

(19) 日本国特許庁(JP)

(12) 公表特許公報(A)

(11) 特許出願公表番号

特表2017-532048

(P2017-532048A)

(43) 公表日 平成29年11月2日(2017.11.2)

| (51) Int.Cl. | F I | テーマコード (参考) |
|--------------------------------|-----------------------|-----------------|
| C 1 2 N 15/09 (2006.01) | C 1 2 N 15/00 Z N A A | 4 B 0 6 4 |
| C 0 7 K 16/24 (2006.01) | C 0 7 K 16/24 | 4 B 0 6 5 |
| C 0 7 K 16/46 (2006.01) | C 0 7 K 16/46 | 4 C 0 8 4 |
| C 1 2 N 1/15 (2006.01) | C 1 2 N 1/15 | 4 C 0 8 5 |
| C 1 2 N 1/19 (2006.01) | C 1 2 N 1/19 | 4 H 0 4 5 |
| 審査請求 未請求 予備審査請求 未請求 | | (全 55 頁) 最終頁に続く |

| | | | |
|---------------|------------------------------|----------|---------------------|
| (21) 出願番号 | 特願2017-519981 (P2017-519981) | (71) 出願人 | 517000368 |
| (86) (22) 出願日 | 平成27年7月1日(2015.7.1) | | カリプソ バイオテック エス アー |
| (85) 翻訳文提出日 | 平成29年1月20日(2017.1.20) | | CALYPSO BIOTECH SA |
| (86) 国際出願番号 | PCT/EP2015/064931 | | スイス国 セーアシュー1228 プラン |
| (87) 国際公開番号 | W02016/001275 | | レ ズゥアト シュマン デ オ 14 |
| (87) 国際公開日 | 平成28年1月7日(2016.1.7) | (74) 代理人 | 100094640 |
| (31) 優先権主張番号 | 14175361.6 | | 弁理士 紺野 昭男 |
| (32) 優先日 | 平成26年7月2日(2014.7.2) | (74) 代理人 | 100103447 |
| (33) 優先権主張国 | 欧州特許庁 (EP) | | 弁理士 井波 実 |
| | | (74) 代理人 | 100111730 |
| | | | 弁理士 伊藤 武泰 |
| | | (74) 代理人 | 100180873 |
| | | | 弁理士 田村 慶政 |

最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 IL-15に対する抗体

(57) 【要約】

本発明は、IL-15に結合する抗体、特にヒト化抗体に関する。特に本発明の抗IL-15抗体は、IL-15の活性を中和可能であり、自己免疫疾患および/または炎症性疾患、悪性腫瘍、移植片拒絶、代謝性の状態、および/または寄生虫、ウイルスまたは細菌病原体によって引き起こされる感染症の予防および/または治療に有用である。

【特許請求の範囲】

【請求項 1】

(1) 配列番号 5 の重鎖可変領域、または前記配列の 1、2、3、4、5、6、7、8、または 9 アミノ酸が異なるアミノ酸に置換されたそのバリエーション、および

(2) 配列番号 24 の軽鎖可変領域、または前記配列の 1、2、3、4、5、6、7、8、9、または 10 アミノ酸が異なるアミノ酸に置換されたそのバリエーションを含んでなる、IL-15 に結合する単離抗体、またはその抗原結合断片。

【請求項 2】

(1) 配列番号 5 の重鎖可変領域、または配列番号 5 に対して少なくとも 95% の同一性を有するそのバリエーション、および

(2) 配列番号 24 の軽鎖可変領域、または配列番号 24 に対して少なくとも 95% の同一性を有するそのバリエーションを含んでなる、請求項 1 に記載の単離抗体またはその抗原結合断片。

【請求項 3】

ヒト化抗体である、請求項 1 または 2 に記載の単離抗体。

【請求項 4】

(1) 配列番号 5 の重鎖可変領域、またはそのバリエーションであって、

(i) 重鎖可変フレームワーク領域内の位置 H3 (VH RH3) のアルギニン (R)、位置 H5 (VH MH5) のメチオニン (M)、位置 H6 (VH AH6) のアラニン (A)、位置 H49 (VH AH49) のアラニン (A)、および / または

(ii) 重鎖 CDR2 内の位置 H61 (VH DH61) のアスパラギン酸 (D)、位置 H62 (VH SH62) のセリン (S)、および / または

(iii) 重鎖 CDR3 内の位置 H98 (VH MH98) のメチオニン (M)、位置 H100C (VH WH100C) のトリプトファン (W)、位置 H100E (VH MH100E) のメチオニン (M)、

から選択される 1、2、3、4 または 5 アミノ酸が、異なるアミノ酸に置換されたバリエーション、および

(2) 配列番号 24 の軽鎖可変領域、またはそのバリエーションであって、

(i) 軽鎖可変フレームワーク領域内の位置 L36 (VL YL36) のチロシン (Y)、位置 L46 (VL LL46) のロイシン (L)、および / または

(ii) 軽鎖 CDR3 内の位置 L91 (VL DL91) のアスパラギン酸 (D)、位置 L92 (VL SL92) のセリン (S)、

から選択される 1、2、3 または 4 アミノ酸が、異なるアミノ酸に置換されたバリエーションを含んでなる、請求項 1 ~ 3 のいずれか一項に記載の単離抗体またはその抗原結合断片。

【請求項 5】

(1) 前記配列番号 5 のバリエーションが、

(i) VH RH3 のグルタミン (Q) による置換、および / または VH MH5 のバリン (V) による置換、および / または VH AH6 のグルタミン酸 (E) による置換、および / または VH AH49 のセリン (S) による置換、および / または

(ii) VH DH61 のグルタミン酸 (E) による置換、および / または VH SH62 のスレオニン (T) による置換、および / または

(iii) VH MH98 のロイシン (L)、フェニルアラニン (F)、イソロイシン (I)、またはアラニン (A) による置換、および / または VH WH100C のチロシン (Y)、フェニルアラニン (F)、またはアラニン (A) による置換、および / または VH MH100E のロイシン (L)、フェニルアラニン (F)、またはイソロイシン (I) による置換がされた以外は配列番号 5 のアミノ酸配列を有し、および / または

(2) 前記配列番号 24 のバリエーションが、

(i) VL YL36 のフェニルアラニン (F) による置換、および / または VL LL46 のアルギニン (R) による置換、および / または

(ii) VL DL91 のグルタミン酸 (E) による置換、および / または VL S

10

20

30

40

50

L 9 2 のスレオニン (T) による置換がされた以外は配列番号 2 4 のアミノ酸配列を有する、請求項 4 に記載の単離抗体またはその抗原結合断片。

【請求項 6】

(1) V H R H 3 のグルタミン (Q) による置換、および / または V H M H 5 のバリン (V) による置換、および / または V H A H 6 のグルタミン酸 (E) による置換、および / または

(i) V H S H 6 2 のスレオニン (T) による置換、および / または

(i i) V H W H 1 0 0 C のチロシン (Y) による置換がされた配列番号 5 のアミノ酸配列の重鎖可変領域、および

(2) 配列番号 2 4 のアミノ酸配列の軽鎖可変領域

を含む、請求項 1 ~ 5 のいずれか一項に記載の単離抗体またはその抗原結合断片。

10

【請求項 7】

(1) 配列番号 6、配列番号 1 2、配列番号 2 1、および配列番号 5 から選択される重鎖可変領域、および

(2) 配列番号 2 4 の軽鎖可変領域

を含む、請求項 1 ~ 6 のいずれか一項に記載の単離抗体またはその抗原結合断片。

【請求項 8】

配列番号 6 の重鎖可変領域および配列番号 2 4 の軽鎖可変領域を含む、請求項 1 ~ 7 のいずれか一項に記載の単離抗体またはその抗原結合断片。

【請求項 9】

I L - 1 5 により誘導される K i t 2 2 5 細胞株または M - 0 7 e 細胞株の増殖および / またはそれらの生存のような、I L - 1 5 活性を阻害する、請求項 1 ~ 8 のいずれか一項に記載の単離抗体またはその抗原結合断片。

20

【請求項 1 0】

請求項 1 ~ 9 のいずれか一項に記載の抗体またはその抗原結合断片をコードする、単離核酸分子。

【請求項 1 1】

請求項 1 0 に記載の核酸分子を含む組換え発現ベクターを含む、宿主細胞。

【請求項 1 2】

請求項 1 ~ 9 のいずれか一項に記載の抗体またはその抗原結合断片を産生するための方法であって、前記抗体またはその断片をコードする核酸配列を含む発現ベクターによって形質転換された宿主細胞を、前記抗体またはその断片の発現を促進するために十分な条件下で培養することを含んでなる、方法。

30

【請求項 1 3】

(i) I L - 1 5 に結合する、請求項 1 ~ 9 のいずれか一項に記載の抗体またはその抗原結合断片、(i i) 請求項 1 0 に記載の核酸、(i i i) (i i) の前記核酸を含む組換え発現ベクター、および / または (i v) 請求項 1 1 に記載の宿主細胞、のうち 1 つ以上、および少なくとも 1 つの薬剤的に許容される担体を含んでなる、医薬組成物。

【請求項 1 4】

自己免疫疾患および / または炎症性疾患、悪性腫瘍、移植片拒絶、代謝性の状態および / または寄生虫、ウイルスまたは細菌病原体によって引き起こされる感染症の予防および / または治療に有用な共薬剤、または小腸炎を低減させる、および / または腸粘膜を保護する、および / またはグルテンペプチドに対する免疫反応性を低減させる、および / または腸細菌叢を改善させる化合物をさらに含んでなる、請求項 1 3 に記載の医薬組成物。

40

【請求項 1 5】

薬剤として使用するための、請求項 1 ~ 9 のいずれか一項に記載の抗体またはその抗原結合断片。

【請求項 1 6】

I L - 1 5 関連疾病または疾患の予防および / または治療に使用するための、請求項 1 ~ 9 のいずれか一項に記載の抗体またはその抗原結合断片。

50

【請求項 17】

IL - 15 関連疾病または疾患が、自己免疫疾患、炎症性疾患、悪性腫瘍、代謝の状態および/または寄生虫、ウイルスまたは細菌病原体によって引き起こされる感染症から選択される、請求項 16 に記載の使用のための抗体またはその抗原結合断片。

【請求項 18】

IL - 15 関連疾病または疾患が、関節リウマチ、乾癬、難治性セリアック病のようなセリアック病、サルコイドーシス、炎症性腸疾患、C 型肝炎により誘導される肝疾患、多発性硬化症、自己免疫性肝炎、原発性胆汁性肝硬変、硬化性胆管炎、胆道閉鎖症、円形脱毛症、移植片拒絶、中枢神経系の炎症性疾患および好酸球性食道炎から選択される、請求項 16 または 17 に記載の使用のための抗体またはその抗原結合断片。

10

【請求項 19】

IL - 15 関連疾病または疾患が、難治性セリアック病のようなセリアック病、好酸球性食道炎、自己免疫性肝炎、アルツハイマー病、ウイルス感染症およびハンタウイルス感染症から選択される、請求項 16 に記載の使用のための抗体またはその抗原結合断片。

【請求項 20】

前記抗体またはその抗原結合断片が、自己免疫疾患および/または炎症性疾患、悪性腫瘍、移植片拒絶、代謝性状態および/または寄生虫、ウイルスまたは細菌病原体によって引き起こされる感染症の予防および/または治療に有用な共薬剤、または小腸炎を低減させる、および/または腸粘膜を保護する、および/またはグルテンペプチドに対する免疫反応性を低減させる、および/または腸細菌叢を改善させる化合物と併用して投与される、請求項 16 ~ 19 のいずれか一項に記載の使用のための抗体またはその抗原結合断片。

20

【請求項 21】

生体試料中の IL - 15 タンパク質の存在および/またはその濃度を検出するための *ex vivo* 法であって、

(i) 被験体由来の生体試料を用意する工程、

(ii) 前記生体試料を、少なくとも 1 つの、請求項 1 ~ 9 のいずれか一項に記載の抗体またはその抗原結合断片と、前記生体試料中に存在する IL - 15 タンパク質の、前記少なくとも 1 つの抗体またはその断片への、抗原 - 抗体相互作用を介した結合に十分な条件下で反応させる工程、および

30

(iii) 前記工程 (ii) において形成された抗原 - 抗体複合体のレベルに比例したシグナルを検出する工程であって、当該シグナル強度が生体試料中の IL - 15 タンパク質の濃度と相関する工程を含んでなる、方法。

【請求項 22】

請求項 1 ~ 9 のいずれか一項に記載の抗体もしくはその抗原結合断片、またはその医薬組成物の治療上有効な量を、必要に応じて被験体に投与することを含んでなる、IL - 15 関連疾病または疾患を予防および/または治療するための方法。

【請求項 23】

IL - 15 関連疾病または疾患が、自己免疫疾患、炎症性疾患、悪性腫瘍、代謝の状態、および/または寄生虫、ウイルスまたは細菌病原体によって引き起こされる感染症から選択される、請求項 22 に記載の方法。

40

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0001】

本発明は、インターロイキン - 15 に結合する抗体、特に前記タンパク質の活性を中和可能な抗体に関し、また前記抗体の治療用途に関する。

【背景技術】

【0002】

MGC9721 としても知られるインターロイキン 15 (IL - 15) は、14 ないし

50

15 kDaの炎症誘発性サイトカインである。IL-15は、様々な刺激条件を介して、複数の組織（胎盤、骨格筋、腎臓、肺、心臓、単球/マクロファージ）、ならびに単球およびマクロファージ、血液由来の樹状細胞、上皮および線維芽細胞を含む多数の細胞型に発現する（Fenninger and Caligiuri, 2001, Blood, 97(1):14-32）。

【0003】

インターロイキン-15は、T細胞およびナチュラルキラー（NK）細胞の活性化、生存および増殖を調節する。このサイトカインとインターロイキン2（IL-2）とは、これらが受容体シグナル伝達の構成要素（IL-2/15R およびIL-2/15Rc）を共有しているため、多くの生物活性を共有している。しかしながら、IL-2に対するIL-15の特異性は、IL-15Rヘテロ三量体である高親和性の受容体複合体を完成させる独特な鎖受容体によってもたらされるものであり、これによってリガンドおよび高親和性受容体の発現に応じた差次的な応答性が可能となる（Fenninger and Caligiuri, 2001, 上記）。加えて、可溶性IL-15は、IL-15R高親和性受容体または低親和性IL-15R受容体のいずれかを発現する細胞を直接刺激することができ、この現象はIL-15シス提示と称される。一方で、例えば1つの細胞型の表面においてIL-15Rに結合したIL-15は、別の細胞の表面に発現されたIL-15Rと結合して刺激できることが示唆されており、この現象はIL-15トランス提示と称される（Stonier et al, 2010, Immunol. Lett., 127:85-92）。循環中でもまた、IL-15は可溶性IL-15Rと優先的に結合し得ることから、このようなトランス提示の機構が細胞-細胞相互作用に限られたものであるとはいいがたい（Bergamaschi et al, 2012, Blood 120:e1-e8）。

10

20

【0004】

関節リウマチ、乾癬およびセリアック病のような自己免疫疾患ならびにT細胞白血病のような悪性腫瘍を含むいくつかの疾患において、IL-15発現の調節不全が有害となることが示唆されている。特に、IL-15は、セリアック病に付随する炎症とリンパ腫の発生とに対する新しい標的であると考えられているヒト上皮内のリンパ球において、抗アポトーシス経路を誘発する（Malamut et al., 2010, J. Clin. Invest., 120(6):2131-43）。さらに、IL-15の発現はヒト好酸球性食道炎において増大していること、およびマウスにおいて同様な/関連した病原性を仲介することが見出された（Zhu et al., 2010, Gastroenterology, 139(1):182-93）。加えて、アルツハイマー病および前頭側頭型認知症の患者では炎症誘発活性の増大が見出されており、これらの患者の脳脊髄液中ではIL-15の濃度が上昇していることから、IL-15はマーカーとして使用することができる（Rentzos et al., 2006, J. Geriatr. Psychiatry Neurol., 19(2):114-7）。

30

【0005】

IL-15はまた、特に同種移植片移植の場合、自然免疫細胞、特に移植片拒絶応答におけるNKおよびT細胞の活性化に対して、中心的に重要な役割を果たすことも見出されている（Ferrari-Lacraz et al., 2011, J. Immunol., 167(6):3478-3485）。

40

【0006】

IL-15はまた、筋肉および脂肪代謝において様々な役割を果たすマイオカインであると考えられている（Raschke and Eckel, 2013, Mediators Inflamm., 320724）。IL-15を含む炎症誘発性サイトカインが過剰である場合、外傷、傷害および癌に付随する悪液質にみられる消耗性の代謝亢進症候群が誘導される（Martinez-Hernandez et al., 2012, Oncol Rep., 28(4):1443-52）。

【0007】

50

一般には免疫系の刺激を通して抗腫瘍活性が得られると考えられているが、IL-15は、セリアック病に付随するリンパ腫の発生に加え、急性リンパ性白血病および大顆粒リンパ球性白血病のようなある種の癌においても不利に作用することが示唆されている (Carrio et al., 2007, J Clin Oncol. 25 (30): 4813-20)。

【0008】

したがって、IL-15に結合してその生物活性を中和することが可能な、特にIL-15関連疾患、とりわけ自己免疫性疾患および炎症性疾患への治療に応用するための、強力かつ特異的な抗体を提供することは有益であろう。

【0009】

IL-15R 受容体の結合に関してIL-15と競合しないが、IL-15受容体、複合体の集合を強く妨害する、完全なヒトモノクローナル抗IL-15抗体 (146B7) について開示されている (Villadsen et al., 2003, J Clin Invest., 112: 1571-1580)。ヒト乾癬の異種移植モデルにおいて、146B7抗体は、乾癬の重症度を低下させた。活動性の関節リウマチ患者に対する146B7抗体 (AMG714としても知られる) を用いたI~II相の用量漸増試験において、疾病の活動性の改善が観察された (Baslund et al., 2005, Arthritis & Rheumatism, 52 (9): 2686-2692)。しかしながらこのプログラムは、有効性が欠如していたために中止された (Fullmer 2009, T. SciBX 2 (36))。

【0010】

モノクローナルマウス抗IL-15抗体 (B-E29) が、IL-15のIL-15Rへの結合を阻害するとして開示されている (Bernard et al., 2004, J Biol Chem., 279 (23): 24313-24322)。完全なヒト抗IL-15抗体 (DISC0280) が、直接比較した際に、B-E29よりもさらに強力かつ効率的にIL-15のIL-15Rへの結合を阻害するとして開示されている (Finch et al., 2011, Brit. J. Pharmacol., 162: 480-490)。DISC0280は、in vitroにおいてIL-15活性を非常に強力かつ効率的に中和したが、in vivoでは中和しなかった。したがって、IL-15のIL-15Rへの結合の阻害は、in vivoにおけるIL-15の中和活性には不利な可能性があるとして仮定された。

【0011】

先行技術において抗IL-15抗体が報告されているにもかかわらず、先行技術の抗体に比較して有利な特性を示し、および/または、さらに効率的および/またはさらに容易に産生される、別の抗IL-15抗体の開発が望まれている。

【0012】

本発明は、マウスB-E29抗体に由来する、IL-15に特異的な新規ヒト化抗体であって、IL-15のIL-15Rへの結合を阻止せず、in vivoにてIL-15を中和可能であり、IL-15への結合と中和に関して146B7抗体よりもさらに強力かつ効率的な新規ヒト化抗体を提供することによって、この希求を満たすものである。

【発明の概要】

【0013】

本発明は主に、インターロイキン-15、特にヒトIL-15に結合する抗体であって、本明細書に記載される、ヒト化かつ最適化されたマウス抗IL-15抗体に由来する可変領域を含む抗体へ向けられる。

【0014】

本発明の第1の態様は、IL-15に結合する単離抗体であって、

- (1) 配列番号5の重鎖可変領域、または前記配列の1、2、3、4、5、6、7、8、または9アミノ酸が異なるアミノ酸に置換された、そのパリアントのいずれか、および
- (2) 配列番号24の軽鎖可変領域、または前記配列の1、2、3、4、5、6、7、

10

20

30

40

50

8、9、または10アミノ酸が異なるアミノ酸に置換された、そのバリエーションのいずれかを含んでなる単離抗体、またはその抗原結合断片を提供する。

【0015】

本発明の第2の態様は、前記抗体またはその断片をコードする、単離核酸分子に関する。

【0016】

本発明の第3および第4の態様はそれぞれ、前記核酸分子を含む組換え発現ベクターおよび前記組換えベクターを含む宿主細胞に関する。

【0017】

本発明の第5の態様は、本明細書に記載される、抗体を産生するための方法であって、前記抗体をコードする核酸配列を含む発現ベクターによって形質転換された宿主細胞を、前記抗体またはその断片の発現を促進するために十分な条件下で培養することを含む方法に関する。

【0018】

本発明の第6の態様は、本明細書に記載される、(i) IL-15に結合する単離抗体またはその抗原結合断片、(ii)核酸、(iii)ベクター、および/または(iv)宿主細胞のうち1つ以上、および少なくとも1つの薬剂的に許容される担体を含む医薬組成物を提供する。

【0019】

本発明の第7の態様は、本明細書に記載される、1つ以上の抗IL-15抗体を含むイメージング組成物または診断用組成物に関する。

【0020】

本発明の第8の態様は、本明細書に記載される、1つ以上の抗IL-15抗体を含むキットに関する。

【0021】

本発明の第9の態様は、自己免疫疾患および/または炎症性疾患、悪性腫瘍、移植片拒絶、代謝の状態(例えば代謝亢進状態)および/または寄生虫性、ウイルス性または細菌性病原体によって引き起こされる感染症のようなIL-15関連疾患の予防および/または治療に使用するための、本発明の抗体またはその製剤に関する。

【0022】

第10の態様は、自己免疫疾患および/または炎症性疾患、悪性腫瘍、移植片拒絶、遺伝性の、または外傷、傷害または癌に関連した代謝の状態(例えば代謝亢進状態)および/または寄生虫性、ウイルス性または細菌性病原体によって引き起こされる感染症のようなIL-15関連疾患を予防および/または治療するための方法であって、被験体の必要に応じて治療上有効な量の前記抗体または前記医薬組成物を投与することを含む方法。

【0023】

本発明のその他の特色および利点は、以下の詳細な説明によって明らかになるであろう。

【図面の簡単な説明】

【0024】

【図1】マウスB-E29のヒト化型およびキメラバリエーションの可変領域配列のアラインメントを、比較抗体1、B-E29と比較して示した図である。(A)重鎖可変領域:「cVH1」(配列番号32)はマウスB-E29抗体の重鎖可変領域を表し、「cVH2」(配列番号33)、「cVH3」(配列番号34)および「cVH4」(配列番号35)はcVH1のバリエーションを表し、「hVH1」はcVH1のヒト化型を表す。(B)軽鎖可変領域:「cVK1」(配列番号36)はマウスB-E29抗体の軽鎖可変領域を表し、「hVK1」(配列番号24)、「hVK2」(配列番号37)はcVK1の2つのヒト化型を表す。Kababatにより定義されたCDRには下線を施し、VH/VLの接合部分および標準のループ構造に重要な鍵となる残基はアスタリスク(*)によって示す。

【図2】ELISAによって決定し、450nmにおける吸光度によって表した、抗IL

10

20

30

40

50

- 15 抗体のヒト IL - 15 への結合の用量反応曲線を示した図である。本発明の代表的な抗 IL - 15 抗体のうちの一つ (hu B - E 2 9 - 1) および 1 4 6 B 7 抗体のヒト IL - 15 への結合 (A)、および様々な組換え抗 IL - 15 抗体の組換えマウス IL - 15 への結合 (B) またはラット IL - 15 への結合 (C) を示す。

【図 3】ELISA によって決定した、抗 IL - 15 抗体の組換えヒト IL - 2 への結合を示した図である。棒は、試験する抗 IL - 15 抗体または陽性対照としての抗 IL - 2 抗体の濃度を 5 μ g / ml に固定して、450 nm における吸光度を二重に測定した平均値を示す。第 2 工程のみとは、試験抗体を含まない、HRP 抗ヒト免疫グロブリンのみの結果を示す。

【図 4】ELISA によって決定し、450 nm における吸光度によって表した、様々な濃度の抗体の存在下での、ビオチン化ヒト IL - 15 の IL - 15 R - Fc への結合の用量反応曲線を示した図である。本発明の代表的な抗 IL - 15 抗体のうち 3 つの結合を、IL - 15 の IL - 15 R への結合を遮断することが知られている対照抗体の結合、および抗体の非存在下または IL - 15 R - Fc の非存在下でのビオチン化 IL - 15 の結合と比較して示す。

【図 5】ビヒクル (未処理) を注射したマウスまたは IL - 15 / IL - 15 R - Fc 複合体に続いて代表的な抗 IL - 15 抗体または対照ヒト Ig G 1 アイソタイプを注射したマウスの、脾臓内の NK 細胞を示した図である。結果は、1 群あたり 5 匹の動物の平均 \pm 標準偏差として示す。

【図 6】3 つの II 型 RCD 初代細胞株において IL - 15 により誘導されたアポトーシスの防止および STA 5 のリン酸化に対する、hu B - E 2 9 - 2、1 4 6 B 7 および対照アイソタイプ抗体の効果を示した図である。アポトーシス細胞のパーセンテージ (A) または IL - 15 により誘導されたリン酸化 STA 5 の細胞内発現の MFI (B) について、結果は対照条件 (培地、100% に設定) のレベルに対して標準化を行い、3 名の異なる患者から採取した II 型 RCD IEL 細胞株から得られた結果の平均プラス標準偏差 (SD) として示す。

【図 7】100 μ g の hu B - E 2 9 - 2 (黒丸) または対照アイソタイプ抗体 (白丸) を、1 週間に 2 回、2 週間腹腔内注射した T3b - hIL - 15 トランスジェニックマウスの、CD3⁺CD8⁺ 上皮内リンパ球 (IEL) を示した図である。各記号は個々のマウスを表し、群平均プラス標準偏差 (SD) をプロットした。統計解析：独立スチューデント t 検定。

【発明を実施するための形態】

【0025】

定義

本明細書において、用語「インターロイキン 15」、「インターロイキン - 15」、「IL - 15」は、MGC9721 としても知られるインターロイキン 15 タンパク質を指す。インターロイキン 15 は、14 ないし 15 kDa の炎症誘発性サイトカインであり、ヒトでは、その配列が Hugo Gene Nomenclature Committee ID 5977 に開示される IL - 15 遺伝子によってコードされる。IL - 15 は 162 アミノ酸を含み、このうち最初の 29 アミノ酸はシグナルペプチドを構成し、アミノ酸 30 ないし 48 はプロペプチドを構成する。IL - 15 の未熟型は、UniProtKB 受託番号 P40933 によって入手できる。IL - 15 タンパク質の成熟型はアミノ酸 Asn 49 ないし Ser 162 に相当し、ここで示す位置は未熟 IL - 15 アミノ酸配列のアミノ酸の位置に相当する。ヒト成熟 IL - 15 のアミノ酸配列は配列番号 1 に相当する。その他の種に由来する未熟 IL - 15 のアミノ酸配列が当該技術分野において入手可能であり、例えば、マウス IL - 15 (UniProtKB 受託番号 P48346、配列番号 2 の成熟型 IL - 15 に相当する)、ラット IL - 15 (UniProtKB 受託番号 P97604、配列番号 3 の成熟型 IL - 15 に相当する)、アカゲザル IL - 15 (UniProtKB 受託番号 NP__001038196、XP__001091166、XP__001091289、XP__001091416、配列番号 4 の成

10

20

30

40

50

熟型 I L - 1 5 に相当する) およびカニクイザル I L - 1 5 (N C B I 受託番号 X P _ 0 0 5 5 5 6 0 3 6 . 1 から予想された配列、配列番号 4 の成熟型 I L - 1 5 に相当する) が挙げられる。用語「インターロイキン 1 5」には、細胞によって自然に発現される、インターロイキン 1 5 のいずれかのバリエーションまたはアイソフォームもまた含まれる。選択的スプライシングされた I L - 1 5 の転写物であるバリエーションが 2 つ報告されていることに留意されたい。両方のアイソフォーム共に同じ成熟タンパク質を産生するが、これらは細胞内輸送において異なる。

【 0 0 2 6 】

本明細書において、用語「抗体」は、抗原に結合するポリペプチドを指す。この用語には、抗体全体およびいずれかの抗原結合断片が含まれる。用語「抗体」は、本発明の特性、特に標的抗原(例えば I L - 1 5)への結合能、および任意に、本発明の抗体によって認識されるものとしての、I L - 1 5 の同じエピトープへの結合能が保持されている限りにおいて、その最も広い意味にて用いられ、この用語には、モノクローナル抗体、ポリクローナル抗体、ヒト抗体、ヒト化抗体、キメラ抗体、およびさらに改変された抗体が含まれる。抗体およびその断片としては、可変ドメイン断片(「Fv」、抗体の片腕の V H および V L ドメインからなる)、F a b 断片(V H、V L、C H 1 および C L ドメインからなる 1 価の断片)、F a b₂断片(2 価)、F a b₃断片(3 価)、F a b'断片(ヒンジ領域を含む F a b)、F (a b')₂断片(ヒンジ領域においてジスルフィド橋によって連結された 2 つの F a b 断片を含む、2 価の断片)、F d 断片(V H および C H 1 ドメインからなる)、r I g G (還元型 I g G または半 I g G)、ダイアボディ、トリボディ、テトラボディ、ミニボディ、ドメイン抗体(d A b)、1 価の抗体、2 以上の抗体の断片を含む 2 価または多価抗体、単鎖可変断片(S c F v)、b i s - s c F v (二重特異性)、およびジスルフィド安定化 F v 断片、C D R を含んだペプチド、および上記のいずれかのエピトープ結合断片のような、抗体の誘導体が挙げられる(H o l l i g e r a n d H u d s o n , 2 0 0 5 , N a t u r e B i o t e c h n o l o g y , 2 3 (9) : 1 1 2 6 - 1 1 3 6)。抗体は、ジスルフィド結合によって相互に連結した少なくとも 2 本の重(H)鎖および 2 つの軽(L)鎖、またはその抗原結合断片を含む糖タンパク質を指す。それぞれの重鎖は、重鎖可変領域(V H)と重鎖定常領域(C H)とを含む。それぞれの軽鎖は、軽鎖可変領域(V L)と軽鎖定常領域(C L)とを含む。哺乳類では、重鎖はアルファ()、デルタ()、イプシロン()、ガンマ()またはミュー(μ)であってよく、これらはそれぞれ抗体のクラス I g A、I g D、I g E、I g G および I g M を定義する。哺乳類では、軽鎖はラムダ()またはカッパ()のいずれかであってよい。哺乳類では、抗体のクラスに応じて、重鎖定常領域は、3 つの免疫グロブリンドメイン、C H 1、C H 2 および C H 3 (I g A、I g D、I g G の場合)または 4 つの免疫グロブリンドメイン、C H 1、C H 2、C H 3 および C H 4 (I g E および I g M の場合)を含む。軽鎖定常領域は、1 つの免疫グロブリンドメインである C L を含む。抗体は、I g A、I g G、I g E、I g D および I g M、およびそれらのいずれかのサブタイプの構造を有してよい。抗体は、特に霊長類(ヒトおよび非ヒト霊長類)を含むいずれかの源、および霊長類化された源に由来してよい。

【 0 0 2 7 】

本明細書で用いられる用語「可変ドメイン」(軽鎖(V L)の可変ドメイン、重鎖(V H)の可変ドメイン)は、一对の軽鎖ドメインおよび重鎖ドメインの、抗体の抗原への結合に直接関与するドメインのそれぞれを指す。軽鎖可変ドメインおよび重鎖可変ドメインは同じ一般構造を有し、各ドメインは、その配列が広く保存されており、「相補性決定領域」または「C D R」と呼ばれる 3 つの「超可変領域」によって結合される 4 つのフレーム構造(「F W」)領域を含む。フレームワーク領域はシート構造を取っており、C D R はこのシート構造に結合するループを形成し得る。各鎖の C D R は、フレームワーク領域によってその三次元構造を保ち、もう一方の鎖の C D R と共に抗原結合部位を形成する。用語「抗体の抗原結合部位」が本明細書で用いられる場合、この用語は、抗原の結合に関与する抗体のアミノ酸残基を指す。抗体の抗原結合部位は、「相補性決定領域」また

10

20

30

40

50

は「CDR」由来のアミノ酸残基を含む。「フレーム構造」または「FW」領域は、本明細書で定義する超可変領域残基以外の可変ドメイン領域である。したがって、抗体の軽鎖可変ドメインおよび重鎖可変ドメインは、N末端からC末端へ向かって、ドメインFW1、CDR1、FW2、CDR2、FW3、CDR3およびFW4を含む。CDRおよびFW領域の残基は、Kabatらによる標準的な定義(Sequences of Proteins of Immunological Interest, 5th ed., Public Health Service, National Institutes of Health, Bethesda, MD (1991), Publication No. 91-3242)に従って、慣習的に番号付けされる。他に表示の無い限り、本明細書ではこの方式の番号付けを用いる。Kabat残基による指示は、アミノ酸残基の直鎖の番号付けに、常に直接対応しているわけではない。実際の直鎖アミノ酸配列は、基本的な可変ドメイン構造のフレーム構造または相補性決定領域(CDR)に関わらず、構造の構成要素の短縮か、または構成要素内への挿入に対応して、厳密なKabatの番号付けよりも少ないアミノ酸か、または追加のアミノ酸を含み得る。Kabatによる残基の正確な番号付けは、「標準」のKabatによる番号付けを施された配列をもつ抗体の配列に相同的な残基のアラインメントによって、所定の抗体に対して決定され得る。Kabat方式の番号付けによれば、重鎖可変ドメインのCDRは、残基31~35(CDR-H1)、残基50~65(CDR-H2)および残基95~102(CDR-H3)に位置する。Kabat方式の番号付けによれば、軽鎖可変ドメインのCDRは、残基24~34(CDR-L1)、残基50~56(CDR-L2)および残基89~97(CDR-L3)に位置する。

【0028】

本願では、他に指定されない限り、すべてのヒト免疫グロブリン重鎖および軽鎖可変ドメインの番号付けは「Kabat方式の番号付け」(Sequences of Proteins of Immunological Interest, 5th ed., Public Health Service, National Institutes of Health, Bethesda, MD (1991), Publication No. 91-3242)に従っている。

【0029】

本願では、他に指定されない限り、すべてのヒト免疫グロブリン重鎖定常ドメインの番号付けは、「EU方式の番号付け」(Edelman et al, 1969, Proc Natl Acad Sci, 63(1):78-85)に従っている。

【0030】

本明細書で用いられる用語「モノクローナル抗体」は、実質的に均一な抗体の集団、すなわち、集団を構成する個々の抗体が、わずかに存在する可能性のある天然の変異を除いて同一である集団から得られた抗体を指す。モノクローナル抗体は高度に特異的であり、単一の抗原部位を標的とする。修飾語句「モノクローナル」は、実質的に均一な抗体の集団から得られた抗体の特性を示すものであって、いずれかの特定の方法による抗体の産生が必要であると解釈されるものではない。

【0031】

用語「キメラ抗体」は、一般に、1つの源または種に由来する可変領域および異なる源または種に由来する定常領域の少なくとも1部分を含み、通常は組換えDNA技術によって調製される抗体を指す。キメラ抗体の典型的な例として、マウス可変領域とヒト定常領域とを含む抗体が挙げられる。本明細書に定義されるように、この用語には、第1のヒト抗体のCDRのうちの1つおよび第2のヒト抗体の定常領域の少なくとも1部分を含む抗体も含まれる。この用語にはまた、第1のヒト抗体の重鎖CDR1、CDR2およびCDR3および第2のヒト抗体の軽鎖CDR1、CDR2およびCDR3を含む抗体も含まれる。

【0032】

用語「ヒト化抗体」は、非ヒト種由来の抗体であって、前記非ヒト種に由来する1つ以

10

20

30

40

50

上の相補性決定領域 (CDR) およびヒト免疫グロブリン分子由来のフレームワーク領域を有する抗体を指す。ヒト化抗体は、任意に、そのCDRが由来する非ヒト種由来のフレーム構造残基を1つ以上さらに含んでもよい。

【0033】

用語「ヒト抗体」または「完全ヒト抗体」は、重鎖および軽鎖両方の可変領域および定常領域がすべてヒト由来であるか、ヒト由来の配列と実質的に同じであるが、必ずしも同じ抗体に由来するものではない抗体を指す。

【0034】

用語「単離抗体」は、その天然環境の構成要素から分離された抗体を指す。例えば単離抗体は、電気泳動 (例えばSDS-PAGE、等電点電気泳動、キャピラリー電気泳動) またはクロマトグラフィー (例えばイオン交換または逆相HPLC (高速液体クロマトグラフィー)) 法を含む当該技術分野の方法 (例えばFlatman et al, 2007, J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci, 848:79-87を参照) によって決定された、95%または99%を超える純度まで精製されたものである。

【0035】

用語「ポリヌクレオチド」または「核酸分子」は、ヌクレオチドを含む高分子化合物を指す。核酸分子の例として、DNA、RNA、ロックド核酸 (LNA)、相補性DNA (cDNA) が挙げられる。

【0036】

「ポリペプチド」は、通常の、または例えば等配電子ペプチド (isosteric peptides) のような修飾されたペプチド結合によって互いに結合した少なくとも2つのアミノ酸を含む、ペプチド、オリゴペプチド、オリゴマーまたはタンパク質として理解される。ポリペプチドは、遺伝コードによって定義された20アミノ酸以外のアミノ酸から構成されてよい。ポリペプチドは、翻訳後成熟過程のような天然の過程によって、または当業者に公知の化学的な過程によって修飾されたアミノ酸から同等に構成されてよい。このような修飾については、文献中に十分に説明されている。これらの修飾は、ポリペプチド内のいずれの箇所でも、すなわちペプチド骨格内、側鎖、またはカルボキシまたはアミノ末端であっても出現し得る。例えばポリペプチド修飾は、アセチル化、アシル化、ADPリボシル化、アミド化、フラビンの共有結合固定、ヘムの共有結合固定、ヌクレオチドまたはヌクレオチド誘導体の共有結合固定、脂質または脂質誘導体の共有結合固定、ホスファチジルイノシトールの共有結合固定、共有結合性または非共有結合性の架橋、環化、ジスルフィド結合の形成、脱メチル化、システイン形成、ピログルタミン酸形成、ホルミル化、ガンマカルボキシル化、PEG化を含むグリコシル化、GPIアンカー形成、ヒドロキシル化、ヨード化、メチル化、ミリストイル化、酸化、タンパク質分解過程、リン酸化、プレニル化、ラセミ化、セネロイル化 (seneloylation)、硫酸化、アルギニン化またはユビキチン化のようなアミノ酸付加を含むものとして理解される。このような修飾については、文献中に十分に説明されている (Proteins Structure and Molecular Properties (1993) 2nd Ed., T.E. Creighton, New York; Post-translational Covalent Modifications of Proteins (1983) B.C. Johnson, Ed., Academic Press, New York; Seiffter et al. (1990) Analysis for protein modifications and nonprotein cofactors, Meth. Enzymol. 182:626-646 and Rattan et al., (1992) Protein Synthesis: Post-translational Modifications and Aging, Ann NY Acad Sci, 663:48-62)。

【0037】

「単離ポリヌクレオチド」または「単離ポリペプチド」は、以前に定義したように、ヒ

10

20

30

40

50

トの身体から単離されたか、そうでなければ技術的な方法によって産生されたポリヌクレオチドまたはポリペプチドとして理解される。

【0038】

用語「バリエーション」は、ポリヌクレオチドおよび/またはポリペプチドに適用される。例えば、本明細書で参照されるペプチドまたはポリペプチドのバリエーションは、参照ペプチド配列と実質的に相同であるが、1つ以上のアミノ酸の欠失、挿入および/または置換のために、参照配列のアミノ酸配列とは異なるアミノ酸配列を有するペプチドまたはポリペプチドを意味する。実質的に相同であるとは、数個のアミノ酸、例えば1、2、3、4、5または6アミノ酸の欠失、挿入および/または置換を除いて、参照ペプチド配列と同一な変異アミノ酸配列を意味する。実質的に相同であるとは、参照アミノ酸配列に対して、少なくとも80%、少なくとも85%、少なくとも90%、少なくとも91%、少なくとも92%、少なくとも93%、少なくとも94%、少なくとも95%、少なくとも96%、少なくとも97%、少なくとも98%または少なくとも99%同一な変異アミノ酸配列を意味する。変異核酸配列は、参照核酸配列に対して、少なくとも80%、少なくとも85%、少なくとも90%、少なくとも91%、少なくとも92%、少なくとも93%、少なくとも94%、少なくとも95%、少なくとも96%、少なくとも97%、少なくとも98%または少なくとも99%同一であってよい。2つのアミノ酸配列または2つの核酸配列の同一性は、目視による点検および/または数学的計算、またはさらに容易には、Clustal packageバージョン1.83のような、配列比較に用いられる公知のコンピュータプログラムを用いた配列情報の比較によって決定できる。バリエーションは、少なくとも1つの保存的に置換されたアミノ酸、すなわち、同様の生理化学的特性をもつ残基によって置換された所定のアミノ酸残基を有する配列を含んでよい。保存された置換としては、1つの脂肪族残基と別の脂肪族残基、例えばIle、Val、Leu、またはAlaとの互いの置換、または1つの極性残基と別の極性残基との互いの置換、例えばLysとArgとの置換、GluとAspとの置換、またはGlnとAsnとの置換が挙げられる。その他のこのような保存された置換としては、例えば、同様な疎水特性を有する全体的な領域の置換が知られている(Kyte, et al, 1982, J. Mol. Biol., 157: 105-132)。例えば、「保存されたアミノ酸の置換」には、その位置のアミノ酸残基の極性または電荷への影響が少ないかまたは全く無い、非天然の残基による天然アミノ酸残基の置換も含まれてよい。あるいは、元のポリペプチドに存在する1つ以上のアミノ酸の置換が保存されていない場合、参照抗体に比較して、改変された特性をもつバリエーションが産生され得る。所望のアミノ酸置換(保存されているか否かにかかわらず)は、このような置換が必要とされる際に、当業者によって決定できる。用語「バリエーション」にはまた、参照ペプチド配列と実質的に相同であるが、1つ以上のアミノ酸が化学的に修飾されているか、またはアミノ酸類似体によって置換されているため、参照配列のアミノ酸配列とは異なるアミノ酸配列を有するペプチドまたはポリペプチドも含まれる。この用語にはまた、グリコシル化ポリペプチドも含まれる。

10

20

30

【0039】

用語「エピトープ」には、抗体へ特異的に結合できる、いずれかのポリペプチド決定因子が含まれる。特定の実施形態によれば、エピトープの決定因子としては、アミノ酸、糖側鎖、ホスホリル、またはスルホニルのような、化学的活性のある表面分子群が挙げられ、また、特定の実施形態によれば、エピトープの決定因子は、特定の三次元構造特性および/または特定の電荷特性を有してよい。エピトープとは、抗体が結合する抗原の領域である。

40

【0040】

本明細書で用いられる用語、抗体が標的抗原に「結合する」または「結合している」とは、前記標的抗原(例えばIL-15)と共に、または前記標的抗原へ、または前記抗体によって認識されるエピトープを含む前記標的抗原の断片と共に、または前記標的抗原の断片へ、前記抗体が少なくとも一時的に相互作用または会合することを意味する。本明細書で用いられる、IL-15に結合する抗体は、抗IL-15抗体とも呼ばれる。

50

【0041】

用語「選択的に結合する」、「特異的に結合する」、「～に特異的な」が抗体に関して用いられる場合、これらの用語は、抗体が標的ポリペプチドまたはエピトープを優先的に認識すること、および/または、抗体が標的ポリペプチドまたはエピトープに優先的に結合すること、すなわち、他のいずれの抗原またはエピトープよりも高い親和性によって、すなわち、標的ポリペプチドへの結合が他の抗原への非特異的な結合とは区別できることを示す。抗体の結合親和性は、当該技術分野における通常の技術、例えば、平衡透析、平衡結合、表面プラズモン共鳴または分光法（例えば蛍光アッセイを用いた）のいずれか1つによって、容易に決定できる。特に、表面プラズモン共鳴（SPR）技術を用いる場合、生体分子の結合現象が、結合パートナーのうちの1つが固定化されている表層の屈折率を変化させ、これが応答単位（RU）として表される表面プラズモン共鳴シグナルの変化として検出される。抗体の、その標的抗原への結合動態をリアルタイムで測定することによって、SPR技術は、抗体とその標的との間の会合がどれだけ迅速であるか（ k_a または k_{on} 結合定数として測定）、その会合がどれだけ強力であるか（ k_d または k_{off} 解離定数として測定）を決定できる。抗体の、その標的に対する親和性は、その平衡解離定数である K_D を決定することによって定量可能である。 K_D は、 $K_D = k_d / k_a$ として定義され、ここで k_a は会合速度（ k_{on} ）、 k_d は解離速度（ k_{off} ）である（Murphy, et al, 2006, Curr Protoc Protein Sci, Chapter 19: Unit 19.14）。2つの抗体の間の親和性および/または結合特性の比較は、各抗体の K_D 値を実際に決定することなく、 K_D に比例する結合の定量的測定（例えばELISAまたはFACS解析によって）または親和性の定性的測定または親和性の推定（例えば機能的アッセイまたはin vitroまたはin vivoアッセイにおいて）に基づいて行うことができる。

10

20

【0042】

抗体の活性を「遮断する」または「中和する」との用語は、標的の活性を阻害する抗体の能力を指す。抗体の中和活性は、in vitroアッセイまたはin vivoアッセイまたは機能アッセイによって決定されてよい。IL-15に結合する抗体に対して用いられる場合、この用語はIL-15活性を広く中和する抗体の能力を指し、この能力は例えば、活性化T細胞、ナチュラルキラー細胞、ナチュラルキラーT細胞およびBリンパ球、またはヘテロ三量体のIL-15R α またはヘテロ二量体IL-15R β 受容体を発現するその他のいずれかの細胞の、IL-15により誘導される増殖および/または生存（Finch, et al, 2011, Br J Pharmacol. 162: 480-90）、抗IgMまたはCD40リガンドによって刺激されたBリンパ球において、IL-15により誘導される免疫グロブリン合成（Litinskiy et al, 2012, Nat Immunol., 3: 822-9）、IL-15により誘導されるヒト好中球の活性化（Rathhe and Girard, 2004, J Leukoc Biol., 76: 162-8）、およびIL-15により誘導される、マクロファージ、樹状細胞または上皮細胞からの炎症誘発性サイトカインの産生（Nanayakkara, et al, 2013, Am J Clin Nutr., 98: 1123-35）の阻害に相当し得る。特に抗IL-15抗体の中和活性は、実施例の項に記載するように、Kit225またはM-07e細胞のような細胞株の、IL-15により誘導される増殖および/または生存を阻害する抗体の能力を測定することによって評価できる。IL-15は、ヘテロ三量体のIL-15R α またはヘテロ二量体のIL-15R β

30

40

受容体を発現する細胞において（シスシグナル伝達）、またはIL-15R β 受容体に既に結合している場合に（トランスシグナル伝達）、直接かつ単独で作用することから（Stonier, et al, 2010, 上記）、IL-15に結合する抗体は、IL-15のシスおよびトランス提示（cis and trans-presentation）のいずれか、または両方を中和可能である。抗体の「効力」は、所定の抗原濃度において最大半量の効果をもたらす抗体/抗原結合断片の濃度として表現され得る。例えば、抗体の「効果」は、その標的の活性の阻害または中和であってよい。この場合、最大半量

50

の阻害をもたらす抗体濃度は、 mol/l またはMによって示される IC_{50} と呼ばれ得る。例えばELISAアッセイによって、結合が抗体の測定された「効果」とされる場合、このような抗体の最大半量の結合能(BC_{50})は、所定の抗原濃度において最大半量のシグナルをもたらす抗体の濃度として表現されてよく、 mol/l またはMによって示される。効力は通常、所定の抗原濃度において、さらに改善しても抗原の結合がそれ以上増強されない親和性に達するまで(いわゆる効力の上限)、親和性に影響される。IL-15に対する抗体に関する効力は、例えば、抗体の存在下における、Kit225またはM-07e細胞のような細胞株の、IL-15により誘導される増殖および/または生存の IC_{50} 値、または異なる源または種に由来するIL-15への結合の BC_{50} 値を測定することによって決定されてよい。

10

【0043】

本明細書で用いられる用語「エフェクター機能」には、抗体のFc領域とFc受容体またはリガンドとの相互作用からもたらされる生化学的現象が含まれる。エフェクター機能には、ADCC(抗体依存性細胞傷害)およびADCP(抗体依存性細胞食作用)のようなFcR媒介性エフェクター機能、およびCDC(補体依存性細胞傷害)のような補体媒介性エフェクター機能が含まれる。抗体のエフェクター機能は、Fc受容体または補体成分のようなエフェクター分子に対する抗体の親和性を変化させること、すなわち増大または減少させること、好ましくは増大させることによって修飾され得る。抗体Fc領域とFc受容体またはリガンドとの結合親和性は、エフェクター分子の結合部位を修飾することによって、変化させることができる。また、抗体におけるエフェクター分子の結合部位を変化させることによって、全体的な結合親和性を著しく変化させることなく相互作用の構造を変化させ、結合を非生産的なものとするのでエフェクター機能を無効にすることも可能である。また、エフェクター分子の結合に直接関連はしないが、エフェクター機能のパフォーマンスに関わる部位を修飾することによって、エフェクター機能を変化させることも可能である。抗体のエフェクター機能を変化させることによって、診断および治療法に有益な効果をもたらす可能性のある免疫応答の様々な状況、例えば免疫系の様々な反応の増強または抑制を制御することが可能かもしれない。

20

【0044】

用語「薬剤的に許容される」は、生物学的に、またはその他の点でも、望ましくないものではない材料から構成される担体を指す。

30

【0045】

用語「担体」は、医薬製剤中に存在する、有効薬剤以外のいずれかの成分を指し、これらには希釈剤、結合剤、潤滑剤、崩壊剤、注入剤、着色料、湿潤剤または乳化剤、pH緩衝剤、保存料などが含まれる。

【0046】

本明細書で用いられる「治療」および「治療する」などは、一般に所望の薬理学的および生理的効果を得ることを意味する。該効果は疾病、その症状または状態を阻止するかまたは部分的に阻止する点から予防的であってよく、および/または疾病、疾病に起因する状態、症状、または有害作用の部分的または完全な治癒の点から治療的であってよい。本明細書で用いられる「治療」との用語は、哺乳類、特にヒトの疾病のいずれの治療も網羅し、かつ(a)例えば家族歴に基づいて、疾病にかかりやすい可能性があるが、まだそうであるとは診断されていない被験体の疾病を発生から予防すること；(b)疾病を阻害すること、すなわちその進行を抑止すること；または(c)疾病を軽減すること、すなわち損傷の好転または改善のように、疾病および/またはその症状または状態を退行させることを包含する。例えばセリアック病の治療には、疾病または疾患の症状を阻止、減少または根絶させることまでもが含まれ、例としては、腹痛、下痢、意図されない体重減少、吸収不良症候群、および絨毛萎縮、浸食、潰瘍、および正常または異常な上皮内リンパ球の浸潤のような腸粘膜の異常の、部分的または全体的な緩和が挙げられる。

40

【0047】

用語「IL-15関連疾病および/または疾患」は、IL-15の過剰発現および/ま

50

たは濃度上昇、および/または、細胞または臓器によるIL-15の異常発現および/または細胞または臓器によるIL-15バリエーションの異常発現によって特徴付けられる、疾病および疾患を包含する。このような疾病および疾患は、例えば、炎症誘発性IL-15に関連した構成要素を有する疾患および悪性腫瘍のような、自己免疫疾患および/または炎症性疾患を包含する。

【0048】

用語「自己免疫疾患および/または炎症性疾患」は、本明細書では通常、体内に正常に存在する物質および組織に対する被験体の異常な免疫応答および免疫系に関連し得るかまたは関連し得ない炎症性の異常からそれぞれ生じる疾病または疾患として定義される。自己免疫疾患および炎症性疾患の限定されない例としては、主に、関節リウマチ、乾癬、セリアック病、特に難治性セリアック病、サルコイドーシス、炎症性腸疾患（例えば潰瘍性大腸炎、クローン病）、C型肝炎により誘導される肝疾患、多発性硬化症、自己免疫性肝炎、原発性胆汁性肝硬変、硬化性胆管炎、胆道閉鎖症、円形脱毛症、移植片拒絶応答、中枢神経系の炎症性疾患および好酸球性食道炎が挙げられる。

10

【0049】

用語「悪性腫瘍」は、本明細書では通常、皮膚T細胞リンパ腫（CTCL）（例えば蕁状息肉腫、セザリー症候群）のようなT細胞白血病、顆粒リンパ球のリンパ球増殖性疾患（LDGL）、大顆粒リンパ性白血病および急性リンパ性白血病（ALL）を網羅するが、プレB細胞白血病、骨肉腫、ユーイング肉腫、横紋筋肉腫、メラノーマ、小細胞肺癌、腎細胞癌、神経膠芽腫、神経芽細胞腫および中皮腫もまた網羅する。

20

【0050】

用語「寄生虫性、ウイルス性または細菌性病原体によって引き起こされる感染症」は、本明細書では通常、肉芽腫性の感染症（例えば結核、リーシュマニア症、住血吸虫症およびサイトメガロウイルス感染症）およびハンタウイルス感染症（例えば腎症候群を伴うハンタウイルス出血熱およびハンタウイルス肺症候群）を網羅する。

【0051】

用語「中枢神経系（CNS）の炎症性疾患」は、CNSの炎症によって特徴付けられる疾患、特にアミロイド関連疾患に関する。このような疾患の限定されない例として、アルツハイマー病、パーキンソン病およびハンチントン病が挙げられる。

【0052】

用語「代謝性疾患」は、通常、糖尿病、筋ジストロフィーおよび代謝亢進状態を網羅する。

30

【0053】

用語「代謝亢進状態」は、通常、鎌状赤血球症のような遺伝性の状態、または外傷、感染症または癌に付随する悪液質に関連する状態のような後天性の代謝亢進状態を網羅する。

【0054】

本明細書で用いられる用語「被験体」は、哺乳類を指す。例えば、本発明が意図する哺乳類には、ヒト、霊長類、ウシ、ヒツジ、ブタ、ウマのような家畜、実験用げっ歯類などが含まれる。

40

【0055】

本発明の治療または方法の「有効性」との用語は、本発明の使用または方法に応答した、疾病または状態の経過における変化に基づいて測定できる。例えば、本発明の治療または方法の有効性は、病気の徴候または症状におけるその影響によって測定できる。応答は、患者が、病気の望ましくない症状の部分的または全体的な緩和、または減少を経験することによって達成される。

【0056】

本明細書で用いられる用語「有効量」は、本発明の少なくとも1つの抗体、またはその医薬製剤の量であって、前記抗体を投与された被験体の疾病の症状の、検出可能な減少を誘発する量を指す。

50

【0057】

抗IL-15抗体

IL-15に結合する抗体の全般的な特性

第1の態様によれば、本発明は、IL-15、特にヒトIL-15、またはIL-15の断片に結合し、本明細書に記載される、抗体の少なくとも1つの重鎖可変領域および/または少なくとも1つの軽鎖可変領域を含む、抗体またはその抗原結合断片を提供する。

【0058】

本発明の一つの実施形態によれば、本明細書に記載される少なくとも1つの重鎖可変領域および少なくとも1つの軽鎖可変領域、および任意に少なくとも1つの定常領域の断片を含む、IL-15に結合する単離抗体、さらに詳細にはIL-15、特にヒトIL-15に特異的な抗体、またはその抗原結合断片が提供される。

10

【0059】

一般に、本発明の抗体の抗原結合断片は、前記抗体の重鎖および/または軽鎖可変領域のCDR1、FW2、CDR2、FW3、CDR3およびFW4を含む。

【0060】

一つの実施形態によれば、本発明の抗体の抗原結合断片は、配列番号5のアミノ酸26乃至111、またはそのパリアント、および/または配列番号24のアミノ酸24乃至102、またはそのパリアントを含む。

【0061】

本発明の抗体またはその断片が結合するタンパク質は、いずれの種のIL-15タンパク質であってもよい。

20

【0062】

本発明の抗体は、一般にヒトIL-15に対して高い特異性を示す。しかしながら、異なる種のIL-15ホモログとの間の配列同一性の程度に応じて、所定の抗体または抗原結合断片は、少なくとも1つの別の種、例えばサル（例えばカニクイザル、アカゲザル）、マウス、ラット、マーモセット、イヌ、および/またはウサギに由来するIL-15に対して交差反応性を示し得る。ヒトIL-15に対する抗体については、ある状況において、例えば特定の疾病の動物モデルにおいて抗体を試験する際、または毒性、安全性および投与量の試験を行う際に、IL-15のその他の哺乳類型との、ある程度の交差反応性が望ましい場合がある。

30

【0063】

特定の実施形態によれば、本発明の抗体またはその断片は、ヒトIL-15へ優先的に結合する。

【0064】

別の実施形態によれば、本発明の抗体またはその抗原結合断片は、ヒトIL-15、カニクイザルIL-15およびアカゲザルIL-15に対して交差反応性を示す。

【0065】

さらなる実施形態によれば、本発明の抗体またはその抗原結合断片は、ラットIL-15および/またはマウスIL-15に対して交差反応性を示さない。

【0066】

幾つかの実施形態によれば、ヒトIL-15に対する本発明の抗体およびその断片の結合親和性（例えば K_D 値に対して逆相関する）は、非ヒトIL-15、例えばマウスまたはラットIL-15に対するそれらの結合親和性より、少なくとも2倍、少なくとも5倍、少なくとも10倍、少なくとも50倍、少なくとも100倍、少なくとも500倍、または少なくとも1000倍高い。

40

【0067】

一つの実施形態によれば、本発明の抗体またはその断片はIL-15へ優先的に結合し、IL-15に対して相同性を有するその他のタンパク質、例えばIL-2、特にヒトIL-2（配列番号38）に対して、任意に、補足的に弱い結合を示すか、またはほとんど結合しない（すなわち無視できるかまたは検出できない結合）。

50

【0068】

幾つかの実施形態によれば、IL-15に対する本発明の抗体またはその断片の量的結合は、IL-2に対するそれらの量的結合より、少なくとも2倍、少なくとも5倍、少なくとも10倍、少なくとも50倍、少なくとも100倍、少なくとも500倍、または少なくとも1000倍高い。

【0069】

結合親和性および/または量的結合は、平衡透析、平衡結合、ゲル濾過、ELISA、表面プラズモン共鳴または分光法（例えば蛍光アッセイを用いた）（Jiang et al. BMC Pharmacology 2010, 10:10）のような、当該技術分野において公知のいずれかの方法を用いて測定でき、例えば、オンレート、オフレート、平衡解離定数（ K_D ）、平衡定数（ K_{eq} ）または当該技術分野で用いられるその他のいずれかの用語によって表すことができる。

10

【0070】

幾つかの実施形態によれば、本発明の抗体およびその抗原結合断片は、100 nM以下、特に10 nM未満、さらに詳細には1 nM未満、または0.5 nM未満、または0.1 nM未満、または0.01 nM未満、または0.005 nM未満の平衡解離定数（ K_D ）によって、ヒトIL-15へ特異的に結合する。

【0071】

特定の実施形態によれば、本発明の抗体またはその抗原結合断片はIL-15活性を阻害し、IL-15に対して相同性を有するその他のタンパク質、例えばIL-2に対して、任意に、補足的に弱い抑制活性を示すか、または抑制活性を示さない（すなわち無視できるかまたは検出できない活性）。

20

【0072】

抗体が、その標的タンパク質の活性を遮断または中和する能力は、本明細書に定義するその効力、例えば IC_{50} 値によって反映される効力によって評価できる。典型的には、抗体の中和活性は、実施例の項に記載するように、*in vitro*アッセイ、例えばKit225またはM-07e細胞のような細胞株においてIL-15により誘導される増殖および/または生存に対する、前記抗体の存在下での阻害の程度を測定するアッセイによって決定されてよい。

【0073】

幾つかの実施形態によれば、本発明の抗体およびその抗原結合断片は、実施例の項に記載するように、Kit225またはM-07e細胞のような細胞株においてIL-15により誘導される増殖および/または生存のようなIL-15活性の阻害に対して、200 nM以下、特に100 nM未満、特に50 nM未満、30 nM未満、20 nM未満、さらに詳細には10 nM未満、8 nM未満、7 nM未満、5 nM未満、4 nM未満、3 nM未満、2 nM未満、1 nM未満、0.5 nM未満、0.3 nM未満、0.2 nM未満、0.1 nM未満、0.05 nM未満、または0.03 nM未満の IC_{50} を有する。

30

【0074】

本明細書に記載される、本発明の抗体またはその断片のいずれかのバリエーションは、IL-15に結合して、任意にIL-15活性を中和できることを理解されたい。特定の実施形態によれば、このようなバリエーションは、前記バリエーションが由来する親抗体または断片と比較すると、IL-15に対する同じかまたは高い結合親和性、および/または同じかまたは高い効力、および/または同じかまたは高い種選択性、および/またはIL-15に対する同じかまたは高い選択性、および/または同じかまたは高い中和効率を示し得る。

40

【0075】

別の特定の実施形態によれば、本発明の抗体またはその抗原結合断片は、IL-15のIL-15Rへの結合を実質的に阻止しない、すなわち、本発明の抗体の存在下でのIL-15のIL-15Rへの結合阻害は無視できるか、または検出できない。

【0076】

本発明の抗体は、本発明の抗体の特性、特に標的抗原、さらに詳細には本発明の抗体に

50

よって認識されるものと同じ I L - 1 5 のエピトープへの結合能、および任意に I L - 1 5 活性の中和能が保持されている限り、モノクローナル抗体、ポリクローナル抗体、ヒト抗体、ヒト化抗体、キメラ抗体、およびさらに改変された抗体であってもよい。

【 0 0 7 7 】

本発明の特定の実施形態によれば、本発明の I L - 1 5 に対する抗体、または I L - 1 5 に結合するその抗原結合断片は、モノクローナル抗体である。

【 0 0 7 8 】

本発明のさらなる特定の実施形態によれば、本発明の I L - 1 5 に対する抗体、または I L - 1 5 に結合するその抗原結合断片は、ヒト化抗体である。

【 0 0 7 9 】

本発明のさらなる特定の実施形態によれば、本発明の I L - 1 5 に対する抗体、または I L - 1 5 に結合するその抗原結合断片は、組換え抗体である。

【 0 0 8 0 】

本発明の I L - 1 5 に対する抗体、または I L - 1 5 に結合するその抗原結合断片は、標的タンパク質と相互作用する部分によって、特に、典型的には重鎖可変領域および軽鎖可変領域を含む可変領域によって特徴付けることができる。

【 0 0 8 1 】

可変領域に関連した、抗 I L - 1 5 抗体の特性

一つの実施形態によれば、本発明は、

(1) 配列番号 5 の重鎖可変領域、または前記配列の 1、2、3、4、5、6、7、8、

または 9 アミノ酸が異なるアミノ酸に置換された、そのバリエーション、および

(2) 配列番号 2 4 の軽鎖可変領域、または前記配列の 1、2、3、4、5、6、7、8、9、または 1 0 アミノ酸が異なるアミノ酸に置換された、そのバリエーションを含む、I L - 1 5 に結合する単離抗体、またはその抗原結合断片に関する。

【 0 0 8 2 】

特定の実施形態によれば、本発明は、

(1) 配列番号 5 の重鎖可変領域、または配列番号 5 に対して少なくとも 9 5 %、少なくとも 9 6 %、少なくとも 9 7 %、少なくとも 9 8 %、または少なくとも 9 9 % の同一性を有する、そのバリエーション、および

(2) 配列番号 2 4 の軽鎖可変領域、または配列番号 2 4 に対して少なくとも 9 5 %、

少なくとも 9 6 %、少なくとも 9 7 %、少なくとも 9 8 %、または少なくとも 9 9 % の同一性を有する、そのバリエーション、

を含む、I L - 1 5 に結合する単離抗体、またはその抗原結合断片に関する。

【 0 0 8 3 】

さらに特定の実施形態によれば、本発明の抗体は、

(1) 配列番号 5 に対して少なくとも 9 6 % の同一性を有する重鎖可変領域、および

(2) 配列番号 2 4 に対して少なくとも 9 8 % の同一性を有する軽鎖可変領域

を含み、またはその抗原結合断片である。

【 0 0 8 4 】

なおさらなる特定の実施形態によれば、本発明の抗体は、

(1) 配列番号 5 に対して少なくとも 9 7 % の同一性を有する重鎖可変領域、および

(2) 配列番号 2 4 に対して少なくとも 9 9 % の同一性を有する軽鎖可変領域

を含み、またはその抗原結合断片である。

【 0 0 8 5 】

本発明の一つの実施形態によれば、配列番号 5 の前記バリエーションは、

(i) 重鎖可変フレームワーク領域内の位置 H 3 (V H R H 3) のアルギニン (R)、位置 H 5 (V H M H 5) のメチオニン (M)、位置 H 6 (V H A H 6) のアラニン (A)、位置 H 4 9 (V H A H 4 9) のアラニン (A)、および / または

(i i) 重鎖 C D R 2 内の位置 H 6 1 (V H D H 6 1) のアスパラギン酸 (D)、位置 H 6 2 (V H S H 6 2) のセリン (S)、および / または

10

20

30

40

50

(i i i) 重鎖 C D R 3 内の位置 H 9 8 (V H M H 9 8) のメチオニン (M)、位置 H 1 0 0 C (V H W H 1 0 0 C) のトリプトファン (W)、位置 H 1 0 0 E (V H M H 1 0 0 E) のメチオニン (M)、
 のアミノ酸の少なくとも 1、特に 1、2、3、4、または 5 が、異なるアミノ酸に置換されていることを除き、配列番号 5 のアミノ酸配列を有する。

【 0 0 8 6 】

さらなる実施形態によれば、配列番号 5 の前記バリエーションは、

(i) V H R H 3 のグルタミン (Q) による置換、および / または V H M H 5 のバリリン (V) による置換、および / または V H A H 6 のグルタミン酸 (E) による置換、
 および / または V H A H 4 9 のセリン (S) による置換、および / または

(i i) V H D H 6 1 のグルタミン酸 (E) による置換、および / または V H S H 6 2 のスレオニン (T) による置換、および / または

(i i i) V H M H 9 8 のロイシン (L)、フェニルアラニン (F)、イソロイシン (I)、またはアラニン (A) による置換、および / または V H W H 1 0 0 C のチロシン (Y)、フェニルアラニン (F)、またはアラニン (A) による置換、および / または V H M H 1 0 0 E のロイシン (L)、フェニルアラニン (F)、またはイソロイシン (I) による置換

を除き、配列番号 5 のアミノ酸配列を有する。

【 0 0 8 7 】

本発明の一つの実施形態によれば、配列番号 2 4 の前記バリエーションは、

(i) 軽鎖可変フレームワーク領域内の位置 L 3 6 (V L Y L 3 6) のチロシン (Y)、位置 L 4 6 (V L L L 4 6) のロイシン (L)、および / または

(i i) 軽鎖 C D R 3 内の位置 L 9 1 (V L D L 9 1) のアスパラギン酸 (D)、位置 L 9 2 (V L S L 9 2) のセリン (S)、

のアミノ酸の少なくとも 1、特に 1、2、3、または 4 が、異なるアミノ酸に置換されていることを除き、配列番号 2 4 のアミノ酸配列を有する。

【 0 0 8 8 】

さらなる実施形態によれば、配列番号 2 4 の前記バリエーションは、

(i) V L Y L 3 6 のフェニルアラニン (F) による置換、および / または V L L L 4 6 のアルギニン (R) による置換、および / または

(i i) V L D L 9 1 のグルタミン酸 (E) による置換、および / または V L S L 9 2 のスレオニン (T) による置換

を除き、配列番号 2 4 のアミノ酸配列を有する。

【 0 0 8 9 】

別の実施形態によれば、本発明の抗体またはその抗原結合断片は、

(i) V H R H 3 のグルタミン (Q) による置換、および / または V H M H 5 のバリリン (V) による置換、および / または V H A H 6 のグルタミン酸 (E) による置換、
 および / または

(i i) V H S H 6 2 のスレオニン (T) による置換、および / または

(i i i) V H W H 1 0 0 C のチロシン (Y) による置換がされた

配列番号 5 のアミノ酸配列の重鎖可変領域、および

(2) 配列番号 2 4 のアミノ酸配列の軽鎖可変領域を含む。

【 0 0 9 0 】

さらに特定の実施形態によれば、本発明の抗体またはその抗原結合断片は、

(i) 配列番号 5、配列番号 6、配列番号 1 2、配列番号 2 1、配列番号 7、配列番号 8、配列番号 9、配列番号 1 0、配列番号 1 1、配列番号 1 3、配列番号 1 4、配列番号 1 5、配列番号 1 6、配列番号 1 7、配列番号 1 8、配列番号 1 9、配列番号 2 0、配列番号 2 2 および配列番号 2 3 から選択される重鎖可変領域、および

(i i) 配列番号 2 4、配列番号 2 5、配列番号 2 6、配列番号 2 7、配列番号 2 8 および配列番号 2 9 から選択される軽鎖可変領域

10

20

30

40

50

を含む。

【 0 0 9 1 】

さらに特定の実施形態によれば、本発明の抗体またはその抗原結合断片は、配列番号 6 の重鎖可変領域を含む。

【 0 0 9 2 】

さらに特定の実施形態によれば、本発明の抗体またはその抗原結合断片は、配列番号 2 4 の軽鎖可変領域を含む。

【 0 0 9 3 】

本発明の抗体の具体例は、表 1 に挙げるものを含む。

【 0 0 9 4 】

10

【表 1】

| 抗体名 | VH 領域 | 配列番号 | VL 領域 | 配列番号 |
|------------|--------|--------|-------|--------|
| huB-E29-1 | huVH1 | 5 | huVL1 | 24 |
| huB-E29-2 | huVH2 | 6 | huVL1 | 24 |
| huB-E29-3 | huVH3 | NO: 7 | huVL1 | NO: 24 |
| huB-E29-4 | huVH1 | NO: 5 | huVL2 | NO: 25 |
| huB-E29-5 | huVH1 | NO: 5 | huVL3 | NO: 26 |
| huB-E29-6 | huVH4 | NO: 8 | huVL1 | NO: 24 |
| huB-E29-7 | huVH5 | NO: 9 | huVL1 | NO: 24 |
| huB-E29-8 | huVH6 | NO: 10 | huVL1 | NO: 24 |
| huB-E29-9 | huVH7 | NO: 11 | huVL1 | NO: 24 |
| huB-E29-10 | huVH8 | NO: 12 | huVL1 | NO: 24 |
| huB-E29-11 | huVH9 | NO: 13 | huVL1 | NO: 24 |
| huB-E29-12 | huVH10 | NO: 14 | huVL1 | NO: 24 |
| huB-E29-13 | huVH11 | NO: 15 | huVL1 | NO: 24 |
| huB-E29-14 | huVH12 | NO: 16 | huVL1 | NO: 24 |
| huB-E29-15 | huVH13 | NO: 17 | huVL1 | NO: 24 |
| huB-E29-16 | huVH14 | NO: 18 | huVL1 | NO: 24 |
| huB-E29-17 | huVH15 | NO: 19 | huVL1 | NO: 24 |
| huB-E29-18 | huVH1 | NO: 5 | huVL4 | NO: 27 |
| huB-E29-19 | huVH1 | NO: 5 | huVL5 | NO: 28 |
| huB-E29-22 | huVH16 | NO: 20 | huVL6 | NO: 29 |
| huB-E29-24 | huVH18 | NO: 21 | huVL1 | NO: 24 |
| huB-E29-30 | huVH20 | NO: 22 | huVL1 | NO: 24 |
| huB-E29-31 | huVH20 | NO: 22 | huVL6 | NO: 29 |
| huB-E29-34 | huVH21 | NO: 23 | huVL6 | NO: 29 |

20

30

【 0 0 9 5 】

さらに特定の実施形態によれば、本発明の抗体またはその抗原結合断片は、

40

(1) 配列番号 5、配列番号 6、配列番号 1 2 および配列番号 2 1 から選択される重鎖可変領域、および

(2) 配列番号 2 4 の軽鎖可変領域

を含む。

【 0 0 9 6 】

さらになお詳細には、本発明の抗体またはその抗原結合断片は、配列番号 5 の重鎖可変領域および配列番号 2 4 の軽鎖可変領域を含む。

【 0 0 9 7 】

さらになお詳細には、本発明の抗体またはその抗原結合断片は、配列番号 6 の重鎖可変領域および配列番号 2 4 の軽鎖可変領域を含む。

50

【0098】

さらになお詳細には、本発明の抗体またはその抗原結合断片は、配列番号12の重鎖可変領域および配列番号24の軽鎖可変領域を含む。

【0099】

さらになお詳細には、本発明の抗体またはその抗原結合断片は、配列番号21の重鎖可変領域および配列番号24の軽鎖可変領域を含む。

【0100】

定常領域に関連した、抗IL-15抗体の特性

抗体の定常領域に相当する部分は、本発明のIL-15に結合する単離抗体またはその抗原結合断片に任意に含まれる。

10

【0101】

抗体に計画される機能、特に必要とされ得るエフェクター機能に応じて、抗体の定常領域は本発明の抗体内に含まれ得るか、または含まれ得ない。

【0102】

典型的には、本発明の抗体またはその抗原結合断片に重鎖定常領域またはその部分が存在する場合、それはいずれの抗体アイソタイプに由来するものであってもよい。例えば、重鎖定常領域またはその部分は、IgG（例えばIgG1、IgG2、IgG3、IgG4）、IgA（例えばIgA1、IgA2）、IgD、IgE、IgM（例えばIgM1、IgM2）から選択される抗体のものであってもよい。特にIgG、さらに詳細にはIgG1の定常領域またはその部分であってよい。

20

【0103】

特に、抗体分子が治療上の使用に意図されたものであり、かつ抗体エフェクター機能が必要とされる場合には、特にIgG1およびIgG3アイソタイプのヒトIgG定常領域ドメインが用いられてよい。あるいは、抗体分子が治療目的に意図されたものであり、かつ抗体エフェクター機能が必要とされない場合、例えば単にIL-15活性を遮断する場合には、IgG2およびIgG4アイソタイプが用いられてよい。

【0104】

本発明の抗体またはその抗原結合断片に軽鎖定常領域またはその部分が存在する場合、それはいずれの軽鎖の定常領域に由来するものであってもよい。例えば、軽鎖定常領域またはその部分は、カッパまたはラムダ軽鎖由来であってよい。

30

【0105】

本発明の特定の態様によれば、IL-15に対する抗体またはその抗原結合断片は、(i)本明細書に記載される可変領域、およびIgG抗体（特にIgG1、さらに詳細にはアロタイプG1m3）由来の定常領域またはその部分を含む少なくとも1本の重鎖、および(ii)本明細書に記載される可変領域、およびカッパ（特にアロタイプKm3）軽鎖由来の定常領域またはその部分を含む少なくとも1本の軽鎖を含む。アロタイプG1m3の定常領域のアミノ酸配列は配列番号30である。アロタイプKm3の定常領域のアミノ酸配列は配列番号31である。

【0106】

本発明の抗体またはその抗原結合断片は、少なくとも1つの抗原結合部位、例えば1つまたは2つの抗原結合部位を有する。

40

【0107】

幾つかの実施形態によれば、本発明の単離抗体およびその抗原結合断片はグリコシル化されている。典型的には、N-アセチルグルコサミン、マンノース、グルコース、ガラクトース、フコース、シアル酸などのような単糖が、抗体上の個々のグリコシル化部位に集合してオリゴ糖となる。

【0108】

補助分子を含む抱合体

本発明の別の態様によれば、本発明の単離抗体またはその抗原結合断片は、任意にアクセサリ分子を抱合しており、本明細書ではこれを「抱合抗体」または「抱合抗体断片」

50

と称する。

【0109】

アクセサリ分子は、抗体または抗体断片に直接抱合させてよいが、または例えば *Kelllogg* (2011, *Bioconjug Chem*, 22:717-27) によって記載されるように、適切な長さのスペーサーを介して抱合させてもよい。

【0110】

一つの実施形態によれば、特に治療目的に適用させたアクセサリ分子は、治療用のエフェクターグループ、例えば放射性グループ（すなわち放射性核種または放射性同位元素を含むグループ）または小分子を含む、細胞傷害性（例えば酵素活性のある細菌、真菌、植物または動物由来の毒素、またはその断片）、細胞増殖抑制性、または免疫調節性薬剤であってよい。

10

【0111】

別の実施形態によれば、アクセサリ分子は、本発明の抗体または抗体断片に抱合される際、抗体の抗原結合断片を含み、二重特異性抗体を形成する。特に前記二重特異性抗体は、IL-15の2つの異なるエピトープに向けられてよい（したがって、バイパラティック抗体と定義される）。

【0112】

本発明の抱合抗体および抱合抗体断片は、抱合された補助分子が、疾病の場にて治療効果を有し得るように、*in vivo*にて薬物を疾病の場（例えば炎症または腫瘍の場）へ標的化させることができる。

20

【0113】

別の実施形態によれば、特に診断目的に適用させたアクセサリ分子は、例えば、放射性同位元素（例えば³H、¹⁴C、³²P、³⁵S、¹²⁵I）、発色性標識、例えば基質を検出可能な色に変換できる酵素（例えば西洋ワサビペルオキシダーゼ、アルカリホスファターゼ、 α -ガラクトシダーゼ）または蛍光化合物（例えば緑色蛍光タンパク質、赤色蛍光タンパク質）、分光学的標識（例えばフルオレセインおよびFITCのようなその誘導体、テキサスレッド、シアニン色素、フォトシアン、ローダミンのような蛍光標識、または可視色を呈する標識）、ルシフェリンを含む発光標識、標識に特異的なさらなる化合物によって発色させ、検出および定量化が容易になる親和性標識、または標準的なELISAで用いられるその他のいずれかの標識を含む、標識グループであってよい。

30

【0114】

本発明のポリペプチドをコードする核酸

別の実施形態によれば、本発明の抗体またはその抗原結合断片をコードする単離核酸分子が提供される。

【0115】

本発明の単離核酸は、例えば、天然DNAまたはRNA、または組換えまたは合成DNA、RNA、またはLNA、または本発明のいずれかの核酸分子を含む組換え核酸分子を、単独で、または組み合わせたものであってよい。特定の実施形態によれば、本発明の核酸分子はcDNAである。

【0116】

特定の実施形態によれば、

(1) 配列番号5の重鎖可変領域、または前記配列の1、2、3、4、5、6、7、8、または9アミノ酸が、異なるアミノ酸によって置換されているそのバリエーション、またはその抗原結合断片、をコードする核酸配列、および

(2) 配列番号24の軽鎖可変領域、または前記配列の1、2、3、4、5、6、7、8、9、または10アミノ酸が、異なるアミノ酸によって置換されているそのバリエーション、またはその抗原結合断片、をコードする核酸配列

を1つ以上含む単離核酸が提供される。

40

【0117】

特定の実施形態によれば、

50

(1) 配列番号5の重鎖可変領域、または配列番号5に対して少なくとも95%、少なくとも96%、少なくとも97%、少なくとも98%、または少なくとも99%の同一性を有するそのいずれかのバリエーション、またはその抗原結合断片、をコードする核酸配列、および

(2) 配列番号24の軽鎖可変領域、または配列番号24に対して少なくとも95%、少なくとも96%、少なくとも97%、少なくとも98%、または少なくとも99%の同一性を有するそのいずれかのバリエーション、またはその抗原結合断片、をコードする核酸配列を1つ以上含む単離核酸が提供される。

【0118】

特定の実施形態によれば、

(1) 配列番号5、配列番号6、配列番号12、配列番号21、配列番号7、配列番号8、配列番号9、配列番号10、配列番号11、配列番号13、配列番号14、配列番号15、配列番号16、配列番号17、配列番号18、配列番号19、配列番号20、配列番号22および配列番号23から選択される重鎖可変領域、またはその抗原結合断片、をコードする核酸配列、および

(2) 配列番号24、配列番号25、配列番号26、配列番号27、配列番号28および配列番号29から選択される軽鎖可変領域、またはその抗原結合断片、をコードする核酸配列を1つ以上含む単離核酸が提供される。

【0119】

さらに特定の実施形態によれば、本発明は、

(1) 配列番号5、配列番号6、配列番号12および配列番号21から選択される重鎖可変領域をコードする核酸配列、および

(2) 配列番号24の軽鎖可変領域をコードする核酸配列を1つ以上含む単離核酸を提供する。

【0120】

本発明のポリペプチドを産生および精製するための、ベクターおよび宿主細胞

一つの実施形態によれば、本発明は、本発明の核酸分子を含む組換え発現ベクターを提供し、ここで、該ベクターは任意に、前記核酸分子へ機能的に連結する発現制御配列を含み、この発現制御配列によって、原核生物または真核生物の宿主細胞における、コードされたポリペプチドの発現が可能になる。

【0121】

限定はされないが、染色体、エピソーム、およびウイルスに由来する多くの発現系が用いられ得る。さらに詳細には、使用される組換えベクターは、細菌プラスミド、トランスポゾン、酵母エピソーム、挿入エレメント、酵母染色体エレメント、ウイルス、例えばバキュロウイルス、SV40のようなパピロマウイルス、ワクシニアウイルス、アデノウイルス、フォックスポックスウイルス、仮性狂犬病ウイルス、レトロウイルス由来であってよい。これらの組換えベクターは、コスミドまたはファージミド誘導体と同等であってよい。

【0122】

核酸配列は、例えば、MOLECULAR CLONING: A LABORATORY MANUAL, Sambrook et al., 4th Ed., Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, N.Y., 2001に記載されるような、当業者に公知の方法によって、組換えベクター内に挿入できる。

【0123】

組換えベクターは、ポリヌクレオチドの発現調節を制御するヌクレオチド配列、および、本発明のポリヌクレオチドの発現および転写および本発明のポリペプチドの翻訳を可能にするヌクレオチド配列を含んでもよい。これらの配列は、使用する宿主細胞に従って選

10

20

30

40

50

扱われる。

【0124】

したがって、例えば、本発明の核酸分子によってコードされたポリペプチドが、小胞体の内腔へ、細胞膜のペリプラズムへ、または細胞外環境へ方向付けられるように、組換えベクターには適切な分泌シグナルを組み込むことができる。適切な分泌シグナルの選択は、続くタンパク質精製を容易にし得る。

【0125】

さらなる実施形態によれば、本発明の組換えベクターを含む宿主細胞が提供される。

【0126】

宿主細胞内への組換えベクターの導入は、BASIC METHODS IN MOLECULAR BIOLOGY, Davis et al., 2nd ed., McGraw-Hill Professional Publishing, 1995および上記のMOLECULAR CLONING: A LABORATORY MANUALに記載されるような、当業者に公知の方法、例えばリン酸カルシウムによるトランスフェクション、DEAEデキストランによるトランスフェクション、トランスフェクション、微量注入法、陽イオン脂質によるトランスフェクション、エレクトロポレーション、形質導入または感染に従って行われてよい。

【0127】

宿主細胞は、例えば、大腸菌またはストレプトマイセスのような細菌細胞、アスペルギルスのような真菌およびサッカロミセスのような酵母の細胞、昆虫細胞、チャイニーズハムスター卵巣(CHO)細胞、C127マウス細胞株、シリアンハムスター細胞のBHK細胞株、ヒト胎児腎臓293(HEK293)細胞であってよい。特定の実施形態によれば、宿主細胞はCHO細胞またはHEK293細胞である。

【0128】

宿主細胞は、例えば本発明のポリペプチドを発現させるために用いることができる。標準法による精製後、本発明のポリペプチドは、以下に記載する方法に用いることができる。

【0129】

例えば、組換えタンパク質を分泌する発現系を用いる場合、培地は最初に、市販のタンパク質濃縮用フィルター、例えば、AmiconまたはMillipore Pellicon限外濾過ユニットを用いて濃縮されてよい。濃縮工程のあと、濃縮物は、ゲル濾過マトリックスのような精製用マトリックスに加えてよい。あるいは、陰イオン交換および/またはアフィニティ樹脂を用いてもよい。マトリックスは、アクリルアミド、アガロース、デキストラン、セルロース、またはタンパク質精製に通常用いられるその他の形であってよい。あるいは、陽イオン交換工程を用いてもよい。最後に、疎水性のRP-HPLC用溶媒を用いた逆相高速液体クロマトグラフィー(RP-HPLC)工程を1回以上行って、抗体またはその断片をさらに精製してもよい。様々に組み合わせた、前述の精製工程の幾つかまたは全ては公知であり、実質的に均質な組換えタンパク質を提供するために用いることができる。

【0130】

細菌培養によって産生された組換えタンパク質は、最初に宿主細胞の破壊、遠心分離、不溶性ポリペプチドの場合には細胞ペレットからの抽出、または可溶性ポリペプチドの場合には上清液からの抽出を行い、次に1回以上の濃縮、塩析、イオン交換、アフィニティ精製またはサイズ排除クロマトグラフィー工程を行うことによって単離できる。細菌細胞は、凍結融解サイクル、超音波処理、機械的破壊、または細胞溶解剤の使用を含む、いずれかの便利な方法を用いて破壊できる。

【0131】

別の実施形態によれば、本発明は、本発明のポリペプチドを発現できる細胞を産生するための方法を提供し、該方法は、細胞を、本発明の組換え発現ベクターまたは核酸によって遺伝的に操作することを含む。

10

20

30

40

50

【0132】

別の実施形態によれば、本発明は、本発明の抗体またはその断片を産生するための方法を提供し、該方法は、前記抗体またはその断片をコードする核酸配列を含む発現ベクターによって形質転換された宿主細胞を、前記ポリペプチドの発現を十分に促進する条件下で培養することを含む。次に、本発明の抗体またはその断片は、使用する発現系に応じて、培地または細胞抽出物から回収される。当業者に周知であるように、組換えタンパク質の精製手順は、使用する宿主細胞の種類、および上記のように組換えタンパク質培地中に分泌されるか否かといった因子に従って変動し得る。

【0133】

組成物

本発明は、組成物としての医薬品または治療薬、および内科的疾患、特にIL-15関連疾病または疾患、例えば自己免疫疾患および/または炎症性疾患、悪性腫瘍、移植片拒絶、代謝性の状態および/または寄生虫、ウイルスまたは細菌病原体によって引き起こされる感染症を患う患者、好ましくは哺乳類の患者、ヒト患者を治療するための方法を提供する。あるいは、本発明は、内科的疾患、特にIL-15関連疾病または疾患、例えば自己免疫疾患および/または炎症性疾患、悪性腫瘍、移植片拒絶、代謝性の状態および/または寄生虫、ウイルスまたは細菌病原体によって引き起こされる感染症を予防するための方法を提供する。

【0134】

一つの実施形態によれば、(i) IL-15に結合する本発明の抗体またはその抗原結合断片、(ii)本発明の核酸、(iii)本発明のベクター、および/または(iv)本発明の宿主細胞、のうち1つ以上、および少なくとも1つの薬剂的に許容される担体を含む医薬組成物が提供される。

【0135】

本発明の医薬組成物は、IL-15に結合する抗体またはその抗原結合断片の1つ以上を、本明細書に記載するいずれかの形態において含んでよい。

【0136】

本発明の組成物は、薬剂的に許容される追加成分、例えばミョウバン、安定剤、抗菌剤、緩衝液、着色料、香味料、補助剤などを1つ以上さらに含んでもよい。

【0137】

本発明の化合物は、従来から用いられている補助剤、担体、希釈剤または賦形剤と共に、医薬組成物の形態およびその単位剤形へと調製してよく、そのような形態としては、経口用として錠剤または充填したカプセルのような固形剤、凍結乾燥の形態、または溶液、懸濁液、エマルジョン、エリキシル剤のような液剤、またはそれらを充填したカプセルが用いられてよく、または非経口(皮下を含む)用として注射用無菌溶液の形態が用いられてよい。このような医薬組成物およびその単位剤形は、成分を従来の比率で、追加の有効化合物または成分と共に、またはそれらなしで含んでよく、このような単位剤形は、使用が意図された一日投与量に相応の範囲内にあるいずれかの適切な有効量の有効成分を含有してよい。

【0138】

本発明の組成物は、限定はされないが、水性または油性懸濁液、溶液、エマルジョン、シロップ、およびエリキシル剤のような液体製剤であってよい。経口投与に適した液体剤形には、緩衝液、懸濁剤および調剤、着色剤、香味料などを含む適切な水性または非水性ビヒクルが含まれてよい。組成物はまた、使用前に水またはその他の適切なビヒクルで再構成する乾燥製剤として処方されてもよい。このような液体製剤は、限定はされないが、懸濁剤、乳化剤、非水性ビヒクル、および保存料のような添加物を含有してもよい。懸濁剤としては、ソルビトールシロップ、メチルセルロース、グルコース/糖シロップ、ゼラチン、ヒドロキシエチルセルロース、カルボキシメチルセルロース、ステアリン酸アルミニウムゲル、および食用水素化油脂が挙げられるが、これらに限定されない。乳化剤としては、レシチン、ソルビタンモノオレエート、およびアカシアが挙げられるが、これらに

10

20

30

40

50

限定されない。非水性ビヒクルとしては、食用油、アーモンド油、分留ココナツ油、油状エステル、プロピレングリコール、およびエチルアルコールが挙げられるが、これらに限定されない。保存料としては、p-ヒドロキシ安息香酸メチルまたはプロピル、およびソルビン酸が挙げられるが、これらに限定されない。さらなる材料および加工技術などについては、参照により本明細書に取り込まれる Remington's The Science and Practice of Pharmacy, 22nd Edition, 2012, Pharmaceutical Press and the University of the Sciences, Philadelphia College of Pharmacy の第5部に記載されている。

【0139】

本発明の固形組成物は、従来の方法で処方された錠剤または舐剤の形態であってよい。例えば経口投与のための錠剤およびカプセルは、限定はされないが、結合剤、注入剤、潤滑剤、崩壊剤、および湿潤剤のような従来の賦形剤を含有してよい。結合剤としては、シロップ、アカシア、ゼラチン、ソルビトール、トラガカント、デンプンの粘液、およびポリビニルピロリドンが挙げられるが、これらに限定されない。注入剤としては、ラクトース、糖、結晶セルロース、トウモロコシでんぷん、リン酸カルシウム、およびソルビトールが挙げられるが、これらに限定されない。潤滑剤としては、ステアリン酸マグネシウム、ステアリン酸、タルク、ポリエチレングリコール、およびシリカが挙げられるが、これらに限定されない。崩壊剤としては、ジャガイモデンプンおよびデンプングリコール酸ナトリウムが挙げられるが、これらに限定されない。湿潤剤としてはラウリル硫酸ナトリウムが挙げられるが、これに限定されない。錠剤は、当該技術分野において公知の方法によってコートされてよい。

【0140】

注射用組成物は、典型的には注射用の無菌生理食塩水またはリン酸緩衝食塩水、または当該技術分野において公知であるその他の注射用担体に基づくものである。

【0141】

本発明の組成物はまた、限定はされないがクリーム、軟膏、ローション、ペースト、硬膏、パッチ、または膜のような、水性または非水性のビヒクルを含む経皮製剤として処方されてもよい。

【0142】

本発明の組成物は、限定はされないが、注射または持続点滴のような非経口投与用に処方されてもよい。注射用製剤は、油性または水性ビヒクル中の懸濁液、溶液、またはエマルションの形態であってよく、限定はされないが、懸濁剤、安定剤、および分散剤のような製剤用の薬剤を含有してよい。組成物は、限定はされないが、発熱物質を含まない無菌水のような適切なビヒクルによって再構成される散剤の形態で提供されてもよい。

【0143】

本発明の組成物は、移植または筋肉内注射によって投与され得るデポ製剤としても処方されてよい。組成物は、適切な高分子材料または疎水性材料（例えば許容される油中のエマルションとして）、イオン交換樹脂、または難溶性の誘導体（例えば難溶性の塩として）によって処方されてよい。

【0144】

本発明の化合物は、持続放出剤形として、または持続放出薬物送達系から投与されてよい。代表的な持続放出材料についての記載は、Remington's Pharmaceutical Sciences に収載されている材料についても見出すことができる。

【0145】

医薬組成物学

本発明の組成物の投与には、注射用製剤が特に適している。

【0146】

別の実施形態によれば、本発明は、本明細書に記載される、IL-15 に結合する抗体

10

20

30

40

50

またはその抗原結合断片を含むイメージング組成物または診断用組成物を提供する。

【0147】

本発明のイメージング組成物または診断用組成物は、自己免疫疾患および/または炎症性疾患、悪性腫瘍、移植片拒絶、代謝性の状態および/または寄生虫、ウイルスまたは細菌病原体によって引き起こされる感染症に付随する、IL-15の濃度上昇を検出するために有用である。

【0148】

併用

本発明によれば、本発明のIL-15に結合する抗体またはその抗原結合断片は、単独で投与してよいか、または自己免疫疾患および/または炎症性疾患、悪性腫瘍、移植片拒絶、代謝性の状態および/または寄生虫、ウイルスまたは細菌病原体によって引き起こされる感染症の予防および/または治療に有用な共薬剤、例えば生物製剤、小分子およびワクチンのような免疫調節性薬剤と併用して投与してもよい。

10

【0149】

あるいは、IL-15に対する本発明の抗体またはその抗原結合断片は、単独で投与してよいか、またはがんの治療に有用な共薬剤、例えば細胞傷害性薬剤、チロシンキナーゼ阻害剤イマチニブ(グリベック(Gleevec/Glivex))またはゲフィチニブ(イレッサ)のような抗がん剤、およびトラスツズマブ(ハーセプチン)または抗CD20抗体リツキシマブ(リツキサン)のような治療用抗体と併用して投与してもよい。

20

【0150】

本発明は、IL-15に対する抗体またはその抗原結合断片の投与を包含し、ここで治療上有効な量の抗体またはその断片は、その他の治療法またはIL-15関連疾病または疾患、例えば自己免疫疾患および/または炎症性疾患、悪性腫瘍、移植片拒絶、代謝性の状態および/または寄生虫、ウイルスまたは細菌病原体によって引き起こされる感染症の予防および/または治療に有用な共薬剤に先立ち、それらと同時に、またはそれらと連続的に個体へ投与される。前記共薬剤と同時に投与される、IL-15に対する本発明の抗体またはその抗原結合断片は、同一かまたは異なる組成物として、同一かまたは異なる投与経路によって投与できる。

【0151】

特定の実施形態によれば、IL-15に対する本発明の抗体またはその抗原結合断片は、セリアック病を患う被験体を治療するために小腸炎を低減させる、および/または腸粘膜を保護する、および/またはグルテンペプチドに対する免疫反応性を低減させる、および/または腸細菌叢を改善させる化合物と併用して投与できる。

30

【0152】

特定の実施形態によれば、IL-15に対する本発明の抗体またはその抗原結合断片は、難治性セリアック病を患う被験体を治療するために小腸炎を低減させる、および/または腸粘膜を保護する、および/またはグルテンペプチドに対する免疫反応性を低減させる、および/または腸細菌叢を改善させる化合物と併用して投与できる。

【0153】

投与方法

本発明の組成物は、限定はされないが、経口、非経口、舌下、経皮、直腸内、経粘膜、局所、吸入、経頬または鼻腔内投与または膀胱内投与、またはそれらの組み合わせのような、いずれかの方法によって投与されてよい。

40

【0154】

非経口投与としては、静脈内、動脈内、腹腔内、皮下、筋肉内、髄腔内、および関節内投与が挙げられるが、これらに限定されない。本発明の組成物は、組成物の徐放を可能にする植込錠の形態、および速度を遅く調節した静脈内点滴によって投与されてもよい。

【0155】

特定の実施形態によれば、IL-15に対する本発明の抗体またはその抗原結合断片は、全身性または局所性に投与される。

50

【0156】

特定の実施形態によれば、IL-15に対する本発明の抗体またはその抗原結合断片は、皮下または静脈内経路によって投与される。

【0157】

単回または複数回用量として個体に投与される投与量は、薬物動態特性、患者の状態および特性（性、年齢、体重、健康状態、および大きさ）、症状の程度、併用の治療法、治療頻度、および所望の効果のような様々な因子によって異なり得る。

【0158】

典型的には、薬剤的に有効な抗体の治療上有効な量は、0.5 mg/kgから50 mg/kg体重までの用量の範囲である。投与計画が持続点滴である場合には、0.250 mg/kgから13 mg/kg体重までの範囲であってよい。

10

【0159】

患者

一つの実施形態によれば、本発明に従った患者は、IL-15関連疾病または疾患、例えば関節リウマチ、乾癬、難治性セリアック病のようなセリアック病、サルコイドーシス、炎症性腸疾患（例えば潰瘍性大腸炎、クローン病）、C型肝炎により誘導される肝疾患、多発性硬化症、自己免疫性肝炎、原発性胆汁性肝硬変、硬化性胆管炎、胆道閉鎖症、円形脱毛症、移植片拒絶応答、中枢神経系の炎症性疾患および好酸球性食道炎を含む自己免疫疾患および/または炎症性疾患、および代謝亢進状態のような代謝状態を患う患者である。

20

【0160】

特定の実施形態によれば、本発明の患者は、セリアック病を患う患者である。

【0161】

特定の実施形態によれば、本発明の患者は、難治性セリアック病を患う患者である。

【0162】

特定の実施形態によれば、本発明の患者は、好酸球性食道炎を患う患者である。

【0163】

特定の実施形態によれば、本発明の患者は、自己免疫性肝炎を患う患者である。

【0164】

別の実施形態によれば、本発明の患者は、皮膚T細胞リンパ腫（CTCL）（例えば菌状息肉腫、セザリー症候群）のようなT細胞白血病、顆粒リンパ球のリンパ球増殖性疾患（LDGL）、大顆粒リンパ性白血病および急性リンパ性白血病（ALL）、プレB細胞白血病、骨肉腫、ユーイング肉腫、横紋筋肉腫、メラノーマ、小細胞肺癌、腎細胞癌、神経膠芽腫、神経芽細胞腫および中皮腫を患う患者である。

30

【0165】

特定の実施形態によれば、本発明の患者は、大顆粒リンパ性白血病を患う患者である。

【0166】

特定の実施形態によれば、本発明の患者は、急性リンパ性白血病を患う患者である。

【0167】

別の実施形態によれば、本発明の患者は、移植片拒絶を患う患者である。

40

【0168】

特定の実施形態によれば、本発明の患者は、寄生虫、ウイルスまたは細菌病原体によって引き起こされる感染症を患う患者である。

【0169】

特定の実施形態によれば、本発明の患者は、腎症候群を伴うハンタウイルス出血熱および/またはハンタウイルス肺症候群のような、ハンタウイルス（ハンタンウイルス）によって引き起こされる感染症を患う患者である。

【0170】

さらに別の実施形態によれば、本発明の患者は、鎌状赤血球症および癌に付随する悪液質を含む、代謝亢進状態を患う患者である。

50

【0171】

さらに別の実施形態によれば、本発明の患者は、中枢神経系の炎症性疾患を患う患者である。

【0172】

さらに別の実施形態によれば、本発明の患者は、アルツハイマー病のようなアミロイド関連疾患を患う患者である。

【0173】

本発明による使用および方法

IL-15に結合する本発明の抗体またはその抗原結合断片、核酸、ベクター、宿主細胞、組成物は、IL-15濃度の上昇および/またはIL-15活性の上昇に付随する、それらによって引き起こされる、またはそれらを伴う疾患の診断、予防または治療のために使用される。

10

【0174】

一つの実施形態によれば、薬剤として使用するための、IL-15に対する本発明の抗体またはその抗原結合断片が提供される。

【0175】

別の実施形態は、IL-15関連疾病または疾患、例えば自己免疫疾患および/または炎症性疾患、特に関節リウマチ、乾癬、難治性セリアック病のようなセリアック病、サルコイドーシス、炎症性腸疾患（例えば潰瘍性大腸炎、クローン病）、C型肝炎により誘導される肝疾患、多発性硬化症、自己免疫性肝炎、原発性胆汁性肝硬変、硬化性胆管炎、胆道閉鎖症、円形脱毛症、移植片拒絶応答、中枢神経系の炎症性疾患および好酸球性食道炎の予防および/または治療に使用するための、本発明の抗体またはその断片を提供する。

20

【0176】

別の実施形態は、悪性腫瘍、特に皮膚T細胞リンパ腫（CTCL）（例えば菌状息肉腫、セザリー症候群）のようなT細胞白血病、顆粒リンパ球のリンパ球増殖性疾患（LDGL）、大顆粒リンパ性白血病および急性リンパ性白血病（ALL）、プレB細胞白血病、骨肉腫、ユーイング肉腫、横紋筋肉腫、メラノーマ、小細胞肺癌、腎細胞癌、神経膠芽腫、神経芽細胞腫および中皮腫の予防および/または治療に使用するための、本発明の抗体またはその断片を提供する。

30

【0177】

さらに別の実施形態は、移植片拒絶、代謝の状態（例えば代謝亢進状態）および/または寄生虫、ウイルスまたは細菌病原体によって引き起こされる感染症の予防および/または治療に使用するための、本発明の抗体またはその断片を提供する。

【0178】

一つの実施形態によれば、IL-15関連疾病または疾患、例えば自己免疫疾患および/または炎症性疾患、特に関節リウマチ、乾癬、難治性セリアック病のようなセリアック病、サルコイドーシス、炎症性腸疾患（例えば潰瘍性大腸炎、クローン病）、C型肝炎により誘導される肝疾患、多発性硬化症、自己免疫性肝炎、原発性胆汁性肝硬変、硬化性胆管炎、胆道閉鎖症、円形脱毛症、中枢神経系の炎症性疾患および好酸球性食道炎を予防および/または治療する医薬組成物を調製するための、IL-15に対する本発明の抗体またはその抗原結合断片の使用が提供される。

40

【0179】

特定の実施形態によれば、セリアック病、特に難治性セリアック病を予防および/または治療する医薬組成物を調製するための、IL-15に対する本発明の抗体またはその抗原結合断片の使用が提供される。

【0180】

特定の実施形態によれば、好酸球性食道炎を予防および/または治療する医薬組成物を調製するための、IL-15に対する本発明の抗体またはその抗原結合断片の使用が提供される。

【0181】

50

特定の実施形態によれば、自己免疫性肝炎を予防および/または治療する医薬組成物を調製するための、IL-15に対する本発明の抗体またはその抗原結合断片の使用が提供される。

【0182】

一つの実施形態によれば、悪性腫瘍、特にT細胞白血病、例えば急性リンパ性白血病、大顆粒リンパ性白血病、皮膚T細胞リンパ腫(CTCL)(例えば菌状息肉腫、セザリー症候群)および顆粒リンパ球のリンパ球増殖性疾患(LDGL)、プレB細胞白血病、骨肉腫、ユーイング肉腫、横紋筋肉腫、メラノーマ、小細胞肺癌、腎細胞癌、神経膠芽腫、神経芽細胞腫および/または中皮腫を、予防および/または治療する医薬組成物を調製するための、IL-15に対する本発明の抗体またはその抗原結合断片の使用が提供される。

10

【0183】

別の実施形態によれば、大顆粒リンパ性白血病を予防および/または治療する医薬組成物を調製するための、IL-15に対する本発明の抗体またはその抗原結合断片の使用が提供される。

【0184】

別の実施形態によれば、急性リンパ性白血病を予防および/または治療する医薬組成物を調製するための、IL-15に対する本発明の抗体またはその抗原結合断片の使用が提供される。

【0185】

特定の実施形態によれば、移植片拒絶、代謝の状態および/または寄生虫、ウイルスまたは細菌病原体によって引き起こされる感染症を予防および/または治療する医薬組成物を調製するための、IL-15に対する本発明の抗体またはその抗原結合断片の使用が提供される。

20

【0186】

特定の実施形態によれば、ハンタウイルス感染症を予防および/または治療する医薬組成物を調製するための、IL-15に対する本発明の抗体またはその抗原結合断片の使用が提供される。

【0187】

特定の実施形態によれば、中枢神経系の炎症性疾患を予防および/または治療する医薬組成物を調製するための、IL-15に対する本発明の抗体またはその抗原結合断片の使用が提供される。

30

【0188】

特定の実施形態によれば、アルツハイマー病を予防および/または治療する医薬組成物を調製するための、IL-15に対する本発明の抗体またはその抗原結合断片の使用が提供される。

【0189】

別の実施形態によれば、IL-15関連疾病または疾患、例えば自己免疫疾患および/または炎症性疾患、特に関節リウマチ、乾癬、セリアック病、特に難治性セリアック病、サルコイドーシス、炎症性腸疾患(例えば潰瘍性大腸炎、クローン病)、C型肝炎により誘導される肝疾患、多発性硬化症、自己免疫性肝炎、原発性胆汁性肝硬変、硬化性胆管炎、胆道閉鎖症、円形脱毛症、中枢神経系の炎症性疾患および好酸球性食道炎を予防および/または治療するための方法が提供され、該方法は、IL-15に対する本発明の抗体またはその抗原結合断片の治療上有効な量を、必要に応じて被験体に投与することを含む。

40

【0190】

特定の実施形態によれば、セリアック病を予防および/または治療するための方法が提供され、該方法は、IL-15に対する本発明の抗体またはその抗原結合断片の治療上有効な量を、必要に応じて被験体に投与することを含む。

【0191】

別の実施形態によれば、悪性腫瘍、特にT細胞白血病、例えば急性リンパ性白血病、大

50

顆粒リンパ性白血病、皮膚T細胞リンパ腫（CTCL）（例えば菌状息肉腫、セザリー症候群）および顆粒リンパ球のリンパ球増殖性疾患（LDGL）、プレB細胞白血病、骨肉腫、ユーイング肉腫、横紋筋肉腫、メラノーマ、小細胞肺癌、腎細胞癌、神経膠芽腫、神経芽細胞腫および/または中皮腫を、予防および/または治療するための方法が提供され、該方法は、IL-15に対する本発明の抗体またはその抗原結合断片の治療上有効な量を、必要に応じて被験体に投与することを含む。

【0192】

特定の実施形態によれば、大顆粒リンパ性白血病を予防および/または治療するための方法が提供され、該方法は、IL-15に対する本発明の抗体またはその抗原結合断片の治療上有効な量を、必要に応じて被験体に投与することを含む。

10

【0193】

別の実施形態によれば、移植片拒絶、代謝の状態および/または寄生虫、ウイルスまたは細菌病原体によって引き起こされる感染症を予防および/または治療するための方法が提供され、該方法は、IL-15に対する本発明の抗体またはその抗原結合断片の治療上有効な量を、必要に応じて被験体に投与することを含む。

【0194】

別の実施形態によれば、生体試料中のIL-15を検出するための方法が提供され、該方法は、被験体由来の生体試料を、IL-15に対する本発明の抗体またはその抗原結合断片に接触させることを含む。

【0195】

本明細書で用いられる「生体試料」は、被験体、特に自己免疫疾患および/または炎症性疾患、悪性腫瘍、移植片拒絶、代謝性状態および/または寄生虫、ウイルスまたは細菌病原体によって引き起こされる感染症が疑われるかまたはこれらを患っている被験体、またはこのような疾患にかかるリスクの高い被験体から得た、細胞、組織サンプルまたは細胞成分（例えば細胞膜または細胞成分）を指す。

20

【0196】

生体試料としては、血液、血清、血漿、脳脊髄液、滑液、および前記組織から単離された細胞を含む組織サンプルが挙げられる。組織サンプルには、ホルマリン固定されたかまたは凍結された組織切片が含まれる。

【0197】

IL-15の検出および分析には、当該技術分野において公知の診断用アッセイ技術、例えば、不均一相または均一相のいずれかによって行われる、競合的結合アッセイ、直接または間接サンドイッチアッセイおよび免疫沈降アッセイのような、いずれかの適切な方法を用いることができる。

30

【0198】

特定の実施形態によれば、本発明は、生体試料中のIL-15タンパク質の存在および/または濃度を検出するための *ex vivo* 法を提供し、この方法は

(i) 被験体由来の生体試料を用意する工程、

(ii) 前記生体試料を、少なくとも1つの本発明の抗体またはその抗原結合断片と、前記生体試料中に存在するIL-15タンパク質の、前記少なくとも1つの抗体またはその断片への、抗原-抗体相互作用を介した結合に十分な条件下で、反応させる工程、および

40

(iii) 工程(ii)において形成された抗原-抗体複合体のレベルに比例したシグナルを検出する工程であって、前記シグナル強度が、生体試料中のIL-15タンパク質の濃度と相関する工程を含む。

【0199】

さらに詳細には、被験体の生体試料に由来するIL-15の濃度上昇に付随する、自己免疫疾患および/または炎症性疾患、悪性腫瘍、移植片拒絶、代謝性状態および/または寄生虫、ウイルスまたは細菌病原体によって引き起こされる感染症を予想または診断す

50

るための *ex vivo* 法が提供され、この方法は

(a) 被験体由来の生体試料を用意する工程、

(b) 前記生体試料を、少なくとも1つの本発明の抗体またはその断片が結合した固体基質と接触させる工程であって、接触が、前記生体液体試料中に存在する IL - 15 タンパク質の、前記少なくとも1つの抗体またはその断片への、抗原 - 抗体相互作用を介した結合に十分な条件下で行われる工程、

(c) 未結合の IL - 15 タンパク質を、前記固体基質の表面から除去する工程、

(d) 前記固体基質に結合した抗原 - 抗体複合体のレベルに比例したシグナルを検出する工程、

(e) 工程 (d) において検出されたシグナルレベルを、同じ条件下で陰性対照を用いて検出されたシグナルレベルと比較する工程であって、被験体のサンプルにおいて検出されたシグナルレベルが、陰性対照において検出されたシグナルレベルよりも高い場合、自己免疫疾患および/または炎症性疾患、悪性腫瘍、移植片拒絶、代謝の状態および/または寄生虫、ウイルスまたは細菌病原体によって引き起こされる感染症に付随する IL - 15 の濃度上昇を示している工程

を含む。

【 0 2 0 0 】

キット

本発明の一態様は、少なくとも1つの本発明の抗体またはその抗原結合断片、および/または少なくとも1つの、前記抗体またはその断片をコードする核酸、および/または少なくとも1つの、前記核酸を含む組換えベクター、および/または少なくとも1つの本発明の宿主細胞、および任意に使用説明書を含むキットに関する。

【 0 2 0 1 】

特定の実施形態によれば、本発明のキットは、固体基質に結合させるための、または既に結合している、少なくとも1つの本発明の抗体またはその抗原結合断片を含む。

【 0 2 0 2 】

本発明に適した固体基質としては、免疫アッセイまたは本発明の方法の実行に適したいずれかの固相担体、例えば、ガラス、ポリスチレン、ポリプロピレン、ニトロセルロース、石英、セラミック、デキストランまたはその他の材料から形成されたか、またはそれらによってコートされた、ビーズ、微粒子、ナノ粒子、チューブ、布またはプレート、フィルム、スライド、ウェルが挙げられる。例えば、固体基質は、96ウェルマイクロタイタープレートのような、マイクロタイターウェルの形態である。

【 0 2 0 3 】

本発明のキットに含まれる固体基質への、本発明の抗体またはその断片の固定は、固相担体への吸着または化学結合によって行われてよい。タンパク質またはペプチドを固相支持体に固定化するための、当該技術分野において公知のいずれかの手段を用いることができる。本発明の抗体またはその断片は、アミドまたはエステル結合または吸着を通じた共有結合のような技術によって、共有結合性または非共有結合性に、固体基質へ結合させることができる。ペプチドは、ビオチンとアビジン、または抗体と抗原のような結合ペアを用いて結合させることができる。ペプチドを固体基質に付着させた後、固体基質は、ブロッキング液 (ウシ血清アルブミンのようなブロッキングタンパク質を含んでいる) と共にインキュベートさせて、試験サンプル中の抗体の、担体表面への非特異的吸着を減少させることができる。一態様によれば、本発明の抗体またはその断片は、本発明のキットの固体基質上に直接合成することができる。

【 0 2 0 4 】

一つの実施形態によれば、該キットが、固相担体としての固体基質へ結合させるための、少なくとも1つの本発明の抗体またはその断片またはそれらの組み合わせを含む場合、該キットはさらに、免疫アッセイを行うためのカップリング試薬および/または固体基質を任意に含んでもよい。

【 0 2 0 5 】

10

20

30

40

50

別のさらなる実施形態によれば、本発明のキットは、検出のバックグラウンドノイズを回避するように、検出前に未結合物質を洗浄するための、少なくとも1つの洗浄試薬をさらに含んでもよい。典型的には、洗浄試薬は、当該技術分野において公知の標準的な緩衝液を含む。

【0206】

本明細書に引用される参考文献は、その全体が参照により本明細書に取り込まれる。本明細書に記載した特定の実施形態は本発明の個別の態様に関する単一の例証を意図したものであり、本発明はこれらの実施形態の範囲に限定されるものではなく、機能的に等価な方法および構成要素も本発明の範囲内にある。実際に本明細書の提示および記載に加え、本発明の様々な改変が、前述の記述および添付の図面から当業者には明らかとなるであろう。このような改変は、添付の請求項の範囲内にあることが意図されたものである。

10

【0207】

本発明について記載してきたが、以下の実施例の目的は例示のみであって、本発明を限定するものではない。

【実施例】

【0208】

実施例1：本発明による抗IL-15抗体の産生および単離

1. マウスB-E29の産生および配列決定

本発明の抗体は、本明細書で比較抗体1として参照される、Bernard et al, 2004, 上記、に記載される市販のマウスB-E29抗体に由来する。簡単に述べると、ヒトIL-15に特異的なマウスモノクローナル抗体は、本来、E.coliによって作られた組換えヒトIL-15を用いてBALB/cマウスを免疫することによって産生される(Peprotech 200-15)。従来技術を用い、免疫されたマウスの脾細胞をX6.3.AG.8653マウスミエロマ細胞株と融合させてハイブリドーマを産生した。ELISA技術を用いて、ハイブリドーマの上清をIL-15結合抗体の存在についてスクリーニングした後、クローニングのための希釈およびアイソタイプの決定を行った。この手順を用いて、IgG1(重鎖)(軽鎖)アイソタイプのマウス抗IL-15モノクローナル抗体B-E29、およびその他の抗IL-15抗体を選択した。しかしながら、組換えIL-15によって刺激したKit225T細胞の増殖の阻害についてアッセイした際、B-E29抗体のみがこの活性を遮断し得たことから、B-E29はIL-15の生物活性を中和するが、その他の抗IL-15抗体は中和しないことが分かった(データ未提示)。

20

30

【0209】

標準プロトコルを用いて、マウスB-E29抗体の、重鎖の可変ドメインおよび軽鎖の可変ドメインの配列決定を行った。簡単に述べると、従来RNA抽出および精製プロトコルを用いて、B-E29ハイブリドーマ細胞のペレットからメッセンジャーRNA(mRNA)を抽出した。オリゴ(dT)プライマーを用いた逆転写によって、RNAからcDNAを作製した。モノクローナル抗体DNAのVHおよびVL領域を、PCR反応によって増幅した。VHおよびVL産物をInvitrogenの配列決定用ベクターpCR2.1内にクローン化した後、これによってTOP10細胞を形質転換させ、PCRを用いて陽性の形質転換体をスクリーニングした。選択したコロニーを取り上げ、配列決定によって解析した。マウスB-E29抗体の重鎖(VH)の可変ドメインのアミノ酸配列を、配列番号32として示す。マウスB-E29抗体のカッパ軽鎖(VL)の可変ドメインのアミノ酸配列を、配列番号36として示す。

40

【0210】

2. マウスB-E29に由来する抗IL-15抗体のヒト化

IMGT(免疫グロブリンまたは抗体のための、international Immunogenetics information system)およびKabatiによる抗体の番号付けシステムを用いて、B-E29マウス抗体のフレーム構造およびCDRを同定した。BLASTサーチアルゴリズムを用いて、ヒトIgG配列のオンラインデ

50

ータベースをマウスドメインと比較して検索し、BLASTの結果の上位100からヒト可変ドメインフレーム構造を選択した。これらを、フレーム構造の相同性の組み合わせに基づき、重要なフレーム構造残基および標準ループ構造を維持しながら還元した。幾つかのヒト化抗体、キメラ抗体およびコンビナトリアル抗体を構築した。これらのうちのある抗体は、マウスB-E29抗体(比較抗体1)に比較して、IL-15への結合能が保持されているかまたは増大された抗体およびそれらの産生効率が保持されているかまたは増大された抗体を形成するために「最良の」ヒトVHおよびVL鎖を選択する目的で、マウスVH領域のN末端部位に位置する通常はみられない残基に変異を有した。

【0211】

マウスB-E29の重鎖可変ドメインの、様々なヒト化バリエーションおよびキメラバリエーションのアミノ酸配列のアラインメントを図1(A)に示す。

10

【0212】

マウスB-E29の軽鎖可変ドメインの、様々なヒト化バリエーションおよびキメラバリエーションのアミノ酸配列のアラインメントを図1(B)に示す。

【0213】

上記バリエーションそれぞれのVHドメインを、配列番号30のヒトIgG1アイソタイプの定常ドメイン(アロタイプG1m3)配列に対してインフレームとなるように合成した。

【0214】

上記バリエーションそれぞれのVLドメインを、配列番号31のヒトIgKアイソタイプの定常ドメイン(アロタイプKm3)配列に対してインフレームとなるように合成した。

20

【0215】

抗体を産生するため、重鎖および軽鎖両方のコード配列を、pVITRO-DHFR3ベクター骨格内にクローン化した。プラスミドを、懸濁状態にしたCHO(チャイニーズハムスター卵巣)細胞(CHO-S細胞、Invitrogen、UK)に共トランスフェクションした。7日後に培養上清を回収し、Amersham BiosciencesのAKTAKromatグラフィックシステムおよびHiTrapプロテインAカラムを用いて抗体を精製した。

【0216】

cVH3:cVK1およびcVH4:cVK1の組み合わせは、さらに試験するほど十分な抗体産生をもたらさなかった。ELISAアッセイによれば、cVH1:cVK1、hVH1:cVK1、cVH1:hVK1の組み合わせはヒトIL-15に対して同様の結合を示し、これらの結合はhVH1:hVK2およびcVH1:hVK2によって観察された結合よりも良好であった(データ未提示)。

30

【0217】

これらの結果により、試験したバリエーションのうちのhVH1およびhVK1が、効率的に産生できるIL-15結合抗体を形成するための良い候補であることが実証された。したがって、これらをさらなる最適化のための出発物質として用いた。

【0218】

3. ヒト化抗IL-15抗体の最適化

40

最適化は、hVH1(本明細書では「huVH1」とも称される)およびhVK1(本明細書では「huVL1」とも称される)のCDRおよび/またはフレーム構造内にある、抗体の化学的不安定性または凝集をもたらす幾つかのアミノ酸またはアミノ酸モチーフを変更すること、およびマウスB-E29抗体(比較抗体1)に比較して、産生効率を保持させるかまたは増大させることによって為されるものである。この戦略によって、上の表1に示すVH/VL領域を含むhuVH1/huVL1抗体のバリエーションの産生が可能になった。

【0219】

表1に示すバリエーションそれぞれのVHドメインを、配列番号30のヒトIgG1アイソタイプの定常ドメイン(アロタイプG1m3)配列に対してインフレームとなるように合

50

成した。

【0220】

表1に示すバリエーションそれぞれのVLDメインを、配列番号31のヒトIgKアイソタイプの定常ドメイン(アロタイプKm3)配列に対してインフレームとなるように合成した。

【0221】

一過性のCHOシステムによって組換え抗体を産生させ、培養上清として、またはプロテインA FPLCカラムを通して精製した後に、さらなる試験を行った。

【0222】

実施例2：本発明の様々な抗IL-15抗体の、IL-15に対する結合効力

本発明の抗体の幾つかを、プレートに結合させた組換えヒトまたはサルIL-15への結合能について、ELISAアッセイにより試験した。先行技術による完全ヒト抗体(WO03/017935に記載される146B7、本明細書では比較抗体2と称する)を同じ発現系によって産生し、精製した後に対照として使用した。

【0223】

Maxisorpプレートを、カーボネートコーティング緩衝液中の組換えヒトIL-15(Prospectカタログ番号CYT230)またはアカゲザルIL-15(My Biosourceカタログ番号MBS948894)100ng/ウェルによって、2時間37にてコートした。アカゲザルおよびカニクイザルIL-15の公表されている配列は同一であるため、これらの組換えIL-15タンパク質をマカクザルIL-15と称した。試験したヒトIL-15組換えタンパク質の配列は配列番号1の配列と同一であるが、E.Coli内での組換えタンパク質発現のために通常為されるように、N末端の位置に追加のメチオンinを有する。試験した組換えマカクザルIL-15は酵母によって産生されたものであるため、その配列は配列番号4の配列と同一であるが、N末端に追加のHisタグを有する。

【0224】

次に、プレートを2%正常ヤギ血清によって30分間37にてブロッキングした後、PBS-Tween(PBS中の0.05v/v% Tween-20)を用いて6回洗浄した。PBS-Tweenを用いて様々な希釈した試験抗体を、プレートへ三重に加え、このプレートを穏やかに振盪しながら室温にて2時間インキュベートした。PBS-Tweenを用いてプレートを6回洗浄した後、西洋ワサビペルオキシダーゼ(HRP)を結合させたヤギ抗ヒトIgG抗体(Milliporeカタログ番号AP309P)を適切に希釈して加え、プレートを室温にて1時間振盪させた。次に、PBS-Tweenを用いてプレートを6回洗浄した後、TMB基質と共にインキュベートした。1M H₂SO₄を加えて反応を停止させ、450nmにて読み取りを行った。吸光度対濃度の用量反応曲線をプロットし、Graphpad Prismソフトウェアを用いた解析によって、最大半量の結合濃度(BC₅₀)を決定した。すべての抗体に対して150kDaの分子量の値を用い、ng/mlの濃度から、モル濃度で表したBC₅₀値を推定した。

【0225】

B-E29の幾つかのヒト化バリエーションおよび対照として用いた完全ヒト146B7抗体から得た、代表的なBC₅₀値を表2に示す。

【0226】

10

20

30

40

【表 2】

| 抗体 | ヒト IL-15 BC ₅₀ (nM) | マカクザル IL-15 BC ₅₀ (nM) |
|-------------------|-----------------------------------|---|
| 146B7 (比較抗体 2) | 8.407 | 0.733 |
| huB-E29-1 | 1.333 | 0.487 |
| huB-E29-2 | 1.467 | 0.340 |
| huB-E29-3 | 2.620 | NT |
| huB-E29-4 | 1.013 | 0.500 |
| huB-E29-5 | 1.473 | 0.453 |
| huB-E29-6 | 1.840 | NT |
| huB-E29-7 | 0.840 | 0.433 |
| huB-E29-8 | 1.787 | NT |
| huB-E29-9 | 1.987 | NT |
| huB-E29-10 | 0.507 | 0.353 |
| huB-E29-11 | 0.980 | NT |
| huB-E29-12 | 0.593 | NT |
| huB-E29-13 | 3.173 | NT |
| huB-E29-14 | 0.813 | 0.347 |
| huB-E29-15 | 2.533 | NT |
| huB-E29-16 | 2.007 | NT |
| huB-E29-17 | 2.613 | NT |
| huB-E29-18 | 0.693 | 0.367 |
| huB-E29-19 | 2.207 | NT |
| huB-E29-22 | 3.867 | NT |
| huB-E29-24 | 0.647 | 0.113 |
| huB-E29-30 | 5.867 | NT |
| huB-E29-31 | 3.514 | NT |
| huB-E29-34 | 3.887 | NT |

NT : 未試験

【0227】

表 2 に示すように、本発明の抗体バリエーションの幾つかの結合活性は同程度であったが、その他はヒト IL - 15 に対してより良い結合を示した（例えば huB - E 2 9 - 1 0 および huB - E 2 9 - 2 4）。図 2 A によれば、代表的なヒト化 B - E 2 9 バリエーション（huB - E 2 9 - 1）は、ヒト IL - 15 に対する 1 4 6 B 7 抗体よりも強い結合力だけでなく、IL - 15 への結合効率の改善を示唆する、より高い最大シグナルを示している。このヒト IL - 15 への改善された結合能は、実施例 3 と表 3 にてさらに確認される。

【0228】

マカクザル IL - 15 への結合試験では、ヒト IL - 15 に結合する本発明のすべての抗体バリエーションは、わずかに高い結合力で、マカクザル IL - 15 にも結合した。

【0229】

実施例 3 : 本発明の幾つかの抗 IL - 15 抗体の、ヒト IL - 15 に対する結合動態および親和性

本発明の 3 つのヒト化 B - E 2 9 抗体バリエーションの、組換えヒト IL - 15 に対する会合速度 (k_a)、解離速度 (k_d) および平衡解離定数 (K_D) を、表面プラズモン共鳴 (SPR) によって決定した。

【0230】

10

20

30

40

50

標準的なアミン結合を用いて、CM5チップ(GE Healthcare)上にヒトIL-15(Prospectカタログ番号CYT230)を固定化させた後、120 μ lのリン酸緩衝生理食塩水中の様々な濃度の抗体を、40 μ l/mlの流速にて注入した。Biacore 3000装置(GE Healthcare)を用い、300秒の解離時間によって結合動態を解析した。参照シグナルおよび0nM抗体濃度シグナルを差し引いた後、1:1(ラングミュア)結合モデルを用いてデータをフィッティングさせた。

【0231】

【表3】

| 抗体 | k_a ($M^{-1}\cdot s^{-1}$) | k_d (s^{-1}) | K_D (μ M) | R_{max} (RU) |
|-------------------|--------------------------------|-----------------------|------------------|----------------|
| huB-E29-2 | 1.15×10^6 | 1.07×10^{-5} | 9.4 | 214 |
| huB-E29-10 | 1.43×10^6 | 4.23×10^{-4} | 295 | 212 |
| huB-E29-24 | 1.75×10^6 | 5.74×10^{-4} | 329 | 167 |
| 146B7 (比較抗体 2) | 1.44×10^6 | 5.26×10^{-5} | 36.7 | 57.3 |

RU: 相対単位

10

【0232】

比較した全てのヒト化B-E29抗体のオンレート(k_a 、会合速度)は同様であったが、huB-E29-2のオフレート(k_d 、解離速度)は比較的遅かったため、平衡解離定数 K_D は低くなった(表3)。146B7抗体の K_D も低く、報告と同様であった(Villadsen, et al, 2003, J. Clin. Invest. 112: 1571-1580)。しかしながら、ヒトIL-15によってコートされたチップにおける146B7の会合によって得られた最大(R_{max})シグナルは、3つのヒト化B-E29抗体バリエーションにみられたものよりも、はるかに低かった。この結果は、実施例2のELISAによって観察されたものと同様であり、これら3つのヒト化B-E29抗体バリエーションのヒトIL-15に対する結合能は、146B7抗体に比較して改善されていることが示唆される。

20

【0233】

実施例4: 本発明の幾つかの抗IL-15抗体の種特異性

30

プレートに結合させた組換えマウスまたはラットIL-15への本発明の抗体の結合能を、ELISAアッセイによって試験した。

【0234】

Maxisorpプレートを、カーボネートコーティング緩衝液中の組換えマウスIL-15(R&D Systemsカタログ番号447-ML)またはラットIL-15(Sigmaカタログ番号SRP4172)100ng/ウェルによって、2時間37 $^{\circ}$ Cにてコートした。試験したIL-15組換えタンパク質の配列は配列番号2(マウスIL-15)および配列番号3(ラットIL-15)の配列と同一であるが、E.Coli内での組換えタンパク質発現のために通常為されるように、N末端の位置に追加のメチオニン

40

【0235】

次に、プレートを2%正常ヤギ血清によって30分間37 $^{\circ}$ Cにてブロッキングした後、PBS-Tween(PBS中の0.05v/v% Tween-20)を用いて6回洗浄した。PBS-Tweenを用いて様々な希釈した試験抗体を、プレートへ三重に加え、このプレートを穏やかに振盪しながら室温にて2時間インキュベートした。陽性対照として、ウサギ抗マウスIL-15(Acrisカタログ番号AP01124PU-S)またはウサギ抗ラットIL-15(Biovisionカタログ番号5172)抗体を、同じ濃度にて試験した。PBS-Tweenを用いてプレートを6回洗浄した後、HRPを結合させたヤギ抗ヒトIgG抗体(Milliporeカタログ番号AP309P)をヒト化抗体に対して、またはヤギ抗ウサギIgG抗体(Sigmaカタログ番号A4416

50

)を陽性対照に対して適切に希釈して加え、プレート室温にて1時間振盪させた。次に、PBS-Tweenを用いてプレートを6回洗浄した後、TMB基質と共にインキュベートした。1M H₂SO₄を加えて反応を停止させ、450nmにて読み取りを行った。Graphpad Prismソフトウェアを用いて、吸光度対濃度の用量反応曲線をプロットした。

【0236】

図2Bおよび図2Cに示すように、試験したB-E29のヒト化バリエーションのいずれも、マウスまたはラットIL-15に対して、試験した濃度では有意な結合を示さなかったが、陽性対照では良好な結合が観察された。

【0237】

実施例5：本発明の幾つかの抗IL-15抗体の選択性

IL-2は配列相同性によってIL-15に近いサイトカインであり、IL-2とIL-15とは、2つの共通の受容体鎖(IL-2/IL-15R_β鎖およびコモンγ鎖)を共有することから、本発明の抗IL-15抗体のIL-2への結合をELISAによって評価した。

【0238】

Maxisorpプレートを、カーボネートコーティング緩衝液中の、配列番号38の組換えヒトIL-2(R&D Systemsカタログ番号202-IL-010)100ng/ウェルによって、2時間37℃にてコートした。次に、プレートを2%正常ヤギ血清によって30分間37℃にてブロッキングした後、PBS-Tween(PBS中の0.05v/v% Tween-20)を用いて4回洗浄した。PBS-Tween中の5μg/mlの試験抗体または陽性対照ビオチン化抗体(抗IL-2 Novus Biocatalog番号NB1-43491)を、プレートへ二重に加え、このプレートを穏やかに振盪しながら室温にて2時間インキュベートした。PBS-Tweenを用いてプレートを4回洗浄した後、西洋ワサビペルオキシダーゼ(HRP)を結合させたヤギ抗ヒトIgG抗体(Milliporeカタログ番号AP309P)を試験抗体に対して、またはストレプトアビジン-HRPを陽性対照抗体に対して適切に希釈して加え、プレートを室温にて1時間振盪させた。次に、PBS-Tweenを用いてプレートを4回洗浄した後、TMB(3,3',5,5'-テトラメチルベンジジン)基質と共にインキュベートした。1M H₂SO₄を加えて反応を停止させ、450nmにて読み取りを行った。

【0239】

図3に示すように、試験した本発明の抗IL-15抗体のいずれも、試験した5μg/mlの濃度ではヒトIL-2に結合しなかったが、陽性対照抗体は強い結合を示した。

【0240】

実施例6：可溶性IL-15により誘導される細胞株の増殖/生存に対する、本発明の幾つかの抗IL-15抗体による阻害

IL-15により誘導されるKit225またはM-07e細胞の増殖/生存に対する、本発明の抗体の阻害能について試験した(Finch et al., 2011, 上記)。

【0241】

Kit225細胞株は、T細胞慢性リンパ性白血病の患者から樹立された(Hori et al., 1987, Blood, 70:1069-1072)。Kit225細胞は、IL-15受容体の3つの鎖(IL-15R_α、IL-15R_βおよびIL-15R_γ)を発現する(Mortier et al., 2006, J. Biol. Chem., 281:1612-1619)。M-07e細胞株は、急性巨核芽球性白血病の6か月女児の末梢血から樹立された(Brizzi et al., 1990, Br J Haematol., 76:203-239)。M-07e細胞は、IL-15受容体のIL-15R_αおよびIL-15R_β鎖のみを発現する(Meazza et al., 1998, Int. J. Cancer, 78:189-95)。

【0242】

10

20

30

40

50

Kit 225 細胞 (Hori et al., 1987, Blood, 70(4): 1069-1072) および M-07e 細胞 (Leibniz-Institute DSMZ) は、10 mM HEPES、100 IU/ml ペニシリン、100 µg/ml ストレプトマイシン、2 mM L-グルタミン、1 mM ピルビン酸ナトリウム、10% 熱不活化ウシ胎仔血清 (FBS、PAA) および 200 U/ml 配列番号 38 のヒト IL-2 (R&D Systems カタログ番号 202-IL) を加えた RPMI 1640 培地中で増殖かつ維持した。実験の 1 日前に、IL-2 を含まない同じ培地中で、細胞を 24 時間スターブさせた。その後、96 ウェルプレートに、様々に希釈した試験抗体および最終濃度 1 ng/ml の組換えヒト IL-15 (R&D systems カタログ番号 247-IL) または組換えサル IL-15 (My Biosource カタログ番号 MBS948894) の存在下で、1 ウェルあたり 5×10^4 細胞を三重に加え、1 ウェルあたりの全量が 100 µl になるように培地を加えた。上に述べたように、アカゲザルおよびカニクイザル IL-15 の公表されている配列は同一であるため、これらの組換え IL-15 タンパク質をマカクザル IL-15 と称した。

【0243】

細胞培養は、5% CO₂ 下で 37 °C にて 48 時間維持した後、各ウェルに 100 µl の Titer glo 溶液 (ATP の消費を測定する。Promega) を分注して、激しくピペティングすることにより内容を混合した。プレートを室温にて 15 ~ 20 分インキュベートした後、生細胞の測定として、プレートリーダーを用いて発光シグナルを読み取った。Graphpad Prism ソフトウェアを用いて、抗体濃度に対して補正した値をプロットし、対数による阻害物質対応答を用いて半数阻害濃度 (IC₅₀) を決定した (3 パラメータ)。すべての抗体に対して 150 kDa の分子量の値を用い、ng/ml の濃度から、モル濃度で表した IC₅₀ 値を推定した。

【0244】

【表 4】

| 抗体 | M-07e 細胞における IC ₅₀ (nM) | | Kit 225 細胞における IC ₅₀ (nM) | |
|-----------------|---------------------------------------|----------------|---|----------------|
| | ヒト IL-15 | マカクザル IL-15 | ヒト IL-15 | マカクザル IL-15 |
| huB-E29-2 | 0.017 | 0.23 | 0.083 | 0.112 |
| huB-E29-10 | 4.2 | 41.3 | 17.0 | 17.5 |
| huB-E29-24 | 19.1 | 10.4 | 29.3 | 26.7 |
| 146B7 比較抗体 2 | 3.2 | NT | 3.7 | NT |

NT: 未試験

【0245】

表 4 に示すように、試験した 3 つのヒト化 B-E29 抗体バリエーションおよび 146B7 は、IL-15 により誘導される M-07e および Kit 225 細胞の増殖/生存を阻害可能であった。ヒト化 huB-E29-2 は、M-07e 細胞および Kit 225 細胞において、試験したその他の全ての抗体よりも優れた効力を示した。

【0246】

実施例 7: トランス IL-15 により誘導される細胞株の増殖/生存に対する、本発明の幾つかの抗 IL-15 抗体による阻害

プラスチックに固定化された IL-15 R_α-Fc コンストラクトに結合した後に提示された IL-15 としての、ヒト IL-15 により誘導される M-07e 細胞 (IL-15 R_α のみを発現する) の増殖/生存に対する阻害能について、本発明の抗体の幾つかを試験した。この実験の設定は、文献に記載されており、IL-15 の生物学に重要であると考えられる (Stonier, et al., 2010, 上記)、IL-15 のトラン

ス提示を模倣している。

【0247】

96ウェルプレートのウェルを、100 μ l PBS中の1 μ g 組換えヒトIL-15R-Fcキメラ(R&D Systemsカタログ番号7194-IR-050)によって、2時間37 $^{\circ}$ Cにてコートした。ウェルの内容を吸引した後、培地と称する、Hepes 10mM、ペニシリン100IU/ml、ストレプトマイシン100 μ g/ml、L-グルタミン2mM、ビルビン酸ナトリウム1mM、10%熱不活化ウシ胎仔血清(FBS、PAA)を加えたRPMI 1640培地を、1ウェルあたり150 μ l加え、プレートを30分間37 $^{\circ}$ Cにてインキュベートした。ウェルの内容を吸引した後、300ng/mlヒトIL-15(R&D Systems)溶液の100 μ lを加え、プレートを1時間37 $^{\circ}$ Cにてインキュベートした。ウェルの内容を吸引した後、200 μ lの培地を用いて未結合のIL-15を2回洗浄した。様々な濃度の試験抗体を各ウェルに三重に加えた後、 5×10^4 のM-07e細胞(サイトカインを含まない培地中に一晚置いたもの)を加えた。この系では、IL-15R-Fcの非存在下でIL-15が増殖/生存を誘導しなかったこと、およびIL-15の非存在下でIL-15R-Fcが増殖/生存を誘導しなかったことを確認するため、対照ウェルを適切に設定した。

10

【0248】

細胞培養は、5%CO₂下で37 $^{\circ}$ Cにて48時間維持した後、各ウェルに100 μ lのTiterglo溶液(ATPの消費を測定する。Promega)を分注して、激しくピペティングすることにより内容を混合した。プレートを室温にて15~20分インキュベートした後、生細胞の測定として、プレートリーダーを用いて発光シグナルを読み取った。Graphpad Prismソフトウェアを用いて、抗体濃度に対して補正した値をプロットし、対数による阻害物質対応答を用いて半数阻害濃度(IC₅₀)を決定した(3パラメータ)。すべての抗体に対して150kDaの分子量の値を用い、ng/mlの濃度から、モル濃度で表したIC₅₀値を推定した。

20

【0249】

【表5】

| 抗体 | IL-15 トランス提示に対する、M07e 細胞における IC ₅₀ (nM) |
|-----------------|--|
| huB-E29-2 | 0.37 |
| 抗体 | IL-15 トランス提示に対する、M07e 細胞における IC ₅₀ (nM) |
| huB-E29-10 | 0.53 |
| huB-E29-24 | 0.65 |
| 146B7 比較抗体 2 | 0.63 |

30

【0250】

表5に示すように、試験したヒト化B-E29抗体バリエーションは全て、M-07e細胞へのヒトIL-15のトランス提示を同様の効力によって阻害した。

40

【0251】

実施例8：本発明の幾つかの抗IL-15抗体は、ヒトIL-15のIL-15Rへの結合に対して干渉しない

Finchら(Finch et al, 2011, 上記)によって記載された方法に従って、プレート結合IL-15-R-Fc組換えコンストラクト(R&D Systems)へのビオチン化ヒトIL-15の結合に対する、本発明の抗体の阻害能について試験した。

【0252】

濃度が600pMの、リン酸緩衝食塩水(PBS)中のインターロイキン-15R-

50

Fcを、4 16時間のインキュベーションによって、MaxiSorp 96ウェルプレートにコートした。ウェルをPBSによって洗浄した後、3% (w/v) ウシ血清アルブミン (BSA) を含むPBSによって2時間ブロッキングを行い、再びPBSによって洗浄した。抗体および対照 (IL-15のIL-15Rへの結合を遮断することが知られている抗体、R&D Systemsカタログ番号NF150、を含む) を0.1% (w/v) BSAを含むPBSによって希釈した後、IL-15R-Fcがコートされたアッセイウェルに加えた。最終濃度が100 pMのビオチン化ヒトIL-15 (R&D Systemsカタログ番号NF150) を加え、アッセイプレートを1時間インキュベートした。0.1% (v/v) Tween 20を含むPBSを用いてプレートを3回洗浄した後、適切に希釈したストレプトアビジン-ペルオキシダーゼを加えた。30分間のインキュベーション後、0.1% (v/v) Tween 20を含むPBSを用いてプレートを7回洗浄し、ペルオキシダーゼ基質を加えた。完了した反応を、H₂SO₄を加えて停止させ、450 nmの発光波長にて吸光度を測定した。

【0253】

図4に示すように、陽性対照抗体は、ビオチン化ヒトIL-15のIL-15-Rへの結合を用量依存性に阻害できたが、抗IL-15抗体huB-E29-2、huB-E29-10およびhuB-E29-24は、150 μg/mlの最高試験用量に至っても阻害できなかった。対照的に、Bernard et al., 2004, 上記、の観察によれば、モノクローナルマウス抗IL-15抗体B-E29 (比較抗体1) は、IL-15のIL-15Rへの結合を阻止する。

【0254】

実施例9：In vivoにおける、本発明の幾つかの抗IL-15抗体によるヒトIL-15の中和

実施例4に示すように、本発明の抗IL-15抗体はマウスIL-15を認識しないが、マウス細胞はヒトIL-15に反応するため、これらの抗体によるin vivoでのIL-15の機能阻害を試験することができる。マウスに注射したインターロイキン-15は、ナチュラルキラー (NK) 細胞のような様々なリンパ球サブセットの脾臓における増殖および蓄積を誘導できる。しかしながら、おそらくその半減期が非常に短いため、IL-15単独では活性が低く、in vivoではIL-15とIL-15Rとの安定な複合体がさらに効率的である。

【0255】

IL-15/IL-15R-Fc複合体によって誘導された、C57BL/6雄マウスの脾臓におけるNK細胞の蓄積 (Finch et al., 2011, 上記) に対する、本発明の代表的な抗体の阻害能について試験した。5匹のマウスの群に、1 μg ヒトIL-15 (Prospect) および3.6 μg ヒトIL-15R-Fc (R&D Systems) の混合物を3日間連続して注射し、実験の1日目および2日目に、それぞれ100 μg および62 μg の、試験抗体および対照抗体を注射した。最後の注射の1日後に、脾臓を採取し、脾細胞の計数およびフローサイトメトリーによるNK細胞の解析を行って、CD45⁺NK1.1⁺CD3⁻細胞を決定した。

【0256】

図5に示すように、IL-15/IL-15R-Fc複合体の注射によってマウス脾臓には多数のNK細胞の蓄積が誘導され、この蓄積は、本発明の代表的なhuB-E29-2、huB-E29-10およびhuB-E29-24抗体を用いた処置によって完全に阻害可能であったが、対照のヒトIgG1アイソタイプ抗体によっては阻害できなかった。

【0257】

実施例10：本発明の抗IL-15抗体のエピトープマッピング

本発明の抗IL-15抗体のエピトープマッピングを、直鎖を表すように設計された、構築ペプチドのライブラリーへの前記抗体の結合のみではなく、足場上の化学的結合ペプチド (CLIPS) 技術 (Pepsican Presto Bv, Lelystad, T

10

20

30

40

50

he Netherlands)を用いた、IL-15の非連続エピトープのライブラリーへの結合も解析することによって行った。CLIPS技術(Timmermann et al., 2007, J. Mol. Recognit., 20, 283-99)により、ペプチドをシングループ、ダブループ、トリプループ、シート様フォールド、ヘリックス様フォールド、およびそれらの組み合わせに構築することが可能になる。構築されたペプチドは、アレイ上に固定化される。各合成ペプチドへの抗体の結合を、PEPSCANベースのアレイELISAによって試験した。各ペプチドに対するシグナルを、電荷結合素子カメラを用いて測定し、定量化し、全てのアレイの結果を処理して、どのペプチドが最も良く認識されるかを決定した。ペプチド内のアミノ酸の置換によって、さらに決定的な結合残基の決定が可能になる。

10

【0258】

この技術を用いることで、本発明の抗体huB-E29-2、huB-E29-10およびhuB-E29-24は全て、配列⁶1DTVENLIILANN⁷2(配列番号43)のペプチド伸展を含む直鎖および拘束ペプチドへ優先的に結合することが見出された。この観察は、比較抗体1であるB-E29についての報告(Bernard et al., 2004, 上記)と同様である。単一のアミノ酸置換を用いることで、本発明の抗体huB-E29-2、huB-E29-10およびhuB-E29-24抗体のIL-15への結合に最も重要な残基は、D61、E64、I68およびN71であることが見出された。

20

【0259】

比較抗体1は、それぞれ配列番号39および配列番号40に示される、VLおよびVHによって特徴付けられる。Bernard et al., 2004, 上記、によれば、B-E29は、本発明の抗体huB-E29-2、huB-E29-10およびhuB-E29-24の結合に重要であることは見出されなかったL66およびI67残基を介した、IL-15のIL-15Rへの結合に影響を与える。一方で、なおBernardらによれば、残基E64、N65およびI68は、IL-15のIL-15Rへの結合の、B-E29による阻止に重要であり、これら3つの残基のうちの2つ、E64およびI68は、huB-E29-2、huB-E29-10およびhuB-E29-24抗体のIL-15への結合に決定的であることが見出された。IL-15のIL-15R鎖への結合の阻止は、IL-15のシグナル伝達を遮断するために重要である。したがって、huB-E29-2、huB-E29-10およびhuB-E29-24抗体は、元のB-E29抗体と重複したエピトープを共有するが、構造的な違いが、本出願で示すように(実施例8)、IL-15を介したシグナル伝達に対する遮断能は保持されているものの、IL-15のIL-15Rへの結合に対する阻止能が失われるという、作用機序の違いを説明し得る。

30

【0260】

また、本発明の抗体huB-E29-10およびhuB-E29-24は、配列番号43のペプチド伸展内の置換に対して、huB-E29-2抗体よりも寛容性が低いことが示されたが、このことはシグナルが失われる頻度がさらに高いことを意味しており、本出願に示すように(実施例3)、これらの抗体のIL-15への親和性の低さに関連する可能性がある。

40

【0261】

最後に、比較抗体2である146B7は、試験したペプチドアレイのいずれにもバックグラウンドを超えた結合を示さなかったことから、おそらくIL-15の複合体/非連続エピトープを認識するものである(Villadsen et al., 2003, J. Clin. Invest., 112:1571-1580)。アミノ酸の変異原性より、IL-15の残基D8およびQ108は、146B7の結合に重要であることが分かったが、この抗体によって認識されるエピトープについてさらに詳しくは分かっていない。現在の実施例に提示されるデータはこの知見に一致していることから、146B7の非直鎖エピトープは、本発明の抗体huB-E29-2、huB-E29-10およびhuB-

50

E 2 9 - 2 4 によって認識されるものとは明らかに異なっていることが示唆される。

【 0 2 6 2 】

D I S C 0 2 8 0 抗 I L - 1 5 抗体 (比較抗体 3) によって認識されるエピトープは、結晶学によって決定された (L o w e e t a l , 2 0 1 0 , J . M o l . B i o l . , 4 0 6 , p . 1 6 0 - 1 7 5) 。 D I S C 0 2 8 0 抗体は、それぞれが配列番号 4 1 および配列番号 4 2 に示される、V L C D R 3 および V H C D R 3 によって特徴付けられる。比較抗体 B - E 2 9 および D I S C 0 2 8 0 が、I L - 1 5 への結合に対して競合するという事実から予測されるように (F i n c h e t a l , 2 0 1 0 , J . M o l . B i o l . , 4 0 6 (1) , p . 1 6 0 - 1 7 5) 、同様の残基、すなわち E 6 4 および N 7 1 が、D I S C 0 2 8 0 エピトープと本発明の h u B - E 2 9 - 2 、 h u B - E 2 9 - 1 0 および h u B - E 2 9 - 2 4 抗体によって認識されるエピトープの間にも見出された。しかしながら、その他の水素結合が、D I S C 0 2 8 0 と I L - 1 5 残基である K 4 1 、 E 4 6 、 Q 4 8 、 L 5 2 、 E 5 3 および E 8 9 について示された。したがって、D I S C 0 2 8 0 と本発明の抗体 h u B - E 2 9 - 2 、 h u B - E 2 9 - 1 0 および h u B - E 2 9 - 2 4 とは、重複しているが異なるエピトープを有する。加えて、h u B - E 2 9 - 2 、 h u B - E 2 9 - 1 0 および h u B - E 2 9 - 2 4 の I L - 1 5 への結合に最も重要であることが見出された 2 つの残基は、D I S C 0 2 8 0 エピトープである D 6 1 および I 6 8 の一部ではない。

10

【 0 2 6 3 】

実施例 1 1 : 難治性セリアック病患者由来の細胞株における、本発明の抗 I L - 1 5 抗体の効果

20

組換えヒト I L - 1 5 によって誘導される、I I 型難治性セリアック病 (R C D) 患者の初代上皮内リンパ球 (I E L) 細胞株のアポトーシスおよび活性化の防止における、本発明の抗体 h u B - E 2 9 - 2 および比較抗体 1 4 6 B 7 の効果を、i n v i t r o にて評価した。アネキシン V およびヨウ化プロピジウム (P I) によって細胞を染色し、フローサイトメトリーを用いて測定することによって、アポトーシス細胞のパーセンテージを解析した。リン酸化 S T A T 5 タンパク質 (p S T A T 5) の発現もまたフローサイトメトリー技術を用いて観察し、I L - 1 5 による初代 I E L 細胞株の活性化および抗 I L - 1 5 抗体によるその阻害を測定した。

【 0 2 6 4 】

30

本発明のヒト化抗 I L - 1 5 抗体 h u B - E 2 9 - 2 は、3 名の異なる患者由来の I I 型 R C D 初代 I E L 細胞株において I L - 1 5 により誘導されるアポトーシスの防止を、i n v i t r o にて強く阻害し (図 6) 、試験した 3 つの細胞株のうちの 1 つ (H A M _ R A C) について算出した半数阻害濃度 (I C ₅₀) は 2 . 3 6 n M であった。この抗体はまた、試験した全ての I I 型 R C D 患者初代 I E L 細胞株において、H A M _ R A C 細胞株において 8 0 % のアポトーシス阻害を得るように算出された濃度で用いた際、I L - 1 5 により誘導される S T A T 5 のリン酸化も阻害した。最後に、この同じ濃度にて、h u B - E 2 9 - 2 は、I I 型 R C D 患者初代 I E L 細胞株において I L - 1 5 により誘導されるアポトーシスの防止および S T A T 5 のリン酸化の阻害に対して、完全ヒト抗 I L - 1 5 抗体 1 4 6 B 7 よりもさらに効率的であった (図 6) 。

40

【 0 2 6 5 】

実施例 1 2 : 難治性セリアック病のモデルであるヒト I L - 1 5 のトランスジェニックマウスにおける、本発明の抗 I L - 1 5 抗体の効果

腸細胞特異的プロモーターである T 3 b (I L - 1 5 T g E m i c e ; O h t a e t a l . , 2 0 0 2 , J . I m m u n o l . 1 6 9 (1) , 4 6 0 - 4 6 8) の制御下で、ヒト I L - 1 5 を過剰発現するトランスジェニックマウスは、上皮内リンパ球 (I E L) を異常かつ大量に蓄積させる。このモデルは、ヒト難治性セリアック病の幾つかの特色を再現するものであると想定されている (M a l a m u t e t a l . , 2 0 1 0 , 上記) 。本明細書に記載する 1 4 6 B 7 抗体と同一の配列を有し、以前には H u M a x I L - 1 5 として同定されていた (V i l l a d s e n e t a l . , 2 0 0 3 , J . C

50

lin Invest, 112(10):1571-80; Lebrece et al, 2013, J Immunol, 191(11):5551-8)、IL-15に対する抗体AMG714をこれらのマウスに投与した際、IELのアポトーシスを促進することによって、IELの蓄積を逆転させることができる(Malamut et al., 2010, 上記)。

【0266】

本発明の抗IL-15抗体huB-E29-2または対照アイソタイプ抗体IgG1を、T3b-hIL-15トランスジェニックマウスの群に、100 μ gの用量で1週間に2回腹腔内投与した。2週間の処置後、CD3⁺CD8⁺ IELを計数し、標準的なフローサイトメトリー技術を用いて解析した(Malamut et al., 2010, 上記)。huB-E29-2による処置では、対照抗体に比較して、CD3⁺CD8⁺ IELの統計学的に有意な減少が観察された(図7)。

10

【0267】

実施例13：アレルギーにより誘導された好酸球性食道炎のモデルにおける、抗IL-15抗体の効果

IL-15受容体のIL-15R 鎖を遺伝的に欠損したマウスは、アスペルギルス・フミガーツスの鼻孔滴下に続く好酸球性食道炎に対して抵抗性であった(Zhu et al, 2010, 上記)。クローンAIO.3(eBiosciences)のような、マウスIL-15に結合して中和する抗体を、アスペルギルス・フミガーツスに曝露されたマウスに投与して、好酸球性食道炎の治療に対する抗IL-15抗体の活性を試験した。試験日の0、2、4、7、9、11、14、16および18日目に、マウスの群にアスペルギルス・フミガーツスの調製物を経鼻投与した。様々な時点で、適切な用量の抗マウスIL-15中和抗体または対照アイソタイプ抗体によって動物を処置した。陽性対照として、マウスをデキサメタゾンによって処置した。試験日の19日目に、各マウスの食道を処理し、染色した後、顕微鏡を通して好酸球性の浸潤物を測定した。加えて、気管支肺胞洗浄を行い、気道内の炎症性細胞の浸潤を測定した。

20

【0268】

実施例14：非ヒト霊長類における循環NK細胞数に対する、本発明の抗IL-15抗体の効果

抗IL-15抗体をカニクイザルに投与すると、2週間以内に循環NK細胞数が減少することが示された(Lebrece et al., 2013, J Immunol, 191(11), 5551-5558)。異なる抗体は異なる効果を示した。抗IL-15 Hu714 MuX Hu抗体がin vivoでNK細胞を減少させる最少用量は0.1mg/kgであったが、本明細書に記載する146B7抗体と同一の配列を有する抗IL-15 AMG714抗体(Villadsen et al., 2003, J Clin Invest, 112(10):1571-80; Lebrece et al, 2013, J Immunol, 191(11):5551-8)が、in vivoでNK細胞を減少させる最少用量は150mg/kgであった。

30

【0269】

本発明の抗IL-15抗体が循環NK細胞数を調節する能力を、カニクイザルにおいてin vivoで試験した。0.1mg/kgないし10mg/kgの範囲の様々な用量の前記抗体を、カニクイザルに静脈内投与し、用量投与前および試験日の1、3、5、8、14および21日目の血液サンプルについてフローサイトメトリー技術を用い、NK細胞の循環数を評価した。非ヒト霊長類における循環NK細胞数の調節は、in vivoでの抗IL-15抗体の薬理的活性のマーカーとして定義可能であるため、患者への至適な投薬を定義するために有利に用いることができる。

40

【0270】

配列表

ヒト成熟IL-15

配列番号1

50

nwnvnisdllkkiedliqsmhidatlytesdvhpckvtamkcflllelqvishesgdasihdtenliiilannlssngnvt
tesgckeceeleeknikeflqsfvihvqmfints

マウス成熟 IL-15

配列番号2

nwidvrydlekiessliqsihidttlytdsdfhpsckvtamncflllelqvilheysnmtlnetvrnvlylanstlssnknv
aesgckeceeleektftelqsfirivqmfints

ラット成熟 IL-15

配列番号3

nwidvrydlekiessliqfihidttlytdsdfhpsckvtamncflllelqvilheysnmtlnetvrnvlylanstlssnknv
iesgckeceeleernfteflqsfihivqmfints

10

アカゲザル/カニクイザル成熟 IL-15

配列番号4

NWVNVISDLKKIEDLIQSMHIDATLYTESDVHPCKVTAMKCFLLELQVISHESGDTDHDVTENLIILANNILSSNGN
TESGCKECEEELEEKNIKEFLQSFVHIVQMFINTS

huVH1

配列番号5

EVRLMASGGGLVQPGGSLRLSCAASEFTFSNYAMSWVRQAPGKGLEWVATISRGGDYTYYPDSVKGRFTISRDNSKNTLY
LQMNSLRAEDTAVYYCARRVSMITGGWAMDYWGQGTTLVTVSS

20

huVH2

配列番号6

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASEFTFSNYAMSWVRQAPGKGLEWVATISRGGDYTYYPDSVKGRFTISRDNSKNTLY
LQMNSLRAEDTAVYYCARRVSMITGGWAMDYWGQGTTLVTVSS

huVH3

配列番号7

EVRLMASGGGLVQPGGSLRLSCAASEFTFSNYAMSWVRQAPGKGLEWVSTISRGGDYTYYPDSVKGRFTISRDNSKNTLY
LQMNSLRAEDTAVYYCARRVSMITGGWAMDYWGQGTTLVTVSS

30

huVH4

配列番号8

EVRLMASGGGLVQPGGSLRLSCAASEFTFSNYAMSWVRQAPGKGLEWVATISRGGDYTYYPDSVKGRFTISRDNSKNTLY
LQMNSLRAEDTAVYYCARRVSLITGGWAMDYWGQGTTLVTVSS

huVH5

配列番号9

EVRLMASGGGLVQPGGSLRLSCAASEFTFSNYAMSWVRQAPGKGLEWVATISRGGDYTYYPESVKGRFTISRDNSKNTLY
LQMNSLRAEDTAVYYCARRVSFITGGWAMDYWGQGTTLVTVSS

40

huVH6

配列番号10

EVRLMASGGGLVQPGGSLRLSCAASEFTFSNYAMSWVRQAPGKGLEWVATISRGGDYTYYPDTVKGRFTISRDNSKNTLY
LQMNSLRAEDTAVYYCARRVSIITGGWAMDYWGQGTTLVTVSS

huVH7

配列番号11

50

EVRLMASGGGLVQPGGSLRLSCAASEFTFSNYAMS~~WVRQAPGKGLEWVAT~~ | SRGGDYTYYPDTVKGRFT | SRDNSKNTLY
LQMNSLRAEDTAVYYCARRVSA | TGGWAMDYWGQGTTLVTVSS

huVH8

配列番号12

EVRLMASGGGLVQPGGSLRLSCAASEFTFSNYAMS~~WVRQAPGKGLEWVAT~~ | SRGGDYTYYPDTVKGRFT | SRDNSKNTLY
LQMNSLRAEDTAVYYCARRVSM | TGGYAMDYWGQGTTLVTVSS

huVH9

配列番号13

10

EVRLMASGGGLVQPGGSLRLSCAASEFTFSNYAMS~~WVRQAPGKGLEWVAT~~ | SRGGDYTYYPDTVKGRFT | SRDNSKNTLY
LQMNSLRAEDTAVYYCARRVSM | TGGFAMDYWGQGTTLVTVSS

huVH10

配列番号14

EVRLMASGGGLVQPGGSLRLSCAASEFTFSNYAMS~~WVRQAPGKGLEWVAT~~ | SRGGDYTYYPDTVKGRFT | SRDNSKNTLY
LQMNSLRAEDTAVYYCARRVSM | TGGAAAMDYWGQGTTLVTVSS

huVH11

配列番号15

20

EVRLMASGGGLVQPGGSLRLSCAASEFTFSNYAMS~~WVRQAPGKGLEWVAT~~ | SRGGDYTYYPDSVKGRFT | SRDNSKNTLY
LQMNSLRAEDTAVYYCARRVSM | TGGWALDYWGQGTTLVTVSS

huVH12

配列番号16

EVRLMASGGGLVQPGGSLRLSCAASEFTFSNYAMS~~WVRQAPGKGLEWVAT~~ | SRGGDYTYYPDSVKGRFT | SRDNSKNTLY
LQMNSLRAEDTAVYYCARRVSM | TGGWAFDYWGQGTTLVTVSS

huVH13

配列番号17

30

EVRLMASGGGLVQPGGSLRLSCAASEFTFSNYAMS~~WVRQAPGKGLEWVAT~~ | SRGGDYTYYPDSVKGRFT | SRDNSKNTLY
LQMNSLRAEDTAVYYCARRVSM | TGGWA | DYWGQGTTLVTVSS

huVH14

配列番号18

EVRLMASGGGLVQPGGSLRLSCAASEFTFSNYAMS~~WVRQAPGKGLEWVAT~~ | SRGGDYTYYPESVKGRFT | SRDNSKNTLY
LQMNSLRAEDTAVYYCARRVSM | TGGWAMDYWGQGTTLVTVSS

huVH15

配列番号19

40

EVRLMASGGGLVQPGGSLRLSCAASEFTFSNYAMS~~WVRQAPGKGLEWVAT~~ | SRGGDYTYYPDTVKGRFT | SRDNSKNTLY
LQMNSLRAEDTAVYYCARRVSM | TGGWAMDYWGQGTTLVTVSS

huVH16

配列番号20

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASEFTFSNYAMS~~WVRQAPGKGLEWVAT~~ | SRGGDYTYYPDSVKGRFT | SRDNSKNTLY
LQMNSLRAEDTAVYYCARRVSF | TGGYAFDYWGQGTTLVTVSS

huVH18

配列番号21

50

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASEFTFSNYAMSWVRQAPGKGLEWVAT I SRGGDYTYYPDSVKGRFT I SRDNSKNTLY
LQMNSLRAEDTAVYYCARRVSM I TGGYAMDYWGQGT LVTVSS

huVH20

配列番号22

EVRLMASGGGLVQPGGSLRLSCAASEFTFSNYAMSWVRQAPGKGLEWVAT I SRGGDYTYYPDSVKGRFT I SRDNSKNTLY
LQMNSLRAEDTAVYYCARRVSF I TGGYAMDYWGQGT LVTVSS

huVH21

配列番号23

EVRLMASGGGLVQPGGSLRLSCAASEFTFSNYAMSWVRQAPGKGLEWVAT I SRGGDYTYYPESVKGRFT I SRDNSKNTLY
LQMNSLRAEDTAVYYCARRVSF I TGGYAMDYWGQGT LVTVSS

10

huVL1

配列番号24

DVVMTQSPSLPVTLGQPAS I SCRSSQS I VD I TGNTYLEWYQQRPGQSPRLL I YKVFNRFSGVPDRFSGSGSGTDFTLK I
SRVEAEDVGYYCFQDSFVPTYFGQGTKLE I K

huVL2

配列番号25

DVVMTQSPSLPVTLGQPAS I SCRSSQS I VD I TGNTYLEWFQQRPGQSPRLL I YKVFNRFSGVPDRFSGSGSGTDFTLK I
SRVEAEDVGYYCFQDSFVPTYFGQGTKLE I K

20

huVL3

配列番号26

DVVMTQSPSLPVTLGQPAS I SCRSSQS I VD I TGNTYLEWYQQRPGQSPRLL I YKVFNRFSGVPDRFSGSGSGTDFTLK I
SRVEAEDVGYYCFQDSFVPTYFGQGTKLE I K

huVL4

配列番号27

DVVMTQSPSLPVTLGQPAS I SCRSSQS I VD I TGNTYLEWYQQRPGQSPRLL I YKVFNRFSGVPDRFSGSGSGTDFTLK I
SRVEAEDVGYYCFQESFVPTYFGQGTKLE I K

30

huVL5

配列番号28

DVVMTQSPSLPVTLGQPAS I SCRSSQS I VD I TGNTYLEWYQQRPGQSPRLL I YKVFNRFSGVPDRFSGSGSGTDFTLK I
SRVEAEDVGYYCFQDTFVPTYFGQGTKLE I K

huVL6

配列番号29

DVVMTQSPSLPVTLGQPAS I SCRSSQS I VD I TGNTYLEWFQQRPGQSPRLL I YKVFNRFSGVPDRFSGSGSGTDFTLK I
SRVEAEDVGYYCFQESFVPTYFGQGTKLE I K

40

IgG1m3 重鎖の定常領域

配列番号30

ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQT
Y I CNVNHKPSNTKVDKRVEPKSCDKHTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLM I SRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNW
YVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAP I EKT I SKAKGQPREPQVYTLPPSREE
MTKNQVSLTCLVKGFYPSD I AVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCSCVMHEALHNHYT
QKSLSLSPGK

50

IgKm3 軽鎖の定常領域

配列番号31

RTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYE
KHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC

cVH1 (マウスB-E29由来の重鎖の可変領域)

配列番号32

EVRLMASGGGLVKPGGSLKLSCAASEFTFSNYAMSWVRQTPEKRLEWVAT | SRGGDYTYYPDSVKGRFT | SRDNAKNTLY
LQMSSLRSEDTALYYCARRVSM | TGGWAMDYWGQGTSVTVSS

10

cVH2

配列番号33

EVRLLASGGGLVKPGGSLKLSCAASEFTFSNYAMSWVRQTPEKRLEWVAT | SRGGDYTYYPDSVKGRFT | SRDNAKNTLY
LQMSSLRSEDTALYYCARRVSM | TGGWAMDYWGQGTSVTVSS

cVH3

配列番号34

EVQLLASGGGLVKPGGSLKLSCAASEFTFSNYAMSWVRQTPEKRLEWVAT | SRGGDYTYYPDSVKGRFT | SRDNAKNTLY
LQMSSLRSEDTALYYCARRVSM | TGGWAMDYWGQGTSVTVSS

20

cVH4

配列番号35

EVRLMESGGGLVKPGGSLKLSCAASEFTFSNYAMSWVRQTPEKRLEWVAT | SRGGDYTYYPDSVKGRFT | SRDNAKNTLY
LQMSSLRSEDTALYYCARRVSM | TGGWAMDYWGQGTSVTVSS

cVK1

配列番号36

DVLMQTPLSLPVSLGDQAS | SCRSSQS | VD | TGNTYLEWYLQKPGQSPKLL | YKVFNRFSGVPDRFSGSGSGTDFTLK |
SRVEAEDLGLYYCFQDSFVPYTFGGGTKLE | K

30

hVK2

配列番号37

EVVMTQSPATLSLSPGERATLSCRSSQS | VD | TGNTYLEWYQKPGQAPRLL | YKVFNRFSG | PARFSGSGSGTDFTLT |
SSLEPEDFAVYYCFQDSFVPYTFGGGTKLE | K

ヒトIL-2

配列番号38

MYRMQLLSC | ALSLALVTNSAPTSSSTKKTQLQLEHLLLDLQMI | LNG | NNYKNPKLTRMLTFKFMPPKATELKHLCLE
EELKPLEEVLNLAQSKNFHLRPRDL | SN | NV | VLELKGSETTFMCEYADETAT | VEFLNRW | TFCQS | | STLT

40

VL-146B7

配列番号39

E | VLTQSPGTLSLSPGERATLSCRASQSVSSSYLAWYQKPGQAPRLL | YGASRRATG | PDRFSGSGSGTDFTLT | SRLE
PEDFAVYYCQRYGSSHTFGQGTKLE | S

VH-146B7

配列番号40

EVQLVQSGAEVKKPGESLK | SCKVSGYFFTTYW | GWVRQMPGKGLEYMGI | YPGDSDFRYSPSFQGVV | SADKS | STAY
LQWSSLKASDTAMYYCARGGNWNCFDYWGQGT | LVTVSS

50

【 図 2 】

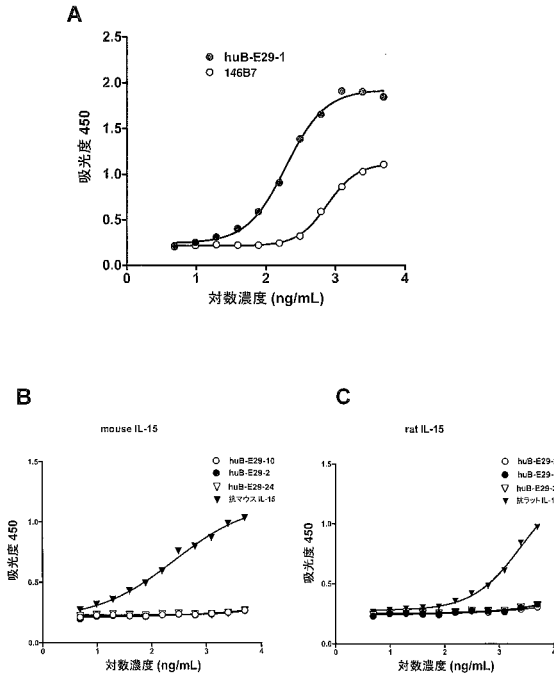


Figure 2

【 図 3 】

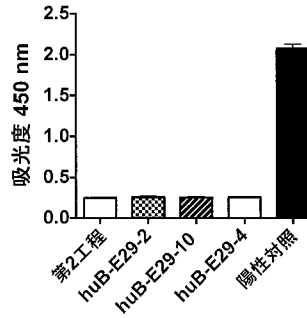


Figure 3

【 図 4 】

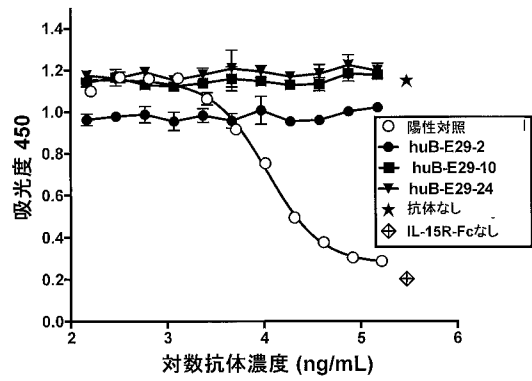


Figure 4

【 図 5 】

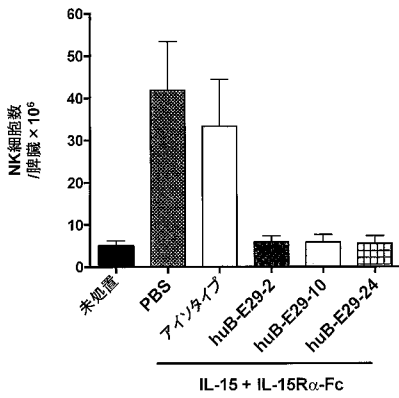


Figure 5

【 図 6 】

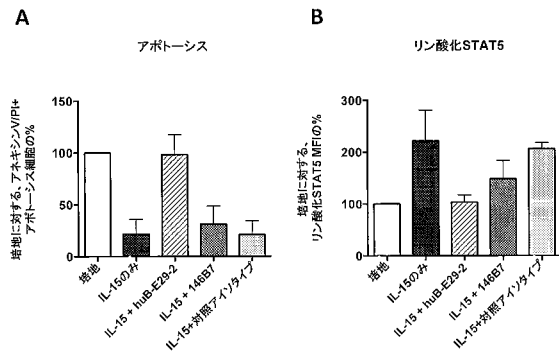


Figure 6

【 図 7 】

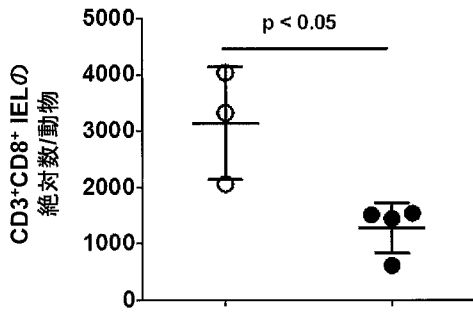


Figure 7

【 配 列 表 】

2017532048000001.app

【 国際調査報告 】

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

| |
|---|
| International application No PCT/EP2015/064931 |
|---|

| | | |
|--|---|--|
| A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER | | |
| INV. C07K16/24 | C12N5/10 | A61K38/20 A61K39/395 |
| 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 C07K C12N | | |
| 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, BIOSIS, WPI Data, EMBASE | | |
| C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT | | |
| Category* | Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages | Relevant to claim No. |
| X | WO 2004/076620 A2 (GENMAB AS [DK]; VAN DE WINKEL JAN G J [NL]; VAN DIJK MARCUS ANTONIUS []) 10 September 2004 (2004-09-10) page 2, line 10 - page 12, line 15; claims 1-14; examples 3-12 | 1-23 |
| X | DK FINCH ET AL: "Identification of a potent anti-IL-15 antibody with opposing mechanisms of action in vitro and in vivo", BRITISH JOURNAL OF PHARMACOLOGY, vol. 162, no. 2, 14 December 2010 (2010-12-14), pages 480-490, XP055154090, ISSN: 0007-1188, DOI: 10.1111/j.1476-5381.2010.01061.x cited in the application the whole document | 1-23 |
| | ----- -/-- | |
| <input checked="" type="checkbox"/> Further documents are listed in the continuation of Box C. <input checked="" type="checkbox"/> See patent family annex. | | |
| * Special categories of cited documents : | | |
| *A* document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance *E* earlier application or patent but published on or after the international filing date *L* document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified) *O* document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means *P* document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed | | *T* later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention *X* document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone *Y* document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art *&* document member of the same patent family |
| Date of the actual completion of the international search 23 October 2015 | | Date of mailing of the international search report 03/11/2015 |
| Name and mailing address of the ISA/ European Patent Office, P.B. 5818 Patentlaan 2 NL - 2280 HV Rijswijk Tel. (+31-70) 340-2040, Fax: (+31-70) 340-3016 | | Authorized officer Donath, Cornelia |

2

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

| |
|---|
| International application No PCT/EP2015/064931 |
|---|

| C(Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT | | |
|--|---|-----------------------|
| Category* | Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages | Relevant to claim No. |
| A | <p>BERNARD J ET AL: "Identification of an interleukin-15α receptor-binding site on human interleukin-15", JOURNAL OF BIOLOGICAL CHEMISTRY, AMERICAN SOCIETY FOR BIOCHEMISTRY AND MOLECULAR BIOLOGY, US, vol. 279, no. 23, 4 June 2004 (2004-06-04), pages 24313-24322, XP002286785, ISSN: 0021-9258, DOI: 10.1074/JBC.M312458200 cited in the application the whole document</p> <p>-----</p> | 1-23 |
| A | <p>STONIER S W ET AL: "Trans-presentation: A novel mechanism regulating IL-15 delivery and responses", IMMUNOLOGY LETTERS, ELSEVIER BV, NL, vol. 127, no. 2, 4 January 2010 (2010-01-04), pages 85-92, XP026806376, ISSN: 0165-2478 [retrieved on 2009-10-07] cited in the application the whole document</p> <p>-----</p> | 1-23 |
| A | <p>FEHNIGER T A ET AL: "Interleukin 15: biology and relevance to human disease", BLOOD, AMERICAN SOCIETY OF HEMATOLOGY, US, vol. 97, no. 1, 1 January 2001 (2001-01-01), pages 14-32, XP002902996, ISSN: 0006-4971, DOI: 10.1182/BLOOD.V97.1.14 cited in the application the whole document</p> <p>-----</p> | 1-23 |
| A | <p>VILLADSEN L S ET AL: "Resolution of psoriasis upon blockade of IL-15 biological activity in a xenograft mouse model", JOURNAL OF CLINICAL INVESTIGATION, AMERICAN SOCIETY FOR CLINICAL INVESTIGATION, US, vol. 112, no. 10, 1 November 2003 (2003-11-01), pages 1571-1580, XP002293185, ISSN: 0021-9738, DOI: 10.1172/JC1200318986 cited in the application the whole document</p> <p>-----</p> | 1-23 |

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

International application No

PCT/EP2015/064931

| Patent document cited in search report | Publication date | Patent family member(s) | Publication date |
|--|------------------|-------------------------|------------------|
| WO 2004076620 A2 | 10-09-2004 | AU 2004215120 A1 | 10-09-2004 |
| | | BR P10407833 A | 14-02-2006 |
| | | CA 2516378 A1 | 10-09-2004 |
| | | EP 1597283 A2 | 23-11-2005 |
| | | GB 2414732 A | 07-12-2005 |
| | | KR 20050103306 A | 28-10-2005 |
| | | MX PA05008678 A | 04-11-2005 |
| | | NZ 542418 A | 31-07-2008 |
| | | US 2004071702 A1 | 15-04-2004 |
| | | US 2008166347 A1 | 10-07-2008 |
| | | US 2008166802 A1 | 10-07-2008 |
| | | WO 2004076620 A2 | 10-09-2004 |
| ----- | | | |

フロントページの続き

| (51)Int.Cl. | F I | テーマコード(参考) |
|--------------------------|----------------|------------|
| C 1 2 N 1/21 (2006.01) | C 1 2 N 1/21 | |
| C 1 2 N 5/10 (2006.01) | C 1 2 N 5/10 | |
| C 1 2 P 21/08 (2006.01) | C 1 2 P 21/08 | |
| C 1 2 N 15/02 (2006.01) | C 1 2 N 15/00 | C |
| A 6 1 K 39/395 (2006.01) | A 6 1 K 39/395 | U |
| A 6 1 P 37/02 (2006.01) | A 6 1 K 39/395 | D |
| A 6 1 P 35/00 (2006.01) | A 6 1 P 37/02 | |
| A 6 1 P 33/00 (2006.01) | A 6 1 P 35/00 | |
| A 6 1 P 31/04 (2006.01) | A 6 1 P 33/00 | |
| A 6 1 P 31/12 (2006.01) | A 6 1 P 31/04 | |
| A 6 1 P 25/28 (2006.01) | A 6 1 P 31/12 | |
| A 6 1 P 19/02 (2006.01) | A 6 1 P 25/28 | |
| A 6 1 P 29/00 (2006.01) | A 6 1 P 19/02 | |
| A 6 1 P 17/06 (2006.01) | A 6 1 P 29/00 | 1 0 1 |
| A 6 1 P 1/04 (2006.01) | A 6 1 P 17/06 | |
| A 6 1 P 1/16 (2006.01) | A 6 1 P 1/04 | |
| A 6 1 P 25/00 (2006.01) | A 6 1 P 1/16 | |
| A 6 1 P 17/14 (2006.01) | A 6 1 P 25/00 | |
| A 6 1 P 37/06 (2006.01) | A 6 1 P 17/14 | |
| A 6 1 K 45/00 (2006.01) | A 6 1 P 37/06 | |
| G 0 1 N 33/53 (2006.01) | A 6 1 K 45/00 | |
| G 0 1 N 33/531 (2006.01) | G 0 1 N 33/53 | P |
| | G 0 1 N 33/531 | A |

(81)指定国 AP(BW, GH, GM, KE, LR, LS, MW, MZ, NA, RW, SD, SL, ST, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), EA(AM, AZ, BY, KG, KZ, RU, 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, DK, DM, DO, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, GT, HN, HR, HU, ID, IL, IN, IR, IS, JP, KE, KG, KN, KP, KR, KZ, LA, LC, LK, LR, LS, LU, LY, MA, MD, ME, MG, MK, MN, MW, MX, MY, MZ, NA, NG, NI, NO, NZ, OM, PA, PE, PG, PH, PL, PT, QA, RO, RS, RU, RW, SA, SC, SD, SE, SG, SK, SL, SM, ST, SV, SY, TH, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US

(72)発明者 ヴィカリ、アラン

フランス国 エフ - 7 4 1 6 0 ネダン ラ リュレル、3 2

(72)発明者 レジェ、オリヴィエ

フランス国 エフ - 7 4 8 0 0 サン - シクス ルト デ リュシュ、6 0 3

Fターム(参考) 4B064 AG27 CA10 CA19 CC24 DA01 DA13

4B065 AA90X AA91X AA91Y AA93Y AB01 AB05 AC14 BA02 BA08 CA25

CA44 CA46

4C084 AA19 NA05 ZB071 ZB081 ZB111 ZB261 ZB331 ZB351 ZB371

4C085 AA13 AA14 BB17 CC23 DD62 EE01 GG01

4H045 AA11 AA30 BA41 DA76 EA20 EA50 FA74

| | | | |
|----------------|---|---------|------------|
| 专利名称(译) | <无法获取翻译> | | |
| 公开(公告)号 | JP2017532048A5 | 公开(公告)日 | 2018-06-28 |
| 申请号 | JP2017519981 | 申请日 | 2015-07-01 |
| [标]申请(专利权)人(译) | CALYPSO BIOTECH | | |
| [标]发明人 | ヴィカリアラン レジェオリヴィエ | | |
| 发明人 | ヴィカリ、アラン レジェ、オリヴィエ | | |
| IPC分类号 | C12N15/09 C07K16/24 C07K16/46 C12N11/15 C12N1/19 C12N1/21 C12N5/10 C12P21/08 C12N15/02 A61K39/395 A61P37/02 A61P35/00 A61P33/00 A61P31/04 A61P31/12 A61P25/28 A61P19/02 A61P29 /00 A61P17/06 A61P1/04 A61P1/16 A61P25/00 A61P17/14 A61P37/06 A61K45/00 G01N33/53 G01N33/531 | | |
| CPC分类号 | A61K2039/505 C07K16/244 C07K2317/24 C07K2317/33 C07K2317/76 C07K2317/92 G01N33/6869 G01N2333/7155 A61P1/00 A61P1/04 A61P1/16 A61P3/00 A61P17/06 A61P17/14 A61P19/02 A61P25 /00 A61P25/28 A61P29/00 A61P31/04 A61P31/12 A61P33/00 A61P35/00 C07K2317/34 C07K2317/56 G01N2333/5443 | | |
| FI分类号 | C12N15/00.ZNA.A C07K16/24 C07K16/46 C12N11/15 C12N1/19 C12N1/21 C12N5/10 C12P21/08 C12N15/00.C A61K39/395.U A61K39/395.D A61P37/02 A61P35/00 A61P33/00 A61P31/04 A61P31/12 A61P25/28 A61P19/02 A61P29/00.101 A61P17/06 A61P1/04 A61P1/16 A61P25/00 A61P17/14 A61P37 /06 A61K45/00 G01N33/53.P G01N33/531.A | | |
| F-TERM分类号 | 4B064/AG27 4B064/CA10 4B064/CA19 4B064/CC24 4B064/DA01 4B064/DA13 4B065/AA90X 4B065 /AA91X 4B065/AA91Y 4B065/AA93Y 4B065/AB01 4B065/AB05 4B065/AC14 4B065/BA02 4B065 /BA08 4B065/CA25 4B065/CA44 4B065/CA46 4C084/AA19 4C084/NA05 4C084/ZB071 4C084/ZB081 4C084/ZB111 4C084/ZB261 4C084/ZB331 4C084/ZB351 4C084/ZB371 4C085/AA13 4C085/AA14 4C085/BB17 4C085/CC23 4C085/DD62 4C085/EE01 4C085/GG01 4H045/AA11 4H045/AA30 4H045 /BA41 4H045/DA76 4H045/EA20 4H045/EA50 4H045/FA74 | | |
| 代理人(译) | 伊奈美稔 田村 庆政 | | |
| 优先权 | 2014175361 2014-07-02 EP | | |
| 其他公开文献 | JP6563012B2 JP2017532048A | | |

摘要(译)

本发明涉及结合IL-15的抗体，特别是人源化抗体。特别地，本发明的抗IL-15抗体能够中和IL-15的活性，并且具有自身免疫和/或炎性疾病，恶性肿瘤，移植排斥，代谢状况和/或寄生虫。 ，对于预防和/或治疗由病毒或细菌病原体引起的感染很有用。

