

(19) 日本国特許庁(JP)

(12) 公表特許公報(A)

(11) 特許出願公表番号

特表2020-513404
(P2020-513404A)

(43) 公表日 令和2年5月14日(2020.5.14)

(51) Int.Cl.	F I	テーマコード (参考)
A 6 1 K 45/06 (2006.01)	A 6 1 K 45/06	4 C 0 8 4
A 6 1 K 39/395 (2006.01)	A 6 1 K 39/395 Z N A N	4 C 0 8 5
A 6 1 P 43/00 (2006.01)	A 6 1 K 39/395 U	4 H 0 4 5
A 6 1 P 29/00 (2006.01)	A 6 1 P 43/00 1 2 1	
A 6 1 P 37/02 (2006.01)	A 6 1 P 29/00	

審査請求 未請求 予備審査請求 未請求 (全 102 頁) 最終頁に続く

(21) 出願番号 特願2019-529476 (P2019-529476)
 (86) (22) 出願日 平成29年11月30日 (2017.11.30)
 (85) 翻訳文提出日 令和1年6月21日 (2019.6.21)
 (86) 国際出願番号 PCT/US2017/064041
 (87) 国際公開番号 W02018/102597
 (87) 国際公開日 平成30年6月7日 (2018.6.7)
 (31) 優先権主張番号 62/428,634
 (32) 優先日 平成28年12月1日 (2016.12.1)
 (33) 優先権主張国・地域又は機関 米国 (US)
 (31) 優先権主張番号 62/473,738
 (32) 優先日 平成29年3月20日 (2017.3.20)
 (33) 優先権主張国・地域又は機関 米国 (US)

(71) 出願人 597160510
 リジェネロン・ファーマシューティカルズ
 ・インコーポレイテッド
 REGENERON PHARMACEU
 TICALS, INC.
 アメリカ合衆国10591-6707ニュ
 ーヨーク州タリータウン、オールド・ソー
 ・ミル・リバー・ロード777番
 (74) 代理人 100127926
 弁理士 結田 純次
 (74) 代理人 100140132
 弁理士 竹林 則幸

最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 炎症性状態の処置方法

(57) 【要約】

本発明は、炎症性疾患、またはIL-33およびIL-4のレベルの上昇に関連するもしくはそれらに一部起因する状態、特に炎症性肺疾患を処置するための方法を提供する。本発明の方法は、上記処置を必要とする対象に1つ以上の治療有効用量のIL-33アンタゴニストを単独で、または1つ以上の治療有効用量のIL-4Rアンタゴニストと組み合わせて投与することを含む。ある特定の実施形態において、本発明の方法は、増強されたIL-33媒介シグナル伝達およびIL-4媒介シグナル伝達によって一部媒介される任意の炎症性疾患または状態を処置するためのアンタゴニストの使用を含む。

【選択図】 図4A

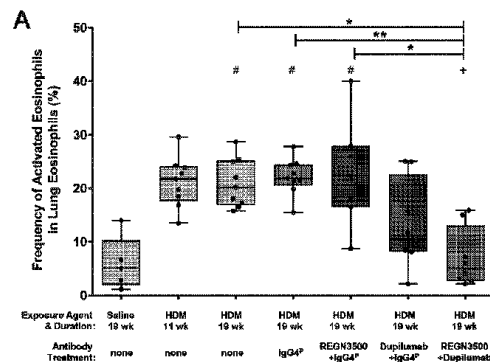


Figure 4A

【特許請求の範囲】**【請求項 1】**

炎症性疾患もしくは障害または前記炎症性疾患もしくは障害に関連する少なくとも1つの症状を処置する方法であって、それを必要とする対象に、治療有効量のインターロイキン-33 (IL-33) アンタゴニストの1回以上の用量を治療有効量のインターロイキン-4 受容体 (IL-4R) アンタゴニストの1回以上の用量と組み合わせて投与することを含み、前記組み合わせの前記投与が、前記IL-33アンタゴニスト単独または前記IL-4Rアンタゴニスト単独の投与で観察される治療有効性と比較して治療有効性の増強をもたらす、方法。

【請求項 2】

前記炎症性疾患もしくは障害が緩和され、または重症度、持続期間、もしくは発生頻度が軽減され、あるいは前記炎症性疾患もしくは障害に関連する少なくとも1つの症状が緩和され、または重症度、持続期間、もしくは発生頻度が軽減される、請求項1に記載の方法。

【請求項 3】

前記炎症性疾患または障害が、喘息、慢性閉塞性肺疾患 (COPD)、喘息およびCOPDオーバーラップ症候群 (ACOS)、アトピー性皮膚炎、アレルギー反応、慢性気管支炎、気腫、鼻ポリープを伴うまたは伴わない慢性鼻副鼻腔炎、炎症性腸疾患、クローン病、潰瘍性大腸炎、過敏性肺炎、多発性硬化症、関節炎 (変形性関節症、リウマチ性関節炎、および乾癬性関節炎)、アレルギー性鼻炎、線維症、好酸球性食道炎、血管炎、蕁麻疹、チャグ・ストラウス症候群、炎症性疼痛、および乾癬からなる群から選択される、請求項1または2に記載の方法。

【請求項 4】

前記慢性閉塞性肺疾患が、喘息、ウイルス性疾患、細菌感染、アレルゲンへの曝露、化学物質もしくは化学煙霧への曝露、または環境刺激物もしくは大気汚染への曝露のうちの1つ以上によって増悪する、請求項3に記載の方法。

【請求項 5】

前記喘息が、ウイルス性疾患、細菌感染、アレルゲンへの曝露、化学物質もしくは化学煙霧への曝露、または環境刺激物もしくは大気汚染への曝露のうちの1つ以上によって増悪する、請求項3に記載の方法。

【請求項 6】

前記喘息が、好酸球性喘息、非好酸球性喘息、ステロイド抵抗性喘息、またはステロイド感受性喘息である、請求項3または5に記載の方法。

【請求項 7】

前記慢性閉塞性肺疾患が、タバコの煙に起因し、またはタバコの煙により一部増悪する、請求項3または4に記載の方法。

【請求項 8】

前記炎症性疾患もしくは障害または前記炎症性疾患もしくは障害の少なくとも1つの症状を緩和するのに有用な有効量の1つ以上の追加の治療剤を投与することをさらに含む、請求項1～7のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 9】

前記1つ以上の追加の治療剤が、非ステロイド性抗炎症薬 (NSAID)、コルチコステロイド、気管支拡張薬、抗ヒスタミン薬、エピネフリン、鬱血除去薬、胸腺間質性リンパ球性新生因子 (TSLP) アンタゴニスト、IL-1アンタゴニスト、IL-8アンタゴニスト、IL-13アンタゴニスト、異なるIL-4アンタゴニスト、IL-4/IL-13デュアルアンタゴニスト、IL-33/IL-13デュアルアンタゴニスト、IL-5アンタゴニスト、IL-6アンタゴニスト、IL-12/23アンタゴニスト、IL-22アンタゴニスト、IL-25アンタゴニスト、IL-17アンタゴニスト、IL-31アンタゴニスト、TNF阻害剤、IGE阻害剤、ロイコトリエン阻害剤、経口PDE4阻害剤、メチルキサンチン、ネドクロミルナトリウム、クロモリンナトリウム、長時間

10

20

30

40

50

作用型ベータ2アゴニスト(LABA)、長時間作用型ムスカリンアンタゴニスト(LAMA)、吸入コルチコステロイド(ICS)、および別のIL-33アンタゴニストからなる群から選択される、請求項8に記載の方法。

【請求項10】

別のIL-33アンタゴニストが、IL-33に対する異なる抗体、異なるIL-33受容体ベースのトラップ、ST2抗体、可溶性ST2受容体、ST2以外のIL-33受容体に対するアンタゴニスト、IL-1RAcPアンタゴニスト、およびIL-33/ST2複合体と相互作用する抗体からなる群から選択される、請求項9に記載の方法。

【請求項11】

線維性疾患もしくは障害または前記線維性疾患もしくは障害に関連する少なくとも1つの症状を処置するための方法であって、それを必要とする対象に、治療有効量のインターロイキン-33(IL-33)アンタゴニストの1回以上の用量を治療有効量のインターロイキン-4受容体(IL-4R)アンタゴニストの1回以上の用量と組み合わせて投与することを含み、前記組み合わせの前記投与が、前記IL-33アンタゴニスト単独または前記IL-4Rアンタゴニスト単独の投与で観察される治療有効性と比較して治療有効性の増強をもたらす、方法。

10

【請求項12】

前記線維性疾患もしくは障害が緩和され、または重症度、持続期間、もしくは発生頻度が軽減され、あるいは前記線維性疾患もしくは障害に関連する少なくとも1つの症状が緩和され、または重症度、持続期間、もしくは発生頻度が軽減される、請求項11に記載の方法。

20

【請求項13】

前記線維性疾患または障害が肺線維性疾患または障害である、請求項11または12に記載の方法。

【請求項14】

前記肺線維性疾患または障害が、特発性肺線維症、急性肺損傷または急性呼吸窮迫に関連する線維症、珪肺症、放射線誘導性線維症、プレオマイシン誘導性肺線維症、アスベスト誘導性肺線維症、および閉塞性細気管支炎症候群からなる群から選択される、請求項13に記載の方法。

【請求項15】

アレルギー反応の予防またはその重症度の軽減を必要とする対象においてそれを予防または軽減するための方法であって、治療有効量のIL-33アンタゴニストの1回以上の用量を治療有効量のIL-4Rアンタゴニストの1回以上の用量と組み合わせて投与することを含み、前記組み合わせの前記投与が、前記IL-33アンタゴニスト単独または前記IL-4Rアンタゴニスト単独の投与で観察される治療有効性と比較して、アレルギー反応を予防またはその重症度を軽減するための治療有効性の増強をもたらす、方法。

30

【請求項16】

前記治療有効性の増強が、以下のパラメータのうちの任意の1つ以上によって測定される、請求項1、11、または15のいずれか一項に記載の方法：

a) 組織試料中の好酸球、活性化B細胞、活性化CD8T細胞、またはCD4/CD8T細胞比のうちの1つ以上の頻度の減少、

b) 組織試料中のインターロイキン-1ベータ(IL-1)、インターロイキン-4(IL-4)、インターロイキン-5(IL-5)、インターロイキン-6(IL-6)、インターロイキン-13(IL-13)、単球走化性タンパク質-1(MCP-1)、または腫瘍壊死因子アルファ(TNF)レベルのうちの1つ以上の低下、あるいは

c) 組織試料中のIL4、IL5、IL6、IL9、IL13、IL1r1、IL13ra2、tnf、Tgfb1、Ccl2、Ccl11、Ccl24、Col15a1、および/またはCol24a1のうちの1つ以上の遺伝子発現レベルの低下。

40

【請求項17】

前記治療有効性の増強が、以下のパラメータのうちの任意の1つ以上によってさらに測

50

定される、請求項 16 に記載の方法：

- d) 血清 IgE レベルの低下、
- e) 肺における杯細胞化生の減少、
- f) 肺硬化の改善、または
- g) 肺における上皮下線維症の減少。

【請求項 18】

前記組織試料が肺、肝臓、腎臓、心臓、または全血から得られる、請求項 16 に記載の方法。

【請求項 19】

前記 IL-4R アンタゴニストと組み合わせた前記 IL-33 アンタゴニストの投与が、前記疾患によりまたは前記疾患もしくはアレルギーの原因物質により誘発される 1 型免疫応答の増加および/または 2 型免疫応答の低下をもたらす、請求項 1 ~ 18 のいずれか一項に記載の方法。

10

【請求項 20】

前記 IL-4R アンタゴニストが、IL-4R に結合し、IL-4 および/または IL-13 と 1 型または 2 型 IL-4 受容体との相互作用を妨げる抗体またはその抗原結合フラグメントである、請求項 1 ~ 19 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 21】

IL-4R に結合する前記抗体またはその抗原結合フラグメントが、IL-4 および/または IL-13 と 1 型および 2 型 IL-4 受容体の両方との相互作用を妨げる、請求項 20 に記載の方法。

20

【請求項 22】

前記 IL-4R 抗体またはその抗原結合フラグメントが、配列番号 335 または 337 のアミノ酸配列を含む重鎖可変領域 (HCVR) の重鎖相補性決定領域 (HCDR)、および配列番号 336 または 338 のアミノ酸配列を含む軽鎖可変領域 (LCVR) の軽鎖相補性決定領域 (LCDR) を含む、請求項 20 または 21 に記載の方法。

【請求項 23】

前記 IL-4R 抗体またはその抗原結合フラグメントが、3つの HCDR (HCDR 1、HCDR 2、および HCDR 3) ならびに 3つの LCDR (LCDR 1、LCDR 2、および LCDR 3) を含み、前記 HCDR 1 が配列番号 339 のアミノ酸配列を含み、前記 HCDR 2 が配列番号 340 のアミノ酸配列を含み、前記 HCDR 3 が配列番号 341 のアミノ酸配列を含み、前記 LCDR 1 が配列番号 342 のアミノ酸配列を含み、前記 LCDR 2 が配列番号 343 のアミノ酸配列を含み、前記 LCDR 3 が配列番号 344 のアミノ酸配列を含む、請求項 20 ~ 22 のいずれか一項に記載の方法。

30

【請求項 24】

前記 IL-4R 抗体またはその抗原結合フラグメントが、配列番号 335 または配列番号 337 のアミノ酸配列を含む HCVR、および配列番号 336 または配列番号 338 のアミノ酸配列を含む LCVR を含む、請求項 20 ~ 23 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 25】

前記 IL-4R 抗体またはその抗原結合フラグメントが、配列番号 335 / 336 または配列番号 337 / 338 のいずれかの HCVR / LCVR アミノ酸配列対を含む、請求項 20 ~ 24 のいずれか一項に記載の方法。

40

【請求項 26】

前記 IL-4R アンタゴニストが、デュピルマブまたはその生物学的等価物である、請求項 1 ~ 25 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 27】

前記 IL-33 アンタゴニストが、IL-33 に特異的に結合し、IL-33 と ST2 との相互作用を阻止する抗体またはその抗原結合フラグメントである、請求項 1 ~ 19 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 28】

50

IL - 33 に特異的に結合する前記抗体またはその抗原結合フラグメントが、配列番号 2、18、34、50、66、82、98、114、130、146、162、178、194、210、226、242、258、274、290、および 308 からなる群から選択される重鎖可変領域 (HCVR) アミノ酸配列内に含有される 3 つの重鎖 CDR (HCDR1、HCDR2、および HCDR3) と、配列番号 10、26、42、58、74、90、106、122、138、154、170、186、202、218、234、250、266、282、298、および 316 からなる群から選択される軽鎖可変領域 (LCVR) アミノ酸配列内に含有される 3 つの軽鎖 CDR (LCDR1、LCDR2、および LCDR3) と、を含む、請求項 1 ~ 19 または 27 のいずれか一項に記載の方法。

10

【請求項 29】

IL - 33 に特異的に結合する前記抗体またはその抗原結合フラグメントが、配列番号 2、18、34、50、66、82、98、114、130、146、162、178、194、210、226、242、258、274、290、および 308 からなる群から選択されるアミノ酸配列を有する重鎖可変領域 (HCVR) を含む、請求項 1 ~ 19 または 27 ~ 28 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 30】

IL - 33 に特異的に結合する前記抗体またはその抗原結合フラグメントが、配列番号 10、26、42、58、74、90、106、122、138、154、170、186、202、218、234、250、266、282、298、および 316 からなる群から選択されるアミノ酸配列を有する軽鎖可変領域 (LCVR) を含む、請求項 1 ~ 19 または 27 ~ 29 のいずれか一項に記載の方法。

20

【請求項 31】

IL - 33 に特異的に結合する前記抗体またはその抗原結合フラグメントが、
 (a) 配列番号 4、20、36、52、68、84、100、116、132、148、164、180、196、212、228、244、260、276、292、および 310 からなる群から選択されるアミノ酸配列を有する HCDR1 ドメインと、
 (b) 配列番号 6、22、38、54、70、86、102、118、134、150、166、182、198、214、230、246、262、278、294、および 312 からなる群から選択されるアミノ酸配列を有する HCDR2 ドメインと、
 (c) 配列番号 8、24、40、56、72、88、104、120、136、152、168、184、200、216、232、248、264、280、296、および 314 からなる群から選択されるアミノ酸配列を有する HCDR3 ドメインと、
 (d) 配列番号 12、28、44、60、76、92、108、124、140、156、172、188、204、220、236、252、268、284、および 318 からなる群から選択されるアミノ酸配列を有する LCDR1 ドメインと、
 (e) 配列番号 14、30、46、62、78、94、110、126、142、158、174、190、206、222、238、254、270、286、および 320 からなる群から選択されるアミノ酸配列を有する LCDR2 ドメインと、
 (f) 配列番号 16、32、48、64、80、96、112、128、144、160、176、192、208、224、240、256、272、288、および 322 からなる群から選択されるアミノ酸配列を有する LCDR3 ドメインと、を含む、請求項 1 ~ 19 または 27 ~ 30 のいずれか一項に記載の方法。

30

40

【請求項 32】

IL - 33 に特異的に結合する前記抗体またはその抗原結合フラグメントが、配列番号 2 / 10、18 / 26、34 / 42、50 / 58、66 / 74、82 / 90、98 / 106、114 / 122、130 / 138、146 / 154、162 / 170、178 / 186、194 / 202、210 / 218、226 / 234、242 / 250、258 / 266、274 / 282、290 / 298、および 308 / 316 からなる群から選択される HCVR / LCVR アミノ酸配列対を含む、請求項 1 ~ 19 または 27 ~ 31 のいずれか

50

一項に記載の方法。

【請求項 33】

前記 I L - 33 抗体またはその抗原結合フラグメントが、水素 / 重水素交換によって決定されるように、配列番号 349 の約 1 位 ~ 約 12 位の範囲のアミノ酸配列、および / または配列番号 349 の約 50 位 ~ 約 94 位の範囲のアミノ酸配列と相互作用する、請求項 1 ~ 19 または 27 ~ 32 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 34】

前記 I L - 33 抗体またはその抗原結合フラグメントが、水素 / 重水素交換によって決定されるように、配列番号 348 の約 112 位 ~ 約 123 位の範囲のアミノ酸配列、および / または配列番号 348 の約 161 位 ~ 約 205 位の範囲のアミノ酸配列と相互作用する、請求項 1 ~ 19 または 27 ~ 33 のいずれか一項に記載の方法。

10

【請求項 35】

前記 I L - 33 抗体またはその抗原結合フラグメントが、水素 / 重水素交換によって決定されるように、配列番号 350 のアミノ酸配列、もしくは配列番号 351 アミノ酸配列のいずれか、または配列番号 350 および 351 の両方と相互作用する、請求項 1 ~ 19 または 27 ~ 34 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 36】

前記 I L - 33 抗体または抗原結合フラグメントが、配列番号 274 / 282 の重鎖可変領域 / 軽鎖可変領域 (H C V R / L C V R) アミノ酸配列対の重鎖相補性決定領域 (H C D R) および軽鎖相補性決定領域 (L C D R) を含む、請求項 1 ~ 19 または 27 ~ 35 のいずれか一項に記載の方法。

20

【請求項 37】

前記 I L - 33 抗体または抗原結合フラグメントが、それぞれ配列番号 276 - 278 - 280 - 284 - 286 - 288 の H C D R 1 - H C D R 2 - H C D R 3 - L C D R 1 - L C D R 2 - L C D R 3 ドメインを含む、請求項 1 ~ 19 または 27 ~ 36 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 38】

ヒトインターロイキン - 33 (I L - 33) に特異的に結合する前記抗体または抗原結合フラグメントが、(a) 配列番号 274 のアミノ酸配列を有する重鎖可変領域 (H C V R)、および (b) 配列番号 282 のアミノ酸配列を有する軽鎖可変領域 (L C V R) を含む、請求項 1 ~ 19 または 27 ~ 37 のいずれか一項に記載の方法。

30

【請求項 39】

前記 I L - 33 抗体またはその抗原結合フラグメントが、配列番号 274 / 282 の H C V R / L C V R アミノ酸配列対を含む参照抗体と I L - 33 への結合について競合する、請求項 1 ~ 19 または 27 ~ 38 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 40】

前記 I L - 33 抗体またはその抗原結合フラグメントが、配列番号 274 / 282 の H C V R / L C V R アミノ酸配列対を含む参照抗体と同じ I L - 33 上のエピトープに結合する、請求項 1 ~ 19 または 27 ~ 39 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 41】

前記 I L - 33 アンタゴニストが、多量体化ドメイン (M) に結合された第 1 の I L - 33 結合ドメイン (D 1) を含む I L - 33 トラップであり、D 1 が S T 2 タンパク質の I L - 33 結合部分を含む、請求項 1 ~ 19 のいずれか一項に記載の方法。

40

【請求項 42】

前記 I L - 33 アンタゴニストが、D 1 および / または M に結合された第 2 の I L - 33 結合ドメイン (D 2) をさらに含む I L - 33 トラップであり、D 2 が I L - 1 R A c P タンパク質の細胞外部分を含む、請求項 41 に記載の方法。

【請求項 43】

D 1 が M の N 末端に結合されている、請求項 41 に記載の方法。

【請求項 44】

50

D 1 が M の C 末端に結合されている、請求項 4 1 に記載の方法。

【請求項 4 5】

D 2 が M の N 末端に結合されている、請求項 4 2 に記載の方法。

【請求項 4 6】

D 2 が M の C 末端に結合されている、請求項 4 2 に記載の方法。

【請求項 4 7】

D 1 が D 2 の N 末端に結合され、D 2 が M の N 末端に結合されている、請求項 4 2 に記載の方法。

【請求項 4 8】

D 1 が、配列番号 3 2 8 もしくは 3 2 9 のアミノ酸配列、またはそれらと少なくとも 9 0 % の同一性を有するアミノ酸配列を含む、請求項 4 1 に記載の方法。

10

【請求項 4 9】

D 2 が、配列番号 3 3 0 もしくは 3 3 1 のアミノ酸配列、またはそれらと少なくとも 9 0 % の同一性を有するアミノ酸配列を含む、請求項 4 2 に記載の方法。

【請求項 5 0】

前記 I L - 3 3 アンタゴニストが、第 1 の多量体化ドメイン (M 1) に結合された第 1 の I L - 3 3 結合ドメイン (D 1) および第 2 の多量体化ドメイン (M 2) に結合された第 2 の I L - 3 3 結合ドメイン (D 2) を含む I L - 3 3 トラップであり、前記 D 1 および / または D 2 ドメインが、S T 2 および I L - 1 R A c P からなる群から選択される受容体の I L - 3 3 結合部分を含む、請求項 1 ~ 1 9 のいずれか一項に記載の方法。

20

【請求項 5 1】

前記 I L - 3 3 アンタゴニストが、D 1 または M 1 のいずれかに結合された第 3 の I L - 3 3 結合ドメイン (D 3) を含み、D 3 が、S T 2 および I L - 1 R A c P からなる群から選択される受容体の I L - 3 3 結合部分を含む、請求項 5 0 に記載の方法。

【請求項 5 2】

前記 I L - 3 3 アンタゴニストが、D 2 または M 2 のいずれかに結合された第 4 の I L - 3 3 結合ドメイン (D 4) を含み、D 4 が、S T 2 および I L - 1 R A c P からなる群から選択される受容体の I L - 3 3 結合部分を含む、請求項 5 1 に記載の方法。

【請求項 5 3】

D 1 が M 1 の N 末端に結合され、D 2 が M 2 の N 末端に結合されている、請求項 5 0 に記載の方法。

30

【請求項 5 4】

D 3 が D 1 の N 末端に結合されている、請求項 5 1 に記載の方法。

【請求項 5 5】

D 3 が M 1 の C 末端に結合されている、請求項 5 1 に記載の方法。

【請求項 5 6】

D 4 が D 2 の N 末端に結合されている、請求項 5 1 に記載の方法。

【請求項 5 7】

D 4 が M 2 の C 末端に結合されている、請求項 5 2 に記載の方法。

【請求項 5 8】

D 3 が D 1 の N 末端に結合され、D 1 が M 1 の N 末端に結合され、D 4 が D 2 の N 末端に結合され、D 2 が M 2 の N 末端に結合されている、請求項 5 2 に記載の方法。

40

【請求項 5 9】

D 3 が D 4 と同一または実質的に同一であり、D 1 が D 2 と同一または実質的に同一である、請求項 5 8 に記載の方法。

【請求項 6 0】

D 3 および D 4 がそれぞれ、S T 2 タンパク質の I L - 3 3 結合部分を含み、D 1 および D 2 がそれぞれ、I L - 1 R A c P タンパク質の細胞外部分を含む、請求項 5 9 に記載の方法。

【請求項 6 1】

50

前記 I L - 3 3 アンタゴニストが、配列番号 3 2 3、3 2 4、3 2 5、3 2 6、および 3 2 7 からなる群から選択されるアミノ酸配列を含む I L - 3 3 トラップである、請求項 1 ~ 1 9 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 6 2】

前記 I L - 3 3 アンタゴニストが、配列番号 3 2 7 のアミノ酸配列を含む I L - 3 3 トラップである、請求項 1 ~ 1 9 または 6 1 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 6 3】

前記 I L - 3 3 アンタゴニストおよび前記 I L - 4 R アンタゴニストが、それらを必要とする患者に別々の製剤で投与される、請求項 1 ~ 6 2 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 6 4】

前記 I L - 3 3 アンタゴニストおよび前記 I L - 4 R アンタゴニストが、それらを必要とする患者に投与する前に共製剤化される、請求項 1 ~ 6 2 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 6 5】

前記 I L - 3 3 アンタゴニストおよび前記 I L - 4 R アンタゴニストが、前記対象に皮下、静脈内、筋肉内、または鼻腔内投与される、請求項 1 ~ 6 4 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 6 6】

前記 I L - 3 3 アンタゴニストが、配列番号 2 7 4 の重鎖可変領域配列内に含有される 3 つの重鎖相補性決定領域 (H C D R)、および配列番号 2 8 2 の軽鎖可変領域 (L C V R) 配列内に含有される 3 つの軽鎖相補性決定領域 (L C D R) を含むモノクローナル抗体であり、前記 I L - 4 R アンタゴニストが、配列番号 3 3 7 の重鎖可変領域配列内に含有される 3 つの重鎖相補性決定領域 (H C D R)、および配列番号 3 3 8 の軽鎖可変領域 (L C V R) 配列内に含有される 3 つの軽鎖相補性決定領域 (L C D R) を含むモノクローナル抗体である、請求項 1 ~ 6 5 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 6 7】

前記 I L - 3 3 アンタゴニストが、配列番号 2 7 4 / 2 8 2 の H C V R / L C V R アミノ酸配列対を含むモノクローナル抗体であり、前記 I L - 4 R アンタゴニストが、配列番号 3 3 7 / 3 3 8 の H C V R / L C V R アミノ酸配列対を含むモノクローナル抗体である、請求項 1 ~ 6 6 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 6 8】

前記 I L - 3 3 アンタゴニストが、それぞれ配列番号 2 7 6 - 2 7 8 - 2 8 0 のアミノ酸配列を有する 3 つの H C D R (H C D R 1 - H C D R 2 - H C D R 3)、およびそれぞれ配列番号 2 8 4 - 2 8 6 - 2 8 8 のアミノ酸配列を有する 3 つの L C D R (L C D R 1 - L C D R 2 - L C D R 3) を含むモノクローナル抗体であり、前記 I L - 4 R アンタゴニストが、それぞれ配列番号 3 3 9 - 3 4 0 - 3 4 1 のアミノ酸を有する 3 つの H C D R (H C D R 1 - H C D R 2 - H C D R 3)、およびそれぞれ配列番号 3 4 2 - 3 4 3 - 3 4 4 のアミノ酸配列を有する 3 つの L C D R (L C D R 1 - L C D R 2 - L C D R 3) を含むモノクローナル抗体である、請求項 1 ~ 6 7 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 6 9】

前記 I L - 3 3 アンタゴニストが R E G N 3 5 0 0 であり、前記 I L - 4 R アンタゴニストがデュピルマブである、請求項 1 ~ 6 8 のいずれか一項に記載の方法。

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0 0 0 1】

本発明は、炎症性状態を処置するための方法であって、それを必要とする対象に治療有効量のインターロイキン - 3 3 (I L - 3 3) アンタゴニストを単独で、またはインターロイキン - 4 (I L - 4) アンタゴニストと組み合わせて投与することを含む方法に関する。より具体的には、本発明は、治療有効量のインターロイキン - 3 3 (I L - 3 3) 抗体を単独で、またはインターロイキン - 4 R (I L - 4 R) 抗体と組み合わせて投与する

10

20

30

40

50

ことにより、炎症性もしくは閉塞性肺疾患または障害を処置することに関する。

【背景技術】

【0002】

炎症は、宿主による防御反応として開始されるが、しばしば全身性の病変をもたらし得る。先進国では、喘息、アレルギー、および慢性閉塞性肺疾患（COPD）などの炎症性肺疾患が増加しており、医療費に大きな影響をもたらしている。いくつかの炎症細胞およびそれらのメディエーターは、これらの疾患の発症および進行に関与している。ある特定の場合において、これらの疾患は、好酸球、好塩基球、肥満細胞、CD4+Tヘルパー2（Th2）細胞、グループ2自然リンパ球（ILC2）、インターロイキン4（IL-4）および/またはIL-13誘導性マクロファージを伴った組織の浸潤、ならびに血清IgE中の上昇およびサイトカインIL-4、IL-5、IL-9、およびIL-13の増加を特徴とする、2型免疫の結果を反映する。

10

【0003】

炎症性肺疾患で役割を果たすと考えられる1つのサイトカインは、アレルゲン、ウイルス、または煙などの傷害に回答して損傷した上皮組織によって放出される炎症誘導性サイトカインであるインターロイキン-33（IL-33）である。IL-33は、Tヘルパー-2（Th2）関連サイトカイン（例えば、IL-4）の産生を強力に引き起こすインターロイキン-1（IL-1）ファミリーのメンバーである。IL-33は、線維芽細胞、肥満細胞、樹状細胞、マクロファージ、骨芽細胞、内皮細胞、および上皮細胞などの非常に様々な種類の細胞によって発現される。インターロイキン-33（IL-33）は、Toll様/インターロイキン-1受容体スーパーファミリーメンバーであるST2（「腫瘍形成抑制因子2（suppression of tumorigenicity 2）」と称されることもある）のリガンドであり、該ST2は、アクセサリタンパク質IL-1RAcP（「インターロイキン-1受容体アクセサリタンパク質」、総説については、例えば、非特許文献1；非特許文献2；非特許文献3、特許文献1、特許文献2を参照のこと）と結合する。IL-33によってST2/IL-1RAcPが活性化されたとき、MyD88（骨髄分化因子88）およびTRAF6（TNF受容体関連因子6）などの下流の分子を介してシグナル伝達カスケードが引き起こされ、特に、NF- κ B（核因子- κ B）の活性化をもたらす。IL-33シグナル伝達は、本明細書に開示されている炎症性肺疾患を含む様々な疾患および障害における要因として関与している。（非特許文献3）。IL-33シグナル伝達の阻害剤は、例えば、特許文献3、特許文献4、特許文献5、特許文献6、特許文献7、特許文献8、特許文献9、特許文献10、特許文献11、特許文献12、特許文献13、特許文献14、特許文献15、特許文献16、特許文献17、特許文献18、および特許文献19に記載されている。

20

30

【0004】

インターロイキン-4（IL-4、B細胞刺激因子またはBSF-1としても知られる）はまた、アレルギー性およびTヘルパー細胞2型（Th2）極性化（polarized）炎症プロセスを駆動する重要なサイトカインとして関与している。IL-4は、T細胞、肥満細胞、顆粒球、巨核球、および赤血球の増殖刺激を含む広範囲の生物学的活性を有することが示されている。IL-4は、休止B細胞におけるクラスII主要組織適合遺伝子複合体分子の発現を誘導し、刺激されたB細胞によってIgEおよびIgG1アイソタイプの分泌を促進する。IL-4の生物学的活性は、IL-4に対する特異的細胞表面受容体によって媒介される。ヒトIL-4受容体アルファ（hIL-4R）（配列番号347）は、例えば、特許文献20、特許文献21、および特許文献22に記載されている。hIL-4Rに対する抗体は、特許文献23、特許文献24、および特許文献25に記載されている。hIL-4Rに対する抗体の使用方法は、特許文献26、特許文献27、特許文献28、および特許文献29に記載されている。

40

【0005】

肺の炎症性疾患を処置するための現在の療法は、例えば喘息および慢性閉塞性肺疾患（COPD）を患っている患者における安全性および有効性の改善、特に増悪の軽減につい

50

て大きな余地を残している。抗炎症薬および気管支拡張薬の多くの吸入用の組み合わせが利用可能であるにもかかわらず、多くの患者は増悪を経験し続けている。増悪は全身性コルチコステロイドの使用を必要とする場合があり、該コルチコステロイドはその免疫中和能力が広範であるゆえに有効であるが、骨量減少および感染症を含む望ましくない副作用を有する。いくつかの生物学的療法は、そのほとんどが単一の免疫メディエーターを標的としており、喘息およびCOPDについては開発の後期段階にある。しかしながら、炎症環境の複雑さゆえに、これらの薬剤はおそらくその使用が制限されるであろう。

【0006】

したがって、炎症性肺疾患、例えば本明細書に記載されているものを処置および/または予防するための療法の新規な組み合わせについてのまだ満たされていない必要性が当該技術分野には存在している。

【先行技術文献】

【特許文献】

【0007】

【特許文献1】US 2010 / 0260770

【特許文献2】US 2009 / 0041718

【特許文献3】US 9,453,072

【特許文献4】US 8187596

【特許文献5】US 2013 / 17373761

【特許文献6】US 2014 / 0212412

【特許文献7】US 2014 / 0271658

【特許文献8】US 2014 / 0271642

【特許文献9】US 2014 / 0004107

【特許文献10】WO 2015 / 099175

【特許文献11】WO 2015 / 106080

【特許文献12】WO 2011 / 031600

【特許文献13】WO 2014 / 164959

【特許文献14】WO 2014 / 152195

【特許文献15】WO 2013 / 165894

【特許文献16】WO 2013 / 173761

【特許文献17】EP 1725261

【特許文献18】EP 10815921A1

【特許文献19】EP 2850103A2

【特許文献20】米国特許第5,599,905号

【特許文献21】米国特許第5,767,065号

【特許文献22】米国特許第5,840,869号

【特許文献23】米国特許第5,717,072号

【特許文献24】米国特許第7,186,809号

【特許文献25】米国特許第7,605,237号

【特許文献26】米国特許第5,714,146号

【特許文献27】米国特許第5,985,280号

【特許文献28】米国特許第6,716,587号

【特許文献29】米国特許第9,290,574号

【非特許文献】

【0008】

【非特許文献1】Kakkar and Lee, Nature Reviews - Drug Discovery 7(10): 827-840 (2008)

【非特許文献2】Schmitz et al., Immunity 23: 479-490 (2005)

【非特許文献3】Liew et al., Nature Reviews - Immun

10

20

30

40

50

ology 10 : 103 - 110 (2010)

【発明の概要】

【0009】

本発明のある特定の態様によれば、炎症性疾患もしくは障害または炎症性疾患もしくは障害に関連する少なくとも1つの症状を処置するための方法であって、それを必要とする対象に治療有効量のインターロイキン-33 (IL-33) アンタゴニストの1回以上の用量を単独で、もしくは治療有効量のインターロイキン-4 (IL-4) アンタゴニストの1回以上の用量と組み合わせて投与すること、またはそれを必要とする患者にIL-33 アンタゴニストおよびIL-4 アンタゴニストを含む医薬組成物を投与することを含む方法が提供される。一実施形態において、IL-4 アンタゴニストと組み合わせたIL-33 アンタゴニストの投与は、IL-33 アンタゴニスト単独またはIL-4 アンタゴニスト単独の投与で観察される治療有効性と比較して治療有効性の増強をもたらす。

10

【0010】

ある特定の実施形態において、IL-33 アンタゴニストは、IL-33 シグナル伝達および/またはIL-33 と細胞受容体 (例えばST2) もしくは共受容体 (co-receptor) (例えば、IL-1RAcP) もしくはそれらの複合体との間の相互作用を阻止、減弱、または妨害することができる任意の薬剤である。上記のいずれも、IL-33 の少なくとも1つの生物学的活性を阻止または阻害し得る。

【0011】

ある特定の実施形態において、IL-33 アンタゴニストは、IL-33 に結合しもしくはそれと相互作用し、IL-33 とその受容体ST2 との相互作用を阻止し、ST2 と共受容体IL-1RAcP との相互作用を妨げもしくは阻害し、またはシグナル伝達複体の形成を妨げる抗体である。一実施形態において、IL-33 アンタゴニストは、ヒトIL-33 に結合するまたはそれと特異的に相互作用するモノクローナル抗体である。一実施形態において、IL-33 アンタゴニストは、ヒトIL-33 に結合するまたはそれと特異的に相互作用する受容体ベースのトラップ (receptor-based trap) である。

20

【0012】

一実施形態において、IL-4 アンタゴニストは、インターロイキン-4 受容体 (IL-4R) アンタゴニストである。

30

【0013】

一実施形態において、IL-4R アンタゴニストは、IL-4R またはIL-4R リガンドに結合しまたはそれらと相互作用し、1型および/または2型IL-4 受容体の正常な生物学的シグナル伝達機能を阻害または減弱する任意の薬剤である。一実施形態において、IL-4R アンタゴニストは、ヒトIL-4R に特異的に結合するモノクローナル抗体である。一実施形態において、IL-4R アンタゴニストは、IL-4R に結合し、I型またはII型受容体のいずれかを介したIL-4 およびIL-13 媒介シグナル伝達の両方を阻止するモノクローナル抗体である。一実施形態において、ヒトIL-4R に特異的に結合し、IL-4 およびIL-13 媒介シグナル伝達の両方を阻止するモノクローナル抗体は、デュピルマブ (dupilumab) またはその生物学的等価物である。一実施形態において、炎症性障害または状態を処置する方法は、配列番号274/282の重鎖可変領域/軽鎖可変領域 (HCVR/LCVR) アミノ酸配列対を有するREGN3500、および配列番号337/338のHCVR/LCVRアミノ酸配列対を有するデュピルマブの組み合わせを使用することによって達成される。

40

【0014】

一実施形態において、本発明の方法によって処置可能な炎症性疾患または障害は、喘息、慢性閉塞性肺疾患 (COPD)、喘息およびCOPDオーバーラップ症候群 (ACOS)、アトピー性皮膚炎、鼻ポリープ、アレルギー反応、慢性気管支炎、気腫、鼻ポリープを伴うまたは伴わない慢性鼻副鼻腔炎、炎症性腸疾患、クローン病、潰瘍性大腸炎、過敏性肺炎、多発性硬化症、関節炎 (変形性関節症、リウマチ性関節炎、および乾癬性関節炎

50

)、アレルギー性鼻炎、線維症、好酸球性食道炎、血管炎、蕁麻疹、チャージ・ストラウス症候群、炎症性疼痛、および乾癬からなる群から選択される。

【0015】

一実施形態において、喘息は好酸球性喘息である。

【0016】

一実施形態において、喘息は非好酸球性喘息である。

【0017】

一実施形態において、喘息はアレルギー性喘息である。

【0018】

一実施形態において、喘息は非アレルギー性喘息である。

10

【0019】

一実施形態において、喘息は重症難治性喘息である。

【0020】

一実施形態において、喘息はステロイド抵抗性喘息である。

【0021】

一実施形態において、喘息はステロイド感受性喘息である。

【0022】

一実施形態において、喘息はステロイド難治性喘息である。

【0023】

一実施形態において、喘息は喘息増悪である。

20

【0024】

一実施形態において、炎症性疾患または障害が緩和され、またはその重症度、持続期間、もしくは発生頻度について軽減され、あるいは炎症性疾患または障害に関連する少なくとも1つの症状が緩和され、またはその重症度、持続期間、もしくは発生頻度について軽減される。

【0025】

一実施形態において、以下のパラメータのうちの任意の1つ以上によって測定した場合に、治療有効量のIL-33アンタゴニストの1回以上の用量を単独で、または治療有効量のIL-4Rアンタゴニストの1回以上の用量と組み合わせて、それを必要とする対象に投与することにより、治療有効性の増強がもたらされる：

30

a) 組織試料中の好酸球、活性化B細胞、活性化CD8T細胞、もしくはCD4/CD8T細胞比のうちの1つ以上の頻度の減少、

b) 組織試料中のインターロイキン-1ベータ(IL-1)、インターロイキン-4(IL-4)、インターロイキン-5(IL-5)、インターロイキン-6(IL-6)、インターロイキン-13(IL-13)、単球走化性タンパク質-1(MCP-1)、もしくは腫瘍壊死因子アルファ(TNF)レベルのうちの1つ以上の低下、または

c) 組織試料中のIL4、IL5、IL6、IL9、IL13、IL13ra2、tnf、Tgfb1、Ccl2、Ccl11、Ccl24、Col15a1、もしくはCol24a1のうちの1つ以上の遺伝子発現レベルの低下。

【0026】

一実施形態において、さらに以下のうちの1つ以上によって測定した場合に、治療有効量のIL-33アンタゴニストの1回以上の用量を単独で、または治療有効量のIL-4Rアンタゴニストの1回以上の用量と組み合わせて、それ必要とする対象に投与することにより、治療有効性の増強がもたらされる：

40

d) 血清IgEレベルの低下、

e) 肺における杯細胞化生の減少、

f) 肺硬化の改善、または

g) 肺における上皮下繊維化の減少。

【0027】

一実施形態において、組織試料は肺から得られる。

50

【 0 0 2 8 】

一実施形態において、組織試料は、肝臓、腎臓、心臓、または全血からなる群から選択される。ある特定の実施形態において、血球、血清、または血漿は、上記のパラメータのうちの1つ以上の測定に使用され得る。

【 0 0 2 9 】

一実施形態において、本発明の方法によって処置可能な慢性閉塞性肺疾患は、以下のうちの1つ以上：喘息、ウイルス性疾患、細菌感染、アレルゲンへの曝露、化学物質もしくは化学煙霧への曝露、または環境刺激物もしくは大気汚染への曝露によって増悪する。

【 0 0 3 0 】

関連する実施形態において、本発明の方法によって処置可能な喘息は、以下のうちの1つ以上：ウイルス性疾患、細菌感染、アレルゲンへの曝露、化学物質もしくは化学煙霧への曝露、または環境刺激物もしくは大気汚染への曝露によって増悪する。

10

【 0 0 3 1 】

ある特定の実施形態において、本発明の方法によって処置可能な喘息は、好酸球性喘息、非好酸球性喘息、ステロイド抵抗性喘息、およびステロイド感受性喘息からなる群から選択される。

【 0 0 3 2 】

一実施形態において、本発明の方法によって処置可能な慢性閉塞性肺疾患は、タバコの煙に起因し、またはタバコの煙によって一部増悪する。

【 0 0 3 3 】

一実施形態において、本発明の方法によって処置可能な慢性閉塞性肺疾患を患っている患者は、好酸球数の増加を示してもよいし、または示さなくてもよい。

20

【 0 0 3 4 】

一実施形態において、本発明の方法によって処置可能な喘息およびCOPDオーバーラップ症候群(ACOS)を患っている患者は、好酸球数の増加を示してもよいし、または示さなくてもよい。

【 0 0 3 5 】

本発明の第2の態様は、炎症性疾患もしくは障害または炎症性疾患もしくは障害に関連する少なくとも1つの症状を緩和するのに有用な有効量の1つ以上の追加の治療剤を、治療有効量のインターロイキン-33(IL-33)アンタゴニスト、例えばIL-33抗体またはIL-33トラップ、および治療有効量のインターロイキン-4(IL-4)アンタゴニスト、例えばデュピルマブなどのIL-4R抗体、またはそれらの治療等価物と組み合わせて投与することによって、炎症性疾患もしくは障害または炎症性疾患もしくは障害に関連する少なくとも1つの症状を処置することを提供する。

30

【 0 0 3 6 】

一実施形態において、1つ以上の追加の治療剤は、非ステロイド性抗炎症薬(NSAID)、コルチコステロイド(例えば吸入コルチコステロイドまたはICS)、長時間作用型2アドレナリンアゴニスト(LABA)、長時間作用型ムスカリンアンタゴニスト(LAMA)、気管支拡張薬、抗ヒスタミン薬、エピネフリン、鬱血除去薬、胸腺間質性リンホポエチン(TSLP)アンタゴニスト、IL-1アンタゴニスト、IL-8アンタゴニスト、IL-13アンタゴニスト、IL-4アンタゴニスト、IL-4/IL-13デュアル(dual)アンタゴニスト、IL-33/IL-13デュアルアンタゴニスト、IL-5アンタゴニスト、IL-6アンタゴニスト、IL-12/23アンタゴニスト、IL-22アンタゴニスト、IL-25アンタゴニスト、IL-17アンタゴニスト、IL-31アンタゴニスト、TNF阻害剤、IgE阻害剤、ロイコトリエン阻害剤、経口PDE4阻害薬、メチルキサンチン、ネドクロミルナトリウム、クロモリンナトリウム、長時間作用型ベータ2アゴニスト、および別のIL-33アンタゴニスト(例えば、IL-33に対する異なる抗体、異なるIL-33受容体ベースのトラップ、ST2アンタゴニスト(ST2に対する抗体を含む)、可溶性ST2受容体、もしくはST2以外の別のIL-33受容体に対するアンタゴニスト、もしくはIL-1RAcPアンタゴニスト(I

40

50

L - 1 R A c P に対する抗体を含む)、または I L - 3 3 / S T 2 複合体と相互作用する抗体) からなる群から選択される。

【0037】

いくつかの実施形態において、本発明は、中等度から重度の慢性閉塞性肺疾患 (C O P D) を処置するための方法であって、例えば、吸入コルチコステロイド (I C S) および / もしくは長時間作用型 2 アドレナリンアゴニスト (L A B A) ならびに / または長時間作用型ムスカリンアンタゴニスト (L A M A) を含むバックグラウンド療法 (b a c k g r o u n d t h e r a p y) に加えて、I L - 4 R アンタゴニスト (例えばデュピルマブ) および I L - 3 3 アンタゴニスト (例えば R E G N 3 5 0 0) を共投与することを含む方法を提供する。

10

【0038】

ある特定の実施形態において、本発明は、「喘息コントロールの喪失 (l o s s o f a s t h m a c o n t r o l) 」 (L O A C) 事象の発生を低下する方法であって、喘息を患っている患者を I L - 3 3 アンタゴニスト (例えば R E G N 3 5 0 0) と組み合わせた I L - 4 R アンタゴニスト (例えばデュピルマブ) で処置することを含む方法を提供する。ある特定の実施形態において、I L - 3 3 アンタゴニストと組み合わせた I L - 4 R アンタゴニストの使用は、I L - 4 R アンタゴニスト単独または I L - 3 3 アンタゴニスト単独のいずれかで投与するより有効な結果をもたらす。

【0039】

関連する実施形態において、I L - 4 R アンタゴニストと組み合わせた I L - 3 3 アンタゴニストの投与は、疾患によりまたは疾患もしくはアレルギーの原因物質により誘発される 1 型免疫応答の増加および / または 2 型免疫応答の低下をもたらす。

20

【0040】

本発明の第 3 の態様は、線維性疾患もしくは障害または線維性疾患もしくは障害に関連する少なくとも 1 つの症状を処置するための方法であって、I L - 3 3 に特異的に結合する I L - 3 3 アンタゴニスト (I L - 3 3 抗体または I L - 3 3 トラップ) および I L - 4 R またはその抗原結合フラグメントに特異的に結合する抗体の組み合わせ、または I L - 3 3 アンタゴニストおよび I L - 4 アンタゴニストを含む医薬組成物を、それを必要とする患者に投与することを含み、線維性疾患または障害が緩和され、またはその重症度もしくは持続期間について軽減され、あるいは線維性疾患または障害に関連する少なくとも 1 つの症状が緩和され、またはその重症度、持続期間、もしくは発生頻度について軽減される、方法を提供する。一実施形態において、I L - 4 R アンタゴニストと組み合わせた I L - 3 3 アンタゴニストでの線維性疾患の処置は、線維性組織をその正常な状態に回復させることをもたらし得る。

30

【0041】

一実施形態において、本明細書に記載される I L - 4 R 抗体と組み合わせた I L - 3 3 抗体または I L - 3 3 トラップなどの本発明の抗 I L - 3 3 および I L - 4 R アンタゴニストを投与することによって処置可能な線維性疾患または障害としては、肺線維症 (例えば、特発性肺線維症、プレオマイシン誘導性肺線維症、アスベスト誘導性肺線維症、および細気管支炎性閉塞症)、慢性喘息、急性肺損傷および急性呼吸窮迫に関連する線維症 (例えば、細菌性肺炎誘導性線維症、外傷誘導性線維症、ウイルス性肺炎誘導性線維症、人工呼吸器誘導性線維症、非肺性敗血症誘導性線維症 (n o n - p u l m o n a r y s e p s i s i n d u c e d f i b r o s i s)、および誤嚥誘導性線維症 (a s p i r a t i o n i n d u c e d f i b r o s i s)、珪肺症、放射線誘導性線維症、慢性閉塞性肺疾患 (C O P D、これは一次喫煙または二次喫煙への曝露に関連し、該曝露によって一部引き起こされ、もしくは該曝露に起因し得る、またはそうではないこともあり得る)、強皮症、眼線維症、皮膚線維症 (例えば、強皮症)、肝線維症 (例えば、肝硬変、アルコール誘導性肝線維症、非アルコール性脂肪性肝炎 (N A S H)、胆管損傷、原発性胆汁性肝硬変、感染症またはウイルス誘導性肝線維症、自己免疫性肝炎、腎臓 (腎) 線維症、心臓線維症、アテローム性動脈硬化症、ステント再狭窄、および骨髄線維症が挙げ

40

50

られる。

【0042】

本発明の第4の態様は、アレルギー反応を予防またはその重症度を軽減するための方法であって、それを必要とする対象に、治療有効量のIL-33アンタゴニストの1回以上の用量を治療有効量のIL-4Rアンタゴニストの1回以上の用量と組み合わせて投与することを含み、この組み合わせの投与は、IL-33アンタゴニスト単独またはIL-4Rアンタゴニスト単独の投与で観察される治療有効性と比較して、アレルギー反応を予防またはその重症度を軽減するための治療有効性の増強をもたらす、方法を提供する。IL-4Rアンタゴニストと組み合わせてIL-33アンタゴニストで処置された対象は、IL-33アンタゴニストおよびIL-4Rアンタゴニストの組み合わせまたはこれらのアンタゴニストを含む組成物の投与後に、アレルゲンに対する感受性の低下もしくはアレルギー反応の軽減を示し得、またはアレルゲンに対する感受性もしくはアレルギー反応もしくはアナフィラキシー応答を経験し得ない。

10

【0043】

一実施形態において、本発明の方法で使用するためのIL-33アンタゴニストは、ヒトIL-33に結合するまたはそれと特異的に相互作用する、モノクローナル抗体またはその抗原結合フラグメントである。IL-33抗体またはその抗原結合フラグメントは、IL-33とST2との相互作用を阻止し得、またはIL-33のST2受容体への低親和性結合を可能にし得る。そうした際には、ST2はIL-1RAcPと相互作用することを妨げられ得る。したがって、本発明のIL-33抗体は、特に、IL-33媒介シグナル伝達を阻害すること、ならびにIL-33活性および/もしくはIL-33シグナル伝達によって引き起こされるまたはこれらに関連する疾患および障害を処置することに有用である。

20

【0044】

一実施形態において、IL-33抗体またはその抗原結合フラグメントは、アレルゲン誘導性肺炎を有する哺乳動物に投与されたときに、好酸球、CD4+T細胞、B細胞、T細胞集団中のST2+/CD4+細胞のうちの1つ以上の頻度を低減するか、または肺におけるCD4/CD8T細胞比を低減する。

【0045】

一実施形態において、IL-33抗体またはその抗原結合フラグメントは、アレルゲン誘導性肺炎を有する哺乳動物に投与されたとき、肺のIL-4、IL-5、IL-6、IL-9、IL-13、Ccl2、Ccl11、Ccl24、またはMCP-1のうちの1つ以上の発現レベルを低下させる。

30

【0046】

一実施形態において、IL-33抗体またはその抗原結合フラグメントは、アレルゲン誘導性肺炎を有する哺乳動物に投与されたとき、肺の血清IgEレベル、杯細胞化生、または上皮コラーゲンの厚さを減少させる。

【0047】

ある特定の実施形態において、本発明の方法で使用され得るヒトIL-33に特異的に結合するIL-33抗体またはその抗原結合フラグメントは、配列番号2、18、34、50、66、82、98、114、130、146、162、178、194、210、226、242、258、274、290、および308からなる群から選択される重鎖可変領域(HCVR)アミノ酸配列内に含有される3つの重鎖CDR(HCDR1、HCDR2、およびHCDR3)と、配列番号10、26、42、58、74、90、106、122、138、154、170、186、202、218、234、250、266、282、298、および316からなる群から選択される軽鎖可変領域(LCVR)アミノ酸配列内に含有される3つの軽鎖CDR(LCDR1、LCDR2、およびLCDR3)と、を含む。

40

【0048】

ある特定の実施形態において、本発明の方法で使用され得るヒトIL-33に特異的に

50

結合する I L - 3 3 抗体またはその抗原結合フラグメントは、配列番号 2、18、34、50、66、82、98、114、130、146、162、178、194、210、226、242、258、274、290、および 308 からなる群から選択されるアミノ酸配列を有する重鎖可変領域 (H C V R)、またはそれらと実質的に類似する少なくとも 90%、少なくとも 95%、少なくとも 98%、もしくは少なくとも 99% の配列同一性を有する配列を含む。

【0049】

ある特定の実施形態によれば、本発明の方法で使用するための抗 I L - 3 3 抗体またはその抗原結合フラグメントは、配列番号 10、26、42、58、74、90、106、122、138、154、170、186、202、218、234、250、266、282、298、および 316 からなる群から選択されるアミノ酸配列を有する軽鎖可変領域 (L C V R)、またはそれらと実質的に類似する少なくとも 90%、少なくとも 95%、少なくとも 98%、もしくは少なくとも 99% の配列同一性を有する配列を含む。

10

【0050】

ある特定の実施形態によれば、本発明の方法で使用するための抗 I L - 3 3 抗体またはその抗原結合フラグメントは、配列番号 2 / 10、18 / 26、34 / 42、50 / 58、66 / 74、82 / 90、98 / 106、114 / 122、130 / 138、146 / 154、162 / 170、178 / 186、194 / 202、210 / 218、226 / 234、242 / 250、258 / 266、274 / 282、290 / 298、および 308 / 316 からなる群から選択される H C V R および L C V R (H C V R / L C V R) 配列対を含む。

20

【0051】

ある特定の実施形態によれば、本発明の方法で使用するための抗 I L - 3 3 抗体またはその抗原結合フラグメントは、配列番号 8、24、40、56、72、88、104、120、136、152、168、184、200、216、232、248、264、280、296、および 314 からなる群から選択されるアミノ酸配列を有する重鎖 C D R 3 (H C D R 3) ドメイン、またはそれらと実質的に類似する少なくとも 90%、少なくとも 95%、少なくとも 98%、もしくは少なくとも 99% の配列同一性を有する配列と、配列番号 16、32、48、64、80、96、112、128、144、160、176、192、208、224、240、256、272、288、304、および 322 からなる群から選択されるアミノ酸配列を有する軽鎖 C D R 3 (L C D R 3) ドメイン、またはそれらと実質的に類似する少なくとも 90%、少なくとも 95%、少なくとも 98%、もしくは少なくとも 99% の配列同一性を有する配列と、を含む。

30

【0052】

ある特定の実施形態によれば、本発明の方法で使用するための抗 I L - 3 3 抗体またはその抗原結合フラグメントは、配列番号 8 / 16、24 / 32、40 / 48、56 / 64、72 / 80、88 / 96、104 / 112、120 / 128、136 / 144、152 / 160、168 / 176、184 / 192、200 / 208、216 / 224、232 / 240、248 / 256、264 / 272、280 / 288、296 / 304、および 314 / 322 からなる群から選択される H C D R 3 / L C D R 3 アミノ酸配列対を含む。

40

【0053】

ある特定の実施形態によれば、本発明の方法で使用するための抗 I L - 3 3 抗体またはその抗原結合フラグメントは、配列番号 4、20、36、52、68、84、100、116、132、148、164、180、196、212、228、244、260、276、292、および 310 からなる群から選択されるアミノ酸配列を有する重鎖 C D R 1 (H C D R 1) ドメイン、またはそれらと実質的に類似する少なくとも 90%、少なくとも 95%、少なくとも 98%、もしくは少なくとも 99% の配列同一性を有する配列と、配列番号 6、22、38、54、70、86、102、118、134、150、166、182、198、214、230、246、262、278、294、および 312

50

からなる群から選択されるアミノ酸配列を有する重鎖CDR2（HCDR2）ドメイン、またはそれらと実質的に類似する少なくとも90%、少なくとも95%、少なくとも98%、もしくは少なくとも99%の配列同一性を有する配列と、配列番号12、28、44、60、76、92、108、124、140、156、172、188、204、220、236、252、268、284、300、および318からなる群から選択されるアミノ酸配列を有する軽鎖CDR1（LCDR1）ドメイン、またはそれらと実質的に類似する少なくとも90%、少なくとも95%、少なくとも98%、もしくは少なくとも99%の配列同一性を有する配列と、配列番号14、30、46、62、78、94、110、126、142、158、174、190、206、222、238、254、270、286、302、および320からなる群から選択されるアミノ酸配列を有する軽鎖CDR2（LCDR2）ドメイン、またはそれらと実質的に類似する少なくとも90%、少なくとも95%、少なくとも98%、もしくは少なくとも99%の配列同一性を有する配列と、を含む。

10

【0054】

本発明の方法で使用され得るある特定の非限定的で例示的な抗IL-33抗体および抗原結合フラグメントは、配列番号4-6-8-12-14-16（例えば、H1M9559N）、20-22-24-28-30-32（例えば、H1M9566N）、36-38-40-44-46-48（例えば、H1M9568N）、52-54-56-60-62-64（例えば、H4H9629P）、68-70-72-76-78-80（例えば、H4H9633P）、84-86-88-92-94-96（例えば、H4H9640P）、100-102-104-108-110-112（例えば、H4H9659P）、116-118-120-124-126-128（例えば、H4H9660P）、132-134-136-140-142-144（例えば、H4H9662P）、148-150-152-156-158-160（例えば、H4H9663P）、164-166-168-172-174-176（例えば、H4H9664P）、180-182-184-188-190-192（例えば、H4H9665P）、196-198-200-204-206-208（例えば、H4H9666P）、212-214-216-220-222-224（例えば、H4H9667P）、228-230-232-236-238-240（例えば、H4H9670P）、244-246-248-252-254-256（例えば、H4H9671P）、260-262-264-268-270-272（例えば、H4H9672P）、276-278-280-284-286-288（例えば、H4H9675P）、292-294-296-300-302-304（例えば、H4H9676P）、および310-312-314-318-320-322（H1M9565N）からなる群から選択されるアミノ酸配列をそれぞれ有するHCDR1-HCDR2-HCDR3-LCDR1-LCDR2-LCDR3ドメインを含む。

20

30

【0055】

ある特定の実施形態によれば、例えば炎症状態を処置するための本発明の方法で使用するための抗IL-33抗体またはその抗原結合フラグメントは、配列番号2/10、18/26、34/42、50/58、66/74、82/90、98/106、114/122、130/138、146/154、162/170、178/186、194/202、210/218、226/234、242/250、258/266、274/282、290/298、および308/316からなる群から選択される重鎖可変領域および軽鎖可変領域（HCVR/LCVR）配列内に含有される重鎖および軽鎖CDRドメインを含む。HCVRアミノ酸配列およびLCVRアミノ酸配列内のCDRを同定するための方法および技術は、当該技術分野において周知であり、それらを使用して、本明細書に開示される特定のHCVRアミノ酸配列および/またはLCVRアミノ酸配列内のCDRを同定することができる。CDRの境界を同定するために使用可能な例示的な規則には、例えば、Kabata定義、Chothia定義、およびAbM定義が含まれる。一般的には、Kabata定義は配列の可変性に基づいており、Chothia定義は構造ループ

40

50

領域の位置に基づいており、AbM定義はKabatのアプローチとChothiaのアプローチの間の折衷案である。例えば、Kabat, 「Sequences of Proteins of Immunological Interest,」 National Institutes of Health, Bethesda, Md. (1991); Al-Lazikani et al., J. Mol. Biol. 273: 927-948 (1997)、およびMartin et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA 86: 9268-9272 (1989)を参照のこと。抗体内のCDR配列を同定するために、公開データベースも利用可能である。

【0056】

一実施形態において、本発明の方法で使用するためのIL-33抗体または抗原結合フラグメントは、配列番号274/282のHCVR/LCVRアミノ酸配列対の重鎖および軽鎖CDRを含む。

10

【0057】

関連する実施形態において、本発明の方法で使用するためのIL-33抗体または抗原結合フラグメントは、それぞれ配列番号276-278-280-284-286-288のHC DR1-HC DR2-HC DR3-LC DR1-LC DR2-LC DR3ドメインを含む。

【0058】

一実施形態において、本発明の方法で使用するためのヒトインターロイキン-33(IL-33)に特異的に結合する抗体またはその抗原結合フラグメントは、(a)配列番号274のアミノ酸配列を有する重鎖可変領域(HCVR)、および(b)配列番号282のアミノ酸配列を有する軽鎖可変領域(LCVR)を含む。

20

【0059】

一実施形態において、本発明の方法で使用するためのIL-33抗体または抗原結合フラグメントは、配列番号274/282のHCVR/LCVRアミノ酸配列対を含む。

【0060】

一実施形態において、本発明の方法で使用するためのIL-33抗体またはその抗原結合フラグメントは、水素/重水素交換により決定されるように、配列番号349の約1位~約12位の範囲のアミノ酸配列、および/または配列番号349の約50位~約94位の範囲のアミノ酸配列と相互作用する。

30

【0061】

一実施形態において、本発明の方法で使用するためのIL-33抗体またはその抗原結合フラグメントは、水素/重水素交換により決定されるように、配列番号348の約112位~約123位の範囲のアミノ酸配列、および/または配列番号348の約161位~約205位の範囲のアミノ酸配列と相互作用する。

【0062】

一実施形態において、本発明の方法で使用するためのIL-33抗体またはその抗原結合フラグメントは、水素/重水素交換によって決定されるように、配列番号350のアミノ酸配列もしくは配列番号351のアミノ酸配列のいずれか、または配列番号350および351の両方と相互作用する。

40

【0063】

一実施形態において、本発明の方法で使用するためのIL-33抗体またはその抗原結合フラグメントは、IL-33への結合について、配列番号274/282のHCVR/LCVRアミノ酸配列対を含む参照抗体と競合する。

【0064】

一実施形態において、本発明の方法で使用するためのIL-33抗体またはその抗原結合フラグメントは、配列番号274/282のHCVR/LCVRアミノ酸配列対を含む参照抗体と同じIL-33上のエピトープに結合する。

【0065】

第5の態様において、本発明は、本発明の方法で使用される抗IL-33抗体またはそ

50

の抗原結合フラグメントをコードする核酸分子を提供する。本発明の核酸を保有する組換え発現ベクター、およびそのようなベクターが導入された宿主細胞もまた、抗体の産生を可能にする条件下で宿主細胞を培養することによって、および産生された抗体を回収することによって、抗体を産生する方法と同様に本発明に包含される。

【0066】

一実施形態において、本発明は、配列番号1、17、33、49、65、81、97、113、129、145、161、177、193、209、225、241、257、273、289、および307からなる群から選択される核酸配列、またはそれらと少なくとも90%、少なくとも95%、少なくとも98%、もしくは少なくとも99%の同一性を有する実質的に同一の配列によってコードされるHCVRを含む、ヒトIL-33に特異的に結合する抗体またはそのフラグメントを使用する方法を提供する。

10

【0067】

本発明はまた、配列番号9、25、41、57、73、89、105、121、137、153、169、185、201、217、233、249、265、281、297、および315からなる群から選択される核酸配列、またはそれらと少なくとも90%、少なくとも95%、少なくとも98%、もしくは少なくとも99%の同一性を有する実質的に同一の配列によってコードされるLCVRを含む、ヒトIL-33に特異的に結合する抗体またはそのフラグメントを使用する方法を提供する。

【0068】

本発明はまた、配列番号7、23、39、55、71、87、103、119、135、151、167、183、199、215、231、247、263、279、295、および313からなる群から選択されるヌクレオチド配列、またはそれらと少なくとも90%、少なくとも95%、少なくとも98%、もしくは少なくとも99%の同一性を有する実質的に同一の配列によってコードされるHC DR3ドメインと、配列番号15、31、47、63、79、95、111、127、143、159、175、191、207、223、239、255、271、287、303、および321からなる群から選択されるヌクレオチド配列、またはそれらと少なくとも90%、少なくとも95%、少なくとも98%、もしくは少なくとも99%の同一性を有する実質的に同一の配列によりコードされるLC DR3ドメインと、を含む、ヒトIL-33に特異的に結合する抗体または抗体の抗原結合フラグメントを使用する方法を提供する。

20

30

【0069】

本発明はまた、配列番号3、19、35、51、67、83、99、115、131、147、163、179、195、211、227、243、259、275、291、および309からなる群から選択されるヌクレオチド配列、またはそれらと少なくとも90%、少なくとも95%、少なくとも98%、もしくは少なくとも99%の同一性を有する実質的に同一の配列によってコードされるHC DR1ドメインと、配列番号5、21、37、53、69、85、101、117、133、149、165、181、197、213、229、245、261、277、293、および311からなる群から選択されるヌクレオチド配列、またはそれらと少なくとも90%、少なくとも95%、少なくとも98%、もしくは少なくとも99%の同一性を有する実質的に同一の配列によりコードされるHC DR2ドメインと、配列番号11、27、43、59、75、91、107、123、139、155、171、187、203、219、235、251、267、283、299、および317からなる群から選択されるヌクレオチド配列、またはそれらと少なくとも90%、少なくとも95%、少なくとも98%、もしくは少なくとも99%の同一性を有する実質的に同一の配列によりコードされるLC DR1ドメインと、配列番号13、29、45、61、77、93、109、125、141、157、173、189、205、221、237、253、269、285、301、および319からなる群から選択されるヌクレオチド配列、またはそれらと少なくとも90%、少なくとも95%、少なくとも98%、もしくは少なくとも99%の同一性を有する実質的に同一の配列によりコードされるLC DR2ドメインと、をさらに含む、ヒトIL-33に特異的

40

50

に結合する抗体またはそのフラグメントを使用する方法を提供する。

【0070】

ある特定の実施形態によれば、本発明の方法は、配列番号1および9（例えば、H1M9559N）、配列番号17および25（例えば、H1M9566N）、配列番号33および41（例えば、H1M9568N）、配列番号49および57（例えば、H4H9629P）、配列番号65および73（例えば、H4H9633P）、配列番号81および89（例えば、H4H9640P）、配列番号97および105（例えば、H4H9659P）、配列番号113および121（例えば、H4H9660P）、配列番号129および137（例えば、H4H9662P）、配列番号145および153（例えば、H4H9663P）、配列番号161および169（例えば、H4H9664P）、配列番号177および185（例えば、H4H9665P）、配列番号193および201（例えば、H4H9666P）、配列番号209および217（例えば、H4H9667P）、配列番号225および233（例えば、H4H9670P）、配列番号241および249（例えば、H4H9671P）、配列番号257および265（例えば、H4H9672P）、配列番号273および281（例えば、H4H9675P）、配列番号289および297（例えば、H4H9676P）、または配列番号307および315（H1M9565N）の核酸配列によってコードされる重鎖および軽鎖のCDR配列を含む、ヒトIL-33に特異的に結合する抗体またはそのフラグメントの使用を提供する。

10

【0071】

一実施形態において、本発明の方法で使用するためのIL-33アンタゴニストは、IL-33受容体ベースのトラップ、例えば本明細書に記載されるものである（図1を参照のこと）。

20

【0072】

一実施形態において、IL-33受容体ベースのトラップは、多量体化ドメイン（M）に結合された第1のIL-33結合ドメイン（D1）を含み、D1はST2タンパク質のIL-33結合部分を含む。

【0073】

一実施形態において、本発明の方法で使用するためのIL-33トラップは、D1および/またはMに結合された第2のIL-33結合ドメイン（D2）をさらに含み、D2はIL-1RAcPタンパク質の細胞外部分を含む。一実施形態において、D1はMのN末端に結合されている。一実施形態において、D1はMのC末端に結合されている。一実施形態において、D2はMのN末端に結合されている。一実施形態において、D2はMのC末端に結合されている。一実施形態において、D1はD2のN末端に結合され、D2はMのN末端に結合されている。

30

【0074】

一実施形態において、D1は、配列番号328もしくは329のアミノ酸配列またはそれと少なくとも90%の同一性を有するアミノ酸配列を含む。一実施形態において、D2は、配列番号330もしくは331のアミノ酸配列またはそれと少なくとも90%の同一性を有するアミノ酸配列を含む。

【0075】

一実施形態において、本発明の方法で使用するためのIL-33アンタゴニストは、第1の多量体化ドメイン（M1）に結合された第1のIL-33結合ドメイン（D1）、および第2の多量体化ドメイン（M2）に結合された第2のIL-33結合ドメイン（D2）を含み、D1ドメインおよび/またはD2ドメインは、ST2およびIL-1RAcPからなる群から選択される受容体のIL-33結合部分を含む。

40

【0076】

一実施形態において、本発明の方法で使用するためのIL-33アンタゴニストは、D1またはM1のいずれかに結合された第3のIL-33結合ドメイン（D3）を含み、D3は、ST2およびIL-1RAcPからなる群から選択される受容体のIL-33結合部分を含む。

50

【 0 0 7 7 】

一実施形態において、本発明の方法で使用するための I L - 3 3 アンタゴニストは、D 2 または M 2 のいずれかに結合された第 4 の I L - 3 3 結合ドメイン (D 4) を含み、D 4 は、S T 2 および I L - 1 R A c P からなる群から選択される受容体の I L - 3 3 結合部分を含む。

【 0 0 7 8 】

一実施形態において、D 1 は M 1 の N 末端に結合され、D 2 は M 2 の N 末端に結合されている。

【 0 0 7 9 】

一実施形態において、D 3 は D 1 の N 末端に結合されている。

10

【 0 0 8 0 】

一実施形態において、D 3 は M 1 の C 末端に結合されている。

【 0 0 8 1 】

一実施形態において、D 4 は D 2 の N 末端に結合されている。

【 0 0 8 2 】

一実施形態において、D 4 は M 2 の C 末端に結合されている。

【 0 0 8 3 】

一実施形態において、D 3 は D 1 の N 末端に結合され、D 1 は M 1 の N 末端に結合され、D 4 は D 2 の N 末端に結合され、D 2 は M 2 の N 末端に結合されている。

【 0 0 8 4 】

一実施形態において、D 3 は D 4 と同一または実質的に同一であり、D 1 は D 2 と同一または実質的に同一である。

20

【 0 0 8 5 】

一実施形態において、D 3 および D 4 はそれぞれ、S T 2 タンパク質の I L - 3 3 結合部分を含み、D 1 および D 2 はそれぞれ、I L - 1 R A c P タンパク質の細胞外部分を含む。

【 0 0 8 6 】

一実施形態において、本発明の方法で使用するための I L - 3 3 トラップは、配列番号 3 2 3、3 2 4、3 2 5、3 2 6、および 3 2 7 からなる群から選択されるアミノ酸配列を含む。

30

【 0 0 8 7 】

一実施形態において、本発明の方法で使用するための I L - 4 アンタゴニストは、インターロイキン - 4 受容体 (I L - 4 R) アンタゴニストである。

【 0 0 8 8 】

一実施形態において、本発明の方法で使用するための I L - 4 R アンタゴニストは、I L - 4 R に結合し、I L - 4 および / または I L - 1 3 と 1 型または 2 型 I L - 4 受容体との相互作用を妨げる抗体またはその抗原結合フラグメントである。

【 0 0 8 9 】

関連する実施形態において、本発明の方法で使用するための I L - 4 R 抗体またはその抗原結合フラグメントは、I L - 4 および / または I L - 1 3 と 1 型および 2 型 I L - 4 受容体の両方との相互作用を妨げる。

40

【 0 0 9 0 】

一実施形態において、本発明の方法で使用するための I L - 4 R アンタゴニストは、ヒト I L - 4 R に特異的に結合するモノクローナル抗体である。

【 0 0 9 1 】

一実施形態において、本発明の方法で使用するためのヒト I L - 4 R に特異的に結合するモノクローナル抗体は、デュピルマブまたはその生物学的等価物である。

【 0 0 9 2 】

ある特定の実施形態において、本発明の方法で使用するための I L - 4 R 抗体またはその抗原結合フラグメントは、配列番号 3 3 5 または配列番号 3 3 7 のアミノ酸配列を含む

50

重鎖可変領域 (H C V R) の重鎖相補性決定領域 (H C D R)、および配列番号 3 3 6 または配列番号 3 3 8 のアミノ酸配列を含む軽鎖可変領域 (L C V R) の軽鎖相補性決定領域 (L C D R) を含む。

【0093】

関連する実施形態において、本発明の方法で使用するための I L - 4 R 抗体またはその抗原結合フラグメントは、3つの H C D R (H C D R 1、H C D R 2、および H C D R 3) ならびに3つの L C D R (L C D R 1、L C D R 2 および L C D R 3) を含み、H C D R 1 は配列番号 3 3 9 のアミノ酸配列を含み、H C D R 2 は配列番号 3 4 0 のアミノ酸配列を含み、H C D R 3 は配列番号 3 4 1 のアミノ酸配列を含み、L C D R 1 は配列番号 3 4 2 のアミノ酸配列を含み、L C D R 2 は配列番号 3 4 3 のアミノ酸配列を含み、L C D R 3 は配列番号 3 4 4 のアミノ酸配列を含む。

10

【0094】

一実施形態において、本発明の方法で使用するための I L - 4 R 抗体またはその抗原結合フラグメントは、配列番号 3 3 5 または配列番号 3 3 7 のアミノ酸配列を含む H C V R、および配列番号 3 3 6 または配列番号 3 3 8 のアミノ酸を含む L C V R を含む。

【0095】

一実施形態において、本発明の方法で使用するための I L - 4 R 抗体またはその抗原結合フラグメントは、配列番号 3 3 5 / 3 3 6 または配列番号 3 3 7 / 3 3 8 の H C V R / L C V R アミノ酸配列対を含む。

【0096】

関連する実施形態において、本発明の方法で使用するための I L - 4 R アンタゴニストは、デュピルマブ (配列番号 3 3 7 / 3 3 8) またはその生物学的等価物である。

20

【0097】

ある特定の実施形態において、I L - 3 3 アンタゴニストおよび I L - 4 R アンタゴニストは別々の製剤で投与される。

【0098】

ある特定の実施形態において、I L - 3 3 アンタゴニストおよび I L - 4 R アンタゴニストは、それを必要とする患者に投与するために共製剤化される (c o - f o r m u l a t e d)。

【0099】

ある特定の実施形態において、I L - 3 3 アンタゴニストおよび I L - 4 R アンタゴニストは、対象に皮下、静脈内、筋肉内、または鼻腔内投与される。

30

【0100】

本発明の I L - 3 3 および I L - 4 R 抗体は、完全長 (例えば、I g G 1 抗体もしくは I g G 4 抗体) であることができ、または抗原結合部分 (例えば F a b フラグメント、F (a b ')₂ フラグメント、もしくは s c F v フラグメント) のみを含んでいてもよく、かつ機能性に影響するように、例えば、残存するエフェクター機能を取り除くように修飾されていてもよい (R e d d y e t a l . , 2 0 0 0 , J . I m m u n o l . 1 6 4 : 1 9 2 5 - 1 9 3 3)。

【0101】

一実施形態において、ヒトインターロイキン - 3 3 またはヒト I L - 4 R に特異的に結合する抗体は、完全ヒトモノクローナル抗体として単離される。

40

【0102】

第 6 の態様において、本発明は、I L - 3 3 に特異的に結合する組換えヒト抗体もしくはそのフラグメントまたはトラップ、あるいは I L - 4 R に特異的に結合する抗体、および薬学的に許容される担体を含む医薬組成物を提供する。関連する態様において、本発明は、抗 I L - 3 3 抗体もしくは I L - 3 3 トラップまたは I L - 4 R と特異的に結合する抗体、および 1 つ以上の追加の治療剤の組み合わせである組成物を特徴とする。一実施形態において、1 つ以上の追加の治療剤は、I L - 3 3 アンタゴニストおよび / または I L - 4 R アンタゴニストのいずれかまたは両方と有利に組み合わせられる任意の薬剤である。

50

IL-33アンタゴニストおよび/またはIL-4Rアンタゴニストと有利に組み合わせることができる例示的な薬剤としては、IL-33活性および/もしくはIL-4活性を阻害する他の薬剤（他の抗体もしくはその抗原結合フラグメント、ペプチド阻害剤、小分子アンタゴニストなど）、ならびに/またはIL-33もしくはIL-4もしくはIL-4Rと直接結合しないが、なおもIL-33もしくはIL-4媒介シグナル伝達を妨害、阻止、または減弱する薬剤が挙げられるが、限定するものではない。一実施形態において、1つ以上の追加の治療剤は、非ステロイド性抗炎症薬（NSAID）、コルチコステロイド（例えば吸入コルチコステロイド）、気管支拡張薬、抗ヒスタミン薬、エピネフリン、鬱血除去薬、胸腺間質性リンパ球性新生因子（TSLP）アンタゴニスト、IL-1アンタゴニスト、IL-8アンタゴニスト、IL-13アンタゴニスト、異なるIL-4アンタゴニスト、IL-4/IL-13デュアルアンタゴニスト、IL-33/IL-13デュアルアンタゴニスト、IL-5アンタゴニスト、IL-6アンタゴニスト、IL-12/23アンタゴニスト、IL-22アンタゴニスト、IL-25アンタゴニスト、IL-17アンタゴニスト、IL-31アンタゴニスト、TNF阻害剤、IGE阻害剤、ロイコトリエン阻害剤、経口PDE4阻害剤、メチルキサンチン、ネドクロミルナトリウム、クロモリンナトリウム、長時間作用型ベータ2アゴニスト（LABA）、長時間作用型ムスカリンアンタゴニスト（LAMA）、吸入コルチコステロイド（ICS）、および別のIL-33アンタゴニストもしくはIL-4アンタゴニストまたはIL-33もしくはIL-4もしくはIL-4Rに対する異なる抗体、ならびに別のIL-33アンタゴニストからなる群から選択され得る。

10

20

【0103】

ある特定の実施形態において、サイトカインアンタゴニストは、サイトカイン自体もしくはそのサイトカインの受容体のいずれか、またはサイトカインおよびその受容体（複数可）の両方を含む複合体と相互作用する、小分子阻害剤（合成または天然由来）またはタンパク質（例えば抗体）であり得る。本発明の抗IL-33抗体および/またはIL-4R抗体を伴う追加の併用療法および共製剤は、本明細書の別の箇所に開示されている。

【0104】

さらに別の態様において、本発明は、抗IL-33アンタゴニスト（IL-33抗体もしくはIL-33トラップなど）およびIL-4R抗体または本発明の1つ以上の抗体の抗原結合部分を用いて、IL-33および/またはIL-4シグナル伝達活性を阻害するための治療方法であって、治療有効量のIL-33抗体またはIL-33トラップを含む医薬組成物を単独で、またはIL-4R抗体または本発明の1つ以上の抗体の抗原結合フラグメントと組み合わせるのいずれかで投与することを含む、治療方法を提供する。処置される障害は、IL-33および/またはIL-4シグナル伝達によって改善、寛解（ameliorated）、阻害、または予防される任意の疾患または状態である。本発明の抗IL-33および/またはIL-4Rアンタゴニストは、一緒に使用される場合、IL-33とIL-33結合パートナーとの間の相互作用およびIL-4とIL-4結合パートナーとの間の相互作用を阻止するように機能し得、またはそうでなければ、IL-33およびIL-4の両方のシグナル伝達活性を阻害する。一実施形態において、IL-4Rアンタゴニストは、IL-4Rに結合し、そうした際にはI型またはII型受容体のいずれかを介してIL-4およびIL-13シグナル伝達の両方を妨げる抗体である。一実施形態において、IL-4Rアンタゴニストは、デュピルマブまたはその生物学的等価物である。IL-4およびIL-13の両方に対するデュピルマブの二重の阻止活性を考慮すると、本発明のIL-33アンタゴニストと組み合わせ使用された場合、併用療法計画は、炎症中に起こり得るIL-4、IL-13、およびIL-33シグナル伝達経路を介するシグナル伝達の一部起因する望ましくない炎症活性の阻害の増強をもたらすと考えられる。

30

40

【0105】

一実施形態において、IL-33アンタゴニストは、IL-33に特異的に結合して、IL-33およびその受容体ST2（IL1RL1としても知られる）との相互作用を阻

50

止する抗体またはその抗原結合フラグメントである。

【0106】

一実施形態において、IL-33に特異的に結合する抗体またはその抗原結合フラグメントは、配列番号2、18、34、50、66、82、98、114、130、146、162、178、194、210、226、242、258、274、290、および308からなる群から選択される重鎖可変領域(HCVR)アミノ酸配列内に含有される3つの重鎖CDR(HCDR1、HCDR2、およびHCDR3)を含み、配列番号10、26、42、58、74、90、106、122、138、154、170、186、202、218、234、250、266、282、298、および316からなる群から選択される軽鎖可変領域(LCVR)アミノ酸配列内に含有される3つの軽鎖CDR(LCDR1、LCDR2、およびLCDR3)を含む。

10

【0107】

一実施形態において、IL-33に特異的に結合する抗体またはその抗原結合フラグメントは、配列番号2、18、34、50、66、82、98、114、130、146、162、178、194、210、226、242、258、274、290、および308からなる群から選択されるアミノ酸配列を有する重鎖可変領域(HCVR)を含む。

【0108】

一実施形態において、IL-33に特異的に結合する抗体またはその抗原結合フラグメントは、配列番号10、26、42、58、74、90、106、122、138、154、170、186、202、218、234、250、266、282、298、および316からなる群から選択されるアミノ酸配列を有する軽鎖可変領域(LCVR)を含む。

20

【0109】

一実施形態において、IL-33に特異的に結合する抗体またはその抗原結合フラグメントは、

(a) 配列番号4、20、36、52、68、84、100、116、132、148、164、180、196、212、228、244、260、276、292、および310からなる群から選択されるアミノ酸配列を有するHCDR1ドメインと、

(b) 配列番号6、22、38、54、70、86、102、118、134、150、166、182、198、214、230、246、262、278、294、および312からなる群から選択されるアミノ酸配列を有するHCDR2ドメインと、

(c) 配列番号8、24、40、56、72、88、104、120、136、152、168、184、200、216、232、248、264、280、296、および314からなる群から選択されるアミノ酸配列を有するHCDR3ドメインと、

(d) 配列番号12、28、44、60、76、92、108、124、140、156、172、188、204、220、236、252、268、284、および318からなる群から選択されるアミノ酸配列を有するLCDR1ドメインと、

(e) 配列番号14、30、46、62、78、94、110、126、142、158、174、190、206、222、238、254、270、286、および320からなる群から選択されるアミノ酸配列を有するLCDR2ドメインと、

(f) 配列番号16、32、48、64、80、96、112、128、144、160、176、192、208、224、240、256、272、288、および322からなる群から選択されるアミノ酸配列を有するLCDR3ドメインと、を含む。

30

40

【0110】

一実施形態において、IL-33に特異的に結合する抗体またはその抗原結合フラグメントは、配列番号2/10、18/26、34/42、50/58、66/74、82/90、98/106、114/122、130/138、146/154、162/170、178/186、194/202、210/218、226/234、242/250、258/266、274/282、290/298、および308/316からなる群から選択されるHCVR/LCVRアミノ酸配列対を含む。

50

【0111】

本発明はまた、患者におけるIL-33および/もしくはIL-4の活性もしくはシグナル伝達に関連するまたはそれらによって引き起こされる疾患または障害の処置のための医薬の製造における、IL-33アンタゴニストの単独の使用またはIL-4Rアンタゴニストと組み合わせた使用を含む。一実施形態において、患者におけるIL-33活性および/もしくはIL-4活性に関連するまたはこれらによって引き起こされる疾患または障害は、喘息（好酸球性または非好酸球性）、慢性閉塞性肺疾患（COPD）、喘息およびCOPDオーバーラップ症候群（ACOS）、アトピー性皮膚炎、鼻ポリープ、アレルギー反応、慢性気管支炎、気腫、鼻ポリープを伴うまたは伴わない慢性鼻副鼻腔炎、炎症性腸疾患、クローン病、潰瘍性大腸炎、過敏性肺炎、多発性硬化症、関節炎（変形性関節症、リウマチ性関節炎、および乾癬性関節炎）、アレルギー性鼻炎、線維症、好酸球性食道炎、血管炎、蕁麻疹、チャージ・ストラウス症候群、炎症性疼痛、および乾癬からなる群から選択される炎症性疾患または障害である。本発明はまた、炎症性疾患もしくは障害または炎症性の疾患もしくは障害の少なくとも1つの症状の処置に使用するための、治療有効量のIL-4Rアンタゴニストと組み合わせた治療有効量のIL-33アンタゴニストを含み、IL-4Rアンタゴニストと組み合わせたIL-33アンタゴニストの投与は、IL-33アンタゴニスト単独またはIL-4Rアンタゴニスト単独の投与で観察されるものと比較して治療有効性の増強をもたらす。本明細書で論じている方法のいずれも、その方法に関して論じている疾患、障害、および/または症状を処置するための、またはそれらの処置のためのIL-33および/またはIL-4Rアンタゴニスト（例えば抗体）の使用も包含する。

10

20

【0112】

他の実施形態は、後述の詳細な説明の精査から明らかとなるでなろう。

【図面の簡単な説明】

【0113】

【図1】IL-33アンタゴニストの個々の成分の互いに対する4つの例示的配置を示す。パネルAは、第1のIL-33結合ドメイン（D1）が第1の多量体化ドメイン（M1）のN末端に結合され、第2のIL-33結合ドメイン（D2）が第2の多量体化ドメイン（M2）のN末端に結合されている配置を示している。D1およびD2が異なるIL-33結合タンパク質に由来することを示すために、D1は白囲いとして示され、D2は黒囲いとして示される。パネルBは、第1のIL-33結合ドメイン（D1）が第1の多量体化ドメイン（M1）のN末端に結合され、第2のIL-33結合ドメイン（D2）が第2多量体化ドメイン（M2）のC末端に結合されている配置を示している。D1およびD2が異なるIL-33結合タンパク質に由来することを示すために、D1は白囲いとして示され、D2は黒囲いとして示される。パネルCおよびDは、4つのIL-33結合ドメインであるD1、D2、D3、およびD4を含む配置を示している。これらの配置において、D3-D1-M1およびD4-D2-M2は直列に結合され、D3はD1のN末端に結合され、D1はM1のN末端に結合され、D4はD2のN末端に結合され、D2はM2のN末端に結合されている。パネルCにおいて、D3およびD4は互いに同一または実質的に同一であり、D1およびD2は互いに同一または実質的に同一である。パネルDにおいて、D1およびD4は互いに同一または実質的に同一であり、D3およびD2は互いに同一または実質的に同一である。

30

40

【図2】HDM曝露により、IL-33、IL-4、およびIL-4R 三重ヒト化マウスおよび野生型マウスの肺において活性化好酸球の同様の増加が誘導されることを示している。統計的有意性は、テューキーの多重比較検定を用いた二元配置分散分析によって決定された。統計的有意差を示すために以下の記号を使用した：「*」アスタリスクは、同じ遺伝子型の生理食塩水曝露マウスとHDM曝露マウスとの間の比較を表し、「&」アンパサンド記号は、それぞれの生理食塩水曝露マウスまたはHDM曝露野生型マウス群との比較を表す。記号の数値が増えると、有意性が増すことを示している： $1 \times = p < 0.05$ ； $2 \times = p < 0.01$ ； $3 \times = p < 0.001$ ； $4 \times = p < 0.0001$ 。略語：WT

50

= 野生型。全てのマウスは混合 C 5 7 B L / 6 N T a c / 1 2 9 S 6 S v E v T a c バックグラウンドのものであった。

【図 3】REGN3500 およびデュピルマブの組み合わせの投与が、HDM 曝露誘導相対肺重量の増加を阻止することを示す。相対肺重量は、体重 (g) に対する肺湿重量 (mg) の比として表される。統計的有意性は、ダンの多重比較事後検定を用いたクラスカル・ウォリスの一元配置分散分析によって決定された。統計的有意差を示すために以下の記号を使用した：「*」アスタリスクは、全ての 19 週間 HDM 曝露群の間の比較を表し、「#」ハッシュタグは、生理食塩水に曝露された未処置動物と全ての他の群との比較を示す。記号の数値が増えると、有意性が増すことを示している： $1x = p \ 0.05$; $2x = p \ 0.01$; $3x = p \ 0.001$ 。略語：wk = 週、IgG4^P = アイソタイプ対照抗体 REGN1945。

10

【図 4 A】HDM 曝露誘導性の肺好酸球性浸潤に対する REGN3500 およびデュピルマブの単独または組み合わせでの効果を示す。統計的有意性は、ダンの多重比較事後検定を用いたクラスカル・ウォリスの一元配置分散分析によって決定された。統計的有意差を示すために以下の記号を使用した：「*」アスタリスクは、全ての 19 週間 HDM 曝露群の間の比較を表し、「#」ハッシュタグは、生理食塩水に曝露された未処置動物と全ての他の群との比較を示し、「+」プラス記号は、11 週間の HDM 曝露未処置動物と全ての他の群との比較を示す。記号の数値が増えると、有意性が増すことを示している： $1x = p \ 0.05$; $2x = p \ 0.01$; $3x = p \ 0.001$; $4x = p \ 0.0001$ 。略語：wk = 週、IgG4^P = アイソタイプ対照抗体 REGN1945。

20

【図 4 B】HDM 曝露誘導性の肺好酸球性浸潤に対する REGN3500 およびデュピルマブの単独または組み合わせでの効果を示す。統計的有意性は、ダンの多重比較事後検定を用いたクラスカル・ウォリスの一元配置分散分析によって決定された。統計的有意差を示すために以下の記号を使用した：「*」アスタリスクは、全ての 19 週間 HDM 曝露群の間の比較を表し、「#」ハッシュタグは、生理食塩水に曝露された未処置動物と全ての他の群との比較を示し、「+」プラス記号は、11 週間の HDM 曝露未処置動物と全ての他の群との比較を示す。記号の数値が増えると、有意性が増すことを示している： $1x = p \ 0.05$; $2x = p \ 0.01$; $3x = p \ 0.001$; $4x = p \ 0.0001$ 。略語：wk = 週、IgG4^P = アイソタイプ対照抗体 REGN1945。

30

【図 5】REGN3500 が単独でまたはデュピルマブとの組み合わせで、ST2⁺CD4⁺T 細胞による HDM 曝露誘導性の肺浸潤を阻止することを示す。統計的有意性は、テューキーの多重比較事後検定を用いた一元配置分散分析によって決定された。統計的有意差を示すために以下の記号を使用した：「*」アスタリスクは、全ての 19 週間 HDM 曝露群の間の比較を表し、「#」ハッシュタグは、生理食塩水に曝露された未処置動物と全ての他の群との比較を示し、「+」プラス記号は、11 週間の HDM 曝露未処置動物と全ての他の群との比較を示す。記号の数値が増えると、有意性が増すことを示している： $1x = p \ 0.05$; $2x = p \ 0.01$; $3x = p \ 0.001$; $4x = p \ 0.0001$ 。略語：wk = 週、IgG4^P = アイソタイプ対照抗体 REGN1945。

40

【図 6】REGN3500 およびデュピルマブの組み合わせの投与が、好中球浸潤の指標である MPO 肺タンパク質レベルの HDM 曝露誘導性の増加を阻止することを示す。統計的有意性は、ダンの多重比較事後検定を用いたクラスカル・ウォリスの一元配置分散分析によって決定された。統計的有意差を示すために以下の記号を使用した：「*」アスタリスクは、全ての 19 週間 HDM 曝露群の間の比較を表し、「#」ハッシュタグは、生理食塩水に曝露された未処置動物と全ての他の群との比較を示す。記号の数値が増えると、有意性が増すことを示している： $1x = p \ 0.05$; $2x = p \ 0.01$; $3x = p \ 0.001$ 。略語：wk = 週、IgG4^P = アイソタイプ対照抗体 REGN1945。

【図 7 A】肺 IL-5 および IL-6 タンパク質レベルの HDM 曝露誘導性の増加についての REGN3500 およびデュピルマブの単独または組み合わせの効果を示す。肺 (右肺の前葉および中葉) を採取し、IL-5 (A) および IL-6 (B) タンパク質レベルをマルチプレックスイムノアッセイ (multiplexed immunoassay

50

) によって測定した。肺組織の I L - 5 および I L - 6 タンパク質レベルは、肺葉当たりのタンパク質量 (p g) として表される。統計的有意性は、ダンの多重比較事後検定を用いたクラスカル・ウォリスの一元配置分散分析によって決定された。統計的有意差を示すために以下の記号を使用した：「 * 」アスタリスクは、全ての 19 週間 H D M 曝露群の間の比較を表し、「 # 」ハッシュタグは、生理食塩水に曝露された未処置動物と全ての他の群との比較を示す。記号の数値が増えると、有意性が増すことを示している： $1 \times = p \ 0.05$; $2 \times = p \ 0.01$; $3 \times = p \ 0.001$ 。略語： w k = 週、 I g G 4^P = アイソタイプ対照抗体 R E G N 1945。

【図 7 B】肺 I L - 5 および I L - 6 タンパク質レベルの H D M 曝露誘導性の増加についての R E G N 3500 およびデュピルマブの単独または組み合わせの効果を示す。肺 (右肺の前葉および中葉) を採取し、 I L - 5 (A) および I L - 6 (B) タンパク質レベルをマルチプレックスイムノアッセイ (m u l t i p l e x e d i m m u n o a s s a y) によって測定した。肺組織の I L - 5 および I L - 6 タンパク質レベルは、肺葉当たりのタンパク質量 (p g) として表される。統計的有意性は、ダンの多重比較事後検定を用いたクラスカル・ウォリスの一元配置分散分析によって決定された。統計的有意差を示すために以下の記号を使用した：「 * 」アスタリスクは、全ての 19 週間 H D M 曝露群の間の比較を表し、「 # 」ハッシュタグは、生理食塩水に曝露された未処置動物と全ての他の群との比較を示す。記号の数値が増えると、有意性が増すことを示している： $1 \times = p \ 0.05$; $2 \times = p \ 0.01$; $3 \times = p \ 0.001$ 。略語： w k = 週、 I g G 4^P = アイソタイプ対照抗体 R E G N 1945。

【図 8】 R E G N 3500 が単独またはデュピルマブとの組み合わせが、循環 (c i r c u l a t i n g) S A A タンパク質レベルの H D M 曝露誘導性の増加を阻止することを示している。最後の抗体注射の 4 日後、全血を心臓穿刺により採取し、血清を単離した。循環 S A A タンパク質レベルを市販の E L I S A キットを用いて測定した。循環 S A A タンパク質レベルは、血清 1 m L 当たりの S A A タンパク質量 (μ g) として表される。統計的有意性は、ダンの多重比較事後検定を用いたクラスカル・ウォリスの一元配置分散分析によって決定された。統計的有意差を示すために以下の記号を使用した：「 * 」アスタリスクは、全ての 19 週間 H D M 曝露群の間の比較を表し、「 # 」ハッシュタグは、生理食塩水に曝露された未処置動物と全ての他の群との比較を示す。記号の数値が増えると、有意性が増すことを示している： $1 \times = p \ 0.05$; $2 \times = p \ 0.01$; $3 \times = p \ 0.001$ 。略語： w k = 週、 I g G 4^P = アイソタイプ対照抗体 R E G N 1945。

【図 9】 H D M 曝露に応じて、循環 I g E タンパク質レベルが増加することを示す。全血を心臓穿刺により採取し、血清を単離した。循環 I g E タンパク質レベルを市販の E L I S A キットを用いて測定した。循環 I g E タンパク質レベルは、血清 1 m L 当たりの I g E タンパク質量 (μ g) として表される。統計的有意性は、ダンの多重比較事後検定を用いたクラスカル・ウォリスの一元配置分散分析によって決定された。統計的有意差を示すために以下の記号を使用した：「 * 」アスタリスクは、全ての 19 週間 H D M 曝露群の間の比較を表し、「 # 」ハッシュタグは、生理食塩水に曝露された未処置動物と全ての他の群との比較を示す。記号の数値が増えると、有意性が増すことを示している： $1 \times = p \ 0.05$; $2 \times = p \ 0.01$; $3 \times = p \ 0.001$ 。略語： w k = 週、 I g G 4^P = アイソタイプ対照抗体 R E G N 1945。

【発明を実施するための形態】

【 0 1 1 4 】

本発明を説明する前に、本発明は、特定の方法および説明される実験条件が変わり得るので、このような方法および条件に制限されないことは理解されることになっている。本発明の範囲は添付の特許請求の範囲によってのみ制限されるので、本明細書で使用する用語はある特定の実施形態のみを説明するためのものであり、制限されることを企図するものではないことも理解すべきである。

【 0 1 1 5 】

別段の定義がない限り、本明細書で使用する技術用語および科学用語は全て、本発明の

10

20

30

40

50

属する技術分野の当業者によって通常理解されるのと同じ意味を有する。本明細書で使用される場合、「約」との用語は、特定の列挙された数値に関して使用されるとき、その値が列挙された値から1%以下だけ変動し得ることを意味する。例えば、本発明で使用する場合、「約100」との表現は、99および101、ならびにその間の全値(例えば、99.1、99.2、99.3、99.4など)を含む。

【0116】

本明細書に説明されるものと類似のまたは等価の任意の方法および材料を本発明の実施または試験に使用することができるが、好ましい方法および材料をこれから説明する。本明細書で言及される特許、出願、および非特許刊行物は全て、それらの全体が参照により本明細書に組み込まれる。

【0117】

定義

本明細書で使用される「インターロイキン-33」、「IL-33」または同様の用語は、ヒトIL-33タンパク質を指し、270アミノ酸の、プロセッシングされていない全長IL-33(例えば、配列番号348またはUniProtKB受託番号095760)、および細胞内プロセッシングから生じる任意の形態のIL-33(例えば、全長タンパク質のアミノ酸残基112~270を含有する配列番号349を参照のこと)を包含する。IL-33の他のプロセッシングされた形態は、Lefrancais, et al. (Lefrancais, et al., (2012), Proc. Natl. Acad. Sci. 109(5):1693-1678)に記載されている。この用語はまた、IL-33の天然に存在するバリエーション、例えば、スプライスバリエーション(例えば、Hong, et al., (2011), J. Biol. Chem. 286(22):20078-20086またはを参照のこと)、またはIL-33の任意の他のアイソフォーム、例えば、WO2016/156440に記載されているものなどを包含する。本明細書におけるタンパク質、ポリペプチド、およびタンパク質フラグメントについての全ての言及は、非ヒト種由来であることが明確に特定されない限り、それぞれのタンパク質、ポリペプチド、またはタンパク質フラグメントのヒト型を指すことを意図している。

【0118】

本明細書で使用される場合、「IL-33アンタゴニスト」との表現は、IL-33シグナル伝達および/または、IL-33と、細胞表面受容体(例えば、IL1RL1としても知られるST2)もしくは共受容体(例えば、IL1-RAcP)またはそれらの複合体と、の間の相互作用を阻止、減弱、または妨害することができる任意の薬剤を意味する。例えば、「IL-33阻害剤」または「IL-33ブロッカー」とも称する「IL-33アンタゴニスト」は、以下のいずれかを含む:(1)IL-33に結合するもしくはこれと相互作用する薬剤、または(2)IL-33受容体に結合するもしくはこれと相互作用する薬剤(「腫瘍形成抑制因子」または「ST2」と称される場合があり、「IL1RL1」としても知られる)、または(3)IL-33共受容体(インターロイキン-1受容体アクセサリタンパク質もしくはIL1-RAcP)に結合するもしくはこれと相互作用する薬剤、または(4)IL-33/ST2の複合体に結合する薬剤、あるいは(5)ST2/IL-1RAcPに結合するもしくはこれと相互作用する薬剤。上記のいずれも、限定するものではないが、IL-33がその受容体/共受容体複合体に結合した際に生じる生物学的シグナル伝達機能などのIL-33の少なくとも1つの生物学的活性を阻害または減弱をもたらし得る。

【0119】

一実施形態において、「IL-33アンタゴニスト」は、IL-33に特異的に結合しまたはこれと相互作用し、IL-33がST2に結合することを妨げ、そうした際にはST2と共受容体IL-1RAcPとの相互作用を妨げる抗体である。一実施形態において、「IL-33アンタゴニスト」は、ST2またはST2/IL-1RAcP複合体のいずれかに特異的に結合し、IL-33がST2またはST2/IL-1RAcP受容体複合体に結合することを妨げる抗体である。一実施形態において、「IL-33アンタゴニ

10

20

30

40

50

スト」は、IL-33/ST2複合体に結合し、次いでST2とIL-1RAcP共受容体との相互作用を妨げる抗体である。一実施形態において、「IL-33アンタゴニスト」は、IL-33に結合し、ST2への低親和性結合を可能にし得る抗体であるが、同時に、そのような低親和性結合は、ST2と受容体IL-1RAcPとのその後の相互作用を妨げ得る。

【0120】

「IL-33アンタゴニスト」はまた、可溶性ST2受容体またはIL-33受容体ベースのトラップなどの薬剤、例えば、本明細書に記載されUS2014/0271642に開示されているものであり得る。IL-33媒介シグナル伝達を阻止する任意の薬剤は「IL-33アンタゴニスト」とみなされる。「IL-33アンタゴニスト」は、有機小分子、抗体もしくはそのフラグメントなどのタンパク質、または可溶性IL-33受容体ベースのトラップ（本明細書中に記載される）、またはアンチセンス分子もしくはsiRNAなどの核酸であり得る。本明細書で使用される場合、「IL-33に結合する抗体」または「抗IL-33抗体」には、ヒトIL-33タンパク質またはその生物学的に活性なフラグメントに結合する抗体およびその抗原結合フラグメント（配列番号348、349、350、および351を参照のこと）が含まれる。

10

【0121】

本明細書で使用される「インターロイキン-4受容体」または「IL-4R」との表現は、配列番号347のアミノ酸配列を有するヒトIL-4R受容体を指す。

【0122】

本明細書で使用される場合、「IL-4Rアンタゴニスト」（本明細書では「IL-4R阻害剤」、「IL-4Rアンタゴニスト」、「IL-4Rブロッカー」、「IL-4Rブロッカー」などとも称する）は、IL-4RまたはIL-4Rリガンドに結合しまたはこれらと相互作用し、1型および/または2型IL-4受容体の正常な生物学的シグナル伝達機能を阻害または減弱する任意の薬剤である。1型IL-4受容体は、IL-4R鎖およびc鎖を含む二量体受容体である。2型IL-4受容体は、IL-4R鎖およびIL-13R1鎖を含む二量体受容体である。1型IL-4受容体は、IL-4と相互作用し、IL-4によって刺激される一方、2型IL-4受容体は、IL-4およびIL-13の両方と相互作用し、IL-4およびIL-13の両方によって刺激される。したがって、本発明の方法で使用することができるIL-4Rアンタゴニストは、IL-4媒介シグナル伝達、IL-13媒介シグナル伝達、またはIL-4およびIL-13媒介シグナル伝達の両方を阻止することによって機能し得る。したがって、本発明のIL-4Rアンタゴニストは、IL-4および/またはIL-13と1型または2型受容体との相互作用を妨げ得る。IL-4Rアンタゴニスト分類の非限定的な例には、小分子IL-4R阻害剤、抗IL-4Rアダプター、ペプチドベースのIL-4R阻害剤（例えば、「ペプチボディ」分子）、「レセプターボディ（receptor-body）」（例えば、IL-4R成分のリガンド結合ドメインを含む工学操作された分子）、およびヒトIL-4Rに特異的に結合する抗体または抗体の抗原結合フラグメントが含まれる。本明細書で使用される場合、IL-4Rアンタゴニストはまた、IL-4および/またはIL-13に特異的に結合する抗原結合タンパク質が含まれる。

20

30

40

【0123】

本明細書で使用される場合、「抗体」との用語は、特定の抗原（例えばIL-33もしくはIL-4R）に特異的に結合するまたはこれと相互作用する、少なくとも1つの相補性決定領域（CDR）を含む任意の抗原結合分子または分子複合体を意味する。「抗体」との用語は、ジスルフィド結合によって相互連結された4本のポリペプチド鎖、2本の重（H）鎖および2本の軽（L）鎖を含む免疫グロブリン分子、ならびにそれらの多量体（例えば、IgM）を含む。各重鎖は、重鎖可変領域（本明細書ではHCVRまたはV_Hと略される）および重鎖定常領域を含む。重鎖定常領域は、3つのドメイン、C_H1、C_H2、およびC_H3を含む。各軽鎖は、軽鎖可変領域（本明細書ではLCVRまたはV_Lと略される）および軽鎖定常領域を含む。軽鎖定常領域は1つのドメイン（C_L1）を含む

50

。V_H領域およびV_L領域は、フレームワーク領域(FR)と称する、より保存された領域が点在する相補性決定領域(CDR)と称する超可変領域へとさらに細分することができる。各V_HおよびV_Lは、FR1、CDR1、FR2、CDR2、FR3、CDR3、FR4の順でアミノ末端からカルボキシ末端へと配置された3つのCDRおよび4つのFRからなる。本発明の異なる実施形態において、抗IL-33抗体(もしくはその抗原結合部分)または抗IL-4R抗体のFRは、ヒト生殖細胞系列の配列と同一であってもよく、または天然でもしくは人工的に修飾されていてもよい。アミノ酸コンセンサス配列は、2つ以上のCDRの並列分析に基づいて定義され得る。

【0124】

本明細書で使用される「抗体」との用語はまた、完全抗体分子の抗原結合フラグメントを含む。抗体の「抗原結合部分」、抗体の「抗原結合フラグメント」および同様の用語は、本明細書で使用される場合、天然の、酵素処理で入手可能な、合成の、または遺伝子操作された、抗原を特異的に結合して複合体を形成するポリペプチドまたは糖タンパク質を含む。抗体の抗体結合フラグメントは、例えば、抗体可変ドメインおよび場合により定常ドメインをコードするDNAの操作および発現に関連するタンパク質消化技術または組換え遺伝子操作技術などの任意の適切な標準的技術を用いて、完全抗体分子から誘導され得る。このようなDNAは既知であり、および/または例えば市販の供給源、DNAライブラリー(例えばファージ-抗体ライブラリーを含む)から容易に入手可能であるか、または合成することができる。DNAは、例えば、1つ以上の可変ドメインおよび/もしくは定常ドメインを適切な立体配置に配置し、またはコドンを導入し、システイン残基を生成し、アミノ酸を修飾、付加もしくは欠失などするために、化学的にまたは分子生物学技術を用いて配列決定および操作され得る。

【0125】

抗体結合フラグメントの非限定例としては、(i) Fabフラグメント、(ii) F(ab')₂フラグメント、(iii) Fdフラグメント、(iv) Fvフラグメント、(v) 一本鎖Fv(scFv)分子、(vi) dAbフラグメント、および(vii)抗体の超可変領域(例えば、CDR3ペプチドなどの単離された相補性決定領域(CDR))を模倣するアミノ酸残基、または拘束FR3-CDR3-FR4ペプチドからなる最小認識単位が挙げられる。ドメイン特異的抗体、単一ドメイン抗体、ドメイン欠失抗体、キメラ抗体、CDR移植抗体、ダイアボディ、トリアボディ、テトラボディ、ミニボディ、ナノボディ(例えば、一価ナノボディ、二価ナノボディなど)、小モジュラー免疫薬(small modular immunopharmaceuticals)(SMIP)、およびサメ可変IgNARドメインなどの他の工学操作された分子もまた、本明細書で使用する「抗原結合フラグメント」の表現内に包含される。

【0126】

抗体の抗原結合フラグメントは、典型的には、少なくとも1つの可変ドメインを含むことになっている。可変ドメインは、任意の大きさまたはアミノ酸組成物であり得、概して、1つ以上のフレームワーク配列に隣接しているかまたは1つ以上のフレームワーク配列とともにインフレームである少なくとも1つのCDRを含む。V_Lドメインと結合したV_Hドメインを有する抗体結合フラグメントにおいて、V_HドメインおよびV_Lドメインは、任意の適切な配置で互いに対して配置され得る。例えば、可変領域は二量体であり、V_H-V_H、V_H-V_LまたはV_L-V_L二量体を含んでもよい。あるいは、抗体の抗原結合フラグメントは、単量体のV_HドメインまたはV_Lドメインを含有し得る。

【0127】

ある特定の実施形態において、抗体の抗原結合フラグメントは、少なくとも1つの定常ドメインへ共有結合した少なくとも1つの可変ドメインを含有し得る。本発明の抗体の抗原結合フラグメント内に見出すことができる可変ドメインおよび定常ドメインの非限定的な例示的立体配置としては、(i) V_H-C_H1、(ii) V_H-C_H2、(iii) V_H-C_H3、(iv) V_H-C_H1-C_H2、(v) V_H-C_H1-C_H2-C_H3、(vi) V_H-C_H2-C_H3、(vii) V_H-C_L、(viii) V_L-C_H1、(i

10

20

30

40

50

x) $V_L - C_H 2$ 、(x) $V_L - C_H 3$ 、(xi) $V_L - C_H 1 - C_H 2$ 、(xii) $V_L - C_H 1 - C_H 2 - C_H 3$ 、(xiii) $V_L - C_H 2 - C_H 3$ 、および(xiv) $V_L - C_L$ が挙げられる。先に列挙した例示的な立体配置のいずれかを含む、可変ドメインおよび定常ドメインの任意の立体配置において、可変ドメインおよび定常ドメインは、互いに直接連結されていてもよく、または完全もしくは部分的ヒンジ領域もしくはリンカー領域によって連結されていてもよい。ヒンジ領域は、単一のポリペプチド分子において隣接する可変ドメインおよび/または定常ドメイン間の可撓性または半可撓性の結合をもたらす少なくとも2つの(例えば、5、10、15、20、40、60またはそれより多数の)アミノ酸からなり得る。そのうえ、本発明の抗体の抗原結合フラグメントは、互いのおよび/または1つ以上の単量体 V_H ドメインもしくは V_L ドメイン(例えば、ジスルフィド結合(複数可)により)との非共有結合において、先に列挙した可変ドメイン立体配置および定常ドメイン立体配置のいずれかのホモ二量体またはヘテロ二量体(または他の多量体)を含み得る。

【0128】

完全抗体分子と同様に、抗体結合フラグメントは、単一特異性または多重特異性(例えば、二重特異性)であり得る。抗体の多重特異性抗原結合フラグメントは、典型的には、少なくとも2つの異なる可変ドメインを含むことになっており、各可変ドメインは、別個の抗原へまたは同じ抗原上の異なるエピトープへ特異的に結合することができる。本明細書に開示される例示的な二重特異性抗体フォーマットを含む任意の多重特異性抗体フォーマットは、当該技術分野で利用可能な通例の技術を使用して、本発明の抗体の抗原結合フラグメントとの関連で使用に適合し得る。例えば、本発明は、二重特異性抗体の使用を含む方法を含み、該二重特異性抗体では、免疫グロブリンの一方の腕が、IL-4RもしくはそのフラグメントまたはIL-33もしくはそのフラグメントに特異的な免疫グロブリンであり、免疫グロブリンの他方の腕が、第2の治療標的に特異的であるかまたは治療部分に結合されている。本発明との関連で使用することができる例示的な二重特異性フォーマットとしては、例えば、scFvベースのまたはダイアボディ二重特異性フォーマット、IgG-scFv融合体、二重可変ドメイン(DVD)-Ig、クワドロマ(Quadroma)、ノブズ-イントゥ-ホールズ(knobs-into-holes)、共通軽鎖(例えば、ノブズ-イントゥ-ホールズを有する共通軽鎖など)、CrossMab、CrossFab、(SEED)ボディ、ロイシンジッパー、Duobody、IgG1/IgG2、二重作用Fab(DAF)-IgG、およびMab²二重特異性フォーマットが挙げられるが、限定するものではない(上述のフォーマットの総説については、例えばKlein et al., 2012, mAbs 4:6, 1-11、およびこの中で引用されている参考文献を参照のこと)。二重特異性抗体は、ペプチド/核酸結合を用いて構築することもでき、例えば、直交化学反応性を有する非天然アミノ酸を使用して、部位特異的抗体-オリゴヌクレオチド複合体を生成し、これが次に、規定される組成物、原子価および幾何学的形状を有する多量体複合体へと自己集合する。(例えば、Kazane et al., J. Am. Chem. Soc. [Epub: Dec. 4, 2012]を参照のこと)。

【0129】

本発明のある特定の実施形態において、本発明の抗IL-33抗体およびIL-4R抗体はヒト抗体である。「ヒト抗体」との用語は、本明細書で使用される場合、ヒト生殖系列免疫グロブリン配列に由来する可変領域および定常領域を有する抗体を含むよう企図される。本発明のヒト抗体は、例えば、CDR、特にCDR3における、ヒト生殖系列免疫グロブリン配列(例えば、インビトロでのランダムもしくは部位特異的変異誘発によってまたはインビボでの体細胞突然変異によって導入された変異)によってコードされないアミノ酸残基を含み得る。しかしながら、本明細書で使用される「ヒト抗体」との用語は、別の哺乳類種(例えば、マウス)の生殖系列に由来するCDR配列がヒトフレームワーク配列へと移植された抗体を含むことを意図するものではない。この用語は、非ヒト哺乳類において、または非ヒト哺乳類の細胞において組換え産生された抗体を含む。この用語は

10

20

30

40

50

、ヒト対象から単離された、またはヒト対象において生成された抗体を含むよう企図されるものではない。

【0130】

本発明の抗体は、いくつかの実施形態において、組換えヒト抗体であり得る。本明細書で使用される「組換えヒト抗体」との用語は、宿主細胞にトランスフェクトされた組換え発現ベクターを使用して発現される抗体などの組換え手段によって調製、発現、作成、または単離された全てのヒト抗体（後述）、組換えコンビナトリアルヒト抗体ライブラリーから単離された抗体（後述）、ヒト免疫グロブリン遺伝子についてトランスジェニックである動物（例えばマウス）から単離された抗体（例えば、Taylor et al. (1992) *Nucl. Acids Res.* 20: 6287-6295）、またはヒト免疫グロブリン遺伝子配列の他のDNA配列へのスプライシングを含む任意の他の手段によって調製、発現、作成、または単離された抗体を含むことを意図する。そのような組換えヒト抗体は、ヒト生殖系列免疫グロブリン配列に由来する可変領域および定常領域を有する。ある特定の実施形態において、しかしながら、そのような組換えヒト抗体は、インビトロ突然変異誘発（または、ヒトIg配列についてトランスジェニック動物が使用される場合は、インビボ体細胞突然変異誘発）を受け、したがって、組換え抗体のV_HおよびV_L領域のアミノ酸配列は、ヒト生殖系列V_HおよびV_L配列に由来し関連してはいるが、インビボでヒト抗体生殖系列レパートリー内に天然には存在し得ない配列である。

10

【0131】

ヒト抗体は、ヒンジの不均一性に関連する2つの形態で存在することができる。一形態において、免疫グロブリン分子は、二量体が鎖間重鎖ジスルフィド結合によって一緒に保持されている約150~160kDaの安定な四本鎖構築物を含む。第2の形態において、二量体は鎖間ジスルフィド結合を介して連結されておらず、共有結合した軽鎖と重鎖からなる約75~80kDaの分子が形成される（半抗体）。これらの形態は、親和性精製後でさえも分離することが極めて困難であった。

20

【0132】

様々な無傷のIgGアイソタイプにおける第2の形態の出現頻度は、抗体のヒンジ領域アイソタイプに関連する構造上の相違によるが、それに限定されない。ヒトIgG4ヒンジのヒンジ領域における1個のアミノ酸置換により、ヒトIgG1ヒンジを用いて典型的に観察されるレベルにまで第2の形態の出現を有意に減少させることができる（Angall et al. (1993) *Molecular Immunology* 30: 105）。本発明は、ヒンジ、C_H2またはC_H3領域に1つ以上の変異を有する抗体を包含し、例えば産生において、所望の抗体形態の収率を改善するのに望ましい場合がある。

30

【0133】

本発明の抗体は単離された抗体であり得る。本明細書で使用される「単離された抗体」は、同定された抗体、およびその天然環境の少なくとも1つの成分から分離および/または回収された抗体を意味する。例えば、生物の少なくとも1つの成分から、または抗体が天然に存在するかもしくは天然に産生される組織または細胞から分離または除去された抗体は、本発明の目的のための「単離された抗体」である。単離された抗体はまた、組換え細胞内の原位置の抗体を含む。単離された抗体は、少なくとも1つの精製または単離工程を受けている抗体である。ある特定の実施形態によると、単離された抗体は他の細胞性物質および/または化学物質を実質的に含まなくてもよい。

40

【0134】

本発明は、抗IL-33抗体およびIL-4R抗体を中和および/または阻止することを含む。本明細書で使用される「中和」または「阻止」抗体は、標的分子、例えばIL-33またはIL-4Rのいずれかへの結合が、(i)標的分子とその受容体（IL-33抗体の場合）またはそのリガンド（IL-4R抗体の場合）のいずれかとの間の相互作用を妨げ、および/または(ii)標的分子の少なくとも1つの生物学的機能、例えばシグナル伝達の阻害をもたらす抗体を指す。IL-33またはIL-4R中和または阻止抗体によって引き起こされる阻害は、阻害が適切なアッセイを使用して検出可能である限り、

50

完全である必要はない。

【0135】

本明細書に開示される抗体は、抗体が由来した対応する生殖系列配列と比較して、重鎖および軽鎖可変ドメインのフレームワーク領域および/またはCDR領域において1つ以上のアミノ酸置換、挿入、および/または欠失を含み得る。このような変異は、本明細書中に開示するアミノ酸配列を、例えば公共の抗体配列データベースから入手可能な生殖系列配列と比較することによって容易に確認することができる。本発明は、本明細書に開示されるアミノ酸配列のいずれかに由来する抗体およびその抗原結合フラグメントを含み、ここで、1つ以上のフレームワーク領域および/またはCDR領域内の1つ以上のアミノ酸は、抗体が由来した生殖系列配列の対応する残基(複数可)に変異し、もしくは別のヒト生殖系列配列の対応する残基(複数可)に変異し、または対応する生殖系列残基(複数可)の保存的アミノ酸置換に変異する(このような配列変化を本明細書では纏めて、「生殖系列変異」と称する)。当業者は、本明細書に開示される重鎖および軽鎖可変領域配列から出発して、1つ以上の個々の生殖系列変異またはそれらの組み合わせを含む多くの抗体および抗体結合フラグメントを容易に産生することができる。ある特定の実施形態において、V_Hおよび/またはV_Lドメイン内のフレームワークおよび/またはCDR残基は全て、抗体が由来した元の生殖系列配列において見出される残基へと再び変異する。他の実施形態において、ある特定の残基のみが元の生殖系列配列へと変異し戻され、例えば、変異した残基はFR1の最初の8個のアミノ酸内に、もしくは変異した残基はFR4の最後の8個のアミノ酸内に認められ、または変異した残基は、CDR1、CDR2もしくはCDR3内にのみ認められる。他の実施形態において、フレームワークおよび/またはCDR残基(複数可)の1つ以上は、異なる生殖系列配列(すなわち、抗体が本来由来した生殖系列配列とは異なる生殖系列配列)の対応する残基(複数可)へ変異する。さらに、本発明の抗体は、フレームワークおよび/またはCDR領域内に2つ以上の生殖系列変異の任意の組み合わせを含有してもよく、例えば、ある特定の個々の残基は、特定の生殖系列配列の対応する残基へ変異するのに対し、元の生殖系列配列とは異なるある特定の他の残基は、維持され、または異なる生殖系列配列の対応する残基へ変異する。いったん得られれば、1つ以上の生殖系列変異を含有する抗体および抗体結合フラグメントは、結合特異性の改善、結合親和性の増加、アンタゴニストまたはアゴニストの生物学的特性の改善または増強(場合によって)、免疫原性の低下などの1つ以上の所望の特性について容易に試験することができる。この一般的な方法で得られる抗体および抗体結合フラグメントは、本発明の範囲内に包含される。

10

20

30

【0136】

本発明はまた、1つ以上の保存的置換を有する本明細書に開示されるHCVR、LCVR、および/またはCDRアミノ酸配列のいずれかのバリエーションを含む抗体を含む。例えば、本発明は、本明細書に開示されるHCVR、LCVR、および/またはCDRアミノ酸配列のいずれかに対して、例えば10個以下、8個以下、6個以下、または4個以下などの保存的アミノ酸置換を有するHCVR、LCVR、および/またはCDRアミノ酸配列を有する抗体を含む。

【0137】

「エピトープ」との用語は、パラトープとして既知の抗体分子の可変領域における特異的抗原結合部位と相互作用する抗原決定基を指す。単一の抗原は2つ以上のエピトープを有してもよい。したがって、異なる抗体は、抗原上の異なる領域へ結合し得、異なる生物学的効果を有し得る。エピトープは、立体配座または線状のいずれかであってもよい。立体配座エピトープは、直鎖状ポリペプチド鎖の異なるセグメントから空間的に並置されたアミノ酸によって産生される。直鎖状エピトープは、ポリペプチド鎖中の隣接するアミノ酸残基によって産生されるものである。特定の状況において、エピトープは、抗原上の糖類、ホスホリル基、またはスルホニル基の部分を含み得る。

40

【0138】

「実質的な同一性」または「実質的に同一である」との用語は、核酸またはそのフラグ

50

メントを指す場合、別の核酸（またはその相補鎖）との適切なヌクレオチド挿入または欠失と最適に整列した場合、以下に考察するように、FASTA、BLASTまたはGapなど、配列同一性の任意の周知のアルゴリズムによって測定される場合に、ヌクレオチド塩基の少なくとも約95%、より好ましくは少なくとも約96%、97%、98%、または99%のヌクレオチド配列同一性があることを示す。参照核酸分子と実質的な同一性を有する核酸分子は、ある特定の場合において、参照核酸分子によってコードされるポリペプチドと同じまたは実質的に類似のアミノ酸配列を有するポリペプチドをコードすることができる。

【0139】

ポリペプチドへ適用される場合、「実質的な類似性」または「実質的に類似の」との用語は、2つのペプチド配列が、既定のギャップ重みを用いてプログラムGAPまたはBESTFITなどによって最適に整列した場合、少なくとも95%の配列同一性、さらにより好ましくは少なくとも98%または99%の配列同一性を共有する。好ましくは、同一ではない残基位置は、保存的アミノ酸置換だけ異なる。「保存的アミノ酸置換」とは、アミノ酸残基が、類似の化学的特性（例えば、電荷または疎水性）を備えた側鎖（R基）を有する別のアミノ酸残基によって置換されたものである。概して、保存的アミノ酸置換は、タンパク質の機能的特性を実質的に変化させないことになっている。2つ以上のアミノ酸配列が保存的置換だけ互いに異なる場合、配列同一性の割合または類似性の程度は、置換の保存的性質を補正するために上向きに調整してもよい。この調整を行うための手段は、当業者に周知である。例えば、参照により本明細書に組み込まれるPearson (1994) *Methods Mol. Biol.* 24: 307-331を参照のこと。類似の化学的特性を備えた側鎖を有するアミノ酸の基の例としては、(1) 脂肪族側鎖：グリシン、アラニン、バリン、ロイシンおよびイソロイシン、(2) 脂肪族-ヒドロキシル側鎖：セリンおよびトレオニン、(3) アミド含有側鎖：アスパラギンおよびグルタミン、(4) 芳香族側鎖：フェニルアラニン、チロシン、およびトリプトファン、(5) 塩基性側鎖：リジン、アルギニン、およびヒスチジン、(6) 酸性側鎖：アスパラギン酸およびグルタミン酸、ならびに(7) 含硫側鎖：システインおよびメチオニンが挙げられる。好ましい保存的アミノ酸置換基は、バリン-ロイシン-イソロイシン、フェニルアラニン-チロシン、リジン-アルギニン、アラニン-バリン、グルタミン酸-アスパラギン酸およびアスパラギン-グルタミンである。あるいは、保存的置換とは、参照により本明細書

【0140】

ポリペプチドに対する配列類似性は、配列同一性とも呼ばれ、典型的には配列分析ソフトウェアを用いて測定される。タンパク質解析ソフトウェアは、保存的アミノ酸置換を含む種々の置換、欠失および他の修飾へ割り当てられた類似の測定値を用いて類似の配列と一致させる。例えば、GCGソフトウェアは、異なる種の生物由来の相同ポリペプチドのような密接に関連するポリペプチド間の、または野生型タンパク質とその変異タンパク質の間の配列相同性または配列同一性を決定するための既定パラメータとともに使用することができるGapおよびBestfitなどのプログラムを含有する。例えば、GCG第6.1版を参照されたい。ポリペプチド配列は、GCG第6.1版におけるプログラムである、既定パラメータまたは推奨パラメータを備えたFASTAを使用して比較することもできる。FASTA（例えば、FASTA2およびFASTA3）は、問い合わせ配列と検索配列の間の最良重複の領域の整列およびパーセント配列同一性を提供する（Pearson (2000) 上述）。本発明の配列を、異なる生物由来の多数の配列を含有するデータベースと比較する場合の別の好ましいアルゴリズムは、既定パラメータを用いるコンピュータプログラムBLAST、特にBLASTPまたはTBLASTNである。例えば、それぞれ参照により本明細書に組み込まれるAltschul et al. (19

10

20

30

40

50

90) J. Mol. Biol. 215: 403 - 410 および Altschul et al. (1997) Nucleic Acids Res. 25: 3389 - 402 を参照のこと。

【0141】

本明細書で使用される「疾患または障害」は、本発明のIL-33およびIL-4アンタゴニストで処置可能な任意の状態である。本明細書で使用される「炎症性疾患または障害」は、病変が全体的にまたは一部、例えば免疫系細胞の数の変化、移動速度の変化、または活性化の変化に起因する疾患、障害、または病理学的状態を指す。免疫系細胞には、例えば、T細胞、B細胞、単球もしくはマクロファージ、自然リンパ球、抗原提示細胞（APC）、樹状細胞、ミクログリア、NK細胞、好中球、好酸球、肥満細胞、または免疫学に特異的に関連する任意の他の細胞、例えばサイトカイン産生内皮細胞もしくは上皮細胞が含まれる。本明細書で使用される場合、一実施形態において、「炎症性疾患または障害」とは、喘息（ステロイド抵抗性喘息、ステロイド感受性喘息、好酸球性喘息、または非好酸球性喘息を含む）、アレルギー、アナフィラキシー、多発性硬化症、炎症性腸疾患（例えば、クローン病または潰瘍性大腸炎）、慢性閉塞性肺疾患（COPD、これは一次喫煙または二次喫煙への曝露に関連し、該曝露によって一部引き起こされ、もしくは該曝露に起因し得る、またはそうではないこともあり得る）、喘息およびCOPDオーバーラップ症候群（ACOS）、好酸球性食道炎、慢性気管支炎、気腫、鼻ポリープを伴うまたは伴わない慢性鼻副鼻腔炎、狼瘡、アトピー性皮膚炎、乾癬、強皮症および他の線維性疾患、シェーグレン症候群、血管炎（ベーチェット病、巨細胞性動脈炎、ヘノッホ・シェーンライン紫斑病、およびチャグ・ストラウス症候群）、炎症性疼痛、ならびに関節炎からなる群から選択される免疫障害または症状である。一実施形態において、関節炎は、リウマチ性関節炎、変形性関節症、および乾癬性関節炎からなる群から選択される。

10

20

【0142】

一実施形態において、「炎症性疾患または障害」は、1型応答および/または2型応答を含む免疫障害または状態である。

【0143】

「1型免疫応答」は、Tヘルパー1（ T_H1 ）細胞および T_H17 細胞、細胞傷害性T細胞、グループ1およびグループ3の自然リンパ球（ILC）、および免疫グロブリンM（IgM）、IgAおよび特異的IgG抗体クラス、ならびに例えばTNF、IL-1、およびIL-6を含むサイトカインによって定義される。このエフェクター応答は、細菌、ウイルス、真菌、および原生動物を含む多くの微生物に対する免疫を媒介する。1型免疫の構成要素はまた、腫瘍免疫監視を維持するのに役立つ。

30

【0144】

「2型免疫応答」は、CD4+Tヘルパー2（ T_H2 ）細胞、グループ2の自然リンパ球（ILC）、好酸球、好塩基球、肥満細胞、IL-4および/またはIL-13活性化マクロファージ、IgE抗体サブクラス、ならびに例えば、IL-4、IL-5、IL-9、IL-13、胸腺ストロマリンホボエチン、IL-25、およびIL-33を含むサイトカインを特徴とする。2型免疫は、バリア防御（barrier defense）を強化することによって、大きな細胞外寄生体に対する保護を提供する。2型免疫応答の構成要素はまた、代謝恒常性を維持し、傷害後の組織リモデリングを促進するのを助ける。この種の応答はまた、アレルゲンに応答して開始され得る。

40

【0145】

本明細書で使用される「IL-33媒介シグナル伝達を阻害または減弱する」との語句は、IL-33が本明細書に記載のIL-33抗体またはIL-33トラップなどのアンタゴニストの非存在下でST2およびIL-1RAcPを介してシグナル伝達を刺激する程度と比較して、本明細書に記載のIL-33抗体またはIL-33トラップなどのアンタゴニストの存在下で減弱される、IL-33がその受容体、ST2、および共受容体IL-1RAcPを介してシグナル伝達を刺激する程度を指す。本明細書で使用される「IL-4R媒介シグナル伝達を阻害または減弱する」との語句は、IL-4が本明細書に記載

50

の I L - 4 または I L - 4 R 抗体などのアンタゴニストの非存在下で 1 型および / または 2 型 I L - 4 受容体を介してシグナルを介してシグナル伝達を刺激する程度と比較して、本明細書に記載の I L - 4 または I L - 4 R 抗体などのアンタゴニストの存在下で減弱される、I L - 4 が 1 型および / または 2 型 I L - 4 受容体を介してシグナル伝達を刺激する程度を指す。阻害の程度を調べるために、試料を潜在的な阻害剤 / アンタゴニストで処理し、阻害剤 / アンタゴニストで処理しない対照試料と比較する。対照試料、すなわちアンタゴニストで処理しないものには、相対活性値 100% を割り当てる。対照と比較した活性値が約 90%、85%、80%、75%、70%、65%、60%、55%、50%、45%、40%、35%、30%、25%、または 20% 未満である場合、阻害が達成される。阻害の評価項目は、所定の量または割合の、例えば、サイトカインの放出などの炎症または細胞脱顆粒、分泌、もしくは活性化の指標を含み得る。S T 2 および I L - 1 R A c P を介する I L - 33 シグナル伝達の阻害は、当業者に既知のものなどのインビトロアッセイで I L - 33 シグナル伝達についてアッセイすることによって決定することができる。さらに、インビボアッセイを使用して、分子が I L - 33 のアンタゴニストであるかどうかを決定することができる。例えば、インビボアッセイを使用して、ヒト I L - 33 の発現に関してホモ接合性である (h o m o z y g o u s) アレルゲン感作動物の肺炎症についての I L - 33 に対する抗体の効果を評価することができる。動物をアレルゲンで感作した後、動物の一部を本発明の抗 I L - 33 抗体または陰性アイソタイプ対照抗体のいずれかで処置する。その後、動物を犠牲死させ、細胞浸潤物の評価およびサイトカイン測定 (I L - 4 および I L - 5) のために肺を採取する。アンタゴニストとして有効である I L - 33 抗体は、肺の炎症細胞の減少傾向、ならびに I L - 4 および I L - 5 などのサイトカインの減少傾向を示すはずである。インビトロまたはインビボで I L - 4 が 1 型および / または 2 型受容体に結合された後にシグナル伝達を阻止する I L - 4 R アンタゴニストの能力を評価するために、同様のアッセイを行うことができる。さらに、I L - 33 アンタゴニスト単独、I L - 4 もしくは I L - 4 R アンタゴニスト単独のいずれかを使用することの効果、または I L - 33 アンタゴニストおよび I L - 4 もしくは I L - 4 R アンタゴニストの両方の組み合わせと一緒に使用することの効果と比較するために、上記のアッセイのいずれかを改変してもよい。

10

20

30

40

50

【 0 1 4 6 】

別の態様において、本発明は、喘息もしくは C O P D の発生率もしくは再発または喘息もしくは C O P D の増悪の減少を必要とする対象において、喘息もしくは C O P D の発生率もしくは再発または喘息もしくは C O P D の増悪を減少させるための方法であって、インターロイキン - 4 受容体 (I L - 4 R) アンタゴニストを含む医薬組成物を I L - 33 アンタゴニストを含む医薬組成物と組み合わせて対象に投与することを含む方法を提供する。本明細書で使用される場合、「喘息または C O P D の増悪」との表現は、喘息または C O P D の 1 つ以上の症状または兆候の重症度および / もしくは頻度ならびに / または持続期間の増加を意味する。「喘息または C O P D の増悪」はまた、喘息または C O P D の治療的介入 (例えば、ステロイド処置、吸入コルチコステロイド処置、入院など) を必要とするまたはそれによって処置可能である対象の呼吸器健康状態の任意の悪化を含む。

【 0 1 4 7 】

喘息または C O P D の増悪の「発生率または再発の減少」とは、本発明の医薬組成物を受けた対象が、処置前よりも処置後において喘息または C O P D の増悪が少ないこと (すなわち、少なくとも 1 つの増悪の減少)、または本発明の医薬組成物による処置の開始後少なくとも 4 週間 (例えば、4、6、8、12、14 週間、またはそれ以上)、喘息または C O P D の増悪を経験しないことを意味する。あるいは、喘息または C O P D の増悪の「発生率または再発の減少」とは、本発明の医薬組成物の投与後に、本発明の医薬組成物を受けていない対象と比較して、対象が喘息または C O P D の増悪を経験する可能性が少なくとも 10% (例え、10%、15%、20%、25%、30%、35%、40%、45%、50%、またはそれ以上) 減少することを意味する。

【 0 1 4 8 】

本明細書で使用される「線維性疾患または障害」は、組織または臓器中の過剰な線維性結合組織を含む状態を指す。「線維症」とは、組織損傷に対する応答としての結合組織による瘢痕形成および細胞外マトリックスの過剰産生を含む病理過程を指す。本明細書で使用される場合、本発明の抗IL-33およびIL-4Rアンタゴニストを投与することによって処置可能な例示的な「線維性疾患または障害」としては、肺線維症（例えば、特発性肺線維症、プレオマイシン誘導性肺線維症、アスベスト誘導性肺線維症、および細気管支炎性閉塞症）、慢性喘息、急性肺損傷および急性呼吸窮迫に関連する線維症（例えば、細菌性肺炎誘導性線維症、外傷誘導性線維症、ウイルス性肺炎誘導性線維症、人工呼吸器誘導性線維症、非肺性敗血症誘導性線維症、および誤嚥誘導性線維症）、珪肺症、放射線誘導性線維症、慢性閉塞性肺疾患（COPD、これは一次喫煙または二次喫煙への曝露に関連し、該曝露によって一部引き起こされ、もしくは該曝露に起因し得る、またはそうではないこともあり得る）、強皮症、眼線維症、皮膚線維症（例えば、強皮症）、肝線維症（例えば、肝硬変、アルコール誘導性肝線維症、非アルコール性脂肪性肝炎（NASH）、胆管損傷、原発性胆汁性肝硬変、感染症またはウイルス誘導性肝線維症、自己免疫性肝炎、腎臓（腎）線維症、心臓線維症、アテローム性動脈硬化症、ステント再狭窄、および骨髄線維症が挙げられる。喘息およびCOPDは一般に炎症状態であると考えられているが、それぞれがまた線維性疾患の性質を示すことが知られている。

10

20

30

40

50

【0149】

処置または療法、例えばIL-33アンタゴニスト（例えばIL-33もしくはST2結合アンタゴニスト）またはIL-4アンタゴニストを含む処置に対する患者の「応答」または患者の「応答性」とは、処置からまたは処置の結果として、IL-33により媒介される障害（例えば、喘息、COPD、ACOS、鼻ポリープ、または肺線維症、例えば特発性肺線維症）のリスクがあるまたはその障害を有する患者にもたらされる臨床的または治療的利益を指す。そのような利益には、アンタゴニストによる処置からのまたはその処置の結果としての細胞性もしくは生物学的応答、完全奏効（complete response）、部分奏効、安定した疾患（進行もしくは再発なし）、または患者の晩期再発を伴う応答が含まれる。当業者は容易に、患者が応答性であるかどうかを決定するための立場にあるであろう。例えば、IL-33アンタゴニストおよび/またはIL-4アンタゴニストを含む処置に応答する喘息を患っている患者は、以下の例示的症状：反復性呼吸性喘鳴、咳、呼吸困難、胸部圧迫感、夜間に発症もしくは悪化する症状、冷気によって引き起こされる症状、運動またはアレルゲンへの曝露のうちの1つ以上において観察可能および/または測定可能な減少または非存在を示し得る。

【0150】

さらに、「治療有効性の増強」は、IL-33アンタゴニストおよびIL-4Rアンタゴニストの組み合わせによる処置が、IL-33アンタゴニストまたはIL-4Rアンタゴニストを単独で使用した場合に達成される結果と比較した場合に、疾患もしくは障害の少なくとも1つの症状の有意な改善、または本明細書で測定されるような生物学的パラメータ（例えば、肺炎症、サイトカイン放出など）のうちの少なくとも1つの改善をもたらすかどうかを評価することによって決定され得る。本出願に記載される有効性の生物学的測定のいずれも、治療有効性またはその増強を決定するために使用することができる。

【0151】

IL-33アンタゴニストおよびIL-4Rアンタゴニスト

本発明の方法は、炎症性疾患または障害を患っている患者に治療有効量のIL-33アンタゴニストを治療有効量のIL-4Rアンタゴニストと組み合わせて投与することを含む。

【0152】

IL-33アンタゴニスト

「ヒトインターロイキン-33」もしくは「ヒトIL-33」もしくは「hIL-33」または「IL-33」との用語は、270アミノ酸の完全長のプロセシングされていないIL-33（例えば、配列番号348もしくはUniProtKB受託番号O9576

0を参照のこと)またはその生物学的に活性なフラグメント、および細胞内プロセッシングから生じる任意の形態のIL-33(例えば、全長タンパク質のアミノ酸残基112~270を含有する配列番号349を参照のこと)を指す。この用語はまた、IL-33の天然に存在するバリエーション、例えば、スプライスバリエーション(例えば、Hong, et al., (2011), J. Biol. Chem. 286(22):20078-20086を参照のこと)、対立遺伝子バリエーション、またはIL-33の任意の他のアイソフォーム、例えば、WO2016/156440に記載されている酸化型または還元型のIL-33を包含する。本発明の抗体もしくはその抗原結合フラグメントまたは本発明のIL-33トラップによって中和、阻害、阻止、排除、減弱、低減、または妨害され得るIL-33の活性としては、IL-33受容体により媒介されるシグナル伝達の阻害またはIL-33により媒介される炎症の阻害が挙げられるが、これらに限定されない。

10

【0153】

本明細書で使用される場合、「IL-33アンタゴニスト」(本明細書中で「IL-33阻害剤」または「IL-33ブロッカー」などとも称する)は、IL-33とその結合パートナーのうちの1つ以上との相互作用を阻害し、そうした際にはIL-33媒介シグナル伝達を阻害し得る任意の薬剤である。例えば、「IL-33アンタゴニスト」は、IL-33、もしくは「腫瘍形成抑制因子」(「ST2」)と称するIL-33受容体、もしくは「インターロイキン-1受容体アクセサリタンパク質(「IL-1RAP」)と称するIL-33受容体、またはIL-33/ST2もしくはST2/IL-1RAPのいずれかの複合体と結合しまたはそれらと相互作用し得、そうした際にはIL-33媒介シグナル伝達を阻害し得る。

20

【0154】

IL-33アンタゴニスト分類の非限定的な例としては、小分子IL-33阻害剤、もしくは受容体アンタゴニスト、またはIL-33もしくはIL-33受容体もしくは共受容体のいずれかをコードする核酸配列にストリンジентな条件下でハイブリダイズする核酸(例えば、低分子干渉RNA(sRNA)またはクラスター化され規則的に間隔が空いた短鎖反復回文配列RNA(clustered regularly interspaced short palindromic repeat RNA)(CRISPR-RNAまたはcrRNA)、その全体が参照により本明細書に組み込まれるMallikaraj(Science, 339:823-26, 2013)に記載されるようなcrRNAおよびtracrRNA配列を有する一本鎖ガイドRNA(sgRNA)を含む)が挙げられる。他のIL-33アンタゴニストには、IL-33受容体(例えばST2)のリガンド結合部分、IL-33結合足場分子(例えばDARPin、HEATリピートタンパク質、ARMリピートタンパク質、テトラトリコペプチドリピータンパク質、フィブロネクチンベースの足場構築物、および天然に存在する反復タンパク質ベースの他の足場など[例えば、Boersma and Pluckthun, 2011, Curr. Opin. Biotechnol. 22:849-857、およびこの中で引用されている参考文献を参照のこと])、ならびに抗IL-33アプタマーまたはその一部が含まれる。

30

【0155】

IL-33抗体

ある特定の実施形態によれば、本発明との関連で使用することができるIL-33アンタゴニストまたは阻害剤は、ヒトIL-33に特異的に結合する抗IL-33抗体または抗体の抗原結合フラグメントである。本明細書に記載の方法で使用するための例示的な抗IL-33抗体のアミノ酸配列識別子は表1に示され、これらのIL-33抗体をコードする核酸配列識別子は表2に示される。

40

【0156】

一実施形態においては、本発明の方法で使用するための本明細書に記載される抗IL-33抗体は、参照によりその全体が本明細書に組み込まれるUS9,453,072に開示されている。

50

【0157】

ある特定の実施形態によれば、本発明の方法で使用される抗IL-33抗体はIL-33に特異的に結合する。「特異的に結合する」またはそれに類する用語は、抗体またはその抗原結合フラグメントが、生理学的条件下で比較的安定である抗原と複合体を形成することを意味する。抗体が抗原に特異的に結合するかどうかを決定するための方法は当該技術分野で周知であり、例えば、平衡透析、表面プラズモン共鳴などを含む。例えば、本発明との関連で使用されるIL-33を「特異的に結合する」抗体は、表面プラズモン共鳴アッセイで測定した場合に、約1000 nM未満、約500 nM、約300 nM未満、約200 nM未満、約100 nM未満、約90 nM未満、約80 nM未満、約70 nM未満、約60 nM未満、約50 nM未満、約40 nM未満、約30 nM未満、約20 nM未満、約10 nM未満、約5 nM未満、約4 nM未満、約3 nM未満、約2 nM未満、約1 nM未満、または約0.5 nM未満の K_D でIL-33またはその生物学的活性部分に結合する抗体を含む。しかしながら、ヒトIL-33に特異的に結合する単離された抗体は、他の(非ヒト)種由来のIL-33分子などの他の抗原に対する交差反応性を有し得る。

10

【0158】

本発明のある特定の例示的な実施形態によれば、IL-33アンタゴニストは、米国特許第9,453,072号および本明細書に開示の表1に示される抗IL-33抗体のいずれかのアミノ酸配列を含む、重鎖可変領域(HCVR)、軽鎖可変領域(LCVR)、および/または相補性決定領域(CDR)を含む抗IL-33抗体またはその抗原結合フラグメントである。ある特定の実施形態において、IL-33アンタゴニストは、US9,453,072に記載される参照抗体の結合特性を有する抗IL-33抗体である。ある特定の例示的な実施形態において、本発明の方法との関連で使用することができる抗IL-33抗体またはその抗原結合フラグメントは、配列番号274のアミノ酸配列を含む重鎖可変領域(HCVR)の重鎖相補性決定領域(HCDR)、および配列番号282のアミノ酸配列を含む軽鎖可変領域(LCVR)の軽鎖相補性決定領域(LCDR)を含む。ある特定の実施形態によれば、抗IL-33抗体またはその抗原結合フラグメントは、3つのHCDR(HCDR1、HCDR2、およびHCDR3)ならびに3つのLCDR(LCDR1、LCDR2、およびLCDR3)を含み、HCDR1は配列番号276のアミノ酸配列を含み、HCDR2は配列番号278のアミノ酸配列を含み、HCDR3は配列番号280のアミノ酸配列を含み、LCDR1は配列番号284のアミノ酸配列を含み、LCDR2は配列番号286のアミノ酸配列を含み、LCDR3は配列番号288のアミノ酸配列を含む。さらに他の実施形態において、抗IL-33抗体またはその抗原結合フラグメントは、配列番号274を含むHCVRおよび配列番号282を含むLCVRを含む。

20

30

【0159】

一実施形態において、IL-33アンタゴニストは、REGN3500と称するIL-33抗体であり、これは配列番号274のアミノ酸配列を有するHCVRと、配列番号282のアミノ酸配列を有するLCVRと、配列番号276-278-280のアミノ酸配列をそれぞれ有する重鎖相補性決定領域(HCDR1-HCDR2-HCDR3)と、配列番号284-286-288のアミノ酸配列をそれぞれ有する軽鎖相補性決定領域(LCDR1-LCDR2-LCDR3)と、を含む。

40

【0160】

本明細書に記載される方法で使用することができる他の抗IL-33抗体およびその抗原結合フラグメントは、EP1725261、US8187596、WO2011/031600、WO2015/099175、WO2015/106080(ANB020)、US2016/0168242、WO2016/077381、WO2016/077366、またはWO2016/156440に開示され、これらはそれぞれ参照によりそれらの全体が本明細書に組み込まれる。

【0161】

IL-33トラップ

50

ある特定の実施形態によれば、本発明との関連で使用することができる I L - 3 3 アンタゴニストまたは阻害剤は、受容体ベースの I L - 3 3 トラップ、例えば本明細書に記載されているものなどである。

【 0 1 6 2 】

本明細書に記載の I L - 3 3 トラップは、S T 2 と命名された I L - 3 3 受容体タンパク質の I L - 3 3 結合部分を含む、少なくとも 1 つの I L - 3 3 結合ドメインを含む。ある特定の実施形態において、I L - 3 3 トラップは、I L - 1 受容体アクセサリタンパク質または I L - 1 R A c P と命名された I L - 3 3 共受容体の細胞外部分をさらに含む。I L - 3 3 トラップはまた、トラップの様々な成分を互いに連結するように機能する少なくとも 1 つの多量体化成分を含有し得る。I L - 3 3 トラップのさまざまな成分を以下に記載し、図 1 に示す。

10

【 0 1 6 3 】

一実施形態において、本発明の方法で使用するための本明細書に記載の I L - 3 3 トラップは、参照によりそれらの全体が本明細書に組み込まれる U S 2 0 1 4 / 0 2 7 1 6 4 2 および W O 2 0 1 4 / 1 5 2 1 9 5 に開示されている。

【 0 1 6 4 】

簡潔に述べると、I L - 3 3 トラップは、多量体化ドメイン (M) に結合された第 1 の I L - 3 3 結合ドメイン (D 1) を含む。ある特定の実施形態において、本発明の I L - 3 3 アンタゴニストは、D 1 および / または M に結合された第 2 の I L - 3 3 結合ドメイン (D 2) を含む。ある特定の実施形態によれば、D 1 は、S T 2 タンパク質の I L - 3 3 結合部分を含む。ある特定の実施形態によれば、D 2 は I L - 1 R A c P タンパク質の細胞外部分を含む。

20

【 0 1 6 5 】

I L - 3 3 トラップの個々の成分は、I L - 3 3 に結合することができる機能性アンタゴニスト分子をもたらす様々な方法で互いに対して配置されてもよい。例えば、D 1 および / または D 2 は M の N 末端に結合されていてもよい。他の実施形態において、D 1 および / または D 2 は M の C 末端に結合されている。さらに他の実施形態において、D 1 は D 2 の N 末端に結合され、D 2 は M の N 末端に結合され、その結果、N から C 末端へと式 D 1 - D 2 - M で表されるアンタゴニスト分子の直列型融合をもたらされる。個々の成分の他の位置付けは、図 1 における本明細書の他の箇所に開示されている。

30

【 0 1 6 6 】

本発明の方法で使用するための I L - 3 3 トラップの非限定的な例は表 3 a および 3 b に示され、「h S T 2 - h F c」、「h S T 2 - m F c」、「h S T 2 - h I L 1 R A c P - m F c」、「h S T 2 - h I L 1 R A c P - h F c」、および「m S T 2 - m I L 1 R A c P - m F c」と命名された I L - 3 3 トラップを含む。これらは、それぞれ配列番号 3 2 3、3 2 4、3 2 5、3 2 6、および 3 2 7 に対応する。本発明は、本明細書に示される例示的な I L - 3 3 受容体ベースのトラップ (例えば、配列番号 3 2 3、3 2 4、3 2 5、3 2 6、および 3 2 7) のいずれかと少なくとも 8 0 %、8 5 %、9 0 %、9 1 %、9 2 %、9 3 %、9 4 %、9 5 %、9 6 %、9 7 %、9 8 %、または 9 9 % 同一のアミノ酸配列を有する I L - 3 3 受容体ベースのトラップを含む。

40

【 0 1 6 7 】

標準的な分子生物学的技術 (例えば、組換え D N A 技術) を使用して、本発明の I L - 3 3 トラップのいずれかまたはそのバリエーションを構築することができる。

【 0 1 6 8 】

本発明の方法で使用するための I L - 3 3 トラップは、少なくとも 1 つの I L - 3 3 結合ドメイン (本明細書では、「D」または「D 1」、「D 2」などの命名で称することも含む) を含む。ある特定の実施形態において、I L - 3 3 結合ドメインは S T 2 タンパク質の I L - 3 3 結合部分を含む。S T 2 タンパク質の I L - 3 3 結合部分は、S T 2 タンパク質の細胞外ドメインの全部または一部を含むかまたはそれらからなることができる。ある特定の実施形態において、S T 2 タンパク質はヒト S T 2 タンパク質である。本明細

50

書で使用される「ヒトST2タンパク質」とは、配列番号352としても示される、受託番号NP_057316.3のアミノ酸1~556に示されるST2タンパク質を指す。ある特定の実施形態において、ST2タンパク質は、非ヒト種由来のST2タンパク質（例えば、マウスST2、サルST2など）である。ST2タンパク質の例示的なIL-33結合部分は、配列番号328のアミノ酸配列（ヒトST2の細胞外ドメインに対応、[NCBI受託番号NP_057316.3のK19-S328]）として本明細書に示されている。ST2タンパク質のIL-33結合部分の他の例は、配列番号329のアミノ酸配列（マウスST2の細胞外ドメインに対応、[NCBI受託番号P14719のS27-R332]）として本明細書に示されている。

【0169】

ある特定の実施形態において、IL-33結合ドメインはIL-1RAcPタンパク質の細胞外部分を含む。ある特定の実施形態において、IL-1RAcPタンパク質はヒトIL-1RAcPタンパク質である。本明細書で使用される「ヒトIL-1RAcPタンパク質」は、配列番号353のアミノ酸配列を有するIL-1RAcPタンパク質を指す。ある特定の実施形態において、IL-1RAcPタンパク質は、非ヒト種由来のIL-1RAcPタンパク質（例えば、マウスIL-1RAcP、サルIL-1RAcPなど）である。IL-1RAcPタンパク質の例示的な細胞外部分は、配列番号330のアミノ酸配列（ヒトIL-1RAcPの細胞外ドメインに対応、[NCBI受託番号Q9NPH3のS21-E359]）として本明細書に示されている。IL-1RAcPタンパク質の細胞外部分の別の例は、配列番号331のアミノ酸配列（マウスIL-1RAcPの細胞外ドメインに対応、[NCBI受託番号Q61730のS21-E359]）として本明細書に示されている。

【0170】

本発明は、本明細書に示される例示的なIL-33結合ドメイン成分のアミノ酸配列（例えば、配列番号328、329、330、および331）のいずれかと少なくとも80%、85%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、または99%同一のアミノ酸配列を有するD1および/またはD2成分を含む、IL-33トラップを含む。

【0171】

本発明のIL-33アンタゴニストはまた、少なくとも1つの多量体化ドメイン（本明細書では略語「M」、「M1」、「M2」などと称することもある）を含む。一般に、本発明の多量体化ドメイン（複数可）は、IL-33アンタゴニストの様々な成分（例えば、IL-33結合ドメイン（複数可））を互いに連結するように機能する。本明細書で使用される場合、「多量体化ドメイン」は、同一もしくは類似の構造または構成の第2の多量体化ドメインと（共有的にまたは非共有的に）結合する能力を有する任意の高分子である。例えば、多量体化ドメインは、免疫グロブリンC_H3ドメインを含むポリペプチドであり得る。多量体化ドメインの非限定的な例は、免疫グロブリンのFc部分、例えばアイソタイプIgG1、IgG2、IgG3、およびIgG4から選択されるIgGのFcドメイン、ならびに各アイソタイプ群内の任意のアロタイプである。

【0172】

本発明のIL-33アンタゴニストにおいて使用され得る非限定的な例示的多量体化ドメインとしては、ヒトIgG1Fc（配列番号332）またはマウスIgG2Fc（配列番号333）が挙げられる。本発明は、本明細書に示される例示的なM成分のアミノ酸配列（例えば、配列番号332または333）のいずれかと少なくとも80%、85%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、または99%同一であるアミノ酸配列を有するM成分を含む、IL-33アンタゴニストを含む。

【0173】

ある特定の実施形態において、本発明のIL-33アンタゴニストは、2つの多量体化ドメインM1およびM2を含み、ここでM1およびM2は互いに同一である。例えば、M

10

20

30

40

50

1は特定のアミノ酸配列を有するFcドメインであり得、M2はM1と同じアミノ酸配列を有するFcドメインである。

【0174】

本発明のIL-33アンタゴニストの個々の成分(例えば、D1、D2、Mなど)は、様々な方法で互いに対して配置し得る。上記の全ての配置構成の非限定的な例が図1に図示されている。

【0175】

2つの多量体化ドメイン(M1およびM2)および4つのIL-33結合ドメイン(D1、D2、D3、およびD4)を含む本発明の方法で使用するためのIL-33トラップの非限定的な実例も図1に示す(配置CおよびD)。

【0176】

本発明のIL-33トラップの個々の成分(例えば、D1、D2、M1、M2など)は互いに直接結合されてもよいし(例えば、D1および/またはD2はMなどに直接結合されてもよい)、あるいは、個々の成分はリンカー成分を介して互いに結合されてもよい(例えば、D1および/またはD2は個々の成分の間に位置付けられているリンカーを介してMに結合されてもよく、D1はリンカーを介してD2に結合されてもよいなど)。1つの成分が別の成分に「結合される」と記載されている本明細書に開示される配置のいずれにおいても、(たとえ特にそのように表されていなくても)結合はリンカーを介することができる。本明細書中で使用される場合、「リンカー」は2つのポリペプチド成分を一緒に繋げる任意の分子である。

【0177】

本発明の方法で使用するためのIL-33トラップの生物学的特徴は、参照によりそれらの全体が本明細書に組み込まれるUS2014/0271642およびWO2014/152195に記載されている。

【0178】

他のIL-33アンタゴニスト

IL-33および/またはその受容体(ST2および/またはIL-1RAcP)に結合して、リガンド-受容体相互作用を阻止するポリペプチドは、IL-33アンタゴニストとみなされ、参照によりその全体が組み込まれるWO2014/152195に記載されている。IL-33アンタゴニストとして作用し、本発明の方法で使用し得る他の薬剤としては、イムノアドヘシン、ペプチボディ、および可溶性ST2、もしくはそれらの誘導体、抗IL-33受容体抗体(例えば、抗ST2抗体、例えば、AMG-282(Amgen)もしくはSTLM15(Janssen))、またはそれらの全体がそれぞれ参照により本明細書に組み込まれるWO2012/113813、WO2013/173761、WO2013/165894、US8,444,987、またはUS7,452,980に記載されている抗ST2抗体のいずれかが挙げられる。本発明の方法で使用するための他のIL-33アンタゴニストには、それぞれ参照によりそれらの全体が本明細書に組み込まれるWO2013/173761またはWO2013/165894に記載されているものなどのST2-Fcタンパク質が含まれる。

【0179】

IL-4Rアンタゴニスト

本明細書で使用される場合、「IL-4Rアンタゴニスト」(本明細書では「IL-4R阻害剤」、「IL-4Rアンタゴニスト」、「IL-4Rブロッカー」、「IL-4Rブロッカー」などとも称する)は、IL-4RまたはIL-4Rリガンドに結合または相互作用し、1型および/または2型のIL-4受容体の正常な生物学的シグナル伝達機能を阻害または減弱する任意の薬剤である。本明細書で使用される「ヒトIL-4R」または「hIL-4R」との用語は、配列番号347のアミノ酸配列を有するIL-4Rまたはその生物学的に活性なフラグメントを指す。1型IL-4受容体は、IL-4R鎖およびc鎖を含む二量体受容体である。2型IL-4受容体は、IL-4R鎖およびIL-13R1鎖を含む二量体受容体である。1型IL-4受容体はIL-4と相

10

20

30

40

50

相互作用し、IL-4によって刺激される一方、2型IL-4受容体はIL-4およびIL-13の両方と相互作用し、それらの両方によって刺激される。したがって、本発明の方法で使用することができるIL-4Rアンタゴニストは、IL-4媒介シグナル伝達、IL-13媒介シグナル伝達、またはIL-4およびIL-13媒介シグナル伝達の両方を阻止することによって機能し得る。したがって、本発明のIL-4Rアンタゴニストは、IL-4および/またはIL-13と1型または2型受容体との相互作用を妨げ得る。

【0180】

IL-4Rアンタゴニストの分類の非限定的な例には、小分子IL-4Rアンタゴニスト、IL-4Rの発現もしくは活性の核酸ベースの阻害剤（例えば、siRNAまたはアンチセンス）、IL-4Rと特異的に相互作用するペプチドベースの分子（例えば、ペプチボディ）、「レセプターボディ」（例えば、IL-4R成分のリガンド結合ドメインを含む工学操作された分子）、IL-4R結合足場分子（例えば、DARPin、HEATリピートタンパク質、ARMリピートタンパク質、テトラトリコペプチドリピートタンパク質、フィブロネクチンベースの足場構築物、および天然に存在するリピートタンパク質に基づく他の足場など[例えば、Boersma and Pluckthun, 2011, Curr. Opin. Biotechnol. 22: 849-857、およびこの中で引用されている参考文献を参照のこと]、ならびに抗IL-4Rアプタマーまたはその一部が含まれる。ある特定の実施形態によれば、本発明との関連で使用することができるIL-4Rアンタゴニストは、ヒトIL-4Rに特異的に結合する抗IL-4R抗体または抗体の抗原結合フラグメントである。

10

20

【0181】

一実施形態において、本発明の方法で使用するために本明細書に開示される抗IL-4R抗体はデュピルマブである（米国特許第7,605,237号、同第7,608,693号、および同第9,290,574号も参照のこと）。

【0182】

抗IL-4R抗体

本発明のある特定の例示的实施形態によれば、IL-4Rアンタゴニストは、IL-4Rに特異的に結合する抗IL-4R抗体またはその抗原結合フラグメントである。「特異的に結合する」または同様の用語は、抗体またはその抗原結合フラグメントが、生理学的条件下で比較的安定である抗原と複合体を形成することを意味する。抗体が抗原に特異的に結合するかどうかを決定するための方法は当該技術分野で周知であり、例えば、平衡透析、表面プラズモン共鳴などを含む。例えば、本発明との関連で使用されるIL-4Rを「特異的に結合する」抗体は、表面プラズモン共鳴アッセイで測定した場合に、約1000nM未満、約500nM、約300nM未満、約200nM未満、約100nM未満、約90nM未満、約80nM未満、約70nM未満、約60nM未満、約50nM未満、約40nM未満、約30nM未満、約20nM未満、約10nM未満、約5nM未満、約4nM未満、約3nM未満、約2nM未満、約1nM未満、または約0.5nM未満の K_D でIL-4Rまたはその生物学的活性部分に結合する抗体を含む。しかしながら、ヒトIL-4Rに特異的に結合する単離された抗体は、他の（非ヒト）種由来のIL-4R分子などの他の抗原に対する交差反応性を有し得る。

30

40

【0183】

本発明のある特定の例示的な実施形態によれば、IL-4Rアンタゴニストは、米国特許第7,605,237号および同第7,608,693号に示される抗IL-4R抗体のアミノ酸配列のいずれかを含む、重鎖可変領域（HCVR）、軽鎖可変領域（LCVR）、および/または相補性決定領域（CDR）を含む抗IL-4R抗体またはその抗原結合フラグメントである。ある特定の実施形態において、IL-4Rアンタゴニストは、本明細書でデュピルマブと称する参照抗体の結合特性を有する抗IL-4R抗体である（US7,605,237およびUS7,608,693を参照のこと）。ある特定の例示的な実施形態において、本発明の方法との関連で使用することができる抗IL-4R抗体またはその抗原結合フラグメントは、配列番号337のアミノ酸配列を含む重鎖可変領

50

域 (H C V R) の重鎖相補性決定領域 (H C D R)、および配列番号 3 3 8 のアミノ酸配列を含む軽鎖可変領域 (L C V R) の軽鎖相補性決定領域 (L C D R) を含む。ある特定の実施形態によれば、抗 I L - 4 R 抗体またはその抗原結合フラグメントは、3 つの H C D R (H C D R 1、H C D R 2、および H C D R 3) ならびに 3 つの L C D R (L C D R 1、L C D R 2、および L C D R 3) を含み、H C D R 1 は配列番号 3 3 9 のアミノ酸配列を含み、H C D R 2 は配列番号 3 4 0 のアミノ酸配列を含み、H C D R 3 は配列番号 3 4 1 のアミノ酸配列を含み、L C D R 1 は配列番号 3 4 2 のアミノ酸配列を含み、L C D R 2 は配列番号 3 4 3 のアミノ酸配列を含み、L C D R 3 は配列番号 3 4 4 のアミノ酸配列を含む。さらに他の実施形態において、抗 I L - 4 R 抗体またはその抗原結合フラグメントは、配列番号 3 3 7 を含む H C V R および配列番号 3 3 8 を含む L C V R を含む。さらに他の実施形態において、抗 I L - 4 R 抗体またはその抗原結合フラグメントは、配列番号 3 3 5 を含む H C V R および配列番号 3 3 6 を含む L C V R を含む。さらに他の実施形態において、抗 I L - 4 R 抗体またはその抗原結合フラグメントは、配列番号 3 4 5 に示される重鎖 (H C) アミノ酸配列および配列番号 3 4 6 に示される軽鎖 (L C) アミノ酸配列を含む。ある特定の例示的な実施形態によれば、本発明の方法は、デュピルマブと称され当該技術分野で既知の抗 I L - 4 R 抗体またはその生物学的等価物の使用を含む。デュピルマブは、配列番号 3 3 7 のアミノ酸配列を有する H C V R と、配列番号 3 3 8 のアミノ酸配列を有する L C V R と、配列番号 3 3 9 - 3 4 0 - 3 4 1 のアミノ酸配列をそれぞれ有する重鎖相補性決定領域 (H C D R 1 - H C D R 2 - H C D R 3) と、配列番号 3 4 2 - 3 4 3 - 3 4 4 のアミノ酸配列をそれぞれ有する軽鎖相補性決定領域 (L C D R 1 - L C D R 2 - L C D R 3) と、を含む。

【0184】

本発明の方法との関連で使用することができる他の抗 I L - 4 R 抗体としては、例えば、A M G 3 1 7 と称されて当該技術分野で既知の抗体 (C o r r e n e t a l . , 2 0 1 0 , A m J R e s p i r C r i t C a r e M e d . , 1 8 1 (8) : 7 8 8 - 7 9 6)、もしくは M E D I 9 3 1 4、または米国特許第 7, 1 8 6, 8 0 9 号、米国特許第 7, 6 0 5, 2 3 7 号、米国特許第 7, 6 3 8, 6 0 6 号、米国特許第 8, 0 9 2, 8 0 4 号、米国特許第 8, 6 7 9, 4 8 7 号、もしくは米国特許第 8, 8 7 7, 1 8 9 号に示される抗 I L - 4 R 抗体のいずれかが挙げられる。

【0185】

抗 I L - 4 および / または抗 I L - 3 3 抗体の pH 依存特性

本発明の方法との関連で使用される抗 I L - 4 R および I L - 3 3 抗体は、pH 依存性の結合特性を有し得る。例えば、本発明の方法で使用するための抗 I L - 4 R 抗体または抗 I L - 3 3 抗体は、中性 pH と比較して、酸性 pH でそれぞれ I L - 4 R または I L - 3 3 への結合の低下を示し得る。あるいは、本発明の抗 I L - 4 R 抗体または本発明の抗 I L - 3 3 抗体は、中性 pH と比較して、酸性 pH でその抗原への結合の増強を示し得る。「酸性 pH」との表現は、約 6.2 未満、例えば、約 6.0、5.95、5.9、5.85、5.8、5.75、5.7、5.65、5.6、5.55、5.5、5.45、5.4、5.35、5.3、5.25、5.2、5.15、5.1、5.05、5.0、またはそれ未満の pH 値を含む。本明細書で使用される場合、「中性 pH」との表現は、約 7.0 ~ 約 7.4 の pH を意味する。「中性 pH」との表現は、約 7.0、7.05、7.1、7.15、7.2、7.25、7.3、7.35、および 7.4 の pH 値を含む。

【0186】

ある特定の場において、「中性 pH と比較した、酸性 pH での I L - 4 R への結合の低下」または「中性 pH と比較した、酸性 pH での I L - 3 3 への結合の低下」とは、中性 pH でのそれぞれ I L - 4 R または I L - 3 3 に結合する抗体の K_D 値に対する、酸性 pH でのそれぞれ I L - 4 R または I L - 3 3 に結合する抗体の K_D 値の比 (またはその逆) に関して表される。例えば、抗体またはその抗原結合フラグメントは、本発明の目的のためには、抗体またはその抗原結合フラグメントが約 3.0 以上の酸性 / 中性 K

、 K_D 比を示す場合、「中性pHと比較した、酸性pHでのIL-4Rへの結合の低下」または「中性pHと比較した、酸性pHでのIL-33への結合の低下」を示すとみなし得る。ある特定の例示的实施形態において、本発明の抗体または抗原結合の酸性/中性 K_D 比は、約3.0、3.5、4.0、4.5、5.0、5.5、6.0、6.5、7.0、7.5、8.0、8.5、9.0、9.5、10.0、10.5、11.0、11.5、12.0、12.5、13.0、13.5、14.0、14.5、15.0、20.0、25.0、30.0、40.0、50.0、60.0、70.0、100.0、またはそれ以上であり得る。

【0187】

pH依存性結合特性を有する抗体は、例えば、中性pHと比較して酸性pHで特定の抗原への結合の低下（または増強）について抗体の集団をスクリーニングすることによって得ることができる。さらに、アミノ酸レベルでの抗原結合ドメインの修飾は、pH依存的特徴を有する抗体を産生し得る。例えば、抗原結合ドメイン（例えばCDR内）の1つ以上のアミノ酸をヒスチジン残基で置換することにより、中性pHに対して酸性pHで抗原結合が低下した抗体を得ることができる。本明細書で使用される場合、「酸性pH」との表現は6.0以下のpHを意味する。

10

【0188】

併用療法で使用されるIL-33およびIL-4Rアンタゴニストの生物学的効果

本発明は、炎症状態を処置するためのIL-4Rアンタゴニストと組み合わせたIL-33アンタゴニストの使用を含む。一実施形態において、線維症および肺炎の動物モデルにおける抗IL-4R抗体と組み合わせた抗IL-33抗体の使用は、それぞれの抗体を単独療法として単独で使用した場合に得られる結果と比較して効力の増強を示す。

20

【0189】

例えば、本明細書に記載の動物モデル（肺炎および線維症のイエダニ（HDM）モデルと称する）では、肺におけるある特定のサイトカインのレベルが有意に上昇する。これには、IL-4、IL-5、IL-6、IL-13、およびMCP-1の上昇が含まれる。イエダニアレルギーの投与後に、マウスの肺中のIL-13およびTNF α レベルの増加傾向も見られた。しかしながら、このモデルで試験した場合、IL-33抗体およびIL-4R抗体の組み合わせの使用は、処置マウスの肺におけるサイトカインIL-4、IL-5、IL-6、IL-13、IL-13、MCP-1、およびTNF α のレベルの低下をもたらした。実施例4に示されるように、抗IL-33抗体および抗IL-4R抗体との組み合わせで観察された肺サイトカインレベルに対する効果は、単独で使用した場合のいずれかの個々の抗体による処置よりも大きかった。

30

【0190】

さらに、イエダニアレルギーを受けたマウスでは、IL-4、IL-13、IL-6、CCL2、TGF β 1、IL-13RA2、およびCOL24A1を含むサイトカイン遺伝子、ケモカイン遺伝子、およびコラーゲン遺伝子のレベルが上昇した。このモデルでは、IL-5、IL-9、CCL11、CCL24、TNF α 、IL-1RL1、およびCOL15A1のレベルの増加傾向が見られた。抗IL-33抗体および抗IL-4R抗体の組み合わせで処置した場合、いずれかの抗体単独での処理によって観察されるレベルと比較して、IL-6、CCL2、CCL11、およびCCL24の発現が有意に減少した。マウスを抗IL-33抗体および抗IL-4R抗体で処置した場合、いずれかの抗体単独での処置と比較して、IL-4、IL-5、IL-13、IL-9、TNF α 、TGF β 1、IL-1RL1、IL-13RA2、COL15A1、およびCOL24A1の減少傾向も見られた。

40

【0191】

イエダニモデルの肺細胞浸潤物について分析を行ったとき、抗IL-33抗体および抗IL-4R抗体の組み合わせの使用に関連する別の生物学的効果が観察された。実施例4に示されるように、好酸球、活性化B細胞、活性化CD8細胞、ST2+CD4+T細胞、およびCD4/CD8T細胞比の頻度は、イエダニアレルギーを受けたマウスにおいて有意により高かった。イエダニアレルギーを与えたマウスの肺における活性化CD4+T

50

細胞の頻度の増加傾向も見られた。抗 I L - 3 3 抗体および抗 I L - 4 R 抗体の両方で処置したマウスでは、いずれかの抗体を単独で使用した場合に観察されるものと比較して、好酸球、活性化 B 細胞、活性化 C D 8 細胞、S T 2 + C D 4 + T 細胞、および C D 4 / C D 8 T 細胞比の頻度の減少傾向が見られた。

【 0 1 9 2 】

さらに、イエダニアレルギーを受けたマウスは、それらの肺における杯細胞化生の増加も示す。同様に、このマウスモデルでは、肺硬化（肺胸腔における固体または液体材料の蓄積）および上皮線維症（肺上皮下の過剰な間質性コラーゲン沈着）も増加した。抗 I L - 4 R 抗体と組み合わせた抗 I L - 3 3 抗体でのこれらのマウスの処置は、2つの抗体のいずれかを単独で使用した場合に観察される結果と比較して、杯細胞化生および上皮下コラーゲンの厚さの減少および肺硬化の有意な減少をもたらした。

10

【 0 1 9 3 】

イエダニアレルギーを受けたマウスは、I g E の循環レベルの増加、およびイエダニ（H D M）特異的 I g G 1 の増加傾向も示した。抗 I L - 3 3 抗体および I L - 4 R 抗体の両方の投与は、これらの抗体のいずれかを単独で使用した場合に観察される I g E および H D M 特異的 I g G 1 のレベルと比較して、血清 I g E レベルの有意な減少および H D M 特異的 I g G 1 の減少傾向をもたらした。

【 0 1 9 4 】

炎症性肺障害または状態を処置する併用療法として使用するための本明細書に記載の抗体などの I L - 3 3 アンタゴニストおよび I L - 4 R アンタゴニストは、I L - 3 3 媒介シグナル伝達および I L - 4 R 媒介シグナル伝達を阻害または減弱することができ、本明細書に記載のモデルで観察される生物学的特性、例えば、（1）アレルギーへの曝露の結果として哺乳動物において上昇するサイトカイン、例えば I L - 4 または I L - 5 のレベルの低下、（2）アレルギー（例えば、イエダニ（H D M））への急性または慢性の曝露に起因する肺炎の阻害、（3）アレルギー（例えば、イエダニ（H D M））への急性または慢性の曝露に起因する細胞肺浸潤の減少、（4）複合的な肺肉眼病変の改善のうちの1つ以上を示し得る。

20

【 0 1 9 5 】

I L - 3 3 媒介シグナル伝達または I L - 4 R 媒介シグナル伝達の阻害は、細胞ベースのバイオアッセイで測定することができ、抗 I L - 3 3 抗体もしくはその抗原結合フラグメントまたは抗 I L - 4 R 抗体もしくはその抗原結合フラグメントが、I L - 3 3 受容体または I L - 4 受容体および I L - 3 3 結合または I L - 4 結合に応答して、検出可能なシグナルを産生するレポーター要素を発現する細胞中で生じるシグナルを阻害または低減することを意味する。例えば、本発明は、細胞ベースの阻止バイオアッセイで測定した場合に、ヒト S T 2 を発現する細胞または I L - 4 受容体を発現する細胞において、それぞれ約 2 n M 未満、約 1 n M 未満、約 9 0 0 p M 未満、約 8 0 0 p M 未満、約 7 0 0 p M 未満、約 6 0 0 p M 未満、約 5 0 0 p M 未満、約 4 0 0 p M 未満、約 3 5 0 p M 未満、約 3 0 0 p M 未満、約 2 5 0 p M 未満、約 2 0 0 p M 未満、約 1 5 0 p M 未満、約 1 0 0 p M 未満、約 9 0 p M 未満、約 8 0 p M 未満、約 7 0 p M 未満、約 6 0 p M 未満、約 5 0 p M 未満、約 4 0 p M 未満、約 3 0 p M 未満、約 2 0 p M、または約 1 0 p M 未満の I C ₅₀ で I L - 3 3 媒介シグナル伝達または I L - 4 媒介シグナル伝達を阻止する抗体およびその抗原結合フラグメントを含む。

30

40

【 0 1 9 6 】

本発明の抗体は、上述の生物学的効果のうちの1つ以上またはそれらの任意の組み合わせを示し得る。本発明の抗体の他の生物学的効果は、本明細書の実施例を含む本開示の精査から当業者に明らかであろう。I L - 4 アンタゴニストと組み合わせた他の I L - 3 3 アンタゴニストの使用は同様の効果を示し得る。

【 0 1 9 7 】

医薬組成物および投与

本発明は、本発明の I L - 3 3 アンタゴニストおよび / または I L - 4 R アンタゴニス

50

トを含む医薬組成物を提供する。IL-33アンタゴニストおよびIL-4Rアンタゴニストは、別々の組成物中で製剤化されてもよいし、または1つの組成物中で共製剤化されてもよい。本発明の医薬組成物は、好適な担体、賦形剤、および改善された移動、送達、耐性などを提供する他の薬剤とともに製剤化される。多くの適切な製剤は、製薬化学者全員に既知の処方集：Remington's Pharmaceutical Sciences, Mack Publishing Company, Easton, PAにおいて認めることができる。これらの製剤には、例えば、粉末、ペースト、軟膏、ゼリー、ワックス、油、ベシクル(LIPOFECTIN(商標)、Life Technologies、Carlsbad、CAなど)を含有する脂質(カチオン性またはアニオン性)、DNA複合体、無水吸収ペースト、水中油エマルジョンおよび油中水エマルジョン、エマルジョンカーボワックス(種々の分子量のポリエチレングリコール)、半固体ゲル、ならびにカーボワックスを含有する半固体混合物が含まれる。Powell et al. 「Compendium of excipients for parenteral formulations」PDA(1998) J Pharm Sci Technol 52:238-311を参照のこと。

10

20

30

40

50

【0198】

患者に投与される抗体の用量は、患者の年齢および体格、標的疾患、状態、投与経路などに応じて変わり得る。好ましい用量は、典型的には体重または体表面積に従って計算される。本発明の抗体が成人患者におけるIL-33活性もしくはIL-4に関連する状態または疾患を処置するために使用される場合、該抗体を通常は約0.01~約20mg/kg体重の単回投与で、より好ましくは約0.02~約7、約0.03~約5、または約0.05~約3mg/kg体重で投与することが有利であり得る。状態の重症度に応じて、処置の頻度および期間を調整することができる。抗IL-33抗体を投与するための有効投与量およびスケジュールは経験的に決定することができ、例えば、患者の経過を定期的な評価によってモニタリングし、それに応じて用量を調整することができる。さらに、投与量の種間スケールリングは、当該技術分野において周知の方法を用いて実施することができる(例えば、Mordenti et al., 1991, Pharmaceut. Res. 8:1351)。

【0199】

種々の送達系が既知であり、本発明の医薬組成物を投与するために使用することができ、例えば、リポソーム封入、マイクロパーティクル、マイクロカプセル、変異ウイルスを発現することができる組換え細胞、受容体媒介エンドサイトーシスである(例えば、Wu et al., 1987, J. Biol. Chem. 262:4429-4432を参照のこと)。導入方法には、皮内経路、経皮経路、筋肉内経路、腹腔内経路、静脈内経路、皮下経路、鼻腔内経路、硬膜外経路および経口経路が含まれるが、これらに限定されない。組成物は、例えば、注入もしくはボラス注射、上皮または粘膜皮膚内層(linings)(例えば、口腔粘膜、直腸および腸粘膜など)を介した吸収による任意の好都合な経路によって投与することができ、他の生物学的に活性な薬剤と一緒に投与することができる。投与は全身または局所であり得る。

【0200】

本発明の医薬組成物は、標準的な針および注射器を用いて皮下にまたは静脈内に送達することができる。加えて、皮下送達に関して、ペン送達装置は、本発明の医薬組成物を送達する上での適用を容易に有する。このようなペン送達装置は、再利用可能または使い捨て可能であり得る。再利用可能なペン送達装置は、概して、医薬組成物を含有する交換可能なカートリッジを使用する。いったん、カートリッジ内の医薬組成物が全て投与され、カートリッジが空になると、この空のカートリッジは容易に廃棄することができ、医薬組成物を含有する新しいカートリッジと容易に交換することができる。次に、ペン送達装置は再利用することができる。使い捨て可能ペン送達装置において、交換可能なカートリッジはない。むしろ、使い捨て可能ペン送達装置は、この装置内の貯蔵器の中に保持された医薬組成物が事前に充填されている。いったん、貯蔵器が医薬組成物に関して空になると

、装置全体が廃棄される。

【0201】

数多くの再利用可能なペン送達装置および自動注射送達装置は、本発明の医薬組成物の皮下送達における応用を有する。例としては、AUTOPEN（商標）（Owen Mumford, Inc., Woodstock, UK）、DISETRONIC（商標）pen（Disetronic Medical Systems, Bergdorf, Switzerland）、HUMALOG MIX 75/25（商標）pen、HUMALOG（商標）pen、HUMALIN 70/30（商標）pen（Eli Lilly and Co., Indianapolis, IN）、NOVOPEN（商標）I, IIおよびIII（Novo Nordisk, Copenhagen, Denmark）、NOVOPEN JUNIOR（商標）（Novo Nordisk, Copenhagen, Denmark）、BD（商標）pen（Becton Dickinson, Franklin Lakes, NJ）、OPTIPEN（商標）、OPTIPEN PRO（商標）、OPTIPEN STARLET（商標）、およびOPTICLIK（商標）（sanofi-aventis, Frankfurt, Germany）が挙げられるが、これらに限定されず、ほんの数種類しか挙げていない。本発明の医薬組成物のおおよその送達での応用を有する使い捨て可能ペン型送達装置の例としては、いくつか例を挙げると、SOLOSTAR（商標）ペン（sanofi-aventis）、FLEXPEN（商標）（Novo Nordisk）、およびKWIKPEN（商標）（Eli Lilly）、SURECLICK（商標）自動注射器（Amgen, Thousand Oaks, CA）、PENLET（商標）（Haselmeier, Stuttgart, Germany）、EPIPEN（Dey, L.P.）、およびHUMIRA（商標）ペン（Abbott Labs, Abbott Park IL）が挙げられるが、これらに限定されない。

10

20

【0202】

ある特定の状況において、医薬組成物は徐放系で送達することができる。一実施形態において、ポンプを使用することができる（Langer, supra; Sefton, 1987, CRC Crit. Ref. Biomed. Eng. 14:201を参照のこと）。別の実施形態において、ポリマー材料を使用することができる。Medical Applications of Controlled Release, Langer and Wise (eds.), 1974, CRC Pres., Boca Raton, Floridaを参照されたい。さらに別の実施形態において、徐放系を組成物の標的の近傍に配置することができ、それによって全身用量のほんの一部のみが必要となる（例えば、Goodson, 1984, in Medical Applications of Controlled Release, supra, vol. 2, pp. 115-138を参照のこと）。他の徐放系は、Langer, 1990, Science 249:1527-1533による総説で論じられている。

30

【0203】

注射可能な調製物には、静脈内注射、皮下注射、皮内注射および筋肉内注射、点滴注入などのための剤形が含まれ得る。これらの注射可能な調製物は、公的に既知の方法によって調製され得る。例えば、注射可能な調製物は、例えば、注射用に従来通り使用される滅菌水性媒体または油性媒体中に上述の抗体またはその塩を溶解、懸濁または乳化させることによって調製され得る。注射用水性媒体としては、例えば、生理食塩水、グルコース含有等張液、および他の補助剤などがあり、これらは、アルコール（例えば、エタノール）、ポリアルコール（例えば、プロピレングリコール、ポリエチレングリコール）、非イオン性界面活性剤 [例えば、ポリソルベート80、HCO-50（水素化ヒマシ油のポリオキシエチレン（50モル）付加物）] などの適切な可溶化剤と組み合わせて使用してもよい。油性媒体として、例えば、ゴマ油、ダイズ油などが使用され、ベンジルベンゾエート、ベンジルアルコールなどの可溶化剤と組み合わせて使用してもよい。このように調製された注射は、好ましくは適切なアンプルに充填される。

40

50

【0204】

有利なことに、先に説明した経口または非経口での使用のための医薬組成物は、有効成分の用量に適合するのに適した単位用量の剤形へと調製される。そのような単位用量の剤形としては、例えば、錠剤、丸剤、カプセル剤、注射剤（アンプル）、坐薬などが挙げられる。前述の含有されるアンタゴニストの量は一般に、単位用量の剤形当たり約5～約500mgであり、特に注射の形態では、前述のアンタゴニストは約5～約100mgで含有されることが好ましく、他の剤形では約10～約250mgで含有されることが好ましい。

【0205】

投与量

本発明の方法に従って対象に投与されるIL-33およびIL-4Rアンタゴニストの量は、一般には治療有効量である。本明細書で使用される場合、「治療有効量」との語句は、IL-33アンタゴニストおよびIL-4Rアンタゴニストを組み合わせる場合に、本明細書に記載されるような以下のうちの1つ以上に有意な変化をもたらすIL-33アンタゴニストおよびIL-4Rアンタゴニストの量を意味する、(a)炎症の予防、(b)炎症の処置または重症度の軽減、(c)肺における好酸球、活性化B細胞、活性化CD8T細胞、またはCD4/CD8T細胞比のうちの1つ以上の頻度の減少、(d)インターロイキン-1ベータ(IL-1)、インターロイキン-4(IL-4)、インターロイキン-5(IL-5)、インターロイキン-6(IL-6)、インターロイキン13(IL-13)、単球走化性タンパク質-1(MCP-1)、または腫瘍壊死因子アルファ(TNF)のうちの1つ以上の減少、(e)肺におけるIL14、IL15、IL16、IL19、IL113、IL11r11、IL113ra2、tnf、Tgfb1、Ccl2、Ccl11、Ccl24、Col15a1、またはCol24a1のうちの1つ以上の遺伝子発現レベルの低下、(f)血清IgEレベルの低下、(g)肺における杯細胞化生の減少、または(h)肺硬化の減少。IL-33アンタゴニスト単独またはIL-4Rアンタゴニストのいずれかの投与は、上記のパラメータのうちの1つ以上を用いて測定した場合に陽性の治療効果をもたらし得るが、IL-33アンタゴニストおよびIL-4Rアンタゴニストを組み合わせると、IL-33アンタゴニスト単独またはIL-4Rアンタゴニスト単独のいずれかでの単独療法を用いて観察されるものと比較して、それらパラメータのうちのいずれか1つ以上において有意な改善(例えば相加または相乗効果)を示す。

【0206】

IL-33アンタゴニストまたはIL-4Rアンタゴニストの場合、治療有効量は、約0.05mg～約600mg、例えば、約0.05mg、約0.1mg、約1.0mg、約1.5mg、約2.0mg、約10mg、約20mg、約30mg、約40mg、約50mg、約60mg、約70mg、約80mg、約90mg、約100mg、約110mg、約120mg、約130mg、約140mg、約150mg、約160mg、約170mg、約180mg、約190mg、約200mg、約210mg、約220mg、約230mg、約240mg、約250mg、約260mg、約270mg、約280mg、約290mg、約300mg、約310mg、約320mg、約330mg、約340mg、約350mg、約360mg、約370mg、約380mg、約390mg、約400mg、約410mg、約420mg、約430mg、約440mg、約450mg、約460mg、約470mg、約480mg、約490mg、約500mg、約510mg、約520mg、約530mg、約540mg、約550mg、約560mg、約570mg、約580mg、約590mg、または約600mgであり得る。ある特定の実施形態において、75mg、150mg、200mg、または300mgのIL-4Rアンタゴニストが、IL-33アンタゴニストと組み合わせる対象に投与される。ある特定の実施形態において、75mg、150mg、200mg、または300mgのIL-33アンタゴニストが、IL-4Rアンタゴニストと組み合わせる対象に投与される。

【0207】

10

20

30

40

50

個々の用量に含有される I L - 3 3 アンタゴニストまたは I L - 4 R アンタゴニストの量は、患者の体重キログラム当たりの抗体のミリグラム数（すなわち、m g / k g）で表すことができる。例えば、I L - 3 3 アンタゴニストまたは I L - 4 R アンタゴニストは、約 0 . 0 0 0 1 m g / k g ~ 約 2 5 m g / k g 患者体重の用量で患者に投与され得る。ある特定の実施形態において、I L - 4 R および I L - 3 3 アンタゴニストはそれぞれ、約 0 . 1 m g / k g、0 . 3 m g / k g、1 . 0 m g / k g、3 . 0 m g / k g、または 1 0 m g / k g の用量で投与され得る。

【 0 2 0 8 】

I L - 3 3 アンタゴニストおよび I L - 4 R アンタゴニストの組み合わせは、対象に皮下、静脈内、筋肉内、または鼻腔内投与され得る。それらは同時または逐次投与され得る。

10

【 0 2 0 9 】

抗体の治療的使用

本発明者らが行ったマウスモデル系を用いた実験は、I L - 3 3 および I L - 4 R 拮抗作用の組み合わせによって処置、予防、および/または寛解することができる様々な疾患および状態の同定に資するものであった。例えば、肺炎症および線維症のイエダニモデルにおいて、I L - 3 3 抗体および I L - 4 R 抗体の組み合わせで処置することにより、それぞれの抗体を単独療法として単独で使用したときに得られる効果と比較して、肺におけるサイトカインレベルの減少、肺における肺細胞浸潤物（好酸球、活性化 B 細胞、活性化 C D 8 陽性細胞、S T 2 + C D 4 + T 細胞、および C D 4 / C D 8 T 細胞比）の減少、ならびに肺硬化および上皮下線維症の改善がもたらされた。

20

【 0 2 1 0 】

本発明の抗体は、特に、I L - 3 3 発現および I L - 4 発現、シグナル伝達、もしくは活性に関連するまたはそれらによって媒介される任意の疾患または障害、あるいは I L - 3 3 と I L - 3 3 受容体（例えば S T 2）との間の相互作用を阻止することにより、もしくは I L - 4 と I L - 4 受容体との間の相互作用を阻止することにより、または I L - 3 3 および I L - 4 の活性および/もしくはシグナル伝達を阻害することにより処置可能な任意の疾患または障害の処置、予防、および/または寛解に有用である。ある特定の実施形態において、I L - 4 R アンタゴニストは、I L - 4 R に結合しまたはこれと相互作用し、その際には I L - 4 R 1 型および 2 型受容体を介して I L - 4 および I L - 1 3 シグナル伝達経路の両方を阻止する抗体である。したがって、この二重の I L - 4 および I L - 1 3 アンタゴニストを I L - 3 3 アンタゴニストと組み合わせて使用すると、3 つ全てのシグナル伝達経路により一部媒介される炎症状態を有する患者に投与された場合、さらなる臨床的利益を提供し得る。例えば、本発明は、喘息（アレルギー性喘息、非アレルギー性喘息、重症難治性喘息、喘息増悪、ステロイド抵抗性もしくはステロイド難治性喘息、ステロイド感受性喘息、好酸球性喘息または非好酸球性喘息など）、慢性閉塞性肺疾患（C O P D）および C O P D の増悪、喘息および C O P D オーバーラップ症候群（A C O S）、慢性気管支炎、気腫、過敏性肺炎、アトピー性皮膚炎、蕁麻疹、乾癬、アレルギー、アレルギー性鼻炎、鼻ポリープを伴うまたは伴わない慢性鼻副鼻腔炎、好酸球性食道炎、アナフィラキシー、心血管疾患、中枢神経系疾患、疼痛（炎症性疼痛を含む）、関節炎（例えば、リウマチ性関節炎、変形性関節症、乾癬性関節炎など）、巨細胞性動脈炎、血管炎（ベーチェット病およびチャグ・ストラウス症候群）、ヘノッホ・シェーンライン紫斑病、多発性硬化症、炎症性腸障害（例えば、クローン病または潰瘍性大腸炎）、狼瘡、シェーグレン症候群、ならびに I L - 3 3 および/または I L - 4 シグナル伝達によって一部媒介される他の炎症性疾患または障害を処置するための方法を提供する。

30

40

【 0 2 1 1 】

本発明の抗体はまた、1 つ以上の線維性疾患または障害の処置、予防、および/または寛解に有用である。本発明の抗 I L - 3 3 および I L - 4 R アンタゴニストを投与することによって処置可能な例示的な線維性疾患または障害としては、肺線維症（例えば、特発性肺線維症、プレオマイシン誘導性肺線維症、アスベスト誘導性肺線維症、および閉塞性

50

細気管支炎症候群)、急性肺損傷および急性呼吸窮迫に関連する線維症(例えば、細菌性肺炎誘導性線維症、外傷誘導性線維症、ウイルス性肺炎誘導性線維症、人工呼吸器誘導性線維症、非肺性敗血症誘導性線維症、および誤嚥誘導性線維症)、珪肺症、放射線誘導性線維症、強皮症、眼線維症、皮膚線維症(例えば、強皮症)、肝線維症(例えば、肝硬変、アルコール誘導性肝線維症、非アルコール性脂肪性肝炎(NASH)、胆管損傷、原発性胆汁性肝硬変、感染症またはウイルス誘導性肝線維症、自己免疫性肝炎、腎臓(腎)線維症、心臓線維症、アテローム性動脈硬化症、ステント再狭窄、ならびに骨髄線維症が挙げられる。

【0212】

本明細書に記載される処置方法との関連において、抗IL-33抗体およびIL-4R抗体は、一緒に(すなわち、唯一の治療計画として)、または1つ以上の追加の治療剤(この例は本明細書の他の箇所に記載されている)と組み合わせて投与されてもよい。

10

【0213】

併用療法

本発明は、本明細書に記載される抗IL-33アンタゴニストおよびIL-4Rアンタゴニストのいずれかを1つ以上の追加の治療活性成分と組み合わせて含む組成物および治療用製剤の使用、ならびにそのような組み合わせを処置が必要な対象に投与することを含む処置方法を含む。本明細書で使用される場合、「組み合わせて」との表現は、追加の治療剤が、IL-33アンタゴニストおよびIL-4Rアンタゴニストを含む医薬組成物の前、後、またはそれと同時に投与されることを意味する。「組み合わせて」との用語はまた、IL-4RアンタゴニストおよびIL-33アンタゴニスト、ならびに1つ以上の追加の治療剤の逐次または同時投与を含む。本発明は、本発明のIL-33アンタゴニストおよびIL-4Rアンタゴニストが追加の治療活性成分(複数可)のうちの一つ以上とともに共製剤化された医薬組成物を含む。

20

【0214】

例えば、IL-33アンタゴニストおよびIL-4Rアンタゴニストを含む医薬組成物の「前」に投与される場合、追加の治療剤は、IL-33アンタゴニストおよびIL-4Rアンタゴニストを含む医薬組成物の投与の約72時間前、約60時間前、約48時間前、約36時間前、約24時間前、約12時間前、約10時間前、約8時間前、約6時間前、約4時間前、約2時間前、約1時間前、約30分前、約15分前、または約10分前に投与され得る。IL-33アンタゴニストおよびIL-4Rアンタゴニストを含む医薬組成物の「後」に投与される場合、追加の治療剤は、IL-33アンタゴニストおよびIL-4Rアンタゴニストを含む医薬組成物の投与の約10分後、約15分後、約30分後、約1時間後、約2時間後、約4時間後、約6時間後、約8時間後、約10時間後、約12時間後、約24時間後、約36時間後、約48時間後、約60時間後、または約72時間後に投与され得る。IL-33アンタゴニストおよびIL-4Rアンタゴニストを含む医薬組成物と「同時に」またはこれとともに投与することは、追加の治療剤が、対象に別々の剤形で、IL-33アンタゴニストおよびIL-4Rアンタゴニストを含む医薬組成物の投与の5分未満以内(前、後、または同時)に投与されるか、または追加の治療剤とIL-33アンタゴニストおよびIL-4Rアンタゴニストとの両方を含む単一の組み合わせ投与製剤として対象に投与されることを意味する。

30

40

【0215】

追加の治療剤は、例えば、別のIL-33アンタゴニスト、別のIL-4Rアンタゴニスト、IL-1アンタゴニスト(例えば、US6,927,044に示されるIL-1アンタゴニストを含む)、IL-6アンタゴニスト、IL-6Rアンタゴニスト(例えば、US7,582,298に示される抗IL-6R抗体を含む)、IL-13アンタゴニスト、TNFアンタゴニスト、IL-8アンタゴニスト、IL-9アンタゴニスト、IL-17アンタゴニスト、IL-5アンタゴニスト(例えば、メボリズマブまたはNUCALA(登録商標))、IgEアンタゴニスト(例えば、オマリズマブまたはXOLAIR(登録商標))、CD48アンタゴニスト、IL-31アンタゴニスト(例えば、US7,

50

531, 637に示されるものを含む)、胸腺間質性リンポエチン(TSLP)アンタゴニスト(例えば、US2011/027468に示されるものを含む)、インターフェロン-ガンマ(IFN)、抗生物質、コルチコステロイド(吸入コルチコステロイドまたはICSを含む)、長時間作用型2アドレナリンアゴニスト(LABA)、長時間作用型ムスカリンアンタゴニスト(LAMA)、タクロリムス、ピメクロリムス、シクロスポリン、アザチオプリン、メトトレキサート、クロモリンナトリウム、プロテイナーゼ阻害剤、抗ヒスタミン薬、またはそれらの組み合わせであり得る。

【0216】

投与計画

本発明のある特定の実施形態によれば、IL-33アンタゴニストおよびIL-4Rアンタゴニスト(またはIL-33アンタゴニスト、IL-4Rアンタゴニスト、および本明細書に言及されている追加の治療活性剤のいずれかの組み合わせを含む医薬組成物)の複数回用量を規定の時間経過にわたって対象に投与し得る。本発明のこの態様による方法は、本発明のIL-33アンタゴニストおよびIL-4Rアンタゴニストの複数回用量を対象に逐次投与することを含む。本明細書で使用される場合、「逐次投与する」とは、IL-33アンタゴニストおよびIL-4Rアンタゴニストの各用量が、所定の間隔(例えば、数時間、数日間、数週間または数ヶ月間)により隔てられた異なる時点、例えば、異なる日に対象に投与されることを意味する。本発明には、IL-33アンタゴニストおよびIL-4Rアンタゴニストの1回の1次用量、続いてIL-33アンタゴニストおよびIL-4Rアンタゴニストの1回以上の2次用量、続いて任意選択によりIL-33アンタゴニストおよびIL-4Rアンタゴニストの1回以上の3次用量を患者に逐次投与することを含む方法が含まれる。

【0217】

「1次用量」、「2次用量」、および「3次用量」との用語は、本発明のIL-33アンタゴニストおよびIL-4Rアンタゴニストの投与の時系列を指す。したがって、「1次用量」とは、処置計画の開始時に投与される用量(「ベースライン用量」とも称する)であり、「2次用量」とは、1次用量後に投与される用量であり、「3次用量」とは、2次用量後に投与される用量である。1次用量、2次用量、および3次用量は全て、同じ量のIL-33アンタゴニストおよびIL-4Rアンタゴニストを含有し得るが、一般には投与頻度の点から互いに異なり得る。しかしながら、ある特定の実施形態において、1次用量、2次用量、および/または3次用量に含有されるIL-33アンタゴニストおよびIL-4Rアンタゴニストの量は、処置経過の間、互いに変動する(例えば、適宜上下に調整される)。ある特定の実施形態において、2回以上(例えば、2回、3回、4回、または5回)の用量が処置計画の開始時において「負荷用量(loading dose)」として投与され、続いてより低い頻度に基づいて投与される後続用量(例えば、「維持用量」)が投与される。

【0218】

本発明のある特定の例示的な実施形態において、各2次用量および/または3次用量は、直前の投与の1~26週間後(例えば、1、1.1/2、2、2.1/2、3、3.1/2、4、4.1/2、5、5.1/2、6、6.1/2、7、7.1/2、8、8.1/2、9、9.1/2、10、10.1/2、11、11.1/2、12、12.1/2、13、13.1/2、14、14.1/2、15、15.1/2、16、16.1/2、17、17.1/2、18、18.1/2、19、19.1/2、20、20.1/2、21、21.1/2、22、22.1/2、23、23.1/2、24、24.1/2、25、25.1/2、26、26.1/2週間後、またはそれ以上後)に投与される。本明細書で使用する「直前の投与」との語句は、複数回投与の系列において、投薬の介入をせずに系列中の次の用量の投与前に患者に投与されるIL-33アンタゴニストおよびIL-4Rアンタゴニストの投薬を意味する。

【0219】

本発明のこの態様による方法は、IL-33アンタゴニストおよびIL-4Rアンタゴ

ニストの任意の回数、2次用量および/または3次用量を患者に投与することを含み得る。例えば、ある特定の実施形態において、単回の2次用量のみが患者に投与される。他の実施形態において、2回以上（例えば、2回、3回、4回、5回、6回、7回、8回またはそれ以上）の2次用量が患者に投与される。同様に、ある特定の実施形態において、単回の3次用量のみが患者に投与される。他の実施形態において、2回以上（例えば、2回、3回、4回、5回、6回、7回、8回またはそれ以上）の3次用量が患者に投与される。

【0220】

複数回の2次用量を含む実施形態において、各2次用量は他の2次用量と同じ頻度で投与されてもよい。例えば、各2次用量は、直前の投与の1～2週間後または1～2ヶ月後に患者に投与されてもよい。同様に、複数回の3次用量を含む実施形態において、各3次用量は他の3次用量と同じ頻度で投与されてもよい。例えば、各3次用量は、直前の投与の2～12週間後に患者に投与されてもよい。本発明のある特定の実施形態において、2次用量および/または3次用量が患者に投与される頻度は、処置計画の経過にわたって変わり得る。投与頻度はまた、臨床検査後の個々の患者の必要性に応じて、医師によって処置過程の間に調整され得る。

10

【0221】

本発明は、2～6回の負荷用量が患者に第1の頻度（例えば、1週間に1回、2週間に1回、3週間に1回、1ヶ月に1回、2ヶ月に1回など）で投与され、続いてより少ない頻度に基づく2回以上の維持用量が患者に投与される、投与計画を含む。例えば、本発明のこの態様によれば、負荷用量が月に1回の頻度で投与される場合、維持用量は6週間に1回、2ヶ月に1回、3ヶ月に1回などで患者に投与されてもよい。

20

【実施例】

【0222】

以下の実施例は、本発明の方法および組成物をどのように作製および使用するかに関する完全な開示および説明を当業者に提供するために提示されており、本発明者らが本発明とみなすことの範囲を制限するよう企図するものではない。使用される数値（例えば、量、温度など）に関して正確性を確保するための努力はしてきたが、いくつかの実験上の誤差および偏差が考慮されるべきである。別段の記載がない限り、部分は重量部分であり、分子量は平均分子量であり、温度は摂氏度であり、圧力は大気圧またはそれに近い圧力である。

30

【0223】

実施例1．ヒトIL-33に対するヒト抗体の生成

ヒト抗IL-33抗体を米国特許第9,453,072号に記載のように生成した。表1は、選択された抗IL-33抗体およびそれらの対応する抗体識別子の重鎖および軽鎖可変領域アミノ酸配列対ならびにCDR配列を示す。表2は、選択された抗IL-33抗体およびそれらの対応する抗体識別子の重鎖および軽鎖可変領域アミノ酸配列対ならびにCDR配列をコードする核酸配列を示す。

【表 1】

表 1 : アミノ酸配列識別子

抗体名	配列番号:							
	HCVR	HCDR1	HCDR2	HCDR3	LCVR	LCDR1	LCDR2	LCDR3
H1M9559N	2	4	6	8	10	12	14	16
H1M9566N	18	20	22	24	26	28	30	32
H1M9568N	34	36	38	40	42	44	46	48
H4H9629P	50	52	54	56	58	60	62	64
H4H9633P	66	68	70	72	74	76	78	80
H4H9640P	82	84	86	88	90	92	94	96
H4H9659P	98	100	102	104	106	108	110	112
H4H9660P	114	116	118	120	122	124	126	128
H4H9662P	130	132	134	136	138	140	142	144
H4H9663P	146	148	150	152	154	156	158	160
H4H9664P	162	164	166	168	170	172	174	176
H4H9665P	178	180	182	184	186	188	190	192
H4H9666P	194	196	198	200	202	204	206	208
H4H9667P	210	212	214	216	218	220	222	224
H4H9670P	226	228	230	232	234	236	238	240
H4H9671P	242	244	246	248	250	252	254	256
H4H9672P	258	260	262	264	266	268	270	272
H4H9675P	274	276	278	280	282	284	286	288
H4H9676P	290	292	294	296	298	300	302	304
H1M9565N	308	310	312	314	316	318	320	322

10

20

【表 2】

表 2：核酸配列識別子

抗体名	配列番号:							
	HCVR	HCDR1	HCDR2	HCDR3	LCVR	LCDR1	LCDR2	LCDR3
H1M9559N	1	3	5	7	9	11	13	15
H1M9566N	17	19	21	23	25	27	29	31
H1M9568N	33	35	37	39	41	43	45	47
H4H9629P	49	51	53	55	57	59	61	63
H4H9633P	65	67	69	71	73	75	77	79
H4H9640P	81	83	85	87	89	91	93	95
H4H9659P	97	99	101	103	105	107	109	111
H4H9660P	113	115	117	119	121	123	125	127
H4H9662P	129	131	133	135	137	139	141	143
H4H9663P	145	147	149	151	153	155	157	159
H4H9664P	161	163	165	167	169	171	173	175
H4H9665P	177	179	181	183	185	187	189	191
H4H9666P	193	195	197	199	201	203	205	207
H4H9667P	209	211	213	215	217	219	221	223
H4H9670P	225	227	229	231	233	235	237	239
H4H9671P	241	243	245	247	249	251	253	255
H4H9672P	257	259	261	263	265	267	269	271
H4H9675P	273	275	277	279	281	283	285	287
H4H9676P	289	291	293	295	297	299	301	303
H1M9565N	307	309	311	313	315	317	319	321

10

20

【0224】

30

抗体は、典型的には以下の命名法に従って本明細書中で言及される：Fc 接頭語（例えば、「H1M」または「H4H」）、続いて数値識別子（例えば、表 1 に示す「9559」、「9566」、または「9629」）、続いて「P」または「N」接尾語）。したがって、この命名法によれば、抗体は、本明細書において、例えば「H1M9559N」、「H1M9566N」、「H4H9629P」などと言及され得る。本明細書に使用される抗体名の H1M および H4H の接頭語は、抗体の特定の Fc 領域アイソタイプを示す。例えば、「H1M」抗体はマウス IgG1 Fc を有するのに対し、「H4H」抗体はヒト IgG4 Fc を有する。当業者によって理解されるように、特定の Fc アイソタイプを有する抗体は、異なる Fc アイソタイプを有する抗体へ変換することができる（例えば、マウス IgG1 Fc を有する抗体は、ヒト IgG4 を有する抗体へ変換することができる、など）が、いずれの事象においても、表 1 に示す数値識別子によって示される可変ドメイン（CDR を含む）は同じままであることになっており、結合特性は Fc ドメインの性質にかかわらず、同一または実質的に類似であると期待される。

40

【0225】

実施例 2：IL-33 アンタゴニスト（IL-33 トラップ）の構築

ヒト抗 IL-33 トラップを米国特許公開第 2014/0271642 号に記載のように生成した。表 3a は IL-33 トラップの種々の成分に対するアミノ酸配列識別子の概要を示し、表 3b はトラップの全長アミノ酸配列を示す。

【0226】

標準的な分子生物学的技術を用いて、本発明の 5 つの異なる例示的な IL-33 アンタ

50

ゴニストを構築した。第1のIL-33アンタゴニスト(hST2-hFc、配列番号323)は、ヒトIgG1 Fc領域(配列番号332)のN末端に、C末端において融合されたヒトST2の可溶性細胞外領域(配列番号328)からなる。第2のIL-33アンタゴニスト(hST2-mFc、配列番号324)は、マウスIgG2a Fc領域(配列番号333)のN末端に、C末端において融合されたヒトST2の可溶性細胞外領域(配列番号328)からなる。第3のIL-33アンタゴニスト(hST2-hIL1RAcP-mFc、配列番号325)は、そのN末端においてヒトST2(配列番号328)、続いてヒトIL-1RAcPの細胞外領域(配列番号330)、続いてそのC末端においてマウスIgG2a Fc(配列番号333)を有する直列型融合からなる。第4のIL-33アンタゴニスト(mST2-mIL1RAcP-mFc、配列番号326)は、そのN末端においてマウスST2(配列番号329)、続いてマウスIL-1RAcPの細胞外領域(配列番号331)、続いてそのC末端においてマウスIgG2a Fc(配列番号333)を有する直列型融合からなる。第5のIL-33アンタゴニスト(hST2-hIL1RAcP-hFc、配列番号327)は、そのN末端において配列番号328のヒトST2、続いてヒトIL-1RAcPの細胞外領域(配列番号330)、続いてそのC末端においてヒトIgG1 Fc(配列番号332)を有する直列型融合からなる。表3aは、異なるIL-33アンタゴニストおよびそれらの成分部分の概要を示す。表3bは、IL-33アンタゴニストのアミノ酸配列およびそれらの成分部分を示す。

10

20

30

40

表3a: IL-33アンタゴニストおよび成分部分の概要

IL-33 アンタゴニスト	完全アンタゴ ニスト分子の アミノ酸配列	D1成分	D2成分	M成分
hST2-hFc	配列番号 323	ヒト ST2 細胞外 (配列番号 328)	非存在	ヒト IgG1 Fc (配列番号 332)
hST2-mFc	配列番号 324	ヒト ST2 細胞外 (配列番号 328)	非存在	マウス IgG2a Fc (配列番号 333)
hST2- hIL1RAcP- mFc	配列番号 325	ヒト ST2 細胞外 (配列番号 328)	ヒト IL- 1RAcP 細胞外 (配列番号 330)	マウス IgG2a Fc (配列番号 333)
mST2- mIL1RAcP- mFc	配列番号 326	マウス ST2 細胞外 (配列番号 329)	マウス IL- 1RAcP 細胞外 (配列番号 331)	マウス IgG2a Fc (配列番号 333)
hST2- hIL1RAcP- hFc	配列番号 327	ヒト ST2 細胞外 (配列番号 328)	ヒト IL- 1RAcP 細胞外 (配列番号 330)	ヒト IgG1 Fc (配列番号 332)

【表 4】

表 3 b : アミノ酸配列

識別子	配列
配列番号 323 (hST2-hFc)	KFSKQSWGLENEALIVRCPRQGKPSYTVDWYYSQT NKS IPTQERNRVFASGQLLKFLPAAVADSGIYTCI VRSPTFNRTGYANVTIYKKQSDCNVPDYLMYSTVS GSEKNSKIYCPTIDLYNWTAPLEWFKNCQALQGSR YRAHKSFLVIDNVMTEADAGDYTCKFIHNENGANY VTATRSFTVKDEQGFSLFPVIGAPAQNEIKEVEIG KNANLTCACFGKGTQFLAAVLWQLNGTKITDFGE PRIQQEEGQNSFSNGLACLDMVLR IADVKEEDLL LQYDCLALNLHGLRRHTVRLSRKNPIDHHS DKTH CPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMI SRTPEVT CVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQ YNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPA PIEKTI SKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSL TCLVKGFPYPSDI AVEWESNGQPENNYKTTTPVLDS DGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNV FSCSVMHEALH YEQKSLSLSPGK
配列番号 324 (hST2-mFc)	KFSKQSWGLENEALIVRCPRQGKPSYTVDWYYSQT NKS IPTQERNRVFASGQLLKFLPAAVADSGIYTCI VRSPTFNRTGYANVTIYKKQSDCNVPDYLMYSTVS GSEKNSKIYCPTIDLYNWTAPLEWFKNCQALQGSR YRAHKSFLVIDNVMTEADAGDYTCKFIHNENGANY VTATRSFTVKDEQGFSLFPVIGAPAQNEIKEVEIG KNANLTCACFGKGTQFLAAVLWQLNGTKITDFGE PRIQQEEGQNSFSNGLACLDMVLR IADVKEEDLL LQYDCLALNLHGLRRHTVRLSRKNPIDHHS EPRGP TIKPCPPCKCPAPNLLGGPSVFI FPPKIKDVLMI LSPIVTCVVVDVSEDDPDVQISWFVNNVEVHTAQT QTHREDYNSTLRVVSALPIQH QDWMSGKEFKCKVN NKDLPAPIERTI SKPKGSVRAPQVYVLPPEEEMT KKQVTLTCMVTD FMPEDIYVEWTNNGKTELNYKNT EPVLDS DGSYFMYSKLRVEKKNWVERNSYSCSVVH EGLHNHHTTKSFSRTPGK

10

20

30

【表 5】

識別子	配列
配列番号 325 (hST2- hIL1RAcP- mFc)	KFSKQSWGLENEALIVRCPRQGKPSYTVDWYYSQT NKS IPTQERNRVFASGQLLKFLPAAVADSGIYTCI VRSPTFNRTGYANVTIYKKQSDCNVPDYLMYSTVS GSEKNSKIYCPTIDLYNWTAPLEWFKNCQALQGSR YRAHKSFLVIDNVMTEDAGDYTCFKIHNENGANYS VTATRSFTVKDEQGFSLFPVIGAPAQNEIKEVEIG KNANLTCACFGKGTQFLAAVLWQLNGTKITDFGE PRIQQEEGQNSFSNGLACLDMVLR IADVKEEDLL LQYDCLALNLHGLRRHTVRLSRKNPIDHHS SERCD DWGLDTMRQIQVFEDEPARIKCPLFEHFLKFNYST AHSAGLTLIWYWTRQDRDLEEPINFRLPENRISKE KDV LWFRPTLLNDTGNYTCMLRNTTYCSKVAFFLE VVQK DSCFN SPMKLPVHKLYIEYGIQRITCPNVDG YFPSSVKPTITWYMGCYKIQNFNNV IPEGMNL SFL IALISNNGNYTCVVTYPENGRTFHLTRTLTVKVVG SPKNAVPPVIHSPNDHVVEKEPGEELLIPCTVYF SFLMDSRNEVWWTIDGKKPDDITIDVTINESISHS RTEDETRTQILSIKKVTS EDLKR SYVCHARSAKGE VAKAAVKQKVPAPRYTVESGEPGPTIKPCPPCK CPAPNLLGGPSVFI FPPKIKDVLMI SLSPIVTCVV VDVSEDDPDVQISWFVNNVEVHTAQTQTHREDYNS TLRVVSALPIQH QDWMSGKEFKCKVNNKDLPAPIE RTISKPKGSVRAPQVYVLPPEEEMTKKQVTLTCM VTDFMPEDIYVEWTNNGKTE LNYKNTEPVLDS DGS YFMYSKLRVEKKNWVERNSYSCSVVHEGLHNHHTT KFSRTPGK
配列番号 326 (mST2- mIL1RAcP- mFc)	SKSSWGLENEALIVRCPQRGRSTYPVEWYYS DTNE S IPTQKRNRIFVSRDLKFLPARVEDSGIYACVIR SPNLNKTGYLNVTIHKKPPSCNIPDYLMYSTVRGS DNFKITCPTIDLYNWTAPVQWFKNCKALQEPRFR AHSYLFIDNVTHDDEGDYTCQFTHAENGTNYIVT ATRSFTVEEKGF SMFPVITNPPYNHTMEVEIGKPA S IAC SACFGKGS HFLADV LWQINKTVVGNFGEAR I QEE EGRNESSNDMDCLTSVLRITGVTEKDLSLEY DCLALNLHGMIRHTIRLRRKQPIDHRSERCDDWGL DTMRQIQVFEDEPARIKCPLFEHFLKYNYSTAHSS GLTLIWYWTRQDRDLEEPINFRLPENRISKEKDV L WFRPTLLNDTGNYTCMLRNTTYCSKVAFFLEVVQK DSCFN SAMRFPVHKMYIEHGIHKITCPNVDGYFPS SVKPSVTWYKGCTEIVDFHNVLPEGMNL SFFIPLV SNNGNYTCVVTYPENGR L FHLTRTVTVKVVGSPKD ALPPQIYSPNDRVVYEKEPGEELVIPCKVYFSFIM DSHNEVWWTIDGKKPDDVTVDITINESVSYSSTED ETRTQILSIKKVTPEDLRRNYVCHARNTKGEAEQA AKVKQKVI PPRYTVESGEPGPTIKPCPPCKCPAP NLLGGPSVFI FPPKIKDVLMI SLSPIVTCVVVDVS EDDPDVQISWFVNNVEVHTAQTQTHREDYNSTLRV VSALPIQH QDWMSGKEFKCKVNNKDLPAPIERTIS

10

20

30

40

【表 6】

識別子	配列
	KPKGSVRAPQVYVLPPEEEMTKKQVTLTCMVTD MPEDIYVEWTNNGKTELNKNTPEVLDSGYSFMY SKLRVEKKNWVERNYSYSCSVVHEGLHNHHTTKSFS RTPGK
配列番号 327 (hST2- hIL1RAcP- hFc)	KFSKQSWGLENEALIVRCPRQGKPSYTVDWYYSQT NKS IPTQERNRVFASGQLLKFLPAAVADSGIYTCI VRSPTFNRTGYANVTIYKKQSDCNVPDYLMYSTVS GSEKNSKIYCPTIDLYNWTAPLEWFKNCQALQGSR YRAHKSFLVIDNVMTEADAGDYTCFKIHNENGANY VTATRSFTVKDEQGFSLFPVIGAPAQNEIKEVEIG KNANLTCSACFGKGTQFLAAVLWQLNGTKITDFGE PRIQQEEGQNSFSNGLACLDMVLR IADVKEEDLL LQYDCLALNLHGLRRHTVRLSRKNPIDHHS SERCD DWGLDTMRQIQVFEDEPARIKCPLFEHFLKFNYS AHSAGLTLIWYWTRQDRDLEEPINFRLPENRISKE KDVLWFRPTLLNDTGNYTCLMRNTTYCSKVAFPLE VVQKDSFCNSPMKLPVHKLYIEYGIQRITCPNVDG YFPSSVKPTITWYMGYKIQNFNNVIEGMLNSFL IALISNNGNYTCVVTPENGRTFHLTRTLTVKVVG SPKNAVPPVIHSPNDHVVEKEPGEELLIPTCVYF SFLMDSRNEVWWTIDGKKPDDITIDVTINESISHS RTEDETRTQILSIKKVTSEDLKRSYVCHARSAKGE VAKAAVKQKVPAPRYTVEDKTHTCPPCPAPPELLG GPSVFLFPKPKDTLMI SRTPEVTCVVVDVSHEDP EVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVL TVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKG QPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSD IAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSGDSFFLYSKLT VDKSRWQQGNVFSVMSHEALHNHYTQKSLSLSPG K
配列番号 328 (ヒト ST2 細胞外 ドメイン)	KFSKQSWGLENEALIVRCPRQGKPSYTVDWYYSQT NKS IPTQERNRVFASGQLLKFLPAAVADSGIYTCI VRSPTFNRTGYANVTIYKKQSDCNVPDYLMYSTVS GSEKNSKIYCPTIDLYNWTAPLEWFKNCQALQGSR YRAHKSFLVIDNVMTEADAGDYTCFKIHNENGANY VTATRSFTVKDEQGFSLFPVIGAPAQNEIKEVEIG KNANLTCSACFGKGTQFLAAVLWQLNGTKITDFGE PRIQQEEGQNSFSNGLACLDMVLR IADVKEEDLL LQYDCLALNLHGLRRHTVRLSRKNPIDHHS
配列番号 329 (マウス ST2 細胞外 ドメイン)	SKSSWGLENEALIVRCPRQGRSTYPVEWYYSDTNE S IPTQKRNRIFVSRDLKFLPARVEDSGIYACVIR SPNLNKTGYLNVTIHKKPPSCNIPDYLMYSTVIRGS DKNFKITCPTIDLYNWTAPVQWFKNCALQEPRFR AHSYLFIDNVTHDDEGDYTCQFTHAENGTNYIVT ATRSFTVEEKGF SMFPVITNPPYNHTMEVEIGKPA SIACSACFGKGSFLADVLWQINKTVVGNFGEAR IQEEGRNESSNDMDCLTSVLRITGVTEKDL SLEY DCLALNLHGMIRHTIRLRKQPIDHR

10

20

30

40

【表 7】

識別子	配列
配列番号 330 (ヒト IL1RAcP 細胞外 ドメイン)	SERCDDWGLDTMRQIQVFEDEPARIKCPLFEHFLK FNYSTAHSAAGLTLIWYWTRQDRDLEEPINFRLPEN RISKEKDVLFWRPTLLNDTGNYTCMLRNTTYCSKV AFPLEVQKDSFCFNSPMKLPVHKLYIEYGIQRITC PNVDGYFPSSVKPTITWYMGCYKIQNFNNVIPEGM NLSFLIALISNNGNYTCVVTPENGRTFHLTRTLT VKVVGSPKNAVPPVIHSPNDHVVEKEPGEELLIP CTVYFSFLMDSRNEVWWTIDGKKPDDITIDVTINE SISHSRTEDETRTQILSIKKVTSEDLKRSYVCHAR SAKGEVAKAAKVKQKVPAPRYTVE
配列番号 331 (マウス IL1RAcP 細胞外 ドメイン)	SERCDDWGLDTMRQIQVFEDEPARIKCPLFEHFLK YNYSTAHSSGLTLIWYWTRQDRDLEEPINFRLPEN RISKEKDVLFWRPTLLNDTGNYTCMLRNTTYCSKV AFPLEVQKDSFCFNSAMRFPVHKMYIEHGIHKITC PNVDGYFPSSVKPSVTWYKGCTEIVDFHNVLP NLSFFIPLVSNNGNYTCVVTPENGRLFHLTRTVT VKVVGSPKDALPPQIYSPNDRVVYEKEPGEELVIP CKVYFSFIMDSHNEVWWTIDGKKPDDVTVDITINE SVSYSTEDETRTQILSIKKVTPEDLRRNYVCHAR NTKGAEQAAKVKQKVIIPRYTVE
配列番号 332 (ヒト IgG1 Fc)	DKTHTCPPCPAPELGGPSVFLFPPKPKDTLMISR TPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTK PREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSN KALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTK NQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTP PVLDSGDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVVFSCSVME ALHNHYTQKSLSLSPGK
配列番号 333 (マウス IgG2a Fc)	EPRGPTIKPCPPCKCPAPNLLGGPSVFI FPPKIKD VLMISLSPIVTCVVVDVSEDDPDVQISWVFNVEV HTAQTQTHREDYNSTLRVVSALPIQHQQDWMGKEF KCKVNNKDLPAPIERTISKPKGSVRAPQVYVLP EEEMTKKQVTLTCMVTDMPEDIYVEWTNNGKTEL NYKNTEPVLDSGDGSYFMYSKLRVEKKNWVERNSYS CSVVHEGLHNHHTTKSFSRTPGK
配列番号 334 (カニクイザル IL-33-6His)	SITGISPITESLASLSTYNDQSITFALEDESYEIIY VEDLKKDKKKDKVLLSYYESQHPSSSESGDGDGKM LMVTLSPTKDFWLQANNKEHSVELHKCEKPLPDQA FFVLHNRSFNCVSFECKTDPGVFIGVKDNHLALIK VDYSENLGSENI LFKLSEILEHHHHHH

10

20

30

40

【0227】

実施例 3 : IL-4R アンタゴニスト抗体

ヒト抗 IL-4R 抗体を米国特許第 7,608,693 号に記載のように生成した。以下の実施例で使用した例示的な IL-4R 抗体は、マウス IL-4R に特異的なマウス抗体であり、以下のアミノ酸配列：配列番号 335 を含む重鎖可変領域 (HCVR) および配列番号 336 を含む軽鎖可変ドメイン (LCVR) を有する。デュピルマブと称するヒト抗 IL-4R 抗体は、ヒト IL-4R に特異的に結合し、配列番号 337 を含む重鎖可変領域 (HCVR) と、配列番号 338 を含む軽鎖可変領域 (LCVR) と、配列番号

50

339を含む重鎖相補性決定領域1(HCDR1)と、配列番号340を含むHCDR2と、配列番号341を含むHCDR3と、配列番号342を含む軽鎖相補性決定領域1(LCDR1)と、配列番号343を含むLCDR2と、配列番号344を含むLCDR3と、を含む。デュピルマブの全長重鎖は配列番号345として示され、全長軽鎖は配列番号346として示される。

【0228】

実施例4：肺炎症におけるIL-33の役割を研究するための慢性イエダニ(HDM)誘導性線維症および重肺炎症モデルー抗IL-33抗体、IL-4R抗体、または両方の組み合わせの効果の比較

慢性炎症性気道疾患は、主にアレルゲンまたは他の病原体への反復した曝露による気道炎症の再発エピソードの結果である。ヒトでは、そのような慢性的な傷害により、免疫細胞による肺浸潤、サイトカイン産生の増加、粘液産生、およびコラーゲン沈着を含む多様な病変が誘導される(Hirota, (2013) Chest. Sep; 144(3): 1026-32.; Postma, (2015), N Engl J Med., Sep 24; 373(13): 1241-9)。炎症性サイトカインおよび免疫細胞浸潤のこの増加は、激しい気道リモデリングを伴い、気道狭窄、アレルゲンまたは病原体などの吸入誘発剤への過敏症、気道閉塞、および肺機能の喪失を引き起こす。

【0229】

関連するインビボモデルでの抗IL-33阻害の効果を決定的に、慢性イエダニ抽出物(HDM)誘導性線維症および重度肺炎症ならびにリモデリング研究を、マウスIL-33の代わりにヒトIL-33の発現に関してホモ接合性であるマウス(IL-33 HumInマウス; 米国特許公開第2015/0320021号および同第2015/0320022号を参照のこと)で行った。慢性的なHDM抽出物曝露は重度肺炎症を誘導し、有意な細胞浸潤、サイトカイン発現、およびリモデリングをもたらす。抗IL-33抗体、抗マウスIL-4R抗体、または両方の組み合わせの効果はこのモデルで比較した。この研究で使用される抗マウスIL-4R抗体はM1M1875Nと命名され、配列番号335/336のHCVR/LCVRアミノ酸配列対を含む。この研究で使用された抗IL-33抗体はH4H9675Pと命名され、配列番号274/282のHCVR/LCVRアミノ酸配列対を含む。

【0230】

IL-33 HumInマウスに、20μLの1×リン酸緩衝生理食塩水(PBS)で希釈した50μgのイエダニ抽出物(HDM; Greer, #XPB70D3A2.5)または20μLの1×PBSを週当たり3日間、15週間のいずれかで鼻腔内投与した。IL-33 HumInマウスの第2の対照群に、20μLの1×PBSで希釈した50μgのHDM抽出物を週当たり3日間、11週間投与し、抗体処置の開始時における疾患の重症度を評価した。4群のHDMチャレンジマウスに、25mg/kgの抗IL-33抗体H4H9675P、抗マウスIL-4R抗体M1M1875N、両方の抗体の組み合わせ、またはアイソタイプ対照抗体のいずれかを、HDMチャレンジの11週間後から開始してHDMチャレンジの終了まで(4週間の抗体処置)、週当たり2回皮下注射した。研究の108日目に全てのマウスを犠牲死させ、それらの肺を採取した。マウス群に対する実験的投与および処置プロトコルを表4に示す。

10

20

30

40

【表 8】

表4：マウス群に対する実験的投与および処置プロトコル

群	マウス	鼻腔内チャレンジ	鼻腔内チャレンジの長さ	抗体
1	IL-33 HumIn マウス	1×PBS	15週間	なし
2	IL-33 HumIn マウス	20 μ Lの1×PBS中の 50 μ gHDM	11週間	なし
3	IL-33 HumIn マウス	20 μ Lの1×PBS中の 50 μ gHDM	15週間	なし
4	IL-33 HumIn マウス	20 μ Lの1×PBS中の 50 μ gHDM	15週間	アイソタイプ対照抗体
5	IL-33 HumIn マウス	20 μ Lの1×PBS中の 50 μ gHDM	15週間	抗IL-33抗体 (H4H9675P)
6	IL-33 HumIn マウス	20 μ Lの1×PBS中の 50 μ gHDM	15週間	抗IL-4R α 抗体 (M1M1875N)
7	IL-33 HumIn マウス	20 μ Lの1×PBS中の 50 μ gHDM	15週間	抗IL-33 (H4H9675P) 抗体+抗IL-4R α (M1M1875N) 抗体

10

20

【0231】

サイトカイン分析のための肺の採取：

重要なメディエーター、例えば、プロトタイプ (prototypic) 2型サイトカインIL-4、IL-5、およびIL-13、ならびにIL-1 またはTNF などの1型免疫応答の特性をより示すサイトカインの肺レベルの上昇が、ヒトの肺疾患の発症に
 関与している (Gandhi, (2016) Nat Rev Drug Discov Jan; 15(1): 35-50.; Barnes, (2008), Nat Rev Immunol, Mar; 8(3): 183-92)。これらの炎症性サイトカインの肺レベルを本研究で測定した。

30

【0232】

放血後、各マウスから右肺の前葉および中葉を取り出し、1×Haltプロテアーゼ阻害剤カクテル (Thermo Scientific, #87786) を補充した組織タンパク質抽出試薬 (1×T-PER試薬, Pierce, #78510) の溶液を含有する管に入れた。全てのさらなる工程を氷上で行った。T-PER試薬 (プロテアーゼ阻害剤カクテルを含有する) の体積を、1:7 (w/v) の組織対T-PER比に適合するよう
 に各試料について調整した。TissueLysor II (Qiagen #85300) を用いて、肺試料を機械的に破碎した。得られた溶解物を遠心分離して、細片をペレット化した。可溶性タンパク質抽出物を含有する上清を新しい管に移し、さらなる分析まで
 4 で保存した。

40

【0233】

Bradfordアッセイを用いて、肺タンパク質抽出物中の総タンパク質含有量を測定した。このアッセイのために、10 μ Lの希釈抽出物試料を96ウェルプレートに2つ組でプレATINGし、200 μ Lの1×Dye Reagent (Biorad, #500-0006) と混合した。1×T-Per試薬中700 μ g/mLで開始するウシ血清アルブミン (BSA, Sigma, #A7979) の階段希釈物を、抽出物のタンパク

50

質濃度を決定するための標準として用いた。室温で5分間インキュベートした後、595 nmの吸光度をMolecular Devices SpectraMax M5プレートリーダーで測定した。BSA標準に基づく総肺抽出物タンパク質含有量を決定するためのデータ分析は、GraphPad Prism(商標)ソフトウェアを用いて行った。

【0234】

肺タンパク質抽出物中のサイトカイン濃度は、Proinflammatory Panel 1(マウス)マルチプレックスイムノアッセイキット(MesoScale Discovery、#K15048G-2)およびカスタムマウス6plex Multi-Spot(登録商標)イムノアッセイキット(MesoScale Discovery、#K152A41-4)を使用して製造業者の指示に従って測定した。簡潔に述べると、50 μ L/ウェルの較正物質(calibrator)および試料(希釈液41中で希釈)を、捕捉抗体でプレコーティングし、かつ700rpmで2時間振盪しながら室温でインキュベートしたプレートに加えた。次いで、プレートを0.05%(w/v)のTween-20を含有する1xPBSで3回洗浄し、続いて希釈液45中で希釈にした25 μ Lの検出抗体溶液を加えた。振盪しながら室温で2時間インキュベーションした後、プレートを3回洗浄し、150 μ Lの2xRead Bufferを各ウェルに加えた。電気化学発光をMSD Spector(登録商標)機器で直ちに読み取った。データ分析はGraphPad Prismソフトウェアを用いて行った。

10

【0235】

各群の全てのマウス由来の肺総タンパク質抽出物中の各サイトカイン濃度を、Bradfordアッセイにより測定した抽出物の総タンパク質含有量に対して標準化し、表5に示されるように、総肺タンパク質1mg当たりのサイトカインの平均pg(pg/mg肺タンパク質、 \pm SD)として各群について表した。

20

【0236】

肺サイトカイン分析：

表5に示されるように、HDMを15週間受け、アイソタイプ対照抗体で処置されたまたは処置されていないIL-33HumInマウスの肺で放出されたサイトカインおよびケモカインIL-4、IL-5、IL-6、IL-1、およびMCP-1のレベルは、1xPBS単独でチャレンジしたIL-33HumInマウスよりも有意に高かった。同様に、15週間HDMを受けたIL-33HumInマウスの肺でサイトカインIL-13およびTNFの放出の増加傾向が見られた。対照的に、慢性的HDMチャレンジの最後の4週間中に抗IL-33抗体および抗マウスIL-4R抗体の組み合わせで処置したIL-33HumInマウスの肺におけるIL-6、IL-13、およびMCP-1のレベルは、この期間中にアイソタイプ対照抗体とともにHDMを投与したIL-33HumInマウスと比較して有意に減少した。慢性的HDMチャレンジの最後の4週間中に抗IL-33抗体および抗マウスIL-4R抗体の組み合わせで処置したIL-33HumInマウスでのIL-4、IL-5、IL-1、およびTNFの肺レベルは、この期間中にアイソタイプ対照抗体とともにHDMを投与されたIL-33HumInマウスと比較して低下傾向が見られた。抗IL-33抗体および抗マウスIL-4R抗体の組み合わせで観察された肺サイトカインに対する効果は、いずれかの個々の抗体単独での処置よりも大きかった。

30

40

【表 9】

表5：肺タンパク質抽出物中のサイトカイン濃度

実験群	肺タンパク質抽出物の平均 [IL-4] (pg/mg 肺タンパク質) (±SD)	肺タンパク質抽出物の平均 [IL-5] (pg/mg 肺タンパク質) (±SD)	肺タンパク質抽出物の平均 [IL-13] (pg/mg 肺タンパク質) (±SD)	肺タンパク質抽出物の平均 [IL-6] (pg/mg 肺タンパク質) (±SD)	肺タンパク質抽出物の平均 [IL-1β] (pg/mg 肺タンパク質) (±SD)	肺タンパク質抽出物の平均 [TNFα] (pg/mg 肺タンパク質) (±SD)	肺タンパク質抽出物の平均 [MCP-1] (pg/mg 肺タンパク質) (±SD)
1. 1×PBS チャレンジ (n=5)	0.13 (±0.17)	0.80 (±1.41)	ND	4.75 (±3.39)	1.97 (±1.67)	2.86 (±1.01)	4.12 (±1.12)
2. HDM チャレンジ 11 週間 (n=4)	5.71 (±3.76)*	7.31 (±3.67)	0.20 (±0.03)	293.1 (±139.3)*	181.8 (±131.0)*	17.39 (±8.90)	43.06 (±24.21)
3. HDM チャレンジ 15 週間 (n=4)	2.70 (±1.71)	5.13 (±3.20)	0.19 (±0.03)	308.3 (±390.1)	51.79 (±16.97)	15.38 (±8.11)	105.6 (±106.5)*
4. HDM チャレンジ 15 週間+ アイソタイプ 対照抗体 (n=4)	5.46 (±3.38)**	7.00 (±4.50)*	0.22 (±0.02)	395.0 (±270.1)**	162.3 (±166.5)**	19.57 (±14.81)	141.7 (±126.3)**
5. HDM チャレンジ 15 週間+ 抗 IL-33 抗体 (n=5)	1.15 (±1.38)	1.93 (±1.90)	0.20 (±0.02)	136.8 (±164.1)	122.9 (±194.1)	17.05 (±4.48)*	16.64 (±6.40)
6. HDM チャレンジ 15 週間+ 抗マウス IL-4Rα 抗体 (n=5)	2.88 (±2.43)	13.13 (±12.81)**	0.16 (±0.03)	18.24 (±12.43)	26.73 (±20.94)	7.85 (±4.89)	11.63 (±8.69)
7. HDM チャレンジ 15 週間+ 抗 IL-33+ 抗マウス IL-4Rα 抗体 (n=5)	0.47 (±0.13)	0.73 (±0.37)	0.10 (±0.05)††	7.46 (±2.52)†	3.722 (±1.59)	3.07 (±1.34)	4.62 (±1.27)††

注：ダンの多重比較事後検定を用いたクラスカル・ウォリスイ一元配置分散分析によって決定された統計学的な有意性を示す（群1：IL33 HumInマウス、* = $p < 0.05$ 、** = $p < 0.01$ 、生理食塩水チャレンジと比較；群4：IL33 HumInマウス、† $p < 0.05$ 、†† $p < 0.01$ 、HDMチャレンジ15週間+アイソタイプ対照抗体と比較）。ND：決定されず。

【0237】

遺伝子発現分析のための肺の採取

放血後、各マウスから右肺の副葉を取り出し、400 μLのRNA Later (Am

10

20

30

40

50

bion、#AM7020)を含有する管に入れ、処理まで-20で保存した。組織をTRIzol中でホモジナイズし、クロロホルムを相分離に用いた。全てのRNAを含有する水相を、MagMAX(商標)-96 for Microarrays Total RNA Isolation Kit(Ambion by Life Technologies、#AM1839)を用いて、製造業者の仕様書に従って精製した。MagMAX(商標)Turbo(商標)DNase BufferおよびTURBO DNaseを用いて、上記のMagMAXキットから、ゲノムDNAを取り出した。SuperScript(登録商標)VIL0(商標)Master Mix(Invitrogen by Life Technologies、#11755500)を用いて、mRNA(2.5µg以下)をcDNAに逆転写した。cDNAを2ng/µLに希釈し、10ngのcDNAを、TaqMan(登録商標)Gene Expression Master Mix(Applied Biosystems by Life Technologies、#4369542)および関連するプローブ(Life Technologies;マウスB2m:Mm00437762__m1;マウスIl4:Mm00445259__m1;マウスIl5:Mm00439646__m1;マウスIl13:Mm00434204__m1;マウスIl9:Mm00434305__m1;マウスIl6:Mm00446190__m1;マウスCcl2:Mm00441242__m1;マウスCcl11:Mm00441238__m1;マウスCcl24:Mm00444701__m1;マウスTnf:Mm00443258__m1;マウスTgfb1:Mm01178820__m1;マウスIl1rl1:Mm00516117__m1;マウスIl13ra2:Mm00515166__m1;マウスCol15a1:Mm00456584__m1;マウスCol24a1:Mm01323744__m1;)を用いて、ABI 7900HT配列検出システム(Applied Biosystems)を使用して増幅した。cDNA投入量の差を標準化するために、B2mを内部対照遺伝子として使用した。全試料の標準化のために使用した参照群を群1の試料の平均とした(「1×PBSチャレンジ」)。表6に示されるように、各遺伝子の発現を同じ試料内のB2m発現に対して標準化し、参照群のその標準化された発現と比較して表した(平均±SD)。

【0238】

肺遺伝子発現分析

表6に示されるように、15週間HDMを受け、アイソタイプ対照抗体で処置されたまたは処置されていないIL-33HumInマウスの肺におけるサイトカイン、ケモカイン、およびコラーゲン遺伝子Il4、Il13、Il6、Ccl2、Tgfb1、Il13ra2、およびCol24a1の発現レベルは、1×PBS単独でチャレンジしたIL-33HumInマウスと比較して有意に増加した。同様に、15週間HDMを摂取したIL-33HumInマウスの肺では遺伝子Il5、Il9、Ccl11、Ccl24、Tnf、Il1rl1、およびCol15a1の発現の増加傾向が見られた。

【0239】

対照的に、慢性的HDMチャレンジの最後の4週間中に抗IL-33抗体および抗マウスIL-4R抗体の組み合わせで処置したIL-33HumInマウスでのIl6、Ccl2、Ccl11、およびCcl24のレベルは、この期間中にアイソタイプ対照抗体とともにHDMを投与したIL-33HumInマウスと比較して有意に減少した。対照的に、慢性的HDMチャレンジの最後の4週間中に抗IL-33抗体および抗マウスIL-4R抗体の組み合わせで処置したマウスでのIl4、Il5、Il13、Il9、Tnf、Tgfb1、Il1rl1、Il13ra2、Col15a1、およびCol24a1の発現レベルは、この期間中にアイソタイプ対照抗体とともにHDMを投与したIL-33HumInマウスと比較して低下する傾向が見られた。抗IL-33抗体および抗マウスIL-4R抗体の組み合わせで観察された遺伝子発現に対する効果は、いずれかの個々の抗体単独による処置よりも大きかった。

【表 10】

表6：マウス肺での遺伝子発現 (T a q M a n)

実験群	肺での 平均相対的 I14 発現 (±SD)	肺での 平均相対的 I15 発現 (±SD)	肺での 平均相対的 I113 発現 (±SD)	肺での 平均相対的 I19 発現 (±SD)	肺での 平均相対的 I16 発現 (±SD)	肺での 平均相対的 Cc12 発現 (±SD)	肺での 平均相対的 Cc111 発現 (±SD)	肺での 平均相対的 Cc124 発現 (±SD)
1. 1×PBS チャレンジ (n=5)	1.03 (±0.28)	1.54 (±1.61)	4.51 (±7.59)	15.91 (±34.81)	1.25 (±1.09)	1.20 (±0.93)	1.24 (±1.07)	1.05 (±0.33)
2. HDM チャレンジ 11 週間 (n=4)	12.78 (±8.45)*	7.13 (±3.49)	114.1 (±68.3)*	38.66 (±30.04)	9.12 (±1.65)	18.86 (±8.40)	13.36 (±5.05)	15.44 (±12.02)
3. HDM チャレンジ 15 週間 (n=4)	6.27 (±3.39)	4.20 (±1.51)	58.05 (±31.61)	30.63 (±20.54)	8.92 (±4.55)	22.61 (±13.37)*	8.65 (±3.20)	4.58 (±1.91)
4. HDM チャレンジ 15 週間+ アイソタイプ 対照抗体 (n=4)	10.98 (±5.46)*	5.50 (±3.16)	92.51 (±75.96)*	19.51 (±10.29)	13.80 (±6.98)**	24.53 (±9.13)**	12.14 (±7.82)	12.41 (±8.73)
5. HDM チャレンジ 15 週間+ 抗 IL-33 抗体 (n=5)	2.80 (±3.11)	1.74 (±1.11)	12.91 (±12.93)	0.00 (±0.00)	3.87 (±3.00)	5.20 (±2.44)	6.21 (±3.55)	1.45 (±2.09)
6. HDM チャレンジ 15 週間+ 抗マウス IL-4R α 抗体 (n=5)	1.87 (±1.03)	7.98 (±6.52)	69.56 (±66.86)*	63.50 (±92.04)	2.77 (±1.39)	2.97 (±1.86)	1.00 (±0.18)	0.44 (±0.34)
7. HDM チャレンジ 15 週間+ 抗 IL-33+ 抗マウス IL-4R α 抗体 (n=5)	1.37 (±0.35)	1.56 (±0.97)	9.34 (±3.10)	0.57 (±1.27)	1.04 (±0.31) ^{††}	1.08 (±0.24) ^{††§}	0.72 (±0.28) [†]	0.15 (±0.10) ^{††}

10

20

30

40

【表 1 1】

表6 続き：マウス肺における遺伝子発現 (T a q M a n)。

実験群	肺における 平均相対的 Tnf 発現 (±SD)	肺での 平均相対的 Tgfb1 発現 (±SD)	肺での 平均相対的 Il1r1 発現 (±SD)	肺での 平均相対的 Il13ra2 発現 (±SD)	肺での 平均相対的 Col15a1 発現 (±SD)	肺での 平均相対的 Col24a1 発現 (±SD)
1. 1×PBS チャレンジ (n=5)	1.02 (±0.24)	1.00 (±0.11)	1.11 (±0.58)	1.59 (±1.96)	1.00 (±0.10)	1.02 (±0.16)
2. HDM チャレンジ 11 週間 (n=4)	1.45 (±0.41)	1.40 (±0.27)	3.03 (±0.88)*	48.43 (±34.21)	2.75 (±0.96)	24.55 (±7.97)**
3. HDM チャレンジ 15 週間 (n=4)	1.58 (±0.43)	1.32 (±0.33)	2.53 (±0.79)*	32.07 (±13.45)	3.00 (±1.22)	17.25 (±5.29)*
4. HDM チャレンジ 15 週間+ アイソタイプ 対照抗体 (n=4)	1.59 (±0.78)	1.37 (±0.12)*	3.45 (±1.48)*	52.02 (±40.63)	3.80 (±0.96)*	23.58 (±6.18)***
5. HDM チャレンジ 15 週間+ 抗 IL-33 抗体 (n=5)	1.38 (±0.27)	1.22 (±0.24)	0.99 (±0.47)	13.54 (±12.25)	1.64 (±0.30)	10.58 (±5.42)
6. HDM チャレンジ 15 週間+ 抗マウス IL-4Rα 抗体 (n=5)	1.00 (±0.25)	1.13 (±0.20)	3.38 (±1.97)	1.89 (±0.59)	1.24 (±0.28)	7.08 (±4.56)
7. HDM チャレンジ 15 週間+ 抗 IL-33+ 抗マウス IL-4Rα 抗体 (n=5)	0.68 (±0.08) §	1.09 (±0.12)	1.12 (±0.57)	1.89 (±0.27)	0.74 (±0.21) †† §	1.76 (±0.15) †

注：ダンの多重比較事後検定を用いたクラスカル・ウォリスイ元配置分散分析によって決定された統計学的な有意性を示す (* = $p < 0.05$, ** = $p < 0.01$, *** = $p < 0.001$, 群1 : IL33 HumIn マウス、生理食塩水チャレンジと比較; § $p < 0.05$, §§ $p < 0.01$, 群3 : IL33 HumIn マウス、HDMチャレンジ15週間と比較; † $p < 0.05$, †† $p < 0.01$, 群4 : IL33 HumIn マウス、HDMチャレンジ15週間+アイソタイプ対照抗体と比較)。

【 0 2 4 0】

肺細胞浸潤物分析のための肺の採取

免疫細胞による肺浸潤は、喘息およびCOPDを含む複数の気道炎症性疾患で観察され

10

20

30

40

50

る。好中球性肺炎症は、喘息患者における肺機能の低下および重度の組織リモデリングと関連し (Wenzel et al., (2012), Nat Med 18(5): 716-725)、COPD患者における肺損傷の増加と関連している (Meijer, et al., (2013), Expert Rev. Clin. Immunol. 9(11): 1055-1068)。好酸球性肺炎症は、アトピー性疾患において通常見られる2型炎症の顕著な特徴である (Jacobsen, et al., (2014), Clin. Exp. Allergy, 44(9): 1119-1136)。ヒトでは、肉芽腫性肺疾患および他の慢性炎症状態を有する患者において高CD4/CD8比が観察される (Costabel, et al., (1997), Eur. Respir. J. 10(12): 2699-2700; Guo, et al., (2011), Ann. Clin. Biochem, 48(Pt 4): 344-351)。本研究ではフローサイトメトリーを使用し、HDM曝露マウスの肺での細胞浸潤のレベルを決定した。

【0241】

放血後、各マウスから右肺の尾葉を取り出し、約2~3mmのサイズの立方体に切り刻み、次いでハクス平衡塩類溶液 (HBSS) (Gibco、#14025) 中で希釈された20 µg/mL DNase (Roche、#10104159001) および0.7 U/mL Liberase TH (Roche、#05401151001) の溶液を含有する管に入れ、これを37 °Cの水浴中で20分間インキュベートし、5分毎にボルテックスした。エチレンジアミン四酢酸 (EDTA、Gibco、#15575) を10 mMの最終濃度で加えることにより、反応を停止させた。各肺をgentleMACS 20 破砕装置 (登録商標) (Miltenyi Biotec、#130-095-937) を用いて破砕し、次いで70 µmフィルターを通して濾過し、遠心分離した。得られた肺ペレットを1 mLの1×赤血球溶解緩衝液 (Sigma、#R7757) に再懸濁化して、赤血球を除去した。室温で3分間インキュベートした後、3 mLの1×DMEMを加えて赤血球溶解緩衝液を不活化した。次いで細胞懸濁液を遠心分離し、得られた細胞ペレットを5 mLのMACS緩衝液 (autoMACS Running Buffer、Miltenyi Biotec、#130-091-221) に再懸濁化した。再懸濁化した試料を70 µmフィルターを通して濾過し、1ウェル当たり1×10⁶細胞を96ウェルのV底プレートでプレATINGした。次いで細胞を遠心分離し、ペレットを1×PBS 30 中で洗浄した。2回目の遠心分離後、細胞ペレットを1×PBS中で1:500に希釈した100 µLのLIVE/DEAD (登録商標) Fixable Blue Dead Cell Stain (Life Technologies、#L23105) に再懸濁化して細胞生存度を決定し、遮光しながら室温で20分間インキュベートした。1×PBS 40 中で1回洗浄した後、細胞を10 µg/mLの精製ラット抗マウスCD16/CD32 Fc Block (クローン: 2.4G2、BD Biosciences、#553142) を含有するMACS緩衝液中で4 °Cで10分間インキュベートした。次いで、遮光しながら、細胞をMACS緩衝液で希釈した適切な2×抗体混合物 (表7に記載) 中で4 °Cで30分間インキュベートした。抗体のインキュベーション後、細胞をMACS 40 緩衝液中で2回洗浄し、BD CytoFix (BD Biosciences、#554655) 中に再懸濁化し、次いで遮光しながら4 °Cで15分間インキュベートした。続いて細胞を洗浄し、MACS緩衝液に再懸濁化し、次いでフローサイトメトリーによる細胞浸潤物の分析のためにBD FACS管 (BD Biosciences、#352235) に移した。

【0242】

CD4およびCD8 T細胞をそれぞれ、生きている細胞CD45⁺、SSC^L、FSC^L、CD3⁺、CD19⁻、CD4⁺、CD8⁻、および生きている細胞CD45⁺、SSC^L、FSC^L、CD3⁺、CD19⁻、CD4⁻、CD8⁺として定義した。活性化CD4 T細胞を生きている細胞CD45⁺、SSC^L、FSC^L、CD3⁺、CD19⁻、CD4⁺、CD8⁻、およびCD69⁺として定義した。活性化CD8 T細胞を生きている細胞CD45⁺、SSC^L、FSC^L、CD3⁺、CD19⁻、C 50

CD4⁻、CD8⁺、およびCD69⁺として定義した。活性化B細胞を生きている細胞CD45⁺、SSC^L、FSC^L、CD3⁻、CD19⁺、およびCD69⁺として定義した。ST2+CD4⁺T細胞を生きている細胞CD45⁺、SSC^L、FSC^L、CD3⁺、CD19⁻、ST2⁺およびCD4⁺として定義した。好酸球を生きているCD45⁺、GR1⁻、CD11c^L、SiglecF^Hとして定義した。肺胞マクロファージを生きているCD45⁺、GR1⁻、CD11c^H、SiglecF^Hとして定義した。活性化細胞のデータを親集団(CD4、±SD)内の活性化細胞(CD69⁺)の頻度として表す。ST2+CD4⁺T細胞のデータをT細胞(生きている細胞CD45⁺、SSC^L、FSC^L、CD3⁺およびCD19⁻として定義された)の頻度として表す。好酸球および肺胞マクロファージのデータを生きている細胞の頻度として表す。CD4/CD8T細胞比を生きている集団内のCD8T細胞の頻度に対するCD4T細胞の頻度の比として計算する。全データを表8に示す。

【表12】

表7：フローサイトメトリー分析に使用される抗体

抗体	蛍光色素	製造業者	カタログ番号	最終希釈
CD45.2	PerCP-Cy5.5	eBioscience	45-0454	1/800
Siglec-F	BV421	BD	562681	1/200
F4/80	APC	eBioscience	17-4801-82	1/200
Ly6G	BUV395	BD	563978	1/200
Ly6C	PE-Cy7	BD	560593	1/100
CD11c	PE	eBioscience	12-0114-82	1/200
CD11b	FITC	eBioscience	53-0112-82	1/200
CD19	BV650	BD	562701	1/400
CD3	PE-Cy7	BD	552774	1/200
CD4	BV421	BioLegend	100438	1/200
CD8	BUV 395	BD	563786	1/400
NKp46 (CD335)	FITC	eBioscience	11-3351	1/800
CD69	PE	eBioscience	12-0691	1/200
CD25	BV510	BioLegend	102042	1/200
ST2	APC	BioLegend	145306	1/200

【0243】

肺細胞浸潤分析：

表8に示されるように、HDMを15週間受け、アイソタイプ対照抗体で処置されたまたは処置されていないIL-33HumInマウスの肺での好酸球、活性化B細胞、活性化CD8細胞、ST2+CD4⁺T細胞およびCD4/CD8T細胞比の頻度は、1×PBS単独でチャレンジしたIL-33HumInマウスにおけるよりも有意に高かった。同様に、15週間HDMを受けたIL-33HumInマウスの肺において活性化CD4⁺T細胞の頻度の増加傾向が見られた。アイソタイプ対照抗体処置の非存在下または存在下で15週間HDMを受けたIL-33HumInマウスの肺では、フローサイトメトリーにより検出した肺胞マクロファージの頻度の減少傾向が見られた。肺胞マクロファージの頻度は、慢性的HDMチャレンジの最後の4週間中に抗IL-33抗体および抗マウスIL-4R抗体の組み合わせで処置したIL-33HumInマウスの肺で、この期間中にアイソタイプ対照抗体とともにHDMを投与したIL-33HumInマウスと比較して有意に増加した。同様に、慢性的HDMチャレンジの最後の4週間中に抗IL-33抗体および抗マウスIL-4R抗体の組み合わせで処置されたマウスの肺では、好酸球、活性化CD4およびCD8T細胞、活性化B細胞、ST2+CD4⁺T細胞、

ならびにCD4/CD8 T細胞比の頻度の減少傾向が見られた。抗IL-33抗体および抗マウスIL-4R抗体の組み合わせで観察される肺での好酸球、肺胞マクロファージ、活性化CD8 T細胞、ST2+CD4+ T細胞、およびCD4/CD8比の頻度に対する効果は、いずれかの個々の抗体単独での処置よりも大きい効果の傾向を示した。

【表13】

表8：フローサイトメトリーによって決定された肺細胞浸潤の頻度

実験群	生きている 集団中の 好酸球の 平均頻度 (±SD)	生きている 集団中の 肺胞マク ロファージの 平均頻度 (±SD)	平均 CD4/CD8T 細胞比 (±SD)	CD4T 細胞集団中の 活性化細胞 の平均頻度 (±SD)	CD8T 細胞集団中の 活性化細胞 の平均頻度 (±SD)	B細胞 集団中の 活性化細胞 の平均頻度 (±SD)	T細胞 集団中の ST2+CD4+ 細胞の 平均頻度 (±SD)
1. 1×PBS チャレンジ (n=5)	1.45 (±0.92)	5.05 (±1.64)	3.00 (±1.48)	13.12 (±9.89)	3.26 (±1.64)	0.39 (±1.17)	3.25 (±4.15)
2. HDM チャレンジ 11週間 (n=4)	17.08 (±3.94)*	2.34 (±0.93)	6.42 (±2.71)	49.95 (±8.76)	9.58 (±7.44)	4.67 (±1.47)**	32.60 (±12.23)
3. HDM チャレンジ 15週間(n=4)	15.40 (±3.99)*	4.92 (±1.55)	6.95 (±0.71)**	58.53 (±5.76)	15.68 (±3.03)*	3.70 (±1.44)*	37.33 (±8.98)*
4. HDM チャレンジ 15週間+ アインタイ プ対照抗体 (n=4)	15.00 (±3.35)*	2.33 (±1.60)	7.49 (±1.28)*	57.75 (±7.64)	14.59 (±3.82)	3.90 (±1.48)*	37.96 (±16.71)*
5. HDM チャレンジ 15週間+ 抗IL-33 抗体(n=5)	8.51 (±7.52)	7.44 (±4.18)	4.03 (±1.28)	48.22 (±5.66)	13.86 (±5.21)	1.72 (±0.72)	19.24 (±5.72)
6. HDM チャレンジ 15週間+ 抗マウス IL-4Rα抗体 (n=5)	12.30 (±7.83)	9.93 (±5.18)	5.56 (±2.22)	53.42 (±6.52)	13.11 (±6.26)	2.14 (±1.23)	35.01 (±9.83)*
7. HDM チャレンジ 15週間+ 抗IL-33+ 抗マウス IL-4Rα抗体 (n=5)	3.78 (±1.60)	14.64 (±3.86) [†]	2.96 (±0.93)	42.52 (±9.79)	7.90 (±1.30)	1.74 (±0.91)	11.78 (±3.73)

注：ダンの多重比較事後検定を用いたクラスカル・ウォリス一元配置分散分析によって決定された統計学的な有意性を示す (* = p < 0.05、** = p < 0.01、群1：IL33 HumInマウス、生理食塩水チャレンジと比較；[†] p < 0.05、群4：IL33 HumInマウス、HDMチャレンジ15週間+アインタイプ対照抗体と比較)。

10

20

30

40

50

【0244】

病理組織診断 (histopathology) の定量化のための肺の採取：

このモデルで観察される炎症パターンは、杯細胞化生の徴候、上皮下コラーゲン沈着の増加、および顕著な肺硬化を有する、HDMに曝露された肺における広範かつ重度の構造変化を伴う。これらの病変は、肺機能の低下および気道過敏性をもたらすヒト炎症性呼吸器疾患の既知の特徴である (James, (2007) Eur Respir J, Jul; 30(1): 134-55; Jeong, (2007) Radiographics May-Jun; 27(3): 617-37)。

【0245】

放血後、左肺を取り出し、1×リン酸緩衝生理食塩水中の4% (w/v) パラホルムアルデヒド (Boston Bioproducts, #BM-155) の3mL溶液を含有するプレートに入れ、室温で3日間保存した。次に肺試料をブロットドライシ (blotted dry)、組織学的分析のために70%エタノールを含有する管に移した。試料をパラフィン包埋、切片化、および過ヨウ素酸シッフ (PAS) またはヘマトキシリンおよびエオシン (H&E) 染色のために Histoserv, Inc (Germantown, MD) に送った。

10

【0246】

杯細胞化生の定量化：

杯細胞化生および粘液過剰分泌は、喘息、慢性閉塞性肺疾患、および嚢胞性線維症を含む多くの肺疾患の顕著な特徴である (Boucherat, (2013) Exp Lung Res. 2013 May-Jun; 39(4-5): 207-16)。過剰な粘液産生は気道閉塞を引き起こし、肺機能、健康関連の生活の質、増悪、入院、およびヒトの死亡率などのいくつかの重要な結果に影響を与える (Ramos, FL, et al., (2014), Int J Chron Obstruct Pulmon Dis, Jan. 24; 9: 139-150)。PAS陽性杯細胞および総上皮細胞を主気管支のミリメートル長で計数した。表9に示されるように、杯細胞化生を気管支上皮の1ミリメートル中のPAS陽性細胞の頻度として表す (%、±SD)。

20

【0247】

肺硬化の定量化：

「肺硬化」は、肺胞空間における固体または液体材料の蓄積として定義される。肺硬化は、細胞浸潤、過形成、および粘液産生の組み合わせを反映し得る複合的評価項目であり、ここでは肉眼病変の測定として使用する。ImageJソフトウェア (NIH, Bethesda, MD) を使用して、モバットペンタクローム染色されたパラフィン包埋肺切片上で、結晶体によって占められる肺面積の割合を定量化した。粒子分析機能を使用して、切片の総肺面積および切片の硬化面積を測定した。表9に示されるように、肺硬化面積の割合は両方の測定値の比によって与えられる。

30

【0248】

上皮下線維症の定量化

「上皮下線維症」は、肺上皮下の過剰な間質性コラーゲン沈着として定義される (Redington, et al., (1997), Thorax, April; 52(4): 310-312)。上皮下線維症の増加は、ヒトの喘息と特異的に関連することが報告されている (Boulet, et al., (1997) Chest, July; 112(1): 45-52; James, AL and Wenzel, S., (2007), Eur Respir J, July, 30(1): 134-155)。本モデルでは、HALソフトウェア (Indica Labs, NM) を使用して、マッソントリクローム染色されたパラフィン包埋肺切片上で上皮下線維症を測定した。「層厚」ツールを使用して、気管支上皮下のコラーゲン層の厚さを、主気管支1ミリメートルにわたって約30µmの間隔で複数回記録した。表9に示されるように、上皮下線維症を上皮下のコラーゲン層の平均厚さ (µm、±SD) として表す。

40

【0249】

50

肺病理組織診断の分析

表9に示されるように、15週間HDMを受け、アイソタイプ対照抗体で処理したまたは処置していないIL-33 HumInマウスの肺において、1×PBS単独でチャレンジしたIL-33 HumInと比較して、杯細胞化生の増加傾向が見られた。同様に、15週間HDMを受けたIL-33 HumInマウスでは、肺硬化および上皮コラーゲン厚が有意に増加した。

【0250】

対照的に、慢性的HDMチャレンジの最後の4週間中に抗IL-33抗体および抗マウスIL-4R α 抗体の組み合わせで処置したIL-33 HumInマウスの肺では、この期間中にアイソタイプ対照抗体とともにHDMを投与したIL-33 HumInマウスと比較して、杯細胞化生および上皮コラーゲン厚の減少傾向ならびに肺硬化の有意な減少傾向が見られた。抗IL-33抗体および抗マウスIL-4R α 抗体の組み合わせで観察された杯細胞化生、肺硬化、および上皮コラーゲン厚に対する効果は、いずれかの個々の抗体単独での処置よりも有効性が高くなる傾向を示した。

【表14】

表9：マウス肺の病理組織診断の定量化

実験群	杯細胞化生の平均値 (%PAS陽性細胞) (\pm SD)	肺硬化の平均値 (% \pm SD)	上皮下のコラーゲンの平均厚さ(μ m) (\pm SD)
1. 1×PBSチャレンジ(n=5)	32.94(\pm 43.61)	6.97(\pm 3.72)	25.90(\pm 4.00)
2. HDMチャレンジ11週間 (n=4)	59.98(\pm 39.01)	70.70(\pm 12.94)	81.76(\pm 25.37)*
3. HDMチャレンジ15週間 (n=4)	92.15(\pm 10.16)	83.21(\pm 3.65)**	82.12(\pm 23.04)*
4. HDMチャレンジ15週間+ アイソタイプ対照抗体(n=4)	81.60(\pm 17.56)	84.16(\pm 5.85)**	63.11(\pm 11.87)
5. HDMチャレンジ15週間+ 抗IL-33抗体(n=5)	39.22(\pm 18.93)	58.82(\pm 18.26)	70.99(\pm 23.85)
6. HDMチャレンジ15週間+ 抗マウスIL-4R α 抗体(n=5)	79.82(\pm 25.02)	57.79(\pm 18.72)	57.62(\pm 15.34)
7. HDMチャレンジ15週間+ 抗IL-33+抗マウスIL- 4R α 抗体(n=5)	19.69(\pm 8.80)	35.01(\pm 20.68)	48.19(\pm 18.58)

注：ダンの多重比較事後検定を用いたクラスカル・ウォリスの一元配置分散分析によって決定された統計学的な有意性を示す(**=p<0.01、群1：IL33HumInマウス、生理食塩水チャレンジと比較)。

【0251】

IgEおよびHDM特異的IgG1レベル測定のための血清の採取：

各マウスについて血清試料中の総IgE濃度を決定するために、サンドイッチELISA OPTeiaキット(BD Biosciences、#555248)を製造業者の指示に従って使用した。血清試料を希釈し、96ウェルプレート上にコーティングした抗IgE捕捉抗体とともにインキュベートした。ビオチン化抗マウスIgE二次抗体により、総IgEを検出した。精製西洋ワサビペルオキシダーゼ(HRP)標識マウスIgEを標準として使用した。クロマゲン3,3',5,5'-テトラメチルベンジジン(TMB)(BD OPTeia基質試薬セット、BD、#555214)を使用してHRP活性を検出した。次いで、1M硫酸の停止溶液を加え、450nmにおける吸光度をMole

cular Devices SpectraMax M5プレートリーダーで測定した。Prism(商標)ソフトウェアを使用して、データ分析を行った。表10に示されるように、各実験群の血清中の循環IgEレベルの平均量はng/mL(±SD)として表される。

【0252】

各マウス由来の血清試料中のHDM特異的IgG1レベルを決定するために、ELISAを利用した。HDM(Greer、#XPB70D3A2.5)をコーティングしたプレートを段階希釈したマウス血清試料とともにインキュベートし、続いてラット抗マウスIgG1-HRPに結合された抗体(BD Biosciences、#559626)とともにインキュベートした。全ての試料をTMB溶液で展開し、上記のように分析した。血清中の循環IgG1の相対レベルは力価単位として表される(力価単位は、測定されたODに、バックグラウンドの2倍を超えるOD450を達成するのに必要な希釈係数を掛けることによって計算した)。表10に示されるように、各実験群の血清中の平均循環HDM特異的IgG1レベルは力価×10⁶(±SD)として表される。

10

【0253】

IgEおよびHDM特異的IgG1の循環レベルの分析

表10に示されるように、15週間HDMを受け、アイソタイプ対照抗体で処置されたまたは処置されていないIL-33HumInマウスの血清では、1×PBS単独でチャレンジしたIL-33HumInマウスと比較して、IgEの循環レベルが有意に増加した。同様に、15週間HDMを受けたIL-33HumInマウスの血清では循環HDM特異的IgG1のレベルの増加傾向が見られた。対照的に、慢性的HDMチャレンジの最後の4週間中に抗IL-33抗体および抗マウスIL-4R抗体の組み合わせで処置したIL-33HumInマウスの血清では、アイソタイプ対照抗体とともにHDMを投与されたIL-33HumInマウスと比較して、IgEの循環レベルの有意な減少およびHDM特異的IgG1の循環レベルの減少傾向が見られた。

20

【表 15】

表 10 : マウス血清中の I g E および HDM 特異的 I g G 1 の循環レベル

実験群	平均循環 I g E レベル ($\mu\text{g}/\text{mL}$) ($\pm\text{SD}$)	平均循環 HDM 特異的 I g G 1 レベル (力価 \times 10^6) ($\pm\text{SD}$)
1. 1 \times PBS チャレンジ (n=5)	2.16(\pm 2.02)	ND
2. HDM チャレンジ 1 1 週間 (n=4)	50.16(\pm 8.35)	1.18(\pm 0.15)
3. HDM チャレンジ 1 5 週間 (n=4)	131.38(\pm 106.84)*	1.88(\pm 0.81)
4. HDM チャレンジ 1 5 週間 + アイソタイプ対照抗体 (n=4)	193.07(\pm 78.96)***	1.62(\pm 0.62)
5. HDM チャレンジ 1 5 週間 + 抗 I L - 3 3 抗体 (n=5)	45.74(\pm 45.74)	1.76(\pm 0.98)
6. HDM チャレンジ 1 5 週間 + 抗マウス I L - 4 R α 抗体 (n=5)	11.12(\pm 8.65)	0.99(\pm 0.56)
7. HDM チャレンジ 1 5 週間 + 抗 I L - 3 3 + 抗マウス I L - 4 R α 抗体 (n=5)	6.45(\pm 5.79) [†]	0.75(\pm 0.30)

注：ダンの多重比較事後検定を用いたクラスカル・ウォリス一元配置分散分析によって決定された統計学的な有意性を示す (*= $p < 0.05$ 、**= $p < 0.01$ 、***= $p < 0.001$ 、群1 : I L 3 3 Hum I n マウス、生理食塩水チャレンジと比較；[†] $p < 0.05$ 、群4 : I L 3 3 H u m i n マウス、HDM チャレンジ 1 5 週間 + アイソタイプ対照抗体と比較)。ND : 決定されず。

【 0 2 5 4 】

重度の混合炎症との関連で開始された H 4 H 9 6 7 5 P および抗 m I L - 4 R 処置の組み合わせは、測定された全ての炎症パラメータを改善し、ほとんどをベースラインレベルまで低下させる。さらに、複合的肺肉眼病変、杯細胞化生、肺細胞浸潤、およびサイトカインレベルを含む最も悪性の評価項目のいくつかで相加効果が観察される。したがって、両方の経路を同時に阻止することは、重度の混合炎症および組織病変との関連で複数の炎症メディエーターに影響を与え、複数のパラメータをベースラインへと標準化する可能性を有する。

【 0 2 5 5 】

実施例 5 : 水素重水素交換による I L 3 3 への H 4 H 9 6 7 5 P 結合エピトープマッピング

抗 I L 3 3 抗体 H 4 H 9 6 7 5 P によって認識されるヒト I L 3 3 のエピトープを決定するために、ヒト I L 3 3 と共複合体形成された抗体について水素 - 重水素 (H / D) 交換研究を行った。実験のために、C 末端ヘキサヒスチジンタグを伴って発現される組換えヒト I L 3 3 (配列番号 3 5 6) を使用した。H / D 交換方法の一般的説明は、E h r i n g e t a l . (1 9 9 9) A n a l y t i c a l B i o c h e m i s t r y 2 6 7 (2) : 2 5 2 - 2 5 9 a n d E n g e n a n d S m i t h (2 0 0 1) A n a l . C h e m . 7 3 : 2 5 6 A - 2 6 5 A に示されている。H / D 交換実験は統合型 Waters H D X / M S プラットフォーム上で行われ、これは重水素標識のための L e a p t e c H D X P A L システム、試料消化および充填のための Waters A c q u i t y M - C l a s s (A u x i l i a r y s o l v e n t m a n a g e r)、分析用カラム勾配のための Waters A c q u i t y M - C l a s s (μ B i n a r y s o l v e n t m a n a g e r)、および消化ペプチド質量測定のための S

ynapt G2 - Si 質量分析計からなる。

【0256】

標識溶液を pD 7.0 (pH 6.6 に相当) の D₂O 中 10 mM PBS 緩衝液で調製した。重水素標識のために、3.8 μL の hIL33-MMH (96 pmol / μL) または 1 : 1 のモル比で抗体と予め混合した hIL33-MMH を、56.2 μL の D₂O 標識溶液とともに様々な時間 (2 分間、10 分間、重水素化されていない対照 = 0 秒間) インキュベートした。50 μL の試料を 100 mM リン酸緩衝液 (pH 2.5) 中の予め冷却した 0.2 M TCEP、6 M グアニジンクロリド (クエンチ緩衝液) 50 μL に移すことによって重水素化をクエンチし、混合試料を 1.0 で 2 時間 インキュベートした。次に、クエンチした試料をオンライン (online) のペプシン/プロテアーゼ X I I I 消化のために Waters HDX Manager に注入した。消化されたペプチドは 0 で ACQUITY UPLC BEH C18 1.7 μm、2.1 x 5 mm Vanguard プレカラム上に捕捉され、5% ~ 40% B (移動相 A : 水中 0.1% ギ酸、移動相 B : アセトニトリル中 0.1% ギ酸) の 9 分間の勾配分離を用いて ACQUITY UPLC BEH C18 1.7-μm、1.0 x 50 mm カラムに溶出した。質量分析計を 37 V のコーン電圧、0.5 秒のスキャン時間、および 50 ~ 1700 Th の質量 / 電荷範囲に設定した。

10

【0257】

hIL33-MMH 由来のペプチドを同定するために、非重水素化試料由来の LC-MS^E データを処理し、Waters ProteinLynx Global Server (PLGS) ソフトウェアにより、ヒト IL33、ペプシン、およびそれらのランダム化配列を含むデータベースに対して検索した。同定されたペプチドを DynamX ソフトウェアにインポートし、2 つの基準 : 1) 1 アミノ酸当たりの最小産物 : 0.3、および 2) 反復ファイル閾値 (replication file threshold) : 3 によりフィルタリングした。次いで、DynamX ソフトウェアにより、複数時点にわたって各時点で 3 回反復しつつ、保持時間および高い質量精度 (< 10 ppm) に基づいて、各ペプチドの重水素取り込みが自動的に決定された。

20

【0258】

MS^E データ取得と組み合わせたオンラインのペプシン/プロテアーゼ X I I I 列を使用して、hIL33-MMH 由来の合計 68 個のペプチドが h4H9675P の非存在下または存在下で同定され、これは 95% の配列対象範囲を表す。H4H9675P に結合した際、11 個のペプチドが重水素の取り込みを有意に減少し (質量中心 (centroid) デルタ値 > 0.4 ダルトン、p 値 < 0.05)、該ペプチドは表 11 に列挙されている。記録されたペプチド質量は、3 回の反復から得られた質量中心 MH⁺ 質量の平均値に対応する。配列番号 349 のアミノ酸 1 ~ 12 および 50 ~ 94 に対応するこれらのペプチドは、H4H9675P の結合によってより遅い重水素化速度を有した。これらの同定された残基はまた、Uniprot entry O95760 (IL33__ヒト; 配列番号 348 も参照のこと) によって定義される、ヒト IL-33 の残基 112 ~ 123 および 161 ~ 205 に対応する。これらのデータは、抗体 H4H9675P の IL-33 中の結合領域を少なくとも部分的に定義する、配列番号 348 のアミノ酸残基 112 ~ 123 および 161 ~ 205、または配列番号 349 のアミノ酸残基 1 ~ 12 および 50 ~ 94 の裏付けを提供する。

30

40

【表 16】

表 11. H4H9675Pに結合した際に重水素化が有意に減少したヒトIL33ペプチド

配列番号 349に 基づく 残基番号	2分間の重水素化			10分間の重水素化		
	IL33 質量中心MH ⁺	IL33+ H4H9675P 質量中心MH ⁺	Δ	IL33 質量中心MH ⁺	IL33+ H4H9675P 質量中心MH ⁺	Δ
1~9	893.43±0.06	891.89±0.02	-1.54	893.60±0.03	892.00±0.08	-1.60
1~10	1023.15±0.06	1021.53±0.05	-1.62	1023.31±0.01	1021.69±0.03	-1.63
1~11	1186.18±0.06	1184.39±0.13	-1.80	1186.43±0.02	1184.61±0.03	-1.82
1~12	1300.27±0.07	1297.88±0.04	-2.39	1300.60±0.03	1298.65±0.01	-1.95
50~61	1458.12±0.06	1456.36±0.00	-1.75	1458.27±0.08	1456.34±0.01	-1.93
52~67	1791.16±0.12	1789.89±0.25	-1.27	1791.20±0.02	1790.27±0.02	-0.93
52~72	2353.80±0.12	2351.27±0.05	-2.53	2353.89±0.03	2351.95±0.10	-1.94
53~70	1945.19±0.10	1944.26±0.07	-0.93	1945.25±0.02	1944.84±0.03	-0.41
53~72	2189.95±0.13	2188.03±0.03	-1.92	2190.02±0.02	2188.58±0.04	-1.44
71~81	1253.89±0.07	1253.08±0.18	-0.81	1254.07±0.02	1253.52±0.16	-0.55
71~94	2815.35±0.05	2814.48±0.00	-0.87	2816.06±0.12	2815.10±0.12	-0.96

10

20

【0259】

実施例 6 : IL-33-、IL-4- および IL-4R - ヒト化マウスを用いたアレルギー誘導性肺炎の 19 週間モデルにおける、IL-33 抗体 (REGN3500) および IL-4R 抗体 (デュピルマブ) の単独または組み合わせの効果

IL-33 抗体単独、IL-4R 抗体単独、または両方の抗体の組み合わせの効果を、マウス IL-33 の代わりにヒト IL-33 の発現に関してホモ接合性であるマウス (IL-33 HumIn マウス; 米国特許公開第 2015/0320021 号および同第 2015/0320022 号を参照のこと) を用いて、上記の実施例 4 で最初に試験した。完全ヒト抗 IL-33 抗体 (REGN3500)、および抗マウス IL-4R 抗体、またはその両方の組み合わせをこのモデルで比較し、結果を実施例 4 に記載した。

30

【0260】

ヒト抗 IL-33 抗体 (REGN3500) もヒト抗 IL-4R 抗体 (デュピルマブ) もそれらのそれぞれのマウス標的タンパク質に結合しないので、マウス IL-33、IL-4、および IL-4R の外部ドメイン (ectodomain) を対応するヒト配列 (IL4ra^{hu}/hu IL4^{hu}/hu IL33^{hu}/hu) で置換した遺伝子改変マウスを生成した。IL4ra^{hu}/hu IL4^{hu}/hu IL33^{hu}/hu マウス系統を、4 週間の HDM 曝露誘導性肺炎モデルを用いて、REGN3500 およびデュピルマブ投与の効果を研究するためのツールとして検証した。このモデルで、好酸球性肺浸潤評価によって評価したところ、HDM 曝露 IL4ra^{hu}/hu IL4^{hu}/hu IL33^{hu}/hu マウスは野生型マウスと同様の免疫応答を示した。

40

【0261】

IL-33 および IL-4/IL-13 経路の同時阻止が、いずれかの経路単独の阻止よりも肺炎に対して大きな影響を及ぼし得るかどうかを決定するために、下記の試験を行った。この研究では、IL4ra^{hu}/hu IL4^{hu}/hu IL33^{hu}/hu マウスを 19 週間にわたり HDM または生理食塩水に鼻腔内 (IN) 曝露した。IL4ra^{hu}/hu IL4^{hu}/hu IL33^{hu}/hu マウスの対照群を 11 週間の HDM 曝露後に犠牲死させ、抗体処置の開始時における疾患の重症度を評価した。19 週間 HDM 曝露マウスは、抗体処置を受けなかったか、または 12 週 ~ 19 週の HDM 曝露中に皮下 (SC) 抗体注射を週 2 回、合計 8 週間および 16 用量受けたかのいずれかであった。以下の

50

抗体を 11 mg / kg の最終タンパク質用量で投与した：(a) 11 mg / kg のアイソタイプ対照抗体、(b) 1 mg / kg の REGN3500 + 10 mg / kg アイソタイプ対照抗体 (c) 10 mg / kg のデュピルマブ + 1 mg / kg のアイソタイプ対照抗体、または (d) 1 mg / kg の REGN3500 + 10 mg / kg のデュピルマブ。HDM 曝露マウスに対する REGN3500 およびデュピルマブ処置の単独または組み合わせの効果を、以下の気道炎症の病理学的マーカーについて評価した：

- 肉眼病変 (相対肺重量)

- 1 型炎症性細胞 (好中球、好中球マーカーミエロペルオキシダーゼ [M P O] の肺タンパク質レベルによって定量化) および 2 型炎症性細胞 (全ての活性化 [C D 1 1 c ^{H i}] 好酸球および S T 2 ⁺ C D 4 ⁺ T 細胞による肺組織浸潤、フローサイトメトリーによって定量化) による肺組織浸潤

- 炎症性サイトカイン肺タンパク質レベル (ヒト I L - 4 およびマウス I L - 5、I L - 6、I L - 1、T N F、I F N、G R O、および M C P - 1、イムノアッセイにより定量化)

- 炎症の全身性マーカーである血清アミロイド A [S A A] タンパク質の循環レベル (イムノアッセイにより定量化)

【 0 2 6 2 】

材料および方法

試験システム

I L - 3 3、I L - 4、および I L - 4 R 外部ドメインヒト化マウス

REGN3500 もデュピルマブも、それぞれマウス I L - 3 3 またはマウス I L - 4 R に結合しない。したがって、REGN3500 およびデュピルマブを協同しておよび組み合わせて試験するために、マウス I L - 3 3、I L - 4、および I L - 4 R の外部ドメインを対応するヒト配列 (I l 4 r a ^{h u} / ^{h u} I l 4 ^{h u} / ^{h u} I l 3 3 ^{h u} / ^{h u}) で置換した遺伝子改変マウスを生成した。この三重ヒト化マウス系統は、Regeneron Pharmaceuticals の VelociGene (登録商標) 技術 (Valenzuela, DM, et al. Nat Biotechnol. (2003), Jun; 21 (6): 652 - 9, Poueymirou, WT, et al. Nat Biotechnol. (2007) Jan; 25 (1): 91 - 9) を用いて、上記で特徴付けした I L - 4 / I L - 4 R 外部ドメイン - ヒト化マウス系統 I l 4 r a ^{h u} / ^{h u} I l 4 ^{h u} / ^{h u} と上記で特徴付けした I L - 3 3 - ヒト化株 I l 3 3 ^{h u} / ^{h u} とを交配することにより生成した。

【 0 2 6 3 】

肺炎症マウスモデル

マウス肺炎症モデルは、イエダニアレルゲンの供給源として作用する HDM 抽出物 (Johnson, et al.; American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine; (2004) Feb 1; 169 (3): 378 - 85), a significant cause of indoor allergy in humans (Calderon, et al., (2015), Respiratory allergy caused by house dust mites: What do we really know? J Allergy Clin Immunol. 2015 Jul; 136 (1): 38 - 48)) への反復鼻腔内 (I N) 曝露を用いた。HDM への慢性的な曝露は、重度の肺細胞浸潤、サイトカイン発現、およびリモデリングをもたらす重度の肺炎症を誘導すると報告されている。特に、HDM に慢性的に曝露されたマウスは、1 型および 2 型炎症細胞 (それぞれ好中球および好酸球) による組織浸潤などの混合 1 型 / 2 型表現型の肺炎症、血清 I g E の増加、血清 HDM 特異的 I g G 1 の増加、ならびに I L - 5 および I L - 1 3 などの 2 型炎症性サイトカインの誘導を示す (Johnson, et al. (2004), American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine; Feb 1; 169 (3): 37

10

20

30

40

50

8 - 85 ; Johnson , et al . (2011) . P l o s O N E . J a n 20 ; 6 (1) : e 1 6 1 7 5 ; L l o p - G u e v a r a , et al . , (2008) , P l o s O N E , J u n 11 ; 3 (6) : e 2 4 2 6) 。

【 0 2 6 4 】

実験計画

4 週間の H D M 曝露誘導性肺炎モデル

表 1 2 に示される遺伝子型の雌マウスを、遺伝子型当たりそれぞれ 2 つの群に無作為に分けた。20 μ L の生理食塩水溶液で希釈した生理食塩水 (20 μ L) または 50 μ g の H D M を、週当たり 3 回、4 週間 I N 投与した。全てのマウス系統は混合 C 5 7 B L / 6 N T a c / 1 2 9 S 6 S v E v T a c バックグラウンドであった。最後の曝露から 4 日後にマウスを犠牲死させ、肺を採取し、好酸球性肺浸潤を決定した。

【表 1 7】

表 1 2 : 4 週間 H D M モデルの実験プロトコル

群	遺伝子型	N	曝露試薬	曝露期間 (週間)
A	野生型	3	20 μ L 生理食塩水	4
B	野生型	5	50 μ g H D M	4
C	I133 ^{hu/hu}	5	20 μ L 生理食塩水	4
D	I133 ^{hu/hu}	5	50 μ g H D M	4
E	I14ra ^{hu/hu}	5	20 μ L 生理食塩水	4
F	I14ra ^{hu/hu}	5	50 μ g H D M	4
G	I14ra ^{hu/hu} I14 ^{hu/hu}	5	20 μ L 生理食塩水	4
H	I14ra ^{hu/hu} I14 ^{hu/hu}	5	50 μ g H D M	4
I	I14ra ^{hu/hu} I14 ^{hu/hu} I133 ^{hu/hu}	4	20 μ L 生理食塩水	4
J	I14ra ^{hu/hu} I14 ^{hu/hu} I133 ^{hu/hu}	5	50 μ g H D M	4

野生型=C 5 7 B L / 6 N T a c / 1 2 9 S 6 S v E v T a c

【 0 2 6 5 】

1 9 週間の H D M 曝露誘導肺炎モデル

この研究で使用した I 1 4 r a ^{h u / h u} I 1 4 ^{h u / h u} I 1 3 3 ^{h u / h u} マウスは混合バックグラウンド C 5 7 B L / 6 N T a c (7 2 %) / 1 2 9 S 6 S v E v T a c (2 8 %) であり、雌マウスを 7 つの別々の群に無作為に分けた。各群のマウスの H D M 曝露および処置または対照投与プロトコルは表 1 3 に示される。20 μ L の生理食塩水溶液で希釈した生理食塩水 (20 μ L) または 50 μ g の H D M を、週当たり 3 回、1 9 週間 I N 投与した。I 1 4 r a ^{h u / h u} I 1 4 ^{h u / h u} I 1 3 3 ^{h u / h u} マウスの対照群を 1 1 週間の H D M 曝露後に犠牲死させ、抗体処置の開始時の疾患重症度を評価した。表 1 3 に示されるように、1 9 週間 H D M 曝露マウスは、抗体処置を受けなかったか、または 1 2 週 ~ 1 9 週の間 H D M 曝露の皮下 (S C) 注射を週 2 回、合計 1 6 回の抗体用量を受けたかのいずれかであった。簡潔に述べると、以下の抗体を 1 1 m g / k g の最終タンパク質用量で投与した：1 1 m g / k g のアイソタイプ対照抗体 (群 D) 、1 m g / k g の R E G N 3 5 0 0 + 1 0 m g / k g のアイソタイプ対照抗体 (群 E) 、1 0 m g / k g のデュピルマブ + 1 m g / k g のアイソタイプ対照抗体 (群 F) 、または 1 m g / k g の R E G N 3 5 0 0 + 1 0 m g / k g のデュピルマブ (群 G) 。この文書の目的のためには、二重の抗体処置群 (D ~ G) は治療用抗体 (R E G N 3 5 0 0 および / またはデュピルマブ) によってのみ同定される。最後の I N 曝露および抗体注射の 4 日後である研究の 1 3 4 日目に、全てのマウスを犠牲死させ、心臓穿刺により血液を採取し、分析のために肺を採取した。

【表 18】

表13：19週間HDMモデルの実験プロトコル

群	数	曝露試薬	曝露期間 (週間)	抗体投与	抗体用量 (mg/kg)
A	5	20 μ L 生理食塩水	19	なし	なし
B	9	50 μ g HDM	11	なし	なし
C	9	50 μ g HDM	19	なし	なし
D	9	50 μ g HDM	19	IgG4 ^P 対照	11
E	7	50 μ g HDM	19	REGN3500+ IgG4 ^P 対照	1+10
F	8	50 μ g HDM	19	デュピルマブ+ IgG4 ^P 対照	10+1
G	8	50 μ g HDM	19	REGN3500+ デュピルマブ	1+10

IgG4^P対照=アイソタイプ適合対照抗体、REGN1945。

【0266】

マウスの管理

各実験の全期間について、動物を標準条件下でRegeneron動物施設に収容したままとし、研究に供する前に少なくとも7日間馴化させた。全ての動物実験は、Regeneronの施設内動物管理使用委員会のガイドラインに従って実施した。

【0267】

特定手順

相対肺重量測定

犠牲死の前に終末体重測定値を記録した。放血後、各マウスの左肺を取り出し、4%パラホルムアルデヒド溶液を含有する管に入れた。各マウスの左肺の湿重量をMettler Toledo New Classic MSスケールで記録した。相対肺重量を決定するために、肺湿重量を体重で割ることにより体重(g)に対する肺湿重量(mg)の比を計算した。

【0268】

細胞肺浸潤物の分析

放血後、各マウスから右肺の尾葉を取り出し、ハンクス平衡塩類溶液(HBSS)中で希釈した20 μ g/mLのDNase Iおよび0.7 U/mLのLiberase THの溶液を含有する管に入れ、約2~3mmのサイズの小片に切った。次いで、小さく角切りにした肺葉を含有する管を37℃の水浴中で20分間インキュベートした。エチレンジアミン四酢酸(EDTA)を最終濃度10 mMで加えることによって反応を停止させた。次いで、試料をgentleMACS C管に移した。次いで、2 mLのautoMACS緩衝液を加え、続いてgentleMACS(商標)破碎装置(Miltenyi Biotec)を使用して試料を破碎し、単一細胞懸濁液を形成した。次いで、管を遠心分離し、得られたペレットを4 mLの1x赤血球溶解緩衝液中で再懸濁化して、赤血球を溶解した。室温で3分間インキュベートした後、2.5倍体積の1xDPBSを加えて赤血球溶解緩衝液を不活化した。次いで、細胞懸濁液を遠心分離し、得られた細胞ペレットを1 mLのDPBSに再懸濁化した。再懸濁化した試料をそれぞれ50 μ mカップ型フィルコンを通して濾過し、2 mLのディープウェルプレートに移した。プレートを400 x gで4分間遠心分離し、各試料を1 mLのDPBS中で再懸濁化した。1ウェル当たり約1.5 x 10⁶細胞を96ウェルU底プレートでプレーティングした。次いで細胞を遠心分離し、細胞ペレットを1xDPBS中1:500に希釈した100 μ LのLIVE/DEAD Fixable Dead Cell Stainに再懸濁化して、細胞生存率を決

定した。遮光しながら、細胞を生存性色素 (viability dye) とともに室温で15分間インキュベートした。1×DPBS中で1回洗浄した後、細胞を50µLのautoMACS緩衝液中で1:50に希釈した精製ラット抗マウスCD16/CD32Fc Blockとともに4℃で15分間インキュベートした。次いで、細胞を、遮光しながら、Brilliant Stain緩衝液(表14に記載)で希釈した適切な2×抗体混合物中で4℃で30分間インキュベートした。抗体のインキュベーション後、細胞をautoMACS緩衝液中で2回洗浄し、1×DPBS中1:4に希釈したBD Cyt oFix中に再懸濁化し、次いで遮光しながら4℃で15分間インキュベートした。続いて細胞を洗浄し、autoMACS緩衝液に再懸濁化した。次いで細胞懸濁液を、AcroPrep Advance 96フィルタープレート30~40µmを通して新しいU底プレートに濾過した。試料データは、HTSアタッチメント(BD Biosciences)を用いてLSR Fortessa X-20細胞分析器で取得した。Flow Jo Xソフトウェア(Tree Star, OR)を用いてデータ分析を行い、GraphPad Prism(商標)(GraphPadソフトウェア、CA)を用いて統計分析を行った。

10

【0269】

好酸球のゲーティング(Gating)戦略(総活性化)

好酸球を無傷の、単一の、生きている細胞(低LIVE/DEAD生存性色素シグナル)CD45⁺、F4/80⁺、Ly6G⁻、SiglecF⁺として定義した。好酸球についてのデータを生きている細胞の頻度として表した。好酸球集団内において、活性化好酸球を無傷の、単一の、生きているCD45⁺、F4/80⁺、Ly6G⁻、SiglecF⁺、CD11c^{Hi}として定義し、全好酸球の頻度として表した。

20

【0270】

ST2⁺CD4⁺T細胞に対するゲーティング戦略

ST2⁺CD4⁺T細胞を無傷の、単一の、生きているCD45⁺、CD3⁺、CD19⁻、CD4⁺、CD8⁻、ST2⁺として定義した。ST2⁺CD4⁺T細胞についてのデータをCD4⁺T細胞(無傷の、単一の、生きているCD45⁺、CD3⁺、CD19⁻、CD4⁺、CD8⁻)の頻度として表した。

【表 19】

表 14 : フローサイトメトリー分析に使用される抗体

抗体	蛍光色素	製造業者	カタログ番号	ロット番号	最終希釈
混合 1 : 全ての活性化好酸球					
CD45	Alexa Fluor700	BioLegend	103128	B191240/ B211311	1/200
Siglec-F	BV421	BD	562681	4234913/ 6007723	1/200
F4/80	PE	BD	565410	5168713/ 5257914	1/500
Ly6G	BUV395	BD	563978	5156800/ 7103737	1/200
CD11c	PerCP-Cy5.5	BD	560584	5148566/ 7074758	1/200
混合 2 : ST2 ⁺ CD4 ⁺ T細胞					
CD45	Alexa Fluor700	BioLegend	103128	B211311	1/200
CD19	BUV737	BD	564296	6315651	1/200
ST2	PerCP-eFluor710	eBioscience	H6-9335-82	E17254-105	1/200
CD3	PE-Cy7	BD	552774	7074769	1/200
CD8	BUV395	BD	563786	6245983	1/200
CD4	BV786	BD	563331	7075503	1/200

10

20

【0271】

肺タンパク質濃度の測定

放血後、各マウスから右肺の前葉および中葉を取り出し、秤量し、プロテアーゼ阻害剤カクテルを補充した組織タンパク質抽出試薬 (T-PER) の溶液を含有する管に入れた。最終の 1 : 8 (w/v) 肺組織重量対 T-PER 体積比を達成するために、組織 1 mg 当たり 8 μ L の T-PER 溶液 (プロテアーゼ阻害剤カクテルを含有する) を加えた。肺試料を Tissue Lysers II を用いて機械的にホモジナイズした。得られた溶解物を遠心分離して細片をペレット化した。可溶性タンパク質抽出物を含有する上清を新しい管に移し、さらなる分析まで 4 で保存した。サイトカインおよび MPO 濃度を調べた葉当たりのタンパク質の総量 (それぞれ ng / 肺葉および μ g / 肺葉) として表した。

30

【0272】

サイトカインマルチプレックスイムノアッセイ

肺タンパク質抽出物中のマウスサイトカイン (IL-5、IL-13、IL-6、IL-1、IL-12p70、TNF、IFN、GRO、および MCP-1) 濃度を、マルチプレックスイムノアッセイキット (カスタムマウス 10-プレックス、MSD) を使用して製造業者の指示に従って測定した。簡潔に述べると、肺ホモジネート試料を希釈し、捕捉抗体でプレコーティングしたプレート上でインキュベートした。製造業者によって提供されたタンパク質較正物質を標準として使用した。ホモジネート中のサイトカインを、Read Buffer とともにインキュベートしたタグを有する検出抗体によって検出した。電気化学発光を直ちに MSD Spectro (登録商標) 機器で読み取った。GraphPad Prism ソフトウェアを用いて、データ分析を行った。各アッセイの線形範囲内の標準の最低濃度は、それぞれのサイトカインについてのアッセイの定量化下限 (LLOQ) として定義した。試験した個々のサイトカインの LLOQ 値は以下の通りであった: IIFN = 0.2 pg/mL、IL-1 = 1.6 pg/mL、IL-5 = 0.2 pg/mL、IL-6 = 1.4 pg/mL、IL-12p70 = 125.8

40

50

pg/mL、IL-13 = 24.4 pg/mL、GRO : 0.5 pg/mL、MCP-1 = 9.8 pg/mL、TNF = 2.4 pg/mL。

【0273】

ヒトIL-4 ELISA

肺タンパク質抽出物中のヒトIL-4濃度を、サンドイッチELISAキットを使用して製造業者の指示に従って測定した(Human IL-4 Quantikine ELISA、R&D Systems)。簡潔に述べると、肺ホモジネートを希釈し、抗ヒトIL-4捕捉抗体でプレコーティングした96ウェルプレート上でインキュベートした。精製ヒトIL-4を標準として使用した。捕捉されたヒトIL-4は、HRPコンジュゲート抗ヒトIL-4検出抗体を用いて検出された。HRP活性をクロマゲン3,3',5,5'-テトラメチルベンジジン(TMB)を使用して検出した。次いで停止溶液を加え、450nmでの光学密度(OD₄₅₀)をMolecular Devices SpectraMax M5プレートリーダーで測定した。GraphPad Prismソフトウェアを用いて、データ分析を行った。アッセイの線形範囲内の標準の最低濃度は、アッセイのLLOQ = 31.25 pg/mLとして定義した。

10

【0274】

MPO ELISA

肺タンパク質抽出物中のMPO濃度は、サンドイッチELISAキットを使用して製造業者の指示に従って測定した(マウスMPO ELISA キット、Hycult Biotech)。簡潔に述べると、肺ホモジネートを希釈し、抗MPO捕捉抗体でプレコーティングした96ウェルプレート上でインキュベートした。精製マウスMPOを標準として使用した。捕捉されたMPOをビオチン化抗マウスMPO検出抗体を用いて検出した。精製HRP結合ストレプトアビジンを用いて、ビオチン化抗マウスMPOを検出した。HRP活性をクロマゲン3,3',5,5'-テトラメチルベンジジン(TMB)を用いて検出した。次いで停止溶液を加え、450nmでの光学密度(OD₄₅₀)をMolecular Devices SpectraMax M5プレートリーダーで測定した。GraphPad Prismソフトウェアを用いて、データ分析を行った。アッセイの線形範囲内の標準の最低濃度は、アッセイのLLOQ = 156.3 ng/mLとして定義した。

20

【0275】

血清採取

試験終了時に心臓穿刺により、全血をMicrotainer管に採取した。室温で少なくとも30分間静置することにより、血液を凝固させた。凝固した血液および細胞を、4で10分間、18,000xgで遠心分離することによりペレット化した。血清と呼ばれる得られた上清を清潔なポリプロピレンプレートに移し、下記のように循環抗体レベルを決定するために使用した。

30

【0276】

ELISAによる血清中のSAAレベルの決定

各マウスの血清試料中の総SAA濃度は、市販のイムノアッセイ(Quantikine ELISA、R&D Systems)を使用して製造業者の指示書に従って決定した。簡潔に述べると、血清試料を希釈し、モノクローナル抗マウスSAA捕捉抗体で事前にコーティングした96ウェルプレート上でインキュベートした。組換えマウスSAAを標準として使用した。捕捉されたSAAは、HRP結合ポリクローナル抗マウスSAA検出抗体を用いて検出された。比色HRP基質TMBを用いて、HRP活性を検出した。次いで希塩酸の停止溶液を添加え、OD₄₅₀をMolecular Devices SpectraMax M5プレートリーダーで測定した。各試料について血清中の循環SAAの濃度をng/mLとして決定し、μg/mLとしてグラフ化した。GraphPad Prismソフトウェアを用いて、データ分析を行った。アッセイの線形範囲内の標準の最低濃度は、アッセイのLLOQ = 31.2 ng/mLとして定義した。

40

【0277】

50

E L I S Aによる血清 I g E濃度の決定

各マウスの血清試料中の総 I g E濃度は、比色サンドイッチ E L I S A O P T E I A キットを使用して製造業者の指示に従って決定した。簡潔に述べると、血清試料を希釈し、抗 I g E 捕捉抗体で事前にコーティングした 96 ウェルプレート上でインキュベートした。精製マウス I g E を標準として使用した。捕捉された I g E をビオチン化抗マウス I g E 検出抗体を用いて検出した。精製 H R P 結合ストレプトアビジンを用いてビオチン化抗マウス I g E を検出した。T M B を用いて H R P 活性を検出した。次いで 2 N 硫酸の停止溶液を加え、O D₄₅₀ を M o l e c u l a r D e v i c e s S p e c t r a M a x M 5 プレートリーダーで測定した。各試料の血清中の循環 I g E の濃度は $\mu\text{g}/\text{mL}$ として表した。データ分析を G r a p h P a d P r i s m ソフトウェアを用いて行った。アッセイの線形範囲内の標準の最低濃度は、アッセイの L L O Q = 78.15 ng/mL として定義した。

10

【0278】

E L I S Aによる血清 H D M 特異的 I g G 1 レベルの測定

血清試料中の H D M 特異的 I g G 1 のレベルを決定するために、比色 E L I S A アッセイを開発した。プレートを、4 で一晚、 $4\ \mu\text{g}/\text{mL}$ 濃度のリン酸緩衝食塩水 (P B S) 中の H D M でコーティングし、洗浄し、室温で 1 時間 P B S 中 0.5% B S A の溶液で阻止し、段階希釈したマウス血清試料とともにインキュベートした。室温で 1 時間後、プレートを洗浄し、プレート上で捕捉された I g G 1 抗体を、ラット抗マウス I g G 1 H R P 結合抗体とともに室温で 1 時間インキュベートすることによって検出した。T M B を用いて H R P 活性を検出した。次いで、2 N 硫酸の停止溶液を加え、O D₄₅₀ を M o l e c u l a r D e v i c e s S p e c t r a M a x M 5 プレートリーダーで測定した。血清中の I g G 1 の相対レベルを力価単位として表した。力価単位は、測定された O D₄₅₀ に、バックグラウンド O D₄₅₀ の 2 倍を超える O D₄₅₀ の読み取りを達成するのに必要な希釈係数を掛けることによって計算した。データ分析を G r a p h P a d P r i s m ソフトウェアを用いて行った。アッセイに使用された最低希釈係数は、アッセイの L L O Q = 100 として定義した。

20

【0279】

E L I S Aによるヒト標的特異的 I g G 4 抗体レベルの決定

各マウスの血清試料中のヒト抗体 (R E G N 3500、デュピルマブ、または I g G 4^P アイソタイプ対照) の濃度を、ヒト I g G 4 抗体を検出するために開発された比色サンドイッチ E L I S A を用いて決定した。マイクロタイターウェルを、測定されるヒト抗体に特異的な抗原、すなわち R E G N 3500 を捕捉するためのヒト I L - 33 (R E G N 3931)、R E G N 668 を捕捉するためのヒト I L - 4 R (R E G N 560)、R E G N 1945 を捕捉するための N a t u r a l F e l d 1 により、 $2\ \mu\text{g}/\text{mL}$ の濃度で 4 で一晚 P B S 中でコーティングした。ウェルを D P B S 中 0.05% T w e e n 20 で 4 回洗浄し、D P B S 中 5% B S A の溶液で室温で 3 時間阻止し、段階希釈したマウス血清試料または段階希釈した較正用標準物とともにインキュベートした。精製抗体 (R E G N 3500、R E G N 668、および I g G 4^P 対照抗体) を、血清中のそれぞれの抗体濃度の較正および定量化のための標準として使用した。室温で 1 時間後、プレートを 7 回洗浄し、プレート上に捕捉されたヒト I g G 4 をビオチン化マウス抗ヒト I g G 4 特異的モノクローナル抗体を用いて検出し、続いてポリ H R P ストレプトアビジン複合体とともにインキュベートした。T M B 基質を使用して製造業者の指示書に従って、H R P 活性を検出した。10 分後、M o l e c u l a r D e v i c e s S p e c t r a M a x マルチモードプレートリーダーを用いて吸光度を 450 nm で測定した。較正に使用される最低濃度 ($0.002\ \mu\text{g}/\text{mL}$) の標準 (R E G N 3500、R E G N 668、または I g G 4^P 対照抗体) は、このアッセイの L L O Q として定義した。G r a p h P a d P r i s m (商標) (G r a p h P a d S o f t w a r e、C A) を用いてデータ分析を行った。各試料の血清中のヒト抗体の濃度を $\mu\text{g}/\text{mL}$ として表した。

30

40

【0280】

50

統計分析

GraphPad Prismバージョン7.0 (GraphPad Software, CA)を用いて統計分析を行った。

【0281】

4週間のHDM曝露モデルにおけるIL-33、IL-4、およびIL-4R ヒト化マウスの特性評価からのデータの統計分析

二元配置分散分析 (ANOVA) に続いて多重比較のためのチューキーの事後検定によって、結果を解釈した。p 0.05の場合、差異は統計的に有意であるとみなした。

【0282】

19週間のHDM曝露誘導肺炎モデルにおけるREGN3500/デュピルマブ処置からのデータの統計分析

データの正規性をシャピロ・ウィルク検定を使用して評価した。データが正規性検定に合格し、異なる群の標準偏差がブラウン・フォーサイス検定により評価したときに互いに統計的に異ならなかった場合において、一元配置分散分析により、続いて多重比較のチューキーの事後検定により、結果を解釈した。データが正規性検定に合格しなかった場合または標準偏差が有意に異なっていた場合には、クラスカル・ウォリス検定、続いてダンの多重比較検定を使用して、結果を解釈した。p 0.05の場合、差異は統計的に有意であるとみなした。

【0283】

結果

IL-33、IL-4、およびIL-4R 外部ドメインヒト化マウスの特性評価

野生型マウス、IL33^{hu/hu} - およびIL4ra^{hu/hu} 単一ヒト化マウス、IL4ra^{hu/hu} IL4^{hu/hu} 二重ヒト化マウス、およびIL4ra^{hu/hu} IL4^{hu/hu} IL33^{hu/hu} 三重ヒト化マウスを、生理食塩水またはHDMに週当たり3回、4週間IN曝露した。最後の曝露から4日後にマウスを犠牲死させ、肺を採取して、高CD11c発現によって同定された活性化好酸球による肺浸潤を評価した。個々のマウスデータおよび統計的分析は図2に提供される。三重ヒト化IL4ra^{hu/hu} IL4^{hu/hu} IL33^{hu/hu} マウスは、4週間のHDM曝露後の肺組織における活性化好酸球の頻度の有意な増加によって示されるように、野生型マウスと同様、HDMに強い反応を示した。IL4ra^{hu/hu} IL4^{hu/hu} IL33^{hu/hu} マウスおよび野生型マウスはまた、HDM曝露非存在下 (生理食塩水曝露対照マウス) での肺組織における活性化好酸球と同様の頻度を示した。IL4ra^{hu/hu} 単一ヒト化マウスを除いて、HDM曝露野生型マウスと、試験されたヒト化マウスシステムのいずれかに由来するHDM曝露マウスと、を比較して、統計学的な有意差は観察されなかった。IL4ra^{hu/hu} マウスの活性化好酸球性肺浸潤の割合において統計的に有意なHDM曝露誘導性の増加がないということは、マウスIL-4がヒトIL-4R 受容体を介してシグナル伝達しないという事実に起因すると思われる。一方、ヒトIL-33は、マウス受容体複合体 (REGN3500-MX-16069) を介してシグナル伝達することが示されている。さらに、生理食塩水曝露野生型マウスと、試験されたヒト化マウスシステムのいずれかに由来する生理食塩水曝露マウスと、を比較しても、統計的有意差は観察されなかった。これらの知見は、IL4ra^{hu/hu} IL4^{hu/hu} IL33^{hu/hu} マウスシステムをHDM曝露誘導性肺炎のマウスモデルとして使用することの有効性を確認するものである。

【0284】

19週間のHDM曝露マウスにおけるREGN3500およびデュピルマブ処置の効果

IL4ra^{hu/hu} IL4^{hu/hu} IL33^{hu/hu} マウスを、週当たり3回、11週間または19週間にわたり生理食塩水またはHDMにIN曝露した。19週間のHDM曝露マウスの4つの群について、12週~19週の間週2回のSC注射を行い、他の全ての群は処置を受けなかった (なし、淡灰色囲い)。以下のように、抗体を単独でまたは組み合わせて11mg/kgの最終タンパク質用量で投与した: 11mg/kgのア

10

20

30

40

50

イソタイプ対照抗体、1 mg / kg の REGN3500 + 10 mg / kg のアイソタイプ対照抗体、10 mg / kg のデュピルマブ + 1 mg / kg のアイソタイプ対照抗体、または 1 mg / kg の REGN3500 + 10 mg / kg のデュピルマブ。11 週間の曝露後に 1 コホートのマウスを犠牲死させ (11 週間曝露群)、抗体処置の開始時の炎症プロファイルを設定した。最後の曝露および抗体注射の 4 日後である 134 日目 (19 週間曝露群) に、他の 4 つのコホートを犠牲死させた。血清单離のために全血を心臓穿刺によって採取し、肺をさらなる分析のために採取した。特に注記しない限り、全ての群は同じ系統のマウス (I14ra^{hu} / hu I14^{hu} / hu I133^{hu} / hu) を含むものであった。

【0285】

肉眼肺病変の分析

相対肺重量は、生理食塩水曝露対照マウスと比較して、19 週間の HDM 曝露マウスにおいて有意に増加した (図 3)。これはおそらく、細胞浸潤、コラーゲン沈着、筋肥大、および粘液産生の増加によると思われる。HDM 曝露マウスにおいて、REGN3500 およびデュピルマブの組み合わせ投与は、アイソタイプ対照抗体を投与したマウスと比較して、HDM 曝露誘導性の相対肺重量増加を有意に阻止した (図 3)。相対肺重量の減少傾向は、REGN3500 単独で投与した HDM 曝露マウスでも観察された。

【0286】

肺細胞浸潤物の分析

最後の抗体注射の 4 日後にマウスの肺を採取し、好酸球のフローサイトメトリー分析のために、右肺の尾葉を破碎して単一細胞懸濁液とした。好酸球を無傷の、単一の、生きている CD45⁺、F4/80⁺、Ly6G⁻、SiglecF⁺ と定義し、活性化好酸球を CD11c^{Hi} とさらに定義した。活性化好酸球による肺浸潤は、(A) における総肺好酸球の頻度 (%) として報告され、総肺好酸球浸潤は、生 (無傷、単一、生きている) 細胞における総肺好酸球の頻度 (%) として報告された。

総活性化肺好酸球 (図 4 A および 4 B) および肺 ST2⁺ CD4⁺ T 細胞 (ST2⁺ CD4⁺ T 細胞は無傷、単一、生きている CD45⁺、CD3⁺、CD19⁻、CD4⁺、CD8⁻、ST2⁺ と定義され、CD4⁺ T 細胞の頻度として報告した) (図 5) を検出するためのフローサイトメトリーによって測定した際に、または好中球のマーカーとしての肺 MPO タンパク質レベルを検出するためのイムノアッセイによって評価した (MPO タンパク質レベルは酵素結合免疫吸着検定法により測定した) 際に、生理食塩水曝露対照マウスと比較して、19 週間の HDM 曝露により、細胞肺浸潤は有意に増加した。肺 MPO タンパク質レベルは、肺葉当たりの MPO タンパク質量 (μg) として表される (図 6)。

【0287】

いずれかの抗体単独の投与でなく、19 週間の HDM 曝露マウスにおける REGN3500 およびデュピルマブの組み合わせ投与は、アイソタイプ対照抗体の投与と比較して、活性化好酸球による肺浸潤のレベルを有意に低下させた。特に、REGN3500 およびデュピルマブを組み合わせ投与したマウスにおける活性化好酸球による肺浸潤のレベルはまた、11 週間の HDM 曝露誘導レベルと比較して有意に減少し、このレベルは処置の開始に対応する (図 4 A)。いずれかの抗体単独の投与は有意な効果をもたらさなかったが、活性化好酸球による肺浸潤の減少傾向がデュピルマブ投与マウスで観察された。REGN3500 およびデュピルマブを組み合わせ投与した HDM 曝露マウスもまた、総好酸球による HDM 誘導性肺浸潤の減少傾向を示した (図 4 B)。

【0288】

REGN3500 を単独でまたはデュピルマブと組み合わせ投与された 19 週間の HDM 曝露マウスでは、ST2⁺ CD4⁺ T 細胞による肺浸潤のレベルが、アイソタイプ対照投与マウスのレベルと比較して、および処置開始時における 11 週間の HDM 曝露誘導性のレベルと比較して、有意に低下した (図 5)。同様の浸潤阻止 (1.02 倍以内の平均頻度) が REGN3500 単独およびデュピルマブとの組み合わせで観察され、この病

10

20

30

40

50

変は主に I L - 3 3 によって引き起こされることを示している。

【 0 2 8 9 】

好酸球浸潤と同様に、REGN3500 およびデュピルマブの組み合わせ投与は、いずれかの抗体単独よりも好中球肺浸潤の阻止について強い効果を示した。好中球浸潤のマーカーであるミエロペルオキシダーゼ (MPO) の肺タンパク質レベルのHDM曝露誘導性の増加は、アイトタイプ対照と比較して、REGN3500 とデュピルマブの組み合わせ投与によって有意に阻止された (図6)。いずれかの抗体を単独で投与しても有意な効果はもたらさなかったが、REGN3500 投与マウスでは肺MPOタンパク質レベルの低下傾向が観察された。

【 0 2 9 0 】

肺組織サイトカインレベル分析

肺タンパク質レベル (葉当たりの総タンパク質) に対するHDM曝露および抗体処置の効果を、マウスサイトカイン I L - 5、I L - 1 3、I L - 6、I L - 1、I L - 1 2 p 7 0、T N F、I F N、G R O、およびM C P - 1、ならびにヒトサイトカイン h I L - 4 について評価した。

【 0 2 9 1 】

肺 (右肺の前葉および中葉) を採取し、示されたマウスサイトカインのタンパク質レベルをマルチプレックスイムノアッセイにより測定した。市販のE L I S A キットを用いて、ヒト I L - 4 タンパク質レベル (h I L - 4) を検出した。I L - 5 (図7A) および I L - 6 (図7B) タンパク質レベルをマルチプレックスイムノアッセイにより測定した。肺組織サイトカインタンパク質レベルを肺葉当たりのタンパク量 (p g) として計算した。淡黄色から濃青色までの範囲の相対サイトカインを示すために、偽色ヒートマップ (ここでは示していない) を生成した。相対肺サイトカインレベルの尺度は、各別のサイトカインについての平均肺タンパク質レベルの最低記録および最高記録をそれぞれ、0 % (淡黄色) および 1 0 0 % (濃青色) と定義することによって作成した。相対的肺サイトカインタンパク質レベル (%) をヒートマップにおいて数値および色で示した。統計的有意性は、ダンの多重比較事後検定を用いたクラスカル・ウォリスの一元配置分散分析によって決定された。

【 0 2 9 2 】

I L - 1 2 p 7 0 の結果は、全てのグループで定量化下限を下回っており、したがってここでは報告しない。

【 0 2 9 3 】

8つのサイトカイン (h I L - 4、I L - 5、I L - 6、I L - 1 3、I L - 1、T N F、G R O、およびM C P - 1) は、生理食塩水曝露対照マウスと比較して、19週間のHDM曝露に应答した肺タンパク質レベルの有意な増加を示した。I F N のみが、生理食塩水曝露対照マウスと比較して、19週間のHDM曝露に应答した肺タンパク質レベルの有意な増加を示さず、I F N レベルも、アイトタイプ対照抗体を投与した19週間のHDM曝露マウスと比較して、治療用抗体の投与により影響を受けなかった。5つのサイトカイン (h I L - 4、I L - 6、T N F、G R O、およびM C P - 1) の肺タンパク質レベルのHDM曝露誘導による増加は、アイトタイプ対照抗体投与マウスと比較して、REGN3500 およびデュピルマブの組み合わせ投与によって有意に阻止されたが、いずれかの抗体単独の投与では阻止されなかった。

【 0 2 9 4 】

別の2つのHDM曝露应答性サイトカイン (I L - 5 および I L - 1) は、アイトタイプ対照抗体投与マウスと比較して、REGN3500 およびデュピルマブの組み合わせ処置による阻止の傾向を示し、それぞれ 8 3 % および 7 8 % の肺タンパク質レベルの低下があった (図7A および 7 B)。個々の抗体の投与は、I L - 5 および I L - 1 レベルの減少があまり顕著ではない傾向をもたらした。

【 0 2 9 5 】

炎症の全身性マーカー S A A の分析

10

20

30

40

50

最後の曝露および抗体注射の4日後に、全血を心臓穿刺によって採取し、血清を単離した。循環S A Aタンパク質レベルを市販のE L I S Aキットを用いて測定した。循環S A Aタンパク質レベルは、血清1 m L当たりのS A Aタンパク質量(μ g)として表される。全身性炎症S A Aマーカーの循環タンパク質レベルは、生理食塩水曝露対照マウスと比較して、19週間のH D M曝露マウスでは有意に増加した(図8)。

【0296】

循環S A AレベルのH D M曝露誘導による増加は、R E G N 3 5 0 0を単独でまたはデュピルマブと組み合わせて投与したマウスでは有意に低下したが(図8)、デュピルマブ単独投与マウスでは循環S A Aレベルの減少傾向が観察された。

【0297】

H D M曝露後の体液性アレルギー反応の定量化

最後の曝露および抗体注射の4日後に、全血を心臓穿刺によって採取し、血清を単離した。循環I g Eタンパク質レベルを市販のE L I S Aキットを用いて測定した。循環I g Eタンパク質レベルは、血清1 m L当たりのI g Eタンパク質量(μ g)として表される。

【0298】

研究終了時(134日目)における循環I g E(図9)およびH D M特異的I g G 1(表15)のレベルによって評価されるように、体液性アレルギー反応はH D M曝露によって誘発された。

【0299】

I g Eの循環タンパク質レベルは、生理食塩水曝露対照マウスと比較して、19週間のH D M曝露マウスでは有意に増加した(図9)。循環H D M特異的I g G 1の平均力価は、生理食塩水曝露対照マウスにおける $1.14E+02$ から19週間のH D M曝露マウスにおける $1.37E+06 \sim 2.43E+06$ の範囲のレベルまで増加した(表15)。R E G N 3 5 0 0、デュピルマブ、または組み合わせ処置の統計的に有意な効果はこれらの評価項目のいずれでも観察されなかったが、R E G N 3 5 0 0およびデュピルマブの組み合わせ投与されたマウスでは血清I g Eレベルの低下傾向が観察された。

【表20】

表15：HDM特異的I g G 1の血清濃度の概要

血清中の HDM 特異的 I g G 1 (力価)	生理 食塩水 19週間	HDM 11週間	HDM19週間				
			抗体なし	I g G 4 ^P	REGN 3500 + I g G 4 ^P	デュピルマブ + I g G 4 ^P	REGN 3500 + デュピルマブ
平均	1.14E+02	2.19E+06	2.43E+06	2.14E+06	1.47E+06	1.37E+06	1.21E+06
SD	6.15E+01	1.07E+06	9.81E+05	5.60E+05	1.17E+06	5.79E+05	5.29E+05

【0300】

ヒト抗体の血清中濃度の定量化

ヒトI g G 4^P抗体(I g G 4^Pアイソタイプ対照、R E G N 3 5 0 0、およびデュピルマブ)の血清中濃度を、最後の抗体投与の4日後である研究終了時(134日目)において標的特異的抗ヒトI g G 4 E L I S Aによって決定した。ヒトI g G 4抗体の平均濃度を表16に概説する。

【表 2 1】

表 1 6 : 研究終了時のヒト抗体の血清中濃度

	血清中抗体レベル、平均±SD (μg/mL)						
	19週間の生理食塩水	11週間のHDM	19週間のHDM	19週間のHDM I g G 4 ^P (11mg/kg)	19週間のHDM REGN 3500 (1mg/kg) + I g G 4 ^P (10mg/kg)	19週間HDM デュピルマブ (10mg/kg) + I g G 4 ^P (1mg/kg)	19週間のHDM REGN 3500 (1mg/kg) + デュピルマブ (10mg/kg)
REGN 3500	<LLOQ	<LLOQ	<LLOQ	n/t	11.4±10.1	n/t	12.7±8.8
デュピルマブ	<LLOQ	<LLOQ	<LLOQ	n/t	n/t	8.0±13.5	48.9±27.9
I g G 4 ^P	0.0±0.0 ^a	<LLOQ	<LLOQ	54.5±63.9	88.6±76.0	0.1±0.1	n/t

^aこの群のうちの1匹のマウスは血清 I g G 4^P レベル>LLOQの値を有し、したがって四捨五入した値がここに示されている。

【0301】

概要

生理食塩水のみで曝露された対照マウスと比較して、19週間HDMに曝露されたマウスは、未処置のままのときまたは I g G 4^P アイソタイプ対照抗体の投与後において、14の測定された炎症病学的マーカーのうちの一つ(肺 I F N レベル)を除く全てで増加を示した。

【0302】

REGN 3500 およびデュピルマブの組み合わせ投与は、アイソタイプ対照抗体と比較して、13の試験されたHDM曝露応答性評価項目うちの10(相対肺重量、活性化好酸球、好中球 [M P O レベル]、および S T 2⁺ C D 4⁺ T細胞による肺浸潤、サイトカイン h I L - 4、I L - 6、T N F、G R O、および M C P - 1のタンパク質レベル、ならびに S A Aの血清レベル)を有意に阻止した。さらに、活性化好酸球および S T 2⁺ C D 4⁺ T細胞による肺浸潤のレベルは、抗体処置の開始に相当する、11週間のHDM曝露マウスで観察されたレベルを下回るレベルまで有意に減少した。デュピルマブ単独の投与は、このモデルにおける13の試験されたHDM曝露応答性評価項目のいずれも有意に阻止しなかったが、REGN 3500単独の投与は2つの試験評価項目: S T 2⁺ C D 4⁺ T細胞肺浸潤および循環 S A Aレベルを有意に阻止した。これら2つの評価項目について、REGN 3500単独によって媒介される阻止はデュピルマブと組み合わせたREGN 3500により媒介される阻止と同様であり、これらの病学的マーカーが主に I L - 33によって引き起こされることを示唆している。

【0303】

REGN 3500 およびデュピルマブの組み合わせ投与は、統計学的有意性に達することなく、別の3つのHDM曝露応答性評価項目(好酸球による肺浸潤 [合計]、サイトカイン I L - 5 および I L - 1 の肺タンパク質濃度、ならびに I g Eの血清タンパク質レベル)を阻止する傾向を示した。これらのマーカーについて、REGN 3500またはデュピルマブによる個々の抗体処置は概して、組み合わせ処置よりも弱い減少をもたらした。

【0304】

全ての抗体処置群は、試験終了時における標的特異的ヒト I g G 4 抗体の検出可能な血清レベルと関連していた。治療用抗体を単独または組み合わせのいずれかで、週2回、8

10

20

30

40

50

週間投与したマウスでは、試験終了時において、REGN3500の平均血清濃度がそれぞれ 11.4 ± 10.1 および $12.7 \pm 8.8 \mu\text{g/mL}$ であり、デュピルマブの平均血清濃度が 8.0 ± 13.5 および $48.9 \pm 27.9 \mu\text{g/mL}$ であった。

【0305】

結論として、IL4^{h u}/h u IL4^{h u}/h u IL33^{h u}/h u マウスを用いた19週間のHDM曝露誘導肺炎モデルにおけるREGN3500およびデュピルマブとの組み合わせ処置は、いずれかの抗体単独での処置と比較して、試験された肺病変および炎症マーカーのほぼ全てについてより顕著な改善をもたらした。

【0306】

結論

IL4^{h u}/h u IL4^{h u}/h u IL33^{h u}/h u マウスを用いた19週間のHDM曝露誘導肺炎モデルにおけるREGN3500およびデュピルマブとの組み合わせ処置は、いずれかの抗体単独での処置と比較して、試験された肺病変および炎症マーカーのほぼ全てについてより顕著な改善をもたらした。

【0307】

実施例7：中等度から重度のCOPD患者において単独で使用される場合および併用療法として使用される場合のSAR440340/REGN3500またはデュピルマブの評価

研究設計

この研究は、中等度から重度の慢性閉塞性肺疾患(COPD)の患者における、それぞれを単独で使用したときまたは組み合わせて使用したときのIL-33モノクローナル抗体(SAR440340/REGN3500)、IL-4Rモノクローナル抗体(デュピルマブ、DUPIXENT(登録商標)とも知られる)の有効性、安全性、および許容性を評価するための無作為化二重盲検プラセボ対照並行群の24週間の概念実証研究である。

【0308】

合計832人の対象がこの研究に参加する。この研究は4つの処置群からなり、第1処置群は抗IL-33モノクローナル抗体(SAR440340/REGN3500)単独を皮下投与(SC)した患者であり、第2処置群は抗IL-4Rモノクローナル抗体(デュピルマブ)単独を皮下投与した患者であり、第3処置群はSAR440340/REGN3500およびデュピルマブの両方を皮下に共投与した患者であり、第4処置群はプラセボである。

【0309】

処置群1の患者は、2週間毎に24週間にわたりSAR440340/REGN3500の2回SC注射を受け、2週間毎に24週間にわたり1回のSC注射としてデュピルマブプラセボが共投与される。処置群2の患者は、2週間毎に24週間にわたりデュピルマブの1回SC注射を受け、2週間毎に24週間にわたり2回のSC注射としてSAR440340/REGN3500プラセボが共投与される。処置群3の患者は、2週間毎に24週間にわたりSAR440340/REGN3500の2回SC注射を受け、2週間毎に24週間にわたり1回のSC注射としてデュピルマブが共投与される。処置群4の患者は、2週間毎に24週間にわたり、それぞれ2回および1回のSC注射として投与される、SAR440340/REGN3500およびデュピルマブに対する釣り合う用量のプラセボを受ける。

【0310】

研究目的

この研究の主目的は、吸入コルチコステロイド(ICS)、および/または長時間作用型2アドレナリンアゴニスト(LABA)、および/または長時間作用型ムスカリンアンタゴニスト(LAMA)のバックグラウンド療法(二重または三重療法)で処置された中等度から重度の慢性閉塞性肺疾患(COPD)を有する患者における、呼吸機能の改善に対するインターロイキン33抗体(SAR440340/REGN3500)、インタ

10

20

30

40

50

ーロイキン4受容体モノクローナル抗体(デュピルマブ)、およびその両方の共投与の効果
をプラセボと比較して決定し比較することであり、気管支拡張薬投与後の1秒量(FEV1)
によって24週間にわたって評価される。

【0311】

副次的目的は、24週間の処置にわたる、中等度から重度のCOPD急性増悪(AECOPD)
の発生率につい、SAR440340/REGN3500、デュピルマブ、およびその両方の共投与の効果をそれぞれ
プラセボと比較して評価することである。

【0312】

別の副次的目的は、SAR440340/REGN3500、デュピルマブ、およびその両方の共投与の効果を、
それぞれプラセボと比較して、24週間にわたる気管支拡張薬前の1秒量；24週間にわたるベースラインから最初
の中等度または重度AECOPD事象までの期間；COPDの臨床症状の評価；安全性および許容性について評価すること
である。

10

【0313】

組み入れ基準

研究のための組み入れ基準は以下の通りである：(1)中等度から重度の慢性閉塞性肺疾患(COPD)を有する患者であること(気管支拡張薬投与後の1秒量(FEV1)努力肺活量(FVC)が70%未満、および気管支拡張薬投与後の予測1秒率(FEV1%)が80%超、しかし30%以下である)、(2)スクリーニング来院時1および来院時2/無作為化におけるCOPD評価試験(CAT)スコア10以上の患者であること、(3)慢性気管支炎の徴候および症状(慢性咳の他の原因(例えば、胃食道逆流症、慢性鼻副鼻腔炎、気管支拡張症)を除外した患者におけるスクリーニングまでの年間で3ヶ月間の慢性湿性咳)の既往歴のある患者であること、(4)スクリーニング前の1年以内に中等度増悪2回以上または重度増悪1回以上の既往歴書面のある患者であること、(5)来院2/無作為選択前の3ヶ月間に標準治療バックグラウンド療法があり、スクリーニング来院1前の少なくとも1ヶ月間安定投薬されている(二重療法：長時間作用型アゴニスト(LABA)+長時間作用型ムスカリンアンタゴニスト(LAMA)、もしくは吸入コルチコステロイド(ICS)+LABA、もしくはICS+LAMA、または三重療法：ICS+LABA+LAMAを含む)のいずれかを含む患者であること、(6)インフォームドコンセントについての書面に署名していること、ならびに(7)喫煙歴10箱/年以上の現在または以前の喫煙者であること。

20

30

【0314】

除外基準

この研究の除外基準は以下の通りである。(1)年齢が40歳以下または75歳超であること、(2)肥満度指数(BMI)が16未満の患者であること、(3)無作為選択前の6ヶ月以内にCOPDと診断された患者であること、(4)喘息の国際指針(GINA)のガイドラインに従って、現在、喘息と診断されていること、(5)COPD以外の重大な肺疾患(例えば、肺線維症、サルコイドーシス、間質性肺疾患、肺高血圧症、気管支拡張症、多発性血管炎を伴う好酸球性肉芽腫症、二相性陽圧呼吸(Bilvel Positive Airway Pressure)に対する顕著な睡眠時無呼吸など)または末梢好酸球数の増加に関連する別の診断された肺疾患または全身性疾患があること、(6)-1抗トリプシン欠乏症の診断があること、(7)長期(15時間超/日)酸素補給を必要とする進行性COPDがあること、(8)スクリーニング前4週間以内に中等度または重度COPD事象の急性増悪を有する患者であること、(9)スクリーニング/来院1前の4週間以内またはスクリーニング期間中に上気道または下気道感染症を経験した患者であること、(10)肺切除術または肺容量減少手術の既往歴または計画があること、(11)生物学的薬剤に対する全身性過敏反応の既往歴のある患者であること。

40

【0315】

実施例8.中等度から重度の喘息患者において単独で使用したときおよび併用療法として使用したときのSAR440340/REGN3500またはデュピルマブの評価

50

研究設計

この研究は、吸入ステロイド（ICS）および長時間作用型 2 アドレナリンアゴニスト（LABA）療法ではよくコントロールされない中等度から重度の喘息患者における、SAR440340 / REGN3500、デュピルマブ（DUPILXENT（登録商標）としても知られる）、ならびにSAR440340およびデュピルマブの共投与の有効性、安全性、および許容性を評価するための無作為化二重盲検プラセボ対照並行群の12週間の概念実証研究である。

【0316】

合計800人の対象がこの研究に参加する。この試験は4つの処置群からなり、第1処置群は抗IL-33モノクローナル抗体（SAR440340 / REGN3500）単独を皮下投与（SC）した患者であり、第2処置群は抗IL-4Rモノクローナル抗体（デュピルマブ）単独を皮下投与した患者であり、第3処置群はSAR440340 / REGN3500およびデュピルマブの両方を皮下に共投与した患者であり、第4処置群はプラセボである。

10

【0317】

処置群1の患者は、2週間毎に12週間にわたり2回の皮下（SC）注射として投与されるSAR440340 / REGN3500、および2週間毎に12週間にわたり1回のSC注射としてのデュピルマブプラセボの共投与を受ける。処置群2の患者は、2週間毎に12週間にわたり1回のSC注射として投与されるデュピルマブ、および2週間毎に12週間にわたり2回のSC注射としてのSAR440340 / REGN3500プラセボの共投与を受ける。処置群3の患者は、2週間毎に12週間にわたり2回のSC注射として投与されるSAR440340 / REGN3500、および2週間毎に12週間にわたり1回のSC注射として投与されるデュピルマブの共投与を受ける。処置群4の患者は、2週間毎に12週間、それぞれ2回および1回のSC注射として投与される、SAR440340 / REGN3500およびデュピルマブに対する釣り合う用量のプラセボを受ける。

20

【0318】

研究目的

主な研究目的は、「喘息コントロールの喪失」（LOAC）事象の発生率の減少に対するデュピルマブを併用したまたは併用しないSAR440340 / REGN3500の効果プラセボと比較して評価することである。

30

【0319】

副次的な研究目的は、1秒量（FEV1）に対するSAR440340 / REGN3500およびSAR440340 / REGN3500とデュピルマブとの共投与の効果プラセボと比較して評価することと、FEV1に対するSAR440340 / REGN3500とデュピルマブとの共投与の効果、SAR440340 / REGN3500と比較しておよびデュピルマブと比較して評価することと、LOACの減少に対するSAR440340 / REGN3500とデュピルマブとの共投与の効果SAR440340 / REGN3500単独およびデュピルマブ単独と比較して評価することと、単独およびデュピルマブとの共投与におけるSAR440340 / REGN3500の安全性および耐容性を評価すること、である。

40

【0320】

組み入れ基準

この研究のために以下の組み入れ基準を用いた：（1）喘息の世界死指針（GINA）2016ガイドラインに基づいて、少なくとも12ヶ月間喘息であるとの医師の診断を受けた成人患者（18歳以上）であって、その患者の喘息が、以下の基準を有するICS / LABA併用療法で一部コントロールされるまたはコントロールされないこと：中用量から高用量までのコルチコステロイド（ICS）吸入（1日2回（BID）の250mcg / 日以上のプロピオン酸フルチカゾン、もしくは最大2000mcg / 日のプロピオン酸フルチカゾンの等効力（equipotent）ICS1日投与量、または臨床的に匹敵

50

するもの)と、第2のコントローラーとしての長時間作用型 アゴニスト (LABA) と、を組み合わせ、少なくとも3か月間、来院1前の1か月以上安定的に投薬する既存の処置、(2) 気管支拡張薬投与前の1秒量 (FEV1) が50%以上であるが、来院2 / ベースライン時における予測正常値が85%以下であること、(3) スクリーニング中に2~4パフ (200~400mcg) のアルブテロール / サルブタモールまたはレバルブテロール / レボサルブタモールを投与した後に、FEV1において少なくとも12%および200mLの可逆性があること (患者が許容した場合、同じ来院中に3回以下の機会が、最大12パフの緩和薬 (reliever medication) を用いて許容される)、来院1 / スクリーニング前の6か月以内に2つの許容される肺活量測定評価を比較したときに、気管支拡張薬投与前のFEV1に20%の変動性がある既往歴書面がある、または来院1 / スクリーニング前の12か月以内にメタコリンに対する陽性気道過敏性がこの組み入れ基準を満たすのに許容できると考えられること、(4) 来院1前の1年以内に、以下の事象のいずれかを少なくとも1回は経験していなければならないこと: 喘息を悪化させる全身用ステロイドによる処置 (経口または非経口)、または喘息を悪化させる入院または緊急医療、(5) インフォームドコンセント書面に署名していること。

10

【0321】

除外基準

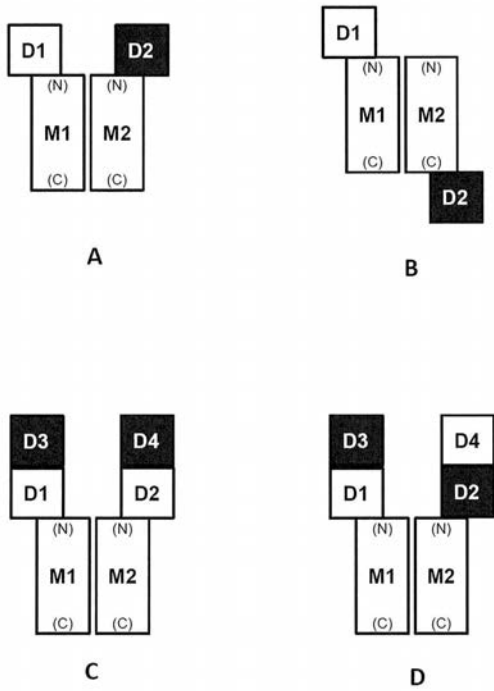
この研究の除外基準は以下の通りである: (1) 18歳未満または70歳超の (すなわち、スクリーニング来院時に71歳に達している) 患者であること、(2) 肥満度指数 (BMI) が16未満の患者であること、(3) 肺機能を害し得る慢性肺疾患 (例えば、慢性閉塞性肺疾患 [COPD]、または特発性肺線維症 [IPF]) があること、(4) 生命を脅かす喘息 (すなわち挿管 (intubation) を必要とする重度の増悪) の既往歴があること、(5) IMPの評価を妨げる可能性がある併存疾患があること、(6) スクリーニング来院1前の4週間以内に以下の事象のいずれかを有する患者であること: 喘息を悪化させる1回以上の全身用 (経口または非経口) ステロイドバーストによる処置、または喘息を悪化させる入院または緊急医療があること、(7) 喘息コントロール質問票5項目版 (Asthma Control Questionnaire 5-question version) (ACQ-5) スコアが来院2 / 無作為化時に1.25未満または3.0超であること。スクリーニング期間中、4以下のACQ-5が許容されること、(8) 来院1前の130日以内に抗免疫グロブリンE (IgE) 療法 (例えば、オマリズマブ [Xolair (登録商標)]) を受けたか、あるいは、炎症性疾患または自己免疫疾患 (例えば、リウマチ性関節炎、炎症性腸疾患、原発性胆汁性肝硬変、全身性エリテマトーデス、多発性硬化症など) およびその他の疾患を処置するために、来院1前の2か月以内または5半減期 (5 half-lives) 以内に (どちらか長期の方)、他の生物学的療法 (抗IL5mAbを含む) または全身性免疫抑制薬 (例えば、メトトレキサート) を受けたこと、(9) 生物学的薬剤に対する全身性過敏反応の既往歴のある患者であること、(10) 来院1前の2年以内に気管支サーモプラスティを受けたもしくは開始した患者、またはスクリーニング期間もしくは無作為化処置期間中に療法を開始することを計画している患者であること、(11) 現喫煙者または来院1前の6か月以内に禁煙したこと、(12) 10箱 / 年を超える喫煙歴の元喫煙者であること。

20

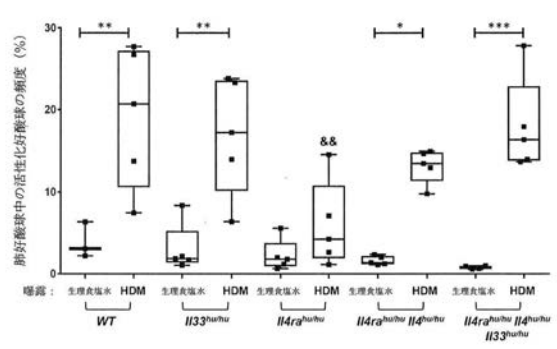
30

40

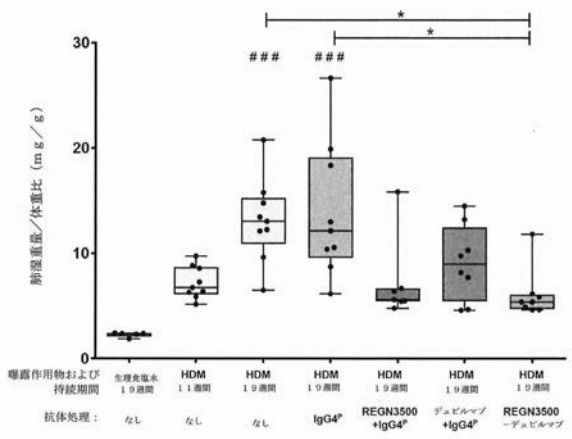
【 図 1 】



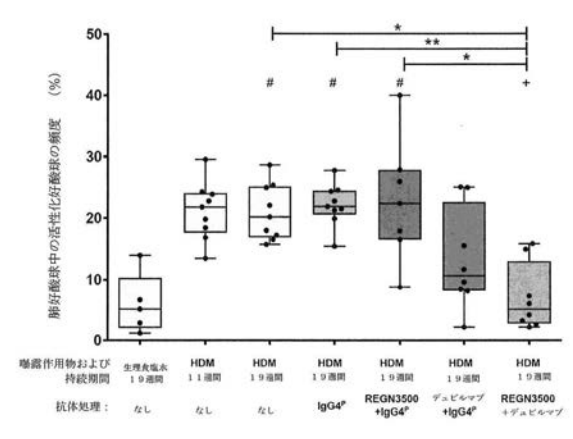
【 図 2 】



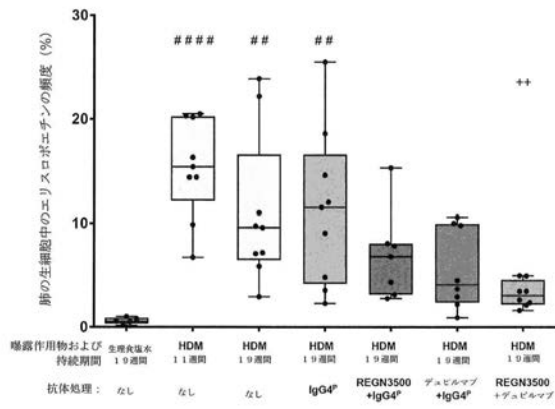
【 図 3 】



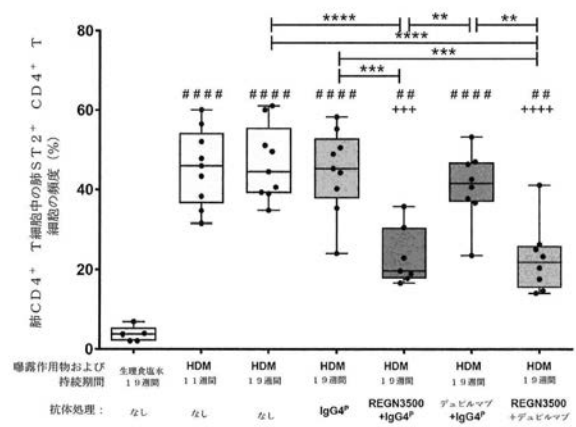
【 図 4 A 】



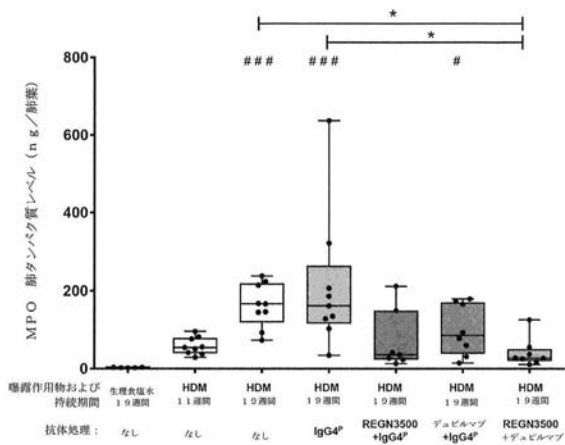
【 図 4 B 】



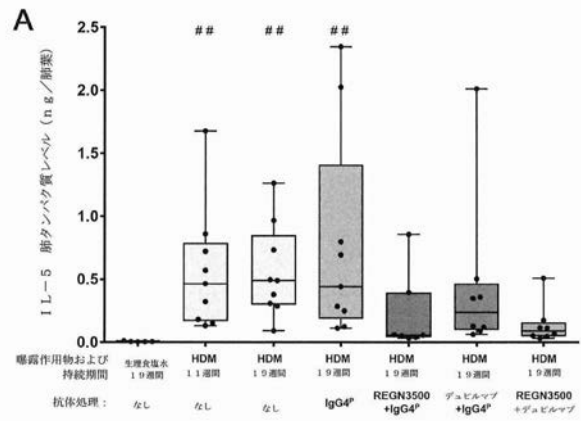
【 図 5 】



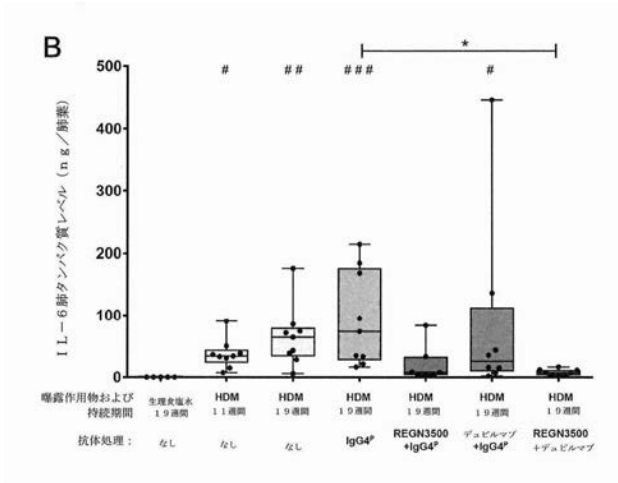
【 図 6 】



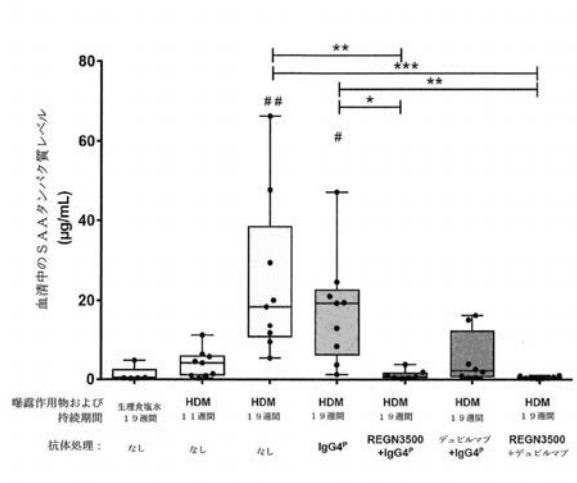
【 図 7 A 】



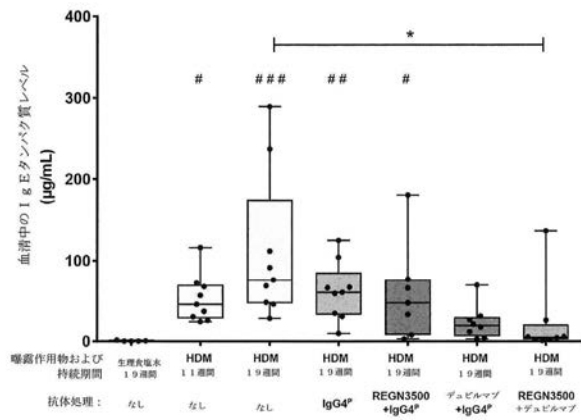
【 図 7 B 】



【 図 8 】



【 図 9 】



【配列表】

2020513404000001.app

【国際調査報告】

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No PCT/US2017/064041

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER INV. C07K16/24 C07K16/28 A61K39/00 C07K14/715 ADD.		
According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC		
B. FIELDS SEARCHED Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols) C07K A61K Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used) EPO-Internal, WPI Data, EMBASE		
C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	EP 3 027 015 A1 (REGENERON PHARMA [US]) 8 June 2016 (2016-06-08) paragraph [0157] - paragraph [0163] -----	1-69
X	US 2014/271642 A1 (MURPHY ANDREW J [US] ET AL) 18 September 2014 (2014-09-18) cited in the application paragraph [0102] claims 1-7, 25-48 -----	1-19, 41-62
X	US 2014/271658 A1 (MURPHY ANDREW J [US] ET AL) 18 September 2014 (2014-09-18) cited in the application paragraph [0133] - paragraph [0134] -----	1-19, 27-40, 66-68
X	US 2009/074793 A1 (MARTIN JOEL H [US] ET AL) 19 March 2009 (2009-03-19) paragraph [0063] - paragraph [0064] -----	1-26
-/--		
<input checked="" type="checkbox"/>	Further documents are listed in the continuation of Box C.	<input checked="" type="checkbox"/> See patent family annex.
* Special categories of cited documents : "A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance "E" earlier application or patent but published on or after the international filing date "L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified) "O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means "P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed "T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention "X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone "Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art "&" document member of the same patent family		
Date of the actual completion of the international search		Date of mailing of the international search report
23 January 2018		09/02/2018
Name and mailing address of the ISA/ European Patent Office, P.B. 5818 Patentlaan 2 NL - 2280 HV Rijswijk Tel. (+31-70) 340-2040, Fax: (+31-70) 340-3016		Authorized officer Rojo Romeo, Elena

2

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No
PCT/US2017/064041

C(Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
T	<p>Anonymous: "Evaluation of SAR440340 and as Combination Therapy With Dupilumab in Moderate-to-Severe Asthma Patients - Full Text View - ClinicalTrials.gov", 1 January 2018 (2018-01-01), XP055443191, Retrieved from the Internet: URL:https://clinicaltrials.gov/ct2/show/NC T03387852?sfpd_d=14 [retrieved on 2018-01-22] the whole document -----</p>	

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

International application No

PCT/US2017/064041

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member(s)	Publication date	
EP 3027015	A1	08-06-2016	AU 2015255977 A1	17-11-2016
			CA 2947307 A1	12-11-2015
			CN 106470545 A	01-03-2017
			EP 3027015 A1	08-06-2016
			EP 3281521 A1	14-02-2018
			JP 2017514501 A	08-06-2017
			KR 20160150637 A	30-12-2016
			PH 12016502058 A1	09-01-2017
			SG 11201608570Y A	29-11-2016
			US 2015320021 A1	12-11-2015
			US 2015320022 A1	12-11-2015
			US 2017311580 A1	02-11-2017
			US 2018000056 A1	04-01-2018
			WO 2015171861 A1	12-11-2015
US 2014271642	A1	18-09-2014	AU 2014240101 A1	15-10-2015
			CA 2904377 A1	25-09-2014
			CN 105007929 A	28-10-2015
			EA 201591331 A1	29-01-2016
			EP 2968454 A1	20-01-2016
			HK 1220373 A1	05-05-2017
			JP 2016515130 A	26-05-2016
			KR 20150127591 A	17-11-2015
			US 2014271642 A1	18-09-2014
			US 2017204158 A1	20-07-2017
			WO 2014152195 A1	25-09-2014
US 2014271658	A1	18-09-2014	AU 2014248839 A1	20-08-2015
			CA 2902172 A1	09-10-2014
			CL 2015002469 A1	10-06-2016
			CN 105051063 A	11-11-2015
			EA 201591716 A1	29-07-2016
			EP 2970460 A2	20-01-2016
			HK 1220467 A1	05-05-2017
			JP 2016513644 A	16-05-2016
			KR 20150126598 A	12-11-2015
			PH 12015501656 A1	19-10-2015
			SG 11201505745W A	28-08-2015
			TW 201522370 A	16-06-2015
			US 2014271658 A1	18-09-2014
			US 2016362487 A1	15-12-2016
			UY 35417 A	31-10-2014
			WO 2014164959 A2	09-10-2014
US 2009074793	A1	19-03-2009	AR 073978 A1	15-12-2010
			AU 2009311496 A1	14-05-2010
			BR PI0919853 A2	15-03-2016
			CA 2737044 A1	14-05-2010
			CN 102197052 A	21-09-2011
			CN 103739711 A	23-04-2014
			CN 106267190 A	04-01-2017
			CO 6362024 A2	20-01-2012
			CR 20110148 A	27-04-2011
			CY 1114123 T1	27-07-2016
			DK 2356151 T3	17-06-2013
			EC SP11011010 A	30-06-2011
			EP 2356151 A1	17-08-2011
			EP 2511300 A2	17-10-2012

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

International application No

PCT/US2017/064041

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member(s)	Publication date
		EP 2636685 A1	11-09-2013
		EP 3064511 A1	07-09-2016
		ES 2404206 T3	24-05-2013
		HK 1159136 A1	02-08-2013
		HN 2011001210 A	22-10-2013
		HR P20130467 T1	30-06-2013
		IL 211726 A	29-10-2015
		JO 2865 B	15-03-2015
		JP 5291802 B2	18-09-2013
		JP 5844772 B2	20-01-2016
		JP 2012507294 A	29-03-2012
		JP 2013223495 A	31-10-2013
		JP 2016041069 A	31-03-2016
		KR 20110074980 A	05-07-2011
		MA 32802 B1	01-11-2011
		MY 152448 A	30-09-2014
		NZ 591922 A	30-03-2012
		NZ 596093 A	30-11-2012
		PA 8847001 A1	26-05-2010
		PE 07382010 A1	03-11-2010
		PH 12014500462 A1	01-06-2015
		PT 2356151 E	07-05-2013
		RS 52782 B	31-10-2013
		RU 2011120194 A	10-12-2012
		RU 2014147773 A	20-06-2016
		SI 2356151 T1	31-07-2013
		SM T201300074 B	06-09-2013
		SV 2011003880 A	15-08-2011
		TW 201029664 A	16-08-2010
		TW 201615216 A	01-05-2016
		UA 102122 C2	10-06-2013
		US 2009074793 A1	19-03-2009
		US 2010047254 A1	25-02-2010
		US 2012052072 A1	01-03-2012
		US 2013078675 A1	28-03-2013
		US 2014271681 A1	18-09-2014
		UY 32213 A	31-05-2010
		WO 2010053751 A1	14-05-2010
		ZA 201101867 B	29-08-2012

フロントページの続き

(51)Int.Cl.	F I	テーマコード(参考)
A 6 1 P 37/08 (2006.01)	A 6 1 P 37/02	
A 6 1 P 11/06 (2006.01)	A 6 1 P 37/08	
A 6 1 P 11/00 (2006.01)	A 6 1 P 11/06	
A 6 1 P 1/04 (2006.01)	A 6 1 P 11/00	
A 6 1 P 17/00 (2006.01)	A 6 1 P 1/04	
A 6 1 P 19/02 (2006.01)	A 6 1 P 17/00	
G 0 1 N 33/53 (2006.01)	A 6 1 P 19/02	
C 0 7 K 16/24 (2006.01)	G 0 1 N 33/53	D
C 0 7 K 16/28 (2006.01)	G 0 1 N 33/53	Y
C 0 7 K 14/715 (2006.01)	G 0 1 N 33/53	N
	C 0 7 K 16/24	
	C 0 7 K 16/28	
	C 0 7 K 14/715	

(31)優先権主張番号 62/567,318

(32)優先日 平成29年10月3日(2017.10.3)

(33)優先権主張国・地域又は機関
米国(US)

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

(特許庁注: 以下のものは登録商標)

1. T W E E N

(72)発明者 ジェイミー・エム・オレンゴ
アメリカ合衆国ニューヨーク州10591・タリータウン・オールドソーミルリバーロード777
・リジェネロン・ファーマシューティカルズ・インコーポレイテッド(72)発明者 ジーン・アリン
アメリカ合衆国ニューヨーク州10591・タリータウン・オールドソーミルリバーロード777
・リジェネロン・ファーマシューティカルズ・インコーポレイテッド(72)発明者 アンドリュー・ジェイ・マーフィー
アメリカ合衆国ニューヨーク州10591・タリータウン・オールドソーミルリバーロード777
・リジェネロン・ファーマシューティカルズ・インコーポレイテッド(72)発明者 ジョージ・ディー・ヤンコーボラス
アメリカ合衆国ニューヨーク州10591・タリータウン・オールドソーミルリバーロード777
・リジェネロン・ファーマシューティカルズ・インコーポレイテッドFターム(参考) 4C084 AA20 MA02 MA66 NA05 ZA591 ZA592 ZA611 ZA612 ZA661 ZA662
ZA891 ZA892 ZA961 ZA962 ZB071 ZB072 ZB111 ZB112 ZB131 ZB132
ZC751

4C085 AA13 AA14 BB17 CC02 DD62 EE03 GG04

4H045 AA10 AA11 AA30 BA10 CA40 DA02 DA14 DA50 DA75 DA76

EA20 EA50 FA74

专利名称(译)	如何治疗炎症		
公开(公告)号	JP2020513404A	公开(公告)日	2020-05-14
申请号	JP2019529476	申请日	2017-11-30
[标]申请(专利权)人(译)	再生元医药公司		
申请(专利权)人(译)	Regeneron公司制药公司		
[标]发明人	ジェイミーエムオレンゴ アンドリュージェイマーフィー ジョージディーヤンコーポラス		
发明人	ジェイミー・エム・オレンゴ ジーン・アリン アンドリュー・ジェイ・マーフィー ジョージ・ディー・ヤンコーポラス		
IPC分类号	A61K45/06 A61K39/395 A61P43/00 A61P29/00 A61P37/02 A61P37/08 A61P11/06 A61P11/00 A61P1/04 A61P17/00 A61P19/02 G01N33/53 C07K16/24 C07K16/28 C07K14/715		
CPC分类号	A61K38/1793 A61K2039/507 A61P1/00 A61P1/04 A61P9/14 A61P11/00 A61P11/02 A61P11/06 A61P17/00 A61P17/06 A61P25/00 A61P29/00 A61P37/00 A61P37/08 C07K14/7155 C07K16/244 C07K16/2866 C07K2317/21 C07K2317/76 C07K2319/00 A61K39/3955 A61K45/06 C07K2317/34 C07K2317/56 C07K2317/565		
FI分类号	A61K45/06 A61K39/395.ZNA.N A61K39/395.U A61P43/00.121 A61P29/00 A61P37/02 A61P37/08 A61P11/06 A61P11/00 A61P1/04 A61P17/00 A61P19/02 G01N33/53.D G01N33/53.Y G01N33/53.N C07K16/24 C07K16/28 C07K14/715		
F-TERM分类号	4C084/AA20 4C084/MA02 4C084/MA66 4C084/NA05 4C084/ZA591 4C084/ZA592 4C084/ZA611 4C084/ZA612 4C084/ZA661 4C084/ZA662 4C084/ZA891 4C084/ZA892 4C084/ZA961 4C084/ZA962 4C084/ZB071 4C084/ZB072 4C084/ZB111 4C084/ZB112 4C084/ZB131 4C084/ZB132 4C084/ZC751 4C085/AA13 4C085/AA14 4C085/BB17 4C085/CC02 4C085/DD62 4C085/EE03 4C085/GG04 4H045/AA10 4H045/AA11 4H045/AA30 4H045/BA10 4H045/CA40 4H045/DA02 4H045/DA14 4H045/DA50 4H045/DA75 4H045/DA76 4H045/EA20 4H045/EA50 4H045/FA74		
优先权	62/428634 2016-12-01 US 62/473738 2017-03-20 US 62/567318 2017-10-03 US		
外部链接	Espacenet		

摘要(译)

本发明提供了用于治疗与IL-33和IL-4水平升高有关的炎性疾病或病症，或部分由其引起的方法，特别是炎性肺部疾病。本发明的方法包括向有此需要的受试者单独或与一种或多种治疗有效剂量的IL-4R拮抗剂组合给予一种或多种治疗有效剂量的IL-33拮抗剂。在某些实施方案中，本发明的方法包括使用拮抗剂治疗部分由增强的IL-33介导的信号传导和IL-4介导的信号传导介导的任何炎性疾病或病症。

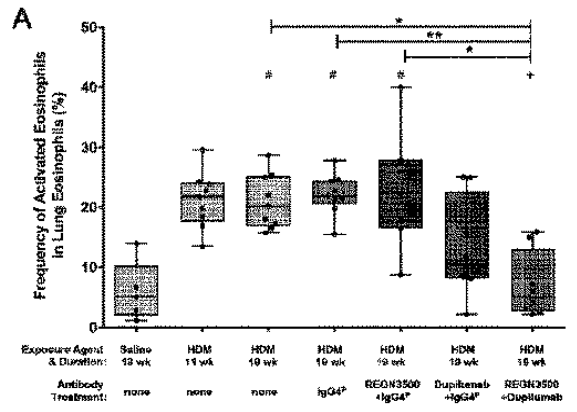


Figure 4A