

(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2017-525693

(P2017-525693A)

(43) 公表日 平成29年9月7日(2017.9.7)

(51) Int.Cl.	F I	テーマコード (参考)
C07K 16/18 (2006.01)	C07K 16/18 ZNA	2G045
A61K 39/395 (2006.01)	A61K 39/395 N	4B064
A61K 45/00 (2006.01)	A61K 45/00	4C084
A61K 31/616 (2006.01)	A61K 31/616	4C085
A61K 31/56 (2006.01)	A61K 31/56	4C086

審査請求 未請求 予備審査請求 未請求 (全 135 頁) 最終頁に続く

(21) 出願番号 特願2017-506826 (P2017-506826)
 (86) (22) 出願日 平成27年8月7日 (2015.8.7)
 (85) 翻訳文提出日 平成29年2月22日 (2017.2.22)
 (86) 国際出願番号 PCT/GB2015/052298
 (87) 国際公開番号 W02016/020702
 (87) 国際公開日 平成28年2月11日 (2016.2.11)
 (31) 優先権主張番号 1414021.4
 (32) 優先日 平成26年8月7日 (2014.8.7)
 (33) 優先権主張国 英国 (GB)

(71) 出願人 517035382
 ネイシェント リミテッド
 イギリス国 ロンドン エスタブリユ7
 2デービー、エキジビション ロード、プ
 リンセス ゲート 52、インペリアル
 イノベーションズ リミテッド
 (74) 代理人 110001656
 特許業務法人谷川国際特許事務所
 (72) 発明者 ミッドウッド、キム スザンヌ
 イギリス国 バッキンガムシャー エイチ
 ピー5 2ジェイエフ、チェシャム、スタ
 ンレー アベニュー 12

最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 生物学的材料およびその用途

(57) 【要約】

テネイシンCのFBGDメインに結合することが可能な、抗体またはその抗原結合性断片、誘導体もしくはバリエーションが提供される。また、そのような抗体またはその抗原結合性断片、誘導体もしくはバリエーションの用途、およびそのような抗体を特定する方法も提供される。

【選択図】 図8

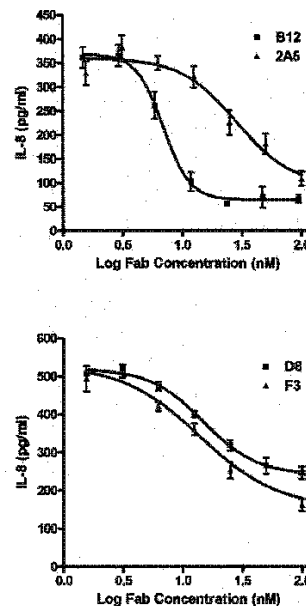


Figure 8

【特許請求の範囲】

【請求項 1】

テネンシンの F B G ドメインに結合することが可能であり、配列番号 9 ~ 15、5、125、36、37、30 ~ 35、38 ~ 47、115 ~ 118 および 140 から選択される一つもしくは複数の配列；並びに / または配列番号 1 ~ 8、124、48 ~ 91、128 ~ 138、112 ~ 114 および 139 から選択される一つもしくは複数の配列；並びに / または配列番号 5、13、16 ~ 21、126、119 ~ 121 および 141 から選択される一つもしくは複数の配列；並びに / または配列番号 22 ~ 29、127、122 ~ 123 および 142 から選択される一つもしくは複数の配列を含む、抗体またはその抗原結合性断片、誘導体もしくはバリエーション。

10

【請求項 2】

配列番号 9 ~ 11、5、13 ~ 14、36、30、32、34、38、40、42、44、46、116 および 118 から選択される一つもしくは複数の C D R 配列；並びに / または配列番号 1 ~ 3、5 ~ 7、48、50、52、54、56、58、60、62、64、66、68、70、72、74、76、78、80、82、84、86、135、88、90 および 114 から選択される一つもしくは複数の C D R 配列；並びに / または配列番号 16 ~ 18、5、13、20 および 121 から選択される一つもしくは複数の C D R 配列；並びに / または配列番号 22 ~ 24 および 26 ~ 28 から選択される一つもしくは複数の C D R 配列を含む、請求項 1 に記載の抗体またはその抗原結合性断片、誘導体もしくはバリエーション。

20

【請求項 3】

配列番号 11、14、36、30、32、34、38、40、42、44 および 46 から選択される一つもしくは複数の C D R 3 配列；並びに / または配列番号 3、7、48、50、52、54、56、58、60、62、64、66、68、70、72、74、76、78、80、82、84、86、135、88 および 90 から選択される一つもしくは複数の C D R 3 配列；並びに / または配列番号 18 および 20 から選択される一つもしくは複数の C D R 3 配列；並びに / または配列番号 24 および 28 から選択される一つもしくは複数の C D R 3 配列を含む、請求項 1 または 2 に記載の抗体またはその抗原結合性断片、誘導体もしくはバリエーション。

30

【請求項 4】

配列番号 11、36、30 および 34 から選択される一つもしくは複数の C D R 3 配列；並びに / または配列番号 3、54、66 および 70 から選択される一つもしくは複数の C D R 3 配列；並びに / または配列番号 7、76、88 および 90 から選択される一つもしくは複数の C D R 3 配列を含む、請求項 3 に記載の抗体またはその抗原結合性断片、誘導体もしくはバリエーション。

40

【請求項 5】

配列番号 11、36、30、32、34、38、40、42、44 および 46 から選択される V H C D R 3 配列；配列番号 11、36、30 および 34 から選択される V H C D R 3 配列；または配列番号 11、36 および 30 から選択される V H C D R 3 配列を含む、請求項 1 に記載の抗体またはその抗原結合性断片、誘導体もしくはバリエーション。

40

【請求項 6】

配列番号 15、125、117 または 140 の配列を含む V L 配列を含む、請求項 1 に記載の抗体またはその抗原結合性断片、誘導体もしくはバリエーション。

【請求項 7】

配列番号 12 または 115 の配列を含む V H 配列を含み、前記 V H 配列が配列番号 36、30、32、34、38、40、42、44 および 46 から選択される V H C D R 3 配列；配列番号 36、30 および 34 から選択される V H C D R 3 配列；または配列番号 36 および 30 から選択される V H C D R 3 配列で置換された C D R 3 配列を含む、請求項 1 または 6 に記載の抗体またはその抗原結合性断片、誘導体もしくはバリエーション。

【請求項 8】

50

配列番号 3、48、50、52、54、56、58、60、62、64、66、68 および 70 から選択される V H C D R 3 配列；配列番号 3、54、66 および 70 から選択される V H C D R 3 配列；または配列番号 3 および 54 から選択される V H C D R 3 配列を含む、請求項 1 に記載の抗体またはその抗原結合性断片、誘導体もしくはバリエーション。

【請求項 9】

配列番号 7、72、74、76、78、80、82、84、86、135、88 および 90 から選択される V L C D R 3 配列；配列番号 7、76、88 および 90 から選択される V L C D R 3 配列；または配列番号 7 の V L C D R 3 配列を含む、請求項 1 または 8 に記載の抗体またはその抗原結合性断片、誘導体もしくはバリエーション。

10

【請求項 10】

配列番号 4 または 112 の配列を含む V H 配列を含み、前記 V H 配列が配列番号 48、50、52、54、56、58、60、62、64、66、68 および 70 から選択される V H C D R 3 配列；配列番号 54、66 および 70 から選択される V H C D R 3 配列；または配列番号 54 の V H C D R 3 配列で置換された C D R 3 配列を含む、請求項 1 に記載の抗体またはその抗原結合性断片、誘導体もしくはバリエーション。

【請求項 11】

配列番号 8、124、113 または 139 の配列を含む V L 配列を含み、前記 V L 配列が配列番号 72、74、76、78、80、82、84、86、135、88 および 90 から選択される V L C D R 3 配列；または配列番号 76、88 および 90 から選択される V L C D R 3 配列で置換された C D R 3 配列を含む、請求項 1 または 7 に記載の抗体またはその抗原結合性断片、誘導体もしくはバリエーション。

20

【請求項 12】

配列番号 14 の V L C D R 3 配列並びに配列番号：11 および 30～46 から選択される V H C D R 3 配列を含む；または、配列番号 7 の V L C D R 3 配列並びに配列番号 3 および 48～70 から選択される V H C D R 3 配列を含む；または、配列番号 3 の V H C D R 3 配列並びに配列番号 7 および 72、74、76、78、80、82、84、86、135、88 および 90 から選択される V L C D R 3 配列を含む；または、配列番号 18 の V H C D R 3 配列並びに配列番号 20 の V L C D R 3 配列を含む；または、配列番号 24 の V H C D R 3 配列および配列番号 28 の V L C D R 3 配列を含む、請求項 1 に記載の抗体またはその抗原結合性断片、誘導体もしくはバリエーション。

30

【請求項 13】

配列番号 9～11 および 5、13 および 14 から選択される少なくとも 1 つの C D R 配列；または配列番号 9、10、36、5、13 および 14 から選択される少なくとも 1 つの C D R 配列；または配列番号 9、10、30、5、13 および 14 から選択される少なくとも 1 つの C D R 配列；または配列番号 9、10、32、5、13 および 14 から選択される少なくとも 1 つの C D R 配列；または配列番号 9、10、34、5、13 および 14 から選択される少なくとも 1 つの C D R 配列；または配列番号 9、10、38、5、13 および 14 から選択される少なくとも 1 つの C D R 配列；または配列番号 9、10、40、5、13 および 14 から選択される少なくとも 1 つの C D R 配列；または配列番号 9、10、42、5、13 および 14 から選択される少なくとも 1 つの C D R 配列；または配列番号 9、10、44、5、13 および 14 から選択される少なくとも 1 つの C D R 配列；または配列番号 9、10、46、5、13 および 14 から選択される少なくとも 1 つの C D R 配列；または配列番号 9、11、116、5、14 および 118 から選択される少なくとも 1 つの C D R ；または配列番号 1～3、および 5～7 から選択される少なくとも 1 つの C D R 配列；または配列番号 1、2、48 および 5～7 から選択される少なくとも 1 つの C D R 配列；または配列番号 1、2、50 および 5～7 から選択される少なくとも 1 つの C D R 配列；または配列番号 1、2、52 および 5～7 から選択される少なくとも 1 つの C D R 配列；または配列番号 1、2、54 および 5～7 から選択される少なくとも 1 つの C D R 配列；または配列番号 1、2、56 および 5～7 から選択される少なくと

40

50

も1つのCDR配列；または配列番号1、2、58および5～7から選択される少なくとも1つのCDR配列；または配列番号1、2、60および5～7から選択される少なくとも1つのCDR配列；または配列番号1、2、62および5～7から選択される少なくとも1つのCDR配列；または配列番号1、2、64および5～7から選択される少なくとも1つのCDR配列；または配列番号1、2、66および5～7から選択される少なくとも1つのCDR配列；または配列番号1、2、68および5～7から選択される少なくとも1つのCDR配列；または配列番号1、2、70および5～7から選択される少なくとも1つのCDR配列；または配列番号1～3、5、6および72から選択される少なくとも1つのCDR配列；または配列番号1～3、5～6および74から選択される少なくとも1つのCDR配列；または配列番号1～3、5、6および76から選択される少なくとも1つのCDR配列；または配列番号1～3、5、6および78から選択される少なくとも1つのCDR配列；または配列番号1～3、5、6および80から選択される少なくとも1つのCDR配列；または配列番号1～3、5、6および82から選択される少なくとも1つのCDR配列；または配列番号1～3、5、6および84から選択される少なくとも1つのCDR配列；または配列番号1～3、5、6および86から選択される少なくとも1つのCDR配列；または配列番号1～3、5、6および135から選択される少なくとも1つのCDR配列；または配列番号1～3、5、6および88から選択される少なくとも1つのCDR配列；または配列番号1～3、5、6および90から選択される少なくとも1つのCDR配列；または配列番号1～3、5、7および114から選択される少なくとも1つのCDR；または配列番号16～18および5、13および20から選択される少なくとも1つのCDR配列；または配列番号16～18および5、121および20から選択される少なくとも1つのCDR配列；または配列番号22～24および26～28から選択される少なくとも1つのCDR配列を含む、請求項1に記載の抗体またはその抗原結合性断片、誘導体もしくはバリエーション。

10

20

30

40

50

【請求項14】

配列番号11、36および30から選択されるVH CDR3配列；または配列番号3および54から選択されるVH CDR3配列を含む、請求項3に記載の抗体またはその抗原結合性断片、誘導体もしくはバリエーション。

【請求項15】

配列番号12、15、125、37、31、33、35、39、41、43、45、47、115、117および140から選択される一つもしくは複数の配列；並びに/または配列番号4、8、124、49、51、53、55、57、59、61、63、65、67、69、71、73、128、75、129、77、130、79、131、81、132、83、133、85、134、87、136、89、137、91、138、112、113および139から選択される一つもしくは複数の配列；並びに/または配列番号19、21、126、119、120および141から選択される一つもしくは複数の配列；並びに/または配列番号25、29、127、122、123および142から選択される一つもしくは複数の配列を含むVH配列および/またはVL配列を含む、請求項1に記載の抗体またはその抗原結合性断片、誘導体もしくはバリエーション。

【請求項16】

VH配列が、配列番号12、37、31、33、35、39、41、43、45、47および115から選択される；並びに/または、配列番号4、49、51、53、55、57、59、61、63、65、67、69、71および112から選択される；並びに/または、配列番号19および119から選択される；並びに/または、配列番号25および122から選択される、請求項15に記載の抗体またはその抗原結合性断片、誘導体もしくはバリエーション。

【請求項17】

VL配列が、配列番号15、125、117および140から選択される；並びに/または、配列番号8、124、73、128、75、129、77、130、79、131、81、132、83、133、85、134、87、136、89、137、91、1

38、113および139から選択される；並びに/または、配列番号21、126、120および141から選択される；並びに/または、配列番号29、127、123および142から選択される、請求項15または16に記載の抗体またはその抗原結合性断片、誘導体もしくはパリアント。

【請求項18】

配列対：配列番号12、および15または125；配列番号115、および15または125；配列番号12、および117または140；配列番号37、および15または125；配列番号37、および117または140；配列番号31、および15または125；配列番号33、および15または125；配列番号35、および15または125；配列番号39、および15または125；配列番号41、および15または125；配列番号43、および15または125；配列番号45、および15または125；配列番号47、および15または125；配列番号31、および117または140；配列番号33、および117または140；配列番号35、および117または140；配列番号39、および117または140；配列番号41、および117または140；配列番号43、および117または140；配列番号45、および117または140；配列番号47、および117または140；並びに配列番号115、および117または140から選択される；または、配列対：配列番号4、および8または124；配列番号49、および8または124；配列番号51、および8または124；配列番号53、および8または124；配列番号55、および8または124；配列番号57、および8または124；配列番号59、および8または124；配列番号61、および8または124；配列番号63、および8または124；配列番号65、および8または124；配列番号67、および8または124；配列番号69、および8または124；配列番号71、および8または124；配列番号112、および8または124；配列番号4、および113または139；配列番号49、および113または139；配列番号51、および113または139；配列番号53、および113または139；配列番号55、および113または139；配列番号57、および113または139；配列番号59、および113または139；配列番号61、および113または139；配列番号63、および113または139；配列番号65、および113または139；配列番号67、および113または139；配列番号69、および113または139；配列番号71、および113または139；配列番号4、および73または128；配列番号4、および75または129；配列番号4、および77または130；配列番号4、および79または131；配列番号4、および81または132；配列番号4、および83または133；配列番号4、および85または134；配列番号4、および87または136；配列番号4、および89または137；配列番号4、および91または138；配列番号112、および73または128；配列番号112、および75または129；配列番号112、および77または130；配列番号112、および79または131；配列番号112、および81または132；配列番号112、および83または133；配列番号112、および85または134；配列番号112、および87または136；配列番号112、および89または137；配列番号112、および91または138；並びに配列番号112、および113または139から選択される；または、配列対：配列番号19、および21または126；配列番号19、および120または141；配列番号119、および21または126；並びに配列番号119、および120または141から選択される；または、配列対：配列番号25、および29または127；配列番号25、および123または142；配列番号122、および29または127；並びに配列番号122、および123または142から選択される、VHおよびVL配列対の配列を含むVH配列およびVL配列の両方を含む、請求項1に記載の抗体またはその抗原結合性断片、誘導体もしくはパリアント。

【請求項19】

配列番号12、37、31、33、35、39、41、43、45、47および115から選択される配列を含むVH配列を含む、請求項1に記載の抗体またはその抗原結合性

10

20

30

40

50

断片、誘導体もしくはバリエント。

【請求項 20】

配列番号 12 または 115 の配列を含む V H 配列を含む、請求項 1 に記載の抗体またはその抗原結合性断片、誘導体もしくはバリエント。

【請求項 21】

配列番号 37 の配列を含む V H 配列を含む、請求項 1 に記載の抗体またはその抗原結合性断片、誘導体もしくはバリエント。

【請求項 22】

配列番号 31 の配列を含む V H 配列を含む、請求項 1 に記載の抗体またはその抗原結合性断片、誘導体もしくはバリエント。

10

【請求項 23】

配列番号 15、125、117 または 140 の配列を含む V L 配列をさらに含む、請求項 19 ~ 22 のいずれか一項に記載の抗体またはその抗原結合性断片、誘導体もしくはバリエント。

【請求項 24】

配列番号 12 の配列を含む V H 配列；および配列番号 15 または 125 の配列を含む V L 配列を含む、請求項 1 に記載の抗体またはその抗原結合性断片、誘導体もしくはバリエント。

【請求項 25】

配列番号 37 の配列を含む V H 配列；および配列番号 15 または 125 の配列を含む V L 配列を含む、請求項 1 に記載の抗体またはその抗原結合性断片、誘導体もしくはバリエント。

20

【請求項 26】

配列番号 9 の配列に対応する V H C D R 1 配列；配列番号 10 または配列番号 116 の配列に対応する V H C D R 2 配列；配列番号 5 の配列に対応する V L C D R 1 配列；配列番号 13 または配列番号 118 の配列に対応する V L C D R 2 配列；配列番号 14 の配列に対応する V L C D R 3 配列；および配列番号：11、36、30、32、34、38、40、42、44 または 46 から選択される配列に対応する V H C D R 3 配列を含む、請求項 1 に記載の抗体またはその抗原結合性断片、誘導体もしくはバリエント。

30

【請求項 27】

V H C D R 3 配列が配列番号 11 または配列番号 36 の配列に対応する、請求項 26 に記載の抗体またはその抗原結合性断片、誘導体もしくはバリエント。

【請求項 28】

V H C D R 3 配列が配列番号 36 の配列に対応する、請求項 26 に記載の抗体またはその抗原結合性断片、誘導体もしくはバリエント。

【請求項 29】

配列番号 4、49、51、53、55、57、59、61、63、65、67、69、71 および 112 から選択される配列を含む V H 配列を含む、請求項 1 に記載の抗体またはその抗原結合性断片、誘導体もしくはバリエント。

40

【請求項 30】

配列番号 8、124、73、128、75、129、77、130、79、131、81、132、83、133、85、134、87、136、89、137、91、138、113 および 139 から選択される配列を含む V L 配列を含む、請求項 1 または 19 に記載の抗体またはその抗原結合性断片、誘導体もしくはバリエント。

【請求項 31】

配列番号 4 または 112 の配列を含む V H 配列を含む、請求項 1 または 20 に記載の抗体またはその抗原結合性断片、誘導体もしくはバリエント。

【請求項 32】

配列番号 55 の配列を含む V H 配列を含む、請求項 1 に記載の抗体またはその抗原結合

50

性断片、誘導体もしくはバリエーション。

【請求項 33】

配列番号 8、124、113 または 139 の配列を含む V L 配列をさらに含む、請求項 29 または請求項 31 ~ 32 に記載の抗体またはその抗原結合性断片、誘導体もしくはバリエーション。

【請求項 34】

配列番号 1 の配列に対応する V H C D R 1 配列；配列番号 2 の配列に対応する V H C D R 2 配列；配列番号 54 の配列に対応する V H C D R 3 配列；配列番号 5 の配列に対応する V L C D R 1 配列；配列番号 6 または配列番号 114 の配列に対応する V L C D R 2 配列；および配列番号 7 の配列に対応する V L C D R 3 配列を含む、請求項 1

10

【請求項 35】

配列番号 55 の配列を含む V H 配列；および配列番号 8 または 124 の配列を含む V L 配列を含む、請求項 1 に記載の抗体またはその抗原結合性断片、誘導体もしくはバリエーション。

【請求項 36】

ポリクローナルもしくはモノクローナル抗体、またはその抗原結合性断片、誘導体もしくはバリエーションである、請求項 1 ~ 35 のいずれか一項に記載の抗体またはその抗原結合性断片、誘導体もしくはバリエーション。

【請求項 37】

F v 断片、s c F v 断片、F a b、単一可変ドメインおよびドメイン抗体からなる群から選択される、請求項 36 に記載の抗体またはその抗原結合性断片、誘導体もしくはバリエーション。

20

【請求項 38】

ヒト化された、請求項 1 ~ 37 のいずれか一項に記載の抗体またはその抗原結合性断片、誘導体もしくはバリエーション。

【請求項 39】

テネイン C またはそのドメインに対する特異性を有する、請求項 1 ~ 38 のいずれか一項に記載の抗体またはその抗原結合性断片、誘導体もしくはバリエーション。

【請求項 40】

テネイン C の F B G ドメインに対する特異性を有する、請求項 39 のいずれか一項に記載の抗体またはその抗原結合性断片、誘導体もしくはバリエーション。

30

【請求項 41】

テネイン C の F B G ドメインの活性を中和する、請求項 40 のいずれか一項に記載の抗体またはその抗原結合性断片、誘導体もしくはバリエーション。

【請求項 42】

前記テネイン C がシトルリン化テネイン C である、請求項 1 ~ 41 のいずれか一項に記載の抗体またはその抗原結合性断片、誘導体もしくはバリエーション。

【請求項 43】

シトルリン化テネイン C が F B G ドメインにおいてシトルリン化されている、請求項 40 に記載の抗体またはその抗原結合性断片、誘導体もしくはバリエーション。

40

【請求項 44】

シトルリン化テネイン C が F B G ドメインのみにおいてシトルリン化されている、請求項 43 に記載の抗体またはその抗原結合性断片、誘導体もしくはバリエーション。

【請求項 45】

慢性炎症反応の調節のためのものである、請求項 1 ~ 45 のいずれか一項に記載の抗体またはその抗原結合性断片、誘導体もしくはバリエーション。

【請求項 46】

テネイン C の生物活性を調節する、請求項 45 に記載の抗体またはその抗原結合性断片、誘導体もしくはバリエーション。

50

【請求項 47】

前記作用剤がテネイシンCの転写、翻訳および/または結合特性を変化させることによりテネイシンCの生物活性を調節する、請求項46に記載の抗体またはその抗原結合性断片、誘導体もしくはバリエーション。

【請求項 48】

テネイシンCの生物活性を下方制御する、請求項1～47のいずれか一項に記載の抗体またはその抗原結合性断片、誘導体もしくはバリエーション。

【請求項 49】

テネイシンCの生物活性を上方制御する、請求項1～48のいずれか一項に記載の抗体またはその抗原結合性断片、誘導体もしくはバリエーション。

10

【請求項 50】

テネイシンCの転写、翻訳および/または結合特性の阻害剤である、請求項1～49のいずれか一項に記載の抗体またはその抗原結合性断片、誘導体もしくはバリエーション。

【請求項 51】

テネイシンCの競合的結合阻害剤である、請求項1～50のいずれか一項に記載の抗体またはその抗原結合性断片、誘導体もしくはバリエーション。

【請求項 52】

請求項1～51のいずれか一項に記載の抗体またはその抗原結合性断片、誘導体もしくはバリエーション、並びに薬剤的に許容できる担体、賦形剤および/または希釈剤を含む、組成物。

20

【請求項 53】

少なくとも1つの他の作用剤をさらに含む、請求項52に記載の組成物。

【請求項 54】

少なくとも1つの他の作用剤が抗炎症剤、スタチン、生物学的作用物質(生物学的製剤)、免疫抑制剤、サリチル酸塩および/または殺菌剤である、請求項53に記載の組成物。

【請求項 55】

抗炎症剤が非ステロイド性抗炎症薬(NSAID)、副腎皮質ステロイド、疾患修飾性抗リウマチ薬(DMARD)または免疫抑制剤から成る群から選択される、請求項54に記載の組成物。

30

【請求項 56】

医薬として使用するための、請求項1～55に記載の抗体またはその抗原結合性断片、誘導体もしくはバリエーション、または組成物。

【請求項 57】

慢性炎症性状態の治療における使用のための、請求項1～55に記載の抗体またはその抗原結合性断片、誘導体もしくはバリエーション、または組成物。

【請求項 58】

慢性炎症性状態の治療または診断のための医薬の製造における、請求項1～55に記載の抗体またはその抗原結合性断片、誘導体もしくはバリエーション、または組成物の用途。

【請求項 59】

有効量の、請求項1～55に記載の抗体またはその抗原結合性断片、誘導体もしくはバリエーション、または組成物を対象に投与することを含む、慢性炎症性状態を治療する方法。

40

【請求項 60】

慢性炎症性状態の診断および/または慢性炎症性状態を有する患者の予後判定で使用するための、請求項1～55に記載の抗体またはその抗原結合性断片、誘導体もしくはバリエーション、または組成物。

【請求項 61】

請求項1～55に記載の抗体、またはその抗原結合性断片、誘導体もしくはバリエーション、または組成物を用いて、テネイシンCのFBGドメインの有無または量を検出することを含む、慢性炎症性状態の診断および/または慢性炎症性状態を有する患者の予後判定の

50

方法。

【請求項 6 2】

検出されたテネイシン C の F B G ドメインの量の増加が、慢性炎症性状態の判定および / または慢性炎症性状態を有する患者の予後を示す、請求項 6 0 または 6 1 に記載の抗体またはその抗原結合性断片、誘導体もしくはバリエント、または方法。

【請求項 6 3】

正常レベルと比較した場合の、検出されたテネイシン C の F B G ドメインの量における少なくとも 5 0 % の増加が慢性炎症性状態の判定および / または慢性炎症性状態を有する患者の予後を示す、請求項 6 2 に記載の抗体またはその抗原結合性断片、誘導体もしくはバリエント、または方法。

10

【請求項 6 4】

検出されたテネイシン C の F B G ドメインの量によって個体に対する適切な治療が示される、個体に対する適切な治療の決定に使用するための、請求項 1 ~ 5 5 に記載の抗体またはその抗原結合性断片、誘導体もしくはバリエント、または組成物。

【請求項 6 5】

請求項 1 ~ 5 5 に記載の抗体、またはその抗原結合性断片、誘導体もしくはバリエント、または組成物を用いてテネイシン C の F B G ドメインの有無または量を検出することを含み、検出されたテネイシン C の F B G ドメインの量によって個体に対する適切な治療が示される、個体に対する適切な治療を決定する方法。

【請求項 6 6】

適切な治療が有効量の作用剤または組成物の投与を含み、前記作用剤または組成物が、請求項 1 ~ 5 5 に記載の抗体、またはその抗原結合性断片、誘導体もしくはバリエント、または組成物； D M A R D S（例えば、メトトレキサート）；抗 T N F 剤；抗 I L 1 7 治療； T 細胞同時刺激修飾薬（例えば、 O r e n c i a（商標）-アバタセプト）；インターロイキン - 6（ I L - 6）阻害剤（例えば、 A c t e m r a（商標）-トシリズマブ）；抗 C D 2 0 抗体（例えば、 R i t u x a n（商標）-リツキシマブ（ rituxumab））； B 細胞活性化因子（例えば、抗 B A F F）；ヤヌスキナーゼ（ J A K）の阻害剤（例えば、 T o f a c i t i n i b（商標））；脾臓チロシンキナーゼ（ S y k）の阻害剤（例えば、 F o s t a m a t i n i b（商標））；抗 T N C 抗体もしくはシトルリン化テネイシン C ドメインに対する抗体、並びに / または、シトルリン化および / もしくは非シトルリン化テネイシン C の生物活性を調節する作用剤のうちの一つまたは複数であり得る、請求項 6 4 または 6 5 に記載の抗体またはその抗原結合性断片、誘導体もしくはバリエント、または組成物、または方法。

20

30

【請求項 6 7】

適切な治療がテネイシン C の F B G ドメインを標的とする、請求項 6 4 ~ 6 6 に記載の抗体またはその抗原結合性断片、誘導体もしくはバリエント、または組成物 方法。

【請求項 6 8】

適切な治療が有効量の、請求項 1 ~ 5 5 に記載の抗体またはその抗原結合性断片、誘導体もしくはバリエント、または組成物の投与である、請求項 6 4 ~ 6 7 に記載の抗体またはその抗原結合性断片、誘導体もしくはバリエント、または組成物、または方法。

40

【請求項 6 9】

個体が慢性炎症性状態を有する、請求項 6 4 ~ 6 8 に記載の抗体またはその抗原結合性断片、誘導体もしくはバリエント、または組成物、または方法。

【請求項 7 0】

検出されたテネイシン C の F B G ドメインの量の増加が適切な治療を示す、請求項 6 4 ~ 6 9 に記載の抗体またはその抗原結合性断片、誘導体もしくはバリエント、または組成物、または方法。

【請求項 7 1】

検出されたテネイシン C の F B G ドメインの量の増加が適切な治療の増量が必要であることを示す、請求項 7 0 に記載の抗体またはその抗原結合性断片、誘導体もしくはバリエ

50

ント、または組成物、または方法。

【請求項 7 2】

検出されたテネイン C の F B G ドメインの量の増加が、テネイン C の F B G ドメインの正常レベルと比較した場合の少なくとも 5 0 % の増加である、請求項 7 0 または 7 1 に記載の抗体またはその抗原結合性断片、誘導体もしくはバリエーション、または組成物、または方法。

【請求項 7 3】

テネイン C の F B G ドメインの量が、イムノアッセイ；分光法；ウェスタンブロット；E L I S A；免疫沈降；スロットもしくはドットブロットアッセイ；等電点電気泳動；S D S - P A G E；抗体マイクロアレイ；免疫組織学的染色；ラジオイムノアッセイ（R I A）；フルオロイムノアッセイ；並びに / またはアビジン - ビオチン系および / もしくはストレプトアビジン（streptoavidin） - ビオチン系を用いるイムノアッセイのうちの一つまたは複数の使用によって決定される、請求項 6 2 ~ 7 2 に記載の抗体またはその抗原結合性断片、誘導体もしくはバリエーション、または組成物、または方法。

【請求項 7 4】

慢性炎症反応が不適切な炎症を特徴とする状態と関連している、請求項 5 7 ~ 7 3 に記載の抗体またはその抗原結合性断片、誘導体もしくはバリエーション、組成物、用途または方法。

【請求項 7 5】

慢性炎症反応が、関節リウマチ（R A）、自己免疫状態、炎症性腸疾患（例えば、クローン病および潰瘍性大腸炎）、非治癒性創傷、多発性硬化症、がん、アテローム性動脈硬化症、シェーグレン症候群、糖尿病、紅斑性狼瘡（lupus erythematosus）（例えば、全身性エリテマトーデス（systemic lupus erythematosus））、喘息、線維性疾患（例えば、肝硬変）、肺線維症、U V ダメージ、乾癬、強直性脊椎炎および心血管疾患と関連している、請求項 5 7 ~ 7 3 に記載の抗体またはその抗原結合性断片、誘導体もしくはバリエーション、組成物、用途または方法。

【請求項 7 6】

(i) 請求項 1 ~ 5 5 に記載の抗体またはその抗原結合性断片、誘導体もしくはバリエーション、または組成物；

(i i) 投与手段；および

(i i i) それらの使用のための説明書を含むパーツキット。

【請求項 7 7】

(i v) 少なくとも 1 つの他の作用剤を所望により含む、請求項 7 6 に記載のパーツキット。

【請求項 7 8】

(i) 請求項 1 ~ 5 5 に記載の抗体またはその抗原結合性断片、誘導体もしくはバリエーション、または組成物；および

(i i) 使用のための説明書

を含む、対象の慢性炎症性状態の状態を決定で使用するためのパーツキット。

【請求項 7 9】

以下の特性のうちの一つまたは複数を有する抗体を選別することを含む、テネイン C の F B G ドメインに特異的な一つまたは複数の治療抗体（抗体医薬）を特定する方法：

(a) 抗体は F a b または全抗体（好ましくはヒト I g G 2 またはヒト I g G 4）である；

(b) 抗体は、表面プラズモン共鳴（S P R）によって決定される、1 ~ 1 0 n M のヒトテネイン C F B G に対する結合親和性を有する、および / または、抗体は、好ましくは F c - H i s - F B G を使用する細胞ベースアッセイにおいて、1 0 0 n M 未満の I C 5 0 で、テネイン C、好ましくは誘発サイトカイン放出の濃度関連阻害（concentration-related inhibition）を示す；並びに

10

20

30

40

50

(c) 抗体は、好ましくはE L I S Aによって測定されて、ヒトF B G並びにマウス、ラットおよびイヌF B Gのうちの一つまたは複数に結合し、抗体はヒト、マウス、ラットおよびイヌF B Gの全てに結合することが好ましい。

【請求項80】

抗体が以下のさらなる特性のうちの一つまたは複数も示す、請求項79に記載の方法：

(d) 抗体は、ヒトテネインC陽性対照と比較して、ヒトテネイン-Rに結合しない、またはヒトテネイン-Rに対し低減された結合性を示す；および

(e) 抗体はP B S中で少なくとも1 m g / m Lまで可溶性である。

【請求項81】

(a) S P Rによって決定される親和性強度 (affinity potency) が3 2 0 p M以下である、および/または、好ましくはF c - H i s - F B Gを使用する細胞に基づくアッセイにおいて誘導サイトカイン放出についてI C 5 0が1 n M以下である；

(b) 抗体が、少なくとも1つのげっ歯類 (例えばラット) および1つの非げっ歯類 (例えばイヌ) テネインCアイソフォームに対し、3 n M以下の親和性を有する；

(c) ヒトテネイン-Rへの最大半量結合濃度が、好ましくはE L I S A結合実験またはS P Rによって測定されて、ヒトテネインCへの等価な結合シグナルよりも、少なくとも5 0倍、好ましくは1 0 0倍高い；並びに/または

(d) 抗体が、1 4日間に亘って沈殿/凝集無く、少なくとも2 0 m g / m Lまで、P B S中で可溶性である、

請求項79または80に記載の方法。

【請求項82】

以下の段階を含む、テネインCのF B Gドメインに特異的な一つまたは複数の治療抗体 (抗体医薬) を特定する方法：

(i) 好ましくはE L I S Aによる、ヒトテネインC F B G並びにラット、マウスおよびイヌテネインC F B Gのうちの一つまたは複数と結合する抗体または断片を求めた、抗体または抗体断片ライブラリー、例えばファージライブラリーのスクリーニング；

(i i) ヒトテネインC F B Gと比較した場合の、ヒトテネイン-R F B Gに対する結合性減少についての、(i)で特定された陽性抗体または陽性断片の試験；

(i i i) 効力選別に適したフォーマット (例えば、F a b、F c - s c F v、I g G 2またはI g G 4) への、(i)および(i i)から所望の特性を有すると特定された抗体または断片のサブクロニング；並びに

(i v) F c - H i s - F B G活性の阻害を示す、(i i i)からの抗体または断片の特定。

【請求項83】

(a) 表面プラズモン共鳴 (S P R) が段階(i)に使用される；

(b) 段階(i v)が、F c - H i s - F B G誘導性アルカリホスファターゼレポーター (例えば、T H P - 1 B l u e (商標)アッセイにおいて) を利用する；および/もしくは、F c - H i s - F B G誘導性サイトカイン発現 (例えば、T H P - 1細胞からの) の阻害を測定する；並びに/または

(c) 段階(i)において、抗体または断片がヒト、ラット、マウスおよびイヌテネインC F B Gの全てに結合する、

請求項82に記載の方法。

【請求項84】

抗体医薬 (複数可) が請求項79~81に記載の特性のうちの一つまたは複数を示す、請求項82~83に記載の方法。

【請求項85】

実施例および図面を参照して本明細書に詳述される、抗体またはその抗原結合性断片、誘導體もしくはバリエーション。

【請求項86】

10

20

30

40

50

実施例および図面を参照して本明細書に詳述される方法。

【請求項 87】

実施例および図面を参照して本明細書に詳述される組成物。

【請求項 88】

実施例および図面を参照して本明細書に詳述されるパーツキット。

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0001】

本発明は、テネインCのフィブリノーゲン様球(FBG)ドメインと結合するための抗体、並びに慢性炎症を伴う障害の診断、予後判定および/または治療におけるそれらの用途、並びにそのような抗体を特定する方法に関する。

10

【背景技術】

【0002】

炎症は、病原体、組織損傷、または刺激物質等の有害刺激に対する組織の複雑な生物学的反応である。保護を目的として、組織は有害刺激を除去し、さらに組織の治癒プロセスを開始する。炎症に関連する異常は、様々なヒト疾患の原因となる大きな非関連障害群(炎症性障害)を含む。炎症現象を伴う疾患の例としては、(限定はされないが)喘息、自己免疫疾患、糸球体腎炎、アレルギー(過敏症)、がん、炎症性腸疾患、再灌流障害、関節リウマチおよび移植拒絶反応が挙げられる。

【0003】

具体的には、慢性炎症は上記疾患の多くに関連する消耗性の重篤な状態であり、感染もしくは傷害の部位における持続的な炎症、または原因不明の、もしくは自己免疫疾患等における免疫応答変化に関連する持続的な炎症を特徴とする。

20

【0004】

関節リウマチ(RA)は、限定はされないが、慢性炎症性状態の典型例である。RAは、炎症誘発性サイトカインおよびマトリックスメタロプロテアーゼ(MMP)の持続的な合成によって仲介される、滑膜炎並びに関節軟骨および骨の破壊を特徴としている。TNFおよびIL-6等の炎症性サイトカインの合成を抑制する生物学的化合物が、短期のRA治療において成功を収めている。しかし、治療の反復を必要とするために高額な治療方法となってしまう、長期寛解も得られない。さらに、サイトカイン機能の全身抑制には感染リスクの増大等の固有の問題が伴う。このように、治療の進歩にもかかわらず、長期に亘って効果的な、慢性炎症疾患の経済的な治療様式のニーズは未だ満たされていない(Smolén(2006)およびWilliams(2007))。

30

【0005】

疾患の慢性を支える機構は不明瞭なままであり、炎症性で且つ破壊性の介在物質の長期発現を駆動する因子も現在知られていない。

【0006】

Toll様受容体(TLR)はRAにおける炎症性メディエーターの産生駆動において重要な役割を果たしており、TLR機能の遮断は臨床的に非常に有効であり得る(Brentano(2005)およびO'Neill(2002)において概説される)。この受容体ファミリーは免疫系の不可欠の部分形成する。TLRは、病原体関連分子パターン(PAMP)および損傷関連分子パターン(DAMP)の両方を認識することにより、感染および傷害に対する宿主防御を仲介する(Matzinger(2002))。DAMPは組織傷害時に生成される内在性の炎症誘発性分子であり、損傷または壊死した細胞から放出される細胞内分子、細胞外マトリックス(ECM)分子の断片または傷害時に発現増加されるECM分子が含まれる(Bianchi(2007)およびGordon(2002)において概説される)。

40

【0007】

活性化後、TLRは自然免疫反応および適応免疫応答の両方を促進し、例えば、炎症誘発性サイトカインおよびMMPの発現を刺激する(Medzhitov(2002))。TLRはRA患者由来の滑膜組織において高レベルで発現されており(Radstake(2004)、Roelofs(2005))

50

、Sacre(2007)、および(Sacre、2008に原稿投稿)、T L R 4に標的欠失または機能喪失型変異を有するマウスは実験的関節炎から保護される(Choe(2003)およびLee(2005))。さらに、T L R 4の阻害剤はマウスにおける破壊性関節炎を低減することができ(Abdollahi-Roodsaz(2007))、推定上のT L R 4阻害剤は、予備的な第1相試験において、中等度~重度のR Aを患う、23人中15人の患者の症状を改善した(Vanags(2006))。しかし、どのT L Rリガンドが病因に関与しているかは不明である。

【0008】

組織傷害および創傷の修復に関連するテネイシンC(TNC)はECM糖タンパク質である。テネイシンCは、胚形成の間の組織リモデリングの活動中に特異的に発現され、原腸形成および体節形成の間に最初に観察される。発現は、発生により後半の段階では、乳腺および肺の分岐形態形成の部位、発達中の骨格、心血管系および上皮間葉転換部位の結合組織に限定される。これらのプロセスが終了した後、および胚形成が完了する前に、発現は下方制御される(Jones(2000))。

10

【0009】

テネイシンCは通常、健常成人組織では発現されない。しかし、成人において、急性炎症の間に特異的かつ一過性に発現上昇され、慢性炎症においては持続的に発現される(Chiquet-Ehrismann(2003)において概説される)。テネイシンCは正常なヒト関節においてほとんど発現されないが、R A滑膜、炎症および線維症の領域、特に滑膜表層下、浸潤性パンプスおよび血管周辺においてはレベルが大きく増加しているということが、免疫組織化学的な研究によって示されている(Cutolo(1992)、MacCachren(1992)およびSalter(1993))。R A患者由来の滑液(Chevalier(1994)およびHasegawa(2007))およびR A軟骨(Salter(1993)およびChevalier(1994))においても、テネイシンCのレベルは著しく増加している。

20

【0010】

テネイシンCは150万Daの巨大な六量体タンパク質である。各々の鎖は、集合ドメイン(TA)、EGF様リピート(EGF-L)、フィブロネクチンIII型様リピート(TNIII)およびフィブリノーゲン様球(FBG)を含む、様々なドメインを含んでいる(Orend(2005)において概説される)。テネイシンCおよびそのドメインの配列を図1に示す。

【0011】

本発明者らは以前に、テネイシンCが炎症誘発性刺激であること、並びに、テネイシンCが、関節炎において観察される破壊性関節炎に必要とされ、慢性炎症性状態を特徴付ける炎症反応の延長に関与すること、を示した。具体的には、テネイシンCがT L R 4の内在性活性化因子であることが示され、この分子が破壊性関節炎に必要とされることが明示された(国際公開第2010/103289)。

30

【0012】

国際公開第2010/103289では、関節における免疫応答の仲介においてテネイシンCが果たす役割が、インビボでマウスにテネイシンCのFBGドメインを関節内注射して関節炎を誘導することにより示された。さらに、ザイモサンによって誘導された急性関節炎は、テネイシンC欠損マウスではそれほど長期に亘るものではなかった。野生型マウスおよびテネイシンCヌルマウスの両方がザイモサンによる急性炎症誘導に同等に応答し、これにより、テネイシンCは炎症惹起に関与していないと思われる、ということが示された。しかし、テネイシンCヌルマウスが示した滑膜炎の持続性の低さは、関節炎の維持における役割を示している。m B S Aでの免疫化により誘導された関節炎の間、テネイシンCの標的欠失がマウスを持続型びらん性関節炎から保護したという観察により、関節炎の遷延におけるテネイシンCの重要性が理解された。

40

【0013】

テネイシンCは関節内の細胞を活性化することが可能であることが示され、テネイシンCの第一活性ドメインは、この分子のC末端にある227アミノ酸(26.9kDa)の球状ドメインであるフィブリノーゲン様球(FBG)に位置付けられた(Siri(1991))。

50

【 0 0 1 4 】

R A 患者由来の滑膜培養物に F B G を添加することにより、炎症誘発性サイトカインの自然放出が増強された。また、この添加により、T L R 4 および M y D 8 8 依存性シグナル伝達経路の活性化を介して、初代ヒトマクロファージにおける T N F - 、 I L - 6 および I L - 8 の合成、並びに R A 滑膜線維芽細胞における I L - 6 の合成が刺激された。

【 0 0 1 5 】

L P S の場合と同じように、F B G によるサイトカイン合成の誘導には T L R 4 発現が必要であることが示されている。しかし、L P S とは異なり、T L R 4 活性化には C D 1 4 も M D - 2 も必要とされないと思われる。C D 1 4 は他のリガンドによる T L R 4 の活性化に不要である。T L R 4 が M y D 8 8 依存的にリポド A に反応することは必要ではなく (Jiang(2005))、フィブロンネクチン E D A (エクストラドメイン A) は C D 1 4 不在化であってもマスト細胞を活性化することができ (Gondokaryono(2007))、ヒト単球 T H P - 1 細胞のヒアルロン酸活性化は T L R 4、C D 4 4 および M D - 2 の複合体を必要とするが、C D 1 4 を必要とはしない (Taylor(2007))。

10

【 0 0 1 6 】

各 T L R 4 リガンドによる異なる受容体複合体の形成は、様々な細胞内アダプター / シグナル伝達分子の動員を促進し得る。これが、F B G および L P S で観察された示差的な細胞応答の原因となり得る。同様に、T L R 4 ・ C D 4 4 複合体のヒアルロン酸活性化は、L P S と異なる、マウス肺胞マクロファージ細胞系におけるあるパターン遺伝子発現を誘導する (Taylor(2007))。

20

【 0 0 1 7 】

テネイシン C の厳密に制御された発現パターンは、テネイシン C を慢性炎症治療の魅力的な標的としている。テネイシン C は健常成人にはほぼ存在していないが、組織傷害時に特異的に発現が誘導される。急性炎症の間、テネイシン C は一時的に発現される。誘導はしばしば炎症に先立って起こり、炎症が回復するまでに m R N A もタンパク質も共に組織からなくなる (Chiquet-Ehrismann(2003) において概説される)。

【 0 0 1 8 】

テネイシン C の持続的発現は慢性炎症と関連していることが現在では示されている。R A の他に、テネイシン C レベルの上昇は、多発性硬化症 (Gutowski(1999)) およびシェーグレン疾患 (Amin(2001)) を含む他の自己免疫疾患、並びに非治癒性創傷、並びに糖尿病性潰瘍および静脈性潰瘍 (Loots(1998)) において観察される。テネイシン C の新規合成は口腔粘膜の疾患における炎症の強度とよく相関しており、テネイシン C の血漿レベルは薬物治療または外科手術の前後における炎症性腸疾患の活性に対する信頼性のある指標である (Chiquet-Ehrismann(2003) において概説される)。

30

【 0 0 1 9 】

国際公開第 2 0 1 0 / 1 0 3 2 8 9 号は、テネイシン C の生物活性を調節する、慢性炎症反応を調節するための薬剤の用途、および慢性炎症と関連した状態の治療におけるそれらの用途について記述している。しかしながら、そのような状態に対する新規の改善された治療が、今なお求められている。

【 0 0 2 0 】

Clark et al. (1997) (5 2) には、テネイシンについての研究が記載されており、F B G ドメインに特異的な抗体が記載されている。その抗体はマウス由来であるため、治療剤としては適切ではない。さらに、その抗体は、細胞遊走の尺度と考えられている「リンパ球ローリング (lymphocyte rolling) 」を妨害し、細胞活性化および炎症性サイトカイン産生を妨害しないという特性を有するとのみ記載されている。C l a r k によって記述された細胞ローリング活性に關与する細胞性対抗受容体は特定されなかった。細胞ローリングまたは遊走のプロセスへの關与は、T L R 4 の重要な特性とは考えられておらず、また T L R 4 は、C l a r k によって、ローリング挙動に關与する有望な対抗受容体候補のリストにも含まれていない。さらに、F B G と結合する抗体の全てが、炎症性サイトカインの産生を阻害できるわけではない。本明細書に記載の抗体配列の新規の一連の特性向上

40

50

は、Clarkによって教示も示唆もされず、また試験もされなかった。従って、Clarkに記載される抗体が本明細書に記載の抗体と同じFBG領域に結合するというを示すものは存在せず、TLR4はリンパ球ローリング活性に関与しているとは一般的には考えられていない(例えば、それらの有力候補リストからのその脱落により、Clarkによって)ことから、TLR4活性に関連しているとは思われず、Clark et alによって研究された機能は本明細書に記載の新規抗体の重要な抗炎症特性には無関係である。

【0021】

従って、テネインCのFBGドメインに特異的な新規の改善された抗体、特に、治療薬として有用となるために必要とされる特性を有する抗体を作製する必要性が依然として残っている。

【発明の概要】

【0022】

本発明者らは、治療における使用に適した特性を有する抗体およびその断片、具体的には、テネインCのフィブリノーゲン様球(FBG)ドメインに対し非常に高い親和性を有し、FBGの生物活性を中和するヒト抗体、を設計した。これらの高親和性抗体は、テネインC関連障害、特に、リウマチ様関節炎(RA)を含む慢性炎症と関連したテネインC関連障害の診断または治療において抗FBG抗体分子を使用する治療法等の、種々の治療法において有用である。前記抗体はまた、関連する診断法および予後判定法においても有用である。

【発明を実施するための形態】

【0023】

本発明の第一態様において、テネインCのFBGドメインに結合することが可能であり、配列番号9~15、5、125、36、37、30~35、38~47、115~118および140から選択される一つもしくは複数の配列；並びに/または配列番号1~8、124、48~91、128~138、112~114および139から選択される一つもしくは複数の配列；並びに/または配列番号5、13、16~21、126、119~121および141から選択される一つもしくは複数の配列；並びに/または配列番号22~29、127、122~123および142から選択される一つもしくは複数の配列を含む、抗体またはその抗原結合性断片、誘導体もしくはバリエーションが提供される。

【0024】

配列ID番号(配列番号)は、特定の抗体、並びに実施例9および11に列挙される抗体関連配列を示すもの指す。明記されていない場合、「抗体」への言及は、その抗原結合性断片、誘導体またはバリエーションを包含する。

【0025】

一実施形態において、本開示による抗体またはその抗原結合性断片、誘導体もしくはバリエーションは、ヒトの、またはヒト化された、重鎖可変領域および/または軽鎖可変領域を含む。

【0026】

一実施形態において、本開示による抗体またはその抗原結合性断片、誘導体もしくはバリエーションは、完全ヒトを含んで、ヒトまたはヒト化である。

【0027】

一実施形態において、本開示による抗体またはその抗原結合性断片、誘導体もしくはバリエーションは、TLR4の活性化を中和、低減または遮断する。

【0028】

一実施形態において、本開示による抗体またはその抗原結合性断片、誘導体もしくはバリエーションは、本明細書に記載のアッセイにおいてIL-8等のサイトカインの放出を阻害する、ヒトの、またはヒト化された、重鎖可変領域および/または軽鎖可変領域を含む(例えば、完全ヒト抗体または結合断片)。

【0029】

一実施形態において、本開示による抗体またはその抗原結合性断片、誘導体もしくはバ

10

20

30

40

50

リアントは、テネイシンCのF B Gドメインに特異的である。すなわち、本開示による抗体またはその抗原結合性断片、誘導体もしくはバリエーションは、テネイシンCファミリーの他のメンバーと交差反応しない。

【0030】

一実施形態において、本開示による抗体またはその抗原結合性断片、誘導体もしくはバリエーションは、少なくともマウスおよび/またはラットのテネイシンCのF B Gドメインと交差反応性であり、特に、原始的なテネイシンCのF B Gドメインと交差反応性である。これは、ヒトへの投与前にインビボで行われる安全性および有効性の研究を可能にすることから、有力な治療薬には特に重要である。

【0031】

一実施形態において、例えば本明細書における抗体において開示される、6つのCDR、すなわち3つの重鎖CDRおよび3つの軽鎖CDRを含み、さらにヒトフレームワークを含む、本開示による抗体またはその抗原結合性断片、誘導体もしくはバリエーションが提供される。

【0032】

一実施形態において、少なくとも100 nM以上、例えば50 nM以上、例えば1 nM以上の、ヒトテネイシンCのF B Gドメインに対する親和性を有する、抗体またはその抗原結合性断片、誘導体もしくはバリエーションが提供される。親和性が高いほど数値は低くなる。

【0033】

一実施形態において、本開示は、実施例9または11で提供される配列表に明示的に開示された「抗体」に及ぶ。

【0034】

一実施形態において、本明細書で開示される抗体を交差遮断(cross-block)する、または、本明細書で開示される抗体と同じエピトープと競合的に(competitively)結合する、抗体、例えばヒトまたはヒト化抗体、が提供される。

【0035】

一実施形態において、本開示の抗体は、完全長抗体型、例えばエフェクター機能無し型、例えばIgG4型、で提供される。

【0036】

一実施形態において、抗体またはその抗原結合性断片、誘導体もしくはバリエーションは、治療における使用、特に自己免疫疾患または炎症、特に本明細書に記載される状態、における使用のためのものである。

【0037】

本発明の第一の態様の抗体またはその抗原結合性断片、誘導体もしくはバリエーションは、従って、抗原結合性断片であり得る。抗原結合性「断片」は、Fv断片(例えば、一本鎖Fvおよびジスルフィド結合Fv)、Fab断片(例えば、Fab断片、Fab'断片およびF(ab)₂断片)、単一可変ドメイン(例えば、V_HドメインおよびV_Lドメイン)およびドメイン抗体(単一型および二重型を含むdAb[すなわち、dAb-リンカー-dAb])からなる群から選択され得る。

【0038】

抗体「誘導体」および「バリエーション」という用語は、抗体の断片(例えば、Fab断片またはFv断片)等の、当業者に公知のイムノアッセイ型式で抗原に結合可能なあらゆる改変抗体分子(相同体を含む)、または、別のペプチドもしくはポリペプチドへの、大型の担体タンパク質への、もしくは固相への抗体の結合を促進するための、一つもしくは複数のアミノ酸もしくは他の分子(例えば、アミノ酸のチロシン、リジン、グルタミン酸、アスパラギン酸、システインおよびこれらの誘導体、特に、NH₂-アセチル基またはCOOH末端アミド基)の付加によって改変された改変抗体分子を指す。

【0039】

バリエーションは、抗体のアミノ酸配列の変化を含み得る。例えば、バリエーションのアミノ酸

10

20

30

40

50

配列は、アミノ酸配列レベルにおいて、特定の抗体と50%、55%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%または99%同一であり得る。

【0040】

バリエーションはまた、最も一般的な天然ヒト生殖系列抗体フレームワークおよびCDR多様性を利用するために、配列変化も含み得る。これは、天然ヒト抗体に一般に見られるアミノ酸で重要な残基を目的に合わせて操作することによって、実行され得る。このアプローチは、生殖系列抗体フレームワーク配列が個体間で高度に相容性がよいことから、ヒトにおける抗体に対する反応の可能性を最小限にする。この技術は「生殖系列化 (germlining)」として知られており、得られた配列は「生殖系列化 (germlined) 配列」と呼ばれる。配列は完全にまたは部分的に生殖系列化され得る。本発明の抗体の生殖系列化配列の例は、実施例11に記載される。

10

【0041】

本発明の抗体は、TLR4と結合するFBGドメインに結合し、直接的に、例えば、TLR4との結合部位を物理的に塞ぐことにより、TLR4活性化を遮断し得る。理論に束縛されることを望むものではないが、本発明者らは、TLR4がテネイシンCのFBGドメインと直接結合することを示す証拠を有している。このことは、テネイシンCがTLR4の活性を増強可能であると知られていたにもかかわらず、以前に証明されていなかった。

【0042】

あるいは、TLR4と結合しない抗体がFBGドメインの一部に結合し得、これはTLR4活性化をなお妨げ得る（アロステリック効果）；その活性を遮断している別の受容体と相互作用する抗体がFBGドメインに結合し得、これはTLR4活性に影響を与えても与えなくてもよい；および/または、他のいかなる受容体にも結合しないがこの受容体の活性化をなお妨げる（アロステリック効果）抗体がFBGドメインに結合し得る。

20

【0043】

一実施形態において、本開示は、FBGドメインと結合するが、TLR4の活性化および/またはサイトカイン、特にIL-8等の本明細書に記載のサイトカイン、の放出を阻害しない、抗体またはその抗原結合性断片、誘導体もしくはバリエーションに関する。

【0044】

全長抗体 (whole antibody) ではなく、抗体断片を使用することの利点は、幾重にもある。より小さな断片サイズは、固形組織のより良好な浸透等の薬理学的特性の向上をもたらし得る。さらに、Fab、Fv、ScFvおよびdAb抗体断片等の抗原結合性フラグメントは大腸菌 (*E. coli*) 内で発現され、大腸菌から分泌され得ることから、大量の前記断片の容易な生産が可能である。

30

【0045】

例えばポリエチレングリコールまたは他の適切な重合体の共有結合によって修飾された、抗体およびその抗原結合性フラグメントの修飾型も、本発明の範囲内に含まれる。抗体およびその抗原結合性断片の複合体、例えば抗体-薬剤複合体、も含まれる。

【0046】

抗体および抗体断片を作製する方法は当該技術分野において周知である。例えば、抗体は、抗体分子のインビボにおける産生の誘導、免疫グロブリンライブラリーのスクリーニング (Orlandi, et al, 1989. Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. 86:3833-3837; Winter et al., 1991, Nature 349:293-299)、または培養下の細胞株によるモノクローナル抗体分子の産生を採用するいくつかの方法のうちのいずれか1つによって作製され得る。これらの方法には、限定はされないが、ハイブリドーマ技術、ヒトB細胞ハイブリドーマ技術、およびエプスタインバーウイルス (EBV) - ハイブリドーマ技術が含まれる (Kohler et al., 1975. Nature 256:4950497; Kozbor et al., 1985. J. Immunol. Methods 81:31-42; Cote et al., 1983. Proc. Natl. Acad. Sci. USA 80:2026-2030; Cole et al., 1984. Mol. Cell. Biol. 62:109-120)。

40

50

【 0 0 4 7 】

選択された抗原に対する適切なモノクローナル抗体は、公知の技術、例えば、「Monoclonal Antibodies: A manual of techniques」、H Zola (CRC Press, 1988)および「Monoclonal Hybridoma Antibodies: Techniques and Applications」、J G R Hurrell (CRC Press, 1982)で開示された技術によって、作製され得る。

【 0 0 4 8 】

抗体断片は当該技術分野において周知の方法を用いて得ることができる（例えば、Harlow & Lane, 1988, "Antibodies: A Laboratory Manual", Cold Spring Harbor Laboratory, New Yorkを参照）。例えば、本発明による抗体断片は、抗体のタンパク分解性加水分解、または前記断片をコードするDNAの大腸菌もしくは哺乳類細胞（例えば、チャイニーズハムスター卵巣細胞培養物もしくは他のタンパク質発現系）における発現によって作製することができる。あるいは、抗体断片は、常法による全長抗体のペプシン分解またはパイン分解によって得ることができる。

10

【 0 0 4 9 】

ヒトにおける治療または診断では、ヒト化抗体の使用が好ましいことは、当業者には理解されよう。非ヒト（例えばマウス）抗体のヒト化形態は、非ヒト抗体由来の好ましくは最小部分を有する、遺伝子改変されたキメラ抗体または抗体断片である。ヒト化抗体には、ヒト抗体（レシピエント抗体）の相補性決定領域が、所望の機能性を有するマウス、ウサギのラット（rat of rabbit）等の非ヒト種（ドナー抗体）の相補性決定領域に由来する残基によって置換された抗体が含まれる。ある場合では、ヒト抗体のFvフレームワーク残基が、対応する非ヒト残基によって置換される。ヒト化抗体は、レシピエント抗体にも、移入された相補性決定領域またはフレームワークの配列内にも存在しない残基を含んでいてもよい。概して、ヒト化抗体は、相補性決定領域の全てまたは実質的に全てが非ヒト抗体のそれらに対応しており、フレームワーク領域の全てまたは実質的に全てが関連ヒトコンセンサス配列のそれらに対応している、少なくとも1つ、典型的には2つの可変ドメインの実質的に全てを含むことになる。ヒト化抗体は、典型的にはヒト抗体由来の、Fc領域等の抗体定常領域の少なくとも一部を含み得る（例えば、Jones et al., 1986, Nature 321:522-525; Riechmann et al., 1988, Nature 332:323-329; Presta, 1992, Curr. Op. Struct. Biol. 2:593-596を参照）。

20

【 0 0 5 0 】

非ヒト抗体をヒト化する方法は当該技術分野において周知である。概して、ヒト化抗体は、非ヒトである供給源から導入される一つまたは複数のアミノ酸残基を有する。しばしば移入残基（imported residue）と称されるこれらの非ヒトアミノ酸残基は、典型的には、移入された可変ドメインから取られる。ヒト化は基本的には、記述（例えば、Jones et al., 1986, Nature 321:522-525; Reichmann et al., 1988, Nature 332:323-327; Verhoeven et al., 1988, Science 239:1534-1536; 米国特許第4,816,567号を参照）の通りに、ヒト相補性決定領域を対応するげっ歯類相補性決定領域と置換することにより、実行することができる。従って、このようなヒト化抗体は、実質的にインタクトではないヒト可変ドメインが非ヒト種由来の対応配列によって置換されているキメラ抗体である。実際には、ヒト化抗体は典型的には、いくつかの相補性決定領域残基および場合によってはいくつかのフレームワーク残基がげっ歯類抗体内の類似部位に由来する残基によって置換されているヒト抗体であり得る。

30

40

【 0 0 5 1 】

本明細書で明示的に開示される抗体のCDRはヒト由来である。ヒト由来は通常非ヒト由来の抗体よりも免疫原性が低いことため、これは利点である。

【 0 0 5 2 】

ヒト抗体は、ファージディスプレイライブラリーを含む当該技術分野において公知の種々の技術を用いることで特定することもできる（例えば、Hoogenboom & Winter, 1991, J. Mol. Biol. 227:381; Marks et al., 1991, J. Mol. Biol. 222:581; Cole et al., 1985, In: Monoclonal antibodies and Cancer Therapy, Alan R. Liss, pp. 77; Boerner

50

et al., 1991. J. Immunol. 147:86-95を参照)。

【0053】

一実施形態において、本明細書で開示される抗体由来のCDR(例えば、6つのCDR)または可変領域を含む、抗体または抗原結合性断片が提供される。抗体または抗原結合性断片はキメラ体であってもよい。キメラ抗体は、非ヒト種(例えばマウス、ラット、サル等)由来の断片、例えば、フレームワークおよび/または定常領域を含む。これは、例えばインビボでの安全性および/または有効性研究で使用するための、平行試薬(parallel reagent)の調製に使用され得る。

【0054】

適切な抗体が得られた後、前記抗体は、例えばELISAによって、活性について試験され得る。

【0055】

本発明の第一の態様の一実施形態において、抗体またはその抗原結合性断片、誘導体もしくはバリエーションは、以下を含む:配列番号9~11、5、13~14、36、30、32、34、38、40、42、44、46、116および118から選択される一つもしくは複数のCDR配列;および/または配列番号1~3、5~7、48、50、52、54、56、58、60、62、64、66、68、70、72、74、76、78、80、82、84、86、135、88、90および114から選択される一つもしくは複数のCDR配列;および/または配列番号16~18、5、13、20および121から選択される一つもしくは複数のCDR配列;並びに/または配列番号22~24および26~28から選択される一つもしくは複数のCDR配列。

【0056】

「CDR」とは、インタクトな免疫グロブリンの可変重(VH)鎖または可変軽(VL)鎖に存在する相補性決定領域を指す。3つの相補性決定領域(CDR)が、完全免疫グロブリンの重鎖および軽鎖の両方の可変ドメイン上に存在する。CDRは、重鎖および軽鎖の両方においてCDR1、CDR2およびCDR3と番号を付けられる。例えば、VH鎖はCDR1、CDR2およびCDR3を含み、VL鎖もまたCDR1、CDR2およびCDR3を含む。

【0057】

本明細書に記載の各CDR領域へのアミノ酸の割当は、Kabat EA et al. 1991, In "Sequences of Proteins of Immunological Interest" Fifth Edition, NIH Publication No. 91-3242, pp xv-xviiによる定義に従う。

【0058】

従って、6つのCDR配列が抗体またはその抗原結合性断片、誘導体もしくはバリエーションに含まれることが最も好ましい。しかし、より少ないCDR配列(例えば、わずか1つ)が、例えば一本鎖抗体断片に、含まれてもよい。

【0059】

さらなる実施形態において、抗体またはその抗原結合性断片、誘導体もしくはバリエーションは、以下を含む:配列番号11、14、36、30、32、34、38、40、42、44および46から選択される一つもしくは複数のCDR3配列;および/または配列番号3、7、48、50、52、54、56、58、60、62、64、66、68、70、72、74、76、78、80、82、84、86、135、88および90から選択される一つもしくは複数のCDR3配列;および/または配列番号18および20から選択される一つもしくは複数のCDR3配列;並びに/または配列番号24および28から選択される一つもしくは複数のCDR3配列。

【0060】

上記のように、「CDR3」は、完全長可変重(VH)または完全長可変軽(VL)抗体鎖のいずれかに存在する3番目のCDRを指す。

【0061】

一実施形態において、抗体またはその抗原結合性断片、誘導体もしくはバリエーションは以

10

20

30

40

50

下を含む：配列番号 1 1、3 6、3 0 および 3 4 から選択される一つもしくは複数の C D R 3 配列；および / または配列番号 3、5 4、6 6 および 7 0 から選択される一つもしくは複数の C D R 3 配列；並びに / または配列番号 7、7 6、8 8 および 9 0 から選択される一つもしくは複数の C D R 3 配列。

【 0 0 6 2 】

特定の実施形態において、抗体またはその抗原結合性断片、誘導体もしくはバリエーションは以下を含む：配列番号 3、4 8、5 0、5 2、5 4、5 6、5 8、6 0、6 2、6 4、6 6、6 8 および 7 0 から選択される V H C D R 3 配列；配列番号 3、5 4、6 6 および 7 0 から選択される V H C D R 3 配列；または配列番号 3 および 5 4 から選択される V H C D R 3 配列。

10

【 0 0 6 3 】

別の特定の実施形態において、抗体またはその抗原結合性断片、誘導体もしくはバリエーションは以下を含む：配列番号 7、7 2、7 4、7 6、7 8、8 0、8 2、8 4、8 6、1 3 5、8 8 および 9 0 から選択される V L C D R 3 配列；配列番号 7、7 6、8 8 および 9 0 から選択される V L C D R 3 配列；または配列番号 7 の V L C D R 3 配列。

【 0 0 6 4 】

さらなる実施形態において、抗体またはその抗原結合性断片、誘導体もしくはバリエーションは配列番号 4 または 1 1 2 の配列を含む V H 配列を含み、前記 V H 配列は、配列番号 4 8、5 0、5 2、5 4、5 6、5 8、6 0、6 2、6 4、6 6、6 8 および 7 0 から選択される V H C D R 3 配列；配列番号 5 4、6 6 および 7 0 から選択される V H C D R 3 配列；または配列番号 5 4 の V H C D R 3 配列で置換された C D R 3 配列を含む。

20

【 0 0 6 5 】

「置換された」とは、V H 配列の C D R 3 配列が除去され、別の C D R 3 配列（指定された）がその場所に含まれることを意味する。

【 0 0 6 6 】

この特定の文脈において、「置換された」とは、V H 配列 配列番号 4 または 1 1 2 の C D R 3 配列が配列から除去され、別の C D R 3 配列（指定された）がその場所に含まれることを意味する。言い換えれば、配列番号 3（配列番号 4 および 1 1 2 の C D R 3 配列である）が、別の C D R 3 配列（指定された）と置換される。

【 0 0 6 7 】

所望により、抗体またはその抗原結合性断片、誘導体もしくはバリエーションは、配列番号 8、1 2 4、1 1 3 または 1 3 9 の配列を含む V L 配列を含み、前記 V L 配列は、配列番号 7 2、7 4、7 6、7 8、8 0、8 2、8 4、8 6、1 3 5、8 8 および 9 0 から選択される V L C D R 3 配列；または配列番号 7 6、8 8 および 9 0 から選択される V L C D R 3 配列と置換された C D R 3 配列を含む。

30

【 0 0 6 8 】

この特定の文脈において、「置換された」とは、V L 配列 配列番号 8、1 2 4、1 1 3 または 1 3 9 の C D R 3 配列が配列から除去され、別の C D R 3 配列（指定された）がその場所に含まれることを意味する。言い換えれば、配列番号 7（配列番号 8、1 2 4、1 1 3 および 1 3 9 の C D R 3 配列である）が、別の C D R 3 配列（指定された）と置換される。

40

【 0 0 6 9 】

さらなる実施形態において、抗体またはその抗原結合性断片、誘導体もしくはバリエーションは以下を含む：配列番号 1 1、3 0、3 2、3 4、3 6、3 8、4 0、4 2、4 4 および 4 6 から選択される V H C D R 3 配列；配列番号 1 1、3 0、3 4 および 3 6 から選択される V H C D R 3 配列；または配列番号 1 1、3 0 および 3 6 から選択される V H C D R 3 配列。

【 0 0 7 0 】

一実施形態において、抗体またはその抗原結合性断片、誘導体もしくはバリエーションは、配列番号 1 5、1 2 5、1 1 7 または 1 4 0 の配列を含む V L 配列を含む。

50

【 0 0 7 1 】

別の実施形態において、抗体またはその抗原結合性断片、誘導体もしくはバリエーションは、配列番号 1 2 または配列番号 1 1 5 の配列を含む V H 配列を含み、前記 V H 配列は、配列番号 3 0、3 2、3 4、3 6、3 8、4 0、4 2、4 4 および 4 6 から選択される V H C D R 3 配列；配列番号 3 0、3 4 および 3 6 から選択される V H C D R 3 配列；または配列番号 3 0 および 3 6 から選択される V H C D R 3 配列で置換された C D R 3 配列を含む。

【 0 0 7 2 】

この特定の文脈において、「置換された」とは、V H 配列 配列番号 1 2 または 1 1 5 の C D R 3 配列が配列から除去され、別の C D R 3 配列（指定された）がその場所に含まれることを意味する。言い換えれば、配列番号 1 1（配列番号 1 2 および 1 1 5 の C D R 3 配列である）が、別の C D R 3 配列（指定された）と置換される。

10

【 0 0 7 3 】

特定の実施形態において、抗体またはその抗原結合性断片、誘導体もしくはバリエーションは、配列番号 1 4 の V L C D R 3 配列並びに配列番号：1 1 および 3 0 ~ 4 6 から選択される V H C D R 3 配列を含む；または、配列番号 7 の V L C D R 3 配列並びに配列番号 3 および 4 8 ~ 7 0 から選択される V H C D R 3 配列を含む；または、配列番号 3 の V H C D R 3 配列並びに配列番号 7 および 7 2、7 4、7 6、7 8、8 0、8 2、8 4、8 6、1 3 5、8 8 および 9 0 から選択される V L C D R 3 配列を含む；または、配列番号 1 8 の V H C D R 3 配列並びに配列番号 2 0 の V L C D R 3 配列を含む；または、配列番号 2 4 の V H C D R 3 配列および配列番号 2 8 の V L C D R 3 配列を含む。

20

【 0 0 7 4 】

抗体またはその抗原結合性断片、誘導体もしくはバリエーションは以下を含むことが好ましい：

【 0 0 7 5 】

配列番号 1 ~ 3、および 5 ~ 7 から選択される少なくとも 1 つの C D R 配列；または配列番号 1、2、4 8 および 5 ~ 7 から選択される少なくとも 1 つの C D R 配列；または配列番号 1、2、5 0 および 5 ~ 7 から選択される少なくとも 1 つの C D R 配列；または配列番号 1、2、5 2 および 5 ~ 7 から選択される少なくとも 1 つの C D R 配列；または配列番号 1、2、5 4 および 5 ~ 7 から選択される少なくとも 1 つの C D R 配列；または配列番号 1、2、5 6 および 5 ~ 7 から選択される少なくとも 1 つの C D R 配列；または配列番号 1、2、5 8 および 5 ~ 7 から選択される少なくとも 1 つの C D R 配列；または配列番号 1、2、6 0 および 5 ~ 7 から選択される少なくとも 1 つの C D R 配列；または配列番号 1、2、6 2 および 5 ~ 7 から選択される少なくとも 1 つの C D R 配列；または配列番号 1、2、6 4 および 5 ~ 7 から選択される少なくとも 1 つの C D R 配列；または配列番号 1、2、6 6 および 5 ~ 7 から選択される少なくとも 1 つの C D R 配列；または配列番号 1、2、6 8 および 5 ~ 7 から選択される少なくとも 1 つの C D R 配列；または配列番号 1、2、7 0 および 5 ~ 7 から選択される少なくとも 1 つの C D R 配列；または

30

【 0 0 7 6 】

配列番号 1 ~ 3、5、6 および 7 2 から選択される少なくとも 1 つの C D R 配列；または配列番号 1 ~ 3、5 ~ 6 および 7 4 から選択される少なくとも 1 つの C D R 配列；または配列番号 1 ~ 3、5、6 および 7 6 から選択される少なくとも 1 つの C D R 配列；または配列番号 1 ~ 3、5、6 および 7 8 から選択される少なくとも 1 つの C D R 配列；または配列番号 1 ~ 3、5、6 および 8 0 から選択される少なくとも 1 つの C D R 配列；または配列番号 1 ~ 3、5、6 および 8 2 から選択される少なくとも 1 つの C D R 配列；または配列番号 1 ~ 3、5、6 および 8 4 から選択される少なくとも 1 つの C D R 配列；または配列番号 1 ~ 3、5、6 および 8 6 から選択される少なくとも 1 つの C D R 配列；または配列番号 1 ~ 3、5、6 および 1 3 5 から選択される少なくとも 1 つの C D R 配列；または配列番号 1 ~ 3、5、6 および 8 8 から選択される少なくとも 1 つの C D R 配列；または配列番号 1 ~ 3、5、6 および 9 0 から選択される少なくとも 1 つの C D R 配列；ま

40

50

たは配列番号 1 ~ 3、5、7 および 1 1 4 から選択される少なくとも 1 つの C D R ; または

【 0 0 7 7 】

配列番号 9 ~ 1 1 および 5、1 3 および 1 4 から選択される少なくとも 1 つの C D R 配列 ; または配列番号 9、1 0、3 0、5、1 3 および 1 4 から選択される少なくとも 1 つの C D R 配列 ; または配列番号 9、1 0、3 2、5、1 3 および 1 4 から選択される少なくとも 1 つの C D R 配列 ; または配列番号 9、1 0、3 4、5、1 3 および 1 4 から選択される少なくとも 1 つの C D R 配列 ; または配列番号 9、1 0、3 6、5、1 3 および 1 4 から選択される少なくとも 1 つの C D R 配列 ; または配列番号 9、1 0、3 8、5、1 3 および 1 4 から選択される少なくとも 1 つの C D R 配列 ; または配列番号 9、1 0、4 0、5、1 3 および 1 4 から選択される少なくとも 1 つの C D R 配列 ; または配列番号 9、1 0、4 2、5、1 3 および 1 4 から選択される少なくとも 1 つの C D R 配列 ; または配列番号 9、1 0、4 4、5、1 3 および 1 4 から選択される少なくとも 1 つの C D R 配列 ; または配列番号 9、1 0、4 6、5、1 3 および 1 4 から選択される少なくとも 1 つの C D R 配列 ; または番号 9、1 1、1 1 6、5、1 4 および 1 1 8 から選択される少なくとも 1 つの C D R 配列 ; または

10

【 0 0 7 8 】

配列番号 1 6 ~ 1 8 および 5、1 3 および 2 0 から選択される少なくとも 1 つの C D R 配列 ; または配列番号 1 6 ~ 1 8 および 5、1 2 1 および 2 0 から選択される少なくとも 1 つの C D R 配列 ; または配列番号 2 2 ~ 2 4 および 2 6 ~ 2 8 から選択される少なくとも 1 つの C D R 配列。

20

【 0 0 7 9 】

これらの配列群のそれぞれは、V H C D R 1、C D R 2、C D R 3 および V L C D R 1、C D R 2、C D R 3 領域の配列に対応する。

【 0 0 8 0 】

抗体またはその抗原結合性断片、誘導体もしくはバリエーションは、上記で列挙された群の 1 つから選択される C D R 配列のうち少なくとも 1 つのを含み得る。抗体またはその抗原結合性断片、誘導体もしくはバリエーションは、上記で列挙された群の 1 つから選択される少なくとも 1、2、3、4、5 または 6 つの C D R 配列を含むことが好ましい。抗体またはその抗原結合性断片、誘導体もしくはバリエーションは、上記で列挙された群の 1 つから選択される少なくとも 3 つまたは少なくとも 6 つの C D R 配列を含むことがより好ましい。抗体またはその抗原結合性断片、誘導体もしくはバリエーションは、上記で列挙された群の 1 つから選択される少なくとも 6 つの C D R 配列を含むことが最も好ましい。

30

【 0 0 8 1 】

所望により、抗体またはその抗原結合性断片、誘導体もしくはバリエーションは以下を含む : 配列番号 : 1 ~ 3 から選択される少なくとも 1 つの V H C D R 配列 ; または配列番号 1、2 および 4 8 から選択される少なくとも 1 つの V H C D R 配列 ; または配列番号 1、2 および 5 0 から選択される少なくとも 1 つの V H C D R 配列 ; または配列番号 1、2 および 5 2 から選択される少なくとも 1 つの V H C D R 配列 ; または配列番号 1、2 および 5 4 から選択される少なくとも 1 つの V H C D R 配列 ; または配列番号 1、2 および 5 6 から選択される少なくとも 1 つの V H C D R 配列 ; または配列番号 1、2 および 5 8 から選択される少なくとも 1 つの V H C D R 配列 ; または配列番号 1、2 および 6 0 から選択される少なくとも 1 つの V H C D R 配列 ; または配列番号 1、2 および 6 2 から選択される少なくとも 1 つの V H C D R 配列 ; または配列番号 1、2 および 6 4 から選択される少なくとも 1 つの V H C D R 配列 ; または配列番号 1、2 および 6 6 から選択される少なくとも 1 つの V H C D R 配列 ; または配列番号 1、2 および 6 8 から選択される少なくとも 1 つの V H C D R 配列 ; または配列番号 1、2 および 7 0 から選択される少なくとも 1 つの V H C D R 配列 ; または

40

【 0 0 8 2 】

配列番号 : 9 ~ 1 1 から選択される少なくとも 1 つの V H C D R 配列 ; または配列番

50

号 9、10 および 30 から選択される少なくとも 1 つの V H C D R 配列；または配列番号 9、10 および 32 から選択される少なくとも 1 つの V H C D R 配列；または配列番号 9、10 および 34 から選択される少なくとも 1 つの V H C D R 配列；または配列番号 9、10 および 36 から選択される少なくとも 1 つの V H C D R 配列；または配列番号 9、10 および 38 から選択される少なくとも 1 つの V H C D R 配列；または配列番号 9、10 および 40 から選択される少なくとも 1 つの V H C D R 配列；または配列番号 9、10 および 42 から選択される少なくとも 1 つの V H C D R 配列；または配列番号 9、10 および 44 から選択される少なくとも 1 つの V H C D R 配列；または配列番号 9、10 および 46 から選択される少なくとも 1 つの V H C D R 配列；または

【0083】

配列番号 9、116 および 11 から選択される少なくとも 1 つの V H C D R 配列；または配列番号 9、116 および 30 から選択される少なくとも 1 つの V H C D R 配列；または配列番号 9、116 および 32 から選択される少なくとも 1 つの V H C D R 配列；または配列番号 9、116 および 34 から選択される少なくとも 1 つの V H C D R 配列；または配列番号 9、116 および 36 から選択される少なくとも 1 つの V H C D R 配列；または配列番号 9、116 および 38 から選択される少なくとも 1 つの V H C D R 配列；または配列番号 9、116 および 40 から選択される少なくとも 1 つの V H C D R 配列；または配列番号 9、116 および 42 から選択される少なくとも 1 つの V H C D R 配列；または配列番号 9、116 および 44 から選択される少なくとも 1 つの V H C D R 配列；または配列番号 9、116 および 46 から選択される少なくとも 1 つの V H C D R 配列；または

【0084】

配列番号：16～18 から選択される少なくとも 1 つの V H C D R 配列；または配列番号：22～24 から選択される少なくとも 1 つの V H C D R 配列。

【0085】

これらの配列群のそれぞれは、V H C D R 1、C D R 2 および C D R 3 領域の配列に対応する。

【0086】

抗体またはその抗原結合性断片、誘導体もしくはバリエントは、上記で列挙された群の 1 つから選択される V H C D R 配列のうち少なくとも 1 つのを含み得る。抗体またはその抗原結合性断片、誘導体もしくはバリエントは、上記で列挙された群の 1 つから選択される少なくとも 1、2 または 3 つの V H C D R 配列を含むことが好ましい。抗体またはその抗原結合性断片、誘導体もしくはバリエントは、上記で列挙された群の 1 つから選択される少なくとも 3 つの V H C D R 配列を含むことが最も好ましい。

【0087】

所望により、抗体またはその抗原結合性断片、誘導体もしくはバリエントは以下を含む：配列番号：5～7 から選択される少なくとも 1 つの V L C D R 配列；または配列番号 5、6 および 72 から選択される少なくとも 1 つの V L C D R 配列；または配列番号 5～6 および 74 から選択される少なくとも 1 つの V L C D R 配列；または配列番号 5、6 および 76 から選択される少なくとも 1 つの V L C D R 配列；または配列番号 5、6 および 78 から選択される少なくとも 1 つの V L C D R 配列；または配列番号 5、6 および 80 から選択される少なくとも 1 つの V L C D R 配列；または配列番号 5、6 および 82 から選択される少なくとも 1 つの V L C D R 配列；または配列番号 5、6 および 84 から選択される少なくとも 1 つの V L C D R 配列；または配列番号 5、6 および 86 から選択される少なくとも 1 つの V L C D R 配列；または配列番号 5、6 および 135 から選択される少なくとも 1 つの V L C D R 配列；または配列番号 5、6 および 88 から選択される少なくとも 1 つの V L C D R 配列；または配列番号 5、6 および 90 から選択される少なくとも 1 つの V L C D R 配列；または

【0088】

配列番号 5、114 および 7 から選択される少なくとも 1 つの V L C D R 配列；また

10

20

30

40

50

は配列番号 5、114 および 72 から選択される少なくとも 1 つの V L C D R 配列；または配列番号 5、114 および 74 から選択される少なくとも 1 つの V L C D R 配列；または配列番号 5、114 および 76 から選択される少なくとも 1 つの V L C D R 配列；または配列番号 5、114 および 78 から選択される少なくとも 1 つの V L C D R 配列；または配列番号 5、114 および 80 から選択される少なくとも 1 つの V L C D R 配列；または配列番号 5、114 および 82 から選択される少なくとも 1 つの V L C D R 配列；または配列番号 5、114 および 84 から選択される少なくとも 1 つの V L C D R 配列；または配列番号 5、114 および 86 から選択される少なくとも 1 つの V L C D R 配列；または配列番号 5、114 および 88 から選択される少なくとも 1 つの V L C D R 配列；または配列番号 5、114 および 90 から選択される少なくとも 1 つの V L C D R 配列；または

10

【0089】

配列番号 5、13 および 14 から選択される少なくとも 1 つの V L C D R 配列；または配列番号 5、118 および 14 から選択される少なくとも 1 つの V L C D R 配列；または

【0090】

配列番号 5、13 および 20 から選択される少なくとも 1 つの V L C D R 配列；または配列番号 5、121 および 20 から選択される少なくとも 1 つの V L C D R 配列；または配列番号：26 ~ 28 から選択される少なくとも 1 つの V L C D R 配列。

【0091】

これらの配列群のそれぞれは、V L C D R 1、C D R 2 および C D R 3 領域の配列に対応する。

20

【0092】

抗体またはその抗原結合性断片、誘導体もしくはバリエーションは、上記で列挙された群の 1 つから選択される V L C D R 配列のうち少なくとも 1 つのを含み得る。抗体またはその抗原結合性断片、誘導体もしくはバリエーションは、上記で列挙された群の 1 つから選択される少なくとも 1、2 または 3 つの V L C D R 配列を含むことが好ましい。抗体またはその抗原結合性断片、誘導体もしくはバリエーションは、上記で列挙された群の 1 つから選択される少なくとも 3 つの V L C D R 配列を含むことが最も好ましい。

【0093】

特定の実施形態において、抗体またはその抗原結合性断片、誘導体もしくはバリエーションは以下を含む：配列番号 3 および 54 から選択される V H C D R 3 配列；または配列番号 11、30 および 36 から選択される V H C D R 3 配列。

30

【0094】

別の実施形態において、抗体またはその抗原結合性断片、誘導体もしくはバリエーションは、以下を含む V H 配列および / または V L 配列を含む：配列番号 12、15、125、37、31、33、35、39、41、43、45、47、115、117 および 140 から選択される一つもしくは複数の配列；および / または配列番号 4、8、124、49、51、53、55、57、59、61、63、65、67、69、71、73、128、75、129、77、130、79、131、81、132、83、133、85、134、87、136、89、137、91、138、112、113 および 139 から選択される一つもしくは複数の配列；および / または配列番号 19、21、126、119、120 および 141 から選択される一つもしくは複数の配列；並びに / または配列番号 25、29、127、122、123 および 142 から選択される一つもしくは複数の配列。

40

【0095】

所望により、抗体またはその抗原結合性断片、誘導体もしくはバリエーションの V H 配列は、配列番号 12、37、31、33、35、39、41、43、45、47 および 115 から選択される；並びに / または、配列番号 4、49、51、53、55、57、59、61、63、65、67、69、71 および 112 から選択される；並びに / または、配

50

列番号 19 および 119 から選択される；並びに / または、配列番号 25 および 122 から選択される。

【0096】

所望により、抗体またはその抗原結合性断片、誘導体もしくはバリエーションの V L 配列は、配列番号 15、125、117 および 140 から選択される；並びに / または、配列番号 8、124、73、128、75、129、77、130、79、131、81、132、83、133、85、134、87、136、89、137、91、138、113 および 139 から選択される；並びに / または、配列番号 21、126、120 および 141 から選択される；並びに / または、配列番号 29、127、123 および 142 から選択される。

10

【0097】

特定の実施形態において、抗体またはその抗原結合性断片、誘導体もしくはバリエーションは、以下の配列対から選択される、V H および V L 配列対の配列を含む V H 配列および V L 配列の両方を含む：配列番号 12、および 15 または 125；配列番号 115、および 15 または 125；配列番号 12、および 117 または 140；配列番号 37、および 15 または 125；配列番号 37、および 117 または 140；配列番号 31、および 15 または 125；配列番号 33、および 15 または 125；配列番号 35、および 15 または 125；配列番号 39、および 15 または 125；配列番号 41、および 15 または 125；配列番号 43、および 15 または 125；配列番号 45、および 15 または 125；配列番号 47、および 15 または 125；配列番号 31、および 117 または 140；配列番号 33、および 117 または 140；配列番号 35、および 117 または 140；配列番号 39、および 117 または 140；配列番号 41、および 117 または 140；配列番号 43、および 117 または 140；配列番号 45、および 117 または 140；配列番号 47、および 117 または 140；並びに、配列番号 115、および 117 または 140；あるいは、

20

【0098】

以下の配列対から選択される：配列番号 4、および 8 または 124；配列番号 49、および 8 または 124；配列番号 51、および 8 または 124；配列番号 53、および 8 または 124；配列番号 55、および 8 または 124；配列番号 57、および 8 または 124；配列番号 59、および 8 または 124；配列番号 61、および 8 または 124；配列番号 63、および 8 または 124；配列番号 65、および 8 または 124；配列番号 67、および 8 または 124；配列番号 69、および 8 または 124；配列番号 71、および 8 または 124；配列番号 112、および 8 または 124；配列番号 4、および 113 または 139；配列番号 49、および 113 または 139；配列番号 51、および 113 または 139；配列番号 53、および 113 または 139；配列番号 55、および 113 または 139；配列番号 57、および 113 または 139；配列番号 59、および 113 または 139；配列番号 61、および 113 または 139；配列番号 63、および 113 または 139；配列番号 65、および 113 または 139；配列番号 67、および 113 または 139；配列番号 69、および 113 または 139；配列番号 71、および 113 または 139；配列番号 4、および 73 または 128；配列番号 4、および 75 または 129；配列番号 4、および 77 または 130；配列番号 4、および 79 または 131；配列番号 4、および 81 または 132；配列番号 4、および 83 または 133；配列番号 4、および 85 または 134；配列番号 4、および 87 または 136；配列番号 4、および 89 または 137；配列番号 4、および 91 または 138；配列番号 112、および 73 または 128；配列番号 112、および 75 または 129；配列番号 112、および 77 または 130；配列番号 112、および 79 または 131；配列番号 112、および 81 または 132；配列番号 112、および 83 または 133；配列番号 112、および 85 または 134；配列番号 112、および 87 または 136；配列番号 112、および 89 または 137；配列番号 112、および 91 または 138；並びに、配列番号 112、および 113 または 139；あるいは、

30

40

50

【0099】

以下の配列対から選択される：配列番号19、および21または126；配列番号19、および120または141；配列番号119、および21または126；並びに、配列番号119、および120または141；あるいは、

【0100】

以下の配列対から選択される：配列番号25、および29または127；配列番号25、および123または142；配列番号122、および29または127；並びに、配列番号122、および123または142。

【0101】

言い換えれば、抗体またはその抗原結合性断片、誘導体もしくはバリエーションのVH配列およびVL配列は、特定の配列対のVH配列およびVL配列を含み、すなわち、各対は特定のVH配列および2つの特定のVL配列のうちの1つから構成される。

10

【0102】

好ましい実施形態では、抗体またはその抗原結合性断片、誘導体もしくはバリエーションは、配列番号4、49、51、53、55、57、59、61、63、65、67、69、71および112から選択される配列を含むVH配列を含む。

【0103】

別の好ましい実施形態では、抗体またはその抗原結合性断片、誘導体もしくはバリエーションは、配列番号8、124、73、128、75、129、77、130、79、131、81、132、83、133、85、134、87、136、89、137、91、138、113および139から選択される配列を含むVL配列を含む。

20

【0104】

一実施形態において、例えば、以下を含むヒト可変領域を有する抗体またはその抗原結合性断片、誘導体もしくはバリエーションが提供される：配列番号1のCDRH1、配列番号2のCDRH2、配列番号3または48または50または52または54または56または58または60または62または64または66または68または70のCDRH3、配列番号5のCDRL1、配列番号6のCDRL2、および配列番号7または72または74または76または78または80または82または84または86または88または90または135のCDRL3。この命名法を用いると、例えば「CDRH1」はVH鎖CDR1を意味する。

30

【0105】

一実施形態において、以下を含むヒト可変領域を有する抗体またはその抗原結合性断片、誘導体もしくはバリエーションが提供される：配列番号1のCDRH1、配列番号2のCDRH2、配列番号3のCDRH3、配列番号5のCDRL1、配列番号6のCDRL2、および配列番号7のCDRL3。

【0106】

一実施形態において、以下を含むヒト可変領域を有する抗体またはその抗原結合性断片、誘導体もしくはバリエーションが提供される：配列番号1のCDRH1、配列番号2のCDRH2、配列番号48のCDRH3、配列番号5のCDRL1、配列番号6のCDRL2、および配列番号7のCDRL3。

40

【0107】

一実施形態において、以下を含むヒト可変領域を有する抗体またはその抗原結合性断片、誘導体もしくはバリエーションが提供される：配列番号1のCDRH1、配列番号2のCDRH2、配列番号50のCDRH3、配列番号5のCDRL1、配列番号6のCDRL2、および配列番号7のCDRL3。

【0108】

一実施形態において、以下を含むヒト可変領域を有する抗体またはその抗原結合性断片、誘導体もしくはバリエーションが提供される：配列番号1のCDRH1、配列番号2のCDRH2、配列番号52のCDRH3、配列番号5のCDRL1、配列番号6のCDRL2、および配列番号7のCDRL3。

50

【0109】

一実施形態において、以下を含むヒト可変領域を有する抗体またはその抗原結合性断片、誘導体もしくはバリエントが提供される：配列番号1のCDRH1、配列番号2のCDRH2、配列番号54のCDRH3、配列番号5のCDRL1、配列番号6のCDRL2、および配列番号7のCDRL3。

【0110】

一実施形態において、以下を含むヒト可変領域を有する抗体またはその抗原結合性断片、誘導体もしくはバリエントが提供される：配列番号1のCDRH1、配列番号2のCDRH2、配列番号56のCDRH3、配列番号5のCDRL1、配列番号6のCDRL2、および配列番号7のCDRL3。

10

【0111】

一実施形態において、以下を含むヒト可変領域を有する抗体またはその抗原結合性断片、誘導体もしくはバリエントが提供される：配列番号1のCDRH1、配列番号2のCDRH2、配列番号58のCDRH3、配列番号5のCDRL1、配列番号6のCDRL2、および配列番号7のCDRL3。

【0112】

一実施形態において、以下を含むヒト可変領域を有する抗体またはその抗原結合性断片、誘導体もしくはバリエントが提供される：配列番号1のCDRH1、配列番号2のCDRH2、配列番号60のCDRH3、配列番号5のCDRL1、配列番号6のCDRL2、および配列番号7のCDRL3。

20

【0113】

一実施形態において、以下を含むヒト可変領域を有する抗体またはその抗原結合性断片、誘導体もしくはバリエントが提供される：配列番号1のCDRH1、配列番号2のCDRH2、配列番号62のCDRH3、配列番号5のCDRL1、配列番号6のCDRL2、および配列番号7のCDRL3。

【0114】

一実施形態において、以下を含むヒト可変領域を有する抗体またはその抗原結合性断片、誘導体もしくはバリエントが提供される：配列番号1のCDRH1、配列番号2のCDRH2、配列番号64のCDRH3、配列番号5のCDRL1、配列番号6のCDRL2、および配列番号7のCDRL3。

30

【0115】

一実施形態において、以下を含むヒト可変領域を有する抗体またはその抗原結合性断片、誘導体もしくはバリエントが提供される：配列番号1のCDRH1、配列番号2のCDRH2、配列番号66のCDRH3、配列番号5のCDRL1、配列番号6のCDRL2、および配列番号7のCDRL3。

【0116】

一実施形態において、以下を含むヒト可変領域を有する抗体またはその抗原結合性断片、誘導体もしくはバリエントが提供される：配列番号1のCDRH1、配列番号2のCDRH2、配列番号68のCDRH3、配列番号5のCDRL1、配列番号6のCDRL2、および配列番号7のCDRL3。

40

【0117】

一実施形態において、以下を含むヒト可変領域を有する抗体またはその抗原結合性断片、誘導体もしくはバリエントが提供される：配列番号1のCDRH1、配列番号2のCDRH2、配列番号70のCDRH3、配列番号5のCDRL1、配列番号6のCDRL2、および配列番号7のCDRL3。

【0118】

一実施形態において、以下を含むヒト可変領域を有する抗体またはその抗原結合性断片、誘導体もしくはバリエントが提供される：配列番号1のCDRH1、配列番号2のCDRH2、配列番号3のCDRH3、配列番号5のCDRL1、配列番号6のCDRL2、および配列番号72のCDRL3。

50

【0119】

一実施形態において、以下を含むヒト可変領域を有する抗体またはその抗原結合性断片、誘導体もしくはバリエントが提供される：配列番号1のCDRH1、配列番号2のCDRH2、配列番号3のCDRH3、配列番号5のCDRL1、配列番号6のCDRL2、および配列番号74のCDRL3。

【0120】

一実施形態において、以下を含むヒト可変領域を有する抗体またはその抗原結合性断片、誘導体もしくはバリエントが提供される：配列番号1のCDRH1、配列番号2のCDRH2、配列番号3のCDRH3、配列番号5のCDRL1、配列番号6のCDRL2、および配列番号76のCDRL3。

10

【0121】

一実施形態において、以下を含むヒト可変領域を有する抗体またはその抗原結合性断片、誘導体もしくはバリエントが提供される：配列番号1のCDRH1、配列番号2のCDRH2、配列番号3のCDRH3、配列番号5のCDRL1、配列番号6のCDRL2、および配列番号78のCDRL3。

【0122】

一実施形態において、以下を含むヒト可変領域を有する抗体またはその抗原結合性断片、誘導体もしくはバリエントが提供される：配列番号1のCDRH1、配列番号2のCDRH2、配列番号3のCDRH3、配列番号5のCDRL1、配列番号6のCDRL2、および配列番号80のCDRL3。

20

【0123】

一実施形態において、以下を含むヒト可変領域を有する抗体またはその抗原結合性断片、誘導体もしくはバリエントが提供される：配列番号1のCDRH1、配列番号2のCDRH2、配列番号3のCDRH3、配列番号5のCDRL1、配列番号6のCDRL2、および配列番号82のCDRL3。

【0124】

一実施形態において、以下を含むヒト可変領域を有する抗体またはその抗原結合性断片、誘導体もしくはバリエントが提供される：配列番号1のCDRH1、配列番号2のCDRH2、配列番号3のCDRH3、配列番号5のCDRL1、配列番号6のCDRL2、および配列番号84のCDRL3。

30

【0125】

一実施形態において、以下を含むヒト可変領域を有する抗体またはその抗原結合性断片、誘導体もしくはバリエントが提供される：配列番号1のCDRH1、配列番号2のCDRH2、配列番号3のCDRH3、配列番号5のCDRL1、配列番号6のCDRL2、および配列番号86のCDRL3。

【0126】

一実施形態において、以下を含むヒト可変領域を有する抗体またはその抗原結合性断片、誘導体もしくはバリエントが提供される：配列番号1のCDRH1、配列番号2のCDRH2、配列番号3のCDRH3、配列番号5のCDRL1、配列番号6のCDRL2、および配列番号88のCDRL3。

40

【0127】

一実施形態において、以下を含むヒト可変領域を有する抗体またはその抗原結合性断片、誘導体もしくはバリエントが提供される：配列番号1のCDRH1、配列番号2のCDRH2、配列番号3のCDRH3、配列番号5のCDRL1、配列番号6のCDRL2、および配列番号90のCDRL3。

【0128】

一実施形態において、以下を含むヒト可変領域を有する抗体またはその抗原結合性断片、誘導体もしくはバリエントが提供される：配列番号1のCDRH1、配列番号2のCDRH2、配列番号3のCDRH3、配列番号5のCDRL1、配列番号6のCDRL2、および配列番号135のCDRL3。

50

【0129】

一実施形態において、以下を含むヒト可変領域を有する抗体またはその抗原結合性断片、誘導体もしくはバリエーションが提供される：配列番号9のCDRH1、配列番号10のCDRH2、配列番号11または30または32または34または38または40または42または44または46のCDRH3、配列番号5のCDRL1、配列番号13のCDRL2、および配列番号14のCDRL3。

【0130】

一実施形態において、以下を含むヒト可変領域を有する抗体またはその抗原結合性断片、誘導体もしくはバリエーションが提供される：配列番号9のCDRH1、配列番号10のCDRH2、配列番号11のCDRH3、配列番号5のCDRL1、配列番号13のCDRL2、および配列番号14のCDRL3。

10

【0131】

一実施形態において、以下を含むヒト可変領域を有する抗体またはその抗原結合性断片、誘導体もしくはバリエーションが提供される：配列番号9のCDRH1、配列番号10のCDRH2、配列番号30のCDRH3、配列番号5のCDRL1、配列番号13のCDRL2、および配列番号14のCDRL3。

【0132】

一実施形態において、以下を含むヒト可変領域を有する抗体またはその抗原結合性断片、誘導体もしくはバリエーションが提供される：配列番号9のCDRH1、配列番号10のCDRH2、配列番号11のCDRH3、配列番号5のCDRL1、配列番号13のCDRL2、および配列番号14のCDRL3。

20

【0133】

一実施形態において、以下を含むヒト可変領域を有する抗体またはその抗原結合性断片、誘導体もしくはバリエーションが提供される：配列番号9のCDRH1、配列番号10のCDRH2、配列番号32のCDRH3、配列番号5のCDRL1、配列番号13のCDRL2、および配列番号14のCDRL3。

【0134】

一実施形態において、以下を含むヒト可変領域を有する抗体またはその抗原結合性断片、誘導体もしくはバリエーションが提供される：配列番号9のCDRH1、配列番号10のCDRH2、配列番号34のCDRH3、配列番号5のCDRL1、配列番号13のCDRL2、および配列番号14のCDRL3。

30

【0135】

一実施形態において、以下を含むヒト可変領域を有する抗体またはその抗原結合性断片、誘導体もしくはバリエーションが提供される：配列番号9のCDRH1、配列番号10のCDRH2、配列番号38のCDRH3、配列番号5のCDRL1、配列番号13のCDRL2、および配列番号14のCDRL3。

【0136】

一実施形態において、以下を含むヒト可変領域を有する抗体またはその抗原結合性断片、誘導体もしくはバリエーションが提供される：配列番号9のCDRH1、配列番号10のCDRH2、配列番号40のCDRH3、配列番号5のCDRL1、配列番号13のCDRL2、および配列番号14のCDRL3。

40

【0137】

一実施形態において、以下を含むヒト可変領域を有する抗体またはその抗原結合性断片、誘導体もしくはバリエーションが提供される：配列番号9のCDRH1、配列番号10のCDRH2、配列番号42のCDRH3、配列番号5のCDRL1、配列番号13のCDRL2、および配列番号14のCDRL3。

【0138】

一実施形態において、以下を含むヒト可変領域を有する抗体またはその抗原結合性断片、誘導体もしくはバリエーションが提供される：配列番号9のCDRH1、配列番号10のCDRH2、配列番号44のCDRH3、配列番号5のCDRL1、配列番号13のCDRL2、および配列番号14のCDRL3。

50

L 2、および配列番号 1 4 の C D R L 3。

【 0 1 3 9 】

一実施形態において、以下を含むヒト可変領域を有する抗体またはその抗原結合性断片、誘導体もしくはバリエーションが提供される：配列番号 9 の C D R H 1、配列番号 1 0 の C D R H 2、配列番号 4 6 の C D R H 3、配列番号 5 の C D R L 1、配列番号 1 3 の C D R L 2、および配列番号 1 4 の C D R L 3。

【 0 1 4 0 】

一実施形態において、以下を含むヒト可変領域を有する抗体またはその抗原結合性断片、誘導体もしくはバリエーションが提供される：配列番号 1 6 の C D R H 1、配列番号 1 7 の C D R H 2、配列番号 1 8 の C D R H 3、配列番号 5 の C D R L 1、配列番号 1 3 の C D R L 2、および配列番号 2 0 の C D R L 3。

10

【 0 1 4 1 】

一実施形態において、以下を含むヒト可変領域を有する抗体またはその抗原結合性断片、誘導体もしくはバリエーションが提供される：配列番号 2 2 の C D R H 1、配列番号 2 3 の C D R H 2、配列番号 2 4 の C D R H 3、配列番号 2 6 の C D R L 1、配列番号 2 7 の C D R L 2、および配列番号 2 8 の C D R L 3。

【 0 1 4 2 】

さらなる好ましい実施形態では、抗体またはその抗原結合性断片、誘導体もしくはバリエーションは、配列番号 4 または 1 1 2 の配列を含む V H 配列を含む。

【 0 1 4 3 】

別の好ましい実施形態では、抗体またはその抗原結合性断片、誘導体もしくはバリエーションは、配列番号 5 5 の配列を含む V H 配列を含む。

20

【 0 1 4 4 】

さらなる好ましい実施形態では、抗体またはその抗原結合性断片、誘導体もしくはバリエーションは、配列番号 1 2、3 1、3 3、3 5、3 7、3 9、4 1、4 3、4 5、4 7 および 1 1 5 から選択される配列を含む V H 配列を含む。

【 0 1 4 5 】

別の好ましい実施形態では、抗体またはその抗原結合性断片、誘導体もしくはバリエーションは、配列番号 1 2 または 1 1 5 の配列を含む V H 配列を含む。

【 0 1 4 6 】

別の好ましい実施形態では、抗体またはその抗原結合性断片、誘導体もしくはバリエーションは、配列番号 3 1 の配列を含む V H 配列を含む。

30

【 0 1 4 7 】

別の好ましい実施形態では、抗体またはその抗原結合性断片、誘導体もしくはバリエーションは、配列番号 3 7 の配列を含む V H 配列を含む。

【 0 1 4 8 】

所望により、抗体またはその抗原結合性断片、誘導体もしくはバリエーションは、配列番号 8、1 2 4、1 1 3 または 1 3 9 の配列を含む V L 配列をさらに含む。

【 0 1 4 9 】

所望により、抗体またはその抗原結合性断片、誘導体もしくはバリエーションは配列番号 4 または 1 1 2 の配列を含む V H 配列をさらに含む。

40

【 0 1 5 0 】

所望により、抗体またはその抗原結合性断片、誘導体もしくはバリエーションは、配列番号 1 5、1 2 5、1 1 7 または 1 4 0 の配列を含む V L 配列をさらに含む。

【 0 1 5 1 】

好ましい実施形態では、抗体またはその抗原結合性断片、誘導体もしくはバリエーションは以下を含む：配列番号 3 7 の配列を含む V H 配列；および配列番号 1 5 の配列を含む V L 配列。

【 0 1 5 2 】

好ましい実施形態では、抗体またはその抗原結合性断片、誘導体もしくはバリエーションは

50

以下を含む：配列番号 3 7 の配列を含む V H 配列；および配列番号 1 2 5 の配列を含む V L 配列。

【 0 1 5 3 】

好ましい実施形態では、抗体またはその抗原結合性断片、誘導体もしくはバリエーションは以下を含む：配列番号 3 1 の配列を含む V H 配列；および配列番号 1 5 の配列を含む V L 配列。

【 0 1 5 4 】

好ましい実施形態では、抗体またはその抗原結合性断片、誘導体もしくはバリエーションは以下を含む：配列番号 3 1 の配列を含む V H 配列；および配列番号 1 2 5 の配列を含む V L 配列。

10

【 0 1 5 5 】

好ましい実施形態では、抗体またはその抗原結合性断片、誘導体もしくはバリエーションは以下を含む：配列番号 5 5 の配列を含む V H 配列；および配列番号 8 の配列を含む V L 配列。

【 0 1 5 6 】

好ましい実施形態では、抗体またはその抗原結合性断片、誘導体もしくはバリエーションは以下を含む：配列番号 5 5 の配列を含む V H 配列；および配列番号 1 2 4 の配列を含む V L 配列。

【 0 1 5 7 】

好ましい実施形態では、抗体またはその抗原結合性断片、誘導体もしくはバリエーションは以下を含む：配列番号 4 の配列を含む V H 配列；および配列番号 8 の配列を含む V L 配列。

20

【 0 1 5 8 】

好ましい実施形態では、抗体またはその抗原結合性断片、誘導体もしくはバリエーションは以下を含む：配列番号 4 の配列を含む V H 配列；および配列番号 1 2 4 の配列を含む V L 配列。

【 0 1 5 9 】

好ましい実施形態では、抗体またはその抗原結合性断片、誘導体もしくはバリエーションは以下を含む：配列番号 1 2 の配列を含む V H 配列；および配列番号 1 5 の配列を含む V L 配列。

30

【 0 1 6 0 】

好ましい実施形態では、抗体またはその抗原結合性断片、誘導体もしくはバリエーションは以下を含む：配列番号 1 2 の配列を含む V H 配列；および配列番号 1 2 5 の配列を含む V L 配列。

【 0 1 6 1 】

好ましい実施形態では、抗体またはその抗原結合性断片、誘導体もしくはバリエーションは以下を含む：配列番号 1 9 の配列を含む V H 配列；および配列番号 2 1 の配列を含む V L 配列。

【 0 1 6 2 】

好ましい実施形態では、抗体またはその抗原結合性断片、誘導体もしくはバリエーションは以下を含む：配列番号 1 9 の配列を含む V H 配列；および配列番号 1 2 6 の配列を含む V L 配列。

40

【 0 1 6 3 】

好ましい実施形態では、抗体またはその抗原結合性断片、誘導体もしくはバリエーションは以下を含む：配列番号 2 5 の配列を含む V H 配列；および配列番号 2 9 の配列を含む V L 配列。

【 0 1 6 4 】

好ましい実施形態では、抗体またはその抗原結合性断片、誘導体もしくはバリエーションは以下を含む：配列番号 2 5 の配列を含む V H 配列；および配列番号 1 2 7 の配列を含む V L 配列。

50

【0165】

別の好ましい実施形態では、抗体またはその抗原結合性断片、誘導体もしくはバリエーションは以下を含む：配列番号9の配列に対応するVH CDR1配列；配列番号10または配列番号116の配列に対応するVH CDR2配列；配列番号5の配列に対応するVL CDR1配列；配列番号13または配列番号118の配列に対応するVL CDR2配列；配列番号14の配列に対応するVL CDR3配列；および配列番号：11、36、30、32、34、38、40、42、44または46から選択される配列に対応するVH CDR3配列。VH CDR3配列は配列番号11または配列番号36の配列に対応することが好ましい。VH CDR3配列は配列番号36の配列に対応することがさらに好ましい。

10

【0166】

別の好ましい実施形態では、抗体またはその抗原結合性断片、誘導体もしくはバリエーションは以下を含む：配列番号1の配列に対応するVH CDR1配列；配列番号2の配列に対応するVH CDR2配列；配列番号5の配列に対応するVL CDR1配列；配列番号6または配列番号114の配列に対応するVL CDR2配列；配列番号7の配列に対応するVL CDR3配列；および配列番号：3、48、50、52、54、56、58、60、62、64、66、68または70から選択される配列に対応するVH CDR3配列。VH CDR3配列は配列番号3または配列番号54の配列に対応することが好ましい。VH CDR3配列は配列番号54の配列に対応することがさらに好ましい。

20

【0167】

末端残基が本明細書で開示される軽鎖可変領域配列におけるアルギニン（R）である場合、それが定常領域の最初のアミノ酸であることは、当業者には明らかである。従って、一実施形態において、末端残基（それが定常領域由来のアルギニン（R）である場合）が存在しない軽鎖可変領域配列が提供される。

【0168】

本発明の第一の態様の抗体またはその抗原結合性断片、誘導体もしくはバリエーションは、テネインCの転写、翻訳および/または結合特性を変化させることにより、テネインCの生物活性を調節し得る。

【0169】

このような抗体は、例えば以下の、当該技術分野において周知の方法を用いることで特定され得る：

30

【0170】

- (a) 例えばサザンブロッティングもしくは関連のハイブリダイゼーション法による、テネインCの発現レベルに対する試験抗体の影響の測定；
- (b) 例えば抗テネインC抗体を用いたイムノアッセイによる、テネインCタンパク質のレベルに対する試験抗体の影響の測定；並びに
- (c) 例えば実施例の方法による、機能的マーカー、すなわちテネインC活性の結果に対する試験抗体の影響の測定。

【0171】

本発明の第一の態様の抗体またはその抗原結合性断片、誘導体もしくはバリエーションは、テネインCの生物活性を下方制御し得る。

40

【0172】

本発明の第一の態様の抗体またはその抗原結合性断片、誘導体もしくはバリエーションは、テネインCの生物活性を上方制御し得る。免疫性および炎症性の分子および細胞の上方制御活性の望ましさは、免疫不全および炎症性の患者に対する治療の作製、並びにワクチンの開発と関連している（Harandi(2009)を参照）。

【0173】

本発明の第一の態様の抗体またはその抗原結合性断片、誘導体もしくはバリエーションは、テネインCの転写の阻害剤であり得る。

50

【 0 1 7 4 】

本発明の第一の態様の抗体またはその抗原結合性断片、誘導体もしくはバリエントは、テネインCの翻訳の阻害剤であり得る。

【 0 1 7 5 】

本発明の第一の態様の抗体またはその抗原結合性断片、誘導体もしくはバリエントは、テネインCの結合特性の阻害剤であり得る。例えば、抗体またはその抗原結合性断片、誘導体もしくはバリエントは、テネインCの高次構造を、テネインCがその受容体（複数可）に結合できないように変化させ得る。

【 0 1 7 6 】

本発明の第一の態様の抗体またはその抗原結合性断片、誘導体もしくはバリエントは、テネインCの競合的結合阻害剤であり得る。当業者には理解されることであるが、抗体またはその抗原結合性断片、誘導体もしくはバリエントは、直接的に（テネインC受容体拮抗薬として機能することにより）、または間接的に（中間分子または補助分子と結合することにより）、テネインC受容体の機能を遮断することによっても、テネインCの生物活性を阻害し得る。

10

【 0 1 7 7 】

本発明の第一の態様の抗体またはその抗原結合性断片、誘導体もしくはバリエントは、TLR-4受容体の拮抗薬であり得る。TLR4の拮抗薬には、間接的な拮抗作用が含まれる。その抗原結合性断片、誘導体またはバリエントは、TLR4のテネインC活性化、またはあらゆる他の受容体のテネインC活性化も、妨げ得る。

20

【 0 1 7 8 】

当業者には理解されることであるが、本発明の抗体またはその抗原結合性断片、誘導体もしくはバリエントによるテネインCの生物活性の阻害は、全体的または部分的であり得る。例えば、抗体またはその抗原結合性断片、誘導体もしくはバリエントは、テネインCの生物活性を、抗体またはその抗原結合性断片、誘導体もしくはバリエントに暴露されていない炎症性細胞上でのテネインCの生物活性と比較して、少なくとも10%、好ましくは少なくとも20%、30%、40%、50%、60%、70%、80%または90%、最も好ましくは100%阻害し得る。

【 0 1 7 9 】

本発明の第一の態様の抗体またはその抗原結合性断片、誘導体もしくはバリエントは、ポリクローナル抗体またはモノクローナル抗体から選択され得る。

30

【 0 1 8 0 】

抗体またはその抗原結合性断片、誘導体もしくはバリエントは、テネインCの活性部位に実質的に可逆的にまたは実質的に不可逆的に結合し得る。さらなる例では、抗体またはその抗原結合性断片、誘導体もしくはバリエントは、リガンドまたは受容体へのテネインCの結合を妨げるように、活性部位ではないテネインCの一部に結合し得る。さらに別の例では、抗体またはその抗原結合性断片、誘導体もしくはバリエントは、アロステリック効果によってタンパク質の活性を低減するように、テネインCの一部に結合し得る。このアロステリック効果は、テネインCの活性の自然調節、例えば、「上流活性化配列」によるテネインCの活性化、に關与しているアロステリック効果であり得る。

40

【 0 1 8 1 】

試験抗体またはその抗原結合性断片、誘導体もしくはバリエントとテネインCとの間の相互作用を検出するための方法は当該技術分野において周知である。

【 0 1 8 2 】

例えば、イオンスプレー質量分析/ HPLC法または他の物理的方法および分析法を用いた限外濾過が使用され得る。さらに、蛍光共鳴エネルギー転移（Fluorescence Energy Resonance Transfer）（FRET）法が使用され得、この方法では、2つの蛍光標識された独立体の結合性が、互いにすぐそばにある場合の蛍光標識同士の相互作用を測定することにより測定され得る。

【 0 1 8 3 】

50

高分子（例えばDNA、RNA、タンパク質およびリン脂質）に対するポリペプチドの結合性を検出する別の方法としては、例えばPlant et al., 1995, *Analyt Biochem* 226(2), 342-348に記載される、表面プラズモン共鳴アッセイが挙げられる。方法では、標識された（例えば放射性標識または蛍光標識を有する）ポリペプチドが利用される。

【0184】

ポリペプチドに結合することが可能な抗体またはその抗原結合性断片、誘導体もしくはバリエーションを特定するさらなる方法は、ポリペプチドが抗体またはその抗原結合性断片、誘導体もしくはバリエーションに暴露され、前記ポリペプチドへの前記化合物のあらゆる結合が検出および/または測定される方法である。ポリペプチドに対する抗体またはその抗原結合性断片、誘導体もしくはバリエーションの結合の結合定数が決定され得る。ポリペプチドへの抗体またはその抗原結合性断片、誘導体もしくはバリエーションの結合を検出および/または測定（定量化）するのに適した方法は当業者に周知であり、例えば、ハイスループット操作（例えばチップを用いた方法）が可能な方法を用いて実行され得る。VLSIPS（商標）と呼ばれる新技術により、数十万以上の異なる分子プローブを含有する極小チップの生産が可能となった。これらの生物学的チップまたはアレイは、アレイ内に配列されたプローブを有し、各プローブには特定の位置が指定されている。各位置が例えば10ミクロンの規模を有する生物学的チップが生産されている。前記チップを用いることで、標的分子がチップ上のプローブのいずれかと相互作用するかどうかを判定することができる。選択された試験条件下でアレイを標的分子に暴露した後、走査装置がアレイ内の各位置を調べ、標的分子がその位置のプローブと相互作用しているかどうかを判定し得る。

10

20

【0185】

テネイシンCに対して結合親和性を有する抗体またはその抗原結合性断片、誘導体もしくはバリエーションを特定する別の方法は酵母ツーハイブリッド法であり、この方法では、本発明のポリペプチドを用いることで、テネイシンCと結合するタンパク質を「捕捉」することができる。酵母ツーハイブリッド法はFields & Song, *Nature* 340:245-246 (1989)に記載されている。

【0186】

抗体またはその抗原結合性断片、誘導体もしくはバリエーションは、抗体を模倣した高親和性分子（いわゆる、「アフィボディ（affibody）」）であり得る（例えば、米国特許第5,831,012号およびwww.affibody.seを参照）。これらのリガンドは、プロテインA（黄色ブドウ球菌（*Staphylococcus aureus*）に由来する表面タンパク質）のIgG結合ドメインのうちの1つの足場に基づいた3ヘリックスバンドルから構成される、小さく単純なタンパク質である。この足場は親和性リガンドとして優れた性質を有しており、あらゆる所与の標的タンパク質に高い親和性で結合するように設計することができる。

30

【0187】

本発明の第一の態様の抗体またはその抗原結合性断片、誘導体もしくはバリエーションは、Toll様受容体4（TLR4）もしくは他の受容体、Toll様受容体4の補助受容体、またはそれらの他の受容体の補助受容体のテネイシンC活性化を妨げ得る。

【0188】

TLR4等の一次受容体に対する補助受容体は、リガンドの認識および結合を促進し、受容体結合から生じる生物学的プロセスを開始/維持するために、一次受容体へのシグナル伝達分子の結合を補助する。

40

【0189】

本発明の第一の態様の抗体またはその抗原結合性断片、誘導体もしくはバリエーションは、好ましくは、テネイシンCのFBGドメインに対する特異性を有し得る。

【0190】

本発明の第二の態様において、本発明の第一の態様において定義された抗体またはその抗原結合性断片、誘導体もしくはバリエーション、並びに薬剤的に許容できる担体、賦形剤および/または希釈剤を含む組成物が提供される。

【0191】

50

当業者には理解されることであるが、このような有効量の抗体またはその抗原結合性断片、誘導体もしくはバリエーションまたはその製剤は、単回ボラス投与（すなわち、急性投与）として、または、より好ましくは、長期の一連の投与（すなわち、慢性投与）として、送達され得る。

【0192】

本発明の抗体またはその抗原結合性断片、誘導体もしくはバリエーションは、使用されている化合物の有効性/毒性およびそれが使用されている適応症に応じて、種々の濃度で製剤化することができる。製剤は、本発明の抗体またはその抗原結合性断片、誘導体もしくはバリエーションを、 $0.1 \mu\text{M} \sim 1 \text{mM}$ 、より好ましくは $1 \mu\text{M} \sim 100 \mu\text{M}$ 、 $5 \mu\text{M} \sim 50 \mu\text{M}$ 、 $10 \mu\text{M} \sim 50 \mu\text{M}$ 、 $20 \mu\text{M} \sim 40 \mu\text{M}$ 、最も好ましくは約 $30 \mu\text{M}$ の濃度で含むことが好ましい。あるいは、 $60 \mu\text{M} \sim 70 \mu\text{M}$ 、好ましくは約 $67 \mu\text{M}$ 。インビトロ適用においては、製剤はより低濃度（例えば $0.0025 \mu\text{M} \sim 1 \mu\text{M}$ ）の本発明の化合物を含み得る。

10

【0193】

当業者には理解されることであるが、本発明の抗体またはその抗原結合性断片、誘導体もしくはバリエーションは、概して、予定された投与経路および標準的薬務に関して選択された適切な医薬品賦形剤 希釈剤または担体と混合して投与されることになる（例えば、Remington: The Science and Practice of Pharmacy, 19th edition, 1995, Ed. Alfonso Gennaro, Mack Publishing Company, Pennsylvania, USAを参照）。

【0194】

例えば、本発明の抗体またはその抗原結合性断片、誘導体もしくはバリエーションは、即効型、緩効型または徐放型の適用のために、香味剤または着色剤を含有していてもよい錠剤、カプセル剤、膈坐剤（ovules）、エリキシル剤、水剤または懸濁剤の形態で、経口投与、頬側投与または舌下投与することができる。本発明の抗体またはその抗原結合性断片、誘導体もしくはバリエーションは海綿体注射（intracavernosal injection）により投与されてもよい。

20

【0195】

このような錠剤は、微結晶性セルロース、ラクトース、クエン酸ナトリウム、炭酸カルシウム、リン酸水素カルシウムおよびグリシン等の賦形剤、デンプン（好ましくはトウモロコシ、ジャガイモまたはタピオカデンプン）、グリコール酸デンプンナトリウム（sodium starch glycollate）、クロスカルメロースナトリウムおよびある種の複合ケイ酸塩等の崩壊剤、並びに、ポリビニルピロリドン、ヒドロキシプロピルメチルセルロース（HPMC）、ヒドロキシプロピルセルロース（HPC）、スクロース、ゼラチンおよびアカシア等の造粒結合剤を含んでいてもよい。さらに、ステアリン酸マグネシウム、ステアリン酸、ベヘン酸グリセリルおよび滑石等の滑沢剤が含まれていてもよい。

30

【0196】

同じような種類の固体組成物をゼラチンカプセル内の充填剤として使用してもよい。これに関して好ましい賦形剤としては、ラクトース、デンプン、セルロース、乳糖または高分子量ポリエチレングリコールが挙げられる。水性懸濁剤および/またはエリキシル剤において、本発明の化合物は、種々の甘味剤もしくは芳香剤、着色剤または色素と、乳化剤および/または懸濁化剤と、並びに、水、エタノール、プロピレングリコールおよびグリセリン等の希釈剤並びにこれらの組合せと、組み合わせられてもよい。

40

【0197】

本発明の抗体またはその抗原結合性断片、誘導体もしくはバリエーションは、非経口的に、例えば、静脈内、関節内、動脈内、腹腔内、くも膜下腔内、脳室内、胸骨内、頭蓋内、筋肉内または皮下に投与することもでき、あるいは、本発明の薬剤は点滴法によって投与されてもよい。本発明の抗体またはその抗原結合性断片、誘導体もしくはバリエーションは、他の物質、例えば、溶液を血液と等張にするのに十分な塩またはグルコースを含有していてもよい無菌水溶液の形態で、最も良好に使用される。前記水溶液は、必要であれば、適切に緩衝化（好ましくはpH 3 ~ 9に）されるべきである。無菌条件下での適切な非経口製

50

剤の調製は、当業者に周知の標準的な製薬技術によって容易に達成される。

【0198】

非経口投与に適した製剤としては、抗酸化剤、緩衝液、静菌剤および製剤を予定受容者の血液と等張にする溶質を含有していてもよい水性および非水性の無菌注射液；並びに懸濁化剤および粘稠化剤を含んでいてもよい水性および非水性の無菌懸濁液が挙げられる。製剤は単位投与または多回投与用の容器（例えば、密封されたアンプルおよびバイアル）内で提供されてもよく、使用の直前に無菌液体担体（例えば、注射用蒸留水）の添加のみを必要とする凍結乾燥された状態で貯蔵されてもよい。即席の注射液および懸濁液は、前述のような無菌の散剤、粒剤および錠剤から調製されてもよい。

【0199】

例となるアプローチ：

- 1) 水性製剤中の凝集を阻害するために加えられる、緩衝液および界面活性剤（通常は Tween）等の賦形剤。
- 2) 凝固様塊（cake）に容積、安定性および美容的魅力（cosmetic appeal）を与えるための適切な賦形剤による凍結乾燥。
- 3) トレハロース等の化合物を用いたガラス状の星（glassy star）の形成。

【0200】

ヒト患者に対する経口投与および非経口投与、または他の投与経路において、本発明の抗体またはその抗原結合性断片、誘導体もしくはバリエーションの一日投与量レベルは、通常、成人1人当たり1～1000mg（すなわち、約0.015～15mg/kg）となり、単一用量または分割用量で投与されることになる。

【0201】

一例として、投与量レベルは約0.5mg/kg～約10mg/kgであり得、投与計画は週に2または3回であり得、投与は静脈内投与であり得る。

【0202】

本発明の抗体またはその抗原結合性断片、誘導体もしくはバリエーションは、鼻腔内に、または吸入によって投与することもでき、適切な噴霧剤、例えば、ジクロロジフルオロメタン、トリクロロフルオロメタン、ジクロロテトラフルオロエタン、ヒドロフルオロアルカン、例えば、1,1,1,2-テトラフルオロエタン（HFA134A3）もしくは1,1,1,2,3,3,3-ヘプタフルオロプロパン（HFA227EA3）、二酸化炭素または他の適切な気体を用いて、加圧容器、ポンプ、スプレーまたはネブライザーから、ドライパウダー吸入器またはエアロゾルスプレー形（aerosol spray presentation）の形式で送達されることが好都合である。加圧エアロゾルの場合、計量された量を送達する弁を備えることにより、投与単位が決定されてもよい。加圧容器、ポンプ、スプレーまたはネブライザーは、例えば、エタノールおよび噴霧剤の混合物を溶媒として用いる活性抗体またはその抗原結合性断片、誘導体もしくはバリエーションの溶液または懸濁液を含有していてもよく、さらに、滑沢剤（例えば、ソルビタントリオレート）を含有していてもよい。吸入器または吹入れ器で用いるカプセル剤およびカートリッジ剤（例えば、ゼラチン製）は、本発明の化合物およびラクトースまたはデンプン等の適切な粉末基剤の混合粉末を含有するように処方されてもよい。

【0203】

エアロゾルまたは乾燥粉末製剤は、各々の計量された用量または「ひと吹き」が患者への送達のために少なくとも1mgの本発明の抗体またはその抗原結合性断片、誘導体もしくはバリエーションを含有するように、準備されることが好ましい。エアロゾルによる全一日量が、患者によって異なり、単一用量で投与されてもよく、あるいは、より一般的に1日を通じた分割用量で投与されてもよいことは理解されよう。

【0204】

あるいは、本発明の抗体またはその抗原結合性断片、誘導体もしくはバリエーションは座薬または膈坐薬の形態で投与することができ、あるいは、ローション剤、水剤、クリーム剤、軟膏剤または散布粉剤の形態で局所適用されてもよい。本発明の化合物は、例えば、皮

10

20

30

40

50

膚用パッチ剤の使用により、経皮投与されてもよい。また、それらは、経眼経路で投与されてもよい。

【0205】

眼用に、本発明の抗体またはその抗原結合性断片、誘導体もしくはバリエーションは、等張のpH調整した無菌食塩水中の微粉化懸濁剤として、または、好ましくは、所望により塩化ベンザルコニウム (benzylalkonium chloride) 等の保存剤と組み合わされた等張のpH調整した無菌食塩水中の水剤として、製剤化することができる。あるいは、本発明の薬剤はワセリン等の軟膏剤中で製剤化されてもよい。

【0206】

皮膚への局所適用のために、本発明の抗体またはその抗原結合性断片、誘導体もしくはバリエーションは、例えば、以下のうちの一つまたは複数との混合物中に懸濁または溶解された本活性化合物を含有する適切な軟膏剤として製剤化することができる：ミネラルオイル、流動パラフィン、白色ワセリン、プロピレングリコール、ポリオキシエチレンポリオキシプロピレン化合物、乳化ろうおよび水。あるいは、本発明の抗体またはその抗原結合性断片、誘導体もしくはバリエーションは、例えば、以下のうちの一つまたは複数の混合物中に懸濁または溶解された適切なローション剤またはクリーム剤として製剤化することができる：ミネラルオイル、モノステアリン酸ソルビタン、ポリエチレングリコール、流動パラフィン、ポリソルベート60、セチルエステルワックス、セテアリルアルコール、2-オクチルドデカノール、ベンジルアルコールおよび水。

10

【0207】

口内の局所投与に適した製剤としては、風味付けした基剤（通常はスクロースおよびアカシアまたはトラガント）中に活性成分を含む菓子錠剤；不活性な基材（例えば、ゼラチンおよびグリセリン、またはスクロースおよびアカシア）中に活性成分を含むパステル剤；並びに適切な液体担体中に活性成分を含む含嗽剤が挙げられる。

20

【0208】

ミクロスフェア等の徐放性薬物送達システムを用いることが好ましい場合がある。これらは特に注射の頻度を減少させるように設計されている。このようなシステムの一例は、注射後に長期に亘ってゆっくりとrhGHを放出する生分解性ミクロスフェア中に組換えヒト成長ホルモン (rhGH) を封入している、Nutropin Depotである。

【0209】

あるいは、本発明の抗体またはその抗原結合性断片、誘導体もしくはバリエーションは、必要な部位に薬剤を直接放出する外科的に埋め込まれた装置によって投与することができる。

30

【0210】

抗体またはその抗原結合性断片、誘導体もしくはバリエーションの投与に、電気穿孔療法 (EPT) システムも使用することができる。パルス電場を細胞に送達する装置により、薬剤に対する細胞膜の透過性が増加され、その結果、細胞内薬物送達の有意な増強がもたらされる。

【0211】

抗体またはその抗原結合性断片、誘導体もしくはバリエーションは電気的取り込み (electroincorporation) (EI) によって送達することもできる。EIは、皮膚表面上の直径30ミクロン以下の小粒子がエレクトロポレーションで使用される電気パルスと同一のまたは類似した電気パルスを受けた場合に起こる。EIにおいて、これらの粒子は角質層を通過して皮膚のより深い層に駆り立てられる。前記粒子は、薬剤もしくは遺伝子を搭載する、または薬剤もしくは遺伝子で被覆することができ、あるいは、単純に、薬剤が進入することが可能な細孔を皮膚につくり出す「弾」として作用し得る。

40

【0212】

抗体またはその抗原結合性断片、誘導体もしくはバリエーションの別の送達法は、温度感受性のReGel注射液である。ReGelは、体温以下では注射可能な液体であるが、体温の温度では直ちに、公知の安全な生分解性高分子へとゆっくりと腐食および溶解するゲ

50

ルレザバー (gel reservoir) を形成する。活性薬剤は、生体高分子が溶解するのに伴い長い時間をかけて送達される。

【0213】

抗体またはその抗原結合性断片、誘導体もしくはバリエーションの医薬品は、経口的に送達することもできる。1つのそのような系は、身体におけるビタミンB12を経口摂取するための自然プロセスを利用することで、タンパク質およびポリペプチドを共送達する。ビタミンB12取り込み系に乗ることで、タンパク質またはポリペプチドは腸壁を通過することができる。ビタミンB12類似体と薬剤との複合体が形成され、この複合体は、複合体のビタミンB12部分において内因子 (IF) に対する有意な親和性を、そして複合体の薬剤部分において有意な生理活性を同時に保持する。

10

【0214】

本発明の第二の態様の組成物は、少なくとも1つの他の作用剤をさらに含み得る。

【0215】

そのようなさらなる作用剤は抗炎症剤であり得、例えば、限定はされないが、非ステロイド系抗炎症剤 (NSAID)、疾患修飾性抗リウマチ薬 (DMARD)、スタチン (例えば、シンバスタチン等のHMG-CoA還元酵素阻害剤)、生物学的作用物質 (生物学的製剤)、ステロイド、免疫抑制剤、サリチル酸および/または殺菌剤が挙げられる。非ステロイド系抗炎症剤としては、代謝拮抗剤 (例えば、メトトレキサート) および抗炎症性金薬剤 (anti-inflammatory gold agent) (例えば、金チオリンゴ酸ナトリウム、金チオリンゴ酸塩または金塩 (例えば、オーラノフィン)) が挙げられる。生物学的製剤としては、抗TNF剤 (例えば、アダリムマブ、エタネルセプト、インフリキシマブ、抗IL-1試薬、抗IL-6試薬、抗B細胞試薬 (レトキシマブ (retoximab))、抗T細胞試薬 (抗CD4抗体)、抗IL-15試薬、抗CLTA4試薬、抗RAGE試薬)、抗体、可溶性受容体、受容体結合タンパク質、サイトカイン結合タンパク質、変化もしくは減弱された機能を有する変異タンパク質、RNAi、ポリヌクレオチドアプタマー、アンチセンスオリゴヌクレオチドまたは3脂肪酸が挙げられる。ステロイド類 (副腎皮質ステロイドとしても知られている) としては、コルチゾン、プレドニゾロンまたはデキサメタゾンが挙げられる。免疫抑制剤としては、シクロスポリン、FK506、ラパマイシン、ミコフェノール酸が挙げられる。サリチル酸系としては、アスピリン、サリチル酸ナトリウム、サリチル酸コリンおよびサリチル酸マグネシウムが挙げられる。殺菌剤としては、キニーネおよびクロロキンが挙げられる。例えば、抗体またはその抗原結合性断片、誘導体もしくはバリエーションはNSAID、DMARD、または免疫抑制剤のうちの一つまたは複数と組合せて投与されてもよい。

20

30

【0216】

本発明の第三の態様において、医薬として使用するための、本発明の第一および第二の態様で定義された抗体、またはその抗原結合性断片、誘導体もしくはバリエーション、または組成物が提供される。

【0217】

本発明の第四の態様において、慢性炎症性状態の治療および/または診断で使用するための、本発明の第一または第二の態様で定義された抗体、またはその抗原結合性断片、誘導体もしくはバリエーション、または組成物が提供される。

40

【0218】

本発明の第五の態様において、慢性炎症性状態の治療および/または診断のための医薬の製造における、本発明の第一または第二の態様において定義された抗体、またはその抗原結合性断片、誘導体もしくはバリエーション、または組成物の使用が提供される。

【0219】

本発明の第六の態様において、有効量の本発明の第一または第二の態様で定義された抗体、またはその抗原結合性断片、誘導体もしくはバリエーション、または組成物を対象に投与することを含む、慢性炎症性状態を治療する方法が提供される。

【0220】

50

本発明第三、第四、第五または第六の態様において定義された抗体またはその抗原結合性断片、誘導体もしくはバリエーション、組成物、使用または方法は、不適切な炎症を伴うあらゆる状態と関連した慢性炎症性状態の治療に関し得る。このような状態としては、限定はされないが、関節リウマチ（RA）、自己免疫状態、炎症性腸疾患、非治癒性創傷、多発性硬化症、がん、アテローム性動脈硬化症、シェーグレン症候群、糖尿病、紅斑性狼瘡（lupus erythematosus）（例えば、全身性エリテマトーデス（systemic lupus erythematosus））、喘息、線維性疾患（例えば、肝硬変）、肺線維症、UVダメージおよび乾癬が挙げられる。

【0221】

第一または第二の態様で定義された抗体、またはその抗原結合性断片、誘導体もしくはバリエーション、または組成物は、例えば、以下のうちの一つまたは複数のために使用される：対象における慢性炎症性状態の状態（chronic inflammatory condition status）の診断；対象が慢性炎症性状態を発症させる可能性の評価；慢性炎症性状態を有する対象の予後の判定；慢性炎症性状態の疾患増悪のモニター；および/または慢性炎症性状態の治療に対する有効性もしくは対象の応答のモニター。

【0222】

本発明の第七の態様において、慢性炎症性状態の診断および/または慢性炎症性状態を有する患者の予後判定で使用するための、第一または第二の態様で定義された抗体、またはその抗原結合性断片、誘導体もしくはバリエーション、または組成物が提供される。

【0223】

本発明の第八の態様において、第一または第二の態様で定義された抗体、またはその抗原結合性断片、誘導体もしくはバリエーション、または組成物を用いて、テネイシンCのFBGドメインの有無または量を検出することを含む、慢性炎症性状態の診断および/または慢性炎症性状態を有する患者の予後判定の方法が提供される。

【0224】

判定される予後は、例えば、慢性炎症性状態の悪化であり得る。あるいは、予後は、慢性炎症性状態における低減（すなわち、改善）であり得、または、予後は、慢性炎症性状態が現状維持を続ける（すなわち、悪化または改善することなく一定のままである）ことであり得る。

【0225】

一実施形態では、第八の態様の方法はインビトロ法である。別の実施形態では、第八の態様の方法はインビボ法である。

【0226】

検出されるテネイシンCのFBGドメインの量の増加は、慢性炎症性状態の判定および/または慢性炎症性状態を有する患者の予後を示すものであり得る。あるいは、検出されるテネイシンCのFBGドメインの量の減少が、慢性炎症性状態の判定および/または慢性炎症性状態を有する患者の予後を示すものであり得る。

【0227】

好ましくは、抗体、またはその抗原結合性断片、誘導体もしくはバリエーション、または第七の態様の組成物、または第八の態様の方法は、対象または患者由来の試料中のテネイシンCのFBGドメインのレベルまたは量の解析からの、対象における慢性炎症性状態の診断、または患者の予後の判定を可能にする。

【0228】

全ての態様の好ましい実施形態において、慢性炎症性状態はリウマチ様関節炎（RA）および/またはびらん性リウマチ様関節炎である。

【0229】

対象由来の試料中に存在するテネイシンCのFBGドメインのレベルまたは量は、以下のうちの一つまたは複数の使用を含み得る、あらゆる適切なアッセイにおいて、本発明の抗体またはその抗原結合性断片、誘導体もしくはバリエーションを使用することにより決定され得る：イムノアッセイ；分光法；ウェスタンブロット；ELISA；免疫沈降；スロツ

10

20

30

40

50

トもしくはドットプロットアッセイ；等電点電気泳動；SDS-PAGE；抗体マイクロアレイ；免疫組織学的染色；ラジオイムノアッセイ（RIA）；フルオロイムノアッセイ；および／またはアビジン-ビオチン系もしくはストレプトアビジン（streptoavidin）-ビオチン系を用いるイムノアッセイ。これらの方法は当該技術分野において周知である。

【0230】

「試料」には、対象由来の血液（例えば、血清または血漿）、滑液、脳脊髄液（CSF）、尿および／または関節組織の試料が包含される。

【0231】

検出されるテネイシンCのFBGドメインの量またはレベルは、量またはレベルが基準値と比較して増加したか、減少したか、または一定を維持したかを決定するために、基準値と比較されることが好ましい。

10

【0232】

テネイシンCのFBGドメインの検出レベルまたは検出量が比較される基準値は、いかなる検出可能な慢性炎症性状態／障害も慢性炎症性状態／障害のいかなる臨床症状も有しておらず（本明細書では「正常試料」と称される）、故に、いわゆる「正常値」（「正常レベル」または「正常量」とも称される）のテネイシンCのFBGドメインを有する、一または複数の対象に由来する試料中で検出された、テネイシンCのFBGドメインの量またはレベルであることが好ましい。それらの正常レベルの実測値は、それらを検出するために使用された特定のアッセイに依存する。しかし、試料中に存在するテネイシンCのFBGドメインの正常レベル／正常量（すなわち、正常値）の一例は、健常人および炎症性疾患を有する患者の血清中のテネイシンC発現が記述されたPage et al.（2012）の表2にテネイシンCレベルについて以前に記述されたように、15～25 ng/ml、好ましくは20～21 ng/ml、最も好ましくは20.7 ng/mlであろう。

20

【0233】

正常試料中のレベル（すなわち、テネイシンCのFBGドメインの正常な値／レベル／量）と比較した場合の、試料において測定されたテネイシンCのFBGドメインのレベルにおける約50%以上の増加が、慢性炎症性状態の診断となる、または、慢性炎症性状態を有する患者の予後を判定することが好ましい。しかし、他の実施形態では、正常試料におけるレベルと比較した場合の、試料において測定されたテネイシンCのFBGドメインのレベルにおける、50%、55%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、95%もしくは100%またはそれ以上の増加が、慢性炎症性状態の診断となる、または、慢性炎症性状態を有する患者の予後を判定する。

30

【0234】

例えば、対象由来の試料において測定されたテネイシンCのFBGドメインのレベルが、健常対象由来の試料において測定されたテネイシンCのFBGドメインの正常レベルから、50%以上の増加である場合（すなわち、ほんの1つの具体例において、31 ng/ml以上と測定された場合）、前記対象は慢性炎症性状態（例えばRA）を有していると診断される、および／または、前記対象の予後が判定される。判定される予後は、慢性炎症性状態の悪化であり得る。あるいは、予後は、慢性炎症性状態における低減（すなわち、改善）であり得、または、予後は、慢性炎症性状態が現状維持を続ける（すなわち、悪化または改善することなく一定のままである）ことであり得る。

40

【0235】

抗体またはその抗原結合性断片、誘導体もしくはバリエーション、または第七および第八の態様の方法の特定の実施形態では、正常レベルと比較した場合の、検出されたテネイシンCのFBGドメインの量における少なくとも50%の増加は、慢性炎症性状態の判定および／または慢性炎症性状態を有する患者の予後を示すものである。

【0236】

本発明の第九の態様において、検出されたテネイシンCのFBGドメインの量によって

50

個体に対する適切な治療が示される、個体に対する適切な治療の決定に使用するための、第一または第二の態様で定義された抗体、またはその抗原結合性断片、誘導体もしくはバリエーション、または組成物が提供される。

【0237】

本発明の第十の態様において、第一または第二の態様で定義された抗体、またはその抗原結合性断片、誘導体もしくはバリエーション、または組成物を用いてテネイシンCのFBGドメインの有無または量を検出することを含み、検出されたテネイシンCのFBGドメインの量によって個体に対する適切な治療が示される、個体に対する適切な治療を決定する方法が提供される。

【0238】

一実施形態では、第十の態様の方法はインピト口法である。別の実施形態では、第十の態様の方法はインピボ法である。

【0239】

適切な治療は有効量の作用剤または組成物の投与を含み得、作用剤または組成物は以下のうちの一つまたは複数であり得る：第一または第二の態様で定義された抗体、またはその抗原結合性断片、誘導体もしくはバリエーション、または組成物；DMARDS（例えば、メトトレキサート）；抗TNF剤；抗IL17治療；T細胞同時刺激修飾薬（例えば、Orencia（商標）-アパタセプト）；インターロイキン-6（IL-6）阻害剤（例えば、Actemra（商標）-トシリズマブ）；抗CD20抗体（例えば、Rituxan（商標）-リツキシマブ（rituxumab））；B細胞活性化因子（例えば、抗BAFF）；ヤヌスキナーゼ（JAK）の阻害剤（例えば、Tofacitinib（商標））；脾臓チロシンキナーゼ（Syk）の阻害剤（例えば、Fostamatinib（商標））；抗TNC抗体もしくはシトルリン化テネイシンCドメインに対する抗体；並びに/または、シトルリン化および/もしくは非シトルリン化テネイシンCの生物活性を調節する作用剤。

【0240】

特定の実施形態では、適切な治療はテネイシンCのFBGドメインを標的とする。

【0241】

別の特定の実施形態では、適切な治療は、有効量の、第一または第二の態様で定義された抗体、またはその抗原結合性断片、誘導体もしくはバリエーション、または組成物の投与である。

【0242】

所望により、第九および第十の態様において定義された個体は、慢性炎症性状態を有する。前記個体は、前記方法が実施される前にそのように診断されていてもされていなくてもよい。

【0243】

ある実施形態では、検出されたテネイシンCのFBGドメインの量における増加が、適切な治療を示す。別の実施形態では、検出されたテネイシンCのFBGドメインの量における減少が、適切な治療を示す。

【0244】

一実施形態では、正常試料中のレベル（すなわち、テネイシンCのFBGドメインの正常なレベルまたは量）と比較した場合の、試料において測定されたテネイシンCのFBGドメインのレベルにおける約50%以上の増加または増加が、個体の適切な治療を決定する。しかし、他の実施形態では、正常試料におけるレベルと比較した場合の、試料において測定されたテネイシンCのFBGドメインのレベルにおける、50%、55%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、95%もしくは100%またはそれ以上の増加または減少が、個体の適切な治療を決定する。

【0245】

例えば、対象由来の試料において測定されたテネイシンCのFBGドメインのレベルが、健常対象由来の試料において測定されたテネイシンCのFBGドメインの正常レベルか

10

20

30

40

50

ら、50%以上の増加である場合（すなわち、ほんの1つの具体例において、31 ng / ml以上と測定された場合）、適切な治療は決定される。例えば、その後、有効量の作用剤または組成物の投与によって対象を治療することが決定され得、作用剤または組成物は以下のうちの一つまたは複数であり得る：第一または第二の態様で定義された抗体、またはその抗原結合性断片、誘導體もしくはバリエーション、または組成物；DMARDS（例えば、メトトレキサート）；抗TNF剤；抗IL17治療；T細胞同時刺激修飾薬（例えば、Orencia（商標）-アバタセプト）；インターロイキン-6（IL-6）阻害剤（例えば、Actemra（商標）-トシリズマブ）；抗CD20抗体（例えば、Rituxan（商標）-リツキシマブ（rituxumab））；B細胞活性化因子（例えば、抗BAFF）；ヤヌスキナーゼ（JAK）の阻害剤（例えば、Tofacitinib（商標））；脾臓チロシンキナーゼ（Syk）の阻害剤（例えば、Fostamatinib（商標））；抗TNC抗体もしくはシトルリン化テネイシンCドメインに対する抗体、並びに/または、シトルリン化および/もしくは非シトルリン化テネイシンCの生物活性を調節する作用剤。

10

【0246】

一実施形態では、検出されたテネイシンCのFBGドメインの増加は、適切な治療の増量が必要であることを示す。別の実施形態では、検出されたテネイシンCのFBGドメインの減少は、適切な治療の増量が必要であることを示す。

【0247】

正常試料中のレベル（すなわち、テネイシンCのFBGドメインの正常なレベルまたは量）と比較した場合の、試料において測定されたテネイシンCのFBGドメインのレベルにおける50%以上の増加または減少が、適切な治療の増量または減量が必要であることを示すことが好ましい。しかし、他の実施形態では、正常試料におけるレベルと比較した場合の、試料において測定されたテネイシンCのFBGドメインのレベルにおける、50%、55%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、95%もしくは100%またはそれ以上の増加または減少が、適切な治療の増量または減量が必要であることを示す。適切な治療の増量または減量は、用量、投与頻度または処置時間の増加または減少であり得る。

20

【0248】

第九および第十の態様の抗体、またはその抗原結合性断片、誘導體もしくはバリエーション、または組成物、または方法の一実施形態では、テネイシンCのFBGドメインの正常レベルと比較した場合の、検出されたテネイシンCのFBGドメインの量における少なくとも50%の増加が、適切な治療を決定する、および/または、適切な治療の増量が必要であることを示す。

30

【0249】

第八および/または第十の態様の診断法または適切な治療を決定する方法は、以下のうちの一つまたは複数の実行を含むことが好都合である：イムノアッセイ；分光法；ウェスタンブロット；ELISA；免疫沈降；スロットもしくはドットブロットアッセイ；等電点電気泳動；SDS-PAGE；抗体マイクロアレイ；免疫組織学的染色；ラジオイムノアッセイ（RIA）；フルオロイムノアッセイ；および/またはアビジン-ビオチン系もしくはストレプトアビジン（streptoavidin）-ビオチン系を用いるイムノアッセイ。

40

【0250】

本発明の第七、第八、第九または第十の態様において定義された抗体、またはその抗原結合性断片、誘導體もしくはバリエーション、組成物または方法は、不適切な炎症を伴うあらゆる状態と関連した慢性炎症性状態の治療に関し得る。このような状態としては、限定はされないが、関節リウマチ（RA）、自己免疫状態、炎症性腸疾患、非治癒性創傷、多発性硬化症、がん、アテローム性動脈硬化症、シェーグレン症候群、糖尿病、紅斑性狼瘡（lupus erythematosus）（例えば、全身性エリテマトーデス（systemic lupus erythematosus））、喘息、線維性疾患（例えば、肝硬変）、肺線維症、UVダメージおよび乾癬が挙げられる。

50

【0251】

本発明の第十一の態様において、以下を含むパーツキットが提供される：

- (i) 本発明の第一または第二の態様で定義された抗体、またはその抗原結合性断片、誘導体もしくはパリアント、または組成物
- (ii) 投与手段
- (iii) それらの使用のための説明書

【0252】

本発明の第七の態様のキットは、所望により以下をさらに含み得る：

- (iv) 少なくとも1つの他の作用剤。

【0253】

本発明のさらなる態様により、以下を含む、対象の慢性炎症性状態の状態を決定で使用するためのパーツキットが提供される：

【0254】

- (i) 本発明の第一または第二の態様で定義された抗体、またはその抗原結合性断片、誘導体もしくはパリアント、または組成物；および
- (ii) 使用のための説明書

【0255】

「慢性炎症性状態の状態 (chronic inflammatory condition status)」には、慢性炎症性状態の診断、慢性炎症性状態の予後判定および/または慢性炎症性状態を有するもしくは有さない対象に対する適切な治療の決定が含まれる。

【0256】

本発明のさらなる態様は、先の態様で記載された抗体等の、FBGに対する特異性を有する一つまたは複数の治療抗体 (抗体医薬) を特定する方法に関する (実施例に記載の詳細な抗体スクリーニング法を参照)。

【0257】

最終的な治療用分子の詳細な規格が抗体単離計画を開始するに先立ち重要となる。本明細書において単離された抗体について、設定規格は下記の表に提供される：

【0258】

10

20

【表1】

表A. 抗体選別のための規格

	第一の里程標 (リード単離)	第二の里程標* (リード最適化)
パネル	ユニークなCDR配列組合せを有する少なくとも2つの抗体リード	1つの最適化された前臨床開発候補および異なるCDR配列を有する1つのバックアップ
フォーマット	Fabまたは全抗体 (ヒトIgG2またはヒトIgG4)	ヒトIgG2またはIgG4
親和性作用強度	表面プラズモン共鳴 (SPR) によって決定される1~10nMの結合親和性細胞ベースアッセイにおいて100nM未満のIC50でテネイシン-C誘導性サイトカイン放出の濃度関連阻害を示す	SPRによって決定される320pM以下の結合親和性; または: 細胞ベースアッセイにおけるテネイシン-C誘導性サイトカイン放出のアッセイにおいてIC50 1nM (少なくともn=3) 以下
交差反応性	ELISAにおいて、ヒト、マウス、ラット、イヌFBGに結合する	3nM以下の、少なくとも1つのげっ歯類 (例えばラット) および1つの非げっ歯類 (例えばイヌ) テネイシン-Cアイソフォームに対する親和性
特異性	好ましくはELISAにおける、またはSPRによる、ヒトテネイシン-Rに対する非結合の証拠、ヒトテネイシン-C陽性対照と比較 (提供された抗原は他の規格の達成時に利用可能である)。	好ましくはELISAにおいて、またはSPRにより、ヒトテネイシン-Rに対する最大半量結合濃度が、ヒトテネイシン-Cに対する等価な結合シグナルよりも、少なくとも50倍、好ましくは100倍より大きい。
溶解性	PBS中で少なくとも1mg/mLまでの可溶性	14日間に亘り沈殿/凝集せずに、IgGがPBS中で少なくとも20mg/mLまで可溶性

10

20

30

*または、「第二の里程標」判定基準が満たされる前に許容可能なプロファイルが達成されたという合意がある場合

【0259】

重要要件は、テネイシンC FBGに対し高い親和性を有し、テネイシンC FBGに応答した細胞活性化および炎症性サイトカインの産生を遮断することができ、他の種に対し十分な交差反応性を有することで、それらの種における関連性のある安全性研究および有効性研究の実施を可能にする、抗体の特定であった (それ故、平行試薬 (parallel reagent) への要件は無い)。

40

【0260】

また、テネイシンファミリーの他のメンバーに対しより低い親和性を有するリード抗体を有することが有利と見なされていたため、テネイシンRが、他の近縁タンパク質よりもテネイシンCに (アミノ酸レベルで) より高度な相同性を有するこのタンパク質に基づく特異性試験のために選ばれた。細胞効力は、一連の関連性のある細胞に基づくアッセイにおいてテネイシンC FBGにより誘導されたサイトカイン放出を阻害することができる最大半数濃度 (half maximal concentration) と定義された。最終的に、候補は、製品の製造性に重大な問題が無かったといういくつかの早期指摘を提供するために、関連する抗体形式において安定であることを必要とした。

【0261】

採用されたスクリーニング法は、正確な規格を有する抗体の産生に基づいていた。従っ

50

て、初期の E L I S A スクリーニングには、ヒト、ラット、マウスおよびイヌ T N C - F B G との結合試験が組み込まれた。陽性クローンもヒトテネイン R F B G に対し試験された。正確な結合特性を有するものが、効力選別における試験のために適切な抗体フォーマットにサブクローニングされた (T H P - 1 B l u e (商標) アッセイにおける F c - H i s - F B G 誘導性アルカリホスファターゼレポーターの阻害がスクリーニングに利用され、次いで、 T H P - 1 細胞からの F c - H i s - F B G 誘導性サイトカイン発現の阻害を測定することにより活性が確認された)。第一の里程標を通過したリードクローンは、ファージディスプレイ法が第二の里程標を通過した抗体の提供という目的に合わせられた、リード最適化 (lead optimization) に取り入れられた。リード最適化に取り入れられた本明細書に記載の「親」抗体 (2 A 5、B 1 2、F 3 および D 8) のうち、2 つ (2 A 5 および B 1 2) が、事前に定められた規定を通過した最適化されたクローンを提供した。

10

【 0 2 6 2 】

従って、本発明のさらなる態様において、表 A に列挙される特性のうちの一つまたは複数を有する抗体を選別することを含む、テネイン C の F B G ドメインに特異的な一つまたは複数の治療抗体 (抗体医薬) を特定する方法が提供される。抗体は「第一の里程標」の下に列挙される特性の全てを示すことが好ましく、抗体は表 A 中の特性の全てを示すことがさらにより好ましい。

【 0 2 6 3 】

一実施形態において、テネイン C の F B G ドメインに特異的な一つまたは複数の治療抗体 (抗体医薬) を特定する方法は、以下の特性のうちの一つまたは複数を有する抗体を選別することを含む：

20

(a) 抗体は F a b または全抗体 (好ましくはヒト I g G 2 またはヒト I g G 4) である；

(b) 抗体は、表面プラズモン共鳴 (S P R) によって決定される、1 ~ 1 0 n M のヒトテネイン C F B G に対する結合親和性を有する、および / または、抗体は、好ましくは F c - H i s - F B G を使用する細胞ベースアッセイにおいて、1 0 0 n M 未満の I C 5 0 で、テネイン C、好ましくは誘発サイトカイン放出の濃度関連阻害 (concentration-related inhibition) を示す；並びに

(c) 抗体は、好ましくは E L I S A によって測定されて、ヒト F B G 並びにマウス、ラットおよびイヌ F B G のうちの一つまたは複数に結合し、抗体はヒト、マウス、ラットおよびイヌ F B G の全てに結合することが好ましい。

30

【 0 2 6 4 】

抗体は以下のさらなる特性のうちの一つまたは複数も示すことが好ましい：

(d) 抗体は、ヒトテネイン C 陽性対照と比較して、ヒトテネイン - R に結合しない、またはヒトテネイン - R に対し低減された結合性を示す；および

(e) 抗体は P B S 中で少なくとも 1 m g / m L まで可溶性である。

【 0 2 6 5 】

S P R によって決定される親和性強度 (affinity potency) が 3 2 0 p M 以下であること、および / または、好ましくは F c - H i s - F B G を使用する細胞に基づくアッセイにおいて誘導サイトカイン放出について I C 5 0 が 1 n M 以下であることが好ましい。

40

【 0 2 6 6 】

抗体は、少なくとも 1 つのげっ歯類 (例えばラット) および 1 つの非げっ歯類 (例えばイヌ) テネイン C アイソフォームに対し、3 n M 以下の親和性を有することが好ましい。

【 0 2 6 7 】

ヒトテネイン - R への最大半量結合濃度は、好ましくは E L I S A 結合実験または S P R によって測定されて、ヒトテネイン C への等価な結合シグナルよりも、少なくとも 5 0 倍、好ましくは 1 0 0 倍高いことが好ましい。ヒトテネイン - R への最大半量結合濃度は、S P R によって測定された場合、ヒトテネイン C への等価な結合シグナルより

50

も、少なくとも50倍高いことが好ましい。ヒトテネイン - Rへの最大半量結合濃度は、ELISAによって測定された場合、ヒトテネインCへの等価な結合シグナルよりも、少なくとも100倍高いことが好ましい。

【0268】

抗体は、14日間に亘って沈殿/凝集無く、少なくとも20mg/mLまで、PBS中で可溶性であることが好ましい。

【0269】

本発明のさらなる態様において、以下の段階を含む、テネインCのFBGドメインに特異的な一つまたは複数の治療抗体(抗体医薬)を特定する方法が提供される:

(i) 好ましくはELISAによる、ヒトテネインC FBG並びにラット、マウスおよびイヌテネインC FBGのうちの一つまたは複数と結合する抗体または断片を求めた、抗体または抗体断片ライブラリー、例えばファージライブラリーのスクリーニング;

(ii) 好ましくはELISAによる、ヒトテネインC FBGと比較した場合の、ヒトテネイン - R FBGに対する結合性減少ついで、(i)で特定された陽性抗体または陽性断片の試験;

(iii) 効力選別に適したフォーマット(例えば、Fab、Fc-scFv、IgG2またはIgG4)への、(i)および(ii)から所望の特性を有すると特定された抗体または断片のサブクロニング;並びに

(iv) Fc-His-FBG活性の阻害を示す、(iii)からの抗体または断片の特定。

【0270】

所望により、表面プラズモン共鳴(SPR)が段階(i)および/または(ii)に使用される。

【0271】

段階(iv)は、Fc-His-FBG誘導性アルカリホスファターゼレポーター(例えば、THP-1 Blue(商標)アッセイにおいて)を利用し;および/または、Fc-His-FBG誘導性サイトカイン発現(例えば、THP-1細胞からの)の阻害を測定することが好ましい。

【0272】

段階(i)において、抗体または断片は、ヒト、ラット、マウスおよびイヌ テネインC FBGの全てに結合することが好ましい。

【0273】

前記方法段階は順に実行されてもよいが、いかなる順番で実行されてもよい。

【0274】

一実施形態において、段階(i)~(iv)の方法を実行することにより特定された抗体医薬または抗体は、先の態様の特性(a)~(e)のうちの一つまたは複数を示す。

【0275】

定義

【0276】

「炎症」には、組織傷害、感染または局所的な免疫応答によって惹起される、体液、血漿タンパク質、および白血球局所的な蓄積の意味が含まれる。

【0277】

「急性炎症」には、傷害、感染または局所的な免疫応答の直後の、炎症の初期段階(開始)および短期的な一過性炎症反応の意味が含まれる。典型的には、急性炎症は急速に回復し、およそ数分から長くても数日しか継続しない。

【0278】

「慢性炎症」には、持続的な、および/または回復しない炎症の意味が含まれる。慢性炎症は健常組織の不適切な破壊としばしば関連している。これは、進行性であり、数週間以上に亘って継続し得る。慢性炎症は典型的には、自己免疫性状態を含むがこれに限定は

10

20

30

40

50

されない、持続性の感染または疾患と関連している。

【0279】

「慢性関節炎」には、患部関節の歪み並びにヒト疾患で観察されるような軟骨および骨の破壊の証拠となるX線像をもたらす、数週間～数ヶ月に亘る進行性で絶え間のない持続的な炎症の意味が含まれる (Kelly, Harris, Ruddy and Sledge, Textbook of Rheumatology 4th Edition)。

【0280】

実験的マウスモデルでは、慢性関節炎は、沈静せずに、比較的短期間に亘ってであっても不適切な組織破壊を引き起こす炎症を特徴とする。慢性関節炎は、組織学的には、滑膜および関節隙における炎症性細胞の遷延的存在、軟骨細胞死、並びに軟骨および骨のびらんを特徴とする (および、それらによって同定することができる)。

10

【0281】

「断片」とは、少なくとも4アミノ酸、例えば、少なくとも4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、25、30、35、40、45、50アミノ酸を意味する。

【0282】

2つのポリペプチド間の配列同一性パーセントは、適切なコンピュータプログラム、例えば Wisconsin University Genetic Computing Group の GAP プログラムを用いて決定され得、同一性パーセントが、配列が最適にアラインメントされたポリヌクレオチドについて算出されることは理解されよう。

20

【0283】

あるいは、アラインメントは Clustal W プログラムを用いて実行され得る (Thompson et al., 1994, Nuc. Acid Res. 22:4673-4680に記載)。

【0284】

使用されるパラメーターは以下の通りであり得る：

【0285】

ファースト・ペアワイズ・アラインメントのパラメーター：K - タブル (ワード) サイズ；1、ウィンドウサイズ；5、ギャップペナルティ；3、上部対角線 (top diagonal) の数；5。スコアリング法：xパーセント。

【0286】

マルチプルアラインメントのパラメーター：ギャップ開始ペナルティ；10、ギャップ伸長ペナルティ；0.05。

30

【0287】

スコア行列：B L O S U M。

【0288】

あるいは、BESTFITプログラムを用いて局所的配列アラインメントを決定してもよい。

【0289】

「抗体」には、実質的にインタクトな抗体分子、並びにキメラ抗体、ヒト化抗体、ヒト抗体 (自然発生的なヒト抗体に対して少なくとも1つのアミノ酸が変異している)、一本鎖抗体、二重特異性抗体、抗体重鎖、抗体軽鎖、抗体重鎖および/または抗体軽鎖のホモ二量体およびヘテロ二量体、並びにその抗原結合性断片および誘導体が含まれる。

40

【0290】

「抗原結合性断片」とは、テネインCのFBGドメインに結合することが可能な、抗体の機能性断片を意味する。

【0291】

用語「対象」または「個体」とは、ヒトを含む全ての動物を意味する。対象の例としては、ヒト、雌ウシ、イヌ、ネコ、ヤギ、ヒツジ、およびブタが挙げられる。用語「患者」とは、治療を必要とする障害を有する対象または個体を意味する。

【0292】

50

本明細書で使用される場合、「医薬製剤」とは、本発明による治療効果のある製剤を意味する。

【0293】

「治療有効量」、または「有効量」、または「治療効果のある」とは、本明細書で使用される場合、所与の状態および投与計画に対して治療効果を与える量を指す。これは、必要とされる添加剤および希釈剤、すなわち担体または投与ビヒクルと共同して所望の治療効果を生むように算出される、活性物質の所定量である。さらに、活性、機能および宿主応答の臨床的に有意な不足を低減する、最も好ましくは防止するのに十分な量を意味することが意図される。あるいは、治療有効量は、宿主における臨床的に有意な状態の改善を引き起こすのに十分な量である。当業者には理解されることであるが、化合物の量はその比活性に応じて変動し得る。適切な投与量は、必要とされる希釈剤と共同して所望の治療効果を生むように算出される、所定量の活性組成物を含有し得る。本発明の組成物を製造するための方法および用途では、治療有効量の有効成分が提供される。治療有効量は、医学または獣医学の当業者によって、当該技術分野において周知であるような年齢、体重、性別、状態、合併症、他の疾患等の患者の特徴に基づいて決定することができる。

10

【0294】

本発明の態様を具体化している実施例は、以下の図面を参照して記載される。

【図面の簡単な説明】

【0295】

【図1】ヒトテネイシンCおよびそのドメインのアミノ酸配列

20

【図2-1】ヒトテネイシンCのヌクレオチド配列

【図2-2】同上。

【図2-3】同上。

【図3】ポリクローナルファージELISA。ポリクローナル由来2回目出力ファージを、抗原または融合パートナー(FcまたはCd4)で被覆したウェルと共にインキュベートし、結合したファージを抗M13mAbおよびユウロピウム標識抗マウス抗体で検出した。選別の1ラウンド目と2ラウンド目の間の抗原特異的な結合体の富化、および、2ラウンド目の生産物集団における、抗Fcまたは抗rCd4ファージと比較した場合の、huFBG結合体のより大きな集団が存在する。

【図4-1】蛍光アッセイによって決定される、分泌型アルカリホスファターゼ放出のTHP1-Blueアッセイにおける精製された抗FBGのスクリーニング。抗体を、達成可能な最も高い濃度で試験した。精製されたscFv-Fcクローンの確認アッセイにおいて、2A3、2A5、2B11および2D12が、10nM Fc-His-huFBG(a)によって誘発されるシグナル伝達の有効な遮断剤であることが確認された。精製抗FBG Fabのアッセイは、抗体A12、B12、C2、D7、D8、F3およびG1を含む、さらなる解析のためのいくつかの追加のヒット(hit)をハイライトした。この実験では、細胞を3nM Fc-His-huFBG(b)で刺激した。

30

【図4-2】同上。

【図5】固定化されたTNC FBG-rCD4タンパク質(ヒト、マウス、ラットおよびイヌ)およびヒトTNRFBG-rCD4に結合する精製Fabについての、交差反応性ELISAの結果。抗mAbまたは抗mAb、次いでユウロピウム結合型抗マウスmAbを用いて、結合を検出した。

40

【図6a-1】CM5センサーチップ上に捕捉された抗FBGFab B12(a)、2A5(b)、F3(c)、およびD8(d)へのFBGタンパク質の結合の動態を決定するためのBiacoreセンサーグラム追跡。追跡は、ヒト、ラットおよびマウステネイシンCrCd4-FBG並びにヒトテネイシン-RrCd4-FBGの結合を示している。

【図6a-2】同上。

【図6b-1】同上。

【図6b-2】同上。

50

【図6c-1】同上。

【図6c-2】同上。

【図6d-1】同上。

【図6d-2】同上。

【図7】抗FBG Fab B12、2A5、D8およびF3による分泌型アルカリホスファターゼ(SEAP)放出の濃度関連阻害。精製抗体を、THP1-Blue細胞と一緒に、3nMヒトFc-His-FBGの存在下で、37で18時間インキュベートした。Fc-His-FBG誘導SEAPの阻害のIC50値はB12(1.7nM)、2A5(20.6nM)、D8(7.2nM)、F3(8.4nM)であった。

【図8】抗FBG Fab B12、2A5、D8およびF3によるIL-8産生の濃度関連阻害。精製抗体を、THP1-Blue細胞と一緒に、3nMヒトFc-His-FBGの存在下で、37で18時間インキュベートした。Fc-His-FBG誘導IL-8放出の阻害のIC50値はB12(6.9nM)、2A5(28.5nM)、D8(14.9nM)、F3(13.8nM)であった。

【図9-1】抗FBGリード抗体のためのCDR3ランダム化戦略。VH CDR3ランダム化を、各々6つの残基から成る3つの重複ブロック(標識VH3.1、VH3.2、およびVH3.3)において行い、VL CDR3を2つのブロック(標識VL3.1およびVL3.2)においてランダム化した。矢印は、ライブラリーにおいて支配的な親クローンを排除するために鑄型DNAに導入された終止コドンの位置を示す。(B)CDR3ライブラリー作製に使用されたオリゴヌクレオチド。

【図9-2】同上。

【図10】CDRランダム化抗体ライブラリーの選別戦略。(a)CDRランダム化ライブラリーを用いたヒトrCd4-His-FBGに対する選別。(b)B12 VHおよびVL CDR3ランダム化ライブラリーを用いたヒトおよびマウスFBGに対するハイブリッド選別。

【図11】ビオチン標識マウスまたはヒトrCd4-FBGに対する結合性向上を求めて親和性成熟クローンを選別するのに使用された抗FLAG捕捉ELISAフォーマットの模式図。

【図12】親和性成熟hIgG4抗体165__13__B1、165__13__C3、および160__01__A4によるFBG-誘導サイトカイン放出の阻害。初代ヒトPBMCを200nMヒトFc-His-FBGおよび試験抗体(100nMまたは1μM)の存在下でインキュベート(37、24時間)し、上清をIL-8(a)およびTNFa(b)についてアッセイした。全ての試験抗体が誘導サイトカイン放出を遮断した。データは3つの別々のドナーから得られた結果の平均値±s.e.平均を示している。

【図13】膝置換手術後のリウマチ様関節炎患者由来の膝滑膜の固定凍結切片における内在性テネシンC-FBGの免疫染色。陽性対照抗テネシン抗体(a)、およびマウスIgG2aとしてフォーマットされたB12抗FBG(c)により、滑膜の特異的染色が見られた。非免疫アイソタイプ対照抗体(b、d)により、より低レベルの非特異的染色が観察された。

【図14】抗体C3(165__13__C3)およびB12は、ウエスタンブロット解析に使用された場合、TNC-FBGに対し良好な特異性を示す。組換えTNC-FBG(ネイシエント社(Nascient))、TNR-FBGまたはフィブリノーゲン(ケネディリウマチ学研究所(Kennedy Institute of Rheumatology)(KIR))を、以下の抗体で検出した:A)165__13__C3 IgG4 MA b、1:20,000(0.25ug/ml)、4で一晩、B)B12 IgG4 MA b、1:20,000(0.25ug/ml)、4で一晩、C)抗テネシン-R抗体(サンタクルーズバイオテクノロジー社(Santa Cruz Biotechnology))、sc-9875)、1:2,000(0.1ug/ml)、4で一晩、D)抗TNC-FBGポリクローナル抗体(ミッドウッド・グループ社(Midwood group))、1:500、4で一晩。

【図15】モノクローナル抗体B12および対応するアイソタイプ対照を用いた神経膠腫

10

20

30

40

50

細胞可溶化物のウエスタンブロット解析。神経膠腫細胞可溶化物（K I R社）およびテネイシンC（ネイシエント社）を以下を用いて検出した：A． B 1 2 I g G 4 M a b、1 : 2 0 , 0 0 0、4 で一晚；B． I g G 4 アイソタイプ対照（エウレカ・セラピウティクス社（Eureka therapeutics））、1 : 4 , 0 0 0、4 で一晚。

【図16】図16A F c - H i s - F B Gはインビトロにおいて用量依存的にT L R 4に結合する。P B S中の組換えヒトT L R 4（R & Dシステムズ社）（またはP B S単独）を、96ウェルプレートに結合させ、ブロッキング後、指示濃度のヒトF c - H i s - F B Gを添加し、1 u g / m lの抗ヒトI g G 1 M A b（A b Dセロテック社（AbD Serotec）、クローン2 C 1 1）、1 u g / m lの抗マウスH R P結合型二次抗体（A b Dセロテック社、S T A R 1 3 B）、およびT M B基質のインキュベーションにより検出を行った。n = 4の平均値およびS E Mが示される。図16B モノクローナルA b C 3（1 6 5 _ 1 3 _ C 3）はインビトロにおいてF B GおよびT L R 4との結合を乱す。P B S中の組換えヒトT L R 4（またはP B S単独）を96ウェルプレートに結合させ、ブロッキング後、C 3 M a bまたはアイソタイプ対照抗体と一緒にプレインキュベートされた組換えヒトF c - H i s - T N C - F B G（1 0 0 n M）を添加した。前記タンパク質のF c部分に対する抗体、抗マウスH R P結合型二次抗体およびT M B基質の一連のインキュベーションによって、検出を行った。C 3プレインキュベート試料における阻害率を、アイソタイプ対照試料（I C 5 0 = 4 4 . 5 n M）と比較して算出した。n = 4。

【図17-1】モノクローナル抗体C 3（1 6 5 _ 1 3 _ C 3）はヒトまたはマウスT N C - F B Gで刺激された初代ヒトマクロファージによる炎症誘発性サイトカインの産生を減少させるが、L P S刺激によるものは減少させない。（A）組換えヒトテネイシンC F B G（1 u M）またはL P S（E n z o社）（1 n g / m l）をM A b C 3（1、0 . 2および0 . 0 4 u M）またはアイソタイプ対照M A b（1 u M）と一緒に室温で30分間プレインキュベートし、その後、その後ヒトM 2マクロファージ培養物に3連で添加した。24時間後、上清を取り、I L - 8、I L - 6およびT N FサイトカインE L I S A（B Dバイオサイエンス社）にかけた。n = 3；（B）組換えマウステネイシンC F B G（1 u M）をM A b C 3（1、0 . 2および0 . 0 4 u M）またはアイソタイプ対照M A b（1 u M）と一緒に室温で30分間プレインキュベートし、その後、その後ヒトM 2マクロファージ培養物に3連で添加した。24時間後、上清を取り、サイトカインE L I S Aにかけた。n = 3以上、平均値およびS E Mが示される；（C）F c部分が不活性になるよう変異されたタンパク質（F c - M u t - H i s - F B G）を使用した。他の有望な抗T N C - F B G抗体、B 1 2およびA 4もこの系で試験した。F c - M u t - H i s - F B G（1 u M）およびC 3、1 6 0 _ 0 1 _ A 4またはB 1 2（1 u M）を室温で30分間プレインキュベートし、その後、ヒトM 2マクロファージ培養物に添加した。24時間後、上清を取り、サイトカインE L I S Aにかけた。n = 3、平均値およびS E Mが示される。

【図17-2】同上。

【図17-3】同上。

【図18】図18A モノクローナル抗体B 1 2は、ヒトT N C - F B Gで刺激された初代ヒトマクロファージによる炎症誘発性サイトカインの産生を減少させる。組換えヒトテネイシンC F B G（1 u M）をM A b B 1 2（1、0 . 1、0 . 0 1または0 . 0 0 1 u M）またはアイソタイプ対照M A b（1 u M）と一緒にプレインキュベートし、その後、その後ヒトM 2マクロファージ培養物に3連で添加した。24時間後、上清を取り、サイトカインE L I S Aにかけた。図18B 研究室規模およびそれより大きな規模で作製されたモノクローナル抗体C 3（1 6 5 _ 1 3 _ C 3）は、初代ヒトマクロファージによるF B G誘導性サイトカイン合成の遮断において同一レベルの有効性を示す。より大きな規模で作製された抗体の作用強度を、研究室規模で作製されたものと比較した。組換えヒトテネイシンC F B G（1 u M）をM A b C 3（1、0 . 2および0 . 0 4 u M）またはアイソタイプ対照M A b（1 u M）と一緒に室温で30分間プレインキュベートし、その後、その後ヒトM 2マクロファージ培養物に3連で添加した。24時間後、上清

を取り、サイトカインELISAにかけた。n = 1、Ico = 研究室規模、Lon = より大きな規模。

【図19】モノクローナル抗体C3(165__13__C3)はヒトTNC-FBGで刺激されたRA滑膜線維芽細胞による炎症誘発性サイトカインの産生を減少させる。組換えヒトテネインC-FBG(1uM)をMAb C3またはアイソタイプ対照MAbと一緒に室温で30分間プレインキュベートし、その後、その後RA患者由来のヒト滑膜線維芽細胞培養物に3連で添加した。24時間後、上清を取り、サイトカインELISAにかけた。n = 1、平均値およびSEMが示される。

【図20】ラットCIAモデルにおけるテネインCのレベル。コラーゲン誘発関節炎のラットモデルから得られた滑液中のTNCレベル。測定されたTNCの量が、各肢の対応する臨床スコアに対しプロットされて示される。

【図21】コラーゲン誘発関節炎のラットモデルにおけるC3(165__13__C3)抗体の評価から得られた臨床スコア。ビヒクル対1mg/kg、3mg/kgおよび10mg/kgのC3抗体。データは平均値±SEMで表される。統計的有意性：7日目と比較した場合###p < 0.0001、ビヒクル処置群と比較した場合**p < 0.01。

【図22】コラーゲン誘発関節炎のラットモデルにおけるC3(165__13__C3)抗体の評価から得られた後肢体積。ビヒクル対1mg/kg、3mg/kgおよび10mg/kgのC3抗体。データは平均値SEMで表される。統計的有意性：0日目と比較した場合、##p < 0.01および####p < 0.0001、ビヒクル処置群と比較した場合*p < 0.05および**p < 0.01。

【図23】抗原クローニングに使用したプライマー。この表は、抗原クローニングで使用するための発現コンストラクトを作製するのに使用されたプライマーを列挙している。

【実施例】

【0296】

実施例1： 抗原およびアッセイ試薬としての精製テネインC-FBGの生成

テネインCのFBGドメイン(TNC-FBG)を含有する精製可溶性タンパク質を、抗体選別における抗原として、および後のスクリーニングおよび特徴づけアッセイにおける試薬として使用するために生成した。複数の哺乳類種のテネインCと結合する抗体の単離のための選別戦略を可能にするために、ヒト[配列番号92]、マウス[配列番号93]、ラット[配列番号94]またはイヌ[配列番号95]のTNC-FBGドメインを取り込んだ一連のDNA発現コンストラクトを合成した。ヒトテネイン-R-FBG[配列番号96]コンストラクトも、この相同体への望まれない結合性を示した抗体の特定のために、作製した。コンストラクトは、下記のように、C末端またはN末端のFBGドメインに結合したラットCD4またはヒトIgG1-Fcタグを有する6Hisタグ化タンパク質として生成した。

【0297】

タンパク質発現コンストラクト

抗原発現のための全ての合成DNAコンストラクトは、合成され、ジェンスクリプト社(Genscript)(ピスカタウェイ、米国)によって配列を確認された。発現ドメインをそれぞれラットCd4(ドメイン3および4)タグ(Chapple et al, 2006)またはヒトIgG1-Fcタグ(Falk et al, 2012)と融合させる、哺乳類発現ベクターpBIOCAM4またはBIOCAM5に、FBGドメインをクローニングした。ベクターは、発現タンパク質の分泌のための、マウスVH鎖由来の小胞体(ER)シグナル配列を含有する、pCMV/myc/ERプラスミド(インビトロジェン社)(Falk et al, 2012)から改変した。N末端FBG(例えば、FBG-Fc-HisまたはFBG-rCd4-His)をもたらした全てのコンストラクトについては、消化されたPCR産物をNcoI/NotIcutpBIOCAM4ベクターまたはpBIOCAM5ベクターと連結させた。C末端FBG(例えば、Fc-His-FBGまたはrCd4-His-FBG)をもたらした全てのコンストラクトについては、消化されたPCR産物をBamHI/HindIIIcutpBIOCAM4ベクターまたはpBIOCAM5ベクターと連結

10

20

30

40

50

させた。FBGドメインの増幅に使用したプライマーを図25に収載する。コンストラクトは全て配列を確認した。ELISAスクリーニングを促進するため、Hisタグをコードするインサート(プライマー2574および2575)を、FBG-X(N末端FBG)融合物を有する発現プラスミドの、BamHI部位とHindIII部位の間にクローニングした(His-FLAGタグを置換)。完全長テネイシンCをBstXIおよびBamHIによる消化によってGenscript pUC57プラスミドから直接クローニングし、BstXI/BamHI cut発現ベクターpFBG-Fc-His6にクローニングした。His-FBGコンストラクトを作製するため、プライマーを設計してrcd4-His-FBG発現プラスミドからのPCRを行い、His-FBGをコードするPCR産物を、XhoIおよびHindIIIで消化し、XhoI/HindIIIで消化したpBIOCAM5にクローニングした。

10

【0298】

タンパク質発現および細胞培養

トランスフェクションクオリティプラスミドDNA(Transfection quality plasmid DNA)を、Machery Nagel Nucleobond Xtra Midiキット(740410.50、フィッシャー・サイエンティフィック社、英国)を用いて作製した。抗原および抗体発現用のHEK293F浮遊細胞およびFreestyle培地、並びにRPMI培地は、ライフテクノロジーズ社(ペイズリー、英国)製であった。HEK293F細胞のトランスフェクションは以前の記述(Chapple et al, 2006)の通りに行った。

20

【0299】

タンパク質精製およびQC

タンパク質親和性精製では、Ni-NTAアガロースまたは固定化組換えタンパク質A樹脂を使用した。

【0300】

Hisタグ化タンパク質の精製のため、培養上清をNi-NTAアガロース(1018240、キアゲン社、クローリー、米国)と1時間混合し、この樹脂を遠心分離(200×g、2分)のためにProteus1ステップmidisピンカラム(ジェネロン社(Generon)、英国)に移した。非結合タンパク質を、20mMイミダゾールを添加したリン酸緩衝食塩水(PBS)(pH8)で洗い流した。結合タンパク質を、PBS中300mMイミダゾール(pH8)の添加およびカラム遠心分離(200×g、2分)によって、分画溶出させた。溶出タンパク質を含有するプール画分をGebaFlex Midi透析チューブ(ジェネロン社D010;分画分子量3.5kDa)内に入れ、PBSに対し透析した。

30

【0301】

Fcタグ化タンパク質およびヒトIgG4として発現された抗体を、プロテインAセファロース(PC-A25、ジェネロン社、メーデンヘッド、英国)を用いて精製した。培養上清を遠心分離(2500×g、15分)によって清澄にし、プロテインAセファロースと4で一晩混合し、その後、その樹脂をProteus1ステップmidisピンカラム(ジェネロン社、英国)に移した。カラムを遠心し(200×g、2分)、PBSで洗浄して、非結合タンパク質を除去した。Fcタグ化タンパク質またはIgG4タンパク質を、プロテインAから、0.2Mグリシン(pH2.8)を用いて、トリス塩酸(pH8)に、遠心分離(200×g、2分)によって、分画溶出させた。溶出画分をプールし、GebaFlex Maxi透析チューブ(ジェネロン社D045;分画分子量8kDa)内でPBSに対して透析した。

40

【0302】

タンパク質を、SDS-PAGE(4~12%ゲル)および分光光度法(理論上の吸光係数を用いてOD280)によって、純度および濃度について解析した。精製タンパク質を細胞ベースアッセイで使用する場合、内毒素含量をリムラスアメーバ細胞溶解物色素生産性内毒素アッセイ(limulus amoebocyte lysate chromogenic endotoxin assay)(ピ

50

アス社)によって最初に測定した。タンパク質は、内毒素レベルが1内毒素ユニット/ミリグラム(すなわち1EU/mg)を超過した場合、使用しなかった。

【0303】

実施例2:一次抗FBG抗体の単離

【0304】

抗体ファージディスプレイ

テネイシンC FBGドメインに対する抗体を、43のヒトリンパ球ドナーから単離されたDNAを用いて構築された、イオンタス社(Iontas Ltd)専売のヒト抗体ファージディスプレイライブラリーを用いて単離した。選別、ファージレスキューおよびpSANG10へのサブクロニング(Martin et al, 2006)は全て、当該技術分野において周知の技術を用いて以前の記述(Schofield et al, 2007)の通りに行った。

10

【0305】

融合パートナー(例えば、FBG-Fc、FBG-rCd4)のN末端に、またはC末端(Fc-FBG、rCd4-FBG)においてヒトIgG1 FcまたはrCd4に融合された固定化TNC FBGに対して、2回のパニング選別を行った。カップパ()またはラムダ()可変軽鎖(V_L)を含有するファージ抗体ライブラリーを別々にパニングして、後の、定常軽(C_L)カップパ()またはラムダ()鎖を含有するFab発現ベクターへのサブクロニングを促進した。

【0306】

ポリクローナルファージ集団を、選別された集団から作製し、TNC FBG抗原または適切な融合パートナー(FcまたはrCd4)で被覆されたELISAプレートを用いるELISA(ポリクローナルファージELISA)において試験した。ファージと共にインキュベートした後、プレートを洗浄し、結合したファージをペルオキシダーゼ結合型抗M13抗体を用いて検出した。図3は、選別の1回目と2回目の間の抗原特異的な結合体の富化、および、2回目の生産物集団における、抗Fcまたは抗rCd4ファージと比較した場合の、FBG結合体のより大きな集団を示しており、これは、選別が成功したことを示している。

20

【0307】

抗原に対するscFv結合の確認およびELISAによる交差反応性アッセイ

2回目の選別生産物を個々のscFvクローンとして発現させ、ELISA結合アッセイにおいて抗原認識を確認した。生産物集団を細菌性発現ベクターpSANG10(Martin et al, 2006)にサブクロニングし、大腸菌BL21(DE3)に形質転換させ、個々の形質転換体を以前の記述(Schofield et al, 2007)の通りに96ウェルプレート内で誘導した。大腸菌上清を収集し、ユウロピウム標識抗FLAG検出抗体を用いる、DELFIAに基づくELISAを用いて、TNC FBGに対するscFvの結合についてアッセイした。最初のELISAの結果を表1にまとめる。

30

【0308】

【表 2】

表1. モノクローナルscFv ELISA。値は関連した固定化選別抗原に結合するクローンの数を示す。

選別物 (ID)	選別数	Tag結合体	FBG結合体		
			ELISAシグナル (蛍光単位 ; FU)		
			≥ 1,000	≥ 10,000	≥ 100,000
λ FBG-rCd4 (145)	95	0	0	0	0
λ FBG-Fc (146)	95	3	0	0	0
λ rCd4-FBG (147)	95	0	14	4	0
λ Fc-FBG (148)	95	1	13	5	1
κ FBG-rCd4 (150)	95	0	20	8	1
κ FBG-Fc (151)	95	0	2	1	0
κ rCd4-FBG (152)	95	8	12	4	0
κ Fc-FBG (153)	95	8	10	2	0
λ+ κ FBG-rCd4、Fc	95	0	6	3	1
λ+ κ rCD4-FBG、Fc	95	0	2	1	0
合計			79	28	3

10

20

30

【0309】

ライブラリーを用いて最も上手くいった選別は、抗原 r C d 4 - F B G および F c - F B G に対するパニングに基づいていた (選別物 1 4 7 および 1 4 8)。ライブラリーについては、最も上手くいった選別は、抗原 F B G - r C d 4 (1 5 0)、r C d 4 - F B G (1 5 2) および F c - F B G (1 5 3) を用いて得られた。この E L I S A 選別から得られた 7 9 の陽性クローンを、さらなる解析のために選択した。

【0310】

交差反応性 E L I S A は、6 7 / 7 9 (8 5 %) の抗ヒト F B G s c F v がマウス T N C F B G に対し交差反応性であったと示した。抗 F B G s c F v の D N A 配列解析は優れた配列多様性を示した。例えば、V_L ライブラリーからの選別物 1 4 7 および 1 4 8 は 9 2 % ユニークな可変重 (V_H) 相補性決定領域 3 (C D R 3) 配列を含有し、V_L ライブラリーからの選別物 1 5 0、1 5 2 および 1 5 3 はそれぞれ 6 7 %、9 1 % および 1 0 0 % ユニークな可変 V_H C D R 3 配列を含有した。

40

【0311】

最も有効な選別から単離されたさらなる 1 4 2 5 のクローンを E L I S A でスクリーニングしたところ、これは、追加で 4 0 1 の、F B G 結合特異性を有する s c F v の特定をもたらした (表 2)。これらのクローンが、最初の E L I S A で特定された 7 9 の s c F v と共に、さらなる評価のために選択された。

【0312】

【表3】

表2. 最も効果的な選別選別生産物の集中的なモノクローナルscFv ELISA

選別物 (ID)	選別数	ヒット (≥ 5,000 FU)	Tag結合体	FBG結合体
λ rCd4-FBG (147)	285	66	0	66
λ Fc-FBG (148)	285	60	0	60
κ FBG-rCd4 (150)	285	86	0	86
κ rCd4-FBG (152)	285	144	2	142
κ Fc-FBG (153)	285	94	47	47
合計	1425	450	49	401

10

【0313】

1425のクローンを、ヒトテネイシンR FBGに対する結合、並びにまたヒト、マウス、ラットおよびイヌTNCFBGに対する結合について各scFvが試験される、特異性ELISAにおいてさらに試験した。クローンを、テネイシンR FBG結合のシグナルで割った、テネイシンCに対する結合の入手ELISAシグナルに従って、順位付けした。50超の比を有する上位250のクローンをサブクロニングおよびさらなる解析用に得た。

20

【0314】

実施例3：機能分析における一次抗FBG抗体のスクリーニング

抗FBG scFvを、全細胞アッセイ (whole cell assay) 系におけるFBG誘導性シグナル伝達の阻害剤としてのそれらの活性の評価のために、二価scFv-Fcとして、または単量体Fabとして再構成した。

30

【0315】

選択物147、148、150、152および153のそれぞれについて、一次ELISAシグナルによって順位付けされた、上位50の抗FBG scFvを、個々の選択集団として哺乳類発現プラスミドpBIOCAM5にサブクロニングし (Falk et al, 2012)、HEK293F細胞における一過性導入によって発現させた (Chapple et al, 2006)。Fab発現について、プールされたまたは scFv可変重 (V_H) および可変軽 (V_L) インサートを、専売のイオンタス社 (Ionis Ltd) プロトコルを用いて、二重プロモーターFab発現ベクターにクロニングした (pFab-dual - または pFab-dual - 、軽鎖生殖系列に依存)。培養上清をTHP-1細胞アッセイにおける活性についてスクリーニングし、選別されたscFv-FcおよびFabヒット (hit) を再アッセイおよび阻害活性の確認のために親和性精製した。

40

【0316】

THP1-Blue (商標) レポーター細胞アッセイ

テネイシンCは、FBGドメインと細胞TLR4の相互作用によって、炎症性細胞および線維芽細胞におけるサイトカインの産生を誘導することが示されている (Midwood et al, 2009)。TNFα、IL-8およびIL-6等の炎症性サイトカインの産生に繋がる受容体シグナル伝達カスケードは、転写因子NF-κBの活性化を含む。このプロセスは、測定が容易なタンパク質シグナルの発生によるNF-κB活性化に応答するよう改変された「レポーター」細胞株において研究することができる。THP1-Blue (商標) レポーター細胞株 (インビボジェン社 (InvivoGen) ; ツールーズ、フランス) は、ヒトTHP-1単球細胞株に由来し、NF-κB誘導性の分泌型アルカリホスファターゼ (

50

S E A P) レポーターコンストラクトを安定に発現する。これらの細胞はまた、中～高処理のアッセイ法を用いる培養上清中の S E A P の比色または蛍光定量化を用いた、T N C F B G 融合タンパク質のシグナル伝達活性の容易な測定を可能にする、細胞表面 T L R 4 を恒常的に発現する。

【0317】

低 F B G 濃度での活性は、あらゆるスクリーニングアッセイの成功に不可欠であり；レポータータンパク質のロバストな増加を生み出すのに必要とされる F B G の濃度が高過ぎる場合、あらゆるそのようなシグナルを十分に阻害するのに必要とされる s c F v、F c - S c F v または F a b コンストラクトの発現レベルおよび濃度は選別において容認できないものとなるだろう。F c - F B G は、この細胞アッセイにおいてロバストな S E A P シグナルを低 n M レベルで生み出す (C D 4 - F B G はこの濃度範囲では反応を生じなかった)。

10

【0318】

T H P 1 - B l u e (商標) 細胞を、細胞を超低付着 T 7 5 フラスコ内で増殖させた以外は供給業者のプロトコル (http://www.invivogen.com/PDF/THP1_Blue_NF_kB_TDS.pdf) に従って、補足 R P M I 培地中で培養および継代した。アッセイにおいて、T H P 1 - B l u e (商標) 細胞を、170 μ l の総体積において、R P M I 培地中、F c - F B G (3 または 10 n M) を含有する 96 ウェル組織培養プレートに加えた (100, 000 細胞 / ウェル)。発現された s c F v - F c もしくは F a b を含有する培養上清、または P B S 中の親和性精製した抗体を、30 μ l の体積で加え、細胞を 37 $^{\circ}$ C で 18 時間インキュベートした。上清を回収し、A t t o p h o s A P 蛍光定量系 (S 1000 ; プロメガ社) を用いて S E A P について、または、D u o S e t E L I S A 発色系 (D Y 208 ; R & D システムズ社、英国) を用いて I L - 8 含量について、供給業者の説明書に従ってアッセイした。P r i s m ソフトウェア (グラフパッド社 (GraphPad)) を用いて、データをプロットし、曲線の当てはめを行った。

20

【0319】

H E K 293 F 培養上清としての抗 F B G 抗体のスクリーニングは、T H P 1 - B l u e (商標) 細胞における F c - H i s - F B G 誘導性シグナル伝達の推定上の阻害剤にハイライトを当て、そのうちの 9 つが再アッセイの際に精製された s c F v - F c (図 4 a) または F a b (図 4 b) として確認された。F c - H i s - F B G は効力 (p o t e c y) アッセイを機能させるのに重要である。単量体 F B G は T H P - 1 B l u e 細胞およびヒト細胞においていかなるサイトカイン応答も誘導しなかった。

30

【0320】

実施例 4 : 一次抗 F B G 抗体の機能的特徴づけ

【0321】

E L I S A 交差反応性アッセイ

T H P 1 - B l u e (商標) 機能分析で特定された 9 つのヒト F B G シグナル伝達阻害剤パネルを、ラット、マウス、およびイヌ F B G に対する交差反応性について E L I S A で評価した。ヒトテネニン - R F B G 相同体への結合も測定した。アッセイウェルをヒト、ラット、マウス、およびイヌ T N C F B G - r C D 4、またはヒト T N R F B G - r C d 4 融合タンパク質で被覆し、抗 m A b または抗 m A b、次いでユウロピウム結合型抗マウス m A b を用いて F a b の結合を検出した。E L I S A の結果により、4 つの F a b が、ヒト T N R F B G に対するより低い見かけの結合性で、ヒト T N C F B G の他の哺乳類相同体に対し良好な交差反応性を示したことが明らかとなった (図 5)。これらは以下であった：

40

【0322】

F a b 2 A 5 (V H 配列番号 4 ; V L 配列番号 8)、
F a b B 1 2 (V H 配列番号 1 2 ; V L 配列番号 1 5)、
F a b D 8 (V H 配列番号 1 9 ; V L 配列番号 2 1)、および
F a b F 3 (V H 配列番号 2 5 ; V L 配列番号 2 9)。

50

【0323】

TNC - FBG に対し乏しい種間交差反応性を示した Fab についてはさらなる考慮を行わなかった。

【0324】

表面プラズモン共鳴による結合親和性の決定

ヒト、ラットおよびマウス TNC FBG、並びにヒト TNRFBG に対する結合においての、選択された Fab の親和性及びに会合および解離速度を、25 の表面プラズモン共鳴 (SPR) によって測定した。実験は、Human Fab Capture Kit (GE、28-9583-25) と共に提供されたプロトコルに従って、CM5 センサーチップを備えた BIACore T100 装置を用いて行った。種々の濃度の rCd4 - FBG を、固定化 Fab を有するフローセルおよび参照フローセルに注入した。参照シグナルの減算の後、T100 BIA 評価用ソフトウェアを用いてデータをグローバル 1:1 フィット (global 1:1 fit) に当てはめた (図 6a~d)。

10

【0325】

算出した速度定数を表 3 に示す。ヒト TNC FBG に対する Fab の親和性の順番は、B12 (110 pM) > D8 (8.49 nM) > 2A5 (11.4 nM) > F3 (27.4 nM) であった。全ての Fab が、げっ歯類 TNC FBG に対し低ナノモルの親和性を示し、ヒト TNRFBG に対する親和性は、典型的に、ヒト TNRFBG よりも 60 倍超より低かった。

【0326】

阻害活性アッセイ

huFc - His - FBG 活性の中和における精製 Fab の作用強度を、TLR4 介在性分泌型アルカリホスファターゼおよび IL - 8 サイトカイン産生の測定を用いる THP1 - Blue (商標) アッセイにおいて決定した。アッセイは、Prism ソフトウェア (グラフパッド社) を用いた IC₅₀ 値の算出を可能にするために精製 Fab を一連の濃度 (0.3 ~ 100 nM) でアッセイウェルに加えた以外は実施例 2 に記載の通りに、行った。

20

【0327】

【表4】

表3. 表面プラズモン共鳴 (SPR) 分光法で測定された抗FBG Fab結合動態データ。K_D、平衡解離定数；K_a、会合定数；K_d、解離定数

Fab	FBG	動態			定常状態
		K _D (nM)	K _a (M ⁻¹ s ⁻¹) x 10 ⁵	K _d (s ⁻¹) x 10 ⁻⁴	
2A5	ヒトTN C	11.4	4.96	56.3	該当なし
	マウスT NC	78.6	4.41	346.5	該当なし
	ヒトTNR	757	2.49	1888.4	706
B12	ヒトTN C	0.111	26.62	3.0	該当なし
	マウスT NC	13	52.15	675.5	18.7
	Rat TNC	7.9	94.59	747.9	該当なし
	ヒトTNR	33.9	13.96	472.5	36.1
D8	ヒトTN C	8.49	15.41	130.9	該当なし
	マウスT NC	48.4	14.78	716.1	41.2
	ヒトTNR	1026	5.55	5696.0	913
F3	ヒトTN C	27.4	1.26	34.6	該当なし
	マウスT NC	70.6	0.91	64.2	該当なし
	ヒトTNR	オフレートが急速過ぎるため測定できず			1808

【0328】

全ての抗体が、Fc-His-HuFBG誘導性アルカリホスファターゼ (図7) およびIL-8産生 (図8) の濃度関連阻害を示した。抗FBG Fabによるアルカリホスファターゼ阻害の阻害の作用強度 (IC₅₀) の順番は、B12 (1.7 nM) > D8 (7.2 nM) > F3 (8.4 nM) > 2A5 (20.6 nM) であった。作用強度 (IC₅₀) の順番は、IL-8放出の阻害と同様であった：B12 (6.9 nM) > F3 (13.8 nM) > D8 (14.9 nM) > 2A5 (28.5 nM)。

【0329】

実施例5：huTNC FBGドメインに対する最適化抗体の作製および単離

【0330】

標的化CDR変異誘発による親和性成熟

抗FBG抗体2A5、B12、およびF3を親和性成熟のために選択した。標的化CDR変異誘発を、Kunkel変異誘発を用いて6つのアミノ酸から成るブロックにおいてVHおよびVL CDR3残基をランダム化することにより、実行した (Fellouse and Sidhu, 2007; Kunkel et al., 1987; Sidhu and Weiss, 2004)。所与のクローンにおいてVH CDR3は長いため (10~16残基)、ランダム化は3つの重複ブロックにおい

て行い、V L C D R 3 (9 残基) は 2 つの重複ブロックにおいてランダム化した (図 9 a) 。ランダム化は、3 2 のコドン組合せから所与の位置において 2 0 個のアミノ酸のうちいずれか (および単一のアンバー終止コドンのみ) をコードし得る N N S (N = A / G / C / T および S = G / C) 縮重プライマーを用いて、実行した。変異誘発に使用したオリゴヌクレオチドを図 9 b に示す。このように、1 5 のライブラリー (3 つの抗体について 3 ライブラリー / V H および 2 ライブラリー / V L) を最初に作製したところ、F 3 V L 3 . 1 および F 3 V L 3 . 2 以外の全てのライブラリーは、N N S プライマーを用いた 6 つの残基のランダム化から生じる理論上の多様性 ($3 \times 2^6 = 1.1 \times 10^9$) を網羅するのに十分に大きかった (表 4) 。C D R 3 ライブラリーをレスキュー過程の間に組み合わせたところ、これは、親抗体クローンのそれぞれにおいて、組み合わされた変異 V H ライブラリーおよび組み合わされた変異 V L ライブラリーをもたらし、合計で 6 つのライブラリーが得られた。

【 0 3 3 1 】

【 表 5 】

表4. CDR3ランダム化ライブラリーの推定サイズ

ライブラリー	サブライブラリー	サイズ	組み合わせたサイズ
2A5 VH	2A5 VH 3.1	2.0×10^9	7.2×10^9
	2A5 VH 3.2	2.6×10^9	
	2A5 VH 3.3	2.6×10^9	
2A5 VL	2A5 VL 3.1	4.0×10^9	6.5×10^9
	2A5 VL 3.2	2.5×10^9	
B12 VH	B12 VH 3.1	1.8×10^9	6.1×10^9
	B12 VH 3.2	1.6×10^9	
	B12 VH 3.3	1.7×10^9	
B12 VL	B12 VL 3.1	2.6×10^9	7.7×10^9
	B12 VL 3.2	5.1×10^9	
F3 VH	F3 VH 3.1	6.0×10^9	1.6×10^9
	F3 VH 3.2	4.6×10^9	
	F3 VH 3.3	6.3×10^9	
F3 VL	F3 VL 3.1	2.1×10^9	5.7×10^9
	F3 VL 3.2	3.6×10^9	

【 0 3 3 2 】

高度にストリンジェントなファージディスプレイ選別

ストレプトアビジン D y n a b e a d 上のファージ - 抗体選別を以前の記述 (Dyson et al, 2011) の通りに行った。複数ラウンドの液相選別をピオチン化 r C d 4 - H i s - F B G に対して実行し、親和性が向上したクローンを富化させた。各ラウンドの最適抗原濃度は、一連の抗原濃度に対する選別および抗原無し対照との結果数の比較によって、実験的に決定した。各ラウンドで使用される抗原の量を減少させることにより、選別のストリンジェンシーを増加させた。選別ウィンド (selection window) (選別結果および抗原無し対照間のファージ力価の倍率差) が 1 0 を下回った後は、さらなるラウンドの選別は行わなかった。従って、3 ラウンド目で観察された選別ウィンドの大きさのために 4 ラウンド目の選別を受けた B 1 2 以外の全てのライブラリーについて、3 ラウンドの選別 (図 1 0 a) がピオチン化ヒト r C d 4 - H i s - F B G に対し行われた。全てのライブラリーに、各選別ラウンドにおいてストレプトアビジンピーズおよびテネイシン - R (1 ~ 3 回目は 1 0 0 n M 、 4 回目は 1 n M) に対する除外をかけて、ストレプトアビジンまたはテネイシン - R に対する望まれない交差反応性を回避した。さらに、ヒト抗原およびマウス

抗原を選別のラウンド間で交替させたハイブリッド選別戦略（図10b）を、B12ランダム化ライブラリーのみに対し実行した。B12ライブラリーに対しこの追加選別を行った理由は、ヒトおよびマウス r C d 4 - h i s - F B G に結合する B 1 2 親抗体において観察された、親和性における大きな差異のためであった。この差異は 2 A 5（6.9倍）または F 3（2.6倍）親抗体においてはそれほど明白ではなかった。さらに、優れたオフレート（off-rate）を有する抗体クローンを選別するために、追加ラウンドの選別を行った。オフレート選別では、ファージをビオチン化抗原（この場合 1 n M）に結合させ、その後、大過剰な非ビオチン化抗原（500 n M）を反応に加え、20時間または40時間インキュベートした。非ビオチン化抗原は、競合物として働き、ビオチン化抗原から解離したファージ抗体を捕捉し、すなわち、より長いオフレートを有する抗体のみが選別の最後に回収されることになる（Hawkins et al., 1992; Zahnd et al., 2010）。各選別ラウンドの結果のファージ力価を、算出した選別ウィンドウと共に、表5a～cに示す。選別された集団を細菌性発現ベクター p S A N G 1 0（Martin et al, 2006）にサブクローニングし、大腸菌 B L 2 1（D E 3）に形質転換させ、それぞれマウス F B G およびヒト F B G に対し向上した結合性を有するクローンを特定するために、E L I S A 解析用および H T R F 解析用に個々の形質転換体を選んだ（選別ごとに46）。

10

【0333】

【表6】

表5a. 選別生産物力価。ラウンド1選別。ファージ生産物力価は以前の記述の通りに決定（Schofield et al, 2007）。

20

CDR3ランダム化ライブラリー	10nM選別	1nM選別	0nM選別	10nM選別の選別ウィンドウ	1nM選別の選別ウィンドウ
2A5 VH	7×10^7	2.9×10^7	1×10^5	700	290
2A5 VL	3×10^7	1.7×10^7	5×10^4	600	340
B12 VH	6×10^7	2.6×10^7	1×10^5	600	260
B12 VL	6×10^7	5×10^7	2×10^5	300	250
F3 VH	$>1 \times 10^8$	8×10^7	2×10^4	5000	4000
F3 VL	5×10^7	1.2×10^7	9×10^4	555	133

30

【0334】

【表7】

表5b. 選別生産物力価。ラウンド2選別。ファージ生産物力価は以前の記述の通りに決定 (Schofield et al, 2007)。

CDR3ランダム化ライブラリー	200pM選別	50pM選別	0nM選別	200pM選別の選別ウィンド	50pM選別の選別ウィンド
2A5 VH	7×10^7	3.8×10^7	5×10^4	1400	760
2A5 VL	1.4×10^7	6×10^6	1×10^4	1400	600
B12 VH	1×10^8	6.75×10^7	2×10^4	5000	3375
B12 VL	1.2×10^8	8.1×10^7	4×10^4	3000	2025
F3 VH	1.1×10^8	9.5×10^7	4×10^4	2750	2375
F3 VL	7×10^7	1.2×10^7	1.2×10^5	583	100
マウスTNC FB G上のB12 VH	7×10^6		2×10^4	350	
マウスTNC FB G上のB12 VL	7.5×10^6		4×10^4	187	

10

20

【0335】

【表8】

表5c. 選別生産物力価。ラウンド3選別。ファージ生産物力価は以前の記述の通りに決定 (Schofield et al, 2007)。

CDR3ランダム化ライブラリー	5pM選別	1pM選別	0nM選別	5pM選別の選別ウィンド	1pM選別の選別ウィンド
2A5 VH	6×10^6	1×10^6	$<1 \times 10^5$	60	10
2A5 VL	1.4×10^6	$<1 \times 10^5$	2×10^5	7	<1
B12 VH	1.5×10^7	4×10^6	$<1 \times 10^5$	>150	>40
B12 VL	2.7×10^7	3.5×10^6	$<1 \times 10^5$	>270	>35
F3 VH	3.5×10^6	4×10^5	$<1 \times 10^5$	>35	>4
F3 VL	6×10^5	$<1 \times 10^5$	2×10^5	3	<1
B12ライブラリー に対するハイブリッド 選択 (ヒト-マウス-ヒト)	20pM選別	5pM選別	0pM選別	20pM選別の選別ウィンド	5pM選別の選別ウィンド
B12 VH	1×10^8	7.7×10^6	$<1 \times 10^5$	>1000	>77
B12 VL	1.3×10^8	1.8×10^7	$<1 \times 10^5$	>1300	>78

30

40

【0336】

ELISA選別

抗FLAG捕捉ELISAを行って、親抗体と比較して、マウスFBG結合において向上した親和性を有したクローンを選別した。

【0337】

50

s c F v p S A N G 1 0 発現プラスミドを有する大腸菌 B L 2 1 (D E 3) クローンを、以前の記述 (Schofield et al, 2007) の通りに、自動誘導培地 (auto-induction media) を含む 9 6 ウェルプレート内で誘導した。大腸菌上清を E L I S A アッセイ用に回収した。E L I S A には、ユウロピウム標識抗 F L A G 抗体 (シグマアルドリッチ社、英国) を用いる、D E L F I A (解離増強ランタニド蛍光免疫測定 (dissociation enhanced lanthanide fluorescent immunoassay)) 系を使用した。黒色免疫吸収プレート (black immunosorb plate) (ヌンク社) を、抗 F L A G M 2 抗体 (シグマ社、F 3 1 6 5、P B S 中 5 μ g / ml、5 0 μ l / ウェル) で一晚被覆し、ウェルにおいて、2 % 粉乳、P B S (P B S - M、3 0 0 μ l / ウェル) の添加によりブロッキングを行った。プレートを P B S - T (P B S、0 . 1 % T w e e n - 2 0) で 3 回、P B S で 3 回洗浄し、次いで、P B S - M 中の発現された s c F v を含有する 9 6 ウェル自動誘導培養上清の 1 : 2 希釈物 (5 0 μ l / ウェル) を添加した。プレートを 1 時間インキュベートし、上記と同様に洗浄し、ビオチン化マウスまたはヒト r C d 4 - H i s - F B G (P B S - M 中 5 μ g / ml、5 0 μ l) を各ウェルに加えた。プレートをさらに 1 時間インキュベートし、洗浄し、S t r e p r a v i d i n - E u を添加し (パーキンエルマー社、1 μ g / ml、P B S - M、5 0 μ l)、3 0 分間インキュベートし、洗浄し、D E L F I A 増強液を添加し (5 0 μ l)、パーキンエルマー社製 F u s i o n プレートリーダー (励起 = 3 2 0 n m、放出 6 2 0 n m) 上でプレートを読んだ。アッセイの形式を図 1 1 に示す。

【 0 3 3 8 】

自動誘導培養における s c F v の発現レベルは抗 F L A G 被覆ウェルを飽和させるため、このアッセイでは s c F v 発現レベルの差を正規化する。従って、このアッセイで得られるシグナルは洗浄後に結合したビオチン化 r C d 4 - H i s - F B G の量を反映しており、これが、マウスまたはヒト F B G に対するそのクローンのアッセイの関数となる。2 A 5 サブライブラリーおよび B 1 2 サブライブラリーからの選別結果の E L I S A スクリーニングは、マウス T N C F B G に対し有意に向上した結合性を有するクローンを明らかにした。

【 0 3 3 9 】

H T R F 選別

H T R F に基づく競合アッセイを開発して、ヒト T N C F B G に対し向上した結合性を有する抗体バリエーションをスクリーニングした。

【 0 3 4 0 】

全ての試料および試薬は、アッセイ緩衝液 (5 0 m M N a P O ₄、0 . 1 % B S A、0 . 4 M K F、p H 7 . 0) 中で記載濃度の 4 倍に調製した。次に、5 μ l の各試薬を、2 0 μ l の最終反応体積を得るように低容量 3 8 4 ウェルアッセイプレート (グレイナー社 (Greiner)、7 8 4 0 7 5) に添加した。製造業者の指示の通りに d 2 標識キット (C i s B i o 社、6 2 D 2 D P E A) を用いて I g G 抗体を標識した。ストレプトアビジンユウロピウムクリプテート (C i s B i o 社、6 1 0 S A K L A、ロット番号 2 5 C) は、製造業者による推奨の通りに、1 . 8 n g 活性部分 (S A) / 2 0 μ l 反応の最終濃度で使用した。E Z - l i n k S u l f o - N H S - L C - B i o t i n 試薬 (サーマサイエンティフィック社、2 1 3 2 7) を用いてビオチン化 r C d 4 - H i s - F B G を調製し、ビオチン化蛍光定量化キット (サーマサイエンティフィック社、4 6 6 1 0) を用いてビオチン化の程度を定量化した。適切な場合には、s c F v を含有する上清 (E L I S A アッセイについての上記の通りに調製) を、1 / 2 0 の最終希釈で (すなわち、アッセイ緩衝液中で 1 / 5 希釈した後、5 μ l の希釈試料を 2 0 μ l の F R E T アッセイに添加)、3 8 4 ウェルアッセイプレートに添加した。スクリーニングに使用した d 2 標識された 2 A 5 I g G および B 1 2 I g G の濃度は、それぞれ 1 5 n M および 1 . 2 5 n M であった。特に記載がない限り、ビオチン化 r C d 4 - H i s - F B G (ビオチン : タンパク質比 = 1 . 8 : 1) は、2 . 2 n M (2 A 5 I g G 抗体を用いるアッセイ) または 1 n M (B 1 2 I g G を用いる実験) で存在した。試料を室温でおよそ 1 時間インキュベートし、F R E T シグナルを B M G P h e r a s t a r 装置を用いて測定した

10

20

30

40

50

: 励起 = 320 nm ; 放出 = 620 nm および 665 nm ; 積分開始時間 (integration start time) = 60 μ s ; 積分時間 (integration time) = 500 μ s ; 100 フラッシュ / ウェル。培養上清を含有する競合アッセイについて、ビオチン化 rCD4 - His - FBG 抗原をストレプトアビジンユウロピウムクリプテートと一緒に45分間ブレインキュベートし、その後、アッセイプレートに試薬を添加した。全てのFRETシグナルはRとして表され、ここで、 $R = (E665 / E620 \times 10^4)$ および $R = (R_{\text{試料}} - R_{\text{バックグラウンド蛍光}})$ である。

【0341】

親和性選択された変異体ライブラリーからの非標識 scFv クローンを含有する培養上清を、FBG とフルオロフォア標識親 IgG 抗体との間の相互作用の阻害について試験した。2A5 バリエーションのスクリーニングに使用された場合、このアプローチにより、親と比較して向上した阻害を有する高比率のクローンが得られた (92% の VH CDR3 バリエーションおよび79% の VL CDR3 バリエーション)。FRETシグナルを完全に阻害したクローンを区別するために、2A5 バリエーションを後に、B12 IgG と競合するそれらの能力についてスクリーニングした。ヒトFBG に対するB12 の親和性が2A5 のそれよりもおよそ100倍より強い (25 での表面プラズモン共鳴によって決定された、これらの相互作用の解離定数は、それぞれ0.11 nM および15 nM であった) ことを考えると、これはよりストリンジェントなスクリーニングであった。両アッセイにおいて有用な範囲内のFRETシグナルを示すクローンの相対順位はおおよそ変化せず、このことは、それらが類似のエピトープに対し競合していたことを示している。従って、親和性成熟選別からの全ての2A5 およびB12 scFv バリエーションを、ヒトTNC FBG に対するB12 IgG 分子の結合を阻害するそれらの能力についてスクリーニングした。親和性成熟クローンと並列してscFv として表される親クローンを、基準として使用した (表6)。

【0342】

ScFv を配列決定し、ユニークなVH またはVL CDR3 配列を有するクローンパネルを、それぞれELISA アッセイおよびHTRF アッセイにおけるマウスおよびヒトTNC FBG に対するそれらの結合性に基づいて、ヒトIgG 4 フォーマットにおけるさらなる研究のために選択した。抗体2A5 の選択されたバリエーションは、マウスFBG に対する結合においては10倍以上の向上を、および、HTRF アッセイにおいては90% 以上 (VH CDR3 バリエーション) または83% 以上 (VL CDR3 バリエーション) の阻害を示した。

【0343】

【表9】

表6. ヒトrCD4-FBG に対し向上した親和性を有するクローンのHTRF 選別。

CDR3 ライブラリー	選別タイプ	試験されたクローンの合計	FRETシグナルの%阻害							親scFvによる%阻害	
			0~25%	25~50%	51~75%	76~85%	86~90%	91~95%	≥96%	2A5	B12
2A5 VH	1 pM	46	3	4	4	15	13	7	0	29	90
2A5 VH	オフプレート	46	3	0	11	11	17	3	1	29	90
2A5 VL	5 pM	46	3	2	7	19	14	1	0	21	83
2A5 VL	オフプレート	46	10	11	10	5	10	0	0	21	83
B12 VH	100 fM	46	6	2	3	8	5	6	16	19	86
B12 VH	ハイブリッド 5pM	46	3	3	5	5	3	9	18	19	86

【0344】

抗体 B 1 2 のバリエーションは、マウス F B G 結合における 4 倍以上の向上、および H T R F シグナルの 9 1 % 以上の阻害を示した。ユニークな C D R 3 配列を有し、これらの判定基準に適合する、合計で 3 1 のクローンが特定された (表 7)。

【 0 3 4 5 】

【 表 1 0 】

表7. マウスおよびヒトTNC FBGに対し向上した結合性を有すると特定され、さらなる研究のためのヒトIgGフォーマットへの変換のために選択された、クロンの重鎖または軽鎖CDR3配列

ライブラリー	クローン名	CDR配列	
B12 VH	165_13_B1	VMSSMEDAFDI	配列番号30
	165_13_B6	GQKGECDTFDI	配列番号32
	165_13_D1	GTRGEGDTFDI	配列番号34
	165_13_C3	SYQSDEDAFDI	配列番号36
	165_13_D4	GTVGEGDTFDI	配列番号38
	165_13_A4	DKYPVLDTFDI	配列番号40
	165_13_B3	ALARGHDTFDI	配列番号42
	165_13_E1	DISAVMDVPQT	配列番号44
	180_11_F5	VMRTGLDTFDI	配列番号46
2A5 VH	160_01_E3	QRYVWEALTY	配列番号48
	160_01_D6	AQADPHLFTY	配列番号50
	160_01_H4	GRFVWEALTY	配列番号52
	160_01_A4	AQKETLGNAI	配列番号54
	160_01_F1	AQSPWSGMTY	配列番号56
	160_01_G2	YTLDNMALTY	配列番号58
	161_01_F6 (160_01_F6)	AQKENIANRH	配列番号60
	161_01_A12	AQPTALANTY	配列番号62
	161_01_C09	AQLPYLAQTY	配列番号64
	161_01_H10	AQPWVAPGTY	配列番号66
	161_01_C11	AQKEWLDPVT	配列番号68
	162_02_D3	AQIHPLGLTY	配列番号70
2A5 VL	162_02_C6	QNQYAGPWT	配列番号72
	162_02_H5	QNQYTGPWT	配列番号74
	162_02_F3	QNQYRGPWT	配列番号76
	162_02_C1	LHHYRAPWT	配列番号78
	162_02_C2	MHHYRAPWT	配列番号80
	162_02_F4	MHHYRSPWT	配列番号82
	162_02_C3	MQHYDGPWT	配列番号84
	162_02_E11	LHHYRSPTWT	配列番号86
	162_02_E11	LHHYRSPWT	配列番号135
	163_02_A12	LHHYREPWT	配列番号88
	163_02_D11	LHHYKSPWT	配列番号90

【 0 3 4 6 】

これらは、ヒトおよびマウスTNC FBGに結合し、それ故、本発明の方法、用途、組成物および化合物において潜在的な有用性を有する、抗体クローンの重鎖配列または軽鎖配列である。例えば、これらのCDR3配列を有するTNF FBGと結合する抗体は

10

20

30

40

50

、TNCまたはTNC FBGの特定、その機能阻害、その検出およびその精製において有用であり得る。

【0347】

IgG4フォーマットへの変換および結合速度の測定

ヒンジ安定化変異 (hinge-stabilising mutation) (S241P; Angal et al, 1993) を有するヒトIgG4としての抗体を作製するために、目的の31のscFvをヒトIgG4発現ベクターにサブクロニングした。IgG4抗体をHEK-293F細胞において一過性発現させ、ヒトおよびマウスTNC FBG、並びにヒトTNR FBGに対する結合におけるそれらのオフレート順位の付けのために、表面プラズモン共鳴分光法を用いて培養上清をスクリーニングした。簡潔に説明すると、表面プラズモン共鳴 (SPR) 実験を、BIAcore T100装置を用い、ヒト抗体捕捉キットプロトコル (GE社、BR-1008-39) に従うプロトコルに従って行った。オフレートスクリーニングにおいて、10,000反応単位 (RU) の抗ヒトFc IgG (GE社、BR-1008-39) を、アミン結合キットプロトコル (GE社、BR-1000-50) に従ってEDC/NHS架橋結合化学作用を用いて、Series 5 CM5デキストランセンサーチップ (BR-1005-30) のフローセル (FC1およびFC2) 上に固定化した。発現されたIgG4を含有する培養上清を2xPBS-Tで1:2希釈し、FC2に注入して (流速5 μ l/分、60s接触時間)、25 $^{\circ}$ Cにおける抗体捕捉を可能にした。抗体捕捉レベルは、上清中の抗体の発現レベルに依存して、308~1975RUの範囲であった。固定濃度の抗原 (15nMのヒトおよびマウスTNC rCd4-His-FBG並びに100nMのヒトTNR rCd4-His-FBG) を、FC1 (参照フローセル) およびFC2 (抗体捕捉フローセル) を介した流路を用い、30 μ l/分の流速で注入し、会合相および解離相をそれぞれ1分間および5分間に亘って測定した。結合表面の再生には、30s接触時間の3M MgCl₂を用いた。対照セル減算およびBIA評価用ソフトウェア (GE社、BR-1005-97) を用いる1:1相互作用を想定したセンソグラム (sensogram) 実験データの当てはめによって、オフレートを決定した。オフレート選別の結果を表8にまとめる。

10

20

【0348】

【表 1 1】

表8. ヒトIgG4抗FBGオフレートの順位に対する表面プラズモン共鳴選別

クローン名	rCD4-His-FBGのkd ($s^{-1} \times 10^{-4}$)		
	ヒトTNC FBG	マウスTNC FBG	ヒトTNR FBG
165_13_B1	0.015	0.017	390
165_13_B6	0.056	0.069	37
165_13_D1	0.0014	0.039	43
165_13_C3	0.00095	0.033	120
165_13_D4	0.0062	0.037	40
165_13_A4	8.72	79.7	nd
165_13_B3	0.014	300	nd
165_13_E1	0.014	577	nd
180_11_F5	0.26	10000	nd
160_01_E3	0	558.8	nd
160_01_D6	0.105	558.8	nd
160_01_H4	0.16	170.8	nd
160_01_A4	0.067	0.059	110
160_01_F1	0.04	1540000	nd
160_01_G2	0.125	0.139	10
161_01_F6 (160_01_F6)	0.028	17.1	25
161_01_A12	0.013	0.043	42
161_01_C09	0.00117	0.0023	2.9
161_01_H10	0.25	0.019	91
161_01_C11	0.0022	nd	nd
162_02_D3	0.0039	0.0106	64
162_02_C6	0.053	2.4	280
162_02_H5	0.00043	1.67	820
162_02_F3	0.00083	3.3	880
162_02_C1	0.00093	16	27000000
162_02_C2	0.115	17	535000
162_02_F4	0.0059	10	151000
162_02_C3	0.0149	20	6350
162_02_E11	0.011	12	10110000
163_02_A12	0.0032	9.4	288000
163_02_D11	0.0032	9.8	22090000
2A5親	91	590000	2720
B12親	1.5	300	1001

10

20

30

40

【0349】

クローンを、ヒトおよびマウスTNC rCd4-His-FBGについては低オフレートに従って、ヒトTNR rCd4-His-FBGについては高オフレートに従って、順位付けした。各ライブラリーからの最も順位の高い3つの抗体を、精製IgG4としてのより詳細な動態解析に優先させた。これらのクローンを表9、10および11に示す。

【0350】

50

【表 1 2】

表9. 向上したFBG結合オフレート特徴を有するB12変異体の重鎖CDR3アミノ酸配列

クローン	VH CDR3	
B12親	DISAVPDTFDI	配列番号11
165_13_B1	VMSSMEDAFDI	配列番号30
165_13_D1	GTRGEGDTFDI	配列番号34
165_13_C3	SYQSDEDAFDI	配列番号36

【 0 3 5 1】

10

【表 1 3】

表10. 向上したFBG結合オフレート特徴を有する2A5変異体の重鎖CDR3アミノ酸配列

クローン	VH CDR3	
2A5親	AQKETYALTY	配列番号3
160_01_A4	AQKETLGNAI	配列番号54
161_01_H10	AQPVWAPGTY	配列番号66
162_02_D3	AQIHPLGLTY	配列番号70

【 0 3 5 2】

20

【表 1 4】

表11. 向上したFBG結合オフレート特徴を有する2A5変異体の軽鎖CDR3アミノ酸配列。

クローン	VL CDR3	
2A5親	QQSYSTPWT	配列番号7
162_02_F3	QNQYRGPWT	配列番号76
163_02_A12	LHHYREPWT	配列番号88
163_02_D11	LHHYKSPWT	配列番号90

【 0 3 5 3】

30

9つの優先されたIgG4抗体について詳細な動態パラメータを評価した。ヒト、ラットおよびマウスrCD4-His-FBG、並びにヒトTNR rCD4-His-FBGとの相互作用について、結合特性を決定した。動態アッセイは、基本的には上記のオフレート決定と同じプロトコルに従って、以下の通りにいくつか変更した。動態パラメータ決定の精度を向上させるために、抗ヒトFc IgGをより低レベル(2229RU)で固定化し、捕捉される抗FBG IgG4の量における対応する減少を得た。精製抗FBG IgG4をPBS(pH7.4、0.05%Tween-20)中で3.5nMの濃度に希釈し、10μl/分の流速、60sの接触時間で、FC2に注入した。これにより、典型的には、平均80RUの捕捉抗体(範囲:55RU~90RU)が得られた。抗原をPBS(pH7.4、0.05%Tween-20)中の2倍希釈により調製した(7nMであったマウスrCD4-His-FBGを除いて、最高濃度100nM)。アッセイは37(30μl/分、120s接触時間;マウスrCD4-His-FBG FBG 10μl/分、60s接触時間)で行い、フローセルおよび注入チャンバは共にこの温度に平衡させた。前述の通りに、対照セル減算およびBIA評価用ソフトウェア(GE社、BR-1005-97)を用いる1:1相互作用を想定したセンソグラム(sensogram)実験データの当てはめによって、動態パラメータを決定した。

40

【 0 3 5 4】

9つ全ての抗体が、親和性成熟されなかった親クローンと比較して、マウスTNC FBGドメインに対する向上した結合性を示し、抗体165__13__B1、165__13__C3、および160__01__A4が、ヒトTNC FBGに対する結合においてnM以下

50

の K_D 値を示し、ヒト TNR FBG 類似体に対し 70 倍超より低い親和性を有した (表 12)。

【 0 3 5 5 】

【 表 1 5 】

表12. 37°Cの表面プラズモン共鳴によって測定された抗FBG IgG4結合動態データ

抗体		rCD4-His-FBG		K_D (nM)	K_a ($M^{-1}s^{-1}$) x 10^4	K_d (s^{-1}) x 10^4
IgG4	親	種	テネイシン			
2A5	2A5	ヒト	TNC	23.8	13.6	323
		マウス	TNC	123	8.68	106.5
B12	B12	ヒト	TNC	0.24	47.1	11.2
		マウス	TNC	4.5	30	13.8
165_13_B1	B12	ヒト	TNC	0.26	72.7	18.8
		マウス	TNC	0.96	73.3	7.06
		Rat	TNC	2.20	31.1	68.4
		Dog	TNC	2.85	65.5	187
		ヒト	TNR	94.4	12.2	1149
165_13_C3	B12	ヒト	TNC	0.072	116	8.3
		マウス	TNC	0.46	97.2	4.45
		Rat	TNC	1.22	38.9	47.3
		Dog	TNC	1.80	59.7	108
		ヒト	TNR	35.8	12.0	431
160_01_A4	2A5	ヒト	TNC	0.21	23.5	5.0
		マウス	TNC	1.23	11.8	1.46
		Rat	TNC	1.49	12.7	18.9
		Dog	TNC	0.094	19.0	1.8
		ヒト	TNR	15.2	2.6	39.9

10

20

30

【 0 3 5 6 】

実施例 6 : 初代ヒト P B M C における T N C F B G 誘導性サイトカイン産生の阻害

精製 I g G 4 抗体 1 6 5 _ 1 3 _ B 1、1 6 5 _ 1 3 _ C 3、および 1 6 0 _ 0 1 _ A 4 の機能的な F B G 中和活性を、初代ヒト P B M C における F B G 誘導サイトカイン放出のインビトロアッセイにおいて確認した。

【 0 3 5 7 】

末梢血単核球 (P B M C) 集団を、密度勾配遠心法によって、3つの健常ヒト単一ドナー軟膜調製物から単離した。アッセイを 9 6 ウェルプレート内で 2 0 0 μ l の最終体積で行い、リムラスアメーバ細胞溶解物 (L A L) 内毒素定量化キット (ピアス社) を用いた測定により、全ての試薬および試験抗体の内毒素含量が許容限度内であることを使用前に確認した。

40

【 0 3 5 8 】

単離したばかりの P B M C 試料 (2×10^5 細胞 / ウェル) を、試験抗体 (1 0 0 n M および 1 μ M)、対照アイソタイプ抗体 (シグマ社 I 4 6 3 9 ; 1 0 0 n M および 1 μ M)、デキサメタゾン (1 μ M) または P B S 対照の存在下で 1 時間培養し、その後、細菌性リポ多糖類 (L P S ; 大腸菌 0 2 6 : B 6 ; 1 0 0 n g / m L) またはヒト F c - H i s - F B G (2 0 0 n M) で最大下刺激 (submaximal stimulation) した。L P S または F c - H i s - F B G が等量の P B S と置き換えられた対照ウェルは、試験抗体またはデ

50

キサメタゾン含有した。インキュベーション(24時間、37)後、培養上清を集め、-80 で貯蔵した。試料は、サイトカイン含量についての上清のアッセイの前に室温に解凍した。25 μ lの一定分量の各上清を等量のRPMI培地(ライフテクノロジーズ社)で希釈し、得られた試料をLuminesce解析によりIL-8およびTNF について二連でアッセイした。

【0359】

PBMCを100 ng/mL LPSと一緒に24時間インキュベートすることにより、IL-8およびTNF α の産生がもたらされ、これは、対照IgG4抗体または抗FBG抗体への暴露によっては阻害されなかった。対照的に、Fc-His-FBGによって誘導されたIL-8およびTNF α の放出は、全ての試験抗体によって完全に遮断され、対照IgG4によっては遮断されず、これにより、3つの親和性成熟された抗体165__13__B1、165__13__C3、および160__01__A4の強力且つ特異的なFBG中和活性が確認された(図12a、b)。

10

【0360】

実施例7:シトルリン化FBGへの抗FBG IgG4結合

シトルリン化FBGへの抗体B12の結合親和性を表面プラズモン共鳴(SPR)で決定した。B12を、QCMF発現技術(イコサジェン社(Icosagen)、エストニア)を用いて、ヒンジ安定化S241P変異体を有するヒトIgG4として発現させ、プロテインAアフィニティークロマトグラフィー(MabSelect Sure; GEヘルスケア社)で精製した。

20

【0361】

ヒトTNC FBGのシトルリン化

ペプチジルアルギニンデイミナーゼ2(PAD2; MQ-16.201-2.5、モディクエスト社(Modiquest)、オランダ)またはペプチジルアルギニンデイミナーゼ4(PAD4; MQ-16.203~2.5、モディクエスト社、オランダ)を供給業者の説明書に従って使用して、精製ヒトHis-FBGをシトルリン化した。簡潔に説明すると、His-FBGを、供給された脱イミノ化緩衝液(0.1Mトリス塩酸pH7.5、10mM CaCl₂、5mMジチオスレイトール)中で1mg/mLに希釈し、250 μ lを125mUのPAD2またはPAD4酵素と混合し、その後、37 で2時間インキュベートした。酵素処理した試料のアミノ酸解析によって、シトルリン化を確認した。非シトルリン化対照タンパク質として使用のために、一定分量の脱イミノ化緩衝液中His-FBGを、PAD酵素を添加せずに、37 で2時間インキュベートした。シトルリン化His-FBGタンパク質および無修飾His-FBGタンパク質を下記の通りのSPR実験に使用した。

30

【0362】

表面プラズモン共鳴

SPR実験はBIAcore3000装置で行った。抗ヒトIgG(GEヘルスケア社)を、アミノ結合化学作用を用いてCM5センサーチップの表面に共有結合させた。RU単位で表される結合した抗ヒトIgGの量は、6500~7000(6.5~7.0 ng/mm²)の間で変動した。B12-hIgG4(1~13 nM)を、25 のHBS-EP緩衝液(10mM HEPES、0.15M NaCl、2.5mM EDTAおよび0.005% Tween-20)中で、固定化された抗ヒトIgGに付着させた。固定化されたB12-hIgG4へのHis-FBGバリエーションの結合も、25 のHBS-EP緩衝液中で測定した。流速は、固定化実験においては5 μ l/分、動態解析においては20 μ l/分であった。センサーチップ表面は3M MgCl₂を用いて再生させた。BIA評価用プログラム4.1(GEヘルスケア社)を用いてデータを解析した。

40

【0363】

シトルリン化His-FBGに対するB12-IgG4結合の解析によって、動態パラメータが、無修飾His-FBGに対する結合について得られた値と比較した場合に、基本的に不変であったことが明らかとなった(表13)。これらの結果は、B12系統の抗

50

F B G 抗体が、治療的適用または診断的適用において、T N C F B G のシトルリン化形態および非シトルリン化形態の両方と結合すると期待されることを示している。

【 0 3 6 4 】

【表 1 6】

表13. His-FBGバリエントとのB12-hlgG4の相互作用の動態パラメータ。各動態パラメータは3つの独立した測定の平均値± s.d.を表す。

分析物	K_D (M)	K_{on} ($M^{-1}s^{-1}$)	K_{off} (s^{-1})
His-FBG	$(1.7 \pm 0.3) \times 10^{-10}$	$(4.1 \pm 0.6) \times 10^6$	$(6.8 \pm 0.9) \times 10^{-4}$
His-FBG + PAD2	$(3.2 \pm 0.3) \times 10^{-10}$	$(3.0 \pm 0.4) \times 10^6$	$(9.6 \pm 0.8) \times 10^{-4}$
His-FBG + PAD4	$(3.2 \pm 0.7) \times 10^{-10}$	$(2.6 \pm 0.6) \times 10^6$	$(7.8 \pm 0.4) \times 10^{-4}$

10

【 0 3 6 5 】

実施例 8 : 免疫組織化学を用いたヒト R A 組織における T N C F B G の検出

抗 F B G 抗体がヒト組織における内在性形態のヒト T N C F B G タンパク質を有効に認識するかどうかを決定するために、免疫組織化学研究を行った。テネイシン C は慢性炎症の部位で発現され、リウマチ様関節炎を有する個体由来の関節の炎症性滑膜内でのその位置は、市販の抗体を用いた免疫組織化学によって以前に示されている (Goh et al, 2010; Salter DM, 1993)。

20

【 0 3 6 6 】

B 1 2 抗体を、Q M C F 発現技術 (イコサジェン社、エストニア) を用いてマウス I g G 2 a フォーマットとして発現させ、プロテイン G アフィニティークロマトグラフィーで精製し、その後 Superdex 200 ゲル濾過を行った。完全長ヒトテネイシン C の E G F ドメインを認識する、対照マウス I g G 1 抗テネイシン C 抗体 (クローン 4 F 1 0 T T ; タカラ・クロンテック社 (Takara Clontech)) を、陽性対照コンパレーター (comparator) として使用した。無関係な細菌性抗原に対するマウス I g G 1 (ダコ社 (Dako) X 0 9 3 1) または I g G 2 a (ダコ社 X 0 9 4 3) を対照一次抗体として使用して、これらのアイソタイプによる非特異的なバックグラウンド染色のレベルを決定した。R A 診断が確認されたドナー由来のヒト膝関節滑膜の凍結切片 (アステランド社 (Asterand) 、英国) を、室温と平衡させ、1 : 1 v / v アセトン / メタノール中で固定し (10 分) 、洗浄緩衝液に移した。製造業者のプロトコルに従い Envision Flex 試薬 (ダコ社 K 8 0 1 0) を用いるダコ社製 Autostainer を使用して、免疫染色を行った。簡潔に説明すると、固定した組織スライドを、自動染色器 (automated stainer) 上に配置し、ブロッキングし (peroxidase block、5 分 ; protein block、10 分、ダコ社 X 0 9 0 9) 、その後、一次抗体 (B 1 2 またはクローン 4 F 1 0 T T ; 1、2、または $4 \mu g / ml$) を 30 分間適用した。いくつかの対照において、スライドは一次抗体に曝さなかった。洗浄後、HRP 標識ヤギ抗マウス二次抗体を適用し (20 分) 、スライドを再度洗浄し、その後、DAB + Chromogen を 10 分間適用した。スライドを洗浄し、ヘマトキシリンで対比染色し、染色の顕微鏡的可視化のためにカバーガラスをかけた。

30

40

【 0 3 6 7 】

アセトン / メタノールを用いて固定された R A 滑膜の凍結切片において、抗 T N C F B G B 1 2 マウス I g G 2 a は、陽性対照抗体クローン 4 F 1 0 T T を用いて得られたものと非常に類似した染色パターンを示した。滑膜、線維性被膜、脈管構造および間質内で、特異的な免疫染色が観察された。リンパ系凝集体内には染色はなかった (図 1 3 a、c) 。非免疫対照処理組織においていくらかの非特異的免疫染色が存在した (図 1 3 b、d) 。これらの結果は、R A 滑膜内のテネイシン C 発現の以前の報告を確認および拡張す

50

るものであり、B 1 2 が炎症部位における内在性テネイシン C と結合するための有効な作用剤であることを示しており、さらに、F B G が R A において利用可能な標的であることを示している。

【0368】

実施例 9 : 抗体配列

【0369】

抗体 2 A 5

【0370】

VH CDR 1 : E L S M H (配列番号 1)

VH CDR 2 : G F D P E D G E T I Y A Q K F Q G (配列番号 2)

VH CDR 3 : A Q K E T Y A L T Y (配列番号 3)

【0371】

VH アミノ酸配列 :

【0372】

【化 1】

EVRLVQSGAEVKKPGASVKVSCKVSQYTLT[ELSMH]WVRQAP
GKGLEWMG[GFDPEDGETIYAQKFQG]RVTMTEDTSTDTAYME
LSSLRSEDTAVYYCAT[AQKET YALTY]WGQGTLLVTVSS (配列番号 4)

10

20

【0373】

VL CDR 1 : R A S Q Y I Q G F L N (配列番号 5)

VL CDR 2 : A A S T L Q D (配列番号 6)

VL CDR 3 : Q Q S Y S T P W T (配列番号 7)

【0374】

VL アミノ酸配列 :

【0375】

【化 2】

DIQMTQSPASLPTSVGDRVTITC[RASQYIQGFLN]WYQQKPG
KAPRLLIY[AASTLQD]GVPSRFSGSGYGTDFTLTISLQPED
FATYYC[QQSYSTPWT]FGQGTKVEIKR (配列番号 8); または
DIQMTQSPASLPTSVGDRVTITC[RASQYIQGFLN]WYQQKPG
KAPRLLIY[AASTLQD]GVPSRFSGSGYGTDFTLTISLQPED
FATYYC[QQSYSTPWT]FGQGTKVEIK (配列番号 124)

30

【0376】

抗体 B 1 2

【0377】

VH CDR 1 : D Y A M H (配列番号 9)

VH CDR 2 : G I S G S G G S T Y Y A D S V K G (配列番号 10)

VH CDR 3 : D I S A V P D T F D I (配列番号 11)

【0378】

VH アミノ酸配列 :

【0379】

40

【化3】

QVQLVESGGGLVQPGRSLRLSCAASGFTFD¹DYAMH²WVRQAP
 GKGLEWVS³GISGSGGSTYYADSVKGRFTISRDNANKNSLYLQ
 MNSLRAEDTALYYCAK⁴DISAVPDTFDI⁵WGQGTMTVTVSS (配列
 番号12)

【0380】

VL CDR1: RASQYIQGFLN (配列番号5)

VL CDR2: DASNLET (配列番号13)

VL CDR3: QQSYSTPQT (配列番号14)

【0381】

VLアミノ酸配列:

【0382】

【化4】

DIQMTQSPASLPTPVGDRVITC¹RASQYIQGFLN²WYQQKPG
 KAPKLLIY³DASNLET⁴GVPSRFSGSGSGTDFTLTISLQPED
 FATYYC⁵QQSYSTPQT⁶FGQGTKVDIKR (配列番号15); または
 DIQMTQSPASLPTPVGDRVITC¹RASQYIQGFLN²WYQQKPG
 KAPKLLIY³DASNLET⁴GVPSRFSGSGSGTDFTLTISLQPED
 FATYYC⁵QQSYSTPQT⁶FGQGTKVDIK (配列番号125)

【0383】

抗体D8

【0384】

VH CDR1: SYGIS (配列番号16)

VH CDR2: WISAYNGNTNYAQLQG (配列番号17)

VH CDR3: NQDSSSDY (配列番号18)

【0385】

VHアミノ酸配列:

【0386】

【化5】

EVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFT¹SYGIS²WVRQAP
 GQGLEWMG³WISAYNGNTNYAQLQG⁴RVTMTTDTSTSTAYME
 LRSLSDDTAVYYCAR⁵NQDSSSDY⁶WGQGTLLVTVSS (配列番号1
 9)

【0387】

VL CDR1: RASQYIQGFLN (配列番号5)

VL CDR2: DASNLET (配列番号13)

VL CDR3: QQSYSTLQT (配列番号20)

【0388】

VLアミノ酸配列:

【0389】

10

20

30

40

【化6】

DIQMTQSPASLPTSVGDRVITC **RASQYIQGFLN** WYQQKPG
 KAPKLLIY **DASNLET** GVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPED
 FATYYC **QQSYSTLQT** FGQGTKVDIKR (配列番号21); または
 DIQMTQSPASLPTSVGDRVITC **RASQYIQGFLN** WYQQKPG
 KAPKLLIY **DASNLET** GVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPED
 FATYYC **QQSYSTLQT** FGQGTKVDIK (配列番号126)

10

【0390】

抗体 F3

【0391】

VH CDR1: SYGMH (配列番号22)
 VH CDR2: VISYDGSNKYYADSVK (配列番号23)
 VH CDR3: EGYDQLFSAESNAFDI (配列番号24)

【0392】

VHアミノ酸配列:

【0393】

【化7】

EVQLLESQGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFS **SYGMH** WVRQAP
 GKGLEWVA **VISYDGSNKYYADSVK** RFTISRGN SKNTLYLQ
 MNSLKAEDTAVYYCAR **EGYDQLFSAESNAFDI** WGQGTLLVTV
 SS (配列番号25)

20

【0394】

VL CDR1: TRSSGSIASYFVQ (配列番号26)
 VL CDR2: EDNQRPS (配列番号27)
 VL CDR3: QSYDSSNWV (配列番号28)

30

【0395】

VLアミノ酸配列:

【0396】

【化8】

NFMLAQPHSVSESPGKTVTISC **TRSSGSIASYFVQ** WFQQRP
 GSAPTAVIY **EDNQRPS** GVPDRFSGSIDSSSNSASLTISGLK
 TEDEADYYC **QSYDSSNWV** FGGGTKVTVLGQP (配列番号29); また

は

40

NFMLAQPHSVSESPGKTVTISC **TRSSGSIASYFVQ** WFQQRP
 GSAPTAVIY **EDNQRPS** GVPDRFSGSIDSSSNSASLTISGLK
 TEDEADYYC **QSYDSSNWV** FGGGTKVTVL (配列番号127)

【0397】

抗体 165_13_B1 (B12由来)

【0398】

VH CDR1: DYAMH (配列番号9)
 VH CDR2: GISGSGGSTYYADSVK (配列番号10)

【0399】

50

【化9】

VH CDR3: VMSMEDAFDI (配列番号30)

【0400】

VHアミノ酸配列:

【0401】

【化10】

QVQLVESGGGLVQPGRSLRLSCAASGFTFDDYAMHWVRQAP
 GKGLEWVSGISGSGGSTYYADSVKGRFTISRDNKNSLYLQ
 MNSLRAEDTALYYCAKVMSMEDAFDIWGQGTMTVTVSS (配列
 番号31)

10

【0402】

VL CDR1: RASQYIQGFLN (配列番号5)

VL CDR2: DASNLET (配列番号13)

VL CDR3: QQSYSTPQT (配列番号14)

【0403】

VLアミノ酸配列:

【0404】

【化11】

DIQMTQSPASLPTPVGDRVITCRASQYIQGFLNWYQQKPG
 KAPKLLIYDASNLETGVPSRFSGSGSGTDFTLTISLQPED
 FATYYCQQSYSTPQTFGQGTKVDIKR (配列番号15);または
 DIQMTQSPASLPTPVGDRVITCRASQYIQGFLNWYQQKPG
 KAPKLLIYDASNLETGVPSRFSGSGSGTDFTLTISLQPED
 FATYYCQQSYSTPQTFGQGTKVDIK (配列番号125)

30

【0405】

抗体165_13_B6 (B12由来)

【0406】

VH CDR1: DYAMH (配列番号9)

VH CDR2: GISGSGGSTYYADSVKG (配列番号10)

【0407】

【化12】

VH CDR3: GQKGEgDTFDI (配列番号32)

【0408】

VHアミノ酸配列:

【0409】

【化13】

QVQLVESGGGLVQPGRSLRLSCAASGFTFDDYAMHWVRQAP
 GKGLEWVSGISGSGGSTYYADSVKGRFTISRDNKNSLYLQ
 MNSLRAEDTALYYCAKGQKGEgDTFDIWGQGTMTVTVSS (配列
 番号33)

40

【0410】

50

VL CDR1: RASQYIQGFLN (配列番号5)

VL CDR2: DASNLET (配列番号13)

VL CDR3: QQSYSTPQT (配列番号14)

【0411】

VLアミノ酸配列:

【0412】

【化14】

DIQMTQSPASLPTPVGDRVITC[RASQYIQGFLN]WYQQKPG

KAPKLLIY[DASNLET]GVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPED

10

FATYYC[QQSYSTPQT]FGQGTKVDIKR (配列番号15);または

DIQMTQSPASLPTPVGDRVITC[RASQYIQGFLN]WYQQKPG

KAPKLLIY[DASNLET]GVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPED

FATYYC[QQSYSTPQT]FGQGTKVDIK (配列番号125)

【0413】

抗体165_13_D1 (B12由来)

【0414】

VH CDR1: DYAMH (配列番号9)

20

VH CDR2: GISGSGGSTYYADSVKG (配列番号10)

【0415】

【化15】

VH CDR3: [GTRGEGDTFDI] (配列番号34)

【0416】

VHアミノ酸配列:

【0417】

【化16】

QVQLVESGGGLVQPGRSLRLSCAASGFTFD[DYAMH]WVRQAP

30

GKGLEWVS[GISGSGGSTYYADSVKG]RFTISRDNKNSLYLQ

MNSLRAEDTALYYCAK[GTRGEGDTFDI]WGQGMVTVSS (配列

番号35)

【0418】

VL CDR1: RASQYIQGFLN (配列番号5)

VL CDR2: DASNLET (配列番号13)

VL CDR3: QQSYSTPQT (配列番号14)

【0419】

40

VLアミノ酸配列:

【0420】

【化17】

DIQMTQSPASLPTPVGDRVITC **RASQYIQGFLN** WYQQKPG
 KAPKLLIY **DASNLET** GVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPED
 FATYYC **QQSYSTPQT** FGQGTKVDIKR (配列番号15); または
 DIQMTQSPASLPTPVGDRVITC **RASQYIQGFLN** WYQQKPG
 KAPKLLIY **DASNLET** GVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPED
 FATYYC **QQSYSTPQT** FGQGTKVDIK (配列番号125)

10

【0421】

抗体165_13_C3 (B12由来)

【0422】

VH CDR1: DYAMH (配列番号9)

VH CDR2: GISGSGGSTYYADSVKG (配列番号10)

【0423】

【化18】

VH CDR3: **SYQSDEDAFDI** (配列番号36)

【0424】

VHアミノ酸配列:

【0425】

【化19】

QVQLVESGGGLVQPGRSLRLSCAASGFTFD **DYAMH** WVRQAP
 GKGLEWVS **GISGSGGSTYYADSVKG** RFTISRDNKNSLYLQ
 MNSLRAEDTALYYCAK **SYQSDEDAFDI** WGQGMVTVSS (配列
 番号37)

20

【0426】

VL CDR1: RASQYIQGFLN (配列番号5)

VL CDR2: DASNLET (配列番号13)

VL CDR3: QQSYSTPQT (配列番号14)

【0427】

VLアミノ酸配列:

【0428】

【化20】

DIQMTQSPASLPTPVGDRVITC **RASQYIQGFLN** WYQQKPG
 KAPKLLIY **DASNLET** GVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPED
 FATYYC **QQSYSTPQT** FGQGTKVDIKR (配列番号15); または
 DIQMTQSPASLPTPVGDRVITC **RASQYIQGFLN** WYQQKPG
 KAPKLLIY **DASNLET** GVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPED
 FATYYC **QQSYSTPQT** FGQGTKVDIK (配列番号125)

40

【0429】

抗体165_13_D4 (B12由来)

【0430】

VH CDR1: DYAMH (配列番号9)

50

VH CDR2 : GISGSGGSTYYADSVKG (配列番号10)
 【0431】
 【化21】

VH CDR3 : GTVGEGDTFDI (配列番号38)

【0432】
 VHアミノ酸配列 :
 【0433】
 【化22】

QVQLVESGGGLVQPGRSLRLSCAASGFTFDDYAMHWVRQAP
 GKGLEWVSGISGSGGSTYYADSVKGRFTISRDNKNSLYLQ
 MNSLRAEDTALYYCAKGTVGEGDTFDIWGQGTMTVTVSS (配列
 番号39)

10

【0434】
 VL CDR1 : RASQYIQGFLN (配列番号5)
 VL CDR2 : DASNLET (配列番号13)
 VL CDR3 : QQSYSTPQT (配列番号14)

【0435】
 VLアミノ酸配列 :
 【0436】
 【化23】

20

DIQMTQSPASLPTPVGDRVTITCRASQYIQGFLNWYQQKPG
 KAPKLLIYDASNLETGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPED
 FATYYCQQSYSTPQTFGQGTKVDIKR (配列番号15);または
 DIQMTQSPASLPTPVGDRVTITCRASQYIQGFLNWYQQKPG
 KAPKLLIYDASNLETGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPED
 FATYYCQQSYSTPQTFGQGTKVDIK (配列番号125)

30

【0437】
抗体165_13_A4 (B12由来)

【0438】
 VH CDR1 : DYAMH (配列番号9)
 VH CDR2 : GISGSGGSTYYADSVKG (配列番号10)
 【0439】
 【化24】

VH CDR3 : DKYPVLDTFDI (配列番号40)

40

【0440】
 VHアミノ酸配列 :
 【0441】

【化25】

QVQLVESGGGLVQPGRSLRLSCAASGFTFD **DYAMH**WVRQAP
 GKGLEWVS **GISGSGGSTYYADSVKG**RFTISRDNAKNSLYLQ
 MNSLRAEDTALYYCAK **DKYPVLDTFDI**WGQGTMTVTVSS (配列
 番号41)

【0442】

VL CDR1: RASQYIQGFLN (配列番号5)

VL CDR2: DASNLET (配列番号13)

VL CDR3: QQSYSTPQT (配列番号14)

【0443】

VLアミノ酸配列:

【0444】

【化26】

DIQMTQSPASLPTPVGDRVITC **RASQYIQGFLN**WYQQKPG
 KAPKLLIY **DASNLET**GVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPED
 FATYYC **QQSYSTPQT**FGQGTKVDIKR (配列番号15); または
 DIQMTQSPASLPTPVGDRVITC **RASQYIQGFLN**WYQQKPG
 KAPKLLIY **DASNLET**GVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPED
 FATYYC **QQSYSTPQT**FGQGTKVDIK (配列番号125)

【0445】

抗体165_13_B3 (B12由来)

【0446】

VH CDR1: DYAMH (配列番号9)

VH CDR2: GISGSGGSTYYADSVKG (配列番号10)

【0447】

【化27】

VH CDR3: ALARGHDTFDI (配列番号42)

【0448】

VHアミノ酸配列:

【0449】

【化28】

QVQLVESGGGLVQPGRSLRLSCAASGFTFD **DYAMH**WVRQAP
 GKGLEWVS **GISGSGGSTYYADSVKG**RFTISRDNAKNSLYLQ
 MNSLRAEDTALYYCAK **ALARGHDTFDI**WGQGTMTVTVSS (配列
 番号43)

【0450】

VL CDR1: RASQYIQGFLN (配列番号5)

VL CDR2: DASNLET (配列番号13)

VL CDR3: QQSYSTPQT (配列番号14)

【0451】

VLアミノ酸配列:

【0452】

【化29】

DIQMTQSPASLPTPVGDRVITC **RASQYIQGFLN** WYQQKPG
 KAPKLLIY **DASNLET** GVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPED
 FATYYC **QQSYSTPQT** FGQGTKVDIKR (配列番号15); または
 DIQMTQSPASLPTPVGDRVITC **RASQYIQGFLN** WYQQKPG
 KAPKLLIY **DASNLET** GVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPED
 FATYYC **QQSYSTPQT** FGQGTKVDIK (配列番号125)

10

【0453】

抗体 165_13_E1 (B12由来)

【0454】

VH CDR1: DYAMH (配列番号9)

VH CDR2: GISGSGGSTYYADSVKG (配列番号10)

【0455】

【化30】

VH CDR3: **DISAVMDVPQT** (配列番号44)

【0456】

VHアミノ酸配列:

【0457】

【化31】

QVQLVESGGGLVQPGRSLRLSCAASGFTFD **DYAMH** WVRQAP
 GKGLEWVS **GISGSGGSTYYADSVKG** RFTISRDNKNSLYLQ
 MNSLRAEDTALYYCAK **DISAVMDVPQT** WGQGTMTVTVSS (配列
 番号45)

20

【0458】

VL CDR1: RASQYIQGFLN (配列番号5)

VL CDR2: DASNLET (配列番号13)

VL CDR3: QQSYSTPQT (配列番号14)

【0459】

VLアミノ酸配列:

【0460】

【化32】

DIQMTQSPASLPTPVGDRVITC **RASQYIQGFLN** WYQQKPG
 KAPKLLIY **DASNLET** GVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPED
 FATYYC **QQSYSTPQT** FGQGTKVDIKR (配列番号15); または
 DIQMTQSPASLPTPVGDRVITC **RASQYIQGFLN** WYQQKPG
 KAPKLLIY **DASNLET** GVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPED
 FATYYC **QQSYSTPQT** FGQGTKVDIK (配列番号125)

40

【0461】

抗体 180_11_F5 (B12由来)

【0462】

VH CDR1: DYAMH (配列番号9)

50

VH CDR2 : GISGSGGSTYYADSVKG (配列番号10)
 【0463】
 【化33】

VH CDR3 : VMRTGLDTFDI (配列番号46)

【0464】
 VHアミノ酸配列 :
 【0465】
 【化34】

QVQLVESGGGLVQPGRSLRLSCAASGFTFDDYAMHWVRQAP 10
 GKGLEWVSGISGSGGSTYYADSVKGRFTISRDNKNSLYLQ
 MNSLRAEDTALYYCAKVMRTGLDTFDIWGQGTMTVTVSS (配列
 番号47)

【0466】
 VL CDR1 : RASQYIQGFLN (配列番号5)
 VL CDR2 : DASNLET (配列番号13)
 VL CDR3 : QQSYSTPQT (配列番号14)
 【0467】

VLAミノ酸配列 :
 【0468】
 【化35】

DIQMTQSPASLPTPVGDRVTITCRASQYIQGFLNWYQQKPG
 KAPKLLIYDASNLETGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPED
 FATYYCQQSYSTPQTFGQGTKVDIKR (配列番号15); または
 DIQMTQSPASLPTPVGDRVTITCRASQYIQGFLNWYQQKPG
 KAPKLLIYDASNLETGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPED 30
 FATYYCQQSYSTPQTFGQGTKVDIK (配列番号125)

【0469】
抗体160_01_E3(2A5由来)

【0470】
 VH CDR1 : ELSMH (配列番号1)
 VH CDR2 : GFDPEDGETIYAQKFQG (配列番号2)
 【0471】
 【化36】

VH CDR3 : QRYVWEALTY (配列番号48) 40

【0472】
 VHアミノ酸配列 :
 【0473】

【化37】

EVRLVQSGAEVKKPGASVKVSCKVS GYTLLT **E L S M H** WVRQAP
 GKGLEWMG **G F D P E D G E T I Y A Q K F Q G** RVTMTEDTSTDTAYME
 LSSLRSED TAVYYCAT **Q R Y V W E A L T Y** WGQGTLVTVSS (配列番
 号49)

【0474】

VL CDR1: RASQYIQGFLN (配列番号5)

VL CDR2: AASTLQD (配列番号6)

VL CDR3: QQSYSTPWT (配列番号7)

【0475】

VLアミノ酸配列:

【0476】

【化38】

DIQMTQSPASLPTSVGDRVTITC **R A S Q Y I Q G F L N** WYQQKPG
 KAPRLLIY **A A S T L Q D** GVPSRFSGSGYGTDFTLTISSSLQPED
 FATYYC **Q Q S Y S T P W T** FGQGTKVEIKR (配列番号8); または
 DIQMTQSPASLPTSVGDRVTITC **R A S Q Y I Q G F L N** WYQQKPG
 KAPRLLIY **A A S T L Q D** GVPSRFSGSGYGTDFTLTISSSLQPED
 FATYYC **Q Q S Y S T P W T** FGQGTKVEIK (配列番号124)

【0477】

抗体160_01_D6(2A5由来)

【0478】

VH CDR1: ELSMH (配列番号1)

VH CDR2: GFDPEDGETIYAQKFG (配列番号2)

【0479】

【化39】

VH CDR3: **A Q A D P H L F T Y** (配列番号50)

【0480】

VHアミノ酸配列:

【0481】

【化40】

EVRLVQSGAEVKKPGASVKVSCKVS GYTLLT **E L S M H** WVRQAP
 GKGLEWMG **G F D P E D G E T I Y A Q K F Q G** RVTMTEDTSTDTAYME
 LSSLRSED TAVYYCAT **A Q A D P H L F T Y** WGQGTLVTVSS (配列番
 号51)

【0482】

VL CDR1: RASQYIQGFLN (配列番号5)

VL CDR2: AASTLQD (配列番号6)

VL CDR3: QQSYSTPWT (配列番号7)

【0483】

VLアミノ酸配列:

【0484】

【化41】

DIQMTQSPASLPTSVGDRVITC **RASQYIQGFLN** WYQQKPG
 KAPRLLIY **AASTLQD** GVPSRFSGSGYGTDFTLTISLQPED
 FATYYC **QQSYSTPWT** FGQGTKVEIKR (配列番号8); または
 DIQMTQSPASLPTSVGDRVITC **RASQYIQGFLN** WYQQKPG
 KAPRLLIY **AASTLQD** GVPSRFSGSGYGTDFTLTISLQPED
 FATYYC **QQSYSTPWT** FGQGTKVEIK (配列番号124)

10

【0485】

抗体 160_01_H4 (2A5由来)

【0486】

VH CDR1: ELSMH (配列番号1)

VH CDR2: GFDPEDGETIYAQKFQG (配列番号2)

【0487】

【化42】

VH CDR3: GRFVWEALTY (配列番号52)

【0488】

VHアミノ酸配列:

【0489】

【化43】

EVRLVQSGAEVKKPGASVKVSGYTLT **ELSMH** WVRQAP
 GKGLEWMG **GFDPEDGETIYAQKFQG** RVTMTEDTSTDTAYME
 LSSLRSED TAVYYCAT **GRFVWEALTY** WGQGTLVTVSS (配列番
 号53)

20

【0490】

VL CDR1: RASQYIQGFLN (配列番号5)

VL CDR2: AASTLQD (配列番号6)

VL CDR3: QQSYSTPWT (配列番号7)

【0491】

VLアミノ酸配列:

【0492】

【化44】

DIQMTQSPASLPTSVGDRVITC **RASQYIQGFLN** WYQQKPG
 KAPRLLIY **AASTLQD** GVPSRFSGSGYGTDFTLTISLQPED
 FATYYC **QQSYSTPWT** FGQGTKVEIKR (配列番号8); または
 DIQMTQSPASLPTSVGDRVITC **RASQYIQGFLN** WYQQKPG
 KAPRLLIY **AASTLQD** GVPSRFSGSGYGTDFTLTISLQPED
 FATYYC **QQSYSTPWT** FGQGTKVEIK (配列番号124)

40

【0493】

抗体 160_01_A4 (2A5由来)

【0494】

VH CDR1: ELSMH (配列番号1)

50

VH CDR2 : GFDPEDGETIYAQKFQG (配列番号2)
 【0495】
 【化45】

VH CDR3 : AQKETLGNAI (配列番号54)

【0496】

VHアミノ酸配列 :

【0497】

【化46】

EVRLVQSGAEVKKPGASVKVSCKVSQYTLTELSMHWVRQAP
 GKGLEWMGGFDPEDGETIYAQKFQGRVTMTEDTSTDTAYME
 LSSLRSEDNAVYYCATAQKETLGNAIWGQGTLVTVSS (配列番号55)

10

【0498】

VL CDR1 : RASQYIQGFLN (配列番号5)

VL CDR2 : AASTLQD (配列番号6)

VL CDR3 : QQSYSTPWT (配列番号7)

【0499】

VLアミノ酸配列 :

【0500】

【化47】

DIQMTQSPASLPTSVGDRVTITCRASQYIQGFLNWYQQKPG
 KAPRLLIYAASTLQDGVPSRFSGSGYGTDFTLTISSLQPED
 FATYYCQQSYSTPWTFGQGTKVEIKR (配列番号8); または
 DIQMTQSPASLPTSVGDRVTITCRASQYIQGFLNWYQQKPG
 KAPRLLIYAASTLQDGVPSRFSGSGYGTDFTLTISSLQPED
 FATYYCQQSYSTPWTFGQGTKVEIK (配列番号124)

20

30

【0501】

抗体160_01_F1(2A5由来)

【0502】

VH CDR1 : ELSMH (配列番号1)

VH CDR2 : GFDPEDGETIYAQKFQG (配列番号2)

【0503】

【化48】

VH CDR3 : AQSPWSGMTY (配列番号56)

【0504】

VHアミノ酸配列 :

【0505】

40

【化49】

EVRLVQSGAEVKKPGASVKVSCKVSQYTLT[ELSMH]WVRQAP
 GKGLEWMG[GFDPEDGETIYAQKFQG]RVTMTEDTSTDTAYME
 LSSLRSEDVAVYYCAT[AQSPWSGMTY]WGQGTLVTVSS (配列番
 号57)

【0506】

VL CDR1: RASQYIQGFLN (配列番号5)

VL CDR2: AASTLQD (配列番号6)

VL CDR3: QQSYSTPWT (配列番号7)

【0507】

VLアミノ酸配列:

【0508】

【化50】

DIQMTQSPASLPTSVGDRVTITC[RASQYIQGFLN]WYQQKPG
 KAPRLLIYA[AASTLQD]GVPSRFSGSGYGTDFTLTISLQPED
 FATYYC[QQSYSTPWT]FGQGTKVEIKR (配列番号8); または
 DIQMTQSPASLPTSVGDRVTITC[RASQYIQGFLN]WYQQKPG
 KAPRLLIYA[AASTLQD]GVPSRFSGSGYGTDFTLTISLQPED
 FATYYC[QQSYSTPWT]FGQGTKVEIK (配列番号124)

【0509】

抗体160_01_G2(2A5由来)

【0510】

VH CDR1: ELSMH (配列番号1)

VH CDR2: GFDPEDGETIYAQKFQG (配列番号2)

【0511】

【化51】

VH CDR3: [YTLDNMALTY] (配列番号58)

【0512】

VHアミノ酸配列:

【0513】

【化52】

EVRLVQSGAEVKKPGASVKVSCKVSQYTLT[ELSMH]WVRQAP
 GKGLEWMG[GFDPEDGETIYAQKFQG]RVTMTEDTSTDTAYME
 LSSLRSEDVAVYYCAT[YTLDNMALTY]WGQGTLVTVSS (配列番
 号59)

【0514】

VL CDR1: RASQYIQGFLN (配列番号5)

VL CDR2: AASTLQD (配列番号6)

VL CDR3: QQSYSTPWT (配列番号7)

【0515】

VLアミノ酸配列:

【0516】

【化53】

DIQMTQSPASLPTSVGDRVITC **RASQYIQGFLN** WYQQKPG
 KAPRLLIY **AASTLQD** GVPSRFSGSGYGTDFTLTISLQPED
 FATYYC **QQSYSTPWT** FGQGTKVEIKR (配列番号8); または
 DIQMTQSPASLPTSVGDRVITC **RASQYIQGFLN** WYQQKPG
 KAPRLLIY **AASTLQD** GVPSRFSGSGYGTDFTLTISLQPED
 FATYYC **QQSYSTPWT** FGQGTKVEIK (配列番号124)

10

【0517】

抗体161_01_F6 (160_01_F6としても知られる) (2A5由来)

【0518】

VH CDR1: ELSMH (配列番号1)

VH CDR2: GFDPEDGETIYAQKFQG (配列番号2)

【0519】

【化54】

VH CDR3: AQKENIANRH (配列番号60)

【0520】

VHアミノ酸配列:

【0521】

【化55】

EVRLVQSGAEVKKPGASVKVSGYTLT **ELSMH** WVRQAP
 GKGLEWMG **GFDPEDGETIYAQKFQG** RVTMTEDTSTDTAYME
 LSSLRSED TAVYYCAT **AQKENIANRH** WGQGT LVTVSS (配列番
 号61)

20

【0522】

VL CDR1: RASQYIQGFLN (配列番号5)

VL CDR2: AASTLQD (配列番号6)

VL CDR3: QQSYSTPWT (配列番号7)

【0523】

VLアミノ酸配列:

【0524】

【化56】

DIQMTQSPASLPTSVGDRVITC **RASQYIQGFLN** WYQQKPG
 KAPRLLIY **AASTLQD** GVPSRFSGSGYGTDFTLTISLQPED
 FATYYC **QQSYSTPWT** FGQGTKVEIKR (配列番号8); または
 DIQMTQSPASLPTSVGDRVITC **RASQYIQGFLN** WYQQKPG
 KAPRLLIY **AASTLQD** GVPSRFSGSGYGTDFTLTISLQPED
 FATYYC **QQSYSTPWT** FGQGTKVEIK (配列番号124)

40

【0525】

抗体161_01_A12 (2A5由来)

【0526】

VH CDR1: ELSMH (配列番号1)

50

VH CDR2 : GFDPEDGETIYAQKFQG (配列番号2)
 【0527】
 【化57】

VH CDR3 : AQPTALANTY (配列番号62)

【0528】

VHアミノ酸配列 :

【0529】

【化58】

EVRLVQSGAEVKKPGASVKVSCKVSQYTLTELSMHWVRQAP
 GKGLEWMGGFDPEDGETIYAQKFQGRVTMTEDTSTDTAYME
 LSSLRSEDNAVYYCATAQPTALANTYWGQGTLVTVSS (配列番
 号63)

10

【0530】

VL CDR1 : RASQYIQGFLN (配列番号5)

VL CDR2 : AASTLQD (配列番号6)

VL CDR3 : QQSYSTPWT (配列番号7)

【0531】

VLアミノ酸配列 :

【0532】

【化59】

DIQMTQSPASLPTSVGDRVTITCRASQYIQGFLNWYQQKPG
 KAPRLLIYAASTLQDGVPSRFSGSGYGTDFTLTISSLQPED
 FATYYCQQSYSTPWTFGQGTKVEIKR (配列番号8); または
 DIQMTQSPASLPTSVGDRVTITCRASQYIQGFLNWYQQKPG
 KAPRLLIYAASTLQDGVPSRFSGSGYGTDFTLTISSLQPED
 FATYYCQQSYSTPWTFGQGTKVEIK (配列番号124)

20

30

【0533】

抗体161_01_C09(2A5由来)

【0534】

VH CDR1 : ELSMH (配列番号1)

VH CDR2 : GFDPEDGETIYAQKFQG (配列番号2)

【0535】

【化60】

VH CDR3 : AQLPYLAQTY (配列番号64)

【0536】

VHアミノ酸配列 :

【0537】

40

【化61】

EVRLVQSGAEVKKPGASVKVSCKVS GYTLT **E L S M H** WVRQAP
 GKGLEWMG **G F D P E D G E T I Y A Q K F Q G** RVTMTEDTSTDTAYME
 LSSLRSED TAVYYCAT **A Q L P Y L A Q T Y** WGQGTLVTVSS (配列番
 号65)

【0538】

VL CDR1: RASQYIQGFLN (配列番号5)
 VL CDR2: AASTLQD (配列番号6)
 VL CDR3: QQSYSTPWT (配列番号7)

10

【0539】

VLアミノ酸配列:

【0540】

【化62】

DIQMTQSPASLPTSVGDRVTITC **R A S Q Y I Q G F L N** WYQQKPG
 KAPRLLIY **A A S T L Q D** GVPSRFSGSGYGTDFTLTISLQPED
 FATYYC **Q Q S Y S T P W T** FGQGTKVEIKR (配列番号8); または
 DIQMTQSPASLPTSVGDRVTITC **R A S Q Y I Q G F L N** WYQQKPG
 KAPRLLIY **A A S T L Q D** GVPSRFSGSGYGTDFTLTISLQPED
 FATYYC **Q Q S Y S T P W T** FGQGTKVEIK (配列番号124)

20

【0541】

抗体161_01_H10(2A5由来)

【0542】

VH CDR1: ELSMH (配列番号1)
 VH CDR2: GFDPEDGETIYAQKFG (配列番号2)

30

【0543】

【化63】

VH CDR3: **A Q P V W A P G T Y** (配列番号66)

【0544】

VHアミノ酸配列:

【0545】

【化64】

EVRLVQSGAEVKKPGASVKVSCKVS GYTLT **E L S M H** WVRQAP
 GKGLEWMG **G F D P E D G E T I Y A Q K F Q G** RVTMTEDTSTDTAYME
 LSSLRSED TAVYYCAT **A Q P V W A P G T Y** WGQGTLVTVSS (配列番
 号67)

40

【0546】

VL CDR1: RASQYIQGFLN (配列番号5)
 VL CDR2: AASTLQD (配列番号6)
 VL CDR3: QQSYSTPWT (配列番号7)

【0547】

VLアミノ酸配列:

【0548】

50

【化65】

DIQMTQSPASLPTSVGDRVITC **RASQYIQGFLN** WYQQKPG
 KAPRLLIY **AASTLQD** GVPSRFSGSGYGTDFTLTISLQPED
 FATYYC **QQSYSTPWT** FGQGTKVEIKR (配列番号8); または
 DIQMTQSPASLPTSVGDRVITC **RASQYIQGFLN** WYQQKPG
 KAPRLLIY **AASTLQD** GVPSRFSGSGYGTDFTLTISLQPED
 FATYYC **QQSYSTPWT** FGQGTKVEIK (配列番号124)

10

【0549】

抗体161_01_C11 (2A5由来)

【0550】

VH CDR1: ELSMH (配列番号1)

VH CDR2: GFDPEDGETIYAQKFQG (配列番号2)

【0551】

【化66】

VH CDR3: AQKEWLPDVT (配列番号68)

【0552】

VHアミノ酸配列:

【0553】

【化67】

EVRLVQSGAEVKKPGASVKVSCVSGYTTLT **ELSMH** WVRQAP
 GKGLEWMG **GFDPEDGETIYAQKFQG** RVTMTEDTSTDTAYME
 LSSLRSED TAVYYCAT **AQKEWLPDVT** WGQGTLVTVSS (配列番
 号69)

20

【0554】

VL CDR1: RASQYIQGFLN (配列番号5)

VL CDR2: AASTLQD (配列番号6)

VL CDR3: QQSYSTPWT (配列番号7)

【0555】

VLアミノ酸配列:

【0556】

【化68】

DIQMTQSPASLPTSVGDRVITC **RASQYIQGFLN** WYQQKPG
 KAPRLLIY **AASTLQD** GVPSRFSGSGYGTDFTLTISLQPED
 FATYYC **QQSYSTPWT** FGQGTKVEIKR (配列番号8); または
 DIQMTQSPASLPTSVGDRVITC **RASQYIQGFLN** WYQQKPG
 KAPRLLIY **AASTLQD** GVPSRFSGSGYGTDFTLTISLQPED
 FATYYC **QQSYSTPWT** FGQGTKVEIK (配列番号124)

40

【0557】

抗体162_02_D3 (2A5由来)

【0558】

VH CDR1: ELSMH (配列番号1)

50

VH CDR2 : GFDPEDGETIYAQKFQG (配列番号2)
 【0559】
 【化69】

VH CDR3 : AQIHPLGLTY (配列番号70)

【0560】

VHアミノ酸配列 :

【0561】

【化70】

EVRLVQSGAEVKKPGASVKVSGYTLTELSMHWVRQAP
 GKGLEWMGGFDPEDGETIYAQKFQGRVTMTEDTSTDTAYME
 LSSLRSEDVAVYYCATAQIHPLGLTYWGQGTLVTVSS (配列番号71)

10

【0562】

VL CDR1 : RASQYIQGFLN (配列番号5)

VL CDR2 : AASTLQD (配列番号6)

VL CDR3 : QQSYSTPWT (配列番号7)

【0563】

VLアミノ酸配列 :

【0564】

【化71】

DIQMTQSPASLPTSVGDRVTITCRASQYIQGFLNWYQQKPG
 KAPRLLIYAASTLQDGVPSRFSGSGYGTDFTLTISLQPED
 FATYYCQQSYSTPWTFGQGTKVEIKR (配列番号8); または
 DIQMTQSPASLPTSVGDRVTITCRASQYIQGFLNWYQQKPG
 KAPRLLIYAASTLQDGVPSRFSGSGYGTDFTLTISLQPED
 FATYYCQQSYSTPWTFGQGTKVEIK (配列番号124)

20

30

【0565】

抗体162_02_C6(2A5由来)

【0566】

VH CDR1 : ELSMH (配列番号1)

VH CDR2 : GFDPEDGETIYAQKFQG (配列番号2)

VH CDR3 : AQKETALTY (配列番号3)

【0567】

VHアミノ酸配列 :

【0568】

【化72】

EVRLVQSGAEVKKPGASVKVSGYTLTELSMHWVRQAP
 GKGLEWMGGFDPEDGETIYAQKFQGRVTMTEDTSTDTAYME
 LSSLRSEDVAVYYCATAQKETALTYWGQGTLVTVSS (配列番号4)

40

【0569】

VL CDR1 : RASQYIQGFLN (配列番号5)

50

VL CDR2 : AASTLQD (配列番号6)
 【0570】
 【化73】

VL CDR3 : QNQYAGPWT (配列番号72)

【0571】

VLアミノ酸配列 :

【0572】

【化74】

DIQMTQSPASLPTSVGDRVTITC RASQYIQGFLN WYQQKPG 10

KAPRLLIY AASTLQD GVPSRFSGSGYGTDFTLTISLQPED

FATYYC QNQYAGPWT FGQGTKVEIKR (配列番号73);または

DIQMTQSPASLPTSVGDRVTITC RASQYIQGFLN WYQQKPG

KAPRLLIY AASTLQD GVPSRFSGSGYGTDFTLTISLQPED

FATYYC QNQYAGPWT FGQGTKVEIK (配列番号128)

【0573】

抗体162_02_H5(2A5由来)

20

【0574】

VH CDR1 : ELSMH (配列番号1)

VH CDR2 : GFDPEDGETIYAQKFQG (配列番号2)

VH CDR3 : AQKETYALTY (配列番号3)

【0575】

VHアミノ酸配列 :

【0576】

【化75】

EVRLVQSGAEVKKPGASVKVSCKVSQYTLT ELSMH WVRQAP

GKGLEWMG GFDPEDGETIYAQKFQGRVTMTEDTSTDTAYME 30

LSSLRSEDTAVYYCAT AQKETYALTY WGQGTLVTVSS (配列番号4)

【0577】

VL CDR1 : RASQYIQGFLN (配列番号5)

VL CDR2 : AASTLQD (配列番号6)

【0578】

【化76】

VL CDR3 : QNQYTG PWT (配列番号74) 40

【0579】

VLアミノ酸配列 :

【0580】

【化77】

DIQMTQSPASLPTSVGDRVITC **RASQYIQGFLN** WYQQKPG
 KAPRLLIY **AASTLQD** GVPSRFSGSGYGTDFTLTISLQPED
 FATYYC **QNQYTG PWT** FGQGTKVEIKR (配列番号75); または
 DIQMTQSPASLPTSVGDRVITC **RASQYIQGFLN** WYQQKPG
 KAPRLLIY **AASTLQD** GVPSRFSGSGYGTDFTLTISLQPED
 FATYYC **QNQYTG PWT** FGQGTKVEIK (配列番号129)

10

【0581】

抗体162_02_F3 (2A5由来)

【0582】

VH CDR1: ELSMH (配列番号1)

VH CDR2: GFDPEDGETIYAQKFQG (配列番号2)

VH CDR3: AQKETYALTY (配列番号3)

【0583】

VHアミノ酸配列:

【0584】

【化78】

EVRLVQSGAEVKKPGASVKVSCKVS GYTLT **ELSMH** WVRQAP
 GKGLEWMG **GFDPEDGETIYAQKFQG** RVTMTEDTSTDTAYME
 LSSLRSED TAVYYCAT **AQKETYALTY** WGQGTLVTVSS (配列番
 号4)

20

【0585】

VL CDR1: RASQYIQGFLN (配列番号5)

VL CDR2: AASTLQD (配列番号6)

【0586】

【化79】

VL CDR3: **QNQYRGPWT** (配列番号76)

30

【0587】

VLアミノ酸配列:

【0588】

【化80】

DIQMTQSPASLPTSVGDRVITC **RASQYIQGFLN** WYQQKPG
 KAPRLLIY **AASTLQD** GVPSRFSGSGYGTDFTLTISLQPED
 FATYYC **QNQYRGPWT** FGQGTKVEIKR (配列番号77); または
 DIQMTQSPASLPTSVGDRVITC **RASQYIQGFLN** WYQQKPG
 KAPRLLIY **AASTLQD** GVPSRFSGSGYGTDFTLTISLQPED
 FATYYC **QNQYRGPWT** FGQGTKVEIK (配列番号130)

40

【0589】

抗体162_02_C1 (2A5由来)

【0590】

VH CDR1: ELSMH (配列番号1)

50

VH CDR2 : GFDPEDGETIYAQKFQG (配列番号2)

VH CDR3 : AQKETYALTY (配列番号3)

【0591】

VHアミノ酸配列 :

【0592】

【化81】

EVRLVQSGAEVKKPGASVKVSGYTLT[ELSMH]WVRQAP
GKGLEWMG[GFDPEDGETIYAQKFQG]RVTMTEDTSTDTAYME
LSSLRSED TAVYYCAT[AQKETYALTY]WGQGTLVTVSS (配列番号4)

10

【0593】

VL CDR1 : RASQYIQGFLN (配列番号5)

VL CDR2 : AASTLQD (配列番号6)

【0594】

【化82】

VL CDR3 : [LHHYRAPWT] (配列番号78)

【0595】

20

VLアミノ酸配列 :

【0596】

【化83】

DIQMTQSPASLPTSVGDRVTITC[RASQYIQGFLN]WYQQKPG
KAPRLLIY[AASTLQD]GVPSRFSGSGYGTDFTLTISLQPED
FATYYC[LHHYRAPWT]FGQGTKVEIKR (配列番号79);または
DIQMTQSPASLPTSVGDRVTITC[RASQYIQGFLN]WYQQKPG
KAPRLLIY[AASTLQD]GVPSRFSGSGYGTDFTLTISLQPED
FATYYC[LHHYRAPWT]FGQGTKVEIK (配列番号131)

30

【0597】

抗体162_02_C2(2A5由来)

【0598】

VH CDR1 : ELSMH (配列番号1)

VH CDR2 : GFDPEDGETIYAQKFQG (配列番号2)

VH CDR3 : AQKETYALTY (配列番号3)

【0599】

VHアミノ酸配列 :

40

【0600】

【化84】

EVRLVQSGAEVKKPGASVKVSGYTLT[ELSMH]WVRQAP
GKGLEWMG[GFDPEDGETIYAQKFQG]RVTMTEDTSTDTAYME
LSSLRSED TAVYYCAT[AQKETYALTY]WGQGTLVTVSS (配列番号4)

【0601】

VL CDR1 : RASQYIQGFLN (配列番号5)

50

VL CDR2 : AASTLQD (配列番号6)
 【0602】
 【化85】

VL CDR3 : MHHYRAPWT (配列番号80)

【0603】

VLアミノ酸配列 :

【0604】

【化86】

DIQMTQSPASLPTSVGDRVITTCRASQYIQGFLN WYQQKPG 10

KAPRLLIYAASSTLQDGVPSRFSGSGYGTDFTLTISSLQPED

FATYYCMHHYRAPWTFGQGKVEIKR (配列番号81);または

DIQMTQSPASLPTSVGDRVITTCRASQYIQGFLN WYQQKPG

KAPRLLIYAASSTLQDGVPSRFSGSGYGTDFTLTISSLQPED

FATYYCMHHYRAPWTFGQGKVEIK (配列番号132)

【0605】

抗体162_02_F4(2A5由来)

20

【0606】

VH CDR1 : ELSMH (配列番号1)

VH CDR2 : GFDPEDGETIYAQKFQG (配列番号2)

VH CDR3 : AQKETYALTY (配列番号3)

【0607】

VHアミノ酸配列 :

【0608】

【化87】

EVRLVQSGAEVKKPGASVKVSCKVSQYTLTELSMH WVRQAP

GKGLEWMG GFDPEDGETIYAQKFQGRVTMTEDTSTDTAYME 30

LSSLRSEDTAVYYCAT AQKETYALTY WGQGTLVTVSS (配列番号4)

【0609】

VL CDR1 : RASQYIQGFLN (配列番号5)

VL CDR2 : AASTLQD (配列番号6)

【0610】

【化88】

VL CDR3 : MHHYRSPWT (配列番号82) 40

【0611】

VLアミノ酸配列 :

【0612】

【化89】

DIQMTQSPASLPTSVGDRVITC **RASQYIQGFLN** WYQQKPG
 KAPRLLIY **AASTLQD** GVPSRFSGSGYGTDFTLTISLQPED
 FATYYC **MHHYRSPWT** FGQGTKVEIKR (配列番号83); または
 DIQMTQSPASLPTSVGDRVITC **RASQYIQGFLN** WYQQKPG
 KAPRLLIY **AASTLQD** GVPSRFSGSGYGTDFTLTISLQPED
 FATYYC **MHHYRSPWT** FGQGTKVEIK (配列番号133)

10

【0613】

抗体162_02_C3(2A5由来)

【0614】

VH CDR1: ELSMH (配列番号1)
 VH CDR2: GFDPEDGETIYAQKFQG (配列番号2)
 VH CDR3: AQKETYALTY (配列番号3)

【0615】

VHアミノ酸配列:

【0616】

【化90】

EVRLVQSGAEVKKPGASVKVSCKVS GYTLT **ELSMH** WVRQAP
 GKGLEWMG **GFDPEDGETIYAQKFQG** RVTMTEDTSTDTAYME
 LSSLRSED TAVYYCAT **AQKETYALTY** WGQGTLVTVSS (配列番
 号4)

20

【0617】

VL CDR1: RASQYIQGFLN (配列番号5)
 VL CDR2: AASTLQD (配列番号6)

【0618】

【化91】

VL CDR3: MQHYDGPWT (配列番号84)

30

【0619】

VLアミノ酸配列:

【0620】

【化92】

DIQMTQSPASLPTSVGDRVITC **RASQYIQGFLN** WYQQKPG
 KAPRLLIY **AASTLQD** GVPSRFSGSGYGTDFTLTISLQPED
 FATYYC **MQHYDGPWT** FGQGTKVEIKR (配列番号85); または
 DIQMTQSPASLPTSVGDRVITC **RASQYIQGFLN** WYQQKPG
 KAPRLLIY **AASTLQD** GVPSRFSGSGYGTDFTLTISLQPED
 FATYYC **MQHYDGPWT** FGQGTKVEIK (配列番号134)

40

【0621】

抗体162_02_E11(2A5由来)

VH CDR1: ELSMH (配列番号1)
 VH CDR2: GFDPEDGETIYAQKFQG (配列番号2)

50

VH CDR3 : A Q K E T Y A L T Y (配列番号3)

【0622】

VHアミノ酸配列:

【0623】

【化93】

EVRLVQSGAEVKKPGASVKVSCVSGYTLLT[ELSMH]WVRQAP
GKGLEWMG[GFDPEDGETIYAQKFQG]RVTMTEDTSTDTAYME
LSSLRSEDTAVYYCAT[AQKETRYALTY]WGQGTLVTVSS (配列番
号4)

10

【0624】

VL CDR1 : R A S Q Y I Q G F L N (配列番号5)

VL CDR2 : A A S T L Q D (配列番号6)

【0625】

【化94】

VL CDR3 : [LHHYRSPTWT] (配列番号86); または [LHHYRSPWT] (配
列番号135)

【0626】

20

VLアミノ酸配列:

【0627】

【化95】

DIQMTQSPASLPTSVGDRVTITC[RASQYIQQFLN]WYQQKPG
KAPRLLIYA[AASTLQD]GVPSRFSGSGYGTDFTLTISSLQPED
FATYYC[LHHYRSPTWT]FGQGTKVEIKR (配列番号87); または
DIQMTQSPASLPTSVGDRVTITC[RASQYIQQFLN]WYQQKPG
KAPRLLIYA[AASTLQD]GVPSRFSGSGYGTDFTLTISSLQPED
FATYYC[LHHYRSPWT]FGQGTKVEIK (配列番号136)

30

【0628】

抗体163_02_A12(2A5由来)

【0629】

VH CDR1 : E L S M H (配列番号1)

VH CDR2 : G F D P E D G E T I Y A Q K F Q G (配列番号2)

VH CDR3 : A Q K E T Y A L T Y (配列番号3)

【0630】

VHアミノ酸配列:

40

【0631】

【化96】

EVRLVQSGAEVKKPGASVKVSCVSGYTLLT[ELSMH]WVRQAP
GKGLEWMG[GFDPEDGETIYAQKFQG]RVTMTEDTSTDTAYME
LSSLRSEDTAVYYCAT[AQKETRYALTY]WGQGTLVTVSS (配列番
号4)

【0632】

VL CDR1 : R A S Q Y I Q G F L N (配列番号5)

50

VL CDR2 : AASTLQD (配列番号6)

【0633】

【化97】

VL CDR3 : LHHYREPWT (配列番号88)

【0634】

VLアミノ酸配列 :

【0635】

【化98】

DIQMTQSPASLPTSVGDRVITC[RASQYIQGFLN]WYQQKPG 10

KAPRLLIY[AASTLQD]GVPSRFSGSGYGTDFTLTISLQPED

FATYYC[LHHYREPWT]FGQGTKVEIKR (配列番号89);または

DIQMTQSPASLPTSVGDRVITC[RASQYIQGFLN]WYQQKPG

KAPRLLIY[AASTLQD]GVPSRFSGSGYGTDFTLTISLQPED

FATYYC[LHHYREPWT]FGQGTKVEIK (配列番号137)

【0636】

抗体163_02_D11(2A5由来) 20

【0637】

VH CDR1 : ELSMH (配列番号1)

VH CDR2 : GFDPEDGETIYAQKFQG (配列番号2)

VH CDR3 : AQKETYALTY (配列番号3)

【0638】

VHアミノ酸配列 :

【0639】

【化99】

EVRLVQSGAEVKKPGASVKVSCKVSQYTLT[ELSMH]WVRQAP 30

GKGLEWMG[GFDPEDGETIYAQKFQG]RVTMTEDTSTDTAYME

LSSLRSEDTAVYYCAT[AQKETYALTY]WGQGTLVTVSS (配列番

号4)

【0640】

VL CDR1 : RASQYIQGFLN (配列番号5)

VL CDR2 : AASTLQD (配列番号6)

VL CDR3 : LHHYKSPWT (配列番号90)

【0641】

VLアミノ酸配列 :

【0642】 40

【化100】

DIQMTQSPASLPTSVGDRVITC[RASQYIQGFLN]WYQQKPG
 KAPRLLIY[AASTLQD]GVPSRFSGSGYGTDFTLTISSLQPED
 FATYYC[LHHYKSPWT]FGQGTKVEIKR (配列番号91);または
 DIQMTQSPASLPTSVGDRVITC[RASQYIQGFLN]WYQQKPG
 KAPRLLIY[AASTLQD]GVPSRFSGSGYGTDFTLTISSLQPED
 FATYYC[LHHYKSPWT]FGQGTKVEIK (配列番号138)

10

【0643】

I g G 4 1 6 5 _ 1 3 _ C 3 (A n g a l 1 9 9 3 に記載されるヒンジ改変を有する定常領域)

参考文献: Angal S1, King DJ, Bodmer MW, Turner A, Lawson AD, Roberts G, Pedley B, Adair JR. Mol Immunol. 1993 Jan;30(1):105-8。

【0644】

QVQLVESGGGLVQPGRSLRLSCAASGFTFDDYAMHWVRQA
 PGKGLEWVSGISGSGGSTYYADSVKGRFTISRDNAKNSLY
 LQMNSLR AEDTALYYCAKSYQSEDEDAFDIWGQGTMVTVSS
 ASTKGPSVFP LAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVS
 WNSGALTSQVHTFPAVLQSSGLYSLSVTVTPSSSLGTKT
 YTCNV D HKPSNTKVDKRVESKYGP PCPPCPAPEFLGGPSV
 FLFPKPKD TLMISRTP E V T C V V D V S Q E D P E V Q F N W Y V D
 GVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYK
 CKVSNKGLPSSIEKTI SKAKGQPREPQVYTLPPSQEEMTK
 NQVSLTCLVKGFPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSD
 GSFFLYSRLTVDKSRWQEGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSL
 SLSLGK

20

【0645】

実施例10: タンパク質配列

30

【0646】

ヒトテネインC FBGドメインのアミノ酸配列 [配列番号92]

IGLLYPFPKDCSQAMLN GDTTSGLYTIYLN GDKAEALEVF
 CDMTSDGGGWIVFLRRKNGRENFYQNWKAYAAGFGDRREE
 FWLGLDNLNKITAQGQYELRVDLRDHGETAFAYYDKFSVG
 DAKTRYKLV EGYSGTAGDSMAYHNGRSFSTFDKDTDSA I
 TNCA LS YKGAFWYRNCHR VNLMGRYGDNNHSQGVNWFHWK
 GHEHSIQFAEMKLRPSNFRNLEGRKRA

【0647】

マウステネインC FBGドメインのアミノ酸配列 [配列番号93]

40

IGLLYPFP PRDCSQAMLN GDTTSGLYTIYIN GDKTQALEVY
 CDMTSDGGGWIVFLRRKNGREDFYRNWKAYAAGFGDRREE
 FWLGLDNL SKITAQGQYELRVDLQDHGESAYAVYDRFSVG
 DAKSRYKLV EGYSGTAGDSMNYHNGRSFSTYDKDTDSA I
 TNCA LS YKGAFWYKNCHR VNLMGRYGDNNHSQGVNWFHWK
 GHEYSIQFAEMKLRPSNFRNLEGR
 KRA

【0648】

ラットテネインC FBGドメインのアミノ酸配列 [配列番号94]

IGLLYPFP PRDCSQAMLN GDTTSGLYTIYIN GDKTQALEVY

50

CDMTSDGGGWIVFLRRKNGREDFYRNWKAYATGFGDRREE
 FWLGLDNL SKIT AQGQYELRVDLQDHGESAYAVYDRFSVG
 DAKSRYK LKVEGYSGTAGDSMNYHNGRSFSTYDKD TDSA I
 TNCA LSYKGA FWYKNCHR VNLMGRYGDNNHSQGVNWFHWK
 GHEYSIQFAEMKLRPSNFRNLEGRRKRA

【0649】

イヌテネイシンC FBGドメインのアミノ酸配列 [配列番号95]

IGLLYPFPRDCSQAMLN GDTTSGLYTIYLN GDKAQA LEVY
 CDMTSDGGGWIVFLRRKNGREDFYRNWKAYAAAGFGDRREE
 FWLGLDNLHKIT AQGQYELRVDLRDHGKTAYAVYDRFSVG
 DAKTRYK LKVEGYSGTAGDSMAYHNGRSFSTFDKDTDSA I
 TNCA LSYKGA FWYKNCHR VNLMGRYGDNNHSQGVNWFHWK
 GHEYSIQFAEMKLRPSNFRNLEGRRKRA

10

【0650】

ヒトテネイシン-R FBGドメインのアミノ酸配列 [配列番号96]

FPHPQDCAQHLMNGDTLSGVYPIFLNGELSKLQVYCDMT
 TDGGGWIVFQRRQNGQTDFFRKWADYRVGFGNVEDEFWLG
 LDNIHRITSQGRYELRVDMRDGEAAAFASYDRFSVEDSRN
 LYKLRI GSYNGTAGDSL SYHQGRPFSTEDRDNDVAVTNCA
 MSYKGA WWYKNCHR TNLNGKYGESRHSQGINWYHWKGHEF
 SIPFVEMKMRPYNHRLMAGRKRQSLQF

20

【0651】

実施例11：生殖系列の配列

IMGT/DomainGapAlignを用いて最も近い生殖系列一致を決定した：
 Ehrenmann F., Kaas Q. and Lefranc M.P. Nucleic Acids Res., 38, D301-307(2010)。
 アミノ酸の下線により非生殖系列化配列からの変化を示す。CDRは四角で囲まれた配列
 で示される。

【0652】

抗体2A5

【0653】

30

フレームワーク生殖系列化： VHアミノ酸配列：

【0654】

【化101】

QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKVSGYTLT ELSMHWVRQAP
 GKGLEWMG GFDPEDGETIYAQKFQGRVTMTEDTSTDTAYME
 LSSLRSEDTAVYYCAT AQKETVALTYWGQGTLVTVSS (配

列番号112)

【0655】

40

フレームワーク生殖系列化： VLアミノ酸配列：

【0656】

【化102】

DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITC[RASQYIQGFLN]WYQQKPG
 KAPKLLIY[AASSLQS]GVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPED
 FATYYC[QQSYSTPWT]FGQGTKVEIKR (配列番号113);または
 DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITC[RASQYIQGFLN]WYQQKPG
 KAPKLLIY[AASSLQS]GVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPED
 FATYYC[QQSYSTPWT]FGQGTKVEIK (配列番号139)

10

【0657】

生殖系列化配列の結果の通りに変化したCDR:

VL CDR2: AASSLQS (配列番号114)

【0658】

抗体B12

【0659】

フレームワーク生殖系列化: VHアミノ酸配列:

【0660】

【化103】

EVQLVESGGGLVQPGRSLRLSCAASGFTFD[DYAMH]WVRQAP
 GKGLEWVS[GISGSGGSTYYADSVKY]RFTISRDNKNSLYLQ
 MNSLRAEDTALYYCAK[DISAVPDTFDI]WGQGTMTVTVSS (配
 列番号115)

20

【0661】

生殖系列化配列の結果の通りに変化したCDR:

VH CDR2: GISGSGGSTYYADSVKY (配列番号116)

【0662】

フレームワーク生殖系列化: VLアミノ酸配列:

【0663】

【化104】

DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITC[RASQYIQGFLN]WYQQKPG
 KAPKLLIY[DASSLQS]GVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPED
 FATYYC[QQSYSTPQT]FGQGTKVDIKR (配列番号117);または
 DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITC[RASQYIQGFLN]WYQQKPG
 KAPKLLIY[DASSLQS]GVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPED
 FATYYC[QQSYSTPQT]FGQGTKVDIK (配列番号140)

40

【0664】

生殖系列化配列の結果の通りに変化したCDR:

VL CDR2: DASSLQS (配列番号118)

【0665】

抗体D8

【0666】

フレームワーク生殖系列化: VHアミノ酸配列:

【0667】

【化105】

QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTSYGISWVRQAP
 GQGLEWMGWISAYNGNTNYAQKLQGRVTMTTDTSTSTAYME
 LRSLSDDTAVYYCARNQDSSSDYWGQGTLVTVSS (配列番号
 119)

【0668】

フレームワーク生殖系列化： VLアミノ酸配列：

【0669】

【化106】

DIQMTQSPSSLSASVGDRTITCRASQYIQGFLN WYQQKPG
 KAPKLLIYDASSLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISLQPED
 FATYYCQQSYSTLQTFGGGTKVEIKR (配列番号120); または
 DIQMTQSPSSLSASVGDRTITCRASQYIQGFLN WYQQKPG
 KAPKLLIYDASSLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISLQPED
 FATYYCQQSYSTLQTFGGGTKVEIK (配列番号141)

【0670】

生殖系列化配列の結果の通りに変化したCDR：

VL CDR2： DASSLQS (配列番号121)

【0671】

抗体F3

【0672】

フレームワーク生殖系列化： VHアミノ酸配列：

【0673】

【化107】

QVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAASGFTFSYGMHWVRQAP
 GKGLEWVAVISYDGSNKYYADSVKGRFTISRDN SKNTLYLQ
 MNSLRAEDTAVYYCAR EGYDQLFSAESNAFDI WGQGTLVTV
 SS (配列番号122)

【0674】

フレームワーク生殖系列化： VLアミノ酸配列：

【0675】

【化108】

NFMLTQPHSVSESPGKTVTISC TRSSGSIASYFVQ WYQQRP
 GSSPTTVIY EDNQRPS GVPDRFSGSIDSSSNSASLTISGLK
 TEDEADYYC QSYDSSNWV FGGGTKLTVLGQP (配列番号123)

; または

NFMLTQPHSVSESPGKTVTISC TRSSGSIASYFVQ WYQQRP
 GSSPTTVIY EDNQRPS GVPDRFSGSIDSSSNSASLTISGLK
 TEDEADYYC QSYDSSNWV FGGGTKLTVL (配列番号142)

【0676】

実施例 12 : ウェスタンブロッティングにおける抗体の使用

モノクローナル抗体 IgG4 C3 (上述した 165__13__C3) および IgG4 B12 がウェスタンブロッティングにうまく使用することができることを確認するため、精製タンパク質を用いて第一の特異性を試験した(図14)。次に、神経膠腫細胞可溶化物を用いて、他のタンパク質の生物学的に関連した混合物における完全長TNCを検出するB12の能力を決定した(図15)。

【0677】

図14中のデータに示されるように、組換えCD4-TNC-FBG(ネイシエント社(Nascient))、CD4-TNR-FBGまたはフィブリノーゲン(KIR社)を、還元条件下で4つの10%SDS-PAGEゲル上で泳動し、その後、ニトロセルロース膜にプロットし、以下の抗体で検出した:A)C3 IgG4 MA b(ネイシエント社)、1:20,000(0.25ug/ml)、4で一晩、B)B12 IgG4 MA b(ネイシエント社)、1:20,000(0.25ug/ml)、4で一晩、C)抗ネイシン-R抗体(サンタクルーズバイオテクノロジー社(Santa Cruz Biotechnology)、sc-9875)、1:2,000(0.1ug/ml)、4で一晩、D)抗TNC-FBGポリクローナル抗体(ミッドウッド・グループ社(Midwood group))、1:500、4で一晩。C3抗体およびB12抗体に使用した二次抗体は、アブカム社(ab6858)、1:20,000、室温1時間であった。TNR抗体については、二次抗体はHRP結合型抗ヤギ(シグマ・アルドリッチ社、SAB3700259)、1:10,000、室温で1時間であった。ポリクローナルTNC抗体については、使用した二次抗体はHRP結合型抗ウサギ(ダコ社、P0217)、1:5,000、室温で1時間であった。フィルムへの露光は示された全てのプロットにおいて5分間であった。

10

20

【0678】

この実験では、C3およびB12の両方が、TNR-FBGまたはフィブリノーゲンの交差反応性がほとんど無い、TNC-FBGに対する特異性を示し、このことは、TNC-FBGに対する良好な特異性を示すことから、ウェスタンブロッティング適応へのそれらの適合性を示している。

【0679】

図15中のデータによって示されるように、神経膠腫細胞可溶化物(KIR)およびネイシンC(ネイシエント社)を、還元条件下で5%SDS-PAGEゲル上で泳動し、その後、膜にプロットし、以下で検出した:A) B12 IgG4 MA b(ネイシエント社)、1:20,000、4で一晩;B) IgG4アイソタイプ対照(エウレカ・セラピューティクス社(Eureka therapeutics))、1:4,000、4で一晩。使用した二次抗体はアブカム社(ab6858)、1:10,000、室温で1時間であった。プロットはECL Western Blotting Detection Reagent(GEヘルスケア社、アマシャム社)で発色させた。プロットを1分間フィルムに露光した。

30

【0680】

これらの結果は、B12が完全長TNC、並びにTNCの分解生成物および/またはスプライズバリエーションを検出でき、細胞可溶化物中に存在する他のタンパク質に対し低い交差反応性を示すことを示している。

40

【0681】

実施例 13 : インビトロにおけるC3抗体の活性

モノクローナル抗体C3(165__13__C3)がTNC-FBGのその受容体TLR4への結合を乱すことにより作用することを確認するために、まず、TLR4およびFc-His-FBGに対するインビトロ結合アッセイを開発し、その後、C3と共にFc-His-FBGをプレインキュベーションする効果を決定した。

【0682】

PBS中の組換えヒトTLR4(R&Dシステムズ社)(1ug/ml(14.6nM)) (またはPBS単独)を、96ウェルプレートに結合させた。ブロッキング(10%

50

B S A) の後、指定濃度のヒト F c - H i s - F B G を添加し、1 u g / m l の抗ヒト I g G 1 M A b (A b D セロテック社 (A b D Serotec)、クローン 2 C 1 1)、1 u g / m l の抗マウス H R P 結合型二次抗体 (A b D セロテック社、S T A R 1 3 B)、および T M B 基質のインキュベーションにより、検出を行った。結果が図 1 6 A に示され、n = 4 の平均値および S E M が示される。この実験は、F c - H i s - F B G がインビトロにおいて T L R 4 と用量依存的に結合することを示している。

【 0 6 8 3 】

図 1 6 B に示すように、モノクローナル A b C 3 はインビトロにおいて F B G および T L R 4 との結合を乱す。P B S 中の組換えヒト T L R 4 (または P B S 単独) を 9 6 ウェルプレートに結合させ、ブロッキング後、C 3 M a b またはアイソタイプ対照抗体と一緒にプレインキュベートされた組換えヒト F c - H i s - T N C - F B G (1 0 0 n M) を添加した。前記タンパク質の F c 部分に対する抗体、抗マウス H R P 結合型二次抗体および T M B 基質の一連のインキュベーションによって、検出を行った。C 3 プレインキュベート試料における阻害率を、アイソタイプ対照試料 (I C 5 0 = 4 4 . 5 n M) と比較して算出した。n = 4。

10

【 0 6 8 4 】

実施例 1 4 : 抗体 B 1 2、A 4 および C 3 の抗炎症効果

抗 T N C - F B G 抗体 B 1 2、A 4 (1 6 0 _ 0 1 _ A 4) および C 3 (1 6 5 _ 1 3 _ C 3) が生物系において抗炎症効果を有することが確認された。これを行うために、フィコール勾配および向流遠心分離によって、ヒト単球を末梢血 (ロンドン血液銀行 (L o n d o n b l o o d b a n k)) から単離した。次に、単球を 1 0 0 n g / m l M - C S F (ペプロテック社 (P e p r o t e c)) で 5 日間分化させ、M 2 マクロファージを得た。

20

【 0 6 8 5 】

図 1 7 A 中の結果に示されるように、組換えヒト F c - T N C F B G (1 u M) または L P S (E n z o 社) (1 n g / m l) を、M A b C 3 (1、0 . 2、および 0 . 0 4 u M) またはアイソタイプ対照 (エウレカ社) M A b (1 u M) と一緒に室温で 3 0 分間プレインキュベートし、その後、ヒト M 2 マクロファージ培養物に 3 連で添加した。2 4 時間後、上清を取り、I L - 8、I L - 6 および T N F サイトカイン E L I S A (B D バイオサイエンス社) にかけた (n = 3)。これらの結果は、1 u M において、C 3 が、T N C - F B G で刺激されたヒト M 2 マクロファージによる炎症誘発性サイトカイン放出を大いに減少させることを示しており、この減少は I L - 8 および T N F の両方において統計的に有意である。予想された通り、C 3 は L P S 誘導性サイトカイン放出に対しては効果を有さない。

30

【 0 6 8 6 】

図 1 7 B は、組換えマウス F c - T N C F B G (1 u M) を M A b C 3 (1、0 . 2 および 0 . 0 4 u M) またはアイソタイプ対照 M A b (エウレカ社) (1 u M) と一緒に室温で 3 0 分間プレインキュベートし、その後ヒト M 2 マクロファージ培養物に 3 連で添加した実験から得られた結果を示している。2 4 時間後、上清を取り、サイトカイン E L I S A にかけた。n = 3 以上、平均値および S E M が示される。再度、1 u M の C 3 はマクロファージによるマウス F c - T N C - F B G 誘導性サイトカイン放出を大いに減少させ、このことは、前記抗体の良好な異種間反応性を示している。F B G 誘導性サイトカイン放出が、F B G の F c 部分ではなく、F B G によって誘導されたことを確認するために、F c 部分が不活性となるよう変異されたタンパク質 (F c - M u t - F B G) を使用し、また、抗 T N C - F B G 抗体、B 1 2、C 3 (1 6 5 _ 1 3 _ C 3) および A 4 (1 6 0 _ 0 1 _ A 4) をこの分子に対する活性について試験した。F c - M u t - F B G (1 u M) および C 3、A 4 または B 1 2 (1 u M) を室温で 3 0 分間プレインキュベートし、その後、ヒト M 2 マクロファージ培養物に添加した。2 4 時間後、上清を取り、サイトカイン E L I S A にかけた。n = 3、平均値および S E M が示される。結果を図 1 7 C に示す。この実験により、F c - H i s - F B G 誘導性サイトカイン合成が F c 受容体を介した F c 部分シグナリングによるものではないことが確認される。さらに、関連抗体 B 1

40

50

2 および A 4、並びに C 3 のプレインキュベーションがヒト M 2 マクロファージによる F B G 誘導性サイトカイン放出を大いに減少させることが示される。

【0687】

図 18 A は、モノクローナル抗体 B 1 2 が、ヒト T N C - F B G で刺激された初代ヒトマクロファージによる炎症誘発性サイトカインの産生を減少させることを示している。その実験では、組換えヒトテネニン C F B G (1 u M) を M A b B 1 2 (1、0 . 1、0 . 0 1 または 0 . 0 0 1 u M) またはアイソタイプ対照 M A b (1 u M) と一緒に室温で 3 0 分間プレインキュベートし、その後、その後ヒト M 2 マクロファージ培養物に 3 連で添加した。2 4 時間後、上清を取り、サイトカイン E L I S A にかけた (n = 1)。ここで再度、B 1 2 抗体プレインキュベーションが F B G 誘導性サイトカイン放出を減少させることが分かり、このドナーにおいては、I L - 8 が最小の応答を与える。

10

【0688】

図 18 B は、研究室規模またはそれより大きい規模で作製されたモノクローナル抗体 C 3 が、初代ヒトマクロファージによる F B G 誘導性サイトカイン合成の遮断において同一レベルの有効性を示すことを示している。

【0689】

C 3 抗体を動物試験に取り入れるため、市販の G S - C H O 発現を用いて、主要な受託製造組織において、I g G 4 B 1 2 1 6 5 - 1 3 - C 3 産物をクローニング、発現および精製した。重鎖および軽鎖可変領域の c D N A を、C H O 発現用に最適化し、ライフテクノロジー社による合成を行い (市販のシグナル配列を使用)、その後、発現ベクターにクローニングした。C H O 細胞をプールとしてトランスフェクトし、最高発現プールを大規模振盪フラスコ生産 (2 2 L - 1 1 x 5 L 振盪フラスコ中 2 L) に進めた。専売の餌を 4 日目および 8 日目に投与し、その後、1 2 日目に培養物を回収した。物質を遠心分離し、その後、深層濾過および濾過滅菌を行った。タンジェンシャルフロー・フィルトレーション (3 0 k D a 分画分子量) を用いて物質のおよそ 5 . 5 倍の濃縮を行い、得られた濃縮物を再度濾過滅菌し、その後、M a b S e l e c t S u R e 精製を行った。生成物を溶出させ、生成物を中和し、その後、2 0 m M N a O A c、p H 5 . 5、1 5 0 m M N a C l 中でおよそ 1 1 m g / m l に濃縮 / 透析濾過 (diafilter) した。分子ふるい - H P L C を伴う還元型および非還元型 S D S - P A G E 解析は、高純度であり 9 8 % 超が単量体である物質を示した。内毒素は 0 . 1 E u / m g 未満であった。

20

30

【0690】

この実験では、大規模抗体バッチの作用強度を、現在のより小さな規模のバッチと比較した。組換えヒトテネニン C F B G (1 u M) を M A b C 3 (1、0 . 2 および 0 . 0 4 u M) またはアイソタイプ対照 M A b (1 u M) と一緒に室温で 3 0 分間プレインキュベートし、その後、その後ヒト M 2 マクロファージ培養物に 3 連で添加した。2 4 時間後、上清を取り、サイトカイン E L I S A にかけた。n = 1、I c o = 研究室規模 L o n = より大規模な物質。この実験は、両方の抗体バッチが F B G 誘導性サイトカイン合成の減少において等しい作用強度を示すことを示しており、すなわち、この結果は生産にかかわらず一貫している。

【0691】

実施例 1 5 : モノクローナル抗体 C 3 (1 6 5 _ 1 3 _ C 3) はヒト T N C - F B G で刺激された R A 滑膜線維芽細胞による炎症誘発性サイトカインの産生を減少させる。滑膜線維芽細胞は、R A において重要な炎症誘発性サイトカイン放出源であり得ることが報告されている (R B u c a l a e t a l . (1 9 9 1) C o n s t i t u t i v e P r o d u c t i o n o f M i t o g e n i c a n d I n f l a m m a t o r y C y t o k i n e s b y R h e u m a t o i d S y n o v i a l F i b r o b l a s t s . J . E x p . M e d . 1 7 3 : 5 6 9 - 5 7 4)。そのため、C 3 抗体がまた、マクロファージにおける F B G 誘導性サイトカイン放出と同様の効果を示すかどうかについて、滑膜線維芽細胞を試験した。

40

【0692】

ヒト R A 線維芽細胞を、0 . 5 m g / m l リベラーゼ (ロシュ社) および 0 . 2 m g / m l デオキシリボヌクレアーゼ (ロシュ社) を含有する R P M I (ロンザ社 (Lonza))

50

中での組織の消化および37℃で1～1.5時間のインキュベーションによって、ドナーRA滑膜組織から生じさせた。得られた組織をピペットで200μmナイロンメッシュに通し；メッシュを通過しなかった物質を10%FBS（ライフテクノロジーズ社）および1%ペニシリン/ストレプトマイシン（ライフテクノロジーズ社）を含有するRPMIを含有するペトリ皿に移し、37℃で5日間インキュベートした。5日後、滑膜線維芽細胞が組織から生じ、残りの組織をRA滑膜線維芽細胞（RASf）培養物から取り除き、これをその後、10%FBSおよび1%ペニシリン/ストレプトマイシンを含有するDMEM（ロンザ社）中で維持した。この実験において、RASfは 1×10^4 細胞/ウェルで播種した。組換えヒトTNF- α （1μM）をMAb C3（1、0.2および0.04μM）またはアイソタイプ対照MAb（1μM）と一緒に室温で30分間プレインキュベートし、その後、その後滑膜線維芽細胞培養物に3連で添加した。24時間後、上清を取り、サイトカインELISAにかけた。n = 1、平均値およびSEMが示される（図19参照）。

【0693】

これらの結果は、C3が、RA滑膜線維芽細胞におけるFBG誘導性炎症誘発性サイトカイン放出（IL-8およびIL-6の両方）を減少させるように作用することを示しており、このことは、この作用が、炎症性RA関節に見られる複数の細胞型における有望な機構であることを示している。

【0694】

実施例16：ラットモデルにおけるテネイシンCのレベル

マウスおよびラットCIA（コラーゲン誘発関節炎）モデルの両方におけるテネイシンCの発現を確認したところ、疾患活動性が臨床スコアと相関することが示された。図20は、2つの別々のCIA試験（KWS）の終わりに、ラットの足から洗い出された滑液中のテネイシンCのレベルを測定する実験の結果を示している。テネイシンCレベルをELISA（IBL、large（FN I I I - B）kit）により測定した。次に、測定したTNFレベルを、KWSで表されるその足と関連する臨床スコアと相関付けた。この実験は、足の臨床スコアが高いほど、その足から得られた滑液中に見られるTNFのレベルがより高くなることを示している。このことは、ラットCIAモデルがC3抗体の試験に良好なモデルであることを示している。

【0695】

実施例17：コラーゲン誘発関節炎のラットモデルにおけるC3抗体の評価

IgG4 C3（165__13__C3）を、標準的なラットコラーゲン誘発関節炎モデルにおいて、治療活性について試験した。成体雄Lewisラットを無作為に実験群に割り当て、1週間順応させた。0日目に、動物に、500μlの、フロイント不完全アジュバント中のII型ウシコラーゲンの1mg/mlエマルジョン（CII/IFA）を、腰部における皮内注射により投与した。7日目、動物に2回目のCII/IFA注射を与えた。注射はガス（イソフルラン）麻酔下で行った。下記の表14に示される投与計画に従って処置を施した。

【0696】

10

20

30

【表 17】

表14. 投与スケジュール

群	処置	用量	経路	投与計画	疾患誘導
1	ビヒクル (0.9% NaCl)	n/a	IV	週2回*、0日目～終了	0日目、7日目：CII/IFA、ID
2	対照IgG4 ¹	10 mg/kg	IV		
3	IgG4 165_13_C3	1 mg/kg	IV		
4	IgG4 165_13_C3	3 mg/kg	IV		
5	IgG4 165_13_C3	10 mg/kg	IV		

10

¹ 完全ヒトIgG4アイソタイプ対照、前臨床グレード、(ET904、エウレカ・セラピューティクス社)、n/a：該当無し、IV：静脈内注射、ID：皮内注射、CII/IFA：I型コラーゲンおよび不完全フロイントアジュバントエマルジョン、*0日目、3日目、7日目、10日目、14日目、17日目、21日目および24日目

【0697】

7日目から実験の最後まで、動物を、処置を知らない実験者により、関節炎の臨床徴候について週に3回スコア化した。0日目、14日目、21日目および28日目に、肢の体積を、処置を知らない実験者により、プレチスモメーター(plethysmometer)を用いて測定した。

20

【0698】

結果

非特異性臨床症状

0日目から実験の最後まで、動物を、姿勢異常(猫背)、毛皮状態異常(立毛)および活動レベル異常(活動の減少または増加)を含む非特異性臨床徴候について毎日チェックした。第6群の1匹の動物(ID番号6.9、抗体10mg/kg処置)は21日目のイソフルラン麻酔から回復しなかった。動物は姿勢異常、毛皮状態異常および活動レベル異常等のいかなる非特異性臨床徴候も示さなかった。第1群の1匹の動物(ID番号1.10、ビヒクル処置)を、関節炎の臨床徴候の重症度の理由から、実験終了に先立ち、22日目に処分した。

30

【0699】

臨床スコア

7日目から実験の最後まで、動物を、前肢および後肢の腫脹を含む関節炎の臨床徴候について週に3回スコア化した。実験者は処置を知らされていなかった。各肢を5段階評価でスコア化した：(0)腫脹無し(1)軽微な腫脹および/または紅斑、(2)軽度の腫脹、(3)中程度の腫脹、並びに(4)重度の腫脹および/または関節硬直。各肢のスコアを足すことにより各動物の臨床スコアを算出した。図21に示されるデータを、グラフ化し(各実験群についての平均値±SEM)、2元配置分散分析、続いて実験群間の多重比較のためのダネット事後検定(Dunnett's post-test)によって解析した。ビヒクル処置動物番号1.10の最後に記録されたスコアを22日目の後に使用した。動物番号6.9から記録されたデータは解析から除外した。ビヒクル処置群における臨床スコアは、7日目に測定された臨床スコアと比較した場合に、17日目から28日目の実験の最後まで、有意に増加した($p < 0.0001$)。対照IgG4およびIgG4 C3 1mg/mL投与群は、ビヒクル処置群と比較した場合に、7日目から28日目の実験の最後まで、いかなる有意差も誘発しなかった。3mg/kgで投与されたIgG4 C3は、24日目において、ビヒクル処置群と比較した場合に、臨床スコアの有意な減少を引き起こした($p < 0.01$)。10mg/kgで投与されたIgG4 C3は、22日目から28日目の実験の最後まで、ビヒクル処置群と比較した場合に、臨床スコアの有意な減少を引き起こした($p < 0.01$)。

40

50

【0700】

肢の体積

0日目、14日目、21日目および28日目に、後肢の体積を、プレチスモメーター（水置換デバイス）を用いて測定した。ガス（イソフルラン）麻酔を用いて測定を行った。実験者は処置を知らされていなかった。各実験日の各動物の右左後肢および左後肢の体積を平均した。図22は、グラフ化されたデータを示している（各実験群についての平均値 ± SEM）。データを、2元配置分散分析、続いて実験群間の多重比較のためのダネット事後検定によって解析した。ビヒクル処置動物番号1.10の最後に記録された値を28日目に使用した。動物番号6.9から記録されたデータは解析から除外した。ビヒクル処置群において測定された肢体積は、0日目に測定された肢体積と比較した場合に、14日目から28日目の実験の最後まで、有意に増加した（14日目は $p < 0.01$ 、21日目および28日目は $p < 0.0001$ ）。対照 I g G 4 および 1 m g / k g I g G 4 C 3 投与群は、ビヒクル処置群と比較した場合に、0日目から28日目まで、後肢体積においていかなる差異も引き起こさなかった。3 m g / k g で投与された I g G 4 C 3 は、28日目において、ビヒクル処置群と比較した場合に、後肢体積の有意な減少を引き起こした（ $p < 0.01$ ）。10 m g / k g で投与された I g G 4 C 3 は、21日目（ $p < 0.05$ ）および28日目（ $p < 0.01$ ）において、ビヒクル処置群と比較した場合に、後肢体積の有意な減少を引き起こした。

10

【0701】

結論

試験抗体の I g G 4 C 3 (1 6 5 _ 1 3 _ C 3) は、3 m g / k g または 1 0 m g / k g で投与された場合に、臨床徴候の重症度を有意に減少させた。

20

【0702】

参考文献

1. Smolen, J.S. & Maini, R.N. Interleukin-6: a new therapeutic target. *Arthritis Res Ther* 8 Suppl 2, S5 (2006).
2. Williams, R.O., Paleolog, E. & Feldmann, M. Cytokine inhibitors in rheumatoid arthritis and other autoimmune diseases. *Curr Opin Pharmacol* 7, 412-417 (2007).
3. Brentano, F., Kyburz, D., Schorr, O., Gay, R. & Gay, S. The role of Toll-like receptor signalling in the pathogenesis of arthritis. *Cell Immunol* 233, 90-96 (2005).
4. O'Neill, L.A. Primer: Toll-like receptor signaling pathways-what do rheumatologists need to know? *Nat Clin Pract Rheumatol* (2008).
5. Matzinger, P. The danger model: a renewed sense of self. *Science* 296, 301-305 (2002).
6. Bianchi, M.E. DAMPs, PAMPs and alarmins: all we need to know about danger. *J Leukoc Biol* 81, 1-5 (2007).
7. Gordon, S. Pattern recognition receptors: doubling up for the innate immune response. *Cell* 111, 927-930 (2002).
8. Medzhitov, R. & Janeway, C.A., Jr. Decoding the patterns of self and nonself by the innate immune system. *Science* 296, 298-300 (2002).
9. Radstake, T.R., et al. Expression of toll-like receptors 2 and 4 in rheumatoid synovial tissue and regulation by proinflammatory cytokines interleukin-12 and interleukin-18 via interferon-gamma. *Arthritis Rheum* 50, 3856-3865 (2004).
10. Roelofs, M.F., et al. The expression of toll-like receptors 3 and 7 in rheumatoid arthritis synovium is increased and costimulation of toll-like receptors 3, 4, and 7/8 results in synergistic cytokine production by dendritic cells. *Arthritis Rheum* 52, 2313-2322 (2005).
11. Sacre, S.M., et al. The Toll-like receptor adaptor proteins MyD88 and Mal/T

30

40

50

- IRAP contribute to the inflammatory and destructive processes in a human model of rheumatoid arthritis. *Am J Pathol* 170, 518-525 (2007).
12. Choe, J.Y., Crain, B., Wu, S.R. & Corr, M. Interleukin 1 receptor dependence of serum transferred arthritis can be circumvented by toll-like receptor 4 signaling. *J Exp Med* 197, 537-542 (2003).
13. Lee, E.K., Kang, S.M., Paik, D.J., Kim, J.M. & Youn, J. Essential roles of Toll-like receptor-4 signaling in arthritis induced by type II collagen antibody and LPS. *Int Immunol* 17, 325-333 (2005).
14. Abdollahi-Roodsaz, S., et al. Inhibition of Toll-like receptor 4 breaks the inflammatory loop in autoimmune destructive arthritis. *Arthritis Rheum* 56, 2957-2967 (2007). 10
15. Vanags, D., et al. Therapeutic efficacy and safety of chaperonin 10 in patients with rheumatoid arthritis: a double-blind randomised trial. *Lancet* 368, 855-863 (2006).
16. Chiquet-Ehrismann, R. & Chiquet, M. Tenascins: regulation and putative functions during pathological stress. *J Pathol* 200, 488-499 (2003).
17. Cutolo, M., Picasso, M., Ponassi, M., Sun, M.Z. & Balza, E. Tenascin and fibronectin distribution in human normal and pathological synovium. *J Rheumatol* 19, 1439-1447 (1992).
18. McCachren, S.S. & Lightner, V.A. Expression of human tenascin in synovitis and its regulation by interleukin-1. *Arthritis Rheum* 35, 1185-1196 (1992). 20
19. Salter, D.M. Tenascin is increased in cartilage and synovium from arthritic knees. *Br J Rheumatol* 32, 780-786 (1993).
20. Chevalier, X., Groult, N., Larget-Piet, B., Zardi, L. & Hornebeck, W. Tenascin distribution in articular cartilage from normal subjects and from patients with osteoarthritis and rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum* 37, 1013-1022 (1994).
21. Hasegawa, M., et al. Expression of large tenascin-C splice variants in synovial fluid of patients with rheumatoid arthritis. *J Orthop Res* 25, 563-568 (2007). 30
22. Orend, G. Potential oncogenic action of tenascin-C in tumorigenesis. *Int J Biochem Cell Biol* 37, 1066-1083 (2005).
23. Brackertz, D., Mitchell, G.F. & Mackay, I.R. Antigen-induced arthritis in mice. I. Induction of arthritis in various strains of mice. *Arthritis Rheum* 20, 841-850 (1977).
24. Brennan, F.M., Chantry, D., Jackson, A., Maini, R. & Feldmann, M. Inhibitory effect of TNF alpha antibodies on synovial cell interleukin-1 production in rheumatoid arthritis. *Lancet* 2, 244-247 (1989).
25. Smiley, S.T., King, J.A. & Hancock, W.W. Fibrinogen stimulates macrophage chemokine secretion through toll-like receptor 4. *J Immunol* 167, 2887-2894 (2001) 40
26. Fitzgerald, K.A., Rowe, D.C. & Golenbock, D.T. Endotoxin recognition and signal transduction by the TLR4/MD2-complex. *Microbes Infect* 6, 1361-1367 (2004).
27. Jiang, Z., et al. CD14 is required for MyD88-independent LPS signaling. *Nat Immunol* 6, 565-570 (2005).
28. Coats, S.R., Do, C.T., Karimi-Naser, L.M., Braham, P.H. & Darveau, R.P. Antagonistic lipopolysaccharides block E. coli lipopolysaccharide function at human TLR4 via interaction with the human MD-2 lipopolysaccharide binding site. *Cell Microbiol* 9, 1191-1202 (2007).
29. Siri, A., et al. Human tenascin: primary structure, pre-mRNA splicing patte 50

- rns and localization of the epitopes recognized by two monoclonal antibodies. *Nucleic Acids Res* 19, 525-531 (1991).
30. Gondokaryono, S.P., et al. The extra domain A of fibronectin stimulates murine mast cells via toll-like receptor 4. *J Leukoc Biol* 82, 657-665 (2007).
31. Taylor, K.R., et al. Recognition of hyaluronan released in sterile injury involves a unique receptor complex dependent on Toll-like receptor 4, CD44, and MD-2. *J Biol Chem* 282, 18265-18275 (2007).
32. Kim, H.M., et al. Crystal structure of the TLR4-MD-2 complex with bound endotoxin antagonist Eritoran. *Cell* 130, 906-917 (2007).
33. Schaefer, L., et al. The matrix component biglycan is proinflammatory and signals through Toll-like receptors 4 and 2 in macrophages. *J Clin Invest* 115, 2223-2233 (2005). 10
34. Foell, D., Witkowski, H. & Roth, J. Mechanisms of disease: a 'DAMP' view of inflammatory arthritis. *Nat Clin Pract Rheumatol* 3, 382-390 (2007).
35. Taniguchi, N., et al. High mobility group box chromosomal protein 1 plays a role in the pathogenesis of rheumatoid arthritis as a novel cytokine. *Arthritis Rheum* 48, 971-981 (2003).
36. Pullerits, R., et al. High mobility group box chromosomal protein 1, a DNA binding cytokine, induces arthritis. *Arthritis Rheum* 48, 1693-1700 (2003).
37. Kokkola, R., et al. Successful treatment of collagen-induced arthritis in mice and rats by targeting extracellular high mobility group box chromosomal protein 1 activity. *Arthritis Rheum* 48, 2052-2058 (2003). 20
38. Gutowski, N.J., Newcombe, J. & Cuzner, M.L. Tenascin-R and C in multiple sclerosis lesions: relevance to extracellular matrix remodelling. *Neuropathol Appl Neurobiol* 25, 207-214 (1999).
39. Amin, K., et al. Inflammation and structural changes in the airways of patients with primary Sjogren's syndrome. *Respir Med* 95, 904-910 (2001).
40. Loots, M.A., et al. Differences in cellular infiltrate and extracellular matrix of chronic diabetic and venous ulcers versus acute wounds. *J Invest Dermatol* 111, 850-857 (1998). 30
41. Lange, K., et al. Endothelin receptor type B counteracts tenascin-C-induced endothelin receptor type A-dependent focal adhesion and actin stress fiber disorganization. *Cancer Res* 67, 6163-6173 (2007).
42. Saga, Y., Yagi, T., Ikawa, Y., Sakakura, T. & Aizawa, S. Mice develop normally without tenascin. *Genes Dev* 6, 1821-1831 (1992).
43. Hoshino, K., et al. Cutting edge: Toll-like receptor 4 (TLR4)-deficient mice are hyporesponsive to lipopolysaccharide: evidence for TLR4 as the Lps gene product. *J Immunol* 162, 3749-3752 (1999).
44. Takeuchi, O., et al. Differential roles of TLR2 and TLR4 in recognition of gram-negative and gram-positive bacterial cell wall components. *Immunity* 11, 443-451 (1999). 40
45. Keystone, E.C., Schorlemmer, H.U., Pope, C. & Allison, A.C. Zymosan-induced arthritis: a model of chronic proliferative arthritis following activation of the alternative pathway of complement. *Arthritis Rheum* 20, 1396-1401 (1977).
46. van Lent, P.L., et al. Fcγ receptors directly mediate cartilage, but not bone, destruction in murine antigen-induced arthritis: uncoupling of cartilage damage from bone erosion and joint inflammation. *Arthritis Rheum* 54, 3868-3877 (2006).
47. Foxwell, B., et al. Efficient adenoviral infection with IkappaB alpha reveals that macrophage tumor necrosis factor alpha production in rheumatoid arthritis 50

- s is NF-kappaB dependent. *Proc Natl Acad Sci U S A* 95, 8211-8215 (1998).
48. Kurt-Jones, E.A., et al. Use of murine embryonic fibroblasts to define Toll-like receptor activation and specificity. *J Endotoxin Res* 10, 419-424 (2004).
49. Todaro, G.J. & Green, H. Quantitative studies of the growth of mouse embryo cells in culture and their development into established lines. *J Cell Biol* 17, 299-313 (1963).
50. Butler, D.M., Malfait, A.M., Maini, R.N., Brennan, F.M. & Feldmann, M. Anti-IL-12 and anti-TNF antibodies synergistically suppress the progression of murine collagen-induced arthritis. *Eur J Immunol* 29, 2205-2212 (1999).
51. Ho, S.N., Hunt, H.D., Horton, R.M., Pullen, J.K. & Pease, L.R. Site-directed mutagenesis by overlap extension using the polymerase chain reaction. *Gene* 77, 51-59 (1989). 10
52. Clark, R.A., Erickson, H.P. & Springer, T.A. Tenascin supports lymphocyte rolling. *J Cell Biol* 137, 755-765 (1997).
53. El-Karef, A., et al. Deficiency of tenascin-C attenuates liver fibrosis in immune-mediated chronic hepatitis in mice. *J Pathol* 211, 86-94 (2007).
54. Loike, J.D., Cao, L., Budhu, S., Hoffman, S. & Silverstein, S.C. Blockade of alpha 5 beta 1 integrins reverses the inhibitory effect of tenascin on chemotaxis of human monocytes and polymorphonuclear leukocytes through three-dimensional gels of extracellular matrix proteins. *J Immunol* 166, 7534-7542 (2001). 20
55. Talts, J.F., Wirl, G., Dictor, M., Muller, W.J. & Fassler, R. tenascin-C modulates tumor stroma and monocyte/macrophage recruitment but not tumor growth or metastasis in a mouse strain with spontaneous mammary cancer. *J Cell Sci* 112 (Part 12), 1855-1864 (1999).
56. Jones (2000) *Matrix Biol.*, 19, 581-96
57. Harandl (2009) *Expert Review of Vaccines*, 8, 293-298
58. McIntyre (2006) *BMC Biotechnol.* 6: 1
59. Paddison (2002) *Genes Dev.* 16 (8): 948-58
60. Andreakos (2004) *Blood*, 103, 2229-37
61. Goh, F.G., Piccinini, A.M., Krausgruber, T., Udalova, I.A. & Midwood, K.S. Transcriptional regulation of the endogenous danger signal tenascin-C: a novel autocrine loop in inflammation. *J Immunol* 184, 2655-2662 (2010). 30
62. Midwood, K. et al. Tenascin-C is an endogenous activator of Toll-like receptor 4 that is essential for maintaining inflammation in arthritic joint disease. *Nat Med* 15, 774-780 (2009).
63. LaFleur, D.W. et al. Aortic smooth muscle cells interact with tenascin-C through its fibrinogen-like domain. *J Biol Chem* 272, 32798-32803 (1997).
64. Taylor, P.C. & Feldmann, M. Anti-TNF biologic agents: still the therapy of choice for rheumatoid arthritis. *Nat Rev Rheumatol* 5, 578-582 (2009).
65. Yokoyama, K., Erickson, H.P., Ikeda, Y. & Takada, Y. Identification of amino acid sequences in fibrinogen gamma-chain and tenascin C C-terminal domains critical for binding to integrin alpha v beta 3. *J Biol Chem* 275, 16891-16898 (2000). 40
66. Angal S, et al (1993) A single amino acid substitution abolishes the heterogeneity of chimeric mouse / human (IgG4) antibody. *Mol. Immunology* 30(1): 105-108.
67. Chapple SD, et al (2006) Multiplexed expression and screening for recombinant protein production in mammalian cells. *BMC Biotechnol.* 6:49.
68. Dyson MR, et al (2011) Mapping protein interactions by combining antibody affinity maturation and mass spectrometry. *Anal Biochem.* 417(1): 25-35. 50

69. Falk R, et al (2012) Generation of anti-Notch antibodies and their application in blocking Notch signalling in neural stem cells. *Methods* 58(1): 69-78.
70. Fellouse FA, and Sidhu, SS (2007) Making antibodies in bacteria. *Making and Using Antibodies* (G. C. Howard & M. R. Kaser, Eds.), pp 157-180, CRC Press, Boca Raton, FL.
71. Hawkins RE, Russell SJ, and Winter, G (1992) Selection of phage antibodies by binding affinity. Mimicking affinity maturation. *J. Mol. Biol.* 226: 889-896.
72. Kunkel TA, Roberts JD, and Zakour RA (1987) Rapid and efficient site-specific mutagenesis without phenotypic selection. *Meth. Enzymol.* 154: 367-382.
73. Martin CD, et al (2006) A simple vector system to improve performance and utilisation of recombinant antibodies. *BMC Biotechnol.* 6:46. 10
74. Schofield DJ, et al (2007) Application of phage display to high throughput antibody generation and characterization. *Genome Biol.* 8(11): R254.
75. Sidhu SS, and Weiss GA (2004) Constructing phage display libraries by oligonucleotide-directed mutagenesis. *Phage Display: a Practical Approach.*
76. Zahnd C, Sarkar CA, and Pluckthun A (2010) Computational analysis of off-rate selection experiments to optimize affinity maturation by directed evolution. *Protein Eng. Des. Sel.* 23: 175-184.
77. Ehrenmann F., Kaas Q. and Lefranc M.P. *Nucleic Acids Res.*, 38, D301-307 (2010). 20
78. Page et al. (2012). *Arthritis Research & Therapy* 14: R260

【 0 7 0 3 】

本発明の実施形態を以下の番号付きパラグラフに記載する：

【 0 7 0 4 】

1. テネインCのFBGドメインに結合することが可能であり、配列番号1～8、48～91および112～114から選択される一つもしくは複数の配列；並びに/または配列番号5、9～15、30～47および115～118から選択される一つもしくは複数の配列；並びに/または配列番号5、13、16～21および119～121から選択される一つもしくは複数の配列；並びに/または配列番号22～29および122～123から選択される一つもしくは複数の配列を含む、抗体またはその抗原結合性断片、誘導体もしくはバリエント。 30

【 0 7 0 5 】

2. 配列番号1～3、5～7、48、50、52、54、56、58、60、62、64、66、68、70、72、74、76、78、80、82、84、86、88、90および114から選択される一つもしくは複数のCDR配列；並びに/または配列番号9～11、5、13～14、30、32、34、36、38、40、42、44、46、116および118から選択される一つもしくは複数のCDR配列；並びに/または配列番号16～18、5、13、20および121から選択される一つもしくは複数のCDR配列；並びに/または配列番号22～24および26～28から選択される一つもしくは複数のCDR配列を含む、パラグラフ1に記載の抗体またはその抗原結合性断片、誘導体もしくはバリエント。 40

【 0 7 0 6 】

3. 配列番号3、7、48、50、52、54、56、58、60、62、64、66、68、70、72、74、76、78、80、82、84、86、88および90から選択される一つもしくは複数のCDR3配列；並びに/または配列番号11、14、30、32、34、36、38、40、42、44および46から選択される一つもしくは複数のCDR3配列；並びに/または配列番号18および20から選択される一つもしくは複数のCDR3配列；並びに/または配列番号24および28から選択される一つもしくは複数のCDR3配列を含む、パラグラフ1または2に記載の抗体またはその抗原結合性断片、誘導体もしくはバリエント。 50

【0707】

4. 配列番号3、54、66および70から選択される一つもしくは複数のCDR3配列；並びに/または配列番号7、76、88および90から選択される一つもしくは複数のCDR3配列；並びに/または配列番号11、30、34および36から選択される一つもしくは複数のCDR3配列を含む、パラグラフ3に記載の抗体またはその抗原結合性断片、誘導体もしくはバリエーション。

【0708】

5. 配列番号3、48、50、52、54、56、58、60、62、64、66、68および70から選択されるVH CDR3配列；配列番号3、54、66および70から選択されるVH CDR3配列；または配列番号3および54から選択されるVH CDR3配列を含む、パラグラフ1に記載の抗体またはその抗原結合性断片、誘導体もしくはバリエーション。

10

【0709】

6. 配列番号7、72、74、76、78、80、82、84、86、88および90から選択されるVL CDR3配列；配列番号7、76、88および90から選択されるVL CDR3配列；または配列番号7のVL CDR3配列を含む、パラグラフ1または5に記載の抗体またはその抗原結合性断片、誘導体もしくはバリエーション。

【0710】

7. 配列番号4または112の配列を含むVH配列を含み、前記VH配列が配列番号48、50、52、54、56、58、60、62、64、66、68および70から選択されるVH CDR3配列；配列番号54、66および70から選択されるVH CDR3配列；または配列番号54のVH CDR3配列で置換されたCDR3配列を含む、パラグラフ1に記載の抗体またはその抗原結合性断片、誘導体もしくはバリエーション。

20

【0711】

8. 配列番号8または113の配列を含むVL配列を含み、前記VL配列が配列番号72、74、76、78、80、82、84、86、88および90から選択されるVL CDR3配列；または配列番号76、88および90から選択されるVL CDR3配列で置換されたCDR3配列を含む、パラグラフ1または7に記載の抗体またはその抗原結合性断片、誘導体もしくはバリエーション。

30

【0712】

9. 配列番号11、30、32、34、36、38、40、42、44および46から選択されるVH CDR3配列；配列番号11、30、34および36から選択されるVH CDR3配列；または配列番号11、30および36から選択されるVH CDR3配列を含む、パラグラフ1に記載の抗体またはその抗原結合性断片、誘導体もしくはバリエーション。

【0713】

10. 配列番号15、または117の配列を含むVL配列を含む、パラグラフ1に記載の抗体またはその抗原結合性断片、誘導体もしくはバリエーション。

【0714】

11. 配列番号12または115の配列を含むVH配列を含み、前記VH配列が配列番号30、32、34、36、38、40、42、44および46から選択されるVH CDR3配列；配列番号30、34および36から選択されるVH CDR3配列；または配列番号30および36から選択されるVH CDR3配列で置換されたCDR3配列を含む、パラグラフ1または10に記載の抗体またはその抗原結合性断片、誘導体もしくはバリエーション。

40

【0715】

12. 配列番号7のVL CDR3配列および配列番号3および48～70から選択されるVH CDR3配列を含む；または配列番号3のVH CDR3配列および配列番号7および72～90から選択されるVL CDR3配列を含む；または配列番号14のVL CDR3配列並びに配列番号：11および30～46から選択されるVH CDR3配

50

列；または配列番号 18 の V H C D R 3 配列および配列番号 20 の V L C D R 3 配列；
 または配列番号 24 の V H C D R 3 配列および配列番号 28 の V L C D R 3 配列を含む、
 パラグラフ 1 に記載の抗体またはその抗原結合性断片、誘導体もしくはバリエーション。

【0716】

13. 配列番号 1 ~ 3、および 5 ~ 7 から選択される少なくとも 1 つの C D R 配列；
 または配列番号 1、2、48 および 5 ~ 7 から選択される少なくとも 1 つの C D R 配列；
 または配列番号 1、2、50 および 5 ~ 7 から選択される少なくとも 1 つの C D R 配列；
 または配列番号 1、2、52 および 5 ~ 7 から選択される少なくとも 1 つの C D R 配列；
 または配列番号 1、2、54 および 5 ~ 7 から選択される少なくとも 1 つの C D R 配列；
 または配列番号 1、2、56 および 5 ~ 7 から選択される少なくとも 1 つの C D R 配列；
 または配列番号 1、2、58 および 5 ~ 7 から選択される少なくとも 1 つの C D R 配列；
 または配列番号 1、2、60 および 5 ~ 7 から選択される少なくとも 1 つの C D R 配列；
 または配列番号 1、2、62 および 5 ~ 7 から選択される少なくとも 1 つの C D R 配列；
 または配列番号 1、2、64 および 5 ~ 7 から選択される少なくとも 1 つの C D R 配列；
 または配列番号 1、2、66 および 5 ~ 7 から選択される少なくとも 1 つの C D R 配列；
 または配列番号 1、2、68 および 5 ~ 7 から選択される少なくとも 1 つの C D R 配列；
 または配列番号 1、2、70 および 5 ~ 7 から選択される少なくとも 1 つの C D R 配列；
 または配列番号 1 ~ 3、5、6 および 72 から選択される少なくとも 1 つの C D R 配列；
 または配列番号 1 ~ 3、5 ~ 6 および 74 から選択される少なくとも 1 つの C D R 配列；
 または配列番号 1 ~ 3、5、6 および 76 から選択される少なくとも 1 つの C D R 配列；
 または配列番号 1 ~ 3、5、6 および 78 から選択される少なくとも 1 つの C D R 配列；
 または配列番号 1 ~ 3、5、6 および 80 から選択される少なくとも 1 つの C D R 配列；
 または配列番号 1 ~ 3、5、6 および 82 から選択される少なくとも 1 つの C D R 配列；
 または配列番号 1 ~ 3、5、6 および 84 から選択される少なくとも 1 つの C D R 配列；
 または配列番号 1 ~ 3、5、6 および 86 から選択される少なくとも 1 つの C D R 配列；
 または配列番号 1 ~ 3、5、6 および 88 から選択される少なくとも 1 つの C D R 配列；
 または配列番号 1 ~ 3、5、6 および 90 から選択される少なくとも 1 つの C D R 配列；
 または配列番号 1 ~ 3、5、7 および 114 から選択される少なくとも 1 つの C D R ；
 または配列番号 9 ~ 11 および 5、13 および 14 から選択される少なくとも 1 つの C D R
 配列；または配列番号 9、10、30、5、13 および 14 から選択される少なくとも 1
 つの C D R 配列；または配列番号 9、10、32、5、13 および 14 から選択される少
 なくとも 1 つの C D R 配列；または配列番号 9、10、34、5、13 および 14 から選
 択される少なくとも 1 つの C D R 配列；または配列番号 9、10、36、5、13 および
 14 から選択される少なくとも 1 つの C D R 配列；または配列番号 9、10、38、5、
 13 および 14 から選択される少なくとも 1 つの C D R 配列；または配列番号 9、10、
 40、5、13 および 14 から選択される少なくとも 1 つの C D R 配列；または配列番号
 9、10、42、5、13 および 14 から選択される少なくとも 1 つの C D R 配列；また
 は配列番号 9、10、44、5、13 および 14 から選択される少なくとも 1 つの C D R
 配列；または配列番号 9、10、46、5、13 および 14 から選択される少なくとも 1
 つの C D R 配列；または配列番号 9、11、116、5、14 および 118 から選択され
 る少なくとも 1 つの C D R ；または配列番号 16 ~ 18 および 5、13 および 20 から選
 択される少なくとも 1 つの C D R 配列；または配列番号 16 ~ 18 および 5、121 およ
 び 20 から選択される少なくとも 1 つの C D R 配列；または配列番号 22 ~ 24 および 2
 6 ~ 28 から選択される少なくとも 1 つの C D R 配列を含む、パラグラフ 1 に記載の抗体
 またはその抗原結合性断片、誘導体もしくはバリエーション。

【0717】

14. 配列番号 3 および 54 から選択される V H C D R 3 配列；または配列番号 1
 1、30 および 36 から選択される V H C D R 3 配列を含む、パラグラフ 3 に記載の抗
 体またはその抗原結合性断片、誘導体もしくはバリエーション。

【0718】

10

20

30

40

50

15. 配列番号4、8、49、51、53、55、57、59、61、63、65、67、69、71、73、75、77、79、81、83、85、87、89、91、112および113から選択される一つもしくは複数の配列；並びに/または配列番号12、15、31、33、35、37、39、41、43、45、47、115および117から選択される一つもしくは複数の配列；並びに/または配列番号19、21、119および120から選択される一つもしくは複数の配列；並びに/または配列番号25、29、122および123から選択される一つもしくは複数の配列を含むVH配列および/またはVL配列を含む、パラグラフ1に記載の抗体またはその抗原結合性断片、誘導体もしくはバリエーション。

【0719】

16. VH配列が配列番号4、49、51、53、55、57、59、61、63、65、67、69、71および112から選択される；並びに/または、配列番号12、31、33、35、37、39、41、43、45、47および115から選択される；並びに/または配列番号19および119から選択される；並びに/または配列番号25および122から選択される、パラグラフ15に記載の抗体またはその抗原結合性断片、誘導体もしくはバリエーション。

【0720】

17. VL配列が配列番号8、73、75、77、79、81、83、85、87、89、91および113から選択される；並びに/または配列番号15および117から選択される；並びに/または配列番号21および120から選択される；並びに/または配列番号29および123から選択される、パラグラフ15または16に記載の抗体またはその抗原結合性断片、誘導体もしくはバリエーション。

【0721】

18. 配列対：配列番号4および8；配列番号49および8；配列番号51および8；配列番号53および8；配列番号55および8；配列番号57および8；配列番号59および8；配列番号61および8；配列番号63および8；配列番号65および8；配列番号67および8；配列番号69および8；配列番号71および8；配列番号112および8；配列番号4および113；配列番号49および113；配列番号51および113；配列番号53および113；配列番号55および113；配列番号57および113；配列番号59および113；配列番号61および113；配列番号63および113；配列番号65および113；配列番号67および113；配列番号69および113；配列番号71および113；配列番号4および73；配列番号4および75；配列番号4および77；配列番号4および79；配列番号4および81；配列番号4および83；配列番号4および85；配列番号4および87；配列番号4および89；配列番号4および91；配列番号112および73；配列番号112および75；配列番号112および77；配列番号112および79；配列番号112および81；配列番号112および83；配列番号112および85；配列番号112および87；配列番号112および89；配列番号112および91；配列番号112および113から選択される；または配列対：配列番号12および15；配列番号31および15；配列番号33および15；配列番号35および15；配列番号37および15；配列番号39および15；配列番号41および15；配列番号43および15；配列番号45および15；配列番号47および15；配列番号115および15；配列番号12および117；配列番号31および117；配列番号33および117；配列番号35および117；配列番号37および117；配列番号39および117；配列番号41および117；配列番号43および117；配列番号45および117；配列番号47および117；並びに配列番号115および117から選択される；または配列対：配列番号19および21；配列番号19および120；配列番号119および21；並びに配列番号119および120から選択される；または配列対：配列番号25および29；配列番号25および123；配列番号122および29；並びに配列番号122および123から選択される、VHおよびVL配列対の配列を含むVH配列およびVL配列の両方を含む、パラグラフ1に記載の抗体またはその抗原結合性

10

20

30

40

50

断片、誘導体もしくはバリエント。

【0722】

19. 配列番号4、49、51、53、55、57、59、61、63、65、67、69、71および112から選択される配列を含むVH配列を含む、パラグラフ1に記載の抗体またはその抗原結合性断片、誘導体もしくはバリエント。

【0723】

20. 配列番号8、73、75、77、79、81、83、85、87、89、91および113から選択される配列を含むVL配列を含む、パラグラフ1または19に記載の抗体またはその抗原結合性断片、誘導体もしくはバリエント。

【0724】

21. 配列番号4または112の配列を含むVH配列を含む、パラグラフ1または20に記載の抗体またはその抗原結合性断片、誘導体もしくはバリエント。

【0725】

22. 配列番号55の配列を含むVH配列を含む、パラグラフ1に記載の抗体またはその抗原結合性断片、誘導体もしくはバリエント。

【0726】

23. 配列番号12、31、33、35、37、39、41、43、45、47および115から選択される配列を含むVH配列を含む、パラグラフ1に記載の抗体またはその抗原結合性断片、誘導体もしくはバリエント。

【0727】

24. 配列番号12または115の配列を含むVH配列を含む、パラグラフ1に記載の抗体またはその抗原結合性断片、誘導体もしくはバリエント。

【0728】

25. 配列番号31の配列を含むVH配列を含む、パラグラフ1に記載の抗体またはその抗原結合性断片、誘導体もしくはバリエント。

【0729】

26. 配列番号37の配列を含むVH配列を含む、パラグラフ1に記載の抗体またはその抗原結合性断片、誘導体もしくはバリエント。

【0730】

27. 配列番号8または113の配列を含むVL配列をさらに含む、パラグラフ19または21～22に記載の抗体またはその抗原結合性断片、誘導体もしくはバリエント。

【0731】

28. 配列番号15、または117の配列を含むVL配列をさらに含む、パラグラフ23～26のいずれに記載の抗体またはその抗原結合性断片、誘導体もしくはバリエント。

【0732】

29. 配列番号37の配列を含むVH配列；および配列番号15の配列を含むVL配列を含む、パラグラフ1に記載の抗体またはその抗原結合性断片、誘導体もしくはバリエント。

【0733】

30. ポリクローナルもしくはモノクローナル抗体、またはその抗原結合性断片、誘導体もしくはバリエントである、パラグラフ1～29のいずれかに記載の抗体またはその抗原結合性断片、誘導体もしくはバリエント。

【0734】

31. Fv断片、scFv断片、Fab、単一可変ドメインおよびドメイン抗体からなる群から選択される、パラグラフ30に記載の抗体またはその抗原結合性断片、誘導体もしくはバリエント。

【0735】

32. ヒト化された、パラグラフ1～31のいずれかに記載の抗体またはその抗原結合性断片、誘導体もしくはバリエント。

10

20

30

40

50

【0736】

33. テネインCまたはそのドメインに対する特異性を有する、パラグラフ1～32のいずれかに記載の抗体またはその抗原結合性断片、誘導体もしくはバリエント。

【0737】

34. テネインCのFBGドメインに対する特異性を有する、パラグラフ33のいずれかに記載の抗体またはその抗原結合性断片、誘導体もしくはバリエント。

【0738】

35. テネインCのFBGドメインの活性を中和する、パラグラフ34のいずれかに記載の抗体またはその抗原結合性断片、誘導体もしくはバリエント。

【0739】

36. 前記テネインCがシトルリン化テネインCである、パラグラフ1～35のいずれかに記載の抗体またはその抗原結合性断片、誘導体もしくはバリエント。

【0740】

37. シトルリン化テネインCがFBGドメインにおいてシトルリン化されている、パラグラフ36に記載の抗体またはその抗原結合性断片、誘導体もしくはバリエント。

【0741】

38. シトルリン化テネインCがFBGドメインのみにおいてシトルリン化されている、パラグラフ37に記載の抗体またはその抗原結合性断片、誘導体もしくはバリエント。

【0742】

39. 慢性炎症反応の調節のためのものである、パラグラフ1～38のいずれかに記載の抗体またはその抗原結合性断片、誘導体もしくはバリエント。

【0743】

40. テネインCの生物活性を調節する、パラグラフ39に記載の抗体またはその抗原結合性断片、誘導体もしくはバリエント。

【0744】

41. 前記作用剤がテネインCの転写、翻訳および/または結合特性を変化させることによりテネインCの生物活性を調節する、パラグラフ40に記載の抗体またはその抗原結合性断片、誘導体もしくはバリエント。

【0745】

42. テネインCの生物活性を下方制御する、パラグラフ1～41のいずれかに記載の抗体またはその抗原結合性断片、誘導体もしくはバリエント。

【0746】

43. テネインCの生物活性を上方制御する、パラグラフ1～42のいずれかに記載の抗体またはその抗原結合性断片、誘導体もしくはバリエント。

【0747】

44. テネインCの転写、翻訳および/または結合特性の阻害剤である、パラグラフ1～43のいずれかに記載の抗体またはその抗原結合性断片、誘導体もしくはバリエント。

【0748】

45. テネインCの競合的結合阻害剤である、パラグラフ1～44のいずれかに記載の抗体またはその抗原結合性断片、誘導体もしくはバリエント。

【0749】

46. パラグラフ1～45のいずれかに記載の抗体またはその抗原結合性断片、誘導体もしくはバリエント、並びに薬剂的に許容できる担体、賦形剤および/または希釈剤を含む、組成物。

【0750】

47. 少なくとも1つの他の薬剤をさらに含む、パラグラフ46に記載の組成物。

【0751】

48. 少なくとも1つの他の薬剤が抗炎症剤、スタチン、生物学的作用物質（生物学

10

20

30

40

50

的製剤)、免疫抑制剤、サリチル酸塩および/または殺菌剤である、パラグラフ47に記載の組成物。

【0752】

49. 抗炎症剤が非ステロイド性抗炎症薬(NSAID)、副腎皮質ステロイド、疾患修飾性抗リウマチ薬(DMARD)または免疫抑制剤から成る群から選択される、パラグラフ48に記載の組成物。

【0753】

50. 医薬として使用するための、パラグラフ1~49に記載の抗体またはその抗原結合性断片、誘導体もしくはバリエーション、または組成物。

【0754】

51. 慢性炎症性状態の治療における使用のための、パラグラフ1~49に記載の抗体またはその抗原結合性断片、誘導体もしくはバリエーション、または組成物。

【0755】

52. 慢性炎症性状態の治療または診断のための医薬の製造における、パラグラフ1~49に記載の抗体またはその抗原結合性断片、誘導体もしくはバリエーション、または組成物の用途。

【0756】

53. 有効量の、パラグラフ1~49に記載の抗体またはその抗原結合性断片、誘導体もしくはバリエーション、または組成物を対象に投与することを含む、慢性炎症性状態を治療する方法。

【0757】

54. 慢性炎症性状態の診断および/または慢性炎症性状態を有する患者の予後判定で使用するための、パラグラフ1~49に記載の抗体、またはその抗原結合性断片、誘導体もしくはバリエーション、または組成物。

【0758】

55. パラグラフ1~49に記載の抗体、またはその抗原結合性断片、誘導体もしくはバリエーション、または組成物を用いて、テネイシンCのFBGドメインの有無または量を検出することを含む、慢性炎症性状態の診断および/または慢性炎症性状態を有する患者の予後判定の方法。

【0759】

56. 検出されたテネイシンCのFBGドメインの量の増加が、慢性炎症性状態の判定および/または慢性炎症性状態を有する患者の予後を示す、パラグラフ54または55に記載の抗体またはその抗原結合性断片、誘導体もしくはバリエーション、または方法。

【0760】

57. 正常レベルと比較した場合の、検出されたテネイシンCのFBGドメインの量における少なくとも50%の増加が慢性炎症性状態の判定および/または慢性炎症性状態を有する患者の予後を示す、パラグラフ56に記載の抗体またはその抗原結合性断片、誘導体もしくはバリエーション、または方法。

【0761】

58. 検出されたテネイシンCのFBGドメインの量によって個体に対する適切な治療が示される、個体に対する適切な治療の決定に使用するための、パラグラフ1~49に記載の抗体またはその抗原結合性断片、誘導体もしくはバリエーション、または組成物。

【0762】

59. パラグラフ1~49に記載の抗体、またはその抗原結合性断片、誘導体もしくはバリエーション、または組成物を用いてテネイシンCのFBGドメインの有無または量を検出することを含み、検出されたテネイシンCのFBGドメインの量によって個体に対する適切な治療が示される、個体に対する適切な治療を決定する方法。

【0763】

60. 適切な治療が有効量の作用剤または組成物の投与を含み、前記作用剤または組成物が、パラグラフ1~49に記載の抗体、またはその抗原結合性断片、誘導体もしくは

10

20

30

40

50

バリエーション、または組成物；DMARDs（例えば、メトトレキサート）；抗TNF剤；抗IL17治療；T細胞同時刺激修飾薬（例えば、Orencia（商標）-アバタセプト）；インターロイキン-6（IL-6）阻害剤（例えば、Actemra（商標）-トシリズマブ）；抗CD20抗体（例えば、Rituxan（商標）-リツキシマブ（rituxumab））；B細胞活性化因子（例えば、抗BAFF）；ヤヌスキナーゼ（JAK）の阻害剤（例えば、Tofacitinib（商標））；脾臓チロシンキナーゼ（Syk）の阻害剤（例えば、Fostamatinib（商標））；抗TNF抗体もしくはシトルリン化テネイシンCドメインに対する抗体、並びに/または、シトルリン化および/もしくは非シトルリン化テネイシンCの生物活性を調節する作用剤のうちの一つまたは複数であり得る、パラグラフ58または59に記載の抗体またはその抗原結合性断片、誘導体もしくはバリエーション、または組成物、または方法。

10

【0764】

61. 適切な治療がテネイシンCのFBGドメインを標的とする、パラグラフ58～60に記載の抗体またはその抗原結合性断片、誘導体もしくはバリエーション、または組成物方法。

【0765】

62. 適切な治療が有効量の、パラグラフ1～49に記載の抗体またはその抗原結合性断片、誘導体もしくはバリエーション、または組成物の投与である、パラグラフ58～61に記載の抗体またはその抗原結合性断片、誘導体もしくはバリエーション、または組成物、または方法。

20

【0766】

63. 個体が慢性炎症性状態を有する、パラグラフ58～62に記載の抗体またはその抗原結合性断片、誘導体もしくはバリエーション、または組成物、または方法。

【0767】

64. 検出されたテネイシンCのFBGドメインの量の増加が適切な治療を示す、パラグラフ58～63に記載の抗体またはその抗原結合性断片、誘導体もしくはバリエーション、または組成物、または方法。

【0768】

65. 検出されたテネイシンCのFBGドメインの量の増加が適切な治療の増量が必要であることを示す、パラグラフ64に記載の抗体またはその抗原結合性断片、誘導体もしくはバリエーション、または組成物、または方法。

30

【0769】

66. 検出されたテネイシンCのFBGドメインの量の増加が、テネイシンCのFBGドメインの正常レベルと比較した場合の少なくとも50%の増加である、パラグラフ64または65に記載の抗体またはその抗原結合性断片、誘導体もしくはバリエーション、または組成物、または方法。

【0770】

67. テネイシンCのFBGドメインの量が、イムノアッセイ；分光法；ウェスタンブロット；ELISA；免疫沈降；スロットもしくはドットブロットアッセイ；等電点電気泳動；SDS-PAGE；抗体マイクロアレイ；免疫組織学的染色；ラジオイムノアッセイ（RIA）；フルオロイムノアッセイ；並びに/またはアビジン-ビオチン系および/もしくはストレプトアビジン（streptoavidin）-ビオチン系を用いるイムノアッセイのうちの一つまたは複数の使用によって決定される、パラグラフ56～66に記載の抗体またはその抗原結合性断片、誘導体もしくはバリエーション、または組成物、または方法。

40

【0771】

68. 慢性炎症反応が不適切な炎症を特徴とする状態と関連している、パラグラフ51～67に記載の抗体またはその抗原結合性断片、誘導体もしくはバリエーション、組成物、用途または方法。

【0772】

69. 慢性炎症反応が、関節リウマチ（RA）、自己免疫状態、炎症性腸疾患（例え

50

ば、クローン病および潰瘍性大腸炎)、非治癒性創傷、多発性硬化症、がん、アテローム性動脈硬化症、シェーグレン症候群、糖尿病、紅斑性狼瘡(lupus erythrematosus)(例えば、全身性エリテマトーデス(systemic lupus erythrematosus))、喘息、線維性疾患(例えば、肝硬変)、肺線維症、UVダメージ、乾癬、強直性脊椎炎および心血管疾患と関連している、パラグラフ51~67に記載の抗体またはその抗原結合性断片、誘導体もしくはバリエーション、組成物、用途または方法。

【0773】

70. (i) パラグラフ1~49に記載の抗体またはその抗原結合性断片、誘導体もしくはバリエーション、または組成物;

(ii) 投与手段;および

(iii) それらの使用のための説明書、を含むパーツキット。

10

【0774】

71. (iv) 少なくとも1つの他の作用剤を所望により含む、パラグラフ70に記載のパーツキット。

【0775】

72. (i) パラグラフ1~49に記載の抗体またはその抗原結合性断片、誘導体もしくはバリエーション、または組成物;および

(ii) 使用のための説明書、

を含む、対象の慢性炎症性状態の状態を決定で使用するためのパーツキット。

20

【0776】

本明細書に記載の本発明の好ましい実施形態に対する種々の変更および改変が当業者に明らかであることは、理解されるべきである。このような変更および改変は、本発明の精神および範囲から逸脱することなく、且つ、その意図された利点を減じることなく、為すことができる。従って、このような変更および改変は以下の特許請求の範囲に包含されることが意図される。

【 図 1 】

TA ドメイン

23 gvlkkvir hkrqgvnat lpeen 45

EGFII ドメイン

146
181 kpnccsepep pgnchlrgrc idgqcloddg ftsedecsla cpadnddngk cvngvciife
241 gyagadcare rppncseeh gtrcdglvce hdsfaagden kplclnncyn rgrvnevvc
301 cdeqftgedc selicpndcf drgrcngtc yceegftged cskptphac htsqroesqg
361 cvcdegfagl dseckepcad chnrgvcgrd roecddgftg adceglkcpn cegshgrvcm
421 gvcvcdesyf gedecslrqp ndchsrgrv evkvcceqgf kyddadmc pndchghrc
481 vngmrvddgd ytsgedrdg cprcdanryl oqdvccved gftspdael spndchsggg
541 rvcngvqvch eefgskdkcke qprcdshgd grcvdgqic hegftrldcg qhspcdcmn
601 lqcvagrci cneygsedc s 621

FMIII ドメイン

622
661 egglemqrvr pgdqstqii cleppgyffl rvfailenkk sipvsarvat ylpapeglkf
721 kskitesevev ewdpldiae twelirfmm kedegaitks lrpetsyrq tglapggqye
781 ielhiwkmr rppclhrvt trldapsqie vkvdtdtal ltwfklpael dgieltysik
841 dvpgrdtid ltedenqyil gnlpkdteye valisrrgdm smpakettf tgladprnlr
901 rvcqtdnat lewrnkkaal dayrikypai sggdhaevdv pkeqgattk tltglrpyte
961 yqiyvavke dksmpatln aelteltpkl lqvetaeta llllwtpla kfdryrlmly
1021 lptqevqevy lprntsvyl rhpqegqem vltaeqgrh kskparvkaa teqaplell
1081 tvtevgwdgl rlmwtaadga yehfiectli elidsnrile tveyniesae rthahsigpp
1141 tvsiygvqiy yrtvplaeaa stzgetpnig vvaavgwda lklmvtapeg ayeffiyqf
1201 eadveaaqm lrvpvgldt dlpklkaath ytiirrvgt dfattplave vlceevpdmg
1261 nltvteavsd arlnlwtppd qtdyqdtqf qeadvveeah nltvpslra melpgragt
1321 pytvclhgev rghatvplav avdipfplq gdlravevvg dglrlmwtaa dnyehfvig
1381 yqevnkveaa qnltpglar avdipflea tpyrvsiyvv iryrtvpla aeastakepe
1441 ignlrvedit pesfnleawa tdgiffectli elidsnrile tveyniesae rthahsigpp
1501 stdfivlyog lapelctktl satatceatp llenlelndi nyyftvnmv asenafdfll
1561 vrvdvgklk dpefflragt qkrlrlrlyl tgyiyevva gftqgkqk lraesivtae
1621 pevdnllyed atpdlfrlrow tadepqsqie vkikrdtkk sepleitilla pertrldgl
1681 reateyeli ypskrrqrd tvaialattm gapkevifed itensatvsv raptaqvsvf
1741 rityvpidgg tpmvmvtdgt ktqtrivklk pgrveyliii amkveesep vagsftald
1801 gpeglvraf seelastarw psiatvdyay isyctevkpe ltrtvgevni eyaltdlepa
1861 teytlrfiae kppkshqit akfctlddip rdlatvevge etalltwrpp rasvtylly
1921 ysvdvtvke vlvpsdttisy sladipepth ytaikiqang plrsnmiqt ftt 1973

FBII ドメイン

1974
1981 pkdcesqamln rdttslylty vlyngkaqal evfdmtdsg gmvivflrrk nrenrfyng
2041 kayaaqfgrd geevflgldn lnkitaqgyy elrvldrdh etafovkydk avgdaktrk
2101 lkvegygta gdsamnyhrg afkfrktdn srlncealay kyafvynrk rvmlyrygd
2161 nhsgqvvnf hkwshqiaf faemkrlrta frlnzrrkr a 2201

図 1

【 図 2 - 1 】

1 attacagagg aaggagctog ctatataagc gaccgaaagt tggctgcacc ggcocacagcc
61 tgctactagt caccgcctc tcccgccgc agatacaagc ccccgctccc gtgggcaaaa
121 aggcagcgtg gctggggaa cccggggaa ggcagctggg gaacgcggcg agctccacac
181 tccagcgtct tcttccaag accatagctc ctgcgccate ggaagaamaa taactcttct
241 aagaagatca gggacaacct atttgaagtc tactctgtgc tctcaaaa ccaattctgc
301 tgaagtagag ataccctaga gccctagacc cccagcaaga cccocaaana cccacttca
361 ccatggggcg catgaactcg ctgttggag gtgtcttct tgccttctcc gcoctgcta
421 ccgaagtggt ggtctcaag aaagtcaacc ggcocacagc acagagtggt gtgaacyca
481 cccctgcaga agagaaccag ccatgtgtgt ttaaccaagt ttacaacatc aagctgcagc
541 tgggatccca gtgttgggt gatctggagt cagccatggg ggagaaagac ctggacagc
601 ctccagagcg cagcgaagc ttccagagc acacagtga tgggaaagac cagatgtct
661 tcaacatcg catcaacat ccccgccggg ccbtggctgt tgcocagcc cctgagtta
721 aggagctgt gagaactgt gaggagctgt agaactgggt gtcttctctg agggagcaat
781 gtaactgag agcagctgtc tgtctcaag ctggcagag cggcttggac accagcctc
841 tctgtagcg tgggggcaac tccagactgt aaggtatgt ctgtgtctgc gacttggct
901 ggaagagcc caactgtct gaqccgaat gtcacagca ctgtcaact cgagccoggt
961 gcatgtagg gcatgcatc tgtgacagc gcttcaagg cyagagactc agcagctc
1021 ctgcccagc cyactgcaat gaccagggca agtggtaaa tgaagtctc atctgtttg
1081 aagctcagc cggggctgac tgcagccgtg aaactgtccc agtgcctcc agtgaggag
1141 aggcacatg ttagatggc ttgtgtgtg gccacgatg ctttgcagc gatgatgca
1201 acaagctct gtgtctcaac aattgtaca accgtggagc acatggag aatgagtg
1261 tgtgtgatg gggttcaag ggcgaagact gcatgtagc cactgccc aatgactgt
1321 tgcagcggg ccgctgcatc aatggcact gctactgtg cagagctcc acagtgaa
1381 actcggggaa acccaactgc ccaactgct gccacacca ggcocggtat gaggagggt
1441 agtgtgatg tgaatgaggc ttccggctg tggactggc agaaagaggt tgcctgtct
1501 actgtcaaca tctgtccgc tctgtagag gggtgtga gtgtgtgat ggttactgt
1561 gactgtct tggagctc aagtgtcca atgtgtgca tgcocagc tgcctgtctca
1621 atggcagt tgtgtgat gaggctata ctggggaga ctgacagc ctacgtgct
1681 caactgact tcaactgct gcccctgtg tgaagggca atgtgtatg gacgaagct
1741 tcaagggcta tgaactgact gactgagct gccctaatg ccttaccag cactggcct
1801 gttgtaatg catgtgtgt tgtgatgag gctcacagc ggaagactc cggtagctc
1861 aatgcccag ggaactgac aacagggcc ctgtgtgga cgaactgtc gctgtgag
1921 acgcttca cggccctgac tgtgagaac tctctgtcc aatgactgc catgcccgc
1981 gtcgtgtgt gaatggcag tgcgtgtgc atgaagatt tatggcaaa gactgcaag
2041 agcaaatgt tccagtagc tctcatgccc agggccctg cgtgcaagc cagtgcaat
2101 gccaagagg ctcaacagc ctgagactg gccagactc ctgcccact gactgcaatc
2161 acttaggaca atgctgtct ggcocgca tctgcaaga gggctacagc ggagaagact
2221 gctcagagt gctctccc aaagactgc tctgaca agtcaagaa gagagctca
2281 actgctgtc ggaatgag atggygta cagatgact tctgtgtac agcocaacc
2341 acgaggggt tctgaaatg cagtctctg tgcctggga ccagagctcc accatcact
2401 agagctgga cctgtgtgt gactactta tctgttat tgcactctg gagaacaag
2461 agagactcc tctcagccc aggtggcca cgtactaac tgcactgaa ggctgaaat
2521 taaagctat caagagaca tctgtgaa tggatgaa tccotagac atgtcttg
2581 aaactggga gatcattc cggaaatga ataaagaa tggaggag acaccaaaa
2641 gctcagag cccagagacc tctaccgc tctaccgc agtccctg agctcggg caactgag
2701 agatctct gcaatagat aaaaacata cccggggccc tgcctgaa agggtagca
2761 tcaacagctt gactgccc agccagatc aggtgaa gtagcaac accactgct
2821 tcatcact gttcaagcc ctgctgaga tcatgctat tgaactgacc taccgctca
2881 aagactgccc agagagact acccaactc atctcaca ggaagagaa cagctaca
2941 tgggaaact gaagctgac actgtagc aggtgct catctctc agagtagca
3001 tctcaagaa cccagcaaa gagaactca caacaggct cagtgctccc agaatctc

図 2

【 図 2 - 2 】

3061 gacgtgttc ccagacagat aacagatca ccttggaaat gaggaaatgg aaggcagcta
3121 tgaacagtta cagaataag tatgcccaca ccttggaggt ggaccagctc ggggtgatg
3181 tcccaagag ccacacagcc caaccaacca ccaactcac aggtctgag cgggtaactg
3241 aatagggat tggacttct gctcgaag agcaacaaga gacatcca gcaacatca
3301 acyagccac aagagtgag acgcccag accctcagtt tctgaactc gcaagacca
3361 gctcagacct gctcggag acacagctgc caaatttga cctcaccgc etcaattca
3421 gctcccaca aggcacaggt gttggaggt aaactccaag aacacctct tctatgtcc
3481 tgaagagcct ggaacagga cagagtagca atgtcctct gacagccagc aagcgacac
3541 acaagagca gccocacagt gtaagatca accctgaaca agccctgac ctggaaaac
3601 tcaocgtgac tgaagttgc tggagggcc tgaactcaa ctggaccgca gctgaccagc
3661 cctatgagca ctttatcct caggtcag agccaacaa gttggagca gctcggaaac
3721 tcaocgtgac tggcagcct cggctgtggt acatacaggg cctcaagctc gctacgctc
3781 atacagctc catctaggt gtagccag gcatatgaac accagtctc tctgtgaggt
3841 cctccacag gaaactccc aatttggag aggtcgtgt ggcagaggtt ggtcggagt
3901 cctcaaacct caactgact gctccagag gggctatga gtaacttttc attcaggtgc
3961 agagagtg caagagag gacgcaga acbcaacgl cccagagga ctagctca
4021 cagactgccc tggctcaaa gcagcagct atatcactc ccaactcagc gggctactc
4081 agactcag cacaacct cctctgtc atgtctgac agagaggtt ccaataggt
4141 gaaactcac agtgcagag ttagtctgt atgctcag actgactgtc acaagcagc
4201 atggaactca tgaactact actatcag tccagagcc tgcaccaggt gaagagctc
4261 acactcac ggtcctgag agctcgtt ccatgaaat cccagcctc aggtcggca
4321 ctctctcac atgcacctc ctgagcag tcaagggcca cagcactga cctctgtc
4381 tagagctct cagagagat ctcccacag tggagattc agcctgtct gaggttggct
4441 gggatgct cagacacac tggacogag ctgacaatgc ctatgacac ttgtctact
4501 aggtcagga ggtcaacaaa gttgagagag cccagaacct cagttgctc ggcagctca
4561 ggcctgtgga catcccggc ctgagagct ccaagctta tagagctcc atctatggg
4621 tgaatcggg ctatagaaca ccaactct ctgctgagc ctccacagc aaagaactg
4681 aanttgaaa cttaaatgt tctgacata ctcccagag cctcaactc tccgtgagc
4741 ctacagatg gatctcag acccttaca ttgaaatat ttatccaat agttgtgtg
4801 agactgtga tataaatc tctgtgtg aacagctgc ccaactcaca gggctacc
4861 ctgactgca tttatgtc tactctctc gactctcc cagcatcgg accaacaaca
4921 ctactgccc agccacaga gaggcctgc cctcttggg aaactaac attccgaca
4981 ttaactccta cgggttaca gttctctgga tggactcga gaatgctct gacagcttc
5041 tagtaacgt ggtgattgt ggaagctgc tggaccocca gaaactcaca cttcagaaa
5101 cccagagga gctgagact agaggctca taactggat tggctatgag gtagagctc
5161 ctgcttca ccaagggct caaaccaag cctgagggc tgaatgtt acagaagcgc
5221 aaccggaat tgaacacct ctggttcc atgcccacc agacggttct cgtctgctc
5281 ggcagctga tgaaggggt tctgcaact ttgtctcaa aatcagagat accaaaagc
5341 agtctagcc actgaaata accctactt ccccgaagc taccagggac ataacaggtc
5401 tcaagagag tactgaatc gaaatgaa tctatgaaat aagcaagga aggcactccc
5461 agcagctag tgcatagca aaacagaga cgggtccgc aaagaaagc attctctag
5521 actcactga aactcggct actgcaqt aggggcacc caccoccaa gtagagagct
5581 tccgattac ctatgtgccc atacagag gtaacacctc atgttaact gtagagga
5641 ccaagactca gaccagct gaaactca taccggctt ggaatctct ctgactgca
5701 tgcocagaa gggcttgg gaaagtga ctgctcag gtaactcacc acagctctg
5761 atgcccact tggctgtg acagcaaca tcaactgact agaagcctt gccagctgc
5821 agccagcact tgcactgt gacagttat tcaatccta cagagcagc aagtgccag
5881 aaattacag caggtgccc ggaacacag tggagtagc tctgaccag ctgagcctc
5941 ccaagaa caactgaga atctgtcag aaaaagggc ccaagagagc tcaactaca

図 2 (続き)

【 図 2 - 3 】

6001 ctgcaagtt cacaacagc ctgatctc caagagact gactgctact gaggttcag
6061 cggaaactgc cctctacc tggcagccc ccggcgctc agtcaactg agtccaggt
6121 tctatgact agtggatgc acagtcaag aagtcatgt ggttccagat accactcgt
6181 acagcctgac agactgagc caatcaacc actcaacag cagatccag gactcaatg
6241 gggccctgag gacaaatg atccagaca tcttaccac aatggactc ctgtaccct
6301 tcccagaag ctgctccaa gcaatgcta atggagaca agtccctgc cttacacca
6361 tttactgaa tggtagaag gctgagggc tggaaatct ctgtgactc acctgact
6421 ggggtgagt gatgtgtc ctgagcaga aaaacgggca aacagggctc taccaaaact
6481 gaaagagata tctgtgta ttggggacc gcaagagaa atctgctct gggctgaa
6541 cctgacaa aatcagcgc cagggcagc acagactcc agtgaactg cggagcaggt
6601 gggagacag ctttctgctc tatgacaat tgaactggg ctagctgca actcgtaca
6661 agctgaagt gggagggctc agtggagac caggtgact caagcaactc caaatggaa
6721 gatctcact cactttgac accctttag agggacac actcagcctc gctctgctc
6781 caaaagggc tttctgtag aggaactgc accgtgcaa cctgagggg agatagggg
6841 acaataacca cagtcagggc gttactggt tcaactgaa ggcocagaa cactcaactc
6901 agttgtgga gatgaact agaccaaga actcagaaa tctgaaagc agggcnaac
6961 gggcataaat tccagggcc agtgggtg agagaaata gggcaagaa gaggaaag
7021 ttttcaaaa gactcaatc aacagccca accatggctc caaccctgg cattgtgta
7081 gactcaagc tgaactaga tccctgggg caacggccc agactgccc tcaactcctc
7141 tgtgtttc ttttggac caaagacact agtctcaac atgtttctc tttgtgtt
7201 gactcagca aaaactccca gtagcaact gcaaatgt tttactct cttaggtg
7261 tctgggaat gggaggggt agaggtaca ggggtgatt gttlagaac cagcgtatt
7321 tcaactag cgtatacct aatgtctat attttgta ccaagatga aatgtctat
7381 tggagcact cctttttt accttata caacagaa cagaagaa atactgtctc
7441 catttcaag atatgata tatttata aataatgaa tgaatgat gatgaaact
7501 aagatttt caagatct tcttccaa acaacttgc gacagact gatgtgct
7561 tttttttaa taaagaca agtactttt agttgttaa aaaaaaaaa aaaaa

図 2 (続き)

【 図 3 】

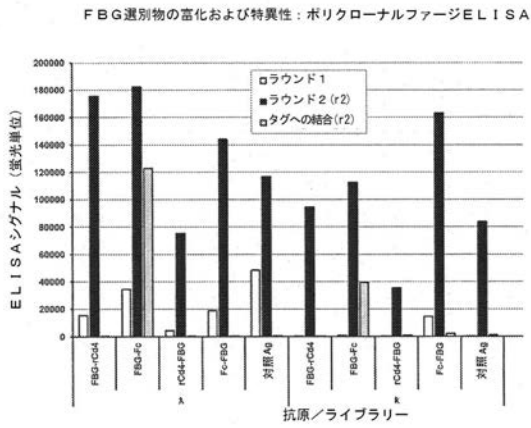


図 3

【 図 4 - 1 】

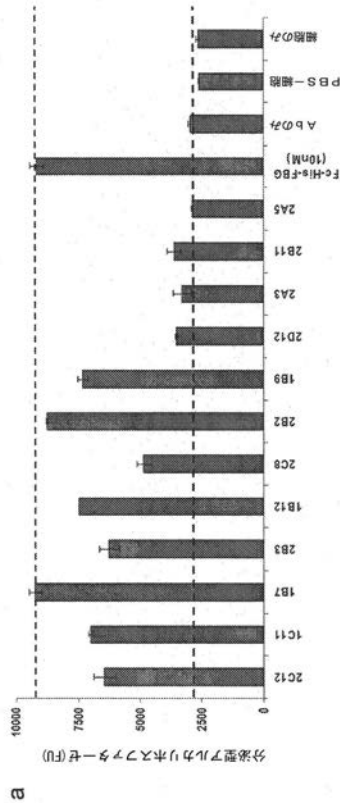


図 4

【 図 4 - 2 】

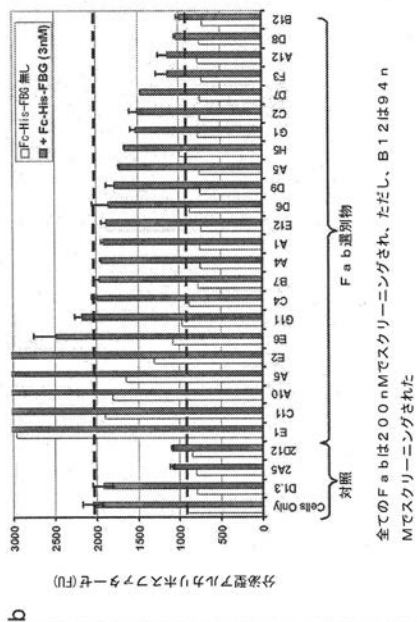


図 4 (続き)

【 図 5 】

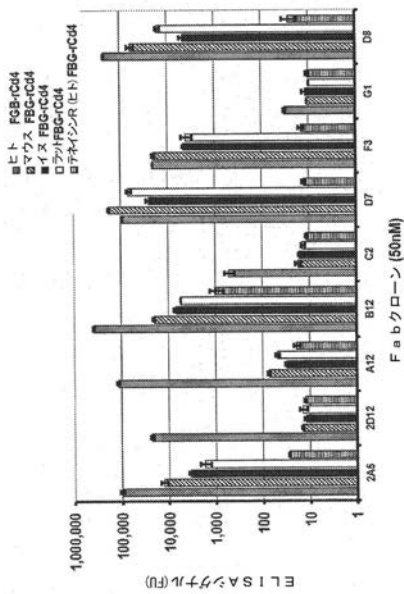
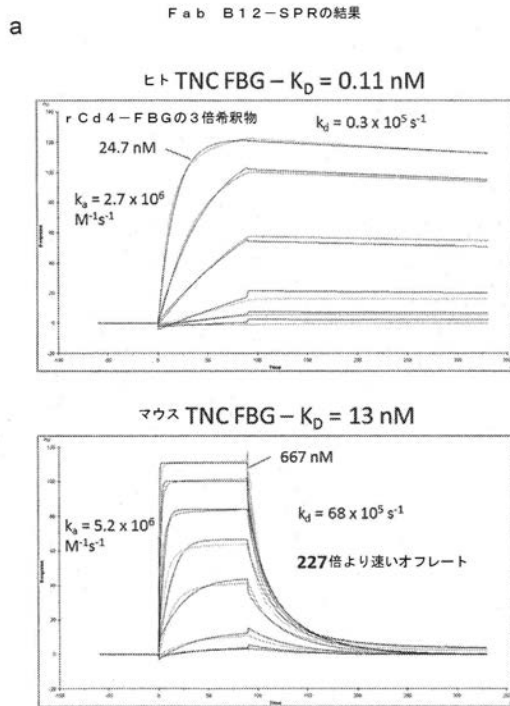


図 5

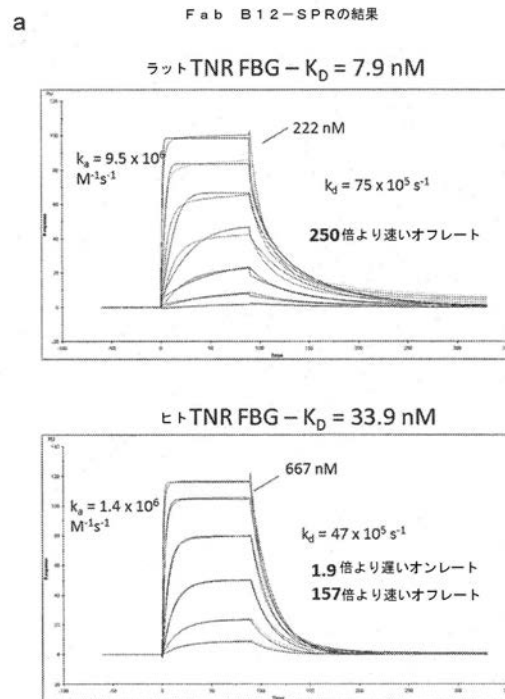
【 図 6 a - 1 】



アッセイ形式=抗C_Lκ/抗C_Lλ CM5センサーチップ上への Fab 捕捉 (23 nM)
その後、rCd4-FBG注入。10mMグリシン (pH2) で再生

図 6 a

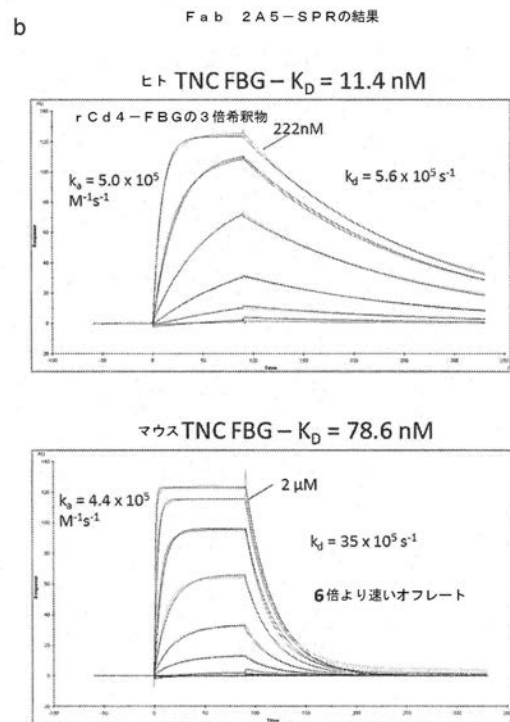
【 図 6 a - 2 】



アッセイ形式=抗C_Lκ/抗C_Lλ CM5センサーチップ上への Fab 捕捉 (23 nM)
その後、rCd4-FBG注入。10mMグリシン (pH2) で再生

図 6 a (続き)

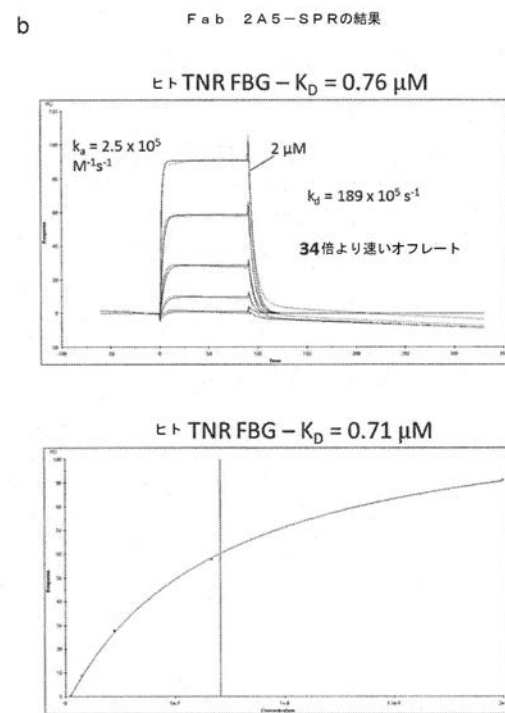
【 図 6 b - 1 】



アッセイ形式=抗C_Lκ/抗C_Lλ CM5センサーチップ上への Fab 捕捉 (23 nM)
その後、rCd4-FBG注入。10mMグリシン (pH2) で再生

図 6 b

【 図 6 b - 2 】



アッセイ形式=抗C_Lκ/抗C_Lλ CM5センサーチップ上への Fab 捕捉 (23 nM)
その後、rCd4-FBG注入。10mMグリシン (pH2) で再生

図 6 b (続き)

【 図 6 c - 1 】

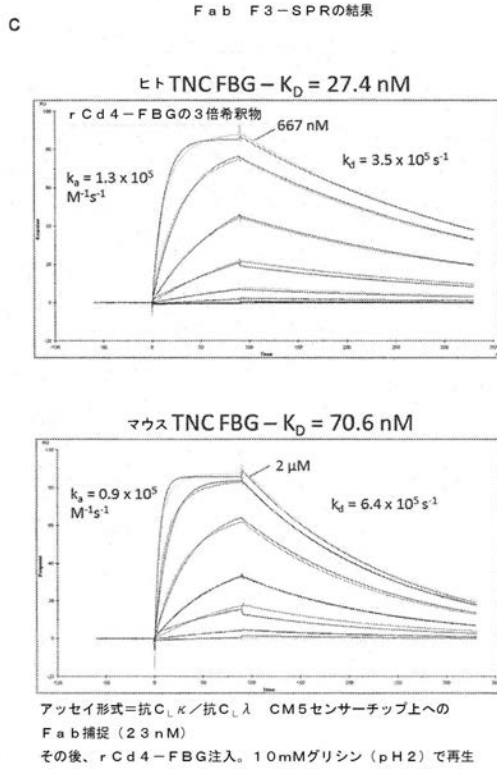


図 6 c

【 図 6 c - 2 】

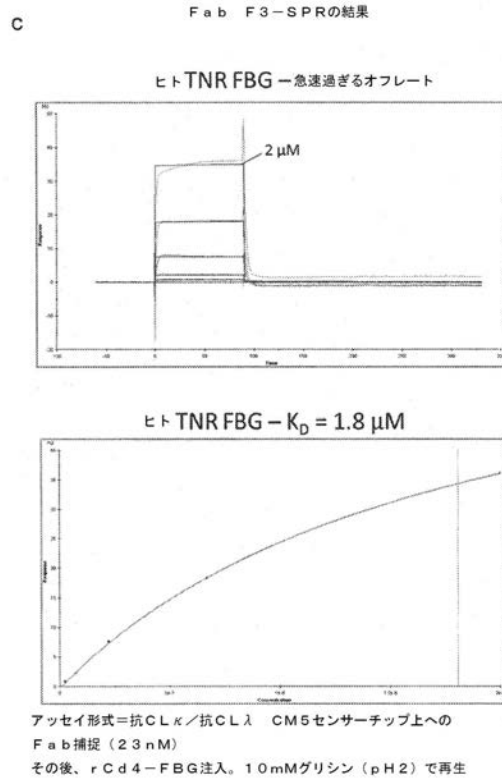


図 6 c (続き)

【 図 6 d - 1 】

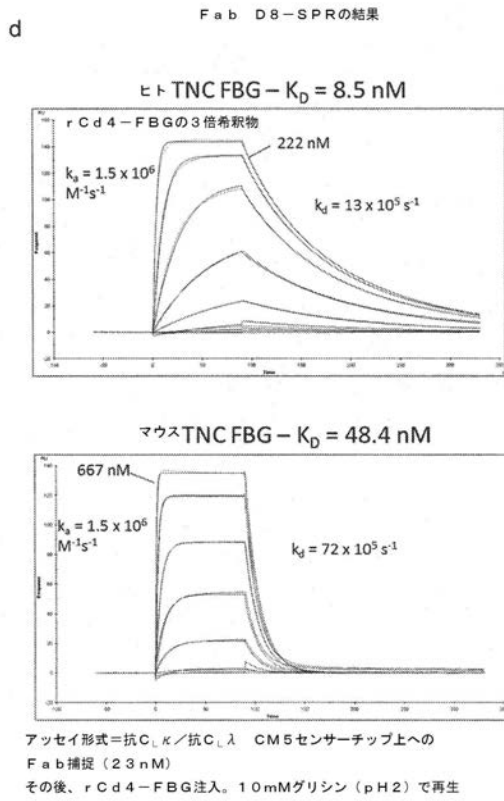


図 6 d

【 図 6 d - 2 】

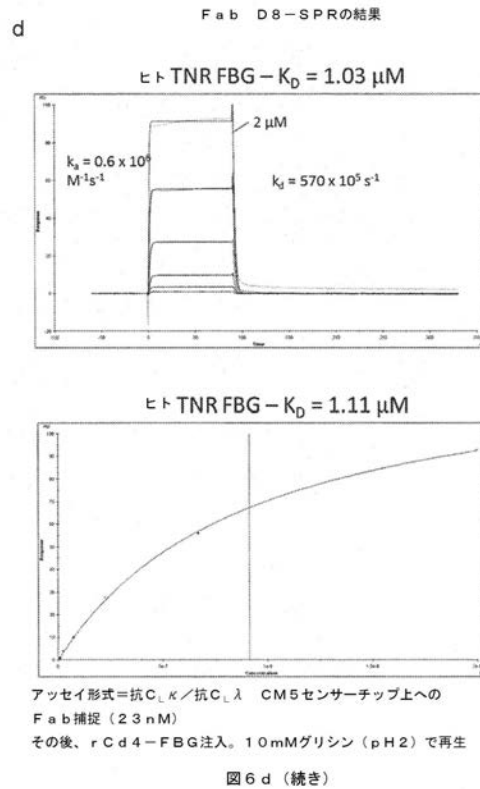


図 6 d (続き)

【 図 1 0 】

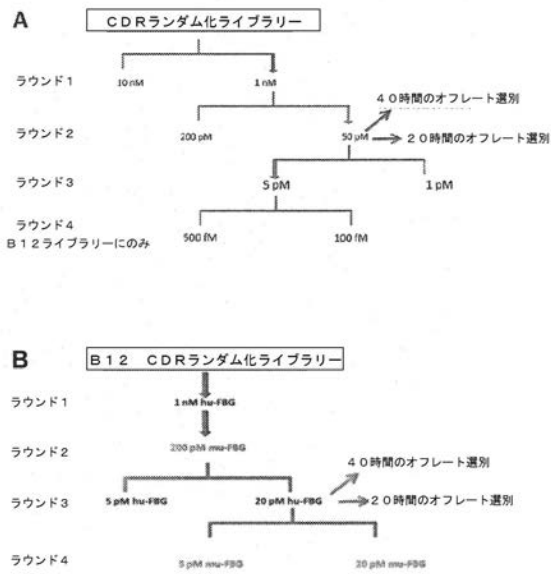


図 1 0

【 図 1 1 】

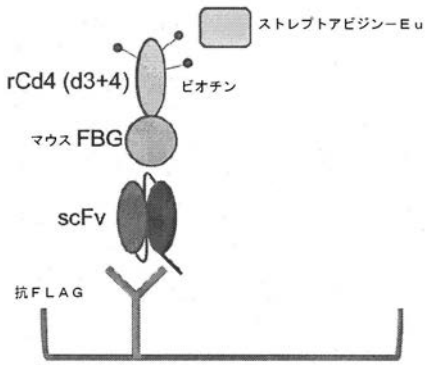


図 1 1

【 図 1 2 】

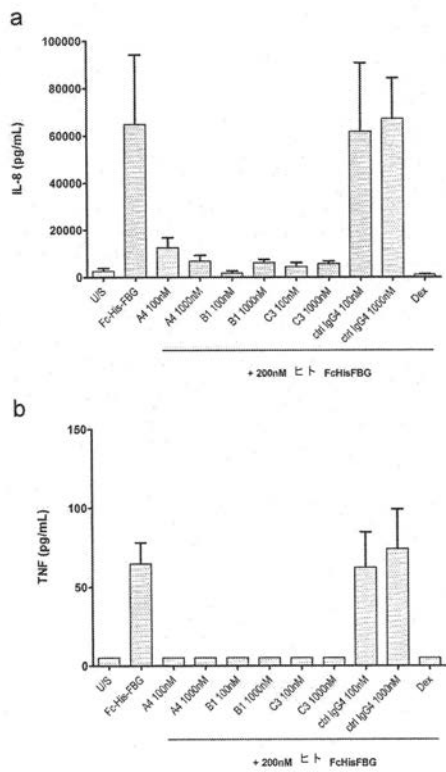


図 1 2

【 図 1 3 】

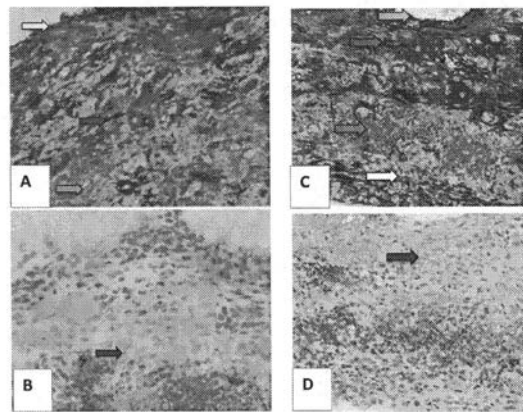


図 1 3

【 図 1 4 】

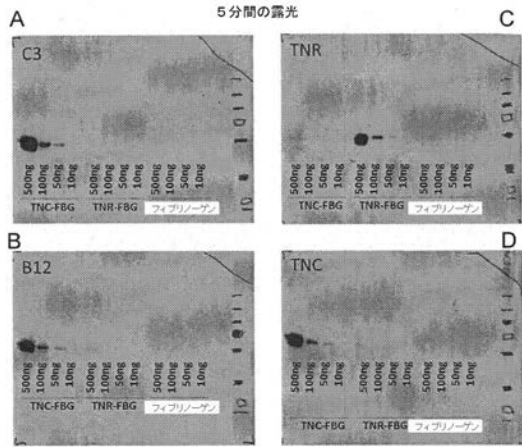


図 1 4

【 図 1 5 】

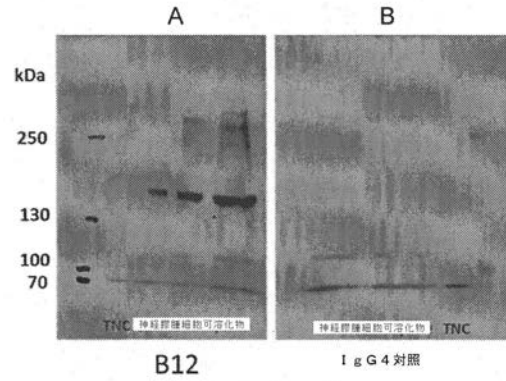


図 1 5

【 図 1 6 】

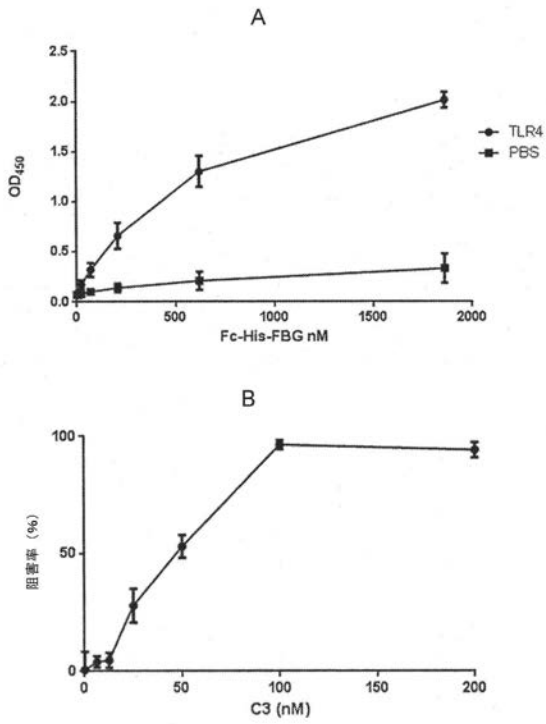


図 1 6

【 図 1 7 - 1 】

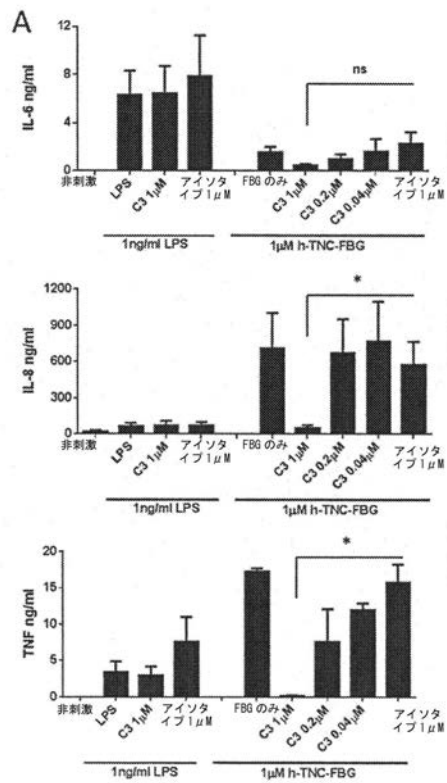


図 1 7

【 図 17 - 2 】

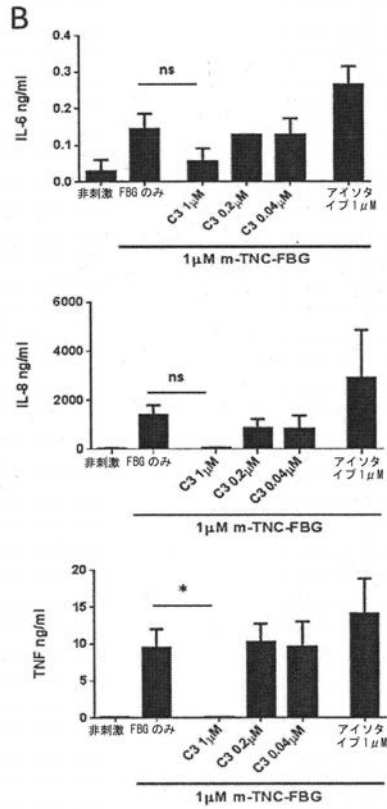


図 17 (続き)

【 図 17 - 3 】

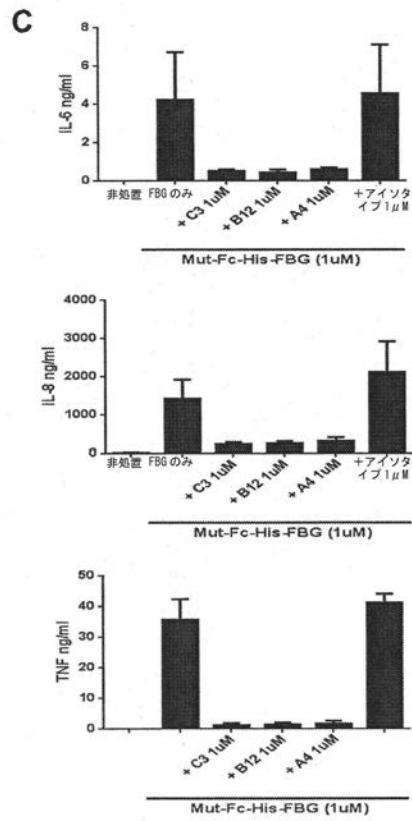


図 17 (続き)

【 図 18 】

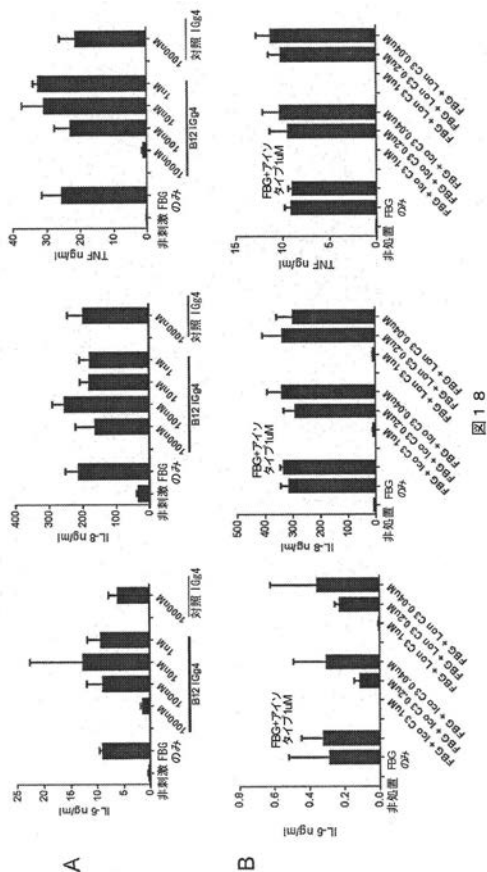


図 18

【 図 19 】

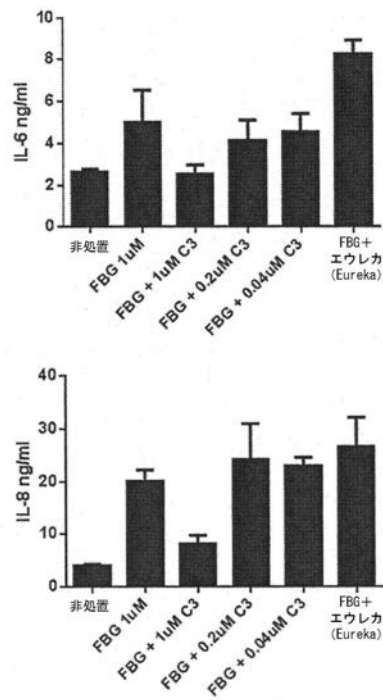


図 19

【 図 2 0 】

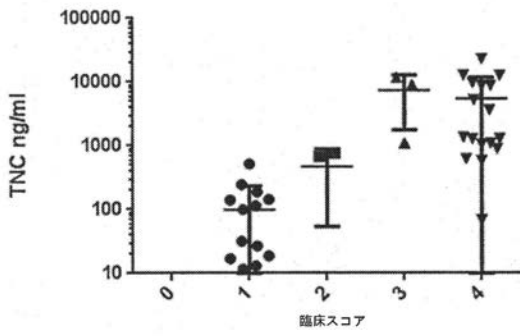


図 2 0

【 図 2 1 】

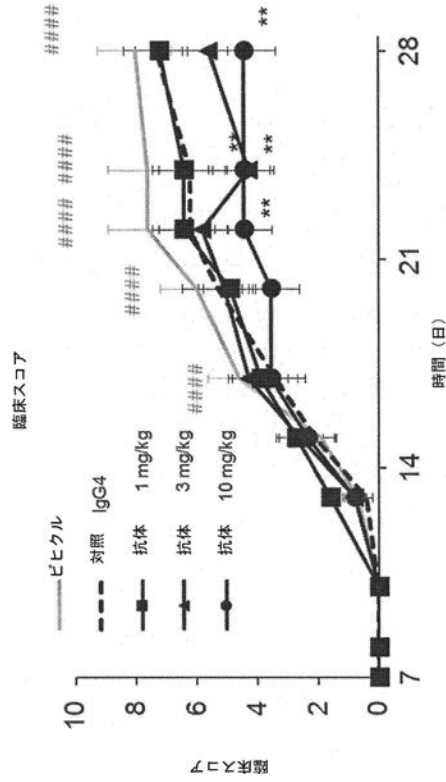


図 2 1

【 図 2 2 】

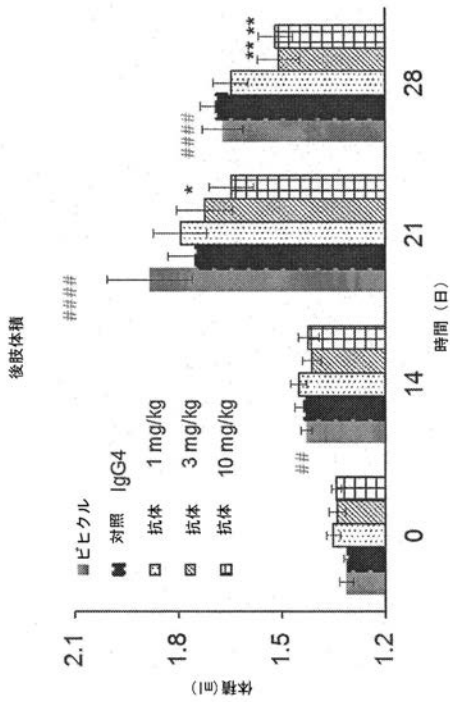


図 2 2

【 図 2 3 】

コンストラクト	N末端	種	プライマー名 (F)	プライマー配列 (F)	プライマー名 (R)	プライマー配列 (R)
FBS-X	マイナス	ヒト	2561	GGTACCTGGGAAATGCACTAG	2562	CATGCAGGCCCTGCAATCG
FBS-X	プラス	ヒト	2565	TTTTTGGATGCGGCGGATGCGATCTGCTCTCAAGCC CCCAAGAATTGCTCTCAAGCC	2562	CATGCAGGCCCTGCAATCG
FBS-X	マイナス	マウス	2561	GGTACCTGGGAAATGCACTAG	2562	CATGCAGGCCCTGCAATCG
FBS-X	プラス	マウス	2566	TTTTTGGATGCGGCGGATGCGATCTGCTCTCAAGCC CCCTGGGCGGCTCTCAAGCC	2562	CATGCAGGCCCTGCAATCG
X-FBG	マイナス	ヒト	2567C	TTTTTGGATGCGGCGGATGCGATCTGCTCTCAAGCC AAGATTGCTCTCAAGCC	2570	TTTTTAAAGCTTTTAAAGGCCCTT TTACGCCGACCCCTC
X-FBG	プラス	ヒト	2567	TTTTTGGATGCGGCGGATGCGATCTGCTCTCAAGCC TCCTGTAACCCCTTGGGAAAGATTGCTCTCAAGCC	2570	TTTTTAAAGCTTTTAAAGGCCCTT TTACGCCGACCCCTC
X-FBG	マイナス	マウス	2599C	TTTTTGGATGCGGCGGATGCGATCTGCTCTCAAGCC GCGACTGCTCAAG	2571	TTTTTAAAGCTTTTAAAGGCCCTT TTCCGCCGACCTTC
X-FBG	プラス	マウス	2568C	TTTTTGGATGCGGCGGATGCGATCTGCTCTCAAGCC TCCTGTAACCCCTTGGGAAAGATTGCTCTCAAGCC	2571	TTTTTAAAGCTTTTAAAGGCCCTT TTCCGCCGACCTTC
BamHI- His-FBG	該当せず	該当せず	2574	TTTTTGGATGCGGCGGATGCGATCTGCTCTCAAGCC C	2575	TTTTTAAAGCTTTTAAAGGCCCTT TGATGATGATGGG
His-FBG	プラス	ヒト	2580	TTTTTCTGGAGCATCATCATCATCATCATCATCATCAT TCC	2570	TTTTTAAAGCTTTTAAAGGCCCTT TTACGCCGACCCCTC
His-FBG	プラス	マウス	2580	TTTTTCTGGAGCATCATCATCATCATCATCATCATCAT TCC	2571	TTTTTAAAGCTTTTAAAGGCCCTT TTCCGCCGACCTTC

図 2 3

【配列表】

2017525693000001.app

【 国際調査報告 】

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No

PCT/GB2015/052298

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER INV. C07K16/28 ADD.		
According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC		
B. FIELDS SEARCHED Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols) C07K		
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) EPO-Internal, WPI Data, BIOSIS, EMBASE		
C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	WO 2010/103289 A1 (IMP INNOVATIONS LTD [GB]; MIDWOOD KIM SUZANNE [GB]; FOXWELL KAREN [GB]) 16 September 2010 (2010-09-16) the whole document in particular, pages 13-17 -----	1-88
A	R. A. CLARK ET AL: "Tenascin Supports Lymphocyte Rolling", THE JOURNAL OF CELL BIOLOGY : JCB, vol. 137, no. 3, 5 May 1997 (1997-05-05), pages 755-765, XP055221772, US ISSN: 0021-9525, DOI: 10.1083/jcb.137.3.755 the whole document in particular, page 759 -----	1-88
	-/--	
<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 30 November 2015		Date of mailing of the international search report 17/12/2015
Name and mailing address of the ISA/ European Patent Office, P.B. 5818 Patentlaan 2 NL - 2280 HV Rijswijk Tel. (+31-70) 340-2040, Fax: (+31-70) 340-3016		Authorized officer Pérez-Mato, Isabel

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No

PCT/GB2015/052298

C(Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	<p>Eszter Szalai ET AL: "Fibrillin-2, tenascin-C, matrilin-2, and matrilin-4 are strongly expressed in the epithelium of human granular and lattice type I corneal dystrophies", Molecular vision, 1 January 2012 (2012-01-01), pages 1927-1936, XP055231999, United States Retrieved from the Internet: URL:http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3413442/pdf/mv-v18-1927.pdf [retrieved on 2015-11-27] page 1928</p>	1-88
A	<p>"Anti-Tenascin C antibody [DB7] ab86182", 18 July 2012 (2012-07-18), XP055232075, Retrieved from the Internet: URL:http://www.abcam.com/Tenascin-C-antibody-DB7-ab86182.pdf [retrieved on 2015-11-27] the whole document</p>	1-88
A	<p>US 6 124 260 A (SHARIFI BEHROOZ G [US] ET AL) 26 September 2000 (2000-09-26) the whole document in particular, cols. 2 and 4</p>	1-88
A	<p>MIDWOOD KIM ET AL: "Tenascin-C is an endogenous activator of Toll-like receptor 4 that is essential for maintaining inflammation in arthritic joint disease", NATURE MEDICINE, NATURE PUBLISHING GROUP, NEW YORK, NY, US, vol. 15, no. 7, 1 July 2009 (2009-07-01), pages 774-780, XP002594138, ISSN: 1078-8956, DOI: 10.1038/NM.1987 [retrieved on 2009-06-28] the whole document page 776 - page 779</p>	1-88
A	<p>KIM S. MIDWOOD ET AL: "The role of tenascin-C in tissue injury and tumorigenesis", JOURNAL OF CELL COMMUNICATION AND SIGNALING, vol. 3, no. 3-4, 1 December 2009 (2009-12-01), pages 287-310, XP055000224, ISSN: 1873-9601, DOI: 10.1007/s12079-009-0075-1 the whole document in particular, pages 290 and 302</p>	1-88

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.
PCT/GB2015/052298**Box No. II Observations where certain claims were found unsearchable (Continuation of Item 2 of first sheet)**

This international search report has not been established in respect of certain claims under Article 17(2)(a) for the following reasons:

1. Claims Nos.:
because they relate to subject matter not required to be searched by this Authority, namely:
2. Claims Nos.: 1-88(partially)
because they relate to parts of the international application that do not comply with the prescribed requirements to such an extent that no meaningful international search can be carried out, specifically:
see FURTHER INFORMATION sheet PCT/ISA/210
3. Claims Nos.:
because they are dependent claims and are not drafted in accordance with the second and third sentences of Rule 6.4(a).

Box No. III Observations where unity of invention is lacking (Continuation of Item 3 of first sheet)

This International Searching Authority found multiple inventions in this international application, as follows:

1. As all required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers all searchable claims.
2. As all searchable claims could be searched without effort justifying an additional fees, this Authority did not invite payment of additional fees.
3. As only some of the required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers only those claims for which fees were paid, specifically claims Nos.:
4. No required additional search fees were timely paid by the applicant. Consequently, this international search report is restricted to the invention first mentioned in the claims; it is covered by claims Nos.:

Remark on Protest

- The additional search fees were accompanied by the applicant's protest and, where applicable, the payment of a protest fee.
- The additional search fees were accompanied by the applicant's protest but the applicable protest fee was not paid within the time limit specified in the invitation.
- No protest accompanied the payment of additional search fees.

International Application No. PCT/GB2015/052298

FURTHER INFORMATION CONTINUED FROM PCT/ISA/ 210

Continuation of Box II.2

Claims Nos.: 1-88(partially)

In response to a request to provide informal clarification, the Applicant indicated that the Searching Authority could focus the search on antibody B12 and derivatives thereof, which correspond to CDRs of SEQ ID NOs: 9, 10, 11 or 36 and 5, 13 and 14, and variable domain sequences of SEQ ID NO:12, 15 or 125.

The applicant's attention is drawn to the fact that claims relating to inventions in respect of which no international search report has been established need not be the subject of an international preliminary examination (Rule 66.1(e) PCT). The applicant is advised that the EPO policy when acting as an International Preliminary Examining Authority is normally not to carry out a preliminary examination on matter which has not been searched. This is the case irrespective of whether or not the claims are amended following receipt of the search report or during any Chapter II procedure. If the application proceeds into the regional phase before the EPO, the applicant is reminded that a search may be carried out during examination before the EPO (see EPO Guidelines C-IV, 7.2), should the problems which led to the Article 17(2) declaration be overcome.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

International application No

PCT/GB2015/052298

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member(s)	Publication date
WO 2010103289	A1	16-09-2010	
		AU 2010222708 A1	06-10-2011
		AU 2014213514 A1	04-09-2014
		CA 2754945 A1	16-09-2010
		CN 102712686 A	03-10-2012
		DK 2406280 T3	28-07-2014
		EP 2406280 A1	18-01-2012
		EP 2754668 A2	16-07-2014
		ES 2491617 T3	08-09-2014
		HK 1199888 A1	24-07-2015
		HR P20140710 T1	26-09-2014
		JP 2012520278 A	06-09-2012
		PT 2406280 E	28-08-2014
		SI 2406280 T1	30-09-2014
		SM T201400120 B	10-11-2014
		US 2013045212 A1	21-02-2013
		WO 2010103289 A1	16-09-2010

US 6124260	A	26-09-2000	
		US 6124260 A	26-09-2000
		US 6818618 B1	16-11-2004

フロントページの続き

(51)Int.Cl.			F I			テーマコード(参考)
A 6 1 P 29/00 (2006.01)	A 6 1 P 29/00		A 6 1 P 29/00	1 0 1		4 H 0 4 5
A 6 1 P 37/06 (2006.01)	A 6 1 P 37/06		A 6 1 P 37/06			
A 6 1 P 1/04 (2006.01)	A 6 1 P 1/04		A 6 1 P 1/04			
A 6 1 P 17/02 (2006.01)	A 6 1 P 17/02		A 6 1 P 17/02			
A 6 1 P 25/00 (2006.01)	A 6 1 P 25/00		A 6 1 P 25/00			
A 6 1 P 35/00 (2006.01)	A 6 1 P 35/00		A 6 1 P 35/00			
A 6 1 P 9/10 (2006.01)	A 6 1 P 9/10		A 6 1 P 9/10			
A 6 1 P 3/10 (2006.01)	A 6 1 P 3/10		A 6 1 P 3/10			
A 6 1 P 17/00 (2006.01)	A 6 1 P 17/00		A 6 1 P 17/00			
A 6 1 P 37/02 (2006.01)	A 6 1 P 37/02		A 6 1 P 37/02			
A 6 1 P 11/06 (2006.01)	A 6 1 P 11/06		A 6 1 P 11/06			
A 6 1 P 1/16 (2006.01)	A 6 1 P 1/16		A 6 1 P 1/16			
A 6 1 P 11/00 (2006.01)	A 6 1 P 11/00		A 6 1 P 11/00			
A 6 1 P 17/06 (2006.01)	A 6 1 P 17/06		A 6 1 P 17/06			
A 6 1 P 17/16 (2006.01)	A 6 1 P 17/16		A 6 1 P 17/16			
A 6 1 P 9/00 (2006.01)	A 6 1 P 9/00		A 6 1 P 9/00			
G 0 1 N 33/53 (2006.01)	G 0 1 N 33/53		G 0 1 N 33/53		V	
G 0 1 N 33/15 (2006.01)	G 0 1 N 33/15		G 0 1 N 33/15		Z	
C 4 0 B 30/04 (2006.01)	C 4 0 B 30/04		C 4 0 B 30/04			
G 0 1 N 33/50 (2006.01)	G 0 1 N 33/50		G 0 1 N 33/50		Z	
G 0 1 N 33/543 (2006.01)	G 0 1 N 33/543		G 0 1 N 33/543	5 9 5		
C 1 2 P 21/08 (2006.01)	C 1 2 P 21/08		C 1 2 P 21/08			
C 1 2 N 15/09 (2006.01)	C 1 2 N 15/09		C 1 2 N 15/00		A	

(81)指定国 AP(BW, GH, GM, KE, LR, LS, MW, MZ, NA, RW, SD, SL, ST, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), EA(AM, AZ, BY, KG, KZ, RU, T J, TM), 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, R O, RS, SE, SI, SK, SM, TR), OA(BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, KM, 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, H N, HR, HU, ID, IL, IN, IR, IS, JP, KE, KG, KN, KP, KR, KZ, LA, LC, LK, LR, LS, 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, SA, SC, SD, SE, SG, SK, SL, SM, ST, SV, SY, TH, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US

(72)発明者 ブランド - ワード フィリップ アントニー
イギリス国 ロンドン エスダブリュ7 2デーピー、エキジビション ロード、プリンセス ゲ
ート 5 2、インペリアル イノベーションズ リミテッド ネイシェント リミテッド内

(72)発明者 バーンズ, ナイジェル
イギリス国 ロンドン エスダブリュ7 2デーピー、エキジビション ロード、プリンセス ゲ
ート 5 2、インペリアル イノベーションズ リミテッド ネイシェント リミテッド内

(72)発明者 ヘクストール, パトリック ジョン
イギリス国 ケンブリッジ シービー 2 1 5 ジェイエー、グレート ウィルブラハム、ステーシ
ョン ロード 4

(72)発明者 アーンジア, スーザン レベッカ
イギリス国 オックスフォード オーエックス4 3 エーワイ、ハワード ストリート 5 7

F ターム(参考) 2G045 AA25 DA44 FB03
4B064 AG27 CA02 CA10 CA19 CC06 CC24 CE12 DA01
4C084 AA19 NA05 ZB082 ZB112 ZB152 ZB352 ZC202 ZC412
4C085 AA14 AA16 BB36 BB41 BB43 BB50 CC23 EE01 EE03

4C086 AA01 DA08 DA17 MA02 MA04 NA05
4H045 AA11 DA76 EA20 FA74 GA26

专利名称(译)	生物材料及其用途		
公开(公告)号	JP2017525693A	公开(公告)日	2017-09-07
申请号	JP2017506826	申请日	2015-08-07
[标]申请(专利权)人(译)	NASCIENT		
[标]发明人	ミッドウッドキムスザンヌ ブランドワードフィリップアントニー バーズナイジェル ヘクストールパトリックジョン アーンジアスーザンレベッカ		
发明人	ミッドウッド,キム スザンヌ ブランド-ワード フィリップ アントニー バーズ,ナイジェル ヘクストール,パトリック ジョン アーンジア,スーザン レベッカ		
IPC分类号	C07K16/18 A61K39/395 A61K45/00 A61K31/616 A61K31/56 A61P29/00 A61P37/06 A61P1/04 A61P17/02 A61P25/00 A61P35/00 A61P9/10 A61P3/10 A61P17/00 A61P37/02 A61P11/06 A61P1/16 A61P11/00 A61P17/06 A61P17/16 A61P9/00 G01N33/53 G01N33/15 C40B30/04 G01N33/50 G01N33/543 C12P21/08 C12N15/09		
CPC分类号	A61K39/3955 A61P1/04 A61P1/16 A61P3/10 A61P9/00 A61P9/10 A61P11/00 A61P11/06 A61P17/00 A61P17/02 A61P17/06 A61P17/16 A61P25/00 A61P29/00 A61P35/00 A61P37/02 A61P37/06 C07K14/78 C07K16/18 C07K2317/33 C07K2317/76 C07K2317/92 C07K2319/30 G01N33/6893 A61K2039/505 C07K2317/55 C07K2317/56 C07K2317/565 C07K2317/567		
FI分类号	C07K16/18.ZNA A61K39/395.N A61K45/00 A61K31/616 A61K31/56 A61P29/00.101 A61P37/06 A61P1/04 A61P17/02 A61P25/00 A61P35/00 A61P9/10 A61P3/10 A61P17/00 A61P37/02 A61P11/06 A61P1/16 A61P11/00 A61P17/06 A61P17/16 A61P9/00 G01N33/53.V G01N33/15.Z C40B30/04 G01N33/50.Z G01N33/543.595 C12P21/08 C12N15/00.A		
F-TERM分类号	2G045/AA25 2G045/DA44 2G045/FB03 4B064/AG27 4B064/CA02 4B064/CA10 4B064/CA19 4B064/CC06 4B064/CC24 4B064/CE12 4B064/DA01 4C084/AA19 4C084/NA05 4C084/ZB082 4C084/ZB112 4C084/ZB152 4C084/ZB352 4C084/ZC202 4C084/ZC412 4C085/AA14 4C085/AA16 4C085/BB36 4C085/BB41 4C085/BB43 4C085/BB50 4C085/CC23 4C085/EE01 4C085/EE03 4C086/AA01 4C086/DA08 4C086/DA17 4C086/MA02 4C086/MA04 4C086/NA05 4H045/AA11 4H045/DA76 4H045/EA20 4H045/FA74 4H045/GA26		
优先权	2014014021 2014-08-07 GB		
外部链接	Espacenet		

摘要(译)

提供了能够与腱生蛋白C的FBG结构域结合的抗体或抗原结合片段，其衍生物或变体。还提供了此类抗体或其抗原结合片段，其衍生物或变体的用途，以及鉴定此类抗体的方法。[选择图]图8

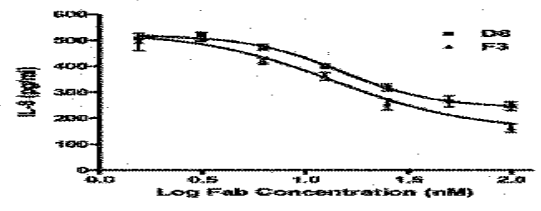
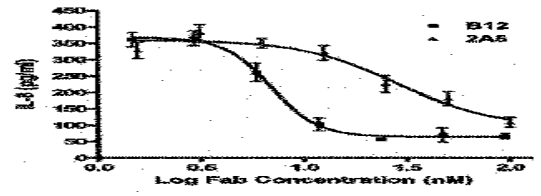


Figure 8