

(19) 日本国特許庁(JP)

(12) 公表特許公報(A)

(11) 特許出願公表番号

特表2010-529043

(P2010-529043A)

(43) 公表日 平成22年8月26日(2010.8.26)

(51) Int. Cl.	F I	テーマコード (参考)
C07K 16/00 (2006.01)	C O 7 K 16/00 Z N A	4 B O 2 4
C12N 15/09 (2006.01)	C 1 2 N 15/00 A	4 B O 6 5
G01N 33/531 (2006.01)	G O 1 N 33/531 A	4 C O 8 5
A61K 39/395 (2006.01)	A 6 1 K 39/395 Y	4 H O 4 5
A61P 37/06 (2006.01)	A 6 1 P 37/06	

審査請求 未請求 予備審査請求 未請求 (全 111 頁) 最終頁に続く

(21) 出願番号 特願2010-510541 (P2010-510541)
 (86) (22) 出願日 平成20年5月30日 (2008.5.30)
 (85) 翻訳文提出日 平成22年1月29日 (2010.1.29)
 (86) 国際出願番号 PCT/US2008/065428
 (87) 国際公開番号 W02008/151088
 (87) 国際公開日 平成20年12月11日 (2008.12.11)
 (31) 優先権主張番号 60/941,644
 (32) 優先日 平成19年6月1日 (2007.6.1)
 (33) 優先権主張国 米国 (US)
 (31) 優先権主張番号 61/015,127
 (32) 優先日 平成19年12月19日 (2007.12.19)
 (33) 優先権主張国 米国 (US)
 (31) 優先権主張番号 61/015,547
 (32) 優先日 平成19年12月20日 (2007.12.20)
 (33) 優先権主張国 米国 (US)

(71) 出願人 510043043
 ユニバーシティー オブ メリーランド,
 ボルティモア
 アメリカ合衆国, メリーランド 2120
 1, ボルティモア, ウェスト レキシント
 ン ストリート 620, 4階
 (71) 出願人 510089111
 グリックニック インコーポレイテッド
 アメリカ合衆国, メリーランド州 212
 01, ボルティモア, スイート 501エ
 ー, ウェスト バルティモア ストリート
 801
 (74) 代理人 100079108
 弁理士 稲葉 良幸

最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 免疫グロブリン定常領域Fc受容体結合因子

(57) 【要約】

免疫学的に活性化生体模倣薬の組換えおよび/または生化学的創製によって、IVI G代替化合物を誘導する。次に、これらの代替化合物を *in vitro* でスクリーニングして、それぞれの代替化合物の免疫機能調節の効率を評価する。さらに *in vivo* での確認と投与量/投与の最適化のために、特定の代替化合物を選択する。最後に、この代替化合物を使用して、炎症性疾患や自己免疫疾患を含む多岐にわたる疾患を治療する。

2 (IgG1 Fc) serial stradomer auto-dimerized

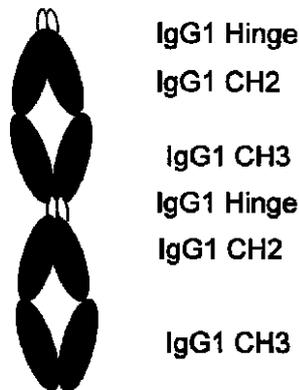


FIGURE 5A

【特許請求の範囲】

【請求項 1】

会合した 2 つ以上のストラドマー単量体を含む単離されたシリアルストラドマーであって、前記ストラドマー単量体が各々 2 つ以上の F c ドメイン単量体を含み、前記 2 つ以上のストラドマー単量体の会合によって 2 つ以上の F c ドメインが形成され、前記シリアルストラドマーが前記 2 つ以上の F c ドメインのうちの 1 つを介して第 1 の F c 受容体と特異的に結合し、前記 2 つ以上の F c ドメインのうちの別の 1 つを介して第 2 の F c 受容体と特異的に結合する、単離されたシリアルストラドマー。

【請求項 2】

前記 2 つ以上のストラドマー単量体が、共有結合、ジスルフィド結合または化学的架橋によって会合している、請求項 1 に記載の単離されたシリアルストラドマー。

10

【請求項 3】

前記単離されたシリアルストラドマーが、会合した 2 つのストラドマー単量体を含む、請求項 1 に記載の単離されたシリアルストラドマー。

【請求項 4】

前記単離されたシリアルストラドマーが、会合した 2 つのストラドマー単量体を含み、前記ストラドマー単量体がともに 2 つの F c ドメイン単量体を含み、前記 2 つのストラドマー単量体の会合によって 2 つの F c ドメインが形成される、請求項 1 に記載の単離されたシリアルストラドマー。

【請求項 5】

前記 2 つの F c ドメインのうちの少なくとも 1 つが、I g G のヒンジと I g G の C H 2 ドメインとを含む、請求項 4 に記載の単離されたシリアルストラドマー。

20

【請求項 6】

前記 2 つの F c ドメインが各々独立して、I g G のヒンジと I g G の C H 2 ドメインとを含む、請求項 4 に記載の単離されたシリアルストラドマー。

【請求項 7】

前記 2 つの F c ドメインのうちの少なくとも 1 つが、I g G のヒンジと、I g G の C H 2 ドメインと、I g G の C H 3 ドメインとを含む、請求項 4 に記載の単離されたシリアルストラドマー。

【請求項 8】

前記 2 つの F c ドメインが各々独立して、I g G のヒンジと、I g G の C H 2 ドメインと、I g G の C H 3 ドメインとを含む、請求項 4 に記載の単離されたシリアルストラドマー。

30

【請求項 9】

前記 2 つの F c ドメインのうちの少なくとも 1 つが、I g G 1 のヒンジまたは I g G 3 のヒンジと、I g G 1 の C H 2 ドメインまたは I g G 3 の C H 2 ドメインと、I g G 1 の C H 3 ドメインまたは I g G 3 の C H 3 ドメインとを含む、請求項 4 に記載の単離されたシリアルストラドマー。

【請求項 10】

前記 2 つの F c ドメインのうちの少なくとも 1 つが、I g G 1 のヒンジまたは I g G 3 のヒンジと、I g G 1 の C H 2 ドメインまたは I g G 3 の C H 2 ドメインとを含む、請求項 4 に記載の単離されたシリアルストラドマー。

40

【請求項 11】

前記 2 つの F c ドメインが各々独立して、I g G 1 のヒンジまたは I g G 3 のヒンジと、I g G 1 の C H 2 ドメインまたは I g G 3 の C H 2 ドメインと、I g G 1 の C H 3 ドメインまたは I g G 3 の C H 3 ドメインとを含む、請求項 4 に記載の単離されたシリアルストラドマー。

【請求項 12】

前記 2 つの F c ドメインが各々独立して、I g G 1 のヒンジと、I g G 1 の C H 2 ドメインと、I g G 1 の C H 3 ドメインとを含む、請求項 4 に記載の単離されたシリアルスト

50

ラドマー。

【請求項 13】

前記 2 つの F c ドメインが各々独立して、I g G 3 のヒンジと、I g G 3 の C H 2 ドメインと、I g G 3 の C H 3 ドメインとを含む、請求項 4 に記載の単離されたシリアルストラドマー。

【請求項 14】

前記 2 つの F c ドメインが各々独立して、I g G 1 のヒンジと、I g G 1 の C H 2 ドメインと、I g G 3 の C H 3 ドメインとを含む、請求項 4 に記載の単離されたシリアルストラドマー。

【請求項 15】

前記第 1 および第 2 の F c 受容体が各々独立して、F c 受容体 I、F c 受容体 I I、F c 受容体 I I I または F c 受容体 I V である、請求項 1 に記載の単離されたシリアルストラドマー。

【請求項 16】

前記第 1 および第 2 の F c 受容体が各々 F c 受容体 I I I a である、請求項 1 に記載の単離されたシリアルストラドマー。

【請求項 17】

前記 2 つ以上の F c ドメインが各々同じ免疫グロブリン F c クラスのものであり、前記免疫グロブリン F c クラスが、I g G 1、I g G 2、I g G 3、I g G 4 からなる群から選択される、請求項 1 に記載の単離されたシリアルストラドマー。

【請求項 18】

前記 2 つ以上の F c ドメインが各々異なる免疫グロブリン F c クラスのものであり、前記免疫グロブリン F c クラスが、I g G 1、I g G 2、I g G 3、および I g G 4 からなる群から選択される、請求項 1 に記載の単離されたシリアルストラドマー。

【請求項 19】

会合した 2 つのストラドマー単量体を含む単離されたシリアルストラドマーであって、前記ストラドマー単量体が各々 2 つの F c ドメイン単量体を含み、前記 2 つのストラドマー単量体の会合によって 2 つの F c ドメインが形成され、前記 2 つの F c ドメインが各々独立して、I g G のヒンジと、I g G の C H 2 ドメインと、I g G の C H 3 ドメインとを含み、前記シリアルストラドマーが前記 2 つの F c ドメインのうちの一方を介して第 1 の F c 受容体と特異的に結合し、前記 2 つの F c ドメインのうちの他方を介して第 2 の F c 受容体と特異的に結合する、単離されたシリアルストラドマー。

【請求項 20】

前記 2 つの F c ドメインが各々同じ免疫グロブリン F c クラスのものであり、前記免疫グロブリン F c クラスが、I g G 1、I g G 2、I g G 3、および I g G 4 からなる群から選択される、請求項 19 に記載の単離されたシリアルストラドマー。

【請求項 21】

前記 2 つの F c ドメインが各々異なる免疫グロブリン F c クラスのものであり、前記免疫グロブリン F c クラスが、I g G 1、I g G 2、I g G 3、および I g G 4 からなる群から選択される、請求項 19 に記載の単離されたシリアルストラドマー。

【請求項 22】

前記 F c ドメインのうちの少なくとも 1 つが、I g G のヒンジと、I g G の C H 2 ドメインとを含む、請求項 19 に記載の単離されたシリアルストラドマー。

【請求項 23】

前記 F c ドメインが各々独立して、I g G のヒンジと、I g G の C H 2 ドメインとを含む、請求項 19 に記載の単離されたシリアルストラドマー。

【請求項 24】

前記 F c ドメインのうちの少なくとも 1 つが、I g G のヒンジと、I g G の C H 2 ドメインと、I g G の C H 3 ドメインとを含む、請求項 19 に記載の単離されたシリアルストラドマー。

10

20

30

40

50

【請求項 25】

前記 F c ドメインが各々独立して、I g G のヒンジと、I g G の C H 2 ドメインと、I g G の C H 3 ドメインとを含む、請求項 19 に記載の単離されたシリアルストラドマー。

【請求項 26】

前記 F c ドメインのうちの少なくとも 1 つが、I g G 1 のヒンジまたは I g G 3 のヒンジと、I g G 1 の C H 2 ドメインまたは I g G 3 の C H 2 ドメインと、I g G 1 の C H 3 ドメインまたは I g G 3 の C H 3 ドメインとを含む、請求項 19 に記載の単離されたシリアルストラドマー。

【請求項 27】

前記 F c ドメインが各々独立して、I g G 1 のヒンジまたは I g G 3 のヒンジと、I g G 1 の C H 2 ドメインまたは I g G 3 の C H 2 ドメインと、I g G 1 の C H 3 ドメインまたは I g G 3 の C H 3 ドメインとを含む、請求項 19 に記載の単離されたシリアルストラドマー。

10

【請求項 28】

前記 F c ドメインが各々独立して、I g G 1 のヒンジと、I g G 1 の C H 2 ドメインと、I g G 1 の C H 3 ドメインとを含む、請求項 19 に記載の単離されたシリアルストラドマー。

【請求項 29】

前記 F c ドメインが各々独立して、I g G 3 のヒンジと、I g G 3 の C H 2 ドメインと、I g G 3 の C H 3 ドメインとを含む、請求項 19 に記載の単離されたシリアルストラドマー。

20

【請求項 30】

前記 F c ドメインが各々独立して、I g G 1 のヒンジと、I g G 1 の C H 2 ドメインと、I g G 3 の C H 3 ドメインとを含む、請求項 19 に記載の単離されたシリアルストラドマー。

【請求項 31】

F a b ドメインをさらに含む単離されたシリアルストラドマーであって、前記ストラドマー単量体が各々 F a b 断片の重鎖と 2 つの F c ドメイン単量体とを含み、前記 F a b 断片の重鎖が前記 2 つの F c ドメイン単量体に対してアミノ末端またはカルボキシ末端の位置にあり、F a b 断片の軽鎖が独立して F a b 断片の各重鎖と会合し、前記 F a b ドメインが抗原結合活性を有する、請求項 19 に記載の単離されたシリアルストラドマー。

30

【請求項 32】

前記ストラドマー単量体が各々免疫グロブリンのヒンジ単量体をさらに含み、前記免疫グロブリンのヒンジ単量体が前記 F a b 断片の重鎖と前記 2 つの F c ドメイン単量体との間の位置にある、請求項 31 に記載の単離されたシリアルストラドマー。

【請求項 33】

2 つ以上のコアストラドマー単位と結合したコア部分を含むコアストラドマーであって、前記 2 つ以上のコアストラドマー単位が各々少なくとも 1 つの F c ドメインを含み、前記コアストラドマー単位が各々独立して、

(a) 会合した 2 つの F c 断片単量体を含む F c 断片であって、前記 F c 断片単量体が各々 F c ドメイン単量体を含み、前記 2 つの F c 断片単量体の会合によって F c ドメインが形成される、F c 断片と、

40

(b) 会合した 2 つの F c 部分断片単量体を含む F c 部分断片であって、前記 F c 部分断片単量体が各々 F c ドメイン単量体を含み、前記 2 つの F c 部分断片単量体の会合によって F c ドメインが形成される、F c 部分断片と、

(c) 会合した 2 つの F c ドメイン単量体を含む F c ドメインであって、前記 2 つの F c ドメイン単量体の会合によって F c ドメインが形成される、F c ドメインと、

(d) 会合した 2 つ以上のストラドマー単量体を含むシリアルストラドマーであって、前記ストラドマー単量体が各々 2 つ以上の F c ドメイン単量体を含み、前記 2 つ以上のストラドマー単量体の会合によって 2 つ以上の F c ドメインが形成される、シリアルストラ

50

ドマーと、

(e) 2つ以上の多量体化クラスターストラドマー単位を含むクラスターストラドマーであって、前記クラスターストラドマー単位が各々、多量体化用領域と少なくとも1つのFcドメインとを含み、前記クラスターストラドマー単位が各々、会合した2つのクラスターストラドマー単位単量体を含み、前記クラスターストラドマー単位単量体が各々、多量体化用領域単量体と少なくとも1つのFcドメイン単量体とを含み、前記2つのクラスターストラドマー単位単量体の会合によって多量体化用領域と少なくとも1つのFcドメインとが形成され、前記2つ以上のクラスターストラドマー単位の前記多量体化用領域が多量体化して前記クラスターストラドマーが形成される、クラスターストラドマーと、
からなる群から選択され、

10

前記コアストラドマーが、前記2つ以上のコアストラドマー単位のうちの1つを介して第1のFc受容体と特異的に結合し、前記2つ以上のコアストラドマー単位のうちの別の1つを介して第2のFc受容体と特異的に結合する、コアストラドマー。

【請求項34】

前記コア部分が、免疫グロブリン鎖、アルブミン、リボソーム、ビーズ、ペプチド、ポリエチレングリコールからなる群から選択される、請求項33に記載のコアストラドマー。

【請求項35】

前記2つ以上のコアストラドマー単位が各々独立してFc断片である、請求項33に記載のコアストラドマー。

20

【請求項36】

前記2つ以上のコアストラドマー単位が各々独立してシリアルストラドマーである、請求項33に記載のコアストラドマー。

【請求項37】

前記コアストラドマーが2つのコアストラドマー単位を含み、前記2つのコアストラドマー単位の各々が各々独立してシリアルストラドマーであり、前記シリアルストラドマーが会合した2つのストラドマー単量体を含み、前記ストラドマー単量体がともに2つのFcドメイン単量体を含み、前記2つのストラドマー単量体の会合によって2つのFcドメインが形成される、請求項33に記載のコアストラドマー。

【請求項38】

前記2つ以上のコアストラドマー単位の前記複数のFcドメインのうちの少なくとも1つが、IgG1のヒンジまたはIgG3のヒンジと、IgG1のCH2ドメインまたはIgG3のCH2ドメインと、IgG1のCH3ドメインまたはIgG3のCH3ドメインとを含む、請求項33に記載のコアストラドマー。

30

【請求項39】

前記2つ以上の2つのコアストラドマー単位の前記複数のFcドメインのうちの少なくとも1つが、IgG1のヒンジまたはIgG3のヒンジと、IgG1のCH2ドメインとを含む、請求項33に記載のコアストラドマー。

【請求項40】

前記2つ以上の2つのコアストラドマー単位の前記複数のFcドメインが各々独立して、IgG1のヒンジと、IgG1のCH2ドメインと、IgG1のCH3ドメインとを含む、請求項33に記載のコアストラドマー。

40

【請求項41】

前記2つ以上の2つのコアストラドマー単位の前記複数のFcドメインのうちの少なくとも1つが、IgGのヒンジと、IgGのCH2ドメインとを含む、請求項33に記載のコアストラドマー。

【請求項42】

前記2つ以上の2つのコアストラドマー単位の前記複数のFcドメインが各々独立して、IgGのヒンジと、IgGのCH2ドメインとを含む、請求項33に記載のコアストラドマー。

50

【請求項 4 3】

前記 2 つ以上の 2 つのコアストラドマー単位の前記複数の F c ドメインが各々独立して、I g G 3 のヒンジと、I g G 3 の C H 2 ドメインと、I g G 3 の C H 3 ドメインとを含む、請求項 3 3 に記載のコアストラドマー。

【請求項 4 4】

前記 2 つ以上の 2 つのコアストラドマー単位の前記複数の F c ドメインが各々独立して、I g G 1 のヒンジと、I g G 1 の C H 2 ドメインと、I g G 3 の C H 3 ドメインとを含む、請求項 3 3 に記載のコアストラドマー。

【請求項 4 5】

前記第 1 および第 2 の F c 受容体が各々独立して、F c 受容体 I、F c 受容体 I I、F c 受容体 I I I または F c 受容体 I V である、請求項 3 3 に記載のコアストラドマー。

10

【請求項 4 6】

前記第 1 および第 2 の F c 受容体が各々 F c 受容体 I I I a である、請求項 3 3 に記載のコアストラドマー。

【請求項 4 7】

2 つ以上の多量体化クラスターストラドマー単位を含むクラスターストラドマーであって、前記クラスターストラドマー単位が各々、多量体化用領域と少なくとも 1 つの F c ドメインとを含み、前記クラスターストラドマー単位が各々、会合した 2 つのクラスターストラドマー単位単量体を含み、前記クラスターストラドマー単位単量体が各々、多量体化用領域単量体と少なくとも 1 つの F c ドメイン単量体とを含み、前記 2 つのクラスターストラドマー単位単量体の会合によって多量体化用領域と少なくとも 1 つの F c ドメインとが形成され、前記 2 つ以上のクラスターストラドマー単位の前記多量体化用領域が多量体化して前記クラスターストラドマーが形成され、前記クラスターストラドマーが、第 1 の F c ドメインを介して第 1 の F c 受容体と特異的に結合し、第 2 の F c ドメインを介して第 2 の F c 受容体と特異的に結合する、クラスターストラドマー。

20

【請求項 4 8】

前記多量体化用領域が、I g G 2 のヒンジ、I g E の C H 2 ドメイン、ロイシン、イソロイシンジッパー、およびジंकフィンガーからなる群から選択される、請求項 4 7 に記載のクラスターストラドマー。

30

【請求項 4 9】

2 つの多量体化クラスターストラドマー単位を含む、請求項 4 7 に記載のクラスターストラドマー。

【請求項 5 0】

3 つの多量体化クラスターストラドマー単位を含む、請求項 4 7 に記載のクラスターストラドマー。

【請求項 5 1】

4 つの多量体化クラスターストラドマー単位を含む、請求項 4 7 に記載のクラスターストラドマー。

【請求項 5 2】

5 つの多量体化クラスターストラドマー単位を含む、請求項 4 7 に記載のクラスターストラドマー。

40

【請求項 5 3】

前記 F c ドメインのうちの少なくとも 1 つが、I g G 1 のヒンジまたは I g G 3 のヒンジと、I g G 1 の C H 2 ドメインまたは I g G 3 の C H 2 ドメインと、I g G 1 の C H 3 ドメインまたは I g G 3 の C H 3 ドメインとを含む、請求項 4 7 に記載のクラスターストラドマー。

【請求項 5 4】

前記 F c ドメインが各々独立して、I g G 1 のヒンジと、I g G 1 の C H 2 ドメインと、I g G 1 の C H 3 ドメインとを含む、請求項 4 7 に記載のクラスターストラドマー。

50

【請求項 5 5】

前記 F c ドメインのうち少なくとも 1 つが、I g G のヒンジと、I g G の C H 2 ドメインとを含む、請求項 4 7 に記載のクラスターストラドマー。

【請求項 5 6】

前記 F c ドメインが各々独立して、I g G のヒンジと、I g G の C H 2 ドメインとを含む、請求項 4 7 に記載のクラスターストラドマー。

【請求項 5 7】

前記 F c ドメインが各々独立して、I g G 3 のヒンジと、I g G 3 の C H 2 ドメインと、I g G 3 の C H 3 ドメインとを含む、請求項 4 7 に記載のクラスターストラドマー。

【請求項 5 8】

前記 F c ドメインが各々独立して、I g G 1 のヒンジと、I g G 1 の C H 2 ドメインと、I g G 3 の C H 3 ドメインとを含む、請求項 4 7 に記載のクラスターストラドマー。

【請求項 5 9】

前記 F c ドメインが各々独立して、I g G のヒンジと、I g G の C H 2 ドメインと、I g G の C H 3 ドメインとを含む、請求項 4 7 に記載のクラスターストラドマー。

【請求項 6 0】

前記クラスターストラドマー単位のうち少なくとも 1 つが 2 つ以上の F c ドメインを含む、請求項 4 7 に記載のクラスターストラドマー。

【請求項 6 1】

前記クラスターストラドマー単位が各々 2 つ以上の F c ドメインを含む、請求項 4 7 に記載のクラスターストラドマー。

【請求項 6 2】

前記第 1 および第 2 の F c 受容体が各々独立して、F c 受容体 I、F c 受容体 I I、F c 受容体 I I I または F c 受容体 I V である、請求項 4 7 に記載のクラスターストラドマー。

【請求項 6 3】

前記第 1 および第 2 の F c 受容体が各々 F c 受容体 I I I a である、請求項 4 7 に記載のクラスターストラドマー。

【請求項 6 4】

会合した 2 つ以上のストラドマー単量体と F a b ドメインとを含むストラドボディであって、前記ストラドマー単量体が各々 F a b 断片の重鎖と 2 つ以上の F c ドメイン単量体とを含み、前記 F a b 断片の重鎖が前記 2 つ以上の F c ドメイン単量体に対してアミノ末端またはカルボキシ末端の位置にあり、前記 2 つ以上のストラドマー単量体の会合によって 2 つ以上の F c ドメインが形成され、F a b 断片の軽鎖が独立して各ストラドマー単量体の前記 F a b 断片の重鎖と会合し、前記 F a b ドメインが抗原結合活性を有し、前記ストラドボディが前記 2 つ以上の F c ドメインのうち 1 つを介して第 1 の F c 受容体と特異的に結合し、前記 2 つ以上の F c ドメインのうち別の 1 つを介して第 2 の F c 受容体と特異的に結合する、ストラドボディ。

【請求項 6 5】

前記 2 つ以上のストラドマー単量体が、共有結合、ジスルフィド結合または化学的架橋によって会合している、請求項 6 4 に記載のストラドボディ。

【請求項 6 6】

前記ストラドマー単量体が各々免疫グロブリンのヒンジ単量体をさらに含み、前記免疫グロブリンのヒンジ単量体が前記 F a b 断片の重鎖と前記 2 つの F c ドメイン単量体との間の位置にある、請求項 6 4 に記載のストラドボディ。

【請求項 6 7】

前記ストラドボディが会合した 2 つのストラドマー単量体を含み、前記ストラドマー単量体が各々 F a b 断片の重鎖と 2 つの F c ドメイン単量体とを含み、前記 2 つのストラドマー単量体の会合によって 2 つの F c ドメインが形成される、請求項 6 4 に記載のストラドボディ。

10

20

30

40

50

【請求項 68】

前記 2 つの Fc ドメインのうち少なくとも 1 つが、IgG のヒンジと、IgG の CH2 ドメインと、IgG の CH3 ドメインとを含む、請求項 67 に記載のストラドボディ。

【請求項 69】

前記 2 つの Fc ドメインが各々独立して、IgG のヒンジと、IgG の CH2 ドメインと、IgG の CH3 ドメインとを含む、請求項 67 に記載のストラドボディ。

【請求項 70】

前記 2 つの Fc ドメインのうち少なくとも 1 つが、IgG のヒンジと、IgG の CH3 ドメインとを含む、請求項 67 に記載のストラドボディ。

【請求項 71】

前記 Fc の 2 つのドメインが各々独立して、IgG のヒンジと、IgG の CH3 ドメインとを含む、請求項 67 に記載のストラドボディ。

【請求項 72】

前記 2 つの Fc ドメインのうち少なくとも 1 つが、IgG1 のヒンジまたは IgG3 のヒンジと、IgG1 の CH2 ドメインまたは IgG3 の CH2 ドメインと、IgG1 の CH3 ドメインまたは IgG3 の CH3 ドメインとを含む、請求項 67 に記載のストラドボディ。

【請求項 73】

前記 2 つの Fc ドメインが各々独立して、IgG1 のヒンジまたは IgG3 のヒンジと、IgG1 の CH2 ドメインまたは IgG3 の CH2 ドメインと、IgG1 の CH3 ドメインまたは IgG3 の CH3 ドメインとを含む、請求項 67 に記載のストラドボディ。

【請求項 74】

前記 2 つの Fc ドメインが各々独立して、IgG1 のヒンジと、IgG1 の CH2 ドメインと、IgG1 の CH3 ドメインとを含む、請求項 67 に記載のストラドボディ。

【請求項 75】

前記 2 つの Fc ドメインが各々独立して、IgG3 のヒンジと、IgG3 の CH2 ドメインと、IgG3 の CH3 ドメインとを含む、請求項 67 に記載のストラドボディ。

【請求項 76】

前記 2 つの Fc ドメインが各々独立して、IgG1 のヒンジと、IgG1 の CH2 ドメインと、IgG3 の CH3 ドメインとを含む、請求項 67 に記載のストラドボディ。

【請求項 77】

前記 2 つの Fc ドメインのうち少なくとも 1 つが、IgG1 のヒンジまたは IgG3 のヒンジと、IgG1 の CH2 ドメインまたは IgG3 の CH2 ドメインとを含む、請求項 67 に記載のストラドボディ。

【請求項 78】

前記 2 つの Fc ドメインのうち少なくとも 1 つが、IgG1 のヒンジまたは IgG3 のヒンジと、IgG1 の CH2 ドメインとを含む、請求項 67 に記載のストラドボディ。

【請求項 79】

前記第 1 および第 2 の Fc 受容体が各々独立して、Fc 受容体 I、Fc 受容体 II、Fc 受容体 III または Fc 受容体 IV である、請求項 64 に記載のストラドボディ。

【請求項 80】

前記第 1 および第 2 の Fc 受容体が各々 Fc 受容体 III a である、請求項 64 に記載のストラドボディ。

【請求項 81】

被検体における免疫応答を変化させる方法であって、それを必要とする被検体に、治療有効量の請求項 1 に記載のシリアルストラドマーとキャリアまたは希釈剤とを含む医薬組成物を投与することを含む、方法。

【請求項 82】

被検体における免疫応答を変化させる方法であって、それを必要とする被検体に、治療

10

20

30

40

50

有効量の請求項 33 に記載のコアストラドマーとキャリアまたは希釈剤とを含む医薬組成物を投与することを含む、方法。

【請求項 83】

被検体における免疫応答を変化させる方法であって、それを必要とする被検体に、治療有効量の請求項 47 に記載のクラストラドマーとキャリアまたは希釈剤とを含む医薬組成物を投与することを含む、方法。

【請求項 84】

被検体における免疫応答を変化させる方法であって、それを必要とする被検体に、治療有効量の請求項 64 に記載のストラドボディとキャリアまたは希釈剤とを含む医薬組成物を投与することを含む、方法。

【請求項 85】

前記医薬組成物が、治療有効量のシリアルストラドマーの不均一混合物とキャリアまたは希釈剤とを含む、請求項 81 に記載の方法。

【請求項 86】

前記医薬組成物が、治療有効量のコアストラドマーの不均一混合物とキャリアまたは希釈剤とを含む、請求項 82 に記載の方法。

【請求項 87】

前記医薬組成物が、治療有効量のクラストラドマーの不均一混合物とキャリアまたは希釈剤とを含む、請求項 83 に記載の方法。

【請求項 88】

前記医薬組成物が、治療有効量のストラドボディの不均一混合物とキャリアまたは希釈剤とを含む、請求項 84 に記載の方法。

【請求項 89】

免疫系の細胞における抗体の比活性をスクリーニングする方法であって、
 (a) 前記免疫系の細胞の同種の個体群を候補抗体と接触させることと、
 (b) (a) の細胞の前記個体群の活性を測定することと、
 (c) (a) と同じ細胞型の細胞の同種の個体群を請求項 1 に記載のシリアルストラドマーと接触させることと、
 (d) (c) の細胞の前記個体群の活性を測定することと、
 (e) (b) で測定した前記活性と (d) で測定した前記活性とを比較することとを含み、これによって前記免疫系の細胞における抗体の比活性をスクリーニングする、方法。

【請求項 90】

前記候補抗体と前記シリアルストラドマーが、同一の種かつ同一のアイソタイプのものである、請求項 89 に記載の方法。

【請求項 91】

(e) における前記比較が、(d) で測定した活性と (b) で測定した前記活性との比である、請求項 89 に記載の方法。

【請求項 92】

単球由来細胞 (MDC) の活性を阻害する方法であって、Fc 試薬が結合した支持体を含む組成物を前記細胞と接触させることを含む、方法。

【請求項 93】

前記接触が、in vitro、in vivo または ex vivo である、請求項 92 に記載の方法。

【請求項 94】

前記細胞が動物でのものである、請求項 92 に記載の方法。

【請求項 95】

前記動物が、単球由来細胞介在性症状 (MDCMC) に罹患しているまたはこれを発症するリスクのあるものである、請求項 94 に記載の方法。

【請求項 96】

前記細胞が樹状細胞である、請求項 92 ~ 95 のいずれか一項に記載の方法。

10

20

30

40

50

- 【請求項 97】
前記細胞がマクロファージまたは単球である、請求項 92～95 のいずれか一項に記載の方法。
- 【請求項 98】
前記細胞が破骨細胞である、請求項 92～95 のいずれか一項に記載の方法。
- 【請求項 99】
動物に、Fc 試薬が結合した支持体を含む組成物を投与することを含む治療方法であって、前記動物が、単球由来細胞介在性症状 (MDCMC) に罹患しているまたはこれを発症するリスクのあるものである、方法。
- 【請求項 100】 10
前記動物がヒトである、請求項 94 または 99 に記載の方法。
- 【請求項 101】
前記 Fc 試薬がヒト Fc 断片の機能的部分を含む、請求項 92～100 のいずれか一項に記載の方法。
- 【請求項 102】
前記ヒト Fc 断片が IgG1 の Fc 断片である、請求項 101 に記載の方法。
- 【請求項 103】
前記ヒト Fc 断片が IgG3 の Fc 断片である、請求項 101 に記載の方法。
- 【請求項 104】 20
前記ヒト Fc 断片が IgG2 または IgG4 の Fc 断片である、請求項 101 に記載の方法。
- 【請求項 105】
前記 Fc 試薬が IgG 分子を含む、請求項 92～104 のいずれか一項に記載の方法。
- 【請求項 106】
Fc 試薬が、非ヒト Fc 断片の機能的部分を含む、請求項 92～100 のいずれか一項に記載の方法。
- 【請求項 107】
前記支持体が合成ポリマーを含む、請求項 92～106 のいずれか一項に記載の方法。
- 【請求項 108】 30
前記合成ポリマーが、ナイロン、テフロン (登録商標)、ダクロン、ポリ塩化ビニル、PEU (ポリ (エステルウレタン))、PTFE (ポリテトラフルオロエチレン)、および PMMA (メタクリル酸メチル) からなる群から選択される、請求項 107 に記載の方法。
- 【請求項 109】
前記支持体が金属または金属合金を含む、請求項 92～107 のいずれか一項に記載の方法。
- 【請求項 110】 40
前記金属または金属合金が、ステンレス鋼、白金、イリジウム、チタン、タンタル、ニッケル-チタン合金、およびコバルト-クロム合金からなる群から選択される、請求項 109 に記載の方法。
- 【請求項 111】
前記支持体が、動物組織または動物組織製品を含む、請求項 92～110 のいずれか一項に記載の方法。
- 【請求項 112】
前記動物組織が組織または臓器移植片である、請求項 111 に記載の方法。
- 【請求項 113】
前記動物組織が骨 (骨化骨など) または軟骨である、請求項 111 または 112 に記載の方法。
- 【請求項 114】 50
前記支持体がタンパク質を含む、請求項 92～113 のいずれか一項に記載の方法。

- 【請求項 1 1 5】
前記支持体がコラーゲンを含む、請求項 9 2 ~ 1 1 4 のいずれか一項に記載の方法。
- 【請求項 1 1 6】
前記支持体がケラチンを含む、請求項 9 2 ~ 1 1 5 のいずれか一項に記載の方法。
- 【請求項 1 1 7】
前記支持体が組織マトリックスである、請求項 9 2 ~ 1 1 6 のいずれか一項に記載の方法。
- 【請求項 1 1 8】
前記組織マトリックスが無細胞組織マトリックスである、請求項 1 1 7 に記載の方法。
- 【請求項 1 1 9】 10
前記支持体が動物細胞（たとえば、線維芽細胞、間葉系幹細胞などの組織修復細胞）を含む、請求項 9 2 ~ 1 1 8 のいずれか一項に記載の方法。
- 【請求項 1 2 0】
前記支持体が植毛プラグである、請求項 9 2 ~ 1 1 9 のいずれか一項に記載の方法。
- 【請求項 1 2 1】
前記支持体が多糖を含む、請求項 9 2 ~ 1 2 0 のいずれか一項に記載の方法。
- 【請求項 1 2 2】
前記支持体がアガロースを含む、請求項 9 2 ~ 1 2 1 のいずれか一項に記載の方法。
- 【請求項 1 2 3】
前記支持体が塩を含む、請求項 9 2 ~ 1 2 2 のいずれか一項に記載の方法。 20
- 【請求項 1 2 4】
前記支持体が硫酸カルシウムを含む、請求項 9 2 ~ 1 2 3 のいずれか一項に記載の方法。
- 【請求項 1 2 5】
前記支持体がゲルまたはクリームを含む、請求項 9 2 ~ 1 2 4 のいずれか一項に記載の方法。
- 【請求項 1 2 6】
前記支持体がシリコンを含む、請求項 9 2 ~ 1 2 5 のいずれか一項に記載の方法。
- 【請求項 1 2 7】
前記支持体がサイラスティックを含む、請求項 9 2 ~ 1 2 6 のいずれか一項に記載の方法。 30
- 【請求項 1 2 8】
前記支持体が天然繊維を含む、請求項 9 2 ~ 1 2 7 のいずれか一項に記載の方法。
- 【請求項 1 2 9】
前記天然繊維が絹、綿または羊毛を含む、請求項 1 2 8 に記載の方法。
- 【請求項 1 3 0】
前記支持体が植込み型の医療器具である、請求項 9 2 ~ 1 2 9 のいずれか一項に記載の方法。
- 【請求項 1 3 1】 40
前記支持体が、ステント（たとえば、冠動脈ステントなどの血管ステント；気管内ステントまたは経鼻ステントなどの気道ステント；胆管ステントまたは膵管ステントなどの消化管ステント；尿管ステントなどの尿道ステント）である、請求項 9 2 ~ 1 3 0 のいずれか一項に記載の方法。
- 【請求項 1 3 2】
前記支持体が、外科用縫合糸（たとえば、絹縫合糸、腸線縫合糸、ナイロン、プラスチックまたは金属縫合糸または止血鉗子（動脈瘤クリップなど））である、請求項 9 2 ~ 1 3 0 のいずれか一項に記載の方法。
- 【請求項 1 3 3】 50
前記支持体が、人工股、人工股関節、人工膝、人工膝関節、人工肩、人工肩関節、人工指関節または足趾関節、骨接合板、骨釘、骨癒合不全用インプラント、椎間板インプラン

ト、骨セメントまたは骨セメントスペーサである、請求項 92 ~ 130 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 134】

前記支持体が動静脈シャントである、請求項 92 ~ 130 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 135】

前記支持体が植込み型リードである、請求項 92 ~ 130 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 136】

前記支持体が、ペースメーカー、人工心臓、心臓補助装置、人工内耳、植込み型除細動器、脊髄神経刺激装置、中枢神経系刺激装置、および末梢神経移植片からなる群から選択される、請求項 92 ~ 130 のいずれか一項に記載の方法。

10

【請求項 137】

前記支持体が義歯または歯冠である、請求項 92 ~ 130 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 138】

前記支持体が大血管血栓フィルタ装置またはケージである、請求項 92 ~ 130 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 139】

前記支持体が経皮装置である、請求項 92 ~ 130 のいずれか一項に記載の方法。

20

【請求項 140】

前記支持体が皮膚パッチまたは粘膜下パッチである、請求項 92 ~ 130 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 141】

前記支持体が植込み型薬剤送達装置である、請求項 92 ~ 130 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 142】

前記支持体が大血管グラフトであり、前記血管が、たとえば、頸動脈、大腿動脈または大動脈である、請求項 92 ~ 130 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 143】

前記支持体が皮下インプラントである、請求項 92 ~ 130 のいずれか一項に記載の方法。

30

【請求項 144】

前記支持体が、角膜移植片、眼内レンズまたはコンタクトレンズである、請求項 92 ~ 130 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 145】

前記支持体が、シート、ビーズ、メッシュ、粉末粒子、撚糸、ビーズまたは繊維である、請求項 92 ~ 130 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 146】

前記支持体が、固体、半固体またはゼラチン状の物質を含む、請求項 92 ~ 145 のいずれか一項に記載の方法。

40

【請求項 147】

前記支持体が脂溶性脂質を含む、請求項 92 ~ 146 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 148】

前記支持体加里ポソームを含む、請求項 92 ~ 147 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 149】

前記 M D C M C が、炎症状態、自己免疫疾患、癌、骨密度障害、急性感染症または慢性感染症である、請求項 95 ~ 148 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 150】

前記 M D C M C が血液免疫学的プロセスである、請求項 95 ~ 149 のいずれか一項に

50

記載の方法。

【請求項 151】

前記 M D C M C が、特発性血小板減少性紫斑病、同種免疫性 / 自己免疫性血小板減少症、後天性免疫性血小板減少症、自己免疫性好中球減少症、自己免疫性溶血性貧血、パルボウイルス B 19 関連赤血球形成不全、後天性抗第 V I I I 因子自己免疫疾患、後天性フォンウィルブランド病、多発性骨髄腫および意義不明の単クローン性高ガンマグロブリン血症、敗血症、再生不良性貧血、赤芽球痺、ダイヤモンド・ブラックファン貧血、新生児溶血性疾患、免疫介在性好中球減少症、血小板輸血不応状態、新生児輸血後紫斑病、溶血性尿毒症症候群、全身性血管炎、血栓性血小板減少性紫斑病、またはエバンス症候群である、請求項 95 ~ 150 のいずれか一項に記載の方法。

10

【請求項 152】

前記 M D C M C が神経免疫学的プロセスである、請求項 95 ~ 149 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 153】

前記 M D C M C が、ギラン・バレー症候群、慢性炎症性脱髄性多発ニューロパチー、I g M - M 蛋白血症を伴う脱髄性ニューロパチー、ランバート・イトン症候群、重症筋無力症、多巣性運動ニューロパチー、抗 G M 1 抗体を伴う下位運動ニューロン症候群、脱髄、多発性硬化症および視神経炎、全身硬直症候群、抗 Y o 抗体陽性傍腫瘍性小脳変性症、腫瘍随伴脳脊髄症、抗 H u 抗体陽性感覚性ニューロパチー、癲癇、脳炎、脊髄炎、特にヒト T 細胞性白血病ウイルス 1 型関連の脊髄症、自己免疫性糖尿病性ニューロパチーまたは急性特発性自律神経ニューロパチーである、請求項 95 ~ 149 および 152 のいずれか一項に記載の方法。

20

【請求項 154】

前記 M D C M C がリウマチ性疾患プロセスである、請求項 94 ~ 149 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 155】

前記 M D C M C が、川崎病、関節リウマチ、フェルティイ症候群、A N C A 陽性血管炎、特発性多発性筋炎、皮膚筋炎、抗リン脂質症候群、再発性自然流産、全身性紅斑性狼瘡、若年性特発性関節炎、レイノー病、C R E S T 症候群またはブドウ膜炎である、請求項 95 ~ 149 および 154 のいずれか一項に記載の方法。

30

【請求項 156】

前記 M D C M C が皮膚免疫学的疾患プロセスである、請求項 95 ~ 149 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 157】

前記 M D C M C が、中毒性表皮壊死融解症、脱疽、肉芽腫、尋常性天疱瘡、水疱性類天疱瘡、落葉状天疱瘡を含む自己免疫性で皮膚水疱を呈する疾患、尋常性白斑、連鎖球菌毒素ショック症候群、強皮症、びまん性皮膚硬化型強皮症および限局皮膚硬化型強皮症を含む全身性強皮症、アトピー性皮膚炎またはステロイド依存性アトピー性皮膚炎である、請求項 95 ~ 149 および 156 のいずれか一項に記載の方法。

40

【請求項 158】

前記 M D C M C が筋骨格免疫学的疾患プロセスである、請求項 95 ~ 149 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 159】

前記 M D C M C が、封入体筋炎、壊疽性筋膜炎、炎症性ミオパチー、筋炎、抗デコリン (B J 抗原) ミオパチー、傍腫瘍性壊死性ミオパチー、X 連鎖性空胞性ミオパチー、ペナシラミン誘導多発性筋炎、アテローム性動脈硬化症、冠動脈疾患または心筋症である、請求項 95 ~ 149 および 158 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 160】

前記 M D C M C が胃腸免疫学的疾患プロセスである、請求項 95 ~ 149 のいずれか一項に記載の方法。

50

【請求項 161】

前記 M D C M C が、悪性貧血、自己免疫性慢性活動性肝炎、原発性胆汁性肝硬変、セリアック病、疱疹状皮膚炎、原因不明肝硬変、反応性関節炎、クローン病、ホイップル病、潰瘍性大腸炎または硬化性胆管炎である、請求項 95 ~ 149 および 160 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 162】

前記 M D C M C が、移植片対宿主病、抗体による移植片拒絶、骨髄移植後拒絶、感染症後の炎症、リンパ腫、白血病、腫瘍症、喘息、抗細胞抗体の存在する 1 型糖尿病、シェーグレン症候群、混合性結合組織病、アジソン病、フォクト・小柳・原田症候群、膜性増殖性糸球体腎炎、グッドパスチャー症候群、グレーブス病、橋本甲状腺炎、ウェゲナー肉芽腫症、顕微鏡的多発動脈炎、チャグ・ストラウス症候群、結節性多発動脈炎または多臓器不全である、請求項 95 ~ 149 のいずれか一項に記載の方法。

10

【請求項 163】

前記癌が、線維肉腫、粘液肉腫、脂肪肉腫、軟骨肉腫、骨原性肉腫、脊索腫、血管肉腫、内皮肉腫、リンパ管肉腫、リンパ管内皮肉腫、滑膜腫、中皮腫、ユーイング腫瘍、平滑筋肉腫、横紋筋肉腫、結腸癌腫、膵臓癌、乳癌、卵巣癌、前立腺癌、扁平上皮癌、基底細胞癌、腺癌、汗腺癌、皮脂腺癌、乳頭癌、乳頭状腺癌、嚢胞腺癌、髄様癌、気管支原性肺癌、腎細胞癌、肝細胞癌、胆管癌、絨毛癌、精上皮腫、胚性癌、ウィルムス腫瘍、子宮頸癌、精巣腫瘍、肺癌腫、小細胞肺癌腫、膀胱癌腫、上皮癌、神経膠腫、星状細胞腫、髄芽腫、頭蓋咽頭腫、上衣腫、松果体腫、血管芽細胞腫、聴神経腫、乏突起膠腫、髄膜腫、黒色腫、神経芽細胞腫、網膜芽細胞腫、白血病、リンパ腫、多発性骨髄腫、ワルデンストローム・マクログロブリン血症、骨髄異形成疾患、重鎖病、神経内分泌腫瘍、および神経鞘腫からなる群から選択される、請求項 149 に記載の方法。

20

【請求項 164】

前記骨密度障害が、骨粗鬆症、骨減少症、大理石骨病、特発性低ゴナドトロピン性性腺機能低下症、神経性無食欲症、未治癒の骨折、閉経後骨粗鬆症、ビタミン D 欠乏症または過剰症、原発性副甲状腺機能亢進症または続発性副甲状腺機能亢進症、甲状腺疾患またはビスホスホネート製剤による毒性からなる群から選択される、請求項 149 に記載の方法。

【請求項 165】

前記急性感染症が、カンジダ症、カンジダ血症、アスペルギルス症を含む真菌性疾患；メチシリン耐性黄色ブドウ球菌を含むブドウ球菌や連鎖球菌による皮膚および中咽頭の症状およびグラム陰性敗血症を含む細菌性疾患；結核を含むマイコバクテリア感染；単核球症、RSウイルス感染および帯状疱疹を含むウイルス感染；マラリア、住血吸虫症およびトリパノソーマ症を含む寄生虫感染からなる群から選択される、請求項 149 に記載の方法。

30

【請求項 166】

前記慢性感染症が、爪真菌症を含む真菌性疾患；ヘリコバクター・ピロリ (*Helicobacter pylori*) を含む細菌性疾患；結核を含むマイコバクテリア感染；エプスタイン・バーウイルス、ヒトパピローマウイルスおよび単純ヘルペスウイルスを含むウイルス感染；マラリアおよび住血吸虫症を含む寄生虫感染から選択される、請求項 149 に記載の方法。

40

【請求項 167】

前記 M D C M C が前記支持体によって引き起こされる、請求項 95 または 99 に記載の方法。

【請求項 168】

植込み型または貼り付け可能な医療器具と、これに結合された F c 試薬とを含む、組成物。

【請求項 169】

植込み型のまたは貼り付け可能な医療器具と F c 試薬とを含む、キット。

【請求項 170】

50

好適な容器をさらに含む、請求項 169 に記載のキット。

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0001】

発明の背景

技術分野

本発明は主に、免疫学、炎症、腫瘍免疫学の分野に関する。特に、本発明は、免疫グロブリンの Fc ドメインを含む生物活性生体模倣分子、このような生体模倣薬を含む組成物、このような生体模倣薬の使用方法に関する。

【0002】

また、本発明は単球由来細胞が介在する病的状態の治療および予防に関し、特に、このような治療および予防に IgG の Fc 断片の機能的部分を安定させたものを使用することにも関する。

【背景技術】

【0003】

背景技術の説明

1950年代前半以降の免疫不全症の治療、その後は多くが自己免疫疾患や炎症性疾患の治療に、ヒト血漿由来の免疫グロブリン製品が用いられている。

【0004】

初期の頃、免疫グロブリン製品は筋肉注射で投与されていた。最近では静注用免疫グロブリン (IVIg) が用いられ、当初は自己免疫疾患である特発性血小板減少性紫斑病 (ITP) の治療に有効であるとみられていた (Imbach P, Barandun S, d'Apuzzo V, et al: High-dose intravenous gammaglobulin for idiopathic thrombocytopenic purpura in childhood. Lancet 1981 Jun 6; 1(8232): 1228-31)。ヒトIVIg (本明細書では「hIVIg」と呼ぶ) は、一般に95%を上回る量のIgGそのものと、ごく少ない不定量の免疫グロブリンA (IgA) または免疫グロブリンM (IgM) を含有するヒトプール血漿から製造される、無菌状態の精製免疫グロブリンG (IgG) 製品の製剤である (たとえば、Rutter A, Luger TA: High-dose intravenous immunoglobulins: an approach to treat severe immune-mediated and autoimmune diseases of the skin. J Am Acad Dermatol 2001 Jun; 44(6): 1010-24を参照のこと)。現在、hIVIgの最も一般的な1つの臨床用途がITPの治療における用途である。

【0005】

hIVIgは有効な臨床治療剤ではあるが、不適切な滅菌の可能性、不純物の混入、入手しにくさ、ロット間のばらつきを含め、hIVIg製剤にはいくつかの問題がある。特に、hIVIg調製物では免疫グロブリンA (IgA) 含有量が大幅に異なることがあり、そのことが懸念される場合がある。IgAが原因でIgA欠損レシビエントにアレルギー反応やアナフィラキシー反応を生じかねないためである。

【0006】

hIVIgの負の側面を考慮して、自己免疫疾患および炎症性疾患を治療する手段の改良版に対する需要が存在する。

【0007】

また、さまざまなタイプの多様な病的状態に単球由来の細胞が介在している。すべてではないにしても、多くのこのような症状に用いられている単純な治療薬および/または予防薬が、非常に貴重であろう。

【発明の概要】

【発明が解決しようとする課題】

【0008】

発明の概要

IVIgの免疫調節特性は、IgG分子のFcドメインにある。たとえば、ITPのマウスモデルでは、IVIgそのものとFc断片単独のどちらも血小板数の回復に治療効力

10

20

30

40

50

を示すが、単離した I V I G の F a b 断片は治療的ではない (Samuelsson, A., Towers, T.L. & Ravetch, J.V. Anti-inflammatory Activity of IVIG Mediated Through the Inhibitory Fc Receptor. *Science* 291, 484-486 (2001))。さらに、F c も小児と成人の両方で特発性血小板減少性紫斑病の治療に治療効果があるが、I V I G の F a b 断片には治療効果がない (Follea, G. et al. Intravenous plasmin-treated gammaglobulin therapy in idiopathic thrombocytopenic purpura. *Nouv Rev Fr Hematol* 27, 5-10 (1985); Solal-Celigny, P., Bernard, J., Herrera, A. & Biovin, P. Treatment of adult autoimmune thrombocytopenic purpura with high-dose intravenous plasmin-cleaved gammaglobulins. *Scand J Haematol* 31, 39-44 (1983); Debre, M. & Bonnet, M.-C. Infusion of Gcgamma fragments for treatment of children with acute immune thrombocytopenic purpura. *Lancet* 342, 945-49 (1993); Burdach, S.E., Evers, K. & Geurson, R. Treatment of acute idiopathic thrombocytopenic purpura of childhood with intravenous immunoglobulin G: Comparative efficacy of 7S and 5S preparations. *J Pediatr* 109, 770-775 (1986))。

10

20

30

40

50

【 0 0 0 9 】

I V I G の治療効果は、まずは F c 受容体 (F c R) によって得られ、長期にわたる免疫寛容誘導作用については樹状細胞 (D C) マクロファージの応答のやり取りに依存している。I T P のマウスモデルでは、イニシエータ段階において F c R I I I a が必須の役割を果たし、エフェクター段階になると F c R I I b が必要になる (Samuelsson, A., Towers, T.L. & Ravetch, J.V. Anti-inflammatory Activity of IVIG Mediated Through the Inhibitory Fc Receptor. *Science* 291, 484-486 (2001); Siragam, V. et al. Intravenous immunoglobulin ameliorates ITP via activating Fc[gamma] receptors on dendritic cells. *Nat Med* 12, 688 (2006))。同様に、ヒト試験によって、難治性 I T P の治療に抗 F c 受容体抗体が有効であることが示されている (Clarkson, S. et al. Treatment of refractory immune thrombocytopenic purpura with an anti-Fc gamma-receptor antibody. *N Engl J Med* 314, 1236-1239 (1986))。重要なことに、I T P のマウスモデルの治療に I V I G で処理した D C の養子移入が有効であるように、長期にわたる免疫寛容誘導作用は細胞間の相互作用によって生じている (Siragam, V. et al. Intravenous immunoglobulin ameliorates ITP via activating Fc[gamma] receptors on dendritic cells. *Nat Med* 12, 688 (2006))。

【 0 0 1 0 】

I V I G の免疫調節作用が発揮されるためには、F c R の凝集が必要である。F c R の凝集は I V I G に存在する I g G 二量体 (全 I V I G の 5 ~ 15%) によるものである (Bleeker, W.K. et al. Vasoactive side effects of intravenous immunoglobulin preparations in a rat model and their treatment with recombinant platelet-activating factor acetylhydrolase. *Blood* 95, 1856-1861 (2000))。たとえば、I T P のマウスモデルでは、「二量体」含有量の多い I V I G (完全免疫グロブリン分子の二量体) で処理すると血小板数が増したが、I V I G 「単量体」(完全免疫グロブリン分子) は有効ではなかった (Teeling, J.L. et al. Therapeutic efficacy of intravenous immunoglobulin preparations depends on the immunoglobulin G dimers: studies in experimental immune thrombocytopenia. *Blood* 98, 1095-1099 (2001))。さらに、I V I G の製造では I g G 凝集体の除去にイオン交換樹脂およびポリエチレングリコールによる分画が常法として用いられているにもかかわらず、I V I G の臨床効果は患者の血清に含まれる二量体の存在と相関している (Augener, W., Friedman, B. & Brittinger, G. Are aggregates of IgG the effective part of high-dose immunoglobulin therapy in adult idiopathic thrombocytopenic purpura (ITP)? *Blut* 50, 249-252 (1985))。重要なことに、二量体の割合は血管副作用とも相関しているが、これはアセチルヒドロラーゼで治療可能である (Bleeker, W.K. et al. Vasoactive side effects of intravenous immunoglobulin preparations in a rat model and their treatment with recombinant platelet-activating factor acetylhydrolase. *Blood* 95, 1856-1861 (2000))。

【課題を解決するための手段】

【0011】

本発明は、生物活性生体模倣分子、これを含む組成物、これを使用する方法に関する。これらの生体模倣薬には、自己免疫疾患を含むがこれに限定されるものではない、免疫疾患および炎症疾患を治療するための多くの用途があり、癌のための生物免疫療法剤としての実用性もある。また、これらの生体模倣薬のうちのいくつかには、免疫細胞機能試験用の免疫学的アッセイや疾患の診断で使用するなどの試薬としての実用性もある。さらに、本発明の生体模倣薬および組成物には、上述したh I V I Gの制約が解消されるという利点がある。また、本発明は、単球由来細胞が介在する病的状態の治療および予防にも関し、特に、このような治療および予防にI g GのF c断片の機能的部分を安定させたものを使用することにも関する。

10

【0012】

第1の実施形態では、本発明は、会合した2つ以上のストラドマー (stradomer) 単量体を含む単離されたシリアルストラドマーであって、ストラドマー単量体が各々2つ以上のF cドメイン単量体を含み、2つ以上のストラドマー単量体の会合によって2つ以上のF cドメインが形成され、シリアルストラドマーが2つ以上のF cドメインのうちの1つを介して第1のF c受容体と特異的に結合し、2つ以上のF cドメインのうちの別の1つを介して第2のF c受容体と特異的に結合する、単離されたシリアルストラドマーに関するものである。好ましい実施形態では、2つ以上のストラドマー単量体が、共有結合、ジスルフィド結合または化学的架橋によって会合している。

20

【0013】

本発明の単離されたシリアルストラドマーの好ましい実施形態では、単離されたシリアルストラドマーが会合した2つのストラドマー単量体で構成される。等しく好ましい実施形態では、単離されたシリアルストラドマーが会合した2つのストラドマー単量体で構成され、ストラドマー単量体がともに2つのF cドメイン単量体を含み、2つのストラドマー単量体の会合によって2つのF cドメインが形成される。単離されたシリアルストラドマーに関するこれらの実施形態の第1の特定の例では、2つのF cドメインのうちの少なくとも1つが、I g GのヒンジとI g GのC H 2ドメインとを含む。第2の特定の例では、2つのF cドメインが各々独立して、I g GのヒンジとI g GのC H 2ドメインとを含む。第3の特定の例では、2つのF cドメインのうちの少なくとも1つが、I g Gのヒンジと、I g GのC H 2ドメインと、I g GのC H 3ドメインとを含む。第4の特定の例では、2つのF cドメインが各々独立して、I g Gのヒンジと、I g GのC H 2ドメインと、I g GのC H 3ドメインとを含む。第5の特定の例では、2つのF cドメインのうちの少なくとも1つが、I g G 1のヒンジまたはI g G 3のヒンジと、I g G 1のC H 2ドメインまたはI g G 3のC H 2ドメインと、I g G 1のC H 3ドメインまたはI g G 3のC H 3ドメインとを含む。第6の特定の例では、2つのF cドメインのうちの少なくとも1つが、I g G 1のヒンジまたはI g G 3のヒンジと、I g G 1のC H 2ドメインまたはI g G 3のC H 2ドメインとを含む。第7の特定の例では、2つのF cドメインが各々独立して、I g G 1のヒンジまたはI g G 3のヒンジと、I g G 1のC H 2ドメインまたはI g G 3のC H 2ドメインと、I g G 1のC H 3ドメインまたはI g G 3のC H 3ドメインとを含む。第8の特定の例では、2つのF cドメインが各々独立して、I g G 1のヒンジと、I g G 1のC H 2ドメインと、I g G 1のC H 3ドメインとを含む。第9の特定の例では、2つのF cドメインが各々独立して、I g G 3のヒンジと、I g G 3のC H 2ドメインと、I g G 3のC H 3ドメインとを含む。第10の特定の例では、2つのF cドメインが各々独立して、I g G 1のヒンジと、I g G 1のC H 2ドメインと、I g G 3のC H 3ドメインとを含む。

30

40

【0014】

また、この第1の実施形態では、2つ以上のF cドメインが各々同じ免疫グロブリンF cクラスのものであり、免疫グロブリンF cクラスが、I g G 1、I g G 2、I g G 3、I g G 4からなる群から選択される。あるいは、2つ以上のF cドメインが各々異なる免

50

疫グロブリンFcクラスのものであり、前記免疫グロブリンFcクラスが、IgG1、IgG2、IgG3、IgG4からなる群から選択される。

【0015】

さらに、この第1の実施形態では、第1および第2のFc受容体が各々独立して、Fc受容体I、Fc受容体II、Fc受容体IIIまたはFc受容体IVである。好ましくは、第1および第2のFc受容体が各々Fc受容体IIIaである。

【0016】

第2の実施形態では、本発明は、会合した2つのストラドマー単量体を含む単離されたシリアルストラドマーであって、ストラドマー単量体が各々2つのFcドメイン単量体を含み、2つのストラドマー単量体の会合によって2つのFcドメインが形成され、前記2つのFcドメインが各々独立して、IgGのヒンジと、IgGのCH2ドメインと、IgGのCH3ドメインとを含み、シリアルストラドマーが2つのFcドメインのうちの1つを介して第1のFc受容体と特異的に結合し、2つのFcドメインのうちの別の1つを介して第2のFc受容体と特異的に結合する、単離されたシリアルストラドマーに関するものである。好ましい実施形態では、2つ以上のストラドマー単量体が、共有結合、ジスルフィド結合または化学的架橋によって会合している。

10

【0017】

この第2の実施形態の第1の特定の例では、2つのFcドメインが各々同じ免疫グロブリンFcクラスのものであり、免疫グロブリンFcクラスが、IgG1、IgG2、IgG3、IgG4からなる群から選択される。第2の特定の例では、2つのFcドメインが各々異なる免疫グロブリンFcクラスのものであり、前記免疫グロブリンFcクラスが、IgG1、IgG2、IgG3、IgG4からなる群から選択される。第3の特定の例では、複数のFcドメインのうちの少なくとも1つが、IgGのヒンジと、IgGのCH2ドメインとを含む。第4の特定の例では、Fcドメインが各々独立して、IgGのヒンジと、IgGのCH2ドメインとを含む。第5の特定の例では、複数のFcドメインのうちの少なくとも1つが、IgGのヒンジと、IgGのCH2ドメインと、IgGのCH3ドメインとを含む。第6の特定の例では、Fcドメインが各々独立して、IgGのヒンジと、IgGのCH2ドメインと、IgGのCH3ドメインとを含む。第7の特定の例では、複数のFcドメインのうちの少なくとも1つが、IgG1のヒンジまたはIgG3のヒンジと、IgG1のCH2ドメインまたはIgG3のCH2ドメインと、IgG1のCH3ドメインまたはIgG3のCH3ドメインとを含む。第8の特定の例では、Fcドメインが各々独立して、IgG1のヒンジまたはIgG3のヒンジと、IgG1のCH2ドメインまたはIgG3のCH2ドメインと、IgG1のCH3ドメインまたはIgG3のCH3ドメインとを含む。第9の特定の例では、Fcドメインが各々独立して、IgG1のヒンジと、IgG1のCH2ドメインと、IgG1のCH3ドメインとを含む。第10の特定の例では、Fcドメインが各々独立して、IgG3のヒンジと、IgG3のCH2ドメインと、IgG3のCH3ドメインとを含む。第11の特定の例では、Fcドメインが各々独立して、IgG1のヒンジと、IgG1のCH2ドメインと、IgG3のCH3ドメインとを含む。

20

30

【0018】

第3の実施形態では、本発明は、Fabドメインをさらに含む単離されたシリアルストラドマーであって、ストラドマー単量体が各々Fab断片の重鎖と2つのFcドメイン単量体とを含み、Fab断片の重鎖が2つのFcドメイン単量体に対してアミノ末端またはカルボキシ末端の位置にあり、Fab断片の軽鎖が独立してFab断片の各重鎖と会合し、Fabドメインが抗原結合活性を有する、単離されたシリアルストラドマーに関するものである。好ましい実施形態では、ストラドマー単量体が各々免疫グロブリンのヒンジ単量体をさらに含み、免疫グロブリンのヒンジ単量体がFab断片の重鎖と2つのFcドメイン単量体との間の位置にある。

40

【0019】

第4の実施形態では、本発明は、2つ以上のコアストラドマー単位と結合したコア部分

50

を含むコアストラドマーであって、2つ以上のコアストラドマー単位が各々少なくとも1つのFcドメインを含み、コアストラドマー単位が各々独立して、

(a) 会合した2つのFc断片単量体を含むFc断片であって、前記Fc断片単量体が各々Fcドメイン単量体を含み、2つのFc断片単量体の会合によってFcドメインが形成される、Fc断片と、

(b) 会合した2つのFc部分断片単量体を含むFc部分断片であって、前記Fc部分断片単量体が各々Fcドメイン単量体を含み、2つのFc部分断片単量体の会合によってFcドメインが形成される、Fc部分断片と、

(c) 会合した2つのFcドメイン単量体を含むFcドメインであって、2つのFcドメイン単量体の会合によってFcドメインが形成される、Fcドメインと、

(d) 会合した2つ以上のストラドマー単量体を含むシリアルストラドマーであって、前記ストラドマー単量体が各々2つ以上のFcドメイン単量体を含み、2つ以上のストラドマー単量体の会合によって2つ以上のFcドメインが形成される、シリアルストラドマーと、

(e) 2つ以上の多量体化クラスターストラドマー単位を含むクラスターストラドマーであって、前記クラスターストラドマー単位が各々、多量体化用領域と少なくとも1つのFcドメインとを含み、前記クラスターストラドマー単位が各々、会合した2つのクラスターストラドマー単位単量体を含み、前記クラスターストラドマー単位単量体が各々、多量体化用領域単量体と少なくとも1つのFcドメイン単量体とを含み、2つのクラスターストラドマー単位単量体の会合によって多量体化用領域と少なくとも1つのFcドメインとが形成され、2つ以上のクラスターストラドマー単位の多量体化用領域が多量体化してクラスターストラドマーが形成される、クラスターストラドマーと、からなる群から選択され、

コアストラドマーが、2つ以上のコアストラドマー単位のうちの1つを介して第1のFc受容体と特異的に結合し、2つ以上のコアストラドマー単位のうちの別の1つを介して第2のFc受容体と特異的に結合する、コアストラドマーに関するものである。

【0020】

好ましくは、この第4の実施形態では、コア部分が、免疫グロブリンJ鎖、アルブミン、リポソーム、ビーズ、ペプチド、ポリエチレングリコールからなる群から選択される。

【0021】

コアストラドマーに関する好ましい実施形態では、2つ以上のコアストラドマー単位が各々独立してFc断片である。あるいは、2つ以上のコアストラドマー単位が各々独立してシリアルストラドマーである。

【0022】

コアストラドマーに関する別の好ましい実施形態では、コアストラドマーが2つのコアストラドマー単位を含み、2つのコアストラドマー単位の各々が各々独立してシリアルストラドマーであり、シリアルストラドマーが会合した2つのストラドマー単量体を含み、前記ストラドマー単量体がともに2つのFcドメイン単量体を含み、2つのストラドマー単量体の会合によって2つのFcドメインが形成される。この実施形態の第1の特定の例では、2つ以上のコアストラドマー単位の複数のFcドメインのうちの少なくとも1つが、IgG1のヒンジまたはIgG3のヒンジと、IgG1のCH2ドメインまたはIgG3のCH2ドメインと、IgG1のCH3ドメインまたはIgG3のCH3ドメインとを含む。第2の特定の例では、2つ以上の2つのコアストラドマー単位の複数のFcドメインのうちの少なくとも1つが、IgG1のヒンジまたはIgG3のヒンジと、IgG1のCH2ドメインとを含む。第3の特定の例では、2つ以上の2つのコアストラドマー単位の複数のFcドメインが各々独立して、IgG1のヒンジと、IgG1のCH2ドメインと、IgG1のCH3ドメインとを含む。第4の特定の例では、2つ以上の2つのコアストラドマー単位の複数のFcドメインのうちの少なくとも1つが、IgGのヒンジと、IgGのCH2ドメインとを含む。第5の特定の例では、2つ以上の2つのコアストラドマー単位の複数のFcドメインが各々独立して、IgGのヒンジと、IgGのCH2ドメイ

10

20

30

40

50

ンとを含む。第6の特定の例では、2つ以上の2つのコアストラドマー単位の複数のFcドメインが各々独立して、IgG3のヒンジと、IgG3のCH2ドメインと、IgG3のCH3ドメインとを含む。第7の特定の例では、2つ以上の2つのコアストラドマー単位の複数のFcドメインが各々独立して、IgG1のヒンジと、IgG1のCH2ドメインと、IgG3のCH3ドメインとを含む。

【0023】

この実施形態では、第1および第2のFc受容体が各々独立して、Fc受容体I、Fc受容体II、Fc受容体IIIまたはFc受容体IVである。好ましくは、第1および第2のFc受容体が各々Fc受容体IIIaである。

【0024】

第5の実施形態では、本発明は、2つ以上の多量体化クラスターストラドマー単位を含むクラスターストラドマーであって、クラスターストラドマー単位が各々、多量体化用領域と少なくとも1つのFcドメインとを含み、クラスターストラドマー単位が各々、会合した2つのクラスターストラドマー単位単量体を含み、クラスターストラドマー単位単量体が各々、多量体化用領域単量体と少なくとも1つのFcドメイン単量体とを含み、2つのクラスターストラドマー単位単量体の会合によって多量体化用領域と少なくとも1つのFcドメインとが形成され、2つ以上のクラスターストラドマー単位の多量体化用領域が多量体化してクラスターストラドマーが形成され、クラスターストラドマーが、第1のFcドメインを介して第1のFc受容体と特異的に結合し、第2のFcドメインを介して第2のFc受容体と特異的に結合する、クラスターストラドマーに関するものである。

【0025】

好ましい実施形態では、多量体化用領域が、IgG2のヒンジ、IgEのCH2ドメイン、ロイシン、イソロイシンジッパー、ジンクフィンガーからなる群から選択される。

【0026】

別の好ましい実施形態では、クラスターストラドマーが、2つ、3つ、4つまたは5つの多量体化クラスターストラドマー単位を含む。

【0027】

この第5の実施形態の第1の特定の例では、複数のFcドメインのうちの少なくとも1つが、IgG1のヒンジまたはIgG3のヒンジと、IgG1のCH2ドメインまたはIgG3のCH2ドメインと、IgG1のCH3ドメインまたはIgG3のCH3ドメインとを含む。第2の特定の例では、Fcドメインが各々独立して、IgG1のヒンジと、IgG1のCH2ドメインと、IgG1のCH3ドメインとを含む。第3の特定の例では、複数のFcドメインのうちの少なくとも1つが、IgGのヒンジと、IgGのCH2ドメインとを含む。第4の特定の例では、Fcドメインが各々独立して、IgGのヒンジと、IgGのCH2ドメインとを含む。第5の特定の例では、Fcドメインが各々独立して、IgG3のヒンジと、IgG3のCH2ドメインと、IgG3のCH3ドメインとを含む。第6の特定の例では、Fcドメインが各々独立して、IgG1のヒンジと、IgG1のCH2ドメインと、IgG3のCH3ドメインとを含む。第7の特定の例では、Fcドメインが各々独立して、IgGのヒンジと、IgGのCH2ドメインと、IgGのCH3ドメインとを含む。第8の特定の例では、クラスターストラドマー単位のうちの少なくとも1つが2つ以上のFcドメインを含む。第9の特定の例では、クラスターストラドマー単位が各々2つ以上のFcドメインを含む。

【0028】

この実施形態では、第1および第2のFc受容体が各々独立して、Fc受容体I、Fc受容体II、Fc受容体IIIまたはFc受容体IVである。好ましくは、第1および第2のFc受容体が各々Fc受容体IIIaである。

【0029】

第6の実施形態では、本発明は、会合した2つ以上のストラドマー単量体とFabドメインとを含むストラドボディ(stradobody)であって、ストラドマー単量体が各々Fab断片の重鎖と2つ以上のFcドメイン単量体とを含み、Fab断片の重鎖が2つ以上のF

10

20

30

40

50

cドメイン単量体に対してアミノ末端またはカルボキシ末端の位置にあり、2つ以上のストラドマー単量体の会合によって2つ以上のFcドメインが形成され、Fab断片の軽鎖が独立して各ストラドマー単量体のFab断片の重鎖と会合し、Fabドメインが抗原結合活性を有し、ストラドボディが、2つ以上のFcドメインのうちの一つを介して第1のFc受容体と特異的に結合し、2つ以上のFcドメインのうち別の一つを介して第2のFc受容体と特異的に結合する、ストラドボディに関するものである。

【0030】

好ましい実施形態では、2つ以上のストラドマー単量体が、共有結合、ジスルフィド結合または化学的架橋によって会合している。

【0031】

別の好ましい実施形態では、ストラドボディの前記ストラドマー単量体が各々免疫グロブリンのヒンジ単量体をさらに含み、免疫グロブリンのヒンジ単量体がFab断片の重鎖と2つのFcドメイン単量体との間の位置にある。

【0032】

特定の実施形態では、ストラドボディが会合した2つのストラドマー単量体を含み、前記ストラドマー単量体が各々Fab断片の重鎖と2つのFcドメイン単量体とを含み、2つのストラドマー単量体の会合によって2つのFcドメインが形成される。この実施形態の第1の特定の例では、2つのFcドメインのうち少なくとも一つが、IgGのヒンジと、IgGのCH2ドメインと、IgGのCH3ドメインとを含む。第2の特定の例では、2つのFcドメインが各々独立して、IgGのヒンジと、IgGのCH2ドメインと、IgGのCH3ドメインとを含む。第3の特定の例では、2つのFcドメインのうち少なくとも一つが、IgGのヒンジと、IgGのCH3ドメインとを含む。第4の特定の例では、Fcの2つのドメインが各々独立して、IgGのヒンジと、IgGのCH3ドメインとを含む。第5の特定の例では、2つのFcドメインのうち少なくとも一つが、IgG1のヒンジまたはIgG3のヒンジと、IgG1のCH2ドメインまたはIgG3のCH2ドメインと、IgG1のCH3ドメインまたはIgG3のCH3ドメインとを含む。第6の特定の例では、2つのFcドメインが各々独立して、IgG1のヒンジまたはIgG3のヒンジと、IgG1のCH2ドメインまたはIgG3のCH2ドメインと、IgG1のCH3ドメインまたはIgG3のCH3ドメインとを含む。第7の特定の例では、2つのFcドメインが各々独立して、IgG1のヒンジと、IgG1のCH2ドメインと、IgG1のCH3ドメインとを含む。第8の特定の例では、2つのFcドメインが各々独立して、IgG3のヒンジと、IgG3のCH2ドメインと、IgG3のCH3ドメインとを含む。第9の特定の例では、2つのFcドメインが各々独立して、IgG1のヒンジと、IgG1のCH2ドメインと、IgG3のCH3ドメインとを含む。第10の特定の例では、2つのFcドメインのうち少なくとも一つが、IgG1のヒンジまたはIgG3ヒンジと、IgG1のCH2ドメインまたはIgG3のCH2ドメインとを含む。第11の特定の例では、2つのFcドメインのうち少なくとも一つが、IgG1のヒンジまたはIgG3のヒンジと、IgG1のCH2ドメインとを含む。

【0033】

この実施形態では、第1および第2のFc受容体が各々独立して、Fc受容体I、Fc受容体II、Fc受容体IIIまたはFc受容体IVである。好ましくは、第1および第2のFc受容体が各々Fc受容体IIIaである。

【0034】

第7の実施形態では、本発明は、被検体における免疫応答を変化させる方法であって、それを必要とする被検体に、治療有効量のシリアルストラドマーとキャリアまたは希釈剤とを含む医薬組成物を投与することを含む方法に関するものである。好ましい実施形態では、医薬組成物が、治療有効量のシリアルストラドマーの不均一混合物とキャリアまたは希釈剤とを含む。

【0035】

第8の実施形態では、本発明は、被検体における免疫応答を変化させる方法であって、

10

20

30

40

50

それを必要とする被検体に、治療有効量のコアストラドマーとキャリアまたは希釈剤とを含む医薬組成物を投与することを含む方法に関するものである。好ましい実施形態では、医薬組成物が、治療有効量のコアストラドマーの不均一混合物とキャリアまたは希釈剤とを含む。

【0036】

第9の実施形態では、本発明は、被検体における免疫応答を変化させる方法であって、それを必要とする被検体に、治療有効量のクラストラドマーとキャリアまたは希釈剤とを含む医薬組成物を投与することを含む方法に関するものである。好ましい実施形態では、医薬組成物が、治療有効量のクラストラドマーの不均一混合物とキャリアまたは希釈剤とを含む。

10

【0037】

第10の実施形態では、本発明は、被検体における免疫応答を変化させる方法であって、それを必要とする被検体に、治療有効量のストラドボディとキャリアまたは希釈剤とを含む医薬組成物を投与することを含む方法に関するものである。好ましい実施形態では、医薬組成物が、治療有効量のストラドボディの不均一混合物とキャリアまたは希釈剤とを含む。

【0038】

第11の実施形態では、本発明は、免疫系の細胞における抗体の比活性をスクリーニングする方法であって、(a)免疫系の細胞の同種の個体群を候補抗体と接触させることと、(b)(a)の細胞の個体群の活性を測定することと、(c)(a)と同じ細胞型の細胞の同種の個体群を請求項1に記載のシリアルストラドマーと接触させることと、(d)(c)の細胞の個体群の活性を測定することと、(e)(b)で測定した活性と(d)で測定した活性とを比較することとを含み、これによって免疫系の細胞における抗体の比活性をスクリーニングする方法に関するものである。好ましい実施形態では、候補抗体とシリアルストラドマーが、同一の種かつ同一のアイソタイプのものである。別の好ましい実施形態では、(e)における比較が、(d)で測定した活性と(b)で測定した活性との比である。

20

【0039】

第12の実施形態では、本発明は、単球由来細胞(MDC)の活性を阻害する指向方法である。この方法は、Fc試薬が結合した支持体を含有する組成物と細胞とを接触させるものである。この接触は、*in vitro*、*in vivo*または*ex vivo*で実施可能である。細胞としては、単球由来細胞介在性症状(MDCMC)に罹患しているまたはこれを発症するリスクのある動物などの動物における細胞が可能である。また、細胞として、樹状細胞、マクロファージ、単球または破骨細胞なども可能である。

30

【0040】

第13の実施形態では、本発明は、単球由来細胞介在性症状(MDCMC)に罹患しているまたはこれを発症するリスクのある動物に、Fc試薬が結合した支持体を含む組成物を投与することを含む、指向治療方法である。

【0041】

以下、これらの2つの方法(第12および第13の実施形態)の両方に共通する実施形態をあげておく。

40

【0042】

動物としては、ヒトなどが可能である。

【0043】

Fc試薬は、ヒトIgG1のFc断片、ヒトIgG3のFc断片、ヒトIgG2またはヒトIgG4のFc断片などのヒトFc断片の機能的部分を含むこともあれば、機能的部分のこともある。さらに、IgG分子を含むこともあれば、IgG分子のこともある。Fc試薬はまた、非ヒトFc断片の機能的部分のこともある。機能的部分を含むこともある。

【0044】

50

支持体は、ナイロン、テフロン（登録商標）、ダクロン、ポリ塩化ビニル、PEU（ポリ（エステルウレタン））、PTFE（ポリテトラフルオロエチレン）またはPMMA（メタクリル酸メチル）などの合成ポリマーであってもよいし、これを含むものであってもよい。支持体は、ステンレス鋼、白金、イリジウム、チタン、タンタル、ニッケル-チタン合金またはコバルト-クロム合金などの金属または金属合金を含むものであってもよいし、それであってもよい。支持体は、組織または臓器移植片、骨（骨化骨（osteogenic bone）など）または軟骨などの動物組織または動物組織製品を含有するものであってもよいし、それであってもよい。支持体は、コラーゲンまたはケラチンなどのタンパク質を含むものであってもよいし、それであってもよい。また、支持体は、アガロースなどの多糖であってもよいし、これを含むものであってもよい。さらに、支持体は、無細胞組織マトリックスなどの組織マトリックスを含有するものであってもよいし、それであってもよい。支持体は、動物細胞（線維芽細胞または間葉系幹細胞といった組織修復細胞など）を含有するものであってもよいし、それであってもよい。支持体は、硫酸カルシウムなどの塩を含有するものであってもよいし、それであってもよい。さらに、支持体は、ゲルまたはクリームのことになれば、これを含むこともある。また、シリコンまたはサイラステックを含有するものであってもよいし、それであってもよい。さらに、絹、綿または羊毛などの天然繊維を含有するものであってもよいし、それであってもよい。

10

【0045】

支持体は植毛プラグであってもよいし、ステント（たとえば、冠動脈ステントなどの血管ステント；気管内ステントまたは経鼻ステントなどの気道ステント；胆管ステントまたは膵管ステントなどの消化管ステント；または尿管ステントなどの尿道ステント）などの植込み型の医療器具であってもよい。また、外科用縫合糸（たとえば、絹縫合糸、腸線縫合糸、ナイロン、プラスチックまたは金属縫合糸または止血鉗子（動脈瘤クリップ（aneurysm clip）など））であってもよい。また、支持体は、人工股、人工股関節、人工膝、人工膝関節、人工肩、人工肩関節、人工指関節または足趾関節、骨接合板、骨釘、骨癒合不全用インプラント（bone non-union implant）、椎間板インプラント、骨セメントまたは骨セメントスペーサであってもよい。これは、動静脈シャント、植込み型リード、ペースメーカー、人工心臓、心臓補助装置、人工内耳、植込み型除細動器、脊髄神経刺激装置、中枢神経系刺激装置、末梢神経移植片、義歯または歯冠であってもよい。さらに、支持体は、大血管血栓フィルタ装置またはケージ（cage）、経皮装置、皮膚パッチまたは粘膜下パッチまたは植込み型薬剤送達装置であってもよい。

20

30

【0046】

支持体は大血管グラフトであってもよく、この場合の血管は、頸動脈、大腿動脈または大動脈などである。また、皮下インプラント、角膜移植片、眼内レンズまたはコンタクトレンズであってもよい。

【0047】

支持体は、たとえば、シート、ビーズ、メッシュ、粉末粒子、撚糸、ビーズまたは繊維の形であってもよい。支持体は、固体、半固体またはゼラチン状物質を含有するものであってもよいし、それであってもよい。このように、支持体は、たとえばリポソームなどの脂溶性脂質といった実質的に水性溶媒不溶性の物質を含む。

40

【0048】

MDCMCは、炎症状態、自己免疫疾患、癌、骨密度障害、急性感染症または慢性感染症の場合がある。

【0049】

また、特発性血小板減少性紫斑病、同種免疫性/自己免疫性血小板減少症、後天性免疫性血小板減少症、自己免疫性好中球減少症、自己免疫性溶血性貧血、パルボウイルスB19関連赤血球形成不全、後天性抗第V因子自己免疫疾患、後天性フォンウィブランド病、多発性骨髄腫および意義不明の単クローン性高ガンマグロブリン血症、敗血症、再生不良性貧血、赤芽球痺、ダイヤモンド・ブラックファン貧血、新生児溶血性疾患、免疫介在性好中球減少症、血小板輸血不応状態、新生児輸血後紫斑病、溶血性尿毒症症候群

50

、全身性血管炎、血栓性血小板減少性紫斑病またはエバンス症候群などの血液免疫学的なプロセスの場合もある。

【0050】

あるいは、M D C M C は、ギラン・バレー症候群、慢性炎症性脱髄性多発ニューロパチー、I g M - M 蛋白血症を伴う脱髄性ニューロパチー、ランバート・イートン症候群、重症筋無力症、多巣性運動ニューロパチー、抗 G M 1 抗体を伴う下位運動ニューロン症候群、脱髄、多発性硬化症および視神経炎、全身硬直症候群、抗 Y o 抗体陽性傍腫瘍性小脳変性症、腫瘍随伴脳脊髄症、抗 H u 抗体陽性感覚性ニューロパチー、癲癇、脳炎、脊髄炎、特にヒト T 細胞性白血病ウイルス 1 型関連の脊髄症、自己免疫性糖尿病性ニューロパチーまたは急性特発性自律神経ニューロパチーなどの神経免疫学的プロセスの場合もある。

10

【0051】

M D C M C は、川崎病、関節リウマチ、フェルティ症候群、A N C A 陽性血管炎、特発性多発性筋炎、皮膚筋炎、抗リン脂質症候群、再発性自然流産、全身性紅斑性狼瘡、若年性特発性関節炎、レイノー病、C R E S T 症候群またはブドウ膜炎などのリウマチ性疾患プロセスの場合もある。

【0052】

さらに、M D C M C は、表皮壊死融解症、脱疽、肉芽腫、尋常性天疱瘡、水疱性類天疱瘡、落葉状天疱瘡を含む自己免疫性で皮膚水疱を呈する疾患、尋常性白斑、連鎖球菌毒素ショック症候群、強皮症、びまん性皮膚硬化型強皮症および限局皮膚硬化型強皮症を含む全身性強皮症、アトピー性皮膚炎またはステロイド依存性アトピー性皮膚炎などの皮膚免疫学的疾患プロセスの場合もある。

20

【0053】

また、M D C M C は、封入体筋炎、壊疽性筋膜炎、炎症性ミオパチー、筋炎、抗デコリン (B J 抗原) ミオパチー、傍腫瘍性壊死性ミオパチー (Paraneoplastic Necrotic Myopathy) 、 X 連鎖性空胞性ミオパチー、ペナシラミン誘導多発性筋炎 (Penacillamine-induced Polymyositis) 、アテローム性動脈硬化症、冠動脈疾患または心筋症などの筋骨格免疫学的疾患の場合もある。

【0054】

また、M D C M C は、悪性貧血、自己免疫性慢性活動性肝炎、原発性胆汁性肝硬変、セリアック病、疱疹状皮膚炎、原因不明肝硬変、反応性関節炎、クローン病、ホイップル病、潰瘍性大腸炎、または硬化性胆管炎などの胃腸免疫学的疾患プロセスの場合もある。

30

【0055】

M D C M C は、たとえば、移植片対宿主病、抗体による移植片拒絶、骨髄移植後拒絶、感染症後の炎症、リンパ腫、白血病、腫瘍症、喘息、抗細胞抗体の存在する 1 型糖尿病、シェーグレン症候群、混合性結合組織病、アジソン病、フォークト・小柳・原田症候群、膜性増殖性糸球体腎炎、グッドパスチャー症候群、グレーブス病、橋本甲状腺炎、ウェゲナー肉芽腫症、顕微鏡的多発動脈炎 (micropolyarteritis) 、チャージ・ストラウス症候群、結節性多発動脈炎または多臓器不全の場合もある。

【0056】

M D C M C が癌であれば、線維肉腫、粘液肉腫、脂肪肉腫、軟骨肉腫、骨原性肉腫、脊索腫、血管肉腫、内皮肉腫、リンパ管肉腫、リンパ管内皮肉腫、滑膜腫、中皮腫、ユーイング腫瘍、平滑筋肉腫、横紋筋肉腫、結腸癌腫、膵臓癌、乳癌、卵巣癌、前立腺癌、扁平上皮癌腫、基底細胞癌、腺癌、汗腺癌、皮脂腺癌、乳頭癌、乳頭状腺癌、嚢胞腺癌、髄様癌、気管支原性肺癌、腎細胞癌、肝細胞癌、胆管癌、絨毛癌、精上皮腫、胚性癌、ウィルムス腫瘍、子宮頸癌、精巣腫瘍、肺癌腫、小細胞肺癌腫、膀胱癌腫、上皮癌、神経膠腫、星状細胞腫、髄芽腫、頭蓋咽頭腫、上衣腫、松果体腫、血管芽細胞腫、聴神経腫、乏突起膠腫、髄膜腫、黒色腫、神経芽細胞腫、網膜芽細胞腫、白血病、リンパ腫、多発性骨髄腫、ワルデンストローム・マクログロブリン血症、骨髄異形成疾患、重鎖病、神経内分泌腫瘍または神経鞘腫 (Schwannoma) の場合がある。

40

【0057】

50

MDCMCが骨密度障害であれば、骨粗鬆症、骨減少症、大理石骨病、特発性低ゴナドトロピン性性腺機能低下症、神経性無食欲症、未治癒の骨折、閉経後骨粗鬆症、ビタミンD欠乏症または過剰症、原発性副甲状腺機能亢進症または続発性副甲状腺機能亢進症、甲状腺疾患またはビスホスホネート製剤による毒性の場合がある。

【0058】

MDCMCが急性感染症であれば、カンジダ症、カンジダ血症またはアスペルギルス症を含む真菌性疾患；メチシリン耐性黄色ブドウ球菌を含むブドウ球菌や連鎖球菌による皮膚および中咽頭の症状またはグラム陰性菌敗血症を含む細菌性疾患；結核を含むマイコバクテリア感染；単核球症、RS (Respiratory Syntitial) ウイルス感染または帯状疱疹感染を含むウイルス感染；マラリア、住血吸虫症またはトリパノソーマ症を含む寄生虫感染の場合がある。

10

【0059】

MDCMCが慢性感染症であれば、爪真菌症 (onchyomycosis) ；ヘリコバクター・ピロリ (Helicobacter pylori) を含む細菌性疾患；結核を含むマイコバクテリア感染；エプスタイン・バーウイルス感染、ヒトパピローマウイルス感染または単純ヘルペスウイルス感染を含むウイルス感染；またはマラリアまたは住血吸虫症を含む寄生虫感染の場合がある。

【0060】

第14の実施形態では、本発明は、含有する、あるいはFc試薬が結合した植込み型または貼り付け可能な医療器具である、組成物に関するものである。

20

【0061】

第15の実施形態では、本発明は、植込み型または貼り付け可能な医療器具とFc試薬とを含むキットに関するものである。これらの両実施形態では、植込み型または貼り付け可能な医療器具とFc試薬には、本明細書に記載のいずれでも用いることが可能である。キットはさらに、好適な容器を含むことができる。

【0062】

本発明の他の利点および特徴が、本発明の好ましい実施形態を示す以下の詳細な説明、図面および実施例から明らかであろう。

【0063】

以上は、後述する本発明の詳細な説明を一層理解しやすくするために、本発明の特徴と技術的な利点の概要をいくぶん広義に説明したものである。本発明の他の特徴および利点については、本発明の特許請求の範囲の主旨をなす下記にて説明する。ここに開示の構想および特定の実施形態を、本発明と同じ目的を実施するための他の構造を改変または設計する上での根拠として容易に利用できる旨は、当業者には自明であろう。また、このような等価な構成が、添付の特許請求の範囲に記載の本発明の趣旨および範囲から逸脱しないことも、当業者であれば分かるはずである。本発明の特徴であると思われる新規な特徴は、その編成と動作方法の両方の観点から、さらに他の目的および利点と併せて、以下の説明を添付の図面との関連でみたときに一層理解されるであろう。しかしながら、例示および説明だけの目的で提供するそれぞれの図は、本発明の限定事項を定義するものではない旨は、明示的に理解されたい。

30

40

【図面の簡単な説明】

【0064】

【図1A】CH3ドメインに結合されたCH2ドメインに結合されたヒンジドメインを有する、IgG1の天然のFc断片単量体の構造を概略的に示す。

【図1B】会合した2つのFc断片単量体で形成される、IgG1の自己凝集型の天然Fc断片を示す。

【図1C】CH3ドメインに結合されたCH2ドメインに結合されたヒンジドメインを有する、IgG3の天然のFc断片単量体の構造を概略的に示す。

【図1D】会合した2つのFc断片単量体で形成される、IgG3の自己凝集型の天然Fc断片を示す。

50

【図 2 A】図 1 B に示す天然の F c 断片構造の高次の凝集体を示す。F c 断片は、自然に多量体化して二量体の二量体（すなわち四量体）またはさらに高次の多量体凝集体になることがある。

【図 2 B】図 1 B に示す天然の F c 断片構造の高次の凝集体を示す。F c 断片は、自然に多量体化して二量体の二量体（すなわち四量体）またはさらに高次の多量体凝集体になることがある。

【図 3 A】F c 断片のヒンジで F c 断片に結合された天然の F a b 断片を有する天然の I g G 1 抗体の概略を示す。

【図 3 B】類似の I g G 3 の構造を示す。

【図 4 A】I g G 1 の 2 つの F c ドメイン単量体が直列に並んで構成されるストラドマー単量体を示す。

【図 4 B】I g G 1 の F c - I g G 3 の F c - I g E の F c が直列に結合された別のストラドマー単量体構造を示す。

【図 5 A】構成要素となる F c ドメイン単量体自体の能力により、図 4 A のストラドマー単量体が自己二量体化してシリアルストラドマーになった状態を示す。

【図 5 B】構成要素となる F c ドメイン単量体自体の能力により、図 4 B のストラドマー単量体が自己二量体化してシリアルストラドマーになった状態を示す。

【図 6 A】I g G 1 の F c - I g G 1（ヒンジ - C H 2）を含むストラドマー単量体を示す。

【図 6 B】I g G 1（ヒンジ - C H 2） - I g G 3（ヒンジ - C H 2） - I g E（ヒンジ - C H 2）由来の配列を含むストラドマーを示す。

【図 7 A】構成要素となる F c ドメイン自体の能力により、図 6 A のストラドマー単量体が自己二量体化してシリアルストラドマーになった状態を示す。

【図 7 B】構成要素となる F c ドメイン自体の能力により、図 6 B のストラドマー単量体が自己二量体化してシリアルストラドマーになった状態を示す。

【図 7 C】I g E（ヒンジ） - I g G 1 の F c - I g G 1（ヒンジ - C H 2） - I g E（C H 3）を含むシリアルストラドマーを示す。

【図 7 D】I g G 3 の F c - I g G 1 の F c を含むシリアルストラドマーを示す。

【図 8 A】各ストラドマー単量体が I g G 1 の C H 2 - C H 3 由来の F c ドメイン単量体 2 つと F a b とを含むシリアルストラドマー構造を有するストラドボディコンストラクトを示す。

【図 8 B】I g E の F c に結合された I g G 3 の F c に結合された I g G 1 の F c を含むストラドマー構造を有すること以外は、図 8 A と同様のストラドボディコンストラクトを示す。

【図 9 A】I g G 1 の F c - I g G 1（ヒンジ - C H 2）ストラドボディを示す。

【図 9 B】I g G 1（ヒンジ - C H 2） - I g G 3（ヒンジ - C H 2） - I g E（ヒンジ - C H 2）3 ストラドボディを示す。

【図 10 A】I g G 1（ヒンジ - C H 2） - I g G 3 の C H 3 - I g M の C H 4 ストラドマー単量体と J 鎖タンパク質とを示す。

【図 10 B】I g M の C H 4 ドメインによる J 鎖への会合によって形成された、図 10 に示すストラドマーの五量体をもとにしたコアストラドマーを示す。

【図 10 C】I g G 1 の F c - I g G 1 の F c - I g M の C H 4 ストラドマー単量体と J 鎖タンパク質とを示す。

【図 10 D】I g M の C H 4 ドメインによる J 鎖への会合によって形成された、図 10 C に示すストラドマーの五量体をもとにしたコアストラドマーを示す。

【図 11 A】I g G 1 の F c - I g G 1（ヒンジ - C H 2）ストラドマー単量体を示す。

【図 11 B】図 11 A のストラドマー単量体が、どのようにして自己二量体化してシリアルストラドマーを形成するかを示す。

【図 11 C】図 11 A の同じストラドマー単量体が、自己二量体としてではなく、どのようにして単量体の F c ドメインを他のストラドマー単量体の同一または類似の F c ドメ

10

20

30

40

50

ン単量体と整列させて、自己二量体と同じストラドマー単量体で構成されるがジッパー作用の構造を有するストラドマーを形成できるかを示す。

【図12A】IgG3のFc-IgG1のFcストラドマー単量体を示す。

【図12B】自己二量体化後に第2のIgG3のFcを追加することで、IgG3のFc-IgG1のFc-IgG3のFcからなる分岐構造のストラドマーを形成できることを示す。

【図13A】IgEのCH2-IgG1のFc-IgG1(ヒンジ-CH2)-IgEのCH4ストラドマー単量体を示す。

【図13B】図13Aの単量体の自己二量体を示し、形成された2つのFcR結合部位がハイライト表示されている。

【図14A】リンカーで連結されたIgG1の2つのFcドメインで構成されるストラドマーを示す。

【図14B】リンカーで連結された2つのシリアルストラドマーで構成されるストラドマー(具体的には、それぞれの場合で2(IgG1のFc)ストラドマー)を示す。

【図15A】(図A)ヒトIgG1のFc断片の核酸(配列番号1)配列およびアミノ酸(配列番号2)配列を示す。(図B)ヒトIgG2のFc断片の核酸(配列番号3)配列およびアミノ酸(配列番号4)配列を示す。

【図15B】(図B)ヒトIgG2のFc断片の核酸(配列番号3)配列およびアミノ酸(配列番号4)配列を示す。(図C)ヒトIgG3のFc断片の核酸(配列番号5)配列およびアミノ酸(配列番号6)配列を示す。

【図15C】(図C)ヒトIgG3のFc断片の核酸(配列番号5)配列およびアミノ酸(配列番号6)配列を示す。(図D)ヒトIgG4のFc断片の核酸(配列番号7)配列およびアミノ酸(配列番号8)配列を示す。

【図16A】{IgKシグナル配列-IgG1のFc断片-IgG1のFc断片}を含むコンストラクトの核酸(配列番号17)配列とアミノ酸(配列番号18)配列を示す。IgKシグナルのアミノ酸配列を太字で示してある。第1のIgG1のFc断片のアミノ酸配列には一重下線を付してある。第2のIgG1のFc断片のアミノ酸配列には二重下線を付してある。アスタリスクで示したセリンおよびリジンは、変異させてFc受容体結合を変更できるアミノ酸である。

【図16B】{IgKシグナル配列-IgG1のFc断片-IgG1のFc断片}を含むコンストラクトの核酸(配列番号17)配列とアミノ酸(配列番号18)配列を示す。IgKシグナルのアミノ酸配列を太字で示してある。第1のIgG1のFc断片のアミノ酸配列には一重下線を付してある。第2のIgG1のFc断片のアミノ酸配列には二重下線を付してある。アスタリスクで示したセリンおよびリジンは、変異させてFc受容体結合を変更できるアミノ酸である。

【図17】{制限酵素部位-IgKシグナル配列-制限酵素部位-IgG1(ヒンジ-CH2-CH3)-制限酵素部位-エトープタグ(V5およびHis)-STOP}を含むコンストラクトの核酸(配列番号19)配列とアミノ酸(配列番号20)配列を示す。IgKシグナルのアミノ酸配列を太字で示してある。IgG1のFc断片のアミノ酸配列には一重下線を付してある。V5タグのアミノ酸配列には点線で下線を付してある。Hisタグのアミノ酸配列には太い下線を付してある。

【図18A】{制限酵素部位-IgKシグナル-制限酵素部位-IgG1(ヒンジ-CH2-CH3)-XbaI部位-IgG1(ヒンジ-CH2-CH3)-STOP}を含むコンストラクトの核酸(配列番号21)配列とアミノ酸(配列番号22)配列を示す。IgKシグナルのアミノ酸配列を太字で示してある。第1のIgG1のFc断片のアミノ酸配列には一重下線を付してある。第2のIgG1のFc断片のアミノ酸配列には二重下線を付してある。

【図18B】{制限酵素部位-IgKシグナル-制限酵素部位-IgG1(ヒンジ-CH2-CH3)-XbaI部位-IgG1(ヒンジ-CH2-CH3)-STOP}を含むコンストラクトの核酸(配列番号21)配列とアミノ酸(配列番号22)配列を示す。I

10

20

30

40

50

g Kシグナルのアミノ酸配列を太字で示してある。第1のIgG1のFc断片のアミノ酸配列には一重下線を付してある。第2のIgG1のFc断片のアミノ酸配列には二重下線を付してある。

【図19A】{制限酵素部位 - Ig Kシグナル - 制限酵素部位 - IgG1 (ヒンジ - CH2 - CH3) - XbaI部位 - IgG1 (ヒンジ - CH2 - CH3) - 制限酵素部位 - エピトープタグ (V5およびHis) - STOP}を含むコンストラクトの核酸(配列番号23)配列とアミノ酸(配列番号24)配列を示す。Ig Kシグナルのアミノ酸配列を太字で示してある。第1のIgG1のFc断片のアミノ酸配列には一重下線を付してある。第2のIgG1のFc断片のアミノ酸配列には二重下線を付してある。V5タグのアミノ酸配列には点線で下線を付してある。Hisタグのアミノ酸配列には太い下線を付してある。

10

【図19B】{制限酵素部位 - Ig Kシグナル - 制限酵素部位 - IgG1 (ヒンジ - CH2 - CH3) - XbaI部位 - IgG1 (ヒンジ - CH2 - CH3) - 制限酵素部位 - エピトープタグ (V5およびHis) - STOP}を含むコンストラクトの核酸(配列番号23)配列とアミノ酸(配列番号24)配列を示す。Ig Kシグナルのアミノ酸配列を太字で示してある。第1のIgG1のFc断片のアミノ酸配列には一重下線を付してある。第2のIgG1のFc断片のアミノ酸配列には二重下線を付してある。V5タグのアミノ酸配列には点線で下線を付してある。Hisタグのアミノ酸配列には太い下線を付してある。

【図20】(図A) FcR I I I aのN末端シグナル配列の核酸(配列番号31)配列とアミノ酸(配列番号32)配列を示し、フェニルアラニン(F)多型を太字に下線を付して示してある。可変(variable)核酸も太字に下線を付して示してある。(図B) FcR I I I aのN末端シグナル配列の核酸(配列番号33)配列とアミノ酸(配列番号34)配列を示し、バリン(V)多型を太字に下線を付して示してある。可変核酸も太字に下線を付して示してある。どちらのコンストラクトも精製用のC末端hexaHisタグを含む。

20

【図21A】{制限酵素部位 - Ig Kシグナル E c o R V部位 - IgG3 (ヒンジ - CH2 - CH3) - IgG1 (ヒンジ - CH2 - CH3) - 制限酵素部位 - エピトープタグ (V5およびHis) - STOP}を含むコンストラクトの核酸(配列番号25)配列とアミノ酸(配列番号26)配列を示す。Ig Kシグナルのアミノ酸配列を太字で示してある。IgG3のFc断片のアミノ酸配列には一重下線を付してある。IgG1のFc断片のアミノ酸配列には二重下線を付してある。V5タグのアミノ酸配列には点線で下線を付してある。Hisタグのアミノ酸配列には太い下線を付してある。

30

【図21B】{制限酵素部位 - Ig Kシグナル E c o R V部位 - IgG3 (ヒンジ - CH2 - CH3) - IgG1 (ヒンジ - CH2 - CH3) - 制限酵素部位 - エピトープタグ (V5およびHis) - STOP}を含むコンストラクトの核酸(配列番号25)配列とアミノ酸(配列番号26)配列を示す。Ig Kシグナルのアミノ酸配列を太字で示してある。IgG3のFc断片のアミノ酸配列には一重下線を付してある。IgG1のFc断片のアミノ酸配列には二重下線を付してある。V5タグのアミノ酸配列には点線で下線を付してある。Hisタグのアミノ酸配列には太い下線を付してある。

40

【図22A】{制限酵素部位 - Ig Kシグナル - E c o R V部位 - IgE (CH2) - IgG1 (ヒンジ - CH2 - CH3) - IgG1 (ヒンジ - CH2) - IgE (CH4) - STOP}を含むコンストラクトの核酸(配列番号27)配列とアミノ酸(配列番号28)配列を示す。Ig Kシグナルのアミノ酸配列を太字で示してある。IgE (CH2)ドメインのアミノ酸配列には一重下線を付してある。IgG1 (ヒンジ - CH2 - CH3)ドメインのアミノ酸配列には二重下線を付してある。IgG1 (ヒンジ - CH2)ドメインのアミノ酸配列には点線で下線を付してある。IgE (CH4)ドメインのアミノ酸配列には波線で下線を付してある。

【図22B】{制限酵素部位 - Ig Kシグナル - E c o R V部位 - IgE (CH2) - IgG1 (ヒンジ - CH2 - CH3) - IgG1 (ヒンジ - CH2) - IgE (CH4) -

50

S T O P } を含むコンストラクトの核酸 (配列番号 27) 配列とアミノ酸 (配列番号 28) 配列を示す。I g K シグナルのアミノ酸配列を太字で示してある。I g E (C H 2) ドメインのアミノ酸配列には一重下線を付してある。I g G 1 (ヒンジ - C H 2 - C H 3) ドメインのアミノ酸配列には二重下線を付してある。I g G 1 (ヒンジ - C H 2) ドメインのアミノ酸配列には点線で下線を付してある。I g E (C H 4) ドメインのアミノ酸配列には波線で下線を付してある。

【図 2 2 C】 { 制限酵素部位 - I g K シグナル - E c o R V 部位 - I g E (C H 2) - I g G 1 (ヒンジ - C H 2 - C H 3) - I g G 1 (ヒンジ - C H 2) - I g E (C H 4) - S T O P } を含むコンストラクトの核酸 (配列番号 27) 配列とアミノ酸 (配列番号 28) 配列を示す。I g K シグナルのアミノ酸配列を太字で示してある。I g E (C H 2) ドメインのアミノ酸配列には一重下線を付してある。I g G 1 (ヒンジ - C H 2 - C H 3) ドメインのアミノ酸配列には二重下線を付してある。I g G 1 (ヒンジ - C H 2) ドメインのアミノ酸配列には点線で下線を付してある。I g E (C H 4) ドメインのアミノ酸配列には波線で下線を付してある。

【図 2 3 A】 (図 A) F c 断片を示し、このような F c 断片が 2 つの F c 断片単量体で構成され、F c ドメイン (点線で囲んだ部分) と F c 部分ドメイン (図の場合はヒンジ、C H 2、C H 3) をさらに含むことを示している。(図 B) ストラドマー単量体間結合で接続された 2 つのストラドマー単量体で構成されるシリアルストラドマーの組成を示す。シリアルストラドマーは、少なくとも 2 つの F c ドメイン (点線で囲んで示す) を含み、任意にドメイン結合領域を含むものであってもよい。

【図 2 3 B】 (図 C) 各々少なくとも 1 つの F c ドメインを含むコアストラドマー単位が結合されたコア部分を含むコアストラドマーの組成を示す。コアストラドマー単位は、F c 断片、シリアルストラドマーまたはクラスターストラドマー単位であってよい。(図 D) 各々多量体化用領域と少なくとも 1 つの F c ドメインを含む領域とを有する多量体化クラスターストラドマー単位を含むクラスターストラドマーの組成を示す。クラスターストラドマー単位は、F c 断片またはシリアルストラドマーであってよい。多量体化用領域は、多量体化されると、クラスターストラドマーの頭部を形成する。クラスターストラドマーの脚部は、クラスターストラドマーの多量体化した頭部よりも空間的に制約されないクラスターストラドマー単位の F c ドメイン領域によって形成される。

【図 2 4 A】 表 3 に示すストラドマーのアミノ酸配列を示す。

【図 2 4 B】 表 3 に示すストラドマーのアミノ酸配列を示す。

【図 2 4 C】 表 3 に示すストラドマーのアミノ酸配列を示す。

【図 2 4 D】 表 3 に示すストラドマーのアミノ酸配列を示す。

【図 2 4 E】 表 3 に示すストラドマーのアミノ酸配列を示す。

【図 2 4 F】 表 3 に示すストラドマーのアミノ酸配列を示す。

【図 2 4 G】 表 3 に示すストラドマーのアミノ酸配列を示す。

【図 2 4 H】 表 3 に示すストラドマーのアミノ酸配列を示す。

【図 2 4 I】 表 3 に示すストラドマーのアミノ酸配列を示す。

【図 2 4 J】 表 3 に示すストラドマーのアミノ酸配列を示す。

【図 2 4 K】 表 3 に示すストラドマーのアミノ酸配列を示す。

【図 2 5】 ヒト I g G 1、I g G 2、I g G 3 および I g G 4 の F c 部分ドメイン単量体 (ヒンジ、C H 2 および C H 3) のアミノ酸配列を示す (Kabat, EA, Wu, TT, Perry, HM, Gottesman, KS, and Foeller, C. 1991. Sequences of proteins of immunological interest 5th Ed. US Public Health Services, NIH, Bethesda)。

【発明を実施するための形態】

【0065】

発明の詳細な説明

本明細書に記載の h I V I G 代替化合物の合理的分子設計に対する取り組みには、免疫学的に活性な生体模倣薬の組換えおよび / または生化学的創製が含まれる。好ましい方法では、これらの代替化合物を *in vitro* でスクリーニングして、それぞれの代替化

10

20

30

40

50

合物のFc受容体への結合と免疫機能調節の効率を評価する。さらに*in vivo*での確認と投与量/投与の最適化のために、特定の代替化合物を選択する。この代替化合物は、たとえば自己免疫疾患、炎症性疾患、骨粗鬆症および癌の治療に役立つ。以下、特定の代表的な実施形態と併せて、それぞれのフェーズについて詳細に説明する。

【0066】

本明細書において特許請求の範囲および/または明細書での「含む (comprising)」という表現とともに「a」または「an」という単語を使用する場合、「1つ」を意味することもあるが、「1つ以上」、「少なくとも1つ」および「1つまたは複数」の意味にもなる。

【0067】

本明細書で使用する場合、「生体模倣」、「生体模倣分子」、「生体模倣化合物」という用語ならびに、これに関連する用語は、プールhIVIg、モノクローナル抗体または抗体のFc断片などの化合物の機能を模して人間が作り出した別の化合物を示す。「生物学的に活性な」生体模倣薬とは、天然に生じる対応物と同一または実質的に類似の生物活性を持つ化合物のことである。「免疫学的に活性な」生体模倣薬とは、抗体、サイトカイン、インターロイキン、当該技術分野において周知の他の免疫学的な分子などの天然に生じる免疫学的に活性な分子と同一または実質的に類似の免疫学的活性を呈する生体模倣薬のことである。好ましい実施形態では、本発明の生体模倣薬は、本明細書で定義するように、ストラドマーとストラドボディである。

【0068】

本発明の免疫学的に活性な生体模倣薬は、IgGのFcドメインの1つ以上の免疫調節活性を持ち、なおかつ少なくとも(i)FcRI、FcRII、FcRIIIおよびFcRIVを含むFcRを結合可能な第1のFcドメインと、(ii)FcRI、FcRII、FcRIIIおよびFcRIVを含むFcRを結合可能な第2のFcドメインとを有するように設計されている。

【0069】

以下の段落では、本発明による生体模倣薬のビルディングブロックを構造と機能の両方の観点から定義した上で、生体模倣薬自体について定義する。しかしながら、上述したように、本発明の生体模倣薬が各々少なくとも2つのFcドメインを有する点に留意しておくともまず助けになる。最低限の前提として、Fcドメインは、会合して機能的Fc受容体結合部位を形成する2つのペプチド鎖すなわちアーム(単量体)を含む二量体ポリペプチド(またはそれよりも大きなポリペプチドからなる二量体領域)である。したがって、本明細書で説明する個々の断片およびドメインの機能的形態は通常、二量体の(または多量体の)形で存在する。本明細書で説明する個々の断片およびドメインの単量体は、機能的二量体構造を形成するには第2の鎖またはアームと会合しなければならない単一の鎖またはアームである。

【0070】

Fc断片

「Fc断片」とは、免疫グロブリンのカルボキシ末端に普通に見られるタンパク質領域またはタンパク質の折り畳み構造(図3A~図3B参照)を説明するのに用いられる専門用語である。Fc断片は、不完全かつ不十分なプロセスであるパイン消化によってモノクローナル抗体のFab断片から単離可能である(Mihaesco C and Seligmann M. Papain Digestion Fragments Of Human IgM Globulins. Journal of Experimental Medicine, Vol 127, 431-453 (1968)を参照のこと)。Fab断片(抗体結合ドメインを含む)との組み合わせで、Fc断片は、ここでは完全抗体を意味するホロ抗体を構成する。Fc断片は、抗体重鎖のカルボキシ末端部分からなる。Fc断片の鎖は各々約220~265アミノ酸長であり、鎖同士がジスルフィド結合で結合されていることが多い。また、Fc断片には、1つ以上の独立した折り畳み構造または機能的サブドメインが含まれることも多い。特に、Fc断片は、本明細書ではFc受容体と結合する最小構造(たとえば、図1Bおよび図1Dを参照のこと)として定義するFcドメインを包含する。単離されたFc断片

10

20

30

40

50

は、2つのFc断片単量体（抗体重鎖の2つのカルボキシ末端部分など；本明細書でさらに定義する）が二量体化して構成される。2つのFc断片単量体が会合すると、得られるFc断片はFc受容体結合活性を持つことになる。

【0071】

Fc部分断片

「Fc部分断片」とは、抗体のFc断片全体までは含まないが、Fc受容体結合活性を含め、Fc断片と同じ活性を持てるだけの十分な構造が保たれたドメインのことである。したがって、Fc部分断片では、Fc部分ドメインが由来する抗体のアイソタイプによって、ヒンジ領域の一部または全部、CH2ドメインの一部または全部、CH3ドメインの一部または全部および/またはCH4ドメインの一部または全部が欠けていることがある。Fc部分断片の一例として、IgG3の上側のコアと下側のヒンジ領域に加えてCH2ドメインを含む分子があげられる（Tan, LK, Shopes, RJ, Oi, VT and Morrison, SL, Influence of the hinge region on complement activation, C1q binding, and segmental flexibility in chimeric human immunoglobulins, Proc Natl Acad Sci USA. 1990 January; 87(1): 162-166）。よって、この例のFc部分断片には、IgG3のFc断片に存在するCH3ドメインが欠けている。Fc部分断片は、2つのFc部分断片単量体で構成される。本明細書でさらに定義するように、このような2つのFc部分断片単量体が会合すると、得られるFc部分断片はFc受容体結合活性を持つことになる。

10

【0072】

Fcドメイン

本明細書で使用する場合、「Fcドメイン」とは、Fc受容体と結合可能であるかFc受容体に結合される、最小領域（大きめのポリペプチドの場合）またはタンパク質の最小折り畳み構造（単離されたタンパクの場合）を説明するものである。Fc断片とFc部分断片のどちらでも、FcドメインはFc受容体との分子結合を可能にする最小結合領域である。FcドメインがFc受容体に結合される別個のポリペプチドに限定されることもあるが、このFcドメインはFc断片の一部または全部であってもよいし、Fc部分断片の一部または全部であってもよいことは自明であろう。本発明で「複数のFcドメイン」という用語を使用する場合、2つ以上のFcドメインを意味することは、当業者であれば分かるであろう。Fcドメインは、2つのFcドメイン単量体で構成される。本明細書でさらに定義するように、このような2つのFcドメイン単量体が会合すると、得られるFcドメインはFc受容体結合活性を持つことになる。このように、Fcドメインは、Fc受容体を機能的に結合可能な二量体構造である。

20

30

【0073】

Fc部分ドメイン

本明細書で使用する場合、「Fc部分ドメイン」とは、Fcドメインの一部を説明するものである。Fc部分ドメインは、免疫グロブリンの異なるクラスおよびサブクラスの個々の重鎖定常領域ドメイン（CH1ドメイン、CH2ドメイン、CH3ドメイン、CH4ドメインなど）とヒンジ領域とを含む。よって、本発明のFc部分ドメインは、IgG1、IgG2、IgG3、IgG4、IgM、IgA1、IgA2、IgDおよびIgEのCH1ドメイン、IgG1、IgG2、IgG3、IgG4、IgM、IgA1、IgA2、IgDおよびIgEのCH2ドメイン、IgG1、IgG2、IgG3、IgG4、IgM、IgA1、IgA2、IgDおよびIgEのCH3ドメイン、IgMおよびIgEのCH4ドメイン、IgG1、IgG2、IgG3、IgG4、IgM、IgA1、IgA2、IgDおよびIgEのヒンジ領域を含む。本発明のFc部分ドメインは、これらのドメインとヒンジとのもう1つよりも多く（more than one more）の組み合わせをさらに含むこともある。しかしながら、本発明の個々のFc部分ドメインとこれらの組み合わせには、FcRを結合する機能はない。したがって、Fc部分ドメインとこれらの組み合わせは、Fcドメインとは言えないものである。Fc部分ドメイン同士を結合すれば、Fc受容体結合活性を有するペプチドが形成されて、Fcドメインとなり得る。本発明では、Fc部分ドメインをビルディングブロックとして複数のFcドメインと併用して、

40

50

本明細書で定義するような本発明の生体模倣薬を創製する。Fc部分ドメインは各々2つのFc部分ドメイン単量体で構成される。このような2つのFc部分ドメイン単量体が会合すると、Fc部分ドメインが形成される。

【0074】

上述したように、Fc断片、Fc部分断片、Fcドメイン、Fc部分ドメインは各々、二量体タンパク質またはドメインである。このように、これらの分子は各々、会合して二量体タンパク質またはドメインを形成する2つの単量体で構成される。二量体形態の特徴と活性については上述したが、以下では単量体ペプチドについて説明する。

【0075】

Fc断片単量体

本明細書で使用する場合、「Fc断片単量体」とは、他のFc断片単量体と会合したときにFc断片をなす単鎖タンパク質のことである。よって、Fc断片単量体は、ホロ抗体のFc断片を構成する抗体重鎖のうちの1つのカルボキシ末端部分である(IgGのヒンジ領域、CH2ドメイン、CH3ドメインを含む重鎖の連続部分など)(図1Aおよび図1C参照)。一実施形態では、Fc断片単量体は、最低限、ヒンジ領域の1本の鎖(ヒンジ単量体)と、CH2ドメインの1本の鎖(CH2ドメイン単量体)と、CH3ドメインの1本の鎖(CH3ドメイン単量体)とを含み、これらが連続的に結合されてペプチドを形成している。別の実施形態では、Fc断片単量体は、少なくとも、連続的に結合されてペプチドを形成している、ヒンジ領域の1本の鎖と、CH2ドメインの1本の鎖と、CH3ドメインの1本の鎖と、CH4ドメインの1本の鎖(CH4ドメイン単量体)とを含む。

10

20

【0076】

Fcドメイン単量体

本明細書で使用する場合、「Fcドメイン単量体」とは、他のFcドメイン単量体と会合したときに、Fc受容体と結合可能なFcドメインをなす単鎖タンパク質を説明するものである。2つのFcドメイン単量体が会合すると、1つのFcドメインが形成される。Fcドメイン単量体単独ではFcドメインの片側しか含まれず、Fc受容体を結合することができない。

【0077】

Fc部分ドメイン単量体

本明細書で使用する場合、「Fc部分ドメイン単量体」とは、他のFc部分ドメイン単量体と会合したときに、Fc部分ドメインをなす単鎖タンパク質を説明するものである。IgG1、IgG2、IgG3、IgG4のFc部分ドメインのヒンジ単量体、CH2単量体、CH3単量体のアミノ酸配列を、図25に示す。2つのFc部分ドメイン単量体が会合すると、1つのFc部分ドメインが形成される。

30

【0078】

ストラドマー

特定の実施形態では、本発明の生体模倣薬はストラドマーを含む。ストラドマーは、2つ以上のFc受容体を結合できる生体模倣化合物である(たとえば、図13B参照)。好ましい実施形態では、本発明のストラドマーは、NK細胞などのエフェクター細胞や未熟樹状細胞、他の単球由来細胞などのFc受容体を結合するのに用いられる。一実施形態では、Fc受容体が低親和性Fc受容体である。ストラドマーは、シリアル、クラスター、コアまたはFc断片という4つの異なる物理的コンホメーションを取り得るものであり、そのそれぞれについて以下の段落で説明する。いずれ明らかになるように、上述したFc断片、Fc部分断片、Fcドメイン、Fc部分ドメインを利用して、ストラドマーのさまざまなコンホメーションを形成する。さらに、まずは生成され、その後自己会合して本発明のストラドマーである二量体構造を形成するのは、同じく上述した個々のFcドメイン単量体およびFc部分ドメイン単量体である。

40

【0079】

シリアルストラドマー

50

「シリアルストラドマー」とは、会合されると2つ以上のFcドメインを形成する2つの線状ストラドマー単量体で構成される二量体ポリペプチドのことである。ストラドマーの複数のFcドメインは、2つのペプチド鎖（ストラドマー単量体）が会合している場合にのみ機能的になる（すなわち、単量体の状態では非機能的である）。よって、シリアルストラドマーは、2つ以上のFc受容体を結合できる生体模倣化合物である。異なる実施形態では、シリアルストラドマーは、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14またはそれより多くのFcドメインならびにFc部分ドメインを有するものであってもよい。シリアルストラドマー内の複数のFcドメインおよびFc部分ドメインは、本明細書でさらに定義するように、ドメイン結合によって結合されていてもよい。

10

【0080】

本明細書で使用する場合、「ストラドマー二量体」は、2つのストラドマーだけで構成される特定の形態のストラドマーである。一実施形態では、ストラドマー二量体は、関連するストラドマー単量体の自己凝集によって形成される分子である。別の実施形態では、ストラドマー二量体のストラドマー単量体が、本明細書で定義するようなストラドマー単量体間結合を介して物理的に結合されている。「多量体ストラドマー」は、ストラドマー単量体の自己凝集によって、あるいは、本明細書で定義するようなストラドマー単量体間結合を介して形成された3つ以上のストラドマーで構成される。

【0081】**ストラドマー単量体**

本明細書で使用する場合、「ストラドマー単量体」という用語は、少なくとも第2のストラドマー単量体と会合すると、少なくとも2つのFcドメインを含むポリペプチドを形成する単一の連続したペプチド分子を示す（たとえば、図6A～図6B、図12A参照）。好ましい実施形態では、シリアルストラドマーは会合した2つのストラドマー単量体で構成される（たとえば、図5A、図5B、図7A、図7B、図7C、図7D参照）が、シリアルストラドマーは、3つ（図11C参照）またはそれよりも多くのストラドマー単量体を含むものであってもよい。ストラドマー単量体は、ストラドマー単量体間結合によって会合してストラドマーを形成することもあれば、自己凝集でストラドマーを形成することもある。

20

【0082】

ストラドマー単量体は、別のストラドマー単量体と会合されてストラドマーを形成すると、1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14またはそれより多くのFcドメインを形成するアミノ酸配列を有するものであってもよい。ストラドマー単量体はさらに、別のストラドマー単量体と会合されてストラドマーを形成すると、1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14またはそれより多くのFc部分ドメインを形成するアミノ酸配列を有するものであってもよい。

30

【0083】

ストラドマーとの関連で複数のFcドメインおよびFc部分ドメインを形成するストラドマー単量体の領域は、ストラドマー単量体分子の連続した領域がカルボキシ末端からアミノ末端に並んでいるだけでもよい（たとえば、図4A～図4B参照）。あるいは、ストラドマー単量体の連続した領域が、本明細書で「ドメイン結合」と呼ばれるペプチド配列を介して結合されていてもよい。ストラドマー単量体をなす特定のFcドメイン単量体やFc部分ドメイン単量体の配置は重要ではない。しかしながら、2つのストラドマー単量体の会合時に2つの機能的Fcドメインが形成される配置にしておく必要がある。

40

【0084】

本発明のストラドマーの一実施形態では、ペプチドのN末端に、1つまたは2つのIgEの末端CH2ドメイン単量体またはIgG3の部分ヒンジドメイン単量体など、それ自体と強く結合するFcドメイン単量体またはFc部分ドメイン単量体を含有するストラドマー単量体を生成し、それぞれFcドメインまたはFc部分ドメインを形成する。これらのストラドマー単量体は各々、ストラドマーの形成時に2つのFc受容体と結合するの

50

に必須のFcドメイン単量体および/または部分Fcドメイン単量体の相補体を有する。このようなストラドマー単量体の会合によって得られるストラドマーは、2つ以上のFc受容体を結合できる生体模倣薬である。好ましい実施形態では、N末端のFcドメインまたはFc部分ドメインが、IgEのCH2ドメインに存在するものなどの別のグリコシル化部位を含む。

【0085】

明確にするための一例として、Fcドメイン単量体とFc部分ドメイン単量体のさまざまな組み合わせ(ただし、最低2つのFcドメイン単量体を形成する組み合わせ)をコードするポリヌクレオチド分子を調製することで本発明のストラドマー分子を構成してもよいことは、当業者であれば理解できよう。このようなポリヌクレオチド分子を発現ベクターに挿入してもよく、これを用いて細菌の個体群を形質転換することが可能である。その後、形質転換した細菌を適当な培養条件下で培養して、ストラドマー単量体を生成することができる。さらに、ストラドマー単量体は、ストラドマー単量体の自己凝集時またはストラドマー単量体間結合を用いたストラドマー単量体の会合時のいずれかに、機能的ストラドマーを形成可能である。本発明は、個々のアミノ酸配列を有するストラドマー単量体、実質的に類似のアミノ酸配列を有するストラドマー単量体、あるいは似ていない配列を有するストラドマー単量体の会合によって形成されるストラドマーの両方を包含する。後者の実施形態では、ストラドマーをなしているストラドマー単量体のアミノ酸配列は、2つ以上の機能的Fc受容体結合部位が形成されるような類似度でありさえすればよい。

10

【0086】

上述したように、Fcドメインは、そのFc受容体を結合する機能によって機能的に定義可能である。結果として、FcドメインをなすFc部分ドメインに応じてFcドメインの特定のアミノ酸配列が変化する。しかしながら、本発明の一実施形態では、Fcドメインが免疫グロブリン分子のヒンジ領域とCH2ドメインとを含む。さらに他の実施形態では、Fcドメインが、免疫グロブリン分子のヒンジ領域と、CH2ドメインと、CH3ドメインとを含む。さらに他の実施形態では、Fcドメインが、免疫グロブリン分子のヒンジ領域と、CH2ドメインと、CH3ドメインと、CH4ドメインとを含む。さらに別の実施形態では、Fcドメインが、免疫グロブリン分子のヒンジ領域と、CH2ドメインと、CH4ドメインとを含む。

20

【0087】

ドメイン結合

上述したように、「ドメイン結合」は、本発明のシリアルストラドマーまたはストラドポディ個々のストラドマー単量体各々をなすFcドメイン単量体および/またはFc部分ドメイン単量体間のペプチド結合である。ドメイン結合は、1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20またはそれより多くのアミノ酸であってもよい。ドメイン結合は、その天然の配列であるFc部分ドメイン単量体間には生じない。すなわち、IgGのヒンジ領域、CH2ドメイン、CH3ドメインなど、Fcドメイン単量体の天然の連続結合部分を使用するのであれば、これらのFc部分ドメイン単量体は連続配列を含み、これらの要素間にドメイン結合は必要ない。対照的に、たとえば、天然には生じない形で2つ以上のFcドメイン単量体または部分Fcドメイン単量体を結合させて個々のストラドマー単量体を形成する場合、ドメイン結合を用いるようにしてもよい。一例として、ヒンジ/CH2/CH3/L/ヒンジ/CH2/CH3を含むストラドマーの個々のストラドマー単量体を形成する2つのヒンジ/CH2/CH3ペプチド間の結合があげられ、ここで、「L」はドメイン結合(たとえば、IgG1のCH3ドメインとIgG1のヒンジとの間でドメイン結合(図示せず)が起こる図4Aを参照のこと)である。ここに記載のさまざまな事例では、ドメイン結合が、抗体のFcドメイン単量体におけるヒンジとCHドメインとを連結する重鎖の天然に生じる部分のうちの一つであってもよい。あるいは、ドメイン結合が、個々のストラドマー単量体のFcドメイン単量体と部分Fcドメイン単量体との間に必要な空間や柔軟性を提供し、なおかつ個々のストラドマー単量体が互いに対合して本発明のストラドマーを形成

30

40

50

できるようにする他のアミノ酸配列であってもよい。

【0088】

2つ以上の個々のストラドマー単量体が本発明の生体模倣化合物を形成できるかぎり、ドメイン結合の同一性は特に重要ではなく、得られる化合物が複数のFcRを架橋させる機能を有することは、当業者であれば理解できよう。免疫学的に活性な生体模倣化合物が各々、シリアルストラドマーまたはストラドボディの各ストラドマー単量体に好ましくは少なくとも1つのドメイン結合を含有し、これが免疫学的に活性な生体模倣薬の複数のFcドメインを制限された空間領域内に維持するように機能し、なおかつ免疫学的に活性な生体模倣内の複数のFcドメインへの同時結合などによりFcRを凝集させることで、FcR活性化の活性を促進することが想定される。好ましくは、ドメイン結合が、IgG分子のヒンジドメインによって得られるものと同じかそれより大きなコンホメーションのばらつきを可能にするものである。上記の結合はいずれも当該技術分野において周知である。

10

【0089】

ストラドマー単量体間結合

本発明の生体模倣化合物に見られる別の結合に、本発明のストラドマーおよびストラドボディをなす2つ以上の個々のストラドマー単量体間に発生する「ストラドマー単量体間結合」がある。ドメイン結合は、生体模倣化合物の個々のストラドマー単量体をなすFcドメイン単量体同士や部分Fcドメイン単量体同士を結合するよう機能する短いアミノ酸配列であるが、ストラドマー単量体間結合は、生体模倣化合物をなす2つ以上の個々のストラドマー単量体を連結するよう機能する。ストラドマー単量体間結合は、個々のストラドマー単量体を安定して会合できるものであれば、どのような結合であってもよい。いくつかの実施形態では、ストラドマー単量体間結合は、ストラドマー単量体間の共有結合であってもよい。あるいは、ストラドマー単量体間のストラドマー単量体間結合は、直接的な化学的架橋によるものであってもよい。好ましい実施形態では、ストラドマー単量体構造は、Fcドメイン単量体間の自然な自己凝集特性を利用して、自己会合性ストラドマーを生成する。いくつかの実施形態では、個々のストラドマー単量体間にジスルフィド結合が形成されて、ストラドマーが形成される（たとえば、ストラドマー単量体間結合（図示せず）がストラドマーの2つの個々のストラドマー単量体を連結するよう機能する図5Aを参照のこと）。ジスルフィド結合は、天然のFcドメイン単量体配列に生じるシステイン残基または部位特異的突然変異誘発によってFcドメイン単量体に取り込まれたシステイン残基のいずれかを利用して、生体模倣分子をなすFcドメイン単量体のシステイン残基間に形成される。また、こうした自然な自己凝集特性を利用して、ストラドマー多量体の個々のストラドマー単量体間にストラドマー単量体間結合を形成することも可能である。別の実施形態では、個々のストラドマー単量体をなすアミノ酸配列に部位特異的突然変異誘発によって導入されたシステイン残基間にジスルフィド結合が形成されるストラドマー単量体間結合を含む。

20

30

【0090】

上述したように、好ましい実施形態では、ストラドマーを形成するストラドマー単量体間結合が、ストラドマー単量体の自己凝集によって生じる結合である。一実施形態では、ストラドマーをなす2つの個々のストラドマー単量体が同一の配列になるように、ストラドマーをなす2つのストラドマー単量体が同一のペプチドである。しかしながら、他の実施形態では、ストラドマー単量体のアミノ酸配列が互いに異なるストラドマーを含むことは、当業者であれば理解できよう。

40

【0091】

2つのストラドマー単量体は、たとえば、ストラドマー単量体で等しいFc部分ドメイン単量体間に対合が生じるように平行に整列配置させることで、ストラドマーを形成することができる（たとえば、図5A～図5Bを参照のこと）。しかしながら、本発明はまた、非同一のFc部分ドメイン単量体間に対合が生じる実施形態や、対合はストラドマー単量体の同一のFc部分ドメイン単量体間で生じるが2つのストラドマー単量体のアライメ

50

ントがずれている実施形態（図 1 1 C 参照）も含む。

【 0 0 9 2 】

ストラドマー単量体の生成と自己二量体とを制御するために、「キャッピング領域」を使用してもよい。たとえば、ストラドマー単量体配列は、以下の F c 部分ドメインすなわち、I g E の C H 2 / I g G 1 のヒンジ / I g G 1 の C H 2 / I g G 1 の C H 3 / I g G 1 のヒンジ / I g G 1 の C H 2 / I g E の C H 4（図 1 3 A 参照）含むものであってもよく、ここで、I g E ドメインが「ジッパー形成作用（zippering effect）」を防止するキャップとして機能する。ジッパー形成作用は、ストラドマー単量体（図 1 1 A 参照）が自己二量体化可能（図 1 1 B 参照）であるか、自己二量体化ではなく平行して交互に並ぶ単量体として自らアライメント可能（図 1 1 C 参照）であるときに起こり得る。必要に応じて、任意の免疫グロブリンのヒンジあるいは I g M または I g E の C H 4 ドメインなどの多岐にわたる F c 部分ドメインを単独または組み合わせで使用して、ストラドマーを自己二量体化させてジッパー形成作用を防止できることは、当業者であれば理解できよう。他の不連続（non-series）構造が、分岐分子（図 1 2 B 参照）、単純な共有結合やペプチドリンカーまたは非ペプチドリンカーなどのリンカーによって連結された、平行に並ぶ 2 つ以上のストラドマー（図 1 4 A および図 1 4 B 参照）を含むものであってもよい。

10

【 0 0 9 3 】

コアストラドマー

「コアストラドマー」は、2 つ以上のコアストラドマー単位が結合されるコア部分で構成され、各コアストラドマー単位が少なくとも 1 つの F c ドメインを含むことで、2 つ以上の F c 受容体を結合できる生体模倣化合物が形成される。F c 断片、F c 部分断片、シリアルストラドマーまたはクラスターストラドマー単位は各々独立して、これらの分子が各々少なくとも 1 つの F c ドメインを含むことから、コアストラドマーにおけるコアストラドマー単位的一方または両方（2 つの F c ドメインを含む場合）として機能することができる。よって、コアストラドマーは、少なくとも 1 つのシリアルストラドマーが結合されるコア部分を含むものであってもよい。

20

【 0 0 9 4 】

本明細書で使用する場合、コアストラドマーのコア部分は、コアストラドマー単位が結合または共有結合できるものであれば、どのような物理的構造であってもよい。コア部分として機能できる好ましいポリペプチドには、キーホールリンペットヘモシアニン、ウシ血清アルブミンおよび卵白アルブミンがある。このようなコア部分とコアストラドマー単位（F c 断片、F c 部分断片、F c ドメイン、シリアルストラドマーおよびクラスターストラドマー単位）との間の化学的な架橋は、周知の技法を用いて多数の化学物質によって達成できるものである。一般に架橋で使用するのに適した代表的な化学物質としては、グルタルアルデヒド、カルボジイミド、スクシンイミドエステル（MBS、SMCC など）、ベンジジン、過ヨウ素酸塩、イソチオシアネート；ビス（NHS）PEO₅、DFDN B（1, 5 - ジフルオロ - 2, 4 - ジニトロベンゼン）などの PEO（ポリエチレン）/PEG（ポリエチレングリコール）スペーサ；アルデヒド活性化デキストラン、スベリン酸ビス（スルホスクシンイミジル）、ビス[2 - （スクシンイミドオキシカルボニルオキシ）エチル]スルホン、アジブイミド酸ジメチル・2HCl、ピメルイミド酸ジメチル・2HCl、スベリイミノ酸ジメチル・2HCl、グルタル酸ジスクシンイミジル、プロピオン酸ジチオビス（スクシンイミジル）、スベリン酸ジスクシンイミジル、酒石酸ジスクシンイミジル、ジメチル 3, 3' - ジチオビスプロピオンイミダート・2HCl、3, 3' - ジチオビス（スルホスクシンイミジルプロピオネート）、エチレングリコールビス[スクシンイミジルスクシネート]、エチレングリコールビス[スルホスクシンイミジルスクシネート]、- [トリス（ヒドロキシメチル）ホスフィノ]プロピオン酸およびトリス - スクシンイミジルアミノトリアセテートを含むアミン反応性ホモ二官能性架橋試薬があげられる。当業者であれば、選択する特定のコア部分と、免疫学的に活性な生体模倣薬の形成のために組み合わせられる F c ドメイン含有ポリペプチドの配列とに応じて、適当な架橋用化学物質および条件を選択できるであろう。たとえば、Wong, Shan S. Chemistry

30

40

50

of protein conjugation and cross-linking. Boca Raton: CRC Press, c1991 (ISBN 084 9358868) を参照のこと。

【 0 0 9 5 】

別の好ましい実施形態では、結合 (J) 鎖ポリペプチドをコア部分として使用してもよい。J 鎖をコア部分として用いる場合、システイン結合を使用して個々のコアストラドマー単位同士を接続し、コアストラドマーを形成してもよい (図 1 0 A ~ 図 1 0 D 参照)。コアストラドマーの実施形態では、I g M の C H 4 末端ドメインを含むシリアルストラドマー (コアストラドマー単位として機能) が J 鎖と会合して、コアストラドマーを形成する。I g M の C H 4 ドメインを含むことで、J 鎖とこの F c 部分ドメインを含むストラドマーの自己凝集が生じ、複数の F c 受容体を結合できる生体模倣薬が形成される。別の代表的なコアストラドマーに、複数の F c ドメイン (コアストラドマー単位として機能) を含むものがあり、この場合の複数の F c ドメインは I g G 3 のヒンジ / I g G 3 の C H 2 / I g G 3 の C H 3 / I g M の C H 4 という構造を有する。この分子の構成要素である F c ドメインは、個々には 1 つより多くの F c 受容体を結合できないが、構成要素である複数の F c ドメインが J 鎖と会合すると、構造全体で見れば 5 つの F c 受容体を結合できる。

10

【 0 0 9 6 】

別の実施形態では、コア部分が非ポリペプチド実体であってもよい。多岐にわたる好適な組成物をコアストラドマー単位と物理的に会合させ、免疫学的に活性な生体模倣薬を生成することができる。無毒のビーズ、高分枝ポリマーおよびデンドリマー、ナノ粒子ならびに、F D A が Generally Regarded As Safe として分類しているさまざまな化合物 (プロピレングリコール、ソルビトール、リボソーム、シリケートカルシウム (silicate calcium) など) を使用してもよい。たとえば、Nanoparticulates as Drug Carriers by Vladimir P. Torchilin (Editor), Imperial College Press (Sept. 2006) ISBN: 1860946305 / ISBN-13: 9781860946301 を参照のこと。

20

【 0 0 9 7 】

本発明の好ましいコア部分としては、ビーズ、アルブミン、リボソーム、ペプチドおよびポリエチレングリコールがあげられる。

【 0 0 9 8 】

クラスターストラドマー

30

「クラスターストラドマー」は、中心部分である「頭部」と 2 つ以上の「脚部」とを有するタコのような形をした生体模倣薬であり、それぞれの脚部が少なくとも 1 つの F c 受容体を結合できる 1 つ以上の F c ドメインを含むため、2 つ以上の F c 受容体を結合できる生体模倣薬が形成される。それぞれのクラスターストラドマーは、各々「クラスターストラドマー単位」と呼ばれる複数の二量体タンパク質で構成されている。各クラスターストラドマー単位は、多量体化する領域と、少なくとも 1 つの機能的 F c ドメインを含む「脚部」領域とで構成される。多量体化用領域は、別のクラスターストラドマー単位の多量体化用領域との間で多量体化されると、クラスターストラドマーの「頭部」となる。脚部領域は、各脚部領域の F c ドメインと同じ数だけの F c 受容体と結合できる。よって、クラスターストラドマーは、2 つ以上の F c 受容体と結合できる生体模倣化合物である。

40

【 0 0 9 9 】

多量体化用領域は、二量体タンパク質をさらに多量体化させるペプチド配列であってもよいし、多量体化用領域が二量体タンパク質の多量体化を促進するグリコシル化であってもよい。ペプチドの多量体化用領域の例として、I g G 2 のヒンジ、I g E の C H 2 ドメイン、イソロイシンジッパー、ジンクフィンガーがあげられる。グリコシル化がペプチドの多量体化に対しておよぼす影響は、当該技術分野において十分に説明されている (たとえば、Role of Carbohydrate in Multimeric Structure of Factor VIII/V on Willebrand Factor Protein. Harvey R. Gralnick, Sybil B. Williams and Margaret E. Rick. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, V

50

ol. 80, No. 9, [Part 1: Biological Sciences] (May 1, 1983), pp. 2771-2774 ; Multi-merization and collagen binding of vitronectin is modulated by its glycosylation . Kimie Asanuma, Fumio Arisaka and Haruko Ogawa. International Congress Series Volume 1223, December 2001, Pages 97-101など)。

【 0 1 0 0 】

クラスターストラドマー単位自体が多量体化用領域とともにシリアルストラドマー（2つ以上のFcドメインを含む）をなす場合もあることは、熟練した技術者であれば分かるであろう。このため、クラスターストラドマーの「脚部」は、本明細書で説明するどのようなタイプのシリアルストラドマーおよび/またはIgG1のFc断片および/またはIgG3のFc断片および/または単一のFcドメインのうちの一つ以上で構成されるものであってもよい。このような生体模倣薬のIgG1のFc断片とIgG3のFc断片をそれぞれ改変し、任意の免疫グロブリンの部分Fc断片を含むようにしてもよいことは、当該技術分野において熟練した者であれば分かるであろう。クラスターストラドマー単位を含む単量体（上述したように、2つのペプチドの二量体会合として存在する）が「クラスターストラドマー単位単量体」である。多量体化前にクラスターストラドマー単位が複数の低親和性Fc受容体と結合することがない、生成された代表的なクラスターストラドマーは、IgEのCH2/IgG1のヒンジ/IgG1のCH2/IgG1のCH3である。

10

【 0 1 0 1 】

シリアルストラドマーをクラスターストラドマーの「脚部」として使用する場合、それぞれの「脚部」は、（シリアルストラドマーには少なくとも2つのFcドメインが存在するため）複数のFc受容体を結合でき、よって複数のFc受容体を結合できる生体模倣薬が生成されることは、当該技術分野において熟練した者であれば分かるであろう。脚部を含む個々のクラスターストラドマー単位単量体の末端に、Fc部分ドメイン、他の免疫グロブリン配列および非免疫グロブリン配列を配置し、それぞれの脚部を1つまたは複数のFc受容体との結合に利用しやすくするのに好ましい空間的近接性を各脚部が有するクラスターストラドマーを生成してもよい。

20

【 0 1 0 2 】

多量体化用領域は、ペプチドを二量体化または多量体化させるペプチド配列であってもよく、IgG2のヒンジと、IgEのCH2ドメインと、イソロイシンジッパーと、ジックフィンガーとを含む。当該技術分野において周知のように、ヒトIgG2のヒンジ領域は共有結合二量体を形成できる（Yoo, E.M. et al. J. Immunol. 170, 3134-3138 (2003) ; Salfeld Nature Biotech. 25, 1369-1372 (2007)）。IgG2の二量体形成がC-C結合によるIgG2のヒンジ構造を介してなされると思われる（Yoo. et al., 2003）ことから、ヒンジ構造単独で二量体形成に介在する可能性がある。このように、IgG2のヒンジを有するシリアルストラドマー（よって、クラスターストラドマー単位として機能する）は、2つのシリアルストラドマーあるいは、場合によっては3つのシリアルストラドマーを含むものであってもよいクラスターストラドマーを形成することになる。

30

【 0 1 0 3 】

ヒトIgG2のヒンジ単量体のアミノ酸配列は以下のとおりである。ERKCCVCCPPCP（配列番号36）。ヒンジのコア構造は、ヒンジ単量体のCX-X-C部分である。よって、本発明のストラドマー単量体は、IgG2のヒンジ単量体の12のアミノ酸からなる完全な配列を含むこともあれば、4つのアミノ酸からなるコアとFcドメイン単量体とを含むこともある。コア構造のX-Xにはどのようなアミノ酸でも可能であるが、好ましい実施形態では、X-X配列はV-EまたはPPである。IgG2のヒンジ単量体は、コアの4つのアミノ酸からなる構造に加えて、IgG2のヒンジ配列すべてとIgG2のCH2およびCH3ドメイン単量体配列のいくつかまたはすべてを含めて、ヒンジ配列のどのような部分で構成されるものであってもよいことは、当業者であれば理解できよう。考えられるIgG2のヒンジ-IgG1のFcドメインシリアルストラドマーコンストラクトの具体例は以下のとおりである。

40

50

【 0 1 0 4 】

【 表 1 】

表 1

N 末端	H	CH2	CH3	H	CH2	CH3	H	CH2	CH3	C 末端
	CXXC	1	1	1						
	CXXC			1	1	1	1	1	1	
	2	2	2	1	1	1				
	2	2	2	1	1	1	1	1	1	
	2			1	1	1				
	2			1	1	1	1	1	1	
	2x	2	2	1	1	1				
	2x	2	2	1	1	1	1	1	1	
	2x	2	2	1	1	1	1	1	1	IgE ヒンジ
	2x			1	1	1				

記号の意味: H=ヒンジ、CH2=重鎖の定常ドメイン2、CH3=重鎖の定常ドメイン3、1=IgG1、2=IgG2、X=アミノ酸; 2x=連続的に並んだ2つのヒンジ

【 0 1 0 5 】

以上は多くの例のうちのごく一部にすぎない。IgG1の複数のFcドメインはどれも、たとえばIgG3のFcドメインで代置可能である。IgG2二量体化ドメインを有する別のタンパク質として、IgMまたはIgEドメイン単量体配列を含むN末端配列および/またはC末端配列が付加されたIgG2-IgG1キメラタンパク質があげられる。これらのN末端配列およびC末端配列には、ヒンジ領域、定常ドメインまたはその両方が可能である。

【 0 1 0 6 】

上述したように、ロイシンジッパーおよびイソロイシンジッパーを多量体化用領域として使用してもよい。ロイシンジッパーおよびイソロイシンジッパー(コイルドコイルドメイン)は、タンパク質の二量体、三量体および四量体の形成を容易にすることが知られている(Harbury et al. Science 262:1401-1407 (1993); O'Shea et al. Science 243:538 (1989))。イソロイシンジッパーが三量体を形成しようとする自然な傾向を利用して、イソロイシンジッパーを含むシリアルストラドマーを用いてクラスターストラドマーを生成してもよい。イソロイシンジッパーを有する3つ以上のシリアルストラドマーの会合(クラスターストラドマー単位として)によって、少なくとも6つのFc受容体結合領域を有するクラスターストラドマーが形成される。

【 0 1 0 7 】

異なるタイプのロイシンジッパーおよびイソロイシンジッパーを利用してもよいことは、当業者であれば理解できるであろうが、好ましい実施形態では、(Morris et al., Mol. Immunol. 44:3112-3121 (2007); Harbury et al. Science 262:1401-1407 (1993))に記載されているようにして改変したGCN4転写調節因子由来のイソロイシンジッパーを使用する: YTQKSLSLSPGKELLGGGS|KQIEDKIEEILSKIYHIENEIARIKKLIGERGHGGGSNSQVSHRYPRFQSIKVQFTEYKKEGFILTS(配列番号37)。このイソロイシンジッパー配列は、Fcドメイン単量体の多量体化に利用可能なくつかの配列のうちの一つにすぎない。配列番号37で示す配列全体を用いてもよいが、この配列の下線を付した部分が、本発明のクラスターストラドマーで使用できるイソロイシンジッパーのコア配列を表している。このように、本発明のストラドマー単量体は、イソロイシンジッパー(ILZ)の88のアミノ酸からなる完全な配列を含むものであってもよいし、または28のアミノ酸からなるコアを1つ以上のFcドメイン単量体と一緒に含むものであってもよい。また、イソロイシンジッパーは、28のアミノ酸からなるコア構造に加えてジッパーのどの部分で構成されるものであってもよく、イソロイシンジッパーの29以上88未満のアミノ酸で構成されてもよいこ

10

20

30

40

50

とは、当業者であれば理解できよう。考えられる I L Z - I g G 1 の F c ドメインコンストラクトの具体例は以下のとおりである。

【 0 1 0 8 】

【 表 2 】

表 2

H	CH2	CH3	H	CH2	CH3	
ILZ	1	1	1			
ILZ	1	1	1	1	1	z
ILZ	1	1	1	1	1	1
ILZ	1	1	1	3	3	3

10

記号の意味: H=ヒンジ、CH2=重鎖の定常ドメイン 2、CH3=重鎖の定常ドメイン 3、
1=IgG1、3=IgG3、ILZ=イソロイシンジッパードメイン

【 0 1 0 9 】

以上は多くの例のうちのごく一部にすぎない。I g G 1 のドメインはどれでも、たとえば I g G 3 のドメインで代置可能である。I L Z ドメインを有する別のタンパク質として、I g M または I g E などの他の I g 分子由来の N 末端配列および / または C 末端配列が付加された I g G 1 キメラタンパク質があげられる。これらの N 末端配列および C 末端配列には、ヒンジ領域、定常ドメインまたはその両方が可能である。

20

【 0 1 1 0 】

F c 断片ストラドマー

「F c 断片ストラドマー」は複数の F c 断片で構成される。F c 断片の翻訳後修飾に起因する特定の状況下では、F c 断片が十分な強度で別の F c 断片と結合して、複数の F c 受容体と結合する分子の形成を可能にする。このような結合を可能にする翻訳後修飾としては、グリコシル化およびメチル化があげられる。組換え F c 断片が生成される細胞系の同一性ならびに、これを生成する条件によって、F c 断片が F c 断片ストラドマーを形成するか否かが左右される。たとえば、FreestyleMax C H O 一過性形質転換細胞で生成された組換え F c 断片は、ウェスタンブロットで可視化できる多量体を形成し、プラズモン共鳴を用いる結合アッセイでの二価フィット (bivalent fit) に基づいて結合し、I V I G に匹敵する生物活性を樹状細胞アッセイで呈する。これとは対照的に、安定 C H O 細胞系から生成された同じ組換え F c 断片は、ウェスタンブロットで F c 断片の多量体を形成せず、プラズモン共鳴を用いる結合アッセイでの一価フィット (univalent fit) に基づいて結合し、同程度の生物活性を呈さない。このように、F c 断片ストラドマーは、2 つ以上の F c 受容体を結合できる生体模倣化合物である。

30

【 0 1 1 1 】

また、本発明において、「F c 二量体」という用語は F c 断片の二量体 (図 2 A 参照) であり、「F c 三量体」という用語は F c 断片の三量体であり、「F c 多量体」という用語は F c 断片の多量体 (図 2 B 参照) である。

40

【 0 1 1 2 】

ストラドボディ

本発明はストラドボディも包含する。本明細書で使用する場合、「ストラドボディ」とは、好ましくは 1 つ以上の F a b ドメインが結合されるストラドマー (シリアルストラドマー、コアストラドマー、クラスターストラドマーおよび F c 断片ストラドマーを含む) との関連で、2 つ以上の F c ドメインを含む分子を示す (たとえば、図 8 A ~ 図 8 B および図 9 A ~ 図 9 B 参照) 。よって、このような F a b ドメインがゆえに、ストラドボディは抗原結合能とストラドマー F c 受容体結合活性の両方を有する。いくつかの実施形態では、F c 受容体結合活性は、天然構造のホロ抗体の F c 部分以上の F c R を結合して架橋できる機能によるものである場合がある。好ましくは、ストラドボディの F a b 部

50

分は、重鎖と軽鎖の両方を含む。可変の重鎖および軽鎖は独立して、I g A 1、I g A 2、I g M、I g D、I g E、I g G 1、I g G 2、I g G 3またはI g G 4などの適合免疫グロブリンからのものであってもよいし、同じI g アイソタイプのからのものであっても異なるI g アイソタイプからのものであってもよいが、好ましくは同じI g アイソタイプからのものである。軽鎖である または も、異なるI g アイソタイプからのものであってもよい。ストラドマーのようなストラドボディは、2つ以上のF c Rを結合して、免疫機能を調節することができる。

【0113】

一実施形態では、ストラドマーは、ストラドマーのF c ヒンジ(H)ドメインに免疫グロブリンのF a bが結合されてストラドボディを生成するものであってもよい(図8 Aおよび図8 Bなど)。別の実施形態では、ストラドボディが、I g G 1のF c - I g G 1(ヒンジ - C H 2)で構成されるものであってもよい(図9 Aなど)。他の実施形態では、ストラドボディは、I g G 1のドメインおよびヒンジと、I g G 3のドメインおよびヒンジと、I g G Eのドメインおよびヒンジとで構成されるものであってもよい(図9 Bなど)。F a bは、天然の免疫グロブリン構造(図3 A ~ 図3 B)に見られるような重鎖と軽鎖の両方を含む。

10

【0114】

ストラドボディは、F a b部分の抗原結合特性と上述したストラドマーの特性とを持つことになる。このような組み合わせは、特に低エピトープ発現環境(腫瘍がh e r / 2 - n e u高発現株に分類されない乳癌患者の90%など)において、ホロ抗体のF c 骨格で実現できるよりも高速にエフェクター細胞上のF c 受容体を結合し、架橋し、活性化することで、高い割合の患者でA D C Cを誘導する機能を果たす。上述したように、1つ以上の抗原結合F a b断片をストラドマーに加えて、ストラドボディを形成することが可能である。好ましくは、ストラドマーに加えられるポリペプチド(本明細書で説明する結合以外)は、非免疫グロブリンポリペプチドの全部または一部ではないものである。

20

【0115】

F a bは、ヒト定常領域と、マウス、ラット、ウサギ、サルまたはヤギの抗体由来の可変領域などの非ヒト可変領域とで構成されるキメラ構造の場合がある。当業者であれば、現在利用でき、F a bキメラ構造の作製について科学文献に記載された方法論を用いて、ストラドボディに組み込むためのさまざまなF a bキメラ構造を作製できるであろう。このように、「ヒト化」ストラドボディは、「ヒト化モノクローナル抗体と同様に設計できるものである。

30

【0116】

変異体および相同体

I g G 1由来の2つのF cドメインなどの免疫グロブリンの特定のF cドメイン(すなわち、I g G 1のヒンジ / I g G 1のC H 2 / I g G 1のC H 3 / I g G 1のヒンジ / I g G 1のC H 2 / I g G 1のC H 3)を含むように本発明のストラドマーおよび他の生体模倣薬を設計可能であることは、当業者であれば理解できよう。このようなストラドマーは、まずI g G 1の2つのF cドメイン単量体(すなわち、I g G 1のヒンジ単量体 / I g G 1のC H 2単量体 / I g G 1のC H 3単量体 / I g G 1のヒンジ単量体 / I g G 1のC H 2単量体 / I g G 1のC H 3単量体)をコードするポリヌクレオチドを調製した後、そこからストラドマー単量体を発現させることで構成できよう。このような2つのストラドマー単量体が会合すると、I g G 1の2つのF cドメインを有するシリアルストラドマーが生成される。

40

【0117】

本発明のストラドマーおよび他の生体模倣薬を、複数のF cドメインをなす特定の免疫グロブリンF c部分ドメインの同一性に基づいて設計することも可能である。たとえば、2つのF cドメインを有するシリアルストラドマーを生成できるが、この場合第1のF cドメインがI g G 1のヒンジ / I g G 3のC H 2 / I g G 1のC H 3を含み、第2のF cドメインがI g G 3のヒンジ / I g G 1のC H 2 / I g G 3のC H 3を含む。

50

【0118】

本明細書に開示のストラドマーおよび他の生体模倣分子は、さまざまな種のどれに由来するものであってもよい。特に、本発明のいずれか1種類の生体模倣分子におけるFcドメインまたはFc部分ドメインを、複数の(たとえば、2、3、4、5またはそれよりも多くの)種の免疫グロブリンから誘導可能である旨は理解できよう。しかしながら、単一の種から誘導されることのほうが一般的である。また、どの種に対しても本明細書に開示の方法(治療方法など)のどれでも適用可能であることは、自明であろう。通常、該当する種に適用される生体模倣薬の構成要素は、いずれもその種に由来するものになる。しかしながら、すべての構成要素が異なる種に由来する生体模倣薬あるいは、(関連する方法を適用する種を含むまたは含まない)複数の種から得た生体模倣薬を使用することも可能である。

10

【0119】

本発明によるストラドマーおよび他の生体模倣薬のFcドメインおよびFc部分ドメインをなす特定のCH1、CH2、CH3およびCH4ドメインならびにヒンジ領域は、免疫グロブリンサブクラスならびに、その起源となる生物の両方の観点から、独立して選択できるものである。したがって、本明細書に開示のストラドマーおよび他の生体模倣薬は、IgG1、IgG2、IgG3、IgG4、IgA1、IgA2、IgD、IgEおよびIgMなどのさまざまな免疫グロブリンタイプから独立して得られる複数のFcドメインおよび複数の部分Fcドメインを含むものであってもよい。同様に、種特異的またはキメラストラドマー分子を生成するために、各Fcドメインおよび部分Fcドメインは、さまざまな種に由来するものであってもよく、好ましくは、非ヒト霊長類(サル、ヒヒ、チンパンジーなど)、ヒト、ネズミ、クマネズミ、ウシ、ウマ、ネコ、イヌ、ブタ、ウサギ、ヤギ、シカ、ヒツジ、フェレット、アレチネズミ、モルモット、ハムスター、コウモリ、鳥類(ニワトリ、シチメンチョウ、アヒルなど)を含む哺乳類の種、魚類および爬虫類に由来するものであってもよい。

20

【0120】

個々のFcドメインおよび部分Fcドメインは、ヒト化したものであってもよい。異なるFcドメインおよび部分Fcドメインによって、異なるタイプの機能が得られることは、当業者であれば自明であろう。たとえば、FcRはIgG免疫グロブリンと特異的に結合し、他のクラスの免疫グロブリンとは結合しない。このため、複合Fc受容体結合能を有するストラドマーの設計に関心のある当業者であれば、IgGのヒンジ領域およびIgGのCH2とCH3ドメインでのものを含め、IgGの十分にキャラクタライズされたFc受容体結合配列を少なくとも組み込んだ複数のストラドマーFcドメインを設計するであろう。また、特定のIgドメインを用いることで、IgAの点滴に関連するアナフィラキシーなどの多くの有害な結果を伴い得ることも、当業者であれば理解できよう。本明細書に開示の生体模倣薬は通常、このような影響を回避するよう設計すべきものであるが、特定の状況では、このような影響が望ましいこともある。

30

【0121】

また、本発明は、FcドメインまたはFc部分ドメインの天然に生じるアミノ酸配列とは異なるアミノ酸を有する複数のFcドメインおよびFc部分ドメインを含むストラドマーも包含する。本発明の生体模倣化合物に含めるのに好ましいFcドメインは、ホロFc受容体またはFcRの可溶性細胞外ドメイン部分のいずれかに対して測定可能な特異的結合親和性を有する。多数のFcドメインおよびFcドメイン単量体の一次アミノ酸配列およびX線結晶学的構造が、当該技術分野において利用できる。たとえば、Woof JM, Burton DR. Human antibody-Fc receptor interactions illuminated by crystal structures. Nat Rev Immunol. 2004 Feb;4(2):89-99を参照のこと。Fc受容体結合能のある代表的なFcドメインとして、ヒト免疫グロブリンGアイソタイプ1~4由来のFcドメイン(hIgG₁₋₄)(それぞれ配列番号1、3、5および7;図15A~図15Dも参照)があげられる。(Robert L. Shields, et al. High Resolution Mapping of the Binding Site on Human IgG1 for FcR1, FcR2, FcR3, and FcRn and Design

40

50

of IgG1 Variants with Improved Binding to the Fc R. J. Biol. Chem., Feb 2001; 276: 6591-6604の図2参照)。これらの天然配列については、機能的配列の部位特異的突然変異マッピングを含め、詳しい構造機能解析がなされている¹⁻⁴。これらの過去の構造機能研究および利用できる結晶学データに基づいて、当業者であれば、FcドメインのFc受容体結合能を保ちつつ(配列番号1、3、5および7などの)機能的Fcドメイン配列変異体を設計できよう。

【0122】

アミノ酸の変化は、Fcドメインの配列全体に見られることもあるし、Fcドメインをなす特定のFc部分ドメインに限られることもある。本発明のストラドマーおよび他の生体模倣薬に用いられるFcドメインの機能的変異体は、天然のFcドメインとの配列同一性が、少なくとも約50%、60%、70%、80%、90%、95%、96%、97%、98%または99%になる。同様に、本発明のストラドマーおよび他の生体模倣薬に用いられるFc部分ドメインの機能的変異体は、天然のFc部分ドメインとの配列同一性が、少なくとも約50%、60%、70%、80%、90%、95%、96%、97%、98%または99%になる。

10

【0123】

本発明のFc断片単量体、Fc部分断片単量体、ストラドマー単量体および他の単量体の作製にあたって、Fcドメイン単量体の機能的変異体を用いることも本発明に包含されることは、当業者であれば自明であろう。Fcドメイン単量体の機能的変異体は、天然のFcドメイン単量体配列との配列同一性が、少なくとも約50%、60%、70%、80%、90%、95%、96%、97%、98%または99%になる。

20

【0124】

同様に、本発明は、本発明のFc断片単量体、Fc部分断片単量体、Fcドメイン単量体、ストラドマー単量体および他の単量体の作製にあたって、Fc部分ドメイン単量体の機能的変異体を用いることも包含する。Fc部分ドメイン単量体の機能的変異体は、天然のFc部分ドメイン単量体配列との配列同一性が、少なくとも約50%、60%、70%、80%、90%、95%、96%、97%、98%または99%になる。

【0125】

アミノ酸が変化することで、Fc受容体に対するストラドマーの結合親和性が低下あるいは増大することもあるが、変化せずに残ることもある。好ましくは、このようなアミノ酸の変化は保存されたアミノ酸置換であるが、このような変化には、欠失、付加、他の置換も含む。保存されたアミノ酸置換は一般に、以下の群内での変化を含む。グリシンおよびアラニン；バリン、イソロイシンおよびロイシン；アスパラギン酸およびグルタミン酸；アスパラギン、グルタミン、セリンおよびトレオニン；リジン、ヒスチジンおよびアルギニン；フェニルアラニンおよびチロシン。

30

【0126】

「機能的変異体」という用語は、本明細書で使用する場合、参照配列と同じ生物学的作用に介在できる(ポリペプチドの場合)か、参照配列がコードするポリペプチドと同じ生物学的作用に介在できるポリペプチドをコードする(ポリヌクレオチドの場合)、相同性の点で参照配列と関連する配列を示す。たとえば、本明細書に記載のいずれかの生体模倣薬の機能的変異体は、指定の相同性または同一性を有し、DCの免疫調節ができるものである。機能的配列変異体には、ポリヌクレオチドとポリペプチドの両方が含まれる。配列同一性は通常、BLAST 2.0(Basic Local Alignment Search Tool)をデフォルトのパラメータすなわち、フィルタ - オン、スコア行列 - BLOSUM62、ワードサイズ - 3、E値 - 10、ギャップコスト - 11, 1およびアライメント - 50で用いて評価される。

40

【0127】

上記から、本発明のストラドマーは、(a)天然に生じる複数のFcドメインのみ、(b)天然に生じる複数のFcドメインとアミノ酸配列を変化させた複数のFcドメインとの混合物、(c)アミノ酸配列を変化させた複数のFcドメインのみを有するストラドマーを含むことは、自明であろう。必要なのは、天然に生じる配列を有するFcドメインを

50

含む対応のストラドマーが2つ以上のFc 受容体を結合する能力の少なくとも25% ; 30% ; 40% ; 50% ; 60% ; 70% ; 80% ; 90% ; 95% ; 96% ; 97% ; 98% ; 99% ; 99.5% ; または100%またはそれより多くを、アミノ酸配列を変化させたストラドマーが有することだけである。

【0128】

本発明のストラドマーおよびストラドボディに生じる上述したFc 受容体結合部位の配列を遺伝子操作によって変化させ、天然配列に対する親和性と結合能が変化した結合部位を予想どおりに誘導することもできる。たとえば、Fc RIIIIaに対する結合を増す一方でFc RIIに対する生体模倣化合物のFcドメイン結合を低減する特定の残基を変化させるようにしてもよい。hIgGのFc 受容体結合配列についての突然変異誘発ベースの詳しい構造機能解析の一例が、Robert L. Shields, et al. High Resolution Mapping of the Binding Site on Human IgG1 for Fc RI, Fc RII, Fc RIII, and FcRn and Design of IgG1 Variants with Improved Binding to the Fc R. J. Biol. Chem., Feb 2001; 276: 6591-6604である。マウスIgGのFc (mIgG Fc) でも同様の研究がなされている。種ごとの天然IgGのFcドメインの構造相同性と一次配列相同性とに基づいて、当業者であれば、hIgGのFcおよびmIgGのFcの構造-機能に関する広範囲にわたる知識を、本発明の生体模倣化合物における天然のすべてのFc 受容体結合部位配列の合理的な突然変異誘発に適用し、特定のFc 受容体特異性および結合親和性を有する結合部位を設計してもよい。

10

【0129】

天然Fcドメインのアミノ酸配列の組成だけでなく、Fcドメインの糖含有量もFcドメインの構造およびFc Rとの結合相互作用に重要な役割を果たすことが知られている。たとえば、Robert L. Shields, et al. Lack of Fucose on Human IgG1 N-Linked Oligosaccharide Improves Binding to Human Fc RIII and Antibody-dependent Cellular Toxicity. J. Biol. Chem., Jul 2002; 277: 26733-26740 (doi:10.1074/jbc.M202069200) ; Ann Wright and Sherie L. Morrison. Effect of C2-Associated Carbohydrate Structure on Ig Effector Function: Studies with Chimeric Mouse-Human IgG1 Antibodies in Glycosylation Mutants of Chinese Hamster Ovary Cells. J. Immunol., Apr 1998; 160: 3393-3402を参照のこと。糖含有量については、たとえば、特定の細胞系を含む特定のタンパク質発現系またはin vitro酵素修飾を用いて制御してもよい。このように、本発明は、ドメインの起源となったホロ抗体本来の糖含有量の複数のFcドメインを含むストラドマーおよびストラドボディを含み、これらの生体模倣化合物の糖含有量を変化している。

20

30

【0130】

Fc部分ドメインのポリペプチド鎖だけでなく、多量体化領域すなわちグリコシル化の変化によって、Fc 受容体へのFcドメインの結合増大を可能にするFcドメインのコンホメーションの変化が生じる場合がある。よって、ポリペプチドに対する見た目上は小さな変化でも、複数のFc 受容体を結合できるストラドマーを作製できることがある。

【0131】

部分ドメインおよび部分断片

さらに、本発明の実施形態で用いられるFcドメインおよびFc部分ドメインが全長分でなくてもよいことは、当業者であれば分かるであろう。すなわち、本発明は、本発明のストラドマーおよび他の生体模倣薬をなす特定のFcドメイン単量体およびFc部分ドメイン単量体のアミノ末端、カルボキシ末端または中程からアミノ酸を欠いたFcドメイン単量体およびFc部分ドメイン単量体を用いることも包含する。

40

【0132】

たとえば、Fc 受容体に対するヒトIgG免疫グロブリンの結合部位に関する記述がある(Radaev, S., Sun, P., 2001. Recognition of Immunoglobulins by Fc Receptors. Molecular Immunology 38, 1073-1083 ; Shields, R.L. et. al., 2001. High Resolution Mapping of the Binding Site on Human IgG1 for Fc RI, Fc RII, Fc RIII, and

50

FcRn and Design of IgG1 Variants with Improved Binding to the Fc R. J. Biol. Chem. 276 (9), 6591-6604など)。その知識に基づいて、これらの免疫グロブリンのFcドメインからアミノ酸を除去し、Fcドメインと受容体との間の結合相互作用に対する影響を判断してもよい。よって、本発明は、アミノ酸の少なくとも約90%がRadaev, S., Sun, P., 2001に定義されているような下側のヒンジおよびCH2の233位~338位を包含するIgGの複数のFcドメインを包含する。

【0133】

本発明のIgG免疫グロブリンのFc部分ドメインは、ヒンジ領域の全部または一部と、CH2ドメインの全部または一部と、CH3ドメインの全部または一部とを含む。

【0134】

ヒンジ領域の一部、CH2ドメインの一部またはCH3ドメインの一部しか持たないIgGのFc部分ドメインを、Fc部分ドメイン単量体から作製する。よって、本発明は、ヒンジ領域のN末端由来またはヒンジ領域のC末端由来のIgGのヒンジ領域単量体を含む。これらの単量体は、ヒンジ領域のたとえば、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、26、27、28、29、30、31、32、33、34、35、36、37、38、39、40、41、42、43、44、45、46、47、48、49、50、51、52、53、54、55、56、57、58、59、60、61または62(IgG1の場合は最大15、IgG2では最大12、IgG3では最大62、IgG4では最大12)のアミノ酸を含み得る。

【0135】

また、本発明は、CH2ドメインのN末端由来またはCH2ドメインのC末端由来のIgGのCH2ドメイン単量体も含む。ここで、これらの単量体は、CH2ドメインのたとえば、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、26、27、28、29、30、31、32、33、34、35、36、37、38、39、40、41、42、43、44、45、46、47、48、49、50、51、52、53、54、55、56、57、58、59、60、61、62、63、64、65、66、67、68、69、70、71、72、73、74、75、76、77、78、79、80、81、82、83、84、85、86、87、88、89、90、91、92、93、94、95、96、97、98、99、100、101、102、103、104、105、106、107、108、109または110(IgG1およびIgG3の場合は最大110、IgG2およびIgG4では最大109)のアミノ酸を含み得る。

【0136】

本発明はさらに、CH3ドメインのN末端由来またはCH3ドメインのC末端由来のIgGのCH3ドメイン単量体を含む。ここで、これらの単量体は、CH3ドメインのたとえば、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、26、27、28、29、30、31、32、33、34、35、36、37、38、39、40、41、42、43、44、45、46、47、48、49、50、51、52、53、54、55、56、57、58、59、60、61、62、63、64、65、66、67、68、69、70、71、72、73、74、75、76、77、78、79、80、81、82、83、84、85、86、87、88、89、90、91、92、93、94、95、96、97、98、99、100、101、102、103、104、105、106または107(IgG1およびIgG3の場合は最大106、IgG2およびIgG4では最大107)のアミノ酸を含み得る。

【0137】

本発明のIgA1、IgA2およびIgD免疫グロブリンのFc部分ドメインは、ヒンジ領域の全部または一部と、CH2ドメインの全部または一部と、CH3ドメインの全部または一部とを含む。さらに、IgA1、IgA2またはIgD免疫グロブリンのCH1

10

20

30

40

50

ドメインの全部または一部をFc部分ドメインとして用いることが可能である。

【0138】

ヒンジ領域の一部、CH1ドメインの一部、CH2ドメインの一部またはCH3ドメインの一部しか持たないIgA1、IgA2およびIgD部分ドメインを、Fc部分ドメイン単量体から作製する。よって、本発明は、IgA1、IgA2またはIgDのヒンジ領域のN末端由来またはヒンジ領域のC末端由来のヒンジ領域単量体を含む。ここで、これらの単量体は、ヒンジ領域のたとえば、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、26、27、28、29、30、31、32、33、34、35、36、37、38、39、40、41、42、43、44、45、46、47、48、49、50、51、52、53、54、55、56、57、58、59、60、61、62、63または64 (IgA1の場合は最大26、IgA2では最大13、IgDでは最大64)のアミノ酸を含み得る。

10

【0139】

本発明は、IgA1、IgA2またはIgDのCH2ドメインのN末端由来またはCH2ドメインのC末端由来のCH2ドメイン単量体を含む。ここで、これらの単量体は、CH2ドメインのたとえば、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、26、27、28、29、30、31、32、33、34、35、36、37、38、39、40、41、42、43、44、45、46、47、48、49、50、51、52、53、54、55、56、57、58、59、60、61、62、63、64、65、66、67、68、69、70、71、72、73、74、75、76、77、78、79、80、81、82、83、84、85、86、87、88、89、90、91、92、93、94、95、96、97、98、99、100、101、102、103、104、105、106または107 (IgA1の場合は最大102、IgA2では最大96、IgDでは最大107)のアミノ酸を含み得る。

20

【0140】

本発明は、IgA1、IgA2またはIgDのCH3ドメインのN末端由来またはCH3ドメインのC末端由来のCH3ドメインを含む。これらのドメインは、CH3ドメインのたとえば、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、26、27、28、29、30、31、32、33、34、35、36、37、38、39、40、41、42、43、44、45、46、47、48、49、50、51、52、53、54、55、56、57、58、59、60、61、62、63、64、65、66、67、68、69、70、71、72、73、74、75、76、77、78、79、80、81、82、83、84、85、86、87、88、89、90、91、92、93、94、95、96、97、98、99、100、101、102、103、104、105、106、107、108、109、110、111、112、113、114、115、116、117、118、119、120、121、122、123、124、125、126、127、128、129、130または131 (IgA1の場合は最大113、IgA2では最大131、IgDでは最大110)のアミノ酸を含み得る。

30

40

【0141】

本発明のIgMおよびIgE免疫グロブリンのFc部分ドメインは、これらの分子のヒンジ/CH2ドメインの全部または一部と、CH3ドメインの全部または一部と、CH4ドメインの全部または一部とを含む。さらに、IgMおよびIgE免疫グロブリンのCH1ドメインの全部または一部をFc部分ドメインとして用いることが可能である。

【0142】

ヒンジ/CH2ドメインの一部、CH3ドメインの一部またはCH4ドメインの一部しか持たないIgMおよびIgE部分ドメインを、Fc部分ドメイン単量体から作製する。よって、本発明は、IgMまたはIgEのヒンジ/CH2ドメインのN末端由来またはヒンジ/CH2ドメインのC末端由来のヒンジ/CH2ドメイン単量体を含む。ここで、こ

50

これらの単量体は、ヒンジ/CH₂ドメインのたとえば、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、26、27、28、29、30、31、32、33、34、35、36、37、38、39、40、41、42、43、44、45、46、47、48、49、50、51、52、53、54、55、56、57、58、59、60、61、62、63、64、65、66、67、68、69、70、71、72、73、74、75、76、77、78、79、80、81、82、83、84、85、86、87、88、89、90、91、92、93、94、95、96、97、98、99、100、101、102、103、104、105、106、107、108、109、110、111または112 (I g Mの場合は最大112、I g Eでは最大109) のアミノ酸を含み得る。

10

【0143】

本発明は、I g MまたはI g EのCH₃ドメインのN末端由来またはCH₃ドメインのC末端由来のI g MおよびI g EのCH₃ドメイン単量体を含む。ここで、これらの単量体は、CH₃ドメインのたとえば、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、26、27、28、29、30、31、32、33、34、35、36、37、38、39、40、41、42、43、44、45、46、47、48、49、50、51、52、53、54、55、56、57、58、59、60、61、62、63、64、65、66、67、68、69、70、71、72、73、74、75、76、77、78、79、80、81、82、83、84、85、86、87、88、89、90、91、92、93、94、95、96、97、98、99、100、101、102、103、104、105または106 (I g Mの場合は最大106、I g Eでは最大105) のアミノ酸を含み得る。

20

【0144】

本発明は、I g MまたはI g EのCH₄ドメインのN末端由来またはCH₄ドメインのC末端由来のI g MおよびI g EのCH₄ドメイン単量体を含む。ここで、これらの単量体は、CH₄ドメインのたとえば、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、26、27、28、29、30、31、32、33、34、35、36、37、38、39、40、41、42、43、44、45、46、47、48、49、50、51、52、53、54、55、56、57、58、59、60、61、62、63、64、65、66、67、68、69、70、71、72、73、74、75、76、77、78、79、80、81、82、83、84、85、86、87、88、89、90、91、92、93、94、95、96、97、98、99、100、101、102、103、104、105、106、107、108、109、110、111、112、113、114、115、116、117、118、119、120、121、122、123、124、125、126、127、128、129または130 (I g Mの場合は最大130、I g Eでは最大105) のアミノ酸を含み得る。しかしながら、CH₄ドメインのC末端を含むI g MまたはI g EのCH₄ドメインの一部は、18アミノ酸よりも長いと好ましく、一層好ましくは30アミノ酸長を超え、最も好ましくは50アミノ酸長を超える。

30

40

【0145】

上記から、本発明の異なる実施形態が、(a) 全長Fcドメイン；(b) 全長FcドメインとFc部分ドメインとの混合物；(c) Fc部分ドメインを含有するストラドマーを含むことは自明であろう。これらの実施形態のそれぞれにおいて、ストラドマーはCH₁ドメインをさらに含むものであってもよい。本明細書で説明するように、本発明のストラドマーの各実施形態において、ストラドマーには2つ以上のFc受容体を結合する能力がある。

【0146】

ストラドマーおよびストラドマー単量体の好ましい実施形態

本発明のストラドマー単量体の例を以下にあげておく。

50

- 1 . I g G 1 のヒンジ - I g G 1 の C H 2 - I g G 1 の C H 3 - I g G 1 のヒンジ - I g G 1 の C H 2 - I g G 1 の C H 3
- 2 . I g G 1 のヒンジ - I g G 3 の C H 2 - I g G 1 の C H 3 - I g G 1 のヒンジ - I g G 1 の C H 2 - I g G 1 の C H 3
- 3 . I g G 1 のヒンジ - I g G 1 の C H 2 - I g G 3 の C H 3 - I g G 1 のヒンジ - I g G 1 の C H 2 - I g G 1 の C H 3
- 4 . I g G 1 のヒンジ - I g G 1 の C H 2 - I g G 1 の C H 3 - I g G 3 のヒンジ - I g G 1 の C H 2 - I g G 1 の C H 3
- 5 . I g G 1 のヒンジ - I g G 1 の C H 2 - I g G 1 の C H 3 - I g G 1 のヒンジ - I g G 3 の C H 2 - I g G 1 の C H 3
- 6 . I g G 1 のヒンジ - I g G 1 の C H 2 - I g G 1 の C H 3 - I g G 1 のヒンジ - I g G 1 の C H 2 - I g G 3 の C H 3
- 7 . I g G 1 のヒンジ - I g G 3 の C H 2 - I g G 1 の C H 3 - I g G 3 のヒンジ - I g G 1 の C H 2 - I g G 1 の C H 3
- 8 . I g G 3 のヒンジ - I g G 1 の C H 2 - I g G 1 の C H 3 - I g G 1 のヒンジ - I g G 1 の C H 2 - I g G 1 の C H 3
- 9 . I g G 3 のヒンジ - I g G 1 の C H 2 - I g G 1 の C H 3 - I g G 3 のヒンジ - I g G 1 の C H 2 - I g G 1 の C H 3
- 10 . I g G 3 のヒンジ - I g G 1 の C H 2 - I g G 1 の C H 3 - I g G 1 のヒンジ - I g G 1 の C H 2 - I g G 3 の C H 3 - I g G 1 のヒンジ - I g G 3 の C H 2 - I g G 3 の C H 3
- 11 . I g G 1 のヒンジ - I g G 1 の C H 2 - I g G 1 の C H 3 - I g G 3 のヒンジ - I g G 3 の C H 2 - I g G 3 の C H 3 - I g G 1 のヒンジ - I g G 1 の C H 2 - I g G 1 の C H 3
- 12 . I g G 1 のヒンジ - I g G 1 の C H 2 - I g G 1 の C H 3 - I g G 3 のヒンジ - I g G 1 のヒンジ - I g G 3 の C H 2 - I g G 3 の C H 3 - I g G 1 のヒンジ - I g G 1 の C H 2 - I g G 1 の C H 3
- 13 . I g G 1 のヒンジ - I g G 1 の C H 2 - I g G 1 の C H 3 - I g G 3 のヒンジ - I g G 3 の C H 2 - I g G 3 の C H 3 - I g G 1 のヒンジ - I g G 2 の C H 2 - I g G 3 の C H 3
- 14 . I g G 1 のヒンジ - I g G 1 の C H 2 - I g G 1 の C H 3 - I g G 4 のヒンジ - I g G 4 の C H 2 - I g G 4 の C H 3 - I g G 1 のヒンジ - I g G 1 の C H 2 - I g G 1 の C H 3

【 0 1 4 7 】

これらの実施形態の各々ならびに本明細書に示す他の実施形態では、ドメイン結合を用いて、ストラドマー単量体を構成する F c 部分ドメイン単量体同士を結合してもよい旨は理解できよう。一実施形態では、上記の各々のストラドマー単量体について示す F c 部分ドメイン単量体が、ヒト F c 部分ドメイン単量体である。

【 0 1 4 8 】

本発明は、上記にて列挙したストラドマー単量体のうちの 2 つ以上を含むストラドマーを含む。好ましい実施形態では、本発明は、上記にて提示した等しいストラドマー単量体を 2 つ含むシリアルストラドマーを含む。

【 0 1 4 9 】

上述したように、複数の F c 受容体を結合するストラドマーの機能は、天然の I g M 分子または I g A 分子と同様に、コアストラドマーのコア部分として J 鎖を取り込むことによっても達成可能である。天然の I g A および I g M 免疫グロブリンでは、結合 (J) 鎖は、抗体の F c 部分のアミノ酸 18 個からなる「分泌テールピース (secretory tailpiece) 」とのジスルフィド結合によって I g A 抗体や I g M 抗体の重鎖と軽鎖を連結する 15 k D a のペプチドである。Braathen, R., et al., The Carboxyl-terminal Domains of IgA and IgM Direct Isotype-specific Polymerization and Interaction with the P

10

20

30

40

50

olymERIC Immunoglobulin Receptor, J. Bio. Chem. 277(45), 42755-42762 (2002)。

【0150】

このようなコアストラドマーは、好ましくはIgM免疫グロブリン由来の天然に生じるCH4Fcドメインを含むストラドマー単量体で構成されることで、このようなストラドマー単量体を含むストラドマーとJ鎖との会合を可能にしたものであってもよい(図10A~図10D参照)。以下、自己二量体化してストラドマーを形成した後、J鎖と会合し、複数(たとえば、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、15、18、20またはそれより多く)のストラドマーで構成されるコアストラドマーを形成可能なストラドマー単量体の例をあげておく。

1. IgG1のヒンジ - IgG1のCH2 - IgG1のCH3 - IgG1のヒンジ - IgG1のCH2 - IgG1のCH3 - IgMのCH4 (図10C~図10D参照) 10
2. IgG1のヒンジ - IgG3のCH2 - IgG1のCH3 - IgG1のヒンジ - IgG1のCH2 - IgG1のCH3 - IgMのCH4
3. IgG1のヒンジ - IgG1のCH2 - IgG3のCH3 - IgG1のヒンジ - IgG1のCH2 - IgG1のCH3 - IgMのCH4 (図10A~図10B参照)
4. IgG1のヒンジ - IgG1のCH2 - IgG1のCH3 - IgG3のヒンジ - IgG1のCH2 - IgG1のCH3 - IgMのCH4
5. IgG1のヒンジ - IgG1のCH2 - IgG1のCH3 - IgG1のヒンジ - IgG3のCH2 - IgG1のCH3 - IgMのCH4
6. IgG1のヒンジ - IgG1のCH2 - IgG1のCH3 - IgG1のヒンジ - IgG1のCH2 - IgG1のCH3 - IgMのCH4 20
7. IgG1のヒンジ - IgG1のCH2 - IgG1のCH3 - IgG1のヒンジ - IgG1のCH2 - IgG3のCH3 - IgMのCH4
8. IgG1のヒンジ - IgG3のCH2 - IgG1のCH3 - IgG3のヒンジ - IgG1のCH2 - IgG1のCH3 - IgMのCH4
9. IgG3のヒンジ - IgG1のCH2 - IgG1のCH3 - IgG1のヒンジ - IgG1のCH2 - IgG1のCH3 - IgMのCH4
10. IgG3のヒンジ - IgG1のCH2 - IgG1のCH3 - IgG3のヒンジ - IgG1のCH2 - IgG1のCH3 - IgMのCH4
11. IgG3のヒンジ - IgG1のCH2 - IgG1のCH3 - IgG1のヒンジ - IgG1のCH2 - IgG1のヒンジ - IgG3のCH2 - IgG3のCH3 - IgMのCH4 30

【0151】

これらの実施形態の各々ならびに本明細書に示す他の実施形態では、ドメイン結合を用いて、ストラドマー単量体を構成するFc部分ドメイン単量体同士を結合してもよい旨は理解できよう。一実施形態では、上記の各々のストラドマー単量体について示すFc部分ドメイン単量体が、ヒトFc部分ドメイン単量体である。

【0152】

J鎖に基づくコアストラドマーは、CH4Fcドメインを有する、Fc断片、Fc部分断片および/またはFcドメインで構成されるものであってもよい。この例では、コア部分に結合されたCH4Fcドメインを有する、Fc断片、Fc部分断片およびFcドメインの各々がFc受容体結合部位を1つしか含まないものであってもよいが、このようなコアストラドマーに関しては、複数のFc受容体結合部位を含む生物活性生体模倣薬を形成する。異なる天然の免疫グロブリン由来のFc部分ドメインを使用して、このようなコアストラドマーの機能的Fc断片、Fc部分断片およびFcドメインを生成できることは、当業者であれば分かるであろう。以下、自己二量体化した後、J鎖と会合してコアストラドマーを形成可能なFc断片、Fc部分断片およびFcドメインの単量体の例をあげておく。

1. IgG1のヒンジ - IgG1のCH2 - IgG1のCH3 - IgMのCH4 40
2. IgG3のヒンジ - IgG1のCH2 - IgG1のCH3 - IgMのCH4 50

- 3 . I g G 1 のヒンジ - I g G 3 の C H 2 - I g G 1 の C H 3 - I g M の C H 4
 4 . I g G 1 のヒンジ - I g G 1 の C H 2 - I g G 3 の C H 3 - I g M の C H 4
 5 . I g G 1 のヒンジ - I g G 3 の C H 2 - I g G 3 の C H 3 - I g M の C H 4
 6 . I g G 3 のヒンジ - I g G 3 の C H 2 - I g G 1 の C H 3 - I g M の C H 4
 7 . I g G 3 のヒンジ - I g G 3 の C H 2 - I g G 1 の C H 3 - I g M の C H 4
 8 . I g G 1 のヒンジ - I g G 3 の C H 2 - I g G 2 の C H 3 - I g M の C H 4
 9 . I g G 1 のヒンジ - I g G 3 のヒンジ - I g G 3 の C H 2 - I g G 2 の C H 3 - I g M の C H 4
 10 . I g G 1 のヒンジ - I g G 1 の C H 2 - I g G 1 の C H 3 - I g E の C H 4 - I g M の C H 4

10

【0153】

これらの実施形態の各々ならびに本明細書に示す他の実施形態では、ドメイン結合を用いて、ストラドマー単量体を構成するFc部分ドメイン単量体同士を結合してもよい旨は理解できよう。一実施形態では、上記の各々のストラドマー単量体について示すFc部分ドメイン単量体が、ヒトFc部分ドメイン単量体である。

【0154】

自己凝集またはストラドマー単量体間結合によって第2のストラドマー単量体と会合し、J鎖と会合して複数のFc受容体結合部位を含むコアストラドマーを生成する際の目的を達成するのに、ストラドマー単量体ごとに長さや組成が異なってもよいことは、上記の例から明らかである。実例は何ら限定するものではなく、ストラドマーにおける他の複数のストラドマー構成が可能であることは、当業者であれば自明であろう。

20

【0155】

Fc 受容体

「FcR」および「Fc受容体」という用語は、本明細書で使用する場合、Nimmerjahn F and Ravetch JV. Fcγ receptors: old friends and new family members. *Immunity*. 2006 Jan; 24(1):19-28に記載されているように、あるいは下記で定義できるように、免疫細胞表面で発現されるタンパク質のFc受容体ファミリーの各メンバを含む。本明細書に記載の「FcR」という用語は、FcRI、RIIおよびRIIIファミリーのすべてのメンバを包含することを意図している。Fc受容体は、FcRI(CD64); FcRII(CD32)およびそのアイソタイプおよびアロタイプFcRIaLR、FcRIIaHR、FcRIIbおよびFcRIIc; FcRIII(CD16)およびそのアイソタイプFcRIIIaおよびFcRIIIbを含むがこれに限定されるものではない、低親和性のFc受容体と高親和性のFc受容体とを含む。FcRと結合する化合物を含む本発明は、現時点では発見されていないかもしれない将来のFcRおよび関連のアイソタイプおよびアロタイプにも適用されることは、当業者であれば分かるであろう。

30

【0156】

IVI Gが新生児Fc受容体(「FcRn」と結合し、これを完全に飽和させることや、このようなFcRnの競合的阻害がIVI Gの生物活性で重要な役割を果たしているかもしれないことが、すでに説明されている(Mechanisms of Intravenous Immunoglobulin in Action in Immune Thrombocytopenic Purpura. F. Jin, J. Balthasar. *Human Immunology*, 2005, Volume 66, Issue 4, Pages 403-410など)。Fc受容体と強く結合する免疫グロブリンは、少なくともいくらかはFcRnとも結合するため、複数のFc受容体と結合できるストラドマーがFcRnとも結合し、これを完全に飽和させられることは、当業者であれば分かるであろう。

40

【0157】

「会合した天然IgGの免疫学的活性」とは、IgG凝集体に対する免疫系の曝露時に免疫系が機能することに影響する多量体化したIgGの特性を示す。天然の多量体化IgGの具体的な特性としては、FcRに対する特異的結合の変化、免疫細胞表面でのFcRの架橋あるいは、抗体依存性細胞障害(ADCC)、貪食(ADCP)または補体結

50

合などの多量体化 I g G のエフェクター機能があげられる（たとえば、Nimmerjahn F, Ravetch JV. The anti-inflammatory activity of IgG: the intravenous IgG paradox. J Exp Med. 2007; 204:11-15 ; Augener W, Friedman B, Brittinger G. Are aggregates of IgG the effective part of high-dose immunoglobulin therapy in adult idiopathic thrombocytopenic purpura (ITP)? Blut. 1985;50:249-252 ; Arase N, Arase H, Park SY, Ohno H, Ra C, Saito T. Association with FcRgamma is essential for activation signal through NKR-P1 (CD161) in natural killer (NK) cells and NK1.1+ T cells. J Exp Med. 1997;186:1957-1963 ; Teeling JL, Jansen-Hendriks T, Kuijpers TW, et al. Therapeutic efficacy of intravenous immunoglobulin preparations depends on the immunoglobulin G dimers: studies in experimental immune thrombocytopenia. Blood. 2001;98:1095-1099 ; Anderson CF, Mosser DM. Cutting edge: biasing immune responses by directing antigen to macrophage Fc gamma receptors. J Immunol. 2002;168:3697-3701 ; Jefferis R, Lund J. Interaction sites on human IgG-Fc for Fc[gamma]R : current models. Immunology Letters. 2002;82:57 ; Banki Z, Kacani L, Mullauer B, et al. Cross-Linking of CD32 Induces Maturation of Human MonocyteDerived Dendritic Cells Via NF- {kappa}B Signaling Pathway. J Immunol. 2003;170:3963-3970 ; Siragam V, Brine D, Crow AR, Song S, Freedman J, Lazarus AH. Can antibodies with specificity for soluble antigens mimic the therapeutic effects of intravenous IgG in the treatment of autoimmune disease? J Clin Invest. 2005;115:155160を参照のこと）。これらの特性は通常、単量体 I g G の特性と比較することで評価される。

10

20

30

40

50

【 0 1 5 8 】

「複数の天然に生じる凝集 I g G 免疫グロブリンのエフェクター機能または F c 受容体の架橋に匹敵するまたはこれよりも優れている」とは、本明細書で使用する場合、ストラドマーのアッセイ値が I V I G を用いて達成される値の約 7 0 % 以上になることを意味する。いくつかの実施形態では、アッセイ値が、I V I G を用いて達成されるアッセイ値の少なくとも標準誤差の範囲内である。他の実施形態では、アッセイ値が I V I G の場合の 1 1 0 % 以上である。F c R 架橋に対するアッセイは当業者間で周知である（たとえば、Falk Nimmerjahn and Jeffrey Ravetch. Fc receptors as regulators of immune responses. Nature Reviews Immunology, advanced published on line December 7, 2007を参照のこと）。

【 0 1 5 9 】

「免疫調節活性」、「免疫応答を調節」、「免疫系を調節」および「免疫調節」とは、細胞型の、その細胞型内または他の細胞型への成熟を含め、1つ以上の免疫細胞の活性、能力および相対数を変えることで免疫系を変化させることを意味する。たとえば、未熟単球の免疫調節によって、成熟単球、樹状細胞、マクロファージまたは破骨細胞（いずれも未熟単球由来である）の数が増えた大きな個体群が得られることがある。たとえば、免疫細胞受容体は、免疫学的に活性化生体模倣薬によって結合され、細胞内シグナル伝達を活性化させて、別途「活性化免疫調節」と呼ぶ多様な免疫細胞の変化を誘導できるものである。受容体の活性化を防ぐ封鎖免疫細胞受容体も「免疫調節」に包含されるが、これを別途「阻害免疫調節」と呼ぶこともある。

【 0 1 6 0 】

単球の成熟の調節を、単球から成熟 D C、マクロファージまたは破骨細胞への分化と呼ぶ。分化を調節して、成熟速度を加速および / または分化中の単球数を増加させてもよい。あるいは、分化速度および / または分化中の細胞数に関して分化を低下させることもできる。

【 0 1 6 1 】

「単離された」ポリペプチドまたはペプチドという表現は、本明細書で使用する場合、天然に生じる対応物を持たないか、膵臓、肝臓、脾臓、卵巣、精巣、筋肉、関節組織、神経組織、胃腸組織または乳房組織または腫瘍組織（乳癌組織など）などの組織あるいは、血液、血清または尿などの体液において、自然な状態でこれに付随する成分から分離また

は精製されたポリペプチドまたはペプチドを示す。一般に、ポリペプチドまたはペプチドは、自然に会合しているタンパク質および他の天然に生じる有機分子が乾燥重量で少なくとも70%欠けている場合に、「単離された」ものとする。好ましくは、本発明のポリペプチド（またはペプチド）の調製物は、乾燥重量で本発明のポリペプチド（ペプチド）の少なくとも80%、一層好ましくは少なくとも90%、最も好ましくは少なくとも99%である。化学的に合成されるポリペプチドまたはペプチドは、その本質上、自然な状態でこれに付随する成分から分離されるため、合成ポリペプチドまたはペプチドは「単離された」ものである。

【0162】

本発明の単離されたポリペプチド（またはペプチド）は、たとえば、天然起源からの（組織または体液などからの）抽出；このポリペプチドまたはペプチドをコードする組換え核酸の発現；または化学合成によって得られる。本来の由来となる起源とは異なる細胞系から産生されるポリペプチドまたはペプチドは、天然の状態でこれに付随する成分を必然的に欠いているため、「単離された」ものである。単離の度合いまたは純度については、カラムクロマトグラフィ、ポリアクリルアミドゲル電気泳動またはHPLC分析などの適当な方法で測定可能である。

10

【0163】

医薬組成物

本明細書に記載の免疫学的に活性な生体模倣組成物の投与は、一般的な任意の経路すなわち、経口的、非経口的または局所的になされる。代表的な経路としては、経口、経鼻、頬側、直腸内、腔内、点眼、皮下、筋肉内、腹腔内、静脈内、動脈内、腫瘍内、脊髄、くも膜下腔内、関節内、動脈内、くも膜下、舌下、口腔粘膜、経気管支、リンパ管、子宮内、皮下、腫瘍内、植込み型装置に統合、硬膜内、皮質内または経皮があげられるが、これに限定されるものではない。このような組成物は通常、本明細書で説明するような薬学的に許容される組成物として投与される。好ましい実施形態では、免疫学的に活性な単離された生体模倣薬を静脈内投与する。

20

【0164】

「薬学的に許容されるキャリア」という表現は、本明細書で使用する場合、あらゆる溶媒、分散媒、コーティング、抗菌薬および抗真菌薬、等張剤および吸収遅延剤などを含む。薬学的活性物質にこのような媒質や作用剤を用いることは、当該技術分野において周知である。従来のものである媒質または作用剤が本発明のベクターまたは細胞と不適合である場合を除き、これを治療用組成物に用いることも企図される。補助的な有効成分を組成物に取り入れることも可能である。

30

【0165】

本発明の免疫学的に活性な生体模倣組成物は、中性または塩の形態で処方してもよいものである。薬学的に許容可能な塩としては、塩酸またはリン酸などの無機酸あるいは、酢酸、シュウ酸、酒石酸、マンデル酸といった有機酸などとの間で形成される酸付加塩（タンパク質の遊離アミノ基との間で形成）があげられる。遊離カルボキシル基との間で形成される塩も、ナトリウム、カリウム、アンモニウム、カルシウムまたは水酸化第二鉄などの無機塩基ならびに、イソプロピルアミン、トリメチルアミン、ヒスチジン、プロカインといった有機塩基などから誘導可能である。

40

【0166】

免疫学的に活性な生体模倣薬を必要な量で必要に応じて上記にて列挙した他のさまざまな成分と一緒に適当な溶媒に入れた後、濾過滅菌することで、無菌注射剤が調製される。通常、ベースとなる基本分散媒や上記にて列挙したうちの他の必要な成分を含有する滅菌ベシクルにさまざまな滅菌有効成分を入れることで、分散液が調製される。無菌注射剤を調製するための滅菌粉末の場合、好ましい調製方法は、有効成分に所望の成分を加えたものを事前に滅菌濾過溶液とし、その溶液から粉末を得る真空乾燥法および凍結乾燥法である。

【0167】

50

さらに、一実施形態は、不活性希釈剤を使用してまたは使用せずに薬学的に許容されるキャリア中で提供される経口投与に適した免疫学的に活性な生体模倣組成物である。キャリアは、吸収可能 (assimable) または食用でなければならず、液体、半固体すなわちペーストまたは固体のキャリアを含む。従来の媒質、作用剤、希釈剤またはキャリアが、これに含まれる免疫学的に活性な生体模倣調製物の治療効果またはレシピエントにとって有害である場合を除き、本発明の方法を実施するのに使用する経口投与可能な免疫学的に活性な生体模倣組成物にこれを用いることも、妥当である。キャリアまたは希釈剤の例として、脂、油、水、生理食塩溶液、脂質、リポソーム、樹脂、バインダー、フィラーなどあるいはこれらの組み合わせがあげられる。「経口投与」という用語は、本明細書で使用する場合、経口投与、頬側投与、経腸投与または胃内投与を含む。

10

【0168】

一実施形態では、都合がよく実用的な任意の方法すなわち、溶液、懸濁液、乳化、混合、カプセル化、マイクロカプセル化、吸収などによって、組成物をキャリアと組み合わせる。このような手法は、当業者にとっては常法である。

【0169】

特定の実施形態では、粉末状の免疫学的に活性な生体模倣組成物を、半固体または固体のキャリアと完全に混合または組み合わせる。混合については、粉碎などの都合のよい任意の方法で実施できる。組成物が、すなわち胃での変性によって治療活性を失ってしまうのを防ぐ目的で、混合過程で安定化剤を加えることも可能である。経口投与可能な組成物に使用する安定剤の例としては、緩衝液、胃酸の分泌に対する遮断薬、グリシンおよびリジンなどのアミノ酸、デキストロース、マンノース、ガラクトース、フルクトース、ラクトース、スクロース、マルトース、ソルビトール、マンニトールなどの糖、タンパク分解酵素阻害剤などがあげられる。より好ましくは、経口投与組成物の場合、安定剤には、胃酸の分泌に対する遮断薬も含み得る。

20

【0170】

さらに、半固体または固体のキャリアと混合される経口投与用の免疫学的に活性な生体模倣組成物をさらに、ハードゼラチンカプセルまたはソフトゼラチンカプセル、錠剤または丸剤として処方することも可能である。より好ましくは、ゼラチンカプセル、錠剤または丸剤を腸溶コーティングする。腸溶コーティングは、pHが酸性の胃内または小腸上部での組成物の変性を防止するものである。すなわち、米国特許第5,629,001号を参照のこと。小腸に到達すると、小腸の塩基性pHによってコーティングが溶け、組成物が放出されてパイエル板M細胞などの腸細胞と相互作用することができる。

30

【0171】

別の実施形態では、粉末状の免疫学的に活性な生体模倣組成物を、内部に免疫学的に活性な生体模倣薬を封入するか、免疫学的に活性な生体模倣薬が結合されるナノ粒子を作り出す材料と完全に混合または組み合わせる。各ナノ粒子は、大きさが100ミクロン以下である。ナノ粒子は、それがなければ経口的に生物利用可能ではない、免疫学的に活性な生体模倣薬の胃腸吸収を可能にする粘膜付着特性を持つものであってもよい。

【0172】

別の実施形態では、粉末状の組成物を、安定化剤を使用してまたは使用せずに液体キャリアすなわち水または生理食塩溶液と組み合わせる。

40

【0173】

使用できる特定の免疫学的に活性な生体模倣製剤は、免疫学的に活性な生体模倣タンパク質を、カリウムを含有しない低張リン酸緩衝液に加えた溶液であり、この緩衝液の組成は以下のとおりである。6 mMのリン酸二水素ナトリウム一水和物、9 mMのリン酸水素ナトリウム七水和物、50 mMの塩化ナトリウム、pH 7.0 ± 0.1。低張緩衝液中での免疫学的に活性な生体模倣タンパク質の濃度は、10マイクログラム/mlから100ミリグラム/mlの範囲であってもよい。この製剤は、静脈内投与などであるがこれに限定されるものではない、どのような投与経路でも投与できるものである。

【0174】

50

さらに、半固体のキャリアと組み合わせられる局所投与用の免疫学的に活性な生体模倣組成物をさらに、クリームまたはゲル軟膏として処方することも可能である。ゲル軟膏を形成するのに好ましいキャリアは、ゲルポリマーである。本発明のゲル組成物の製造に用いられる好ましいポリマーとしては、カーボポール、カルボキシメチルセルロース、プルロニックポリマーがあげられるが、これに限定されるものではない。具体的には、皮膚表面または皮下の疾患を治療するための皮膚への塗布用に、0.5%~5%wt/容量の強度で、Carbopol 980などの重合剤を含む水性ゲルと粉末状Fc多量体組成物を組み合わせる。「局所用投与」という用語は、本明細書で使用する場合、皮膚、表皮、皮下または粘膜表面への塗布を含む。

【0175】

製剤において、この投与製剤と適合する方法で、なおかつ症候を好転または改善するための治療有効量で、溶液を投与する。この製剤は、体内摂取可能な溶液、薬物放出カプセルなどのさまざまな剤形で容易に投与される。治療対象となる被検体の症状に応じて、投与量がいくらか変動する可能性がある。投与に責任のある人は、いずれにしても、被検体ごとに適切な用量を判断することができる。さらに、人間に投与する場合、調製物は、FDAのOffice of Biologicsにおける基準で求められている滅菌性や一般的な安全性、純度の基準を満たしている。

【0176】

投与経路は、治療対象となる疾患の性質と部位によって必然的に変わることになり、たとえば、皮内投与、経皮投与、非経口投与、静脈内投与、筋肉内投与、鼻腔内投与、皮下投与、経皮投与、気管内投与、腹腔内投与、腫瘍内投与、灌流投与、洗浄投与、直接注射および経口投与を含むものであってもよい。

【0177】

「非経口投与」という用語は、本明細書で使用する場合、腸からの吸収を伴わずに化合物が被検体に吸収される、あらゆる投与形態を含む。本発明に用いられる代表的な非経口投与としては、筋肉内投与、静脈内投与、腹腔内投与、腫瘍内投与、眼内投与または関節内投与があげられるが、これに限定されるものではない。

【0178】

以下、さまざまな医薬製剤のカテゴリと、適応があれば代表的な具体的疾患に対する好ましい投与経路の具体例をあげておく。

【0179】

頰側または舌下崩壊錠：狭心症、結節性多発動脈炎。

【0180】

静脈内：特発性血小板減少性紫斑病、封入体筋炎、IgM-M蛋白血症を伴う脱髄性ニューロパチー、壊疽性筋膜炎、天疱瘡、脱疽、皮膚筋炎、肉芽腫、リンパ腫、敗血症、再生不良性貧血、多臓器不全、多発性骨髄腫および意義不明の単クローン性高ガンマグロブリン血症、慢性炎症性脱髄性多発ニューロパチー、炎症性ミオパチー、血栓性血小板減少性紫斑病、筋炎、貧血、腫瘍症、溶血性貧血、脳炎、脊髄炎、特にヒトT細胞性白血病ウイルス1型関連の脊髄症、白血病、多発性硬化症および視神経炎、喘息、表皮壊死融解症、ランバート・イートン症候群、重症筋無力症、神経障害、ブドウ膜炎、ギラン・バレー症候群、移植片対宿主病、全身硬直症候群、抗Yo抗体陽性傍腫瘍性小脳変性症、腫瘍随伴脳脊髄症および抗Hu抗体陽性感覚性ニューロパチー、全身性血管炎、全身性紅斑性狼瘡、自己免疫性糖尿病性ニューロパチー、急性特発性自律神経ニューロパチー、フォクト・小柳・原田症候群、多巣性運動ニューロパチー、抗/ GM1を伴う下位運動ニューロン症候群、脱髄、膜性増殖性糸球体腎炎、心筋症、川崎病、関節リウマチおよびエバンス症候群IM-ITP、CIDP、MS、皮膚筋炎、重症筋無力症(mysasthenia gravis)、筋ジストロフィー。「静脈内投与」という用語は、本明細書で使用する場合、本発明の化合物または組成物を静脈注射または点滴によって体循環に送達するためのあらゆる技術を含む。

【0181】

10

20

30

40

50

皮膚用のゲル、ローション、クリームまたはパッチ：尋常性白斑、帯状疱疹、ざ瘡、口唇炎（chelitis）。

【0182】

直腸坐薬、ゲルまたは点滴：潰瘍性大腸炎、痔の炎症。

【0183】

丸剤、トローチ、カプセルとして、あるいは腸溶コーティングでの経口：クローン病、セリアック病（celiac spree）、過敏性腸症候群、炎症性肝疾患、バレット食道。

【0184】

皮膚内：癩癧、アルツハイマー病、多発性硬化症、パーキンソン病、ハンチントン病。

【0185】

腹腔内注入またはインプラント：子宮内膜症。

【0186】

腔用ゲルまたは坐薬：細菌性膣症、トリコモナス膣炎または膣真菌症。

【0187】

医療器具：冠動脈ステント、人工関節にコーティング。

【0188】

本明細書に記載の免疫学的に活性な生体模倣薬は、体重1kgあたり約0.01mg～約300mg、特に体重1kgあたり0.01mg～約300mgの投与量で投与でき、少なくとも毎日、毎週1回、2週間に1回または毎月1回投与できるものである。第1の投与段階が、第2の投与段階の約0.1%～約10%をなす二相性の投与計画を用いてもよい。

【0189】

ストラドマーおよびストラドボディの治療への応用

合理的設計ならびに、*in vitro*および*in vivo*での検証結果に基づいて、本発明の免疫学的に活性な生体模倣薬は、癌や炎症性疾患用の生物免疫療法剤などのさまざまな他の状況で自己免疫疾患を治療し、免疫機能を調節するための重要な生物製剤として機能する。本明細書に記載の免疫学的に活性な生体模倣薬で治療するのに適した病状としては、自己免疫性血球減少症、ギラン・バレー症候群、重症筋無力症、抗第V I I I因子自己免疫疾患、皮膚筋炎、血管炎およびブドウ膜炎など、現在の常法でh I V I Gによって治療されている病状またはh I V I Gが臨床的に有用であることが分かっている病状（F. G. van der Meche, P. I. Schmitz, N. Engl. J. Med. 326, 1123 (1992); P. Gajdos et al., Lancet i, 406 (1984); Y. Sultan, M. D. Kazatchkine, P. Maisonneuve, U. E. Nydegger, Lancet ii, 765 (1984); M. C. Dalakas et al., N. Engl. J. Med. 329, 1993 (1993); D. R. Jayne, M. J. Davies, C. J. Fox, C. M. Black, C. M. Lockwood, Lancet 337, 1137 (1991); P. LeHoang, N. Cassoux, F. George, N. Kullmann, M. D. Kazatchkine, Ocul. Immunol. Inflamm. 8, 49 (2000)を参照）ならびに、モノクローナル抗体を使用できるか、すでにモノクローナル抗体が臨床利用されている癌または炎症性疾患の症状があげられる。本発明の主旨である化合物によって有効に治療できる症状に含まれるものとして、サイトカインネットワークのバランスが崩れた炎症性疾患、病原性自己抗体または自己攻撃性T細胞による自己免疫障害あるいは、慢性再発性の自己免疫疾患またはプロセス、炎症性疾患またはプロセスあるいは感染性疾患またはプロセスの急性期または慢性期があげられる。

【0190】

また、筋萎縮性側索硬化症、ハンチントン病、アルツハイマー病、パーキンソン病、心筋梗塞、脳卒中、B型肝炎、C型肝炎、ヒト免疫不全ウイルス関連炎症、副腎白質ジストロフィーおよび癩癧疾患（特にラスムッセン症候群、ウエスト症候群およびレノックス・ガスター症候群を含むウイルス感染後脳炎と関連しているとされているもの）などの炎症性要素を持つ他の病状でも、免疫学的に活性な生体模倣薬での治療による利益が得られる。

【0191】

10

20

30

40

50

本明細書に記載の免疫学的に活性な単離された生体模倣薬を用いる一般的な療法として、疾患または症状のある被検体に、治療有効量の免疫学的に活性な単離された生体模倣薬を投与して治療を実施することがある。いくつかの実施形態では、疾患または症状を、サイトカインネットワークのバランスが崩れた炎症性疾患、病原性自己抗体または自己攻撃性T細胞による自己免疫障害あるいは、慢性再発性疾患またはプロセスの急性期または慢性期という大まかな分類に分けることができる。

【0192】

「治療する」および「治療」という表現は、本明細書で使用する場合、被検体の疾患または症状あるいは、疾患または症状の症候が改善されるように、本発明の生体模倣薬を治療有効量で被検体に投与することを示す。改善とは、疾患または症状あるいは、疾患または症状の症候のあらゆる好転または改善のことである。改善は、観察可能または測定可能な改善であるか、被検体が健康な状態であると感じる感覚の改善であってもよい。よって、治療によって疾患の症状が改善されることはあるが、疾患が完全に治癒するとはかぎらないことは、当業者であれば分かるであろう。具体的には、被検体の改善は、以下のうちの1つ以上を含むものであってもよい。炎症の減少；C反応性タンパク質などの炎症性検査マーカーの減少；自己抗体などの自己免疫マーカーの改善または血小板数、白血球数または赤血球数の改善、発疹または紫斑の減少、脱力感、しびれまたは刺痛の減少、高血糖症患者では血糖値の上昇、関節痛、炎症、腫脹または壊変の減少、腹痛および下痢の頻度と量の低下、狭心症の減少、組織炎症の減少または発作頻度の低下のうちの1つ以上に該当することから明らかな自己免疫の減少；癌腫瘍量の低下、腫瘍が進行するまでの時間の増大、癌疼痛の減少、生存率の増加または生活の質の改善；または骨粗鬆症の進行の遅滞または改善。

10

20

【0193】

「治療有効量」という用語は、本明細書で使用する場合、疾患または症状の症候の好転または改善につながる量を示す。

【0194】

本明細書で使用する場合、「予防」とは、疾患の症候の完全な予防、疾患の症候の発病遅延または後から発症する疾患症候の重篤度の低下を意味する場合がある。

【0195】

「被検体」という用語は、本明細書で使用する場合、本明細書に記載の方法で本発明の生体模倣薬を投与する対象となる任意の哺乳類の被検体を意味するものとする。特定の実施形態では、本開示の方法は、被験者の治療に採用される。また、非ヒト霊長類（サル、ヒヒ、チンパンジーなど）、マウス、ラット、ウシ、ウマ、ネコ、イヌ、ブタ、ウサギ、ヤギ、シカ、ヒツジ、フェレット、アレチネズミ、モルモット、ハムスター、コウモリ、鳥類（ニワトリ、シチメンチョウ、アヒルなど）、魚類および爬虫類の治療に本開示の方法を採用し、種特異的またはキメラストラドマー分子を生成してもよい。

30

【0196】

特に、本発明の生体模倣薬は、鬱血性心不全（CHF）、血管炎、酒さ（rosecea）、ざ瘡、湿疹、心筋炎および他の心筋症状、全身性紅斑性狼瘡、糖尿病、脊椎症、滑膜線維芽細胞および骨髄間質；骨減少症；パジェット病、骨巨細胞腫；多発性骨髄腫；乳癌；廃用性骨減少症；栄養不良、歯周病、ゴージェ病、ランゲルハンス細胞組織球症、脊髄損傷、急性化膿性関節炎、骨軟化症、クッシング症候群、単骨性線維性骨異形成症（monoostotic fibrous dysplasia）、多骨性線維性骨異形成症、歯周組織再建および骨折；サルコイドーシス；溶骨性の骨癌、肺癌、腎臓癌および直腸癌；骨転移、骨疼痛管理および腫瘍随伴体液性高カルシウム血症、強直性脊椎炎および他の脊椎関節症；移植拒絶、ウイルス感染、造血器腫瘍（hematologic neoplasias）および腫瘍様症状、たとえば、ホジキンリンパ腫；非ホジキンリンパ腫（パーキットリンパ腫、小リンパ球性リンパ腫／慢性リンパ球性白血病、菌状息肉腫、マントル細胞リンパ腫、濾胞性リンパ腫、びまん性大細胞型B細胞リンパ腫、辺縁帯リンパ腫、有毛細胞白血病およびリンパ形質細胞性白血病）、B細胞急性リンパ芽球性白血病／リンパ腫およびT細胞急性リンパ芽球性白血病／リンパ腫

40

50

を含むリンパ球前駆細胞の腫瘍、胸腺腫、末梢性T細胞白血病や成人T細胞白血病/T細胞リンパ腫および大顆粒リンパ球性白血病を含む成熟T細胞およびNK細胞の腫瘍、ランゲルハンス細胞組織球症、急性骨髄性白血病（成熟型AML、未分化型AML、急性前骨髄球性白血病、急性骨髄単球性白血病および急性単球性白血病を含む）、骨髄異形成症候群、慢性骨髄増殖性疾患（慢性骨髄性白血病を含む）などの骨髄性腫瘍、中枢神経系の腫瘍、たとえば、脳腫瘍（神経膠腫、神経芽細胞腫、星状細胞腫、髄芽腫、上衣腫および網膜芽細胞腫）、固体腫瘍（上咽頭癌、基底細胞癌、膵臓癌、胆管の癌、カボジ肉腫、精巣癌、子宮癌、膣癌または子宮頸癌、卵巣癌、原発性肝癌または子宮体癌、脈管系の腫瘍（血管肉腫および血管外皮腫（hemagiopericytoma）））または他の癌を含むがこれに限定されるものではない、症状の治療に使用できるものである。

10

【0197】

本明細書における「癌」とは、一般に未制御の細胞成長を特徴とする哺乳動物における生理学的症状を示すまたは説明するものである。癌の例としては、癌腫、リンパ腫、芽細胞腫、肉腫（脂肪肉腫、骨原性肉腫、血管肉腫、内皮肉腫、リンパ管肉腫、リンパ管内皮肉腫、平滑筋肉腫、横紋筋肉腫、線維肉腫、粘液肉腫、軟骨肉腫を含む）、神経内分泌腫瘍、中皮腫、脊索腫、滑膜腫、神経鞘腫、髄膜腫、腺癌、黒色腫および白血病またはリンパ系腫瘍があげられるが、これに限定されるものではない。このような癌のさらに特定の例としては、扁平上皮癌（上皮の扁平上皮癌など）、小細胞肺癌、非小細胞肺癌、肺腺癌および肺扁平上皮癌、小細胞肺癌腫を含む肺癌、腹膜の癌、肝細胞癌、胃腸癌を含む胃の癌または胃癌、膵臓癌、神経膠芽腫、子宮頸癌、卵巣癌、肝癌、膀胱癌、肝細胞癌、乳癌、結腸癌、直腸癌、結腸直腸癌、子宮内膜癌または子宮癌、唾液腺癌、腎臓癌または腎癌、前立腺癌、外陰癌、甲状腺癌、肝臓癌、肛門癌、陰茎癌、精巣癌、食道癌、胆道の腫瘍、ユーイング腫瘍、基底細胞癌、腺癌、汗腺癌、皮脂腺癌、乳頭癌、乳頭状腺癌、嚢胞腺癌、髄様癌、気管支原性肺癌、腎細胞癌、肝細胞癌、胆管癌、絨毛癌、精上皮腫、胚性癌、ウィルムス腫瘍、精巣腫瘍、肺癌腫、膀胱癌腫、上皮癌、神経膠腫、星状細胞腫、髄芽腫、頭蓋咽頭腫、上衣腫、松果体腫、血管芽細胞腫、聴神経腫、乏突起膠腫、髄膜腫、黒色腫、神経芽細胞腫、網膜芽細胞腫、白血病、リンパ腫、多発性骨髄腫、ワルデンストローム・マクログロブリン血症、骨髄異形成疾患、重鎖病、神経内分泌腫瘍、神経鞘腫および他の癌腫ならびに頭頸部癌があげられる。

20

【0198】

本発明の生体模倣薬は、自己免疫疾患の治療に用いることのできるものである。「自己免疫疾患」という用語は、本明細書で使用する場合、さまざまな群に分けられる80を超える疾患と症状を示す。これらの疾患および症状ではいずれも、背景にある問題は身体の免疫系が身体自体を攻撃してしまうことにある。自己免疫疾患は、結合組織、神経、筋肉、内分泌系、皮膚、血液、呼吸器系および消化器系を含むあらゆる主要な体組織に影響を与える。自己免疫疾患としては、たとえば、全身性紅斑性狼瘡、関節リウマチ、多発性硬化症、重症筋無力症、1型糖尿病があげられる。

30

【0199】

本発明の組成物および方法を用いて治療可能な疾患または症状は、特発性血小板減少性紫斑病、同種免疫性/自己免疫性血小板減少症、後天性免疫性血小板減少症、自己免疫性好中球減少症、自己免疫性溶血性貧血、パルボウイルスB19関連赤血球形成不全、後天性抗第V因子自己免疫疾患、後天性フォンウィルブランド病、多発性骨髄腫および意義不明の単クローン性高ガンマグロブリン血症、敗血症、再生不良性貧血、赤芽球痺、ダイヤモンド・ブラックファン貧血、新生児溶血性疾患、免疫介在性好中球減少症、血小板輸血不応状態、新生児輸血後紫斑病、溶血性尿毒症症候群、全身性血管炎、血栓性血小板減少性紫斑病またはエバンズ症候群を含むがこれに限定されるものではない、血液免疫学的プロセスの場合がある。

40

【0200】

疾患または症状は、ギラン・バレー症候群、慢性炎症性脱髄性多発ニューロパチー、IgM-M蛋白血症を伴う脱髄性ニューロパチー、ランバート・イートン症候群、重症筋無

50

力症、多巣性運動ニューロパチー、抗ノグM1抗体を伴う下位運動ニューロン症候群、脱髄、多発性硬化症および視神経炎、全身硬直症候群、抗体Y₀抗体陽性傍腫瘍性小脳変性症、腫瘍随伴脳脊髄症、抗Hu抗体陽性感覚性ニューロパチー、癲癇、脳炎、脊髄炎、特にヒトT細胞性白血病ウイルス1型関連の脊髄症、自己免疫性糖尿病性ニューロパチーまたは急性特発性自律神経ニューロパチーを含むがこれに限定されるものではない、神経免疫学的プロセスの場合がある。

【0201】

疾患または症状は、川崎病、関節リウマチ、フェルティ症候群、ANCA陽性血管炎、特発性多発性筋炎、皮膚筋炎、抗リン脂質症候群、再発性自然流産、全身性紅斑性狼瘡、若年性特発性関節炎、レイノー病、CREST症候群またはブドウ膜炎を含むがこれに限定されるものではない、リウマチ性疾患プロセスの場合もある。

10

【0202】

疾患または症状は、中毒性表皮壊死融解症、脱疽、肉芽腫、尋常性天疱瘡、水疱性類天疱瘡、落葉状天疱瘡を含む自己免疫性で皮膚水疱を呈する疾患、尋常性白斑、連鎖球菌毒素ショック症候群、強皮症、びまん性皮膚硬化型強皮症および限局皮膚硬化型強皮症を含む全身性強皮症またはアトピー性皮膚炎（特にステロイド依存性）を含むがこれに限定されるものではない、皮膚免疫学的疾患プロセスの場合もある。

【0203】

疾患または症状は、封入体筋炎、壊疽性筋膜炎、炎症性ミオパチー、筋炎、抗デコリン（BJ抗原）ミオパチー、傍腫瘍性壊死性ミオパチー、X連鎖性空胞性ミオパチー、ペナシラミン誘導多発性筋炎、アテローム性動脈硬化症、冠動脈疾患または心筋症を含むがこれに限定されるものではない、筋骨格免疫学的疾患プロセスの場合もある。

20

【0204】

疾患または症状は、悪性貧血、自己免疫性慢性活動性肝炎、原発性胆汁性肝硬変、セリアック病、疱疹状皮膚炎、原因不明肝硬変、反応性関節炎、クローン病、ホイップル病、潰瘍性大腸炎または硬化性胆管炎を含むがこれに限定されるものではない、胃腸免疫学的疾患プロセスの場合もある。

【0205】

疾患または症状は、移植片対宿主病、抗体による移植片拒絶、骨髄移植後拒絶、感染症後の炎症、リンパ腫、白血病、腫瘍症、喘息、抗細胞抗体の存在する1型糖尿病、シェーグレン症候群、混合性結合組織病、アジソン病、フォークト・小柳・原田症候群、膜性増殖性糸球体腎炎、グッドパスチャー症候群、グレイブス病、橋本甲状腺炎、ウェゲナー肉芽腫症、顕微鏡的多発動脈炎、チャグ・ストラウス症候群、結節性多発動脈炎または多臓器不全の場合もある。

30

【0206】

別の実施形態では、患者から血液を抜き、約半時間から約3時間の時間をかけて一時的にストラドマーと接触させた上で、患者の体内に戻す体外循環回路（priming system）で、本明細書に記載のストラドマーを利用することができるだろう。この形の細胞療法では、エフェクター細胞をストラドマーに曝露してエフェクター細胞を調節する目的で、患者自身のエフェクター細胞を *ex vivo* にてマトリックスに固定したストラドマーに曝露する。その後、調節後のエフェクター細胞を含む血液を点滴で患者に戻す。このような体外循環回路は、臨床および治療面で応用範囲が極めて広いであろう。

40

【0207】

ストラドボディの腫瘍学における治療への応用

免疫学的な障害を治療するという臨床的な有用性があるだけでなく、ストラドボディには癌および炎症性疾患の治療における治療的な用途もある。ストラドボディは、どのような対応の治療用抗体に対しても基本的には以下の周知のプロトコールに沿って使用できるものである。ストラドボディは通常、癌におけるADCまたは自己免疫疾患でサイトカイン放出量が減少することによる単球およびDC成熟の減少などのモノクローナル抗体によってエフェクター細胞で現れる効果を高め、これによって、ストラドボディのFab部

50

分に対するソースモノクローナル抗体などを使用して生じ得る免疫応答に比して癌に対する免疫応答を促進するよう設計される。

【0208】

ストラドボディを設計する際の起源となり得る代表的なモノクローナル抗体 Fabドメインとしては、セツキシマブ、リツキシマブ、ムロモナブ - CD3、アブシキシマブ、ダクリズマブ、バシリキシマブ、パリビズマブ、インフリキシマブ、トラスツズマブ、ゲムツズマブ・オゾガマイシン、アレムツズマブ、イブリツモマブ・チウキセタン、アダリムマブ、オマリズマブ、トシツモマブ、I-131トシツモマブ、エファリズマブ、ベバシズマブ、パニツムマブ、ペルツズマブ、ナタリズマブ、エタネルセプト、IGN101、ポロシキシマブ、抗CD80 mAb、抗CD23 mAb、CAT-3888、CDP791、エピラツズマブ (eraptuzumab)、MDX-010、MDX-060、MDX-070、マツズマブ、CP-675、206、CAL、SGN-30、ザノリムマブ、アデカツムマブ、オレゴボマブ、ニモツズマブ、ABT-874、デノスマブ、AM108、AMC 714、フォントリズマブ、ダクリズマブ、ゴリムマブ、CNTO 1275、オクレリズマブ、HuMax-CD20、ベリムマブ、エピラツズマブ、MLN1202、ピジリズマブ、トシリズマブ、オクレリズマブ (ocrelizumab)、セルトリズマブペゴール、エクリズマブ、パキセリズマブ、アブシキシマブ、ラニビズマブ (ranibizumab)、メボリズマブおよびTNX-355、MYO-029があげられる。

10

【0209】

本明細書に開示の免疫学的に活性な生体模倣薬と総称するストラドマーおよびストラドボディには、他にも多数の応用例や用途がある。

20

【0210】

免疫応答の変更

本明細書に開示の免疫学的に活性な生体模倣薬は、さまざまな状況で免疫系の応答の変更に容易に適用して、免疫応答プロファイルの特定の変化に影響を与えられるものである。被検体で免疫応答を変更または調節するというのは、免疫応答の比または構成内容を増大、減少または変化させることを示す。たとえば、適当な組み合わせのFcRを、これらの受容体と相互作用するように設計されたストラドマーを用いて標的することで、サイトカインの産生または分泌レベルを必要に応じて増減することができる。また、抗体の産生量を増減してもよいし、2つ以上のサイトカインまたは免疫細胞受容体の比を変えてもよく、別のタイプのサイトカインまたは抗体を産生させてもよい。免疫応答は、FcRを発現している免疫細胞のエフェクターの機能であることもあり、これには、本明細書に開示の免疫学的に活性な生体模倣薬で調節されていない免疫応答と比較して、単球マクロファージ系細胞の潜在的な食作用の増加または減少、破骨細胞の機能の亢進または低減、抗原提示細胞 (DCなど) による抗原提示の増大または減少、NK細胞の機能の亢進または低減、B細胞の機能の亢進または低減を含む。

30

【0211】

好ましい実施形態では、本明細書に記載の治療有効量の免疫学的に活性な生体模倣薬を被検体に投与することであって、治療有効量の免疫学的に活性な生体模倣薬が被検体の免疫応答を変更することを含む、癌あるいは自己免疫疾患または炎症性疾患の被検体が自己の免疫応答を変更される。理想的には、この介入によって、被検体の疾患または症状を治療する。変更される免疫応答は、応答の増加または減少であってもよいし、IL-6、IL-10、IL-8、IL-23、IL-7、IL-4、IL-12、IL-13、IL-17、TNF- およびIFN- のうちのいずれかのレベルを含むサイトカインレベルの変更に関与するものであってもよい。しかしながら、本発明は、ここに記載の生体模倣薬の特定の作用機序に限定されるものではない。変更される免疫応答が、被検体における自己抗体レベルの変更であってもよい。また、変更される免疫応答が、被検体における自己攻撃性T細胞レベルの変更であってもよい。

40

【0212】

たとえば、自己免疫疾患でTNF- の産生量を低下させると、治療効果が得られる場合がある。これを実用化したものに、尋常性乾癬、関節リウマチ、乾癬性関節炎、クロー

50

ン病、潰瘍性大腸炎および強直性脊椎炎を治療できることが臨床的に証明された抗TNF-抗体セラピー（REMICADE（登録商標）など）がある。これらの自己免疫疾患にはそれぞれ異なる原因があるが、炎症および免疫細胞活性に関連する疾患プロセスの鍵になる免疫学的な要素は同じである。TNF-の産生を抑えるように設計されたストラドマーは、これらの自己免疫疾患でも同様に有効であり、他の自己免疫疾患でも同様に有効であり得る。また、変更される免疫応答プロファイルは、被検体自身の組織を標的している自己抗体などの抗体の産生を抑える直接または間接的な調節であってもよいし、または被検体における自己攻撃性T細胞レベルの変更であってもよい。たとえば、多発性硬化症は、インターフェロン療法で治療できることもある自己反応性T細胞が関与する自己免疫障害である。たとえば、Zafranskaya M, et al., Interferon-beta therapy reduces CD4+ and CD8+ T-cell reactivity in multiple sclerosis, Immunology 2007 May;121(1):29-39 -Epub 2006 Dec 18を参照のこと。自己反応性T細胞レベルを下げるためのストラドマーの設計も同様に多発性硬化症に有効であり、自己反応性T細胞が関与する他の自己免疫疾患にも有効であり得る。

10

【0213】

免疫学的アッセイでの応用

免疫学的に活性な生体模倣薬を設計した際に調節対象とした免疫細胞の機能を試験するための免疫学的アッセイを、本明細書に開示の免疫学的に活性な生体模倣薬を用いて実施することができる。

【0214】

低親和性Fc受容体経路によるシグナル伝達には、細胞表面での受容体の凝集と架橋が必要である。これらの凝集および架橋のパラメータは、抗原特異的標的とのFab結合によって、応答細胞表面でのFc領域と低親和性FcRとの間の以後の相互作用を受けることが前提になっている。これに関連して、抗体には、1. エピトープ特異的標的とのFab相互作用/エピトープ特異的標的の遮断と、2. FcとFcRとの相互作用という2通りの経路で細胞応答を惹起する可能性がある。そのことが分かっているにもかかわらず、in vivoで採用されるモノクローナル抗体を用いる治療研究の大半でなされている現在の制御は、観察される機能的効果に対する寄与因子としてのFc:Fc受容体相互作用の可能性に適切に対処していない。現在、交絡変数としてのFc:FcR相互作用を排除するのに複数の戦略が採用されている。たとえば、エピトープ特異性を保持するがFc領域は欠いているScv（単一鎖可変領域）またはFab断片を採用している研究もある。これらの試薬の半減期が短く、シグナル伝達を誘導する可能性に限りがあるという点で、上記の手法には制約がある。また、Fc断片に融合した受容体またはリガンドで構成される融合タンパク質を採用している研究もある。これらのタイプの手法は、Fab特異的作用を受容体リガンド相互作用のある場合に観察される作用と区別するには役立つが、Fcが介在する作用を効果的に制御するものではない。動物モデルにおける抗体ベースの治療手順の評価でも、見当違いのFab結合部位を有するアイソタイプ制御抗体を採用していることがある。この選択は、Fab結合特異性または親和性とは無関係に同じアイソタイプの抗体間で推定される機能的類似性を論拠としたものである。しかしながら、このように見当違いのアイソタイプ制御を用いることには、根本的な欠陥がいくつかある。

20

30

40

1. これらの抗体のFab断片がリガンドまたは抗原エピトープを結合できないと、Fc受容体架橋が欠如するため、Fc断片が低親和性FcR相互作用によるシグナル伝達を刺激しなくなりやすい。したがって、実験抗体と対照抗体との間で観察される機能的な差異が、FcRを架橋するための手段を欠いたエピトープ特異的標的とのFab相互作用に正しく起因することはあり得ない。

2. これらのアイソタイプが、親抗体とは糖型が異なるか個々の糖型の相対比率が異なる細胞で産生される場合、Fab親和性が同じであったとしても低親和性FcRと高親和性FcRの両方に対する結合が変化する。

【0215】

50

この問題を解決するための完璧な制御は存在しないが、1つの選択肢として、親抗体と同じ細胞で産生され、実験抗体が標的するエピトープの発現レベルに比例する用量で投与されるアイソタイプ特異的ストラドマーを用いることがある。たとえば、ラットで産生されるエピトープ特異的抗体を適切に制御するのは、エフェクター細胞の表面でFc受容体を凝集できるラットのアイソタイプ特異的ストラドマーであろう。

【0216】

通常、有効量の免疫学的に活性な生体模倣薬に免疫細胞を曝露して免疫細胞の活性を周知の方法で調節し、この免疫調節を被験化合物または分子と比較して、被験化合物に同様の免疫調節活性があるか否かを判断する。

【0217】

別の実施形態では、本明細書に記載し、当業者間で周知のさまざまな免疫学的アッセイにおける実験室での制御用の試薬として、熱凝集ストラドマーおよび凝集免疫グロブリンを用いることができる。

【0218】

免疫学的アッセイは、*in vitro*アッセイであっても*in vivo*アッセイでもよく、種が同一または同一ではない免疫学的に活性な生体模倣薬を用いて、ヒト免疫細胞で実施してもよいし、非ヒト免疫細胞で実施してもよいものである。一実施形態では、免疫学的に活性な有効量の生体模倣薬を用いて免疫細胞の活性を調節し、この調節を被験化合物による免疫細胞の調節と比較することで、免疫学的なアッセイを実施する。ストラドマーまたはストラドボディは、他の化合物の免疫学的作用の試験を必要とするアッセイで、陽性対照試薬としての機能を果たすことがある。このアッセイは、受容体発現レベル、サイトカインの放出、混合リンパ球反応を用いることなどの機能の変化に基づいて測定されるエフェクター細胞のFc受容体結合と機能的応答に対して、ストラドマーと比較して、当該モノクローナル抗体の作用を比較できるものである。このように、モノクローナル抗体と部分的に類似した応答をストラドマー（Fabを含まない）で得る場合、そのモノクローナル抗体の作用は、ある程度はそのFabの特異性によるものではなく、エフェクター細胞の複数のFc受容体の結合と架橋に関する一般的な作用によるものである。この同じモノクローナル抗体に由来する同じストラドマーとFabとを含むストラドボディはさらに、エフェクター細胞の複数のFc受容体の結合と架橋に関する一般的な作用と、モノクローナル抗体のFabの特異性とを区別するのに有用なものともなり得る。

【0219】

種特異的抗体とアイソタイプ特異的抗体の生物活性の一部または全部が種特異的ストラドマーおよびアイソタイプ特異的ストラドマーによって複製されれば、Fc-Fc受容体活性が観察される生物活性の種特異的ストラドマーおよびアイソタイプ特異的ストラドマーに起因する部分を担っていることは明らかである。よって、種特異的ストラドマーおよびアイソタイプ特異的ストラドマーは、潜在的な治療抗体を評価して、観察される生物活性が、被験抗体のFab部分または複数のFc受容体と結合して架橋する分子のFc部分の非特異的作用のいずれかに起因しているか否か、起因している場合はどの程度なのかを判断する上で有用である。

【0220】

一実施形態では、本発明の免疫学的に活性な単離された生体模倣薬は、同じ免疫グロブリンのFcクラスに由来する少なくとも2つのFcドメインまたはその部分ドメインを含む、少なくとも1つのストラドマーを含み、この免疫グロブリンFcクラスは、IgG1と、IgG2と、IgG3と、IgG4と、これらの組み合わせとからなる群から選択される。このような生体模倣薬はさらに、 x_1 がI、II、IIIまたはIVである第1のFc R_{x_1} と、 x_2 がI、II、IIIまたはIVである第2のFc R_{x_2} とに特異的に結合できる。これらの生体模倣薬はさらに、複数の天然に生じる凝集IgG免疫グロブリンのFc受容体の架橋またはエフェクター機能に匹敵するかこれよりも優れている、Fc受容体の架橋またはエフェクター機能を含む免疫学的活性を有することを特徴とすることができる。

10

20

30

40

50

【0221】

別の実施形態では、本発明は、異なる免疫グロブリンクラスに由来する少なくとも2つのFcドメインまたはその部分ドメインを含む少なくとも1つのストラドマーを含む免疫学的に活性な単離された生体模倣薬を含み、この生体模倣薬は、 x_1 がI、II、IIIまたはIVである第1のFc R x_1 と、 x_2 がI、II、IIIまたはIVである第2のFc R x_2 とに特異的に結合する。この生体模倣薬はさらに、Fc Rに対する複数の天然に生じる凝集IgG免疫グロブリンのFc受容体の架橋またはエフェクター機能に匹敵するか、これよりも優れている、Fc受容体の架橋またはエフェクター機能を含む免疫学的活性を有することを特徴とすることができる。

【0222】

さらに他の実施形態では、本発明は、各々が独立して3つ以上のFcドメインを含む1つ以上のストラドマーを含む免疫学的に活性な単離された生体模倣薬を含み、3つ以上のFcドメインが、a)第1の免疫グロブリンのFcヒンジ(H)を含む第1のFcドメインと、b)第2の免疫グロブリンの定常領域2(CH2)を含む第2のFcドメインであって、 x_1 がI、II、IIIまたはIVであるFc R x_1 に特異的に結合できる第2のFcドメインと、c)第3の免疫グロブリンの定常領域3(CH3)を含む第3のFcドメインであって、 x_2 がI、II、IIIまたはIVであるFc R x_2 に特異的に結合できる第3のFcドメインと、を含む。これらの生体模倣薬は、任意に第4のFcドメインを含むものであってもよく、第4のFcドメインは、第4の免疫グロブリンIgMの定常領域4(CH4)を含む。この分子では、Fcヒンジが、少なくとも1つのシステインを含むものであってもよい。

【0223】

さらに別の実施形態では、本発明は、
a)少なくとも1つのシステインを含む、第1の免疫グロブリン由来のFcヒンジ(H)ドメインを含み、 x がI、II、IIIまたはIVであるFc R x への特異性の結合に寄与する第1のFcドメインまたはそのFc部分ドメインであって、i)第1の免疫グロブリンと同じであっても異なってもよい第2の免疫グロブリン由来の定常領域2(CH2)を含み、 x がI、IIまたはIII、IVであるFc R x への結合特異性に寄与する、第2のFcドメインまたはその部分ドメインと、任意に、ii)第3の免疫グロブリン由来の定常領域3(CH3)を含み、 x がI、II、IIIまたはIVであるFc R x への結合特異性に寄与する第3のFcドメインまたはその部分ドメインと、のうちの少なくとも1つと、を含む、第1のFcドメインまたはそのFc部分ドメインと、b)、任意に、IgM免疫グロブリン由来の定常領域4(CH4)を指定する第4のFcドメインまたはその部分ドメインと、を含む、免疫学的に活性な単離された生体模倣薬を含む。

【0224】

別の実施形態では、免疫学的に活性な単離された生体模倣薬が、複数のFcドメインの免疫グロブリン源が同一または異なり、IgAアイソタイプ、IgGアイソタイプ、IgD、IgEおよびIgMを含むストラドマーである。他のストラドマーの実施形態は、二次シグナル配列を含む免疫学的に活性な単離された生体模倣薬である。

【0225】

好ましい一実施形態では、本発明の免疫学的に活性な単離された生体模倣薬の治療有効量とは、生体模倣薬が、免疫細胞の免疫細胞表面で2つ以上のFc R x (x はI、II、IIIまたはIVである)と結合することで、Fc R x を凝集させられるだけの十分な量である。免疫細胞は、単球、樹状細胞、マクロファージ、破骨細胞またはNK細胞などのどのような免疫エフェクター細胞であってもよい。免疫エフェクター細胞の成熟は、免疫学的に活性な生体模倣薬で調節できるものである。また、免疫細胞でのFc R I I aとFc R I I bとの比が変化してもよい。免疫細胞は、血漿、骨髄、腸、骨、リンパ系組織、胸腺、脳、感染部位または腫瘍に所在するものであってもよい。マクロファージ、樹状細胞、破骨細胞またはNK細胞の機能的活性を調節することもできる。

【0226】

10

20

30

40

50

上述した免疫学的に活性な単離された生体模倣薬を治療有効量で免疫細胞に *ex vivo* 投与して、処理済みの免疫細胞を生成し、続いて処理済みの免疫細胞を被検体に点滴することを実施することができる。処理済みの免疫細胞は、樹状細胞、マクロファージ、破骨細胞または単球の場合がある。

【0227】

本明細書に記載の任意の免疫学的に活性な単離された生体模倣薬と別の免疫治療剤と一緒に治療有効量で被検体に投与してもよい。別の免疫治療剤としては、たとえば、共刺激分子、モノクローナル抗体、ポリクローナル抗体、融合タンパク質、生体分子特異的抗体、サイトカイン、免疫学的に認識される抗原、小分子抗癌剤または抗増殖剤のうちの一つ以上があげられる。別の免疫治療剤は、免疫学的に活性な生体模倣薬の投与と同時またはそれとは別に投与できるものである。

10

【0228】

サイトカイン（上記にて列挙したものを含む）レベルは、たとえば、該当する一つ以上のサイトカイン、該当する一つ以上のサイトカインのレベルを調節する一つ以上の他のサイトカインおよび/または上記の2つのカテゴリのサイトカインのいずれか一つ以上に対して特異的な抗体（本明細書にて列挙したどのタイプおよびクラスのものであってもよい）を投与することによって、変更可能である。

【0229】

本明細書に記載の免疫学的に活性な生体模倣薬を使用して、樹状細胞、マクロファージ、破骨細胞、単球またはNK細胞を含む免疫細胞由来の共刺激分子の発現を調節したり、あるいはこれらの同じ免疫細胞で、分化、成熟またはインターロイキン-12（IL-12）を含むサイトカイン分泌を阻害あるいはインターロイキン-10（IL-10）またはインターロイキン-6（IL-6）を含むサイトカイン分泌を亢進したりすることができる。当業者であれば、免疫細胞を免疫学的に活性な生体模倣薬に曝露し、免疫細胞機能の調節を測定して免疫学的に活性な生体模倣薬の薬効を確認できるであろう。この場合、免疫細胞は、樹状細胞、マクロファージ、破骨細胞または単球である。一実施形態では、免疫細胞を *in vitro* にて免疫学的に活性な生体模倣薬に曝露し、細胞表面受容体の量またはサイトカイン産生量を判断することをさらに含み、細胞表面受容体の量またはサイトカイン産生量の変化が、免疫細胞機能の調節を表している。別の実施形態では、自己免疫疾患用のモデル動物で免疫細胞を *in vivo* にて免疫学的に活性な生体模倣薬に曝露し、自己免疫疾患の改善の度合いを評価することをさらに含む。

20

30

【0230】

「FcR α に特異的に結合できる」とは、本明細書で使用する場合、FcRIIIなどのFcRへの結合を示す。特異的結合は通常、後に結合アッセイにおいて過剰量の未標識リガンドで置換可能な標識リガンドの量として定義される。しかしながら、これは当該従来分野において十分に確立された他の特異的結合の評価手段を除外するものではない（たとえば、Mendel CM, Mendel DB, 'Non-specific' binding. The problem, and a solution. *Biochem J.* 1985 May 15;228(1):269-72）。表面プラズモン共鳴（SPR）技術（BIAcore（登録商標）として市販されている）などの当該技術分野において周知のさまざまな方法で特異的結合を測定し、免疫学的に活性な生体模倣薬の会合定数と解離定数の両方をキャラクタライズすることができる（Aslan K, Lakowicz JR, Geddes C. Plasmon light scattering in biology and medicine: new sensing approaches, visions and perspectives. *Current Opinion in Chemical Biology* 2005, 9:538-544）。

40

【0231】

固定（fixed）Fcを用いる方法

Fc: Fc受容体（FcRすなわちIgGのFcに対するFc受容体）相互作用の役割と、そのFcが免疫グロブリン内で生物学的に固定化されることのIVIgの機能にとっての重要性を理解するために、本発明者らは、ヒンジ-CH₂-CH₃ドメインを含む、可溶状態の組換えIgG1のFc断片（sFc）と固定状態の組換えIgG1のFc断片（rFCF）の両方で、単球が未熟樹状細胞（iDC）に分化する過程でIVIgが

50

単球の機能におよぼす影響を比較した。

【0232】

顆粒球 - マクロファージコロニー刺激因子 (GM-CSF) およびインターロイキン - 4 (IL-4) にて培養した単球を固定化 rFCF および固定化 IVIG に曝露し、低用量の可溶性 IVIG には曝露せずにおいたところ、細胞での CD86 の発現が亢進され、CD11c の発現が遅れ、CD1a の発現が抑制された。さらに、これらの変化は、プラスチックでの rFCF の非特異的タンパク質の固定化に対する二次的なものでない可能性が高い。可溶性熱凝集 (sHA) IVIG、sHA rFCF または高用量 IVIG (多量体 Fc を含有することが分かっている) が固定化 rFCF で観察されるものと類似の変化を誘発したからである。

10

【0233】

これと一致して、本発明者らのデータは、固体、半固体またはゼラチン状の支持体の表面に固定化した IVIG に iDC を曝露すると、免疫寛容を調整できる DC の独特な個体群 (高 CD86、低 CD1a) が得られ、免疫グロブリン G (IgG) Fc 断片の機能的部分を含む固定化分子が、IVIG の模倣薬として、局所的炎症および全身性炎症ならびに、iDC などの単球由来細胞 (MDC) が直接的または間接的に介在している多種多様な他の病的状態の治療に有用となり得るということを示している。さらに、IgG の Fc 断片の機能的部分を含む分子を用いて、動物 (人間の患者など) の体内に移植されるか体に貼り付けられる、本明細書では「コーティング装置」と呼ぶ装置に、IgG の Fc の機能的部分を固定化することで、このような装置に対する炎症反応を、予防できないにしても減らすことが可能である。

20

【0234】

本発明は、単球由来細胞 (MDC) の活性を阻害する方法を提供するものである。この方法は、細胞を、Fc 試薬が結合した支持体を含む組成物と接触させることを含む。接触は、in vitro、in vivo または ex vivo であってもよい。あるいは、細胞には動物のものが可能である。動物には、単球由来細胞介在性症状 (MDCMC) に罹患しているか、これを発症するリスクのある動物が可能である。MDC には、たとえば、樹状細胞、マクロファージ、単球または破骨細胞が可能である。

【0235】

また、本発明は、治療方法または予防方法を提供するものでもある。本方法は、Fc 試薬が結合した支持体を含む組成物を、MDCMC に罹患しているまたはこれを発症するリスクのある動物に投与することを含む。

30

【0236】

本明細書で使用する場合、「単球由来細胞介在性症状 (MDCMC)」という用語は、直接的または間接的に、部分的または全体的に、単球由来細胞の活性による、あるいは単球由来細胞によって産生された因子による病態を示す。単球由来細胞としては、単球、マクロファージ、指状嵌入樹状細胞 (本明細書では広義に、樹状突起様細胞および濾胞樹状細胞を含む「樹状細胞」と呼ぶ) (成熟および未熟)、破骨細胞、小膠様細胞、単球由来インスリン産生膵島様細胞、単球由来未熟肥満細胞および単球由来微小粒子があげられるが、これに限定されるものではない。

40

【0237】

固定 Fc を用いる方法に鑑みて、「Fc 試薬」という用語は、免疫グロブリン Ig (IgG) Fc 断片の機能的部分を 1 つ以上 (たとえば、2、3、4、5、6、7、8、9、10、12、15、18、20 またはそれより多く) 含む分子または分子錯体を示す。IgG の Fc 断片は、互いに結合した IgG 分子の 2 つの IgG 重鎖の C 末端部分からなり、互いに結合した両方の重鎖のヒンジ領域と、CH2 ドメインと、CH3 ドメインとで構成される。「IgG の Fc 断片の機能的部分」は、ヒンジ領域と、CH2 ドメインと、任意に、互いに結合した両方の重鎖の CH3 ドメインの最初の 50 個 (N 末端から) のアミノ酸のうち全部または一部 (たとえば、1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、2

50

4、25、26、27、28、29、30、31、32、33、34、35、36、37、38、39、40、41、42、43、44、45、46、47、48または49)とから構成される。ヒトでは、(a) IgG1のヒンジ領域は15個のアミノ酸を含み、CH2ドメインは110個のアミノ酸を含み、CH3ドメインは106個のアミノ酸を含む；(b) IgG2のヒンジ領域は12個のアミノ酸を含み、CH2ドメインは109個のアミノ酸を含み、CH3ドメインは107個のアミノ酸を含む；(c) IgG3のヒンジ領域は62個のアミノ酸を含み、CH2ドメインは104個のアミノ酸を含み、CH3ドメインは106個のアミノ酸を含む；(d) IgG4のヒンジ領域は12個のアミノ酸を含み、CH2ドメインは109個のアミノ酸を含み、CH3ドメインは107個のアミノ酸を含む。

10

【0238】

野生型IgG分子と同様に、上述したFc試薬では、IgG重鎖由来の2つのポリペプチド鎖は通常同一であるが、必ずしもそうでなくてもよい。このため、Fc試薬には、IgG分子全体、非免疫グロブリン由来ポリペプチドに結合したIgG分子全体、IgGのFc断片、非免疫グロブリン由来ポリペプチドに結合したIgGのFc断片、IgGのFc断片の機能的部分、非免疫グロブリン由来ポリペプチドに結合したIgGのFc断片の機能的部分あるいは、これらのいずれかの多量体(二量体、三量体、四量体、五量体、六量体、七量体、八量体、九量体または十量体など)が可能であるが、これに限定されるものではない。また、上記のFc試薬の定義に含まれるのであれば、Fc試薬は上述したストラドマーおよびストラドボディであってもよい。

20

【0239】

固定Fcでは、Fc試薬の免疫グロブリン重鎖成分が、野生型のアミノ酸配列を有するものであってもよいし、または野生型アミノ酸配列であってもよいが、アミノ酸置換は20以下(19、18、17、16、15、14、13、12、11、10、9、8、7、6、5、4、3、2または1以下など)とする。このような置換は、好ましくは保存された置換であるが、必ずしもそうでなくてもよい。保存された変化は一般に、以下の群に含まれる変化を含む。グリシンおよびアラニン；バリン、イソロイシン、およびロイシン；アスパラギン酸およびグルタミン酸；アスパラギン、グルタミン、セリンおよびトレオニン；リジン、ヒスチジンおよびアルギニン；フェニルアラニンおよびチロシン。

30

【0240】

本発明の「Fc試薬」は、Fc試薬のIgG重鎖成分の誘導元となったIgG分子(基準IgG分子)が該当するFc受容体を結合する機能の最小25%(たとえば、少なくとも30%；40%；50%；60%；70%；80%；90%；95%；98%；99%；99.5%；または100%またはさらに多く)を有する。「Fc試薬」が2タイプ以上のIgG分子に由来する重鎖成分を有する場合、基準IgG分子は、該当する関連のFc受容体に最大の結合力で結合するIgG分子である。

【0241】

本明細書で使用する場合、「固定Fc」とは、以下で定義するようにして「支持体」に結合したFc試薬を示す。「固定Fc」、「結合Fc」および「安定化Fc」という表現は、同義の表現である。固定Fcは、支持体に付着したFcの機能的部分(Fcの機能的部分を含むポリペプチドを含むがこれに限定されるものではない)で構成される。固定Fcとしては、たとえば、Fcのポリマーによる支持体への直接結合ならびに間接結合；単離時におけるIgGのFc全体の取り込み；IgGのFcの機能ドメインのみの取り込み；あるいは、抗体、ストラドマーまたはストラドボディなどの大きなポリペプチドの一部としてのIgGのFcまたはIgGのFcの機能ドメイン全体の取り込みがあげられる。

40

【0242】

固定Fcに適用する場合、「支持体」という用語は、固体、半固体またはゼラチン状の物質を示す。支持体は、動物の身体に埋め込み、あるいは動物の身体の表面に貼り付け(または付着)可能なものである。支持体としては、たとえば、液体または気体状の成分があげられるが、支持体の少なくとも一部は固体、半固体またはゼラチン状である。このよ

50

うに、支持体は、水性溶媒には実質的に不溶であるが、非水性溶媒には可溶の物質であってもよい。このような物質としては、脂質（リン脂質など）、脂肪酸および他の脂溶性・水性溶媒不溶性化合物があげられる。このことから、支持体がリポソームを含むことは明らかであろう。支持体は多孔性であっても非多孔性であってもよい。特定の実施形態では、支持体は、これを植込み、貼り付ける、あるいは付着させる表面および/または身体に対して不活性である。

【0243】

支持体は、ナイロン、テフロン（登録商標）、ダクロン、ポリ塩化ビニル、PEU（ポリ（エステルウレタン））、PTFE（ポリテトラフルオロエチレン）、PMMA（メタクリル酸メチル）PEEK、熱可塑性エラストマー、X線不透過性ポリマー、ポリエーテルスルホン、シリコン、ポリカーボネート、ポリウレタン、ポリイソブチレンおよびその共重合体、ポリエステル、ポリオレフィン、ポリイソブチレン、エチレン オレフィン共重合体、アクリルポリマーおよび共重合体、ビニルハライドポリマーおよび共重合体（ポリ塩化ビニル、ポリビニルエーテル、ポリビニルメチルエーテル、ポリビニリデンハライド、ポリフッ化ビニリデン、ポリ塩化ビニリデンなど）、ポリアクリロニトリル、ポリビニルケトン、ポリビニル芳香族、ポリスチレン、ポリビニルエステル、ポリ酢酸ビニル、ビニル単量体の共重合体、ビニル単量体とオレフィンの共重合体、エチレン - メタクリル酸メチル共重合体、アクリロニトリル - スチレン共重合体、ABS樹脂、エチレン - 酢酸ビニル共重合体、ポリアミド、ナイロン66、ポリカプロラクトン、アルキド樹脂、ポリオキシエチレン、ポリイミド、ポリエーテル、エポキシ樹脂、レーヨン - トリアセテート、セルロース、酢酸セルロース、セルロースブチレート、セルロースアセテートブチレート、セロファン、硝酸セルロース、プロピオン酸セルロース、セルロースエーテル、カルボキシメチルセルロース、コラーゲン、キチン、ポリ乳酸、ポリグリコール酸、ポリ乳酸 - ポリエチレンオキシド共重合体、ポリシロキサン、置換ポリシロキサン、エチレン酢酸ビニル共重合体、ポリオレフィンエラストマー、EPDMゴムおよびこれらの組み合わせなどの合成ポリマーを含有するものであってもよいし、上記の合成ポリマーで作製したものであってもよい。

10

20

30

40

【0244】

また、支持体は、ステンレス鋼、白金、イリジウム、チタン、タンタル、ニッケル - チタン合金またはコバルトクロム合金などの金属または金属合金を含有するものであってもよいし、これで作製したものであってもよい。さらに、支持体は、組織または臓器移植片などの動物組織または動物組織製品を含むものであってもよいし、それであってもよい。動物組織には、骨（骨化骨（osteogenic bone）など）または軟骨が可能である。さらに、支持体は、コラーゲンまたはケラチンなどのタンパク質を含むものであってもよい。また、支持体は、無細胞組織マトリックスなどの組織マトリックスであってもよいし、これを含有するものであってもよい。微粒子および非微粒子無細胞マトリックスが、米国特許第5,336,616号および同第6,933,326号（その開示内容全体を本明細書に援用する）などに詳細に説明されている。また、支持体は、動物細胞（線維芽細胞、間葉系幹細胞などの組織修復細胞）であってもよいし、これを含むものであってもよく、植毛プラグなどであってもよい。支持体は、アガロースなどの多糖を含有するものであってもよいし、それであってもよい。さらに、好ましくは硫酸カルシウムなどの比較的不溶性の塩である塩を含有するものであってもよいし、それであってもよい。支持体は、ゲルまたはクリームであってもよい。さらに、シリコンまたはサイラスティックを含有するものであってもよい。また、支持体は、絹、綿または羊毛などの天然繊維を含有するものであってもよい。

【0245】

また、支持体は植込み型の医療器具であってもよい。たとえば、ステント（たとえば、冠動脈ステントなどの血管ステント；気管内ステントまたは経鼻ステントなどの気道ステント；胆管ステントまたは膵管ステントなどの消化管ステント；または尿管ステントなどの尿道ステント）であってもよいし、外科用縫合糸（絹縫合糸、腸線縫合糸、ナイロン、

50

プラスチックまたは金属縫合糸など)または止血鉗子(動脈瘤クリップなど)であってもよい。支持体は、たとえば、人工股、人工股関節、人工膝、人工膝関節、人工肩、人工肩関節、人工指関節または足趾関節、骨接合板、骨釘、骨癒合不全用インプラント、椎間板インプラント、骨セメントまたは骨セメントスペーサであってもよい。また、動静脈シャント、植込み型リード、ペースメーカー、人工心臓、心臓補助装置、人工内耳、植込み型除細動器、脊髄神経刺激装置、中枢神経系刺激装置または末梢神経移植片であってもよい。他の支持体に、義歯または歯冠がある。

【0246】

他の実施形態では、支持体は、大血管血栓フィルタ装置またはケージ、経皮装置、皮膚パッチまたは粘膜下パッチまたは植込み型薬剤送達装置であってもよい。また、支持体は、大血管グラフトであってもよく、この場合の血管は、たとえば、頸動脈、大腿動脈または大動脈である。さらに、支持体は、皮下インプラント、角膜移植片、眼内レンズまたはコンタクトレンズであってもよい。

10

【0247】

支持体は、シート、ビーズ、メッシュ、粉末粒子、撚糸、ビーズまたは繊維の形であってもよい。また、固体、半固体またはゼラチン状物質を含むものであってもよいし、それであってもよい。

【0248】

本発明において有用なポリマーは、特に装置の体内への挿入または植込み時に生体安定性かつ生体適合性で、体組織への刺激のないものであると好ましい。

20

【0249】

Fc試薬は、さまざまな方法のうちの任意の方法で、支持体にコーティング(すなわち固定または安定)することが可能なものである。たとえば、疎水性の相互作用などによってFc試薬を貼り付けた状態に維持する支持体の表面に、これを直接コーティングすることが可能である。以下、ポリマーの使用を伴ういくつかの他の方法論((a)~(e))をあげておく。

(a) Fc試薬を混和性ポリマーブレンドと混合し、続いてこれを植込み型の合成材料の表面に積層することで、Fc試薬を安定させる。ポリマーブレンドを生成するのに当該技術分野において日常的に用いられている単量体としては、PLMA[ポリ(メタクリル酸ラウリル)];PEG[ポリエチレングリコール]、PEO[ポリエチレンオキシド];アルキル官能化メタクリレートポリマーPMMA、PEMA、PPMAおよびPBMA;イタコン酸塩;フマル酸塩;およびスチレン系樹脂があげられる。

30

(b) ポリマーアンダーコート層またはナノメートル寸法のフィルムを支持体表面に付着させた後、Fc試薬をポリマーアンダーコート層またはナノメートル寸法のフィルムに付着させることで、Fc試薬を安定させる。

(c) ポリマー単量体の薄膜を植込み型の支持体表面に適用した後、単量体を重合させる。このような単量体としては、たとえば、メタン、テトラフルオロエチレン(Tetrafluorethylene)、ベンゼン、メタノール、エチレンオキシド、テトラグリム、アクリル酸、アシルアミン、メタクリル酸ヒドロキシエチル、N-ビニルピロリジノン、メルカプトエタノールがあげられる。続いて、得られる単量体にFc試薬を貼り付ける。

40

(d) Fc試薬に付着するタンパク質Aまたはアルブミンなどのタンパク質を支持体にコーティングすることで、Fcを支持体の表面で安定させる。

(e) 植込み型の合成材料に結合して安定したFcを均一に配向させる疎水性アミノ酸の鎖をFc試薬にタグ付けすることが可能である。

【0250】

本発明の方法はどのような動物の種にも適用可能であり、Fc試薬のIgG由来部分の作製元となったIgG分子もどのような動物の種のものであってもよい。当然、関連の動物種は、IgGまたはIgG様分子が生じるものである。通常、この方法が適用される種と、Fc試薬のIgG由来の部分を用いた種は同じである。しかしながら、これらは必ずしも同じでなくてもよい。関連の動物種は、好ましくは哺乳動物であり、ヒト

50

、非ヒト霊長類（サル、ヒヒ、チンパンジーなど）、ウマ、ウシのような動物（去勢されていない雄牛、雌牛または去勢された雄牛など）、ブタ、ヤギ、ヒツジ、イヌ、ネコ、ウサギ、アレチネズミ、ハムスター、ラット、マウスがあげられるが、これに限定されるものではない。哺乳類以外の種としては、たとえば、鳥類（ニワトリ、シチメンチョウ、アヒルなど）および魚類があげられる。

【0251】

「治療する」、「治療」および「予防」という表現は、固定Fcを使用してストラドマーおよびストラドボディで上述したものと同一意味である。

【0252】

固定FcがFc試薬をコーティングした植込み型装置の場合、当該技術分野において周知の方法を用いて、これを関連する被検体の関連の内臓または組織または体表面に植込み、貼り付ける、あるいは付着させることができる。また、これが懸濁液や粉末などとして処方される場合、ストラドマーおよびストラドボディの場合について上述したようにして処方および投与することが可能である。

10

【0253】

本発明の固定Fc試薬は、癌、鬱血性心不全（CHF）、血管炎、酒さ（rosecea）、ざ瘡、湿疹、心筋炎および他の心筋症状、全身性紅斑性狼瘡、糖尿病、脊椎症、滑膜線維芽細胞、および骨髄間質；骨減少症；パジェット病、肥大性骨形成；廃用性骨減少症；栄養不良、歯周病、ゴースェ病、ランゲルハンス細胞組織球症、脊髄損傷、急性化膿性関節炎、骨軟化症、クッシング症候群、単骨性線維性骨異形成症（monoostotic fibrous dysplasia）、多骨性線維性骨異形成症、歯周組織再建および骨折、骨疼痛管理および腫瘍随伴体液性高カルシウム血症、強直性脊椎炎および他の脊椎関節症；移植拒絶およびウイルス感染を含むがこれに限定されるものではない、症状の治療または予防に使用できるものである。

20

【0254】

自己免疫疾患はすべて、多かれ少なかれMDCMDであり得る。「自己免疫疾患」という用語は、本明細書で使用する場合、さまざまな群に分けられる80を超える慢性病を示す。これらの疾患ではいずれも、背景にある問題は身体の免疫系が身体自体を攻撃してしまうことにある。自己免疫疾患は、結合組織、神経、筋肉、内分泌系、皮膚、血液、呼吸器系および消化器系を含むあらゆる主要な体組織に影響を与える。

30

【0255】

自己免疫疾患または症状は、特発性血小板減少性紫斑病、同種免疫性/自己免疫性血小板減少症、後天性免疫性血小板減少症、自己免疫性好中球減少症、自己免疫性溶血性貧血、パルボウイルスB19関連赤血球形成不全、後天性抗第VII因子自己免疫疾患、後天性フォンウィルブランド病、多発性骨髄腫および意義不明の単クローン性高ガンマグロブリン血症、敗血症、再生不良性貧血、赤芽球痺、ダイヤモンド・ブラックファン貧血、新生児溶血性疾患、免疫介在性好中球減少症、血小板輸血不応状態、新生児輸血後紫斑病、溶血性尿毒症症候群、全身性血管炎、血栓性血小板減少性紫斑病またはエバンス症候群を含むがこれに限定されるものではない、血液免疫学的プロセスの場合がある。

40

【0256】

自己免疫疾患または症状は、ギラン・バレー症候群、慢性炎症性脱髄性多発ニューロパチー、IgM-M蛋白血症を伴う脱髄性ニューロパチー、ランバート・イートン症候群、重症筋無力症、多巣性運動ニューロパチー、抗GM1抗体を伴う下位運動ニューロン症候群、脱髄、多発性硬化症および視神経炎、全身硬直症候群、抗Yo抗体陽性傍腫瘍性小脳変性症、腫瘍随伴脳脊髄症、抗Hu抗体陽性感覚性ニューロパチー、癲癇、脳炎、脊髄炎、特にヒトT細胞性白血病ウイルス1型関連の脊髄症、自己免疫性糖尿病性ニューロパチーまたは急性特発性自律神経ニューロパチーを含むがこれに限定されるものではない、神経免疫学的プロセスの場合がある。

【0257】

自己免疫疾患または症状は、川崎病、関節リウマチ、フェルティ症候群、ANCA陽性

50

血管炎、特発性多発性筋炎、皮膚筋炎、抗リン脂質症候群、再発性自然流産、全身性紅斑性狼瘡、若年性特発性関節炎、レイノー病、CREST症候群またはブドウ膜炎を含むがこれに限定されるものではない、リウマチ性疾患プロセスの場合がある。

【0258】

自己免疫疾患または症状は、中毒性表皮壊死融解症、脱疽、肉芽腫、尋常性天疱瘡、水疱性類天疱瘡、落葉状天疱瘡を含む自己免疫性で皮膚水疱を呈する疾患、尋常性白斑、連鎖球菌毒素ショック症候群、強皮症、びまん性皮膚硬化型強皮症および限局皮膚硬化型強皮症を含む全身性強皮症またはアトピー性皮膚炎（特にステロイド依存性）を含むがこれに限定されるものではない、皮膚免疫学的疾患プロセスの場合がある。

【0259】

自己免疫疾患または症状は、封入体筋炎、壊疽性筋膜炎、炎症性ミオパチー、筋炎、抗デコリン（BJ抗原）ミオパチー、傍腫瘍性壊死性ミオパチー、X連鎖性空胞性ミオパチー、ペナシラミン誘導多発性筋炎、アテローム性動脈硬化症、冠動脈疾患または心筋症を含むがこれに限定されるものではない、筋骨格免疫学的疾患プロセスの場合がある。

【0260】

自己免疫疾患または症状は、悪性貧血、自己免疫性慢性活動性肝炎、原発性胆汁性肝硬変、セリアック病、疱疹状皮膚炎、原因不明肝硬変、反応性関節炎、クローン病、ホイップル病、潰瘍性大腸炎または硬化性胆管炎を含むがこれに限定されるものではない、胃腸免疫学的疾患プロセスの場合がある。

【0261】

自己免疫疾患または症状は、移植片対宿主病、抗体による移植片拒絶、骨髄移植後拒絶、感染症後の炎症、リンパ腫、白血病、腫瘍症、喘息、抗細胞抗体の存在する1型糖尿病、シェーグレン症候群、混合性結合組織病、アジソン病、フォークト・小柳・原田症候群、膜性増殖性糸球体腎炎、グッドパスチャー症候群、グレーブス病、橋本甲状腺炎、ウェグナー肉芽腫症、顕微鏡的多発動脈炎、チャグ・ストラウス症候群、結節性多発動脈炎または多臓器不全の場合がある。

【0262】

本明細書における「癌」とは、一般に未制御の細胞成長を特徴とする哺乳動物における生理学的症状を示すまたは説明するものである。癌の例としては、癌腫、リンパ腫、芽細胞腫、肉腫（脂肪肉腫、骨原性肉腫、血管肉腫、内皮肉腫、リンパ管肉腫、リンパ管内皮肉腫、平滑筋肉腫、横紋筋肉腫、線維肉腫、粘液肉腫、軟骨肉腫を含む）、骨巨細胞腫、神経内分泌腫瘍、中皮腫、脊索腫、滑膜腫、神経鞘腫、髄膜腫、腺癌、黒色腫および白血病またはリンパ系腫瘍があげられるが、これに限定されるものではない。このような癌のさらに特定の例としては、扁平上皮癌（上皮の扁平上皮癌など）、小細胞肺癌、非小細胞肺癌、肺腺癌および肺扁平上皮癌、小細胞肺癌腫を含む肺癌、腹膜の癌、肝細胞癌、胃腸癌を含む胃の癌または胃癌、膵臓癌、神経膠芽腫、子宮頸癌、卵巣癌、肝癌、膀胱癌、肝細胞癌、乳癌、結腸癌、直腸癌、結腸直腸癌、子宮内膜癌または子宮癌、唾液腺癌、腎臓癌または腎癌、前立腺癌、外陰癌、甲状腺癌、肝臓癌、肛門癌、陰茎癌、精巣癌、食道癌、胆道の腫瘍、ユーイング腫瘍、基底細胞癌、腺癌、汗腺癌、皮脂腺癌、乳頭癌、乳頭状腺癌、嚢胞腺癌、髄様癌、気管支原性肺癌、腎細胞癌、肝細胞癌、胆管癌、絨毛癌、精上皮腫、胚性癌、ウィルムス腫瘍、精巣腫瘍、肺癌腫、膀胱癌腫、上皮癌、神経膠腫、星状細胞腫、髄芽腫、頭蓋咽頭腫、上衣腫、松果体腫、血管芽細胞腫、聴神経腫、乏突起膠腫、髄膜腫、黒色腫、神経芽細胞腫、網膜芽細胞腫、白血病、リンパ腫、多発性骨髄腫、ワルデンストローム・マクログロブリン血症、骨髄異形成疾患、重鎖病、神経内分泌腫瘍、神経鞘腫および他の癌腫、頭頸部癌、急性骨髄性白血病（成熟型AML、未分化型AML、急性前骨髄球性白血病、急性骨髄単球性白血病および急性単球性白血病を含む）、骨髄異形成症候群、慢性骨髄増殖性疾患（慢性骨髄性白血病を含む）などの骨髄性腫瘍、中枢神経系の腫瘍、たとえば、脳腫瘍（神経膠腫、神経芽細胞腫、星状細胞腫、髄芽腫、上衣腫、および網膜芽細胞腫）、固体腫瘍（上咽頭癌、基底細胞癌、膵臓癌、胆管の癌、カボジ肉腫、精巣癌、子宮癌、陰癌または子宮頸癌、卵巣癌、原発性肝癌または子宮体癌、脈

10

20

30

40

50

管系の腫瘍（血管肉腫および血管外皮腫（hemagiopericytoma））、造血器腫瘍（hematologic neoplasias）および腫瘍様症状、たとえば、ホジキンリンパ腫；非ホジキンリンパ腫（パーキットリンパ腫、小リンパ球性リンパ腫／慢性リンパ球性白血病、菌状息肉腫、マントル細胞リンパ腫、濾胞性リンパ腫、びまん性大細胞型B細胞リンパ腫、辺縁帯リンパ腫、有毛細胞白血病およびリンパ形質細胞性白血病）、B細胞急性リンパ芽球性白血病／リンパ腫およびT細胞急性リンパ芽球性白血病／リンパ腫を含むリンパ球前駆細胞の腫瘍、胸腺腫、末梢性T細胞白血病や成人T細胞白血病／T細胞リンパ腫および大顆粒リンパ球性白血病を含む成熟T細胞およびNK細胞の腫瘍、溶骨性の骨癌および骨転移があげられる。

【0263】

本明細書で使用する場合、「単球由来細胞介在性疾患（MDCMD）を発症するリスクのある」被検体とは、MDCMDを発症する素因すなわち、MDCMDを発症する遺伝的素因を有する被検体あるいは、MDCMDにつながり得る条件に曝露された被検体である。「MDCMDに罹患している疑いのある」被検体とは、MDCMDの1つ以上の症候が認められる被検体である。上記から、「MDCMDを発症するリスクのある」被検体と、「MDCMDに罹患している疑いのある」被検体はいずれも、関心の対象となる種に含まれる個体ではないことは明らかであろう。

【0264】

上記の方法のいずれにおいても、MDCMCは支持体によって生じるものである可能性があり、Fc試薬がMDCMCを防止または寛解する機能を果たす。

【実施例】

【0265】

実施例1 - 免疫学的に活性な生体模倣薬のコンストラクト設計

ヒトIgG₁由来のFc断片単量体をコードする配列（配列番号1）を、選択した制限酵素開裂部位と、IgKシグナル（下記にてさらに定義する）と、エピトプタグを含む発現ベクター（pCDNA 3.1D/V5 His TOPO Invitrogen）にクローニングし、図17（配列番号19）に示すIgG₁単量体配列 { RestEnz Sites - IgKシグナル - RestEnz Sites - IgG₁（ヒンジ - CH₂ - CH₃） - RestEnz Sites - エピトプタグ（V5およびHis） - STOP } を作製した。タンパク質産生のために、このコンストラクトをCHO細胞（CHO-002）にトランスフェクトした。また、本発明者らは、以下の一般構造を有するいくつかのストラドマーコンストラクトも設計した。

a) { RestEnz Sites - IgKシグナル - RestEnz Sites - IgG₁（ヒンジ - CH₂ - CH₃） - XbaI部位 - IgG₁（ヒンジ - CH₂ - CH₃） - STOP }（配列番号21）（図4Aおよび図18も参照）；

b) { RestEnz Sites - IgKシグナル - RestEnz Sites - IgG₁（ヒンジ - CH₂ - CH₃） - XbaI部位 - IgG₁（ヒンジ - CH₂ - CH₃） - RestEnz Sites - エピトプタグ（V5およびHis） - STOP }（配列番号23）（図19も参照）；

c) { RestEnz Sites - IgKシグナル - EcoRV部位 - IgG₃（ヒンジ - CH₂ - CH₃） - IgG₁（ヒンジ - CH₂ - CH₃） - RestEnz Sites - エピトプタグ（V5およびHis） - STOP }（配列番号25）（図21も参照）；

d) { RestEnz Sites - IgKシグナル - EcoRV部位 - IgE（CH₂） - IgG₁（ヒンジ - CH₂ - CH₃） - IgG₁（ヒンジ - CH₂） - IgE（CH₄） - STOP }（配列番号27）（図22も参照）

【0266】

IgG₁ストラドマーコンストラクトa)（配列番号21；図18）をPCRで改変した。IgG₁のヒンジ配列と（5'末端で）相補なプライマー（配列番号29）と、IgG₁のC末端と（3'末端で）相補なプライマー（配列番号30）とを用いて、IgG₁

10

20

30

40

50

ヒンジ - F c 領域を増幅した。プライマーに制限部位を加えて、p c D N A クローニングベクター (pCDNA 3.1DN5 His TOPO、Invitrogen) にクローニングした第 1 の F c ドメインと一続きでインフレームになるように第 2 の F c ドメインをクローニングできるようにした。C 末端プライマーの制限部位の前に停止コドンを加え、このコンストラクトのランキング配列のリードスルーを防止した。

【 0 2 6 7 】

ストラドマーコンストラクト b) (配列番号 2 3 ; 図 1 9) を同様に作製した。このコンストラクトは、上述したような I g G₁ F c - I g G₁ F c を含有するものであるが、C 末端に 2 つのエピトープタグも加えた。これらのエピトープタグは、タンパク質の同定または精製に用いられる。この第 2 のコンストラクトでは、2 つのエピトープタグである V 5 と H i s タグが停止コドンの前にインフレームで存在している。

10

【 0 2 6 8 】

通常はごく普通に分泌されるタンパク質には、タンパク質の N 末端に疎水性のシグナル配列が含まれる。ストラドマーコンストラクトの場合、本発明者らは、チャイニーズハムスター卵巣細胞などの哺乳類細胞からの分泌時にタンパク質から取り出した I g K シグナル配列 M E T D T L L L W V L L L W V P G S T G (配列番号 3 5) を使用した。予測切断部位は、シグナル部位切断予測用のアルゴリズム (SignalP 3.0) に基づくものであった。

【 0 2 6 9 】

上述したような I g G₁ F c - I g G₁ F c 構造を (エピトープタグ付きおよびタグなしで) 含む上記の a) および b) と類似の別のストラドマーコンストラクトを作製したが、このコンストラクトには I g G₃ のヒンジドメインを使用して次のとおりとした。I g G₁ F c - I g G₃ のヒンジ - I g G₁ (C H 2 - C H 3) 。

20

【 0 2 7 0 】

実施例 2 - 免疫学的に活性な生体模倣薬の設計と試験

コーティングされた I V I G とコーティングされた F c が同様の表現型の変化を刺激する滅菌プレートのウェルの壁面と底面にコーティングすると、I V I G および F c は未熟 D C で C D 1 a および C D 8 6 レベルのほぼ等しい変化を刺激し、C D 1 1 c の上方制御を遅らせる。I T P における D C の重要な役割であるとされている役割がゆえに、これらのデータによって、ストラドマーなどの I V I G 模倣薬の機能を評価するための合理的なモデルが得られる。本発明者らは、I V I G によって誘導される表現型の変化が組換え F c によって完全に再現されることから、I V I G が D C に対しておよぼす作用に F c が存在している可能性が極めて高いであろうという結論にも至っている。

30

【 0 2 7 1 】

ストラドマーの生成

本発明者らは、I V I G が未熟 D C に対しておよぼす作用を模倣するために、4 通りのクラスのストラドマーを作製した。特に明記する場合を除いて、以下の表 3 に示すシリアルストラドマー、クラスターストラドマーを含むクラスターストラドマー単位、コアストラドマーを含むコアストラドマー単位、F c 断片ストラドマーを各々生成した。以下に示すヒトコンストラクト各々について適切な配列を得るには、ヒト P B M C から抽出した全 R N A から c D N A を合成した。他の種からこれらの配列を得るには、これらの種の組織から R N A を精製した。ランダムプライミングを利用して、c D N A を生成した。c D N A を用いて P C R で所望の断片を増幅し、合成し、クローニングした後、D N A 断片の配列解析によってキャラクタライズした。最終コンストラクトをオーバーラップエクステンション P C R での連結によって作製 (Horton RM, Hunt HD, Ho SN, Pullen, JK and Pease LR. Engineering hybrid genes without the use of restriction enzymes: gene splicing by overlap extension. Gene 77:6168, 1989) したか、これに適合する既存の制限部位を利用して適当な断片を融合した。

40

【 0 2 7 2 】

たとえば、G - 0 0 7 のクローニングでは、I g E の C H 4 ドメインをタンパク質の 3

50

’末端でIgG1のCH2ドメインに直接融合させた。これは、IgG1のCH2（C末端）とIgEのCH4のN末端アミノ酸とのオーバーラップ配列を有するプライマーをすることで達成した。ある例では、ハイブリッドプライマーを用いてIgG1配列のある5’を増幅し、相補的プライマーを用いてIgEのCH4のC末端からの3’プライマーで増幅を実施した。これらの2つの反応の産物を混合し、フランキングプライマーを用いて融合タンパク質を増幅した。配列解析によってコンストラクトを確認した。

【0273】

多くの例で、連結対象となる分子の末端に都合よく存在する制限部位を利用した。制限部位が融合状態にある場合、結合された配列の末端に検出可能なレムナント制限配列がある。以下の表3に示すほとんどのコンストラクトに、この手法を用いた。表3に示すストラドマーのアミノ酸配列を図24にあげておく。いくつかの配列については、タンパク質の精製に有用であることが当該技術分野において周知のHis-タグと一緒に示してある。

10

【0274】

【表3】

表3

シリアルストラドマー

	N末端	Hin	CH2	CH3	Hin	CH2	CH3			
G-003		IgG1	IgG1	IgG1	IgG1	IgG1	IgG1			
G-004		IgG1	IgG1	IgG1	IgG1	IgG1	IgG			
G-007	IgECh2	IgG1	IgG1	IgG1	IgG1	IgG1		IgECh4		
G-011	IgECh2	IgG1	IgG1	IgG1	IgG1	IgG1	IgG1			
G-012	IgECh2	IgG1	IgG1	IgG1	IgG1	IgG1	IgG1	IgECh4		
G-012	IgECh2	IgG1	IgG1	IgG1	IgG1	IgG1	IgG1	IgECh4		
G-014		IgG1	IgG1	IgG1	IgG1	IgG1	IgG1	IgG1	IgG1	IgG1
G-016		IgG3	IgG3	IgG3	IgG1	IgG1	IgG1			
	(x-b)RestEnz									
G-017	リンカー	IgG1	IgG	IgG1x-b	IgG1	IgG1	IgG1			
G-023		IgG1	IgG1	IgG1	IgG1	IgG1	IgG1	Ig3H 32/62		
G-024		IgG3	IgG3	IgG3	IgG1	IgG1	IgG1	IgG1	IgG1	IgG1
G-025	107aa	IgG1	IgG1	IgG1						
G-026	107aa	IgG1	IgG1	IgG1	IgG1	IgG1	IgG1			

20

30

【0275】

【表4】

Fc断片ストラドマーおよびコアストラドマー組成

	N末端	Hin	CH2	CH3	Hin	CH2	CH3
G-002		IgG1	IgG1	IgG1			
G-022		IgG1	IgG1	IgG1	IgG3Hing		

40

【0276】

【表 5】

クラスターストラドマー単位

	N 末端	Hin	CH2	CH3	Hin	CH2	CH3	
G-008		IgG1	IgG1	IgG1	IgG1	IgG1	IgG1	IgMのCH3-CH4-TP
G-009		IgG1	IgG1	IgG1	IgMCH3-CH4-TP			
G-010	IgECh2	IgG1	IgG1	IgG1				
G-018		IgG2	IgG2	IgG2	IgG1	IgG1	IgG1	
G-019	IgG2Hing	IgG1	IgG1	IgG				
G-020	IgG2Hing	IgG1	IgG1	IgG1	IgG1	IgG1	IgG1	
G-021	IgG2Hing	IgG1	IgG1	IgG1				10
G-027	IgECh2-IgECh2	IgG1	IgG1	IgG1				
G-028	ILZ	IgG1	IgG1	IgG1				
G-029	ILZ-IgECh2	IgG1	IgG1	IgG1				
G-030	ILZ	IgG2	IgG2	IgG2	IgG1	IgG1	IgG1	
G-031	ILZ-IgG2hing	IgG1	IgG1	IgG1				
G-032	ILZ-ILZ	IgG1	IgG1	IgG1				
G-033	IgG2Hing-IgECh2		IgG1	IgG1	IgG			
G-034	IgG2hing-ILZ	IgG2	IgG2	IgG2	IgG1	IgG1	IgG1	
G-035	IgG2hing-IgG2hing	IgG1	IgG1	IgG1				
G-036	IgG2hing-ILZ	IgG1	IgG1	IgG1				

【 0 2 7 7】

20

【表 6】

作製予定

	N 末端	H	CH2	CH3	H	CH2	CH3	H	CH2	CH3
401		IgG1	IgG1	IgG1	IgG3	IgG3	IgG3			
402		IgG3	IgG1	IgG1	IgG3	IgG1	IgG1			
403		IgG1	IgG3	IgG1	IgG1	IgG3	IgG1			
404		IgG3	IgG3	IgG1	IgG3	IgG3	IgG1			
406		IgG1	IgG1	なし	IgG3	IgG3	なし			
407		IgG3	IgG3	IgG3	IgG3	IgG3	IgG3	IgG3	IgG3	IgG3
408		IgG1	IgG1	IgG1	IgG3	IgG3	IgG3	IgG1	IgG1	IgG1
409		IgG3	IgG3	IgG3	IgG1	IgG1	IgG1	IgG3	IgG3	IgG3
410		IgG3	IgG1	IgG1	IgG3	IgG1	IgG1	IgG3	IgG1	IgG1
411		IgG3	IgG3	IgG1	IgG3	IgG3	IgG1	IgG3	IgG3	IgG1
412		IgG1	IgG1	IgG4CH4	IgG3	IgG3	IgG4CH4	IgG1	IgG1	IgGCH4
413		IgG1	IgG1		IgG3	IgG3		IgG1	IgG1	
414		IgG1	IgG1	IgG1	IgG1	IgG1	IgG1	IgG1	IgG1	IgG1
415		IgG3	IgG3	IgG3	IgG3	IgG3	IgG3	IgG3	IgG3	IgG3

【 0 2 7 8】

ストラドマータンパク質の発現

ストラドマーのタンパク質を発現させるために、上述したストラドマーをコードするプラスミド DNA を CHO 懸濁細胞 (Freestyle (商標) MAX CHO expression system, Invitrogen CA) にトランスフェクトした。タンパク質発現後、発現されたストラドマーを、タンパク質 A 親和性カラムまたはタンパク質 G 親和性カラムを用いる親和性カラムクロマトグラフィによって、培地から精製した。精製ストラドマーを還元条件下にて SDS-PAGE (ドデシル硫酸ナトリウムポリアクリルアミドゲル電気泳動) で分析した後、クマシーブルー (Coomassie Blue) 染色によって、たとえば以下の想定された大きさの単量体タンパク質バンドの存在を確認した。G - 0 0 2 : 約 3 5 K D のバンド、G - 0 0 4 : 約 7 0 K D のバンド、G - 0 1 0 : 約 4 5 K D のバンド、G - 0 1 1 : 約 8 0 K D のバンド、G - 0 1 2 : 約 8 5 K D のバンド、G - 0 1 8 : 約 7 0 K D のバンド、G - 0 1 9 : 約 3 5 K D、G - 0 2 8 : 約 3 7 K D のバンド。ここに記載のストラドマーをコードするプラスミド DNA を、HEK 293、BHK 細胞、マウス NSO、マウス SP2/0 細胞などの他の哺乳

50

乳類細胞にトランスフェクトすることも可能である。

【0279】

多量体形成

本発明者らの観察によれば、これらのコンストラクトをトランスフェクトし、培養し、精製すると、未変性タンパク質および変性タンパク質の解析で想定された大きさのタンパク質を生成することができる。また、本発明者らの観察によれば、特定の化合物でも、大きさの基準に照らすと想定される二量体タンパク質の多量体であるさらに大きなバンドが認められた。

【0280】

選択したストラドマーによる高次化合物の形成を、非還元条件(A)および還元条件(B)下にて、SDS-PAGEで分析後にウェスタンブロットにて分析した。SDS-PAGE分析では、ストラドマーG-002、G-010およびG-019の高分子量化合物の形成が示されており、これを非還元条件下と還元条件との対比であげておく。

・G-002：還元条件下で約35KDのバンド - 非還元条件下では約70KD(二量体)および135KD(四量体)にバンド

・G-010：還元条件下で約45KDのバンド - 非還元条件下では約90KD(二量体)および180KD(四量体)にバンド

・G-019：還元条件下で約35KDのバンド - 非還元条件下では約70KD(二量体)、140KD(四量体)にバンド

【0281】

本発明者らは、二量体化タンパク質の四量体および他の高次の多量体が、未熟樹状細胞アッセイで測定される化合物の生物活性に大きく影響するだろうと予測している(下記参照)。

【0282】

ストラドマー単量体、ストラドマーおよびストラドマーの高次の多量体が認識部位を維持する

表3のタンパク質はいずれも、ウサギ抗ヒトIgG(Fc)[Thermo Scientific 31789]によって認識される。このことから、本発明者らは、これらのタンパク質が各々この抗体に対する認識部位を維持しているという結論に至っている。

【0283】

プラズモン共鳴イメージング

表3のストラドマーがFcRIIIaを結合する能力を表面プラズモン共鳴(SPR)技術(Biacore(登録商標)として市販)で評価した。pH5.0の酢酸緩衝液にてリガンドを濃度5ug/mlまで希釈し、ヒトFcRIIIaをアミンカップリングによってCM5 Biacoreチップに直接固定化した。リガンドをRUが250になるまで指定のフローセルに5ul/分の速度で流した。その後、フローセルをエタノールアミンでブロックした。ストラドマーとIVIgをHBS-EP(0.01M HEPES、pH7.4; 0.15M NaCl; 3mM EDTA; 0.005% Surfactant P20)で1000nMまで希釈し、500nM、250nM、125nM、最後に62.5nMに段階希釈した。緩衝液(HBS-EP)のみを含有するベースライン試料も含めた。すべての試料で流速を20ul/分とした。3分間の添加時間で合計60ulの試料を添加した。約10分間という長めの時間フローセルにランニング緩衝液を流し、再生をおこなった。

【0284】

500nMで、ヒトFcRIIIaに流した場合のベースラインに対するストラドマーG-010コンストラクトの実測Req(平衡)は24.9RUであり、1:1結合モデルを用いた場合のKDは1.95e-7であった。ヒトFcRIIIaに流した500nMのIVIgでは、Reqが63.6RU、1:1結合モデルを用いた場合のKDが1.89e-7であった。したがって、G-010はFcRIIIaに結合すると判断された。他の生体模倣化合物でも同様の結合能を評価した。以下、例をいくつかあげておく。

10

20

30

40

50

【 0 2 8 5 】

【 表 7 】

	1:1w 物質移動				二価フィット	
	Rmax	Chi2	KD(M)	KA(I/M)	Rmax	Chi2
対照:						
陰(マウス IgG2a)	2.05	0.451	4.7e-9	2.1e8	5.21	0.39
陽(IVIG)	87.7	6.8	1.9e-7	5.3e6		
生体模倣薬:						
002	6.46	1.12	2.2e-8	4.9e7	16.7	0.82
004	30.2	1.74	4.8e-8	2.5e7	88.2	2.47
011	25.9	0.361	5.5e-6	1.8e7	57.4	0.15

10

【 0 2 8 6 】

本発明者らは、これらのタンパク質のプラズモン共鳴解析による組換えFc R I I I aに対する結合能はさまざまであり、G - 0 1 0などの特定の化合物は二価のカーブにフィット (bivalent curve fit) するが、これは二価抗体で見られるものと一致し、ストラドマーがFc R I I I aに多価結合できることを示しているという結論に至っている。

【 0 2 8 7 】

20

ストラドマーはIVIGの生物学的作用を模倣する

これらのストラドマーの生物学的機能を評価した。表3におけるストラドマーそれぞれが、ITPの個体でIVIGの機能的有用性を模倣する機能を判断するために、本発明者らは未熟樹状細胞 (iDC) を用いる *in vitro* アッセイを開発した。標的細胞としてiDCを選択するにあたり、IVIGで処理したマウス由来のDCの養子移入によって、未処理の動物がITPの発症から保護されることを示す公開データをその論拠とした (Siragam, V. et al. Intravenous immunoglobulin ameliorates ITP via activating Fc[gamma] receptors on dendritic cells. Nat Med 12, 688 (2006))。本発明者らの初期研究において、本発明者らは、コーティングつまりプレートに固定した組換えFc (rFc) およびIVIGが、IL - 4およびGM - CSFの存在下にて培養したヒトCD 1 4 + 細胞でのさまざまな活性化、成熟および共刺激マーカーの発現に対しておよぼす影響を評価した。サイトカインだけの中で培養した細胞と比較すると、コーティングされたIVIGまたはコーティングされたrFcに曝露した細胞では、CD 8 6発現の著しい増大とCD 1 a発現の下方制御ならびにCD 1 1 c上方制御の遅延が認められた。

30

【 0 2 8 8 】

次に、本発明者らは、コーティングされたIVIGまたはコーティングされたFcがiDCに対しておよぼすここに記載の作用を、表3のストラドマーが模倣するか否かを判断した。以下の化合物は、プレートウェルの壁面と底面にコーティングしたときに、その作用を確かに模倣した：G - 0 0 2、G - 0 0 4、G - 0 0 5、G - 0 1 4、G - 0 1 8およびG - 0 1 9。以下の化合物は、プレートウェルの壁面と底面にコーティングしたときに、その作用を模倣しなかった：G - 0 1 0、G - 0 1 1およびG - 0 1 2。

40

【 0 2 8 9 】

以下の化合物は、可溶性のときに、コーティングされたIVIGまたはコーティングされたFcがiDCに対しておよぼす作用を確かに模倣した：G - 0 0 2、G - 0 1 0、G - 0 1 4、G - 0 1 8およびG - 0 1 9。以下の化合物は、可溶性のときに、その作用を模倣しなかった：G - 0 0 4、G - 0 0 5、G - 0 1 1およびG - 0 1 2。

【 0 2 9 0 】

コーティングされたIVIGに対するiDCの曝露が炎症促進性刺激に対する以後の応答に影響するか否かを試験することが可能である。

【 0 2 9 1 】

50

これらのデータから、本発明者らは以下の結論を導き出した。

i . 選択 (select) ストラドマーは、組織培養プレートにコーティングすると、コーティングされた I V I G が C D 8 6 を上方制御し、未熟 D C での C D 1 a の発現を抑制する機能的な能力を模倣する

i i . 可溶性の形態にて低用量で投与した選択 (select) ストラドマーは、コーティングされた I V I G が C D 8 6 を上方制御し、i D C での C D 1 a の発現を抑制する機能的な能力を模倣する

i i i . 特定のストラドマーが、可溶性の形態とコーティングされた形態の両方で表現型の変化を誘導でき、G - 0 1 0 などの他のストラドマーは、可溶性の形態であれば表現型の変化を誘導できるが、コーティングされた形態では誘導できない

i v . G - 0 0 2 から形成された F c 断片ストラドマーおよび G - 0 1 0 から形成されたクラスターストラドマーから明らかのように、異なる構造のストラドマーが生物活性となり得る

v . ストラドマー単量体の二量体化によって想定されるよりも大きい構造がタンパク質解析で認められ、これらの多量体構造が I V I G に匹敵する生物活性に相当することがある

v i . 二量体化ストラドマー単量体から作製したストラドマーは、複数の F c 受容体と結合と一致する二価フィットをプラズモン共鳴で示すことができることから、ストラドマーの多量体三次構造の存在を示唆している。

【 0 2 9 2 】

実施例 3 - 熱凝集生体模倣薬のほうが I V I G よりも強力である

ストラドマーは、凝集免疫グロブリン、特にこれらの免疫グロブリンの凝集 F c 断片の生物活性模倣薬である。場合によっては、本明細書に記載の生体模倣薬の熱凝集によって生物活性を高めることが可能である。本発明者らは、本明細書で説明するような熱凝集生体模倣薬が、I V I G と同じくらい強力になり得るという結論に至っている。

【 0 2 9 3 】

実施例 4 - F c 断片はいくつかの活性を呈する

F c 断片は、タンパク質をコーティングすることでプラスチックに固定し、それによってコーティングされた I V I G を模倣する生物学的挙動を得る、上述した実験における陽性対照として用いられてきている。また、F c 断片は、リポソーム、ビーズまたはアルブミンなどのコア部分に貼り付けたときなどに、コアストラドマー単位としても使用可能である。さらに、本発明者らは、C H O - S 細胞を用いて Invitrogen FreestyleMax 過性形質転換系などの特定の発現系と特定の細胞型で F c 断片を培養すると、この断片からタンパク質解析で高次の多量体を形成でき、プラズモン共鳴イメージングで二価結合パターンが得られ、未熟 D C アッセイでは可溶性の形態でコーティングされた I V I G に匹敵する強い生物活性が得られることも実証した。したがって、本発明者らは、特定の慎重に制御した条件下では、F c 断片が F c 断片ストラドマーを形成するという結論に至っている。この作用は、グリコシル化の変化などの翻訳後修飾による場合がある。

【 0 2 9 4 】

実施例 5 - F c をコーティングしたビーズであるコアストラドマーが、コーティングをほどこしていないビーズに比して貪食の可能性を変えることができる

Ficoll Hypaque 密度勾配遠心法を利用して、健常なドナーの軟膜から P B M C を単離する。単離後、P B M C を P B S で 2 回洗浄する。次に、M A C S 分離カラム (Miltenyi) を用いて C D 1 4 + 細胞を精製する。精製細胞を計数し、8 0 0 u g / m l の G M - C S F と 5 n g / m l の I L - 4 とを含有する R P M I 完全培地 2×10^5 / m l に再懸濁させる。次に、6 ウェル非組織培養滅菌プレートのウェルに細胞を播種する。C D 1 4 + 細胞を非組織培養に播種後、飽和量の F c または I V I G をコーティングしたか、あるいはこれを使用していないポリスチレン F I T C マイクロスフェア (0 . 5 2 u m) を 1 : 1 の比で細胞に加え、3 7 ° C 、 5 . 0 % C O 2 で 6 日間インキュベートした後、F A C S によりマイクロスフェアの貪食を分析する。

【0295】

I V I GをコーティングしたビーズとF cをコーティングしたビーズの両方ともコアストラドマーとして機能し、よってコーティングをほどこしていないビーズに比して貪食の可能性を変えることができる。

【0296】

実施例6 - F c R I I I結合親和性を変更した免疫学的に活性な生体模倣薬の設計

I g G 1の共通の残基の組が、あらゆるF c Rとの結合に関与していることが明らかになっている。また、I g G 1分子の別の残基がF c R I IおよびF c R I I Iの両方に対する結合に関与していることも実証されている。残基によっては、変化すると1つ以上の受容体の結合を阻害するものもある。興味深いことに、S298A/K334Aの特定の二重変異がF c I I I aの結合を亢進し、F c I I bの結合を低下させた。これらの残基は、図16に示すストラドマーコンストラクトについて言及されている（両方のアミノ酸でアスタリスクを使用）。したがって、本発明者らは、部位特異的突然変異誘発を使用して、配列番号17でコードされるが対応するS298A/K334A変異のある構造を有するストラドマー分子を生成することが可能である。

10

【0297】

実施例7 - 組換えタンパク質の発現

上述した組成物を生成するのに適した多数の発現系が存在する。特に、真核生物ベースの系を採用して、核酸配列またはその対応するポリペプチド、タンパク質およびペプチドを産生することが可能である。このような系の多くが広く一般に市販されている。

20

【0298】

好ましい実施形態では、標準化プロトコールに準じて免疫グロブリンタンパク質の組換え生成が十分に確立されているチャイニーズハムスター卵巣（CHO）細胞を用いて本明細書に記載のストラドマーを作製する。あるいは、たとえば、トランスジェニック動物を利用して、一般には十分に確立されたトランスジェニック動物技術を用いる動物の乳への発現によって、本明細書に記載のヒトストラドマーを産生してもよい。Lonberg N. Human antibodies from transgenic animals. Nat Biotechnol. 2005 Sep;23(9):1117-25; Kipriyanov SM, Le Gall F. Generation and production of engineered antibodies. Mol Biotechnol. 2004 Jan;26(1):39-60; また、Ko K, Koprowski H. Plant biopharming of monoclonal antibodies. Virus Res. 2005 Jul;111(1):93-100も参照のこと。

30

【0299】

昆虫細胞/バキュロウイルス系は、米国特許第5,871,986号、同第4,879,236号（いずれも全体を本明細書に援用する）に記載されているように異種核酸セグメントのタンパク質を高レベルで発現でき、たとえば、商品名MAXBAC（登録商標）2.0として、INVITROGEN（登録商標）およびBACPACK（商標）BACULOVIRUS EXPRESSION SYSTEM FROM CLONTECH（登録商標）から購入可能である。

【0300】

発現系の他の例としては、合成エクジソン誘導受容体を利用したSTRATAGENE（登録商標）のCOMPLETE CONTROL（商標）誘導哺乳類発現系があげられる。誘導発現系の別の例が、全長CMVプロモーターを用いる誘導哺乳類発現系であるT-REX（商標）（テトラサイクリン調節発現）系を有するINVITROGEN（登録商標）から入手可能である。また、INVITROGEN（登録商標）は、ピヒア・メタノリカ（*Pichia methanolica*）発現系と呼ばれる酵母発現系も提供しているが、これはメチロトロフ酵母のピヒア・メタノリカ（*Pichia methanolica*）系を利用して組換えタンパク質を高レベルで生成するよう設計されたものである。本明細書に記載の発現コンストラクトなどのベクターをどのように発現させてそのコードされた核酸配列またはその対応するポリペプチド、タンパク質またはペプチドを生成するかは、当業者であれば知っているであろう。概要については、Recombinant Gene Expression Protocols By Rocky S. Tuan, Humana Press (1997)、ISBN 0896033333; Advanced Technologies for Biopharmaceutical Processing By Roshni L. Dutton, Jeno M. Scharrer, Blackwell Publishing (2007)、ISBN 0813805171; Recombinant Protein Productio

40

50

n With Prokaryotic and Eukaryotic Cells By Otto-Wilhelm Merten, Contributor European Federation of Biotechnology, Section on Microbial Physiology Staff, Springer (2001), ISBN 0792371372を参照のこと。

【 0 3 0 1 】

実施例 8 - 免疫学的に活性な生体模倣薬の発現と精製

実施例 1 および 2 で説明した核酸コンストラクトを、天然の状態では I g を発現しない細胞系にトランスフェクトする。コードされるポリペプチドが、その分泌リーダー配列がゆえに分泌タンパク質として発現されるが、これは通常、細胞から運び出される際に内因性プロテアーゼによって除去されるか、当該技術分野において周知の技術によって後から切断除去できるものである。これらの分泌される免疫学的に活性な生体模倣薬を、タンパク質 A または H i s タグを用いる当該技術分野において周知のクロマトグラフ的な方法で精製し、還元および / または非還元 S D S P A G E (ドデシル硫酸ナトリウムポリアクリルアミドゲル電気泳動) で大きさを確認する。

10

【 0 3 0 2 】

実施例 9 - 大規模製造向けの免疫学的に活性な生体模倣薬の発現と精製

細菌、昆虫細胞または酵母を含むさまざまな系を用いて特定のタンパク質を大量に生成可能であるが、哺乳類細胞で発現させると、タンパク質のグリコシル化の変更による問題を最小限にすることができる。C H O 細胞などの哺乳類細胞が、I g 骨格に融合したさまざまなタンパク質の過剰生成に用いられている。コンストラクトの F c ドメインが、タンパク質親和性カラム精製による細胞上清からの以後の精製を可能にするタグになる (Harris, CL, DM Lublin and BP Morgan Efficient generation of monoclonal antibodies for specific protein domains using recombinant immunoglobulin fusion proteins: pitfalls and solutions., J. Immunol. Methods 268:245-258, 2002)。多くの融合タンパク質が、I g の定常領域、具体的には C H 2 および C H 3 部分 F c ドメイン単量体とトインフレームで直接的にクローニングされる。I g 発現対象となるインターフェロン 受容体細胞外ドメインの発現の特定の例が、機能的活性を有するタンパク質を大量に生成するのに用いられている (Fountoulakis, M, C. Mesa, G. Schmid, R. Gentz, M. Manneberg, M. Zulauf, Z. Dembic and G. Garotta, Interferon gamma receptor extracellular domain expressed as IgG fusion protein in Chinese hamster ovary cells: Purification, biochemical, characterization and stoichiometry of binding, J. Biol. Chem.. 270:3958-3964, 1995)。

20

30

【 0 3 0 3 】

実施例 10 - F c グリコシル化を変更した免疫学的に活性な生体模倣薬の設計

ホモ抗体に関して Shields らが説明している方法と基本的には同じ方法によって、フコースをタンパク質糖鎖に加えるための酵素活性を欠いた突然変異 C H O 細胞に脱フコシル化 F c ドメインを作製することが可能である。これらを用いて、同じ分子のフコシル化型よりも F c R I I I 結合親和性の高いストラドマーを発現させる。(Robert L. Shields, et al. Lack of Fucose on Human IgG1 N-Linked Oligosaccharide Improves Binding to Human Fc RIII and Antibody-dependent Cellular Toxicity. J. Biol. Chem., Jul 2002; 277: 26733-26740 (doi:10.1074/jbc.M202069200))。

40

【 0 3 0 4 】

F c N - グリカンでのシアリル化が変化することによって、生物活性を高められることが明らかになっている。Kaneko Y, Nimmerjahn F, Ravetch JV. Science. 2006 Aug 4; 313(5787):627-8. このように、シアリル化が変化したストラドマー分子を同様の方法で生成することが可能である。

【 0 3 0 5 】

ストラドマーの F c ドメインのグリコシル化を変更するための別の手段として、特定のグリコシル化構造を有するポリペプチドを生成するための化学酵素的な技術があげられる。Li, B., Song, H., Hauser, S., and Wang, L. X. 2006. A Highly Efficient Chemoenzymatic Approach Toward Glycoprotein Synthesis. Org. Lett. 8:30813084を参照のこと

50

と。また、国際特許出願第 P C T / U S 0 7 / 7 0 8 1 8 号も参照のこと。

【 0 3 0 6 】

実施例 1 1 - F c R I I I a (1 7 6 V / F) 多型の融合コンストラクト

上述したように、I V I G の抗炎症活性は F c ドメインと F c R I I I a との一次相互作用に依存する。これらの相互作用を (S P R) 技術で効果的に定量化し、2つの認識された F c R I I I a の多型変異体 (1 7 6 V / F) がある免疫学的に活性な生体模倣薬の会合定数と解離定数の両方をキャラクタライズ可能である。本発明者らの F c ドメイン単量体対照およびストラドマーコンストラクトの結合親和性と解離を定義するために、1 7 6 位に V (配列番号 3 3) と F (配列番号 3 1) の両方の多型変異体がある F c R I I I a H I S タグ融合タンパク質を生成する (図 2 0) 。これらの配列を p C D N A 3.1 10
に入れ、C H O 細胞にトランスフェクトすることが可能である。これらの F c R I I I a 融合タンパク質を親和性 N i ²⁺ カラムでトランスフェクト細胞の上清から精製し、タンパク質を精製する。F c R I I I a 融合タンパク質をすべて、c D N A シーケンシングと S D S P A G E の両方でキャラクタライズする。

【 0 3 0 7 】

当該技術分野におけるさまざまな他のプロトコールを利用して F c R I I I a を発現させ、免疫学的に活性な生体模倣薬との相互作用をキャラクタライズすることが可能である。たとえば、Robert L. Shields, et al. High Resolution Mapping of the Binding Site on Human IgG1 for Fc RI, Fc RII, Fc RIII, and FcRn and Design of IgG1 Variants with Improved Binding to the Fc R. J. Biol. Chem., Feb 2001; 276: 6591-66 20
04 (doi:10.1074/jbc.M009483200) の材料および方法の章を参照のこと。

【 0 3 0 8 】

実施例 1 2 - 免疫学的に活性な生体模倣薬の機能の I n v i t r o でのスクリーニング

実施例 1 にあげたものなどの免疫学的に活性な生体模倣薬の機能を試験するために、i n v i t r o でのアッセイを設計して、天然の F c ドメインが i n v i v o で炎症を抑える機序であると思われる機序を再現する。最近になって、h I V I G が D C の成熟を阻害し、I L - 1 0、I L - 1 2 および T N F - の分泌を変化させることが実証された (Bayry, J, et al., Inhibition of maturation and function of dendritic cells by intravenous immunoglobulin, Blood 101(2):758-765(2003)) 。本発明者らのストラドマーは、h I V I G と類似の D C に対する作用に介在する。i n v i t r o でのサイト 30
カイン分泌の変化と D C の成熟阻害が、多くのストラドマーコンストラクトのいくつかの生物学的活性を定義するための有効な手段として機能し得る。上述したストラドマーコンストラクトを以下の実験パラメータでさらに確認してもよい。

【 0 3 0 9 】

【表 8】

表 4

群	実験条件	結果判定 1 (FACS)	結果判定 2 ELISA/Elispot
1	なし	CD1a,14,40,80,83,86, HLADR	IL-10, IL-12, TNFa, IL-23
2	可溶性 IVIG	CD1a,14,40,80,83,86, HLADR	IL-10, IL-12, TNFa, IL-23
3	固定 IVIG	CD1a,14,40,80,83,86, HLADR	IL-10, IL-12, TNFa, IL-23
4	可溶性 Fc	CD1a,14,40,80,83,86, HLADR	IL-10, IL-12, TNFa, IL-23
5	固定 Fc	CD1a,14,40,80,83,86, HLADR	IL-10, IL-12, TNFa, IL-23
6	可溶性ストラドマー	CD1a,14,40,80,83,86, HLADR	IL-10, IL-12, TNFa, IL-23
7	固定ストラドマー	CD1a,14,40,80,83,86, HLADR	IL-10, IL-12, TNFa, IL-23

【 0 3 1 0 】

表 4 に示す好ましい i n v i t r o アッセイにおいて、適当な結合親和性を有する 40

10

20

30

40

50

可溶性の免疫学的に活性な生体模倣薬がヒトDC表現型に対しておよぼす影響を測定する。可溶性の非架橋天然配列Fcドメインコンストラクトを対照として用いることが可能である。活性化のマーカー(CD80、CD83およびCD86)ならびにFcRを含め、DC表面の特定のDCマーカーが評価されている。Prechtel AT, Turza NM, Theodoridis AA, Steinkasserer A. CD83 knockdown in monocyte-derived DCs by small interfering RNA leads to a diminished T cell stimulation. *J Immunol*. 2007 May 1;178(9):5454-64を参照のこと。また、複合解析を採用して本発明者らの免疫学的に活性な生体模倣薬がDCでのサイトカイン産生におよぼす影響を評価することが可能である。Jongbloed, Sarah L., et al. Enumeration and phenotypic analysis of distinct dendritic cell subsets in psoriatic arthritis and rheumatoid arthritis. *Arthritis Res Ther*. 2006; 8(1): R15 (2005年12月16日にオンライン発行。doi: 10.1186/ar1864)。最後に、DCが単球と予想どおり相互作用することを確認するために、対照DCならびに、免疫学的に活性な生体模倣薬に曝露したDCを精製単球とともに培養し、FcRIIa受容体ならびに、単球の活性化状態に関連する他の細胞表面決定因子を活性化するレベルの変化をフローサイトメトリーで評価する。

10

【0311】

特定の実施形態では、ストラドマーによって免疫細胞に存在するFcRIIa受容体を減らし、これによって、免疫細胞の機能の阻害につながる阻害FcRIIb受容体とFcRIIa受容体との比を大きくすることができる。

【0312】

実施例13 - 免疫学的に活性な生体模倣薬の機能のIn vivoでのスクリーニング

特発性血小板減少性紫斑病、多発性硬化症、喘息、炎症性腸疾患などの多数の自己免疫疾患について、in vivo試験用の当該技術分野において周知の動物モデルが確立されている。Wu GF, Laufer TM. The role of dendritic cells in multiple sclerosis. *Curr Neurol Neurosci Rep*. 2007 May;7(3):245-52; Targan SR, Karp LC. Defects in mucosal immunity leading to ulcerative colitis. *Immunol Rev*. 2005 Aug;206:296-305。たとえば、現在ITPの多数のモデルを利用できる。たとえば、Crow AR, et al. IVIG inhibits reticuloendothelial system function and ameliorates murine passive immune thrombocytopenia independent of anti-idiotypic reactivity. *Br J Haematol*. 2001;115:679-686を参照のこと。免疫系を調節するよう設計された免疫学的に活性な生体模倣薬を、特定の自己免疫疾患ごとの必要性に応じて、このようなin vivoモデルで確認することが可能である。重要なことに、これらのモデルの多くでは、hIVIGを投与すると、抗炎症作用に関連する偽陽性を目立たなくしたり、これを発生させたりする可能性がある外来種(マウスなど)の抗ヒト抗体応答が起こりやすい。

20

30

【0313】

本発明者らは、以下の方法論に基づいて特発性血小板減少性紫斑病のマウスモデルを確立した。C57BL6マウスの尾静脈から穿刺採血し、血小板数を測定した。血液10 μ lを15 μ lのクエン酸緩衝液で希釈した。次に、HemaVet 950血球計算器で試料の血小板数の絶対値を分析した。ITP対照群のマウスでは、2日目から開始して、毎日午後に、BD Biosciences pharmingenから入手した抗血小板抗体であるラット抗マウスCD41(MWReg30)2 μ gを腹腔内注射することで、血小板を減少させた。IVIG前処理対照群のマウスには、毎朝2g/kg(40mg/マウス)のヒトIVIGと、ITP対照群と同じ用量のMWReg30を腹腔内注射した。本発明者らは、この誘導ITPモデルでは血小板数に対するIVIGの保護性が極めて高いと判断し、このモデルが血小板数の減少に対する相対的な保護の度合いについてIVIGとの比較でストラドマーを試験するのに有用であるという結論に至っている。このモデルでは、以下のようにしてさまざまな濃度でストラドマーを評価し、IVIGに対する保護を評価することが可能である。

40

実験群

- 1) 対照 - ITPなし、IVIGなし
- 2) ITP対照群 - 2日目から開始してMWReg30を毎晩2 μ g

50

- 3) I V I G 前処理群 - 2日目から開始して I V I G を毎朝 40 mg と MWReg30 を毎晩 20 mg
- 4) 10^{12} の Fcドメイン I V に相当するストラドマーを毎朝
- 5) 10^{11} の Fcドメイン I V に相当するストラドマーを毎朝
- 6) 10^{10} の Fcドメイン I V に相当するストラドマーを毎朝
- 7) 10^9 の Fcドメイン I V に相当するストラドマーを毎朝
- 8) 10^8 の Fcドメイン I V に相当するストラドマーを毎朝
- 9) 10^7 の Fcドメイン I V に相当するストラドマーを毎朝
- 10) 10^6 の Fcドメイン I V に相当するストラドマーを毎朝

【0314】

10

実施例 14 - I T P 治療における免疫学的に活性な生体模倣薬の *in vivo* 薬効の確認

I T P の他のマウスモデルでは、正常な B 細胞機能を欠損したマウスを用いることが可能である。正常な B 細胞機能の欠損は、マウスにヒト Fc 断片または Fc 部分断片を投与することで生成されるマウス抗ヒト Fc 断片抗体のイディオタイプ - 抗イディオタイプ作用ならびに、結果としての偽陽性の結果をなくす機能を果たす。B 細胞機能の欠損は、たとえば、抗 B 細胞抗体を投与することで生成可能であるか、あるいは成熟 B 細胞が欠損した m 鎖ノックアウトマウス (Jackson Labs 株 B6.129S2-Igh^{6tm1Cgn}/J) などの遺伝子改変マウスで発生する。

【0315】

20

免疫適格状態の動物由来の未修飾 P B M C または B 細胞除去 P B M C のいずれかを用いて、免疫欠損マウスの免疫系を再構成する。続いて、これらの動物を当該技術分野において十分に定義された技法を用いて抗血小板抗体で処置し、I T P を模倣する。この動物をさらに、以下のスキームに従って免疫学的に活性な生体模倣薬で処置する。

【0316】

【表 9】

表 5. I T P 治療における [hIgG₁ Fcドメイン-hIgG₁ Fcドメイン] (配列番号 22) の免疫学的に活性な生体模倣薬の *in vivo* 薬効

群	動物番号	マウスの再構成に用いる PBMC	治療	結果判定
1	5	なし	IgG1 の Fc	血小板数
2	5	なし	IgG1 の Fc-IgG1 の Fc ストラドマー	血小板数
3	5	未修飾	IgG1 の Fc	血小板数
4	5	未修飾	IgG1 の Fc-IgG1 の Fc ストラドマー	血小板数
5	5	B 細胞除去	IgG1 の Fc	血小板数
6	5	B 細胞除去	IgG1 の Fc-IgG1 の Fc ストラドマー	血小板数
7	5	未修飾	hIVIg	血小板数

30

【0317】

40

群 1 および 2 は、血小板破壊に必要な抗血小板抗体を産生するための B 細胞を持たないため、抗体点滴時に I T P を発症しないと思われる。群 3 および 4 では、内因性マウス抗体が h I g G₁ Fcドメインエピトープと反応して h I g G₁ Fc 単量体ポリペプチドを架橋させるため、{ h I g G₁ Fc - h I g G₁ Fc } ストラドマーポリペプチドと h I g G₁ Fc 単量体ポリペプチドが両方とも I T P を効果的に寛解させると想定される。これとは対照的に、内因性マウス抗体の非存在下では、I T P の寛解にあたって非架橋 I g G₁ Fc 単量体ポリペプチド (群 5) よりも { h I g G₁ Fc - h I g G₁ Fc } ストラドマーポリペプチド (群 6) のほうが効果的である。群 7 は、治療効果の陽性対照として機能する。

【0318】

実施例 15 - ストラドマータンパク質の静注製剤を用いた I T P の患者の治療 (配列番号

50

18および22)

一次免疫応答の血小板減少性紫斑病の診断と管理に関するExecutive Committee of the American Society of Hematologyの実務ガイドラインなどのITP h I V I G療法の標準的なガイドラインに従う方法で、配列番号17および21でコードされる代表的なストラドマータンパク質を用いるITPの治療プロトコルを利用する。George, JN, et al. Idiopathic thrombocytopenic purpura: a practice guideline developed by explicit methods for the American Society of Hematology. Blood. 1996 Jul 1;88(1):3-40を参照のこと。また、the 2000 guidelines by Italian pediatric hematologists、the 2003 British hematologists guidelines、the 2006 Japanese pediatric hematologists guidelinesも参照のこと。あるいは、治療プロトコルの投与量の約0.1~約0.0101倍の投与量での初期投与段階をITP用のストラドマーIVプロトコルに含むようにしてもよい。低用量の初期段階は、長期的な抗炎症作用を十分に誘導できる状態を保ちつつ、ストラドマー投与によるあらゆる短期的な炎症誘発作用を最小限にするよう設計され、これを次の第二段階で上述した標準投与量に高めて維持する。この別の手法は、ストラドマーのいくつかの実施形態には、Fc R I I aの発現が減少することで、短期的な炎症作用と長期的な抗炎症作用の両方が生じる場合があることを論拠としたものである。1つまたは複数の初期の低用量を使用して、短期的な炎症作用を最小限に抑えつつ、長期的な抗炎症作用を刺激することが可能である。

10

【0319】

ストラドマーの有効用量は通常、h I V I Gの有効用量の約0.01%~約15%、一層好ましくは、h I V I Gの有効用量の約0.1%~約3%である。ITPにおけるh I V I Gの有効用量は通常、10~21日ごとに投与される約100mg/Kg~約2グラム/Kgの範囲である。

20

【0320】

ストラドマー静注製剤は、FDA承認のh I V I G製剤と実質的に同じになるが、いくつかのh I V I G製剤に存在する安定剤が除外されることがある。たとえば、Baxter Healthcare Corporationによって流通され、ITP療法用にFDAで承認されているGammagard S/Dの製品インサート (product insert) を参照のこと。

【0321】

実施例16 - コアストラドマーの腹腔内投与を用いたITPの患者の治療

30

リポソームなどのコア部分に固定されたFc断片に相当する代表的なストラドマータンパク質を用いるITPの治療プロトコルを、標準的な静脈内IVIGプロトコルでの投与量の約1%から約0.001%の投与量で腹腔内投与して利用する。この別の手法の論拠は、安定した製剤で腹腔に送達される固定Fc断片で構成されるコアストラドマーによって、IVIGよりも実質的に低用量でこれと同様に単球由来のエフェクター細胞に影響する複数のFcドメインが得られる点にある。

【0322】

実施例17 - 免疫学的に活性な生体模倣薬 (ストラドボディ) の設計

2つのストラドボディを構成し、トランスフェクトした。それぞれのストラドボディについて、該当する抗体を発現するハイブリドーマ細胞系由来の全RNAからコードcDNAを合成した。ハイブリドーマ細胞系の樹立については当該技術分野において周知である。BD SMART (商標) RACE増幅キット (Clontech CA) によって、抗体の重鎖領域と軽鎖領域をコードする該当cDNAの増幅を実施した。抗体のさまざまな領域の重鎖および軽鎖をコードするcDNAの生成に、多数の他の方法を利用できる (Sassano, M. et. al., 1994. Nucleic Acids Res. May 11;22(9):1768-9; Jones, S.T., Bendig, M.M., 1991. Biotechnology (NY) Jan: 9(1):88-9)。ストラドボディを生成するには、オーバーラップエクステンションPCRでの連結 (HuttonおよびPease) によるか、適当な断片を融合するためのこれに適合する既存の制限部位を利用するか、のいずれかの方法で、重鎖可変領域をストラドマーコンストラクトと融合させる。CHO-S細胞でストラドボディタンパク質を発現させ、タンパク質Aカラムアフィニティ精製によって細胞上清から単離する。該

40

50

当する抗原に対する精製ストラドボディの結合を、この抗原を発現する細胞系を用いるフローサイトメトリー結合研究で確認する。

【0323】

エフェクターとしてNK細胞、標的として抗原発現腫瘍細胞を、さまざまなエフェクター対標的比で用いる標準的なADCCアッセイを利用して、同じFab領域を有するストラドボディとモノクローナル抗体(Mab)が高および低抗原発現腫瘍細胞系に対するADCCを誘導する潜在性を比較する。高エピトープ発現細胞系に対するNKアッセイではペアにしたMabと同様の結果を示すが、低エピトープ発現細胞系に対するNKアッセイではペアにしたMabよりも良好な結果を示すストラドボディを開発用を選択する。

【0324】

実施例18 - トラスツズマブの抗原結合ドメインを含むストラドボディの静注製剤を用いて乳癌の患者を治療

乳癌療法の標準的なガイドラインに従う方法で、her2/neuエピトープに対する活性を有する市販品のトラスツズマブ由来のFabであるか、またはこれに類似したFabを含む代表的なストラドボディを用いる乳癌用の治療プロトコルを利用する。Romond, EH et. al. Trastuzumab plus Adjuvant Chemotherapy for Operable HER2-Positive Breast Cancer. NEJM. 2005 Oct. 20; 353:1673-1684; Seidman, AD et. al. Weekly Trastuzumab and Paclitaxel Therapy for Metastatic Breast Cancer With Analysis of Efficacy by HER2 Immunophenotype and Gene Amplification. Journal of Clinical Oncology. Vol 19, Issue 10 (May), 2001: 2587- 2595; Vogel, CL et. al. Journal of Clinical Oncology. Vol 20, Issue 3 (February), 2002:719-726を参照のこと。

【0325】

ストラドボディの有効用量は通常、そのストラドボディとFabが同じである有効モノクローナル抗体の約1%~約500%の範囲、一層好ましくは、モノクローナル抗体の有効用量の約50%~約100%の範囲になると思われる。臨床癌治療でのモノクローナル抗体の有効用量はさまざまである。Her-2/neuモノクローナル抗体の場合、この用量は通常、7~21日ごとに投与される約2mg/Kg~約4mg/Kgの範囲である。

【0326】

実施例19 - セツキシマブの抗原結合ドメインを含むストラドボディの静注製剤を用いた頭頸部癌または結腸癌の患者の治療

頭頸部癌療法および結腸癌療法用の標準的なガイドラインに従う方法で、EGFRエピトープに対する活性を有する市販品のセツキシマブ由来のFabであるか、またはこれに類似したFabを含む代表的なストラドボディを用いる乳癌用の治療プロトコルを利用できると思われる。Robert, F et. al. Phase I Study of Anti-Epidermal Growth Factor Receptor Antibody Cetuximab in Combination With Radiation Therapy in Patients With Advanced Head and Neck Cancer. Journal of Clinical Oncology, Vol 19, Issue 13 (July), 2001: 3234-3243; Bonner, JA et. al. Cetuximab prolongs survival in patients with locoregionally advanced squamous cell carcinoma of head and neck: A phase III study of high dose radiation therapy with or without cetuximab. Journal of Clinical Oncology, 2004 ASCO Annual Meeting Proceedings (Post-Meeting Edition). Vol 22, No 14S (July 15 Supplement), 2004: 5507; Shin, DM et. al. Epidermal Growth Factor Receptor-targeted Therapy with C225 and Cisplatin in Patients with Head and Neck Cancer. Clinical Cancer Research Vol. 7, 12041213, May 2001; Cunningham, D et al. Cetuximab Monotherapy and Cetuximab plus Irinotecan in Irinotecan-Refractory Metastatic Colorectal Cancer. NEJM. Volume 351:337-345, 2004を参照のこと。

【0327】

EGFR/HER1ストラドボディの有効用量は通常、そのストラドボディとFabが同じである有効モノクローナル抗体の約1%~約500%の範囲、一層好ましくは、モノ

10

20

30

40

50

クローナル抗体の有効用量の約50%～約100%の範囲になると思われる。臨床癌治療でのモノクローナル抗体の有効用量はさまざまである。EGFRモノクローナル抗体の場合、この用量は通常、約250～400mg/平方メートルの範囲であり、これは約5mg/kg～25mg/kgを7～21日ごとに投与することになる。

【0328】

実施例20. グリコシル化が変化して多量体化が増えると免疫学的に活性な生体模倣活性を高められる

発現タンパク質のグリコシル化パターンは、タンパク質が発現される細胞系に左右される。タンパク質の発現と精製で一般に用いられているチャニーズハムスター卵巣細胞（CHO細胞）では、たとえば、ヒト由来であって、同じく内因性タンパク質のタンパク質発現で一般に用いられているHEK293細胞とは異なるグリコシル化パターンが得られる。Fc断片およびクラスターストラドマー単位の結合特性がグリコシル化パターンに影響されることがあるため、CHO以外の細胞系あるいは、Fc断片またはFcドメイン含有ペプチド間の凝集増大を促進するN-グリカンにグリコシル化パターンが変わるように遺伝子操作されたCHOを含む細胞系での発現によって、多量体化を増し、結果として発現ペプチドの生物活性を高めることが可能である。グリコシル化パターンが変わってFc断片または選択したクラスターストラドマー単位の多量体化が増すと、免疫学的に活性な生体模倣薬がhIVIgの作用を模倣する機能が強まることがある。

【0329】

実施例21. 成熟DC（mDC）をIVIgまたはrFcF（組換えFc断片）に曝露するとその表現型が変化するか？

この実験で使用予定のヒトIgG1由来のrFcF断片を標準的な組換えタンパク質技術で作製した。ヒトrFcFの2つの鎖は各々、ヒトIgG1重鎖のヒンジ領域（15アミノ酸）、CH2ドメイン（110アミノ酸）、CH3ドメイン（106アミノ酸）で構成されていた。

【0330】

Miltenyi MACS分離カラムを用いて健常なヒトドナーの血液由来の末梢血単核細胞（PBMC）からCD14+細胞を単離することが可能である。GM-CSF（800IU/mL）およびIL-4（5ng/mL）にて37℃で5日間、細胞を最終濃度 2×10^5 /mLで培養する。すべての培養で培養3日目に培地を交換する。5日目には、適当な培養にリポ多糖（LPS；10μg/mL）を加え、成熟DCへの成熟を誘導する。成熟DCは、実質的レベルのCD16、CD32またはCD64を発現しないことが当該技術分野において周知である。続いて、これらの細胞をさらに2日間培養し、二次元蛍光フローサイトメトリー（FFC）によって、CD11c、CD80、CD83、CD86、CD1a、CD14の発現についてアリコート进行分析する。次に、LPSで培養した残りの細胞を可溶性またはコーティングされたIVIgまたはヒトrFcF（すべて10μg/mL）と一緒に37℃で24時間ウェルに入れ、採取し、上記にて列挙したマーカーの発現を二次元FFCで分析する。

【0331】

実験群は以下のとおりである。

- (1) CD14+細胞；GM-CSF；IL-4；LPSなし（「7d-LPS」）
- (2) CD14+細胞；GM-CSF；IL-4；LPS（「7d+LPS」）
- (3) CD14+細胞；GM-CSF；IL-4；LPS；コーティングされたIVIg（「cIVIg」）
- (4) CD14+細胞；GM-CSF；IL-4；LPS；可溶性IVIg（「sIVIg」）
- (5) CD14+細胞；GM-CSF；IL-4；LPS；コーティングされたrFcF（「cFc」）
- (6) CD14+細胞；GM-CSF；IL-4；LPS；可溶性rFcF（「sFc」）

(7) CD14 + 細胞 ; GM - CSF ; IL - 4 ; LPS (「対照」)

【0332】

実施例22 . コーティングされたIVI GにiDCを曝露するとオプソニン化赤血球の貪食を阻害するか？

実施例21で説明したようにして健常なヒトドナーのヒトPBMCからCD14 + 細胞を精製し、コーティングされたIVI Gまたは可溶性IVI Gの存在下または非存在下で、前の実施例で示した濃度にてGM - CSFおよびIL - 4とともに37 で6日間培養する。細胞を採取した後、フルオレセインイソチオシアナート (FITC) コンジュゲート抗D抗体をコーティングしていないまたはコーティングしたRh_o陽性のヒト赤血球とともに、37 または4 のいずれかで2時間インキュベートする。赤血球とのインキュベーション後、APCコンジュゲートCD1a用にCD14 + 細胞を染色する。次に、側方散乱光 (SSC - A)、前方散乱光 (FSC - A)、FITC蛍光 (FITC - A)、APC蛍光 (CD1a) を測定する二次元FFCで貪食を評価する。

10

【0333】

実施例23 . コーティングされたIVI Gに曝露するとiDCが同種異系間の混合リンパ球反応を刺激する能力が低下するか

前の実施例で説明したようにして、健常なヒトドナーの血液からCD14 + 細胞を単離する。次に、これらの細胞を、可溶性IVI GおよびコーティングされたIVI Gの存在下または非存在下で、GM - CSFおよびIL - 4とともに37 で6日間培養する。すべての試薬の濃度は上述したとおりである。次に、細胞を採取し、96ウェルのマイクロタイター組織培養プレートのウェルに、さまざまな数 (最大用量は1ウェルあたり 2.5×10^4) で蒔いた。CD14 + 細胞を単離したドナーとはHLA不適合である第2のヒトドナーのPBMCからCD3 + T細胞を精製する。96ウェルの組織培養プレートの各ウェルにT細胞を加える (1ウェルあたりT細胞 10^5 個)。5日間の共培養後、各培養ウェルに $1 \mu\text{Ci}$ の ^3H - チミジンを加える。次に、培養をさらに6時間インキュベートし、 ^3H - チミジンの取り込み (「cpm」) を、培養での細胞増殖の度合いを示す指標として測定する。3通りのiDC抗原細胞個体群を試験する。1つは、GM - CSFおよびIL - 4のみを用いた培養によって生成したもの、もう1つはGM - CSF、IL - 4、コーティングされたIVI Gを用いた培養によって生成したもの、残りはGM - CSF、IL - 4、可溶性IVI Gを用いた培養によって生成したものである。

20

30

【0334】

実施例24 . コーティングされたおよび可溶性rFcFおよびIVI GにiDCを曝露することが、iDCとmDCによるサイトカイン発現に対しておよぼす作用

CD14 + 細胞、GM - CSFおよびIL - 4と、rFcF (コーティングされたものまたは可溶性) またはIVI G (コーティングされたものまたは可溶性) のいずれかを含む培養を、前の実施例で説明した条件下で準備する。細胞表面マーカーの発現、食細胞能力または同種異系MLRを刺激する能力の観点で細胞を試験する代わりに、細胞が産生するサイトカインを測定する。コーティングされたrFcFが、IVI Gと同様であるが可溶性rFcFとは異なる方法で、細胞によるサイトカイン産生を調節すると想定される。よって、コーティングされたrFcFに細胞を曝露することで、炎症反応を阻害するサイトカイン (たとえば、インターロイキン4、インターロイキン - 6、インターロイキン - 12) のレベルが高まると想定される。さらに、コーティングされたrFcFに細胞を曝露すると、炎症反応を強めるサイトカイン (たとえば、インターフェロン、インターロイキン - 23および腫瘍壊死因子 - I) の細胞による産生レベルが低下すると想定される。

40

【0335】

実施例25 . 組換えマウスFc断片

標準的なクローニングおよび組換えタンパク質発現技術を用いて、マウスIgG2a由来の組換えFc断片 (rFcF) を産生した。マウスrFcFの2つの鎖は各々、マウスIgG2a重鎖のヒンジ領域 (21アミノ酸) と、CH2ドメイン (110アミノ酸) と

50

、CH₃ドメイン(107アミノ酸)とで構成されていた。マウスIgG2aは、プレートウエルの壁面と底面にコーティングした場合に、ヒトiDCアッセイにおいて活性であった。

【0336】

以上、本発明とその利点について詳細に説明してきたが、添付の特許請求の範囲に定義された本発明の趣旨および範囲を逸脱することなく、本明細書に対してさまざまな改変、置換および変更が可能であることは理解されたい。さらに、本出願の範囲は、明細書に記載のプロセス、機械、製造物、組成物、手段、方法および工程の特定の実施形態に限定されることを意図したものではない。当業者であれば本発明の開示内容から容易に分かるであろうように、本明細書に記載の対応する実施形態と実質的に同じ機能を果たす、あるいは実質的に同じ結果を達成する、現段階で存在するか、あるいは将来的に開発されるプロセス、機械、製造物、組成物、手段、方法または工程を、本発明に従って利用することができる。よって、添付の特許請求の範囲は、その範囲内に、このようなプロセス、機械、製造物、組成物、手段、方法または工程を含むことを意図している。本明細書で参照または引用したすべての米国特許および外国の特許、特許出願公開ならびに非特許文献(要約、科学雑誌の記事、書籍、製品カタログおよびマニュアルを含むがこれに限定されるものではない)について、その内容全体を本明細書に援用する。

10

参考文献の一覧

以下の参考文献全文を本明細書に援用する。

20

1. Smiley, D. & MG, T. Southwestern internal medicine conference: High dose intravenous gamma globulin therapy: How does it work? *Am J Med Sci* 309, 295-303 (1995).
2. Nimmerjahn, F. & Ravetch, J.V. The antiinflammatory activity of IgG: the intravenous IgG paradox. *J. Exp. Med.* 204, 11-15 (2007).
3. Samuelsson, A., Towers, T.L. & Ravetch, J.V. Anti-inflammatory Activity of IV IG Mediated Through the Inhibitory Fc Receptor. *Science* 291, 484-486 (2001).
4. Follea, G. et al. Intravenous plasmin-treated gammaglobulin therapy in idiopathic thrombocytopenic purpura. *Nouv Rev Fr Hematol* 27, 5-10 (1985).
5. Solal-Celigny, P., Bernard, J., Herrera, A. & Biovin, P. Treatment of adult autoimmune thrombocytopenic purpura with high-dose intravenous plasmin-cleaved gammaglobulins. *Scand J Haematol* 31, 39-44 (1983).
6. Debre, M. & Bonnet, M.-C. Infusion of Gc gamma fragments for treatment of children with acute immune thrombocytopenic purpura. *Lancet* 342, 945-49 (1993).
7. Burdach, S.E., Evers, K. & Geurson, R. Treatment of acute idiopathic thrombocytopenic purpura of childhood with intravenous immunoglobulin G: Comparative efficacy of 7S and 5S preparations. *J Pediatr* 109, 770-775 (1986).
8. Siragam, V. et al. Intravenous immunoglobulin ameliorates ITP via activating Fe[gamma] receptors on dendritic cells. *Nat Med* 12, 688 (2006).
9. Clarkson, S. et al. Treatment of refractory immune thrombocytopenic purpura with an anti-Fe gamma-receptor antibody. *N Engl J Med* 314, 1236-1239 (1986).
10. Bleeker, W.K. et al. Vasoactive side effects of intravenous immunoglobulin preparations in a rat model and their treatment with recombinant platelet-activating factor acetylhydrolase. *Blood* 95, 1856-1861 (2000).
11. Teeling, J.L. et al. Therapeutic efficacy of intravenous immunoglobulin preparations depends on the immunoglobulin G dimers: studies in experimental immune thrombocytopenia. *Blood* 98, 1095-1099 (2001).
12. Augener, W., Friedman, B. & Brittinger, G. Are aggregates of IgG the effective part of high-dose immunoglobulin therapy in adult idiopathic thrombocytopenic purpura (ITP)? *Blut* 50, 249-252 (1985).

30

40

50

13. Tankersley, D.L., Preston, M.S. & Finlayson, J.S. Immunoglobulin G dimer: An idiotypanti-idiotyp complex. *Molecular Immunology* 25, 41 (1988).
14. Robert L. Shields, Angela K. Namenuk, Kyu Hong, Y. Gloria Meng, Julie Rae, John Briggs, Dong Xie, Jadine Lai, Andrew Stadlen, Betty Li, Judith A. Fox, and Leonard G. Presta. High Resolution Mapping of the Binding Site on Human IgG1 for Fc R1, Fc RII, Fc RIII, and FcRn and Design of IgG1 Variants with Improved Binding to the FOR J. Biol. Chem., Feb 2001; 276: 6591 - 6604; doi:10.1074/jbc.M009483200
15. Sondermann, P., Huber, R., Oosthuizen, V., and Jacob, U. (2000) *Nature* 406, 267-273
16. Robert L. Shields, Jadine Lai, Rodney Keck, Lori Y. O'Connell, Kyu Hong, Y. Gloria Meng, Stefanie H. A. Weikert, and Leonard G. Presta Lack of Fucose on Human IgG1 N-Linked Oligosaccharide Improves Binding to Human Fc RIII and Antibody-dependent Cellular Toxicity. *J. Biol. Chem.*, Jul 2002; 277: 26733 - 26740 ; doi:10.1074/jbc.M202069200
17. Ann Wright and Sherie L. Morrison. Effect of C2-Associated Carbohydrate Structure on Ig Effector Function: Studies with Chimeric Mouse-Human IgG1 Antibodies in Glycosylation Mutants of Chinese Hamster Ovary Cells. *J. Immunol.*, Apr 1998; 160: 3393 - 3402.
18. Crow AR, et al. IVIg inhibits reticuloendothelial system function and ameliorates murine passive immune thrombocytopenia independent of antiidiotyp reactivity. *Br J Haematol.* 2001;115:679-686.
19. Inhibition of maturation and function of dendritic cells by intravenous immunoglobulin Jagadeesh Bayry, Sebastien Lacroix-Desmazes, Cedric Carbonneil, Namita Misra, Vladimira Donkova, Anastas Pashov, Alain Chevaller, Luc Mouthon, Bernard Weill, Patrick Bruneval, Michel D. Kazatchkine, and Srini V. Kaveri *Blood* 2003 101: 758-765. Prepublished online August 29, 2002; DOI 10.1182/blood-2002-05-1447
20. R. Deng and J. P. Balthasar. Comparison of the effects of antibody-coated liposomes, IVIG, and anti-RBC immunotherapy in a murine model of passive chronic immune thrombocytopenia. *Blood*, March 15, 2007; 109(6): 2470 - 2476. Prepublished online as a Blood First Edition Paper on November 28, 2006; DOI 10.1182/blood-2006-04-018093.
21. Kabat, E. A., Wu, T. T., Perry, H. M., Gottesman, K. S., and Foeller, C. (1991) *Sequences of Proteins of Immunological Interest*, 5th Ed., United States Public Health Service, National Institutes of Health, Bethesda
22. 米国特許出願公開第 2 0 0 6 0 0 7 4 2 2 5 号

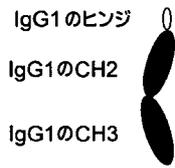
10

20

30

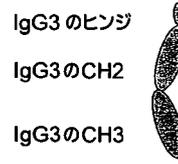
【 図 1 A 】

通常のIgG1のFc断片単量体



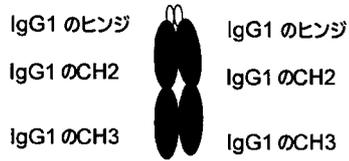
【 図 1 C 】

通常のIgG3のFc断片単量体



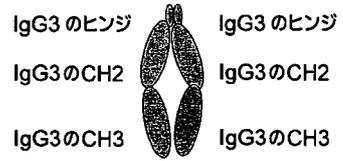
【 図 1 B 】

通常のIgG1のFc断片



【 図 1 D 】

通常のIgG3のFc断片



【 図 2 A 】

「粘着性の」タンパク質間相互作用によって互いに付着しているIgG1の2つの二量体化Fc断片

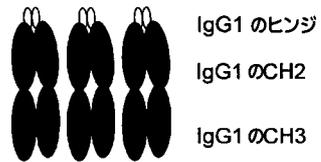
- 文献によってはFc断片二量体と呼ばれることもある



【 図 2 B 】

「粘着性の」タンパク質間相互作用によって互いに付着しているIgG1の複数の二量体化Fc断片

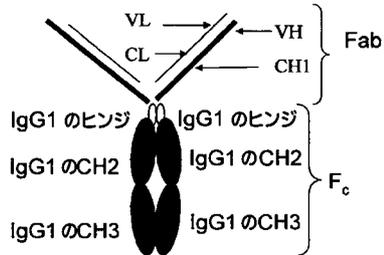
- 文献によってはFc断片多量体と呼ばれることもある



【 図 3 A 】

通常の免疫グロブリンIgG1の構造

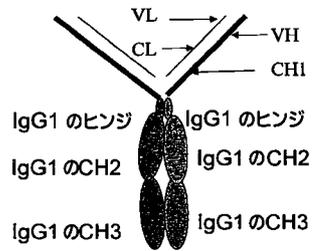
- モノクローナル抗体であり得る
- Fc単量体の二量体を含む
- 文献によってはIVIG単量体と呼ばれることもある



【 図 3 B 】

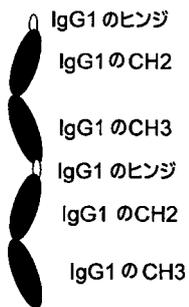
通常の免疫グロブリンIgG1の構造

- モノクローナル抗体であり得る
- Fc単量体の二量体を含む
- 文献によってはIVIG単量体と呼ばれることもある



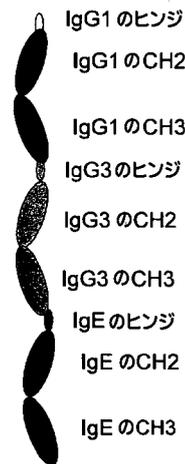
【 図 4 A 】

2(IgG1のFc) ストラドマー単量体



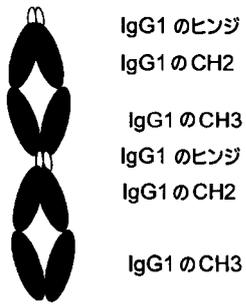
【 図 4 B 】

IgG1のFc-IgG3のFc-IgEのFcからなる 3ストラドマー単量体



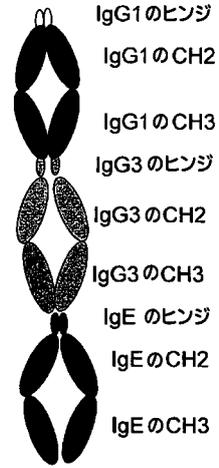
【 図 5 A 】

2(IgG1のFc) シリアルストラドマー自己二量体化



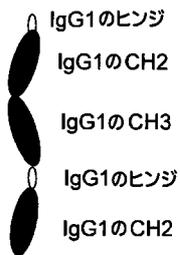
【 図 5 B 】

IgG1のFc-IgG3のFc-IgEのFcからなる
シリアルストラドマー自己二量体化



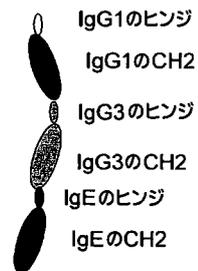
【 図 6 A 】

IgG1のFc-IgG1(ヒンジ-CH2)ストラドマー単量体



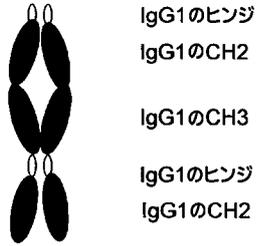
【 図 6 B 】

IgG1(ヒンジ-CH2)-IgG3(ヒンジ-CH2)-
IgE(ヒンジ-CH2)3ストラドマー単量体



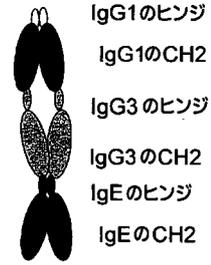
【 図 7 A 】

IgG1のFc-IgG1(ヒンジ-CH2)シリアルストラドマー自己二量体化



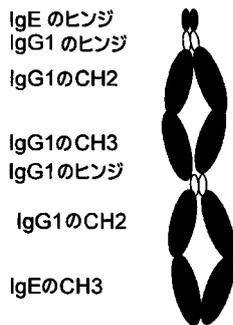
【 図 7 B 】

IgG1(ヒンジ-CH2)-IgG3
(ヒンジ-CH2)-IgE(ヒンジ-CH2)
シリアルストラドマー自己二量体化



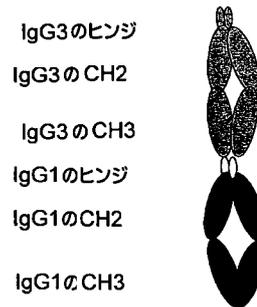
【 図 7 C 】

IgE(ヒンジ)-IgG1のFc-IgG1(ヒンジ-CH2)-IgE(CH3)
シリアルストラドマー



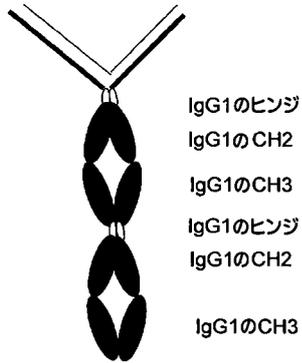
【 図 7 D 】

IgG3のFc-IgG1のFcシリアルストラドマー



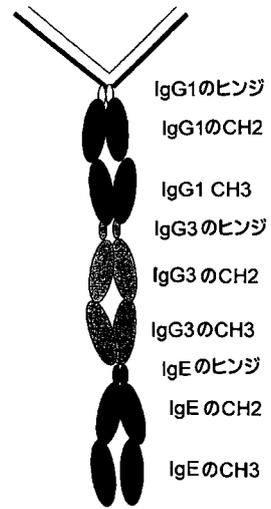
【 図 8 A 】

2(IgG1のFc)ストラドボディ



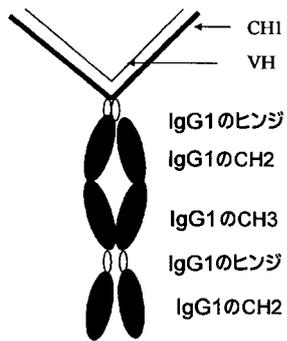
【 図 8 B 】

IgG1のFc-IgG3のFc-IgEのFc
からなるストラドボディ



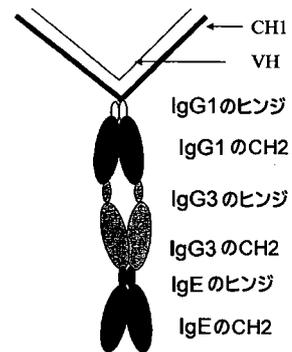
【 図 9 A 】

IgG1のFc-IgG1(ヒンジ-CH2)ストラドボディ



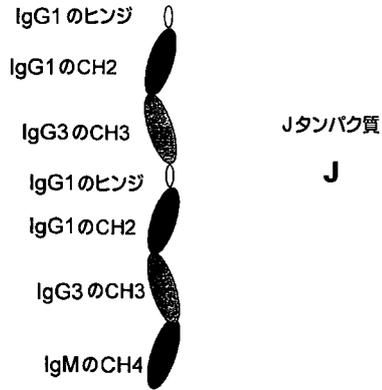
【 図 9 B 】

IgG1(ヒンジ-CH2)-IgG3(ヒンジ-CH2)-
IgE(ヒンジ-CH2)3のストラドボディ



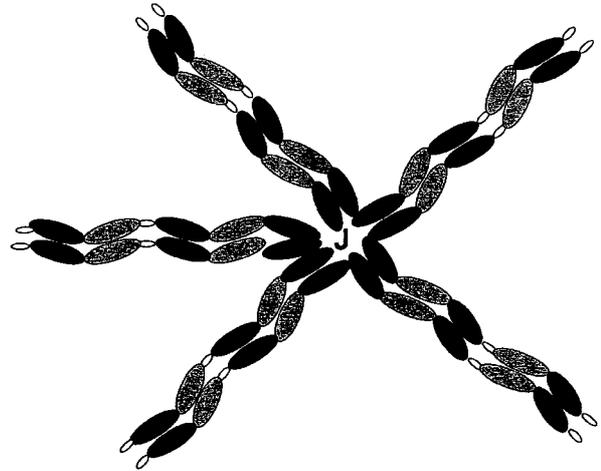
【 図 1 0 A 】

IgG1(ヒンジ-CH2)-IgG3のCH3-IgMのCH4ストラドマー単量体



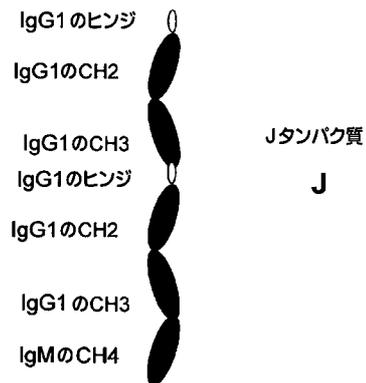
【 図 1 0 B 】

5{2[IgG1(ヒンジ-CH2)-IgG3のCH3]-IgMのCH4}-Jコアストラドマー



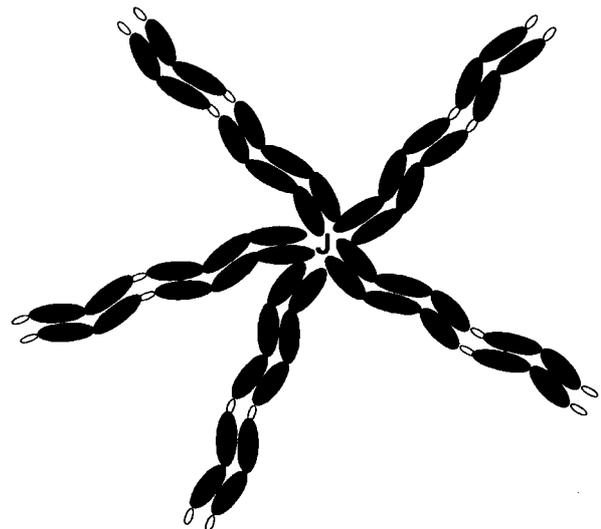
【 図 1 0 C 】

[2(IgG1のFc)-IgMのCH4]ストラドマー単量体

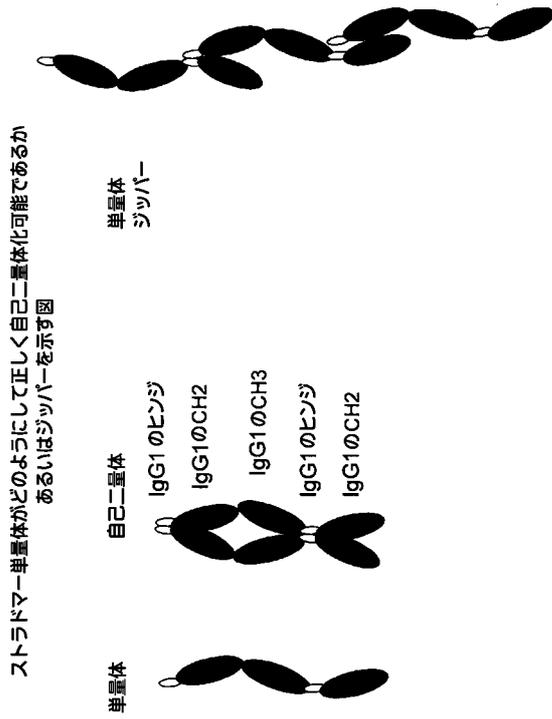


【 図 1 0 D 】

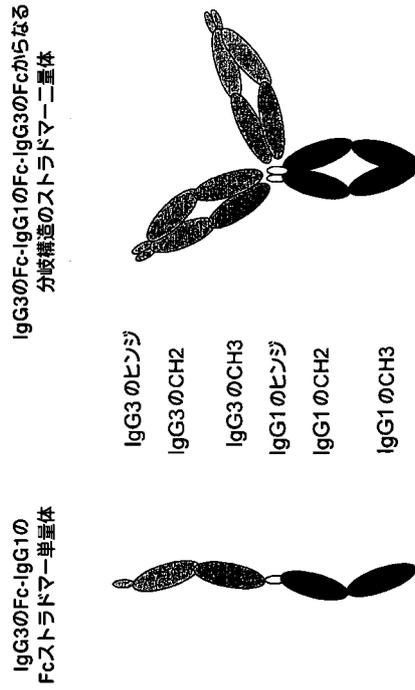
5[2(IgG1のFc)-IgMのCH4]-Jコアストラドマー



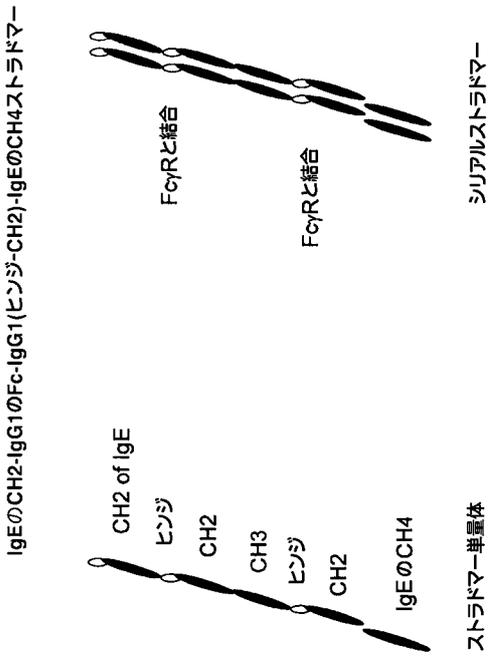
【 図 1 1 A - C 】



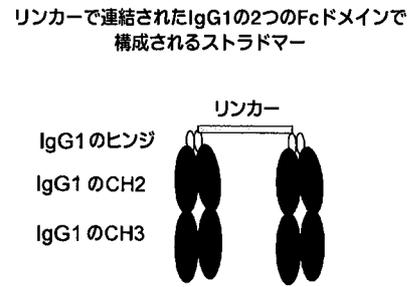
【 図 1 2 A - B 】



【 図 1 3 A - B 】

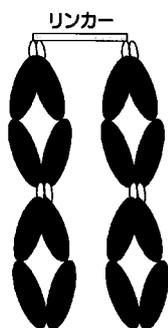


【 図 1 4 A 】



【 図 1 4 B 】

リンカーで連結された2つのシリアルストロマーで構成されるストロマー



IgG1のヒンジ
IgG1のCH2
IgG1のCH3
IgG1のヒンジ
IgG1のCH2
IgG1のCH3

【 図 1 5 A 】

A. IgG1のFc断片

1 S E P K S C D K T H T C P P C P A P E L
1 A G T G A G C C A A A T C T F T G A C A A A A C T C A C A C A T G C C C A C C G T G C C C A G A C C T G A A C T C
21 L G G P S V F L F P P K P K D T L M I S
61 C T G G G G G A C C G T C A G T C T T C C T C T C C C C C A A A C C A A G G A C A C C T C A T G A T C C C
41 R T P E V T C V V V D V S H E D P E V K
121 O G G A C C C T G A G G T C A C A T G C G T G T G G A C T G A G C C A G A A G C C T G A G G T C A A G
61 F N N W Y V D G V E V H N A K T K P R E E
181 T T C A A C T G G T A C G T G G A C G G C T G A G G T G C A T A A T G C A A G A C A A A G C C G G G A G G A G
81 Q Y N S T Y R V V S V L T V L H Q D W L
241 C A G T A C A A C A G C A C G T A C C G G G T G T C A G C G T C C T C A C G T C C T C C A C C A G G A C T G G C T G
101 N G K E Y K C K V S N K A L P A P I E K
301 A A T G G C A A G A G F A C A A G T C A A G T C C A A C A A A G C C T C C C A G C C C C A T C G A G A A
121 T I S K A K G O P R E P O V Y T L P P S
361 A C C A T T C C A A A G C C A A A G G C A G C C C G A G A A O C C A G G T G T A C A C C T G C C C C A T C C
141 R D E L T K N O V S L T C L V K G F Y P
421 C G G A T G A C T G A C C A A G A C C A G T C A C C T G A C C T G C T G T C A A A G C T C T A T O C C
161 S D I A V E W E S N G O P E N N Y K T T
481 A G C G A C A T C C C G T G G A G T G G A G A C A A T G G G C A G C C G G A G A C A A C T A C A A G A C C A G
181 P P V L D S D G S F F L Y S K L T V D K
541 C C T C C G T G T G A C T C C G A G G G T C C T C T C T C T A C A G A A G C T A C C G T G G A C A G
201 S R W O G N V F S C S V M H E A L H N
601 A G C A G T G G C A G C A G G G A C G T C T C A T G C T C C G T G A T G A T G A G G T C T G A C A A C
221 H Y T Q K S L S L S P G K
661 C A C T A C A C G A S A A G A G C C T C C C T G T C C O G G T A A A

B. IgG2のFc断片

1 E R K C C V E C P P C P A P P V A G P S
1 G A G C C A A A T G T G T C G A G T G C C C A C G T G C C C A G C A C C T G T G G C A G G A C C T G C A
21 V F L F P P K P K D T L M I S R T P E V
61 G T C T C C T C C C C C A A A C C C A A G G A C A C C T C A T G A T C T C C G G A C C C T G A G G T C
41 T C V V V D V S H E D P E V Q F N W Y V
121 A C G T C G G T G T G T G A C T G A G C A G A G A C C C G A G G T C A G T T C A A C T G T A G T G
61 D G V E V H N A K T K P R E E O F N S T
181 G A C G C G T G G A G T G C A T A A T G C A A G A C A A A G C C A G G A G A C A C T T C A A G A C A G
81 F R V V S V L T V V H Q D W L N G K E Y
241 T T C C G T G T G T G A C G T C C T C A C C G T G T G A C C A G A C T G G T G A C C A G A G A G T A C
101 K C K V S N K G L P A P I E K T I S K T
301 A A G T G A A G G T C C A A C A A A G C C T C C A G C C C C A T C G A G A A A C C A T C T C A A A A C

【 図 1 5 B 】

121 K G O P R E P O V Y T L P P S R E E N T
361 A A A G G C A G C C C C A G A R A C C A G T G T A C A C C T G C C C C A T C C C G G A G G A G A T G A C C
141 K N O V S L T C L V K G F Y P S D I A V
421 A A G A C C A G G T C A G C C T G A C T G C C T G T C A A A G C T T C T A C C C A G C G A C A T C C C G T G
161 E W E S N G O P E N N Y K T T P P M L D
481 G A G T G G G A G A C A A T G G C A G C C G A G A C A C T A C A G A C C A C A C C T C C C A T G C T G G A C
181 S D G S F F L Y S K L T V D K S R W O O
541 T C C G A C G G T C C T T C T C T C T A C A G C A G G T C A C C G T G G A C A A G A G A G G T G G C A G C A G
201 G N V F S C S V M H E A L H N H Y T O K
601 G G A A C G T C T C T C A T G C T C C G T G A T G A T G A G G T C T G C A A C C A C T A C A C G A G A G
221 S L S L S P G K
661 A G C C T C T C C C T G T C T C C G G T A A A

C. IgG3のFc断片

1 E L K T P L G D T T H T C P R C P E P K
1 G A G C T C A A A A C C C A T T G G T G A C A C A C T C A C A C A T G C C C A G C G G T G C C C A G A G C C A A A
21 S C D T P P P C P R C P E P K S C D T P
61 T C T T G T G A C A C A C T C C C C G T G C C C A G C G G T G C C A G A G C C A A A T C T T G T G A C A C A C T
41 P P C P R C P E P K S C D T P P P C P R
121 C C C C A T G C C C A G G T G C C A G A G C C A A A T C T T G T G A C A C A C T C C C C A T G C C A C G G
61 C P A P E L L G G P S V F L F P P K P K
181 T G C C A G C A C C T G A A C T C T G G A G A G C C G T C A G T C T T C C T C T C C C C A A A A C C C A A G
81 D T L M I S R T P E V T C V V V D V S H
241 G A T A C C C T T A T G A T T C C C G A C C C T G A G G T C A C T G C C T G G T G G A C G T G A G C C A C
101 E D P E V Q F K N Y V D G V E V H N A K
301 G A A G A C C C G A G T C C A G T C A A G T G T A C T G A C G G C G T G A G G T G C A T A A T G C C A A G
121 T K P R E E O F N S T F R V V S V L T V
361 A C A A G C C G G G A G A G A G T C A A C A G C A G T T C C G T G T G T G A C G C T C A C C G T C
141 L H Q D W L N G K E Y K C K V S N K A L
421 C T G C A C C A G A C T G C T G A C C G G A A G A G T A C A A G T G C A A G G T C C A A C A A A G C C T C
161 P A P I E K T I S K T K G O P R E P O V
481 C C A G C C C C A T C G A G A A A C C A T C T C C A A A C A A A G G A C A G C C C G A G A R C C A C C A G G T G
181 Y T L P P S R E E M T K N O V S L T C L
541 T A C A C C T G C C C C A T C C C G G A G A G A T G A C C A A G A A C A G G T G A C C T G A C C T G C T G
201 V K G F Y P S D I A V E W E S S G O P E
601 G T C A A A G G C T T C A C C C A G C A C A T G C C G T G A G T G G A G A G A G C G G G A C C G G A G
221 N N Y N T T P P M L D S D G S F F L Y S
661 A A C A A C T A A C A C C A C C C T C C C A T G C T G G A C C C G A C C G C C T C C T T C T C T C A C A G
241 K L T V D K S R W O O G N I F S C S V M
721 A A G C T C A C C T G G A C A A G A C A G T G G A C A G C A G G G A A C A T C T T C A T G C T C C G T G A T
261 H E A L H N R F T Q K S L S L S P G K

【 図 1 5 C 】

781 C A T G A G G C T C T G C A C A A C C G T C A C G C A G A A G A G C C T C C C T G T C C C G G T A A A

D. IgG4のFc断片

1 E S K Y G P P C P S C F A P E F L G G P
1 G A G T C C A A A T A T G T C C C C G T G C C C A T C A T G C C C A G C A C C T G A G T T C C T G G G G A C C
21 S V F L F P P K P K D T L M I S R T P E V
61 T C A G T C C T C T C C C C C A A A C C C A A G G A C A C T C A T G A T C T C C G G A C C C T G A G
41 V T C V V V D V S Q E D P E V Q F N W Y
121 G T C A C G T G G T G T G G A C T G A C C G A G A G A C C C G A G G T C A G T T C A A C T G T A C
61 V D G V E V H N A K T K P R E E O F N S
181 G T G A T G C C T G A G G T G C A T A A T G C C A A G A C A A A G C C C G G A G A C A G T T C A A C A C
81 T Y R V V S V L T V V H Q D W L N G K E
241 A C G T A C C T G T G T G A C G C T C C T C A C G T C G T G A C C A G A C T G C T G A C C G G A A G A G
101 Y K C K V S N K G L P S S I E K T I S K
301 F A C A A G T G C A A G T C T C A A C A A A G C C C C C C T C C C A T C A T G A G A A A A C C A T C C C A A
121 A K G O P R E P O V Y T L P P S O E E M
361 G C C A A A G G C A G C C C G A G A C C A C A G T G A C A C C C T G C C C C A T C C C A G A G A G A T G
141 T K N O V S L T C L V K G F Y P S D I A
421 A C C A A G A C C A G T C A G C T G A C C T G C T G T C A A G G C T T A C C C A G C A C T G C C C
161 V E W E S N G O P E N N Y K T T P P V L
481 G T G A G T G G A G A C A A T G G G A G C C G A G A C A A C T A C A A G A C A C C C C C G T G C T G
181 D S D G S F F L Y S R L T V D K S R W O
541 G A C T C C G A G G C T C T T C T C T C T A C A G C A G G C T A A C C G T G A C A G A G A C A G G T G G C A G
201 E G N V F S C S V M H E A L H N H Y T O
601 G A G G G A A T G T C T C A T G C T C C G T G A T G A T G A G G C T C T C A C A C C A C T A C A C C A G
221 K S L S L S L G K
661 A A G A G C C T C C C T G T C T C G G T A A A

【 図 1 6 A 】

IqK/IqG1のFc断片/IqG1のFc断片 - 配列番号17および18

1 METDTL
1 GTCAGTTAAGCTTGGTACCGAGCTCGGATCCAGTACCTTCACCATGGAGACAGACAC
HindIII BamHI
KpnI
21 LLWVLLLLWVPGSTGDDADIQ
61 TCCTGCTATGGTACTGCTGCTCGGTTCACAGTCCACTGGTACGGCGGACGATATCC
EcoRV
41 HSGGRSSEPEKSCDKTHTCTCPP
121 AGCACAGTGGCGCGCTCGAGTGAAGCCAAATCTTGTGACAAAACCTCACACATGCCAC
NotI XhoI
61 CPAPELILGGPVSFVLFPPKPK
181 CGTGCCAGCACCTGAATCCTGGGGGACCGTCACTTCTCCCTCCCCCAAACCCA
81 DTLMISRTPPEVTCVVVDVSH
241 AGGACACCTCATGATCTCCCGGACCTGAGTCACTGCTGGTGGTGGACGTGAGCC
101 EDPEVKFNWYVDGVEVHNK
301 ACGAAGACCTGAGGTCAAGTCACTGCTGACGTGGACGGGTGGAGGTGATAATGCCA
121 TKPREEQYNSTYRVS SVLTV
361 AGCAAGCCCGGGAGGACGATACACAGCCGATACCGGTGGTGGTGGTCCCTCACCG
141 LHQDNLNGKEYKCKVSNKAL
421 TCCTGCACAGGACTGCTGAATGGCAGGAGTACAAGTGCAGAGTCTCCACAAAGCCC
161 PAPIEK*TKSKAKGQPREPQV
481 TCCAGCCCCATCGAGAAAACATCTCCAAAGCCAAAGGCGAGCCCGAGAACACAGG
181 YTLPPSRDELTKNQVSLTCL
541 TGTACACCTGCCCCATCCCGGATGAGCTGACCAAGAACAGGTGAGCTGACCTGCC
201 VKGFYPSDIAVEWESNGQPE
601 TGGTCAAAGGCTTCTATCCAGCGACATCGCCGGAGTGGAGAGCAATGGCAGCCGG
221 NNYKTTTPPVLDSDGSEFLYS
661 AGAACAACTACAAGACCACGCTCCCGTGTGACTCCGACGGCTCCTTCTCTCTACA
741 KLTVDKSRWQQGNVFSCSV
721 GCAAGCTCACCGTGGACAAAGAGCAGGTGGCAGCAGGGGAACTCTCTCATGCTCCGTGA
261 HEALHNHYTQKSLISLSPGKS
781 TGCATGAGGCTCTGCACAACTACACAGCAGAGAGGCTCCTCCCTGCTCCGGTAAAA
281 LDPKSCDKTHTCTCPPAPEL
841 GCTAGACCCCAATCTTGTGACAAAACCTCACACATGCCACCGTCCCGACACCTGAAC
XbaI
301 LGGPVSFVLFPPKPKKDTLMTS
901 TCTGGGGGACCGTCACTCTCTCCCTCCCCCAAACCCAAAGGACACCTCATGATCT
321 RTPPEVTCVVVDVSHEDPEVK
961 CCGGACCCCTGAGGTACATGCGTGGTGGTGGACGTGAGCCAGAGACCTGAGGTCA

【 図 1 6 B 】

341 FNNWYVDGVEVHNNAKT.KPREEE
1021 AGTTCAACTGGTACGTGGACGGCGTGGAGGTGCATAATGCCAAAGCAACCGCGGGGAGG
361 QVNSTYRVS SVLTVLHODNLI
1081 AGCAGTACAAACAGCACCTACCGGTGGTCAAGCTCCTCACCGTCTGCACAGGACTGGC
381 NGKEYKCKVSNKALPAPIEFK
1141 TGAATGGCAGGAGTACAAGTGCAGAGTCTCCACAAAGCCCTCCAGCCCCATCGAGA
401 TISKAKGQPREPQVYVYTLPPS
1201 AAACCATCTCCAAACCAAGGGCGCCCGGAGAACCAAGGTTACACCTGCCCCCAT
421 RDELTKNQVSLTCLLVKGFYV
1261 CCGGGATGAGCTGACCAAGAACAGGTGAGCTGACCTGACCTGCTGCAAGGCTCTATC
441 SDIAVEWESNGQPENNYKKT
1321 CCAAGCAGTCCCGTGGAGTGGGAGAGCAATGGGACCGCGGAGAACACTACAGACCA
461 PPVLDSDGSEFLYSKILTVDK
1381 CGCTCCCGTGTGACTCCGAGGCTCCTTCTCTCTACAGCAAGCTCACCGTGGACA
481 SRWQQGNVFS CSVMEALHN
1441 AGACAGGTGGCAGCAGGGAACTCTCTCATGCTCCGTGATGATGAGGCTCTGCACA
501 HYTQKSLISLSPGKTG*
1501 ACCACTACAGCAGAAAGCCCTCCCTGCTCTCCGGTAAACCGGTGACATCATCC
1561 ATCACCATTGATGATTAACCCGCTGA

【 図 1 7 】

IqG1単量体 - 配列番号19および20

RestEnzSites-IqKシグナル-RestEnzSites-IqG1 (ヒンジ-CH2-CH3)-
RestEnzSites-エポト-タグ(V5 および His)-STOP

1 METDTL
1 GTCAGTTAAGCTTGGTACCGAGCTCGGATCCAGTACCTTCACCATGGAGACAGACAC
HincIII BamHI
KpnI
21 LLWVLLLLWVPGSTGDDADIQ
61 TCCTGCTATGGTACTGCTGCTCGGTTCACAGTCCACTGGTACGGCGGACGATATCC
EcoRV
41 HSGGRSSEPEKSCDKTHTCTCPP
121 AGCACAGTGGCGCGCTCGAGTGAAGCCAAATCTTGTGACAAAACCTCACACATGCCAC
NotI XhoI
61 CPAPELILGGPVSFVLFPPKPK
181 CGTGCCAGCACCTGAATCCTGGGGGACCGTCACTTCTCCCTCCCCCAAACCCA
81 DTLMISRTPPEVTCVVVDVSH
241 AGGACACCTCATGATCTCCCGGACCTGAGTCACTGCTGGTGGTGGACGTGAGCC
101 EDPEVKFNWYVDGVEVHNK
301 ACGAAGACCTGAGGTCAAGTCACTGCTGACGTGGACGGGTGGAGGTGATAATGCCA
121 TKPREEQYNSTYRVS SVLTV
361 AGCAAAAGCCCGGGAGGACGATACACAGCCGATACCGGTGGTGGTGGTCCCTCACCG
141 LHQDNLNGKEYKCKVSNKAL
421 TCCTGCACAGGACTGCTGAATGGCAGGAGTACAAGTGCAGAGTCTCCACAAAGCCC
161 PAPIEKTKSKAKGQPREPQV
481 TCCAGCCCCATCGAGAAAACATCTCCAAAGCCAAAGGCGAGCCCGAGAACACAGG
181 YTLPPSRDELTKNQVSLTCL
541 TGTACACCTGCCCCATCCCGGATGAGCTGACCAAGAACAGGTGAGCTGACCTGCC
201 VKGFYPSDIAVEWESNGQPE
601 TGGTCAAAGGCTTCTATCCAGCGACATCCCGTGGAGTGGGAGAGCAATGGCAGCCGG
221 NNYKTTTPPVLDSDGSEFLYS
661 AGAACAACTACAAGACCACGCTCCCGTGTGACTCCGACGGCTCCTTCTCTCTACA
241 KLTVDKSRWQQGNVFS CSV
721 GCAAGCTCACCGTGGACAAAGAGCAGGTGGCAGCAGGGGAACTCTCTCATGCTCCGTGA
261 HEALHNHYTQKSLISLSPGKS
781 TGCATGAGGCTCTGCACAACTACACAGCAGAGAGGCTCCTCCCTGCTCCGGTAAAA
281 LDPKSCDKTHTCTCPPAPEL
841 GCTAGACCCCAATCTTGTGACAAAACCTCACACATGCCACCGTCCCGACACCTGAAC
XbaI
301 TRTGH H H H H H
901 CTACGCGTACCGTCACTCATCCATCCACATTGATGAGTTAAACCCGCTGA
AgeI

【 図 1 8 A 】

IqG1二量体(タグなし) - 配列番号21および22

RestEnzSites-IqKシグナル-RestEnzSites-IqG1 (ヒンジ-CH2-CH3)-XbaI断位-
IqG1 (ヒンジ-CH2-CH3)-STOP

1 METDTL
1 GTCAGTTAAGCTTGGTACCGAGCTCGGATCCAGTACCTTCACCATGGAGACAGACAC
HindIII BamHI
KpnI
21 LLWVLLLLWVPGSTGDDADIQ
61 TCCTGCTATGGTACTGCTGCTCGGTTCACAGTCCACTGGTACGGCGGACGATATCC
EcoRV
41 HSGGRSSEPEKSCDKTHTCTCPP
121 AGCACAGTGGCGCGCTCGAGTGAAGCCAAATCTTGTGACAAAACCTCACACATGCCAC
NotI XhoI
61 CPAPELILGGPVSFVLFPPKPK
181 CGTGCCAGCACCTGAATCCTGGGGGACCGTCACTTCTCCCTCCCCCAAACCCA
81 DTLMISRTPPEVTCVVVDVSH
241 AGGACACCTCATGATCTCCCGGACCTGAGTCACTGCTGGTGGTGGACGTGAGCC
101 EDPEVKFNWYVDGVEVHNK
301 ACGAAGACCTGAGGTCAAGTCACTGCTGACGTGGACGGGTGGAGGTGATAATGCCA
121 TKPREEQYNSTYRVS SVLTV
361 AGCAAAAGCCCGGGAGGACGATACACAGCCGATACCGGTGGTGGTGGTCCCTCACCG
141 LHQDNLNGKEYKCKVSNKAL
421 TCCTGCACAGGACTGCTGAATGGCAGGAGTACAAGTGCAGAGTCTCCACAAAGCCC
161 PAPIEKTKSKAKGQPREPQV
481 TCCAGCCCCATCGAGAAAACATCTCCAAAGCCAAAGGCGAGCCCGAGAACACAGG
181 YTLPPSRDELTKNQVSLTCL
541 TGTACACCTGCCCCATCCCGGATGAGCTGACCAAGAACAGGTGAGCTGACCTGCC
201 VKGFYPSDIAVEWESNGQPE
601 TGGTCAAAGGCTTCTATCCAGCGACATCCCGTGGAGTGGGAGAGCAATGGCAGCCGG
221 NNYKTTTPPVLDSDGSEFLYS
661 AGAACAACTACAAGACCACGCTCCCGTGTGACTCCGACGGCTCCTTCTCTCTACA
241 KLTVDKSRWQQGNVFS CSV
721 GCAAGCTCACCGTGGACAAAGAGCAGGTGGCAGCAGGGGAACTCTCTCATGCTCCGTGA
261 HEALHNHYTQKSLISLSPGKS
781 TGCATGAGGCTCTGCACAACTACACAGCAGAGAGGCTCCTCCCTGCTCCGGTAAAA
281 LDPKSCDKTHTCTCPPAPEL
841 GCTAGACCCCAATCTTGTGACAAAACCTCACACATGCCACCGTCCCGACACCTGAAC
XbaI
301 LGGPVSFVLFPPKPKKDTLMTS
901 TCTGGGGGACCGTCACTCTCTCCCTCCCCCAAACCCAAAGGACACCTCATGATCT
321 RTPPEVTCVVVDVSHEDPEVK

【 図 18 B 】

961 CCCGGACCCCTGAGGTCACATGCGTGGTGGAGCGTGAGCCAGAACCCCTGAGGTC

341 F N W Y V D G V E V H N A K T K P R E E
1021 AGTCAACTGGTACGTGAGCGGCGTGGAGTGCATAATGCCAAGCAAAAGCCCGGGGAGG

361 Q Y N S T Y R V V S V L T V L H O D W I
1081 AGCAGTACAACAGCAGTACCGGGTGTCAAGTCTCACCGTCTCCAGCCAGGACTGGC

381 N G K E Y K C K V S N K A L P A P I E K
1141 TGAATGGCAAGGAGTACAGTGCAGGTCTCCACAAGCCCTCCAGCCCCCATCGAGA

401 T I S K A K G Q P R E P Q V Y T L P P S
1201 AAACCATCTCCAAAGCCAAAGGGCAGCCCGAGAACCAAGGTGTACACCCCTGCCCCCAT

421 R D E L T K N Q V S L T C L V K G F Y P
1261 CCCGGATGAGCTGACCAAGAACCGCTCAGCCTGACCTGCTGGTCAAAGGCTTCTATC

441 S D I A V E W E S N G O P E N N Y K T T
1321 CCAGCGACATGCCCGTGGAGTGGGAGAGCAATGGCCAGCCGGAGAACCACTACAAGACCA

461 P P V L D S D G S F F L Y S K I T V D K
1381 CGCCTCCCGTGTGGACTCCGAGCGGCTCTCTCTCTACAGCAAGCTCACCGTGGACA

481 S R W O O G N V F S C S V M H E A L H N
1441 AGAGCAGGTGGCAGCAGGGGAACGCTCTCTCATCTCCGTGATGCATGAGGCTCTGCACA

501 H Y T O K S L S L S P G K T G
1501 ACCACTACACCGCAGAGAGGCTCTCCCTGTCTCCGGTAAACCGGTTGACATCATCCAC

1561 ATCACCATGATGAGTTAAACCGCTGA

【 図 19 A 】

IgG1ニ結合配列(エポトープタグあり) - 配列番号23および24
RestEnzSites-IgKシグナル-RestEnzSites-IgG1(ヒンジ-CH2-CH3)-XbaI標位-
IgG1(ヒンジ-CH2-CH3)-RestEnzSites-エポトープタグ(V5およびHis)-STOP

1 M E T D T L
1 GTCAGTTAAAGCTTGGTACCAGGCTGGATCCAGTACCCCTCCACCATGGAGCAGACACAC
HindIII BamHI
KpnI

21 L L W V L L L W V F G S T G D A A D I Q
61 TCGTGTATGGTACTGCTCTGGTCCAGGTTCCACTGGTGCAGCGCAGATATCC
EcoRV

41 H S G G R S S E P K S C D K T H T C P P
121 AGCACAGTGGCCGCCCTCGAGTAGCCCAAAATCTTGTGACAAAATCCACATGTGCCRC
NotI XhoI

61 C P A P E L L I G G P S V F L F P P K P K
181 CGTGCCACGACCTGAATCTCTGGGGGACCGCTCTCTCTTCCCCCAAAACCCA

81 D T L M I S R T P E V T C V V V D V S H
241 AGCACCCCTCATGATCTCCGGACCCCTGAGGTACATGGTGGTGGTGGAGCTGAGCC

101 E D P E V K F N W Y V D G V E V H N A K
301 ACGAAGACCCCTGAGGTCAGGTTCAACTGTGACGTGGACGGCTGGAGGTGCATAATGCCA

121 T K P R E E Q Y N S T Y R V V S V L T V
361 AGCAAAAGCCCGGGAGGAGCAGTACAACAGCAGCTACCCGGTGGTCCAGCTCTCACCG

141 L H Q D W L N G K E Y K C K V S N K A L
421 TCTGACCCAGGACTGGCTGAATGGCAAGGAGTACAAGTGCAGAGGCTCCACAACAAAGCC

161 P A P I E K T I S K A K G Q P R E P Q V
481 TCCAGCCCCATCGAAGAACCTCTCCAAAGCCAAAGGGCAGCCCGGAGAACCAAGG

181 Y T L P P S R D E L T K N Q V S L T C L
541 TGTACACCCCTGCCCATCCCGGATGAGCTGACCAAGAACCAAGGTCAGCTGACTGCC

201 V K G F Y P S D I A V E W E S N G O P E
601 TGGTCAAAGGCTTCTATCCAGCGACATCCGCTGGACTGGAGAGCAATGGGAGCCGG

221 N N Y K T T F P V L D S D G S F F L Y S
661 AGACAACTCAAGACCCAGCTCCCGTGGTGGTGGTGGTGGTGGTGGTGGTGGTGGTGGT

241 K L T V D K S R M Q Q G N V F S C S V M
721 GCAGCTCACCGTGGACAGGAGGAGTGGCAGCAGGGGAGCTCTCTCATCTCCGTGA

261 H E A L H N H Y T O K S L S L S P G K S
781 TGCATGAGGCTTGCAACCACTACAGCGCAAGAGGCTCTCCCTGTCCCGGTTAAA

281 L D P K S C D K T H T C P P C P A P E L
841 CTACAGACCCCAAAATCTTGTGACAAAATCACACATGCCACCGTCCAGGACCTGAGC
XbaI

301 L G G P S V F L F P P K P K D T L M I S
901 TCTGGGGGACCGTCACTCTCTCTCCCCCAAAACCAAGGACACCCCTCATGATCT

【 図 19 B 】

321 R T P E V T C V V V D V S H E D P E V K
961 CCCGGACCCCTGAGGTCACATGCGTGGTGGAGCGTGAGCCAGAACCCCTGAGGTC

341 F N W Y V D G V E V H N A K T K P R E E
1021 AGTCAACTGGTACGTGAGCGGCGTGGAGTGCATAATGCCAAGCAAAAGCCCGGGGAGG

361 Q Y N S T Y R V V S V L T V L H O D W I
1081 AGCAGTACAACAGCAGTACCGGGTGTCAAGTCTCACCGTCTCCAGCCAGGACTGGC

381 N G K E Y K C K V S N K A L P A P I E K
1141 TGAATGGCAAGGAGTACAGTGCAGGTCTCCACAAGCCCTCCAGCCCCCATCGAGA

401 T I S K A K G Q P R E P Q V Y T L P P S
1201 AAACCATCTCCAAAGCCAAAGGGCAGCCCGAGAACCAAGGTGTACACCCCTGCCCCCAT

421 R D E L T K N Q V S L T C L V K G F Y P
1261 CCCGGATGAGCTGACCAAGAACCGCTCAGCCTGACCTGCTGGTCAAAGGCTTCTATC

441 S D I A V E W E S N G O P E N N Y K T T
1321 CCAGCGACATGCCCGTGGAGTGGGAGAGCAATGGCCAGCCGGAGAACCACTACAAGACCA

461 P P V L D S D G S F F L Y S K I T V D K
1381 CGCCTCCCGTGTGGACTCCGAGCGGCTCTCTCTCTACAGCAAGCTCACCGTGGACA

481 S R W O O G N V F S C S V M H E A L H N
1441 AGAGCAGGTGGCAGCAGGGGAACGCTCTCTCATCTCCGTGATGCATGAGGCTCTGCACA

501 H Y T O K S L S L S P G K F E G K P I P
1501 ACCACTACACCGCAGAGAGGCTCTCCCTGTCTCCGGTAAATCGAAGGTAAGCCTATCC
BstBI

521 N P L L G L D S T R T G H H H H H H *
1561 CTAACCCCTCTCTGGTCTGATCTTACCGCTCCCGTCTATCATCACCATCACCATTTGAT
AgeI

1621 GAGTTAAACCCCGCTGA

【 図 20 】

A. FcγRIIIa (176cP)
ATGTGGCAGCTGCTCTCCCACTGCTCTGACTTCTAGTTTACAGTGGCATCGGACT
M W Q L L L P T A L L L L L V S A G M R T
G A G A T C T C C C A A G G C T G T G T T C C T G G A G C T C A A T G T T C A G S G G T C C G A G A G
E D L P K A V V F L E P Q W Y R V L E K
G A C A G T G A C T C T G A G T G C C A G G A G C T A C T C C C T G A G A C A A T T C C A C A G A T G G
D S V T L K C Q G A Y S P E D N S T Q W
T T C A C A A T G A G A G C C T C A T C A A G C C A G G C C T C G A G C T A C T C A T T G A C C T G C C A C A
F H N E S L I S S Q A S S Y F I D A A T
G T G A C A G A C T G G A G A G T A C A G G T G C C A G A C A A C C T C T C C A C C C T C A G T G A C C G G T G
V D D S G E Y R C Q T N L S T L S D P V
C A G C T A G A A T C C A T A T C G G T G C G T T C C T C A G C C C C T C G S G G T G T C A A G S G
Q L E V H I G W L L L Q A P R W V F K E
G A A G A C C C T A T T C A C C T G A G T G T C A C A G T G A G A A C A C T G C T T G C A T A G G T C A C A
E D P I H L R C H S W K N T A L H K V T
T A T T T A C A G A A T G C A A A G C A G A A G A T A T T T C A T C A T A A T T C T G A C T C T A C A T T C C A
Y L Q N G K G R K Y F H H S D F Y I P
A A N C C A C T C A A A G A C A G G C T C C T C C T T C G A G G G G C T T T P G S G T A A A A T
K A T L K D S G S Y F C R G L E G S K N
G T G C T T C A G A G A C T G T G A A C A T C A C C A T C A C T A A G G T T T G c a t c a c c a c c a t c a t
v s s e t v n i t i t q g l h h h h h h
c a c T A G
h *

B. FcγRIIIa (176cV)
ATGTGGCAGCTGCTCTCCCACTGCTCTGACTTCTAGTTTACAGTGGCATCGGACT
M W Q L L L P T A L L L L L V S A G M R T
G A C A T C T C C C A A G G C T G T G T T C C T G G A G C T C A A T G T T C A G S G G T C C G A G A G
E D L P K A V V F L E P Q W Y R V L E K
G A C A G T G A C T C T G A G T G C C A G G A G C T A C T C C C T G A G A C A A T T C C A C A G A T G G
D S V T L K C Q G A Y S P E D N S T Q W
T T C A C A A T G A G A G C C T C A I T C A A G C C A G G C C T C G A G C T A C T C A T T G A C C T G C C A C A
F H N E S L I S S Q A S S Y F I D A A T
G T G A C A G A C T G G A G A G T A C A G G T G C C A G A C A A C C T C T C C A C C C T C A G T G A C C G G T G
V D D S G E Y R C Q T N L S T L S D P V
C A G C T A G A A T C C A T A T C G G T G C G T T C C T C A G C C C C T C G S G G T G T C A A G S G
Q L E V H I G W L L L Q A P R W V F K E
G A A G A C C C T A T T C A C C T G A G T G T C A C A G T G A G A A C A C T G C T T G C A T A G G T C A C A
E D P I H L R C H S W K N T A L H K V T
T A T T T A C A G A A T G C A A A G C A G A A G A T A T T T C A T C A T A A T T C T G A C T C T A C A T T C C A
Y L Q N G K G R K Y F H H S D F Y I P
A A N C C A C T C A A A G A C A G G C T C C T C C T T C G A G G G G C T T T P G S G T A A A A T
K A T L K D S G S Y F C R G L E G S K N
G T G C T T C A G A G A C T G T G A A C A T C A C C A T C A C T A A G G T T T G c a t c a c c a c c a t c a t
v s s e t v n i t i t q g l h h h h h h
c a c T A G
h *

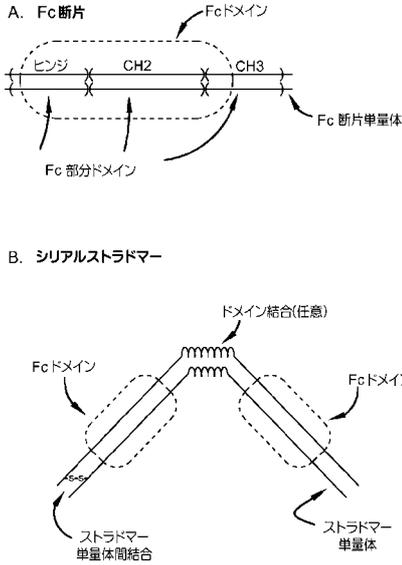
【図 2 2 C】

```

721 V S V N E G K
2161 CCGGTCTGTAATCCCGTAATGACATCATCACCATCACCATGATGAGTAAACCCG
741
2221 CTGA

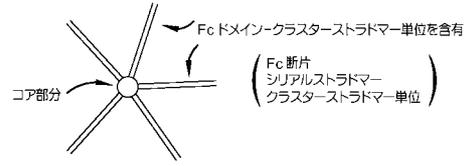
```

【図 2 3 A】

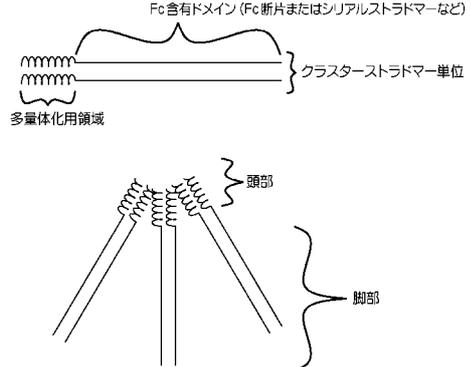


【図 2 3 B】

C. コアストラドマー



D. シリアルストラドマー



【図 2 4 A】

シリアルストラドマー-アミノ酸配列

G-003 タグあり(配列番号38)

```

METDTLLWVLLWVPGSTGDAADIQHGGRSSEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSV
FLFPPKPKDTLMI SRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYN
STYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPI EKTISKAKGQPREPQVYTLPPS
RDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLYSKLT
VDKSRWQQGNV FSCSVMEALHNHYTQKLSLSLSPGKSLDEPKSCDKTHTCPPCPAPE
LLGGPSVFLFPPKPKDTLMI SRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTK
PREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPI EKTISKAKGQPREPQ
VYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSF
FLYSKLTVDKSRWQQGNV FSCSVMEALHNHYTQKLSLSLSPGKFEKGPINPPLLGLD
STRTGHGHHHHH

```

G-004 タグなし(配列番号39)

```

METDTLLWVLLWVPGSTGDAADIQHGGRSSEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSV
FLFPPKPKDTLMI SRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYN
STYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPI EKTISKAKGQPREPQVYTLPPS
RDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLYSKLT
VDKSRWQQGNV FSCSVMEALHNHYTQKLSLSLSPGKSLDEPKSCDKTHTCPPCPAPE
LLGGPSVFLFPPKPKDTLMI SRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTK
PREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPI EKTISKAKGQPREPQ
VYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSF
FLYSKLTVDKSRWQQGNV FSCSVMEALHNHYTQKLSLSLSPGK

```

G-007 タグあり(配列番号40)

```

METDTLLWVLLWVPGSTGDAADIVCSRDFPTVKILQSSCGGGHFFPTIQLLCLL
LVSGYTPGTINITWLEDGQVMDVLDSTASTTQEGELASTQSELTLQKHWLSDRTYT
CQVYQGHTEFEDSTKCKAGGRSSEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKD
TLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVL
TVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPI EKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQV
SLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQG
NVFSCSVMEALHNHYTQKLSLSLSPGKSLDEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLF
PKPKDTLMI SRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRV
VSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPI EKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKN
QVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQG
NVFSCSVMEALHNHYTQKLSLSLSPGK

```

G-011 タグあり(配列番号41)

```

METDTLLWVLLWVPGSTGDAADIVCSRDFPTVKILQSSCGGGHFFPTIQLLCLL
LVSGYTPGTINITWLEDGQVMDVLDSTASTTQEGELASTQSELTLQKHWLSDRTYT
CQVYQGHTEFEDSTKCKAGGRSSEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKD
TLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVL
TVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPI EKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQ
VSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQG
NVFSCSVMEALHNHYTQKLSLSLSPGKFEKGPINPPLLGLDSTRTGHGHHHHH

```

【図 2 4 B】

NVFSCSVMEALHNHYTQKLSLSLSPGKSLDEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFL

```

FPPKPKDTLMI SRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYN
STYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPI EKTISKAKGQPREPQVYTLPPSR
ELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLYSKLTV
DKSRWQQGNV FSCSVMEALHNHYTQKLSLSLSPGKFEKGPINPPLLGLDSTRTGHGHH
HH

```

G-012 タグなし(配列番号42)

```

METDTLLWVLLWVPGSTGDAADIVCSRDFPTVKILQSSCGGGHFFPTIQLLCLL
LVSGYTPGTINITWLEDGQVMDVLDSTASTTQEGELASTQSELTLQKHWLSDRTYT
CQVYQGHTEFEDSTKCKAGGRSSEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKD
TLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVL
TVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPI EKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQV
SLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQG
NVFSCSVMEALHNHYTQKLSLSLSPGKSLDEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFL
FPPKPKDTLMI SRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYN
STYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPI EKTISKAKGQPREPQVYTLPPSR
DELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLYSKLTV
DKSRWQQGNV FSCSVMEALHNHYTQKLSLSLSPGKQRAAPEVYAFATPEWPGDRKRT
LACLIQRFMPEDISVQWHLNEVQLPDRHSTTQPRKTKGSGFFVSRLEVTAEWBEQ
KDEPICRAVHEAASPSQTVQRAVSNVPGK

```

G-014 タグなし(配列番号43)

```

METDTLLWVLLWVPGSTGDAADIQHGGRSSEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSV
FLFPPKPKDTLMI SRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYN
STYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPI EKTISKAKGQPREPQVYTLPPS
RDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLYSKLT
VDKSRWQQGNV FSCSVMEALHNHYTQKLSLSLSPGKSLDEPKSCDKTHTCPPCPAPE
LLGGPSVFLFPPKPKDTLMI SRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTK
PREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPI EKTISKAKGQPREPQ
VYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSF
FLYSKLTVDKSRWQQGNV FSCSVMEALHNHYTQKLSLSLSPGKSLDEPKSCDKTHTCP
PCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMI SRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEV
HNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPI EKTISKAKG
QPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLD
SDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNV FSCSVMEALHNHYTQKLSLSLSPGK

```

G-016 タグなし(配列番号44)

```

METDTLLWVLLWVPGSTGDAADISSKPHLVTLQTHAGCPEPKSCDTPPPCPRCP
EPKSCDTPPPCPRCPPEPKSCDTPPPCPRCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMI SRTPE
VTCVVVDVSHEDPEVQKFWYVDGVEVHNAKTKLREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWL
NGKEYKCKVSNKALPAPI EKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKG
FYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNV FSCSV
MEALHNHYTQKLSLSLSPGKAGGRSSEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPK
DTLMI SRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSV
LTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPI EKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQ
VSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQG
NVFSCSVMEALHNHYTQKLSLSLSPGKFEKGPINPPLLGLDSTRTGHGHHHHH

```


【 図 2 4 G 】

KCQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPP
VLDSDGSEFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCSCVMHEALHNNHYTQKLSLSLSPGKLEGR
FEGKPIPNPLGLDSTRTRGHHHHHH.

タグなし (配列番号63)

METDTLLWVLLWVPGSTGDAADIERKCCVECPCCPRSSSEPKSCDKTHTCCPPAP
ELLGGSPVFLFPPKPKDTLMIISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAK
KPREEQYNSTRYVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREP
QVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPPVLSDG
SFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCSCVMHEALHNNHYTQKLSLSLSPGKLEGRFEGKPI
PNPLGLDSTRTRGHHHHHH.

G-027

タグあり (配列番号64)

METDTLLWVLLWVPGSTGDAADIVCSRDFTPPTVKILQSSCGGGHFFPTIQLLCL
LVSGYTPGTINITWLEDQVMDVLDSTASTTQEGELASTQSELTLSQKHWSLDRYTCQ
VYQGHTEFDSTKCCGGGDIVCSRDFTPPTVKILQSSCGGGHFFPTIQLLCLV
GYTPGTINITWLEDQVMDVLDSTASTTQEGELASTQSELTLSQKHWSLDRYTCQV
TYQGHTEFDSTKCCGGGSSSEPKSCDKTHTCCPPAPELLGGSPVFLFPPKPKDTLM
ISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTPREEQYNSTRYVSVLTVL
HQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSL
TCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPPVLSDGSEFFLYSKLTVDKSRWQQGN
VFCSCVMHEALHNNHYTQKLSLSLSPGK.

タグなし (配列番号65)

METDTLLWVLLWVPGSTGDAADIVCSRDFTPPTVKILQSSCGGGHFFPTIQLLCL
LVSGYTPGTINITWLEDQVMDVLDSTASTTQEGELASTQSELTLSQKHWSLDRYTCQ
VYQGHTEFDSTKCCGGGDIVCSRDFTPPTVKILQSSCGGGHFFPTIQLLCLV
GYTPGTINITWLEDQVMDVLDSTASTTQEGELASTQSELTLSQKHWSLDRYTCQV
TYQGHTEFDSTKCCGGGSSSEPKSCDKTHTCCPPAPELLGGSPVFLFPPKPKDTLM
ISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTPREEQYNSTRYVSVLTVL
HQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSL
TCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPPVLSDGSEFFLYSKLTVDKSRWQQGN
VFCSCVMHEALHNNHYTQKLSLSLSPGK.

G-028

タグあり (配列番号66)

METDTLLWVLLWVPGSTGDAADILGGGSIKQIEDKIEEILSKIYHIENEIARIKK
LIGERGHGGGSSSEPKSCDKTHTCCPPAPELLGGSPVFLFPPKPKDTLMIISRTPEV
TCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTPREEQYNSTRYVSVLTVLHQDWLNG
EYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFY
PSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPPVLSDGSEFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCSCVM
HEALHNNHYTQKLSLSLSPGKLEGRFEGKPIPNPLGLDSTRTRGHHHHHH.

タグなし (配列番号67)

METDTLLWVLLWVPGSTGDAADILGGGSIKQIEDKIEEILSKIYHIENEIARIKK
LIGERGHGGGSSSEPKSCDKTHTCCPPAPELLGGSPVFLFPPKPKDTLMIISRTPEV
TCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTPREEQYNSTRYVSVLTVLHQDWLNG
EYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFY
PSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPPVLSDGSEFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCSCVM
HEALHNNHYTQKLSLSLSPGKLEGRFEGKPIPNPLGLDSTRTRGHHHHHH.

【 図 2 4 I 】

G-031

タグあり (配列番号72)

METDTLLWVLLWVPGSTGDAADILGGGSIKQIEDKIEEILSKIYHIENEIARIKK
LIGERGHDIERKCCVECPCCPRSSSEPKSCDKTHTCCPPAPELLGGSPVFLFPPKPK
DTLMIISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTPREEQYNSTRYVSV
LTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQ
VSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPPVLSDGSEFFLYSKLTVDKSRWQ
GNVFCSCVMHEALHNNHYTQKLSLSLSPGKLEGRFEGKPIPNPLGLDSTRTRGHH
HH.

タグなし (配列番号73)

METDTLLWVLLWVPGSTGDAADILGGGSIKQIEDKIEEILSKIYHIENEIARIKK
LIGERGHDIERKCCVECPCCPRSSSEPKSCDKTHTCCPPAPELLGGSPVFLFPPKPK
DTLMIISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTPREEQYNSTRYVSV
LTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQ
VSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPPVLSDGSEFFLYSKLTVDKSRWQ
GNVFCSCVMHEALHNNHYTQKLSLSLSPGK.

G-032

タグあり (配列番号74)

METDTLLWVLLWVPGSTGDAADILGGGSIKQIEDKIEEILSKIYHIENEIARIKK
LIGERGHILGGGSIKQIEDKIEEILSKIYHIENEIARIKKLIGERGHGGGSSSEPKS
DKTHTCCPPAPELLGGSPVFLFPPKPKDTLMIISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFN
WYVDGVEVHNAKTPREEQYNSTRYVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIE
KTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPEN
NYKTTTPPVLSDGSEFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCSCVMHEALHNNHYTQKLSL
SPGKLEGRFEGKPIPNPLGLDSTRTRGHHHHHH.

タグなし (配列番号75)

METDTLLWVLLWVPGSTGDAADILGGGSIKQIEDKIEEILSKIYHIENEIARIKK
LIGERGHILGGGSIKQIEDKIEEILSKIYHIENEIARIKKLIGERGHGGGSSSEPKS
DKTHTCCPPAPELLGGSPVFLFPPKPKDTLMIISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFN
WYVDGVEVHNAKTPREEQYNSTRYVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIE
KTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPEN
NYKTTTPPVLSDGSEFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCSCVMHEALHNNHYTQKLSL
SPGK.

G-033

タグあり (配列番号76)

METDTLLWVLLWVPGSTGDAADIERKCCVECPCCPDIVCSRDFTPPTVKILQSSCG
GGHFFPTIQLLCLVSGYTPGTINITWLEDQVMDVLDSTASTTQEGELASTQSELT
LSQKHWSLDRYTCQVYQGHTEFDSTKCCGGGSSSEPKSCDKTHTCCPPAPELLGG
SPVFLFPPKPKDTLMIISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTPRE
EQYNSTRYVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVY
TLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPPVLSDGSE
FFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCSCVMHEALHNNHYTQKLSLSLSPGKLEGRFEGK
PIPNPLGLDSTRTRGHHHHHH.

タグなし (配列番号77)

METDTLLWVLLWVPGSTGDAADIERKCCVECPCCPDIVCSRDFTPPTVKILQSSCG
GGHFFPTIQLLCLVSGYTPGTINITWLEDQVMDVLDSTASTTQEGELASTQSELT
LSQKHWSLDRYTCQVYQGHTEFDSTKCCGGGSSSEPKSCDKTHTCCPPAPELLGG
SPVFLFPPKPKDTLMIISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTPRE
EQYNSTRYVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVY
TLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPPVLSDGSE
FFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCSCVMHEALHNNHYTQKLSLSLSPGK.

【 図 2 4 H 】

CVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTPREEQYNSTRYVSVLTVLHQDWLNGK
EYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFY
PSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPPVLSDGSEFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCSCVM
HEALHNNHYTQKLSLSLSPGK.

G-029 (配列番号68)

METDTLLWVLLWVPGSTGDAADILGGGSIKQIEDKIEEILSKIYHIENEIARIKK
LIGERGHGGGDIVCSRDFTPPTVKILQSSCGGGHFFPTIQLLCLVSGYTPGTINIT
WLEDQVMDVLDSTASTTQEGELASTQSELTLSQKHWSLDRYTCQVYQGHTEFD
STKCCGGGSSSEPKSCDKTHTCCPPAPELLGGSPVFLFPPKPKDTLMIISRTPEV
TCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTPREEQYNSTRYVSVLTVLHQDWLNG
KEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGF
YPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPPVLSDGSEFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCSC
VMHEALHNNHYTQKLSLSLSPGKLEGRFEGKPIPNPLGLDSTRTRGHHHHHH.

タグなし (配列番号69)

METDTLLWVLLWVPGSTGDAADILGGGSIKQIEDKIEEILSKIYHIENEIARIKK
LIGERGHGGGDIVCSRDFTPPTVKILQSSCGGGHFFPTIQLLCLVSGYTPGTINIT
WLEDQVMDVLDSTASTTQEGELASTQSELTLSQKHWSLDRYTCQVYQGHTEFD
STKCCGGGSSSEPKSCDKTHTCCPPAPELLGGSPVFLFPPKPKDTLMIISRTPEV
TCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTPREEQYNSTRYVSVLTVLHQDWLNG
KEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGF
YPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPPVLSDGSEFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCSC
VMHEALHNNHYTQKLSLSLSPGK.

G-030

タグあり (配列番号70)

METDTLLWVLLWVPGSTGDAADILGGGSIKQIEDKIEEILSKIYHIENEIARIKK
LIGERGHILGGGDIERKCCVECPCCPAPPVAGSPVFLFPPKPKDTLMIISRTPEV
TCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTPREEQYNSTRYVSVLTVVHQDWLNG
KEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGF
YPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPPVLSDGSEFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCSC
VMHEALHNNHYTQKLSLSLSPGKLEGRFEGKPIPNPLGLDSTRTRGHHHHHH.

タグなし (配列番号71)

METDTLLWVLLWVPGSTGDAADILGGGSIKQIEDKIEEILSKIYHIENEIARIKK
LIGERGHILGGGDIERKCCVECPCCPAPPVAGSPVFLFPPKPKDTLMIISRTPEV
TCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTPREEQYNSTRYVSVLTVVHQDWLNG
KEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGF
YPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPPVLSDGSEFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCSC
VMHEALHNNHYTQKLSLSLSPGKLEGRFEGKPIPNPLGLDSTRTRGHHHHHH.

【 図 2 4 J 】

SQKHWSLDRYTCQVYQGHTEFDSTKCCGGGSSSEPKSCDKTHTCCPPAPELLGG
SPVFLFPPKPKDTLMIISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTPRE
EQYNSTRYVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVY
TLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPPVLSDGSE
FFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCSCVMHEALHNNHYTQKLSLSLSPGK.

G-034

タグあり (配列番号78)

METDTLLWVLLWVPGSTGDAADIERKCCVECPCCPDILGGGSIKQIEDKIEEILSKI
YHIENEIARIKKLIGERGHGGGSSERKCCVECPCCPAPPVAGSPVFLFPPKPKDTLM
ISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTPREEQYNSTRYVSVLTVV
HQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSL
TCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPPVLSDGSEFFLYSKLTVDKSRWQQ
GNVFCSCVMHEALHNNHYTQKLSLSLSPGKLEGRFEGKPIPNPLGLDSTRTRG
HHHH.

タグなし (配列番号79)

METDTLLWVLLWVPGSTGDAADIERKCCVECPCCPDILGGGSIKQIEDKIEEILSKI
YHIENEIARIKKLIGERGHGGGSSERKCCVECPCCPAPPVAGSPVFLFPPKPKDTLM
ISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTPREEQYNSTRYVSVLTVV
HQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSL
TCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPPVLSDGSEFFLYSKLTVDKSRWQQ
GNVFCSCVMHEALHNNHYTQKLSLSLSPGKLEGRFEGKPIPNPLGLDSTRTRG
HHHH.

G-035

タグあり (配列番号80)

METDTLLWVLLWVPGSTGDAADIERKCCVECPCCPDIERKCCVECPCCPRSSSEPKS
DKTHTCCPPAPELLGGSPVFLFPPKPKDTLMIISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFN
WYVDGVEVHNAKTPREEQYNSTRYVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIE
KTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPEN
NYKTTTPPVLSDGSEFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCSCVMHEALHNNHYTQKLSL
SPGKLEGRFEGKPIPNPLGLDSTRTRGHHHHHH.

タグなし (配列番号81)

METDTLLWVLLWVPGSTGDAADIERKCCVECPCCPDIERKCCVECPCCPRSSSEPKS
DKTHTCCPPAPELLGGSPVFLFPPKPKDTLMIISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFN
WYVDGVEVHNAKTPREEQYNSTRYVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIE
KTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPEN
NYKTTTPPVLSDGSEFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCSCVMHEALHNNHYTQKLSL
SPGK.

【 図 2 4 K 】

SQKHWLSDRTYTCQVYQGHTEFSDTKCGGSRSEPKSCDKTHTCPCPAPELLGG
PSVFLFPPKPKDTLMSIRTEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREE
QYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTIKAKGQPREPQVYTL
PFSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSEFLYS
KLTVDKSRWQQGNVFCSCVMHEALHNNHYTQKLSLSPGK.

G-034

WITH TAG (SEQ ID NO:78)
METDTLLWVLLWVPGSTGDAERKCCVCEPCPPDILGGGSIKQIEDKIEEILSKI
YHIENEIARIKKLIGERGHGGGSEPKSCDKTHTCPCPAPELLGGPSVFLFPPKPK
ISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTFRVSVLTV
HQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTIKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLT
CLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPMLDSDGSEFLYSKLTVDKSRWQQGNV
FCSCVMHEALHNNHYTQKLSLSPGKRSSEPKSCDKTHTCPCPAPELLGGPSVFLFPP
KPKDTLMSIRTEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTFRV
SVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTIKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTK
NQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSEFLYSKLTVDKSR
WQQGNVFCSCVMHEALHNNHYTQKLSLSPGKLEGRFEGKPIPNPLGLDSTRGHHH
HHHH

WITH OUT TAG (SEQ ID NO:79)

METDTLLWVLLWVPGSTGDAERKCCVCEPCPPDILGGGSIKQIEDKIEEILSKI
YHIENEIARIKKLIGERGHGGGSEPKSCDKTHTCPCPAPELLGGPSVFLFPPKPK
ISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTFRVSVLTV
HQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTIKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLT
CLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPMLDSDGSEFLYSKLTVDKSRWQQGNV
FCSCVMHEALHNNHYTQKLSLSPGKRSSEPKSCDKTHTCPCPAPELLGGPSVFLFPP
KPKDTLMSIRTEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTFRV
SVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTIKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTK
NQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSEFLYSKLTVDKSR
WQQGNVFCSCVMHEALHNNHYTQKLSLSPGK.

G-035

WITH TAG (SEQ ID NO:80)
METDTLLWVLLWVPGSTGDAERKCCVCEPCPPDIERKCCVCEPCPPRSSEPKSC
DKTHTCPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMSIRTEVTCVVVDVSHEDPEVKFNW
YVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTFRVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEK
TISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNY
KTTTPVLDSDGSEFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCSCVMHEALHNNHYTQKLSLSPGK
LEGRFEGKPIPNPLGLDSTRGHHHHHH

WITH OUT TAG (SEQ ID NO:81)

METDTLLWVLLWVPGSTGDAERKCCVCEPCPPDIERKCCVCEPCPPRSSEPKSC
DKTHTCPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMSIRTEVTCVVVDVSHEDPEVKFNW
YVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTFRVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEK
TISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNY
KTTTPVLDSDGSEFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCSCVMHEALHNNHYTQKLSLSPGK.

G-036

タグあり (配列番号82)

METDTLLWVLLWVPGSTGDAERKCCVCEPCPPDILGGGSIKQIEDKIEEILSKI
YHIENEIARIKKLIGERGHGGGSEPKSCDKTHTCPCPAPELLGGPSVFLFPPKPK
DTLMSIRTEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTFRVSV
LTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTIKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQ
VSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSEFLYSKLTVDKSRWQ
GNVFCSCVMHEALHNNHYTQKLSLSPGKLEGRFEGKPIPNPLGLDSTRGHHHH
HH.

タグなし (配列番号83)

METDTLLWVLLWVPGSTGDAERKCCVCEPCPPDILGGGSIKQIEDKIEEILSKI
YHIENEIARIKKLIGERGHGGGSEPKSCDKTHTCPCPAPELLGGPSVFLFPPKPK
DTLMSIRTEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTFRVSV
LTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTIKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQ
VSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSEFLYSKLTVDKSRWQ
GNVFCSCVMHEALHNNHYTQKLSLSPGK.

G-037

タグあり (配列番号84)

METDTLLWVLLWVPGSTGDAERKCCVCEPCPPDIERKCCVCEPCPPAVVAGVS
VFLFPPKPKDTLMSIRTEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQF
NSTFRVSVLTVHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTIKAKGQPREPQVYTLPP
SREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPMLDSDGSEFLYSK
LTVDKSRWQQGNVFCSCVMHEALHNNHYTQKLSLSPGKRSSEPKSCDKTHTCPCPAP
ELGGPSVFLFPPKPKDTLMSIRTEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAK
TKPREEQFNSTFRVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTIKAKGQPRE
QVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDG
SEFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCSCVMHEALHNNHYTQKLSLSPGKLEGRFEGKPI
PNPLGLDSTRGHHHHHH.

タグなし (配列番号85)

METDTLLWVLLWVPGSTGDAERKCCVCEPCPPDIERKCCVCEPCPPAVVAGVS
VFLFPPKPKDTLMSIRTEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQF
NSTFRVSVLTVHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTIKAKGQPREPQVYTLPP
SREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPMLDSDGSEFLYSK
LTVDKSRWQQGNVFCSCVMHEALHNNHYTQKLSLSPGKRSSEPKSCDKTHTCPCPAP
ELGGPSVFLFPPKPKDTLMSIRTEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAK
TKPREEQFNSTFRVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTIKAKGQPRE
QVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDG
SEFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCSCVMHEALHNNHYTQKLSLSPGK.

他の配列

G-106 J鎖 (配列番号86)

MKNHLLFWGVLAFFIKAVHVKAQEDERIVLVDNKCKCARITSRIRISSEDPNEDIVE
NRIRIVPLNRENISDTPSLRTRFVYHLSDLCKCKDTEVELDNGIQTATQSNIC
DEDSATETCYTYDRNKCYTAVVPLVYGGTEKMTALTPDACYD

【 図 2 5 】

ヒト IgG1

ヒンジ-EPKSCDKTHTCP (配列番号87)

CH2- APELLGGPSVFLFPPKPKDTLMSIRTEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWY
DGVEVHNAKTKPREEQFNSTFRVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALP
APIEKTIKAK (配列番号88)

CH3- GQPREPQVYTLPPSDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQ
PENNYKTTTPVLDSDGSEFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCSCVMHEALHNNHYT
QKLSLSPGK (配列番号89)

ヒト IgG2

ヒンジ-RKCCVCEPCP (配列番号90)

CH2- APPVAGPSVFLFPPKPKDTLMSIRTEVTCVVVDVSHEDPEVQFNWY
VDGMEVHNAKTKPREEQFNSTFRVSVLTVHQDWLNGKEYKCKVSNKGL
PAPIEKTIK (配列番号91)

CH3- GQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQ
ENNYKTTTPMLDSDGSEFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCSCVMHEALHNNHYTQ
KLSLSPGK (配列番号92)

ヒト IgG3

ヒンジ-ELKTPGLDTHTCPRCEPKSCDTPPCPRCEPKSCDTPPCPRCEPK
SCDTPPCPRCP (配列番号93)

CH2- APELLGGPSVFLFPPKPKDTLMSIRTEVTCVVVDVSHEDPEVQF
KWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTFRVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSN
KALPAPIEKTIK (配列番号94)

CH3- GQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESSGQ
ENNYNTTPMLDSDGSEFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCSCVMHEALHNNHYTQK
LSLSPGK (配列番号95)

ヒト IgG4

ヒンジ-ESKYGPPCPCP (配列番号86)

CH2- APEFLGGPSVFLFPPKPKDTLMSIRTEVTCVVVDVSHEDPEVQF
NWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTFRVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSN
KGLPSIEKTIK (配列番号97)

CH3- GQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQ
ENNYKTTTPVLDSDGSEFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCSCVMHEALHNNHYTQ
KLSLSPGK (配列番号98)

【配列表】

2010529043000001.xml

【手続補正書】

【提出日】平成22年2月1日(2010.2.1)

【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】

2つ以上の多量体化クラスターストラドマー単位を含むクラスターストラドマーであって、前記クラスターストラドマー単位が各々、少なくとも1つの多量体化用領域と少なくとも1つのFcドメインとを含み、前記2つ以上のクラスターストラドマー単位の前記多量体化用領域が多量体化して前記クラスターストラドマーを形成し、前記クラスターストラドマーがFc受容体と特異的に結合する、クラスターストラドマー。

【請求項2】

前記少なくとも1つの多量体化用領域が各々独立して、IgG2のヒンジ、IgEのCH2ドメイン、ロイシンジッパー、イソロイシンジッパー、およびジンクフィンガーからなる群から選択される、請求項1に記載のクラスターストラドマー。

【請求項3】

前記多量体化用領域がIgG2のヒンジである、請求項1に記載のクラスターストラドマー。

【請求項4】

前記IgG2のヒンジが前記少なくとも1つのFcドメインのカルボキシ末端に存在する、請求項3に記載のクラスターストラドマー。

【請求項5】

前記少なくとも1つのFcドメインが各々独立して、IgG1のヒンジ、IgG3のヒンジ、IgG1のCH2ドメイン、IgG3のCH2ドメイン、IgG1のCH3ドメイン、IgG3のCH3ドメイン、およびこれらの組み合わせからなる群から選択される、請求項1に記載のクラスターストラドマー。

【請求項6】

前記ストラドマー単量体が2つのFcドメインを含み、前記2つのFcドメインが、IgG1のCH2とIgG1のCH3であり、前記多量体化用領域がIgG2のヒンジである、請求項1に記載のクラスターストラドマー。

【請求項7】

前記クラスターストラドマー単位が各々、少なくとも1つのFcRと特異的に結合し、好ましくは、ヒトFcRI、FcRII、FcRIII、FcRIVまたはこれらの非ヒト等価物のうちの1つ以上と特異的に結合する、請求項1に記載のクラスターストラドマー。

【請求項8】

会合した2つ以上のストラドマー単量体を含むストラドボディであって、ストラドマー単量体が各々、抗原結合活性を有する少なくとも1つのFabドメインと、2つ以上のFcドメイン単量体とを含み、前記2つ以上のFcドメイン単量体の会合によって2つ以上のFcドメインが形成され、前記ストラドボディがFc受容体と特異的に結合する、ストラドボディ。

【請求項9】

前記2つ以上のストラドマー単量体が、共有結合、ジスルフィド結合または化学的架橋によって会合している、請求項8に記載のストラドボディ。

【請求項10】

前記2つ以上のFcドメインが独立して、IgG1のヒンジ、IgG3のヒンジ、IgG1のCH2ドメイン、IgG3のCH2ドメイン、IgG1のCH3ドメイン、IgG3のCH3ドメイン、およびこれらの組み合わせからなる群から選択される、請求項8に記載のストラドボディ。

【請求項11】

前記Fc受容体が、ヒトFcRI、FcRII、FcRIII、FcRIVまたはこれらの非ヒト等価物のうちの1つ以上である、請求項8に記載のストラドボディ。

【請求項12】

会合した2つ以上のストラドマー単量体を含むシリアルストラドマーであって、前記ストラドマー単量体が各々2つ以上のFcドメイン単量体を含み、前記2つ以上のストラドマー単量体の会合によって2つ以上のFcドメインが形成され、前記シリアルストラドマーがFc受容体と特異的に結合する、シリアルストラドマー。

【請求項13】

(a) クラスターストラドマー、シリアルストラドマー、コアストラドマーまたはこれらの組み合わせと、

(c) Fabドメインと、を含むストラドボディであって、

前記Fabドメインが抗原結合活性を有し、前記ストラドボディがFc受容体と特異的に結合する、ストラドボディ。

【請求項14】

2つ以上のコアストラドマー単位と結合したコア部分を含むコアストラドマーであって、前記2つ以上のコアストラドマー単位が各々少なくとも1つのFcドメインを含み、前記コアストラドマー単位が各々独立して、

(a) 会合した2つのFc断片単量体を含むFc断片であって、前記Fc断片単量体が各々Fcドメイン単量体を含み、前記2つのFc断片単量体の会合によってFcドメインが形成される、Fc断片と、

(b) 会合した2つのFc部分断片単量体を含むFc部分断片であって、前記Fc部分断片単量体が各々Fcドメイン単量体を含み、前記2つのFc部分断片単量体の会合によってFcドメインが形成される、Fc部分断片と、

(c) 会合した2つのFcドメイン単量体を含むFcドメインであって、前記2つのFcドメイン単量体の会合によってFcドメインが形成される、Fcドメインと、

(d) 会合した2つ以上のストラドマー単量体を含むシリアルストラドマーであって、前記ストラドマー単量体が各々2つ以上のFcドメイン単量体を含み、前記2つ以上のストラドマー単量体の会合によって2つ以上のFcドメインが形成される、シリアルストラドマーと、

(e) 2つ以上の多量体化クラスターストラドマー単位を含むクラスターストラドマーであって、前記クラスターストラドマー単位が各々、多量体化用領域と少なくとも1つのFcドメインとを含み、前記クラスターストラドマー単位が各々、会合した2つのクラスターストラドマー単位単量体を含み、前記クラスターストラドマー単位単量体が各々、多量体化用領域単量体と少なくとも1つのFcドメイン単量体とを含み、前記2つのクラスターストラドマー単位単量体の会合によって多量体化用領域と少なくとも1つのFcドメインとが形成され、前記2つ以上のクラスターストラドマー単位の前記多量体化用領域が多量体化して前記クラスターストラドマーが形成される、クラスターストラドマーと、からなる群から選択され、

前記コアストラドマーが、前記2つ以上のコアストラドマー単位のうちの1つを介して第1のFc受容体と特異的に結合し、前記2つ以上のコアストラドマー単位のうちの別の1つを介して第2のFc受容体と特異的に結合する、コアストラドマー。

【請求項15】

前記コア部分が、免疫グロブリン鎖、アルブミン、リポソーム、ビーズ、ペプチド、およびポリエチレングリコールからなる群から選択される、請求項14に記載のストラド

マー。

【請求項 16】

植込み型または貼り付け可能な医療器具と、これに結合された少なくとも1つのFc試薬とを含む、組成物。

【請求項 17】

植込み型または貼り付け可能な医療器具と、これに結合された少なくとも1つのFc試薬とを含む組成物であって、前記Fc試薬が、単量体Fc分子、ホモ二量体Fc分子、クラストラドマー、シリアルドマー、コアドマー、およびこれらの組み合わせからなる群から選択される、組成物。

【請求項 18】

被検体における免疫応答を変化させる方法であって、それを必要とする被検体に、請求項1、8、12または16のいずれか一項に記載の化合物を治療有効量で含む医薬組成物を投与することを含む、方法。

【請求項 19】

単球由来細胞(MDC)の分化および/または活性を調節する方法であって、Fc試薬が結合した支持体を含む組成物を前記細胞と接触させることを含む、方法。

【請求項 20】

Fc試薬が結合した支持体を含む組成物を被検体に投与することを含む治療方法であって、動物が、単球由来細胞介在性症状(MDMC)に罹患しているまたはこれを発症するリスクのあるものである、方法。

【 国際調査報告 】

INTERNATIONAL SEARCH REPORT		International application No. PCT/US2008/065428
A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER		
<i>C07K 16/06(2006.01)i</i>		
According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC		
B. FIELDS SEARCHED		
Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols) IPC: C07K 16/06		
Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched		
Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used) Delphion, Esp@onet, Pubmed		
C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	Bazin, R. et al. 'Tetramolecular immune complexes are more efficient than IVIg to prevent antibody-dependent in vitro and in vivo phagocytosis of blood cells.' British Journal of Haematology. Vol. 127(1), pp. 90-96 (October 2004) See abstract	1-91
A	Song, S. et al. 'Monoclonal IgG can ameliorate immune thrombocytopenia in a murine model of ITP: an alternative to IVIG.' Blood. Vol. 101(9), pp. 3708-3713 (27 December 2002)	1-91
A	Siragam, V. et al. 'Intravenous immunoglobulin ameliorates ITP via activating Fc gamma receptors on dendritic cells.' Nature Medicine. Vol. 12(6), pp. 688-692 (21 May 2006)	1-91
<input checked="" type="checkbox"/> Further documents are listed in the continuation of Box C. <input type="checkbox"/> See patent family annex.		
* Special categories of cited documents: "A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance "E" earlier application or patent but published on or after the international filing date "L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of citation or other special reason (as specified) "O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means "P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed		"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention "X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone "Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art "&" document member of the same patent family
Date of the actual completion of the international search 10 FEBRUARY 2009 (10.02.2009)		Date of mailing of the international search report 11 FEBRUARY 2009 (11.02.2009)
Name and mailing address of the ISA/KR  Korean Intellectual Property Office Government Complex-Daejeon, 139 Seonsa-ro, Seo-gu, Daejeon 302-701, Republic of Korea Facsimile No. 82-42-472-7140		Authorized officer KIM, JI YUN Telephone No. 82-42-481-8288 

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/US2008/065428

Box No. I Nucleotide and/or amino acid sequence(s) (Continuation of item I.b of the first sheet)

1. With regard to any nucleotide and/or amino acid sequence disclosed in the international application, the international search was carried out on the basis of:

a. type of material

- a sequence listing
 table(s) related to the sequence listing

b. format of material

- on paper
 in electronic form

c. time of filing/furnishing

- contained in the international application as filed
 filed together with the international application in electronic form
 furnished subsequently to this Authority for the purposes of search

2. In addition, in the case that more than one version or copy of a sequence listing and/or table relating thereto has been filed or furnished, the required statements that the information in the subsequent or additional copies is identical to that in the application as filed or does not go beyond the application as filed, as appropriate, were furnished.

3. Additional comments:

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/US2008/065428

1. Regarding Box No. II, item 1.

Claims 81-88, 92-100, 167 pertain to methods for treatment of the human or animal body, thus relate to a subject-matter which International Searching Authority is not required to search under PCT Art. 17(2)(a)(i) and Rule 39.1(iv). Nevertheless, the search has been carried out based on the alleged effects of the composition to be administered.

2. Regarding Box No. III.

The separate inventions found in the application are:

Invention 1: an isolated serial stradomer, a core stradomer, a cluster stradomer, a stradobody, a method of altering an immune response using said stradomers or stradobody, a method of screening an antibody using stradomer.
(Claims 1-91)

Invention 2: A method of inhibiting the activity of a monocyte-derived cell or a method of treatment using a composition comprising a substrate with an Fc reagent bound thereto.
(Claims 92-167)

Invention 3: A composition of a kit comprising an implantable or attachable medical device and an Fc reagent.
(Claims 168-170)

The common technical feature among inventions 1-3 is a substrate containing an Fc fragment, which is already known from the prior art D1. Thus, the common technical feature is not considered to contribute over the prior art as a whole, and the inventions 1-3 are not so linked as to form a single general inventive concept in the sense of Rule 13.1 PCT.

D1: Bazin, R. et al. 'Tetramolecular immune complexes are more efficient than IVIg to prevent antibody-dependent in vitro and in vivo phagocytosis of blood cells.'
British Journal of Haematology. Vol. 127(1), pp. 90-96 (October 2004)

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/US2008/065428

C (Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	Barrionuevo, P. et al. 'Immune complex-Fcγ ₃ R interaction modulates monocyte/macrophage molecules involved in inflammation and immune response.' <i>Clinical and Experimental Immunology</i> , Vol. 133(2), pp. 200-207 (August 2003) See the whole document.	92-95,97,99,100,167
X	Alegre, M. L. and Fallarino, F. 'Mechanisms of CTLA-4-Ig in tolerance induction.' <i>Current Pharmaceutical Design</i> . Vol. 12(2), pp. 149-160 (2006) see abstract.	96
X	Huang, P. et al. 'In vitro study of combination rhOPG-Fc and alendronate on inhibition osteoclast.' <i>Zhonghua WaiKe Za Zhi(Chinese Journal of Surgery)</i> . Vol. 43(12), pp. 812-816 (15 June 2005) see abstract.	98
X	Ong, A. T. et al. 'How to accelerate the endothelialization of stents.' <i>Archives des maladies du coeur et des vaisseaux</i> . Vol. 98(2), pp. 123-126 (February 2005) see abstract.	168-170

フロントページの続き

(51) Int. Cl.	F I	テーマコード (参考)
A 6 1 P 35/00 (2006.01)	A 6 1 P 35/00	
A 6 1 P 29/00 (2006.01)	A 6 1 P 29/00	
C 1 2 N 5/0786 (2010.01)	C 1 2 N 5/00 2 0 2 N	

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

(74) 代理人 100109346

弁理士 大貫 敏史

(72) 発明者 ストローム, スコット イー.

アメリカ合衆国, メリーランド州 2 1 1 3 6, レイスターストウン, ロング リッジ ロード
2 4 1 2

(72) 発明者 シュルツ, ダン エイチ.

アメリカ合衆国, メリーランド州 2 1 2 8 6, タウソン, メリーランド アベニュー 1 0

(72) 発明者 ブロック, デイビッド エス.

アメリカ合衆国, メリーランド州 2 1 2 0 4, ルックストン, スカイライン ロード 2 0 0 6

F ターム(参考) 4B024 AA01 BA44 CA04 DA02 EA04 GA11 HA01

4B065 AA91X AA93Y AB01 AC15 BA02 BD14 BD50 CA25 CA44

4C085 AA33 BB35 BB36 EE01

4H045 AA10 AA20 AA30 BA40 BA42 BA57 BA60 CA40 DA76 EA22

EA24 FA74 GA26

专利名称(译)	<无法获取翻译>		
公开(公告)号	JP2010529043A5	公开(公告)日	2011-01-13
申请号	JP2010510541	申请日	2008-05-30
[标]申请(专利权)人(译)	马里兰大学巴尔的摩分校 格利克尼克股份有限公司		
申请(专利权)人(译)	马里兰大学巴尔的摩分校 格利克尼克公司		
[标]发明人	ストロームスコットイー シュルツダンエイチ ブロックデイビッドエス		
发明人	ストローム,スコット イー. シュルツ,ダン エイチ. ブロック,デイビッド エス.		
IPC分类号	C07K16/00 C12N15/09 G01N33/531 A61K39/395 A61P37/06 A61P35/00 A61P29/00 C12N5/0786		
CPC分类号	A61K2039/505 C07K16/00 C07K16/065 C07K16/32 C07K2317/50 C07K2317/52 C07K2317/53 C07K2317/55 C07K2319/30 A61P1/00 A61P1/04 A61P19/02 A61P19/08 A61P21/00 A61P21/04 A61P25/00 A61P25/28 A61P29/00 A61P31/04 A61P31/12 A61P31/22 A61P33/06 A61P35/00 C07K2319/00 Y02A50/412 A61K2039/54 A61K2039/57 C07K16/18 C07K16/28 C07K16/283 C07K16 /2863 C07K2317/35 C07K2317/41 C07K2317/524 C07K2317/526 C07K2317/528 C07K2317/71 C07K2317/72 C07K2317/73 C07K2317/92 C07K2318/00 G01N33/5047 G01N2500/10		
FI分类号	C07K16/00.ZNA C12N15/00.A G01N33/531.A A61K39/395.Y A61P37/06 A61P35/00 A61P29/00 C12N5/00.202.N		
F-TERM分类号	4B024/AA01 4B024/BA44 4B024/CA04 4B024/DA02 4B024/EA04 4B024/GA11 4B024/HA01 4B065 /AA91X 4B065/AA93Y 4B065/AB01 4B065/AC15 4B065/BA02 4B065/BD14 4B065/BD50 4B065/CA25 4B065/CA44 4C085/AA33 4C085/BB35 4C085/BB36 4C085/EE01 4H045/AA10 4H045/AA20 4H045 /AA30 4H045/BA40 4H045/BA42 4H045/BA57 4H045/BA60 4H045/CA40 4H045/DA76 4H045/EA22 4H045/EA24 4H045/FA74 4H045/GA26		
优先权	60/941644 2007-06-01 US 61/015127 2007-12-19 US 61/015547 2007-12-20 US		
其他公开文献	JP2010529043A JP5600588B2		

摘要(译)

IVIG替代化合物衍生自免疫活性仿生物体的重组和/或生物化学产生。然后在体外筛选这些替代化合物以评估每种替代化合物在调节免疫功能方面的效率。选择特定的替代化合物用于进一步的体内验证和剂量/给药优化。最后，替代化合物用于治疗多种疾病，包括炎症和自身免疫疾病。

