

【公報種別】特許法第17条の2の規定による補正の掲載  
 【部門区分】第1部門第1区分  
 【発行日】平成29年4月20日(2017.4.20)

【公表番号】特表2016-518823(P2016-518823A)  
 【公表日】平成28年6月30日(2016.6.30)  
 【年通号数】公開・登録公報2016-039  
 【出願番号】特願2016-502985(P2016-502985)  
 【国際特許分類】

C 1 2 N 15/09 (2006.01)  
 C 1 2 P 21/02 (2006.01)  
 C 1 2 N 1/15 (2006.01)  
 C 1 2 N 1/19 (2006.01)  
 C 1 2 N 1/21 (2006.01)  
 C 1 2 N 5/10 (2006.01)  
 C 1 2 N 5/0783 (2010.01)  
 C 0 7 K 14/55 (2006.01)  
 A 6 1 K 38/00 (2006.01)  
 A 6 1 P 29/00 (2006.01)  
 A 6 1 P 37/06 (2006.01)  
 A 6 1 K 39/395 (2006.01)

【F I】

C 1 2 N 15/00 Z N A A  
 C 1 2 P 21/02 C  
 C 1 2 P 21/02 K  
 C 1 2 N 1/15  
 C 1 2 N 1/19  
 C 1 2 N 1/21  
 C 1 2 N 5/10  
 C 1 2 N 5/0783  
 C 0 7 K 14/55  
 A 6 1 K 37/02  
 A 6 1 P 29/00  
 A 6 1 P 37/06  
 A 6 1 K 39/395 N

【手続補正書】

【提出日】平成29年3月14日(2017.3.14)

【手続補正1】

【補正対象書類名】特許請求の範囲

【補正対象項目名】全文

【補正方法】変更

【補正の内容】

【特許請求の範囲】

【請求項1】

V91K置換と、配列番号1に記載のアミノ酸配列と少なくとも90%同一のアミノ酸配列とを含み、前記IL-2ムテインは、制御性T細胞を選択的に刺激する、ヒトインターロイキン-2(IL-2)ムテイン。

【請求項2】

125位はアラニンである、請求項1に記載のヒトIL-2ムテイン。

## 【請求項 3】

1 2 5 位はシステインである、請求項 1 に記載のヒト I L - 2 ムテイン。

## 【請求項 4】

F c 及び請求項 1 ~ 3 のいずれかに記載のヒト I L - 2 ムテインを含む、F c 融合タンパク質。

## 【請求項 5】

前記 F c は、ヒト I g G 1 F c である、請求項 4 に記載の F c 融合タンパク質。

## 【請求項 6】

前記ヒト I g G 1 F c は、前記 F c のエフェクター機能を変化させる 1 つ以上の変異を含む、請求項 5 に記載の F c 融合タンパク質。

## 【請求項 7】

前記ヒト I g G 1 は、N 2 9 7 に置換を含む、請求項 6 に記載の F c 融合タンパク質。

## 【請求項 8】

N 2 9 7 の前記置換は N 2 9 7 G である、請求項 7 に記載の F c 融合タンパク質。

## 【請求項 9】

前記ヒト I g G F c の C 末端リジンの置換または欠失を含む、請求項 5 ~ 8 のいずれかに記載の F c 融合タンパク質。

## 【請求項 10】

前記ヒト I g G F c の前記 C 末端リジンが欠失される、請求項 9 に記載の F c 融合タンパク質。

## 【請求項 11】

リンカーが、前記タンパク質の F c とヒト I L - 2 ムテイン部分とを接続する、請求項 4 ~ 10 のいずれかに記載の F c 融合タンパク質。

## 【請求項 12】

前記リンカーは、G G G G S (配列番号 5)、G G N G T、または (配列番号 6)、及び Y G N G T (配列番号 7) である、請求項 11 に記載の F c 融合タンパク質。

## 【請求項 13】

前記リンカーは G G G G S (配列番号 5) である、請求項 12 に記載の F c 融合タンパク質。

## 【請求項 14】

前記 I L - 2 ムテインは、哺乳動物細胞内で発現させた時に前記 F c 融合タンパク質のグリコシル化を変化させるアミノ酸の付加、置換、または欠失をさらに含む、請求項 4 ~ 13 のいずれかに記載の F c 融合タンパク質。

## 【請求項 15】

前記 I L - 2 ムテインは、T 3 置換を含む、請求項 14 に記載の F c 融合タンパク質。

## 【請求項 16】

前記 I L - 2 ムテインは、T 3 N または T 3 A 置換を含む、請求項 15 に記載の F c 融合タンパク質。

## 【請求項 17】

前記 I L - 2 ムテインは、T 3 N 置換を含む、請求項 16 に記載の F c 融合タンパク質。

## 【請求項 18】

前記 I L - 2 ムテインは、S 5 変異をさらに含む、請求項 17 に記載の F c 融合タンパク質。

## 【請求項 19】

前記 I L - 2 ムテインは、S 5 T 変異をさらに含む、請求項 18 に記載の F c 融合タンパク質。

## 【請求項 20】

前記 F c 融合タンパク質は、F c 二量体を含む、請求項 4 から 19 のいずれかに記載の F c 融合タンパク質。

## 【請求項 2 1】

前記 F c 融合タンパク質は、2つの I L - 2 ムテインを含む、請求項 2 0 に記載の F c 融合タンパク質。

## 【請求項 2 2】

前記 F c 融合タンパク質は、単一の I L - 2 ムテインを含む、請求項 2 0 に記載の F c 融合タンパク質。

## 【請求項 2 3】

請求項 1 ~ 3 のいずれかに記載のヒト I L - 2 ムテインをコードする、単離された核酸。

## 【請求項 2 4】

請求項 4 ~ 2 2 のいずれかに記載の F c 融合タンパク質 をコードする、単離された核酸。

## 【請求項 2 5】

抗体の前記 F c 部分及び前記ヒト I L - 2 ムテインは、単一のオープンリーディングフレーム内でコードされる、請求項 2 4 に記載の単離された核酸。

## 【請求項 2 6】

プロモーターに作動可能に連結された請求項 2 3 ~ 2 5 のいずれかに記載の前記単離された核酸を含む、発現ベクター。

## 【請求項 2 7】

請求項 2 3 ~ 2 5 のいずれかに記載の単離された核酸を含む、宿主細胞。

## 【請求項 2 8】

前記単離された核酸は、プロモーターに作動可能に連結される、請求項 2 7 に記載の宿主細胞。

## 【請求項 2 9】

前記宿主細胞は、原核細胞である、請求項 2 7 または 2 8 に記載の宿主細胞。

## 【請求項 3 0】

前記宿主細胞は、大腸菌である、請求項 2 9 に記載の宿主細胞。

## 【請求項 3 1】

前記宿主細胞は、真核細胞である、請求項 2 7 または 2 8 に記載の宿主細胞。

## 【請求項 3 2】

前記宿主細胞は、哺乳動物細胞である、請求項 3 1 に記載の宿主細胞。

## 【請求項 3 3】

前記宿主細胞は、チャイニーズハムスター卵巣 ( C H O ) 細胞株である、請求項 3 2 に記載の宿主細胞。

## 【請求項 3 4】

ヒト I L - 2 ムテインを作製する方法であって、前記プロモーターが発現される条件下で請求項 2 8 ~ 3 3 のいずれかに記載の宿主細胞を培養することと、前記培養物から前記ヒト I L - 2 ムテインを回収することと、を含む、方法。

## 【請求項 3 5】

F c 融合タンパク質を作製する方法であって、前記プロモーターが発現される条件下で請求項 2 8 ~ 3 3 のいずれかに記載の宿主細胞を培養することと、前記培養物から前記 F c 融合タンパク質を回収することと、を含む、方法。

## 【請求項 3 6】

T 細胞の集団を、有効量の請求項 1 ~ 3 のいずれかに記載のヒト I L - 2 ムテインまたは請求項 4 ~ 2 2 のいずれかに記載の F c 融合タンパク質 と接触させることを含む、

T 細胞の集団内の非制御性 T 細胞に対する制御性 T 細胞 ( T r e g ) の比率を増加させる

、または  
対象の末梢血中の非制御性 T 細胞に対する制御性 T 細胞 ( T r e g ) の比率を増加させる

、または  
対象の末梢血中のナチュラルキラー ( N K ) 細胞に対する制御性 T 細胞 ( T r e g ) の比

率を増加させる、方法。

【請求項 37】

CD3 + FoxP3 - に対する CD3 + FoxP3 + 細胞の比率が増加する、請求項 36 に記載の方法。

【請求項 38】

CD3 + FoxP3 - に対する CD3 + FoxP3 + 細胞の比率は、少なくとも 50% 増加する、請求項 37 に記載の方法。

【請求項 39】

有効量の請求項 1 ~ 3 のいずれかに記載のヒト IL-2 ムテインまたは請求項 4 ~ 22 のいずれかに記載の Fc 融合タンパク質を投与することを含む、対象の末梢血中のナチュラルキラー (NK) 細胞に対する制御性 T 細胞 (Treg) の比率を増加させる方法。

【請求項 40】

CD56 及び / または CD16 を発現する CD3 - CD19 - リンパ球に対する CD3 + FoxP3 + 細胞の比率が増加する、請求項 39 に記載の方法。

【請求項 41】

CD56 及び / または CD16 を発現する CD3 - CD19 - リンパ球に対する CD3 + FoxP3 + 細胞の比率は、少なくとも 50% 増加する、請求項 40 に記載の方法。

【請求項 42】

前記対象に治療有効量の請求項 1 ~ 3 のいずれかに記載の IL-2 ムテインまたは請求項 4 ~ 22 のいずれかに記載の Fc 融合タンパク質を投与することを含む、炎症性疾患または自己免疫性疾患に罹患する患者を治療する方法。

【請求項 43】

請求項 42 に記載の炎症性疾患または自己免疫性疾患に罹患する患者を治療する方法であって、投与が、前記疾患の少なくとも 1 つの症状の軽減をもたらす、方法。

【請求項 44】

対象の末梢血中の非制御性 T 細胞に対する制御性 T 細胞 (Treg) の比率は、投与後に増加する、請求項 43 に記載の方法。

【請求項 45】

対象の末梢血中の非制御性 T 細胞に対する制御性 T 細胞 (Treg) の比率は、投与後も本質的に同じままである、請求項 43 に記載の方法。

【請求項 46】

前記炎症性疾患または自己免疫性疾患は、炎症、アトピー性疾患、腫瘍随伴性自己免疫疾患、軟骨炎症、関節炎、関節リウマチ、若年性関節炎、若年性関節リウマチ、少関節型若年性関節リウマチ、多関節型若年性関節リウマチ、全身型若年性関節リウマチ、若年性強直性脊椎炎、若年性腸炎性関節炎、若年性反応性関節炎、若年性ライター症候群、SEA 症候群 (血清陰性、腱付着部症、関節症症候群)、若年性皮膚筋炎、若年性乾癬性関節炎、若年性強皮症、若年性全身性エリテマトーデス、若年性血管炎、少関節型関節リウマチ、多関節型関節リウマチ、全身型関節リウマチ、強直性脊椎炎、腸炎性関節炎、反応性関節炎、ライター症候群、SEA 症候群 (血清陰性、腱付着部症、関節症症候群)、皮膚筋炎、乾癬性関節炎、強皮症、血管炎、筋炎、多発性筋炎、皮膚筋炎、結節性多発動脈炎、ウェゲナー肉芽腫症、動脈炎、リウマチ性多発筋痛症、サルコイドーシス、硬化症、原発性胆汁性硬化症、硬化性胆管炎、シェーグレン症候群、乾癬、プラーク乾癬、滴状乾癬、逆性乾癬、膿胞性乾癬、乾癬性紅皮症、皮膚炎、アトピー性皮膚炎、粥状動脈硬化、狼瘡、ステイル病、全身性エリテマトーデス (SLE)、重症筋無力症、炎症性腸疾患 (IBD)、クローン病、潰瘍性大腸炎、セリアック病、多発性硬化症 (MS)、喘息、COPD、副鼻腔炎、ポリープを伴う副鼻腔炎、好酸球性食道炎、好酸球性気管支炎、ギラン-バレー疾患、I 型糖尿病、甲状腺炎 (たとえばグレーブス病)、アジソン病、レイノー現象、自己免疫性肝炎、移植片対宿主病 (GVHD)、移植拒絶反応、腎障害、C 型肝炎誘発性血管炎および自然流産からなる群から選択される、請求項 42 ~ 45 のいずれかに記載の方法。

## 【請求項 47】

疾患が、ループス、移植片対宿主病（GVHD）、C型肝炎誘発性血管炎、全身性エリテマトーデス（SLE）、関節リウマチ、乾癬、クローン病、潰瘍性大腸炎、セリアック病、多発性硬化症（MS）、I型糖尿病、自然流産、アトピー性疾患または炎症性腸疾患である、請求項 46 に記載の方法。

## 【請求項 48】

請求項 1 に記載のヒトインターロイキン - 2（IL - 2）ムテインまたは請求項 4 に記載のFc融合タンパク質を用いた治療に対する対象の反応を監視する方法であって、前記対象における変化を検出することを含み、前記変化は、

- a) 体温の上昇、
- b) 前記対象の末梢血中のCRPの上昇、
- c) 前記対象の末梢血中の血小板の減少、
- d) 前記対象の末梢血中の好中球の減少、または
- e) 前記対象の末梢血中のアルブミンの減少であり、

前記変化が検出された後、前記治療は、中止されるか、一時中断されるか、投与頻度が減少されるか、または投薬量が減少される、方法。

## 【請求項 49】

前記変化は、

- a) 少なくとも 0.5 の体温の上昇、
- b) 少なくとも 0.2 mg / mL の前記対象の末梢血中の CRP の上昇、
- c) 少なくとも 0.8 倍の前記対象の末梢血中の血小板の減少、
- d) 少なくとも 0.8 倍の前記対象の末梢血中の好中球の減少、または
- e) 少なくとも 0.4 倍の前記対象の末梢血中のアルブミンの減少を含む、請求項 48 に記載の方法。