

(19) 日本国特許庁(JP)

(12) 特許公報(B2)

(11) 特許番号

特許第5933975号
(P5933975)

(45) 発行日 平成28年6月15日 (2016. 6. 15)

(24) 登録日 平成28年5月13日 (2016. 5. 13)

(51) Int. Cl.	F I
A 6 1 K 39/395 (2006. 01)	A 6 1 K 39/395 Z N A N
A 6 1 K 9/08 (2006. 01)	A 6 1 K 9/08
A 6 1 K 47/22 (2006. 01)	A 6 1 K 47/22
A 6 1 K 47/26 (2006. 01)	A 6 1 K 47/26
A 6 1 K 47/34 (2006. 01)	A 6 1 K 47/34

請求項の数 18 (全 178 頁) 最終頁に続く

(21) 出願番号	特願2011-536452 (P2011-536452)
(86) (22) 出願日	平成21年11月12日 (2009. 11. 12)
(65) 公表番号	特表2012-508755 (P2012-508755A)
(43) 公表日	平成24年4月12日 (2012. 4. 12)
(86) 国際出願番号	PCT/US2009/064127
(87) 国際公開番号	W02010/056804
(87) 国際公開日	平成22年5月20日 (2010. 5. 20)
審査請求日	平成24年11月8日 (2012. 11. 8)
審査番号	不服2015-6713 (P2015-6713/J1)
審査請求日	平成27年4月9日 (2015. 4. 9)
(31) 優先権主張番号	61/249, 365
(32) 優先日	平成21年10月7日 (2009. 10. 7)
(33) 優先権主張国	米国 (US)
(31) 優先権主張番号	61/113, 796
(32) 優先日	平成20年11月12日 (2008. 11. 12)
(33) 優先権主張国	米国 (US)

(73) 特許権者	504333972 メディミュン、エルエルシー アメリカ合衆国 20878 メリーランド州、ゲイサーズバーグ、ワン メディミュン ウェイ
(74) 代理人	100091096 弁理士 平木 祐輔
(74) 代理人	100118773 弁理士 藤田 節
(74) 代理人	100122389 弁理士 新井 栄一
(74) 代理人	100111741 弁理士 田中 夏夫

最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 抗体製剤

(57) 【特許請求の範囲】

【請求項 1】

ヒトICOSに特異的に結合する抗体を含む無菌の安定した水性製剤であって、

a) 前記抗体は、フコースが糖鎖の還元末端のN-アセチルグルコサミンと結合しない複合N-グリコシド結合糖鎖を有するFc領域を含み、

b) 前記抗体は、溶液中で可逆的な自己会合を起こし、前記可逆的な自己会合は、凝集体形成を誘発せず、

c) 前記抗体の少なくとも10モル%は、37、10mg/mLの抗体濃度のPBS中で三量体として存在し、

d) 前記抗体は配列番号7の重鎖可変配列、および配列番号2の軽鎖可変配列を含み、
かつ、

前記製剤は、5mg/mL~10mg/mLの前記抗体、5mM~25mMのヒスチジン、2%~15%のトレハロース、および0.005%~1%のポリソルベート80を含み、前記製剤のpHは5.5~6.5である、
前記製剤。

【請求項 2】

前記製剤は、10mg/mLの前記抗体、10mMのヒスチジン、4%のトレハロース、および0.02%のポリソルベート80を含み、前記製剤の前記pHは6である、請求項1に記載の製剤。

【請求項 3】

10

20

前記抗体は、配列番号 6 の重鎖配列および配列番号 1 の軽鎖配列を含む、請求項 1 または 2 に記載の製剤。

【請求項 4】

前記製剤は等張性である、請求項 1 ~ 3 のいずれか 1 項に記載の製剤。

【請求項 5】

前記製剤は、薬学的に許容される製剤である、請求項 1 ~ 4 のいずれか 1 項に記載の製剤。

【請求項 6】

前記抗体は、5 での3 ヶ月間の前記製剤の保存中に、そのヒトICOS結合活性の20 % 以下を失う、請求項 1 ~ 5 のいずれか 1 項に記載の製剤。

10

【請求項 7】

前記抗体の5 % 未満は、HPSECによって測定される通り、40 での1 ヶ月間保存すると、凝集体を形成する、請求項 1 ~ 5 のいずれか 1 項に記載の製剤。

【請求項 8】

前記抗体の5 % 未満は、RP-HPLCによって測定される通り、40 での2 ヶ月間保存すると、断片化される、請求項 1 ~ 5 のいずれか 1 項に記載の製剤。

【請求項 9】

前記製剤は注射製剤である、請求項 1 ~ 8 のいずれか 1 項に記載の製剤。

【請求項 10】

前記製剤は、静脈内、皮下、または筋肉内投与に適している、請求項 9 に記載の製剤。

20

【請求項 11】

適切な容器に請求項 1 ~ 10 のいずれか 1 項に記載の抗体製剤を含む、ヒトに対する非経口投与に適している薬学単位剤形。

【請求項 12】

請求項 1 ~ 10 のいずれか 1 項に記載の製剤を含有する、プレフィルドシリンジ。

【請求項 13】

ヒトにおける自己免疫病または疾患を治療するための請求項 1 ~ 10 のいずれか 1 項に記載の製剤。

【請求項 14】

前記自己免疫病または疾患は、SLEまたは強皮症である、請求項 13 に記載の製剤。

30

【請求項 15】

ヒト移植患者における拒絶を治療または防止するための請求項 1 ~ 10 のいずれか 1 項に記載の製剤。

【請求項 16】

ヒトにおける炎症性疾病または疾患を治療するための請求項 1 ~ 10 のいずれか 1 項に記載の製剤。

【請求項 17】

ヒト患者においてICOSを発現するT細胞を枯渇させるための請求項 1 ~ 10 のいずれか 1 項に記載の製剤。

【請求項 18】

霊長類動物の二次リンパ器官の胚中心構造を破壊するための請求項 1 ~ 10 のいずれか 1 項に記載の製剤。

40

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0001】

1. 序文

本開示は、ヒトICOSポリペプチドに特異的に結合し、増加したインビボADCC活性を示し、溶液中で可逆的な自己会合を起こす抗体またはその断片の液体製剤に関し、製剤は、長期間の保存中でさえも安定性、低レベルから検出不能なレベルの抗体の断片化、低レベルから検出不能なレベルの凝集、およびほんのわずから皆無の抗体の生物活性の

50

損失を示す。本開示は、ヒトICOSポリペプチドに特異的に結合し、増加したインビボADCC活性を示す抗体またはその断片の高濃度液体製剤を利用する、ICOS媒介疾病または疾患（例えば、限定されないが、全身性エリテマトーデス、筋肉炎、多発性硬化症、強皮症、炎症性腸疾患、インスリン依存性糖尿病、乾癬、自己免疫性甲状腺炎、関節リウマチおよび糸球体腎炎、移植拒絶反応、移植片対宿主病）に付随した症状を防止（予防）する、治療する、管理する、または寛解させる方法にも関する。

【背景技術】

【0002】

2. 背景

ICOSは、細胞外(Ig)V様ドメインを含むI型膜貫通タンパク質である。ICOSは、B7h同時刺激分子に対する受容体として機能する。ICOS発現は、ナイーブヒトT細胞では低いが、TCR結合の数時間後には上方制御される。ICOS発現は、Th1、Th2、およびTh17CD4⁺細胞等の活性化したT細胞の亜集団上で持続する。

10

【0003】

ICOS発現が活性化したヘルパーT細胞集団に集中することを考えると、増強したエフェクター機能を有する抗ICOS抗体の治療用途は、増強したエフェクター機能を有する治療用抗ICOS抗体を使用して、限定されないが、慢性感染、自己免疫病または疾患、炎症性疾患または疾患、移植片対宿主病(GVHD)、移植拒絶反応、およびT細胞増殖性疾患等の、T細胞媒介疾病および疾患の治療および防止の有効性を改善することが期待できる。

20

【0004】

現在、多くの抗体は、凍結乾燥製剤として提供されている。抗体の凍結乾燥製剤には、凍結乾燥のための長期のプロセスおよび製造によって生じる高コストを含む、多くの制限がある。さらに、凍結乾燥製剤は、患者に投与する前に医療関係者によって、無菌で正確に再構成されなければならない。したがって、投与する前に製剤を再構成する必要がないように、再構成した凍結乾燥製剤に相当する、またはそれよりも高い濃度での抗体、特に抗ヒトICOS抗体の液体製剤が必要である。これによって、医療関係者による、患者へのはるかに迅速かつ容易な抗体の投与が可能となる。

【0005】

従来の液体抗体調製物は、有効期間が短く、保存中の化学的および物理的な不安定性から生じる、抗体の生物活性の喪失の可能性がある。化学的な不安定性は、脱アミド、ラセミ化、加水分解、酸化、ペータ脱離、またはジスルフィド交換によって生じる可能性があり、物理的な不安定性は抗体の変性、凝集、沈殿または吸着によって生じる可能性がある。それらの中で、凝集、脱アミド、および酸化は、抗体の分解の最も一般的な原因として知られている(Wang et al., 1988, J. of Parenteral Science & Technology 42 (Suppl): S4 - S26, Cleland et al., 1993, Critical Reviews in Therapeutic Drug Carrier Systems 10 (4): 307 - 377)。したがって、抗体の安定な液体製剤、特に安定な液体抗ヒトICOS抗体が必要である。

30

40

【発明の概要】

【0006】

3. 概要

本開示は、ヒトICOSと特異的に結合し、増強したエフェクター機能を有し、溶液中で可逆的な自己会合を起こす抗体またはその断片を含む、無菌の安定な水性製剤に関する。一実施形態において、本開示は、米国特許出願第12/116,512号に記載される抗ICOS抗体の製剤を提供する。特定の実施形態において、本開示の製剤は、フコースが糖鎖の還元末端でN-アセチルグルコサミンと結合しない、複合N-グリコシド結合糖鎖を有するFc領域を含む抗ヒトICOS抗体を含む。別の実施形態において、本開示の製剤は、配列番号6の重鎖配列および配列番号1の軽鎖配列を含む抗ヒトICOS抗体を

50

含む。さらなる実施形態において、本明細書に記載する製剤は、溶液中で可逆的な自己会合を起こす抗ヒトICOS抗体を含み、抗体の少なくとも10モル%は、37で10mg/mLの抗体濃度のPBS中で三量体として存在し、可逆的な自己会合は凝集体形成を誘発しない。一実施形態において、本開示の製剤はプレフィルドシリンジで提供される。

【0007】

本開示は、抗ヒトICOS抗体またはその断片を安定化させる方法を提供する。

【0008】

本開示は、ヒトICOSと特異的に結合する抗体またはその断片を含む無菌の安定な水性製剤を作製するプロセスにさらに関する。

【0009】

本開示は、炎症性疾病または疾患、自己免疫病または疾患、増殖性疾病、T細胞増殖性疾病、感染、ICOSの異常発現および/または活性に付随したまたはそれを特徴とする疾病または疾患、ICOS受容体の異常発現および/または活性に付随したまたはそれを特徴とする疾病または疾患、またはそれらの1つ以上の症状を防止する、管理する、治療する、または寛解させる方法も包含し、該方法は、それを必要とする対象に、予防上または治療上有効な量の抗ヒトICOS抗体製剤を投与することを含む。本開示は、増強したエフェクター機能を有する抗ICOS抗体を含む製剤を使用して、これらに限定されないが、慢性感染、自己免疫病または疾患、炎症性疾病または疾患、移植片対宿主病(GVHD)、移植拒絶反応、およびT細胞増殖性疾患等のT細胞媒介疾病および疾患を治療または防止する方法にも関する。

【0010】

3.1. 定義

対象の抗原(例えば、ICOS)と特異的に結合する抗体および/または抗体の断片のすべての製剤は、本明細書において総括して「本開示の製剤」、「本開示の液体製剤」、「本開示の高濃度の安定な液体製剤」、「本開示の抗体液体製剤」、または「本開示の抗体製剤」と称される。

【0011】

本明細書で使用する「抗体(単数および複数)」(免疫グロブリン)という用語は、モノクローナル抗体(全長モノクローナル抗体を含む)、ポリクローナル抗体、少なくとも2つの無傷の抗体から形成される多特異的な抗体(例えば、二重特異性抗体)、ヒト抗体、ヒト化抗体、ラクダ化抗体、キメラ抗体、一本鎖Fv(scFv)、一本鎖抗体、単ドメイン抗体、ドメイン抗体、Fab断片、F(ab')₂断片、所望の生物活性を示す抗体の断片、ジスルフィド結合Fv(sdFv)、および抗イディオタイプ(抗Id)抗体(例えば抗Id抗体~本開示の抗体を含む)、細胞内抗体、および上記のうちのいずれかのエピトープ結合断片を包含する。特に、抗体は免疫グロブリン分子、開示した分子の生物活性断片、および免疫グロブリン分子の免疫学的に活性な断片、すなわち抗原結合部位を含有する分子を含む。免疫グロブリン分子は、任意の種類(例えばIgG、IgE、IgM、IgD、IgA、およびIgY)、クラス(例えば、IgG1、IgG2、IgG3、IgG4、IgA1、およびIgA2)またはサブクラスであってよい。

【0012】

天然抗体は大抵、2つの同一の軽鎖(L)および2つの同一の重鎖(H)からなる約150,000ダルトンのヘテロテトラマー糖タンパク質である。各軽鎖は、1つの共有ジスルフィド結合により重鎖と結合されるが、ジスルフィド結合の数は、異なる免疫グロブリンアイソタイプの重鎖の間で変化する。それぞれの重鎖および軽鎖は、規則的間隔をおいた鎖内ジスルフィド架橋も有する。それぞれの重鎖は、一端に可変ドメイン(VH)を有し、後にある数の定常ドメインが続く。それぞれの軽鎖は、1つの末端に可変ドメインを(VL)、もう一方の末端に定常ドメインを有し、軽鎖の定常ドメインは重鎖の第1の定常ドメインと整列し、軽鎖の可変ドメインは重鎖の可変ドメインと整列する。軽鎖は、軽鎖の定常ドメインのアミノ酸配列を基に鎖または鎖のどちらかに分類される。軽鎖の可変ドメインは、本明細書においてVKとしても示され得る。重鎖または軽鎖の可変

10

20

30

40

50

ドメインを説明するために、「可変領域」という用語も使用され得る。特定のアミノ酸残基は、軽鎖および重鎖の可変ドメイン間のインターフェースとして形成されると考えられる。かかる抗体は、ヒト、サル、ブタ、ウマ、ウサギ、イヌ、ネコ、マウス等を含むがこれに限定されない、いずれの哺乳動物から生じるものであってもよい。

【0013】

「可変」という用語は、可変ドメインの特定部分が、抗体間で、配列が広範囲にわたって異なる、および特定の抗原に対して各特定の抗体の結合特異性の原因であるという事実を指している。しかし、可変性は、均一に抗体の可変ドメインにわたって分布されない。可変性は、軽鎖および重鎖可変ドメインの両方の、相補性決定領域(CDR)と称される部分に集中している。可変ドメインのより高度に保存された部位は、フレームワーク領域(FW)と称される。天然の重鎖および軽鎖の可変ドメインのそれぞれは、主としてシート配置をとる4つのFW領域を含み、これらは、このシート構造を結び付け、場合によってはその一部を形成するループを形成する3つのCDRによって結び付けられている。各鎖におけるCDRは、FW領域によって極めて接近して保持され、他の鎖からのCDRと共に、抗体の抗原結合部位の形成に寄与する(Kabat et al., Sequences of Proteins of Immunological Interest, 5th Ed. Public Health Service, National Institutes of Health, Bethesda, MD (1991)を参照)。定常ドメインは、一般的に抗原結合に直接関与しないが、抗原結合親和性に影響を与え、ADCC、CDC、抗体依存性食作用および/またはアポトーシスへの抗体の関与等の様々なエフェクター機能を示すことができる。

【0014】

本明細書で使用する場合、「超可変領域」は、抗原への結合に関連する抗体のアミノ酸残基を指す。超可変領域は、「相補性決定領域」または「CDR」のアミノ酸残基(例えば、軽鎖可変ドメインの残基24~34(L1)、50~56(L2)、および89~97(L3)、および重鎖可変ドメインの残基31~35(H1)、50~65(H2)、および95~102(H3)、Kabat et al., Sequences of Proteins of Immunological Interest, 5th Ed. Public Health Service, National Institutes of Health, Bethesda, MD (1991))および/または「超可変ループ」からの残基(例えば、軽鎖可変ドメインにおける残基26~32(L1)、50~52(L2)および91~96(L3)、および重鎖可変ドメインにおける残基26~32(H1)、53~55(H2)、および96~101(H3)、Chothia and Lesk, J. Mol. Biol., 196:901-917 (1987))を包含する。「フレームワーク」または「FW」残基は、CDRに隣接するそれらの可変ドメイン残基である。FW残基は、キメラの、ヒト化の、ヒト、ドメイン抗体、二特異性抗体、ワクシボディ(vaccibody)、直線状抗体、および二重特異性抗体に存在する。

【0015】

本明細書で使用する「Fc領域」は、第1の定常領域の免疫グロブリンドメインを除く抗体の定常領域を含むポリペプチドを含む。したがってFcは、IgA、IgD、およびIgGの最後の2つの定常領域の免疫グロブリンドメイン、IgEおよびIgMの最後の3つの定常領域の免疫グロブリンドメイン、ならびにこれらのドメインに対する可動性のヒンジのN末端を指す。IgAおよびIgMに対して、FcはJ鎖を含むことができる。IgGに対して、Fcは免疫グロブリンドメインCガンマ2およびCガンマ3(C₂およびC₃)ならびにCガンマ1(C₁)とCガンマ2(C₂)との間のヒンジを含む。Fc領域の境界は変化し得るが、ヒトIgG重鎖のFc領域は大抵、C₂26またはP230からそのカルボキシル末端までの残基を含むものと定義され、番号付けは、Kabataら(1991, NIH Publication 91-3242, National Technical Information Service, Springf

10

20

30

40

50

i e l d , V A) に記載の E U インデックスに従う。「K a b a t に記載の E U インデックス」は、上記の K a b a t らに記載されるヒト I g G 1 E U 抗体の残基番号付けを指す。F c は、この領域単独、または抗体、抗体の断片、もしくは F c 融合タンパク質と関連したこの領域、を指すことができる。F c 変異タンパク質は、抗体、F c 融合、または F c 領域を含む任意のタンパク質もしくはタンパク質ドメインであり得る。特に好ましくは、F c 領域の非自然発生変異である、変異 F c 領域を含むタンパク質である。(本明細書において「変異 F c 領域」としても称される)非自然発生 F c 領域のアミノ酸配列は、野生型アミノ酸配列と比べて少なくとも 1 つのアミノ酸残基の置換、挿入、および/または欠失を含む。挿入または置換の結果として変異 F c 領域の配列に現れる任意の新しいアミノ酸残基は、非自然発生アミノ酸残基として称され得る。注釈：多型は、K a b a t 2 7 0、2 7 2、3 1 2、3 1 5、3 5 6、および 3 5 8 を含むがこれらに限定されない、多くの F c 位置に認められており、したがって提示された配列と先行技術の配列との間にわずかな差異が存在する可能性がある。

10

【0016】

本明細書で使用する「モノクローナル抗体」という用語は、実質的に均一な抗体の集団から得た抗体を指す、すなわち集団を構成する個々の抗体は、少量に存在する可能性のある可能な自然発生的な突然変異を除いて同一である。モノクローナル抗体は、非常に特異的であり、単一抗原部位に対して作られる。さらに、典型的に異なる決定因子(エピトープ)に対して作られる異なる抗体を含む、従来の(ポリクローナル)抗体調製物と対照的に、各モノクローナル抗体は、抗原上の単一の決定因子に対して作られる。それらの特異性に加えて、モノクローナル抗体は、それらが他の免疫グロブリン産出細胞によって汚染されていないハイブリドーマ細胞によって合成され得るという点で有利である。別の産出方法は当業者に知られており、例えばモノクローナル抗体をコードする重鎖および軽鎖遺伝子を安定的にまたは一過性に形質移入された細胞によって、モノクローナル抗体を産出することができる。

20

【0017】

修飾語「モノクローナル」は、抗体の実質的に均一な集団から得られる抗体の特徴を示し、任意の特定の方法による抗体の操作を必要とすると解釈されない。本明細書で使用する「モノクローナル」という用語は、任意の真核生物、原核生物、またはファージクローンを含む細胞のクローン集団に由来する抗体を指し、抗体を操作した方法ではない。例えば、本開示に従って使用されるモノクローナル抗体は、K o h l e r e t a l . , N a t u r e , 2 5 6 : 4 9 5 (1 9 7 5) によって初めて説明されたハイブリドーマ法によって作製され得るものであり、または例えば C l a c k s o n e t a l . , N a t u r e , 3 5 2 : 6 2 4 - 6 2 8 (1 9 9 1) a n d M a r k s e t a l . , J . M o l . B i o l . , 2 2 2 : 5 8 1 - 5 9 7 (1 9 9 1) に記載される技法を使用した、ファージ抗体ライブラリーからの単離を含む任意の組換え DNA 法(例えば米国特許第 4 , 8 1 6 , 5 6 7 号)によって作製され得る。これらの方法は、モノクローナル哺乳類、キメラ、ヒト化、ヒト、ドメイン抗体、二特異性抗体、ワクシボディ(v a c c i b o d y)、直線状抗体、および二重特異性抗体を産出するために使用され得る。

30

【0018】

「ヒト抗体」は、ヒトに由来する抗体、または抗原投与に反応して特異的なヒト抗体を産出するために「操作された」形質転換体から得られた抗体であり得、当該技術において知られている任意の方法によって産出され得る。ある技法において、ヒト重鎖および軽鎖の座位の要素は、内在性重鎖および軽鎖の座位の標的破損を含有する胚性幹細胞系に由来する生物の株に導入される。形質転換体は、ヒト抗原に対して特異的なヒト抗体を合成することができる、生物はヒト抗体を分泌するハイブリドーマを産出するために使用され得る。ヒト抗体は、重鎖および軽鎖がヒト DNA の 1 つ以上の源に由来するヌクレオチド配列によってコードされる抗体でもあり得る。完全ヒト抗体は、遺伝子的または染色体の形質移入法、ならびにファージディスプレイ技術、またはインビトロで活性化した I C O S 発現 T 細胞によっても構成され得、これらすべては、当該技術において知られている。

40

50

【 0 0 1 9 】

「抗体依存性細胞傷害」および「ADCC」は、非特異性の細胞傷害性細胞（例えば、ナチュラルキラー（NK）細胞、好中球、およびマクロファージ）が標的細胞の結合抗体を認識し、続いて標的細胞の溶解を引き起こす細胞性反応を指す。一実施形態において、かかる細胞はヒト細胞である。任意の特定の作用のメカニズムに限定されることを望まないが、ADCCを媒介するこれらの細胞傷害性細胞は、一般的にFc受容体（FcR）を発現する。ADCCを媒介する主たる細胞、NK細胞は、FcRIIIを発現し、一方単球は、FcRI、FcRII、FcRIII、および/またはFcRIVを発現する。造血細胞上のFcR発現は、Ravetch and Kinet, *Annu. Rev. Immunol.*, 9: 457 - 92 (1991) に要約される。分子のADC 10
C活性を査定するために、米国特許第5,500,362号または第5,821,337号に記載されるインビトロADCCアッセイ等を、実施することができる。かかるアッセイの有用なエフェクター細胞は、末梢血単核球（PBMC）およびナチュラルキラー（NK）細胞を含む。代わりに、またはさらに、目的の分子のADCC活性は、例えばClynes et al., *Proc. Natl. Acad. Sci. (USA)* 95: 652 - 656 (1988) に開示される動物モデル等においてインビボで査定されることが

【 0 0 2 0 】

「補体依存性細胞傷害」または「CDC」は、補体活性化を開始し、補体の存在下で標的を溶解する分子の能力を指す。補体活性化経路は、補体系（C1q）の第1の構成要素 20
と同族の抗原と複合体を形成した分子（例えば、抗体）との結合によって開始される。補体活性化を査定するために、例えばGazzano-Santaro et al., *J. Immunol. Methods*, 202: 163 (1996) に記載されるCDCアッセイを、実施することができる。

【 0 0 2 1 】

本明細書に記載する「抗体依存性食作用」または「オプソニン化」は、細胞媒介反応を指し、FcRsを発現する非特異的な細胞傷害性細胞は、標的細胞上に結合した抗体を認識し、続いて標的細胞の食作用を生じる。

【 0 0 2 2 】

「エフェクター細胞」は、1つ以上のFcRを発現する白血球であり、エフェクター機能を実施する。細胞は、少なくともFcRI、FcRII、FcRIII、および/またはFcRIVを発現し、ADCCエフェクター機能を実行する。ADCCを媒介するヒト白血球の例は、末梢血単核球（PBMC）、ナチュラルキラー（NK）細胞、単球、細胞傷害性T細胞、および好中球を含む。 30

【 0 0 2 3 】

「Fc受容体」または「FcR」は、抗体のFc領域と結合する受容体を説明するために使用される。一実施形態において、FcRは天然配列ヒトFcRである。さらに、ある実施形態において、FcRは、IgG抗体（ガンマ受容体）と結合し、FcRI、FcRII、FcRIII、およびFcRIVサブクラスの受容体を含むものであり、対立遺伝子変異型および、あるいは、これらの受容体のスプライスされた形態を含む。FcRII受容体は、主に細胞質ドメインが異なる同様のアミノ酸配列を有するFcRIIA（「活性化する受容体」）およびFcRIIB（「抑制する受容体」）を含む。活性化する受容体FcRIIAは、細胞質ドメインに免疫受容活性化チロシンモチーフ（ITAM）を含有する。抑制する受容体FcRIIBは、細胞質ドメインに免疫受容抑制性チロシンモチーフ（ITIM）を含有する。（Daeron, *Annu. Rev. Immunol.*, 15: 203 - 234 (1997) を参照）。FcRは、Ravetch and Kinet, *Annu. Rev. Immunol.*, 9: 457 - 92 (1991)、Capel et al., *Immunomethods*, 4: 25 - 34 (1994)、およびde Haas et al., *J. Lab. Clin. Med.*, 126: 330 - 41 (1995) でレビューされている。将来同定されるものを含む 40 50

他のFcRは、本明細書において「FcR」という用語で包含される。その用語は、胎児へ母性IgGを移動する新生児受容体、FcRnも含む(Guyer et al., Immunol., 117:587(1976)およびKim et al., J. Immunol., 24:249(1994))。

【0024】

本明細書に記載する治療に使用されるエピトープに対する抗体の「親和性」は、当該技術においてよく理解される用語であり、エピトープと抗体との結合の範囲、強さを意味する。親和性は、平衡解離定数(KDまたはKd)、見かけの平衡解離定数(KD'またはKd')、およびIC50(拮抗実験の50%抑制を生じるために必要な量)を含むがこれらに限定されない当該技術において知られている多くの方法で測定および/または表現され得る。本開示のために、親和性は、エピトープと結合する抗体のある集団に対する平均親和性であることを理解されたい。1mL当たりのmg IgGまたはmg/mLに関して本明細書で報告するKD'の値は、血漿を使用することができるが、血清の1mL当たりのmg IgGを示す。抗体親和性が本明細書に記載する治療方法の投与の根拠、または本明細書に記載の治療方法の選択として使用される場合、抗体親和性を治療の前および/または治療中に測定することができ、得られた値をヒト患者が治療に対して適切な候補であるか否か査定する際に、臨床医が使用することができる。

10

【0025】

本明細書で使用する「結合活性」という用語は、抗体が抗原と結合する全体的な結合強さ(すなわち、両方の抗体アーム)の尺度である。抗体結合活性を、これだけに限定されないが、Gray et al., J. Virol. Meth., 44:11-24.(1993)に記載される間接蛍光抗体の修飾によって等の、当該技術において知られている任意の手段を使用して抗原過剰の状態での抗原抗体結合の解離を測定することによって決定することができる。

20

【0026】

「エピトープ」は、当該技術においてよく理解される用語であり、抗体との特異的な結合を示す任意の化学的な部分を意味する。「抗原」はエピトープを含有する部分または分子であり、従って、やはり抗体と特異的に結合する。

【0027】

本明細書で使用する「抗体半減期」という用語は、抗体分子の投与後の平均生存期間の尺度である抗体の薬物動態特性を意味する。抗体半減期は、例えば血清または血漿で測定して(すなわち循環半減期)または他の組織で測定して、患者の体またはその特定の区画から免疫グロブリンの既知量の50%を排除するために必要な時間として表現することができる。半減期は、免疫グロブリンまたは免疫グロブリンのクラスによって異なる。一般的には、抗体半減期の増加は、投与された抗体に対する循環の平均滞留時間(MRT)の増加を引き起こす。

30

【0028】

「アイソタイプ」という用語は、抗体の重鎖または軽鎖の定常領域の分類を指す。抗体の定常ドメインは、抗原との結合に関与しないが、様々なエフェクター機能を示す。重鎖定常領域のアミノ酸配列に依存して、所与のヒト抗体または免疫グロブリンは、免疫グロブリンの5つの主要クラスIgA、IgD、IgE、IgG、およびIgMのうちの1つに割り当てることができる。これらのクラスのうちのいくつかは、サブクラス(アイソタイプ)、例えばIgG1(1)、IgG2(2)、IgG3(3)、およびIgG4(4)、ならびにIgA1およびIgA2にさらに分けられることができる。免疫グロブリンの異なるクラスに対応する重鎖定常領域は、それぞれ、 γ 、 δ 、 ϵ 、および μ と称される。免疫グロブリンの異なるクラスの構造および三次元配置は、よく知られている。様々なヒト免疫グロブリンのクラスのうち、ヒトIgG1、IgG2、IgG3、IgG4、およびIgMのみが補体を活性化することで知られている。ヒトIgG1およびIgG3は、ヒトにおいてADCCを媒介することで知られている。ヒト軽鎖定常領域は、 κ および λ の2つの主要クラスに分類することができる。

40

50

【0029】

本明細書に使用する「免疫原性」は、化合物が免疫応答を誘発することができる（特定の抗体の産出および/または特定のT細胞の増殖を刺激する）ことを意味する。

【0030】

本明細書で使用する、「抗原性」は、化合物が抗体によって認識されること、または抗体と結合し、免疫応答を誘発することができることを意味する。

【0031】

本明細書で使用する「賦形剤」という用語は、増加したタンパク質安定性、増加したタンパク質溶解性、および減少した粘度等の製剤に対して有益な物理的性質を分け与える薬物に対する希釈剤、媒体、防腐剤、結合剤、または安定化剤として一般に使用される不活性物質を指す。賦形剤の例は、タンパク質（例えば、これに限定されないが血清アルブミン）、アミノ酸（例えば、これらに限定されないがアスパラギン酸、グルタミン酸、リジン、アルギニン、グリシン）、界面活性剤（例えば、これらに限定されないが、SDS、Tween 20、Tween 80、ポリソルベート、および非イオン界面活性剤）、糖類（例えば、これらに限定されないが、グルコース、ショ糖、マルトース、およびトレハロース）、ポリオール（例えば、これらに限定されないが、マンニトールおよびソルビトール）、脂肪酸およびリン脂質（例えば、これらに限定されないが、スルホン酸アルキルおよびカプリル酸）を含むがこれらに限定されない。賦形剤についての追加情報については、本明細書においてすべてが組み込まれる、Remington's Pharmaceutical Sciences (by Joseph P. Remington, 18th ed., Mack Publishing Co., Easton, PA)を参照されたい。

【0032】

本明細書に記載する「薬学的に許容される」という語句は、連邦または州政府の規制当局によって許可された、または動物、および特にヒトでの使用に対して米国薬局方、欧州薬局方、または他の一般的に認識されている薬局方に記載されたことを意味する。

【0033】

対象の抗原（例えば、ICOS）と特異的に結合する抗体（その抗体断片を含む）を含む液体製剤と関連して、本明細書で使用する「安定性」および「安定な」という用語は、ある製造、調製、輸送、および保存条件下で、凝集、分解、または断片化に対する製剤の抗体（その抗体断片を含む）の耐性を指す。本開示の「安定な」製剤は、ある製造、調製、輸送、および保存条件下にて生物活性を保持する。参照製剤と比較して、HPSEC、逆相クロマトグラフィー、静的光散乱（SLS）、動的光散乱（DLS）、フーリエ変換赤外分光法（FTIR）、円二色性（CD）、尿素アンフォールド技術、内在性のトリプトファン蛍光、示差走査熱量測定、および/またはANS結合技術によって、測定する凝集、分解、または断片化の度合いによって、該抗体（その抗体断片を含む）の安定性を、査定することができる。例えば、参照製剤は、80 mM NaCl、4%トレハロース、および0.02%ポリソルベート80を含有する10 mMヒスチジン、pH 6.0~6.5で、10 mg/mLの抗体（その抗体断片を含む）（例えば、これに限定されないが、配列番6の重鎖配列、配列番号1の軽鎖配列、およびフコースが糖鎖の還元末端にてNアセチルグルコサミンと結合しない複合Nグリコシド結合糖鎖を有するFc領域を含む抗体）からなる-70で凍結した標準試料であってよく、この参照製剤は、HPSECによって単一の単量体ピーク（例えば97%範囲）を定期的に示す。抗体（その抗体断片を含む）を含む製剤の全体の安定性を、例えば、ELISAおよび単離された抗原分子を使用した放射免疫アッセイを含む様々な免疫学的アッセイによって査定することができる。

【0034】

本明細書で使用する「凝集の低から検出不能なレベル」という語句は、高速サイズ排除クロマトグラフィー（HPSEC）または静的光散乱（SLS）技術によって測定されるタンパク質の約5重量%以下、約4重量%以下、約3重量%以下、約2重量%以下、約1重量%以下、および約0.5重量%以下の凝集を含有する試料を指す。

【 0 0 3 5 】

本明細書で使用する「断片化の低から検出不能なレベル」という用語は、非分解抗体またはその非分解断片を示し、総タンパク質の約5%を超える、約4%を超える、約3%を超える、約2%を超える、約1%を超える、または約0.5%を超える量をそれぞれに有する他の単一ピークを含有しない、例えばH P S E Cまたは逆相クロマトグラフィーによって測定される単一ピーク、または還元キャピラリーゲル電気泳動（r C G E）によって測定される2つのピーク（例えば、重鎖および軽鎖）（またはサブユニットと同じ数のピーク）に、総タンパク質量の約80%、約85%、約90%、約95%、約98%、または約99%と同等またはそれ以上を含有する試料を指す。本明細書で使用する「還元キャピラリーゲル電気泳動」という用語は、抗体のジスルフィド結合を還元するために十分な還元条件下でのキャピラリーゲル電気泳動を指す。

10

【 0 0 3 6 】

本明細書で使用する「疾患」および「疾病」という用語は、対象が、健康な、無影響の対象と異なる対象の状態を指すために互換的に使用される。特に、「自己免疫病」という用語は、対象自身の細胞、組織および/または臓器に対する対象の免疫性反応によって生じた細胞、組織および/または臓器損傷を特徴とする対象の状態を指すために、「自己免疫疾患」という用語と互換的に使用される。「炎症性疾病」という用語は、炎症、例えば、これに限定されないが、慢性炎症を特徴とする対象の状態を指すために、「炎症性疾患」という用語と互換的に使用される。自己免疫疾患は、炎症を伴っても伴わなくてもよい。さらに、炎症は、自己免疫疾患に起因するものであってもそうでなくてもよい。ある状態は、2つ以上の疾患として特徴付けられる可能性がある。例えば、ある状態は、自己免疫疾患および炎症性疾患の両方として特徴付けられる可能性がある。

20

【 0 0 3 7 】

「治療（単数および複数）」という用語は、疾病もしくは疾患の防止（予防）、治療、および/または管理で用いることができる、任意の1もしくは複数のプロトコール、方法、および/または薬剤を指すことができる。

【 0 0 3 8 】

「治療する」、「治療」、または「の治療」（または文法的に同等の用語）の用語は、対象の状態の重症度が、縮小した、または少なくとも部分的に改善した、または寛解した、および/または少なくとも1つの臨床症状の多少の軽減、緩和、または減少が達成された、および/または状態の進行の抑制または遅延、および/または疾病または病気の発症の防止または遅延があることを意味する。したがって、「治療する」、「治療」、または「の治療」（または文法的に同等の用語）の用語は、予防的および治療的処置管理体制の両方を指す。

30

【 0 0 3 9 】

本明細書で使用する「管理する」、「管理している」、および「管理」という用語は、疾病の治療につながらない、対象が治療（例えば、予防的または治療剤）から得られる有益な効果を指す。ある実施形態において、疾病の進行または悪化を防止するために、疾病を「管理する」ために対象に1つ以上の治療（例えば1つ以上の予防的または治療剤）を実行する。

40

【 0 0 4 0 】

本明細書で使用する「防止（予防）する」、「防止している」、および「防止」という用語は、治療の実行（例えば、予防剤または治療剤）、または治療の組み合わせの実行（例えば予防剤または治療剤の組み合わせ）の結果起きた、疾病または疾患の発達または発症の抑制、または対象の疾病または疾患の1つ以上の症状の再発、発症、または発達の防止を指す。

【 0 0 4 1 】

本明細書で使用する「予防剤（単数および複数）」という用語は、疾病または疾患の発症、再発、または発達の防止に使用され得る任意の薬剤を指す。ある実施形態において、「予防剤」という用語は、ヒトI C O Sと特異的に結合する抗体を指す。ある他の実施形

50

態において、「予防剤」という用語は、ヒトICOSと特異的に結合する抗体以外の薬剤を指す。ある実施形態において、予防剤は、疾病または疾患の発症、発達、進行および/または重症度を防止する、または妨害するために有用と知られている、またはそのために使用されてきた、または現在使用されている薬剤である。

【0042】

本明細書で使用される、免疫調節剤、免疫調節体、または免疫調節薬を含むがこれらに限られない「免疫調節剤」という用語およびその変種は、宿主の免疫系を調節する薬剤を指す。特定の実施形態において、免疫調節剤は、対象の免疫応答の一態様を変化する薬剤である。ある実施形態において、免疫調節剤は、対象の免疫系（すなわち、免疫抑制剤）を抑制するまたは減少する薬剤である。ある他の実施形態において、免疫調節剤は、対象の免疫系を活性化する、または増加する薬剤である（すなわち免疫賦活剤）。本開示に従って、本開示の治療と組み合わせて使用される免疫調節剤は、本開示の抗体を含まない。免疫調節剤は、小分子、ペプチド、ポリペプチド、タンパク質、核酸（例えば、これらに限定されないが、アンチセンスヌクレオチド配列、三重らせん体、RNAi、および生物活性タンパク質、ポリペプチド、またはペプチドをコードするヌクレオチド配列を含むがこれらに限定されないDNAおよびRNAヌクレオチド）、抗体、合成または天然の無機分子、模倣剤、および合成または天然の有機分子を含むがこれらに限定されない。

10

【0043】

本明細書で使用する、「十分な量」または特定の結果を達成「するために十分な量」は、随意に（すなわち、治療有効量の投与による）治療効果である所望の効果を産生するために有効的である本開示の抗体または組成物の量を指す。例えば、「十分な量」または「するために十分な量」は、T細胞を発現するICOSを枯渇させるために効果的である量であり得る。

20

【0044】

本明細書で使用する「治療効果のある」量は、対象にとっていくらかの改善または利益を提供する量である。別の言い方をすると、「治療効果のある」量は、少なくとも1つの臨床症状で、緩和、軽減、および/または低減を提供する量である。本発明の方法で治療され得る疾患と関連する臨床症状は、当業者によく知られている。さらに、当業者は、対象にいくつかの利益が提供される限り、治療効果は完全または治癒するものである必要がないことを理解するであろう。

30

【0045】

本開示の抗ICOS抗体の「治療効果のある投与量」は、少なくとも1つの疾病の症状の重症度の減少、疾病の無症状期間の頻度および期間の増加、または疾病の苦痛による機能障害または能力障害の防止という結果をもたらす。例えば、全身性エリテマトーデス（SLE）の場合、治療効果のある用量によって、例えば、痛みまたは疲労等の、少なくとも1つのSLEと関係する身体的な症状のさらなる悪化を防止する。疾病の早期または事前の徴候がある場合、治療効果のある用量は、所望であり得る等のSLEの発症をも防止するまたは遅延する。同様に、SLEと関連する慢性の進行を遅延することを含む。SLEの診断で利用される臨床検査は、化学、血液学、血清学、および放射線学を含む。その結果、前述のものの中のいずれかを監視する任意の臨床的または生化学的なアッセイを、特定の処置がSLEを治療するために治療効果のある用量であるか否か決定するために使用することができる。当業者は、対象の大きさ、対象の症状の重症度、および選択した特定の組成物または投与の経路等の因子を基にしてかかる量を決定することができるであろう。

40

【0046】

本明細書で使用する「対象」という用語は、任意のヒトまたは非ヒト動物を含む。「非ヒト動物」という用語は、例えばこれらに限定されないが、非ヒト霊長類、ヒツジ、イヌ、ネコ、ウマ、雌ウシ、ニワトリ、両生類、爬虫類等の、哺乳動物および非哺乳動物の、すべての脊椎動物を含む。

【0047】

50

本明細書で使用する「非反応性」および「抵抗性」という用語によって、疾病または疾患に対して現在用いられている治療（例えば、予防剤または治療剤）で処置された患者を記述する。かかる患者は、重症の、持続的に活発な疾病に罹患している可能性が高く、その疾患と関連した症状を寛解するための追加治療を必要とする。

【0048】

濃度、量、細胞数、割合、および他の数値は、本明細書において範囲の形式として提示され得る。かかる範囲の形式は、単に便利さおよび簡潔さに対して使用され、範囲の制限として明確に列挙された数値を含むだけでなく、各数値および部分的な範囲が明確に列挙されているかのごとく、その範囲内に包含される個々の数値または部分的な範囲を含むことが柔軟に解釈されるべきであることを理解されたい。

10

【0049】

4. 図面の簡単な説明

本開示の代表的な実施形態を図示するために、本明細書において図面を提供する。

【図面の簡単な説明】

【0050】

【図1】25 mM (pH 6.0) のヒスチジン中の136抗ICOS抗体のDSCプロファイル。

【図2】136抗ICOS抗体の熱安定性に対するpHの効果。温度の関数として、(330 nmで測定した)トリプトファン蛍光強度プロファイルを示す。トリプトファン蛍光強度プロファイル測定を、各種のpHで実施した。

20

【図3】抗ICOS製剤のコロイド安定性のpH依存性。温度の関数として各種のpHを用いた製剤の350 nmの吸収を示す。

【図4】賦形剤スクリーニングのためのコロイド安定性測定の使用の概略図。

【図5】単一賦形剤スクリーニング：136製剤のコロイド安定性に対するポリソルベート、トレハロース、ショ糖、およびリジンの効果。

【図6】単一賦形剤スクリーニング：136製剤のコロイド安定性に対する増加するNaCl濃度の効果。

【図7】単一の賦形剤スクリーニング：136製剤のコロイド安定性に対する増加するNaClまたはアルギニン濃度の効果。

【図8】賦形剤スクリーニング：136製剤のコロイド安定性に対するトレハロースおよびアルギニンの組み合わせの効果。

30

【図9】136抗ICOS抗体製剤の安定性。抗体製剤の安定性を、SECを用いて確認した。表は、40 で保存後、SECを用いて測定した、製剤の単量体含有量パーセント(%)を表示する。

【図10】136抗ICOS抗体製剤の安定性。90 mg/mLの136、10 mMのヒスチジン(pH 6.0)、4%のトレハロース、および80 mMのNaCl(A)または100 mMのアルギニンHCl(B)のいずれか、を含む抗体製剤の安定性を、SECを用いて確認した。製剤を、SEC分析を実施する前に、40 で21日間保存した。SECタンパク質の溶出プロファイルを示す。

【図11】136抗ICOS抗体製剤の安定性に対するポリソルベート80の効果。0%、0.02%、または0.05%のポリソルベート80を含む136製剤(105 mg/mLの136、10 mMのヒスチジン(pH 6.0)、80 mMのNaCl)の安定性を、40 で保存後、確認した。表は、様々な時点においてSECによって測定された製剤の単量体含有量パーセント(%)を表す。

40

【図12】136抗ICOS抗体製剤の安定性に対するポリソルベート80の効果。0%、0.02%、または0.05%のポリソルベート80を含む136製剤(105 mg/mLの136、10 mMのヒスチジン(pH 6.0)、80 mMのNaCl)の安定性を、40 で保存後、確認した。表は、様々な時点においてSECによって測定された製剤の断片含有量パーセント(%)を表す。

【図13】136抗ICOS抗体製剤の安定性に対するポリソルベート80の効果。0%

50

、0.02%、または0.05%のポリソルベート80を含む136製剤(105mg/mLの136、10mMのヒスチジン(pH6.0)、80mMのNaCl)の安定性を、40で保存後、確認した。表は、様々な時点においてSECによって測定された製剤の二量体含有量パーセント(%)を表す。

【図14】2~8、25または40で保存した136抗ICOS抗体製剤の安定性。105mg/mLの136、10mMのヒスチジン(pH6.0)、80mMのNaCl、および0.02%のポリソルベート80を含む136製剤の安定性を、2~8、25または40で保存した後に確認した。表は、様々な時点においてSECを用いて測定した、製剤の単量体含有量パーセント(%)を表す。

【図15A】A)フコシル化したおよびアフコシル化した抗ICOS MA bと、マウス FcgRIVとのBIAcore結合親和性。

【図15B】B)脾臓ナイーブおよびヘルパーメモリーT細胞(中枢およびエフェクター)のICOS発現の定常状態の免疫表現型の特徴付け。

【図15C】C)フコースなしの抗ICOS MA b(IgG2a-aFuc)によって、ICOSを担持するT細胞のより効果的な枯渇を媒介する。ナイーブBalb/cマウスへ、示した抗ICOS MA bを1回単一腹腔内注射した際の(250µg/動物)、脾臓ヘルパー中枢およびエフェクターメモリーICOS担持T細胞の薬力学的分析。

【図16】抗ICOS MA b(IgG2a-aFuc)によって、移植片対宿主強皮症の臨床スコアが減少する。抗マウスICOS IG2a-aFucまたはアイソタイプコントロールMA b(n=10)を用いた隔週の処置(開始時間:8日目)後の平均臨床疾病スコアを示す。ベースライン皮膚スコアの測定を、研究の6日目に取得した。(* p < 0.05、* * p < 0.005)。

【図17-1】抗ICOS MA bは、ICOSを担持するTFHの効果的な除去を媒介し、胚中心のB細胞の増殖を抑制する。Balb/cコントロールマウスから、および抗ICOSまたはアイソタイプコントロールMA bのいずれかで処置したrag2欠損マウスから単離された脾臓、リンパ節、ならびに末梢血Thメモリー(A)およびThメモリーICOS+細胞(B、C)(図1Cに示すようにゲーティングした)の免疫表現型分析。D)抗ICOS治療は、TFH細胞の増殖を防止する。抗ICOS MA bは総脾臓B細胞(CD19+)の全体数を変更しないが(E)、胚中心B細胞のTFH媒介増殖を著しく抑制する(F)。ICOSを担持するT細胞の枯渇は、全体のCD4+(G)およびCD8+(H)T細胞区画を攪乱させない。

【図17-2】図17-1の続きである。

【図17-3】図17-2の続きである。

【図17-4】図17-3の続きである。

【図18】アイソタイプコントロールMA b処置した動物(A、E、)および抗ICOS MA b処置した動物(C)のRAG2-/-脾臓および腎臓の組織学。アイソタイプ(B)と比較して、脾臓の高い拡大率(200倍)によって、抗ICOS処置した動物(D)の胚中心形成の不足を証明する。元の拡大率、100倍;挿入図、1000倍。

【図19】抗ICOS MA bを用いての処置によって、GvHD-SSc皮膚病変を著しく抑制する。Balb/c(A、B)、またはアイソタイプコントロールMA b群(C、D)および抗ICOS MA b処置群(E、F)からの脾細胞を用いて移植して4週間のRAG2-/-マウス、のいずれかからの背部皮膚の組織学を示す。組織切片を、ヘマトキシリンおよびエオシン染色(上列)またはマッソン3色染色法(下列)のいずれかを用いて染色した。元の拡大率、200倍。

【図20-1】ICOS MA bの処置は、TヘルパーおよびTFH関連遺伝子および皮膚の自己免疫性遺伝子のフィンガープリントに影響を与える。

【図20-2】図20-1の続きである。

【図20-3】図20-2の続きである。

【図20-4】図20-3の続きである。

【図21】136抗ICOS抗体の流体力学直径に対する濃度の効果。図の黒三角は、1

10

20

30

40

50

36 抗ICOS抗体を用いて取得したデータを示し、黒丸は、非干渉モノクローナル抗体 (mAbB) を用いて取得したデータを示す。

【図22】23 (黒丸) および37 (黒三角) の136 抗ICOS抗体RSAに対する塩化ナトリウム濃度の効果。

【図23】136 抗ICOS抗体RSAに対するpHの効果。コントロール非干渉抗体を用いて取得したデータ (mAbB) も示す。

【図24】136 抗ICOS抗体RSAに対する温度の効果。mAbBは、非干渉コントロール抗体である。

【図25】136 抗ICOS抗体の解離速度に対する温度の効果。

【発明を実施するための形態】

【0051】

5. 詳細な説明

136 抗ICOS抗体の物理化学の性質の特徴付けによって、溶液中にて可逆的な自己会合を起こす抗体の意外な発見をもたらした。136 抗体の認められた可逆的な自己会合は、一意的であり、凝集体形成を引き起こさない。自己会合のため、136 抗体のかなりの割合が、溶液に三量体として存在する。追加の実験研究は、溶液の136の単量体と三量体形成との間の平衡が、抗体の濃度、温度、イオン強度、およびpHによって影響されることを証明する。例えば、136 抗体の少なくとも10モル%は、37で10mg/mLの抗体濃度のPBSに三量体として存在する。本明細書に記載するものは、ヒトICOSを特異的に結合し、溶液中にて可逆的な自己会合を起こす抗体を含む安定した液体製剤である。

【0052】

本開示は、ICOSに特異的に結合し、溶液中にて可逆的な自己会合を起し、増強したエフェクター機能 (例えば、抗体依存性細胞傷害 (ADCC)、補体依存性細胞傷害 (CDC)、および/または抗体依存性食作用) を有する、抗体またはその断片の安定した液体製剤に関する。ある実施形態において、抗ヒトICOS抗体またはその断片の安定した液体製剤は、ヒト対象に対する非経口投与に適している。特定の実施形態において、本開示の安定した液体製剤は、ヒト対象に対する皮下投与に適している。

【0053】

5.1. 抗体製剤

特定の実施形態において、本開示は、ヒトICOSと特異的に結合し、溶液中にて可逆的な自己会合を起こし、増強したエフェクター機能 (例えば、抗体依存性細胞傷害 (ADCC)、補体依存性細胞傷害 (CDC)、および/または抗体依存性食作用) を有する抗体の安定した液体製剤を包含し、製剤は、製造、調製、輸送、および長期間の保存中に、皆無かそれに近い生物活性を用いて低~検出不能なレベルの抗体凝集および/または断片化を示す。本開示は、ヒトICOSと特異的に結合し、溶液中にて可逆的な自己会合を起こし、増強したエフェクター機能を有し、増加したインビボ半減期を有する抗体の安定した液体製剤も包含し、該製剤は、製造、調製、輸送、および長期間の保存中、低~検出不能なレベルの抗体凝集および/または断片化、および抗体の皆無かそれに近い生物活性を示す。特定の実施形態において、本開示の製剤は、増加したインビボADCC活性を有する抗ヒトICOS抗体を含み、該製剤は、製造、調製、輸送、および長期間の保存中、低~検出不能なレベルの抗体凝集および/または断片化、および抗体の皆無かそれに近い生物活性を示す。

【0054】

一実施形態において、本開示の液体製剤は、水性製剤である。特定の実施形態において、本開示の液体製剤は、水性製剤であり、水性担体は蒸留水である。

【0055】

一実施形態において、本開示の製剤は、無菌である。

【0056】

一実施形態において、本開示の製剤は均一である。

10

20

30

40

50

【 0 0 5 7 】

一実施形態において、本開示の製剤は等張性である。

【 0 0 5 8 】

本開示は、増強したエフェクター機能を有する抗 I C O S 抗体を含む安定した高濃度の液体製剤を提供する。一実施形態において、本開示の製剤は、米国特許出願第 1 2 / 1 1 6 , 5 1 2 号に記載された抗 I C O S 抗体を含む。

【 0 0 5 9 】

一実施形態において、本開示の製剤は、抗 I C O S 抗体またはその断片を含み、該抗体またはその断片は、配列番号 7 のアミノ酸配列を含む V H ドメインおよび配列番号 2 のアミノ酸配列を有する V L ドメインを含む。特定の実施形態において、本開示の製剤は、配列番号 6 のアミノ酸配列を有する重鎖および配列番号 1 のアミノ酸配列を有する軽鎖を含む抗 I C O S 抗体を含む。特定の実施形態において、本開示の製剤は、フコースが糖鎖の還元末端の N アセチルグルコサミンと結合しない、複合 N グリコシド結合糖鎖を有する F c 領域を含む抗ヒト I C O S 抗体を含む。

【 0 0 6 0 】

本開示は、対象の単一の抗体（その抗体断片を含む）、例えば、I C O S ポリペプチドと特異的に結合する抗体を含む安定した液体製剤を包含する。本開示は、2 つ以上の対象の抗体（その抗体の断片を含む）、例えば、I C O S ポリペプチドと特異的に結合する抗体を含む安定した液体製剤も包含する。

【 0 0 6 1 】

一実施形態において、本開示の製剤は、少なくとも約 1 m g / m L、少なくとも約 5 m g / m L、少なくとも約 1 0 m g / m L、少なくとも約 2 0 m g / m L、少なくとも約 3 0 m g / m L、少なくとも約 4 0 m g / m L、少なくとも約 5 0 m g / m L、少なくとも約 6 0 m g / m L、少なくとも約 7 0 m g / m L、少なくとも約 8 0 m g / m L、少なくとも約 9 0 m g / m L、少なくとも約 1 0 0 m g / m L、少なくとも約 1 1 0 m g / m L、少なくとも約 1 2 0 m g / m L、少なくとも約 1 3 0 m g / m L、少なくとも約 1 4 0 m g / m L、少なくとも約 1 5 0 m g / m L、少なくとも約 1 6 0 m g / m L、少なくとも約 1 7 0 m g / m L、少なくとも約 1 8 0 m g / m L、少なくとも約 1 9 0 m g / m L、少なくとも約 2 0 0 m g / m L、少なくとも約 2 5 0 m g / m L、または少なくとも約 3 0 0 m g / m L の抗 I C O S 抗体またはその断片を含む。特定の実施形態において、本開示の製剤は、少なくとも約 5 m g / m L の抗 I C O S 抗体またはその断片を含む。特定の実施形態において、本開示の製剤は、少なくとも約 1 0 m g / m L の抗 I C O S 抗体またはその断片を含む。特定の実施形態において、本開示の製剤は、抗少なくとも約 1 5 m g / m L の I C O S 抗体またはその断片を含む。特定の実施形態において、本開示の製剤は、少なくとも約 1 0 0 m g / m L の抗 I C O S 抗体またはその断片を含む。特定の実施形態において、本開示の製剤は、少なくとも約 1 2 5 m g / m L の抗 I C O S 抗体またはその断片を含む。特定の実施形態において、本開示の製剤は、少なくとも約 1 3 0 m g / m L の抗 I C O S 抗体またはその断片を含む。特定の実施形態において、本開示の製剤は、少なくとも約 1 5 0 m g / m L の抗 I C O S 抗体またはその断片を含む。特定の実施形態において、本開示の製剤は、少なくとも約 9 0 m g / m L の抗 I C O S 抗体またはその断片を含む。別の実施形態において、本開示の製剤は、約 1 m g / m L ~ 約 2 0 m g / m L の間、約 5 m g / m L ~ 約 2 0 m g / m L の間、約 1 m g / m L ~ 約 2 5 m g / m L の間、約 1 m g / m L ~ 約 2 0 0 m g / m L の間、約 2 5 m g / m L ~ 約 2 0 0 m g / m L の間、約 5 0 m g / m L ~ 約 2 0 0 m g / m L の間、約 7 5 m g / m L ~ 約 2 0 0 m g / m L の間、約 1 0 0 m g / m L ~ 約 2 0 0 m g / m L の間、約 1 2 5 m g / m L ~ 約 2 0 0 m g / m L の間、約 1 5 0 m g / m L ~ 約 2 0 0 m g / m L の間、約 2 5 m g / m L ~ 約 1 5 0 m g / m L の間、約 5 0 m g / m L ~ 約 1 5 0 m g / m L の間、約 7 5 m g / m L ~ 約 1 5 0 m g / m L の間、約 1 0 0 m g / m L ~ 約 1 5 0 m g / m L の間、約 1 2 5 m g / m L ~ 約 1 5 0 m g / m L の間、約 2 5 m g / m L ~ 約 1 2 5 m g / m L の間、約 5 0 m g / m L ~ 約 1 2 5 m g / m L の間、約 7 5 m g / m L ~ 約 1 2 5 m g / m L の間

10

20

30

40

50

、約100mg/mL～約125mg/mLの間、約25mg/mL～約100mg/mLの間、約50mg/mL～約100mg/mLの間、約75mg/mL～約100mg/mLの間、約25mg/mL～約75mg/mLの間、約50mg/mL～約75mg/mLの間、または約25mg/mL～約50mg/mLの抗ICOS抗体またはその断片を含む。特定の実施形態において、本開示の製剤は、約5mg/mL～約20mg/mLの間の抗ICOS抗体またはその断片を含む。特定の実施形態において、本開示の製剤は、約90mg/mL～約110mg/mLの間の抗ICOS抗体またはその断片を含む。特定の実施形態において、本開示の製剤は、約100mg/mL～約210mg/mLの間の抗ICOS抗体またはその断片を含む。さらなる実施形態において、本明細書に記載する製剤は、約1mg/mL、約2mg/mL、約3mg/mL、約4mg/mL、約5mg/mL、約10mg/mL、約15mg/mL、約20mg/mL、約30mg/mL、約40mg/mL、約50mg/mL、約60mg/mL、約70mg/mL、約80mg/mL、約90mg/mL、約100mg/mL、約110mg/mL、約120mg/mL、約130mg/mL、約140mg/mL、約150mg/mL、約160mg/mL、約170mg/mL、約180mg/mL、約190mg/mL、約200mg/mL、約250mg/mL、または約300mg/mLの抗ICOS抗体またはその断片を含む。特定の実施形態において、本開示の製剤は、約5mg/mLの抗ICOS抗体またはその断片を含む。特定の実施形態において、本開示の製剤は、約10mg/mLの抗ICOS抗体またはその断片を含む。特定の実施形態において、本開示の製剤は、約15mg/mLの抗ICOS抗体またはその断片を含む。特定の実施形態において、本開示の製剤は、約100mg/mLの抗ICOS抗体またはその断片を含む。特定の実施形態において、本開示の製剤は、約125mg/mLの抗ICOS抗体またはその断片を含む。特定の実施形態において、本開示の製剤は、約130mg/mLの抗ICOS抗体またはその断片を含む。特定の実施形態において、本開示の製剤は、約150mg/mLの抗ICOS抗体またはその断片を含む。特定の実施形態において、本開示の製剤は、約200mg/mLの抗ICOS抗体またはその断片を含む。特定の実施形態において、本開示の製剤は、配列番号6の重鎖配列、配列番号1の軽鎖配列、および糖鎖の還元末端でフコースがNアセチルグルコサミンと結合しない複合Nグリコシド結合糖鎖を有するFc領域を含む抗ICOS抗体を含む。

【0062】

一実施形態において、本開示の製剤は、少なくとも1mg/mL、少なくとも5mg/mL、少なくとも10mg/mL、少なくとも20mg/mL、少なくとも30mg/mL、少なくとも40mg/mL、少なくとも50mg/mL、少なくとも60mg/mL、少なくとも70mg/mL、少なくとも80mg/mL、少なくとも90mg/mL、少なくとも100mg/mL、少なくとも110mg/mL、少なくとも120mg/mL、少なくとも130mg/mL、少なくとも140mg/mL、少なくとも150mg/mL、少なくとも160mg/mL、少なくとも170mg/mL、少なくとも180mg/mL、少なくとも190mg/mL、少なくとも200mg/mL、少なくとも250mg/mL、または少なくとも300mg/mLの抗ICOS抗体またはその断片を含む。特定の実施形態において、本開示の製剤は、少なくとも5mg/mLの抗ICOS抗体またはその断片を含む。特定の実施形態において、本開示の製剤は、少なくとも10mg/mLの抗ICOS抗体またはその断片を含む。特定の実施形態において、本開示の製剤は、少なくとも15mg/mLの抗ICOS抗体またはその断片を含む。特定の実施形態において、本開示の製剤は、少なくとも100mg/mLの抗ICOS抗体またはその断片を含む。特定の実施形態において、本開示の製剤は、少なくとも125mg/mLの抗ICOS抗体またはその断片を含む。特定の実施形態において、本開示の製剤は、少なくとも150mg/mLの抗ICOS抗体またはその断片を含む。特定の実施形態において、本開示の製剤は、少なくとも175mg/mLの抗ICOS抗体またはその断片を含む。特定の実施形態において、本開示の製剤は、少なくとも200mg/mLの抗ICOS抗体またはその断片を含む。別の実施形態において、本開示の製剤は、1mg/mL～

10

20

30

40

50

20 mg / mLの間、5 mg / mL ~ 20 mg / mLの間、1 mg / mL ~ 25 mg / mLの間、1 mg / mL ~ 200 mg / mLの間、25 mg / mL ~ 200 mg / mLの間、50 mg / mL ~ 200 mg / mLの間、75 mg / mL ~ 200 mg / mLの間、100 mg / mL ~ 200 mg / mLの間、125 mg / mL ~ 200 mg / mLの間、150 mg / mL ~ 200 mg / mLの間、25 mg / mL ~ 150 mg / mLの間、50 mg / mL ~ 150 mg / mLの間、75 mg / mL ~ 150 mg / mLの間、100 mg / mL ~ 150 mg / mLの間、125 mg / mL ~ 150 mg / mLの間、25 mg / mL ~ 125 mg / mLの間、50 mg / mL ~ 125 mg / mLの間、75 mg / mL ~ 125 mg / mLの間、100 mg / mL ~ 125 mg / mLの間、25 mg / mL ~ 100 mg / mLの間、50 mg / mL ~ 100 mg / mLの間、75 mg / mL ~ 100 mg / mLの間、25 mg / mL ~ 75 mg / mLの間、50 mg / mL ~ 75 mg / mLの間、または25 mg / mL ~ 50 mg / mLの間の抗ICOS抗体またはその断片を含む。特定の実施形態において、本開示の製剤は、5 mg / mL ~ 20 mg / mLの間の抗ICOS抗体またはその断片を含む。特定の実施形態において、本開示の製剤は、90 mg / mL ~ 110 mg / mLの間の抗ICOS抗体またはその断片を含む。特定の実施形態において、本開示の製剤は、100 mg / mL ~ 210 mg / mLの間の抗ICOS抗体またはその断片を含む。さらなる実施形態において、本明細書に記載する製剤は、1 mg / mL、2 mg / mL、3 mg / mL、4 mg / mL、5 mg / mL、10 mg / mL、15 mg / mL、20 mg / mL、30 mg / mL、40 mg / mL、50 mg / mL、60 mg / mL、70 mg / mL、80 mg / mL、90 mg / mL、100 mg / mL、110 mg / mL、120 mg / mL、130 mg / mL、140 mg / mL、150 mg / mL、160 mg / mL、170 mg / mL、180 mg / mL、190 mg / mL、200 mg / mL、250 mg / mL、または300 mg / mLの抗ICOS抗体またはその断片を含む。特定の実施形態において、本開示の製剤は、10 mg / mLの抗ICOS抗体またはその断片を含む。特定の実施形態において、本開示の製剤は、100 mg / mLの抗ICOS抗体またはその断片を含む。特定の実施形態において、本開示の製剤は、125 mg / mLの抗ICOS抗体またはその断片を含む。特定の実施形態において、本開示の製剤は、150 mg / mLの抗ICOS抗体またはその断片を含む。特定の実施形態において、本開示の製剤は、175 mg / mLの抗ICOS抗体またはその断片を含む。特定の実施形態において、本開示の製剤は、200 mg / mLの抗ICOS抗体またはその断片を含む。特定の実施形態において、本開示の製剤は、配列番号6の重鎖配列、配列番号1の軽鎖配列、および糖鎖の還元末端でフコースがNアセチルグルコサミンと結合しない複合Nグリコシド結合糖鎖を有するFc領域を含む抗ICOS抗体を含む。

10

20

30

【0063】

随意に、本開示の製剤は、緩衝剤、糖類、塩、および界面活性剤等の一般的な賦形剤および/または添加物をさらに含むことができる。さらにまたはあるいは、本開示の製剤は、限定しないが、可溶化剤、希釈剤、結合剤、安定剤、塩、親油性溶媒、アミノ酸、キレート剤、防腐剤等の一般的な賦形剤および/または添加物を含むことができる。

【0064】

ある実施形態において、緩衝剤を、ヒスチジン、クエン酸、リン酸、グリシン、および酢酸からなる群から選択する。他の実施形態において、糖類賦形剤を、トレハロース、ショ糖、マンニトール、マルトース、およびラフィノースからなる群から選択する。さらに他の実施形態において、界面活性剤をポリソルベート20、ポリソルベート40、ポリソルベート80、およびプルロニックF68からなる群から選択する。さらに他の実施形態において、塩をNaCl、KCl、MgCl₂、およびCaCl₂からなる群から選択する。

40

【0065】

随意に、本開示の製剤は、他の一般的な補助的な構成要素、これらに限定されないが、適切な賦形剤、ポリオール、可溶化剤、希釈剤、結合剤、安定剤、親油性溶媒、キレート

50

剤、防腐剤等をさらに含むことができる。

【0066】

本開示の製剤は、改善したpH制御を提供するために緩衝剤またはpH調整剤を含む。一実施形態において、本開示の製剤は、約3.0～約9.0の間、約4.0～約8.0の間、約5.0～約8.0の間、約5.0～約7.0の間、約5.0～約6.5の間、約5.5～約8.0の間、約5.5～約7.0の間、または約5.5～約6.5の間のpHを有する。さらなる実施形態において、本開示の製剤は、約3.0、約3.5、約4.0、約4.5、約5.0、約5.1、約5.2、約5.3、約5.4、約5.5、約5.6、約5.7、約5.8、約5.9、約6.0、約6.1、約6.2、約6.3、約6.4、約6.5、約6.6、約6.7、約6.8、約6.9、約7.0、約7.5、約8.0、約8.5、または約9.0のpHを有する。特定の実施形態において、本開示の製剤は、約6.0のpHを有する。

10

【0067】

本開示の製剤は、改善したpH制御を提供するために緩衝剤またはpH調整剤を含む。一実施形態において、本開示の製剤は、3.0～9.0の間、4.0～8.0の間、5.0～8.0の間、5.0～7.0の間、5.0～6.5の間、5.5～8.0の間、5.5～7.0の間、または5.5～6.5の間のpHを有する。さらなる実施形態において、本開示の製剤は、3.0、3.5、4.0、4.5、5.0、5.1、5.2、5.3、5.4、5.5、5.6、5.7、5.8、5.9、6.0、6.1、6.2、6.3、6.4、6.5、6.6、6.7、6.8、6.9、7.0、7.5、8.0、8.5、または9.0のpHを有する。特定の実施形態において、本開示の製剤は、6.0のpHを有する。

20

【0068】

製剤のpHは、一般的に製剤で使用される特定の抗体（その抗体断片を含む）の等電点（例えば、これらだけに限定されないが、配列番号6の重鎖配列、配列番号1の軽鎖配列、およびフコースが糖鎖の還元末端のNアセチルグルコサミンと結合しない複合Nグリコシド結合の糖鎖を有するFc領域を含む抗ICOS抗体の等電点）と同等であるべきではなく、約4.0～約8.0の範囲であり得るか、または約5.5～約6.5の範囲であり得る。

【0069】

典型的に、緩衝剤は有機もしくは無機酸または塩基から調製される塩である。代表的な緩衝剤は、クエン酸、アスコルビン酸、グルコン酸、炭酸、酒石酸、コハク酸、酢酸、またはフタル酸の塩等の有機酸塩；トリス、トロメタミンヒドロクロライド、またはリン酸緩衝液を含むがこれらに限定されない。さらに、アミノ酸の構成要素は、緩衝能で機能することもできる。本開示の製剤で緩衝剤として利用されることができる代表的なアミノ酸の構成要素は、グリシンおよびヒスチジンを含むがこれらに限定されない。ある実施形態において、緩衝剤を、ヒスチジン、クエン酸、リン酸、グリシン、および酢酸からなる群から選択する。特定の実施形態において、緩衝剤はヒスチジンである。別の特定の実施形態において、緩衝剤はクエン酸である。緩衝剤の純度は、少なくとも98%、または少なくとも99%、または少なくとも99.5%であるべきである。本明細書で使用される、ヒスチジンと関連する「純度」という用語は、例えば、The Merck Index, 13th ed., O'Neil et al. ed. (Merck & Co., 2001)に記載される、当該技術において理解されるヒスチジンの化学的な純度を指す。

30

40

【0070】

緩衝剤を、所望のイオン強度および必要な緩衝能に応じて、典型的に約1mM～約200mMの間の濃度またはその中の任意の範囲または値で使用する。非経口製剤で採用される従来の緩衝剤の通常の濃度は、Pharmaceutical Dosage Form: Parenteral Medications, Volume 1, 2nd Edition, Chapter 5, p. 194, De Luca and Boylan, 「Formulation of Small Volume Parenteral

50

s」, Table 5: Commonly used additives in Parenteral Productsで見出すことができる。一実施形態において、緩衝剤は、約1 mM、または約5 mM、または約10 mM、または約15 mM、または約20 mM、または約25 mM、または約30 mM、または約35 mM、または約40 mM、または約45 mM、または約50 mM、または約60 mM、または約70 mM、または約80 mM、または約90 mM、または約100 mMの濃度である。一実施形態において、緩衝剤は、1 mM、または5 mM、または10 mM、または15 mM、または20 mM、または25 mM、または30 mM、または35 mM、または40 mM、または45 mM、または50 mM、または60 mM、または70 mM、または80 mM、または90 mM、または100 mMの濃度である。特定の実施形態において、緩衝剤は約5 mM ~ 約50 mMの間の濃度である。別の特定の実施形態において、緩衝剤は、5 mM ~ 20 mMの間の濃度である。

10

【0071】

緩衝剤は、所望のイオン強度および必要な緩衝能に応じて、典型的に1 mM ~ 200 mMの間の濃度またはその中の任意の範囲または値で使用する。非経口製剤で採用される従来の緩衝剤の通常濃度は、Pharmaceutical Dosage Form: Parenteral Medications, Volume 1, 2nd Edition, Chapter 5, p. 194, De Luca and Boylan, 「Formulation of Small Volume Parenterals」, Table 5: Commonly used additives in Parenteral Productsで見出すことができる。一実施形態において、緩衝剤は、1 mM、または5 mM、または10 mM、または15 mM、または20 mM、または25 mM、または30 mM、または35 mM、または40 mM、または45 mM、または50 mM、または60 mM、または70 mM、または80 mM、または90 mM、または100 mMの濃度である。一実施形態において、緩衝剤は、1 mM、または5 mM、または10 mM、または15 mM、または20 mM、または25 mM、または30 mM、または35 mM、または40 mM、または45 mM、または50 mM、または60 mM、または70 mM、または80 mM、または90 mM、または100 mMの濃度である。特定の実施形態において、緩衝剤は、5 mM ~ 50 mMの間の濃度である。別の特定の実施形態において、緩衝剤は、5 mM ~ 20 mMの間の濃度である。

20

30

【0072】

ある実施形態において、本開示の製剤は緩衝剤を含む。一実施形態において、該緩衝剤を、ヒスチジン、クエン酸、リン酸、グリシン、および酢酸からなる群から選択する。特定の実施形態において、本開示の製剤は、緩衝剤としてヒスチジンを含む。

【0073】

一実施形態において、本開示の製剤は、少なくとも約1 mM、少なくとも約5 mM、少なくとも約10 mM、少なくとも約20 mM、少なくとも約30 mM、少なくとも約40 mM、少なくとも約50 mM、少なくとも約75 mM、少なくとも約100 mM、少なくとも約150 mM、または少なくとも約200 mMのヒスチジンを含む。別の実施形態において、本開示の製剤は、約1 mM ~ 約200 mMの間、約1 mM ~ 約150 mMの間、約1 mM ~ 約100 mMの間、約1 mM ~ 約75 mMの間、約10 mM ~ 約200 mMの間、約10 mM ~ 約150 mMの間、約10 mM ~ 約100 mMの間、約10 mM ~ 約75 mMの間、約10 mM ~ 約50 mMの間、約10 mM ~ 約40 mMの間、約10 mM ~ 約30 mMの間、約20 mM ~ 約75 mMの間、約20 mM ~ 約50 mMの間、約20 mM ~ 約40 mMの間、または約20 mM ~ 約30 mMのヒスチジンを含む。本開示のさらなる実施形態において、約1 mM、約5 mM、約10 mM、約20 mM、約25 mM、約30 mM、約35 mM、約40 mM、約45 mM、約50 mM、約60 mM、約70 mM、約80 mM、約90 mM、約100 mM、約150 mM、または約200 mMのヒスチジンを含む。特定の実施形態において、本開示の製剤は、約10 mMのヒスチジンを含む。

40

50

【0074】

一実施形態において、本開示の製剤は、少なくとも1 mM、少なくとも5 mM、少なくとも10 mM、少なくとも20 mM、少なくとも30 mM、少なくとも40 mM、少なくとも50 mM、少なくとも75 mM、少なくとも100 mM、少なくとも150 mM、または少なくとも200 mMのヒスチジンを含む。別の実施形態において、本開示の製剤は、1 mM~200 mMの間、1 mM~150 mMの間、1 mM~100 mMの間、1 mM~75 mMの間、10 mM~200 mMの間、10 mM~150 mMの間、10 mM~100 mMの間、10 mM~75 mMの間、10 mM~50 mMの間、10 mM~40 mMの間、10 mM~30 mMの間、20 mM~75 mMの間、20 mM~50 mMの間、20 mM~40 mMの間、または20 mM~30 mMの間のヒスチジンを含む。本開示のさらなる実施形態において、1 mM、5 mM、10 mM、20 mM、25 mM、30 mM、35 mM、40 mM、45 mM、50 mM、60 mM、70 mM、80 mM、90 mM、100 mM、150 mM、または200 mMのヒスチジンを含む。特定の実施形態において、本開示の製剤は、10 mMのヒスチジンを含む。

10

【0075】

ある実施形態において、本開示の製剤は、炭水化物の賦形剤を含む。炭水化物の賦形剤は、例えば、粘性増強剤、安定剤、充填剤、および/または可溶化剤等として作用することができる。炭水化物の賦形剤は、一般的に重量または容量で約1%~約99%の間に存在する。一実施形態において、炭水化物の賦形剤は約0.1%~約20%の間に存在する。別の実施形態において、炭水化物の賦形剤は約0.1%~約15%の間に存在する。特定の実施形態において、炭水化物の賦形剤は、約0.1%~約5%の間、または約1%~約20%の間、または約5%~約15%の間、または約8%~約10%の間、または約10%~約15%の間、または約15%~約20%に存在する。別の特定の実施形態において、炭水化物の賦形剤は、0.1%~20%の間、または5%~15%の間、または8%~10%の間、または10%~15%の間、または15%~20%の間に存在する。さらに別の特定の実施形態において、炭水化物の賦形剤は、約0.1%~約5%の間に存在する。さらに別の特定の実施形態において、炭水化物の賦形剤は、約5%~約10%の間に存在する。さらに別の特定の実施形態において、炭水化物の賦形剤は、約15%~約20%の間に存在する。さらに他の特定の実施形態において、炭水化物の賦形剤は、1%、または1.5%、または2%、または2.5%、または3%、または4%、または5%、または10%、または15%、または20%に存在する。

20

30

【0076】

ある実施形態において、本開示の製剤は、炭水化物の賦形剤を含む。炭水化物の賦形剤は、例えば、粘性増強剤、安定剤、充填剤、および/または可溶化剤等として作用することができる。炭水化物の賦形剤は、一般的に重量または容量で1%~99%の間に存在する。一実施形態において、炭水化物の賦形剤は、0.1%~20%の間に存在する。別の実施形態において、炭水化物の賦形剤は、0.1%~15%の間に存在する。特定の実施形態において、炭水化物の賦形剤は、0.1%~5%の間、または1%~20%の間、または5%~15%の間、または8%~10%の間、または10%~15%の間、または15%~20%の間に存在する。別の特定の実施形態において、炭水化物の賦形剤は、0.1%~20%の間、または5%~15%の間、または8%~10%の間、または10%~15%の間、または15%~20%の間に存在する。さらに別の特定の実施形態において、炭水化物の賦形剤は0.1%~5%に存在する。さらに別の特定の実施形態において、炭水化物の賦形剤は5%~10%の間に存在する。さらに別の特定の実施形態において、炭水化物の賦形剤は、15%~20%の間に存在する。さらに他の特定の実施形態において、炭水化物の賦形剤は、1%、または1.5%、または2%、または2.5%、または3%、または4%、または5%、または10%、または15%、または20%に存在する。

40

【0077】

本開示の製剤での使用に適した炭水化物の賦形剤は、例えば、果糖、マルトース、ガラ

50

クトース、グルコース、D-マンノース、ソルボース等の単糖類；ラクトース、ショ糖、トレハロース、セロビオース等の二糖類；ラフィノース、メレチトース、マルトデキストリン、デキストラン、デンプン等の多糖類；およびマンニトール、キシリトール、マルチトール、ラクチトール、キシリトールソルビトール（グルシトール）等のアルジトールを含む。一実施形態において、本開示における使用のための炭水化物の賦形剤を、ショ糖、トレハロース、ラクトース、マンニトール、およびラフィノースからなる群から選択する。特定の実施形態において、炭水化物の賦形剤はトレハロースである。別の特定の実施形態において、炭水化物の賦形剤はマンニトールである。さらに別の特定の実施形態において、炭水化物の賦形剤はショ糖である。さらに別の特定の実施形態において、炭水化物の賦形剤はラフィノースである。炭水化物の賦形剤の純度は、少なくとも98%、または少なくとも99%、または少なくとも99.5%であるべきである。

10

【0078】

一実施形態において、本開示の製剤は、少なくとも約1%、少なくとも約2%、少なくとも約4%、少なくとも約8%、少なくとも約20%、少なくとも約30%、または少なくとも約40%のトレハロースを含む。別の実施形態において、本開示の製剤は、約1%～約40%の間、約1%～約30%の間、約1%～約20%の間、約2%～約40%の間、約2%～約30%の間、約2%～約20%の間、約4%～約40%の間、約4%～約30%、または約4%～約20%の間のトレハロースを含む。さらなる実施形態において、本開示の製剤は約1%、約2%、約4%、約8%、約20%、約30%、または約40%のトレハロースを含む。特定の実施形態において、本開示の製剤は、約4%のトレハロースを含む。

20

【0079】

一実施形態において、本開示の製剤は、少なくとも1%、少なくとも2%、少なくとも4%、少なくとも8%、少なくとも20%、少なくとも30%、または少なくとも40%のトレハロースを含む。別の実施形態において、本開示の製剤は、1%～40%の間、1%～30%の間、1%～20%の間、2%～40%の間、2%～30%の間、2%～20%の間、4%～40%の間、4%～30%の間、または4%～20%の間のトレハロースを含む。さらなる実施形態において、本開示の製剤は、1%、2%、4%、8%、20%、30%、または40%のトレハロースを含む。特定の実施形態において、本開示の製剤は、4%のトレハロースを含む。

30

【0080】

一実施形態において、本開示の製剤は、賦形剤を含む。特定の実施形態において、本開示の製剤は、糖、塩、界面活性剤、アミノ酸、ポリオール、キレート剤、乳化剤、および防腐剤からなる群から選択される少なくとも1つの賦形剤を含む。一実施形態において、本開示の製剤は、塩を含む。一実施形態において、本開示の製剤は、NaCl、KCl、CaCl₂、およびMgCl₂からなる群から選択された塩を含む。特定の実施形態において、本開示の製剤はNaClを含む。

【0081】

一実施形態において、本開示の製剤は、少なくとも約10mM、少なくとも約25mM、少なくとも約50mM、少なくとも約75mM、少なくとも約80mM、少なくとも約100mM、少なくとも約125mM、少なくとも約150mM、少なくとも約175mM、少なくとも約200mM、または少なくとも約300mMの塩化ナトリウムを含む。さらなる実施形態において、本明細書に記載される製剤は、約10mM～約300mMの間、約10mM～約200mMの間、約10mM～約175mMの間、約10mM～約150mMの間、約25mM～約300mMの間、約25mM～約200mMの間、約25mM～約175mMの間、約25mM～約150mMの間、約50mM～約300mMの間、約50mM～約200mMの間、約50mM～約175mMの間、約50mM～約150mMの間、約75mM～約300mMの間、約75mM～約200mMの間、約75mM～約175mMの間、約75mM～約150mMの間、約100mM～約300mMの間、約100mM～約200mMの間、約100mM～約175mMの間、または約1

40

50

00 mM ~ 約150 mMの間の塩化ナトリウムを含む。さらなる実施形態において、本開示の製剤は、約10 mM、約25 mM、約50 mM、約75 mM、約80 mM、約100 mM、約125 mM、約150 mM、約175 mM、約200 mM、または約300 mMの塩化ナトリウムを含む。特定の実施形態において、本開示の製剤は80 mMの塩化ナトリウムを含む。

【0082】

一実施形態において、本開示の製剤は、少なくとも10 mM、少なくとも25 mM、少なくとも50 mM、少なくとも75 mM、少なくとも80 mM、少なくとも100 mM、少なくとも125 mM、少なくとも150 mM、少なくとも175 mM、少なくとも200 mM、または少なくとも300 mMの塩化ナトリウムを含む。さらなる実施形態において、本明細書に記載される製剤は、10 mM ~ 300 mMの間、10 mM ~ 200 mMの間、10 mM ~ 175 mMの間、10 mM ~ 150 mMの間、25 mM ~ 300 mMの間、25 mM ~ 200 mMの間、25 mM ~ 175 mMの間、25 mM ~ 150 mMの間、50 mM ~ 300 mMの間、50 mM ~ 200 mMの間、50 mM ~ 175 mMの間、50 mM ~ 150 mMの間、75 mM ~ 300 mMの間、75 mM ~ 200 mMの間、75 mM ~ 175 mMの間、75 mM ~ 150 mMの間、100 mM ~ 300 mMの間、100 mM ~ 200 mMの間、100 mM ~ 175 mMの間、100 mM ~ 150 mMの間の塩化ナトリウムを含む。さらなる実施形態において、本開示の製剤は、10 mM、25 mM、50 mM、75 mM、80 mM、100 mM、125 mM、150 mM、175 mM、200 mM、または300 mMの塩化ナトリウムを含む。特定の実施形態において、本開示の製剤は80 mMの塩化ナトリウムを含む。

【0083】

本開示の製剤は、界面活性剤をさらに含むことができる。本明細書に使用される「界面活性剤」という用語は、両親媒性構造を有する有機物を指し、すなわち、それらは溶解性の傾向が反対である基、典型的には油溶性の炭化水素鎖および水溶性イオン性基からなる。界面活性剤は、界面活性部分の電荷に応じて、陰イオン性、陽イオン性、および非イオン性の界面活性剤へ分類することができる。界面活性剤は、各種の薬学的な組成物および生物物質の調製物に対する湿潤、乳化、可溶、および分散剤として多くの場合使用される。ポリソルベート（例えば、ポリソルベート20または80）；ポリオキサマー（例えば、poloxamer 188）；トリトン；ナトリウムオクチルグリコシド；ラウリル-、ミリスチル-、リノレイル-、またはステアリル-スルホベタイン；ラウリル-、ミリスチル-、リノレイル-またはステアリル-サルコシン；リノレイル-、ミリスチル-、またはセチル-ベタイン；ラウロアミドプロピル-、ココミドプロピル-、リノールアミドプロピル-、ミリストアミドプロピル-、パルミドプロピル-、またはイソステアルアミドプロピル-ベタイン（例えば、ラウロアミドプロピル）；ミリストアミドプロピル-、パルミドプロピル-、またはイソステアルアミドプロピル-ジメチルアミン；ナトリウムメチルココイル-、または二ナトリウムメチルオレイル-タウレート；およびMONAQUA（商標）シリーズ（Mona Industries, Inc., Paterson, N.J.）、ポリエチルグリコール、ポリプロピルグリコール、ならびにエチレンおよびプロピレングリコールのコポリマー（例えば、プルロニック、PF68等）のような薬学的に許容される界面活性剤は、凝集を減少するために、随意に本開示の製剤に追加することができる。界面活性剤は、製剤を投与するために、ポンプまたはプラスチック容器を使用する場合、特に有用である。薬学的に許容される界面活性剤の存在は、タンパク質の凝集する性質を軽減する。特定の実施形態において、本開示の製剤は、約0.001% ~ 約1%の間、または約0.001% ~ 約0.1%の間、または約0.01% ~ 約0.1%の間の範囲の濃度であるポリソルベートを含む。他の特定の実施形態において、本開示の製剤は、0.001%または、0.002%または、0.003%または、0.004%または、0.005%または、0.006%または、0.007%または、0.008%または、0.009%または、0.01%または、0.015%または、0.02%の濃度であるポリソルベートを含む。別の特定の実施形態において、ポリソルベートはポリ

ソルベート - 80 である。特定の実施形態において、本開示の製剤は、0.001% ~ 1%、または0.001% ~ 0.1%、または0.01% ~ 0.1%の間の範囲の濃度であるポリソルベートを含む。他の特定の実施形態において、本開示の製剤は、0.001% または、0.002% または、0.003% または、0.004% または、0.005% または、0.006% または、0.007% または、0.008% または、0.009% または、0.01% または、0.015% または、0.02%の濃度であるポリソルベートを含む。別の特定の実施形態において、ポリソルベートはポリソルベート - 80 である。

【0084】

一実施形態において、本開示の製剤は、界面活性剤を含む。一実施形態において、本開示の製剤は、ポリソルベート20、ポリソルベート40、ポリソルベート60、またはポリソルベート80を含む。特定の実施形態において、本開示の製剤は、ポリソルベート80を含む。

10

【0085】

一実施形態において、本開示の製剤は、少なくとも約0.001%、少なくとも約0.002%、少なくとも約0.005%、少なくとも約0.01%、少なくとも約0.02%、少なくとも約0.05%、少なくとも約0.1%、少なくとも約0.2%、または少なくとも約0.5%のポリソルベート80を含む。別の実施形態において、本開示の製剤は、約0.001% ~ 約0.5%の間、約0.001% ~ 約0.2%の間、約0.001% ~ 約0.1%の間、約0.001% ~ 約0.05%の間、約0.002% ~ 約0.5%の間、約0.002% ~ 約0.2%の間、約0.002% ~ 約0.1%の間、約0.002% ~ 約0.05%の間、約0.005% ~ 約0.5%の間、約0.005% ~ 約0.2%の間、約0.005% ~ 約0.1%の間、約0.005% ~ 約0.05%の間、約0.01% ~ 約0.5%の間、約0.01% ~ 約0.2%の間、約0.01% ~ 約0.1%の間、または約0.01% ~ 約0.05%のポリソルベート80を含む。さらなる実施形態において、本開示の製剤は、約0.001%、約0.002%、約0.005%、約0.01%、約0.02%、約0.05%、約0.1%、約0.2%、および約0.5%のポリソルベート80を含む。特定の実施形態において、本開示の製剤は、約0.02%のポリソルベート80を含む。特定の実施形態において、本開示の製剤は、約0.04%のポリソルベート80を含む。特定の実施形態において、本開示の製剤は、約0.05%のポリソルベート80を含む。

20

30

【0086】

一実施形態において、本開示の製剤は、少なくとも0.001%、少なくとも0.002%、少なくとも0.005%、少なくとも0.01%、少なくとも0.02%、少なくとも0.05%、少なくとも0.1%、少なくとも0.2%、または少なくとも0.5%のポリソルベート80を含む。別の実施形態において、本開示の製剤は、0.001% ~ 0.5%の間、0.001% ~ 0.2%の間、0.001% ~ 0.1%の間、0.001% ~ 0.05%の間、0.002% ~ 0.5%の間、0.002% ~ 0.2%の間、0.002% ~ 0.1%の間、0.002% ~ 0.05%の間、0.005% ~ 0.5%の間、0.005% ~ 0.2%の間、0.005% ~ 0.1%の間、0.005% ~ 0.05%の間、0.01% ~ 0.5%の間、0.01% ~ 0.2%の間、0.01% ~ 0.1%の間、または0.01% ~ 0.05%の間のポリソルベート80を含む。さらなる実施形態において、本開示の製剤は、0.001%、0.002%、0.005%、0.01%、0.02%、0.05%、0.1%、0.2%、および0.5%のポリソルベート80を含む。特定の実施形態において、本開示の製剤は、0.02%のポリソルベート80を含む。特定の実施形態において、本開示の製剤は、0.04%のポリソルベート80を含む。特定の実施形態において、本開示の製剤は、0.05%のポリソルベート80を含む。

40

【0087】

随意に本開示の製剤は、希釈剤、結合剤、安定剤、親油性溶媒、防腐剤、アジュバント

50

等を含むがこれらに限定されない他の一般的な賦形剤および/または添加物をさらに含むことができる。薬学的に許容される賦形剤および/または添加物を、本開示の製剤において使用することができる。薬学的に許容されるキレート剤（例えば、これらに限定されないが、EDTA、DTPA、またはEGTA）等の一般に使用される賦形剤/添加物を、凝集を減少するために、随意に本開示の製剤に追加することができる。これらの添加物は、製剤を投与するために、ポンプまたはプラスチック容器を使用する場合、特に有用である。

【0088】

フェノール等の防腐剤、m-クレゾール、p-クレゾール、オルトクレゾール、クロロクレゾール、ベンジルアルコール、亜硝酸フェニル水銀、フェノキシエタノール、ホルムアルデヒド、クロロブタノール、塩化マグネシウム（例えばこれに限定されないが、六水和物）、アルキルパラベン（メチル、エチル、プロピル、ブチル等）、塩化ベンザルコニウム、塩化ベンゼトニウム、デヒドロ酢酸ナトリウム、およびチメロサル、またはそれらの混合物は、約0.001%～約5%の間等の、またはその中の範囲または値の任意の適した濃度で、随意に本開示の製剤に追加される。本開示の製剤において使用する防腐剤の濃度は、抗菌効果を引き起こすために十分な濃度である。そのような濃度は、選択した防腐剤に依存し、当業者によって容易に決定される。

10

【0089】

本開示の製剤において利用され得る他の検討された賦形剤/添加物は、例えば、調味料、抗菌剤、甘味料、抗酸化剤、帯電防止剤、リン脂質または脂肪酸等の脂質、コレステロール等のステロイド、血清アルブミン等のタンパク質賦形剤（ヒト血清アルブミン（HSA）、組換えヒトアルブミン（rHA））、ゼラチン、カゼイン、ナトリウム等の塩形成対イオン等を含む。本開示の製剤における使用に対して適しているこれらおよび追加の既知の薬学的な賦形剤および/または添加物は、例えば“Remington: The Science & Practice of Pharmacy”, 21st ed., Lippincott Williams & Wilkins, (2005)、および“Physician's Desk Reference”, 60th ed., Medical Economics, Montvale, N.J. (2005)に記載されているように、当該技術において知られている。当該技術において知られている通り、または本明細書に記載される通り、投与のモード、Fc変異タンパク質の溶解性および/または安定性に対して適している薬学的に許容される担体を、ルーチンの選択することができる。

20

30

【0090】

本開示の製剤がヒト血液と等張性であり得る、すなわち本開示の製剤が、実質的に、ヒト血液と同等の浸透圧を有することが、当業者によって理解されるであろう。かかる等張性製剤は、一般的に約250mOsmから約350mOsmまでの浸透圧を有するであろう。等張性を、例えば、蒸気圧または氷結タイプの浸透圧計を使用して測定することができる。製剤の張性を、張性の修飾因子の使用によって調整する。「張性の修飾因子」は、製剤の等張性を提供するために、製剤へ追加することができる薬学的に許容される不活性物質である。本開示に対して適した張性の修飾因子は、糖類、塩、およびアミノ酸を含むがこれらに限定されない。

40

【0091】

ある実施形態において、本開示の製剤は、約100mOsmから約1200mOsmまで、または約200mOsmから約1000mOsmまで、または約200mOsmから約800mOsmまで、または約200mOsmから約600mOsmまで、または約250mOsmから約500mOsmまで、または約250mOsmから約400mOsmまで、または約250mOsmから約350mOsmまでの浸透圧を有する。

【0092】

ある実施形態において、本開示の製剤は、100mOsmから1200mOsmまで、または200mOsmから1000mOsmまで、または200mOsmから800mO

50

5 mまで、または200 m O S mから600 m O S mまで、または250 m O S mから500 m O S mまで、または250 m O S mから400 m O S mまで、または250 m O S mから350 m O S mまでの浸透圧を有する。

【0093】

本開示の製剤の各種の構成要素のうちのいずれか1つまたは任意の組み合わせの濃度を、最終製剤の所望の張性を達成するために調節する。例えば、炭水化物の賦形剤と抗体の比率を、当該技術において知られている方法（例えば、米国特許第6,685,940号）の方法によって調節することができる。ある実施形態において、炭水化物の賦形剤対抗体のモル比は、約100モルから約1000モルまでの炭水化物の賦形剤対約1モルの抗体、または約200モルから約6000モルまでの炭水化物の賦形剤対約1モルの抗体、または約100モルから約510モルまでの炭水化物の賦形剤対約1モルの抗体、または約100モルから約600モルまでの炭水化物の賦形剤対約1モルの抗体であり得る。

10

【0094】

本開示の製剤の各種の構成要素のうちのいずれか1つまたは任意の組み合わせの濃度を、最終製剤の所望の張性を達成するために調節する。例えば、炭水化物の賦形剤と抗体の比率を、当該技術において知られている方法（例えば、米国特許第6,685,940号）の方法によって調節することができる。ある実施形態において、炭水化物の賦形剤対抗体のモル比は、100モルから1000モルまでの炭水化物の賦形剤対1モルの抗体、または200モルから6000モルまでの炭水化物の賦形剤対1モルの抗体、または100モルから510モルまでの炭水化物の賦形剤対1モルの抗体、または100モルから600モルまでの炭水化物の賦形剤対1モルの抗体であり得る。

20

【0095】

最終製剤の所望の等張性を、製剤の塩濃度を調整することによっても達成することができる。薬学的に許容され、張性修飾因子として本開示に適した塩は、塩化ナトリウム、塩化ナトリウム、硫酸ナトリウム、塩化カリウム、塩化マグネシウム、硫酸マグネシウム、および塩化カルシウムを含むがこれらに限定されない。特定の実施形態において、本開示の製剤は、NaCl、MgCl₂、および/またはCaCl₂を含む。一実施形態において、NaClの濃度は、約75 mM ~ 約150 mMの間である。別の実施形態において、MgCl₂の濃度は、約1 mM ~ 約100 mMの間である。薬学的に許容され、張性修飾因子として本開示に対して適しているアミノ酸は、プロリン、アラニン、L-アルギニン、アスパラギン、L-アスパラギン酸、グリシン、セリン、リジン、およびヒスチジンを含むがこれらに限定されない。

30

【0096】

一実施形態において、本開示の製剤は、ヒスチジン、塩化ナトリウム、トレハロース、およびポリソルベート80を含む。一実施形態において、本開示の製剤は、塩化ナトリウム、トレハロース、およびポリソルベート80を含む。一実施形態において、本開示の製剤は、ヒスチジン、トレハロース、およびポリソルベート80を含む。一実施形態において、本開示の製剤は、ヒスチジン、塩化ナトリウム、およびポリソルベート80を含む。一実施形態において、本開示の製剤は、ヒスチジン、塩化ナトリウム、およびトレハロースを含む。一実施形態において、本開示の製剤は、ヒスチジンおよび塩化ナトリウムを含む。一実施形態において、本開示の製剤は、ヒスチジンおよびトレハロースを含む。一実施形態において、本開示の製剤は、ヒスチジンおよびポリソルベート80を含む。一実施形態において、本開示の製剤は、塩化ナトリウムおよびトレハロースを含む。一実施形態において、本開示の製剤は、塩化ナトリウムおよびポリソルベート80を含む。一実施形態において、本開示の製剤は、トレハロースおよびポリソルベート80を含む。

40

【0097】

一実施形態において、本開示の製剤は、ヒスチジン、塩化ナトリウム、トレハロース、およびポリソルベート80を含む。一実施形態において、本開示の製剤は、約5 mM ~ 約100 mMの間のヒスチジン、約10 mM ~ 約300 mMの間の塩化ナトリウム、約0.3% ~ 約10%の間のトレハロース、および約0.005% ~ 約0.1%の間のポリソル

50

ベート 80 を含み、該製剤は約 5.0 ~ 約 7.0 の間の pH を有する。別の実施形態において、本開示の製剤は、約 5 mM ~ 約 50 mM の間のヒスチジン、約 50 mM ~ 約 200 mM の間の塩化ナトリウム、約 1% ~ 約 8% の間のトレハロース、および約 0.01% ~ 約 0.05% の間のポリソルベート 80 を含み、該製剤は、約 5.5 ~ 約 6.5 の間の pH を有する。さらなる実施形態において、本開示の製剤は、約 10 mM のヒスチジン、約 80 mM の塩化ナトリウム、約 4% のトレハロース、および約 0.02% のポリソルベート 80 を含み、該製剤は、約 6.0 の pH を有する。

【 0 0 9 8 】

一実施形態において、本開示の製剤は、ヒスチジン、塩化ナトリウム、トレハロース、およびポリソルベート 80 を含む。一実施形態において、本開示の製剤は、5 mM ~ 100 mM の間のヒスチジン、10 mM ~ 300 mM の間の塩化ナトリウム、1% ~ 10% の間のトレハロース、および 0.005% ~ 0.1% の間のポリソルベート 80 を含み、該製剤は、5.0 ~ 7.0 の間の pH を有する。別の実施形態において、本開示の製剤は、5 mM ~ 50 mM の間のヒスチジン、50 mM ~ 200 mM の間の塩化ナトリウム、1% ~ 6% の間のトレハロース、および 0.01% ~ 0.05% の間のポリソルベート 80 を含み、該製剤は、5.5 ~ 6.5 の間の pH を有する。さらなる実施形態において、本開示の製剤は、10 mM のヒスチジン、80 mM の塩化ナトリウム、4% のトレハロース、および 0.02% のポリソルベート 80 を含み、該製剤は、6.0 の pH を有する。

【 0 0 9 9 】

一実施形態において、本開示の製剤は、約 20 mg/mL ~ 約 150 mg/mL の間の抗 I C O S 抗体、約 10 mM のヒスチジン、約 80 mM の塩化ナトリウム、約 4% のトレハロース、および約 0.02% のポリソルベート 80 からなり、該製剤は約 6.0 の pH を有する。別の実施形態において、本開示の製剤は、約 50 mg/mL の抗 I C O S 抗体、約 10 mM のヒスチジン、約 80 mM の塩化ナトリウム、約 4% のトレハロース、および約 0.02% のポリソルベート 80 からなり、該製剤は約 6.0 の pH を有する。さらなる実施形態において、本開示の製剤は、約 100 mg/mL の抗 I C O S 抗体、約 10 mM のヒスチジン、約 80 mM の塩化ナトリウム、約 4% のトレハロース、および約 0.02% のポリソルベート 80 からなり、該製剤は約 6.0 の pH を有する。さらなる実施形態において、本開示の製剤は、約 110 mg/mL の抗 I C O S 抗体、約 10 mM のヒスチジン、約 80 mM の塩化ナトリウム、約 4% のトレハロース、および約 0.02% のポリソルベート 80 からなり、該製剤は約 6.0 の pH を有する。さらなる実施形態において、本開示の製剤は、約 120 mg/mL の抗 I C O S 抗体、約 10 mM のヒスチジン、約 80 mM の塩化ナトリウム、約 4% のトレハロース、および約 0.02% のポリソルベート 80 からなり、該製剤は約 6.0 の pH を有する。特定の実施形態において、本開示の製剤は、配列番号 6 の重鎖配列、配列番号 1 の軽鎖配列、および糖鎖の還元末端でフコースが N アセチルグルコサミンと結合しない複合 N グリコシド結合糖鎖を有する F c 領域を含む抗 I C O S 抗体を含む。

【 0 1 0 0 】

一実施形態において、本開示の製剤は、20 mg/mL ~ 150 mg/mL の間の抗 I C O S 抗体、10 mM のヒスチジン、80 mM の塩化ナトリウム、4% のトレハロース、および 0.02% のポリソルベート 80 からなり、該製剤は 6.0 の pH を有する。別の実施形態において、本開示の製剤は、50 mg/mL の抗 I C O S 抗体、10 mM のヒスチジン、80 mM の塩化ナトリウム、4% のトレハロース、および 0.02% のポリソルベート 80 からなり、該製剤は 6.0 の pH を有する。さらなる実施形態において、本開示の製剤は、100 mg/mL の抗 I C O S 抗体、10 mM のヒスチジン、80 mM の塩化ナトリウム、4% のトレハロース、および 0.02% のポリソルベート 80 からなり、該製剤は 6.0 の pH を有する。さらなる実施形態において、本開示の製剤は、110 m

g / m L の抗 I C O S 抗体、1 0 m M のヒスチジン、8 0 m M の塩化ナトリウム、4 % のトレハロース、および 0 . 0 2 % のポリソルベート 8 0 からなり、該製剤は 6 . 0 の p H を有する。さらなる実施形態において、本開示の製剤は、1 2 0 m g / m L の抗 I C O S 抗体、1 0 m M のヒスチジン、8 0 m M の塩化ナトリウム、4 % のトレハロース、および 0 . 0 2 % のポリソルベート 8 0 からなり、該製剤は 6 . 0 の p H を有する。さらなる実施形態において、本開示の製剤は、1 3 0 m g / m L の抗 I C O S 抗体、1 0 m M のヒスチジン、8 0 m M の塩化ナトリウム、4 % のトレハロース、および 0 . 0 2 % のポリソルベート 8 0 からなり、該製剤は 6 . 0 の p H を有する。特定の実施形態において、本開示の製剤は、配列番号 6 の重鎖配列、配列番号 1 の軽鎖配列、および糖鎖の還元末端でフコースが N アセチルグルコサミンと結合しない複合 N グリコシド結合糖鎖を有する F c 領域を含む抗 I C O S 抗体を含む。

10

【 0 1 0 1 】

一実施形態において、本開示の製剤は、約 5 m g / m L ~ 約 2 0 m g / m L の間の抗 I C O S 抗体、約 1 0 m M のヒスチジン、約 8 0 m M の塩化ナトリウム、約 4 % のトレハロース、および約 0 . 0 2 % のポリソルベート 8 0 からなり、該製剤は約 6 . 0 の p H を有する。別の実施形態において、本開示の製剤は、約 5 m g / m L の抗 I C O S 抗体、約 1 0 m M のヒスチジン、約 8 0 m M の塩化ナトリウム、約 4 % のトレハロース、および約 0 . 0 2 % のポリソルベート 8 0 からなり、該製剤は約 6 . 0 の p H を有する。さらなる実施形態において、本開示の製剤は、約 1 0 m g / m L の抗 I C O S 抗体、約 1 0 m M のヒスチジン、約 8 0 m M の塩化ナトリウム、約 4 % のトレハロース、および約 0 . 0 2 % のポリソルベート 8 0 からなり、該製剤は約 6 . 0 の p H を有する。さらなる実施形態において、本開示の製剤は、約 1 5 m g / m L の抗 I C O S 抗体、約 1 0 m M のヒスチジン、約 8 0 m M の塩化ナトリウム、約 4 % のトレハロース、および約 0 . 0 2 % のポリソルベート 8 0 からなり、該製剤は約 6 . 0 の p H を有する。特定の実施形態において、本開示の製剤は、配列番号 6 の重鎖配列、配列番号 1 の軽鎖配列、および糖鎖の還元末端においてフコースが N アセチルグルコサミンと結合しない複合 N グリコシド結合糖鎖を有する F c 領域を含む抗 I C O S 抗体を含む。

20

【 0 1 0 2 】

一実施形態において、本開示の製剤は、5 m g / m L ~ 2 0 m g / m L の間の抗 I C O S 抗体、1 0 m M のヒスチジン、8 0 m M の塩化ナトリウム、4 % のトレハロース、および 0 . 0 2 % のポリソルベート 8 0 からなり、該製剤は 6 . 0 の p H を有する。別の実施形態において、本開示の製剤は、5 m g / m L の抗 I C O S 抗体、1 0 m M のヒスチジン、8 0 m M の塩化ナトリウム、4 % のトレハロース、および 0 . 0 2 % のポリソルベート 8 0 からなり、該製剤は 6 . 0 の p H を有する。さらなる実施形態において、本開示の製剤は、1 0 m g / m L の抗 I C O S 抗体、1 0 m M のヒスチジン、8 0 m M の塩化ナトリウム、4 % のトレハロース、および 0 . 0 2 % のポリソルベート 8 0 からなり、該製剤は 6 . 0 の p H を有する。さらなる実施形態において、本開示の製剤は、2 0 m g / m L の抗 I C O S 抗体、1 0 m M のヒスチジン、8 0 m M の塩化ナトリウム、4 % のトレハロース、および 0 . 0 2 % のポリソルベート 8 0 からなり、該製剤は 6 . 0 の p H を有する。特定の実施形態において、本開示の製剤は、配列番号 6 の重鎖配列、配列番号 1 の軽鎖配列、および糖鎖の還元末端でフコースが N アセチルグルコサミンと結合しない複合 N グリコシド結合糖鎖を有する F c 領域を含む抗 I C O S 抗体を含む。

30

40

【 0 1 0 3 】

一実施形態において、本開示の製剤は、実質的にエンドトキシンおよび/または関連する発熱物質が含まれないパイロジェンフリー製剤である。エンドトキシンは、微生物の中に閉じ込められた毒素を含み、微生物が分解または死んだ場合のみに放出される。発熱物質は、細菌および他の微生物の外膜からの発熱を誘発する、熱安定性物質（糖タンパク質）も、含む。これらの物質の両方は、ヒトに対して投与した場合、熱、低血圧、およびショックを発生することができる。悪影響が考えられるため、少量のエンドトキシンであっても、静脈内投与される薬学的な薬液から除かなければならない。米国食品薬品局（「F

50

DA)は、静脈内薬物の使用に対して単一時間でキログラム体重当たりの用量につき5エンドトキシン単位(EU)の上限を設定した(The United States Pharmacopeial Convention, Pharmacopeial Forum 26(1):223(2000))。治療タンパク質は、キログラム体重当たり数百または数千ミリグラムの量で投与された場合、抗体に関する場合のように、微量の有害なおよび危険なエンドトキシンでさえも取り除かれなければならない。ある特定の実施形態において、組成物のエンドトキシンおよびパイロジェンレベルは、10EU/mg未満、または5EU/mg未満、または1EU/mg未満、または0.1EU/mg未満、または0.01EU/mg未満、または0.001EU/mgである。

【0104】

インビボ投与に使用される場合、本開示の製剤は、無菌であるべきである。本開示の製剤を、滅菌ろ過、放射線等を含む各種の滅菌法によって無菌化することができる。一実施形態において、抗体製剤を、予め無菌化しておいた0.22-ミクロンフィルタを用いてろ過無菌化する。注射のための無菌組成物は、“Remington: The Science & Practice of Pharmacy”, 21st ed., Lippincott Williams & Wilkins, (2005)に記載される従来の薬務に従って処方することができる。本明細書に記載されるような、抗体を含む製剤は、通常、凍結乾燥した形式または溶液中で保存されるであろう。抗体を含む無菌組成物は、皮下注射針で穴を開けることができるストッパー等の製剤の取り出しを可能とするアダプターを有する静脈注射用の溶液袋またはバイアルを例とする、無菌の取り出し口を有する容器に配置されることが検討される。一実施形態において、本開示の組成物は、プレフィルドシリンジとして提供される。

【0105】

5.2. 製剤の安定性

一実施形態において、本開示の製剤は、凝集、断片化、および/または脱アミドに影響されやすい抗体またはその断片を含む。

【0106】

一実施形態において、本開示の製剤は、抗ICOS抗体を安定させる。一実施形態において、本開示の製剤は、抗ICOS抗体またはその断片の凝集を防止する。別の実施形態において、本開示の製剤は、抗ICOS抗体またはその断片の断片化を防止する。特定の

【0107】

実施形態において、本開示の製剤は、配列番号6の重鎖配列、配列番号1の軽鎖配列、および糖鎖の還元末端でフコースがNアセチルグルコサミンと結合しない複合Nグリコシド結合糖鎖を有するFc領域を含む抗ICOS抗体を含む。

本開示は、本開示の抗ICOS抗体を含む安定な液体製剤を提供する。参照抗体を含む参照製剤と比較して、HPSEC、逆相クロマトグラフィー、静的光散乱(SLS)、動的光散乱(DLS)、フーリエ変換赤外分光法(FTIR)、円二色性(CD)、尿素アンフォールド技術、内在性のトリプトファン蛍光、示差走査熱量測定、および/またはANS結合技術によって、測定する凝集、断片化、または断片化の度合いによって、該抗体の安定性を、査定することができる。例えば、参照製剤は、80mMのNaCl、4%のトレハロース、および0.02%のポリソルベート80を含有する10mMのヒスチジン(pH6.0)の10mg/mLの参照抗体(その抗体断片を含む)(例えば、これに限定されないが、糖鎖の還元末端でN-アセチルグルコサミンが結合されないフコースの複合N-グリコシド-結合糖鎖を有するFc領域を含む136抗ICOS抗体)からなる-70で冷凍した標準試料であってよく、この参照製剤は、HPSECによって定期的に単一単量体ピークを示す(例えば、95%範囲)。ある実施形態において、参照製剤は、安定性を試験した製剤と同一であり、参照製剤を、元の状態で参照製剤を保存するために、安定性試験の間、-70で冷凍保存することができる。例えば、40で保存した製剤のICOS抗原結合活性のいくらかの損失を査定するための標準試料は、30日間、-70で保存した同一の製剤であることができる。抗体(その抗体断片を含む)を含む

10

20

30

40

50

製剤の全体の安定性を、例えば、E L I S A および単離された抗原分子を使用した放射免疫アッセイを含む様々な免疫学的アッセイによって査定することもできる。さらに、抗体を含む製剤の安定性を、抗体の機能的な特徴を測定するために設計された各種のアッセイ、例えば、抗原結合親和性、インビトロA D C C 活性、インビボ枯渇活性、インビトロC D C 活性を測定するように設計されたアッセイを使用しても査定することができる。

【 0 1 0 8 】

一実施形態において、本開示の製剤は、少なくとも約1週間、少なくとも約2週間、少なくとも約3週間、または少なくとも約4週間の間約40 で保存した際、安定している。一実施形態において、本開示の製剤は、少なくとも約1ヶ月、少なくとも約2ヶ月、少なくとも約3ヶ月、少なくとも約4ヶ月、少なくとも約5ヶ月、または少なくとも約6ヶ月の間、約40 で保存する際安定している。特定の実施形態において、本開示の製剤は、プレフィルドシリンジで保存した際、安定している。

10

【 0 1 0 9 】

一実施形態において、本開示の製剤は、少なくとも約1ヶ月、少なくとも約2ヶ月、少なくとも約3ヶ月、少なくとも約4ヶ月、少なくとも約5ヶ月、少なくとも約6ヶ月、少なくとも約7ヶ月、少なくとも約8ヶ月、少なくとも約9ヶ月、少なくとも約10ヶ月、少なくとも約11ヶ月、または少なくとも約12ヶ月の間、約5 で保存した際、安定している。一実施形態において、本開示の製剤は、少なくとも約1年間、少なくとも約2年間、少なくとも約3年間、少なくとも約4年間、少なくとも約5年間、少なくとも約6年間、少なくとも約7年間、少なくとも約8年間、少なくとも約9年間、少なくとも約10年間、少なくとも約11年間、または少なくとも約12年間の間、約5 で保存した際、安定している。特定の実施形態において、本開示の製剤は、プレフィルドシリンジで保存した際、安定している。

20

【 0 1 1 0 】

一実施形態において、本開示の製剤は、約1週間、約2週間、約3週間、または約4週間の間、約40 で保存した際、安定している。一実施形態において、本開示の製剤は、約1ヶ月、約2ヶ月、約3ヶ月、約4ヶ月、約5ヶ月、または約6ヶ月の間、約40 で保存した際、安定している。特定の実施形態において、本開示の製剤は、プレフィルドシリンジで保存した際、安定している。

【 0 1 1 1 】

一実施形態において、本開示の製剤は、約1ヶ月、約2ヶ月、約3ヶ月、約4ヶ月、約5ヶ月、約6ヶ月、約7ヶ月、約8ヶ月、約9ヶ月、約10ヶ月、約11ヶ月、または約12ヶ月の間、約5 で保存した際、安定している。一実施形態において、本開示の製剤は、約1年間、約2年間、約3年間、約4年間、約5年間、約6年間、約7年間、約8年間、約9年間、約10年間、約11年間、または約12年間の間、約5 で保存した際、安定している。特定の実施形態において、本開示の製剤は、プレフィルドシリンジで保存した際、安定している。

30

【 0 1 1 2 】

一実施形態において、本開示の製剤は、参照抗体のI C O S 結合活性の少なくとも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%、少なくとも95%、または少なくとも99%であるI C O S 結合活性を有する抗I C O S 抗体を含み、該製剤は、約1週間、約2週間、約3週間、または約4週間の間、約40 で保存されたものである。一実施形態において、本開示の製剤は、参照抗体のI C O S 結合活性の少なくとも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%、少なくとも95%、または少なくとも99%であるI C O S 結合活性を有する抗I C O S 抗体を含み、該製剤は、約1ヶ月、約2ヶ月、約3ヶ月、約4ヶ月、約5ヶ月、約6ヶ月の間、約40 で保存されたものである。特定の実施形態において、本開示の製剤は、配列番号6の重鎖配列、配列番号1の軽鎖配列、および糖鎖の還元末端でフコースがNアセチルグルコサミンと結合しない複合Nグリコシド結合糖鎖を有するFc領域を含む抗I C O S 抗体を含む。

40

50

【 0 1 1 3 】

一実施形態において、本開示の製剤は、参照抗体のICOS結合活性の少なくとも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%、少なくとも95%、または少なくとも99%であるICOS結合活性を有する抗ICOS抗体を含み、該製剤は、約1週間、約2週間、約3週間、または約4週間の間、約25で保存されたものである。一実施形態において、本開示の製剤は、参照抗体のICOS結合活性の少なくとも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%、少なくとも95%、または少なくとも99%であるICOS結合活性を有する抗ICOS抗体を含み、該製剤は、約1ヶ月、約2ヶ月、約3ヶ月、約4ヶ月、約5ヶ月、または約6ヶ月の間、約25で保存されたものである。特定の実施形態において、本開示の製剤は、配列番号6の重鎖配列、配列番号1の軽鎖配列、および糖鎖の還元末端でフコースがNアセチルグルコサミンと結合しない複合Nグリコシド結合糖鎖を有するFc領域を含む抗ICOS抗体を含む。

10

【 0 1 1 4 】

一実施形態において、本開示の製剤は、参照抗体のICOS結合活性の少なくとも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%、少なくとも95%、または少なくとも99%であるICOS結合活性を有する抗ICOS抗体を含み、該製剤は、約1ヶ月、約2ヶ月、約3ヶ月、約4ヶ月、約5ヶ月、約6ヶ月、約7ヶ月、約8ヶ月、約9ヶ月、約10ヶ月、約11ヶ月、または約12ヶ月の間、約5で保存されたものである。一実施形態において、本開示の製剤は、参照抗体のICOS結合活性の少なくとも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%、少なくとも95%、または少なくとも99%であるICOS結合活性を有する抗ICOS抗体を含み、該製剤は、約1年間、約2年間、約3年間、約4年間、約5年間、約6年間、約7年間、約8年間、約9年間、約10年間、約11年間、または約12年間の間、約5で保存されたものである。特定の実施形態において、本開示の製剤をプレフィルドシリンジで保存する。特定の実施形態において、本開示の製剤は、配列番号6の重鎖配列、配列番号1の軽鎖配列、および糖鎖の還元末端でフコースがNアセチルグルコサミンと結合しない複合Nグリコシド結合糖鎖を有するFc領域を含む抗ICOS抗体を含む。

20

【 0 1 1 5 】

一実施形態において、本開示の製剤は、抗ICOS抗体を含み、約1週間、約2週間、約3週間、または約4週間の間、約40で製剤を保存中に、抗体は、そのICOS結合活性の約50%以下、約40%以下、約30%以下、約20%以下、約10%以下、約5%以下、または約1%以下を失う。一実施形態において、本開示の製剤は、抗ICOS抗体を含み、約1ヶ月、約2ヶ月、約3ヶ月、約4ヶ月、約5ヶ月、または約6ヶ月の間、約40で製剤を保存中に、抗体はそのICOS結合活性を約50%以下、約40%以下、約30%以下、約20%以下、約10%以下、約5%以下、または約1%以下を失う。特定の実施形態において、本開示の製剤は、配列番号6の重鎖配列、配列番号1の軽鎖配列、および糖鎖の還元末端においてフコースがNアセチルグルコサミンと結合しない複合Nグリコシド結合糖鎖を有するFc領域を含む抗ICOS抗体を含む。

30

40

【 0 1 1 6 】

一実施形態において、本開示の製剤は、抗ICOS抗体を含み、約1週間、約2週間、約3週間、または約4週間の間、約25で製剤の保存中に、抗体は、そのICOS結合活性の約50%以下、約40%以下、約30%以下、約20%以下、約10%以下、約5%以下、または約1%以下を失う。一実施形態において、本開示の製剤は、抗ICOS抗体を含み、約1ヶ月、約2ヶ月、約3ヶ月、約4ヶ月、約5ヶ月、または約6ヶ月の間、約25で製剤を保存中に、抗体はそのICOS結合活性を約50%以下、約40%以下、約30%以下、約20%以下、約10%以下、約5%以下、または約1%以下を失う。特定の実施形態において、本開示の製剤は、配列番号6の重鎖配列、配列番号1の軽鎖配列、および糖鎖の還元末端でフコースがNアセチルグルコサミンと結合しない複合Nグリ

50

コシド結合糖鎖を有するFc領域を含む抗ICOS抗体を含む。

【0117】

一実施形態において、本開示の製剤は、抗ICOS抗体を含み、約1ヶ月、約2ヶ月、約3ヶ月、約4ヶ月、約5ヶ月、約6ヶ月、約7ヶ月、約8ヶ月、約9ヶ月、約10ヶ月、約11ヶ月、または約12ヶ月の間、約5で製剤を保存中、抗体は、そのICOS結合活性の約50%以下、約40%以下、約30%以下、約20%以下、約10%以下、約5%以下、または約1%以下を失う。一実施形態において、本開示の製剤は、抗ICOS抗体を含み、約1年間、約2年間、約3年間、約4年間、約5年間、約6年間、約7年間、約8年間、約9年間、約10年間、約11年間、または約12年間の間、約5で製剤を保存中に、抗体はそのICOS結合活性の約50%以下、約40%以下、約30%以下、約20%以下、約10%以下、約5%以下、または約1%以下を失う。特定の実施形態において、本開示の製剤をプレフィルドシリンジで保存する。特定の実施形態において、本開示の製剤は、配列番号6の重鎖配列、配列番号1の軽鎖配列、および糖鎖の還元末端でフコースがNアセチルグルコサミンと結合しない複合Nグリコシド結合糖鎖を有するFc領域を含む抗ICOS抗体を含む。

10

【0118】

一実施形態において、本開示の製剤は、抗ICOS抗体を含み、該抗体は、少なくとも約1週間、少なくとも約2週間、少なくとも約3週間、または少なくとも約4週間の間、約40で保存する前の、抗体を表す参照抗体と比較して、ヒトICOSとの結合能力の少なくとも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%、少なくとも95%、また少なくとも99%を保持する。一実施形態において、本開示の製剤は抗ICOS抗体を含み、該抗体は、少なくとも約1ヶ月、少なくとも約2ヶ月、少なくとも約3ヶ月、少なくとも約4ヶ月、少なくとも約5ヶ月、または少なくとも約6ヶ月の間、約40で保存する前の抗体を表す参照抗体と比較して、ヒトICOSとの結合能力の少なくとも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%、少なくとも95%、または少なくとも99%を保持する。特定の実施形態において、本開示の製剤をプレフィルドシリンジで保存する。特定の実施形態において、本開示の製剤は、配列番号6の重鎖配列、配列番号1の軽鎖配列、および糖鎖の還元末端でフコースがNアセチルグルコサミンと結合しない複合Nグリコシド結合糖鎖を有するFc領域を含む抗ICOS抗体を含む。

20

30

【0119】

一実施形態において、本開示の製剤は、抗ICOS抗体を含み、該抗体は、少なくとも約1ヶ月、少なくとも約2ヶ月、少なくとも約3ヶ月、少なくとも約4ヶ月、少なくとも約5ヶ月、少なくとも約6ヶ月、少なくとも約7ヶ月、少なくとも約8ヶ月、少なくとも約9ヶ月、少なくとも約10ヶ月、少なくとも約11ヶ月、または少なくとも約12ヶ月の間、約5で保存する前の抗体を表す参照抗体と比較して、ヒトICOSとの結合能力の少なくとも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%、少なくとも95%、または少なくとも99%を保持する。一実施形態において、本開示の製剤は、抗ICOS抗体を含み、該抗体は、少なくとも約1年間、少なくとも約2年間、少なくとも約3年間、少なくとも約4年間、少なくとも約5年間、少なくとも約6年間、少なくとも約7年間、少なくとも約8年間、少なくとも約9年間、少なくとも約10年間、少なくとも約11年間、または少なくとも約12年間の間、約5で保存する前の抗体を表す参照抗体と比較して、ヒトICOSとの結合能力の少なくとも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%、少なくとも95%、または少なくとも99%を保持する。特定の実施形態において、本開示の製剤をプレフィルドシリンジで保存する。特定の実施形態において、本開示の製剤は、配列番号6の重鎖配列、配列番号1の軽鎖配列、および糖鎖の還元末端でフコースがNアセチルグルコサミンと結合しない複合Nグリコシド結合糖鎖を有するFc領域を含む抗ICOS抗体を含む。

40

【0120】

50

一実施形態において、本開示の製剤は、抗ICOS抗体を含み、該抗体は、約1週間、約2週間、約3週間、または約4週間の間、約40 で保存する前の抗体を表す参照抗体と比較して、ヒトICOSとの結合能力の少なくとも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%、少なくとも95%、または少なくとも99%を保持する。一実施形態において、本開示の製剤は、抗ICOS抗体を含み、該抗体は、約1ヶ月、約2ヶ月、約3ヶ月、約4ヶ月、約5ヶ月、または約6ヶ月の間、約40 で保存する前の抗体を表す参照抗体と比較して、ヒトICOSとの結合能力の少なくとも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%、少なくとも95%、または少なくとも99%を保持する。特定の実施形態において、本開示の製剤をプレフィルドシリンジで保存する。特定の実施形態において、本開示の製剤は、配列番号6の重鎖配列、配列番号1の軽鎖配列、および糖鎖の還元末端でフコースがNアセチルグルコサミンと結合しない複合Nグリコシド結合糖鎖を有するFc領域を含む抗ICOS抗体を含む。

10

【0121】

一実施形態において、本開示の製剤は、抗ICOS抗体を含み、該抗体は約1ヶ月、約2ヶ月、約3ヶ月、約4ヶ月、約5ヶ月、約6ヶ月、約7ヶ月、約8ヶ月、約9ヶ月、約10ヶ月、約11ヶ月、または約12ヶ月の間、約5 で保存する前の抗体を表す参照抗体と比較してヒトICOSとの結合能力の少なくとも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%、少なくとも95%、または少なくとも99%を保持する。一実施形態において、本開示の製剤は抗ICOS抗体を含み、該抗体は、約1年間、約2年間、約3年間、約4年間、約5年間、約6年間、約7年間、約8年間、約9年間、約10年間、約11年間、または約12年間の間、約5 で保存する前の抗体を表す参照抗体と比較して、ヒトICOSとの結合能力の少なくとも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%、少なくとも95%、または少なくとも99%を保持する。特定の実施形態において、本開示の製剤をプレフィルドシリンジで保存する。特定の実施形態において、本開示の製剤は、配列番号6の重鎖配列、配列番号1の軽鎖配列、および糖鎖の還元末端でフコースがNアセチルグルコサミンと結合しない複合Nグリコシド結合糖鎖を有するFc領域を含む抗ICOS抗体を含む。

20

【0122】

一実施形態において、本開示の製剤は抗ICOS抗体を含み、少なくとも約1週間、少なくとも約2週間、少なくとも約3週間、または少なくとも約4週間の間、約40 で保存する際に、該抗体の1%未満、2%未満、3%未満、4%未満、5%未満、7%未満、または10%未満は、HPSECで測定される凝集体を形成する。一実施形態において、本開示の製剤は、抗ICOS抗体を含み、少なくとも約1ヶ月、少なくとも約2ヶ月、少なくとも約3ヶ月、少なくとも約4ヶ月、少なくとも約5ヶ月、または少なくとも約6ヶ月の間、約40 で保存する際、該抗体の1%未満、2%未満、3%未満、4%未満、5%未満、7%未満、または10%未満は、HPSECで測定される凝集体を形成する。特定の実施形態において、本開示の製剤をプレフィルドシリンジで保存する。特定の実施形態において、本開示の製剤は、配列番号6の重鎖配列、配列番号1の軽鎖配列、および糖鎖の還元末端でフコースがNアセチルグルコサミンと結合しない複合Nグリコシド結合糖鎖を有するFc領域を含む抗ICOS抗体を含む。

30

40

【0123】

一実施形態において、本開示の製剤は、抗ICOS抗体を含み、少なくとも約1ヶ月、少なくとも約2ヶ月、少なくとも約3ヶ月、少なくとも約4ヶ月、少なくとも約5ヶ月、少なくとも約6ヶ月、少なくとも約7ヶ月、少なくとも約8ヶ月、少なくとも約9ヶ月、少なくとも約10ヶ月、少なくとも約11ヶ月、または少なくとも約12ヶ月の間、約5 で保存する際、該抗体の1%未満、2%未満、3%未満、4%未満、5%未満、7%未満、または10%未満は、HPSECで測定される凝集体を形成する。一実施形態において、本開示の製剤は抗ICOS抗体を含み、少なくとも約1年間、少なくとも約2年間、

50

少なくとも約3年間、少なくとも約4年間、少なくとも約5年間、少なくとも約6年間、少なくとも約7年間、少なくとも約8年間、少なくとも約9年間、少なくとも約10年間、少なくとも約11年間、または少なくとも約12年間の間、約5 で保存する際に、該抗体の1%未満、2%未満、3%未満、4%未満、5%未満、7%未満、または10%未満は、HPSECで測定される凝集体を形成する。特定の実施形態において、本開示の製剤をプレフィルドシリンジで保存する。特定の実施形態において、本開示の製剤は、配列番号6の重鎖配列、配列番号1の軽鎖配列、および糖鎖の還元末端でフコースがNアセチルグルコサミンと結合しない複合Nグリコシド結合糖鎖を有するFc領域を含む抗ICOS抗体を含む。

【0124】

一実施形態において、本開示の製剤は、抗ICOS抗体を含み、約1週間、約2週間、約3週間、または約4週間の間、約40 で保存する際に、該抗体の1%未満、2%未満、3%未満、4%未満、5%未満、7%未満、または10%未満は、HPSECで測定される凝集体を形成する。一実施形態において、本開示の製剤は抗ICOS抗体を含み、約1ヶ月、約2ヶ月、約3ヶ月、約4ヶ月、約5ヶ月、または約6ヶ月の間、約40 で保存する際に、該抗体の1%未満、2%未満、3%未満、4%未満、5%未満、7%未満、または10%未満は、HPSECで測定される凝集体を形成する。特定の実施形態において、本開示の製剤をプレフィルドシリンジで保存する。特定の実施形態において、本開示の製剤は、配列番号6の重鎖配列、配列番号1の軽鎖配列、および糖鎖の還元末端でフコースがNアセチルグルコサミンと結合しない複合Nグリコシド結合糖鎖を有するFc領域を含む抗ICOS抗体を含む。

【0125】

一実施形態において、本開示の製剤は、抗ICOS抗体を含み、約1ヶ月、約2ヶ月、約3ヶ月、約4ヶ月、約5ヶ月、約6ヶ月、約7ヶ月、約8ヶ月、約9ヶ月、約10ヶ月、約11ヶ月、または約12ヶ月の間、約5 で保存する際に、該抗体の1%未満、2%未満、3%未満、4%未満、5%未満、7%未満、または10%未満は、HPSECで測定される凝集体を形成する。一実施形態において、本開示の製剤は抗ICOS抗体を含み、約1年間、約2年間、約3年間、約4年間、約5年間、約6年間、約7年間、約8年間、約9年間、約10年間、約11年間、または約12年間の間、約5 で保存する際に、該抗体の1%未満、2%未満、3%未満、4%未満、5%未満、7%未満、または10%未満は、HPSECで測定される凝集体を形成する。特定の実施形態において、本開示の製剤をプレフィルドシリンジで保存する。特定の実施形態において、本開示の製剤は、配列番号6の重鎖配列、配列番号1の軽鎖配列、および糖鎖の還元末端でフコースがNアセチルグルコサミンと結合しない複合Nグリコシド結合糖鎖を有するFc領域を含む抗ICOS抗体を含む。

【0126】

一実施形態において、本開示の製剤は抗ICOS抗体を含み、少なくとも約1週間、少なくとも約2週間、少なくとも約3週間、または少なくとも約4週間の間、約40 で保存する際、RP-HPLCで測定して、該抗体の1%未満、2%未満、3%未満、4%未満、5%未満、7%未満、または10%未満は断片化される。一実施形態において、本開示の製剤は抗ICOS抗体を含み、少なくとも約1ヶ月、少なくとも約2ヶ月、少なくとも約3ヶ月、少なくとも約4ヶ月、少なくとも約5ヶ月、または少なくとも約6ヶ月の間、約40 で保存する際に、RP-HPLCで測定して、該抗体の1%未満、2%未満、3%未満、4%未満、5%未満、7%未満、または10%未満は、断片化される。特定の実施形態において、本開示の製剤をプレフィルドシリンジで保存する。特定の実施形態において、本開示の製剤は、配列番号6の重鎖配列、配列番号1の軽鎖配列、および糖鎖の還元末端でフコースがNアセチルグルコサミンと結合しない複合Nグリコシド結合糖鎖を有するFc領域を含む抗ICOS抗体を含む。

【0127】

一実施形態において、本開示の製剤は、抗ICOS抗体を含み、少なくとも約1ヶ月、

10

20

30

40

50

少なくとも約2ヶ月、少なくとも約3ヶ月、少なくとも約4ヶ月、少なくとも約5ヶ月、少なくとも約6ヶ月、少なくとも約7ヶ月、少なくとも約8ヶ月、少なくとも約9ヶ月、少なくとも約10ヶ月、少なくとも約11ヶ月、または少なくとも約12ヶ月の間、約5で保存する際に、RP-HPLCで測定して、該抗体の1%未満、2%未満、3%未満、4%未満、5%未満、7%未満、または10%未満は、断片化される。一実施形態において、本開示の製剤は抗ICOS抗体を含み、少なくとも約1年間、少なくとも約2年間、少なくとも約3年間、少なくとも約4年間、少なくとも約5年間、少なくとも約6年間、少なくとも約7年間、少なくとも約8年間、少なくとも約9年間、少なくとも約10年間、少なくとも約11年間、または少なくとも約12年間の間、約5で保存する際に、RP-HPLCで測定して、該抗体の1%未満、2%未満、満3%未、4%未満、5%未満、7%未満、または10%未満は、断片化される。特定の実施形態において、本開示の製剤をプレフィルドシリンジで保存する。特定の実施形態において、本開示の製剤は、配列番号6の重鎖配列、配列番号1の軽鎖配列、および糖鎖の還元末端でフコースがNアセチルグルコサミンと結合しない複合Nグリコシド結合糖鎖を有するFc領域を含む抗ICOS抗体を含む。

10

【0128】

一実施形態において、本開示の製剤は抗ICOS抗体を含み、約1週間、約2週間、約3週間、または約4週間の間、約40で保存する際、RP-HPLCで測定して、該抗体の1%未満、2%未満、3%未満、4%未満、5%未満、7%未満、または10%未満は、断片化される。一実施形態において、本開示の製剤は抗ICOS抗体を含み、約1ヶ月、約2ヶ月、約3ヶ月、約4ヶ月、約5ヶ月、または約6ヶ月の間、約40で保存する際に、RP-HPLCで測定して、該抗体の1%未満、2%未満、3%未満、4%未満、5%未満、7%未満、または10%未満は、断片化される。特定の実施形態において、本開示の製剤をプレフィルドシリンジで保存する。特定の実施形態において、本開示の製剤は、配列番号6の重鎖配列、配列番号1の軽鎖配列、および糖鎖の還元末端でフコースがNアセチルグルコサミンと結合しない複合Nグリコシド結合糖鎖を有するFc領域を含む抗ICOS抗体を含む。

20

【0129】

一実施形態において、本開示の製剤は抗ICOS抗体を含み、約1ヶ月、約2ヶ月、約3ヶ月、約4ヶ月、約5ヶ月、約6ヶ月、約7ヶ月、約8ヶ月、約9ヶ月、約10ヶ月、約11ヶ月、または約12ヶ月の間、約5で保存する際に、RP-HPLCで測定して、該抗体の1%未満、2%未満、3%未満、4%未満、5%未満、7%未満、または10%未満は、断片化される。一実施形態において、本開示の製剤は抗ICOS抗体を含み、約1年間、約2年間、約3年間、約4年間、約5年間、約6年間、約7年間、約8年間、約9年間、約10年間、約11年間、または約12年間の間、約5で保存する際に、RP-HPLCで測定して、該抗体の1%未満、2%未満、3%未満、4%未満、5%未満、7%未満、または10%未満は断片化される。特定の実施形態において、本開示の製剤をプレフィルドシリンジで保存する。特定の実施形態において、本開示の製剤は、配列番号6の重鎖配列、配列番号1の軽鎖配列、および糖鎖の還元末端でフコースがNアセチルグルコサミンと結合しない複合Nグリコシド結合糖鎖を有するFc領域を含む抗ICOS抗体を含む。

30

40

【0130】

一実施形態において、本開示の製剤は、少なくとも約1週間、少なくとも約2週間、少なくとも約3週間、または少なくとも約4週間の間、約40で保存する際に、目視検査で測定して、透明および無色である。一実施形態において、本開示の製剤は、少なくとも約1ヶ月、少なくとも約2ヶ月、少なくとも約3ヶ月、少なくとも約4ヶ月、少なくとも約5ヶ月、または少なくとも約6ヶ月の間、約40で保存する際に、目視検査で測定して、透明および無色である。特定の実施形態において、本開示の製剤をプレフィルドシリンジで保存する。特定の実施形態において、本開示の製剤は、配列番号6の重鎖配列、配列番号1の軽鎖配列、および糖鎖の還元末端でフコースがNアセチルグルコサミンと結合

50

しない複合Nグリコシド結合糖鎖を有するFc領域を含む抗ICOS抗体を含む。

【0131】

一実施形態において、本開示の製剤は、少なくとも約1ヶ月、少なくとも約2ヶ月、少なくとも約3ヶ月、少なくとも約4ヶ月、少なくとも約5ヶ月、少なくとも約6ヶ月、少なくとも約7ヶ月、少なくとも約8ヶ月、少なくとも約9ヶ月、少なくとも約10ヶ月、少なくとも約11ヶ月、または少なくとも約12ヶ月の間、約5℃で保存する際、目視検査で測定して、透明および無色である。一実施形態において、本開示の製剤は、少なくとも約1年間、少なくとも約2年間、少なくとも約3年間、少なくとも約4年間、少なくとも約5年間、少なくとも約6年間、少なくとも約7年間、少なくとも約8年間、少なくとも約9年間、少なくとも約10年間、少なくとも約11年間、または少なくとも約12年間の間、約5℃で保存する際、目視検査で測定して、透明および無色である。特定の実施形態において、本開示の製剤は、配列番号6の重鎖配列、配列番号1の軽鎖配列、および糖鎖の還元末端でフコースがNアセチルグルコサミンと結合しない複合Nグリコシド結合糖鎖を有するFc領域を含む抗ICOS抗体を含む。

10

【0132】

一実施形態において、本開示の製剤は、約1週間、約2週間、約3週間、または約4週間の間、約40℃で保存する際、目視検査で測定して、透明および無色である。一実施形態において、本開示の製剤は、約1ヶ月、約2ヶ月、約3ヶ月、約4ヶ月、約5ヶ月、または約6ヶ月の間、約40℃で保存する際、目視検査で測定して、透明および無色である。特定の実施形態において、本開示の製剤をプレフィルドシリンジで保存する。特定の実施形態において、本開示の製剤は、配列番号6の重鎖配列、配列番号1の軽鎖配列、および糖鎖の還元末端でフコースがNアセチルグルコサミンと結合しない複合Nグリコシド結合糖鎖を有するFc領域を含む抗ICOS抗体を含む。

20

【0133】

一実施形態において、本開示の製剤は、約1ヶ月、約2ヶ月、約3ヶ月、約4ヶ月、約5ヶ月、約6ヶ月、約7ヶ月、約8ヶ月、約9ヶ月、約10ヶ月、約11ヶ月、または約12ヶ月の間、約5℃で保存する際、目視検査で測定して、透明および無色である。一実施形態において、本開示の製剤は、約1年間、約2年間、約3年間、約4年間、約5年間、約6年間、約7年間、約8年間、約9年間、約10年間、約11年間、または約12年間の間、約5℃で保存する際、目視検査で測定して、透明および無色である。特定の実施形態において、本開示の製剤をプレフィルドシリンジで保存する。特定の実施形態において、本開示の製剤は、配列番号6の重鎖配列、配列番号1の軽鎖配列、および糖鎖の還元末端でフコースがNアセチルグルコサミンと結合しない複合Nグリコシド結合糖鎖を有するFc領域を含む抗ICOS抗体を含む。

30

【0134】

ある実施形態において、本開示の製剤は、例えば、室温または4℃で長期間（例えば、これらに限定されないが1週間、1ヶ月、6ヶ月、1年間、2年間、3年間、または5年間）、または38℃～42℃などの高温で（これらに限定されないが、1週間、2週間、3週間、1ヶ月、2ヶ月、3ヶ月、または6ヶ月等）の期間保存する際、改善した凝集プロファイルを維持する。ある実施形態において、製剤は、10%以下の、または20%以下の、または30%以下の、または40%以下の、または50%以下の、または60%以下の、または70%以下の、または80%以下の、または90%以下の、または100%以下の相対湿度を含むがこれらに限定されない様々な湿度条件で光に曝される、または暗い場所で保存される間、保存する際に、改善した凝集プロファイルを維持する。「環境」条件という用語が、一般的に光への曝露と共に、10%～60%の間の相対湿度で約20℃の温度を指すことを当該技術において理解されるであろう。同様に、約10%未満の相対湿度で約2℃～約8℃の間の温度は、総括して「4℃」または「5℃」を指し、約60%の相対湿度で約23℃～約27℃の間の温度は、総括して「25℃」を指し、約75%の相対湿度で約38℃～約42℃の間の温度は、総括して「40℃」を指す。特定の実施形態において、本開示の製剤をプレフィルドシリンジで保存する。

40

50

【 0 1 3 5 】

ある実施形態において、少なくとも1ヶ月間4 で保存した後、粒子マルチサイザーで測定する時に、本開示の製剤は、直径2 ~ 4 μm の約 3.4×10^5 粒子/mL未満、直径4 ~ 10 μm の約 4.0×10^4 粒子/mL未満、直径10 ~ 20 μm の約 4.2×10^3 粒子/mL未満、直径20 ~ 30 μm の約 5.0×10^2 粒子/mL未満、直径30 ~ 40 μm の約 7.5×10^1 粒子/mL未満、および直径40 ~ 60 μm の約9.4粒子/mL未満の粒子プロファイルを含む(または凝集画分としては、そのプロファイルから構成される)。ある実施形態において、本開示の製剤は、40 μm を超える、または30 μm を超える検出可能な粒子を含有しない。特定の実施形態において、本開示の製剤をプレフィルドシリンジで保存する。

10

【 0 1 3 6 】

タンパク質製剤(例えば、本開示の抗体製剤)における凝集の度合い、および/またはそこに存在する凝集体の種類、および/または大きさを測定するための有用な数々の方法は当該技術において知られており、サイズ排除クロマトグラフィー(SEC)、高速サイズ排除クロマトグラフィー(HPSEC)、静的光散乱(SLS)、フーリエ変換赤外分光法(FTIR)、円二色性(CD)、尿素を誘発するタンパク質アンフォールディング手法、内在性のトリプトファン蛍光、示差走査熱量測定、および1-アニリノ-8-ナフトレンスルホン酸(ANS)タンパク質結合技術を含むがこれらに限定されない。例えば、適切な樹脂を詰め込んだカラム上に分子を通過させて、サイズ排除クロマトグラフィー(SEC)を、分子の大きさに基づいて分子を分離するために実施することができ、大きな分子(例えば、凝集体)は小さな分子(例えば、単量体)より先に溶出する。分子を、一般的に280 nmでのUV吸光度で検知し、さらなる特徴付けのために収集することができる。高圧液体クロマトグラフカラムは、よくSEC分析(HP-SEC)で利用される。具体的なSEC方法を、以下の「実施例」の表題の項で詳述する。あるいは、超遠心分析法(AUC)を利用することができる。AUCは、液体試料で高分子の沈降係数(スベドベリ、Sで報告される)を測定する直交法である。SECのように、AUCは、単量体から抗体断片/凝集体を分離および検出することができ、分子量の情報を提供することがさらにできる。製剤のタンパク質の凝集を、コールターカウンターを使用した粒子カウンター分析によって、または濁度計を使用した濁度測定によって、特徴付けることもできる。濁度は粒子による溶液散乱光の量の尺度であり、したがってタンパク質の凝集の一般指標として使用され得る。さらに、非還元のアクリルアミドゲル電気泳動法(PAGE)またはキャピラリーゲル電気泳動(CGE)を、本開示の製剤中の抗体もしくはその断片の凝集および/または断片化状態を特徴付けるために使用することができる。

20

30

【 0 1 3 7 】

一実施形態において、本開示の製剤は、非経口的投与用である。一実施形態において、本開示の製剤は注射製剤である。一実施形態において、本開示の製剤は、静脈内、皮下、または筋肉内投与用である。特定の実施形態において、本開示の製剤は抗ICOS抗体を含み、該製剤は皮下注射用である。特定の実施形態において、本開示の製剤をプレフィルドシリンジで提供する。特定の実施形態において、本開示の製剤は、配列番号6の重鎖配列、配列番号1の軽鎖配列、および糖鎖の還元末端でフコースがNアセチルグルコサミンと結合しない複合Nグリコシド結合糖鎖を有するFc領域を含む抗ICOS抗体を含む。

40

【 0 1 3 8 】

一実施形態において、本開示の製剤は静脈内投与用であり、該製剤は約20 mg/mL ~ 約40 mg/mLの間の抗ICOS抗体またはその断片を含む。特定の実施形態において、本開示の製剤は、配列番号6の重鎖配列、配列番号1の軽鎖配列、および糖鎖の還元末端でフコースがNアセチルグルコサミンと結合しない複合Nグリコシド結合糖鎖を有するFc領域を含む抗ICOS抗体を含む。

【 0 1 3 9 】

一実施形態において、本開示の製剤は皮下投与用であり、該製剤は約70 mg/mL ~ 約250 mg/mLの間の抗ICOS抗体またはその断片を含む。特定の実施形態におい

50

て、本開示の製剤をプレフィルドシリンジで提供する。特定の実施形態において、本開示の製剤は、配列番号 6 の重鎖配列、配列番号 1 の軽鎖配列、および糖鎖の還元末端でフコースが N アセチルグルコサミンと結合しない複合 N グリコシド結合糖鎖を有する Fc 領域を含む抗 I C O S 抗体を含む。

【 0 1 4 0 】

一実施形態において、本開示の製剤は、エアロゾル投与用である。

【 0 1 4 1 】

本開示は、適した容器に抗 I C O S 抗体製剤を含む、ヒトに対しての非経口的投与に適した薬学的な単位剤形も提供する。一実施形態において、本開示の薬学的な単位投与量は、静脈内、皮下、または筋肉内で送達する抗 I C O S 抗体製剤を含む。別の実施形態において、本開示の薬学的な単位投与量は、エアロゾル送達された抗 I C O S 抗体製剤を含む。特定の実施形態において、本開示の薬学的な単位投与量は、皮下送達された抗 I C O S 抗体製剤を含む。別の実施形態において、本開示の薬学的な単位投与量は、エアロゾル送達された抗 I C O S 抗体製剤を含む。さらなる実施形態において、本開示の薬学的な単位投与量は、鼻腔内に投与された抗 I C O S 抗体製剤を含む。一実施形態において、適切な容器は、プレフィルドシリンジである。特定の実施形態において、本開示の製剤は、配列番号 6 の重鎖配列、配列番号 1 の軽鎖配列、および糖鎖の還元末端でフコースが N アセチルグルコサミンと結合しない複合 N グリコシド結合糖鎖を有する Fc 領域を含む抗 I C O S 抗体を含む。

【 0 1 4 2 】

一実施形態において、本開示の製剤は、密閉された容器で提供される。特定の実施形態において、本開示の製剤をプレフィルドシリンジで提供する。特定の実施形態において、本開示の製剤は、配列番号 6 の重鎖配列、配列番号 1 の軽鎖配列、および糖鎖の還元末端でフコースが N アセチルグルコサミンと結合しない複合 N グリコシド結合糖鎖を有する Fc 領域を含む抗 I C O S 抗体を含む。

【 0 1 4 3 】

本開示は、本開示の抗 I C O S 抗体製剤を含むキットをさらに提供する。

【 0 1 4 4 】

本開示は、循環する I C O S を発現する細胞を枯渇させるために十分な量の増強したエフェクター機能（例えば、抗体依存性細胞傷害（A D C C）、補体依存性細胞傷害（C D C）、および/または抗体依存性の食作用）を含む抗 I C O S 抗体を含む製剤を必要とするヒトに投与することを含む、これらに限定されないが、ヒトの慢性感染、自己免疫病または疾患、炎症性疾患または疾患、移植片対宿主病（G V H D）、移植拒絶反応、および T 細胞増殖性疾患等の、T 細胞媒介疾病および疾患を治療し防止する方法にも関する。特定の態様において、本開示は、I g G 1 または I g G 3 ヒトアイソタイプの増強したエフェクター機能を含む抗 I C O S 抗体の治療効果のある療法の投与を含む、これらに限定されないが、ヒトの慢性感染、自己免疫病または疾患、炎症性疾患または疾患、移植片対宿主病（G V H D）、移植拒絶反応、および T 細胞の増殖性疾患等の T 細胞媒介疾病および疾患を治療し防止する方法にも関係する。

【 0 1 4 5 】

本開示は、炎症性疾患または疾患、自己免疫病または疾患、増殖性疾患、感染、I C O S の異常発現および/または活性と付随した、またはそれらを特徴とする疾患または疾患、I C O S 受容体の異常発現および/または活性と付随した、またはそれらを特徴とする疾患または疾患、またはこれらの 1 つ以上の症状を防止する、管理する、治療する、または寛解させる方法も提供する。

【 0 1 4 6 】

一実施形態において、本開示の方法は、抗 I C O S 抗体製剤の予防的または治療的効果のある量を必要とする対象に投与することを含む。一実施形態において、本開示の方法は、多発性硬化症、炎症性腸疾患、インスリン依存性糖尿病、乾癬、自己免疫性甲状腺炎、関節リウマチ、糸球体腎炎、全身性エリテマトーデス、特発性炎症性筋疾患（I I M）、

10

20

30

40

50

皮膚筋炎（DM）、多発性筋炎（PM）、および封入体筋炎（IBM）からなる群から選択した疾病または疾患の防止、処置、管理または寛解のためである。特定の実施形態において、本開示の方法は、全身性エリテマトーデスの防止、処置、管理、または寛解用である。特定の実施形態において、本開示の方法は、乾癬の防止、処置、管理、または寛解用である。特定の実施形態において、本開示の方法は、自己免疫性糖尿病の防止、処置、管理、または寛解用である。別の実施形態において、本開示の方法は、移植拒絶反応または移植片対宿主病の防止、処置、管理、または寛解用である。さらなる実施形態において、本開示の方法は、特発性炎症性筋疾患（IIM）、皮膚筋炎（DM）、多発性筋炎（PM）、および封入体筋炎（IBM）の防止、処置、管理、または寛解用である。

【0147】

10

一実施形態において、疾病または疾患の防止、処置、管理、または寛解用の本開示の方法は、ICOSと特異的に結合する抗体または抗体断片以外の予防または治療剤の予防的または治療的効果のある量を該対象に投与することをさらに含む。

【0148】

一実施形態において、疾病または疾患の防止、処置、管理、または寛解用の本開示の方法は、ICOSと特異的に結合する抗体または抗体断片以外の予防または治療剤の予防的または治療的効果のある量を該対象に投与することをさらに含み、該予防または治療剤は、抗炎症剤、免疫調節剤、血管新生阻害剤、または抗癌剤である。

【0149】

5.3. 本開示の製剤で有用な抗体

20

本開示は、ヒトICOSと特異的に結合し、増強したエフェクター機能を有する抗体の製剤を提供する。一実施形態において、本開示の製剤は、これらに限定されないが、増強したADCC、増強したCDC、および増強した抗体依存性食作用等の、増強したエフェクター機能を含む抗ヒトICOS抗体を含む。特定の実施形態において、本開示の製剤は、増強したADCC活性を含む抗ヒトICOS抗体を含む。これらの抗体を、予防目的含む治療のために使用することができ、例えばICOSの産出または発現が病的症状と付随している場合の状況である。かかる抗体を、各種の疾病の診断またはかかる疾病の進化の研究のために使用することもできる。

【0150】

本開示で有用な抗体は、モノクローナル抗体、合成抗体、（二重特異性抗体を含む）多特異的な抗体、ヒト抗体、ヒト化抗体、キメラ抗体、（二重特異性scFvを含む）一本鎖Fv（scFv）、単鎖抗体、Fab断片、F(ab')断片、ジスルフィド結合Fv（sdFv）、および上記のうちのいずれかのエピトープ結合断片を含むがこれらに限定されない。特に、本開示の抗体は、免疫グロブリン分子および免疫グロブリン分子の免疫学的に活性な部分、すなわち抗原と特異的に結合する抗原結合部位を含有する分子を含む。本開示の免疫グロブリン分子は、任意の種類（例えばIgG、IgE、IgM、IgD、IgA、およびIgY）、クラス（例えば、IgG₁、IgG₂、IgG₃、IgG₄、IgA₁、およびIgA₂）または免疫グロブリン分子のサブクラスであることができる。

30

【0151】

40

本開示に有用な抗体を、鳥および哺乳動物（例えば、これらに限定されないがヒト、マウス、ロバ、ヒツジ、ウサギ、ヤギ、モルモット、ラクダ、ウマ、またはニワトリ）を含む任意の動物起源から提供することができる。特定の実施形態において、抗体はヒトまたはヒト化のモノクローナル抗体である。

【0152】

本開示で有用な抗体は、単一特異性、二重特異性、三重特異性、またはより多い多特異性であり得る。多特異的な抗体は、ポリペプチドの異なるエピトープと特異的に結合することができ、またはポリペプチド、ならびに異種性ポリペプチドまたは固形支持体等の異種性エピトープの両方と特異的に結合することができる。例えば、国際公開WO第93/17715号、WO第92/08802号、WO第91/00360号、WO第92/0

50

5793号; Tuttle, et al., 1991, J. Immunol. 147: 60-69; 米国特許第 4,474,893号、第4,714,681号、第4,925,648号、第5,573,920号、および第5,601,819号; ならびに Kostelný et al., 1992, J. Immunol. 148: 1547-1553を参照されたい。

【0153】

本開示で有用な抗体は、一本鎖抗体であり得る。一本鎖抗体の設計および構成は、すべてが参照により本明細書に組み込まれる Marasco et al., 1993, Proc Natl Acad Sci 90: 7889-7893に記載される。

【0154】

本開示は、ヒトICOSと特異的に結合し、増強したエフェクター機能を有する抗体の製剤を提供する。一実施形態において、本開示の製剤は、これらに限定されないが、増強したADCC、増強したCDC、および増強した抗体依存性食作用等の、増強したエフェクター機能を含む抗ICOS抗体を含む。

【0155】

本開示はマウス異種移植モデルシステムでICOSを発現する細胞を効率的に枯渇させる抗ICOS抗体の製剤をさらに提供する。一実施形態において、本開示の抗ICOS抗体製剤の1つ以上の治療量の投与は、マウス異種移植モデルシステムのICOSを発現する細胞の少なくとも約20%、少なくとも約30%、少なくとも約40%、少なくとも約50%、少なくとも約60%、少なくとも約70%、少なくとも約80%、少なくとも約90%、少なくとも約95%、少なくとも約97%、少なくとも約99%、または少なくとも約100%の枯渇を達成することができる。

【0156】

本開示は、形質転換マウスモデルシステムでICOSを発現する細胞を効率的に枯渇させる抗ICOS抗体の製剤をさらに提供する。一実施形態において、本開示の抗ICOS抗体製剤の1つ以上の治療量の投与は、形質転換マウスモデルシステムのICOSを発現する細胞の少なくとも約20%、少なくとも約30%、少なくとも約40%、少なくとも約50%、少なくとも約60%、少なくとも約70%、少なくとも約80%、少なくとも約90%、少なくとも約95%、少なくとも約97%、少なくとも約99%、または少なくとも約100%の枯渇を達成することができる。

【0157】

本開示は、霊長類(非ヒト霊長類またはヒト)のICOSを発現する細胞を効率的に枯渇させる抗ICOS抗体の製剤も提供する。一実施形態において、本開示の抗ICOS抗体製剤の1つ以上の治療量の投与は、霊長類(非ヒト霊長類またはヒト)のICOSを発現する細胞の少なくとも約20%、少なくとも約30%、少なくとも約40%、少なくとも約50%、少なくとも約60%、少なくとも約70%、少なくとも約80%、少なくとも約90%、少なくとも約95%、少なくとも約97%、少なくとも約99%、または少なくとも約100%の枯渇を達成することができる。

【0158】

本開示は、霊長類(非ヒト霊長類またはヒト)のICOSを発現するT細胞を効率的に枯渇させる抗ICOS抗体の製剤も提供する。一実施形態において、本開示の抗ICOS抗体製剤の1つ以上の治療量の投与は、霊長類(非ヒト霊長類またはヒト)のICOSを発現するT細胞の少なくとも約20%、少なくとも約30%、少なくとも約40%、少なくとも約50%、少なくとも約60%、少なくとも約70%、少なくとも約80%、少なくとも約90%、少なくとも約95%、少なくとも約97%、少なくとも約99%、または少なくとも約100%の枯渇を達成することができる。

【0159】

本開示は、霊長類(非ヒト霊長類またはヒト)のICOSを発現するヘルパーT細胞を効率的に枯渇させる抗ICOS抗体の製剤も提供する。一実施形態において、本開示の抗ICOS抗体製剤の1つ以上の治療量の投与は、霊長類(非ヒト霊長類またはヒト)の

10

20

30

40

50

ICOSを発現するTヘルパー細胞の少なくとも約20%、少なくとも約30%、少なくとも約40%、少なくとも約50%、少なくとも約60%、少なくとも約70%、少なくとも約80%、少なくとも約90%、少なくとも約95%、少なくとも約97%、少なくとも約99%、または少なくとも約100%の枯渇を達成することができる。

【0160】

本開示は、霊長類（非ヒト霊長類またはヒト）のICOSを発現するTh1細胞を効率的に枯渇させる抗ICOS抗体の製剤も提供する。一実施形態において、本開示の抗ICOS抗体製剤の1つ以上の治療用量の投与は、霊長類（非ヒト霊長類またはヒト）のICOSを発現するTh1細胞の少なくとも約20%、少なくとも約30%、少なくとも約40%、少なくとも約50%、少なくとも約60%、少なくとも約70%、少なくとも約80%、少なくとも約90%、少なくとも約95%、少なくとも約97%、少なくとも約99%、または少なくとも約100%の枯渇を達成することができる。

10

【0161】

本開示は、霊長類（非ヒト霊長類またはヒト）のICOSを発現するTh2細胞を効率的に枯渇させる抗ICOS抗体の製剤も提供する。一実施形態において、本開示の抗ICOS抗体製剤の1つ以上の治療用量の投与は、霊長類（非ヒト霊長類またはヒト）のICOSを発現するTh2細胞の少なくとも約20%、少なくとも約30%、少なくとも約40%、少なくとも約50%、少なくとも約60%、少なくとも約70%、少なくとも約80%、少なくとも約90%、少なくとも約95%、少なくとも約97%、少なくとも約99%、または少なくとも約100%の枯渇を達成することができる。

20

【0162】

本開示は、霊長類（非ヒト霊長類またはヒト）のICOSを発現するTh17細胞を効率的に枯渇させる抗ICOS抗体の製剤も提供する。一実施形態において、本開示の抗ICOS抗体製剤の1つ以上の治療用量の投与は、霊長類（非ヒト霊長類またはヒト）のICOSを発現するTh17細胞の少なくとも約20%、少なくとも約30%、少なくとも約40%、少なくとも約50%、少なくとも約60%、少なくとも約70%、少なくとも約80%、少なくとも約90%、少なくとも約95%、少なくとも約97%、少なくとも約99%、または少なくとも約100%の枯渇を達成することができる。

【0163】

本開示は、霊長類（非ヒト霊長類またはヒト）のICOSを発現するメモリーヘルパーT細胞を効率的に枯渇させる抗ICOS抗体の製剤も提供する。一実施形態において、本開示の抗ICOS抗体製剤の1つ以上の治療用量の投与は、霊長類（非ヒト霊長類またはヒト）のICOSを発現するメモリーヘルパーT細胞の少なくとも約20%、少なくとも約30%、少なくとも約40%、少なくとも約50%、少なくとも約60%、少なくとも約70%、少なくとも約80%、少なくとも約90%、少なくとも約95%、少なくとも約97%、少なくとも約99%、または少なくとも約100%の枯渇を達成することができる。

30

【0164】

特定の細胞型の枯渇は、該細胞型の分泌物の枯渇を引き起こすことができる。例えば、本開示のエフェクター機能を増強した抗ICOS抗体を使用したTh17細胞の枯渇は、IL-17の枯渇を引き起こすことができる。本開示は、霊長類（非ヒト霊長類またはヒト）のIL-17を効率的に枯渇させる抗ICOS抗体の製剤も提供する。一実施形態において、本開示の抗ICOS抗体製剤の1つ以上の治療用量の投与は、霊長類（非ヒト霊長類またはヒト）のIL-17の少なくとも約20%、少なくとも約30%、少なくとも約40%、少なくとも約50%、少なくとも約60%、少なくとも約70%、少なくとも約80%、少なくとも約90%、少なくとも約95%、少なくとも約97%、少なくとも約99%、または少なくとも約100%の枯渇を達成することができる。

40

【0165】

本開示は、霊長類（非ヒト霊長類またはヒト）のIL-2を効率的に枯渇させる抗ICOS抗体の製剤も提供する。一実施形態において、本開示の抗ICOS抗体製剤の1つ以

50

上の治療用量の投与は、霊長類（非ヒト霊長類またはヒト）のIL-2の少なくとも約20%、少なくとも約30%、少なくとも約40%、少なくとも約50%、少なくとも約60%、少なくとも約70%、少なくとも約80%、少なくとも約90%、少なくとも約95%、少なくとも約97%、少なくとも約99%、または少なくとも約100%の枯渇を達成することができる。

【0166】

本開示は、投与する際に、霊長類（非ヒト霊長類またはヒト）の二次リンパ器官の胚中心の形成を効率的に防止する抗ICOS抗体の製剤を提供する。一実施形態において、二次リンパ器官はリンパ節である。別の実施形態において、二次リンパ器官は脾臓である。さらなる実施形態において、二次リンパ器官は扁桃腺である。一実施形態において、二次リン

10

【0167】

本開示は、投与する際に、霊長類（非ヒト霊長類またはヒト）の二次リンパ器官の胚中心構造を効率的に破壊する抗ICOS抗体の製剤も提供する。一実施形態において、二次リンパ器官はリンパ節である。別の実施形態において、二次リンパ器官は脾臓である。さらなる実施形態において、二次リンパ器官は扁桃腺である。一実施形態において、二次リンパ器官は腸間膜リンパ節である。

【0168】

本開示は、投与の際に、霊長類（非ヒト霊長類またはヒト）の二次リンパ器官から胚中心B細胞を効率的に枯渇させる抗ICOS抗体の製剤も提供する。一実施形態において、二次リンパ器官はリンパ節である。別の実施形態において、二次リンパ器官は脾臓である。さらなる実施形態において、二次リンパ器官は扁桃腺である。一実施形態において、二次リンパ器官は腸間膜リンパ節である。

20

【0169】

本開示は、投与の際に、霊長類（非ヒト霊長類またはヒト）の循環する種類を切り替えられたB細胞を効率的に枯渇させる抗ICOS抗体の製剤も提供する。一実施形態において、本開示の抗ICOS抗体製剤の1つ以上の治療用量の投与は、少なくとも1日、少なくとも2日、少なくとも5日、少なくとも1週間、少なくとも2週間、少なくとも3週間、少なくとも1ヶ月、少なくとも2ヶ月、少なくとも3ヶ月、少なくとも4ヶ月、少なくとも5ヶ月、少なくとも6ヶ月、少なくとも9ヶ月の間、霊長類（非ヒト霊長類またはヒト）の循環する種類を切り替えられたB細胞を枯渇させる。循環する種類を切り替えられたB細胞の数が、未処理の対照試料の循環する種類を切り替えられたB細胞の数よりも抗体を処理した試料において少なくとも10%低い場合、循環する種類を切り替えられたB細胞の枯渇は、抗ICOS抗体の1つ以上の用量の投与後の期間の間、「実質的に持続する」と考えられている。

30

【0170】

一実施形態において、本開示の製剤は、抗体依存性細胞傷害(ADCC)、補体依存性細胞傷害(CDC)、および/または抗体依存性食作用を媒介する抗ICOS抗体を含む。一実施形態において、本開示の抗ICOS抗体は、抗体依存性細胞傷害(ADCC)および/または抗体依存性食作用を媒介する。一実施形態において、本開示の抗ICOS抗体は、増強した抗体依存性細胞傷害(ADCC)を有する。

40

【0171】

一実施形態において、本開示の製剤は、増強した抗体依存性細胞傷害(ADCC)を媒介する変異Fc領域を含む抗ICOS抗体を含む。さらなる実施形態において、本開示の抗ICOS抗体は、残基239、330、および332からなる群から選択されたアミノ酸残基の少なくとも1つの置換を含む変異Fc領域を含み、アミノ酸残基の位置はEUコンベンションによって決定される。特定の実施形態において、本開示の抗ICOS抗体は、S239D、A330L、およびI332Eからなる群から選択された少なくとも1つのアミノ酸置換を含む変異Fc領域を含み、アミノ酸残基の位置は、EUコンベンションによって決定される。さらなる実施形態において、本開示の抗ICOS抗体は、239の

50

位置のD、330の位置のL、および332の位置のEからなる群から選択された少なくとも1つのアミノ酸残基を含み、アミノ酸残基の位置はE Uコンベンションによって決定される。

【0172】

一実施形態において、本開示の製剤は、少なくとも1つの操作されたグリコフォームを含む操作されたFc領域を有する抗ICOS抗体を含み、該操作されたFc領域は増強した抗体依存性細胞傷害(ADCC)を媒介する。一実施形態において、本開示の抗ICOS抗体は、グリコシル化が欠乏している操作されたFc領域を含む。一実施形態において、本開示の抗ICOS抗体は、フコースが還元末端でN-アセチルグルコサミンと結合しないAsn297と結合した複合N-グリコシド結合糖鎖を有する操作されたFc領域を含む。

10

【0173】

ある実施形態において、本開示の製剤は、限定されないがFc受容体、C1q等のFc結合タンパク質に対して野生型Fc領域よりも高い親和性を有する変異Fc領域を有する抗ICOS抗体を含む。一実施形態において、本開示の抗ICOS抗体は、野生型Fc領域よりもFcRIIIA受容体タンパク質に対して高い親和性を有する変異Fc領域を含む。

【0174】

ある実施形態において、本開示の製剤は、少なくとも1つの操作されるグリコフォームを含む操作されたFc領域を有する抗ICOS抗体を含み、該操作されるFc領域は、限定されないがFc受容体、C1q等のFc結合タンパク質に対して野生型Fc領域よりも高い親和性を有する。一実施形態において、本開示の抗ICOS抗体は、少なくとも1つの操作されたグリコフォームを含む操作されたFc領域を含み、該操作されたFc領域は、野生型Fc領域よりもFcRIIIA受容体タンパク質に対して高い親和性を有する

20

一実施形態において、本開示の抗ICOS抗体は変異Fc領域を含む。別の実施形態において、本開示の抗ICOS抗体は、Fcリガンドタンパク質に対して変化させた親和性を有する変異Fc領域を含む。さらなる実施形態において、本開示の抗ICOS抗体は、FcRIA、FcRIIA、FcRIIB、FcRIIIA、FcRIIIB、FcRIV、およびC1qからなる群から選択されたFcリガンドに対して変化させた親和性を有する変異Fc領域を含む。特定の実施形態において、本開示の抗ICOS抗体は、FcRIIIAタンパク質に対して変化させた親和性を有する変異Fc領域を含む。さらなる実施形態において、本開示の抗ICOS抗体は、C1qタンパク質に対して変化させた親和性を有する変異Fc領域を含む。特定の実施形態において、Fcリガンドタンパク質は、マウス、ヒト、または霊長類(例えば、カニクイザル)Fcリガンドタンパク質であり得る。

30

【0175】

一実施形態において、本開示の抗ICOS抗体は、Fcリガンドタンパク質に対して増加した親和性を有する変異Fc領域を含む。さらなる実施形態において、本開示の抗ICOS抗体は、FcRIA、FcRIIA、FcRIIB、FcRIIIA、FcRIIIB、FcRIV、およびC1qからなる群から選択されたFcリガンドに対して増加した親和性を有する変異Fc領域を含む。特定の実施形態において、本開示の抗ICOS抗体は、FcRIIIAタンパク質に対して増加した親和性を有する変異Fc領域を含む。さらなる実施形態において、本開示の抗ICOS抗体は、C1qタンパク質に対して増加した親和性を有する変異Fc領域を含む。特定の実施形態において、Fcリガンドタンパク質は、マウス、ヒト、または霊長類(例えば、カニクイザル)Fcリガンドタンパク質であり得る。

40

【0176】

一実施形態において、本開示の抗ICOS抗体は、変異Fc領域を含み、該変異Fc領域は少なくとも1つのアミノ酸置換、挿入、または欠失を含む。別の実施形態において、本開示の抗ICOS抗体は、少なくとも1つのアミノ酸置換、挿入、または欠失を含む変

50

異Fc領域を含み、該少なくとも1つのアミノ酸残基置換、挿入、または欠失は、FcRIA、FcRIIA、FcRIIB、FcRIIIA、FcRIIIB、FcRIV、およびC1qからなる群から選択されるFcリガンドに対して増加した親和性を引き起こす。特定の実施形態において、本開示の抗ICOS抗体は、少なくとも1つのアミノ酸置換、挿入、または欠失を含む変異Fc領域を含み、該少なくとも1つのアミノ酸残基の置換、挿入、または欠失は、FcRIIIAタンパク質に対して増加した親和性を引き起こす。さらなる実施形態において、本開示の抗ICOS抗体は、少なくとも1つのアミノ酸置換、挿入、または欠失を含む変異Fc領域を含み、該少なくとも1つのアミノ酸残基の置換、挿入、または欠失は、C1qタンパク質に対して増加した親和性を引き起こす。特定の実施形態において、Fcリガンドタンパク質は、マウス、ヒト、または霊長類（例えば、カニクイザル）Fcリガンドタンパク質であり得る。

10

【0177】

一実施形態において、本開示の抗ICOS抗体は、少なくとも1つのアミノ酸の置換、挿入、または欠失を含む変異Fc領域を含み、該少なくとも1つのアミノ酸残基は、残基239、330、および332からなる群から選択され、アミノ酸残基は、EUインデックスに従って番号付けられる。別の実施形態において、本開示の抗ICOS抗体は、少なくとも1つのアミノ酸置換、挿入、または欠失を含む変異Fc領域を含み、該少なくとも1つの置換された、挿入された、または欠失されたアミノ酸残基は、残基239、330、および332からなる群から選択され、アミノ酸残基は、EUインデックスに従って番号付けられる。さらなる実施形態において、本明細書に記載される抗ICOS抗体は、少なくとも1つのアミノ酸置換を含む変異Fc領域を含み、該少なくとも1つの置換されたアミノ酸残基は、残基239、330、および332からなる群から選択され、アミノ酸残基は、EUインデックスに従って番号付けられる。別の実施形態において、本明細書に記載される抗ICOS抗体は、少なくとも1つのアミノ酸置換を含む変異Fc領域を含み、該少なくとも1つのアミノ酸置換は、S239D、A330L、A330Y、およびI332Eからなる群から選択され、アミノ酸残基は、EUインデックスに従って番号付けられる。特定の実施形態において、本開示の抗ICOS抗体は、S239D、A330L、およびI332Eアミノ酸の置換を含む変異Fc領域を含み、アミノ酸残基はEUインデックスに従って番号付けられる。

20

【0178】

一実施形態において、本開示の抗ICOS抗体は、残基239のD、残基239のE、残基330のL、残基330のY、残基332のE、および残基332のDからなる群から選択されたアミノ酸残基のうちの少なくとも1つを含む変異Fc領域を含み、アミノ酸残基は、EUインデックスに従って番号付けられる。特定の実施形態において、本開示の抗ICOS抗体は、残基239のD、残基330のL、および残基332のEを含む変異Fc領域を含み、アミノ酸残基はEUインデックスに従って番号付けられる。

30

【0179】

一実施形態において、本開示の抗ICOS抗体は、操作されたFc領域を含み、操作されたFc領域は、親抗ICOS抗体のものと異なる翻訳後修飾を含む。特定の実施形態において、本開示の抗ICOS抗体は、操作されたFc領域を含み、該操作されたFc領域は、フコースが糖鎖の還元末端のN-アセチルグルコサミンと結合しない複合Nグリコシド結合糖鎖を含む。

40

【0180】

一実施形態において、本開示の抗ICOS抗体は、Fcリガンドタンパク質に対して変化した親和性を有する操作されたFc領域を含む。さらなる実施形態において、本開示の抗ICOS抗体は、FcRIA、FcRIIA、FcRIIB、FcRIIIA、FcRIIIB、FcRIV、およびC1qからなる群から選択されたFcリガンドに対して変化した親和性を有する操作されたFc領域を含む。特定の実施形態において、本開示の抗ICOS抗体は、FcRIIIAタンパク質に対して変化した親和性を有する操作されたFc領域を含む。さらなる実施形態において、本開示の抗ICOS抗体は

50

、C1qタンパク質に対して増加した親和性を有する操作されたFc領域を含む。

【0181】

一実施形態において、本開示の抗ICOS抗体は、Fcリガンドタンパク質に対して増加した親和性を有する操作されたFc領域を含む。さらなる実施形態において、本開示の抗ICOS抗体は、Fc RIA、Fc RIIA、Fc RIIB、Fc RIIIA、Fc RIIIB、Fc RIV、およびC1qからなる群から選択されたFcリガンドに対して増加した親和性を有する操作されたFc領域を含む。特定の実施形態において、本開示の抗ICOS抗体は、Fc RIIIAタンパク質に対して増加した親和性を有する操作されたFc領域を含む。さらなる実施形態において、本開示の抗ICOS抗体は、C1qタンパク質に対して増加した親和性を有する操作されたFc領域を含む。

10

【0182】

一実施形態において、本開示の抗ICOS抗体は、操作されたFc領域を含み、該操作されたFc領域は、天然抗体と比較して縮小したレベルのフコースを含む。別の実施形態において、本開示の抗ICOS抗体は、縮小したレベルのフコースを含む操作されたFc領域を含み、該フコースレベルの縮小は、Fc RIA、Fc RIIA、Fc RIIB、Fc RIIIA、Fc RIIIB、Fc RIV、およびC1qからなる群から選択されたFcリガンドに対して増加した親和性を引き起こす。特定の実施形態において、本開示の抗ICOS抗体は、縮小したレベルのフコースを含む操作されたFc領域を含み、該フコースレベルの縮小は、Fc RIIIAタンパク質に対して増加した親和性を引き起こす。さらなる実施形態において、本開示の抗ICOS抗体は、縮小したレベルのフコースを含む操作されたFc領域を含み、該フコースレベルの縮小は、C1qタンパク質に対して増加した親和性を引き起こす。

20

【0183】

本明細書に記載される抗ICOS抗体は、ヒトFc RIIIAタンパク質に対して高い結合親和性を有するFc領域を含む。一実施形態において、本開示の抗ICOS抗体は、少なくとも $10^3 M^{-1}$ 、少なくとも $5 \times 10^3 M^{-1}$ 、少なくとも $10^4 M^{-1}$ 、少なくとも $5 \times 10^4 M^{-1}$ 、少なくとも $10^5 M^{-1}$ 、少なくとも $5 \times 10^5 M^{-1}$ 、少なくとも $10^6 M^{-1}$ 、少なくとも $5 \times 10^6 M^{-1}$ 、少なくとも $10^7 M^{-1}$ 、少なくとも $5 \times 10^7 M^{-1}$ 、少なくとも $10^8 M^{-1}$ 、少なくとも $5 \times 10^8 M^{-1}$ 、少なくとも $10^9 M^{-1}$ 、少なくとも $5 \times 10^9 M^{-1}$ 、少なくとも $10^{10} M^{-1}$ 、少なくとも $5 \times 10^{10} M^{-1}$ 、少なくとも $10^{11} M^{-1}$ 、少なくとも $5 \times 10^{11} M^{-1}$ 、少なくとも $10^{12} M^{-1}$ 、または少なくとも $5 \times 10^{12} M^{-1}$ の親和性定数または K_a (k_{on} / k_{off})を有するFc領域を含む。別の実施形態において、本開示の抗ICOS抗体は、 $5 \times 10^{-3} M$ 未満、 $10^{-3} M$ 未満、 $5 \times 10^{-4} M$ 未満、 $10^{-4} M$ 未満、 $5 \times 10^{-5} M$ 未満、 $10^{-5} M$ 未満、 $5 \times 10^{-6} M$ 未満、 $10^{-6} M$ 未満、 $5 \times 10^{-7} M$ 未満、 $10^{-7} M$ 未満、 $5 \times 10^{-8} M$ 未満、 $10^{-8} M$ 未満、 $5 \times 10^{-9} M$ 未満、 $10^{-9} M$ 未満、 $5 \times 10^{-10} M$ 未満、 $10^{-10} M$ 未満、 $5 \times 10^{-11} M$ 未満、 $10^{-11} M$ 未満、 $5 \times 10^{-12} M$ 未満、または $10^{-12} M$ 未満の解離定数または K_d (k_{off} / k_{on})を有するFc領域を含む。

30

【0184】

本明細書に記載される方法と一致して使用される抗体は、本明細書に記載されるまたは当業者に知られている方法を使用して査定した(例えば、BIAcoreアッセイ、ELISA)(Biacore International AB, Uppsala, Sweden)、3000 nM未満、2500 nM未満、2000 nM未満、1500 nM未満、1000 nM未満、750 nM未満、500 nM未満、250 nM未満、200 nM未満、150 nM未満、100 nM未満、75 nM未満、50 nM未満、25 nM未満、10 nM未満、5 nM未満、1 nM未満の解離定数(K_d)を含むヒトFc RIIIAと結合するFc領域を含むことができる。特定の実施形態において、本明細書に記載される方法と一致して使用される抗体は、本明細書に記載されるまたは当業者に知られている方法(例えば、BIAcoreアッセイ、ELISA)を使用して査定した、1~300

40

50

0 nM、1 ~ 3000 nM、1 ~ 2000 nM、1 ~ 1500 nM、1 ~ 1000 nM、1 ~ 750 nM、1 ~ 500 nM、1 ~ 250 nM、1 ~ 100 nM、1 ~ 50 nM、1 ~ 25 nM、1 ~ 10 nMの間の解離定数 (K_d) を含むヒトFc RIIIAと結合するFc領域を含むことができる。別の実施形態において、本明細書に記載される方法と一致して使用される抗ICOS抗体は、本明細書に記載されるまたは当業者に知られている方法(例えば、BIAcoreアッセイ、ELISA)を使用して査定した、500 nM、250 nM、100 nM、75 nM、50 nM、25 nM、10 nM、または1 nMの解離定数 (K_d) を含むヒトFc RIIIAと結合するFc領域を含むことができる。

【0185】

本明細書に記載される抗ICOS抗体は、非ヒト霊長類(例えば、カニクイザル)Fc RIIIAタンパク質に対して高い結合親和性を有するFc領域を含む。一実施形態において、本開示の抗ICOS抗体は、少なくとも $10^3 M^{-1}$ 、少なくとも $5 \times 10^3 M^{-1}$ 、少なくとも $10^4 M^{-1}$ 、少なくとも $5 \times 10^4 M^{-1}$ 、少なくとも $10^5 M^{-1}$ 、少なくとも $5 \times 10^5 M^{-1}$ 、少なくとも $10^6 M^{-1}$ 、少なくとも $5 \times 10^6 M^{-1}$ 、少なくとも $10^7 M^{-1}$ 、少なくとも $5 \times 10^7 M^{-1}$ 、少なくとも $10^8 M^{-1}$ 、少なくとも $5 \times 10^8 M^{-1}$ 、少なくとも $10^9 M^{-1}$ 、少なくとも $5 \times 10^9 M^{-1}$ 、少なくとも $10^{10} M^{-1}$ 、少なくとも $5 \times 10^{10} M^{-1}$ 、少なくとも $10^{11} M^{-1}$ 、少なくとも $5 \times 10^{11} M^{-1}$ 、少なくとも $10^{12} M^{-1}$ 、または少なくとも $5 \times 10^{12} M^{-1}$ の親和性定数または K_a (k_{on} / k_{off}) を有するFc領域を含む。別の実施形態において、本開示の抗ICOS抗体は、 $5 \times 10^{-3} M$ 未満、 $10^{-3} M$ 未満、 $5 \times 10^{-4} M$ 未満、 $10^{-4} M$ 未満、 $5 \times 10^{-5} M$ 未満、 $10^{-5} M$ 未満、 $5 \times 10^{-6} M$ 未満、 $10^{-6} M$ 未満、 $5 \times 10^{-7} M$ 未満、 $10^{-7} M$ 未満、 $5 \times 10^{-8} M$ 未満、 $10^{-8} M$ 未満、 $5 \times 10^{-9} M$ 未満、 $10^{-9} M$ 未満、 $5 \times 10^{-10} M$ 未満、 $10^{-10} M$ 未満、 $5 \times 10^{-11} M$ 未満、 $10^{-11} M$ 未満、 $5 \times 10^{-12} M$ 未満、または $10^{-12} M$ 未満の解離定数または K_d (k_{off} / k_{on}) を有するFc領域を含む。

【0186】

本明細書に記載される方法と一致して使用される抗体は、本明細書に記載されるまたは当業者に知られている方法を使用して査定した(例えば、BIAcoreアッセイ、ELISA)(Biacore International AB, Uppsala, Sweden)、3000 nM未満、2500 nM未満、2000 nM未満、1500 nM未満、1000 nM未満、750 nM未満、500 nM未満、250 nM未満、200 nM未満、150 nM未満、100 nM未満、75 nM未満、50 nM未満、25 nM未満、10 nM未満、5 nM未満、1 nM未満の解離定数 (K_d) を含む非ヒト霊長類(例えば、カニクイザル)Fc RIIIAと結合するFc領域を含むことができる。特定の実施形態において、本明細書に記載される方法と一致して使用される抗体は、本明細書に記載されるまたは当業者に知られている方法(例えば、BIAcoreアッセイ、ELISA)を使用して査定した、1 ~ 3000 nM、1 ~ 3000 nM、1 ~ 2000 nM、1 ~ 1500 nM、1 ~ 1000 nM、1 ~ 750 nM、1 ~ 500 nM、1 ~ 250 nM、1 ~ 100 nM、1 ~ 50 nM、1 ~ 25 nM、1 ~ 10 nMの間の解離定数 (K_d) を含む非ヒト霊長類(例えば、カニクイザル)Fc RIIIAと結合するFc領域を含むことができる。別の実施形態において、本明細書に記載される方法と一致して使用される抗ICOS抗体は、本明細書に記載されるまたは当業者に知られている方法(例えば、BIAcoreアッセイ、ELISA)を使用して査定した、500 nM、250 nM、100 nM、75 nM、50 nM、25 nM、10 nM、または1 nMの解離定数 (K_d) を含む非ヒト霊長類(例えば、カニクイザル)Fc RIIIAと結合するFc領域を含むことができる。

【0187】

本明細書に記載される抗ICOS抗体は、マウスFc RIIIAタンパク質に対して高い結合親和性を有するFc領域を含む。一実施形態において、本開示の抗ICOS抗体

10

20

30

40

50

は、少なくとも $10^3 M^{-1}$ 、少なくとも $5 \times 10^3 M^{-1}$ 、少なくとも $10^4 M^{-1}$ 、
 少なくとも $5 \times 10^4 M^{-1}$ 、少なくとも $10^5 M^{-1}$ 、少なくとも $5 \times 10^5 M^{-1}$ 、
 少なくとも $10^6 M^{-1}$ 、少なくとも $5 \times 10^6 M^{-1}$ 、少なくとも $10^7 M^{-1}$ 、少な
 くとも $5 \times 10^7 M^{-1}$ 、少なくとも $10^8 M^{-1}$ 、少なくとも $5 \times 10^8 M^{-1}$ 、少な
 くとも $10^9 M^{-1}$ 、少なくとも $5 \times 10^9 M^{-1}$ 、少なくとも $10^{10} M^{-1}$ 、少な
 くとも $5 \times 10^{10} M^{-1}$ 、少なくとも $10^{11} M^{-1}$ 、少なくとも $5 \times 10^{11} M^{-1}$ 、
 少なくとも $10^{12} M^{-1}$ 、または少なくとも $5 \times 10^{12} M^{-1}$ の親和性定数または K_a
 (k_{on} / k_{off}) を有する Fc 領域を含む。別の実施形態において、本開示の抗 I
 COS 抗体は、 $5 \times 10^{-3} M$ 未満、 $10^{-3} M$ 未満、 $5 \times 10^{-4} M$ 未満、 $10^{-4} M$
 未満、 $5 \times 10^{-5} M$ 未満、 $10^{-5} M$ 未満、 $5 \times 10^{-6} M$ 未満、 $10^{-6} M$ 未満、 5
 $\times 10^{-7} M$ 未満、 $10^{-7} M$ 未満、 $5 \times 10^{-8} M$ 未満、 $10^{-8} M$ 未満、 5×10^{-9}
 M 未満、 $10^{-9} M$ 未満、 $5 \times 10^{-10} M$ 未満、 $10^{-10} M$ 未満、 5×10^{-11}
 M 未満、 $10^{-11} M$ 未満、 $5 \times 10^{-12} M$ 未満、または $10^{-12} M$ 未満の解離定数
 または K_d (k_{off} / k_{on}) を有する Fc 領域を含む。

【0188】

本明細書に記載される方法と一致して使用される抗体は、本明細書に記載されるまたは
 当業者に知られている方法を使用して査定した（例えば、BIAcore アッセイ、ELI
 SA）（Biacore International AB, Uppsala, Sweden）、 $3000 nM$ 未満、 $2500 nM$ 未満、 $2000 nM$ 未満、 $1500 nM$ 未
 満、 $1000 nM$ 未満、 $750 nM$ 未満、 $500 nM$ 未満、 $250 nM$ 未満、 $200 nM$
 未満、 $150 nM$ 未満、 $100 nM$ 未満、 $75 nM$ 未満、 $50 nM$ 未満、 $25 nM$ 未満、
 $10 nM$ 未満、 $5 nM$ 未満、 $1 nM$ 未満の解離定数 (K_d) を含むマウス Fc RIIIA
 と結合する Fc 領域を含むことができる。特定の実施形態において、本明細書に記載さ
 れる方法と一致して使用される抗体は、本明細書に記載されるまたは当業者に知られて
 いる方法（例えば、BIAcore アッセイ、ELISA）を使用して査定した、 $1 \sim 30$
 $00 nM$ 、 $1 \sim 3000 nM$ 、 $1 \sim 2000 nM$ 、 $1 \sim 1500 nM$ 、 $1 \sim 1000 nM$
 、 $1 \sim 750 nM$ 、 $1 \sim 500 nM$ 、 $1 \sim 250 nM$ 、 $1 \sim 100 nM$ 、 $1 \sim 50 nM$ 、
 $1 \sim 25 nM$ 、 $1 \sim 10 nM$ の間の解離定数 (K_d) を含むマウス Fc RIIIA と結
 合する Fc 領域を含むことができる。別の実施形態において、本明細書に記載される方法
 と一致して使用される抗 I COS 抗体は、本明細書に記載されるまたは当業者に知られて
 いる方法（例えば、BIAcore アッセイ、ELISA）を使用して査定した、 500
 nM 、 $250 nM$ 、 $100 nM$ 、 $75 nM$ 、 $50 nM$ 、 $25 nM$ 、 $10 nM$ 、または $1 n$
 M の解離定数 (K_d) を含むマウス Fc RIIIA と結合する Fc 領域を含むことが
 できる。

【0189】

本開示は、ヒト I COS と特異的に結合し、増強したエフェクター機能を有する抗体の
 製剤を提供する。一実施形態において、本開示の製剤は、これらに限定されないが、増強
 した ADC、増強した CDC、および増強した抗体依存性食作用等の、増強したエフェ
 クター機能を含む抗 I COS 抗体を含む。一実施形態において、本開示の製剤は、 200
 8 年 5 月 7 日に出願された米国特許出願第 $12/116,512$ 号に開示された抗 I CO
 S 抗体を含む。一実施形態において、本開示の抗 I COS 抗体は、 1 、 2 、 3 、 4 、 5 、
 または 6 つすべての JMAB-136 の CDR を含む（例えば、米国特許第 $6,803,$
 039 号）。

【0190】

Kabat によって定義された JMAB-136 の重鎖可変領域の CDR1、CDR2
 、および CDR3 に対するアミノ酸配列は、それぞれ配列番号 8 、配列番号 9 、および配
 列番号 10 として同定される。Kabat によって定義された JMAB-136 の軽鎖可
 変領域の CDR1、CDR2、および CDR3 に対するアミノ酸配列は、それぞれ配列番
 号 3 、配列番号 4 、および配列番号 5 として同定される。

【0191】

10

20

30

40

50

Kabat 番号方式は、National Institutes of Health, National Technical Information Service によって3巻として出版されたKabatらの(1991) Sequences of Proteins of Immunological Interest 公開第91-3242号の影響のある研究を基にしている(以下「Kabat」)。Kabatは、数々の種類の抗体アイソタイプからの免疫グロブリン鎖の複数の配列の整列を提供する。整列された配列は、単一番号方式、Kabat 番号方式によって番号が付けられる。Kabat 配列は、1991の出版以来更新されてきており、電子配列データベース(最新のダウンロード可能なバージョンは、1997)として利用可能である。任意の免疫グロブリン配列は、Kabatによると、Kabat 参照配列で整列をすることによって、番号が付けられ得る。したがって、Kabat 番号方式は、免疫グロブリン鎖の番号付けのための、統一システムを提供する。別の方法で示されない限り、本明細書に記載されるすべての免疫グロブリンアミノ酸配列は、Kabat 番号方式によって番号付けられる。同様に、本明細書に参照されるすべての単一アミノ酸の位置は、Kabat 番号方式によって番号付けられる。

10

【0192】

ある実施形態において、本開示の抗ICOS抗体は、配列番号8、配列番号9、および配列番号10からなる群から選択されるアミノ酸配列を有する少なくとも1つのCDRを含む重鎖可変領域、VH、を含むことができる。ある実施形態において、本開示の抗ICOS抗体は、配列番号7のアミノ酸配列を有するVHドメインを含むことができる。

20

【0193】

ある実施形態において、本明細書に記載される抗ICOS抗体は、配列番号3、配列番号4、および配列番号5からなる群から選択されたアミノ酸配列を有する少なくとも1つのCDRを含む軽鎖可変領域、VK、を含むことができる。ある実施形態において、本開示の抗ICOS抗体は、配列番号2のアミノ酸配列を有するVKドメインを含むことができる。

【0194】

一実施形態において、本開示の抗ICOS抗体は、配列番号2のアミノ酸配列を有するVKドメインを含み、配列番号7のアミノ酸配列を有するVHドメインをさらに含む。

【0195】

本開示は、ヒトICOSと結合することができる本明細書に記載されるVHドメイン、VH CDR1、VH CDR2、VH CDR3、VKドメイン、VK CDR1、VK CDR2、またはVK CDR3の誘導体を含む、ヒトICOSと結合する抗体を包含する。当業者に知られている標準的な技術を、抗体をコードするヌクレオチド配列に突然変異(例えば、付加、欠失、および/または置換)を導入するために使用することができる。例えば、アミノ酸置換を生成するためにルーチン的に使用される部位特異的変異誘発およびPCR媒介変異誘発を含む。一実施形態において、VHおよび/またはVK CDR誘導体は、JMab-136抗ICOS抗体の本来のVHおよび/またはVK CDRと比べて25個未満のアミノ酸置換、20個未満のアミノ酸置換、15個未満のアミノ酸置換、10個未満のアミノ酸置換、5個未満のアミノ酸置換、4個未満のアミノ酸置換、3個未満のアミノ酸置換、2個未満のアミノ酸置換、または1個のアミノ酸置換を含むことができる。別の実施形態において、VHおよび/またはVK CDR誘導体は、1つ以上の予測された非必須アミノ酸残基(すなわち、ヒトICOSと特異的に結合するための抗体に対して重大ではないアミノ酸残基)で作製された保存アミノ酸の置換(例えば、上記)を有することができる。突然変異は、飽和変異誘発性等によって、VHおよび/またはVK CDRをコードする配列のすべてまたは一部に従って無作為に導入することもでき、結果としての変異体を、活性を保持する変異体を同定するために、生物活性に対してスクリーニングすることができる。変異誘発後、コードされた抗体を、発現することができる。抗体の活性を測定することができる。

30

40

【0196】

50

本開示は、ヒトICOSと結合する抗体、1つ以上のCDRを含む該抗体または抗体断片をさらに含有し、該CDRは、JMab-136抗ICOS抗体の1つ以上のCDRのアミノ酸配列と少なくとも45%、少なくとも50%、少なくとも55%、少なくとも60%、少なくとも65%、少なくとも70%、少なくとも75%、少なくとも80%、少なくとも85%、少なくとも90%、少なくとも95%、または少なくとも99%同一であるアミノ酸配列を含む。2つのアミノ酸配列の同一性パーセントは、BLASTタンパク質検索を含むがこれに限定されない、当業者に知られている、任意の方法によって測定することができる。

【0197】

本開示は、ヒトICOSと結合する抗体、VHおよび/またはVKドメインを含む該抗体または抗体断片をさらに包含し、該VHおよび/またはVKドメインは、JMab-136抗ICOS抗体のVHおよびVKドメインのアミノ酸配列と少なくとも45%、少なくとも50%、少なくとも55%、少なくとも60%、少なくとも65%、少なくとも70%、少なくとも75%、少なくとも80%、少なくとも85%、少なくとも90%、少なくとも95%、また少なくとも99%同一であるアミノ酸配列を含む。2つのアミノ酸配列の同一性パーセントは、BLASTタンパク質検索を含むがこれに限定されない、当業者に知られている、任意の方法によって測定することができる。

10

【0198】

一実施形態において、本開示の抗ICOS抗体は、JMab-136抗ICOS抗体のものに相当する親和性を含むヒトICOSと結合することができる。

20

【0199】

一実施形態において、本開示の抗ICOS抗体は、JMab-136抗ICOS抗体と同じICOSのエピトープと特異的に結合する。

【0200】

一実施形態において、抗ICOS抗体は、ICOS結合に対してJMab-136抗ICOS抗体と特異的に競合する。拮抗実験を、当該技術において知られている任意の結合アッセイ、例えば、限定されないがELISAアッセイ、放射免疫アッセイ、およびフローサイトメトリーを使用して実施することができる。

【0201】

本開示は、増強したエフェクター機能を含む抗ICOS抗体をコードするヌクレオチド配列を含むポリヌクレオチドをさらに提供する。本開示は、増強したエフェクター機能を含む抗ICOS抗体をコードするポリヌクレオチドに対して、本明細書に定義される通り、ストリンジェントなまたは低ストリンジェンシーであるハイブリダイゼーション条件下でハイブリッド形成するポリヌクレオチドも包含する。

30

【0202】

本開示の別の実施形態は、増強したエフェクター機能を含む抗ICOS抗体をコードする1つ以上のヌクレオチド配列を含むベクターである。

【0203】

本開示は、ベクターを含む単離された細胞にさらに関し、該ベクターは、増強したエフェクター機能を含む抗ICOS抗体をコードする1つ以上のヌクレオチド配列を含む。

40

【0204】

本開示の抗ICOS抗体は、IgG1、IgG2、IgG3、またはIgG4ヒトアイソタイプのものを含む。

【0205】

本開示は、増強したエフェクター機能を含む抗ICOS抗体、ならびにそれらの抗体を含む組成物に関する。ある実施形態において、本開示の抗ICOS抗体は、抗体依存性細胞傷害(ADCC)を媒介することができる。他の実施形態において、本開示は、ヒトADCC、CDC、および/または抗体依存性の食作用を媒介することができる、IgG1および/またはIgG3ヒトアイソタイプの抗ICOS抗体、ならびにIgG2および/またはIgG4ヒトアイソタイプの抗ICOS抗体を含む組成物に向けられている。

50

【0206】

本明細書に記載される抗ICOS抗体は、ヒトICOS抗原に対して高い結合親和性を有することができる。例えば、本明細書に記載される抗体は、少なくとも $2 \times 10^5 \text{ M}^{-1} \text{ s}^{-1}$ 、少なくとも $5 \times 10^5 \text{ M}^{-1} \text{ s}^{-1}$ 、少なくとも $10^6 \text{ M}^{-1} \text{ s}^{-1}$ 、少なくとも $5 \times 10^6 \text{ M}^{-1} \text{ s}^{-1}$ 、少なくとも $10^7 \text{ M}^{-1} \text{ s}^{-1}$ 、少なくとも $5 \times 10^7 \text{ M}^{-1} \text{ s}^{-1}$ 、または少なくとも $10^8 \text{ M}^{-1} \text{ s}^{-1}$ の会合速度定数または k_{on} 速度(抗体(Ab) + 抗原(Ag) $\xrightarrow{k_{on}}$ Ab-Ag)を有することができる。

【0207】

別の実施形態において、抗ICOS抗体は、 $5 \times 10^{-1} \text{ s}^{-1}$ 未満、 10^{-1} s^{-1} 未満、 $5 \times 10^{-2} \text{ s}^{-1}$ 未満、 10^{-2} s^{-1} 未満、 $5 \times 10^{-3} \text{ s}^{-1}$ 未満、 10^{-3} s^{-1} 未満、 $5 \times 10^{-4} \text{ s}^{-1}$ 未満、または 10^{-4} s^{-1} 未満の k_{off} 速度((Ab-Ag) $\xrightarrow{k_{off}}$ 抗体(Ab) + 抗原(Ag))を有することができる。別の実施形態において、本開示の抗体は、 $5 \times 10^{-5} \text{ s}^{-1}$ 未満、 10^{-5} s^{-1} 未満、 $5 \times 10^{-6} \text{ s}^{-1}$ 未満、 10^{-6} s^{-1} 未満、 $5 \times 10^{-7} \text{ s}^{-1}$ 未満、 10^{-7} s^{-1} 未満、 $5 \times 10^{-8} \text{ s}^{-1}$ 未満、 10^{-8} s^{-1} 未満、 $5 \times 10^{-9} \text{ s}^{-1}$ 未満、 10^{-9} s^{-1} 未満、または 10^{-10} s^{-1} 未満の k_{off} を有する。

【0208】

別の実施形態において、抗ICOS抗体は、少なくとも 10^2 M^{-1} 、少なくとも $5 \times 10^2 \text{ M}^{-1}$ 、少なくとも 10^3 M^{-1} 、少なくとも $5 \times 10^3 \text{ M}^{-1}$ 、少なくとも 10^4 M^{-1} 、少なくとも $5 \times 10^4 \text{ M}^{-1}$ 、少なくとも 10^5 M^{-1} 、少なくとも $5 \times 10^5 \text{ M}^{-1}$ 、少なくとも 10^6 M^{-1} 、少なくとも $5 \times 10^6 \text{ M}^{-1}$ 、少なくとも 10^7 M^{-1} 、少なくとも $5 \times 10^7 \text{ M}^{-1}$ 、少なくとも 10^8 M^{-1} 、少なくとも $5 \times 10^8 \text{ M}^{-1}$ 、少なくとも 10^9 M^{-1} 、少なくとも $5 \times 10^9 \text{ M}^{-1}$ 、少なくとも 10^{10} M^{-1} 、少なくとも $5 \times 10^{10} \text{ M}^{-1}$ 、少なくとも 10^{11} M^{-1} 、少なくとも $5 \times 10^{11} \text{ M}^{-1}$ 、少なくとも 10^{12} M^{-1} 、少なくとも $5 \times 10^{12} \text{ M}^{-1}$ 、少なくとも 10^{13} M^{-1} 、少なくとも $5 \times 10^{13} \text{ M}^{-1}$ 、少なくとも 10^{14} M^{-1} 、少なくとも $5 \times 10^{14} \text{ M}^{-1}$ 、少なくとも 10^{15} M^{-1} 、または少なくとも $5 \times 10^{15} \text{ M}^{-1}$ の親和性定数または K_a (k_{on} / k_{off})を有することができる。さらに別の実施形態において、抗ICOS抗体は、 $5 \times 10^{-2} \text{ M}$ 未満、 10^{-2} M 未満、 $5 \times 10^{-3} \text{ M}$ 未満、 10^{-3} M 未満、 $5 \times 10^{-4} \text{ M}$ 未満、 10^{-4} M 未満、 $5 \times 10^{-5} \text{ M}$ 未満、 10^{-5} M 未満、 $5 \times 10^{-6} \text{ M}$ 未満、 10^{-6} M 未満、 $5 \times 10^{-7} \text{ M}$ 未満、 10^{-7} M 未満、 $5 \times 10^{-8} \text{ M}$ 未満、 10^{-8} M 未満、 $5 \times 10^{-9} \text{ M}$ 未満、 10^{-9} M 未満、 $5 \times 10^{-10} \text{ M}$ 未満、 10^{-10} M 未満、 $5 \times 10^{-11} \text{ M}$ 未満、 10^{-11} M 未満、 $5 \times 10^{-12} \text{ M}$ 未満、 10^{-12} M 未満、 $5 \times 10^{-13} \text{ M}$ 未満、 10^{-13} M 未満、 $5 \times 10^{-14} \text{ M}$ 未満、 10^{-14} M 未満、 $5 \times 10^{-15} \text{ M}$ 未満、または 10^{-15} M 未満の解離定数または、 K_d (k_{off} / k_{on})を有することができる。

【0209】

本明細書に記載される方法と一致して使用される抗体は、ICOSと免疫特異的に結合することができる、本明細書に記載されるまたは当業者に知られる方法(例えば、Biacoreアッセイ、ELISA)(Biacore International AB, Uppsala, Sweden)を使用して査定される、 3000 pM 未満、 2500 pM 未満、 2000 pM 未満、 1500 pM 未満、 1000 pM 未満、 750 pM 未満、 500 pM 未満、 250 pM 未満、 200 pM 未満、 150 pM 未満、 100 pM 未満、 75 pM 未満の解離定数(K_d)を有することができる。特定の実施形態において、本明細書に記載される方法と一致して使用される抗体は、ヒトICOS抗原と免疫特異的に結合することができる、本明細書に記載されるまたは当業者に知られている方法(例えば、Biacoreアッセイ、ELISA)を使用して査定される、 $25 \sim 3400 \text{ pM}$ 、 $25 \sim 3000 \text{ pM}$ 、 $25 \sim 2500 \text{ pM}$ 、 $25 \sim 2000 \text{ pM}$ 、 $25 \sim 1500 \text{ pM}$ 、 $25 \sim 1000 \text{ pM}$ 、 $25 \sim 750 \text{ pM}$ 、 $25 \sim 500 \text{ pM}$ 、 $25 \sim 250 \text{ pM}$ 、 $25 \sim 100 \text{ pM}$ 、 $25 \sim 75 \text{ pM}$ 、 $25 \sim 50 \text{ pM}$ の間の解離定数(K_d)を有することができる。

別の実施形態において、本明細書に記載される方法と一致して使用される抗ICOS抗体は、ICOSと免疫特異的に結合することができ、本明細書に記載されるまたは当業者に知られている方法（例えば、BIAcoreアッセイ、ELISA）を使用して査定される、500 pM、100 pM、75 pM、または50 pMの解離定数（ K_d ）を有することができる。

【0210】

ICOSと特異的に結合する抗体は、すなわち、共有結合がヒトICOSとの結合を除去しないように、任意の種類分子と抗体との共有結合によって修飾された誘導体を含む。例えば、限定するわけではないが、抗体の誘導体は、例えば、限定されないが、グリコシル化、アセチル化、ペグ化、リン酸化、アミド化、既知の保護基/遮断基による誘導体
10
化、タンパク質切断、細胞リガンドまたは他のタンパク質との結合等によって修飾された抗体を含む。任意の数々の化学的な修飾を、特異的な化学的な切断、アセチル化、ホルミル化、ツニカマイシンの代謝合成等を含むがこれらに限定されない既知の技術によって実施することができる。さらに、誘導体は、1つ以上の非古典的なアミノ酸を含有することができる。

【0211】

ヒトICOSと特異的に結合する本開示の抗体の製剤は、単一特異性、二重特異性、三重特異性、またはこれらより多い多特異性であり得る。多特異的な抗体は、ヒトICOSの異なるエピトープに対して特異的であることができるか、またはヒトICOSならびに
20
異種性ポリペプチドまたは固形支持物質等の異種性エピトープの両方に対して特異的であることができる。

【0212】

5.4. モノクローナル抗ICOS抗体

モノクローナル抗ICOS抗体は、ヒトICOS抗原に対して結合特異性を示し、ヒトADCC、CDCおよび/または抗体依存性食作用を媒介することができる。かかる抗体を、ハイブリドーマ、組換え、およびファージディスプレイ法、またはそれらの組み合わせを使用することを含む、当該技術において知られている幅広い種類の技術を使用して生成することができる。抗体は、非常に特異的であり、単一抗原部位に対して作られる。操作された抗ICOS抗体を、以下に記載する技術およびそれらの技術の改善を含むがこれらに限定されない、当該技術において知られている任意の方法で産生することができる。
30
大規模高収率生産は、典型的には、操作された抗ICOS抗体を産生する宿主細胞を培養し、宿主細胞培養から抗ICOS抗体を回収することを含む。

【0213】

5.4.1. ハイブリドーマ技法

モノクローナル抗体を、当該技術において知られており、例えば、HarlowらAntibodies: A Laboratory Manual, (Cold Spring Harbor Laboratory Press, 2nd ed. 1988); HammerlingらのMonoclonal Antibodies and T Cell Hybridomas, 563-681 (Elsevier, N.Y., 1981) (該参考文献は、すべてが参照によって本明細書に組み込まれる)の教えを含むハイブリドーマ技法を使用して産生することができる。例えば、ハイブリドーマ方法で、マウスまたはハムスターもしくはマカクザル等の他の適切な宿主動物を、免疫化に対して使用されるタンパク質と特異的に結合する抗体を産生するまたは産生することが可能であるリンパ球を、誘発するために免疫化する。リンパ球をインビトロで免疫化することもできる。リンパ球は、ハイブリドーマ細胞を形成するために、ポリエチレングリコール等の適した融合剤を使用して骨髓腫細胞と融合する (Goding, Monoclonal Antibodies: Principles and Practice, pp. 59-103 (Academic Press, 1986))。
40

【0214】

このようにして調製されたハイブリドーマ細胞を、融合していない、親骨髓腫細胞の成
50

長または生存を抑制する1つ以上の物質を含有する適切な培地に播き、成長させる。例えば、親骨髄腫細胞が酵素ヒポキサンチングアニンホスホリボシルトランスフェラーゼ（HGPRTまたはHPRRT）を欠乏する場合、ハイブリドーマの培地は、典型的にヒポキサンチン、アミノプテリン、およびチミジン（HAT培地）を含み、これらの物質がHGPRT欠損細胞の成長を防止する。

【0215】

特定の実施形態は、効率的に融合し、選択された抗体産生細胞による抗体の安定した高レベル産生を支援し、HAT培地等の培地に対して感受性がある骨髄腫細胞を利用する。これらの骨髄腫細胞系の中でも、Salk Institute Cell Distribution Center, San Diego, CA, USAより入手可能なMOPC-21およびMPC-11マウス腫瘍およびAmerican Type Culture Collection, Rockville, MD, USAより入手可能なSP-2またはX63-Ag8.653細胞に由来するもの等のマウス骨髄腫系統である。ヒト骨髄腫およびマウスヒトヘテロ骨髄腫細胞系を、ヒトモノクローナル抗体の産生のためにも記載した（Kozbor, J. Immunol., 133:3001 (1984); Brodeur et al., Monoclonal Antibody Production Techniques and Applications, pp. 51-63 (Marcel Dekker, Inc., New York, 1987)）。

10

【0216】

ハイブリドーマ細胞が成長している培地を、ヒトICOS抗原に対して作られるモノクローナル抗体の産生に対してアッセイする。ハイブリドーマ細胞によって産生されたモノクローナル抗体の結合特異性を、免疫沈降によって、または放射免疫アッセイ（RIA）または酵素結合免疫吸着検定法（ELISA）等のインビトロ結合アッセイによって、測定することができる。

20

【0217】

ハイブリドーマ細胞は、所望の特異性、親和性、および/または活性の抗体を産生することが同定された後、クローンを、希釈手順を限定することによってサブクローンすることができ、標準方法によって成長させることができる（Goding, Monoclonal Antibodies: Principles and Practice, pp. 59-103 (Academic Press, 1986)）。この目的に対する適切な培地は、例えば、D-MEMまたはRPMI 1640培地を含む。さらに、ハイブリドーマ細胞は、動物の腹水腫瘍としてインビボで成長させることができる。

30

【0218】

サブクローンによって分泌されたモノクローナル抗体を、例えば、タンパク質A-セファロース、ヒドロキシルアパタイトクロマトグラフィー、ゲル電気泳動、透析、または親和性クロマトグラフィー等の従来の免疫グロブリン精製手順によって培地、腹水、または血清から適切に分離することができる。

【0219】

5.4.2. 組換えDNA技法

本明細書に記載される抗ICOS抗体をコードするDNAを、従来の手順を使用して（例えば、抗ICOS抗体の重鎖および軽鎖をコードする遺伝子と特異的に結合することができるオリゴヌクレオチドプローブを使用することによって）、容易に単離し、配列決定する。ハイブリドーマ細胞は、かかるDNAの源として役立つ。単離されるとすぐに、DNAを発現ベクターに配置し、続いてこれを大腸菌細胞、サルCOS細胞、チャニーズハムスター卵巣細胞（CHO）細胞、またはそうでなければ免疫グロブリンタンパク質を産生しない骨髄腫細胞等の宿主細胞に形質移入して、この組換え宿主細胞内での抗ICOS抗体の合成を得る。

40

【0220】

ファージディスプレイ法では、機能的抗体ドメインを、それらをコードするポリヌクレオチド配列を保有するファージ粒子の表面上に提示させる。特に、 V_H および V_L ドメイ

50

ンをコードするDNA配列を、動物cDNAライブラリー（例えば、影響された組織のヒトまたはマウスcDNAライブラリー）から増幅する。V_HおよびV_LドメインをコードするDNAを、PCRによりscFvリンカーと共に組み換え、ファージミドベクターにクローン化する。このベクターを大腸菌に電気穿孔し、この大腸菌をヘルパーファージに感染させる。これらの方法で使用されるファージは、典型的にfdおよびM13を含む糸状ファージであり、V_HおよびV_Lドメインは、大抵はファージ遺伝子IIIまたは遺伝子VIIのいずれかと組換え融合される。特定の抗原と結合する抗原結合ドメインを発現するファージを、例えば、標識抗原、または固体表面もしくはビーズと結合またはこれに捕獲された抗原を使用して、抗原と共に選択、または同定することができる。本開示の抗体を作製するために使用することができるファージディスプレイ法の例は、それぞれが参照によってすべてが本明細書に組み込まれているBrinkman et al., 1995, J. Immunol. Methods, 182: 41-50; Ames et al., 1995, J. Immunol. Methods, 184: 177-186、Kettleborough et al., 1994, Eur. J. Immunol., 24: 952-958、Persic et al., 1997, Gene, 187: 9-18、Burton et al., 1994, Advances in Immunology, 57: 191-280、国際出願PCT/GB第91/O1 134号、国際出願WO第90/02809号、WO第91/10737号、WO第92/01047号、WO第92/18619号、WO第93/11236号、WO第95/15982号、WO第95/20401号、WO第97/13844号、および米国特許第5,698,426号、第5,223,409号、第5,403,484号、第5,580,717号、第5,427,908号、第5,750,753号、第5,821,047号、第5,571,698号、第5,427,908号、第5,516,637号、第5,780,225号、第5,658,727号、第5,733,743号、および第5,969,108号に開示されているものを含む。

【0221】

上記の参考文献に記載されるとおり、ファージ選択後、抗体をコードする領域をファージから単離し、ヒト抗体、またはその他の所望の抗原結合断片を含む全抗体を生成するために使用することができ、例えば、下記に記載されるとおり、哺乳類細胞、昆虫細胞、植物細胞、酵母、および細菌を含む任意の所望の宿主内で発現することができる。Fab、Fab'、およびF(ab')₂断片を組み換え産生する技法を、PCT公開WO第92/2324号、Mullinax et al., 1992, BioTechniques, 12(6): 864-869、Sawai et al., 1995, AJRI, 34: 26-34、およびBetter et al., 1988, Science, 240: 1041-1043（該参考文献は参照によってすべてが組み込まれている）に開示されているもの等、当該技術において知られている方法を使用して利用することができる。

【0222】

抗体を、McCafferty et al., Nature, 348: 552-554（1990）Clackson et al., Nature, 352: 624-628（1991）に記載される技法を使用して生成された抗体ファージライブラリーから単離することができる。Marks et al., J. Mol. Biol., 222: 581-597（1991）は、ファージライブラリーを使用して、それぞれマウスおよびヒト抗体の単離を説明する。鎖の組換えは、コンビナトリアル感染および非常に大きなファージライブラリーを構成する戦略としてのインビボ組換え（Waterhouse et al., Nucl. Acids. Res., 21: 2265-2266（1993））と並んで、高い親和性の（nM範囲）ヒト抗体の産生に使用することができる（Marks et al., Bio/Technology, 10: 779-783（1992））。したがって、これらの技法は、抗ICOS抗体の単離に対する伝統的なモノクローナル抗体のハイブリドーマ技法の実行可能な代替案である。

【0223】

全抗体を生成するために、VHまたはVLヌクレオチド配列を含むPCRプライマー、制限部位、制限部位を保護するための隣接配列を、scFvクローンのVHまたはVL配列を増幅するために使用することができる。当業者に知られているクローン技法を利用し、PCR増幅したVHドメインを、重鎖の定常領域、例えばヒトガンマ4定常領域を発現するベクターにクローン化することができ、PCR増幅したVLドメインを、軽鎖の定常領域、例えばヒトカッパまたはラムダ定常領域を発現するベクターにクローン化することができる。VHまたはVLドメインを発現するためのベクターは、EF-1プロモーター、分泌シグナル、可変ドメインに対するクローン部位、定常ドメイン、およびネオマイシン等の選択マーカーを含むことができる。VHおよびVLドメインを、必要な定常領域を発現する1つのベクターにクローン化することもできる。次に、重鎖変換ベクターおよび軽鎖変換ベクターを、当業者に知られている技法を使用して、全長抗体、例えばIgG、を発現する安定なまたは一過性の細胞系を生成するために細胞系へ同時形質移入する。

10

【0224】

DNAを、例えば、相同マウス配列の代わりにヒト重鎖および軽鎖の定常ドメインのためのコード配列で置換することによって(米国特許第4,816,567号、Morrisson et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 81:6851(1984))、または非免疫グロブリンポリペプチドに対するコード配列のすべてまたは一部に免疫グロブリンのコード配列を共有結合的に連結させることによって、修飾することができる。

【0225】

20

5.5. キメラ抗体

本明細書の抗ICOS抗体は、重鎖および/または軽鎖の一部が、特定の種に由来する、または特定の抗体クラスもしくはサブクラスに属する抗体の対応する配列と同一または相同であり、一方、この(これらの)鎖の別の部分が、別の種に由来する、または別の抗体クラスもしくはサブクラスに属する抗体の対応する配列と同一または相同であるキメラ抗体(免疫グロブリン)、ならびに、所望の生物活性を示す限りにおいて、かかる抗体の断片を、特異的に含む(米国特許第4,816,567号、Morrisson et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 81:6851-6855(1984))。本明細書の対象のキメラ抗体は、非ヒト霊長類に由来する可変ドメイン抗原結合配列(例えば、ヒヒ、アカゲザル、またはカニクイザル等の旧世界ザル)およびヒト定常領域配列を含む「霊長類化(primatized)」した抗体を含む(米国特許第5,693,780号)。

30

【0226】

5.6. 変化した/変異体抗体

本明細書に記載する組成物および方法の抗ICOS抗体は、変異体抗体であることができる。本明細書で使用する「抗体変異体」または「変化した抗体」は、抗ICOS抗体のアミノ酸配列の変異を指し、抗ICOS抗体のアミノ酸残基の1つ以上が修飾されたものである。抗ICOS抗体のアミノ酸配列の修飾は、抗原に対する抗体の親和性または結合活性を改善することができる配列の修飾、および/またはエフェクター機能を改善することができる抗体のFc部分の修飾を含む。

40

【0227】

したがって本開示は、本明細書に開示する増強したエフェクター機能を含む抗ICOS抗体、ならびに変化したヒトICOS結合特徴、例えば変化した会合定数 K_{ON} 、解離定数 K_{OFF} 、および/または平衡定数または結合親和性、 K_D を示すものを含むがこれらに限定されないその抗体の変化した/変異した誘導体に関する。ある実施形態において、ヒトICOSに対する本明細書に記載される抗ICOS抗体またはその変化した/変異した誘導体の K_D は、約 10^{-6} M、 10^{-7} M、 10^{-8} M、または 10^{-9} M以下であることができる。本開示の抗体、またはその変化した/変異した誘導体のかかる結合特性の測定に適した方法および試薬は、当該技術において知られており、および/または市販されている(上記および例えばそれぞれが参照によってすべてが組み込まれている米国

50

特許第6,849,425号、米国特許第6,632,926号、米国特許第6,294,391号、および米国特許第6,143,574号)。さらに、かかる動態分析用の機材およびソフトウェアは、市販されている(例えば、Biacore(登録商標)A100、およびBiacore(登録商標)2000機器、Biacore International AB, Uppsala, Sweden)。

【0228】

修飾を、任意の既知の抗ICOS抗体または本明細書に記載する同定された抗ICOS抗体に作製することができる。かかる変化した抗体は、必ず100%未満の既知の抗ICOS抗体との配列同一性または類似度を有する。一例として、変化した抗体は、本明細書に記載される抗ICOS抗体の重鎖または軽鎖可変ドメインのいずれかのアミノ酸配列と約25%~約95%同一または同等の範囲内であるアミノ酸配列を有することができる。変化した抗体は、本明細書に記載される抗ICOS抗体の重鎖または軽鎖可変ドメインのいずれかのアミノ酸配列と少なくとも25%、35%、45%、55%、65%、75%、80%、85%、90%、または95%のアミノ酸配列同一性または類似度を有するアミノ酸配列を有することができる。別の実施形態において、変化した抗体は、本明細書に記載される抗ICOS抗体の重鎖CDR1、CDR2、またはCDR3のアミノ酸配列と少なくとも25%、35%、45%、55%、65%、75%、80%、85%、90%、または95%のアミノ酸配列同一性または類似度を有するアミノ酸配列を含むことができる。一実施形態において、変化した抗体は、ヒトICOS結合能力を維持することができる。ある実施形態において、本明細書に記載される抗ICOS抗体は、配列番号7のアミノ酸配列と少なくともまたは約10%、15%、20%、25%、30%、35%、40%、45%、50%、55%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、95%、またはそれを超える割合で同一であるVHを含むことができる。

【0229】

別の実施形態において、変化した抗体は、本明細書に記載される抗ICOS抗体の軽鎖CDR1、CDR2、またはCDR3のアミノ酸配列と少なくとも25%、35%、45%、55%、65%、75%、80%、85%、90%、または95%のアミノ酸配列同一性または類似度を有するアミノ酸配列を含むことができる。ある実施形態において、本開示の抗ICOS抗体は、配列番号2のアミノ酸配列と少なくともまたは約10%、15%、20%、25%、30%、35%、40%、45%、50%、55%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、95%、またはそれを超える割合で同一であるVLを含むことができる。

【0230】

配列に関して同一性または類似度を、必要であれば、最大配列同一性パーセントを達成するために、配列を整列し、ギャップを導入したあと、抗ICOS抗体残基と同一(すなわち、同じ残基)または同様(すなわち、共通の側鎖性質を基にした同じ群からのアミノ酸残基、下記を参照)である候補の配列のアミノ酸残基の割合として本明細書で定義する。N末端、C末端、または可変ドメインの外側の抗体配列への内部伸張、欠失もしくは挿入のいずれも、配列同一性または類似度に影響するとして解釈されるべきではない。

【0231】

当該技術において知られている「%同一性」は、ポリヌクレオチドまたはポリペプチドの配列を比較することによって測定される2つのポリヌクレオチドまたは2つのポリペプチド間の関係の尺度である。一般的に、比較される2つの配列を、配列間の最大の相関を得るために整列する。2つの配列の整列を、検査し、2つの配列間のアミノ酸またはヌクレオチドが完全に一致する位置の数を測定し、整列の全体の長さでわり、100をかけることで、%同一性の数値を得る。この%同一性の数値は、比較する配列の全長にわたって測定してよく、これは同じまたは非常に似た長さであり、非常に相関的な配列に対して特に適しており、または、より短い限定された長さにわたって測定してもよく、これは不均等な長さ、もしくは相同性の低いレベルを有する配列により適している。

【0232】

例えば、配列を、「.aln」の拡張子のファイルを生成するUnix下のソフトウェア `aclocalw` を用いて整列することができ、次にこのファイルを、.alnファイルを開く、Bioeditプログラムにインポートすることができる (Hall, T. A. 1999, BioEdit: a user-friendly biological sequence alignment editor and analysis program for Windows 95/98/NT. *Nucl. Acids. Symp. Ser.* 41: 95-98)。Bioeditウィンドウで、個々の配列(一度に2つ)およびそれらの整列を選択することができる。この方法は、全体の配列の比較を可能にする。

【0233】

2つ以上の配列の同一性を比較する方法は、当該技術においてよく知られている。したがって、例えばプログラムは、Wisconsin Sequence Analysis Package, version 9.1で入手可能である (Genetics Computer Group, Madison, WI, USAより入手可能、Devereux J. et al., *Nucleic Acids Res.*, 12: 387-395, 1984)。2つの配列間の同一性パーセントの測定を、数学アルゴリズムを使用して達成することができる。例えば、BESTFITおよびGAPプログラムを、2つのポリヌクレオチド間の%同一性および2つのポリペプチド配列間の%同一性を測定するために使用することができる。BESTFITは、SmithおよびWatermanの「局所相同性」アルゴリズムを使用し (Advances in Applied Mathematics, 2: 482-489, 1981)、2つの配列間の類似度の最も良い単一領域を見出す。BESTFITは、長さが似ていない2つのポリヌクレオチドまたは2つのポリペプチド配列を比較することにより適しており、このプログラムは短い方の配列が長い方の一部を表すと仮定する。相対的に、GAPは、NeddlemanおよびWunschのアルゴリズムによって「最大の類似度」を見出し、2つの配列を整列する (J. Mol. Biol., 48: 443-354, 1970)。GAPは、およそ同じ長さである配列を比較することにより適しており、整列は、全長に対して予期される。好ましくは、それぞれのプログラムで使用する「Gap Weight」および「Length Weight」のパラメータは、ポリヌクレオチドに対してそれぞれ50および3であり、ポリペプチドに対して12および4である。好ましくは、比較される2つの配列を最適に配列する場合、%同一性および類似度を、測定する。

【0234】

配列間の同一性および/または類似度を測定するための他のプログラムも、当該技術、例えばプログラムのBLASTファミリー (Karlin & Altschul, 1990, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 87: 2264-2268, Karlin & Altschul, 1993, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 90: 5873-5877で修正され、National Center for Biotechnology Information (NCBI), Bethesda, MD, USAより入手可能であり、www.ncbi.nlm.nih.govのNCBIのホームページ上でアクセス可能である) において知られている。これらのプログラムは、2つの配列の比較のために領された数学アルゴリズムの限定されない例である。かかるアルゴリズムは、Altschul et al., 1990, *J. Mol. Biol.*, 215: 403-410のNBLASTおよびXBLASTプログラムに組み込まれる。BLASTヌクレオチド検索を、本開示の抗ICOS抗体の場合、すべてまたは一部をコードする核酸分子と相同であるヌクレオチド配列を得るために、NBLASTプログラム、スコア=100、ワード長=12、を用いて実施することができる。BLASTタンパク質検索を、本開示のタンパク質分子と相同であるアミノ酸配列を得るために、XBLASTプログラム、スコア=50、ワード長=3、を用いて実施することができる。比較目的のためギャップのある整列を得るために、Gapped BLASTをAltschul et al., 1997, *Nucleic Acids Res.*, 25

10

20

30

40

50

: 3389 - 3402に記載されるように利用できる。PSI-Blastも、分子間の距離関係を検知する反復検索を実施するために使用することができる(同上)。BLAST、Gapped BLAST、およびPSI-Blastプログラムを利用する際、それぞれのプログラム(例えば、XBLASTおよびNBLAST)のデフォルトパラメータを使用することができる。http://www.ncbi.nlm.nih.govを参照されたい。

【0235】

当該技術において知られている配列間の同一性および/または類似度を測定するためのプログラムの別の限定されない例は、FASTAである(Pearson W.R. and Lipman D.J., Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 85: 2444-2448, 1988, Wisconsin Sequence Analysis Packageの一部として入手可能)。好ましくは、BLOSUM62アミノ酸置換マトリックス(Henikoff S. and Henikoff J.G., Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 89: 10915-10919, 1992)を、ヌクレオチド配列を、比較する前にアミノ酸配列へ先ず翻訳する場合を含む、ポリペプチド配列の比較に使用する。

10

【0236】

アミノ酸配列間の同一性および/または類似度を測定するための当該技術において知られているプログラムのさらに別の限定されない例は、プログラムのデフォルトアルゴリズムおよびパラメータ設定、blosum62、gap weight 8、length weight 2を用いて利用するSeqWebソフトウェア(a web-based interface to the GCG Wisconsin Package: Gap program)である。

20

【0237】

2つの配列間の同一性パーセントは、ギャップの許可有りまたは無しで、上記と似た技法を使用して測定することができる。同一性パーセントを計算する際、典型的に完全一致を数える。

【0238】

好ましくは、BESTFITプログラムを、クエリーおよび参照配列を最適に整列し、ならびにプログラムのパラメータをデフォルト値で設定して、本開示のポリヌクレオチドまたはポリペプチド配列に関してクエリーポリヌクレオチドまたはポリペプチド配列の%同一性を測定するために使用する。

30

【0239】

変化した抗体を生成するために、1つ以上のアミノ酸変化(例えば、置換)を種依存的な抗体の1つ以上の超可変領域に導入する。これらの結果が、二次哺乳類種の抗原に対する抗体変異体の結合親和性の改善を生じる場合、フレームワーク領域の残基の1つ以上の変化(例えば、置換)を抗ICOS抗体に導入することもできる。修飾するためのフレームワーク領域の残基の例は、抗原に直接非共有結合的に結合する(Amit et al., Science, 233: 747-753 (1986))、CDRの高次構造と相互作用/に影響する(Chothia et al., J. Mol. Biol., 196: 901-917 (1987))、および/またはV_L-V_H界面に参与する(EP239400B1)ものを含む。ある実施形態において、1つ以上のかかるフレームワーク領域の残基の修飾は、二次哺乳類種の抗原に対する抗体の結合親和性の増強を生じる。例えば、約1~約5つのフレームワーク残基を、本開示の本実施形態で変化させることができる。場合によっては、超可変領域の残基が1つも変化されない場合でも、これは、前臨床試験で使用するために適している抗体変異体を産生するために十分であり得る。しかし、普段は、変化した抗体は、追加的な超可変領域の変化を含むであろう。

40

【0240】

特に二次哺乳類種の抗原に対する抗ICOS抗体の開始結合親和性がかかる無作為に産生された、変化した抗体が容易にスクリーニングすることができるようである場合、変化

50

した超可変領域の残基を、無作為に変更することができる。

【0241】

かかる変化した抗体を生成するための有用な手順を、「アラニンスキャンニング変異原性」と称する(Cunningham and Wells, Science, 244: 1081-1085 (1989))。ここで、1つ以上の超可変領域の残基を、二次哺乳類種の抗原とアミノ酸の相互作用に影響するため、アラニンまたはポリアラニン残基で置き換える。次に、置換に対して機能感受性を証明するそれらの超可変領域の残基を、置換の部位で、またはその部位に対する追加または他の突然変異を導入することによって改良する。したがって、アミノ酸配列変異を導入するための部位が既定されているが、突然変異自体の性質は、既定される必要はない。このように産生されたAla変異体を、本明細書に記載されるようにそれらの生物活性に対してスクリーニングする。

10

【0242】

かかる変化した抗体を生成するための別の手順は、ファージディスプレイを使用した親和性成熟が関与する(Hawkins et al., J. Mol. Biol., 254: 889-896 (1992)およびLowman et al., Biochemistry, 30(45): 10832-10837 (1991))。簡潔に、いくつかの超可変領域の部位(例えば、6~7部位)を、各部位ですべての可能なアミノ酸置換を生成するために突然変異させる。こうして生成させた抗体変異体を、したがって、各粒子内にパッケージされたM13の遺伝子III産物に対する融合として糸状ファージ粒子から一価様式で提示される。ファージ表示変異体を、次に本明細書に開示するそれらの生物活性に対してスクリーニングする(例えば、結合親和性)。

20

【0243】

抗体配列の突然変異は、置換、内部欠失を含む欠失、融合タンパク質を産生する付加を含む付加、またはアミノ酸配列内および/またはそれに隣接するアミノ酸残基の保存置換を含むことができるが、それは「サイレント」変化を引き起こすため、その変化は、機能的に同等の抗ICOS抗体を産生する。保存アミノ酸置換を、極性、電荷、溶解性、疎水性、親水性、および/または関与する残基の両親媒性質における類似度に基づいて作製することができる。例えば、非極性(疎水性)アミノ酸は、アラニン、ロイシン、イソロイシン、バリン、プロリン、フェニルアラニン、トリプトファン、およびメチオニンを含み、極性中性アミノ酸は、グリシン、セリン、トレオニン、システイン、チロシン、アスパラギン、およびグルタミンを含み、正電荷を持つ(塩基性)アミノ酸は、アルギニン、リジン、およびヒスチジンを含み、負の電荷を持つ(酸性)アミノ酸は、アスパラギン酸およびグルタミン酸を含む。さらに、グリシンおよびプロリンは、鎖配向に影響することができる残基である。非保存置換は、これらの種類のうちの1つのメンバーと別の種類のメンバーとを交換することを必要とするであろう。さらに、必要であれば、非古典的なアミノ酸または化学的なアミノ酸類似体を、置換または抗体配列の付加として導入することができる。非古典的なアミノ酸は、一般的なアミノ酸のD異性体、 β -アミノイソ酪酸、4-アミノ酪酸、Abu、2-アミノ酪酸、 β -Abu、 β -Ahx、6-アミノヘキサン酸、Aib、2-アミノイソ酪酸、3-アミノプロピオン酸、オルニチン、ノルロイシン、ノルバリン、ヒドロキシプロリン、サルコシン、シトルリン、システイン酸、t-ブチルグリシン、t-ブチルアラニン、フェニルグリシン、シクロヘキシルアラニン、 β -アラニン、フルオロアミノ酸、一般的に、 β -メチルアミノ酸、C β -メチルアミノ酸、N β -メチルアミノ酸、およびアミノ酸類似体等の、デザイナーアミノ酸を含むがこれらに限定されない。

30

40

【0244】

別の実施形態において、修飾に対して選択した部位を、ファージディスプレイを使用して親和性成熟する(上記参照)。

【0245】

当該技術において知られている変異誘発の任意の技法を、抗体配列にアミノ酸置換を作製するため、またはさらなる操作を容易にするために、制限部位を作製する/除去するた

50

めに、DNA配列の個々のヌクレオチドを修飾するために使用することができる。かかる技法は、化学的な変異誘発、インビトロ部位特異的な変異誘発(Kunkel, Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 82:488(1985)、Hutchinson, C. et al., J. Biol. Chem., 253:6551(1978))、オリゴヌクレオチド指定変異誘発(Smith, Ann. Rev. Genet., 19:423-463(1985)、Hillett al., Methods Enzymol., 155:558-568(1987))、PCRベース重複伸張(Ho et al., Gene, 77:51-59(1989))、PCRベースメガプライマー変異誘発(Sarkar et al., Biotechniques, 8:404-407(1990))等を含むがこれらに限定されない。修飾を、二本鎖ジデオキシDNA配列によって確認することができる。

10

【0246】

本開示のある実施形態において、抗ICOS抗体を、融合タンパク質、すなわち異種性タンパク質、ポリペプチドまたはペプチドと融合した抗体、またはその断片を産生するために修飾することができる。ある実施形態において、抗ICOS抗体の一部と融合したタンパク質は、抗体指向性酵素プロドラッグ治療(ADEPT)の酵素成分である。抗ICOS抗体を用いて融合タンパク質として操作され得る他のタンパク質またはポリペプチドの例は、リシン、アブリン、リボヌクレアーゼ、デオキシリボヌクレアーゼI、ブドウ球菌エンテロトキシンA、ヤマゴボウ抗ウイルスタンパク質、ゲロニン、ジフテリア毒素、緑膿菌外毒素、および緑膿菌内毒素等の、毒素を含むがこれらに限定されない。例えばP

astan et al., Cell, 47:641(1986)、およびGoldenberg et al., Cancer Journal for Clinicians, 44:43(1994)を参照されたい。使用することができる酵素的に活発な毒素およびその断片は、ジフテリアA鎖、ジフテリア毒素の非結合活性断片、外毒素A鎖(緑膿菌から)、リシンA鎖、アブリンA鎖、モデシンA鎖、サルシン、シナアブラギリタンパク質、ジアンチンタンパク質、ヨウシュヤマゴボウタンパク質(PAPI、PAPII、およびPAP-S)、ニガウリ阻害剤、クルシン、クロチン、サボンソウ阻害剤、ゲロニン、ミトゲリン、レストリクトシン、フェノマイシン、エノマイシン、およびトリコテシンを含む。例えば、1993年、10月28日に公開されたWO第93/21232号を参照されたい。

20

30

【0247】

追加融合タンパク質を、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(総括して「DNAシャフリング」と称する)の技法を介して生成することができる。DNAシャフリングを、抗ICOS抗体またはその断片(例えば、高い親和性および低い解離速度を含む抗体またはその断片)の活性を変化させるために利用することができる。概略は、米国特許第5,605,793号、第5,811,238号、第5,830,721号、第5,834,252号、および第5,837,458号、およびPatten et al., 1997, Curr. Opin. 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文献のそれぞれは、すべてが本明細書に参照によって組み込まれる)を参照されたい。本明細書に参照によってすべてが組み込まれている、すべてLedbetterらによる、米国公開第20030118592号、米国公開第200330133939号、およびPCT公開WO第02/056910号に記載されるように、抗体は、さらに結合ドメイン免疫グロブリン融合タンパク質であり得る。

40

【0248】

5.7. ドメイン抗体

本開示の組成物および方法の抗ICOS抗体は、ドメイン抗体、例えばヒト抗体の重鎖

50

(V_H)または軽鎖(V_L)の可変領域に対応する、抗体の小さな機能結合単位を含む抗体であることができる。ドメイン抗体の例は、治療標的に対して特異的である Domantis Limited (Cambridge, UK) および Domantis Inc. (Cambridge, MA, USA) から入手可能であるものを含むがこれらに限定されない(例えば、WO第04/058821号、WO第04/003019号、米国特許第6,291,158号、第6,582,915号、第6,696,245号、および第6,593,081号を参照されたい)。商用のドメイン抗体のライブラリーを、抗ICOSドメイン抗体を同定するために使用することができる。ある実施形態において、抗ICOS抗体は、ICOS機能結合単位およびFcガンマ受容体の機能結合単位を含む。

【0249】

10

一実施形態において、抗ICOSドメイン抗体は、JMab-136モノクローナル抗体の重鎖または軽鎖のCDRのうちのいずれか1つまたはそれらの任意の組み合わせを含むことができる。

【0250】

別の実施形態において、抗ICOSドメイン抗体は、JMab-136モノクローナル抗体の重鎖または軽鎖の可変領域によって含まれたCDRの任意の組み合わせと共にJMab-136の V_H CDR3を含むことができる。抗ICOSドメイン抗体は、JMab-136モノクローナル抗体の重鎖または軽鎖の可変領域によって含まれたCDRの任意の組み合わせと共にJMab-136の V_K CDR3も含むことができる。

【0251】

20

さらに別の実施形態において、抗ICOSドメイン抗体は、JMab-136の V_H CDR3を含むことができる。抗ICOSドメイン抗体は、JMab-136の V_K CDR3もさらに含むことができる。

【0252】

5.8. 二特異性抗体

本開示のある実施形態において、抗ICOS抗体は「二特異性抗体」である。「二特異性抗体」という用語は、同じポリペプチド鎖($V_H - V_L$)において軽鎖可変領域(V_L)と結合した重鎖可変領域(V_H)を含む断片の2つの抗原結合部位を含む小さい抗体の断片を指す。同じ鎖において2つのドメイン間で組み合わせることを可能にするには短すぎるリンカーを使用して、そのドメインは、強制的に別の鎖の相補ドメインと組み合わせられ、2つの抗原結合部位を作製する。二特異性抗体は、例えば、EP第404,097号、WO第93/11161号、およびHollinger et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 90:6444-6448(1993)により詳しく記載される。

30

【0253】

5.9. ワクシボディ

本開示のある実施形態において、抗ICOS抗体はワクシボディである。ワクシボディは、二量体のポリペプチドである。ワクシボディの各単量体は、二次scFvに対してヒンジ領域およびC₃ドメインを介して結合した、APC上の表面分子に対する特異性を含むscFvからなる。本開示の他の実施形態において、scFvの1つとして抗ICOS抗体断片を含有するワクシボディを、破壊されるICOSを発現する細胞およびADCを媒介するエフェクター細胞を並置するために使用することができる。例えば、Bogen et al., 米国特許出願公開第20040253238号を参照されたい。

40

【0254】

5.10. 直線状抗体

本開示のある実施形態において、抗ICOS抗体は直線状抗体である。直線状抗体は、抗原結合領域の一对を形成する縦列Fd断片($V_H - C_{H1} - V_H - C_{H1}$)の一对を含む。直線状抗体は、二重特異性または単一特異性であることができる。Zapata et al., Protein Eng., 8(10):1057-1062(1995)を参照されたい。

50

【0255】

5.11. 親抗体

本開示のある実施形態において、抗ICOS抗体は親抗体である。「親抗体」は、本明細書に開示する変化した/変異した抗体と比較して、その1つ以上の超可変領域内またはそれに隣接するアミノ酸残基の1つ以上が欠乏することができる、または欠損することができるアミノ酸配列を含む抗体である。したがって、親抗体は、本明細書に開示する抗体変異体の対応する超可変領域より短い超可変領域を有することができる。親ポリペプチドは、天然抗体配列（すなわち、自然発生的な対立遺伝子変異型を含む自然発生）または自然発生的な配列の既存のアミノ酸配列の修飾を含む（他の挿入、欠失、および/または置換等の）抗体配列を含むことができる。親抗体は、ヒト化抗体またはヒト抗体であること

10

【0256】

5.12. 抗体断片

「抗体断片」は、全長抗体の一部、一般的にはその抗原結合領域または可変領域を含む。抗体断片の例は、Fab、Fab'、F(ab')₂、およびFv断片；二特異性抗体；直線状抗体；一本鎖抗体分子；および抗体断片から形成された多特異的な抗体を含む。

【0257】

伝統的に、これらの断片は、無傷の抗体のタンパク質消化を通して派生した（例えば、Morimoto et al., Journal of Biochemical and Biophysical Methods, 24: 107-117 (1992)、およびBrennan et al., Science, 229: 81 (1985)を参照）。しかし、これらの断片を、現在では組換え宿主細胞によって直接産生することができる。例えば、抗体断片を、上記で論じた抗体ファージライリーから単離することができる。Fab'-SH断片を、大腸菌から直接回収し、F(ab')₂断片を形成するために化学的にカップリングすることもできる（Carter et al., Bio/Technology, 10: 163-167 (1992)）。別のアプローチによると、F(ab')₂断片を、組換え宿主細胞培養から直接単離することができる。抗体断片の産生に対する他の技法は、当業者に理解されるであろう。他の実施形態において、選択する抗体は、一本鎖Fv断片(scFv)である。例えば、WO第93/16185号を参照されたい。ある実施形態において、抗体は、Fab断片ではない。

20

30

【0258】

5.13. 二重特異性抗体

二重特異性抗体は、少なくとも2つの異なるエピトープのための結合特異性を有する抗体である。代表的な二重特異性抗体は、ICOSを発現するT細胞の表面マーカーの2つの異なるエピトープに結合することができる。他のかかる抗体は、第一のICOSを発現するT細胞マーカーと結合し、第二のICOSを発現するT細胞の表面マーカーとさらに結合することができる。抗ICOSを発現するT細胞のマーカー結合アームは、ICOSを発現するT細胞へ細胞防御メカニズムを集中させるために、T細胞受容体分子（例えば、CD2またはCD3）、またはIgG(FcR)に対するFc受容体等の白血球上でトリガー分子と結合するアームとも組み合わせることができる。二重特異性抗体は、細胞傷害性薬物を、ICOSを発現するT細胞に局部集中するためにも使用されることができる。これらの抗体は、ICOSを発現するT細胞結合アームおよび細胞傷害性薬物を結合するアームを持つ（例えばサポリン、抗インターフェロン- γ 、ピンカアルカロイド、リンシA鎖、メトトレキサート、または放射性同位元素ハプテン）。二重特異性抗体は、全長抗体または抗体断片として調合されることができる（例えば、F(ab')₂二重特異性抗体）。

40

【0259】

二重特異性抗体の作製方法は、当業者に知られている。（例えば、Millstein et al., Nature, 305: 537-539 (1983)、Traunec

50

ker et al., EMBO J., 10:3655-3659 (1991)、Suresh et al., Methods in Enzymology, 121:210 (1986)、Kostelny et al., J. Immunol., 148(5):1547-1553 (1992)、Hollinger et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 90:6444-6448 (1993)、Gruber et al., J. Immunol., 152:5368 (1994)、米国特許第4,474,893号、第4,714,681号、第4,925,648号、第5,573,920号、第5,601,81号、第95,731,168号、第4,676,980号、および第4,676,980号、WO第94/04690号、WO第91/00360号、WO第92/200373号、WO第93/17715号、WO第92/08802号、およびEP03089。)

10

一実施形態において、本開示の組成物および方法の抗ICOS抗体は、二重特異性であり、抗ICOS抗体はヒトまたはヒト化であることができ、ヒトICOSおよびT細胞上のエピトープに対する特異性を有することができるか、または例えば、細胞死を引き起こす単球/マクロファージおよび/またはナチュラルキラー細胞等のヒトエフェクター細胞と結合することができる。

【0260】

5.14. 可変Fc領域

本開示は、変異Fc領域を含むタンパク質の形成を提供する。すなわち、非自然発生的Fc領域、例えば1つ以上の非自然発生的アミノ酸残基を含むFc領域である。また、本開示の変異Fc領域によって包含されるものは、アミノ酸欠失、付加、および/または修飾を含むFc領域である。

20

【0261】

本明細書に使用するFc領域が、第一の定常領域の免疫グロブリンのドメインを除外する抗体の定常領域を含むポリペプチドを含むことが理解されるであろう。したがってFcは、IgA、IgD、およびIgGの最後の2つの定常領域の免疫グロブリンドメイン、IgEおよびIgMの最後の3つの定常領域の免疫グロブリンドメイン、およびこれらのドメインに対する可動性のヒンジのN末端を指す。IgAおよびIgMに対して、FcはJ鎖を含むことができる。IgGに対して、Fcは免疫グロブリンドメインCガンマ2およびCガンマ3(C₂およびC₃)ならびにCガンマ1(C₁)とCガンマ2(C₂)との間のヒンジを含む。Fc領域の境界は異なることができるが、ヒトIgG重鎖のFc領域は大抵、C₂₂₆またはP₂₃₀からそのカルボキシル末端までの残基を含むものと定義され、番号付けは、Kabataら(1991, NIH Publication 91-3242, National Technical Information Service, Springfield, VA)に記載のEUインデックスに従う。「Kabataに記載のEUインデックス」は、上記のKabataらに記載されるヒトIgG1EU抗体の残基番号付けを指す。Fcは、この領域単独、または抗体、抗体の断片、もしくはFc融合タンパク質と関連したこの領域、を指すことができる。Fc変異タンパク質は、抗体、Fc融合、またはFcの非自然発生的な変異である変異Fc領域を含むタンパク質を含むがこれに限定されないFc領域を含む任意のタンパク質もしくはタンパク質ドメインであることができる。注釈：多型は、Kabata 270、272、312、315、356、および358を含むがこれらに限定されない、多くのFc位置において認められており、したがって提示された配列と先行技術における配列との間にわずかな差異が存在する可能性がある。

30

40

【0262】

本開示は、比較可能な分子(例えば、野生型Fc領域を有することを除いて同じアミノ酸配列を有するタンパク質)と比べてFcリガンド(例えば、Fc受容体、C1q)に対する変化した結合性質を有するFc変異タンパク質を包含する。結合性質の例は、結合特異性、平衡解離定数(K_D)、解離および会合速度(それぞれk_{off}およびk_{on})、結合親和性および/または結合活性を含むがこれらに限定されない。低K_Dを含む結合分

50

子（例えば、抗体等のFc変異タンパク質）が高 K_D を含む結合分子より好ましいことが一般的に理解される。しかし、場合によっては、 k_{on} または k_{off} 値は、 K_D 値よりも関係性がある可能性がある。当業者は、どの動態学的パラメータがある抗体の使用に対して最も重要であるかを決定することができる。

【0263】

Fcドメインのリガンドに対するFcドメインの親和性および結合性質を、平衡方法（例えば、酵素結合免疫吸着検定法（ELISA）、または放射免疫アッセイ（RIA））、または動態学的（例えば、BIACORE（登録商標）分析）、および間接的結合アッセイ、競合阻害アッセイ、蛍光共鳴エネルギー転移（FRET）、ゲル電気泳動およびクロマトグラフィー（例えば、ゲルろ過）等の他の方法を含むがこれらに限定されない、Fc-FcRの相互作用、すなわちFcRとFc領域との特異的な結合を測定するための当該技術において知られている各種のインビトロアッセイ方法（生化学的または免疫学的ベースのアッセイ）によって、測定することができる。これらのおよび他の方法は、検査されている1つ以上の構成要素の標識を利用する、および/または発色性、蛍光、発光、または同位体標識を含むがこれらに限定されない各種の検出方法を利用することができる。結合親和性および動態学的の詳細説明を、抗体免疫原の相互作用に集中するPaul, W. E., ed., *Fundamental Immunology*, 4th Ed., Lippincott-Raven, Philadelphia (1999)で見出すことができる。

【0264】

一実施形態において、Fc変異タンパク質は、比較可能な分子と比べて1つ以上のFcリガンドとの結合が増強した。別の実施形態において、Fc変異タンパク質は、比較可能な分子の親和性よりも、少なくとも2倍、または少なくとも3倍、または少なくとも5倍、または少なくとも7倍、または少なくとも10倍、または少なくとも20倍、または少なくとも30倍、または少なくとも40倍、または少なくとも50倍、または少なくとも60倍、または少なくとも70倍、または少なくとも80倍、または少なくとも90倍、または少なくとも100倍、または少なくとも200倍であるFcリガンドの親和性を有する。特定の実施形態において、Fc変異タンパク質は、Fc受容体との結合が増強した。別の特定の実施形態において、Fc変異タンパク質は、Fc受容体FcRIIAとの結合が増強した。さらに別の特定の実施形態において、Fc変異タンパク質は、Fc受容体FcRnと結合し、増強した。さらに別の特定の実施形態において、Fc変異タンパク質は、比較可能な分子と比べてC1qとの結合が増強した。

【0265】

Fc領域を含むタンパク質の血清半減期は、FcRnに対するFc領域の結合親和性を増加させることによって増加することができる。一実施形態において、Fc変異タンパク質は、同等の分子に比べて血清半減期を強化した。

【0266】

「抗体依存性細胞傷害」または「ADCC」は、ある細胞傷害性細胞（例えば、ナチュラルキラー（NK）細胞、好中球、およびマクロファージ）上に存在するFc受容体（FcR）と結合した分泌されたIgが、これらの細胞傷害性エフェクター細胞が抗原を持つ標的細胞と特異的に結合し、その後細胞毒素を用いて標的細胞を殺すことを可能にする、細胞傷害性の形成を指す。標的細胞の表面に向けた特異的な高い親和性IgG抗体は、細胞傷害性細胞を「アーム」し、かかる死滅に対して確実に必要である。標的細胞の溶解は、細胞外であり、直接細胞と細胞の接触が必要であり、補体を含まない。抗体に加えて、抗原を持つ標的細胞と特異的に結合する能力を有するFc領域を含む他のタンパク質、特にFc融合タンパク質が、細胞を媒介した細胞傷害性を引き起こすことができるであろうことが検討される。簡単にするために、Fc融合タンパク質の活性から生じる細胞を媒介した細胞傷害性も、ADCC活性として本明細書にて称される。

【0267】

ADCCによって標的細胞の溶解を媒介する任意の特定のFc変異タンパク質の能力を

、アッセイすることができる。ADCC活性を査定するために、対象のFc変異タンパク質を、標的細胞の細胞溶解を生じる抗原抗体の複合体によって活性化することができる免疫エフェクター細胞と併せて、標的細胞に追加する。細胞溶解は、一般的に溶解した細胞から標識（例えば、放射性基質、蛍光染料、または天然の細胞内タンパク質）を放出することによって検出される。かかるアッセイの有用なエフェクター細胞は、末梢血単核球（PBMC）およびナチュラルキラー（NK）細胞を含む。インビトロADCCアッセイの具体的な例は、Wisecarver et al., 1985 79:277-282、Bruggemann et al., 1987, J Exp Med 166:1351-1361、Wilkinson et al., 2001, J Immunol Methods 258:183-191、Patel et al., 1995 J Immunol Methods 184:29-38に記載される。対象のFc変異タンパク質のADCC活性を、インビボでも査定することができ、例えばClynes et al., 1998, Proc. Natl. Acad. Sci. USA 95:652-656に記載されるもの等の動物モデルである。

【0268】

一実施形態において、Fc変異タンパク質は、比較可能な分子と比較してADCC活性を増強した。特定の実施形態において、Fc変異タンパク質は、比較可能な分子のADCC活性よりも少なくとも2倍、または少なくとも3倍、または少なくとも5倍、または少なくとも10倍、または少なくとも50倍、または少なくとも100倍多いADCC活性を有する。別の特定の実施形態において、Fc変異タンパク質は、Fc受容体FcRIIAとの結合が増強し、比較可能な分子と比べてADCC活性を増強した。他の実施形態において、Fc変異タンパク質は、比較可能な分子と比べてADCC活性を増強し、血清の半減期を増強した。

【0269】

「補体依存性細胞傷害」および「CDC」は、補体の存在下で標的細胞を溶解することを指す。補体活性化経路は、補体系（C1q）の第1の構成要素と同族の抗原と複合体を形成した分子、例えば、抗体との結合によって開始される。補体活性化を査定するために、例えばGazzano-Santoro et al., 1996, J. Immunol. Methods, 202:163に記載されるCDCアッセイを、実施することができる。一実施形態において、Fc変異タンパク質は、比較可能な分子と比べてCDC活性を増強した。特定の実施形態において、Fc変異タンパク質は、比較可能な分子のADCC活性よりも少なくとも2倍、または少なくとも3倍、または少なくとも5倍、または少なくとも10倍、または少なくとも50倍、または少なくとも100倍多いCDC活性を有する。他の実施形態において、Fc変異タンパク質は、比較可能な分子と比べてCDC活性を増強し、血清の半減期を増強した。

【0270】

一実施形態において、本開示は組成物を提供し、Fc領域は、Kabattによって規定されたEUインデックスによって番号付けられた234、235、236、237、238、239、240、241、243、244、245、247、251、252、254、255、256、262、263、264、265、266、267、268、269、279、280、284、292、296、297、298、299、305、313、316、325、326、327、328、329、330、332、333、334、339、341、343、370、373、378、392、416、419、421、440、および443からなる群から選択された1つ以上の位置で非自然発生的なアミノ酸残基を含む。随意に、Fc領域は、当業者に知られている追加のおよび/または別の位置に非自然発生的なアミノ酸残基を含むことができる（例えば、米国特許第5,624,821号、第6,277,375号、第6,737,056号、PCT特許公開WO第01/58957号、WO第02/06919号、WO第04/016750号、WO第04/029207号、WO第04/035752号、WO第04/074455号、WO第04/099249号、WO第04/063351号、WO第05/070963

10

20

30

40

50

号、WO第05/040217号、WO第05/092925号、WO第06/020114号)。

【0271】

特定の実施形態において、本開示はFc変異タンパク質の組成物を提供し、Fc領域は、Kabatによって規定されたEUインデックスによって番号付けられた234D、234E、234N、234Q、234T、234H、234Y、234I、234V、234F、235A、235D、235R、235W、235P、235S、235N、235Q、235T、235H、235Y、235I、235V、235F、236E、239D、239E、239N、239Q、239F、239T、239H、239Y、240I、240A、240T、240M、241W、241L、241Y、241E、241R、243W、243L、243Y、243R、243Q、244H、245A、247L、247V、247G、251F、252Y、254T、255L、256E、256M、262I、262A、262T、262E、263I、263A、263T、263M、264L、264I、264W、264T、264R、264F、264M、264Y、264E、265G、265N、265Q、265Y、265F、265V、265I、265L、265H、265T、266I、266A、266T、266M、267Q、267L、268E、269H、269Y、269F、269R、270E、280A、284M、292P、292L、296E、296Q、296D、296N、296S、296T、296L、296I、296H、296G、297S、297D、297E、298H、298I、298T、298F、299I、299L、299A、299S、299V、299H、299F、299E、305I、313F、316D、325Q、325L、325I、325D、325E、325A、325T、325V、325H、327G、327W、327N、327L、328S、328M、328D、328E、328N、328Q、328F、328I、328V、328T、328H、328A、329F、329H、329Q、330K、330G、330T、330C、330L、330Y、330V、330I、330F、330R、330H、332D、332S、332W、332F、332E、332N、332Q、332T、332H、332Y、332A、339T、370E、370N、378D、392T、396L、416G、419H、421K、440Y、および434Wからなる群から選択された、少なくとも1つの非自然発生的なアミノ酸残基を含む。随意に、Fc領域は、当業者に知られている追加のおよび/または別の非自然発生的なアミノ酸残基を含むことができる(例えば、米国特許第5,624,821号、第6,277,375号、第6,737,056号、PCT特許公開WO第01/58957号、WO第02/06919号、WO第04/016750号、WO第04/029207号、WO第04/035752号、WO第05/040217)。

【0272】

別の実施形態において、本開示はFc変異タンパク質の組成物を提供し、Fc領域は、Kabatによって規定されたEUインデックスによって番号づけされた239、330、および332からなる群から選択された1つ以上の位置における少なくとも1つの非自然発生的アミノ酸を含む。特定の実施形態において、本開示はFc変異タンパク質製剤を提供し、Fc領域は、Kabatによって規定されたEUインデックスによって番号づけされた239D、330L、および332Eからなる群から選択された少なくとも1つの非自然発生的アミノ酸を含む。任意に、Fc領域は、Kabatに記載のEUインデックスによって番号付けられた252、254、および256からなる群から選択される、1つ以上の位置において追加の非自然発生的アミノ酸をさらに含むことができる。特定の実施形態において、本開示はFc変異タンパク質製剤を提供し、Fc領域は、Kabatに記載のEUインデックスによって番号づけされた239D、330L、および332Eからなる群から選択された少なくとも1つの非自然発生的アミノ酸、およびKabatによって規定されたEUインデックスによって番号づけされた252Y、254T、および256Eからなる群から選択された1つ以上の位置の少なくとも1つの非自然発生的アミノ酸

10

20

30

40

50

を含む。

【0273】

一実施形態において、本開示のFc変異は、Ghetie et al., 1997, Nat Biotech 15:637-40; Duncan et al., 1988, Nature 332:563-564、Lund et al., 1991, J. Immunol 147:2657-2662、Lund et al., 1992, Mol Immunol 29:53-59、Alegre et al., 1994, Transplantation 57:1537-1543、Hutchins et al., 1995, Proc Natl. Acad Sci U S A 92:11980-11984、Jefferis et al., 1995, Immunol Lett. 44:111-117、Lund et al., 1995, Faseb J 9:115-119、Jefferis et al., 1996, Immunol Lett 54:101-104、Lund et al., 1996, J Immunol 157:4963-4969、Armour et al., 1999, Eur J Immunol 29:2613-2624、Idusogie et al., 2000, J Immunol 164:4178-4184、Reddy et al., 2000, J Immunol 164:1925-1933、Xu et al., 2000, Cell Immunol 200:16-26、Idusogie et al., 2001, J Immunol 166:2571-2575、Shields et al., 2001, J Biol Chem 276:6591-6604、Jefferis et al., 2002, Immunol Lett 82:57-65、Presta et al., 2002, Biochem Soc Trans 30:487-490)、米国特許第5,624,821号、第5,885,573号、第5,677,425号、第6,165,745号、第6,277,375号、第5,869,046号、第6,121,022号、第5,624,821号、第5,648,260号、第6,528,624号、第6,194,551号、第6,737,056号、第6,821,505号、第6,277,375号、米国特許公開第2004/0002587号およびPCT公開WO第94/29351号、WO第99/58572号、WO第00/42072号、WO第02/060919号、WO第04/029207号、WO第04/099249号、WO第04/063351号に開示されるもの等の他の既知のFc変異と併用することができる。また、欠失、付加、および/または修飾を含むFc領域が、本開示によって包含される。Fcドメインのさらなる他の修飾/置換/付加/欠失を、当業者は容易に理解するであろう。

【0274】

非自然発生的Fc領域を生成する方法は、当業者に知られている。例えば、アミノ酸置換および/または欠失は、部位特異的な変異誘発(Kunkel, Proc. Natl. Acad. Sci. USA 82:488-492 (1985))、PCR変異誘発(Higuchi, in "PCR Protocols: A Guide to Methods and Applications", Academic Press, San Diego, pp. 177-183 (1990))、およびカセット変異誘発(Wells et al., Gene 34:315-323 (1985))を含むがこれに限定されない変異誘発の方法によって生成されることができる。好ましくは、部位特異的な変異誘発は、重複伸長PCR方法により実施される(Higuchi, in "PCR Technology: Principles and Applications for DNA Amplification", Stockton Press, New York, pp. 61-70 (1989))。重複伸長PCRの技術(Higuchi、同上)を、任意の所望の突然変異を標的配列(出発DNA)に導入するためにも使用することができる。例えば、重複伸長法のPCRの第1回目は、2つのPCRセグメント(セグメントAおよびB)を産出する、外部プライマー(プライマー1)および内部変異誘発プライマー(プライマー3)による、および別に第2の外部プライマー(プライ

10

20

30

40

50

マー４）および内部プライマー（プライマー２）による標的配列の増幅を含む。その内部変異誘発プライマー（プライマー３）は、所望の突然変異を特定する標的配列に対するミスマッチを含有するように設計される。PCRの第２回目において、PCRの第１回目の生成物（セグメントＡおよびＢ）は、２つの外部プライマー（プライマー１および４）を使用してPCRによって増幅される。結果として生じた全長PCRのセグメント（セグメントＣ）は、制限酵素で消化され、結果として生じた制限断片は、適切なベクターにクローン化される。変異誘発の第１段階として、出発DNA（例えば、Fc融合タンパク質、抗体または単にFc領域をコードする）は、変異誘発ベクターに操作可能にクローン化される。プライマーは、所望のアミノ酸置換を反映するように設計されている。変異Fc領域の生成に有用な他の方法は、当業者に知られている（例えば、米国特許第5,624,821号、第5,885,573号、第5,677,425号、第6,165,745号、第6,277,375号、第5,869,046号、第6,121,022号、第5,624,821号、第5,648,260号、第6,528,624号、第6,194,551号、第6,737,056号、第6,821,505号、第6,277,375号、米国特許公開第2004/0002587号およびPCT公開第WO94/29351号、第WO99/58572号、第WO00/42072号、第WO02/060919号、第WO04/029207号、第WO04/099249号、第WO04/063351を参照）。

【0275】

いくつかの実施形態において、Fc変異タンパク質は、操作された糖型、すなわちFc領域を含む分子に、共有結合している炭水化物組成を１つ以上含む。操作された糖型は、エフェクター機能の増幅または削減を含むがこれに限定されない、様々な目的で使用することができる。操作された糖型は、当業者に知られている任意の方法、例えば操作されたまたは変異発現株を使用することによって、１つ以上の酵素、例えばDI Nアセチルグルコサミン転移酵素III（GnTIII）との同時発現によって、各種生物または各種生物からの細胞系中にてFc領域を含む分子を発現させることによって、またはFc領域を含む分子が発現された後に炭水化物を修飾することによって、生成されることができる。操作された糖型を生成する方法は、当業者に知られており、Umana et al, 1999, Nat. Biotechnol 17:176-180、Davies et al., 20017 Biotechnol Bioeng 74:288-294、Shields et al, 2002, J Biol Chem 277:26733-26740、Shinkawa et al., 2003, J Biol Chem 278:3466-3473）米国特許第6,602,684号、米国第10/277,370号、米国第10/113,929号、PCT第WO00/61739A1号、PCT第WO01/29224A1号、PCT第WO02/31114A1号、PCT第WO02/30954A1号、Potelligent（登録商標）技術（Biowa, Inc., Princeton, N.J.）、GlycoMAb（登録商標）糖鎖付加技術工学（GLYCART biotechnology AG, Zurich, Switzerland）に記載されるものを含むがこれに限定されない。例えば、第WO00061739号、第EA01229125号、米国第20030115614号、Okazaki et al., 2004, JMB, 336: 1239-49を参照。

【0276】

5.15. 抗体のグリコシル化

さらに別の実施形態において、本開示と一致して利用される抗体のグリコシル化を修飾する。例えば、アグリコシル化抗体を作製することができる（すなわち、抗体は、グリコシル化を欠乏する）。グリコシル化を、例えば、標的抗原に対する抗体の親和性を増加するために、変化させることができる。かかる炭水化物の修飾を、例えば、抗体配列内のグリコシル化の１つ以上の部位を変化することによって達成することができる。例えば、１つ以上のアミノ酸置換を作製することができ、１つ以上の可変領域のフレームワークのグリコシル化部位の除去を引き起こし、その結果その部位でグリコシル化を除去する。かか

10

20

30

40

50

るグリコシル化は、抗原に対する抗体の親和性を増加することができる。かかるアプローチは、米国特許第 5,714,350号、および第6,350,861号にさらなる詳細が記載される。1つ以上のアミノ酸置換を、Fc領域に存在するグリコシル化部位の除去を引き起こすように作製することもできる(例えば、IgGのアスパラギン297)。さらに、アグリコシル化した抗体を、必要なグリコシル化の機構が欠乏する細菌細胞で産生することができる。

【0277】

抗体を、フコシル残基の縮小した量を有する低フコシル化した抗体またはバイセクティング(bisecting)GlcNAc構造が増加した抗体等のグリコシル化の変化したタイプを有するように、作製することもできる。かかる変化したグリコシル化のパターンは、抗体のADCC能力を増加させることが証明されている。かかる炭水化物の修飾を、例えば、変化したグリコシル化機構を含む宿主細胞中にて抗体を発現させることによって達成することができる。変化したグリコシル化機構を含む細胞は、当該技術で説明され、本開示の組換え抗体を発現する宿主細胞として使用することができ、その結果変化したグリコシル化を含む抗体を産生する。例えば、それぞれが本明細書に、参照によってすべてが組み込まれる Shields, R. L. et al. (2002) J. Biol. Chem. 277: 26733-26740、Umaña et al. (1999) Nat. Biotech. 17: 176-1、ならびに米国特許US第6,946,292号、欧州特許EP第1,176,195号、PCT公開WO第03/035835号、WO第99/54342号を参照されたい。

【0278】

変化したグリコシル化パターンを含む抗体を、それぞれが本明細書に参照によってすべてが組み込まれる米国特許US第7029872号、米国特許US第20060148035A1号に記載されるように修飾したグリコシル化機構を含む下等真核生物の宿主細胞を使用して生成することもできる。

【0279】

5.16. エフェクター機能の操作

例えば、T細胞を媒介した疾病を治療する際に抗体の効果を増幅するために、エフェクター機能に関して本開示の抗ICOS抗体を修飾することが望ましい場合がある。例えば、1もしくは複数のシステイン残基を、Fc領域に導入することができ、その結果、この領域で鎖間のジスルフィド結合の形成を許す。このようにして生成したホモ二量体抗体は、内部移行能力を改善することができ、ならびに/または補体を媒介した細胞死滅、および/もしくは抗体依存性細胞傷害(ADCC)、および/もしくは抗体依存の食作用を増加する。Caron et al., J. Exp. Med., 176: 1191-1195 (1992) および Shopes, B., J. Immunol., 148: 2918-2922 (1992) を参照されたい。増強した抗腫瘍活性を含むホモ二量体抗体を、Wolff et al., Cancer Research, 53: 2560-2565 (1993) に記載されるように、ヘテロ二官能性架橋剤を使用して調製することもできる。抗体は、二重Fc領域を有する操作されたものであることもでき、その結果、増強した補体の溶解、抗体依存性の食作用および/またはADCC能力を有することができる。

【0280】

エフェクター機能を変化させるための、抗体のFc領域を操作する他の方法は、当該技術において知られている(例えば、FCRIIAに対する結合親和性と比較して、FCRIIBに対する結合親和性を増幅するため、Fc領域を変化させることを説明する、両方ともKoeningらによる、米国特許公開第20040185045号、およびPCT公開WO第2004/016750号; ArmourらのPCT公開WO第99/58572号、IdusogieらのWO第99/51642号、およびDeoらのU.S.第6,395,272号も参照; これらの開示は本明細書にすべてが参照によって組み込

10

20

30

40

50

まれている)。Fc R I I B に対する結合親和性を減少するためにFc領域を修飾する方法も、当該技術において知られている(例えば開示は本明細書にすべて組み込まれている、両方ともR a v e t c hらの、米国特許公開第20010036459号、およびP C T公開WO第01/79299号)。野生型のFc領域と比べてFc R I I I Aおよび/またはFc R I I A に対する増強した結合親和性を含む変異Fc領域を有する修飾された抗体も、説明された(例えば、開示は本明細書においてすべて組み込まれる、S t a v e n h a g e nらのP C T公開WO第2004/063351号)。

【0281】

当該技術において知られているインビトロアッセイは、本開示の組成物および方法で使用する抗I C O S 抗体が、本明細書に記載されるもの等のA D C C、C D C、および/または抗体依存食作用を媒介することが可能であるか否か、測定するために使用することができる。

10

【0282】

5.17. 抗I C O S 抗体の製造/産生

所望の抗I C O S 抗体を操作した時点で、抗I C O S 抗体を、抗体の大規模製造のために、当該技術においてよく知られている方法を使用して商業規模で産生することができる。例えば、これは、限定されないが、以下に記載するもの等の組換え発現システムを使用して達成することができる。抗原と特異的に結合する抗体(その抗体断片を含む)を、抗体の合成に対して当該技術において知られている任意の方法によって、特に、化学的な合成によって、または組換え発現技法(米国特許出願第12/116,512号を参照)によって、産生することができる。

20

【0283】

5.18. 組換え発現システム

抗体またはその変異の組換え発現は、一般的に抗体をコードするポリヌクレオチドを含有する発現ベクターの構成を必要とする。抗体分子、または抗体の重鎖もしくは軽鎖、またはその一部をコードするポリヌクレオチドが得られた時点で、抗体分子の産生のためのベクターを、当該技術においてよく知られている技法を使用して組換えDNA技術において産生することができる。例えば、本明細書に参照によってすべてが組み込まれる、米国特許第6,331,415号を参照されたい。したがって、抗体をコードするヌクレオチド配列を含有するポリヌクレオチドを発現することによってタンパク質を調製するための方法を、本明細書に記載する。当業者によく知られている方法を、抗体をコードする配列、ならびに適切な転写および翻訳制御シグナルを含有する発現ベクターを構成するために、使用することができる。これらの方法は、例えば、インビトロ組換えDNA技法、合成技法、およびインビボ遺伝子的組換えを含む。本開示は、したがって、抗体分子、抗体の重鎖もしくは軽鎖、抗体の重鎖もしくは軽鎖可変ドメイン、またはその一部、または重鎖もしくは軽鎖C D R をコードする、プロモーターと操作可能に結合したヌクレオチド配列を含む、複製可能なベクターを提供する。かかるベクターは、抗体分子の定常領域をコードするヌクレオチド配列を含むことができ(例えば、国際公開第WO第86/05807号およびWO第89/01036号、および米国特許第5,122,464号)、抗体の可変ドメインを、すべての重鎖、すべての軽鎖、またはすべての重鎖および軽鎖の両方の発現に対するかかるベクターにクローン化することができる。

30

40

【0284】

別の実施形態において、抗I C O S 抗体を、抗I C O S 抗体のすべてまたは一部を産生するために標的相同的組換えを使用して作製することができる(米国特許第6,063,630号、第6,187,305号、および第6,692,737号を参照)。ある実施形態において、抗I C O S 抗体を、抗I C O S 抗体のすべてまたは一部を産生するために無作為の組換え技術を使用して作製することができる(米国特許第6,361,972号、第6,524,818号、第6,541,221号、および第6,623,958号を参照)。抗I C O S 抗体を、C r e を媒介した部位特異的な相同的組換えを使用して修飾した免疫グロブリン遺伝子座を含む細胞のゲノム配列から抗体を発現する細胞中にて産生

50

することもできる（米国特許第6,091,001号を参照）。宿主細胞系を、マウス、およびチャイニーズハムスターを含むがこれらに限定されないヒトまたは非ヒトの種類に由来することができる。ヒトまたはヒト化抗体の産生が、望ましい場合、宿主細胞系は、ヒト細胞系であるべきである。これらの方法を、抗体分子を持続的に発現する安定した細胞系を操作するために都合よく使用することができる。

【0285】

発現ベクターが従来の技法によって宿主細胞に移動した時点で、形質移入した細胞を次に、抗体を産生するために従来の技法によって培養する。したがって、本開示は、本開示の抗体またはその断片、またはその重鎖もしくは軽鎖、またはその一部、または本開示の一本鎖抗体をコードする、異種性プロモーターと操作可能に結合したポリヌクレオチドを含有する宿主細胞を含む。ある実施形態において、二本鎖抗体の発現に対して、重鎖および軽鎖の両方をコードするベクターを、以下の詳細のように、すべての免疫グロブリン分子の発現のために、宿主細胞で同時発現することができる。

10

【0286】

様々な宿主発現ベクターシステムを、抗ICOS抗体の操作および生成で使用することができる抗ICOS抗体およびその一部を発現するために利用することができる（例えば、米国特許第5,807,715号を参照）。例えば、ヒトサイトメガロウイルスからの主要な中間の初期遺伝子プロモーター要素等のベクターと組み合わせ、チャイニーズハムスター卵巣細胞（CHO）等の哺乳類細胞は、抗体に対して効果的な発現システムである（Foecking et al., Gene, 45:101 (1986)、およびCockett et al., Bio/Technology, 8:2 (1990)）。さらに、挿入した抗体配列の発現を調節する、または所望の特異的な様式で抗体遺伝子産物を修飾し、加工する宿主細胞株を選択することができる。タンパク質産物のかかる修飾（例えば、グリコシル化）および加工（例えば、切断）は、タンパク質の機能に対して重要である可能性がある。異なる宿主細胞は、タンパク質および遺伝子産物の翻訳後加工ならびに修飾に対する特徴的なおよび特異的なメカニズムを有する。適切な細胞系または宿主システムを、発現される抗体またはその一部の正確な修飾および加工を確実にするために、選択することができる。そのために、一次転写物の加工、グリコシル化、および遺伝子産物のリン酸化を適切に行うための細胞機構を持つ真核生物宿主細胞を使用することができる。かかる哺乳類宿主細胞は、CHO、VERY、BHK、HeLa、COS、MDCK、293、3T3、W138、BT483、Hs578T、HTB2、BT20およびT47D、NS0（機能的な免疫グロブリン鎖を少しも内因的に産生しないマウス骨髄腫細胞系）、CRL7030およびHsS78BsT細胞を含むがこれらに限定されない。

20

30

【0287】

一実施形態において、ヒトリンパ球を不死化することで発生するヒト細胞系を、モノクローナルヒト抗ICOS抗体を組換え産生するために使用することができる。一実施形態において、ヒト細胞系PER.C6.（Crucell, Netherlands）を、モノクローナルヒト抗ICOS抗体を組換え産生するために使用することができる。

【0288】

細菌系では、多くの発現ベクターを、発現した抗体分子の意図される使用次第で、都合よく選択することができる。例えば、多量のかかる抗体を産生する場合、抗ICOS抗体を含む薬学的な組成物の生成のため、容易に精製することができる高レベルの融合タンパク質産物の発現を方向付けるベクターが望ましくあり得る。かかるベクターは、抗体をコードする配列を、融合タンパク質を産生するため、lacZコード領域とインフレームでベクターへ個々に連結することができる大腸菌発現ベクターpUR278（Ruthe et al., EMBO, 12:1791 (1983)）；pINベクター（Inouye & Inouye, 1985, Nucleic Acids Res. 13:3101-3109 (1985)、Van Heeke & Schuster, 1989, J. Biol. Chem., 24:5503-5509 (1989)）等を含むがこれに限定さ

40

50

れない。pGEXベクターを、グルタチオンS-転移酵素(GST)を含む融合タンパク質として、外来性ポリペプチドを発現するためにも使用することができる。一般的に、かかる融合タンパク質は可溶性であり、グルタチオンアガロース親和性マトリックスとの吸着および結合、およびそれに続く遊離グルタチオンの存在下で溶出によって、溶解した細胞から容易に精製することができる。pGEXベクターを、クローン化した標的遺伝子産物を、GST部分から放出することができるように、トロンピンおよび/または因子Xaプロテアーゼ切断部位を発現したポリペプチドへ導入するように設計する。

【0289】

昆虫系で、オートグラフィカルフォルニカ多角体ウイルス(AcNPV)を、外来性の遺伝子を発現するためのベクターとして使用する。そのウイルスは、スポドプテラフルギペルダ細胞中で成長する。抗体をコードする配列を、そのウイルスの非必須領域(例えば、ポリヘドリン遺伝子)へ個々にクローン化し、AcNPVプロモーター(例えば、ポリヘドリンプロモーター)の制御下に配置することができる。

10

【0290】

哺乳類宿主細胞では、多くのウイルスベースの発現系を利用することができる。アデノウイルスを発現ベクターとして使用される場合、対象とする抗体をコードする配列をアデノウイルス転写/翻訳制御複合体、例えば、後期プロモーターおよび三者間リーダー配列と連結することができる。このキメラ遺伝子を、次に、インビトロまたはインビボ組換えによりアデノウイルスゲノムに挿入することができる。ウイルスゲノムの非必須領域(例えば、領域E1またはE3)への挿入は、生存可能であり、感染した宿主で抗体分子を発現する能力を持つ組換えウイルスを生じるであろう(例えば、Logan & Shenk, Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 81: 355-359 (1984)を参照)。特異的な開始シグナルも、挿入した抗体をコードする配列の効率的な翻訳のために必要である。これらのシグナルは、ATG開始コドンおよび隣接した配列を含む。さらに、開始コドンは、すべての挿入の翻訳を確かにするために、所望のコード配列の読み枠とインフレームであるべきである。これらの外因性の翻訳制御シグナルおよび開始コドンは、様々な源、天然および合成の両方であることができる。発現の効率性を、適切な転写エンハンサー要素、転写ターミネーター等を含むことによって増強することができる(例えば、Bittner et al., Methods in Enzymol., 153: 51-544 (1987)を参照)。

20

30

【0291】

安定した発現を、組換えタンパク質の長期、高収率生産のために使用することができる。例えば、抗体分子を安定的に発現する細胞系を生成することができる。宿主細胞を、発現制御要素(例えば、プロモーター、エンハンサー、転写ターミネーター、ポリアデニル化部位等)、および選択可能なマーカー遺伝子を含む適切な操作したベクターで形質転換することができる。外来性DNAの導入後、細胞を、濃縮した培地に1~2日間成長させておき、その後選択的な培地と切り替える。組換えプラスミドの選択可能なマーカーは、選択に対する耐性を与え、プラスミドを細胞の染色体に安定的に組み込んだ細胞が、成長し、順番に細胞系へクローン化し拡大することができる病巣を形成することを可能とする。抗ICOS抗体をコードするプラスミドを、培養の産生に対して適した任意の細胞系へ遺伝子/cDNAを導入するために使用することができる。

40

【0292】

単純ヘルペスウイルスチミジンキナーゼ(Wigler et al., Cell, 11: 223 (1977))、ヒポキサンチングアニンホスホリボシルトランスフェラーゼ(Szybalska & Szybalski, Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 48: 202 (1992))、およびアデニンホスホリボシル転移酵素(Lowy et al., Cell, 22: 8-17 (1980))遺伝子を含むがこれらに限定されない、多くの選択システムを使用することができる。それぞれtk⁻、hgprt⁻またはaprT⁻細胞に使用することができる。また、代謝拮抗薬の耐性を以下の遺伝子に対する選択の基盤として使用することができる。メトトレキサートに対して耐性を与え

50

る dhfr (Wigler et al., Natl. Acad. Sci. USA, 77: 357 (1980)、O'Hare et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 78: 1527 (1981))、ミコフェノール酸に対して耐性を与える gpt (Mulligan & Berg, Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 78: 2072 (1981))、アミノグリコシド G-418 に対して耐性を与える neo (Wu and Wu, Biotherapy 3: 87-95 (1991)、Tolstoshev, Ann. Rev. Pharmacol. Toxicol. 32: 573-596 (1993)、Mulligan, Science 260: 926-932 (1993)、および Morgan and Anderson, Ann. Rev. Biochem. 62: 191-217 (1993)、May, TIB TECH 11 (5): 155-215 (1993))、およびハイグロマイシンに対して耐性を与える hygro (Santerre et al., Gene, 30: 147 (1984))。組換え DNA 技術の一般に当該技術において知られている方法を、所望の組換えクローンを選択するために、ルーチンの適用され、かかる方法は、例えば、本明細書すべてが参照によって組み込まれる Ausubel et al. (eds.), Current Protocols in Molecular Biology, John Wiley & Sons, NY (1993)、Kriegler, Gene Transfer and Expression, A Laboratory Manual, Stockton Press, NY (1990)、および Chapters 12 and 13, Dracopoli et al. (eds.), Current Protocols in Human Genetics, John Wiley & Sons, NY (1994)、Colberre-Garapin et al., 1981, J. Mol. Biol., 150: 1 に説明される。

【0293】

抗体分子の発現レベルを、ベクター増幅によって増加することができる(概説については、Bebbington and Hentschel, The use of vectors based on gene amplification for the expression of cloned genes in mammalian cells in DNA cloning, Vol. 3. Academic Press, New York (1987) を参照)。抗体を発現するベクターシステムのマーカーが増幅可能である場合、宿主細胞の培養に存在する抑制剤のレベルの増加は、マーカー遺伝子のコピーの数を増加するであろう。増幅した領域は抗体遺伝子と関連するため、抗体の産生も、増加するであろう(Crouse et al., Mol. Cell. Biol., 3: 257 (1983))。抗体発現レベルを、周囲の染色質を再構築し活発な人工的な転写ドメインの形の導入遺伝子発現を拡大する技法を含む、組換えタンパク質産生の当業者に知られている組換え方法およびツールの使用を介して増幅することができる。

【0294】

宿主細胞を、2つの発現ベクター、重鎖に由来するポリペプチドをコードする一次ベクターおよび軽鎖に由来するポリペプチドをコードする二次ベクターを同時に形質移入することができる。2つのベクターは、同一のまたは異なる選択可能なマーカーを含有することができる。重鎖および軽鎖ポリペプチドの両方をコードし、発現することができる単一ベクターも、使用することができる。かかる状況で、軽鎖は、毒性なしの重鎖の過剰量を防ぐために、重鎖に5'を配置すべきである(Proudfoot, Nature 322: 562-65 (1986)、および Kohler, 1980, Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 77: 2197 (1980))。重鎖および軽鎖に対するコード配列は、cDNA またはゲノムDNAを含むことができる。

【0295】

抗体分子を組換え発現によって産生した時点で、それを、免疫グロブリン分子の精製のために、当該技術において知られている任意の方法によって、例えば、クロマトグラフィ

ー（例えば、イオン交換、親和性、特に特異的な抗原タンパク質Aまたはタンパク質Gに対する親和性による、およびサイジングカラムクロマトグラフィー）、遠心分離、差次的溶解性、タンパク質を精製するための他の標準技法によって、精製することができる。さらに、本開示の抗体およびその断片は、精製を容易にするために、本明細書に記載されるまたは他の当該技術において知られている異種性ポリペプチド配列を融合することができる。

【0296】

5.19. 抗体精製および単離

組換え技法を使用する際、抗体を、細胞膜周辺腔で細胞内産生することができる、または培地へ直接分泌することができる。抗体を細胞内産生する場合、第1ステップとして、微粒子破片、宿主細胞または溶解した断片のいずれかを、例えば、遠心分離または限外ろ過によって取り除く。Carterら、Bio/Technology, 10:163-167(1992)は、大腸菌の細胞膜周辺腔へ分泌された抗体を単離するための手順を説明する。簡潔に、細胞ペーストを、約30分間かけて、酢酸ナトリウム(pH3.5)、EDTA、およびフッ化フェニルメチルスルホニル(PMSF)の存在下で解凍する。細胞破片を、遠心分離によって取り除くことができる。抗体変異体を培地へ分泌する場合、かかる発現システムの上澄みを、商用タンパク質濃縮フィルタ、例えば、AmiconまたはMillipore Pellicon限外ろ過ユニットを使用して一般的に先ず濃縮する。PMSF等のプロテアーゼ抑制剤を、タンパク質分解を抑制するために任意の前述のステップに含むことができ、抗生物質を不定の汚染物質の成長を防止するために含むことができる。

【0297】

細胞から調製した抗体組成物を、例えば、単独で、または他の精製ステップと組み合わせて、ヒドロキシルアパタイトクロマトグラフィー、疎水性相互作用クロマトグラフィー、イオン交換クロマトグラフィー、ゲル電気泳動、透析、および/または親和性クロマトグラフィーを使用して精製することができる。親和性リガンドとしてタンパク質Aの適合性は、抗体変異体に存在する任意の免疫グロブリンFcドメインの種類およびアイソタイプに依存する。タンパク質Aを、ヒト1、2、または4重鎖を基にした抗体を精製するために使用することができる(Lindmark et al., J. Immunol. Methods, 62:1-13(1983))。タンパク質Gは、すべてのマウスアイソタイプに対しておよびヒト3に対して推奨される(Guss et al., EMBO J., 5:1567-1575(1986))。親和性リガンドが付着したマトリックスは、大抵、アガロースであるが、他のマトリックスも利用可能である。制御した細孔ガラスまたはポリ(スチレンジビニル)ベンゼン等の機械的に安定なマトリックスは、アガロースを用いて達成することができるよりも早い流速および短い加工時間を可能とする。抗体がCH₃ドメインを含む場合、Bakerbond ABX樹脂(J. T. Baker, Phillipsburg, NJ)は、精製に有用である。イオン交換カラム上での分画、エタノール沈殿、逆相HPLC、シリカのクロマトグラフィー、ヘパリンのクロマトグラフィー、(ポリアスパラギン酸カラム等の)アニオンまたは陽イオン交換樹脂のセファロースクロマトグラフィー、等電点電気泳動、SDS-PAGE、および硫酸アンモニウム沈殿等の、タンパク質精製に対する他の技法も、回復される抗体次第で利用することが可能である。

【0298】

任意の予備精製ステップ後、対象の抗体および汚染物質を含む混合物を、約2.5~4.5の間のpHで溶出緩衝液を使用して低いpHの疎水性相互作用クロマトグラフィーに供することができ、低い塩の濃度(例えば、約0~0.25M塩から)で実施される。

【0299】

5.20. 治療抗ICOS抗体

本開示の組成物および方法で使用する抗ICOS抗体は、T細胞系統ADCC、抗体依存性食作用および/またはCDCを媒介することができるヒト抗体もしくはヒト化抗体で

あることができ、またはT細胞系統ADCC、抗体依存性食作用および/またはCDCを媒介することができる既知の抗ICOS抗体から選択することができる。ある実施形態において、抗ICOS抗体はキメラ抗体であることができる。ある実施形態において、抗ICOS抗体は、モノクローナルヒト、ヒト化、またはキメラ抗ICOS抗体であることができる。本開示の組成物および方法で使用する抗ICOS抗体は、IgG1もしくはIgG3ヒトアイソタイプ、またはヒト集団に認められる任意のIgG1もしくはIgG3対立遺伝子のヒト抗体もしくはヒト化抗体であることができる。他の実施形態において、本開示の組成物および方法で使用する抗ICOS抗体は、IgG2もしくはIgG4ヒトアイソタイプ、またはヒト集団に認められる任意のIgG2もしくはIgG4対立遺伝子のヒト抗体もしくはヒト化抗体であることができる。

10

【0300】

かかる抗体を上記の技法を使用して生成することができるが、本開示の他の実施形態において、ヒトJ Mab - 136抗ICOS抗体(米国特許第6,803,039号)を、限定されないが、ADCC、抗体依存性食作用および/またはCDC等の増強したエフェクター機能を持つ抗ICOS抗体を生成するために、修飾することができる。例えば、使用することができる既知の抗ICOS抗体は、米国特許第6,803,039号およびclone ISA-3(eBioscience, US)に開示される抗ヒトICOSモノクローナル抗体を含むがこれらに限定されない。

【0301】

ある実施形態において、抗体は、上述のもの等の(例えば、IgG1またはIgG3ヒトアイソタイプに対する)既知の抗体のアイソタイプ切り替え変異体である。

20

【0302】

本開示の組成物および方法で使用する抗ICOS抗体は、裸抗体、免疫複合体、または融合タンパク質であることができる。本開示の組成物および方法で使用するための上述の抗ICOS抗体は、それで治療したヒトにおいて、ICOSを発現するT細胞および循環免疫グロブリンを減少または枯渇させることができる。T細胞の枯渇は、循環するT細胞、または限定されないが骨髄、脾臓、腸管関連リンパ組織、および/またはリンパ節等の、特定の組織内であることができる。かかる枯渇を、抗体依存性細胞傷害(ADCC)、および/または抗体依存食作用、および/または目的のリガンドを用いてICOS相互作用をブロックすることによって、および/または補体依存性細胞傷害(CDC)等の各種のメカニズムを介して達成することができる。T細胞の「枯渇」によって、少なくとも約25%、40%、50%、65%、75%、80%、85%、90%、95%、もしくはそれを超える割合による循環するICOSを発現するT細胞および/または特定の組織中のICOSを発現するT細胞の削減を意味する。特定の実施形態において、実質的にすべての検出可能なICOSを発現するT細胞を、循環および/または特定の組織から枯渇する。循環免疫グロブリン(Ig)の「枯渇」は、少なくとも約25%、40%、50%、65%、75%、80%、85%、90%、95%、もしくはそれを超える割合による削減を意味する。特定の実施形態において、実質的にすべての検出可能なIgを循環から枯渇する。

30

【0303】

5.21. ヒトICOS結合に対する抗体のスクリーニング

結合アッセイを、ヒトICOS抗原と結合する抗体を同定するために使用することができる。結合アッセイを、直接結合アッセイとして、または競合結合アッセイとしてのいずれかで実施することができる。結合を、標準ELISAまたは標準フローサイトメトリーアッセイを使用して検出することができる。直接結合アッセイで、候補抗体をヒトICOS抗原と結合するために試験する。ある実施形態において、スクリーニングアッセイは、第二のステップで、ヒトICOSを発現するT細胞で、下流シグナル制御イベントを誘発するために抗体の能力を測定することを含む。競合結合アッセイは、一方で、既知の抗ICOS抗体またはヒトICOSと結合する他の化合物を用いて競合するために、候補抗体の能力を査定する。

40

50

【0304】

直接結合アッセイで、ヒトICOS抗原は、ヒトICOS抗原と候補抗体の結合を可能にする条件下、候補抗体と接触する。結合は、溶液または固形の表面で実施することができる。候補抗体を、検出のために事前に標識することができる。任意の検出可能な化合物を標識のために使用することができ、限定されないが、発光、蛍光、もしくは放射性の同位体、またはこれらを含む基、または、酵素もしくは色素等の非同位体標識等である。結合に十分なインキュベーション期間を実施後、反応を、過剰量または非特異的に結合した抗体を取り除く条件および操作に曝す。典型的に、適切な緩衝液を用いて洗浄することを含む。最終的に、ICOS抗体複合体の存在を検出する。

【0305】

競合結合アッセイで、候補抗体を、ヒトICOS抗原と既知の抗ICOS抗体（または他の化合物）との結合を抑制するまたは置換するための能力を評価する。ICOSの標識された既知の結合剤を、候補抗体と混合することができ、候補抗体の追加の有り無し関係なく、それらの間の相互作用が通常発生するであろう条件下に配置される。ヒトICOSと結合するICOSの標識した既知の結合剤の量は、候補抗体の存在または不在の際に結合する量と比較することができる。

【0306】

一実施形態において、結合アッセイを、抗体抗原複合体の形成および検出を容易にするために、固形表面上で固定化した1つ以上の構成要素を用いて実施する。様々な実施形態において、固形支持体は、フッ化ポリビニリデン、ポリカーボネート、ポリスチレン、ポリプロピレン、ポリエチレン、ガラス、ニトロセルロース、デキストラン、ナイロン、ポリアクリルアミド、およびアガロースであることができるがこれらに制限されない。支持構造は、ビーズ、膜、微粒子、マイクロタイプレート、試験管、または他の反応容器等の反応容器の内部表面を含むことができる。ヒトICOS、または他の構成要素の固定化を、共有結合または非共有結合を通して達成することができる。一実施形態において、結合は、間接、すなわち付着した抗体を介して実施されることができる。別の実施形態において、固体表面の付着が抗GST (Santa Cruz Biotechnology) 等の商用抗体によって媒介することができるように、グルタチオンS-転移酵素 (GST) 等の、エピトープを用いてヒトICOS抗原および負の対照にタグをつける。

【0307】

例えば、かかる親和性結合アッセイを、固形支持体を固定化するヒトICOS抗原を使用して実施することができる。典型的に、結合反応の非固定化構成要素、この場合候補の抗ICOS抗体、を検出可能にするために、標識する。様々な標識方法が利用可能であり、発光、発色団、蛍光、もしくは放射性同位体、またはこれらを含む基、および酵素もしくは色素等の非同位体標識を使用することができる。一実施形態において、候補の抗ICOS抗体を、フルオレセインイソチオシアネート (FITC, Sigma Chemicals, St. Louisより入手可能) 等のフルオロフォアを用いて標識する。かかる親和性結合アッセイを、固形表面上で固定化したヒトICOS抗原を使用して実施することができる。抗ICOS抗体を、この抗原と共にインキュベートし、抗体の特異的な結合を、BiaCore Analyses、ELISA、FMET、およびRIA方法を含むがこれらに限定されない、当該技術において知られている方法によって検出する。

【0308】

最終的に、固体表面上に残る標識を、当該技術において知られている任意の検出方法によって検出することができる。例えば、候補の抗ICOS抗体を、フルオロフォアを用いて標識する場合、蛍光光度計を、複合体を検出するために使用することができる。

【0309】

ヒトICOS抗原を、ヒトICOS抗原を発現する無傷の細胞、またはヒトICOS抗原を含む単離された膜の形態で結合アッセイへ追加することができる。したがって、ヒトICOS抗原に対する直接結合を、候補の抗ICOS抗体の有無に関わらず、培養または動物モデルの無傷の細胞でアッセイすることができる。標識した候補の抗ICOS抗

10

20

30

40

50

体を、ヒトICOS抗原を発現する細胞と、またはかかる細胞から得られた粗エキスを混合することができ、候補の抗ICOS抗体を追加することができる。単離された膜を、ヒトICOSと相互作用する候補の抗ICOS抗体を同定するために使用することができる。例えば、単離された膜を使用した典型的な実験では、細胞を、ヒトICOS抗原を発現するために遺伝的に操作することができる。膜を、標準技法を用いて収集することができ、インビトロ結合アッセイで使用することができる。標識した候補の抗ICOS抗体（例えば、蛍光標識した抗体）を膜と結合させ、特異的な活性についてアッセイをし、特異的な結合を、過剰な非標識の（非放射性的の）候補抗ICOS抗体の存在下で実施する結合アッセイと比べて、測定することができる。可溶性ヒトICOS抗原を、組換え発現することができ、ヒトICOS抗原と結合する抗体を同定するために非細胞ベースのアッセイで利用することができる。組換え発現したヒトICOSポリペプチドを、非細胞ベースのスクリーニングアッセイで使用することができる。ヒトICOS抗原の1つ以上の結合部分に対応するペプチド、またはヒトICOS抗原の1つ以上の結合部分を含む融合タンパク質を、ヒトICOS抗原の一部と結合する抗体を同定するために、非細胞ベースのアッセイシステムで使用することもできる。非細胞ベースアッセイで、組換え発現したヒトICOSを、当業者に知られている方法によって、試験管、マイクロタイターウェルまたはカラム等の固形基質に付着する（上記Ausubel et al. , を参照）。ヒトICOS抗原と結合する能力に関して、試験抗体をアッセイする。

10

【0310】

結合反応を溶液中で実施することもできる。このアッセイで、標識した構成要素を溶液中で結合パートナーと相互作用することが可能である。標識した構成要素とその結合パートナーとの間のサイズ差が、かかる分離を可能にする場合、細孔が、非結合の標識した構成要素の通過を可能にするが、その結合パートナーの通過またはパートナーと結合した標識した構成要素の通過は可能ではない限外ろ過を介して結合反応の産物を通過することによって、分離を達成することができる。結合パートナー等に対する抗体等の、溶液から標識した構成要素の結合パートナーの捕獲を可能にする任意の試薬を使用して、分離を達成することもできる。

20

【0311】

別の特定の実施形態において、固形支持体は、マイクロタイター皿に付着したヒトICOS抗原を含む膜である。候補抗体は、例えば、マイクロタイター皿のライブラリーメンバーの発現を可能にする条件下で培養された、ライブラリー抗体を発現する細胞を結合することができる。ヒトICOSと結合するライブラリーメンバーを収集する。かかる方法は、一般的にParmley and Smith, 1988, Gene, 73:305-318、Fowlkes et al., 1992, BioTechniques, 13:422-427、PCT公開WO第94/18318号、および上記の本明細書に引用した参考文献に例として記載される。ヒトICOS抗原に結合すると同定された抗体は、上述の抗体の種類または修飾のうちのいずれであってもよい。

30

【0312】

5.21.1. ヒトADCCエフェクター機能に対する抗体のスクリーニング
血清中の長い半減期、および様々なエフェクター機能を媒介する能力等の機能的特徴を有するヒトIgGクラスの抗体を、本開示のある実施形態において使用する（Monoclonal Antibodies: Principles and Applications, Wiley-Liss, Inc., Chapter 1 (1995)）。ヒトIgGクラスの抗体を、以下の4のサブクラスにさらに分類する。IgG1、IgG2、IgG3、およびIgG4。多くの研究が、IgGクラスの抗体のエフェクター機能としてADCCおよびCDCに対してこれまで実施されてきており、そしてヒトIgGクラスの抗体の中で、IgG1サブクラスがヒトにおいて最も高いADCC活性およびCDC活性を有することが報告されている（Chemical Immunology, 65, 88 (1997)）。

40

【0313】

50

ヒトIgG1サブクラスの抗体のADCC活性およびCDC活性の発現は、一般的に、キラー細胞、ナチュラルキラー細胞、または活性化したマクロファージ等のエフェクター細胞の表面上に存在する抗体の受容体（本明細書で「FcR」として以下参照する）と抗体のFc領域との結合に関与する。様々な補体の構成要素を結合することができる。結合について、ヒンジ領域のいくつかのアミノ酸残基および抗体のC領域の二次ドメイン（「C2ドメイン」として本明細書で参照する）が重要であり（Eur. J. Immunol., 23, 1098 (1993)、Immunology, 86, 319 (1995)、Chemical Immunology, 65, 88 (1997)、C2ドメイン（Chemical Immunology, 65, 88 (1997)）の糖鎖も重要であることが示唆されている。

10

【0314】

抗ICOS抗体を、エフェクター機能に関して、例えば、抗体のADCCおよび/または補体依存性細胞傷害（CDC）を拡大するために、修飾することができる。これは、抗体のFc領域で1つ以上のアミノ酸置換を導入することで、達成することができる。システイン残基を、Fc領域に導入することもでき、この領域で鎖間のジスルフィド結合の形成を可能にする。この方法により、改善された内部移行能力、ならびに または増加した補体を媒介した細胞死滅およびADCC、を有するホモ二量体抗体を生成することができる（Caron et al., J. Exp. Med., 176: 1191 - 1195 (1992)、およびShopes, J. Immunol., 148: 2918 - 2922 (1992)）。ヘテロ二官能性の架橋剤を、増強した抗腫瘍活性を持つホモ二量体抗体を生成するために、使用することもできる（Wolf et al., Cancer Research, 53: 2560 - 2565 (1993)）。抗体を、増強した補体溶解およびADCC能力を生じる2つ以上のFc領域を有するために操作することもできる（Stevenson et al., Anti-Cancer Drug Design, (3) 219 - 230 (1989)）。

20

【0315】

エフェクター機能を変化させるための、抗体のFc領域を操作する他の方法は、当該技術において知られている（例えば、FCRIIAに対する結合親和性と比較して、FCRIIBに対する結合親和性を増幅するため、Fc領域を変化させることを説明する、両方ともKoeningらによる、米国特許公開第20040185045号、およびPCT公開WO第2004/016750号；PCT公開WO第99/58572号、IdusogieらのWO第99/51642号、およびDeoらのU.S.第6,395,272号も参照）。FcRIIBに対する結合親和性を減少するためにFc領域を修飾する方法も、当該技術において知られている（例えば開示は本明細書にすべて組み込まれている、両方ともRavetchらの、米国特許公開第20010036459号、およびPCT公開WO第01/79299号）。野生型のFc領域と比べてFcRIIAおよび/またはFcRIIAに対する増強した結合親和性を含む変異Fc領域を有する修飾された抗体も、説明された（例えば、開示は本明細書においてすべて組み込まれる、StavenhagenらのPCT公開WO第2004/063351号）。

30

【0316】

それぞれFcRI(CD64)、FcRII(CD32)、FcRIII(CD16)、およびFcRIVと称される、少なくとも4つの異なる種類のFcRが認められた。ヒトにおいて、FcRIおよびFcRIIIを、それぞれFcRIIaおよびFcRIIb、ならびにFcRIIIaおよびFcRIIIbにさらに分類する。FcRは、免疫グロブリンスーパーファミリーに属する膜タンパク質であり、FcRI、FcRIII、およびFcRIVは、2つの免疫グロブリン様ドメインを含有する細胞外領域を有する鎖を有し、FcRIは、構成要素として、3つの免疫グロブリン様ドメインを含有する細胞外領域を有する鎖を有し、この鎖はIgG結合活性に関与する。さらに、FcRIおよびFcRIIIは、鎖と関連するシグナル伝達機能を有する構成要素として鎖または鎖を有する（Annu. Rev. Immu

40

50

no 1., 18, 709 (2000), Annu. Rev. Immunol., 19, 275 (2001)). Fc RIVは、Bruhns et al., Clin. Invest. Med., (Canada) 27:3D (2004)に記載される。

【0317】

対象の抗ICOS抗体のADCC活性を査定するために、米国特許第5,500,362号、または第5,821,337号に記載されるものなど、インビトロADCCアッセイを使用することができる。アッセイを、商用キット、例えばCytotox96（登録商標）（Promega）を使用して実施することもできる。かかるアッセイに対する有用なエフェクター細胞は、末梢血単核球（PBMC）、ナチュラルキラー（NK）細胞、およびNK細胞系を含むがこれらに限定されない。遺伝子導入Fc受容体（例えばCD16）を発現するNK細胞系および関連したシグナルポリペプチド（例えばFCRI）は、エフェクター細胞としても役立つことができる（例えば、CampbellへのWO第2006/023148号A2を参照）。例えば、補体活性化および/またはADCCによる標的細胞の溶解を媒介する任意の特定の抗体の能力を、アッセイすることができる。対象の細胞を成長させ、インビトロ標識する。抗原抗体複合体によって活性化することができる免疫細胞、すなわちADCC応答に含まれるエフェクター細胞と組み合わせて、その抗体を細胞培養に追加する。抗体を、補体活性化に関して試験することもできる。どちらの場合でも、標的細胞の細胞溶解を、溶解した細胞から標識の放出によって検出する。標的細胞溶解の程度を、上澄みへの細胞質のタンパク質（例えばLDH）の放出を検出することによって測定することもできる。実際は、抗体を、補体および/または免疫細胞の源として患者自身の血清を使用してスクリーニングすることができる。インビトロ試験でヒトADCCを媒介することができる抗体を、その特定の患者に治療的に使用することができる。例えばClynes et al., Proc. Natl. Acad. Sci. (USA) 95:652-656 (1998)で開示されたもの等の動物モデルで、対象の分子のADCC活性をインビボで査定することもできる。さらに、抗体のADCCおよび随意にCDC活性のレベルを調節（すなわち、増加または減少）するための技術は、当該技術においてよく知られている。例えば米国特許第6,194,551号を参照されたい。本開示の抗体は、ADCCおよび/またはCDCを誘発する能力を有することが可能である、またはそのために、修飾することができる。ADCC機能を測定するためのアッセイを、ヒトADCC機能を査定するためにヒトエフェクター細胞を使用して実施することができる。かかるアッセイは、壊死性および/またはアポトーシス性のメカニズムによって細胞死を誘発する、媒介する、増強する、ブロックする抗体に関してスクリーニングすることを目的とするものも含むことができる。実行可能な色素を利用するアッセイ、カスパーゼを検出し分析する方法、およびDNA切断を測定するアッセイを含むかかる方法を、対象の抗ICOS抗体を用いてインビトロで培養した細胞のアポトーシス性の活性を査定するために使用することができる。

【0318】

例えば、アネキシンVまたはタネル染色（TUNEL）アッセイを、アポトーシス性の活性を検出するために、Decker et al., Blood (USA) 103:2718-2725 (2004)に開示された通り、実施することができる。TUNELアッセイは、DNA鎖切断に取り込み入れるために、フルオレセイン標識したdUTPを用いて対象の細胞を培養することを含む。細胞を、フローサイトメトリーによる分析のために処理することができる。アネキシンVアッセイは、暴露したPS分子を特異的に認識するフルオレセインを共役したアネキシンVを使用してアポトーシス性の細胞の細胞膜の外側でホスファチジルセリン（PS）の出現を検出する。同時に、ヨウ化プロピジウム等の実行可能な色素を、後期アポトーシス性の細胞を除くために、使用することができる。細胞を、標識したアネキシンVを用いて染色し、フローサイトメトリーによって分析する。

【0319】

5.22. 免疫複合体および融合タンパク質

本開示のある態様によれば、治療剤または毒素を、本開示の組成物および方法を使用す

10

20

30

40

50

るための抗ICOS抗体と共役することができる。ある実施形態において、これらの共役体を、融合タンパク質として生成することができる。治療剤および毒素の例は、カリチアマイシンおよびエスペラミシン等の分子のエンジインファミリーのメンバーを含むがこれに限定されない。化学的な毒素を、デュオカルマイシン（例えば、米国特許第5,703,080号、および米国特許第4,923,990号）、メトトレキサート、ドキシソルピシン、メルファラン、クロラムブシル、ARA-C、ビンデシン、マイトマイシンC、シスプラチン、エトポシド、ブレオマイシン、および5-フルオロウラシルからなる群から取ることもできる。化学療法剤の例は、アドリアマイシン、ドキシソルピシン、5-フルオロウラシル、シトシンアラビノシド(Ara-C)、シクロホスファミド、チオテパ、タキソテル(ドセタキセル)、ブスルファン、サイトキシン、タキソール、メトトレキサート、シスプラチン、メルファラン、ピンブラスチン、ブレオマイシン、エトポシド、イホスファミド、マイトマイシンC、ミトキサントロン、ピンクリスチン、ピノレルピン、カルボプラチン、テニポシド、ダウノマイシン、カルミノマイシン、アミノプテリン、ダクチノマイシン、マイトマイシン、エスペラミシン、(米国特許第4,675,187号を参照)、メルファラン、および他の関係するナイトロジェンマスタードも、含む。

【0320】

ある実施形態において、抗ICOS抗体を、細胞分裂阻害剤、細胞傷害性薬物、または免疫抑制剤と共役し、細胞傷害性薬物を、エンジイン、レキシトロブシン、デュオカルマイシン、タキサン、ピューロマイシン、ドラスタチン、マイタンシノイド、およびピンカアルカロイドからなる群から選択する。ある、より特定の実施形態において、細胞傷害性薬物は、パクリタキセル、ドセタキセル、CC-1065、SN-38、トポテカン、モルフォリノ-ドキシソルピシン、リゾキシン、シアノモルホリノ-ドキシソルピシン、ドラスタチン-10、エキノマイシン、コンプレタスタチン、カリチアマイシン、マイタンシン、DM-1、アウリスタチンE、AEB、AEVB、AEFP、MMAE(米国特許出願第10/983,340号を参照)、またはネトロブシンである。

【0321】

ある実施形態において、本開示の抗ICOS抗体-細胞傷害性薬物共役体の細胞傷害性薬物は、抗チューブリン剤である。特定の実施形態において、細胞傷害性薬物を、ピンカアルカロイド、ポドフィロトキシン、タキサン、バッカチン誘導体、クリプトフィジン、マイタンシノイド、コンプレタスタチン、およびドラスタチンからなる群から選択する。他の実施形態において、細胞傷害性薬物は、ピンクリスチン、ピンブラスチン、ビンデシン、ピノレルピン、VP-16、カンプトテシン、パクリタキセル、ドセタキセル、エピチロンA、エピチロンB、ノコダゾール、コイチシン、コルシミド、エストラムスチン、セマドチン、ディスコデルモリド、マイタンシン、DM-1、AEFP、アウリスタチンE、AEB、AEVB、AEFP、MMAEまたはエリユテロピンである。

【0322】

特定の実施形態において、抗ICOS抗体を、リンカーを通して細胞傷害性薬物と共役し、リンカーは、ペプチドリナーである。他の実施形態において、抗ICOS抗体を、リンカーを通して細胞傷害性薬物と共役し、リンカーは、val-citリンカー、phe-lysリンカー、ヒドラゾンリンカー、またはジスルフィドリナーである。

【0323】

ある実施形態において、抗ICOS抗体-細胞傷害性薬物共役体の抗ICOS抗体を、リンカーを通して細胞傷害性薬物と共役し、リンカーは、5.5未満のpHで加水分解性である。特定の実施形態において、リンカーは、5.0未満のpHで加水分解性である。

【0324】

ある実施形態において、抗ICOS抗体-細胞傷害性薬物共役体の抗ICOS抗体を、リンカーを通して細胞傷害性薬物と共役し、リンカーは、プロテアーゼによって切断可能である。特定の実施形態において、プロテアーゼは、リソソームのプロテアーゼである。他の実施形態において、プロテアーゼは、特に、膜と関連したプロテアーゼ、細胞内プロ

10

20

30

40

50

テアーゼ、またはエンドソームのプロテアーゼである。

【0325】

本発明の免疫抱合体において使用できる他の毒素は、毒レクチン、リシン、アブリン、モデシン、ボツリヌス、およびジフテリア毒素等の植物毒素を含む。もちろん、様々な毒素の組み合わせは、1つの抗体分子とカップリングされることができ、それによって、様々な細胞傷害性を適応させる。本開示の併用療法において適切に利用された毒素の実例は、リシン、アブリン、リボヌクレアーゼ、デオキシリボヌクレアーゼI、ブドウ球菌エンテロトキシンA、ヤマゴボウ抗ウイルスタンパク質、ゲロニン、ジフテリア毒素、緑膿菌外毒素、およびシュードモナスエンドトキシンである。例えばPastan et al., Cell, 47:641(1986)、およびGoldenberg et al., Cancer Journal for Clinicians, 44:43(1994)を参照されたい。使用することができる酵素的に活発な毒素およびその断片は、ジフテリアA鎖、ジフテリア毒素の非結合活性断片、外毒素A鎖(緑膿菌から)、リシンA鎖、アブリンA鎖、モデシンA鎖、サルシン、シナアブラギリタンパク質、ジアンチタンパク質、ヨウシュヤマゴボウタンパク質(PAPI、PAPII、およびPAP-S)、ニガウリ阻害剤、クルシン、クロチン、サボンソウ阻害剤、ゲロニン、ミトゲリン、レストリクトシン、フェノマイシン、エノマイシン、およびトリコテシンを含む。例えば、1993年、10月28日に公開されたWO第93/21232号を参照されたい。

10

【0326】

適切な毒素および化学療法剤は、Remington's Pharmaceutical Sciences, 19th Ed. (Mack Publishing Co., 1995)、およびGoodman And Gilman's The Pharmacological Basis of Therapeutics, 7th Ed. (MacMillan Publishing Co., 1985)に記載される。他の適切な毒素および/または化学療法剤は、当業者に知られている。

20

【0327】

本開示は、診断目的に対して適した放射性剤を含むまたはそれと共役した抗体(抗体断片またはその変異を含む)を包含する。適した放射性物質の例は、ヨウ素(^{121}I 、 ^{123}I 、 ^{125}I 、 ^{131}I)、炭素(^{14}C)、硫黄(^{35}S)、トリチウム(^3H)、インジウム(^{111}In 、 ^{112}In 、 $^{113\text{m}}\text{In}$ 、 $^{115\text{m}}\text{In}$)、テクネチウム(^{99}Tc 、 $^{99\text{m}}\text{Tc}$)、タリウム(^{201}Ti)、ガリウム(^{68}Ga 、 ^{67}Ga)、パラジウム(^{103}Pd)、モリブデン(^{99}Mo)、キセノン(^{135}Xe)、フッ素(^{18}F)、 ^{153}Sm 、 ^{177}Lu 、 ^{159}Gd 、 ^{149}Pm 、 ^{140}La 、 ^{175}Yb 、 ^{166}Ho 、 ^{90}Y 、 ^{47}Sc 、 ^{186}Re 、 ^{188}Re 、 ^{142}Pr 、 ^{105}Rh 、および ^{97}Ru を含むがこれらに限定されない。

30

【0328】

さらに、(scFv、または抗体断片もしくはその変異を含むか、あるいはそれらからなる他の分子を含む)本開示の抗ICOS抗体を、治療目的で利用する放射性金属イオンと結合することができる、またはカップリングすることができる。適切な放射性イオンの例は、 ^{213}Bi 等のアルファ放射体、または ^{103}Pd 、 ^{135}Xe 、 ^{131}I 、 ^{68}Ge 、 ^{57}Co 、 ^{65}Zn 、 ^{85}Sr 、 ^{32}P 、 ^{35}S 、 ^{90}Y 、 ^{153}Sm 、 ^{153}Gd 、 ^{169}Yb 、 ^{51}Cr 、 ^{54}Mn 、 ^{75}Se 、 ^{113}Sn 、 ^{90}Y 、 ^{117}Tin 、 ^{186}Re 、 ^{188}Re 、および ^{166}Ho 等の他の放射性同位体を含むがこれらに限定されない。特定の実施形態において、抗体またはその断片を、 ^{177}Lu 、 ^{90}Y 、 ^{166}Ho 、および ^{153}Sm 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ヘキレート化する大環状キレート剤に付着させる。特定の実施形態において、大環状キレート剤は、1,4,7,10-テトラアザシクロドデカン-N,N',N'',N'''-四酢酸(DOTA)である。他の特定の実施形態において、DOTAを、リンカー分子を通して本開示の抗体またはその断片に付着させる。DOTAとポリペプチドとを共役するために有用であるリンカー分子の例は、一般に当該技術において知られている - - 例えば、

40

50

すべてが参照によって本明細書に組み込まれる、DeNardo et al., Clin Cancer Res 4(10):2483-90, 1998、Peterson et al., Bioconjug Chem 10(4):553-7, 1999、および Zimmerman et al., Nucl Med Biol 26(8):943-50, 1999を参照されたい。

【0329】

本開示の抗ICOS抗体を、抗体と、プロドラッグ（例えば、ペプチジル化学療法剤、WO第81/01145号を参照）を活発な抗癌剤に変換するプロドラッグを活性化する酵素とを共役することによってADEPTで使用することもできる。例えば、WO第88/07378号および米国特許第4,975,278号を参照されたい。ADEPTに有用である免疫複合体の酵素の要素は、より活発な、細胞傷害性の形式に変換するような方法で、プロドラッグ上で作用することができる任意の酵素を含む。

10

【0330】

本開示の方法で有用な酵素は、リン酸を含有するプロドラッグを遊離薬物へ変換するために有用なアルカリ性ホスファターゼ；硫酸を含有するプロドラッグを遊離薬物へ変換するために有用なアリアルスルファターゼ；非毒性5-フルオロシトシン、5-フルオロウラシルを抗癌剤へ変換するために有用なシトシンデアミナーゼ；ペプチドを含有するプロドラッグを遊離薬物へ変換するために有用であるセラチアプロテアーゼ、サーモリシン、スプチリシン、カルボキシペプチダーゼ、および（カテプシンBおよびL等の）カテプシン等のプロテアーゼ；D-アミノ酸置換基を含有するプロドラッグを変換するために有用であるD-アラニルカルボキシペプチダーゼ；グリコシル化したプロドラッグを遊離薬物へ変換するために有用な β -ガラクトシダーゼおよびノイラミニダーゼ等の炭水化物を切断する酵素； β -ラクタムを用いて誘導体化された薬物を遊離薬物へ変換するために有用な β -ラクタマーゼ；フェノキシアセチルまたはフェニルアセチル基を用いてアミン窒素で誘導体化された薬物をそれぞれ、遊離薬物へ変換するために有用であるペニシリンVアミダーゼまたはペニシリンGアミダーゼ等のペニシリンアミダーゼを含むがこれらに限定されない。「抗体酵素」としても当該技術において知られている酵素活性を含む抗体を、プロドラッグを遊離で活発な薬物へ変換するために同様に使用することができる（例えば、Massey, Nature 328:457-458(1987)を参照）。抗体-抗体酵素共役体を、本明細書に記載される通り、ICOSを発現するT細胞の悪性度によって影響されたヒトの一部へ、要求通りに抗体酵素を送達することに対して調製することができる。

20

30

【0331】

本開示の抗体を、上記のヘテロ二官能性の架橋試薬の使用等の、当該技術においてよく知られている技術によって、酵素と共有結合的に結合することができる。酵素の少なくとも機能的に活発な部分と結合した抗ICOS抗体の少なくとも抗原結合領域を含む融合タンパク質は、当該技術においてよく知られている組換えDNA技法を使用しても構成することができる（例えば、Neuberger et al., Nature, 312:604-608(1984)を参照）。

【0332】

抗ICOS抗体の共有結合の修飾を、本開示の範囲内に含む。妥当な場合、化学的な合成によって、または抗体の酵素もしくは化学的な切断によってそれらを作製することができる。抗ICOS抗体の共有結合の修飾の他の種類を、選択された側鎖またはNもしくはC末端残基を用いて反応させることができる有機誘導化剤を用いて、抗体の標的アミノ酸残基を反応させることによって、分子に導入する。

40

【0333】

システニル残基を、カルボキシメチルまたはカルボキシアミドメチル誘導体を得るために、クロロ酢酸またはクロロアセトアミド等の α -ハロ酢酸（および対応するアミン）と最も一般的に、反応させる。同様に、ヨード試薬を使用することもできる。システニル残基は、プロモトリフルオロアセトン、 α -プロモ- β -（5-イミダゾイル）プロピ

50

オン酸、クロロアセチルリン酸、N-アルキルマレイミド、3-ニトロ-2-ピリジルジスルフィド、メチル2-ピリジルジスルフィド、p-クロロ第二水銀安息香酸、2-クロロ水銀-4-ニトロフェノール、またはクロロ-7-ニトロベンゾ-2-オキサ-1,3-ジアゾールとの反応によっても誘導体化する。

【0334】

この薬剤は、ヒスチジル側鎖に対して比較的に特異的であるため、ヒスチジル残基を、pH 5.5 ~ 7.0 でジエチルピロカルボネートとの反応によって誘導体化する。パラ-プロモフェナシルプロミドも有用であり、反応を、pH 6.0 で0.1 Mのカコジル酸ナトリウムで実施することができる。

【0335】

リジルおよびアミノ末端残基を、コハク酸または他のカルボン酸無水物と反応させる。これらの薬剤を用いた誘導体化は、リジニル残基の電荷を逆転する効果を有する。-アミノを含有する残基および/または -アミノを含有する残基を誘導体化するための他の適した試薬は、メチルピコリンイミデート等のイミドエステル、ピリドキサールリン酸、ピリドキサール、クロロ水素化ホウ素酸、トリニトロベンゼンスルホン酸、0-メチルイソ尿素、2,4-ペンタンジオン、およびグリオキシル酸を含むトランスアミナーゼが触媒した反応を含む。

【0336】

アルギニル残基を、1つまたはいくつかの従来の試薬との反応によって修飾し、その試薬は、フェニルグリオキサール、2,3-ブタンジオン、1,2-シクロヘキサジオン、およびニンヒドリンである。アルギニル残基の誘導体化は、一般的にグアニジン官能基の高いpKaのために、アルカリ性の条件下で反応を実施することが必要である。さらに、これらの試薬は、リジンの -アミノ基ならびにアルギニンのε-アミノ基と反応することができる。

【0337】

チロシル残基の特異的な修飾を、芳香族ジアゾニウム化合物またはテトラニトロメタンとの反応によってスペクトル標識をチロシル残基へ導入することに特に関心をおいて、作製することができる。最も一般的に、N-アセチルイミダゾールおよびテトラニトロメタンを、それぞれO-アセチルチロシル種および3-ニトロ誘導体を形成するために使用する。放射免疫アッセイで使用するための標識したタンパク質を調製するために、¹²⁵Iまたは¹³¹Iを使用して、チロシル残基をヨウ素化する。

【0338】

カルボキシル側鎖(アスパルチルまたはグルタミル)は、カルボジイミド(R-N=C=N-R')との反応によって選択的に修飾され、ここで、RおよびR'は、1-シクロヘキシル-3-(2-モルフォリニル-4-エチル)カルボジイミドまたは1-エチル-3-(4-アゾニア-4,4-ジメチルペンチル)カルボジイミド等の、異なるアルキル基である。さらに、アスパルチルおよびグルタミル残基を、アンモニウムイオンとの反応によるアスパラギニルおよびグルタミニル残基へ変換する。

【0339】

グルタミニルおよびアスパラギニル残基は、それぞれに対応するグルタミルおよびアスパルチル残基に頻繁に脱アミド化される。これらの残基は、中性または塩基性の条件下で、脱アミド化される。これらの残基の脱アミド化された形態は、本開示の範囲内である。

【0340】

他の修飾は、プロリンおよびリジンのヒドロキシル化、セリルまたはスレオニル残基のヒドロキシル基のリン酸化、リジン、アルギニン、およびヒスチジン側鎖の -アミノ基のメチル化(T. E. Creighton, *Proteins: Structure and Molecular Properties*, W. H. Freeman & Co., San Francisco, pp. 79-86 (1983))、N末端アミンのアセチル化、ならびに任意のC末端カルボキシル基のアミド化を含む。

【0341】

10

20

30

40

50

共有結合の修飾の別の種類は、グリコシドと抗体との化学的または酵素的な結合を含む。これらの手順は、N-またはO-結合したグリコシル化に対してグリコシル化の能力を有する宿主細胞の抗体の産生を必要としないという点で有利である。使用する結合モードによって、糖は、(a)アルギニンおよびヒスチジン、(b)遊離カルボキシル基(c)システインのもの等の遊離スルフヒドリル基、(d)セリン、トレオニン、もしくはヒドロキシプロリンのもの等の遊離ヒドロキシル基、(e)フェニルアラニン、チロシン、もしくはトリプトファンのもので芳香族残基、または(f)グルタミンのアミド基に付着することができる。これらの方法は、1987年9月11日に公開されたWO第87/05330号およびApplin and Wriston, CRC Crit. Rev. Biochem., pp. 259-306 (1981)に記載される。

10

【0342】

5.23. 化学療法の組み合わせ

本開示によれば、限定されないが、化学療法、放射線治療、ホルモン治療、および/または生物学的治療/免疫療法等の1つ以上の治療の投与と組み合わせる抗ICOS抗体の製剤の投与によって、癌またはその1つ以上の症状を、防止する、治療する、管理する、または寛解することができる。

【0343】

特定の実施形態において、本開示の方法は、限定されないが、アンジオスタチン(プラスミノゲン断片);血管新生抑制の抗トロンピンIIII;Angiozyme;ABT-627;Bay12-9566;Benefin;ベバシズマブ;BMS-275291;軟骨由来の抑制剤(CDI);CAI;CD59補体断片;CEP-7055;Col3;コンプレタスタチンA-4;エンドスタチン(コラーゲンXVIIII断片);フィブロネクチン断片;Gro-beta;ハロフジノン;ヘパリナーゼ;ヘパリン六糖断片;HMV833;ヒト絨毛性ゴナドトロピン(hCG);IM-862;インターフェロンアルファ/ベータ/ガンマ;インターフェロン誘導タンパク質(IP-10);インターロイキン-12;クリングル5(プラスミノゲン断片);マリマスタット;メタロプロテアーゼ阻害剤s(TIMPS);2-メトキシエストラジオール;MMI270(CGS27023A);MoAbIMC-1C11;ネオバスタット;NM-3;Panzem;PI-88;胎盤リボヌクレアーゼ抑制剤;プラスミノゲン活性化因子阻害因子;血小板因子-4(PF4);プリノマスタット;プロラクチン16kD断片;プロリフェリン関連タンパク質(PRP);PTK787/ZK222594;レチノイド;ソリマスタット(Solimastat);スクアラミン;SS3304;SU5416;SU6668;SU11248;テトラヒドロコルチゾール-S;テトラチオモリブデート;サリドマイド;トロンボスポンジン-1(TSP-1);TNP-470;形質転換増殖因子-ベータ(TGF-b);バスキュロスタチン(Vasculostatin);バソスタチン(カルレチキユリン断片);ZD6126;ZD6474;ファルネシル基転移酵素阻害剤(FTI);ならびに(限定されないがアレンドロン酸、クロドロン酸、エチドロン酸、イバンドロン酸、パミドロン酸、リセドロン酸、チルドロン酸、およびゾレドロン酸等の)ビスホスホネート等の血管新生の拮抗薬のうちの1つ以上の投与を包含する。

20

30

40

【0344】

特定の実施形態において、本開示の方法は、限定されないが、化学療法剤および非化学療法免疫調節剤等の免疫調節剤のうちの1つ以上の投与を包含する。化学療法剤の限定されない例は、メトトレキサート、シクロスポリンA、レフルノミド、シスプラチン、イホスファミド、タキソールおよびパクリタキセル等のタキサン、トポイソメラーゼI抑制剤(例えば、CPT-11、トポテカン、9-AC、およびGG-211)、ゲムシタピン、ピノレルピン、オキサリプラチン、5-フルオロウラシル(5-FU)、ロイコボリン、ピノレルピン、テモダール、サイトカラシンB、グラミシジンD、エメチン、マイトマイシン、エトポシド、テニポシド、ピンクリスチン、ピンプラスチン、コルヒチン、ドキシソルピシン、ダウノルピシン、ジヒドロキシアントラシンジオン、ミトキサントロン、ミ

50

トラマイシン、アクチノマイシンD、1-デヒドロテストステロン、グルココルチコイド、プロカイン、テトラカイン、リドカイン、プロプラノロール、およびピューロマイシン相同体、およびシトキサンを含む。非化学療法免疫調節剤の例は、抗T細胞受容体の抗体（例えば、抗CD4抗体（例えば、cM-T412（Boeringer）、IDEC-CE9.1（登録商標）（IDECおよびSKB）、mAB4162W94、OrthocloneおよびOKTcdr4a（Janssen-Cilag））、抗CD3抗体（例えば、Nuvion（Product Design Labs）、OKT3（Johnson & Johnson）、またはRituxan（IDEC））、抗CD5抗体（例えば、抗CD5リシン-結合免疫複合体）、抗CD7抗体（例えば、CHH-380（Novartis））、抗CD8抗体、抗CD40リガンドモノクローナル抗体（例えば、IDEC-131（IDEC））、抗CD52抗体（例えば、CAMPATH1H（Ilex））、抗CD2抗体（例えば、MEDI-507（MedImmune、Inc、国際公開WO第02/098370号およびWO第02/069904号）、抗CD11a抗体（例えば、Xanelim（Genentech））、および抗B7抗体（例えば、IDEC-114）（IDEC））；抗サイトカイン受容体抗体（例えば、抗IFN受容体抗体、抗IL-2受容体抗体（例えば、Zenapax（Protein Design Labs））、抗IL-4受容体抗体、抗IL-6受容体抗体、抗IL-10受容体抗体、および抗IL-12受容体抗体）、抗サイトカイン抗体（例えば、抗IFN抗体、抗TNF-抗体、抗IL-1抗体、抗IL-6抗体、抗IL-8抗体（例えば、ABX-IL-8（Abgenix））、抗IL-12抗体および抗IL-23抗体）；

CTLA4-免疫グロブリン；LFA-3TIP（Biogen、国際公開WO第93/08656号および米国特許第6,162,432号）；可溶性サイトカイン受容体（例えば、TNF-受容体またはその断片の細胞外ドメイン、IL-1受容体またはその断片の細胞外ドメイン、およびIL-6受容体またはその断片の細胞外ドメイン）；サイトカインまたはその断片（例えば、インターロイキン（IL）-2、IL-3、IL-4、IL-5、IL-6、IL-7、IL-8、IL-9、IL-10、IL-11、IL-12、IL-15、IL-23、TNF-、TNF-、インターフェロン（IFN）-、IFN-、IFN-、およびGM-CSF）；および抗サイトカイン抗体（例えば、抗IL-2抗体、抗IL-4抗体、抗IL-6抗体、抗IL-10抗体、抗IL-12抗体、抗IL-15抗体、抗TNF-抗体、および抗IFN-抗体）、および腫瘍関連抗原と免疫特異的に結合する抗体（例えば、Herceptin（登録商標））を含むがこれらに限定されない。ある実施形態において、免疫調節剤は、化学療法剤以外の免疫調節剤である。他の実施形態において、免疫調節剤は、IL-1、IL-2、IL-4、IL-12、IL-15、TNF、IFN-、IFN-、IFN-、M-CSF、G-CSF、IL-3、またはエリスロポエチン等のサイトカインまたは造血性以外の免疫調節剤である。さらに他の実施形態において、免疫調節剤は、化学療法剤およびサイトカインまたは造血性因子以外の薬剤である。

【0345】

特定の実施形態において、本開示の方法は、限定されないが非ステロイド性抗炎症薬（NSAID）、ステロイド系抗炎症薬、刺激薬、抗コリンジェリック（anticholinergic）剤、およびメチルキサンチン等の抗炎症剤の1つ以上の投与を包含する。NSAIDの例は、アスピリン、イブプロフェン、セレコキシブ（CELEBREX（商標））、ジクロフェナク（VOLTAREN（商標））、エトドラク（LODINE（商標））、フェノプロフェン（NALFON（商標））、インドメタシン（INDOCIN（商標））、ケトドラク（TORADOL（商標））、オキサプロジン（DAYPRO（商標））、ナブメトン（RELAFEN（商標））、スリンダク（CLINORIL（商標））、トルメチン（TOLECTIN（商標））、ロフェコキシブ（VIOXX（商標））、ナプロキセン（ALEVE（商標）、NAPROSYN（商標））、ケトプロフェン（ACTRON（商標））、およびナブメトン（RELAFEN（商標））を含むがこれらに限定されない。かかるNSAIDは、シクロオキシゲナーゼ酵素（例えば、C

10

20

30

40

50

OX - 1および/またはCOX - 2)を抑制することによって機能する。ステロイド系抗炎症薬の例は、グルココルチコイド、デキサメタゾン(DECADRON(商標))、コルチゾン、ヒドロコルチゾン、プレドニゾン(DELTA SONE(商標))、プレドニゾロン、トリアムシノロン、アザルフィジン、ならびにプロスタグランジン、トロンボキササン、およびロイコトリエン等のエイコサノイドを含むがこれらに限定されない。

【0346】

別の特定の実施形態において、本開示の方法は、1つ以上の抗ウイルス剤(例えば、アマンタジン、リバビリン、リマンタジン、アシクロビル、ファムシクロビル、ホスカルネット、ガンシクロビル、トリフルリジン、ピダラビン、ジダノシン、スタブジン、ザルシタピン、ジドブジン、インターフェロン)、抗生物質(例えば、ダクチノマイシン(以前はアクチノマイシン)、プレオマイシン、ミトラマイシン、およびアントラマイシン(AMC))、制吐薬(例えば、アルブラゾラム、デキサメタゾン、ドンペリドン、ドロナビノール、ドロペリドール、グラニセトロン、ハロペリドール、ハロペリドール、イオラゼパム(iorazepam)、メチルプレドニゾロン、メトクロプラミド、ナビロン、オンダンセトロン、プロクロルペラジン)、抗真菌剤(例えば、アンホテリシン、クロトリマゾール、エコナゾール、フルコナゾール、フルシトシン、グリセオフルビン、イトラコナゾール、ケトコナゾール、ミコナゾールおよびニスタチン)、抗寄生虫剤(例えば、デヒドロエメチン、ジロキサニドフロエート、エメチン、メフロキン、メラルソプロール、メトロニダゾール、ニフルチモックス、パロモマイシン、ペンタビジン(pentabidine)、イセチオン酸ペンタミジン、プリマキン、キナクリン、キニジン)またはその組み合わせの投与を、包含する。

【0347】

薬学的な組成物ならびに剤形およびキットを含む、本開示の様々な実施形態で使用することができる抗癌剤の具体的な例は、アシピシン; アクラルピシン; アコダゾールハイドロクロライド(acodazole hydrochloride); アクロニン; アドゼレシン; アルデスロイキン; アルトレタミン; アンボマイシン(ambomycin); 酢酸アメタントロン; アミノグルテチミド; アムサクリン; アナストロゾール; アントラマイシン; アスパラギナーゼ; アスペルリン; アザシチジン; アゼテパ; アゾトマイシン(azotomycin); パチマスタット; ベンゾデパ(benzodepa); ビカルタミド; ビサントレンハイドロクロライド; ビスナフィドジメシレート(ビスナフィド dimesylate); ビセレシン; プレオマイシン硫酸; ナトリウムブレキナル; プロピリミン; プスルファン; カクチノマイシン; カルステロン; カラセミド(caracemide); カルベチマー(carbetimer); カルボプラチン; カルムスチン; 塩酸カルピシン; カルゼルシン; セデフィンゴール(Cedefingol); クロラムブシル; シロレマイシン(Cirolemycin); シスプラチン; クラドリピン; メシル酸クリスナトール; シクロホスファミド; シタラビン; ダカルバジン; ダクチノマイシン; ダウノルピシンハイドロクロライド; デシタピン; デキソルマプラチン(Dexormaplatin); デザグアニン(dezaguanine); デザグアニン(dezaguanine)メシレート; ジアジクオン; ドセタキセル; ドキソルピシン; ドキソルピシンハイドロクロライド; ドロロキシフェン; ドロロキシフェンクエン酸; プロピオン酸ドロモスタノロン; デュアゾマイシン(Duazomycin); エダトレキサート; エフルロニチンハイドロクロライド; エルサミトルシン(elsamitruccin); エンロプラチン(Enloplatin); エンプロメート(Enpromate); エピプロピジン(epipropidine); 塩酸エビルピシン; エルプロゾール(erbulozole); 塩酸エソルピシン(esorubicin hydrochloride); エストラムスチン; リン酸エストラムスチンナトリウム; エタニダゾール; エトボシド; リン酸エトボシド; エトプリン(etoprine); 塩酸ファドロゾール; ファザラビン(fazarabine); フェンレチニド; フロクスウリジン; リン酸フルダラビン; フルオロウラシル; フルロシタピン(flurocitabine); ホスキドン(fosquidone); フォストリエシンナトリウム; ゲムシタビ

10

20

30

40

50

ン；ゲムシタピンハイドロクロライド；ヒドロキシ尿素；塩酸イダルピシン；イホスファミド；イルモホシン；（組換えインターロイキンII、またはrIL2を含む）インターロイキンII、インターフェロンアルファ-2a；インターフェロンアルファ-2b；インターフェロンアルファ-n1；インターフェロンアルファ-n3；インターフェロンベータ-Ia；インターフェロンガンマ-Ib；イプロプラチン；塩酸イリノテカン；酢酸ランレオチド；レトロゾール；酢酸ロイプロリド；塩酸リアロゾール；（ロメトレキソール（lomemetrexol）ナトリウム）；ロムスチン；塩酸ロソキサントロン（loxoxantrone hydrochloride）；マソプロコール；マイタンシン；塩酸メクロレタミン；酢酸メゲストロール；酢酸メレンゲストロール；メルファラン；メノガリル；メルカプトプリン；メトトレキサート；メトトレキサートナトリウム；メトブリン；メツレデパ；ミチンドミド；ミトカルシン（mitocarcin）；ミトクロミン；ミトジリン（mitogillin）；ミトマルシン（mitomalcin）；マイトマイシン；ミトスペル（mitosper）；ミトーテン；ミトキサントロンハイドロクロライド；ミコフェノール酸；ノコダゾール；ノガラマイシン；オルマプラチン；オキシスラン；パクリタキセル；ペグアスパルガーゼ；ペリオマイシン（peliomycin）；ペンタムスチン（pentamustine）；硫酸ペプロマイシン；ペルホスファミド（perfosfamide）；ピボプロマン；ピボスルファン；塩酸ピロキサントロン（piroxantrone hydrochloride）；プリカマイシン；プロメスタン；ポルフィマーナトリウム；ポルフィロマイシン；プレドニムスチン（prednimustine）；塩酸プロカルバジン；ピューロマイシン；ピューロマイシンハイドロクロライド；ピラゾプリン；リボプリン（riboprine）；ログレットイミド（rogletimide）；サフィンゴール；サフィンゴールハイドロクロライド；セムスチン；シムトラゼン；スパルホサートナトリウム（sparfosate sodium）；スパルソマイシン；塩酸スピロゲルマニウム；スピロムスチン；スピロプラチン；ストレプトニグリン；ストレプトゾシン；スロフェヌル（sulofenur）；タリソマイシン（talisomycin）；テコガランナトリウム；テガフル；塩酸テロキサントロン（teloxantrone hydrochloride）；テモポルフィン；テニポシド；テルオキシロン（teroxirone）；テストラクトン；チアミプリン（thiamiprine）；チオグアニン；チオテパ；チアゾプリン；チラパザミン；クエン酸トレミフェン；酢酸トレストロン（trestolone acetate）；リン酸トリシリピン（tricitribine phosphate）；トリメトレキサート；グルクロン酸トリメトレキサート；トリプトレリン；塩酸ツプロゾール（tubulozole hydrochloride）；ウラシルマスタード；ウレデパ（uredipa）；バプレオチド（vapreotide）；ベルテポルフィン；ピンブラスチン硫酸；ピンクリスチン硫酸；ピンデシン；ピンデシン硫酸；硫酸ピネピジン；硫酸ピングリシナート（vinglycinate sulfate）；硫酸ビンロイロシン（vinleurosine sulfate）；酒石酸ピノレルピン；硫酸ビンロシジン（vinrosidine sulfate）；硫酸ビンゾリジン（vinzolidine sulfate）；ボロゾール；ゼニプラチン；ジノスタチン；塩酸ゾルピシンを含むがこれらに限定されない。他の抗癌剤は、20-エビ-1,25ジヒドロキシビタミンD3；5-エチニルウラシル；アビラテロン（abiraterone）；アクラルピシン；アシルフルベン；アデシペノール（adecyphenol）；アドゼレシン；アルデスロイキン；ALL-TK拮抗薬；アルトレタミン；アンバムスチン；アミドックス（amidox）；アミホスチン（amifostine）；アミノレブリン酸；アムルピシン；アムサクリン；アナグレリド；アナストロゾール；アンドログラフォリド；血管新生抑制剤；拮抗薬D；拮抗薬G；アンタレリクス（antarelix）；抗背方化形態形成タンパク質-1；抗アンドロゲン、前立腺癌；抗エストロゲン；抗腫瘍薬；アンチセンスオリゴヌクレオチド；アフィジコリングリシネート；アポトーシス遺伝子モジュレーター；アポトーシスレギュレーター；アプリン酸；ara-CDP-DL-PTBA；アルギニンデアミナーゼ；アスラクリン（asulacrine）；アタメスタン

10

20

30

40

50

;アトリムスチン;アキシナスタチン(axinastatin)1;アキシナスタチン(axinastatin)2;アキシナスタチン(axinastatin)3;アザセトロン;アザトキシン(azatoxin);アザチロシン;バッカチンIII誘導体;バラノール(balanol);バチマスタット;BCR/ABL拮抗薬;ベンゾクロリン(benzochlorin);ベンゾイルスタウロスポリン(benzoylstaurosporine);ラクタム誘導体;-アレチン;-クラマイシン(clamyacin)B;ベツリン酸;bFGF抑制剤;ピカルタミド;ピサントレン;ビスアジリジニルスベルミン(bisaziridinylspermine);ビスナフィド;ピストラテン(bistratene)A;ピセレシン;ブレフラート(breflate);プロピリミン;ブドチタン;ブチオニンスルホキシミン;カルシポトリオール;カルホスチン(calphostin)C;カンプトテシン誘導体;カナリアボックスIL-2;カペシタピン;カルボキサミド-アミノ-トリアゾール;カルボキシアミドトリアゾール;CaRestM3;CARN700;軟骨由来の抑制剤;カルゼルシン;カゼインキナーゼ抑制剤(ICOS);カスタノスベルミン;セクロピンB;セトロレリクス;クロルルン(chlorlun);クロロキノキサリンスルホンアミド(chloroquinoxalinesulfonamide);シカプロスト;シスポルフィリン;クラドリピン;クロミフェン類似体;クロトリマゾール;コリスマイシン(collismycin)A;コリスマイシン(collismycin)B;コンプレタスタチンA4;コンプレタスタチン類似体;コナゲニン;クランベシジン816;クリスナトール;クリプトフィシン(cryptophycin)8;クリプトフィシン(cryptophycin)A誘導体;キュラシンA;シクロペンタアントラキノネス(cyclopentantraquinones);シクロプラタム(cycloplattam);シペマイシン(cypemycin);シタラピンオクホスフェート;細胞溶解因子;シトスタチン(cytostatin);ダクリキシマブ(dacliximab);デシタピン;デヒドロジデムニン(dehydrodidemnin)B;デスロレリン;デキサメタゾン;デキシホスファミド;デクスラゾキサニル;デクスベラパミル(dexverapamil);ジアジクオン;ジデムニンB;ジドクス(didox);ジエチルノルスベルミン;ジヒドロ-5-アザシチジン;ジヒドロタキソール、9-;ジオキサマイシン(dioxamycin);ジフェニルスピロムスチン;ドセタキセル;ドコサノール;ドラセトロン;ドキシフルリジン;ドロロキシフェン;ドロナビノール;デュオカルマイシンSA;エブセレン;エコムスチン;エデルホシン;エドレコロマブ;エフロルニチン;エレメン;エミテフル(emittefur);エピルピシン;エプリステリド;エストラムスチン類似体;エストロゲンアゴニスト;エストロゲン拮抗薬;エタニダゾール;リン酸エトポシド;エキセメスタン;ファドロゾール;ファザラビン(fazarabine);フェンレチニド;フィルグラスチム;フィナスチリド;フラボピリドール;フレゼラスチン(flezelastine);フルアステロン;フルダラビン;塩酸フルオロダウノルニシン(fluorodaunorunicinhydrochloride);ホルフェニメクス;ホルメスタン;ホストリエシン;ホテムスチン;ガドリニウムテクキサフィリン;硝酸ガリウム;ガロシタピン;ガニレリクス(ganirelix);ゼラチナーゼ阻害剤;ゲムシタピン;グルタチオン抑制剤;ヘプスルファム(hepsulfam);ヘレグリリン;ヘキサメチレンビスアセトアミド;ヒペリシン;イバンドロン酸;イダルピシン;イドキシフェン;イドラマントン;イルモホシン;イロマスタット(ilomastat);イミダゾアクリドネス(imidazoacridones);イミキモド;免疫促進剤ペプチド;インシュリン様増殖因子-1受容体抑制剤;インターフェロンアゴニスト;インターフェロン;インターロイキン;イオベングアン;ヨードドキソルピシン;イポメアノール(ipomeanol)、4-;イロプラクト(iroplact);イルソグラジン(irsogladine);イソベンガゾール;イソホモハリコンドリリン(isohomohalicondrin)B;イタセトロン;ジャスプラキノリド;カハラリドF;ラメラリン(lamellicarin)-Nトリアセテート;ランレオチド;レイナマイシン;レノグラスチム;硫酸レンティナン;レプトルスタチン;

10

20

30

40

50

レトロゾール；白血病抑制因子；白血球 インターフェロン；ロイプロリド+エストロゲン+プロゲステロン；ロイプロレリン (leuprorelin)；レバミゾール；リアロゾール；直鎖状ポリアミン類似体；脂溶性二糖類ペプチド；脂溶性白金化合物；リソクリンアミド (lissoclinamide) 7；ロバプラチン；ロンブリシン；ロメトレキゾール (lometrexol)；ロニダミン；ロソキサントロン (losoxantrone)；(限定されないがロバスタチン、プラバスタチン、フルバスタチン、スタチン、シンバスタチン、およびアトルバスタチン等の) HMG-CoA還元酵素抑制剤；ロキソリビン (loxoribine)；ルルトテカン (lurtotecan)；ルテチウムテキサフィリン (lutetium texaphyrin)；リソフィルリン (lysofylline)；溶菌性ペプチド；マイタンシン；マンノスタチンA；マリマスタット；マソプロコール；マスピン；マトリリシン阻害剤；マトリックスメタロプロテイナーゼ阻害剤；メノガリル；メルバロン (merbarone)；メテレリン (meterelein)；メチオニナーゼ；メトクロプラミド；MIF抑制剤；ミフェプリストン；ミルテホシン；ミリモスチム；ミスマッチ二本鎖RNA；ミトグアゾン；ミトラクトール；マイトマイシン類似体；ミトナフィド (mitonafide)；ミトトキシン (mitotoxin) 繊維芽細胞増殖因子-サポリン (saporin)；ミトキサントロン；モファロテン；モルグラモスチム；モノクローナル抗体、ヒト絨毛性ゴナドトロピン；モノホスホリルリピドA+ミオバクテリウム細胞壁sk；モピダモール (mopidamol)；多剤耐性遺伝子阻害剤；多発性腫瘍サブレッサー1-ベースの治療；マスタード (mustard) 抗癌剤；ミカペルオキシド (mycaperoxide) B；マイコバクテリア細胞壁抽出物；ミリアポロン (myriaporone)；N-アセチルジナリン；N-置換ベンズアミド；ナファレリン；ナグレスチブ (nagrestip)；ナロキソン+ペンタゾシン；ナパビン (napavin)；ナフテルピン；ナルトグラスチム；ネダプラチン；ネモルビシン (nemorubicin)；ネリドロ酸；中性エンドペプチダーゼ；ニルタミド；ニサマイシン (nisamycin)；一酸化窒素モジュレーター；ニトロキシド抗酸化剤；ニトルリン (nitruillyn)；O6-ベンジルグアニン；オクトレオチド；オキセノン (okicenone)；オリゴヌクレオチド；オナプリストン；オンダンセトロン；オンダンセトロン；オラシン (oracin)；経口サイトカインインデューサー；オルマプラチン；オサテロン；オキサリプラチン；オキサウノマイシン (oxaunomycin)；パクリタキセル；パクリタキセル類似体；パクリタキセル誘導体；パラウアミン (palauamine)；パルミトイルリゾキシシン；パミドロン酸 (pamidronic acid)；パナキシトリオール；パノミフェン；パラバクチン (parabactin)；パゼリプチン (pazelliptine)；ペグアスパルガーゼ；ペルデシン；ペントサンポリサルフェートナトリウム (pentosan polysulfate sodium)；ペントスタチン；ペントロゾール (pentrozole)；ペルフルブロン；ペルホスファミド (perfosfamide)；ペリリルアルコール；フェナジノマイシン；酢酸フェニル；脱リン酸化酵素阻害剤；ピシバニール；塩酸ピロカルピン；ピラルビシン；ピリトレキシム (pirtrexim)；プラセチンA；プラセチンB；プラスミノーゲン活性化因子阻害因子；白金錯体；白金化合物白金トリアミン錯体；ポルフィマーナトリウム；ポルフィロマイシン；プレドニゾン；プロピルビスアクリドン；プロスタグランジンJ2；プロテアソーム阻害剤；プロテインA系免疫変調成分；タンパク質キナーゼC抑制剤；タンパク質キナーゼC抑制剤、マイクロアルガル (microalgal)；タンパク質チロシン脱リン酸化酵素阻害剤；プリンヌクレオシドホスホリラーゼ阻害剤；プルプリン；ピラゾロアクリジン；ピリドキシル化ヘモグロビンポリオキシエチレンコンジュゲート；raf拮抗薬；ラルチトレキセド；ラモセトロン；rasファルネシルタンパク質転移酵素阻害剤；ras抑制剤；ras-GAP抑制剤；ジメチル化レトリプチン；レニウムRe186エチドロン酸；リゾキシシン；リボザイム；RIIレチンアミド；ログレトイミド (rogletimide)；ロヒツキン (rohikutine)；ロムルチド；ロキニメックス (roquinimex)；ルビギノン (rubiginone) B1；ルボキシル (ru

10

20

30

40

50

boxy l) ; サフィンゴール ; サイントピン (saintopin) ; SarCNU ;
 サルコフィトールA ; サルグラモスチム ; Sdi1 擬似体 ; セムスチン ; 老化誘導阻害剤
 1 ; センスオリゴヌクレオチド ; シグナル伝達抑制剤 ; シグナル伝達モジュレーター ; 単
 鎖抗原結合タンパク質 ; シゾフィラン ; ソブゾキサソ ; ボロカプト酸ナトリウム (sod
 ium borocaptate) ; ナトリウム酢酸フェニル ; ソルベロール (solv
 erol) ; ソマトメジン結合タンパク質 ; ソネルミン ; スパルホス酸 ; スピカマイシン
 D ; スピロムスチン ; スプレノペンチン ; スポンギスタチン (spongi statin)
 1 ; スクアラミン ; 幹細胞阻害剤 ; 幹細胞分裂阻害剤 ; スチピアミド (stippiam
 ide) ; ストロメリシン阻害剤 ; スルフィノシン (sulfinosine) ; 超活性
 脈管活性腸管ペプチド拮抗薬 ; スラジスタ (suradista) ; スラミン ; スワイン 10
 ソニン ; 合成グリコサミノグリカン ; タリムスチン (tallimustine) ; タモ
 キシフェンメトヨージド (tamoxifen methiodide) ; タウロムスチ
 ン (tauromustine) ; タザロテン ; テコガランナトリウム ; テガフル ; テ
 ルラピリリウム (tellurapyrylium) ; テロメラゼ阻害剤 ; テモポルフ
 イン ; テモゾロミド ; テニボシド ; テトラクロロデカオキシド (tetrachloro
 decaoxide) ; テトラゾミン (tetrazomine) ; タリブラスチン (thaliblastine) ;
 チオコラリン (thiocoraline) ; トロンボポ
 イエチン ; トロンボポイエチン擬似体 ; チマルファシン ; チモポイエチン受容体アゴニス
 ト ; チモトリナン ; 甲状腺刺激ホルモン ; スズエチルエチオプルプリン (tin eth
 yl etiopurpurin) ; チラパザミン ; チタノセンジクロリド ; トプセンチ 20
 ン (topsentin) ; トレミフェン ; 全能性幹細胞因子 ; 翻訳抑制剤 ; トレチノイ
 ン ; トリアセチルウリジン ; トリシリピン (triciribine) ; トリメトレキサ
 ート ; トリプトレリン ; トロピセトロン (tropisetron) ; ツロステリド (t
 urosteride) ; チロシンキナーゼ抑制剤 ; チルホスチン ; UBC 抑制剤 ; ウベ
 ニメクス ; 尿生殖洞由来増殖抑制因子 ; ウロキナーゼ受容体拮抗薬 ; バプレオチド (v
 apreotide) ; バリオリンB ; ベクター系、赤血球遺伝子治療 ; ベラレソール ; ベ
 ラミン (veramine) ; ベルジン (verdin) ; ベルテポルフイン ; ビノレル
 ピン ; ピンキサルチン ; Vitaxin (登録商標) ; ボロゾール ; ザノテロン (zan
 oterone) ; ゼニプラチン ; ジラスコルブ ; およびジノスタチンスチマラマーを含
 むがこれらに限定されない。追加の抗癌剤は、5 - フルオロウラシルおよびロイコボリン 30
 である。これら2つの薬剤は、サリドマイドおよびトポイソメラーゼ抑制剤を利用する方
 法で使用された場合、有用である可能性がある。特定の実施形態において、抗癌剤は、化
 学療法剤ではない。

【0348】

より特定な実施形態において、本開示は、制限されないが、上記の通り、胸、卵巣、黒
 色腫、前立腺、結腸、および肺癌の処置の為に、表1に開示されたもの等の抗癌剤等の治
 療の1つ以上の投与と組み合わせる、抗ICOS抗体製剤の投与も含む。併用療法で使用
 する場合、表1に記載した投与量および/または投与の頻度を減少することができる。

【表1】

表1. 抗癌剤

治療剤	用量/投与/製剤		
ドキソルビシン ハイドロクロラ イド(Adriamycin RDF (登録商 標) および Adriamycin PFS (登録商標)	静脈内	1日目に60~75mg/m ²	21日間隔
塩酸エピルビシ ン(Ellence (商 標))	静脈内	各周期の1日目に100~ 120mg/m ² または均等に分割 され、その周期の1~8日 目に投与	3-4週間周期
フルオロウラシ ル	静脈内	支給方法:5mLおよび10mL バイアル(それぞれ250およ び500mgのフルオロウラシ ルを含有する)	
ドセタキセル (Taxotere (登録 商標))	静脈内	60~100mg/m ² を1時間以上	3週間に1回
パクリタキセル (タキソール (登 録商標))	静脈内	175mg/m ² を3時間以上	3週間おきに4過程(ドキ ソルビシンを含有する併 用化学療法へ連続して投 与)
タモキシフェン クエン酸 (Nolvadex (登録 商標))	経口 (錠剤)	20~40mg 20mgを超える投与量は、分 割した用量(朝および夕)で投 与されるべき。	毎日
注射用のロイコ ボリンカルシウ ム	静脈内また は筋肉内注 射	支給方法:350mgバイアル	投与量が、本文上で不明 確である。PDR3610
酢酸ロイプロリ ド Lupron (登録商	単一皮下注 射	1mg(0.2mLまたは20単位マ ーク)	1日1回

10

20

30

【0349】

治療剤	用量/投与/製剤		
標)			
フルタミド (Eulexin (登録商標))	経口 (カプセル剤)	50mg (それぞれ 125mg のフルタミドを含有するカプセル剤)	8 時間間隔で 1 日 3 回(1 日の合計投与量 750mg)
ニルタミド (Nilandron (登録商標))	経口 (錠剤)	300mg または 150mg (それぞれ 50 または 150mg のニルタミドを含有する錠剤)	30 日間 1 日 300mg、その後 1 日 1 回 150mg
ビカルタミド (Casodex (登録商標))	経口 (錠剤)	50mg (それぞれ 50mg のビカルタミドを含有する錠剤)	1 日 1 回
プロゲステロン	注射	50mg/mL のゴマ油の USP	
ケトコナゾール (Nizoral (登録商標))	クリーム	症状によって 2% のクリームを 1 日 1 回または 2 回適用	
プレドニゾン	経口 (錠剤)	初回の投与量は、治療される特異的な疾病の実体によって 1 日 5mg~60mg と変わる可能性がある。	
エストラムスチンリン酸ナトリウム(Emcyt (登録商標))	経口 (カプセル剤)	体重の 14mg/kg(すなわち、体重の 10kg または 22lb ごとに 140mg のカプセル剤 1 錠)	3 または 4 分割した用量を毎日投与
エトポシドまたは VP-16	静脈内	20mg/mL 溶液の 5mL(100mg)	
ダカルバジン (DTIC-Dome (登録商標))	静脈内	2~4.5mg/kg	10 日間 1 日 1 回 4 週間の間隔で繰り返すことができる
カルムスチンインプラントを含むポリフェプロザン 20(BCNU)(ニトロソ尿素) (Gliadel (登録商標))	切除腔にウェーハを置く	それぞれ 7.7mg のカルムスチンを含有する 8 ウェーハ、切除腔のサイズおよび形によって許容する場合、合計 61.6mg	
シスプラチン	注射	[PDR861 では該当なし] 支給方法:50mL および 100mL の多用量バイアル内の 1mg/mL の溶液	
マイトマイシン	注射	(5mg および 20mg のマイトマイシンを含有する)5mg お	

10

20

30

40

治療剤	用量/投与/製剤		
ゲムシタピン HCl(Gemzar (登録商標))	静脈内	よび 20mg バイアルで支給 NSCLC に関して-2つのスケジュールについて調査し、最適なスケジュールについては決定されていない。 4週間スケジュール-30分間以上 1000mg/m ² を静脈内投与、 3週間スケジュール-30分間以上 1250mg/m ² の Gemzar を静脈内投与	4週間スケジュール-各 28日間周期の 1、8、および 15 日目。Gemzar の注入後、静脈内で 1 日目に 100mg/m ² のシスプラチン。 3週間スケジュール-21 日周期の 1 および 8 日目。1 日目に Gemzar の投与後、100mg/m ² のシスプラチンの投与量を静脈内に投与。
カルボプラチン (Paraplatin (登録商標))	静脈内	単一薬剤治療:1 日目に 360mg/m ² I.V. (注入を 15 分間以上持続) 他の投与量計算:シクロホスファミドを含む併用療法、推奨用量調製、処方投与等。	4週間に 1 回
イホスファミド (Ifex (登録商標))	静脈内	毎日 1.2g/m ²	連続 5 日間 3週間に一度、または血液学的毒性から回復後、繰り返す
トポテカンハイドロクロライド (Hycamtin (登録商標))	静脈内	毎日 1.5mg/m ² を 30 分以上静脈内注入	連続 5 日間、21 日間過程の 1 日目に開始
ビスホスホネート パミドロン酸 アレンドロン酸 リセドロン酸	静脈内または経口 6~8oz の水で摂取。	癌患者の高カルシウム血症を治すために、4~24 時間以上 60mg または 90mg を単一注入 2年間 1 日 5mg/d、その後骨吸収を防止するまたは制御するために、9ヶ月間 10mg/d。 骨吸収を防止するまたは制御するために 5.0mg。	
ロバスタチン (Mevacor (商標))	経口	単一または 2 つに分割された用量の 10~80mg/日。	

10

20

30

40

【 0 3 5 1 】

本開示は、癌細胞を破壊するために、X線、ガンマ線、および放射線の他の源の使用を含む放射線治療と組み合わせた本開示の抗 I C O S 抗体製剤の投与も包含する。特定の実施形態において、放射線処置を、外部ビーム放射線または遠隔療法として投与し、放射線を遠隔光源から向ける。他の実施形態において、放射線処置を内部治療または近距離照射療法として投与し、放射性源癌細胞または腫瘍量の近くの体内に配置する。

50

【0352】

癌治療およびその投与量、投与経路、および所要量は、当該技術において知られており、Physician's Desk Reference (56th ed., 2002)等の文献に記載される。

【0353】

5.24. 増加する半減期を有する抗体

本開示は、インビボにて延長した半減期を有する対象の(例えば、ICOS)抗原と特異的に結合する抗体および抗体断片の製剤を提供する。特に本開示は、哺乳類(例えば、限定されないがヒト)で3日間を超える、7日間を超える、10日間を超える、15日間を超える、25日間を超える、30日間を超える、35日間を超える、40日間を超える、45日間を超える、2ヶ月を超える、3ヶ月を超える、4ヶ月を超える、または5ヶ月を超える半減期を有する対象の(例えば、ICOS)抗原と特異的に結合する抗体および抗体断片製剤を提供する。

10

【0354】

インビボで抗体(例えば、限定されないがモノクローナル抗体および単鎖抗体)または抗体断片(例えば、限定されないがFab断片)の血清循環を延長させるために、例えば、高分子量のポリエチレングリコール(PEG)等の不活性ポリマー分子を、PEGと抗体のN-もしくはC-末端との部位-特異的な共役を介して、またはリジン残基上に存在するエプシロン-アミノ基を通して、多官能リンカーの有り無し関係なく抗体(その抗体断片を含む)に付着することができる。生物活性の最小の損失を生じる線状または分岐ポリマー誘導体化は、使用されるであろう。結合度を、抗体とPEG分子との適切な共役を確かにするためSDS-PAGEおよび質量分析によって厳重に観察することができる。未反応PEGを、サイズ排除によってまたはイオン交換クロマトグラフィーによって抗体PEG共役体から分離することができる。PEG誘導体化された抗体(その抗体断片を含む)を、当業者に知られている方法、例えば、本明細書に記載される免疫測定法を使用して、結合活性について、ならびにインビボ有効性について試験することができる。

20

【0355】

インビボで増加した半減期を有する抗体を、1つ以上のアミノ酸修飾(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結合断片(例えば、Fcまたはヒンジ-Fcドメイン断片)へ導入して、生成することもできる。例えば、すべてが本明細書に参照によって組み込まれる国際公開WO第98/23289号、国際公開WO第97/34631号、および米国特許第6,277,375号を参照されたい。

30

【0356】

さらに、インビボでより安定した抗体(その抗体の断片を含む)を作製するまたはインビボでより長い半減期を有するために、抗体(その抗体断片を含む)を、アルブミンと共役することができる。技法は、当該技術によく知られており、例えば、すべてが本明細書に参照によって組み込まれる、国際公開WO第93/15199号、WO第93/15200号、およびWO第01/77137号、ならびに欧州特許EP第413,622号を参照されたい。

【0357】

5.25. 抗体製剤を調整する方法

本開示は、対象の抗原(例えば、ヒトICOSポリペプチド)と特異的に結合する抗体または誘導体、類似体、またはそれらの断片の液体製剤を調製するための方法を提供する。本開示の液体製剤を調製するための方法は、条件培地(培地の単一口ットまたはプール口ットのいずれか)から抗体(その抗体の断片を含む)を精製すること、および約15mg/mL、約20mg/mL、約30mg/mL、約40mg/mL、約50mg/mL、約60mg/mL、約70mg/mL、約80mg/mL、約90mg/mL、約100mg/mL、約150mg/mL、約175mg/mL、約200mg/mL、約250mg/mL、または約300mg/mLの最終濃度に精製された抗体(その抗体の断片を含む)の画分を濃縮することを含むことができる。抗体(その抗体断片を含む)、例え

40

50

ばICOSと特異的に結合する抗体を含有する条件培地を、CUNOろ過に共することができ、ろ過された抗体をHS50陽イオン交換クロマトグラフィーに共する。HS50陽イオン交換クロマトグラフィーからの画分に、低pH処置後、MEPHypercelクロマトグラフィーを施す。MEPHypercelクロマトグラフィーからの画分は、ナノろ過の対象である。ナノろ過後に得られた精製された抗体またはその断片を、緩衝液交換および同じ膜を使用して製剤の緩衝液へ濃縮するために、透析ろ過および限外ろ過に共する。

【0358】

本開示の液体製剤を、1回の使用のために、液体製剤のアリコート含有するバイアルを調製することによって、単位投薬の形態として調製することができる。例えば、1バイアル当たりの単位投与量は、約10mg/mL～約300mg/mLの範囲のICOSと特異的に結合する抗体（その抗体の断片を含む）の1mL、2mL、3mL、4mL、5mL、6mL、7mL、8mL、9mL、10mL、15mL、または20mLの異なる濃度を含有することができる。必要であれば、これらの調製物を、各バイアルに無菌の希釈剤を追加することによって所望の濃度を調節することができる。特定の実施形態において、本開示の液体製剤をpH6.0の10mMのヒスチジン緩衝液、80mMのNaCl、4%のトレハロース、および0.02%のポリソルベート80を含有する無菌の液体として単一用量のバイアルに処方する。各1.0mLの溶液は、100mgの抗体（その抗体断片を含む）を含有する。一実施形態において、本開示の抗体（その抗体断片を含む）を、3cc USP Type Iのハウケイ酸琥珀バイアル（West Pharmaceutical Services - 部品番号6800-0675）内に100mg/mL供給する。標的充填量は、1.2mLである。

【0359】

本開示の液体製剤を、1回の使用のために、液体製剤のアリコート含有するプレフィルドシリンジを調製することによって、単位投薬の形態として調製することができる。例えば、プレフィルドシリンジ1つ当たりの単位投与量は、約10mg/mL～約300mg/mLの範囲のICOSと特異的に結合する抗体（その抗体断片を含む）の0.1mL、0.2mL、0.3mL、0.4mL、0.5mL、0.6mL、0.7mL、0.8mL、0.9mL、1mL、2mL、3mL、4mL、5mL、6mL、7mL、8mL、9mL、10mL、15mL、または20mLの異なる濃度を有することができる。特定の

【0360】

本開示の液体製剤を、無菌ろ過、放射線等を含む様々な滅菌法によって無菌化することができる。特定の実施形態において、透析ろ過した抗体製剤を、事前に無菌化した0.2ミクロンフィルタを用いて無菌ろ過する。ICOSの異常発現および/または活性と付随したまたはそれを特徴とする疾病もしくは疾患、ICOS受容体の異常発現および/または活性と付随したまたはそれを特徴とする疾病もしくは疾患、自己免疫病もしくは疾患、炎症性疾患もしくは疾患、T細胞増殖性疾患もしくは疾患、悪性腫瘍、T細胞悪性腫瘍、移植拒絶反応、移植片対宿主病、またはそれらの症状のうちの1つ以上を防止する、治療する、および/または管理するために、本開示の無菌化した液体製剤を、対象に投与することができる。

【0361】

本開示は、液体非凍結乾燥した製剤を対象とするが、必要であれば、本開示の製剤を凍結乾燥することができることが、相当物のために、留意されるべきである。したがって、本開示は、本開示の製剤の凍結乾燥した形態を包含する。

【0362】

5.26. 抗体製剤の安定性および凝集を監視する方法

タンパク質の物理的および化学的な構造ならびにそれらの生物活性を基にした、抗体製剤を含むタンパク質製剤の安定性を査定するために、様々な方法が存在する。例えば、タンパク質の変性を研究するために、電荷移動吸収、熱分析、蛍光分光法、円二色性(CD)、NMR、還元キャピラリーゲル電気泳動(rCGE)および高速サイズ排除クロマトグラフィー(HPSEC)、接線流過(TFF)、静的光散乱(SLS)、フーリエ変換赤外分光法(FTIR)、尿素誘発タンパク質アンフォールディング技法、内在性のトリプトファン蛍光、示差走査熱量測定、ならびに1-アニリノ-8-ナフタレンスルホン酸(ANS)タンパク質結合技術等の方法が使用可能である。例えば、Wang et al., 1988, J. of Parenteral Science & Technology 42(Suppl): S4-S26を参照されたい。

10

【0363】

rCGEおよびHPSECは、タンパク質凝集体の形成、タンパク質分解、およびタンパク質断片化を査定するために、最も一般的小および容易な方法である。したがって、本開示の液体製剤の安定性を、これらの方法によって査定することができる。

【0364】

例えば、本開示の液体製剤の安定性を、HPSECによって評価することができ、ピークの面積率は、非分解抗体または非分解抗体断片を表す。特に、約250 μ gの抗体(その抗体断片を含む)(10mg/mLの該抗体または抗体断片を含む約25 μ Lの液体製剤)を、TSK SWx1ガードカラム(6.0mm CX 4.0cm)を備えるTosoH Biosep TSK G3000SWXLカラム(7.8mmx30cm)に注入する。抗体(その抗体断片を含む)を、0.8~1.0mL/minの流速で0.1Mの硫酸ナトリウムおよび0.05%のアジ化ナトリウムを含有する0.1Mのリン酸二ナトリウムを用いて均一濃度で溶出する。溶出したタンパク質を、280nmでUV吸光度を使用して検出する。標準試料を、対照としてアッセイを実施し、結果は、約12~14分で認められた含まれた容積のピーク以外のすべての他のピークと比べて、産物の単量体ピーク的面積率として報告される。単量体ピークより早く溶出するピークは、凝集率として記録される。

20

【0365】

本開示の液体製剤は、上記の方法のうちのいずれかによって測定される低から検出不能なレベルの凝集、すなわちタンパク質量で5%以下、4%以下、3%以下、2%以下、1%以下、および0.5%以下の凝集、および低から検出不能なレベル断片化、すなわち無傷の抗体(その抗体断片を含む)を表すピークの総ピーク面積の80%以上、85%以上、90%以上、95%以上、98%以上、または99%以上、または99.5%以上を示す。SDS-PAGEを、抗体断片化を測定するために使用する場合、染色したまたは放射性同位体を用いて標識した各バンドの密度または放射活性を、測定することができ、非分解抗体(その抗体断片を含む)を表すバンドの密度%または放射活性%を得ることができる。

30

【0366】

本開示の液体製剤の安定性を、製剤の抗体の生物活性を測定する任意のアッセイによって査定することができる。抗体の生物活性は、抗原結合活性、リガンド-受容体の相互作用の遮断等を含むがこれらに限定されない(以下を参照)。抗体(その抗体断片を含む)の抗原結合活性を、ELISA、放射免疫アッセイ、ウエスタンブロット等を含む、当業者に知られている任意の方法によって測定することができる。また、Harlow et al., Antibodies: A Laboratory Manual, (Cold Spring Harbor Laboratory Press, 2nd ed., 1988)(本明細書にすべてが参照によって組み込まれる)を参照されたい。ELISAベースのアッセイを、例えば、ICOSポリペプチドと特異的に結合するための抗体(その抗体断片を含む)の能力と標準試料の抗体のものとを比較するために使用することができる。

40

【0367】

50

本開示の液体抗体製剤の純度を、例えば、限定されないがHPSEC等の当業者によく知られている任意の方法によって測定することができる。液体抗体製剤の無菌性を、例えば無菌の大豆カゼイン消化培地および液体チオグリコール酸培地に、 $0.45\ \mu\text{m}$ の表面気孔率を有する無菌のフィルタを介して液体抗体製剤をフィルタすることによって試験液体抗体製剤を接種する等の当業者によく知られた任意の方法によって査定することができる。Sterisure（商標）またはSteritest（商標）方法を使用する場合、各フィルタ装置を無菌的に約100mLの無菌の大豆カゼイン消化培地または液体チオグリコール酸培地で充填する。従来の方法を使用する場合、検証したフィルタを、100mLの無菌の大豆カゼイン消化培地または液体チオグリコール酸培地へ無菌的に移動する。培地を適切な温度でインキュベートし、細菌または真菌の成長の形跡について14日間3回観察する。

10

【0368】

5.27. 抗体製剤を投与する方法

本開示は、疾患、例えば、本開示の液体製剤の有効量の対象に対して投与することによって、ICOSの異常発現および/または活性と付随したまたはそれを特徴とする疾病もしくは疾患、ICOS受容体の異常発現および/または活性と付随したまたはそれを特徴とする疾病もしくは疾患、自己免疫病もしくは疾患、炎症性疾患もしくは疾患、T細胞増殖性疾患もしくは疾患、悪性腫瘍、T細胞悪性腫瘍、移植拒絶反応、移植片対宿主病、またはそれらの症状の1つ以上の防止、処置および/または管理の方法を、提供する。様々な送達系が知られており、本開示の液体製剤または予防もしくは治療剤を投与するために使用され得る。本開示または治療（例えば、予防または治療剤）の抗体液体製剤を投与する方法は、非経口的投与（例えば、皮内、筋肉内、腹腔内、静脈内、および皮下）、硬膜外投与、局所投与、およびムコサル投与（例えば、限定されないが鼻腔内および経口経路）を含むがこれらに限定されない。特定の実施形態において、本開示の液体製剤を、筋肉内、静脈内、または皮下に投与する。一実施形態において、本開示の液体製剤を皮下投与する。任意の簡便な経路によって、例えば注入または急速投与によって、上皮または粘膜皮膚の内張り（例えば、口腔粘膜、直腸および腸管粘膜等）を介しての吸収によって製剤を、投与することができ、他の生物活性剤と共に投与することができる。投与を全身または局部に行うことができる。

20

【0369】

本開示は、本開示の液体製剤が、抗体（その抗体の断片を含む）の量を示したアンプルまたは小袋等の密閉した容器にパッケージされるように提供する。一実施形態において、本開示の液体製剤は、抗体（その抗体の断片を含む）の量および濃度を示して密閉された容器にある。一実施形態において、本開示の液体製剤は、密閉した容器内に供給され、約1mL、約2mL、約3mL、約4mL、約5mL、約6mL、約7mL、約8mL、約9mL、約10mL、約15mL、または約20mLの量で、約10mg/mL、約15mg/mL、約20mg/mL、約30mg/mL、約40mg/mL、約50mg/mL、約60mg/mL、約70mg/mL、約80mg/mL、約90mg/mL、約100mg/mL、約110mg/mL、約120mg/mL、約130mg/mL、約150mg/mL、約175mg/mL、約200mg/mL、約250mg/mL、または約300mg/mLのヒトICOSと特異的に結合する抗体（その抗体の断片を含む）を含む。本開示の特定の実施形態において、本開示の液体製剤は、密閉した容器に供給され、静脈内注射に関して、ヒトICOS（例えば、限定されないが、またはその抗原結合断片）と特異的に結合する少なくとも約15mg/mL、少なくとも約20mg/mL、少なくとも約25mg/mL、少なくとも約50mg/mL、少なくとも約100mg/mL、少なくとも約110mg/mL、少なくとも約120mg/mL、少なくとも約130mg/mL、少なくとも約150mg/mL、少なくとも約175mg/mL、少なくとも約200mg/mL、少なくとも約250mg/mLまたは少なくとも約300mg/mLの抗体（その抗体の断片を含む）、および反復皮下投与に関してヒトICOS（例えば、限定されないがまたはその断片）と特異的に結合する少なくとも約15mg/m

30

40

50

L、少なくとも約20mg/mL、少なくとも約50mg/mL、少なくとも約80mg/mL、少なくとも約100mg/mL、少なくとも約110mg/mL、少なくとも約120mg/mL、少なくとも約130mg/mL、少なくとも約150mg/mL、少なくとも約175mg/mL、少なくとも約200mg/mL、少なくとも約250mg/mLまたは少なくとも約300mg/mLの抗体（その抗体の断片を含む）を含む。

【0370】

ICOSの異常発現および/または活性と付随したまたはそれを特徴とする疾病もしくは疾患、ICOS受容体の異常発現および/または活性と付随したまたはそれを特徴とする疾病もしくは疾患、自己免疫病もしくは疾患、炎症性疾病もしくは疾患、T細胞増殖性疾病もしくは疾患、悪性腫瘍、T細胞悪性腫瘍、移植拒絶反応、移植片対宿主病、またはそれらの症状うちの1つ以上の防止、処置および/または管理に効果的であろう本開示の液体製剤の量を、当該技術においてよく知られているまたは本明細書に記載される、標準的な臨床的な技法によって測定することができる。製剤で利用される正確な用量は、投与の経路、および炎症性疾病、または自己免疫疾患の重篤度次第でもあり、医師およびそれぞれの患者の状況の判断によって決定されるべきである。効果的な用量を、インビトロまたは動物モデル試験システムに由来する用量反応曲線から外挿することができる。

10

【0371】

5.28. 薬学的な製剤

本開示は、ICOS抗原と結合しヒトADCCを媒介する治療抗体を使用して、限定されないが、ヒト対象の慢性感染、自己免疫病もしくは疾患、炎症性疾病もしくは疾患、移植片対宿主病（GVHD）、移植拒絶反応、およびT細胞増殖性疾病等の、ヒト対象のT細胞媒介疾病および疾患の処置に対する免疫療法製剤および方法にも関する。

20

【0372】

本開示は、エフェクター機能を増強したIgG1またはIgG3ヒトアイソタイプの抗ICOS抗体を含む薬学的な製剤に関する。本開示は、ヒトADCCを媒介するIgG2またはIgG4ヒトアイソタイプのヒトまたはヒト化抗ICOS抗体を含む薬学的な製剤にも関する。ある実施形態において、本開示は、増強したエフェクターを含むモノクローナル抗ICOS抗体を含む薬学的な製剤にも関する。

【0373】

治療製剤および療法を、限定されないが、全身性エリテマトーデス、関節リウマチ、免疫性血小板減少性紫斑病（ITP）、糖尿病、乾癬、および過敏症反応（例えば、アレルギー、枯草熱、喘息、および急性浮腫原因タイプI過敏症反応）等の自己免疫病と診断されたヒト対象を治療するために記載する。本開示は、限定されないが炎症性腸疾患（クローン病および潰瘍性大腸炎）、グレーブス病、橋本甲状腺炎、および真性糖尿病等の慢性炎症性疾病と診断されたヒト対象の処置のための製剤および療法に関する。

30

【0374】

治療製剤および療法を、ICOSを発現するT細胞およびそれらの前駆物質から由来したT細胞悪性腫瘍と診断されたヒト対象を治療するために記載する。

【0375】

特定の実施形態において、本開示の製剤は、補体依存性細胞傷害活性、または抗体依存性食作用を媒介することができる抗ICOS抗体を含む。本開示の製剤および方法は、他のT細胞指向性免疫療法よりも、T細胞のより限られた集団を標的とする利点も有する。例えば、本開示の製剤は、活性化したT細胞、例えば、限定されないが活性化したT細胞を特異的に標的とするために効果的であることができる。したがって、本開示の方法および製剤は、循環する活性化したCD4+T細胞ならびに活性化したCD8+T細胞を減少するまたは枯渇させるために効果的であることができる。

40

【0376】

したがって、一様態において、本開示は、あまり標的にされない治療剤および療法よりも少数のおよび/または軽症の合併症と付随したGVHDおよび移植片拒絶の処置および防止に対する抗ICOS抗体製剤を提供する。一実施形態において、本開示の製剤および

50

方法を、本開示の方法および製剤の不在下で可能性のある量より低用量の従来の治療剤と共に使用する。別の実施形態において、本開示の製剤および方法は、放射線治療、高用量化学療法、または脾摘出術等の治療のより過酷な形態を不必要にする。

【0377】

ある実施形態において、抗ICOS抗体製剤を、GVHDおよび移植片拒絶の処置または防止のために、単独または他の治療剤または療法と組み合わせて、移植の前または後に移植患者に投与することができる。例えば、抗ICOS抗体製剤を、同種移植片の移植前またはその後、移植患者から活性化したT細胞を枯渇させるために使用することができる。抗ICOS抗体製剤を、移植前、またはドナー内、またはGVHDおよび移植片拒絶に対する予防として、エクスピボの移植片から活性化したT細胞を枯渇させるために使用することもできる。

10

【0378】

5.29. 薬学的な製剤、投与、および投薬

本開示の薬学的な製剤は、増強したエフェクター機能を含む活発な成分の抗ICOS抗体を含む。製剤は、ヒト患者への投与に対して適切な重量および容積の単位で所望の応答を産生するために有効な量にて裸抗体、免疫複合体、または融合タンパク質を含み、好ましくは無菌である。その応答は、例えば、限定されないがT細胞枯渇、IL-17枯渇、T細胞悪性腫瘍の退行、または疾病症状の減少等の抗ICOS抗体製剤の生理学的効果を測定することで測定することができる。他のアッセイは、当業者に知られるであろう、そしてその応答（例えば、限定されないがSLEDAI、BILAG、PRO）のレベルを測定するために利用することができる。応答を監視するために使用することができる追加アッセイは、組織生検（例えば、皮膚生検）の免疫組織化学、組織試料（例えば、皮膚生検、扁桃腺生検、血液）のICOS mRNA発現、血液細胞のフローサイトメトリー、組織試料（例えば、皮膚生検、血液）のマイクロアレイ分析、組織試料（例えば、皮膚生検、血液）のプロテオミクス分析、抗体アレイ分析、SNP分析を含むがこれらに限定されない。

20

【0379】

5.29.1. 投与および投薬

ヒト患者に対する本開示の製剤の投与を、局所カテーテルを介して灌流によって、または直接病巣内注射によって、静脈内、皮内、経皮、皮下、筋肉内、吸入（例えば、エアロゾルを通して）、頬側（例えば、舌下）、局所（すなわち気道表面を含む、皮膚およびムコサール表面の両方）、くも膜下腔内、関節内、胸膜内、脳内、動脈内、腹腔内、経口、リンパ内、鼻腔内、直腸または腔内投与を含むがこれらに限定されない、任意の経路によって実施することができる。一実施形態において、本開示の製剤を、規定した期間（例えば、0.5～2時間）に与えられた静脈内プッシュまたは静脈内注入によって投与することができる。ある症例で最も適した経路は、当該技術においてよく知られているように、対象の種類、年齢、性別、および全体の状況等の因子、治療している状況の本質および重症度および/または投与されている特定の製剤（すなわち投与量、製剤）の本質に依存するであろうが、本開示の製剤を、蠕動方法または徐放性製剤の形態で送達することができる。特定の実施形態において、投与の経路は、ある期間にわたって1週間に1回または2回、急速投与または継続注入を経由する。他の特定の実施形態において、投与の経路は、随意に1ヶ月に1、2、3回または4回皮下注射によって実施する。一実施形態において、本開示の製剤および/または方法を、外来患者ベースで投与する。

30

40

【0380】

ある実施形態において、抗ICOS抗体を含む製剤の用量を、患者体重のmg/kgの単位で測定する。他の実施形態において、抗ICOS抗体を含む製剤の用量を、患者除脂肪体重（すなわち、体重マイナス体脂肪量）のmg/kgの単位で測定する。さらに他の実施形態において、抗ICOS抗体を含む製剤の用量を、患者の体表面積のmg/m²の単位で測定する。さらに他の実施形態において、抗ICOS抗体を含む製剤の用量を、患者へ投与する用量につきmgの単位で測定する。用量のいずれかの測定を、本開示の製剤

50

および方法と併せて使用することができ、投与量単位を、当該技術の標準方法によって変換することができる。

【0381】

当業者は、投与量が、対象（例えば、疾病の段階）の年齢、性別、種類、および状態、細胞枯渇の所望の度合い、治療される疾病および/または使用される特定の抗体もしくは抗原結合断片を含む多くの要素を基にして選択することができ、当業者によって測定することができることが理解されるであろう。例えば、本開示の製剤の有効量を、インビトロ試験システムまたは動物モデル（例えば、コットンラットまたはサル）試験システムから派生した用量反応曲線から外挿することができる。抗体の効果の評価に対するモデルおよび方法は、当該技術において知られている（Woolldridge et al., Blood, 89(8):2994-2998(1997)）、本明細書にすべてが参照によって組み込まれる）。ある実施形態において、特定のICOSを発現するT細胞悪性腫瘍に対して、抗体治療に対する当該技術における治療法基準を、本開示の製剤および方法と共に使用することができる。

10

【0382】

本開示の方法で使用することができる投与計画の例は、1日に1回、週に3回（間欠）、週に1回、隔週に1回、月に1回、隔月に1回、または年に4回（3ヶ月に1回）を含むがこれらに限定されない。ある実施形態において、投与計画は、月に1回の投薬または投薬を6～8週間に1回を含むがこれらに限定されない。

【0383】

当業者は、投与量が維持療法と比べて初回の処置に対して、一般的に高い、および/または投与の頻度が多いことが理解されるであろう。

20

【0384】

本開示のいくつかの実施形態において、抗ICOS抗体は、ICOSを発現するT細胞と結合し、結果としてICOSを発現するT細胞（本明細書に記載されるように）の効率的な（すなわち、低投与量）枯渇を生じることができる。ある実施形態において、（薬学的な製剤の一部として薬学的に許容される担体に随意にある）抗体の投与量は、少なくとも約0.0005、0.001、0.05、0.075、0.1、0.25、0.375、0.5、1、2.5、5、10、20、37.5、または50mg/m²および/または約500、475、450、425、400、375、350、325、300、275、250、225、200、175、150、125、100、75、60、50、37.5、20、15、10、5、2.5、1、0.5、0.375、0.1、0.075、または0.01mg/m²未満である。ある実施形態において、投与量は、約0.0005～約200mg/m²の間、約0.001～150mg/m²の間、約0.075～125mg/m²の間、約0.375～100mg/m²の間、約2.5～75mg/m²の間、約10～75mg/m²の間、および約20～50mg/m²の間である。関連した実施形態において、使用される抗ICOS抗体の投与量は、患者の体重の少なくとも約0.1、0.2、0.3、0.4、0.5、0.6、0.7、0.8、0.9、1、1.5、2、2.5、3、3.5、4、4.5、5、5.5、6、6.5、7、7.5、8、8.5、9、9.5、10、10.5、11、11.5、12、12.5、13、13.5、14、14.5、15、15.5、16、16.5、17、17.5、18、18.5、19、19.5、20、20.5mg/kgである。ある実施形態において、使用する裸抗ICOS抗体の用量は、患者の体重の少なくとも約1～10、5～15、10～20または15～25mg/kgである。ある実施形態において、使用する抗ICOS抗体の用量は、患者の体重の少なくとも約1～20、3～15、または5～10mg/kgである。他の実施形態において、使用する抗ICOS抗体の用量は、患者の体重の少なくとも約5、6、7、8、9、または10mg/kgである。ある実施形態において、（薬学的な製剤の一部として薬学的に許容される担体に随意にある）抗体の単一投与量単位は、少なくとも約0.5、1、2、4、6、8、10、12、14、16、18、20、22、24、26、28、30、32、34、36、38、40、42、44、46、48

30

40

50

、50、52、54、56、58、60、62、64、66、68、70、72、74、76、78、80、82、84、86、88、90、92、94、96、98、100、102、104、106、108、110、112、114、116、118、120、122、124、126、128、130、132、134、136、138、140、142、144、146、148、150、152、154、156、158、160、162、164、166、168、170、172、174、176、178、180、182、184、186、188、190、192、194、196、198、200、204、206、208、210、212、214、216、218、220、222、224、226、228、230、232、234、236、238、240、242、244、246、248、または250マイクログラム/m²であることができる。他の実施形態において、用量は、単一投与量単位当たり100mg以下である。

10

【0385】

本開示の方法のいくつかの実施形態において、本開示の抗体および/または製剤を、約375mg/m²よりも低い用量、約37.5mg/m²よりも低い用量、約0.375mg/m²よりも低い用量および/または約0.075mg/m²~約125mg/m²の間の用量で投与することができる。本開示の方法のある実施形態において、投与計画は、間隔を繰り返して投与される低用量を含む。例えば、一実施形態において、本開示の製剤を、約1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、14、15、20、21、25、30、35、40、45、50、60、70、80、90、100、120、125、150、175、または200日に1回の間隔で約375mg/m²より低い用量で投与

20

【0386】

規定の投与量は、結果として、少なくとも約1、2、3、5、7、10、14、20、30、45、60、75、90、120、150、または180日以上期間、本開示の製剤および方法を使用して治療されるヒトにおいてICOSを発現するT細胞の枯渇を生じることができる。ある実施形態において、本開示の方法は、ICOSを発現するT細胞を、本開示の製剤および方法の使用前に治療されている患者のICOSを発現するT細胞レベルと比べて少なくとも30%、40%、50%、60%、70%、80%、90%、または100%枯渇する。本開示の方法の他の実施形態において、ICOSを発現するT細胞を、ヒトに対する典型的な標準ICOSを発現するT細胞レベルと比べて少なく

30

【0387】

本開示のある実施形態において、抗体または抗原結合断片の約125mg/m²以下の投薬によって、結果として約7、14、21、30、45、60、90、120、150、または200日の期間、ICOSを発現するT細胞の枯渇を生じる。別の代表的な実施形態において、37.5mg/m²以下の投薬によって、少なくとも約7、14、21、30、45、60、90、120、150、または200日の期間、ICOSを発現するT細胞を枯渇させる。さらに他の実施形態において、約0.375mg/m²以下の投薬によって、結果として少なくとも約7、14、21、30、45、または60日間ICOSを発現するT細胞の枯渇を生じる。別の実施形態において、約0.075mg/m²以下の投薬によって、結果として、少なくとも約7、14、21、30、45、60、90、120、150、または200日の期間ICOSを発現するT細胞の枯渇を生じる。さらに他の実施形態において、約0.01mg/m²、0.005mg/m²またはさらに0.001mg/m²以下の投薬によって、結果として、少なくとも約3、5、7、10、14、21、30、45、60、90、120、150、または200日間、ICOSを発現するT細胞の枯渇を生じる。これらの実施形態によって、投与量を任意の適した経路で投与することができるが、皮下経路で随意に投与する。

40

50

【0388】

別の態様として、本開示は、ICOSを発現するT細胞の枯渇および/またはT細胞媒介疾患の処置が、現在用いられている方法を利用するよりも、抗体または抗体断片の低投与量を達成することができるという発見を提供する。したがって、別の実施形態において、本開示は、ICOSと特異的に結合する抗体の有効量をヒトに投与することを含む、ICOSを発現するT細胞を枯渇させる、および/またはT細胞媒介疾患を治療する方法を提供し、約500、475、450、425、400、375、350、325、300、275、250、225、200、175、150、125、100、75、60、50、37.5、20、10、5、2.5、1、0.5、0.375、0.25、0.1、0.075、0.05、0.001、0.0005 mg/m²以下の投与量によって、結果として、少なくとも約3、5、7、10、14、21、30、45、60、75、90、120、150、180、または200日以上の期間、25%、35%、50%、60%、75%、80%、85%、90%、95%、98%以上のICOSを発現するT細胞（循環するおよび/または組織ICOSを発現するT細胞）の枯渇を生じる。代表的な実施形態において、約125 mg/m²または75 mg/m²以下の投与量によって、結果として少なくとも約7、14、21、30、60、75、90、120、150、または180日間、ICOSを発現するT細胞の少なくとも約50%、75%、85%、または90%枯渇を生じる。他の実施形態において、約50、37.5または10 mg/m²の投与量によって、結果として、少なくとも約7、14、21、30、60、75、90、120、または180日間、ICOSを発現するT細胞の少なくとも約50%、75%、85%、または90%枯渇を生じる。さらに他の実施形態において、約0.375または0.1 mg/m²の投与量によって、結果として、少なくとも約7、14、21、30、60、75、または90日間、ICOSを発現するT細胞の少なくとも約50%、75%、85%、または90%枯渇を生じる。さらなる実施形態において、約0.075、0.01、0.001、または0.0005 mg/m²の投与量によって、少なくとも約7、14、21、30、または60日間、ICOSを発現するT細胞の少なくとも約50%、75%、85%、または90%枯渇を生じる。

10

20

【0389】

本開示のある実施形態において、用量を、限定されないが、骨髄等の血液または組織で一定の用量を維持するために増やすまたは縮小することができる。関連した実施形態において、本開示の製剤および方法の抗体の所望のレベルを維持するために、用量を、約2%、5%、8%、10%、15%、20%、30%、40%、50%、60%、70%、80%、90%、および95%増やすまたは縮小する。

30

【0390】

ある実施形態において、投与量を、調節することができる、および/または注入速度を、本開示の製剤および方法に対する患者の免疫原反応を基に縮小することができる。

【0391】

本開示で包含される抗体、タンパク質、ポリペプチド、ペプチド、および融合タンパク質の製剤について、患者に投与した投与量を、投与される用量をmg/kgでかけたキログラム(kg)で表した患者の体重を使用して計算することができる。投与される(mLでの)必要な容積を、抗体製剤の濃度で割った必要なmg用量を使用して決定する。最終の計算された必要な容積は、本開示の抗体製剤を投与するために、シリンジへ必要な限りバイアルの内容物をプールすることによって得られるであろう。最終の計算された必要な容積は、薬物を投与するために、シリンジへ必要な限りバイアルの内容物をプールすることによって得られるであろう。抗体製剤の最大容積の2.0 mLを、部位ごとに注入することができる。(mLでの)用量を、以下の式を使用して計算することができる。用量(mL) = [ボランティアの体重](kg) × [用量] mg/kg ÷ 抗体製剤の100 mg/mL。一般的に、ヒト抗体は、外来性ポリペプチドに対する免疫応答によって、他の種類の抗体よりもヒト体内でより長い半減期を有する。したがって、ヒト抗体の低投与量および投与の低下は、多くの場合可能である。さらに、製剤の抗体(その抗体断片を含む)

40

50

の濃度を増加する、抗体（その抗体断片を含む）の親和性および/または結合活性を増加する、および/または抗体（その抗体断片を含む）の半減期を増加することによって、本開示の液体製剤の投与の投与量、容積、および頻度を、縮小することができる。

【0392】

特定の実施形態において、患者に対して投与される投与量を、投与される用量を mg/kg でかけたキログラム (kg) で表した患者の体重を使用して計算するであろう。投与される (mL での) 必要な容積を、製剤 ($100\text{mg}/\text{mL}$) の抗体（その抗体の断片を含む）の濃度で割った必要な mg 用量を使用して決定する。最終の計算された必要な容積を、薬物を投与するために、シリンジへ必要な限りバイアルの内容物をプールすることによって得ることができる。製剤の抗体（その抗体の断片を含む）の最大容積の 2.0mL を、部位ごとに注入することができる。

10

【0393】

一実施形態において、本開示の液体製剤のヒトICOS（例えば、限定されないが、またはその断片）と特異的に結合する抗体（その抗体断片を含む）の $0.01\sim 20\text{mg}/\text{kg}/\text{週}$ 、 $0.01\sim 10\text{mg}/\text{kg}/\text{週}$ 、 $0.01\sim 5\text{mg}/\text{週}$ 、 $0.01\sim 2\text{mg}/\text{週}$ 、 $0.01\sim 1\text{mg}/\text{週}$ 、 $0.01\sim 0.5\text{mg}/\text{週}$ 、 $0.01\sim 0.2\text{mg}/\text{週}$ 、 $0.01\sim 0.1\text{mg}/\text{週}$ を、炎症性疾患、自己免疫疾患、または悪性腫瘍の対象に投与する。別の実施形態において、本開示の液体製剤のヒトICOS（例えば、限定されないが、またはその断片）と特異的に結合する抗体（その抗体断片を含む）の $0.01\sim 20\text{mg}/\text{kg}/\text{月}$ 、 $0.01\sim 10\text{mg}/\text{kg}/\text{月}$ 、 $0.01\sim 5\text{mg}/\text{月}$ 、 $0.01\sim 2\text{mg}/\text{月}$ 、 $0.01\sim 1\text{mg}/\text{月}$ 、 $0.01\sim 0.5\text{mg}/\text{月}$ 、 $0.01\sim 0.2\text{mg}/\text{月}$ 、 $0.01\sim 0.1\text{mg}/\text{月}$ を、炎症性疾患、自己免疫疾患、または悪性腫瘍の対象に投与する。さらなる実施形態において、本開示の液体製剤のヒトICOS（例えば、限定されないが、またはその断片）と特異的に結合する抗体（その抗体断片を含む）の $0.01\sim 20\text{mg}/\text{kg}/2\text{ヶ月}$ 、 $0.01\sim 10\text{mg}/\text{kg}/2\text{ヶ月}$ 、 $0.01\sim 5\text{mg}/2\text{ヶ月}$ 、 $0.01\sim 2\text{mg}/2\text{ヶ月}$ 、 $0.01\sim 1\text{mg}/2\text{ヶ月}$ 、 $0.01\sim 0.5\text{mg}/2\text{ヶ月}$ 、 $0.01\sim 0.2\text{mg}/2\text{ヶ月}$ 、 $0.01\sim 0.1\text{mg}/2\text{ヶ月}$ を、炎症性疾患、自己免疫疾患、または悪性腫瘍の対象に投与する。別の実施形態において、本開示の液体製剤の予防または治療効果のある量の1つ以上の用量を対象に投与し、予防または治療効果のある量は、それぞれの用量で異なる。

20

30

【0394】

一実施形態において、本開示の液体製剤を、ICOSを発現する細胞を継続的に枯渇させる所望のレベル（例えば、約 $0.001\sim 100\mu\text{g}/\text{mL}$ ）でヒトICOSに対して特異的な抗体の血漿濃度を維持する投与計画で投与する。特定の実施形態において、抗体の血漿濃度を、約 $0.001\mu\text{g}/\text{mL}$ 、約 $0.01\mu\text{g}/\text{mL}$ 、約 $0.1\mu\text{g}/\text{mL}$ 、約 $0.2\mu\text{g}/\text{mL}$ 、約 $0.5\mu\text{g}/\text{mL}$ 、約 $1\mu\text{g}/\text{mL}$ 、約 $2\mu\text{g}/\text{mL}$ 、約 $3\mu\text{g}/\text{mL}$ 、約 $4\mu\text{g}/\text{mL}$ 、約 $5\mu\text{g}/\text{mL}$ 、約 $6\mu\text{g}/\text{mL}$ 、約 $7\mu\text{g}/\text{mL}$ 、約 $8\mu\text{g}/\text{mL}$ 、約 $9\mu\text{g}/\text{mL}$ 、約 $10\mu\text{g}/\text{mL}$ 、約 $15\mu\text{g}/\text{mL}$ 、約 $20\mu\text{g}/\text{mL}$ 、約 $25\mu\text{g}/\text{mL}$ 、約 $30\mu\text{g}/\text{mL}$ 、約 $35\mu\text{g}/\text{mL}$ 、約 $40\mu\text{g}/\text{mL}$ 、約 $45\mu\text{g}/\text{mL}$ 、または約 $50\mu\text{g}/\text{mL}$ で維持する。対象の望ましい血漿濃度は、疾病または疾患の本質、疾病または疾患の重症度、および対象の状態を含むがこれらに限定されないいくつかの要因次第で変化するであろう。かかる投与計画を、慢性疾患または疾患の防止、処置、および/または管理において、特に有益である。

40

【0395】

別の実施形態において、ヒト対象に、本開示の液体製剤のヒトICOSと特異的に結合する抗体の予防または治療効果のある量の1つ以上の用量を投与し、該対象に投与した本開示の液体製剤の抗体の用量の予防または治療効果のある量は、処置の進展につれて、例えば、約 $0.01\mu\text{g}/\text{kg}$ 、約 $0.02\mu\text{g}/\text{kg}$ 、約 $0.04\mu\text{g}/\text{kg}$ 、約 $0.05\mu\text{g}/\text{kg}$ 、約 $0.06\mu\text{g}/\text{kg}$ 、約 $0.08\mu\text{g}/\text{kg}$ 、約 $0.1\mu\text{g}/\text{kg}$ 、約 $0.2\mu\text{g}/\text{kg}$ 、約 $0.25\mu\text{g}/\text{kg}$ 、約 $0.5\mu\text{g}/\text{kg}$ 、約 $0.75\mu\text{g}/\text{kg}$

50

、約1 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 、約1.5 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 、約2 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 、約4 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 、約5 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 、約10 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 、約15 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 、約20 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 、約25 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 、約30 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 、約35 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 、約40 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 、約45 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 、約50 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 、約55 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 、約60 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 、約65 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 、約70 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 、約75 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 、約80 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 、約85 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 、約90 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 、約95 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 、約100 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 、または約125 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 増加する。

【0396】

別の実施形態において、対象（例えば、ヒト）に、本開示の液体製剤のヒトIC₅₀と特異的に結合する抗体の予防または治療効果のある量の1つ以上の用量を投与し、該対象に投与した本開示の液体製剤の抗体の予防または治療効果のある量の用量は、処置が進展するにつれ、例えば、約0.01 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 、約0.02 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 、約0.04 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 、約0.05 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 、約0.06 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 、約0.08 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 、約0.1 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 、約0.2 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 、約0.25 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 、約0.5 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 、約0.75 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 、約1 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 、約1.5 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 、約2 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 、約4 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 、約5 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 、約10 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 、約15 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 、約20 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 、約25 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 、約30 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 、約35 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 、約40 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 、約45 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 、約50 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 、約55 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 、約60 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 、約65 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 、約70 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 、約75 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 、約80 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 、約85 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 、約90 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 、約95 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 、約100 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 、または約125 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 減少する。

【0397】

予防または治療剤の投与量は、Physicians' Desk Reference (60th ed., 2006)に記載される。

【0398】

5.29.2. 毒性試験

本開示の製剤および/または処置療法の耐性、毒性、および/または有効性を、細胞培養また実験用動物において標準的な薬学的な手順によって、例えば、LD₅₀（集団の50%に対して致死的な用量）、ED₅₀（集団の50%で治療効果のある用量）、およびIC₅₀（50%抑制を達成するために効果的な用量）を決定するために、測定することができる。一実施形態において、用量は、循環するIC₅₀を発現するT細胞の少なくとも60%、70%、80%、90%、95%、または99%枯渇を達成するために効果的な用量である。有毒と治療効果との用量割合は治療指数であり、LD₅₀/ED₅₀の割合として現すことができる。大きな治療指数を示す治療が好ましくあり得る。有毒な副作用を示す治療を使用することができるが、IC₅₀陰性細胞に対して、潜在的な損害を最小限にするために、IC₅₀を発現する細胞に対してかかる薬剤を標的とする送達系を設計するために、注意を払うべきであり、その結果、副作用を減少する。

【0399】

細胞培養アッセイおよび動物研究から得たデータを、ヒトに使用するための製剤および/または処置療法の投与量の範囲を処方するために、使用することができる。かかる薬剤の投与量は、毒性をほとんどあるいは全く持たないED₅₀を含む循環する濃度の範囲内にあることができる。投与量は、利用した剤形および利用した投与の経路によって、この範囲内で変化することができる。本開示の方法で使用する任意の治療について、治療効果のある用量を適切な動物モデルによって見積もることができる。例えば、Freireich et al., Quantitative comparison of toxicity of anticancer agents in mouse, rat, monkey, dog, and human, Cancer Chemotherapy Reports, NCI 1966 40: 219-244で提供されているように、動物モデルの種類次第で、用量を当該技術で認められた式によってヒト用に量ることができる。細胞培養アッセイから得られるデータは、可能性のある毒性の予測に有用であり得る。細胞培養で測定されるように、IC₅₀（すなわち、症状の最大半量の抑制を達成する試験化合物の濃度）を含む循環する血漿濃度範囲を達成するための特定の用量を

処方するために、動物研究を使用することができる。かかる情報を、ヒトで有用な用量をより正確に測定するために使用することができる。血漿薬物レベルを、例えば、高速液体クロマトグラフィー、E L I S Aによって、または細胞ベースアッセイによって測定することができる。

【0400】

5.30. 治療上の使用

増強したエフェクター機能を含む抗ICOS抗体を含む製剤を、全身性エリテマトーデス、関節リウマチ、多発性硬化症、糖尿病、免疫性血小板減少性紫斑病（ITP）、ならびに乾癬、炎症性腸疾患（クローン病および潰瘍性大腸炎）、グレーブス病、橋本甲状腺炎、および真性糖尿病等の慢性炎症性疾患等の自己免疫病の処置のために使用することができる。本明細書に記載される抗ICOS製剤を、毒素性ショック症候群、炎症性腸疾患、輸血による同種抗原感作、T細胞依存性B細胞媒介疾病、および移植片対宿主疾病の処置を軽減するためにも使用することができる。さらに、本開示の製剤および方法は、抗体産生の抑制または増強を要求する治療指標に有用であり得る。

10

【0401】

増強したエフェクター機能を含む抗ICOS抗体を含む製剤を、骨髄および臓器移植のための免疫抑制剤としても使用でき、移植片生着を延長するために使用することができる。かかる製剤は、既存の処置に対するかなりの利点を提供することができる。骨髄および臓器移植治療によって、宿主による異質細胞または組織のT細胞媒介拒絶と争わなければならない。T細胞媒介拒絶を抑制するための本治療法は、シクロスポリンまたはFK506の薬物を用いた処置を含む。薬物は効果的であるが、患者は、肝毒性、腎毒性、および神経毒性を含む深刻な副作用を患う。治療のシクロスポリン/FK506クラスに対する標的は、カルシニューリン、遍在性発現を含むホスファターゼである。ICOS発現は、T細胞に限定されるため、ICOSを発現するT細胞の枯渇は、本免疫療法剤を使用して認められた重症の副作用を欠乏することができる。

20

【0402】

過敏症は、悪化したまたは不適正な、標準的には、有益な免疫応答であり、炎症性反応および組織損傷を引き起こす。抗体媒介である過敏症反応は、ICOSを発現する細胞の枯渇による拮抗作用に特に影響されやすい可能性がある。アレルギー、枯草熱、喘息、および急性浮腫は、タイプIの過敏症反応を引き起こし、これらの反応を、ICOSを発現する細胞の枯渇によって抑制することができる。

30

【0403】

全身性エリテマトーデス、関節炎（関節リウマチ、反応性関節炎、乾癬性関節炎）、腎症（糸球体腎炎、膜性、膜性増殖性、巣状分節性、巣状壊死性、半月体、増殖性 - - 細尿管症）、皮膚障害（天疱瘡および類天疱瘡、結節性紅斑）、内分泌疾患（甲状腺炎 - - グレーブス病、橋本病 - - インスリン依存性糖尿病）、様々な肺疾患（特に外因性肺炎）、様々な脈管障害、セリアック病、IgAの異常産生を含む、多くの貧血および血小板減少症、ギラン・バレー症候群、ならびに重症筋無力症を含む抗体媒介性過敏症反応を引き起こす疾病を、増強したエフェクター機能を含む抗ICOS抗体を含む製剤を使用して治療することができる。

40

【0404】

さらに、骨髄腫、ワルデンシュトレームマクログロブリン血症、およびクリオグロブリン血症等のリンパ球増殖性疾患を、増強したエフェクター機能を含む抗ICOS抗体を含む製剤を投与することによって抑制することができる。さらに、移植片対宿主病、「人工的な」免疫疾患は、ICOSを発現する細胞の枯渇から利益を得ることができる。

【0405】

ICOS依存性同時刺激経路は、IgE産生を制御するために含まれる。IgEは、喘息、食品アレルギー、枯草熱、タイプ1の過敏症および副鼻腔炎症等のアレルギー応答を媒介するために、特異的に関与する免疫グロブリンアイソタイプである。アレルゲンへの曝露の際、T細胞およびB細胞の協働を含むプロセスは、結果としてアレルゲンに対して

50

特異的な I g E の B 細胞産生を生じる。B 細胞によって循環に放出されたアレルゲンに特異的な I g E は、高親和性の I g E 受容体 (F c e R I) を介してマスト細胞および好塩基球と結合する。I g E と結合するマスト細胞および好塩基球は、感作され、その後のアレルゲンへの曝露が、結果として、表面受容体の架橋とヒスタミンの放出とを生じる。

【 0 4 0 6 】

本開示は、I g E 産生を制御するために、および I g E 媒介疾患を防止するまたは治療するために、抗 I C O S 抗体の使用について提供する。例として、かかる疾患は、喘息、食品アレルギー、枯草熱、過敏症、および副鼻腔炎症等のアレルギー応答を含む。一実施形態において、本開示の抗 I C O S 抗体を、I g E 産生を部分的にまたは完全に抑制するために使用する。本開示の抗 I C O S 抗体を、I g E レベルを減少するために、処置療法

10

【 0 4 0 7 】

本開示は、I g E 産生を部分的または完全に抑制するために、および過剰のまたは不適正な I g E 産生を特徴とする疾患を防止するおよび / または治療するために、I g E 拮抗薬と組み合わせて抗 I C O S 抗体の使用に対しても提供する。本明細書で使用する「I g E 拮抗薬」という用語は、アレルゲン刺激に対する応答を減弱するまたは除去するように、I g E と細胞上の高親和性の受容体 F c e R I との相互作用を破壊するまたは遮断することが可能な化合物を指す。拮抗薬は、抗 I g E 抗体およびその断片、可溶性 F c e R I 受容体およびその断片、抗 F c e R I 抗体およびその断片、I g E 変異およびその断片、I g E 結合ペプチド、F c e R I 受容体結合ペプチド、ならびに I g E と結合するまたは F c e R I 受容体と結合するために、I g E と競争することができる小分子を含む。本開示の抗 I C O S 抗体を、アレルギー性疾患の処置に対して、抗ヒスタミン、アレルゲン脱感作、アレルゲンへの曝露の減少等と組み合わせて使用することもできる。

20

【 0 4 0 8 】

本開示は、本開示の抗 I C O S 抗体単独で、または治療する喘息に対する 1 つ以上の薬剤と組み合わせて投与することを含む喘息の防止および / または処置に対しても提供する。かかる薬剤の例は、上記に規定されたように気管支拡張剤 (抗コリン剤、ベータ - 2 アドレナリン受容体刺激薬、ロイコトリエン D - 4 拮抗薬、ニューロキニン拮抗薬、チャネル開口薬、物質 P 拮抗薬、トロンボキサン A - 2 拮抗薬、およびキサンチン)、抗炎症薬 (5 - リポキシゲナーゼ抑制剤、5 - リポキシゲナーゼを活性化するタンパク質抑制剤、ホスホジエステラーゼ I V 抑制剤、血小板活性化因子拮抗薬、呼吸 N S A I D S、ステロイド、およびチロシンキナーゼ抑制剤)、サイトカイン抑制剤 (C D 4、I L - 4 および I L - 5 抑制剤) ならびに I g E 拮抗薬を含む。

30

【 0 4 0 9 】

本開示による製剤および方法は、I C O S を発現する細胞の増殖または I C O S を発現する細胞によるサイトカイン (例えば、I L - 1 7) の産生を制御する (抑制するまたは刺激する) ことができ、その結果様々な病態の抑制および I C O S によるシグナル伝達媒介に関する多様な生理学的現象によって生じる様々な疾患の処置または防止を可能にする。

【 0 4 1 0 】

本開示の抗 I C O S 抗体を含む製剤は、例えば、限定されないが、関節リウマチ、多発性硬化症、自己免疫性甲状腺炎、アレルギー性接触型皮膚炎、慢性炎症性皮膚症 (例えば、扁平苔癬)、全身性エリテマトーデス、インスリン依存性真性糖尿病、乾癬、自己免疫性またはアレルギー性疾患、自己免疫病および細胞性免疫によって生じる遅延性アレルギー、関節症 (例えば、限定されないが関節リウマチ (R A) および変形性関節症 (O A))、炎症 (例えば、肝炎)、移植片対宿主反応 (G V H 反応)、移植片対宿主病 (G V H D)、組織 (例えば、皮膚、角膜、骨) または臓器 (例えば、肝臓、心臓、肺、腎臓、膵臓) の移植に伴う免疫拒絶、異質抗原または自己抗原によって誘発された免疫応答 (例えば、該抗原に対する抗体の産生、細胞増殖、サイトカインの産生)、ならびに異常な腸免疫によって生じた疾患 (例えば、炎症性腸疾患、クローン病、潰瘍性大腸炎、食物アレ

40

50

ルギー)の抑制、防止、および/または処置を可能にする。

【0411】

さらに、本明細書に記載される製剤および方法を、サイトカイン転写(例えば、シクロスポリンA、タクロリムス)、ヌクレオチド合成(例えば、アザチオプリン、ミコフェノール酸モフェチル)、成長因子シグナル伝達(例えば、シロリムス、ラパマイシン)、およびT細胞インターロイキン2受容体(例えば、ダクリズマブ、バシリキシマブ)の抑制剤等の既知の免疫抑制剤と組み合わせて、移植拒絶反応またはGVHDの抑制/処置に対して利用することができる。特定の実施形態において、本開示の製剤および方法と組み合わせて使用する免疫抑制剤は、以下のうちの1つ以上を含む。アドリアマイシン、アザチオプリン、ブスルファン、シクロホスファミド、シクロスポリンA(「CyA」)、細胞毒、フルダラピン、5-フルオロウラシル、メトトレキサート、ミコフェノール酸モフェチル(MOFETIL)、非ステロイド性抗炎症性(NSAID)、ラパマイシン、およびタクロリムス(FK506)。

10

【0412】

本開示の製剤および方法を、炎症性疾患、例えば、様々な関節炎(例えば、関節リウマチ、変形性関節症)を伴った炎症、肺炎、肝炎(ウイルス肝炎を含む)、感染症を伴う炎症、炎症性腸疾患、腸炎、腎炎(例えば、糸球体腎炎、腎線維症(nephrofibrosis))、胃炎、血管炎、膵炎、腹膜炎、気管支炎、心筋炎、脳炎、虚血後の再灌流傷害(心筋虚血再灌流傷害)の炎症、組織および臓器の移植後免疫拒絶に起因する炎症、火傷、様々な皮膚炎症(乾癬、アレルギー性接触型皮膚炎、扁平苔癬)、複数の臓器不全の炎症、PTCAまたはPTRの手術後の炎症、および動脈硬化症を伴う炎症、および自己免疫性甲状腺炎に対して適用することができる。

20

【0413】

活性成分として増強したエフェクター機能を含む抗ICOS抗体を含む本開示の製剤を、様々な疾病、例えば、これらに限定されないが、関節リウマチ、多発性硬化症、自己免疫性甲状腺炎、アレルギー性接触皮膚炎、扁平苔癬、全身性エリテマトーデス、インスリン依存性糖尿病、乾癬、自己免疫病またはアレルギー性疾患、細胞性免疫によって媒介した遅延性アレルギー;関節症(例えば、関節リウマチ(RA)、変形性関節症(OA))、炎症(例えば、肝炎)、移植片対宿主反応(GVH反応)、移植片対宿主病(GVHD)、組織(例えば、皮膚、角膜、および骨)または臓器(例えば、肝臓、心臓、肺、腎臓、膵臓)の移植と付随した免疫拒絶反応、炎症性腸疾患、クローン病、潰瘍性大腸炎、および食物アレルギーを抑制する、治療するおよび/または防止するために使用することができる。

30

【0414】

本開示と一致した製剤は、例えば、様々な関節炎(例えば、関節リウマチ、変形性関節症)と付随した炎症、肺炎、(ウイルス肝炎を含む)肝炎、感染症と付随した炎症、炎症性腸疾患、腸炎、腎炎、糸球体腎炎、腎線維症と付随した炎症、胃炎、血管炎、膵炎、腹膜炎、気管支炎、心筋炎、脳炎、炎症と付随した虚血再灌流障害、心筋虚血再灌流障害、組織または臓器の移植後の免疫拒絶反応と付随した炎症、乾癬、アレルギー性接触皮膚炎、扁平苔癬、複数の臓器不全と付随した炎症、PTCAまたはPTRの手術後の炎症、粥状動脈硬と付随した化炎症、ならびに自己免疫性甲状腺炎など、様々なステロイド薬が抗炎症性剤として使用されるいくつかの炎症を治療するまたは防止することを可能にする。

40

【0415】

5.31. 移植

本開示のある態様によると、本開示の製剤および方法で使用される処置療法および用量を、例えば、移植拒絶反応が発生する危険に患者を置くような臨床的な徴候、またはかかる拒絶が発生しているという臨床的な証拠を含む多くの要因を基に選択する。

【0416】

本開示は、GVHD、拒絶発症、もしくは移植後リンパ増殖性障害の発生度、重症度、

50

または期間を減少するために、効果的な製剤、方法、および療法を提供する。ある実施形態において、本開示の製剤および方法は、固形の組織または臓器の移植片の虚血性再灌流傷害に対する宿主応答を弱毒化することに効果的である。一実施形態において、本開示の製剤および方法は、移植患者の移植片生着を延長するために、効果的である。

【0417】

本開示は、移植患者に対して自家性、同種、または異種である移植片を包含する。本開示によって包含された移植片の種類は、骨髄移植片、末梢性幹細胞移植片、皮膚の移植片、動脈性および静脈性移植片、膵島細胞移植片、ならびに腎臓、肝臓、膵臓、甲状腺、および心臓の移植片を含むがこれらに限定されない組織および臓器の移植片を含む。「移植片」および「移植」という用語を、本明細書で互換的に使用する。一実施形態において、自家性移植片は、骨髄移植片、動脈性移植片、静脈性移植片、または皮膚の移植片である。一実施形態において、同種移植片は、骨髄移植片、角膜移植片、腎臓移植、膵島細胞移植、または腎臓および膵臓の混合移植である。一実施形態において、移植片は、異種移植であり、可能性のある動物ドナーは、ブタを含むがこれに限定されない。本開示の製剤および方法を、人工的な関節、ステント、またはペースメーカー装置を含むがこれらに限定されない非生物学的な移植片もしくはインプラントに対する有害な免疫応答を抑制するためにも使用することができる。

10

【0418】

本開示の抗ICOS抗体、製剤、および方法を、移植の必要を初めに引き起こす特定の兆候または移植した組織の特定の種類を問わずGVHD、拒絶、または移植後リンパ増殖性障害を治療する、または防止するために使用することができる。

20

【0419】

本開示の治療製剤および療法を、関節リウマチ、SLE、ITP、天疱瘡関連疾患、糖尿病、および強皮症を含むがこれらに限定されない自己免疫病または疾患と診断されたヒト対象を治療するために記載する。

【0420】

適切な処置療法を、特定の患者または患者集団に対して、当業者によって決定することができる。特定の実施形態において、処置療法は、移植前処置、移植後維持療法、または移植後処置または急性もしくは慢性拒絶である。ある実施形態において、拒絶が低リスクであると査定された患者に対する療法と比べて、特定の療法は、拒絶応答の発生が高または中間のリスクであると査定された患者に対して異なる。

30

【0421】

ある実施形態において、特定の療法は、拒絶の段階によって異なり、拒絶の遅い段階の患者はより積極的な治療の必要を示す。体液性拒絶反応の段階を、当該技術および知識によって分類することができる。例えば、体液性拒絶反応の段階を、以下の基準によってI~IVの段階のうちの一つとして分類することができる。段階I潜在的応答：循環する抗ドナー同種抗体、特に抗HLA抗体によって特徴付けられる；段階IIサイレント反応：組織学変化または移植片機能障害のない、循環する抗ドナー同種抗体、特に抗HLA抗体、およびC4d沈着によって特徴付けられる；段階III無症候性拒絶：移植片の機能障害のない、循環する抗ドナー同種抗体、特に抗HLA抗体、C4d沈着、および組織病理学によって特徴付けられる；段階IV体液性拒絶反応：循環する抗ドナー同種抗体、特に抗HLA抗体、C4d沈着、組織病理学、および移植の機能障害によって特徴付けられる。

40

【0422】

本開示の抗ICOS抗体、製剤および方法を、単独でまたは他の治療剤もしくは処置療法と組み合わせて、GVHD、拒絶、または移植後のリンパ球増殖性疾患を、治療するまたは防止するために実行することができる。GVHD、拒絶、または移植後のリンパ球増殖性疾患の処置または防止に対する他の治療療法は、例えば、抗リンパ球治療、ステロイド治療、抗体枯渇治療、免疫抑制治療、および血漿交換のうちの一つ以上を含むことができる。

50

【0423】

抗リンパ球治療は、サイモグロブリンとしても称される抗胸腺細胞グロブリンの移植患者に対する投与を含むことができる。抗リンパ球治療は、T細胞表面抗原に対して作られるモノクローナル抗体のうちの1つ以上の投与も含むことができる。かかる抗体の例は、限定なしに、OKT3（商標）（ムロモナブ - CD3）、CAMPATH（商標） - 1H（アレムツズマブ）、CAMPATH（商標） - 1G、CAMPATH（商標） - 1M、SIMULLECT（商標）（バシリキシマブ）、およびZENAPAX（商標）（ダクリズマブ）を含む。特定の実施形態において、抗リンパ球治療は、限定されないがRITUXAN（商標）（リツキシマブ）を含むB細胞に対して作られる1つ以上の抗体を含む。

【0424】

ステロイド治療は、コルチゾール、プレドニゾン、メチルプレドニゾロン、デキサメタゾン、およびインドメタシンからなる群から選択される1つ以上のステロイドの移植患者への投与を含むことができる。1つ以上のステロイドは、コルチゾール、プレドニゾン、およびメチルプレドニゾロンを限定なしに含む副腎皮質ステロイド薬であることができる。

【0425】

抗体枯渇治療は、例えば、静注用免疫グロブリンの移植患者への投与を含むことができる。抗体枯渇治療は、移植前に、エクスピボで移植片に適應される免疫吸着治療も含むことができる。免疫吸着を、任意の適した技法、例えば、タンパク質A親和性、または、抗CD3抗体、抗CD19抗体、抗CD20抗体、および抗CD22抗体等のT細胞またはB細胞表面マーカーに対して作られる抗体を使用するの抗体ベースの親和性の技法、を使用して達成することができる。

【0426】

免疫抑制治療は、サイトカイン転写の抑制剤（例えば、シクロスポリンA、タクロリムス）、ヌクレオチド合成の抑制剤（例えば、アザチオプリン、ミコフェノール酸モフェチル）、成長因子シグナル伝達の抑制剤（例えば、シロリムス、ラパマイシン）、およびT細胞インターロイキン2受容体の抑制剤（例えば、ダクリズマブ、バシリキシマブ）等の免疫抑制剤のうちの1つ以上の投与を含むことができる。特定の実施形態において、本開示の製剤および方法と組み合わせて使用する免疫抑制剤は、以下のうちの1つ以上を含む。アドリアマイシン、アザチオプリン、ブスルファン、シクロホスファミド、シクロスポリンA（「CyA」）、細胞毒、フルダラビン、5 - フルオロウラシル、メトトレキサート、ミコフェノール酸モフェチル（MOFETIL）、非ステロイド性抗炎症性（NSAID）、ラパマイシン、およびタクロリムス（FK506）。免疫抑制剤は、例えば、Buerke et al. (J. Immunol., 167: 5375 - 80 (2001))に記載されるとおり補体の抑制剤、例えば、可溶性補体受容体 - 1、抗C5抗体、またはC1の小分子抑制剤、も含むことができる。

【0427】

一実施形態において、本開示の製剤および方法を、タクロリムスおよびミコフェノール酸モフェチル治療、免疫吸着、静注用免疫グロブリン治療、ならびに血漿交換を限定なしに含む拒絶を抑制するための治療療法の1つ以上の組み合わせで使用することができる。

【0428】

5.32. 炎症性疾患

本開示の抗ICOS抗体を、炎症性疾患（例えば、喘息）またはその1つ以上の症状を防止する、管理する、治療する、または寛解するために、投与が必要な対象に対して投与することができる。本開示の製剤は、炎症性疾患またはその1つ以上の症状を防止する、管理する、治療する、または寛解するために、1つ以上の他の治療、好ましくは（本明細書に記載される予防または治療剤を含むがこれらに限定されない）炎症性疾患の防止、管理、処置、または寛解のために治療を必要としている対象に対して有用な治療と組み合わせて投与することもできる。特定の実施形態において、本開示は、炎症性疾患またはその1つ以上の症状を防止する、管理する、治療する、または寛解させる方法を提供し、該方

10

20

30

40

50

法は、本開示の抗ICOS抗体の予防または治療効果のある量の用量を必要とする対象に対して投与することを含む。別の実施形態において、本開示は、炎症性疾患またはその1つ以上の症状を防止する、管理する、治療する、または寛解させる方法を提供し、該方法は、本開示のエフェクター機能を増強した抗ICOS抗体の予防または治療効果のある量の用量およびICOSポリペプチドと免疫特異的に結合する抗体（その抗体断片を含む）以外の1つ以上の治療（例えば、予防または治療剤）の予防または治療効果のある量の用量を、投与を必要とする対象に対して投与することを含む。

【0429】

本開示は、かかる炎症性疾患のための従来の治療（例えば、メトトレキサートおよびTNF-アルファ拮抗薬（例えば、REMICADE（商標）またはENBREL（商標）））に対して抵抗性のある対象の炎症性疾患のうちの1つ以上の症状を管理する、治療する、または寛解させるための方法を提供し、該方法は、本開示のエフェクター機能を増強した抗ICOS抗体の予防または治療効果のある量の用量を該対象に投与することを含む。本開示は、かかる炎症性疾患に対する既存の単一薬剤治療に対して抵抗性のある対象の炎症性疾患の1つ以上の症状を管理する、治療する、または寛解させるための方法も提供し、該方法は、本開示のエフェクター機能を増強した抗ICOS抗体の予防または治療効果のある量の用量およびICOSポリペプチドと免疫特異的に結合する抗体（その抗体断片を含む）以外の1つ以上の治療（例えば、予防または治療剤）の予防または治療効果のある量の用量を該対象へ投与することを含む。本開示は、他の処置に対して抵抗性を認めたが、これらの処置をすでに受けていない患者に対して、本開示のエフェクター機能を増強した抗ICOS抗体とその他の処置とを組み合わせ、投与することによって炎症性疾患を管理する、または治療する方法も提供する。本開示は、別の治療で過度の有毒を認めた、または認める可能性のある、すなわち治療される対象に対して容認できないまたは耐えられない副作用を生じる炎症性疾患の処置に対する別の方法も提供する。例えば、本開示の製剤を、対象に対して投与することができ、対象は、TNF拮抗薬またはメトトレキサートに対して抵抗性である。さらに、本開示は、本開示のエフェクター機能を増強した抗ICOS抗体を投与することによって治療され、疾病活性を有さない患者の炎症性疾患の再発を防止するための方法を提供する。

【0430】

本開示によって包含される方法によって治療することができる炎症性疾患は、喘息、脳炎、炎症性腸疾患、慢性閉塞性肺疾患（COPD）、アレルギー性疾患、敗血症性ショック、肺線維症、未分化脊椎関節症、未分化関節症、関節炎、変形性関節症、脊椎関節症（例えば、乾癬性関節炎、強直性脊椎炎、ライター症候群（反応性関節炎）、炎症性骨溶解症、ウィルソン病および、慢性のウイルスまたは細菌感染から生じる慢性炎症を含むがこれらに限定されない。本明細書に記載される通り、いくつかの自己免疫疾患は、炎症性状態に付随する。

【0431】

抗炎症性治療およびそれらの投与量、投与の経路、および推奨用法は、当該技術において知られており、Physician's Desk Reference（61th ed., 2007）等の文献に記載される。

【0432】

5.32.1. 抗炎症性治療

本開示は、炎症性疾患またはその1つ以上の症状を防止する、管理する、治療する、または寛解させる方法を提供し、該方法は、投与を必要とする対象に対して本開示のエフェクター機能を増強した抗ICOS抗体およびICOSポリペプチドと免疫特異的に結合する抗体（その抗体断片を含む）以外の1つ以上の治療（例えば、予防または治療剤を投与することを含む。炎症性疾患またはその1つ以上の症状の防止、管理、処置、または寛解のために有用であることが知られている、使用されたまたは現在使用されている任意の薬剤または治療は、本明細書に記載される本開示と一致して本開示のエフェクター機能を増強した抗ICOS抗体と組み合わせ使用することができる。

【0433】

当業者に良く知られる炎症性疾患のための治療で有用である薬剤を含む任意の抗炎症性剤を、本開示の製剤および方法で使用することができる。抗炎症剤の限定されない例は、非ステロイド性抗炎症薬（NSAID）、ステロイド系抗炎症薬、抗コリン薬（例えば、硫酸アトロピン、硝酸メチルアトロピン、および臭化イプラトロピウム（ATROVENT（商標）））、ベータ2-刺激薬（例えば、アルブテロール（VENTOLIN（商標））およびPROVENTIL（商標））、ピトルテロール（TORNALATE（商標））、レバルブテロール（XOPONEX（商標））、メタプロテレノール（ALUPENT（商標））、ピルブテロール（MAXAIR（商標））、テルブタリン（BRETHAIRE（商標））およびBRETHINE（商標））、アルブテロール（PROVENTIL（商標）、REPEATABS（商標）、およびVOLMAX（商標））、ホルメテロール（FORADIL AEROLIZER（商標））、およびサルメテロール（SEREVEN（商標））およびSEREVENT DISKUS（商標））、ならびにメチルキサンチン（例えば、テオフィリン（UNI-PHYL（商標）、THEO-DUR（商標）、SLO-BID（商標）、AND TEHO-42（商標））を含む。NSAIDの例は、アスピリン、イブプロフェン、セレコキシブ（CELEBREX（商標））、ジクロフェナク（VOLTAREN（商標））、エトドラク（LODINE（商標））、フェノプロフェン（NALFON（商標））、インドメタシン（INDOCIN（商標））、ケトロラク（TORADOL（商標））、オキサプロジン（DAYPRO（商標））、ナブメトン（RELAFEN（商標））、スリンダク（CLINORIL（商標））、トルメチン（TOLECTIN（商標））、ロフェコキシブ（VIOXX（商標））、ナプロキセン（ALEVE（商標）、NAPROSYN（商標））、ケトプロフェン（ACTRON（商標））、およびナブメトン（RELAFEN（商標））を含むがこれらに限定されない。かかるNSAIDは、シクロオキシゲナーゼ酵素（例えば、COX-1および/またはCOX-2）を抑制することによって機能する。ステロイド系抗炎症薬の例は、グルココルチコイド、デキサメタゾン（DECADRON（商標））、副腎皮質ステロイド薬（例えば、メチルプレドニゾロン（MEDROL（商標））、コルチゾン、ヒドロコルチゾン、プレドニゾン（プレドニゾン（商標））およびDELTA SONE（商標））、プレドニゾロン（PRELONE（商標））およびPEDIAPRED（商標））、トリアムシノロン、アザルフィジン、エイコサノイド（例えば、プロスタグランジン、トロンボキササン、およびロイコトリエン）の抑制剤を含むがこれらに限定されない。

【0434】

一実施形態において、本開示の1つ以上の製剤の有効量を、炎症性疾患の危険性のある、または患っている対象に対してマスト細胞プロテアーゼ抑制剤と組み合わせて投与する。別の実施形態において、マスト細胞プロテアーゼ抑制剤は、限定されないがGW-45、GW-58、およびゲニステイン等の、トリプターゼキナーゼ抑制剤である。特定の実施形態において、マスト細胞プロテアーゼ抑制剤は、限定されないがカルホスチン（カルホスチン）C等のホスファチジルイノシチド-3'（PI3）-キナーゼ抑制剤である。別の実施形態において、マスト細胞プロテアーゼ抑制剤は、限定されないがスタウロsporin等のタンパク質キナーゼ抑制剤である。一実施形態において、マスト細胞プロテアーゼ抑制剤を、患部に局部的に投与する。

【0435】

炎症性疾患を患った対象に対して本開示のエフェクター機能を増強した抗ICOS抗体と組み合わせて投与することができる免疫調節剤の具体的な例は、メトトレキサート、レフルノミド、シクロホスファミド、シトキサン、イムラン、シクロスポリンeA、ミノサイクリン、アザチオプリン、抗生物質（例えば、FK506（タクロリムス））、メチルプレドニゾロン（MP）、副腎皮質ステロイド薬、ステロイド、ミコフェノール酸モフェチル、ラバマイシン（シロリムス）、ミゾリピン、デオキシスパガリン、ブレキナル、マロノニトリロアミンド（malononitriloamide）（例えば、レフルノミド）、抗T細胞受容体抗体（例えば、抗CD4抗体（例えば、cM-T412（Boe

10

20

30

40

50

ringer)、IDEC-CE9.1.RTM.(IDECおよびSKB)、mAB4162W94、OrthocloneおよびOKTcdr4a(Janssen-Cilag)、抗CD3抗体(例えば、Nuviion(Product Design Labs)、OKT3(Johnson&Johnson)、またはRituxan(IDEC))、抗CD5抗体(例えば、抗CD5リシン結合免疫複合体)、抗CD7抗体(例えば、CHH-380(Novartis))、抗CD8抗体、抗CD40リガンドモノクローナル抗体(例えば、IDEC-131(IDEC))、抗CD52抗体(例えば、CAMPATH 1H(Ilex))、抗CD2抗体(例えば、MEDI-507(MedImmune、Inc.、国際公開WO第02/098370号およびWO第02/069904号)、抗CD11a抗体(例えば、Xanelim(Genentech))、
 および抗B7抗体(例えば、IDEC-114)(IDEC))；抗サイトカイン受容体抗体(例えば、抗IFN受容体抗体、抗IL-2受容体抗体(例えば、Zenapax(Protein Design Labs))、抗IL-4受容体抗体、抗IL-6受容体抗体、抗IL-10受容体抗体、および抗IL-12受容体抗体)、抗サイトカイン抗体(例えば、抗IFN抗体、抗TNF-アルファ抗体、抗IL-1ベータ抗体、抗IL-6抗体、抗IL-8抗体(例えば、ABX-IL-8(Abgenix))、および抗IL-12抗体)；CTLA4-免疫グロブリン；LFA-3TIP(Biogen、国際公開WO第93/08656号および米国特許第6,162,432号)；可溶性サイトカイン受容体(例えば、TNF-アルファ受容体の細胞外ドメインまたはその断片、IL-1ベータ受容体の細胞外ドメインまたはその断片、およびIL-6受容体の細胞外ドメインまたはその断片)；サイトカインまたはその断片(例えば、インターロイキン(IL)-2、IL-3、IL-4、IL-5、IL-6、IL-7、IL-8、IL-9、IL-10、IL-11、IL-112、IL-15、TNF-アルファ、TNF-ベータ、インターフェロン(IFN)-アルファ、IFN-ベータ、IFN-ガンマ、およびGM-CSF)；ならびに抗サイトカイン抗体(例えば、抗IL-2抗体、抗IL-4抗体、抗IL-6抗体、抗IL-9抗体、抗IL-10抗体、抗IL-12抗体、抗IL-15抗体、抗IL17抗体、抗TNF-アルファ抗体、および抗IFN-ガンマ抗体)を含むがこれらに限定されない。

【0436】

当業者によく知られる任意のTNF-アルファ拮抗薬は、本開示の製剤および方法に使用することができる。炎症性疾患を患った対象に対して本開示のエフェクター機能を増強した抗ICOS抗体を組み合わせて投与することができるTNF-アルファ拮抗薬の限定されない例は、タンパク質、ポリペプチド、ペプチド、融合タンパク質、TNF-アルファと免疫特異的に結合する抗体等の抗体(例えば、ヒト、ヒト化、キメラ、モノクローナル、ポリクローナル、Fv、ScFv、Fab断片、F(ab)2断片、およびその抗原結合断片)、核酸分子(例えば、アンチセンス分子または三重らせん体)、有機分子、無機分子、およびTNF-アルファの機能、活性および/または発現を遮断する、減少する、抑制する、または中和する小分子を含む。様々な実施形態において、TNF-アルファ拮抗薬は、リン酸緩衝食塩液(PBS)等の対照と比べてTNF-アルファの機能、活性および/または発現を少なくとも10%、少なくとも15%、少なくとも20%、少なくとも25%、少なくとも30%、少なくとも35%、少なくとも40%、少なくとも45%、少なくとも50%、少なくとも55%、少なくとも60%、少なくとも65%、少なくとも70%、少なくとも75%、少なくとも80%、少なくとも85%、少なくとも90%、少なくとも95%、または少なくとも99%減少する。TNF-アルファと免疫特異的に結合する抗体の例は、インフリキシマブ(REMICADE(商標)；Centacor)、D2E7(Abbott Laboratories/Knoll Pharmaceuticals Co.、Mt.Olive、N.J.)、HUMICADE(商標)としても知られるCDP571、およびCDP-870(両方とも、Celltech/Pharmacia、Slough、U.K.)、およびTN3-19.12(Williams et al.、1994、Proc.Natl.Acad.Sci.U

10

20

30

40

50

SA91:2762-2766; Thorbecke et al., 1992, Proc. Natl. Acad. Sci. USA 89:7375-7379)を含むがこれらに限定されない。本開示は、本開示の製剤および方法における、以下の米国特許に開示されたTNF-アルファと免疫特異的に結合する抗体の使用も包含する。それぞれが本明細書にすべて参照によって組み込まれる、第5,136,021号、第5,147,638号、第5,223,395号、第5,231,024号、第5,334,380号、第5,360,716号、第5,426,181号、第5,436,154号、第5,610,279号、第5,644,034号、第5,656,272号、第5,658,746号、第5,698,195号、第5,736,138号、第5,741,488号、第5,808,029号、第5,919,452号、第5,958,412号、第5,959,087号、第5,968,741号、第5,994,510号、第6,036,978号、第6,114,517号、および第6,171,787号。可溶性TNF-アルファ受容体の例は、TNF-R1 (Amgen)、エタネルセプト (ENBREL (商標); ImmuneX) およびそのラット相同体RENBREL (商標)、TNFrI、TNFrII (Kohn et al., 1990, Proc. Natl. Acad. Sci. USA 87:8331-8335)、ならびにTNF-アルファInh (Seckinger et al., 1990, Proc. Natl. Acad. Sci. USA 87:5188-5192) に由来するTNF-アルファの可溶性の抑制剤を含むがこれらに限定されない。

10

【0437】

20

本開示によって包含された他のTNF-アルファ拮抗薬は、インターフェロンガンマ活性マクロファージを通してTNF-アルファ産生を遮断することで知られるIL-10 (Oswald et al., 1992, Proc. Natl. Acad. Sci. USA 89:8676-8680)、TNFR-IgG (Ashkenazi et al., 1991, Proc. Natl. Acad. Sci. USA 88:10535-10539)、マウス製品TBP-1 (Serono/Yeda)、ワクチンCytotAb (Protherics)、アンチセンス分子104838 (ISIS)、ペプチドRDP-58 (SangStat)、サリドマイド (Celgene)、CDC-801 (Celgene)、DPC-333 (Dupont)、VX-745 (Vertex)、AGIX-4207 (AtheroGenics)、ITF-2357 (Italfarmaco)、NPI-13021-31 (Nereus)、SCIO-469 (Scios)、TACE targeter (Immunix/AHP)、CLX-120500 (Calyx)、Thiazolopyrim (Dynavax)、オーラノフィン (Ridaura) (SmithKline Beecham Pharmaceuticals)、キナクリン (メパクリンジク口口水和物)、テニダップ (Enablex)、メラニン (Large Scale Biological)、およびUriachによる抗p38MAPK薬剤を含むがこれらに限定されない。

30

【0438】

炎症性疾患を患った対象へ本開示のエフェクター機能を増強した抗ICOS抗体と組み合わせ投与することができる抗炎症剤の限定されない例は、非ステロイド性抗炎症薬 (NSAID)、ステロイド系抗炎症薬、刺激薬、抗コリンジェリック (anticholinergic) 剤、およびメチルキサンチンを含む。NSAIDの例は、アスピリン、イブプロフェン、セレコキシブ (CELEBREX (商標))、ジクロフェナク (VOLTAREN (商標))、エトドラク (LODINE (商標))、フェノプロフェン (NALFON (商標))、インドメタシン (INDOCIN (商標))、ケトロラク (TORADOL (商標))、オキサプロジン (DAYPRO (商標))、ナブメトン (RELAFFEN (商標))、スリンダク (CLINORIL (商標))、トルメチン (TOLECTIN (商標))、ロフェコキシブ (VIOXX (商標))、ナブロキセン (ALEVE (商標))、NAPROSYN (商標))、ケトプロフェン (ACTRON (商標))、およびナブメトン (RELAFFEN (商標)) を含むがこれらに限定されない。かかるN

40

50

S A I Dは、シクロオキシゲナーゼ酵素（例えば、C O X - 1および/またはC O X - 2）を抑制することによって機能する。ステロイド系抗炎症薬の例は、グルココルチコイド、デキサメタゾン（D E C A D R O N（商標））、コルチゾン、ヒドロコルチゾン、プレドニゾン（D E L T A S O N E（商標））、プレドニゾロン、トリアムシノロン、アザルフィジン、ならびにプロスタグランジン、トロンボキサン、およびロイコトリエン等のエイコサノイドを含むがこれらに限定されない。

【 0 4 3 9 】

特定の実施形態において、変形性関節症を患った患者に、本開示のエフェクター機能を増強した抗I C O S抗体の予防または治療効果のある量を他の薬剤、または鎮痛剤（限定されない例は、4 0 0 0 m g / d以下の用量のアセトアミノフェン、フェナセチン、および2 0 0 ~ 3 0 0 m gの範囲の1日の用量のトラマドールである）；N S A I D（限定されない例は、アスピリン、ジフルニサル、ジクロフェナク、エトドラク、フェナム酸、フェノプロフェン、フルルピプロフェン、イブプロフェン、インドメタシン、ケトプロフェン、サリチル酸メチル、ナブメトン、ナプロキセン、オキサプロジン、フェニルブタゾン、ピロキシカム、スリンダク、およびトルメチンを含むがこれらに限定されない。低用量のN S A I D、例えば1 2 0 0 m g / dのイブプロフェン、5 0 0 m g / dのナプロキセンが、好ましい。胃保護剤、例えば、ミソプロストール、ファモチジン、またはオメプラゾールは、N S A I Dと同時に使用することが好ましい）；サルサラートを含むがこれに限定されない非アセチル化サリチル酸；セレコキシブおよびロフェコキシブを含むが限定されないシクロオキシゲナーゼ（C o x）- 2 - 特異的抑制剤（C S I）；徐放性製剤グルココルチコイド調製物の関節内または周囲注射；ヒアルロン酸の関節内注射；カプサイシンクリーム；フィブリン、軟骨の欠片および他のデブリを流すために、変形性関節症の膝の大量洗浄；ならびに関節置換手術を含むがこれらに限定されない変形性関節症の防止、処置、管理、または寛解に有用な治療と組み合わせて、投与する。本開示の製剤および方法は、関節負荷の削減（限定されない例は、悪い姿勢の修正、過度の腰椎前弯に対しての支持、関与する間接の過度の負荷を避ける、長期間の立ち、跪き、およびしゃがみこみを避けることである）；患部関節に対する熱の適応；有酸素運動および他の物理的な治療を、含むが限定されない変形性関節症の防止、処置、管理、および寛解のための他の非薬理的な手段と組み合わせて使用することもできる。

【 0 4 4 0 】

特定の実施形態において、関節リウマチを患った患者に、N S A I D（限定されない例は、アスピリン、ジフルニサル、ジクロフェナク、エトドラク、フェナム酸、フェノプロフェン、フルルピプロフェン、イブプロフェン、インドメタシン、ケトプロフェン、サリチル酸メチル、ナブメトン、ナプロキセン、オキサプロジン、フェニルブタゾン、ピロキシカム、スリンダク、およびトルメチンを含むがこれらに限定されない）；鎮痛剤（限定されない例は、アセトアミノフェン、フェナセチン、およびトラマドールである）；セレコキシブ、およびロフェコキシブを含むがこれらに限定されないC S I；グルココルチコイド（好ましくは低用量の経口グルココルチコイド、例えば、< 7 . 5 m g / dのプレドニゾン、または高用量グルココルチコイドの毎月のパルス投与、または関節内グルココルチコイド）；メトトレキサート（好ましくはある間欠的に低い用量、例えば、1週間に一度7 . 5 ~ 3 0 m g）、金化合物（例えば、金塩）、D - ペニシラミン、抗マラリア剤（例えば、クロロキン）、およびスルファサラジンを含むがこれらに限定されない疾患修飾性抗リウマチ薬（D M A R D）；エタネルセプトおよびインフリキシマブを含むがこれらに限定されないT N F - アルファ中和剤；免疫抑制および細胞傷害性薬物（例は、アザチオプリン、レフルノミド、シクロスポリン、およびシクロホスファミドを含むがこれらに限定されない）、ならびに手術（例は、関節形成術、関節全置換、手の再建手術、開または関節鏡滑膜切除術、および手首の早期腱鞘切除術を含むがこれらに限定されない）を含むがこれらに限定されない関節リウマチの防止、処置、管理、および寛解に有用な他の薬剤または治療と本開示のエフェクター機能を増強した抗I C O S抗体の予防または治療効果のある量とを組み合わせ投与する。本開示の製剤および方法は、安静、炎症した関節

10

20

30

40

50

の不要な動きを減少するために副木すること、運動、様々な装具および支援機器の使用、および他の物理的な治療を含むがこれらに限定されない関節リウマチの防止、処置、管理、および寛解の際に、他の手法と組み合わせて使用することもできる。本開示の製剤および方法は、食事（例えば、魚油に見られるエイコサペンタエン酸等のオメガ - 3 脂肪酸と肉に見られる食事性オメガ - 6 必須脂肪酸との置換）、ワクチン、ホルモンおよび局所調製を含むがこれらに限定されない関節リウマチの防止、処置、管理、および寛解の際の、いくつかの非伝統的アプローチと組み合わせて使用することもできる。

【0441】

特定の実施形態において、慢性閉塞性肺疾患（COPD）を患った患者に、短時間および長時間作用のベータ2 - アドレナリン刺激薬を含むがこれらに限定されない気管支拡張剤（短時間作用のベータ2 刺激薬の例は、アルブテロール、ピルブテロール、テルブタリン、およびメタプロテレノールを含むがこれらに限定されない；長時間作用のベータ2 刺激薬の例は、経口徐放性アルブテロールおよび吸入サルメテロールを含むがこれらに限定されない）、抗コリン薬（例は、臭化イプラトロピウムを含むがこれに限定されない）、ならびにテオフィリンおよびその誘導体（テオフィリンの治療範囲は、好ましくは10 ~ 20 $\mu\text{g}/\text{mL}$ である）；グルココルチコイド；外因性アルファ1AT（例えば、週に一度の用量の60 mg/kg を静脈内投与した貯蔵したヒト血漿に由来するアルファ1AT）；酸素；肺移植；肺容量減少術；気管内挿管、換気サポート；年に一度のインフルエンザワクチンおよび23 - 価の多糖類を含む肺炎球菌ワクチン；運動；および禁煙を含むがこれらに限定されないCOPDの防止、処置、管理、および寛解の際に有用な他の薬剤または治療と組み合わせて本開示のエフェクター機能を増強した抗ICOS抗体の予防または治療効果のある量を投与する。

【0442】

特定の実施形態において、喘息を患った患者に、本開示のエフェクター機能を増強した抗ICOS抗体の予防または治療効果のある量と喘息治療に有用な1つ以上の他の薬剤の有効量とを組み合わせ、投与する。かかる薬剤の限定されない例は、アドレナリン刺激物質（例えば、カテコラミン（例えば、エピネフリン、イソプロテレノール、およびイソエタリン）、レゾルシノール（例えば、メタプロテレノール、テルブタリン、およびフェノテロール）、およびサリゲニン（例えば、サルブタモール））、アドレノコルチコイド、ブルココルチコイド（*blucocorticoid*）、副腎皮質ステロイド薬（例えば、ベクロメタドンス（*beclomethadonse*）、ブデソニド、フルニソリド、フルチカゾン、トリアムシノロン、メチルプレドニゾロン、プレドニゾロン、およびプレドニゾン）、他のステロイド、ベータ2 - 刺激薬（例えば、アルブテロール、ピトルテロール、フェノテロール、イソエタリン、メタプロテレノール、ピルブテロール、サルブタモール、テルブタリン、ホルモテロール、サルメテロール、およびアルブタモール（*albutamol*）テルブタリン）、抗コリン作動薬（例えば、臭化イプラトロピウムおよび臭化オキシトロピウム）、IL - 4拮抗薬（抗体を含む）、IL - 5拮抗薬（抗体を含む）、IL - 9拮抗薬（抗体を含む）、IL - 13拮抗薬（抗体を含む）、IL - 17拮抗薬（抗体を含む）、PDE4 - 抑制剤、NF - カッパ - ベータ抑制剤、VLA - 4抑制剤、CpG、抗CD23、セレクチン拮抗薬（*TBC1269*）、マスト細胞プロテアーゼ抑制剤（例えば、トリプターゼキナーゼ抑制剤（例えば、GW - 45、GW - 58、およびゲニステイン）、ホスファチジルイノシチド - 3'（*PI3*） - キナーゼ抑制剤（例えば、カルホスチン（カルホスチン）C）、および他のキナーゼ抑制剤（例えば、スタウロスポリン）（*Temkin et al., 2002 J Immunol 169 (5): 2662 - 2669*、*Vosseller et al., 1997 Mol. Biol. Cell 8 (5): 909 - 922*、および*Nagai et al., 1995 Biochem Biophys Res Commun 208 (2): 576 - 581*）を参照）、C3受容体拮抗薬（抗体を含む）、免疫抑制剤（例えば、メトトレキサートおよび金塩）、マスト細胞モジュレーター（例えば、クロモグリク酸ナトリウム（*INTAL*（商標））およびネドクロミルナトリウム（*TILADE*（商標）））、

10

20

30

40

50

ならびに粘液溶解薬（例えば、アセチルシステイン）を含む。特定の実施形態において、抗炎症性剤は、ロイコトリエン抑制剤（例えば、モンテルカスト（SINGULAR（商標））、ザフィルルカスト（ACCOLATE（商標））、プラシルカスト（ONON（商標））、またはジロートン（ZYFLO（商標）））である。

【0443】

特定の実施形態において、アレルギーを患った患者に、本開示のエフェクター機能を増強した抗ICOS抗体の予防または治療効果のある量とアレルギー治療に有用な1つ以上の他の薬剤の有効量とを組み合わせ、投与する。かかる薬剤の限定されない例は、抗メチキナーゼ薬（例えば、抗ヒスタミン薬）、副腎皮質ステロイド薬、うっ血除去薬、交感神経刺激薬（例えば、アルファ-アドレナリン作用薬およびベータ-アドレナリン作用薬）、TNX901（Leung et al., N Engl J Med 348(11):986-993(2003)）、IgE拮抗薬（例えば、抗体rhumAb-E25オマリズマブ（Finn et al., 2003 J Allergy Clin Immunol 111(2):278-284、Corren et al., 2003 J Allergy Clin Immunol 111(1):87-90、Busse and Neaville, 2001 Curr Opin Allergy Clin Immunol 1(1):105-108、およびTang and Powell, 2001, Eur J Pediatr 160(12):696-704を参照）、HMK-12および6HD5（Miyajima et al., 2002 Int Arch Allergy Immunol 128(1):24-32）、およびmAb Hu-901（van Neerven et al., 2001 Int Arch Allergy Immunol 124(1-3):400を参照）、テオフィリンおよびその誘導体、グルココルチコイド、ならびに免疫療法（例えば、アレルギーの反復長期間注射、短コース脱感作、およびハチ毒免疫療法）を含む。

【0444】

5.33. 自己免疫病

本開示のある態様によると、本開示の製剤および方法と共に用いられる処置療法および用量を、治療している自己免疫病または疾患の段階を含むがこれらに限定されない多くの要因を基に選択する。適切な処置療法を、患者または患者集団の自己免疫病または疾患の特定の段階に対して、当業者によって決定することができる。自己免疫病または疾患の異なる段階を有する患者を治療するために、本開示の製剤の有効量を決定するために、用量反応曲線を、当該技術における標準プロトコールを使用して作成することができる。一般的に、自己免疫病または疾患の活性をより多く有する患者は、自己免疫病または疾患の活性が少ない患者と比べて、長期間投与することができるより高い用量および/または高頻度の用量を必要とするであろう。

【0445】

抗ICOS抗体、製剤、および方法を、自己免疫病または疾患を治療するために実行することができる。「自己免疫病または疾患」という用語は、自身の細胞、組織および/または臓器へ対象の免疫性反応によって引き起こされた細胞、組織、および/または臓器障害を特徴とする対象の状況を指す。「炎症性疾患」という用語は、慢性炎症を含むがこれに限定されない炎症を特徴とする対象における状態を指すために、「炎症性疾患」という用語と互換的に使用される。自己免疫疾患は、炎症に付随することができるとは限らない。さらに、炎症は、自己免疫疾患によって生じるとは限らない。したがって、ある疾患は、自己免疫性および炎症性疾患の両方として特徴付けられる可能性がある。代表的な自己免疫病または疾患は、円形脱毛症、強直性脊椎炎、抗リン脂質抗体症候群、自己免疫性アジソン病、副腎の自己免疫病、自己免疫性溶血性貧血、自己免疫性肝炎、自己免疫性卵巣炎および精巣炎、自己免疫性血小板減少症、ベーチェット病、水疱性類天疱瘡、心筋症、セリアックスブルー皮膚炎、慢性疲労免疫機能不全症候群（CFIDS）、慢性炎症性脱髄性多発ニューロパチー、チャグ・ストラウス症候群、癩痕性類天疱瘡、クレスト症候群、寒冷凝集素症、クローン病、円板状狼瘡、必須混合型クリオグロブリン血症、糖尿病

、好酸球性筋膜炎 (e o s i n o p h i l i c f a s c i t e s)、線維筋痛症 - 線維筋炎、糸球体腎炎、グレーブス病、ギラン・バレー症候群、橋本甲状腺炎、ヘノッホ・シェーンライン紫斑病、特発性肺線維症、特発性 / 自己免疫性血小板減少性紫斑病 (I T P)、I g A 神経障害、若年性関節炎、扁平苔癬、紅斑性狼瘡、メニエール病、混合性結合組織病、多発性硬化症、タイプ1または免疫媒介真性糖尿病、重症筋無力症、天疱瘡関連疾患 (例えば、尋常性天疱瘡)、悪性貧血、結節性多発動脈炎、多発性軟骨炎、多腺性症候群、リウマチ性多発筋痛症、多発性筋炎および皮膚筋炎、原発性無ガンマグロブリン血症、原発性胆汁性肝硬変、乾癬、乾癬性関節炎、レイノー現象、ライター症候群、関節リウマチ、サルコイドーシス、強皮症、シェーグレン症候群、全身硬直症候群、全身性エリテマトーデス (S L E)、スイート症候群、スチル病、紅斑性狼瘡、高安動脈炎、側頭動脈炎 / 巨細胞性動脈炎、潰瘍性大腸炎、ぶどう膜炎、疱疹状皮膚炎血管炎等の脈管炎、白斑、ならびにウェゲナー肉芽腫症を含むがこれらに限定されない。炎症性疾患の例は、喘息、脳炎、炎症性腸疾患、慢性閉塞性肺疾患 (C O P D)、アレルギー性疾患、敗血症性ショック、肺線維症、未分化脊椎関節症、未分化関節症、関節炎、炎症性骨溶解症、移植片対宿主病、蕁麻疹、フォークト・小柳・原田症候群ならびに慢性ウイルスまたは細菌感染から生じる慢性炎症を含むがこれらに限定されない。

【 0 4 4 6 】

5 . 3 3 . 1 . 自己免疫疾患の処置

本開示のエフェクター機能を増強した抗 I C O S 抗体を、自己免疫疾患またはその症状のうちの一つ以上を防止する、管理する、治療する、または寛解するために、投与が必要な対象に投与することができる。本開示の製剤を、自己免疫疾患またはその症状のうちの一つ以上を、防止する、管理する、治療する、または寛解するために、投与を必要とする対象に、一つ以上の他の治療、好ましくは自己免疫疾患 (予防または治療剤を含むがこれらに限定されない) の防止、管理、または処置に有用な治療と組み合わせて投与することもできる。特定の実施形態において、本開示は、自己免疫疾患またはその症状のうちの一つ以上を防止する、管理する、治療する、または寛解させる方法を提供し、該方法は、本開示のエフェクター機能を増強した抗 I C O S 抗体の予防または治療効果のある量の用量を、対象に投与することを含む。別の実施形態において、本開示は、自己免疫疾患またはその一つ以上の症状を防止する、管理する、治療する、または寛解させる方法を提供し、該方法は、本開示のエフェクター機能を増強した抗 I C O S 抗体の予防または治療効果のある量の用量および I C O S ポリペプチドと免疫特異的に結合する抗体 (その抗体断片を含む) 以外の一つ以上の治療 (例えば、予防または治療剤) の予防または治療効果のある量の用量を、投与を必要とする対象に対して投与することを含む。

【 0 4 4 7 】

本開示は、かかる自己免疫疾患に対する従来の治療に抵抗性のある対象の自己免疫疾患またはその一つ以上の症状を管理する、治療する、または寛解させる方法を提供し、該方法は、本開示のエフェクター機能を増強した抗 I C O S 抗体の予防または治療効果のある量の用量を該対象に投与することを含む。本開示は、かかる自己免疫疾患に対する既存の単一薬剤治療に対して抵抗性のある対象の自己免疫疾患の一つ以上の症状を管理する、治療する、または寛解させるための方法も提供し、該方法は、本開示のエフェクター機能を増強した抗 I C O S 抗体の予防または治療効果のある量の用量および I C O S ポリペプチドと免疫特異的に結合する抗体 (その抗体断片を含む) 以外の一つ以上の治療 (例えば、予防または治療剤) の予防または治療効果のある量の用量を該対象へ投与することを含む。本開示は、他の処置に対して抵抗性を認めたが、これらの処置をすでに受けていない患者に対して、本開示のエフェクター機能を増強した抗 I C O S 抗体とその他の処置と組み合わせて投与することによって、自己免疫疾患またはその一つ以上の症状を管理する、治療する、または寛解させる方法も提供する。本開示は、別の治療で過度の有毒を認めた、または認めることができる、すなわち治療される対象に対して容認できないまたは耐えられない副作用を生じる自己免疫疾患の管理または処置に対する別の方法も提供する。特に、本開示は、患者は他の治療に対して抵抗性がある場合、自己免疫疾患の管理または処置

10

20

30

40

50

の別の方法を提供する。さらに、本開示は、本開示のエフェクター機能を増強した抗ICOS抗体を投与することによって治療され、疾病活性を有さない患者の自己免疫疾患の再発を防止するための方法を提供する。

【0448】

本開示の方法で治療することができる自己免疫疾患の例は、円形脱毛症、強直性脊椎炎、抗リン脂質抗体症候群、自己免疫性アジソン病、副腎の自己免疫病、自己免疫性溶血性貧血、自己免疫性肝炎、自己免疫性卵巣炎および精巣炎、自己免疫性血小板減少症、ベーチェット病、水疱性類天疱瘡、心筋症、セリアックスブルー皮膚炎、慢性疲労免疫機能不全症候群(CFIDS)、慢性炎症性脱髄性多発ニューロパチー、チャグ・ストラウス症候群、癩痕性類天疱瘡、クレスト症候群、寒冷凝集素症、クローン病、円板状狼瘡、必須混合型クリオグロブリン血症、線維筋痛症-線維筋炎、糸球体腎炎、グレーブス病、ギラン・バレー症候群、橋本甲状腺炎、特発性肺線維症、特発性血小板減少性紫斑病(ITP)、IgA神経障害、若年性関節炎、扁平苔癬、紅斑性狼瘡、メニエール病(Mniere's disease)、混合性結合組織病、多発性硬化症、タイプ1または免疫媒介真性糖尿病、重症筋無力症、尋常性天疱瘡、悪性貧血、結節性多発動脈炎、多発性軟骨炎、多腺性症候群、リウマチ性多発筋痛症、多発性筋炎および皮膚筋炎、原発性無ガンマグロブリン血症、原発性胆汁性肝硬変、乾癬、乾癬性関節炎、レイノー現象、ライター症候群、関節リウマチ、サルコイドーシス、強皮症、シェーグレン症候群、全身硬直症候群、全身性エリテマトーデス、紅斑性狼瘡、高安動脈炎、側頭動脈炎/巨細胞性動脈炎、潰瘍性大腸炎、ぶどう膜炎、疱疹状皮膚炎血管炎等の脈管炎、白斑、ならびにウエゲナー肉芽腫症を含むがこれらに限定されない。

10

20

【0449】

自己免疫治療およびそれらの投与量、投与の経路、および推奨用法は、当該技術において知られており、Physician's Desk Reference(61th ed., 2007)等の文献に記載される。

【0450】

5.33.2. 自己免疫疾患の治療

本開示は、自己免疫疾患またはその症状の1つ以上を防止する、管理する、治療する、または寛解させる方法を提供し、該方法は、投与を必要とする対象に対して本開示のエフェクター機能を増強した抗ICOS抗体およびICOSポリペプチドと免疫特異的に結合する抗体(その抗体断片を含む)以外の1つ以上の治療(例えば、予防または治療剤を投与することを含む。自己免疫疾患またはその症状の1つ以上の防止、管理、処置、または寛解のために有用であることが知られている、使用されたまたは現在使用されている任意の薬剤または治療は、本明細書に記載される本開示と一致して本開示のエフェクター機能を増強した抗ICOS抗体と組み合わせて使用することができる。かかる薬剤の例は、免疫調節剤、抗炎症剤、およびTNF-アルファ拮抗薬を含むがこれらに限定されない。自己免疫疾患の防止、管理、処置、または寛解に対して、本開示のエフェクター機能を増強した抗ICOS抗体と組み合わせて使用することができる免疫調節剤、抗炎症剤、およびTNF-アルファ拮抗薬の具体的な例を、本明細書に開示する。

30

【0451】

特定の実施形態において、多発性硬化症(MS)を患った患者に、IFN-beta 1b(Betaseron)(例えば、800万国際単位(MIU)を1日おきに皮下注射で投与する); IFN-ベータ1a(Avonex)(例えば、6.0MIUを1週間に1回筋肉内注射で投与する); 酢酸グラチラマー(Copaxone)(例えば、20mgを毎日皮下注射で投与する); ミトキサントロン(例えば、12mg/m²を、3ヶ月に1回静脈内注入で投与する); アザチオプリン(例えば、2~3mg/kg体重を毎日経口投与する); メトトレキサート(例えば、7.5mgを1週間に1回経口投与する); シクロホスファミド; 静注用免疫グロブリン(例えば、0.15~0.2g/kg体重を2年以下の間1ヶ月に1回投与する); グルココルチコイド; メチルプレドニゾロン(例えば、高用量で2ヶ月に一度投与する); 2-クロロデオキシアデノシン(クラドリビ

40

50

ン) ; バクロフェン (例 えば、 1 5 ~ 8 0 m g / d を 分 割 し た 用 量 で、 ま た は 2 4 0 m g / d 以 下 の 高 用 量 を 経 口 で、 ま た は 留 置 カ テー テ ル を 通 し て く も 膜 下 腔 内 で) ; 塩 酸 シ ク ロ ベ ン ザ プ リ ン (例 えば、 5 ~ 1 0 m g b i d ま た は t i d) ; ク ロ ナ ゼ パ ム (例 えば、 0 . 5 ~ 1 . 0 m g t i d、 就 寝 前 用 量 を 含 む) ; 塩 酸 ク ロ ニ ジ ン (例 えば、 0 . 1 ~ 0 . 2 m g t i d、 就 寝 前 用 量 を 含 む) ; カ ル バ マ ゼ ピ ン (例 えば、 1 0 0 ~ 1 2 0 0 m g / d を 分 割 し て、 漸 増 用 量) ; ガ バ ペ ン チ ン (例 えば、 3 0 0 ~ 3 6 0 0 m g / d) ; デ ィ ラ ン チ ン (例 えば、 3 0 0 ~ 4 0 0 m g / d) ; ア ミ ト リ プ チ リ ン (例 えば、 2 5 ~ 1 5 0 m g / d) ; バ ク ロ フ ェ ン (例 えば、 1 0 ~ 8 0 m g / d) ; プ リ ミ ド ン (例 えば、 1 2 5 ~ 2 5 0 m g b i d ま た は t i d) ; オ ン ダ ン セ ト ロ ン (例 えば、 4 ~ 8 m g b i d ま た は t i d) ; イ ソ ニ ア ジ ド (例 えば、 1 2 0 0 m g 以 下 を 分 割 し た 用 量 で) ; オ キ シ プ チ ニ ン (例 えば、 5 m g b i d ま た は t i d) ; ト ル テ ロ ジ ン (例 えば、 1 ~ 2 m g b i d) ; プ ロ バ ン テ リ ン (例 えば、 7 . 5 ~ 1 5 m g q i d) ; ベ タ ネ コ ー ル (例 えば、 1 0 ~ 5 0 m g t i d ま た は q i d) ; 塩 酸 テ ラ ゾ シ ン (例 えば、 就 寝 時 に 1 ~ 5 m g) ; ク エ ン 酸 シ ル デ ナ フ ィ ル (例 えば、 5 0 ~ 1 0 0 m g p o p r n) ; ア マ ン タ ジ ン (例 えば、 1 0 0 m g b i d) ; ペ モ リ ン (例 えば、 3 7 . 5 m g b i d) ; 高 用 量 の ビ タ ミ ン ; オ ロ ト 酸 カ ル シ ウ ム ; ガ ン シ ク ロ ビ ル ; 抗 生 物 質 ; な ら び に 血 漿 交 換 を 含 む が こ れ ら に 限 定 さ れ ない M S の 防 止、 処 置、 管 理、 お よ び 寛 解 に 有 用 な 他 の 薬 剤 ま た は 治 療 と 本 開 示 の エ フ ェ ク ター 機 能 を 増 強 し た 抗 I C O S 抗 体 の 予 防 ま た は 治 療 効 果 の あ る 量 と を 組 み 合 わ せ て 投 与 す る。

10

【 0 4 5 2 】

20

特 定 の 実 施 形 態 に お い て、 乾 癬 を 患 っ た 患 者 に、 局 所 ス テロ イ ド ク リ ー ム ま た は 軟 膏 ; タ ー ル (例 ば、 E s t a r、 P s o r i g e l、 F o t o t a r ク リ ー ム、 お よ び N u t r a d e r m ロ ー シ ョ ン の L C D 1 0 % ま た は ト リ ア ム シ ノ ロ ン 0 . 1 % の ク リ ー ム と 直 接 混 合 し た も の を 含 む が こ れ ら に 限 定 さ れ ない) ; 閉 塞 症 ; 局 所 ビ タ ミ ン D 類 似 体 (限 定 さ れ ない 例 は、 カ ル シ ポ ト リ エ ン 軟 膏 で あ る) ; 紫 外 線 ; P U V A (ソ ラ レ ン プ ラ ス 長 波 長 紫 外 線) ; メ ト ト レ キ サ ー ト (例 えば、 1 週 間 に 1 回、 2 5 m g 以 下 ま た は 1 週 間 に 1 回、 3 用 量 を 1 2 時 間 お き に 分 割 し た 用 量 で) ; 合 成 レ チ ノ イ ド (限 定 さ れ ない 例 は、 エ ト レ チ ナ ー ト を 例 えば、 0 . 5 ~ 1 m g / k g / d の 投 与 量 の で) ; 免 疫 調 節 治 療 (限 定 さ れ ない 例 は、 シ ク ロ ス ポ リ ン で あ る) ; ス ル フ ア サ ラ ジ ン (例 えば、 1 日 に 3 回 1 g の 投 与 量 で) を 含 む が こ れ ら に 限 定 さ れ ない 乾 癬 の 防 止、 処 置、 管 理、 お よ び 寛 解 に 有 用 な 他 の 薬 剤 ま た は 治 療 と 本 開 示 の エ フ ェ ク ター 機 能 を 増 強 し た 抗 I C O S 抗 体 の 予 防 ま た は 治 療 効 果 の あ る 量 と を 組 み 合 わ せ て 投 与 す る。

30

【 0 4 5 3 】

特 定 の 実 施 形 態 に お い て、 ク ロ ー ン 病 を 患 っ た 患 者 に、 止 痢 薬 (例 えば、 2 ~ 4 m g 以 下 の ロ ペ ラ ミ ド を 1 日 に 4 回、 ア ト ロ ピ ン を 含 む ジ フ ェ ノ キ シ ラ ー ト 1 錠 剤 を 1 日 に 4 回 まで、 ア ヘ ン の チ ン キ を 8 ~ 1 5 滴、 1 日 に 4 回 まで、 2 ~ 4 g の コ レ ス チ ラ ミ ン ま た は 5 g の コ レ ス チ ポ ー ル を 1 日 1 回 ま た は 2 回)、 鎮 痙 剤 (例 えば、 食 前 に、 プ ロ バ ン テ リ ン 1 5 m g、 ジ サ イ ク ロ ミ ン 1 0 ~ 2 0 m g、 ま た は ヒ ヨ ス チ ア ミ ン 0 . 1 2 5 m g を 投 与)、 5 - ア ミ ノ サ リ チ ル 酸 薬 剤 (例 えば、 1 . 5 ~ 2 g の ス ル フ ア サ ラ ジ ン を 1 日 2 回、 メ サ ラ ミ ン (A S A C O L (商 標)) お よ び そ の 持 続 放 出 製 剤 (P E N T A S A (商 標))、 特 に 高 い 投 与 量 で、 例 えば、 1 g の P E N T A S A (商 標) を 1 日 に 4 回 お よ び 0 . 8 ~ 1 . 2 g の A S A C O L (商 標) を 1 日 に 4 回)、 副 腎 皮 質 ス テロ イ ド 薬、 免 疫 調 節 薬 (例 えば、 ア ザ チ オ プ リ ン (1 ~ 2 m g / k g)、 メ ル カ プ ト プ リ ン (5 0 ~ 1 0 0 m g)、 シ ク ロ ス ポ リ ン、 お よ び メ ト ト レ キ サ ー ト)、 抗 生 物 質、 T N F 抑 制 剤 (例 えば、 イ ン フ リ キ シ マ プ (R E M I C A D E (商 標)))、 免 疫 抑 制 剤 (例 えば、 タ ク ロ リ ム ス、 ミ コ フ ェ ノ ール 酸 モ フ ェ チ ル、 お よ び サ リ ド マ イ ド)、 抗 炎 症 性 サ イ ト カ イ ン (例 えば、 I L - 1 0 お よ び I L - 1 1)、 栄 養 治 療、 成 分 栄 養 を 含 む 経 腸 治 療 (例 えば、 V i v o n e x を 4 週 間)、 お よ び 総 合 的 な 非 経 口 栄 養 を 含 む が こ れ ら に 限 定 さ れ ない ク ロ ー ン 病 の 防 止、 処 置、 管 理、 お よ び 寛 解 に 有 用 な 他 の 薬 剤 ま た は 治 療 と 本 開 示 の エ フ ェ ク ター 機 能 を 増 強 し た 抗 I C O S 抗 体 の 予 防 ま た は 治 療 効 果 の あ る 量 と を 組 み 合 わ せ て 投 与 す

40

50

る。

【0454】

特定の実施形態において、紅斑性狼瘡を患った患者は、（ヒドロキシクロロキンを含むがそれに限定されない）抗マラリア剤；グルココルチコイド（例えば、低用量、高用量、または高用量静脈内パルス療法を使用することができる）；（シクロホスファミド、クロラムブシル、およびアザチオプリンを含むがこれらに限定されない）免疫抑制剤；（メトトレキサートおよびミコフェノール酸モフェチルを含むがこれらに限定されない）細胞傷害性薬物；（ダナゾールを含むがこれに限定されない）アンドロゲンステロイド；（ワルファリンを含むがこれに限定されない）抗凝固剤；ならびにBリンパ球刺激因子抑制剤（例えば、ベリムマブ）を含むがこれらに限定されない紅斑性狼瘡の防止、処置、管理、および寛解に有用な他の薬剤または治療と本開示のエフェクター機能を増強した抗ICOS抗体の予防または治療効果のある量とを組み合わせる。特定の実施形態において、紅斑性狼瘡を患った患者に、本明細書に記載される製剤の予防または治療効果のある量と、ベリムマブとを組み合わせる。

10

【0455】

本開示の抗体製剤または本開示の併用療法を、自己免疫疾患またはその1つ以上の症状を防止する、管理する、治療する、および/または寛解するために、1次、2次、3次、4次、または5次治療として使用することができる。本開示は、他の疾病または疾患に対する治療を受けている患者の自己免疫疾患またはその1つ以上の症状を防止する、治療する、管理する、および/または寛解させる方法も含む。本開示は、本開示の抗体以外の治療に対する任意の有害作用または不耐性が発生する前に、患者の自己免疫疾患またはその1つ以上の症状を防止する、管理する、治療する、および/または寛解させる方法を包含する。本開示は、抵抗性の患者の自己免疫疾患またはその症状を防止する、治療する、管理する、および/または寛解させる方法も包含する。本開示は、本開示の抗体、製剤、または併用療法以外の治療に対する抵抗性を認めた患者の増殖性疾患またはその症状を防止する、治療する、管理する、および/または寛解させるための方法を包含する。かかる状況で、技術で許可された意味の「抵抗性」を使用して、自己免疫疾患の処置の効果をアッセイするために、患者が抵抗性か否かの判断を、当該技術において知られている任意の方法によってインビボまたはインビトロで行うことができる。ある実施形態において、自己免疫疾患の1つ以上の症状が、防止されず、管理されず、および/または軽減されない場合、自己免疫疾患を患った患者は、治療に対して抵抗性を持つ。本開示は、従来の治療に対する有害反応に影響されやすい患者の自己免疫疾患またはその症状を防止する、管理する、治療する、および/または寛解させる方法も包含する。

20

30

【0456】

本開示は、他の従来の治療の代わりとして、自己免疫疾患またはその1つ以上の症状を防止する、治療する、管理する、および/または寛解させるための方法を包含する。特定の実施形態において、本開示の方法と一致して管理されるまたは治療される患者は、他の治療に対して抵抗性がある、またはかかる治療からの有害反応に影響されやすい。患者は、免疫系抑制を持つ人（例えば、術後患者、化学療法患者、および免疫不全疾病を患った患者、気管支肺異形成症を患った患者、先天性心疾患を患った患者、嚢胞性線維症を患った患者、後天性または先天性心疾患を患った患者、および感染を受けた患者）、腎機能障害または肝機能障害を患った人、高齢者、小児、乳児、未熟児、精神神経疾患を患った人、もしくは向精神薬を服用する人、発作歴のある人、または、自己免疫病もしくは疾患を防止する、管理する、治療する、または寛解するために使用する従来の薬剤と逆相互作用する可能性のある薬物を服用している人であることができる。

40

【0457】

自己免疫治療およびそれらの投与量、投与の経路、および推奨用法は、当該技術において知られており、Physician's Desk Reference (61th ed., 2007)等の文献に記載される。

【0458】

50

5.33.3. 自己免疫病または疾患の診断

自己免疫病または疾患の診断は、自己免疫病または疾患のそれぞれのタイプが患者間で異なって現れるため、複雑である。症状のこの不均一性は、臨床的な診断に達するために、複数の要因を典型的に使用することを意味する。一般的に、臨床医は、限定されないが、自己免疫病または疾患の一次指標として自己抗体の存在、上昇したサイトカインレベル、特異的な臓器の機能障害、皮疹、関節腫脹、痛み、骨リモデリング、および/または動作の減少等の要因を使用する。RAおよびSLE等ある自己免疫病または疾患に対して、診断の基準は、当該技術において知られている。ある自己免疫病または疾患に対して、疾病の段階は、特徴付けられており、当該技術においてよく知られている。自己免疫病および疾患、ならびに疾病の段階および活性の規模および/または当該技術においてよく知られている疾病の重症度を診断するためのこれらの技術に認められた方法を、本開示の製剤および方法を使用して自己免疫病または疾患の処置を必要とする患者および患者の集団を確認するために使用することができる。

10

【0459】

5.33.4. 自己免疫病または疾患を診断するための臨床的な基準

異なる自己免疫病または疾患の診断基準は、当該技術において知られている。歴史的に、診断は、典型的に物理的な症状の組み合わせを基にしている。最近では、遺伝子発現プロファイリング等の分子技法は、自己免疫病または疾患の分子定義を開発するために、適用されている。特定の自己免疫病または疾患の臨床的な診断に対する代表的な方法を以下に提供する。他の適切な方法は、当業者に対して明白であろう。

20

【0460】

ある実施形態において、(段階が認められている疾病に対して)低レベルの自己免疫病活性を持つ患者または自己免疫病の初期段階である患者を、抗ICOS抗体製剤および方法を使用する処置に対して確認することができる。自己免疫病は、全身的な症状であり、疾病間で症状が重なることから、その初期診断は困難である。かかる実施形態において、初期段階で治療されたまたは自己免疫病活性のレベルの低い患者は、自己免疫病または疾患の少なくとも1つの症状を含む症状を有する。関連した実施形態において、初期段階で治療されたまたは自己免疫病のレベルの低い患者は、自己免疫病または疾患の少なくとも1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、または15症状を含む症状を有する。症状は、任意の自己免疫病および疾患またはその組み合わせであることができる。自己免疫病および疾患の症状の例を、以下に記載する。

30

【0461】

5.34. 免疫療法のプロトコール

「抗ICOS免疫療法」として本明細書で称される治療療法/プロトコールで使用する抗ICOS抗体製剤は、裸抗体、免疫複合体、および/または融合タンパク質であることができる。本開示の製剤を、単一薬剤治療としてまたは他の治療剤または療法と組み合わせて使用することができる。抗ICOS抗体または免疫複合体を、1つ以上の治療剤の投与の前に、それと同時に、またはその後に投与することができる。本開示の製剤を用いた併用療法で使用することができる治療剤は、細胞の機能を抑制するまたは防止するおよび/または細胞の破壊を生じる任意の物質を含む。例は、放射性同位体、化学療法剤、および細菌、真菌、植物、もしくは動物起源の酵素的に活発な毒素等の毒素またはその断片を含むがこれらに限定されない。

40

【0462】

本明細書に記載される治療療法、または任意の所望の処置療法によって、天然ICOS抗原の代わりにヒトICOS抗原を発現する遺伝子導入動物モデルを使用して、有効性について試験することができる。したがって、抗ICOS抗体の処置療法によって、ヒトに投与する前に、有効性を測定するために、動物モデルに対して試験することができる。

【0463】

5.35. 抗ICOSの免疫療法

本開示と一致して「抗ICOS免疫療法」は、本明細書に記載される任意の治療療法と

50

一致する本開示の抗ICOS抗体のいずれかの投与を包含する。抗ICOS抗体を、裸抗体、または免疫複合体または融合タンパク質として投与することができる。一実施形態において、T細胞媒介疾病または疾患を有するヒト対象を、ヒトADCCを媒介することが可能な抗ICOS抗体を投与することによって治療することができる。

【0464】

IgG1またはIgG3のヒトアイソタイプの抗体は、場合によっては治療にとって好ましい。しかし、関連するエフェクター機能、例えばヒトADCCを有することを前提として、IgG2またはIgG4のヒトアイソタイプを、使用することもできる。インビトロまたはインビボのエフェクター細胞によって標的細胞の溶解を媒介するために、問題となっている抗体の能力を測定することによって、かかるエフェクター機能を、査定するこ

10

【0465】

一実施形態において、使用する抗体の用量は、循環するICOSを発現するT細胞を枯渇させるために十分であるべきである。治療の進展を、血液試料を分析することによって、患者で監視することができる。臨床的な改善の他の兆候を、治療を監視するために使用することができる。

【0466】

本開示の製剤および方法と関連して使用することができるICOSを発現するT細胞の枯渇を計る方法は、当該技術においてよく知られており、以下の実施形態を含むがそれに限定されない。一実施形態において、循環するICOSを発現するT細胞の枯渇を、ICOSを発現するT細胞の量を定めるために、ICOSを発現するT細胞と結合する抗ICOS抗体以外の試薬を使用してフローサイトメトリーを用いて測定することができる。別の実施形態において、ICOSを発現するT細胞の枯渇を、ICOSを発現するT細胞を同定するために、免疫化学的な染色をすることによって測定することができる。かかる実施形態において、ICOSを発現するT細胞、または患者から抽出されたICOSを発現するT細胞を含む組織もしくは血清を、顕微鏡のスライドに配置し、標識し、存在または不在に対して検査することができる。関連した実施形態において、ICOSを発現するT細胞の存在の相違を測定するために、治療前と治療後に抽出したICOSを発現するT細胞間で比較することができる。

20

【0467】

抗ICOS抗体が単一薬剤治療として投与された場合の本開示の実施形態において、本開示は、異なる処置療法の使用を検討する。

30

【0468】

本開示のある態様によると、本開示の製剤および方法で使用する抗ICOS抗体は、裸抗体である。関連した実施形態において、使用される裸抗ICOS抗体の用量は、患者の体重に対して少なくとも約0.1、0.2、0.3、0.4、0.5、0.6、0.7、0.8、0.9、1、1.5、2、2.5、3、3.5、4、4.5、5、5.5、6、6.5、7、7.5、8、8.5、9、9.5、10、10.5、11、11.5、12、12.5、13、13.5、14、14.5、15、15.5、16、16.5、17、17.5、18、18.5、19、19.5、20、20.5 mg/kgである。ある実施形態において、使用される裸抗ICOS抗体の用量は、患者の体重に対して少なくとも約1~10、5~15、10~20、または15~25 mg/kgである。ある実施形態において、使用する裸抗ICOS抗体の用量は、患者の体重に対して少なくとも約1~20、3~15、または5~10 mg/kgである。他の実施形態において、使用する裸抗ICOS抗体の用量は、患者の体重に対して少なくとも約5、6、7、8、9、または10 mg/kgである。

40

【0469】

ある実施形態において、用量は、約1、2、3、4、5、6、7、または8週間連続で、1週間に1回投与する約375 mg/m²の抗ICOS抗体を含む。ある実施形態において、用量は、約1、2、3、4、5、6、7、または8週間連続で、1週間に1回投与

50

する患者の体重に対して少なくとも約1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、または15 mg/kgである。

【0470】

上記の抗ICOS抗体の代表的な用量を、本明細書に記載される通りに投与することができる。一実施形態において、上記の用量は、単一の用量の注入である。他の実施形態において、用量を、一定期間にわたって投与する。他の実施形態において、用量を一定期間にわたって複数回投与する。期間を、日、週、月で計ることができる。抗ICOS抗体の複数の用量を、有毒な副作用とバランスを取りながら、治療効果を達成するために適した間隔で投与することができる。例えば、複数の用量が使用される場合、抗体を用いた反復処置の前に、患者の単球数の回復を可能にするために、間隔を調節することが好ましくあり得る。単球集団は、患者のADCC機能を反映するため、この投与計画は処置の効率を最適化するであろう。

10

【0471】

ある実施形態において、患者が治療に応答性である限り、本開示の製剤をヒト患者に投与する。他の実施形態において、患者の疾病が進行しない限り、本開示の製剤を、ヒト患者に投与する。関連した実施形態において、本開示の製剤を、患者の疾病が進行しない、または一定期間進行しなくなるまで、ヒト患者に投与し、疾病が再発、または進行が再開しない限り、患者に本開示の製剤を投与しない。疾病の進行が止まるまたは逆転する場合、患者は、患者に再発する、すなわち治療している疾病が再発または進行するまで、本開示の製剤を投与しないであろう。この再発または進行の際、患者を初回に使用した同じ投与計画を用いて、または上記の他の用量を使用して再度治療することができる。

20

【0472】

ある実施形態において、本開示の製剤を、負荷投与量として、その後一定期間、複数の低用量（維持量）で投与することができる。かかる実施形態において、効果的なICOSを発現するT細胞の枯渇を維持するために、用量を、時間を計り、量を調節することができる。ある実施形態において、負荷投与量は、患者の体重に対して約10、11、12、13、14、15、16、17、または18 mg/kgであり、維持量は、患者の体重に対して少なくとも約5~10 mg/kgである。他の実施形態において、維持量を7、10、14、または21日おきの間隔で投与する。

【0473】

本開示の抗体組成物を、全身性エリテマトーデス（SLE）、多発性硬化症（MS）、炎症性腸疾患（クローン病、潰瘍性大腸炎およびセリアック病を含むIBD）、インスリン依存性糖尿病（IDDM）、乾癬、自己免疫性甲状腺炎、関節リウマチ（RA）、および糸球体腎炎等の、自己免疫病の処置に使用することができる。さらに、本開示の抗体組成物を、移植拒絶反応を抑制もしくは防止するために、または移植片対宿主病（GVHD）の処置をするために使用することができる。

30

【0474】

本開示の液体製剤を治療として、体内に局所的または全身的に使用することができる。本開示の製剤を、1つ以上の他の治療（例えば、1つ以上の他の予防または治療剤）と組み合わせることもできる。1つ以上の他の治療（例えば、予防または治療剤）が使用される場合、それらを、任意の適切な形状で、および任意の適切な経路で、別々に投与することができる。治療または予防剤は、小分子、合成薬、ペプチド、ポリペプチド、タンパク質、核酸（例えば、これらに限定されないが、アンチセンスヌクレオチド配列、三重らせん体、RNAi、および生物活性タンパク質、ポリペプチド、またはペプチドをコードするヌクレオチド配列を含むがこれらに限定されないDNAおよびRNAヌクレオチド）、抗体、合成または天然の無機分子、模倣剤、および合成または天然の有機分子を含むがこれらに限定されない。

40

【0475】

ICOSの異常発現および/または活性と付随したまたはそれらを特徴とする疾病または疾患、ICOS受容体または1つ以上のそのサブユニットの異常発現および/または活

50

性と付随したまたはそれらを特徴とする疾病または疾患、自己免疫病、移植拒絶反応、移植片対宿主病と付随した1つ以上の症状の防止、処置および/または管理のために、有用であることが知られている、または使用されている、または現在使用されている任意の治療（例えば、予防または治療剤）を、本明細書に記載される本開示と一致して本開示の液体抗体製剤と組み合わせて使用することができる。例えば、治療、特に、ICOSの異常発現および/または活性と付随したまたはそれらを特徴とする疾病または疾患、ICOS受容体またはその1つ以上のサブユニットの異常発現および/または活性と付随したまたはそれを特徴とする疾病または疾患、自己免疫病、炎症性疾患、またはそれらの1つ以上の症状を防止する、治療するおよび/または管理するために使用されてきた、または現在使用されている予防または治療剤に関する情報について、Gilman et al., Goodman and Gilman's: The Pharmacological Basis of Therapeutics, Tenth Ed., McGraw-Hill, New York, 2001, The Merck Manual of Diagnosis and Therapy, Berkow, M.D. et al. (eds.), 17th Ed., Merck Sharp & Dohme Research Laboratories, Rahway, NJ, 1999, および Cecil Textbook of Medicine, 20th Ed., Bennett and Plum (eds.), W.B. Saunders, Philadelphia, 1996を参照されたい。予防および治療剤の例は、免疫調節剤、抗炎症剤（例えば、限定されないが、アドレノコルチコイド、副腎皮質ステロイド薬（例えば、限定されないが、ベクロメタゾン、ブデソニド、フルニソリド、フルチカゾン、トリアムシノロン、メチルプレドニゾロン、プレドニゾロン、プレドニゾン、ヒドロコルチゾン）、グルココルチコイド、ステロイド、非ステロイド性抗炎症性薬（例えば、限定されないが、アスピリン、イブプロフェン、ジクロフェナク、およびCOX-2抑制剤）、およびロイコトリエン拮抗薬（例えば、限定されないが、モンテルカスト、メチルキササンチン、ザフィルルカスト、およびジロートン）、ベータ2-刺激薬（例えば、限定されないがアルブテロール、ピテロール（biterol）、フェノテロール、イソエタリン、メタプロテレノール、ピルブテロール、サルブタモール、テルブタリンホルモテロール、サルメテロール、およびサルブタモールテルブタリン）、抗コリン剤（例えば、限定されないが臭化イプラトロピウムおよび臭化オキシトロピウム）、スルファサラジン、ペニシラミン、ダプソン、抗ヒスタミン、抗マラリア剤（例えば、限定されないが、ヒドロキシクロロキン）、抗ウイルス剤、ならびに抗生物質（例えば、限定されないが、ダクチノマイシン（以前はアクチノマイシン）、プレオマイシン、エリスロマイシン、ペニシリン、ミトラマイシン、およびアントラマイシン（AMC））を含むがこれらに限定されない。

【0476】

本開示の液体製剤を、1つ以上の他の治療（例えば、1つ以上の他の予防または治療剤）と同時にヒトに投与することができる。「同時に」という用語は、全く同じ時に、予防または治療剤/治療を投与することに限定されないが、むしろ本開示の液体製剤および他の薬剤/治療が、液体製剤に含有されるICOSと特異的に結合する抗体（その抗体断片を含む）が、別の方法で投与された場合よりも増加する利益を提供するために、他の薬剤/治療と共に作用するように、連続でおよび時間間隔内で、哺乳類に投与されることを意味する。

【0477】

各種の実施形態において、本開示の液体製剤および1つ以上の他の治療（例えば、1つ以上の他の予防または治療剤）を、1時間未満空けて、約1時間空けて、約1時間～約2時間空けて、約2時間～約3時間空けて、約3時間～約4時間空けて、約4時間～約5時間空けて、約5時間～約6時間空けて、約6時間～約7時間空けて、約7時間～約8時間空けて、約8時間～約9時間空けて、約9時間～約10時間空けて、約10時間～約11時間空けて、約11時間～約12時間空けて、24時間以下空けて、または48時間以下空けて、投与する。特定の実施形態において、本開示の液体製剤および1つ以上の他の治

10

20

30

40

50

療を、同じ患者の来診内で投与する。他の実施形態において、本開示の液体製剤および1つ以上の他の治療を、約2～4日空けて、約4～6日空けて、約1週間空けて、約1～2週間空けて、または2週間を超える期間空けて、投与する。特定の実施形態において、本開示の液体製剤および1つ以上の他の治療を、両方の薬剤がまだ活発である時間枠で投与する。当業者は、投与した薬剤の半減期を測定することによって、かかる時間枠を決定することができるであろう。

【0478】

ある実施形態において、本開示の液体製剤および1つ以上の他の治療（例えば、1つ以上の他の予防または治療剤）を、対象へ周期的に投与する。サイクリング治療は、一定期間、第1の薬剤の投与、その後一定期間、第2の薬剤および/または第3の薬剤の投与、およびこの順次的な投与の繰り返しを含む。サイクリング治療は、1つ以上の治療に対する耐性の発達を減少する、1つの治療の副作用を回避するまたは減少する、および/または処置の有効性を改善することができる。

10

【0479】

他の実施形態において、本開示の液体製剤および1つ以上の他の治療（例えば、予防または治療剤）を、長い休息期間なしで、連続的な注入または高頻度の投与のいずれかによって、メトロノミック投与計画で投与する。かかるメトロノミック投与は、休息期間なしに、一定間隔で投薬することを含む。典型的に、予防または治療剤、特に細胞傷害性薬物を低用量で使用する。かかる投与計画は、長期間、比較的低い用量の慢性的な連日投与を包含する。特定の実施形態において、低用量の使用は、有毒な副作用を最小化し、休息期間を除去することができる。ある実施形態において、予防および治療剤を、約24時間～約2日、～約1週間、～約2週間、～約3週間、～約1ヶ月、～約2ヶ月、～約3ヶ月、～約4ヶ月、～約5ヶ月、～約6ヶ月の範囲で、慢性的に低用量または継続注入によって送達する。

20

【0480】

一実施形態において、本開示の液体製剤を、ICOSを発現する細胞の枯渇を維持する、所望のレベル（例えば、約0.1～約100 $\mu\text{g}/\text{mL}$ ）でICOSに対して特異的である抗体（その抗体断片を含む）の血漿濃度を維持する投与計画で、投与する。特定の実施形態において、抗体（その抗体断片を含む）の血漿濃度を、0.001 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 、0.005 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 、0.01 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 、0.05 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 、0.1 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 、0.2 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 、0.5 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 、1 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 、2 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 、3 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 、4 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 、5 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 、6 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 、7 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 、8 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 、9 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 、10 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 、15 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 、20 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 、25 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 、30 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 、35 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 、40 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 、45 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 、または50 $\mu\text{g}/\text{mL}$ で維持する。対象の望ましい血漿濃度は、疾病または疾患の本質、疾病または疾患の重症度、および対象の状態を含むがこれらに限定されないいくつかの要因次第で変化するであろう。かかる投与計画は、慢性疾患または疾患の防止、処置、および/または管理において、特に有益である。

30

【0481】

一実施形態において、ICOSを発現する細胞の少なくとも40%、少なくとも50%、少なくとも55%、少なくとも60%、少なくとも65%、少なくとも70%、少なくとも75%、少なくとも80%、少なくとも85%、少なくとも90%、または少なくとも95%の枯渇を維持するレベルのICOSと特異的に結合する抗体（その抗体断片を含む）の血漿濃度を維持する投与計画を使用して、ICOSの異常発現および/または活性と付随したまたはそれを特徴とする疾病または疾患、ICOS受容体または1つ以上のそのサブユニットの異常発現および/または活性と付随したまたはそれを特徴とする疾病または疾患、自己免疫病、悪性の疾病、移植拒絶反応、移植片対宿主病、またはその1つ以上の症状を患った対象に、本開示の液体製剤を、投与する。特定の実施形態において、ICOSと特異的に結合する抗体（その抗体断片を含む）の血漿濃度を、ICOSの異常発現および/または活性と付随したまたはそれを特徴とする疾病または疾患、ICOS受容

40

50

体またはその1つ以上のサブユニットの異常発現および/または活性と付随したまたはそれを特徴とする疾病または疾患、自己免疫病、悪性度、移植拒絶反応、移植片対宿主病、またはその1つ以上の症状を患った対象において約0.001 $\mu\text{g}/\text{mL}$ ～約100 $\mu\text{g}/\text{mL}$ で維持する。

【0482】

いくつかの実施形態において、本開示の液体製剤を間欠的に対象に投与し、液体製剤は、部分と共役した抗体（その抗体断片を含む）を含む。

【0483】

他の治療（例えば、予防および/または治療剤）と組み合わせて使用した場合、本開示の液体製剤および他の治療によって、相加的にまたは相乗的に作用することができる。本開示は、本開示の液体製剤の投与と、投与の同じまたは異なる経路、例えば、限定されないが経口および非経口で、他の治療（例えば、予防または治療剤）と組み合わせて検討する。ある実施形態において、本開示の液体製剤を（毒性を含むがこれに限定されない）有害な副作用を潜在的に産生する1つ以上の治療（例えば、予防または治療剤）と同時に投与する場合、治療（例えば、予防または治療剤）は、有害な副作用を誘発する許容限界以下の用量で有利に投与することができる。

【0484】

5.36. 化学療法剤との組み合わせ

（裸抗体、免疫複合体、または融合タンパク質を使用して）抗ICOS免疫療法は、化学療法、放射免疫療法（RIT）、化学療法、および外部ビーム放射線（集学的療法、CMT）、または併用放射免疫療法（CMRIT）のみもしくは組み合わせ等を含むがこれらに限定されない他の治療と組み合わせて使用することができる。ある実施形態において、本開示の抗ICOS抗体治療を、CHOP（シクロホスファミド - ヒドロキシドキシソルピシン - オンコピン（ピンクリスチン） - プレドニゾロン）と組み合わせて投与することができる。本明細書で使用される、「と組み合わせて投与する」という用語は、抗ICOS免疫療法を、利用する他の治療の前、その間、またはその後投与することができることを意味する。

【0485】

ある実施形態において、抗ICOS免疫療法は、細胞傷害性放射性核種または放射線治療の同位体と組み合わせる。例えば、 ^{225}Ac 、 ^{224}Ac 、 ^{211}At 、 ^{212}Bi 、 ^{213}Bi 、 ^{212}Pb 、 ^{224}Ra 、または ^{223}Ra 等のアルファ発光同位体。細胞傷害性の放射性核種は、 ^{186}Re 、 ^{188}Re 、 ^{90}Y 、 ^{131}I 、 ^{67}Cu 、 ^{177}Lu 、 ^{153}Sm 、 ^{166}Ho 、または ^{64}Cu 等のベータ発光同位体であることもできる。さらに、細胞傷害性の放射性核種は、オージェおよび低エネルギー電子を発光し、同位体 ^{125}I 、 ^{123}I 、または ^{77}Br を含むことができる。他の実施形態において、同位体は、 ^{198}Au 、 ^{32}P 、等であることができる。ある実施形態において、対象に投与した放射性核種の量は、約0.001 mCi/kg ～約10 mCi/kg の間である。

【0486】

いくつかの実施形態において、対象に投与した放射性核種の量は、約0.1 mCi/kg ～約1.0 mCi/kg である。他の実施形態において、対象に投与した放射性核種の量は、約0.005 mCi/kg ～0.1 mCi/kg の間である。

【0487】

ある実施形態において、抗ICOS免疫療法は、化学的な毒素または化学療法剤を組み合わせる。化学的な毒素または化学療法剤を、カリチアマイシンおよびエスペラミン等のエンジン、デュオカルマイシン、メトトレキサート、ドキシソルピシン、メルファラン、クロラムブシル、ARA-C、ピンデシン、マイトマイシンC、シスプラチン、エトポシド、プレオマイシン、ならびに5-フルオロウラシルからなる群から選択することができる。

【0488】

10

20

30

40

50

抗ICOS免疫療法を含む併用療法で使用することができる適切な化学的な毒素または化学療法剤は、カリチアマイシンおよびエスペラミシン等の分子のエンジンファミリーのメンバーを含む。化学的な毒素は、デュオカルマイシン（例えば、米国特許第5,703,080号、および米国特許第4,923,990号を参照）、メトトレキサート、ドキシソルピシン、メルファラン、クロラムブシル、ARA-C、ビンデシン、マイトマイシンC、シスプラチン、エトポシド、ブレオマイシン、および5-フルオロウラシルからなる群からも取ることができる。化学療法剤の例は、アドリアマイシン、ドキシソルピシン、5-フルオロウラシル、シトシンアラビノシド（「Ara-C」）、シクロホスファミド、チオテパ、タキソテル（ドセタキセル）、プスルファン、サイトキシン、タキソール、メトトレキサート、シスプラチン、メルファラン、ピンブラスチン、ブレオマイシン、エトポシド、イホスファミド、マイトマイシンC、ミトキサントロン、ピンクリスチン、ピノレルピン、カルボプラチン、テニポシド、ダウノマイシン、カルミノマイシン、アミノプテリン、ダクチノマイシン、マイトマイシン、エスペラミシン、（米国特許第4,675,187号を参照）、メルファラン、および他の関係するナイトロジェンマスタードも、含む。

10

【0489】

他の実施形態において、例えば、「CVB」（1.5g/m²シクロホスファミド、200-400mg/m²エトポシド、および150-200mg/m²カルムスチン）を本開示の併用療法で使用することができる。CVBは、非ホジキンリンパ腫を治療するために、使用する療法である。Patti et al., Eur. J. Haematol. 51:18 (1993)。他の適切な組み合わせの化学療法計画は、当業者によく知られている。例えば、Freedman et al., "Non-Hodgkin's Lymphomas," in CANCER MEDICINE, VOLUME 2, 3rd Edition, Holland et al. (eds.), pp. 2028-2068 (Lea & Febiger 1993)を参照されたい。説明として、中間のグレードの非ホジキンリンパ腫の処置に対する第一世代の化学療法計画は、C-MOPP（シクロホスファミド、ピンクリスチン、プロカルバジン、およびプレドニゾン）およびCHOP（シクロホスファミド、ドキシソルピシン、ピンクリスチン、およびプレドニゾン）を含む。有用な第二世代の化学療法計画は、m-BACOD（メトトレキサート、ブレオマイシン、ドキシソルピシン、シクロホスファミド、ピンクリスチン、デキサメタゾン、およびロイコボリン）であるが、適した第三世代の療法は、MACOP-B（メトトレキサート、ドキシソルピシン、シクロホスファミド、ピンクリスチン、プレドニゾン、ブレオマイシン、およびロイコボリン）である。追加の有用な薬物は、フェニル酪酸およびブロスタチン-1（brotatin-1）を含む。集学的治療で、化学療法薬およびサイトカインの両方を、本開示に従って抗体、免疫複合体、または融合タンパク質と同時投与する。サイトカイン、化学療法薬、および抗体、免疫複合体、または融合タンパク質を、任意の順番で、または同時に投与することができる。

20

30

【0490】

本開示の製剤および方法で使用することができる他の毒素は、有毒なレクチン、リシン、アブリン、モデシン、ボツリヌスおよびジフテリア毒素等の植物毒素を含む。もちろん、様々な毒素の組み合わせは、1つの抗体分子とカップリングされることができ、それによって、様々な細胞傷害性を適応させる。本発明の併用療法において適切に利用された毒素の実例は、リシン、アブリン、リボヌクレアーゼ、デオキシリボヌクレアーゼI、ブドウ球菌エンテロトキシンA、ヤマゴボウ抗ウイルスタンパク質、ゲロニン、ジフテリア毒素、緑膿菌外毒素、およびシュードモナスエンドトキシンである。例えばPastan et al., Cell, 47:641 (1986)、およびGoldenberg et al., Cancer Journal for Clinicians, 44:43 (1994)を参照されたい。使用することができる酵素的に活発な毒素およびその断片は、ジフテリアA鎖、ジフテリア毒素の非結合活性断片、外毒素A鎖（緑膿菌から）、リシンA鎖、アブリンA鎖、モデシンA鎖、サルシン、シナアブラギリタンパク質、ジ

40

50

アンチタンパク質、ヨウシュヤマゴボウタンパク質 (P A P I、P A P I I、および P A P - S)、ニガウリ阻害剤、クルシン、クロチン、サボンソウ阻害剤、ゲロニン、ミトゲリン、レストリクトシン、フェノマイシン、エノマイシン、およびトリコテシンを含む。例えば、1993年、10月28日に公開されたWO第93/21232号を参照されたい。

【0491】

適切な毒素および化学療法剤は、REMINGTON'S PHARMACEUTICAL SCIENCES, 19th Ed. (Mack Publishing Co. 1995)、およびGOODMAN AND GILMAN'S THE PHARMACOLOGICAL BASIS OF THERAPEUTICS, 7th Ed. (MacMillan Publishing Co. 1985)に記載される。他の適切な毒素および/または化学療法剤は、当業者に知られている。

10

【0492】

本開示の抗ICOS免疫療法は、プロドラッグ(例えば、ペプチジル化学療法剤、WO第81/01145号を参照)を活発な抗癌剤へ変換するプロドラッグを活性化する酵素とも組合すことができる。例えば、WO第88/07378号および米国特許第4,975,278号を参照されたい。かかる組み合わせの酵素の成分は、より活発な、細胞傷害性の形状に、変換するようにプロドラッグに働くことができる任意の酵素を含む。本出願で使用する「プロドラッグ」という用語は、親薬物と比較して、腫瘍細胞に対してよりも低い細胞傷害性であり、酵素的に活性化することが可能である、またはより活発な親の形態へ変換される薬学的に活発な物質の前駆物質または誘導体の形態を指す。例えば、Wilman, "Prodrugs in Cancer Chemotherapy" Biochemical Society Transactions, 14, pp. 375-382, 615th Meeting Belfast (1986)およびStella et al., "Prodrugs: A Chemical Approach to Targeted Drug Delivery," Directed Drug Delivery, Borchardt et al. (ed.), pp. 247-267, Humana Press (1985)を参照されたい。抗ICOS抗体と組み合わせ使用することができるプロドラッグは、リン酸を含有するプロドラッグ、チオリン酸を含有するプロドラッグ、硫酸を含有するプロドラッグ、ペプチドを含有するプロドラッグ、D-アミノ酸修飾プロドラッグ、グリコシル化したプロドラッグ、 β -ラクタムを含有するプロドラッグ、随意に置換されるフェノキシアセトアミドを含有するプロドラッグまたは随意に置換されるフェニルアセトアミドを含有するプロドラッグ、より活発な細胞傷害性の遊離薬物に変換することができる5-フルオロシトシンおよび他の5-フルオロウリジンプロドラッグを含むがこれらに限定されない。本開示の使用のためにプロドラッグの形態に誘導体化することができる細胞傷害性薬の例は、上記の化学療法剤を含むがこれらに限定されない。

20

30

【0493】

ある実施形態において、本開示の製剤および方法の投与は、中毒治療の延期を可能にでき、不必要な副作用および化学療法に付随した合併症の危険性を回避することおよび化学療法に対する耐性の発達を遅延することを援助することができる。ある実施形態において、中毒治療および/または中毒治療に対する耐性は、本開示の製剤および方法を投与された患者で遅延し、約6ヶ月、1、2、3、4、5、6、7、8、9、または10年間までの間遅延する。

40

【0494】

5.37. 治療抗体との組み合わせ

本明細書に記載される抗ICOS免疫療法を、抗CD19mAb、抗CD52mAb、抗CD22抗体、およびRITUXAN(商標)(C2B8; RITUXIMAB(商標)); IDEC Pharmaceuticals)等の抗CD20抗体を含むがこれらに限定されない他の抗体と組み合わせ投与することができる。本開示の抗体と組み合わせ

50

てまたは本開示の製剤で使用することができる治療抗体の他の例は、HERCEPTIN (商標) (トラスツズマブ; Genentech)、MYLOTARG (商標) (ゲムツズマブオゾガマイシン; Wyeth Pharmaceuticals)、CAMPATH (商標) (アレムツズマブ; Berlex)、ZEVALLIN (商標) (イブリツモマブチウキセタン; Biogen Idec)、BEXXAR (商標) (トシツモマブ; GlaxoSmithKline Corixa)、ERBITUX (商標) (セツキシマブ; Imclone)、およびAVASTIN (商標) (ペバシズマブ; Genentech) を含むがこれらに限定されない。

【0495】

5.38. 単球またはマクロファージ機能を増強する併用化合物

本開示の方法のある実施形態において、単球またはマクロファージ機能を増強する化合物 (例えば、少なくとも約25%、50%、75%、85%、90%、95%以上) を、抗ICOS免疫療法と組み合わせて使用することができる。かかる化合物は、当該技術において知られており、限定なしに、インターロイキン (例えば、IL-12) 等のサイトカイン、およびインターフェロン (例えば、アルファまたはガンマインターフェロン) を含む。

【0496】

単球またはマクロファージ機能または増強を増強する化合物を、抗体、免疫複合体、または抗原結合断片として、同じ薬学的な製剤に処方することができる。別々に投与した際、抗体/断片および化合物を、同時に (互いの数時間の期間内で) 投与することができる、一連の同じ治療の過程で投与することができる、または連続的に投与することができる (すなわち、患者が先ず、一連の抗体/断片の処置を受け、次にマクロファージ/単球機能を増強する化合物を受ける、またはその反対)。かかる実施形態において、単球またはマクロファージ機能を増強する化合物を、他の治療法および/または本開示の製剤を用いた処置の前に、同時にまたはその後、ヒト対象へ投与する。一実施形態において、ヒト対象は、ヒトの正常範囲内である血液白血球、単球、好中球、リンパ球、および/または好塩基球数を有する。ヒト血液白血球 (総数) の正常範囲は、約3.5~約10.5 ($10^9/L$) である。ヒト血液好中球の正常範囲は、約1.7~約7.0 ($10^9/L$) であり、単球は約0.3~約0.9 ($10^9/L$) であり、リンパ球は約0.9~約2.9 ($10^9/L$) であり、好塩基球は約0~約0.3 ($10^9/L$) であり、好酸球は約0.05~約0.5 ($10^9/L$) である。他の実施形態において、ヒト対象は、ヒトの正常範囲未満、例えば少なくとも約0.01、0.05、0.1、0.2、0.3、0.4、0.5、0.6、0.7、または0.8 ($10^9/L$) 白血球である血液白血球数を有する。

【0497】

5.39. 免疫調節剤との組み合わせ

本開示の抗ICOS免疫療法は、免疫調節剤と組み合わせることもできる。併用療法に対して本明細書で使用する「免疫調節剤」という用語は、宿主の免疫系を抑制する、遮蔽する、または増強するために作用する物質を指す。

【0498】

免疫調節剤の例は、サイトカイン、ペプチド擬似体、および抗体 (例えば、ヒト、ヒト化、キメラ、モノクローナル、ポリクローナル、Fv、ScFv、Fab、またはFab₂断片、またはエピトープ結合断片) 等のタンパク質剤、核酸分子 (例えば、アンチセンス核酸分子、RNAiおよび三重らせん体)、小分子、有機化合物、および無機化合物を含むがこれらに限定されない。特に、免疫調節剤は、メトトレキサート、レフルノミド、シクロホスファミド、シトキサン、イムラン、シクロスポリンA、ミノサイクリン、アザチオプリン、抗生物質 (例えば、FK506 (タクロリムス))、メチルプレドニゾン (MP)、副腎皮質ステロイド薬、ステロイド剤、ミコフェノール酸モフェチル、ラパマイシン (シロリムス)、ミゾリピン、デオキシスパガリン、プレキナル、マロノニトリロアミンド (malononitriloamide) (例えば、レフルノミド)、

10

20

30

40

50

T細胞受容体モジュレーター、ならびにサイトカイン受容体モジュレーターを含むがこれらに限定されない。免疫抑制剤の例は、ミコフェノール酸モフェチル(CELLCEPT(商標))、D-ペニシラミン(CUPRIMINE(商標)、DEPEN(商標))、メトトレキサート(RHEUMATREX(商標)、TREXALL(商標))、およびヒドロキシクロロキン硫酸(PLAQUENIL(商標))を含むがこれらに限定されない。

【0499】

免疫調節剤は、サイトカイン産生を抑制する、自己抗原発現を下方制御するもしくは抑制する、またはMHC抗原を遮蔽する物質も含むであろう。かかる薬剤の例は、2-アミノ-6-アリール-5-修飾ピリミジン(米国特許第4,665,077号を参照)、アザチオプリン(またはアザチオプリンに対して有害反応がある場合、シクロホスファミド);プロモクリプチン;(米国特許第4,120,649号に記載される通りMHC抗原を遮蔽する)グルタルアルデヒド;MHC抗原およびMHC断片のための抗イディオタイプ抗体;シクロスポリンA;糖質コルチコステロイド等のステロイド、例えば、プレドニゾン、メチルプレドニゾン、およびデキサメタゾン;抗インターフェロン-ガンマ、-ベータ、または-アルファ抗体を含むサイトカインまたはサイトカイン受容体拮抗薬;抗腫瘍壊死因子-アルファ抗体;抗腫瘍壊死因子-ベータ抗体;抗インターロイキン-2抗体および抗IL-2受容体抗体;抗L3T4抗体;異種性抗リンパ球グロブリン;p an-T抗体、好ましくは抗CD3または抗CD4/CD4a抗体;LFA-3結合ドメインを含有する可溶性ペプチド(1990年7月26日に公開されたWO第90/08187号);ストレプトキナーゼ;TGF-β;ストレプトドルナーゼ;宿主からのRNAまたはDNA;FK506;RS-61443;デオキシスバガリン;ラパマイシン;T細胞受容体(米国特許第5,114,721号);T細胞受容体断片(Offner et al., Science 251:430-432(1991));WO第90/11294号;およびWO第91/01133号);ならびにT10B9等のT細胞受容体抗体(EP340,109)を含む。

【0500】

サイトカインの例は、リンホカイン、モノカイン、および伝統的ポリペプチドホルモンを含むがこれらに限定されない。サイトカイン間で含まれるものは、ヒト成長ホルモン、N-メチオニルヒト成長ホルモン、およびウシ成長ホルモン等の成長ホルモン;パラ甲状腺ホルモン;チロキシン;インスリン;プロインスリン;リラキシン;プロリラキシン;卵胞刺激ホルモン(FSH)、甲状腺刺激ホルモン(TSH)、および黄体ホルモン(LH)等の糖タンパク質ホルモン;肝臓成長因子;線維芽細胞成長因子;プロラクチン;胎盤性ラクトゲン;腫瘍壊死因子-アルファ;ミューラー管抑制因子;マウスゴナドトロピン関連ペプチド;インヒピン;アクチピン;血管内皮成長因子;インテグリン;トロンボポエチン(TPO);NGF-アルファ等の神経成長因子;血小板-成長因子;TGF-αおよびTGF-β等の形質転換増殖因子(TGF);インシュリン様増殖因子-Iおよび-II;エリスロポエチン(EPO);骨誘導因子;インターフェロン;マクロファージ-CSF(M-CSF)等のコロニー刺激因子(CSF);顆粒球-マクロファージ-CgP(GM-CSF);および顆粒球-CSF(G-CSF);IL-1、IL-1a、IL-2、IL-3、IL-4、IL-5、IL-6、IL-7、IL-8、IL-9、IL-11、IL-12、IL-15等のインターロイキン(IL);TNF-αまたはTNF-β等の腫瘍壊死因子;ならびにLIFおよびキレリガンド(KL)を含む他のポリペプチド因子である。本明細書で使用する、サイトカインという用語は、天然源からまたは組換え細胞培養からのタンパク質、および天然配列サイトカインの生物活性均等物を含む。ある実施形態において、本方法は、1つ以上の免疫調節剤、好ましくはサイトカインを対象に投与することをさらに含む。好ましいサイトカインを、インターロイキン-1(IL-1)、IL-2、IL-3、IL-12、IL-15、IL-18、G-CSF、GM-CSF、トロンボポエチン、およびガンインターフェロンからなる群から選択する。

10

20

30

40

50

【0501】

ある実施形態において、免疫調節剤はサイトカイン受容体モジュレーターである。サイトカイン受容体モジュレーターの例は、可溶性サイトカイン受容体（例えば、TNF-アルファ受容体またはその断片の細胞外ドメイン、IL-1ベータ受容体またはその断片の細胞外ドメイン、およびIL-6受容体またはその断片の細胞外ドメイン）、サイトカインまたはその断片（例えば、インターロイキン（IL）-2、IL-3、IL-4、IL-5、IL-6、IL-7、IL-8、IL-9、IL-10、IL-11、IL-12、IL-15、TNF-アルファ、TNF-ベータ、インターフェロン（IFN）-アルファ、IFN-ベータ、IFN-ガンマ、およびGM-CSF）、抗サイトカイン受容体抗体（例えば、抗IL-2受容体抗体、抗IL-4受容体抗体、抗IL-6受容体抗体、抗IL-10受容体抗体、および抗IL-12受容体抗体）、抗サイトカイン抗体（例えば、抗IFN受容体抗体、抗TNF-アルファ抗体、抗IL-1ベータ抗体、抗IL-6抗体、抗IL-9、抗IL-17抗体、抗体、および抗IL-12抗体）を含むがこれらに限定されない。特定の実施形態において、サイトカイン受容体モジュレーターはIL-4、IL-10、またはそれらの断片である。別の実施形態において、サイトカイン受容体モジュレーターは、抗IL-1ベータ抗体、抗IL-6抗体、抗IL-12受容体抗体、抗TNF-アルファ抗体である。別の実施形態において、サイトカイン受容体モジュレーターは、TNF-アルファ受容体またはその断片の細胞外ドメインである。ある実施形態において、サイトカイン受容体モジュレーターはTNF-アルファ拮抗薬ではない。

10

【0502】

ある実施形態において、免疫調節剤はT細胞受容体モジュレーターである。T細胞受容体モジュレーターの例は、抗T細胞受容体抗体（例えば、抗CD4抗体（例えば、cM-T412（Boeringer）、IDEC-CE9.1（IDECおよびSKB）、mAB4162W94、OrthocloneおよびOKTcdr4a（Janssen-Cilag））、抗CD3抗体、抗CD5抗体（例えば、抗CD5リシン結合免疫複合体）、抗CD7抗体（例えば、CHH-380（Novartis））、抗CD8抗体、抗CD40リガンドモノクローナル抗体、抗CD52抗体（例えば、CAMPATH1H（Ilex））、抗CD2モノクローナル抗体）およびCTLA4-免疫グロブリンを含むがこれらに限定されない。

20

【0503】

ある実施形態において、免疫調節剤は、TNF-アルファ拮抗薬である。TNF-アルファ拮抗薬の例は、抗体（例えば、インフリキシマブ（REMICADE（商標）；Centocor）、D2E7（Abbott Laboratories/Knoll Pharmaceuticals Co., Mt. Olive, N.J.）、HUMIRA（商標）およびCDP-870（Celltech/Pharmaciaの両方、Slough, U.K.）としても知られるCDP571、およびTN3-19.12（Williams et al., 1994, Proc. Natl. Acad. Sci. USA 91:2762-2766; Thorbecke et al., 1992, Proc. Natl. Acad. Sci. USA 89:7375-7379））可溶性TNF-アルファ受容体（例えば、sTNF-R1（Amgen）、エタネルセプト（ENBREL（商標）；ImmuneX）およびそのラット相同体RENBREL（商標）、TNFrI、TNFrIIに由来するTNF-アルファの可溶性の抑制剤（Kohn et al., 1990, Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 87:8331-8335）、およびTNF-アルファInh（Seckinger et al., 1990, Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 87:5188-5192））、IL-10、TNFR-IgG（Ashkenazi et al., 1991, Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 88:10535-10539）、マウス製品TBP-1（Serono/Yeda）、ワクチンCytotAb（Protherics）、アンチセンス分子104838（ISIS）、ペプチドRDP-58（SangStat）、サリドマイド（Celgene）、CDC-801（Celgene）、D

30

40

50

PC-333 (Dupont)、VX-745 (Vertex)、AGIX-4207 (AtheroGenics)、ITF-2357 (Italfarmaco)、NPI-13021-31 (Nereus)、SCIO-469 (Scios)、TACE targeter (Immunix/AHP)、CLX-120500 (Calyx)、Thiazolopyrim (Dynavax)、オーラノフィン (Ridaura) (SmithKline Beecham Pharmaceuticals)、キナクリン (メパクリンジクロ口水和物)、テニダップ (Enablex)、メラニン (Large Scale Biological)、ならびにUriachによる抗p38MAPK薬剤を含むがこれらに限定されない。

【0504】

抗ICOS免疫療法は、免疫調節剤と組合すこともできる。このアプローチで、キメラ、ヒト、またはヒト化抗ICOS抗体を使用することができる。併用療法に対して本明細書で使用する「免疫調節剤」という用語は、宿主の免疫系を抑制する、遮蔽する、または増強するために作用する物質を指す。これは、サイトカイン産生を抑制する、自己抗原発現を下方制御するまたは抑制する、またはMHC抗原を遮蔽する物質を含むであろう。かかる薬剤の例は、2-アミノ-6-アリール-5-置換ピリミジン (米国特許第4,665,077号を参照)、アザチオプリン (またはアザチオプリンに対する有害反応である場合、シクロホスファミド) ; プロモクリプチン ; (米国特許第4,120,649号に記載されるように、MHC抗原を遮蔽する) グルタルアルデヒド ; MHC抗原およびMHC断片に対する抗イディオタイプ抗体 ; シクロスポリンA ; 糖質コルチコステロイド等のステロイド、例えば、プレドニゾン、メチルプレドニゾン、およびデキサメタゾン ; 抗インターフェロン- α 、 β 、または γ 抗体を含むサイトカインまたはサイトカイン受容体拮抗薬 ; 抗腫瘍壊死因子- α 抗体 ; 抗腫瘍壊死因子- β 抗体 ; 抗インターロイキン-2抗体および抗IL-2受容体抗体 ; 抗L3T4抗体 ; 異種性抗リンパ球グロブリン ; pan-T抗体、例えば抗CD3または抗CD4/CD4a抗体 ; LFA-3結合ドメインを含有する可溶性ペプチド (1990年7月26日に公開されたWO第90/08187号) ; ストレプトキナーゼ ; TGF- β ; ストレプトドルナーゼ ; 宿主からのRNAまたはDNA ; FK506 ; RS-61443 ; デオキシスパガリン ; ラパマイシン ; T細胞受容体 (米国特許第5,114,721号) ; T細胞受容体断片 (Offner et al., Science 251:430-432 (1991)) ; WO第90/11294号 ; およびWO第91/01133号) ; ならびにT10B9等のT細胞受容体抗体 (EP340,109) を含む。サイトカインの例は、リンホカイン、モノカイン、および伝統的ポリペプチドホルモンを含むがこれらに限定されない。サイトカイン間で含まれるものは、ヒト成長ホルモン、N-メチオニルヒト成長ホルモン、およびウシ成長ホルモン等の成長ホルモン ; パラ甲状腺ホルモン ; チロキシン ; インスリン ; プロインスリン ; リラキシン ; プロリラキシン ; 卵胞刺激ホルモン (FSH)、甲状腺刺激ホルモン (TSH)、および黄体ホルモン (LH) 等の糖タンパク質ホルモン ; 肝臓成長因子 ; 線維芽細胞成長因子 ; プロラクチン ; 胎盤性ラクトゲン ; 腫瘍壊死因子- α ; ミュラー管抑制因子 ; マウスゴナドトロピン関連ペプチド ; インヒビン ; アクチビン ; 血管内皮成長因子 ; インテグリン ; トロンボポエチン (TPO) ; NGF- β 等の神経成長因子 ; 血小板-成長因子 ; TGF- β およびTGF- α 等の形質転換増殖因子 (TGF) ; インシュリン様増殖因子-Iおよび-II ; エリスロポエチン (EPO) ; 骨誘導因子 ; インターフェロン ; マクロファージ-CSF (M-CSF)等のコロニー刺激因子 (CSF) ; 顆粒球-CSF (GM-CSF) ; および顆粒球-CSF (G-CSF) ; IL-1、IL-1a、IL-2、IL-3、IL-4、IL-5、IL-6、IL-7、IL-8、IL-9、IL-11、IL-12、IL-15等のインターロイキン (IL) ; TNF- α またはTNF- β 等の腫瘍壊死因子 ; ならびにLIFおよびキトリグランド (KL)を含む他のポリペプチド因子である。本明細書で使用する、サイトカインという用語は、天然源からまたは組換え細胞培養からのタンパク質、および天然配列サイトカインの生物活性均等物を含む。ある実施形態において、本方法は、1つ以上の免疫調節剤、例え

10

20

30

40

50

ばサイトカインを対象に投与することをさらに含む。適切なサイトカインを、インターロイキン - 1 (I L - 1)、I L - 2、I L - 3、I L - 1 2、I L - 1 5、I L - 1 8、G - C S F、G M - C S F、トロンボポイエチン、および インターフェロンからなる群から選択することができる。

【 0 5 0 5 】

これらの免疫調節剤を、抗 I C O S 抗体と同時に、または別々の時間に投与する。好ましい免疫調節剤は、治療される疾患の種類を含む多くの要因ならびに患者の病歴に依存するであろうが、多くの場合、薬剤はシクロスポリン A、糖質コルチコステロイド (例えばプレドニゾンまたはメチルプレドニゾン)、アザチオプリン、プロモクリプチン、異種性抗リンパ球グロブリン、またはそれらの混合物から選択することができる。

10

【 0 5 0 6 】

5 . 4 0 . 他の治療剤との組み合わせ

腫瘍血管新生上で作用する薬剤を、抗 I C O S 免疫療法と組み合わせ使用することもでき、コンブレスタチン (c o m b r e s t a t i n) A 4 (G r i g g s e t a l . , L a n c e t O n c o l . 2 : 8 2 , (2 0 0 1)) およびアンジオスタチンおよびエンドスタチン (本明細書に参照によって組み込まれる R o s e n , O n c o l o g i s t 5 : 2 0 (2 0 0 0) で概説された) 等のチューブリン結合薬剤を含む。抗 I C O S 抗体との併用に適した免疫調節剤は、 - インターフェロン、 - インターフェロン、および腫瘍壊死因子アルファ (T N F) を含むがこれらに限定されない。ある実施形態において、本開示の製剤および方法を使用した併用療法で使用される治療剤は、ペプチドである。

20

【 0 5 0 7 】

ある実施形態において、抗 I C O S 免疫療法は、1 つ以上のカリチアマイシン分子と組み合わせる。抗菌のカリチアマイシンファミリーは、サブピコモル濃度において破壊する二本鎖の DNA を産出することができる。使用することができるカリチアマイシンの構造的類似物は、 1^I 、 2^I 、 3^I 、N - アセチル - 1^I 、P S A G および I 1 を含むがこれに限定されない (H i n m a n e t a l . , C a n c e r R e s e a r c h 5 3 : 3 3 3 6 - 3 3 4 2 (1 9 9 3) および L o d e e t a l . , C a n c e r R e s e a r c h 5 8 : 2 9 2 5 - 2 9 2 8 (1 9 9 8)) 。

【 0 5 0 8 】

ある実施形態において、処置療法は抗 I C O S 抗体製剤の細胞傷害性効果を軽減する化合物を含む。かかる化合物は、鎮痛剤 (例えば、アセトアミノフェン)、ビスホスホネート、抗ヒスタミン (例えば、マレイン酸クロルフェニラミン)、およびステロイド (例えば、デキサメタゾン、レチノイド、デルトイド (d e l t o i d)、ベタメタゾン、コルチゾール、コルチゾン、プレドニゾン、デヒドロテストステロン、グルココルチコイド、ミネラルコルチコイド、エストロゲン、テストステロン、プロゲスチン) を含む。

30

【 0 5 0 9 】

ある実施形態において、抗 I C O S 免疫療法と併用する治療剤は、小分子である (すなわち、約 2 5 0 0 ダルトン未満の分子量を有する無機または有機化合物)。例えば、小分子のライブラリーを、S p e c s a n d B i o S p e c s B . V . (R i j s w i j k , T h e N e t h e r l a n d s)、C h e m b r i d g e C o r p o r a t i o n (S a n D i e g o , C A)、C o m g e n e x U S A I n c . (P r i n c e t o n , N J)、および M a y b r i d g e C h e m i c a l s L t d . (C o r n w a l l P L 3 4 O H W , U n i t e d K i n g d o m) から商業的に得ることができる。

40

【 0 5 1 0 】

ある実施形態において、抗 I C O S 免疫療法を、抗細菌薬と併用して投与することができる。抗細菌薬の限定されない例は、タンパク質、ポリペプチド、ペプチド、融合タンパク質、抗体、核酸分子、有機分子、無機分子、ならびに細胞感染を抑制するおよび / または減少する、細胞の複製を抑制するおよび / または減少する、または他の細胞もしくは対

50

象に細胞が伝播することを抑制するおよび/または減少する小分子を含む。抗細菌薬の具体的な例は、ペニシリン、セファロスポリン、イミペネム、アズトレオナム、バンコマイシン、サイクロセリン、バシトラシン、クロラムフェニコール、エリスロマイシン、クリンダマイシン、テトラサイクリン、ストレプトマイシン、トブラマイシン、ゲンタマイシン、アミカシン、カナマイシン、ネオマイシン、スペクチノマイシン、トリメトプリム、ノルフロキサシン、リファンピン、ポリミキシン、アンホテリシンB、ニスタチン、ケトコナゾール、イソニアジド、メトロニダゾール、およびペンタミジン等の抗生物質を含むがこれらに限定されない。

【0511】

ある実施形態において、抗ICOS免疫療法を、抗真菌剤と併用して投与することができる。抗真菌剤の具体的な例は、アゾール剤（例えば、ミコナゾール、ケトコナゾール（NIZORAL（登録商標））、カスポファンギン酢酸塩（CANCIDAS（登録商標））、イミダゾール、トリアゾール（例えば、フルコナゾール（DIFLUCAN（登録商標）））、およびイトラコナゾール（SPORANOX（登録商標）））、ポリエン（例えば、ニスタチン、アンホテリシンB（FUNGIZONE（登録商標））、アンホテリシンB脂質複合物（「ABLC」）（ABELCET（登録商標））、アンホテリシンBコロイド分散液（「ABCD」）（AMPHOTEC（登録商標））、リポソームアンホテリシンB（AMBISONE（登録商標））、ヨウ化カリウム（KI）、ピリミジン（例えば、フルシトシン（ANCOBON（登録商標））、およびポリコナゾール（VFEND（登録商標））を含むがこれらに限定されない。抗細菌および抗真菌剤の投与は、患者のICOSを発現するT細胞が著しく枯渇する場合、本開示の方法で発生する可能性のある感染症の影響または増大を軽減することができる。

【0512】

本開示のある実施形態において、本開示の製剤の投与を伴うことができる有毒な副作用を軽減するために、抗ICOS免疫療法を上記の薬剤のうちの1つ以上と併用して投与することができる。他の実施形態において、抗ICOS免疫療法を、抗体投与、化学療法、毒素、または薬物の副作用を軽減するために使用する当該技術においてよく知られている薬剤のうちの1つ以上と併用して投与することができる。

【0513】

抗ICOS免疫療法が別の抗体もしくは複数の抗体および/または薬剤と併用して投与される場合の本開示の実施形態において、追加の抗体または複数の抗体および/または薬剤を、本開示の抗体の投与に関連する任意の順序で投与することができる。例えば、追加抗体または複数の抗体を、ヒト対象へ抗ICOS抗体または免疫複合体の投与する前、それと同時に、および/またはその後、投与することができる。追加の抗体または複数の抗体は、本開示の抗体と同じ薬学的な製剤に存在すること、および/または異なる薬学的な製剤に存在することができる。本開示の抗体の投与の用量およびモードならびに追加抗体または複数の抗体の用量は、本出願に提供される通り、および当該技術においてよく知られている通り、投与の投与量およびモードの教示のいずれかと一致して、同じまたは異なることができる。

【0514】

5.41. T細胞の悪性腫瘍を診断する際の抗ICOS抗体の使用

本開示は、ヒトICOS抗原と免疫特異的に結合する抗ICOS抗体およびその製剤も包含し、その抗ICOS抗体は、診断または検出可能な薬剤と共役する。ある実施形態において、抗体は、増強したエフェクター機能を含む抗ICOS抗体である。かかる抗ICOS抗体は、特定の治療の有効性を判断する等の臨床試験の手順の一部として、T細胞悪性腫瘍の発達または進行を監視するまたは予知するために有用であることができる。かかる診断および検出は、ヒトICOS抗原と免疫特異的に結合する抗ICOS抗体と、特定されないが西洋ワサビペルオキシダーゼ、アルカリ性ホスファターゼ、ベータ-ガラクトシダーゼ、またはアセチルコリンエステラーゼ等の様々な酵素；限定されないがストレプトアビジンビオチンおよびアビジン/ビオチン等の接合団；限定されないが、ウンベリフ

10

20

30

40

50

エロン、フルオレセイン、フルオレセインイソチオシアネート、ローダミン、ジクロロトリアジニルアミンフルオレセンフルオレセイン、ダンシルクロライド、またはフィコエリトリン等の蛍光物質；限定されないがルミノール等の発光物質；限定されないがルシフェラーゼ、ルシフェリン、およびエクオリン等の生物発光物質；ヨウ素 (^{131}I 、 ^{125}I 、 ^{123}I 、 ^{121}I 、)、炭素 (^{14}C)、イオウ (^{35}S)、トリチウム (^3H)、インジウム (^{115}In 、 ^{113}In 、 ^{112}In 、 ^{111}In 、)、およびテクネチウム (^{99}Tc)、タリウム (^{201}Ti)、ガリウム (^{68}Ga 、 ^{67}Ga)、パラジウム (^{103}Pd)、モリブデン (^{99}Mo)、キセノン (^{133}Xe)、フッ素 (^{18}F)、 ^{153}Sm 、 ^{177}Lu 、 ^{159}Gd 、 ^{149}Pm 、 ^{140}La 、 ^{175}Yb 、 ^{166}Ho 、 ^{90}Y 、 ^{47}Sc 、 ^{186}Re 、 ^{188}Re 、 ^{142}Pr 、 ^{105}Rh 、 ^{97}Ru 、 ^{68}Ge 、 ^{57}Co 、 ^{65}Zn 、 ^{85}Sr 、 ^{32}P 、 ^{153}Gd 、 ^{169}Yb 、 ^{51}Cr 、 ^{54}Mn 、 ^{75}Se 、 ^{113}Sn 、および ^{117}Tin 等の放射性物質；様々なポジトロン発光断層撮影法を使用したポジトロン発光金属、非放射性常磁性金属イオン、ならびに放射標識するまたは特異的な放射性同位体と共役する分子を含むがこれらに限定されない検出可能な物質とを共役することによって達成することができる。容易に測定することができる任意の検出可能な標識を、抗ICOS抗体と共役し、T細胞悪性腫瘍を診断する際に使用することができる。検出可能な物質を、当該技術において知られている技法を使用して中間体（例えば、当該技術において知られているリンカー等）を介して、抗体と直接または間接的にカップリングするまたは共役することができる。例えば、本開示に従って、診断上使用するための抗体と共役できる金属イオンについて米国特許第4,744,900号を参照されたい。ある実施形態において、本開示は、診断または検出可能な薬剤と共役した抗ICOS抗体を含む診断キットを提供する。

【0515】

5.42. 免疫再構築を監視する際の抗ICOS抗体の使用

本開示は、ヒトICOS抗原と免疫特異的に結合する抗ICOS抗体およびその製剤も包含し、その抗ICOS抗体は、診断または検出可能な薬剤と共役する。かかる抗ICOS抗体は、免疫抑制治療または骨髄移植後に、免疫系再構築を監視するために有用であることができる。かかる監視は、ヒトICOS抗原と免疫特異的に結合する抗ICOS抗体と、特定されないが西洋ワサビペルオキシダーゼ、アルカリ性ホスファターゼ、ベータ-ガラクトシダーゼ、またはアセチルコリンエステラーゼ等の様々な酵素；限定されないがストレプトアビジンビオチンおよびアビジン/ビオチン等の接合団；限定されないが、ウンベリフェロン、フルオレセイン、フルオレセインイソチオシアネート、ローダミン、ジクロロトリアジニルアミンフルオレセンフルオレセイン、ダンシルクロライド、またはフィコエリトリン等の蛍光物質；限定されないがルミノール等の発光物質；限定されないがルシフェラーゼ、ルシフェリン、およびエクオリン等の生物発光物質；ヨウ素 (^{131}I 、 ^{125}I 、 ^{123}I 、 ^{121}I 、)、炭素 (^{14}C)、イオウ (^{35}S)、トリチウム (^3H)、インジウム (^{115}In 、 ^{113}In 、 ^{112}In 、 ^{111}In 、)、およびテクネチウム (^{99}Tc)、タリウム (^{201}Ti)、ガリウム (^{68}Ga 、 ^{67}Ga)、パラジウム (^{103}Pd)、モリブデン (^{99}Mo)、キセノン (^{133}Xe)、フッ素 (^{18}F)、 ^{153}Sm 、 ^{177}Lu 、 ^{159}Gd 、 ^{149}Pm 、 ^{140}La 、 ^{175}Yb 、 ^{166}Ho 、 ^{90}Y 、 ^{47}Sc 、 ^{186}Re 、 ^{188}Re 、 ^{142}Pr 、 ^{105}Rh 、 ^{97}Ru 、 ^{68}Ge 、 ^{57}Co 、 ^{65}Zn 、 ^{85}Sr 、 ^{32}P 、 ^{153}Gd 、 ^{169}Yb 、 ^{51}Cr 、 ^{54}Mn 、 ^{75}Se 、 ^{113}Sn 、および ^{117}Tin 等の放射性物質；様々なポジトロン発光断層撮影法を使用したポジトロン発光金属、非放射性常磁性金属イオン、ならびに放射標識するまたは特異的な放射性同位体と共役する分子を含むがこれらに限定されない検出可能な物質とを共役することによって達成することができる。容易に測定することができる任意の検出可能な標識を、抗ICOS抗体と共役し、自己免疫病または疾患を診断する際に使用することができる。検出可能な物質を、当該技術において知られている技法を使用して中間体（例えば、当該技術において知られているリンカー等）を介して、抗体と直接または間接的にカップリングするまたは共役することができる。

例えば、本開示に従って、診断上使用するための抗体と共役できる金属イオンについて米国特許第 4,741,900 号を参照されたい。ある実施形態において、本開示は、診断または検出可能な薬剤と共役した抗ICOS抗体を含む診断キットを提供する。

【0516】

5.43. 自己免疫病または疾患を診断する際の、抗ICOS抗体の使用

本開示は、ヒトICOS抗原と免疫特異的に結合する抗ICOS抗体およびその製剤も包含し、その抗ICOS抗体は、診断または検出可能な薬剤と共役する。ある実施形態において、抗体は、増強したエフェクター機能を含む抗ICOS抗体である。かかる抗ICOS抗体は、特定の治療の有効性を判断する等の臨床試験の手順の一部として、自己免疫病もしくは疾患の発達もしくは進行を監視するまたは予知するために有用であることができる。かかる診断および検出は、ヒトICOS抗原と免疫特異的に結合する抗ICOS抗体と、特定されないが西洋ワサビペルオキシダーゼ、アルカリ性ホスファターゼ、ベータ-ガラクトシダーゼ、またはアセチルコリンエステラーゼ等の様々な酵素；限定されないがストレプトアビジンピオチンおよびアビジン/ピオチン等の接合団；限定されないが、ウンベリフェロン、フルオレセイン、フルオレセインイソチオシアネート、ローダミン、ジクロロトリアジニルアミンフルオレセンフルオレセイン、ダンシルクロライド、またはフィコエリトリン等の蛍光物質；限定されないがルミノール等の発光物質；限定されないがルシフェラーゼ、ルシフェリン、およびエクオリン等の生物発光物質；ヨウ素(^{131}I 、 ^{125}I 、 ^{123}I 、 ^{121}I)、炭素(^{14}C)、イオウ(^{35}S)、トリチウム(^3H)、インジウム(^{115}In 、 ^{113}In 、 ^{112}In 、 ^{111}In)、およびテクネチウム(^{99}Tc)、タリウム(^{201}Ti)、ガリウム(^{68}Ga 、 ^{67}Ga)、パラジウム(^{103}Pd)、モリブデン(^{99}Mo)、キセノン(^{133}Xe)、フッ素(^{18}F)、 ^{153}Sm 、 ^{177}Lu 、 ^{159}Gd 、 ^{149}Pm 、 ^{140}La 、 ^{175}Yb 、 ^{166}Ho 、 ^{90}Y 、 ^{47}Sc 、 ^{186}Re 、 ^{188}Re 、 ^{142}Pr 、 ^{105}Rh 、 ^{97}Ru 、 ^{68}Ge 、 ^{57}Co 、 ^{65}Zn 、 ^{85}Sr 、 ^{32}P 、 ^{153}Gd 、 ^{169}Yb 、 ^{51}Cr 、 ^{54}Mn 、 ^{75}Se 、 ^{113}Sn 、および ^{117}Te 等の放射性物質；様々なポジトロン発光断層撮影法を使用したポジトロン発光金属、非放射性常磁性金属イオン、ならびに放射標識するまたは特異的な放射性同位体と共役する分子を含むがこれらに限定されない検出可能な物質とを共役することによって達成することができる。容易に測定することができる任意の検出可能な標識を、抗ICOS抗体と共役し、自己免疫病または疾患を診断する際に使用することができる。検出可能な物質を、当該技術において知られている技法を使用して中間体(例えば、当該技術において知られているリンカー等)を介して、抗体と直接または間接的にカップリングするまたは共役することができる。例えば、本開示に従って、診断上使用するための抗体と共役できる金属イオンについて米国特許第 4,741,900 号を参照されたい。ある実施形態において、本開示は、診断または検出可能な薬剤と共役した抗ICOS抗体を含む診断キットを提供する。

【0517】

5.44. キット

本開示は、本開示の液体製剤が充填された1つ以上の容器を含む薬学的なパックまたはキットを提供する。一実施形態において、本開示の液体製剤が充填された容器は、プレフィールドシリンジである。特定の実施形態において、本開示の液体製剤は、異種性タンパク質、異種性ポリペプチド、異種性ペプチド、大きな分子、小分子、マーカー配列、診断または検出可能な薬剤、治療部分、薬物部分、放射性金属イオン、二次抗体、および固形支持体を含むがこれらに限定されない別の部分と組換えで融合するまたは化学的に共役する抗体(その抗体断片を含む)を含む。本開示は、疾病または疾患、例えば、ICOSの異常発現および/または活性と付随したまたはそれらを特徴とする疾病または疾患、ICOS受容体の異常発現および/または活性と付随したまたはそれらを特徴とする疾病または疾患、自己免疫病または疾患、炎症性疾患または疾患、T細胞増殖性疾患または疾患、T細胞悪性腫瘍、移植拒絶反応、移植片対宿主病、または1つ以上のそれらの症状の防止、管理または処置のために有用な本開示の液体製剤の1つ以上の一次容器および1つ以上の

他の予防または治療剤の1つ以上の二次容器を含む薬学的なパックまたはキットも提供する。特定の実施形態において、本開示の液体製剤は、pH 6.0の10 mMのヒスチジン緩衝液、80 mMのNaCl、4%のトレハロース、および0.02%のポリソルベート80を含有する無菌液として単一用量バイアルに処方する。本開示の製剤を、1.2 mLの標的容積を3 cc USPタイプIホウケイ酸琥珀バイアル(West Pharmaceutical Services - Part No. 6800-0675)にて供給することができる。かかる容器と随意に関連することは、通知によってヒト投与に対する製造、使用、販売の機関による承認を反映する薬学的なまたは生物学的な製品の製造、使用または販売を規制する行政機関によって、処方された形式の通知であることができる。別の実施形態において本開示の製剤を、プレフィルドシリンジにて供給することができる。

10

【0518】

一実施形態において、本開示の液体製剤を充填する容器は、プレフィルドシリンジである。当業者に知られている任意のプレフィルドシリンジを、本開示の液体製剤と併用して使用することができる。使用可能なプレフィルドシリンジは、例えば、これらに限定されないが、PCT公開WO第05032627号、WO第08094984号、WO第9945985号、WO第03077976号、米国特許US第6792743号、US第5607400号、US第5893842号、US第7081107号、US第7041087号、US第5989227号、US第6807797号、US第6142976号、US第5899889号、米国特許公開US第20070161961A1号、US第20050075611A1号、US第20070092487A1号、US第20040267194A1号、US第20060129108A1号に記載される。プレフィルドシリンジは、様々な物質からなることができる。一実施形態において、プレフィルドシリンジは、ガラスシリンジである。別の実施形態において、プレフィルドシリンジは、プラスチックシリンジである。当業者は、シリンジを製造するために使用する物質の性質および/または品質が、シリンジに保存されるタンパク質製剤の安定性に影響する可能性があることを理解する。例えば、シリンジチャンバーの内表面に沈着するシリコンベースの潤滑剤が、タンパク質製剤で、粒子の形成に影響することができることを理解される。一実施形態において、プレフィルドシリンジは、シリコンベースの潤滑剤を含む。一実施形態において、プレフィルドシリンジは、シリコン上で焼くことを含む。別の実施形態において、プレフィルドシリンジは、シリコンベースの潤滑剤を含まない。当業者は、シリンジバレル、シリンジ先端のキャップ、プランジャー、または栓から、製剤へ浸出する少量の汚染要素が、製剤の安定性にも影響する可能性があることも理解する。例えば、製造プロセスの間に導入されるタングステンが、製剤の安定性に逆に影響する可能性があることが理解される。一実施形態において、プレフィルドシリンジは、500 ppbを超えるレベルのタングステンを含むことができる。別の実施形態において、プレフィルドシリンジは、低タングステンシリンジである。別の実施形態において、プレフィルドシリンジは、約500 ppb ~ 約10 ppb間、約400 ppb ~ 約10 ppb間、約300 ppb ~ 約10 ppb間、約200 ppb ~ 約10 ppb間、約100 ppb ~ 約10 ppb間、約50 ppb ~ 約10 ppb間、約25 ppb ~ 約10 ppb間のレベルのタングステンを含むことができる。

20

30

40

【0519】

本開示は、上記の方法で使用することができるキットを提供する。一実施形態において、キットは1つ以上の容器で本開示の液体製剤を含む。別の実施形態において、キットは、1つ以上の容器で本開示の液体製剤、ならびにICOSの異常発現および/または活性と付随したまたはそれらを特徴とする疾病もしくは疾患、ICOS受容体の異常発現および/または活性と付随したまたはそれらを特徴とする疾病もしくは疾患、自己免疫病もしくは疾患、炎症性疾病もしくは疾患、T細胞増殖性疾患もしくは疾患、T細胞悪性腫瘍、移植拒絶反応、移植片対宿主病、または1つ以上のそれらの症状の防止、管理、または処置に対して有用な1つ以上の他の予防または治療剤を含む。特定の実施形態において、該液体製剤に含まれる抗体(その抗体断片を含む)は、抗原結合断片である。キットは、疾

50

患を防止する、治療する、および/または管理するための（例えば、本開示の液体製剤を単独で、または別の予防または治療剤と組み合わせて使用して）、ならびに投与の方法に対する副作用および投与量情報についての説明を、さらに含むことができる。

【0520】

5.45. 製造品

本開示は、パッケージし、ラベルした薬学的な完成製品も包含する。この製造品は、適切なベッセルまたはガラスバイアル、プレフィルドシリンジまたは密閉した他の容器等の容器の適切な単位剤形を含む。単位剤形を、非経口投与に適した抗ICOS抗体を含む無菌の微粒子を含まない溶液として提供する。

【0521】

一実施形態において、単位剤形は、静脈内、筋肉内、鼻腔内、経口、局所、または皮下送達に適している。したがって、本開示は、それぞれの送達経路に適した無菌の溶液を包含する。

【0522】

任意の薬学的な製品のように、包装材料および容器は、保存および輸送中に、製品の安定性を守るように設計される。さらに、本開示の製品は、使用説明書、または問題の疾病もしくは疾患を適切に防止するまたは治療する方法について医師、技術者または患者に勧告する他の情報資料を含む。言い換えれば、製造品は、実際の用量、監視手順、および他の監視情報を含むがこれらに限定されない投与計画を示すまたは示唆する説明方法を含む。

【0523】

特に、本開示は、箱、ビン、管、バイアル、容器、プレフィルドシリンジ、噴霧器、散布器、静脈内（i.v.）バッグ、封筒等の包装材料を含む製造品；および該包装材料内に含有される薬学的な薬剤の少なくとも1つの単位剤形を提供し、薬学的な薬剤は抗体を含有する液体製剤を含む。包装材料は、該抗体が特定の用量を投与すること、および本明細書に記載される特定の投与計画を使用することによって、ICOSの異常発現および/または活性と付随したまたはそれを特徴とする疾病もしくは疾患、ICOS受容体の異常発現および/または活性と付随したまたはそれを特徴とする疾病もしくは疾患、自己免疫病もしくは疾患、炎症性疾患もしくは疾患、T細胞増殖性疾患もしくは疾患、T細胞悪性腫瘍、移植拒絶反応、移植片対宿主病、または1つ以上のその症状と付随した1つ以上の症状を防止する、治療するおよび/または管理するために使用することができることを示す説明方法を含む。

【0524】

本開示は、箱、ビン、管、バイアル、容器、プレフィルドシリンジ、噴霧器、散布器、静脈内（i.v.）バッグ、封筒等の包装材料を含む製造品；および該包装材料内に含有される薬学的な薬剤の少なくとも1つの単位剤形も提供し、ある薬学的な薬剤は、ICOSと特異的に結合する抗体を含有する液体製剤を含み、他の薬学的な薬剤はICOSと特異的に結合する抗体以外の予防または治療剤を含み、該包装材料は、特定の用量を投与することによって、および本明細書に記載される特定の投与計画を使用することによって、該薬剤を、ICOSの異常発現および/または活性と付随したまたはそれを特徴とする疾病もしくは疾患、ICOS受容体の異常発現および/または活性と付随したまたはそれを特徴とする疾病もしくは疾患、自己免疫病もしくは疾患、炎症性疾患もしくは疾患、T細胞増殖性疾患もしくは疾患、T細胞悪性腫瘍、移植拒絶反応、移植片対宿主病、または1つ以上のそれらの症状と付随した1つ以上の症状を、防止する、治療するおよび/または管理するために使用することができることを示す説明方法を含む。

【0525】

本開示は、本開示の方法によって縮小するまたは回避することができる有害作用が、自己免疫疾患、炎症性疾患、悪性腫瘍または感染と付随した1つ以上の症状を防止する、治療するおよび/または管理する際に使用する製造品に同封される情報資料に示されることを提供する。本開示の方法によって縮小するまたは回避することができる有害作用は、生

10

20

30

40

50

活反応の異常（熱、頻拍、徐脈、高血圧、低血圧）、血液学的事象（貧血、リンパ球減少症、白血球減少症、血小板減少症）、頭痛、悪寒、めまい、吐気、無力症、背痛、胸痛（胸部圧迫感）、下痢、筋肉痛、痛み、そう痒、乾癬、鼻炎、発汗、注射部位反応、および血管拡張作用を含むがこれらに限定されない。

【0526】

さらに、本明細書に記載される製造品に同封される情報資料によって、外来性タンパク質が、結果としてアナフィラキシーを含むアレルギー反応、またはシトシン放出症候群を発生することもできることを示すことができる。情報資料は、アレルギー反応が軽度のそう痒性皮膚疹としてのみ現れる可能性があること、またはそれは、紅皮症、スティーブンス・ジョンソン症候群、血管炎、またはアナフィラキシー等、重症である可能性があること
10
を示すべきである。情報資料は、アナフィラキシー性の反応（アナフィラキシー）は重大であり、時折致命的過敏症反応であることを示すべきでもある。アナフィラキシーを含むアレルギー反応は、任意の外来性のタンパク質が体内に注入される場合に発生する可能性がある。それらは、蕁麻疹または発疹等の軽度の徴候から致命的な全身反応までにおよぶ可能性がある。アナフィラキシー性の反応は、曝露後、大抵10分以内に発生する。患者は、錯感覚、低血圧、喉頭浮腫、精神状態変化、顔面もしくは咽頭血管浮腫、気道妨害物、気管支痙攣、蕁麻疹およびそう痒、血清病、関節炎、アレルギー腎炎、糸球体腎炎、側頭部関節炎、または好酸球増加症を経験する可能性がある。

【0527】

5.46. 特定の実施形態

実施形態1. ヒトICOSと特異的に結合する抗体を含み、抗体は、フコースが糖鎖の還元末端のN-アセチルグルコサミンと結合しない複合N-グリコシド-結合糖鎖を有するFc領域を含む無菌の、安定な水性製剤。
20

【0528】

実施形態2. 該抗体が凍結乾燥に共されなかった、実施形態1に記載の製剤。

【0529】

実施形態3. 該抗体は、IgA、IgE、IgM、IgD、IgY、およびIgGからなる群から選択される免疫グロブリンタイプに由来する、実施形態1に記載の製剤。

【0530】

実施形態4. 該抗体は、IgG1、IgG2、IgG3、またはIgG4ヒトアイソタイプのものである、実施形態1に記載の製剤。
30

【0531】

実施形態5. 該抗体は、マウス抗体、キメラ抗体、ヒト化抗体、またはヒト抗体である、実施形態1に記載の製剤。

【0532】

実施形態6. 該抗体は配列番号7の重鎖可変配列を含む、実施形態1～5に記載の製剤。
.

【0533】

実施形態7. 該抗体は配列番号2の軽鎖可変配列を含む、実施形態1～5に記載の製剤。
40
.

【0534】

実施形態8. 該抗体は、配列番号7の重鎖可変配列および配列番号2の軽鎖可変配列を含む、実施形態1～5のうちのいずれか1つに記載の製剤。

【0535】

実施形態9. 該抗体は、配列番号6の重鎖配列および配列番号1の軽鎖配列を含む、実施形態1～5のうちのいずれか1つに記載の製剤。

【0536】

実施形態10. 該抗体の濃度は、少なくとも約1mg/mL、少なくとも約2mg/mL、少なくとも約3mg/mL、少なくとも約4mg/mL、少なくとも約5mg/mL、少なくとも約10mg/mL、少なくとも約15mg/mL、少なくとも約20mg/mL
50

mL、少なくとも約25mg/mL、少なくとも約30mg/mL、少なくとも約40mg/mL、少なくとも約50mg/mL、少なくとも約60mg/mL、少なくとも約70mg/mL、少なくとも約80mg/mL、少なくとも約90mg/mL、少なくとも約100mg/mL、少なくとも約120mg/mL、少なくとも約150mg/mL、少なくとも約160mg/mL、少なくとも約180mg/mL、少なくとも約200mg/mL、少なくとも約250mg/mL、または少なくとも約300mg/mLである、実施形態1~9のうちのいずれか1つに記載の製剤。

【0537】

実施形態11A. 該抗体の濃度は、少なくとも約1mg/mLである、実施形態1~9のうちのいずれか1つに記載の製剤。

10

【0538】

実施形態11B. 該抗体の濃度は、少なくとも約2mg/mLである、実施形態1~9のうちのいずれか1つに記載の製剤。

【0539】

実施形態11C. 該抗体の濃度は、少なくとも約3mg/mLである、実施形態1~9のうちのいずれか1つに記載の製剤。

【0540】

実施形態11D. 該抗体の濃度は、少なくとも約4mg/mLである、実施形態1~9のうちのいずれか1つに記載の製剤。

【0541】

20

実施形態11E. 該抗体の濃度は、少なくとも約5mg/mLである、実施形態1~9のうちのいずれか1つに記載の製剤。

【0542】

実施形態11F. 該抗体の濃度は、少なくとも約10mg/mLである、実施形態1~9のうちのいずれか1つに記載の製剤。

【0543】

実施形態11G. 該抗体の濃度は、少なくとも約20mg/mLである、実施形態1~9のうちのいずれか1つに記載の製剤。

【0544】

実施形態11H. 該抗体の濃度は、少なくとも約50mg/mLである、実施形態1~9のうちのいずれか1つに記載の製剤。

30

【0545】

実施形態11I. 該抗体の濃度は、少なくとも約100mg/mLである、実施形態1~9のうちのいずれか1つに記載の製剤。

【0546】

実施形態12. 該抗体の濃度は、少なくとも約125mg/mLである、実施形態1~9のうちのいずれか1つに記載の製剤。

【0547】

実施形態13. 該抗体の濃度は、少なくとも約150mg/mLである、実施形態1~9のうちのいずれか1つに記載の製剤。

40

【0548】

実施形態14. 該抗体の濃度は、少なくとも約175mg/mLである、実施形態1~9のうちのいずれか1つに記載の製剤。

【0549】

実施形態15. 該抗体の濃度は、少なくとも約200mg/mLである、実施形態1~9のうちのいずれか1つに記載の製剤。

【0550】

実施形態16A. 該抗体の濃度は約1mg/mL~約50mg/mL間である、実施形態1~9のうちのいずれか1つに記載の製剤。

【0551】

50

実施形態 16B . 該抗体の濃度は約 1 mg / mL ~ 約 20 mg / mL 間である、実施形態 1 ~ 9 のうちのいずれか 1 つに記載の製剤。

【 0 5 5 2 】

実施形態 16C . 該抗体の濃度は約 5 mg / mL ~ 約 15 mg / mL 間である、実施形態 1 ~ 9 のうちのいずれか 1 つに記載の製剤。

【 0 5 5 3 】

実施形態 16D . 該抗体の濃度は約 90 mg / mL ~ 約 250 mg / mL 間である、実施形態 1 ~ 9 のうちのいずれか 1 つに記載の製剤。

【 0 5 5 4 】

実施形態 17 . 該抗体の濃度は約 110 mg / mL ~ 約 250 mg / mL 間である、実施形態 1 ~ 9 のうちのいずれか 1 つに記載の製剤。

10

【 0 5 5 5 】

実施形態 18 . 該製剤は、少なくとも約 1 つの緩衝成分をさらに含む、実施形態 1 ~ 17 のうちのいずれか 1 つに記載の製剤。

【 0 5 5 6 】

実施形態 19 . 該製剤は、少なくとも約 1 つの賦形剤をさらに含む、実施形態 1 ~ 18 のうちのいずれか 1 つに記載の製剤。

【 0 5 5 7 】

実施形態 20 . 該緩衝成分は、ヒスチジン、クエン酸、リン酸、グリシン、および酢酸からなる群から選択される、実施形態 18 または 19 に記載される製剤。

20

【 0 5 5 8 】

実施形態 21 . 該緩衝成分は、ヒスチジンである、実施形態 18 または 19 に記載される製剤。

【 0 5 5 9 】

実施形態 22 . 該ヒスチジンは、約 1 nM から約 200 nM までの濃度である、実施形態 21 に記載の製剤。

【 0 5 6 0 】

実施形態 23 . 該ヒスチジンは、約 1 nM から約 50 nM までの濃度である、実施形態 21 に記載の製剤。

【 0 5 6 1 】

30

実施形態 24 . 該ヒスチジンは、約 5 nM から約 20 nM までの濃度である、実施形態 21 に記載の製剤。

【 0 5 6 2 】

実施形態 25 . 該ヒスチジンは、約 10 nM、約 15 nM、または約 20 nM の濃度である、実施形態 21 に記載の製剤。

【 0 5 6 3 】

実施形態 26 . 該賦形剤は糖類である、実施形態 19 に記載の製剤。

【 0 5 6 4 】

実施形態 27 . 該糖類は二糖類である、実施形態 26 に記載の製剤。

【 0 5 6 5 】

40

実施形態 28 . 該二糖類はトレハロースまたはショ糖である、実施形態 27 に記載の製剤。

【 0 5 6 6 】

実施形態 29 . 該二糖類はトレハロースである、実施形態 27 に記載の製剤。

【 0 5 6 7 】

実施形態 30 . 該トレハロースは、約 1 % から約 40 % までの濃度である、実施形態 29 に記載の製剤。

【 0 5 6 8 】

実施形態 31 . 該トレハロースは、約 2 % から約 20 % までの濃度である、実施形態 29 に記載の製剤。

50

【 0 5 6 9 】

実施形態 3 2 . 該トレハロースは、約 2 % から約 1 0 % までの濃度である、実施形態 2 9 に記載の製剤。

【 0 5 7 0 】

実施形態 3 3 . トレハロースは約 2 %、約 4 %、または約 8 % の濃度である、実施形態 2 9 に記載の製剤。

【 0 5 7 1 】

実施形態 3 4 . 該賦形剤は塩である、実施形態 1 9 に記載の製剤。

【 0 5 7 2 】

実施形態 3 5 . 該塩は塩化ナトリウムである、実施形態 3 4 に記載の製剤。

10

【 0 5 7 3 】

実施形態 3 6 . 該塩化ナトリウムは、約 5 0 m M から約 2 0 0 m M までの濃度である、実施形態 3 5 に記載の製剤。

【 0 5 7 4 】

実施形態 3 7 . 該塩化ナトリウムは、約 7 0 m M、約 8 0 m M、約 9 0 m M、約 1 0 0 m M、約 1 2 0 m M、または約 1 5 0 m M の濃度である、実施形態 3 5 に記載の製剤。

【 0 5 7 5 】

実施形態 3 8 . 該賦形剤は界面活性剤である、実施形態 1 9 に記載の製剤。

【 0 5 7 6 】

実施形態 3 9 . 該界面活性剤はポリソルベートである、実施形態 3 8 に記載の製剤。

20

【 0 5 7 7 】

実施形態 4 0 . 該ポリソルベートはポリソルベート 2 0 またはポリソルベート 8 0 である、実施形態 3 9 に記載の製剤。

【 0 5 7 8 】

実施形態 4 1 . 該ポリソルベートはポリソルベート 8 0 である、実施形態 3 9 に記載の製剤。

【 0 5 7 9 】

実施形態 4 2 . 該ポリソルベート 8 0 は、約 0 . 0 0 1 % から約 2 % までの濃度である、実施形態 4 1 に記載の製剤。

【 0 5 8 0 】

実施形態 4 3 . 該ポリソルベート 8 0 は、約 0 . 0 1 %、約 0 . 0 2 %、約 0 . 0 4 %、または約 0 . 0 8 % の濃度である、実施形態 4 1 に記載の製剤。

30

【 0 5 8 1 】

実施形態 4 4 . 該製剤は約 5 . 5 ~ 約 6 . 5 の間の pH を有する、実施形態 1 ~ 4 3 のうちのいずれか 1 つに記載の製剤。

【 0 5 8 2 】

実施形態 4 5 . 該製剤は約 6 . 0 の pH を有する、実施形態 1 ~ 4 3 のうちのいずれか 1 つに記載の製剤。

【 0 5 8 3 】

実施形態 4 6 . 該製剤は等張性である、実施形態 1 ~ 4 5 のうちのいずれか 1 つのの製剤。

40

【 0 5 8 4 】

実施形態 4 7 . 該製剤は、少なくとも約 4 週間、4 0 で保存する際に安定している、実施形態 1 ~ 4 6 のうちのいずれか 1 つに記載の製剤。

【 0 5 8 5 】

実施形態 4 8 . 該製剤は、少なくとも約 3 ヶ月、5 で保存する際に安定している、実施形態 1 ~ 4 6 のうちのいずれか 1 つに記載の製剤。

【 0 5 8 6 】

実施形態 4 9 . 該製剤は、少なくとも約 1 2 ヶ月、5 で保存する際に安定している、実施形態 1 ~ 4 6 のうちのいずれか 1 つに記載の製剤。

50

【0587】

実施形態50．該抗体は、少なくとも約4週間、40℃で保存する前の抗体を表す参照抗体と比べて、ヒトICOSポリペプチドとの結合能力の少なくとも約80%を保持する、実施形態1～46のうちのいずれか1つに記載の製剤。

【0588】

実施形態51．該抗体は、少なくとも約3ヶ月、5℃で保存する前の抗体を表す参照抗体と比べて、ヒトICOSポリペプチドとの結合能力の少なくとも約80%を保持する、実施形態1～46のうちのいずれか1つに記載の製剤。

【0589】

実施形態52．該抗体は、少なくとも約12ヶ月、5℃で保存する前の抗体を表す参照抗体と比べて、ヒトICOSポリペプチドとの結合能力の少なくとも約80%を保持する、実施形態1～46のうちのいずれか1つに記載の製剤。

10

【0590】

実施形態53．該抗体は、少なくとも約4週間、40℃で保存する前の抗体を表す参照抗体と比べて、ヒトICOSポリペプチドとの結合能力の少なくとも約90%を保持する、実施形態1～46のうちのいずれか1つに記載の製剤。

【0591】

実施形態54．該抗体は、少なくとも約3ヶ月、5℃で保存する前の抗体を表す参照抗体と比べて、ヒトICOSポリペプチドとの結合能力の少なくとも約90%を保持する、実施形態1～46のうちのいずれか1つに記載の製剤。

20

【0592】

実施形態55．該抗体は、少なくとも約12ヶ月、5℃で保存する前の抗体を表す参照抗体と比べて、ヒトICOSポリペプチドとの結合能力の少なくとも約90%を保持する、実施形態1～46のうちのいずれか1つに記載の製剤。

【0593】

実施形態56．該抗体は、少なくとも約4週間、40℃で保存する前の抗体を表す参照抗体と比べて、ヒトICOSポリペプチドとの結合能力の少なくとも約95%を保持する、実施形態1～46のうちのいずれか1つに記載の製剤。

【0594】

実施形態57．該抗体は、少なくとも約3ヶ月、5℃で保存する前の抗体を表す参照抗体と比べて、ヒトICOSポリペプチドとの結合能力の少なくとも約95%を保持する、実施形態1～46のうちのいずれか1つに記載の製剤。

30

【0595】

実施形態58．該抗体は、少なくとも約12ヶ月、5℃で保存する前の抗体を表す参照抗体と比べて、ヒトICOSポリペプチドとの結合能力の少なくとも約95%を保持する、実施形態1～46のうちのいずれか1つに記載の製剤。

【0596】

実施形態59．該抗体は凝集または断片化に影響されやすい、実施形態1～46のうちのいずれか1つに記載の製剤。

【0597】

実施形態60．該抗体の約2%未満は、HPSECによって定められる通り、40℃で少なくとも約4週間保存する際に、凝集体を形成する、実施形態1～46のうちのいずれか1つに記載の製剤。

40

【0598】

実施形態61．該抗体の約2%未満は、HPSECによって定められる通り、5℃で少なくとも約3ヶ月間保存する際に、凝集体を形成する、実施形態1～46のうちのいずれか1つに記載の製剤。

【0599】

実施形態62．該抗体の約2%未満は、HPSECによって定められる通り、5℃で少なくとも約12ヶ月間保存する際に、凝集体を形成する、実施形態1～46のうちのい

50

れか1つに記載の製剤。

【0600】

実施形態63．該抗体の約5%未満は、RP-HPLCによって定められた通り、40で少なくとも約4週間保存する際に、断片化される、実施形態1～46のうちのいずれか1つに記載の製剤。

【0601】

実施形態64．該抗体の約5%未満は、RP-HPLCによって定められた通り、5で少なくとも約3ヶ月間保存する際に、断片化される、実施形態1～46のうちのいずれか1つに記載の製剤。

【0602】

実施形態65．該抗体の約5%未満は、RP-HPLCによって定められた通り、5で少なくとも約12ヶ月間保存する際に、断片化される、実施形態1～46のうちのいずれか1つに記載の製剤。

【0603】

実施形態66．該製剤は注射製剤である、実施形態1～65のうちのいずれか1つに記載の製剤。

【0604】

実施形態67．該製剤は、静脈内、皮下、または筋肉内投与に適している実施形態66に記載の製剤。

【0605】

実施形態68．該製剤は静脈内投与に適しており、抗体または抗体断片濃度は約20mg/mLから約40mg/mLまでである、実施形態67に記載の製剤。

【0606】

実施形態69．該製剤は皮下投与に適しており、抗体または抗体断片濃度は約70mg/mLから約250mg/mLまでである、実施形態67に記載の製剤。

【0607】

実施形態70．該製剤はエアロゾル投与に適している、実施形態1～65のうちのいずれか1つに記載の製剤。

【0608】

実施形態71．適切な容器において、実施形態1～65のうちのいずれか1つに記載の抗体製剤を含む、ヒトに対する非経口投与に適している薬学的単位剤形。

【0609】

実施形態72．抗体製剤を、静脈内、皮下、または筋肉内に投与する、実施形態71に記載の薬学的単位剤形。

【0610】

実施形態73．適切な容器において、実施形態1～65のうちのいずれか1つに記載の抗体製剤を含む、ヒトに対する非エアロゾル投与に適している薬学的単位剤形。

【0611】

実施形態74．抗体製剤を鼻腔内に投与する、実施形態73に記載の薬学的単位投与量。

【0612】

実施形態75．実施形態1～74のうちのいずれか1つに記載の製剤を含有する密閉容器。

【0613】

実施形態76．実施形態1～74のうちのいずれか1つに記載の製剤を含むキット。

【0614】

実施形態77．ヒトにおける自己免疫病または疾患を治療する方法であって、それを必要とするヒトに、実施形態1～74のいずれか1項に記載の治療有効量の製剤を投与することを含む、方法。

【0615】

10

20

30

40

50

実施形態 78 . 自己免疫病または疾患は S L E または強皮症である、実施形態 77 に記載の方法。

【 0 6 1 6 】

実施形態 79 . ヒト移植患者における拒絶を治療または防止する方法であって、それを必要とするヒトに、実施形態 1 ~ 74 のいずれか 1 項に記載の治療有効量の製剤を投与することを含む、方法。

【 0 6 1 7 】

実施形態 80 . ヒトにおける T 細胞悪性腫瘍を治療する方法であって、それを必要とするヒトに、実施形態 1 ~ 74 のいずれか 1 つに記載の治療有効量の製剤を投与することを含む、方法。

10

【 0 6 1 8 】

実施形態 81 . ヒトにおける炎症性疾患もしくは疾患を治療する方法であって、それを必要とするヒトに、実施形態 1 ~ 74 のいずれか 1 つに記載の治療有効量の製剤を投与することを含む、方法。

【 0 6 1 9 】

実施形態 82 . 炎症性疾患または疾患は、筋炎である、実施形態 81 に記載の方法。

【 0 6 2 0 】

実施形態 83 . 筋炎は、封入体筋炎 (I B M)、多発性筋炎 (P M)、または皮膚筋炎 (D M) である、実施形態 82 に記載の方法。

【 0 6 2 1 】

実施形態 84 . ヒト患者において I C O S を発現する T 細胞を枯渇させる方法であって、それを必要とするヒトに、実施形態 1 ~ 74 のいずれか 1 項に記載の治療有効量の製剤を投与することを含む、方法。

20

【 0 6 2 2 】

実施形態 85 . 枯渇は、抗体の投与後、少なくとも約 1、少なくとも約 2、少なくとも約 3、または少なくとも約 4 週間、実質的に持続する、実施形態 84 に記載の方法。

【 0 6 2 3 】

実施形態 86 . 少なくとも約 95 % の T 細胞は、枯渇する、実施形態 84 に記載の方法。

【 0 6 2 4 】

実施形態 87 . I C O S を発現する T 細胞はメモリー T 細胞である、実施形態 84 に記載の方法。

30

【 0 6 2 5 】

実施形態 88 . I C O S を発現する T 細胞は循環する T 細胞である、実施形態 84 に記載の方法。

【 0 6 2 6 】

実施形態 89 . 実施形態 1 ~ 74 のいずれか 1 つに記載の有効量の製剤を投与することを含む、霊長類動物の二次リンパ器官の胚中心構造を破壊する方法。

【 0 6 2 7 】

実施形態 90 . 霊長類は、非ヒト霊長類である、実施形態 89 に記載の方法。

40

【 0 6 2 8 】

実施形態 91 . 実施形態 1 ~ 74 のうちのいずれか 1 つの製剤の有効量を投与することを含む、霊長類の二次リンパ器官から胚中心の B 細胞を枯渇する方法。

【 0 6 2 9 】

実施形態 92 . 霊長類は、非ヒト霊長類である、実施形態 91 に記載の方法。

【 0 6 3 0 】

実施形態 93 . 霊長類はヒトである、実施形態 91 に記載の方法。

【 0 6 3 1 】

実施形態 94 . 枯渇は、抗体の投与後、少なくとも約 1、少なくとも約 2、少なくとも約 3、または少なくとも約 4 週間、実質的に持続する、実施形態 91 に記載の方法。

50

【0632】

実施形態95．実施形態1～74のうちのいずれか1つの製剤の有効量を投与することを含む、霊長類で循環する種類を切り替えられたB細胞を枯渇する方法。

【0633】

実施形態96．霊長類は、非ヒト霊長類である、実施形態95に記載の方法。

【0634】

実施形態97．霊長類はヒトである、実施形態95に記載の方法。

【0635】

実施形態98．枯渇は、抗体の投与後、少なくとも約1、少なくとも約2、少なくとも約3、または少なくとも約4週間、実質的に持続する、実施形態95に記載の方法。

10

【0636】

実施形態99．少なくとも約95%の循環する種類を切り替えられたB細胞は、枯渇する、実施形態95に記載の方法。

【0637】

実施形態100．抗ヒトICOS抗体を含み、ヒスチジン、塩化ナトリウム、トレハロース、またはポリソルベート80をさらに含み、抗体は、配列番号6の重鎖配列、配列番号1の軽鎖配列、およびフコースは糖鎖の還元末端のN-アセチルグルコサミンと結合しない複合N-グリコシド-結合糖鎖を有するFc領域を含む、無菌の、安定した水性製剤。

【0638】

20

実施形態101．抗ヒトICOS抗体を含み、ヒスチジン、塩化ナトリウム、トレハロース、およびポリソルベート80をさらに含み、抗体は、配列番号6の重鎖配列、配列番号1の軽鎖配列、およびフコースは糖鎖の還元末端のN-アセチルグルコサミンと結合しない複合N-グリコシド-結合糖鎖を有するFc領域を含む、無菌の、安定した水性製剤。

【0639】

実施形態102A．該製剤は、約1mg/mL～約20mg/mLの抗ヒトICOS抗体、約1mM～約100mMのヒスチジン、約1%～約40%のトレハロース、および約0.001%～約5%のポリソルベート80を含み、該製剤のpHは約5～約7である、実施形態101に記載の製剤。

30

【0640】

実施形態102B．該製剤は、約50mg/mL～約150mg/mLの抗ヒトICOS抗体、約1mM～約100mMのヒスチジン、約1%～約40%のトレハロース、および約0.001%～約5%のポリソルベート80を含み、該製剤のpHは約5～約7である、実施形態101に記載の製剤。

【0641】

実施形態103A．該製剤は、約5mg/mL～約15mg/mLの抗ヒトICOS抗体、約5mM～約25mMのヒスチジン、約2%～約15%のトレハロース、および約0.005%～約1%のポリソルベート80を含み、該製剤のpHは約5.5～約6.5である、実施形態101に記載の製剤。

40

【0642】

実施形態103B．該製剤は、約80mg/mL～約120mg/mLの抗ヒトICOS抗体、約5mM～約25mMのヒスチジン、約2%～約15%のトレハロース、および約0.005%～約1%のポリソルベート80を含み、該製剤のpHは約5.5～約6.5である、実施形態101に記載の製剤。

【0643】

実施形態104A．該製剤は、約10mg/mLの抗ヒトICOS抗体、約10mMのヒスチジン、約4%のトレハロース、および約0.02%のポリソルベート80を含み、該製剤のpHは約6である、実施形態101に記載の製剤。

【0644】

50

実施形態 104B . 該製剤は、約 100 mg / mL の抗ヒトICOS抗体、約 10 mM のヒスチジン、約 4 % のトレハロース、および約 0 . 02 % のポリソルベート 80 を含み、該製剤の pH は約 6 である、実施形態 101 に記載の製剤。

【0645】

実施形態 105 . 該製剤は等張性である、実施形態 101 ~ 104 のうちのいずれか 1 つの製剤。

【0646】

実施形態 106 . 該製剤は、少なくとも約 4 週間、40 で保存する際に安定している、実施形態 101 ~ 104 のうちのいずれか 1 つの製剤。

【0647】

実施形態 107 . 該製剤は、少なくとも約 3 ヶ月間、5 で保存する際に安定している、実施形態 101 ~ 104 のうちのいずれか 1 つの製剤。

【0648】

実施形態 108 . 該製剤は、少なくとも約 12 ヶ月間、5 で保存する際に安定している、実施形態 101 ~ 104 のうちのいずれか 1 つの製剤。

【0649】

実施形態 109 . 該抗体は、少なくとも約 4 週間、40 で保存する前の抗体を表す参照抗体と比べて、ヒトICOSポリペプチドとの結合能力の少なくとも約 80 % を保持する、実施形態 101 ~ 104 のうちのいずれか 1 つの製剤。

【0650】

実施形態 110 . 該抗体は、少なくとも約 3 ヶ月間、5 で保存する前の抗体を表す参照抗体と比べて、ヒトICOSポリペプチドとの結合能力の少なくとも約 80 % を保持する、実施形態 101 ~ 104 のうちのいずれか 1 つの製剤。

【0651】

実施形態 111 . 該抗体は、少なくとも約 12 ヶ月間、5 で保存する前の抗体を表す参照抗体と比べて、ヒトICOSポリペプチドとの結合能力の少なくとも約 80 % を保持する、実施形態 101 ~ 104 のうちのいずれか 1 つの製剤。

【0652】

実施形態 112 . 該抗体は、少なくとも約 4 週間、40 で保存する前の抗体を表す参照抗体と比べて、ヒトICOSポリペプチドとの結合能力の少なくとも約 90 % を保持する、実施形態 101 ~ 104 のうちのいずれか 1 つの製剤。

【0653】

実施形態 113 . 該抗体は、少なくとも約 3 ヶ月間、5 で保存する前の抗体を表す参照抗体と比べて、ヒトICOSポリペプチドとの結合能力の少なくとも約 90 % を保持する、実施形態 101 ~ 104 のうちのいずれか 1 つの製剤。

【0654】

実施形態 114 . 該抗体は、少なくとも約 12 ヶ月間、5 で保存する前の抗体を表す参照抗体と比べて、ヒトICOSポリペプチドとの結合能力の少なくとも約 90 % を保持する、実施形態 101 ~ 104 のうちのいずれか 1 つの製剤。

【0655】

実施形態 115 . 該抗体は、少なくとも約 4 週間、40 で保存する前の抗体を表す参照抗体と比べて、ヒトICOSポリペプチドとの結合能力の少なくとも約 95 % を保持する、実施形態 101 ~ 104 のうちのいずれか 1 つの製剤。

【0656】

実施形態 116 . 該抗体は、少なくとも約 3 ヶ月間、5 で保存する前の抗体を表す参照抗体と比べて、ヒトICOSポリペプチドとの結合能力の少なくとも約 95 % を保持する、実施形態 101 ~ 104 のうちのいずれか 1 つの製剤。

【0657】

実施形態 117 . 該抗体は、少なくとも約 12 ヶ月間、5 で保存する前の抗体を表す参照抗体と比べて、ヒトICOSポリペプチドとの結合能力の少なくとも約 95 % を保持

10

20

30

40

50

する、実施形態 101 ~ 104 のうちのいずれか 1 つの製剤。

【0658】

実施形態 118 . 該抗体は凝集または断片化に影響されやすい、実施形態 101 ~ 104 のうちのいずれか 1 つの製剤。

【0659】

実施形態 119 . 該抗体の約 2 % 未満は、H P S E C によって定められる通り、40 で少なくとも約 4 週間保存する際に、凝集体を形成する、実施形態 101 ~ 104 のうちのいずれか 1 つの製剤。

【0660】

実施形態 120 . 該抗体の約 2 % 未満は、H P S E C によって定められる通り、5 で少なくとも約 3 ヶ月間保存する際に、凝集体を形成する、実施形態 101 ~ 104 のうちのいずれか 1 つの製剤。

10

【0661】

実施形態 121 . 該抗体の約 2 % 未満は、H P S E C によって定められる通り、5 で少なくとも約 12 ヶ月間保存する際に、凝集体を形成する、実施形態 101 ~ 104 のうちのいずれか 1 つの製剤。

【0662】

実施形態 122 . 該抗体の約 5 % 未満は、R P - H P L C によって定められた通り、40 で少なくとも約 4 週間保存する際に、断片化される、請求項 101 ~ 104 のうちのいずれか 1 つの製剤。

20

【0663】

実施形態 123 . 該抗体の約 5 % 未満は、R P - H P L C によって定められた通り、5 で少なくとも約 3 ヶ月間保存する際に、断片化される、実施形態 101 ~ 104 のうちのいずれか 1 つの製剤。

【0664】

実施形態 124 . 該抗体の約 5 % 未満は、R P - H P L C によって定められた通り、5 で少なくとも約 12 ヶ月間保存する際に、断片化される、実施形態 101 ~ 104 のうちのいずれか 1 つの製剤。

【0665】

実施形態 125 . 該製剤は目視検査によって測定される通り、少なくとも約 3 ヶ月間、5 で保存する際に、透明および無色である、実施形態 101 ~ 104 のうちのいずれか 1 つの製剤。

30

【0666】

実施形態 126 . 該製剤は目視検査によって測定される通り、少なくとも約 12 ヶ月間、5 で保存する際に、透明および無色である、実施形態 101 ~ 104 のうちのいずれか 1 つの製剤。

【0667】

実施形態 127 . 該製剤は注射製剤である、実施形態 101 ~ 126 のうちのいずれか 1 つの製剤。

【0668】

実施形態 128 . 該製剤は、静脈内、皮下、または筋肉内投与に適している実施形態 127 に記載の製剤。

40

【0669】

実施形態 129 . 該製剤は、静脈内投与に適している、実施形態 128 に記載の製剤。

【0670】

実施形態 130 . 該製剤は、皮下投与に適している、実施形態 128 に記載の製剤。

【0671】

実施形態 131 . 該製剤はエアロゾル投与に適している、実施形態 101 ~ 126 のうちのいずれか 1 つに記載の製剤。

【0672】

50

実施形態 132 . 製剤の調製プロセスであり、

a) 約 10 mg / mL ~ 約 50 mg / mL に抗ヒトICOS抗体溶液を濃縮することと

b) ヒスチジンを含む溶液で該濃縮された抗体を透析ろ過することと、を含む実施形態 101 ~ 126 のうちのいずれか 1 つに従う製剤の調製プロセス。

【0673】

実施形態 133 . 実施形態 132 に記載のプロセスであり、

(c) ヒスチジンを含む溶液で透析ろ過された抗体を、約 50 mg / mL ~ 約 250 mg / mL に濃縮することと、

(d) 濃縮された抗体溶液を少なくとも約 1 つの賦形剤を含む少なくとも約 1 つの溶液と混合することと、をさらに含む実施形態 132 に記載のプロセス。

10

【0674】

実施形態 134 . 該抗体と pH 6 でヒスチジン - HCl、塩化ナトリウム、トレハロース、およびポリソルベート 80 とを組み合わせることを含み、抗体は、配列番号 6 の重鎖配列、配列番号 1 の軽鎖配列、およびフコースは糖鎖の還元末端の N - アセチルグルコサミンと結合しない複合 N - グリコシド - 結合糖鎖を有する Fc 領域を含む、抗ヒトICOS抗体を安定させる方法。

【0675】

実施形態 135 . 抗体濃度は、約 80 mg / mL ~ 約 120 mg / mL である、実施形態 134 に記載の方法。

20

【0676】

実施形態 136 . 適切な容器において、実施形態 101 ~ 131 のうちのいずれか 1 つに記載の抗体製剤を含む、ヒトに対する非経口投与に適している薬学的単位剤形。

【0677】

実施形態 137 . 抗体製剤を、静脈内、皮下、または筋肉内に投与する、実施形態 136 に記載の薬学的単位剤形。

【0678】

実施形態 138 . 適切な容器において、実施形態 101 ~ 131 のうちのいずれか 1 つに記載の抗体製剤を含む、ヒトに対する非エアロゾル投与に適している薬学的単位剤形。

【0679】

実施形態 139 . 抗体製剤を鼻腔内に投与する、実施形態 138 に記載の薬学的単位投与量。

30

【0680】

実施形態 140 . 実施形態 101 ~ 131 のうちのいずれか 1 つに記載の製剤を含有する密閉容器。

【0681】

実施形態 141 . 実施形態 101 ~ 131 のうちのいずれか 1 つに記載の製剤を含むキット。

【0682】

実施形態 142 . ヒトにおける自己免疫病または疾患を治療する方法であって、それを必要とするヒトに、実施形態 101 ~ 131 のいずれか 1 つに記載の治療有効量の製剤を投与することを含む、方法。

40

【0683】

実施形態 143 . 自己免疫病または疾患は SLE または強皮症である、実施形態 142 に記載の方法。

【0684】

実施形態 144 . ヒト移植患者における拒絶を治療または防止する方法であって、それを必要とするヒトに、実施形態 101 ~ 131 のいずれか 1 項に記載の治療有効量の製剤を投与することを含む、方法。

【0685】

50

実施形態 145 . ヒトにおける T 細胞悪性腫瘍を治療する方法であって、それを必要とするヒトに、実施形態 101 ~ 131 のいずれか 1 つに記載の治療有効量の製剤を投与することを含む、方法。

【0686】

実施形態 146 . ヒトにおける炎症性疾病もしくは疾患を治療する方法であって、それを必要とするヒトに、実施形態 101 ~ 131 のいずれか 1 つに記載の治療有効量の製剤を投与することを含む、方法。

【0687】

実施形態 147 . 炎症性疾病または疾患は、筋炎である、実施形態 180 に記載の方法。

10

【0688】

実施形態 148 . 筋炎は、封入体筋炎 (IBM)、多発性筋炎 (PM)、または皮膚筋炎 (DM) である、実施形態 147 に記載の方法。

【0689】

実施形態 149 . ヒト患者において ICOS を発現する T 細胞を枯渇させる方法であって、それを必要とするヒトに、実施形態 101 ~ 131 のいずれか 1 項に記載の治療有効量の製剤を投与することを含む、方法。

【0690】

実施形態 150 . 枯渇は、抗体の投与後、少なくとも約 1、少なくとも約 2、少なくとも約 3、または少なくとも約 4 週間、実質的に持続する、実施形態 149 に記載の方法。

20

【0691】

実施形態 151 . 少なくとも約 95% の T 細胞は、枯渇する、実施形態 149 に記載の方法。

【0692】

実施形態 152 . ICOS を発現する T 細胞はメモリー T 細胞である、実施形態 149 に記載の方法。

【0693】

実施形態 153 . ICOS を発現する T 細胞は循環する T 細胞である、実施形態 149 に記載の方法。

【0694】

30

実施形態 154 . 実施形態 101 ~ 131 のいずれか 1 つに記載の有効量の製剤を投与することを含む、霊長類動物の二次リンパ器官の胚中心構造を破壊する方法。

【0695】

実施形態 155 . 霊長類は、非ヒト霊長類である、実施形態 149 に記載の方法。

【0696】

実施形態 156 . 実施形態 101 ~ 131 のうちのいずれか 1 つの製剤の有効量を投与することを含む、霊長類の二次リンパ器官から胚中心の B 細胞を枯渇する方法。

【0697】

実施形態 157 . 霊長類は、非ヒト霊長類である、実施形態 156 に記載の方法。

【0698】

40

実施形態 158 . 霊長類はヒトである、実施形態 156 に記載の方法。

【0699】

実施形態 159 . 枯渇は、抗体の投与後、少なくとも約 1、少なくとも約 2、少なくとも約 3、または少なくとも約 4 週間、実質的に持続する、実施形態 156 に記載の方法。

【0700】

実施形態 160 . 実施形態 101 ~ 131 のうちのいずれか 1 つの製剤の有効量を投与することを含む、霊長類で循環する種類を切り替えられた B 細胞を枯渇する方法。

【0701】

実施形態 161 . 霊長類は、非ヒト霊長類である、実施形態 194 に記載の方法。

【0702】

50

実施形態 1 6 2 . 霊長類はヒトである、実施形態 1 9 4 に記載の方法。

【 0 7 0 3 】

実施形態 1 6 3 . 枯渇は、抗体の投与後、少なくとも約 1、少なくとも約 2、少なくとも約 3、または少なくとも約 4 週間、実質的に持続する、実施形態 1 9 4 に記載の方法。

【 0 7 0 4 】

実施形態 1 6 4 . 少なくとも約 9 5 % の循環する種類を切り替えられた B 細胞は、枯渇する、実施形態 1 9 4 に記載の方法。

【 0 7 0 5 】

実施形態 1 6 5 . 製剤は、薬学的に許容される製剤である、実施形態 1 ~ 7 0 または 1 0 1 ~ 1 3 1 のいずれか 1 つに記載の製剤。

10

【 0 7 0 6 】

実施形態 1 6 6 . 製剤は、プレフィルドシリンジにある、実施形態 6 6、6 7、6 9、1 2 7、1 2 8、または 1 3 0 のうちのいずれか 1 つに記載の製剤。

【 0 7 0 7 】

実施形態 1 6 7 . プレフィルドシリンジは、針を含む、実施形態 1 6 6 に記載の製剤。

【 0 7 0 8 】

実施形態 1 6 8 . プレフィルドシリンジは、プラスチックシリンジまたはガラスシリンジである、実施形態 1 6 6 に記載の製剤。

【 0 7 0 9 】

実施形態 1 6 9 . プレフィルドシリンジは、プラスチックシリンジである、実施形態 1 6 6 に記載の製剤。

20

【 0 7 1 0 】

実施形態 1 7 0 . プレフィルドシリンジは、ガラスシリンジである、実施形態 1 6 8 に記載の製剤。

【 0 7 1 1 】

実施形態 1 7 1 . プレフィルドシリンジは、実質的にタングステンを含まない物質で作られる、実施形態 1 6 6 に記載の製剤。

【 0 7 1 2 】

実施形態 1 7 2 . プレフィルドシリンジは、実質的にシリコーンを含まない、実施形態 1 6 6 に記載の製剤。

30

【 0 7 1 3 】

実施形態 1 7 3 . プレフィルドシリンジは、シリコーンベースの潤滑剤を含まない、実施形態 1 6 6 に記載の製剤。

【 0 7 1 4 】

実施形態 1 7 4 . プレフィルドシリンジは、フルオロポリマー樹脂ディスクを有するプランジャーを含む、実施形態 1 6 6 に記載の製剤。

【 0 7 1 5 】

実施形態 1 7 5 . 適切な容器はプレフィルドシリンジである、実施形態 7 1、7 2、1 3 6、または 1 3 7 のうちのいずれか 1 つに記載の薬学的単位投与量。

【 0 7 1 6 】

実施形態 1 7 6 . プレフィルドシリンジは、針を含む、実施形態 1 7 2 に記載の薬学的単位投与量。

40

【 0 7 1 7 】

実施形態 1 7 7 . プレフィルドシリンジはプラスチックシリンジまたはガラスシリンジである、実施形態 1 7 2 に記載の薬学的単位投与量。

【 0 7 1 8 】

実施形態 1 7 8 . プレフィルドシリンジはプラスチックシリンジである、実施形態 1 7 8 に記載の薬学的単位投与量。

【 0 7 1 9 】

実施形態 1 7 9 . プレフィルドシリンジはガラスシリンジである、実施形態 1 7 8 に記

50

載の薬学的単位投与量。

【0720】

実施形態180．プレフィルドシリンジは、実質的にタングステンを含まない物質で作られる、実施形態172に記載の薬学的単位投与量。

【0721】

実施形態181．プレフィルドシリンジは実質的にシリコンを含まない、実施形態172に記載の薬学的単位投与量。

【0722】

実施形態182．プレフィルドシリンジは、シリコンベースの潤滑剤を含まない、実施形態172に記載の薬学的単位投与量。

10

【0723】

実施形態183．プレフィルドシリンジはフルオロポリマー樹脂ディスクを有するプランジャーを含む、実施形態172に記載の薬学的単位投与量。

【0724】

実施形態184．密閉容器はプレフィルドシリンジである、実施形態75または140のうちのいずれか1つの密閉容器。

【0725】

実施形態185．プレフィルドシリンジは針を含む、実施形態184に記載の密閉容器。

【0726】

実施形態186．プレフィルドシリンジはプラスチックシリンジまたはガラスシリンジである、実施形態184に記載の密閉容器。

20

【0727】

実施形態187．プレフィルドシリンジはプラスチックシリンジである、実施形態186に記載の密閉容器。

【0728】

実施形態188．プレフィルドシリンジはガラスシリンジである、実施形態186に記載の密閉容器。

【0729】

実施形態189．プレフィルドシリンジは、実質的にタングステンを含まない物質で作られる、実施形態184に記載の密閉容器。

30

【0730】

実施形態190．プレフィルドシリンジは実質的にシリコンを含まない、実施形態184に記載の密閉容器。

【0731】

実施形態191．プレフィルドシリンジは、シリコンベースの潤滑剤を含まない、実施形態184に記載の密閉容器。

【0732】

実施形態192．プレフィルドシリンジはプランジャーを含み、プランジャーはフルオロポリマー樹脂ディスクを含む、実施形態184に記載の密閉容器。

40

【0733】

実施形態193．キットはプレフィルドシリンジを含む、実施形態76または141のうちのいずれか1つに記載のキット。

【0734】

実施形態194．プレフィルドシリンジは針を含む、実施形態193に記載のキット。

【0735】

実施形態195．プレフィルドシリンジはプラスチックシリンジまたはガラスシリンジである、実施形態193に記載のキット。

【0736】

実施形態196．プレフィルドシリンジはプラスチックシリンジである、実施形態19

50

5に記載のキット。

【0737】

実施形態197. プレフィルドシリンジはガラスシリンジである、実施形態195に記載のキット。

【0738】

実施形態198. プレフィルドシリンジは実質的にタングステンを含まない物質で作られる、実施形態193に記載のキット。

【0739】

実施形態199. プレフィルドシリンジは実質的にシリコンを含まない、実施形態193に記載のキット。

10

【0740】

実施形態200. プレフィルドシリンジはシリコンベースの潤滑剤を含まない、実施形態193に記載のキット。

【0741】

実施形態201. プレフィルドシリンジはブランジャーを含み、ブランジャーはフルオロポリマー樹脂ディスクを含む、実施形態193に記載のキット。

【0742】

実施形態202. 抗ヒトICOS抗体を含み、ヒスチジン、塩化ナトリウム、トレハロース、またはポリソルベート80をさらに含み、抗体は、配列番号6の重鎖配列、配列番号1の軽鎖配列、およびフコースは糖鎖の還元末端のN-アセチルグルコサミンと結合しない複合N-グリコシド-結合糖鎖を有するFc領域を含んでいる、無菌の、安定した水性製剤を含有するプレフィルドシリンジ。

20

【0743】

実施形態203. プレフィルドシリンジは針を含む、実施形態202に記載のプレフィルドシリンジ。

【0744】

実施形態204. 事前に補充されたものは密閉される、実施形態202に記載のプレフィルドシリンジ。

【0745】

実施形態205. プレフィルドシリンジはプラスチックシリンジまたはガラスシリンジである、実施形態202に記載のプレフィルドシリンジ。

30

【0746】

実施形態206. プレフィルドシリンジはプラスチックシリンジである、実施形態211に記載のプレフィルドシリンジ。

【0747】

実施形態207. プレフィルドシリンジはガラスシリンジである、実施形態211に記載のプレフィルドシリンジ。

【0748】

実施形態208. プレフィルドシリンジは実質的にタングステンを含まない物質で作られる、実施形態202に記載のプレフィルドシリンジ。

40

【0749】

実施形態209. プレフィルドシリンジは実質的にシリコンを含まない、実施形態202に記載のプレフィルドシリンジ。

【0750】

実施形態210. プレフィルドシリンジは、シリコンベースの潤滑剤を含まない、実施形態202に記載のプレフィルドシリンジ。

【0751】

実施形態211. プレフィルドシリンジはフルオロポリマー樹脂ディスクを有するブランジャーを含む、実施形態202に記載のプレフィルドシリンジ。

【0752】

50

実施形態 2 1 2 . シリンジはフルオロポリマー樹脂ディスクを有するプランジャーを含む実質的にシリコンおよびタングステンを含まないプラスチックシリンジである、実施形態 2 0 2 に記載のプレフィルドシリンジ。

【 0 7 5 3 】

実施形態 2 1 3 . 該製剤は抗ヒト I C O S 抗体、ヒスチジン、塩化ナトリウム、トレハロース、およびポリソルベート 8 0 を含む、実施形態 2 0 2 ~ 2 1 2 のうちのいずれか 1 つに記載のプレフィルドシリンジ。

【 0 7 5 4 】

実施形態 2 1 4 . 該製剤は約 5 0 m g / m L ~ 約 1 5 0 m g / m L の抗ヒト I C O S 抗体、約 1 m M ~ 約 1 0 0 m M のヒスチジン、約 1 0 m M ~ 約 2 0 0 m M の N a C l 、約 1 % ~ 約 4 0 % のトレハロース、および約 0 . 0 0 1 % ~ 約 5 % のポリソルベート 8 0 を含み、該製剤の p H は約 5 ~ 約 7 である、実施形態 2 0 2 に記載のプレフィルドシリンジ。

【 0 7 5 5 】

実施形態 2 1 5 . 該製剤は約 8 0 m g / m L ~ 約 1 2 0 m g / m L の抗ヒト I C O S 抗体、約 1 m M ~ 約 5 0 m M のヒスチジン、約 5 0 m M ~ 約 1 5 0 m M の N a C l 、約 1 % ~ 約 2 0 % のトレハロース、および約 0 . 0 0 5 % ~ 約 1 % のポリソルベート 8 0 を含み、該製剤の p H は約 5 . 5 ~ 約 6 . 5 である、実施形態 2 0 2 に記載のプレフィルドシリンジ。

【 0 7 5 6 】

実施形態 2 1 6 . 該製剤は約 1 0 0 m g / m L の抗ヒト I C O S 抗体、約 1 0 m M のヒスチジン、約 8 0 m M の N a C l 、約 4 % のトレハロース、および約 0 . 0 1 % ~ 約 0 . 0 5 % のポリソルベート 8 0 を含み、該製剤の p H は約 6 である、実施形態 2 0 2 に記載のプレフィルドシリンジ。

【 0 7 5 7 】

実施形態 2 1 7 . 該製剤は約 1 0 0 m g / m L の抗ヒト I C O S 抗体、約 1 0 m M のヒスチジン、約 8 0 m M の N a C l 、約 4 % のトレハロース、および約 0 . 0 2 % のポリソルベート 8 0 を含み、該製剤の p H は約 6 である、実施形態 2 0 2 に記載のプレフィルドシリンジ。

【 0 7 5 8 】

実施形態 2 1 8 . 該製剤は等張性である、実施形態 2 0 2 ~ 2 1 7 のうちのいずれか 1 つに記載のプレフィルドシリンジ。

【 0 7 5 9 】

実施形態 2 1 9 . 少なくとも約 4 週間、4 0 で保存する際、該製剤は安定である、実施形態 2 0 2 ~ 2 1 7 のうちのいずれか 1 つに記載のプレフィルドシリンジ。

【 0 7 6 0 】

実施形態 2 2 0 . 少なくとも約 3 ヶ月間、5 で保存する際、該製剤は安定である、実施形態 2 0 2 ~ 2 1 7 のうちのいずれか 1 つに記載のプレフィルドシリンジ。

【 0 7 6 1 】

実施形態 2 2 1 . 少なくとも約 1 2 ヶ月間、5 で保存する際、該製剤は安定である、実施形態 2 0 2 ~ 2 1 7 のうちのいずれか 1 つに記載のプレフィルドシリンジ。

【 0 7 6 2 】

実施形態 2 2 2 . 該抗体は少なくとも約 4 週間、4 0 で保存する前の抗体を表す参照抗体と比べて、ヒト I C O S ポリペプチドとの結合能力の少なくとも約 8 0 % を保持する、実施形態 2 0 2 ~ 2 1 7 のうちのいずれか 1 つに記載のプレフィルドシリンジ。

【 0 7 6 3 】

実施形態 2 2 3 . 該抗体は少なくとも約 3 ヶ月間、5 で保存する前の抗体を表す参照抗体と比べて、ヒト I C O S ポリペプチドとの結合能力の少なくとも約 8 0 % を保持する、実施形態 2 0 2 ~ 2 1 7 のうちのいずれか 1 つに記載のプレフィルドシリンジ。

【 0 7 6 4 】

実施形態 2 2 4 . 該抗体は少なくとも約 1 2 ヶ月間、5 で保存する前の抗体を表す参

10

20

30

40

50

照抗体と比べて、ヒトICOSポリペプチドとの結合能力の少なくとも約80%を保持する、実施形態202～217のうちのいずれか1つに記載のプレフィルドシリンジ。

【0765】

実施形態225．該抗体は少なくとも約4週間、40℃で保存する前の抗体を表す参照抗体と比べて、ヒトICOSポリペプチドとの結合能力の少なくとも約90%を保持する、実施形態202～217のうちのいずれか1つに記載のプレフィルドシリンジ。

【0766】

実施形態226．該抗体は少なくとも約3ヶ月間、5℃で保存する前の抗体を表す参照抗体と比べて、ヒトICOSポリペプチドとの結合能力の少なくとも約90%を保持する、実施形態202～217のうちのいずれか1つに記載のプレフィルドシリンジ。

10

【0767】

実施形態227．該抗体は少なくとも約12ヶ月間、5℃で保存する前の抗体を表す参照抗体と比べて、ヒトICOSポリペプチドとの結合能力の少なくとも約90%を保持する、実施形態202～217のうちのいずれか1つに記載のプレフィルドシリンジ。

【0768】

実施形態228．該抗体は少なくとも約4週間、40℃で保存する前の抗体を表す参照抗体と比べて、ヒトICOSポリペプチドとの結合能力の少なくとも約95%を保持する、実施形態202～217のうちのいずれか1つに記載のプレフィルドシリンジ。

【0769】

実施形態229．該抗体は少なくとも約3ヶ月間、5℃で保存する前の抗体を表す参照抗体と比べて、ヒトICOSポリペプチドとの結合能力の少なくとも約95%を保持する、実施形態202～217のうちのいずれか1つに記載のプレフィルドシリンジ。

20

【0770】

実施形態230．該抗体は少なくとも約12ヶ月間、5℃で保存する前の抗体を表す参照抗体と比べて、ヒトICOSポリペプチドとの結合能力の少なくとも約95%を保持する、実施形態202～217のうちのいずれか1つに記載のプレフィルドシリンジ。

【0771】

実施形態231．該抗体は凝集または断片化に影響されやすい、実施形態202～217のうちのいずれか1つに記載のプレフィルドシリンジ。

【0772】

実施形態232．該抗体の約2%未満は、HPSECによって定められる通り、少なくとも約4週間、40℃で保存する際に凝集体を形成する、実施形態202～217のうちのいずれか1つに記載のプレフィルドシリンジ。

30

【0773】

実施形態233．該抗体の約2%未満は、HPSECによって定められる通り、5℃で少なくとも約3ヶ月間保存する際に、凝集体を形成する、実施形態202～217のうちのいずれか1つに記載のプレフィルドシリンジ。

【0774】

実施形態234．該抗体の約2%未満は、HPSECによって定められる通り、5℃で少なくとも約12ヶ月間保存する際に、凝集体を形成する、実施形態202～217のうちのいずれか1つに記載のプレフィルドシリンジ。

40

【0775】

実施形態235．該抗体の約5%未満は、RP-HPLCによって定められた通り、40℃で少なくとも約4週間保存する際に、断片化される、請求項202～217のうちのいずれか1つに記載のプレフィルドシリンジ。

【0776】

実施形態236．該抗体の約5%未満は、RP-HPLCによって定められた通り、5℃で少なくとも約3ヶ月間保存する際に、断片化される、請求項202～217のうちのいずれか1つに記載のプレフィルドシリンジ。

【0777】

50

実施形態 237 . 該抗体の約 5 % 未満は、R P - H P L C によって定められた通り、5 で少なくとも約 1 2 ヶ月間保存する際に、断片化される、請求項 202 ~ 217 のうちのいずれか 1 つに記載のプレフィルドシリンジ。

【0778】

実施形態 238 . 該製剤は目視検査によって測定される通り、少なくとも約 3 ヶ月間、5 で保存する際に、透明および無色である、実施形態 202 ~ 217 のうちのいずれか 1 つに記載のプレフィルドシリンジ。

【0779】

実施形態 239 . 該製剤は目視検査によって測定される通り、少なくとも約 1 2 ヶ月間、5 で保存する際に、透明および無色である、実施形態 202 ~ 217 のうちのいずれか 1 つに記載のプレフィルドシリンジ。

10

【0780】

実施形態 240 . 目視検査によって測定される通り、少なくとも約 3 ヶ月間、5 で保存する際に、該製剤は実質的に微粒子を含まない、実施形態 202 ~ 217 のうちのいずれか 1 つに記載のプレフィルドシリンジ。

【0781】

実施形態 241 . 目視検査によって測定される通り、少なくとも約 1 2 ヶ月間、5 で保存する際に、該製剤は実質的に微粒子を含まない、実施形態 202 ~ 217 のうちのいずれか 1 つに記載のプレフィルドシリンジ。

【0782】

20

実施形態 242 . 該製剤は注射製剤である、実施形態 202 ~ 217 のうちのいずれか 1 つに記載のプレフィルドシリンジ。

【0783】

実施形態 243 . 該製剤は皮下または筋肉内に適している、実施形態 242 に記載のプレフィルドシリンジ。

【0784】

実施形態 244 . 該製剤は皮下注射に適している、実施形態 243 に記載のプレフィルドシリンジ。

【0785】

実施形態 245 . 該製剤は薬学的に許容される製剤である、実施形態 202 ~ 244 のうちのいずれか 1 つに記載のプレフィルドシリンジ。

30

【0786】

実施形態 246 . 実施形態 202 ~ 245 のプレフィルドシリンジを含むキット。

以下、更に本発明の実施形態を示す。

(1) ヒトICOS に特異的に結合する抗体を含む無菌の安定した水性製剤であって、

a) 前記抗体は、フコースが糖鎖の還元末端の N - アセチルグルコサミンと結合しない複合 N - グリコシド結合糖鎖を有する Fc 領域を含み、

b) 前記抗体は、溶液中で可逆的な自己会合を起こし、前記可逆的な自己会合は、凝集体形成を誘発せず、かつ

c) 前記抗体の少なくとも 10 モル% は、37、10 mg / mL の抗体濃度の P B S 中で三量体として存在する、

40

前記製剤。

(2) 前記製剤は、約 5 mg / mL ~ 約 10 mg / mL の前記抗体、約 5 mM ~ 約 25 mM のヒスチジン、約 2 % ~ 約 15 % のトレハロース、および約 0 . 005 % ~ 約 1 % のポリソルベート 80 を含み、前記製剤の pH は約 5 . 5 ~ 約 6 . 5 である、(1) に記載の製剤。

(3) 前記製剤は、約 10 mg / mL の前記抗体、約 10 mM のヒスチジン、約 4 % のトレハロース、および約 0 . 02 % のポリソルベート 80 を含み、前記製剤の前記 pH は約 6 である、(1) に記載の製剤。

(4) 前記抗体は配列番号 7 の重鎖可変配列、および配列番号 2 の軽鎖可変配列を含む、

50

(1) ~ (3) のいずれか 1 に記載の製剤。

(5) 前記抗体は、配列番号 6 の重鎖配列および配列番号 1 の軽鎖配列を含む、(1) ~ (3) のいずれか 1 に記載の製剤。

(6) 前記製剤は等張性である、(1) ~ (5) のいずれか 1 に記載の製剤。

(7) 前記製剤は、薬学的に許容される製剤である、(1) ~ (6) のいずれか 1 に記載の製剤。

(8) 前記抗体は、5 での約 3 ヶ月間の前記製剤の保存中に、そのヒト I C O S 結合活性の約 2 0 % 以下を失う、(1) ~ (7) のいずれか 1 に記載の製剤。

(9) 前記抗体の約 5 % 未満は、H P S E C によって測定される通り、4 0 で約 1 ヶ月間保存すると、凝集体を形成する、(1) ~ (7) のいずれか 1 に記載の製剤。

(1 0) 前記抗体の約 5 % 未満は、R P - H P L C によって測定される通り、4 0 で約 2 ヶ月間保存すると、断片化される、(1) ~ (7) のいずれか 1 に記載の製剤。

(1 1) 前記製剤は注射製剤である、(1) ~ (1 0) のいずれか 1 に記載の製剤。

(1 2) 前記製剤は、静脈内、皮下、または筋肉内投与に適している、(1 1) に記載の製剤。

(1 3) 適切な容器に (1) ~ (1 2) のいずれか 1 に記載の抗体製剤を含む、ヒトに対する非経口投与に適している薬学的単位剤形。

(1 4) (1) ~ (1 2) のいずれか 1 に記載の製剤を含有する、プレフィルドシリンジ。

(1 5) ヒトにおける自己免疫病または疾患を治療する方法であって、それを必要とするヒトに、(1) ~ (1 2) のいずれか 1 に記載の製剤の治療有効量を投与することを含む、前記方法。

(1 6) 前記自己免疫病または疾患は、S L E または強皮症である、(1 5) に記載の方法。

(1 7) ヒト移植患者における拒絶を治療または防止する方法であって、それを必要とするヒトに、(1) ~ (1 2) のいずれか 1 に記載の製剤の治療有効量を投与することを含む、前記方法。

(1 8) ヒトにおける炎症性疾病または疾患を治療する方法であって、それを必要とするヒトに、(1) ~ (1 2) のいずれか 1 に記載の製剤の治療有効量を投与することを含む、前記方法。

(1 9) ヒト患者において I C O S を発現する T 細胞を枯渇させる方法であって、それを必要とするヒトに、(1) ~ (1 2) のいずれか 1 に記載の製剤の治療有効量を投与することを含む、前記方法。

(2 0) (1) ~ (1 2) のいずれか 1 に記載の製剤の有効量を投与することを含む、霊長類動物の二次リンパ器官の胚中心構造を破壊する方法。

【 0 7 8 7 】

当業者は、本明細書に記載される本開示の特別な実施形態の等価物を認める、または枠を超えない日常的な実験で解明することができるであろう。かかる等価物を、以下の請求項によって包含することを目的とする。

【 0 7 8 8 】

各刊行物、特許、または特許出願が、参照によって本明細書に組み込まれるように明確におよび個々に示された場合と同様に、本明細書に記載されたすべての刊行物、特許、特許出願は、本明細書に参照によって組み込まれる。

【 0 7 8 9 】

本明細書の参考文献の引用または考察は、それらが本開示の先行技術であることの承認であると解釈されるべきではない。

【 実施例 】

【 0 7 9 0 】

6 . 実施例

これらの実施例は、例示のみを目的として提供され、本開示は、決してこれらの実施例

10

20

30

40

50

に限定されるものとして解釈されるべきではなく、むしろ、本明細書に提供される教示の結果明白となる、ありとあらゆる変形を包含すると解釈されるべきである。

【0791】

以下の項では、抗ヒトICOS抗体を含む製剤の開発について記載する。別途記載されない限り、本明細書に示される実験結果は、配列番号6の重鎖配列と、配列番号1の軽鎖配列と、フコースが糖鎖の還元末端のN-アセチルグルコサミンと結合しない複合N-グリコシド結合糖鎖を有するFc領域とを含む、136抗ヒトICOS抗体を使用して生成された(2008年5月7日に出願された米国特許出願第12/116,512号を参照)。

【0792】

6.1. 実験方法

精製した抗ヒトICOS抗体は、本明細書に記載される標準的な工業規模のプロトコールに従って生成することができる。タンパク質濃度は、280nmでの光学密度測定から推測することができる。

【0793】

精製した抗ヒトICOS抗体を、Planova 20Nフィルタを使用してナノろ過し、微粒子状物質を除去する。抗ヒトICOS抗体製剤は、接線流ろ過(TFF)を使用して調製する。ナノろ過した抗ヒトICOS抗体を、Millipore Lab scale TFFデバイス上で約25mg/mLに濃縮する。次いで、抗ヒトICOS抗体を、適切な緩衝液(例えば、10mMヒスチジン-HCl(pH6.0)、80mM NaCl)中に5倍透析ろ過する。緩衝液交換が終了したら、抗体を約150mg/mLに濃縮する。濃縮した抗体調製物を適切な濃縮原液でスパイクすることによって、賦形剤を導入する。例えば、4%トレハロースの最終濃度を、100mLごとの濃縮した抗体調製物に、11mLの10mMヒスチジン-HCl、80mM NaCl、40%トレハロース(pH6.0)を添加することにより達成する。複数の賦形剤を、連続的なステップで導入することができる。例えば、0.02%のポリソルベート80の最終濃度は、10mMヒスチジン-HCl(pH6.0)、80mM NaCl、4%トレハロース、2%ポリソルベート80の原液を、抗体調製物を含有するトレハロースで100倍に希釈することによって、トレハロースの添加後に導入する。最終抗体濃度を、最終製剤緩衝液(例えば、10mMヒスチジン-HCl(pH6.0)、80mM NaCl、4%トレハロース、0.02%ポリソルベート80)で100±5mg/mLに調整する。

【0794】

以下の項は、無菌の水溶液中の、10mMヒスチジン(pH6.0)、80mM NaCl、4%トレハロース、0.02%ポリソルベート80中の100mg/mLの抗ICOS抗体を含む製剤を特徴付けるために使用され得る方法について記載する。

【0795】

製剤の安定性を、長期間保存した単一用量のアリコート物理的性質を分析することによって試験する。一部のアリコートは、臨床的な保存に推奨される温度(5)下で保存する。他のアリコートは、非常に長期の保存の効果をシミュレートするために、高温(25 または40)下で保管する。

【0796】

製剤の安定性に影響を及ぼし得るさらなる保存条件には、光強度、光波長、湿度、バイアル組成、および共栓組成が含まれるが、これらに限定されない。また、製剤の安定性についてのこれらのパラメータの効果も、本明細書に記載される方法を使用して測定することができる。

【0797】

サイズ排除クロマトグラフィーを利用して、製剤中の抗体凝集体(例えば、二量体)の量および断片化の程度を測定することができる。SECは、以下のように、Agilent 1100 Series High Performance Liquid Chromatography(HPLC)システムを使用して実施することができる。試料

10

20

30

40

50

を10mg/mLに希釈する。250ugのタンパク質を含有する25μLの希釈した試料を、TSK-Gel 3000カラム(サイズ7.8mm×30.0cm、Tosoh Biosciences Corporation)に注入する。タンパク質溶出プロファイル、280nmでの溶出液の光学密度に従って測定する。データ分析は、ChemStation(Agilent)自動積分パラメータを使用して実施することができる。

【0798】

また、逆送高速液体クロマトグラフィー(RP-HPLC)を使用して、製剤中の抗体断片の量を測定することもできる。RP-HPLCは、Agilent 1100 Series High Performance Liquid Chromatography(HPLC)システムを使用して実施する。試料を、Michrom BioresourcesからのPLRP-S(8um、4000A、2.0×150mm)カラム上で分析する。タンパク質溶出プロファイル、280nmでの溶出液の光学密度に従って測定する。データ分析は、ChemStation(Agilent)自動積分パラメータを使用して実施することができる。

10

【0799】

イオン交換クロマトグラフィー(IEC)を利用して、様々な製剤中の電荷イソ型の不均質を測定することができる。この分析に、Agilent 1100 Series High Performance Liquid Chromatography(HPLC)システムを使用することができる。試料を、Propac WCX-10G(4×250mm)Analytical Column(Dionex)上で分析する。データ分析は、ChemStation(Agilent)自動積分パラメータを使用して実施する。

20

【0800】

目視検査:ある製剤中の色、透明度、および微粒子の量を、肉眼で試料を検査することによって判定する。

【0801】

6.1.1. サイズ排除クロマトグラフィー(SEC)

サイズ排除クロマトグラフィーは、抗体凝集体および断片の存在について抗体製剤を分析するために実施することができる。試験試料を、高分解能のサイズ排除カラム(例えば、G3000 SW_{xL} 5μm、300、7.8×300mm、Toso Haas)に注入する。移動相は、0.25~1.0mL/分の流速の均一濃度で移動する0.1Mリン酸2ナトリウム、0.1M硫酸ナトリウム、および0.05%アジ化ナトリウム(pH6.7)である。溶出されたタンパク質は、280nmでの紫外吸光度によって検出し、さらなる特徴付けのために収集することができる。検出されたいずれかのタンパク質種の相対量は、初期除外容積ピークを除く、検出されたすべての他のピークの総面積と比較した、生成物ピークの面積百分率として報告される。抗体単量体ピークより早く溶出されるピークは凝集体百分率で記録し、一方抗体単量体ピークより遅いが、緩衝液ピークより遅く溶出されるピークは、断片百分率で記録する。個々のピークの流体力学半径および分子量は、結合多角度光散乱検出器で得ることができる。

30

40

【0802】

SECを使用して、長期間保存された製剤中の抗体凝集体の形成および抗体の断片化を監視(例えば、9ヶ月にわたって複数回測定を実施する)することができる。製剤は、異なる温度範囲(例えば、2~8、20~24、および38~42)で保存することができる。9ヶ月を超える保存の効果をシミュレートする目的で、製剤にストレスを加えるために、提案されている臨床的保存温度(2~8)を超えた温度範囲を使用する。断片と凝集体との比率は、時間と共に増加することが予測され、この増加は、高温で加速される可能性が高い。断片化および凝集速度が各温度範囲内で一定であるという知見は、より高い保存温度が加速された時間尺度を正確にシミュレートしていることを示しているだろう。

50

【0803】

断片化/凝集の予測される速度の対数 ($\log(\text{rate})$) も、決定することができる。ログ(速度)が、保存温度の逆数 ($1/T$ (K^{-1})) への線形の依存性を示すという知見によって、研究者が、任意の温度での製剤の凝集/断片化速度、より重要なことには、所与の温度での任意の時点の製剤特徴を予測することが可能になるだろう。

【0804】

凝集体および断片に相当するクロマトグラフィーピークが、相互に、または単量体ピークと十分には識別可能でない状況(例えば、凝集体/断片の相対的レベルが低い)では、SECは、断片化/凝集の正確な測定基準として機能しない場合がある。

【0805】

6.1.2. 超遠心分析法

また、超遠心分析法(AUC)を使用して、抗体凝集体および断片の存在について抗体製剤を特徴付けることができる。AUCは、液体試料中の高分子の沈降係数(スベドベリ、Sで報告される)を決定する、直交法である。SECと同様、AUCは、単量体から抗体断片/凝集体を分離および検出することができ、さらに、分子質量に関する情報を提供することができる。SECと比較すると、AUCは、固相の相互作用のための凝集体の損失の可能性を排除し、所与の高分子の異なる種をより良好に分解することができる。

【0806】

分析用超遠心機、例えば、Beckman Optima XL-Aを使用して、沈降速度実験を実施することができる。試験試料を、基準緩衝液(例えば、20 mMクエン酸、100 mM NaCl、1.5%マンニトール、50 μ Mジエチレントリアミン5酢酸、0.02%ポリソルベート80、pH6.0)で0.5 mg/mLの抗体濃度に希釈する。415 μ Lの希釈した抗体試料および412 μ Lの基準緩衝液を、それぞれ試料および基準チャンネル中の12 mmの遠心分離セルに装填する。装填したセルを、AN-50Ti分析用ローターに入れ、25に平衡化する。試料を、280 nm、42000 rpmのローター速度、完全真空でスキャンする。分析のために、各セルに対して合計80回スキャンを収集する。メニスカスによって生じる人為的影響を避けるために、後処理データプロセスからそれぞれの試料の最初のスキャンは除外する。

【0807】

N.I.H.のPeter Shuckによって開発されたc(s)方法、およびc(s)を実装したSEDFIT(バージョン8.8)プログラムを使用して、データを分析する。c(s)方法を使用して、沈降係数の分布を導出するために生のデータスキャンをSのLamm関数に直接当てはめる。当てはめの手順に使用されるパラメータは、解像度400、信頼区間0.75、グリッドサイズ1000、部分比体積0.7245、緩衝液密度1.000、および緩衝液粘度0.1002である。摩擦比、メニスカス、および底部位置を近似パラメータとして設定する。時間に依存しないノイズも近似する。検出されたピークを積分し、以下のように分類する: 0~6 Sは断片、6~9 Sは単量体、および9~20 Sは凝集体。

【0808】

AUCを使用して、低い相対的レベルの凝集および断片化を有する抗体製剤を特徴付けることができる。AUCは、SECピークの分解能を超える状況において、単量体種からの抗体断片および凝集体のより良好な分解を可能にし得る。また、凝集体ピークの分子質量のAUC推定値は、その組成物の指標として使用することができる(例えば、二量体対より高い多量体)。

【0809】

また、SECと比較すると、AUCは、所与の高分子の異なる種をより良好に分解することができる。しかしながら、AUCのノイズ/シグナル比は試料中の抗体濃度に依存するため、先ず適切な試料希釈率を確立する必要がある。

【0810】

6.1.3. 濁度測定:

10

20

30

40

50

抗体製剤中のタンパク質凝集は、濁度測定によっても特徴付けることができる。濁度は溶液中の粒子が光を散乱させる量の測定値であり、したがって、タンパク質の凝集または変性の一般的な指標として使用することができる。高い濁度は、より高レベルの凝集、または粒子の数/粒径の増加を示し得る。

【0811】

濁度測定は、製造業者の指示に従い、濁度計（例えば、2100ANまたは2100N、Hatch）を使用して実施することができる。約3～4mLの製剤試料をガラス試験管に移し、インラインの真空システムを用いて2分間脱気する。次いで、脱気した試料を、分析のために室温で濁度計（例えば、2100ANまたは2100N、Hatch）の試料区画に入れる。濁度計を、40、200、1000、および4000NTU（比濁分析濁度単位）で、STABLCAL（登録商標）Stabilized Formazin Turbidity 標準（Hatch）を用いて校正し、ホルマジンの対照懸濁液を3、6、18、30、および60NTUで分析することによって検証する。

10

【0812】

6.1.4. 粒子数

特定の製剤中の粒子の数および粒径は、製造業者の指示に従って、粒子計数器（例えば、Beckman Coulter Multisizer 3）を使用して測定することができる。

【0813】

6.1.5. 粘度プロフィール

抗体製剤の粘度は、粘度計（例えば、ViscoLab Piston（0.3055インチ、1～20cP）を備える、Cambridge Applied SystemsからのViscoLab 4000 Viscometer System）を使用して測定することができる。粘度計は、使用前に、適切な標準（例えば、Kohler Instrument Company, Inc.からのS6S標準試料）を用いて校正する。この系を20 に平衡化するために、粘度計を水浴に接続する。S6S粘性標準試料（20.00 で8.530cP）を使用して、ピストンを確認する。ピストンは、RODI H2O（20.0 で1.00cP）を使用しても確認される。ピストンは、それぞれの異なる溶液種類の測定ごとに、石鹼および水で完全に清潔にし、すすぐ。その後、この系を2 に冷却する。系の温度が2 以下になったら、試料をチャンバ内に装填し、ピストンを試料中に下げる。試料がチャンバの温度に平衡化した後、測定を開始する。25 の最終温度になるまで、温度を7～10分ごとに1 刻みで上昇させる。粘度結果を、温度を上昇する直前に記録する。再平衡化の必要性を最小限に抑えるために、測定中ピストンを動かし続ける。

20

30

【0814】

6.1.6. 示差走査熱量測定

示差走査熱量測定（DSC）を使用して、特定の製剤中の抗体の熱安定性における経時的变化を確認することができる。熱溶解温度（ T_m ）を、製造業者の指示に従って、示差走査熱量計（例えば、MicroCal, LLCからのVP-DSC）で測定する。一例では、VP-DSCを、1.0 /分の走査速度および25～120 の温度範囲で使用する。5分間の走査前の恒温状態と共に、8秒間のフィルタ期間を用いる。試料は、透析カップ（3.5kD）を用いた25mMヒスチジン-HCl、pH6への透析によって調製する。A₂₈₀によって決定される平均Mab濃度は、500μg/mLである。溶解温度は、系と共に供給されたソフトウェアを使用して、製造業者の指示に従って決定する。

40

【0815】

6.1.7. 液体クロマトグラフィー質量分析（LC-MS）

液体クロマトグラフィー質量分析（LC-MS）を使用して、抗体製剤中でSECまたはAUCによって検出された分解断片を特徴付けることができる。

【0816】

50

分解断片を含有するピークSECカラム分画を収集し、PNGase Fとしても知られるN-グリコシダーゼFを用いて、37℃で終夜消化させる。PNGase Fは、タンパク質試料を脱グリコシル化するために使用されるアミダーゼである。この酵素は、N結合糖タンパク質の高マンノース、ハイブリッドおよび複合オリゴ糖の最も内側のGlcnAcとアスパラギン残基との間を開裂する。脱グリコシル化された試料を還元緩衝液（例えば、2.5 mg/mLのDTT、6.0 MグアニジンHCl、pH 8.2）と混合し、水浴中56℃に60分間保つ。次いで、未希釈4-ビニルピリジン（例えば、Aldrich Chem. Co.、WI）を試料に添加し、反応混合物を周囲温度に30分間保つ。脱グリコシル化し、還元し、アルキル化された試料を、逆相カラムに直ぐに装填し、修飾された試料を反応物から分離する。

10

【0817】

脱グリコシル化し、還元し、アルキル化された試料を、二成分勾配HPLC系（Agilent 1100）で、逆相カラム（例えば、Jupiter 5 μm C4、300 × 250 × 2.0 mm、Phenomenex）を使用して分画する。移動相Aは、0.1%トリフルオロ酢酸を含む水中の30%アセトニトリルからなり、移動相Bは、0.1%トリフルオロ酢酸を含む水中の50%アセトニトリルからなる。試料を、水中の30~50%アセトニトリルの直線勾配を使用して、約200 μL/分の流速で16分間にわたって分離する。カラム溶出液を紫外線検出器に導き、次いで、1:1に分割し、半分はIon Trap質量分析計（例えば、LTQ、ThermoElectro、San Jose, CA）の切り替え弁に送り、残りの半分を廃棄する。

20

【0818】

イオントラップ質量分析計は、カフェイン、酢酸L-メチオニル-アルギニル-フェニルアラニル-アラニン・H₂O、およびUltramark 162の混合物を使用して、実験を実行する前に較正する。エレクトロスプレーイオン化質量分析（ESI-MS）データを、陽性ESIフルスキャンモードで得る。BioWorkの逆重畳プログラム（ThermoFinnigan）を使用して、質量スペクトルを再構築し、それらの元の質量スペクトルからペプチド/タンパク質の分子質量を得ることができる。その後、質量データを使用して、分解断片の同一性を決定する。

【0819】

6.1.8. 等電点電気泳動ゲル電気泳動

等電点測定値を使用して、所与の製剤中の抗体の化学的安定性を確認することができる。等電点は、多温度（multi temp）3冷蔵浴循環装置およびEPS 3501 XL電源を備えたPharmacia Biotech Multiphor 2電気泳動系を用いて測定する。予め成形されたアンフォラインゲル（Amersham Biosciences、pI範囲2.5~10）に5 μgのタンパク質を装填する。広範囲pIマーカー標準物質（Amersham、pI範囲3~10、8 μL）を使用して、Mabの相対pIを決定する。電気泳動を1500 V、50 mAで105分間実施する。ゲルは、Sigmaの固定液（5倍）を精製水で1倍に希釈して使用し、固定する。染色は、Simply Blue染料（Invitrogen）を使用して、室温で終夜実施する。脱染は、25%エタノール、8%酢酸、および67%精製水の溶液中で行う。等電点は、Bio-Rad Densitometerを使用して、標準物質の較正曲線に対して決定する。

30

40

【0820】

6.1.9. ジスルフィド結合の測定

ジスルフィド結合測定プロトコールを使用して、特定の抗体製剤中のジスルフィド架橋の安定性を監視することができる。抗体試料を、例えば、10 mMリン酸緩衝液、250 mM NaCl、5 mM NEM、6 Mグアニジン、pH 7.0中で、37℃で1~3時間変性させる。変性させた試料を100 mMリン酸緩衝液、0.1 mM EDTA、pH 7.0で6倍に希釈し、これにEndoproteinase Lys-C（例えば、Roche）を1:10の酵素/タンパク質比で添加する。反応混合物を37℃で16~2

50

4時間インキュベートする。反応混合物の半分で、5 - 10 μ Lの100 mM DTTを添加し、その後37 で1時間インキュベートすることによって、ジスルフィド架橋を還元する。Lys - C消化試料を、逆相HPLC（例えば、Phenomenex Jupiter 5m C18カラム、250 x 2.1 mm）によって分画する。溶離液を、紫外線検出器およびインラインのLCQまたはLTQ Ion Trap質量分析計（例えば、ThermoElectron）によって分析する。RP-HPLC移動相Aは、H₂O中の0.1% TFAであり、移動相Bは、アセトニトリル中の0.1% TFAである。ペプチドを、0.2 mL / 分の流速で、以下の段階勾配：1) 0 ~ 2分間、5% 移動相B、2) 2 ~ 32分間、5 ~ 20% 移動相B、3) 32 ~ 132分間、20 ~ 40%、移動相B、4) 132 ~ 152分間、40 ~ 60% 移動相B、5) 152 ~ 155分間、60 ~ 95% 移動相Bを用いて溶出する。

10

【0821】

イオントラップ質量分析計を、カフェイン、酢酸L-メチオニル-アルギニル-フェニルアラニル-アラニン・H₂O、およびUltramark 162の混合物を使用して、実験を実行する前に較正する。エレクトロスプレーイオン化質量分析(ESI-MS)データを、陽性ESIフルスキャンモードで得る。BioWorkの逆重畳プログラム(ThermoFinnigan)を使用して、質量スペクトルを再構築し、それらの元の質量スペクトルからペプチドの分子質量を得ることができる。DTTで還元した試料および非還元試料を使用して得た質量データの比較により、ジスルフィド架橋ペプチドの同定が可能になる。

20

【0822】

6.1.10. 結合親和性の特徴付け

長期保存（例えば、40 で1ヶ月または5 で6ヶ月）後に製剤から回収されたモノクローナル抗体の結合親和性は、BIAcore 3000計器(BIAcore, Inc., Piscataway, NJ)を使用して、表面プラズモン共鳴法（例えば、Jonsson et al., Biotechniques 11(5): 620-627 (1991)、Johns, B., Molecular Biotechnology 9(1): 65-71 (1989)を参照）によって決定することができる。抗体を、Prot-Gで被覆したCM5チップに捕捉する。参照目的で、捕捉アイソタイプ対照ヒト-IgG (Sigma)抗体を含むProt-Gで被覆したCM5チップを使用する。HBS-EPRランニング緩衝液に溶解したICOS-Fc融合タンパク質を、25 μ L / 分の速度でチップに通過させる。5分間の会合時間後に、10分間の解離期間が続く。異なる濃度のICOS-Fc（例えば、10 nM ~ 80 nMの濃度）にチップを曝露することにより、単独測定を実施する。20 mM NaOH + 400 mM NaClを用いて100 μ L / 分の流速で0.4分間洗浄することにより、チップを再生する。全体のデータセットが回収された時点で、BIAevaluationソフトウェア(BIAcore, Inc., Piscataway, NJ)を使用して、得られた結合曲線を1:1ラングミュア結合モデルに全体的に当てはめる。このアルゴリズムは、会合速度(k_{on})および解離速度(k_{off})の両方を計算し、そこから見かけの平衡結合定数、 K_D が、2つの速度定数、 k_{off} / k_{on} の比率として推測される。個々の速度定数を導出する方法のより詳細な説明は、BIAevaluation Software Handbook (BIAcore, Inc., Piscataway, NJ)に見出すことができる。

30

40

【0823】

6.2. 製剤の開発

アフコシル化された136抗体の物理化学的特性を、以下のように特徴付けた。アフコシル化された136のDSCプロファイルを、上述の通り決定した。DSC測定は、25 mMヒスチジン(pH 6.0)緩衝液中で実施した。アフコシル化された136抗体のDSCプロファイル(図1)は、フコシル化された親抗体のものと本質的に同一である。

【0824】

136抗体の熱安定性に対するpHの効果、様々なpHでの温度の関数としてトリブ

50

トファン蛍光を測定することによって確認した。実験結果の代表的な標本を図2に示す。136抗体は、pH5~7の範囲で安定であると思われた。

【0825】

コロイド安定性に対する製剤のpHの効果、温度の関数として様々な136製剤の濁度(A350nm)を測定することによって評価した。実験結果の代表的な標本を図3に示す。136抗体は、4~7のpH範囲で安定であると思われた。

【0826】

136抗体を安定化することができる賦形剤を同定するために、ハイスループットスクリーニングを設計した。136抗体のpH感受性に基づいて、スクリーニングのために準安定な対照緩衝液(pH7.2の20mMリン酸)を選択した。対照緩衝液中の136のコロイド安定性を、単一のさらなる賦形剤を含む緩衝液中の136のコロイド安定性と比較することにより、賦形剤をスクリーニングした。コロイド安定性の変化は、製剤濁度(A350nm)をある時間にわたって測定することで追跡した。安定化賦形剤は、ある時間にわたる濁度の増加を減速させるか、または排除し、一方不安定化賦形剤は、濁度の増加を加速させる。代表的な結果を図4に示す。安定化賦形剤を含む緩衝液中の濁度変化は、対照緩衝液中で認められた濁度変化の比率と比較して、減速または排除された。ハイスループットスクリーニングによって、ヒスチジン、クエン酸、アルギニン、リジン、塩化ナトリウム、およびトレハロースが、136抗体に対する安定化賦形剤として同定された(図5~7)。136の安定性に対する3つの賦形剤の組み合わせの効果を確認するために、さらなる実験を実施した(図8)。最も顕著な安定化効果が、4%トレハロースと組み合わせて使用されたときの100mMのアルギニンまたはリジンで認められた。

【0827】

ハイスループットスクリーニングの結果に基づいて、長期安定性実験のために2つの候補製剤を選択した。製剤1は10mMヒスチジン(pH6.0)を含み、製剤2は10mMヒスチジン(pH6.0)および150mM NaClを含み、製剤3は、10mMヒスチジン(pH6.0)、100mMアルギニン-HCl、および4%トレハロースを含んだ。これらの製剤中の136抗体(60mg/mL)の安定性を、40℃で保存後に単量体濃度を測定することによって評価した。単量体濃度は、本明細書に記載されるようにSECによって測定した。得られた安定性結果の例を図9に示す。この結果によって、アルギニン/トレハロースまたはNaClの添加によって、136抗体の安定性が増加したことが確認された。アルギニン/トレハロースは、NaCl単独よりも強い安定化効果を有した。

【0828】

136抗体の安定性は、リジンを含む製剤中でも確認された。40℃で1ヶ月インキュベーション後に、製剤2(10mMヒスチジン(pH6.0)および150mM NaCl)、ならびに製剤4(10mMヒスチジン(pH6.0)、100mMリジン-HCl、および4%トレハロース)から回収した136抗体を、HP-SECで分析した。代表的な溶出プロファイルを図10に示す。製剤4から回収した136の溶出プロファイルにおける主要な単量体ピークは、顕著な肩を示している。アルギニンを含む製剤から回収した136抗体の主要な単量体ピークも、同じ肩を示している。肩の存在は、リジンおよびアルギニンを含む製剤中の単量体/二量体混合物の形成を示している。このような肩は、製剤2から回収された136抗体の溶出プロファイルには検出されていない。

【0829】

10mMヒスチジン(pH6.0)、80mM NaCl、4%トレハロース、および0%、0.02%、もしくは0.05%のポリソルベートを含む製剤を、さらなる安定性研究のために選択した。5℃、2℃、または40℃で保存後のこれらの製剤中の136の凝集および断片化プロファイル、本明細書に記載される方法を使用して決定した。これらの実験からの代表的な結果を、図11~15に示す。示されるデータは、100mg/mL、10mMヒスチジン(pH6.0)、80mM NaCl、4%トレハロース、お

よび0.02%ポリソルベート80を含む製剤が、高度に安定な液体製剤であることを証明している。

【0830】

6.3. プレフィルドシリンジ中の製剤の安定性

100mg/mLの抗体、10mMヒスチジン、80mM NaCl、4%トレハロース、および0.02% PS-80をpH6.0で含む製剤の安定性を、プレフィルドシリンジ中で試験することができる。安定性試験は、1mLの製剤をシリンジに装填し、この製剤を充填したシリンジを5、25、または40で長期間保存することによって実施する。製剤の安定性を、本明細書に記載される分析方法を使用して分析する。プレフィルドシリンジ中の製剤の安定性の主要な決定因子である粒子形成を、目視検査によって評価する。タンパク質凝集および/または断片化を、シリンジから回収した製剤を当業者に知られている分析方法(例えば、SEC)に供して評価する。

10

【0831】

6.4. ICOSを担持するT細胞の枯渇は強皮症のGvHモデルにおいて疾病を防止する

本研究では、強皮症(SSc)の移植片対宿主病(GvHD)マウスモデルの病変形性におけるICOSの機能を、増強した抗体依存性細胞傷害(ADCC)を有する糖鎖改変した抗マウスICOS MA bを使用して調査した。マウスICOSのリガンド結合ドメインを対象としたアフコシル化したラット抗マウスICOSモノクローナル抗体(IgG2a)を、フコシルトランスフェラーゼ8を欠損したChinese Hamster Ovary(CHO)産生細胞株(BioWa Potelligent(登録商標)Technology)中で産生した。アフコシル化した抗マウスICOS MA bの活性を、炎症、線維症、および脈管障害を含むヒトSScの主要な側面を概括する、マウスGvHDモデルにおいて評価した。

20

【0832】

抗ICOS-aFuc MA bの投薬は、アイソタイプ対照MA bおよび対照同系移植片と比較すると、皮膚病変の重症度および発生率を減少させた。平均臨床スコアは、早くも移植後11日に(3.4倍、 $p < 0.05$)、およびその後、移植後4週間(8.1倍、 $p < 0.005$)、アイソタイプ対照MA b処置マウスと比較して、抗ICOS処置群において有意に減少した。また、抗ICOS-aFuc MA bは、TFH細胞の疾病関連の蓄積、ならびに胚中心B細胞および免疫グロブリンを分泌するB細胞の関連増殖も防止した。研究の間、動物におけるICOS MA bに関連する臨床的兆候または体重の変化はなかった。

30

【0833】

結果は、ICOS+T細胞の枯渇が全体的な臨床的疾患スコアを減少させたため、ICOSがマウスGvHD-SScの皮膚病理学において重要な役割を果たすことを示している。GvHD-SSc中のICOS+TFH細胞の異常調節の同定は、二次リンパ組織内での病原性B細胞の胚中心B細胞への生成の駆動、および皮膚内で免疫グロブリンを分泌するB細胞の分化におけるそれらの極めて重要な機能を強調している。重要なことには、抗マウスICOS-aFuc MA bでの処置が、疾病の臨床的兆候の有意な減少をもたらした。

40

【0834】

フコシル化したおよびアフコシル化した抗ICOS MA bのマウスFcγRIVへのBIAcore結合親和性を、図15Aに示す。ICOS MA b Fcのエフェクター細胞上に発現したFcγRIVへの結合の増強は、抗体依存性細胞傷害(ADCC)を増加させることが予期された。図15Bは、ナイーブ脾臓およびヘルパーメモリーT細胞(中枢およびエフェクター)上のICOS発現の定常状態における、免疫表現型の特徴付けを示す。ナイーブBalb/cマウスから単離された脾細胞を加工し、示されるマーカーで染色し、ヘルパーT細胞亜集団上のICOSの発現プロファイルを同定した。フコースなしの抗ICOS MA b(IgG2a-aFuc)は、ICOSを担持するT細胞の枯

50

渴をより効果的に媒介した(図15C)。脾臓ヘルパーの中核およびエフェクターメモリーICOS担持T細胞の薬力学的分析を、示される抗ICOS MA bをナイーブBalb/cマウスへ単回腹腔内注射(250 µg/動物)し、決定した。

【0835】

本研究で使用されたGvHモデルは、Zhou L., J Invest Dermatol, 2006, 126(2):305-14に記載されていた。Balb/c宿主に、B10D2ドナーからのT細胞を移植した。対照動物には、同質遺伝子のBalb/c T細胞を移植した。抗体を、移植後7、14、および21日目に投与した。抗ICOS MA b(IgG2a-aFuc)の投与によって、移植片対宿主強皮症の臨床スコアが減少した(図16)。臨床的疾患の平均スコアを、抗マウスICOS IG2a-aFucまたはアイソタイプ対照MA b(n=10)での隔週の処置(開始時間:8日目)後に評価した。ベースライン皮膚スコア測定を、研究6日目、および隔週にて研究26日目まで行い、ここで動物を組織収集のために安楽死させた。皮膚を以下のようにスコア化した:0=正常、1=病変<1cm²、2=病変1~2cm²、3=病変>2cm²。鱗状に見える四肢(耳、尾、足)には、0.3のスコアを与え、動物当たりの最大総スコアは3.9とした(*p<0.05、**p<0.005)。

【0836】

抗ICOS MA bは、ICOSを持つTFHの効果的な除去を媒介し、胚中心B細胞の増殖を抑制した。図17は、Balb/c対照マウス、および抗ICOSまたはアイソタイプ対照MA bのいずれかで処置したrag2欠損マウスから単離された、脾臓、リンパ節、ならびに末梢血ThメモリーおよびThメモリーICOS+細胞(図1Cに示されるようにゲートした)の免疫表現型分析を示す。抗ICOS治療は、TFH細胞の増殖を防止する(図17D)。抗ICOS MA bは、総脾臓B細胞(CD19+)の全体数を変化させないが(図17E)、胚中心B細胞のTFH媒介増殖を有意に抑制した(図17F)。ICOSを担持するT細胞の枯渇は、全体的なCD4+(図17G)およびCD8+(図17H)T細胞コンパートメントを攪乱させなかった。

【0837】

アイソタイプ対照MA b処置動物および抗ICOS MA b処置動物からのRAG2-/脾臓および腎臓の組織学を図18に示す。高拡大率(200倍)の脾臓は、アイソタイプと比較して、抗ICOS処置動物における胚中心形成の欠如を証明している。腎臓では、リンパ球がより少ない血漿細胞と混合した(F、挿入図)、中程度の血管周囲への細胞浸潤(E)があった。元の拡大率、100倍、挿入図、1000倍。

【0838】

抗ICOS MA bでの処置は、GvHD-SSc皮膚病変の発達を有意に抑制した。Balb/c、またはアイソタイプ対照MA b群および抗ICOS MA b処置群から4週目に脾細胞を移植したRAG2-/マウスのいずれかからの背部皮膚の組織学を、図19に示す。アイソタイプ群MA bの2/10動物に相当する皮膚のヘマトキシリンおよびエオシン染色(図19A、C、およびE)は、リンパ球の浸潤、好中球の分散、および増大したコラーゲンマトリックス内のマクロファージを伴う、著しい深部皮膚炎症を証明している。散在的に、表皮が、個々の基底細胞および毛嚢の内毛根鞘内のアポトーシスおよび壊死で肥厚している。マッソン3色染色法(図19B、D、およびF)は、アイソタイプ群の真皮内の未熟なコラーゲンの増加を証明している。抗ICOS MA b処置動物には、皮膚炎症が最小限であるか、または全くなかった。元の拡大率、200倍。

【0839】

ICOS MA b処置は、TヘルパーおよびTFHに関連する遺伝子ならびに皮膚における自己免疫性遺伝子のフィンガープリントの発現に影響を与えた。全RNAを皮膚生検およびcDNAのプレ増幅から抽出し、TaqMan Pre Amp Master Mix Kit(Applied Biosystems)を使用してリアルタイムPCRを調製した。Balb/c対照マウスから、および抗ICOSまたはアイソタイプ対照MA bで処置したRag2ノックアウトマウスから収集した皮膚RNA試料を、BioMa

10

20

30

40

50

rk 48.48 Dynamic ArrayチップのTaqMan Gene Expression Assays (Fluidigm Corp)を使用して、三重に実行した。デルタ-デルタCt (Ct)を、3つの参照遺伝子(GAPDH、18S、ACTB)の平均および較正用試料を使用して計算し、 2^{-Ct} の式によって、発現変化倍数に変換した。結果を図20に示す。

【0840】

6.5.136 抗ICOS抗体の可逆的な自己会合

136抗ICOS抗体に実施した超遠心分析法による分析は、典型的なIgGについて認められたものよりも広い主ピークを示した。PBS中25での0.1mg/mL、0.5mg/mL、および2.0mg/mLのタンパク質濃度で、サイズ分布分析は、タンパク質濃度の上昇と共に、自己会合を示す、ピークの拡大およびより高いS(沈降係数、スベドベリ)値への推移を示した。沈降平衡実験は、自己会合の化学量論が、 $2.5 \times 10^8 M^{-2}$ の会合定数で、単量体-三量体平衡モデルに最良に適合することを示した。

10

【0841】

動的光散乱(DLS)を使用して、136抗ICOS抗体の自己会合を研究し、自己会合を防止するか、または最小限に抑える条件/賦形剤についてスクリーニングした。DLS系は、まず、流体中に懸濁した粒子の無作為運動である、ブラウン運動を測定することによって粒径を測定する。干渉性かつ単色の光線がコロイド分散体を通過すると、粒子は光を散乱させ、ブラウン運動のために散乱強度の時間依存性の変動をもたらす。強度変動の時間依存性の分析によって、粒径に依存する粒子の拡散係数を得ることができる。次いで、粒子の流体力学半径を、ストークス・アインシュタインの方程式によって、その拡散係数から計算する。

20

【0842】

6.5.1.方法

動的光散乱：タンパク質サイズ分布およびしたがって分子サイズは、Zetasizer Nano ZS (Malvern Instruments, Malvern, PA)を使用して、動的光散乱(DLS)によって監視した。この機器は、0.6nm~6μmの範囲でタンパク質サイズを測定することができる、非侵襲的後方散乱光学を組み込んでいる。DLSは、タンパク質分子のブラウン運動から、散乱光の強度の時間依存性変動を測定する。これらの強度変動の分析によって、粒子の拡散係数の決定が可能になり、ストークス・アインシュタインの関係を使用して、等価球の平均的見かけの流体力学直径に数学的に変換した。拡散係数は、時間相関関数から計算した。タンパク質の可逆的な自己会合を理解するために、光電流の時間依存性自己相関関数を10秒ごとに得て、各実行で15~18個を取得した。試料溶液を、633nmのレーザーを使用して照射し、散乱光の強度を173度の角度で測定した。粘度、屈折率、および吸光度を補正後、DLS測定値は、流体力学直径およびそのガウス分布の両方の正確な推定値を提供し、可能性のある自己会合挙動を監視するために使用した。

30

【0843】

単量体および三量体分画率(%)を計算するためのデータ分析：沈降平衡実験は、自己会合の化学量論が、単量体-三量体平衡モデルに最良に適合することを示した。様々な条件下でDLSによって得られた流体力学的サイズを単量体-三量体平衡に当てはめて、会合定数を導出し、そこから自己会合した種のモル%を様々な条件下で計算した。DLS測定値の見かけのサイズを、単量体(9.0nm)および三量体(35.6nm)のもの加重平均としてとらえ、それらのそれぞれの分画の存在で乗じた(溶液濃度に依存して0~1)。総濃度は既知であるため、単量体の濃度は、以下に等しい。

40

【数1】

$$P_{Monomer} = P_{Total} \times 1 - \frac{[R_{H-Obs} - R_{H-Monomer}]}{[R_{H-Trimer} - R_{H-Monomer}]}$$

50

【0844】

すると、三量体の濃度は、以下になる。

【数2】

$$P_{Trimer} = \frac{\{[P_{Total}] - [P_{Monomer}]\}}{3}$$

【0845】

そして、会合定数 (M^{-2}) は、以下である。

【数3】

$$\frac{[P_{Trimer}]}{([P_{Monomer}])^3}$$

10

【0846】

式中、 P_{Total} は、Mでの136抗ICOS抗体濃度であり、 R_{H-obs} は、 n mでの認められた流体力学直径であり、 $R_{H-monomer}$ は、単量体の流体力学直径であり、 $R_{H-trimer}$ は、三量体の流体力学直径である。

【0847】

6.5.2. データおよび考察

タンパク質の可逆的な自己会合 (RSA) は、通常電荷および疎水性相互作用である、比較的弱い非共有結合性のタンパク質相互作用に起因し得る。この系は可逆的であるため、単量体とより高次の形態との間が平衡となり、この平衡は、溶液条件に依存して推移し得る。以下の項では、136抗ICOS抗体の自己会合に対するタンパク質濃度、pH、イオン強度、および温度の変化の効果について記載する。

20

【0848】

6.5.2.1. 136抗ICOS抗体におけるRSAを研究するための効果的なツールとしてのDLSの開発

DLSとAUCとの間の相関

モノクローナル抗体 (分子量約150 kDa) は、典型的には、9 ~ 12 nmの流体力学直径および約3 nmのガウス分布を有する。より大きな流体力学直径およびより広いガウス分布は、それぞれ自己会合を示し得る。したがって、136抗ICOS抗体の自己会合挙動を測定するために、流体力学直径を様々な溶液条件下で監視した。DLSを使用して、136抗ICOS抗体のRSAに対する様々な溶液条件の効果を研究する前に、DLSと、AUCのような (RSAを研究するための) 十分に確立された直交法との間に相関を確立した。

30

【0849】

6.5.2.2. 様々な条件下での136抗ICOS抗体の流体力学的サイズ濃度の効果

136抗ICOS抗体のAUC分析は、タンパク質濃度の上昇と共に、ピークの拡大およびより高いS (沈降係数、スベドベリ) 値への推移を示していた。これらの知見を確認し、また同様の自己会合がDLSによっても引き出され得るかを確認するために、136抗ICOS抗体の流体力学直径を、様々なタンパク質濃度で測定した。AUCと同様 (加重平均沈降係数の増加)、有意な自己会合が存在する場合、より高いタンパク質濃度での流体力学直径の増加が予期される。図21は、広範な濃度にわたる136抗ICOS抗体の流体力学直径を示す。広範な研究において、流体力学直径の濃度依存的な増加が認められた。これは、136抗ICOS抗体が高いタンパク質濃度でRSAを起こしていることを強く示している。一方、同様のサイズの対照非干渉モノクローナル抗体は、同一濃度で流体力学直径に変化を示さなかった。

40

【0850】

pHおよびイオン強度の効果

136抗ICOS抗体のRSAは、イオン強度の上昇 (NaCl濃度の上昇) および p

50

Hの上昇に感受性があり、電荷相互作用の重要性を示唆している。図22は、NaCl濃度を上昇させた、固定濃度(10mg/mL)での136抗ICOS抗体の流体力学的サイズを示す。

【0851】

様々なpHでの136抗ICOS抗体のDLS測定によって、自己会合の程度もpHと共に増加することが明らかになった(図23)。pHおよびイオン強度の双方の有意な影響は、136抗ICOS抗体のRSAにおける電荷相互作用の重要性を示唆している。

【0852】

温度の効果

136抗ICOS抗体のRSAに対する温度の効果を理解するために、136抗ICOS抗体の流体力学的サイズを様々な温度下で測定した。図24は、pH6およびpH7.2での、様々な温度での136抗ICOS抗体の流体力学的サイズを、対照抗体(mAbB)と共に示す。

【0853】

温度によって誘発される解離の動態

136抗ICOS抗体の希釈または温度によって誘発される解離の動態を、2つの方法：静的光散乱による急速希釈、およびDLSによる温度推移を用いて測定した。単一角度光散乱検出を用いた急速希釈実験は、解離速度が迅速で、0.1秒の検出限界より1.5倍低いことを示した。DLSによって測定される、136抗ICOS抗体の自己会合(10mg/mL、PBS中)の温度によって誘発される解離の動態を、示す。25~37

への温度の増加によって、流体力学直径における有意な減少が、最初の測定可能な時点である1分以内に認められた。流体力学直径における同様の減少が、4~37へ温度を増加すると、最初の測定可能な時点である3分以内に認められた。これらの結果は、温度によって誘発された解離が迅速であることを示した。

【0854】

6.5.2.3. 様々な溶液条件下での136抗ICOS抗体の自己会合のレベル

動的光散乱研究は、より高い濃度、より低い温度、より高いpH、および上昇した塩濃度で、136抗ICOS抗体の流体力学的サイズにおける増加(自己会合を示す)を示した。また、超遠心分析データによって、単量体-三量体の平衡が示唆された。したがって、様々な条件下で得られた136抗ICOS抗体の流体力学的サイズを単量体-三量体の平衡に当てはめ、会合定数を導出し、そこから自己会合した種のモル%を様々な条件下で計算した。タンパク質濃度の関数として、DLSによって導出された会合の結合親和性から、自己会合した136抗ICOS抗体のモル%を決定するためのモデリングを使用した。

【表2】

表2. DLSからの自己会合した136抗ICOS抗体のモル%

製剤緩衝液は、10mMヒスチジン(pH6.0)、80mM NaCl、4%トレハロース、および0.02%ポリソルベート80を含む。

タンパク質濃度	緩衝液	温度	単量体(%)
10	製剤緩衝液	23°C	80
1	製剤緩衝液	23°C	99
0.01	製剤緩衝液	23°C	100
10	PBS	37°C	85
1	PBS	37°C	99
0.01	PBS	37°C	100

【 0 8 5 5 】

結論として、超遠心分析法による分析で認められた136抗ICOS抗体の可逆的な自己会合は、タンパク質の濃度および温度に依存した。動態研究は、希釈時および上昇した温度で迅速な解離が生じたことを示した。可逆的な自己会合は、凝集体の形成を誘発しなかった。急速希釈実験およびモデリング計算に基づいて、最も高い臨床的用量(3mg)を皮下注射すると、急速希釈および37(体温)への温度平衡によって、136抗ICOS抗体の主として単量体型がもたらされる。

【 0 8 5 6 】

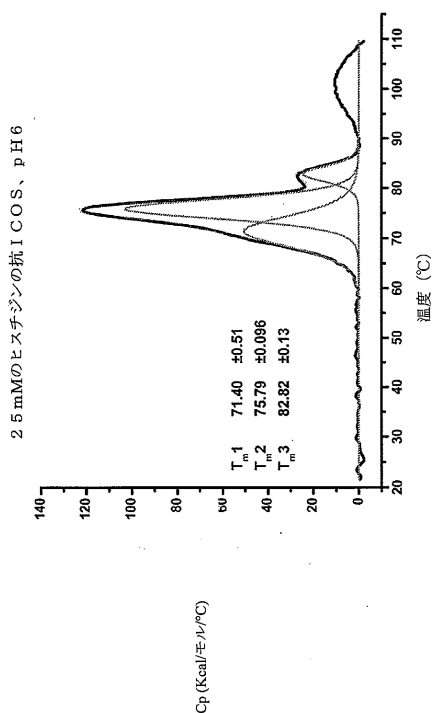
本開示の特定の実施形態を説明の目的で上述したが、当業者には、添付の特許請求の範囲に記載される本開示から逸脱することなく、詳細の多くの変形形態を作製可能であることが理解されよう。

【 0 8 5 7 】

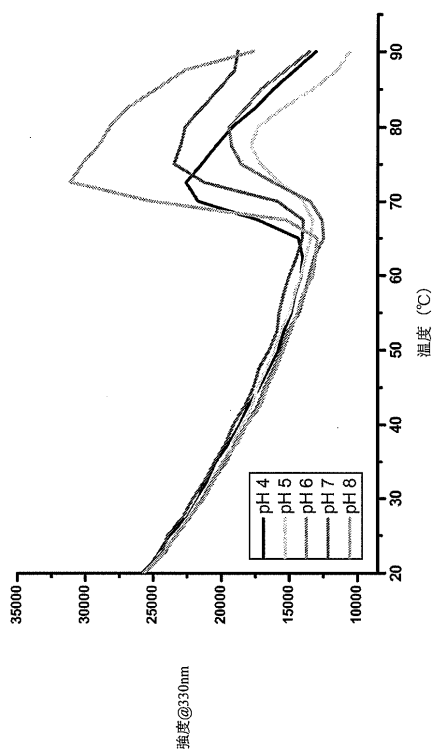
本明細書で言及されるすべての刊行物、特許、および特許出願は、ここで、それぞれ個々の刊行物、特許、および特許出願が、具体的かつ個々に、参照によって本明細書に組み込まれると示されているのと同程度において、参照によって本明細書に組み込まれる。さらに、2008年5月7日出願された米国特許出願第12/116,512号、2008年11月12日出願された米国特許仮出願第61/113,796号、および2009年10月7日出願された米国特許出願第61/249,365号は、あらゆる目的で、参照によってそれらの全体が本明細書に組み込まれる。

10

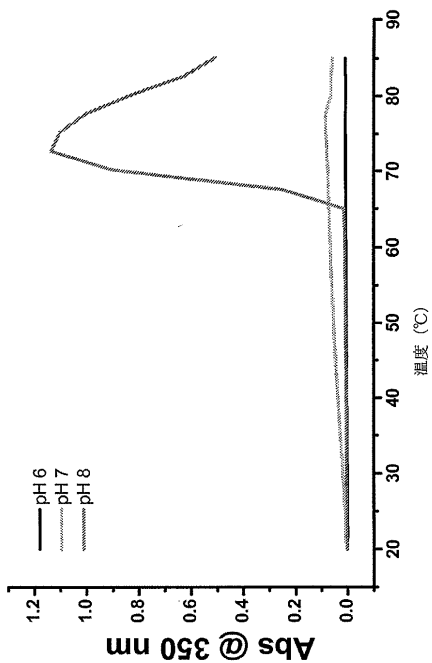
【 図 1 】



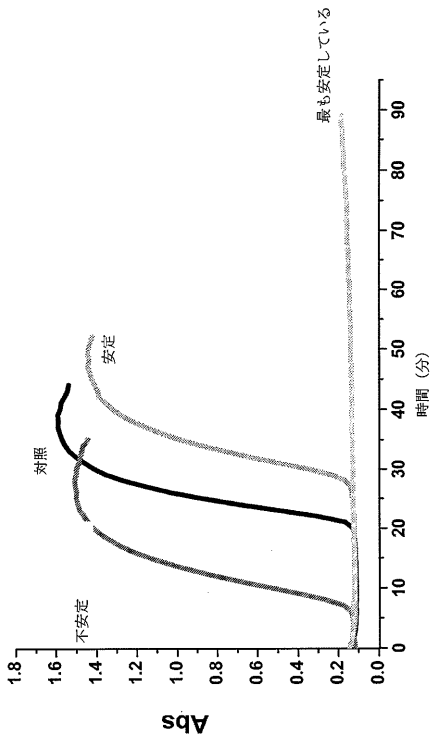
【 図 2 】



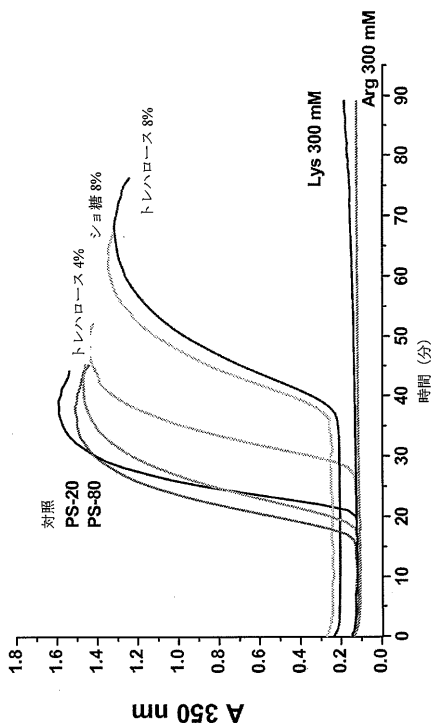
【 図 3 】



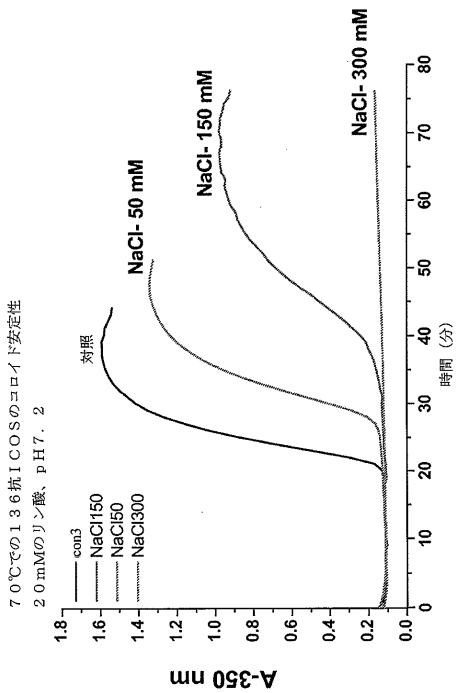
【 図 4 】



【 図 5 】

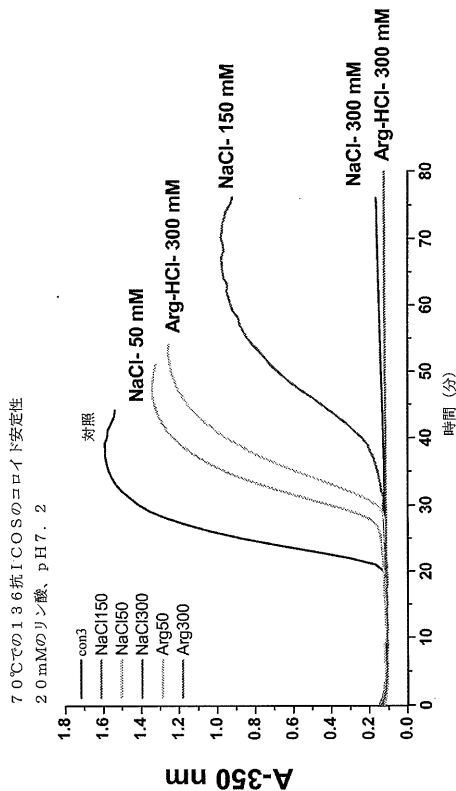


【 図 6 】

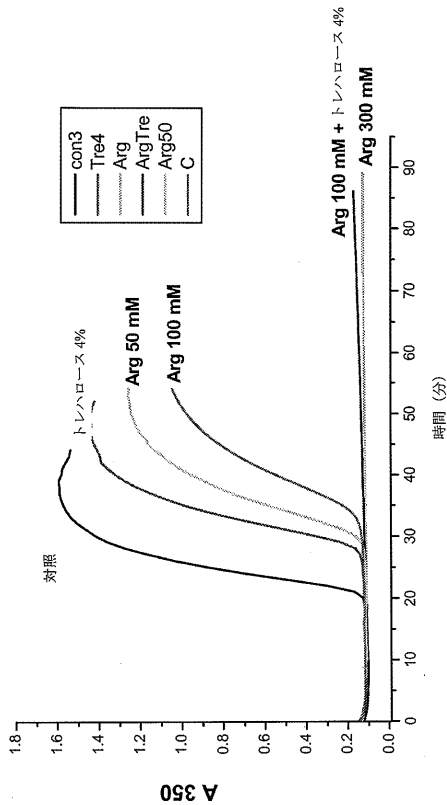


70°CでのI.3.6抗ICOSのコロイド安定性
2.0 mMのリン酸、pH 7.2

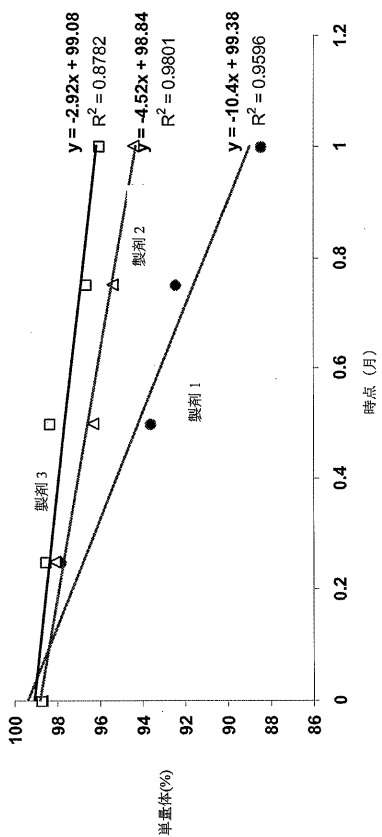
【 図 7 】



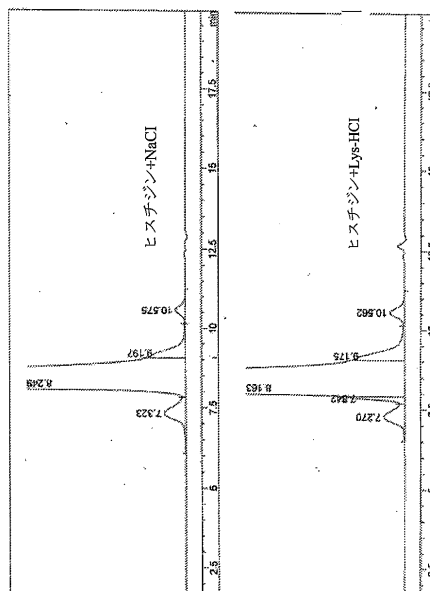
【 図 8 】



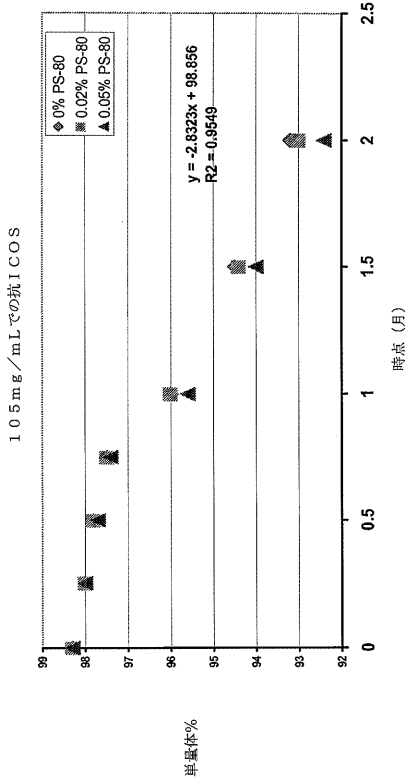
【 図 9 】



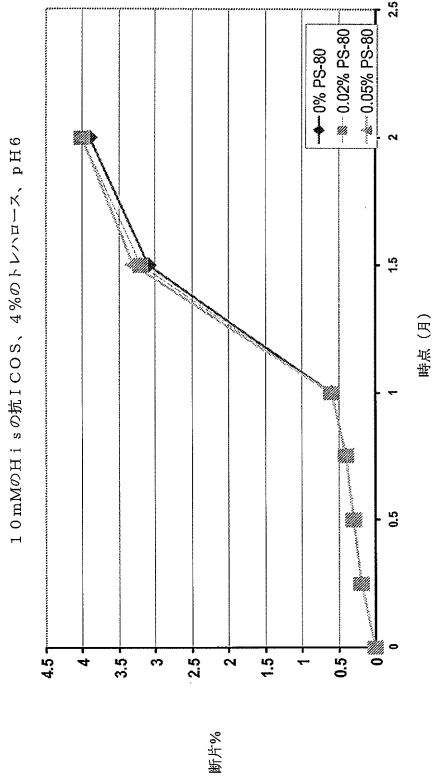
【 図 10 】



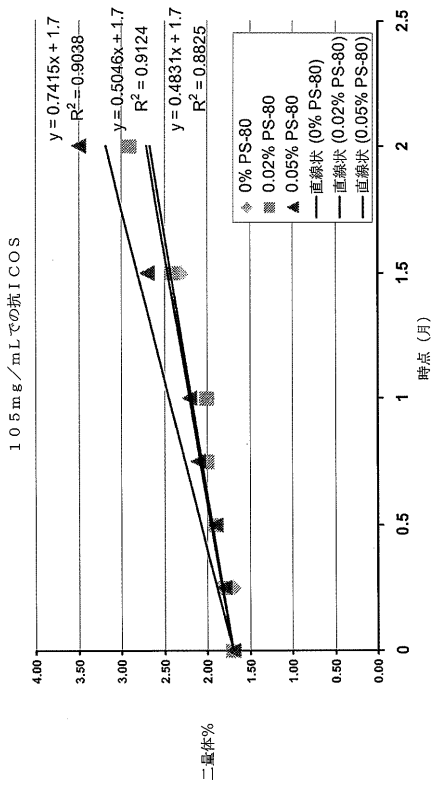
【 図 1 1 】



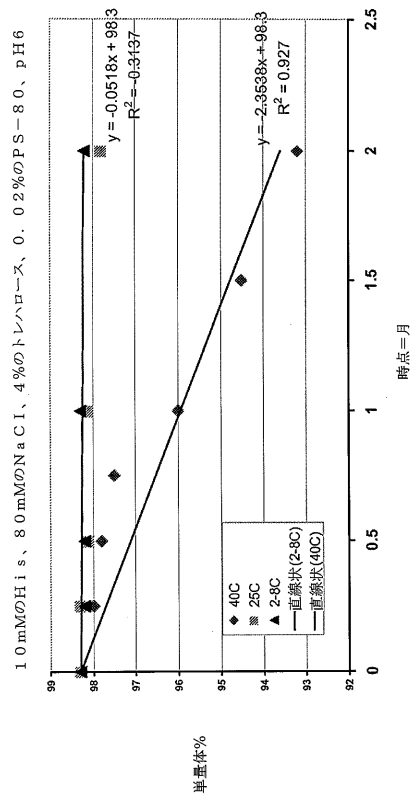
【 図 1 2 】



【 図 1 3 】



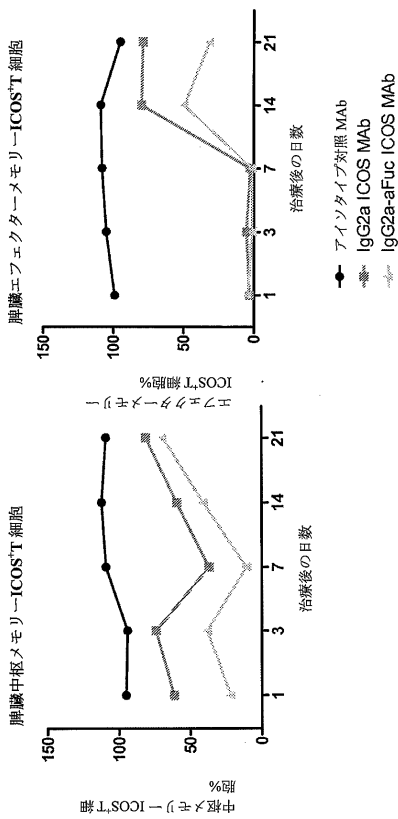
【 図 1 4 】



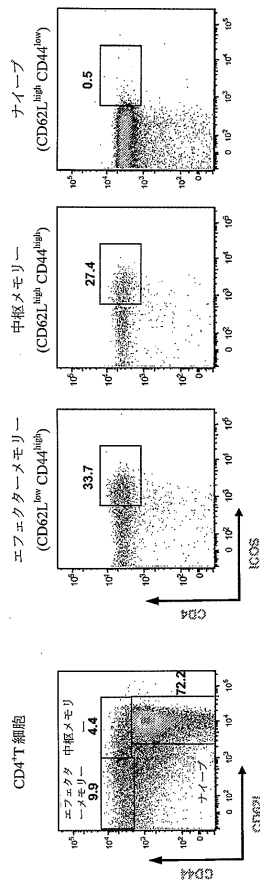
【 15 A 】

MAB	マウス Fc γ RIV(nM)
抗マウス ICOS IgG2a	219
抗マウス ICOS IgG2a-afuc	5

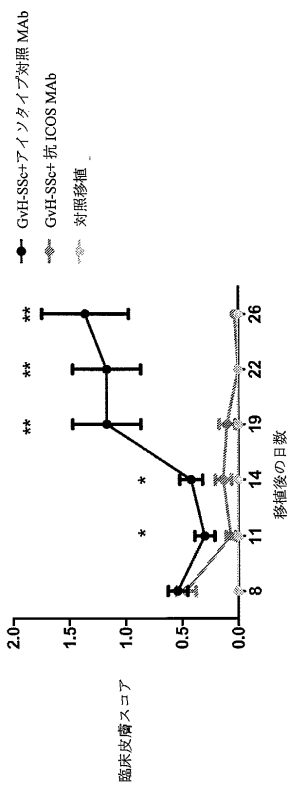
【 15 C 】



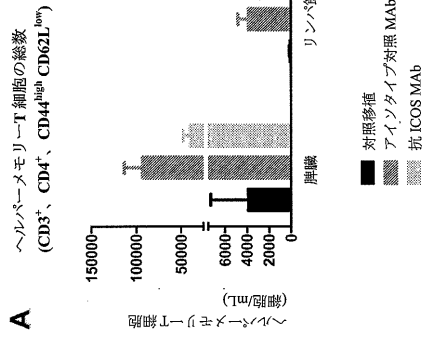
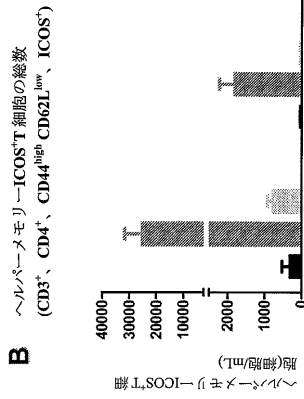
【 15 B 】



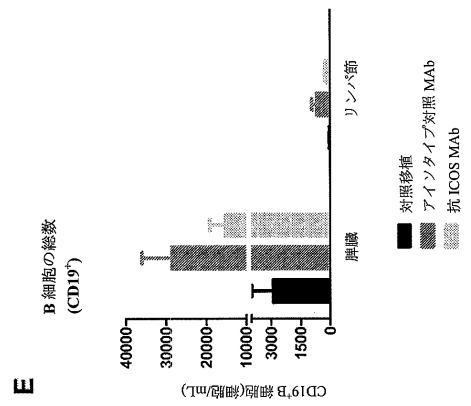
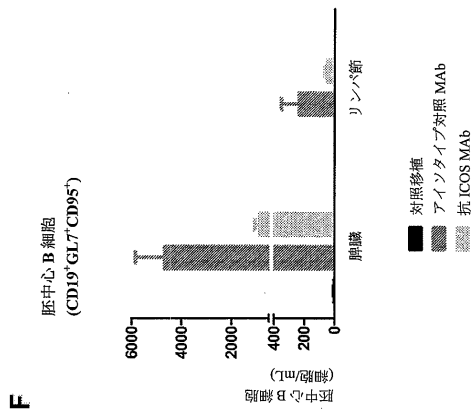
【 16 】



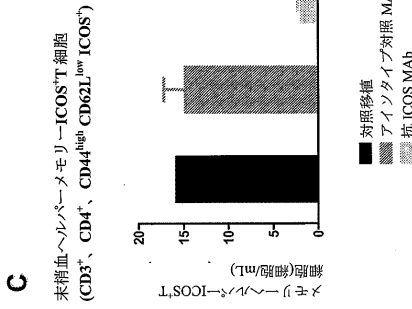
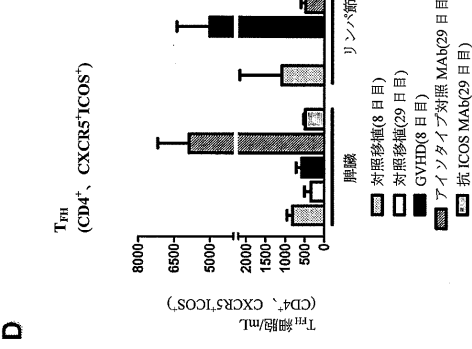
【 図 17 - 1 】



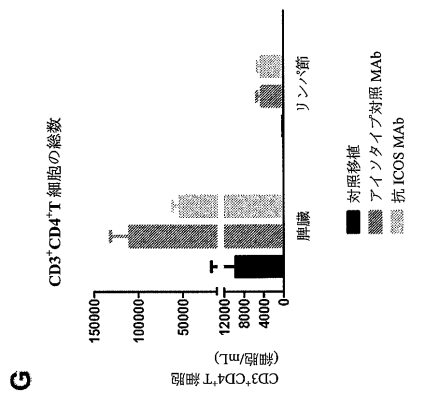
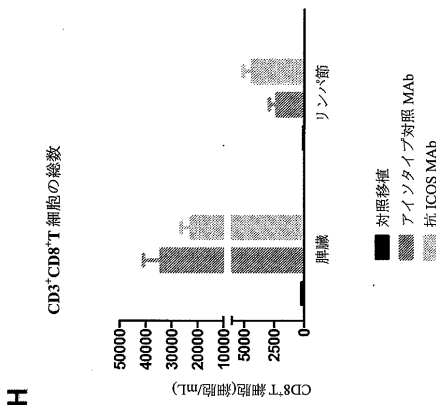
【 図 17 - 3 】



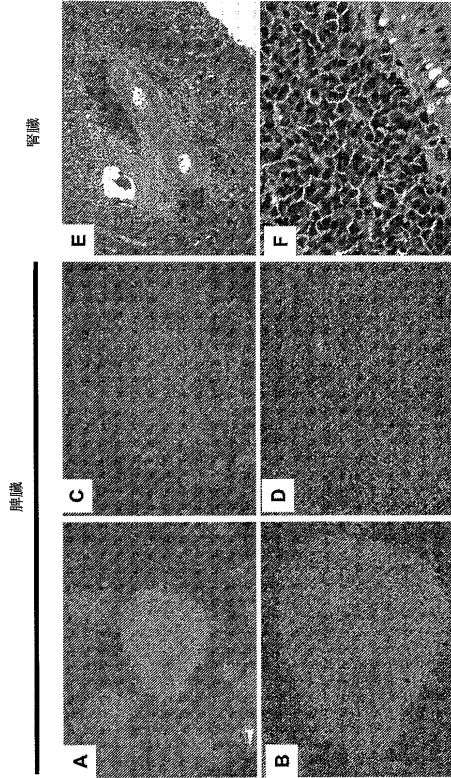
【 図 17 - 2 】



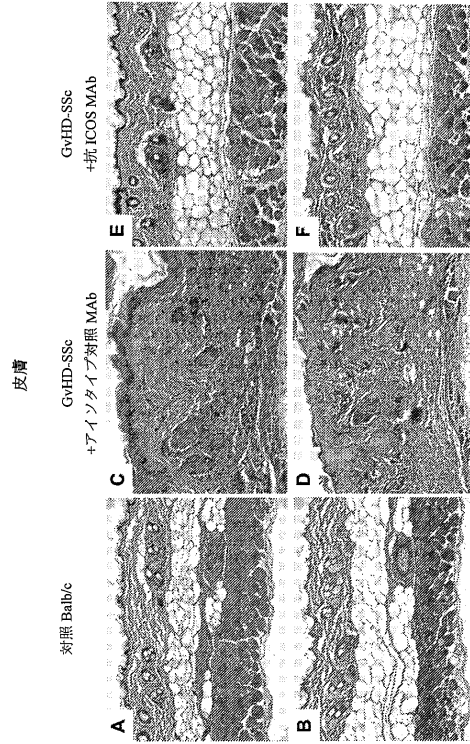
【 図 17 - 4 】



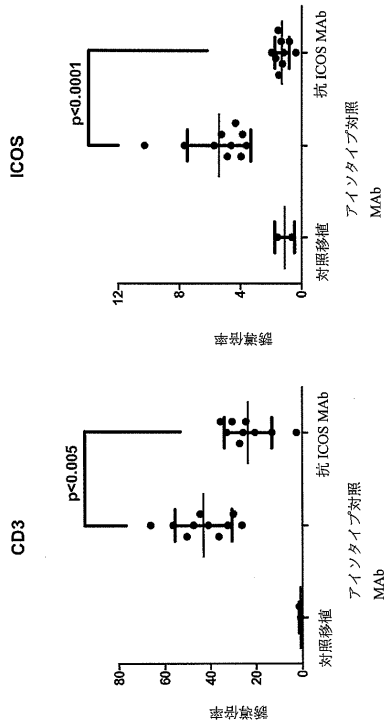
【 図 18 】



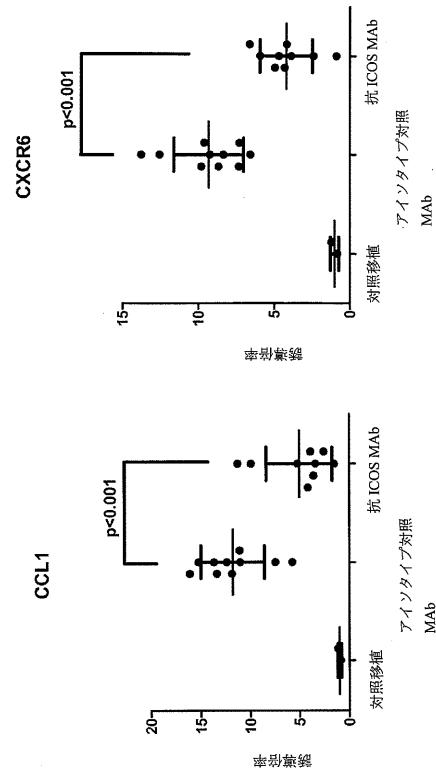
【 図 19 】



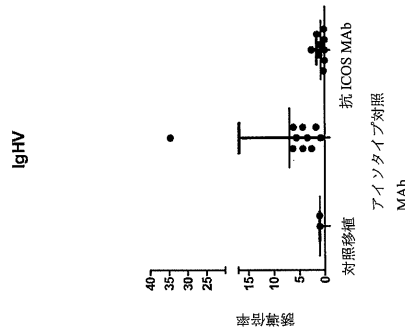
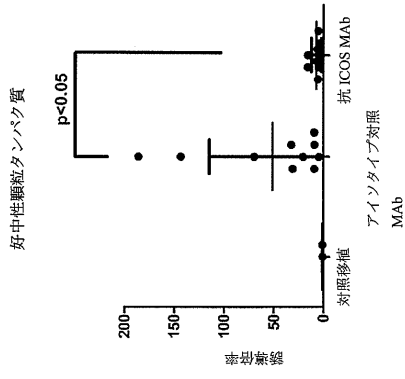
【 図 20 - 1 】



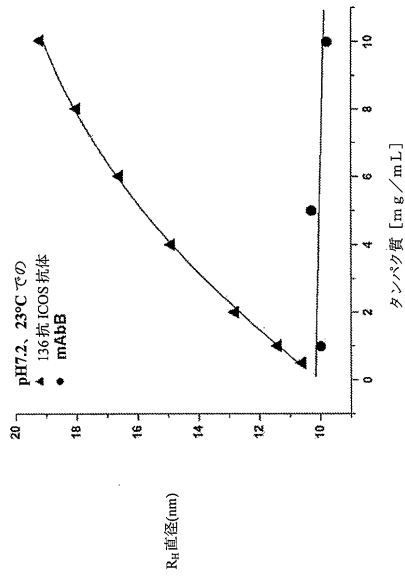
【 図 20 - 2 】



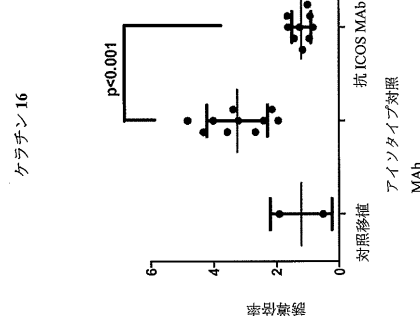
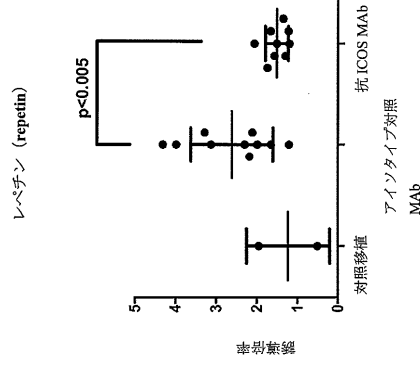
【 図 20 - 3 】



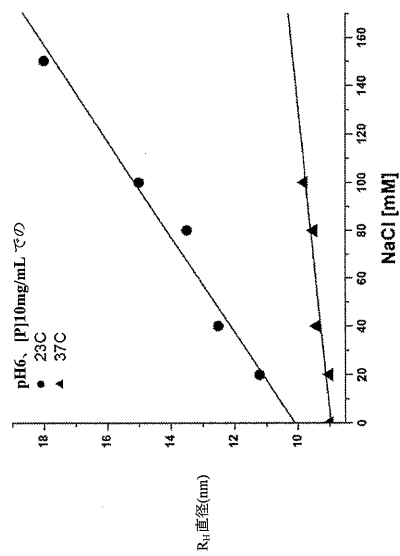
【 図 21 】



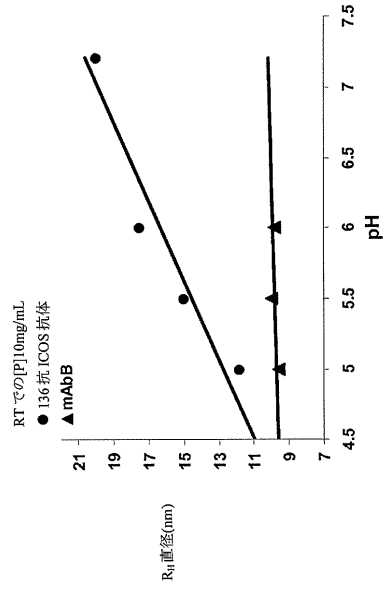
【 図 20 - 4 】



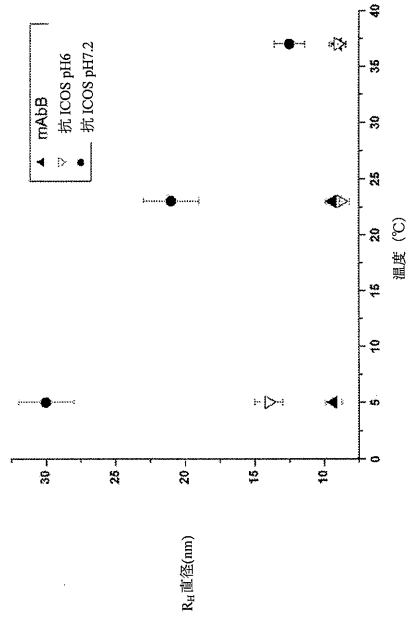
【 図 22 】



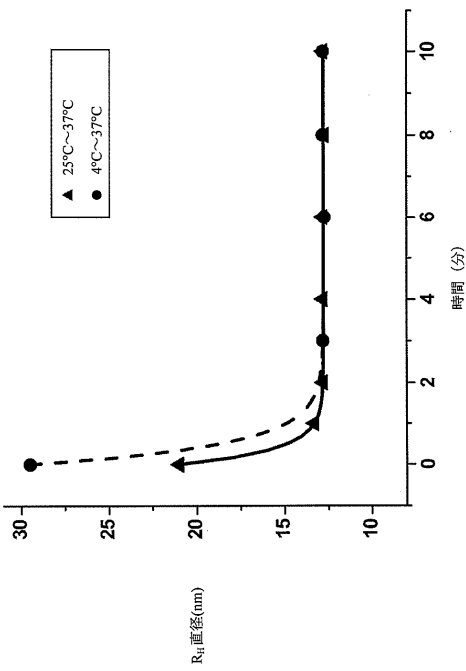
【 図 2 3 】



【 図 2 4 】



【 図 2 5 】



【配列表】

0005933975000001.app

フロントページの続き

(51)Int.Cl.		F I
A 6 1 P 17/00	(2006.01)	A 6 1 P 17/00
A 6 1 P 29/00	(2006.01)	A 6 1 P 29/00
A 6 1 P 37/06	(2006.01)	A 6 1 P 37/06

(72)発明者 サジシ, ハシーグ
 アメリカ合衆国 2 0 8 7 4 メリーランド州, ジャーマンタウン, パーレイコーン テラス 1
 2 9 0 6

(72)発明者 シャー, アンバリシュ
 アメリカ合衆国 2 0 8 4 1 メリーランド州, ボイズ, クレストマウント ロード 1 8 3 0 6

(72)発明者 カルレッソ, ジャンルカ
 アメリカ合衆国 2 0 8 5 2 メリーランド州, ロックビル, アpartment 1 0 9, コングレ
 ヂショナル レーン 2 5 7

(72)発明者 デラニー, トレーシー
 アメリカ合衆国 2 0 8 8 6 メリーランド州, モンゴメリー ビレッジ, レインボウビュー ブ
 レイス 8 2 1 4

合議体

審判長 内藤 伸一
 審判官 大宅 郁治
 審判官 齋藤 恵

(56)参考文献 特開2002-34581(JP, A)
 国際公開第2008/121615(WO, A2)
 国際公開第2008/116103(WO, A2)
 特表2010-527585(JP, A)

(58)調査した分野(Int.Cl., DB名)
 A61K 39/00-44