは、TL1aのエピトープを含むペプチドを用いて実施される。このような方法で、TL1aの特定の領域と結合するTL1a結合性タンパク質が選択される。

【0352】

TL1aとDR3の相互作用の阻害

TL1aとDR3の相互作用を阻害するTL1a結合性タンパク質を同定する方法は、本明細書における記載に基づいて当業者に明らかとなる。

【0353】

例えば、DR3(例えば、2 μ g/mlのDR3)を表面上に固定化し、TL1a(例えば、1 μ g/ml TL1a)、および試験されるTL1a結合性タンパク質と接触させる(対照の場合には、アイソタイプが対応した対照抗体を加える)。TL1a結合性タンパク質の不在下と比較した、TL1a結合性タンパク質の存在下における、DR3と結合しているTL1aのレベルの低下が、TL1a結合性タンパク質が、TL1aのDR3との結合を阻害することを示す。アッセイはまた、固定化されたTL1aを用いて実施し、それにDR3を接触させてもよい。アッセイはまた、検出を補助するために標識されたTL1aおよび/またはDR3を用いて実施してもよい。

20

【0354】

いくつかの例では、種々の濃度のTL1a結合性タンパク質が試験され、TL1a結合性タンパク質による、TL1aのDR3との結合の最大阻害の50%の濃度が決定される(この濃度は、EC₅₀として知られる)。一例では、本開示のTL1a結合性タンパク質のEC₅₀は、約5nMまたは4nMまたは3.5nMまたは3nMまたは2.5nMまたは2.3nMまたは1nMまたは0.5nM未満である。一例では、EC₅₀は、3nM未満である。一例では、EC₅₀は、2.5nM未満である。一例では、EC₅₀は、1nM未満である。一例では、EC₅₀は、0.5nM未満である。

30

【0355】

いくつかの例では、TL1aとDR3の相互作用最大阻害は、TL1a結合性タンパク質の存在下および不在下での、TL1aとDR3の相互作用のレベルを決定することによって評価される。次いで、タンパク質の存在下でのTL1aとDR3の相互作用の阻害のレベルが、タンパク質の不在下での相互作用のレベルのパーセンテージとして表される。一例では、TL1a結合性タンパク質は、TL1aとDR3の間の相互作用の少なくとも約80%を阻害する。例えば、阻害パーセンテージは、少なくとも約84%または85%または90%または93%または94%または95%である。一例では、阻害パーセンテージは、少なくとも約93%である。一例では、阻害パーセンテージは、少なくとも約94%である。一例では、阻害パーセンテージは、抗体Fc領域と融合しているDR3を含むポリペプチドを使用して評価される。一例では、TL1a結合性タンパク質は、約10 μ g/mlの濃度で使用される。

40

【0356】

TL1aとDR3の相互作用の選択的阻害

TL1aとDR3の相互作用を阻害するが、TL1aとDcR3は阻害しないTL1a結合性タンパク質を同定する方法は、当業者には明らかとなり、および/または本明細書に記載されている。

【0357】

50

例えば、DcR3(例えば、 $2\mu\text{g/ml}$ DcR3)を表面上に固定化し、TL1a(例えば、 $1\mu\text{g/ml}$ TL1a)および試験されるTL1a結合性タンパク質と接触させる(陰性対照の場合には、アイソタイプが対応した対照抗体が使用される)。次いで、DcR3と結合しているTL1aのレベルを決定する。TL1a結合性タンパク質の不在下と比較した、TL1a結合性タンパク質の存在下でのDcR3と結合しているTL1aのレベルの低下が、TL1a結合性タンパク質が、TL1aのDcR3との結合を阻害することを示す。TL1a結合性タンパク質の存在下または不在下において結合しているTL1aのレベルが同様であることは、TL1a結合性タンパク質が、TL1aとDcR3の相互作用を阻害しないことを示す。アッセイはまた、固定化されたTL1aを用いて実施し、それにDcR3を接触させてもよい。

【0358】

10

いくつかの例では、種々の濃度のTL1a結合性タンパク質が試験され、種々の濃度のDcR3を用いてTL1a相互作用の阻害のレベルが調べられる。

【0359】

いくつかの例では、TL1aとDcR3の相互作用の最大阻害は、TL1a結合性タンパク質の存在下および不在下での、TL1aとDcR3の相互作用のレベルを決定することによって評価される。次いで、タンパク質の存在下でのTL1aとDcR3の相互作用の阻害のレベルが、タンパク質の不在下での相互作用のレベルのパーセンテージとして表される。一例では、 $10\mu\text{g/ml}$ の濃度のTL1a結合性タンパク質は、TL1aとDcR3間の相互作用の25%以下を阻害する。例えば、阻害パーセンテージは、20%以下または18%以下または15%以下または12%以下または10%以下または8%以下または5%以下である。一例では、阻害パーセンテージは、約18%以下である。一例では、阻害パーセンテージは、約7%以下である。一例では、阻害パーセンテージは、約5%以下である。一例では、阻害パーセンテージは、抗体Fc領域と融合しているDcR3を含むポリペプチドを使用して評価される。一例では、TL1a結合性タンパク質は、約 $10\mu\text{g/ml}$ の濃度で使用される。

20

【0360】

中和アッセイ

DR3を介してTL1a活性を中和するTL1a結合性タンパク質を同定する方法もまた、例えば、本明細書における記載に基づいて当業者には明らかとなる。

【0361】

例えば、DR3を発現する細胞(例えば、TF-1細胞)(例えば、約 7×10^4 個細胞 $\sim 8 \times 10^4$ 個細胞(例えば、 7.5×10^4 個細胞)を、試験されるTL1a結合性タンパク質の存在下または不在下で、TL1aおよびタンパク質合成阻害剤(例えば、シクロヘキシミド)と接触させる。次いで、細胞のアポトーシスのレベルを、例えば、カスパーゼの活性化またはヨウ化プロビジウム取り込みを検出することまたはその他の既知アッセイによって評価する。TL1a結合性タンパク質の不在下でのアポトーシスのレベルと比較して、アポトーシスのレベルを低下させるTL1a結合性タンパク質は、DR3を介してTL1a活性を阻害する、またはTL1a活性を中和すると考えられる。

30

【0362】

いくつかの例では、種々の濃度のTL1a結合性タンパク質が試験され、種々の濃度での中和のレベルが決定される。いくつかの例では、TL1a結合性タンパク質によるアポトーシスの最大阻害の50%の濃度が決定される(この濃度は、 EC_{50} として知られる)。一例では、本開示のTL1a結合性タンパク質の EC_{50} は、 3nM 以下、例えば、約 2.4nM 以下などの約 2.5nM 以下、例えば、約 2nM 以下、約 1.5nM 以下など、約 1nM 以下などである。一例では、本開示のTL1a結合性タンパク質の EC_{50} は、約 0.99nM 以下である。一例では、本開示のTL1a結合性タンパク質の EC_{50} は、約 0.6nM 以下である。一例では、本開示のTL1a結合性タンパク質の EC_{50} は、約 0.4nM 以下である。

40

【0363】

本開示のTL1a結合性タンパク質の、TL1a-活性を中和する能力もまた、免疫細胞によるサイトカイン分泌を低減するその能力を決定することによって評価され得る。例えば、PBMCを、TL1a結合性タンパク質の存在下または不在下で、コンカナバリンAと接触させる。

50

次いで、TL1a誘導性サイトカイン(例えば、インターフェロン またはIL-13)の分泌のレベルを、例えば、ELISAを使用して評価する。タンパク質の不在下と比較した、TL1a結合性タンパク質の存在下でのサイトカイン分泌の低減が、TL1a結合性タンパク質が、TL1a活性を中和することを示す。

【0364】

いくつかの例では、種々の濃度のTL1a結合性タンパク質が試験され、種々の濃度でのサイトカイン分泌の低減のレベルが決定される。いくつかの例では、TL1a結合性タンパク質による、サイトカイン分泌の最大阻害の50%の濃度が決定される(この濃度は、 EC_{50} として知られる)。例えば、インターフェロン- の分泌を阻害することの EC_{50} は、3nM以下または2.5nM以下または2nM以下などの4nM以下である。別の例では、IL-13の分泌の阻害の EC_{50} は、10nM以下などの15nM以下、例えば、1nM以下などの5nM以下である。例えば、IL-13の分泌の阻害の EC_{50} は、0.5nM以下である。

10

【0365】

TL1a活性の中和を決定するその他のアッセイは、TL1a結合性タンパク質の存在下および不在下での内皮細胞の増殖、遊走および管形成のレベルを決定することを含む。例えば、内皮細胞を、細胞外マトリックス、例えば、Matrigel(商標)において培養し、遊走および/または管形成のレベルを、例えば、顕微鏡を使用して決定する。TL1a結合性タンパク質の不在下と比較したTL1a結合性タンパク質の存在下における遊走および/または管形成の増大が、TL1a結合性タンパク質が、DR3を介してTL1a活性を中和することを示す。

20

【0366】

例えば、本質的に、Bagleyら、Cancer Res 63:5866頁、2003年に記載されるようなIn vivo Matrigel(商標)プラグアッセイも実施され得る。

【0367】

さらなるアッセイは、TL1a結合性タンパク質の、IL-12および/またはIL-18で刺激された末梢血T細胞および/またはNK細胞からの、またはFc R活性化単球におけるインターフェロン 分泌を低減または防止する能力を評価することを含む。

【0368】

In Vivoアッセイ

本開示のTL1a結合性タンパク質はまた、状態、例えば、TL1a媒介性状態の動物モデルにおける治療効力について評価され得る。例えば、TL1a結合性タンパク質が、炎症性腸疾患または大腸炎のモデル(例えば、デキストラン硫酸ナトリウム(DSS)誘導性大腸炎または大腸炎のCD45Rb養子移入モデル(例えば、Kanaiら、Inflamm. Bowel Dis. 12:89~99頁、2006年)に投与される。別の例では、TL1a結合性タンパク質が、多発性硬化症のモデル、例えば、マウスまたはラットが、ミエリン鞘タンパク質またはそれに由来するペプチド(例えば、MOG、MBPまたはPLP)を用いて免疫処置され、タンパク質に対する免疫応答が生じ、それによって、多発性硬化症のモデルを誘導するEAEモデルに投与される。例示的EAEモデルは、例えば、TsunodaおよびFujinami、J. Neuropathol. Exp. Neurol. 55:673~686頁、1996年に概説されている。TL1a結合性タンパク質はまた、または別法として、関節炎のモデル、例えば、マウスのSKG株(Sakaguchiら、Nature 426:454~460頁、1995年)、ラットII型コラーゲン関節炎モデル、マウスII型コラーゲン関節炎モデルまたは抗原誘導性関節炎モデル(Bendele J. Musculoskel. Neuron. Interact. 1:377~385頁、2001年)および/または炎症性気道疾患のモデル(例えば、OVA抗原投与またはゴキブリ抗原投与)において、または炎症性ブドウ膜炎、例えば、光受容体間レチノイド結合タンパク質免疫処置誘導性網膜ブドウ膜炎(Caspi、Curr Protoc Immunol Chapter 15: unit 15.6、2003年)のモデルにおいて試験され得る。

30

40

【0369】

本開示のTL1a結合性タンパク質の、TL1a活性を中和する能力はまた、別法として、例えば、ある動物から得た脾細胞を同種異系の動物(例えば、MHCまたはHLAが対応していない動物)に注入する、移植片対宿主反応のモデルにおいて評価され得る。

【0370】

50

エピトープマッピングアッセイ

別の例では、本明細書に記載されたタンパク質によって結合されるエピトープをマッピングする。エピトープマッピング法は、当業者には明らかとなる。例えば、TL1a配列または対象とするエピトープを含むその領域に広がる、一連の重複するペプチド、例えば、10~15個のアミノ酸を含むペプチドを製造する。次いで、TL1a結合性タンパク質を、各ペプチドまたはそれらの組合せに接触させ、結合するペプチドが決定される。これによって、TL1a結合性タンパク質が結合するエピトープを含むペプチドの決定が可能となる。複数の非隣接ペプチドが、タンパク質によって結合される場合には、タンパク質は、立体構造エピトープと結合し得る。

【0371】

あるいは、またはさらに、TL1a内のアミノ酸残基が、例えば、アラニンスクヤニング突然変異誘発によって突然変異され、タンパク質結合を低減または防止する突然変異が決定される。TL1a結合性タンパク質の結合を低減または防止する任意の突然変異は、タンパク質によって結合されるエピトープ内にある可能性が高い。この方法の1つの形態は、本明細書に例示されている。

【0372】

さらなる方法は、TL1aまたはその領域を、固定化された本開示のTL1a結合性タンパク質と結合することおよび得られた複合体をプロテアーゼを用いて消化することを含む。次いで、固定化されたタンパク質と結合しているままであるペプチドを単離し、例えば、質量分析を使用して分析して、その配列を決定する。

【0373】

親和性アッセイ

所望により、TL1a結合性タンパク質の、TL1aまたはそのエピトープを含むペプチドに対する解離定数(K_d)または会合定数(K_a)または平衡定数(K_D)が決定される。TL1a結合性タンパク質に対するこれらの定数は、一例では、放射標識されたか、または蛍光標識されたTL1a結合アッセイによって測定される。このアッセイは、非標識TL1aの滴定シリーズの存在下で、タンパク質を、最小濃度の標識されたTL1aと平衡化する。洗浄して、結合していないTL1aを除去した後、標識の量を決定する。

【0374】

親和性測定値は、抗体反応についての標準法、例えば、イムノアッセイ、表面プラズモン共鳴(SPR)(RichおよびMyszka Curr. Opin. Biotechnol 11: :54頁、2000年;Englebienn e Analyst. 123: 1599頁、1998年)、等温滴定熱量測定法(ITC)または当技術分野で公知のその他の動力的相互作用アッセイによって決定され得る。

【0375】

一例では、定数は、表面プラズモン共鳴アッセイを使用することによって、例えば、固定化されたTL1aまたはその領域を用い、BIAcore表面プラズモン共鳴(BIAcore、Inc.、Piscataway、NJ)を使用して測定される。例示的SPR法は、US7229619に記載されている。

【0376】

一例では、任意の例の、本明細書に記載されるようなTL1a結合性タンパク質は、50nM以下などの100nM以下、例えば、20nM以下、例えば、10nM以下または6nM以下のTL1aに対する K_D を有する。例えば、TL1a結合性タンパク質は、5.5nM以下の K_D を有する。例えば、TL1a結合性タンパク質は、5nM以下の K_D を有する。例えば、TL1a結合性タンパク質は、4nM以下の K_D を有する。

【0377】

半減期アッセイ

本開示によって包含されるいくつかのTL1a結合性タンパク質は、改善された半減期を有し、例えば、修飾されていないTL1a結合性タンパク質と比較して、その半減期を延長するよう修飾されている。改善された半減期を有するTL1a結合性タンパク質を決定する方法は、当業者には明らかとなる。例えば、TL1a結合性タンパク質の、新生児Fc受容体(FcRn)と結合する能力が評価される。この関連で、FcRnに対する増大した結合親和性が、TL1a結

10

20

30

40

50

合性タンパク質の血清半減期を増大した(例えば、Kimら、Eur. J. Immunol. 24:2429頁、1994年参照のこと)。

【0378】

本開示のTL1a結合性タンパク質の半減期はまた、例えば、Kimら、Eur. J. of Immunol. 24: 542頁、1994年によって記載される方法に従って、薬物動態研究によって測定される。この方法によれば、放射標識されたTL1a結合性タンパク質をマウスに静脈内注入し、その血漿中濃度を、時間の関数として一定期間ごとに、例えば、注入の3分~72時間後に測定する。このように得られたクリアランス曲線は、二相性、すなわち、相および相であるはずである。TL1a結合性タンパク質のin vivo半減期の測定のために、相におけるクリアランス速度を算出し、野生型または非修飾TL1a結合性タンパク質のものと比較する。

10

【0379】

安定性アッセイ

本開示のTL1a結合性タンパク質の安定性は、種々のアッセイのいずれかによって評価され得る。例えば、TL1a結合性タンパク質は、条件、例えば、熱または酸に対して曝露されるか、または室温にて保存される一定期間(例えば、1ヶ月)保存される。次いで、TL1a結合性タンパク質の凝集が、濁度を決定すること(条件に対する曝露後の濁度の増大は、不安定性を示す)、サイズ排除クロマトグラフィー、非還元ゲル電気泳動または本明細書に記載された結合もしくは中和研究によって評価され得る。

20

【0380】

医薬組成物および治療方法

本開示のTL1a結合性タンパク質またはそれをコードする核酸またはそれを発現する細胞(別名、有効成分)は、予防的処置または治療的処置のための非経口、局所、経口または局所投与、エアゾール投与または経皮投与にとって有用である。

【0381】

投与されるTL1a結合性タンパク質またはそれをコードする核酸またはそれを発現する細胞の製剤は、選択された投与経路および製剤(例えば、溶液、エマルジョン、カプセル剤)に従って変わる。投与されるTL1a結合性タンパク質またはそれをコードする核酸またはそれを発現する細胞を含む適当な医薬組成物は、生理学的に許容される担体中に調製され得る。TL1a結合性タンパク質の混合物も使用され得る。溶液またはエマルジョンのために適した担体として、例えば、生理食塩水および緩衝媒体を含めた、水性またはアルコール性/水溶液、エマルジョンまたは懸濁液が挙げられる。非経口ビヒクルとして、塩化ナトリウム溶液、リンゲルのデキストロース、デキストロースおよび塩化ナトリウム、乳酸リンゲルまたは硬化油を挙げることができる。水、緩衝生理食塩水、ポリオール(例えば、グリセロール、プロピレングリコール、液体ポリエチレングリコール)、デキストロース溶液およびグリシンを含めた種々の適当な水性担体は、当業者に公知である。静脈内ビヒクルとして、種々の添加剤、保存料または流体、栄養分または電解質 補充物質を挙げることができる(全般的に、Remington's Pharmaceutical Science、第16版、Mack、Ed. 1980年を参照のこと)。組成物は、所望により、pH調整剤および緩衝剤および毒性調整剤などの適当な生理学的条件に対する必要に応じて、医薬上許容される補助物質、例えば、酢酸ナトリウム、塩化ナトリウム、塩化カリウム、塩化カルシウムおよび乳酸ナトリウムを含むし得る。本開示のTL1a結合性タンパク質は、当技術分野で公知の凍結乾燥および再構成技術に従って、保存のために凍結乾燥され、使用に先立って適した担体で再構成され得る。

30

40

【0382】

選択された媒体における有効成分の最適濃度は、当業者に周知の手順に従って経験的に決定され得、望まれる最終医薬製剤に応じて変わる。

【0383】

本開示のTL1a結合性タンパク質の投与のための投与量範囲は、所望の効果をもたらすのに十分に大きいものである。例えば、組成物は、TL1a結合性タンパク質またはそれをコー

50

ドする核酸またはそれを発現する細胞の治療上または予防上有効な量を含む。

【0384】

本明細書において、用語「有効な量」は、TL1a結合性タンパク質、核酸または細胞の、対象におけるTL1aのシグナル伝達を誘導/増大または阻害/低減/防止するのに十分な量を意味するととられなければならない。当業者ならば、このような量は、例えば、TL1a結合性タンパク質、核酸または細胞および/または特定の対象および/または治療されている状態の種類もしくは重篤度に応じて変わるということは承知するであろう。したがって、この用語は、本開示を特定の量、例えば、TL1a結合性タンパク質、核酸または細胞の重量または数に制限すると解釈されてはならない。

【0385】

本明細書において、用語「治療上有効な量」は、状態の1種または複数の症状を低減または阻害するための、TL1a結合性タンパク質、核酸または細胞の十分な量を意味するととられなければならない。

【0386】

本明細書において、用語「予防上有効な量」は、状態の1種または複数の検出可能な症状の発症を防止または阻害または遅延するための、TL1a結合性タンパク質、核酸または細胞の十分な量を意味するととられなければならない。

【0387】

投与量は、過粘稠度症候群、肺水腫、鬱血性心不全などといった有害な副作用を引き起こすほど大きいものであってはならない。一般に、投与量は、年齢、状態、性別および患者における疾患の程度に応じて変わり、当業者によって決定され得る。投与量は、いずれかの合併症の場合には個々の医師によって調整され得る。投与量は、1日または数日間の、毎日1回または複数回の用量投与において、約0.1mg/kg～約300mg/kg、例えば、約0.5mg/kg～約20mg/kgなどの約0.2mg/kg～約200mg/kgで変わり得る。

【0388】

一例では、TL1a結合性タンパク質は、約1mg/kg～約15mg/kgの間の投与量で投与される。一例では、TL1a結合性タンパク質は、約2mg/kg～約10mg/kgの間の投与量で投与される。一例では、TL1a結合性タンパク質は、皮下にまたは静脈内に投与される。

【0389】

いくつかの例では、TL1a結合性タンパク質またはその他の有効成分は、後(維持量)よりも高い初期(または負荷)用量で投与される。例えば、結合分子は、約1mg/kg～約30mg/kgの間の初期用量で投与される。次いで、結合分子は、約0.0001mg/kg～約1mg/kgの間の維持量で投与される。維持量は、7～35日毎、例えば、14または21または28日毎に投与され得る。

【0390】

いくつかの例では、TL1a結合性タンパク質またはその他の有効成分が、その後の用量において使用されるものよりも低い用量で最初に投与される用量増大計画が使用される。この投与計画は、対象が有害事象を最初に被る場合には有用である。

【0391】

治療に対して適切に反応しない対象の場合には、1週間に複数回用量を投与してもよい。あるいは、またはさらに、漸増する用量を投与してもよい。

【0392】

本開示の1種または複数のTL1a結合性タンパク質は、単独または別の薬物もしくは薬剤と組み合わせて(先に、同時に、または後に)のいずれかで、適当な経路によって個体に投与され得る。例えば、本開示のTL1a結合性タンパク質はまた、タンパク質、例えば、TNFアンタゴニスト、抗IL-12/23抗体、抗炎症剤、コルチコステロイド、メトトレキサートまたは鎮痛剤と組み合わせて使用され得る。本開示のTL1a結合性タンパク質は、抗生物質および/または抗菌剤とともに与えられる、別個に投与される組成物として使用され得る。

【0393】

本開示のTL1a結合性タンパク質は、本開示の発現構築物または本開示のTL1a結合性タン

10

20

30

40

50

パク質を発現する細胞を投与することによって対象中に導入され得るということは、当業者ならば理解するであろう。抗体をコードする核酸を *in vivo* で標的細胞に導入するための種々の方法が使用され得る。例えば、裸の核酸を標的部位に注入してもよく、リボソーム中にカプセル化してもよく、またはウイルスベクターによって導入してもよい。

【0394】

TL1a検出アッセイ

本開示のTL1a結合性タンパク質、例えば、本明細書において論じられるような検出可能な標識とコンジュゲートしているTL1a結合性タンパク質を用いて、以下のアッセイが実施され得る。本明細書に記載されたアッセイを用いるTL1aの検出は、状態を診断または予後診断するのに有用である

10

【0395】

イムノアッセイは、対象において状態を診断するためのまたはサンプルにおいてTL1aを検出するための例示的アッセイ形式である。本開示は、ウエスタンブロッティング、酵素結合免疫吸着アッセイ(ELISA)、蛍光結合免疫吸着アッセイ(FLISA)、競合アッセイ、ラジオイムノアッセイ、放射性免疫測定法、放射免疫アッセイ、ラテラルフローイムノアッセイ、フロースルーイムノアッセイ、電気化学発光アッセイ、比濁分析ベースのアッセイ、比濁法ベースのアッセイおよび蛍光活性化セルソーター(FACS)ベースのアッセイを含めた任意の形態のイムノアッセイを考慮する。

【0396】

適したイムノアッセイの1つの形態として、例えば、ELISAまたはFLISAがある。

20

【0397】

1つの形態では、このようなアッセイは、本開示のTL1a結合性タンパク質を、例えば、ポリスチレンまたはポリカーボネートマイクロウェルまたはディップスティック、メンブレンまたはガラス支持体(例えば、ガラススライド)などの固体マトリックス上に固定化することを含む。次いで、試験サンプルをTL1a結合性タンパク質と直接接触させ、サンプル中のTL1aが結合され、捕獲される。洗浄して、サンプル中の任意の結合していないタンパク質を除去した後、別個のエピトープでTL1aと結合するタンパク質を、捕獲されたTL1aと直接接触させる。この検出器タンパク質は、一般に、ELISAの場合には、例えば、酵素(例えば、西洋ワサビペルオキシダーゼ(HRP)、アルカリホスファターゼ(AP)または β -ガラクトシダーゼ)などの検出可能なりポーター分子で、またはFLISAの場合には、フルオロフォア

30

【0398】

次いで、サンプル中の抗原のレベルを、既知量のマーカーを使用して製造された標準曲線を使用して、または対照サンプルとの比較によって決定する。

【0399】

上記のアッセイは、検出の基礎として化学発光または電気化学発光を使用するよう容易に修飾される。

40

【0400】

当業者には理解されるであろうが、免疫吸着アッセイに基づくその他の検出法が、本開示の実施において有用である。例えば、検出のために放射標識または検出のために金標識(例えば、コロイド金)またはリボソーム、例えば、検出のためにNAD⁺をカプセル化することを使用する前掲の記載に基づく免疫吸着法またはアクリジニウム結合免疫吸着アッセイ。

【0401】

本開示のいくつかの例では、TL1aのレベルを、表面プラズモン共鳴検出器(例えば、BIA

50

core(商標)、GE Healthcare、Piscataway、N.J.)、例えば、US7205159に記載されるようなフロースルーデバイス;マイクロ-またはナノ-イムノアッセイデバイス(例えば、US20030124619に記載されるような);ラテラルフローデバイス(例えば、US20040228761またはUS20040265926に記載されるような);蛍光偏光イムノアッセイ(FPIA 例え、US4593089またはUS4751190に記載されるような);または免疫比濁アッセイ(例えば、US5571728またはUS6248597に記載されるような)を使用して決定する。

【0402】

サンプルおよび対照サンプル

当業者には理解されるであろうが、本明細書に記載された例の一部は、TL1aのレベルを決定するためのある程度の定量化を必要とする。このような定量化は、本開示のアッセイに適した対照サンプルを含めることによって決定され得る。

10

【0403】

一例では、適した対照サンプルは、健全な対象または正常な対象に由来するサンプルである。

【0404】

この関連では、用語「健全な対象」は、TL1aと関連する状態、例えば、炎症状態を患っていないことがわかっている個体を意味するととられなければならない。

【0405】

用語「正常な対象」とは、個体の集団と比較して、サンプル中にTL1aの正常なレベルを有する個体を意味するととられなければならない。

20

【0406】

本開示はまた、正常および/もしくは健全対象または正常および/もしくは健全対象の集団から得られたデータセットであると対照サンプルを考慮する。

【0407】

一例では、本開示の方法は、対照サンプル中のTL1aのレベルを、例えば、本明細書に記載された方法を使用して決定することをさらに含む。

【0408】

一例では、対象および対照サンプルから得られたサンプルは、ほぼまたは実質的に同時にアッセイされる。

【0409】

一例では、結果の比較を可能にするために、いずれか1種または複数の例において、対象および対照サンプルから得られたサンプルは、本明細書に記載されるような本開示の同一方法を使用してアッセイされる。

30

【0410】

状態

本開示の方法を実施することによって、治療/防止/診断/予後診断され得る例示的状态として、自己免疫疾患、炎症状態および不十分な血管新生を特徴とする状態が挙げられる。

【0411】

一例では、状態は、自己免疫疾患である。

40

【0412】

例示的状态として、炎症性腸疾患(IBD)、過敏性腸症候群(IBS)、クローン病、潰瘍性大腸炎、憩室性疾患、全身性紅斑性狼瘡、関節リウマチ、若年性慢性関節炎、脊椎関節症、全身性硬化症(強皮症)、特発性炎症性筋疾患(皮膚筋炎、多発性筋炎)、シェーグレン症候群、全身性血管炎、サルコイドーシス、多発性硬化症などの中枢神経系および末梢神経系の脱髄疾患、特発性多発ニューロパチー、自己免疫ブドウ膜炎および種々の血管炎(vasculitides)と関連しているブドウ膜炎などの自己免疫または免疫媒介性眼疾患、水疱性皮膚疾患、多形性紅斑および接触皮膚炎を含めた自己免疫または免疫媒介性皮膚疾患、乾癬、喘息、気道過敏症、好酸球性肺炎、慢性閉塞性肺疾患(COPD)、特発性肺繊維症および過敏症間質性肺炎などの肺のアレルギー性疾患、アテローム性動脈硬化症または移植片対宿主

50

病が挙げられる。

【0413】

一例では、状態は、関節炎、例えば、関節リウマチ、多発性関節炎、変形性関節症または脊椎関節症である。この関連で、Bullら、J. Exp. Med. 205: 2457頁、2008年には、TL1aをアンタゴナイズする抗体は、関節リウマチの治療にとって有用であると示されている。本開示のTL1a結合性タンパク質の選択的性質のために、それらは関節リウマチの治療にとって有用となる。

【0414】

一例では、状態は、多発性硬化症である。この関連で、US20090317388には、TL1aが欠損したマウスは、多発性硬化症の承認されたモデルである実験的自己免疫性脳脊髄炎(EAE)を発症しないと示されている。

10

【0415】

一例では、炎症状態は、炎症性粘膜状態、例えば、腸の炎症性疾患(例えば、炎症性腸疾患、クローン病または潰瘍性大腸炎)または肺の炎症性疾患(例えば、気道過敏性または喘息)である。

【0416】

一例では、状態は、炎症性腸疾患および/または大腸炎である。この関連で、Takedatsuら、Gastroenterology 135:552頁、2008年には、TL1aをアンタゴナイズする抗体は、大腸炎の治療にとって有用であると示されている。

【0417】

一例では、状態は、喘息または気道過敏症または慢性閉塞性肺疾患(COPD)である。

20

【0418】

別の例では、状態は、炎症性皮膚疾患(例えば、自己免疫または免疫媒介性皮膚疾患)、例えば、水疱性皮膚疾患、多形性紅斑、接触皮膚炎である。あるいは、皮膚疾患は、乾癬である。

【0419】

不十分な血管新生を特徴とする例示的状态として、心血管疾患、自己免疫状態(例えば、関節リウマチ、乾癬性関節炎、全身性紅斑性狼瘡(SLE)および全身性硬化症)、抗好中球細胞質抗体(ANCA)関連脈管炎、虚血(移植に起因する虚血を含む)または壊死が挙げられる。

30

【0420】

キット

本開示は、以下のうち1つまたは複数を含むキットをさらに含む：

(i)本開示のTL1a結合性タンパク質またはそれをコードする発現構築物；

(ii)本開示の細胞；または

(iii)本開示の医薬組成物。

【0421】

TL1aを検出するキットの場合には、キットは、例えば、本開示のTL1a結合性タンパク質と連結している検出手段をさらに含む得る。

【0422】

治療的/予防的使用のためのキットの場合には、キットは、医薬上許容される担体をさらに含む得る。

40

【0423】

所望により、本開示のキットは、任意の例に従って本明細書に記載された方法で使用するための説明書とともにパッケージングされる。

【0424】

本開示は、以下の限定されない実施例を含む。

【0425】

(実施例)

(実施例1)

50

材料および方法

以下の例では、残基の位置への言及は、特に断りのない限り、本明細書に示されるような関連配列中の位置への言及である。

【0426】

1.1 HEK293/pTT5発現系

HEK293E/pTT5発現系(Durocherら、Nucl. Acids Res.、30: E9、2002年)を含むすべてのトランスフェクションについて、HEK293E細胞を、完全細胞増殖培地(1LのF17培地(Invitrogen)、9mlのPluronic F68(Invitrogen)、50 μ l/100ml培養物で20%(w/v)のトリプトンNI(Organotechnie)およびジェネテシン(商標)(50mg/ml、Invitrogen)を含有する2mMのグルタミン)で培養した。トランスフェクションの前日に、細胞を遠心分離によって回収し、ジェネテシン(商標)を含まない新鮮培地で再懸濁した。翌日、DNAを、市販のトランスフェクション試薬と混合し、DNAトランスフェクション混合物を、培養物に滴加した。培養物を、ジェネテシン(商標)を含まずに37 $^{\circ}$ C、5% CO₂および120rpmで一晩インキュベートした。翌日、500mlの培養物あたり、12.5mlのトリプトンおよび250 μ lのジェネテシン(商標)を加えた。培養物を、37 $^{\circ}$ C、5% CO₂および120rpmで7日間インキュベートし、次いで、上清を回収し、精製した。

10

【0427】

1.2 TL1aタンパク質

ヒトTL1aは購入したか(Peprotech and Genscript:両方とも大腸菌(E.coli)によって発現された)、またはN末端に位置するHISおよびFLAGタグを有するヒトTL1aの細胞外ドメイン(ECD)のDNA発現構築物コーディング(配列番号1)を使用して、哺乳類HEK293E/pTT5発現系において製造した。分泌されたTL1aタンパク質を含有する培養上清を、2000gで10分間の遠心分離によって回収し、細胞を除去した。HisTrap(商標)HPカラム(GE Healthcare)を使用して、上清からTL1aタンパク質を精製した。溶出されたタンパク質を、HiLoad 16/60 Superdex 200分取等級カラム(GE Healthcare)を使用してPBSにバッファー交換し、約70kDaの画分を、HiLoad 26/60 Superdex 200分取等級カラム(GE Healthcare)でのゲル濾過によって分離した。

20

【0428】

ファージディスプレイ実験のために、組換えヒトTL1a (Peprotech、Genscript HEK293E由来)を、EZ-link Sulfo-NHS-LC-biotinキット(Pierce)を、3:1比のビオチン:TL1aで使用してビオチン化した。3.5kDaの分子量カットオフを有するSlide-A-Lyzer透析カセットを使用するPBSに対する透析によって、タンパク質調製物から遊離ビオチンを除去した。

30

【0429】

TL1aはまた、単一部位ビオチン化を可能にするタグを用いて製造した。このTL1aタンパク質は、HEK-293細胞で発現され、先に記載されたように精製された。次いで、TL1aタンパク質上にビオチンを選択的に組み込む酵素を使用してビオチン化した。

【0430】

1.3 ファージディスプレイ

TL1aと特異的に結合する抗体を、 10×10^{10} 種を超える個々のヒトFAB断片を含む天然ファージミドリブラリーから単離した。

40

【0431】

抗TL1a抗体を、数回のパニング「キャンペーン」(すなわち、異なる試薬またはパニング条件を用いる別個のファージディスプレイ実験)にわたってファージディスプレイライブラリーから単離した。一般的なプロトコールは、MarksおよびBradbury (Methods Mol. Biol. 248: 161~176頁、2004年)によって概説される方法をたどった。

【0432】

各ファージディスプレイキャンペーンは、3ラウンドのパニングを含んでいた。各ラウンドについて、約 1×10^{13} 種のファージ粒子を、ブロッキングバッファー(リン酸緩衝生理食塩水(PBS)pH7.4中、5%脱脂乳)と1:1混合することおよび室温で1時間インキュベートすることによってブロッキングした。次いで、ブロッキングされたファージライブラリーを

50

、100 μ Lのストレプトアビジンが結合したDynabeads (Invitrogen)とともに45分間インキュベートすることによってストレプトアビジン結合剤について予め枯渇させ、これを、ライブラリーについて記載されたようにブロッキングした。ビーズ(およびそれと結合しているストレプトアビジン結合剤)を、インキュベーションステップ後に廃棄した。

【0433】

組換えヒトTL1a抗原を、ストレプトアビジンが結合しているDynabeads (Invitrogen)の表面上で捕獲することによってパニングのために調製した。これを達成するために、10~100pmolのビオチン化TL1aを、100 μ Lのビーズとともに室温で45分間インキュベートした。得られたTL1a-ビーズ複合体を、PBSで洗浄して、遊離TL1aを除去し、次いで、その後のパニング反応において使用した。

10

【0434】

ライブラリーパニングは、1.5mLの微量遠心管中でブロッキングされ、予め枯渇させたライブラリーを、TL1a-ビーズ複合体と混合することおよび室温で2時間回転させることによって実施した。一連の洗浄を使用して、非特異的に結合しているファージを除去した。各洗浄は、磁性ラックを使用して、溶液からビーズ複合体を引き出して、管壁上に置くこと、上清を吸引すること、次いで、新鮮洗浄バッファーでビーズを再懸濁することを含む。これを、PBS洗浄バッファー(0.5%脱脂乳を含むPBS)またはPBS-T洗浄バッファー(0.05% TWEEN-20(Sigma)および0.5%脱脂乳を含むPBS)のいずれかを用いて数回反復した。0.5mLの100mM トリエチルアミン(TEA)(Merck)とともに、室温で20分間インキュベートすることによって、洗浄プロセス後に結合しているままであったファージをTL1a-ビーズ複合体から溶出させた。溶出された「アウトプット」ファージを、0.25mLの1M Tris-HCl pH7.4(Sigma)を添加することによって中和した。

20

【0435】

パニングの第1および第2ラウンドの最後に、指数関数的に増殖したTG1大腸菌(酵母-トリプトン(YT)増殖培地)の10mLの培養物にアウトプットファージを加え、振盪せずに37で30分間、次いで、250rpmで浸透しながら30分間インキュベートすることによって、細胞を感染させた。次いで、ファージディスプレイアウトプットをコードするファージミドを、標準プロトコール(MarksおよびBradbury、前掲)に従ってファージ粒子としてレスキューした。

【0436】

第3のパニングラウンドの最後に、TG1細胞を、アウトプットファージに感染させたが、細胞を、別個の大腸菌(E. coli)コロニーを生じるのに十分な希釈で固体YT増殖培地(2%グルコースおよび100 μ g/mLのカルベニシリンを補給した)上にプレーティングした。これらのコロニーを使用して、1mLの液体培養物を播種し、スクリーニング実験において使用するためのFAB断片の発現を可能にした。

30

【0437】

1.4 TL1a結合についてのFABのSPRベースのスクリーニング

各個々の大腸菌(E. coli)コロニーを使用して、TL1a結合活性についてスクリーニングされ得るFABを発現させた。コロニーを、96ウェルの深ウェルプレート(Costar)中の1mLのYT種培養物(100 μ g/mLのカルベニシリンおよび2%のグルコースを補給した)播種し、650rpmで振盪しながら30で一晩インキュベートした。これらの種培養物を、1mLの発現培養物(100 μ g/mLのカルベニシリンのみを補給したYT)に1:50希釈し、600nmで0.8~1.0の光学濃度に増殖させた。イソプロピル-D-チオガラクトピラノシドを1mMの最終濃度に添加することによって、FAB発現を誘導した。培養物を、20で16時間インキュベートした。

40

【0438】

遠心分離(2500g、10分)によって細胞を回収することと、ペリプラズム抽出を実施することによって、FABサンプルを調製した。細胞ペレットを、75 μ Lの抽出バッファー(30mM Tris-HCl、pH8.0、1mM EDTA、20%スクロース)に再懸濁し、4、1000rpmで10分間振盪した。225 μ LのH₂Oを添加することと、1000rpmで1時間振盪することと、抽出物を2500gで10分間遠心分離することによって清浄化することによって、抽出調製を完了した。上清を

50

回収し、Acroprep 100kDa分子量カットオフプレート(Pall Corporation)を通して濾過し、さらなる実験に必要とされるまで4℃で保存した。

【0439】

Fabサンプルを、表面プラズモン共鳴(SPR)アッセイを使用して、TL1a結合活性についてスクリーニングした。単一濃度分析物通過アッセイにおいてBIAcore 4000 Biosensor(GE Healthcare)を使用して、ハイスループットSPRスクリーニングを実施した。およそ10,000 RUの抗V5抗体(Invitrogenカタログ番号R960CUS)を、pH5.5での標準アミンカップリング化学を使用して、4つのフローセル脱離スポット3非修飾各々のスポット1、2、4 & 5でCM5シリーズセンサーチップ上に固定化した。使用したランニングバッファーは、HBS-EP+(GE Healthcare)であり、すべての相互作用は、25℃で測定し、収集速度は10Hzに設定した。V5タグをつけたFabの粗ペリプラズム調製物を、ランニングバッファーで2倍希釈し、その後、各フローセルのスポット1または5で、10 μ l/分のフロー速度で100秒間捕獲した(通常、約200RUのFabが捕獲された)。短い安定化期間の後、ヒトTL1a三量体を、30 μ l/分のフロー速度で100秒間、4つのフローセルすべてのすべてのスポットを同時に通過させた。100mMリン酸の30秒パルスを使用する抗V5抗体への再生戻りの前に、相互作用の解離を100秒間測定した。作製されたセンサーグラムを、各フローセルの隣接する抗V5抗体スポットに対して参照し、1:1 Langmuir方程式を使用してフィッティングして、 k_a 、 k_d および K_D を決定した。

10

【0440】

SPRスクリーニングプロセスから得たデータを使用して、可能性あるTL1a結合剤を選択した。Fab k_d 値をランク付けし、最大200の最強の結合剤をDNA配列解析に付した。独特の配列を有するFabを、全長ヒトIgG₁抗体への変換のために選択した。

20

【0441】

1.5 可変領域配列決定

DNA塩基配列決定法は、Melbourne University Department of Pathology (Melbourne, Australia)のApplied Genetic Diagnosticsグループによって実施された。Fab V_H または V_L 鎖いずれかを配列決定するために、ファージミドDNA(約500ng)を、5pmolの適当なプライマーと混合した。配列決定反応は、BigDye(登録商標)Terminator v3.1サイクル配列決定キット(Applied Biosystems)を、製造業者の使用説明書に従って使用して実施した。サンプルは、3130xl Genetic Analyzers (Applied Biosystems)でのキャピラリー分離によって解析した。配列クロマトグラムデータは、Chromas Liteソフトウェアパッケージ(Technelysium, Brisbane, QLD, Australia)を使用して解析した。配列テキストファイルをアミノ酸配列に翻訳し、SeqAgentソフトウェアパッケージ(Xoma, Berkeley, CA, USA)を使用して解析した。

30

【0442】

1.6 抗体を発現するベクターの構築

V_H アミノ酸鎖は、ヒト定常領域(ヒトIgG1重鎖 C_H1 、ヒンジ、 C_H2 および C_H3 ドメイン(例えば、SwissProt番号P01857))とともに発現された。これは、アミノ酸配列の、DNA配列への逆翻訳によって達成され、これは、合成オリゴヌクレオチドのアセンブリーによってde novoで合成された。遺伝子合成後、全配列を、pTT5重鎖ベクターの多重クローニング部位(Durocherら、Nucl. Acids Res. 30: E9、2002年)中にサブクローニングした。 V_L アミノ酸鎖は、配列をpTT5軽鎖ベクターの多重クローニング部位中にサブクローニングすることによって、ヒト軽鎖定常領域(SwissProt番号P01834.1)またはヒト軽鎖定常領域(SwissProt番号P0CG05.1)とともに発現された。

40

【0443】

あるいは、Fab V_H および V_L 配列を、PCRによってファージミドDNAから直接的に増幅し、IgG発現ベクター中にサブクローニングした。PCR反応は、白金PCR Supermixキット(Invitrogen)を製造業者の使用説明書通りに使用して実施した。およそ50ngの、Fabをコードする鑄型ファージミドDNAを、10pmolの適当なフォワードおよびリバースPCRプライマーおよびPCR Supermix試薬と混合し、50 μ lの最終容量とした。各反応は、一般的な V_H または V_L

50

特異的リバースプライマーと組み合わせた、配列特異的フォワードプライマーを使用した。IgG発現ベクターへのクローニングを容易にするために、 V_H 増幅のためのプライマーは、5' BsiWIおよび3'NheI制限酵素部位を付加するよう設計し、 V_L 増幅のためのプライマーは、5'BssHIIおよび3'BsiWI部位を付加し、 V_L 増幅のためのプライマーは、5'BssHIIおよび3'AvrII部位を付加した。

【0444】

PCRは、薄壁PCR(96ウェルGeneAmp(登録商標)PCRシステム9700、Applied Biosystems、S coresby、Victoria、Australia)において実施した。サイクリング条件は、最初の5分の94での変性ステップと、それに続く、30の増幅サイクル(94で30秒間の変性と、それに続く55で30秒間のプライマーアニーリング、次いで、68で30~90秒間の伸長)および68で数分間の最終伸長ステップを含んでいた。増幅された V_H 遺伝子を、Minelute PCR精製キット(Qiagen)を使用して精製し、BsiWIおよびNheI酵素(New England Biolabs)を用いて消化し、Minelute Reaction Clean-upキット(Qiagen)を使用して再精製した。増幅された V_L 遺伝子は、同様に調製したが、消化は、BssHIIおよびBsiWIを使用して実施した。増幅された V_L 遺伝子はまた、同様の方法で調製したが、BssHIIおよびAvrIIを用いて消化した。得られた V_H および V_L 遺伝子断片を、上記のように、適当なpTT5重鎖または軽鎖ベクター(または軽鎖のいずれか)のマルチクローニング部位にクローニングした。

【0445】

1.7 抗体の発現および精製

重鎖および軽鎖DNAを、HEK293/pTT5発現系中に同時トランスフェクトし、7日間培養した。これらのトランスフェクションから得た上清を、pH7.4に調整し、その後、HiTrapプロテインAカラム(5ml、GE Healthcare)上にロードした。カラムを50mlのPBS(pH7.4)で洗浄した。溶出は、0.1Mクエン酸pH2.5を使用して実施した。溶出された抗体を、Zeba脱塩カラム(Pierce)を使用してPBS(pH7.4)に脱塩した。抗体を、SDS-PAGEを使用して解析した。抗体の濃度は、BCAアッセイキット(Pierce)を使用して決定した。 $\mu\text{g/ml}$ での抗体濃度とモル濃度の間の変換には、すべての抗体について150kDaの仮定される分子量を使用した。

【0446】

1.8 TF-1細胞株効力アッセイ

どの抗TL1a抗体が、TL1aの生物活性を機能的に中和するかを決定するために、抗体を、TF-1細胞株においてTL1a誘導性アポトーシスを中和するその能力について試験した。TF-1ヒト赤白血病細胞株(ATCC:CRL-2003)を、標準条件下、培養物中で維持した。TF-1細胞(7.5×10^4 個/ウェル)を、アポトーシスを誘導するために組換えヒトTL1a 100ng/mlおよびシクロヘキシミド10 $\mu\text{g/ml}$ とともに、黒色側面96ウェルプレート(Greiner)中でインキュベートした。10 $\mu\text{g/ml}$ (66.7nM)以下の濃度の試験抗体を、プレートに添加し、4~5時間インキュベートした。次いで、アポトーシスの誘導を、均一カスパーゼキット(Roche)を、製造業者の使用説明書に従って使用して評価した。抗体の、カニクイザルおよびアカゲザル、マウス、ラット、モルモット、ブタまたはウサギに由来するTL1aの機能を中和する能力を試験するための実験では、このプロトコールにおいて、適当な種のTL1aをヒトTL1aと置換した。

【0447】

最大アポトーシス(抗TL1a抗体の不在下で、組換えヒトTL1aおよびシクロヘキシミドによって達成されたアポトーシスレベル)のパーセンテージとして表すことによってデータを正規化した。

【0448】

1.9 リード抗体の受容体選択性

TL1aは、その同族シグナル伝達受容体、DR3およびTNFファミリーメンバーFas-LおよびLIGHTのデコイ受容体としても働く、デコイ受容体、DcR3の両方と結合する。

【0449】

抗体を、競合ELISAにおいて、TL1aの、その受容体との結合を阻害するその能力につい

10

20

30

40

50

て評価した。DR3/Fcキメラ(R&D Systems)またはDcR3/Fcキメラ(R&D Systems)を、 $2\mu\text{g/ml}$ の濃度で96ウェルプレート(Maxisorp、Nunc)上にコーティングした。段階希釈された試験抗体を、単一部位ビオチン化組換えヒトTL1a $1\mu\text{g/ml}$ とともに30分間予備インキュベートし、次いで、DR3/FcまたはDcR3/Fcコーティングされたウェルに添加した。結合しているTL1aは、ストレプトアビジン-西洋ワサビペルオキシダーゼ1:2000(BD Pharmingen)を使用して検出した。データは、抗TL1a抗体の不在下での、TL1aの受容体との最大結合のパーセンテージとして表すことによって正規化した。

【0450】

TL1a活性を阻害すると記載される抗体(1B4; 配列番号119に示される配列を含む V_H および配列番号120に示される配列を含む V_L を有し、WO2009/064854および米国特許出願公開US200900280116に記載されている)を、比較のためにアッセイに含めた。

【0451】

1.10 エピトープマッピング

エピトープマッピングは、アラニンスキャニング実験を使用して実施した。モデリング解析を実施して、TL1a上に恐らく曝露される残基を決定した。次いで、これらの理論上曝露される残基の各々が、アラニンで置換されているTL1a構築物を設計した。次いで、これらの構築物を発現させ、発現培養物から得た上清を、タンパク質発現および抗TL1a抗体C320との結合についてSPRを使用して試験した。Ni-NTAセンサーチップ(Biacore)を使用して、トランスフェクトされたHEK-293E細胞の上清から得られたHISタグのついたTL1aムテインを捕獲した。ムテインは、フローセル2(または4)で捕獲し、次いで、C320を、フローセル1+2(または3+4)上を通過させた。ムテイン発現(RU)を、ムテインの注入の最後にRUの変化として決定した。C320結合(RU)は、C320注入の最後に決定されたRUの変化として決定した。

【0452】

発現したが、C320との結合を明らかに失ったTL1a構築物を、再トランスフェクトし、ELISAによる試験のために精製した。ELISAプレートを、ポリクローマルウサギ抗ヒトTL1a(Peprotech)($1\mu\text{g/ml}$)、DR3/Fcキメラ(R&D systems)($2\mu\text{g/ml}$)またはDcR3/Fcキメラ(R&D systems)($1\mu\text{g/ml}$)を用いてコーティングした。TL1aムテインまたは非置換TL1aを、 $1\mu\text{g/ml}$ の濃度でプレートに添加した。次いで、結合しているTL1aを、ビオチン化ポリクローマルウサギ抗ヒトTL1a(Peprotech)(250ng/ml)およびストレプトアビジン-西洋ワサビペルオキシダーゼ(BD Pharmingen)1:2000を用いて検出した。ポリクローマル抗TL1aによって検出され得る構築物は、発現し、適宜フォールディングしたと見なされた。受容体の一方またはいずれかと結合できなかった、適宜発現され、フォールディングされた構築物は、その受容体とのTL1a結合にとって重要であると考えられた。試験抗体のTL1aムテインとの結合は、直接ELISAによって試験された。ELISAプレートを、種々のTL1aムテイン($1\mu\text{g/ml}$)を用いてコーティングした、次いで、段階希釈した試験抗体を添加し、抗ヒトIgG-西洋ワサビペルオキシダーゼ(Invitrogen)1:2000を用いて結合している抗体を検出した。試験抗体の、種々のTL1aアイソフォームとの結合は、同一の方法を使用して検出した。

【0453】

1.11 膜結合性TL1a(mbTL1a)を発現する細胞株の作製

全長TL1a(配列番号123)をコードする配列を含有するベクターを用いて、HEK293細胞をエレクトロポレーションし、選択培地(プラスチジン $6\mu\text{g/ml}$ を補給した媒体)中で維持した。複数回継代した後、細胞を、フローサイトメトリーによってTL1aの細胞表面発現について試験した。ウェルあたり 2.5×10^5 個細胞を、96ウェル丸底プレート(Corning)中にプレATINGし、ビオチン化ポリクローマルウサギ抗ヒトTL1a(Peprotech)とともに、氷上で30分間インキュベートした。サンプルを洗浄し、次いで、ストレプトアビジン-FITCとともに氷上でさらに30分間インキュベートした。次いで、サンプルを洗浄し、再懸濁し、フローサイトメーターでデータを獲得した。

【0454】

1.12 フローサイトメトリー検出

TL1aの安定な細胞表面発現が確認された後(実施例1.10に記載されるような)、抗体C320、C321およびC323を、10 µg/mlから出発する漸減濃度で、トランスフェクトされた細胞およびトランスフェクトされていない細胞の両方を使用して(96ウェル丸底プレート(Corning)中のウェルあたり 2.5×10^5 個細胞)スクリーニングした。ポリクローナルヤギ抗ヒトIgG-FITC(Sigma)を1:200の希釈で検出抗体として使用した。抗TL1a抗体1B4を、比較のために含めた。

【0455】

1.13 サイトカイン産生の阻害

本明細書に記載された抗体をさらに特性決定するために、一次ヒト細胞に対するその機能を試験した。内因性TL1a産生を確認するために、lymphoprep(Nycomed)勾配上でパフィーコートからPBMCを単離し、2 µg/mlから出発する漸減濃度のコンカナバリンAとともに96ウェル組織培養プレート(Corning)中で培養した。プレートを、一晚インキュベートし、次いで、上清を回収し、ヒトTL1a ELISAキット(Peprotech)を使用してTL1aについてアッセイした。

【0456】

さらに、接着細胞を回収し、ビオチン化抗ヒトTL1a(Peprotech)1:100およびストレプトアビジン-FITC(Zymed)1:200を使用するフローサイトメトリーによってTL1a発現について評価した。

【0457】

1.14 等電点電気泳動ゲル実験

等電点電気泳動ゲルを、NOVEX(C) Xcell Surelock(商標)システム(Life Technologies)を製造業者の使用説明書に従って使用して実施した。

【0458】

1.15 プロテインA HPLC

抗体を一時的に発現するようトランスフェクトされたHEK-293E細胞から得た上清を、Agilent 1100 クロマトグラフィシステムと接続されたPOROS A/20 2.1 x 30mm Idカラム(Applied Biosystems)を使用するプロテインA HPLCによって解析した。カラムは、リン酸緩衝生理食塩水(PBS)pH7.4を用いて平衡化し、0.2mlのタンパク質を含有するHEK-293E上清をロードし、pH2.2に調整したPBSを用いてタンパク質を溶出した。215nmまたは280nmの波長でのクロマトグラムは、製造業者のソフトウェアを使用して積分し、曲線下面積(AUC)を報告した。

【0459】

1.16 SPRによって決定されるような抗体発現および抗原結合

CM5センサーチップ(Biacore)を使用し、アミンカップリングを使用してチップ表面にプロテインAをカップリングした。プロテインAを、Biacore 3000を使用して、フローセル1および2(あるいは、3および4)上にカップリングした。抗体を含有するHEK-293細胞の細胞上清をフローセル2の表面上を通過させ、バッファー(HBS-EP)はフローセル1上を通過させた。上清の注入の最後に、反応単位の変化を測定した。この値は、プロテインA捕獲(SPR)として報告される。発現%は、同一実験におけるC320のプロテインA捕獲(SPR)のパーセンテージとしての、試験された抗体のプロテインA捕獲(SPR)である。抗体がTL1aと結合するかどうかを決定するために、次いで、TL1aを、フローセル1および2上を通過させた。センサーグラムは二重参照された(フローセル2が、フローセル1およびバッファーブランクから差し引かれる)。

【0460】

(実施例2)

ファージディスプレイの結果

組換えヒトTL1aに対して、ファージディスプレイキャンペーンを実施した。組換え細菌によって発現された組換えTL1aを使用して6回の別個の(discreet)キャンペーンを実施した。TL1aと結合する少数のFABを単離したが、中和抗体は単離されなかった。

【0461】

10

20

30

40

50

その後のキャンペーンは、哺乳類によって発現されたTL1aを用いて実施した。TL1aと結合した単離されたFABのパーセンテージは、哺乳類由来のTL1aを使用すると、細菌由来のTL1aよりも実質的に高かった。全ファージディスプレイキャンペーンにわたって、TL1a結合について陽性であると示されたFABの数は、200を超えていた。これらから、独特の配列を有する55種のFABを同定し、そのうち29種を、全長IgG₁抗体への変換のために選択した。

【0462】

(実施例3)

TL1a活性の中和

ファージディスプレイを使用して単離されたFABを含む全長IgG1抗体の、TL1a誘導性アポトーシスを阻害または低減する能力を、上記のように評価した(実施例1.8)。これらの条件下で、試験された抗体のうち15/29が、TL1a誘導性アポトーシスの50%よりも良好な阻害を示した(図2)。これらの抗体は、C319、C320、C321、C323、C333、C334、C335、C336を含んでいた。

【0463】

これらのデータは、TL1aと結合する抗体は単離され得るが、これらの抗体のうち限定されたサブセットのみが、TL1a活性を機能的に阻害するために必要な特異性を有するということを実証する。

【0464】

組換えヒトTL1aの阻害を実証した抗体の群内で、EC₅₀値を使用して各抗体の相対阻害プロフィールを評価した(Table 4(表4)および図3)。抗体C320、C321およびC323のみが、1nM以下の阻害性EC₅₀値を有していた。

【0465】

【表4】

Table 4: TL1a誘導性アポトーシスの阻害のための抗体EC₅₀値

抗体名称	可変重鎖 (配列番号)	可変軽鎖 (配列番号)	EC ₅₀ (nM)
C336	2	6	4.05
C334	10	14	22.14
C333	18	22	2.34
C323	26	30	0.99
C321	34	38	0.56
C320	42	46	0.31
C319	50	54	11.17
1B4	74	75	3.37

【0466】

(実施例4)

受容体選択性

抗体C320、C321およびC323は、TL1aの、DR3との相互作用を阻害する(図4A)が、TL1aの、DcR3との相互作用は阻害しない(図4B)。同一アッセイを使用して、抗体C319、C333、C334およびC336は、同一選択的中和を実証するとわかった。

【0467】

同様のアッセイを使用して、抗体C320および以下に記載されるその誘導体、特に、C320-168およびC320-179の結合は、TL1aのDR3との相互作用を、1nM以下のEC₅₀で阻害するとわかった(図4C)。これらの抗体はまた、0.1 μg/mL ~ 100 μg/mLの範囲の濃度で試験された場合に、TL1aのDcR3との相互作用を阻害しなかった(図4D)。これらの結果は、抗体C300-25

および1B4のものとは対照的である。この関連で、抗体C300-25は、本発明者らによって製造されたラットモノクローナル抗体である。

【0468】

【表5】

Table 5:受容体DR3およびDcR3とのTL1a相互作用の阻害の抗体EC₅₀値

抗体	EC ₅₀ (nM)	
	DR3	DcR3
C320	0.97	DNI
C320-179	0.72	DNI
C320-168	0.97	DNI
C300-25	13.5	9.84
1B4	17.8	26.5

DNI-阻害しなかった

【0469】

DR3およびDcR3は、TL1aとの結合について競合するとわかっている。したがって、DR3を中和するTL1a上のエピトープをターゲティングするが、DcR3はしない特異性を有する抗体が単離されたことは予期しないことであった。これらの結果は、本明細書に記載された抗体は、DcR3の天然の拮抗的機能またはDcR3結合のホメオスタシスバランスのいずれかを乱すことなく、その同族受容体DR3を介してTL1a活性を防止できるということを示す。いかなる理論または作用様式にも拘束されることを望むものではないが、このような選択的阻害は、DcR3が、その同族シグナル伝達受容体(それぞれ、FasおよびH-VEM)との結合に利用可能な遊離Fas-LおよびLIGHTの量を調節するので、生物学的に関連があり得る。結果として、TL1aとDcR3間の相互作用を阻害することは、DcR3によって結合されるFas-LおよびLIGHTの量を増大し、したがって、その同族受容体を介したシグナル伝達に利用可能な量を低減し得る。癌の調査監視においてFas媒介性死滅は一定の役割を果たすので、Fas-Lと結合するDcR3の量の増大の可能性ある下流の結果は、癌に対する感受性の増大を含み得る。やはり、理論または作用様式に拘束されることを望むものではないが、TL1aとDR3の相互作用を特異的に阻害するが、DcR3は阻害しない抗体を単離することは、疾患の治療において有利であり得るが、安全性は損なわない。

【0470】

(実施例5)

エピトープマッピング

アミノ酸置換を、可溶性TL1aの配列(配列番号202)に導入して、一連のTL1aムテインを作製した。

【0471】

実施例1.10に記載されたSPRベースのムテイン解析アッセイを使用して、トランスフェクトされたHEK-293E細胞から得られた上清中のTL1aムテインを、発現レベルおよびC320との結合について試験した。結果は、Table 6(表6)に示されている。

【0472】

10

20

30

40

【表 6 A】

Table 6: 可溶性ヒト TL1a およびそのムテインの発現および抗体 C320 との結合

アミノ酸置換	ムテイン発現 (RU)	C320 結合 (RU)	アミノ酸置換	ムテイン発現 (RU)	C320 結合 (RU)
野生型	3244.9	125.6	A55S	2933.1	33.2
L1A	3264.3	115	A55L	2746.5	-7.6
K2A	3094.4	152	A55R	2307.7	-12.3
Q4A	3366.2	120	A55G	1991.2	-5.8
E5A	3086.5	360.4	A55D	2386.5	-21.1
F6A	2948.3	240.2	T57A	3335.6	42.7
P8A	3455.9	124.3	K58A	3241.5	4.3
S9A	3594.2	94.5	N59A	3382.9	73.8
H10A	3372.5	122.7	R60A	3405.8	116.5
Q11A	3572.9	71.4	N62A	3264.9	117.4
Q12A	3098.5	193.8	T64A	3083.6	289.8
V13A	3213.9	167.8	N65A	3226.8	156.6
Y14A	2883.5	401	K66A	3183.3	27.1
P16A	2938	225	F67A	3216.1	304.7
L17A	2904.1	194.5	L69A	3389.8	212.6
R18A	3102.5	132.2	E72A	3171.5	136.2
D20A	3247.6	154.6	S73A	3129.3	146
G21S	2915.3	184.8	R85A	3047.1	-33.5
G21L	3424.4	72.8	M87A	3161.2	46.1
G21R	3197	116.2	S89A	3600.3	10.8
G21A	3483	85	E90A	3129.7	1089.1
G21D	3032	158.6	E93A	3181.6	343.9
D22A	3185.6	169.8	I94A	3125.1	352.3
R32A	3103.7	-36.5	R95A	3634.8	28.8
T34A	3278.7	389.2	Q96A	3256.5	149.4
P35A	3385	-28.6	R99A	3351.3	105.2
T36A	2771.9	486.1	P100A	2898.5	199.5
Q37A	2789.3	319.2	K102A	3420.8	155.7
H38A	3133	147.4	D104A	2982.9	533.2
F39A	2509.8	445.5	S105A	3425.8	127.1
K40A	3213.5	55.5	D115A	3648.5	110.1
N41A	2967.5	248.5	S116A	2962.4	282.1
Q42A	3073	175.7	Y117A	3323.8	189.8
F43A	3245.8	109.3	P118A	3254.9	161.7

10

20

30

40

【表 6 B】

P44A	3180.1	200.4	E119A	3263.7	278.5
A45S	3407.3	61.5	P120A	3143	164.8
A45L	3087.7	35.6	Q122A	3189	148.5
A45R	3167	107.2	S135A	3109.4	95.4
A45G	3385.9	77.1	F138A	3496.7	21
A45D	3395.1	38.9	S148A	2883.9	228.7
H47A	3466.4	159.1	Q150A	3151.1	193.5
H50A	3249.3	132.4	E151A	3796.5	90.8
E51A	3136.5	33.8	K154A	3610.3	86.7
L52A	3105.5	52.7	S160A	1272.2	901.6
G53S	3238.5	19	D161A	3391.4	223.4
G53L	1299.7	-3.9	I162A	3139.2	72.4
G53R	3796.7	7.2	S163A	3054	481
G53A	3652.4	-4.8	Y167A	2942.2	70.7
G53D	2130.3	-6.1	T168A	3335.1	2.6
			K169A	3005	69.7
			E170A	3418.7	16

10

20

【 0 4 7 4 】

良好に発現した(2000RUを超えるムテイン発現)が、抗体C320と結合できなかった(TL1a結合17未満のRU)ムテインを、さらなる解析のために選択した。

【 0 4 7 5 】

アミノ酸G53およびA55に置換を有するムテインは、不十分にしか発現されず、ポリクローナル抗TL1aとの結合が低減したが、これは、これらは、TL1aの構造上の完全性にとって重要な残基であるということを示唆する。その他のムテインは、すべて適切に発現し、ポリクローナル抗TL1aと結合し、還元性および非還元性SDS-PAGEゲルの両方で野生型TL1aと同等に流れた。これらの特徴はすべて、ムテインは適宜発現され、TL1aタンパク質にフォールディングされるということを示唆する。

30

【 0 4 7 6 】

ムテインは、本明細書に記載された種々のモノクローナル抗TL1a抗体に対して、差次的結合パターンを示した。抗体C320、C320-168およびC320-179は、R32AおよびR85Aムテインと、またはこれらの置換の両方を含有するムテインと検出可能に結合しなかった(図5Aおよび図5B)。C320はまた、P35A、T168AおよびE170Aムテインと無視できる結合を示し、C320-168およびC320-179は、これらのムテインに対して低減した結合を有していたが、C320と同程度にはではない。対照的に、TL1a結合性抗体1B4および16H2は、野生型TL1aの50%超のムテインR32A、R85A、P35A、T168Aとの結合を示し、これは、これらの位置のアミノ酸が、1B4および16H2の、TL1aとの結合にとって重要ではないことを示す。

40

【 0 4 7 7 】

抗体C320、C320-168およびC320-179が、TL1aのDR3との結合を阻害するが、DcR3は阻害しないことを考えると、抗体は、DR3のTL1aとの結合に関与しているアミノ酸と結合し、この相互作用を乱す可能性が高い。DcR3ではなく、DR3は、R32AおよびR85Aムテインとの大幅に低減した結合を有しており、これは、これらの残基は、DR3とのTL1a結合に関与していることを示唆する(図5C)。

【 0 4 7 8 】

TL1a上の抗体C320、C320-168およびC320-179の結合部位が、図5Dに例示されている。図

50

からわかるように。残基R32およびR85は、一次アミノ酸配列では離れているが、タンパク質の三次構造では互いに隣接して位置している。したがって、これらは、抗体C320、C320-168およびC320-179が結合する、TL1a上のエピトープ内の重要な残基と考えられ得る。

【0479】

(実施例6)

細胞表面TL1aとの抗体結合の特性決定

TL1aは、ほとんどのTNF-リガンドスーパーファミリーメンバーと同様に、切断されて可溶性TL1aを生じる細胞表面形態として存在し、その他のメンバーに関しては、TL1の膜形態(mbTL1a)は、生物学的機能を有するとわかっている。したがって、TL1aの活性を中和するために、膜および可溶性TL1aの両方と強力に結合する抗体を有することが有利となる。TL1aの機能阻害を示した抗体を、膜に固定されたTL1aを用いて安定にトランスフェクトされたヒト細胞株でのフローサイトメトリーによってスクリーニングした(実施例1.11に記載されるように製造された)。

【0480】

抗体C320、C321、C323および1B4は、TL1aでトランスフェクトされた細胞株とすべて、0.5~2nMのEC₅₀で結合したが(図6)、正常なトランスフェクトされていない細胞とは結合しなかった。

【0481】

本明細書に記載された抗体をさらに特性決定するために、一次ヒト細胞に対するその機能を試験した。PBMCを、実施例1.12に記載されるように単離した。実施例1.13に記載されたアッセイ条件を使用して、これらの細胞は、mbTL1a(図7A)および可溶性TL1aの両方を(図7B)産生するとわかった。

【0482】

PBMCを、実施例1.13に記載されるように刺激し、抗TL1a抗体の存在下でのサイトカイン産生についてアッセイした。細胞培養物に外因性TL1aは添加しなかったので、抗TL1a抗体の効果は、内因性TL1aの中和によるものであった。抗体、C320およびC323は、PBMCによる内因性TL1a誘導性サイトカイン産生の良好な阻害を実証した(図8)。Th1細胞(IFN- γ ; 図8A)およびTh2細胞(IL-13; 図8B)によって通常産生されるサイトカインに対するこの阻害は、明らかであった。これらのデータは、これらの抗体は、一次ヒト細胞から産生されるTL1aを阻害できる可能性が高いことおよびこれらの抗体は、細胞上または血清中のTL1aを検出するための診断的試薬として使用され得ることを実証する。

【0483】

(実施例7)

C320の改善された変異体を作製すること

C320抗体を、抗体の生物物理学的特性に対して正の効果を生じながら、C320の効力に対しては最小の影響しか有さないことを目的として抗体の配列を変更することによってさらに最適化した。

【0484】

例えば、抗体の発現レベルを増強し、付随して産生レベルの増大が望まれる変更。生成物不均一性を低減するためのアミノ酸置換によるV_H中のN結合型グリコシル化部位の除去は、C320をさらに増強し得る。精製または保存の間の酸化または異性化によって抗体の安定性に影響を及ぼす可能性を有するアミノ酸残基の、このような遷移を受けないアミノ酸での置換(Wangら、Journal of Pharmaceutical Sciences 96:1~26頁、2006年)は、C320をさらに改善し得る。免疫原性に潜在的に寄与し得る、稀なまたは非生殖系列C320配列の、低く予測される免疫原性のものでの置換は、C320をさらに改善し得る。このような変更は、以下のとおり、より詳細に記載されている。

【0485】

C320の発現の増強

ヒト抗体生殖系列アミノ酸配列のデータベースを、C320 V_HおよびV_Lアミノ酸配列を使用してBasic Local Alignment Search Tool検索(BLAST:Altschulら、J Mol Biol 215: 40

10

20

30

40

50

3~410頁、1990年)によって調べた。これは、それぞれC320 V_HおよびC320 V_Lのものに対して、20の最も相同なヒト抗体生殖系列配列を同定した。ヒト生殖系列配列をC320のものとアラインすることによって、C320中に存在するが、生殖系列の大部分では一般的ではない残基の同定が可能になった。生殖系列配列に由来する最も一般的なアミノ酸を、C320アミノ酸配列中に置換した。Table 7(表7)には、アミノ酸置換およびHEK-293E細胞における一時的トランスフェクションから得られた各抗体の発現レベルに対する結果として生じる影響が列挙されている。

【0486】

【表7】

Table 7:発現および効力に対するアミノ酸置換の効果

抗体名称	アミノ酸置換 (鎖)	C320 に対する発現レ ベル%	効力 TF-1 EC-50(pM)
C320	N/A	100	233
C320-2	A16S (重鎖)	156	159
C320-3	T41P (重鎖)	338	428
C320-4	N73D (重鎖)	DNE	N/A
C320-5	A76T (軽鎖)	231	89
C320-6	L81Q (軽鎖)	98	67
C320-135	T41P (重鎖) & A76T (軽鎖)	288	462

【0487】

アミノ酸置換は、重鎖については配列番号42に対するものであり、軽鎖については配列番号46に対するものである。

【0488】

C320-3およびC320-5中に存在する2つの置換は、抗体の発現レベルを2倍超高めながら、TF-1効力アッセイにおいて抗体の効力には最小にしか影響を及ぼさなかった。両置換を組み込んでいるさらなる抗体、C320-135は、概ね同等の効力を有しており、改善された発現レベルを維持していた。

【0489】

C320-4は、発現を改善することを目的としながら、N結合型グリコシル化モチーフを除去しようとも試みた、N73D(カバット(Kabat)の番号付けシステムに従うN72D)置換を含有していた。しかし、N73D置換は、抗体発現を無効にし、これは、N73が抗体の発現にとって望ましいことを示唆する。

【0490】

C320発現をさらに改善するために、C320のCDRを、既知結晶構造を有する抗体のその他のフレームワーク上にグラフトした。この珍しいアプローチは、普通、対応するV_H:V_L対を有する既知結晶構造の抗体として採用された。適したV_H-およびV_Lフレームワークを有する抗体を選択するために、結晶構造のデータベースのBLAST検索を実施して、C320と同様のアミノ酸配列の抗体を同定した。C320 V_Hを使用するBLAST検索を使用して、既知結晶構造を有する100種の最も相同な抗体配列を同定した。同様に、既知結晶構造を有する、C320 V_Lに対する100種の最も相同な抗体配列を同定した。重鎖および軽鎖リストの両方に現れる結晶構造は、CDRグラフト化のための適したアクセプターフレームワークと見なされた。これらは、1TZG、1RHH、2DD8、2JB5、3FKU、3GBM、3IYW、3LMJおよび3P30である。次いで、C320のCDRを使用して、上記の抗体配列の各々に存在するCDR配列を置換した。C3

10

20

30

40

50

20 CDR領域を含有する配列の各々のアラインメントが、図1D(重鎖)および図1G(軽鎖)に示されている。次いで、抗体重鎖および軽鎖を以下のとおりに対形成し、タンパク質発現およびTL1a結合について評価し、結果がTable 8(表8)に列挙されている。

【0491】

【表8】

Table 8:発現およびTL1a結合に対するCDRグラフト化の結果

抗体名称	重鎖	軽鎖	プロテインA捕獲 (RU)	AUCプロ テインA HPLC (215nm)	TL1a結合 (RU)
C320	C320	C320	779	2764	282
mock	N/A	N/A	25	376	N/D
C320-7	1TZG	1TZG	187	912	N/D
C320-8	1RHH	1RHH	437	1718	29
C320-9	2DD8	2DD8	2235	8687	305
C320-10	2JB5	2JB5	2098	11406	368
C320-11	3FKU	3FKU	129	637	N/D
C320-12	3GBM	3GBM	100	697	N/D
C320-13	3IYW	3IYW	1566	4488	524
C320-14	3LMJ	3LMJ	570	1125	171
C320-15	3P30	3P30	1063	2192	318
C320-16	1TZG	C320	2527	11604	653
C320-17	1RHH	C320	2241	11980	683
C320-18	2DD8	C320	1528	5786	408
C320-19	2JB5	C320	1805	8018	465
C320-20	3FKU	C320	986	1909	310
C320-21	3GBM	C320	39	428	N/D
C320-22	3IYW	C320	2107	8622	665
C320-23	3LMJ	C320	1119	2044	324
C320-24	3P30	C320	1023	2353	311
C320-25	C320	1TZG	376	1062	42
C320-26	C320	1RHH	438	1012	81
C320-27	C320	2DD8	2272	9795	578
C320-28	C320	2JB5	2176	11771	623
C320-29	C320	3FKU	1549	3195	355
C320-30	C320	3GBM	1288	3356	455
C320-31	C320	3IYW	1061	2806	381
C320-32	C320	3LMJ	892	1888	331
C320-33	C320	3P30	1527	4473	521

注記:これらの抗体の重鎖および軽鎖の配列は、図1Dおよび図1Gに列挙されている。
RUは反応単位-SPRを使用する表面との結合の尺度であり、AECは、曲線下面積である。

【0492】

C320のCDRが異なる抗体フレームワーク上にグラフトされた場合には、得られた抗体の多数が、C320抗体のものを超えるレベルで発現した。重鎖C320 CDRが、抗体1TZGフレームワーク上にグラフトされ、C320軽鎖と対を形成した抗体C320-16は、C320の3倍良好に発現した。この実験はまた、C320軽鎖CDRがグラフトされた軽鎖抗体フレームワークの一部は、C320中に存在するアイソタイプとは対照的に、アイソタイプのものであったので、

このアプローチを使用して、抗体のアイソタイプを変更し、タンパク質発現およびTL1aとの結合を保持することが可能であるということも実証した。

【 0 4 9 3 】

抗体の発現をさらに改善するために、C320の重鎖可変鎖のCDR3領域中にアミノ酸置換を導入し、抗体をHEK-293E細胞中にトランスフェクトし、表面プラズモン共鳴 (SPR) を使用してプロテインA HPLCおよびプロテインA捕獲を使用して発現レベルについてスクリーニングした。結果はTable 9(表9)に記載されている。

【 0 4 9 4 】

【表 9 A】

Table 9: 発現に対する HCDR3 置換の効果

抗体名称	重鎖置換 (配列番号 42 に対して)	軽鎖置換 (配列番号 46 に対して)	プロテ イン A 捕獲 (RU)	AUC (プロテイン A HPLC) (280nm)
C320-0	N/A	N/A	6413	487
mock	N/A	N/A	198	N/D
C320-53	E99S	A76T	6831	581
C320-54	E99H	A76T	6594	444
C320-55	E99L	A76T	6797	540
C320-56	E99D	A76T	5823	343
C320-57	E99Y	A76T	7789	670
C320-58	E99P	A76T	5679	335
C320-59	E99Q	A76T	8534	1149
C320-60	E99K	A76T	8293	839
C320-61	V100A	A76T	8381	863
C320-62	V100S	A76T	8423	803
C320-63	V100H	A76T	8828	751
C320-64	V100L	A76T	8288	910
C320-65	V100D	A76T	8816	1003
C320-66	V100Y	A76T	7750	570
C320-67	V100P	A76T	7831	660
C320-68	V100Q	A76T	8170	715
C320-69	V100K	A76T	8741	706
C320-70	P101A	A76T	5022	234
C320-71	P101S	A76T	5083	268
C320-72	P101H	A76T	5403	230
C320-73	P101L	A76T	5518	283
C320-74	P101D	A76T	5756	297
C320-75	P101Y	A76T	5084	212
C320-76	P101Q	A76T	5036	263
C320-77	P101K	A76T	5702	309
C320-78	D102A	A76T	8249	684
C320-79	D102S	A76T	8964	1102
C320-80	D102H	A76T	8957	830
C320-81	D102L	A76T	7969	515
C320-82	D102Y	A76T	8135	558
C320-83	D102P	A76T	7765	462
C320-84	D102Q	A76T	7826	635
C320-85	D102K	A76T	8487	890
C320-86	T103A	A76T	10209	1882
C320-87	T103S	A76T	8236	567
C320-88	T103H	A76T	4934	227
C320-89	T103L	A76T	7580	822
C320-90	T103D	A76T	8694	1106

10

20

30

40

【表 9 B】

C320-91	T103Y	A76T	3838	130
C320-92	T103P	A76T	4792	219
C320-93	T103Q	A76T	4104	164
C320-94	T103K	A76T	3592	149
C320-95	A104S	A76T	4811	240
C320-96	A104H	A76T	4882	251
C320-97	A104L	A76T	4557	189
C320-98	A104D	A76T	5371	279
C320-99	A104Y	A76T	6305	410
C320-100	A104P	A76T	5678	339
C320-101	A104Q	A76T	6634	508
C320-102	A104K	A76T	5826	438
C320-103	S105A	A76T	8159	825
C320-104	S105H	A76T	6664	426
C320-105	S105L	A76T	6193	357
C320-106	S105D	A76T	7752	992
C320-107	S105Y	A76T	8209	1072
C320-108	S105P	A76T	6132	483
C320-109	S105Q	A76T	6767	465
C320-110	S105L	A76T	6999	452
C320-111	E105K	A76T	6919	500
C320-112	E107S	A76T	7713	631
C320-113	E107H	A76T	6723	459
C320-114	E107L	A76T	7739	839
C320-115	E107D	A76T	8505	1034
C320-116	E107Y	A76T	6465	375
C320-117	E107P	A76T	6699	400
C320-118	E107Q	A76T	8109	704
C320-119	E107K	A76T	8776	952

注記:この表中の置換は、C320抗体中になされたものを指す

【0496】

プロテインA表面上での捕獲によって決定されるようなC320のものを上回る相当な発現レベルを有するいくつかの抗体を作製した。高発現抗体のいくつかを再トランスフェクトし、プロテインAクロマトグラフィーによって精製し、TF-1アッセイにおいてこの効力を測定した。結果は、Table 10(表10)に列挙されている。

【0497】

10

20

30

40

【表 10】

Table 10. TL1a阻害に対するHCDR3置換の効果

抗体名称	重鎖置換 (配列番号 42 に対する)	軽鎖置換 (配列番号 46 に対する)	効力 TF-1 EC-50 (pM)
C320-0	N/A	N/A	233
C320-61	V100A	A76T	272
C320-63	V100H	A76T	1067
C320-65	V100D	A76T	546
C320-68	V100Q	A76T	535
C320-86	T103A	A76T	303
C320-87	T103S	A76T	356
C320-90	T103D	A76T	370
C320-103	S105A	A76T	455
C320-104	S105H	A76T	349
C320-106	S105D	A76T	1587
C320-112	E107S	A76T	242
C320-114	E107L	A76T	514
C320-115	E107D	A76T	321
C320-117	E107P	A76T	251
C320-119	E107K	A76T	4142

注記:この表中の置換は、C320抗体中になされたものを指す

【0498】

得られた抗体の効力は、C320-119などのC320と比較して低減されたものから、C320のものと同等のレベルの範囲であった。

【0499】

C320の軽鎖配列を、最高相同性の生殖系列配列、IGLV1-40*01に対してアラインした。CDR領域中のアミノ酸配列の相違は、図9Aに示されるように同定された。配列が異なっている位置で、生殖系列配列に由来するアミノ酸のC320への逆置換を実施した。抗体をHEK-293細胞において発現させ、精製し、C320に対するタンパク質収率を決定した。TF-1細胞を使用する効力検定を使用して、抗体の阻害プロフィールを特性決定した。結果は、Table 11(表11)に示されている。

【0500】

10

20

30

【表 1 1】

Table 11. TF1a阻害に対するC320を生殖系列化すること(germlining)の効果

抗体名称	重鎖置換 (配列番号 42 に対する)	軽鎖置換 (配列番号 46 に対する)	C320 に対 する発現レ ベル%	効力 TF-1 EC-50 (pM)
C320	N/A	N/A	100	233
C320-120	T41P	A23T	279	343
C320-121	T41P	D28N	239	1433
C320-122	T41P	L33Y	247	5480
C320-123	T41P	G34D	207	DNI
C320-124	T41P	Y53N	128	1613
C320-125	T41P	Y54S	259	13393
C320-126	T41P	P82A	187	539
C320-127	T41P	G95S	140	541
C320-128	T41P	T96S	134	328

注記:この表中の置換は、C320抗体中になされたものを指す

【 0 5 0 1 】

抗体C320-120は、良好なレベルの発現およびこの実験において試験された抗体すべてのうち最高効力を実証した。C320-123およびC320-125におけるものなどの置換の一部は、発現したが、TF-1細胞でTL1a誘導性アポトーシスをもはや阻害しないか、または弱くしか阻害しない抗体をもたらした。これは、軽鎖可変鎖の位置G34(カバット(Kabat)の番号付けシステムによればG32)およびY54(カバット(Kabat)の番号付けシステムによればY52)のアミノ酸が、抗体がTL1aの活性を阻害できることにおいて重要であり得るということを示唆した。

【 0 5 0 2 】

C320からの推定酸化および異性化部位の除去

重鎖可変および軽鎖配列のアミノ酸解析によって、酸化または異性化を受け得るいくつかのアミノ酸を同定した。抗体のCDR中に存在するアミノ酸が特に重視された。これらのアミノ酸への変更は、抗体の結合プロファイルを経時的に変更し得る。重鎖可変鎖M51では(カバット(Kabat)の番号付けシステムによればM51)を、可能性あるアスパラギン酸異性化部位D102(カバット(Kabat)の番号付けシステムによればD98)とともに可能性ある酸化部位として同定した。軽鎖では、D94(カバット(Kabat)の番号付けシステムによればD92)を、可能性ある異性化部位として同定した。これらの予測される問題の可能性ある影響を低減するために、これらの位置に保存的または半保存的アミノ酸置換を含有するC320の変異体を製造した。これらの置換および得られたC320変異体の効力に対するその影響は、Table 12(表12)に列挙されている。

【 0 5 0 3 】

10

20

30

【表 1 2】

Table 12. 発現およびTL1a阻害に対するアミノ酸置換の効果

抗体名称	C320 からのアミノ酸置換 (鎖)	C320 に対する発現レベル%	効力 TF-1 EC-50 (pM)
C320	N/A	100	233
C320-129	D102E (重鎖)	201	433
C320-130	M51L (重鎖)	185	528
C320-131	D94E (軽鎖)	103	10680

注記:この表中の置換は、C320抗体中になされたものを指し、配列番号42に対する重鎖置換および配列番号46に対する軽鎖置換を有する。

10

【0504】

重鎖中に存在する、可能性ある酸化および異性化部位は、保存的アミノ酸で成功裏に置換し、これは、発現の改善および効力の保持をもたらした。軽鎖CDR領域におけるD94Eの置換は、C320と同様のレベルで発現するが、大幅に低減した効力を有する抗体をもたらした。これは、軽鎖のD94は、C320の機能活性の媒介において重要であり得るということを示す。

20

【0505】

C320重鎖からのN-グリコシル化部位の除去

DTS(N73D;カバット(Kabat)の番号付けシステムによればN72D)への置換によるV_Hグリコシル化部位NTSを除去する初期の試みが成功しなかったため、より包括的な範囲の置換を使用する、N結合型グリコシル化モチーフ、NX(S/T)(式通、X P)を破壊するさらなる試みを行った。最初に、位置73のアスパラギンの代わりにさらなる残基を試験した。第2に、この位置においてプロリンは、N結合型グリコシル化を防止するとわかっているため、置換T74P(カバット(Kabat)の番号付けシステムによればT73P)を試験した。S75(カバット(Kabat)の番号付けシステムによればS74)の代わりにさまざまなアミノ酸も試験した。このグリコシル化部位を除去しようとして試験した構築物および抗体発現レベルに対するその影響が、Table 13(表13)に列挙されている。

30

【0506】

【表 1 3】

Table 13: 発現レベルに対するアミノ酸置換の効果

抗体名称	配列番号 42 に対する重鎖置換	配列番号 46 に対する軽鎖置換	AUC (プロテイン A HPLC)
C320-0	N/A	N/A	162
C320-120	T41P	A23T	710
mock	N/A	N/A	N/D
C320-138	N73S	A23T	87
C320-139	N73K	A23T	58
C320-140	N73H	A23T	N/D
C320-141	N73T	A23T	66
C320-142	N73Q	A23T	70
C320-143	N73G	A23T	N/D
C320-144	N73P	A23T	N/D
C320-145	N73L	A23T	54
C320-146	N73Y	A23T	N/D
C320-147	T74P	A23T	110
C320-148	S75L	A23T	115
C320-149	S75I	A23T	96
C320-150	S75A	A23T	194
C320-151	S75Y	A23T	88
C320-152	S75K	A23T	115
C320-153	S75E	A23T	110
C320-154	S75F	A23T	78
C320-155	S75H	A23T	118

注記: この表中の置換は、C320抗体中になされたものを指す。

【 0 5 0 7 】

試験したC320変異体の大部分は、C320と比較して、低いレベルの発現を示し、これは、C320中でNTSモチーフ中に存在する個々のアミノ酸を置換することは、抗体の発現を低減することを示唆する。

【 0 5 0 8 】

C320 CDRを異なる抗体フレームワーク上にグラフトすることによってC320の発現を増強するための初期の試みの結果は、1TZGのフレームワークを使用する、C320-16と名づけられた抗体であった。この抗体は、良好に発現し、TL1aと結合した(Table 7(表7))。1TZGおよびC320-16のフレームワークは、C320 V_H配列の配列番号42の位置72から76(カバット(Kabat)の番号付けシステムによれば71から75)のRNTSI(配列番号203)が、1TZGの対応するV_H配列中のADRST(配列番号204)によって置換されるので、N結合型グリコシル化配列モチーフを欠く。

【 0 5 0 9 】

発現増強置換V_H T41PおよびV_L A73Tを含む変異体C320-135を、さらなる重鎖操作に付した。位置71から75のC320 V_H配列RNTSI(配列番号203)を、1TZGの対応するV_H配列に由来するADRST(配列番号204)によって置換して、抗体C320-163を製造した。この抗体は、今ではN結合型グリコシル化部位を欠き、HEK-293E細胞にトランスフェクトされると発現し、精製すると、TF-1細胞のTL1a媒介性アポトーシスを機能的に阻害できた(Table 14(表14))。

【 0 5 1 0 】

C320の改善された変異体

C320を上回る有利な特性を付与するとこれまでの実験において同定されたアミノ酸置換

10

20

30

40

50

を、続いて、組み合わせ、得られた抗体を発現させ、精製し、効力についてアッセイした。これらの配列は、図9B(重鎖可変)および図9C(軽鎖可変)に列挙されている。各抗体の比較効力および発現データが、Table 14(表14)に列挙されている。

【0511】

【表14】

Table 14:発現およびTL1a阻害に対するアミノ酸置換の効果

抗体名称	C320と比較した発現%	効力 TF-1 EC-50 (pM)
C320	100	233
C320-162	74	1053
C320-163	170	1160
C320-164	299	338
C320-165	380	240
C320-166	339	793
C320-167	344	239
C320-168	219	46
C320-169	N/A	477
C320-170	232	287
C320-171	102	DNI
C320-172	140	269
C320-179	161	96
C320-183	129	439

注記:DNI=阻害しなかった

【0512】

等電点電気泳動(IEF)ゲルで、抗体C320-168(N結合型グリカンモチーフを含有する)を、C320-163およびC320-170(N結合型グリカンモチーフを欠く)と比較することによって、N結合型グリコシル化部位の除去での抗体プロフィールからの電荷不均一性の除去が実証された(図9D)。C320-168は、5~6種の別個の荷電アイソフォームを有し、C320-163およびC320-170について可視化された1~2種のアイソフォームに対して比較した。電荷不均一性のこの減少は、大規模製造プロセスにおいて改善されたバッチ間一貫性を提供する有利な特性である(Wangら、Journal of Pharmaceutical Sciences 96:1~26頁、2006年)。

【0513】

試験された抗体のうち、2種が、親C320抗体よりも強力であった-C320-168およびC320-179(図9E)。これらのC320変異体は両方とも、先に記載されたその他の有利なアミノ酸置換と組み合わせてTF-1アッセイにおいて効力を改善するとわかった、軽鎖可変領域置換G24S(カバット(Kabat)の番号付けシステムによればG25S)を含む。

【0514】

抗体からの予測されるMHCクラスII結合ペプチドの除去

ソフトウェアパッケージEpibase(商標)(LONZA)を使用して、C320-168重鎖可変および軽鎖領域のアミノ酸配列を、コンピュータによって解析した。このソフトウェアは、C320-168中に存在するペプチド配列の傾向を、MHCクラスII対立遺伝子と結合すると予測する。このようなペプチドのMHCクラスII対立遺伝子との結合は、投与された抗体に対する宿主免疫応答において重要なステップである。

【0515】

C320-168の重鎖におけるペプチド配列、GLEWWMGWLNPNSGNT(配列番号205)は、DRB1*0401と強力に結合すると予測された。C320-168の軽鎖におけるペプチド配列、LLIYGYNNRPSGVPD(配列番号206)は、DRB1*1101、DRB1*1104およびDRB1*1501と強力に結合すると予測され

10

20

30

40

50

た。

【0516】

上記で列挙されたペプチド配列およびこれらのペプチド配列の修飾されたものを合成し、対応するMHCクラスIIタンパク質とともにインキュベートし、ELISAを実施して、ペプチドが、MHCクラスIIタンパク質と複合体を形成したかどうかを決定した。インフルエンザペプチド、PKYVKQNTLKLAT(配列番号207)を、ペプチド:MHCクラスII複合体の形成を示すための、これらのアッセイにおける陽性対照として使用した。各ペプチドのMHCクラスII対立遺伝子との結合は、Table 14(表15)に列挙されている。

【0517】

【表15】

Table 14.ペプチドのMHCクラスIIとの結合

ペプチド	MHCクラスII 対立遺伝子	結合(陽性対照の%)
GLEWMGWLNPNNGNT(配列番号205)	DRB1*0401	6
LLIYGYYNRPSGVPD(配列番号206)	DRB1*1501	123
LLIEGYNRPSPGVPD(配列番号208)	DRB1*1501	41
LLIGGYNRPSPGVPD(配列番号209)	DRB1*1501	42
LLIPGYNRPSPGVPD(配列番号210)	DRB1*1501	0
LLIKGYNRPSPGVPD(配列番号211)	DRB1*1501	74
LLIYGYYNRPSGVPD(配列番号212)	DRB1*1101	1
LLIEGYNRPSPGVPD(配列番号213)	DRB1*1101	0
LLIGGYNRPSPGVPD(配列番号214)	DRB1*1101	0
LLIPGYNRPSPGVPD(配列番号215)	DRB1*1101	0
LLIKGYNRPSPGVPD(配列番号216)	DRB1*1101	0
LLIYGYYNRPSGVPD(配列番号217)	DRB1*1104	1
LLIEGYNRPSPGVPD(配列番号218)	DRB1*1104	0
LLIGGYNRPSPGVPD(配列番号219)	DRB1*1104	1
LLIPGYNRPSPGVPD(配列番号220)	DRB1*1104	0
LLIKGYNRPSPGVPD(配列番号221)	DRB1*1104	0

【0518】

免疫学的に重要であり得るか、または良好な結合剤としてさらなる調査を正当化するペプチドは、陽性対照の15%のスコアを有するペプチドであると考えられる。したがって、ペプチドGLEWMGWLNPNNGNT(配列番号205)は、免疫原性である低い可能性しか有さず、C320関連抗体においてこのモチーフを修飾する試みはなされなかった。

【0519】

ペプチドLLIYGYYNRPSGVPD(配列番号206)は、MHCクラスIIタンパク質DRB1*1501と複合体を形成するとわかった(123%結合)が、DRB1*1101またはDRB1*1104とは形成しない。ペプチドの4番目の位置のチロシン残基(C320-168軽鎖可変鎖配列では、位置51(カバット(Kabat)の番号付けシステムによれば位置49)に対応する)を、グルタミン酸、グリシン、プロリンまたはリシンのいずれかのうち1種に修飾することによって、ペプチド:MHCクラスII複合体の形成を低減するための試みを行った。この位置でのグルタミン酸またはグリシン残基の導入は、複合体形成を50%超低減した(Table 14(表15))。この位置でのプロリンの導入は、複合体形成を防止した。抗体C320-172およびC320-179は、そのV_L領域中に置換Y51E(

10

20

30

40

50

カバット (Kabat) の番号付けシステムによればY49E)を組み込んでいたのに対し、C320-183は、V_L領域中に変更Y51G(カバット (Kabat) の番号付けシステムによればY49G)を組み込んでいた。Table 13(表13)に例示されるように、3種の抗体はすべて、発現し、TL1aを機能的に阻害した。置換Y51E(カバット (Kabat) の番号付けシステムによればY49P)を組み込む抗体C320-171の発現が検出されたが、この抗体は、TL1aを機能的に阻害できず、これは、軽鎖中の位置49では、すべてではないアミノ酸が許容されることを示す(Table 13(表13))。

【 0 5 2 0 】

(実施例8)

高効力のDR3選択的抗体の作製

TL1a活性を中和でき、高い効力を有し、TL1a-DR3媒介性活性を選択的に阻害できる新規抗体は、TL1a上のC320抗体エピトープに着目することによって作製される。例えば、改善された発現および/またはTL1a中和を示す、突然変異体可変領域および/または個々の置換(例えば、実施例7に記載されるような)を組み合わせ、再試験して、改善が付加的であるかどうかを決定した。

【 0 5 2 1 】

その他のアプローチでは、種々の技術のいずれかによって、C320によって結合されるエピトープと結合する抗体が選択される。

【 0 5 2 2 】

8.1 C320抗体を使用する抗体ライブラリーからの選択

最初のパニングラウンドが、約100pmolの抗原密度(すなわち、ビオチン化TL1a)および先に記載されたようなTEAベースの溶出ステップを使用して実施される、ファージディスプレイプロトコルが使用される。第2および第3のラウンドは、低減した抗原密度(例えば、約50pmol)を使用する。C320 IgGを10モル過剰で添加することおよび反応物を室温で2、5、10または20分間インキュベートすることによってファージを溶出する。IgGは、C320エピトープと結合しているFABを発現するファージを特異的に置換および溶出すると期待される。非特異的結合剤およびTL1a表面上のその他の領域と結合しているファージは、これらの条件下では溶出する可能性が低い。

【 0 5 2 3 】

洗浄計画は、ラウンド1および2については、M-PBSを用いる6回の洗浄を含む。ラウンド3については、洗浄は、PBSTを用いる3回の洗浄、次いで、PBSを用いる3回の洗浄である。

【 0 5 2 4 】

溶出されたファージは、その他のファージディスプレイ実験について記載されるような、ファージミドレスキューまたはスクリーニングのためのコロニーの作製のために、TG1大腸菌(E Coli)に感染させるために使用する。

【 0 5 2 5 】

8.2 突然変異体TL1aを使用する抗体の選択/製造

ファージディスプレイのためのパニング試薬としてTL1aの突然変異型を使用して、C320のものと同様のエピトープを認識する抗体が得られ得る。ファージディスプレイライブラリーは、R32Aおよび/またはR85Aのアミノ酸置換を有するTL1aを認識する抗体が枯渇され得る。次いで、ライブラリーは、TL1aに対してパニングされ得る。得られた単離抗体は、残基R32および/またはR85と結合する可能性が高い。

【 0 5 2 6 】

(実施例9)

C320の親和性成熟

抗体C320は、すでにTL1a活性の強力な阻害剤である。しかし、親和性成熟アプローチを使用して効力は増強され得る。増強された効力は、投薬および有効性の利点を付与することが多い。

【 0 5 2 7 】

抗体の親和性成熟のための多数の方法が、当技術分野で公知である。これらの多くは、

10

20

30

40

50

突然変異誘発と、それに続く、改善された親和性についての選抜および/またはスクリーニングによって、変異体タンパク質のパネルまたはライブラリーを作製するという一般的な戦略に基づいている。突然変異誘発は、例えば、エラープロードPCRによって(Thieら、Methods Mol. Biol. 525:309~322頁、xv、2009年)、遺伝子シャッフリングによって(Kolkmanおよび Stemmer、Nat. Biotechnol. 19: 423~428頁、2001年)、変異原性化学物質または照射の使用によって、エラープロード複製機構とともに「変異誘発」株の使用によって(Greenerら、In Vitro Mutagenesis Protocols(Humana press、NJ)1966年)または天然の親和性成熟機構を利用する体細胞突然変異アプローチによって(Peledら、Annu. Rev. Immunol. 26:481~511頁、2008年)、DNAレベルで実施されることが多い。突然変異誘発はまた、例えば、Qレプリカーゼの使用によって(Kopsidasら、Immunol. Lett. 107:163~168頁、2006年)、RNAレベルで実施される。改善された変異体タンパク質についてのスクリーニングを可能にするライブラリーベースの方法は、ファージ、酵母、リボソーム、細菌または哺乳類細胞などの種々のディスプレイ技術に基づいており、当技術分野で公知である(Benhar、Expert Opin. Biol. Ther. 7:763~779頁、2007年)。親和性成熟はまた、より方向性をもった/予測的な方法によって、例えば、位置指定突然変異誘発または3Dタンパク質モデリングからの知見によって導かれた遺伝子合成によって(例えば、US6,180,370またはUS5,225,539を参照のこと)達成される。

10

【0528】

リボソームディスプレイを使用する親和性成熟(Kopsidasら、BMC Biotechnol. 7:18、2007年)は、scFv形式のC320関連抗体のV_LおよびV_HドメインをコードするRNAを使用して実施される。このRNAの変異体のライブラリーは、Qレプリカーゼを使用して作製され(通常、分子あたり1~3の変化)、このライブラリーは、TL1aとの結合のためにリボソーム上にディスプレイされ、選択される。使用されるRNA構築物が、機能的scFvタンパク質を翻訳するリボソームと結合したままであるので、表現型-遺伝子型のつながりは達成される。C320関連scFv-RNA-リボソーム複合体は、TL1aに対してパニングされ、単離される。RNAは、DNAに変換され、細菌発現系に組み込まれる。次いで、単一scFvをコードする個々の細菌を、単離し、scFvを発現するよう誘導する。競合ELISAを使用して、TL1aに対して、C320関連ScFvよりも高い親和性を有するscFvを同定する。これらのscFvを、全長抗体に変換し、これが、実施例1.8に記載されるようなTF-1アポトーシスアッセイにおいてスクリーニングされて、C320を上回るTL1a生物活性の阻害における改善を決定する。

20

30

【0529】

(実施例11)

大腸炎の動物モデルにおける抗TL1a抗体の有効性

本明細書に記載されたげっ歯類交差反応性抗TL1a抗体を、ジ-またはトリ-ニトロベンゼンスルホン酸(D/TNBS)またはオキサゾロンの直腸内投与によって誘導された急性大腸炎および飲料水中のDSSの投与によって誘導された慢性大腸炎(Wirtzら、Nat. Protoc. 2:541~546頁、2007年に記載されるような)のげっ歯類モデルにおいて試験した。DNBSおよびオキサゾロンは、局所潰瘍および炎症を誘発する。DSS投与は、びらん性病変および炎症性浸潤物を特徴とする腸管の頑強な全身性炎症を誘発する。すべてのこれらのモデルの症状は、普通、下痢、潜血、体重減少を、時には、直腸脱を含む。

40

【0530】

予防的モデルでは、大腸炎を誘発する化合物の投与の開始時に、抗体治療を開始した。治療的モデルでは、誘導の開始の数日後に抗体治療を開始した。体重、便の硬さおよび潜血に対する治療の効果ならびに上皮の完全性および炎症浸潤物の程度に対する顕微鏡的效果を決定した。便の硬さおよび潜血の存在に基づいて毎日の臨床的スコアリングを実施し、疾患活性指数(DAI)スコアを得た。

【0531】

抗体C320-168は、DNBS-またはオキサゾロン誘発性大腸炎において予防的に投薬した場合に(図10A~図10C)およびDSS誘発性大腸炎において治療的に投薬した場合に(図11Aおよび図11B)、標準の治療化合物に対して同等の有効性を示した。

50

【0532】

(実施例12)

疾患の動物モデルにおける抗TL1a抗体の有効性

抗体は、多発性硬化症のげっ歯類モデルにおいてさらに試験される(Racke, Curr.Proto c.Neurosci.第9章、単元97、2001年)。このモデルでは、アジュバント中の脊髄ホモジネートまたは精製ミエリンペプチドの投与によって、急性または慢性中枢脱髄のいずれかが誘発される。この投与は、麻痺に発展し得る下肢脱力につながる脊髄ニューロンの周囲のミエリン鞘の自己免疫破壊を引き起こし、脊髄への相当な炎症性浸潤物を特徴とする。急性形態は、单相性であり、動物は自発的に回復する。慢性形態は、再発寛解型多発性硬化症と似ており、後肢脱力/麻痺の2以上のエピソードからなる。

【図1A】

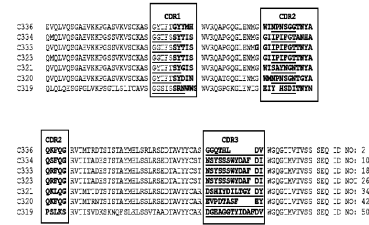


FIGURE 1A

【図1B】

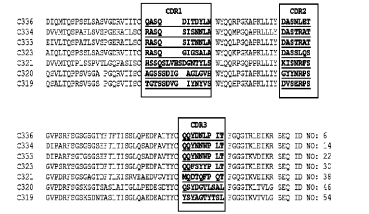


FIGURE 1B

【図1C】

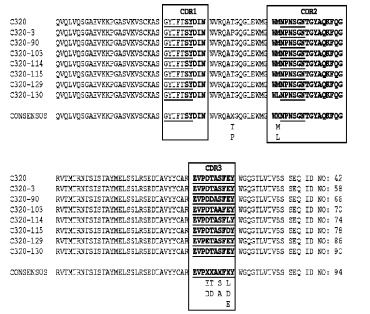


FIGURE 1C

【図1D】

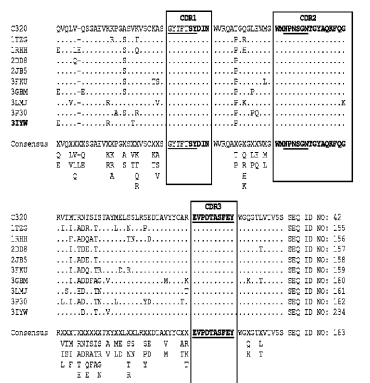


FIGURE 1D

【 1 E 】

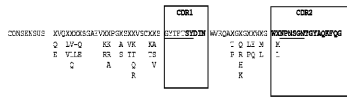


FIGURE 1E

【 1 F 】

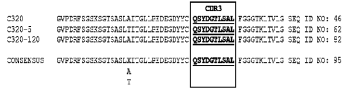
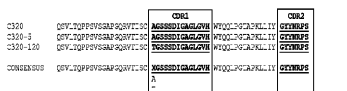


FIGURE 1F

【 5 D 】

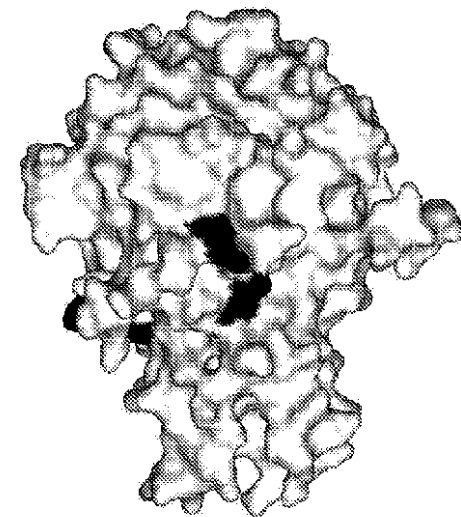


FIGURE 5D

【 1 G 】

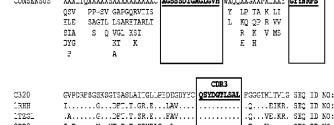
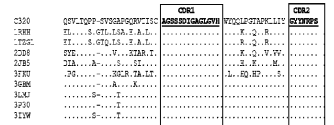


FIGURE 1G

【 1 H 】

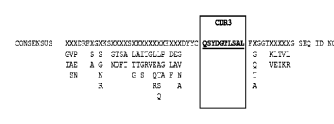
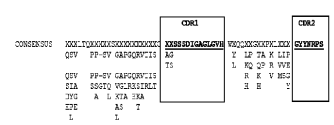


FIGURE 1H

【 9 A 】

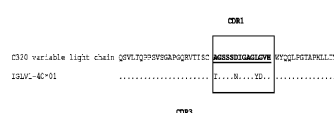


FIGURE 9A

【 9 B 】

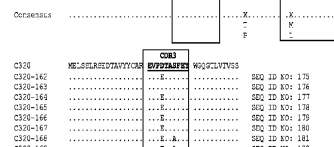
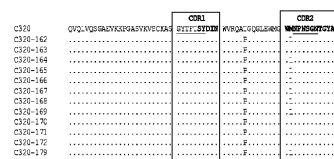
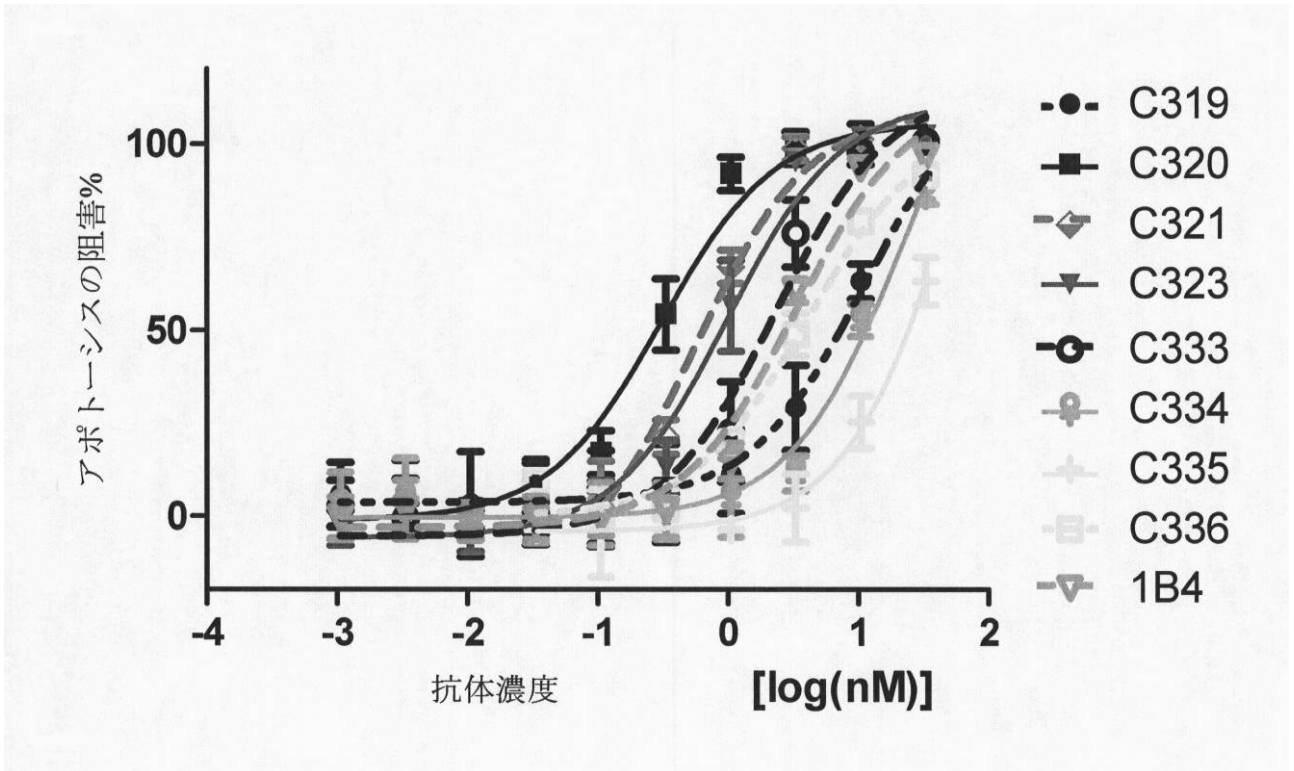
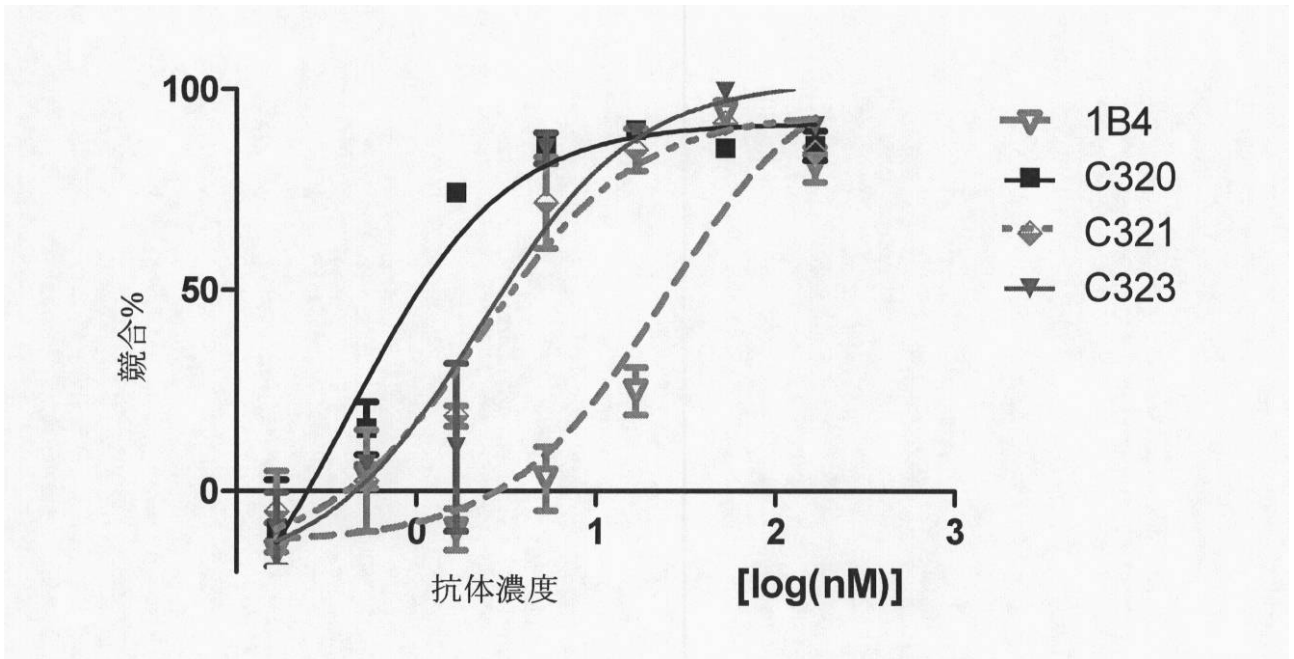


FIGURE 9B

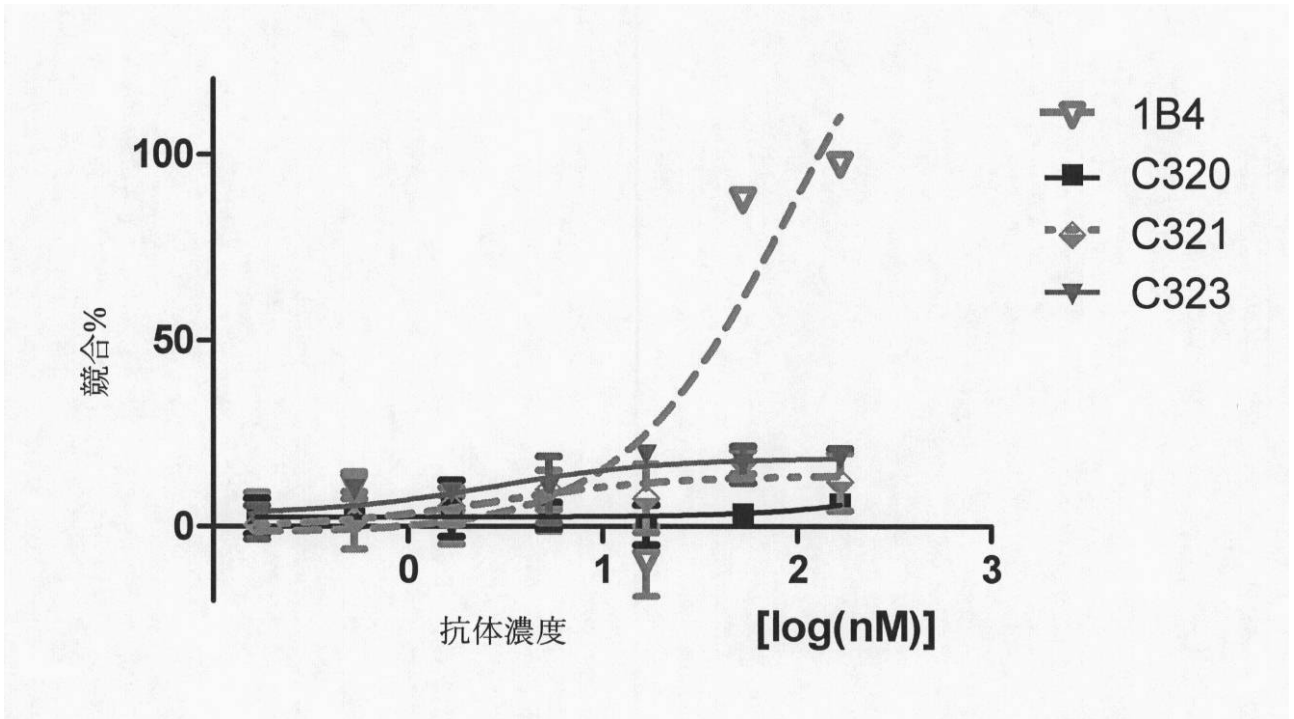
【 図 3 】



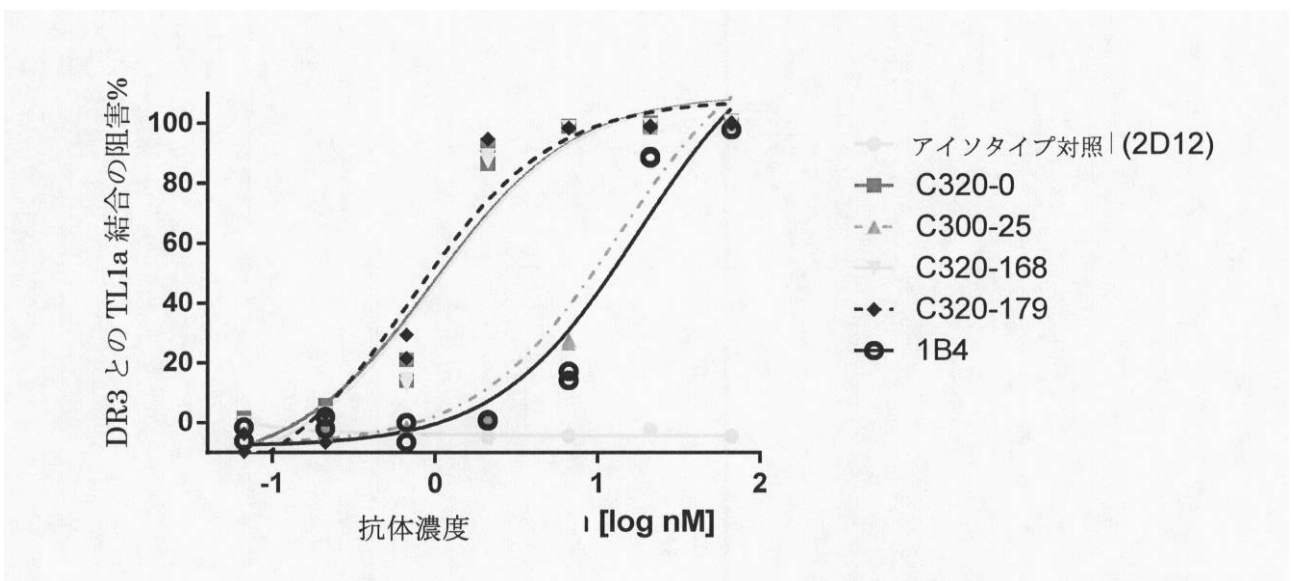
【 図 4 A 】



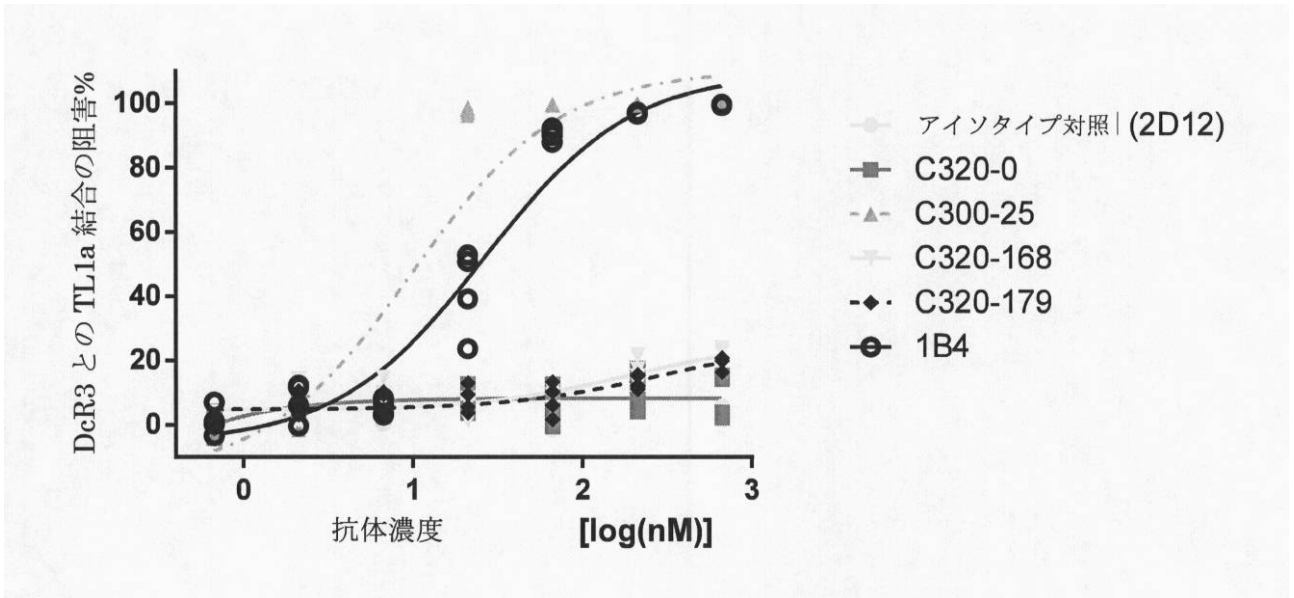
【 図 4 B 】



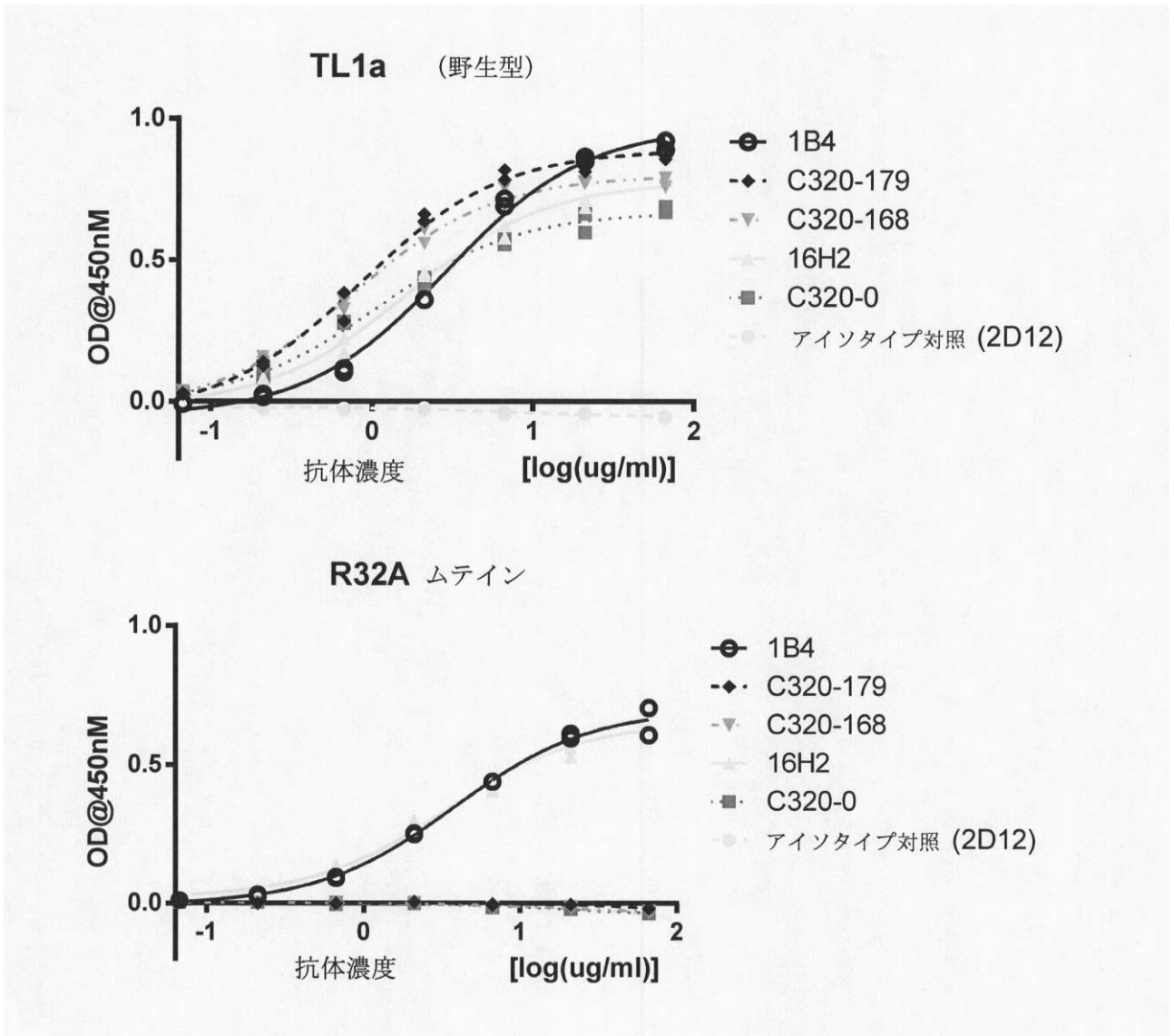
【 図 4 C 】



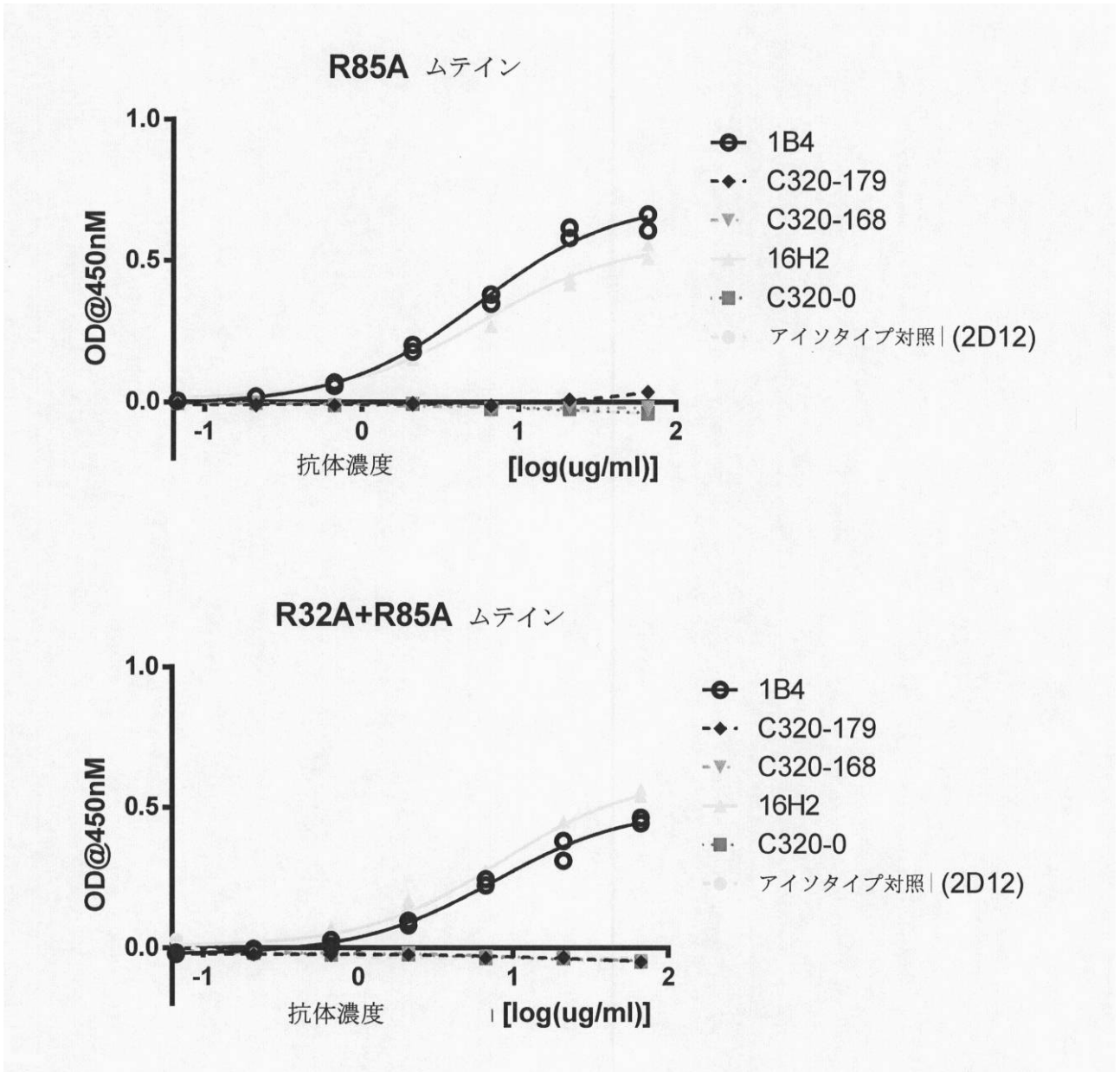
【 図 4 D 】



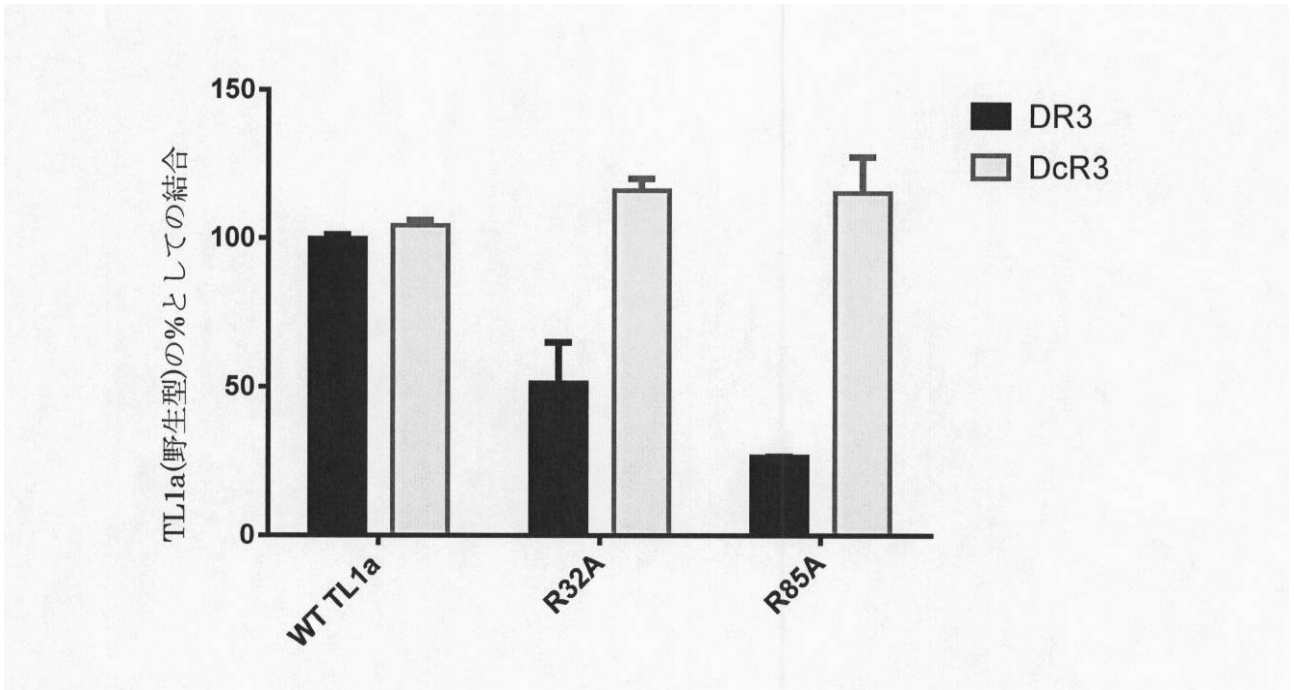
【 図 5 A 】



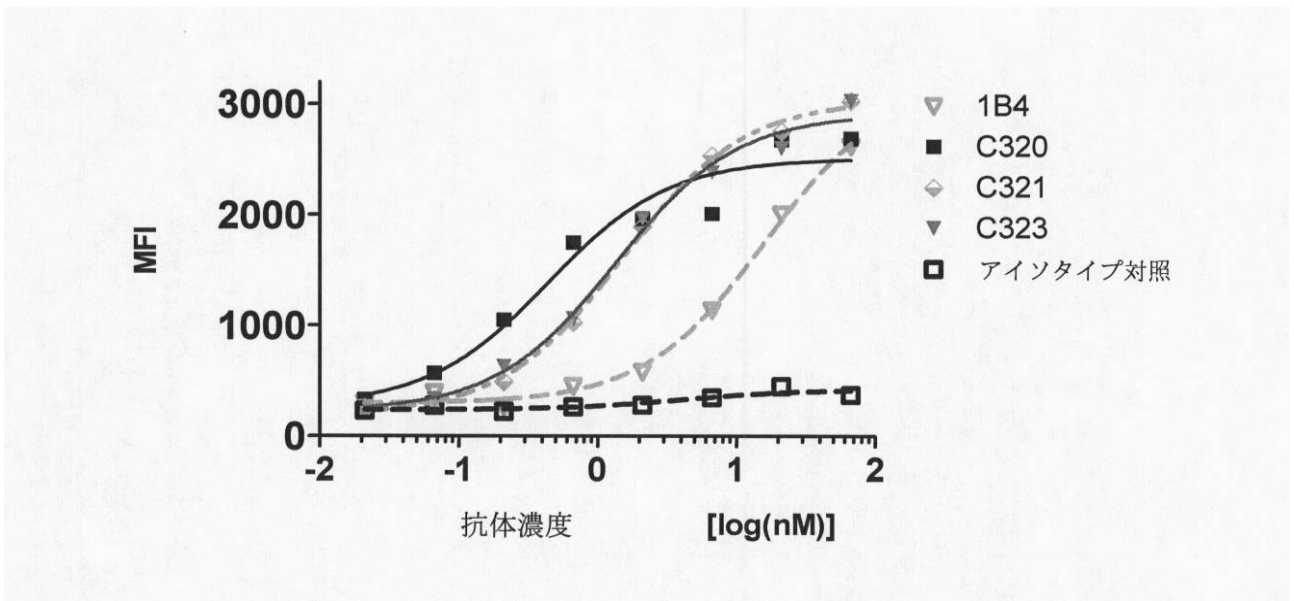
【 図 5 B 】



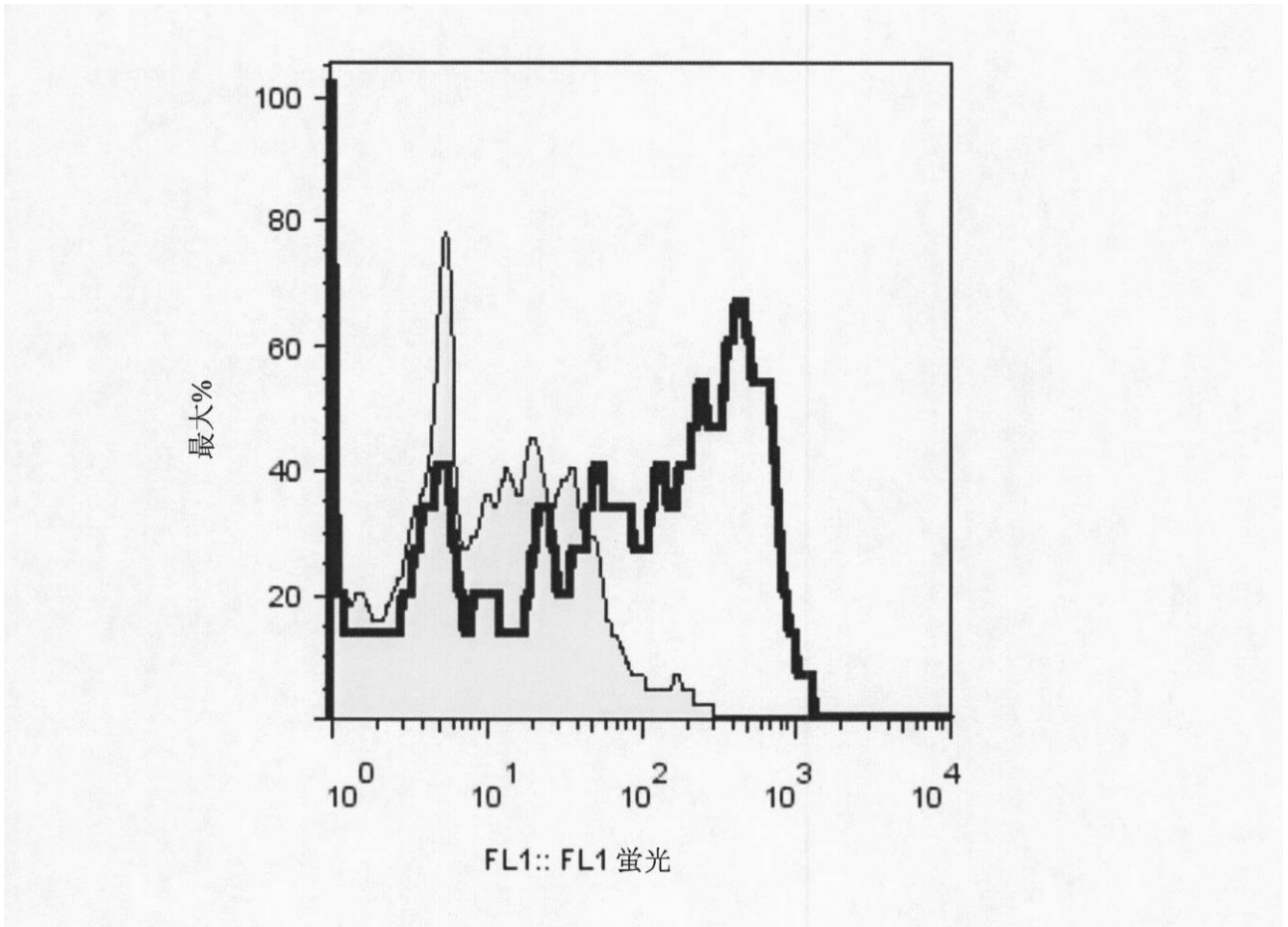
【 図 5 C 】



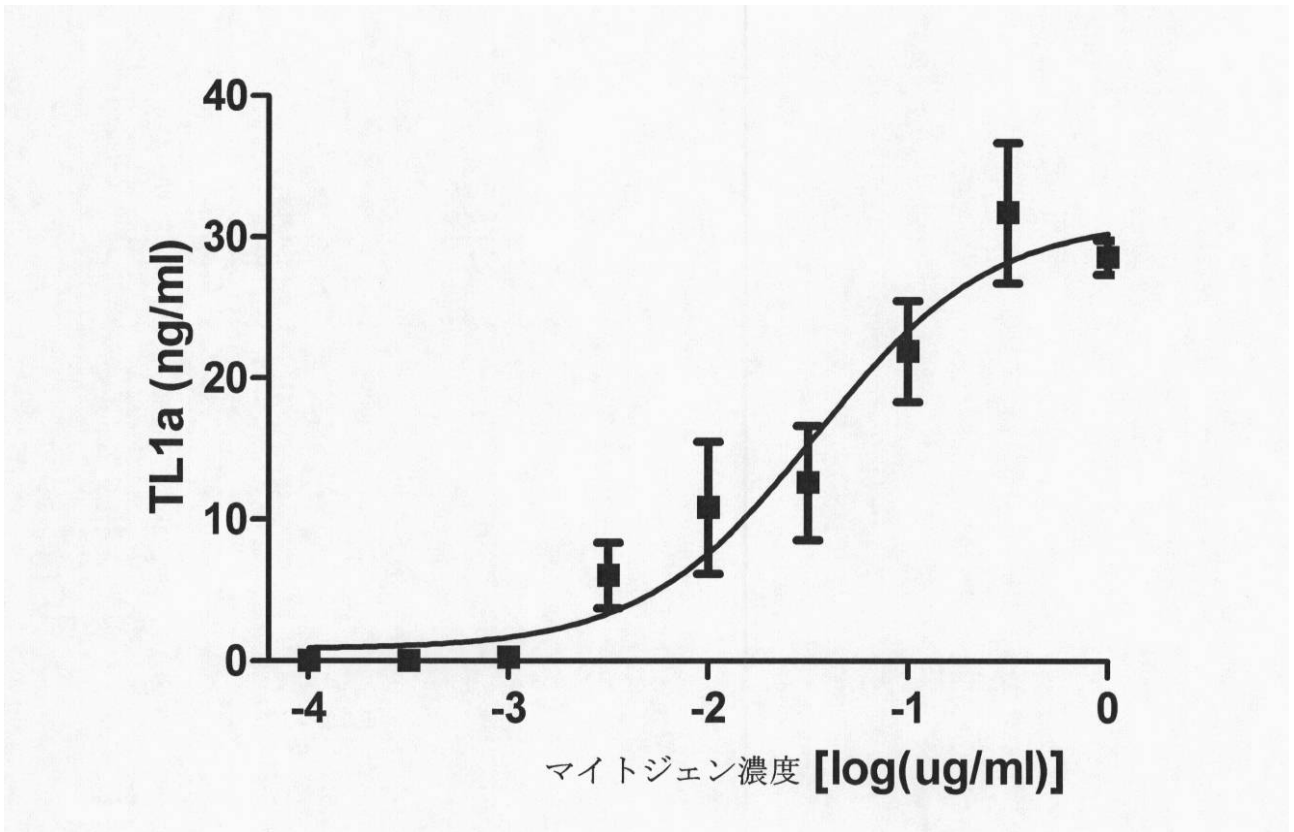
【 図 6 】



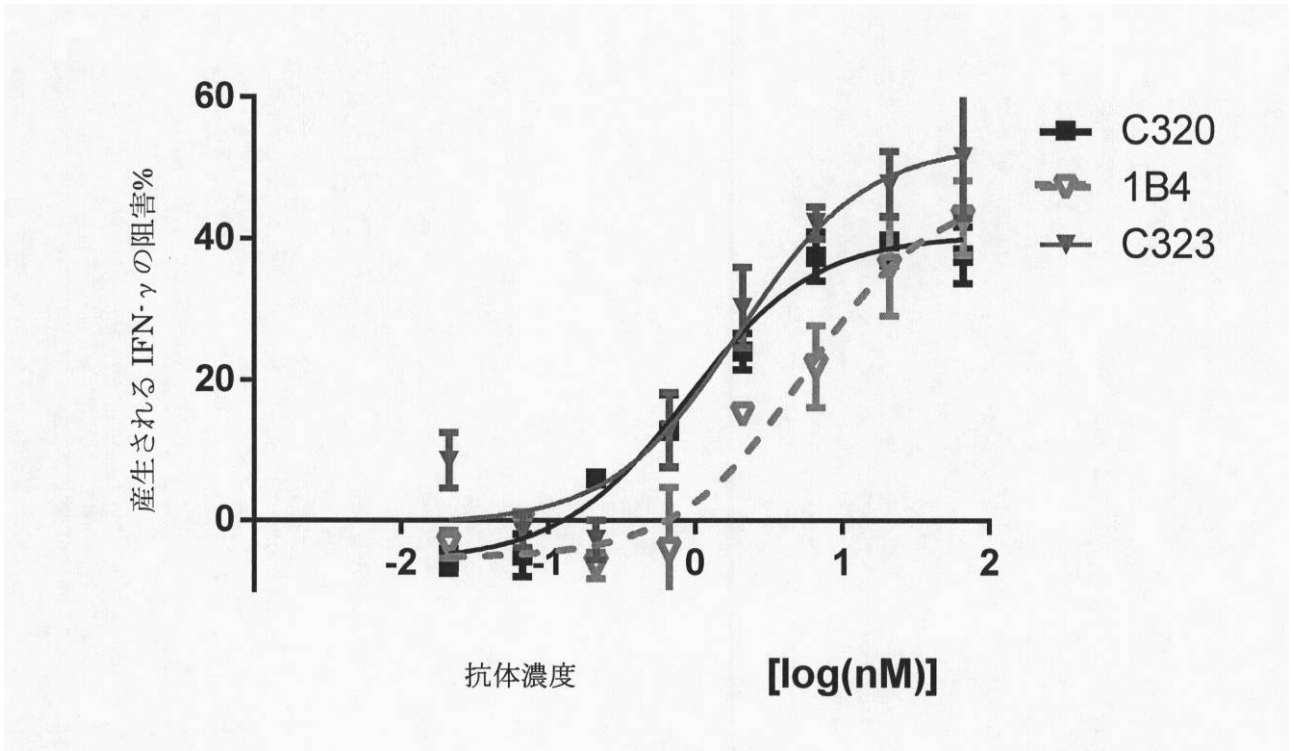
【 図 7 A 】



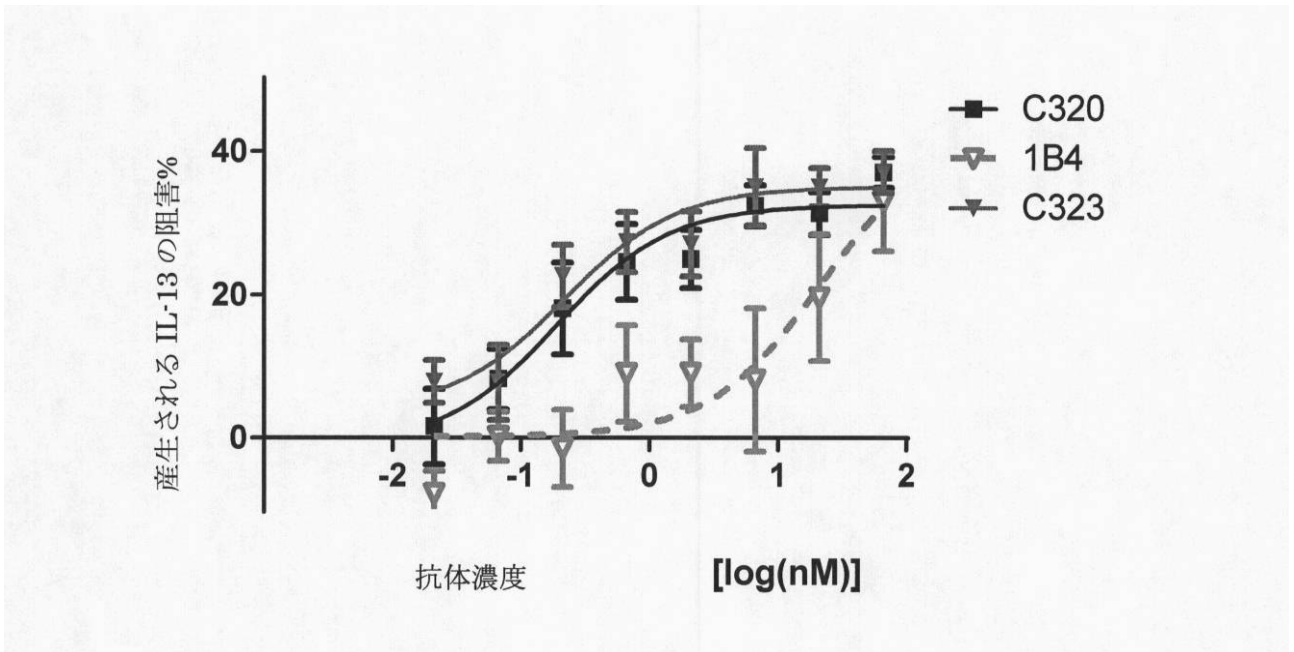
【 図 7 B 】



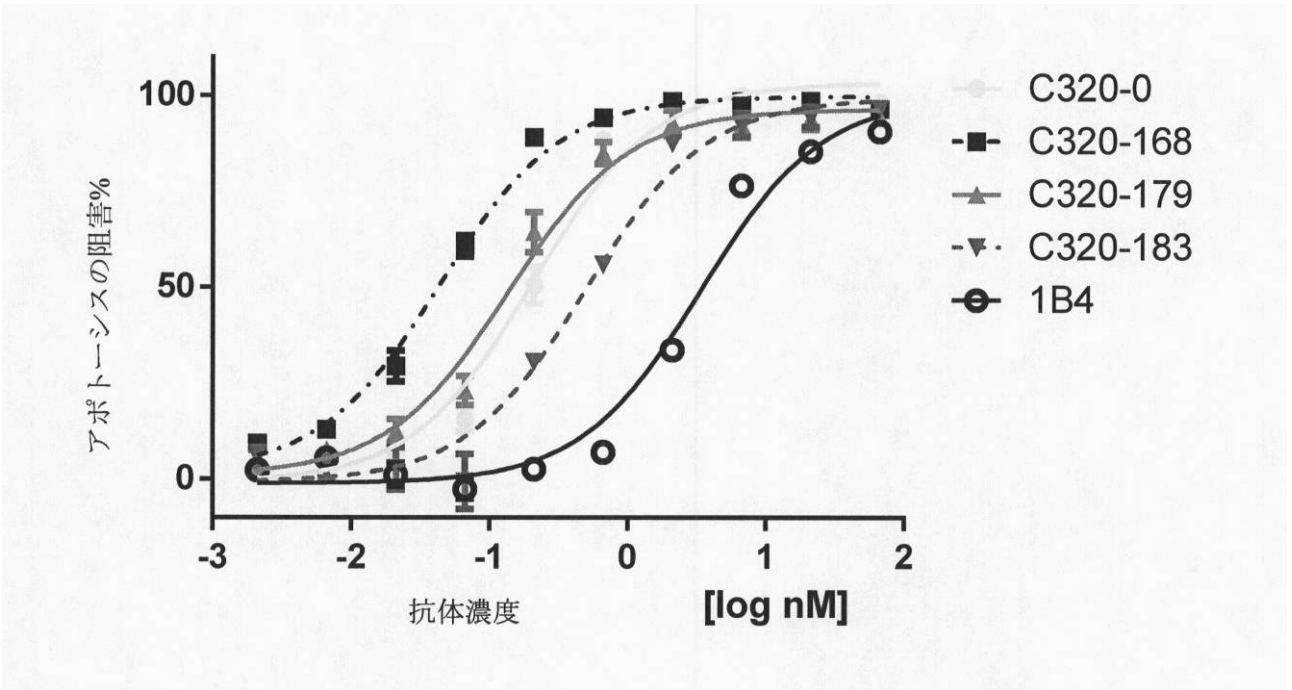
【 図 8 A 】



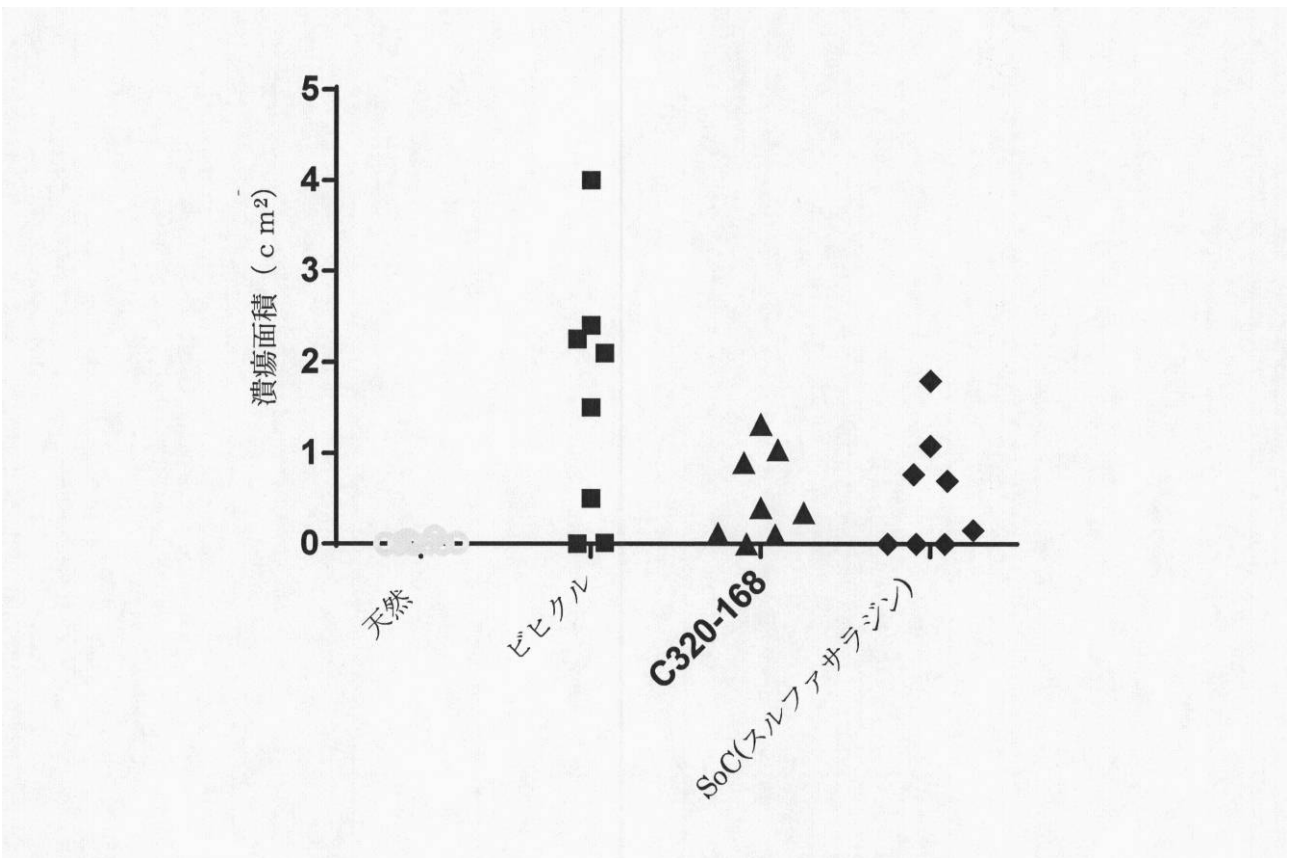
【 図 8 B 】



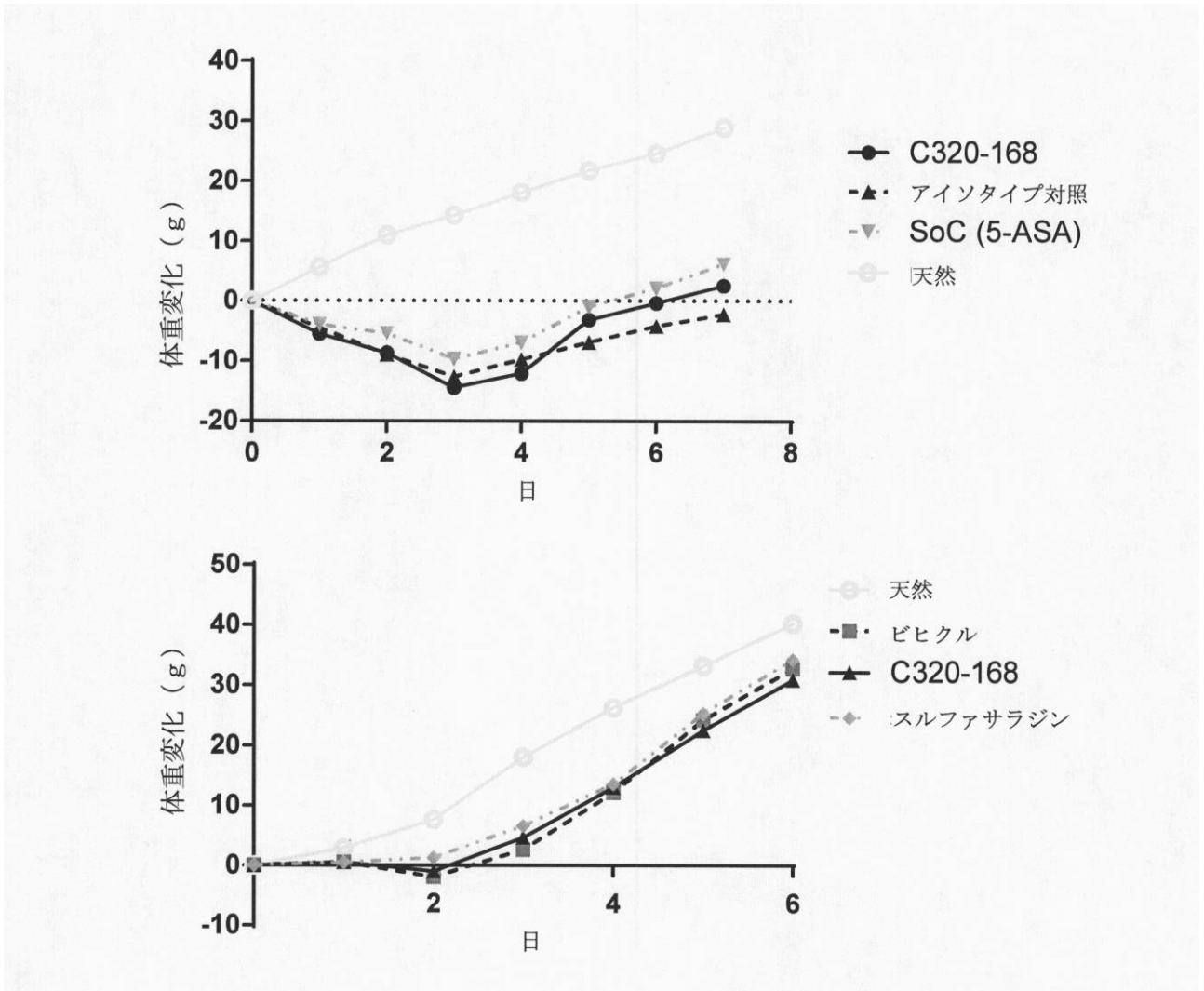
【図9E】



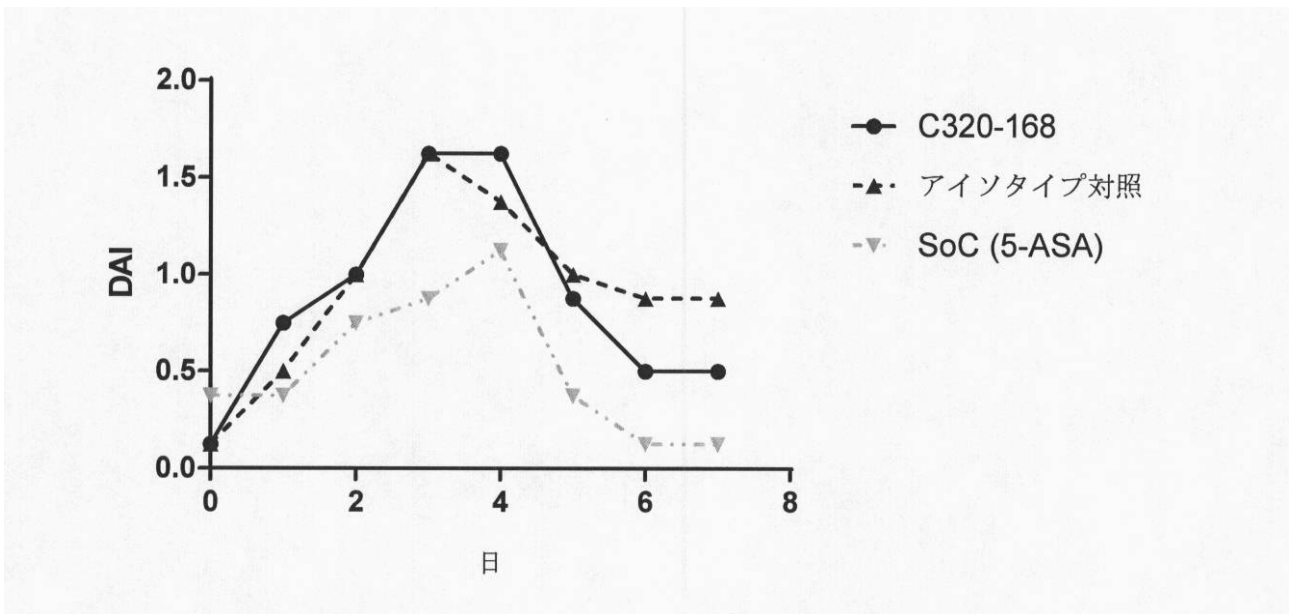
【図10A】



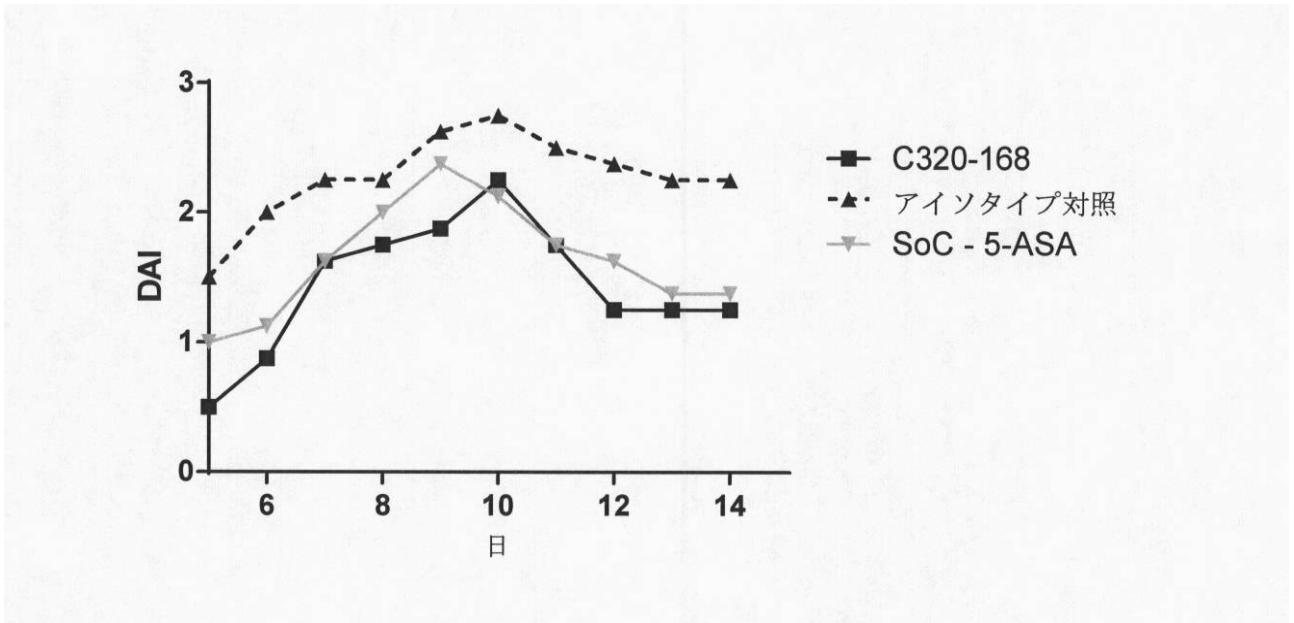
【図10B】



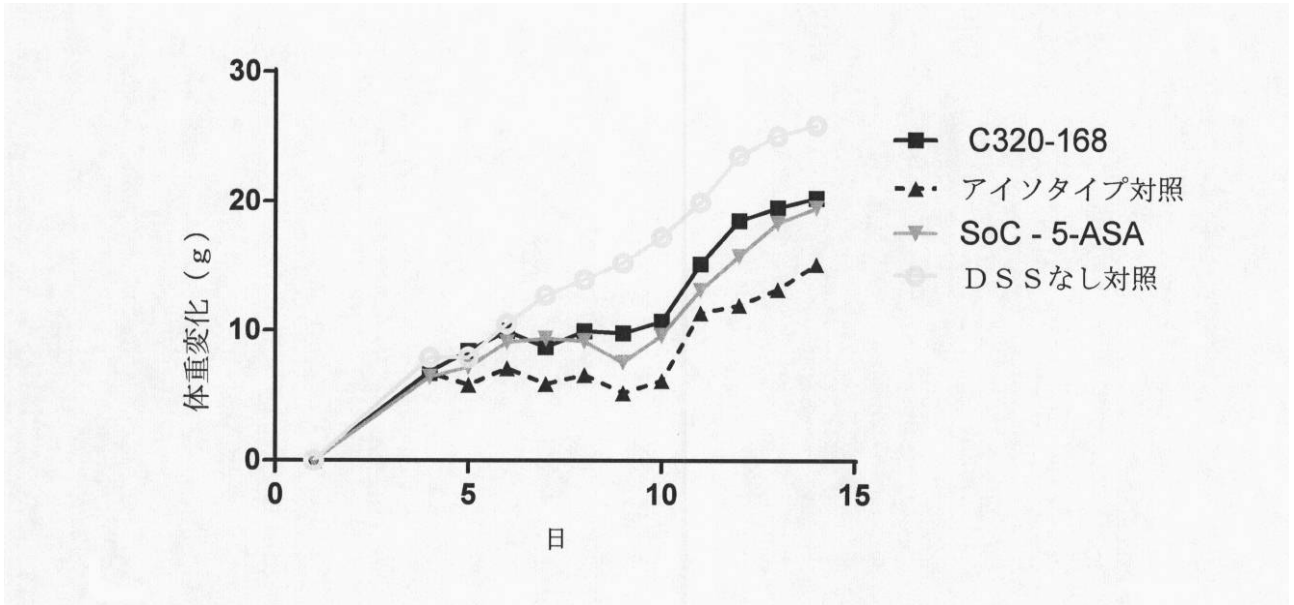
【図10C】



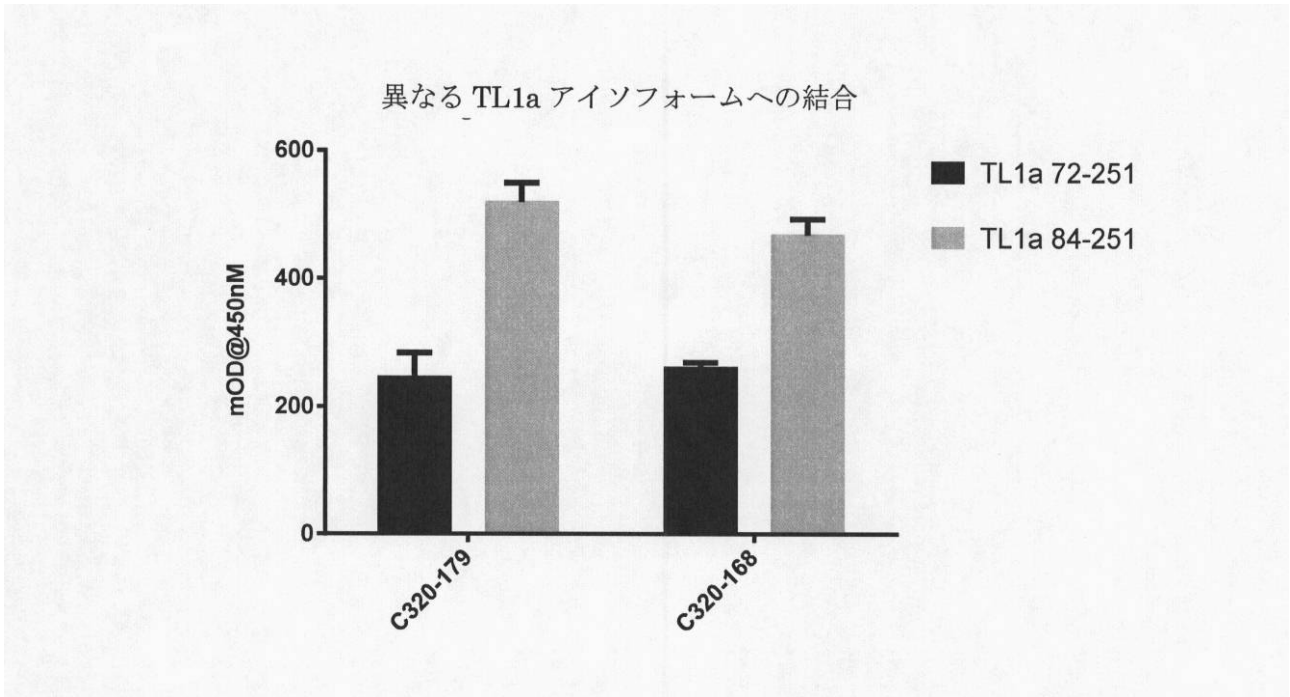
【図11A】



【図11B】



【 図 1 2 】



【 配列表 】

2014531210000001.app

【 国際調査報告 】

INTERNATIONAL SEARCH REPORT		International application No. PCT/AU2012/001161
A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER C07K 16/24 (2006.01) A61K 39/395 (2006.01) A61P 29/00 (2006.01)		
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)		
Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched		
Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)		
WPI, EPODOC, Medline and keywords (TL1a, decoy receptor 3, death receptor 3, antibody, and related terms)		
GenomeQuest and sequences (SEQ ID NOs: 42, 43, 46, 139, 140, 141, 142, 143, 144, 145, 146, 147, 148, 149, 150, 151, 175, 188, 176, 189, 177, 190, 178, 191, 179, 192, 180, 193, 181, 194, 183, 196, 185, 198, 186, 199, 187, 200)		
C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
	Documents are listed in the continuation of Box C	
<input checked="" type="checkbox"/> Further documents are listed in the continuation of Box C <input checked="" type="checkbox"/> See patent family annex		
* Special categories of cited documents: "A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance "E" earlier application or patent but published on or after the international filing date "L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified) "O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means "P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed	"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention "X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone "Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art "&" document member of the same patent family	
Date of the actual completion of the international search 10 December 2012	Date of mailing of the international search report 10 December 2012	
Name and mailing address of the ISA/AU AUSTRALIAN PATENT OFFICE PO BOX 200, WODEN ACT 2606, AUSTRALIA Email address: pct@ipaustalia.gov.au Facsimile No.: +61 2 6283 7999	Authorised officer Margaret Chang AUSTRALIAN PATENT OFFICE (ISO 9001 Quality Certified Service) Telephone No. 0262832631	

INTERNATIONAL SEARCH REPORT		International application No.
C (Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		PCT/AU2012/001161
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	US 2011/0217310 A1 (SIEGEL et al.) 08 September 2011 Whole document, especially paragraphs 0442-0446	1-45
A	WO 2005/018571 A2 (UNIVERSITY OF MIAMI) 03 March 2005 Whole document, especially paragraphs 0131, 0137, 0142-0144	1-45
A	YANG, C.-R., et al., "Soluble Decoy Receptor 3 Induces Angiogenesis by Neutralization of TL1A, a Cytokine Belonging to Tumor Necrosis Factor Superfamily and Exhibiting Angiostatic Action", Cancer Research, February 2004, Volume 64, Number 3, Pages 1122-1129 Whole document	1-45
A	MIGONE, T.-S., et al. "TL1A Is a TNF-like Ligand for DR3 and TR6/DcR3 and Functions as a T Cell Costimulator", Immunity, March 2002, Volume 16, Number 3, Pages 479-492 Whole document, especially Figure 3	1-45
Form PCT/ISA/210 (fifth sheet) (July 2009)		

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No. PCT/AU2012/001161

Box No. I Nucleotide and/or amino acid sequence(s) (Continuation of item 1.c of the first sheet)

1. With regard to any nucleotide and/or amino acid sequence disclosed in the international application, the international search was carried out on the basis of a sequence listing filed or furnished:
- a. (means)
- on paper
- in electronic form
- b. (time)
- in the international application as filed
- together with the international application in electronic form
- subsequently to this Authority for the purposes of search
2. In addition, in the case that more than one version or copy of a sequence listing has been filed or furnished, the required statements that the information in the subsequent or additional copies is identical to that in the application as filed or does not go beyond the application as filed, as appropriate, were furnished.
3. Additional comments:

INTERNATIONAL SEARCH REPORT Information on patent family members		International application No. PCT/AU2012/001161	
This Annex lists known patent family members relating to the patent documents cited in the above-mentioned international search report. The Australian Patent Office is in no way liable for these particulars which are merely given for the purpose of information.			
Patent Document/s Cited in Search Report		Patent Family Member/s	
Publication Number	Publication Date	Publication Number	Publication Date
US 2011/0217310 A1	08 Sep 2011	US 2011217310 A1	08 Sep 2011
		US 2012263718 A1	18 Oct 2012
		WO 2012161856 A1	29 Nov 2012
WO 2005/018571 A2	03 Mar 2005	CA 2536086 A1	03 Mar 2005
		EP 1667730 A2	14 Jun 2006
		EP 2353615 A2	10 Aug 2011
		US 2008003221 A1	03 Jan 2008
		US 2008233119 A2	25 Sep 2008
		WO 2005018571 A2	03 Mar 2005
End of Annex			
<p>Due to data integration issues this family listing may not include 10 digit Australian applications filed since May 2001. Form PCT/ISA/210 (Family Annex)(July 2009)</p>			

フロントページの続き

(51)Int.Cl.	F I	テーマコード(参考)
C 0 7 K 16/28 (2006.01)	C 0 7 K 16/28	4 H 0 4 5
A 6 1 K 39/395 (2006.01)	A 6 1 K 39/395	D
A 6 1 K 48/00 (2006.01)	A 6 1 K 39/395	N
A 6 1 K 35/12 (2006.01)	A 6 1 K 48/00	
A 6 1 P 37/06 (2006.01)	A 6 1 K 35/12	
A 6 1 P 1/00 (2006.01)	A 6 1 P 37/06	
A 6 1 P 1/04 (2006.01)	A 6 1 P 1/00	
A 6 1 P 19/02 (2006.01)	A 6 1 P 1/04	
A 6 1 P 29/00 (2006.01)	A 6 1 P 19/02	
A 6 1 P 25/00 (2006.01)	A 6 1 P 29/00	1 0 1
A 6 1 P 27/02 (2006.01)	A 6 1 P 25/00	
A 6 1 P 11/06 (2006.01)	A 6 1 P 27/02	
A 6 1 P 11/00 (2006.01)	A 6 1 P 11/06	
G 0 1 N 33/53 (2006.01)	A 6 1 P 11/00	
	G 0 1 N 33/53	D

(81)指定国 AP(BW, GH, GM, KE, LR, LS, MW, MZ, NA, RW, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), EA(AM, AZ, BY, KG, KZ, 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, BN, 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, H U, ID, 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, PA, PE, PG, PH, PL, PT, QA, RO, RS, RU, RW, SC, SD, SE, SG, SK, SL, SM, ST, SV, SY, TH, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC

- (72)発明者 リン・ドロシー・ポールトン
オーストラリア・2 1 1 3・ニュー・サウス・ウェールズ・マクアリー・パーク・エッピング・ロ
ード・3 7・レヴェル・2
- (72)発明者 アダム・クラーク
オーストラリア・2 1 3 1・ニュー・サウス・ウェールズ・ファイヴ・ドック・バーンステイブル
・ロード・2 9
- (72)発明者 アンドリュー・ジェームズ・パウ
オーストラリア・3 0 4 4・ヴィクトリア・パスコー・ヴェイル・ヒース・ストリート・1シー
- (72)発明者 デブラ・タンヴァキス
オーストラリア・3 1 2 4・ヴィクトリア・キャンバーウェル・ヘイゼル・ストリート・1 5・ユ
ニット・1
- (72)発明者 ジョージ・コブシダス
オーストラリア・3 0 7 2・ヴィクトリア・プレストン・クレイマー・ストリート・1 2 9
- (72)発明者 アンソニー・ジェラルド・ドイル
オーストラリア・2 0 4 7・ニュー・サウス・ウェールズ・ドラモイン・ギップス・ストリート・
1 0 0
- (72)発明者 フィリップ・アンソニー・ジェニングス
オーストラリア・ニュー・サウス・ウェールズ・ワラウィー・オズワルド・クロース・5
- (72)発明者 マシュー・ポラード
オーストラリア・2 1 5 8・ニュー・サウス・ウェールズ・デュラル・ミルストリーム・グローヴ
・3

Fターム(参考) 4B024 AA01 BA61 CA01 CA09 CA11 CA20 DA01 DA02 DA05 DA11
EA04 GA11 HA01 HA11

4B065 AA01X AA57X AA87X AA90X AA90Y AB01 AC14 BA01 CA24 CA44
4C084 AA13 NA14 ZA022 ZA592 ZA662 ZA962 ZB152
4C085 AA13 AA14 BB31 EE01 GG01
4C087 AA01 BB63 NA14 ZA02 ZA33 ZA59 ZA66 ZA96 ZB08 ZB15
4H045 AA11 AA20 AA30 BA10 CA40 DA75 EA20 FA74

专利名称(译)	针对TL1a的抗体及其用途		
公开(公告)号	JP2014531210A	公开(公告)日	2014-11-27
申请号	JP2014532188	申请日	2012-09-28
申请(专利权)人(译)	梯瓦制药澳大利亚Pitiwai有限公司		
[标]发明人	リンドロシーポールトン アダムクラーク アンドリュージェームズパウ デブラタンヴァキス ジョージコプシダス アンソニージェラルドドイル フィリップアンソニージェニングス マシューポラード		
发明人	リン・ドロシー・ポールトン アダム・クラーク アンドリュー・ジェームズ・パウ デブラ・タンヴァキス ジョージ・コプシダス アンソニー・ジェラルド・ドイル フィリップ・アンソニー・ジェニングス マシュー・ポラード		
IPC分类号	C12N15/09 C12N1/15 C12N1/19 C12N1/21 C12N5/10 C07K16/28 A61K39/395 A61K48/00 A61K35/12 A61P37/06 A61P1/00 A61P1/04 A61P19/02 A61P29/00 A61P25/00 A61P27/02 A61P11/06 A61P11/00 G01N33/53		
CPC分类号	A61K2039/505 A61P1/00 A61P1/04 A61P11/00 A61P11/06 A61P19/02 A61P25/00 A61P27/02 A61P29/00 A61P37/06 C07K16/241 C07K16/2875 C07K2317/21 C07K2317/34 C07K2317/55 C07K2317/62 C07K2317/622 C07K2317/76 C07K2317/92 C07K2317/94 G01N33/6863		
FI分类号	C12N15/00.ZNA.A C12N1/15 C12N1/19 C12N1/21 C12N5/00.101 C07K16/28 A61K39/395.D A61K39/395.N A61K48/00 A61K35/12 A61P37/06 A61P1/00 A61P1/04 A61P19/02 A61P29/00.101 A61P25/00 A61P27/02 A61P11/06 A61P11/00 G01N33/53.D		
F-TERM分类号	4B024/AA01 4B024/BA61 4B024/CA01 4B024/CA09 4B024/CA11 4B024/CA20 4B024/DA01 4B024/DA02 4B024/DA05 4B024/DA11 4B024/EA04 4B024/GA11 4B024/HA01 4B024/HA11 4B065/AA01X 4B065/AA57X 4B065/AA87X 4B065/AA90X 4B065/AA90Y 4B065/AB01 4B065/AC14 4B065/BA01 4B065/CA24 4B065/CA44 4C084/AA13 4C084/NA14 4C084/ZA022 4C084/ZA592 4C084/ZA662 4C084/ZA962 4C084/ZB152 4C085/AA13 4C085/AA14 4C085/BB31 4C085/EE01 4C085/GG01 4C087/AA01 4C087/BB63 4C087/NA14 4C087/ZA02 4C087/ZA33 4C087/ZA59 4C087/ZA66 4C087/ZA96 4C087/ZB08 4C087/ZB15 4H045/AA11 4H045/AA20 4H045/AA30 4H045/BA10 4H045/CA40 4H045/DA75 4H045/EA20 4H045/FA74		
代理人(译)	村山彦 渡边 隆		
优先权	2011904042 2011-09-30 AU 61/541590 2011-09-30 US		
外部链接	Espacenet		
摘要(译)			

本公开提供TNF-like配体1a (TL1a) - 结合蛋白，其包含特异性结合TL1a并抑制TL1a和死亡受体3 (DR3) 的相互作用且不抑制TL1a与诱饵相互作用的抗体的抗原结合结构域受体3 (DcR3) 。本公开还提供了TL1a结合蛋白的用途。

(19) 日本特許庁 (JP)	(12) 公表特許公報 (A)	(11) 特許出願公表番号 特表2014-5312 (P2014-5312)
		(43) 公表日 平成26年11月27日 (2014. 11. 27)
(51) Int. Cl.	F 1	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 0 2 4
C 1 2 N 1/15 (2006. 01)	C 1 2 N 1/15	4 B 0 6 5
C 1 2 N 1/19 (2006. 01)	C 1 2 N 1/19	4 C 0 8 4
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 O 1 4 C 0 8 7
審査請求 未請求 予備審査請求 未請求 (全 161 頁) 最終頁に		
(21) 出願番号 特願2014-532188 (P2014-532188)	(71) 出願人 500468537	
(86) (22) 出願日 平成24年9月28日 (2012. 9. 28)	テバ・ファーマシューティカルズ・オー	
(85) 翻訳文提出日 平成26年5月27日 (2014. 5. 27)	トラリア・ビーティワイ・リミテッド	
(86) 国際出願番号 PCT/AU2012/001161	オーストラリア・ニュー・サウス・ウェ	
(87) 国際公開番号 W02013/044288	ルス・2 1 1 3・マタアリー・パーク・	
(87) 国際公開日 平成25年4月4日 (2013. 4. 4)	ッピング・ロード・3 7・レヴェル・2	
(31) 優先権主張番号 2011904042	(74) 代理人 100108453	
(32) 優先日 平成23年9月30日 (2011. 9. 30)	弁理士 村山 清彦	
(33) 優先権主張国 オーストラリア (40)	(74) 代理人 100064308	
(31) 優先権主張番号 61/541, 590	弁理士 志賀 正武	
(32) 優先日 平成23年9月30日 (2011. 9. 30)	(74) 代理人 100089037	
(33) 優先権主張国 米国 (US)	弁理士 渡邊 隆	
	(74) 代理人 100110364	
	弁理士 栗広 信哉	
		最終頁に続く