

(19) 日本国特許庁 (JP)

(12) 特 許 公 報 (B2)

(11) 特許番号

特許第6005657号
(P6005657)

(45) 発行日 平成28年10月12日 (2016. 10. 12)

(24) 登録日 平成28年9月16日 (2016. 9. 16)

(51) Int. Cl.

F I

GO 1 N 33/53 (2006. 01)
A 6 1 K 39/395 (2006. 01)
A 6 1 P 11/00 (2006. 01)
A 6 1 P 11/06 (2006. 01)
A 6 1 K 45/00 (2006. 01)

GO 1 N 33/53 Z N A D
A 6 1 K 39/395 D
A 6 1 K 39/395 N
A 6 1 P 11/00
A 6 1 P 11/06

請求項の数 44 (全 99 頁) 最終頁に続く

(21) 出願番号 特願2013-544814 (P2013-544814)
(86) (22) 出願日 平成23年12月16日 (2011. 12. 16)
(65) 公表番号 特表2014-506321 (P2014-506321A)
(43) 公表日 平成26年3月13日 (2014. 3. 13)
(86) 国際出願番号 PCT/US2011/065410
(87) 国際公開番号 W02012/083132
(87) 国際公開日 平成24年6月21日 (2012. 6. 21)
審査請求日 平成25年8月20日 (2013. 8. 20)
(31) 優先権主張番号 61/459, 760
(32) 優先日 平成22年12月16日 (2010. 12. 16)
(33) 優先権主張国 米国 (US)
(31) 優先権主張番号 61/465, 425
(32) 優先日 平成23年3月18日 (2011. 3. 18)
(33) 優先権主張国 米国 (US)

(73) 特許権者 509012625
ジェネンテック, インコーポレイテッド
アメリカ合衆国 カリフォルニア州 サウ
ス サンフランシスコ ディーエヌエー
ウェイ 1
(74) 代理人 110002077
園田・小林特許業務法人
(72) 発明者 アーロン, ジョーセフ アール,
アメリカ合衆国 カリフォルニア 940
80, サウス サンフランシスコ, デ
ィーエヌエー ウェイ 1, シー/オー
ジェネンテック, インコーポレイテッ
ド

最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 TH2阻害に関連する診断及び治療

(57) 【特許請求の範囲】

【請求項 1】

好酸球性炎症の診断アッセイ (E I D A) を使用して患者が好酸球性炎症陽性 (E I P) であるかを決定することを含む、喘息患者又は呼吸器疾患患者が TH2 経路阻害剤による治療に応答すると見込まれる可能性を試験するための方法において、患者が E I P であると決定される場合に、患者が TH2 経路阻害剤による治療に応答する可能性があると同定する工程を含み、

前記 E I D A が、

(a) 前記患者から得たサンプル中の総ペリオスチンの量を決定し；

(b) 工程 (a) で決定された総ペリオスチンの量を参照量に対して比較し；及び

(c) 前記患者の総ペリオスチン量が参照量以上の場合に患者が E I P であると決定される工程を含む、方法。

【請求項 2】

好酸球性炎症の診断アッセイ (E I D A) を使用して患者が好酸球性炎症陽性 (E I P) であるかを決定することを含む、喘息患者又は呼吸器疾患患者の重度の増悪に罹患すると見込まれる可能性を試験するための方法において、患者が E I P であると決定される場合に、患者が重度の増悪の増大に罹患する可能性があると同定する工程を含み、

前記 E I D A が、

(a) 前記患者から得たサンプル中の総ペリオスチンの量を決定し；

(b) 工程 (a) で決定された総ペリオスチンの量を参照量に対して比較し；及び

10

20

(c) 前記患者の総ペリオスチン量が参照量以上の場合に患者が E I P であると決定される工程を含む、方法。

【請求項 3】

好酸球性炎症の診断アッセイ (E I D A) を使用して患者が好酸球性炎症陰性 (E I N) であるかを決定することを含む、喘息患者又は呼吸器疾患患者が T H 2 経路阻害剤による治療に応答する見込みが低い可能性を試験するための方法において、患者が E I N であると決定される場合に、患者が T H 2 経路阻害剤による治療に応答する可能性が低いと同定する工程を含み、

前記 E I D A が、

(a) 前記患者から得たサンプル中の総ペリオスチンの量を決定し；

(b) 工程 (a) で決定された総ペリオスチンの量を参照量に対して比較し；及び

(c) 前記患者の総ペリオスチン量が参照量未満である場合に患者が E I N であると決定される工程を含む、方法。

【請求項 4】

好酸球性炎症の診断アッセイ (E I D A) を使用して患者が好酸球性炎症陽性 (E I P) 又は好酸球性炎症陰性 (E I N) であるかを決定することを含む、T H 2 経路阻害剤により治療されている喘息患者をモニタリングする方法において、

患者が E I P であると決定される場合に、患者が T H 2 経路阻害剤による治療に応答する見込みが高いと同定する工程、又は、患者が E I N であると決定される場合に、患者が T H 2 経路阻害剤による治療に応答する見込みが低いと同定する工程を含み、

前記 E I D A が、

(a) 前記患者から得たサンプル中の総ペリオスチンの量を決定し；

(b) 工程 (a) で決定された総ペリオスチンの量を参照量に対して比較し；及び

(c) 前記患者の総ペリオスチン量が参照量以上である場合に患者が E I P であると決定され、又は前記患者の総ペリオスチン量が参照量未満の場合に患者が E I N であると決定される工程を含む、方法。

【請求項 5】

E I P の決定が、T H 2 経路阻害剤による治療を継続することを示し、E I N の決定は T H 2 経路阻害剤による治療を中止することを示す、請求項 4 に記載の方法。

【請求項 6】

請求項 1 から 4 のいずれか一項に記載の方法であって、

前記参照量が、喘息患者群におけるペリオスチン値の中央値である方法。

【請求項 7】

総ペリオスチンが血清ペリオスチンであり、該ペリオスチンがイムノアッセイを使用して測定される、請求項 1 から 6 の何れか一項に記載の方法。

【請求項 8】

イムノアッセイがサンドイッチイムノアッセイである、請求項 7 に記載の方法。

【請求項 9】

請求項 7 又は 8 に記載の方法であって、

前記イムノアッセイが、配列番号 1 の重鎖可変領域 (V H) 配列、及び、配列番号 2 の軽鎖可変領域 (V L) 配列を含む抗ペリオスチン抗体の使用を含む、方法。

【請求項 10】

請求項 7 又は 8 に記載の方法であって、

前記イムノアッセイが、配列番号 3 の重鎖可変領域 (V H) 配列、及び、配列番号 4 の軽鎖可変領域 (V L) 配列を含む抗ペリオスチン抗体の使用を含む、方法。

【請求項 11】

請求項 7 又は 8 に記載の方法であって、

前記イムノアッセイが、配列番号 1 の重鎖可変領域 (V H) 配列、及び、配列番号 2 の軽鎖可変領域 (V L) 配列を含む抗ペリオスチン抗体、及び配列番号 3 の重鎖可変領域 (V H) 配列、及び、配列番号 4 の軽鎖可変領域 (V L) 配列を含む抗ペリオスチン抗体、

10

20

30

40

50

の使用を含む、方法。

【請求項 1 2】

サンドイッチイムノアッセイがモノクローナル抗体 (2 5 D 4) でコートされたプレートを含む酵素免疫測定法 (E L I S A) であるか、又は E l e c s y s (登録商標) アナライザーにより実施される、請求項 8 ~ 1 1 の何れか一項に記載の方法。

【請求項 1 3】

工程 (a) においてモノクローナル抗体 (2 5 D 4) でコートされたプレートを含む酵素免疫測定法 (E L I S A) を使用するとき E I P の参照量が 23 ng / ml 以上である、請求項 1、2、及び 4 ~ 1 2 の何れか一項に記載の方法。

【請求項 1 4】

工程 (a) において E l e c s y s (登録商標) アナライザーを使用するとき E I P の参照量が 50 ng / ml 以上である、請求項 1、2、及び 4 ~ 1 2 の何れか一項に記載の方法。

【請求項 1 5】

工程 (a) においてモノクローナル抗体 (2 5 D 4) でコートされたプレートを含む酵素免疫測定法 (E L I S A) を使用するとき E I N の参照量が 21 ng / ml 以下である、請求項 1、3、及び 4 ~ 1 2 の何れか一項に記載の方法。

【請求項 1 6】

工程 (a) において E l e c s y s (登録商標) アナライザーを使用するとき E I N の参照量が 48 ng / ml 以下である、請求項 1、3、及び 4 ~ 1 2 の何れか一項に記載の方法。

【請求項 1 7】

患者が中等度から重度の喘息に罹患している、請求項 1 から 1 6 の何れか一項に記載の方法。

【請求項 1 8】

喘息又は呼吸器疾患がコルチコステロイドで制御されない、請求項 1 から 1 6 の何れか一項に記載の方法。

【請求項 1 9】

コルチコステロイドが吸入コルチコステロイドである、請求項 1 8 に記載の方法。

【請求項 2 0】

吸入コルチコステロイドが、キュバール (登録商標)、パルミコート (登録商標)、シンピコート (登録商標)、A e r o b i d (登録商標)、フロベント (登録商標)、フルナーゼ (登録商標)、アドベア (登録商標) 又はアズマコート (登録商標) である、請求項 1 9 に記載の方法。

【請求項 2 1】

患者がまた第二コントローラーで治療されている、請求項 1 から 1 6 の何れか一項に記載の方法。

【請求項 2 2】

第二コントローラーが長時間作用型気管支拡張薬 (L A B D) である、請求項 2 1 に記載の方法。

【請求項 2 3】

L A B D が、長時間作用型 $\beta 2$ アゴニスト (L A B A)、ロイコトリエン受容体アンタゴニスト (L T R A)、長時間作用型ムスカリンアンタゴニスト (L A M A)、テオフィリン、または経口コルチコステロイド (O C S) である、請求項 2 2 に記載の方法。

【請求項 2 4】

L A B D が、シンピコート (登録商標)、アドベア (登録商標)、プロバナ (登録商標)、フォラジル (登録商標)、P e r f o r o m i s t ^{T M}、又はセレベント (登録商標) である、請求項 2 2 に記載の方法。

【請求項 2 5】

T H 2 経路阻害剤が、標的 I T K , B T K , I L - 9 (例えば、M E D I - 5 2 8)、

10

20

30

40

50

IL - 5 (例えば、メボリズマブ、CAS 番号 196078 - 29 - 2 ; レシリズマブ (resilizumab))、IL - 13 (例えば、IMA - 026 , IMA - 638 (アンルキンズマブとも言う、INN No. 910649 - 32 - 0 ; QAX - 576 ; IL4 / IL13 トラップ)、トラロキヌマブ (CAT - 354 , CAS 番号 1044515 - 88 - 9 とも言う) ; AER - 001 , ABT - 308 (ヒト化 13C5 . 5 抗体とも言う) , IL - 4 (例えば、AER - 001 , IL4 / IL13 トラップ) , OX40L , TSLP , IL - 25 , IL - 33 及び I g E (例えば、XOLAIR (登録商標)、QGE - 031 ; MEDI - 4212) ; 及び受容体、例えば：IL - 9 受容体、IL - 5 受容体 (例えば、MEDI - 563 (ベンラリズマブ、CAS 番号 1044511 - 01 - 4) , IL - 4 受容体 α (例えば、AMG - 317 , AIR - 645) , IL - 13 受容体 $\alpha 1$ (例えば、R - 1671) 及び IL - 13 受容体 $\alpha 2$, OX40 , TSLP - R , IL - 7 R アルファ (TSLP の共受容体) , IL17RB (IL - 25 の受容体) , ST2 (IL - 33 の受容体) , CCR3 , CCR4 , CCRTH2 (例えば、AMG - 853 , AP768 , AP - 761 , MLN6095 , ACT129968) , Fc ϵ p s i l o n R I , Fc ϵ p s i l o n R I I / C D 23 (I g E の受容体) , Flap (例えば、GSK2190915) , Syk キナーゼ (R - 343 , PF3526299) ; CCR4 (AMG - 761) , TLR9 (QAX - 935) を阻害し、又は CCR3 , IL5 , IL3 , GM - CSF の多重サイトカイン阻害剤 (例えば、TPISA SM8) である、請求項 1 から 21 の何れか一項に記載の方法。

10

【請求項 26】

20

TH2 経路阻害剤が抗 IL13 / IL4 経路阻害剤又は抗 I g E 結合剤である、請求項 1 から 21 の何れか一項に記載の方法。

【請求項 27】

TH2 経路阻害剤が抗 IL - 13 抗体である、請求項 1 から 21 の何れか一項に記載の方法。

【請求項 28】

抗 IL - 13 抗体が、配列番号 9 を含む VH と配列番号 10 を含む VL を含む抗体であり、抗 IL - 13 抗体は HVRH1、HVRH2、HVRH3、HVRL1、HVRL2、及び HVRL3 を含み、各 HVR が配列番号 11、配列番号 12、配列番号 13、配列番号 14、配列番号 15、及び配列番号 16、又はレプリキズマブのアミノ酸配列を有する、請求項 27 に記載の方法。

30

【請求項 29】

抗 IL - 13 抗体が IL - 4 にも結合する二重特異性抗体である、請求項 27 に記載の方法。

【請求項 30】

TH2 経路阻害剤が抗 I g E 抗体である、請求項 1 から 21 の何れか一項に記載の方法。

【請求項 31】

抗 I g E 抗体が、(i) XOLAIR (登録商標) 抗体、(ii) 可変重鎖が配列番号 24 で可変軽鎖が配列番号 25 である、可変重鎖と可変軽鎖を含む抗 M1' 抗体、又は (iii) 可変重鎖が更に、HVR - H1 , HVR - H2 及び HVR - H3 を含み、可変軽鎖が更に、HVR - L1 , HVR - L2 及び HVR - L3 を含む、可変重鎖と可変軽鎖を含む抗 M1' 抗体であり、そして：(a) HVR - H1 は配列番号 24 の残基 26 - 35 [GFTFS DY G I A] であり；(b) HVR - H2 は配列番号 24 の残基 49 - 66 [AFISDLAYTIYYADTVTG] であり；(c) HVR - H3 は配列番号 24 の残基 97 - 106 [ARDNWDAMDY] であり；(d) HVR - L1 は配列番号 25 の残基 24 - 39 [RSSQS L V H N N A N T Y L H] であり；(e) HVR - L2 は配列番号 25 の残基 55 - 61 [KVS N R F S] であり；(f) HVR - L3 は配列番号 25 の残基 94 - 102 [SQNTLV P W T] である、請求項 30 に記載の方法。

40

【請求項 32】

50

請求項 1 から 3 1 の何れか一項に記載の方法における、喘息患者から得られた生物学的サンプル中の総ペリオスチンを検出するためのキットの使用。

【請求項 3 3】

喘息患者又は呼吸器疾患に罹患している患者から得た生物学的サンプル中の総ペリオスチンを測定するためのキットであり、該キットは (1) 総ペリオスチン又はその一部をコードする第二の核酸分子にハイブリダイズする第一の核酸分子を含むか、又は (2) 該キットは総ペリオスチンに結合する抗体を含む、請求項 1 から 3 1 の何れか一項に記載の方法に使用するためのキット。

【請求項 3 4】

請求項 3 2 に記載の使用を記述する少なくとも 1 つの情報を含むパッケージ挿入物を含む、請求項 3 3 に記載のキット。

10

【請求項 3 5】

(1) 患者から得た血清サンプル中の総ペリオスチンのレベル、及び任意で、T A R C 及び M C P - 4 から選択される一以上のタンパク質について血清サンプル中のタンパク質の発現レベルを測定し；及び

(2) 血清サンプル中の総ペリオスチンの発現レベル及び任意で T A R C 及び M C P - 4 から選択される一以上のタンパク質の発現レベルを測定するためのインストラクションを包含し、ここで前記タンパク質の何れか一、組み合わせ又は全ての発現レベルの上昇が喘息サブタイプの指標である、患者の喘息サブタイプを診断するためのキットであって、請求項 1 から 3 1 の何れか一項に記載の方法に使用するためのキット。

20

【請求項 3 6】

キットが、喘息患者又は呼吸器疾患患者が E I P 又は E I N であるかを決定するためのパッケージ挿入物を更に含む、請求項 3 5 に記載のキット。

【請求項 3 7】

キットが、喘息患者が T H 2 経路阻害剤に応答する可能性があるかを決定するためのパッケージ挿入物を更に含む、請求項 3 6 に記載のキット。

【請求項 3 8】

請求項 3 2 に記載の使用を記述する情報を含むパッケージ挿入物を更に含む、請求項 3 6 に記載のキット。

【請求項 3 9】

30

生物学的サンプルを保持する空の容器を更に含む、請求項 3 3 から 3 7 の何れか一項に記載のキット。

【請求項 4 0】

キットが総ペリオスチンのレベルを決定するためのイムノアッセイにおける使用のための 2 つの抗ペリオスチン抗体を含む、請求項 3 3 から 3 7 の何れか一項に記載のキット。

【請求項 4 1】

請求項 3 3 から 4 0 の何れか一項に記載のキットであって、前記抗体が配列番号 1 の V H 配列及び配列番号 2 の V L 配列を含む抗ペリオスチン抗体である、キット。

【請求項 4 2】

請求項 3 3 から 4 0 の何れか一項に記載のキットであって、前記抗体が配列番号 1 及び配列番号 2 の配列を含む抗ペリオスチン抗体である、キット。

40

【請求項 4 3】

請求項 3 3 から 4 0 の何れか一項に記載のキットであって、前記抗体が配列番号 3 の V H 配列及び配列番号 4 の V L 配列を含む抗ペリオスチン抗体である、キット。

【請求項 4 4】

請求項 3 3 から 4 0 の何れか一項に記載のキットであって、前記抗体が配列番号 3 及び配列番号 4 の配列を含む抗ペリオスチン抗体である、キット。

【発明の詳細な説明】

【発明の開示】

【0 0 0 1】

50

関連出願の相互参照

本出願は、2010年12月16日に提出された米国仮出願第61/459,760号、2011年3月18日に提出された米国仮出願第61/465425号、2011年5月10日に提出された米国仮出願第61/484650号、2011年8月2日に提出された米国仮出願第61/574485号、及び2011年11月8日に提出された米国仮出願第61/557295号の優先権の利益を主張し、これら全ては、その全体が本明細書中に参考として援用される。

【0002】

配列表

本出願は、EFS-Web経由でASCIIフォーマットで提出された配列表を含み、その全体が本明細書中で参照することにより援用される。前記ASCIIコピーは、2011年11月17日に作成され、P4569R1WO_PCTSequenceListing.txtと命名され、73,118バイトの大きさである。

10

【技術分野】

【0003】

分野

喘息を含むがこれらに限定されないTH2阻害に関連する疾患を診断および治療する方法が提供される。また提供されるのは、TH2経路阻害剤である特定の治療薬による治療のために患者を選択するか又は同定する方法である。

【背景技術】

20

【0004】

背景

喘息は世界的に発生率が増加している複雑な病気である。他の発症のなかで、喘息患者の気道内における好酸球性炎症が報告されている。疾患の病態生理は、可変気道閉塞、気道炎症、粘液過分泌、及び上皮下線維症によって特徴付けられる。臨床的には、患者は咳、喘鳴、および息切れを示し得る。多くの患者が現在利用可能な治療法で十分に治療されているが、幾人かの喘息患者は、今日の治療法の使用にもかかわらず、持続的な疾患を持っている。

【0005】

喘息を治療するため、過剰の薬物が売りに出されているか又は開発中である。喘息治療のための数多くの標的の一つは、IL-13である。IL-13は、活性化T細胞、NK細胞、好塩基球、好酸球、及び肥満細胞により産生される多面的TH2サイトカインであり、前臨床モデルにおいて喘息の病因に強く関係している。文献におけるIL-13、IL-4と喘息の間に多くの関連にもかかわらず、多くのIL13及び/又はIL4アンタゴニスト療法はクリニックでは期待はずれの結果であった。現在では、IL-13又はIL-4アンタゴニスト療法は喘息における使用のために承認されていない。更に、中等度から重度の喘息にかかった患者は、良好な、代替りの治療選択肢が欠損し続けている。従って、喘息を治療するためのより良好な治療及び喘息患者を治療する方法を理解するための改良された方法を同定するための必要がある。

30

【0006】

本明細書に引用される全ての参考文献は、特許出願および刊行物を含み、任意の目的のためにその全体が参考により援用される。

40

【発明の概要】

【0007】

概要

本出願は、TH2経路を阻害するための治療薬とそれを使用するより良好な方法を提供する。本出願はまた、任意でTH2経路阻害剤によって疾患を治療することに使用するために、疾患を診断するための良好な方法を提供する。

【0008】

本明細書で提供される治療及び診断の方法は、喘息、好酸球性障害、呼吸器疾患、IL

50

- 13 媒介性疾患及び/又はIgE媒介性疾患、またはそれらの疾患に関連する症状に罹患した患者に適用することができる。喘息と診断されていない患者を含む喘息様の症状を患っている患者は、本明細書で提供される方法に従って治療することができる。

【0009】

一実施態様によれば、本明細書に与えられる方法に従って治療された患者は、喘息、好酸球性疾患、呼吸器疾患、IL-13 媒介性疾患及び/又はIgE媒介性疾患、またはこれらの疾患に関連した症状に罹患し、かつ癌及び腫瘍を持っていない。別の実施態様によれば、本明細書に与えられる方法に従って治療された患者は、喘息、好酸球性疾患、呼吸器疾患、IL-13 媒介性疾患及び/又はIgE媒介性疾患、またはこれらの疾患に関連した症状に罹患しており、12歳以上、18歳以上、又は19歳以上、又は12~17歳の間、又は18~75歳の間である。

10

【0010】

一実施態様において、本発明によるTH2経路阻害剤で治療された患者はまた、一つ、二つ、又は三つ以上の治療薬で治療されている。一実施態様において、患者は喘息患者である。一実施態様によれば、患者はTH2経路阻害剤及び、一つ、二つ、又は三つ以上の治療薬で治療され、ここで、TH2阻害剤以外の少なくとも一の治療薬は、コルチコステロイド、ロイコトリエン拮抗薬、LABA、コルチコステロイド/LABAの組み合わせ組成物、テオフィリン、クロモグリク酸ナトリウム、ネドクロミルナトリウム、オマリズマブ、LAMA、MABA、5-リボキシゲナーゼ活性化タンパク質(FLAP)阻害剤、または酵素PDE-4阻害剤である。本発明の一態様によれば、TH2経路阻害剤は、EIP状態と診断された喘息患者に対して投与され、ここでその診断はEIP状態を決定するためにEIDアッセイ(単独で又は他のアッセイ併用で)の使用を含む。一つの更なる実施態様において、喘息患者は治療の前にコルチコステロイドで制御されない。別の実施態様において、喘息患者はまた、第二コントローラーで治療されている。一実施態様において、第二のコントローラーはコルチコステロイド、LABA又はロイコトリエンアンタゴニストである。更なる実施態様において、喘息患者は中等度から重度の喘息に罹患している。従って、一実施態様において、TH2経路阻害剤で治療されるべき患者は、TH2経路阻害剤による治療前にコルチコステロイドで制御されない中等度から重度の喘息患者であり、その後TH2経路阻害剤と一つ、二つ、三つまたはそれ以上のコントローラーで治療される。一実施態様において、少なくとも一のコントローラーはコルチコステロイドである。更なる実施態様において、そのような患者はTH2経路阻害剤、コルチコステロイド又は別のコントローラーで治療される。別の実施態様において、患者は軽度の喘息に罹患しているが、コルチコステロイドで治療されていない。治療薬は、TH2阻害剤と比較した場合、異なる治療サイクルを有していてもよく、その結果、患者の治療の一部としてのTH2阻害剤に比べて異なる時間で投与することができる。従って、一実施態様によれば、この発明による治療の方法は、患者へTH2経路阻害薬を投与し、および任意で、少なくとも一つ、二つまたは三つの追加の治療薬を投与する工程を含む。一実施態様において、TH2経路阻害剤は、別の治療薬とともに組成物中に存在する。別の実施態様において、TH2経路阻害剤は、別の治療薬とともに組成物中に存在しない。

20

30

【0011】

別の実施態様によれば、本発明は、配列番号9を含むVHと配列番号10を含むVLを含む抗IL13抗体、又は、HVRH1、HVRH2、HVRH3、HVR L1、HVR L2、及びHVR L3を含み、各HVRが配列番号11、配列番号12、配列番号13、配列番号14、配列番号15、及び配列番号16のアミノ酸配列を有する抗IL13抗体を均一な(flat)用量として投与することを含む、喘息を治療するための方法を含む。一実施態様において、配列番号9を含むVH及び配列番号10を含むVLを含む抗IL13抗体が、125~1000mgの均一用量として(即ち体重に依存せずに)、皮下注射により、または静脈内注射により、2週間ごと、3週間ごと、及び4週間ごとから選択される時間の頻度で投与される。一実施態様において、HVRH1、HVRH2、HVRH3、HVR L1、HVR L2、及びHVR L3を含み、各HVRが配列番号11、配列

40

50

番号 1 2、配列番号 1 3、配列番号 1 4、配列番号 1 5 及び配列番号 1 6 のアミノ酸配列を持つ抗 I L 1 3 抗体が、1 2 5 ~ 1 0 0 0 m g の均一用量として（即ち体重に依存せずに）、皮下注射により、または静脈内注射により、2 週間ごと、3 週間ごと、及び 4 週間ごとから選択される時間の頻度で投与される。一実施態様において、抗 I L 1 3 抗体はレブリキズマブであり、1 2 5 ~ 1 0 0 0 m g の均一用量として（即ち体重に依存せずに）、皮下注射により、または静脈内注射により、2 週間ごと、3 週間ごと、及び 4 週間ごとから選択される時間の頻度で投与される。別の実施態様において、患者は、E I P 状態を決定するために、総ペリオスチンアッセイを用いて E I P 状態と診断される。

【 0 0 1 2 】

別の実施態様によれば、配列番号 9 を含む V H 及び配列番号 1 0 を含む V L を含む抗体が、喘息を治療するために、増悪速度を減少させるため又は F E V 1 を改善するために十分な治療的有効量で投与される。更に別の実施態様において、本発明は、配列番号 9 を含む V H と配列番号 1 0 を含む V L を含む抗 I L 1 3 抗体、又は、H V R H 1、H V R H 2、H V R H 3、H V R L 1、H V R L 2、及び H V R L 3 を含み、各 H V R が配列番号 1 1、配列番号 1 2、配列番号 1 3、配列番号 1 4、配列番号 1 5、及び配列番号 1 6 のアミノ酸配列を有する抗 I L 1 3 抗体を、3 7 . 5 m g の均一用量（即ち体重に依存せずに）、又は 1 2 5 m g の均一用量、又は 2 5 0 m g の均一用量として投与することを含む喘息を治療するための方法を含む。ある実施態様において、その期間は、6 ヶ月、1 年、2 年、5 年、1 0 年、1 5 年、2 0 年、又は患者の生涯である。ある実施態様において、喘息は重度の喘息であり、患者は吸入ステロイドと第二コントローラ薬物で不十分に制御されるか又は制御されない。別の実施態様において、患者は E I P を決定するために、総ペリオスチンアッセイを用いて E I P 状態と診断され、患者は上述のように、抗 I L 1 3 抗体による治療のために選択される。別の実施態様において、本発明は、上述のように抗 I L 1 3 抗体で喘息患者を治療することを含み、ここで該患者は、E I P 状態を決定する総ペリオスチンアッセイを用いて E I P 状態と以前に診断されている。一実施態様において、喘息患者は 1 8 歳以上である。一実施態様において、喘息患者は 1 2 から 1 7 歳であり、抗 I L 1 3 抗体が 2 5 0 m g の均一用量で又は 1 2 5 m g の均一用量で投与される。一実施態様において、喘息患者は 6 から 1 1 歳であり、抗 I L 1 3 抗体が 1 2 5 m g の均一用量で又は 6 2 . 5 m g の均一用量で投与される。

【 0 0 1 3 】

本発明はペリオスチンアッセイを提供する。一実施態様において、ペリオスチンアッセイは総ペリオスチンアッセイである。別の実施態様において、総ペリオスチンアッセイは、患者から得た生物学的サンプル中の総ペリオスチンに結合させるため、この発明の以上の抗ペリオスチン抗体の使用を含む。この発明の更に別の実施態様において、生物学的サンプルは全血から得た血清である。一実施態様において、生物学的サンプルは喘息患者から得られる。更なる実施態様において、喘息患者は中等度から重度の喘息患者である。更なる実施態様において、中等度から重度の喘息患者はコルチコステロイドで制御されないか、又は一つ、二つ、又は三つ以上のコントローラにより治療されている。

【 0 0 1 4 】

本明細書に開示される抗ペリオスチンアッセイと抗体アッセイは、特発性肺線維症（I P F）、非特異性間質性肺炎（N S I P）、および癌など、ペリオスチンが上昇する他の疾患について使用することができる。

【 0 0 1 5 】

本発明は、患者が総ペリオスチンの上昇したレベルを発現する、患者の喘息又は呼吸器疾患の治療に使用のための T H 2 経路阻害剤である治療薬を提供する。一実施態様において、T H 2 経路の阻害のための標的は、I L - 9、I L - 5、I L - 1 3、I L - 4、O X 4 0 L、T S L P、I L - 2 5、I L - 3 3 および I g E；I L - 9 受容体、I L - 5 受容体、I L - 4 受容体 α 、I L - 1 3 受容体 α 1 及び I L - 1 3 受容体 α 2、O X 4 0、T S L P - R、I L - 7 R α （T S L P の共受容体）、I L 1 7 R B（I L - 2 5 の受容体）、S T 2（I L - 3 3 の受容体）、C C R 3、C C R 4、C R T H 2、F c e p s

il on R I 及び F c e p s i l o n R I I / C D 2 3 (I g E 抗体に対する受容体) などの受容体から選択される。一実施態様において、本発明に記載の方法に従って治療されるべき患者は、軽度から重度の喘息、任意で中等度から重度の喘息に罹患しており、その喘息はコルチコステロイドで制御されない。更なる実施態様において、コルチコステロイドで制御されない中等度から重度の喘息患者における総ペリオスチンの血清レベルは、E 4 アッセイにおいて、2 0 n g / m l、2 1 n g / m l、2 2 n g / m l、2 3 n g / m l、2 4 n g / m l または 2 5 n g / m l を超える。更に別の実施態様において、治療されるべき患者は、C E A、T A R C (C C L 1 7) 及び M C P - 4 (C C L 1 3) m R N A 又はタンパク質の何れか一、組み合わせ又は全ての発現レベルが更に上昇している。更に別の実施態様において、治療されるべき患者は、本発明に記載されるようにペリオスチンのレベルが上昇していることに加え、2 1 p p b 又は 3 5 p p b を超える F E N O のレベルを有する。

10

【 0 0 1 6 】

本発明は、喘息又は呼吸器疾患を有する患者の治療のための医薬の調製において T H 2 誘導性喘息経路標的に結合する治療薬の使用を提供し、ここで該患者は総ペリオスチンの上昇したレベルを発現し、該標的は I L - 9、I L - 5、I L - 1 3、I L - 4、O X 4 0 L、T S L P、I L - 2 5、I L - 3 3 および I g E ; I L - 9 受容体、I L - 5 受容体、I L - 4 受容体 α 、I L - 1 3 受容体 $\alpha 1$ 及び I L - 1 3 受容体 $\alpha 2$ 、O X 4 0、T S L P - R、I L - 7 R α (T S L P の共受容体)、I L 1 7 R B (I L - 2 5 の受容体)、S T 2 (I L - 3 3 の受容体)、C C R 3、C C R 4、C R T H 2、F c e p s i l o n R I 及び F c e p s i l o n R I I / C D 2 3 (I g E 抗体に対する受容体) などの受容体である。一実施態様では、患者は E I P である。一実施態様によれば、患者は、この発明によるアッセイを用いて、E I P を有すると決定された。更なる別の実施態様において、アッセイは総ペリオスチンアッセイである。別の実施態様において、アッセイは、患者から得られた生物学的サンプル中の総ペリオスチンのレベルを測定する。一実施態様において、アッセイは、患者から得られた血清サンプル中の総ペリオスチンタンパク質のレベルを測定する。

20

【 0 0 1 7 】

本発明は、患者の喘息のサブタイプを診断するためのキット又は製造品を包含し、
(1) 患者から得た血清サンプル中の総ペリオスチンのレベル、及び任意で、T A R C 及び M C P - 4 から選択される一以上のタンパク質についてタンパク質の発現レベルを測定し；及び
(2) 血清サンプル中の総ペリオスチンの発現レベル及び任意で T A R C 及び / 又は M C P - 4 タンパク質の発現レベルを測定するためのインストラクションを包含し、ここで前記タンパク質の何れか一、組み合わせ又は全ての発現の上昇が喘息サブタイプの指標であることを含む。

30

【 0 0 1 8 】

更に別の実施態様において、T H 2 経路阻害剤による治療に応答する可能性がある喘息患者又は呼吸器疾患患者を同定する方法が提供される。ある実施態様において、本方法は、好酸球性炎症の診断アッセイ (E I D A) を用いて、患者が好酸球性炎症陽性 (E I P) であるかを決定することを含み、ここで E I P 状態は患者が T H 2 経路阻害剤による治療に応答する可能性があることを示唆する。

40

【 0 0 1 9 】

別の実施態様において、重度の増悪に罹患する可能性がある喘息患者又は呼吸器疾患患者を同定する方法が提供される。ある実施態様において、本方法は、E I D A を用いて、患者が E I P であるかを決定することを含み、ここで E I P 状態は患者が重度の増悪の増加に罹患する可能性があることを示唆する。

【 0 0 2 0 】

更に別の実施態様において、T H 2 経路阻害剤による治療に応答する可能性が高く無い喘息患者又は呼吸器疾患患者を同定する方法が提供される。ある実施態様において、本方

50

法は、E I D Aを用いて、患者が好酸球性炎症陰性（E I N）であるかを決定することを含み、ここでE I N状態は患者がT H 2経路阻害剤による治療に応答する可能性が高く無いことを示唆する。

【0021】

別の実施態様において、T H 2経路阻害剤により治療される喘息患者をモニタリングする方法が提供される。ある実施態様において、本方法は、E I D Aを用いて、患者がE I Pであるか又はE I Nであるかを決定することを含む。一実施態様において、本方法は、T H 2経路阻害剤の治療レジメンを決定することを含む。一実施態様において、E I Pの決定は、T H 2経路阻害剤による治療を継続することを示し、E I Nの決定はT H 2経路阻害剤による治療を中止することを示す。

10

【0022】

ある実施態様において、上記の方法で使用されるE I D Aは、（a）喘息患者から得たサンプル中の総ペリオスチンの量を決定し；（b）工程（a）で決定された総ペリオスチンの量を参照量に対して比較し；（c）前記患者を工程（b）で得られた比較に基づいて応答者又は非応答者のカテゴリに層別化するある実施態様において、総ペリオスチンは血清ペリオスチンであり、そのペリオスチンはイムノアッセイを使用して測定される。ある実施態様において、イムノアッセイは、サンドイッチイムノアッセイである。ある実施態様において、サンドイッチイムノアッセイはE l e c s y s（登録商標）アナライザ（R o c h e D i a g n o s t i c s G m b H）によって行われる。ある実施態様において、サンドイッチイムノアッセイは、E 4アッセイである。一実施態様において、工程（a）においてE 4アッセイを使用するときE I Pの参照量は23 ng / mlより大きい。一実施態様において、工程（a）においてE l e c s y s（登録商標）アナライザを使用するときE I Pの参照量は50 ng / ml以上である。一実施態様において、工程（a）においてE 4アッセイを使用するときE I Nの参照量は21 ng / ml以下である。一実施態様において、工程（a）においてE l e c s y s（登録商標）アナライザを使用するときE I Nの参照量は48 ng / ml以下である。

20

【0023】

ある実施態様において、上述した方法に従う患者は中等度から重度の喘息に罹患している。ある実施態様において、喘息又は呼吸器疾患はコルチコステロイドで制御されない。ある実施態様において、コルチコステロイドは吸入コルチコステロイドである。ある実施態様において、吸入コルチコステロイドは、キューバル（登録商標）、パルミコート（登録商標）、シンピコート（登録商標）、A e r o b i d（登録商標）、フロベント（登録商標）、フルナーゼ（登録商標）、アドベア（登録商標）又はアズマコート（登録商標）である。一実施態様において、患者はまた、第二コントローラーで治療されている。ある実施態様において、第二コントローラーは長時間作用型気管支拡張薬（L A B D）である。ある実施態様において、L A B Dは長時間作用型β2アゴニスト（L A B A）、ロイコトリエン受容体アンタゴニスト（L T R A）、長時間作用型ムスカリンアンタゴニスト（L A M A）、テオフィリン、または経口コルチコステロイド（O C S）である。ある実施態様において、L A B Dはシンピコート（登録商標）、アドベア（登録商標）、プロバナ（登録商標）、フォラジル（登録商標）、P e r f o r o m i s tTM、又はセレベント（登録商標）である。

30

40

【0024】

ある実施態様において、上記本方法によるT H 2経路阻害剤は、標的I T K , B T K , I L - 9（例えば、M E D I - 528）、I L - 5（例えば、メボリズマブ、C A S 番号196078 - 29 - 2；レシリズマブ（r e s i l i z u m a b））、I L - 13（例えば、I M A - 026 , I M A - 638（アンルキンズマブとも言う、I N N N o . 910649 - 32 - 0；Q A X - 576；I L 4 / I L 13 トラップ）、トラロキヌマブ（C A T - 354 , C A S 番号1044515 - 88 - 9とも言う）；A E R - 001 , A B T - 308（ヒト化13C5 . 5抗体とも言う）、I L - 4（例えばA E R - 001 , I L 4 / I L 13 トラップ）、O X 40 L , T S L P , I L - 25 , I L - 33

50

及び I g E (例えば、X O L A I R , Q G E - 0 3 1 ; M E D I - 4 2 1 2) ; 及び受容体、例えば： I L - 9 受容体、 I L - 5 受容体 (例えば、 M E D I - 5 6 3 (ベンラリズマブ, C A S 番号 1 0 4 4 5 1 1 - 0 1 - 4) , I L - 4 受容体 α (例えば、 A M G - 3 1 7 , A I R - 6 4 5) , I L - 1 3 受容体 α 1 (例えば R - 1 6 7 1) 及び I L - 1 3 受容体 α 2 , O X 4 0 , T S L P - R , I L - 7 R アルファ (T S L P の共受容体) , I L 1 7 R B (I L - 2 5 の受容体) , S T 2 (I L - 3 3 の受容体) , C C R 3 , C C R 4 , C R T H 2 (例えば A M G - 8 5 3 , A P 7 6 8 , A P - 7 6 1 , M L N 6 0 9 5 , A C T 1 2 9 9 6 8) , F c e p s i l o n R I , F c e p s i l o n R I I / C D 2 3 (I g E の受容体) , F l a p (例えば、 G S K 2 1 9 0 9 1 5) , S y k キナーゼ (R - 3 4 3 , P F 3 5 2 6 2 9 9) ; C C R 4 (A M G - 7 6 1) , T L R 9 (Q A X - 9 3 5) を阻害し、又は C C R 3 , I L 5 , I L 3 , G M - C S F の多重サイトカイン阻害剤 (例えば、 T P I A S M 8) である。ある実施態様において、 T H 2 経路阻害剤は抗 I L 1 3 / I L 4 経路阻害剤または抗 I g E 結合剤である。ある実施態様において、 T H 2 経路阻害剤は、抗抗 I L - 1 3 抗体である。ある実施態様において、抗 I L - 1 3 抗体は、配列番号 9 を含む V H と配列番号 1 0 を含む V L を含む抗体であり、抗 I L - 1 3 抗体は H V R H 1 、 H V R H 2 、 H V R H 3 、 H V R L 1 、 H V R L 2 、 及び H V R L 3 を含み、各 H V R が配列番号 1 1 、配列番号 1 2 、配列番号 1 3 、配列番号 1 4 、配列番号 1 5 、及び配列番号 1 6 、又はレプリキズマブのアミノ酸配列を有する。ある実施態様において、抗 I L - 1 3 抗体は I L - 4 にも結合する 2 重特異性抗体である。ある実施態様において、 T H 2 経路阻害剤は、抗 I g E 抗体である。ある実施態様において、抗 I g E 抗体は、 (i) X O L A I R (登録商標) 抗体、 (i i) 可変重鎖が配列番号 2 4 で可変軽鎖が配列番号 2 5 である、可変重鎖と可変軽鎖を含む抗 M 1 ' 抗体、又は (i i i) 可変重鎖が更に、 H V R - H 1 , H V R - H 2 及び H V R - H 3 を含み、可変軽鎖が更に、 H V R - L 1 , H V R , L 2 及び H V R - L 3 を含む、可変重鎖と可変軽鎖を含む抗 M 1 ' 抗体であり、そして： (a) H V R - H 1 は配列番号 2 4 の残基 2 6 - 3 5 [G F T F S D Y G I A] であり； (b) H V R - H 2 は配列番号 2 4 の残基 4 9 - 6 6 [A F I S D L A Y T I Y Y A D T V T G] であり； (c) H V R - H 3 は配列番号 2 4 の残基 9 7 - 1 0 6 [A R D N W D A M D Y] であり； (d) H V R - L 1 は配列番号 2 5 の残基 2 4 - 3 9 [R S S Q S L V H N N A N T Y L H] であり； (e) H V R - L 2 は配列番号 2 5 の残基 5 5 - 6 1 [K V S N R F S] であり； (f) H V R - L 3 は配列番号 2 5 の残基 9 4 - 1 0 2 [S Q N T L V P W T] である。

【 0 0 2 5 】

別の態様において、喘息患者を、 T H 2 経路阻害剤による治療的処置に対する可能性のある応答者及び非応答者へと層別化 / 分類するために喘息患者から得られたサンプル中の総ペリオスチンを検出するためのキットを使用する。ある実施態様において、総ペリオスチンは E I D A を使用して検出され、その E I D A は以下の工程を含む。 (a) 喘息患者から得たサンプル中の総ペリオスチンの量を決定し； (b) 工程 (a) で決定された総ペリオスチンの量を参照量に対して比較し； (c) 前記患者を工程 (b) で得られた比較に基づいて応答者又は非応答者のカテゴリに層別化するある実施態様において、総ペリオスチンは血清ペリオスチンであり、そのペリオスチンはイムノアッセイを使用して測定される。ある実施態様において、イムノアッセイは、サンドイッチイムノアッセイである。ある実施態様において、サンドイッチイムノアッセイは E l e c s y s (登録商標) アナライザ (R o c h e D i a g n o s t i c s G m b H) によって行われる。ある実施態様において、サンドイッチイムノアッセイは、 E 4 アッセイである。一実施態様において、工程 (a) において E 4 アッセイを使用するとき E I P の参照量は 2 3 n g / m l より大きい。一実施態様において、工程 (a) において E l e c s y s (登録商標) アナライザを使用するとき E I P の参照量は 5 0 n g / m l 以上である。

【 0 0 2 6 】

ある実施態様において、上のパラグラフに記載される用途による患者は中等度から重度の喘息に罹患している。ある実施態様において、喘息又は呼吸器疾患はコルチコステロイ

10

20

30

40

50

ドで制御されない。ある実施態様において、コルチコステロイドは吸入コルチコステロイドである。ある実施態様において、吸入コルチコステロイドは、キュバール（登録商標）、パルミコート（登録商標）、シンピコート（登録商標）、Aerobid（登録商標）、フロベント（登録商標）、フルナーゼ（登録商標）、アドベア（登録商標）又はアズマコート（登録商標）である。一実施態様において、患者はまた、第二コントローラーで治療されている。ある実施態様において、第二コントローラーは長時間作用型気管支拡張薬（LABD）である。ある実施態様において、LABDは長時間作用型 $\beta 2$ アゴニスト（LABA）、ロイコトリエン受容体アンタゴニスト（LTRA）、長時間作用型ムスカリンアンタゴニスト（LAMA）、テオフィリン、または経口コルチコステロイド（OCS）である。ある実施態様において、LABDはシンピコート（登録商標）、アドベア（登録商標）、プロバナ（登録商標）、フォラジル（登録商標）、PerforomistTM、又はセレベント（登録商標）である。

10

【0027】

ある実施態様において、上記用途によるTH2経路阻害剤は、標的ITK, BTK, IL-9（例えば、MEDI-528）、IL-5（例えば、メポリズマブ、CAS番号196078-29-2；レシリズマブ（reslizumab））、IL-13（例えば、IMA-026, IMA-638（アンルキンズマブとも言う、INN No. 910649-32-0；QAX-576；IL4/IL13 トラップ）、トラロキヌマブ（CAT-354, CAS番号1044515-88-9とも言う）；AER-001, ABT-308（ヒト化13C5.5抗体とも言う）、IL-4（例えばAER-001, IL4/IL13 トラップ）、OX40L, TSLP, IL-25, IL-33及びIgE（例えば、XOLAIR, QGE-031；MEDI-4212）；及び受容体、例えば：IL-9受容体、IL-5受容体（例えば、MEDI-563（ペンラリズマブ、CAS番号1044511-01-4）、IL-4受容体 α （例えば、AMG-317, AIR-645）、IL-13受容体 $\alpha 1$ （例えばR-1671）及びIL-13受容体 $\alpha 2$, OX40, TSLP-R, IL-7Rアルファ（TSLPの共受容体）、IL17RB（IL-25の受容体）、ST2（IL-33の受容体）、CCR3, CCR4, CCRTH2（例えばAMG-853, AP768, AP-761, MLN6095, ACT129968）、Fc ϵ psilonRI, Fc ϵ psilonRII/CD23（IgEの受容体）、Flap（例えば、GSK2190915）、Sykキナーゼ（R-343, PF3526299）；CCR4（AMG-761）、TLR9（QAX-935）を阻害し、又はCCR3, IL5, IL3, GM-CSFの多重サイトカイン阻害剤（例えば、TP1 ASM8）である。ある実施態様において、TH2経路阻害剤は抗IL13/IL4経路阻害剤または抗IgE結合剤である。ある実施態様において、TH2経路阻害剤は、抗抗IL-13抗体である。ある実施態様において、抗IL-13抗体は、配列番号9を含むVHと配列番号10を含むVLを含む抗体であり、抗IL-13抗体はHVRH1、HVRH2、HVRH3、HVR L1、HVR L2、及びHVR L3を含み、各HVRが配列番号11、配列番号12、配列番号13、配列番号14、配列番号15、及び配列番号16、又はレプリキズマブのアミノ酸配列を有する。ある実施態様において、抗IL-13抗体はIL-4にも結合する2重特異性抗体である。ある実施態様において、TH2経路阻害剤は、抗IgE抗体である。ある実施態様において、抗IgE抗体は、(i) XOLAIR（登録商標）抗体、(ii) 可変重鎖が配列番号24で可変軽鎖が配列番号25である、可変重鎖と可変軽鎖を含む抗M1'抗体、又は(iii) 可変重鎖が更に、HVR-H1, HVR-H2及びHVR-H3を含み、可変軽鎖が更に、HVR-L1, HVR-L2及びHVR-L3を含む、可変重鎖と可変軽鎖を含む抗M1'抗体であり、そして：(a) HVR-H1は配列番号24の残基26-35 [GFTFS DY GIA]であり；(b) HVR-H2は配列番号24の残基49-66 [AFISDLAYTIYYADTVTG]であり；(c) HVR-H3は配列番号24の残基97-106 [ARDNWDAMDY]であり；(d) HVR-L1は配列番号25の残基24-39 [RSSQSLVHNNANTYLH]であり；(e) HVR-L2は配列番号25

20

30

40

50

の残基 55 - 61 [K V S N R F S] であり ; (f) H V R - L 3 は配列番号 25 の残基 94 - 102 [S Q N T L V P W T] である。

【 0028 】

更に別の態様において、喘息患者又は呼吸器疾患に罹患している患者から得た生物学的サンプル中の総ペリオスチンを測定するためのキットが提供され、該キットは第二の核酸分子にハイブリダイズする第一の核酸分子を含み、第二の核酸分子は総ペリオスチン又はその一部をコードし、又は該キットは総ペリオスチンに結合する抗体を含む。ある実施態様において、キットは上に提供される用途を説明する情報を含んだパッケージ挿入物を含む。

【 0029 】

更に別の態様において、患者の喘息のサブタイプを診断するためのキットが提供され、該キットは : (1) 患者から得られた血清サンプル中の総ペリオスチンのレベル及び任意で T A R C 及び M C P - 4 から選択される一以上の血清サンプル中のタンパク質発現レベルを測定し ; 及び (2) 血清サンプル中の総ペリオスチンの発現レベル及び任意で T A R C 及び / 又は M C P - 4 のレベルを測定するためのインストラクションを包含し、ここで前記タンパク質の何れか一、組み合わせ又は全ての発現の上昇が喘息サブタイプの指標である。ある実施態様において、キットは喘息患者又は呼吸器疾患患者が E I P 又は E I N であるかを決定するためのパッケージ挿入物を更に含む。ある実施態様において、キットは喘息患者が T H 2 経路阻害剤に応答する可能性があるかを決定するためのパッケージ挿入物を更に含む。ある実施態様において、キットは上に提供される用途の何れかを説明する情報を含んだパッケージ挿入物を更に含む。ある実施態様において、キットは生物学的サンプルを保持する空の容器を更に含む。ある実施態様において、キットは総ペリオスチンのレベルを測定するためのイムノアッセイにおける使用のための 2 つの抗ペリオスチンを含む。

【 0030 】

別の態様において、喘息又は呼吸器疾患を治療する方法は、H V R H 1 , H V R H 2 , H V R H 3 , H V R L 1 , H V R L 2 , 及び H V R L 3 を含み、各 H V R が配列番号 11、配列番号 12、配列番号 13、配列番号 14、配列番号 15 及び配列番号 16 のアミノ酸配列を有する抗 I L - 13 抗体を、喘息又は呼吸器疾患に罹患する患者に対して 125 - 500 m g の均一用量で 2 ~ 8 週間毎に投与することを含む。ある実施態様において、患者は中等度から重度の喘息に罹患している。ある実施態様において、喘息又は呼吸器疾患はコルチコステロイドで制御されない。ある実施態様において、喘息又は呼吸器疾患は吸入コルチコステロイドで制御されない。ある実施態様において、喘息又は呼吸器疾患は、一日の全用量が少なくとも 500 m c g のフルチカゾンプロピオン酸エステル (F P) で制御されない。ある実施態様において、コルチコステロイドは吸入コルチコステロイド、キューバル (登録商標)、パルミコート (登録商標)、シンビコート (登録商標)、A e r o b i d (登録商標)、フロベント (登録商標)、フルナーゼ (登録商標)、アドベア (登録商標) 又はアズマコート (登録商標) である。ある実施態様において、患者は、第二コントローラーで治療されている。ある実施態様において、患者は抗 I L - 13 抗体による治療期間において、コルチコステロイド、任意で吸入コルチコステロイドで継続的に治療されている。ある実施態様において、患者は抗 I L - 13 抗体による治療期間において、第二コントローラーで継続的に治療されている。ある実施態様において、第二コントローラーは長時間作用型気管支拡張薬である。ある実施態様において、長時間作用型気管支拡張薬は L A B A、L T R A、L A M A、テオフィリン、または O C S である。ある実施態様において、患者は E I P であると決定されている。ある実施態様において、上述のキットを使用して、患者は E I P であると決定されている。ある実施態様において、上述の方法を使用して、患者は E I P であると決定されている。ある実施態様において、患者は 4 週間ごとに 125 m g 又は 250 m g の均一用量を投与される。ある実施態様において、患者は 18 歳以上であり、又は 12 ~ 17 歳又は 12 歳及びそれ以上であり、又は患者は 6 ~ 11 歳又は 6 歳及びそれ以上である。

【 0 0 3 1 】

ある実施態様において、抗 I L - 1 3 抗体は皮下に投与される。ある実施態様において、抗 I L - 1 3 抗体はプレフィルドシリンジまたは自動注入装置を使用して投与される。ある実施態様において、上の方法に従って治療されるべき喘息患者は 1 8 歳以上であり、血清ペリオスチンを 5 0 n g / m l 以上有し、吸入コルチコステロイドと第二コントローラ薬物で制御されない。ある実施態様において、血清ペリオスチンはイムノアッセイを使用して測定され、そのイムノアッセイは E l e c s y s (登録商標) ペリオスチンアッセイ及び E 4 アッセイから選択される。ある実施態様において、血清ペリオスチンは上述したキットを使用して測定される。ある実施態様において、抗 I L - 1 3 抗体は配列番号 9 を含む V H 及び配列番号 1 0 を含む V L を含む抗体である。ある実施態様において、抗 I L - 1 3 抗体はレプリキズマブである。ある実施態様において、上述の方法に従って治療されるべき喘息患者は 1 2 歳以上であり、吸入コルチコステロイドと第二コントローラ薬物で制御されない。

10

【 0 0 3 2 】

更に別の態様において、治療的有効量のレプリキズマブを患者に投与することを含む、喘息又は呼吸器疾患を治療する方法が提供される。ある実施態様において、治療は、レプリキズマブによる治療前と比較して、5 % を超える F E V 1 の相対的改善を生じる。ある実施態様において、F E V 1 の相対的改善はレプリキズマブによる治療前と比較して、8 % を超える。ある実施態様において、治療は重篤な増悪の減少をもたらす。

【 0 0 3 3 】

更に別の態様において、T H 2 経路阻害剤を E I P と診断された患者に投与することを含む、喘息又は呼吸器疾患に罹患した患者を治療する方法が提供される。ある実施態様において、その方法は、総ペリオスチンアッセイを使用して患者を E I P として診断する工程を含む。ある実施態様において、その方法は、患者が E I P であると決定される場合、T H 2 経路阻害剤で患者を再治療する工程を更に含む。ある実施態様において、患者からの血清が患者が E I P であるかを決定するために使用される。

20

【 0 0 3 4 】

ある実施態様において、上の方法に従って決定される E I P 状態は、以下の工程を含む E I D A を使用する：(a) 患者から得たサンプル中の総ペリオスチンの量を決定し；(b) 工程 (a) で決定された総ペリオスチンの量を参照量に対して比較し；(c) 前記患者を工程 (b) で得られた比較に基づいて応答者又は非応答者のカテゴリに層別化するある実施態様において、総ペリオスチンは血清ペリオスチンであり、そのペリオスチンはイムノアッセイを使用して測定される。ある実施態様において、イムノアッセイは、サンドイッチイムノアッセイである。ある実施態様において、サンドイッチイムノアッセイは E l e c s y s (登録商標) アナライザ (R o c h e D i a g n o s t i c s G m b H) によって行われる。ある実施態様において、サンドイッチイムノアッセイは、E 4 アッセイである。一実施態様において、工程 (a) において E 4 アッセイを使用するとき E I P の参照量は 2 3 n g / m l より大きい。一実施態様において、工程 (a) において E l e c s y s (登録商標) アナライザを使用するとき E I P の参照量は 5 0 n g / m l 以上である。

30

【 0 0 3 5 】

ある実施態様において、上述した方法に従う患者は中等度から重度の喘息に罹患している。ある実施態様において、喘息又は呼吸器疾患はコルチコステロイドで制御されない。ある実施態様において、コルチコステロイドは吸入コルチコステロイドである。ある実施態様において、吸入コルチコステロイドは、キュバル (登録商標)、パルミコート (登録商標)、シンピコート (登録商標)、A e r o b i d (登録商標)、フロベント (登録商標)、フルナーゼ (登録商標)、アドベア (登録商標) 又はアズマコート (登録商標) である。一実施態様において、患者はまた、第二コントローラで治療されている。ある実施態様において、第二コントローラは長時間作用型気管支拡張薬 (L A B D) である。ある実施態様において、L A B D は長時間作用型 β 2 アゴニスト (L A B A)、ロイコ

40

50

トリエン受容体アンタゴニスト (L T R A)、長時間作用型ムスカリンアンタゴニスト (L A M A)、テオフィリン、または経口コルチコステロイド (O C S) である。ある実施態様において、L A B D はシンピコート (登録商標)、アドベア (登録商標)、プロバナ (登録商標)、フォラジル (登録商標)、P e r f o r o m i s t ^{T M}、又はセレベント (登録商標) である。

【 0 0 3 6 】

ある実施態様において、上の方法による T H 2 経路阻害剤は、標的 I T K , B T K , I L - 9 (例えば、M E D I - 5 2 8)、I L - 5 (例えば、メポリズマブ、C A S 番号 1 9 6 0 7 8 - 2 9 - 2 ; レシリズマブ (r e s i l i z u m a b))、I L - 1 3 (例えば、I M A - 0 2 6 , I M A - 6 3 8 (アンルキンズマブとも言う、I N N N o . 9 1 0 6 4 9 - 3 2 - 0 ; Q A X - 5 7 6 ; I L 4 / I L 1 3 トラップ)、トラロキヌマブ (C A T - 3 5 4 , C A S 番号 1 0 4 4 5 1 5 - 8 8 - 9 ととも言う) ; A E R - 0 0 1 , A B T - 3 0 8 (ヒト化 1 3 C 5 . 5 抗体とも言う)、I L - 4 (例えば A E R - 0 0 1 , I L 4 / I L 1 3 トラップ)、O X 4 0 L , T S L P , I L - 2 5 , I L - 3 3 及び I g E (例えば、X O L A I R , (登録商標)、Q G E - 0 3 1 ; M E D I - 4 2 1 2) ; 及び受容体、例えば：I L - 9 受容体、I L - 5 受容体 (例えば、M E D I - 5 6 3 (ベンラリズマブ、C A S 番号 1 0 4 4 5 1 1 - 0 1 - 4)、I L - 4 受容体 α (例えば、A M G - 3 1 7 , A I R - 6 4 5)、I L - 1 3 受容体 $\alpha 1$ (例えば R - 1 6 7 1) 及び I L - 1 3 受容体 $\alpha 2$ 、O X 4 0 , T S L P - R , I L - 7 R アルファ (T S L P の共受容体)、I L 1 7 R B (I L - 2 5 の受容体)、S T 2 (I L - 3 3 の受容体)、C C R 3 , C C R 4 , C R T H 2 (例えば A M G - 8 5 3 , A P 7 6 8 , A P - 7 6 1 , M L N 6 0 9 5 , A C T 1 2 9 9 6 8)、F c e p s i l o n R I , F c e p s i l o n R I I / C D 2 3 (I g E の受容体)、F l a p (例えば、G S K 2 1 9 0 9 1 5)、S y k キナーゼ (R - 3 4 3 , P F 3 5 2 6 2 9 9) ; C C R 4 (A M G - 7 6 1)、T L R 9 (Q A X - 9 3 5) を阻害し、又は C C R 3 , I L 5 , I L 3 , G M - C S F の多重サイトカイン阻害剤 (例えば、T P I A S M 8) である。ある実施態様において、T H 2 経路阻害剤は抗 I L 1 3 / I L 4 経路阻害剤または抗 I g E 結合剤である。ある実施態様において、T H 2 経路阻害剤は、抗抗 I L - 1 3 抗体である。ある実施態様において、抗 I L - 1 3 抗体は、配列番号 9 を含む V H と配列番号 1 0 を含む V L を含む抗体であり、抗 I L - 1 3 抗体は H V R H 1、H V R H 2、H V R H 3、H V R L 1、H V R L 2、及び H V R L 3 を含み、各 H V R が配列番号 1 1、配列番号 1 2、配列番号 1 3、配列番号 1 4、配列番号 1 5、及び配列番号 1 6、又はレプリキズマブのアミノ酸配列を有する。ある実施態様において、抗 I L - 1 3 抗体は I L - 4 にも結合する 2 重特異性抗体である。

【 0 0 3 7 】

ある実施態様において、T H 2 経路阻害剤は、抗 I g E 抗体である。ある実施態様において、抗 I g E 抗体は、(i) X O L A I R (登録商標) 抗体、(i i) 可変重鎖が配列番号 2 4 で可変軽鎖が配列番号 2 5 である、可変重鎖と可変軽鎖を含む抗 M 1 ' 抗体、又は (i i i) 可変重鎖が更に、H V R - H 1 , H V R - H 2 及び H V R - H 3 を含み、可変軽鎖が更に、H V R - L 1 , H V R , L 2 及び H V R - L 3 を含む、可変重鎖と可変軽鎖を含む抗 M 1 ' 抗体であり、そして：(a) H V R - H 1 は配列番号 2 4 の残基 2 6 - 3 5 [G F T F S D Y G I A] であり；(b) H V R - H 2 は配列番号 2 4 の残基 4 9 - 6 6 [A F I S D L A Y T I Y Y A D T V T G] であり；(c) H V R - H 3 は配列番号 2 4 の残基 9 7 - 1 0 6 [A R D N W D A M D Y] であり；(d) H V R - L 1 は配列番号 2 5 の残基 2 4 - 3 9 [R S S Q S L V H N N A N T Y L H] であり；(e) H V R - L 2 は配列番号 2 5 の残基 5 5 - 6 1 [K V S N R F S] であり；(f) H V R - L 3 は配列番号 2 5 の残基 9 4 - 1 0 2 [S Q N T L V P W T] である。

【 0 0 3 8 】

別の態様において、レプリキズマブによる喘息の治療に関連する患者における有害事象を評価するための方法が提供される。ある実施態様において、その方法は、増悪、市中感染性肺炎、アナフィラキシー、筋骨格痛、筋骨格系障害、結合組織痛または結合組織疾患

であるである事象の数及び／又は重症度をモニタリングする工程を含む。ある実施態様において、筋骨格又は結合組織疾患は、関節痛、背中の痛み、四肢の痛み、筋肉痛、首の痛み、関節炎、骨の発達異常、滑液包炎、肋軟骨炎、外骨腫、腹部痛、筋骨格系胸痛、筋骨格痛、顎または腱の痛みである。

【 0 0 3 9 】

更に別の態様において、抗ペリオスチン抗体が提供される。ある実施態様において、抗ペリオスチン抗体は、配列番号 1 の H V R 配列、及び配列番号 2 の H V R 配列を含む。ある実施態様において、抗ペリオスチン抗体は、配列番号 1 及び配列番号 2 の抗ペリオスチン抗体を含む。ある実施態様において、抗ペリオスチン抗体は、配列番号 3 の H V R 配列、及び配列番号 4 の H V R 配列を含む。ある実施態様において、抗ペリオスチン抗体は、配列番号 3 及び配列番号 4 の抗ペリオスチン抗体を含む。ある実施態様において、上の抗ペリオスチン抗体の使用を含む総ペリオスチンアッセイが提供される。

【図面の簡単な説明】

【 0 0 4 0 】

【図 1】図 1 は、実施例 1 に記載のアレルゲン曝露試験の概略を提供する。

【図 2】図 2 は、スクリーニング (A) における曝露後及び 1 3 週 (B) での F E V 1 のアレルゲン誘発性変化を示す。F E V 1 は最初の 9 0 分間 1 0 分毎に測定され、次いでアレルゲン曝露後 2 ~ 8 時間から毎時間測定された。エラーバーは平均値の標準誤差を示す。

【図 3】図 3 は I g E , C C L 1 3 (M C P - 4) , 及び C C L 1 7 (T A R C) の血清レベルを示す。(A) プラセボ処置患者及び (B) レプリキズマブ処置患者において時間に対する前投与用量の % として表された血清のレベル線は個々の患者を表す：グループ中央値は示されていない。矢は第 0 週、4 週、8 週、及び 1 2 週 (第 0 日、2 8 日、5 6 日、及び 8 4 日) での投薬を示していた。(C) 個々の患者において第 1 3 週での、I g E 、C C L 3 及び C C L 1 7 の、それらのマーカーのベースラインレベルに対する減少。

【図 4】図 4 は、バイオマーカー高及びバイオマーカー低の患者サブグループにおける遅発型喘息反応 (L A R) のレプリキズマブ誘導性阻害を示す。データは、第 1 3 週での L A R の A U C (曲線下面積) におけるプラセボ補正後の平均減少として表される (n = 5 から 8 のアクティブな患者 / 群) 。

【図 5】図 5 は、実施例 2 に記載の喘息治験の概略図を提供する。

【図 6】図 6 は、実施例 2 の喘息治験に参加した患者のベースライン特性を提供する。

【図 7】図 7 は、実施例 2 の喘息治験の結果を提供する。

【図 8】図 8 は、全ての有効性評価可能な被験体について (A) 及び、ペリオスチンが高い被験体のみについて (B) 、実施例 2 の喘息治験からの F E V 1 の結果を提供する。

【図 9】図 9 は、実施例 2 の喘息治験からの増悪の減少率を提供する。

【図 1 0】図 1 0 は、実施例 2 の喘息治験からの F E N O の変化の割合を提供する。

【図 1 1】図 1 1 は、実施例 2 の喘息治験の安全性結果を提供する。

【図 1 2】図 1 2 は、実施例 3 に記載の喘息治験の概略図を提供する。

【図 1 3】図 1 3 は、実施例 5 に記載の喘息観察研究の概略図を提供する。

【図 1 4】図 1 4 は、実施例 5 に記載されているように B O B C A T コホート内の複数の来院に渡る血清ペリオスチンレベル間の被検体内相関を示す。(A) 来院 1 と来院 2 の間の相関；(B) 来院 1 と来院 3 の間の相関；(C) 来院 2 と来院 3 の間の相関；(D) 来院 1 と全来院に渡る血清ペリオスチンレベルの平均値との間の相関；(E) 来院 2 と全来院に渡る血清ペリオスチンレベルの平均値との間の相関；及び (F) 来院 3 と全来院に渡る血清ペリオスチンレベルの平均値との間の相関。

【図 1 5】図 1 5 は、実施例 5 に記載されているように F E N O が気道好酸球性炎症 (B O B C A T コホート) に応じた高用量 I C S は中等度から重度の制御されない喘息患者を区別することを示す。(A) 3 % を超える喀痰好酸球を持つ喘息患者は、3 % 未満の喀痰好酸球を持つ喘息患者に比べて著しく F E N O が上昇していた (ウィルコクソンの順位和検定により p < 0 . 0 0 1) 。(B) 2 2 を超える好酸球 / m m 2 全気管支組織を持つ喘

息患者は、22未満の好酸球/mm²全気管支組織である喘息患者と比べてF E_{N O}の上昇傾向があった(ウィルコクソンの順位和検定により $p = 0.07$)。(C)複合気道好酸球スコア、0 = 喀痰好酸球 < 3%及び組織(「B x」)好酸球 < 22/mm²; 1 = 喀痰好酸球 > 3%又は組織好酸球 > 22/mm²(排他的)の何れか; 2 = 喀痰好酸球 > 3%及び組織好酸球 > 22/mm²の両方が、複合気道好酸球スコアの増加を伴うF E_{N O}のレベルが増加する強く好ましい傾向を示した(ロジスティック回帰により、 $p = 0.001$)。血清ペリオスチンの状態は説明文にあるように示されている。(D)血清ペリオスチンとF E_{N O}は両方とも喀痰又は組織好酸球の上昇を伴って大半の被験体で上昇したが、被験体のサブセットはペリオスチン又はF E_{N O}のみが上昇した。喀痰及び組織の好酸球の上昇を欠いている大半の被験体は、低血清ペリオスチン及び低F E_{N O}を示した。

10

(E)複合気道好酸球状態における、血清ペリオスチン、F E_{N O}、血中好酸球、血清IgEの感受性及び特異性の受信者動作特性(ROC)曲線解析。AUC = 曲線下面積。

【図16】図16は、実施例3に記載される喘息治療で治療の失敗の無い患者の割合を提供する。

【図17】図17は、実施例3及び実施例5に記載される臨床試験から得られたサンプルについて、実施例4のアッセイ(E4アッセイ)又はE l e c s y s(登録商標)ペリオスチンアッセイ(実施例7)に似たアッセイで測定される血清ペリオスチンレベル間の比較を示す。

【図18】図18は、実施例2に記載されるように、ペリオスチンが低い患者(A)及びペリオスチンが高い患者(B)における血清ペリオスチンの薬物動力学を示す。

20

【図19】図19は、実施例2に記載されるように、プラセボ及びレプリキズマブ処置患者における時間に対するペリオスチンレベルの中央値の変化の割合を示す。

【図20】図20は、実施例6に記載されるように、実施例2(A)に記載される第II相試験と実施例3(B)に記載される第II相試験における個々について、第12週でのF E_{V 1}の変化の%と体重の間の関係を示す。

【図21】図21は、実施例6に記載されるように、様々なレベルを超えた定常状態のトラフ濃度を持つ患者の予測される割合を示す。

【図22】図22は、実施例6に記載されるように、実施例2の試験(A)及び実施例3の試験(B)において、時間に対する血清CCL17(TARC)レベルへのレプリキズマブの作用を示す。

30

【図23】図23は、実施例6に記載されるように、第III相の投与量、4週間毎に250mg、4週間毎に125mg、及び4週間毎に37.5mgの各々でのシミュレートした集団のPKプロファイルを示す。

【図1】詳細の説明 別に規定されない限り、本発明が属する技術分野の当業者によって一般的に理解されるように、使用される技術用語および科学用語は、本明細書と同じ意味を持つ。Singleton et al., Dictionary of Microbiology and Molecular Biology 2nd ed., J. Wiley & Sons (New York, N.Y. 1994)、及びMarch, Advanced Organic Chemistry Reactions, Mechanisms and Structure 4th ed., John Wiley & Sons (New York, N.Y. 1992)は、当業者に本願において使用される多くの用語に対する一般的な指針を提供する。

40

【0041】

所定の定義

本明細書を解釈する目的のために、以下の定義が適用され、適切な場合にはいつでも、単数形で使用される用語はまた複数を含み及びその逆もある。以下に記載した任意の定義が、参照により本明細書に組み込まれる任意の文書と競合する場合には、以下に記載した定義が統制する。

【0042】

本明細書及び添付の特許請求の範囲に使用される場合、単数形の「a」、「an」及び「the」は、文脈から明らかでない限り、複数の指示対象を含む。従って、例えば、「タンパク質」又は「抗体」は、複数のタンパク質又は抗体をそれぞれ包含し; 「細胞」へ

50

の参照は細胞の混合物などを含める。

【 0 0 4 3 】

本明細書で使用される用語「総ペリオスチン (Total Periostin)」は、ペリオスチンの少なくともアイソフォーム 1、2、3、及び 4 を指す。ヒトペリオスチンアイソフォーム 1、2、3、及び 4 は NCBI データベースによる以下のアミノ酸配列：NP__006466.2 (配列番号 19)；NP__001129406.1 (配列番号 20)，NP__001129407.1 (配列番号 21)、及び NP__001129408.1 (配列番号 22) をそれぞれを含むとして当業者に知られている。加えて、申請者は、ペリオスチンの更なる形態を検出した。この新規アイソフォームは、「アイソフォーム 5」と称され、部分的に配列決定されている。アイソフォーム 5 は、配列番号 23 のアミノ酸配列を含む。一実施態様において、ペリオスチンのアイソフォームはヒトペリオスチンである。更なる実施態様において、総ペリオスチンなる用語は、アイソフォーム 1 ~ 4 に加えてヒトペリオスチンのアイソフォーム 5 を含む。他の実施態様において、総ペリオスチンは、全血清ペリオスチン又は全血漿ペリオスチンである (即ち、全血液から得られた血清サンプル又は全血液から得られた血漿サンプルのそれぞれからの総ペリオスチンで、全血液は患者から得られる)。

10

【 0 0 4 4 】

用語「総ペリオスチンアッセイ」は、生物学的サンプル中の総ペリオスチンのレベルを測定するアッセイを指す。一実施態様において、総ペリオスチンレベルは抗ペリオスチン抗体を使用して測定される。別の実施態様において、抗ペリオスチン抗体は本明細書に記載される抗ペリオスチン抗体である。別の実施例において、総ペリオスチンレベルは、ペリオスチンアイソフォーム 1 ~ 4 をコードする mRNA に対してアンチセンスな一以上の核酸配列を用いて測定される。更に別の実施例において、総ペリオスチンアッセイは実施例 4 に記載されるアッセイである (「実施例 4 アッセイ」又は「E4 アッセイ」)。一実施態様において、総ペリオスチンアッセイは、(1) 生物学的サンプル中でペリオスチンに結合するための配列番号 1 及び配列番号 2 の配列を含む抗体 (「25D4」抗体) 及び / 又は配列番号 3 及び配列番号 4 の配列を含む抗体 (「23B9」抗体)、(2) 生物学的サンプル中でペリオスチンに結合するための配列番号 1 及び配列番号 2 の可変領域配列を含む抗体及び / 又は配列番号 3 及び配列番号 4 の可変領域配列を含む抗体、(3) 生物学的サンプル中でペリオスチンに結合するための配列番号 1 及び配列番号 2 の HVR 配列を含む抗体及び / 又は配列番号 3 及び配列番号 4 の HVR 配列を含む抗体、(4) 配列番号 1 及び配列番号 2 の HVR 配列に 95% 以上同一である HVR を含む抗体及び / 又は配列番号 3 及び配列番号 4 の HVR 配列に 95% 以上同一である HVR を含む抗体の使用を含む。

20

30

【 0 0 4 5 】

本明細書で使用される場合「好酸球性炎症の診断アッセイ」、「EIDA」と略は、体に好酸球性炎症又は体に TH2 経路炎症を有する患者を、患者から得られた生物学的サンプル中の好酸球性炎症マーカーのレベルを測定することにより診断するアッセイであり、そのマーカーは、ペリオスチン mRNA レベル又はペリオスチンタンパク質レベル、iNOS mRNA レベル又は iNOS タンパク質レベル又は FENO レベル又は CCL26 mRNA レベル又は CCL26 タンパク質レベル、セルピン B2 mRNA レベル又はセルピン B2 タンパク質レベル、セルピン B4 mRNA レベル又はセルピン B4 タンパク質レベル、CST1 mRNA レベル又は CST1 タンパク質レベル、CST2 mRNA レベル又は CST2 タンパク質レベル、CST4 mRNA レベル又は CST4 タンパク質レベルからなる群から選択される。一実施態様において、総ペリオスチン血清又は血漿レベルが測定される。アッセイの高度に効果的な事例は、限定されないが、下の実施例 4 に記載される実施例 (E4 アッセイとも言う)、又は生物学的サンプル中の総ペリオスチンの血清レベル又は血漿レベルを測定する他のペリオスチンアッセイを含む。二つ以上のアッセイを、患者の好酸球性炎症の診断を行うために実施することができる。一実施態様において、EID アッセイは FENO アッセイと組み合わせた総ペリオスチンアッセイを含む。

40

50

別の実施態様において、E I Dアッセイは、次のマーカー：C S T 1，C S T 2，C C L 2 6，C L C A 1，P R R 4，P R B 4，S E R P I N B 2，C E A C A M 5，i N O S，S E R P I N B 4，C S T 4及びS E R P I N B 1 0の何れか一又は組み合わせのレベルを測定するアッセイと組み合わせた総ペリオスチンアッセイ+/- F E N Oレベルアッセイを包含する。

【 0 0 4 6 】

用語「ペリオスチン抗体」又は「抗ペリオスチン抗体」はペリオスチンのアイソフォームに結合する抗体を指す。一実施態様において、ペリオスチンはヒトペリオスチンである。一実施態様において、抗体は、配列番号 1 及び配列番号 2 を含み（「2 5 D 4 抗体」）又は配列番号 3 及び配列番号 4 を含む（「2 3 B 9 抗体」）。別の実施態様において、抗体は、配列番号 1 及び配列番号 2 の可変領域配列を含み又は配列番号 3 及び配列番号 4 の可変領域配列を含む。別の実施態様において、抗体は、配列番号 1 及び配列番号 2 の H V R 配列を含み又は配列番号 3 及び配列番号 4 の H V R 配列を含む。別の実施態様において、抗体は配列番号 1 及び配列番号 2 の H V R 配列に 9 5 % 以上同一である H V R を含み、及び/又は抗体は配列番号 3 及び配列番号 4 の H V R 配列に 9 5 % 以上同一である H V R 配列を含む。

【 0 0 4 7 】

好酸球性炎症陽性（E I P）患者又は状態とは、その患者由来の血清又は血漿サンプルが血清又は血漿の好酸球レベルについてそれぞれ E 4 アッセイ（実施例 4）を用いて試験される場合、2 0 n g / m l 以上の全血清ペリオスチンレベル（好酸球陽性）を有しているであろう患者を指す。一実施態様において、E I P である患者の総ペリオスチンレベルは、血清又は血漿中で、2 1 n g / m l 以上、2 2 n g / m l 以上、2 3 n g / m l 以上、2 4 n g / m l 以上、2 5 n g / m l 以上、2 6 n g / m l 以上、2 7 n g / m l 以上、2 8 n g / m l 以上、2 9 n g / m l 以上、3 0 n g / m l 以上、3 1 n g / m l 以上、3 2 n g / m l 以上、3 3 n g / m l 以上、3 4 n g / m l 以上、3 5 n g / m l 以上、3 6 n g / m l 以上、3 7 n g / m l 以上、3 8 n g / m l 以上、3 9 n g / m l 以上、4 0 n g / m l 以上、4 1 n g / m l 以上、4 2 n g / m l 以上、4 3 n g / m l 以上、4 4 n g / m l 以上、4 5 n g / m l 以上、4 6 n g / m l 以上、4 7 n g / m l 以上、4 8 n g / m l 以上、4 9 n g / m l 以上、5 0 n g / m l 以上、5 1 n g / m l 以上、5 2 n g / m l 以上、5 3 n g / m l 以上、5 4 n g / m l 以上、5 5 n g / m l 以上、5 6 n g / m l 以上、5 7 n g / m l 以上、5 8 n g / m l 以上、5 9 n g / m l 以上、6 0 n g / m l 以上、6 1 n g / m l 以上、6 2 n g / m l 以上、6 3 n g / m l 以上、6 4 n g / m l 以上、6 5 n g / m l 以上、6 6 n g / m l 以上、6 7 n g / m l 以上、6 8 n g / m l 以上、6 9 n g / m l 以上及び 7 0 n g / m l 以上からなる群から選択することができる。E I P 状態は患者の状態を表し、状態を決定するために用いられるアッセイのタイプには依存しないことを理解するべきである。従って、実施例 7 に示される E l e c s y s（登録商標）ペリオスチンアッセイなどの他のペリオスチンアッセイを含む他の好酸球性炎症の診断アッセイを、好酸球性炎症陽性状態を試験するために使用することができる又は使用するために開発することができる。

【 0 0 4 8 】

好酸球性炎症陰性（E I N）患者又は状態とは、その患者由来の血清又は血漿サンプルが血清又は血漿の好酸球レベルについてそれぞれ E 4 アッセイを用いて試験される場合、2 0 n g / m l 未満の全血清ペリオスチンレベルを有しているであろう患者を指す。E I N 状態は患者の状態を表し、状態を決定するために用いられるアッセイのタイプには依存しないことを理解するべきである。従って、実施例 7 に示される E l e c s y s（登録商標）ペリオスチンアッセイなどの他のペリオスチンアッセイを含む他の好酸球性炎症の診断アッセイを、好酸球性炎症陰性状態を試験するために使用することができる又は使用するために開発することができる。

【 0 0 4 9 】

本明細書で使用される用語「生物学的サンプル」は、限定されないが、血液、血清、血

10

20

30

40

50

漿、唾液、組織生検（例えば、肺サンプル）、及び鼻腔スワブまたは鼻ポリープを含む鼻サンプルを含む。

【 0 0 5 0 】

F E N O アッセイは、F E N O（分別呼気一酸化窒素）を測定するアッセイを指す。そのレベルは、例えば、2005年に米国胸部学会（A T S）が発行したガイドラインに従っている、手持ち携帯装置のN I O X M I N O（A e r o c r i n e , S o l n a , S w e d e n）を使用して評価することができる。F E N Oは他の同様の方法、例えばF e N O又はF E N Oで留意され得、全てのその類似の異形が同じ意味を持つことが理解されるべきである。

【 0 0 5 1 】

本明細書に与えられる方法に従って試験される又は治療される患者の年齢は全年齢を含む。一実施態様において、年齢は18+歳である。別の実施態様において、年齢は12+歳である。更に別の実施態様において、年齢は2+歳である。一実施態様において、年齢は18~75歳、12~75歳、又は2~75歳である。

【 0 0 5 2 】

喘息は、可変性と再発性の症状を特徴とする複雑な疾患で、根底にある炎症と関連し得るか又は関連し得ない、可逆性気道閉塞（例えば、気管支拡張による）及び気管支過感受性である。喘息の例としては、アスピリン感受性/悪化喘息、アトピー性喘息、重度の喘息、軽度の喘息、中等度から重度の喘息、コルチコステロイドナীব喘息、慢性喘息、コルチコステロイド抵抗性喘息、コルチコステロイド難治性喘息、新たに診断された未治療喘息、喫煙による喘息、コルチコステロイドで制御されない喘息、及びJ Allergy Clin Immunol（2010）126(5):926-938に述べられるような他の喘息を含む。

【 0 0 5 3 】

好酸球性疾患とは、過剰の好酸球数に関連する障害であり、その非定型症状は、体内の局所的または全身的な好酸球のレベル又は活性に起因して現れる場合がある。過剰の好酸球数又は活性に関連する疾患は、限定されないが、喘息（アスピリン感受性の喘息を含む）、アトピー性喘息、アトピー性皮膚炎、アレルギー性鼻炎（季節性アレルギー性鼻炎を含む）、非アレルギー性鼻炎、喘息、重度の喘息、慢性好酸球性肺炎、アレルギー性気管支肺アスペルギルス症、セリアック病、チャグ・ストラウス症候群（結節性動脈周囲炎プラスアトピー）、好酸球性筋痛症候群、好酸球増多症候群、突発性血管浮腫を含む浮腫反応、蠕虫感染症、ここでは好酸球は保護の役割を持ち得る、オンコセルカ皮膚炎、及び好酸球性食道炎、好酸球性胃炎、好酸球性胃腸炎、好酸球性腸炎及び好酸球性大腸炎を含むがこれらに限定されない、好酸球関連消化器疾患、鼻のミクロポリープ症及びポリープ、アスピリン不耐症、喘息及び閉塞性睡眠時無呼吸症候群が挙げられる。好酸球由来の分泌産物はまた、血管新生及び腫瘍における結合組織形成の促進、及び慢性喘息、クローン病、強皮症および心内膜心筋線維症などの状態で見られる線維化反応に関連している（Munitz A, Levi-Schaffer F. Allergy 2004; 59: 268-75, Adamko et al. Allergy 2005; 60: 13-22, Oldhoff, et al. Allergy 2005; 60: 693-6）。他の例としては、癌（例えば、神経膠芽腫（例えば多形神経膠芽腫）、非ホジキンリンパ腫（NHL））、アトピー性皮膚炎、アレルギー性鼻炎、喘息、線維症、炎症性腸疾患、肺線維症（硬化症に対する二特発性肺線維症（IPF）および肺線維症を含む）、COPD、肝線維症を含む。

【 0 0 5 4 】

I L - 1 3 媒介性疾患とは、過剰のI L - 1 3レベル又は活性に関連する障害であり、その非定型症状は、体内の局所的及び/又は全身的なI L - 1 3のレベル又は活性に起因して現れる場合がある。I L - 1 3媒介性疾患の例は、癌（例えば、非ホジキンリンパ腫、神経膠芽腫）、アトピー性皮膚炎、アレルギー性鼻炎、喘息、線維症、炎症性腸疾患（例えば、クローン病）、肺の炎症性障害（例えば、IPFのような肺線維症）、COPD、肝線維症を含む。

【 0 0 5 5 】

I L - 4 媒介性疾患とは、過剰のI L - 4レベル又は活性に関連する障害であり、その

10

20

30

40

50

非定型症状は、体内の局所的及び／又は全身的な I L - 4 のレベル又は活性に起因して現れる場合がある。I L - 4 媒介性疾患の例は、癌（例えば、非ホジキンリンパ腫、神経膠芽腫）、アトピー性皮膚炎、アレルギー性鼻炎、喘息、線維症、炎症性腸疾患（例えば、クローン病）、肺の炎症性障害（例えば、I P F のような肺線維症）、C O P D、肝線維症を含む。

【 0 0 5 6 】

I L - 5 媒介性疾患とは、過剰の I L - 5 レベル又は活性に関連する障害であり、その非定型症状は、体内の局所的及び／又は全身的な I L - 5 のレベル又は活性に起因して現れる場合がある。I L - 5 媒介性疾患の例は、癌（例えば、非ホジキンリンパ腫、神経膠芽腫）、アトピー性皮膚炎、アレルギー性鼻炎、喘息、線維症、炎症性腸疾患（例えば、クローン病）、肺の炎症性障害（例えば、I P F のような肺線維症）、C O P D、肝線維症を含む。

10

【 0 0 5 7 】

I L - 9 媒介性疾患とは、過剰の I L - 9 レベル又は活性に関連する障害であり、その非定型症状は、体内の局所的及び／又は全身的な I L - 9 のレベル又は活性に起因して現れる場合がある。I L - 9 媒介性疾患の例は、癌（例えば、非ホジキンリンパ腫、神経膠芽腫）、アトピー性皮膚炎、アレルギー性鼻炎、喘息、線維症、炎症性腸疾患（例えば、クローン病）、肺の炎症性障害（例えば、I P F のような肺線維症）、C O P D、肝線維症を含む。

【 0 0 5 8 】

20

T S L P 媒介性疾患とは、過剰の T S L P レベル又は活性に関連する障害であり、その非定型症状は、体内の局所的及び／又は全身的な T S L P のレベル又は活性に起因して現れる場合がある。T S L P 媒介性疾患の例は、癌（例えば、非ホジキンリンパ腫、神経膠芽腫）、アトピー性皮膚炎、アレルギー性鼻炎、喘息、線維症、炎症性腸疾患（例えば、クローン病）、肺の炎症性障害（例えば、I P F のような肺線維症）、C O P D、肝線維症を含む。

【 0 0 5 9 】

I g E 媒介性疾患とは、過剰の I g E レベル又は活性に関連する障害であり、その非定型症状は、体内の局所的及び／又は全身的な I g E のレベル又は活性に起因して現れる場合がある。そのような疾患は、喘息、アトピー性皮膚炎、アレルギー性鼻炎、線維症（例えば、I P F などの肺線維症）を含む。

30

【 0 0 6 0 】

喘息様症状は、息切れ、咳（痰の産生及び／又は痰の質及び／又は咳周波数の変化）、喘鳴、胸部絞扼感、気管支収縮及び上記の症状のいずれか又はこれらの症状の組み合わせに起因する夜間覚醒からなる群から選択される症状が含まれる(Juniper et al (2000) Am . J. Respir. Crit. Care Med., 162(4), 1330-1334.)。

【 0 0 6 1 】

用語「呼吸器疾患」は、限定されないが、喘息（例えば、アレルギー性および非アレルギー性喘息（例えば、年少の子供たちの中で、例えば呼吸器合胞体ウイルス（R S V）による感染による））；気管支炎（例えば、慢性気管支炎）；慢性閉塞性肺疾患（C O P D）（例えば、肺気腫（例えば、タバコ誘発性肺気腫））；気道炎症、好酸球増加症、線維症、過剰粘液産生、例えば、嚢胞性線維症、肺線維症、アレルギー性鼻炎を含む状態が含まれる。気道炎症、過度の気道分泌、及び気道閉塞によって特徴づけることができる疾患の例は、喘息、慢性気管支炎、気管支拡張症、及び嚢胞性線維症が挙げられる。

40

【 0 0 6 2 】

増悪（一般に喘息発作又は急性の喘息とも呼ばれる）は、息切れ、咳（痰の産生及び／又は痰の質及び／又は咳頻度の変化）、喘鳴、胸部絞扼感、上記の症状又はこれらの症状の組み合わせのいずれかに起因する夜間覚醒の新規または進行性の増加の症状の発現である。増悪はしばしば呼気の気流（P E F または F E V 1）の低下によって特徴付けられる。しかし、P E F の変動性は、増悪からの回復に至るまで又はまたはその最中には増加す

50

るかもしれないが、増悪の最中には通常は増加しない。増悪の重症度は、軽度から生命を脅かす範囲に及び、症状および肺機能の両方に基づいて評価することができる。本明細書に記載されるように重度の喘息増悪は、喘息治療のために以下の入院加療、高コルチコステロイドの使用（例えば、一日のコルチコステロイドの総用量または500マイクログラム以上のF P又は等価物の一日の総用量を3日間又はそれ以上連続して4倍する）、又は経口／非経口のコルチコステロイドの使用の任意の一又は組み合わせをもたらす増悪を含む。

【0063】

TH2経路阻害剤はTH2経路を阻害する薬剤である。

【0064】

TH2経路阻害剤の例は、ITK, BTK, IL-9（例えば、MEDI-528）、IL-5（例えば、メボリズマブ、CAS番号196078-29-2；レシリズマブ（reslizumab））、IL-13（例えば、IMA-026, IMA-638（アンルキンズマブとも言う、INN No. 910649-32-0；QAX-576；IL4/IL13 トラップ）、トラロキヌマブ（CAT-354, CAS番号1044515-88-9とも言う）；AER-001, ABT-308（ヒト化13C5.5抗体とも言う）、IL-4（例えばAER-001, IL4/IL13トラップ）、OX40L, TSLP, IL-25, IL-33及びIgE（例えば、XOLAIR、QGE-031；MEDI-4212）；及び受容体、例えば：IL-9受容体、IL-5受容体（例えば、MEDI-563（ベンラリズマブ、CAS番号1044511-01-4）, IL-4受容体α（例えば、AMG-317, AIR-645）, IL-13受容体α1（例えばR-1671）及びIL-13受容体α2, OX40, TSLP-R, IL-7Rアルファ（TSLPの共受容体）、IL17RB（IL-25の受容体）、ST2（IL-33の受容体）、CCR3, CCR4, CRTH2（例えばAMG-853, AP768, AP-761, MLN6095, ACT129968）、FcεpsilonRI, FcεpsilonRII/CD23（IgEの受容体）、Flap（例えば、GSK2190915）、Sykキナーゼ（R-343, PF3526299）；CCR4（AMG-761）、TLR9（QAX-935）及びCCR3, IL5, IL3, GM-CSFの多重サイトカイン阻害剤（例えば、TP1 ASM8）からなる群から選択される標的の何れか一の活性の阻害剤を含む。上記標的の阻害剤の例は、例えば、国際公開第2008/086395号；国際公開第2006/085938号；米国特許第7,615,213号；米国特許第7,501,121号；国際公開第2006/085938号；国際公開第2007/080174号；米国特許第7,807,788号；国際公開第2005007699号；国際公開第2007036745号；国際公開第2009/009775号；国際公開第2007/082068号；国際公開第2010/073119号；国際公開第2007/045477号；国際公開第2008/134724号；米国特許第2009/0047277号；及び国際公開第2008/127,271号）に開示されている。

【0065】

本明細書に提供される治療薬は、例えば、ポリペプチド（例えば、抗体、イムノアドヘシン又はペプチボディ）、本明細書で同定された標的をコードする核酸分子に結合し得るタンパク質または核酸分子に結合し得るアプタマー又は小分子（すなわち、siRNAを）など、本明細書上記に同定された標的に結合可能な薬剤を含む。

【0066】

「抗IL13/IL4経路阻害剤」は、IL-13及び／又はIL-4シグナル伝達を阻害する治療薬を指す。抗IL13/IL4経路阻害剤は、IL13及び／又はIL4とその受容体との相互作用の阻害剤を含み、そのような阻害剤は、限定されないが、抗IL13結合剤、抗IL4結合剤、抗IL3/IL4二重特異性結合剤、抗IL4受容体α結合剤、抗IL13受容体α1結合剤及び抗IL13受容体α2結合剤を含む。IL13、IL4に結合できる単一ドメイン抗体（単一のドメイン結合IL13と単一のドメイン結

10

20

30

40

50

合 I L 4 を持つ二重特異性抗体)、I L - 1 3 R アルファ 1、I L - 1 3 R アルファ 2 または I L - 4 R アルファが具体的に阻害剤として含まれる。複数の標的と結合することができる分子が含まれていることを理解すべきである。

【 0 0 6 7 】

「抗 I L 4 結合剤」はヒト I L 4 に結合する薬剤を指す。そのような結合剤は、小分子、アプタマー又はポリペプチドを含めることができる。そのようなポリペプチドは、限定されるものではないが、イムノアドヘシン、抗体、ペプチボディおよびペプチドからなる群から選択されるポリペプチドを含めることができる。一実施態様によれば、結合剤はヒト I L - 4 配列に 1 u M ~ 1 p M の間の親和性で結合する。抗 I L 4 結合剤の具体的な例は、可溶性 I L 4 受容体 α (例えばヒト F c 領域に融合した I L 4 受容体の細胞外ドメイン)、抗 I L 4 抗体、及び可溶性 I L 1 3 受容体 α (例えばヒト F c 領域に融合した I L 1 3 受容体の細胞外ドメイン)を含めることができる。

10

【 0 0 6 8 】

「抗 I L 4 受容体 α 結合剤」はヒト I L 4 受容体 α に結合する薬剤を指す。そのような結合剤は、小分子、アプタマー又はポリペプチドを含めることができる。そのようなポリペプチドは、限定されるものではないが、イムノアドヘシン、抗体、ペプチボディおよびペプチドからなる群から選択されるポリペプチドを含めることができる。一実施態様によれば、結合剤はヒト I L - 4 受容体 α 配列に 1 u M ~ 1 p M の間の親和性で結合する。抗 I L 4 受容体 α 結合剤の具体的な例は、抗 I L 4 受容体 α 抗体を含めることができる。

【 0 0 6 9 】

20

「抗 I L 1 3 結合剤」はヒト I L 1 3 に結合する薬剤を指す。そのような結合剤は、小分子、アプタマー又はポリペプチドを含めることができる。そのようなポリペプチドは、限定されるものではないが、イムノアドヘシン、抗体、ペプチボディおよびペプチドからなる群から選択されるポリペプチドを含めることができる。一実施態様によれば、結合剤はヒト I L - 1 3 配列に 1 u M ~ 1 p M の間の親和性で結合する。抗 I L 1 3 結合剤の具体的な例は、抗 I L 1 3 抗体、ヒト F c に融合した可溶性 I L 1 3 受容体 $\alpha 2$ 、ヒト F c に融合した可溶性 I L 4 受容体 α 、ヒト F c に融合した可溶性 I L 1 3 受容体 α を含めることができる。一実施態様において、抗 I L 1 3 抗体は、(1) 配列番号 1 1 のアミノ酸配列を含む H V R H 1、(2) 配列番号 1 2 のアミノ酸配列を含む H V R H 2、(3) 配列番号 1 3 のアミノ酸配列を含む H V R H 3、(4) 配列番号 1 4 のアミノ酸配列を含む H V R L 1、(5) 配列番号 1 5 のアミノ酸配列を含む H V R H 2、及び(6) 配列番号 1 6 のアミノ酸配列を含む H V R H 3 を含む。別の実施態様において、抗 I L - 1 3 抗体は、配列番号 9 のアミノ酸配列を含む V H ドメイン及び配列番号 1 0 のアミノ酸配列を含む V L ドメインを含む。一実施態様によれば、抗体は I g G 1 抗体である。別の実施態様によれば、抗体は I g G 4 抗体である。一実施態様によれば、I g G 4 抗体はその定常ドメインに S 2 2 8 P 変異を含む。

30

【 0 0 7 0 】

「抗 I L 1 3 受容体 $\alpha 1$ 結合剤」はヒト I L 1 3 受容体 $\alpha 1$ に特異的に結合する薬剤を指す。そのような結合剤は、小分子、アプタマー又はポリペプチドを含めることができる。そのようなポリペプチドは、限定されるものではないが、イムノアドヘシン、抗体、ペプチボディおよびペプチドからなる群から選択されるポリペプチドを含めることができる。一実施態様によれば、結合剤はヒト I L - 1 3 受容体 $\alpha 1$ 配列に 1 u M ~ 1 p M の間の親和性で結合する。抗 I L 1 3 受容体 $\alpha 1$ 結合剤の具体的な例は、抗 I L 1 3 受容体 $\alpha 1$ 抗体を含めることができる。

40

【 0 0 7 1 】

「抗 I L 1 3 受容体 $\alpha 2$ 結合剤」はヒト I L 1 3 受容体 $\alpha 2$ に特異的に結合する薬剤を指す。そのような結合剤は、小分子、アプタマー又はポリペプチドを含めることができる。そのようなポリペプチドは、限定されるものではないが、イムノアドヘシン、抗体、ペプチボディおよびペプチドからなる群から選択されるポリペプチドを含めることができる。一実施態様によれば、結合剤はヒト I L - 1 3 受容体 $\alpha 2$ 配列に 1 u M ~ 1 p M の間の

50

親和性で結合する。抗 I L 1 3 受容体 α 2 結合剤の具体的な例は、抗 I L 1 3 受容体 α 2 抗体を含めることができる。

【 0 0 7 2 】

「抗 I g E 結合剤」はヒト I g E に特異的に結合する薬剤を指す。そのような結合剤は、小分子、アプタマー又はポリペプチドを含めることができる。そのようなポリペプチドは、限定されるものではないが、イムノアドヘンシ、抗体、ペプチボディおよびペプチドからなる群から選択されるポリペプチドを含めることができる。一実施態様によれば、抗 I g E 抗体は、配列番号 1 7 のアミノ酸配列を含む V L 配列及び配列番号 1 8 のアミノ酸配列を含む V H 配列を含む。

【 0 0 7 3 】

「抗 M 1 ' 結合剤」は、B 細胞上で表面に発現された I g E の膜近傍の M 1 ' 領域に特異的に結合する薬剤を指す。そのような結合剤は、小分子、アプタマー又はポリペプチドを含めることができる。そのようなポリペプチドは、限定されるものではないが、イムノアドヘンシ、抗体、ペプチボディおよびペプチドからなる群から選択されるポリペプチドを含めることができる。一実施態様によれば、抗 I g E 抗体は国際公開第 2 0 0 8 / 1 1 6 1 4 9 号に記載される抗体又はその変異体を含む。別の実施態様によれば、抗 M 1 ' 抗体は可変重鎖と可変軽鎖を含み、ここで可変重鎖は配列番号 2 4 で可変軽鎖は配列番号 2 5 である。別の実施態様によれば、抗 I g E / M 1 ' 抗体は、可変重鎖及び可変軽鎖を含み、ここで可変重鎖は H V R - H 1、H V R - H 2 及び H V R - H 3 を更に含み、かつ可変軽鎖は H V R - L 1、H V R、L 2 及び H V R - L 3 を更に含み、かつ (a) H V R - H 1 は配列番号 2 4 の残基 2 6 ~ 3 5 [G F T F S D Y G I A] であり； (b) H V R - H 2 は配列番号 2 4 の残基 4 9 ~ 6 6 [A F I S D L A Y T I Y Y A D T V T G] であり； (c) H V R - H 3 は配列番号 2 4 の残基 9 7 ~ 1 0 6 [A R D N W D A M D Y] であり； (d) H V R - L 1 は配列番号 2 5 の残基 2 4 ~ 3 9 [R S S Q S L V H N N A N T Y L H] であり； (e) H V R - L 2 は配列番号 2 5 の残基 5 5 ~ 6 1 [K V S N R F S] であり； (f) H V R - L 3 は配列番号 2 5 の残基 9 4 ~ 1 0 2 [S Q N T L V P W T] である。

【 0 0 7 4 】

用語「小分子」は、5 0 ダルトンから 2 5 0 0 ダルトンの間の分子量を有する有機分子を指す。

【 0 0 7 5 】

用語「抗体」は最も広範な意味で使用され、具体的には例えば、モノクローナル抗体、ポリクローナル抗体、ポリエピトープ特異性を有する抗体、単鎖抗体、多重特異性抗体および抗体の断片を網羅する。そのような抗体は、キメラ、ヒト化、ヒト及び合成である。このような抗体及びそれらの生成方法を以下でより詳細に説明する。

【 0 0 7 6 】

用語「制御されない」又は「制御できない」とは、疾患の症状を最小限に抑えるための治療レジメンが不十分であることを指す。本明細書で使用されるように、用語「制御されない」及び「十分に制御されない」とは交換可能に使用され同じ状態を指す。患者のコントロール状態は、患者の病歴、治療に対する応答性及び処方された現在の治療のレベルを含む多くの要因に基づいて、主治医によって決定することができる。例えば、医師は、7 5 % 未満と予測される F E V 1 又は自己最高値、過去 2 ~ 4 週間における S A B A の必要の頻度（例えば、2 回の投薬 / 週に等しいかそれ以上）、過去 2 ~ 4 週間における夜間覚醒 / 症状（例えば、2 夜 / 週に等しいかそれ未満）、過去 2 ~ 4 週間における活動の制限、過去 2 ~ 4 週間における昼間症状などの要因を考慮し得る。

【 0 0 7 7 】

用語「治療薬」は疾患を治療することに用いられる任意の薬剤を指す。

【 0 0 7 8 】

用語「コントローラー」又は「プリベンター (p r e v e n t o r)」は、喘息の炎症を制御するために使用される任意の治療薬を指す。コントローラーの例は、コルチコステ

10

20

30

40

50

ロイド、ロイコトリエン受容体アンタゴニストは、（例えば、モンテルカスト、ジレウトン、プラナルカスト、ザフィルルカストロイコトリエンの合成又は活性を阻害する）、LABA、コルチコステロイド/LABAの組合せ組成物、テオフィリン（アミノフィリンを含む）、クロモグリク酸ナトリウム、ネドクロミルナトリウム、オマリズマブ、LAMA、MABA（例えば、二官能性ムスカリンアンタゴニスト - ベータ2アゴニスト）、5-リボキシゲナーゼ活性化タンパク質（FLAP）阻害剤、及び酵素PDE-4阻害剤（例えば、ロフルミラスト）を含む。「第二コントローラー」は典型的には第一コントローラーとは同一でないコントローラーを指す。

【0079】

用語「コルチコステロイド節約（corticosteroid sparing）」又は「CS」は、他の治療薬の投与に起因する疾患の治療のためにコルチコステロイドを摂取している患者の疾患を治療するために使用されるコルチコステロイドの頻度及び/又は量の減少、又は消失を意味する。「CS節約剤」は、コルチコステロイドを摂取している患者においてCSを生じることが可能な治療薬を指す。

【0080】

用語「コルチコステロイド」は、限定されないが、フルチカゾン（プロピオン酸フルチカゾン（FP）を含む）、ベクロメタゾン、ブデソニド、シクレソニド、モメタゾン、フルニソリド、ベタメタゾン及びトリアムシノロンを含む。「吸入コルチコステロイド」は吸入による送達に適しているコルチコステロイドを意味する。典型的は吸入コルチコステロイドは、フルチカゾン、プロピオン酸ベクロメタゾン、ブデノシド、フロ酸モメタゾン、シクレソニド、フルニソリド、トリアムシノロンアセトニド、及び現在利用可能又は将来利用可能になる他のコルチコステロイドが挙げられる。吸入することができかつ長時間作用型β2-アゴニストと併用されるコルチコステロイドの例は、限定されないが、ブデソニド/ホルモテロール及びフルチカゾン/サルメテロールが含まれる。

【0081】

コルチコステロイド/LABA併用薬の例は、フロ酸フルチカゾン/ビランテロールトリフェナタート（vilanterol trifenate）及びインダカテロール/モメタゾンを含む。

【0082】

用語「LABA」は、長時間作用型β-2アゴニストを意味し、そのアゴニストは、例えば、サルメテロール、ホルモテロール、バンブテロール、アルブテロール、インダカテロール、arformoterol及びクレンブテロールが含まれる。

【0083】

用語「LAMA」は長時間作用型ムスカリンアンタゴニストを意味し、そのアゴニストはチオトロピウムを含む。

【0084】

LABA/LAMAの組み合わせの例は、限定されないが、オロダテロールチオトロピウム（Boehringer Ingelheim's）及びインダカテロールグリコピロニウム（Novartis）を含む。

【0085】

用語「SABA」は、短時間作用型β-2アゴニストを意味し、限定されないが、サルブタモール、レボサルブタモール、フェノテロール、テルブタリン、ピルブテロール、プロカテロール、ビトルテロール、リミテロール、カルブテロール、ツロブテロール及びレプロテロールを含む。

【0086】

ロイコトリエン受容体アンタゴニスト（時にはleukastと称する）（LTRA）は、ロイコトリエンを阻害する薬物である。ロイコトリエン阻害剤の例には、モンテルカスト、ジロートン、プラナルカスト、及びザフィルルカストが含まれる。

【0087】

用語「FEV1」は、強制呼気の最初の一秒間に吐き出された空気の体積を指す。それ

10

20

30

40

50

は気道閉塞の尺度である。F E V 1 の 20 % 減少 (P C 20) を誘導するために必要とされるメサコリンの刺激的濃度は気道過敏性の尺度である。F E V 1 は他の同様の方法、例えば F E V₁ で留意され得、全てのその類似の異形が同じ意味を持つことが理解されるべきである。

【 0 0 8 8 】

用語「F E V 1 の相対的变化」= (治療の第 1 2 週での F E V 1 - 治療開始前の F E V 1) を F E V 1 で割ったもの。

【 0 0 8 9 】

用語「軽度の喘息」は、一般的に 1 週間に 2 回未満の症状又は増悪、1 ヶ月に 2 回未満の夜行性の症状を経験する患者を指し、増悪の間に無症候性である。軽度の、断続的な喘息は以下により必要に応じてしばしば治療される：吸入気管支拡張薬（短時間作用型吸入 β 2 アゴニスト）；既知のトリガーの回避；毎年のインフルエンザワクチン接種；6 ~ 10 年毎の肺炎球菌ワクチン接種；及び場合によっては同定されたトリガーへの暴露の前の吸入 β 2 - アゴニスト、クロモリン、又はネドクロミル。患者が短時間作用型 β 2 アゴニストの必要性が増加している（例えば、急性増悪のために 1 日に短時間作用型 β 2 - アゴニストを 3 から 4 回以上使用する又は症状のため 1 月に一以上のキャニスターを使用する）場合、患者は治療に漸増が必要であり得る。

【 0 0 9 0 】

用語「中等度喘息」は、一般に、患者は週 2 回以上増悪を経験しかつその増悪が睡眠や活動に影響を与える；患者は 1 ヶ月 2 回以上喘息のため夜間に覚醒する；患者は短時間作用型吸入 β 2 - アゴニストを毎日又は一日おきに必要とする慢性的な喘息症状を持っている；患者の P E F 又は F E V 1 の治療前ベースラインが 60 から 80 % と予測され、及び P E F 変動が 20 から 30 % である喘息を指す。

【 0 0 9 1 】

用語「重度の喘息」は、一般に、患者がほぼ継続した症状、頻繁な増悪、喘息に起因する頻繁な夜間覚醒を有し、活動が制限され、P E F または F E V 1 ベースラインが 60 % 未満と予測され、かつ P E F 変動が 20 から 30 % である喘息を指す。

【 0 0 9 2 】

救助薬の例としては、アルブテロール、ベントリンなどが含まれる。

【 0 0 9 3 】

「耐性」とは、治療薬による治療後にほとんど又は全く有意な改善を示さない疾患を指す。例えば、喘息が制御されないままであるか又は F E V 1 が改善しないかを確定するために、高用量の I C S（例えば、一日のコルチコステロイドの総用量または 500 マイクログラム以上の F P（又は等価物）の一日の総用量を 3 日間又はそれ以上連続して 4 倍する）、又は全身のコルチコステロイドによる治療を要する喘息はしばしば重度の難治性喘息と考えられる。

【 0 0 9 4 】

本明細書に提供される治療薬は、非経口、皮下、腹腔内、肺内、及び鼻腔内を含む、任意の適切な手段により投与することができる。非経口注入には、筋肉内、静脈内、動脈内、腹腔内、又は皮下投与が含まれる。一実施態様では、治療薬は吸入される。別の実施態様によれば、投与は注射、例えば、静脈内又は皮下注射によって与えられる。更に別の実施態様によれば、治療薬は、注射器（例えば、充填済又は未充填）又はオートインジェクターを使用して投与される。

【 0 0 9 5 】

疾患の予防又は治療のために、治療薬の適量は、治療する疾患のタイプ、疾患の重症度及び過程、治療薬が予防を目的としてか治療を目的として投与されるのかどうか、以前の治療法、患者の病歴、及び薬剤への反応、及び主治医の判断により決定されるであろう。治療剤は、患者に対して、単回、又は一連の治療に渡って適切に投与される。治療薬組成物は良好な医療行為に合致した方法で処方され、投与され、投薬される。この観点において考慮すべき要因は、治療すべき特定の障害、治療すべき特定の哺乳類、個々の患者の臨

10

20

30

40

50

床状態、障害の原因、薬剤送達部位、投与方法、投与日程及び医療従事者が知る他の要因を包含する。

【0096】

レプリキズマブの投与、好酸球性疾患（喘息を含む）について及びTH2療法を使用して他の疾患を治療するため：レプリキズマブは患者の体重の0.1mg/kgから100mg/kgを投与することができる。一実施態様において、患者に投与される投与量は患者の体重の0.1mg/kgから200mg/kgの間である。別の実施態様において、用量は患者の体重の1mg/kgから10mg/kgである。

【0097】

代替の実施態様において、レプリキズマブは均一用量として投与することができる。一実施態様において、レプリキズマブは125～1000mgの均一用量として（すなわち、体重に依存せずに）、皮下注射によるか又は静脈内注射により、2週間毎、3週間毎、4週間毎、5週間毎、6週間毎、7週間毎、8週間毎、9週間毎、10週間毎、11週間毎、12週間毎、13週間毎、14週間毎、15週間毎、16週間毎、1ヶ月毎、2ヶ月毎、3ヶ月毎、又は4ヶ月毎からなる群から選択される時間の頻度で投与される。別の実施態様において、患者が体重過多である場合、レプリキズマブは、例えば月あたり3回の頻度で125～250mgを投与することができる。一実施態様において、レプリキズマブは4週間ごとに125mg又は250mgの均一用量として投与される。別の実施態様において、レプリキズマブは40kgを超える患者に対して4週間ごとに37.5mg、125mg、250mg又は500mgの均一用量として投与される。

【0098】

一実施態様において、患者は18歳以上である。一実施態様において、喘息患者は12から17歳であり、レプリキズマブが250mgの均一用量で又は125mgの均一用量で投与される。一実施態様において、喘息患者は6から11歳であり、レプリキズマブが125mgの均一用量で投与される。

【0099】

「患者の応答」又は「応答」（及びその文法的バリエーション）は、限定しないが、（1）減速及び完全な停止を含む疾患の進行のある程度の阻害；（2）疾患の発現及び/又は症状の数の減少；（3）病変サイズの縮小；（4）隣接末梢器官及び/又は組織への疾患細胞浸潤の阻害（即ち、減少、減速又は完全停止）；（5）疾患拡散の阻害（即ち減少、減速又は完全停止）；（6）疾病病変の退縮またはアブレーションを、必ずでは無いが、もたらし得る自己免疫応答の減少；（7）疾患に伴う1以上の症状のある程度の軽減；（8）治療後の無病を提示する期間の増加；及び又は（9）治療後の任意の時点での死亡率の減少を含む、患者に対する利益を示す任意のエンドポイントを使用して評価することができる。

【0100】

「親和性」とは、分子（例えば、抗体）の単一結合部位とその結合パートナー（例えば、抗原）との間の非共有結合相互作用の総和の強度を指す。本明細書で使用する場合、特に断らない限り、「結合親和性」は、結合対（例えば、抗体及び抗原結合アーム）のメンバー間の1：1の相互作用を反映している本質的な結合親和性を指す。そのパートナーYに対する分子Xの親和性は、一般的に解離定数（Kd）で表すことができる。親和性は、本明細書に記載したものを含む、当技術分野で知られている一般的な方法によって測定することができる。結合親和性を測定するための具体的な例示であって典型的な実施態様は、以下で説明される。

【0101】

「親和性成熟」抗体とは、その改変を有していない親抗体と比較して、抗原に対する抗体の親和性に改良を生じせしめる、その一又は複数の超可変領域（HVR）において一又は複数の改変を持つものである。

【0102】

用語「抗標的抗体」及び「標的に結合する抗体」は、抗体が、標的を標的とし、診断薬

10

20

30

40

50

剤及び／又は治療的薬剤として有用であるように、十分な親和性で標的に結合することができる抗体を指す。一実施態様において、抗標的抗体の無関係な、非標的タンパク質への結合の程度は、例えば、ラジオイムノアッセイ（RIA）又はビアコアアッセイによって測定される場合、抗体の標的への結合の約10%未満である。ある実施態様において、標的へ結合する抗体は、解離定数（ K_d ）が、 $1\mu\text{M}$ 、 100nM 、 10nM 、 1nM 、 0.1nM 、 0.01nM 、又は 0.001nM （例えば、 10^{-8}M 未満、例えば、 10^{-8}M から 10^{-13}M 、例えば、 10^{-9}M から 10^{-13}M ）。ある実施態様において、抗標的抗体は、異なる種の間で保存されている標的のエピトープに結合する。

【0103】

10

用語「抗体」は最も広い意味で用いられ、様々な抗体構造を包含し、限定されないが、モノクローナル抗体、ポリクローナル抗体、多特異性抗体（例えば二重特異性抗体）、及び、所望の抗原結合活性を示す限り、抗体断片を含む。

【0104】

「抗体断片」は、インタクトな抗体が結合する抗原を結合するインタクトな抗体の一部を含むインタクトな抗体以外の分子を指す。抗体断片の例としては、限定されないが、 F_v 、 F_{ab} 、 F_{ab}' 、 $F_{ab}'-SH$ は、 $F(ab')_2$ 、ダイアボディ、直鎖状抗体、単鎖抗体分子（例えば scF_v ）、及び抗体断片から形成された多重特異性抗体を含む。

【0105】

20

参照抗体として「同一のエピトープに結合する抗体」とは、競合アッセイにおいて50%以上、参照抗体のその抗原への結合をブロックする抗体、逆に競合アッセイにおいて50%以上、その抗体のその抗原への結合をブロックするその参照抗体を指す。典型的な競合アッセイが、本明細書において提供される。

【0106】

本明細書における目的のための「アクセプターヒトフレームワーク」とは、下記に定義されるように、ヒト免疫グロブリンフレームワーク又はヒトコンセンサスフレームワークから得られる軽鎖可変ドメイン（VL）フレームワーク又は重鎖可変ドメイン（VH）フレームワークのアミノ酸配列を含有するフレームワークである。ヒト免疫グロブリンのフレームワーク又はヒトコンセンサスフレームワーク「に由来する」アクセプターヒトフレームワークは、その同一のアミノ酸配列を含んでもよく、又はそれはアミノ酸配列の変化を含み得る。幾つかの実施態様において、アミノ酸変化の数は、10以下、9以下、8以下、7以下、6以下、5以下、4以下、3以下、又は2以下である。幾つかの実施態様において、VLアクセプターヒトフレームワークは、Vはヒト免疫グロブリンのフレームワーク配列又はヒトコンセンサスフレームワーク配列に、配列が同一である。

30

【0107】

用語「キメラ」抗体は、重鎖及び／又は軽鎖の一部分が特定の起源又は種から由来し、一方重鎖及び／又は軽鎖の残りが異なる起源又は種から由来する抗体を指す。

【0108】

抗体の「クラス」は、その重鎖が保有する定常ドメイン又は定常領域のタイプを指す。抗体の5つの主要なクラスがあり： IgA 、 IgD 、 IgE 、 IgG 及び IgM 、及びこれらの幾つかは、更にサブクラス（アイソタイプ）、例えば、 $IgG1$ 、 $IgG2$ 、 $IgG3$ 、 $IgG4$ 、 $IGA1$ 、及び $IgA2$ に分けることができる。免疫グロブリンの異なるクラスに対応する重鎖定常ドメインは、それぞれ α 、 δ 、 ϵ 、 γ 、及び μ と呼ばれる。

40

【0109】

本明細書で用いられる「細胞傷害性薬物」という用語は、細胞の機能を阻害又は阻止し及び／又は細胞死又は破壊を生ずる物質を指す。細胞傷害性薬物は、限定されないが、放射性同位体（例えば、 $At211$ 、 $I131$ 、 $I125$ 、 $Y90$ 、 $Re186$ 、 $Re188$ 、 $Sm153$ 、 $Bi212$ 、 $P32$ 、 $Pb212$ 及び Lu の放射性同位体）：化学療法剤又は薬物（例えば、メトトレキサート、アドリアマイシン、ビンカアルカロイド（ビン

50

クリスチン、ピンブラスチン、エトポシド)、ドキソルピシン、メルファラン、マイトマイシンC、クロラムブシル、ダウノルピシンまたは他の挿入剤)、成長阻害剤、酵素及びその断片、例えば核酸分解酵素など、抗生物質、小分子毒素などの毒素、又は細菌、真菌、植物又は動物由来の酵素活性毒素(それらの断片及び/又はその変異体を含む)、及び以下に開示される様々な抗腫瘍剤又は抗癌剤を包含する。

【0110】

「エフェクター機能」とは、抗体のアイソタイプにより変わる、抗体のFc領域に起因する生物学的活性を指す。抗体エフェクター機能の例としては、C1q結合及び補体依存性細胞傷害(CDC)、Fc受容体結合、抗体依存性細胞媒介性細胞障害(ADCC)、貪食、細胞表面受容体(例えば、B細胞受容体)のダウンレギュレーション、及びB細胞の活性化を含む。

10

【0111】

薬剤、例えば、薬学的製剤の「有効量」とは、所望の治療的又予防的結果を達成するために必要な用量及び期間での、有効な量を指す。

【0112】

用語「Fc領域」は、定常領域の少なくとも一部を含む、免疫グロブリン重鎖のC末端領域を定義するために使用される。その用語は、天然配列Fc領域と変異体Fc領域を含む。一実施態様において、ヒトIgG重鎖Fc領域はCys226又はPro230から重鎖のカルボキシル末端まで伸長する。しかし、Fc領域のC末端リジン(Lys447)は存在しているか、又は存在していない場合がある。本明細書に明記されていない限り、Fc領域又は定常領域内のアミノ酸残基の番号付けは、Kabat et al., Sequences of Proteins of Immunological Interest, 5th Ed. Public Health Service, National Institutes of Health, Bethesda, MD, 1991に記載されるように、EUインデックスとも呼ばれるEU番号付けシステムに従う。

20

【0113】

「フレームワーク」又は「FR」は、超可変領域(HVR)残基以外の可変ドメイン残基を指す。可変ドメインのFRは、一般的に4つのFRのドメイン、FR1、FR2、FR3、及びFR4で構成される。従って、HVR及びFR配列は一般にVH(又はVL)の以下の配列に現れる: FR1-H1(L1)-FR2-H2(L2)-FR3-H3(L3)-FR4。

30

【0114】

用語「完全長抗体」、「インタクトな抗体」及び「全抗体」は、本明細書中で互換的に使用され、天然型抗体構造と実質的に類似の構造を有するか、又は本明細書で定義されるFc領域を含む重鎖を有する抗体を指す。

【0115】

用語「宿主細胞」、「宿主細胞株」及び「宿主細胞培養」は互換的に使用され、外因性の核酸が導入された細胞を指し、そのような細胞の子孫を含める。宿主細胞は、「形質転換体」及び「形質転換された細胞」を含み、継代の数に関係なく、それに由来する一次形質転換細胞及び子孫が含まれる。子孫は親細胞と核酸含量が完全に同一ではないかもしれないが、突然変異が含まれる場合がある。最初に形質転換された細胞においてスクリーニングまたは選択されたものと同じ機能又は生物活性を有する変異型子孫が本明細書において含まれる。

40

【0116】

「ヒト抗体」は、ヒト又はヒト細胞により産生されるか、又はヒト抗体のレパートリー又は他のヒト抗体をコードする配列を利用した非ヒト起源に由来する抗体のそれに対応するアミノ酸配列を有するものである。ヒト抗体のこの定義は、非ヒト抗原結合残基を含むヒト化抗体を特に除外する。

【0117】

「ヒトコンセンサスフレームワーク」とは、ヒト免疫グロブリンVL又はVHフレームワーク配列の選択において最も一般的に存在するアミノ酸残基を表すフレームワークであ

50

る。一般的には、ヒト免疫グロブリンV L又はV H配列の選択は、可変ドメイン配列のサブグループからのものである。一般的には、配列のサブグループは、Kabat et al., Sequences of Proteins of Immunological Interest, 第5版, NIH Publication 91-3242, Bethesda MD (1991), 第1 - 3巻にあるサブグループである。一実施態様において、V Lについて、サブグループは上掲のK a b a tにあるサブグループカッパIである。一実施態様において、V Hについて、サブグループは上掲のK a b a tにあるサブグループI I Iである。

【0118】

「ヒト化」抗体は、非ヒトH V R由来のアミノ酸残基、及びヒトF R由来アミノ酸残基を含むキメラ抗体を指す。所定の実施態様において、ヒト化抗体は、少なくとも一つ、典型的には2つの可変ドメインの全てを実質的に含み、H V R（例えば、C D R）の全て又は実質的に全てが、非ヒト抗体のものに対応し、全てまたは実質的にF Rの全てが、ヒト抗体のものに対応する。ヒト化抗体は、任意で、ヒト抗体由来の抗体定常領域の少なくとも一部を含んでもよい。抗体の「ヒト化型」、例えば、非ヒト抗体は、ヒト化を遂げた抗体を指す。

10

【0119】

本明細書で使用される用語「超可変領域」又は「H V R」は、配列が超可変であるか、及び/又は構造的に定義されたループ（「超可変ループ」）を形成する抗体可変ドメインの各領域を指す。一般的に、天然型4鎖抗体は、V H（H 1、H 2、H 3）に3つ、及びV L（L 1、L 2、L 3）に3つの6つのH V Rを含む。H V Rは、一般的に超可変ループ由来及び/又は「相補性決定領域」（C D R）由来のアミノ酸残基を含み、後者は、典型的には最高の配列可変性であり、及び/又は抗原認識に関与している。本明細書で使用されるH V Rは、位置24 - 36（H V R L 1について）、46 - 56（H V R L 2について）、89 - 97（H V R L 3について）、26 - 35 B（H V R H 1について）、47 - 65（H V R H 2について）、及び93 - 102（H V R H 3について）の内に位置する残基の任意の番号を含む。

20

【0120】

「イムノコンジュゲート」は、1つ以上の異種分子にコンジュゲートした抗体であり、限定されないが、細胞傷害性薬物を含む。

【0121】

「個体」又は「被検体」は、哺乳動物である。哺乳動物は、限定されないが、家畜動物（例えば、ウシ、ヒツジ、ネコ、イヌ、ウマ）、霊長類（例えば、ヒト、サルなどの非ヒト霊長類）、ウサギ、げっ歯類（例えば、マウス及びラット）を含む。ある実施態様において、個体又は被検体はヒトである。

30

【0122】

「単離された」抗体は、その自然環境の成分から分離されたものである。幾つかの実施態様において、抗体は、例えば、電気泳動（例えば、S D S - P A G E、等電点電気泳動（I E F）、キャピラリー電気泳動）又はクロマトグラフィー（例えば、イオン交換又は逆相H P L C）により決定されるように、95%以上または99%の純度に精製される。抗体純度の評価法の総説としては、例えばFlatman et al., J. Chromatogr. B 848:79-87 (2007)を参照のこと。

40

【0123】

「単離された」核酸は、その自然環境の成分から分離された核酸分子を指す。単離された核酸は、核酸分子を通常含む細胞に含まれる核酸分子を含むが、しかし、その核酸分子は、染色体外又はその自然の染色体上の位置とは異なる染色体位置に存在している。

【0124】

「抗標的抗体をコードする単離された核酸」は、抗体の重鎖及び軽鎖（又はその断片）をコードする一以上の核酸分子を指し、単一のベクター又は別個のベクター内のそのような核酸分子、及び宿主細胞の一以上の位置に存在するそのような核酸分子を含む。

【0125】

50

本明細書で使用される用語「モノクローナル抗体」とは、実質的に均一な抗体の集団から得られる抗体を意味し、すなわち、例えば、天然に生じる変異を含み、又はモノクローナル抗体製剤の製造時に発生し、一般的に少量で存在している変異体などの、可能性のある変異体抗体を除き、集団を構成する個々の抗体は同一であり、及び/又は同じエпитープに結合する。異なる決定基（エピトープ）に対する異なる抗体を一般的に含む、ポリクローナル抗体調製物とは対照的に、モノクローナル抗体調製物の各モノクローナル抗体は、抗原上の単一の決定基に対するものである。従って、修飾語「モノクローナル」は、実質的に均一な抗体の集団から得られる抗体の特徴を示し、任意の特定の方法による抗体の産生を必要とするものとして解釈されるべきではない。例えば、本明細書に与えられる方法に従って使用されるモノクローナル抗体は、限定されないが、ハイブリドーマ法、組換えDNA法、ファージディスプレイ法、ヒト免疫グロブリン遺伝子座の全部又は一部を含むトランスジェニック動物を利用する方法を含む様々な技術によって作成され、モノクローナル抗体を作製するためのそのような方法及び他の例示的な方法は、本明細書に記載されている。

10

【0126】

「ネイキッド抗体」とは、異種の部分（例えば、細胞傷害性部分）又は放射性標識にコンジュゲートしていない抗体を指す。ネイキッド抗体は薬学的製剤中に存在してもよい。

【0127】

「天然型抗体」は、天然に生じる様々な構造をとる免疫グロブリン分子を指す。例えば、天然型IgG抗体は、ジスルフィド結合している2つの同一の軽鎖と2つの同一の重鎖から成る約150,000ダルトンのヘテロ四量体糖タンパク質である。N末端からC末端に、各重鎖は、可変重鎖ドメイン又は重鎖可変ドメインとも呼ばれる可変領域（VH）を有し、3つの定常ドメイン（CH1、CH2およびCH3）が続く。同様に、N末端からC末端に、各軽鎖は、可変軽鎖ドメイン又は軽鎖可変ドメインとも呼ばれる可変領域（VL）を有し、定常軽鎖（CL）ドメインが続く。抗体の軽鎖は、その定常ドメインのアミノ酸配列に基づいて、カッパ（κ）とラムダ（λ）と呼ばれる、2つのタイプのいずれかに割り当てることができる。

20

【0128】

用語「パッケージ挿入物」は、効能、用法、用量、投与、併用療法、禁忌についての情報、及び/又はそのような治療用製品の使用に関する警告を含む、治療用製品の商用パッケージに慣習的に含まれているインストラクションを指すために使用される。用語「パッケージ挿入物」はまた、意図される用途、試験の原理、試薬の調製及び取り扱い、検体の収集及び調製、アッセイのキャリブレーション及びアッセイ手順、アッセイの感度と特異性などの性能と精度のデータに関する情報を含む、治療用製品の商業パッケージに慣習的に含まれているインストラクションを指すためにも使用される。

30

【0129】

参照ポリペプチド配列に関する「アミノ酸配列同一性のパーセント（％）」は、配列を整列させ、最大のパーセント配列同一性を得るために必要ならば間隙を導入した後、如何なる保存的置換も配列同一性の一部と考えないとした、参照ポリペプチドのアミノ酸残基と同一である候補配列中のアミノ酸残基のパーセントとして定義される。パーセントアミノ酸配列同一性を決定する目的のためのアラインメントは、当業者の技量の範囲にある種々の方法、例えばBLAST、BLAST-2、ALIGN、又はMegalign（DNASTAR）ソフトウェアのような公に入手可能なコンピュータソフトウェアを使用することにより達成可能である。当業者であれば、比較される配列の完全長に対して最大のアラインメントを達成するために必要な任意のアルゴリズムを含む、配列をアラインするための適切なパラメータを決定することができる。しかし、ここでの目的のためには、％アミノ酸配列同一性の値は、配列比較コンピュータプログラムALIGN-2を使用することによって生成される。ALIGN-2配列比較コンピュータプログラムはジェネテック社によって作製され、ソースコードは米国著作権庁、ワシントンD.C.，20559に使用者用書類とともに提出され、米国著作権登録番号TXU510087の下で登録

40

50

されている。ALIGN - 2 もまた、ジェネンテック社、サウスサンフランシスコ、カリフォルニアから公的に入手可能であり、又はそのソースコードからコンパイルすることができる。ALIGN - 2 プログラムは、デジタルUNIXのV4.0Dを含む、UNIXオペレーティングシステム上での使用のためにコンパイルされるべきである。全ての配列比較パラメータは、ALIGN - 2 プログラムによって設定され変動しない。

【0130】

アミノ酸配列比較にALIGN - 2 が用いられる状況では、与えられたアミノ酸配列Aの、与えられたアミノ酸配列Bとの、又はそれに対する%アミノ酸配列同一性（或いは、与えられたアミノ酸配列Bと、又はそれに対して所定の%アミノ酸配列同一性を持つ又は含む与えられたアミノ酸配列Aと言うこともできる）は次のように計算される：

10

【0131】

分数 X/Y の100倍であって、Xは配列アラインメントプログラムALIGN - 2により、AとBのそのプログラムのアラインメントにおいて同一と一致したスコアのアミノ酸残基の数であり、YはBの全アミノ酸残基数である。アミノ酸配列Aの長さがアミノ酸配列Bの長さとは異なる場合、AのBに対する%アミノ酸配列同一性は、BのAに対する%アミノ酸配列同一性とは異なることは理解されるであろう。特に断らない限り、本明細書で使用されるすべての%アミノ酸配列同一性値が、ALIGN - 2 コンピュータプログラムを使用し、直前の段落で説明したように得られる。

【0132】

用語「薬学的製剤」は、その中に有効で含有される活性成分の生物学的活性を許容するような形態であって、製剤を投与する被検体にとって許容できない毒性である他の成分を含まない調製物を指す。

20

【0133】

「薬学的に許容される担体」は、被検体に非毒性であり、有効成分以外の製剤処方中の成分を指す。薬学的に許容される担体は、限定されないが、緩衝剤、賦形剤、安定剤、又は保存剤を含む。

【0134】

特に断らない限り、本明細書で使用する用語「標的」は、霊長類（例えばヒト）及びげっ歯類（例えば、マウス、ラット）などの哺乳動物を含む任意の脊椎動物由来の任意の天然型分子を指す。その用語は、「完全長」、未処理の標的並びに細胞内でのプロセッシングから生じた任意の形態の標的を含む。その用語はまた、天然に存在する標的の変異体、例えば、スプライス変異体又は対立遺伝子変異体を包含する。

30

【0135】

本明細書で用いられるように、「治療」（及び「治療する（*treat*）」または「治療している（*treating*）」など文法上の変形）は、治療されている個体の自然経過を変えようと試みる臨床的介入を指し、予防のために、または臨床病理の過程においてのいずれかで実行できる。治療の望ましい効果は、限定されないが、疾患の発症又は再発を予防すること、症状の緩和、疾患の直接的または間接的な病理学的帰結の縮小、転移を予防すること、疾患の進行の速度を遅らせること、疾患状態の改善又は緩和、及び寛解又は予後の改善を含む。幾つかの実施態様において、抗体は、疾患の発症を遅延させるか又は疾患の進行を遅くするために使用される。

40

【0136】

用語「可変領域」又は「可変ドメイン」は、抗体の抗原への結合に関与する抗体の重鎖または軽鎖のドメインを指す。天然型抗体の可変重鎖ドメイン及び軽鎖（それぞれVHおよびVL）は、4つの保存されたフレームワーク領域（FR）と3つの超可変領域（HVR）を含む各ドメインを持ち、一般的に似たような構造を有する。（例えば、Kindt et al. Kuby Immunology, 6th ed., W.H. Freeman and Co., 91頁（2007）を参照）。単一のVH又はVLドメインは、抗原結合特異性を付与するのに十分であり得る。更に、特定の抗原に結合する抗体は、相補的なVL又はVHドメインのそれぞれのライブラリーをスクリーニングするために、抗原に特異的に結合する抗体由来のVH又はVLドメインを用い

50

て単離することができる。例えば、Portolano et al., J. Immunol. 150:880-887 (1993) ; Clarkson et al., Nature 352:624-628 (1991)を参照。

【 0 1 3 7 】

本明細書で使用される、用語「ベクター」は、それがリンクされている別の核酸を伝播することができる核酸分子を指す。この用語は、自己複製核酸構造としてのベクター、並びにそれが導入された宿主細胞のゲノムに組み込まれたベクターを含む。ある種のベクターは、それらが動作可能なようにリンクされている核酸の発現を指示することができる。このようなベクターは、本明細書では「発現ベクター」と言う。

【 0 1 3 8 】

組成物及び方法

一態様において、本発明は、一部分が、新しい診断アッセイ及びより良好な治療の方法に基づいている。ある実施態様において、ペリオスチンに結合する抗体が提供される。本発明の抗体は、例えば、喘息及び他の疾患の診断又は治療のために有用である。

【 0 1 3 9 】

典型的な抗体

抗ペリオスチン抗体

一態様において、本発明は、ペリオスチンに結合する単離された抗体を提供する。ある実施態様において、抗ペリオスチン抗体はヒトペリオスチンのアイソフォーム 1 ~ 4 に良好な親和性で結合することができる。

【 0 1 4 0 】

一実施態様において、抗体は、配列番号 1 及び配列番号 2 を含む（「25D4 抗体」）又は配列番号 3 及び配列番号 4 を含む（「23B9 抗体」）。別の実施態様において、抗体は、配列番号 1 及び配列番号 2 の可変領域配列を含み又は配列番号 3 及び配列番号 4 の可変領域配列を含む。別の実施態様において、抗体は、配列番号 1 及び配列番号 2 の H V R 配列を含み又は配列番号 3 及び配列番号 4 の H V R 配列を含む。別の実施態様において、抗体は配列番号 1 及び配列番号 2 の H V R 配列に 95 % 以上同一である H V R を含み、及び / 又は抗体は配列番号 3 及び配列番号 4 の H V R 配列に 95 % 以上同一である H V R 配列を含む。

【 0 1 4 1 】

上記実施態様の何れかにおいて、抗ペリオスチン抗体はヒト化することができる。一実施態様において、抗ペリオスチン抗体は、上記実施態様の何れかにおける H V R を含み、更に、アクセプターヒトフレームワーク、例えばヒト免疫グロブリンのフレームワーク又はヒトコンセンサスフレームワークを含む。

【 0 1 4 2 】

その他の態様において、抗ペリオスチン抗体は、配列番号 1 のアミノ酸配列に対して、少なくとも 90 % , 91 % , 92 % , 93 % , 94 % , 95 % , 96 % , 97 % , 98 % , 99 % 、又は 100 % の配列同一性を有する重鎖可変ドメイン（VH）配列を含む。ある実施態様において、少なくとも 90 % , 91 % , 92 % , 93 % , 94 % , 95 % , 96 % , 97 % , 98 % 、又は 99 % の同一性を有する VH 配列は、参照配列に対して置換（例えば保存的置換）、挿入、又は欠失を含むが、その配列を含む抗ペリオスチン抗体はペリオスチンへ結合する能力を保持する。ある実施態様において、配列番号 1 において、合計 1 から 10 のアミノ酸が、置換、挿入及び / 又は欠失している。ある実施態様において、置換、挿入、又は欠失は、H V R 外の（すなわち F R 内の）領域で生じる。任意で、抗ペリオスチン抗体は、配列番号 1 の V H 配列を含み、その配列の翻訳後修飾を含む。

【 0 1 4 3 】

その他の態様において、配列番号 2 のアミノ酸配列に対して、少なくとも 90 % , 91 % , 92 % , 93 % , 94 % , 95 % , 96 % , 97 % , 98 % , 99 % 、又は 100 % の配列同一性を有する軽鎖可変ドメイン（VL）を含む、抗ペリオスチン抗体が提供される。ある実施態様において、少なくとも 90 % , 91 % , 92 % , 93 % , 94 % , 95 % , 96 % , 97 % , 98 % 、又は 99 % の同一性を有する V L 配列は、参照配列に対し

て置換（例えば保存的置換）、挿入、又は欠失を含むが、その配列を含む抗ペリオスチン抗体はペリオスチンへ結合する能力を保持する。ある実施態様において、配列番号2において、合計1から10のアミノ酸が、置換、挿入及び/又は欠失している。ある実施態様において、置換、挿入、又は欠失は、HVR外の（すなわちFR内の）領域で生じる。任意で、抗ペリオスチン抗体は、配列番号2のVL配列を含み、その配列の翻訳後修飾を含む。

【0144】

その他の態様において、抗ペリオスチン抗体は、配列番号3のアミノ酸配列に対して、少なくとも90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%、又は100%の配列同一性を有する重鎖可変ドメイン（VH）配列を含む。ある実施態様において、少なくとも90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、又は99%の同一性を有するVH配列は、参照配列に対して置換（例えば保存的置換）、挿入、又は欠失を含むが、その配列を含む抗ペリオスチン抗体はペリオスチンへ結合する能力を保持する。ある実施態様において、配列番号3において、合計1から10のアミノ酸が、置換、挿入及び/又は欠失している。ある実施態様において、置換、挿入、又は欠失は、HVR外の（すなわちFR内の）領域で生じる。任意で、抗ペリオスチン抗体は、配列番号3のVH配列を含み、その配列の翻訳後修飾を含む。

10

【0145】

その他の態様において、配列番号2のアミノ酸配列に対して、少なくとも90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%、又は100%の配列同一性を有する軽鎖可変ドメイン（VL）を含む、抗ペリオスチン抗体が提供される。ある実施態様において、少なくとも90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、又は99%の同一性を有するVL配列は、参照配列に対して置換（例えば保存的置換）、挿入、又は欠失を含むが、その配列を含む抗ペリオスチン抗体はペリオスチンへ結合する能力を保持する。ある実施態様において、配列番号4において、合計1から10のアミノ酸が、置換、挿入及び/又は欠失している。ある実施態様において、置換、挿入、又は欠失は、HVR外の（すなわちFR内の）領域で生じる。任意で、抗ペリオスチン抗体は、配列番号4のVL配列を含み、その配列の翻訳後修飾を含む。

20

【0146】

その他の態様において、抗ペリオスチン抗体が提供され、その抗体は、上記に与えられた実施態様の何れかにあるVH、及び上記に与えられた実施態様の何れかにあるVLを含む。

30

【0147】

更なる態様において、本発明は、本明細書に与えられた抗ペリオスチン抗体と同一エпитープに結合する抗体を提供する。例えば、ある実施態様において、配列番号1のVH配列及び配列番号2のVL配列を含む抗ペリオスチン抗体と同じエпитープに結合する抗体が提供される。例えば、ある実施態様において、配列番号3のVH配列及び配列番号4のVL配列を含む抗ペリオスチン抗体と同じエпитープに結合する抗体が提供される。

【0148】

本発明の更なる態様では、上記実施態様のいずれかに記載の抗ペリオスチン抗体は、キメラ、ヒト化又はヒト抗体を含むモノクローナル抗体である。一実施態様において、抗ペリオスチン抗体は、抗体断片、例えば、Fv、Fab、Fab'、scFv、ダイアボディ、又はF(ab')₂断片である。その他の態様において、抗体は、全長抗体、例えば、インタクトなIgG1又はIgG4抗体、又は本明細書において定義された他の抗体クラス又はアイソタイプである。幾つかの実施態様において、抗体は、二重特異性抗体である。

40

【0149】

更なる態様にて、以下のセクション1-7で説明されるように、上記実施態様のいずれかに記載の抗ペリオスチン抗体は、単独または組み合わせで、任意の特徴を組み込むこと

50

ができる：

【 0 1 5 0 】

抗 I L 1 3 抗体

一態様において、本発明はヒト I L - 1 3 に結合する単離された抗体を提供する。

【 0 1 5 1 】

一実施態様において、抗 I L 1 3 抗体は、配列番号 1 4 のアミノ酸配列を含む H V R - L 1、配列番号 1 5 のアミノ酸配列を含む H V R - L 2、配列番号 1 6 のアミノ酸配列を含む H V R - L 3、配列番号 1 1 のアミノ酸配列を含む H V R - H 1、配列番号 1 2 のアミノ酸配列を含む H V R - H 2、及び配列番号 1 3 のアミノ酸配列を含む H V R - H 3 を含む。

10

【 0 1 5 2 】

別の実施態様において、抗体は、配列番号 9 及び配列番号 1 0 の可変領域配列を含む。

【 0 1 5 3 】

上記実施態様の何れかにおいて、抗 I L - 1 3 抗体はヒト化することができる。一実施態様において、抗 I L - 1 3 抗体は、上記実施態様の何れかにおける H V R を含み、更に、アクセプターヒトフレームワーク、例えばヒト免疫グロブリンのフレームワーク又はヒトコンセンサスフレームワークを含む。

【 0 1 5 4 】

その他の態様において、抗 I L - 1 3 抗体は、配列番号 9 のアミノ酸配列に対して、少なくとも 9 0 %、9 1 %、9 2 %、9 3 %、9 4 %、9 5 %、9 6 %、9 7 %、9 8 %、9 9 %、又は 1 0 0 % の配列同一性を有する重鎖可変ドメイン (V H) 配列を含む。ある実施態様において、少なくとも 9 0 %、9 1 %、9 2 %、9 3 %、9 4 %、9 5 %、9 6 %、9 7 %、9 8 %、又は 9 9 % の同一性を有する V H 配列は、参照配列に対して置換 (例えば保存的置換)、挿入、又は欠失を含むが、その配列を含む抗 I L - 1 3 抗体はヒト I L - 1 3 へ結合する能力を保持する。ある実施態様において、配列番号 9 において、合計 1 から 1 0 のアミノ酸が、置換、変更、挿入及び / 又は欠失している。ある実施態様において、置換、挿入、又は欠失は、H V R 外の (すなわち F R 内の) 領域で生じる。任意で、抗 I L 1 3 抗体は、配列番号 9 の V H 配列を含み、その配列の翻訳後修飾を含む。

20

【 0 1 5 5 】

その他の態様において、配列番号 1 0 のアミノ酸配列に対して、少なくとも 9 0 %、9 1 %、9 2 %、9 3 %、9 4 %、9 5 %、9 6 %、9 7 %、9 8 %、9 9 %、又は 1 0 0 % の配列同一性を有する軽鎖可変ドメイン (V L) を含む、抗ペリオスチン抗体が提供される。ある実施態様において、少なくとも 9 0 %、9 1 %、9 2 %、9 3 %、9 4 %、9 5 %、9 6 %、9 7 %、9 8 %、又は 9 9 % の同一性を有する V L 配列は、参照配列に対して置換 (例えば保存的置換)、挿入、又は欠失を含むが、その配列を含む抗 I L - 1 3 抗体は I L - 1 3 へ結合する能力を保持する。ある実施態様において、配列番号 1 0 において、合計 1 から 1 0 のアミノ酸が、置換、挿入及び / 又は欠失している。ある実施態様において、置換、挿入、又は欠失は、H V R 外の (すなわち F R 内の) 領域で生じる。任意で、抗 I L - 1 3 抗体は、配列番号 1 0 の V L 配列を含み、その配列の翻訳後修飾を含む。

30

40

【 0 1 5 6 】

更に別の実施態様において、抗 I L - 1 3 抗体は配列番号 1 0 のアミノ酸配列に対して、少なくとも 9 0 %、9 1 %、9 2 %、9 3 %、9 4 %、9 5 %、9 6 %、9 7 %、9 8 %、9 9 %、又は 1 0 0 % の配列同一性を有する V L 領域と配列番号 9 のアミノ酸配列に対して、少なくとも 9 0 %、9 1 %、9 2 %、9 3 %、9 4 %、9 5 %、9 6 %、9 7 %、9 8 %、9 9 %、又は 1 0 0 % の配列同一性を有する V H 領域を含む。更に更に別の実施態様において、抗 I L 1 3 抗体は、配列番号 1 4 のアミノ酸配列を含む H V R - L 1、配列番号 1 5 のアミノ酸配列を含む H V R - L 2、配列番号 1 6 のアミノ酸配列を含む H V R - L 3、配列番号 1 1 のアミノ酸配列を含む H V R - H 1、配列番号 1 2 のアミノ酸配列を含む H V R - H 2、及び配列番号 1 3 のアミノ酸配列を含む H V R - H 3 を含む。

50

【0157】

その他の態様において、抗IL-13抗体が提供され、その抗体は、上記に与えられた実施態様の何れかにあるVH、及び上記に与えられた実施態様の何れかにあるVLを含む。

【0158】

更なる態様において、本発明は、本明細書に与えられた抗IL-13抗体と同一エピトープに結合する抗体を提供する。例えば、ある実施態様において、配列番号9のVH配列及び配列番号10のVL配列を含む抗IL-13抗体と同じエピトープに結合するか、又は該エピトープにより競合的に阻害されうる抗体が提供される。

【0159】

本発明の更なる態様では、上記実施態様のいずれかに記載の抗IL-13抗体は、キメラ、ヒト化又はヒト抗体を含むモノクローナル抗体となり得る。一実施態様において、抗IL-13抗体は、抗体断片、例えば、Fv、Fab、Fab'、scFv、ダイアボディ、又はF(ab')₂断片である。その他の態様において、抗体は、全長抗体、例えば、インタクトなIgG1又はIgG4抗体、又は本明細書において定義された他の抗体クラス又はアイソタイプである。別の実施態様によれば、抗体は二重特異性抗体である。一実施態様において、二重特異性抗体は上述されるHVRを含むか又はVH及びVL領域を含む。

【0160】

更なる態様にて、以下のセクション1-7で説明されるように、上記実施態様のいずれかに記載の抗IL-13抗体は、単独または組み合わせで、任意の特徴を組み込むことができる：

【0161】

1. 抗体親和性

ある実施態様において、本明細書において与えられる抗体は、解離定数(Kd)が、1 μM、100 nM、10 nM、1 nM、0.1 nM、0.01 nM、又は0.001 nM(例えば、10⁻⁸ M未満、例えば、10⁻⁸ Mから10⁻¹³ M、例えば、10⁻⁹ Mから10⁻¹³ M)。

【0162】

一実施態様において、以下のアッセイにより説明されるように、Kdは、目的の抗体のFab型とその抗原を用いて実施される放射標識抗原結合アッセイ(RIA)により測定される。非標識抗原の滴定系列の存在下で、最小濃度の(125I)標識抗原にてFabを均衡化して、抗Fab抗体コートプレートと結合した抗原を捕獲することにより、抗原に対するFabの溶液結合親和性を測定する(例としてChen, et al., J. Mol. Biol. 293:865-881(1999)を参照)。アッセイの条件を決めるために、MICROTITER(登録商標)マルチウェルプレート(Thermo Scientific)を5 μg/mlの捕獲抗Fab抗体(Cappel Labs)を含む50 mM炭酸ナトリウム(pH 9.6)にて一晩コートして、その後2%(w/v)のウシ血清アルブミンを含むPBSにて室温(およそ23℃)で2~5時間、ブロックする。非吸着プレート(Nunc #269620)に、100 pM又は26 pMの[125I]抗原を段階希釈した所望のFabと混合する(例えば、Presta等, (1997) Cancer Res. 57: 4593-4599の抗VEGF抗体、Fab-12の評価と一致する)。ついで目的のFabを一晩インキュベートする；しかし、インキュベーションは平衡状態に達したことを確認するまでに長時間(例えばおよそ65時間)かかるかもしれない。その後、混合物を捕獲プレートに移し、室温で(例えば1時間)インキュベートする。そして、溶液を取り除き、プレートを0.1%のポリソルベート20(TWEEN-20(登録商標))を含むPBSにて8回洗浄する。プレートが乾燥したら、150 μl/ウェルの閃光物質(MICROSCINT-20 TM; Packard)を加え、プレートをTOPCOUNT TMy計測器(Packard)にて10分間計測する。最大結合の20%か又はそれ以下濃度のFabを選択してそれぞれ競合結合測定に用いる。

10

20

30

40

50

【0163】

他の実施態様に従って、～10反応単位(RU)の固定した抗原CM5チップを用いて25のBIAcore(登録商標)-2000又はBIAcore(登録商標)-3000(BIAcore, Inc., Piscataway, NJ)を用いる表面プラズモン共鳴アッセイを使用してKdを測定する。簡単に言うと、カルボキシメチル化デキストランバイオセンサーチップ(CM5, BIAcore, Inc.)を、提供者の指示書に従ってN-エチル-N'-(3-ジメチルアミノプロピル)-カルボジイミド塩酸塩(EDC)及びN-ヒドロキシスクシニミド(NHS)で活性化した。抗原を10mM酢酸ナトリウム(pH4.8)で5µg/ml(～0.2µM)に希釈し、結合したタンパク質の反応単位(RU)がおおよそ10になるように5µl/分の流速で注入する。抗原の注入後、反応しない群をブロックするために1Mのエタノールアミンを注入する。動力学的な測定のために、Fabの2倍の段階希釈(0.78nMから500nM)を、25で、おおよそ25µl/分の流速で0.05%ポリソルベート20(TWEEN-20TM)界面活性剤(PBST)を含むPBSに注入する。会合センサーグラム及び解離センサーグラムを同時にフィットさせることによる単純一対一ラングミュア結合モデル(simple one-to-one Langmuir binding model)(BIAcore(登録商標)Evaluationソフトウェアバージョン3.2)を用いて、会合速度(kon)と解離速度(koff)を算出する。平衡解離定数(Kd)をkoff/kon比として算出する。例えば、Chen et al., J. Mol. Biol. 293:865-881 (1999)を参照。上記の表面プラズモン共鳴アッセイによる結合速度が10⁶M⁻¹s⁻¹を上回る場合、分光計、例えば、流動停止を備えた分光光度計(stop-flow equipped spectrophotometer)(Aviv Instruments)又は攪拌キュベットを備えた8000シリーズSLM-AMINCOTM分光光度計(ThermoSpectronic)で測定される、漸増濃度の抗原の存在下にて、PBS(pH7.2)、25の、20nMの抗原抗体(Fab型)の蛍光放出強度(励起=295nm; 放出=340nm、帯域通過=16nm)における増加又は減少を測定する蛍光消光技術を用いて結合速度を測定することができる。

【0164】

2. 抗体断片

ある実施態様において、本明細書で提供される抗体は、抗体断片である。抗体断片は、限定されないが、Fab, Fab', Fab'-SH, F(ab')₂, Fv, 及びscFv断片、及び下記の他の断片を含む。所定の抗体断片の総説については、Hudson et al., Nat. Med. 9:129-134 (2003)を参照。scFv断片の総説については、例えば、Pluckthun, in The Pharmacology of Monoclonal Antibodies, 113巻, Rosenberg and Moore eds., (Springer-Verlag, New York), 頁269-315 (1994)を参照; また、国際公開第93/16185号; 及び米国特許第5,571,894号及び第5,587,458号も参照。サルベージ受容体結合エピトープ残基を含み、かつインビボ半減期を増加させたFab及びF(ab')₂断片の議論については、米国特許第5,869,046号を参照のこと。

【0165】

ダイアボディは2価または二重特異性であり得る2つの抗原結合部位を有する抗体断片である。例えば、欧州特許第404,097号; 国際公開第1993/01161号; Hudson et al., Nat. Med. 9:129-134 (2003); 及びHollinger et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA 90: 6444-6448 (1993)を参照。トリアボディ及びテトラボディもまた Hudson et al., Nat. Med. 9:129-134 (2003)に記載されている。

【0166】

単ドメイン抗体は、抗体の重鎖可変ドメインの全て又は一部、又は軽鎖可変ドメインの全て又は一部を含む抗体断片である。ある実施態様において、単ドメイン抗体は、ヒト単ドメイン抗体である(Domantis, Inc., Waltham, MA; 例えば、米国特許第6,248,516 B1号を参照)。

【0167】

抗体断片は様々な技術で作成することができ、限定されないが、本明細書に記載するように、インタクトな抗体の分解、並びに組換え宿主細胞（例えば、大腸菌又はファージ）による生産を含む。

【 0 1 6 8 】

3 . キメラ及びヒト化抗体

ある実施態様において、本明細書で提供される抗体はキメラ抗体である。所定のキメラ抗体は、例えば、米国特許第 4 , 8 1 6 , 5 6 7 号、及びMorrison et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 81:6851-6855 (1984))に記載されている。一例において、キメラ抗体は、非ヒト可変領域（例えば、マウス、ラット、ハムスター、ウサギ、又はサル等の非ヒト霊長類由来の可変領域）及びヒト定常領域を含む。更なる例において、キメラ抗体は、クラスまたはサブクラスが親抗体のものから変更された「クラススイッチ」抗体である。キメラ抗体は、その抗原結合断片を含む。

10

【 0 1 6 9 】

ある実施態様において、キメラ抗体は、ヒト化抗体である。典型的には、非ヒト抗体は、ヒトに対する免疫原性を低減するために、親の非ヒト抗体の特異性と親和性を保持したまま、ヒト化されている。一般に、ヒト化抗体は、H V R、例えば、C D R（またはその一部）が、非ヒト抗体から由来し、F R（またはその一部）がヒト抗体配列に由来する、一以上の可変ドメインを含む。ヒト化抗体はまた、任意で、ヒト定常領域の少なくとも一部をも含む。幾つかの実施態様において、ヒト化抗体の幾つかのF R残基は、抗体特異性又は親和性を回復もしくは改善するめに、非ヒト抗体（例えば、H V R残基が由来する抗体）由来の対応する残基で置換されている。

20

【 0 1 7 0 】

ヒト化抗体およびそれらの製造方法は、例えば、Almagro and Fransson, Front. Biosci. 13:1619-1633 (2008)に総説され、更に、Riechmann et al., Nature 332:323-329 (1988); Queen et al., Proc. Nat'l Acad. Sci. USA 86:10029-10033 (1989); 米国特許第 5 , 8 2 1 , 3 3 7 号、7 , 5 2 7 , 7 9 1 号、6 , 9 8 2 , 3 2 1 号、及び7 , 0 8 7 , 4 0 9 号; Kashmiri et al., Methods 36:25-34 (2005) (S D R (a - C D R) グラフティングを記述); Padlan, Mol. Immunol. 28:489-498 (1991) (「リサーフェシング」を記述); Dall'Acqua et al., Methods 36:43-60 (2005) (「F R シャッフリング」を記述); 及びOsbourn et al., Methods 36:61-68 (2005) 及びKlimka et al., Br. J. Cancer, 83:252-260 (2000) (F R のシャッフリングへの「誘導選択」アプローチを記述)に記載されている。

30

【 0 1 7 1 】

ヒト化に用いられ得るヒトフレームワーク領域は、限定されないが、「ベストフィット」法を用いて選択されるフレームワーク領域（例えば、Sims et al. J. Immunol. 151:2296 (1993)); 軽鎖または重鎖の可変領域の特定のサブグループのヒト抗体のコンセンサス配列由来のフレームワーク領域（例えば、Carter et al. Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 89:4285 (1992); 及びPresta et al. J. Immunol., 151:2623 (1993)を参照); ヒト成熟（体細胞変異）フレームワーク領域またはヒト生殖細胞系フレームワーク領域（例えば、Almagro and Fransson, Front. Biosci. 13:1619-1633 (2008)を参照); 及びF R ライブラリスクリーニング由来のフレームワーク領域（例えば、Baca et al., J. Biol. Chem. 272:10678-10684 (1997)及びRosok et al., J. Biol. Chem. 271:22611-22618 (1996)を参照）を含む。

40

【 0 1 7 2 】

4 . ヒト抗体

ある実施態様において、本明細書で提供される抗体はヒト抗体である。ヒト抗体は、当技術分野で公知の様々な技術を用いて生産することができる。ヒト抗体は一般的にvan Dijk and van de Winkel, Curr. Opin. Pharmacol. 5: 368-74 (2001) 及びLonberg, Curr. Opin. Immunol. 20:450-459 (2008)に記載されている。

【 0 1 7 3 】

50

ヒト抗体は、抗原チャレンジに応答して、インタクトなヒト抗体又はヒト可変領域を持つ又はインタクトな抗体を産生するように改変されたトランスジェニック動物に、免疫原を投与することにより調製することができる。このような動物は、典型的には、内因性免疫グロブリン遺伝子座を置換するか、又は染色体外に存在するかもしれない動物の染色体にランダムに組み込まれている、ヒト免疫グロブリン遺伝子座の全てまたは一部を含む。このようなトランスジェニックマウスでは、内因性免疫グロブリン遺伝子座は、一般的に不活性化される。トランスジェニック動物からヒト抗体を得るための方法の総説については、Lonberg, Nat. Biotech. 23:1117-1125 (2005)を参照。また、例えば、X E N O M O U S E T M技術を記載している、米国特許第 6 , 0 7 5 , 1 8 1号及び6 , 1 5 0 , 5 8 4号 ; H U M A B (登録商標)技術を記載している米国特許第 5 , 7 7 0 , 4 2 9号 ; K - M M O U S E (登録商標)技術を記載している米国特許第 7 , 0 4 1 , 8 7 0号及び、V E L O C I M O U S E (登録商標)技術を記載している米国特許出願公開第 2 0 0 7 / 0 0 6 1 9 0 0号)を参照。このような動物で生成されたインタクトな抗体由来のヒト可変領域は、例えば、異なるヒト定常領域と組み合わせることにより、更に改変される可能性がある。

【 0 1 7 4 】

ヒト抗体は、ハイブリドーマベース法によって作成することができる。ヒトモノクローナル抗体の産生のためのヒト骨髓腫及びマウス - ヒトヘテロ細胞株が記載されている。(例えば、Kozbor J. Immunol., 133: 3001 (1984); Brodeur et al., Monoclonal Antibody Production Techniques and Applications, pp. 51-63 (Marcel Dekker, Inc., New York, 1987);及びBoerner et al., J. Immunol., 147: 86 (1991)を参照) ヒトB細胞ハイブリドーマ技術を介して生成されたヒト抗体はまた、Li et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 103:3557-3562 (2006)に記載されている。更なる方法は、例えば、米国特許第 7 , 1 8 9 , 8 2 6号(ハイブリドーマ細胞株からのモノクローナルヒトIgM抗体の産生を記載している)及びNi, Xiandai Mianyixue, 26(4):265-268 (2006) (ヒト - ヒトハイブリドーマを記載している)に記載されたものを含む。ヒトハイブリドーマ技術(トリオーマ技術)もまた、Vollmers and Brandlein, Histology and Histopathology, 20(3):927-937 (2005) 及びVollmers and Brandlein, Methods and Findings in Experimental and Clinical Pharmacology, 27(3):185-91 (2005)に記載される。

【 0 1 7 5 】

ヒト抗体はまた、ヒト由来のファージディスプレイライブラリーから選択されたFvクローン可変ドメイン配列を単離することによって生成され得る。このような可変ドメイン配列は、次に所望のヒト定常ドメインと組み合わせてもよい。抗体ライブラリーからヒト抗体を選択するための技術が、以下に説明される。

【 0 1 7 6 】

5 . ライブラリー由来の抗体

本発明の抗体は、所望の活性または活性(複数)を有する抗体についてコンビナトリアルライブラリーをスクリーニングすることによって単離することができる。例えば、様々な方法が、ファージディスプレイライブラリーを生成し、所望の結合特性を有する抗体についてのライブラリーをスクリーニングするために、当該技術分野で知られている。そのような方法は、例えば、Hoogenboom et al. in Methods in Molecular Biology 178:1-37 (O'Brien et al., ed., Human Press, Totowa, NJ, 2001)に総説され、更に、例えば、McCaafferty et al., Nature 348:552-554; Clackson et al., Nature 352: 624-628 (1991); Marks et al., J. Mol. Biol. 222: 581-597 (1992); Marks and Bradbury, in Methods in Molecular Biology 248:161-175 (Lo, ed., Human Press, Totowa, NJ, 2003); Sidhu et al., J. Mol. Biol. 338(2): 299-310 (2004); Lee et al., J. Mol. Biol. 340(5): 1073-1093 (2004); Fellouse, Proc. Natl. Acad. Sci. USA 101(34): 12467-12472 (2004); 及びLee et al., J. Immunol. Methods 284(1-2): 119-132(2004)に概説されている。

【 0 1 7 7 】

所定のファージディスプレイ法において、VH及びVL遺伝子のレパートリーがポリメラーゼ連鎖反応（PCR）により個別にクローニングされ、ファージライブラリーにランダムに再結合され、その後、Winter et al., Ann. Rev. Immunol., 12: 433-455 (1994)に記載されるように、抗原結合ファージについてスクリーニングすることができる。ファージは、通常、抗体断片を、単鎖Fv（scFv）断片、またはFab断片のいずれかとして提示する。免疫された起源からのライブラリーは、ハイブリドーマを構築する必要性なしで免疫原に高親和性抗体を提供する。代わりに、Griffiths et al., EMBO J, 12: 725-734 (1993)に記載されるように、ナイーブなレパートリーが、任意の免疫感作無しで、広範囲の非自己抗原及び自己抗原に対して、抗体の単一起源を提供するために、（例えば、ヒトから）クローン化することができる。最後に、ナイーブなライブラリはまた、Hoogenboom and Winter, J. Mol. Biol., 227: 381-388 (1992)に記載されるように、非常に可変なCDR3領域をコードし、インビトロで再構成を達成するために、幹細胞由来の未転位V遺伝子セグメントをクローニングし、ランダム配列を含むPCRプライマーを使用することにより合成することができる。ヒト抗体ファージライブラリーを記述する特許公報は、例えば、米国特許第5,750,373号、及び米国特許出願公開第2005/0079574号、2005/0119455号、2005/0266000号、2007/0117126号、2007/0160598号、2007/0237764号、2007/0292936号及び2009/0002360を含む。

【0178】

ヒト抗体ライブラリーから単離された抗体または抗体断片は、本明細書でヒト抗体またはヒト抗体の断片とみなされる。

【0179】

6. 多重特異性抗体

ある実施態様において、本明細書で提供される抗体は、多重特異性抗体、例えば二重特異性抗体である。多重特異性抗体は、少なくとも二つの異なる部位に対して結合特異性を有するモノクローナル抗体である。ある実施態様において、結合特異性の一つはIL-13に対してであり、他は、任意の他の抗原に対してである。ある実施態様において、二重特異性抗体は、IL-13の2つの異なるエпитープに結合することができる。二重特異性抗体はまた細胞に対して細胞傷害性薬物を局在化させるために用いることができる。二重特異性抗体は、全長抗体又は抗体断片として調製することができる。

【0180】

多重特異性抗体を作製するための技術は、限定されないが、異なる特異性を有する2つの免疫グロブリン重鎖-軽鎖対の組換え共発現（Milstein and Cuello, Nature 305: 537 (1983)）、国際公開第93/08829号、及びTraunecker et al., EMBO J. 10: 3655 (1991)を参照）及び「knob-in-hole」エンジニアリング（例えば、米国特許第5,731,168号を参照）を含む。多重特異抗体はまた、抗体のFc-ヘテロ2量体分子を作成するための静電ステアリング効果を操作すること（国際公開第2009/089004A1号）、2つ以上の抗体又は断片を架橋すること（例えば米国特許第4,676,980号、及びBrennan et al., Science, 229: 81 (1985)を参照）、2重特異性抗体を生成するためにロイシンジッパーを使用すること（例えば、Kostelny et al., J. Immunol., 148(5):1547-1553 (1992)を参照）、二重特異性抗体フラグメントを作製するため、「ダイアボディ」技術を使用すること（例えば、Hollinger et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 90:6444-6448 (1993)を参照）、単鎖Fv（sFv）ダイマーを使用すること（例えば、Gruber et al., J. Immunol., 152:5368 (1994)を参照）、及び、例えばTutt et al. J. Immunol. 147: 60 (1991)に記載されているように、三重特異性抗体を調製することによって作成することができる。

「オクトパス抗体」を含む、3つ以上の機能性抗原結合部位を持つ改変抗体もまた本明細書に含まれる（例えば、米国特許出願公開第2006/0025576A1号を参照）。本明細書中の抗体又は断片はまた、IL-13並びにその他の異なる抗原（例えば米国特許出願公開第2008/0069820号参照）に結合する抗原結合部位を含む、「2重

作用 (Dual Acting) Fab」又は「DAF」を含む。

【0181】

7. 抗体変異体

ある実施態様において、本明細書で提供される抗体のアミノ酸配列変異体が企図される。例えば、抗体の結合親和性及び／又は他の生物学的特性を改善することが望まれ得る。抗体のアミノ酸配列変異体は、抗体をコードするヌクレオチド配列に適切な改変を導入することにより、またはペプチド合成によって調製することができる。このような改変は、例えば、抗体のアミノ酸配列内における、残基の欠失、及び／又は挿入及び／又は置換を含む。最終コンストラクトが所望の特性、例えば、抗原結合を有していることを条件として、欠失、挿入、及び置換の任意の組み合わせが、最終コンストラクトに到達させるために作成され得る。

10

【0182】

置換、挿入、および欠失変異体

ある実施態様において、一つ以上のアミノ酸置換を有する抗体変異体が提供される。置換突然変異の対象となる部位は、HVRとFRを含む。保存的置換は、表1の「保存的置換」の見出しの下に示されている。より実質的な変更が、表1の「典型的な置換」の見出しの下に与えられ、アミノ酸側鎖のクラスを参照して以下に更に説明される。アミノ酸置換は、目的の抗体に導入することができ、その産物は、所望の活性、例えば、抗原結合の保持／改善、免疫原性の減少、又はADCC又はCDCの改善についてスクリーニングされた。

20

表 1

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

【 0 1 8 3 】

アミノ酸は共通の側鎖特性に基づいてグループに分けることができる：

- (1) 疎水性：ノルロイシン，M e t ，A l a ，V a l ，L e u ，I l e ；
- (2) 中性の親水性：C y s ，S e r ，T h r ，A s n ，G l n ；
- (3) 酸性：A s p ，G l u ；
- (4) 塩基性：H i s ，L y s ，A r g ；
- (5) 鎖配向に影響する残基：G l y ，P r o ；
- (6) 芳香族：T r p ，T y r ，P h e ．

【 0 1 8 4 】

非保存的置換は、これらの分類の一つのメンバーを他の分類に交換することを必要とするであろう。

【 0 1 8 5 】

置換変異体の一つのタイプは、親抗体（例えば、ヒト化又はヒト抗体など）の一以上の高頻度可変領域残基の置換を含む。一般的には、更なる研究のために選択され得られた変異体は、親抗体と比較して、特定の生物学的特性の改変（例えば、改善）（例えば、親和性の増加、免疫原性を減少）を有し、及び／又は親抗体の特定の生物学的特性を実質的に保持しているであろう。典型的な置換変異体は、親和性成熟抗体であり、例えば、本明細書に記載されるファージディスプレイベースの親和性成熟技術を用いて、簡便に生成され得る。簡潔に言えば、一つ以上のHVR残基が変異し、変異体抗体は、ファージ上に表示

され、特定の生物学的活性（例えば、結合親和性）についてスクリーニングされる。

【0186】

変更（例えば、置換）は、例えば抗体の親和性を向上させるために、HVRで行うことができる。このような変更は、HVRの「ホットスポット」、すなわち、体細胞成熟過程中に高頻度で変異を受けるコドンにコードされた残基で（例えばChowdhury, *Methods Mol. Biol.* 207:179-196 (2008)を参照）、及び/又はSDR（a-CDR）で行うことができ、得られた変異体VH又はVLが結合親和性について試験される。二次ライブラリから構築し選択し直すことによる親和性成熟が、例えばHoogenboom et al. in *Methods in Molecular Biology* 178:1-37 (O'Brien et al., ed., Human Press, Totowa, NJ, (2001)に記載されている。親和性成熟の幾つかの実施態様において、多様性が、種々の方法（例えば、変異性PCR、鎖シャッフリング、又はオリゴヌクレオチド指定突然変異誘発）のいずれかにより、成熟のために選択された可変遺伝子中に導入される。次いで、二次ライブラリが作成される。次いで、ライブラリは、所望の親和性を持つ抗体変異体を同定するためにスクリーニングされる。多様性を導入するもう一つの方法は、いくつかのHVR残基（例えば、一度に4から6残基）がランダム化されたHVR指向のアプローチを伴う。抗原結合に関与するHVR残基は、例えばアラニンスキャニング突然変異誘発、またはモデリングを用いて、特異的に同定され得る。CDR-H3及びCDR-L3がしばしば標的にされる。

10

【0187】

所定の実施態様において、置換、挿入、または欠失は、そのような改変が抗原に結合する抗体の能力を実質的に低下させない限りにおいて、一以上のHVR内で発生する可能性がある。例えば、実質的に結合親和性を低下させない保存的改変（例えば本明細書で与えられる保存的置換）をHVR内で行うことができる。このような改変は、HVR「ホットスポット」又はSDRの外側であってもよい。上記に与えられた変異体VH又はVL配列の所定の実施態様において、各HVRは不変であるか、又はわずか1個、2個または3個のアミノ酸置換が含まれているかの何れかである。

20

【0188】

突然変異誘発のために標的とすることができる抗体の残基又は領域を同定するための有用な方法は、Cunningham and Wells (1989) *Science*, 244:1081-1085により説明されるように、「アラニンスキャニング変異誘発」と呼ばれる。この方法では、標的残基の残基またはグループ（例えば、arg、asp、his、lys及びgluなどの荷電残基）が同定され、抗原と抗体との相互作用が影響を受けるかどうかを判断するために、中性または負に荷電したアミノ酸（例えば、アラニンまたはポリアラニン）に置換される。更なる置換が、最初の置換に対する機能的感受性を示すアミノ酸の位置に導入され得る。代わりに、又は更に、抗原抗体複合体の結晶構造が、抗体と抗原との接触点を同定する。そのような接触残基及び隣接残基が、置換の候補として標的とされるか又は排除され得る。変異体はそれらが所望の特性を含むかどうかを決定するためにスクリーニングされ得る。

30

【0189】

アミノ酸配列挿入は、一残基から百以上の残基を含有するポリペプチド長にわたるアミノ及び/又はカルボキシル末端融合、並びに単一または複数のアミノ酸残基の配列内挿入を含む。末端挿入の例としては、N末端メチオニン残基を有する抗体が含まれる。抗体分子の他の挿入変異体は、酵素に対する抗体のN末端またはC末端への融合（例えばADEPTの場合）、または抗体の血清半減期を増加させるポリペプチドへの融合を含む。

40

【0190】

グリコシル化変異体

所定の実施態様において、本明細書で提供される抗体は抗体がグリコシル化される程度を増加または減少するように改変される。抗体へのグリコシル化部位の付加または欠失は、一以上のグリコシル化部位が作成または削除されるようにアミノ酸配列を変えることによって簡便に達成することができる。

【0191】

50

抗体がF c領域を含む場合には、それに付着する糖を変えることができる。哺乳動物細胞によって生成された天然型抗体は、典型的には、F c領域のC H 2ドメインのA s n 2 9 7にN - 結合により一般的に付着した分岐鎖、二分岐オリゴ糖を含んでいる。例えばWright et al. TIBTECH 15:26-32 (1997)を参照。オリゴ糖は、様々な炭水化物、例えば、二分岐糖鎖構造の「幹」のG l c N A cに結合した、マンノース、N - アセチルグルコサミン (G l c N A c)、ガラクトース、シアル酸、並びにフコースを含み得る。幾つかの実施態様において、本発明の抗体におけるオリゴ糖の改変は一定の改善された特性を有する抗体変異型を作成するために行われ得る。

【0192】

一実施態様において、抗体変異体は、F c領域に（直接または間接的に）付着されたフコースを欠いた糖鎖構造を有して提供される。例えば、このような抗体のフコース量は、1%から80%、1%から65%、5%から65%、または20%から40%であり得る。フコースの量は、例えば、国際公開第2008/077546号に記載されているように、MALDI - TOF質量分析法によって測定されるA s n 2 9 7に付着しているすべての糖構造の合計（例えば、コンプレックス、ハイブリッド及び高マンノース構造）に対して、A s n 2 9 7の糖鎖中のフコースの平均量を計算することによって決定される。A s n 2 9 7は、F c領域（F c領域残基のEU番号付け）でおよそ297の位置に位置するアスパラギン残基を指し、しかし、A s n 2 9 7もまた位置297の上流または下流のおよそ±3アミノ酸に、すなわち抗体の軽微な配列変異に起因して、位置294と300の間に配置され得る。このようなフコシル化変異体はADCC機能を改善させた可能性がある。例えば、米国特許出願公開第2003/0157108号（Presta, L.）；米国特許出願公開第2004/0093621号（協和発酵工業株式会社）を参照。「フコース非修飾」又は「フコース欠損」抗体変異体に関連する出版物の例としては、米国特許出願公開第2003/0157108号、国際公開第2000/61739号、国際公開第2001/29246号、米国特許出願公開第2003/0115614号、米国特許出願公開第2002/0164328号、米国特許出願公開第2004/0093621号、米国特許出願公開第2004/0132140号、米国特許出願公開第2004/0110704号、米国特許出願公開第2004/0110282号、米国特許出願公開第2004/0109865号、国際公開第2003/085119号、国際公開第2003/084570号、国際公開第2005/035586号、国際公開第2005/035778号、国際公開第2005/053742号、国際公開第2002/031140号、Okazaki et al. J. Mol. Biol. 336:1239-1249 (2004); Yamane-Ohnuki et al. Biotech. Bioeng. 87: 614 (2004)が含まれる。非フコシル化抗体を産生する能力を有する細胞株の例としては、タンパク質フコシル化を欠損しているLec13 CHO細胞(Ripka et al. Arch. Biochem. Biophys. 249:533-545 (1986)；米国特許出願公開第2003/0157108 A1号, Presta, L.；及び国際公開第2004/056312 A1号, Adamsら、特に実施例11)、及びロックアウト細胞株、アルファ - 1、6 - フコシルトランスフェラーゼ遺伝子、FUT8、ロックアウトCHO細胞（例えば、Yamane-Ohnuki et al. Biotech. Bioeng. 87: 614 (2004); Kanda, Y. et al., Biotechnol. Bioeng., 94(4):680-688 (2006)；及び国際公開第2003/085107号を参照）を含む。

【0193】

抗体変異体が、例えば、抗体のF c領域に結合した二分岐オリゴ糖がG l c N A cによって二分されている二分オリゴ糖とともに更に与えられる。このような抗体変異体はフコシル化を減少させ、及び/又はADCC機能を改善している可能性がある。そのような抗体変異体の例は、例えば、国際公開第2003/011878号（Jean - Mairetら）；米国特許第6,602,684号（Umanaら）；及び米国特許出願公開第2005/0123546号（Umanaら）に記載されている。F c領域に結合したオリゴ糖内に少なくとも1つのガラクトース残基を持つ抗体変異体も提供される。このような抗体変異体はCDC機能を改善させた可能性がある。このような抗体変異体は、例えば

、国際公開第1997/30087号(Patelら)；国際公開第1998/58964号(Raju, S.)；及び国際公開第1999/22764号(Raju, S.)に記載されている。

【0194】

Fc領域変異体

ある実施態様において、1つまたは複数のアミノ酸改変を、本明細書で提供される抗体のFc領域に導入することができ、それによってFc領域変異体を生成する。Fc領域の変異体は、1つまたは複数のアミノ酸位置においてアミノ酸修飾(例えば置換)を含むヒトFc領域の配列(例えば、ヒトIgG1、IgG2、IgG3又はIgG4のFc領域)を含んでもよい。

10

【0195】

ある実施態様において、本発明は、インビボにおける抗体の半減期が重要であるが、ある種のエフェクター機能(例えば補体およびADCCなど)が不要または有害である用途のための望ましい候補とならしめる、全てではないが一部のエフェクター機能を有する抗体変異体を意図している。インビトロ及び/又はインビボでの細胞毒性アッセイを、CDC活性及び/又はADCC活性の減少/枯渇を確認するために行うことができる。例えば、Fc受容体(FcR)結合アッセイは、抗体がFcγR結合を欠くが(それゆえ、おそらくADCC活性を欠く)、FcRn結合能力を保持していることを確認するために行うことができる。ADCC、NK細胞を媒介する初代細胞は、FcγRIIIのみを発現するが、単球はFcγRI、FcγRII及びFcγRIIIを発現する。造血細胞におけるFcRの発現は、Ravetch and Kinet, Annu. Rev. Immunol. 9:457-492 (1991)の464ページの表3に要約されている。目的の分子のADCC活性を評価するためのインビトロアッセイの非限定的な例は、米国特許第5,500,362号(例えば、Hellstrom, I. et al. Proc. Nat'l Acad. Sci. USA 83:7059-7063 (1986)を参照)及びHellstrom, I. et al., Proc. Nat'l Acad. Sci. USA 82:1499-1502 (1985); 5,821,337 (Bruggemann, M. et al., J. Exp. Med. 166:1351-1361 (1987)を参照)に説明される。あるいは、非放射性アッセイ法を用いることができる(例えば、フローサイトメトリー用のACTITM非放射性細胞傷害性アッセイ(Cell Technology, Inc. Mountain View, CA; 及びCytotox 96(登録商標)非放射性細胞毒性アッセイ(Promega, Madison, WI)を参照。このようなアッセイに有用なエフェクター細胞には、末梢血単核細胞(PBMC)およびナチュラルキラー(NK)細胞が含まれる。あるいは、またはさらに、目的の分子のADCC活性は、Clynes et al. PNAS (US A) 95:652-656 (1998)に開示されるように、インビボで、例えば動物モデルにおいて評価することができる。C1q結合アッセイはまた、抗体が体C1qを結合することができないこと、したがって、CDC活性を欠いていることを確認するために行うことができる。例えば、国際公開第2006/029879号及び国際公開第2005/100402号のC1qおよびC3c結合ELISAを参照。補体活性化を評価するために、CDCアッセイを行うことができる(例えば、Gazzano-Santoro et al., J. Immunol. Methods 202:163 (1996); Cragg, M.S. et al., Blood 101:1045-1052 (2003); 及びCragg, M.S. and M.J. Glennie, Blood 103:2738-2743 (2004)を参照)。FcRn結合、及びインビボでのクリアランス/半減期の測定ではまた、当該分野で公知の方法を用いて行うことができる(例えば、Petkova, S.B. et al., Int'l. Immunol. 18(12):1759-1769 (2006)を参照)。

20

30

40

【0196】

エフェクター機能が減少した抗体は、Fc領域の残基238、265、269、270、297、327、329の一つ以上の置換を有するものが含まれる(米国特許第6737056号)。そのようなFc変異体は、残基265及び297のアラニンへの置換を有する、いわゆる「DANA」Fc変異体を含む、アミノ酸位置265、269、270、297及び327の2以上での置換を有するFc変異体を含む(米国特許第7,332,581号)。

50

【 0 1 9 7 】

F c R への改善又は減少させた結合を持つ特定の抗体変異体が記載されている。(例(例えば、米国特許第 6 , 7 3 7 , 0 5 6 号 ; 国際公開第 2 0 0 4 / 0 5 6 3 1 2 号、及び Shields et al., J. Biol. Chem. 9(2): 6591-6604 (2001)を参照)。

【 0 1 9 8 】

所定の実施態様において、抗体変異体は A D C C を改善する 1 つまたは複数のアミノ酸置換、例えば、F c 領域の位置 2 9 8、3 3 3、及び / 又は 3 3 4 における置換 (E U の残基番号付け) を含む。

【 0 1 9 9 】

幾つかの実施態様において、改変された (すなわち改善されたか減少した) C 1 q 結合及び / 又は補体依存性細胞傷害 (C D C) を生じる、F c 領域における改変がなされ、例えば、米国特許第 6 , 1 9 4 , 5 5 1 号、国際公開第 9 9 / 5 1 6 4 2 号、及び Idusogie et al. J. Immunol. 164: 4178-4184 (2000) に説明される。

【 0 2 0 0 】

増加した半減期を持ち、胎仔への母性 I g G の移送を担う、新生児 F c 受容体 (F c R n) への結合が改善された抗体 (Guyer et al., J. Immunol. 117:587 (1976) 及び Kim et al., J. Immunol. 24:249 (1994)) が、米国特許出願公開第 2 0 0 5 / 0 0 1 4 9 3 4 A 1 号 (H i n t o n ら) に記載されている。これらの抗体は、F c R n への F c 領域の結合を改善する一つまたは複数の置換を有する F c 領域を含む。このような F c 変異体は、F c 領域の残基の 1 以上の置換を有するものが含まれる: 2 3 8 , 2 5 6 , 2 6 5 , 2 7 2 , 2 8 6 , 3 0 3 , 3 0 5 , 3 0 7 , 3 1 1 , 3 1 2 , 3 1 7 , 3 4 0 , 3 5 6 , 3 6 0 , 3 6 2 , 3 7 6 , 3 7 8 , 3 8 0 , 3 8 2 , 4 1 3 , 4 2 4 又は 4 3 4、例えば、F c 領域の残基 4 3 4 の置換 (米国特許第 7 , 3 7 1 , 8 2 6 号)。

【 0 2 0 1 】

Duncan & Winter, Nature 322:738-40 (1988) ; 米国特許第 5 , 6 4 8 , 2 6 0 号 ; 米国特許第 5 , 6 2 4 , 8 2 1 号 ; 及び、F c 領域の変異体の他の例に関しては国際公開第 9 4 / 2 9 3 5 1 号も参照のこと。

【 0 2 0 2 】

システイン改変抗体変異体

ある実施態様において、抗体の 1 つ以上の残基がシステイン残基で置換されている、システイン改変抗体、例えば、「t h i o M A b s」を作成することが望まれ得る。特定の実施態様において、置換された残基は、抗体のアクセス可能な部位で起きる。それらの残基をシステインで置換することにより、反応性チオール基は、それによって抗体のアクセス可能な部位に配置され、本明細書中でさらに記載されるように、イムノコンジュゲートを作成するために、例えば薬物部分またはリンカー - 薬剤部分などの他の部分に抗体をコンジュゲートするために使用することができる。ある実施態様において、一以上の以下の残基がシステインで置換され得る: 軽鎖の V 2 0 5 (K a b a t の番号付け) ; 重鎖の A 1 1 8 (E U 番号付け) ; 及び重鎖 F c 領域の S 4 0 0 (E U 番号付け)。システイン改変抗体は、例えば、米国特許第 7 5 2 1 5 4 1 号に記載のように生成され得る。

【 0 2 0 3 】

抗体誘導体

ある実施態様において、本明細書で提供される抗体は、当技術分野で知られ、容易に入手されている追加の非タンパク質部分を含むように更に改変することができる。抗体の誘導体化に適した部分としては、限定されないが、水溶性ポリマーを含む。水溶性ポリマーの非限定的な例は、限定されないが、ポリエチレングリコール (P E G)、エチレングリコール / プロピレングリコールの共重合体、カルボキシメチルセルロース、デキストラン、ポリビニルアルコール、ポリビニルピロリドン、ポリ - 1 , 3 - ジオキソラン、ポリ - 1 , 3 , 6 - トリオキソラン、エチレン / 無水マレイン酸共重合体、ポリアミノ酸 (単独重合体又はランダム共重合体の何れか) 及びデキストラン又はポリ (n - ビニルピロリドン) ポリエチレングリコール、プロピレングリコール単独重合体、プロピレンオキシド /

エチレンオキシド共重合体、ポリオキシエチル化ポリオール（例えばグリセロール）、ポリビニルアルコール及びこれらの混合物を包含する。ポリエチレングリコールプロピオンアルデヒドはその水中での安定性のために製造上の利点を有し得る。ポリマーは何れかの分子量のものであってよく、そして分枝鎖又は未分枝鎖であってよい。抗体に結合するポリマーの数は変動してよく、そして、1つより多い重合体が結合する場合は、それらは同じか又は異なる分子であることができる。一般的に、誘導体化に使用するポリマーの数及び/又は種類は、限定されないが、向上させるべき抗体の特定の特性又は機能、抗体誘導体が特定の条件下で治療に使用されるのか等を考慮しながら決定することができる。

【0204】

その他の実施態様において、放射線への曝露によって選択的に加熱されてもよい抗体と非タンパク質部分とのコンジュゲートが、提供される。一実施態様において、非タンパク質部分はカーボンナノチューブである（Kam et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA 102: 11600-11605 (2005)）。放射線は、任意の波長であって良いが、限定されないものの、通常の細胞に害を与えないが、抗体-非タンパク質部分の近位細胞が死滅される温度に非タンパク質部分を加熱する波長が含まれる。

【0205】

組換え方法及び組成物

抗体は、例えば米国特許第4,816,567号で説明したように、組換えの方法および組成物を用いて製造することができる。一実施態様において、本明細書に記載される抗ペリオスチン抗体をコードする単離された核酸が提供される。このような核酸は、抗体のV_Lを含むアミノ酸配列、及び/又は抗体のV_Hを含むアミノ酸配列（例えば、抗体の軽鎖及び/又は重鎖）をコードし得る。更なる実施態様において、そのような核酸を含む1つ以上のベクター（例えば、発現ベクター）が提供される。更なる実施態様において、そのような核酸を含む宿主細胞が提供される。一実施態様において、宿主細胞は以下を含む（例えば、以下で形質転換される）：（1）抗体のV_Lを含むアミノ酸配列、及び抗体のV_Hを含むアミノ酸配列をコードする核酸を含むベクター、又は（2）抗体のV_Lを含むアミノ酸配列をコードする核酸を含む第一ベクター、及び抗体のV_Hを含むアミノ酸配列をコードする核酸を含む第二ベクター。一実施態様において、宿主細胞は、真核生物、例えばチャイニーズハムスター卵巣（CHO）細胞、またはリンパ系細胞（例えば、Y0、NS0、Sp20細胞）である。一実施態様において、抗ペリオスチン抗体を作る方法が提供され、その方法は、上記のように、抗体の発現に適した条件下で、抗体をコードする核酸を含む宿主細胞を培養することを含み、および必要に応じて、宿主細胞（または宿主細胞培養培地）から抗体を回収することを含む。

【0206】

抗ペリオスチン抗体の組換え生産のために、例えば上述したように、抗体をコードする核酸が単離され、宿主細胞内でのさらなるクローニングおよび/または発現のために1つ以上のベクターに挿入される。このような核酸は、容易に単離され、従来の手順を用いて（例えば、抗体の重鎖と軽鎖をコードする遺伝子に特異的に結合できるオリゴヌクレオチドプローブを使用することによって）配列決定することができる。

【0207】

抗体をコードするベクターのクローニング又は発現に適切な宿主細胞は、本明細書に記載の原核細胞又は真核細胞を含む。例えば、特に、グリコシル化およびFcエフェクター機能が必要ない場合には、抗体は、細菌で産生することができる。細菌における抗体断片およびポリペプチドの発現については、例えば、米国特許第5,648,237号、第5,789,199号及び第5,840,523号を参照。（また、大腸菌における抗体の発現を説明している、Charlton, Methods in Molecular Biology, Vol. 248 (B.K.C. Lo, ed., Humana Press, Totowa, NJ, 2003), 頁245-254も参照。）発現の後、抗体は可溶性画分において細菌の細胞ペーストから単離され得、更に精製することができる。

【0208】

原核生物に加えて、糸状菌又は酵母菌のような真核微生物は、菌類や酵母菌株を含む抗

10

20

30

40

50

体をコードするベクターのための、適切なクローニング宿主又は発現宿主であり、そのグリコシル化経路が、「ヒト化」されており、部分的または完全なヒトのグリコシル化パターンを有する抗体の生成をもたらす。Gerngross, Nat. Biotech. 22:1409-1414 (2004)、及びLi et al., Nat. Biotech. 24:210-215 (2006)を参照。

【0209】

グリコシル化抗体の発現に適した宿主細胞はまた、多細胞生物（無脊椎動物と脊椎動物）から派生している。無脊椎動物細胞の例としては、植物および昆虫細胞が挙げられる。多数のパキウロウイルス株が同定され、これらは特に *Spodoptera frugiperda* 細胞のトランスフェクションのために、昆虫細胞と組み合わせて使用することができる。

10

【0210】

植物細胞培養を宿主として利用することができる。例えば、米国特許第5959177号、第6040498号、第6420548号、第7125978号及び第6417429号（トランスジェニック植物における抗体産生に関する *PLANT BODIES* 技術を記載）を参照。

【0211】

脊椎動物細胞もまた宿主として用いることができる。例えば、懸濁液中で増殖するように適合されている哺乳動物細胞株は有用であり得る。有用な哺乳動物宿主細胞株の他の例は、SV40 (COS-7) で形質転換されたサル腎臓 CV1 株、ヒト胚腎臓株 (Graham et al., J. Gen Virol. 36:59 (1977) に記載された 293 細胞又は 293 細胞、ペビーハムスター腎臓細胞 (BHK)、マウスのセルトリ細胞 (Mather, Biol. Reprod. 23:243-251 (1980) に記載される TM4 細胞)、サル腎細胞 (CV1)、アフリカミドリザル腎細胞 (VERO-76)、ヒト子宮頸癌細胞 (HeLa)、イヌ腎臓細胞 (MDCK; パッファローラット肝臓細胞 (BRL 3A)、ヒト肺細胞 (W138); ヒト肝細胞 (HepG2)、マウス乳腺腫瘍 (MMT060562)、例えば Mather et al., Annals N.Y. Acad. Sci. 383:44-68 (1982) に記載される TRI 細胞、MRC5 細胞、および FS4 細胞である。他の有用な哺乳動物宿主細胞株は、DHF R - CHO 細胞 (Urlaub et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA 77:4216 (1980)) を含むチャイニーズハムスター卵巣 (CHO) 細胞、及び Y0、NS0 および Sp2/0 などの骨髓腫細胞株を含む。抗体産生に適した特定の哺乳動物宿主細胞系の総説については、例えば、Yazaki and Wu, Methods in Molecular Biology, Vol. 248 (B.K.C. Lo, ed., Humana Press, Totowa, NJ), 頁255-268 (2003) を参照。

20

30

【0212】

アッセイ

本明細書で提供される抗ペリオスチン抗体は、同定され、当技術分野で公知の様々なアッセイによってその物理的 / 化学的性質及び / 又は生物学的活性についてスクリーニングされ、または特徴づけることができる。

【0213】

結合アッセイとその他のアッセイ

一態様において、本発明の抗体は、例えば ELISA、ウエスタンブロット法など公知の方法により、その抗原結合活性について試験される。

40

【0214】

その他の態様において、IL13 又はペリオスチンそれぞれへの結合について、IL-13 又はペリオスチンと競合する抗体を同定するために競合アッセイを用いることができる。ある実施態様において、このような競合する抗体は、レプリキズマブ又は本明細書に特定される別の抗 IL13 抗体又は本明細書に特定される抗ペリオスチン抗体によって結合される同一のエピトープ（例えば、直鎖状又は立体構造エピトープ）に結合する。抗体が結合するエピトープをマッピングするための詳細な典型的な方法が、Morris (1996) "Epitope Mapping Protocols," in Methods in Molecular Biology vol. 66 (Humana Press, Totowa, NJ) に提供されている。

50

【 0 2 1 5 】

典型的な競合アッセイにおいて、固定化ペリオスチンは、ペリオスチンに結合する第一の標識された抗体（例えば 2 5 D 4）、及びペリオスチンへ結合について第一の抗体と競合する能力について試験された未標識の第二の抗体を含む溶液中でインキュベートされる。第二抗体はハイブリドーマ上清中に存在してもよい。コントロールとして、固定化ペリオスチンが、第二の未標識の抗体でなく、第一の標識された抗体を含む溶液中でインキュベートされる。第一の抗体のペリオスチンへの結合を許容する条件下でインキュベートした後、過剰の未結合の抗体が除去され、固定化されたペリオスチンに結合した標識の量が測定される。もし、固定化ペリオスチンに結合した標識の量が、コントロールサンプルと比較して試験サンプル中で実質的に減少している場合、それは、第二抗体が、ペリオスチンへの結合に対して、第一の抗体と競合していることを示している。Harlow and Lane (1988) Antibodies: A Laboratory Manual ch.14 (Cold Spring Harbor Laboratory, Cold Spring Harbor, NY)を参照。

10

【 0 2 1 6 】

活性のアッセイ

一態様において、アッセイは、生物学的活性を有するそれらの抗 I L - 1 3 抗体を同定するために与えられる。生物学的活性は、例えば、喘息の活動を含むことができる。インビボ及び/又はインビトロでこのような生物学的活性を有する抗体もまた提供される。

所定の実施態様において、本発明の抗体は、そのような生物学的活性について試験される。

20

【 0 2 1 7 】

イムノコンジュゲート

本発明はまた、化学療法剤又は薬物、成長抑制剤、毒素（例えば、タンパク質毒素、細菌、真菌、植物、または動物起源の酵素活性毒素、又はそれらの断片）、又は放射性同位元素など、1つ以上の細胞傷害性薬物にコンジュゲートした本明細書中の抗ペリオスチン抗体を含むイムノコンジュゲートを提供する。

【 0 2 1 8 】

一実施態様において、イムノコンジュゲートは、抗体 - 薬物コンジュゲート (A D C) であって、そこでは抗体は、限定されないが、メイタンシノイド (米国特許第 5 2 0 8 0 2 0 号、第 5 4 1 6 0 6 4 号及び欧州特許 E P 0 4 2 5 2 3 5 B 1 を参照) ; モノメチルアウリスタチン薬物部分 D E 及び D F (M M A E 及び M M A F) (米国特許第 5 6 3 5 4 8 3 号及び 5 7 8 0 5 8 8 号及び 7 4 9 8 2 9 8 号を参照) などのアウリスタチン ; ドラスタチン、カリケアマイシン又はその誘導体 (米国特許第 5 7 1 2 3 7 4 号、5 7 1 4 5 8 6 号、5 7 3 9 1 1 6 号、5 7 6 7 2 8 5 号、5 7 7 0 7 0 1 号、5 7 7 0 7 1 0 号、5 7 7 3 0 0 1 号、及び 5 8 7 7 2 9 6 号を参照 ; Hinman et al., Cancer Res. 53:3336-3342 (1993) ; 及び Lode et al., Cancer Res. 58:2925-2928 (1998)) ; ダウノマイシン又はドキソルピシンなどのアントラサイクリン (Kratz et al., Current Med. Chem. 13:477-523 (2006) ; Jeffrey et al., Bioorganic & Med. Chem. Letters 16:358-362 (2006) ; Torgov et al., Bioconj. Chem. 16:717-721 (2005) ; Nagy et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA 97:829-834 (2000) ; Dubowchik et al., Bioorg. & Med. Chem. Letters 12:1529-1532 (2002) ; King et al., J. Med. Chem. 45:4336-4343 (2002) ; 及び米国特許第 6 , 6 3 0 , 5 7 9 号を参照) ; メトトレキサート、ビンデシン、ドセタキセル、パクリタキセル、ラロタキセル、テセタキセル、及びオルタタキセルなどのタキサン、トリコテセン、及び C C 1 0 6 5 を含む一つ以上の薬物とコンジュゲートしている。

30

40

【 0 2 1 9 】

その他の実施態様において、イムノコンジュゲートは、酵素的に活性な毒素又はその断片にコンジュゲートした、本明細書に記載の抗体を含み、限定されないが、ジフテリア A 鎖、ジフテリア毒素の非結合活性断片、(緑膿菌からの) 外毒素 A 鎖、リシン A 鎖、アブリン A 鎖、モデクシン (modeccin) A 鎖、アルファ - サルシン、アレウリテス・フォードイ (Aleurites fordii) タンパク質、ジアンチン (diant

50

hin) タンパク質、フィトラカ・アメリカナ (Phytolacca americana) タンパク質 (PAPI、PAPII、及びPAP-S)、モモルディカ・チャランチア (momordica charantia) インヒビター、クルシン (curcinn)、クロチン (crotin)、サパオナリア・オフィシナリス (sapaonariao officinalis) インヒビター、ゲロニン (gelonin)、ミトゲリン (mitogellin)、レストリクトシン (restrictocin)、フェノマイシン (phenomycin)、エノマイシン (enomycin) 及びトリコテセン (tricothecene) が含まれる。

【0220】

その他の実施態様では、イムノコンジュゲートは、放射性コンジュゲートを形成するために放射性原子にコンジュゲートした本明細書に記載されるような抗体を含む。様々な放射性同位体が放射性コンジュゲートの生産のために入手可能である。例としては、AT211、I131、I125、Y90、Re186、Re188、Sm153、Bi212、P32、Pb212およびLuの放射性同位体が含まれる。検出のためにコンジュゲートを使用するとき、それはシンチグラフィ試験のための放射性原子、例えばtc99m又はI123、又は核磁気共鳴 (NMR) 画像化 (磁気共鳴画像化mriとしても知られている) のためのスピン標識、例えば再び、ヨウ素 - 123、ヨウ素 - 131、インジウム - 111、フッ素 - 19、炭素 - 13、窒素 - 15、酸素 - 17、ガドリニウム、マンガン又は鉄を含んでよい。

【0221】

抗体と細胞傷害性薬物のコンジュゲートは、様々な二官能性タンパク質カップリング剤、例えば、N - スクシンイミジル3 - (2 - ピリジルチオ) プロピオネート (SPDP)、スクシンイミジル4 - (N - マレイミドメチル) シクロヘキサン - 1 - カルボキシレート (SMCC)、イミノチオラン (IT)、イミドエステルの2官能性誘導体 (例えばジメチルアジピミデートHCL)、活性エステル (例えばジスクシンイミジルズベレート)、アルデヒド (例えばグルタルアルデヒド)、ビス - アジド化合物 (例えばビス (p - アジドベンゾイル) ヘキサンジアミン)、ビスジアゾニウム誘導体 (例えばビス (p - ジアゾニウムベンゾイル) エチレンジアミン)、ジイソシアネート (例えばトルエン2, 6 - ジイソシアネート) 及びビス活性フッ素化合物 (例えば1, 5 - ジフルオロ - 2, 4 - ジニトロベンゼン) など、を使って作成され得る。Vitetta et al., Science 238:1098 (1987) に記載されるように、例えば、リシンイムノトキシンを調製することができる。カーボン - 14 - 標識1 - イソチオシアナトベンジル - 3 - メチルジエチレントリアミン五酢酸 (MX-DTPA) は、放射性ヌクレオチドの抗体へのコンジュゲーションのためのキレート剤の例である国際公開第94/11026号を参照。リンカーは、細胞中に細胞毒性薬物の放出を容易にする「切断可能なリンカー」であり得る。例えば、酸に不安定なリンカー、ペプチダーゼ過敏性リンカー、光解離性リンカー、ジメチルリンカー又はジスルフィド含有リンカー (Chari et al., Cancer Res. 52:127-131 (1992); 米国特許第5, 208, 020号) が使用され得る。

【0222】

本明細書において、イムノコンジュゲート又はADCは、限定されないが、市販の (例えばPierce Biotechnology, Inc., Rockford, IL, U.S.Aからの)、BMPS、EMCS、GMBs、HBVs、LC-SMCC、MBsMPBH、SBAP、SIA、SIAB、SMCC、SMPB、SMPH、スルホ - EMCS、スルホ - GMBs、スルホ - KMUS、スルホ - MBs、スルホ - SIAB、スルホ - SMPB、及びスルホ - SMPB、SVSB (スクシンイミジル (4 - ビニルスルホン) ベンゾエート) を含むクロスリンカー試薬を用いて調製されるコンジュゲートを特に熟考する。

【0223】

診断及び検出のための方法および組成物

ある実施態様において、本明細書で提供される抗ペリオスチン抗体の何れかは、生物学

的サンプル中のペリオスチンの存在を検出するのに有用である。本明細書で使用する「検出」という用語は、定量的または定性的検出を包含する。所定の実施態様において、生物学的サンプルは、血清、血漿、鼻腔スワブ及び痰などの細胞または組織を含む。

【0224】

一実施態様において、診断又は検出の方法に使用される抗ペリオスチン抗体が提供される。更なる態様において、生物学的サンプル中のペリオスチンの存在を検出する方法が提供される。ある実施態様において、本方法は、抗ペリオスチン抗体のペリオスチンへの結合を許容する条件下で、本明細書に記載のように抗ペリオスチン抗体と生物学的サンプルを接触させること、及び複合体が抗ペリオスチン抗体とペリオスチンとの間に形成されているかどうかを検出することを含む。そのような方法は、インビトロ又はインビボでの方法であり得る。一実施態様において、例えばペリオスチンが患者の選択のためのバイオマーカーであるなど、抗ペリオスチン抗体が、抗I3抗体又は他のTH2経路阻害剤による治療に好適な被検体を選択するために使用される。

【0225】

本発明の抗体を用いて診断することができる典型的な疾患が本明細書に提供される。ある実施態様において、標識された抗ペリオスチン抗体が提供される。標識は、限定されるものではないが、(例えば、蛍光標識、発色団標識、高電子密度標識、化学発光標識、放射性標識など)直接検出される標識又は部分、並びに、例えば、酵素反応又は分子間相互作用を介して間接的に検出される酵素又はリガンドのような部分が含まれる。典型的な標識の例には、限定されないが、ラジオアイソトープ³²P、¹⁴C、¹²⁵I、³H、及び¹³¹I、フルオロフォア、例えば希土類キレート又はフルオレセイン及びその誘導体、ローダミン及びその誘導体、ダンシル、ウンベリフェロン、ルシェフェラーゼ、例えばホタルルシェフェラーゼ及び細菌ルシェフェラーゼ(米国特許第4737456号)、ルシェフェリン、2,3-ジヒドロフタルジネジオン、西洋ワサビペルオキシダーゼ(HRP)、アルカリフォスファターゼ、β-ガラクトシダーゼ、グルコアミラーゼ、リゾチーム、糖オキシダーゼ、例えばグルコースオキシダーゼ、ガラクトースオキシダーゼ、及びグルコース-6-リン酸デヒドロゲナーゼ、ヘテロサイクリックオキシダーゼ、例えばウリカーゼ及びキサンチンオキシダーゼ、色素前駆体、例えばHRP、ラクトペルオキシダーゼ、又はマイクロペルオキシダーゼ、ビオチン/アビジン、スピンラベル、バクテリオファージラベル、安定な遊離ラジカルなどを酸化する過酸化水素を利用する酵素とカップリングさせたものなどが含まれる。

【0226】

薬学的製剤

本明細書に記載の抗IL-13抗体又は他のTH2経路阻害剤の薬学的製剤は、所望の程度の純度を有するその抗体又は分子と任意の薬学的に許容される担体(Remington's Pharmaceutical Sciences 16th edition, Osol, A. Ed.: Williams and Wilkins PA, USA (1980))とを、凍結乾燥製剤または水性溶液の形態で混合することによって調製される。薬学的に許容される担体は、使用される投薬量および濃度でレシipientに毒性でなく、そしてこれには、限定しないが、リン酸塩、クエン酸塩および他の有機酸のような緩衝液；アスコルビン酸およびメチオニンを含む抗酸化剤；防腐剤(例えば、オクタデシルジメチルベンジルアンモニウムクロライド；ヘキサメトニウムクロライド；塩化ベンザルコニウム、塩化ベンゼトニウム、フェノール、ブチルまたはベンジルアルコール；アルキルパラベン、例えば、メチルまたはプロピルパラベン；カテコール；レゾルシノール；シクロヘキサノール；3-ペンタノール；およびm-クレゾール)；低分子量(約10残基未満)ポリペプチド；タンパク質、例えば、血清アルブミン、ゼラチン、または免疫グロブリン；親水性ポリマー、例えば、ポリビニルピロリドン；アミノ酸、例えば、グリシン、グルタミン、アスパラギン、ヒスチジン、アルギニンまたはリジン；マンノサッカライド、ジサッカライド、およびグルコース、マンノースまたはデキストリンを含む他の炭水化物；キレート剤、例えば、EDTA；糖、例えば、スクロース、マンニトール、トレハロースまたはソルビトール；塩形成対イオン、例えば、ナトリウム、金属錯体(例えば、Zn

- タンパク質錯体) ; 及び / 又はポリエチレングリコール (P E G) 等の非イオン性界面活性剤が挙げられる。本明細書における典型的な薬学的に許容される担体は、介在性薬物分散剤、例えば、水溶性の中性アクティブヒアルロニダーゼ糖タンパク質 (s H A S E G P)、例えば、r H u P H 2 0 (H Y L E N E X (登録商標)、B a x t e r I n t e r n a t i o n a l , I n c .) などのヒト可溶性 P H - 2 0 ヒアルロニダーゼ糖タンパク質を更に含む。所定の典型的な s H A S E G P 及び使用法は、r H u P H 2 0 を含み、米国特許出願公開第 2 0 0 5 / 0 2 6 0 1 8 6 号及び第 2 0 0 6 / 0 1 0 4 9 6 8 に開示されている。一態様において、s H A S E G P は、コンドロイチナーゼなどの 1 つまたは複数の追加のグルコサミノグリカンと組み合わせられる。

【 0 2 2 7 】

10

典型的な凍結乾燥抗体製剤は、米国特許第 6 2 6 7 9 5 8 号に記載されている。水性の抗体製剤は、米国特許第 6 1 7 1 5 8 6 号及び国際公開第 2 0 0 6 / 0 4 4 9 0 8 号に記載されているものが含まれ、後者の製剤はヒスチジン - 酢酸緩衝液を含む。

【 0 2 2 8 】

本明細書の製剤はまた、治療を受けている特定の徴候のために必要な一以上の活性成分、好ましくは、互いに悪影響を及ぼさない相補的活性を持つものが含まれる場合がある。例えば、T H 2 経路阻害剤とともにコントローラーを更に提供することが望まれ得る。このような活性成分は、意図した目的のために有効な量で組み合わせられ適切に存在する。

【 0 2 2 9 】

活性成分は、例えば、コアセルベーション技術又は界面重合法によって、例えばヒドロキシメチルセルロース又はゼラチン - マイクロカプセル及びポリ (メチルメタクリレート (m e t h y l m e t h a c r y l a t e)) マイクロカプセルのそれぞれによって、コロイド薬物送達系 (例えばリポソーム、アルブミンミクロスフィア、ミクロエマルジョン、ナノ粒子及びナノカプセル) 又はマクロ・エマルジョンなどの調製されたマイクロカプセルに封入されてもよい。このような技術は、Remington's Pharmaceutical Sciences 16th edition, Osol, A. Ed. (1980) に開示される。

20

【 0 2 3 0 】

徐放性製剤が調製されてもよい。徐放性製剤の好適な例は、抗体を含有する固体疎水性ポリマーの半透性マトリックスを含み、そのマトリックスが成形品、例えばフィルムまたはマイクロカプセルの形をしている。

30

【 0 2 3 1 】

インビボ投与に使用される製剤は、一般的に無菌である。無菌性は、例えば、滅菌濾過膜を通して濾過することにより、達成することができる。

【 0 2 3 2 】

治療的方法及び組成物

好酸球性炎症は、アレルギー性および非アレルギー性の両方の様々な疾患に関連している (Gonlugur (2006) Immunol. Invest. 35(1):29-45)。炎症は怪我に対する生体組織の回復性応答である。炎症反応の特徴は、組織それ自体に産生される特定の化学物質に起因する損傷組織における白血球の蓄積である。好酸球白血球は、例えばアレルギー性疾患、蠕虫感染症および腫瘍性疾患など広範で多様に蓄積する (Kudlacz et al., (2002) Inflammation 26: 111-119)。好酸球、白血球、免疫系のコンポーネントは、粘膜表面の防御的な要素である。それらは、抗原だけでなく寄生虫、化学物質及び外傷にも応答する。組織好酸球増加症は、湿疹、天疱瘡、急性蕁麻疹、及び中毒性表皮壊死並びにアトピー性皮膚炎などの皮膚疾患で生じる ([Rzany et al., 1996])。好酸球は I g E 介在アレルギー性皮膚反応における組織及び空の顆粒タンパク質に蓄積する ([Nielsen et al., 2001])。肥満細胞と結合した好酸球が関節の炎症を引き起こす可能性がある (Miossec et al., 1997)。好酸球性炎症は時には関節外傷を伴う。滑膜液好酸球増加症は、関節リウマチ、寄生虫症、好酸球増加症候群、ライム病、アレルギー性のプロセス並びに関節血症などの疾患及び関節造影と関連付けることができる ([Atanes et al., 1996])。好酸球性炎症は骨にも影響を与えることができる ([Yetiser et al., 2002])。好酸球性筋

40

50

疾患の例としては、好酸球性化膿性筋炎、好酸球性多発性筋炎、及び局所的好酸球性筋炎を含む（[Lakhanpal et al., 1988]）。骨格筋に影響を与える好酸球性炎症は、寄生虫感染症又は薬物又は過好酸球増加症の幾つかの全身疾患の特徴（例えば、特発性好酸球增多症候群及び好酸球增多筋痛症候群）と関連付けることができる。好酸球は自己免疫抗体によって認識されるエピトープに対する炎症応答に関与する（[Engineer et al., 2001]）結合組織の疾患は好中球性、好酸球性又はリンパ球性の血管の炎症へと導く可能性がある（[Chen et al., 1996]）。組織及び末梢血の好酸球増加症は、活動的なリウマチ性疾患で発生する可能性がある。結合組織病の一種である強直性脊椎炎における血清 E C P レベルの上昇は、好酸球はまた根底に関与しているプロセスにも関与していることを示唆している（Feltelius et al., 1987）。ウェゲナー肉芽腫症は肺結節、胸水、末梢血好酸球増加症を滅多に呈することができない（[Krupsky et al., 1993]）。

10

【 0 2 3 3 】

少なくとも $400 / \text{mm}^3$ の末梢血好酸球増加症は、全身性硬化症の症例の 7 %、限局性強皮症の症例の 31 %、及び好酸球性筋膜炎の症例の 61 % で生じる可能性がある（[Falanga and Medsger, 1987]）。強皮症は、マイスナーとアウエルバッハ神経叢に密接に似た炎症過程を生じ、胃腸系における好酸球白血球及び肥満細胞からなる。好酸球由来神経毒は、強皮症で起きるように胃腸運動機能障害の一因となり得る（[de Schryver Keskemeti and Clouse, 1989]）。

【 0 2 3 4 】

好酸球は、局所的（[Varga and Kahari, 1997]）または全身性で（[Bouros et al., 2002]）結合組織の増殖を伴い得る。それらは線維芽細胞におけるプロテオグリカン分解を阻害することにより、繊維化を誘発することができ（[Hernnas et al., 1992]）、そして線維芽細胞は、分泌する G M - C S F により好酸球の生存を媒介する（[Vancheri et al., 1989]）。好酸球は、鼻（[Bacher et al., 2001]）、気管支（[Arguelles and Blanco, 1983]）、消化管ポリープの組織（[Assarian and Sundareson, 1985]）に見いだすことができる。同様に、好酸球は、炎症性偽腫瘍（筋線維芽細胞腫瘍）に局在することができる。好酸球は、多くの場合、眼窩部での炎症性偽腫瘍を伴い、その場合症状は血管性浮腫又はアレルギー性結膜炎を模倣する場合がある（[Li et al., 1992]）。

20

【 0 2 3 5 】

好酸球性炎症は組織外傷で見出すことができる（例えば、手術又は怪我の結果）。好酸球性炎症はまた、心血管系疾患（例えば、好酸球性心筋炎、好酸球性冠状動脈炎、虚血性心疾患、急性心筋梗塞、心臓破裂）に関連付けることができる。壊死性炎症過程はまた、好酸球性炎症（多発性筋炎、冠状動脈解離、神経ベーチェット病の壊死性病変、認知症、脳梗塞）をも包含する。

30

【 0 2 3 6 】

本明細書に与えられるのは、患者の総ペリオスチンレベルを測定することにより、T H 2 経路阻害剤による治療に対する応答が予想される（又は応答性であろう）好酸球性炎症（E I P）患者を同定する方法である。

【 0 2 3 7 】

また本明細書に与えられるのは、好酸球性炎症陽性患者へ T H 2 経路阻害剤を投与することを含む、喘息、好酸球性障害、I L - 1 3 媒介障害、I L 4 媒介障害、I L 9 媒介障害、I L 5 媒介障害、I L 3 3 媒介障害、I L 2 5 媒介障害、T S L P 媒介障害、I g E 媒介障害または喘息様症状を治療する方法であって、その患者は、患者の総血清ペリオスチンのレベルを測定することによって E I P あると診断されている。

40

【 0 2 3 8 】

ある実施態様において、レプリキズマブを好酸球性炎症陽性患者に投与することを含む、喘息、好酸球性障害、I L - 1 3 媒介障害、I L 4 媒介障害、又は I g E 媒介障害を治療する方法が与えられる。

【 0 2 3 9 】

50

ある実施態様において、レプリキズマブの125～500mgの均一用量を、疾患に罹患している患者に対して4週間毎に投与することを含む、喘息、好酸球性障害、IL-13媒介障害、IL4媒介障害、又はIgE媒介障害を治療する方法が与えられる。

【0240】

また与えられるのは、喘息患者にレプリキズマブの治療的有効量を投与することを含む喘息（又は呼吸器疾患）を治療する方法が与えられ、その治療が5%を超えるFEV1の相対的变化をもたらす。別の実施態様において、FEV1は6%、7%、8%、9%、又は10%FEV1より大きい。別の実施態様において、患者は総ペリオスチンアッセイを使用してEIPとして診断されている。別の実施態様において、喘息患者は総血清ペリオスチンアッセイにより診断されている。

10

【0241】

ある実施態様において、喘息患者にレプリキズマブの治療的有効量を投与することを含む喘息（又は呼吸器疾患）を治療する方法であって、その治療が35%を超える（他の実施態様においては36%、37%、38%、39%、40%、41%、42%、43%、44%、45%、46%、47%、48%、49%、50%、51%を超え、最大85%；別の実施態様においては患者はEIPと診断されている）増悪率の減少をもたらす方法が与えられる。

【0242】

ある実施態様において、喘息患者にレプリキズマブの治療的有効量を投与することを含む喘息（又は呼吸器疾患）を治療する方法が与えられ、その治療が夜間覚醒の減少をもたらす。一実施態様において、患者は患者における総血清ペリオスチンレベルを測定することにより診断される。別の実施態様において、患者の喘息はコルチコステロイドで制御されない。別の実施態様において、患者はEIPと診断される。

20

【0243】

また与えられるのは、喘息患者にレプリキズマブの治療的有効量を投与することを含む喘息（又は呼吸器疾患）を治療する方法が与えられ、その治療が喘息コントロールに改善をもたらす。一実施態様において、患者は患者における総血清ペリオスチンレベルを測定することにより診断される。別の実施態様において、喘息はコルチコステロイド治療で制御されない。別の実施態様において、患者はEIPと診断される。

【0244】

喘息患者にレプリキズマブの治療的有効量を投与することを含む喘息（又は呼吸器疾患）を治療する方法が与えられ、その治療が肺の炎症の減少をもたらす。一実施態様において、患者は患者における総血清ペリオスチンレベルを測定することにより診断される。別の実施態様において、喘息はコルチコステロイド治療で制御することができない。別の実施態様において、患者はEIPと診断される。

30

【0245】

ある実施態様において、喘息患者にレプリキズマブの治療的有効量を投与することを含む、好酸球性障害に罹患しコルチコステロイドで治療されている患者の好酸球性障害を治療する方法であって、治療が疾患を治療するために用いられるコルチコステロイド治療の（量又は頻度）の減少又は消失をもたらす方法が与えられる。一実施態様において、患者は患者における総血清ペリオスチンレベルを測定することにより診断される。別の実施態様において、喘息の喘息はコルチコステロイドで制御することができない。別の実施態様において、患者は治療の前にEIPと診断される。

40

【0246】

また与えられるのは、総ペリオスチンアッセイを使用して患者をEIPとして診断すること、喘息患者にTH2経路阻害剤の治療的有効量を投与し、患者のEIP状態を診断し、及びもし患者がEIPである場合、患者をTH2経路阻害剤で再治療することを含む、喘息（又は呼吸器疾患）に罹患した患者の治療の方法である。単独又はFEN₀レベルとの併用、及び任意でCST1、CST2、CCL26、CLCA1、PRR4、PRB4、SERPINB2、CEACAM5、iNOS、SERPINB4、CST4、及びS

50

ERPINB10から選択される別のバイオマーカーと併用した総ペリオスチンアッセイを使用して診断が成される。更に別の実施態様において、治療されるべき患者は、本発明に記載されるようにペリオスチンのレベルが上昇していることに加え、21 ppbを超えるFENOのレベルを有する。更に別の実施態様において、治療されるべき患者は、本発明に記載されるようにペリオスチンのレベルが上昇していることに加え、35 ppbを超えるFENOのレベルを有する。

【0247】

ある実施態様において、患者の総ペリオスチンレベルを測定し患者がEINであると決定する工程を含む好酸球性炎症陰性(EIN)である患者を同定する方法が与えられる。

【0248】

本明細書に与えられる任意のTH2経路阻害剤は本明細書に記載される、特に喘息の治療方法で使用され得る。一実施態様において、患者はコルチコステロイドで治療されており、本明細書に記載されるペリオスチンアッセイを使用してTH2経路阻害剤に応答性であると診断されていおる。更なる実施態様において、喘息患者は中等度から重度の喘息に罹患している。別の実施態様において、患者は軽度の喘息に罹患しているが、コルチコステロイドで治療されていない。

【0249】

本発明の抗体(および任意の追加の治療剤)は、任意の適切な手段によって投与することができ、経口、肺内、および鼻腔内、及び局所治療が所望される場合、病巣内投与が含まれる。非経口注入には、筋肉内、静脈内、動脈内、腹腔内、又は皮下投与が含まれる。投薬は、その投与が短期間か又は長期であるかどうかにより部分的に依存し、任意の適切な経路、例えば、静脈内または皮下注射などの注射により行うことができる。限定されないが、様々な時間点にわたる、単一または複数回投与、ボラス投与、パルス注入を含む様々な投与スケジュールが本明細書で考えられている。

【0250】

本発明の抗体は良好な医療行為に合致した方法で処方され、投与され、投薬される。この観点において考慮すべき要因は、治療すべき特定の障害、治療すべき特定の哺乳類、個々の患者の臨床状態、障害の原因、薬剤送達部位、投与方法、投与日程及び医療従事者が知る他の要因を包含する。抗体は、必要ではないが任意で、問題となる障害の予防又は治療のために、現在使用中の一又は複数の薬剤とともに処方される。そのような他の薬剤の有効量は製剤中に存在する抗体の量、障害又は治療の種類及び上記した他の要因に依存する。これらは一般的には本明細書に記載されるのと同じ用量及び投与経路において、又は、本明細書に記載された用量の1%から99%で、又は経験的に/臨床的に妥当であると決定された任意の用量及び任意の経路により使用される。

【0251】

疾患の予防又は治療のためには、本発明の抗体の適切な用量(単独で使用されるか、又は、一以上の更なる治療的薬剤との組み合わせられる場合)は治療すべき疾患の種類、抗体の種類、疾患の重症度及び経過、抗体を予防又は治療目的のいずれにおいて投与するか、以前の治療、患者の臨床的履歴及び抗体に対する応答性、及び担当医の判断に依存する。抗体は、患者に対して、単回、又は一連の治療にわたって適切に投与される。疾患の種類及び重症度に応じて、例えば一回以上の別個の投与によるか、連続注入によるかに関わらず、抗体約1 µg/kgから15 mg/kg(例えば0.1 mg/kgから10 mg/kg)が患者への投与のための初期候補用量となり得る。1つの典型的な一日あたり用量は上記した要因に応じて約1 µg/kgから100 mg/kg又はそれ以上の範囲である。数日間以上に渡る反復投与の場合には、状態に応じて、治療は疾患症状の望まれる抑制が起こるまで持続するであろう。1つの例示される抗体用量は約0.05 mg/kgから約10 mg/kgの範囲である。従って、約0.5 mg/kg、2.0 mg/kg、4.0 mg/kg又は10 mg/kgの1つ以上の用量(又はこれらの何れかの組み合わせ)を患者に投与してよい。このような用量は断続的に、例えば毎週又は3週毎(例えば患者が抗体の約2から約20投与量、又は例えば約6投与量を受けるように)投与してよい。し

10

20

30

40

50

かしながら、他の投与計画は有用でありうる。この治療の進行は、従来技術及びアッセイにより容易にモニターされる。

【0252】

ある実施態様において、本発明の抗体は37.5 mgの均一用量として（即ち体重に依存せず）、又は125 mgの均一用量、又は250 mgの均一用量として投与される。ある実施態様において、投与量は一定の期間4週間に1回皮下注射で投与される。ある実施態様において、その期間は、6ヶ月、1年、2年、5年、10年、15年、20年、又は患者の一生涯である。ある実施態様において、喘息は重度の喘息であり、患者は吸入ステロイドと第二コントローラ薬物で不十分に制御されるか又は制御されない。別の実施態様において、患者はEIPを決定するために、総ペリオスチンアッセイを用いてEIP状態と診断され、患者は上述のように、抗IL13抗体による治療のために選択される。別の実施態様において、本発明は、上述のように抗IL13抗体で喘息患者を治療することを含み、ここで該患者は、EIP状態を決定する総ペリオスチンアッセイを用いてEIP状態と以前に診断されている。一実施態様において、喘息患者は18歳以上である。一実施態様において、喘息患者は12から17歳であり、抗IL13が250 mgの均一用量で又は125 mgの均一用量で投与される。一実施態様において、喘息患者は6から11歳であり、抗IL13抗体が125 mgの均一用量で投与される。

10

【0253】

上記の製剤または治療方法のいずれかが、抗標的抗体又は抗ペリオスチン抗体の代わりか又は抗体に加えて、本発明のイムノコンジュゲートを用いて行うことができることが理解される。

20

【0254】

製造品

本発明の他の実施態様において、上述した障害の治療、予防、及び/又は診断に有用な物質を含む製造品が提供される。製造品は、容器とラベルまたは容器上にあるまたは容器に付属するパッケージ挿入物を含む。好適な容器は、例としてボトル、バイアル、シリンジ、IV輸液バッグ等を含む。容器はガラス又はプラスチックなどの様々な物質から形成されうる。容器は、疾患の治療、予防、及び/又は診断に有効である、それ自体が、又はその他の組成物と併用される化合物を収容し、無菌のアクセスポートを有し得る（例えば、容器は皮下注射針による穴あきストッパーを有する静脈内溶液バッグ又はバイアルであってよい）。組成物中の少なくとも一の活性剤は本発明の抗体である。ラベルまたはパッケージ挿入物は、組成物が特定の症状の治療のために使用されることを示している。更に、製造品は、（a）組成物が本発明の抗体を包含する組成物を含む第一の容器；および（b）組成物が更なる細胞障害性又はその他の治療的薬剤を包含する組成物を含む第二の容器を含み得る。本発明の本実施態様における製造品は、組成物が特定の疾患を治療することに用いることができることを示すパッケージ挿入物をさらに含んでもよい。別法として、または加えて、製造品は、薬学的に許容されるバッファー、例えば注射用静菌水（BWF I）、リン酸緩衝化塩水、リンガー溶液およびデキストロース溶液を含む第二（または第三）の容器をさらに含んでもよい。これは、他のバッファー、希釈液、フィルター、針、およびシリンジを含む、商業的およびユーザーの立場から望まれる他の物質のさらに含んでもよい。

30

40

【0255】

上記の製造品のいずれかは、抗標的抗体又は抗ペリオスチン抗体の代わりか又はそれに加えて、本発明のイムノコンジュゲートを含み得ることが理解される。

【実施例】

【0256】

実施例1 アレルゲン曝露臨床研究

第II相無作為化、二重盲検、プラセボ対照試験；5 mg/kgのレプリキズマブ：プラセボ（1：1の割合）12週間、4週間ごとに皮下に。試験デザインの高レベルの概要が表2及び図1にある。主要エンドポイントは、13週でのアレルゲン誘導性遅発型喘息反

50

応（LAR）であった。スクリーニング期間中及び第13週に、患者はアレルゲン曝露を受け、その後18～24時間後にメタコリン曝露を受けた。血清バイオマーカーもまたIL13経路阻害を実証しかつレプリキズマブからの恩恵が増加した患者を同定するために評価された。

表2

デザイン	アレルゲン曝露に対する気道過敏性におけるMILR1444A 対プラセボの効果を評価するための無作為化、二重盲検、プラセボ対照、複数回投与試験	10
集団	18-55歳の軽度の喘息患者	
サンプルサイズ	24(コホートあたり12)	
試験期間	12週間(及び4ヶ月の経過観察期間)	
スケジュール, 用量	皮下処方(SQ), Q4w, (1回の活性用量レベル5mg/kg)	20
1°エンドポイント	LAR AUC (アレルゲン曝露)	
2°エンドポイント	PC20 (アレルゲン曝露), FEV1, PC20 (メタコリン曝露)	

【0257】

試験に含まれた患者は、軽度の喘息で18～55歳で（a）イエダニ、猫のフケ、又はブタクサに対してのスクリーニングで皮膚試験陽性（陰性コントロールに対して3mm以上）；（b）1秒間の強制呼気容量が予測値の70%以上；及び（c）アレルゲン曝露後5～30分でFEV1の20%以上の減少の早期喘息反応、及び曝露後2～8時間でFEV1の15%以上の減少の遅発型喘息反応（LAR）を呈していた。

【0258】

28人の患者が主要エンドポイントの分析に含まれた（n=16人がプラセボ、12人がレプリキズマブ）。第13週で、レプリキズマブはLARを阻害した。レプリキズマブ治療患者でアレルゲン曝露後2～8時間でのFEV1の平均AUC（曲線下面積）（LAR）は、プラセボに対して48%減少し（26.3%対50.5%；95%CI：-19から90%）、第13週で早期反応（EAR）に影響を及ぼさなかった。アレルゲン曝露後0～2時間でのFEV1の平均AUC及びFEV1の最大減少は、レプリキズマブ群とプラセボ群で似ていた（両方のパラメーターにおいて27.5%対26.4%；表5）。図2も参照。レプリキズマブ群とプラセボ群の間で、メサコリンに対する気道過敏性に有意な違いは観察されなかった。レプリキズマブ群におけるメサコリン倍加用量の算術平均はプラセボ群におけるそれより0.33倍加用量高く（1.58対1.25，95%CI -0.64から1.3）、臨床的に意義のある阻害とは考えられなかった。

表 3

	スクリーニング			13 週		
	PB N=16	LB N=12	(LB- PB)/PB	PB N=16	LB N=12	(LB-PB)/PB
初期喘息反応						
FEV1 の最大の減少%	30.3	38.0	25.4	25.5	29.6	16.1
AUC FEV1 (曝露後 0 ～ 2 時間), %FEV1 x h	34.1	39.9	17.0	26.4	27.5	4.2
後期喘息反応						
FEV1 の最大の減少%	24.8	30.8	24.2	16.4	13.8	-15.9
AUC FEV1 (曝露後 2 ～ 8 時間, %FEV1 x h)	73.8	77.0	4.3	50.5	26.3	-47.9

【 0 2 5 9 】

レプリキズマブ治療は、血清 I g E、M C P - 4 / C C L 1 3、及び T A R C / C C L 1 7 のそれぞれにおいて 2 4 %、2 5 % 及び 2 6 % のプラセボで補正された減少の平均値を有し、T H 2 炎症のマーカーで全身的作用を明らかに発揮した (P < 0 . 0 1)。図 3 A 及び 3 B を参照。治療後に、血清ペリオスチンレベルはわずかに減少した (5 ～ 1 0 %)。治療後に、血清 I L - 1 3 レベルは大半が検出レベル未満 (< 1 5 0 p g / m l) であった。図 3 C は、個々の患者において第 1 3 週での、I g E、C C L 3 及び C C L 1 7 の、それらのマーカーのベースラインレベルに対する減少を示す。一般に、ペリオスチン、Y K L - 4 0、C E A、及び血中好酸球レベルはレプリキズマブ治療後に有意には変化しなかった (データ非表示)。

【 0 2 6 0 】

末梢血好酸球、血清 I g E 又は血清ペリオスチンの中央値を上回るベースラインレベルを持つ患者は、これらのバイオマーカーのレベルが中央値未満である患者よりも、L A R においてプラセボで補正されたレプリキズマブ依存性の大きな減少を示した。図 4 を参照。

【 0 2 6 1 】

患者は、ベースラインでの炎症性バイオマーカー：血清 I g E、C L L 1 3、C C L 1 7、C E A、ペリオスチン、Y K L - 4 0 及び末梢血好酸球のレベルの中央値よりも高いか又は低いかに基づいて「バイオマーカー高」又は「バイオマーカー低」として分類された。図 4 に示されるように、血清 I g E、好酸球及びペリオスチンに対する結果は、ベースラインの血清 I g E が (中央値に比べて) 上昇したか又は末梢血好酸球が上昇した患者は、(例えばレプリキズマブによる) I L 1 3 遮断に反応する可能性がより高かった。

【 0 2 6 2 】

結論として、本研究は、後期 A U C の平均において主要エンドポイント：4 8 % の減少 (9 0 % C I [- 1 9 % , 9 0 %]) を満たした。レプリキズマブはプラセボに比べて著しく L A R を減少させた。安全なシグナルは安全性データに見られなかった。I L - 1 3 の治療的遮断は、特に気道 T H 2 炎症のマーカーが上昇した患者においてアレルギー性喘息の効果的な治療法であり得る。

【 0 2 6 3 】

実施例 2 喘息患者の臨床試験 I

無作為化、二重盲検、プラセボ対照試験は、ICSによる長期治療の間制御が不十分なままか又は制御されないままである喘息を有する患者においてレプリキズマブの効果を評価するために実施された。患者は吸入コルチコステロイド（ICS）及びLABAをも含むことができる標準治療を続けた。この2群試験において、レプリキズマブ又はプラセボの何れかを6ヶ月間受けるために患者は無作為に割り当てられた。14～20日の導入期間（run-in period）の最中（来院1から来院3）、患者はICSの順守及び試験を通して日々のモニタリングに必要な装備を使用する彼らの能力を実証しなければならなかった。次いで患者は試験の適格性について評価され、IL-13シグニチャーサロゲート状態（以下に更に記述）、LABAの使用、及び試験場所に基づく層別化により、無作為に試験薬（レプリキズマブ又はプラセボ）に割り当てられた（1：1）。最初のSC投与は無作為化割り当ての24時間以内に起きた（試験第1日、即ち無作為化割り当ての日、最初の試験薬の投与日に関わらず）。試験薬の投与は次の20週間4週間に1回繰り返された（24週間の治療期間である場合、合計6つの試験薬の投与のため）。レプリキズマブの有効性の測定が治療期間中評価された。

【0264】

試験薬は、次の時点：第1日及び第4週、8週、12週、16週及び20週で皮下（SC）注射によって選択された患者に投与した。レプリキズマブの各用量は250mgであった。各プラセボ用量はレプリキズマブを含まない2mLの同一液体であった。皮下注射は腕、太もも、または腹部に投与された。この試験計画の模式図を図5に見ることができる。

【0265】

全て（約200人）の患者が治療された後で主な解析が実行され、無作為化割り当て後（第1日）24週間続いた。安全性は試験を通して評価した。試験薬の最後の投与後（第20週）、患者は更に12週間モニターされた；最終投与後の最初の4週間は（第24週）治療期間の部分と見なされ、最終8週間は経過観察期間を構成した。8週間の経過観察期間は、治療期間の最後の4週間とともに、最後の投薬後に3～4の半減期について患者のモニタリングを考慮した。従って、患者は一般に、合計約34週間試験に参加した。図5を参照。有効性が評価可能な患者（ $n = 180$ ）は意思決定目的のために定義され、二つの理由から被験者を除外した。（1）鍵となる特徴の標的集団の部分でなく及び（2）治療効果を測定するためには信頼性のないベースラインFEV1。この試験に参加している患者のベースラインの特徴については図6を参照。

10

20

30

表 4

デザイン	レブリキズマブ対プラセボの有効性と安全性を評価するための 1 : 1 無作為化、二重盲検、プラセボ対照試験
集団	吸入コルチコステロイド (ICS) で制御が不十分である 18 ~ 65 歳の患者
サンプルサイズ	およそ 218
試験期間	2 週間のスクリーニング期間, 24 週間の治療期間, 8 週間の安全性経過観察期間
用量	250 mg, 28 日毎, 総計 6 回投与
1° エンドポイント	ベースラインから 12 週までの FEV ₁ における相対的变化
2° エンドポイント	ベースラインから 24 週までの FEV ₁ における相対的变化 ベースラインから 12 週までの FEV ₁ における相対的变化又は IL-13 シグニチャーサロゲート陽性状態 24 週間の間の喘息増悪率

10

【 0 2 6 6 】

20

鍵となる包含基準は以下を含める：試験特異的肺機能検査 (PFT) マニュアル通り、来院 1 - 3 での肺活量測定を実行する能力；臨床的に有意な異常の証拠を持たない来院 1 の 12 ヶ月以内の胸部 X 線検査；日記完了と来院 1 ~ 3 の間の PEF 測定の順守により測定される試験材料を完結する能力；以下の基準の全てに基づいて選択される制御されない喘息：

- 喘息の診断 > 12 か月
- 来院 1 又は 2 での気管支拡張反応
- 前気管支拡張剤 来院 1 及び 3 で予測される FEV₁ 40 % 及び 80 %
- ICS の使用 プロピオン酸フルチカゾンの 1 日の総用量が 200 µg 及び 1000 µg
- 来院 3 の喘息コントロールアンケート (ACQ) スコア 1.5 ICS の順守にかかわらず。

30

【 0 2 6 7 】

鍵となる除外基準は以下を含める：

医学的状态：

- 来院 1 ~ 3 から喘息の増悪、著しい気道閉塞、又は呼吸器感染。
- 既知の悪性腫瘍又は潜在的な悪性腫瘍の現在の評価
- 既知の免疫不全、限定しないが HIV 感染を含む
- 活動性の感染を含む、喘息以外の事前に存在している肺疾患
- 制御されない臨床的に有意な医学的疾患

40

【 0 2 6 8 】

曝露：

- 人生の喫煙歴が 10 パック年を超える現喫煙者又は以前の喫煙者
- 禁止されている併用薬 (ICS 以外のステロイド、SABA 以外の短時間作用型気管支拡張薬、免疫調節薬)
- 妊娠中又は非常に効果的な避妊法を使用する意志なし

【 0 2 6 9 】

肺それ自体で IL-13 を測定する実際の困難を仮定すると、末梢血中の好酸球レベル及び IgE レベルがサロゲート (surrogate) 測定として使用され、「IL-13 シグニチャーサロゲート (signature surrogate)」として示され

50

る。IL - 13 シグニチャーサロゲート陽性患者は、IgE > 100 IU/mL 及び血中好酸球 0.14×10^9 細胞/L を持つ患者として定義され、IL - 13 シグニチャーサロゲート陰性患者は、総計 IgE 100 IU/mL 又は血中好酸球 < 0.14×10^9 細胞/L を有する。IL - 13 シグニチャーサロゲートの患者の状態を決定した IgE 及び好酸球レベルの基準は喘息患者から確立され、気管支上皮における IL - 13 誘導性遺伝子発現 (IL - 13 シグニチャー) は末梢血の IgE 及び好酸球と関連していた (Corren et al., N Engl J Med 365:1088-1098 [2011])。

【0270】

レプリキズマブの有効性は、肺機能 (即ち FEV₁, ピークフローの変動を含むピークフロー, 選択されたセンターでのメタコリンへの応答、分画呼気一酸化窒素 [FENO]) を含む喘息の活動性の複数の測定及び疾患活動性又はコントロール (すなわち、患者の報告結果 [PRO]、救助薬の使用、増悪率) の測定を使用して評価された。(FEV₁ の変化は、主要転帰であった。レプリキズマブでの治療後以下のマーカー: TARC (CCL17), MCP-4 (CCL13) 及び IgE が薬力学解析に用いられた。

【0271】

主要有効性評価項目

主要有効性評価項目は、ベースラインから第12週までの気管支拡張薬前 FEV₁ (体積) の相対的变化であった。

【0272】

2次有効性評価項目

2次有効性評価項目は以下であった。ベースラインから第24週までの気管支拡張薬前 FEV₁ (体積) の相対的变化; IL - 13 シグニチャーサロゲート陽性状態の患者におけるベースラインから第12週までの気管支拡張薬前 FEV₁ (体積) の相対的变化; ベースラインから第12週までの喘息コントロールアンケート (ACQ) スコアの変化; ベースラインから第12週までの喘息コントロールの日々の日記 (ACDD); ベースラインから第12週までの朝の気管支拡張薬前のピークフローの変化; 24週間の治療期間中の喘息の増悪率; 24週間の治療期間中の重篤な喘息の増悪率; ベースラインから第12週までの救助薬使用の変化 (救助薬又は噴霧救助薬の一日あたりのパフの数で測定された)。

【0273】

探索的な測定:

以下の探索的な評価項目が評価された: ベースラインから第12週までの ACDD により測定される良好に制御された喘息である週あたりの日数の変化; ベースラインから第12週までの喘息に起因する夜間覚醒の週あたりの頻度の変化; ベースラインから第12週までの FENO の変化。

【0274】

初期所見

不完全に制御された喘息を持つ患者に関する本研究にて、レプリキズマブ治療は、主要転帰の変数である気管支拡張薬前 FEV₁ における統計的に有意な改善と関係していた。治療の開始直後に生じた FEV₁ の改善は、IL - 13 阻害は相対的に素早く気流の測定に影響を与えたことを示している。レプリキズマブ治療は、Elexys (登録商標) ペリオスチンアッセイを使用して、プロトコルに定められた重篤な増悪において統計的に有意な減少へと至らなかったが (以下に記載、解析に寄与する値が得られなかったため)、特にペリオスチンが高い患者において、重篤な増悪率の減少傾向が観察された。しかし、以下の記述されるように E4 アッセイを使用して、レプリキズマブ治療はプロトコルに定められた重篤な増悪の統計的に有意な減少へと導いた (ペリオスチンが高い群で 8.4% (95% CI 1.4%, 9.7%, p = 0.03))。以下を参照。更に、FENO のサブグループ解析は、重篤な増悪において統計的に有意な減少を達成した (p = 0.04)。レプリキズマブ治療は、ACQ 5 の症状のみのバージョン (救助 SABA の使用及び FEV₁ を除く) 又は日々の日記による計測により測定されるように、喘息症状を改善しな

10

20

30

40

50

った。

【0275】

血清Th2ケモカイン、CCl13及びCCl17、及びIgEは気道で測定される臨床的影響の基礎となる、レプリキズマブ媒介性の生物学的作用を支持する。血中の好酸球の数のわずかな増加は、好酸球を誘因するケモカインの阻害後の、血液から肺コンパートメントへの好酸球の移行の全体的な減少と一致する。レプリキズマブがFENOを減少させるという知見はこの示唆と一致する。しかし、レプリキズマブは好酸球性炎症を修飾すること（それもまたFENOに影響を与えられている）によるよりも、IL-13遮断を介した一酸化窒素合成酵素の発現を間接的に阻害することによりFENOを減少させる可能性がある。

10

【0276】

この試験に対する患者の適格性の基準は、（来院前に少なくとも4時間SABAを使用せず、かつ少なくとも12時間LABAを使用せずに）少なくとも12%から400µgのアルブテロールの可逆性を必要とした。これは、肺機能に少なくとも10%の全体的な相対的变化を期待するときに、患者が「動く余地」を有することを保証するためであった。この単純な臨床試験は、これらのデータを一般化する性能を、選択されていない、より一般的な喘息患者集団に制限する場合もある。実際、患者の不適格性は（スクリーニングに失敗した263人の患者のうち92人での）この試験の失敗であった。

【0277】

この試験において、我々は、高血清IgE及び高血中好酸球計数の組み合わせは、肺においてIL-13関連遺伝子の発現が増加した（IL-13シグニチャーサロゲート又はTh2が高い）患者を同定するためのサロゲートであるとする仮説を最初にたてた。データは治療の帰属に対してなお隠されているが、血清ペリオスチンレベルに基づく差別化を使用する統計解析計画を我々は書いた。以下により詳述されるように、このサブグループ解析は、FEV1のより強固な増強及びFENOのより大きな低下の両方で、並びに有意な相互作用試験で観察されたように、レプリキズマブ治療の有効性はペリオスチンが低い患者よりもペリオスチンが高い患者において増強されたことを示した。これらの知見は、事前に特定されたマーカーである血清ペリオスチンは、レプリキズマブ治療により応答し得る喘息患者を選択するために使用される可能性があることを示唆している。

20

【0278】

本試験に参加している患者のベースラインの特性を図6に示す。特に断りのない限り、数字は平均値（SD）を指す。ペリオスチンが高いとは下記に記載されるE4アッセイに従って23ng/mlを超えるペリオスチンのベースラインを持つ患者を指す。ペリオスチンが低いとは下記に記載されるE4アッセイに従って23ng/ml未満のペリオスチンのベースラインを持つ患者を指す。

30

【0279】

治療された患者についての12週間と24週間でのFEV1の相対的变化（リットル）（95%信頼区間）を図7に示す。IL-13シグニチャー陽性患者に比べた場合、ペリオスチン陽性患者はFEV1の相対的により高い変化を経験していた。

【0280】

40

図7は、全参加者のベースラインから第12週までのプラセボで補正されたFEV1の相対的变化は5.9%（95%CI 0.9%, 10.9%, $p = 0.2$ ）でペリオスチンが高いサブグループについては10%（95%CI 2.5%, 17.5%, $p = 0.01$ ）であったことを示す。全参加者のベースラインから第24週までのプラセボで補正されたFEV1の相対的变化は4.8%（95%CI 0.3%, 9.3%, $p = 0.04$ ）でペリオスチンが高いサブグループについては6.1%（95%CI -1.4%, 13.6%, $p = 0.11$ ）。図8は、全ての有効性評価可能な被験体について（A）及びペリオスチンが高い被験体のみについて（B）、治療期間（32週間）を通してのFEV1の相対的变化を示す。治療の32週でのレプリキズマブの有効性は、レプリキズマブが投与される頻度を減らすことが可能であり得ることを示唆することを弱めなかった

50

。

【0281】

気道リモデリングにおける間接的サロゲート及び探索的転帰として、我々は気管支拡張薬後のFEV₁におけるレプリキズマブ治療の効果も調べた。20週での気管支拡張薬後のFEV₁の変化は100mcgのアルブテロールの4回の吸入後に測定された。試験薬の投与前のベースラインにて、気管支拡張薬後のFEV₁の平均値は、プラセボ及びレプリキズマブ群のそれぞれにおいて、2.50リットル(0.71)及び2.54リットル(0.73)であった。これは両方の群において期待される77.9%に相当する。気管支拡張薬後のFEV₁における全体的なプラセボ補正後の変化は、4.9%であった(95%CI 0.2%から9.6%; $p = 0.04$)。ペリオスチンが高い群では、レプリキズマブ治療は、20週で気管支拡張薬後のFEV₁を増加させた(8.5%; 95%CI 1.1%から16%; $p = 0.03$)。ペリオスチンが低い群では気管支拡張薬後のFEV₁における改善の証拠はなかった(1.8%; 95%CI 4.1から7.7; $p = 0.55$)。加えて、レプリキズマブはペリオスチンが高い群で絶対的な気管支拡張薬後のFEV₁を増加させた(170mls; 95%CI 10から320ml)。我々は、レプリキズマブは、Th2気道炎症が増加した証拠を有し(ペリオスチンが高い)、制御されない喘息患者において気管支拡張薬後のFEV₁を改善すると結論づけた。このデータに基づくと、レプリキズマブは喘息において気道リモデリングを低下させる可能性を有する場合がある。

【0282】

図9は、治療の24週で観察された増悪率と重篤な増悪率を示す。増悪率はプラセボと比較してレプリキズマブで治療された全参加者で37%減少し(95%CI -22%, 67%, $p = 0.17$)、ペリオスチンが高いサブグループで61%減少した(95%CI -6%, 86%, $p = 0.07$)。重篤な増悪率は全参加者で51%減少し(95%CI -33%, 82%, $p = 0.16$)、ペリオスチンが高いサブグループで84%減少した(95%CI 14%, 97%, $p = 0.03$)。我々はまた、ITT集団において、32週、経過観察期間の終了点、レプリキズマブの最終投与後12週で重篤な増悪の割合を調べた。表10に示すように、32週での全患者にわたる重篤な増悪率は、プラセボと比べてレプリキズマブで治療された患者で50%著しく減少した($p = 0.03$)。重篤な増悪はレプリキズマブで治療されたペリオスチンが高い患者で最低であった(0.13); しかしプラセボからの率の減少はサブ解析において統計的有意性に到達しなかった。レプリキズマブはICSにより不十分に制御された患者において重篤な増悪を減少させる有意な利点を有していたと結論する。重篤な増悪の最大の減少は治療前に高いペリオスチンレベルを持つ患者において見られた。事象をとらえるための観察時間は、このエンドポイントについての試験に力を与える点で重要である。24週間に比べて32週間の観察はおよそ200人の被験者において少なくとも50%の減少を検出するため必要とされ得る。

表 10. 最終投薬後 3 2 週、1 2 週での重度の増悪率

群*	率の減少 (95% CI) p-値		
	レブリキズマブの 重篤な増悪率	プラセボの重篤な増 悪率	
全患者(n=218)	0.17	0.34	50% (9, 72) p=0.03
ペリオスチン アッセイが高 (n=110)	0.13	0.32	61% (-1, 85) p=0.06
ペリオスチン アッセイが低 (n=101)	0.23	0.40	43% (-30, 75) p=0.18

【 0 2 8 3 】

レブリキズマブはその主要エンドポイントを満たしており、重篤な増悪を減少させるに非常に効果的であった。データは、患者のペリオスチン状態は増悪事象及びそれほどではないにせよ F E V 1 の予後徴候となることを示している。データはレブリキズマブ治療に
 20
 に対する応答を決定するためのペリオスチンレベルの予測値を支持する。例えば、E 4 アッセイを使用して、20 ng / ml 未満の血清又は血漿ペリオスチンレベルを持つそれらの患者は、レブリキズマブから恩恵を得る可能性が小さいが、20 ng / ml を超える血清又は血漿ペリオスチンレベルを持つそれらの患者は、レブリキズマブからより恩恵を得る可能性がある。更に、(E 4 アッセイで決定される場合) 23 ng / ml を超える血清又は血漿ペリオスチンレベルを持つそれらの患者は、レブリキズマブ治療から恩恵を得る更に大きな可能性を有する。

【 0 2 8 4 】

患者の報告結果 A C Q 及びミニ A Q L Q は治療群間で一致した相違を示さなかった。何
 30
 回かの来院後に、A C D D データは、全てレブリキズマブ治療が好む、良好に制御された日、喘息症状、夜間覚醒、及び救助薬の使用において、治療群間の平均スコアに幾つかの相違を示した。A C D D データ(良好に制御された日、喘息症状、夜間覚醒、及び救助薬の使用)の全てのエンドポイントにおいて、全被験体に比べてペリオスチンが高い被験体において、より大きなプラセボ補正後の治療効果があった；しかし 1 2 週では治療群間での相違は統計的に有意ではなかった。

【 0 2 8 5 】

肺の機能：ベースラインからの肺機能の改善(P E F)は、レブリキズマブで治療された全被験体でほとんどの時点で観察され、及びペリオスチンが高いレブリキズマブで治療された被験体において全時点で観察された。プラセボで処置された被験体は全時点でベースラインから減少した。
 40

【 0 2 8 6 】

肺の炎症：F E N O はレブリキズマブで治療された被験体及びペリオスチンが高いサブセットの被験体の両方において試験期間中減少した(改善した)が、プラセボで処置された被験体は F E N O を増加させた(悪化させた)。1 2 週での F E N O の変化のパーセントは、レブリキズマブで治療された被験体で - 20 . 1 % (n = 83)、対するプラセボ処置被験体で 15 % (n = 86) であった [p < 0 . 01]。1 2 週での F E N O の変化のパーセントは、レブリキズマブで治療された被験体で - 24 . 2 %、対するプラセボ処置被験体で 17 . 5 % (n = 44) であった [p < 0 . 01]。1 2 週での治療群間の相違は統計的に有意であった。図 10 を参照。事後解析において、高いベースラインの F E N O はまた、F E V 1 を改善することにおける有効性と、プラセボと比較して重篤な増悪
 50

率が低いことと関連していた。しかし、ベースラインの FE_{NO} は、ペリオスチンよりも、導入期間中に患者間のより大きなばらつきを示した（19.8%対5.0%）ことに我々は気がついた。

【0287】

我々はまた、ペリオスチンが低くかつ FE_{NO} が高い患者が、ペリオスチンが高い患者と同程度にレプリキズマブ治療から恩恵を受けるかどうかを決定するためにデータを調べた。我々は、ベースラインにて、 FE_{NO} と血清ペリオスチンの間の中等度の相関を観察した（ $r_s = 0.31$, $P < 0.001$; $N = 210$ マッチングデータを含む）。中央値カットオフを使用して、ペリオスチンと FE_{NO} の状態は完全ではないが一般的に重複した（表11）。表11に示すデータにおいて、ペリオスチンカットオフは、下記に記載の $E4$ アッセイを使用して 25 ng/mL で、 FE_{NO} のカットオフは当該技術分野で既知の標準的方法を使用して測定される場合 21 ppb であった。ペリオスチンと FE_{NO} の複合状態に基づく FEV_1 の評価は、12週でのレプリキズマブのプラセボで補正された効果は、ペリオスチンと FE_{NO} の両方のレベルが高レベルの群で最高であった（表12）。対照的に、ペリオスチンが低く/ FE_{NO} が高い群における観察された治療効果はわずかであった（2.3%, $P = 0.73$ ）。従って、 FE_{NO} はレプリキズマブからの恩恵を受けるペリオスチンが低い患者のサブセットを同定するようには見えない。レプリキズマブ治療に対する応答についてのペリオスチンと FE_{NO} の相対的予測値は更なる試験に値する。

表11. ベースラインペリオスチンと FE_{NO} 状態による患者の分布

		FE_{NO} 状態	
		低	高
ペリオスチン状態	低	62	39
	高	42	67

$p=0.0004$ フィッシャーの直接確率検定 (片側)による

表12. ITT患者における12週でのベースライン FEV_1 からの相対的変化の平均。プロトコルに定められたエントリー基準を満たす全患者に対する FE_{NO} 又はペリオスチンのベースラインレベルの中央値が表に記載のサブセットを定義するために使用された（高＝中央値またはそれ以上；低＝中央値未満）。

	全被験体 (n=218)	ペリオスチン-低 FE _{NO} -低 (n=62)	ペリオスチン-低 FE _{NO} -高 (n=39)	ペリオスチン-高 FE _{NO} -低 (n=42)	ペリオスチン-高 FE _{NO} -高 (n=67)
レプリキズマブ	9.8%	2.6%	9.1%	8.6%	16.7%
プラセボ	4.3%	1.5%	6.8%	6.3%	5.4%
違い	5.5%	1.1%	2.3%	2.3%	11.2%
(95% CI)	(0.8%, 10.2%)	(-4.5%, 6.6%)	(-10.7%, 15.2%)	(-9.3%, 13.9%)	(1.9%, 20.5%)

【0288】

レプリキズマブの薬物動態学的特性は、以前の研究で見られていたものと同様であった。被験者の体重はレプリキズマブの薬物動態に影響を与えた。

【 0 2 8 9 】

幾つかのマーカーが、血清ペリオスチンレベルに加えて又は代替として、上記の治療上の利益の観点から予測値を提供する能力について評価した。それらのマーカーはC E A、I g E の、T A R C (C C L 1 7) 及びM C P - 4 (C C L 1 3) を含んでいた。

【 0 2 9 0 】

加えて、我々はペリオスチンが高い喘息患者の過剰な血清ペリオスチンは、I L - 1 3 の作用によるという仮説を立てた。従って、我々は、制御されない喘息を持ち、プラセボ及びレブリキズマブで治療された患者の両方において、全身ペリオスチンレベルに対するI L - 1 3 の相対的な寄与を評価することを求めた。これらの実験のために、我々は実施例 7 に記載されているE l e c s y s (登録商標) ペリオスチンアッセイを用いて血清ペリオスチンを測定した。図 1 8 と 1 9 に示されるように、ベースラインでペリオスチンが低い患者の大部分 (> 9 0 %) が試験の両方の群で低いままであるが (図 1 8 A)、プラセボで処置されたペリオスチンが高い患者の 7 2 % 及びレブリキズマブで治療された 4 0 % が 1 2 週でペリオスチンが高いままである (図 1 8 B) ことを見いだした。I C S にも関わらず制御されない喘息を持つ成人において、ペリオスチンが高い患者は、プラセボに比べてレブリキズマブによる治療で血清ペリオスチンのレベルに有意な減少を示すが、ペリオスチンが低い患者はレブリキズマブに対する応答に有意な減少を示さないと結論づけた。これらの知見は、制御されない喘息患者において、過剰の血清ペリオスチンは、I L - 1 3 の活性によるものであり、I L - 1 3 によるレブリキズマブの障害は血清ペリオスチンレベルを減少させることを示唆している。

【 0 2 9 1 】

レブリキズマブで治療された 4 人の患者は、重篤な有害事象 (S A E) (喘息増悪 [n = 2]、市中肺炎、及び車の事故に関連して外傷性気胸) を経験した。6 人のプラセボ患者は、7 つの S A E (喘息増悪 [n = 2]、頭痛、硬膜外後ろの脳脊髄液漏出、带状疱疹、带状疱疹、急性化膿性髄膜炎、及び鎮痛薬物中毒) を経験した。この試験の安全性の結果については、図 1 1 を参照。

【 0 2 9 2 】

有害事象 (A E) の全体的な頻度は、重篤な有害事象の頻度 (レブリキズマブ、3 . 8 % ; プラセボ、5 . 4 %) と同様に、両治療群で類似していた (レブリキズマブ、7 4 . 5 % ; プラセボ、7 8 . 6 %)。筋骨格系の事象はレブリキズマブでより一般的であった (レブリキズマブ、1 3 . 2 % ; プラセボ、5 . 4 % ; P = 0 . 0 4 5) (表 9)。1 2 人のプラセボ処置患者と 1 2 人のレブリキズマブ治療患者を含む 2 5 人の患者 (1 1 . 5 %) は早期に試験を中止した。

表 9

筋骨格系又は結合組織の障害の種類	少なくとも一つの事象で報告した参加者数(%)		
	プラセボ (n=112)	レブリキズマブ (n=106)	全て (n=218)
関節痛	2 (1.8)	3 (2.8)	5 (2.3)
背部痛	2 (1.8)	1 (0.9)	3 (1.4)
四肢の痛み	1 (0.9)	2 (1.9)	3 (1.4)
筋肉痛	0	2 (1.9)	2 (0.9)
首の痛み	2 (1.8)	0	2 (0.9)
関節炎	0	1 (0.9)	1 (0.5)
骨の発達異常	1 (0.9)	0	1 (0.5)
滑液包炎	0	1 (0.9)	1 (0.5)
肋軟骨炎	0	1 (0.9)	1 (0.5)
外骨腫	0	1 (0.9)	1 (0.5)
側腹痛	0	1 (0.9)	1 (0.5)
筋骨格系胸痛	0	1 (0.9)	1 (0.5)
筋骨格痛	0	1 (0.9)	1 (0.5)
顎の痛み	1 (0.9)	0	1 (0.5)
腱炎	0	1 (0.9)	1 (0.5)
筋骨格系及び結合組織の疾患(総計)	6 (5.4)	14 (13.2)	20 (9.2)

【 0 2 9 3 】

実施例 3 喘息患者の試験 I I (用量範囲試験)

コルチコステロイドを吸入していない喘息患者における有効性、安全性及び耐容性の観点から、レブリキズマブの用量と応答との間の関係を評価するために、無作為化され、二重盲検の、プラセボで制御された、4つの群で用量範囲試験が行われた。この試験の模式的デザインについては、図 1 2 を参照。選択された患者は少なくとも 1 5 % の気管支拡張薬応答を有していた。気管支拡張薬前の F E V 1 6 0 % で、8 5 % が導入期間中に示される疾患の安定性について予測された。以前に I C S で管理される試験のための選択された患者は、最初の試験の来院 (来院 1) の前の最小 3 0 日間は I C S を受けていることができなかった。試験では休薬期間は無かった；患者は試験に対して適格となる目的だけのためにコルチコステロイドを止めるべきではなかった。

【 0 2 9 4 】

来院 1 での第 1 試験に関連した手順は約 2 週間の導入期間で開始した。導入期間の最中

(来院1～3)、喘息のコントロール(喘息コントロールアンケート[ACQ]スコアにより測定)及び肺機能を評価した。患者の喘息は、さらに皮膚プリックテストおよびIgEおよび末梢血好酸球を含む関連バイオマーカーにより更に特徴付けられた。IgEおよび好酸球のレベルは、IL-13シグニチャーサロゲートに基づいて患者を分類するために使用された。導入期間の最後に、レプリキズマブの3つの用量(500mg, 250mg又は125mg)の一もしくはプラセボをSC投与により受けるために適格な患者が無作為に割り当てられた(1:1:1:1)。試験薬は、12週間の治療期間中に4回投与した。試験薬の最終投与後、患者はさらに8週間の経過観察期間モニターした。従って、ほとんどの患者は来院1の後合計約22週間試験に参加し、その間断続的にPKサンプルを得た。集中的なPKサンプリングは、試験中及び経過観察期間中に得られた追加のPKサンプル並びに最後の試験薬投与後16週間の追加のPKのサンプルを用いて、70人の被験体が集中的なPKサンプリングを完了するまで行われた。

10

【0295】

従って、集中的なPKサンプリング群の患者の試験への参加は、来院1の後に約26週間続いた。安全性は試験を通して評価され、治療失敗についての事前に特定された閾値は、もし患者が臨床的に著しい増悪を有した場合に、患者が試験薬を止めて標準的治療を再開できるように定められた。

【0296】

初期所見

有効性：全てのレプリキズマブで治療された被検体におけるベースラインから12週までのプラセボで補正されたFEV1の相対的变化は4.1%(95%CI-0.4, 8.6%; $p=0.075$)であった。12週間の治療期間を通して、レプリキズマブで治療された全患者における治療の失敗の見積もられたリスクは、プラセボで処置された患者よりも75%低かった(HR 0.25, 95%CI: 0.11, 0.78; $p=0.001$)。これらの結果は、臨床的及び統計的に有意とみなした。用量応答の証拠はなかった(図16参照)。

20

【0297】

安全性：レプリキズマブで治療及びプラセボで治療を受けた患者の間には、臨床的に重大な不均衡は注射部位反応(レプリキズマブ対プラセボは23%対6%)を除いて無かった。

30

【0298】

実施例4 ペリオスチンアッセイ(E4アッセイ)

非常に敏感であるペリオスチン捕捉ELISAアッセイ(感度1.88ng/ml)を以下に説明する。抗体は、nMの親和性でペリオスチンアイソフォーム1-4を認識する(配列番号:5-8)。

【0299】

80uLの精製モノクローナル抗体、25D4(ハイブリドーマ又はCHO細胞株から発現されたコート抗体、配列番号1及び2)をリン酸緩衝生理食塩水で2ug/mlの最終濃度まで希釈する。マイクロタイタープレートにウェルあたりコート抗体100μLで2~8で一晚覆いコーティングする。プレートを400μLの洗浄バッファー(PBS/0.05%のTween(ポリソルベート20))により室温で洗浄バッファーのサイクルあたりウェル毎に3回洗浄する。ウェルあたりの200μLのブロッキングバッファーをプレートに添加する。覆われたプレートを室温で1.5時間振とうしながらインキュベートする。

40

【0300】

rhuPeriostinの標準曲線を用意する(rhuPeriostinの標準ストック=アッセイ希釈液(PBS/0.5%ウシ血清アルブミン(BSA)/0.05%ポリソルベート20/0.05%ProClin300, pH7.4)中でのrhuPeriostinアイソフォーム1, R&D systems #3548-F2, 5.25ng/ml。標準曲線希釈液=PBS/0.5%BSA/0.05%ポリソルベート2

50

0、0.05% ProClin 300、pH 7.4)。例えば

標準濃度 (pg/mL)	手順
600	80 μ L rhuPeriostin, アッセイ希釈液中 5.25ng/ml + 620 μ L 標準曲線希釈液
300	300 μ L 600 pg/mL rhuPeriostin + 300 μ L 標準曲線希釈液
150	300 μ L 300 pg/mL rhuPeriostin + 300 μ L 標準曲線希釈液
75	300 μ L 150 pg/mL rhuPeriostin + 300 μ L 標準曲線希釈液
37.5	300 μ L 75 pg/mL rhuPeriostin + 300 μ L 標準曲線希釈液
18.75	300 μ L 37.5 pg/mL rhuPeriostin + 300 μ L 標準曲線希釈液
9.38	300 μ L 18.75 pg/mL rhuPeriostin + 300 μ L 標準曲線希釈液
0	標準曲線希釈液

10

【0301】

20

コントロールとサンプルを調製する。3つのコントロール：スパイクソースコントロール (Spike Source Control) (rhuPeriostinの完全長, アイソフォーム1, R&D Systems #3548-F2), 正常マトリックスコントロール (Normal Matrix Control) (正常ヒト血清プール, BioReclamation, Inc.), 高マトリックスコントロール (High Matrix Control) (正常ヒト血清プール + 100 ng/ml rhuPeriostinスパイク)。

【0302】

例えば

10 μ L コントロール (又はサンプル) 血清 + 1.99 mL サンプル/コントロール希釈液 = 1:200

30

300 μ L 1:200 希釈 + 300 μ L サンプル/コントロール 希釈液 = 1:400

300 μ L 1:400 希釈 + 300 μ L サンプル/コントロール 希釈液 = 1:800

300 μ L 1:800 希釈 + 300 μ L サンプル/コントロール 希釈液 = 1:1600

各希釈は1回実行される。

【0303】

40

正常ヒト血清プールを使用して、マトリックスコントロールを構築する。正常コントロールとしてスパイクされていないプールされたヒト血清を使用する。上述のようにプールした血清に100 ng/mL rhuPOSTNをスパイクすることにより高コントロールを生成する。プレート毎の各コントロールに対する4つの希釈の平均値、標準偏差 (SD)、および分散の%係数 (CV、パーセントで表す) を計算する。CVは、複製の平均についての反復測定 of 分散の大きさを定量化している。 $\%CV = 100 * (\text{標準偏差} / \text{平均})$ 。プレート間の精度を決定するために、全てのプレートに渡るこれらの平均濃度を評価する。このコントロール表は、その後、各コントロールの平均濃度の $\pm 20\%$ まで許容分散を設定して、正常及び高コントロールの合格/不合格の基準を定めるために使用される。

【0304】

50

洗浄バッファー（PBS / 0.05%ポリソルベート20）のサイクルあたりウェルあたり400 μ Lでプレートを3回洗浄する。希釈した標準液（ウェルを複製）、コントロール（すべての4つの希釈液）、およびサンプル（すべての4つの希釈液）をプレートに、ウェルあたり100 μ L添加する。カバーされたプレートは室温で2時間振とうしながら、室温でインキュベートする。80 μ Lの検出MAbストックI（ビオチン化マウス抗ヒトペリオスチン、モノクローナル抗体23B9、アッセイ希釈液中で7.5 μ g/mL）をアッセイ希釈液 = 50 ng/mLで12 mLに希釈する。洗浄バッファーのサイクルあたりウェルあたり400 μ Lでプレートを4回洗浄する。希釈した検出モノクローナル抗体をプレートにウェルあたり100 μ L添加する。覆われたプレートを室温で1時間振とうしながらインキュベートする。アッセイ希釈液中で1:80に希釈された80 μ LのストレプトアビジンHRPストックI（AMDEXストレプトアビジン-HRP、GEヘルスケア#RPN4401、約1 mg/mL）をアッセイ希釈液 = 1:12 kで12 mLへ希釈する。洗浄バッファーのサイクルあたりウェルあたり400 μ Lでプレートを4回洗浄する。希釈したストレプトアビジンHRPをプレートにウェルあたり100 μ L添加する。覆われたプレートを室温で45分間振とうしながらインキュベートする。キルケガードベリー（Kirkgaard and Perry）（KPL）2ステップTMB試薬を室温にする；混ぜない。洗浄バッファーのサイクルあたりウェルあたり400 μ Lでプレートを4回洗浄する。KPLのTMB基質コンポーネントの等量を混ぜ、プレートに、ウェルあたり100 μ L追加する。振とうしながら室温で20分間プレートをインキュベートする。1 Mリン酸をプレートにウェルあたり100 μ L添加する。450 nmの読み取り波長と650 nmの参照波長を使用してプレートを読む。このアッセイまたは上記アッセイと同様のアッセイを、実施例3に記載の臨床試験に用いた。

【0305】

アイソフォーム1（総ペリオスチンではない）に対する抗体を用いたペリオスチンアッセイが、類似の抗体捕捉フォーマットを使用して別の喘息患者のサンプルで試験された。予備的な結果では、ペリオスチンのアイソフォーム1は総ペリオスチンとしてTH2炎症に対するマーカーのように堅牢でないことを示している。

【0306】

実施例5 喘息患者の観察研究

我々は以前、健常者及び喘息のボランティアにおいて研究目的のために実施された気管支鏡検査中に収集され、カリフォルニア大学サンフランシスコ校（UCSF）で気道組織バンクに保存されている生物学的サンプルの我々の研究に基づいて特定のバイオマーカーの知見を報告した。例えば、国際公開第2009/124090号を参照。中等度から重度の喘息の大きなコホートにおけるこれらの知見を確かめて、複数の臨床期間にわたってそれらを一般化するために、高用量のICS（>1000 μ g/日フルチカゾンDPI又は同等物）の制御されない中等度から重度の喘息患者（ACQ > 1.50及びFEV1が40 - 80%の間）の多施設の3来院観察研究（「BOBCAT」）を誘発喀痰、気管支内生検、及び末梢血を集めて実施した。我々は59の被験体から一致した血液及び気道のデータを得た（図13の研究概要を参照）。試験の詳細は以下に提供される。

【0307】

BOBCAT（コルチコステロイド抵抗性喘息におけるバイオマーカーの探索的気管支鏡調査研究）は、米国、カナダ、英国で行われた多施設研究であり、約60人の中等度から重度の喘息患者において一致した気道と血液サンプルを収集した。選択基準は、（40 - 80%の間に予測されるFEV1、並びに過去5年以内に短時間作用型の気管支拡張薬による気道閉塞の可逆性が>12%である証拠、又はメタコリン感受性（PC20）が<8 mg/mLにより確認され）（前年に少なくとも2回の増悪又は喘息コントロールアンケート（AQ C）（Juniper, E.F., et al., Respir Med 100, 616-621 (2006)におけるスコアが>1.50により定義されるように）制御されないが、一方長時間作用型 β アゴニストを含むか又は含まない高用量のICS（1日あたり>1000 μ gのフルチカゾンまたは同等物）の安定的な投薬レジメン（>6週間）を受けている中等度から重度の喘息

の診断を必要とした。許容される併用薬はまた、ロイコトリエン受容体アンタゴニストと経口コルチコステロイドが含まれていた。BOBCAT試験スキームは、図13に示されている。

FE_NO、気管支鏡検査、BAL、誘発喀痰、及び好酸球数のための免疫組織化学的検査を以前に既述されるように行った(Woodruff, P.G., et al., Am J Respir Crit Care Med 180, 388-395 (2009); Boushey, H.A., et al., N Engl J Med 352, 1519-1528 (2005); Brightling, C.E., et al., Thorax 58, 528-532 (2003); Lemiere, et al., J Allergy Clin Immunol 118, 1033-1039 (2006))。全ての研究プロトコルが関連する治験審査委員会によって承認され、インフォームドコンセントは、登録前に全ての被験体から得られた。患者の人口統計および肺機能データを以下の表5に要約する。

10

表5. BOBCAT 人口統計及び臨床データ。

	UCSF 健常者 対照	UCSF コホート1 軽度-中等度 の喘息、 ICS 無し	UCSF コホート2 中等度の 喘息、 ICS 有り	UCSF コホート3 中等度の 喘息、 ICS 有り	レスター 健常者 対照	レスター 中等度-重 度の喘息、 ICS 有り	BOBCAT 中等度-重度 の喘息、 ICS 有り
被験体数	13	15	24	23	10	27	67
年齢	35 ± 11	35 ± 14	36 ± 11	43 ± 14	33 ± 18	36 ± 11	46 ± 12
性(男:女)	7:6	8:7	7:17	10:13	4:6	18:9	32:35
FEV1 (予測%)	99 ± 15	85 ± 12	84 ± 14	75 ± 19	99 ± 12	79 ± 18	60 ± 11
ACQ スコア	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	2.7 ± 0.8
日々の ICS 用量 (µg FPI 等価物*)	0	0	250	N.D.	0	500 (50- 1500)**	≥ 1000***

N.D., 未決定

値は平均±SD又は中央値(範囲)として示される。

* FPI, フルチカゾンジプロピオネート. フルチカゾン: ブデソニドの当量比=1:1.6

** これらのうち、6人の被験体はまた全身性コルチコステロイドを受けており、4~20mgのプレドニゾロン等価物/日を受けていた。

*** これらのうち、7人の被験体はまた全身性コルチコステロイドを受けており、5~40mgのプレドニゾロン等価物/日を受けていた。

20

30

【0308】

我々は、以前の試験に一致した予め指定されたカットオフ値として喀痰好酸球に対して3%(Green, R.H., et al., Lancet 360, 1715-1721 (2002); Haldar, P., et al., N Engl J Med 360, 973-984 (2009))及び全生検面積に対して22好酸球/mm²(Miranda, C., A. et al., J Allergy Clin Immunol 113, 101-108 (2004); Silkoff, P.E., et al., J Allergy Clin Immunol 116, 1249-1255 (2005))を使用した。血清ペリオスチンレベルは、最大5週までに及ぶ3回の来院にわたり、個別の被検体内で非常に安定であった(データ非表示)。平均のペリオスチンレベルは、痰又は組織好酸球の測定によって定められるように「好酸球が低い」被験体に比べて「好酸球が高い」被検体で有意に高かった(データ非表示)。喀痰及び組織好酸球の何れでもないについて0、どちらかについて1又は両方について2の複合スコアにより層別される被検体は、好酸球のスコアの増加に伴い血清ペリオスチンが増加する非常に有意な傾向を示していた(データ非表示)。更に、全コホートにわたる非好酸球性喘息患者は上述されたE4アッセイを使用して血清ペリオスチンレベルが一貫して25ng/ml未満であった。カットオフとして25ng/ml血清ペリオスチンを使用して、BOBCATにおける「好酸球が低い」及び「好酸球が高い」被検体は、93%の陽性予測値により効果的に区別された(表6)。組織の好中球数は組織の好酸球レベル及び血清ペリオスチンレベルと正に相関していた(データ非表示)。ま

40

50

とめると、これらのデータは血清ペリオスチンが、ステロイド治療にもかかわらず、中等度から重度の喘息患者における持続的な気道の好酸球増加症の全身バイオマーカーであることを示している。

表6. BOBCATにおける、血清ペリオスチン (N=57) 及びFE_{NO} (N=56) のカットオフ値対複合気道好酸球状態についての分割表

試験		血清ペリオスチン ≥ 25 ng/ml		FE _{NO} ≥ 35 ppb	
気道表現型		好酸球低	好酸球高	好酸球低	好酸球高
試験結果	-	11	19	12	26
	+	2	25	1	17
感受性		0.57		0.40	
特異性		0.85		0.92	
PPV		0.93		0.94	
NPV		0.37		0.32	
p-値		0.011		0.042	

好酸球低：喀痰好酸球<3% 及び生検の好酸球<22/mm²

好酸球高：喀痰好酸球>3% 又は生検の好酸球>22/mm²

PPV, 陽性的中度

NPV, 陰性的中度

p-値はフィッシャーの直接確率検定である (両側)

【0309】

血清ペリオスチンの喘息のバイオマーカーとしての分画呼気一酸化窒素 (FE_{NO})、末梢血好酸球、血清IgE値、及び血清YKL-40との比較

近年、喘息の重症度および気道炎症の他の非侵襲的なバイオマーカーが記載されている。特に関心のある4つのマーカーは、分画呼気一酸化窒素 (FE_{NO})、炎症を起こした気管支粘膜における酵素のiNOS (誘導型一酸化窒素合成酵素) の作用によって生成された呼気ガス(Pavord, I.D. et al., J Asthma 45, 523-531 (2008)); 末梢血好酸球、血清IgE値、及びYKL-40、末梢血中で検出キチナーゼ様タンパク質(Chupp, G.L., et al., N Engl J Med 357, 2016-2027 (2007))である。我々は我々の喘息コホートにおけるこれらのバイオマーカーを測定し、気道好酸球増加症による値と他のバイオマーカーによる値を比較した。

【0310】

BOBCATにおいて、FE_{NO}、IgE、又は血中好酸球の何れもがACQ、FEV₁、年齢、性別、体格指数(BMI)と有意には相関していなかった。BOBCATにおいて、FE_{NO}はより高いレベルでより変化した、血清ペリオスチンレベルと同様に、FE_{NO}レベルは、一般に複数の来院にわたって一貫しており(データ非表示)、一方血清好酸球は遙かに多く変化した(来院1と3の間の血清ペリオスチンについてのr²=0.65に比べて、来院1と3の間の血中好酸球についてr²=0.18、非表示)。図14A~Fに示すように、来院1、2、及び3での血清ペリオスチンレベルはお互いにかつBOBCATにおける全来院にわたるペリオスチンレベルの平均値と非常に相関していた。

【0311】

表6に示されるように、喀痰と生検の好酸球の状態を層別すると、FE_{NO}レベルは、非好酸球性喘息患者に比べて好酸球性喘息患者で有意に高かった。しかし、FE_{NO}及びペリオスチンの両方とも高度の特異性を有し、「好酸球が低い」患者に対して一貫して低い値を示しているが、FE_{NO}は組織好酸球増加症の少数の被検体を検出し、用いた各測定基準によれば、「好酸球が低い」被検体及び「好酸球が高い」被検体の間で大きな重複を示していた(図15A~D)。我々は、年齢、性別、BMI、血中好酸球、血清IgE、FE_{NO}、及び血清ペリオスチンを取り入れたロジスティック回帰モデルをフィットさ

せ（表 7）、ペリオスチンが、複合気道好酸球状態の最も有意な単一の予測因子であることがわかった（ $P = 0.007$ ）。

表 7. BOBCAT 研究におけるバイオマーカー対好酸球状態のロジスティック回帰モデル (N=59).

	推定	標準誤差	z-スコア	p-値
年齢	-0.0396	0.039	-1.015	0.31
性 (男)	-0.2031	0.889	-0.229	0.82
肥満度指数	-0.1004	0.066	-1.527	0.13
血中好酸球	1.7482	3.621	0.483	0.63
血清 IgE	-0.0002	0.001	-0.100	0.92
FE _{NO}	0.0476	0.038	1.238	0.22
血清ペリオスチン	0.2491	0.092	2.719	0.007

10

【 0 3 1 2 】

前述したように 35 ppb のカットオフ値を使用して (Dweik, R.A., et al., Am J Respir Crit Care Med 181, 1033-1041 (2010))、FE_{NO} は、25 ng/ml のペリオスチンカットオフに匹敵する特異性であるがより低い感受性を持つ「好酸球が低い」喘息患者及び「好酸球が高い」喘息患者を区別した（表 6）。末梢血好酸球は、「好酸球が高い」喘息患者で高い傾向を示したが、統計的有意性には到達しなかった（データ非表示）。継続的に各マーカーの相対的なパフォーマンスを評価するために、我々は、FE_{NO}、血中好酸球、及び血清 IgE 対複合気道好酸球の状態の受信者動作特性（ROC）分析を行い、ペリオスチンは FE_{NO} に対して好ましく機能したが（AUCS はそれぞれ 0.84 と 0.79）、血中好酸球と血清 IgE は実質的にあまり良く機能しなかった（図 15E）。

20

【 0 3 1 3 】

YKL-40 は、任意のコホートにおいて、ペリオスチンと、又は気道又は末梢好酸球増加症の何れの測定とも有意な相関を示さなかった（データ非表示）。呼気と血中バイオマーカーレベルのこれらの調査結果と一致して、我々は、ペリオスチン及び NOS2（iNOS をコードする遺伝子）の気管支上皮遺伝子発現レベルが、お互いに、かつ IL-13 及び IL-5 の気管支粘膜の発現レベルと有意に相関するが、CHI3L1（YKL-40 をコードする遺伝子）の発現は、ペリオスチン、IL-13、又は IL-5 と相関していないことを見いだした。まとめると、これらのデータは、喘息患者において重症度とステロイド治療の広範囲にわたって、末梢血ペリオスチンが、FE_{NO}、血中好酸球、血清 IgE、又は YKL-40 よりも気道 Th2 / 好酸球性炎症のより信頼性の高い指標であることを示している。

30

表 8. バイオマーカーおよび Th2 サイトカインをコードする遺伝子の発現レベルと
間の相関行列

	POSTN_210809_s_at	NOS2_210037_s_at	CHI3L1_209395_at
IL-13	0.42 (0.014)	0.37 (0.029)	-0.23 (0.198)
IL-5	0.42 (0.013)	0.34 (0.048)	-0.13 (0.450)
POSTN_210809_s_at	-	0.72 (<0.001)	-0.24 (0.136)
NOS2_210037_s_at	-	-	-0.34 (0.027)

スピアマンの順位相関として与えられた値 (p 値)

IL-13 および IL-5 の発現レベルは、定量 PCR により気管支生検から決定

ペリオスチン(POSTN_210809_s_at), NOS2 (NOS2_210037_s_at), 及び CHI3L1 (CHI3L1_209395_at),

YKL-40 をコードする遺伝子, Truyen, E., L. et al. *Thorax* **61**, 202-208 (2006) で説明した気管支上皮マイ
クロアレイから決定.

10

【 0 3 1 4 】

議論

喘息は伝統的 T h 2 誘導性炎症によって媒介されるアレルギー性疾患とみなされているが
(1)、病態生理学的な不均一性の新たな証拠がある (3 - 8)。軽度から中等度のステ
ロイド治療を受けていない喘息患者においては、約半分の患者のみがその気道に T H 2 炎
症の証拠があることを最近示した。「 T h 2 が高い」被検体は、アレルギー、好酸球性気
道炎症、気管支線維症のマーカーの上昇、及び I C S に対する感受性により識別される。
T h 2 サイトカインのアンタゴニストとして、I L - 4、I L - 5 及び I L - 1 3 が喘息
治療薬として活発に開発中であり (3 5 - 3 7)、これらの標的とされた治療法から最も
恩恵を受ける喘息患者を同定することが重要となるであろう。気管支鏡検査、誘発喀痰サ
ンプリング、呼気ガス測定は、気道における炎症経路の直接的な特性評価を可能とするが
、これらのモダリティは、時間がかかり、高価で、侵襲的であり得、及び / 又はプライマ
リケアの環境で広く利用可能ではない。更に、アッセイ手順は、気道サンプルを解析する
ための比較的少数の装備されたセンターに横断して標準化されておらず、多施設臨床試験
における実装を困難にしている。従って、標的とされた治療法に対して、気道に T h 2 駆
動型好酸球性炎症の根拠を持つ患者を選択するために、アクセス可能なアッセイプラット
フォーム上で広く利用可能な T h 2 駆動型好酸球性気道炎症の非侵襲的なバイオマーカー
を開発することは有益である。このニーズに対応するために、我々は T h 2 駆動型好酸球
性気道炎症の臨床的に有用な周辺マーカーの発見と特徴付けを可能にするために、喘息気
道サンプル中の遺伝子発現プロファイリングを使用している。

20

30

【 0 3 1 5 】

ペリオスチンは、線維症に関連付けられている分泌マトリクス細胞のタンパク質であり
、その発現は、培養気管支上皮細胞 (2 1、3 8) 及び気管支線維芽細胞 (3 9) におけ
る組換え I L - 4、I L - 1 3 によって上方制御される。これは、喘息のマウスモデル (4 0)、
喘息のアカゲザルモデル (未発表データ)、及びヒト喘息患者の気管支上皮細胞 (2 1) と
その上皮気管支層 (3 9) においてインビボで高レベルで発現される。ヒト
喘息患者において、ペリオスチン発現レベルは、上皮線維症の指標 (2 3) である網
状基底膜の厚さに相関する。ペリオスチンはまた、アスピリン感受性喘息 (4 1、4 2)
に関連する鼻ポリープ、及び好酸球性食道炎患者の食道上皮内 (4 3) で I L - 1 3 依存
的に過剰発現され、したがって、T h 2 駆動型疾患過程 (4 4) において好酸球の組織
浸潤の役割を果たすことができる。ペリオスチン発現の上昇はまた、上皮由来の癌の一部
の型で観察されており (4 5 - 4 9)、かつ可溶性ペリオスチンのレベルの上昇は、一部
癌患者の血清中で報告されている (2 4 - 2 6、4 5、4 6)。喘息又はその他の条件で
ペリオスチンの局所的及び全身での発現は I L - 1 3 の直接または間接的な作用が原因で
あるかどうかはまだ不明であり、I L - 1 3 の治療遮断の前後でペリオスチンの発現を比
較することによる評価により最良に対処され则认为られる。

40

50

【0316】

ペリオスチンは、非喘息患者の末梢血中でかなりの全身濃度で検出されるが、ICS治療を受けていない喘息患者のサブセットの末梢血中において上昇している。気管支上皮におけるその発現は、ICS治療によって抑制され(13、21)、その全身レベルは、ICSを受けていない喘息患者に比較して相対的に良好に制御される中等度の喘息患者において、かなり不均一性があるものの一般的に低くなっている。ICSは主に気道内で局所的にその効果を発揮し、そして全身のペリオスチンレベルが(我々が以前、例えば国際特許出願公開第2009/124090号に示したように)ICSの治療を受けた後、喘息患者では抑制されていることを考慮すると、全身ペリオスチンの実質的画分は喘息患者における気道に由来するので、全身ペリオスチンのレベルの10~20%の違いは、気道炎症に関して臨床的に意味があると結論され得る。

10

【0317】

FE_NOは気道炎症に関連付けられており、様々な重症度の喘息患者におけるICSの応答性を予測している(11、34)。しかし、FE_NOレベルは重度のステロイド依存性喘息における気道好酸球増加症を信頼性良く反映しておらず、FE_NOに関して喀痰と粘膜好酸球定量化の間に矛盾がある(29、50)。喀痰好酸球数を抑制するためのICS治療の用量設定は、重度の喘息増悪率を減少させるが(12)、FE_NOレベルに対するICS治療の用量設定は減少させない(51)。血清YKL-40は、喘息性の気道炎症のマーカーとして説明されているが、しかし、そのレベルは、IGEの又は好酸球などのTh2型炎症の指標と相関していなかった(33)。従って、本研究で我々は、CHI3L1でなくペリオスチンとNOS2の気管支上皮遺伝子発現が、気管支のIL-13及びIL-5の発現と相関していることを見いだした(表8)。我々は、気管支又は全身の好酸球増加症と血清ペリオスチンレベル間に比較的強い正の相関を観察したが、好酸球増加症とFE_NO間の相関は弱く、我々は試験された喘息患者において血清YKL-40と好酸球性炎症との間の相関関係を観察することができなかった。喀痰及び血中好酸球数及びFE_NOは、アレルゲン曝露、増悪、及びステロイド治療に応じて有意な一時的変動にさらされる(50、52、53)。循環するペリオスチンの半減期は現在不明であるが、ペリオスチンが血中で比較的長い寿命である場合、全身ペリオスチンレベルは、長期間にわたって総気道Th2型炎症の統合を反映し得ることが可能である。この可能性と一致して、我々は、最大5週間の経過にわたる3つの測定において血清ペリオスチンで比較的少ない被検体内の変動性を観察した。更なる研究が、血清ペリオスチン、気道好酸球増加症、FE_NO、長時間にわたるTh2型炎症の他のバイオマーカー候補における長期的な被検体内の変動性を比較する評価に向けられるべきである。

20

30

【0318】

対症療法(例えば、β-アゴニスト)で制御されない気管支喘息の標準治療は吸入コルチコステロイド(ICS)である。気道のIL-13のレベルが上昇した軽度から中等度の喘息患者及び食道組織でIL-13のレベルが上昇した好酸球性食道炎の患者において(43)、ICS治療は、影響を受けた組織におけるIL-13のレベルとIL-13誘導性遺伝子を実質的に減らす。1週間のICS治療後の喘息患者の気道上皮において及び培養された気管支上皮細胞において、我々は、コルチコステロイド治療は、Th2シグニチャー遺伝子のIL-13誘導性発現レベルを実質的に減らすことを示した(13、21)。この下方制御は、IL-13のレベルのICS媒介性の減少、標的遺伝子発現のICS媒介性の減少、又はその2つの組み合わせの結果である可能性がある。ICSの治療に難治性の重度喘息患者においては、軽度のICSナীব喘息患者で見られるものと類似の被験体の画分(約40%)が、検出可能な喀痰IL-13のレベルを有することが見いだされ、それは我々が記述した気管支上皮Th2シグニチャーを持つ患者の割合に匹敵する(13)。同様の観察が、IL-4およびIL-5を発現するBAL中の細胞を持つステロイド難治性喘息患者における持続性、及び気管支生検および喀痰中の好酸球性炎症において報告されている。これらの観察は、Th2駆動型好酸球性炎症は中等度の喘息患者におけるICS治療により抑制されるものの、ステロイド治療で不完全に制御される重篤

40

50

な喘息患者のサブセットにおいて再び出現することを示唆している。追加の合併症は、所定のICS療法に対する不完全なアドヒアランスによってもたらされ、それは一部の重篤な喘息患者にいける制御不良の根底にある。したがって、更なる研究が、ICS治療状況、ICS用量、本質的なステロイド感受性、及びICS治療へのアドヒアランスの関連で血液ペリオスチンレベルを評価することに向けられるべきである。

【0319】

現在、IL-13及び、本明細書に記載されるものを含め、喘息患者においてTh2炎症を駆動する関連因子(35~37)を標的とする数多くの生物学的治療薬が臨床開発において存在する。これらの治療は関連する分子病理学を持つ患者へ標的とされ、そうでなければ重要な治療効果が過小評価されうことは重要である；抗IL5治療はこの点を強調する(14, 15, 55)。我々の知見は、ステロイドナীবの軽度から中等度の喘息患者の約半分が、その気道におけるTh2経路の活性を示す場合があり、かつ中等度から重度の、ステロイド難治性喘息患者の類似の割合がこの経路の活性を示すことを示唆している。従って、本明細書に記載されるように、気道におけるTh2駆動性炎症を有する可能性が高い喘息患者を特定するバイオマーカーは、これらの実験的標的治療に反応する可能性が最も高い患者の識別と選択に役立つ場合がある。

【0320】

参考文献(実施例5)

1. Galli, S.J., M. Tsai and A.M. Piliponsky, The development of allergic inflammation. *Nature* 454, 445-454 (2008)
2. Haldar, P. and I.D. Pavord, Noneosinophilic asthma: a distinct clinical and pathologic phenotype. *J Allergy Clin Immunol* 119, 1043-1052; quiz 1053-1044 (2007)
3. Anderson, G.P., Endotyping asthma: new insights into key pathogenic mechanisms in a complex, heterogeneous disease. *Lancet* 372, 1107-1119 (2008)
4. Moore, W.C., D.A. Meyers, S.E. Wenzel, W.G. Teague, H. Li, X. Li, R. D'Agostino, Jr., M. Castro, D. Curran-Everett, A.M. Fitzpatrick, B. Gaston, N.N. Jarjour, R. Sorkness, W.J. Calhoun, K.F. Chung, S.A. Comhair, R.A. Dweik, E. Israel, S. P. Peters, W.W. Busse, S.C. Erzurum and E.R. Bleecker, Identification of asthma phenotypes using cluster analysis in the Severe Asthma Research Program. *Am J Respir Crit Care Med* 181, 315-323 (2010)
5. Siddiqui, S. and C.E. Brightling, Airways disease: phenotyping heterogeneity using measures of airway inflammation. *Allergy Asthma Clin Immunol* 3, 60-69 (2007)
6. Simpson, J.L., R. Scott, M.J. Boyle and P.G. Gibson, Inflammatory subtypes in asthma: assessment and identification using induced sputum. *Respirology* 11, 54-61 (2006)
7. Wardlaw, A.J., M. Silverman, R. Siva, I.D. Pavord and R. Green, Multi-dimensional phenotyping: towards a new taxonomy for airway disease. *Clin Exp Allergy* 35, 1254-1262 (2005)
8. Wenzel, S.E., S.J. Szefler, D.Y. Leung, S.I. Sloan, M.D. Rex and R.J. Martin, Bronchoscopic evaluation of severe asthma. Persistent inflammation associated with high dose glucocorticoids. *Am J Respir Crit Care Med* 156, 737-743 (1997)
9. Fahy, J.V., Eosinophilic and neutrophilic inflammation in asthma: insights from clinical studies. *Proc Am Thorac Soc* 6, 256-259 (2009)
10. Fahy, J.V., Identifying clinical phenotypes of asthma: steps in the right direction. *Am J Respir Crit Care Med* 181, 296-297 (2010)
11. Cowan, D.C., J.O. Cowan, R. Palmay, A. Williamson and D.R. Taylor, Effects of steroid therapy on inflammatory cell subtypes in asthma. *Thorax* 65, 384-390 (2010)

10

20

30

40

50

12. Green, R.H., C.E. Brightling, S. McKenna, B. Hargadon, D. Parker, P. Bradding, A.J. Wardlaw and I.D. Pavord, Asthma exacerbations and sputum eosinophil counts: a randomised controlled trial. *Lancet* 360, 1715-1721 (2002)
13. Woodruff, P.G., B. Modrek, D.F. Choy, G. Jia, A.R. Abbas, A. Ellwanger, L.L. Koth, J.R. Arron and J.V. Fahy, T-helper type 2-driven inflammation defines major subphenotypes of asthma. *Am J Respir Crit Care Med* 180, 388-395 (2009)
14. Haldar, P., C.E. Brightling, B. Hargadon, S. Gupta, W. Monteiro, A. Sousa, R.P. Marshall, P. Bradding, R.H. Green, A.J. Wardlaw and I.D. Pavord, Mepolizumab and exacerbations of refractory eosinophilic asthma. *N Engl J Med* 360, 973-984 (2009) 10
15. Nair, P., M.M. Pizzichini, M. Kjarsgaard, M.D. Inman, A. Efthimiadis, E. Pizzichini, F.E. Hargreave and P.M. O'Byrne, Mepolizumab for prednisone-dependent asthma with sputum eosinophilia. *N Engl J Med* 360, 985-993 (2009)
16. Hershey, G.K., IL-13 receptors and signaling pathways: an evolving web. *J Allergy Clin Immunol* 111, 677-690; quiz 691 (2003)
17. Berry, M.A., D. Parker, N. Neale, L. Woodman, A. Morgan, P. Monk, P. Bradding, A.J. Wardlaw, I.D. Pavord and C.E. Brightling, Sputum and bronchial submucosal IL-13 expression in asthma and eosinophilic bronchitis. *J Allergy Clin Immunol* 114, 1106-1109 (2004)
18. Humbert, M., S.R. Durham, P. Kimmitt, N. Powell, B. Assoufi, R. Pfister, G. Menz, A.B. Kay and C.J. Corrigan, Elevated expression of messenger ribonucleic acid encoding IL-13 in the bronchial mucosa of atopic and nonatopic subjects with asthma. *J Allergy Clin Immunol* 99, 657-665 (1997) 20
19. Saha, S.K., M.A. Berry, D. Parker, S. Siddiqui, A. Morgan, R. May, P. Monk, P. Bradding, A.J. Wardlaw, I.D. Pavord and C.E. Brightling, Increased sputum and bronchial biopsy IL-13 expression in severe asthma. *J Allergy Clin Immunol* 121, 685-691 (2008)
20. Tryuen, E., L. Coteur, E. Dilissen, L. Overbergh, L.J. Dupont, J.L. Ceuppens and D.M. Bullens, Evaluation of airway inflammation by quantitative Th1/Th2 cytokine mRNA measurement in sputum of asthma patients. *Thorax* 61, 202-208 (2006) 30
21. Woodruff, P.G., H.A. Boushey, G.M. Dolganov, C.S. Barker, Y.H. Yang, S. Donnelly, A. Ellwanger, S.S. Sidhu, T.P. Dao-Pick, C. Pantoja, D.J. Erle, K.R. Yamamoto and J.V. Fahy, Genome-wide profiling identifies epithelial cell genes associated with asthma and with treatment response to corticosteroids. *Proc Natl Acad Sci U S A* 104, 15858-15863 (2007)
22. Winpenney, J.P., L.L. Marsey and D.W. Sexton, The CLCA gene family: putative therapeutic target for respiratory diseases. *Inflamm Allergy Drug Targets* 8, 146-160 (2009)
23. Sidhu, S.S., S. Yuan, A.L. Innes, S. Kerr, P.G. Woodruff, L. Hou, S.J. Muller and J.V. Fahy, Roles of epithelial cell-derived periostin in TGF- β activation, collagen production, and collagen gel elasticity in asthma. *Proc Natl Acad Sci U S A* (2010) 40
24. Sasaki, H., M. Dai, D. Auclair, I. Fukai, M. Kiriyama, Y. Yamakawa, Y. Fujii and L.B. Chen, Serum level of the periostin, a homologue of an insect cell adhesion molecule, as a prognostic marker in non-small cell lung carcinomas. *Cancer* 92, 843-848 (2001)
25. Sasaki, H., K.M. Lo, L.B. Chen, D. Auclair, Y. Nakashima, S. Moriyama, I. Fukai, C. Tam, M. Loda and Y. Fujii, Expression of Periostin, homologous with an insect cell adhesion molecule, as a prognostic marker in non-small cell lung cancers. *Jpn J Cancer Res* 92, 869-873 (2001) 50

26. Sasaki, H., C.Y. Yu, M. Dai, C. Tam, M. Loda, D. Auclair, L.B. Chen and A. Elias, Elevated serum periostin levels in patients with bone metastases from breast but not lung cancer. *Breast Cancer Res Treat* 77, 245-252 (2003)
27. Gibson, P.G., Inflammatory phenotypes in adult asthma: clinical applications. *Clin Respir J* 3, 198-206 (2009)
28. Chané, P., S.E. Wenzel, G.P. Anderson, J.M. Anto, E.H. Bel, L.P. Boulet, C. E. Brightling, W.W. Busse, M. Castro, B. Dahlen, S.E. Dahlen, L.M. Fabbri, S.T. Holgate, M. Humbert, M. Gaga, G.F. Joos, B. Levy, K.F. Rabe, P.J. Sterk, S.J. Wilson and I. Vachier, Severe asthma in adults: what are the important questions? *J Allergy Clin Immunol* 119, 1337-1348 (2007) 10
29. Lemiere, C., P. Ernst, R. Olivenstein, Y. Yamauchi, K. Govindaraju, M.S. Ludwig, J.G. Martin and Q. Hamid, Airway inflammation assessed by invasive and noninvasive means in severe asthma: eosinophilic and noneosinophilic phenotypes. *J Allergy Clin Immunol* 118, 1033-1039 (2006)
30. Miranda, C., A. Busacker, S. Balzar, J. Trudeau and S.E. Wenzel, Distinguishing severe asthma phenotypes: role of age at onset and eosinophilic inflammation. *J Allergy Clin Immunol* 113, 101-108 (2004)
31. Silkoff, P.E., A.M. Lent, A.A. Busacker, R.K. Katial, S. Balzar, M. Strand and S.E. Wenzel, Exhaled nitric oxide identifies the persistent eosinophilic phenotype in severe refractory asthma. *J Allergy Clin Immunol* 116, 1249-1255 (2005) 20
32. Pavord, I.D. and D. Shaw, The use of exhaled nitric oxide in the management of asthma. *J Asthma* 45, 523-531 (2008)
33. Chupp, G.L., C.G. Lee, N. Jarjour, Y.M. Shim, C.T. Holm, S. He, J.D. Dziura, J. Reed, A.J. Coyle, P. Kiener, M. Cullen, M. Grandsaigne, M.C. Dombret, M. Aubier, M. Pretolani and J.A. Elias, A chitinase-like protein in the lung and circulation of patients with severe asthma. *N Engl J Med* 357, 2016-2027 (2007)
34. Dweik, R.A., R.L. Sorkness, S. Wenzel, J. Hammel, D. Curran-Everett, S.A. Comhair, E. Bleecker, W. Busse, W.J. Calhoun, M. Castro, K.F. Chung, E. Israel, N. Jarjour, W. Moore, S. Peters, G. Teague, B. Gaston and S.C. Erzurum, Use of exhaled nitric oxide measurement to identify a reactive, at-risk phenotype among patients with asthma. *Am J Respir Crit Care Med* 181, 1033-1041 (2010) 30
35. Barnes, P.J., The cytokine network in asthma and chronic obstructive pulmonary disease. *J Clin Invest* 118, 3546-3556 (2008)
36. Holgate, S.T. and R. Polosa, Treatment strategies for allergy and asthma. *Nat Rev Immunol* 8, 218-230 (2008)
37. Walsh, G.M., Emerging drugs for asthma. *Expert Opin Emerg Drugs* 13, 643-653 (2008)
38. Yuyama, N., D.E. Davies, M. Akaiwa, K. Matsui, Y. Hamasaki, Y. Suminami, N.L. Yoshida, M. Maeda, A. Pandit, J.L. Lordan, Y. Kamogawa, K. Arima, F. Nagumo, M. Sugimachi, A. Berger, I. Richards, S.L. Roberds, T. Yamashita, F. Kishi, H. Kato, K. Arai, K. Ohshima, J. Tadano, N. Hamasaki, S. Miyatake, Y. Sugita, S.T. Holgate and K. Izuhara, Analysis of novel disease-related genes in bronchial asthma. *Cytokine* 19, 287-296 (2002) 40
39. Takayama, G., K. Arima, T. Kanaji, S. Toda, H. Tanaka, S. Shoji, A.N. McKenzie, H. Nagai, T. Hotokebuchi and K. Izuhara, Periostin: a novel component of subepithelial fibrosis of bronchial asthma downstream of IL-4 and IL-13 signals. *J Allergy Clin Immunol* 118, 98-104 (2006)
40. Hayashi, N., T. Yoshimoto, K. Izuhara, K. Matsui, T. Tanaka and K. Nakanishi, T helper 1 cells stimulated with ovalbumin and IL-18 induce airway hyperresponsiveness and lung fibrosis by IFN-gamma and IL-13 production. *Proc Natl Acad Sci* 50

U S A 104, 14765-14770 (2007)

41. Plager, D.A., J.C. Kahl, Y.W. Asmann, A.E. Nilson, J.F. Pallanch, O. Friedman and H. Kita, Gene transcription changes in asthmatic chronic rhinosinusitis with nasal polyps and comparison to those in atopic dermatitis. *PLoS One* 5, e11450 (2010)
42. Stankovic, K.M., H. Goldsztein, D.D. Reh, M.P. Platt and R. Metson, Gene expression profiling of nasal polyps associated with chronic sinusitis and aspirin-sensitive asthma. *Laryngoscope* 118, 881-889 (2008)
43. Blanchard, C., M.K. Mingler, M. Vicario, J.P. Abonia, Y.Y. Wu, T.X. Lu, M.H. Collins, P.E. Putnam, S.I. Wells and M.E. Rothenberg, IL-13 involvement in eosinophilic esophagitis: transcriptome analysis and reversibility with glucocorticoids. *J Allergy Clin Immunol* 120, 1292-1300 (2007) 10
44. Blanchard, C., M.K. Mingler, M. McBride, P.E. Putnam, M.H. Collins, G. Chang, K. Stringer, J.P. Abonia, J.D. Molkenstein and M.E. Rothenberg, Periostin facilitates eosinophil tissue infiltration in allergic lung and esophageal responses. *Mucosal Immunol* 1, 289-296 (2008)
45. Baril, P., R. Gangeswaran, P.C. Mahon, K. Caulee, H.M. Kocher, T. Harada, M. Zhu, H. Kalthoff, T. Crnogorac-Jurcevic and N.R. Lemoine, Periostin promotes invasiveness and resistance of pancreatic cancer cells to hypoxia-induced cell death: role of the beta4 integrin and the PI3k pathway. *Oncogene* 26, 2082-2094 (2007) 20
46. Ben, Q.W., Z. Zhao, S.F. Ge, J. Zhou, F. Yuan and Y.Z. Yuan, Circulating levels of periostin may help identify patients with more aggressive colorectal cancer. *Int J Oncol* 34, 821-828 (2009)
47. Kudo, Y., I. Ogawa, S. Kitajima, M. Kitagawa, H. Kawai, P.M. Gaffney, M. Miyauchi and T. Takata, Periostin promotes invasion and anchorage-independent growth in the metastatic process of head and neck cancer. *Cancer Res* 66, 6928-6935 (2006)
48. Puglisi, F., C. Puppini, E. Pegolo, C. Andreetta, G. Pascoletti, F. D'Aurizio, M. Pandolfi, G. Fasola, A. Piga, G. Damante and C. Di Loreto, Expression of periostin in human breast cancer. *J Clin Pathol* 61, 494-498 (2008) 30
49. Siriwardena, B.S., Y. Kudo, I. Ogawa, M. Kitagawa, S. Kitajima, H. Hatano, W.M. Tilakaratne, M. Miyauchi and T. Takata, Periostin is frequently overexpressed and enhances invasion and angiogenesis in oral cancer. *Br J Cancer* 95, 1396-1403 (2006)
50. Nair, P., M. Kjarsgaard, S. Armstrong, A. Efthimiadis, P.M. O'Byrne and F.E. Hargreave, Nitric oxide in exhaled breath is poorly correlated to sputum eosinophils in patients with prednisone-dependent asthma. *J Allergy Clin Immunol* (2010)
51. Shaw, D.E., M.A. Berry, M. Thomas, R.H. Green, C.E. Brightling, A.J. Wardlaw and I.D. Pavord, The use of exhaled nitric oxide to guide asthma management: a randomized controlled trial. *Am J Respir Crit Care Med* 176, 231-237 (2007) 40
52. Pavord, I.D., P.K. Jeffery, Y. Qiu, J. Zhu, D. Parker, A. Carlshamer, I. Nayya and N.C. Barnes, Airway inflammation in patients with asthma with high-fixed or low-fixed plus as-needed budesonide/formoterol. *J Allergy Clin Immunol* 123, 1083-1089, 1089 e1081-1087 (2009)
53. D'Silva, L., R.J. Cook, C.J. Allen, F.E. Hargreave and K. Parameswaran, Changing pattern of sputum cell counts during successive exacerbations of airway disease. *Respir Med* 101, 2217-2220 (2007)
54. Leung, D.Y., R.J. Martin, S.J. Szeftler, E.R. Sher, S. Ying, A.B. Kay and Q. 50

Hamid, Dysregulation of interleukin 4, interleukin 5, and interferon gamma gene expression in steroid-resistant asthma. J Exp Med 181, 33-40 (1995)

55. Flood-Page, P., C. Swenson, I. Faiferman, J. Matthews, M. Williams, L. Brannick, D. Robinson, S. Wenzel, W. Busse, T.T. Hansel and N.C. Barnes, A study to evaluate safety and efficacy of mepolizumab in patients with moderate persistent asthma. Am J Respir Crit Care Med 176, 1062-1071 (2007).

【 0 3 2 1 】

実施例 6 喘息患者試験 I I I (安全性、耐容性と有効性を評価するために)

本研究は、ICS (500 - 2000 μ g / 日のプロピオン酸フルチカゾン乾燥粉末吸入器 [DPI] または同等品) + 長時間作用型 β 刺激薬 (LABA)、ロイコトリエン受容体拮抗薬 (LTRA)、長時間作用型ムスカリンアンタゴニスト (LAMA) 又はテオフィリンなどの第 2 コントローラー薬物療法による日々の治療にもかかわらず制御されないままである重篤な喘息を持つ患者におけるレプリキズマブの無作為化、多施設、二重盲検、プラセボ対照、並行群間試験である。この試験はまた、血清ペリオスチンのベースラインレベル 50 ng / mL の診断値 (E l e c s y s (登録商標) アッセイにより測定される) を評価する。ICS 及び第二のコントローラー薬物が含まれなければならない管理治療の標準を継続しつつ、患者を無作為に、レプリキズマブの 3 つの用量の何れか、又は 52 週間のプラセボ対照期間のプラセボに割り当てる。

【 0 3 2 2 】

スクリーニング期間とも呼ばれる 2 週間の導入期間中 (来院 1 から来院 3)、患者は現在の喘息治療の順守及び試験を通じての毎月の臨床来院のために必要な装備を使用する彼らの能力並びに標準治療薬物により与えられる喘息の制御の程度について評価される。喘息コントロールアンケート (ACQ) スコア 1.5 及び制御されない喘息の一以上の症状 (夜間覚醒 1 回 / 週、症状 > 2 日 / 週、SABA の使用 > 2 日 / 週、及び / 又は日常的な活動の妨害) を報告する患者は制御されないと考えられる。コントローラー薬物のアドヒランスによらず、来院 1 又は 2 及び来院 3 で症状が制御されないままである患者は参加する適格性がある。アドヒランスデータが不完全であるケースにおいて、及び来院 3 で ACQ - 5 が < 1.5 である患者に対して、治験責任医師のこの患者の経験が、今週は彼らの病気について非定型的であったことを示唆する場合、スクリーニング期間を 1 週間延長する場合がある。患者は、最高で更に 2 回まで選択された理由により再スクリーニングに適格となり得る。

【 0 3 2 3 】

導入 (スクリーニング) 期間の最後に、適格患者は無作為に試験薬 (プラセボ又はレプリキズマブを毎月 37.5 mg SC、毎月 125 mg SC、又は 4 週間毎に 250 mg SC) に割り当てられる (1 : 1 : 1 : 1)。無作為化は、E l e c s y s (登録商標) アッセイを使用して測定されたベースラインの血清ペリオスチン (< 42 ng / mL, 42 から < 50 ng / mL, 50 から < 58 ng / mL, 58 ng / mL)、最後の 12 か月の喘息増悪の既往歴 (0, 1 - 2, 3 事象)、ベースラインの喘息薬物 (ICS 用量 プロピオン酸フルチカゾン DPI 又は同等物の 1000 μ g / 日 + LABA [はい、いいえ])、および地理的領域 (米国 / カナダ、ヨーロッパ、アジア、世界の残りの部分) によって階層化される。患者は彼らの標準治療の安定的投与量を続けると考えられ、それは 52 週間の二重盲検試験治療を受けることに加えて、ICS (プロピオン酸フルチカゾン DPI 又は同等物の 500、2000 μ g / 日) 及び第二コントローラー薬物を含まなければならない。

【 0 3 2 4 】

試験治療の第 1 の SC 注射は無作為化と同じ日に起き (来院 3 [第 1 日])、(合計 13 の試験治療投与のために) 投薬は 52 週間のプラセボ対照期間にわたって 4 週間に 1 回反復されるであろう。安全性、有効性及び患者の報告結果 (PRO) の測定は 52 週間のプラセボ対照期間を通じて評価されるであろう。主要有効性エンドポイントは喘息増悪率であり、52 週間のプラセボ対照期間を通じて評価されるであろう。

【 0 3 2 5 】

5 2 週間のプラセボ対照期間を完了する患者（即ち、時期尚早に試験治療を中止していない患者）は、5 2 週間の積極的な治療延長へと続く。

【 0 3 2 6 】

5 2 週間の積極的な治療延長試験へと続いた全ての患者は、4 週間ごとに 1 2 5 m g 又は 2 5 0 m g の何れかの投与量で二重盲検で S C レプリキズマブを受けるであろう。5 2 週間のプラセボ対照期間中に 1 2 5 m g 又は 2 5 0 m g の何れかのレプリキズマブを受けることを割り当てられた患者は、割り当てられたレプリキズマブの用量のままである。5 2 週間のプラセボ対照期間中 4 週間ごとにプラセボ又はレプリキズマブの 3 7 . 5 m g の S C を受けることを割り当てられた患者は、ベースラインペリオスチンレベル及び前治療の割り当てにより層別化される無作為化により、5 2 週間の積極的な治療延長において 4 週間ごとに S C レプリキズマブを 1 2 5 m g 又は 2 5 0 m g の何れかに対して、1 : 1 の比で無作為化されるであろう。

10

【 0 3 2 7 】

5 2 週間の積極的な治療延長の第 7 6 週で、各患者は、最近の 3 回の来院（6 8 , 7 2 及び 7 6 週）からのデータを使用して、喘息コントロールについて評価されるであろう。喘息症状が連続する 1 2 週間において制御されている患者（各評価で A C Q 5 0 . 7 5 ）及び積極的な治療延長の最初の半分以上で（5 2 ~ 7 6 週）増悪しなかった患者は、レプリキズマブ治療を中止し、経過観察期間に入る。経過観察の間、患者は試験薬の最後の投与後 2 4 週間安全性について経過観察されるであろう。7 6 週で症候性のままの患者（A C Q - 5 > 0 . 7 5 ）又は積極的な治療延長の最初の半分の期間（5 2 ~ 7 6 週）に増悪事象を経験した患者は更に 2 8 週間のレプリキズマブ治療を続けるであろう。安全性、有効性及び P R O の測定は 5 2 週間積極的な治療延長を通じて評価されるであろう。

20

経過観察期間中に、全ての患者は、プロトコールでスケジュールされる時又は試験治療からの早期中止の事象でいつでも生じ得る、試験治療の最終投与後 2 4 週間（薬剤の > 5 半減期）安全性について経過観察されるであろう。来院 2 3（7 6 週）を通して試験を完了し、良好に制御され、試験治療を中止した患者においては、来院 2 3 が安全性の経過観察の来院 1 に置き換わるであろう。来院 3 0（1 0 4 週）を通して全試験を完了した患者においては、来院 3 0 が安全性の経過観察の来院 1 に置き換わるであろう。これらの場合の両方において、経過観察期間における次の来院は 1 2 週での安全性の経過観察の来院 2 であろう。他の全ての患者において、最初の経過観察の来院は、安全性の経過観察期間の 4 週での（試験治療の最後の投与後約 4 週）安全性経過観察の来院 1 であろう。

30

【 0 3 2 8 】

試験における全参加は、来院 3（第 1 日）での無作為化から、5 2 週間のプラセボ対照期間、5 2 週間の積極的な治療延長及び安全性の経過観察期間を含み、1 2 4 週間にも及ぶであろう。

【 0 3 2 9 】

およそ 1 4 0 0 人の患者（ペリオスチンの群 [ペリオスチンが高い 5 0 n g / m L , ペリオスチンが低い < 5 0 n g / m L] ）あたり、治療群 [S C レプリキズマブ 2 5 0 m g , 1 2 5 m g , 3 7 . 5 m g , 又はプラセボ] あたり 1 7 5 患者）が世界的に約 2 5 0 箇所で試験に登録されるであろう。最小の 6 5 0 人の患者が、ペリオスチンが高い群（5 0 n g の / m L ）に登録されるであろう。D P I での I C S フルチカゾン 1 0 0 0 μ g / 日又は同等物 + L A B A を受けている、最小の約 4 5 0 人の患者が登録されるであろう。

40

【 0 3 3 0 】

鍵となる包含基準は以下を含める：スクリーニング前に 1 2 ヶ月の喘息の診断；気管支拡張薬応答 / 可逆性：患者はスクリーニング期間中に短時間作用型 β アンタゴニスト（例えば、アルブテロールまたはサルブタモール）の 4 回のパフにตอบสนองする 1 2 % の気管支拡張薬応答を有さねばならない；来院 2 と来院 3 の両方で予測された気管支拡張薬前 F E V 1 が 4 0 % ~ 8 0 % ；スクリーニング前に 6 ヶ月の間、I C S > 5 0 0（例えば 5

50

00 - 2000) μg のプロピオン酸フルチカゾン D P I 又は同等物 (1 日の総用量) を受けている; スクリーニング前の 6 ヶ月間に第二のコントローラー薬物 (例えば所定の投与量の範囲内での LABA, LAMA, LTRA, 又はテオフィリン) を受けている; スクリーニング期間 (即ち来院 1 [第 14 日] 又は来院 2 [第 7 日]) 及び無作為化の時 (来院 3 [第 1 日]) の両方で示される制御されない喘息、以下に定められるように: ACQ - 5 スコア 1.5 で、国立心肺血液研究所 (National Heart, Lung, and Blood Institute) 及び全国喘息教育・予防プログラムの専門家パネル報告書 3 (2007) (National Asthma Education and Prevention Program Expert Panel Report 3 (2007)) 及び喘息のためのグローバル・イニシアティブ (2010) のガイドライン (the Global Initiative for Asthma (2010) guidelines) に基づく、制御されない喘息の以下の症状の少なくとも一

10

- 症状 > 2 日 / 週
- 夜間の覚醒 1 回 / 週
- 救助薬としての SABA の使用 > 2 日 / 週
- 正常な日常の活動の干渉;

【0331】

他の肺疾患が無いことを確認する、来院 1 の前 12 ヶ月以内に得られた胸部 X 線写真又はコンピューター断層撮影 (CT) スキャン又はスクリーニング期間中の胸部 X 線写真; スクリーニング期間中の 70% 以上においてコントローラー薬物によるアドヒランスの実証 (アドヒランスは、ピークフローメータ装置に記録されているように、患者がスクリーニング期間中 (来院 1 から来院 3) の 70% 以上の日を喘息治療コントローラー治療を受けていると肯定的に回答するとして定義される)。

20

【0332】

鍵となる除外基準は以下を含める: 生物学的製剤又はレブリキズマブ注射の任意の成分に対する既知の過敏症に対する重度のアレルギー反応又はアナフィラキシー反応の既往歴; 来院 1 の前 3 ヶ月以内の毎日の又は隔日の経口コルチコステロイド維持療法として定義される経口コルチコステロイド維持療法; スクリーニング (来院 1) 前の 4 週間又は急性増悪事象を含む任意の理由により全身性の経口、静脈内投与 (IV) 又は筋肉内投与 (IM) のコルチコステロイドを必要とするスクリーニング期間の何れかでの喘息の増悪; 以下の何れかを必要とする感染の主な発症;

30

1. スクリーニング (来院 1) の前 4 週間以内で 24 時間以上の入院
2. スクリーニング (来院 1) の 4 週間以内での静脈内投与 (IV) 抗生物質による治療
3. スクリーニング (来院 1) の前 2 週間以内での経口投与抗生物質;

【0333】

来院 1 の前 6 ヶ月以内での活動性の寄生虫感染症; スクリーニング前の 12 ヶ月以内での治療を要求する結核 (結核を治療され、治療終了後 12 ヶ月で再発していない患者は許容される); 限定されないが HIV 感染を含む既知の免疫不全症; 免疫調節療法の現在の使用; 潜在的な悪性腫瘍について知られている現在の悪性腫瘍又は現在の評価; 活動性 B / C 型肝炎または不安定な肝疾患の証拠; スクリーニング前の 6 ヶ月以内の活動性寄生虫感染; AST / ALT 上昇 2.0 正常の上限; 嚢胞性線維症、慢性閉塞性肺疾患、および / または喘息以外の他の臨床的に有意な肺疾患の既往歴; 現在喫煙又は喫煙履歴 > 10 パック年; スクリーニング前 6 ヶ月の期間での任意の時での生物学的療法; 試験期間中に非常に効果的な避妊方法を使用することを望んでいないか又は妊娠中または授乳中である生殖能のある女性患者; 他の不安定な医学的疾患; ボディマスインデックス > 38 kg / m²、体重 < 40 kg。

40

【0334】

第 III 相試験の投薬の理論的根拠
集団 PK 解析法

成人患者のレブリキズマブの PK プロファイルを記述するために、予備的集団 PK モデ

50

ルが開発された。上述した試験の333人のレブリキズマブ治療患者由来の総計4914の血清濃度-時間サンプルがモデルを開発するために使用された。各試験で観測された平均PKプロファイルと過去のデータから予測されるプロファイルの間の良好な一致によって証明されるように、試験にわたって明らかな相違は観察されなかった。

【0335】

一次吸収と排泄動態による2コンパートメントモデルは、血清レブリキズマブの濃度-時間データを十分に説明した。構造モデルのパラメータは、クリアランス(CL)、中心コンパートメント(V₁)の分布容積、末梢コンパートメント容積(V₂)、インターコンパートメントクリアランス(Q)、並びに皮下(SC)投与後の吸収の一次吸収率(K_a)および生物学的利用能(F)が含まれている。すべてのパラメーターは、V₂とQ(母平均値に固定された)を除いて、対数正規分布であると仮定した。

【0336】

母平均CLとV₁は0.18L/日及び3.7Lとそれぞれ見積もられた。母平均バイオアベイラビリティは76%と推定された。PKパラメーターの個人間変動は適度な15%から27%までの範囲であった。体重はCLとレブリキズマブの分布の体積の有意な共変量であることが見いだされ、体重の重さが高いクリアランス及び大きな分布体積と関連している。CLにおけるおよそ19%の個人間変動及びV₁における11%の個人間変動は体重により説明された。見積もられた集団PKパラメーターが表13に要約される。集団PK解析は、レブリキズマブのPK特徴はIgGモノクローナル抗体に典型的なそれと一致していることを示していた。

【0337】

PKパラメーターにおけるペリオスチンの効果は、実施例2の試験及び実施例3の試験における中央値の上下のベースラインペリオスチンレベルを持つPKパラメーターの個々の事後推定値を比較することにより評価された。その違いは、CL(p=0.54, 0.11), V₁(p=0.83, 0.79), 及びF(p=0.74, 0.37)についての両方の試験において有意であった(p>0.05)。

表 13. レブリキズマブ集団 PK パラメーター

パラメーター記述	集団平均推定 (% SE)	個体間の変動 (% SE)
クリアランス, CL (L/day)	0.176 (3.2%)	24.5% (23.3%)
CLにおけるBWの影響	0.864 (10.6%)	
中央コンパートメントにおける分布容積, V ₁ (L)	3.74 (3.4%)	24.6% (39.6%)
V ₁	0.890 (12.1%)	
末梢コンパートメントにおける分布容積, V ₂ (L)	2.01 (4.9%)	
V ₂ におけるBWの影響	0.316 (34.8%)	
分布クリアランス, Q (L/日)	0.443 (10.2%)	
吸収の一次速度, K _a (1/day)	0.213 (5.0%)	26.9% (39.4%)
バイオアベイラビリティ, F (%)	75.6 (3.7%)	14.9% (70.9%)
比例残余誤差	13.6% (3.6%)	
付加残余誤差 (µg/mL)	442 (15.6%)	

BW=体重; CL=クリアランス; PK=薬物動態; Q=コンパートメント間クリアランス; SE=標準誤差; V₁=中央コンパートメントの分布容積; V₂=末梢コンパートメントの分布容積.

記: BW 効果は、べき関数としてモデル化した、 $TVP_i = \theta_1 \cdot (BW_i / BW_{Ref})^{\theta_2}$, TVP は PK パラメーターの代表値である; BW_i は i 番目の個体の体重を指す, BW_{Ref} は参照体重を指し、これは集団 PK モデルに含まれる全ての患者の体重の中央値である (82 kg), θ_1 は、集団を指す PK パラメーターの推定値を意味し、 θ_2 は、PK パラメーターの体重の影響を指す。

【0338】

均一投薬の理論的根拠

均一な投薬を上述した第ⅠⅠ相試験で使用した。レプリキズマブのPKプロファイルにおける体重の影響を考慮すると、体重が重い患者は一般的に薬物曝露が少なくなる。しかし、レプリキズマブで治療された個々の患者におけるベースラインから第12週までのFEV1の比例した変化と体重との間には相関を見いだされず、曝露における体重の影響は有効性に影響を及ぼさなかったことを示唆している（図20を参照）。更に、これらの試験由来のデータは試験された体重の範囲内で（53～135 kg）均一投薬に対する安全上の懸念は無いことを示していた。

【0339】

レプリキズマブに対する曝露の全体的な変動性における均一投薬の影響を評価するために、集団PKシミュレーションが、上述の第ⅠⅠ相試験に見られるものと似た分布を仮定して、均一投薬及びそれと同等の体重に基づいた（即ちmg/kg）投薬レジメンを比較するために実施された。様々なレベル以上の定常状態のトラフ濃度による予測された患者の割合は、均一及び体重に基づく投薬レジメンの間で似ており（図21）、体重に基づく投薬の明らかな利点はないことを示唆している。その結果、個別化された体重に基づく投薬と比較して、投薬誤差のリスクと操作の複雑性（例えば薬物調製）を減少するその利点を考慮すると、均一投薬が第ⅠⅠⅠ相試験において選択された。

【0340】

標的濃度の理論的根拠

第ⅠⅠⅠ相試験を用いた曝露-応答解析が、第ⅠⅠⅠ相試験の用量選択を知らせる標的のレプリキズマブ濃度を導き出すために行われた。上述された両方の第ⅠⅠ相試験において、レプリキズマブで治療された個々の患者において、ベースラインからのFEV1のプラセボ補正変化と、12週での血清トラフ薬物濃度の間には明らかな相関が見られず（データ非表示）、FEV1におけるレプリキズマブの作用は両方の試験でテストされた曝露の範囲では飽和していることを示唆している。更に、PDバイオマーカー（FeNO、IGE、CCL17、及びCCL13）における変化と第ⅠⅠ相試験における血清トラフ薬物濃度の間の相関の評価は、両方の試験において治療期間中のこれらのPD応答の飽和を示唆していた。結果はペリオスチンが高い群で似ていた。これらの結果を基にして、標的の血清定常状態トラフ濃度が10 µg/mLが、両方の知見において観察されたC_{トラフ}値、12週範囲の下端を一括すると提案された（実施例2の試験において、5番目-95番目パーセンタイル：9.6-50 µg/mL；実施例3の試験において9.4-73 µg/mL）。更に、文献で入手できるデータに基づいた肺におけるIL-13のレベルとレプリキズマブの仮定された血清から肺への分配（1:500）を考慮すると、10 µg/mLの血清濃度が、喘息患者でIL-13を中和するために肺において十分高い薬物レベルを維持することが期待される。従って、第ⅠⅠⅠ相における有効用量は血清の定常状態トラフ濃度>10 µg/mLを維持するであろうことが予測される。

【0341】

第ⅠⅠⅠ相における部分的有効用量を選択するために、効能が観察された実施例2と実施例3の両方において、観察されたC_{トラフ}値、12週範囲との重複が無いことを確実にするために、5 µg/mLの低い標的定常状態トラフ濃度が提案された。加えて、両方の試験において、血清CCL17（TARC）レベルにおけるレプリキズマブの効果は、薬物洗い出しの最中に（図22：（A）実施例2の試験、（B）実施例3の試験を参照）、血清レプリキズマブ濃度の平均値が>5 µg/mLで、ベースライン側に戻った。血清CCL17（TARC）のレプリキズマブの効果は有効性とは相関しなかったが、このバイオマーカーの回復は、この濃度で所定の生物学的経路においてIL-13の準最適抑制を示唆している。従って、部分的有効用量は、血清の定常状態トラフ濃度<5 µg/mLを維持すると提案される。

【0342】

提案された第ⅠⅠⅠ相の投薬量の理論的根拠

上述のように実施例3における明らかな投薬応答の欠如を考慮すると（即ち、125 m

10

20

30

40

50

g、250mg、及び500mgの用量は等しく有効であるように見えた)、第III相の投与量が、有効用量レベル及び部分的有効用量レベルの両方を含むことにより、レプリキズマブの用量応答を実証するために選択された。この目的を満たすために、第III相プログラムのレプリキズマブの提案された用量は、4週間ごとに(q4wk)皮下(SC)注射により与えられる250ミリグラム、125ミリグラム及び37.5mgを含む。図23は、第I相試験において見られるものと同様の体重分布を仮定して、これらの用量においてシミュレートされた集団PKプロファイルを示す。

【0343】

4週間ごとの(q4wk)250mgの最高用量(1mLのSC注射を2回)が、第III相における臨床の有効性を実証すると予測される。それは、第III相の概念実証試験(実施例2)で試験され、喘息がICS治療にも関わらず制御されない患者の重篤な喘息増悪率を減少させることに有効性を示したただ一つの投薬レジメンであり、その患者集団が治療のために意図された。実施例2の患者は、他のコントローラーを含むか又は含まないICSによる治療にもかかわらず、制御されない喘息を持っており、ICS 500µg/日を受けている実施例2の患者の90%がLABA薬物をも受けていた。この投薬レジメンにて、ほとんど全て(99%)の患者は、集団PKシミュレーションに基づいて、10µg/mLの標的C_{トラフ}、_{ss}を達成すると予想され(表14参照)、それは最大の有効性が期待されることを意味する。従って、この用量が第III相で見られる臨床効果を複製するために試験されるであろう。

表14. 第III相試験において提案された用量で標的を上回る定常状態トラフ濃度を有する患者の予測される割合

用量 (mg 4週間毎)	標的定常状態トラフ濃度	
	>5 µg/mL	>10 µg/mL
250	100%	99%
125	99%	78%
37.5	28%	0.6%

【0344】

4週間ごとに125mgの中間の用量が、第III相用量範囲試験において、4週間ごとの125mg及び250mgで観察されたFEV₁の改善の大きさの類似性に基づいて提案される(実施例3)。同じ用量-応答関係が増悪エンドポイントにおいて重度の喘息患者集団に当てはまると期待することは妥当であり、従って、125mgの用量が第III相における有効性を示すと予想される。この予想は、集団PKシミュレーションにより更に支持され、それは患者の大部分(78%)がこの投薬レジメンにより10µg/mLのC_{トラフ}、_{ss}を達成するであろうことを示している(表14参照)。

【0345】

4週間ごとの37.5mgの用量(0.3mLのSC注射を1回)が、用量-応答関係を確立するために重要である、レプリキズマブの部分的有効用量又は臨床的非有効用量を実証するために提案される。この投薬レジメンには以下の考慮事項を考慮して選択される:

患者の大部分(72%)で5µg/mL未満、患者のほとんど全て(99%)で10µg/mL未満のC_{トラフ}、_{ss}を維持する能力(表14を参照)。

中間用量からの合理的な(3.3倍)の分離

差次的臨床応答を実証するために、中間用量と、レプリキズマブに対する血清曝露のシミュレートされた範囲における最小の重複(表14参照)

投薬誤差の可能性を低減するのに便利な注射量(0.1mLで複数)

【0346】

この第III相試験の様々な評価項目は以下のとおりである。

【0347】

評価項目

以下のエンドポイントの各々はペリオスチンが高い患者と低い患者で別個に評価されるであろう。250mgのレプリキズマブ群をプラセボ群と比較したときに、主要エンドポイントがペリオスチンが高い群では満たされている場合、試験は陽性と見なされる。

【0348】

主要有効性評価項目

主要有効性エンドポイントは、52週間のプラセボ対照期間の喘息増悪率の評価項目である。この試験において、喘息の増悪は、全身性コルチコステロイドによる治療や入院につながる新規の喘息症状または喘息症状の増加（例えばこれらの症状に起因する喘鳴、咳、呼吸困難又は胸の圧迫感又は夜間覚醒を含む）として定義される。ここで、全身性コルチコステロイドによる治療とは、経口（即ちOCS）又は非経口コルチコステロイドによる3日間以上の治療又は非経口（IV又はIM）コルチコステロイドの一以上の投薬を伴う救急部の来院として定義される。

10

【0349】

2次有効性評価項目

52週での2次有効性評価項目は以下の通りである：ベースラインから52週までの気管支拡張薬前のFEV1の相対的な変化；52週間の治療期間中の最初の喘息増悪までの時間；ベースラインから52週までの一酸化窒素（FENO）排泄分画の変化；ベースラインから52週までの喘息生活の質のアンケート（AQLQ）の標準化バージョンの全体スコアにより評価される、喘息特異的健康関連の生活の質の変化；ベースラインから52週までの救急薬の使用の変化（救急薬又噴霧救急薬（即ちSABA）の1日あたりのパフの数により測定される）；52週間のプラセボ対照期間中の緊急の喘息関連保健医療の利用（すなわち、入院、救急来院、および救急治療の来院）。

20

【0350】

探索的評価項目

探索的評価項目は以下を含むであろう：52週間のプラセボ対照期間中プロコールに定められた喘息悪化を経験しない患者の割合；ベースラインから52週までの朝の気管支拡張薬後のピークフロー値（L/分）の変化；ベースラインから52週までの気管支拡張薬後のFEV1の変化；52週間のプラセボ対照期間中、気管支拡張薬前のFEV1の150mLの改善までの時間；4週から52週にわたり平均したベースラインからの気管支拡張薬前のFEV1の相対的な変化（リットル）；ベースラインから52週までの努力肺活量の相対的な変化；全身性コルチコステロイドによる治療を要するスクリーニング期間中（来院1～3）、最高値の60%未満のFEV1又はPEFを生じる増悪として定義される肺機能の低下と関連している増悪率；ベースラインから52週までの労働生産性と活動性の障害 - 喘息アンケート（WPAI - 喘息）により評価される労働、学校及び活動性の障害の変化；ベースラインから52週までの喘息コントロールアンケート - 5（ACQ - 5）スコアにおける変化；ベースラインから52週までの喘息症状効用指数（ASUI）により測定される喘息症状の変化；ベースラインから52週までのEQ - 5Dにより評価される、健康効用（health utilities）の変化；ベースラインから52週までの治療効果のグローバル評価（GETE）の変化。

30

40

【0351】

これらの探索的評価項目はまた52週間の積極的治療延長及び24週間の経過観察期間の最中に評価されうる。更なる探索的評価項目は、52週間を超えてレプリキズマブに曝露された患者における有害事象の頻度と重篤度；52週間の積極的治療延長又は24週間の経過観察期間中のインターロイキン - 13（IL - 13）/喘息関連PDバイオマーカーの変化；52週間の積極的治療延長又は24週間の経過観察期間中の血清レプリキズマブ濃度を含み得る。

【0352】

患者の報告結果

50

喘息の生活の質アンケート - 標準化 (AQLQ (S))

AQLQ (S) は患者の喘息固有の健康に関連した生活の質を評価するために使用されるであろう (Juniper 2005)。アンケートは、活動の制限、症状、感情機能、及び環境刺激を含む4つのドメインが含まれる。AQLQ (S) はこの試験集団における使用のために検証されている。AQLQ (S) は2週間のリコール仕様がある。AQLQ (S) は全ての他の非PRO評価に先立ち、かつその評価の期間に患者が疾患の状態の情報又は試験薬を受ける前に患者に対して施される。

【0353】

労働生産性と活動性の障害 - 喘息アンケート (WPAI - 喘息)

職場、学校における及び活動性に関する障害を評価するために、WPAI - 喘息アンケートが施される (Reilly et al. 1993, 1996)。アンケート項目は、WPAI アレルギー特異的 (WPAI - AS) アンケートから適合され、アレルギーの用語の全出現を喘息に置き換えている。WPAI - AS は全ての他の非PRO評価に先立ち、かつその評価の期間に患者が疾患の状態の情報又は試験薬を受ける前に患者に対して施される。

10

【0354】

ヨーロッパ QOL5D アンケート (EQ - 5D)

EQ - 5D は、健康状態に関する単一指標を提供する一般的な優先に基づく健康関連の生活の質のアンケートである。EQ - 5D は、患者による自己完成用に設計されている。EQ - 5D は全ての他の非PRO評価に先立ち、かつその評価の期間に患者が疾患の状態の情報又は試験薬を受ける前に患者に対して施される。

20

【0355】

喘息症状効用指数 (ASUI)

ASUI (Revicki 1998) は、咳、喘鳴、息切れ及び夜間覚醒を測定する喘息特有の症状アンケートである。ASUI は全ての他の非PRO評価に先立ち、かつその評価の期間に患者が疾患の状態の情報又は試験薬を受ける前に患者に対して施される。

【0356】

実施例7 Elecsys (登録商標) ペリオスチンアッセイ

ペリオスチンの定量的検出は自動化ロシュcobas e601 Elecsys (登録商標) アナライザ (Roche Diagnostics GmbH) で評価される。試験は、分析物のペリオスチンが、ペリオスチン上の2つの異なるエピトープに結合する2つのモノクローナル抗体の間に挟まれているサンドイッチ形式で行われる。一つの抗体がビオチン化され、ストレプトアビジンコート磁気ビーズへの免疫複合体の取り込みを可能にしている。第二抗体は、シグナル伝達部分としての錯化ルテニウムカチオンを有し、結合した免疫複合体の電圧依存化学発光検出を可能にする。

30

【0357】

詳しくは、試薬は以下のように用いられている。

- ビーズ (M) : ストレプトアビジンでコーティングされた磁性微粒子 0.72 mg / mL ; 防腐剤。

- 試薬 1 (R1) : 抗ペリオスチン抗体 ~ ビオチン :

この精製されたマウスモノクローナル抗体は、実施例4に係るコーティング抗体 25D4 に対応し、ビオチン化形式 > 1.0 mg / L ; TRIS 緩衝液 > 100 mmol / L、pH 7.0 ; 保存剤で使用される。

40

- 試薬 2 (R2) : 抗ペリオスチン - 抗体 ~ Ru (bpy) :

この精製されたマウスモノクローナル抗ペリオスチン抗体は実施例4に係る検出抗体 23B9 に対応し、((トリス (2, 2' - ビピリジル) ルテニウム (II) 錯体 (Ru (bpy)) 複合体で標識された) 標識形態 > 1.0 mg / L ; TRIS 緩衝液 > 100 mmol / L、pH 7.0 ; 保存剤で使用される。

【0358】

イムノアッセイは、2つのインキュベーションを用いて行われる。約9分間の第1のインキュベーションにおいて、20 µL サンプル中のペリオスチンとビオチン化モノクロー

50

ナル抗ペリオスチン抗体 (R 1) は複合体を形成する。更に 9 分間の第 2 のインキュベーションにおいて、ルテニル化モノクローナル抗ペリオスチン抗体 (R 2) とストレプトアビジンでコーティングされた微粒子 (M) が、3 員環サンドイッチ複合体が形成され、ピオチンとストレプトアビジンとの相互作用を介して固相 (微粒子) に結合されるように、第 1 のインキュベーションのバイアルに加えられる。

【0359】

反応混合物が測定セル内に吸引され、ここで微小粒子が白金電極の表面に磁氣的に捕捉される。非結合物質は洗い流され、細胞はトリプロピルアミンを含む試薬である Proc 11 で流される。電極への電圧の印加は、次いで、光電子増倍管によって測定される化学発光放出を誘導する。

10

【0360】

結果は、試薬バーコードを介して提供されるマスターカーブと 2 点校正とによって生成される機器固有の検量線を介して決定される。キャリブレーター 1 は分析物無しであり、キャリブレーター 2 はパフファリングマトリックスに 50 ng/mL の組換えヒトペリオスチンが含まれる。キャリブレーションを確認するために、約 30 ~ 80 ng/mL のペリオスチンを持つ 2 つのコントロールが採用されている。

【0361】

実施例 8 E 4 アッセイと E l e c s y s (登録商標) ペリオスチンアッセイの比較

ペリオスチンレベルは、E 4 アッセイ (実施例 4) と E l e c s y s (登録商標) ペリオスチンアッセイ (実施例 7) に類似の方法を使用して、実施例 2 と実施例 3 の各々に記載される臨床試験からの患者の血清サンプルで測定された。両試験からのサンプルの結果は、ペリオスチンの値が重複することを示した。変動性と広がりアッセイ間で比較可能であった。一般に、中央値で、E l e c s y s (登録商標) アッセイの結果は典型的には 2 倍又は 2 倍を超えて、E 4 アッセイの結果より高かった。図 17 を参照、即ち、中央値は E l e c s y s (登録商標) アッセイに対して 50 - 51 ng/mL で E 4 アッセイに対して中央値は 23 ng/mL であった。

20

【0362】

前述の発明は、理解を明確にする目的のために例示および実施例によってある程度詳細に説明してきたが、説明や例は、本発明の範囲を限定するものとして解釈されるべきではない。すべての特許および本明細書に引用される科学文献の開示は、参照によりその全体が援用される。

30

【0363】

配列表の検索表

配列 番号	配列
1	QVHLQQSGAELAKPGASVHMSCKASGYTFTTYWMHWVKQRPQGQGLE WIGYINPNTGYADYNQKFRDKATLTADKSSSTAYMQLSSLTSEDSTVYF CARRRTGTSYFDYWGQGTTLTVSSTKTTPPSV
2	QTVLSQSPAILSASPGEKVTMTCRASSSVTYMHWYQQKPGSSPKPWIFA TSNLASGVPARFSGSGSGTSYSLTISRVEAEDAATYYCQQWTSNPLTFG AGTK
3	QVQLQQSGAELARPGASVKLSCKASGYSFTHYWMQWVKQRPQGQGLE WIGAIYPGDGTRYTQRLKGKATLTADKSSSTAYMELSSLASEDSAVYY CAREGEGNSAMDYWGQGTSVTSSAKTTPPSV
4	DIVMTQSQKFMSTSVGDRVSVTCKASQNVGSSVAWFQQKPGQSPKTLI YSASYRDSGVPRFTGSGSGTDFLTITNVQSEDLTDYFCLQYGYTPYTF GGGTR
5	MIPFLPMFSL LLLLIVNPIN ANNHYDKILA HSRIRGRDQG PNVCALQQIL GTKKKYFSTCKNWKKSICG QKTTVLYECC PGYMRMEGMK GCPAVLPIDH VYGTLGIVGA TTTQRYSDAS KLREEIEGKG SFTYFAPSNE AWDNLDSDIR RGLSENVNVE LLNALHSHMI NKRMLTKDLK NGMIIPSMYN NLGLFINHYP NGVVTVNCAR IIHGNQIATN GVVHVIDRVL TQIGTSIQDF IEAEDDLSSF RAAAITSDIL EALGRDGHFT LFAPTNEAFE KLPRGVLERI MGDKVASEALMKYHILNTLQ CSESIMGGAV FETLEGNTIE IGCDGDSITV NGIKMVNKKD IVTNNGVIHLIDQVLIPDSA KQVIELAGKQ QTTFTDLVAQ LGLASALRPD GEYTLAPVN NAFSDDTLSDMRLLKLILQ NHILKVKVGL NELYNGQILE TIGGKQLRVF VYRTAVCIEN SCMEKGSQQRNGAIHIFRE IKPAEKSLH EKLKQDKRFS TFLSLLEAAD LKELLTQPGD WTLFVPTNDAFKGMTSEEKE ILIRDKNALQ NHILYHLTPG VFIGKGFEPG VTNILKTTQG SKIFLKEVNDTLVNLKSK ESDIMTTNGV IHVVDKLLYP ADTPVGNDQL LEILNKLIK YQIKFVRGST FKEIPVTVYT TKIITKVVEP KIKVIEGSLQ PIKTEGPTL TKVKIEGEPE FRLIKEGETITEVIHGEPII KKYTKIIDGV PVEITEKETR EERIITGPEI KYTRISTGGG ETEETLKLLQEEVTKVTKF IEGGDGHLFE DEEIKRLQGG DTPVRKLQAN KKVQGSRRRL REGRSQ
6	MIPFLPMFSL LLLLIVNPIN ANNHYDKILA HSRIRGRDQG PNVCALQQIL GTKKKYFSTCKNWKKSICG QKTTVLYECC PGYMRMEGMK GCPAVLPIDH VYGTLGIVGA TTTQRYSDAS KLREEIEGKG SFTYFAPSNE AWDNLDSDIR RGLSENVNVE LLNALHSHMI NKRMLTKDLKNGMIIPSMYN NLGLFINHYP NGVVTVNCAR IIHGNQIATN GVVHVIDRVL TQIGTSIQDF IEAEDDLSSF RAAAITSDIL EALGRDGHFT LFAPTNEAFE KLPRGVLERI MGDKVASEALMKYHILNTLQ CSESIMGGAV FETLEGNTIE IGCDGDSITV NGIKMVNKKD IVTNNGVIHLIDQVLIPDSA KQVIELAGKQ QTTFTDLVAQ LGLASALRPD GEYTLAPVN NAFSDDTLSDMRLLKLILQ NHILKVKVGL NELYNGQILE TIGGKQLRVF VYRTAVCIEN SCMEKGSQQRNGAIHIFRE IKPAEKSLH EKLKQDKRFS TFLSLLEAAD LKELLTQPGD WTLFVPTNDAFKGMTSEEKE ILIRDKNALQ NHILYHLTPG VFIGKGFEPG VTNILKTTQG SKIFLKEVNDTLVNLKSK ESDIMTTNGV IHVVDKLLYP ADTPVGNDQL LEILNKLIK YQIKFVRGSTFKEIPVTYK PIKKYTKII DGVPVEITEK ETREERIITG PEIKYTRIST GGGETEETLK KLLQEEVTKV TKFIEGGDGH LFEDEEIKRL LQGDTPVRKL QANKKVQGSRRRLREGRSQ
7	MIPFLPMFSL LLLLIVNPIN ANNHYDKILA HSRIRGRDQG PNVCALQQIL GTKKKYFSTCKNWKKSICG QKTTVLYECC PGYMRMEGMK GCPAVLPIDH VYGTLGIVGA TTTQRYSDAS KLREEIEGKG SFTYFAPSNE AWDNLDSDIR RGLSENVNVE LLNALHSHMI NKRMLTKDLKNGMIIPSMYN NLGLFINHYP NGVVTVNCAR IIHGNQIATN GVVHVIDRVL TQIGTSIQDF IEAEDDLSSF RAAAITSDIL EALGRDGHFT LFAPTNEAFE KLPRGVLERI MGDKVASEALMKYHILNTLQ CSESIMGGAV FETLEGNTIE IGCDGDSITV NGIKMVNKKD IVTNNGVIHLIDQVLIPDSA KQVIELAGKQ QTTFTDLVAQ LGLASALRPD GEYTLAPVN NAFSDDTLSDMRLLKLILQ NHILKVKVGL NELYNGQILE TIGGKQLRVF VYRTAVCIEN SCMEKGSQQRNGAIHIFRE IKPAEKSLH EKLKQDKRFS TFLSLLEAAD LKELLTQPGD WTLFVPTNDAFKGMTSEEKE ILIRDKNALQ NHILYHLTPG VFIGKGFEPG VTNILKTTQG SKIFLKEVNDTLVNLKSK ESDIMTTNGV IHVVDKLLYP ADTPVGNDQL LEILNKLIK YQIKFVRGSTFKEIPVTYR PTLTKVKIEG EPEFRLIKEG ETTTEVIHGE PIKKYTKII DGVPVEITEK ETREERIITG PEIKYTRIST GGGETEETLK KLLQEDTPVR

10

20

30

40

【図 1】

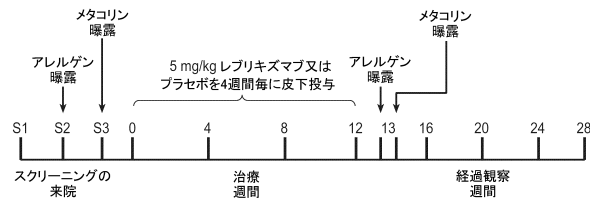


FIG. 1

【図 2】

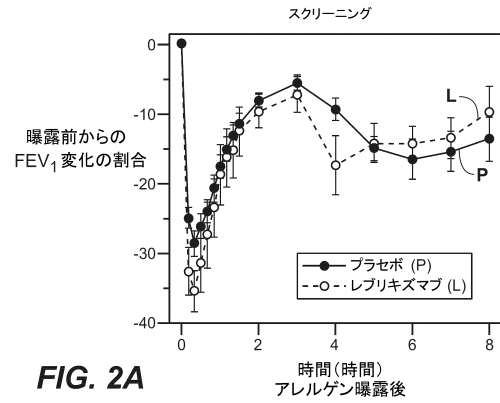


FIG. 2A

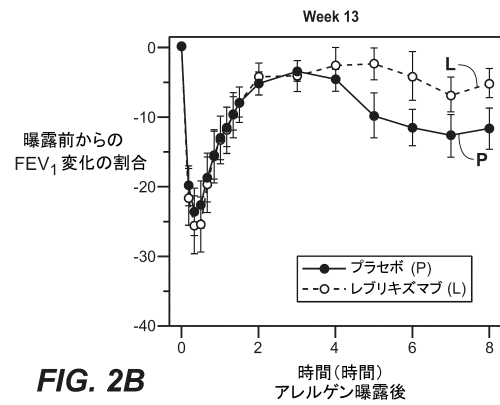


FIG. 2B

【図 3 A】

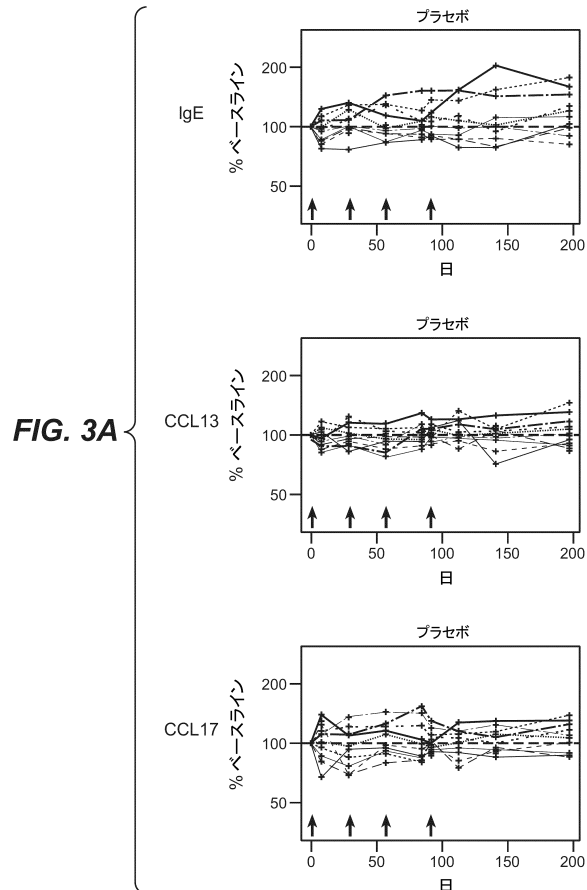


FIG. 3A

【図 3 B】

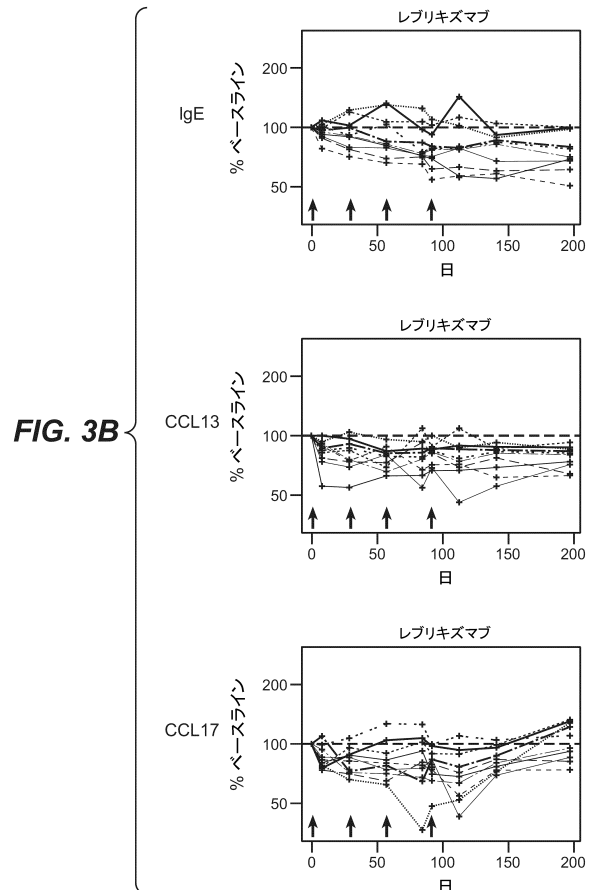
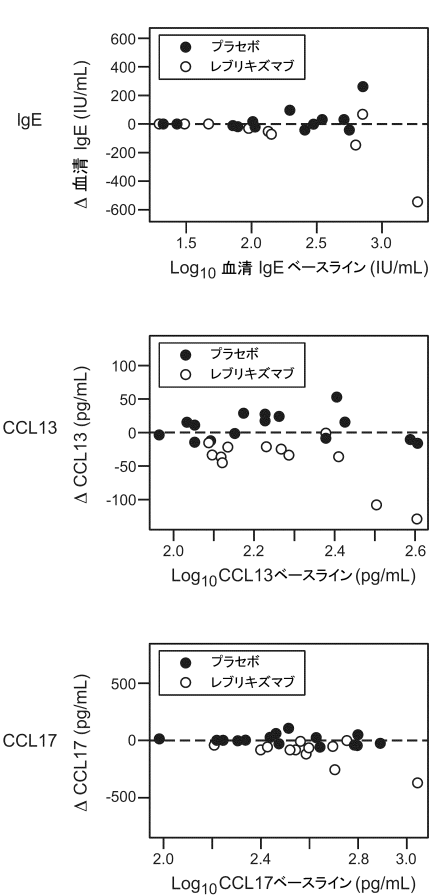


FIG. 3B

【図 3 C】

FIG. 3C



【図 4】

FIG. 4

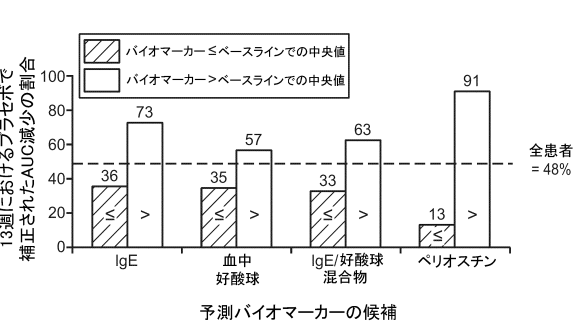
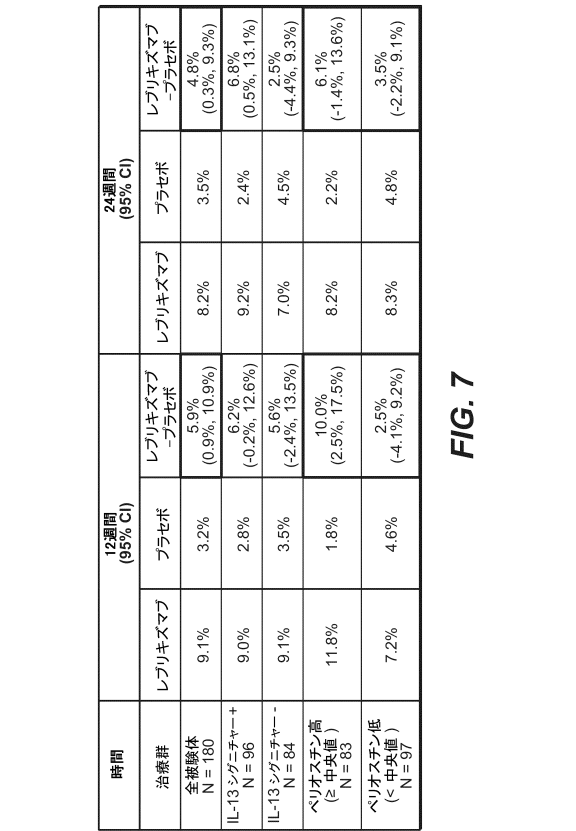


FIG. 5

【図 5】



【図 6】

FIG. 6

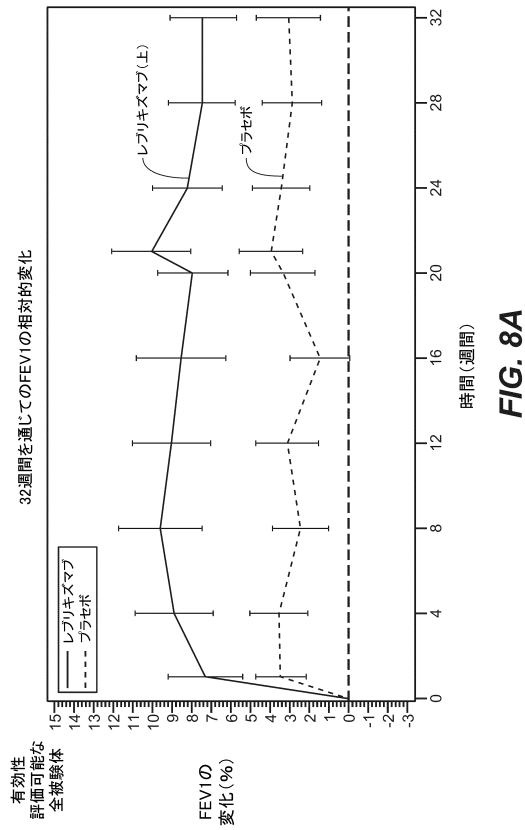
	レプリキズマブ (N = 88)	プラセボ (N = 92)
年齢 (歳)	45 (11)	44 (13)
性 (女)	61%	65%
人種 (白人)	86%	86%
IL-13 シグニチャー サロゲート陽性	57%	50%
IgE 中央値	173	211
好酸球	0.2 (0.2)	0.3 (0.2)
ペリオスチン高	41%	51%
体重	87 (20)	85 (19)
予測される FEV1 の %	65 (11)	67 (10)
LABA 使用 (はい)	77.3%	80.4%
高用量 ICS (≥500 mcg FP)	51%	63%
喫煙未経験者	81%	86%
皮膚テスト (陽性)	86% (n=59)	88% (n=60)
ACQ	2.5 (0.9)	2.6 (0.9)
FeNO	30.0 (24.7)	29.3 (27.6)
皮膚炎 (はい)	6.8%	18.5%
アレルギー性鼻炎 (はい)	76%	75%
可逆性 (%)	22.0 (18.3)	18.1 (11.7)

FIG. 7

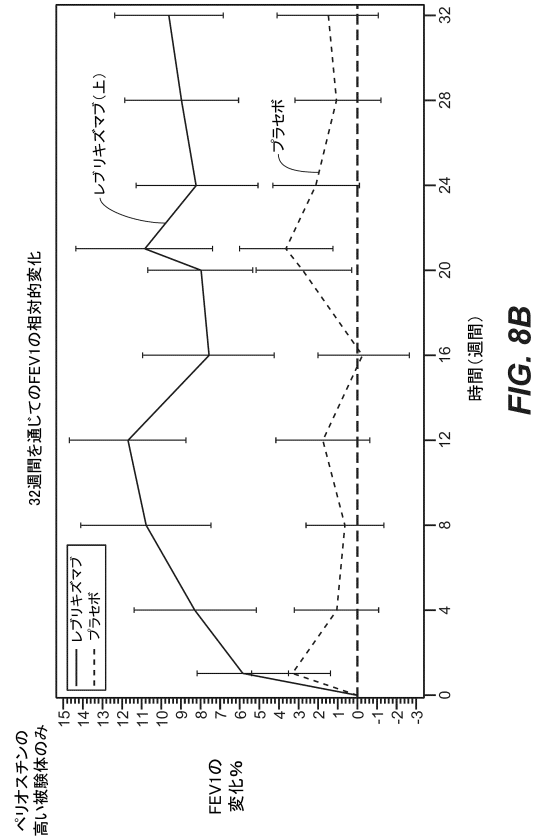
FIG. 7

時間	12週間 (95% CI)	24週間 (95% CI)
治療群	レプリキズマブ プラセボ	レプリキズマブ レプリキズマブ -プラセボ
全被験者 N = 180	9.1%	8.2%
IL-13 シグニチャー + N = 96	9.0%	9.2%
IL-13 シグニチャー - N = 84	9.1%	7.0%
ペリオスチン高 (≥ 中央値) N = 83	11.8%	8.2%
ペリオスチン低 (< 中央値) N = 97	7.2%	8.3%

【図 8 A】



【図 8 B】



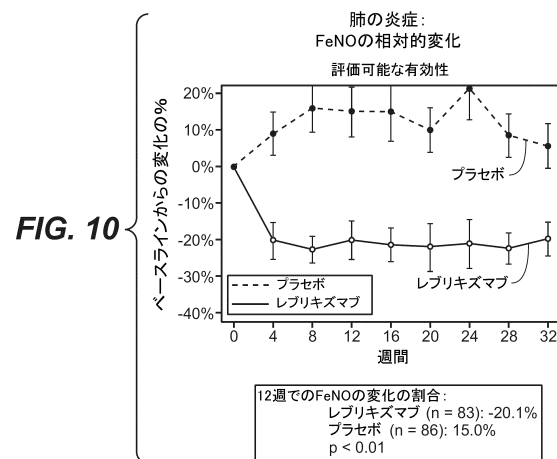
【図 9】

群	24週間にわたる 増悪の減少率 (95% CI) p値	24週間にわたる 重度の増悪の減少率 (95% CI) p値
全患者 (n = 180)	37% (-22%, 67%) p = 0.17	51% (-33%, 82%) p = 0.16
ペリオスチン高* (n = 83)	61% (-6%, 86%) p = 0.07	84% (14%, 97%) p = 0.03
ペリオスチン低* (n = 97)	25% (-73%, 68%) p = 0.50	9% (-228%, 75%) p = 0.89

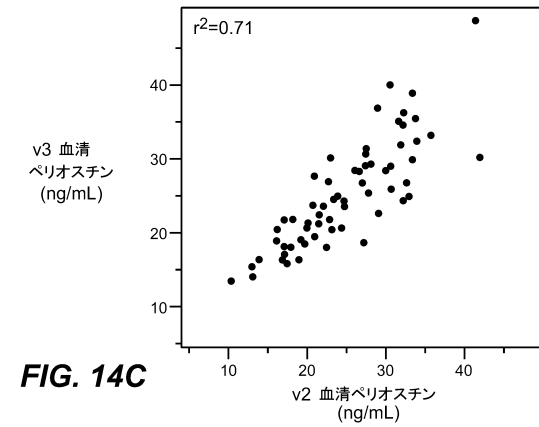
*全被験体においてペリオスチン中央値以上により定義される

FIG. 9

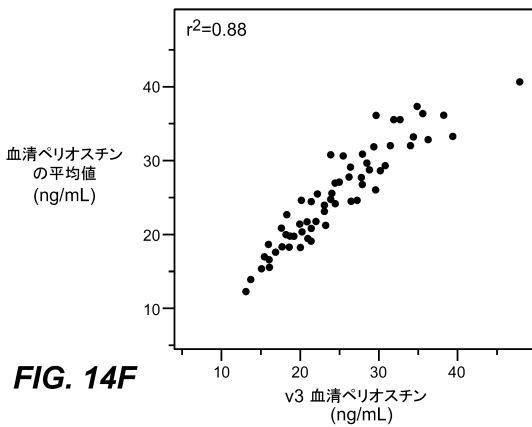
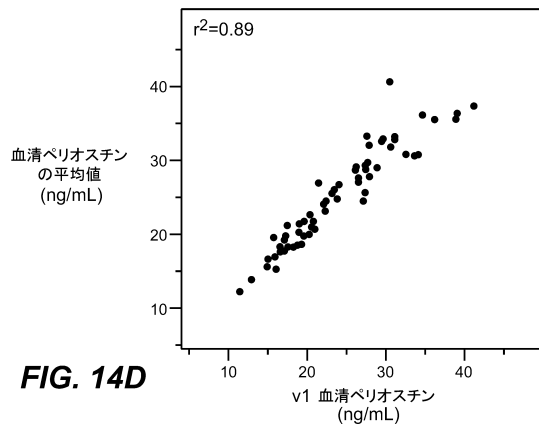
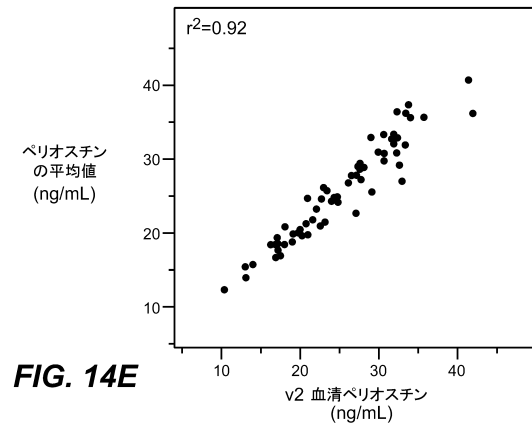
【図 10】



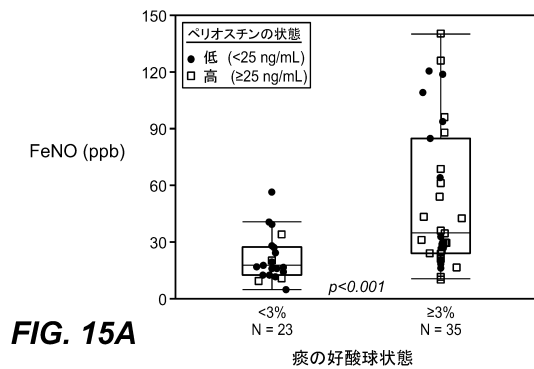
【図 14 C - D】



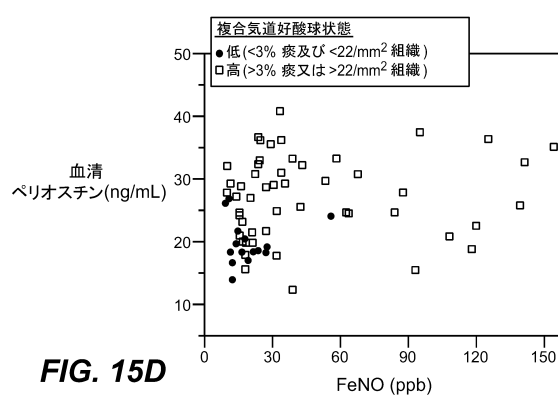
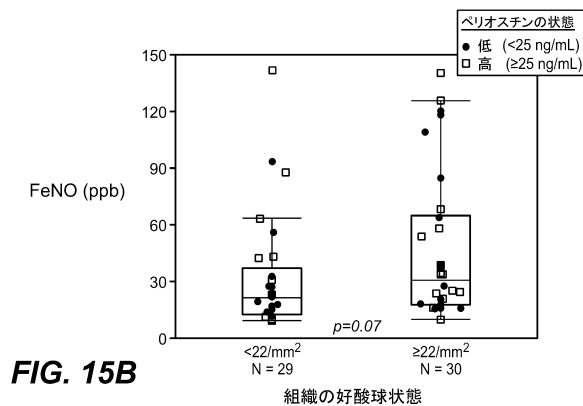
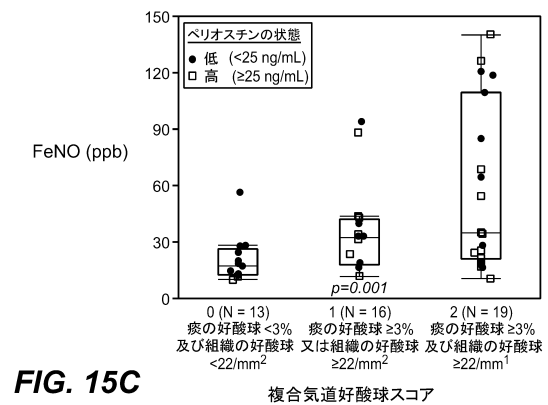
【図 14 E - F】



【図 15 A - B】



【図 15 C - D】



【図 15 E】

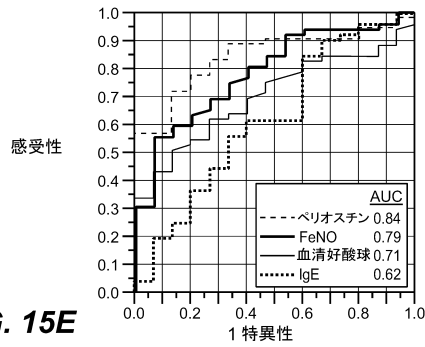


FIG. 15E

【図 17】

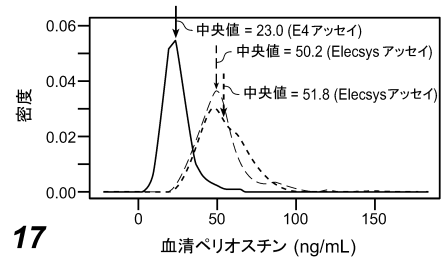


FIG. 17

【図 16】

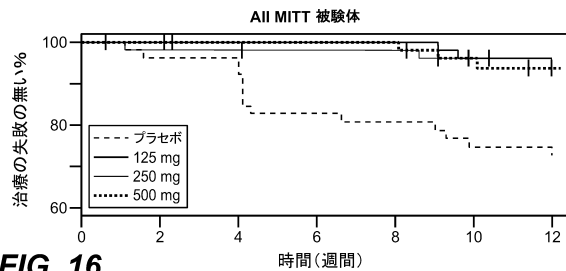


FIG. 16

【図 18 A - B】

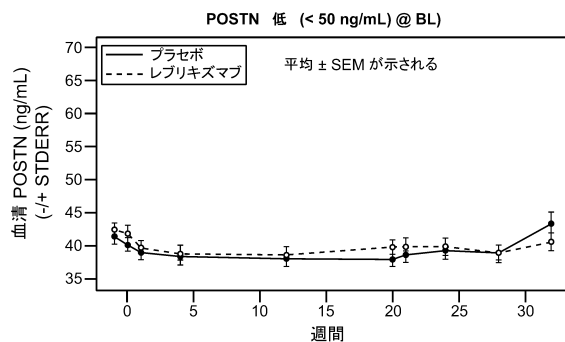


FIG. 18A

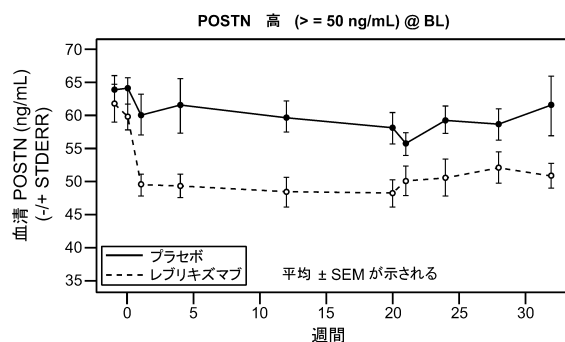


FIG. 18B

【図 19】

	プラセボ	レプリキズマブ	Δ	p 値
1週				
ペリオスチン低	-2.3%	-5.9%	-3.6%	0.2
ペリオスチン高	-8.1%	-14.9%	-6.8%	0.0006
統計	-5.4%	-9.8%	-4.4%	0.003
4週				
ペリオスチン低	-4.0%	-6.5%	-2.5%	0.6
ペリオスチン高	-7.1%	-17.2%	-10.1%	<0.0001
統計	-4.9%	-10.5%	-5.6%	0.005
12週				
ペリオスチン低	-4.9%	-7.1%	-2.2%	0.6
ペリオスチン高	-3.9%	-19.2%	-15.3%	<0.0001
統計	-4.6%	-12.3%	-7.7%	0.0006
24週				
ペリオスチン低	-2.6%	-6.7%	-4.1%	0.2
ペリオスチン高	-6.0%	-16.5%	-10.5%	0.0003
統計	-4.6%	-10.7%	-6.1%	0.002
32週				
ペリオスチン低	+0.3%	-3.0%	-3.3%	0.02
ペリオスチン高	-7.4%	-14.1%	-6.7%	0.009
統計	-2.2%	-8.9%	-6.7%	0.005

FIG. 19

【図 20 A - B】

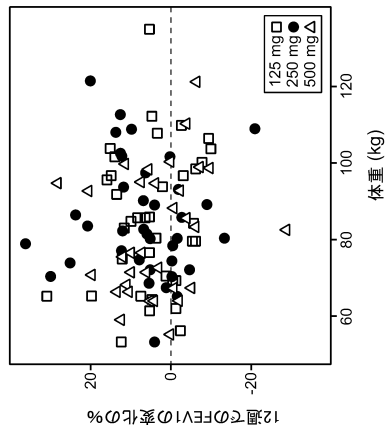


FIG. 20B

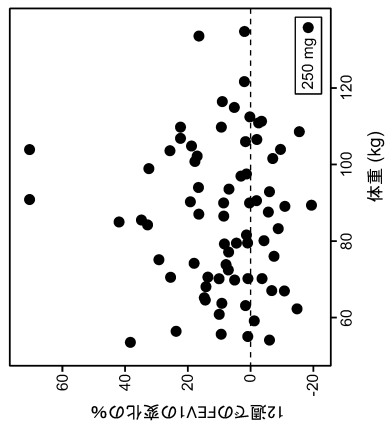


FIG. 20A

【図 22 A - B】

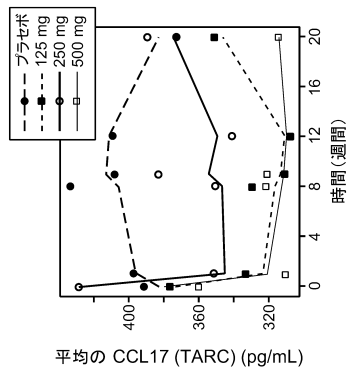


FIG. 22B

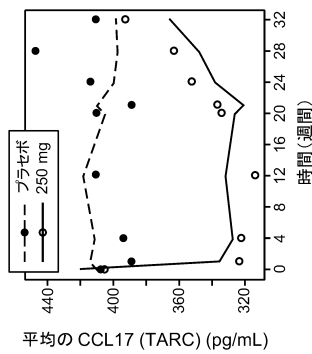


FIG. 22A

【図 21】

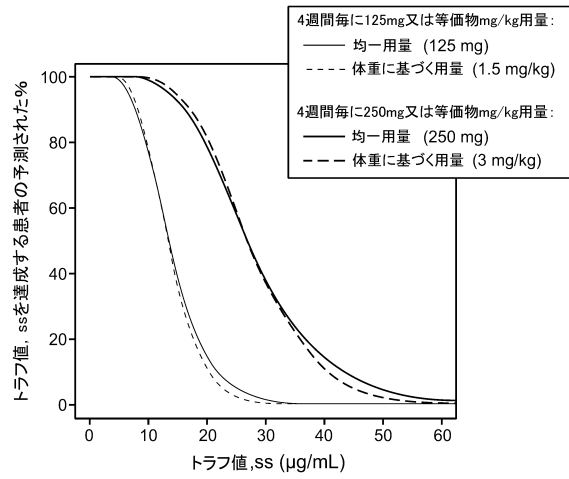


FIG. 21

【図 23】

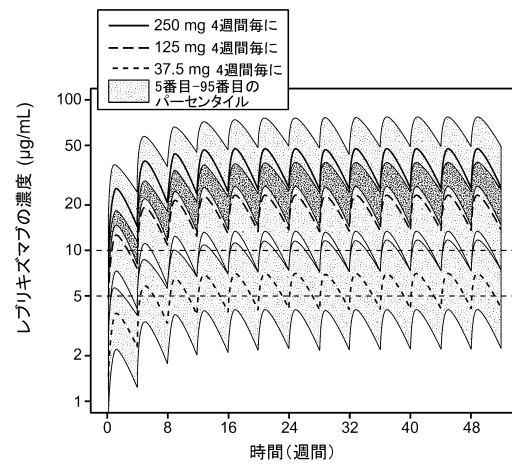


FIG. 23

【配列表】

0006005657000001.app

フロントページの続き

(51) Int. Cl. F I
C 0 7 K 16/18 (2006.01) A 6 1 K 45/00
 C 0 7 K 16/18

- (31)優先権主張番号 61/484,650
 (32)優先日 平成23年5月10日(2011.5.10)
 (33)優先権主張国 米国(US)
 (31)優先権主張番号 61/574,485
 (32)優先日 平成23年8月2日(2011.8.2)
 (33)優先権主張国 米国(US)
 (31)優先権主張番号 61/557,295
 (32)優先日 平成23年11月8日(2011.11.8)
 (33)優先権主張国 米国(US)

前置審査

- (72)発明者 エリクソン, リチャード ダブリュ.
 アメリカ合衆国 カリフォルニア 94080, サウス サンフランシスコ, ディーエヌエー
 ウェイ 1, シー/オー ジェネンテック, インコーポレイテッド
 (72)発明者 フリーマー, ミッシェル
 アメリカ合衆国 カリフォルニア 94080, サウス サンフランシスコ, ディーエヌエー
 ウェイ 1, シー/オー ジェネンテック, インコーポレイテッド
 (72)発明者 ヘイズン, メレディス
 アメリカ合衆国 カリフォルニア 94080, サウス サンフランシスコ, ディーエヌエー
 ウェイ 1, シー/オー ジェネンテック, インコーポレイテッド
 (72)発明者 チア, コイチュアン
 アメリカ合衆国 カリフォルニア 94080, サウス サンフランシスコ, ディーエヌエー
 ウェイ 1, シー/オー ジェネンテック, インコーポレイテッド
 (72)発明者 マシューズ, ジョン ジー.
 アメリカ合衆国 カリフォルニア 94080, サウス サンフランシスコ, ディーエヌエー
 ウェイ 1, シー/オー ジェネンテック, インコーポレイテッド
 (72)発明者 パトナム, ウェンディー
 アメリカ合衆国 カリフォルニア 94080, サウス サンフランシスコ, ディーエヌエー
 ウェイ 1, シー/オー ジェネンテック, インコーポレイテッド
 (72)発明者 シェーレンズ, ヘリー
 アメリカ合衆国 カリフォルニア 94080, サウス サンフランシスコ, ディーエヌエー
 ウェイ 1, シー/オー ジェネンテック, インコーポレイテッド
 (72)発明者 チョン, イエンアン
 アメリカ合衆国 カリフォルニア 94080, サウス サンフランシスコ, ディーエヌエー
 ウェイ 1, シー/オー ジェネンテック, インコーポレイテッド

審査官 三木 隆

- (56)参考文献 国際公開第2009/124090(WO, A1)
 国際公開第02/052006(WO, A1)
 米国特許出願公開第2011/0123530(US, A1)
 特開2010-096748(JP, A)
 米国特許出願公開第2003/0152956(US, A1)

特表2007-505314(JP,A)

(58)調査した分野(Int.Cl., DB名)

G01N 33/53

A61K 39/395

A61K 45/00

A61P 11/00

A61P 11/06

C07K 16/18

JSTPlus/JMEDPlus/JST7580(JDreamIII)

CAPLUS/MEDLINE/BIOSIS(STN)

专利名称(译)	与TH2抑制有关的诊断和治疗		
公开(公告)号	JP6005657B2	公开(公告)日	2016-10-12
申请号	JP2013544814	申请日	2011-12-16
[标]申请(专利权)人(译)	健泰科生物技术公司		
申请(专利权)人(译)	Genentech公司		
当前申请(专利权)人(译)	Genentech公司		
[标]发明人	アーロンジョーセフアール エリクソンリチャードダブリュ フリーマーミッシェル ヘイズンメレディス チアコイチュアン マシューズジョンジー パトナムウエンディー シェーレンズヘリー チョンイエンアン		
发明人	アーロン, ジョーセフ アール. エリクソン, リチャード ダブリュ. フリーマー, ミッシェル ヘイズン, メレディス チア, コイチュアン マシューズ, ジョン ジー. パトナム, ウエンディー シェーレンズ, ヘリー チョン, イエンアン		
IPC分类号	G01N33/53 A61K39/395 A61P11/00 A61P11/06 A61K45/00 C07K16/18		
CPC分类号	C07K16/28 G01N33/6887 G01N2333/475 G01N2800/122 G01N2800/52 A61K31/522 A61K31/573 A61P11/00 A61P11/06 A61P11/10 C07K16/244 A61K39/3955 A61K39/39566 A61K45/06 C07K16/18 G01N33/6884 G01N33/6893		
FI分类号	G01N33/53.ZNA.D A61K39/395.D A61K39/395.N A61P11/00 A61P11/06 A61K45/00 C07K16/18		
审查员(译)	三木隆		
优先权	61/459760 2010-12-16 US 61/465425 2011-03-18 US 61/484650 2011-05-10 US 61/574485 2011-08-02 US 61/557295 2011-11-08 US		
其他公开文献	JP2014506321A5 JP2014506321A		
外部链接	Espacenet		

摘要(译)

提供了用于诊断和治疗与TH2抑制相关的疾病的方法，包括但不限于哮喘。还提供了选择或鉴定患者以用特定治疗剂（TH2途径抑制剂）治疗的方法。

元の残基	典型的な置換	保存的置換
Ala (A)	Val; Leu; Ile	Val
Arg (R)	Lys; Gln; Asn	Lys
Asn (N)	Gln; His; Asp; Lys; Arg	Gln
Asp (D)	Glu; Asn	Glu
Cys (C)	Ser; Ala	Ser
Gln (Q)	Asn; Glu	Asn
Glu (E)	Asp; Gln	Asp
Gly (G)	Ala	Ala
His (H)	Asn; Gln; Lys; Arg	Arg
Ile (I)	Leu; Val; Met; Ala; Phe; ノルロイシン	Leu
Leu (L)	ノルロイシン; Ile; Val; Met; Ala; Phe	Ile
Lys (K)	Arg; Gln; Asn	Arg
Met (M)	Leu; Phe; Ile	Leu
Phe (F)	Trp; Leu; Val; Ile; Ala; Tyr	Tyr
Pro (P)	Ala	Ala
Ser (S)	Thr	Thr
Thr (T)	Val; Ser	Ser
Trp (W)	Tyr; Phe	Tyr
Tyr (Y)	Trp; Phe; Thr; Ser	Phe
Val (V)	Ile; Leu; Met; Phe; Ala; ノルロイシン	Leu