

(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2007-518827

(P2007-518827A)

(43) 公表日 平成19年7月12日(2007.7.12)

(51) Int. Cl.	F I	テーマコード (参考)
A 6 1 K 45/00 (2006.01)	A 6 1 K 45/00	2 G 0 4 5
A 6 1 P 17/14 (2006.01)	A 6 1 P 17/14	4 C 0 8 4
A 6 1 P 43/00 (2006.01)	A 6 1 P 43/00 1 1 1	4 C 0 8 5
G O 1 N 33/53 (2006.01)	G O 1 N 33/53 D	
G O 1 N 33/50 (2006.01)	G O 1 N 33/50 H	
審査請求 有 予備審査請求 未請求 (全 40 頁) 最終頁に続く		

(21) 出願番号	特願2006-551527 (P2006-551527)	(71) 出願人	596129215
(86) (22) 出願日	平成17年1月31日 (2005.1.31)		シェーリング コーポレイション
(85) 翻訳文提出日	平成18年7月25日 (2006.7.25)		Schering Corporation
(86) 国際出願番号	PCT/US2005/002915		アメリカ合衆国 ニュージャージー 07
(87) 国際公開番号	W02005/074985		033-0530, ケニルワース, ギャロ
(87) 国際公開日	平成17年8月18日 (2005.8.18)		ッピング ヒル ロード 2000
(31) 優先権主張番号	60/541,082	(74) 代理人	100078282
(32) 優先日	平成16年2月2日 (2004.2.2)		弁理士 山本 秀策
(33) 優先権主張国	米国 (US)	(74) 代理人	100062409
			弁理士 安村 高明
		(74) 代理人	100113413
			弁理士 森下 夏樹
最終頁に続く			

(54) 【発明の名称】 CD200およびCD200Rを調節する方法

(57) 【要約】

CD200またはCD200Rのアゴニストまたはアンタゴニストを使用する免疫系の活性を調節するための方法を提供する。免疫障害、特に毛包障害に関連する障害を処置および診断する方法もまた、提供する。本発明は、CD200またはCD200Rのアゴニストの有効量を被験体に投与する工程を包含する、毛包に関連する状態または障害を処置する方法を提供する。このアゴニストは、CD200またはCD200Rに特異的に結合する抗体の抗原結合部位由来である。

【特許請求の範囲】

【請求項 1】

以下：

- a) CD200；または
- b) CD200R

のアゴニストの有効量を被験体に投与する工程を包含する、毛包に関連する状態または障害を処置する方法。

【請求項 2】

請求項 1 に記載の方法であって、前記アゴニストは、以下：

- a) CD200；または
- b) CD200R

に特異的に結合する抗体の抗原結合部位由来である、方法。

【請求項 3】

請求項 1 に記載の方法であって、前記アゴニストは、以下：

- a) ポリクローナル抗体；
- b) モノクローナル抗体；
- c) ヒト化抗体、またはそのフラグメント；
- d) Fab、F(ab')₂、または Fv フラグメント；
- e) 二重特異性抗体；
- f) 抗体のペプチド模倣物；あるいは
- g) 低分子

を含む、方法。

【請求項 4】

請求項 3 に記載の方法であって、前記二重特異性抗体は、CD200R および活性化レセプターに特異的に結合する、方法。

【請求項 5】

請求項 1 に記載の方法であって、前記アゴニストは、以下：

- a) CD200 の細胞外領域に由来する可溶性ポリペプチドであって、該可溶性ポリペプチドは、CD200R に特異的に結合する、可溶性ポリペプチド；または
- b) CD200R の細胞外領域に由来する可溶性ポリペプチドであって、該可溶性ポリペプチドは、CD200 に特異的に結合する、可溶性ポリペプチド

を含む、方法。

【請求項 6】

請求項 1 に記載の方法であって、前記アゴニストは、核酸を含む、方法。

【請求項 7】

請求項 6 に記載の方法であって、前記核酸は、以下：

- a) CD200 または CD200R；あるいは
- b) CD200 の細胞外領域または CD200R の細胞外領域に由来する可溶性ポリペプチド

をコードする、方法。

【請求項 8】

請求項 1 に記載の方法であって、前記状態または障害は、脱毛症を含み、前記アゴニストは、該脱毛症を改善するか、または毛髪の成長を増加させる、方法。

【請求項 9】

請求項 8 に記載の方法であって、前記脱毛症は、以下：

- a) 瘢痕性脱毛症；または
- b) 非瘢痕性脱毛症
- c) 男性ホルモン脱毛症 (AGA)；
- d) 円形脱毛症 (AA)；
- e) 萎縮性脱毛症 (PB)；

10

20

30

40

50

f) 毛孔性扁平苔癬 (LPP) ; または

g) 線維化脱毛症 (FA)

を含む、方法。

【請求項 10】

請求項 1 に記載の方法であって、前記状態または障害は、以下：

a) 抜け毛または禿頭症

b) 毛包の皮層における線維症

c) 濾胞内水腫；

d) 毛包の細胞のアポトーシス；

e) 免疫細胞による毛包の浸潤；

f) 毛包色素脱失；あるいは

g) 過剰毛

を含む、方法。

【請求項 11】

請求項 1 に記載の方法であって、前記アゴニストは、以下：

a) インスリン様増殖因子 - 1 ; または

b) インターフェロン -

の増加した発現を生じる、方法。

【請求項 12】

請求項 1 に記載の方法であって、前記 CD 200 は、以下：

a) 外毛根鞘；

b) ケラチノサイト；

c) ランゲルハンス細胞；

d) ケラチン - 14 発現細胞；あるいは

e) 毛包幹細胞または遷移増幅細胞

によって発現される、方法。

【請求項 13】

CD 200 または CD 200 R のアンタゴニストの投与を包含する、過剰毛髪 of 成長に関連する障害または状態を処置する方法。

【請求項 14】

結合組成物と生物学的サンプルとを接触させる工程であって、該結合組成物は、以下：

a) CD 200 ; または

b) CD 200 R

に特異的に結合する工程、および該結合組成物と該生物学的サンプルとの特異的結合を測定または決定する工程を包含する、毛包の状態または障害を診断する方法。

【請求項 15】

請求項 14 に記載の方法であって、前記生物学的サンプルは、以下：

a) 毛包の状態または障害を罹患した組織；あるいは

b) コントロールの被験体または罹患していない組織

の毛包由来である、方法。

【請求項 16】

区画および以下：

a) CD 200 または CD 200 R のアゴニスト；あるいは

b) CD 200 または CD 200 R をコードするポリヌクレオチドに特異的にハイブリダイズする核酸を含む、キット。

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0001】

本出願は、2004年2月2日に提出された米国仮特許出願番号第60/541,082号の利益を主張し、その出願は、その全体が本明細書中に参考として援用される。

10

20

30

40

50

【0002】

(発明の分野)

本発明は、免疫系機能を含む、哺乳動物の生理機能を調節するための方法および組成物に関する。特に、本発明は、CD200およびCD200Rに依存する活性を調節するための方法を提供する。診断的使用および治療的使用が、開示される。

【背景技術】

【0003】

(発明の背景)

免疫系は、感染性因子(例えば、細菌、多細胞生物およびウイルス)ならびに癌から個体を保護するために機能する。この系は、数種のリンパ系細胞および骨髄性細胞(例えば、単球、マクロファージ、樹状細胞(DC)、好酸球、T細胞、B細胞、および好中球)を含む。これらのリンパ系細胞および骨髄性細胞は、多くの場合、サイトカインとして公知の可溶性のシグナルタンパク質を産生する。免疫応答としては、炎症(すなわち、全身的な免疫細胞の蓄積または身体の特定の部位における免疫細胞の蓄積)が挙げられる。感染性因子または異物に対する応答、あるいは自己免疫応答において、免疫細胞は、サイトカインを分泌し、次いで、そのサイトカインは、免疫細胞の増殖、発達、分化、または移動を調節する。膜結合タンパク質もまた、免疫応答においてシグナル伝達を媒介する。例えば、T細胞レセプター、CD4、B細胞レセプター、CD20、およびFcRIIIは、活性化シグナルを伝達する膜結合タンパク質であるが、CD200(別名OX2)およびその対応するレセプターCD200R(OX2Rとしてもまた公知である)、ならびにCTLA-4、CD94、SIRPおよびFCRIIbは、細胞へ抑制性のシグナルを伝達する(例えば、非特許文献1;非特許文献2;非特許文献3;非特許文献4;非特許文献5を参照のこと)。

【0004】

本発明は、脱毛症(例えば、非瘢痕性脱毛症および瘢痕性脱毛症)を処置するための方法を提供する。瘢痕性脱毛症は、永久的な毛包の減少に関係する傾向があるが、非瘢痕性脱毛症は、可逆性の濾胞の減少に関係し得る。非瘢痕性脱毛症としては、男性ホルモン脱毛症(AGA)、円形脱毛症(AA)、牽引性脱毛症(TA)、および前頭の線維化性脱毛症が挙げられる。円形脱毛症(AA)、非瘢痕性の炎症性抜け毛障害、炎症性の抜け毛障害は、米国における皮膚科学患者の約2%の原因である抜け毛の一般的形態であり、そして、成人および子供において禿頭症を生じる。男性ホルモン脱毛症は、男性における最も一般的な型の抜け毛であるが、アンドロゲン代謝の変化はまた、女性の抜け毛の型の原因となり得る。これらの障害は、非瘢痕性であるが、永久的な濾胞の減少は、AGA、AAおよびTAの後期に生じ得る。言い換えれば、障害AGA、AAおよびTAは、二相のパターンを示し得る。

【0005】

瘢痕性脱毛症、毛の破壊が疾患の過程の初期に生じる脱毛症は、数種の形態(例えば、萎縮性脱毛症(PB)、慢性皮膚エリテマトーデス(CCLE)、毛孔性扁平苔癬(LPP)、解離性蜂巣炎、ざ瘡ケロイド症、中枢神経性で遠心性の瘢痕性脱毛症(CCSA)、および線維化脱毛症)をとる。より大きく、不規則な斑に癒着する頭皮における多数の斑を含むPBは、LPPまたは円板状エリテマトーデス(DLE)の段階として生じ得る。頭皮の最上部に集中する抜け毛を含むCCSAは、濾胞変性症候群、萎縮性脱毛症、脱毛性毛包炎、および房状毛包炎を包含する。毛孔性扁平苔癬(lichen planus pilaris)(LPP)としてもまた公知である毛孔性扁平苔癬(Lichen planopilaris)は、抜け毛の数個の散在した病巣を含み、そして、Graham-Little症候群および前頭の線維化脱毛症を包含する。CCLEは、鱗状の斑を含み、そして、全身性エリテマトーデス(SLE)の徴候であり得る。

【0006】

瘢痕性脱毛症は、炎症性プロセスによって毛包が特異的に破壊される障害を含むが、毛包が、近くの炎症の副作用として破壊される障害も含み、ここで、それらの後者の障害と

しては、例えば、皮膚サルコイド、限局性強皮症、リポイド類壊死症、尋常性狼瘡などが挙げられる（例えば、非特許文献6；非特許文献7；非特許文献8；非特許文献9；非特許文献10；非特許文献11；非特許文献12を参照のこと）。

【0007】

多くの観察によって、脱毛症（例えば、AA、AGA、PB、LPP、およびCCSA）における免疫成分が実証された。脱毛症は、浸潤または免疫細胞（例えば、マクロファージ、T細胞、肥満細胞、好中球、ランゲルハンス細胞、または好酸球）の活性化によって特徴付けられる。円形脱毛症の研究によって、これらの浸潤する免疫細胞のほとんどが、毛包周囲および毛鞘に存在すると実証された。毛包上皮細胞（例えば、ケラチノサイト）の活性化状態の変化はまた、例えば、細胞接着分子の増加した発現および濾胞の自己抗原の増加した発現によって、免疫応答を促進する。

10

【0008】

免疫細胞浸潤に加えて、サイトカイン発現は、例えば、IL-1、インターフェロン-（IFN）、IL-2、IL-6およびIL-10の研究によって示されるように、脱毛症の病理学に寄与する。さらに、炎症誘発性神経伝達物質、サブスタンスPの増加した発現が、円形脱毛症において見出されている（例えば、非特許文献13、非特許文献14、非特許文献15、非特許文献16、非特許文献17、非特許文献18、非特許文献19、非特許文献20、非特許文献21、非特許文献22、非特許文献23、非特許文献24、非特許文献25、非特許文献10を参照のこと）。

【0009】

介入研究によって、円形脱毛症の免疫成分もまた実証された。CD8⁺T細胞の枯渇は、脱毛症の改善をもたらすが、CD8⁺T細胞の注入は、脱毛症の獲得をもたらす。別のアプローチにおいて、免疫細胞の特異的活性化レセプター（CD44）のブロックは、脱毛症の効果的な処置であることが示された（非特許文献26、非特許文献27、非特許文献28、非特許文献29）。

20

【非特許文献1】Abbasら（編）、「Cellular and Molecular Immunology」、2000年、W.B. Saunders Co.、Philadelphia、PA

【非特許文献2】OppenheimおよびFeldmann（編）、「Cytokine Reference」、2001年、Academic Press、San Diego、CA

30

【非特許文献3】von AndrianおよびMackay、「New Engl. J. Med.」、2000年、第343巻、p. 1020 - 1034

【非特許文献4】DavidsonおよびDiamond、「New Engl. J. Med.」、2001年、第345巻、p. 340 - 350

【非特許文献5】NathanおよびMuller、「Nature Immunology」、2001年、第2巻、p. 17 - 19

【非特許文献6】McElweeおよびHoffmann、「Clin. Exp. Dermatol.」、2002年、第27巻、p. 410 - 417

【非特許文献7】Sperling、「J. Cutaneous Pathol.」、2001年、第28巻、p. 333 - 342

40

【非特許文献8】Sperlingら、「Arch. Dermatol.」、2000年、第136巻、p. 235 - 242

【非特許文献9】Zinkernagelら、「Arch. Dermatol.」、2000年、第136巻、p. 205 - 211

【非特許文献10】Amatoら、「Int. J. Dermatol.」、2002年、第41巻、p. 8 - 15

【非特許文献11】Hoffman、「Clin. Exp. Dermatol.」、2002年、第27巻、p. 373 - 382

【非特許文献12】Birchら、「Clin. Exp. Dermatol.」、200

50

2年、第27巻、p. 383 - 388

【非特許文献13】Elstonら、「J. Am. Acad. Dermatol.」、2000年、第37巻、p. 101 - 106

【非特許文献14】El Daroutiら、「J. Am. Acad. Dermatol.」、2000年、第42巻、p. 305 - 307

【非特許文献15】Bodemerら、「J. Invest. Dermatol.」、2000年、第114巻、p. 112 - 116

【非特許文献16】Gilharら、「J. Clin. Invest.」、1998年、第101巻、p. 62 - 67

【非特許文献17】McElweeら、「Br. J. Dermatol.」、1996年、第135巻、p. 211 - 217 10

【非特許文献18】Toyodaら、「Br. J. Dermatol.」、2001年、第144巻、p. 46 - 54

【非特許文献19】SullivanおよびKossard、「Australas J. Dermatol.」、1998年、第39巻、p. 207 - 218

【非特許文献20】Hoffmannら、「J. Invest. Dermatol.」、1994年、第103巻、p. 530 - 533

【非特許文献21】Price、「J. Invest. Dermatol. Symp. Proc.」、2003年、第8巻、p. 207 - 211

【非特許文献22】Sperlingら、「J. Cutaneous Pathol.」、2001年、第28巻、p. 333 - 342 20

【非特許文献23】Millikan、「Int. J. Dermatol.」、2001年、第40巻、p. 475 - 476

【非特許文献24】Maheら、「Int. J. Dermatol.」、2000年、第39巻、p. 576 - 584

【非特許文献25】Youngら、「J. Am. Osteopath. Assoc.」、1991年、第91巻、p. 765 - 771

【非特許文献26】Hoffmann、「J. Investig. Dermatol. Symp. Proc.」、1999年、第4巻、p. 235 - 238

【非特許文献27】KalishおよびGilhar、「J. Investig. Dermatol. Symp. Proc.」、2003年、第8巻、p. 164 - 167 30

【非特許文献28】Tsuboiら、「J. Dermatol.」、1999年、第26巻、p. 797 - 802

【非特許文献29】Zollerら、「J. Invest. Dermatol.」、2002年、第118巻、p. 983 - 992

【発明の開示】

【発明が解決しようとする課題】

【0010】

脱毛症は、ほとんど理解されていない障害であり、利用可能な処置は、十分に効果的ではない。本発明は、例えば、CD200のアゴニストおよびアンタゴニストを使用して、処置および診断する方法を提供することによって、この必要性を満たす。 40

【課題を解決するための手段】

【0011】

(発明の要旨)

本発明は、CD200が、脱毛症を阻害し得る発見に一部基づく。

【0012】

本発明は、CD200またはCD200Rのアゴニストの有効量を被験体に投与する工程を包含する、毛包に関連する状態または障害を処置する方法を提供する。また、上記の方法が提供され、ここで、そのアゴニストは、CD200またはCD200Rに特異的に結合する抗体の抗原結合部位由来である。別の局面において、本発明は、上記の方法を提 50

供し、ここで、そのアゴニストは、ポリクローナル抗体；モノクローナル抗体；ヒト化抗体、またはそのフラグメント；F a b、F (a b ')₂、またはF vフラグメント；二重特異性抗体；抗体のペプチド模倣物；あるいは低分子を含む。また、上記の方法が提供され、ここで、その二重特異性抗体は、C D 2 0 0 Rおよび活性化レセプターに特異的に結合し；そして、上記の方法におけるアゴニストは、C D 2 0 0の細胞外領域に由来する可溶性ポリペプチドであって、C D 2 0 0 Rに特異的に結合する可溶性ポリペプチド；またはC D 2 0 0 Rの細胞外領域に由来する可溶性ポリペプチドであって、C D 2 0 0に特異的に結合する可溶性ポリペプチドを含む。

【0013】

本発明の別の実施形態は、有効量のC D 2 0 0またはC D 2 0 0 Rのアゴニストを被験体に投与する工程を包含する、毛包の状態または障害を処置する方法を提供し、ここで、そのアゴニストまたはアンタゴニストは核酸を含み；その核酸は、C D 2 0 0またはC D 2 0 0 R；あるいはC D 2 0 0の細胞外領域またはC D 2 0 0 Rの細胞外領域に由来する可溶性ポリペプチドをコードする。

10

【0014】

本発明のさらに別の局面は、C D 2 0 0またはC D 2 0 0 Rのアゴニストの有効量を被験体に投与する工程を包含する、毛包の状態または障害を処置する方法を提供し；ここで、その状態または障害は脱毛症を含み、そして、そのアゴニストは、脱毛症を改善するか、または毛髪の成長を増加させ；ここで、その脱毛症は、癬痕性脱毛症または非癬痕性脱毛症を含み；上記方法における脱毛症は、男性ホルモン脱毛症（A G A）；円形脱毛症（A A）；萎縮性脱毛症（P B）；毛孔性扁平苔癬（L P P）；または線維化脱毛症（F A）を含み；および上記方法における状態または疾患は、抜け毛または禿頭症；毛包の皮層における線維症；濾胞内水腫；毛包の細胞のアポトーシス；免疫細胞による毛包の浸潤；毛包色素脱失；あるいは過剰毛を含む。

20

【0015】

さらに、本発明は、C D 2 0 0またはC D 2 0 0 Rのアゴニストの有効量を被験体に投与する工程を包含する、毛包の状態または障害を処置する方法を提供し、ここで、そのアゴニストは、インスリン様増殖因子 - 1またはインターフェロン - の増加した発現を生じ；上記方法におけるC D 2 0 0は、外毛根鞘；ケラチノサイト；ランゲルハンス細胞；ケラチン - 14発現細胞；あるいは毛包幹細胞または遷移増幅細胞（t r a n s i t a m p l i f y i n g c e l l）によって発現され；ならびに、上記方法における障害は脱毛症であり、そして、そのアゴニストは、脱毛症を改善するか、または毛髪の成長を増加させる。

30

【0016】

本発明は、毛髪の成長を減少または阻害するために、C D 2 0 0またはC D 2 0 0 Rのアンタゴニストを投与する工程を包含する、過剰毛髪の成長に関連する障害または状態の処置を提供する。

【0017】

別の実施形態において、本発明は、結合組成物と生物学的サンプルとを接触させる工程を包含する、毛包の状態または障害を診断する方法を提供し、ここで、その結合組成物は、C D 2 0 0またはC D 2 0 0 Rに特異的に結合する工程、およびその結合組成物と生物学的サンプルとの特異的結合を測定または決定する工程ならびに上記の方法における生物学的サンプルは、毛包の状態または障害を罹患した組織；あるいはコントロールの被験体または罹患していない組織の毛包に由来する。区画およびC D 2 0 0またはC D 2 0 0 RのアゴニストあるいはC D 2 0 0またはC D 2 0 0 Rをコードするポリヌクレオチドに特異的にハイブリダイズする核酸を含むキットもまた提供される。

40

【発明を実施するための最良の形態】

【0018】

（詳細な説明）

添付の特許請求の範囲を含む、本明細書中で使用される場合、「a」、「an」、およ

50

び「the」のような語の単数形は、文脈が、他に明確に指示しない限り、それらの対応する複数形の参照を包含する。本明細書中に引用した全ての参考文献は、各々の個々の刊行物、特許出願、または特許が、参考として援用されるように具体的かつ個々に示したような同様の範囲に対して参考として援用される。

【0019】

(I. 定義)

分子の「活性」とは、リガンドまたはレセプターへの分子の結合、触媒活性、遺伝子発現を刺激する能力、抗原活性、他の分子の活性の調節などを記載するか、またはいい得る。分子の「活性」とはまた、細胞-細胞間相互作用(例えば、付着)を調節または維持する際の活性、あるいは細胞の構造(例えば、細胞膜または細胞骨格)を維持する際の活性をいい得る。「活性」とはまた、比活性(例えば、[触媒活性]/[mgタンパク質]、または[免疫学的活性]/[mgタンパク質]など)を意味し得る。

10

【0020】

動物、ヒト、実験上の被験体、細胞、組織、器官、または生物学的流体に適用される場合、「投与」および「処置」とは、外因性の医薬、治療薬、診断薬または組成物と、その動物、ヒト、被験体、細胞、組織、器官、または生物学的流体との接触をいう。「投与」および「処置」とは、例えば、治療方法、薬物動態学方法、診断方法、研究方法、および実験的方法をいい得る。細胞の処置は、試薬と細胞との接触、および流体が細胞と接触する試薬と流体との接触を包含する。「投与」および「処置」とはまた、例えば、試薬、診断組成物、結合組成物または別の細胞による、細胞のインビトロおよびエキソビボでの処置を意味する。処置は、例えば、混合された細胞反応において、あるいは研究被験体、動物被験体、またはヒト被験体に対する投与のために、精製された免疫細胞を使用する方法を包含する。本発明は、細胞、精製された細胞、刺激された細胞、特定の細胞および精製された細胞において濃縮された細胞集団を用いる処置を企図する。処置はさらに、投与された試薬または投与された細胞が、代謝、分解、または保存状態によって改変される状況を包含する。

20

【0021】

「アミノ酸」とは、天然に存在するアミノ酸および合成アミノ酸、ならびに天然に存在するアミノ酸と同様の様式において機能するアミノ酸類似物およびアミノ酸模倣物をいう。天然に存在するアミノ酸は、セレノメチオニンを含む、遺伝暗号によってコードされるものであり、そして、それらのアミノ酸は、ポリペプチド(例えば、ヒドロキシプロリン、O-ホスホセリン、O-ホスホチロシン、 α -カルボキシグルタメート、およびシスチン)の中へ組み込んだ後に改変されるものである。アミノ酸類似物とは、天然に存在するアミノ酸と同様の基本的な化学構造(すなわち、水素に結合する α -炭素、カルボキシル基、アミノ基、およびR基)を有する化合物(例えば、ホモセリン、ノルロイシン、メチオニンスルホキシド、メチオニンメチルスルホニウム)をいう。そのような類似物は、R基(例えば、ノルロイシン)を改変されるか、またはペプチド骨格を改変されるが、天然に存在するアミノ酸と同様の基本的な化学構造を保持する。アミノ酸模倣物とは、アミノ酸の一般的な化学構造とは異なる構造を有するが、天然に存在するアミノ酸と同様の様式において機能する化学的化合物をいう。アミノ酸は、それらの一般的に公知の3文字表記またはそれらの1文字表記のいずれかによって、本明細書中で言及され得る。

30

40

【0022】

「結合組成物」とは、標的に結合し得る分子、低分子、高分子、抗体、それらのフラグメントもしくは類似物、または可溶性レセプターをいい得る。「結合組成物」とはまた、標的に結合し得る、分子の複合体(例えば、非共有結合複合体)、イオン化された分子、および共有結合的または非共有結合的に改変された分子(例えば、リン酸化、アシル化、架橋、環化、または制限された開裂によって改変された分子)をいう。「結合組成物」とはまた、標的に結合し得る、安定剤、賦形剤、塩、緩衝剤、溶媒、または添加物と組み合わせた分子をいい得る。「結合」とは、結合組成物と標的との会合として定義され得、ここで、その会合は、結合組成物が溶液に溶解または懸濁され得る場合、結合組成物の通常

50

のブラウン運動の減少を生じる。

【0023】

「二重特異性抗体」とは一般に、共有結合複合体をいうが、2つの異なる抗体からの結合フラグメント、2つの異なる抗体からのヒト化結合フラグメント、または2つの異なる抗体からの結合フラグメント由来のペプチド模倣物の安定な非共有結合複合体をいい得る。各結合フラグメントは、異なる標識またはエピトープ（例えば、異なるレセプター（例えば、阻害レセプターと活性化レセプター））を認識する。二重特異性抗体は、通常、2つの異なる抗原に対する特異的結合を示す。

【0024】

「保存的に改変された改変体」は、アミノ酸配列および核酸配列の両方に適用する。特定の核酸配列について、保存的に改変された改変体とは、同一または実質的に同一のアミノ酸配列をコードする核酸をいう。保存的置換の例は、以下の群の1つにおけるアミノ酸の、同じ群の別のアミノ酸への交換である（Leeらによって発行された米国特許第5,767,063号；KyteおよびDoolittle（1982）*J. Mol. Biol.* 157:105-132）。

(1) 疎水性：Ile、Val、Leu、Phe、Cys、Met；

(2) 中性親水性：Cys、Ser、Thr；

(3) 酸性：Asp、Glu；

(4) 塩基性：Asn、Gln、His、Lys、Arg；

(5) 鎖の配向性に影響する残基：Gly、Pro；

(6) 芳香族：Trp、Tyr、Phe；および

(7) 小アミノ酸：Gly、Ala、Ser。

【0025】

CD200またはCD200Rと実質的に同じアミノ酸配列を有するが、機能的局面に実質的に影響しない、少数のアミノ酸置換、切断、または欠失を保有するポリペプチド分子に関する方法は、企図される本発明の定義内である。娘ポリペプチドが互いに会合したままである、1種以上のペプチド結合切断を含む改変体は、企図される本発明の定義内である。

【0026】

活性または阻害における終点は、以下のようにモニタリングされ得る。例えば、細胞、毛包、ケラチノサイト、生理学的流体、組織、器官、および動物被験体またはヒト被験体の処置に対する活性、阻害、および応答は、終点によってモニタリングされ得る。この終点は、例えば、炎症、発癌性、または細胞脱顆粒もしくはは分泌（例えば、サイトカイン、毒性酸素、またはプロテアーゼの放出）の徴候の所定の量または割合を含み得る。この終点は、例えば、イオン流出またはイオン輸送；細胞移動；細胞付着；細胞増殖；転移の可能性；細胞分化；および表現型の変化（例えば、炎症、アポトーシス、形質転換、細胞周期、または転移に関する遺伝子の発現の変化）の所定の量を含み得る（例えば、Knight（2000）*Ann. Clin. Lab. Sci.* 30:145-158；HoodおよびCheresh（2002）*Nature Rev. Cancer* 2:91-100；Timmeら、（2003）*Curr. Drug Targets* 4:251-261；RobbinsおよびItzkowitz（2002）*Med. Clin. North Am.* 86:1467-1495；GradyおよびMarkowitz（2002）*Annu. Rev. Genomics Hum. Genet.* 3:101-128；Bauerら（2001）*Glia* 36:235-243；StanimirovicおよびSato（2000）*Brain Pathol.* 10:113-126を参照のこと）。

【0027】

阻害の程度を調べるために、例えば、所定のタンパク質、遺伝子、細胞、または生物を含むサンプルあるいはアッセイを、潜在的なアクチベーターまたはインヒビターで処理し、そのインヒビターを含まないコントロールサンプルと比較する。コントロールサンプル

10

20

30

40

50

(すなわち、アンタゴニストで処理されない)は、100%の相対活性値と設定される。コントロールに対する活性値が、約90%以下、代表的には85%以下、より代表的には80%以下、最も代表的には75%以下、一般的には70%以下、より一般的には65%以下、最も一般的には60%以下、代表的には55%以下、通常は50%以下、より通常は45%以下、最も通常は40%以下、好ましくは35%以下、より好ましくは30%以下、さらにより好ましくは25%以下、および最も好ましくは25%未満である場合、阻害が達成される。コントロールに対する活性値が、約110%、一般的には少なくとも120%、より一般的には少なくとも140%、より一般的には少なくとも160%、多くの場合少なくとも180%、より多くの場合少なくとも2倍、最も多くの場合少なくとも2.5倍、通常は少なくとも5倍、より通常は少なくとも10倍、好ましくは少なくとも20倍、より好ましくは少なくとも40倍、および最も好ましくは40倍より高い場合、活性化が達成される。

10

【0028】

「外因性」とは、状況に応じて生物、細胞、またはヒトの身体の外側で産生される物質をいう。「内因性」とは、状況に応じて細胞、生物、またはヒトの身体の内部に産生される物質をいう。

【0029】

「マーカー」は、細胞、組織、器官、動物またはヒトの被験体の表現型に関する。マーカーは、例えば、細胞の精製、細胞の定量化、細胞の移動、細胞の活性化、細胞の成熟、または細胞の発達間の細胞を検出するために使用され、そのマーカーは、インビトロおよびインビボでの研究の両方に使用され得る。活性化マーカーは、細胞活性化に関連するマーカーである。

20

【0030】

「単機能性試薬」とは、例えば、標的の単一の型に特異的に結合する、抗体、抗体の結合部位由来の結合組成物、抗体模倣物、可溶性レセプター、操作された組換え体、または化学的に改変されたそれらの誘導体をいう。例えば、単機能性試薬は、CD200レセプターに関する1種以上の機能性結合部位を含み得る。「単機能性試薬」とはまた、例えば、CD200レセプターのための1種以上の機能性結合部位および別の型のレセプターのための1種以上の非機能性結合部位を含むポリペプチド、抗体、または他の試薬をいう。例えば、単機能性試薬は、CD200レセプター、さらにFcフラグメントが、Fcレセプターに特異的に結合しないように操作されたFcフラグメントのための抗体結合部位を含み得る。

30

【0031】

「核酸」とは、一本鎖の形態または二本鎖の形態のいずれかにおけるデオキシリボヌクレオチドまたはリボヌクレオチドおよびそれらのポリマーをいう。用語、核酸は、遺伝子、cDNA、mRNA、オリゴヌクレオチド、およびポリヌクレオチドと交換可能に使用され得る。特定の核酸配列はまた、「対立遺伝子改変体」および「スプライス改変体」を暗黙のうちに包含する。

【0032】

毛包の「状態」は、障害を包含するが、障害として必ずしも分類されない毛包の状態(例えば、表面的な状態または正常な生理学的な状態)もまた、包含する。毛包の障害は、細胞の障害を包含し、ここで、その細胞は、毛包細胞(例えば、前駆物質がケラチノサイトになるように決まっている毛包ケラチノサイトの前駆細胞)の同じ遺伝的系統に存在する。

40

【0033】

「サンプル」とは、ヒト、動物由来のサンプル、または研究サンプル(例えば、細胞、組織、器官、流体、ガス、エアロゾル、スラリー、コロイドまたは凝固物質)をいう。この「サンプル」は、例えば、ヒトまたは動物から除去せずに、インビボにおいて試験され得るか、あるいはインビトロで試験され得る。このサンプルは、例えば、組織学的方法による処理後に試験され得る。「サンプル」とはまた、例えば、流体サンプルまたは組織サ

50

ンプルを含む細胞あるいは流体サンプルまたは組織サンプルから分離された細胞をいう。「サンプル」とはまた、ヒトまたは動物から新しく得られる細胞、組織、器官、または流体、あるいは処理または貯蔵される細胞、組織、器官、または流体をいう。

【0034】

低分子が、毛包の生理機能および障害の処置のために提供される。「低分子」は、10 kD未満、代表的には2 kD未満、および好ましくは1 kD未満の分子量を有する分子として定義される。低分子としては、無機分子、有機分子、無機成分を含む有機分子、放射性原子を含む分子、合成分子、ペプチド模倣物、および抗体模倣物が挙げられるが、これらに限定されない。治療上として、低分子は、細胞に、より浸透可能であり得、分解の影響を受けにくく、そして高分子より免疫応答を誘発しにくい。低分子毒素は、記載されている（例えば、Stewartらによって発行された米国特許第6,326,482号を参照のこと）。

10

【0035】

リガンド/レセプター、抗体/抗原、または他の結合対に関する場合、「特異的」または「選択的」結合とは、タンパク質および他の生物学的製剤の異種の集団におけるタンパク質の存在下での限定的な結合反応を示す。本発明者らの指定された条件下において、特定されたりガンドは、特定のレセプターに結合し、サンプル中に存在する他のタンパク質と有意な量で結合しない。企図された方法の抗体または抗体の抗原結合部位に由来する結合成分は、他の任意の抗体、またはそれらに由来する結合組成物との親和性より、少なくとも2倍より高い、好ましくは少なくとも10倍より高い、より好ましくは少なくとも20倍より高い、そして最も好ましくは少なくとも100倍より高い、親和性または結合定数を有して、その抗原、またはそれらの改変体もしくはムテインに結合する。好ましい実施形態において、抗体は、例えば、スキッチャード分析によって測定される場合、約 10^9 リットル/モルより高い親和性を有する（Munsenら、(1980) *Analyt. Biochem.* 107: 220-239）。

20

【0036】

「許容」とは、抗体に対する応答を高めるための免疫系の失敗を含む。「免疫学的寛容 (immune privilege)」とは、許容の形態であり、例えば、抗原が、免疫細胞に近づくことができない部位に存在するので、許容が生じる（KamradtおよびMitchison (2001) *New Engl. J. Med.* 344: 655-664; WaldmannおよびCobbold (1998) *Annu. Rev. Immunol.* 16: 619-644; OhashiおよびDeFranco (2002) *Curr. Opin. Immunol.* 14: 744-759; Liu (1997) *J. Exp. Med.* 186: 625-629; WoodおよびSakaguchi (2003) *Nature Revs. Immunology* 3: 199-210; Christophら (2000) *Br. J. Dermatol.* 142: 862-873; Pausrら (2003) *J. Invest. Dermatol. Symp. Proc.* 8: 188-194; Taylor (2003) *Ocul. Immunol. Inflamm.* 11: 231-241; Ferfusonら (2002) *Int. Rev. Immunol.* 21: 153-172; Steinmanら (2003) *Annu. Rev. Immunol.* 21: 685-711; StreileinおよびStein-Streilein (2000) *J. Leukocyte Biol.* 67: 479-487）。

30

40

【0037】

ヒト被検体、家畜被検体、研究被検体に適用する場合、「処置」とは、適用を研究および診断するための、治療的処置、予防 (prophylactic) 手段または予防 (preventative) 手段をいう。ヒト被検体、家畜被検体、もしくは研究被検体、または細胞、組織、もしくは器官に適用する場合、「処置」とは、CD200アゴニスト（例えば、CD200の可溶性の型またはCD200Rとアゴニストの抗体）またはCD200のアンタゴニストと、ヒト被検体または動物被検体、あるいは細胞、組織、生理学的区画、または生理学的流体との接触を包含する。「細胞、組織、器官、または被検体の

50

処置」とは、CD200のアゴニストまたはアンタゴニストが、CD200Rと接触したことを示されていない状態、あるいはCD200のアゴニストまたはアンタゴニストが、CD200Rを発現する細胞と接触したことを示されていない状態を包含する。

【0038】

治療薬の「治療的有効量」とは、意味のある患者の利益を示す（すなわち、処置される状態の症状の減少または改善を引き起こす）のに十分である薬学的処方物の各活性成分の量として定義される。薬学的処方物が、診断薬を含む場合、「治療的有効量」とは、診断を容易にする信号、画像、または他の診断パラメーターを作製するのに十分である量として定義される。薬学的処方物の有効量は、要因（例えば、個体の感受性の程度、個体の年齢、個体の性別、および個体の体重、ならびに個体の特有の応答）に従って、変動する（例えば、米国特許第5,888,530号を参照のこと）。

10

【0039】

（II. 概略）

哺乳動物の皮膚は、真皮（内部）層および表皮（外部）層からなる。表皮は、ランゲルハンス細胞およびメラニン細胞を含む、他の細胞の型を有するほとんど完全にケラチノサイト（95%）からなる。表皮は、マウスにおいて急速に成長し、7日ごとに、入れ替わる。皮膚における幹細胞は、「遷移増幅細胞」を産生するために分裂し、次いで、それは、3~5回以上分裂し、最終的に分化された細胞の最終産物となる。

【0040】

皮膚の表面は、2つの領域である毛包および毛包の間の領域（すなわち、毛包内表皮）を含む。毛包は、内毛根鞘および外毛根鞘を形成する上皮細胞の層によって取り囲まれる毛幹を含む。各毛包について、増殖および脱毛の3つの循環的な段階：増殖（成長期）；退行（退行期）；および静止（休止期）が、永久に繰り返される。退行において、例えば、濾胞のより下位の領域におけるケラチノサイトは破壊され、破壊は、アポトーシスによって媒介される。

20

【0041】

表皮の幹細胞は、「バルジ（bulge）」と呼ばれる毛包の構造に集団形成するか、または位置する。バルジにおける幹細胞は分裂し、そして毛包の種々の部分、および濾胞間の表皮に新しい細胞を供給する。「バルジ」は、毛包の非循環部分に生じる。多くのマーカーは、分化の過程の間に、表皮細胞と会合される。例えば、表皮細胞が、最終的な分化に関係する場合、それらは、ケラチン-5およびケラチン-14の発現からケラチン-1およびケラチン-10の発現に転換する。毛包において、ケラチン-5およびケラチン-14は、外毛根鞘と会合される傾向があるが、ケラチン-1およびケラチン-10は、内毛根鞘に存在する（例えば、Janesら（2002）*J. Pathol.* 197: 479-491；AlonsoおよびFuchs（2003）*Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 100: 11830-11835；Braunら（2003）*Development* 130: 5241-5255；Muller-Roverら（2001）*J. Invest. Dermatol.* 117: 3-15；NiemannおよびWatt（2002）*TRENDS Cell Biol.* 12: 185-192；Byrneら（1994）*Development* 120: 2369-2383；Vasioukhinら（1999）*Proc. Acad. Natl. Sci. USA* 96: 8551-8556を参照のこと）。

30

40

【0042】

脱毛症は、抜け毛または禿頭症を包含する。脱毛症は、非瘢痕性脱毛症および瘢痕性脱毛症と分類されており、脱毛症の各形態は、特定の組織学的特徴、抜け毛の外観（すなわち、はげた点の形状および位置）、ならびに影響を受ける人種、性別および年齢の群によって、特徴付けられる。脱毛症の両方の型は、免疫学的成分（例えば、本発明において実証された炎症と一致する炎症）を有する。瘢痕性脱毛症および非瘢痕性脱毛症は、本発明の観察において見出される真皮層の線維症と一致した線維症を含む（例えば、Zinkernagelら（2000）*Arch. Dermatol.* 136: 205-211；Z

50

inkernagelおよびTrueb(2000)Arch.Dermatol.136:205-211;Kossard(1994)Arch.Dermatol.130:770-774;Whiting(2003)Arch.Dermatol.139:1555-1559;Chieregatoら(2003)Int.J.Dermatol.42:342-345を参照のこと)。

【0043】

以下の実験は、毛包に関連するケラチノサイトのアポトーシスを示す。アポトーシスは、瘢痕性脱毛症および非瘢痕性脱毛症において実証されている。例えば、円形脱毛症は、アポトーシス、ならびに「暗細胞」形質転換、および壊死を含む、細胞変性に関連する。この障害はまた、毛包の数の減少、線維症の減少、および活動的な増殖期(成長期)における毛包の数の減少を生じる。アポトーシスまた、例えば、男性ホルモン性脱毛症、萎縮性脱毛症、および前部線維化脱毛症において実証されている(例えば、Tobin(1997)Microsc.Res.Tech.15:443-451;Tobinら(1991)Am.J.Dermatopathol.13:248-56;Bergfeld(1989)Adv.Dermatol.4:301-320;TruebおよびTorricelli(1998)Hautarzt 49:388-391;MorganおよびRose(2003)Ann.Clin.Lab.Sci.33:107-112;Pierard-FranchimontおよびPierard(1986)Dermatologica 172:254-257を参照のこと)。

10

【0044】

本発明は、毛包の免疫学的寛容における変化または崩壊から生じる障害を処置するための方法を提供する。例えば、円形脱毛症は、毛包の免疫学的寛容における崩壊に關与する(例えば、Perretら(1984)Acta Derm.Venerol.64:26-30;Rankiら(1984)J.Invest.Dermatol.83:7-11;Billingham(1971)Adv.Biol.Skin 11:183-198;BillinghamおよびSilvers(1971)J.Invest.Dermatol.57:227-240;ClaessonおよびHardt(1970)Transplantation 10:349-351;Pausら(2003)Br.J.Dermatol.131:177-183;Harristら(1983)Br.J.Dermatol.109:623-633;Christophersら(2000)Br.J.Dermatol.142:862-873;Welkerら(1997)Arch.Dermatol.Res.289:554-557;Slominskiら(1998)Biochim.Biophys.Acta 1448:147-152;Botchkarerら(1999)Ann.N.Y.Acad.Sci.885:433-439;Fuzziら(2002)Eur.J.Immunol.32:311-315;Safaviら(1995)Mayo Clin.Proc.70:628-633;Eichmullerら(1998)J.Histochem.Cytochem.46:361-370を参照のこと)。

20

30

【0045】

(III.結合組成物)

本発明の方法によって提供される結合組成物は、試薬(例えば、CD200、CD200レセプター(別名CD200R)、可溶性レセプター、および抗体、ならびにこれらの試薬をコードする核酸を含有する。CD200およびCD200レセプターは、膜結合タンパク質である。CD200は、広範な組織分布を有するが、CD200Rは、例えば、骨髄性細胞で発現される。CD200およびCD200Rによって媒介される細胞シグナル伝達は、免疫細胞活性の障害を生じる。例えば、CD200の可溶性の型またはアゴニストの抗CD200R抗体を有するCD200/CD200Rシグナル伝達経路の刺激は、種々の炎症性障害の動物モデルを処置する際に効果的である。これと一致するのは、例えば、遮断抗CD-200抗体で処置することによる、またはCD200ノックアウト(CD200KO)技術によるCD200/CD200Rシグナル伝達経路の障害が、炎

40

50

症性障害に対する感受性を促進または増加することである。これらの炎症性障害としては、実験的自己免疫性脳脊髄炎 (EAE)、小神経膠細胞媒介性神経損傷、コラーゲン誘導関節炎 (CIA)、移植拒絶 (transplant rejection)、および移植片拒絶 (graft rejection) が挙げられる。さらに、CD200/CD200Rシグナル伝達のアンタゴニストを有する処置は、腫瘍細胞に対する免疫応答の増加を生じる (例えば、Hoekら (2000) *Science* 290:1768-1771; Gorczyńskiら (2002) *Clin. Immunol.* 104:256-264; Gorczyński (2001) *Eur. J. Immunol.* 31:2331-2337; Gorczyńskiら (2001) *Clin. Exp. Immunol.* 126:220-229; Barclayら (2002) *TRENDS Immunol.* 23:285-290を参照のこと)。

【0046】

CD200は広範に分布し、例えば、T細胞、B細胞、樹状細胞、ニューロン、血管内皮、腎系球体、黄体、栄養膜、および平滑筋によって発現される。CD200Rは、より狭く分布し、例えば、顆粒球上、単球上、T細胞上、B細胞上、NK細胞上、NKT細胞上、好中球上、好塩基球上、および単球上に見出される。白血病の細胞もまた、CD200を発現することを示されている (例えば、Gorczyńskiら (2001) *Clin. Exp. Immunol.* 126:220-229を参照のこと)。CD200Rは、げっ歯類およびヒトの両方における遺伝子のファミリーとして存在する。マウスのCD200Rは、mCD200Rとして存在するが、また、関連するCD200R様タンパク質 (CD200RL) の群としても存在し、mCD200RLa、mCD200RLb、mCD200RLc、およびmCD200RLdと命名される。mCD200RLaおよびmCD200RLbの各対はDAP12を有し、そして活性化シグナルを送達し、阻害シグナルを送達しない。mCD200RLaおよびmCD200RLbは、CD200に結合しないようである。ヒトCD200Rは、hCD200RおよびhCD200RLaとして存在するが、hCD200RLaは発現されないようである (Wrightら (2001) *Immunology* 102:173-179; Wrightら (2003) *J. Immunol.* 171:3034-3046; LanierおよびBakker (2000) *Immunol. Today* 21:611-614)。

【0047】

本発明の方法は、CD200に対する遮断抗体、CD200Rに対する遮断抗体、CD200Rに対するアゴニストの抗体、(例えば、可溶性レセプターの形態における) CD200またはCD200Rの細胞外ドメインに由来するポリペプチド、(例えば、可溶性レセプターの形態における) CD200Rの細胞外ドメインに由来するポリペプチド、およびこれらの細胞外ドメインの融合タンパク質を提供する。CD200およびFcフラグメントの2つの細胞外ドメインを含む融合タンパク質は、「CD200Fc融合タンパク質」、「CD200Fc」、「CD200-Ig」、「CD200 Ig融合タンパク質」および「イムノアドヘシン」として公知である。Ig融合タンパク質は、Fcレセプター (FcR) および相補体への結合を防止するために、変異 (Fcの定常領域におけるD265A) を含み得る (例えば、Idusogieら (2000) *J. Immunol.* 164:4178-4184; Wrightら (2003) *J. Immunol.* 171:3034-3046; Gorczyńskiら (2002) *Clin. Immunol.* 104:256-264; Chenら (1997) *Biochim. Biophys. Acta* 1362:6-10を参照のこと)。

【0048】

成熟したヒトCD200の細胞外領域は、GenBank NP_005935 (gi:15451904) のおよそアミノ酸31~232に相当すると予想される (また、Chenら (1997) *Biochim. Biophys. Acta* 1362:6-10を参照のこと)。成熟したヒトCD200Rの細胞外領域は、GenBank Q8TD46 (gi:26006823) のおよそアミノ酸27~242に相当すると予想される

(Wrightら(2003) J. Immunol. 171:3034-3046もまた参照のこと)。可溶性レセプターに関する一般的な方法が、利用可能である(例えば、Monahanら(1997) J. Immunol. 159:4024-4034; Morelandら(1997) New Engl. J. Med. 337:141-147; Borishら(1999) Am. J. Respir. Crit. Care Med. 160:1816-1823; Uchibayashiら(1989) J. Immunol. 142:3901-3908を参照のこと)。例えば、GenBank NP_005935のアミノ酸31~230;アミノ酸31~231;アミノ酸31~232;アミノ酸31~233;アミノ酸31~234;およびアミノ酸31~235を含むCD200の可溶性ポリペプチドが提供される。例えば、GenBank NP_Q8TD46のアミノ酸27~262;アミノ酸27~263;アミノ酸27~264;アミノ酸27~265;アミノ酸27~266;およびアミノ酸27~267を含むCD200Rの可溶性ポリペプチドが提供される。

10

【0049】

ヒトCD200の増加した抗原性の領域は、Vector NTI Suite 7(登録商標)(Accelrys, San Diego, CA)を使用するParkerプロット分析に従って、例えば、GenBank NP_005935のアミノ酸36~42;アミノ酸54~59;アミノ酸65~74;アミノ酸79~83;アミノ酸87~93;アミノ酸111~118;アミノ酸159~168;アミノ酸175~197;アミノ酸202~211;および260~268に存在するが、ヒトCD200Rの増加した抗原性の領域は、例えば、GenBank Q8TD46のアミノ酸29~40;アミノ酸79~104;アミノ酸109~116;アミノ酸136~140;アミノ酸159~178;アミノ酸182~191;アミノ酸194~204;アミノ酸235~242;アミノ酸266~281;アミノ酸284~300;およびアミノ酸303~313;において存在する。インタクトなタンパク質、変性したタンパク質、またはタンパク質の遊離ペプチドフラグメントもしくは結合ペプチドフラグメントが、免疫のために使用され得る(例えば、HarlowおよびLane(1988) Antibodies A Laboratory Manual, Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, NY, pp. 139-243を参照のこと)。

20

30

【0050】

モノクローナル抗体、ポリクローナル抗体、およびヒト化抗体が、調製され得る(例えば、ShepherdおよびDean(編)(2000) Monoclonal Antibodies, Oxford Univ. Press, New York, NY; KontermannおよびDubel(編)(2001) Antibody Engineering, Springer-Verlag, New York; HarlowおよびLane(1988) Antibodies A Laboratory Manual, Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, NY, pp. 139-243; Carpenterら(2000) J. Immunol. 165:6205; Heら(1998) J. Immunol. 160:1029; Tangら(1999) J. Biol. Chem. 274:27371-27378; Bacaら(1997) J. Biol. Chem. 272:10678-10684; Chothiaら(1989) Nature 342:877-883; FooteおよびWinter(1992) J. Mol. Biol. 224:487-499; Vasquezらの発行された米国特許第6,329,511号を参照のこと)。

40

【0051】

ヒト化の代替は、ファージ提上に示されたヒト抗体ライブラリーまたはトランスジェニックマウスにおけるヒト抗体ライブラリーを使用することである(Vaughanら(1996) Nature Biotechnol. 14:309-314; Barbas(

50

1995) *Nature Medicine* 1: 837 - 839; Mendezら (1997) *Nature Genetics* 15: 146 - 156; HoogenboomおよびChames (2000) *Immunol. Today* 21: 371 - 377; Barbasら (2001) *Phage Display: A Laboratory Manual*, Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, New York; Kayら (1996) *Phage Display of Peptides and Proteins: A Laboratory Manual*, Academic Press, San Diego, CA; de Bruinら (1999) *Nature Biotechnol.* 17: 397 - 399)。

10

【0052】

単鎖抗体および二重特異性抗体 (diabodies) が、記載されている (例えば、Maleckiら (2002) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 99: 213 - 218; Conrathら (2001) *J. Biol. Chem.* 276: 7346 - 7350; Desmyterら (2001) *J. Biol. Chem.* 276: 26285 - 26290; HudsonおよびKortt (1999) *J. Immunol. Methods* 231: 177 - 189; および米国特許第4,946,778号を参照のこと)。二官能性抗体が提供される (例えば、Mackら (1995) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 92: 7021 - 7025; Carter (2001) *J. Immunol. Methods* 248: 7 - 15; Volkelら (2001) *Protein Engineering* 14: 815 - 823; Segalら (2001) *J. Immunol. Methods* 248: 1 - 6; Brennanら (1985) *Science* 229: 81 - 83; Rasola (1997) *J. Biol. Chem.* 272: 27623; Morrison (1985) *Science* 229: 1202 - 1207; Trauneckerら (1991) *EMBO J.* 10: 3655 - 3659; ならびに米国特許第5,932,448号、同第5,532,210号、および同第6,129,914号を参照のこと)。

20

【0053】

本発明は、CD200R (阻害レセプター)、およびITAM含有レセプターである活性化レセプターを含む活性化レセプターに特異的に結合し得る二重特異性抗体を提供する。CD200Rおよび活性化レセプターへの二官能性抗体の同時結合は、CD200Rと活性化レセプターとの交差結合を生じる。例えば、本発明は、CD200RおよびT細胞レセプターのポリペプチドに結合する二重特異性抗体; CD200RおよびFcRIに結合する二重特異性抗体; ならびにCD200RおよびFcRIIAに結合する二重特異性抗体を提供する。コンセンサスITAM配列は、YxxL/Ix₆₋₈YxxL/Iであり、ここで、(Y)はリン酸化され得、活性化レセプターおよび/または副タンパク質 (accessory protein) のシグナル伝達特性における変化を生じる。ITAMモチーフは、活性化レセプターそれ自体の内部または活性化レセプターに結合する副タンパク質の内部に存在し得、それによって、活性化レセプターに活性化特性を与える。ITAMモチーフ含有レセプターを含む活性化レセプターとしては、例えば、CD3、CD2、CD10、CD161、DAP-12、KAR、KARAP、FcRI、FcRII、FcRIIA、FcRIIC、FcRIII/CD16、Trem-1、Trem-2、CD28、p44、p46、B細胞レセプター、LMP2A、STAM、STAM-2、GPVI、およびCD40が挙げられる (例えば、Azzoniら (1998) *J. Immunol.* 161: 3493; Kitaら (1999) *J. Immunol.* 162: 6901; Merchantら (2000) *J. Biol. Chem.* 275: 38633; Zhengら (2001) *J. Biol. Chem.* 276: 12999; Probstら (2000) *J. Immunol.* 165: 2214; Long (1999) *Ann. Rev. Immunol.* 17: 875を参照のこと)。

30

40

50

【0054】

抗原の精製は、抗体の作製のために必ずしも必要ではない。動物は、目的の抗原を有する細胞で免疫され得る。次いで、脾細胞が免疫された動物から単離され得、この脾細胞は、骨髄腫細胞株と融合され得、ハイブリドーマを産生し得る（例えば、Meynardら（1997）*Immunity* 7:283-290；Wrightら（2000）*Immunity* 13:233-242；Prestonら前出；Kaithamanaら（1999）*J. Immunol.* 163:5157-5164を参照のこと）。

【0055】

抗体は、通常少なくとも約 10^{-3} Mの K_D 、より通常は少なくとも 10^{-6} Mの K_D 、代表的には少なくとも 10^{-7} Mの K_D 、より代表的には少なくとも 10^{-8} Mの K_D 、好ましくは少なくとも約 10^{-9} Mの K_D 、より好ましくは少なくとも 10^{-10} Mの K_D 、および最も好ましくは少なくとも 10^{-11} Mの K_D で結合する（例えば、Prestara（2001）*Thromb. Haemost.* 85:379-389；Yangら（2001）*Crit. Rev. Oncol. Hematol.* 38:17-23；Carnahanら（2003）*Clin. Cancer Res.*（補遺）9:3982s-3990sを参照のこと）。

【0056】

ポリペプチド、抗体、および核酸は、例えば、小さい薬物分子、酵素、リポソーム、ポリエチレングリコール（PEG）、または融合タンパク質である抗体と結合体化され得る。抗体は、診断目的またはキットの目的に有用であり、そしてこの抗体は、例えば、色素、放射性同位体、酵素、または金属（例えば、金コロイド）と結合された抗体を含む（例えば、Le Doussalら、（1991）*J. Immunol.* 146:169-175；Gibelliniら、（1998）*J. Immunol.* 160:3891-3898；HsingおよびBishop（1999）*J. Immunol.* 162:2804-2811；Evertsら、（2002）*J. Immunol.* 168:883-889を参照のこと）。

【0057】

本発明はまた、アンチセンス核酸として使用するためか、または低分子干渉RNA（siRNA）のための結合組成物を提供する（例えば、ArenzおよびScheepers（2003）*Naturwissenschaften* 90:345-359；SazaniおよびKole（2003）*J. Clin. Invest.* 112:481-486；Pirolloら、（2003）*Pharmacol. Therapeutics* 99:55-77；Wangら、（2003）*Antisense Nucl. Acid Drug Devel.* 13:169-189；Chengら、（2003）*Mol. Genet. Metab.* 80:121-128；KittlerおよびBuchholz（2003）*Semin. Cancer Biol.* 13:259-265を参照のこと）。

【0058】

本発明は、CD200の発現またはCD200Rの発現を増加させる試薬を使用する方法を包含する。細胞表面上のレセプターの発現を増加させる因子は、細胞表面上の標的レセプターの有効濃度を増加させ、したがってそのレセプターに特異的な結合組成物の活性を増加させるために有用である（例えば、van de Winkelら、（1991）*J. Leukocyte Biol.* 49:511-524；van de Winkelら、（1993）*Immunol. Today* 14:215-221；Heijnenら、（1997）*Intern. Rev. Immunol.* 16:29-55；FridmanおよびSautes（1996）*Cell-Mediated Effects of Immunoglobulins*, ChapmanおよびHall, New York, NY, pp. 39-40を参照のこと）。

【0059】

（IV. ポリペプチドおよび核酸の精製ならびに修飾）

企図される方法に使用するためのポリペプチド（例えば、抗原、抗体、および抗体フラグメント）、および核酸は、当該分野において確立される方法によって精製され得る。精製は、細胞または組織の均質化、免疫沈降およびクロマトグラフィーを包含し得る。精製または保存の間の安定性は、例えば、抗プロテアーゼ因子、抗酸化剤、イオン性界面活性剤および非イオン性界面活性剤、ならびに溶媒（例えば、グリセロールまたはジメチルスルホキシド）によって向上され得る。

【0060】

例えば、ペプチド、ポリペプチド、および核酸の修飾としては、エピトープタグ、蛍光基または放射活性基、単糖類または少糖類、硫酸基またはリン酸基、C末端アミド、アセチル化N-基およびエステル化N-基、アシル化（例えば、脂肪酸）、鎖内部の開裂したペプチド結合、ならびに脱アミド生成物が挙げられる（例えば、Johnsonら、(1989) *J. Biol. Chem.* 264:14262-14271; Youngら、(2001) *J. Biol. Chem.* 276:37161-37165を参照のこと）。グリコシル化は、用いられる組換え宿主生物の性質または生理学的状態に依存する（例えば、Jefferys (2001) *Biopharm* 14:19-27; Mimuraら、(2001) *J. Biol. Chem.* 276:45539-45547; Axford (1999) *Biochim. Biophys. Acta* 1:219-229; Malhotraら、(1995) *Nature Medicine* 1:237-243を参照のこと）。

【0061】

（V. 治療用組成物および治療的方法）

CD200もしくはCD200Rの、アゴニストまたはアンタゴニストを含む薬学的組成物または滅菌した組成物を調製するために、試薬は薬学的に受容可能なキャリアまたは賦形剤と混合される。治療用因子および診断用因子の処方物は、例えば、凍結乾燥粉末、スラリー、水溶液、ローション、または懸濁物の形態において、生理学的に受容可能なキャリア、賦形剤、または安定化剤と混合することによって調製され得る（例えば、Hardmanら、(2001) *Goodman and Gilman's The Pharmacological Basis of Therapeutics*, McGraw-Hill, New York, NY; Gennaro (2000) *Remington: The Science and Practice of Pharmacy*, Lippincott, WilliamsおよびWilkins, New York, NY; Avisら、(編) (1993) *Pharmaceutical Dosage Forms: Parenteral Medications*, Marcel Dekker, NY; Liebermanら、(編) (1990) *Pharmaceutical Dosage Forms: Tablets*, Marcel Dekker, NY; Liebermanら、(編) (1990) *Pharmaceutical Dosage Forms: Disperse Systems*, Marcel Dekker, NY; WeinerおよびKotkoskie (2000) *Excipient Toxicity and Safety*, Marcel Dekker, Inc., New York, NYを参照のこと）。

【0062】

治療剤のために投与レジメンを選択する工程は、数種の因子に依存し、この因子としては、血清または組織の実体の代謝回転速度、症状のレベル、実体の免疫原性、および生物学的マトリックス中の標的細胞の到達性が挙げられる。好ましくは、投与レジメンは、その患者に送達される治療剤の量を最大化し、この量は、副作用の受容可能なレベルと一致する。したがって、この生物学的に送達される量は、特定の実体および処置される状態の重症度に、一部依存する。抗体、サイトカイン、および低分子の適切な用量を選択する工程における指針が利用可能である（例えば、Wawrzynczak (1996) *Antibody Therapy*, Bios Scientific Pub. Ltd, Oxfordshire, UK; Kresina (編) (1991) *Monoclonal*

10

20

30

40

50

Antibodies, Cytokines and Arthritis, Marcel Dekker, New York, NY; Bach (編) (1993) Monoclonal Antibodies and Peptide Therapy in Autoimmune Diseases, Marcel Dekker, New York, NY; Baertら、(2003) New Engl. J. Med. 348:601-608; Milgromら、(1999) New Engl. J. Med. 341:1966-1973; Slamonら、(2001) New Engl. J. Med. 344:783-792; Beniaminovitzら、(2000) New Engl. J. Med. 342:613-619; Ghoshら、(2003) New Engl. J. Med. 348:24-32; Lipskyら、(2000) New Engl. J. Med. 343:1594-1602を参照のこと)。

【0063】

抗体、抗体フラグメント、およびサイトカインは、持続的注入によって提供されても、例えば、1日、1週間または1週間あたり1~7回の間隔の投薬によって提供されてもよい。投薬は、静脈内、皮下、局所的、経口的、経鼻的、経直腸的、筋肉内、脳内に提供されても、吸入によって提供されてもよい。好ましい投薬プロトコルは、顕著な望ましくない副作用を回避する最大限の用量または用量の頻度を含むものである。一般的に、1週間の総用量は、少なくとも0.05 μg/kg体重であり、より一般的には少なくとも0.2 μg/kg体重であり、最も一般的には少なくとも0.5 μg/kg体重であり、代表的には少なくとも1 μg/kg体重であり、より代表的には少なくとも10 μg/kg体重であり、最も代表的には少なくとも100 μg/kg体重であり、好ましくは少なくとも0.2 mg/kg体重であり、より好ましくは少なくとも1.0 mg/kg体重であり、最も好ましくは少なくとも2.0 mg/kg体重であり、最適には少なくとも10 mg/kg体重であり、より最適には少なくとも25 mg/kg体重であり、そして最も適切には少なくとも50 mg/kg体重である(例えば、Yangら、(2003) New Engl. J. Med. 349:427-434; Heroldら、(2002) New Engl. J. Med. 346:1692-1698; Liuら、(1999) J. Neurosurg. Psych. 67:451-456; Portieljら、(2003) Cancer Immunol. Immunother. 52:133-144を参照のこと)。低分子治療剤(例えば、ペプチド模倣物(mimetic)、天然の産物、または有機的化合物)の望ましい用量は、モル/kg体重基準において、抗体またはペプチドに対するものとほぼ同じである。低分子治療剤の望ましい血漿中濃度は、モル/kg体重基準において、抗体に対するものとほぼ同じである。

【0064】

特定の患者のための有効量は、処置される状態、患者の全健康状態、投与経路および投与用量に関する方法、および副作用の重症度のような因子に依存して変化し得る(例えば、Maynardら、(1996) A Handbook of SOPs for Good Clinical Practice, Interpharm Press, Boca Raton, FL; Dent(2001) Good Laboratory and Good Clinical Practice, Urch Publ., London, UKを参照のこと)。

【0065】

代表的な獣医学上の被験体、実験用の被験体、または調査用の被験体としては、サル、イヌ、ネコ、ラット、マウス、ウサギ、モルモット、ウマおよびヒトが挙げられる。

【0066】

適切な用量の決定は、例えば、処置に影響することが当該分野において公知であるかもしくは推測されるパラメーターまたは因子、あるいは処置に影響することが予測されるパラメーターまたは因子を使用して、臨床医によってなされる。一般的に、この用量は、至適用量より若干少ない量を用いて開始し、その後それは、望まれる効果または最適な効果が任意の負の副作用に対して達成されるまで、小さい増量によって増加される。重要な診

断的測定としては、例えば、炎症の症状、または産生された炎症性サイトカインのレベルの測定が挙げられる。好ましくは、使用される生物製剤は、処置のために標的化された動物と同じ種に由来し、したがってその試薬に対する体液性の応答を最小化する。

【0067】

第2の治療因子（例えば、サイトカイン、ステロイド、化学療法剤、抗生物質または放射線）を伴う同時投与または処置のための方法は、当該分野において周知である（例えば、Hardmanら、（編）（2001）Goodman and Gilman's The Pharmacological Basis of Therapeutics, 第10版、McGraw-Hill, New York, NY; Poole and Peterson（編）（2001）Pharmacotherapeutics for Advanced Practice: A Practical Approach, Lippincott, Williams & Wilkins, Phila., PA; Chabner and Longo（編）（2001）Cancer Chemotherapy and Biotherapy, Lippincott, Williams & Wilkins, Phila., PAを参照のこと）。治療剤の有効量は、その症状を、代表的には少なくとも10%；通常は少なくとも20%；好ましくは少なくとも約30%；より好ましくは少なくとも40%、そして最も好ましくは少なくとも50%軽減する。

10

【0068】

投与の経路は、例えば、局所適用もしくは皮膚適用、静脈内経路、腹腔内経路、脳内経路、筋肉内経路、眼内経路、動脈内経路、脳脊髄内経路、病巣内経路または肺の経路による注射もしくは注入、または徐放システムもしくは移植によるものである（例えば、Sidmanら、（1983）Biopolymers 22: 547-556; Langerら、（1981）J. Biomed. Mater. Res. 15: 167-277; Langer（1982）Chem. Tech. 12: 98-105; Epsteinら、（1985）Proc. Natl. Acad. Sci. USA 82: 3688-3692; Hwangら、（1980）Proc. Natl. Acad. Sci. USA 77: 4030-4034; 米国特許第6,350,466号および同第6,316,024号を参照のこと）。

20

【0069】

（VI. キット）

本発明は、診断キット中のCD200のアゴニストおよびアンタゴニスト（例えば、タンパク質、そのフラグメント、抗体に由来する結合組成物、核酸、およびそのフラグメント）を使用する方法を提供する。CD200またはCD200Rの検出のための結合組成物（抗体または抗体フラグメントが挙げられる）、およびその代謝産物およびその分解産物（脱アミド、限定されたタンパク質分解または加水分解による開裂、またはジスルフィド結合の酸化もしくは形成から生じる生成物が挙げられる）もまた提供される。代表的に、このキットは、CD200ポリペプチドもしくはCD200Rポリペプチドのいずれか、またはその抗原フラグメント、それに対する結合組成物、あるいはストリンジентな条件下でCD200もしくはCD200Rをコードする核酸にハイブリダイズし得る核酸（例えば、核酸プローブまたは核酸プライマー）を含む区画を有する。

30

40

【0070】

このキットは、例えば、試薬および区画、試薬および使用のための説明書、または区画を伴う試薬および使用のための説明書を備え得る。この試薬は、CD200、CD200R、もしくは細胞外領域に由来する可溶性の変形、またはそれらの抗原性フラグメント、結合組成物、あるいは核酸を含み得る。試験化合物（例えば、生物学的試料または化学物質のライブラリーから得られた）の結合を決定するためのキットは、コントロール化合物、標識された化合物、および遊離の標識された化合物と結合型の標識された化合物とを分離するための方法を備え得る。

【0071】

50

核酸プローブまたは核酸プライマーのストリンジェントなハイブリダイゼーションを可能にする条件が、利用可能である(例えば、Freemanら、(2000) *Biotechniques* 29:1042-1055; de SilvaおよびWittwer (2000) *J. Chromatogr. B. Biomed. Sci. Appl.* 741:3-13; Long (1998) *Eur. J. Histochem.* 42:101-109; Musianiら、(1998) *Histol. Histopathol.* 13:243-248; Gillespie (1990) *Vet. Microbiol.* 24:217-233; Giuliottiら、(2001) *Methods* 25:386-401; SchweitzerらおよびKingsmore (2001) *Curr. Opin. Biotechnol.* 12:21-27; Speelら、(1999) *J. Histochem. Cytochem.* 47:281-288; TsuruokaらおよびKarube (2003) *Comb. Chem. High Throughput Screen.* 6:225-234; Roseら、(2002) *Biotechniques* 33:54-56を参照のこと)。

【0072】

診断的アッセイは、生物学的マトリックス(例えば、生細胞、細胞抽出物、細胞溶解物、固定された細胞、細胞培養物、体液、または法医学的試料)と共に使用され得る。診断目的またはキットの目的のために有用な結合体化された抗体としては、色素、同位体、酵素および金属と結合された抗体が挙げられる(例えば、Le Doussalら、(1991) *New Engl. J. Med.* 146:169-175; Gibelliniら (1998) *J. Immunol.* 160:3891-3898; HsingらおよびBishop (1999) *New Engl. J. Med.* 162:2804-2811; Evertsら、(2002) *New Engl. J. Med.* 168:883-889を参照のこと)。種々のアッセイ形式(例えば、ラジオイムノアッセイ(RIA)、ELISAおよびラボオンチップ(lab on a chip)が存在する(米国特許第6,176,962号および同第6,517,234号)。

【0073】

この診断方法は、試験被験体から得た試料と、CD200もしくはCD200Rのポリペプチドまたは核酸に対して特異的に結合する結合組成物とを接触させる工程を包含し得る。さらに、この診断方法は、コントロール被験体またはコントロール試料に由来する試料にこの結合組成物を接触させる工程、およびこの試験被験体に見出される結合と、このコントロール被験体またはコントロール試料に見出される結合とを比較する工程を、さらに包含する。「試験試料」は、脱毛症を経験する被験体から得た皮膚試料に由来し得、一方で「コントロール試料」は、正常な被験体から得た皮膚試料に由来し得るか、または脱毛症を経験する被験体から得た影響を受けていない皮膚試料に由来し得る。被験体は、例えば、ヒト、獣医学上の被験体、実験上の被験体、または農業上の被験体であり得る。由来されるものは、生検、試料、抽出物、あるいは加工されたか、精製されたか、もしくは半精製された(semi-purified)試料または抽出物を包含する。

【0074】

(VII. 使用)

本発明は、毛包の障害の診断、処置、または防止のための方法を提供し、この障害としては、毛包の増殖障害および炎症性障害(例えば、癬痕性脱毛症および非癬痕性脱毛症)が挙げられる。男性ホルモン性脱毛症(AGA)、円形脱毛症(AA)、および牽引性脱毛症を処置するための方法が、提供される。萎縮性脱毛症(PB)、慢性の皮膚エリテマトーデス(CCLE)、毛孔性扁平苔癬(LPP)、解離性蜂巣炎、ざ瘡ケロイド症、中枢神経性で遠心性の癬痕性脱毛症(CCSA)、および線維化脱毛症を処置するための方法もまた、提供される。さらに、本発明は、不正確な成長期症候群(loose anagen syndrome)、慢性休止期脱毛症および毛孔性扁平苔癬の、前頭の線維化脱毛症改変体の処置および診断のための方法を提供する。抜け毛および禿頭症の処置ならびに診断の方法が提供され、抜け毛および禿頭症としては、薬物誘導性の抜け毛が挙げら

れる(例えば、Tosiら、(1994) Drug Saf. 10:310-317; SullivanおよびKossard(1998) Australas J. Dermatol. 39:207-218を参照のこと)。

【0075】

身体の免疫学的寛容領域の炎症性障害または自己免疫障害を、処置または診断するための方法もまた、提供される。身体の免疫学的寛容領域としては、毛包、眼、中枢神経系、脳、および生殖系が挙げられる(Christophersら、(2000) Br. J. Dermatol. 142:862-873; StreileinおよびStein-Streilein(2000) J. Leukocyte Biol. 67:479-487; Fergusonら、(2002) Int. Rev. Immunol. 21:153-172; Pausら、(2003) J. Investig. Dermatol. Symp. Proc. 8:188-194)。

10

【0076】

さらに、本発明は、脱毛薬を使用する方法を提供する。この脱毛薬は、例えば、CD200のアンタゴニスト(例えば、抗CD200抗体、抗CD200R遮断抗体、CD200Rの細胞外領域の可溶性の変形、またはそのペプチド模倣物を含む。本方法の毛の除去は、完全に十分ではなく、そして副作用を生じる(例えば、色素脱失および色素沈着過剰)(Toppingら、(2000) Ann. Plast. Surg. 44:668-674; Liew(1999) Dermatol. Surg. 25:431-439; Olsen(1999) J. Am. Acad. Dermatol. 40:143-155; de Berker(1999) Practitioner 243:493-498; Lanigan(2001) Clin. Exp. Dermatol. 26:644-647; Liew(2002) Am. J. Clin. Dermatol. 3:107-115; Trueb(2002) Am. J. Clin. Dermatol. 3:617-627)。

20

【0077】

脱毛薬は、炎症性因子または免疫活性化因子(例えば、炎症性サイトカイン、TH1型サイトカイン、TH2型サイトカイン、皮膚の刺激原、または接触過敏症もしくは皮膚炎を刺激する因子)との結合体化に使用され得る(例えば、ChewおよびMaibach(2003) Int. Arch. Occup. Environ. Health 76:339-346; AntexanaおよびParker(2003) Immunol. Allergy Clin. North Am. 23:269-290; Willis(2002) Contact Dermatitis 47:267-271; Smithら、(2002) Clin. Exp. Dermatol. 27:138-146; WollebnerおよびBieber(2001) Transplant Proc. 33:2212-2216を参照のこと)。

30

【0078】

本発明の幅広い範囲は、以下の実施例を参照することによって最もよく理解され、この実施例は、本発明を特定の実施形態に限定することを意図されない。

【実施例】

40

【0079】

(I. 一般的方法)

動物およびヒトにおける皮膚の炎症状態の診断および処置のための方法が記載されている(例えば、Ackerman(1997) Histological Diagnosis of Inflammatory Skin Disease, 第2版, Lippincott, Williams, and Wilkins, New York, NY; Gallinら、(1999) Inflammation: Basic Principles and Clinical Correlates, 第3版, Lippincott, Williams, and Wilkins, New York, NY; Parnhamら、(1991) Drugs in Inflammation (Agents

50

and Actions 補遺, 第32巻), Springer Verlag, Inc., New York, NY; Chan (編) (2003) Animal Models of Human Inflammatory Skin Diseases, CRC Press, Boca Raton, FL; KownatzkiおよびNorgauer (編) (1998) Chemikines and Skin, Birkhauser Verlag, Basel, Switzerland; Kanitakisら (編) (1999) Diagnostic Immunohistochemistry of the Skin, Lippincott, Williams, and Wilkins, New York, NYを参照のこと)。

【0080】

10

脱毛症の動物モデルおよび関連する方法が利用可能である。これらの方法は、皮膚移植片の使用、免疫細胞を注射された皮膚移植片の使用、免疫細胞の皮下注射、およびDundeeの実験的ボールドラット(bald rat) (例えば、Zollerら、(2002) J. Invest. Dermatol. 118: 983-992; Sundbergら、(2001) Eur. J. Dermatol. 11: 321-325; Sundbergら、(2000) Am. J. Pathol. 156: 2067-2075; McElweeおよびHoffmann (2002) Clin. Exp. Dermatol. 27: 410-417; McElweeら、(1996) Br. J. Dermatol. 135: 211-217; McElweeら、(1996) Br. J. Dermatol. 135: 211-217を参照のこと)などの動物の使用を包含する。

20

【0081】

ヒトの毛包および動物の毛包を分類するための方法が利用可能である(例えば、Muller-Roverら、(2001) J. Invest. Dermatol. 117: 3-15; Millar (2002) J. Invest. Dermatol. 118: 216-225を参照のこと)。皮膚の病理学および皮膚科学に関する一般的な方法が利用可能である(例えば、Bos (編) (1997) The Skin Immune System, CRC Press, Boca Raton, FL; Weedon (2002) Skin Pathology, 第2版, Churchill Livingstone, Phila., PA; Hobbifら、(編) (2001) Skin Disease: Diagnosis and Treatment, Mosby, Phila., PA; HabifおよびHabie (1996) Clinical Dermatology, 第4版., Mosby, Phila., PA; Mullerら、(2000) Muller and Kirk's Small Animal Dermatology, 第6版, W.B. Saunders, Phila., PA; Westonら、(2002) Color Textbook of Pediatric Dermatology, 第3版, Mosby, Phila., PAを参照のこと)。

30

【0082】

分子生物学における標準的な方法が記載されている(Maniatisら、(1982) Molecular Cloning, A Laboratory Manual, Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, NY; SambrookおよびRussell (2001) Molecular Cloning, 第3版, Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, NY; Wu (1993) Recombinant DNA, 第217巻, Academic Press, San Diego, CA)。標準的な方法はまた、Ausbelら、(2001) Current Protocols in Molecular Biology, 第1巻~第4巻, John Wiley and Sons, Inc. New York, NY (これは、細菌細胞におけるクローニングおよびDNA変異誘発(第1巻)、哺乳動物細胞および酵母におけるクローニング(第2巻)、複合糖質の発現およびタンパク質の発現(第3巻)、およびバイオインフォマティクス(第4巻)を記載する)に示

40

50

される。

【0083】

タンパク質精製のための方法（免疫沈降、クロマトグラフィー、電気泳動、遠心分離、および結晶化が挙げられる）が記載されている（Coliganら、（2000）*Current Protocols in Protein Science*, 第1巻, John Wiley and Sons, Inc., New York）。化学的分析、化学修飾、翻訳後修飾、融合タンパク質の産生、タンパク質のグリコシル化が記載されている（例えば、Coliganら、（2000）*Current Protocols in Protein Science*, 第2巻, John Wiley and Sons, Inc., New York; Ausubelら、（2001）*Current Protocols in Molecular Biology*, 第3巻, John Wiley and Sons, Inc., NY, NY, pp. 16.0.5 - 16.22.17; Sigma-Aldrich, Co.（2001）*Products for Life Science Research*, St. Louis, MO; pp. 45 - 89; Amersham-Pharmacia Biotech（2001）*BioDirectory*, Piscataway, N.J., pp. 384 - 391を参照のこと）。ポリクローナル抗体およびモノクローナル抗体の産生、精製および断片化が記載されている（Coliganら、（2001）*Current Protocols in Immunology*, 第1巻, John Wiley and Sons, Inc., New York; HarlowおよびLane（1999）*Using Antibodies*, Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, NY; HarlowおよびLane, 前出）。リガンド/レセプター相互作用を特徴付けるための標準的な技術が利用可能である（例えば、Coliganら、（2001）*Current Protocols in Immunology*, 第4巻, John Wiley, Inc., New Yorkを参照のこと）。

【0084】

細胞培養および組織培養における標準的な技術が記載されている（例えば、Freshney（2000）*Culture of Animal Cells: A Manual of Basic Technique*, 第4版., Wiley-Liss, Hoboken, NJ; Masters（編）（2000）*Animal Cell Culture: A Practical Approach*, 第3版., Oxford Univ. Press, Oxford, UK; Doyleら（編）（1994）*Cell and Tissue Culture: Laboratory Procedures*, John Wiley and Sons, NY; Melamedら、（1990）*Flow Cytometry and Sorting* Wiley-Liss, Inc., New York, NY; Shapiro（1988）*Practical Flow Cytometry* Liss, New York, NY; Robinsonら、（1993）*Handbook of Flow Cytometry Methods*, Wiley-Liss, New York, NYを参照のこと）。

【0085】

例えば、抗原性フラグメント、シグナル配列およびリーダー配列、タンパク質の折り畳みおよび機能性ドメインを決定するためのソフトウェアパッケージが利用可能である。例えば、Vector NTI（登録商標）Suite（Informax, Inc., Bethesda, MD）; GCG Wisconsin Package（Accelrys, Inc., San Diego, CA）、およびDeCypher（登録商標）（TimeLogic Corp., Crystal Bay, Nevada）; Menneraら、（2000）*Bioinformatics* 16: 741 - 742を参照のこと。公開された配列データベース（例えば、GenBankおよびその他からの）をまた、使用した。

10

20

30

40

50

【0086】

(II. ケラチノサイトの培養、組織学、および皮膚移植のための方法)

C57BL/6マウス(B6)をJackson Laboratories (Bar Harbor, ME)から入手した。CD200KOマウスは、B6バックグラウンド(DNAX Research, Inc., Palo Alto, CA)に由来した。年齢/性別を合わせたマウスを、全ての実験において使用した。マウスのKC細胞株、PAM212、SP-1、および308を、Stuart Yuspa (National Institute of Health, Bethesda, MD)から得た。

【0087】

細胞株を、10%のウシ胎仔血清(FBS)を補充したダルベッコ改変イーグル培地(DMEM) (GIBCO BRL, Grand Island, NY)で培養した。ヒトケラチノサイトを、新生児のヒト包皮から誘導し、そしてケラチノサイトSFM (GIBCO-BRL, Rheinwald and Green Cell-6:317-330)中で培養した。新生仔の体幹の皮膚または成体の耳の皮膚を、B6マウスおよび表皮細胞(EC) (Tamakiら、(1979) J. Immunol. 123:784-787)から切除した。皮膚を、軟骨の平面に沿って穏やかに裂くことによって分離し、そして37にて45分間、リン酸緩衝生理食塩水(PBS)中の0.5%のトリプシン(GIBCO BRL)上に浮かべた。表皮のシートを、その真皮から剥がし、10%のウシ胎仔血清(FBS)を含むPBS中の0.05% DNAase (Sigma, St. Louis, MO)に再懸濁した。単一細胞の懸濁物を、シリンジによる勢いのある通過によって得た。逆転写ポリメラーゼ連鎖反応(RT-PCR)分析のために、細胞を、ケラチノサイトSFM中で培養した。

【0088】

フローサイトメトリーのために、新しく単離した表皮細胞を、冷リン酸緩衝化生理食塩水(PBS)中で1回洗浄し、そして 4×10^5 個の細胞を、以下の試薬のいずれかによって、4にて30分間染色した:抗mCD200抗体(OX-90)を結合体化したAlexa Fluor-647 (Molecular Probes, Eugene, OR); ラットIgGアイソタイプのコントロール(R35-95)を結合体化したAlexa Fluor-647; PE抗hCD200 (MRC OX-104); FITC抗I-A^b (KH74); PE抗CD3 (145-2C11); 7AAD (CalBiochem, La Jolla, CA)。抗体をPharmingen (San Diego, CA)から得た。OX-90およびR35-95 mAbを、製造業者のプロトコルに従ってAlexa Fluor 647に結合体化した。細胞を、冷PBS中で2回洗浄し、そしてBecton Dickinson FACScan (登録商標) フローサイトメーター (San Jose, CA)におけるフローサイトメトリーによって分析した。

【0089】

ケラチノサイトを、上記のように単離し、そしてケラチノサイトSFM中で培養した。2回の継代の後、細胞を回収し、そして全RNAを、TRIzol (登録商標) (Life Technologies, Rockville, MD)によって抽出した。RNAを定量し、そして等量(約1マイクログラム)を、Thermoscript (登録商標) RT-PCRシステム (Gibco BRL, Grand Island, NY)を使用し、オリゴ(dT)プライマーを用いてcDNAに逆転写した。RT-PCRを、マウスCD200の以下の領域にハイブリダイズするプライマーを使用して行った:ヌクレオチド123~141にハイブリダイズする1つの20塩基プライマー、およびGenBank NM_010818の核酸配列のヌクレオチド441~458にハイブリダイズする第2の19塩基プライマー。第2のプライマーセットを、 β -アクチンの発現を評価するために使用した。

【0090】

新生仔の体幹の皮膚を野生型(WT)マウスまたはCD200KOマウスのいずれかか

ら単離した。標本を直ちに、Tissue-Tek OCT Compound (Miles Inc., Elkhart, IN)中に置き、ドライアイス上で凍結し、そして-70で保存した。凍結切片(6マイクロメートル)を、免疫蛍光顕微鏡検査(Basset-Seguínら、(1988) J. Immunol. 141: 1273-1280)のために染色した。抗mCD200(OX-90)またはラットIgGアイソタイプのコントロール(R35-95)を、1次抗体として使用し、そしてFITC結合体化ヤギF(ab)₂抗ラットIgG(Jackson ImmunoResearch Laboratories, West Grove, PA)を、検出のために使用した。免疫組織化学を、記載される(Homeyら、(2000) J. Immunol. 164: 6621-6632)ように凍結切片上で行った。抗mCD200 mAbの結合またはラットIgGアイソタイプのコントロールmAbの結合を、ビオチン標識したウサギ抗ラットIgG(Vector Biosys, Compiegne, France)を使用し、その後ストレプトアビジン-ペルオキシダーゼを使用して検出した。この試薬は、Vectastain ABC kit, Vector Biosysから入手した。ペルオキシダーゼ活性を、室温にて5~10分間、3-アミノ-9-エチルカルバゾール基質(SK-4200, Vector)を使用して明らかにした。

10

【0091】

尾の皮膚を、記載される(Coliganら、(編)(1994) Skin Allograft Rejection in Current Protocols in Immunology, John Wiley, New York)ように、背側の体幹に移植した。要約すると、尾の皮膚を、歳を合わせた野生型の雌B6マウスおよびCD200KOの雌B6マウスから回収し、そして歳を合わせた野生型B6の雌の背部に移植した。いくつかの実験において、野生型の皮膚およびCD200KOの皮膚を、同じ宿主に移植し、そして他の実験において、各宿主は、1つの移植片のみを受容した。皮膚を、毎日および移植後の種々の時間において観察し、パンチ生検を採取した。標本を、PBS中の4%のホルマリン中に固定し、パラフィン中に包埋し、5マイクロメートルの厚さにて切断し、そしてヘマトキシリン-エオシン(H&E)によって染色した。

20

【0092】

(III. ケラチノサイトおよび毛包によるCD200の発現)

CD200特異的なRT-PCRを、以下のように、マウスおよびヒトの両方の1次ケラチノサイト細胞(KC)培養物に対して行った。表皮細胞(EC)を、仔マウスの皮膚およびヒト包皮の両方から単離し、そしてKC規定培地中で培養した。CD200のmRNAを、マウスおよびヒトの1次KC培養物の両方において検出した。コントロールとして、RT-PCRをまた、野生型マウスまたはCD200KOのB6マウスから単離した脾細胞のmRNAに対して行った。野生型の脾細胞による発現はマウスケラチノサイトまたはヒトケラチノサイト由来の発現より、若干少なかったが、CD200KOMaus由来の脾細胞による発現は、存在しなかった。

30

【0093】

ケラチノサイトが、それらの細胞表面上でCD200を発現する場合を決定するために、4色のフローサイトメトリーを、新しく単離した仔マウスの皮膚由来の表皮細胞に対して行った。野生型マウスおよびCD200KOMausからの単離後、表皮細胞を、FACS分析によって3つの異なるEC集団に分離した。これらの3つの細胞集団は：(1)T細胞(CD3⁺、MHC I I⁻)；(2)ランゲルハンス細胞(CD3⁻、MHC I I⁺)；および(3)ケラチノサイト(CD3⁻、MHC I I⁻)であった。この3つの細胞集団をFACS装置によって互いから分離した。野生型マウスから単離した細胞をCD200の発現について分析した、CD200KOMausから得た3つの細胞集団をコントロールとして分析した(表1)。

40

【0094】

(表1. 仔マウスの皮膚から新しく単離した表皮細胞の部分集団によるCD200の発現)

50

【 0 0 9 5 】

【 表 1 】

細胞型	表現型		FACS分析によるCD200の発現	
	CD3	MHCII	CD200 ^高 のパーセント	CD200 ^{低または負} のパーセント
ランゲルハンス細胞	—	高い	44%	56%
T細胞	高い	—	2%	98%
ケラチノサイト	—	—	15%	85%

10

野生型マウス由来のランゲルハンス細胞は、CD200の発現を示し、発現を、この細胞の約44%において見出した。野生型マウス由来のケラチノサイトは、2つの異なる集団である2相性の分布を示し、15%は、CD200の発現を示し、そして85%は、CD200のわずかな発現を示すか、または発現を示さなかった。野生型マウス由来のT細胞は、CD200のわずかな発現を示すか、または発現（細胞の2%）を示さなかった（表1）。予想通り、CD200KOマウスから調製した細胞は、CD200に対してわずかなシグナルを示すかまたは全くシグナルを示さなかった（ランゲルハンス細胞において5%、T細胞において2%、およびKCにおいて1%）。

【 0 0 9 6 】

成体マウスの耳の皮膚を表皮細胞の供給源として使用した場合、仔マウスの皮膚由来の細胞中に見出される割合（約15%）に対してCD3⁻MHCII⁻細胞集団中の若干低い割合のCD200⁺細胞を、見出した（5~15%の間）。

20

【 0 0 9 7 】

培養したケラチノサイト（MHCII⁻；CD3⁻表現型）が、細胞表面のCD200を発現するか否かを決定するために、数種のマウスのケラチノサイト細胞株および1次ヒトケラチノサイト培養物を、フローサイトメトリーによって分析した。ヒトケラチノサイトの1次培養物およびマウスのケラチノサイト細胞株（PAM212およびSP-1）は、CD200を発現しなかった。

【 0 0 9 8 】

マウスの表皮の共焦点スキャン顕微鏡検査は、MHCII陰性であり、CD3陰性である細胞の部分集団が、CD200だけではなくケラチン-14も発現することを実証した。この染色は、毛包の外毛根鞘のケラチノサイトにおいて際立っていた。ケラチン-14を伴う同時発現の表現型は、その細胞が幹細胞または遷移増幅細胞（transit amplifying cell）であることを示した。

30

【 0 0 9 9 】

表皮におけるCD200を発現する細胞の局在化を、新生仔の体幹の皮膚の生検を使用して決定した。細胞の位置を、仔マウスの皮膚の全身標本に対する、CD200特異的な免疫蛍光検査およびCD200特異的な免疫組織化学によって決定した。CD200の発現は、ほぼ毛包のみに、局在化した。CD200特異的な染色は、毛包に関連しない表皮中に観察されなかった。CD200⁺細胞は、毛包の全長にわたる比較的均一な発現を伴って毛包の外毛根鞘に主として位置した。CD200の発現を、球領域、峽領域、隆起領域および漏斗領域周辺に観察した。球マトリックス細胞、真皮乳頭状細胞、および毛幹の細胞は、CD200を発現しないようであった。発現の同様のパターンを、成体の耳の皮膚に観察した。コントロールとして、CD200の染色をまた、これまでに報告（Clarkら、（1985）EMBO J. 4:113-118）されたように、血管内皮細胞において観察した。

40

【 0 1 0 0 】

（IV. CD200は毛包関連性の自己免疫を抑制する）

CD200の欠如は、雌マウスのレシピエントに対するドナーの皮膚の移植後に示されるような、皮膚移植物の拒絶、または毛包のみの拒絶を促進した。ドナーのマウスから得

50

た尾の皮膚を、雌の野生型レシピエントマウスの体幹に移植した。移植後の種々の時間において、パンチ生検を作製し、切片を、ヘマトキシリン - エオシンによって染色した。雄の野生型もしくは雌の野生型 (CD200⁺/⁺)、またはCD200KOのB6マウス (CD200⁻/⁻B6マウス)のいずれかから得た尾の皮膚における同系の皮膚移植モデルを、野生型の雌B6レシピエントの背部に移植した。

【0101】

雌の移植片に対する雌を、研究した。増加した炎症性細胞の浸潤物を、早ければ移植後10日目に、雌のCD200KO移植片の真皮中で、野生型のメスの移植片に対して観察した。この浸潤物は、多形核細胞ならびに単核細胞からなり、そして毛包周囲の領域および毛包内部の領域に局在化した。この浸潤は、野生型の移植片において観察されなかった。移植後40日において、CD200KO移植片中の正常な毛包の構造を、炎症性細胞で置換し、これは毛包内部の浮腫および毛包内部のアポトーシスを伴った。炎症性細胞を、毛包間の表皮および毛包に関連しない表皮において、例外的に観察した。移植後80日までに、11個のCD200KO雌の移植片のうち11個において、その毛は完全に喪失したが、この移植片それ自体は、インタクトなままであった。

10

【0102】

雌の移植片に対する雌のさらなる詳細は、以下の通りであった。瘢痕および非瘢痕の両方の転帰を、見出した。組織学的な実験は、毛包の構造の完全な喪失を、支持した。いくつかのCD200KO移植片において、真皮の炎症は、真皮の瘢痕を経過して毛包の喪失の後に解消した。これらの移植片において、毛包に関連しない表皮は、概ね影響されないままであり、そして無毛の移植片は、長期間存続した。しかし、いくつかのCD200KO移植片の炎症は、毛包に関連しない表皮の関与に伴う毛包の排除後の真皮において持続し、最終的に、移植片の喪失を生じた。CD200KO移植片とは対照的に、野生型の移植片は、移植後10日の初期において、最小限の毛包に関連しない炎症のみを示し、この炎症は、40日で完全に消失した。野生型の移植片において、毛包の喪失は観察されず、そして野生型の全ての移植片は、毛と共に長期間(120日以上)存続した。

20

【0103】

CD200KOMausは、毛を有するが、以下に記載されるように、老化と共に抜け毛が起こる。雌のドナーから雌のレシピエントへのCD200KO皮膚の移植において見出された毛包の喪失(しかし、皮膚移植片は喪失しない)は、皮膚移植の外科的手順が、低レベルの炎症を生じる、炎症の引き金を提供し、この低レベルの炎症は、CD200⁻/⁻の皮膚移植片の毛包を攻撃する。

30

【0104】

雌の移植片に対する雄の結果は、以下の通りである。雄の野生型の移植片は、約1ヶ月で拒絶された。雄CD200KOの移植片は、より迅速に拒絶され、それは、約2週間以内であり、雄の皮膚移植片の拒絶からの保護におけるCD200の役割を実証した。雌の移植片に対する雄は、雌の移植片に対する雌と比較した場合、H-Y抗原への増大した応答に明らかに起因して、移植片の増加した拒絶に直面した。H-Y抗原は、雄の(Y)染色体上の遺伝子によってコードされる少量の組織適合性抗原の収集に言及する(例えば、Jamesら、(2002)Int. Immunol. 14:1333-1342を参照のこと)。

40

【0105】

CD200KOMausにおける老化に関する影響にも、取り組んだ。老化したCD200KOMausは、脱毛症および毛包の色素脱失を示した。老いたCD200KOMausの試験は、以下のことを実証した。老いたCD200KOMausのいくつかは、約8ヶ月の月齢における脱毛症および毛幹の色素脱失によって証明されるような、毛包関連性の自己免疫の兆候を示した。これらの老化に関する影響は、野生型のB6マウスのいずれの歳においても観察されなかった。野生型のC57BL/6Jは、正常に脱毛症を発症しない(例えば、Sundbergら、(2003)Invest. Dermatol. 120:771-775を参照のこと)。

50

【0106】

本発明は、例えば、脱毛症を処置するために、T細胞の活性を調節する方法を提供する。CD200のシグナル伝達およびCD200Rのシグナル伝達は、サイトカインのT細胞発現を制御する。水溶性CD200は、CD200R⁺のT細胞に接触して、インスリン様増殖因子-1およびインターフェロン- γ の発現の増加を生じた。これらの2つのサイトカインは、毛の成長を調節する(例えば、Signorellaら、(1999) J. Am. Acad. Dermatol. 40:200-203; Hirotaら、(2002) J. Interferon Cytokine Res. 22:935-945を参照のこと)。

【0107】

(V. ケラチノサイト由来の腫瘍細胞株によるCD200の発現)

本発明は、例えば、CD200のアゴニストを提供することによって、ケラチノサイト由来の腫瘍および癌を処置するための方法を提供する。ケラチノサイトの腫瘍細胞株(308細胞株)は、7,12-ジメチルベンズ(a)アントラセンによって、インビボでイニシエートし、高レベルのCD200を発現した。308細胞は、記載されている(例えば、Stricklandら、(1988) Cancer Res. 48:165-169を参照のこと)。したがって、ケラチノサイト由来の腫瘍は、CD200の発現を利用して免疫系の細胞を不活性化し得、したがって抗腫瘍免疫を回避する。2つの他のマウスケラチノサイトの腫瘍細胞株(PAM212およびSP-1)は、CD200を発現しないことを見出した。CD200の発現をまた、以下の他の腫瘍細胞株中に見出した:C1498(マウスの白血病); SCC-7(マウスの扁平表皮癌); およびU2OS(ヒトの骨肉種)。

【0108】

(VI. マウスの表皮におけるCD200Rの発現)

C57BL/6マウス(B6)を、Jackson Laboratories (Bar Harbor, ME)から購入した。CD200^{-/-}マウス(B6バックグラウンド由来(Hoekら、前出))は、Dr. Jonathan Sedgwick(DNA X Research Institute, Palo Alto, CA)によって提供された。全てのマウスをAmerican Association for the Accreditation of Laboratory Animal Careによって認定される、Medical College of Wisconsin's Animal Resource Centerで飼育した。

【0109】

(a. 表皮細胞の調製物)

成体の耳の皮膚を、B6マウスから切除し、そしてECを、これまでに記載された(Tamakiら、(1979) J. Immunol. 123:784-787)ように単離した。要約すると、皮膚を、軟骨の板から分離し、そしてPBS中の0.5%のトリプシン(GIBCO BRL)上に37℃にて45分間浮かべた。表皮のシートを、その真皮から剥がして、10%のFBSを含むPBS中の0.05%のDNAase(Sigma, St. Louis, MO)中に再懸濁した。単一細胞の懸濁物を、60ccのシリンジによる勢いのある通過によって得た。フローサイトメトリーのために、新しく単離したECを、冷PBSで1回洗浄し、そして 4×10^5 個の細胞を、以下を用いて、4℃にて30分間染色した:抗mCD200R1抗体(OX-110)を結合体化したAlexa Fluor-647(Molecular Probes, Eugene, OR); ラットIgGアイソトープのコントロール(R35-95)を結合体化したAlexa Fluor-647; PE抗マウスTCR(GL3); FITC抗I-A^b(KH74); 7AAD(CalBiochem, La Jolla, CA)。OX-110を除く全ての抗体を、Pharmingen(San Diego, CA)から入手し、OX-110は、Neil A. Barclay(University of Oxford, UK)によって寛大にも提供された。OX-110およびR35-95 mAbを、製造

10

20

30

40

50

業者のプロトコルに従ってAlexa Fluor 647に結合体化した。細胞を、冷PBSで2回洗浄し、そしてBecton Dickinson (San Jose, CA) FACSscanフローサイトメーター上でフローサイトメトリーによって分析した。RT-PCR分析のために、精製した表皮の白血球集団を、蛍光細胞分析分離 (FACS) によって得た。表皮細胞の懸濁物を、PE抗マウス TCR、FITC抗I-A^b および7AADによって染色した。TCR⁺/I-A⁻/7AAD⁻ (DETC)、TCR⁻/I-A⁺/7AAD⁻ (LC)、および TCR⁻/I-A⁻/7AAD⁻ (KC) 細胞を、BD TurboSort Plus 付属物を伴うBD FACS Divaによって99%以上の純度まで選別した。活性化実験のために、精製したDETCを、10 µg/mlの抗CD3 (145-2C11; Pharmingen) でプレコート (pre-coat) した96ウェルプレート中で、5% CO₂ 下の37 °Cにて72時間まで培養した。培養培地は、50 µMの2-メルカプトエタノール (Sigma, St Louis, MO)、HEPES緩衝液 (25 mM)、ピルビン酸ナトリウム (1 mM)、ペニシリン (100 U/ml)、ストレプトマイシン (100 µg/ml)、L-グルタミン (2 mM)、100 µMの非必須アミノ酸、および20 U/mlの組換えのヒトIL-2を補充した、10%の熱失活した胎仔ウシ血清を含むRPMIであった。全ての成分を、他に特定されない限りGibco BRL (Grand Island, NY) から入手した。

【0110】

(b. 定量的RT-PCR)

表皮細胞の懸濁物を、上記されるような、精製したDETC (樹状表皮T細胞) 集団、LC (ランゲルハンス細胞) 集団、およびKC (ケラチノサイト) 集団に選別した。細胞を回収し、そして全RNAを、製造業者の説明書 (Life Technologies, Rockville, MD) に従って、TRIzolによって抽出した。RNAを定量し、そして等量 (約1 µg) を、製造業者の説明書に従ってThermoscript^T M (登録商標) RT-PCRシステム (Gibco BRL, Grand Island, NY) を使用し、オリゴ (dT) プライマーを用いてcDNAに逆転写した。実験における検出感度を上げるために、DETCを選別し、次いで活性化し、10 ngの全RNAを、製造業者のプロトコルに従ってOvation^T M RNA増幅システム (NuGen Technologies, San Carlos, CA) を使用してqRT-PCRの前に増幅した。定量的リアルタイムPCRを行った。コントロールとして、前処方18S rRNA Gene Expression Assayシステムを、製造業者のプロトコル (Applied Biosystems, Foster City, CA) に従って利用した。コントロールとして、 β -アクチンの発現を、製造業者のプロトコル (Stratagene, La Jolla, CA) に従ってSYBR (登録商標) Green検出試薬を使用してCD200Rアイソフォームの発現と比較した。全てのqRT-PCR反応を、Opticon-2 Continuous Fluorescence Detector (MJ Research, Boston, MA) において実行した。データを、比較Ct法 (Applied Biosystems) を使用して分析した。

【0111】

(c. CD200-FLAG融合タンパク質およびBAP-FLAG融合タンパク質の構築)

他に記載しない限り、全ての手順を、記載した製造業者によって提供された説明書に従って行った。全RNAを、TRIzol^T M を使用してマウス脾細胞から抽出した。RNAを、Thermoscript^T M RT-PCRシステムを使用してオリゴ (dT) プライマーによって、cDNAに逆転写した。Hind III制限酵素認識部位およびBam HI制限酵素認識部位を含むマウスCD200の細胞外ドメインに特異的な以下のプライマーを、合成した (Invitrogen, Grand Island, NY)。その後、増幅産物を、pCR (登録商標) 2.1-TOPOクローニングベクターおよ

びTOPO^TM TA Cloningキット(登録商標)(Invitrogen, Grand Island, NY)を利用してクローニングし、そして配列決定した。挿入物を、Hind3制限酵素およびBamH1制限酵素を利用してp3XFLAG-CMV^TM-13発現ベクター(Sigma, St. Louis, MI)中にクローニングした。このベクターは、C末端連結型3xFLAG融合タンパク質の安定した発現および分泌のために設計される。コントロールとして、FLAGタグ化した細菌アルカリホスファターゼ(BAP)融合タンパク質ベクター(pFLAG-CMV-3-BAP)をSigmaから購入した。チャイニーズハムスター卵巣細胞(CHO)を、CD200.FLAGベクターまたはBAP.FLAGベクター(Amaxa Biosystems, Koeln, Germany)のいずれかによってヌクレオフェクト(nucleofect)した。ヌクレオフェクション(nucleofection)を、Amaxa's Cell Line Optimization Nucleofector Kitを使用して最適化した。培養上清を、5-7日後に回収し、そしてYM-10 Centriplus(登録商標)遠心分離フィルターデバイス(Millipore, Bedford, MA)を使用してフィルター濃縮した。濃縮した融合タンパク質を、抗FLAG(登録商標)M2抗体(Sigma, St. Louis, MI)を使用するウェスタンブロットによって、純度についてアッセイした。融合タンパク質を、Alpha Imager 2200上でAlpha Imager 2200 v5.5ソフトウェア(Alpha Innotech Corp., San Leandro, CA)を使用して、標準として3xFLAG-BAPタンパク質(Sigma, St. Louis, MI)の公知の濃度を用いたウェスタンブロット上のデンシトメトリーによって定量化した。

【0112】

(d. DETC機能アッセイ)

DETC細胞株(7-17)は、Dr. Wendy Havran(The Scripps Research Institute, La Jolla, CA)によって快く提供された。これらの細胞は、AKRマウス由来の表皮細胞調製物のFACS(Kuzielら、1987)によって最初に単離された。細胞を、完全RPMI(IL-2を伴う)中に維持し、そして21日ごとに5 μ g/mlのCon Aによって刺激した。休止7-17 DETC(すなわち、前もって7日より後に、Con Aによって刺激した細胞)だけを、機能アッセイに使用した。5 \times 10⁵個の細胞を、0.5 μ g/ml(予め決定された最適以下の濃度)の抗CD3 mAb抗体または2 μ g/ml(予め決定された最適濃度)の抗CD3抗体および10 μ g/mlの抗FLAG(登録商標)M2抗体と結合した96-ウェルプレート中で培養した。細胞を、完全RPMI(IL-2を伴わない)中で5%のCO₂において37[°]にて培養した。72時間後、サイトカインのレベルを、製造業者のプロトコルに従ってサイトメトリービーズアレイ(cytometric bead arrays)(CBA; BD Biosciences, San Diego, CA)を使用して培養上清から測定した。増殖を測定するために、細胞を、72時間において1 μ Ci/ml [³H]-チミジンによってパルスし、そして16時間後にチミジンの取り込みについてアッセイした。

【0113】

(e. 結果)

CD200Rアイソフォーム1~4を、新しく単離した、最も高レベルの発現を有するCD200R1およびCD200R2を伴うEC中に検出した。CD200R1、CD200R2、およびCD200R3についてのメッセンジャーRNAを、アイソフォームR3に対して優位に発現した、アイソフォームR1およびアイソフォームR2を有する精製したDETC中に検出した。CD200R1の発現は、DETCと比較した場合、精製したLCにおいて増加した。CD200R1、CD200R2、およびCD200R3を、MCKII⁺/TCR⁺LC中に検出した。おそらく、これは、真皮に由来するか

、または表皮に存在することが知られる肥満細胞前駆体 (Kumamotoら、(2003) Blood 102:1654-1660を参照のこと) に由来する肥満細胞および/または好塩基球 (basophil) 汚染に起因する。

【0114】

CD200^{-/-}マウスから調製したEC懸濁物は、野生型のC57B6マウスと比較した場合、CD1d、Cd11c、CD80、CD95 (FAS)、CD178 (FASL)、GR-1、F4/80、およびOX-40Lの有意に増加した発現を有する。また、野生型のコントロールと比較した場合、CD200^{-/-}マウス由来のLCにおけるMHCクラスIIの、有意に高い発現が存在した。

【0115】

活性化によって、DETCが、CD200Rの発現を増加する場合を決定した。B6マウス由来の表皮細胞を、IL-2の存在下で抗CD3 mAbでコーティングしたプレート上で培養した。種々の時点において、細胞を回収し、そしてTCR⁺DETCを、細胞表面のCD200R1について染色し、そしてフローサイトメトリーによって分析した。CD200R1発現の目立った増加は、活性化後48時間までで観察されたが、最大限の発現は、72時間で観察された。他のCD200Rアイソフォームの発現を決定するために、DETCを、99%以上の純度までFACSによって精製し、IL-2の存在下で、抗CD3でコーティングしたプレート上で培養し、そしてCD200R特異的なqRT-PCRに供した。細胞表面の発現と一致して、DETCは、CD200R1のmRNAの発現を、活性化後72時間までに顕著に増加した。3つの実験の1つにおいて、活性化したDETCはまた、CD200R2およびCD200R3のmRNA発現を増加したが；これらの増加は、CD200R1の発現の増加に対して顕著に減少した(図4)。CD200R4のmRNAは、新しいDETCまたはエキソピボで活性化したDETCのいずれにおいても検出されなかった。

【0116】

機能の研究のための十分な数のDETCを入手することにおける制限に起因して、DETC細胞株7-17を、CD200-CD200R相互作用の機能的役割を評価するために使用した。数種の細胞および分子の、基準7-17細胞は、新しく単離したDETCの特性を保持することが示されることによって、そしてDETCの機能に取り組む研究において幅広く使用される(例えば、Havranら、(1991) Science 252:1430-1432; Matsueら、(1993) J. Immunol. 151:6012-6019; Matsueら、(1993) J. Invest. Dermatol. 101:543-548; Matsueら、(1993) J. Invest. Dermatol. 101:537-542; Edelbaumら、(1995) J. Invest. Dermatol. 105:837-843; Schuhmachersら、(1995) J. Invest. Dermatol. 105:225-230; Takashimaraら、(1995) J. Invest. Dermatol. 105:50S-53S; およびOnoら、(1996) J. Dermatol. Sci. 11:89-96を参照のこと)。7-17細胞がCD200R1を発現する場合を決定するために、休止細胞(CoNAによる活性化後7日より後)を、IL-2の存在下で、抗CD3でコーティングしたプレート上で培養した。種々の時点において、細胞をCD200R1特異的に染色するために回収した。新しく単離したDETCと同様に、7-17 DETCは、活性化によってCD200R1の細胞表面での発現を増加した。しかし、新しく単離したDETCと対照的に、CD200R1の発現は、活性化後24時間で早くも観察された。72時間までに、おそらく活性化されなかった細胞の集団(減少した前方散乱光(forward light scatter))は、CD200R1の発現に関してネガティブなままであった。全4種のCD200Rアイソフォームの発現パターンを決定するために、qRT-PCRを、休止7-17細胞および抗CD3活性化7-17細胞の両方に対して行った。細胞表面の発現と一致して、7-17細胞は、活性化によってCD200R1のmRNAの増加を示した。CD200R1のmRNAレベルは、3つの実験の反復にわたって

10

20

30

40

50

、活性化後72時間までに平均8.8倍増加した。CD200R2についてのmRNAは、72時間までに1.8倍増加したが；この増加は、統計的に有意ではなかった。新しく単離したDETCと対照的に、休止7-17細胞は、低レベルのCD200R4のmRNAを発現し、そして活性化によって、CD200R4のmRNAは、72時間までに平均4.1倍増加した。また、新しく単離したDETCと対照的に、CD200R2についてのmRNAは、休止7-17細胞中で優位に発現した。

【0117】

CD200シグナル伝達が、インビトロでDETC機能に影響する場合を決定するために、7-17細胞を、固定化CD200-FLAG融合タンパク質の存在下で、最適以下の抗CD3 mAbによって活性化し、そして増殖およびサイトカインの分泌の両方を測定した。7-17細胞を、IL-2の非存在下で、最適以下の量の抗CD3抗体（前もって決定された濃度）およびCD200-FLAG融合タンパク質でプレコーティングしたマイクロウェルプレート上で培養した。ネガティブコントロールとして、細胞を、最適以下の抗CD3-FLAG融合タンパク質および細菌アルカリホスファターゼ（BAP）-FLAG融合タンパク質の両方によってプレコーティングしたプレート上で培養した。BAP-FLAG（CD200-FLAGとほぼ同じ分子量）を、同じ様式で調製し、そしてこれは、DETCと結合しないはずである。ポジティブコントロールとして、7-17細胞を、最適な量の固定化抗CD3抗体によって刺激した。固定化CD200は、最適以下のCD3刺激に対する7-17細胞の増殖性の応答を顕著に阻害した。増殖における3倍と11倍との間の減少は、7-17 DETCを、3つの実験の反復にわたって、BAPコーティングしたプレートと比較してCD200コーティングしたプレート上で培養した場合に観察された。さらに、サイトカインの分泌は、7-17細胞をCD200の存在下で活性化した場合に減少した。IL-2、TNF、およびIFNの顕著な減少は、3つの実験の反復全てにおいて、BAP処理した細胞に対してCD200処理した細胞中で観察された。IL-5およびIL-10についての結果は、一貫せず、そしてIL-4、IL-6、IL-12（p70）、およびMCP-1をアッセイしたが、一貫しては、検出されなかった。

10

20

【0118】

上記の結果は、CD200-CD200R相互作用が皮膚のランゲルハンス細胞集団およびT細胞集団の両方において調節性の役割を果たすという発見を支持する。

30

【0119】

本明細書中の全ての引用文献は、あたかも個々の刊行物、特許出願、または特許が、全ての図および図面を含む参考として援用されることを具体的かつ個別に示されるのと同程度に、本明細書中に参考として援用される。

【0120】

当業者にとって明らかであるような本発明の多くの改変および変形は、本発明の目的、精神および範囲を保護するために、特定の状況、材料、物質の組成、加工、加工工程または複数の加工工程に適合するようになされ得る。全てのこのような改変は、本発明の精神および範囲を逸脱することなく本明細書に添付される特許請求の範囲内であることを意図される。本明細書中に記載される特定の実施形態は、例示の手段としてのみ提供され、そして本発明は、このような特許請求の範囲が与えられる等価物の全範囲に従って、添付の特許請求の範囲の用語によって制限されるべきであり；そして本発明は、例示の手段として本明細書中に存在する特定の実施形態によって制限されるべきではない。

40

【 国際調査報告 】

INTERNATIONAL SEARCH REPORT		International Application No. PC17US2005/002915
A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER IPC 7 A61K39/395 A61P17/14 G01N33/577 G01N33/68 C07K16/28 C12N15/12		
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 7 C07K A61K A61P G01N C12N		
Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched		
Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practical, search terms used) EPO-Internal, BIOSIS, EMBASE, WPI Data, PAJ		
C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category *	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	R. GORCZYNSKI ET AL.: "A CD200Fc immunoadhesin prolongs rat islet xenograft survival in mice." TRANSPLANTATION, vol. 73, no. 12, 27 June 2002 (2002-06-27), pages 1948-1953, XP002340861 USA abstract	16
X	WO 03/077947 A (SCHERING CORPORATION) 25 September 2003 (2003-09-25) claims; examples	16
<input checked="" type="checkbox"/> Further documents are listed in the continuation of box C.		<input checked="" type="checkbox"/> Patent family members are listed in 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 document but published on or after the international filing date *L* document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified) *O* document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means *P* document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed		*T* later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention *X* document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone *Y* document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art. *&* document member of the same patent family
Date of the actual completion of the international search 18 August 2005		Date of mailing of the international search report 30/08/2005
Name and mailing address of the ISA European Patent Office, P.B. 5818 Patentlaan 2 NL - 2280 HV Rijswijk Tel. (+31-70) 340-2040, Tx. 31 651 epo nl, Fax (+31-70) 340-3016		Authorized officer Nooij, F

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International Application No
PCT/US2005/002915

C.(Continuation) DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category *	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	WO 93/06866 A (BIOGEN, INC.) 15 April 1993 (1993-04-15) page 1, line 8 - line 17 page 9, line 4 - line 31 claim 2	1-12
A	EP 0 998 930 A (SANKYO COMPANY LIMITED) 10 May 2000 (2000-05-10) the whole document	1-13
A	WO 01/62237 A (ORENTRICH FOUNDATION FOR THE ADVANCEMENT OF SCIENCE, INC.) 30 August 2001 (2001-08-30) examples claims	1-13
A	J. NI ET AL.: "An immunoadhesin incorporating the molecule OX-2 is a potent immunosuppressant which prolongs allograft survival." THE FASEB JOURNAL, vol. 13, no. 5, 15 March 1999 (1999-03-15), page A983, XP000960581 Bethesda, MD, USA abstract 712.35	1-16
A	R. RAGHEB ET AL.: "Preparation and functional properties of monoclonal antibodies to human, mouse and rat OX-2." IMMUNOLOGY LETTERS, vol. 68, no. 2,3, 1999, pages 311-315, XP000960642 abstract	1-16
A	WO 03/030835 A (SCHERING CORPORATION) 17 April 2003 (2003-04-17) examples XIII, XIV	4
A	WO 02/088164 A (IMMUNEX CORPORATION) 7 November 2002 (2002-11-07) examples	1-16

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.
PCT/US2005/002915

Box II Observations where certain claims were found unsearchable (Continuation of Item 2 of first sheet)

This International Search Report has not been established in respect of certain claims under Article 17(2)(a) for the following reasons:

1. Claims Nos.: 1-16 (partially)
because they relate to subject matter not required to be searched by this Authority, namely:
Although present claims 1-13 are directed to a method of treatment of the human/animal body, the search has been carried out and based on the alleged effects of the compound/composition.
2. Claims Nos.: 1,3,6,8-16 (partially)
because they relate to parts of the International Application that do not comply with the prescribed requirements to such an extent that no meaningful International Search can be carried out, specifically:
see FURTHER INFORMATION sheet PCT/ISA/210
3. Claims Nos.:
because they are dependent claims and are not drafted in accordance with the second and third sentences of Rule 6.4(a).

Box III Observations where unity of invention is lacking (Continuation of Item 3 of first sheet)

This International Searching Authority found multiple inventions in this international application, as follows:

1. As all required additional search fees were timely paid by the applicant, this International Search Report covers all searchable claims.
2. As all searchable claims could be searched without effort justifying an additional fee, this Authority did not invite payment of any additional fee.
3. As only some of the required additional search fees were timely paid by the applicant, this International Search Report covers only those claims for which fees were paid, specifically claims Nos.:
4. No required additional search fees were timely paid by the applicant. Consequently, this International Search Report is restricted to the invention first mentioned in the claims; it is covered by claims Nos.:

Remark on Protest

- The additional search fees were accompanied by the applicant's protest.
 No protest accompanied the payment of additional search fees.

International Application No. PCT/US2005 /002915

FURTHER INFORMATION CONTINUED FROM PCT/ISA/ 210

Continuation of Box II.1

Although present claims 1-13 are directed to a method of treatment of the human/animal body, the search has been carried out and based on the alleged effects of the compound/composition.

Continuation of Box II.2

Claims Nos.: 1,3,6,8-16 (partially)

Present claims 1,3,6,8-12 and 16 relate to a compound defined by reference to a desirable characteristic or property, namely an agonist of CD200 or CD200R, present claim 13 relates to a compound defined by reference to a desirable characteristic or property, namely an antagonist of CD200 or CD200R, and present claims 14 and 15 relate to a composition defined by reference to a desirable characteristic or property, namely a composition that specifically binds to CD200 or CD200R. The claims cover all compounds and compositions having this characteristic or property, whereas the application provides support within the meaning of Article 6 PCT and/or disclosure within the meaning of Article 5 PCT for only a very limited number of such compounds and compositions. In the present case, the claims so lack support, and the application so lacks disclosure, that a meaningful search over the whole of the claimed scope is impossible. Independent of the above reasoning, the claims also lack clarity (Article 6 PCT). An attempt is made to define the compound and composition by reference to a result to be achieved. Again, this lack of clarity in the present case is such as to render a meaningful search over the whole of the claimed scope impossible. Consequently, the search has been carried out for those parts of the claims which appear to be clear, supported and disclosed, namely those parts relating to the anti-CD200 mAbs as disclosed on page 27 of the description, the anti-CD200R mAbs as disclosed on page 32 of the description, the CD200.FLAG fusion protein as disclosed on pages 34-37, and the nucleic acids encoding CD200 and CD200R as mentioned in the examples.

The applicant's attention is drawn to the fact that claims relating to inventions in respect of which no international search report has been established need not be the subject of an international preliminary examination (Rule 66.1(e) PCT). The applicant is advised that the EPO policy when acting as an International Preliminary Examining Authority is normally not to carry out a preliminary examination on matter which has not been searched. This is the case irrespective of whether or not the claims are amended following receipt of the search report or during any Chapter II procedure. If the application proceeds into the regional phase before the EPO, the applicant is reminded that a search may be carried out during examination before the EPO (see EPO Guideline C-VI, 8.5), should the problems which led to the Article 17(2) declaration be overcome.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

International Application No

PCT/US2005/002915

Patent document cited in search report		Publication date	Patent family member(s)	Publication date
WO 03077947	A	25-09-2003	AU 2003220219 A1	29-09-2003
			CA 2478803 A1	25-09-2003
			EP 1482973 A1	08-12-2004
			WO 03077947 A1	25-09-2003
			US 2003223991 A1	04-12-2003
WO 9306866	A	15-04-1993	HK 1006056 A1	05-02-1999
			AU 677772 B2	08-05-1997
			AU 2890892 A	03-05-1993
			DE 69223638 D1	29-01-1998
			DE 69223638 T2	20-05-1998
			EP 0607332 A1	27-07-1994
			GR 3026135 T3	29-05-1998
			JP 7502496 T	16-03-1995
			WO 9306866 A2	15-04-1993
			AT 161190 T	15-01-1998
			CA 2120732 A1	15-04-1993
			ES 2112335 T3	01-04-1998
			JP 2003137810 A	14-05-2003
			JP 2005015493 A	20-01-2005
			US 6162432 A	19-12-2000
			US 2002009449 A1	24-01-2002
			US 2004136987 A1	15-07-2004
EP 0998930	A	10-05-2000	AT 262337 T	15-04-2004
			AU 733830 B2	24-05-2001
			AU 8358598 A	22-02-1999
			BR 9811293 A	29-08-2000
			CA 2298851 A1	11-02-1999
			DE 69822636 D1	29-04-2004
			DE 69822636 T2	05-01-2005
			DK 998930 T3	26-04-2004
			EP 0998930 A1	10-05-2000
			HK 1027290 A1	30-07-2004
			HU 0003159 A2	28-04-2001
			NO 20000469 A	28-03-2000
			NZ 502537 A	26-11-2002
			PL 338414 A1	06-11-2000
			US 6380179 B1	30-04-2002
			CN 1129433 C	03-12-2003
			ES 2218840 T3	16-11-2004
			ID 24566 A	27-07-2000
			WO 9906050 A1	11-02-1999
			JP 11100396 A	13-04-1999
PT 998930 T	31-05-2004			
RU 2193887 C2	10-12-2002			
TR 200000263 T2	21-09-2000			
WO 0162237	A	30-08-2001	AU 3982601 A	03-09-2001
			CA 2406871 A1	30-08-2001
			EP 1267850 A2	02-01-2003
			WO 0162237 A2	30-08-2001
			US 2002143039 A1	03-10-2002
WO 03030835	A	17-04-2003	CA 2462883 A1	17-04-2003
			EP 1439857 A2	28-07-2004
			MX PA04003291 A	23-07-2004
			WO 03030835 A2	17-04-2003

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

Inte | Application No
PC17US2005/002915

Patent document cited in search report		Publication date	Patent family member(s)	Publication date
WO 03030835	A		US 2003077282 A1	24-04-2003
WO 02088164	A	07-11-2002	WO 02088164 A1	07-11-2002
			US 2004214187 A1	28-10-2004

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 K 38/00 (2006.01)	A 6 1 K 37/02	
A 6 1 K 39/395 (2006.01)	A 6 1 K 39/395	D
A 6 1 K 48/00 (2006.01)	A 6 1 K 39/395	N
A 6 1 P 17/00 (2006.01)	A 6 1 K 48/00	
	A 6 1 P 17/00	
	A 6 1 P 43/00	1 0 7

(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, HU, IE, IS, IT, LT, LU, MC, NL, 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, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BR, BW, BY, BZ, CA, CH, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE, KG, KP, KR, KZ, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LV, MA, MD, MG, MK, MN, MW, MX, MZ, NA, NI, NO, NZ, OM, PG, PH, PL, PT, RO, RU, SC, SD, SE, SG, SK, SL, SY, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, YU, ZA, ZM, ZW

(72) 発明者 トリット, ロバート エル.

アメリカ合衆国 ウィスコンシン 5 3 0 2 2, ジャーマンタウン, ネプチューン ドライブ
ダブリュー 1 5 3 エヌ 9 7 7 8

(72) 発明者 ローゼンブラン, マイケル

アメリカ合衆国 ウィスコンシン 5 3 2 1 1, ミルウォーキー, エヌ. ストールウェル ア
ベニュー 2 5 2 7, アpartment 2

(72) 発明者 オラズ, エディット

アメリカ合衆国 ウィスコンシン 5 3 2 1 3, ウォーワトサ, ダブリュー. ウェルズ ス
トリート 7 3 0 5

F ターム(参考) 2G045 AA25 CB16 DA36 FB03

4C084 AA17 MA63 NA14 ZA921 ZA922 ZC022

4C085 AA13 AA14

专利名称(译)	调整CD 200和CD 200 R的方法		
公开(公告)号	JP2007518827A	公开(公告)日	2007-07-12
申请号	JP2006551527	申请日	2005-01-31
[标]申请(专利权)人(译)	先灵公司 先灵葆雅有限公司		
申请(专利权)人(译)	先灵公司		
[标]发明人	トルイットロバートエル ローゼンブランマイケル オラズエディット		
发明人	トルイット, ロバート エル. ローゼンブラン, マイケル オラズ, エディット		
IPC分类号	A61K45/00 A61P17/14 A61P43/00 G01N33/53 G01N33/50 A61K38/00 A61K39/395 A61K48/00 A61P17/00 A45D44/00 A61K31/59 C07K14/705 C07K16/28		
CPC分类号	A45D2044/007 A61K31/59 A61K38/00 A61P17/00 A61P17/14 A61P43/00 C07K14/70596 C07K16/28 C07K16/2803		
FI分类号	A61K45/00 A61P17/14 A61P43/00.111 G01N33/53.D G01N33/50.H A61K37/02 A61K39/395.D A61K39/ /395.N A61K48/00 A61P17/00 A61P43/00.107		
F-TERM分类号	2G045/AA25 2G045/CB16 2G045/DA36 2G045/FB03 4C084/AA17 4C084/MA63 4C084/NA14 4C084/ /ZA921 4C084/ZA922 4C084/ZC022 4C085/AA13 4C085/AA14		
代理人(译)	夏木森下		
优先权	60/541082 2004-02-02 US		
外部链接	Espacenet		

摘要(译)

使用CD200或CD200R的激动剂或拮抗剂来调节免疫系统的活性的方法。还提供了治疗和诊断免疫病症，特别是与毛囊病症有关的病症的方法。本发明提供治疗与毛囊相关的病症或病症的方法，包括给受试者施用有效量的CD 200或CD 200R的激动剂。激动剂衍生自特异性结合CD200或CD200R的抗体的抗原结合位点。

【表1】

細胞型	表現型		FACS分析によるCD200の発現	
	CD3	MHCII	CD200 ^高 のパーセント	CD200 ^{低または負} のパーセント
ランゲルハンス細胞	-	高い	44%	56%
T細胞	高い	-	2%	98%
ケラチノサイト	-	-	15%	85%