(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2019-519546
(P2019-519546A)
(43)公表日　令和1年7月11日(2019.7.11)

(51)Int.Cl.		F I			テーマコード（参考）
A61K 45/00	(2006.01)	A61K	45/00		2G045
A61P 43/00	(2006.01)	A61P	43/00	111	4C084
A61P 7/06	(2006.01)	A61P	7/06		4C085
A61K 39/395	(2006.01)	A61K	39/395	D	4H045
G01N 33/53	(2006.01)	A61K	39/395	N	

審査請求 未請求　予備審査請求 未請求　（全 135 頁）　最終頁に続く

(21)出願番号　特願2018-565674 (P2018-565674)
(86)(22)出願日　平成29年6月13日 (2017.6.13)
(85)翻訳文提出日　平成31年2月14日 (2019.2.14)
(86)国際出願番号　PCT/IB2017/053507
(87)国際公開番号　WO2017/216724
(87)国際公開日　平成29年12月21日 (2017.12.21)
(31)優先権主張番号　62/350,257
(32)優先日　平成28年6月15日 (2016.6.15)
(33)優先権主張国　米国 (US)

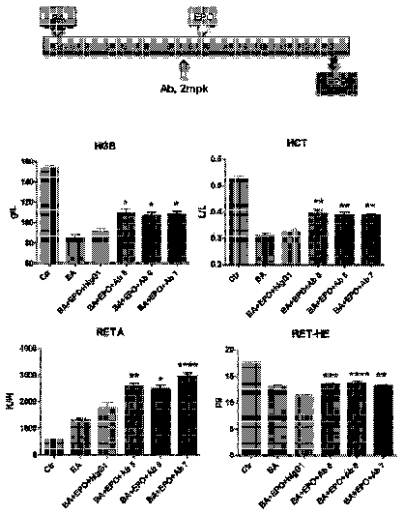
(71)出願人　504389991
ノバルティス　アーゲー
スイス国　バーゼル　リヒトシュトラーセ　３５
(74)代理人　100092783
弁理士　小林　浩
(74)代理人　100095360
弁理士　片山　英二
(74)代理人　100120134
弁理士　大森　規雄
(74)代理人　100181168
弁理士　丸山　智裕
(74)代理人　100104282
弁理士　鈴木　康仁

最終頁に続く

(54)【発明の名称】骨形成タンパク質６（ＢＭＰ６）の阻害剤を使用して疾患を処置する方法

(57)【要約】
本発明は、ＢＭＰ６アンタゴニストを使用した処置の方法に関する。

Figure 4



【特許請求の範囲】
【請求項１】
選択的に、
ａ．ＢＭＰ６を阻害すること、
ｂ．血清鉄レベル、トランスフェリン飽和度（ＴＡＳＴ）、網状赤血球ヘモグロビン含量（ＣＨｒ）、網状赤血球カウント、赤血球カウント、ヘモグロビンもしくはヘマトクリットを上昇させること、
ｃ．ヘプシジンの活性またはレベルを低減すること、
ｄ．貧血を処置すること、または
ｅ．ヘモグロビンレベルを上昇させるかもしくは維持すること
を、それを必要とする患者において行う方法であって、選択的に、２０００ｎｇ／ｍＬ以下のフェリチンレベルを有する前記患者からの生物学的試料に基づき、治療有効量のＢＭＰ６アンタゴニストを前記患者に投与するステップを含む方法。
【請求項２】
貧血を有する患者をＢＭＰ６アンタゴニストで処置する方法であって、選択的に、２０００ｎｇ／ｍＬ以下のフェリチンレベルを有する前記患者からの生物学的試料に基づき、治療有効量のＢＭＰ６アンタゴニストを前記患者に投与するステップを含む方法。
【請求項３】
選択的に、貧血を有する患者をＢＭＰ６アンタゴニストで処置する方法であって、
ａ）前記患者からの生物学的試料をフェリチンレベルについてアッセイするステップと、
ｂ）その後、選択的に、治療有効量のＢＭＰ９アンタゴニストを前記患者に投与するステップであって、前記フェリチンレベルは、２０００ｎｇ／ｍＬ以下である、ステップと
を含む方法。
【請求項４】
選択的に、貧血を有する患者をＢＭＰ６アンタゴニストで処置する方法であって、
ａ）前記患者からの生物学的試料をフェリチンレベルについてアッセイするステップと、
ｂ）その後、２０００ｎｇ／ｍＬ以下のフェリチンレベルを有する前記患者からの前記生物学的試料に基づき、前記ＢＭＰ６アンタゴニストによる処置のために前記患者を選択するステップと、
ｃ）その後、治療有効量のＢＭＰ９アンタゴニストを前記患者に投与するステップと
を含む方法。
【請求項５】
選択的に、
ａ．ＢＭＰ６を阻害すること、
ｂ．血清鉄レベル、トランスフェリン飽和度（ＴＡＳＴ）、網状赤血球ヘモグロビン含量（ＣＨｒ）、網状赤血球カウント、赤血球カウント、ヘモグロビンもしくはヘマトクリットを上昇させること、
ｃ．ヘプシジンの活性またはレベルを低減すること、
ｄ．貧血を処置すること、または
ｅ．ヘモグロビンレベルを上昇させるかもしくは維持すること
を、それを必要とする患者において行う方法であって、選択的に、５００ｎｇ／ｍＬ以上のフェリチンレベルを有する前記患者からの生物学的試料に基づき、治療有効量のＢＭＰ６アンタゴニストを前記患者に投与するステップを含む方法。
【請求項６】
貧血を有する患者をＢＭＰ６アンタゴニストで処置する方法であって、選択的に、５００ｎｇ／ｍＬ以上のフェリチンレベルを有する前記患者からの生物学的試料に基づき、治療有効量のＢＭＰ６アンタゴニストを前記患者に投与するステップを含む方法。
【請求項７】
選択的に、貧血を有する患者をＢＭＰ６アンタゴニストで処置する方法であって、
ａ）前記患者からの生物学的試料をフェリチンレベルについてアッセイするステップと、

ｂ）その後、選択的に、治療有効量のＢＭＰ９アンタゴニストを前記患者に投与するステップであって、前記フェリチンレベルは、５００ｎｇ／ｍＬ以上である、ステップと
を含む方法。
【請求項８】
選択的に、貧血を有する患者をＢＭＰ６アンタゴニストで処置する方法であって、
ａ）前記患者からの生物学的試料をフェリチンレベルについてアッセイするステップと、
ｂ）その後、５００ｎｇ／ｍＬ以上のフェリチンレベルを有する前記患者からの前記生物学的試料に基づき、前記ＢＭＰ６アンタゴニストによる処置のために前記患者を選択するステップと、
ｃ）その後、治療有効量のＢＭＰ９アンタゴニストを前記患者に投与するステップと
を含む方法。
【請求項９】
貧血を有する患者の処置における使用のためのＢＭＰ６アンタゴニストにおいて、治療有効量の前記ＢＭＰ６アンタゴニストは、２０００ｎｇ／ｍＬ以下のフェリチンレベルを有する前記患者からの生物学的試料に基づいて前記患者に投与されることを特徴とする、ＢＭＰ６アンタゴニスト。
【請求項１０】
貧血を有する患者の処置における使用のためのＢＭＰ６アンタゴニストにおいて、治療有効量の前記ＢＭＰ６アンタゴニストは、５００ｎｇ／ｍＬ以上のフェリチンレベルを有する前記患者からの生物学的試料に基づいて前記患者に投与されることを特徴とする、ＢＭＰ６アンタゴニスト。
【請求項１１】
貧血を有する患者の処置における使用のためのＢＭＰ６アンタゴニストにおいて、
ａ）前記患者は、２０００ｎｇ／ｍＬ以下のフェリチンレベルを有する前記患者からの生物学的試料に基づき、前記ＢＭＰ６アンタゴニストによる処置のために選択されることと、
ｂ）その後、治療有効量の前記ＢＭＰ６アンタゴニストは、前記患者に投与されることと
を特徴とする、ＢＭＰ６アンタゴニスト。
【請求項１２】
貧血を有する患者の処置における使用のためのＢＭＰ６アンタゴニストにおいて、
ａ）前記患者は、５００ｎｇ／ｍＬ以上のフェリチンレベルを有する前記患者からの生物学的試料に基づき、前記ＢＭＰ６アンタゴニストによる処置のために選択されることと、
ｂ）その後、治療有効量の前記ＢＭＰ６アンタゴニストは、前記患者に投与されることと
を特徴とする、ＢＭＰ６アンタゴニスト。
【請求項１３】
貧血を有する患者の処置における使用のためのＢＭＰ６アンタゴニストにおいて、
ａ）前記患者からの生物学的試料は、フェリチンについてアッセイされることと、
ｂ）治療有効量の前記ＢＭＰ６アンタゴニストは、２０００ｎｇ／ｍＬ以下のフェリチンレベルを有する前記患者からの前記生物学的試料に基づき、選択的に前記患者に投与されることと
を特徴とする、ＢＭＰ６アンタゴニスト。
【請求項１４】
貧血を有する患者の処置における使用のためのＢＭＰ６アンタゴニストにおいて、
ａ）前記患者からの生物学的試料は、フェリチンについてアッセイされることと、
ｂ）治療有効量の前記ＢＭＰ６アンタゴニストは、５００ｎｇ／ｍＬ以上のフェリチンレベルを有する前記患者からの前記生物学的試料に基づき、選択的に前記患者に投与されることと
を特徴とする、ＢＭＰ６アンタゴニスト。
【請求項１５】
貧血を有する患者の処置における使用のためのＢＭＰ６アンタゴニストにおいて、

ａ）前記患者からの生物学的試料は、フェリチンについてアッセイされることと、
ｂ）前記患者は、２０００ｎｇ／ｍＬ以下のフェリチンレベルを有する前記患者からの前記生物学的試料に基づき、前記ＢＭＰ６アンタゴニストによる処置のために選択されることと、
ｃ）治療有効量の前記ＢＭＰ６アンタゴニストは、選択的に前記患者に投与されることとを特徴とする、ＢＭＰ６アンタゴニスト。
【請求項１６】
貧血を有する患者の処置における使用のためのＢＭＰ６アンタゴニストにおいて、
ａ）前記患者からの生物学的試料は、フェリチンについてアッセイされることと、
ｂ）前記患者は、５００ｎｇ／ｍＬ以上のフェリチンレベルを有する前記患者からの前記生物学的試料に基づき、前記ＢＭＰ６アンタゴニストによる処置のために選択されることと、
ｃ）治療有効量の前記ＢＭＰ６アンタゴニストは、選択的に前記患者に投与されることとを特徴とする、ＢＭＰ６アンタゴニスト。
【請求項１７】
貧血を有する患者がＢＭＰ６アンタゴニストによる処置に応答する可能性を予測する方法であって、前記患者からの生物学的試料をフェリチンについてアッセイするステップを含み、２０００ｎｇ／ｍＬ以下のフェリチンレベルは、前記患者が前記ＢＭＰ６アンタゴニストによる処置に応答する上昇した可能性を示す、方法。
【請求項１８】
貧血を有する患者がＢＭＰ６アンタゴニストによる処置に応答する可能性を予測する方法であって、前記患者からの生物学的試料をフェリチンについてアッセイするステップを含み、５００ｎｇ／ｍＬ以上のフェリチンレベルは、前記患者が前記ＢＭＰ６アンタゴニストによる処置に応答する上昇した可能性を示す、方法。
【請求項１９】
前記患者から前記生物学的試料を得るステップをさらに含み、前記得るステップは、前記アッセイするステップの前に実施される、請求項１７または１８に記載の方法。
【請求項２０】
前記フェリチンレベルは、フェリチンタンパク質レベルである、請求項１～１９のいずれか一項に記載の方法または使用。
【請求項２１】
前記アッセイするステップは、イムノアッセイ、免疫組織化学、ＥＬＩＳＡ、フローサイトメトリー、ウェスタンブロット、ＨＰＬＣおよび質量分析からなる群から選択される技法を含む、請求項３、４、７、８または１３～１９のいずれか一項に記載の方法。
【請求項２２】
ＢＭＰ６アンタゴニストによる処置に対する、貧血を有する患者の応答性を予測するための伝達可能な形態の情報を生成する方法であって、
ａ）前記患者からの生物学的試料における２０００ｎｇ／ｍＬ以下のフェリチンレベルの存在に基づき、前記患者が前記ＢＭＰ６アンタゴニストによる処置に応答する上昇した可能性を決定するステップと、
ｂ）前記決定するステップの結果を、伝達に使用するための有形または無形の媒体形態に記録するステップと
を含む方法。
【請求項２３】
ＢＭＰ６アンタゴニストによる処置に対する、貧血を有する患者の応答性を予測するための伝達可能な形態の情報を生成する方法であって、
ａ）前記患者からの生物学的試料における５００ｎｇ／ｍＬ以上のフェリチンレベルの存在に基づき、前記患者が前記ＢＭＰ６アンタゴニストによる処置に応答する上昇した可能性を決定するステップと、
ｂ）前記決定するステップの結果を、伝達に使用するための有形または無形の媒体形態に

記録するステップと
を含む方法。
【請求項２４】
前記貧血は、慢性疾患に関連する貧血である、請求項１～２３のいずれか一項に記載の方法または使用。
【請求項２５】
前記慢性疾患は、慢性腎臓病、癌または炎症である、請求項２４に記載の方法または使用。
【請求項２６】
前記患者は、赤血球生成刺激剤（ＥＳＡ）で処置されるかまたは処置されている、請求項１～２５のいずれか一項に記載の方法または使用。
【請求項２７】
前記ＥＳＡは、エリスロポエチン（ＥＰＯ）である、請求項２６に記載の方法または使用。
【請求項２８】
前記貧血は、ＥＰＯ低応答性貧血である、請求項１～２７のいずれか一項に記載の方法または使用。
【請求項２９】
前記貧血は、鉄欠乏性貧血、例えば機能的鉄欠乏性貧血である、請求項１～２８のいずれか一項に記載の方法または使用。
【請求項３０】
前記患者は、慢性血液透析患者である、請求項１～２９のいずれか一項に記載の方法または使用。
【請求項３１】
前記治療有効量の前記ＢＭＰ６アンタゴニストによる処置の非存在下におけるＥＰＯ要求用量および／または鉄要求用量と比べて、前記患者の鉄要求用量を低減するか、前記患者のＥＰＯ要求用量を低減するか、または前記患者の鉄要求用量および前記患者のＥＰＯ要求用量の両方を低減するステップをさらに含む、請求項１～３０のいずれか一項に記載の方法または使用。
【請求項３２】
前記生物学的試料は、滑液、血液、血清、糞便、血漿、尿、涙液、唾液、脳脊髄液、白血球試料または組織試料である、請求項１～３１のいずれか一項に記載の方法または使用。
【請求項３３】
前記生物学的試料は、血清または血液である、請求項３２に記載の方法または使用。
【請求項３４】
前記生物学的試料は、血清である、請求項３３に記載の方法または使用。
【請求項３５】
前記ＢＭＰ６アンタゴニストは、ＢＭＰ６結合性分子である、請求項１～３４のいずれか一項に記載の方法または使用。
【請求項３６】
前記ＢＭＰ６アンタゴニストは、抗ＢＭＰ６抗体またはその抗原結合性断片である、請求項３５に記載の方法または使用。
【請求項３７】
前記抗ＢＭＰ６抗体またはその抗原結合性断片は、表１または表１４に記載される抗体の抗ＢＭＰ６抗体またはその抗原結合性断片である、請求項３６に記載の方法または使用。
【請求項３８】
前記抗ＢＭＰ６抗体またはその抗原結合性断片は、
（ａ）それぞれ配列番号６９、７０および７１のＨＣＤＲ１配列、ＨＣＤＲ２配列および

ＨＣＤＲ３配列、ならびにそれぞれ配列番号７９、８０および８１のＬＣＤＲ１配列、ＬＣＤＲ２配列およびＬＣＤＲ３配列、
（ｂ）それぞれ配列番号７２、７３および７４のＨＣＤＲ１配列、ＨＣＤＲ２配列およびＨＣＤＲ３配列、ならびにそれぞれ配列番号８２、８３および８４のＬＣＤＲ１配列、ＬＣＤＲ２配列およびＬＣＤＲ３配列、
（ｃ）それぞれ配列番号２９、３０および３１のＨＣＤＲ１配列、ＨＣＤＲ２配列およびＨＣＤＲ３配列、ならびにそれぞれ配列番号３９、４０および４１のＬＣＤＲ１配列、ＬＣＤＲ２配列およびＬＣＤＲ３配列、
（ｄ）それぞれ配列番号３２、３３および３４のＨＣＤＲ１配列、ＨＣＤＲ２配列およびＨＣＤＲ３配列、ならびにそれぞれ配列番号４２、４３および４４のＬＣＤＲ１配列、ＬＣＤＲ２配列およびＬＣＤＲ３配列、
（ｅ）それぞれ配列番号４９、５０および５１のＨＣＤＲ１配列、ＨＣＤＲ２配列およびＨＣＤＲ３配列、ならびにそれぞれ配列番号５９、６０および６１のＬＣＤＲ１配列、ＬＣＤＲ２配列およびＬＣＤＲ３配列、
（ｆ）それぞれ配列番号５２、５３および５４のＨＣＤＲ１配列、ＨＣＤＲ２配列およびＨＣＤＲ３配列、ならびにそれぞれ配列番号６２、６３および６４のＬＣＤＲ１配列、ＬＣＤＲ２配列およびＬＣＤＲ３配列、
（ｇ）それぞれ配列番号９、１０および１１のＨＣＤＲ１配列、ＨＣＤＲ２配列およびＨＣＤＲ３配列、ならびにそれぞれ配列番号１９、２０および２１のＬＣＤＲ１配列、ＬＣＤＲ２配列およびＬＣＤＲ３配列、または
（ｈ）それぞれ配列番号１２、１３および１４のＨＣＤＲ１配列、ＨＣＤＲ２配列およびＨＣＤＲ３配列、ならびにそれぞれ配列番号２２、２３および２４のＬＣＤＲ１配列、ＬＣＤＲ２配列およびＬＣＤＲ３配列
を含む、請求項３６または３７に記載の方法または使用。

【請求項３９】

前記抗ＢＭＰ６抗体またはその抗原結合性断片は、
（ａ）配列番号７５のＶＨ配列、
（ｂ）配列番号３５のＶＨ配列、
（ｃ）配列番号５５のＶＨ配列、または
（ｄ）配列番号１５のＶＨ配列
を含む、請求項３６～３８のいずれか一項に記載の方法または使用。

【請求項４０】

前記抗ＢＭＰ６抗体またはその抗原結合性断片は、
（ａ）配列番号８５のＶＬ配列、
（ｂ）配列番号４５のＶＬ配列、
（ｃ）配列番号６５のＶＬ配列、または
（ｄ）配列番号２５のＶＬ配列
を含む、請求項３６～３９のいずれか一項に記載の方法または使用。

【請求項４１】

前記抗ＢＭＰ６抗体またはその抗原結合性断片は、
（ａ）配列番号７５のＶＨ配列および配列番号８５のＶＬ配列、
（ｂ）配列番号３５のＶＨ配列および配列番号４５のＶＬ配列、
（ｃ）配列番号５５のＶＨ配列および配列番号６５のＶＬ配列、または
（ｄ）配列番号１５のＶＨ配列および配列番号２５のＶＬ配列
を含む、請求項３６～４０のいずれか一項に記載の方法または使用。

【請求項４２】

前記抗ＢＭＰ６抗体またはその抗原結合性断片は、
（ａ）配列番号７７の重鎖配列、
（ｂ）配列番号３７の重鎖配列、
（ｃ）配列番号５７の重鎖配列、または

（ｄ）配列番号１７の重鎖配列
を含む、請求項３６～４１のいずれか一項に記載の方法または使用。
【請求項４３】
前記抗ＢＭＰ６抗体またはその抗原結合性断片は、
（ａ）配列番号８７の軽鎖配列、
（ｂ）配列番号４７の軽鎖配列、
（ｃ）配列番号６７の軽鎖配列、または
（ｄ）配列番号２７の軽鎖配列
を含む、請求項３６～４２のいずれか一項に記載の方法または使用。
【請求項４４】
前記抗ＢＭＰ６抗体またはその抗原結合性断片は、
（ａ）配列番号７７の重鎖配列および配列番号８７の軽鎖配列、
（ｂ）配列番号３７の重鎖配列および配列番号４７の軽鎖配列、
（ｃ）配列番号５７の重鎖配列および配列番号６７の軽鎖配列、または
（ｄ）配列番号１７の重鎖配列および配列番号２７の軽鎖配列
を含む、請求項３６～４３のいずれか一項に記載の方法または使用。
【請求項４５】
前記抗ＢＭＰ６抗体またはその抗原結合性断片は、
ａ）１ｎＭ以下のＫＤでヒトＢＭＰ６に結合するか、または
ｂ）０．１ｎＭ以下のＫＤでヒトＢＭＰ６に結合する、請求項３６～４４のいずれか一項に記載の方法または使用。
【請求項４６】
前記抗ＢＭＰ６抗体またはその抗原結合性断片は、
ａ）ヒトＢＭＰ６に対して、ヒトＢＭＰ７の少なくとも約１００倍のアフィニティーを有し、
ｂ）ヒトＢＭＰ６に対して、ヒトＢＭＰ２、ヒトＢＭＰ５またはヒトＢＭＰ７の少なくとも約１００倍のアフィニティーを有し、
ｃ）ヒトＢＭＰ６に対して、ヒトＢＭＰ２、ヒトＢＭＰ５またはヒトＢＭＰ７の少なくとも約５００倍のアフィニティーを有し、および／または
ｄ）ＥＬＩＳＡにおいてヒトＢＭＰ２および／またはＢＭＰ７対する検出可能な結合を有しない、請求項３６～４５のいずれか一項に記載の方法または使用。
【請求項４７】
前記抗ＢＭＰ６抗体またはその抗原結合性断片は、ＩｇＭおよびＩｇＧから選択される足場を含む、請求項３６～４６のいずれか一項に記載の方法または使用。
【請求項４８】
前記抗ＢＭＰ６抗体またはその抗原結合性断片は、ＩｇＧ１、ＩｇＧ２およびＩｇＧ３またはＩｇＧ４から選択されるＩｇＧである、請求項３６～４７のいずれか一項に記載の方法または使用。
【請求項４９】
前記抗ＢＭＰ６抗体またはその抗原結合性断片は、モノクローナル抗体、キメラ抗体、単鎖抗体、ＦａｂおよびｓｃＦｖからなる群から選択される、請求項３６～４８のいずれか一項に記載の方法または使用。
【請求項５０】
前記抗ＢＭＰ６抗体またはその抗原結合性断片は、免疫コンジュゲートの成分である、請求項３６～４９のいずれか一項に記載の方法または使用。
【請求項５１】
前記抗ＢＭＰ６抗体またはその抗原結合性断片は、Ｆｃ領域の突然変異を通して、改変されたエフェクター機能を有する、請求項３６～５０のいずれか一項に記載の方法または使用。
【請求項５２】

前記抗ＢＭＰ６抗体またはその抗原結合性断片は、配列ＱＴＬＶＨＬＭＮＰＥＹＶＰＫＰ（配列番号９８）を含む、例えばそれからなるヒトＢＭＰ６エピトープに結合する、請求項３６～５１のいずれか一項に記載の方法または使用。

【請求項５３】

前記抗体またはその抗原結合性断片は、０．００１ｍｇ／ｋｇ～０．１ｍｇ／ｋｇの範囲の用量で投与される、請求項３６～５２のいずれか一項に記載の方法または使用。

【請求項５４】

前記抗体またはその抗原結合性断片は、０．００６３～０．１ｍｇ／ｋｇの範囲の用量で投与される、請求項５３に記載の方法または使用。

【請求項５５】

前記抗体またはその抗原結合性断片は、０．００１ｍｇ／ｋｇ、０．００１６ｍｇ／ｋｇ、０．００２５ｍｇ／ｋｇ、０．００４０ｍｇ／ｋｇ、０．００６３ｍｇ／ｋｇ、０．０１ｍｇ／ｋｇ、０．０１６ｍｇ／ｋｇ、０．０２５ｍｇ／ｋｇ、０．０４０ｍｇ／ｋｇ、０．０６３ｍｇ／ｋｇまたは０．１ｍｇ／ｋｇの用量で投与される、請求項３６～５３のいずれか一項に記載の方法または使用。

【請求項５６】

前記抗体またはその抗原結合性断片は、前記患者に２回以上投与される、請求項３６～５５のいずれか一項に記載の方法または使用。

【請求項５７】

前記抗体またはその抗原結合性断片は、

ａ）静脈内、または

ｂ）皮下

に投与される、請求項３６～５６のいずれか一項に記載の方法または使用。

【請求項５８】

前記投与は、約３０～約６０分間の期間にわたる注入によるものである、請求項５７に記載の方法または使用。

【請求項５９】

前記フェリチンレベルは、１９００ｎｇ／ｍＬ以下、１８００ｎｇ／ｍＬ以下、１７００ｎｇ／ｍＬ以下、１６００ｎｇ／ｍＬ以下、１５００ｎｇ／ｍＬ以下、１４００ｎｇ／ｍＬ以下、１３００ｎｇ／ｍＬ以下、１２００ｎｇ／ｍＬ以下、１１００ｎｇ／ｍＬ以下または１０００ｎｇ／ｍＬ以下である、請求項１～５８のいずれか一項に記載の方法または使用。

【請求項６０】

前記フェリチンレベルは、１５００ｎｇ／ｍＬ以下である、請求項１～５９のいずれか一項に記載の方法または使用。

【請求項６１】

前記フェリチンレベルは、５００ｎｇ／ｍＬ以上、６００ｎｇ／ｍＬ以上、７００ｎｇ／ｍＬ以上、８００ｎｇ／ｍＬ以上、９００ｎｇ／ｍＬ以上、１０００ｎｇ／ｍＬ以上、１１００ｎｇ／ｍＬ以上、１２００ｎｇ／ｍＬ以上、１３００ｎｇ／ｍＬ以上、１４００ｎｇ／ｍＬ以上、１５００ｎｇ／ｍＬ以上、１６００ｎｇ／ｍＬ以上、１７００ｎｇ／ｍＬ以上、１８００ｎｇ／ｍＬ以上または１９００ｎｇ／ｍＬ以上である、請求項１～６０のいずれか一項に記載の方法または使用。

【請求項６２】

前記フェリチンレベルは、５００ｎｇ／ｍＬ以上、６００ｎｇ／ｍＬ以上、７００ｎｇ／ｍＬ以上、８００ｎｇ／ｍＬ以上、９００ｎｇ／ｍＬ以上、１０００ｎｇ／ｍＬ以上、１１００ｎｇ／ｍＬ以上、１２００ｎｇ／ｍＬ以上、１３００ｎｇ／ｍＬ以上または１４００ｎｇ／ｍＬ以上である、請求項１～６０のいずれか一項に記載の方法または使用。

【請求項６３】

前記フェリチンレベルは、５００ｎｇ／ｍＬ以上である、請求項１～４、９、１１、１３、１５、１７、２２または２３～６２のいずれか一項に記載の方法または使用。

【発明の詳細な説明】
【技術分野】
【０００１】
配列表
本出願は、ＡＳＣＩＩフォーマットにより電子的に提出され、参照により全体的に本明細書に組み込まれる配列表を含む。２０１７年５月２３日に作成された前記ＡＳＣＩＩコピーは、ＰＡＴ０５７３５４－ＷＯ－ＰＣＴ＿ＳＬ．ｔｘｔという名称であり、８２，８７９バイトのサイズである。
【０００２】
本発明は、骨形成タンパク質６（ＢＭＰ６）の阻害剤を使用して貧血を処置する方法に関する。
【背景技術】
【０００３】
貧血は、慢性腎疾患（ＣＫＤ）を伴う患者における有病率が高く、生活の質の低下ならびに循環器疾患および死を含む転帰不良の危険性の増大と関連する。ＣＫＤを伴う患者における貧血管理のいくつかの方式は、赤血球生成刺激剤（ＥＳＡ）、経口鉄および静脈内鉄の補充ならびに輸血の使用を伴う。しかし、多くの患者は、これらの処置に十分に応答せず、またはより高用量のＥＳＡおよび／もしくは鉄を必要とする。高用量の鉄は、酸素ラジカルおよびアレルギー反応の発生と関連する毒性も引き起こし得る。これらの処置は、貧血の基礎原因、すなわち鉄吸収および体内貯蔵部からの鉄移動の機能障害に十分に対処しないため、有効性を欠く場合がある。
【０００４】
エリスロポエチン抵抗性を管理しようとする試みは、現在、高用量の非経口鉄の共投与により実施されている。しかし、静脈内調製物に由来する大半の鉄は、マクロファージによりまず処理され、赤血球生成のためのその活用は、フェロポルチンにより媒介される鉄移出に依存する。
【０００５】
多くの貧血患者では、フェロポルチンにより媒介される鉄移出は、高レベルのヘプシジンにより抑制される。さらなる証拠は、ヘプシジンレベルの増大が血液透析時のＥＳＡ応答性の不良と相関することを示唆する。したがって、ヘプシジン降下剤は、この患者集団および鉄欠乏により特徴付けられる慢性疾患性貧血（ＡＣＤ）の他の形態におけるＥＳＡ不応性貧血を改善するために有効な戦略であり得る。
【０００６】
したがって、循環ヘプシジンレベルを低下させる方法は、鉄吸収を増強し、隔離された鉄の放出を容易にし、慢性腎疾患患者に存在するＥＳＡ不応性貧血における赤血球生成を促進するはずである。
【発明の概要】
【発明が解決しようとする課題】
【０００７】
貧血と関連する疾患および障害を処置するための現行の処置選択肢にもかかわらず、有効でありかつ良好に忍容される改善された貧血の処置方法が依然として必要とされている。
【課題を解決するための手段】
【０００８】
フェリチンは、貯蔵鉄を示す細胞内タンパク質である。フェリチンレベルは、体内に貯蔵されている鉄の総量の間接的な指標として使用することができる。理論に束縛されるものではないが、ＢＭＰ６の阻害剤は、細胞、例えばマクロファージおよび／または腸細胞からの貯蔵鉄の放出をもたらし得ると考えられる。やはり理論に束縛されるものではないが、本発明は、ＢＭＰ６の阻害剤が高いフェリチン、例えば血清フェリチンのレベル（例えば、５００ｎｇ／ｍＬを超える処置前のフェリチンレベル）を有し、したがって高貯蔵

鉄を有する患者において、隔離された鉄に関連する状態、例えば貧血の処置に有効であり得るという発見に部分的に基づいている。

【０００９】

第１の態様では、本発明は、選択的に、

ａ．ＢＭＰ６を阻害すること、

ｂ．血清鉄レベル、トランスフェリン飽和度（ＴＡＳＴ）、網状赤血球ヘモグロビン含量（ＣＨｒ）、網状赤血球カウント、赤血球カウント、ヘモグロビンもしくはヘマトクリットを上昇させること、

ｃ．ヘプシジンの活性またはレベルを低減すること、

ｄ．貧血を処置すること、または

ｅ．ヘモグロビンレベルを上昇させるかもしくは維持すること

を、それを必要とする患者において行う方法であって、選択的に、２０００ｎｇ／ｍＬ以下のフェリチンレベルを有する患者からの生物学的試料に基づき、治療有効量のＢＭＰ６アンタゴニストを患者に投与するステップを含む方法に関する。複数の実施形態では、フェリチンレベルは、５００ｎｇ／ｍＬ以上である。

【００１０】

別の態様では、本発明は、貧血を有する患者をＢＭＰ６アンタゴニストで処置する方法であって、選択的に、２０００ｎｇ／ｍＬ以下のフェリチンレベルを有する患者からの生物学的試料に基づき、治療有効量のＢＭＰ６アンタゴニストを患者に投与するステップを含む方法に関する。複数の実施形態では、フェリチンレベルは、５００ｎｇ／ｍＬ以上である。

【００１１】

別の態様では、本発明は、選択的に、貧血を有する患者をＢＭＰ６アンタゴニストで処置する方法であって、

ａ）患者からの生物学的試料をフェリチンレベルについてアッセイするステップと、

ｂ）その後、選択的に、治療有効量のＢＭＰ９アンタゴニストを患者に投与するステップであって、フェリチンレベルは、２０００ｎｇ／ｍＬ以下である、ステップと

を含む方法に関する。複数の実施形態では、フェリチンレベルは、５００ｎｇ／ｍＬ以上である。

【００１２】

別の態様では、本発明は、選択的に、貧血を有する患者をＢＭＰ６アンタゴニストで処置する方法であって、

ａ）患者からの生物学的試料をフェリチンレベルについてアッセイするステップと、

ｂ）その後、２０００ｎｇ／ｍＬ以下のフェリチンレベルを有する患者からの生物学的試料に基づき、ＢＭＰ６アンタゴニストによる処置のために患者を選択するステップと、

ｃ）その後、治療有効量のＢＭＰ９アンタゴニストを患者に投与するステップと

を含む方法に関する。複数の実施形態では、フェリチンレベルは、５００ｎｇ／ｍＬ以上である。

【００１３】

別の態様では、本発明は、選択的に、

ａ．ＢＭＰ６を阻害すること、

ｂ．血清鉄レベル、トランスフェリン飽和度（ＴＡＳＴ）、網状赤血球ヘモグロビン含量（ＣＨｒ）、網状赤血球カウント、赤血球カウント、ヘモグロビンもしくはヘマトクリットを上昇させること、

ｃ．ヘプシジンの活性またはレベルを低減すること、

ｄ．貧血を処置すること、または

ｅ．ヘモグロビンレベルを上昇させるかもしくは維持すること

を、それを必要とする患者において行う方法であって、選択的に、５００ｎｇ／ｍＬ以上のフェリチンレベルを有する患者からの生物学的試料に基づき、治療有効量のＢＭＰ６アンタゴニストを患者に投与するステップを含む方法に関する。

【００１４】
別の態様では、本発明は、貧血を有する患者をＢＭＰ６アンタゴニストで処置する方法であって、選択的に、５００ｎｇ／ｍＬ以上のフェリチンレベルを有する患者からの生物学的試料に基づき、治療有効量のＢＭＰ６アンタゴニストを患者に投与するステップを含む方法に関する。
【００１５】
別の態様では、本発明は、選択的に、貧血を有する患者をＢＭＰ６アンタゴニストで処置する方法であって、
ａ）患者からの生物学的試料をフェリチンレベルについてアッセイするステップと、
ｂ）その後、選択的に、治療有効量のＢＭＰ９アンタゴニストを患者に投与するステップであって、フェリチンレベルは、５００ｎｇ／ｍＬ以上である、ステップと
を含む方法に関する。
【００１６】
別の態様では、本発明は、選択的に、貧血を有する患者をＢＭＰ６アンタゴニストで処置する方法であって、
ａ）患者からの生物学的試料をフェリチンレベルについてアッセイするステップと、
ｂ）その後、５００ｎｇ／ｍＬ以上のフェリチンレベルを有する患者からの生物学的試料に基づき、ＢＭＰ６アンタゴニストによる処置のために患者を選択するステップと、
ｃ）その後、治療有効量のＢＭＰ９アンタゴニストを患者に投与するステップと
を含む方法に関する。
【００１７】
前述の態様のいずれかを含む複数の実施形態では、フェリチンレベルは、フェリチンタンパク質レベルである。
【００１８】
前述の態様のいずれかを含む複数の実施形態では、アッセイするステップは、イムノアッセイ、免疫組織化学、ＥＬＩＳＡ、フローサイトメトリー、ウェスタンブロット、ＨＰＬＣおよび質量分析からなる群から選択される技法を含む。
【００１９】
別の態様では、本発明は、貧血を有する患者の処置における使用のためのＢＭＰ６アンタゴニストにおいて、治療有効量のＢＭＰ６アンタゴニストは、２０００ｎｇ／ｍＬ以下のフェリチンレベルを有する患者からの生物学的試料に基づき、患者に投与されることを特徴とする、ＢＭＰ６アンタゴニストに関する。複数の実施形態では、フェリチンレベルは、５００ｎｇ／ｍＬ以上である。
【００２０】
別の態様では、本発明は、貧血を有する患者の処置における使用のためのＢＭＰ６アンタゴニストにおいて、治療有効量のＢＭＰ６アンタゴニストは、５００ｎｇ／ｍＬ以上のフェリチンレベルを有する患者からの生物学的試料に基づき、患者に投与されることを特徴とする、ＢＭＰ６アンタゴニストに関する。
【００２１】
別の態様では、本発明は、貧血を有する患者の処置における使用のためのＢＭＰ６アンタゴニストにおいて、
ａ）患者は、２０００ｎｇ／ｍＬ以下のフェリチンレベルを有する患者からの生物学的試料に基づき、ＢＭＰ６アンタゴニストによる処置のために選択されることと、
ｂ）その後、治療有効量のＢＭＰ６アンタゴニストは、患者に投与されることと
を特徴とする、ＢＭＰ６アンタゴニストに関する。複数の実施形態では、フェリチンレベルは、５００ｎｇ／ｍＬ以上である。
【００２２】
別の態様では、本発明は、貧血を有する患者の処置における使用のためのＢＭＰ６アンタゴニストにおいて、
ａ）患者は、５００ｎｇ／ｍＬ以上のフェリチンレベルを有する患者からの生物学的試料

に基づき、ＢＭＰ６アンタゴニストによる処置のために選択されることと、
ｂ）その後、治療有効量のＢＭＰ６アンタゴニストは、患者に投与されることと
を特徴とする、ＢＭＰ６アンタゴニストに関する。
【００２３】
別の態様では、本発明は、貧血を有する患者の処置における使用のためのＢＭＰ６アンタゴニストにおいて、
ａ）患者からの生物学的試料は、フェリチンについてアッセイされることと、
ｂ）治療有効量のＢＭＰ６アンタゴニストは、２０００ｎｇ／ｍＬ以下のフェリチンレベルを有する患者からの生物学的試料に基づき、選択的に患者に投与されることと
を特徴とする、ＢＭＰ６アンタゴニストに関する。複数の実施形態では、フェリチンレベルは、５００ｎｇ／ｍＬ以上である。
【００２４】
別の態様では、本発明は、貧血を有する患者の処置における使用のためのＢＭＰ６アンタゴニストにおいて、
ａ）患者からの生物学的試料は、フェリチンについてアッセイされることと、
ｂ）治療有効量のＢＭＰ６アンタゴニストは、５００ｎｇ／ｍＬ以上のフェリチンレベルを有する患者からの生物学的試料に基づき、選択的に患者に投与されることと
を特徴とする、ＢＭＰ６アンタゴニストに関する。
【００２５】
別の態様では、本発明は、貧血を有する患者の処置における使用のためのＢＭＰ６アンタゴニストにおいて、
ａ）患者からの生物学的試料は、フェリチンについてアッセイされることと、
ｂ）患者は、２０００ｎｇ／ｍＬ以下のフェリチンレベルを有する患者からの生物学的試料に基づき、ＢＭＰ６アンタゴニストによる処置のために選択されることと、
ｃ）治療有効量のＢＭＰ６アンタゴニストは、選択的に患者に投与されることと
を特徴とする、ＢＭＰ６アンタゴニストに関する。複数の実施形態では、フェリチンレベルは、５００ｎｇ／ｍＬ以上である。
【００２６】
別の態様では、本発明は、貧血を有する患者の処置における使用のためのＢＭＰ６アンタゴニストにおいて、
ａ）患者からの生物学的試料は、フェリチンについてアッセイされることと、
ｂ）患者は、５００ｎｇ／ｍＬ以上のフェリチンレベルを有する患者からの生物学的試料に基づき、ＢＭＰ６アンタゴニストによる処置のために選択されることと、
ｃ）治療有効量のＢＭＰ６アンタゴニストは、選択的に患者に投与されることと
を特徴とする、ＢＭＰ６アンタゴニストに関する。
【００２７】
別の態様では、本発明は、貧血を有する患者がＢＭＰ６アンタゴニストによる処置に応答する可能性を予測する方法であって、患者からの生物学的試料をフェリチンについてアッセイするステップを含み、２０００ｎｇ／ｍＬ以下のフェリチンレベルは、患者がＢＭＰ６アンタゴニストによる処置に応答する上昇した可能性を示す、方法に関する。複数の実施形態では、フェリチンレベルは、５００ｎｇ／ｍＬ以上である。
【００２８】
別の態様では、本発明は、貧血を有する患者がＢＭＰ６アンタゴニストによる処置に応答する可能性を予測する方法であって、患者からの生物学的試料をフェリチンについてアッセイするステップを含み、５００ｎｇ／ｍＬ以上のフェリチンレベルは、患者がＢＭＰ６アンタゴニストによる処置に応答する上昇した可能性を示す、方法に関する。
【００２９】
前述の態様および実施形態のいずれかの実施形態を含む複数の実施形態では、方法または使用は、患者から生物学的試料を得るステップをさらに含み、得るステップは、アッセイするステップの前に実施される。

【００３０】
前述の態様および実施形態のいずれかの実施形態を含む複数の実施形態では、フェリチンレベルは、フェリチンタンパク質レベルである。
【００３１】
前述の態様および実施形態のいずれかの実施形態を含む複数の実施形態では、アッセイするステップは、イムノアッセイ、免疫組織化学、ＥＬＩＳＡ、フローサイトメトリー、ウェスタンブロット、ＨＰＬＣおよび質量分析からなる群から選択される技法を含む。
【００３２】
別の態様では、本発明は、ＢＭＰ６アンタゴニストによる処置に対する、貧血を有する患者の応答性を予測するための伝達可能な形態の情報を生成する方法であって、
ａ）患者からの生物学的試料における２０００ｎｇ／ｍＬ以下のフェリチンレベルの存在に基づき、患者がＢＭＰ６アンタゴニストによる処置に応答する上昇した可能性を決定するステップと、
ｂ）決定するステップの結果を、伝達に使用するための有形または無形の媒体形態に記録するステップと
を含む方法を提供する。複数の実施形態では、フェリチンレベルは、５００ｎｇ／ｍＬ以上である。
【００３３】
別の態様では、本発明は、ＢＭＰ６アンタゴニストによる処置に対する、貧血を有する患者の応答性を予測するための伝達可能な形態の情報を生成する方法であって、
ａ）患者からの生物学的試料における５００ｎｇ／ｍＬ以上のフェリチンレベルの存在に基づき、患者がＢＭＰ６アンタゴニストによる処置に応答する上昇した可能性を決定するステップと、
ｂ）決定するステップの結果を、伝達に使用するための有形または無形の媒体形態に記録するステップと
を含む方法を提供する。
【００３４】
前述の態様および実施形態のいずれかの実施形態を含む複数の実施形態では、患者は、貧血を有する。複数の実施形態では、貧血は、慢性疾患に関連する貧血である。一実施形態では、慢性疾患は、慢性腎疾患、癌または炎症である。
【００３５】
前述の態様および実施形態のいずれかの実施形態を含む複数の実施形態では、患者は、赤血球生成刺激剤（ＥＳＡ）、例えばエリスロポエチン（ＥＰＯ）で処置されるかまたは処置されている。
【００３６】
前述の態様および実施形態のいずれかの実施形態を含む複数の実施形態では、貧血は、ＥＰＯ低応答性貧血である。
【００３７】
前述の態様および実施形態のいずれかの実施形態を含む複数の実施形態では、貧血は、鉄欠乏性貧血、例えば機能的鉄欠乏性貧血である。
【００３８】
前述の態様および実施形態のいずれかの実施形態を含む複数の実施形態では、患者は、慢性血液透析患者である。
【００３９】
前述の態様および実施形態のいずれかの実施形態を含む複数の実施形態では、方法または使用は、治療有効量のＢＭＰ６アンタゴニストによる処置の非存在下におけるＥＰＯ要求用量および／または鉄要求用量と比べて、患者の鉄要求用量を低減するか、患者のＥＰＯ要求用量を低減するか、または患者の鉄要求用量および患者のＥＰＯ要求用量の両方を低減するステップをさらに含む。前述の態様および実施形態のいずれかの実施形態を含む複数の実施形態では、方法または使用は、患者のＥＳＡ抵抗性指数（ＥＲＩ）の低下をさ

らに含むかまたはそれをもたらす。
【００４０】
前述の態様および実施形態のいずれかの実施形態を含む複数の実施形態では、生物学的試料は、滑液、血液、血清、糞便、血漿、尿、涙液、唾液、脳脊髄液、白血球試料または組織試料である。
【００４１】
前述の態様および実施形態のいずれかの実施形態を含む複数の実施形態では、生物学的試料は、血清または血液である。
【００４２】
前述の態様および実施形態のいずれかの実施形態を含む複数の実施形態では、生物学的試料は、血清である。
【００４３】
前述の態様および実施形態のいずれかの実施形態を含む複数の実施形態では、ＢＭＰ６アンタゴニストは、ＢＭＰ６結合性分子である。
【００４４】
前述の態様および実施形態のいずれかの実施形態を含む複数の実施形態では、ＢＭＰ６アンタゴニストは、抗ＢＭＰ６抗体またはその抗原結合性断片、例えば表１または表１４に記載されるものである。
【００４５】
前述の態様および実施形態のいずれかの実施形態を含む複数の実施形態では、抗ＢＭＰ６抗体またはその抗原結合性断片は、
（ａ）それぞれ配列番号６９、７０および７１のＨＣＤＲ１配列、ＨＣＤＲ２配列およびＨＣＤＲ３配列、ならびにそれぞれ配列番号７９、８０および８１のＬＣＤＲ１配列、ＬＣＤＲ２配列およびＬＣＤＲ３配列、
（ｂ）それぞれ配列番号７２、７３および７４のＨＣＤＲ１配列、ＨＣＤＲ２配列およびＨＣＤＲ３配列、ならびにそれぞれ配列番号８２、８３および８４のＬＣＤＲ１配列、ＬＣＤＲ２配列およびＬＣＤＲ３配列、
（ｃ）それぞれ配列番号２９、３０および３１のＨＣＤＲ１配列、ＨＣＤＲ２配列およびＨＣＤＲ３配列、ならびにそれぞれ配列番号３９、４０および４１のＬＣＤＲ１配列、ＬＣＤＲ２配列およびＬＣＤＲ３配列、
（ｄ）それぞれ配列番号３２、３３および３４のＨＣＤＲ１配列、ＨＣＤＲ２配列およびＨＣＤＲ３配列、ならびにそれぞれ配列番号４２、４３および４４のＬＣＤＲ１配列、ＬＣＤＲ２配列およびＬＣＤＲ３配列、
（ｅ）それぞれ配列番号４９、５０および５１のＨＣＤＲ１配列、ＨＣＤＲ２配列およびＨＣＤＲ３配列、ならびにそれぞれ配列番号５９、６０および６１のＬＣＤＲ１配列、ＬＣＤＲ２配列およびＬＣＤＲ３配列、
（ｆ）それぞれ配列番号５２、５３および５４のＨＣＤＲ１配列、ＨＣＤＲ２配列およびＨＣＤＲ３配列、ならびにそれぞれ配列番号６２、６３および６４のＬＣＤＲ１配列、ＬＣＤＲ２配列およびＬＣＤＲ３配列、
（ｇ）それぞれ配列番号９、１０および１１のＨＣＤＲ１配列、ＨＣＤＲ２配列およびＨＣＤＲ３配列、ならびにそれぞれ配列番号１９、２０および２１のＬＣＤＲ１配列、ＬＣＤＲ２配列およびＬＣＤＲ３配列、または
（ｈ）それぞれ配列番号１２、１３および１４のＨＣＤＲ１配列、ＨＣＤＲ２配列およびＨＣＤＲ３配列、ならびにそれぞれ配列番号２２、２３および２４のＬＣＤＲ１配列、ＬＣＤＲ２配列およびＬＣＤＲ３配列
を含む。
【００４６】
前述の態様および実施形態のいずれかの実施形態を含む複数の実施形態では、抗ＢＭＰ６抗体またはその抗原結合性断片は、
（ａ）配列番号７５のＶＨ配列、

（ｂ）配列番号３５のＶＨ配列、
（ｃ）配列番号５５のＶＨ配列、または
（ｄ）配列番号１５のＶＨ配列
を含む。
【００４７】
前述の態様および実施形態のいずれかの実施形態を含む複数の実施形態では、抗ＢＭＰ６抗体またはその抗原結合性断片は、
（ａ）配列番号８５のＶＬ配列、
（ｂ）配列番号４５のＶＬ配列、
（ｃ）配列番号６５のＶＬ配列、または
（ｄ）配列番号２５のＶＬ配列
を含む。
【００４８】
前述の態様および実施形態のいずれかの実施形態を含む複数の実施形態では、抗ＢＭＰ６抗体またはその抗原結合性断片は、
（ａ）配列番号７５のＶＨ配列および配列番号８５のＶＬ配列、
（ｂ）配列番号３５のＶＨ配列および配列番号４５のＶＬ配列、
（ｃ）配列番号５５のＶＨ配列および配列番号６５のＶＬ配列、または
（ｄ）配列番号１５のＶＨ配列および配列番号２５のＶＬ配列
を含む。
【００４９】
前述の態様および実施形態のいずれかの実施形態を含む複数の実施形態では、抗ＢＭＰ６抗体またはその抗原結合性断片は、
（ａ）配列番号７７の重鎖配列、
（ｂ）配列番号３７の重鎖配列、
（ｃ）配列番号５７の重鎖配列、または
（ｄ）配列番号１７の重鎖配列
を含む。
【００５０】
前述の態様および実施形態のいずれかの実施形態を含む複数の実施形態では、抗ＢＭＰ６抗体またはその抗原結合性断片は、
（ａ）配列番号８７の軽鎖配列、
（ｂ）配列番号４７の軽鎖配列、
（ｃ）配列番号６７の軽鎖配列、または
（ｄ）配列番号２７の軽鎖配列
を含む。
【００５１】
前述の態様および実施形態のいずれかの実施形態を含む複数の実施形態では、抗ＢＭＰ６抗体またはその抗原結合性断片は、
（ａ）配列番号７７の重鎖配列および配列番号８７の軽鎖配列、
（ｂ）配列番号３７の重鎖配列および配列番号４７の軽鎖配列、
（ｃ）配列番号５７の重鎖配列および配列番号６７の軽鎖配列、または
（ｄ）配列番号１７の重鎖配列および配列番号２７の軽鎖配列
を含む。
【００５２】
前述の態様および実施形態のいずれかの実施形態を含む複数の実施形態では、抗ＢＭＰ６抗体またはその抗原結合性断片は、１ｎＭ以下のＫＤでヒトＢＭＰ６に結合する。
【００５３】
前述の態様および実施形態のいずれかの実施形態を含む複数の実施形態では、抗ＢＭＰ６抗体またはその抗原結合性断片は、０．１ｎＭ以下のＫＤでヒトＢＭＰ６に結合する。

【００５４】
前述の態様および実施形態のいずれかの実施形態を含む複数の実施形態では、抗ＢＭＰ６抗体またはそれらの抗原結合性断片は、ヒトＢＭＰ６に対して、ヒトＢＭＰ７の少なくとも約１００倍のアフィニティーを有する。
【００５５】
前述の態様および実施形態のいずれかの実施形態を含む複数の実施形態では、抗ＢＭＰ６抗体またはそれらの抗原結合性断片は、ヒトＢＭＰ６に対して、ヒトＢＭＰ２、ヒトＢＭＰ５またはヒトＢＭＰ７の少なくとも約１００倍のアフィニティーを有する。
【００５６】
前述の態様および実施形態のいずれかの実施形態を含む複数の実施形態では、抗ＢＭＰ６抗体またはそれらの抗原結合性断片は、ヒトＢＭＰ６に対して、ヒトＢＭＰ２、ヒトＢＭＰ５またはヒトＢＭＰ７の少なくとも約５００倍のアフィニティーを有する。
【００５７】
前述の態様および実施形態のいずれかの実施形態を含む複数の実施形態では、抗ＢＭＰ６抗体またはその抗原結合性断片は、ＥＬＩＳＡにおいてヒトＢＭＰ２および／またはヒトＢＭＰ７に対する検出可能な結合を有しない。
【００５８】
前述の態様および実施形態のいずれかの実施形態を含む複数の実施形態では、抗ＢＭＰ６抗体またはその抗原結合性断片は、ＩｇＭおよびＩｇＧから選択される足場を含む。
【００５９】
前述の態様および実施形態のいずれかの実施形態を含む複数の実施形態では、抗ＢＭＰ６抗体またはその抗原結合性断片は、ＩｇＧ１、ＩｇＧ２およびＩｇＧ３またはＩｇＧ４から選択されるＩｇＧである。
【００６０】
前述の態様および実施形態のいずれかの実施形態を含む複数の実施形態では、抗ＢＭＰ６抗体またはその抗原結合性断片は、モノクローナル抗体、キメラ抗体、単鎖抗体、Ｆａｂおよびｓｃ Ｆｖからなる群から選択される。
【００６１】
前述の態様および実施形態のいずれかの実施形態を含む複数の実施形態では、抗ＢＭＰ６抗体またはその抗原結合性断片は、免疫コンジュゲートの成分である。
【００６２】
前述の態様および実施形態のいずれかの実施形態を含む複数の実施形態では、抗ＢＭＰ６抗体またはその抗原結合性断片は、Ｆｃ領域の突然変異を通して、改変されたエフェクター機能を有する。
【００６３】
前述の態様および実施形態のいずれかの実施形態を含む複数の実施形態では、抗ＢＭＰ６抗体またはその抗原結合性断片は、配列ＱＴＬＶＨＬＭＮＰＥＹＶＰＫＰ（配列番号９８）を含む、例えばそれからなるヒトＢＭＰ６エピトープに結合する。
【００６４】
前述の態様および実施形態のいずれかの実施形態を含む複数の実施形態では、抗体またはその抗原結合性断片は、０．００１ｍｇ／ｋｇ～０．１ｍｇ／ｋｇの範囲の用量で投与される。
【００６５】
前述の態様および実施形態のいずれかの実施形態を含む複数の実施形態では、抗体またはその抗原結合性断片は、０．００６３～０．１ｍｇ／ｋｇの範囲の用量で投与される。
【００６６】
前述の態様および実施形態のいずれかの実施形態を含む複数の実施形態では、抗体またはその抗原結合性断片は、０．００１ｍｇ／ｋｇ、０．００１６ｍｇ／ｋｇ、０．００２５ｍｇ／ｋｇ、０．００４０ｍｇ／ｋｇ、０．００６３ｍｇ／ｋｇ、０．０１ｍｇ／ｋｇ、０．０１６ｍｇ／ｋｇ、０．０２５ｍｇ／ｋｇ、０．０４０ｍｇ／ｋｇ、０．０６３ｍ

ｇ／ｋｇまたは０．１ｍｇ／ｋｇの用量で投与される。
【００６７】
前述の態様および実施形態のいずれかの実施形態を含む複数の実施形態では、抗体またはその抗原結合性断片は、静脈内または皮下に投与される。
【００６８】
前述の態様および実施形態のいずれかの実施形態を含む複数の実施形態では、抗体またはその抗原結合性断片は、静脈内投与される。
【００６９】
前述の態様および実施形態のいずれかの実施形態を含む複数の実施形態では、投与は、約３０～約６０分間の期間にわたる注入による。
【００７０】
前述の態様および実施形態のいずれかの実施形態を含む複数の実施形態では、フェリチンレベルは、１９００ｎｇ／ｍＬ以下、１８００ｎｇ／ｍＬ以下、１７００ｎｇ／ｍＬ以下、１６００ｎｇ／ｍＬ以下、１５００ｎｇ／ｍＬ以下、１４００ｎｇ／ｍＬ以下、１３００ｎｇ／ｍＬ以下、１２００ｎｇ／ｍＬ以下、１１００ｎｇ／ｍＬ以下、１０００ｎｇ／ｍＬ以下、９００ｎｇ／ｍＬ以下、８００ｎｇ／ｍＬ以下、７００ｎｇ／ｍＬ以下、６００ｎｇ／ｍＬ以下または５００ｎｇ／ｍＬ以下である。
【００７１】
前述の態様および実施形態のいずれかの実施形態を含む複数の実施形態では、フェリチンレベルは、１５００ｎｇ／ｍＬ以下である。前述の態様および実施形態のいずれかの実施形態を含む複数の実施形態では、フェリチンレベルは、１０００ｎｇ／ｍＬ以下である。
【００７２】
前述の態様および実施形態のいずれかの実施形態を含む複数の実施形態では、フェリチンレベルは、約２００ｎｇ／ｍＬ以上、約２５０ｎｇ／ｍＬ以上、約３００ｎｇ／ｍＬ以上、約３５０ｎｇ／ｍＬ以上、約４００ｎｇ／ｍＬ以上、約４５０ｎｇ／ｍＬ以上、約５００ｎｇ／ｍＬ以上、約６００ｎｇ／ｍＬ以上、約７００ｎｇ／ｍＬ以上、約８００ｎｇ／ｍＬ以上、約９００ｎｇ／ｍＬ以上、約１０００ｎｇ／ｍＬ以上、約１１００ｎｇ／ｍＬ以上、約１２００ｎｇ／ｍＬ以上、約１３００ｎｇ／ｍＬ以上、約１４００ｎｇ／ｍＬ以上、約１５００ｎｇ／ｍＬ以上、約１６００ｎｇ／ｍＬ以上、約１７００ｎｇ／ｍＬ以上、約１８００ｎｇ／ｍＬ以上または約１９００ｎｇ／ｍＬ以上である。
【００７３】
前述の態様および実施形態のいずれかの実施形態を含む複数の実施形態では、フェリチンレベルは、約５００ｎｇ／ｍＬ以上、約６００ｎｇ／ｍＬ以上、約７００ｎｇ／ｍＬ以上、約８００ｎｇ／ｍＬ以上、約９００ｎｇ／ｍＬ以上、約１０００ｎｇ／ｍＬ以上、約１１００ｎｇ／ｍＬ以上、約１２００ｎｇ／ｍＬ以上、約１３００ｎｇ／ｍＬ以上または約１４００ｎｇ／ｍＬ以上である。
【００７４】
前述の態様および実施形態のいずれかの実施形態を含む複数の実施形態では、フェリチンレベルは、約５００ｎｇ／ｍＬ以上である。
【００７５】
定義
別段に定義されない限り、本明細書で使用される全ての技術的および科学的用語は、本発明が関する技術分野の当業者により一般的に理解される意味と同じ意味を有する。
【００７６】
本明細書で使用される「ＢＭＰ６」は、タンパク質である骨形成タンパク質６（ＢＭＰ６）またはＢＭＰ６をコードする遺伝子もしくは核酸を意味する。Ｈａｈｎ　ｅｔ　ａｌ．１９９２　Ｇｅｎｏｍｉｃｓ　１４：７５９－６２；Ｓａｕｅｒｍａｎｎ　ｅｔ　ａｌ．１９９３　Ｊ．Ｎｅｕｒｏｓｃｉ．Ｒｅｓ．３３：１４２－７；ＮＣＢＩ　Ｇｅｎｅ　ＩＤ：６５４。ＢＭＰ６は、ＢＭＰ－６；ＶＧＲ；ＶＧＲ１；Ｅｘｔｅｒｎａｌ　ＩＤ：

ＯＭＩＭ：１１２２６６；ＭＧＩ：８８１８２；ＨｏｍｏｌｏＧｅｎｅ：１３００；ＧｅｎｅＣａｒｄｓ：ＢＭＰ６　Ｇｅｎｅとしても公知である。オーソログ：種：ヒト：Ｅｎｔｒｅｚ：６５４；Ｅｎｓｅｍｂｌ：ＥＮＳＧ００００００１５３１６２；ＵｎｉＰｒｏｔ：Ｐ２２００４；ＲｅｆＳｅｑ（ｍＲＮＡ）：ＮＭ＿００１７１８；ＲｅｆＳｅｑ（タンパク質）：ＮＰ＿００１７０９；場所（ＵＣＳＣ）：第６染色体：７．７３～７．８８Ｍｂ；種：マウス：Ｅｎｔｒｅｚ：１２１６１；Ｅｎｓｅｍｂｌ：ＥＮＳＭＵＳＧ００００００３９００４；ＵｎｉＰｒｏｔ：Ｐ２０７２２；ＲｅｆＳｅｑ（ｍＲＮＡ）：ＮＭ＿００７５５６；ＲｅｆＳｅｑ（タンパク質）：ＮＰ＿０３１５８２；場所（ＵＣＳＣ）：第１３染色体：３８．３５～３８．５Ｍｂ。本明細書に記載される通り、ＢＭＰ６に結合する抗体またはその抗原結合性断片は、ＢＭＰ６タンパク質に結合する。

【００７７】

本明細書で使用される「ＢＭＰ２」は、タンパク質である骨形成タンパク質２（ＢＭＰ２）またはＢＭＰ２をコードする遺伝子もしくは核酸を意味する。ＢＭＰ２は、ＢＤＡ２；およびＢＭＰ２Ａ；Ｅｘｔｅｒｎａｌ　ＩＤ：ＯＭＩＭ：１１２２６１；ＭＧＩ：８８１７７；ＨｏｍｏｌｏＧｅｎｅ：９２６；ＧｅｎｅＣａｒｄｓ：ＢＭＰ２　Ｇｅｎｅとしても公知である。種：ヒト：Ｅｎｔｒｅｚ：６５０；Ｅｎｓｅｍｂｌ：ＥＮＳＧ００００００１２５８４５；ＵｎｉＰｒｏｔ：Ｐ１２６４３；ＲｅｆＳｅｑ（ｍＲＮＡ）：ＮＭ＿００１２００；ＲｅｆＳｅｑ（タンパク質）：ＮＰ＿００１１９１；場所（ＵＣＳＣ）：第２０染色体：６．７５～６．７６Ｍｂ。種：マウス：Ｅｎｔｒｅｚ：１２１５６；Ｅｎｓｅｍｂｌ：ＥＮＳＭＵＳＧ００００００２７３５８；ＵｎｉＰｒｏｔ：Ｐ２１２７４；ＲｅｆＳｅｑ（ｍＲＮＡ）：ＮＭ＿００７５５３；ＲｅｆＳｅｑ（タンパク質）：ＮＰ＿０３１５７９；場所（ＵＣＳＣ）：第２染色体：１３３．５５～１３３．５６Ｍｂ。本明細書に記載される通り、ＢＭＰ２に結合する抗体またはその抗原結合性断片は、ＢＭＰ２タンパク質に結合する。

【００７８】

本明細書で使用される「ＢＭＰ５」は、タンパク質である骨形成タンパク質５（ＢＭＰ５）またはＢＭＰ５をコードする遺伝子もしくは核酸を意味する。ＢＭＰ５は、ＭＧＣ３４２４４；Ｅｘｔｅｒｎａｌ　ＩＤ：ＯＭＩＭ：１１２２６５；ＭＧＩ：８８１８１；ＨｏｍｏｌｏＧｅｎｅ：２２４１２；ＧｅｎｅＣａｒｄｓ：ＢＭＰ５　Ｇｅｎｅとしても公知である。種：ヒト：Ｅｎｔｒｅｚ：６５３；Ｅｎｓｅｍｂｌ：ＥＮＳＧ００００００１１２１７５；ＵｎｉＰｒｏｔ：Ｐ２２００３；ＲｅｆＳｅｑ（ｍＲＮＡ）：ＮＭ＿０２１０７３；ＲｅｆＳｅｑ（タンパク質）：ＮＰ＿０６６５５１；場所（ＵＣＳＣ）：第６染色体：５５．６２～５５．７４Ｍｂ。種：マウス：Ｅｎｔｒｅｚ：１２１６０；Ｅｎｓｅｍｂｌ：ＥＮＳＭＵＳＧ００００００３２１７９；ＵｎｉＰｒｏｔ：Ｐ４９００３；ＲｅｆＳｅｑ（ｍＲＮＡ）：ＮＭ＿００７５５５；ＲｅｆＳｅｑ（タンパク質）：ＮＰ＿０３１５８１；場所（ＵＣＳＣ）：第９染色体：７５．７８～７５．９Ｍｂ。本明細書に記載される通り、ＢＭＰ５に結合する抗体またはその抗原結合性断片は、ＢＭＰ５タンパク質に結合する。

【００７９】

本明細書で使用される「ＢＭＰ７」は、タンパク質である骨形成タンパク質７（ＢＭＰ７）またはＢＭＰ７をコードする遺伝子もしくは核酸を意味する。ＢＭＰ７は、骨形成タンパク質－１（ＯＰ－１）；ＯＰ－１；Ｅｘｔｅｒｎａｌ　ＩＤ：ＯＭＩＭ：１１２２６７；ＭＧＩ：１０３３０２；ＨｏｍｏｌｏＧｅｎｅ：２０４１０；ＧｅｎｅＣａｒｄｓ：ＢＭＰ７　Ｇｅｎｅとしても公知である。種：ヒト：Ｅｎｔｒｅｚ：６５５；Ｅｎｓｅｍｂｌ：ＥＮＳＧ００００００１０１１４４；ＵｎｉＰｒｏｔ：Ｐ１８０７５；ＲｅｆＳｅｑ（ｍＲＮＡ）：ＮＭ＿００１７１９；ＲｅｆＳｅｑ（タンパク質）：ＮＰ＿００１７１０；場所（ＵＣＳＣ）：第２０染色体：５５．７４～５５．８４Ｍｂ。種：マウス：Ｅｎｔｒｅｚ：１２１６２；Ｅｎｓｅｍｂｌ：ＥＮＳＭＵＳＧ００００００００８９９９；ＵｎｉＰｒｏｔ：Ｐ２３３５９；ＲｅｆＳｅｑ（ｍＲＮＡ）：ＮＭ＿００７５５７；ＲｅｆＳｅｑ（タンパク質）：ＮＰ＿０３１５８３；場所（ＵＣＳＣ）：第２染色体：１７２．８７

～１７２．９４Ｍｂ。本明細書に記載される通り、ＢＭＰ７に結合する抗体またはその抗原結合性断片は、ＢＭＰ７タンパク質に結合する。

【００８０】

「ヘプシジン」は、ペプチドホルモンである遺伝子ヘプシジンまたはタンパク質ヘプシジンを意味する。ヘプシジンは、ＨＡＭＰ（ヘプシジン抗微生物タンパク質またはヘプシジン抗微生物ペプチド）；ＨＥＰＣ；ＨＦＥ２Ｂ；ＬＥＡＰ１（ＬＥＡＰ－１）；ＰＬＴＲ；ＯＭＩＭ：６０６４６４；ＨｏｍｏｌｏＧｅｎｅ：８１６２３；ＧｅｎｅＣａｒｄｓ：ＨＡＭＰ Ｇｅｎｅ；Ｅｎｔｒｅｚ：５７８１７；Ｅｎｓｅｍｂｌ：ＥＮＳＧ００００１０５６９７；ＵｎｉＰｒｏｔ：Ｐ８１１７２；ＲｅｆＳｅｑ（ｍＲＮＡ）：ＮＭ＿０２１１７５；ＲｅｆＳｅｑ（タンパク質）：ＮＰ＿０６６９９８；場所（ＵＣＳＣ）：第１９染色体：３５．７７～３５．７８Ｍｂとしても公知である。Ｋｒａｕｓｅ ｅｔ ａｌ．ＦＥＢＳ Ｌｅｔｔ．４８０：１４７－１５０；およびＰｉｇｅｏｎ ｅｔ ａｌ．２００１ Ｊ．Ｂｉｏｌ．Ｃｈｅｍ．２７６：７８１１－９。また、Ｇａｎｚ ２００３ Ｂｌｏｏｄ １０２：７８３－８；Ｒｏｙ ｅｔ ａｌ．２００５ Ｃｕｒｒ．Ｏｐｉｎ．Ｈｅｍａｔ．１２：１０７－１１１；Ｆｌｅｍｉｎｇ ｅｔ ａｌ．２００６ Ｓｅｍｉｎ．Ｌｉｖｅｒ Ｄｉｘ．２５：４１１－９；Ｐａｒｋ ｅｔ ａｌ．２００１ Ｊ．Ｂｉｏｌ．Ｃｈｅｍ．２７６：７８０６－１０；Ｍａｊｏｒｅ ｅｔ ａｌ．２００２ Ｈａｅｍａｔｏｌｏｇｉｃａ ８７：２２１－２；Ｋｌｕｖｅｒ ｅｔ ａｌ．２００２ Ｊ．Ｐｅｐｔ．Ｒｅｓ．５９：２４１－８；Ｈｕｎｔｅｒ ｅｔ ａｌ．２００２ Ｊ．Ｂｉｏｌ．Ｃｈｅｍ．２７７：３７５９７－６０３；Ｗｅｉｎｓｔｅｉｎ ｅｔ ａｌ．２００３ Ｂｌｏｏｄ １００：３７７６－８１；Ｎｅｍｅｔｈ ｅｔ ａｌ．２００３ Ｂｌｏｏｄ １０１：２４６１－３；Ｒｏｅｔｔｏ ｅｔ ａｌ．２００３ Ｎａｔ．Ｇｅｎｅｔ．３３：２１－２；Ｓｔｒａｕｓｂｅｒｇ ｅｔ ａｌ．２００３ Ｐｒｏｃ．Ｎａｔｌ．Ａｃａｄ．Ｓｃｉ ＵＳＡ ９９：１６８９９－９０３；Ｇｅｈｒｋｅ ｅｔ ａｌ．２００３ Ｂｌｏｏｄ １０２：３７１－６；Ｍｅｒｒｙｗｅａｔｈｅｒ－Ｃｌａｒｋｅ ｅｔ ａｌ．２００４ Ｈｕｍａｎ Ｍｏｌ．Ｇｅｎｅｔ．１２：２２４１－７；Ｃｌａｒｋ ｅｔ ａｌ．２００３ Ｇｅｎｏｍｅ Ｒｅｓ．１３：２２６５－７０；Ｒｏｅｔｔｏ ｅｔ ａｌ．２００４ Ｂｌｏｏｄ １０３：２４０７－９；Ｊａｃｏｌｏｔ ｅｔ ａｌ．２００４ Ｂｌｏｏｄ １０３：２８３５－４０；およびＯｔａ ｅｔ ａｌ．２００４ Ｎａｔ．Ｇｅｎｅｔ．３６：４０－４５も参照されたい。

【００８１】

本明細書で使用される「ＢＭＰ６アンタゴニスト」は、（例えば、ＢＭＰ６のＢＭＰ６受容体への結合を遮断することにより）ＢＭＰ６機能、発現および／またはシグナル伝達に拮抗する（例えば、低減する、阻害する、減少させる、遅延させる）ことができる分子を指す。ＢＭＰ６アンタゴニストの非限定的な例には、ＢＭＰ６結合性分子およびＢＭＰ６受容体結合性分子が含まれる。開示された方法、レジメン、キット、過程、使用および組成物のいくつかの実施形態では、ＢＭＰ６アンタゴニストが利用される。

【００８２】

本明細書で使用される「ＢＭＰ６結合性分子」は、単独でまたは他の分子と会合してヒトＢＭＰ６抗原に結合することができる任意の分子を指す。結合反応は、例えば、結合アッセイ、競合アッセイもしくはＢＭＰ６受容体へのＢＭＰ６結合の阻害を決定するためのバイオアッセイ、または無関係の特異性を有するが、理想的には同じアイソタイプの抗体が使用される陰性対照試験に関する任意の種類の結合アッセイを含む標準的な方法（定性的アッセイ）によって示され得る。ＢＭＰ６結合性分子の非限定的な例には、小分子、ＢＭＰ６受容体デコイ、ならびにＢ細胞もしくはハイブリドーマによって産生されるＢＭＰ６に結合する抗体およびキメラ抗体、ＣＤＲグラフト抗体もしくはヒト抗体またはそれらの任意の断片、例えばＦ（ａｂ’）２およびＦａｂ断片、ならびに単鎖または単一ドメイン抗体が含まれる。好ましくは、ＢＭＰ６結合性分子は、ＢＭＰ６機能、発現および／またはシグナル伝達に拮抗する（例えば、低減する、阻害する、減少させる、遅延させる）。開示された方法、レジメン、キット、過程、使用および組成物のいくつかの実施形態で

は、ＢＭＰ６結合性分子が利用される。

【００８３】

「ＢＭＰ６受容体結合性分子」は、単独でまたは他の分子と会合してヒトＢＭＰ６受容体に結合することができる任意の分子を意味する。結合反応は、例えば、結合アッセイ、競合アッセイもしくはＢＭＰ６へのＢＭＰ６受容体結合の阻害を決定するためのバイオアッセイ、または無関係の特異性を有するが、理想的には同じアイソタイプの抗体が使用される陰性対照試験に関する任意の種類の結合アッセイを含む標準的な方法（定性的アッセイ）によって示され得る。ＢＭＰ６受容体結合性分子の非限定的な例には、小分子、ＢＭＰ６デコイ、ならびにＢ細胞もしくはハイブリドーマによって産生されるＢＭＰ６受容体に対する抗体およびキメラ抗体、ＣＤＲグラフト抗体もしくはヒト抗体またはそれらの任意の断片、例えばＦ（ａｂ’）２およびＦａｂ断片、ならびに単鎖または単一ドメイン抗体が含まれる。好ましくは、ＢＭＰ６受容体結合性分子は、ＢＭＰ６機能、発現および／またはシグナル伝達に拮抗する（例えば、低減する、阻害する、減少させる、遅延させる）。開示された方法、レジメン、キット、過程、使用および組成物のいくつかの実施形態では、ＢＭＰ６受容体結合性分子が利用される。

【００８４】

本明細書で使用される「貧血」は、血液中の赤血球の数の減少またはヘモグロビンもしくは鉄の量の減少を意味し、酸素を搬送する血液の能力の低下を伴う。

【００８５】

本明細書で互換的に使用される「ＥＰＯ抵抗性指数」または「ＥＲＩ」は、ヘモグロビンレベルの関数としてのＥＳＡ（例えば、ＥＰＯ）用量（体重１ｋｇ当たりの単位）の変化を意味する。複数の実施形態では、ＥＳＡ用量／ヘモグロビンレベルは、毎週測定される。複数の実施形態では、ＥＳＡ用量／ヘモグロビンレベルは、毎月測定される。複数の実施形態では、ＥＳＡ用量／ヘモグロビンレベルは、ＥＲＩに到達するために複数回の測定にわたって比較される。

【００８６】

貧血は、非限定的な例として、男性では約１３０～１４０ｇ／Ｌ（１３～１４ｇ／ｄＬ）未満のヘモグロビンに基づき、女性では約１２０～１３０ｇ／Ｌ（１２～１３ｇ／ｄＬ）未満のヘモグロビンに基づく方法を含む、当技術分野で公知の任意の方法を使用して診断することができる。Ｊａｎｚ ｅｔ ａｌ．２０１３ Ｅｍｅｒｇ．Ｍｅｄ．Ｐｒａｃｔ．１５：１－１５；およびＳｍｉｔｈ ２０１０ Ａｍ．Ｊ．Ｍａｎ．Ｃａｒｅ １６ Ｓｕｐｐ．Ｓ５９－６６。

【００８７】

本明細書で使用される「ＢＭＰ６抗体」、「抗ヒトＢＭＰ６抗体」、「ＢＭＰ６結合性抗体」、「ＢＭＰ６アンタゴニスト抗体」（およびこれらの抗原結合性断片）などの用語は、タンパク質であるＢＭＰ６に結合する抗体（およびそれらの抗原結合性断片）を含む。

【００８８】

本明細書で使用される「抗体」、「その抗原結合性断片」、「抗原結合性部分」などの用語は、全抗体および任意のその抗原結合性断片（すなわち「抗原結合性部分」）または単鎖を含む。天然の「抗体」は、ジスルフィド結合により相互接続された少なくとも２つの重（Ｈ）鎖と２つの軽（Ｌ）鎖とを含む糖タンパク質である。各重鎖は、重鎖可変領域（本明細書ではＶＨと略記する）および重鎖定常領域を含む。重鎖定常領域は、３つのドメインであるＣＨ１、ＣＨ２およびＣＨ３を含む。各軽鎖は、軽鎖可変領域（本明細書ではＶＬと略記する）および軽鎖定常領域を含む。軽鎖定常領域は、１つのドメインであるＣＬを含む。ＶＨ領域およびＶＬ領域は、フレームワーク領域（ＦＲ）と称するより保存的な領域を散在させた、相補性決定領域（ＣＤＲ）と称する超可変性の領域へさらに細分することができる。各ＶＨおよび各ＶＬは、アミノ末端からカルボキシ末端へ以下の順序で配置される３つのＣＤＲおよび４つのＦＲ：ＦＲ１、ＣＤＲ１、ＦＲ２、ＣＤＲ２、ＦＲ３、ＣＤＲ３、ＦＲ４からなる。重鎖および軽鎖の可変領域は、抗原と相互作用する結

合性ドメインを含有する。抗体の定常領域は、免疫グロブリンの、宿主組織または免疫系の多様な細胞（例えば、エフェクター細胞）および古典的補体系の第１の成分（Ｃ１ｑ）を含む因子への結合を媒介し得る。

【００８９】

本明細書で使用される抗体の「抗原結合性断片」、「その抗原結合性断片」、「抗原結合性部分」などの用語は、所与の抗原（例えば、ＢＭＰ６）に特異的に結合する能力を保持するインタクト抗体の１つまたは複数の断片を指す。抗体の抗原結合性機能は、インタクトな抗体の断片により果たされ得る。抗体の「抗原結合性部分」という用語内に包含される結合性断片の例は、Ｆａｂ断片、ＶＬドメイン、ＶＨドメイン、ＣＬドメインおよびＣＨ１ドメインからなる一価断片；ヒンジ領域においてジスルフィド架橋により連結された２つのＦａｂ断片を含む二価断片であるＦ（ａｂ）$_2$断片；ＶＨドメインおよびＣＨ１ドメインからなるＦｄ断片；抗体の単一のアームのＶＬドメインおよびＶＨドメインからなるＦｖ断片；ＶＨドメインからなる単一ドメイン抗体（ｄＡｂ）断片（Ｗａｒｄ ｅｔ ａｌ．，１９８９ Ｎａｔｕｒｅ ３４１：５４４－５４６）；ならびに単離相補性決定領域（ＣＤＲ）を含む。

【００９０】

さらに、Ｆｖ断片の２つのドメインであるＶＬドメインおよびＶＨドメインは、個別の遺伝子によりコードされるが、組換え法を使用してそれらを単一のタンパク質鎖として作製することを可能にする人工のペプチドリンカーにより付着することができ、この場合、ＶＬ領域およびＶＨ領域は、対合して一価分子（単鎖Ｆｖ（ｓｃＦｖ）として公知であり、例えばＢｉｒｄ ｅｔ ａｌ．，１９８８ Ｓｃｉｅｎｃｅ ２４２：４２３－４２６；およびＨｕｓｔｏｎ ｅｔ ａｌ．，１９８８ Ｐｒｏｃ．Ｎａｔｌ．Ａｃａｄ．Ｓｃｉ．８５：５８７９－５８８３を参照されたい）を形成する。このような単鎖抗体は、抗体の１つまたは複数の「抗原結合性部分」を含む。これらの抗体断片は、当業者に公知の従来の技法を使用して得られ、断片もインタクトな抗体と同様に有用性についてスクリーニングされる。

【００９１】

抗原結合性部分は、単一ドメイン抗体、マキシボディ、ミニボディ、イントラボディ、ダイアボディ、トリアボディ、テトラボディ、ｖ－ＮＡＲおよびｂｉｓ－ｓｃＦｖ（例えば、Ｈｏｌｌｉｎｇｅｒ ａｎｄ Ｈｕｄｓｏｎ，２００５，Ｎａｔｕｒｅ Ｂｉｏｔｅｃｈｎｏｌｏｇｙ，２３，９，１１２６－１１３６を参照されたい）へ組込むこともできる。抗体の抗原結合性部分は、ＩＩＩ型フィブロネクチン（Ｆｎ３）などのポリペプチド（フィブロネクチンポリペプチドモノボディについて記載する米国特許第６，７０３，１９９号明細書を参照されたい）に基づく足場へグラフトすることができる。

【００９２】

抗原結合性部分は、相補的な軽鎖ポリペプチドと併せて抗原結合性領域の対を形成するタンデムＦｖセグメント（ＶＨ－ＣＨ１－ＶＨ－ＣＨ１）の対を含む単鎖分子へ組込むことができる（Ｚａｐａｔａ ｅｔ ａｌ．，１９９５ Ｐｒｏｔｅｉｎ Ｅｎｇ．８（１０）：１０５７－１０６２；および米国特許第５，６４１，８７０号明細書）。

【００９３】

本明細書で使用される「アフィニティー」という用語は、単一の抗原性部位における抗体と抗原との間の相互作用の強度を指す。各抗原性部位内では、抗体「アーム」の可変領域は、多数の部位において、弱い非共有結合的力を介して抗原と相互作用し、相互作用が大きいほどアフィニティーが強くなる。

【００９４】

本明細書で使用される「アビディティー」という用語は、抗体－抗原複合体の、全体的な安定性または強度についての有益な尺度を指す。アビディティーは、３つ主要な因子：抗体エピトープのアフィニティー；抗原および抗体の両方の価数；ならびに相互作用部分の構造的配置により制御される。最終的に、これらの因子は、抗体の特異性、すなわち特定の抗体が正確な抗原エピトープに結合する可能性を規定する。

【００９５】
「アミノ酸」という用語は、自然発生のアミノ酸および合成アミノ酸、ならびに自然発生のアミノ酸と同様に機能するアミノ酸類似体およびアミノ酸模倣体も指す。自然発生のアミノ酸は、遺伝子コードによりコードされるアミノ酸、ならびに後に修飾されるアミノ酸、例えばヒドロキシプロリン、ガンマーカルボキシグルタミン酸およびＯ－ホスホセリンでもある。アミノ酸類似体は、自然発生のアミノ酸と同じ基本的化学構造、すなわち水素、カルボキシル基、アミノ基およびＲ基、例えばホモセリン、ノルロイシン、メチオニンスルホキシド、メチオニンメチルスルホニウムに結合したアルファ炭素を有する化合物を指す。このような類似体は、修飾Ｒ基（例えば、ノルロイシン）または修飾ペプチド骨格を有するが、自然発生のアミノ酸と同じ基本的化学構造を保持する。アミノ酸模倣体は、アミノ酸の一般的な化学構造と異なる構造を有するが、自然発生のアミノ酸と同様に機能する化学化合物を指す。

【００９６】
本明細書で使用される「結合特異性」という用語は、１つの抗原決定基のみと反応する個別の抗原結合部位の能力を指す。抗体の結合性部位は、分子のＦａｂ部分内に位置し、重鎖および軽鎖の超可変領域から構築される。抗体の結合アフィニティーは、単一の抗原決定基と、抗体上の単一の結合性部位との反応の強度である。結合特異性は、抗原決定基と、抗体の結合性部位との間に作用する引力および斥力の合計である。

【００９７】
２つの実体間の特異的結合は、平衡定数（ＫＡまたはK_A）が少なくとも$1\times10^{7}M^{-1}$、$10^{8}M^{-1}$、$10^{9}M^{-1}$、$10^{10}M^{-1}$または$10^{11}M^{-1}$である結合を意味する。抗体（例えば、ＢＭＰ６結合性抗体）に「特異的（または選択的）に結合する」という語句は、タンパク質および他の生物製剤の異質な集団内におけるコグネイト抗原（例えば、ヒトＢＭＰ６タンパク質）の存在を決定する結合反応を指す。上記で言及した平衡定数（ＫＡ）に加えて、本発明のＢＭＰ６結合性抗体は、典型的に、約1×10^{-2}秒$^{-1}$、1×10^{-3}秒$^{-1}$以下の解離速度定数（Ｋｄ、またはＫＤ、またはK_D）も有し、ＢＭＰ６に、非特異的抗原（例えば、ＢＭＰ２、ＢＭＰ５またはＢＭＰ７）への結合についてのそのアフィニティーの少なくとも２倍のアフィニティーで結合する。本明細書では、「抗原を認識する抗体」および「抗原に対して特異的な抗体」という語句は、「抗原に特異的に結合する抗体」という用語と互換的に使用する。

【００９８】
２つの実体間の特異的結合は、平衡定数（ＫＡ）（ｋｏｎ／ｋｏｆｆ）が少なくとも$10^{2}M^{-1}$、少なくとも$5\times10^{2}M^{-1}$、少なくとも$10^{3}M^{-1}$、少なくとも$5\times10^{3}M^{-1}$、少なくとも$10^{4}M^{-1}$少なくとも$5\times10^{4}M^{-1}$、少なくとも$10^{5}M^{-1}$、少なくとも$5\times10^{5}M^{-1}$、少なくとも$10^{6}M^{-1}$、少なくとも$5\times10^{6}M^{-1}$、少なくとも$10^{7}M^{-1}$、少なくとも$5\times10^{7}M^{-1}$、少なくとも$10^{8}M^{-1}$、少なくとも$5\times10^{8}M^{-1}$、少なくとも$10^{9}M^{-1}$、少なくとも$5\times10^{9}M^{-1}$、少なくとも$10^{10}M^{-1}$、少なくとも$5\times10^{10}M^{-1}$、少なくとも$10^{11}M^{-1}$、少なくとも$5\times10^{11}M^{-1}$、少なくとも$10^{12}M^{-1}$、少なくとも$5\times10^{12}M^{-1}$、少なくとも$10^{13}M^{-1}$、少なくとも$5\times10^{13}M^{-1}$、少なくとも$10^{14}M^{-1}$、少なくとも$5\times10^{14}M^{-1}$、少なくとも$10^{15}M^{-1}$または少なくとも$5\times10^{15}M^{-1}$である結合を意味する。

【００９９】
「キメラ抗体」（またはその抗原結合性断片）という用語は、（ａ）抗原結合性部位（可変領域）を、クラス、エフェクター機能および／もしくは種が異なるか、またはクラス、エフェクター機能および／もしくは種を改変された定常領域、あるいはキメラ抗体に新たな特性を付与する全く異なる分子、例えば酵素、毒素、ホルモン、成長因子、薬物などに連結するように定常領域またはその一部を改変するか、置き換えるか、または交換した抗体分子（またはその抗原結合性断片）；あるいは（ｂ）可変領域またはその一部を、抗原特異性が異なるか、または抗原特異性を改変された可変領域により改変するか、置き換

えるか、またはそれと交換した抗体分子（またはその抗原結合性断片）を指す。例えば、マウス抗体は、その定常領域をヒト免疫グロブリンに由来する定常領域で置き換えることにより修飾することができる。ヒト定常領域による置き換えに起因して、キメラ抗体は、ヒトにおける抗原性を元のマウス抗体と比較して低減しながら、抗原の認識におけるその特異性を保持し得る。

【０１００】

「保存的に修飾された変異体」という用語は、アミノ酸配列および核酸配列のいずれにも適用される。特定の核酸配列に関して、保存的に修飾された変異体は、同一のアミノ酸配列もしくは本質的に同一のアミノ酸配列をコードする核酸、または核酸がアミノ酸配列をコードしない場合、本質的に同一の配列を指す。遺伝子コードの縮重性のために、多数の機能的に同一の核酸が所与の任意のタンパク質をコードする。例えば、コドンであるＧＣＡ、ＧＣＣ、ＧＣＧおよびＧＣＵのいずれも、アミノ酸であるアラニンをコードする。したがって、アラニンがコドンにより指定されるあらゆる位置において、コードされるポリペプチドを改変せずに、コドンを、記載された対応するコドンのいずれかへ改変することができる。このような核酸変異は、保存的に修飾された変異の１種である「サイレント変異」である。ポリペプチドをコードする本明細書のあらゆる核酸配列は、核酸のあらゆる可能なサイレント変異についても記載する。当業者は、核酸内の各コドン（通常、メチオニンのみのコドンであるＡＵＧおよび通常、トリプトファンのみのコドンであるＴＧＧを除く）を修飾して機能的に同一の分子をもたらし得ることを認識するであろう。したがって、記載される各配列内では、ポリペプチドをコードする核酸の各サイレント変異が含意されている。

【０１０１】

ポリペプチド配列では、「保存的に修飾された変異体」は、アミノ酸の、化学的に類似するアミノ酸による置換を結果としてもたらす、ポリペプチド配列への個別の置換、欠失または付加を含む。当技術分野では、機能的に類似するアミノ酸を提示する保存的置換表が周知である。このような保存的に修飾された変異体は、本発明の多型変異体、種間相同体および対立遺伝子に追加されるものであり、これらを除外するものではない。以下の８つの群：１）アラニン（Ａ）、グリシン（Ｇ）；２）アスパラギン酸（Ｄ）、グルタミン酸（Ｅ）；３）アスパラギン（Ｎ）、グルタミン（Ｑ）；４）アルギニン（Ｒ）、リシン（Ｋ）；５）イソロイシン（Ｉ）、ロイシン（Ｌ）、メチオニン（Ｍ）、バリン（Ｖ）；６）フェニルアラニン（Ｆ）、チロシン（Ｙ）、トリプトファン（Ｗ）；７）セリン（Ｓ）、トレオニン（Ｔ）；および８）システイン（Ｃ）、メチオニン（Ｍ）は、互いに対して保存的置換であるアミノ酸を含有する（例えば、Ｃｒｅｉｇｈｔｏｎ，Ｐｒｏｔｅｉｎｓ（１９８４）を参照されたい）。一実施形態では、「保存的配列修飾」という用語は、アミノ酸配列を含有する抗体の結合特徴にそれほど大きい影響を及ぼしたりそれを改変したりしないアミノ酸修飾を指すのに使用する。

【０１０２】

本明細書で使用される「遮断する」という用語は、相互作用または過程を停止させるかまたは阻止すること、例えばリガンド依存的なシグナル伝達またはリガンド非依存的なシグナル伝達を停止させることを指す。

【０１０３】

本明細書で使用される「認識する」という用語は、そのコンフォメーショナルエピトープを見出し、それと相互作用する（例えば、結合する）抗体、その抗原結合性断片を指す。

【０１０４】

本明細書では、「交差遮断する」、「交差遮断された」、「交差遮断すること」、「競合する」、「交差競合する」という用語および類縁の用語は、標準的な競合的結合アッセイにおいて、他の抗体または結合剤のＢＭＰ６への結合に干渉する抗体または他の結合剤の能力を意味するように互換的に使用される。

【０１０５】

抗体または他の結合剤が、別の抗体または結合性分子のＢＭＰ６への結合に干渉することが可能な能力または程度は、標準的な競合結合アッセイを使用して決定することができ、したがって、本発明に従い、抗体または他の結合剤が交差遮断すると言われ得るかどうかも標準的な競合結合アッセイを使用して決定することができる。１つの適切なアッセイは、表面プラズモン共鳴技術を使用して相互作用の程度を測定することができるＢｉａｃｏｒｅ技術の使用を伴う（例えば、ＢＩＡｃｏｒｅ　３０００装置（Ｂｉａｃｏｒｅ、Ｕｐｐｓａｌａ、Ｓｗｅｄｅｎ）を使用することにより）。交差遮断を測定するための別のアッセイは、ＥＬＩＳＡベースの手法を使用する。

【０１０６】

「中和する」という用語は、抗体がその標的に結合すると標的の活性、レベルまたは安定性を低減すること、例えば、ＢＭＰ６抗体が、ＢＭＰ６に結合するとシグナル伝達またはヘプシジンレベルおよび貧血におけるその役割などのＢＭＰ６の活性、レベルまたは安定性を少なくとも部分的に低減することにより、ＢＭＰ６を中和することを意味する。

【０１０７】

「エピトープ」という用語は、抗体への特異的な結合が可能なタンパク質決定基を意味する。エピトープは、通例、アミノ酸または糖側鎖などの化学的に活性な表面分子群からなり、通例、特異的な三次元構造特徴および特異的な電荷特徴も有する。コンフォメーショナルエピトープと非コンフォメーショナルエピトープとは、前者への結合が変性溶媒の存在下で失われるが、後者への結合が失われない点で区別される。

【０１０８】

「エピトープ」という用語は、免疫グロブリンへの特異的な結合が可能であるか、または分子と他に相互作用することが可能である任意のタンパク質決定基を含む。エピトープ決定基は、一般に、アミノ酸であるＢＭＰ６または炭水化物もしくは糖側鎖などの化学的に活性な表面分子群からなり、特異的な三次元構造特徴および特異的な電荷特徴も有し得る。エピトープは、「直鎖状」エピトープの場合もあり、「コンフォメーショナル」エピトープの場合もある。

【０１０９】

「直鎖状エピトープ」という用語は、タンパク質と、相互作用分子（抗体など）との相互作用点の全てを伴うエピトープが、タンパク質の一次（連続）アミノ酸配列に沿って直鎖状に生じることを指す。

【０１１０】

本明細書で使用されるＩｇＧ抗体に対する「高アフィニティー」という用語は、標的抗原、例えばＢＭＰ６に対するＫＤが10^{-8}Ｍ以下、10^{-9}Ｍ以下、または10^{-10}Ｍ、または10^{-11}Ｍ以下である抗体を指す。しかし、他の抗体アイソタイプに対する「高アフィニティー」結合は、変化し得る。例えば、ＩｇＭアイソタイプに対する「高アフィニティー」結合は、ＫＤが10^{-7}Ｍ以下または10^{-8}Ｍ以下である抗体を指す。

【０１１１】

本明細書で使用される「ヒト抗体」（またはその抗原結合性断片）という用語は、フレームワーク領域およびＣＤＲ領域のいずれもが、ヒト由来の配列に由来する可変領域を有する抗体（およびそれらの抗原結合性断片）を含むことを意図する。さらに、抗体が定常領域を含有する場合、定常領域も、このようなヒト配列、例えばヒト生殖細胞系列配列またはヒト生殖細胞系列配列の突然変異させたバージョンに由来する。本発明のヒト抗体およびそれらの抗原結合性断片は、ヒト配列によりコードされないアミノ酸残基（例えば、インビトロにおけるランダム突然変異誘発もしくは部位特異的突然変異誘発により導入された突然変異、またはインビボにおける体細胞突然変異により導入された突然変異）を含み得る。

【０１１２】

本明細書で使用される「モノクローナル抗体」または「モノクローナル抗体組成物」（またはその抗原結合性断片）という語句は、実質的に同一のアミノ酸配列を有するか、または同じ遺伝子供給源に由来する抗体、抗体断片、二特異性抗体などを含むポリペプチド

を指す。この用語は、単一の分子組成による抗体分子の調製物も含む。モノクローナル抗体組成物は、特定のエピトープに対する単一の結合特異性およびアフィニティーを提示する。

【０１１３】

「ヒトモノクローナル抗体」（またはその抗原結合性断片）という用語は、単一の結合特異性を提示する抗体（およびそれらの抗原結合性断片）であって、フレームワーク領域およびＣＤＲ領域のいずれも、ヒト配列に由来する可変領域を有する、抗体（およびそれらの抗原結合性断片）を指す。一実施形態では、ヒトモノクローナル抗体は、不死化細胞へ融合させた、ヒト重鎖トランス遺伝子および軽鎖トランス遺伝子を含むゲノムを有するトランスジェニックの非ヒト動物、例えばトランスジェニックマウスから得られるＢ細胞を含むハイブリドーマにより作製する。

【０１１４】

本明細書で使用される「組換えヒト抗体」（またはその抗原結合性断片）という語句は、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またはトランスクロモソーマルである動物（例えば、マウス）またはそれにより調製されるハイブリドーマから単離される抗体、ヒト抗体を発現させるように形質転換された宿主細胞、例えばトランスフェクトーマから単離される抗体、組換えのコンビナトリアルヒト抗体ライブラリーから単離される抗体およびヒト免疫グロブリン遺伝子配列の全部または一部の他のＤＮＡ配列へのスプライシングを伴う、他の任意の手段により調製されるか、発現させるか、創出されるか、または単離される抗体など、組換え手段により調製されるか、発現させるか、創出されるか、または単離される全てのヒト抗体（およびそれらの抗原結合性断片）を含む。このような組換えヒト抗体は、フレームワーク領域およびＣＤＲ領域が、ヒト生殖細胞系列の免疫グロブリン配列に由来する可変領域を有する。一実施形態では、このような組換えヒト抗体は、インビトロの突然変異誘発（またはヒトＩｇ配列についてトランスジェニックである動物を使用する場合、インビボの体細胞突然変異誘発）にかけることができ、したがって、組換え抗体のＶＨ領域およびＶＬ領域のアミノ酸配列は、ヒト生殖細胞系列のＶＨ配列およびＶＬ配列に由来し、これらに関連するが、インビボのヒト抗体の生殖細胞系列レパートリー内で天然に存在しない可能性がある配列である。

【０１１５】

本明細書で使用される「ヒト化」抗体（またはその抗原結合性断片）は、ヒトにおける免疫原性が小さいが、非ヒト抗体の反応性を保持する抗体（またはその抗原結合性断片）である。これは、例えば、非ヒトＣＤＲ領域を保持し、抗体の残りの部分をそれらのヒト対応物（すなわち可変領域の定常領域およびフレームワーク部分）で置き換えることにより達成することができる。例えば、Ｍｏｒｒｉｓｏｎ ｅｔ ａｌ．，Ｐｒｏｃ．Ｎａｔｌ．Ａｃａｄ．Ｓｃｉ．ＵＳＡ，８１：６８５１－６８５５，１９８４；Ｍｏｒｒｉｓｏｎ ａｎｄ Ｏｉ，Ａｄｖ．Ｉｍｍｕｎｏｌ．，４４：６５－９２，１９８８；Ｖｅｒｈｏｅｙｅｎ ｅｔ ａｌ．，Ｓｃｉｅｎｃｅ，２３９：１５３４－１５３６，１９８８；Ｐａｄｌａｎ，Ｍｏｌｅｃ．Ｉｍｍｕｎ．，２８：４８９－４９８，１９９１；およびＰａｄｌａｎ，Ｍｏｌｅｃ．Ｉｍｍｕｎ．，３１：１６９－２１７，１９９４を参照されたい。ヒト操作技術の他の例は、米国特許第５，７６６，８８６号明細書において開示されているＸｏｍａ技術を含むが、これらに限定されない。

【０１１６】

２つ以上の核酸配列またはポリペプチド配列に関連して、「同一の」または「同一性」パーセントという用語は、２つ以上の配列または部分配列が同じであることを指す。以下の配列比較アルゴリズムの１つを使用して、または手作業のアライメントおよび目視により測定される比較域または指定領域にわたって最大の対応性について比較され、配列決定された場合の２つの配列の指定された百分率のアミノ酸残基またはヌクレオチドが同じである場合（すなわち指定される領域にわたるか、または指定されない場合には配列全体にわたる６０％の同一性、任意選択で６５％、７０％、７５％、８０％、８５％、９０％、９５％または９９％の同一性を有する場合）、２つの配列は、「実質的に同一」である。

任意選択で、同一性は、少なくとも約５０ヌクレオチド（または１０アミノ酸）の長さの領域にわたり、あるいはより好ましくは１００～５００または１０００ヌクレオチド以上（または２０、５０、２００もしくはそれを超えるアミノ酸）の長さの領域にわたり存在する。任意選択で、同一性は、少なくとも約５０ヌクレオチド（または１０アミノ酸）の長さの領域にわたり、あるいはより好ましくは１００～５００または１０００ヌクレオチド以上（または２０、５０、２００もしくはそれを超えるアミノ酸）の長さの領域にわたり存在する。

【０１１７】

配列比較では、典型的には、１つの配列は、それに照らして被験配列を比較する基準配列としての役割を果たす。配列比較アルゴリズムを使用する場合、被験配列および基準配列をコンピュータへ入力し、必要に応じて部分配列座標を指定し、配列アルゴリズムプログラムパラメータを指定する。デフォルトのプログラムパラメータを使用することもでき、代替的なパラメータを指定することもできる。次いで、配列比較アルゴリズムにより、プログラムパラメータに基づき、被験配列について基準配列と比べた配列同一性パーセントを計算する。

【０１１８】

本明細書で使用される「比較域」は、２つの配列を最適に配列決定した後、配列を同じ数の連続的な位置による基準配列と比較し得る、２０～６００、通例、約５０～約２００、より通例では約１００～約１５０からなる群から選択される連続的な位置の数のいずれか１つによるセグメントに対する言及を含む。当技術分野では、比較のための配列アライメント法が周知である。比較のための最適な配列アライメントは、例えば、ＳｍｉｔｈおよびＷａｔｅｒｍａｎ（１９７０）Ａｄｖ．Ａｐｐｌ．Ｍａｔｈ．２：４８２ｃによる局所相同性アルゴリズムにより行うこともでき、Ｎｅｅｄｌｅｍａｎ ａｎｄ Ｗｕｎｓｃｈ，Ｊ．Ｍｏｌ．Ｂｉｏｌ．４８：４４３，１９７０による相同性アライメントアルゴリズムにより行うこともでき、Ｐｅａｒｓｏｎ ａｎｄ Ｌｉｐｍａｎ，Ｐｒｏｃ．Ｎａｔ’ｌ．Ａｃａｄ．Ｓｃｉ．ＵＳＡ ８５：２４４４，１９８８による類似性検索法により行うこともでき、これらのアルゴリズムのコンピュータ化された実装（Ｗｉｓｃｏｎｓｉｎ Ｇｅｎｅｔｉｃｓ Ｓｏｆｔｗａｒｅ Ｐａｃｋａｇｅ、Ｇｅｎｅｔｉｃｓ Ｃｏｍｐｕｔｅｒ Ｇｒｏｕｐ、５７５ Ｓｃｉｅｎｃｅ Ｄｒ．、Ｍａｄｉｓｏｎ、Ｗｉｓ．におけるＧＡＰ、ＢＥＳＴＦＩＴ、ＦＡＳＴＡおよびＴＦＡＳＴＡ）により行うこともでき、手作業のアライメントおよび目視（例えば、Ｂｒｅｎｔ ｅｔ ａｌ．，Ｃｕｒｒｅｎｔ Ｐｒｏｔｏｃｏｌｓ ｉｎ Ｍｏｌｅｃｕｌａｒ Ｂｉｏｌｏｇｙ，Ｊｏｈｎ Ｗｉｌｅｙ＆Ｓｏｎｓ，Ｉｎｃ．（ｒｉｎｇｂｏｕ ｅｄ．，２００３）を参照されたい）により行うこともできる。

【０１１９】

配列同一性パーセントおよび配列類似性パーセントを決定するのに適するアルゴリズムの２つの例は、それぞれＡｌｔｓｃｈｕｌ ｅｔ ａｌ．，Ｎｕｃ．Ａｃｉｄｓ Ｒｅｓ．２５：３３８９－３４０２，１９７７；およびＡｌｔｓｃｈｕｌ ｅｔ ａｌ．，Ｊ．Ｍｏｌ．Ｂｉｏｌ．２１５：４０３－４１０，１９９０において記載されているＢＬＡＳＴアルゴリズムおよびＢＬＡＳＴ ２．０アルゴリズムである。ＢＬＡＳＴ解析を実施するためのソフトウェアは、Ｎａｔｉｏｎａｌ Ｃｅｎｔｅｒ ｆｏｒ Ｂｉｏｔｅｃｈｎｏｌｏｇｙ Ｉｎｆｏｒｍａｔｉｏｎにより公表されている。このアルゴリズムは、データベース配列内の同じ長さのワードで配列決定したときに、ある正の値の閾値スコアＴにマッチするかまたはそれを満たす、クエリー配列内の短いワード長Ｗを同定することにより、高スコア配列対（ＨＳＰ）をまず同定することを伴う。Ｔは、隣接ワードスコア閾値（Ａｌｔｓｃｈｕｌ ｅｔ ａｌ．，前出）と称される。これらの初期の隣接ワードヒットは、これらを含有するより長いＨＳＰを見出す検索を開始するためのシードとしての役割を果たす。累積アライメントスコアが増大し得る限り、ワードヒットは、各配列に沿っていずれの方向にも拡張される。累積スコアは、ヌクレオチド配列ではパラメータＭ（マッチする残基の対についてのリウォードスコア；常に＞０）およびＮ（ミスマッチ残基に

ついてのペナルティースコア；常に＜０）を使用して計算する。アミノ酸配列では、スコアリングマトリックスを使用して累積スコアを計算する。累積アライメントスコアが、達成されたその最大値から量Ｘだけ低下した場合；１つまたは複数の負スコア残基のアライメントの累積のために、累積スコアがゼロ以下に低下した場合；または配列のいずれかの末端に達した場合、各方向へのワードヒットの拡張を停止させる。ＢＬＡＳＴアルゴリズムパラメータであるＷ、ＴおよびＸにより、アライメントの感度および速度が決定される。ＢＬＡＳＴＮプログラム（ヌクレオチド配列の場合）では、１１のワード長（Ｎ）、期待値（Ｅ）または１０、Ｍ＝５、Ｎ＝－４をデフォルトとして使用し、両方の鎖の比較を行う。アミノ酸配列のためのＢＬＡＳＴＰプログラムでは、３のワード長および１０の期待値（Ｅ）ならびに５０のＢＬＯＳＵＭ６２スコアリングマトリックス（Ｈｅｎｉｋｏｆｆ ａｎｄ Ｈｅｎｉｋｏｆｆ，Ｐｒｏｃ．Ｎａｔｌ．Ａｃａｄ．Ｓｃｉ．ＵＳＡ ８９：１０９１５，１９８９を参照されたい）アライメント（Ｂ）、１０の期待値（Ｅ）、Ｍ＝５、Ｎ＝－４をデフォルトとして使用し、両方の鎖の比較を行う。

【０１２０】

ＢＬＡＳＴアルゴリズムは、２つの配列間の類似性についての統計学的解析（例えば、Ｋａｒｌｉｎ ａｎｄ Ａｌｔｓｃｈｕｌ，Ｐｒｏｃ．Ｎａｔｌ．Ａｃａｄ．Ｓｃｉ．ＵＳＡ ９０：５８７３－５７８７，１９９３を参照されたい）も実施する。ＢＬＡＳＴアルゴリズムにより提供される類似性の１つの尺度は、２つのヌクレオチド配列間またはアミノ酸配列間のマッチングが偶然に生じる確率の指標をもたらす最小合計確率（Ｐ（Ｎ））である。例えば、被験核酸を基準核酸に照らして比較したときの最小合計確率が約０．２未満であり、より好ましくは約０．０１未満であり、最も好ましくは約０．００１未満である場合、核酸は、基準配列と類似すると考えられる。

【０１２１】

２つのアミノ酸配列間の同一性パーセントは、ＰＡＭ１２０重み付け残基表、１２のギャップ長ペナルティーおよび４のギャップペナルティーを使用するＡＬＩＧＮプログラム（バージョン２．０）へ組込まれた、Ｅ．Ｍｅｙｅｒｓ ａｎｄ Ｗ．Ｍｉｌｌｅｒ（Ｃｏｍｐｕｔ．Ａｐｐｌ．Ｂｉｏｓｃｉ．，４：１１－１７，１９８８）によるアルゴリズムを使用しても決定することができる。加えて、２つのアミノ酸配列間の同一性パーセントは、Ｂｌｏｓｓｏｍ ６２マトリックスまたはＰＡＭ２５０マトリックスおよび１６、１４、１２、１０、８、６または４のギャップ重み付け、ならびに１、２、３、４、５または６の長さ重み付けを使用する、ＧＣＧソフトウェアパッケージ（ｗｗｗ．ｇｃｇ．ｃｏｍで入手可能である）内のＧＡＰプログラムへ組込まれた、Ｎｅｅｄｌｅｍａｎ ａｎｄ Ｗｕｎｓｃｈ（Ｊ．Ｍｏｌ，Ｂｉｏｌ．４８：４４４－４５３，１９７０）によるアルゴリズムを使用しても決定することができる。

【０１２２】

上記で言及した配列同一性百分率以外の、２つの核酸配列またはポリペプチドが実質的に同一であることの別の指標は、下記で記載される通り、第１の核酸によりコードされるポリペプチドが、第２の核酸によりコードされるポリペプチドに対する抗体と免疫学的に交差反応性であることである。したがって、例えば２つのペプチドが保存的置換のみによって異なる場合、ポリペプチドは、典型的には、第２のポリペプチドと実質的に同一である。２つの核酸配列が実質的に同一であることの別の指標は、下記で記載される通り、２つの分子またはそれらの相補体が厳密な条件下で互いにハイブリダイズすることである。２つの核酸配列が実質的に同一であることのさらに別の指標は、同じプライマーを使用して配列を増幅し得ることである。

【０１２３】

本明細書で使用される「単離抗体」（またはその抗原結合性断片）という用語は、異なる抗原特異性を有する他の抗体を実質的に含まない抗体（またはその抗原結合性断片）を指す（例えば、ＢＭＰ６に特異的に結合する単離抗体は、ＢＭＰ６以外の抗原に特異的に結合する抗体を実質的に含まない）。さらに、単離抗体は、他の細胞内物質および／または化学物質を実質的に含まない場合もある。

【０１２４】
「アイソタイプ」という用語は、重鎖定常領域遺伝子によりもたらされる抗体クラス（例えば、ＩｇＭ、ＩｇＥ、ＩｇＧ１またはＩｇＧ４などのＩｇＧ）を指す。アイソタイプは、これらのクラスの１つの修飾バージョンも含み、その修飾は、Ｆｃ機能を改変する、例えばエフェクター機能またはＦｃ受容体への結合を増強または低減するように施されている。
【０１２５】
本明細書で使用される「Ｋａｓｓｏｃ」、または「Ｋａ」、または「ＫＡ」、または「K_A」という用語は、特定の抗体－抗原間相互作用の会合速度を指すことを意図するのに対し、本明細書で使用される「Ｋｄｉｓ」または「Ｋｄ」という用語は、特定の抗体－抗原間相互作用の解離速度を指すことを意図する。一実施形態では、本明細書で使用される「K_D」という用語は、ＫｄのＫａに対する比（すなわちＫｄ／Ｋａ）から得られる解離定数を指すことを意図し、モル濃度（Ｍ）として表される。抗体のK_D値は、当技術分野で十分に確立された方法を使用して決定することができる。抗体のK_Dを決定する方法は、表面プラズモン共鳴を使用するか、またはＢｉａｃｏｒｅ（登録商標）システムなどのバイオセンサーシステムを使用することによる。
【０１２６】
本明細書で使用される「モノクローナル抗体」（もしくはその抗原結合性断片）または「モノクローナル抗体（もしくはその抗原結合性断片）組成物」という用語は、単一の分子組成による抗体分子（またはその抗原結合性断片）の調製物を指す。モノクローナル抗体組成物は、特定のエピトープに対する単一の結合特異性およびアフィニティーを提示する。
【０１２７】
本明細書では、「核酸」という用語は、「ポリヌクレオチド」という用語と互換的に使用され、デオキシリボヌクレオチドまたはリボヌクレオチドおよびそれらの一本鎖形態または二本鎖形態におけるポリマーを指す。「核酸」という用語は、公知のヌクレオチド類似体または修飾骨格残基もしくは修飾連結を含有する核酸であって、合成の核酸、自然発生の核酸および非自然発生の核酸であり、基準核酸と同様の結合特性を有し、基準ヌクレオチドと同様に代謝される核酸を包含する。このような類似体の例は、限定なしに述べると、ホスホロチオエート、ホスホルアミデート、メチルホスホネート、キラルメチルホスホネート、２－Ｏ－メチルリボヌクレオチド、ペプチド核酸（ＰＮＡ）を含む。
【０１２８】
別段に示されない限り、特定の核酸配列は、保存的に修飾されたその変異体（例えば、縮重コドン置換）および相補的配列も暗示的に包含し、かつ明示的に示される配列も包含する。とりわけ、下記で詳述される通り、縮重コドン置換は、１つまたは複数の選択された（または全ての）コドンの第３の位置が混合塩基および／またはデオキシイノシン残基で置換された配列を作り出すことにより達成することができる（Ｂａｔｚｅｒ ｅｔ ａｌ．，Ｎｕｃｌｅｉｃ Ａｃｉｄ Ｒｅｓ．１９：５０８１，１９９１；Ｏｈｔｓｕｋａ ｅｔ ａｌ．，Ｊ．Ｂｉｏｌ．Ｃｈｅｍ．２６０：２６０５－２６０８，１９８５；およびＲｏｓｓｏｌｉｎｉ ｅｔ ａｌ．，Ｍｏｌ．Ｃｅｌｌ．Ｐｒｏｂｅｓ ８：９１－９８，１９９４）。
【０１２９】
「作動可能に連結された」という用語は、２つ以上のポリヌクレオチド（例えば、ＤＮＡ）セグメント間の機能的関係を指す。それは、典型的には、転写調節配列の、転写される配列に対する機能的関係を指す。例えば、プロモーター配列またはエンハンサー配列は、それが適切な宿主細胞内または他の発現系内のコード配列の転写を刺激またはモジュレートするとき、コード配列に作動可能に連結されている。一般に、転写される配列に作動可能に連結されたプロモーター転写調節配列は、転写される配列と物理的に隣接し、すなわちシス作用型である。しかし、エンハンサーなどの一部の転写調節配列は、その転写をそれらが増強するコード配列に物理的に隣接する必要も近接して配置される必要もない。

【０１３０】
本明細書で使用される「最適化された」という用語は、ヌクレオチド配列を、産生細胞または産生生物、一般に真核細胞、例えばピキア（Ｐｉｃｈｉａ）属細胞、チャイニーズハムスター卵巣細胞（ＣＨＯ）またはヒト細胞において好ましいコドンを使用してアミノ酸配列をコードするように改変していることを意味する。最適化されたヌクレオチド配列は、「親」配列としても公知の出発ヌクレオチド配列により本来コードされるアミノ酸配列を完全にまたは可能な限り多く保持するように操作する。本明細書の最適化された配列は、哺乳動物細胞において好ましいコドンを有するように操作されている。しかし、本明細書では、他の真核細胞または原核細胞におけるこれらの配列の最適化された発現も企図される。最適化されたヌクレオチド配列によりコードされるアミノ酸配列も最適化されていると称する。
【０１３１】
本明細書では、「ポリペプチド」および「タンパク質」という用語は、アミノ酸残基のポリマーを指すように互換的に使用される。「ポリペプチド」および「タンパク質」という用語は、１つまたは複数のアミノ酸残基が、対応する自然発生のアミノ酸の人工の化学的模倣体であるアミノ酸ポリマー、ならびに自然発生のアミノ酸ポリマーおよび非自然発生のアミノ酸ポリマーにも適用される。別段に示されない限り、特定のポリペプチド配列は、保存的に修飾されたその変異体も暗示的に包含する。
【０１３２】
本明細書で使用される「組換えヒト抗体」（またはその抗原結合性断片）という用語は、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またはトランスクロモソーマルである動物（例えば、マウス）またはそれにより調製されるハイブリドーマから単離される抗体、ヒト抗体を発現させるように形質転換された宿主細胞、例えばトランスフェクトーマから単離される抗体、組換えのコンビナトリアルヒト抗体ライブラリーから単離される抗体およびヒト免疫グロブリン遺伝子配列の全部または一部の他のＤＮＡ配列へのスプライシングを伴う、他の任意の手段により調製されるか、発現させるか、創出されるか、または単離される抗体など、組換え手段により調製されるか、発現させるか、創出されるか、または単離される全てのヒト抗体（およびそれらの抗原結合性断片）を含む。このような組換えヒト抗体は、フレームワーク領域およびＣＤＲ領域が、ヒト生殖細胞系列の免疫グロブリン配列に由来する可変領域を有する。しかし、一実施形態では、このような組換えヒト抗体は、インビトロの突然変異誘発（またはヒトＩｇ配列についてトランスジェニックである動物を使用する場合、インビボの体細胞突然変異誘発）にかけることができ、したがって、組換え抗体のＶＨ領域およびＶＬ領域のアミノ酸配列は、ヒト生殖細胞系列のＶＨ配列およびＶＬ配列に由来し、これらに関連するが、インビボのヒト抗体の生殖細胞系列レパートリー内で天然に存在しない可能性がある配列である。
【０１３３】
「組換え宿主細胞」（または簡単に「宿主細胞」）という用語は、組換え発現ベクターを導入した細胞を指す。このような用語は、特定の対象細胞のみを指すことを意図するものではなく、このような細胞の子孫細胞も指すことを意図するものであることを理解されたい。後続する世代では、突然変異または環境的影響に起因してある種の修飾が生じ得るため、このような子孫細胞は、実際には親細胞と同一ではない可能性もあるが、やはり本明細書で使用される「宿主細胞」という用語の範囲内に含まれる。
【０１３４】
「対象」という用語は、ヒトおよび非ヒト動物を含む。非ヒト動物は、非ヒト霊長動物、ヒツジ、イヌ、ウシ、ニワトリ、両生類および爬虫類など、全ての脊椎動物（例えば、哺乳動物および非哺乳動物）を含む。特記される場合を除き、本明細書では「患者」または「対象」という用語が互換的に使用される。
【０１３５】
「処置すること」という用語は、疾患（例えば、貧血）の症候、合併症もしくは生化学的徴標の発症を防止するかもしくは遅延させるか、症候を緩和するか、または疾患、状態

もしくは障害のさらなる進行を停止させるかもしくは阻害する組成物または抗体の投与を含む。処置は、予防的な（疾患の発症を防止するかもしくは遅延させるか、またはその臨床症候もしくは亜臨床症候の症状を防止する）場合もあり、疾患の発症後における症候の治療的抑制または緩和の場合もある。

【０１３６】

「ベクター」という用語は、それが連結された別のポリヌクレオチドを輸送することが可能なポリヌクレオチド分子を指すことを意図する。ベクターの１つの種類は、さらなるＤＮＡセグメントをライゲーションし得る、環状の二本鎖ＤＮＡループを指す「プラスミド」である。ベクターの別の種類は、さらなるＤＮＡセグメントをウイルスゲノムへライゲーションし得るウイルスベクターである。ある種のベクター（例えば、細菌の複製起点を有する細菌ベクターおよび哺乳動物のエピソームベクター）は、それらが導入された宿主細胞における自己複製が可能である。他のベクター（例えば、非エピソーム哺乳動物ベクター）は、宿主細胞へ導入すると宿主細胞のゲノムへ組込むことができ、これにより宿主ゲノムと共に複製する。さらに、ある種のベクターは、それらが作動的に連結された遺伝子の発現を方向付けることが可能である。本明細書では、このようなベクターを「組換え発現ベクター」（または簡単に「発現ベクター」）と称する。一般に、組換えＤＮＡ法において有用な発現ベクターは、プラスミドの形態であることが多い。プラスミドは、ベクターの最も一般的に使用される形態であるため、本明細書では「プラスミド」と「ベクター」とを互換的に使用することができる。しかし、本発明は、均等な機能をもたらすウイルスベクター（例えば、複製欠損レトロウイルス、アデノウイルスおよびアデノ随伴ウイルス）などの発現ベクターの他の形態も含むことを意図する。

【０１３７】

本明細書で使用される「ヘマトクリット（ｈｅｍａｔｏｃｒｉｔ）」または「ヘマトクリット（ｈａｅｍａｔｏｃｒｉｔ）」という用語は、充填細胞体積（ＰＣＶ）または赤血球体積分率（ＥＶＦ）としても公知であり、血液中の赤血球の体積（％）である。ヘマトクリットは、男性では約４５％が正常であり、女性では約５０％が正常である。ヘマトクリットは、ヘモグロビン濃度、白血球数および血小板数と共に人の全血球算定結果の不可欠な部分であると考えられる。一実施形態では、貧血は、ヘマトクリットの異常な上昇である多血症と対照的に、ヘマトクリットの異常な低下を指す。

【０１３８】

「アッセイすること」という用語は、同定、スクリーニング、プロービング、試験測定または決定の行為を指すために使用され、その行為は、任意の従来の手段によって実施され得る。例えば、ＥＬＩＳＡアッセイ、ノーザンブロット、イメージング、血清型分類、細胞型分類、遺伝子配列決定、表現型分類、ハプロタイプ分類、免疫組織化学、ウェスタンブロット、質量分析などを用いることにより、試料を特定の遺伝子マーカーまたはタンパク質マーカーの存在についてアッセイし得る。「検出すること」（など）という用語は、所与の情報源から特定の情報を抽出する行為を意味し、それは、直接的または間接的であり得る。本明細書に開示される予測方法のいくつかの実施形態では、所与のものの存在またはレベル（例えば、タンパク質のレベルなど）は、生物学的試料中で間接的に、例えばデータベースを照会することによって検出される。「アッセイすること」および「決定すること」という用語は、その試料を物理的試験に供することによる、ある状態から別の状態への物質の変換、例えば生物学的試料、例えば血液試料または他の組織試料の変換を企図する。

【０１３９】

「得る」という用語は、例えば、物理的介入（例えば、生検、採血）または非物理的介入（例えば、サーバを介した情報の伝達）などにより、何らかの所有を獲得することを意味する。

【０１４０】

「．．．生物学的試料をアッセイすること」などの語句は、所与のマーカー（例えば、タンパク質）の存在またはレベルについて試料を（直接的または間接的に）試験し得るこ

とを意味するために使用される。物質のレベルが確率を表す状況では、そのような物質のレベルは、治療上の決定を導くために使用され得ることが理解されるであろう。例えば、定量的または比較的定量的な手段（例えば、他の試料中のレベルと比べたレベル）によってその存在についてアッセイすることにより、患者中のフェリチンのレベルを決定することができる。開示された方法は、とりわけ患者における特定のマーカー、例えばフェリチンのレベルを決定することを伴う。

【０１４１】

本明細書で使用される、患者に関して「選択すること」および「選択された」は、特定の患者が所定の基準を有する（例えば、患者が、例えば本明細書に記載されるように特定レベルのフェリチンを有する）ことに基づいて（によって）、特定の患者がより大きい群の患者から具体的に選択されることを意味するために使用される。同様に、「選択的に処置すること」は、特定の疾患を有する患者に処置を提供することを指し、その患者は、特定の患者が所定の基準を有することに基づいてより大きい群の患者から具体的に選択され、例えば、貧血患者は、例えば本明細書に記載されるように、患者が特定のフェリチンレベルを有することにより、処置のために具体的に選択される。同様に、「選択的に投与すること」は、特定の患者が所定の基準、例えば特定の遺伝子マーカーまたは他の生物学的マーカー、例えば特定のフェリチンレベル、例えば本明細書に記載されるものを有することに基づいて（によって）より大きいグループの患者から具体的に選択される患者に薬物を投与することを指す。選択すること、選択的に処置することおよび選択的に投与することは、患者が特定の疾患を有することのみに基づいて患者に標準処置レジメンを提供するのではなく、患者の特定の生物学に基づいて患者に個別治療を提供することを意味する。本明細書で使用される処置の方法に関して、選択することは、特定のマーカーを有する患者の偶然の処置を指すのではなく、むしろ患者が特定のマーカー、例えば特定のフェリチンレベル、例えば本明細書に記載されるものを有することに基づいて患者にＢＭＰ６アンタゴニストを投与するための意図的な選択を指す。したがって、選択的処置は、マーカーの状態にかかわらず、全ての患者に特定の薬物を投与する標準処置と異なる。

【０１４２】

本明細書で使用される「予測すること」は、本明細書に記載される方法が、疾患、例えば貧血を有する個体がＢＭＰ６結合性分子による処置に応答する、またはより好都合に応答する可能性を医療提供者が決定できるようにするための情報を提供することを示す。これは、１００％の精度で応答を予測する能力を指すものではない。代わりに、当業者は、それが確率の上昇を指すことを理解するであろう。

【０１４３】

本明細書で使用される「可能性）」および「可能性が高い」は、事象がどの程度の確率で発生するかの尺度である。これは、「確率」と交換可能に使用され得る。可能性は、推測よりも高いが、確実よりも低い確率を指す。したがって、常識、訓練または経験を用いる合理的な人が、状況からみてある事象が起こる確率が高いと結論付ける場合、事象が起こる可能性が高い。いくつかの実施形態では、可能性が確認されたら、患者は、ＢＭＰ６結合性分子により処置され得る（または処置を継続するかもしくは増加した投与量により処置を進める）か、または患者は、ＢＭＰ６結合性分子により処置されない（または処置を中止するかもしくは低下した用量により処置を進める）こともあり得る。

【０１４４】

「上昇した可能性」という語句は、事象が発生する確率の上昇を指す。例えば、本明細書中のいくつかの方法により、患者がＢＭＰ６結合性分子による処置に応答する上昇した可能性、またはマーカー（例えば、本明細書に記載されるフェリチンのレベル）を有しない同一または類似の疾患を有する患者と比較して、ＢＭＰ６結合性分子による処置によりよく応答する上昇した可能性を示すかどうかが予測できる。

【図面の簡単な説明】

【０１４５】

【図１－１】レポーター遺伝子アッセイにおける、アンタゴニストである抗体５、抗体６

および抗体７によるＢＭＰ活性の阻害を示す。ＢＭＰ２、ＢＭＰ５、ＢＭＰ６およびＢＭＰ７に対する活性が示される。図１Ｂは、抗体７のヒトＢＭＰ６、ヒトＢＭＰ７、ヒトＢＭＰ５、マウスＢＭＰ６、マウスｈＢａｆｆＲ、マウスＢＳＡおよびマウスＮｅｕへの結合について調べるＥＬＩＳＡ結合アッセイを示す。この図および他の多様な図ならびに本明細書の他の箇所では、Ａｂ５＝抗体５；Ａｂ６＝抗体６；およびＡｂ７＝抗体７である。

【図１－２】（上記の通り。）

【図２】単回投与ラットトリアージＰＫ研究についての薬力学プロファイルを示す。抗体５、抗体６および抗体７を使用した。血清ヘプシジンレベルおよび血清鉄レベルは、投与（１０ｍｇ／ｋｇ、ＩＶ）の１時間、６時間、１、２、４、８、１６日後に測定した。

【図３】ＢＭＰ６抗体の、鉄代謝についての血清バイオマーカーに対する用量依存的効果を示す。上：表示の用量の抗体６の単回ＩＶ注射後における時間経過にわたる血清ｈＩｇＧ濃度である。下：左パネルは、単回の抗体６または対照ヒトＩｇＧ注射後における血清ヘプシジン濃度についての定量的解析であるのに対し、右パネルは、血清鉄濃度である。

【図４】ＥＳＡ抵抗性炎症性貧血マウスモデルにおけるＢＭＰ６抗体の治療的処置を示す。上：ＢＡ誘導型ＥＳＡ抵抗性炎症性貧血モデルについて実験のスキームである。下：ＢＡ処置の１３日後における赤血球生成パラメータである。ＨＧＢ：ヘモグロビン；ＨＣＴ：ヘマトクリット；ＲＥＴＡ：網状赤血球カウント；ＲＥＴ－ＨＥ：網状赤血球ヘモグロビン均等物である。ＢＡ＋ＥＰＯ＋ｈＩｇＧ１に対し、＊ｐ＜０．０５、＊＊ｐ＜０．０１、＊＊＊ｐ＜０．００１、＊＊＊＊ｐ＜０．０００１である。

【図５】ＨＤｘＭＳ（質量分析とカップリングした水素／重水素交換）による直鎖状エピトープマッピングを示す。抗体７が結合するＢＭＰ６のエピトープを示す（ヒトＢＭＰ６（ＱＴＬＶＨＬＭＮＰＥＹＶＰＫＰ（配列番号９８））の残基８８～１０２）。ＨＤｘＭＳを使用して、市販のＢＭＰ６抗体のヒト化バージョンである抗体６７６は、ヒトＢＭＰ６の残基２３～３５（ＶＳＳＡＳＤＹＮＳＳＥＬＫ（配列番号９９））からなるエピトープに結合することが見出された。

【図６】ＢＭＰ６抗体の安全性および有効性について探査する臨床プログラムのパート１のためのプロトコールを示す。

【図７】ＢＭＰ６抗体の安全性および有効性について探査する臨床プログラムための用量調整決定木を示す。

【図８】ＢＭＰ６抗体の安全性および有効性について探査する臨床プログラムのパート２のためのプロトコールを示す。

【図９】雄ラットにおける単回投与抗体７の薬物動態プロファイルを示す。

【図１０】抗体７の、ラットにおける鉄代謝についての血清バイオマーカーに対する用量依存的な効果を示す。表示の用量での単回の抗体７または対照（ビヒクル）の注射後における血清ヘプシジン濃度についての定量的解析が示される。左パネルは、投与後最初の２４時間にわたる効果についての拡大図を示す。

【図１１】抗体７の、ラットにおける血清鉄に対する用量依存的な効果を示す。表示の用量の単回の抗体７または対照（ビヒクル）の注射後における血清鉄についての定量的解析が示される。左パネルは、投与後最初の２４時間にわたる効果についての拡大図を示す。

【図１２】カニクイザルにおける抗体７（３ｍｇ／ｋｇ）の単回投与ＩＶ注射についての濃度－時間プロファイルを示す。総抗体７濃度（遊離抗体７およびＢＭＰ６に結合した抗体７の両方）がプロットされる。

【図１３】３ｍｇ／ｋｇの用量での抗体７の単回静脈内注射後の雄カニクイザルにおける血清ヘプシジン濃度および血清Ｆｅ濃度を示す。３匹の異なるサルに由来するデータを平均値と併せて示す。

【図１４】処置前（ベースライン）および０．０１ｍｇ／ｋｇの抗体７（Ａｂ７）を用いた処置後３日間（投与後３日間）の血液透析患者のピークＴＳＡＴ（鉄飽和度、％）を示す。コホート１の患者の全ては、処置前のフェリチンレベルが５００ｎｇ／ｍＬ以下であった。コホート２の患者の全ては、処置前のフェリチンレベルが５００～１０００ｎｇ／

ｍＬであった。太線は、各群のＴＳＡＴレベルの中央値を示す。
【発明を実施するための形態】
【０１４６】
本発明は、ＢＭＰ６の阻害剤により、低減した鉄に関連する状態、例えば貧血を処置する方法を提供する。
【０１４７】
ＢＭＰ６阻害剤
本発明の方法では、例えば、抗体、融合タンパク質、アドネクチン、アプタマー、アンチカリン、リポカリン、核酸（例えば、ＲＮＡ干渉剤およびリボザイムなどの、アンチセンス分子）、免疫コンジュゲート（例えば、治療剤とコンジュゲートした抗体）、低分子、融合タンパク質、ＢＭＰ６由来ペプチド化合物および受容体ベースのアンタゴニスト（例えば、可溶性ＢＭＰ６受容体ドメイン）などの広範なＢＭＰ６アンタゴニストを使用することができる。
【０１４８】
核酸／アンチセンス分子
別の実施形態では、本発明の方法で利用されるＢＭＰ６アンタゴニストは、ＢＭＰ６をコードする遺伝子もしくはその遺伝子の一部と相補的なアンチセンス核酸分子またはアンチセンス核酸分子をコードする組換え発現ベクターである。本明細書で使用される「アンチセンス」核酸は、あるタンパク質をコードする「センス」核酸と相補的な、例えば二本鎖ｃＤＮＡ分子のコード鎖と相補的な、ｍＲＮＡ配列と相補的な、または遺伝子のコード鎖と相補的なヌクレオチド配列を含む。したがって、アンチセンス核酸は、センス核酸に水素結合し得る。
【０１４９】
細胞における特定のタンパク質の発現をダウンモジュレートするためのアンチセンス核酸の使用は、当技術分野において周知である（例えば、Ｗｅｉｎｔｒａｕｂ，Ｈ．ｅｔａｌ．，Ａｎｔｉｓｅｎｓｅ ＲＮＡ ａｓ ａ ｍｏｌｅｃｕｌａｒ ｔｏｏｌ ｆｏｒ ｇｅｎｅｔｉｃ ａｎａｌｙｓｉｓ，Ｒｅｖｉｅｗｓ － Ｔｒｅｎｄｓ ｉｎ Ｇｅｎｅｔｉｃｓ，Ｖｏｌ．１（１）１９８６；Ａｓｋａｒｔ，Ｆ．Ｋ．ａｎｄ ＭｃＤｏｎｎｅｌｌ，Ｗ．Ｍ．（１９９６）Ｎ．Ｅｎｇ．Ｊ．Ｍｅｄ．３３４：３１６－３１８；Ｂｅｎｎｅｔｔ，Ｍ．Ｒ．ａｎｄ Ｓｃｈｗａｒｔｚ，Ｓ．Ｍ．（１９９５）Ｃｉｒｃｕｌａｔｉｏｎ ９２：１９８１－１９９３；Ｍｅｒｃｏｌａ，Ｄ．ａｎｄ Ｃｏｈｅｎ，Ｊ．Ｓ．（１９９５）Ｃａｎｃｅｒ Ｇｅｎｅ Ｔｈｅｒ．２：４７－５９；Ｒｏｓｓｉ，Ｊ．Ｊ．（１９９５）Ｂｒ．Ｍｅｄ．Ｂｕｌｌ．５１：２１７－２２５；Ｗａｇｎｅｒ，Ｒ．Ｗ．（１９９４）Ｎａｔｕｒｅ ３７２：３３３－３３５を参照されたい）。アンチセンス核酸分子は、別の核酸分子（例えばｍＲＮＡ配列）のコード鎖と相補的なヌクレオチド配列を含み、したがって他の核酸分子のコード鎖と水素結合することが可能である。ｍＲＮＡの配列と相補的なアンチセンス配列は、ｍＲＮＡのコード領域、ｍＲＮＡの５’もしくは３’非翻訳領域またはコード領域と非翻訳領域を結合する領域（例えば５’非翻訳領域とコード領域の接合部）で見られる配列と相補的であり得る。さらに、アンチセンス核酸は、ｍＲＮＡをコードする遺伝子の制御領域、例えば転写開始配列または制御因子と配列において相補的であり得る。好ましくは、アンチセンス核酸は、コード鎖／またはｍＲＮＡの３’非翻訳領域において開始コドンに先行するかまたはそれを橋渡す領域と相補的であるように設計される。
【０１５０】
アンチセンス核酸は、ＷａｔｓｏｎおよびＣｒｉｃｋの塩基対則に従って設計できる。アンチセンス核酸分子は、ＢＭＰ６ ｍＲＮＡの全コード領域と相補的であり得るが、より好ましくはＢＭＰ６ ｍＲＮＡのコードまたは非コード領域の一部のみとアンチセンスであるオリゴヌクレオチドである。例えば、アンチセンスオリゴヌクレオチドは、ＢＭＰ６ ｍＲＮＡの翻訳開始部位の周囲の領域と相補的であり得る。アンチセンスオリゴヌクレオチドは、例えば、約５、１０、１５、２０、２５、３０、３５、４０、４５または５

０ヌクレオチド長であり得る。アンチセンス核酸は、当技術分野において既知の方法を用いた化学合成および酵素ライゲーション反応を用いて構築され得る。例えば、アンチセンス核酸（例えばアンチセンスオリゴヌクレオチド）は、天然に生じるヌクレオチド、または分子の生物学的安定性を増加させるかもしくはアンチセンスおよびセンス核酸間で形成される二本鎖の物理的安定性を増加させるために多様な修飾ヌクレオチドを用いて化学的に合成することができ、例えばホスホロチオエート誘導体およびアクリジン置換ヌクレオチドが使用できる。アンチセンス核酸を作製するために使用できる修飾ヌクレオチドの例は、５－フルオロウラシル、５－ブロモウラシル、５－クロロウラシル、５－ヨードウラシル、ヒポキサンチン、キサンチン、４－アセチルシトシン、５－（カルボキシヒドロキシルメチル）ウラシル、５－カルボキシメチルアミノメチル－２－チオウリジン、５－カルボキシメチルアミノメチルウラシル、ジヒドロウラシル、ベーターＤ－ガラクトシルキューオシン、イノシン、Ｎ６－イソペンテニルアデニン、メチルグアニン、１－メチルイノシン、２，２－ジメチルグアニン、２－メチルアデニン、２－メチルグアニン、３－メチルシトシン、５－メチルシトシン、Ｎ６－アデニン、７－メチルグアニン、５－メチルアミノメチルウラシル、５－メトキシアミノメチル－２－チオウラシル、ベーターＤ－マンノシルキューオシン、５’－メトキシカルボキシメチルウラシル、５－メトキシウラシル、２－メチルチオ－Ｎ６－イソペンテニルアデニン、ウラシル－５－オキシ酢酸（ｖ）、ワイブトキソシン、シュードウラシル、キューオシン、２－チオシトシン、５－メチル－２－チオウラシル、２－チオウラシル、４－チオウラシル、５－メチルウラシル、ウラシル－５－オキシ酢酸メチルエステル、ウラシル－５－オキシ酢酸（ｖ）、５－メチル－２－チオウラシル、３－（３－アミノ－３－Ｎ－２－カルボキシプロピル）ウラシル、（ａｃｐ３）ｗおよび２，６－ジアミノプリンを含む。代わりに、アンチセンス核酸は、核酸がアンチセンス方向にサブクローン化されている（すなわち挿入された核酸から転写されるＲＮＡが目的の標的核酸とアンチセンス方向のものであり、以下のサブセクションで詳述される）発現ベクターを用いて生物学的に作製できる。

【０１５１】

本発明の方法に使用できるアンチセンス核酸分子は、典型的には、それがＢＭＰ６をコードする細胞ｍＲＮＡおよび／またはゲノムＤＮＡとハイブリダイズまたは結合して、転写および／または翻訳を阻害することによって発現を阻害するように対象に投与されるかまたはインサイチューで作製される。ハイブリダイゼーションは、安定な二本差を形成するための従来のヌクレオチド相補性によるものであるか、またはＤＮＡ二本鎖と結合するアンチセンス核酸分子の場合、二重らせんの主溝における特異的相互作用を介し得る。アンチセンス核酸分子の投与経路の例には、組織部位への直接注射が含まれる。代わりに、アンチセンス核酸分子は、修飾して選択した細胞に標的化し、全身投与され得る。例えば、全身投与のために、アンチセンス分子は、選択した細胞表面上で発現される受容体または抗原と特異的に結合するように、例えば分子中のアンチセンス核酸を細胞表面受容体または抗原と結合するペプチドまたは抗体と結合させることにより、修飾され得る。アンチセンス核酸分子はまた、当技術分野において周知であり、例えば米国特許出願公開第２００７／０１１１２３０号明細書（参照によりその全内容が本明細書に組込まれる）に記載のベクターを用いて細胞に送達され得る。アンチセンス分子の十分な細胞内濃度を達成するために、アンチセンス核酸分子が強いｐｏｌ　ＩＩまたはｐｏｌ　ＩＩＩプロモーターの制御下に置かれているベクター構築物が好ましい。

【０１５２】

さらに別の態様では、本発明の方法で利用されるアンチセンス核酸分子は、α－アノマー核酸分子を含み得る。α－アノマー核酸分子は、通常のβユニットと対照的に、鎖が互いに平行に走る相補的ＲＮＡと特異的二本鎖ハイブリッドを形成する（Ｇａｕｌｔｉｅｒ　ｅｔ　ａｌ．（１９８７）Ｎｕｃｌｅｉｃ　Ａｃｉｄｓ．Ｒｅｓ．１５：６６２５－６６４１）。アンチセンス核酸分子は、２’－ｏ－メチルリボヌクレオチド（Ｉｎｏｕｅ　ｅｔ　ａｌ．（１９８７）Ｎｕｃｌｅｉｃ　Ａｃｉｄｓ　Ｒｅｓ．１５：６１３１－６１４８）またはキメラＲＮＡ－ＤＮＡ類似体（Ｉｎｏｕｅ　ｅｔ　ａｌ．（１９８７）ＦＥ

ＢＳ　Ｌｅｔｔ．２１５：３２７－３３０）も含み得る。

【０１５３】

他の態様では、本発明の方法で用いられるアンチセンス核酸は、ＲＮＡｉを媒介する化合物である。ＲＮＡ干渉剤は、ＢＭＰ６またはその断片と相同なＲＮＡ分子を含む核酸分子、「低分子干渉ＲＮＡ」（ｓｉＲＮＡ）、「低分子ヘアピン」または「低分子ヘアピンＲＮＡ」（ｓｈＲＮＡ）ならびにＲＮＡ干渉（ＲＮＡｉ）によって標的遺伝子の発現と干渉または阻害する低分子を含むが、それらに限定されない。ＲＮＡ干渉は、二本鎖ＲＮＡ（ｄｓＲＮＡ）を用いてｄｓＲＮＡと同じ配列を含有するメッセンジャーＲＮＡ（ｍＲＮＡ）を分解する転写後標的遺伝子サイレンシング法である（Ｓｈａｒｐ，Ｐ．Ａ．ａｎｄ　Ｚａｍｏｒｅ，Ｐ．Ｄ．２８７，２４３１－２４３２（２０００）；Ｚａｍｏｒｅ，Ｐ．Ｄ．，ｅｔ　ａｌ．Ｃｅｌｌ　１０１，２５－３３（２０００）．Ｔｕｓｃｈｌ，Ｔ．ｅｔ　ａｌ．Ｇｅｎｅｓ　Ｄｅｖ．１３，３１９１－３１９７（１９９９））。内因性リボヌクレアーゼが、より長いｄｓＲＮＡをより短い２１または２２ヌクレオチド長の低分子干渉ＲＮＡまたはｓｉＲＮＡと呼ばれるＲＮＡに切断する場合にこの過程が生じる。小さいＲＮＡセグメントは、標的ｍＲＮＡの分解を媒介する。ＲＮＡｉの合成のためのキットは、例えば、Ｎｅｗ　Ｅｎｇｌａｎｄ　ＢｉｏｌａｂｓおよびＡｍｂｉｏｎから市販されている。一実施形態では、アンチセンスＲＮＡにおいて使用するための上記化学の１つまたは複数が利用され得る。

【０１５４】

さらに別の態様では、アンチセンス核酸は、リボザイムである。リボザイムは、相補的領域を有する一本鎖核酸、例えばｍＲＮＡを切断できるリボヌクレアーゼ活性を有する触媒ＲＮＡ分子である。したがって、リボザイム（例えば、ハンマーヘッド型リボザイム（Ｈａｓｅｌｈｏｆｆ　ａｎｄ　Ｇｅｒｌａｃｈ，１９８８，Ｎａｔｕｒｅ　３３４：５８５－５９１に記載））を用いてＢＭＰ６　ｍＲＮＡ転写産物を触媒的に切断し、それによってＢＭＰ６　ｍＲＮＡの翻訳を阻害することができる。

【０１５５】

代わりに、遺伝子発現は、ＢＭＰ６の制御領域（例えば、プロモーターおよび／またはエンハンサー）と相補的なヌクレオチド配列を標的化して、ＢＭＰ６遺伝子の転写を防止する三重らせん構造を形成することによって阻害され得る。一般に、Ｈｅｌｅｎｅ，Ｃ．，１９９１，Ａｎｔｉｃａｎｃｅｒ　Ｄｒｕｇ　Ｄｅｓ．６（６）：５６９－８４；Ｈｅｌｅｎｅ，Ｃ．ｅｔ　ａｌ．，１９９２，Ａｎｎ．Ｎ．Ｙ．Ａｃａｄ．Ｓｃｉ．６６０：２７－３６；およびＭａｈｅｒ，Ｌ．Ｊ．，１９９２，Ｂｉｏａｓｓａｙｓ　１４（１２）：８０７－１５を参照されたい。

【０１５６】

融合タンパク質およびＢＭＰ６由来ペプチド化合物

別の態様では、本発明の方法で用いられるＢＭＰ６アンタゴニストは、ＢＭＰ６アミノ酸配列に由来する融合タンパク質またはペプチド化合物である。特に、阻害性化合物は、ＢＭＰ６と融合タンパク質またはペプチド化合物の接触がＢＭＰ６と標的分子の相互作用を競合的に阻害するように、ＢＭＰ６と標的分子の相互作用を媒介するＢＭＰ６の融合タンパク質またはその一部（またはその模倣体）を含む。このような融合タンパク質およびペプチド化合物は、当技術分野において既知の標準的な技法を用いて作製され得る。例えば、ペプチド化合物は、標準的なペプチド合成技法を用いた化学合成によって作製でき、次いでペプチドを細胞に導入するための当技術分野において既知の多様な方法（例えばリポソーム等）によって細胞に導入できる。

【０１５７】

本発明の融合タンパク質またはペプチド化合物のインビボでの半減期は、ペプチド修飾、例えばＮ－結合グリコシル化部位をＢＭＰ６ペプチド化合物に付加することまたはＢＭＰ６ペプチド化合物を、例えばリシン－モノペグ化を介してポリ（エチレングリコール）（ＰＥＧ；ペグ化）にコンジュゲートさせることによって改善され得る。そのような技法は、治療用タンパク質薬の半減期を延長するのに有益であることが証明されている。本発

明のＢＭＰ６ポリペプチドのペグ化は、同様の医薬上の利点をもたらすと予測される。
【０１５８】
さらに、ペグ化は本発明のポリペプチドの任意の部分において、非天然アミノ酸の導入によって達成され得る。ある非天然アミノ酸は、Ｄｅｉｔｅｒｓ ｅｔ ａｌ．，Ｊ Ａｍ Ｃｈｅｍ Ｓｏｃ １２５：１１７８２－１１７８３，２００３；Ｗａｎｇ ａｎｄ Ｓｃｈｕｌｔｚ，Ｓｃｉｅｎｃｅ ３０１：９６４－９６７，２００３；Ｗａｎｇ ｅｔ ａｌ．，Ｓｃｉｅｎｃｅ ２９２：４９８－５００，２００１；Ｚｈａｎｇ ｅｔ ａｌ．，Ｓｃｉｅｎｃｅ ３０３：３７１－３７３，２００４または米国特許７，０８３，９７０号明細書に記載の技術によって導入され得る。簡潔には、これらの発現系のいくつかは、本発明のポリペプチドをコードするオープンリーディングフレームに非センスコドン、例えばアンバーＴＡＧを導入するための部位指定突然変異誘発を伴う。次いで、導入した非センスコドンに特異的なｔＲＮＡを利用できる宿主にこのような発現ベクターを導入し、選択した非天然アミノ酸を加える。本発明のポリペプチドにコンジュゲートする分子という目的で有益である具体的な非天然アミノ酸は、アセチレンおよびアジド側鎖を有するものを含む。次いで、これらの新規アミノ酸を含有するＢＭＰ６ポリペプチドは、タンパク質のこれらの選択された部位でペグ化され得る。
【０１５９】
受容体ベースのアンタゴニスト
別の実施形態では、本発明の方法で用いるＢＭＰ６アンタゴニストは、受容体ベースのアンタゴニストである。受容体ベースのアンタゴニストは、ＢＭＰ６（またはその部分）とそれぞれ結合し、ＢＭＰ６の活性および／または機能を破壊する可溶性ＢＭＰ６受容体を含む。特定の実施形態では、受容体ベースのアンタゴニストは、可溶性ヘモジュベリンまたはＢＭＰ Ｉ型もしくはＩＩ型受容体を含むが、これらに限定されない。可溶性ヘモジュベリンのバージョンには、米国特許出願公開第２０１０／０１３６０１５号明細書に記載されているものが含まれる。
【０１６０】
ＢＭＰ６抗体およびそれらの抗原結合性断片
本発明は、本明細書に記載される本発明の方法ならびに他の実施形態および態様において有用なＢＭＰ６阻害剤として、ヒトＢＭＰ６に特異的に結合する抗体およびその抗原結合性断片を提供する。
【０１６１】
ＢＭＰファミリー成長因子の分泌型リガンドであるＢＭＰ６は、鉄代謝ホルモンであるヘプシジンの肝臓における発現に対する重要な内因性調節因子として同定されている。いかなる特定の理論にも束縛されないが、本開示は、ヘプシジン降下療法としてのＢＭＰ６アンタゴニスト抗体が、基礎疾患の罹患率を実質的に増加させ、転帰不良の予測因子であることが多い赤血球生成刺激剤（ＥＳＡ）に対する抵抗性を克服することにより、鉄欠乏性貧血を伴う患者に利益をもたらすと予測されることを示唆する。
【０１６２】
このような抗ヒトＢＭＰ６抗体の例は、その配列が表１に列挙される抗体３、抗体５、抗体６および抗体７ならびに表１４に記載される抗ヒトＢＭＰ６抗体である。
【０１６３】
抗体５、抗体６および抗体７の全ては、高アフィニティーでヒトＢＭＰ６に結合し、ヒトＢＭＰ７、ヒトＢＭＰ５およびヒトＢＭＰ２に対する選択性を上回る高選択性を伴う（図１Ａを参照されたい）。これらの抗体の全ては、ラットにおける血清ヘプシジンの減少および血清鉄の増大も裏付ける（図２を参照されたい）。
【０１６４】
抗ヒトＢＭＰ６抗体のさらなる例は、ＬＹ３１１３５９３である（例えば、臨床試験ＮＣＴ０２６０４１６０を参照されたい）。抗ヒトＢＭＰ６抗体のさらなる例は、国際公開第２０１４／０９９３９１号パンフレットに記載されており、その内容は、全体的に本明細書に組込まれる。国際公開第２０１４／０９９３９１号パンフレットの特定の抗ヒトＢ

ＭＰ６抗体には、表１４に記載の抗体が含まれる。

【０１６５】

【表１】

表14: 抗ヒトBMP6抗体の例

配列名	配列	配列番号
抗体1		
LCDR1	RSSENIYRNLA	1
LCDR2	AATNLAD	2
LCDR3	QGIWGTPLT	3
軽鎖可変領域(aa)	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRSSENIYRNLAWY QQKPGKAPKLLIYAATNLADGVPSRFSGSGSGTDF TLTISSLQPEDFATYYCQGIWGTPLTFGGGTKVEIK	4
軽鎖(aa)	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRSSENIYRNLAWY QQKPGKAPKLLIYAATNLADGVPSRFSGSGSGTDF TLTISSLQPEDFATYYCQGIWGTPLTFGGGTKVEIK RTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPRE AKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSST LTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGE C	5
HCDR1	GYTFTSYAMH	6
HCDR2	YINPYNDGTKYNENFK	7
HCDR3	RPFGNAMDI	8
重鎖可変領域(aa)	QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKASGYTFTSYAM HWVRQAPGQGLEWMGYINPYNDGTKYNENFKGR VTITADESTSTAYMELSSLRSEDTAVYYCARRPFGN AMDIWGQGTLVTVSS	92

【０１６６】

【表２】

重鎖(aa)	QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKASGYTFTSYAM HWVRQAPGQGLEWMGYINPYNDGTKYNENFKGR VTITADESTSTAYMELSSLRSEDTAVYYCARRPFGN AMDIWGQGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPCSRSTSES TAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAV LQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTKTYTCNVDHKPSNT KVDKRVESKYGPPCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPK DTLMISRTPEVTCVVVDVSQEDPEVQFNWYVDGV EVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVLHQDWLNG KEYKCKVSNKGLPSSIEKTISKAKGQPREPQVYTLP PSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQP ENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSRLTVDKSRWQEGNV FSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSLG	93
抗体2		
LCDR1	RSSENIYRNLA	1
LCDR2	AATNLAD	2
LCDR3	QGIWGTPLT	3
軽鎖可変領域(aa)	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRSSENIYRNLAWY QQKPGKAPKLLIYAATNLADGVPSRFSGSGSGTDF TLTISSLQPEDFATYYCQGIWGTPLTFGGGTKVEIK	4
軽鎖(aa)	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRSSENIYRNLAWY QQKPGKAPKLLIYAATNLADGVPSRFSGSGSGTDF TLTISSLQPEDFATYYCQGIWGTPLTFGGGTKVEIK RTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPRE AKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSST LTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGE C	5

【０１６７】

【表３】

HCDR1	GYTFTSYAMH	6
HCDR2	YINPYNRGTKYNENFK	94
HCDR3	RPFGNAMDI	8
重鎖可変領域 (aa)	QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKASGYTFTSYAM HWVRQAPGQGLEWMGYINPYNRGTKYNENFKGR VTITADESTSTAYMELSSLRSEDTAVYYCARRPFGN AMDIWGQGTLVTVSS	95
重鎖(aa)	QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKASGYTFTSYAM HWVRQAPGQGLEWMGYINPYNRGTKYNENFKGR VTITADESTSTAYMELSSLRSEDTAVYYCARRPFGN AMDIWGQGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPCSRSTSES TAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAV LQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTKTYTCNVDHKPSNT KVDKRVESKYGPPCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPK DTLMISRTPEVTCVVVDVSQEDPEVQFNWYVDGV EVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVLHQDWLNG KEYKCKVSNKGLPSSIEKTISKAKGQPREPQVYTLP PSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQP ENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSRLTVDKSRWQEGNV FSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSLG	96

【０１６８】

この経路を標的とすることにより、機能的な評価項目の改善を付与し得るというさらなる証拠をもたらすために、本発明者らは、ＢＭＰ６特異的抗体である抗体５～７が正常マウスおよび正常ラットにおける鉄代謝についての血清バイオマーカーをモジュレートし、炎症性貧血のマウスモデルにおけるＥＳＡ抵抗性貧血を転導する能力について調べた。本発明者らは、動物へのＢＭＰ６抗体の単回の注射が、循環ヘプシジンの強力な抑制を伴う血清鉄レベルの持続的増大を結果としてもたらすことを見出した。さらに、炎症誘導性貧血下にあるマウスの治療的処置は、併用のエリスロポエチン処置に応答する赤血球生成パラメータを著明に改善した。

【０１６９】

本開示では、炎症性貧血のマウスモデルにおけるＢＭＰ６シグナル伝達の阻害により、鉄依存的な赤血球パラメータが実質的に改善された。

【０１７０】

本明細書で開示されるＢＭＰ６アンタゴニスト抗体は、エリスロポエチン低応答性を伴う貧血を安全に改善する新規の治療法となる。いかなる特定の理論にも束縛さないが、本開示は、これが、赤血球系コンパートメントからの要求に対する貯蔵鉄の移動およびアベイラビリティーを介して生じ得ることを示唆する。

【０１７１】

一実施形態では、本発明は、ヒトＢＭＰ６タンパク質に対して、ヒトＢＭＰ５タンパク質またはヒトＢＭＰ７タンパク質のいずれかに対する１００、５００または１０００倍のアフィニティーで結合する単離抗体またはその抗原結合性断片を提供する。ＢＭＰ６のノックアウトは、マウスに対して致死性ではないため、ＢＭＰ７への結合を伴わないＢＭＰ６に対する特異性が重要である。しかし、ＢＭＰ７をノックアウトされたマウスは、腎臓、眼および骨の欠損を伴い、生後に死亡する。一方の遺伝子の個別のノックアウトは、心臓発生を改変しないが、ＢＭＰ６およびＢＭＰ７の二重ノックアウトは、心臓における何らかの欠損および遅延を裏付け、胎仔は、心不全で死亡した。ＢＭＰ７は、線維症と関連する慢性心疾患の進行を阻止するのに重要である。したがって、抗ＢＭＰ６抗体のＢＭＰ７との交差反応性は、所望されない。本明細書で提示される抗体は、ＢＭＰ７よりＢＭＰ６に特異的である（例えば、表４Ａを参照されたい）。図１Ｂは、ヒトＢＭＰ２、ＢＭＰ５およびＢＭＰ７タンパク質に対する結合特異性を上回る、ヒトＢＭＰ６に対する結合特異性についての証拠も示す。これに対し、Ｒ＆Ｄ　Ｓｙｓｔｅｍｓから市販されているＢＭＰ６抗体は、例えば、レポーター遺伝子アッセイにおいてＢＭＰ７に対して強い交差反応性を有し、ＢＭＰ６およびＢＭＰ７の両方を阻害することが明らかにされた。

【０１７２】
本発明の抗体は、実施例（下記の６節を参照されたい）で記載される通りに単離されたヒトモノクローナル抗体を含むが、これらに限定されない。
【０１７３】
このような抗ヒトＢＭＰ６抗体の例は、抗体３、抗体５、抗体６および抗体７であり、これらの配列を表１に列挙する。
【０１７４】
成熟抗体７は、親ＩｇＧヒットＮＯＶ０４４２（ＶＨ３＿３－１５、Ｖｌ１＿１ｅ）に由来する生殖細胞系列化／ＰＴＭ除去体であるＮＯＶ０４４２＿ＶＬ（ＹＧＱ）に由来する。抗体７は、ＥＬＩＳＡ結合アッセイにおいてヒトＢＭＰ６に高アフィニティーで結合し、ヒトＢＭＰ７に対する選択性は、５００倍を超える（すなわちヒトＢＭＰ６に対して、ヒトＢＭＰ７に対する５００倍を超えるアフィニティー）。この抗体は、ヒトＢＭＰ２またはＢＭＰ５に対しても検出可能な活性を有しない。親ＩｇＧであるＮＯＶ０４４２および抗体７により認識されるＢＭＰ６ペプチドを図５に示す。ペプチドは、ヒトＢＭＰ６のアミノ酸であるＱＴＬＶＨＬＭＮＰＥＹＶＰＫＰ（配列番号９８）を含む。ＩｇＧ　ＮＯＶ０４４２および抗体７とは対照的に、ヒト化ｍＡｂ５０７（Ｒ＆Ｄ　Ｓｙｓｔｅｍｓ）は、ヒトＢＭＰ６の配列ＶＳＳＡＳＤＹＮＳＳＥＬＫ（配列番号９９）に結合する。したがって、ＩｇＧ　ＮＯＶ０４４２および抗体７により認識されるエピトープは、新規のＢＭＰ６エピトープを表す。抗体７は、インビトロにおいてＢＭＰ６の受容体への結合も阻害する。ＢＭＰ６の、ＢＭＰＲ１Ａへの結合は、最大で５９％阻害され；ＢＭＰＲ１Ｂへの結合は、最大で８５％阻害され；ＲＧＭ－ｃへの結合は、最大で７２％阻害される。ラットにおける単回の１０ｍｇ／ｋｇによる処置は、循環ヘプシジンの持続的抑制をもたらした。マウスにおける推定最小有効用量は、０．１ｍｇ／ｋｇ以下である。サルにおける３ｍｇ／ｋｇの単回の抗体投与後に血清鉄も増大を示し、ヘプシジンは、減少を示した。ウシ流産菌（Ｂｒｕｃｅｌｌａ　ａｂｏｒｔｕｓ）抗原を使用して貧血を刺激したマウスでは、抗体７（２ｍｇ／ｋｇ）の処置効果は、慢性ＥＰＯ治療に対する臨床的に有意な赤血球生成応答と符合し、ベースラインからのヘモグロビンの段階的な増大は、２．０ｇ／ｄＬ超である。
【０１７５】
抗体７では、ＬＣＤＲ２内のＮ５１Ｑ突然変異により、潜在的な翻訳後修飾部位を除去して、後続の生成物の均質性を増大させる。ＶＨ３／ラムダ１フレームワークに由来する最も近縁のヒト生殖細胞系列配列にマッチさせるために、ＶＨではＶ４０Ａ突然変異により、ＶＬではＤ１Ｑ突然変異、Ｉ２Ｓ突然変異により、かつこれらの２つの残基が最初に逸失していたフレームワークを修復するアミノ酸Ｙ４９およびＧ５０の導入により、抗体を操作した。
【０１７６】
本研究は、抗体７（＝ＮＯＶ０９５８＝ＮＯＶ０８０６＿ＶＨ［Ｖ４０Ａ］＿ＶＬ［Ｄ１Ｑ、Ｉ２Ｓ、Ｙ４９、Ｇ５０、Ｎ５１Ｑ］）を結果としてもたらした。
【０１７７】
抗体３、抗体５、抗体６および抗体７の全ては、ヒトＢＭＰ２タンパク質、ヒトＢＭＰ５タンパク質またはヒトＢＭＰ７タンパク質と比較してヒトＢＭＰ６タンパク質に対する高特異性を示す。これらの全ての抗体のエピトープは、全てがアフィニティー成熟前における単一の親Ｆａｂに由来するため、同じであると予測される。例えば、抗体３は、ＨＣＤＲ２のアフィニティー成熟前における抗体５および抗体７の両方と同じＦａｂクローンを共有する。抗体５は、ＮＯＶ０４４２（ＶＨ３＿３－１５、ＶＩ１＿１ｅ）→ＮＯＶ０４４２＿ＶＬ（ＹＧＱ）→（ＨＣＤＲ２のアフィニティー成熟）→抗体５に由来する。抗体３は、ＮＯＶ０４４２（ＶＨ３＿３－１５、ＶＩ１＿１ｅ）→ＮＯＶ０４４２＿ＶＬ（ＹＧＳ）→（ＨＣＤＲ２のアフィニティー成熟）→抗体３に由来する。本明細書に記載される抗体の作出に関するさらなる詳細は、実施例に提示する。
【０１７８】

本発明は、ＢＭＰ６（例えば、ヒトＢＭＰ６タンパク質）に特異的に結合する抗体であって、表１および／または表１４に列挙されるＶＨドメインを含む抗体を提供する。本発明は、ＢＭＰ６タンパク質に特異的に結合する抗体であって、表１および／または表１４に列挙されるＶＨ　ＣＤＲのいずれか１つのアミノ酸配列を有するＶＨ　ＣＤＲを含む抗体も提供する。特に、本発明は、ＢＭＰ６タンパク質に特異的に結合する抗体であって、表１および／または表１４に列挙されるＶＨ　ＣＤＲのいずれか１つのアミノ酸配列を有する、１つ、２つ、３つ、４つ、５つ以上のＶＨ　ＣＤＲを含む（または代替的にこれらからなる）抗体を提供する。

【０１７９】

本発明は、ＢＭＰ６に特異的に結合する抗体およびそれらの抗原結合性断片であって、表１および／または表１４に列挙されるＶＨアミノ酸配列を含み（または代替的にこれらからなり）、フレームワーク配列（例えば、ＣＤＲでない配列）内の約１０以下のアミノ酸を突然変異させた（この場合、突然変異は、多様な非限定的な例として付加、置換または欠失である）抗体またはそれらの抗原結合性断片も提供する。本発明は、ＢＭＰ６に特異的に結合する抗体およびそれらの抗原結合性断片であって、表１および／または表１４に列挙されるＶＨアミノ酸配列を含み（または代替的にこれらからなり）、フレームワーク配列（例えば、ＣＤＲでない配列）内の１０以下のアミノ酸を突然変異させた（この場合、突然変異は、多様な非限定的な例として付加、置換または欠失である）抗体またはそれらの抗原結合性断片も提供する。

【０１８０】

本発明は、ＢＭＰ６に特異的に結合する抗体およびそれらの抗原結合性断片であって、表１および／または表１４に列挙されるＶＨアミノ酸配列を含み（または代替的にこれらからなり）、フレームワーク配列（例えば、ＣＤＲでない配列）内の約２０以下のアミノ酸を突然変異させた（この場合、突然変異は、多様な非限定的な例として付加、置換または欠失である）抗体またはそれらの抗原結合性断片も提供する。本発明は、ＢＭＰ６に特異的に結合する抗体およびそれらの抗原結合性断片であって、表１および／または表１４に列挙されるＶＨアミノ酸配列を含み（または代替的にこれらからなり）、フレームワーク配列（例えば、ＣＤＲでない配列）内の２０以下のアミノ酸を突然変異させた（この場合、突然変異は、多様な非限定的な例として付加、置換または欠失である）抗体またはそれらの抗原結合性断片も提供する。

【０１８１】

本発明は、ＢＭＰ６に特異的に結合する抗体およびそれらの抗原結合性断片であって、表１および／または表１４に列挙されるＶＬアミノ酸配列を含み（または代替的にこれらからなり）、フレームワーク配列（例えば、ＣＤＲでない配列）内の約１０以下のアミノ酸を突然変異させた（この場合、突然変異は、多様な非限定的な例として付加、置換または欠失である）抗体またはそれらの抗原結合性断片も提供する。本発明は、ＢＭＰ６に特異的に結合する抗体およびそれらの抗原結合性断片であって、表１および／または表１４に列挙されるＶＬアミノ酸配列を含み（または代替的にこれらからなり）、フレームワーク配列（例えば、ＣＤＲでない配列）内の１０以下のアミノ酸を突然変異させた（この場合、突然変異は、多様な非限定的な例として付加、置換または欠失である）抗体またはそれらの抗原結合性断片も提供する。

【０１８２】

本発明は、ＢＭＰ６に特異的に結合する抗体およびそれらの抗原結合性断片であって、表１および／または表１４に列挙されるＶＬアミノ酸配列を含み（または代替的にこれらからなり）、フレームワーク配列（例えば、ＣＤＲでない配列）内の約２０以下のアミノ酸を突然変異させた（この場合、突然変異は、多様な非限定的な例として付加、置換または欠失である）抗体またはそれらの抗原結合性断片も提供する。本発明は、ＢＭＰ６に特異的に結合する抗体およびそれらの抗原結合性断片であって、表１および／または表１４に列挙されるＶＬアミノ酸配列を含み（または代替的にこれらからなり）、フレームワーク配列（例えば、ＣＤＲでない配列）内の２０以下のアミノ酸を突然変異させた（この場

合、突然変異は、多様な非限定的な例として付加、置換または欠失である）抗体またはそれらの抗原結合性断片も提供する。

【０１８３】

本発明は、ＢＭＰ６タンパク質に特異的に結合する抗体およびそれらの抗原結合性断片であって、表１および／または表１４に列挙されるＶＬドメインを含む抗体またはそれらの抗原結合性断片を提供する。本発明は、ＢＭＰ６タンパク質に特異的に結合する抗体およびそれらの抗原結合性断片であって、表１および／または表１４に列挙されるＶＬ　ＣＤＲのいずれか１つのアミノ酸配列を有するＶＬ　ＣＤＲを含む抗体またはそれらの抗原結合性断片も提供する。特に、本発明は、ＢＭＰ６タンパク質に特異的に結合する抗体およびそれらの抗原結合性断片であって、表１および／または表１４に列挙されるＶＬ　ＣＤＲのいずれか１つのアミノ酸配列を有する、１つ、２つ、３つ、４つ、５つ以上のＶＬＣＤＲを含む（または代替的にこれらからなる）抗体およびそれらの抗原結合性断片を提供する。

【０１８４】

本発明の他の抗体およびそれらの抗原結合性断片は、突然変異させているが、ＣＤＲ領域内の、表１および／または表１４に記載される配列に描示されるＣＤＲ領域と少なくとも６０、７０、８０、９０または９５パーセントの同一性を有するアミノ酸を含む。一実施形態では、本発明の他の抗体およびそれらの抗原結合性断片は、ＣＤＲ領域内の１、２、３、４または５つ以下のアミノ酸を、表１および／または表１４に記載される配列に描示されるＣＤＲ領域と比較して突然変異させた突然変異体のアミノ酸配列を含む。

【０１８５】

本発明は、ＢＭＰ６タンパク質に特異的に結合する抗体およびそれらの抗原結合性断片のＶＨ、ＶＬ、全長重鎖および全長軽鎖をコードする核酸配列も提供する。このような核酸配列は、哺乳動物細胞内の発現について最適化することができる（例えば、表１は、抗体３、抗体５、抗体６および抗体７の重鎖および軽鎖の例となる核酸配列を示す）。

【０１８６】

【表４】

表1.本発明のBMP6抗体の例

抗体 3			配列番号
Kabat	HCDR1	SYVVH	9
Kabat	HCDR2	RIKDHKQGYTTAYAASVKG	10
Kabat	HCDR3	VERSKSGFDN	11
Chothia	HCDR1	GFTFSSY	12
Chothia	HCDR2	KDHKQGYT	13
Chothia	HCDR3	VERSKSGFDN	14
	VH	QVQLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFSSYVVHWVRQAPGKGLEWVGRIKDHKQGYTTAYAASVKGRFTISRDDSKNTLYLQMNSLKTEDTAVYYCARVERSKSGFDNWGQGTLVTVSS	15
	DNA VH	CAGGTGCAATTGGTGGAAAGCGGCGGTGGCCTGGTGAAACCAGGCGGCAGCCTGCGCCTGAGCTGCGCCGCCTCCGGATTCACCTTTTCTTCTTACGTTGTTCATTGGGTGCGCCAGGCCCCGGGCAAAGGTCTCGAGTGGGTGGGCCGTATCAAAGACCACAAACAGGGCTACACTACTGCTTATGCCGCCTCTGTGAAAGGCCGCTTTACCATTAGCCGCGATGATTCGAAAAACACCCTGTATCTGCAAATGAACAGCCTGAAAACCGAAGATACGGCCGTGTATTATTGCGCGCGTGTTGAACGTTCTAAATCTGGTTTCGATAACTGGGGCCAAGGCACCCTGGTGACTGTTAGCTCA	16

【０１８７】

【表５】

	重鎖	QVQLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFT FSSYVVHWVRQAPGKGLEWVGRIKDHK QGYTTAYAASVKGRFTISRDDSKNTLYL QMNSLKTEDTAVYYCARVERSKSGFDN WGQGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKST SGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGA LTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSS SLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVEPKS CDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPK DTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFN WYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVV SVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPA PIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMT KNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQP ENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKS RWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLS LSPGK	17
	DNA 重鎖	CAGGTGCAATTGGTGGAAAGCGGCGGT GGCCTGGTGAAACCAGGCGGCAGCCTG CGCCTGAGCTGCGCCGCCTCCGGATTC ACCTTTTCTTCTTACGTTGTTCATTGGG TGCGCCAGGCCCCGGGCAAAGGTCTCG AGTGGGTGGGCCGTATCAAAGACCACA AACAGGGCTACACTACTGCTTATGCCG	18

【０１８８】

【表６】

		CCTCTGTGAAAGGCCGCTTTACCATTA GCCGCGATGATTCGAAAAACACCCTGT ATCTGCAAATGAACAGCCTGAAAACCG AAGATACGGCCGTGTATTATTGCGCGC GTGTTGAACGTTCTAAATCTGGTTTCG ATAACTGGGGCCAAGGCACCCTGGTGA CTGTTAGCTCAGCCTCCACCAAGGGTC CATCGGTCTTCCCCCTGGCACCCTCCTC CAAGAGCACCTCTGGGGGCACAGCGG CCCTGGGCTGCCTGGTCAAGGACTACT TCCCCGAACCGGTGACGGTGTCGTGGA ACTCAGGCGCCCTGACCAGCGGCGTGC ACACCTTCCCGGCTGTCCTACAGTCCT CAGGACTCTACTCCCTCAGCAGCGTGG TGACCGTGCCCTCCAGCAGCTTGGGCA CCCAGACCTACATCTGCAACGTGAATC ACAAGCCCAGCAACACCAAGGTGGAC AAGAGAGTTGAGCCCAAATCTTGTGAC AAAACTCACACATGCCCACCGTGCCCA GCACCTGAACTCCTGGGGGGACCGTCA GTCTTCCTCTTCCCCCCAAAACCCAAG GACACCCTCATGATCTCCCGGACCCCT GAGGTCACATGCGTGGTGGTGGACGTG AGCCACGAAGACCCTGAGGTCAAGTTC AACTGGTACGTGGACGGCGTGGAGGTG CATAATGCCAAGACAAAGCCGCGGGA GGAGCAGTACAACAGCACGTACCGGG TGGTCAGCGTCCTCACCGTCCTGCACC AGGACTGGCTGAATGGCAAGGAGTAC AAGTGCAAGGTCTCCAACAAAGCCCTC CCAGCCCCCATCGAGAAAACCATCTCC AAAGCCAAAGGGCAGCCCCGAGAACC ACAGGTGTACACCCTGCCCCCATCCCG GGAGGAGATGACCAAGAACCAGGTCA GCCTGACCTGCCTGGTCAAAGGCTTCT ATCCCAGCGACATCGCCGTGGAGTGGG AGAGCAATGGGCAGCCGGAGAACAAC TACAAGACCACGCCTCCCGTGCTGGAC TCCGACGGCTCCTTCTTCCTCTACAGCA AGCTCACCGTGGACAAGAGCAGGTGG CAGCAGGGGAACGTCTTCTCATGCTCC GTGATGCATGAGGCTCTGCACAACCAC TACACGCAGAAGAGCCTCTCCCTGTCT CCGGGTAAA	

【０１８９】

【表７】

Kabat	LCDR1	TGSSSNIGAGYSVH	19
Kabat	LCDR2	GSSERPS	20
Kabat	LCDR3	QSWDSSQTLVV	21
Chothia	LCDR1	SSSNIGAGYS	22
Chothia	LCDR2	GSS	23
Chothia	LCDR3	WDSSQTLV	24
	VL	QSVLTQPPSVSGAPGQRVTISCTGSSSNI GAGYSVHWYQQLPGTAPKLLIYGSSERP SGVPDRFSGSKSGTSASLAITGLQAEDEA DYYCQSWDSSQTLVVFGGGTKLTVL	25
	DNA VL	CAGAGCGTGCTGACCCAGCCGCCGAGC GTGAGCGGTGCACCGGGCCAGCGCGTG ACCATTAGCTGTACCGGCAGCAGCAGC AACATTGGTGCTGGTTACTCTGTGCAT TGGTACCAGCAGCTGCCGGGCACGGCG CCGAAACTGCTGATCTATGGTAGCTCT GAACGCCCGAGCGGCGTGCCGGATCGC TTTAGCGGATCCAAAAGCGGCACCAGC GCCAGCCTGGCGATTACCGGCCTGCAA GCAGAAGACGAAGCGGATTATTACTGC CAGTCTTGGGACTCTTCTCAGACTCTG GTTGTGTTTGGCGGCGGCACGAAGTTA ACCGTCCTA	26

【０１９０】

【表８】

	軽鎖	QSVLTQPPSVSGAPGQRVTISCTGSSSNI GAGYSVHWYQQLPGTAPKLLIYGSSERP SGVPDRFSGSKSGTSASLAITGLQAEDEA DYYCQSWDSSQTLVVFGGGTKLTVLGQ PKAAPSVTLFPPSSEELQANKATLVCLIS DFYPGAVTVAWKADSSPVKAGVETTTP SKQSNNKYAASSYLSLTPEQWKSHRSYS CQVTHEGSTVEKTVAPTECS	27
	DNA 軽鎖	CAGAGCGTGCTGACCCAGCCGCCGAGC GTGAGCGGTGCACCGGGCCAGCGCGTG ACCATTAGCTGTACCGGCAGCAGCAGC AACATTGGTGCTGGTTACTCTGTGCAT TGGTACCAGCAGCTGCCGGGCACGGCG CCGAAACTGCTGATCTATGGTAGCTCT GAACGCCCGAGCGGCGTGCCGGATCGC TTTAGCGGATCCAAAAGCGGCACCAGC GCCAGCCTGGCGATTACCGGCCTGCAA GCAGAAGACGAAGCGGATTATTACTGC CAGTCTTGGGACTCTTCTCAGACTCTG GTTGTGTTTGGCGGCGGCACGAAGTTA ACCGTCCTAGGTCAGCCCAAGGCTGCC CCCTCGGTCACTCTGTTCCCGCCCTCCT CTGAGGAGCTTCAAGCCAACAAGGCCA CACTGGTGTGTCTCATAAGTGACTTCT ACCCGGGAGCCGTGACAGTGGCCTGGA AGGCAGATAGCAGCCCCGTCAAGGCG GGAGTGGAGACCACCACACCCTCCAAA CAAAGCAACAACAAGTACGCGGCCAG CAGCTATCTGAGCCTGACGCCTGAGCA GTGGAAGTCCCACAGAAGCTACAGCTG CCAGGTCACGCATGAAGGGAGCACCGT GGAGAAGACAGTGGCCCCTACAGAAT GTTCA	28
抗体５			

【０１９１】

【表９】

Kabat	HCDR1	SYVVH	29
Kabat	HCDR2	RIKRESSSYTTMYAAPVKG	30
Kabat	HCDR3	VERSKSGFDN	31
Chothia	HCDR1	GFTFSSY	32
Chothia	HCDR2	KRESSSYT	33
Chothia	HCDR3	VERSKSGFDN	34
	VH	QVQLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFT FSSYVVHWVRQAPGKGLEWVGRIKRES SSYTTMYAAPVKGRFTISRDDSKNTLYL QMNSLKTEDTAVYYCARVERSKSGFDN WGQGTLVTVSS	35
	DNA VH	CAGGTGCAGCTGGTGGAATCAGGCGGC GGACTGGTCAAGCCTGGCGGTAGCCTG AGACTGAGCTGCGCTGCTAGTGGCTTC ACCTTCTCTAGCTACGTGGTGCACTGG GTCAGACAGGCCCCTGGTAAAGGCCTG GAGTGGGTCGGACGGATTAAGAGAGA GTCCTCTAGCTACACTACTATGTACGC CGCTCCCGTGAAGGGCCGGTTCACTAT CTCTAGGGACGACTCTAAGAACACCCT GTACCTGCAGATGAATAGCCTGAAAAC CGAGGACACCGCCGTCTACTACTGCGC TAGAGTGGAACGGTCTAAGTCAGGCTT CGATAACTGGGGTCAGGGCACCCTGGT CACCGTGTCTAGC	36
	重鎖	QVQLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFT FSSYVVHWVRQAPGKGLEWVGRIKRES SSYTTMYAAPVKGRFTISRDDSKNTLYL QMNSLKTEDTAVYYCARVERSKSGFDN WGQGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKST SGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGA LTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSS SLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVEPKS CDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPK DTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFN WYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVV SVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPA PIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMT KNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQP ENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKS RWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLS LSPGK	37

【０１９２】

【表１０】

	DNA 重鎖	CAGGTGCAGCTGGTGGAATCAGGCGGC GGACTGGTCAAGCCTGGCGGTAGCCTG AGACTGAGCTGCGCTGCTAGTGGCTTC ACCTTCTCTAGCTACGTGGTGCACTGG GTCAGACAGGCCCCTGGTAAAGGCCTG GAGTGGGTCGGACGGATTAAGAGAGA GTCCTCTAGCTACACTACTATGTACGC CGCTCCCGTGAAGGGCCGGTTCACTAT CTCTAGGGACGACTCTAAGAACACCCT GTACCTGCAGATGAATAGCCTGAAAAC CGAGGACACCGCCGTCTACTACTGCGC TAGAGTGGAACGGTCTAAGTCAGGCTT CGATAACTGGGGTCAGGGCACCCTGGT CACCGTGTCTAGCGCTAGCACTAAGGG CCCAAGTGTGTTTCCCCTGGCCCCCAG CAGCAAGTCTACTTCCGGCGGAACTGC TGCCCTGGGTTGCCTGGTGAAGGACTA CTTCCCCGAGCCCGTGACAGTGTCCTG GAACTCTGGGGCTCTGACTTCCGGCGT GCACACCTTCCCCGCCGTGCTGCAGAG CAGCGGCCTGTACAGCCTGAGCAGCGT GGTGACAGTGCCCTCCAGCTCTCTGGG AACCCAGACCTATATCTGCAACGTGAA CCACAAGCCCAGCAACACCAAGGTGG ACAAGAGAGTGGAGCCCAAGAGCTGC	38

【０１９３】

【表１１】

		GACAAGACCCACACCTGCCCCCCCTGC CCAGCTCCAGAACTGCTGGGAGGGCCT TCCGTGTTCCTGTTCCCCCCCAAGCCCA AGGACACCCTGATGATCAGCAGGACCC CCGAGGTGACCTGCGTGGTGGTGGACG TGTCCCACGAGGACCCAGAGGTGAAGT TCAACTGGTACGTGGACGGCGTGGAGG TGCACAACGCCAAGACCAAGCCCAGA GAGGAGCAGTACAACAGCACCTACAG GGTGGTGTCCGTGCTGACCGTGCTGCA CCAGGACTGGCTGAACGGCAAAGAAT ACAAGTGCAAAGTCTCCAACAAGGCCC TGCCAGCCCCAATCGAAAAGACAATCA GCAAGGCCAAGGGCCAGCCACGGGAG CCCCAGGTGTACACCCTGCCCCCCAGC CGGGAGGAGATGACCAAGAACCAGGT GTCCCTGACCTGTCTGGTGAAGGGCTT CTACCCCAGCGATATCGCCGTGGAGTG GGAGAGCAACGGCCAGCCCGAGAACA ACTACAAGACCACCCCCCCAGTGCTGG ACAGCGACGGCAGCTTCTTCCTGTACA GCAAGCTGACCGTGGACAAGTCCAGGT GGCAGCAGGGCAACGTGTTCAGCTGCA GCGTGATGCACGAGGCCCTGCACAACC ACTACACCCAGAAGTCCCTGAGCCTGA GCCCCGGCAAG	
Kabat	LCDR1	TGSSSNIGAGYSVH	39
Kabat	LCDR2	GQSERPS	40
Kabat	LCDR3	QSWDSSQTLVV	41
Chothia	LCDR1	SSSNIGAGYS	42
Chothia	LCDR2	GQS	43
Chothia	LCDR3	WDSSQTLV	44
	VL	QSVLTQPPSVSGAPGQRVTISCTGSSSNI GAGYSVHWYQQLPGTAPKLLIYGQSERP SGVPDRFSGSKSGTSASLAITGLQAEDEA DYYCQSWDSSQTLVVFGGGTKLTVL	45

【０１９４】

【表１２】

	DNA VL	CAGTCAGTCCTGACTCAGCCCCCTAGC GTCAGCGGCGCTCCCGGTCAGAGAGTG ACTATTAGCTGCACCGGCTCTAGCTCT AATATCGGCGCTGGCTATAGCGTGCAC TGGTATCAGCAGCTGCCCGGCACCGCC CCTAAGCTGCTGATCTACGGTCAGTCA GAGCGGCCTAGCGGCGTGCCCGATAGG TTTAGCGGCTCTAAGTCAGGCACTAGC GCTAGTCTGGCTATCACCGGCCTGCAG GCTGAGGACGAGGCCGACTACTACTGT CAGTCCTGGGACTCTAGTCAGACCCTG GTGGTGTTCGGCGGAGGCACTAAGCTG ACCGTGCTG	46
	軽鎖	QSVLTQPPSVSGAPGQRVTISCTGSSSNI GAGYSVHWYQQLPGTAPKLLIYGQSERP SGVPDRFSGSKSGTSASLAITGLQAEDEA DYYCQSWDSSQTLVVFGGGTKLTVLGQ PKAAPSVTLFPPSSEELQANKATLVCLIS DFYPGAVTVAWKADSSPVKAGVETTTP SKQSNNKYAASSYLSLTPEQWKSHRSYS CQVTHEGSTVEKTVAPTECS	47
	DNA 軽鎖	CAGTCAGTCCTGACTCAGCCCCCTAGC GTCAGCGGCGCTCCCGGTCAGAGAGTG ACTATTAGCTGCACCGGCTCTAGCTCT AATATCGGCGCTGGCTATAGCGTGCAC TGGTATCAGCAGCTGCCCGGCACCGCC CCTAAGCTGCTGATCTACGGTCAGTCA GAGCGGCCTAGCGGCGTGCCCGATAGG TTTAGCGGCTCTAAGTCAGGCACTAGC GCTAGTCTGGCTATCACCGGCCTGCAG GCTGAGGACGAGGCCGACTACTACTGT CAGTCCTGGGACTCTAGTCAGACCCTG GTGGTGTTCGGCGGAGGCACTAAGCTG ACCGTGCTGGGTCAGCCTAAGGCTGCC CCCAGCGTGACCCTGTTCCCCCCCAGC AGCGAGGAGCTGCAGGCCAACAAGGC CACCCTGGTGTGCCTGATCAGCGACTT CTACCCAGGCGCCGTGACCGTGGCCTG GAAGGCCGACAGCAGCCCCGTGAAGG CCGGCGTGGAGACCACCACCCCCAGCA AGCAGAGCAACAACAAGTACGCCGCC AGCAGCTACCTGAGCCTGACCCCCGAG CAGTGGAAGAGCCACAGGTCCTACAGC TGCCAGGTGACCCACGAGGGCAGCACC GTGGAAAAGACCGTGGCCCCAACCGA GTGCAGC	48

【０１９５】

【表１３】

抗体 6			
Kabat	HCDR1	SYVVH	49
Kabat	HCDR2	RTRHSDMGYATSYAAPVKG	50
Kabat	HCDR3	VERSKSGFDN	51
Chothia	HCDR1	GFTFSSY	52
Chothia	HCDR2	RHSDMGYA	53
Chothia	HCDR3	VERSKSGFDN	54
	VH	QVQLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFT FSSYVVHWVRQAPGKGLEWVGRTRHSD MGYATSYAAPVKGRFTISRDDSKNTLYL QMNSLKTEDTAVYYCARVERSKSGFDN WGQGTLVTVSS	55
	DNA VH	CAGGTGCAGCTGGTGGAATCAGGCGGC GGACTGGTCAAGCCTGGCGGTAGCCTG AGACTGAGCTGCGCTGCTAGTGGCTTC ACCTTCTCTAGCTACGTGGTGCACTGG GTCAGACAGGCCCCTGGTAAAGGCCTG GAGTGGGTCGGACGGACTAGACACTCA GATATGGGCTACGCTACTAGCTACGCC GCTCCCGTGAAGGGCCGGTTCACTATC TCTAGGGACGACTCTAAGAACACCCTG TACCTGCAGATGAATAGCCTGAAAACC GAGGACACCGCCGTCTACTACTGCGCT AGAGTGGAACGGTCTAAGTCAGGCTTC GATAACTGGGGTCAGGGCACCCTGGTC ACCGTGTCTAGC	56

【０１９６】

【表１４】

	重鎖	QVQLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFT FSSYVVHWVRQAPGKGLEWVGRTRHSD MGYATSYAAPVKGRFTISRDDSKNTLYL QMNSLKTEDTAVYYCARVERSKSGFDN WGQGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKST SGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGA LTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSS SLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVEPKS CDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPK DTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFN WYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVV SVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPA PIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMT KNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQP ENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKS RWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLS LSPGK	57
	DNA 重鎖	CAGGTGCAGCTGGTGGAATCAGGCGGC GGACTGGTCAAGCCTGGCGGTAGCCTG AGACTGAGCTGCGCTGCTAGTGGCTTC ACCTTCTCTAGCTACGTGGTGCACTGG GTCAGACAGGCCCCTGGTAAAGGCCTG GAGTGGGTCGGACGGACTAGACACTCA GATATGGGCTACGCTACTAGCTACGCC GCTCCCGTGAAGGGCCGGTTCACTATC	58

【０１９７】

【表１５】

		TCTAGGGACGACTCTAAGAACACCCTG TACCTGCAGATGAATAGCCTGAAAACC GAGGACACCGCCGTCTACTACTGCGCT AGAGTGGAACGGTCTAAGTCAGGCTTC GATAACTGGGGTCAGGGCACCCTGGTC ACCGTGTCTAGCGCTAGCACTAAGGGC CCAAGTGTGTTTCCCCTGGCCCCCAGC AGCAAGTCTACTTCCGGCGGAACTGCT GCCCTGGGTTGCCTGGTGAAGGACTAC TTCCCCGAGCCCGTGACAGTGTCCTGG AACTCTGGGGCTCTGACTTCCGGCGTG CACACCTTCCCCGCCGTGCTGCAGAGC AGCGGCCTGTACAGCCTGAGCAGCGTG GTGACAGTGCCCTCCAGCTCTCTGGGA ACCCAGACCTATATCTGCAACGTGAAC CACAAGCCCAGCAACACCAAGGTGGA CAAGAGAGTGGAGCCCAAGAGCTGCG ACAAGACCCACACCTGCCCCCCCTGCC CAGCTCCAGAACTGCTGGGAGGGCCTT CCGTGTTCCTGTTCCCCCCCAAGCCCA AGGACACCCTGATGATCAGCAGGACCC CCGAGGTGACCTGCGTGGTGGTGGACG TGTCCCACGAGGACCCAGAGGTGAAGT TCAACTGGTACGTGGACGGCGTGGAGG TGCACAACGCCAAGACCAAGCCCAGA GAGGAGCAGTACAACAGCACCTACAG GGTGGTGTCCGTGCTGACCGTGCTGCA CCAGGACTGGCTGAACGGCAAAGAAT ACAAGTGCAAAGTCTCCAACAAGGCCC TGCCAGCCCCAATCGAAAAGACAATCA GCAAGGCCAAGGGCCAGCCACGGGAG CCCCAGGTGTACACCCTGCCCCCCAGC CGGGAGGAGATGACCAAGAACCAGGT GTCCCTGACCTGTCTGGTGAAGGGCTT CTACCCCAGCGATATCGCCGTGGAGTG GGAGAGCAACGGCCAGCCCGAGAACA ACTACAAGACCACCCCCCCAGTGCTGG ACAGCGACGGCAGCTTCTTCCTGTACA GCAAGCTGACCGTGGACAAGTCCAGGT GGCAGCAGGGCAACGTGTTCAGCTGCA GCGTGATGCACGAGGCCCTGCACAACC ACTACACCCAGAAGTCCCTGAGCCTGA GCCCCGGCAAG	

【０１９８】

【表１６】

Kabat	LCDR1	TGSSSNIGAGYSVH	59
Kabat	LCDR2	GQSERPS	60
Kabat	LCDR3	QSWDSSQTLVV	61
Chothia	LCDR1	SSSNIGAGYS	62
Chothia	LCDR2	GQS	63
Chothia	LCDR3	WDSSQTLV	64
	VL	QSVLTQPPSVSGAPGQRVTISCTGSSSNI GAGYSVHWYQQLPGTAPKLLIYGQSERP SGVPDRFSGSKSGTSASLAITGLQAEDEA DYYCQSWDSSQTLVVFGGGTKLTVL	65
	DNA VL	CAGTCAGTCCTGACTCAGCCCCCTAGC GTCAGCGGCGCTCCCGGTCAGAGAGTG ACTATTAGCTGCACCGGCTCTAGCTCT AATATCGGCGCTGGCTATAGCGTGCAC TGGTATCAGCAGCTGCCCGGCACCGCC CCTAAGCTGCTGATCTACGGTCAGTCA GAGCGGCCTAGCGGCGTGCCCGATAGG TTTAGCGGCTCTAAGTCAGGCACTAGC GCTAGTCTGGCTATCACCGGCCTGCAG GCTGAGGACGAGGCCGACTACTACTGT CAGTCCTGGGACTCTAGTCAGACCCTG GTGGTGTTCGGCGGAGGCACTAAGCTG ACCGTGCTG	66

【０１９９】

【表１７】

	軽鎖	QSVLTQPPSVSGAPGQRVTISCTGSSSNI GAGYSVHWYQQLPGTAPKLLIYGQSERP SGVPDRFSGSKSGTSASLAITGLQAEDEA DYYCQSWDSSQTLVVFGGGTKLTVLGQ PKAAPSVTLFPPSSEELQANKATLVCLIS DFYPGAVTVAWKADSSPVKAGVETTTP SKQSNNKYAASSYLSLTPEQWKSHRSYS CQVTHEGSTVEKTVAPTECS	67
	DNA 軽鎖	CAGTCAGTCCTGACTCAGCCCCCTAGC GTCAGCGGCGCTCCCGGTCAGAGAGTG ACTATTAGCTGCACCGGCTCTAGCTCT AATATCGGCGCTGGCTATAGCGTGCAC TGGTATCAGCAGCTGCCCGGCACCGCC CCTAAGCTGCTGATCTACGGTCAGTCA GAGCGGCCTAGCGGCGTGCCCGATAGG TTTAGCGGCTCTAAGTCAGGCACTAGC GCTAGTCTGGCTATCACCGGCCTGCAG GCTGAGGACGAGGCCGACTACTACTGT CAGTCCTGGGACTCTAGTCAGACCCTG GTGGTGTTCGGCGGAGGCACTAAGCTG ACCGTGCTGGGTCAGCCTAAGGCTGCC CCCAGCGTGACCCTGTTCCCCCCCAGC AGCGAGGAGCTGCAGGCCAACAAGGC CACCCTGGTGTGCCTGATCAGCGACTT CTACCCAGGCGCCGTGACCGTGGCCTG GAAGGCCGACAGCAGCCCCGTGAAGG CCGGCGTGGAGACCACCACCCCCAGCA AGCAGAGCAACAACAAGTACGCCGCC AGCAGCTACCTGAGCCTGACCCCCGAG CAGTGGAAGAGCCACAGGTCCTACAGC TGCCAGGTGACCCACGAGGGCAGCACC GTGGAAAAGACCGTGGCCCCAACCGA GTGCAGC	68

【０２００】

【表１８】

抗体 7			
Kabat	HCDR1	SYVVH	69
Kabat	HCDR2	RIRLETHGYAAEYAASVKG	70
Kabat	HCDR3	VERSKSGFDN	71
Chothia	HCDR1	GFTFSSY	72
Chothia	HCDR2	RLETHGYA	73
Chothia	HCDR3	VERSKSGFDN	74
	VH	QVQLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFT FSSYVVHWVRQAPGKGLEWVGRIRLET HGYAAEYAASVKGRFTISRDDSKNTLYL QMNSLKTEDTAVYYCARVERSKSGFDN WGQGTLVTVSS	75
	DNA VH	CAGGTGCAGCTGGTGGAATCAGGCGGC GGACTGGTCAAGCCTGGCGGTAGCCTG AGACTGAGCTGCGCTGCTAGTGGCTTC ACCTTCTCTAGCTACGTGGTGCACTGG GTCAGACAGGCCCCTGGTAAAGGCCTG GAGTGGGTCGGACGGATTAGACTGGA AACTCACGGCTACGCCGCCGAGTACGC CGCTAGTGTGAAGGGCCGGTTCACTAT CTCTAGGGACGACTCTAAGAACACCCT GTACCTGCAGATGAATAGCCTGAAAAC CGAGGACACCGCCGTCTACTACTGCGC TAGAGTGGAACGGTCTAAGTCAGGCTT CGATAACTGGGGTCAGGGCACCCTGGT CACCGTGTCTAGC	76
	重鎖	QVQLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFT FSSYVVHWVRQAPGKGLEWVGRIRLET HGYAAEYAASVKGRFTISRDDSKNTLYL QMNSLKTEDTAVYYCARVERSKSGFDN WGQGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKST SGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGA LTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSS SLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVEPKS CDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPK DTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFN WYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVV SVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPA PIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMT KNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQP ENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKS RWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLS LSPGK	77

【０２０１】

【表１９】

	DNA 重鎖	CAGGTGCAGCTGGTGGAATCAGGCGGC GGACTGGTCAAGCCTGGCGGTAGCCTG AGACTGAGCTGCGCTGCTAGTGGCTTC ACCTTCTCTAGCTACGTGGTGCACTGG GTCAGACAGGCCCCTGGTAAAGGCCTG GAGTGGGTCGGACGGATTAGACTGGA AACTCACGGCTACGCCGCCGAGTACGC CGCTAGTGTGAAGGGCCGGTTCACTAT CTCTAGGGACGACTCTAAGAACACCCT GTACCTGCAGATGAATAGCCTGAAAAC CGAGGACACCGCCGTCTACTACTGCGC TAGAGTGGAACGGTCTAAGTCAGGCTT CGATAACTGGGGTCAGGGCACCCTGGT CACCGTGTCTAGCGCTAGCACTAAGGG CCCAAGTGTGTTTCCCCTGGCCCCCAG CAGCAAGTCTACTTCCGGCGGAACTGC TGCCCTGGGTTGCCTGGTGAAGGACTA CTTCCCCGAGCCCGTGACAGTGTCCTG GAACTCTGGGGCTCTGACTTCCGGCGT GCACACCTTCCCCGCCGTGCTGCAGAG CAGCGGCCTGTACAGCCTGAGCAGCGT GGTGACAGTGCCCTCCAGCTCTCTGGG AACCCAGACCTATATCTGCAACGTGAA CCACAAGCCCAGCAACACCAAGGTGG	78

【０２０２】

【表２０】

		ACAAGAGAGTGGAGCCCAAGAGCTGC GACAAGACCCACACCTGCCCCCCCTGC CCAGCTCCAGAACTGCTGGGAGGGCCT TCCGTGTTCCTGTTCCCCCCCAAGCCCA AGGACACCCTGATGATCAGCAGGACCC CCGAGGTGACCTGCGTGGTGGTGGACG TGTCCCACGAGGACCCAGAGGTGAAGT TCAACTGGTACGTGGACGGCGTGGAGG TGCACAACGCCAAGACCAAGCCCAGA GAGGAGCAGTACAACAGCACCTACAG GGTGGTGTCCGTGCTGACCGTGCTGCA CCAGGACTGGCTGAACGGCAAAGAAT ACAAGTGCAAAGTCTCCAACAAGGCCC TGCCAGCCCCAATCGAAAAGACAATCA GCAAGGCCAAGGGCCAGCCACGGGAG CCCCAGGTGTACACCCTGCCCCCCAGC CGGGAGGAGATGACCAAGAACCAGGT GTCCCTGACCTGTCTGGTGAAGGGCTT CTACCCCAGCGATATCGCCGTGGAGTG GGAGAGCAACGGCCAGCCCGAGAACA ACTACAAGACCACCCCCCCAGTGCTGG ACAGCGACGGCAGCTTCTTCCTGTACA GCAAGCTGACCGTGGACAAGTCCAGGT GGCAGCAGGGCAACGTGTTCAGCTGCA GCGTGATGCACGAGGCCCTGCACAACC ACTACACCCAGAAGTCCCTGAGCCTGA GCCCCGGCAAG	
Kabat	LCDR1	TGSSSNIGAGYSVH	79
Kabat	LCDR2	GQSERPS	80
Kabat	LCDR3	QSWDSSQTLVV	81
Chothia	LCDR1	SSSNIGAGYS	82
Chothia	LCDR2	GQS	83
Chothia	LCDR3	WDSSQTLV	84

【０２０３】

【表２１】

	VL	QSVLTQPPSVSGAPGQRVTISCTGSSSNI GAGYSVHWYQQLPGTAPKLLIYGQSERP SGVPDRFSGSKSGTSASLAITGLQAEDEA DYYCQSWDSSQTLVVFGGGTKLTVL	85
	DNA VL	CAGTCAGTCCTGACTCAGCCCCCTAGC GTCAGCGGCGCTCCCGGTCAGAGAGTG ACTATTAGCTGCACCGGCTCTAGCTCT AATATCGGCGCTGGCTATAGCGTGCAC TGGTATCAGCAGCTGCCCGGCACCGCC CCTAAGCTGCTGATCTACGGTCAGTCA GAGCGGCCTAGCGGCGTGCCCGATAGG TTTAGCGGCTCTAAGTCAGGCACTAGC GCTAGTCTGGCTATCACCGGCCTGCAG GCTGAGGACGAGGCCGACTACTACTGT CAGTCCTGGGACTCTAGTCAGACCCTG GTGGTGTTCGGCGGAGGCACTAAGCTG ACCGTGCTG	86
	軽鎖	QSVLTQPPSVSGAPGQRVTISCTGSSSNI GAGYSVHWYQQLPGTAPKLLIYGQSERP SGVPDRFSGSKSGTSASLAITGLQAEDEA DYYCQSWDSSQTLVVFGGGTKLTVLGQ PKAAPSVTLFPPSSEELQANKATLVCLIS DFYPGAVTVAWKADSSPVKAGVETTTP SKQSNNKYAASSYLSLTPEQWKSHRSYS CQVTHEGSTVEKTVAPTECS	87

【０２０４】

【表２２】

	DNA 軽鎖	CAGTCAGTCCTGACTCAGCCCCCTAGC GTCAGCGGCGCTCCCGGTCAGAGAGTG ACTATTAGCTGCACCGGCTCTAGCTCT AATATCGGCGCTGGCTATAGCGTGCAC TGGTATCAGCAGCTGCCCGGCACCGCC CCTAAGCTGCTGATCTACGGTCAGTCA GAGCGGCCTAGCGGCGTGCCCGATAGG TTTAGCGGCTCTAAGTCAGGCACTAGC GCTAGTCTGGCTATCACCGGCCTGCAG GCTGAGGACGAGGCCGACTACTACTGT CAGTCCTGGGACTCTAGTCAGACCCTG GTGGTGTTCGGCGGAGGCACTAAGCTG ACCGTGCTGGGTCAGCCTAAGGCTGCC CCCAGCGTGACCCTGTTCCCCCCCAGC AGCGAGGAGCTGCAGGCCAACAAGGC CACCCTGGTGTGCCTGATCAGCGACTT CTACCCAGGCGCCGTGACCGTGGCCTG GAAGGCCGACAGCAGCCCCGTGAAGG CCGGCGTGGAGACCACCACCCCCAGCA AGCAGAGCAACAACAAGTACGCCGCC AGCAGCTACCTGAGCCTGACCCCCGAG CAGTGGAAGAGCCACAGGTCCTACAGC TGCCAGGTGACCCACGAGGGCAGCACC GTGGAAAAGACCGTGGCCCCAACCGA GTGCAGC	88

【０２０５】

本発明の他の抗体およびそれらの抗原結合性断片は、アミノ酸またはアミノ酸をコードする核酸を突然変異させているが、表１および／または表１４に記載される配列と少なくとも６０、７０、８０、９０または９５パーセントの同一性を有する抗体およびそれらの抗原結合性断片を含む。一実施形態では、本発明の他の抗体およびそれらの抗原結合性断片は、実質的に同じ治療的活性を保持しながら、可変領域内の１、２、３、４または５以下のアミノ酸を、表１および／または表１４に記載される配列に描示される可変領域と比較して突然変異させた突然変異体のアミノ酸配列を含む。

【０２０６】

別の具体的な実施形態では、本発明は、ヒトＢＭＰ６に結合し、それぞれ配列番号９、１０および１１のＨＣＤＲ１配列、ＨＣＤＲ２配列およびＨＣＤＲ３配列、ならびにそれぞれ配列番号１９、２０および２１のＬＣＤＲ１配列、ＬＣＤＲ２配列およびＬＣＤＲ３配列を含む単離抗体またはその抗原結合性断片を提供する。

【０２０７】

別の具体的な実施形態では、本発明は、ヒトＢＭＰ６に結合し、それぞれ配列番号１２、１３および１４のＨＣＤＲ１配列、ＨＣＤＲ２配列およびＨＣＤＲ３配列、ならびにそれぞれ配列番号２２、２３および２４のＬＣＤＲ１配列、ＬＣＤＲ２配列およびＬＣＤＲ３配列を含む単離抗体またはその抗原結合性断片を提供する。

【０２０８】

別の具体的な実施形態では、本発明は、ヒトＢＭＰ６に結合し、それぞれ配列番号２９、３０および３１のＨＣＤＲ１配列、ＨＣＤＲ２配列およびＨＣＤＲ３配列、ならびにそれぞれ配列番号３９、４０および４１のＬＣＤＲ１配列、ＬＣＤＲ２配列およびＬＣＤＲ３配列を含む単離抗体またはその抗原結合性断片を提供する。

【０２０９】

別の具体的な実施形態では、本発明は、ヒトＢＭＰ６に結合し、それぞれ配列番号３２、３３および３４のＨＣＤＲ１配列、ＨＣＤＲ２配列およびＨＣＤＲ３配列、ならびにそれぞれ配列番号４２、４３および４４のＬＣＤＲ１配列、ＬＣＤＲ２配列およびＬＣＤＲ３配列を含む単離抗体またはその抗原結合性断片を提供する。

【０２１０】

別の具体的な実施形態では、本発明は、ヒトＢＭＰ６に結合し、それぞれ配列番号４９、５０および５１のＨＣＤＲ１配列、ＨＣＤＲ２配列およびＨＣＤＲ３配列、ならびにそれぞれ配列番号５９、６０および６１のＬＣＤＲ１配列、ＬＣＤＲ２配列およびＬＣＤＲ３配列を含む単離抗体またはその抗原結合性断片を提供する。

【０２１１】

別の具体的な実施形態では、本発明は、ヒトＢＭＰ６に結合し、それぞれ配列番号５２、５３および５４のＨＣＤＲ１配列、ＨＣＤＲ２配列およびＨＣＤＲ３配列、ならびにそ

れぞれ配列番号６２、６３および６４のＬＣＤＲ１配列、ＬＣＤＲ２配列およびＬＣＤＲ３配列を含む単離抗体またはその抗原結合性断片を提供する。

【０２１２】

別の具体的な実施形態では、本発明は、ヒトＢＭＰ６に結合し、それぞれ配列番号６９、７０および７１のＨＣＤＲ１配列、ＨＣＤＲ２配列およびＨＣＤＲ３配列、ならびにそれぞれ配列番号７９、８０および８１のＬＣＤＲ１配列、ＬＣＤＲ２配列およびＬＣＤＲ３配列を含む単離抗体またはその抗原結合性断片を提供する。

【０２１３】

別の具体的な実施形態では、本発明は、ヒトＢＭＰ６に結合し、それぞれ配列番号７２、７３および７４のＨＣＤＲ１配列、ＨＣＤＲ２配列およびＨＣＤＲ３配列、ならびにそれぞれ配列番号８２、８３および８４のＬＣＤＲ１配列、ＬＣＤＲ２配列およびＬＣＤＲ３配列を含む単離抗体またはその抗原結合性断片を提供する。

【０２１４】

これらの抗体の各々は、ＢＭＰ６に結合し得るため、ＶＨ配列、ＶＬ配列、全長軽鎖配列および全長重鎖配列（アミノ酸配列およびアミノ酸配列をコードするヌクレオチド配列）を「混合およびマッチさせ」て、本発明の他のＢＭＰ６結合性抗体およびそれらの抗原結合性断片を創出することができる。このような「混合およびマッチさせた」ＢＭＰ６結合性抗体は、当技術分野で公知の結合アッセイ（例えば、ＥＬＩＳＡおよび実施例節で記載される他のアッセイ）を使用して調べることができる。これらの鎖を混合およびマッチさせる場合、特定のＶＨ／ＶＬ対合に由来するＶＨ配列を、構造的に類似するＶＨ配列で置き換えるものとする。同様に、特定の全長重鎖／全長軽鎖対合に由来する全長重鎖配列を、構造的に類似する全長重鎖配列で置き換えるものとする。同様に、特定のＶＨ／ＶＬ対合に由来するＶＬ配列を、構造的に類似するＶＬ配列で置き換えるものとする。同様に、特定の全長重鎖／全長軽鎖対合に由来する全長軽鎖配列を、構造的に類似する全長軽鎖配列で置き換えるものとする。

【０２１５】

別の態様では、本発明は、表１および／または表１４に記載される重鎖ＣＤＲ１、重鎖ＣＤＲ２および重鎖ＣＤＲ３、ならびに軽鎖ＣＤＲ１、軽鎖ＣＤＲ２および軽鎖ＣＤＲ３またはこれらの組合せを含むＢＭＰ６結合性抗体を提供する。ＣＤＲ領域は、Ｋａｂａｔシステム（Ｋａｂａｔ ｅｔ ａｌ．１９９１ Ｓｅｑｕｅｎｃｅｓ ｏｆ Ｐｒｏｔｅｉｎｓ ｏｆ Ｉｍｍｕｎｏｌｏｇｉｃａｌ Ｉｎｔｅｒｅｓｔ，Ｆｉｆｔｈ Ｅｄｉｔｉｏｎ，Ｕ．Ｓ．Ｄｅｐａｒｔｍｅｎｔ ｏｆ Ｈｅａｌｔｈ ａｎｄ Ｈｕｍａｎ Ｓｅｒｖｉｃｅｓ，ＮＩＨ Ｐｕｂｌｉｃａｔｉｏｎ Ｎｏ．９１－３２４２）を使用して、またはＣｈｏｔｈｉａシステム［Ｃｈｏｔｈｉａ ｅｔ ａｌ．１９８７ Ｊ．Ｍｏｌ．Ｂｉｏｌ．１９６：９０１－９１７；およびＡｌ－Ｌａｚｉｋａｎｉ ｅｔ ａｌ．１９９７ Ｊ．Ｍｏｌ．Ｂｉｏｌ．２７３：９２７－９４８］を使用して画定される。

【０２１６】

これらの抗体の各々は、ＢＭＰ６に結合することが可能であり、抗原結合特異性は、主にＣＤＲ１領域、ＣＤＲ２領域およびＣＤＲ３領域によりもたらされることを踏まえると、各抗体は、本発明の他のＢＭＰ６結合性結合性分子を創出するのに、ＶＨ　ＣＤＲ１配列、ＶＨ　ＣＤＲ２配列およびＶＨ　ＣＤＲ３配列、ならびにＶＬ　ＣＤＲ１配列、ＶＬ　ＣＤＲ２配列およびＶＬ　ＣＤＲ３配列を「混合およびマッチさせる」ことができる（すなわち異なる抗体に由来するＣＤＲを混合およびマッチさせることができる。但し、ＶＨ　ＣＤＲ１、ＶＨ　ＣＤＲ２およびＶＨ　ＣＤＲ３、ならびにＶＬ　ＣＤＲ１、ＶＬ　ＣＤＲ２およびＶＬ　ＣＤＲ３を含有しなければならない）。このような「混合およびマッチさせた」ＢＭＰ６結合性抗体は、当技術分野で公知の結合アッセイおよび実施例で記載される結合アッセイ（例えば、ＥＬＩＳＡ）を使用して調べることができる。ＶＨ　ＣＤＲ配列を混合およびマッチさせる場合、特定のＶＨ配列に由来するＣＤＲ１配列、ＣＤＲ２配列および／またはＣＤＲ３配列を、構造的に類似するＣＤＲ配列で置き換えるものとする。同様に、ＶＬ　ＣＤＲ配列を混合およびマッチさせる場合、特定のＶＬ配列に由

来するＣＤＲ１配列、ＣＤＲ２配列および／またはＣＤＲ３配列を、構造的に類似するＣＤＲ配列で置き換えるものとする。新規のＶＨ配列およびＶＬ配列を、１つまたは複数のＶＨ　ＣＤＲ領域配列および／またはＶＬ　ＣＤＲ領域配列を、本発明のモノクローナル抗体のための、本明細書で示されるＣＤＲ配列に由来する構造的に類似する配列で突然変異させることにより創出し得ることが当業者に容易に明らかであろう。

【０２１７】

したがって、本発明は、配列番号２９、４９、６９、１２、３２、５２、７２または９のいずれかから選択されるアミノ酸配列を含む重鎖可変領域のＣＤＲ１；配列番号１０、３０、５０、７０、１３、３３、５３または７３のいずれかから選択されるアミノ酸配列を含む重鎖可変領域のＣＤＲ２；配列番号１１、３１、５１、７１、１４、３４、５４または７４のいずれかから選択されるアミノ酸配列を含む重鎖可変領域のＣＤＲ３；配列番号１９、３９、５９、７９、２２、４２、６２または８２のいずれかから選択されるアミノ酸配列を含む軽鎖可変領域のＣＤＲ１；配列番号２０、４０、６０、８０、２３、４３、６３または８３のいずれかから選択されるアミノ酸配列を含む軽鎖可変領域のＣＤＲ２；および配列番号２１、４１、６１、８１、２４、４４、６４または８４のいずれかから選択されるアミノ酸配列を含む軽鎖可変領域のＣＤＲ３を含み、抗体がＢＭＰ６に特異的に結合する、単離モノクローナル抗体またはその抗原結合領域を提供する。

【０２１８】

一実施形態では、ＢＭＰ６に特異的に結合する抗体は、表１および／または表１４に記載される抗体である。

【０２１９】

抗体の可変領域または全長鎖が、ヒト生殖細胞系列の免疫グロブリン遺伝子を使用する系から得られる場合、本明細書で使用されるヒト抗体は、特定の生殖細胞系列配列の「産物」であるかまたはそれに「由来する」重鎖もしくは軽鎖可変領域または全長重鎖もしくは軽鎖を含む。このような系は、ヒト免疫グロブリン遺伝子を保有するトランスジェニックマウスを目的の抗原で免疫化するか、または目的の抗原を伴うファージ上で提示されるヒト免疫グロブリン遺伝子ライブラリーをスクリーニングすることを含む。ヒト生殖細胞系列の免疫グロブリン配列の「産物」であるかまたはそれに「由来する」ヒト抗体は、ヒト抗体のアミノ酸配列をヒト生殖細胞系列免疫グロブリンのアミノ酸配列と比較し、配列がヒト抗体の配列と最も近似する（すなわち同一性％が最大である）ヒト生殖細胞系列の免疫グロブリン配列を選択することにより、それ自体として同定することができる。特定のヒト生殖細胞系列の免疫グロブリン配列の「産物」であるかまたはそれに「由来する」ヒト抗体は、例えば、自然発生の体細胞突然変異または部位特異的突然変異の意図的な導入に起因して、生殖細胞系列配列と比較したアミノ酸の差異を含有し得る。しかし、ＶＨフレームワーク領域またはＶＬフレームワーク領域では、選択されたヒト抗体は、典型的には、アミノ酸配列が、ヒト生殖細胞系列の免疫グロブリン遺伝子によりコードされるアミノ酸配列と少なくとも９０％の同一であり、ヒト抗体を、他の種の生殖細胞系列免疫グロブリンアミノ酸配列（例えば、マウス生殖細胞系列配列）と比較した場合、ヒトとして同定するアミノ酸残基を含有する。ある種の場合、ヒト抗体は、アミノ酸配列が、生殖細胞系列の免疫グロブリン遺伝子によりコードされるアミノ酸配列と少なくとも６０％、７０％、８０％、９０％もしくは少なくとも９５％、なおまたは少なくとも９６％、９７％、９８％もしくは９９％同一であり得る。組換えヒト抗体は、典型的には、ＶＨフレームワーク領域内またはＶＬフレームワーク領域内のヒト生殖細胞系列の免疫グロブリン遺伝子によりコードされるアミノ酸配列と１０アミノ酸以下の差異を提示する。ある種の場合、ヒト抗体は、生殖細胞系列の免疫グロブリン遺伝子によりコードされるアミノ酸配列と５アミノ酸以下なおまたは４、３、２もしくは１アミノ酸以下の差異を提示し得る。

【０２２０】

ＢＭＰファミリーメンバーおよびヘプシジン

一実施形態では、本発明は、ＢＭＰ６に特異的に結合し、抗体である抗体またはその結合性断片を提供する。一実施形態では、抗体またはその結合性断片は、表１および／また

は表１４に記載されている。
【０２２１】
一実施形態では、抗体またはその結合性断片は、ＢＭＰ６には特異的に結合するが、他のＢＭＰタンパク質（ＢＭＰ２、ＢＭＰ５またはＢＭＰ７など）に特異的に結合しない。
【０２２２】
ＢＭＰファミリー成長因子の分泌型リガンドであるＢＭＰ６は、その成熟活性形態において３０ｋＤａのジスルフィド連結されたホモ二量体である。ＢＭＰ６タンパク質は、ＴＧＦ－ベータスーパーファミリーのメンバーである。骨形成タンパク質は、骨および軟骨の成長を誘導するそれらの能力について公知である。ＢＭＰ６は、間葉系幹細胞内の全ての骨形成マーカーを誘導することが可能である。
【０２２３】
骨形成タンパク質（ＢＭＰ）は、異所性の骨成長を誘導し得る分泌型シグナル伝達分子のファミリーである。ＢＭＰは、形質転換成長因子－ベータ（ＴＧＦ－ベータ）スーパーファミリーの一部である。ＢＭＰは、元来、インビボにおいて、骨外部位の軟骨内骨形成を誘導する脱塩骨抽出物の能力により同定された。胚発生の初期におけるその発現に基づき、この遺伝子によりコードされるＢＭＰは、初期の発生における役割を提起している。加えて、このＢＭＰがＢＭＰ５およびＢＭＰ７と近縁であるという事実は、可能な骨誘導活性についての推論をもたらしている。Ｎａｔｕｒｅ Ｇｅｎｅｔｉｃｓ Ａｐｒｉｌ；４１ ［４］：３８６－８に記載されている通り、ＢＭＰ６のさらなる機能も同定されている。
【０２２４】
ＢＭＰ６をノックアウトしたマウスは、生存可能かつ妊娠可能であり、正常な骨発生および軟骨発生を示す。
【０２２５】
ＢＭＰ６は、哺乳動物における鉄代謝の主要な調節因子である肝臓により分泌される小型のペプチドであるヘプシジンの重要な調節因子である。ヘプシジンは、十二指腸において吸収される食物中の鉄の量および網内系細胞により放出される鉄の量の両方を制御する。ヘプシジンは、炎症および鉄過負荷を含む様々な刺激により上方調節され、貧血、低酸素症および鉄欠損により下方調節される。
【０２２６】
いかなる特定の理論にも束縛されないが、本開示は、ヘプシジン降下療法としてのＢＭＰ６アンタゴニスト抗体が、基礎疾患の罹患率を実質的に増加させ、転帰不良の予測因子となることが多い赤血球生成刺激剤（ＥＳＡ）に対する抵抗性を克服することにより、鉄欠乏性貧血を伴う患者に利益をもたらすと予測されることを示唆する。ＢＭＰＲ１受容体およびＢＭＰＲ２受容体とのその相互作用を介して、これは、受容体の二量体化およびヘプシジンの転写を誘導する。ＢＭＰ６は、肝臓内および筋肉細胞内のＨＪＶ共受容体にも結合する。
【０２２７】
したがって、ＢＭＰ６は、ヘプシジンの発現を増大させることが公知である。ヘプシジンは、鉄ホメオスタシスに関与する重要なホルモンであることが公知である。高ヘプシジンレベルは、ＡＣＤにおける鉄欠乏赤血球生成と関連する。
【０２２８】
国際公開第２０１０／０５６９８１号パンフレットは、マウスへのＢＭＰ６に対する抗体の投与により、ヘプシジンが低下し、鉄が増大することを開示した。
【０２２９】
ＢＭＰ６は、当技術分野、例えばＨａｈｎ ｅｔ ａｌ．１９９２ Ｇｅｎｏｍｉｃｓ １４：７５９－６２；Ｓａｕｅｒｍａｎｎ ｅｔ ａｌ．１９９３ Ｊ．Ｎｅｕｒｏｓｃｉ．Ｒｅｓ．３３：１４２；Ｃｅｌｅｓｔｅ ｅｔ ａｌ．１９９１ Ｐｒｏｃ．Ｎａｔｌ．Ａｃａｄ．Ｓｃｉ．ＵＳＡ ８７：９８４３；Ｓｃｈｌｕｅｓｅｎｅｒ ｅｔ ａｌ．１９９５ Ａｔｈｅｒｏｓｃｌｅｒｏｓｉｓ １１３：１５３；Ｇｉｔｅｌｍａｎ

ｅｔ ａｌ．１９９４ Ｊ．Ｃｅｌｌ Ｂｉｏｌ．１２６：１５９５；Ｂａｒｎｅｓ ｅｔ ａｌ．１９９７ Ｗ．Ｊ．Ｕｒｏｌ．１３：３３７；およびＨａｍｄｙ ｅｔ ａｌ．１９９７ Ｃａｎｃｅｒ Ｒｅｓ．５７：４４２７においてさらに記載されている。

【０２３０】

ＢＭＰ２は、他の骨形成タンパク質と同様に、骨および軟骨の発生において重要な役割を果たす。ＢＭＰ２は、ヘッジホッグ経路、ＴＧＦ－ベータシグナル伝達経路およびサイトカイン－サイトカイン受容体間の相互作用に関与する。ＢＭＰ２は、心筋細胞分化および上皮間葉転換にも関与する。ＢＭＰ２は、Ｋｉｓｈｉｍｏｔｏ ｅｔ ａｌ．１９９７ Ｄｅｖ．１２４：４４５７；Ｍａ ｅｔ ａｌ．２００５ Ｄｅｖ．１３２：５６０１；Ｗａｎｇ ｅｔ ａｌ．Ｂｏｎｅ ４８：５２４；およびＲｏｓｅｎ ２００９ Ｃｙｔ．Ｇｒｏｗｔｈ Ｆａｃｔ．Ｒｅｖ．２０：４７５により言及されている通り、多くの不可欠な役割を有する。したがって、ＢＭＰ６抗体は、ＢＭＰ２に結合しないことが好ましい。

【０２３１】

ＢＭＰ２について、とりわけＳａｍｐａｔｈ ｅｔ ａｌ．１９９０ Ｊ．Ｂｉｏｌ．Ｃｈｅｍ．２６５：１３１９８；Ｃｈｅｎ ｅｔ ａｌ．２００４ Ｇｒｏｗｔｈ Ｆａｃｔｏｒｓ ２２：２３３；Ｍａｒｉｅ ｅｔ ａｌ．２００２ Ｈｉｓｔｏｌ．Ｈｉｓｔｏｐａｔｈ．１７：８７７；Ｎｉｃｋｅｌ ｅｔ ａｌ．２００１ Ｊ．Ｂｏｎｅ Ｊｏｉｎｔ Ｓｕｒｇ．８３－Ａ Ｓｕｐｐ．１：Ｓ７－１４；Ｋｉｒｓｃｈ ｅｔ ａｌ．２０００ ＦＥＢＳ Ｌｅｔｔ．４６８：２１５；Ｋｉｒｓｃｈ ｅｔ ａｌ．２０００ ＥＭＢＯ Ｊ．１９：３３１４；Ｇｉｌｂｏａ ｅｔ ａｌ．２０００ Ｍｏｌ．Ｂｉｏｌ．Ｃｅｌｌ １１：１０２３においてさらに記載されている。

【０２３２】

ＢＭＰ５もＴＧＦ－ベータスーパーファミリーのメンバーである。他のＢＭＰと同様に、ＢＭＰ５も、骨および軟骨の発生を誘導するその能力について公知である。ＢＭＰ５は、小柱網および視神経頭において発現し、発生および正常な機能において役割を有し得る。ＢＭＰ５は、肺および肝臓でも発現する。

【０２３３】

ＢＭＰ５についてのさらなる情報は、当技術分野、例えばＨａｈｎ ｅｔ ａｌ．１９９２ Ｇｅｎｏｍｉｃｓ １４：７５９；Ｂｅｃｋ ｅｔ ａｌ．２００３ ＢＭＣ Ｎｅｕｒｏｓｃｉ．２：１２；Ｃｅｌｅｓｔｅ ｅｔ ａｌ．１９９１ Ｐｒｏｃ．Ｎａｔｌ．Ａｃａｄ．Ｓｃｉ．ＵＳＡ ８７：９８４３；およびＳａｋａｕｅ ｅｔ ａｌ．１９９６ Ｂｉｏｃｈｅｍ．Ｂｉｏｐｈｙｓ．Ｒｅｓ．Ｃｏｍｍ．２２１：７６８において公知である。

【０２３４】

ＢＭＰ７もＴＧＦ－ベータスーパーファミリーのメンバーである。タンパク質のＢＭＰファミリーの他のメンバーと同様に、ＢＭＰ７は、間葉系細胞の骨および軟骨への形質転換において重要な役割を果たす。ＢＭＰ７は、ＳＭＡＤ１およびＳＭＡＤ５のリン酸化を誘導し、これにより多数の骨形成遺伝子の転写を誘導する。

【０２３５】

上記で言及した通り、ＢＭＰ６をノックアウトしたマウスは、生存可能かつ妊娠可能であり、正常な骨発生および軟骨発生を示す。しかし、ＢＭＰ７をノックアウトされたマウスは、腎臓、眼および骨の欠損を伴い、生後に死亡する。一方の遺伝子の個別のノックアウトは、心臓発生を改変しないが、ＢＭＰ６およびＢＭＰ７の二重ノックアウトは、心臓における何らかの欠損および遅延を裏付け、胎仔は、心不全で死亡した。ＢＭＰ７は、線維症と関連する慢性心疾患の進行を阻止するのに重要である。したがって、抗ＢＭＰ６抗体のＢＭＰ７との交差反応性は、所望されない。

【０２３６】

ＢＭＰ７に関連するさらなる情報は、当技術分野、例えばＨａｈｎ ｅｔ ａｌ．１９９２ Ｇｅｎｏｍｉｃｓ １４：７５９；Ｃｈｅｎ ｅｔ ａｌ．２００４ Ｇｒｏｗｔ

ｈ Ｆａｃｔｏｒｓ ２２：２３３；Ｉｔｏｈ ｅｔ ａｌ．２００１ ＥＭＢＯ Ｊ．２０：４１３２；Ｚｅｉｓｂｅｒｇ ｅｔ ａｌ．２００３ Ａｍ．Ｊ．Ｐｈｙｓｉｏｌ．Ｒｅｎａｌ Ｐｈｙｓｉｏｌ．２８５：Ｆ１０６０；Ｋａｌｌｕｉ ｅｔ ａｌ．２００９ Ｊ．Ｃｌｉｎ．Ｉｎｖｅｓｔ．１１９：１４２０；およびＷａｎｇ ｅｔ ａｌ．２００１ Ｊ．Ａｍ．Ｓｏｃ．Ｎｅｐｈ．１２：２３９２において提示されている。

【０２３７】

ヘプシジンは、ＨＡＭＰ（ヘプシジン抗微生物タンパク質またはペプチド）としても公知のペプチドホルモンである。

【０２３８】

マウス進化における最近の遺伝子複製イベントが、マウスにおける２つの類似するヘプシジン遺伝子であるヘプシジン１およびヘプシジン２の存在をもたらした。Ｉｌｙｉｎ ｅｔ ａｌ．２００３ ＦＥＢＳ Ｌｅｔｔ．５４２：２２－２６。マウスヘプシジン２は、哺乳動物ヘプシジンにおいて見出されるいくつかの保存的残基を欠く。Ｌｏｕ ｅｔ ａｌ．２００４ Ｂｌｏｏｄ １０３：２８１６－２８２１。

【０２３９】

ヘプシジン遺伝子生成物は、鉄ホメオスタシスの維持に関与し、マクロファージ内の鉄保存の調節および腸による鉄吸収に必要である。これらのペプチドは、抗微生物活性を呈する。

【０２４０】

プレプロタンパク質（またはプレプロホルモンもしくはプレプロヘプシジン）（８４アミノ酸）およびプロタンパク質（またはプロホルモンもしくはプロヘプシジン）（６０アミノ酸）は、２０、２２および２５アミノ酸の成熟ペプチドにプロセシングされる。２５アミノ酸のペプチドは、肝臓により主に分泌され、鉄代謝の「マスター調節因子」と考えられる。２０アミノ酸の代謝物および２２アミノ酸の代謝物は、尿中に存在する。ヘプシジンのＮ末端領域は、機能のために要求され、Ｎ末端の５つのアミノ酸の欠失は、機能の喪失を結果としてもたらす。

【０２４１】

活性のヘプシジンペプチドは、それらのベータシート構造を安定化させる分子内結合を形成するシステインに富む。

【０２４２】

ヘプシジンは、主に肝臓内で合成されるが、少量は、他の組織内でも合成されることが見出されている。Ｂｅｋｒｉ ｅｔ ａｌ．２００６ Ｇａｓｔｒｏｅｎｔ．１３１：７８８－９６。

【０２４３】

２５アミノ酸のヘプシジンペプチドは、肝臓により主に分泌され、鉄代謝の「マスター調節因子」と考えられる。ヘプシジンは、消化管の腸細胞の基底外側表面上および網内系細胞（マクロファージ）の細胞膜上に位置する、鉄移出チャネルであるフェロポルチンへの結合により鉄輸送を阻害する。フェロポルチンを阻害することにより、ヘプシジンは、腸の腸細胞が鉄を肝臓内門脈系へ分泌することを防止し、これにより鉄吸収を機能的に低減する。フェロポルチン阻害は、マクロファージからの鉄放出も防止し、したがって、ヘプシジンは、鉄ホメオスタシスを維持する。ヘプシジン活性は、部分的に、炎症性腸疾患、慢性心不全、癌腫、関節リウマチおよび腎不全などの慢性炎症性貧血において見られる鉄隔離の一因ともなる。

【０２４４】

ヘプシジン遺伝子内の突然変異は、心筋症、肝硬変および内分泌不全を結果としてもたらす重度の鉄過負荷により引き起こされる疾患である、若年性ヘモクロマトーシスとしても公知の２Ｂ型ヘモクロマトーシスを引き起こす。若年性ヘモクロマトーシス症例の大部分は、ヘプシジン産生の調節因子であるヘモジュベリン内の突然変異に起因する。

【０２４５】

ヘプシジンを過剰発現させるように操作された遺伝子改変マウスは、重度の鉄欠損によ

り生後直ちに死亡することから、鉄調節における中心的かつ非冗長的役割が示唆される。ヘプシジンを炎症性貧血に関連付けた最初の証拠は、研究者らが、鉄補充物質に対して応答しない、重度の小球性貧血を伴う肝臓腫瘍を伴う２例の患者に由来する組織を検討したときに得られた。腫瘍組織がヘプシジンを過剰産生し、手術により腫瘍を除去したところ貧血が治癒した。

【０２４６】

鉄を十分に吸収できないことが鉄欠損および鉄欠損性貧血に寄与する疾患は多い。ヘプシジンが腸内吸収を遮断する場合、経口処置は、無効となる可能性が高いため、処置は、ヘプシジンレベルに依存する。

【０２４７】

一実施形態では、ＢＭＰ６に対する抗体またはその結合性断片の投与は、ヘプシジンの活性および／またはレベルを低減するため、貧血のための処置において有用である。一実施形態では、本発明は、ヘプシジンの活性またはレベルの低減を、それを必要とする患者において行う方法であって、ＢＭＰ６に対する抗体またはその抗原結合性断片を患者に投与するステップを含む方法に関する。一実施形態では、ヘプシジンの活性またはレベルを少なくとも５０％低減する。

【０２４８】

ＢＭＰ６抗体など、ヘプシジンに対する阻害剤を使用してヘプシジン関連疾患を処置することができる。ヘプシジン関連疾患は、ヘプシジンならびに／または野生型ヘプシジンおよび／もしくは突然変異体ヘプシジンの突然変異および／もしくは過剰発現と関連する任意の疾患、ならびに／あるいはヘプシジンならびに／または野生型ヘプシジンおよび／もしくは突然変異体ヘプシジンの突然変異および／もしくは過剰発現の存在、ならびに／あるいは尿を介するヘプシジンの腎からの消失の低減により疾患の進行が増強されるか、または予後診断が増悪する疾患を含む。ヘプシジン関連疾患の非限定的な例は、貧血、鉄欠損赤血球生成、低鉄血症、食物中の鉄の取込み機能障害、鉄隔離、炎症性貧血（ＡＩ）、アテローム性動脈硬化、糖尿病ならびにアルツハイマー病、パーキンソン病およびフリードライヒ運動失調症などの多発性神経変性障害、心不全、慢性腎疾患、心腎貧血症候群、感染、失血、溶血、ビタミンＢ１２欠損または葉酸塩欠損、副甲状腺機能亢進症、異常ヘモグロビン症および悪性腫瘍、がん、ＡＩＤＳ、手術、発育不全ならびに／または脱毛を含む。一実施形態では、対象は、透析患者である。一実施形態では、ヘプシジン関連疾患は、貧血であり、対象は、透析患者である。慢性血液透析集団内の鉄剤不応性貧血およびＥＳＡ不応性貧血の有病率が高い。

【０２４９】

貧血は、とりわけ慢性疾患性貧血（ＡＣＤ）、慢性腎疾患（ＣＫＤ）性貧血、がん性貧血、赤血球生成刺激剤（ＥＳＡ）抵抗性貧血および／または鉄欠乏性貧血を含む。

【０２５０】

ＣＫＤ性貧血は、慢性腎疾患の一般的な初期の合併症である。がん性貧血は、血液悪性腫瘍および一部の充実性腫瘍により引き起こされる。本明細書で規定される通り、この用語は、化学療法剤により引き起こされる貧血である化学療法誘導性貧血も含む。慢性腎疾患における貧血は、糖尿病性神経障害、心血管疾患、網膜症および他の問題を増悪させ得る。がん関連貧血は、死の危険性の増大と関連する。

【０２５１】

がん、腎疾患および自己免疫障害などの一部の慢性疾患は、貧血をもたらし得る。過剰反応性の炎症性サイトカインは、鉄ホメオスタシスの調節異常、赤血球生成の低減および赤血球の寿命の短縮を引き起こし得る。貧血のための一部の処置は、ＥＳＡ、エリスロポエチン、鉄（食物中の補充物質としての）の投与または輸血を含む。

【０２５２】

ヘプシジンは、鉄ホメオスタシスに関与する重要なホルモンである。高レベルのヘプシジンは、ＡＣＤにおける鉄欠乏赤血球生成と関連している。ＢＭＰ６は、ヘプシジンの発現を増大させることが公知である。

【０２５３】
ＢＭＰ６に対する多様な種類の抗体およびそれらの抗原結合性断片について下記で記載する。
【０２５４】
相同抗体
さらに別の実施形態では、本発明は、表１および／または表１４に記載される配列と相同なアミノ酸配列を含む抗体またはその抗原結合性断片を提供し、前記抗体は、ＢＭＰ６に結合し、表１および／または表１４に記載される抗体の所望の機能的な特性を保持する。
【０２５５】
例えば、本発明は、重鎖可変領域および軽鎖可変領域を含み、重鎖可変領域が、配列番号１６、３６、５６または７６からなる群から選択されるアミノ酸配列と少なくとも８０％、少なくとも９０％または少なくとも９５％同一のアミノ酸配列を含み；軽鎖可変領域が、配列番号２６、４６、６６または８６からなる群から選択されるアミノ酸配列と少なくとも８０％、少なくとも９０％または少なくとも９５％同一のアミノ酸配列を含み；抗体がＢＭＰ６タンパク質に特異的に結合し、抗体が、当技術分野で公知の溶血アッセイにおいて赤血球溶解を阻害し得る、単離モノクローナル抗体（またはその機能的な抗原結合性断片）を提供する。具体例では、このような抗体は、１００ｐＭのヒトＢＭＰ６で再構成されたヒトＢＭＰ６枯渇血清を使用する場合、溶血アッセイにおいて２０～２００ｐＭのIC_{50}値を有する。
【０２５６】
一実施形態では、ＶＨアミノ酸配列および／またはＶＬアミノ酸配列は、表１および／または表１４に示される配列と５０％、６０％、７０％、８０％、９０％、９５％、９６％、９７％、９８％または９９％同一であり得る。一実施形態では、ＶＨアミノ酸配列および／またはＶＬアミノ酸配列は、１、２、３、４または５カ所以下のアミノ酸位置におけるアミノ酸置換を除き同一であり得る。表１および／または表１４に記載されている抗体のＶＨ領域およびＶＬ領域と大きい（すなわち８０％以上の）同一性を有するＶＨ領域およびＶＬ領域を有する抗体は、配列番号１６、３６、５６または７６および配列番号２６、４６、６６または８６のそれぞれをコードする核酸分子の突然変異誘発（例えば、部位特異的突然変異誘発またはＰＣＲ媒介突然変異誘発）後、本明細書に記載される機能アッセイを使用して、コードされる改変抗体を機能の保持について調べることにより得ることができる。
【０２５７】
一実施形態では、全長重鎖アミノ酸配列および／または全長軽鎖アミノ酸配列は、表１および／または表１４に示される配列と５０％、６０％、７０％、８０％、９０％、９５％、９６％、９７％、９８％または９９％同一であり得る。配列番号１８、３８、５８または７８のいずれかの全長重鎖および配列番号２８、４８、６８または８８のいずれかの全長軽鎖と大きい（すなわち８０％以上の）同一性を有する全長重鎖および全長軽鎖を有する抗体は、このようなポリペプチドをコードする核酸分子の突然変異誘発（例えば、部位特異的突然変異誘発またはＰＣＲ媒介突然変異誘発）後、本明細書に記載される機能アッセイを使用して、コードされる改変抗体を機能の保持について調べることにより得ることができる。
【０２５８】
一実施形態では、全長重鎖ヌクレオチド配列および／または全長軽鎖ヌクレオチド配列は、表１および／または表１４に示される配列と６０％、７０％、８０％、９０％、９５％、９６％、９７％、９８％または９９％同一であり得る。
【０２５９】
一実施形態では、重鎖ヌクレオチド配列および／または軽鎖ヌクレオチド配列の可変領域は、表１および／または表１４に示される配列と６０％、７０％、８０％、９０％、９５％、９６％、９７％、９８％または９９％同一であり得る。

【０２６０】
本明細書で使用される２つの配列間の同一性パーセントは、２つの配列の最適なアライメントのために導入される必要があるギャップの数および各ギャップの長さを考慮する配列により共有される同一の位置の数の関数（すなわち同一性％＝同一の位置の数／位置の総数×１００）である。２つの配列間の配列の比較および同一性パーセントの決定は、下記の非限定的な例で記載されている数学的アルゴリズムを使用して達成することができる。
【０２６１】
さらにまたは代わりに、本発明のタンパク質配列は、公表されたデータベースに照らして検索を実施する、例えば関連の配列を同定するための「クエリー配列」としてさらに使用することもできる。例えば、このような検索は、Ａｌｔｓｃｈｕｌ ｅｔ ａｌ．，１９９０ Ｊ．Ｍｏｌ．Ｂｉｏｌ．２１５：４０３－１０によるＢＬＡＳＴプログラム（バージョン２．０）を使用して実施することができる。
【０２６２】
保存的修飾を伴う抗体
一実施形態では、本発明の抗体は、ＣＤＲ１配列、ＣＤＲ２配列およびＣＤＲ３配列を含む重鎖可変領域と、ＣＤＲ１配列、ＣＤＲ２配列およびＣＤＲ３配列を含む軽鎖可変領域とを有し、これらのＣＤＲ配列の１つまたは複数は、本明細書に記載される抗体またはその保存的修飾に基づいて指定されたアミノ酸配列を有し、抗体は、本発明のＢＭＰ６結合性抗体およびそれらの抗原結合性断片の所望の機能的特性を保持する。したがって、本発明は、ＣＤＲ１配列、ＣＤＲ２配列およびＣＤＲ３配列を含む重鎖可変領域と、ＣＤＲ１配列、ＣＤＲ２配列およびＣＤＲ３配列を含む軽鎖可変領域とからなり、配列番号２９、４９、６９、１２、３２、５２、７２もしくは９またはその保存的変異体のいずれかから選択されるアミノ酸配列を含む重鎖可変領域のＣＤＲ１；配列番号１０、３０、５０、７０、１３、３３、５３もしくは７３またはその保存的変異体のいずれかから選択されるアミノ酸配列を含む重鎖可変領域のＣＤＲ２；配列番号１１、３１、５１、７１、１４、３４、５４もしくは７４またはその保存的変異体のいずれかから選択されるアミノ酸配列を含む重鎖可変領域のＣＤＲ３；配列番号１９、３９、５９、７９、２２、４２、６２もしくは８２またはその保存的変異体のいずれかから選択されるアミノ酸配列を含む軽鎖可変領域のＣＤＲ１；配列番号２０、４０、６０、８０、２３、４３、６３もしくは８３またはその保存的変異体のいずれかから選択されるアミノ酸配列を含む軽鎖可変領域のＣＤＲ２；および配列番号２１、４１、６１、８１、２４、４４、６４もしくは８４またはその保存的変異体のいずれかから選択されるアミノ酸配列を含む軽鎖可変領域のＣＤＲ３；抗体またはその抗原結合性断片がＢＭＰ６タンパク質に特異的に結合し、溶血アッセイにおいて赤血球溶解を阻害する、単離モノクローナル抗体またはその機能的な抗原結合性断片を提供する。
【０２６３】
一実施形態では、哺乳動物細胞内の発現のために最適化された本発明の抗体は、全長重鎖配列および全長軽鎖配列を有し、これらの配列の１つまたは複数は、本明細書に記載される抗体またはその保存的修飾に基づいて指定されたアミノ酸配列を有し、抗体は、本発明のＢＭＰ６結合性抗体およびそれらの抗原結合性断片の所望の機能的特性を保持する。したがって、本発明は、哺乳動物細胞内の発現のために最適化された単離モノクローナル抗体であって、全長重鎖および全長軽鎖からなり、全長重鎖が、配列番号１８、３８、５８または７８の群から選択されたアミノ酸配列およびこれらの保存的修飾を有し；全長軽鎖が、配列番号２８、４８、６８または８８の群から選択されたアミノ酸配列およびこれらの保存的修飾を有し；抗体がＢＭＰ６タンパク質に特異的に結合し、抗体が、本明細書に記載される溶血アッセイにおいて赤血球溶解を阻害する、単離モノクローナル抗体を提供する。具体的な実施形態では、このような抗体は、１００ｐＭのヒトＢＭＰ６で再構成されたヒトＢＭＰ６枯渇血清を使用する場合、溶血アッセイにおいて２０～２００ｐＭのＩＣ$_{50}$値を有する。

【０２６４】
同じエピトープに結合する抗体
本発明は、表１および／または表１４に列挙されているＢＭＰ６結合性抗体と同じエピトープに結合する抗体を提供する。抗体７が結合するエピトープを図５に示す。したがって、ＢＭＰ６結合アッセイにおいて、本発明の他の抗体およびそれらの抗原結合性断片と交差競合する（例えば、本発明の他の抗体およびそれらの抗原結合性断片の結合を統計学的に有意に競合的に阻害する）それらの能力に基づき、さらなる抗体を同定することができる。本発明の抗体およびそれらの抗原結合性断片のＢＭＰ６タンパク質への結合を阻害する被験抗体の能力により、被験抗体は、その抗体とＢＭＰ６への結合について競合することが可能であり、このような抗体は、非限定的な理論によれば、ＢＭＰ６上のそれが競合する抗体と同じであるかまたは関連の（例えば、構造的に類似するかまたは空間的に近接した）エピトープに結合し得ることが裏付けられる。ある種の実施形態では、本発明の抗体およびそれらの抗原結合性断片と同じＢＭＰ６上のエピトープに結合する抗体は、ヒトモノクローナル抗体である。このようなヒトモノクローナル抗体は、本明細書に記載される通りに調製および単離することができる。
【０２６５】
抗原上の所望のエピトープを決定したら、例えば本発明で記載される技法を使用して、そのエピトープに対する抗体を作り出すことが可能である。代わりに、発見過程において、抗体の作出および特徴付けにより、所望のエピトープについての情報を解明することもできる。次いで、この情報から抗体を同じエピトープへの結合について競合的にスクリーニングすることが可能である。これを達成する手法は、互いに競合的に結合する抗体、例えば抗原への結合について競合する抗体を見出す交差競合研究を行うことである。それらの交差競合に基づき、抗体を「ビニング」するハイスループット過程について、国際公開第２００３／０４８７３１号パンフレットにおいて記載されている。当業者により察知される通り、抗体が特異的に結合し得る事実上いかなるものも、エピトープであり得るであろう。エピトープは、抗体が結合する残基を含み得る。
【０２６６】
一般に、特定の標的抗原に特異的な抗体は、タンパク質および／または高分子の複合混合物における標的抗原上のエピトープを優先的に認識するであろう。
【０２６７】
エピトープを含む所与のポリペプチドの領域は、当技術分野で周知の任意の数のエピトープマッピング法を使用して同定することができる。例えば、Ｅｐｉｔｏｐｅ Ｍａｐｐｉｎｇ Ｐｒｏｔｏｃｏｌｓ ｉｎ Ｍｅｔｈｏｄｓ ｉｎ Ｍｏｌｅｃｕｌａｒ Ｂｉｏｌｏｇｙ，Ｖｏｌ．６６（Ｇｌｅｎｎ Ｅ．Ｍｏｒｒｉｓ，Ｅｄ．，１９９６）Ｈｕｍａｎａ Ｐｒｅｓｓ，Ｔｏｔｏｗａ，Ｎｅｗ Ｊｅｒｓｅｙを参照されたい。例えば、直鎖状エピトープは、例えば、固体支持体上において、タンパク質分子の部分に対応する多数のペプチドを共時的に合成し、ペプチドをなおも支持体へ接合させながら、ペプチドを抗体と反応させることにより決定することができる。当技術分野では、このような技法が公知であり、例えば米国特許第４，７０８，８７１号明細書；Ｇｅｙｓｅｎ ｅｔ ａｌ．，（１９８４）Ｐｒｏｃ．Ｎａｔｌ．Ａｃａｄ．Ｓｃｉ．ＵＳＡ ８１：３９９８－４００２；Ｇｅｙｓｅｎ ｅｔ ａｌ．，（１９８５）Ｐｒｏｃ．Ｎａｔｌ．Ａｃａｄ．Ｓｃｉ．ＵＳＡ ８２：７８－１８２；Ｇｅｙｓｅｎ ｅｔ ａｌ．，（１９８６）Ｍｏｌ．Ｉｍｍｕｎｏｌ．２３：７０９－７１５において記載されている。同様に、コンフォメーショナルエピトープは、例えば、水素／重水素交換、ｘ腺結晶構造解析および二次元核磁気共鳴などにより、アミノ酸ＢＭＰ６の空間的コンフォメーションを決定することにより容易に同定される。例えば、Ｅｐｉｔｏｐｅ Ｍａｐｐｉｎｇ Ｐｒｏｔｏｃｏｌｓ、前出を参照されたい。タンパク質の抗原性領域は、例えば、Ｔｈｅ Ｏｘｆｏｒｄ Ｍｏｌｅｃｕｌａｒ Ｇｒｏｕｐから入手可能なＯｍｉｇａバージョン１．０ソフトウェアプログラムを使用して計算されるプロットなど、標準的な抗原性／疎水性プロットを使用して同定することもできる。このコンピュータプログラムは、抗原性プロファイルを決定する

ためのホップ／ウッズ法、Ｈｏｐｐ ｅｔ ａｌ．，（１９８１）Ｐｒｏｃ．Ｎａｔｌ．Ａｃａｄ．Ｓｃｉ ＵＳＡ ７８：３８２４－３８２８、および疎水性プロットのためのカイト－ドゥーリトル法、Ｋｙｔｅ－Ｄｏｏｌｉｔｔｌｅ ｔｅｃｈｎｉｑｕｅ，Ｋｙｔｅ ｅｔ ａｌ．，（１９８２）Ｊ．ＭｏＩ．Ｂｉｏｌ．１５７：１０５－１３２を利用する。

【０２６８】

操作抗体および修飾抗体

出発抗体から改変された特性を有し得る修飾抗体を操作する出発材料として、本明細書で示されるＶＨ配列および／またはＶＬ配列の１つまたは複数を有する抗体を使用して本発明の抗体をさらに調製することができる。抗体は、一方または両方の可変領域（すなわちＶＨおよび／またはＶＬ）内、例えば１つもしくは複数のＣＤＲ領域内および／または１つもしくは複数のフレームワーク領域内の１つまたは複数の残基を修飾することにより操作することができる。さらにまたは代わりに、抗体は、定常領域内の残基を修飾して、例えば抗体のエフェクター機能を改変することによっても操作することができる。

【０２６９】

実施し得る可変領域操作の１つの種類は、ＣＤＲグラフティングである。抗体は、主に６つの重鎖および軽鎖相補性決定領域（ＣＤＲ）内に位置するアミノ酸残基を介して標的抗原と相互作用する。この理由のため、ＣＤＲ内のアミノ酸配列は、個別の抗体間の多様性がＣＤＲの外部の配列より大きい。ＣＤＲ配列は、大半の抗体－抗原間相互作用の一因となるため、異なる特性を伴う異なる抗体に由来するフレームワーク配列へグラフトされた特異的自然発生抗体に由来するＣＤＲ配列を含む発現ベクターを構築することにより、特異的自然発生抗体の特性を模倣する組換え抗体を発現させることが可能である（例えば、Ｒｉｅｃｈｍａｎｎ，Ｌ．ｅｔ ａｌ．，１９９８ Ｎａｔｕｒｅ ３３２：３２３－３２７；Ｊｏｎｅｓ，Ｐ．ｅｔ ａｌ．，１９８６ Ｎａｔｕｒｅ ３２１：５２２－５２５；Ｑｕｅｅｎ，Ｃ．ｅｔ ａｌ．，１９８９ Ｐｒｏｃ．Ｎａｔｌ．Ａｃａｄ．Ｕ．Ｓ．Ａ．８６：１００２９－１００３３；Ｗｉｎｔｅｒによる米国特許第５，２２５，５３９号明細書、ならびにＱｕｅｅｎらによる米国特許第５，５３０，１０１号明細書；同第５，５８５，０８９号明細書；同第５，６９３，７６２号明細書；および同第６，１８０，３７０号明細書を参照されたい）。

【０２７０】

このようなフレームワーク配列は、ゲルミン抗体遺伝子配列を含む公表されたＤＮＡデータベースまたは公表された参考文献から得ることができる。例えば、ヒト重鎖および軽鎖可変領域遺伝子のゲルミンＤＮＡ配列は、ヒト生殖細胞系列の配列データベースである「ＶＢａｓｅ」（インターネットのｗｗｗ．ｍｒｃ－ｃｐｅ．ｃａｍ．ａｃ．ｕｋ／ｖｂａｓｅで入手可能である）、ならびにそれらの各々の内容が参照により本明細書に明示的に組込まれるＫａｂａｔ，Ｅ．Ａ．ｅｔ ａｌ．，１９９１ Ｓｅｑｕｅｎｃｅｓ ｏｆ Ｐｒｏｔｅｉｎｓ ｏｆ Ｉｍｍｕｎｏｌｏｇｉｃａｌ Ｉｎｔｅｒｅｓｔ，Ｆｉｆｔｈ Ｅｄｉｔｉｏｎ，Ｕ．Ｓ．Ｄｅｐａｒｔｍｅｎｔ ｏｆ Ｈｅａｌｔｈ ａｎｄ Ｈｕｍａｎ Ｓｅｒｖｉｃｅｓ，ＮＩＨ Ｐｕｂｌｉｃａｔｉｏｎ Ｎｏ．９１－３２４２；Ｔｏｍｌｉｎｓｏｎ，Ｉ．Ｍ．ｅｔ ａｌ．，１９９２ Ｊ．ｆｏｌ．Ｂｉｏｌ．２２７：７７６－７９８；およびＣｏｘ，Ｊ．Ｐ．Ｌ．ｅｔ ａｌ．，１９９４ Ｅｕｒ．Ｊ Ｉｍｍｕｎｏｌ．２４：８２７－８３６にも見出すことができる。

【０２７１】

本発明の抗体およびそれらの抗原結合性断片における使用のためのフレームワーク配列の例は、本発明の選択された抗体およびそれらの抗原結合性断片により使用されるフレームワーク配列、例えば本発明のモノクローナル抗体により使用されるコンセンサス配列および／またはフレームワーク配列と構造的に類似するフレームワーク配列である。ＶＨ ＣＤＲ１配列、ＶＨ ＣＤＲ２配列およびＶＨ ＣＤＲ３配列ならびにＶＬ ＣＤＲ１配列、ＶＬ ＣＤＲ２配列およびＶＬ ＣＤＲ３配列は、フレームワーク配列が由来する生殖細胞系列の免疫グロブリン遺伝子内で見出される配列と同一の配列を有するフレームワ

ーク領域へグラフトすることもでき、ＣＤＲ配列は、生殖細胞系列配列と比較して１つまたは複数の突然変異を含有するフレームワーク領域へグラフトすることもできる。例えば、ある種の場合、フレームワーク領域内の残基を突然変異させて、抗体の抗原結合能力を維持または増強することが有益であると見出されている（例えば、Ｑｕｅｅｎらによる米国特許第５，５３０，１０１号明細書；同第５，５８５，０８９号明細書；同第５，６９３，７６２号明細書；および同第６，１８０，３７０号明細書を参照されたい）。

【０２７２】

可変領域修飾の別の種類は、「アフィニティー成熟」として公知である、ＶＨ　ＣＤＲ１領域内、ＶＨ　ＣＤＲ２領域内および／もしくはＶＨ　ＣＤＲ３領域内ならびに／またはＶＬ　ＣＤＲ１領域内、ＶＬ　ＣＤＲ２領域内および／もしくはＶＬ　ＣＤＲ３領域内のアミノ酸残基を突然変異させて、これにより目的の抗体の１つまたは複数の結合特性（例えば、アフィニティー）を改善することである。部位特異的突然変異誘発またはＰＣＲ媒介突然変異誘発を実施して突然変異を導入することができ、本明細書に記載され、実施例でも提示されるインビトロアッセイまたはインビボアッセイにおいて抗体結合性または他の目的の機能的特性に対する効果を査定することができる。保存的修飾（上記で論じた）を導入することができる。突然変異は、アミノ酸の置換の場合もあり、付加の場合もあり、欠失の場合もある。さらに、ＣＤＲ領域内の典型的には１つ、２つ、３つ、４つまたは５つ以下の残基も改変する。

【０２７３】

抗原結合性ドメインの代替的なフレームワークまたは足場へのグラフティング

結果として得られるポリペプチドが、ＢＭＰ６に特異的に結合する少なくとも１つの結合性領域を含む限り、多様な抗体／免疫グロブリンのフレームワークまたは足場を利用することができる。このようなフレームワークまたは足場は、ヒト免疫グロブリン、それらの抗原結合性断片の５つの主要なイディオタイプを含み、好ましくはヒト化側面を有する他の動物種の免疫グロブリンを含む。この点で、ラクダ科動物において同定される単一重鎖抗体などの単一重鎖抗体は、特に興味深い。当業者により、新規のフレームワーク、足場および断片が発見および開発され続けている。

【０２７４】

一態様では、本発明は、本発明のＣＤＲをグラフトし得る非免疫グロブリン足場を使用して非免疫グロブリンベースの抗体を作り出す方法に関する。それらが標的のＢＭＰ６タンパク質に特異的な結合性領域を含む限り、公知または将来の非免疫グロブリンフレームワークおよび非免疫グロブリン足場を利用することができる。公知の非免疫グロブリンフレームワークまたは非免疫グロブリン足場は、フィブロネクチン（Ｃｏｍｐｏｕｎｄ　Ｔｈｅｒａｐｅｕｔｉｃｓ，Ｉｎｃ．、Ｗａｌｔｈａｍ、Ｍａｓｓ．）、アンキリン（Ｍｏｌｅｃｕｌａｒ　Ｐａｒｔｎｅｒｓ　ＡＧ、Ｚｕｒｉｃｈ、Ｓｗｉｔｚｅｒｌａｎｄ）、ドメイン抗体（Ｄｏｍａｎｔｉｓ，Ｌｔｄ．、Ｃａｍｂｒｉｄｇｅ、Ｍａｓｓ．；およびＡｂｌｙｎｘ　ｎｖ、Ｚｗｉｊｎａａｒｄｅ、Ｂｅｌｇｉｕｍ）、リポカリン（Ｐｉｅｒｉｓ　Ｐｒｏｔｅｏｌａｂ　ＡＧ、Ｆｒｅｉｓｉｎｇ、Ｇｅｒｍａｎｙ）、低分子モジュラー免疫医薬（Ｔｒｕｂｉｏｎ　Ｐｈａｒｍａｃｅｕｔｉｃａｌｓ　Ｉｎｃ．、Ｓｅａｔｔｌｅ、Ｗａｓｈ．）、マキシボディ（Ａｖｉｄｉａ，Ｉｎｃ．、Ｍｏｕｎｔａｉｎ　Ｖｉｅｗ、Ｃａｌｉｆ．）、プロテインＡ（Ａｆｆｉｂｏｄｙ　ＡＧ、Ｓｗｅｄｅｎ）およびアフィリン（ガンマークリスタリンまたはユビキチン）（ＳｃｉＩ　Ｐｒｏｔｅｉｎｓ　ＧｍｂＨ、Ｈａｌｌｅ、Ｇｅｒｍａｎｙ）を含むが、これらに限定されない。

【０２７５】

フィブロネクチン足場は、ＩＩＩ型フィブロネクチンドメイン（例えば、ＩＩＩ型フィブロネクチンの第１０モジュール（１０　Ｆｎ３ドメイン））に基づく。ＩＩＩ型フィブロネクチンドメインは、それら自体が互いに対してパックされてタンパク質のコアを形成し、ベータ鎖を互いに接続し、溶媒へ露出されるループもさらに含有する（ＣＤＲと類似する）、２つのベータシート間に分配された７つまたは８つのベータ鎖を有する。ベータシートサンドイッチの各エッジには、少なくとも３つのこのようなループがあり、エッジ

は、ベータ鎖の方向に対して垂直なタンパク質の境界である（米国特許第６，８１８，４１８号明細書を参照されたい）。全体的なフォールドは、ラクダおよびラマＩｇＧ内の抗原認識単位全体を含む最小の機能的抗体断片である重鎖可変領域のフォールドと密接に関連するが、これらのフィブロネクチンベースの足場は、免疫グロブリンではない。この構造のために、非免疫グロブリン抗体は、性質およびアフィニティーが抗体の性質およびアフィニティーと類似する抗原結合特性を模倣する。これらの足場は、インビボにおける抗体のアフィニティー成熟の工程と類似する、インビトロにおけるループのランダム化戦略およびシャフリング戦略において使用することができる。これらのフィブロネクチンベースの分子は、標準的なクローニング法を使用して、分子のループ領域を本発明のＣＤＲで置き換え得る足場として使用することができる。

【０２７６】

アンキリン技術は、アンキリンに由来するリピートモジュールを伴うタンパク質を、異なる標的への結合に使用し得る可変領域を保有する足場として使用することに基づく。アンキリンリピートモジュールは、２つのアンチパラレルのアルファ－ヘリックスおよびベーターターンからなる３３アミノ酸のポリペプチドである。可変領域の結合は、リボソームディスプレイを使用することにより大部分が最適化される。

【０２７７】

アビマーは、ＬＲＰ－１などの天然のＡドメイン含有タンパク質に由来する。これらのドメインは、本来、タンパク質間相互作用に使用され、ヒトでは２５０を超えるタンパク質が構造的にＡドメインに基づく。アビマーは、アミノ酸リンカーを介して連結された多数の（２つ～１０の）異なる「Ａドメイン」単量体からなる。標的抗原に結合し得るアビマーは、例えば、米国特許出願公開第２００４０１７５７５６号明細書；同第２００５００５３９７３号明細書；同第２００５００４８５１２号明細書；および同第２００６００８８４４号明細書において記載されている方法を使用して創出することができる。

【０２７８】

アフィニティーリガンドであるアフィボディは、プロテインＡのＩｇＧ結合性ドメインの１つの足場に基づく３ヘリックスバンドルからなる低分子の単純なタンパク質である。プロテインＡは、細菌である黄色ブドウ球菌（Ｓｔａｐｈｙｌｏｃｏｃｃｕｓ　ａｕｒｅｕｓ）に由来する表面タンパク質である。この足場ドメインは、それらの１３が多数のリガンド変異体を伴うアフィボディライブラリーを作り出すランダム化されている５８アミノ酸からなる（例えば、米国特許第５，８３１，０１２号明細書を参照されたい）。アフィボディ分子は、抗体を模倣し、１５０ｋＤａである抗体の分子量と比較して分子量が６ｋＤａである。その小サイズにもかかわらず、アフィボディ分子の結合部位は、抗体の結合部位と同様である。

【０２７９】

アンチカリンは、Ｐｉｅｒｉｓ　ＰｒｏｔｅｏＬａｂ　ＡＧ社により開発された生成物である。アンチカリンは、通例、化学的に感受性の化合物または不溶性の化合物の生理学的輸送または貯蔵に関与する、広範にわたる低分子の頑健なタンパク質群であるリポカリンに由来する。いくつかの天然リポカリンは、ヒト組織内またはヒト体液中で生じる。タンパク質のアーキテクチャーは、リジッドフレームワークの上部の超可変ループを伴う免疫グロブリンを連想させる。しかし、抗体またはそれらの組換え断片とは対照的に、リポカリンは、単一の免疫グロブリンドメインよりかろうじて大きい１６０～１８０アミノ酸残基を伴う単一のポリペプチド鎖からなる。結合性ポケットを構成する４つのループのセットは、顕著な構造可塑性を示し、様々な側鎖を許容する。したがって、異なる形状の規定の標的分子を高度なアフィニティーおよび特異性で認識するために、結合性部位を独自の工程で再形成することができる。４つのループのセットを突然変異誘発することによりアンチカリンを開発するのには、リポカリンファミリーの１つのタンパク質であるオオモンシロチョウ（Ｐｉｅｒｉｓ　Ｂｒａｓｓｉｃａｅ）のビリン結合性タンパク質（ＢＢＰ）が使用されている。アンチカリンについて記載する特許出願の１つの例は、国際公開第１９９９１６８７３号パンフレットにある。

【０２８０】
アフィリン分子は、タンパク質および低分子に対する特異的なアフィニティーのために設計された低分子非免疫グロブリンタンパク質である。新たなアフィリン分子は、それらの各々が異なるヒト由来の足場タンパク質に基づく２つのライブラリーから非常に迅速に選択することができる。アフィリン分子は、免疫グロブリンタンパク質に対するいかなる構造相同性も示さない。現在、２つのアフィリン足場が利用されており、それらの一方は、ヒト水晶体の構造タンパク質であるガンマクリスタリンであり、他方は、「ユビキチン」スーパーファミリータンパク質である。いずれのヒト足場も非常に小型であり、高度な熱安定性を示し、ｐＨ変化および変性剤に対してほぼ耐性である。この高度な安定性は、主にタンパク質のベータシート構造の展開に起因する。ガンマクリスタリンに由来するタンパク質の例は、国際公開第２００１０４１４４号パンフレットにおいて記載されており、「ユビキチン様」タンパク質の例は、国際公開第２００４１０６３６８号パンフレットにおいて記載されている。

【０２８１】
タンパク質エピトープ模倣体（ＰＥＭ）は、タンパク質間相互作用に関与する主要な二次構造である、タンパク質のベーターヘアピン二次構造を模倣する中程度のサイズの環状ペプチド様分子（分子量：１～２ｋＤａ）である。

【０２８２】
ヒトＢＭＰ６結合性抗体は、当技術分野で公知の方法を使用して作り出すことができる。例えば、非ヒト抗体を操作ヒト抗体へ転換するのに使用されるヒト化技術である。米国特許出願公開第２００５０００８６２５号明細書は、非ヒト抗体の結合特徴と比べて同じ結合特徴または良好な結合特徴を維持しながら、抗体内の非ヒト抗体の可変領域をヒト可変領域で置き換えるためのインビボ法について記載している。方法は、非ヒト基準抗体の可変領域の、完全ヒト抗体によるエピトープ誘導型置換に依拠する。結果として得られるヒト抗体は、一般に、基準非ヒト抗体と構造的に非類縁であるが、基準抗体と同じ抗原上の同じエピトープに結合する。略述すると、逐次的エピトープ誘導型相補性置換法は、被験抗体の抗原への結合に応答するレポーター系の存在下において、限られた量の抗原への結合について、「競合体」と、基準抗体の多様なハイブリッド体のライブラリー（「被験抗体」）との細胞内の競合を準備することにより可能となる。競合体は、単鎖Ｆｖ断片などの基準抗体またはその誘導体であり得る。競合体は、基準抗体と同じエピトープに結合する抗原の天然リガンドまたは人工リガンドでもあり得る。競合体の唯一の要件は、それが基準抗体と同じエピトープに結合し、基準抗体と抗原結合について競合することである。被験抗体は、非ヒト基準抗体に由来する１つの共通の抗原結合性Ｖ領域と、ヒト抗体のレパートリーライブラリーなどの多様な供給源からランダムに選択される他のＶ領域とを有する。基準抗体に由来する共通のＶ領域は、選択に対して、基準抗体に対する最高の抗原結合性忠実度へのバイアスをかけるように、被験抗体を抗原上の同じエピトープに同じ配向性で配置するガイドとして用いられる。

【０２８３】
多くの種類のレポーター系を使用して、被験抗体と抗原との所望の相互作用を検出することができる。例えば、相補的レポーター断片は、断片の相補性によるレポーターの活性化が、被験抗体が抗原に結合する場合に限り生じるように抗原および被験抗体のそれぞれに連結することができる。被験抗体－レポーター断片と抗原－レポーター断片との融合体を競合体と共発現させる場合、レポーターの活性化は、被験抗体が競合体と競合する能力であって、被験抗体の抗原に対するアフィニティーと比例する能力に依存する。使用し得る他のレポーター系は、米国特許出願第１０／２０８，７３０号明細書（公開第２００３０１９８９７１号）において開示されている自己阻害レポーター再活性化の再活性化因子（ＲＡＩＲ系）または米国特許出願第１０／０７６，８４５号明細書（公開第２００３０１５７５７９号）において開示されている競合活性化系を含む。

【０２８４】
逐次的エピトープ誘導型相補性置換系では、単一の被験抗体を、競合体、抗原およびレ

ポーター成分と共に発現する細胞を同定するように選択を行う。これらの細胞内では、各被験抗体は、限られた量の抗原への結合について競合体と一対一で競合する。レポーターの活性は、被験抗体に結合した抗原の量に比例し、被験抗体に結合した抗原の量は、被験抗体の抗原に対するアフィニティーおよび被験抗体の安定性と比例する。被験抗体はまず、被験抗体として発現させる場合の基準抗体の活性と比べたそれらの活性に基づいて選択する。選択の第１ラウンドの結果は、それらの各々が基準抗体に由来する同じ非ヒトＶ領域と、ライブラリーに由来するヒトＶ領域とから構成され、それらの各々が抗原上の基準抗体と同じエピトープに結合する「ハイブリッド」抗体のセットである。第１ラウンドで選択されるハイブリッド抗体の１つまたは複数は、抗原に対して、基準抗体のアフィニティー以上のアフィニティーを有するであろう。

【０２８５】

第２のＶ領域置き換えステップでは、第１のステップで選択されたヒトＶ領域を、残りの非ヒト基準抗体Ｖ領域のコグネイトヒトＶ領域の多様なライブラリーによるヒト置換体を選択するためのガイドとして使用する。第１ラウンドで選択されたハイブリッド抗体は、選択の第２ラウンドのための競合体としても使用することができる。選択の第２ラウンドの結果は、基準抗体と構造的に異なるが、同じ抗原への結合について基準抗体と競合する完全ヒト抗体のセットである。選択されたヒト抗体の一部は、基準抗体と同じ抗原上の同じエピトープに結合する。これらの選択されたヒト抗体のうち、１つまたは複数は、同じエピトープに対し、基準抗体のアフィニティーと同等以上のアフィニティーで結合する。

【０２８６】

上記で記載したマウスＢＭＰ６結合性抗体またはキメラＢＭＰ６結合性抗体の１つを基準抗体として使用するこの方法は、ヒトＢＭＰ６に同じまたはより良好な結合特異性および同じまたはより良好な結合アフィニティーで結合するヒト抗体を作り出すのに容易に利用することができる。加えて、このようなヒトＢＭＰ６結合性抗体は、ヒト抗体をカスタムで作製する企業、例えばＫａｌｏＢｉｏｓ，Ｉｎｃ．（ＭｏｕｎｔａｉｎＶｉｅｗ、Ｃａｌｉｆ．）から購入することもできる。

【０２８７】

ラクダ科動物抗体

ラマ種（アルパカ（Ｌａｍａ　ｐａｃｃｏｓ）、ラマ（Ｌａｍａ　ｇｌａｍａ）およびビクーニャ（Ｌａｍａ　ｖｉｃｕｇｎａ））などの新世界メンバー含む、ラクダおよびヒトコブラクダ（ｄｒｏｍｅｄａｒｙ）（フタコブラクダ（Ｃａｍｅｌｕｓ　ｂａｃｔｒｉａｎｕｓ）およびヒトコブラクダ（Ｃａｌｅｌｕｓ　ｄｒｏｍａｄｅｒｉｕｓ））ファミリーのメンバーから得られる抗体タンパク質は、サイズ、構造的複雑性およびヒト対象に対する抗原性に関して特徴付けられている。天然で見出されるこのファミリーの哺乳動物に由来するある種のＩｇＧ抗体は、軽鎖を欠き、したがって他の動物に由来する抗体の場合の２つの重鎖および２つの軽鎖を有する典型的な４つの鎖の四次構造と構造的に異なる。ＰＣＴ／欧州特許第９３／０２２１４号明細書（１９９４年３月３日に公表された国際公開第９４／０４６７８号パンフレット）を参照されたい。

【０２８８】

ＶＨＨとして同定される小型の単一の可変ドメインであるラクダ科動物抗体の領域は、標的に対して高いアフィニティーを有する低分子タンパク質をもたらすことから、「ラクダ科動物ナノボディ」として公知の低分子量抗体由来タンパク質を結果としてもたらす遺伝子操作により得ることができる。１９９８年６月２日に取得された米国特許第５，７５９，８０８号明細書を参照されたい。また、Ｓｔｉｊｌｅｍａｎｓ，Ｂ．ｅｔ　ａｌ．，２００４　Ｊ　Ｂｉｏｌ　Ｃｈｅｍ　２７９：１２５６－１２６１；Ｄｕｍｏｕｌｉｎ，Ｍ．ｅｔ　ａｌ．，２００３　Ｎａｔｕｒｅ　４２４：７８３－７８８；Ｐｌｅｓｃｈｂｅｒｇｅｒ，Ｍ．ｅｔ　ａｌ．，２００３　Ｂｉｏｃｏｎｊｕｇａｔｅ　Ｃｈｅｍ　１４：４４０－４４８；Ｃｏｒｔｅｚ－Ｒｅｔａｍｏｚｏ，Ｖ．ｅｔ　ａｌ．，２００２　Ｉｎｔ　Ｊ　Ｃａｎｃｅｒ　８９：４５６－６２；およびＬａｕｗｅｒｅｙｓ，Ｍ．ｅｔ

ａｌ．，１９９８ ＥＭＢＯ Ｊ １７：３５１２－３５２０も参照されたい。ラクダ科動物抗体および抗体断片の操作ライブラリーは、例えば、Ａｂｌｙｎｘ、Ｇｈｅｎｔ、Ｂｅｌｇｉｕｍから市販されている。非ヒト由来の他の抗体および抗原結合性断片と同様に、ラクダ科動物抗体のアミノ酸配列は、ヒト配列により酷似する配列を得るように組換えにより改変することができ、すなわちナノボディは、「ヒト化」することができる。したがって、ヒトに対するラクダ科動物抗体の天然の小さい抗原性をさらに低減することができる。

【０２８９】

ラクダ科動物ナノボディの分子量は、ヒトＩｇＧ分子の分子量の約１０分の１であり、タンパク質の物理的直径は、数ナノメートルに過ぎない。サイズが小さいことの１つの帰結は、大型の抗体タンパク質には機能的に不可視である抗原性部位に結合するラクダ科動物ナノボディの能力であり、すなわち、ラクダ科動物ナノボディは、古典的な免疫学的技法を使用する他には隠蔽されたままの抗原を検出する試薬として有用であり、可能な治療剤として有用である。したがって、サイズが小さいことのさらに別の帰結は、ラクダ科動物ナノボディが標的タンパク質のグルーブ内または狭小なクレフト内の特異的部位に結合することの結果として、標的タンパク質を阻害することが可能であり、したがって、古典的な抗体の機能よりも、古典的な低分子量の薬物の機能により酷似する能力において用いられ得ることである。

【０２９０】

低分子量およびコンパクトなサイズは、熱安定性が極めて大きく、極端なｐＨおよびタンパク質分解性消化に対して安定的であり、抗原性が小さいラクダ科動物ナノボディを結果としてさらにもたらす。別の帰結は、ラクダ科動物ナノボディが循環系から組織へ容易に移動し、血液脳関門もなお越え、神経組織に影響を及ぼす障害も処置し得ることである。ナノボディは、血液脳関門を越える薬物輸送もさらに容易にし得る。２００４年８月１９日に公表された米国特許出願公開第２００４０１６１７３８号明細書を参照されたい。これらの特色を、ヒトに対する抗原性が小さいことと組合わせることにより、大きい治療的可能性が示される。さらに、これらの分子は、大腸菌（Ｅ．ｃｏｌｉ）などの原核細胞内で完全に発現させることができ、バクテリオファージとの融合タンパク質として発現させ、機能的である。

【０２９１】

したがって、本発明の特色は、ＢＭＰ６に対して高いアフィニティーを有するラクダ科動物抗体またはラクダ科動物ナノボディである。本明細書の一実施形態では、ラクダ科動物抗体またはラクダ科動物ナノボディは、天然ではラクダ科動物において産生される、すなわち他の抗体について本明細書に記載される技法を使用する、ＢＭＰ６またはそのペプチド断片による免疫化後にラクダ科動物により産生される。代わりに、ＢＭＰ６結合性ラクダ科動物ナノボディは、操作もされる、すなわち例えば本明細書の実施例において記載されている、標的としてのＢＭＰ６を伴うパニング手順を使用する適切に突然変異誘発されたラクダ科動物ナノボディタンパク質を提示するファージライブラリーからの選択によっても作製される。操作されたナノボディは、遺伝子操作により、レシピエント対象における半減期が４５分間～２週間となるようにさらにカスタマイズすることもできる。具体的な実施形態では、ラクダ科動物抗体またはラクダ科動物ナノボディを、例えばＰＣＴ／欧州特許第９３／０２２１４号明細書において記載されている通り、本発明のヒト抗体の重鎖または軽鎖のＣＤＲ配列をナノボディまたは単一ドメイン抗体フレームワーク配列へグラフトすることにより得る。

【０２９２】

二特異性分子および多価抗体

別の態様では、本発明は、本発明のＢＭＰ６結合性抗体またはその断片を含む二特異性分子または多特異性分子を特色とする。本発明の抗体またはその抗原結合性領域は、少なくとも２つの異なる結合性部位または標的分子に結合する二特異性分子を作り出すように誘導体化することもでき、別の機能的分子、例えば別のペプチドまたはタンパク質（例え

ば、受容体に対する別の抗体またはリガンド）に連結することもできる。本発明の抗体は、実際に、３つ以上の異なる結合性部位および／または標的分子に結合する多特異性分子を作り出すように誘導体化することもでき、他の２つ以上の機能的分子に連結することもでき、このような多特異性分子は、本明細書で使用される「二特異性分子」という用語により包含されることも意図される。本発明の二特異性分子を創出するには、本発明の抗体を、二特異性分子が結果として得られるように別の抗体、抗体断片、ペプチドまたは結合性模倣体などの１つまたは複数の他の結合性分子へ機能的に連結する（例えば、化学的カップリング、遺伝子融合、非共有結合的会合により、または他の方法で）ことができる。

【０２９３】

したがって、本発明は、ＢＭＰ６に対する少なくとも１つの第１の結合特異性および第２の標的エピトープに対する第２の結合特異性を含む二特異性分子を含む。例えば、第２の標的エピトープは、第１の標的エピトープと異なるＢＭＰ６の別のエピトープである。

【０２９４】

さらに、二特異性分子が多特異性である本発明では、分子は、第１の標的エピトープおよび第２の標的エピトープに加えて、第３の結合特異性もさらに含み得る。

【０２９５】

一実施形態では、本発明の二特異性分子は、結合特異性として、例えばＦａｂ、Ｆａｂ’、Ｆ（ａｂ’）２、Ｆｖまたは単鎖Ｆｖを含む少なくとも１つの抗体またはその抗体断片を含む。抗体は、軽鎖もしくは重鎖の二量体、またはＬａｄｎｅｒら、米国特許第４，９４６，７７８号明細書において記載されているＦｖもしくは単鎖構築物など、その任意の最小断片でもあり得る。

【０２９６】

ダイアボディは、同じ鎖上の２つのドメイン間の対合を可能とするには短すぎるリンカーにより接続されたＶＨドメインおよびＶＬドメインを単一のポリペプチド鎖上で発現させた二価の二特異性分子である。ＶＨドメインおよびＶＬドメインは、別の鎖の相補的なドメインと対合し、これにより２つの抗原結合性部位を創出する（例えば、Ｈｏｌｌｉｇｅｒ ｅｔ ａｌ．，１９９３ Ｐｒｏｃ．Ｎａｔｌ．Ａｃａｄ．Ｓｃｉ．ＵＳＡ ９０：６４４４－６４４８；Ｐｏｉｊａｋ ｅｔ ａｌ．，１９９４ Ｓｔｒｕｃｔｕｒｅ ２：１１２１－１１２３を参照されたい）。ダイアボディは、ＶＨＡ－ＶＬＢおよびＶＨＢ－ＶＬＡ構造（ＶＨ－ＶＬ立体配置）またはＶＬＡ－ＶＨＢおよびＶＬＢ－ＶＨＡ構造（ＶＬ－ＶＨ立体配置）を伴う２つのポリペプチド鎖を同じ細胞内で発現させることにより作製することができる。ダイアボディの大半は、細菌内の可溶性形態で発現させることができる。単鎖ダイアボディ（ｓｃＤｂ）は、２つのダイアボディ形成ポリペプチド鎖を約１５アミノ酸残基のリンカーで接続することにより作製する（Ｈｏｌｌｉｇｅｒ ａｎｄ Ｗｉｎｔｅｒ，１９９７ Ｃａｎｃｅｒ Ｉｍｍｕｎｏｌ．Ｉｍｍｕｎｏｔｈｅｒ．，４５（３－４）：１２８－３０；Ｗｕ ｅｔ ａｌ．，１９９６ Ｉｍｍｕｎｏｔｅｃｈｎｏｌｏｇｙ，２（１）：２１－３６を参照されたい）。ｓｃＤｂは、細菌内の可溶性で活性の単量体形態で発現させることができる（Ｈｏｌｌｉｇｅｒ ａｎｄ Ｗｉｎｔｅｒ，１９９７ Ｃａｎｃｅｒ Ｉｍｍｕｎｏｌ．Ｉｍｍｕｎｏｔｈｅｒ．，４５（３４）：１２８－３０；Ｗｕ ｅｔ ａｌ．，１９９６ Ｉｍｍｕｎｏｔｅｃｈｎｏｌｏｇｙ，２（１）：２１－３６；Ｐｌｕｃｋｔｈｕｎ ａｎｄ Ｐａｃｋ，１９９７ Ｉｍｍｕｎｏｔｅｃｈｎｏｌｏｇｙ，３（２）：８３－１０５；Ｒｉｄｇｗａｙ ｅｔ ａｌ．，１９９６ Ｐｒｏｔｅｉｎ Ｅｎｇ．，９（７）：６１７－２１を参照されたい）。ダイアボディをＦｃへ融合させて「ジダイアボディ」を作り出すことができる（Ｌｕ ｅｔ ａｌ．，２００４ Ｊ．Ｂｉｏｌ．Ｃｈｅｍ．，２７９（４）：２８５６－６５を参照されたい）。

【０２９７】

本発明の二特異性分子内で利用し得る他の抗体は、マウスモノクローナル抗体、キメラモノクローナル抗体およびヒト化モノクローナル抗体である。

【０２９８】

本発明の二特異性分子は、当技術分野で公知の方法を使用して、構成要素である結合特異性をコンジュゲートさせることにより調製することができる。例えば、二特異性分子の各結合特異性は、個別に作り出し、次いで互いにコンジュゲートさせることができる。結合特異性がタンパク質またはペプチドである場合、様々なカップリング剤または架橋剤を共有結合的コンジュゲーションに使用することができる。架橋剤の例は、プロテインＡ、カルボジイミド、Ｎ－スクシンイミジル－５－アセチル－チオアセテート（ＳＡＴＡ）、５，５’－ジチオビス（２－ニトロ安息香酸）（ＤＴＮＢ）、ｏ－フェニレンジマレイミド（ｏＰＤＭ）、Ｎ－スクシンイミジル－３－（２－ピリジルジチオ）プロピオネート（ＳＰＤＰ）およびスルホスクシンイミジル４－（Ｎ－マレイミドメチル）シクロヘキサン－１－カルボキシレート（スルホ－ＳＭＣＣ）を含む（例えば、Ｋａｒｐｏｖｓｋｙ ｅｔ ａｌ．，１９８４ Ｊ．Ｅｘｐ．Ｍｅｄ．１６０：１６８６；Ｌｉｕ，ＭＡ ｅｔ ａｌ．，１９８５ Ｐｒｏｃ．Ｎａｔｌ．Ａｃａｄ．Ｓｃｉ．ＵＳＡ ８２：８６４８を参照されたい）。他の方法は、Ｐａｕｌｕｓ，１９８５ Ｂｅｈｒｉｎｇ Ｉｎｓ．Ｍｉｔｔ．Ｎｏ．７８、１１８－１３２；Ｂｒｅｎｎａｎ ｅｔ ａｌ．，１９８５ Ｓｃｉｅｎｃｅ ２２９：８１－８３；およびＧｌｅｎｎｉｅ ｅｔ ａｌ．，１９８７ Ｊ．Ｉｍｍｕｎｏｌ．１３９：２３６７－２３７５において記載されている方法を含む。コンジュゲート剤は、ＳＡＴＡおよびスルホ－ＳＭＣＣであり、いずれもＰｉｅｒｃｅ Ｃｈｅｍｉｃａｌ Ｃｏ．（Ｒｏｃｋｆｏｒｄ、Ｉｌｌ）から入手可能である。

【０２９９】

結合特異性が抗体である場合、それらは、２つの重鎖のＣ末端ヒンジ領域をスルフヒドリル結合させることによりコンジュゲートさせることができる。特定の実施形態では、コンジュゲーション前に、奇数のスルフヒドリル残基、例えば１つのスルフヒドリル残基を含有するようにヒンジ領域を修飾する。

【０３００】

代わりに、いずれの結合特異性も、同じベクター内でコードさせ、同じ宿主細胞内で発現およびアセンブルさせることができる。この方法は、二特異性分子がｍＡｂ×ｍＡｂ融合タンパク質、ｍＡｂ×Ｆａｂ融合タンパク質、Ｆａｂ×Ｆ（ａｂ’）２融合タンパク質またはリガンド×Ｆａｂ融合タンパク質である場合に特に有用である。本発明の二特異性分子は、１つの単鎖抗体および結合決定基を含む単鎖分子の場合もあり、２つの結合決定基を含む単鎖二特異性分子の場合もある。二特異性分子は、少なくとも２つの単鎖分子を含み得る。二特異性分子を調製する方法について、例えば米国特許第５，２６０，２０３号明細書；米国特許第５，４５５，０３０号明細書；米国特許第４，８８１，１７５号明細書；米国特許第５，１３２，４０５号明細書；米国特許第５，０９１，５１３号明細書；米国特許第５，４７６，７８６号明細書；米国特許第５，０１３，６５３号明細書；米国特許第５，２５８，４９８号明細書；および米国特許第５，４８２，８５８号明細書において記載されている。

【０３０１】

それらの特異的な標的に対する二特異性分子の結合は、例えば、酵素結合免疫吸着アッセイ（ＥＬＩＳＡ）、ラジオイムノアッセイ（ＲＥＡ）、ＦＡＣＳ解析、バイオアッセイ（例えば、成長阻害アッセイ）またはウェスタンブロットアッセイにより確認することができる。これらのアッセイの各々では、一般に、目的の複合体に特異的な標識された試薬（例えば、抗体）を利用することにより、特に目的となるタンパク質－抗体複合体の存在が検出される。

【０３０２】

別の態様では、本発明は、ＢＭＰ６に結合する本発明の抗体およびそれらの抗原結合性断片の少なくとも２つの同一であるかまたは異なる抗原結合性部分を含む多価化合物を提供する。抗原結合性部分は、タンパク質の融合または共有結合的連結もしくは非共有結合的連結を介して互いに連結することができる。代わりに、二特異性分子のための連結法も記載されている。四価化合物は、例えば、本発明の抗体およびそれらの抗原結合性断片を、本発明の抗体およびそれらの抗原結合性断片の定常領域に結合する抗体または抗原結合

性断片、例えばＦｃ領域またはヒンジ領域と架橋することにより得ることができる。
【０３０３】
三量体化ドメインについて、例えばＢｏｒｅａｎによる特許である欧州特許第１０１２２８０Ｂ１号明細書において記載されている。五量体化モジュールについて、例えばＰＣＴ／欧州特許第９７／０５８９７号明細書において記載されている。
【０３０４】
半減期を延長した抗体
本発明は、ＢＭＰ６に特異的に結合する抗体であって、インビボにおける半減期を延長した抗体を提供する。
【０３０５】
多くの因子がインビボにおけるタンパク質の半減期に影響を及ぼし得る。例えば、腎臓における濾過、肝臓における代謝、タンパク質分解性酵素（プロテアーゼ）による分解および免疫原性応答（例えば、抗体によるタンパク質の中和ならびにマクロファージおよび樹状細胞による取込み）である。様々な戦略を使用して、本発明の抗体およびそれらの抗原結合性断片の半減期を延長することができる。例えば、ポリエチレングリコール（ＰＥＧ）、ｒｅＣＯＤＥ　ＰＥＧ、抗体足場、ポリシアル酸（ＰＳＡ）、ヒドロキシエチルデンプン（ＨＥＳ）、アルブミン結合性リガンドおよび炭水化物シールドとの化学的連結により；アルブミン、ＩｇＧ、ＦｃＲｎおよびトランスフェリンなどの血清タンパク質に結合するタンパク質との遺伝子融合により；ナノボディ、Ｆａｂ、ＤＡＲＰｉｎ、アビマー、アフィボディおよびアンチカリンなど、血清タンパク質に結合する他の結合部分とカップリングする（遺伝子的または化学的に）ことにより；ｒＰＥＧ、アルブミン、アルブミンのドメイン、アルブミン結合性タンパク質およびＦｃとの遺伝子融合により；またはナノ担体、徐放製剤もしくは医療デバイスへの組込みにより、本発明の抗体およびそれらの抗原結合性断片の半減期を延長することができる。
【０３０６】
インビボにおける抗体の血清中循環を延長するため、高分子量のＰＥＧなどの不活性のポリマー分子を、ＰＥＧの抗体のＮ末端もしくはＣ末端への部位特異的コンジュゲーションを介してまたはリシン残基上に存在するイプシロン－アミノ基を介して、多官能性リンカーを伴うかまたは多官能性リンカーを伴わない抗体またはそれらの断片に付着することができる。抗体をペグ化するには、典型的には、抗体、その抗原結合性断片をＰＥＧの反応性エステルまたはアルデヒド誘導体などのポリエチレングリコール（ＰＥＧ）と、１つまたは複数のＰＥＧ基が抗体または抗体断片に付着する条件下で反応させる。ペグ化は、反応性ＰＥＧ分子（または類似する反応性の水溶性ポリマー）とのアシル化反応またはアルキル化反応により実行することができる。本明細書で使用される「ポリエチレングリコール」という用語は、モノ（Ｃ１～Ｃ１０）アルコキシ－ポリエチレングリコールもしくはアリールオキシ－ポリエチレングリコールまたはポリエチレングリコール－マレイミドなど、他のタンパク質を誘導体化するのに使用されているＰＥＧの形態のいずれかを包含することを意図するものである。一実施形態では、ペグ化される抗体は、脱グリコシル化抗体である。直鎖状ポリマーまたは分枝状ポリマーの誘導体化であって、生物学的活性の喪失を結果として最小とする誘導体化が使用されるであろう。コンジュゲーションの程度をＳＤＳ－ＰＡＧＥおよび質量分析により緊密にモニタリングして、ＰＥＧ分子の抗体への適正なコンジュゲーションを確認することができる。反応しなかったＰＥＧは、サイズ除外クロマトグラフィーまたはイオン交換クロマトグラフィーにより、抗体－ＰＥＧコンジュゲートから分離することができる。ＰＥＧ誘導体化抗体は、当業者に周知の方法を使用して、例えば本明細書に記載されるイムノアッセイにより、結合活性ならびにインビボにおける有効性について調べることができる。当技術分野では、タンパク質をペグ化する方法が公知であり、本発明の抗体およびそれらの抗原結合性断片に適用することができる。例えば、Ｎｉｓｈｉｍｕｒａらによる欧州特許第０１５４３１６号明細書およびＩｓｈｉｋａｗａらによる欧州特許第０４０１３８４号明細書を参照されたい。
【０３０７】

他の改変されたペグ化技術は、ｔＲＮＡシンセターゼおよびｔＲＮＡを含む再構成系を介して、化学的に特定された側鎖を生合成タンパク質へ組込む再構成化学的直交性直接操作技術（ＲｅＣＯＤＥ　ＰＥＧ）を含む。この技術は、３０を超える新たなアミノ酸の大腸菌（Ｅ．ｃｏｌｉ）細胞内、酵母細胞内および哺乳動物細胞内の生合成タンパク質への組込みを可能とする。ｔＲＮＡは、規範的なアミノ酸を、アンバーコドンが配置される任意の位置へ組込み、終止コドンから化学的に特定されたアミノ酸の組込みをシグナル伝達するコドンへ転換する。

【０３０８】

組換えペグ化技術（ｒＰＥＧ）は、血清半減期の延長にも使用することができる。この技術は、３００～６００アミノ酸の非構造化タンパク質テールを既存の医薬用タンパク質へ遺伝子融合させることを伴う。このような非構造化タンパク質鎖の見かけの分子量は、その実際の分子量の約１５倍であるため、タンパク質の血清半減期は、大きく増大する。化学的コンジュゲーションおよび再精製を要求する従来のＰＥＧ化とは対照的に、製造工程は、大きく簡略化され、生成物は、均質である。

【０３０９】

ポリシアリル化は、天然のポリマーであるポリシアル酸（ＰＳＡ）を使用して活性寿命を延長し、治療用ペプチドおよび治療用タンパク質の安定性を改善する別の技術である。ＰＳＡは、シアル酸（糖）のポリマーである。タンパク質および治療用ペプチドの薬物送達に使用される場合、コンジュゲーション時、ポリシアル酸は、保護的微小環境をもたらす。これは、循環内の治療用タンパク質の活性寿命を延長し、それが免疫系により認識されることを防止する。ＰＳＡポリマーは、天然ではヒト体内で見出される。ＰＳＡは、数百万年にわたり、それらの壁をＰＳＡでコーティングするように進化したある種の細菌により採用された。次いで、これらの天然でポリシアリル化した細菌は、分子的模倣により、体内の防御系を失効化することが可能となった。自然の究極のステルス技術であるＰＳＡは、このような細菌から、大量にかつ所定の物理的特徴を伴って容易に作製することができる。細菌ＰＳＡは、ヒト体内ではＰＳＡと化学的に同一であるため、タンパク質にカップリングさせた場合でもなお完全に非免疫原性である。

【０３１０】

別の技術は、抗体に連結されたヒドロキシエチルデンプン（「ＨＥＳ」）誘導体の使用を含む。ＨＥＳは、蝋状トウモロコシデンプンに由来する修飾された天然ポリマーであり、体内の酵素により代謝され得る。ＨＥＳ溶液は、通例、血液量不足を補い、血液のレオロジー特性を改善するために投与される。抗体のＨＥＳ化は、分子の安定性を上昇させることおよび腎クリアランスを低減することによっても循環半減期の延長を可能とし、上昇した生物学的活性を結果としてもたらす。ＨＥＳの分子量など、異なるパラメータを改変することにより、広範にわたるＨＥＳ抗体コンジュゲートをカスタマイズすることができる。

【０３１１】

インビボにおける半減期を延長した抗体は、１つまたは複数のアミノ酸修飾（すなわち置換、挿入または欠失）をＩｇＧ定常ドメインまたはそのＦｃＲｎ結合性断片（好ましくはＦｃドメイン断片またはヒンジＦｃドメイン断片）へ導入しても作り出すことができる。例えば、国際公開第９８／２３２８９号号パンフレット、国際公開第９７／３４６３１号パンフレット；および米国特許第６，２７７，３７５号明細書を参照されたい。

【０３１２】

さらに、抗体または抗体断片をインビボにおいてより安定的とするか、またはインビボにおける半減期を延長するために、抗体をアルブミンにコンジュゲートさせることもできる。当技術分野では、技法が周知であり、例えば国際公開第９３／１５１９９号パンフレット、同第９３／１５２００号パンフレットおよび同０１／７７１３７号パンフレット；ならびに欧州特許第４１３，６２２号明細書を参照されたい。

【０３１３】

半減期を延長するための戦略は、インビボにおける半減期の延長が所望されるナノボデ

ィ、フィブロネクチンベースの結合剤および他の抗体またはタンパク質においてとりわけ有用である。

【０３１４】

抗体コンジュゲート

本発明は、融合タンパク質を作り出すように、異種タンパク質または異種ポリペプチドへ（またはその抗原結合性断片、好ましくは少なくとも１０、少なくとも２０、少なくとも３０、少なくとも４０、少なくとも５０、少なくとも６０、少なくとも７０、少なくとも８０、少なくとも９０または少なくとも１００アミノ酸のポリペプチドへ）組換えにより融合させるかまたは化学的にコンジュゲートさせた（共有結合的コンジュゲーションおよび非共有結合的コンジュゲーションの両方を含む）、ＢＭＰ６に特異的に結合する抗体またはそれらの抗原結合性断片を提供する。特に、本発明は、本明細書に記載される抗体の抗原結合性断片（例えば、Ｆａｂ断片、Ｆｄ断片、Ｆｖ断片、Ｆ（ａｂ）$_2$断片、ＶＨドメイン、ＶＨ　ＣＤＲ、ＶＬドメインまたはＶＬ　ＣＤＲ）と、異種タンパク質、異種ポリペプチドまたは異種ペプチドとを含む融合タンパク質を提供する。当技術分野では、タンパク質、ポリペプチドまたはペプチドを抗体または抗体断片と融合またはコンジュゲートさせる方法が知られている。例えば、米国特許第５，３３６，６０３号明細書、同第５，６２２，９２９号明細書、同第５，３５９，０４６号明細書、同第５，３４９，０５３号明細書、同第５，４４７，８５１号明細書および同第５，１１２，９４６号明細書；欧州特許第３０７，４３４号明細書および同第３６７，１６６号明細書；国際公開第９６／０４３８８号パンフレットおよび同第９１／０６５７０号パンフレット；Ａｓｈｋｅｎａｚｉ　ｅｔ　ａｌ．，１９９１，Ｐｒｏｃ．Ｎａｔｌ．Ａｃａｄ．Ｓｃｉ．ＵＳＡ　８８：１０５３５－１０５３９；Ｚｈｅｎｇ　ｅｔ　ａｌ．，１９９５，Ｊ．Ｉｍｍｕｎｏｌ．１５４：５５９０－５６００；およびＶｉｌ　ｅｔ　ａｌ．，１９９２，Ｐｒｏｃ．Ｎａｔｌ．Ａｃａｄ．Ｓｃｉ．ＵＳＡ　８９：１１３３７－１１３４１を参照されたい。

【０３１５】

さらなる融合タンパク質は、遺伝子シャフリング、モチーフシャフリング、エクソンシャフリングおよび／またはコドンシャフリング（まとめて「ＤＮＡシャフリング」と称する）の技法を介して作り出すことができる。ＤＮＡシャフリングを利用して、本発明の抗体およびそれらの抗原結合性断片の活性を改変する（例えば、アフィニティーが大きく、解離速度が小さい抗体およびそれらの抗原結合性断片）ことができる。一般に、米国特許第５，６０５，７９３号明細書、同第５，８１１，２３８号明細書、同第５，８３０，７２１号明細書、同第５，８３４，２５２号明細書および同第５，８３７，４５８号明細書；Ｐａｔｔｅｎ　ｅｔ　ａｌ．，１９９７，Ｃｕｒｒ．Ｏｐｉｎｉｏｎ　Ｂｉｏｔｅｃｈｎｏｌ．８：７２４－３３；Ｈａｒａｙａｍａ，１９９８，Ｔｒｅｎｄｓ　Ｂｉｏｔｅｃｈｎｏｌ．１６（２）：７６－８２；Ｈａｎｓｓｏｎ，ｅｔ　ａｌ．，１９９９，Ｊ．Ｍｏｌ．Ｂｉｏｌ．２８７：２６５－７６；およびＬｏｒｅｎｚｏ　ａｎｄ　Ｂｌａｓｃｏ，１９９８，Ｂｉｏｔｅｃｈｎｉｑｕｅｓ　２４（２）：３０８－３１３（これらの特許および刊行物の各々は、参照により全体的に本明細書に組込まれる）を参照されたい。抗体およびそれらの抗原結合性断片またはコードされた抗体およびそれらの抗原結合性断片は、組換え前にエラープローンＰＣＲによるランダム突然変異誘発、ランダムヌクレオチド挿入または他の方法にかけることにより改変することができる。ＢＭＰ６に特異的に結合する抗体、その抗原結合性断片をコードするポリヌクレオチドは、１つまたは複数の異種分子の１つまたは複数の成分、モチーフ、区間、一部、ドメイン、断片などで組換えることができる。

【０３１６】

さらに、抗体およびそれらの抗原結合性断片は、精製を容易にするペプチドなどのマーカー配列へ融合させることもできる。一実施形態では、マーカーのアミノ酸配列は、それらの多くが市販されているなかでもとりわけｐＱＥベクター（ＱＩＡＧＥＮ，Ｉｎｃ．，９２５９　Ｅｔｏｎ　Ａｖｅｎｕｅ，Ｃｈａｔｓｗｏｒｔｈ，Ｃａｌｉｆ．，９１３１１）において提供されているタグなどのヘキサヒスチジンペプチド（配列番号９７）である

。Ｇｅｎｔｚ ｅｔ ａｌ．，１９８９，Ｐｒｏｃ．Ｎａｔｌ．Ａｃａｄ．Ｓｃｉ．ＵＳＡ ８６：８２１－８２４において記載されている通り、例えば、ヘキサヒスチジン（配列番号９７）は、融合タンパク質の簡便な精製をもたらす。精製に有用な他のペプチドタグは、インフルエンザヘマグルチニンタンパク質に由来するエピトープ（Ｗｉｌｓｏｎ ｅｔ ａｌ．，１９８４，Ｃｅｌｌ ３７：７６７）に対応するヘマグルチニン（「ＨＡ」）タグおよび「フラッグ」タグを含むが、これらに限定されない。

【０３１７】

一実施形態では、本発明の抗体およびそれらの抗原結合性断片を診断剤または検出用薬剤にコンジュゲートさせる。このような抗体は、疾患または障害の発生、発症、進行および／または重症度を、特定の治療の有効性を決定することなど、臨床検査手順の一部としてモニタリングまたは予後診断するのに有用であり得る。このような診断および検出は、抗体を、西洋ワサビペルオキシダーゼ、アルカリホスファターゼ、ベーターガラクトシダーゼまたはアセチルコリンエステラーゼなどであるが、これらに限定されない多様な酵素；ストレプトアビジン／ビオチンおよびアビジン／ビオチンなどであるが、これらに限定されない補欠分子族；ウンベリフェロン、フルオレセイン、イソチオシアン酸フルオレセイン、ローダミン、ジクロロトリアジニルアミンフルオレセイン、ダンシルクロリドまたはフィコエリトリンなどであるが、これらに限定されない蛍光材料；ルミノールなどであるが、これらに限定されない発光材料；ルシフェラーゼ、ルシフェリンおよびエクオリンなどであるが、これらに限定されない生物発光材料；ヨウ素（１３１Ｉ、１２５Ｉ、１２３Ｉおよび１２１Ｉ）、炭素（１４Ｃ）、硫黄（３５Ｓ）、トリチウム（３Ｈ）、インジウム（１１５Ｉｎ、１１３Ｉｎ、１１２Ｉｎおよび１１１Ｉｎ）、テクネシウム（９９Ｔｃ）、タリウム（２０１Ｔｌ）、ガリウム（６８Ｇａ、６７Ｇａ）、パラジウム（１０３Ｐｄ）、モリブデン（９９Ｍｏ）、キセノン（１３３Ｘｅ）、フッ素（１８Ｆ）、１５３Ｓｍ、１７７Ｌｕ、１５９Ｇｄ、１４９Ｐｍ、１４０Ｌａ、１７５Ｙｂ、１６６Ｈｏ、９０Ｙ、４７Ｓｃ、１８６Ｒｅ、１８８Ｒｅ、１４２Ｐｒ、１０５Ｒｈ、９７Ｒｕ、６８Ｇｅ、５７Ｃｏ、６５Ｚｎ、８５Ｓｒ、３２Ｐ、１５３Ｇｄ、１６９Ｙｂ、５１Ｃｒ、５４Ｍｎ、７５Ｓｅ、１１３Ｓｎおよび１１７Ｔｉｎなどであるが、これらに限定されない放射性材料；ならびに多様なポジトロン断層法を使用するポジトロン放出金属および非放射性の常磁性金属イオンを含むが、これらに限定されない検出可能な物質にカップリングすることにより達成することができる。

【０３１８】

本発明は、治療用部分にコンジュゲートさせた抗体およびそれらの抗原結合性断片の使用もさらに包含する。抗体およびその抗原結合性断片は、細胞毒素、例えば細胞増殖抑制剤または殺細胞剤、治療剤または放射性金属イオン、例えばアルファ放射体などの治療用部分にコンジュゲートさせることができる。細胞毒素または細胞傷害剤は、細胞に有害な任意の薬剤を含む。

【０３１９】

さらに、抗体、その抗原結合性断片は、所与の生物学的応答を修飾する治療用部分または薬物部分にコンジュゲートさせることもできる。治療用部分または薬物部分は、古典的化学的治療剤に限定されるとは見なされないものとする。例えば、薬物部分は、所望の生物学的活性を保有するタンパク質、ペプチドまたはポリペプチドであり得る。このようなタンパク質は、例えば、アブリン、リシンＡ、シュードモナス属外毒素、コレラ毒素またはジフテリア毒素などの毒素；腫瘍壊死因子、アルファーインターフェロン、ベーターインターフェロン、神経成長因子、血小板由来成長因子、組織プラスミノーゲン活性化因子、アポトーシス剤、抗血管新生剤；または例えばリンホカインなどの生体応答修飾剤などのタンパク質を含み得る。

【０３２０】

さらに、抗体は、２１３Ｂｉなどのアルファ放射体などの放射性金属イオン、１３１Ｉｎ、１３１ＬＵ、１３１Ｙ、１３１Ｈｏ、１３１Ｓｍを含むが、これらに限定されない放射性金属イオンを、ポリペプチドにコンジュゲートするのに有用な大環状キレート化剤な

どの治療用部分にコンジュゲートさせることもできる。一実施形態では、大環状キレート化剤は、リンカー分子を介して抗体に付着させ得る１，４，７，１０－テトラアザシクロドデカン－Ｎ，Ｎ’，Ｎ’’，Ｎ’’’－テトラ酢酸（ＤＯＴＡ）である。当技術分野では、このようなリンカー分子が一般に公知であり、各々が参照により全体的に組込まれるＤｅｎａｒｄｏ ｅｔ ａｌ．，１９９８，Ｃｌｉｎ Ｃａｎｃｅｒ Ｒｅｓ．４（１０）：２４８３－９０；Ｐｅｔｅｒｓｏｎ ｅｔ ａｌ．，１９９９，Ｂｉｏｃｏｎｊｕｇ．Ｃｈｅｍ．１０（４）：５５３－７；およびＺｉｍｍｅｒｍａｎ ｅｔ ａｌ．，１９９９，Ｎｕｃｌ．Ｍｅｄ．Ｂｉｏｌ．２６（８）：９４３－５０において記載されている。

【０３２１】

治療用部分を、抗体にコンジュゲートさせるための技法は周知であり、例えばＡｍｏｎ ｅｔ ａｌ．，“Ｍｏｎｏｃｌｏｎａｌ Ａｎｔｉｂｏｄｉｅｓ Ｆｏｒ Ｉｍｍｕｎｏｔａｒｇｅｔｉｎｇ Ｏｆ Ｄｒｕｇｓ Ｉｎ Ｃａｎｃｅｒ Ｔｈｅｒａｐｙ”，Ｍｏｎｏｃｌｏｎａｌ Ａｎｔｉｂｏｄｉｅｓ Ａｎｄ Ｃａｎｃｅｒ Ｔｈｅｒａｐｙ，Ｒｅｉｓｆｅｌｄ ｅｔ ａｌ．，（ｅｄ），ｐｐ．２４３－５６（Ａｌａｎ Ｒ．Ｌｉｓｓ，Ｉｎｃ．１９８５）；Ｈｅｌｌｓｔｒｏｍ ｅｔ ａｌ．，“Ａｎｔｉｂｏｄｉｅｓ Ｆｏｒ Ｄｒｕｇ Ｄｅｌｉｖｅｒｙ”，Ｃｏｎｔｒｏｌｌｅｄ Ｄｒｕｇ Ｄｅｌｉｖｅｒｙ（２ｎｄ Ｅｄ．），Ｒｏｂｉｎｓｏｎ ｅｔ ａｌ．（ｅｄｓ．），ｐｐ．６２３－５３（Ｍａｒｃｅｌ Ｄｅｋｋｅｒ，Ｉｎｃ．１９８７）；Ｔｈｏｒｐｅ，“Ａｎｔｉｂｏｄｙ Ｃａｒｒｉｅｒｓ Ｏｆ Ｃｙｔｏｔｏｘｉｃ Ａｇｅｎｔｓ Ｉｎ Ｃａｎｃｅｒ Ｔｈｅｒａｐｙ：Ａ Ｒｅｖｉｅｗ”，Ｍｏｎｏｃｌｏｎａｌ Ａｎｔｉｂｏｄｉｅｓ ８４：Ｂｉｏｌｏｇｉｃａｌ Ａｎｄ Ｃｌｉｎｉｃａｌ Ａｐｐｌｉｃａｔｉｏｎｓ，Ｐｉｎｃｈｅｒａ ｅｔ ａｌ．（ｅｄｓ．），ｐｐ．４７５－５０６（１９８５）；“Ａｎａｌｙｓｉｓ，Ｒｅｓｕｌｔｓ，Ａｎｄ Ｆｕｔｕｒｅ Ｐｒｏｓｐｅｃｔｉｖｅ Ｏｆ Ｔｈｅ Ｔｈｅｒａｐｅｕｔｉｃ Ｕｓｅ Ｏｆ Ｒａｄｉｏｌａｂｅｌｅｄ Ａｎｔｉｂｏｄｙ Ｉｎ Ｃａｎｃｅｒ Ｔｈｅｒａｐｙ”，Ｍｏｎｏｃｌｏｎａｌ Ａｎｔｉｂｏｄｉｅｓ Ｆｏｒ Ｃａｎｃｅｒ Ｄｅｔｅｃｔｉｏｎ Ａｎｄ Ｔｈｅｒａｐｙ，Ｂａｌｄｗｉｎ ｅｔ ａｌ．（ｅｄｓ．），ｐｐ．３０３－１６（Ａｃａｄｅｍｉｃ Ｐｒｅｓｓ １９８５）；およびＴｈｏｒｐｅ ｅｔ ａｌ．，１９８２，Ｉｍｍｕｎｏｌ．Ｒｅｖ．６２：１１９－５８を参照されたい。

【０３２２】

抗体は、特にイムノアッセイまたは標的抗原の精製に有用な固体支持体に付着させることもできる。このような固体支持体は、ガラス、セルロース、ポリアクリルアミド、ナイロン、ポリスチレン、ポリ塩化ビニルまたはポリプロピレンを含むが、これらに限定されない。

【０３２３】

本発明の抗体を作製する方法

抗体をコードする核酸

本発明は、上記で記載したＢＭＰ６結合性抗体鎖のセグメントまたはドメインを含むポリペプチドをコードする実質的に精製された核酸分子を提供する。本発明の核酸のいくつかは、配列番号１６、３６、５６もしくは７６のいずれかに示される重鎖可変領域をコードするヌクレオチド配列、および／または配列番号２６、４６、６６もしくは８６のいずれかに示される軽鎖可変領域をコードするヌクレオチド配列を含む。具体的な実施形態では、核酸分子は、表１において同定される核酸分子である。本発明の他のいくつかの核酸分子は、表１において同定される核酸分子のヌクレオチド配列と実質的に（例えば、少なくとも６５、８０％、９５％または９９％）同一のヌクレオチド配列を含む。適切な発現ベクターから発現させるとき、これらのポリヌクレオチドによりコードされるポリペプチドは、ＢＭＰ６抗原結合能を呈示することが可能である。

【０３２４】

本発明では、表１および／または表１４で示したＢＭＰ６結合性抗体の重鎖または軽鎖

に由来する少なくとも１つのＣＤＲ領域および通例３つ全てのＣＤＲ領域をコードするポリヌクレオチドも提供される。他のいくつかのポリヌクレオチドは、表１および／または表１４で示したＢＭＰ６結合性抗体の重鎖および／または軽鎖の可変領域配列の全てまたは実質的に全てをコードする。コードの縮重性のために、様々な核酸配列は、免疫グロブリンアミノ酸配列の各々をコードするであろう。

【０３２５】

本発明の核酸分子は、抗体の可変領域および定常領域の両方をコードし得る。本発明の核酸配列のいくつかは、配列番号１６、３６、５６または７６のいずれかに示される成熟重鎖可変領域配列と実質的に（例えば、少なくとも８０％、９０％または９９％）同一の成熟重鎖可変領域配列をコードするヌクレオチドを含む。他のいくつかの核酸配列は、配列番号２６、４６、６６または８６のいずれかに示される成熟軽鎖可変領域配列と実質的に（例えば、少なくとも８０％、９０％または９９％）同一の成熟軽鎖可変領域配列をコードするヌクレオチドを含む。

【０３２６】

ポリヌクレオチド配列は、デノボの固相ＤＮＡ合成もしくはＢＭＰ６結合性抗体またはその結合性断片をコードする既存の配列（例えば、下記の実施例で記載される配列）に対するＰＣＲによる突然変異誘発により作製することができる。核酸の直接的な化学合成は、Ｎａｒａｎｇ ｅｔ ａｌ．，１９７９，Ｍｅｔｈ．Ｅｎｚｙｍｏｌ．６８：９０によるホスホトリエステル法；Ｂｒｏｗｎ ｅｔ ａｌ．，Ｍｅｔｈ．Ｅｎｚｙｍｏｌ．６８：１０９，１９７９によるホスホジエステル法；Ｂｅａｕｃａｇｅ ｅｔ ａｌ．，Ｔｅｔｒａ．Ｌｅｔｔ．，２２：１８５９，１９８１によるジエチルホスホルアミダイト法；および米国特許第４，４５８，０６６号明細書による固体支持体法など、当技術分野で公知の方法により達成することができる。ＰＣＲによる、突然変異のポリヌクレオチド配列への導入は、例えば、ＰＣＲ Ｔｅｃｈｎｏｌｏｇｙ：Ｐｒｉｎｃｉｐｌｅｓ ａｎｄ Ａｐｐｌｉｃａｔｉｏｎｓ ｆｏｒ ＤＮＡ Ａｍｐｌｉｆｉｃａｔｉｏｎ，Ｈ．Ａ．Ｅｒｌｉｃｈ（Ｅｄ．），Ｆｒｅｅｍａｎ Ｐｒｅｓｓ，ＮＹ，Ｎ．Ｙ．，１９９２；ＰＣＲ Ｐｒｏｔｏｃｏｌｓ：Ａ Ｇｕｉｄｅ ｔｏ Ｍｅｔｈｏｄｓ ａｎｄ Ａｐｐｌｉｃａｔｉｏｎｓ，Ｉｎｎｉｓ ｅｔ ａｌ．（Ｅｄ），Ａｃａｄｅｍｉｃ Ｐｒｅｓｓ，Ｓａｎ Ｄｉｅｇｏ，Ｃａｌｉｆ．，１９９０；Ｍａｔｔｉｌａ ｅｔ ａｌ．，Ｎｕｃｌｅｉｃ Ａｃｉｄｓ Ｒｅｓ．１９：９６７，１９９１；およびＥｃｋｅｒｔ ｅｔ ａｌ．，ＰＣＲ Ｍｅｔｈｏｄｓ ａｎｄ Ａｐｐｌｉｃａｔｉｏｎｓ １：１７，１９９１において記載されている通りに実施することができる。

【０３２７】

本発明では、上記で記載したＢＭＰ６結合性抗体を作製するための発現ベクターおよび宿主細胞も提供される。多様な発現ベクターを利用して、ＢＭＰ６結合性抗体鎖または結合性断片をコードするポリヌクレオチドを発現させることができる。ウイルスベースの発現ベクターおよび非ウイルス発現ベクターのいずれを使用しても哺乳動物宿主細胞内で抗体を作製することができる。非ウイルスベクターおよび非ウイルス系は、プラスミド、典型的にタンパク質またはＲＮＡを発現させるための発現カセットを伴うエピソームベクターおよびヒト人工染色体を含む（例えば、Ｈａｒｒｉｎｇｔｏｎ ｅｔ ａｌ．，Ｎａｔ Ｇｅｎｅｔ １５：３４５，１９９７を参照されたい）。例えば、哺乳動物（例えば、ヒト）細胞内のＢＭＰ６結合性ポリヌクレオチドおよびＢＭＰ６結合性ポリペプチドの発現に有用な非ウイルスベクターは、ｐＴｈｉｏＨｉｓ Ａ、ｐＴｈｉｏＨｉｓ ＢおよびｐＴｈｉｏＨｉｓ Ｃ、ｐｃＤＮＡ３．１／Ｈｉｓ、ｐＥＢＶＨｉｓ Ａ、ｐＥＢＶＨｉｓ ＢおよびｐＥＢＶＨｉｓ Ｃ（Ｉｎｖｉｔｒｏｇｅｎ、Ｓａｎ Ｄｉｅｇｏ、Ｃａｌｉｆ．）、ＭＰＳＶベクターならびに他のタンパク質を発現させるための当技術分野で公知の他の多数のベクターを含む。有用なウイルスベクターは、レトロウイルス、アデノウイルス、アデノ随伴ウイルス、ヘルペスウイルスに基づくベクター、ＳＶ４０に基づくベクター、パピローマウイルス、ＨＢＰエプスタインバーウイルス、ワクシニアウイルスベクターおよびセムリキ森林熱ウイルス（ＳＦＶ）を含む。Ｂｒｅｎｔ ｅｔ ａｌ．，前

出；Ｓｍｉｔｈ，Ａｎｎｕ．Ｒｅｖ．Ｍｉｃｒｏｂｉｏｌ．４９：８０７，１９９５；およびＲｏｓｅｎｆｅｌｄ　ｅｔ　ａｌ．，Ｃｅｌｌ　６８：１４３，１９９２を参照されたい。

【０３２８】

発現ベクターの選択は、その中でベクターを発現させる意図される宿主細胞に依存する。発現ベクターは、典型的には、ＢＭＰ６結合性の抗体鎖の抗原結合性断片をコードするポリヌクレオチドに作動可能に連結されたプロモーターおよび他の調節配列（例えば、エンハンサー）を含有する。一実施形態では、誘導条件下を除き、挿入された配列の発現を防止するのに誘導的プロモーターが利用される。誘導的プロモーターは、例えば、アラビノース、ｌａｃＺ、メタロチオネインプロモーターまたは熱ショックプロモーターを含む。形質転換された生物の培養物は、それらの発現産物が宿主細胞により良好に許容されるコード配列の集団にバイアスをかけずに非誘導条件下で増殖させることができる。プロモーターに加えて、他の調節的エレメントも、ＢＭＰ６結合性の抗体鎖の抗原結合性断片の効率的な発現に要求または所望される可能性がある。これらのエレメントは、ＡＴＧ開始コドンおよび隣接のリボソーム結合性部位または他の配列を典型的に含む。加えて、発現の効率は、使用される細胞系に適するエンハンサーを組入れることにより増強することもできる（例えば、Ｓｃｈａｒｆ　ｅｔ　ａｌ．，Ｒｅｓｕｌｔｓ　Ｐｒｏｂｌ．Ｃｅｌｌ　Ｄｉｆｆｅｒ．２０：１２５，１９９４；およびＢｉｔｔｎｅｒ　ｅｔ　ａｌ．，Ｍｅｔｈ．Ｅｎｚｙｍｏｌ．，１５３：５１６，１９８７を参照されたい）。例えば、ＳＶ４０エンハンサーまたはＣＭＶエンハンサーを使用して哺乳動物宿主細胞内の発現を増大させることができる。

【０３２９】

発現ベクターはまた、挿入されたＢＭＰ６結合性抗体配列によりコードされるポリペプチドとの融合タンパク質を形成するように分泌シグナル配列の位置をもたらし得る。挿入されたＢＭＰ６結合性抗体配列は、ベクター内に組入れる前にシグナル配列に連結することが多い。ＢＭＰ６結合性抗体の軽鎖可変ドメインおよび重鎖可変ドメインをコードする配列を受容するのに使用されるベクターはまた、場合により定常領域またはそれらの一部もコードする。このようなベクターは、定常領域との融合タンパク質としての可変領域の発現を可能とし、これによりインタクトな抗体およびそれらの抗原結合性断片の作製をもたらす。このような定常領域は、典型的には、ヒト定常領域である。

【０３３０】

ＢＭＰ６結合性抗体鎖を保有し、これを発現させるための宿主細胞は、原核細胞の場合もあり、真核細胞の場合もある。大腸菌（Ｅ．ｃｏｌｉ）は、本発明のポリヌクレオチドをクローニングし、発現させるのに有用な１つの原核生物宿主である。使用に適する他の微生物宿主は、枯草菌（Ｂａｃｉｌｌｕｓ　ｓｕｂｔｉｌｉｓ）などの桿菌およびサルモネラ（Ｓａｌｍｏｎｅｌｌａ）属種、セラチア（Ｓｅｒｒａｔｉａ）属種ならびに多様なシュードモナス（Ｐｓｅｕｄｏｍｏｎａｓ）属種など、他の腸内細菌科を含む。これらの原核生物宿主内では、典型的に、宿主細胞と適合性の発現制御配列（例えば、複製起点）を含有する発現ベクターも作製することができる。加えて、ラクトースプロモーター系、トリプトファン（ｔｒｐ）プロモーター系、ベーターラクタマーゼプロモーター系またはファージラムダに由来するプロモーター系など、任意の数の様々な周知のプロモーターも存在する。プロモーターは、典型的には、任意選択でオペレーター配列により発現を制御するが、転写および翻訳を開始して終結させるためのリボソーム結合性部位配列なども有する。本発明のＢＭＰ６結合性ポリペプチドを発現させるのに酵母などの他の微生物も利用することができる。また、バキュロウイルスベクターと組合わせた昆虫細胞も使用することができる。

【０３３１】

一実施形態では、本発明のＢＭＰ６結合性ポリペプチドを発現させ、作製するのに哺乳動物宿主細胞を使用する。例えば、哺乳動物宿主細胞は、内因性免疫グロブリン遺伝子を発現させるハイブリドーマ細胞系（例えば、実施例で記載される１Ｄ６．Ｃ９骨髄腫ハイ

ブリドーマクローン）の場合もあり、外因性発現ベクターを保有する哺乳動物細胞系（例えば、下記で例示されるＳＰ２／０骨髄腫細胞）の場合もある。哺乳動物宿主細胞は、任意の正常非不死化動物細胞または正常不死化動物細胞もしくは非正常不死化動物細胞またはヒト細胞を含む。例えば、ＣＨＯ細胞系、多様なＣｏｓ細胞系、ＨｅＬａ細胞、骨髄腫細胞系、形質転換Ｂ細胞およびハイブリドーマを含む、インタクトな免疫グロブリンを分泌することが可能な多数の適切な宿主細胞系が開発されている。ポリペプチドを発現させるための哺乳動物組織細胞培養物の使用について、例えば、Ｗｉｎｎａｃｋｅｒ，ＦＲＯＭ ＧＥＮＥＳ ＴＯ ＣＬＯＮＥＳ，ＶＣＨ Ｐｕｂｌｉｓｈｅｒｓ，Ｎ．Ｙ．，Ｎ．Ｙ．，１９８７において一般に論じられている。哺乳動物宿主細胞のための発現ベクターは、複製起点、プロモーターおよびエンハンサーなどの発現制御配列（例えば、Ｑｕｅｅｎ ｅｔ ａｌ．，Ｉｍｍｕｎｏｌ．Ｒｅｖ．８９：４９－６８，１９８６を参照されたい）ならびにリボソーム結合性部位、ＲＮＡスプライス部位、ポリアデニル化部位および転写ターミネーター配列などの必要なプロセシング情報部位を含み得る。これらの発現ベクターは、通例、哺乳動物遺伝子に由来するプロモーターまたは哺乳動物ウイルスに由来するプロモーターを含有する。適切なプロモーターは、構成的プロモーター、細胞型特異的プロモーター、段階特異的プロモーターおよび／またはモジュレート可能プロモーターもしくは調節可能プロモーターであり得る。有用なプロモーターは、メタロチオネインプロモーター、構成的アデノウイルス主要後期プロモーター、デキサメタゾン誘導性ＭＭＴＶプロモーター、ＳＶ４０プロモーター、ＭＲＰ ｐｏｌＩＩＩプロモーター、構成的ＭＰＳＶプロモーター、テトラサイクリン誘導性ＣＭＶプロモーター（ヒト即初期ＣＭＶプロモーターなど）、構成的ＣＭＶプロモーターおよび当技術分野で公知のプロモーター－エンハンサーの組合せを含むが、これらに限定されない。

【０３３２】

目的のポリヌクレオチド配列を含有する発現ベクターを導入する方法は、細胞宿主の種類に応じて変化する。例えば、塩化カルシウムトランスフェクションが一般に原核細胞に活用されるのに対し、リン酸カルシウム処理または電気穿孔は、他の細胞宿主に使用することができる。（一般に、Ｓａｍｂｒｏｏｋ ｅｔ ａｌ．，前出を参照されたい）。他の方法は、例えば、電気穿孔、リン酸カルシウム処理、リポソーム媒介型形質転換、注射およびマイクロインジェクション、遺伝子銃法、ウィロソーム、イムノリポソーム、ポリカチオン：核酸コンジュゲート、ネイキッドＤＮＡ、人工ビリオン、ヘルペスウイルス構造タンパク質であるＶＰ２２との融合体（Ｅｌｌｉｏｔ ａｎｄ Ｏ’Ｈａｒｅ，Ｃｅｌｌ ８８：２２３，１９９７）、ＤＮＡの薬剤増強型取込みおよびエクスビボにおける形質導入を含む。組換えタンパク質の長期にわたる高収率作製のために安定的発現が所望されることが多い。例えば、ＢＭＰ６結合性抗体鎖または結合性断片を安定的に発現させる細胞系は、ウイルス複製起点または内因性発現エレメントおよび選択マーカー遺伝子を含有する本発明の発現ベクターを使用して調製することができる。ベクターを導入した後、細胞は、強化培地中で１～２日間にわたり成長させてから選択培地へ切り替えることができる。選択マーカーの目的は、選択に対する耐性を付与し、その存在により細胞の成長を可能とし、これにより、導入された配列を選択培地中で発現させることに成功することである。耐性で安定的にトランスフェクトされた細胞は、細胞型に適する組織培養法を使用して増殖させることができる。

【０３３３】

本発明のモノクローナル抗体の作製

モノクローナル抗体（ｍＡｂ）は、従来のモノクローナル抗体法、例えばＫｏｈｌｅｒ ａｎｄ Ｍｉｌｓｔｅｉｎ，１９７５ Ｎａｔｕｒｅ ２５６：４９５による標準的な体細胞ハイブリダイゼーション法を含む様々な技法により作製することができる。例えば、Ｂリンパ球のウイルス性形質転換または発がん性形質転換など、モノクローナル抗体を作製するための多くの技法を利用することができる。

【０３３４】

ハイブリドーマを調製するための動物系は、マウス系である。マウスにおけるハイブリ

ドーマの作製は、十分に確立された手順である。当技術分野では、融合体のための免疫化された脾臓細胞を単離するための免疫化プロトコールおよび免疫化法が公知である。融合パートナー（例えば、マウス骨髄腫細胞）および融合手順も公知である。

【０３３５】

本発明のキメラ抗体またはヒト化抗体およびそれらの抗原結合性断片は、上記で記載した通りに調製されたマウスモノクローナル抗体の配列に基づいて調製することができる。重鎖および軽鎖免疫グロブリンをコードするＤＮＡは、目的のマウスハイブリドーマから得、標準的な分子生物学の技法を使用して、非マウス（例えば、ヒト）免疫グロブリン配列を含有するように操作することができる。例えば、キメラ抗体を創出するには、当技術分野で公知の方法（例えば、Ｃａｂｉｌｌｙらによる米国特許第４，８１６，５６７号明細書を参照されたい）を使用してマウス可変領域をヒト定常領域に連結することができる。ヒト化抗体を創出するには、当技術分野で公知の方法を使用してマウスＣＤＲ領域をヒトフレームワークに挿入することができる。例えば、Ｗｉｎｔｅｒによる米国特許第５，２２５，５３９号明細書；ならびにＱｕｅｅｎらによる米国特許第５，５３０，１０１号明細書；同第５，５８５，０８９号明細書；同第５，６９３，７６２号明細書；および同第６１８０３７０号明細書を参照されたい。

【０３３６】

ある種の実施形態では、本発明の抗体は、ヒトモノクローナル抗体である。ＢＭＰ６を指向するこのようなヒトモノクローナル抗体は、マウスの系ではなく、ヒト免疫系の一部を保有するトランスジェニックマウスまたはトランスクロモソームマウスを使用して作り出すことができる。これらのトランスジェニックマウスおよびトランスクロモソームマウスは、本明細書では、それぞれＨｕＭＡｂマウスおよびＫＭマウスと称するマウスを含み、本明細書ではまとめて「ヒトＩｇマウス」と称する。

【０３３７】

ＨｕＭＡｂマウス（登録商標）（Ｍｅｄａｒｅｘ，Ｉｎｃ．）は、内因性ミュー鎖遺伝子座および内因性カッパ鎖遺伝子座を不活化する標的化突然変異と併せて、再配列されていないヒト重（ミューおよびガンマ）鎖免疫グロブリン配列およびカッパ軽鎖免疫グロブリン配列をコードするヒト免疫グロブリン遺伝子のミニ遺伝子座を含有する（例えば、Ｌｏｎｂｅｒｇ ｅｔ ａｌ．，１９９４ Ｎａｔｕｒｅ ３６８（６４７４）：８５６－８５９を参照されたい）。したがって、マウスは、マウスＩｇＭまたはＫの発現の低減を呈示し、免疫化に応答して、導入されたヒト重鎖および軽鎖トランス遺伝子は、クラススイッチングおよび体細胞突然変異を経て高アフィニティーのヒトＩｇＧ－カッパモノクローナル抗体を作り出す（Ｌｏｎｂｅｒｇ，Ｎ．ｅｔ ａｌ．，１９９４前出；Ｌｏｎｂｅｒｇ，Ｎ．，１９９４ Ｈａｎｄｂｏｏｋ ｏｆ Ｅｘｐｅｒｉｍｅｎｔａｌ Ｐｈａｒｍａｃｏｌｏｇｙ １１３：４９－１０１において総説される；Ｌｏｎｂｅｒｇ，Ｎ．ａｎｄ Ｈｕｓｚａｒ，Ｄ．，１９９５ Ｉｎｔｅｒｎ．Ｒｅｖ．Ｉｍｍｕｎｏｌ．１３：６５－９３；ならびにＨａｒｄｉｎｇ，Ｆ．ａｎｄ Ｌｏｎｂｅｒｇ，Ｎ．，１９９５ Ａｎｎ．Ｎ．Ｙ．Ａｃａｄ．Ｓｃｉ．７６４：５３６－５４６）。ＨｕＭＡｂマウスの調製および使用、ならびにこのようなマウスにより保有されるゲノムの修飾は、それらの全ての内容が参照により全体的に本明細書に具体的に組込まれるＴａｙｌｏｒ，Ｌ．ｅｔ ａｌ．，１９９２ Ｎｕｃｌｅｉｃ Ａｃｉｄｓ Ｒｅｓｅａｒｃｈ ２０：６２８７－６２９５；Ｃｈｅｎ，Ｊ．ｅｔ ａｌ．，１９９３ Ｉｎｔｅｒｎａｔｉｏｎａｌ Ｉｍｍｕｎｏｌｏｇｙ ５：６４７－６５６；Ｔｕａｉｌｌｏｎ ｅｔ ａｌ．，１９９３ Ｐｒｏｃ．Ｎａｔｌ．Ａｃａｄ．Ｓｃｉ．ＵＳＡ ９４：３７２０－３７２４；Ｃｈｏｉ ｅｔ ａｌ．，１９９３ Ｎａｔｕｒｅ Ｇｅｎｅｔｉｃｓ ４：１１７－１２３；Ｃｈｅｎ，Ｊ．ｅｔ ａｌ．，１９９３ ＥＭＢＯ Ｊ．１２：８２１－８３０；Ｔｕａｉｌｌｏｎ ｅｔ ａｌ．，１９９４ Ｊ．Ｉｍｍｕｎｏｌ．１５２：２９１２－２９２０；Ｔａｙｌｏｒ，Ｌ．ｅｔ ａｌ．，１９９４ Ｉｎｔｅｒｎａｔｉｏｎａｌ Ｉｍｍｕｎｏｌｏｇｙ ５７９－５９１；ならびにＦｉｓｈｗｉｌｄ，Ｄ．ｅｔ ａｌ．，１９９６ Ｎａｔｕｒｅ Ｂｉｏｔｅｃｈｎｏｌｏｇｙ １４：８４５－８５１においてさらに

記載されている。さらに、全てがＬｏｎｂｅｒｇおよびＫａｙによる米国特許第５，５４５，８０６号明細書；同第５，５６９，８２５号明細書；同第５，６２５，１２６号明細書；同第５，６３３，４２５号明細書；同第５，７８９，６５０号明細書；同第５，８７７，３９７号明細書；同第５，６６１，０１６号明細書；同第５，８１４，３１８号明細書；同第５，８７４，２９９号明細書；および同第５，７７０，４２９号明細書；Ｓｕｒａｎｉらによる米国特許第５，５４５，８０７号明細書；全てがＬｏｎｂｅｒｇおよびＫａｙによるＰＣＴ公開国際公開第９２１０３９１８号パンフレット、同９３／１２２２７号パンフレット、同９４／２５５８５号パンフレット、同９７１１３８５２号パンフレット、同９８／２４８８４号パンフレットおよび同９９／４５９６２号パンフレット；ならびにＫｏｒｍａｎらによるＰＣＴ公開国際公開第０１／１４４２４号パンフレットも参照されたい。

【０３３８】

別の実施形態では、本発明のヒト抗体は、ヒト重鎖トランス遺伝子およびヒト軽鎖トランスクロモソームを保有するマウスなど、トランス遺伝子上およびトランスクロモソーム上にヒト免疫グロブリン配列を保有するマウスを使用してもたらすことができる。本明細書で「ＫＭマウス」と称するこのようなマウスは、ＩｓｈｉｄａらによるＰＣＴ公開国際公開第０２／４３４７８号パンフレットにおいて詳細に記載されている。

【０３３９】

当技術分野では、なおさらにヒト免疫グロブリン遺伝子を発現させる代替的なトランスジェニック動物系も入手可能であり、本発明のＢＭＰ６結合性抗体およびそれらの抗原結合性断片をもたらすのに使用することができる。例えば、Ｘｅｎｏｍｏｕｓｅ（Ａｂｇｅｎｉｘ，Ｉｎｃ．）と称する代替的なトランスジェニック系を使用することができる。このようなマウスは、例えば、Ｋｕｃｈｅｒｌａｐａｔｉらによる米国特許第５，９３９，５９８号明細書；同第６，０７５，１８１号明細書；同第６，１１４，５９８号明細書；同第６，１５０，５８４号明細書；および同第６，１６２，９６３号明細書において記載されている。

【０３４０】

当技術分野では、さらにヒト免疫グロブリン遺伝子を発現させる代替的なトランスクロモソーム動物系も入手可能であり、本発明のＢＭＰ６結合性抗体をもたらすのに使用することができる。例えば、「ＴＣマウス」と称する、ヒト重鎖トランスクロモソームおよびヒト軽鎖トランスクロモソームの両方を保有するマウスを使用することができるが、このようなマウスは、Ｔｏｍｉｚｕｋａ ｅｔ ａｌ．，２０００ Ｐｒｏｃ．Ｎａｔｌ．Ａｃａｄ．Ｓｃｉ．ＵＳＡ ９７：７２２－７２７において記載されている。当技術分野では、さらにヒト重鎖および軽鎖トランスクロモソームを保有するウシも記載されており（Ｋｕｒｏｉｗａ ｅｔ ａｌ．，２００２ Ｎａｔｕｒｅ Ｂｉｏｔｅｃｈｎｏｌｏｇｙ ２０：８８９－８９４）、本発明のＢＭＰ６結合性抗体をもたらすのに使用することができる。

【０３４１】

本発明のヒトモノクローナル抗体は、ヒト免疫グロブリン遺伝子のライブラリーをスクリーニングするためのファージディスプレイ法を使用して調製することもできる。当技術分野では、ヒト抗体を単離するためのこのようなファージディスプレイ法が確立されているか、または下記の実施例で記載する。例えば、Ｌａｄｎｅｒらによる米国特許第５，２２３，４０９号明細書；同第５，４０３，４８４号明細書；および同第５，５７１，６９８号明細書；Ｄｏｗｅｒらによる米国特許第５，４２７，９０８号明細書；および同第５，５８０，７１７号明細書；ＭｃＣａｆｆｅｒｔｙらによる米国特許第５，９６９，１０８号明細書；および同第６，１７２，１９７号明細書；ならびにＧｒｉｆｆｉｔｈｓらによる米国特許第５，８８５，７９３号明細書；同第６，５２１，４０４号明細書；同第６，５４４，７３１号明細書；同第６，５５５，３１３号明細書；同第６，５８２，９１５号明細書；および同第６，５９３，０８１号明細書を参照されたい。

【０３４２】

本発明のヒトモノクローナル抗体は、免疫化するとヒト抗体応答を作り出し得るようにヒト免疫細胞を再構成したＳＣＩＤマウスを使用して調製することもできる。このようなマウスは、例えば、Ｗｉｌｓｏｎらによる米国特許第５，４７６，９９６号明細書；および同第５，６９８，７６７号明細書において記載されている。

【０３４３】

フレームワークまたはＦｃの操作

本発明の操作抗体およびそれらの抗原結合性断片は、例えば、抗体の特性を改善するように、ＶＨ内および／またはＶＬ内のフレームワーク残基に修飾が施された抗体およびそれらの抗原結合性断片を含む。このようなフレームワーク修飾は、典型的には、抗体の免疫原性を低下させるように施す。例えば、１つの手法は、１つまたは複数のフレームワーク残基を対応する生殖細胞系列配列へ「復帰突然変異させる」ことである。より具体的には、体細胞突然変異を経た抗体は、抗体が由来する生殖細胞系列配列と異なるフレームワーク残基を含有し得る。このような残基は、抗体フレームワーク配列を、抗体が由来する生殖細胞系列配列と比較することにより同定することができる。フレームワーク領域配列をそれらの生殖細胞系列の立体配置へ戻すには、例えば部位特異的突然変異誘発により、体細胞突然変異を生殖細胞系列配列へ「復帰突然変異させる」ことができる。このような「復帰突然変異させた」抗体も本発明により包含されることを意図する。

【０３４４】

フレームワーク修飾の別の種類は、１つもしくは複数のフレームワーク領域内の残基なおまたは１つもしくは複数のＣＤＲ領域内の残基を突然変異させてＴ細胞エピトープを除去して、これにより抗体の潜在的な免疫原性を低減することを伴う。この手法は、「脱免疫化」とも称され、Ｃａｒｒらによる米国特許出願公開第２００３０１５３０４３号明細書においてさらに詳細に記載されている。

【０３４５】

フレームワーク内またはＣＤＲ領域内に施された修飾に加えてまたはその代わりに、本発明の抗体は、Ｆｃ領域内の修飾を含んで、典型的に、血清半減期、補体の結合、Ｆｃ受容体の結合および／または抗原依存性細胞性細胞傷害など、抗体の１つまたは複数の機能的特性を改変するように操作することもできる。さらに、本発明の抗体は、化学的に修飾することもでき（例えば、１つまたは複数の化学的部分を抗体に付着することができる）、そのグリコシル化を改変して、ここでもまた抗体の１つまたは複数の機能的特性を改変するように修飾することもできる。これらの実施形態の各々について下記でさらに詳細に記載する。Ｆｃ領域内の残基の番号付けは、ＫａｂａｔによるＥＵインデックスである。

【０３４６】

一実施形態では、ヒンジ領域内のシステイン残基の数を改変する、例えば増大または減少させるようにＣＨ１のヒンジ領域を修飾する。この手法は、Ｂｏｄｍｅｒらによる米国特許第５，６７７，４２５号明細書においてさらに記載されている。ＣＨ１のヒンジ領域内のシステイン残基の数は、例えば、軽鎖および重鎖のアセンブリーを容易にするか、または抗体の安定性を増大もしくは低下させるように改変する。

【０３４７】

別の実施形態では、抗体のＦｃヒンジ領域を突然変異させて抗体の生物学的半減期を短縮する。より具体的には、抗体のブドウ球菌属プロテインＡ（ＳｐＡ）への結合が天然Ｆｃ－ヒンジドメインのＳｐＡへの結合と比べて損なわれるように、１つまたは複数のアミノ酸突然変異をＦｃ－ヒンジ断片のＣＨ２ドメイン－ＣＨ３ドメイン間界面領域へ導入する。この手法は、Ｗａｒｄらによる米国特許第６，１６５，７４５号明細書においてさらに詳細に記載されている。

【０３４８】

別の実施形態では、抗体は、その生物学的半減期を延長するように修飾する。多様な手法が可能である。例えば、以下の突然変異：米国特許第６，２７７，３７５号明細書において記載されているＴ２５２Ｌ、Ｔ２５４Ｓ、Ｔ２５６Ｆの１つまたは複数をＷａｒｄに導入することができる。代わりに、生物学的半減期を延長するために、抗体を、Ｐｒｅｓ

ｔａらによる米国特許第５，８６９，０４６号明細書；および同第６，１２１，０２２号明細書において記載されているＩｇＧのＦｃ領域のＣＨ２ドメインの２つのループから採取されたサルベージ受容体結合性エピトープを含有するようにＣＨ１領域内またはＣＬ領域内で改変することもできる。

【０３４９】

一実施形態では、少なくとも１つのアミノ酸残基を、抗体のエフェクター機能を改変する異なるアミノ酸残基で置き換えることによりＦｃ領域を改変する。例えば、抗体がエフェクターリガンドに対するアフィニティーを改変しているが、親抗体の抗原結合能を保持するように、１つまたは複数のアミノ酸を異なるアミノ酸残基で置き換えることができる。それに対するアフィニティーを改変するエフェクターリガンドは、例えば、Ｆｃ受容体または補体のＣ１成分であり得る。この手法は、両方ともＷｉｎｔｅｒらによる米国特許第５，６２４，８２１号明細書；および同第５，６４８，２６０号明細書においてさらに詳細に記載されている。

【０３５０】

別の実施形態では、抗体がＣ１ｑへの結合を改変し、かつ／または補体依存性細胞傷害作用（ＣＤＣ）を低減もしくは消失させるように、アミノ酸残基から選択される１つまたは複数のアミノ酸を異なるアミノ酸残基で置き換えることができる。この手法は、Ｉｄｕｓｏｇｉｅらによる米国特許第６，１９４，５５１号明細書においてさらに詳細に記載されている。

【０３５１】

別の実施形態では、１つまたは複数のアミノ酸残基を改変して、これにより補体を固定する抗体の能力を改変する。この手法は、Ｂｏｄｍｅｒらによる国際公開第９４／２９３５１号パンフレットにおいてさらに記載されている。

【０３５２】

さらに別の実施形態では、１つまたは複数のアミノ酸を修飾することにより、抗体依存性細胞性細胞傷害（ＡＤＣＣ）を媒介する抗体の能力を増大させ、かつ／またはＦｃ－ガンマ受容体に対する抗体のアフィニティーを増大させるようにＦｃ領域を修飾する。この手法は、Ｐｒｅｓｔａによる国際公開第００／４２０７２号パンフレットにおいてさらに記載されている。さらに、ヒトＩｇＧ１上のＦｃ－ガンマＲＩ、Ｆｃ－ガンマＲＩＩ、Ｆｃ－ガンマＲＩＩＩおよびＦｃＲｎに対する結合性部位もマップされており、結合を改善させた変異体も記載されている（Ｓｈｉｅｌｄｓ，Ｒ．Ｌ．ｅｔ　ａｌ．，２００１　Ｊ．Ｂｉｏｌ．Ｃｈｅｎ．２７６：６５９１－６６０４を参照されたい）。

【０３５３】

さらに別の実施形態では、抗体のグリコシル化を修飾する。例えば、脱グリコシル化抗体（すなわち抗体がグリコシル化を欠く）を作製することができる。グリコシル化は、例えば、「抗原」に対する抗体のアフィニティーを増大させるように改変することができる。このような炭水化物修飾は、例えば、抗体配列内の１つまたは複数のグリコシル化部位を改変することにより達成することができる。例えば、１つまたは複数の可変領域フレームワークグリコシル化部位の消失を結果としてもたらす１つまたは複数のアミノ酸置換を作製して、これにより、その部位におけるグリコシル化を消失させることができる。このような脱グリコシル化により、抗原に対する抗体のアフィニティーを増大させることができる。このような手法は、Ｃｏらによる米国特許第５，７１４，３５０号明細書；および同第６，３５０，８６１号明細書においてさらに詳細に記載されている。

【０３５４】

さらにまたは代わりに、フコシル残基の量を低減した低フコシル化抗体または二分枝型ＧｌｃＮａｃ構造を増大させた抗体など、グリコシル化の種類を改変した抗体を作製することもできる。このようなグリコシル化パターンの改変は、抗体のＡＤＣＣ能を増大させることが裏付けられている。このような炭水化物修飾は、例えば、グリコシル化機構を改変した宿主細胞内で抗体を発現させることにより達成することができる。当技術分野では、グリコシル化機構を改変した細胞が記載されており、本発明の組換え抗体を発現させ、

これにより、グリコシル化を改変した抗体を産生するための宿主細胞として使用することができる。例えば、Ｈａｎｇらによる欧州特許第１，１７６，１９５号明細書は、このような細胞系内で発現させた抗体が、低フコシル化を呈示するように、フコシルトランスフェラーゼをコードするＦＵＴ８遺伝子を機能的に破壊した細胞系について記載している。Ｐｒｅｓｔａによる国際公開第０３／０３５８３５号パンフレットは、フコースをＡｓｎ（２９７）連結された炭水化物に付着する能力を低減し、またその宿主細胞内で発現させた抗体の低フコシル化も結果としてもたらす変異体のＣＨＯ細胞系であるＬｅｃＩ３細胞について記載している（また、Ｓｈｉｅｌｄｓ，Ｒ．Ｌ．ｅｔ　ａｌ．，２００２　Ｊ．Ｂｉｏｌ．Ｃｈｅｍ．２７７：２６７３３－２６７４０も参照されたい）。Ｕｍａｎａらによる国際公開第９９／５４３４２号パンフレットは、操作細胞系内で発現させた抗体が、抗体のＡＤＣＣ活性の増大を結果としてもたらす二分枝型ＧｌｃＮａｃ構造の増大を呈示するように、糖タンパク質を修飾するグリコシルトランスフェラーゼ（例えば、ベータ（１，４）－－ＮアセチルグルコサミニルトランスフェラーゼＩＩＩ（ＧｎＴＩＩＩ））を発現させるように操作された細胞系について記載している（また、Ｕｍａｎａ　ｅｔ　ａｌ．，１９９９　Ｎａｔ．Ｂｉｏｔｅｃｈ．１７：１７６－１８０も参照されたい）。

【０３５５】

改変抗体を操作する方法

上記で論じた通り、本明細書で示されるＶＨ配列およびＶＬ配列または全長重鎖および全長軽鎖配列を有するＢＭＰ６結合性抗体は、全長重鎖配列および／もしくは全長軽鎖配列、ＶＨ配列および／もしくはＶＬ配列またはこれらに付着された定常領域を修飾することにより、新たなＢＭＰ６結合性抗体を創出するのに使用することができる。したがって、本発明の別の態様では、本発明のＢＭＰ６結合性抗体の構造的特徴を使用して、構造的に類縁のＢＭＰ６結合性抗体であって、ヒトＢＭＰ６に結合し、またＢＭＰ６の１つまたは複数の機能的特性も阻害すること（例えば、溶血アッセイにおいて赤血球溶解を阻害する）など、本発明の抗体およびそれらの抗原結合性断片の少なくとも１つの機能的特性を保持するＢＭＰ６結合性抗体を創出する。

【０３５６】

例えば、本発明の抗体およびそれらの抗原結合性断片の１つもしくは複数のＣＤＲ領域またはそれらの突然変異を公知のフレームワーク領域および／または他のＣＤＲと組換えにより組合わせて、上記で論じた通り、さらなる組換えにより操作された本発明のＢＭＰ６結合性抗体およびそれらの抗原結合性断片を創出することができる。他の種類の修飾は、前出の節で記載した修飾を含む。操作法のための出発材料は、本明細書で提示されるＶＨ配列および／もしくはＶＬ配列の１つもしくは複数またはそれらの１つもしくは複数のＣＤＲ領域である。操作抗体を創出するのに、本明細書で提示されるＶＨ配列および／もしくはＶＬ配列の１つもしくは複数またはそれらの１つもしくは複数のＣＤＲ領域を有する抗体を実際に調製する（すなわちタンパク質として発現させる）ことは必要でない。むしろ、配列内に含有される情報を、元の配列に由来する「第２世代の」配列を創出するための出発材料として使用し、次いで「第２世代の」配列をタンパク質として調製し、発現させる。

【０３５７】

改変抗体配列は、ＣＤＲ３配列、または米国特許出願公開第２００５０２５５５５２号明細書において記載されている、最小限の不可欠な結合決定基を固定し、ＣＤＲ１配列およびＣＤＲ２配列に多様性を持たせた抗体ライブラリーをスクリーニングすることによっても調製することができる。スクリーニングは、ファージディスプレイ技術など、抗体を抗体ライブラリーからスクリーニングするのに適切な任意のスクリーニング技術に従って実施することができる。

【０３５８】

標準的な分子生物学の技法を使用して改変抗体配列を調製し、発現させることができる。改変抗体配列によりコードされる抗体は、本明細書に記載されるＢＭＰ６結合性抗体の機能的特性であって、ヒトＢＭＰ６タンパク質に特異的に結合することを含むが、これら

に限定されない機能的特性の１つ、一部または全部を保持する抗体であり、溶血アッセイにおいて赤血球溶解を阻害する。

【０３５９】

改変抗体の機能的特性は、実施例において示されるアッセイ（例えば、ＥＬＩＳＡ）など、当技術分野において利用可能であり、かつ／または本明細書に記載される標準的なアッセイを使用して評価することができる。

【０３６０】

本発明の抗体およびそれらの抗原結合性断片を操作する方法についての一実施形態では、突然変異を、ＢＭＰ６結合性抗体をコードする配列の全部または一部に沿ってランダムにまたは選択的に導入することができ、結果として得られる修飾ＢＭＰ６結合性抗体を、本明細書に記載される結合活性および／または他の機能的特性についてスクリーニングすることができる。当技術分野では、突然変異法が記載されている。例えば、Ｓｈｏｒｔによる国際公開第０２／０９２７８０号パンフレットは、飽和突然変異誘発、合成ライゲーションアセンブリーまたはこれらの組合せを使用して抗体の突然変異を創出し、スクリーニングする方法について記載している。代わりに、Ｌａｚａｒらによる国際公開第０３／０７４６７９号パンフレットは、コンピュータによるスクリーニング法を使用して抗体の生理化学的特性を最適化する方法について記載している。

【０３６１】

本発明の抗体の特徴付け

本発明の抗体およびそれらの抗原結合性断片は、多様な機能的アッセイにより特徴付けることができる。例えば、それらは、ＢＭＰ６を阻害するそれらの能力により特徴付けることができる。

【０３６２】

ＢＭＰ６に結合する抗体の能力は、目的の抗体を標識することにより、直接的に検出することもでき、抗体を標識せずに、当技術分野で公知の多様なサンドイッチアッセイフォーマットを使用して結合を間接的に検出することもできる。

【０３６３】

一実施形態では、本発明のＢＭＰ６結合性抗体およびそれらの抗原結合性断片は、基準ＢＭＰ６結合性抗体のＢＭＰ６ポリペプチドへの結合を遮断するかまたはそれと競合する。これらは、上記で記載した完全ヒトＢＭＰ６結合性抗体であり得る。それらは、基準抗体と同じエピトープに結合する他のマウスＢＭＰ６結合性抗体、キメラＢＭＰ６結合性抗体またはヒト化ＢＭＰ６結合性抗体でもあり得る。基準抗体の結合を遮断するかまたはそれと競合する能力は、被験下のＢＭＰ６結合性抗体が、基準抗体により規定されるエピトープと同じであるかもしくは類似のエピトープまたは基準ＢＭＰ６結合性抗体が結合するエピトープと十分に近位のエピトープに結合することを示す。このような抗体は、とりわけ、基準抗体について同定される有利な特性を共有する可能性が高い。基準抗体を遮断するかまたはそれと競合する能力は、例えば、競合的結合アッセイにより決定することができる。競合的結合アッセイでは、被験下の抗体を、基準抗体の、ＢＭＰ６ポリペプチドなどの共通の抗原への特異的結合を阻害する能力について検討する。過剰量の被験抗体が基準抗体の結合を実質的に阻害する場合、被験抗体は、抗原への特異的結合について基準抗体と競合する。実質的な阻害は、被験抗体が基準抗体の特異的結合を、通例、少なくとも１０％、２５％、５０％、７５％または９０％低減することを意味する。

【０３６４】

抗体の特定のタンパク質、この場合にはＢＭＰ６への結合についての基準抗体との競合について評価するのに使用し得る多数の公知の競合的結合アッセイが存在する。これらは、例えば、直接的固相イムノアッセイまたは間接的ラジオイムノアッセイ（ＲＩＡ）、直接的固相イムノアッセイまたは間接的固相イムノアッセイ（ＥＩＡ）、サンドイッチ競合アッセイ（Ｓｔａｈｌｉ ｅｔ ａｌ．，Ｍｅｔｈｏｄｓ ｉｎ Ｅｎｚｙｍｏｌｏｇｙ ９：２４２－２５３，１９８３を参照されたい）；直接的固相ビオチン－アビジンＥＩＡ（Ｋｉｒｋｌａｎｄ ｅｔ ａｌ．，Ｊ．Ｉｍｍｕｎｏｌ．１３７：３６１４－３６１

９，１９８６を参照されたい）；直接的固相標識アッセイ、直接的固相標識サンドイッチアッセイ（Ｈａｒｌｏｗ＆Ｌａｎｅ、前出を参照されたい）；Ｉ－１２５標識を使用する直接的固相標識ＲＩＡ（Ｍｏｒｅｌ　ｅｔ　ａｌ．，Ｍｏｌｅｃ．Ｉｍｍｕｎｏｌ．２５：７－１５，１９８８を参照されたい）；直接的固相ビオチン－アビジンＥＩＡ（Ｃｈｅｕｎｇ　ｅｔ　ａｌ．，Ｖｉｒｏｌｏｇｙ　１７６：５４６－５５２，１９９０）；および直接的標識ＲＩＡ（Ｍｏｌｄｅｎｈａｕｅｒ　ｅｔ　ａｌ．，Ｓｃａｎｄ．Ｊ．Ｉｍｍｕｎｏｌ．３２：７７－８２，１９９０）を含む。このようなアッセイは、典型的には、非標識化被験ＢＭＰ６結合性抗体および標識化基準抗体のいずれかを保有する固体表面または細胞に結合させた精製抗原の使用を伴う。競合的阻害は、被験抗体の存在下において、固体表面または細胞に結合した標識の量を決定することにより測定する。通例、被験抗体は、過剰に存在する。競合アッセイ（競合抗体）により同定される抗体は、基準抗体と同じエピトープに結合する抗体と、基準抗体が結合するエピトープと、立体障害が生じる程度に十分に近位の隣接エピトープに結合する抗体とを含む。

【０３６５】

選択されたＢＭＰ６結合性モノクローナル抗体が固有のエピトープに結合するかどうかを決定するために、市販の試薬（例えば、Ｐｉｅｒｃｅ、Ｒｏｃｋｆｏｒｄ、Ｉｌｌ製の試薬）を使用して各抗体をビオチニル化することができる。非標識化モノクローナル抗体およびビオチニル化モノクローナル抗体を使用する競合研究は、ＢＭＰ６ポリペプチドでコーティングしたＥＬＩＳＡプレートを使用して実施することができる。ビオチニル化ＭＡｂの結合は、ストレプトアビジン－アルカリホスファターゼプローブにより検出することができる。精製ＢＭＰ６結合抗体のアイソタイプを決定するためにアイソタイプＥＬＩＳＡを実施することができる。例えば、マイクロ滴定プレートのウェルを４℃で一晩、１□ｇ／ｍｌの抗ヒトＩｇＧによりコーティングすることができる。１％のＢＳＡによるブロッキング後、プレートを１□ｇ／ｍｌ以下のＢＭＰ６結合性モノクローナル抗体または精製アイソタイプ対照と雰囲気温度で１～２時間にわたり反応させる。次いで、ウェルをヒトＩｇＧ１またはヒトＩｇＭ特異的アルカリホスファターゼコンジュゲートプローブと反応させることができる。次いで、精製抗体のアイソタイプを決定し得るようにプレートを現像および解析する。

【０３６６】

ＢＭＰ６結合性モノクローナル抗体の、ＢＭＰ６ポリペプチドを発現する生細胞への結合を裏付けるためにフローサイトメトリーを使用することができる。略述すると、ＢＭＰ６を発現する細胞株（標準的な成長条件下で成長させた）を、０．１％のＢＳＡおよび１０％のウシ胎仔血清を含有するＰＢＳ中に多様な濃度のＢＭＰ６結合性抗体と共に混合し、３７℃で１時間にわたりインキュベートすることができる。洗浄後、細胞を一次抗体染色と同じ条件下でフルオレセイン標識化抗ヒトＩｇＧ抗体と反応させる。試料は、単一の細胞にゲートをかけるように光特性および側方散乱特性を使用するＦＡＣＳｃａｎ装置により解析することができる。蛍光顕微鏡法を使用する代替的なアッセイをフローサイトメトリーアッセイ（それに加えてまたはその代わりに）使用することができる。細胞は、上記で記載した通りに正確に染色し、蛍光顕微鏡法により検討することができる。この方法は、個々の細胞の視覚化を可能とするが、抗原の密度に応じて感度が低下する場合がある。

【０３６７】

本発明のＢＭＰ６結合性抗体およびそれらの抗原結合性断片は、ウェスタンブロット法により、ＢＭＰ６ポリペプチドまたはＢＭＰ６抗原性断片との反応性についてさらに調べることができる。略述すると、精製ＢＭＰ６ポリペプチドもしくは融合タンパク質またはＢＭＰ６を発現する細胞に由来する細胞抽出物を調製し、ドデシル硫酸ナトリウムポリアクリルアミドゲル電気泳動にかけることができる。電気泳動後、分離された抗原をニトロセルロース膜へ移し、１０％のウシ胎仔血清でブロッキングし、被験モノクローナル抗体でプローブする。抗ヒトＩｇＧアルカリホスファターゼを使用してヒトＩｇＧ結合を検出し、ＢＣＩＰ／ＮＢＴ基質タブレット（Ｓｉｇｍａ　Ｃｈｅｍ．Ｃｏ．、Ｓｔ．Ｌｏｕｉ

ｓ、Ｍｏ．）で現像することができる。

【０３６８】

機能的アッセイの例は、下記の実施例節でも記載する。

【０３６９】

予防的使用および治療的使用

本発明は、有効量の本発明の抗体およびそれらの抗原結合性断片を、それを必要とする対象に投与することにより、ＢＭＰ６活性の増大と関連する疾患または障害を処置する方法を提供する。具体的な実施形態では、本発明は、有効量の本発明の抗体およびそれらの抗原結合性断片を、それを必要とする対象に投与することにより、貧血を処置する方法を提供する。

【０３７０】

本発明の抗体およびそれらの抗原結合性断片を使用して、とりわけ貧血の進行を防止することができる。本発明の抗体およびそれらの抗原結合性断片は、貧血患者の処置のための他の療法と組合わせて使用することもできる。

【０３７１】

一実施形態では、本発明は、有効量の本発明の抗体およびそれらの抗原結合性断片を、それを必要とする対象に投与することにより、ＢＭＰ６関連疾患またはＢＭＰ６関連障害を処置する方法を提供する。公知のＢＭＰ６関連疾患またはＢＭＰ６関連障害の例は、非限定的な例として、慢性疾患性貧血（ＡＣＤ）、慢性腎疾患（ＣＫＤ）性（例えば、ＣＫＤと関連する）貧血、がん性貧血、炎症性貧血、赤血球生成刺激剤（ＥＳＡ）抵抗性貧血（例えば、エリスロポエチン（ＥＰＯ）抵抗性貧血）、ＥＳＡ低応答性貧血（例えば、ＥＰＯ低応答性貧血）、機能的鉄欠損性貧血および／または鉄欠乏性貧血を含む貧血を含む。

【０３７２】

具体的な実施形態では、本発明は、有効量の本発明の抗体およびそれらの抗原結合性断片を、それを必要とする対象に投与することにより、ＢＭＰ６関連疾患またはＢＭＰ６関連障害を処置する方法であって、前記疾患または障害は、貧血である、方法を提供する。一実施形態では、貧血は、慢性疾患性貧血である。一実施形態では、慢性疾患は、慢性腎疾患である。一実施形態では、慢性疾患は、がんである。一実施形態では、慢性疾患は、炎症である。一実施形態では、貧血（例えば、慢性疾患性貧血）は、ＥＳＡ（例えば、ＥＰＯ）抵抗性貧血である。一実施形態では、貧血（例えば、慢性疾患性貧血）は、ＥＳＡ（例えば、ＥＰＯ）低応答性貧血である。一実施形態では、貧血（例えば、慢性疾患性貧血）は、鉄欠乏性貧血である。上記の実施形態のいずれかを含む複数の実施形態では、対象は、慢性血液透析（ＨＤ）対象である。上記の実施形態のいずれかを含む複数の実施形態では、対象は、腎疾患、例えば末期腎疾患を有する。

【０３７３】

具体的な実施形態では、本発明は、有効量の本発明の抗体およびそれらの抗原結合性断片を、それを必要とする対象に投与することにより、ＢＭＰ６関連疾患またはＢＭＰ６関連障害を処置する方法であって、前記疾患または障害は、機能的鉄欠損性貧血である、方法を提供する。一実施形態では、対象は、ＥＳＡ（例えば、ＥＰＯ）で処置されている慢性血液透析患者である。一実施形態では、対象は、慢性腎疾患を伴う、ＥＳＡ（例えば、ＥＰＯ）で処置されている慢性血液透析患者である。

【０３７４】

具体的な実施形態では、本発明は、有効量の本発明の抗体を含む組成物を、それを必要とする対象に投与することにより、貧血を処置する方法を提供する。具体的な実施形態では、本発明は、有効量の本発明の抗体を含む組成物を、それを必要とする対象に投与することにより、貧血を処置する方法を提供する。一実施形態では、貧血は、慢性腎疾患性貧血である。一実施形態では、貧血は、ＥＳＡ（例えば、ＥＰＯ）抵抗性貧血である。一実施形態では、貧血は、ＥＳＡ（例えば、ＥＰＯ）低応答性貧血である。一実施形態では、貧血は、鉄欠乏性貧血である。一実施形態では、貧血は、腎疾患、例えば慢性腎疾患と関

連する貧血である。上記の実施形態のいずれかを含む複数の実施形態では、対象は、慢性血液透析（ＨＤ）対象である。上記の実施形態のいずれかを含む複数の実施形態では、対象は、腎疾患、例えば末期腎疾患を有する。

【０３７５】

具体的な実施形態では、本発明は、有効量の本発明の抗体を含む組成物を、それを必要とする対象投与することにより、ＢＭＰ６関連疾患またはＢＭＰ６関連障害を処置する方法であって、前記疾患または障害は、機能的鉄欠損性貧血である、方法を提供する。一実施形態では、対象は、ＥＳＡ（例えば、ＥＰＯ）で処置されている慢性血液透析患者である。一実施形態では、対象は、慢性腎疾患を伴う、ＥＳＡ（例えば、ＥＰＯ）で処置されている慢性血液透析患者である。

【０３７６】

具体的な実施形態では、本発明は、貧血を処置する方法を提供する。

【０３７７】

具体的な実施形態では、本発明は、有効量の本発明の抗体またはその抗原結合性断片を、それを必要とする対象に投与することにより、対象のＥＳＡ（例えば、ＥＰＯ）の投与の必要を低減する方法を提供する。一実施形態では、貧血は、慢性疾患性貧血である。一実施形態では、慢性疾患は、慢性腎疾患である。一実施形態では、慢性疾患は、がんである。一実施形態では、慢性疾患は、炎症である。一実施形態では、貧血（例えば、慢性疾患性貧血）は、ＥＳＡ（例えば、ＥＰＯ）抵抗性貧血である。一実施形態では、貧血（例えば、慢性疾患性貧血）は、ＥＳＡ（例えば、ＥＰＯ）低応答性貧血である。一実施形態では、貧血（例えば、慢性疾患性貧血）は、鉄欠乏性貧血である。上記の実施形態のいずれかを含む複数の実施形態では、対象は、慢性血液透析（ＨＤ）対象である。上記の実施形態のいずれかを含む複数の実施形態では、対象は、腎疾患、例えば末期腎疾患を有する。

【０３７８】

複数の実施形態では、本発明の方法および使用は、患者のＥＳＡ抵抗性指数（ＥＲＩ）の低下をもたらす。

【０３７９】

具体的な実施形態では、本発明は、有効量の本発明の抗体またはその抗原結合性断片を、それを必要とする対象に投与することにより、対象のＥＳＡ（例えば、ＥＰＯ）の投与の必要を低減する方法であって、前記対象は、機能的鉄欠損性貧血を有する、方法を提供する。一実施形態では、対象は、ＥＳＡ（例えば、ＥＰＯ）で処置されている慢性血液透析患者である。一実施形態では、対象は、慢性腎疾患を伴う、ＥＳＡ（例えば、ＥＰＯ）で処置されている慢性血液透析患者である。

【０３８０】

具体的な実施形態では、本発明は、有効量の本発明の抗体を含む組成物を、それを必要とする対象に投与することにより、対象のＥＳＡ（例えば、ＥＰＯ）の投与の必要を低減する方法を提供する。一実施形態では、対象は、貧血を有する。一実施形態では、貧血は、慢性疾患性貧血である。一実施形態では、慢性疾患は、慢性腎疾患である。一実施形態では、慢性疾患は、がんである。一実施形態では、慢性疾患は、炎症である。一実施形態では、貧血（例えば、慢性疾患性貧血）は、ＥＳＡ（例えば、ＥＰＯ）抵抗性貧血である。一実施形態では、貧血（例えば、慢性疾患性貧血）は、ＥＳＡ（例えば、ＥＰＯ）低応答性貧血である。一実施形態では、貧血（例えば、慢性疾患性貧血）は、鉄欠乏性貧血である。上記の実施形態のいずれかを含む複数の実施形態では、対象は、慢性血液透析（ＨＤ）対象である。上記の実施形態のいずれかを含む複数の実施形態では、対象は、腎疾患、例えば末期腎疾患を有する。

【０３８１】

具体的な実施形態では、本発明は、有効量の本発明の抗体を含む組成物を、それを必要とする対象に投与することにより、対象のＥＳＡ（例えば、ＥＰＯ）の投与の必要を低減する方法であって、前記対象は、機能的鉄欠損性貧血を有する、方法を提供する。一実施

形態では、対象は、ＥＳＡ（例えば、ＥＰＯ）で処置されている慢性血液透析患者である。一実施形態では、対象は、慢性腎疾患を伴う、ＥＳＡ（例えば、ＥＰＯ）で処置されている慢性血液透析患者である。

【０３８２】

具体的な実施形態では、本発明は、有効量の本発明の抗体およびそれらの抗原結合性断片を、それを必要とする対象に投与することにより、対象の鉄（例えば、ＩＶ鉄）必要投与量を低減する方法を提供する。一実施形態では、対象は、貧血を有する。一実施形態では、貧血は、慢性疾患性貧血である。一実施形態では、慢性疾患は、慢性腎疾患である。一実施形態では、慢性疾患は、がんである。一実施形態では、慢性疾患は、炎症である。一実施形態では、貧血（例えば、慢性疾患性貧血）は、ＥＳＡ（例えば、ＥＰＯ）抵抗性貧血である。一実施形態では、貧血（例えば、慢性疾患性貧血）は、ＥＳＡ（例えば、ＥＰＯ）低応答性貧血である。一実施形態では、貧血（例えば、慢性疾患性貧血）は、鉄欠乏性貧血である。上記の実施形態のいずれかを含む複数の実施形態では、対象は、慢性血液透析（ＨＤ）対象である。上記の実施形態のいずれかを含む複数の実施形態では、対象は、腎疾患、例えば末期腎疾患を有する。

【０３８３】

具体的な実施形態では、本発明は、有効量の本発明の抗体およびそれらの抗原結合性断片を、それを必要とする対象に投与することにより、対象の鉄（例えば、ＩＶ鉄）必要投与量を低減する方法であって、前記対象は、機能的鉄欠損性貧血を有する、方法を提供する。一実施形態では、対象は、ＥＳＡ（例えば、ＥＰＯ）で処置されている慢性血液透析患者である。一実施形態では、対象は、慢性腎疾患を伴う、ＥＳＡ（例えば、ＥＰＯ）で処置されている慢性血液透析患者である。

【０３８４】

具体的な実施形態では、本発明は、有効量の本発明の抗体を含む組成物を、それを必要とする対象に投与することにより、対象の鉄（例えば、ＩＶ鉄）必要投与量を低減する方法を提供する。一実施形態では、対象は、貧血を有する。一実施形態では、貧血は、慢性疾患性貧血である。一実施形態では、慢性疾患は、慢性腎疾患である。一実施形態では、慢性疾患は、がんである。一実施形態では、慢性疾患は、炎症である。一実施形態では、貧血（例えば、慢性疾患性貧血）は、ＥＳＡ（例えば、ＥＰＯ）抵抗性貧血である。一実施形態では、貧血（例えば、慢性疾患性貧血）は、ＥＳＡ（例えば、ＥＰＯ）低応答性貧血である。一実施形態では、貧血（例えば、慢性疾患性貧血）は、鉄欠乏性貧血である。上記の実施形態のいずれかを含む複数の実施形態では、対象は、慢性血液透析（ＨＤ）対象である。上記の実施形態のいずれかを含む複数の実施形態では、対象は、腎疾患、例えば末期腎疾患を有する。

【０３８５】

具体的な実施形態では、本発明は、有効量の本発明の抗体を含む組成物を、それを必要とする対象に投与することにより、対象の鉄（例えば、ＩＶ鉄）必要投与量を低減する方法であって、前記対象は、機能的鉄欠損性貧血を有する、方法を提供する。一実施形態では、対象は、ＥＳＡ（例えば、ＥＰＯ）で処置されている慢性血液透析患者である。一実施形態では、対象は、慢性腎疾患を伴う、ＥＳＡ（例えば、ＥＰＯ）で処置されている慢性血液透析患者である。

【０３８６】

具体的な実施形態では、本発明は、対象の鉄（例えば、ＩＶ鉄）必要投与量を低減し、対象のＥＳＡ（例えば、ＥＰＯ）の投与の必要を低減する方法であって、本発明の抗体もしくは抗原結合性断片または前記抗体もしくは抗原結合性断片を含む組成物を投与するステップを含む方法を提供する。一実施形態では、貧血は、慢性疾患性貧血である。一実施形態では、慢性疾患は、慢性腎疾患である。一実施形態では、慢性疾患は、がんである。一実施形態では、対象は、貧血を有する。一実施形態では、慢性疾患は、炎症である。一実施形態では、貧血（例えば、慢性疾患性貧血）は、ＥＳＡ（例えば、ＥＰＯ）抵抗性貧血である。一実施形態では、貧血（例えば、慢性疾患性貧血）は、ＥＳＡ（例えば、ＥＰ

Ｏ）低応答性貧血である。一実施形態では、貧血（例えば、慢性疾患性貧血）は、鉄欠乏性貧血である。上記の実施形態のいずれかを含む複数の実施形態では、対象は、慢性血液透析（ＨＤ）対象である。上記の実施形態のいずれかを含む複数の実施形態では、対象は、腎疾患、例えば末期腎疾患を有する。

【０３８７】

一実施形態では、本発明は、有効量の本発明の抗体およびそれらの抗原結合性断片を、それを必要とする対象に投与することにより、隔離された鉄を移動させる方法を提供する。

【０３８８】

一実施形態では、本発明は、有効量の本発明の抗体を含む組成物を、それを必要とする対象に投与することにより、隔離された鉄を移動させる方法を提供する。

【０３８９】

一実施形態では、本発明は、エリスロポエチンおよび／または鉄（例えば、ＩＶ鉄）の投与に対する必要を軽減しながら、貧血を伴う対象におけるヘモグロビンのレベルを改善する（例えば、上昇させる）方法であって、本発明の抗体またはその抗原結合性断片を、それを必要とする対象に投与するステップを含む方法を提供する。一実施形態では、貧血は、慢性疾患に関連する貧血である。一実施形態では、ヘモグロビンのレベルの改善は、その内容が全体的に本明細書に組込まれる臨床実務ガイドライン、例えばＫｉｄｎｅｙ Ｄｉｓｅａｓｅ：Ｉｍｐｒｏｖｉｎｇ Ｇｌｏｂａｌ Ｏｕｔｃｏｍｅｓ（ＫＤＩＧＯ）Ａｎｅｍｉａ Ｗｏｒｋ Ｇｒｏｕｐ．ＫＤＩＧＯ Ｃｌｉｎｉｃａｌ Ｐｒａｃｔｉｃｅ Ｇｕｉｄｅｌｉｎｅ ｆｏｒ Ａｎｅｍｉａ ｉｎ Ｃｈｒｏｎｉｃ Ｋｉｄｎｅｙ Ｄｉｓｅａｓｅ．Ｋｉｄｎｅｙ ｉｎｔｅｒ．，Ｓｕｐｐｌ．２０１２；２：２７９－３３５により指定されるレベルへのレベルの改善を含む。一実施形態では、ヘモグロビンのレベルの改善は、ヘモグロビンのレベルの少なくとも約１１．０ｇ／ｄＬ、例えば約１１．０ｇ／ｄＬ～約１２．５ｇ／ｄＬへの改善を含む。一実施形態では、ヘモグロビンのレベルの改善は、ヘモグロビンのレベルの少なくとも１１．０ｇ／ｄＬ、例えば１１．０ｇ／ｄＬ～１２．５ｇ／ｄＬへの改善を含む。

【０３９０】

一実施形態では、本発明は、エリスロポエチンおよび／または鉄（例えば、ＩＶ鉄）の投与に対する必要を低減しながら、貧血を伴う対象におけるヘモグロビンのレベルを改善する（例えば、上昇させる）方法であって、本発明の抗体を含む組成物を、それを必要とする対象に投与するステップを含む方法を提供する。一実施形態では、貧血は、慢性疾患に関連する貧血である。一実施形態では、ヘモグロビンのレベルの改善は、その内容が全体的に本明細書に組込まれる臨床実務ガイドライン、例えばＫｉｄｎｅｙ Ｄｉｓｅａｓｅ：Ｉｍｐｒｏｖｉｎｇ Ｇｌｏｂａｌ Ｏｕｔｃｏｍｅｓ（ＫＤＩＧＯ）Ａｎｅｍｉａ Ｗｏｒｋ Ｇｒｏｕｐ．ＫＤＩＧＯ Ｃｌｉｎｉｃａｌ Ｐｒａｃｔｉｃｅ Ｇｕｉｄｅｌｉｎｅ ｆｏｒ Ａｎｅｍｉａ ｉｎ Ｃｈｒｏｎｉｃ Ｋｉｄｎｅｙ Ｄｉｓｅａｓｅ．Ｋｉｄｎｅｙ ｉｎｔｅｒ．，Ｓｕｐｐｌ．２０１２；２：２７９－３３５により指定されるレベルへのレベルの改善を含む。一実施形態では、ヘモグロビンのレベルの改善は、ヘモグロビンのレベルの少なくとも約１１．０ｇ／ｄＬ、例えば約１１．０ｇ／ｄＬ～約１２．５ｇ／ｄＬへの改善を含む。一実施形態では、ヘモグロビンのレベルの改善は、ヘモグロビンのレベルの少なくとも１１．０ｇ／ｄＬ、例えば１１．０ｇ／ｄＬ～１２．５ｇ／ｄＬへの改善を含む。

【０３９１】

一実施形態では、本発明は、エリスロポエチンおよび／または鉄（例えば、ＩＶ鉄）の投与に対する必要を低減しながら、貧血を伴う対象におけるヘモグロビンのレベルを維持する方法であって、本発明の抗体またはその抗原結合性断片を、それを必要とする対象に投与するステップを含む方法を提供する。一実施形態では、貧血は、慢性疾患に関連する貧血である。一実施形態では、ヘモグロビンのレベルの改善は、その内容が全体的に本明細書に組込まれる臨床実務ガイドライン、例えばＫｉｄｎｅｙ Ｄｉｓｅａｓｅ：Ｉｍｐ

roving Global Outcomes（KDIGO）Anemia Work Group. KDIGO Clinical Practice Guideline for Anemia in Chronic Kidney Disease. Kidney inter., Suppl. 2012；2：279－335により指定されるレベルへのレベルの改善を含む。一実施形態では、ヘモグロビンのレベルの改善は、ヘモグロビンのレベルの少なくとも約11.0g／dL、例えば約11.0g／dL～約12.5g／dLへの改善を含む。一実施形態では、ヘモグロビンのレベルの改善は、ヘモグロビンのレベルの少なくとも11.0g／dL、例えば11.0g／dL～12.5g／dLへの改善を含む。

【0392】

一実施形態では、本発明は、エリスロポエチンおよび／または鉄（例えば、IV鉄）の投与に対する必要を低減しながら、貧血を伴う対象におけるヘモグロビンのレベルを維持する方法であって、本発明の抗体を含む組成物を、それを必要とする対象に投与するステップを含む方法を提供する。一実施形態では、貧血は、慢性疾患に関連する貧血である。一実施形態では、ヘモグロビンのレベルの改善は、その内容が全体的に本明細書に組込まれる臨床実務ガイドライン、例えばKidney Disease：Improving Global Outcomes（KDIGO）Anemia Work Group. KDIGO Clinical Practice Guideline for Anemia in Chronic Kidney Disease. Kidney inter., Suppl. 2012；2：279－335により指定されるレベルへのレベルの改善を含む。一実施形態では、ヘモグロビンのレベルの改善は、ヘモグロビンのレベルの少なくとも約11.0g／dL、例えば約11.0g／dL～約12.5g／dLへの改善を含む。一実施形態では、ヘモグロビンのレベルの改善は、ヘモグロビンのレベルの少なくとも11.0g／dL、例えば11.0g／dL～12.5g／dLへの改善を含む。

【0393】

一実施形態では、表1および／または表14に記載される単離抗体またはその抗原結合性断片を、それを必要とする患者に、本明細書に記載されているかまたは当技術分野で公知の治療法または手順などの治療法または手順と共に投与することができる。このような方法または手順は、非限定的な例として、治療有効量のESA（例えば、EPO）、エリスロポエチンまたは鉄の投与および輸血を含む。処置は、典型的には、1週間、1カ月間、3カ月間、6カ月間または1年間にわたり、ある間隔で継続する。一部の患者では、処置を最長で患者の余命にわたり投与する。

【0394】

本発明の治療剤を別の薬剤と併せて投与する場合、2つをいずれかの順序で逐次的に投与することもでき、同時に投与することもできる。一部の態様では、本発明の抗体を、第2の薬剤または方法（例えば、ESA、エリスロポエチン、鉄、輸血）による治療も施される対象に投与する。他の態様では、結合性分子を手術による処置と共に投与する。

【0395】

BMP6結合性抗体による組合せ処置に適する薬剤は、当技術分野で公知の薬剤であって、BMP6の発現、レベル、安定性および／または活性を阻害するかまたは低減する薬剤を含む。このような薬剤は、BMP6に対する抗体、siRNAおよび低分子を含む。

【0396】

当技術分野では、BMP6に対する多様な抗体であって、とりわけAndriopoulos et al. 2009 Nat. Genet. 41：482－487；Arndt et al. 2010 Gastroent. 138：372－382；Bames et al. 1995 World J. Urol. 13：337－343；Camaschella et al. 2009 Nat. Genet. 41：386－388；Celement et al. 1999 Int. J. Cancer 80：250－256；Corradini et al. 2011 Hepatol. 54：273－

284；Crews et al. 2010 J. Neuro. 30：12252－12262；Dai et al. 2005 Cancer Res. 65：8274；Darby et al. 2007 J. Pathol. 214：394－404；Hadziahmetovic et al. 2011 179：335－348；Hamdy et al. 1997 Cancer Res. 57：4427；Haudenschild et al. 2004 Cancer Res. 64：8276；Hee et al. 2008 J. Orth. Res. 27：162－168；Herrera et al. 2009 BMC Cell Biol. 10：20；Inagaki et al. 2005 Endocrin. 147：2681－2689；Jung et al. 2008 Stem Cells 26：2042－2051；Kaiser et al. 1998 J. Invest. Derm. 111：1145－1152；Kautz et al. 2011 Haematol. 96：199－203；Khalaf et al. 2012 Eur. J. Endocrin. 168：437－444；Kochanowska et al. 2002 Exp. Biol. Med. 227：57－62；Li et al. 2006 Int. J. Med. Sci. 3：97－105；Meynard et al. 2011 Blood 118：747－756；Pederson et al. 2008 Proc. Natl. Acad. Sci. USA 105：20764－69；Plant et al. 2002 J. Bone Min. Res. 17：782－790；Schluesener et al. 1994 Atheroscl. 113：153－156；Schluesener et al. 2004 GLIA 12：161－164；Shi et al. 2009 Fert. Steril. 92：1794－1798；Varley et al. 1996 Exp. Neur. 140：84－94；Wang et al. 2007 Mol. Cell. Neurosci. 34：653－661；およびZhang et al. 2006 Neurosci. 138：47－53；米国特許第8，795，665号明細書；ならびに国際公開第2010／056981号パンフレットにおいて記載されている抗体を含む抗体が公知である。当技術分野では、BMP6に対するさらなる抗体も公知であり、多くが市販されている。

【0397】

当技術分野では、BMP6に対する多様なsiRNAであって、とりわけHe et al. 2003 Cell. Signal. 25：1372－1378；Ikeda et al. 2012 PLoS 0040465；Kautz et al. 2008 Blood 112：1503；Mi et al. 2011 J. Cancer Res. Clin. Oncol. 137：245；Xia et al. 2007 J. Biol. Chem. 282：18129－18140；Xia et al. 2008 Blood 111：5195；およびYang et al. 2009 Int. J. Bioch. Cell Biol. 41：853－861において記載されているsiRNAを含むsiRNAが公知である。

【0398】

BMP6のさらなる阻害剤も公知である。これらのいずれかを、本明細書で開示される任意の抗体またはその抗原結合性断片と組合わせて使用することができる。

【0399】

組合せ療法レジメンは、相加的結果をもたらす場合もあり、相乗結果（例えば、BMP6活性の低減であって、2つの薬剤の組合せ使用について予測される低減を超える低減）をもたらす場合もある。一実施形態では、本発明は、貧血または上記で記載した別のBMP6関連疾患を、本発明のBMP6結合性抗体と、ESA、エリスロポエチン、鉄または輸血などの抗貧血剤または方法とにより阻止および／または処置するための組合せ療法を提供する。

【0400】

診断的使用

一態様では、本発明は、生物学的試料（例えば、血液、血清、細胞、組織）に関連して、ＢＭＰ６および／または核酸発現ならびにＢＭＰ６機能を決定するための診断アッセイ、あるいは個体が貧血と関連する疾患もしくは障害に罹患しているかどうか、または貧血と関連する障害を発症する危険性があるかどうかを決定するための診断アッセイを包含する。

【０４０１】

競合アッセイなどの診断アッセイは、共通の結合パートナー上の限定的な数の結合部位について被験試料解析物と競合する標識化類似体（「トレーサー」）の能力に依拠する。一般に、結合パートナーを競合前または後に不溶化させ、次いで結合パートナーに結合したトレーサーおよび解析物を、結合しなかったトレーサーおよび解析物から分離する。この分離は、デカントすること（結合パートナーをあらかじめ不溶化させた場合）または遠心分離すること（結合パートナーを競合反応後に沈殿させた場合）により達せられる。被験試料解析物の量は、マーカー物質の量により測定される結合したトレーサーの量に反比例する。被験試料中に存在する解析物の量を定量的に決定するために、既知量の解析物による用量反応曲線を調製し、試験結果と比較する。酵素を検出可能マーカーとして使用する場合、これらのアッセイをＥＬＩＳＡ系と呼ぶ。この形態のアッセイでは、抗体とＢＭＰ６結合性抗体との競合的結合は、血清試料中の抗体、最も特に血清試料中の中和抗体についての尺度である結合したＢＭＰ６、好ましくは結合した本発明のＢＭＰ６エピトープを結果としてもたらす。

【０４０２】

アッセイの著明な利点は、測定を中和抗体（すなわちＢＭＰ６、具体的にはエピトープの結合に干渉するもの）について直接行うことである。特に、ＥＬＩＳＡ試験の形態におけるこのようなアッセイは、臨床環境およびルーチンの血液スクリーニングにおいて無視できない適用を有する。

【０４０３】

貧血と関連する障害を伴う患者についての臨床診断またはモニタリングでは、正常対象に由来する対応する生物学的試料中のレベルと比較したＢＭＰ６タンパク質の検出は、貧血と関連する障害を伴う患者を示す。

【０４０４】

インビボにおける診断法またはイメージングは、米国特許出願公開第２００６／００６７９３５号明細書において記載されている。略述すると、これらの方法は、一般に、検出可能なマーカーまたは標識へ作動可能に接合させた診断的有効量のＢＭＰ６結合性分子を非侵襲的方法により患者に投与または導入するステップを含む。抗体－マーカーコンジュゲートに局在化し、ＢＭＰ６に結合するのに十分な時間を与える。次いで、患者を検出デバイスへ曝露して検出可能マーカーを同定し、これにより患者の組織内のＢＭＰ６結合性分子の画像を形成する。ＢＭＰ６結合性抗体またはその抗原結合性断片の存在は、抗体－マーカーが組織の構成要素に結合するかどうかを決定することにより検出する。貧血を伴わない正常個体と比較したＢＭＰ６タンパク質またはタンパク質の組合せのレベルの上昇の検出は、貧血と関連する障害に対する素因および／またはこれらの発症を示す。本発明のこれらの態様は、組織イメージング法および診断法と処置法との組合せにおける使用のための態様でもある。

【０４０５】

本発明は、診断アッセイ、予後診断アッセイ、薬理遺伝学および臨床試験のモニタリングを予後診断（予測）の目的で使用して、これにより個体を予防的に処置する予測医学の分野にも関する。

【０４０６】

本発明は、個体が、ＢＭＰ６経路活性の調節異常と関連する障害を発症する危険性があるかどうかを決定するための予後診断（または予測）アッセイも提供する。例えば、ＢＭＰ６遺伝子内の突然変異について生物学的試料中でアッセイすることができる。このようなアッセイを予後診断または予測の目的で使用して、これによりＢＭＰ６、核酸の発現ま

たは活性を特徴とするか、またはこれらと関連する障害が発症する前に個体を予防的に処置することができる。

【０４０７】

本発明の別の態様は、個体におけるＢＭＰ６核酸の発現またはＢＭＰ６の活性を決定し、これによりその個体に適切な治療剤または予防剤を選択する方法（本明細書では「薬理遺伝学」と称する）を提供する。薬理遺伝学は、個体の遺伝子型（例えば、特定の薬剤に応答する個体の能力を決定するのに検討される個体の遺伝子型）に基づく個体の治療的処置または予防的処置のための薬剤（例えば、薬物）の選択を可能とする。

【０４０８】

本発明のさらに別の態様は、薬剤（例えば、薬物）のＢＭＰ６の発現または活性に対する影響を臨床試験においてモニタリングする方法を提供する。

【０４０９】

医薬組成物

本発明は、薬学的に許容される担体と併せて製剤化されたＢＭＰ６結合性抗体またはその結合性断片を含む医薬組成物を提供する。組成物は、ＢＭＰ６関連疾患（例えば、貧血）の処置または防止に適する１つまたは複数の他の治療剤もさらに含有し得る。薬学的な担体は、組成物を増強するかもしくは安定化させるか、または組成物の調製を容易にする。薬学的に許容される担体は、生理学的に適合性の溶媒、分散媒、コーティング、抗菌剤および抗真菌剤、等張剤および吸収遅延剤などを含む。

【０４１０】

本発明の医薬組成物は、当技術分野で公知の様々な方法により投与することができる。投与経路および／または投与方式は、所望される結果に応じて変化する。投与は、静脈内投与、筋内投与、腹腔内投与もしくは皮下投与であるか、または標的部位に近接して投与することができる。薬学的に許容される担体は、静脈内投与、筋内投与、皮下投与、非経口投与、脊髄投与または表皮投与（例えば、注射または注入による）に適するものとする。投与経路に応じて、活性化合物、すなわち二特異性分子および多特異性分子である抗体は、化合物を、化合物を不活化し得る酸および他の天然の状態の作用から保護する材料でコーティングすることができる。

【０４１１】

組成物は、滅菌でありかつ流体であるものとする。適正な流体性は、例えば、レシチンなどのコーティングを使用することにより維持することができ、分散液の場合、要求される粒子サイズを維持し、界面活性剤を使用することにより維持することができる。多くの場合、組成物中に等張剤、例えば糖、マンニトールまたはソルビトールなどの多価アルコールおよび塩化ナトリウムを含むことが好ましい。注射用組成物の長時間吸収は、吸収を遅延させる薬剤、例えばモノステアリン酸アルミニウムまたはゼラチンを組成物中に組入れることによりもたらすことができる。

【０４１２】

本発明の医薬組成物は、当技術分野において周知であり、日常的に実施されている方法に従って調製することができる。例えば、Ｒｅｍｉｎｇｔｏｎ：Ｔｈｅ Ｓｃｉｅｎｃｅ ａｎｄ Ｐｒａｃｔｉｃｅ ｏｆ Ｐｈａｒｍａｃｙ，Ｍａｃｋ Ｐｕｂｌｉｓｈｉｎｇ Ｃｏ．，２０ｔｈ ｅｄ．，２０００；およびＳｕｓｔａｉｎｅｄ ａｎｄ Ｃｏｎｔｒｏｌｌｅｄ Ｒｅｌｅａｓｅ Ｄｒｕｇ Ｄｅｌｉｖｅｒｙ Ｓｙｓｔｅｍｓ，Ｊ．Ｒ．Ｒｏｂｉｎｓｏｎ ｅｄ．，Ｍａｒｃｅｌ Ｄｅｋｋｅｒ，Ｉｎｃ．，Ｎｅｗ Ｙｏｒｋ，１９７８を参照されたい。医薬組成物は、ＧＭＰ条件下で製造することが好ましい。典型的には、本発明の医薬組成物中では、ＢＭＰ６結合性抗体の治療的に有効な用量または治療的に効果的な用量が利用される。ＢＭＰ６結合性抗体は、当業者に公知の従来の方法により、薬学的に許容される剤形へ製剤化する。投与レジメンは、所望される最適応答（例えば、治療的応答）をもたらすように調整する。例えば、単一のボーラスを投与することもでき、複数に分割された用量をある期間にわたり投与することもでき、治療状況の要件により示されるのに応じて用量を比例的に低減するかまたは増大させることもでき

る。投与の容易さおよび投与量の均一性のために、非経口組成物を投与量単位形態で製剤化することがとりわけ有利である。本明細書で使用される投与量単位形態は、処置される対象のための単位投与量として適する物理的に個別の単位を指す。各単位は、要求される医薬担体との関連で、所望の治療効果をもたらすように計算された所定量の活性化合物を含有する。

【０４１３】

本発明の医薬組成物中の有効成分の実際の投与量レベルは、患者に毒性とならずに、特定の患者、組成物および投与方式に所望される治療的応答を達成するのに有効な量の有効成分を得るように変化させることができる。選択される投与量レベルは、利用される本発明の特定の組成物またはそれらのエステル、塩もしくはアミドの活性、投与経路、投与時期、利用される特定の化合物の排出速度、処置の持続期間、利用される特定の組成物と組合わせて使用される他の薬物、化合物および／または材料、処置される患者の年齢、性別、体重、状態、全般的健康および医療既往歴などの因子を含む様々な薬物動態因子に依存する。

【０４１４】

医師または獣医師は、医薬組成物中で利用される本発明の抗体およびそれらの抗原結合性断片の投与を、所望の治療効果を達成するのに要求されるレベル未満のレベルで開始し、所望の効果が達成されるまで投与量を漸増させることができる。一般に、本明細書に記載されるアレルギー性の炎症性障害を処置するために有効な本発明の組成物の用量は、投与手段、標的部位、患者の生理学的状態、患者がヒトであるか動物であるか、または投与される他の薬物および処置が予防的であるか治療的であるかを含む、多くの異なる因子に応じて変化する。処置投与量は、安全性および有効性を最適化するように滴定することが必要である。抗体の全身投与では、投与量は、宿主の体重１ｋｇ当たり約０．０００１～１００ｍｇの範囲であり、より通例では宿主の体重１ｋｇ当たり０．００１～１５ｍｇの範囲である。例示的な処置レジメンは、１回あるいは投与スケジュール（例えば、反復投与）で２回以上、例えば２週間ごとに１回、３週間ごとに１回もしくは毎月１回または３～６カ月ごとに１回の全身投与（例えば、静脈内または皮下）を伴う。抗体の硝子体内投与では、投与量は、約０．０００１ｍｇ～約１０ｍｇの範囲である。例示的な処置レジメンは、２週間ごとに１回、３週間ごとに１回もしくは毎月１回または３～６カ月ごとに１回の全身投与を伴う。

【０４１５】

抗体は、通例、複数回投与する。単回の投与間の間隔は、毎週、毎月または毎年であり得る。間隔は、患者におけるＢＭＰ６結合性抗体の血中レベルを測定することにより示される通り不規則でもあり得る。全身投与のいくつかの方法では、投与量は、抗体の血漿中濃度１～１０００□ｇ／ｍｌを達成するように調整し、いくつかの方法では２５～５００□ｇ／ｍｌを達成するように調整する。代わりに、抗体は、持続放出製剤として投与することもでき、この場合、低頻度の投与が要求される。投与量および頻度は、患者における抗体の半減期に応じて変化する。一般に、ヒト化抗体は、キメラ抗体および非ヒト抗体の半減期より長い半減期を示す。投与量および投与頻度は、処置が予防的であるかまたは治療的であるかに応じて変化し得る。予防的適用では、比較的低い投与量を比較的低い頻度の間隔で長期にわたり投与する。一部の患者には患者の余生にわたり処置を施し続ける。治療的適用では、場合により、比較的高い投与量が、疾患の進行が軽減されるか終結するまで比較的短い間隔で要求され、好ましくは患者が疾患の症状の部分的または完全な改善を示すまで要求される。その後、患者には予防的レジメンを投与することができる。

【０４１６】

具体的な実施形態では、本発明の抗体または抗原結合性断片を含む組成物を０．００１ｍｇ／ｋｇ～０．１ｍｇ／ｋｇの用量（抗体またはその抗原結合性断片）で投与する。具体的な実施形態では、本発明の抗体または抗原結合性断片を含む組成物を約０．００１ｍｇ／ｋｇ～約０．１ｍｇ／ｋｇの用量で投与する。具体的な実施形態では、本発明の抗体または抗原結合性断片を含む組成物を０．００１ｍｇ／ｋｇ、０．００１６ｍｇ／ｋｇ、

０．００２５ｍｇ／ｋｇ、０．００４０ｍｇ／ｋｇ、０．００６３ｍｇ／ｋｇ、０．０１ｍｇ／ｋｇ、０．０１６ｍｇ／ｋｇ、０．０２５ｍｇ／ｋｇ、０．０４０ｍｇ／ｋｇ、０．０６３ｍｇ／ｋｇまたは０．１ｍｇ／ｋｇの用量で投与する。具体的な実施形態では、本発明の抗体または抗原結合性断片を含む組成物を約０．００１ｍｇ／ｋｇ、約０．００１６ｍｇ／ｋｇ、約０．００２５ｍｇ／ｋｇ、約０．００４０ｍｇ／ｋｇ、約０．００６３ｍｇ／ｋｇ、約０．０１ｍｇ／ｋｇ、約０．０１６ｍｇ／ｋｇ、約０．０２５ｍｇ／ｋｇ、約０．０４０ｍｇ／ｋｇ、約０．０６３ｍｇ／ｋｇまたは約０．１ｍｇ／ｋｇの用量で投与する。一実施形態では、本発明の抗体または抗原結合性断片を含む組成物を、例えば上記で列挙した用量のいずれかを含む用量で静脈内投与する。複数の実施形態では、静脈内投与は、静脈内注入である。複数の実施形態では、注入を３０～６０分間にわたり行う。複数の実施形態では、注入を約３０～６０分間にわたり行う。

【０４１７】

フェリチンのレベル

開示された方法は、生物学的試料（例えば、血液または血清）からのフェリチンのレベルの決定を含み得、複数の実施形態では、患者（例えば、本明細書に記載される疾患、例えば貧血を有する患者）は、ＢＭＰ６アンタゴニストによる処置のために選択される（例えば、本明細書に記載されるもの、例えばＢＭＰ６抗体、例えば抗体７、例えば表１に記載されるもの）か、またはフェリチンのレベルに基づくＢＭＰ６アンタゴニスト治療に対して応答を有すると予測される。

【０４１８】

複数の実施形態では、フェリチンのレベル、例えばＢＭＰ６による処置に対する応答（例えば、応答の増大）を予測するフェリチンのレベルは、約１５００ｎｇ／ｍＬ以下である。複数の実施形態では、フェリチンのレベル、例えばＢＭＰ６による処置に対する応答（例えば、応答の増大）を予測するフェリチンのレベルは、１５００ｎｇ／ｍＬ以下である。複数の実施形態では、フェリチンのレベルは、１５００ｎｇ／ｍＬ未満である。複数の実施形態では、フェリチンのレベルは、約２０００ｎｇ／ｍＬ以下である。複数の実施形態では、フェリチンのレベルは、２０００ｎｇ／ｍＬ以下である。複数の実施形態では、フェリチンのレベルは、約２０００ｎｇ／ｍＬ未満である。

【０４１９】

複数の実施形態では、フェリチンのレベル、例えばＢＭＰ６による処置に対する応答（例えば、応答の増大）を予測するフェリチンのレベルは、約１４５０ｎｇ／ｍＬ以下、例えば約１４００ｎｇ／ｍＬ以下、約１３５０ｎｇ／ｍＬ以下、約１３００ｎｇ／ｍＬ以下、約１２５０ｎｇ／ｍＬ以下、約１２００ｎｇ／ｍＬ以下、約１１５０ｎｇ／ｍＬ以下、約１１００ｎｇ／ｍＬ以下、約１０５０ｎｇ／ｍＬ以下または約１０００ｎｇ／ｍＬ以下などである。

【０４２０】

複数の実施形態では、フェリチンのレベル、例えばＢＭＰ６による処置に対する応答（例えば、応答の増大）を予測するフェリチンのレベルは、約２００ｎｇ／ｍＬ以上、例えば約２５０ｎｇ／ｍＬ以上、約３００ｎｇ／ｍＬ以上、約３５０ｎｇ／ｍＬ以上、約４００ｎｇ／ｍＬ以上、約４５０ｎｇ／ｍＬ以上、約５００ｎｇ／ｍＬ以上、約５５０ｎｇ／ｍＬ以上、約６００ｎｇ／ｍＬ以上、約６５０ｎｇ／ｍＬ以上、約７００ｎｇ／ｍＬ以上、約７５０ｎｇ／ｍＬ以上、約８００ｎｇ／ｍＬ以上、約８５０ｎｇ／ｍＬ以上、約９００ｎｇ／ｍＬ以上、約９５０ｎｇ／ｍＬ以上、約１０００ｎｇ／ｍＬ以上または約１５００ｎｇ／ｍＬ以上などである。複数の実施形態では、フェリチンのレベルは、上記で列挙したレベルのいずれかと約２０００ｎｇ／ｍＬとの間である。

【０４２１】

複数の実施形態では、フェリチンのレベル、例えばＢＭＰ６による処置に対する応答（例えば、応答の増大）を予測するフェリチンのレベルは、約５００ｎｇ／ｍＬ以上、約５５０ｎｇ／ｍＬ以上、約６００ｎｇ／ｍＬ以上、約６５０ｎｇ／ｍＬ以上、約７００ｎｇ／ｍＬ以上、約７５０ｎｇ／ｍＬ以上、約８００ｎｇ／ｍＬ以上、約８５０ｎｇ／ｍＬ以

上、約９００ｎｇ／ｍＬ以上、約９５０ｎｇ／ｍＬ以上、約１０００ｎｇ／ｍＬ以上または約１５００ｎｇ／ｍＬ以上などである。複数の実施形態では、フェリチンのレベルは、上記で列挙したレベルのいずれかと約２０００ｎｇ／ｍＬとの間である。

【０４２２】

複数の実施形態では、フェリチンのレベル、例えばＢＭＰ６による処置に対する応答（例えば、応答の増大）を予測するフェリチンのレベルは、約５００ｎｇ／ｍＬ以上である。複数の実施形態では、フェリチンのレベルは、約５００ｎｇ／ｍＬ～約２０００ｎｇ／ｍＬである。複数の実施形態では、フェリチンのレベルは、約５００ｎｇ／ｍＬ～約１０００ｎｇ／ｍＬである。複数の実施形態では、フェリチンのレベルは、約５００ｎｇ／ｍＬ～約１５００ｎｇ／ｍＬである。

【０４２３】

複数の実施形態では、フェリチンのレベル、例えばＢＭＰ６による処置に対する応答（例えば、応答の増大）を予測するフェリチンのレベルは、約２００ｎｇ／ｍＬ～約１５００ｎｇ／ｍＬである。複数の実施形態では、フェリチンのレベル、例えばＢＭＰ６による処置に対する応答（例えば、応答の増大）を予測するフェリチンのレベルは、約３００ｎｇ／ｍＬ～約１５００ｎｇ／ｍＬである。複数の実施形態では、フェリチンのレベル、例えばＢＭＰ６による処置に対する応答（例えば、応答の増大）を予測するフェリチンのレベルは、約４００ｎｇ／ｍＬ～約１５００ｎｇ／ｍＬである。複数の実施形態では、フェリチンのレベル、例えばＢＭＰ６による処置に対する応答（例えば、応答の増大）を予測するフェリチンのレベルは、約５００ｎｇ／ｍＬ～約１５００ｎｇ／ｍＬである。複数の実施形態では、フェリチンのレベル、例えばＢＭＰ６による処置に対する応答（例えば、応答の増大）を予測するフェリチンのレベルは、約６００ｎｇ／ｍＬ～約１５００ｎｇ／ｍＬである。複数の実施形態では、フェリチンのレベル、例えばＢＭＰ６による処置に対する応答（例えば、応答の増大）を予測するフェリチンのレベルは、約７００ｎｇ／ｍＬ～約１５００ｎｇ／ｍＬである。複数の実施形態では、フェリチンのレベル、例えばＢＭＰ６による処置に対する応答（例えば、応答の増大）を予測するフェリチンのレベルは、約８００ｎｇ／ｍＬ～約１５００ｎｇ／ｍＬである。複数の実施形態では、フェリチンのレベル、例えばＢＭＰ６による処置に対する応答（例えば、応答の増大）を予測するフェリチンのレベルは、約９００ｎｇ／ｍＬ～約１５００ｎｇ／ｍＬである。複数の実施形態では、フェリチンのレベル、例えばＢＭＰ６による処置に対する応答（例えば、応答の増大）を予測するフェリチンのレベルは、約１０００ｎｇ／ｍＬ～約１５００ｎｇ／ｍＬである。複数の実施形態では、フェリチンのレベル、例えばＢＭＰ６による処置に対する応答（例えば、応答の増大）を予測するフェリチンのレベルは、約１１００ｎｇ／ｍＬ～約１５００ｎｇ／ｍＬである。複数の実施形態では、フェリチンのレベル、例えばＢＭＰ６による処置に対する応答（例えば、応答の増大）を予測するフェリチンのレベルは、約１２００ｎｇ／ｍＬ～約１５００ｎｇ／ｍＬである。複数の実施形態では、フェリチンのレベル、例えばＢＭＰ６による処置に対する応答（例えば、応答の増大）を予測するフェリチンのレベルは、約１３００ｎｇ／ｍＬ～約１５００ｎｇ／ｍＬである。複数の実施形態では、フェリチンのレベル、例えばＢＭＰ６による処置に対する応答（例えば、応答の増大）を予測するフェリチンのレベルは、約１４００ｎｇ／ｍＬ～約１５００ｎｇ／ｍＬである。

【０４２４】

複数の実施形態では、フェリチンのレベル、例えばＢＭＰ６による処置に対する応答（例えば、応答の増大）を予測するフェリチンのレベルは、約２００ｎｇ／ｍＬ～約１６００ｎｇ／ｍＬである。複数の実施形態では、フェリチンのレベル、例えばＢＭＰ６による処置に対する応答（例えば、応答の増大）を予測するフェリチンのレベルは、約３００ｎｇ／ｍＬ～約１６００ｎｇ／ｍＬである。複数の実施形態では、フェリチンのレベル、例えばＢＭＰ６による処置に対する応答（例えば、応答の増大）を予測するフェリチンのレベルは、約４００ｎｇ／ｍＬ～約１６００ｎｇ／ｍＬである。複数の実施形態では、フェリチンのレベル、例えばＢＭＰ６による処置に対する応答（例えば、応答の増大）を予測

するフェリチンのレベルは、約５００ｎｇ／ｍＬ～約１６００ｎｇ／ｍＬである。複数の実施形態では、フェリチンのレベル、例えばＢＭＰ６による処置に対する応答（例えば、応答の増大）を予測するフェリチンのレベルは、約６００ｎｇ／ｍＬ～約１６００ｎｇ／ｍＬである。複数の実施形態では、フェリチンのレベル、例えばＢＭＰ６による処置に対する応答（例えば、応答の増大）を予測するフェリチンのレベルは、約７００ｎｇ／ｍＬ～約１６００ｎｇ／ｍＬである。複数の実施形態では、フェリチンのレベル、例えばＢＭＰ６による処置に対する応答（例えば、応答の増大）を予測するフェリチンのレベルは、約８００ｎｇ／ｍＬ～約１６００ｎｇ／ｍＬである。複数の実施形態では、フェリチンのレベル、例えばＢＭＰ６による処置に対する応答（例えば、応答の増大）を予測するフェリチンのレベルは、約９００ｎｇ／ｍＬ～約１６００ｎｇ／ｍＬである。複数の実施形態では、フェリチンのレベル、例えばＢＭＰ６による処置に対する応答（例えば、応答の増大）を予測するフェリチンのレベルは、約１０００ｎｇ／ｍＬ～約１６００ｎｇ／ｍＬである。複数の実施形態では、フェリチンのレベル、例えばＢＭＰ６による処置に対する応答（例えば、応答の増大）を予測するフェリチンのレベルは、約１１００ｎｇ／ｍＬ～約１６００ｎｇ／ｍＬである。複数の実施形態では、フェリチンのレベル、例えばＢＭＰ６による処置に対する応答（例えば、応答の増大）を予測するフェリチンのレベルは、約１２００ｎｇ／ｍＬ～約１６００ｎｇ／ｍＬである。複数の実施形態では、フェリチンのレベル、例えばＢＭＰ６による処置に対する応答（例えば、応答の増大）を予測するフェリチンのレベルは、約１３００ｎｇ／ｍＬ～約１６００ｎｇ／ｍＬである。複数の実施形態では、フェリチンのレベル、例えばＢＭＰ６による処置に対する応答（例えば、応答の増大）を予測するフェリチンのレベルは、約１４００ｎｇ／ｍＬ～約１６００ｎｇ／ｍＬである。複数の実施形態では、フェリチンのレベル、例えばＢＭＰ６による処置に対する応答（例えば、応答の増大）を予測するフェリチンのレベルは、約１５００ｎｇ／ｍＬ～約１６００ｎｇ／ｍＬである。

【０４２５】

複数の実施形態では、フェリチンのレベル、例えばＢＭＰ６による処置に対する応答（例えば、応答の増大）を予測するフェリチンのレベルは、約２００ｎｇ／ｍＬ～約１７００ｎｇ／ｍＬである。複数の実施形態では、フェリチンのレベル、例えばＢＭＰ６による処置に対する応答（例えば、応答の増大）を予測するフェリチンのレベルは、約３００ｎｇ／ｍＬ～約１７００ｎｇ／ｍＬである。複数の実施形態では、フェリチンのレベル、例えばＢＭＰ６による処置に対する応答（例えば、応答の増大）を予測するフェリチンのレベルは、約４００ｎｇ／ｍＬ～約１７００ｎｇ／ｍＬである。複数の実施形態では、フェリチンのレベル、例えばＢＭＰ６による処置に対する応答（例えば、応答の増大）を予測するフェリチンのレベルは、約５００ｎｇ／ｍＬ～約１７００ｎｇ／ｍＬである。複数の実施形態では、フェリチンのレベル、例えばＢＭＰ６による処置に対する応答（例えば、応答の増大）を予測するフェリチンのレベルは、約６００ｎｇ／ｍＬ～約１７００ｎｇ／ｍＬである。複数の実施形態では、フェリチンのレベル、例えばＢＭＰ６による処置に対する応答（例えば、応答の増大）を予測するフェリチンのレベルは、約７００ｎｇ／ｍＬ～約１７００ｎｇ／ｍＬである。複数の実施形態では、フェリチンのレベル、例えばＢＭＰ６による処置に対する応答（例えば、応答の増大）を予測するフェリチンのレベルは、約８００ｎｇ／ｍＬ～約１７００ｎｇ／ｍＬである。複数の実施形態では、フェリチンのレベル、例えばＢＭＰ６による処置に対する応答（例えば、応答の増大）を予測するフェリチンのレベルは、約９００ｎｇ／ｍＬ～約１７００ｎｇ／ｍＬである。複数の実施形態では、フェリチンのレベル、例えばＢＭＰ６による処置に対する応答（例えば、応答の増大）を予測するフェリチンのレベルは、約１０００ｎｇ／ｍＬ～約１７００ｎｇ／ｍＬである。複数の実施形態では、フェリチンのレベル、例えばＢＭＰ６による処置に対する応答（例えば、応答の増大）を予測するフェリチンのレベルは、約１１００ｎｇ／ｍＬ～約１７００ｎｇ／ｍＬである。複数の実施形態では、フェリチンのレベル、例えばＢＭＰ６による処置に対する応答（例えば、応答の増大）を予測するフェリチンのレベルは、約１２００ｎｇ／ｍＬ～約１７００ｎｇ／ｍＬである。複数の実施形態では、フェリチンのレ

ベル、例えばＢＭＰ６による処置に対する応答（例えば、応答の増大）を予測するフェリチンのレベルは、約１３００ｎｇ／ｍＬ～約１７００ｎｇ／ｍＬである。複数の実施形態では、フェリチンのレベル、例えばＢＭＰ６による処置に対する応答（例えば、応答の増大）を予測するフェリチンのレベルは、約１４００ｎｇ／ｍＬ～約１７００ｎｇ／ｍＬである。複数の実施形態では、フェリチンのレベル、例えばＢＭＰ６による処置に対する応答（例えば、応答の増大）を予測するフェリチンのレベルは、約１５００ｎｇ／ｍＬ～約１７００ｎｇ／ｍＬである。複数の実施形態では、フェリチンのレベル、例えばＢＭＰ６による処置に対する応答（例えば、応答の増大）を予測するフェリチンのレベルは、約１６００ｎｇ／ｍＬ～約１７００ｎｇ／ｍＬである。

【０４２６】

複数の実施形態では、フェリチンのレベル、例えばＢＭＰ６による処置に対する応答（例えば、応答の増大）を予測するフェリチンのレベルは、約２００ｎｇ／ｍＬ～約１８００ｎｇ／ｍＬである。複数の実施形態では、フェリチンのレベル、例えばＢＭＰ６による処置に対する応答（例えば、応答の増大）を予測するフェリチンのレベルは、約３００ｎｇ／ｍＬ～約１８００ｎｇ／ｍＬである。複数の実施形態では、フェリチンのレベル、例えばＢＭＰ６による処置に対する応答（例えば、応答の増大）を予測するフェリチンのレベルは、約４００ｎｇ／ｍＬ～約１８００ｎｇ／ｍＬである。複数の実施形態では、フェリチンのレベル、例えばＢＭＰ６による処置に対する応答（例えば、応答の増大）を予測するフェリチンのレベルは、約５００ｎｇ／ｍＬ～約１８００ｎｇ／ｍＬである。複数の実施形態では、フェリチンのレベル、例えばＢＭＰ６による処置に対する応答（例えば、応答の増大）を予測するフェリチンのレベルは、約６００ｎｇ／ｍＬ～約１８００ｎｇ／ｍＬである。複数の実施形態では、フェリチンのレベル、例えばＢＭＰ６による処置に対する応答（例えば、応答の増大）を予測するフェリチンのレベルは、約７００ｎｇ／ｍＬ～約１８００ｎｇ／ｍＬである。複数の実施形態では、フェリチンのレベル、例えばＢＭＰ６による処置に対する応答（例えば、応答の増大）を予測するフェリチンのレベルは、約８００ｎｇ／ｍＬ～約１８００ｎｇ／ｍＬである。複数の実施形態では、フェリチンのレベル、例えばＢＭＰ６による処置に対する応答（例えば、応答の増大）を予測するフェリチンのレベルは、約９００ｎｇ／ｍＬ～約１８００ｎｇ／ｍＬである。複数の実施形態では、フェリチンのレベル、例えばＢＭＰ６による処置に対する応答（例えば、応答の増大）を予測するフェリチンのレベルは、約１０００ｎｇ／ｍＬ～約１８００ｎｇ／ｍＬである。複数の実施形態では、フェリチンのレベル、例えばＢＭＰ６による処置に対する応答（例えば、応答の増大）を予測するフェリチンのレベルは、約１１００ｎｇ／ｍＬ～約１８００ｎｇ／ｍＬである。複数の実施形態では、フェリチンのレベル、例えばＢＭＰ６による処置に対する応答（例えば、応答の増大）を予測するフェリチンのレベルは、約１２００ｎｇ／ｍＬ～約１８００ｎｇ／ｍＬである。複数の実施形態では、フェリチンのレベル、例えばＢＭＰ６による処置に対する応答（例えば、応答の増大）を予測するフェリチンのレベルは、約１３００ｎｇ／ｍＬ～約１８００ｎｇ／ｍＬである。複数の実施形態では、フェリチンのレベル、例えばＢＭＰ６による処置に対する応答（例えば、応答の増大）を予測するフェリチンのレベルは、約１４００ｎｇ／ｍＬ～約１８００ｎｇ／ｍＬである。複数の実施形態では、フェリチンのレベル、例えばＢＭＰ６による処置に対する応答（例えば、応答の増大）を予測するフェリチンのレベルは、約１５００ｎｇ／ｍＬ～約１８００ｎｇ／ｍＬである。複数の実施形態では、フェリチンのレベル、例えばＢＭＰ６による処置に対する応答（例えば、応答の増大）を予測するフェリチンのレベルは、約１６００ｎｇ／ｍＬ～約１８００ｎｇ／ｍＬである。複数の実施形態では、フェリチンのレベル、例えばＢＭＰ６による処置に対する応答（例えば、応答の増大）を予測するフェリチンのレベルは、約１７００ｎｇ／ｍＬ～約１８００ｎｇ／ｍＬである。

【０４２７】

複数の実施形態では、フェリチンのレベル、例えばＢＭＰ６による処置に対する応答（例えば、応答の増大）を予測するフェリチンのレベルは、約２００ｎｇ／ｍＬ～約１９００ｎｇ／ｍＬである。複数の実施形態では、フェリチンのレベル、例えばＢＭＰ６による

処置に対する応答（例えば、応答の増大）を予測するフェリチンのレベルは、約３００ｎｇ／ｍＬ～約１９００ｎｇ／ｍＬである。複数の実施形態では、フェリチンのレベル、例えばＢＭＰ６による処置に対する応答（例えば、応答の増大）を予測するフェリチンのレベルは、約４００ｎｇ／ｍＬ～約１９００ｎｇ／ｍＬである。複数の実施形態では、フェリチンのレベル、例えばＢＭＰ６による処置に対する応答（例えば、応答の増大）を予測するフェリチンのレベルは、約５００ｎｇ／ｍＬ～約１９００ｎｇ／ｍＬである。複数の実施形態では、フェリチンのレベル、例えばＢＭＰ６による処置に対する応答（例えば、応答の増大）を予測するフェリチンのレベルは、約６００ｎｇ／ｍＬ～約１９００ｎｇ／ｍＬである。複数の実施形態では、フェリチンのレベル、例えばＢＭＰ６による処置に対する応答（例えば、応答の増大）を予測するフェリチンのレベルは、約７００ｎｇ／ｍＬ～約１９００ｎｇ／ｍＬである。複数の実施形態では、フェリチンのレベル、例えばＢＭＰ６による処置に対する応答（例えば、応答の増大）を予測するフェリチンのレベルは、約８００ｎｇ／ｍＬ～約１９００ｎｇ／ｍＬである。複数の実施形態では、フェリチンのレベル、例えばＢＭＰ６による処置に対する応答（例えば、応答の増大）を予測するフェリチンのレベルは、約９００ｎｇ／ｍＬ～約１９００ｎｇ／ｍＬである。複数の実施形態では、フェリチンのレベル、例えばＢＭＰ６による処置に対する応答（例えば、応答の増大）を予測するフェリチンのレベルは、約１０００ｎｇ／ｍＬ～約１９００ｎｇ／ｍＬである。複数の実施形態では、フェリチンのレベル、例えばＢＭＰ６による処置に対する応答（例えば、応答の増大）を予測するフェリチンのレベルは、約１１００ｎｇ／ｍＬ～約１９００ｎｇ／ｍＬである。複数の実施形態では、フェリチンのレベル、例えばＢＭＰ６による処置に対する応答（例えば、応答の増大）を予測するフェリチンのレベルは、約１２００ｎｇ／ｍＬ～約１９００ｎｇ／ｍＬである。複数の実施形態では、フェリチンのレベル、例えばＢＭＰ６による処置に対する応答（例えば、応答の増大）を予測するフェリチンのレベルは、約１３００ｎｇ／ｍＬ～約１９００ｎｇ／ｍＬである。複数の実施形態では、フェリチンのレベル、例えばＢＭＰ６による処置に対する応答（例えば、応答の増大）を予測するフェリチンのレベルは、約１４００ｎｇ／ｍＬ～約１９００ｎｇ／ｍＬである。複数の実施形態では、フェリチンのレベル、例えばＢＭＰ６による処置に対する応答（例えば、応答の増大）を予測するフェリチンのレベルは、約１５００ｎｇ／ｍＬ～約１９００ｎｇ／ｍＬである。複数の実施形態では、フェリチンのレベル、例えばＢＭＰ６による処置に対する応答（例えば、応答の増大）を予測するフェリチンのレベルは、約１６００ｎｇ／ｍＬ～約１９００ｎｇ／ｍＬである。複数の実施形態では、フェリチンのレベル、例えばＢＭＰ６による処置に対する応答（例えば、応答の増大）を予測するフェリチンのレベルは、約１７００ｎｇ／ｍＬ～約１９００ｎｇ／ｍＬである。複数の実施形態では、フェリチンのレベル、例えばＢＭＰ６による処置に対する応答（例えば、応答の増大）を予測するフェリチンのレベルは、約１８００ｎｇ／ｍＬ～約１９００ｎｇ／ｍＬである。

【０４２８】

複数の実施形態では、フェリチンのレベル、例えばＢＭＰ６による処置に対する応答（例えば、応答の増大）を予測するフェリチンのレベルは、約２００ｎｇ／ｍＬ～約２０００ｎｇ／ｍＬである。複数の実施形態では、フェリチンのレベル、例えばＢＭＰ６による処置に対する応答（例えば、応答の増大）を予測するフェリチンのレベルは、約３００ｎｇ／ｍＬ～約２０００ｎｇ／ｍＬである。複数の実施形態では、フェリチンのレベル、例えばＢＭＰ６による処置に対する応答（例えば、応答の増大）を予測するフェリチンのレベルは、約４００ｎｇ／ｍＬ～約２０００ｎｇ／ｍＬである。複数の実施形態では、フェリチンのレベル、例えばＢＭＰ６による処置に対する応答（例えば、応答の増大）を予測するフェリチンのレベルは、約５００ｎｇ／ｍＬ～約２０００ｎｇ／ｍＬである。複数の実施形態では、フェリチンのレベル、例えばＢＭＰ６による処置に対する応答（例えば、応答の増大）を予測するフェリチンのレベルは、約６００ｎｇ／ｍＬ～約２０００ｎｇ／ｍＬである。複数の実施形態では、フェリチンのレベル、例えばＢＭＰ６による処置に対する応答（例えば、応答の増大）を予測するフェリチンのレベルは、約７００ｎｇ／ｍＬ

～約２０００ｎｇ／ｍＬである。複数の実施形態では、フェリチンのレベル、例えばＢＭＰ６による処置に対する応答（例えば、応答の増大）を予測するフェリチンのレベルは、約８００ｎｇ／ｍＬ～約２０００ｎｇ／ｍＬである。複数の実施形態では、フェリチンのレベル、例えばＢＭＰ６による処置に対する応答（例えば、応答の増大）を予測するフェリチンのレベルは、約９００ｎｇ／ｍＬ～約２０００ｎｇ／ｍＬである。複数の実施形態では、フェリチンのレベル、例えばＢＭＰ６による処置に対する応答（例えば、応答の増大）を予測するフェリチンのレベルは、約１０００ｎｇ／ｍＬ～約２０００ｎｇ／ｍＬである。複数の実施形態では、フェリチンのレベル、例えばＢＭＰ６による処置に対する応答（例えば、応答の増大）を予測するフェリチンのレベルは、約１１００ｎｇ／ｍＬ～約２０００ｎｇ／ｍＬである。複数の実施形態では、フェリチンのレベル、例えばＢＭＰ６による処置に対する応答（例えば、応答の増大）を予測するフェリチンのレベルは、約１２００ｎｇ／ｍＬ～約２０００ｎｇ／ｍＬである。複数の実施形態では、フェリチンのレベル、例えばＢＭＰ６による処置に対する応答（例えば、応答の増大）を予測するフェリチンのレベルは、約１３００ｎｇ／ｍＬ～約２０００ｎｇ／ｍＬである。複数の実施形態では、フェリチンのレベル、例えばＢＭＰ６による処置に対する応答（例えば、応答の増大）を予測するフェリチンのレベルは、約１４００ｎｇ／ｍＬ～約２０００ｎｇ／ｍＬである。複数の実施形態では、フェリチンのレベル、例えばＢＭＰ６による処置に対する応答（例えば、応答の増大）を予測するフェリチンのレベルは、約１５００ｎｇ／ｍＬ～約２０００ｎｇ／ｍＬである。複数の実施形態では、フェリチンのレベル、例えばＢＭＰ６による処置に対する応答（例えば、応答の増大）を予測するフェリチンのレベルは、約１６００ｎｇ／ｍＬ～約２０００ｎｇ／ｍＬである。複数の実施形態では、フェリチンのレベル、例えばＢＭＰ６による処置に対する応答（例えば、応答の増大）を予測するフェリチンのレベルは、約１７００ｎｇ／ｍＬ～約２０００ｎｇ／ｍＬである。複数の実施形態では、フェリチンのレベル、例えばＢＭＰ６による処置に対する応答（例えば、応答の増大）を予測するフェリチンのレベルは、約１８００ｎｇ／ｍＬ～約２０００ｎｇ／ｍＬである。複数の実施形態では、フェリチンのレベル、例えばＢＭＰ６による処置に対する応答（例えば、応答の増大）を予測するフェリチンのレベルは、約１９００ｎｇ／ｍＬ～約２０００ｎｇ／ｍＬである。

【０４２９】

複数の実施形態では、フェリチンのレベル、例えばＢＭＰ６による処置に対する応答（例えば、応答の増大）を予測するフェリチンのレベルは、２００ｎｇ／ｍＬ～１５００ｎｇ／ｍＬである。複数の実施形態では、フェリチンのレベル、例えばＢＭＰ６による処置に対する応答（例えば、応答の増大）を予測するフェリチンのレベルは、３００ｎｇ／ｍＬ～１５００ｎｇ／ｍＬである。複数の実施形態では、フェリチンのレベル、例えばＢＭＰ６による処置に対する応答（例えば、応答の増大）を予測するフェリチンのレベルは、４００ｎｇ／ｍＬ～１５００ｎｇ／ｍＬである。複数の実施形態では、フェリチンのレベル、例えばＢＭＰ６による処置に対する応答（例えば、応答の増大）を予測するフェリチンのレベルは、５００ｎｇ／ｍＬ～１５００ｎｇ／ｍＬである。複数の実施形態では、フェリチンのレベル、例えばＢＭＰ６による処置に対する応答（例えば、応答の増大）を予測するフェリチンのレベルは、６００ｎｇ／ｍＬ～１５００ｎｇ／ｍＬである。複数の実施形態では、フェリチンのレベル、例えばＢＭＰ６による処置に対する応答（例えば、応答の増大）を予測するフェリチンのレベルは、７００ｎｇ／ｍＬ～１５００ｎｇ／ｍＬである。複数の実施形態では、フェリチンのレベル、例えばＢＭＰ６による処置に対する応答（例えば、応答の増大）を予測するフェリチンのレベルは、８００ｎｇ／ｍＬ～１５００ｎｇ／ｍＬである。複数の実施形態では、フェリチンのレベル、例えばＢＭＰ６による処置に対する応答（例えば、応答の増大）を予測するフェリチンのレベルは、９００ｎｇ／ｍＬ～１５００ｎｇ／ｍＬである。複数の実施形態では、フェリチンのレベル、例えばＢＭＰ６による処置に対する応答（例えば、応答の増大）を予測するフェリチンのレベルは、１０００ｎｇ／ｍＬ～１５００ｎｇ／ｍＬである。複数の実施形態では、フェリチンのレベル、例えばＢＭＰ６による処置に対する応答（例えば、応答の増大）を予測するフ

ェリチンのレベルは、１１００ｎｇ／ｍＬ～１５００ｎｇ／ｍＬである。複数の実施形態では、フェリチンのレベル、例えばＢＭＰ６による処置に対する応答（例えば、応答の増大）を予測するフェリチンのレベルは、１２００ｎｇ／ｍＬ～１５００ｎｇ／ｍＬである。複数の実施形態では、フェリチンのレベル、例えばＢＭＰ６による処置に対する応答（例えば、応答の増大）を予測するフェリチンのレベルは、１３００ｎｇ／ｍＬ～１５００ｎｇ／ｍＬである。複数の実施形態では、フェリチンのレベル、例えばＢＭＰ６による処置に対する応答（例えば、応答の増大）を予測するフェリチンのレベルは、１４００ｎｇ／ｍＬ～１５００ｎｇ／ｍＬである。好ましい複数の実施形態では、全ての範囲は、列挙された終点値を含む。

【０４３０】

複数の実施形態では、フェリチンのレベル、例えばＢＭＰ６による処置に対する応答（例えば、応答の増大）を予測するフェリチンのレベルは、２００ｎｇ／ｍＬ～１６００ｎｇ／ｍＬである。複数の実施形態では、フェリチンのレベル、例えばＢＭＰ６による処置に対する応答（例えば、応答の増大）を予測するフェリチンのレベルは、３００ｎｇ／ｍＬ～１６００ｎｇ／ｍＬである。複数の実施形態では、フェリチンのレベル、例えばＢＭＰ６による処置に対する応答（例えば、応答の増大）を予測するフェリチンのレベルは、４００ｎｇ／ｍＬ～１６００ｎｇ／ｍＬである。複数の実施形態では、フェリチンのレベル、例えばＢＭＰ６による処置に対する応答（例えば、応答の増大）を予測するフェリチンのレベルは、５００ｎｇ／ｍＬ～１６００ｎｇ／ｍＬである。複数の実施形態では、フェリチンのレベル、例えばＢＭＰ６による処置に対する応答（例えば、応答の増大）を予測するフェリチンのレベルは、６００ｎｇ／ｍＬ～１６００ｎｇ／ｍＬである。複数の実施形態では、フェリチンのレベル、例えばＢＭＰ６による処置に対する応答（例えば、応答の増大）を予測するフェリチンのレベルは、７００ｎｇ／ｍＬ～１６００ｎｇ／ｍＬである。複数の実施形態では、フェリチンのレベル、例えばＢＭＰ６による処置に対する応答（例えば、応答の増大）を予測するフェリチンのレベルは、８００ｎｇ／ｍＬ～１６００ｎｇ／ｍＬである。複数の実施形態では、フェリチンのレベル、例えばＢＭＰ６による処置に対する応答（例えば、応答の増大）を予測するフェリチンのレベルは、９００ｎｇ／ｍＬ～１６００ｎｇ／ｍＬである。複数の実施形態では、フェリチンのレベル、例えばＢＭＰ６による処置に対する応答（例えば、応答の増大）を予測するフェリチンのレベルは、１０００ｎｇ／ｍＬ～１６００ｎｇ／ｍＬである。複数の実施形態では、フェリチンのレベル、例えばＢＭＰ６による処置に対する応答（例えば、応答の増大）を予測するフェリチンのレベルは、１１００ｎｇ／ｍＬ～１６００ｎｇ／ｍＬである。複数の実施形態では、フェリチンのレベル、例えばＢＭＰ６による処置に対する応答（例えば、応答の増大）を予測するフェリチンのレベルは、１２００ｎｇ／ｍＬ～１６００ｎｇ／ｍＬである。複数の実施形態では、フェリチンのレベル、例えばＢＭＰ６による処置に対する応答（例えば、応答の増大）を予測するフェリチンのレベルは、１３００ｎｇ／ｍＬ～１６００ｎｇ／ｍＬである。複数の実施形態では、フェリチンのレベル、例えばＢＭＰ６による処置に対する応答（例えば、応答の増大）を予測するフェリチンのレベルは、１４００ｎｇ／ｍＬ～１６００ｎｇ／ｍＬである。複数の実施形態では、フェリチンのレベル、例えばＢＭＰ６による処置に対する応答（例えば、応答の増大）を予測するフェリチンのレベルは、１５００ｎｇ／ｍＬ～１６００ｎｇ／ｍＬである。好ましい複数の実施形態では、全ての範囲は、列挙された終点値を含む。

【０４３１】

複数の実施形態では、フェリチンのレベル、例えばＢＭＰ６による処置に対する応答（例えば、応答の増大）を予測するフェリチンのレベルは、２００ｎｇ／ｍＬ～１７００ｎｇ／ｍＬである。複数の実施形態では、フェリチンのレベル、例えばＢＭＰ６による処置に対する応答（例えば、応答の増大）を予測するフェリチンのレベルは、３００ｎｇ／ｍＬ～１７００ｎｇ／ｍＬである。複数の実施形態では、フェリチンのレベル、例えばＢＭＰ６による処置に対する応答（例えば、応答の増大）を予測するフェリチンのレベルは、４００ｎｇ／ｍＬ～１７００ｎｇ／ｍＬである。複数の実施形態では、フェリチンのレベ

ル、例えばＢＭＰ６による処置に対する応答（例えば、応答の増大）を予測するフェリチンのレベルは、５００ｎｇ／ｍＬ～１７００ｎｇ／ｍＬである。複数の実施形態では、フェリチンのレベル、例えばＢＭＰ６による処置に対する応答（例えば、応答の増大）を予測するフェリチンのレベルは、６００ｎｇ／ｍＬ～１７００ｎｇ／ｍＬである。複数の実施形態では、フェリチンのレベル、例えばＢＭＰ６による処置に対する応答（例えば、応答の増大）を予測するフェリチンのレベルは、７００ｎｇ／ｍＬ～１７００ｎｇ／ｍＬである。複数の実施形態では、フェリチンのレベル、例えばＢＭＰ６による処置に対する応答（例えば、応答の増大）を予測するフェリチンのレベルは、８００ｎｇ／ｍＬ～１７００ｎｇ／ｍＬである。複数の実施形態では、フェリチンのレベル、例えばＢＭＰ６による処置に対する応答（例えば、応答の増大）を予測するフェリチンのレベルは、９００ｎｇ／ｍＬ～１７００ｎｇ／ｍＬである。複数の実施形態では、フェリチンのレベル、例えばＢＭＰ６による処置に対する応答（例えば、応答の増大）を予測するフェリチンのレベルは、１０００ｎｇ／ｍＬ～１７００ｎｇ／ｍＬである。複数の実施形態では、フェリチンのレベル、例えばＢＭＰ６による処置に対する応答（例えば、応答の増大）を予測するフェリチンのレベルは、１１００ｎｇ／ｍＬ～１７００ｎｇ／ｍＬである。複数の実施形態では、フェリチンのレベル、例えばＢＭＰ６による処置に対する応答（例えば、応答の増大）を予測するフェリチンのレベルは、１２００ｎｇ／ｍＬ～１７００ｎｇ／ｍＬである。複数の実施形態では、フェリチンのレベル、例えばＢＭＰ６による処置に対する応答（例えば、応答の増大）を予測するフェリチンのレベルは、１３００ｎｇ／ｍＬ～１７００ｎｇ／ｍＬである。複数の実施形態では、フェリチンのレベル、例えばＢＭＰ６による処置に対する応答（例えば、応答の増大）を予測するフェリチンのレベルは、１４００ｎｇ／ｍＬ～１７００ｎｇ／ｍＬである。複数の実施形態では、フェリチンのレベル、例えばＢＭＰ６による処置に対する応答（例えば、応答の増大）を予測するフェリチンのレベルは、１５００ｎｇ／ｍＬ～１７００ｎｇ／ｍＬである。複数の実施形態では、フェリチンのレベル、例えばＢＭＰ６による処置に対する応答（例えば、応答の増大）を予測するフェリチンのレベルは、１６００ｎｇ／ｍＬ～１７００ｎｇ／ｍＬである。好ましい複数の実施形態では、全ての範囲は、列挙された終点値を含む。

【０４３２】

複数の実施形態では、フェリチンのレベル、例えばＢＭＰ６による処置に対する応答（例えば、応答の増大）を予測するフェリチンのレベルは、２００ｎｇ／ｍＬ～１８００ｎｇ／ｍＬである。複数の実施形態では、フェリチンのレベル、例えばＢＭＰ６による処置に対する応答（例えば、応答の増大）を予測するフェリチンのレベルは、３００ｎｇ／ｍＬ～１８００ｎｇ／ｍＬである。複数の実施形態では、フェリチンのレベル、例えばＢＭＰ６による処置に対する応答（例えば、応答の増大）を予測するフェリチンのレベルは、４００ｎｇ／ｍＬ～１８００ｎｇ／ｍＬである。複数の実施形態では、フェリチンのレベル、例えばＢＭＰ６による処置に対する応答（例えば、応答の増大）を予測するフェリチンのレベルは、５００ｎｇ／ｍＬ～１８００ｎｇ／ｍＬである。複数の実施形態では、フェリチンのレベル、例えばＢＭＰ６による処置に対する応答（例えば、応答の増大）を予測するフェリチンのレベルは、６００ｎｇ／ｍＬ～１８００ｎｇ／ｍＬである。複数の実施形態では、フェリチンのレベル、例えばＢＭＰ６による処置に対する応答（例えば、応答の増大）を予測するフェリチンのレベルは、７００ｎｇ／ｍＬ～１８００ｎｇ／ｍＬである。複数の実施形態では、フェリチンのレベル、例えばＢＭＰ６による処置に対する応答（例えば、応答の増大）を予測するフェリチンのレベルは、８００ｎｇ／ｍＬ～１８００ｎｇ／ｍＬである。複数の実施形態では、フェリチンのレベル、例えばＢＭＰ６による処置に対する応答（例えば、応答の増大）を予測するフェリチンのレベルは、９００ｎｇ／ｍＬ～１８００ｎｇ／ｍＬである。複数の実施形態では、フェリチンのレベル、例えばＢＭＰ６による処置に対する応答（例えば、応答の増大）を予測するフェリチンのレベルは、１０００ｎｇ／ｍＬ～１８００ｎｇ／ｍＬである。複数の実施形態では、フェリチンのレベル、例えばＢＭＰ６による処置に対する応答（例えば、応答の増大）を予測するフェリチンのレベルは、１１００ｎｇ／ｍＬ～１８００ｎｇ／ｍＬである。複数の実施形態

では、フェリチンのレベル、例えばＢＭＰ６による処置に対する応答（例えば、応答の増大）を予測するフェリチンのレベルは、１２００ｎｇ／ｍＬ～１８００ｎｇ／ｍＬである。複数の実施形態では、フェリチンのレベル、例えばＢＭＰ６による処置に対する応答（例えば、応答の増大）を予測するフェリチンのレベルは、１３００ｎｇ／ｍＬ～１８００ｎｇ／ｍＬである。複数の実施形態では、フェリチンのレベル、例えばＢＭＰ６による処置に対する応答（例えば、応答の増大）を予測するフェリチンのレベルは、１４００ｎｇ／ｍＬ～１８００ｎｇ／ｍＬである。複数の実施形態では、フェリチンのレベル、例えばＢＭＰ６による処置に対する応答（例えば、応答の増大）を予測するフェリチンのレベルは、１５００ｎｇ／ｍＬ～１８００ｎｇ／ｍＬである。複数の実施形態では、フェリチンのレベル、例えばＢＭＰ６による処置に対する応答（例えば、応答の増大）を予測するフェリチンのレベルは、１６００ｎｇ／ｍＬ～１８００ｎｇ／ｍＬである。複数の実施形態では、フェリチンのレベル、例えばＢＭＰ６による処置に対する応答（例えば、応答の増大）を予測するフェリチンのレベルは、１７００ｎｇ／ｍＬ～１８００ｎｇ／ｍＬである。好ましい複数の実施形態では、全ての範囲は、列挙された終点値を含む。

【０４３３】

複数の実施形態では、フェリチンのレベル、例えばＢＭＰ６による処置に対する応答（例えば、応答の増大）を予測するフェリチンのレベルは、２００ｎｇ／ｍＬ～１９００ｎｇ／ｍＬである。複数の実施形態では、フェリチンのレベル、例えばＢＭＰ６による処置に対する応答（例えば、応答の増大）を予測するフェリチンのレベルは、３００ｎｇ／ｍＬ～１９００ｎｇ／ｍＬである。複数の実施形態では、フェリチンのレベル、例えばＢＭＰ６による処置に対する応答（例えば、応答の増大）を予測するフェリチンのレベルは、４００ｎｇ／ｍＬ～１９００ｎｇ／ｍＬである。複数の実施形態では、フェリチンのレベル、例えばＢＭＰ６による処置に対する応答（例えば、応答の増大）を予測するフェリチンのレベルは、５００ｎｇ／ｍＬ～１９００ｎｇ／ｍＬである。複数の実施形態では、フェリチンのレベル、例えばＢＭＰ６による処置に対する応答（例えば、応答の増大）を予測するフェリチンのレベルは、６００ｎｇ／ｍＬ～１９００ｎｇ／ｍＬである。複数の実施形態では、フェリチンのレベル、例えばＢＭＰ６による処置に対する応答（例えば、応答の増大）を予測するフェリチンのレベルは、７００ｎｇ／ｍＬ～１９００ｎｇ／ｍＬである。複数の実施形態では、フェリチンのレベル、例えばＢＭＰ６による処置に対する応答（例えば、応答の増大）を予測するフェリチンのレベルは、８００ｎｇ／ｍＬ～１９００ｎｇ／ｍＬである。複数の実施形態では、フェリチンのレベル、例えばＢＭＰ６による処置に対する応答（例えば、応答の増大）を予測するフェリチンのレベルは、９００ｎｇ／ｍＬ～１９００ｎｇ／ｍＬである。複数の実施形態では、フェリチンのレベル、例えばＢＭＰ６による処置に対する応答（例えば、応答の増大）を予測するフェリチンのレベルは、１０００ｎｇ／ｍＬ～１９００ｎｇ／ｍＬである。複数の実施形態では、フェリチンのレベル、例えばＢＭＰ６による処置に対する応答（例えば、応答の増大）を予測するフェリチンのレベルは、１１００ｎｇ／ｍＬ～１９００ｎｇ／ｍＬである。複数の実施形態では、フェリチンのレベル、例えばＢＭＰ６による処置に対する応答（例えば、応答の増大）を予測するフェリチンのレベルは、１２００ｎｇ／ｍＬ～１９００ｎｇ／ｍＬである。複数の実施形態では、フェリチンのレベル、例えばＢＭＰ６による処置に対する応答（例えば、応答の増大）を予測するフェリチンのレベルは、１３００ｎｇ／ｍＬ～１９００ｎｇ／ｍＬである。複数の実施形態では、フェリチンのレベル、例えばＢＭＰ６による処置に対する応答（例えば、応答の増大）を予測するフェリチンのレベルは、１４００ｎｇ／ｍＬ～１９００ｎｇ／ｍＬである。複数の実施形態では、フェリチンのレベル、例えばＢＭＰ６による処置に対する応答（例えば、応答の増大）を予測するフェリチンのレベルは、１５００ｎｇ／ｍＬ～１９００ｎｇ／ｍＬである。複数の実施形態では、フェリチンのレベル、例えばＢＭＰ６による処置に対する応答（例えば、応答の増大）を予測するフェリチンのレベルは、１６００ｎｇ／ｍＬ～１９００ｎｇ／ｍＬである。複数の実施形態では、フェリチンのレベル、例えばＢＭＰ６による処置に対する応答（例えば、応答の増大）を予測するフェリチンのレベルは、１７００ｎｇ／ｍＬ～１９００ｎｇ／ｍＬである

。複数の実施形態では、フェリチンのレベル、例えばＢＭＰ６による処置に対する応答（例えば、応答の増大）を予測するフェリチンのレベルは、１８００ｎｇ／ｍＬ～１９００ｎｇ／ｍＬである。好ましい複数の実施形態では、全ての範囲は、列挙された終点値を含む。

【０４３４】

複数の実施形態では、フェリチンのレベル、例えばＢＭＰ６による処置に対する応答（例えば、応答の増大）を予測するフェリチンのレベルは、２００ｎｇ／ｍＬ～２０００ｎｇ／ｍＬである。複数の実施形態では、フェリチンのレベル、例えばＢＭＰ６による処置に対する応答（例えば、応答の増大）を予測するフェリチンのレベルは、３００ｎｇ／ｍＬ～２０００ｎｇ／ｍＬである。複数の実施形態では、フェリチンのレベル、例えばＢＭＰ６による処置に対する応答（例えば、応答の増大）を予測するフェリチンのレベルは、４００ｎｇ／ｍＬ～２０００ｎｇ／ｍＬである。複数の実施形態では、フェリチンのレベル、例えばＢＭＰ６による処置に対する応答（例えば、応答の増大）を予測するフェリチンのレベルは、５００ｎｇ／ｍＬ～２０００ｎｇ／ｍＬである。複数の実施形態では、フェリチンのレベル、例えばＢＭＰ６による処置に対する応答（例えば、応答の増大）を予測するフェリチンのレベルは、６００ｎｇ／ｍＬ～２０００ｎｇ／ｍＬである。複数の実施形態では、フェリチンのレベル、例えばＢＭＰ６による処置に対する応答（例えば、応答の増大）を予測するフェリチンのレベルは、７００ｎｇ／ｍＬ～２０００ｎｇ／ｍＬである。複数の実施形態では、フェリチンのレベル、例えばＢＭＰ６による処置に対する応答（例えば、応答の増大）を予測するフェリチンのレベルは、８００ｎｇ／ｍＬ～２０００ｎｇ／ｍＬである。複数の実施形態では、フェリチンのレベル、例えばＢＭＰ６による処置に対する応答（例えば、応答の増大）を予測するフェリチンのレベルは、９００ｎｇ／ｍＬ～２０００ｎｇ／ｍＬである。複数の実施形態では、フェリチンのレベル、例えばＢＭＰ６による処置に対する応答（例えば、応答の増大）を予測するフェリチンのレベルは、１０００ｎｇ／ｍＬ～２０００ｎｇ／ｍＬである。複数の実施形態では、フェリチンのレベル、例えばＢＭＰ６による処置に対する応答（例えば、応答の増大）を予測するフェリチンのレベルは、１１００ｎｇ／ｍＬ～２０００ｎｇ／ｍＬである。複数の実施形態では、フェリチンのレベル、例えばＢＭＰ６による処置に対する応答（例えば、応答の増大）を予測するフェリチンのレベルは、１２００ｎｇ／ｍＬ～２０００ｎｇ／ｍＬである。複数の実施形態では、フェリチンのレベル、例えばＢＭＰ６による処置に対する応答（例えば、応答の増大）を予測するフェリチンのレベルは、１３００ｎｇ／ｍＬ～２０００ｎｇ／ｍＬである。複数の実施形態では、フェリチンのレベル、例えばＢＭＰ６による処置に対する応答（例えば、応答の増大）を予測するフェリチンのレベルは、１４００ｎｇ／ｍＬ～２０００ｎｇ／ｍＬである。複数の実施形態では、フェリチンのレベル、例えばＢＭＰ６による処置に対する応答（例えば、応答の増大）を予測するフェリチンのレベルは、１５００ｎｇ／ｍＬ～２０００ｎｇ／ｍＬである。複数の実施形態では、フェリチンのレベル、例えばＢＭＰ６による処置に対する応答（例えば、応答の増大）を予測するフェリチンのレベルは、１６００ｎｇ／ｍＬ～２０００ｎｇ／ｍＬである。複数の実施形態では、フェリチンのレベル、例えばＢＭＰ６による処置に対する応答（例えば、応答の増大）を予測するフェリチンのレベルは、１７００ｎｇ／ｍＬ～２０００ｎｇ／ｍＬである。複数の実施形態では、フェリチンのレベル、例えばＢＭＰ６による処置に対する応答（例えば、応答の増大）を予測するフェリチンのレベルは、１８００ｎｇ／ｍＬ～２０００ｎｇ／ｍＬである。好ましい複数の実施形態では、全ての範囲は、列挙された終点値を含む。

【０４３５】

複数の実施形態では、上記のフェリチンのレベルは、血液および血清から選択される生物学的試料から測定される。複数の実施形態では、上記のフェリチンのレベルは、血清から測定される。

【０４３６】

アッセイの技術、診断方法および伝達可能な形態の情報を生成する方法

開示された方法は、低い鉄レベルに関連する疾患、例えば本明細書に記載される疾患、例えば貧血の治療、予防または改善、ならびに疾患を有する患者のＢＭＰ６アンタゴニスト、例えば抗体７（例えば、表１に記載されるもの）による処置に対する応答可能性の予測に有用である。これらの方法は、とりわけ、患者からの試料中において、例えば本明細書に記載されるように、患者が特定のレベルのフェリチンを有するかどうかを決定することを利用する。

【０４３７】

患者からの生物学的試料は、任意の適用可能な従来の手段によってフェリチンのレベルについてアッセイされ得る。

【０４３８】

マーカー（例えば、タンパク質）の存在、遺伝子またはタンパク質の発現のレベルおよびタンパク質の活性を同定するために、多くの生物学的試料、例えば血液、滑液、バフィーコート、血清、血漿、リンパ、糞便、尿、涙液、唾液、脳脊髄液、口腔粘膜検体、痰または組織が用いられ得る。生物学的試料内の多様な供給源が、開示される方法において使用され得、例えばフェリチンのレベルについて患者からの生物学的試料、例えば血液または血清をアッセイし得る。

【０４３９】

本発明者らは、フェリチンのレベルが、ＢＭＰ９アンタゴニストによる治療に対する応答を決定または予測するのに有用なバイオマーカーであり得ることを決定した。したがって、当業者は、フェリチンのレベルについて患者からの生物学的試料、例えば血液または血清をアッセイすることにより、対象が所与のレベルのフェリチンを有するかどうかを同定し得ることを理解するであろう。好ましい複数の実施形態では、患者の血清を分析して、対象が特定のレベルのフェリチンを有するかどうかを決定する。他の好ましい複数の実施形態では、患者の血液を分析して、対象が特定のレベルのフェリチンを有するかどうかを決定する。

【０４４０】

本明細書に記載されるように、本発明は、フェリチンのレベルが貧血または本明細書に記載される他の疾患に対するＢＭＰ６拮抗作用（例えば、表１に記載される抗体７）に対する応答の改善を予測するのに有用であり得るという結論に部分的に基づく。フェリチンの検出は、免疫細胞化学染色、ＥＬＩＳＡ、フローサイトメトリー、ウェスタンブロット、分光光度法、ＨＰＬＣおよび質量分析を含むが、これらに限定されない当技術分野で公知の任意の方法を用いて実施することができる。試料中のポリペプチド産物を検出する１つの方法は、マーカータンパク質と特異的に相互作用することができる結合性タンパク質（例えば、フェリチンタンパク質に結合することができる抗体）であるプローブによる方法である。好ましくは、標識抗体、その結合性部分または他の結合パートナーを用いることができる。抗体は、起源がモノクローナルまたはポリクローナルであり得、または生合成により産生され得る。結合パートナーも天然に存在する分子であり得、または合成により産生され得る。複合タンパク質の量は、当技術分野で記載される標準的なタンパク質検出法を用いて決定される。免疫学的アッセイの設計、理論およびプロトコールの詳細なレビューは、Ｐｒａｃｔｉｃａｌ Ｉｍｍｕｎｏｌｏｇｙ，Ｂｕｔｔ，Ｗ．Ｒ．，ｅｄ．，Ｍａｒｃｅｌ Ｄｅｋｋｅｒ，Ｎｅｗ Ｙｏｒｋ，１９８４を含む当技術分野における多くのテキストに見出すことができる。標識抗体によりタンパク質を検出するための多様なアッセイが利用可能である。直接標識は、抗体に結合させた蛍光または発光タグ、金属、染料、放射性核種などを含む。間接標識は、アルカリホスファターゼ、水素ペルオキシダーゼなどのような当技術分野で周知の多様な酵素を含む。１段階アッセイでは、ポリペプチド産物は、存在する場合、固定化し、標識抗体と共にインキュベートする。標識抗体は、固定化標的分子に結合する。洗浄して非結合分子を除去した後、試料を標識についてアッセイする。

【０４４１】

タンパク質またはポリペプチドに対して特異的な固定化抗体の使用も本開示により企図

される。抗体は、磁性またはクロマトグラフマトリックス粒子、アッセイ場所（マイクロタイターウエルなど）の表面、固体基質材料（プラスチック、ナイロン、紙など）の断片等などの様々な固体支持体上に固定化することができる。アッセイストリップは、アレイにおける抗体または複数の抗体を固体担体上にコーティングすることによって調製することができる。次いで、このストリップを試験試料中に浸し、洗浄および検出ステップにより速やかに処理して、着色スポットなどの測定可能なシグナルを発生させることができる。

【０４４２】

２段階アッセイでは、固定化マーカー（例えば、フェリチン）を非標識抗体と共にインキュベートすることができる。非標識抗体複合体は、存在する場合、非標識抗体に対して特異的である第２の標識抗体に結合させる。試料を洗浄し、標識の存在についてアッセイする。抗体を標識するのに用いるマーカーの選択は、用途によって異なる。しかし、当業者にとってマーカーの選択は容易に決定可能である。抗体は、放射性原子、酵素、発色団もしくは蛍光部分または比色タグにより標識され得る。タギング標識の選択も所望の検出限界に依存する。酵素アッセイ（ＥＬＩＳＡ）は、典型的には、酵素タグ複合体と酵素基質との相互作用により形成される着色生成物の検出を可能にする。放射性原子のいくつかの例には、３２Ｐ、１２５Ｉ、３Ｈおよび１４Ｐが含まれる。酵素のいくつかの例には、西洋ワサビペルオキシダーゼ、アルカリホスファターゼ、ベーターガラクトシダーゼおよびグルコース－６－リン酸デヒドロゲナーゼが含まれる。発色団部分のいくつかの例には、フルオレセインおよびローダミンが含まれる。抗体は、当技術分野で公知の方法によりこれらの標識にコンジュゲートされ得る。例えば、酵素および発色団分子をジアルデヒド、カルボジイミド、ジマレイミドなどのカップリング剤により抗体にコンジュゲートさせ得る。代わりに、コンジュゲーションは、リガンド－受容体対により発生し得る。いくつかの適切なリガンド－受容体対は、例えば、ビオチン－アビジンまたは－ストレプトアビジンおよび抗体－抗原を含む。

【０４４３】

一態様では、本開示は、生物学的試料中のポリペプチド産物を検出するためのサンドイッチ法の使用を企図する。この技法は、目的のタンパク質に結合する能力がある２つの抗体、例えば固体担体上に固定化されたもの、および溶液中で遊離であるが、ある種の容易に検出できる化合物で標識されたものを必要とする。第２の抗体に用いることができる化学標識の例は、放射性同位体、蛍光化合物および反応物または酵素基質に曝露した場合に着色または電気化学的に活性な生成物を生ずる酵素または他の分子を含むが、これらに限定されない。ポリペプチド産物を含有する試料をこの系に入れた場合、ポリペプチド産物は、固定化抗体および標識抗体の両方に結合する。その結果が担体表面上の「サンドイッチ」免疫複合体である。複合タンパク質は、非結合試料成分および過剰な標識抗体を洗い流し、担体の表面上のタンパク質と複合した標識抗体の量を測定することによって検出する。良好な検出限界を有する標識が使用されていれば、サンドイッチイムノアッセイは、高度に特異的であり、非常に高感度である。

【０４４４】

好ましくは、試料中のポリペプチド産物の存在は、ラジオイムノアッセイもしくは酵素結合イムノアッセイ、競合的結合性酵素結合イムノアッセイ、ドットブロット、ウェスタンブロット、クロマトグラフィー、好ましくは高速液体クロマトグラフィー（ＨＰＬＣ）または当技術分野で公知の他のアッセイにより検出する。タンパク質またはポリペプチドへの抗体の特異的免疫学的結合は、直接的または間接的に検出することができる。

【０４４５】

ドットブロッティングは、抗体をプローブとして使用して所望のタンパク質を検出するために当業者によって日常的に実施されている（Ｐｒｏｍｅｇａ　Ｐｒｏｔｏｃｏｌｓ　ａｎｄ　Ａｐｐｌｉｃａｔｉｏｎｓ　Ｇｕｉｄｅ，Ｓｅｃｏｎｄ　Ｅｄｉｔｉｏｎ，１９９１，Ｐａｇｅ　２６３，Ｐｒｏｍｅｇａ　Ｃｏｒｐｏｒａｔｉｏｎ）。試料は、ドットブロット装置を用いて膜に塗布される。標識プローブを膜とインキュベートし、タンパク

質の存在を検出する。

【０４４６】

ウェスタンブロット分析は、当業者に周知である（Ｓａｍｂｒｏｏｋ　ｅｔ　ａｌ．，Ｍｏｌｅｃｕｌａｒ　Ｃｌｏｎｉｎｇ，Ａ　Ｌａｂｏｒａｔｏｒｙ　Ｍａｎｕａｌ，１９８９，Ｖｏｌ．３，Ｃｈａｐｔｅｒ　１８，Ｃｏｌｄ　Ｓｐｒｉｎｇ　Ｈａｒｂｏｒ　Ｌａｂｏｒａｔｏｒｙ）。ウェスタンブロットでは、試料はＳＤＳ－ＰＡＧＥで分離される。ゲルは、膜に転移させる。所望のタンパク質を検出するために膜を標識抗体とインキュベートする。

【０４４７】

上記のアッセイは、免疫ブロッティング、免疫拡散、免疫電気泳動または免疫沈降のなどのステップを伴うが、これらに限定されるものではない。いくつかの実施形態では、自動分析装置を使用してフェリチンの存在および／またはレベルを決定する。

【０４４８】

フェリチン活性のレベルは、例えば、Ｋｏｃｈａｎ　ｅｔ　ａｌ．（２０１１）Ｐｒｏｃ　Ｎａｔｌ　Ａｃａｄ　Ｓｃｉ　Ｕ　Ｓ　Ａ．１０８（１９）：７７４５－５０に記載の方法を介して、当技術分野において開示される多様な方法によってアッセイされ得る。

【０４４９】

比較の目的で、患者からのフェリチン発現、フェリチンタンパク質またはフェリチン活性のレベルは、対照からのフェリチン発現、フェリチンタンパク質またはフェリチン活性のレベルと比較され得る。対照は、場合により、ＢＭＰ６アンタゴニスト（例えば、表１に記載の抗体７）による処置によく応答することが知られている対象（例えば、貧血患者）またはＢＭＰ６アンタゴニスト（例えば、表１に記載の抗体７）による処置への応答が不十分であることが知られている対象から得たフェリチン発現、フェリチンタンパク質またはフェリチン活性の参照レベルであり得る。発現の対照レベルは、参照対象（すなわちＢＭＰ６アンタゴニスト（例えば、表１に記載の抗体７）による処置によく応答することが知られている貧血患者またはＢＭＰ６アンタゴニスト（例えば、表１に記載の抗体７）による処置への応答が不十分であることが知られている対象）由来の生物学的試料から得たものであり得、または以前に参照対象から得た数値標準（例えば、平均値、中央値、範囲、［＋／－標準偏差］）であり得る。いくつかの実施形態では、対照は、ＢＭＰ６アンタゴニストによる処置への応答が不十分であることが知られている対象から得られるフェリチン発現、フェリチンタンパク質またはフェリチン活性の参照レベルであり、患者からのフェリチン発現、フェリチンタンパク質またはフェリチン活性（場合により）のレベルがこの対照と比較される。他の実施形態では、対照は、ＢＭＰ６アンタゴニストによる処置によく応答することが知られている対象から得られるフェリチン発現、フェリチンタンパク質またはフェリチン活性の参照レベルであり、処置される患者からのフェリチン発現、フェリチンタンパク質またはフェリチン活性のレベルがこの対照と比較され、ここで、（対照と比較して）患者における類似した（例えば、統計的に類似した）レベルのフェリチン発現、フェリチンタンパク質またはフェリチン活性は、患者がＢＭＰ６アンタゴニスト（例えば、表７に記載の抗体７）による処置に応答する上昇した可能性を有するであろうという指標を提供する。

【０４５０】

フェリチン発現、フェリチンタンパク質またはフェリチン活性の存在またはレベルを決定することを必要とする本明細書に記載される方法のいずれかを実施することにおいて、患者が目的のマーカー（またはマーカーのレベル）を有するかどうかを判断するための患者の組成に関する十分な情報を含有するデータリポジトリを調べることにより、そのような決定が行われ得る。好ましくは、データリポジトリは、個体における目的のマーカーおよびマーカーのレベルを収載している。データリポジトリは、適切な情報または遺伝データを保存することができるコンピュータまたは他の電子または非電子媒体によりアクセスできる個々の患者記録、医療データカード、ファイル（例えば、フラットＡＳＣＩＩファイル）を含み得る。本明細書で使用される医療データカードは、磁気データカード、オン

ボード処理ユニットを有しドイツ、ミュンヘンのＳｉｅｍｅｎｓなどの製造供給元により販売されているスマートカードまたはフラッシュメモリカードなどの携帯型保存デバイスである。データリポジトリがコンピュータによりアクセスできるファイルである場合、そのようなファイルは、サーバ、クライアント、ハードディスク、ＣＤ、ＤＶＤ、スマートフォンなどの携帯情報端末、Ｐａｌｍ　Ｐｉｌｏｔ、テープレコーダ、ジップディスク、コンピュータの内部ＲＯＭ（読出し専用メモリ）またはインターネットもしくはワールドワイドウェブを含む多様な媒体に格納され得る。コンピュータによりアクセスできるファイルの保存用の他の媒体は、当業者に明らかである。

【０４５１】

典型的には、フェリチン発現、フェリチンタンパク質またはフェリチン活性のレベルが決定されると、医師または遺伝カウンセラーまたは患者または他の研究者は、その結果を知らされ得る。具体的には、結果は、他の研究者もしくは医師または遺伝カウンセラーもしくは患者に知らせるかもしくは伝達できる伝達可能な形態の情報として投入することができる。そのような形態は、変化し得るものであり、有形または無形であり得る。試験を受けた個体における結果は、説明的陳述、図表、写真、チャート、画像または他の視覚形態として具体化することができる。例えば、ゲル電気泳動または捕捉アッセイの画像は、結果を説明するのに用いることができる。フェリチン発現、フェリチンタンパク質またはフェリチン活性のレベルに関する記述も試験結果を示すのに有用である。これらの陳述および視覚形態は、紙、コンピュータ可読媒体（フロッピーディスク、コンパクトディスクなど）などの有形媒体または無形媒体、例えばインターネットもしくはイントラネット上の電子メールもしくはウェブサイトの形態の電子媒体に記録することができる。さらに、試験を受けた個体における結果は、音声形態で記録し、電話、ファクシミリ、無線携帯電話、インターネット電話などにより、適切な任意の媒体、例えばアナログまたはデジタルケーブル回線、光ファイバーケーブルなどを通じて伝達することもできる。そのような全ての形態（有形および無形）は、「伝達可能な形態の情報」を構成することとなる。したがって、試験結果に関する情報およびデータは、世界のあらゆる場所で生成し、異なる場所に伝達することができる。伝達可能な形態の試験結果は、そのようにして米国に輸入することができる。したがって、本開示は、個体におけるフェリチン発現、フェリチンタンパク質またはフェリチン活性のレベルを含有する伝達可能な形態の情報を生成する方法も包含する。この形態の情報は、本明細書に記載される疾患、例えば貧血を有する患者のＢＭＰ６アンタゴニストによる応答性を予測し、その情報に基づいて処置過程を選択し、その情報に基づいて患者を選択的に処置するのに有用である。

【０４５２】

本明細書には、フェリチンタンパク質のレベルを有する患者がＢＭＰ６アンタゴニストによる処置に応答する（例えば、同じまたは類似の疾患に罹患している患者の一般集団と比べて高い有効性で応答する）可能性を予測する方法であって、患者からの生物学的試料中のフェリチンのレベルを検出するステップを含み、本明細書に記載されるフェリチンのレベル、例えば１５００ｎｇ／ｍＬ以下は、患者がＢＭＰ６アンタゴニストによる処置に応答する上昇した可能性を示す、方法が開示される。

【０４５３】

いくつかの実施形態では、方法は、患者から生物学的試料を得るステップをさらに含み、得るステップは、アッセイするステップの前に実施される。

【０４５４】

いくつかの実施形態では、生物学的試料は、滑液、血液、血清、糞便、血漿、尿、涙液、唾液、脳脊髄液、白血球試料および組織試料からなる群から選択される。いくつかの実施形態では、生物学的試料は、血液または血清である。

【０４５５】

いくつかの実施形態では、フェリチン発現、フェリチンタンパク質またはフェリチン活性の存在および／またはレベルは、イムノアッセイ、免疫組織化学、ＥＬＩＳＡ、フローサイトメトリー、ウェスタンブロット、ＨＰＬＣおよび質量分析からなる群から選択され

る技法によって検出される。

【０４５６】

開示された方法および使用のいくつかの実施形態では、ＢＭＰ６アンタゴニストは、ＢＭＰ６結合性分子またはＢＭＰ６受容体結合性分子である。いくつかの実施形態では、ＢＭＰ６結合性分子またはＢＭＰ６受容体結合性分子は、ＢＭＰ６結合性分子である。いくつかの実施形態では、ＢＭＰ６結合性分子は、ＢＭＰ６抗体またはその抗原結合性部分である。

【０４５７】

開示された方法および使用のいくつかの実施形態では、ＢＭＰ６抗体は、例えば、表１に記載される抗体７である。

【０４５８】

処置方法およびＢＭＰ６アンタゴニストの使用

開示された方法は、臨床医が本明細書に記載される疾患に罹患している患者、例えば貧血患者のための個別治療を提供することを可能にし、すなわち、開示された方法は、患者をＢＭＰ６アンタゴニスト（例えば、抗体７、例えば表１に記載されるもの）により選択的に処置するかどうかを決定することを可能にする。このようにして、臨床医は、本明細書に記載される疾患、例えば貧血を患っている患者の全集団において、ＢＭＰ６拮抗作用の利益を最大化し、リスクを最小化することができる。ＢＭＰ６アンタゴニスト、例えばＢＭＰ６結合性分子（例えば、ＢＭＰ６抗体またはその抗原結合性部分、例えば抗体７、例えば表１に記載されるもの）またはＢＭＰ６受容体結合性分子（例えば、ＢＭＰ６受容体抗体またはその抗原結合性部分）は、特に本明細書に記載されるフェリチンのレベルを有する患者において、本明細書に記載される疾患、例えば本明細書に開示される貧血（例えば、徴候および症状など）の処置、予防または改善に有用であることが理解されるであろう。

【実施例】

【０４５９】

以下の実施例は、本発明をさらに例示するために提示されるものであり、その範囲を限定するために提示されるものではない。本発明の他の変形形態は、当業者に容易に明らかとなり、付属の特許請求の範囲によって包含される。

【０４６０】

実施例１　－　抗ＢＭＰ６抗体のインビトロ活性およびインビボ活性ならびにＰＫ／ＰＤ材料

被験化合物は、５０ｍＭのクエン酸緩衝液、ｐＨ７．０、１５０ｍＭのＮａＣｌ中に約８ｍｇ／ｍｌの濃度の抗体５、抗体６および抗体７（表８）であり、動物投与前にＰＢＳ中で希釈した。雄Ｃ５６ＢＬ／６マウスまたは雄Ｓｐｒａｇｕｅ　Ｄａｗｌｅｙラットを使用した（表９）。

【０４６１】

【表２３】

表 8. BMP6 アンタゴニスト抗体の特性

抗体 ID	フレームワーク	KD(nM) BMP6	IC50(ug/ml) BMP6 レポーター
抗体 5	VH3_15, Vl1	0.1	0.06
抗体 6	VH3_15, Vl1	<0.1	0.08
抗体 7	VH3_15, Vl1	0.1	0.07

【０４６２】

【表２４】

表９．動物の特徴

種	系統	類別	販売元	性別	年齢
マウス(Mus musculus)	C57BL/6	野生型	Jackson Laboratory, Bar Harbor, ME	雄	8-9週齢
ラット(Rattus norvegicu)	Sprague Dawley	野生型	Charles River Laboratory, Wilmington, MA	雄	8-12週齢

【０４６３】

ＢＭＰレポーター遺伝子アッセイのために、ホタルルシフェラーゼを駆動するプロモーター［Ｋｏｒｃｈｙｎｓｋｙｉ ｅｔ ａｌ．２００２．Ｊ．Ｂｉｏｌ．Ｃｈｅｍ．２７７：４８８２－９１］内にＢＭＰ応答性エレメントであるＢＲＥを含有するレンチウイルスベクターは、ｐＧＬ４－ＢＲＥ２－Ｌｕｃ２に由来した。レンチウイルスベクターを使用して、ＨＥＰ３Ｂ肝臓がん細胞株に安定的にトランスフェクトした。細胞株を、１０％のウシ胎仔血清、１％のペニシリン／ストレプトマイシンおよび５ｕｇ／ｍｌのブラストサイジンを伴うＥＭＥＭ中で維持した。組換えヒトＢＭＰタンパク質は、Ｒ＆Ｄ Ｓｙｓｔｅｍｓから購入した。

【０４６４】

６０ｍｌのボトル中のウシ流産菌（Ｂｒｕｃｅｌｌａ ａｂｏｒｔｕｓ）リング検査抗原（株１１１９－３）は、Ｕ．Ｓ．Ｄｅｐａｒｔｍｅｎｔ ｏｆ Ａｇｒｉｃｕｌｔｕｒｅ、Ａｎｉｍａｌ ａｎｄ Ｐｌａｎｔ Ｈｅａｌｔｈ Ｉｎｓｐｅｃｔｉｏｎ Ｓｅｒｖｉｃｅ、Ｎａｔｉｏｎａｌ Ｖｅｔｅｒｉｎａｒｙ Ｓｅｒｖｉｃｅｓ Ｌａｂｏｒａｔｏｒｉｅｓ、Ａｍｅｓ、Ｉｏｗａから購入した。ブルセラ症リング検査抗原は、フェノール化緩衝液中の殺滅され、染色されたウシ流産菌（Ｂ．ａｂｏｒｔｕｓ）株１１１９－３細胞の懸濁液を含有する。６０ｍＬずつのボトルの濃度は、１ｍｌ当たりの粒子約10^9個である。5×10^9の原液を以下の方式で洗浄および調製する。まず、６０ｍｌのボトルを冷蔵庫から取り出し、完全に混合する。次いで、５００ｍｌのＢＡを５００ｍＬの遠心分離機用ボトルへ移す。次いで、超遠心分離機を使用して、これらを１０，０００ｒｐｍで１５分間にわたり遠心分離する。上清を取り出し、１００ｍＬのＰＢＳ中に再懸濁させる結果として１ｍｌ当たりの粒子5×10^9個の原液をもたらし、これをアリコート分割し、－８０℃で凍結させた。

【０４６５】

動物の維持条件

馴致期間中および研究期間中、動物をｍｉｃｒｏ－ｉｓｏｌａｔｏｒ非金網底ケージ内で集団的に飼育した。動物は、室温を２１～２３℃とし、湿度を３０～７０％とする以下の通りの標準的な明周期：１２時間にわたる暗期、１２時間にわたる明期（明期オン：午前６：３０、明期オフ：午後６：３０）下に保った。馴致期間中および研究期間中、動物には齧歯動物用飼料および水へ自由にアクセスさせた。

【０４６６】

実験条件

ＢＭＰレポーター遺伝子アッセイにおける抗体活性の決定

典型的なアッセイでは、0.6×10^4個のＢＲＥ－Ｌｕｃ２ＨＥＰ３Ｂ細胞を３８４ウェルプレート内の２５ｕｌの基礎培養培地中に播種したが、血清は、２％まで低減した。翌日、ＰＢＳ中で希釈された抗体を添加するのに続き、ＢＭＰ６を１０ｎｇ／ｍｌの最終濃度まで添加した。血清を伴わないＥＭＥＭ培地により、容量を５０ｕｌとし、最終血清濃度を１％とした。カウンターアッセイとしてＢＭＰ２／４／７による活性化を並行して行った。ＢｒｉｇｈＧｌｏアッセイ（Ｐｒｏｍｅｇａ）は、製造元の指示書に従い、Ｅｎｖｉｓｉｏｎプレートリーダー（ＰｅｒｋｉｎＥｌｍｅｒ）を使用して、抗体添加後２４時間にわたり実施した。データは、各抗体について、対照抗体による完全なレポーター活性化と比較した阻害パーセントとして計算した。

【０４６７】

ラットにおける単回投与による抗体の薬物動態研究
ラットＰＫトリアージ研究は、規定された統計学的確実性で古典的なＰＫパラメータを決定するのではなく、被験抗体について血清半減期の推定値をもたらすことを意図するものである。３匹の動物に抗体の単回ＩＶ注射を施した。
【０４６８】
マウス用量反応ＰＫ／ＰＤ研究のために、動物を等しい数の２つの個別のコホートへ分けた。各コホートは、ビヒクル処置マウスおよび化合物処置マウスの両方を含む。１つのコホートを抗体注射後２、４日目に解析にかけたのに対し、第２のコホートを６、８日目に解析した。コホート分離の理由は、血清鉄パラメータに対する影響を最小限に保つように逐次的採血に対する必要を低減することである。動物群を表１０に示す。
【０４６９】
【表２５】

表 10. デザイン、動物の割り付け、および被験薬の用量

実験	群	番号	用量 (mg/kg, IV)	頻度
マウス PK/PD	対照 hIgG	5	0.5	1 回
	0.05 mpk 抗体 6	5	0.05	1 回
	0.1 mpk 抗体 6	5	0.1	1 回
	0.5 mpk 抗体 6	5	0.5	1 回
マウス BA 貧血	偽(BA なし)	6	0	0
	BA, EPO+ 対照 hIgG	6	2	1 回
	BA, EPO+ 抗体 5	6	2	1 回
	BA, EPO+ 抗体 6	7	2	1 回
	BA, EPO+ 抗体 7	6	2	1 回

【０４７０】
マウスにおける炎症性貧血の確立および治療的処置
注射のためのＢＡ粒子５×１０^{8}個は、以下の方式（マウス１０匹の例）で調製する。マウス１匹当たり２００μｌを注射するため、出発濃度は、１ｍｌ当たりの粒子２．５×１０^{9}個であることが必要である。ＰＢＳを使用して原液を２倍に希釈する。例えば、マウス１０匹×０．２００μｌ＝２ｍｌ＋２０％の過剰量＝１ｍｌ当たりの粒子２．５×１０^{9}個による２．２ｍＬは、１．１ｍｌのＢＡ原液＋１．１ｍＬのＰＢＳを必要とした。ＥＳＡ処置の１～８日前におけるＢＡ投与は、６～７日間後におけるＨＧＢ応答の鈍化を結果としてもたらすことが示された。
【０４７１】
Ｃ５７ＢＬ／６マウスにＢＡ（マウス１匹当たりの粒子３×１０^{8}個）を注射し、５時間後に血清ＩＬ６レベルをＥＬＩＳＡ（ＫＭＣ００６１、Ｌｉｆｅ　Ｔｅｃｈｎｏｌｏｇｉｅｓ）により測定して炎症応答を決定した。ＩＬ６濃度が全てのＢＡ処置動物についての平均値の９５％信頼区間より小さい動物を研究から除外した結果として、一部の群ではマウスが５～６匹より少なくなった。この除外過程を実行して、ＥＳＡ応答を鈍化させるのに十分な炎症を示さなかった動物を組入れることによりもたらされる偽陽性結果の可能性を低下させた。除外過程後、６日目にマウスに表示の抗体をＩＶ注射し、ＥＰＯ（１００ｇ／ｋｇの皮下ダルベポエチンアルファ、Ａｍｇｅｎ）をＢＡ処置に対して７日目に１００ｍｇ／ｋｇで投与した。ＥＳＡおよび抗体療法に対する応答を６日間後に測定した。
【０４７２】
薬物動態、薬力学および有効性評価項目についての解析
マウスおよびラットによるＰＫ／ＰＤ研究のために、抗体注射後の表示の時点において血清試料を回収した。ビオチニル化抗ヒトＩｇＧを一次捕捉抗体とする自動式ハイスループットイムノアッセイシステム（Ｇｙｒｏｓ）を介して、循環抗体濃度を決定するのに血清のアリコートを使用した。各試料の第２の血清アリコートは、定量的比色鉄アッセイ（

Ｑｕｎｔｉｃｈｒｏｍ、ＤＩＦＥ－２５０、Ｂｉｏａｓｓａｙ Ｓｙｓｔｅｍｓ）のために使用した。第３のアリコートを、既に記載された改変手順に従うラットまたはマウスヘプシジン２５ペプチドのＬＣ－ＭＳによる定量化のために処理した。Ｌｉ ｅｔ ａｌ．２００９．Ｊ．Ｐｈａｒｍ．Ｔｏｘ．Ｍｅｔｈ．５９：１７１－８０。

【０４７３】

ＢＡ誘導性貧血／抗体処置研究のために、ＥＤＴＡコーティングＢＤ Ｍｉｃｒｏｔａｉｎｅｒチューブによる最終採血は、終了時に心臓穿刺を介して得た。全血をＸＴ－２０００ｉＶ血液分析装置上の全血球算定解析のために使用した。有効性評価項目は、ＨＧＢ、ＨＣＴ、ＲＥＴＡおよびＲＥＴ－ＨＥを含む。

【０４７４】

統計学的解析

一元分散分析（ＡＮＯＶＡ）に続き、Ｂｏｎｆｅｒｒｏｎｉの事後検定を実行して血液学パラメータの群間差について解析する（ｐ＜０．０５を有意と考える）。データは、平均値±ＳＥＭとして報告する。

【０４７５】

結果

細胞内ＢＭＰ依存的転写アッセイにおけるＢＭＰ６アンタゴニスト抗体の生物学的活性

３つのＢＭＰ６アンタゴニスト抗体５、抗体６および抗体７の全ては、ヒト肝臓がん細胞株であるＨｅｐ３Ｂ内の組換えヒトＢＭＰ６に誘導されるＢＭＰレポーター（ＢＲＥ－ｌｕｃ）活性の生体活性を完全に阻害し（０．３ｎＭのｒｈＢＭＰ６に対するＩＣ５０＝０．４ｎＭ）、したがってＡｇ：ｍＡｂ＝１：１以上のモル比で活性である。抗体は、ＢＭＰ２、ＢＭＰ５およびＢＭＰ７を含む類縁のＢＭＰファミリータンパク質を５００倍以上のウィンドウで上回る良好な選択性を裏付けた。図１を参照されたい。

【０４７６】

ラットにおけるＢＭＰ６アンタゴニスト抗体の薬物動態プロファイルおよび薬力学プロファイル

Ｓｐｒａｇｕｅ Ｄａｗｌｅｙラットにおける単回投与トリアージ薬物動態研究を、ＢＭＰ６抗体５、抗体６および抗体７について、頸静脈カテーテルを介する体重１ｋｇ当たり１０ｍｇのＩＶ注射により実施した。３つの抗体の血清中の総抗体濃度－時間関係（特に$t_{1/2}$、ＭＲＴ）を標準的なプロファイルと比較することにより、典型的なヒトＩｇＧと符合する特徴が示唆される（図２および表１１を参照されたい）。標的により媒介される薬物貯留の証拠は見られない。この用量において、全てのＢＭＰ６抗体は、血清ヘプシジンを注射後１日目までに検出レベルを下回るように抑制した。ヘプシジン発現の強い抑制の持続は、１６日目までやはり明らかであったことから、活性の長い持続期間が示唆される。これに対応して、循環鉄濃度の一過性のピーク上昇が抗体注射後２日目に観察され、レベルは、１６日目まで高レベルを維持した。

【０４７７】

血清抗体濃度は、単回の抗体注射後、時間経過にわたり測定した。試料は、投与（１０ｍｇ／ｋｇ、ＩＶ）の１時間、６時間、１、２、４、８、１６、２８日後に回収した。

【０４７８】

【表２６】

表 11. 単回投与ラットトリアージ PK 研究における重要パラメータ

パラメータ	抗体 5	抗体 6	抗体 7
$T_{1/2}$ (日)	9.1	7.8	9.2
C_{max} (ug/ml)	140.7	189.0	146.2
平均貯留時間(日)	8.6	7.0	6.9

【０４７９】

同様に、抗体７（遊離の抗体７およびＢＭＰ６に結合した抗体７の両方）の総血清濃度も、抗体７（ラットでは、１０、３、１、０．３、０．１および０．０３ｍｇ／ｋｇの用量；カニクイザルでは、３ｍｇ／ｋｇの用量）の単回のＩＶ注射後、表示の時点のラット

およびカニクイザルにおいて、ラットにおけるＬＬＯＱを４６ｎｇ／ｍＬ（点線）とし、サルにおけるＬＬＯＱを０．２ｕｇ／ｍＬ（点線）とするＥＬＩＳＡにより測定した。結果を図９（ラット）および図１２（サル）に示す。

【０４８０】

マウスおよびカニクイザルのＢＭＰ６抗体処置後における血清鉄パラメータの用量依存的応答

ＢＭＰ６抗体処置に対する鉄代謝の用量依存的応答をさらに規定するために、ナイーブＣ５７ＢＬ／６マウスに、表示の通り０．０２～０．５ｍｇ／ｋｇの範囲で用量を上昇させる抗体６を注射した。抗体６は、３つの抗体が同様のフレームワーク、齧歯動物のＰＫプロファイルおよびインビトロにおける活性を共有するため、それらを代表するものとして選択した。０．５または０．１ｍｇ／ｋｇの単回投与は、血清ヘプシジンを著明に抑制し、したがって処置の２日後に血清鉄濃度を増大させた。しかし、わずか０．５ｍｇ／ｋｇでも、注射後最長８日間にわたり、鉄代謝に対する強い持続的効果が観察された。図３を参照されたい。これらの結果は、強力なＢＭＰ６アンタゴニスト抗体を使用して、用量依存的で飽和可能な標的中和を容易に達成し得ることを示唆する。

【０４８１】

図３を参照されたい。ＢＭＰ６抗体の、鉄代謝についての血清バイオマーカーに対する用量依存的効果、上：表示の用量の抗体６の単回ＩＶ注射後における、時間経過にわたる血清ｈＩｇＧ濃度である。下：左パネルは、単回の抗体６または対照ヒトＩｇＧ注射後における血清ヘプシジン濃度についての定量的解析であるのに対し、右パネルは、血清鉄濃度である。

【０４８２】

同様の実験を抗体７で実施した。循環血清ヘプシジンの抗体７による用量および時間依存的抑制を雄Ｓｐｒａｇｕｅ－Ｄａｗｌｅｙラットにおいて調べた。血清試料は、抗体７の単回投与を０．０３ｍｇ／ｋｇ～１０ｍｇ／ｋｇの範囲の用量のＩＶ注射により投与した、０．２５、１、２、６時間ならびに１、２、４、７および１４日後に回収した。血清ヘプシジンレベルは、ＬＬＯＱ＝９ｎｇ／ｍＬとするＬＣ／ＭＳにより測定した。同じ動物において血清鉄レベルも測定した。結果を図１１に報告する。

【０４８３】

これらの結果は、本発明の抗ＢＭＰ６抗体が血清鉄の用量依存的増大を引き起こすことが可能であることを示す。効果は、頑健であり、抗体投与後、少なくとも２週間にわたり持続した。

【０４８４】

抗ＢＭＰ６抗体に応答する血清鉄パラメータに対する効果もカニクイザルにおいて調べた。雄カニクイザルに用量を３ｍｇ／ｋｇとする抗体７の単回静脈内注射を施した。注射の表示の日数後において血清試料を回収し、総血清鉄（Ｆｅ）濃度および総血清ヘプシジン濃度について解析した。結果を図１３に示す。３匹の個々の動物に由来するデータを提示する（投与前のベースラインレベルに対してプロットする）。平均値を「×」線により示す。血清鉄の増大および血清ヘプシジンの抑制は、抗体投与の２４時間後に観察され、効果（投与前レベルと比べた）は、２８日間にわたる研究の終了時まで維持された。これらの結果は、本発明のＢＭＰ６抗体が非ヒト霊長動物におけるヘプシジンの発現を強力に低減し、循環鉄濃度を誘導することを示す。

【０４８５】

マウスの炎症駆動型ＥＳＡ抵抗性貧血における赤血球パラメータに対するＢＭＰ６抗体の効果

炎症性貧血のマウスモデルにおける抗ＢＭＰ６抗体の治療有用性を査定する実験を実施した。図４を参照されたい。ウシ流産菌（Ｂｒｕｃｅｌｌａ　ａｂｏｒｔｕｓ）抗原（ＢＡ）で処理されたマウスは、６日後に貧血を発症した。貧血性動物を、１日間隔てて開始した組換えエリスロポエチン（ＥＰＯ）を加えた抗ＢＭＰ６抗体で処置し、抗体療法の貧血の進行に対する効果をＢＡに対して１３日目にモニタリングした。ＨＧＢ値およびＨＣ

Ｔ値は、処置の開始～１３日目で低下し、これは、ＥＰＯ処置単独に対して抵抗性であった。ＢＭＰ６抗体とＥＰＯとによる組合せ処置は、ＥＰＯ応答を有効に元に戻し、ＨＧＢレベルおよびＨＣＴレベルを有意に上昇させた。この効果は、ＲＥＴＡの持続的増大および網状赤血球のヘモグロビン含量の回復によっても反映されるエリスロポエチン活性の共時的刺激と関連したことから、赤血球生成コンパートメント内の機能的な鉄欠損に起因するヘム合成の是正が示唆される。

【０４８６】

図４を参照されたい。ＥＳＡ抵抗性炎症性貧血マウスモデルにおけるＢＭＰ６抗体の治療的処置、上：ＢＡ誘導型ＥＳＡ抵抗性炎症性貧血モデルについての実験のスキームである。下：ＢＡ処置の１３日後における赤血球生成パラメータである。ＨＧＢ：ヘモグロビン；ＨＣＴ：ヘマトクリット；ＲＥＴＡ：網状赤血球カウント；ＲＥＴ－ＨＥ：網状赤血球ヘモグロビン均等物である。ＢＡ＋ＥＰＯ＋ｈＩｇＧ１に対し、＊ｐ＜０．０５、＊＊ｐ＜０．０１、＊＊＊ｐ＜０．００１、＊＊＊＊ｐ＜０．０００１である。

【０４８７】

実施例２　－　ヒトにおけるＢＭＰ６抗体について調べるための臨床計画

臨床試験計画：ヒトＢＭＰ６に結合する抗体またはその抗原結合性断片を使用する治療についての評価。

末期腎疾患（ＥＳＲＤ）を伴う患者は、エリスロポエチン（ＥＰＯ）を産生するとしてもわずかにのみ産生し、ＥＰＯに誘導されるＨｇｂの合成を可能とするのに外因性ＥＰＯの定期的な投与および鉄の静脈内（ＩＶ）注入を一般に必要とする。慢性血液透析（ＨＤ）患者の最大で３分の１は、主に鉄の細胞内隔離のためにＥＰＯに十分に応答しない。ヘプシジンは、主に腎臓によりクリアランスされるが、透析による除去は不十分である。したがって、慢性ＨＤ患者は、ヘプシジンレベルを著明に上昇させる傾向があり、これは、赤血球生成のための鉄の移動を妨げる。体内の鉄貯蔵が臨界レベル（高血清フェリチンレベルにより示される）に達したら、ＩＶ鉄治療は、もはや有効でもなく、推奨もされない。現行のガイドラインは、ＩＶ鉄をフェリチンレベルの高い貧血性透析患者に施すことに反対しており、したがって、これらの患者は、なお高度なＥＰＯ用量を施される場合があり、関連する潜在的なＥＰＯ低応答性貧血の危険性を伴う（Ｋｉｄｎｅｙ　Ｄｉｓｅａｓｅ　Ｉｍｐｒｏｖｉｎｇ　Ｇｌｏｂａｌ　Ｏｕｔｃｏｍｅｓ（ＫＤＩＧＯ）Ａｎｅｍｉａ　Ｗｏｒｋ　Ｇｒｏｕｐ　２０１２）。ＥＰＯ低応答性貧血は、血液透析患者（Ｋｉｌｐａｔｒｉｃｋ　ｅｔ　ａｌ　２００８、Ｌｏｐｅｚ－Ｇｏｍｅｚ　ｅｔ　ａｌ　２００８、Ｆｕｋｕｍａ　ｅｔ　ａｌ　２０１２）および腹膜透析患者（Ｓｕｔｔｏｒｐ　ｅｔ　ａｌ　２０１３）における貧血および高ＥＰＯ用量の両方と関連する全死亡原因の危険性の著明な増大を付与する。本開示のヒトＢＭＰ６に結合する単離抗体またはそれらの抗原結合性断片は、ＥＰＯおよびＩＶ鉄の投与の必要を同時に低減しながら、ヘモグロビン（Ｈｇｂ）レベルを改善することにより、鉄欠乏性貧血を伴う慢性腎疾患患者に利益をもたらし得る。ＥＰＯ抵抗性指数（ＥＰＯ用量のＨｇｂレベルに対する比）の低下は、死亡危険性の低下と相関する。

【０４８８】

まとめると、本開示のヒトＢＭＰ６に結合する単離抗体またはそれらの抗原結合性断片を使用する治療の目標は、隔離された鉄を移動させ、次いでこれによりＥＰＯ投与および鉄投与の必要を低減し、Ｈｇｂレベルを改善することであり、これらの全ては、患者の転帰を改善することが予測される。これは、ヒトＢＭＰ６に結合する単離抗体またはその抗原結合性断片を使用する治療について初めてヒトに投与する単回投与研究である。本研究は、慢性血液透析患者集団における安全性、忍容性、薬物動態、薬力学および有効性について評価する。本研究の目的は、ヒトＢＭＰ６に結合する単離抗体またはその抗原結合性断片を使用する治療が、慢性腎疾患と関連する貧血におけるさらなる臨床開発を正当化するかどうかを査定することである。

【０４８９】

治験計画

研究設計

これは、慢性血液透析患者集団における安全性、忍容性、ＰＫ、ＰＤおよび有効性について評価するための、ヒトＢＭＰ６に結合する単離抗体またはその抗原結合性断片について初めてヒトに投与する２パートの単回投与の非確認研究である。パート１は、初めてヒトに投与する単回投与のオープンラベルの用量設定研究である。パート２は、ヒトＢＭＰ６に結合する単離抗体またはその抗原結合性断片の２つの用量レベルについて比較する無作為化、二重盲検、プラセボ対照の単回投与研究である。

【０４９０】

安全性評価は、身体検査、ＥＣＧ、バイタルサイン、標準的な臨床的検査室査定（血液学指数、血液化学指数、血清鉄指数）、有害事象および重篤な有害事象のモニタリングを含むであろう。

【０４９１】

パート１

パート１の目途は、（ａ）単回投与の安全性、ＰＫ、ＰＤおよび忍容性を査定すること、ならびに（ｂ）パート１において調べられ、投与の２９日後におけるＨｇｂの増大（ベースライン　０．５ｇ／ｄＬからの変化の中央値）を結果としてもたらす最低用量として規定される、ヒトＢＭＰ６に結合する単離抗体またはその抗原結合性断片の最小ＰＡＤ（薬理学的活性量）を決定することである。

【０４９２】

パート１の期間中、スクリーニング来院を行い、ここで、研究に参入する患者の適格性を決定する（図６）。適格な患者は、研究施設に受け入れ、ベースライン来院時に適格性基準について再査定する。ベースラインにおける全ての安全性査定の結果は、投与前に入手可能でなければならず、再検討されなければならない。

【０４９３】

図６は、パート１のための研究設計についての概観を提示する。患者は、ルーチンの透析来院の直後の１日目に研究施設を訪れるように求められる。次いで、患者は、ヒトＢＭＰ６に結合する抗体またはその抗原結合性断片（正確な用量は、コホートに依存する）の注入を受ける。可能な場合、投与は、２透析間日（例えば、金曜日または土曜日）前の透析日に行うことが好ましいものとし、その日の透析セッション後に行う。しかし、可能でない場合、投与は、２透析間日に先行しない透析日に行うことができる。投与後、パート１における最初の２例の患者は、安全性評価およびＰＫ／ＰＤ評価のために少なくとも４８時間にわたり在院する。患者は、４および６日目にＰＫ／ＰＤ評価のために研究施設に帰院し、次いで合計２９日間にわたるＰＫ評価および合計１２週間にわたる安全性評価のためにも毎週研究施設に帰院し、およそ８５日目に研究終了時の来院を行う。透析後ＰＫ評価以外の全ての検査室検査を含む研究来院は、患者の規定の透析来院前に行うものとする。

【０４９４】

パート１は、薬理学的に活性でないと予測される用量で開始する。用量は、パート１の各後続のコホートについて、ヒトＢＭＰ６に結合する単離抗体またはその抗原結合性断片の単回投与後における各コホートのＨｇｂの変化の中央値および「統計学的考察」の節で論じられ、図７で示されるトランスフェリン飽和度（ＴＳＡＴ）レベルに基づいて調整する。この決定木の目途は、鉄移動（投与の１週間後に患者６例のコホート内の少なくとも４例の患者において観察される５０％超のトランスフェリン飽和度（ＴＳＡＴ）レベルにより示される）を誘導し、Ｈｇｂを増大させる最小投与可能用量を同定することである。鉄が移動するが、Ｈｇｂが投与の２９日後に少なくとも０．５ｇ／ｄＬ増大しない場合、臨床データを解析して潜在的な交絡因子（例えば、研究以外の過剰な瀉血に起因する失血）について評価する。該当する治験責任医師および治験依頼者の代表者は、各コホートの有害事象について再検討し、（ａ）慢性腎不全と関連する公知の医学的問題および（ｂ）非臨床毒性所見に関連してこれらの事象について評価する。後続のコホートは、治験責任医師および治験依頼者が先に進めることが安全であると示すまで投与しない。

【０４９５】
図７は、パート１における用量の調整のためのアルゴリズムを提示する。Ｈｇｂ測定を含む血液検査は、透析前に行われる。開始用量は、０．０１ｍｇ／ｋｇとする。パート１では、患者を患者最大で６例ずつの最大で６つのオープンラベルの投与コホートの１つへ割り付ける。上記で規定されたヒトＢＭＰ６に結合する単離抗体またはその抗原結合性断片の最小ＰＡＤをパート２のために選択される低用量アームとする。各後続のコホートの用量は、図７に示す通り、高用量に調整することもでき、低用量に調整することもできる。最低投与可能用量（０．００１ｍｇ／ｋｇ）がＨｇｂの増大の中央値≧０．５ｇ／ｄＬを結果としてもたらす場合、これを最小ＰＡＤおよびパート２のために選択される低用量とし、パート１で査定された２番目の高用量をパート２のための高用量アームとする。パート１で査定された最高用量（０．１ｍｇ／ｋｇ）が最小ＰＡＤである場合、パート２は、２つのアーム：プラセボおよび最小ＰＡＤのみで進める。パート１でさらなる投与コホートが必要とされる場合、これらのコホートを本明細書に記載される通りに追加する。
【０４９６】
パート１の各コホートは、６例の患者を含むであろう。パート１の第１のコホート内の最初の２例の患者には、少なくとも７日間隔てて投与する。パート１の後続のコホートの患者への投与タイミングは、それぞれの施設のスケジュールおよびサポートリソースに応じて実施可能なタイミングとする。全てのパート１の患者は、投与後１２週間にわたり追跡される。
【０４９７】
パート２
パート２の目途は、（ａ）安全性、ＰＫ、ＰＤおよび忍容性を査定すること、ならびに（ｂ）プラセボと対比した、ヒトＢＭＰ６に結合する抗体の単回投与に応答するＨｇｂの変化に基づいて有効性を決定することである。パート２は、最大で３つのアーム：最大で２つのＡｂ投与アームおよびプラセボアーム（図８）を含むであろう。２つのＡｂ投与アームは、パート１で生成されたデータに由来する。パート２は、３つのアームへ１：１：１で無作為化された約６０例の患者を含むであろう。パート１で、最小ＰＡＤが査定された最高用量（０．１ｍｇ／ｋｇ）でもある場合、パート２は、２つのアーム：最小ＰＡＤおよびプラセボのみを有する。この場合、４０例の患者を１：１の無作為化比で２つのアームへ無作為化する。パート２の標本サイズは、パート１におけるＨｇｂのベースラインからの変化のばらつきに基づいて調整することができる。
【０４９８】
図８は、パート２のための研究設計を提示する。パート２の期間中、スクリーニング来院を行い、ここで、研究に参入する患者の適格性を決定する。適格な患者は、ベースライン来院時に適格性基準に従って再査定される。ベースラインにおける全ての安全性査定の結果は、投与前に入手可能でなければならず、再検討されなければならない。
【０４９９】
患者は、ルーチンの透析来院の直後の１日目に研究施設を訪れるように求められる。次いで、患者は、無作為化された割り付けにより決定される通り、Ａｂまたはプラセボの注入を施される。可能な場合、投与は、２透析間日（例えば、金曜日または土曜日）前の透析日に行うことが好ましいものとし、その日の透析セッション後に行う。しかし、可能でない場合、投与は、２透析間日に先行しない透析日に行うことができる。患者は、４および６日目に研究施設に帰院し、次いでフォローアップ評価のために毎週帰院する。フォローアップ来院時、患者は、ルーチンの安全性評価を受け、またＰＫデータも８５日間にわたり収集する。研究来院は、患者の透析スケジュールに適合させるために、患者の規定の透析来院後に行うことができる。パート２に登録された全ての患者は、Ａｂ（またはプラセボ）の投与後１２週間にわたり追跡される。
【０５００】
ＥＰＯ用量の管理（両方のパート）
両方のパート期間中の個別のＥＰＯ用量の調整は、各透析施設の標準治療プロトコール

に従って管理する。施設プロトコールを施設評価の一部として再検討し、標準治療ガイドライン（ＫＤＩＧＯ Ｃｌｉｎｉｃａｌ Ｐｒａｃｔｉｃｅ Ｇｕｉｄｅｌｉｎｅ ｆｏｒ Ａｎｅｍｉａ ｉｎ Ｃｈｒｏｎｉｃ Ｋｉｄｎｅｙ Ｄｉｓｅａｓｅ Ａｎｅｍｉａ Ｗｏｒｋ Ｇｒｏｕｐ ２０１２）の遵守について確認する。研究期間中の任意の時点において１３ｇ／ｄＬ以上のＨｇｂレベルを達成する患者は、目標レベルを上回るようにＨｇｂ値を管理するための施設独自のガイドラインに加えて、治験責任医師の指示による治療的瀉血により管理することができる。

【０５０１】

静脈内鉄の管理（両方のパート）

負荷用量のＩＶ鉄（毎週１００ｍｇ）を施される患者は、研究から除外する。毎週の維持ＩＶ鉄（毎週＜１００ｍｇ）を施される患者は、本研究に組入れることができる。毎週の維持ＩＶ鉄用量は、Ａｂ投与の１週目の開始時にも保持する。鉄指数は、Ａｂ投与後１週目にモニタリングし、レスキュー鉄治療および維持ＩＶ鉄管理は、管理的血液透析ユニットのプロトコールに従う標準治療ガイドラインに従う。施設プロトコールを施設評価の一部として再検討し、標準治療ガイドライン（ＫＤＩＧＯ Ｃｌｉｎｉｃａｌ Ｐｒａｃｔｉｃｅ Ｇｕｉｄｅｌｉｎｅ ｆｏｒ Ａｎｅｍｉａ ｉｎ Ｃｈｒｏｎｉｃ Ｋｉｄｎｅｙ Ｄｉｓｅａｓｅ Ａｎｅｍｉａ Ｗｏｒｋ Ｇｒｏｕｐ ２０１２）の遵守について確認する。

【０５０２】

研究設計についての根拠

２パート研究設計についての根拠

同じ患者集団内の２つのパートの根拠は、潜在的に治療未満用量へ曝露される患者およびコホートの数を最小化することを目途として、安全かつ効率的に最小ＰＡＤを同定することである。パート２は、最小ＰＡＤおよび最小ＰＡＤ（パート１で決定された）を上回る１つの用量レベルのプラセボ群と比較した有効性について評価する。

【０５０３】

パート１は、単回投与の安全性、忍容性、ＰＫ／ＰＤおよびオープンラベル研究におけるＡｂの最小ＰＡＤを査定するように設計する。最小ＰＡＤは、Ａｂ投与の２９日後における各投与コホートのＨｇｂの変化の中央値に基づいて決定する。ＰＡＤ決定基準の根拠は、ＥＰＯに対する臨床的に有意味な応答が、ＥＰＯ用量の変化後、最長で４週間を要求し得ることである。Ａｂが標的集団内の鉄を移動させる場合、これは、患者の現行のＥＰＯ用量がより頑健な赤血球生成効果を及ぼすことを可能とし得る。ＰＡＤ決定基準に列挙された２９日間にわたるＨｇｂの範囲は、ＥＰＯ用量（２９日間にわたり約０．５ｇ／ｄＬ）に応答したＨｇｂの臨床的に有意かつ安全な増大速度に基づく。最大効果ではなく、最小ＰＡＤを探索することの根拠は、過剰に頑健なＨｇｂ応答が、現行の標準治療ガイドライン（Ｋｉｄｎｅｙ Ｄｉｓｅａｓｅ Ｉｍｐｒｏｖｉｎｇ Ｇｌｏｂａｌ Ｏｕｔｃｏｍｅｓ（ＫＤＩＧＯ）Ａｎｅｍｉａ Ｗｏｒｋ Ｇｒｏｕｐ ２０１２）における目標Ｈｇｂ範囲により反映される通り、この患者集団における安全性に対する危険性であることである。パート１における安全性評価および忍容性評価の目標は、（ａ）安全性シグナルを同定すること、および（ｂ）用量調整の決定を通知し、パート２（最小ＰＡＤ＋１レベル高い用量）のために選択された用量がプラセボと比べた安全性および有効性の両方のさらなる査定に適することを確認することである。パート１は、安全性についてのバイアスのかからない評価をもたらすのに検出力が十分でないのに対し、パート２におけるプラセボ群および大きい標本サイズは、最小ＰＡＤおよび１レベル高い用量におけるバイアスのかからない安全性評価を可能とするであろう。安全性、忍容性およびＰＫ／ＰＤに加えて、パート２は、二重盲検研究におけるプラセボと対比した有効性について評価するようにも設計する。有効性評価は、主にＨｇｂに基づき、ＥＰＯ抵抗性指数（ＥＲＩ＝毎週の体重により調整されたＥＰＯ用量をＨｇｂで除した数）を重要な副次的評価項目として伴う。ＥＲＩは、所与のＨｇｂ値を達成するのに必要とされるＥＰＯの量についての定量的尺度をもたらし、したがってＨｇｂ単独に加えて臨床的に重要な情報をもたらす。

【０５０４】
透析患者におけるＦＩＨについての根拠
この初めてヒトに投与する（ＦＩＨ）研究は、健常ボランティア（ＨＶ）ではなく、慢性血液透析（ＨＤ）患者において行う。ＨＶにおける抗ヒトＢＭＰ６　Ａｂに対する安全性、忍容性およびＰＫ／ＰＤ応答についての査定は、いくつかの理由で、慢性ＨＤ患者へ敷衍することができない。
【０５０５】
ＨＶと異なり、貧血、高血清フェリチンおよび低ＴＳＡＴを伴う慢性ＨＤ患者は、慢性的に蓄積された細胞内鉄貯蔵を有する。したがって、慢性ＨＤ患者では、安全性、忍容性および低用量のＡｂに応答した鉄移動と関連する薬理学的効果が最も適切に査定される。正常な腎機能を伴うＨＶでは、ヘプシジン（ＢＭＰ６は、この重要な調節因子である）は、腎臓により濾過され、尿中に効率的に排出され、低循環レベルをもたらす。これに対し、透析では、ヘプシジンの濾過は、それほど効率的ではなく、一過性であることから、慢性ＨＤ患者で高循環レベルがもたらされる（Ｚａｒｉｔｓｋｙ　ｅｔ　ａｌ　２０１０）。さらに、正常な腎臓は、内因性ＥＰＯレベルを動的に調整し、Ａｂに応答したＨｇｂの変化は、明らかとならない可能性がある。したがって、ＢＭＰ６経路によるヘプシジンのモジュレーションならびにＡｂのＨｇｂに対する効果と関連する安全性および忍容性は、慢性ＨＤ患者において最も適切に査定される。
【０５０６】
標的患者集団についての根拠
本研究は、ＥＰＯ低応答性、鉄欠乏性貧血の状況下において抗ヒトＢＭＰ６　Ａｂを査定するように設計する。確立された臨床ガイドライン（ＫＤＩＧＯ　Ｃｌｉｎｉｃａｌ　Ｐｒａｃｔｉｃｅ　Ｇｕｉｄｅｌｉｎｅ　ｆｏｒ　Ａｎｅｍｉａ　ｉｎ　Ｃｈｒｏｎｉｃ　Ｋｉｄｎｅｙ　Ｄｉｓｅａｓｅ　Ａｎｅｍｉａ　Ｗｏｒｋ　Ｇｒｏｕｐ　２０１２）は、ＥＰＯ低応答性を、ＥＰＯ用量の２つの増大、安定用量を最大５０％上回る増大と、安定Ｈｇｂ濃度を維持する増大とに対する必要として規定している。提起される適格性基準は、貧血を伴う安定的な慢性ＨＤ患者ならびに鉄欠乏の臨床的指標：フェリチンの増大および低ＴＳＡＴ（ＴＳＡＴ＝血清鉄結合能／総鉄結合能；ＴＳＡＴは、血清鉄と極めて緊密に相関する）について選択するように設計する。さらに、ＥＰＯおよびＩＶ鉄用量の調整は、Ｈｇｂ、ＴＳＡＴおよびフェリチンについての厳格な標準治療目標に準拠する。鉄および血液学パラメータの変化は、標準治療に従って管理されるため、この設計は、所望のＨｇｂ目標を超過する危険性を低減する。さらに、ベースラインの１週間前以内に負荷用量のＩＶ鉄を施される患者は、除外される。維持ＩＶ鉄を施されている患者は、組入れることができる（他の全ての適格性基準が満たされる場合）。これらの患者を組入れる根拠は、米国における現行の標準治療が、ＨｇｂおよびＴＳＡＴを狭い限界内に維持することを指示しており、したがって低ＴＳＡＴ適格性基準を満たすことを目的とする維持鉄療法の完全な中止が、ＴＳＡＴが２５％を下回る場合に患者を危険性に曝すことから、標準治療に従うＩＶ鉄負荷用量のコースが必然化されることである。しかし、維持ＩＶ鉄について適格な患者は、それらの毎週ＩＶ鉄用量を、Ａｂを投与する週の開始時に保持し、モニタリングされる鉄指数に基づき、施設の標準治療プロトコールにより決定される維持ＩＶ鉄療法のみを再開する。
【０５０７】
処置の用量／レジメン、持続期間についての根拠
開始用量についての根拠
最大推奨開始用量（ＭＲＳＤ）は、ラットおよびカニクイザルにおいて行われた１３週間（１４回の投与）にわたるＧＬＰ毒性研究に由来する無有害作用レベル（ＮＯＡＥＬ）に基づいて計算した。動物は、０．１、１、１０および１００ｍｇ／ｋｇの毎週のＩＶボーラス投与を施された。ヒトＢＭＰ６に結合する単離抗体またはその抗原結合性断片の最終回投与後、１および１００ｍｇ／ｋｇの投与群（のみ）を、その後、ラットにおいて１６週間にわたりまたはカニクイザルにおいて２４週間にわたり追跡した。これらの研究に

由来するＮＯＡＥＬ（０．１ｍｇ／ｋｇ）のヒト同等用量（ＨＥＤ）をまず計算し（分子量＞１００ｋＤａである薬物に適切であると見なされる手法）、その後、貯蔵された鉄の量および赤血球生成に対する要求量など、非臨床種と患者との差違を説明する安全性係数１０をかけたことによりＭＲＳＤを推定した。非臨床種についてのＰＫパラメータは、ＩＮＤ申請のための毒性研究において収集された毒性反応速度（ＴＫ）データから推定した。次いで、患者における対応するＰＫパラメータを、アロメトリックスケーリングを使用して推定し、これらのパラメータを使用して、ヒトＢＭＰ６に結合する遊離の単離抗体またはその抗原結合性断片の濃度を所与の用量について患者における時間の関数として予測した。毒性研究に由来するＴＫデータを患者におけるモデルベースのＡｂ　ＰＫと比較することにより、ＮＯＡＥＬ／ＨＥＤの１０分の１の用量は、Ａｂ濃度に基づく（最低で）１０倍のマージンをもたらすと予測されることが示された。

【０５０８】

ＩＶ鉄療法を投与されたＨＤ患者は、健常動物より高度な鉄の組織貯蔵を有するため、動物研究においてＡｂに応答して観察された血清鉄の最高レベルは、Ａｂに対する予測ヒト鉄応答を過少推定し得る。しかし、健常の非貧血性動物と異なり、ＨＤ患者は、放出血清鉄を赤血球生成のために活用すると予測され、したがって、動物モデルは、鉄上昇の持続期間を過大推定し得る。１３週間研究で観察される肝臓病態が４週間研究で観察されなかったことから、毒性は、鉄の急性放出に対する応答ではなく、血清鉄への累積的曝露によることが示唆される。

【０５０９】

非臨床種と患者との貯蔵鉄の予期される差違を説明するために、ＭＲＳＤは、血清鉄濃度についてのモデルベースの解析に基づいても予測した。毒性所見を結果としてもたらす血清鉄への累積的曝露を鉄曲線下面積（Ｆｅ　ＡＵＣ）として表した。この手法では、ＮＯＡＥＬ用量（０．１ｍｇ／ｋｇ）について計算されるＦｅ　ＡＵＣは、十分に安全であると考えられた。次いで、患者において提起されるＭＲＳＤのときのＦｅ　ＡＵＣを予測し、ＮＯＡＥＬのときの非臨床種におけるＦｅ　ＡＵＣと比較した。患者においてＭＲＳＤのときにモデルにより予測される血清鉄曝露は、非臨床種におけるＮＯＡＥＬのときの血清鉄曝露の１０分の１未満であるため、ＮＯＡＥＬ／ＨＥＤを安全性係数である１０より減少させることは、ＭＲＳＤの推定に十分であると見なされた。したがって、提起されるＭＲＳＤは、０．０１ｍｇ／ｋｇである。

【０５１０】

用量調整についての根拠

本研究では、最大被験用量（ｘｍａｘ）を２つのＩＮＤ申請のための毒性研究の各々におけるＮＯＡＥＬ：０．１ｍｇ／ｋｇに対応するＨＥＤとする。最小投与可能被験用量（ｘｍｉｎ）は、適合性研究に基づく技術的に投与可能な最低用量：０．００１ｍｇ／ｋｇである。ＭＲＳＤ（ｘ０）は、安全性基準、ＴＳＡＴ基準およびＨｇｂ基準に従って査定する（図７）。ｘ０が投与前と比べてＨｇｂの変化の中央値＜０．５ｇ／ｄＬを結果としてもたらす場合、ｘ０とｘｍａｘとの間の自然対数スケール上の直線的な外挿（Ｓ字型の用量反応関係を予期する）により、ｘ＋の選択（図７）が導かれるであろう。この用量漸増のための暫定用量は、上記に提示されている。これらの暫定用量は、各コホート間の非公式の中間解析におけるデータの再検討に基づいて調整することができる。この手法は、最小ＰＡＤを同定するか、またはｘｍａｘに達するまで継続する。ｘｍａｘがＨｇｂの変化の中央値＜０．５ｇ／ｄＬを結果としてもたらす場合、この用量の安全性について査定し、プロトコールを修正して、安全性データ、ＰＫデータおよびＰＤデータに基づき、ｘｍａｘを超える用量のさらなるコホートを追加するかどうかの決定を下す。パート１における被験最高用量がＨｇｂの増大の中央値＜０．５ｇ／ｄＬを結果としてもたらし、５０％を上回ってＴＳＡＴを増大させず、この用量がｘｍａｘを下回る場合、プロトコールを修正してさらなるコホートを追加することができる。

【０５１１】

代わりに、ｘ０が投与前と比べてＨｇｂの変化の中央値≧０．５ｇ／ｄＬを結果として

もたらす場合、次のコホートのための用量をｘｍｉｎとなるように調整する。ｘｍｉｎもＨｇｂの変化の中央値≧０．５ｇ／ｄＬを結果としてもたらす場合、ｘｍｉｎを最小ＰＡＤと見なし、パート２ではｘｍｉｎおよびｘ０について査定する。ｘｍｉｎがＨｇｂの変化の中央値＜０．５ｇ／ｄＬおよびＴＳＡＴ≦５０％を結果としてもたらす場合（図７）、用量を、最小ＰＡＤを同定するまでまたは６つの用量（コホート）について査定するまで自然対数スケール上の区間（ｘｍｉｎ、ｘ０）内の直線的外挿により増大させる。区間（ｘｍｉｎ、ｘ０）内の暫定用量は、上記に提示されている。これらの暫定用量は、各コホート間の非公式の中間解析におけるデータの再検討に基づいて調整することができる。最小ＰＡＤは、投与前と比べてＨｇｂの変化の中央値≧０．５ｇ／ｄＬを結果としてもたらす被験最低用量として規定する。

【０５１２】

Ａｂは、非臨床毒性研究における有害所見と関連する血清鉄曝露未満の血清鉄曝露（Ｆｅ　ＡＵＣ）を確保するようにＩＶ注入による単回投与として投与する。Ａｂ溶液は、ＰＫまたは投与直後の鉄バイオアベイラビリティーに対する透析の潜在的な影響を最小化するように１日目の血液透析セッションの直後に注入する。透析後におけるさらに約３０分間にわたる投与注入（投与日に限る）は、患者に対していかなる著明な危険性または不快感ももたらさないことが予測される。

【０５１３】

対照薬の選択のための根拠

パート２では、プラセボを対照薬として利用して、臨床転帰についてのバイアスのかからない査定を可能とする。

【０５１４】

中間解析／設計適応の目的およびタイミング

パート１では、６例ずつの患者による各コホートが投与後４週目の評価を終えた後、非公式の中間解析を行って次のコホートのための用量調整の決定を下す。該当する治験責任医師および治験依頼者の代表者を含む用量調整チームの全てのメンバーが、安全性マーカーおよびＰＤマーカーを再検討する。新たなコホートは、図７に記載される通り、安全性および忍容性が確認され、ＰＤ条件が満たされた場合に限り始動する。パート１では、最大で５回にわたる非公式の中間解析を行う。公式の中間解析は、パート１の最終コホートの全ての患者が、被験用量の臨床効果を査定する投与後４週目の評価を終えた後に計画し、さらなる非臨床研究の潜在的な契機となり、体温、血圧、脈拍、ＥＣＧ査定、血液化学、血液鉄指数、ＥＰＯ抵抗性指数を後続の臨床的研究に通知することが可能であり、パート１で行われた最終コホートの２９日目までを通して収集された有害事象を含める。

【０５１５】

最小ＰＡＤおよび最小ＰＡＤより１レベル高い用量をパート２のために選択する。最低可能被験用量がＨｇｂの増大≧０．５ｇ／ｄＬを誘導する場合、２つの最低被験用量をパート２のために選択する。

【０５１６】

危険性および有益性

本研究に参加する患者の潜在的な有益性は、処置時およびその後のある程度の期間にわたるＥＰＯおよびＩＶ鉄の必要の低減ならびにＨｇｂレベルの改善を含み得る。

【０５１７】

本試験における患者に対する危険性は、適格性基準への準拠およびＡｂ投与後最初の４８時間にわたる全ての患者の緊密な臨床的モニタリング（およびパート１における最初の２例の患者の在院）により最小化する。

【０５１８】

鉄移動と関連する潜在的な危険性は、（ａ）組織ならびに脾臓、肝臓、心臓、膵臓および脳下垂体などの臓器への鉄の再分布と、（ｂ）特に血管内カテーテルを常駐させている患者における細菌への易感染性のわずかな増大とを含む。適格性基準のいくつかは、合併症の危険性を低減する。肝機能検査のレベルの上昇は、鉄再分布との関連で見ることがで

きる。肝機能は、血液学的パラメータおよび鉄パラメータと並行してモニタリングする。標準治療のＨｇｂ目標の超過は、多血症を結果としてもたらし得る。Ｈｇｂの管理、ＥＰＯ療法および鉄療法を企図することができる。

【０５１９】

ＩＶ鉄療法を投与されたＨＤ患者は、健常動物より組織鉄貯蔵が高度である可能性があり、したがって、ヒトＢＭＰ６に結合する単離抗体またはその抗原結合性断片で処置された患者において観察される血清鉄の最高レベルは、動物研究において見られる血清鉄の最高レベルを超え得る。しかし、健常動物と異なり、ＨＤ患者は、放出血清鉄を赤血球生成のために活用すると予測され、したがって、動物モデルは、鉄上昇の持続期間を過大推定し得る。モデルにより予測されるＭＲＳＤのときのＡｂに対する曝露量（例えば、Ｃｍａｘ、ＡＵＣ）は、非臨床研究においてＮＯＡＥＬのときに観察される曝露の１０分の１であることが予期される。この曝露は、前臨床研究で観察された肝臓トランスアミナーゼの上昇および肝臓内の単一細胞の壊死と関連する血清鉄曝露（ＡＵＣ）レベルを結果としてもたらさないことが予測される。Ａｂ用量のＮＯＡＥＬへの漸増は、記載された安全性査定に従って行う。慢性の鉄過負荷を伴う患者および非経口鉄を施される患者についての臨床経過は、Ａｂにより誘導される細胞内鉄の急性増大から生じ得る効果を必ずしも予測しない可能性が高い。したがって、Ａｂに誘導される急性鉄毒性の潜在的な危険性は、おそらく低い。急性鉄毒性は、心臓、肝臓および／または膵臓に影響を及ぼし得る。急性鉄毒性の臨床症状は、心伝導障害、肝臓トランスアミナーゼの上昇および耐糖能異常／高血糖症を含み得る。重度の急性鉄毒性は、代謝性アシドーシス、電解質異常および神経症状も含み得る。急性鉄毒性が生じる場合、患者は、血液透析と組合わせたデフェロキサミンなどの鉄キレート化療法で応急処置することができる。研究の一部として、最大で１３４ｍＬ（パート１）および１７２ｍＬ（パート２）の血液を各患者から１１５日間にわたり回収するように計画する。任意の安全性所見のモニタリングのためにさらなる試料をこれに加える。これは、この集団に対する危険性とは考えられない。

【０５２０】

現在、抗ヒトＢＭＰ６抗体に関する生殖系毒性研究は、実施されていない。カニクイザルにおける１３週間毒性研究では、卵巣および精巣ならびに付随の生殖系臓器についての慎重な標準的組織病理学検査により、雄または雌の生殖系臓器に対する潜在的作用が評価されている。処置関連作用は、観察されなかった。ＢＭＰ６ノックアウトマウスは、胸骨骨化の遅延および鉄過負荷を示した（Ｍｅｙｎａｒｄ　ｅｔ　ａｌ　２００９）。

【０５２１】

著明な胎児および母体の罹患率および死亡率が慢性血液透析と関連している。慢性血液透析を受ける女性（出生数２６７）を、腎移植を施された女性（出生数２６４）、血液透析を受ける女性と比較するレトロスペクティブの１つのコホート研究では、胎盤早期剥離率、輸血率、胎内発育不全児率、胎児死率および母体死率の上昇が裏付けられた（Ｓａｌｉｅｍ　ｅｔ　ａｌ　２０１５）。したがって、出産の潜在的可能性を有する女性は、ヒトＢＭＰ６に結合する単離抗体またはその抗原結合性断片の投与時において、かつ最終回投与後１２５日間にわたり、妊娠を防止するのに高度に有効な避妊法を使用すべきである。

【０５２２】

集団

研究集団は、少なくとも毎週２回の慢性血液透析治療を要求し、機能的鉄欠損性貧血の臨床的証拠を有し、フェリチンレベルおよびトランスフェリン飽和度レベルにより決定される通り、見かけ上十分な鉄貯蔵量の存在下において、貧血と規定される末期腎疾患を伴う患者から構成されるであろう。パート１は、当初、６つのコホート内に最大で３６例の患者（コホート１つ当たりの患者６例）について査定する計画を含む。６つのコホート後、ＴＳＡＴおよびＨｇｂに対する効果が見られず、安全性懸念（該当する治験責任医師および治験依頼者の代表者により決定される）も見られない場合、さらなる患者６例ずつのコホート最大で２つを追加することができる（パート１における合計患者４８例）。パー

ト２は、最大で３つのアーム（さらなる査定のために、パート１から選択された２つの用量レベルおよびプラセボ群）からなり、アーム１つ当たりの患者最大で約２０例を伴った（パート２における合計患者６０例）。したがって、合計約９６例の患者（最大で１０８例）の登録を計画し、このうちの約６０例をパート２において無作為化する。約６０例の患者（パート１における１２例、パート２における４８例）が研究を完了すると予測される。治験責任医師は、研究について検討下にある全ての患者が以下の適格性基準を満たすことを確認しなければならない。研究集団が全ての適格な患者を代表するために、治験責任医師は、さらなる基準を適用しないものとする。

【０５２３】

患者の選択は、スクリーニング時および最初のベースラインにおいて全ての適格性基準を通して確認することにより確立するものとする。適格性基準についての関連する記録（例えば、チェックリスト）は、情報源の文書化により、研究施設で保存しなければならない。

【０５２４】

いかなる参入基準からの逸脱も患者を研究への登録から除外する。

【０５２５】

組入れ基準（両方のパート）

本研究への組入れに適格な患者は、以下の基準の全てを満たさなければならない。

説明同意文書は、任意の評価を実施する前に得なければならない。同意を書き表すことができない場合、理想的には、独立の信任を受けた立会人による公的な文書化および立合いを受けなければならない。

スクリーニング時の年齢≧１８歳である。

スクリーニング前の少なくとも２カ月間にわたり血液透析依存的である。

末期腎疾患では、毎週少なくとも２回にわたり十分な血液透析を受ける。十分とは、スクリーニング前の最近の毎月の評価におけるＫｔ／Ｖ≧１．２として規定される。

透析施設の貧血管理プロトコールに従い、慢性エリスロポエチン（ＥＰＯ）療法を受ける。ＥＰＯ用量は、ベースライン前の１４日間において５０％以上増大させない。ＥＰＯ療法は、短期作用性製剤（ダルベポエチンは不可）に限らなくてはならず、ＩＶ（ＳＣは不可）投与しなくてはならない。

Ｈｇｂ≧８．５および＜１１．５ｇ／ｄＬを含むＨｇｂ≧８．５であり、ベースラインにおける先行する１４日間と対比した増大が≧０．５ｇ／ｄＬではない。

ベースライン（スクリーニングを含み得る）前の少なくとも２８日間にわたるフェリチンが＜１５００ｎｇ／ｍＬ（端点を含む）である。代わりに、スクリーニング時にフェリチンが＞５００ｎｇ／ｍＬおよび≦１０００ｎｇ／ｍＬである。

ベースライン前の９０日間の１つの時点における最小のときのＴＳＡＴ≦３０％およびベースラインにおけるＴＳＡＴ≦３０％である。

【０５２６】

除外基準（両方のパート）

以下の基準のいずれかを満たす患者は、本研究への組入れに適格でない。研究集団が全ての適格な患者を代表することを確保するために、治験責任医師は、さらなる除外を適用することができない。

１．登録から５半減期以内の他の被験薬の使用または予測される薬力学効果が、ベースラインへ戻るまでのいずれか長い方の期間内にある。

２．治験薬または治療用抗体に対する過敏性の既往歴がある。

３．ヘモクロマトーシスの診断が既知である。

４．骨髄悪性腫瘍、リンパ悪性腫瘍または骨髄異形成症候群が既知である。

５．スクリーニング前の２カ月以内における透析、ＡＶ瘻、血栓症の既往歴またはスクリーニング前の６カ月以内におけるＡＶ瘻、血栓症の２回以上の挿間が見られる。

６．重度の併発肝疾患／肝機能不全（チャイルドーピュースコア≧６）を伴うかまたは肝移植前である。７．心不全（Ｎｅｗ　Ｙｏｒｋ　Ｈｅａｒｔ　Ａｓｓｏｃｉａｔｉｏｎ（

ＮＹＨＡ）Ｆｕｎｃｔｉｏｎａｌ　Ｃｌａｓｓ　ＩＩＩまたはＩＶ）を伴う。
８．スクリーニングの過去２カ月以内において介入を要求する消化管出血が見られる。Ｃ型肝炎ウイルス（ＨＣＶ）に感染した患者は、他の全ての肝機能適格性基準が満たされる場合に組入れられ得る。
９．ベースライン前の４週間以内におけるＡＬＴ、ＡＳＴまたはビリルビン≧１．５×ＵＬＮである。
１０．スクリーニング時におけるインタクトＰＴＨ≧７５０ｐｇ／ｍＬとして規定されるコントロール不良の腎性骨ジストロフィーを伴う。
１１．スクリーニング前の２週間の任意の時点における血管内カテーテル（中心静脈ラインまたは血液透析カテーテル）の常駐または抗生剤治療を要求する、活動性の感染などの重篤な感染症の危険性の増大の素因となる条件が見られる。
１２．ベースライン前の４週間以内において輸血が実施されている。
１３．ベースライン前の１週間以内において負荷用量（１週間当たり１００ｍｇ）のＩＶ鉄を受けている。
１４．投与前の１２カ月間以内における薬物乱用もしくはアルコール乱用の既往歴が見られるか、またはスクリーニング時に行われる検査室アッセイにより示される通りこのような乱用の証拠が見られる。
１５．Ｂ型肝炎表面抗原検査の結果が陽性である。
１６．ＨＩＶ検査（ＥＬＩＳＡおよびウェスタンブロット）の結果が陽性であることを含む、免疫不全症の既往歴がある。
１７．高度に有効な避妊を、ヒトＢＭＰ６に結合する抗体または抗原結合性断片の投与後、最短で１２５日間にわたり使用する場合、出産の潜在的可能性を有する女性を本研究に登録することができる。高度に有効な避妊は、以下：ａ．全面的な禁欲（これが患者の好ましく通例の生活形態と符合する場合。定期的禁欲（例えば、カレンダー法、排卵法、排卵徴候体温法、排卵後法）および膣外射精は、許容可能な避妊法ではない）；ｂ．男性／女性の避妊手術；ｃ．経口式、注射式もしくは植込み式のホルモン避妊法の使用または子宮内デバイス（ＩＵＤ）もしくは子宮内システム（ＩＵＳ）もしくは同等な有効性（失敗率＜１％）を有するホルモン避妊の他の形態、例えばホルモン膣リングもしくは経皮ホルモン避妊の１つと規定される。

【０５２７】

処置

被験処置

本研究における被験治療は、ヒトＢＭＰ６に結合する抗体または抗原結合性断片、例えば抗ＢＭＰ６　ＩｇＧ１、完全ヒト抗体である。抗体は、溶液で提供する。原液の濃度は、投与される用量に従って施設内で希釈する。注入時間は、約３０分間とコホートにわたり比較的一定に維持する。パート１は、オープンラベルの単回投与であり、パート２は、二重盲検、単回投与で、マッチさせたプラセボ（ビヒクル対照）と比較する。抗ヒトＢＭＰ６　Ａｂの活性物質およびプラセボは、バイアル内の液体として供給する。活性物質中の賦形剤とプラセボ中の賦形剤とは同一である。

【０５２８】

処置アーム

パート１では、患者を６例ずつの患者からなる最大６つの投与コホートの１つへ割り付ける。パート１は、オープンラベルの処置である。開始用量、最高用量および用量調整についての根拠は、上記に記載した。パート１のための暫定用量を表１２（ＭＲＳＤのときのＨｇｂ＜０．５ｇ／ｄＬ）および表１３（ＭＲＳＤのときのＨｇｂ≧０．５ｇ／ｄＬ）に示す。

【０５２９】

【表２７】

表12: パート1の暫定用量レベル

MRSD用量レベルでHgbが0.5 g/dL未満である場合	暫定用量	先行用量からの増分
1 (MRSD)	0.010 mg/kg	開始用量
2	0.016 mg/kg	60% ↑
3	0.025 mg/kg	60% ↑
4	0.040 mg/kg	60% ↑
5	0.063 mg/kg	60% ↑
6 (NOAEL)	0.100 mg/kg	60% ↑

【０５３０】

この表は、パート１の用量調整の指針のみのための例として意図されている。中間用量レベルも高用量レベルも使用することができ、一部の用量レベルは、各コホート間の非公式の中間解析時のデータ査定に基づいて省略することができる。実際の用量レベルは、Ｎｏｖａｒｔｉｓにより、書面で確認され、新たなコホートにおける患者の処置前に全ての参加研究施設に提示される。

【０５３１】

【表２８】

表13: パート1の暫定用量レベル

MRSD用量レベルでHgbが0.5 g/dL以上である場合	暫定用量	先行用量からの増分
1 (MRSD)	0.0100 mg/kg	開始用量
2	0.0010 mg/kg	90% ↓
3	0.0016 mg/kg	60% ↑
4	0.0025 mg/kg	60% ↑
5	0.0040 mg/kg	60% ↑
6	0.0063 mg/kg	60% ↑

【０５３２】

この表は、パート１の用量調整の指針のみのための例として意図されている。中間用量レベルも高用量レベルも使用することができ、一部の用量レベルは、各コホート間の非公式の中間解析時のデータ査定に基づいて省略することができる。

【０５３３】

治験処置は、

・Ａ：プラセボの単回投与、

・Ｂ：パート１で決定した最小ＰＡＤにおける抗ヒトＢＭＰ６　Ａｂの単回投与、

・Ｃ：パート１で決定した最小ＰＡＤを１レベル上回る用量レベルにおける抗ヒトＢＭＰ６　Ａｂの単回投与

として規定される。

【０５３４】

併用処置

研究開始前および研究期間中、参入基準で規定された時間枠内で投与または服用された全ての処方医薬、市販薬および重要な非薬物療法（理学治療および輸血を含む）は、ＣＲＦの「併用医薬／重要な非薬物療法」節に記録しなければならない。医薬項目は、商標名、単回投与および単一単位、投与回数および投与経路、治療の開始日および中止日および治療の理由に対して具体的であるものとする。

【０５３５】

有効性／薬力学

有効性評価について下記で詳述する。有効性評価のための試料は、多様な時点で回収する。血液学検査値について評価する。Ｈｇｂ指数およびＦｅ指数は、研究のパート１における用量調整査定の一部としての各コホート間の非公式の中間解析において再検討する。初期に設定した試料の回収回数が鉄とＰＫとの間の関係を理解するために最適未満であると見なされる場合、試料の回収回数をパート１の後続のコホートにおいて改変することが

できる。
【０５３６】
鉄指数パネル
抗ヒトＢＭＰ６　Ａｂは、Ｆｅを体内貯蔵部から移動させる結果として血清Ｆｅ、トランスフェリン飽和度（ＴＳＡＴ）、不飽和鉄結合能（ＵＩＢＣ）、総Ｆｅ結合能（ＴＩＢＣ）、フェリチンおよび網状赤血球ヘモグロビン含量（ＣＨｒ）を含む血清Ｆｅパラメータの変化をもたらすことが予測される。これらは、検証されたアッセイを使用して血清中で測定する。
【０５３７】
安全性
安全性評価について下記に詳述する。
【０５３８】
身体検査
完全な身体検査は、全般的な外見、皮膚、頸部（甲状腺を含む）、眼、耳、鼻、喉、肺、心臓、腹部、背部、リンパ節、四肢末端についての検査、血管検査および神経学的検査を含むであろう。医療既往歴および／または徴候に基づき、適応である場合、直腸、外性器、乳房および／または骨盤の検査を実施することができる。
【０５３９】
治験薬の開始前に存在する著明な所見は、患者のｅＣＲＦ上の関連する医療既往歴／現在の医学的状態スクリーンに組入れなければならない。治験薬の開始後に見られる著明な所見であって、有害事象の規定を満たす所見は、患者のｅＣＲＦの有害事象スクリーンに記録しなければならない。
【０５４０】
バイタルサイン
・体温
・血圧（ＢＰ）
・脈拍
【０５４１】
身長および体重
・身長
・体重
・体格指数（ＢＭＩ）は、（体重（ｋｇ）／［身長（ｍ）］２）と計算する
【０５４２】
検査室査定
検査室検査の結果の臨床的関連性がある逸脱は、有害事象を規定する基準について査定し、基準を満たす場合、有害事象として報告する。査定の反復は、結果が正常化するまでまたは変化がもはや臨床的関連性がなくなるまで必須である。
【０５４３】
血液学
ヘモグロビン、ヘマトクリット、赤血球カウント、分画による白血球カウントおよび血小板数を測定する。鉄指数をモニタリングする。
【０５４４】
臨床化学
ナトリウム、カリウム、クレアチニン、尿素、塩化物、アルブミン、カルシウム、アルカリホスファターゼ、総ビリルビン、ＬＤＨ、ＧＧＴ、ＡＳＴおよびＡＬＴをモニタリングする。総ビリルビン濃度が正常値上限の１．５倍を上回って上昇する場合、直接反応型ビリルビンと間接反応型ビリルビンとを差別化するべきである。
【０５４５】
心電図（ＥＣＧ）
ＰＲ区間、ＱＲＳ持続期間、心臓数、ＲＲ、ＱＴ、ＱＴｃ。

臨床決定のためにフレデリカＱＴ補正式（ＱＴｃＦ）を使用するものとする。

【０５４６】

妊娠および受胎能力の評価

報告された生殖／更年期状態に関わらず、全ての女性患者についての妊娠検査が要求される。本研究のために、血清妊娠検査を実施する。陽性の場合、患者は、試験を打ち切らなければならない。スクリーニングおよびベースラインにおいて実施する場合、本試験の結果は、患者に投与する前に受け渡さなければならない。

【０５４７】

薬物動態

ＰＫ試料を回収する。ＰＫデータは、研究のパート１における用量調整査定の一部としての各コホート間の非公式の中間解析において再検討する。初期に設定した試料の回収回数がＰＫプロファイルを特徴付けるために不十分または不適切であると見なされる場合、試料の回収回数を後続のコホートにおいて改変することができる。採血回数および回収される総血液容量は、プロトコールにおいて言明されている採血回数および回収される総血液容量を超えないものとする。

【０５４８】

ＰＫ試料を回収し、全ての患者において全ての用量レベルで査定する。

【０５４９】

遊離抗ヒトＢＭＰ６　Ａｂの濃度は、ＥＬＩＳＡアッセイを使用して決定する。予期される定量下限（ＬＬＯＱ）は、１０ｐｇ／ｍＬである。

【０５５０】

非処置（プラセボ）試料について解析しない。

【０５５１】

遊離抗ヒトＢＭＰ６　Ａｂ濃度は、μｇ／ｍＬ単位で表す。ＬＬＯＱを下回る全ての濃度または逸失データは、濃度データ一覧においてそのようなものとして表示する。ＬＬＯＱを下回る濃度は、濃度データについての概要統計でのみ、ゼロとして処理する。これらは、ＰＫパラメータの計算で考慮に入れない。

【０５５２】

遊離抗ヒトＢＭＰ６　Ａｂの決定後の残りのＰＫ試料は、探索的評価または他のバイオアナリシスの目的（例えば、異なる施設間の照合、安定性評価）のために使用することができる。

【０５５３】

Ｐｈｏｅｎｉｘ　ＷｉｎＮｏｎｌｉｎ（Ｖｅｒｓｉｏｎ　６．２以上）によるノンコンパートメント方法を使用して、以下の薬物動態パラメータ：Ｃｍａｘ、ｔｍａｘ、ＡＵＣ（０－ｔ）、ＡＵＣ（０－ｔｌａｓｔ）、Ｃｍａｘ／ＤおよびＡＵＣ／Ｄを血清濃度－時間データに基づいて決定する（決定可能な場合）。ＡＵＣの計算のために線形台形法を使用する。ヒトＢＭＰ６に結合する抗体または抗原結合性断片（ｔ１／２）の終末半減期も、データに基づいて推定可能な場合に推定する。

【０５５４】

他の評価

免疫原性

ＥＬＩＳＡアッセイを使用して抗ヒトＢＭＰ６抗体を検出する。免疫原性解析後の残りのＩＧ試料は、探索的評価または他のバイオアナリシスの目的（例えば、異なる施設間の照合）のために使用することができる。

【０５５５】

探索的評価

バイオマーカーは、正常な生物学的過程、病理学的過程または治療的介入に対する薬理学的応答について客観的に測定および査定された指標である（Ｂｉｏｍａｒｋｅｒｓ　Ｄｅｆｉｎｉｔｉｏｎｓ　Ｗｏｒｋｉｎｇ　Ｇｒｏｕｐ　２００１）。

【０５５６】

ＢＭＰ６ヘプシジン経路は、以下の通りである。肝細胞内のＢＭＰ６シグナル伝達は、ヘプシジンの発現の誘導、腸細胞による鉄吸収の阻害およびマクロファージによる鉄移出に要求される。ヘプシジン降下療法としてのＢＭＰ６中和抗体は、ＥＰＯの要求を軽減し、かつ目標Ｈｇｂレベルに達する患者の数を増大させることにより、鉄欠乏性貧血を伴う患者に利益をもたらすはずである。

【０５５７】

上記で記載した生物学に基づくと、探索的バイオマーカー評価は、ヘプシジン（ＬＣ－ＭＳアッセイを使用して測定する）を含むが、これらに限定されない。

【０５５８】

さらなる探索的評価により、骨吸収マーカーの潜在的な役割について探査し得、および作用機構に寄与する因子としての炎症にも取り組むことができる。

探索の目的は、以下の通りである：

・ヘプシジンレベルと、ＥＲＩおよび鉄指数などのいくつかの重要な尺度との関係について評価すること；

・主要評価項目および副次的評価項目と探索的バイオマーカーとの力動関係を縦断的に研究すること；

・薬理遺伝学について評価すること；

・免疫原性について評価すること。

【０５５９】

試料は、多様な時点で回収する。

【０５６０】

試料の回収、番号付け、処理および出荷についてのさらなる詳細は、中央検査室マニュアルに提示する。

【０５６１】

ＤＮＡ

探索的ＤＮＡ調査研究を、（１）機能的鉄欠損性貧血を伴う、エリスロポエチンで処置された慢性血液透析患者に関連する場合もあり、（２）抗ヒトＢＭＰ６　Ａｂによる処置に対する応答を予測する場合もあり、（３）副作用に対する遺伝的素因を予測する場合もある遺伝因子を同定することを目的とする本研究の一部として計画する。

【０５６２】

加えて、ジェノタイピング技術の最近の進展により、ゲノムワイドの手法も可能となっている。ゲノムワイドの手法は、上記で記載した通り、これらの研究についての限定的な範囲内で企図することもできる。

【０５６３】

可溶性バイオマーカー

ヘプシジンを血漿中で潜在的なＰＤ／バイオマーカーとして定量化する。

【０５６４】

アッセイについての詳細な記載は、バイオアナリシスデータの報告書に組入れる。

【０５６５】

他のバイオマーカー

仮説によらないプラットフォームを使用して、疾患の異質性、作用方式および／または層別化マーカーの潜在的な同定について理解することができるであろう。免疫原性（ＩＧ）試料は、多様な時点で回収する。抗ヒトＢＭＰ６　Ａｂの免疫原性は、抗ヒトＢＭＰ６抗体を認識する抗体を測定することにより評価する。

【０５６６】

参考文献

Ｆｕｋｕｍａ　Ｓ，Ｙａｍａｇｕｃｈｉ　Ｔ，Ｈａｓｈｉｍｏｔｏ　Ｓ　ｅｔ　ａｌ（２０１２）Ｅｒｙｔｈｒｏｐｏｉｅｓｉｓ－ｓｔｉｍｕｌａｔｉｎｇ　ａｇｅｎｔ　ｒｅｓｐｏｎｓｉｖｅｎｅｓｓ　ａｎｄ　ｍｏｒｔａｌｉｔｙ　ｉｎ　ｈｅｍｏｄｉａｌｙｓｉｓ　ｐａｔｉｅｎｔｓ：ｒｅｓｕｌｔｓ　ｆｒｏｍ　ａ　ｃｏｈｏｒｔ　ｓｔｕｄｙ

from the dialysis registry in Japan. Am J Kidney Dis；59（1）：p. 108－16.
Kilpatrick RD, Critchlow CW, Fishbane S et al（2008）Greater epoetin alfa responsiveness is associated with improved survival in hemodialysis patients. Clin J Am Soc Nephrol；2008. 3（4）：1077－83.
Lopez－Gomez JM, Portoles JM, and Aljama P（2008）, Factors that condition the response to erythropoietin in patients on hemodialysis and their relation to mortality. Kidney Int Suppl；（111）：S75－81.
Meynard D, Kautz L, Darnaud V et al（2009）Lack of the bone morphogenetic protein BMP6 induces massive iron overload. Nat Genet；41（4）：478－81.
Saliem S, Patenaude V, Abenhaim HA（2015）Pregnancy outcomes among renal transplant recipients and patients with end－stage renal disease on dialysis. J Perinat Med（Epub ahead of print）http：／／www. ncbi. nlm. nih. gov／pubmed／25719292.
Suttorp MM, Hoekstra T, Rotmans JI et al（2013）Erythropoiesis－stimulating agent resistance and mortality in hemodialysis and peritoneal dialysis patients. BMC Nephrol；14（1）：200.
Zaritsky J, Young B, Gales B, et al（2010）Reduction of serum hepcidin by hemodialysis in pediatric and adult patients. Clin J Am Soc Nephrol；5（6）：1010－14.

【０５６７】

実施例３：０．０１ｍｇ／ｋｇの抗体７により処置された患者のＴＳＡＴレベル

ＴＳＡＴ（鉄飽和度、％）レベルを含むデータを、実施例２に記載の臨床プロトコールに従って処置した最初の１０人の患者について評価し、各患者は、０．０１ｍｇ／ｋｇの抗体７の単回注入を受けた。これらの患者のいずれも、観察されなかった無有害作用レベル（ＮＯＡＥＬ）が０．１ｍｇ／ｋｇ／週であると定義した肝臓の安全性シグナルを示さなかった。コホート１は、５００ｎｇ／ｍＬ以下の低いフェリチンレベルを有する５人の貧血性血液透析患者を含み、コホート２は、より高いフェリチンレベル（５００～１０００ｎｇ／ｍＬ）を含む５人の貧血性血液透析患者を含んでいた。

【０５６８】

０．０１ｍｇ／ｋｇの抗体７を受けた５人のコホート１（低フェリチン）の患者では、投与後ＴＳＡＴレベルが平均９．８％上昇した（投与後平均３８．６％対投与前２４．８％）。対照的に、０．０１ｍｇ／ｋｇの抗体７を受けた５人のコホート２（高フェリチン）患者では、投与後ＴＳＡＴレベルが平均１７．６％上昇した（投与後平均４８．４％対投与前３０．８％）。データを図１４に示す。図１４は、２つのコホートにおける抗体７投与前対抗体７投与後７２時間以内のピークＴＳＡＴレベルを示す。驚くべきことに、コホート１の患者とは対照的に、コホート２の貧血患者は、ベースラインと比較して明らかなＴＳＡＴの上昇を示す。これらのデータは、５００ｎｇ／ｍＬ以上のフェリチンレベルを有する患者が抗ＢＭＰ６治療への応答について良好な候補であること、およびフェリチ

ンレベル、例えば５００ｎｇ／ｍＬ以上のフェリチンレベルが応答の指標となり得ることを示している。

【０５６９】

別段に定義されない限り、本明細書で使用される技術的および科学的用語は、本開示が属する分野に精通している専門家によって通常理解される意味と同じ意味を有する。

【０５７０】

別段に示されない限り、具体的な詳細について記載されていない全ての方法、ステップ、技法および操作を実施することができ、当業者に明らかであるように、それ自体公知の方式で実施されている。例えば、ここでもまた本明細書で言及される標準的なハンドブックおよび一般的な背景技術ならびにその中で引用されているさらなる参考文献が参照される。別段に示されない限り、本明細書で引用される参考文献は、それぞれ参照により全体的に組込まれる。

【０５７１】

本発明に対する特許請求の範囲は、非限定的なものであり、下記に提示される。

【０５７２】

本明細書では、特定の態様および特許請求の範囲について詳細に開示してきたが、これは、例示のみを目的とする例としてなされたものであり、付属の特許請求の範囲または任意の対応する将来の適用についての特許請求の範囲の主題の範囲に関して限定することを意図するものではない。特に、本発明者らは、特許請求の範囲により規定される本開示の趣旨および範囲から逸脱しない限り、本開示に対する多様な代替形態、改変形態および変更形態がなされ得ることを企図する。核酸の出発材料、目的のクローンまたはライブラリーの種類の選択は、本明細書に記載される態様の知識を有する当業者にとって日常的な問題であると考えられる。他の態様、利点および変更形態も以下の特許請求の範囲内であると見なされる。当業者は、ルーチンの実験のみを使用して、本明細書に記載される本発明の具体的な態様についての多くの均等物を認識または確認することが可能であろう。このような均等物は、以下の特許請求の範囲により包含されることが意図される。後に提出される対応する出願における特許請求の範囲の再起草は、多様な国の特許法による制限のためである可能性があり、特許請求の範囲の主題の放棄として解釈されるべきではない。

【図１－１】

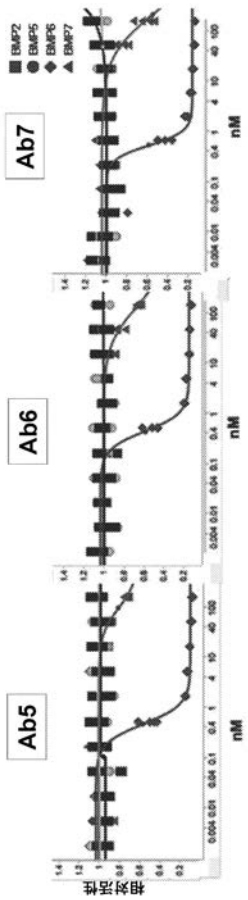


図1A

【図１－２】

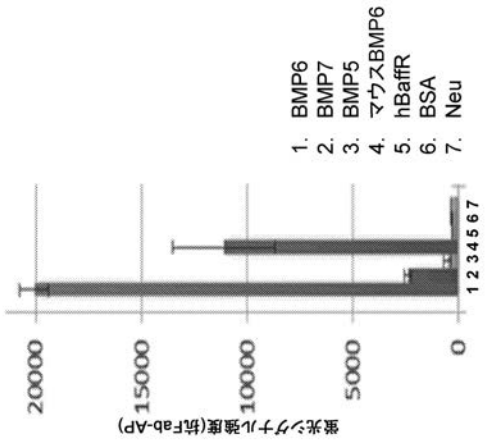


図1B

【図２】

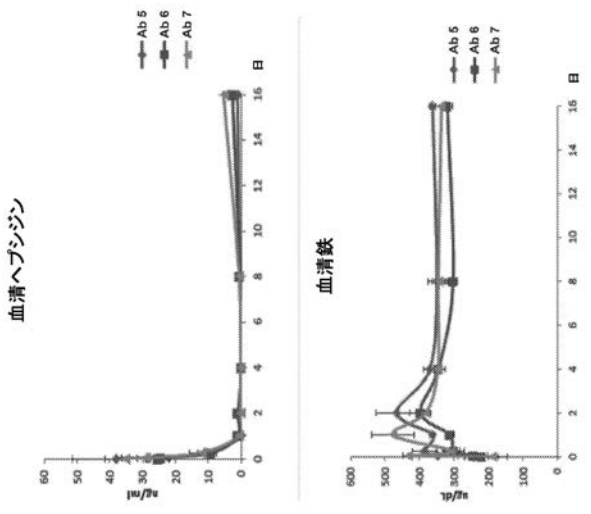


図2

【図３】

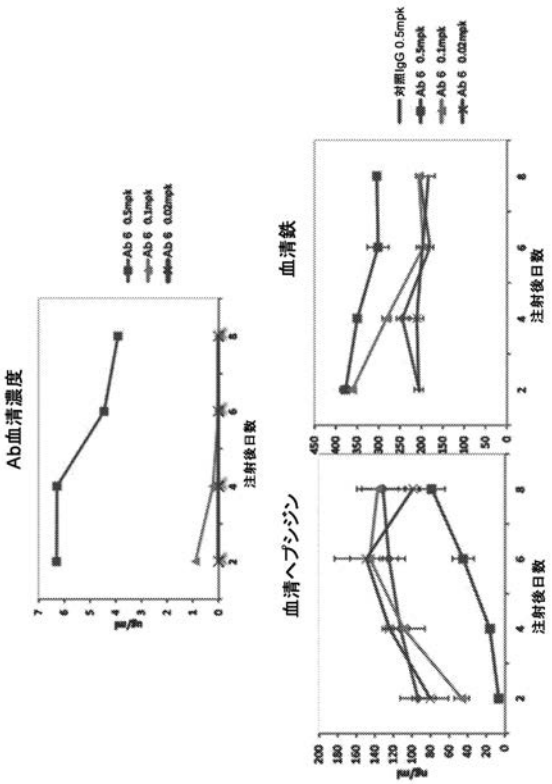


図3

【図４】

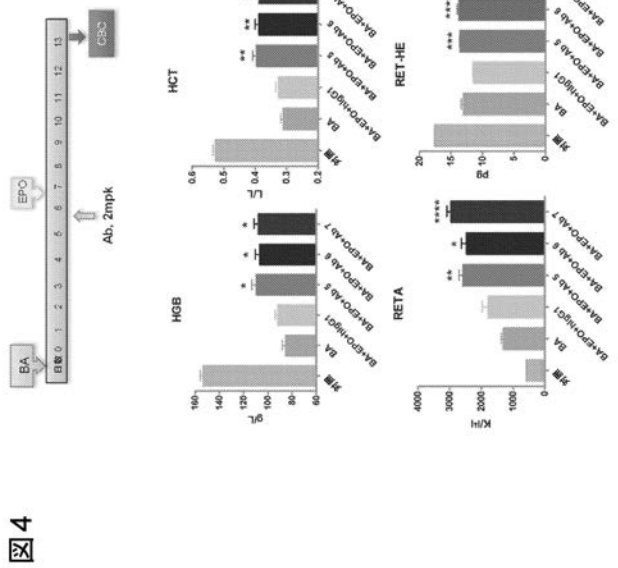


図４

【図５】

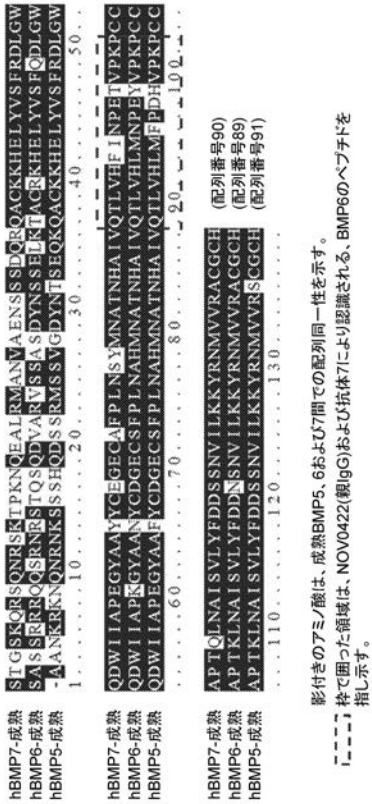


図５

【図６】

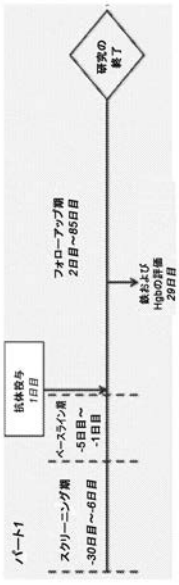


図６

【図７】

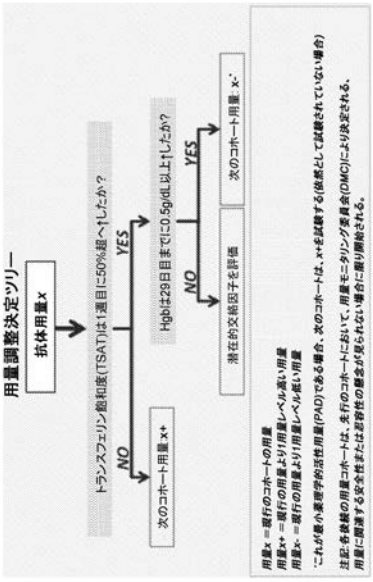
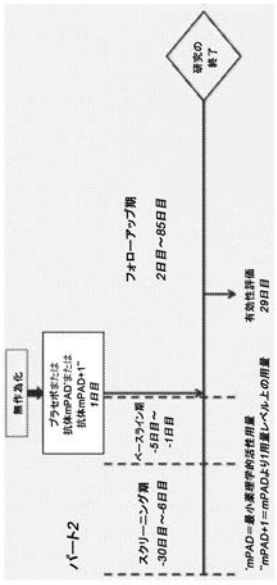


図７

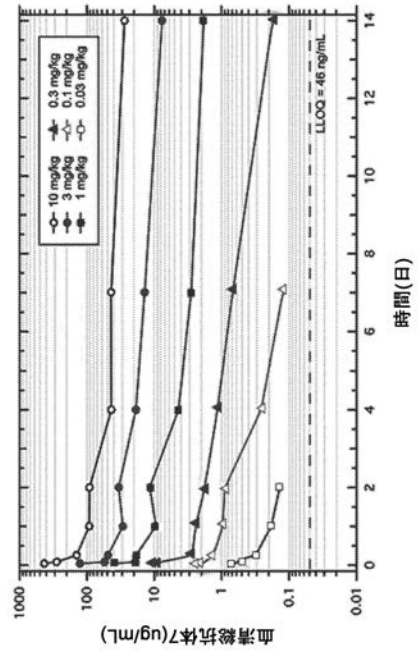
【図８】

図8



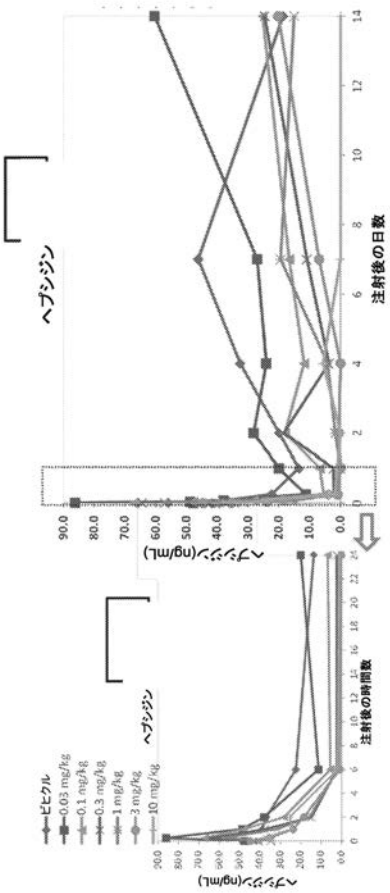
【図９】

図9



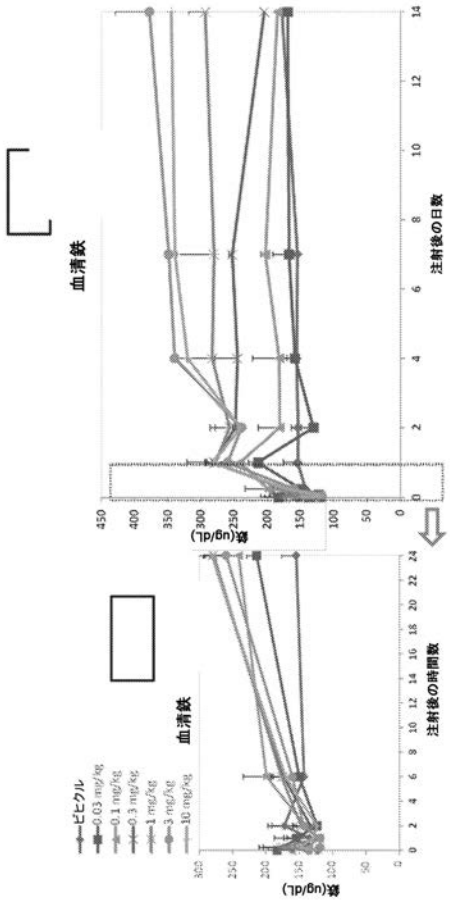
【図１０】

図10



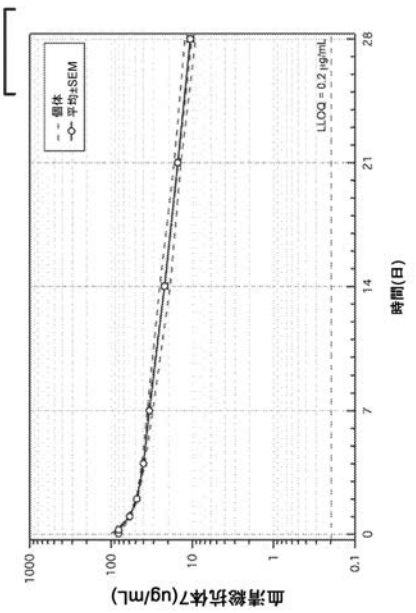
【図１１】

図11



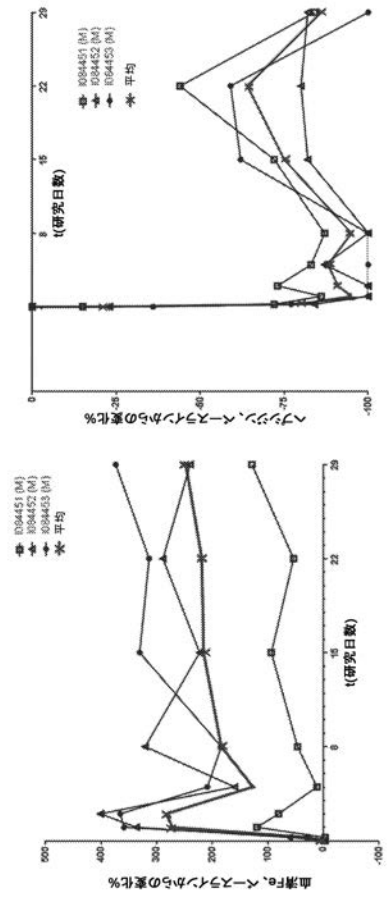
【図１２】

図12



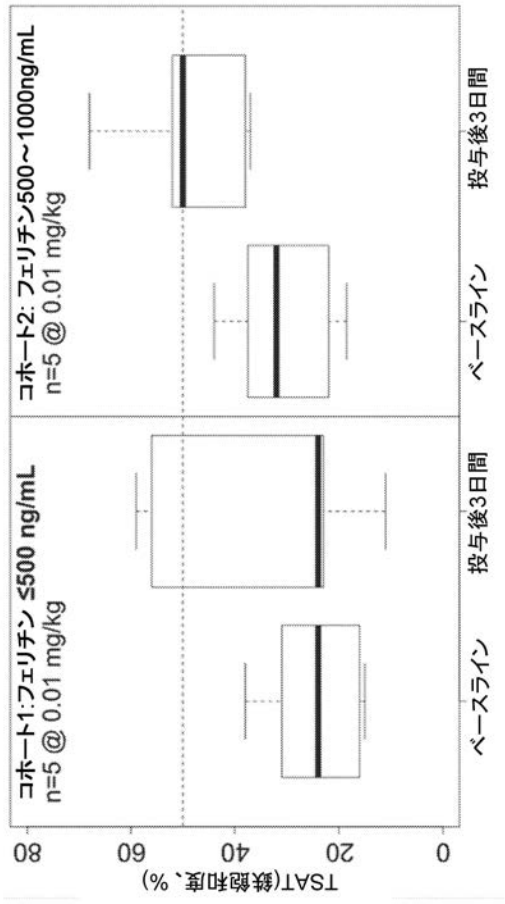
【図１３】

図13



【図１４】

図14



【配列表】
2019519546000001.app

【国際調査報告】

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No
PCT/IB2017/053507

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER
INV. A61K39/00 A61K39/395 A61K31/00 G01N33/00 G01N33/68
A61P7/00
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)
A61K G01N

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)
EPO-Internal, WPI Data, BIOSIS, EMBASE

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X,P	WO 2016/098079 A2 (NOVARTIS AG [CH]; CONG FENG [US]; DIETRICH WILLIAM [US]; GEORGE NATHAL) 23 June 2016 (2016-06-23) paragraph [0014] - paragraph [0207] paragraphs [0706], [0722], [0723] -----	1-63
Y	US 2014/170161 A1 (SEO NEUNGSEON [US] ET AL) 19 June 2014 (2014-06-19) paragraph [0022] - paragraph [0028]; claims 1-16 paragraph [0057] - paragraph [0060] ----- -/--	1-63

[X] Further documents are listed in the continuation of Box C. [X] 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
27 September 2017	13/10/2017

Name and mailing address of the ISA/	Authorized officer
European Patent Office, P.B. 5818 Patentlaan 2 NL - 2280 HV Rijswijk Tel. (+31-70) 340-2040, Fax: (+31-70) 340-3016	Zellner, Eveline

Form PCT/ISA/210 (second sheet) (April 2005)

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No
PCT/IB2017/053507

C(Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
Y	CHIA CHI SUN ET AL: "Targeting the hepcidin-ferroportin axis to develop new treatment strategies for anemia of chronic disease and anemia of inflammation", AMERICAN JOURNAL OF HEMATOLOGY, vol. 87, no. 4, 31 January 2012 (2012-01-31), pages 392-400, XP055401208, US ISSN: 0361-8609, DOI: 10.1002/ajh.23110 page 395, column 1, paragraph 1 - paragraph 2 page 397, column 1, paragraph 4	1-63
Y	US 2014/056902 A1 (SHIMIZU KIYOSHI [JP] ET AL) 27 February 2014 (2014-02-27) paragraphs [0011], [0039]; example 18	1-63
Y	US 2016/115545 A1 (CLUBE JASPER RUPERT [GB]) 28 April 2016 (2016-04-28) paragraph [2670] - paragraph [2688]	1-63
Y	ELENA CORRADINI ET AL: "BMP6 Treatment Compensates for the Molecular Defect and Ameliorates Hemochromatosis in Hfe Knockout Mice", GASTROENTEROLOGY, vol. 139, no. 5, 1 November 2010 (2010-11-01), pages 1721-1729, XP055401213, US ISSN: 0016-5085, DOI: 10.1053/j.gastro.2010.07.044 page 1724, column 2, paragraph 2; figure 2d	1-63
Y	D. W. COYNE ET AL: "Ferric Gluconate Is Highly Efficacious in Anemic Hemodialysis Patients with High Serum Ferritin and Low Transferrin Saturation: Results of the Dialysis Patients' Response to IV Iron with Elevated Ferritin (DRIVE) Study", JOURNAL OF THE AMERICAN SOCIETY OF NEPHROLOGY., vol. 18, no. 3, 1 January 2007 (2007-01-01), pages 975-984, XP055406606, US ISSN: 1046-6673, DOI: 10.1681/ASN.2006091034 page 983, column 1, paragraph 3	1-63

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

International application No
PCT/IB2017/053507

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member(s)	Publication date
WO 2016098079 A2	23-06-2016	AU 2015365373 A1	06-07-2017
		CA 2970869 A1	23-06-2016
		EP 3233913 A2	25-10-2017
		KR 20170089010 A	02-08-2017
		PE 09162017 A1	12-07-2017
		SG 11201704634S A	28-07-2017
		TW 201629097 A	16-08-2016
		US 2016176956 A1	23-06-2016
		UY 36449 A	29-07-2016
		WO 2016098079 A2	23-06-2016
US 2014170161 A1	19-06-2014	AR 093620 A1	10-06-2015
		AU 2013363548 A1	28-05-2015
		CA 2892911 A1	26-06-2014
		CL 2015001639 A1	02-10-2015
		CN 104870473 A	26-08-2015
		CY 1118254 T1	28-06-2017
		DK 2931748 T3	02-01-2017
		EA 201590918 A1	30-10-2015
		EP 2931748 A1	21-10-2015
		ES 2608381 T3	10-04-2017
		HK 1209763 A1	08-04-2016
		HR P20161587 T1	13-01-2017
		JP 6033459 B2	30-11-2016
		JP 2016501273 A	18-01-2016
		KR 20150083918 A	20-07-2015
		LT 2931748 T	10-01-2017
		PE 11642015 A1	19-08-2015
		PH 12015501360 A1	02-09-2015
		PL 2931748 T3	31-05-2017
		PT 2931748 T	02-11-2016
		SG 11201504695Q A	30-07-2015
		TN 2015000277 A1	03-10-2016
		TW 201439118 A	16-10-2014
		US 2014170161 A1	19-06-2014
		US 2014309404 A1	16-10-2014
		WO 2014099391 A1	26-06-2014
US 2014056902 A1	27-02-2014	CA 2874117 A1	09-01-2014
		CN 104411720 A	11-03-2015
		EP 2868667 A1	06-05-2015
		HK 1209769 A1	08-04-2016
		JP WO2014007198 A1	02-06-2016
		KR 20150030675 A	20-03-2015
		TW 201406781 A	16-02-2014
		US 2014056902 A1	27-02-2014
		WO 2014007198 A1	09-01-2014
US 2016115545 A1	28-04-2016	US 9139648 B1	22-09-2015
		US 9187562 B1	17-11-2015
		US 2016017056 A1	21-01-2016
		US 2016115545 A1	28-04-2016
		US 2016158357 A1	09-06-2016
		US 2016159896 A1	09-06-2016
		US 2016319017 A1	03-11-2016

フロントページの続き

(51)Int.Cl.			F I			テーマコード（参考）
G01N	***33/68***	***(2006.01)***	G01N	33/53	D	
C07K	*16/22*	*(2006.01)*	G01N	33/68		
C12N	*15/13*	*(2006.01)*	C07K	16/22	ZNA	
			C12N	15/13		

(81)指定国 AP(BW,GH,GM,KE,LR,LS,MW,MZ,NA,RW,SD,SL,ST,SZ,TZ,UG,ZM,ZW),EA(AM,AZ,BY,KG,KZ,RU,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

(72)発明者 コン，フェン
アメリカ合衆国 マサチューセッツ州 ０２１３９，ケンブリッジ，マサチューセッツ アベニュー ２５０，ノバルティス インスティチューツ フォー バイオメディカル リサーチ，インコーポレイテッド
(72)発明者 ディートリッヒ，ウィリアム
アメリカ合衆国 マサチューセッツ州 ０２１３９，ケンブリッジ，マサチューセッツ アベニュー ２５０，ノバルティス インスティチューツ フォー バイオメディカル リサーチ，インコーポレイテッド
(72)発明者 ジョルジュ，ナタリー
スイス国 バーゼル ４００２，ポストファッハ，ノバルティス ファーマ アーゲー
(72)発明者 リウ，ドン
アメリカ合衆国 マサチューセッツ州 ０２１３９，ケンブリッジ，マサチューセッツ アベニュー ２５０，ノバルティス インスティチューツ フォー バイオメディカル リサーチ，インコーポレイテッド
(72)発明者 シャクター，アシャー
アメリカ合衆国 マサチューセッツ州 ０２１３９，ケンブリッジ，マサチューセッツ アベニュー ２５０，ノバルティス インスティチューツ フォー バイオメディカル リサーチ，インコーポレイテッド
(72)発明者 ソニ，アディティ
アメリカ合衆国 マサチューセッツ州 ０２１３９，ケンブリッジ，マサチューセッツ アベニュー ２５０，ノバルティス インスティチューツ フォー バイオメディカル リサーチ，インコーポレイテッド
(72)発明者 ジョウ，ジン
アメリカ合衆国 マサチューセッツ州 ０２１３９，ケンブリッジ，マサチューセッツ アベニュー ２５０，ノバルティス インスティチューツ フォー バイオメディカル リサーチ，インコーポレイテッド

Ｆターム(参考) 2G045 DA36 FB03 FB06
4C084 AA17 MA16 MA65 NA05 ZA551 ZA552 ZC411 ZC412
4C085 AA13 AA14 AA16 BB36 BB41 BB42 CC22 CC23 EE01 GG02
GG04
4H045 AA11 AA30 BA10 CA40 DA76 EA20 FA74

专利名称(译)	使用骨形态发生蛋白6（BMP 6）抑制剂治疗疾病的方法		
公开(公告)号	JP2019519546A	公开(公告)日	2019-07-11
申请号	JP2018565674	申请日	2017-06-13
[标]申请(专利权)人(译)	瑞士商诺华公司		
申请(专利权)人(译)	诺华公司		
[标]发明人	コンフェン ディートリッヒウィリアム ジョルジュナタリー リウドン ジョウジン		
发明人	コン,フェン ディートリッヒ,ウィリアム ジョルジュ,ナタリー リウ,ドン シャクター,アシャー ソニ,アディティ ジョウ,ジン		
IPC分类号	A61K45/00 A61P43/00 A61P7/06 A61K39/395 G01N33/53 G01N33/68 C07K16/22 C12N15/13		
FI分类号	A61K45/00 A61P43/00.111 A61P7/06 A61K39/395.D A61K39/395.N G01N33/53.D G01N33/68 C07K16/22.ZNA C12N15/13		
F-TERM分类号	2G045/DA36 2G045/FB03 2G045/FB06 4C084/AA17 4C084/MA16 4C084/MA65 4C084/NA05 4C084/ZA551 4C084/ZA552 4C084/ZC411 4C084/ZC412 4C085/AA13 4C085/AA14 4C085/AA16 4C085/BB36 4C085/BB41 4C085/BB42 4C085/CC22 4C085/CC23 4C085/EE01 4C085/GG02 4C085/GG04 4H045/AA11 4H045/AA30 4H045/BA10 4H045/CA40 4H045/DA76 4H045/EA20 4H045/FA74		
代理人(译)	小林 浩 片山英二 丸山智 铃木康仁		
优先权	62/350257 2016-06-15 US		
外部链接	Espacenet		

摘要(译)

本发明涉及使用BMP6拮抗剂的治疗方法。

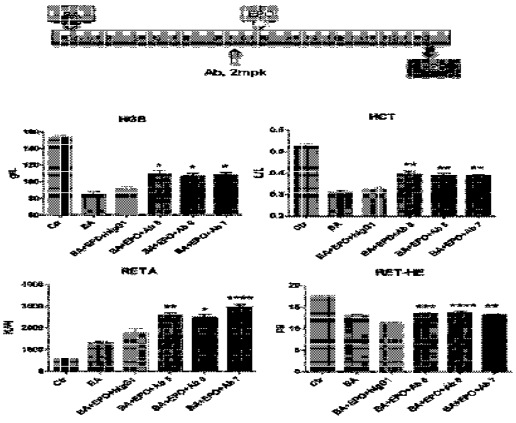



Figure 4