

(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2019-508415

(P2019-508415A)

(43) 公表日 平成31年3月28日 (2019. 3. 28)

(51) Int. Cl.	F I	テーマコード (参考)
A 6 1 K 39/395 (2006. 01)	A 6 1 K 39/395 N	4 C 0 8 4
C 0 7 K 16/28 (2006. 01)	C 0 7 K 16/28 Z N A	4 C 0 8 5
C 0 7 K 16/46 (2006. 01)	C 0 7 K 16/46	4 H 0 4 5
A 6 1 P 37/02 (2006. 01)	A 6 1 P 37/02	
A 6 1 P 29/00 (2006. 01)	A 6 1 P 29/00	
審査請求 未請求 予備審査請求 未請求 (全 33 頁) 最終頁に続く		

(21) 出願番号	特願2018-542695 (P2018-542695)	(71) 出願人	510298034
(86) (22) 出願日	平成29年2月10日 (2017. 2. 10)		ケイマン ケミカル カンパニー, イン
(85) 翻訳文提出日	平成30年9月28日 (2018. 9. 28)		コーポレーテッド
(86) 国際出願番号	PCT/US2017/017373		アメリカ合衆国 4 8 1 0 8 ミシガン,
(87) 国際公開番号	W02017/139577		アン アーバー, イースト エルスワース
(87) 国際公開日	平成29年8月17日 (2017. 8. 17)		ロード 1 1 8 0
(31) 優先権主張番号	62/293, 621	(74) 代理人	100108453
(32) 優先日	平成28年2月10日 (2016. 2. 10)		弁理士 村山 靖彦
(33) 優先権主張国	米国 (US)	(74) 代理人	100110364
			弁理士 実広 信哉
		(74) 代理人	100133400
			弁理士 阿部 達彦
		(72) 発明者	ジェームズ・レスリー・モブリー
			アメリカ合衆国・ミシガン・4 8 1 1 6 ・
			ブライトン・コヴィントン・1 0 1 9 5
			最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 抗シトルリン化HLAポリペプチド抗体及びその使用

(57) 【要約】

本発明は、対象における少なくとも1つのシトルリン化エピトープ: QKC i t AA、QRC i t AA、またはRRC i t AAの存在によって媒介される、ヒト対象における自己免疫疾患を治療するための方法に関し、本方法は、治療有効量の、シトルリン化エピトープQKC i t AA、QRC i t AA、もしくはRRC i t AAに特異的に結合する抗体またはその特異的結合断片を投与することを含む。本発明のさらなる態様は、ヒトシトルリン化エピトープQKC i t AA、QRC i t AA、もしくはRRC i t AAに特異的に結合する、抗体またはその特異的結合断片を含む。

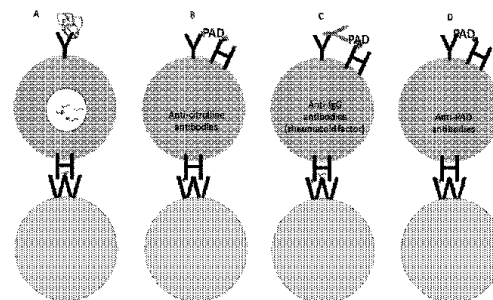


FIG. 1

【特許請求の範囲】

【請求項 1】

アミノ酸配列：Q K C i t A A、Q R C i t A A、またはR R C i t A Aを含むH L A－D R 4シトルリン化共有エピトープの存在によって媒介されるヒト対象における自己免疫疾患を治療するための方法であって、治療有効量の、シトルリン化エピトープQ K C i t A A、Q R C i t A A、もしくはR R C i t A Aに特異的に結合する抗体またはその特異的結合断片を、それを必要とする前記ヒト対象に投与することを含む、前記方法。

【請求項 2】

前記自己免疫疾患が、炎症性関節炎、多発性硬化症、1型糖尿病、ライム病誘発性関節炎、関節リウマチ、ヒドララジン誘発性女性全身性エリテマトーデス、妊婦性類天疱瘡、落葉状天疱瘡、閉塞性肥大型心筋症、乾癬性関節炎、乾癬、I g A腎症、「共有症候群」－全身性硬化症／関節リウマチ及びリウマチ性多発性筋痛症である、請求項 1 に記載の方法。

10

【請求項 3】

前記自己免疫疾患が、多発性硬化症、関節リウマチ、1型糖尿病、及びライム病誘発性関節炎である、請求項 2 に記載の方法。

【請求項 4】

前記自己免疫疾患が、関節リウマチである、請求項 3 に記載の方法。

【請求項 5】

前記対象が、患者の白血球の表面上に存在するシトルリン化エピトープQ K C i t A A、Q R C i t A A、またはR R C i t A Aの存在について最初にスクリーニングされる、請求項 1 に記載の方法。

20

【請求項 6】

シトルリン化エピトープQ K C i t A A、Q R C i t A A、またはR R C i t A Aの存在が、患者のB細胞を用いて決定される、請求項 5 に記載の方法。

【請求項 7】

患者のB細胞上のシトルリン化エピトープQ K C i t A Aの存在が、前記患者のB細胞をモノクローナル抗体 I F 9 と混和することと、モノクローナル抗体 I F 9 と前記シトルリン化エピトープQ K C i t A A との間の特異的結合を測定することとによって決定される、請求項 6 に記載の方法。

30

【請求項 8】

患者のB細胞上のシトルリン化エピトープQ K C i t A Aの存在が、フローサイトメトリーを用いて決定される、請求項 7 に記載の方法。

【請求項 9】

シトルリン化エピトープQ K C i t A A、Q R C i t A A、もしくはR R C i t A Aに特異的に結合する前記抗体またはその特異的結合断片が、静脈内、皮下、または腹腔内投与される、請求項 1 に記載の方法。

【請求項 10】

前記患者がまた、抗炎症剤、化学療法剤、細胞傷害性剤、サイトカイン、増殖阻害剤、小分子酵素阻害剤、もしくは受容体調節剤、またはこれらの組み合わせも投与される、請求項 1 に記載の方法。

40

【請求項 11】

H L A－D R 4上に存在するヒトシトルリン化エピトープQ K C i t A A、Q R C i t A A、もしくはR R C i t A Aに特異的に結合する抗体またはその特異的結合断片。

【請求項 12】

ヒトシトルリン化エピトープQ K C i t A Aに特異的に結合する、請求項 11 に記載の抗体またはその特異的結合断片。

【請求項 13】

モノクローナル抗体、ポリクローナル抗体、キメラ抗体、ヒト化抗体、及び完全ヒト抗体からなる群から選択される、請求項 11 に記載の抗体またはその特異的結合断片。

50

【請求項 14】

ヒトシトルリン化エピトープ Q K C i t A A に特異的に結合する前記抗体またはその特異的結合断片が、モノクローナル抗体 I F 9、もしくはその抗原結合断片と表記される、請求項 13 に記載の抗体またはその特異的結合断片。

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0001】

関連特許出願の相互参照

本 P C T 国際特許出願は、2016 年 2 月 10 日に出願された米国仮出願第 62 / 293, 621 号の利益を主張するものであり、この開示は、その全体が参照により本出願に組み込まれる。

【0002】

本発明は、一般に、抗シトルリン化 H L A - D R 4 抗体またはその特異的結合断片を含む組成物、及びそれを使用するヒト対象における自己免疫疾患の治療のための方法に関する。

【背景技術】

【0003】

M H C クラス I I 分子は、単核細胞、マクロファージ、樹状細胞及び B リンパ球（B 細胞）を含む免疫系の抗原提示細胞によって発現される細胞表面受容体のファミリーである。M H C クラス I I 分子の機能は、「抗原提示」として既知のプロセスにおいて、小さな潜在的に抗原性のペプチドを T リンパ球（T 細胞）に提示することである。T 細胞は、それらの T 細胞受容体を用いて、M H C クラス I I とペプチドとの組み合わせを検討し、提示されたペプチドがホストプロテオームの正常な成分（自己）であるか、したがって無視することができるか、または提示されたペプチドがこれに関して「外来性」（非自己）であるかを決定する。M H C クラス I I によって提示された外来ペプチドの認識は、免疫応答を開始させ、すなわち、T 細胞は、サイトカインの増殖及び産生によって応答し、外来ペプチドに遭遇したことのシグナルを抗原提示細胞に送り返す。

【0004】

抗原が少量で存在するとき、最も効率的な抗原提示細胞は B 細胞である。各 B 細胞は、抗体の表面結合形態である、特有の高親和性細胞表面受容体を発現する。この高親和性受容体を用いて、B 細胞は、非常に低濃度で抗原を捕捉することができる。捕捉された抗原は呑み込まれ、ペプチドに処理加工され、そしてこれらペプチドは、T 細胞に提示するために、M H C クラス I I 分子に利用可能にされる。T 細胞が、B 細胞の M H C クラス I I によって提示されたペプチドを認識する場合、これは、B 細胞に対して、増殖して抗体産生細胞に分化するように命令する。このように産生された抗体は、インタクト抗原を捕捉した元々の B 細胞表面受容体の高親和性抗原結合能を共有する。

【0005】

個々の M H C クラス I I のペプチドに結合し、それらを T 細胞に提示するための能力は制限されており、全ての可能なペプチドが提示され得るわけではない。したがって、自然界は、各個体に、それぞれがわずかに異なるペプチドに結合しかつそれを提示することができ、これによって、総ペプチド結合能力の幅広さを拡張する、最大 6 つの異なる M H C クラス I I 分子を提供する。種レベルで、人間は、数十もの異なる M H C クラス I I 分子を産生するための遺伝的能力を有する。各個体が、最大で 6 つの異なる形態を発現するという事実と相まって、種内で可能な M H C クラス I I 分子の非常に大きな多様性のために、2 つの個体が 6 つの M H C クラス I I 分子の同じセットを発現するということは非常に可能性が低い。これが、組織移植拒絶の根拠である。組織ドナーからの M H C クラス I I 分子は、組織レシピエントの T 細胞には外来性に見なされる。この「外来性」認識事象は、ドナー（異質）M H C クラス I I 分子へのペプチド結合の不在下であっても発生する可能性があり、空の（ペプチドがない）M H C クラス I I 単独の認識は、不適合レシピエントにおける大部分の T 細胞を活性化するのに十分なものである（同種抗原反応性）（1）

10

20

30

40

50

。

【0006】

ヒト関節リウマチ（RA）は自己免疫疾患であるとい一般的に考えられている。RAに罹患している大部分の患者が、MHCクラスIIの1つの種類のHLA-DR4を発現することが長い間認識されている。HLA-DR4は、HLA-DR血清型であり、これは、類似の構造を共有する複数のDRB1*04遺伝子産物を含む。HLA-DR4血清型のメンバーとしては、DRB1*0401、DRB1*0402、DRB1*0403、DRB1*0404、DRB1*0405、DRB1*0406、DRB1*0407、DRB1*0408、DRB1*0409、DRB1*0410、DRB1*0411、DRB1*0412、及びDRB1*0413が挙げられるが、これらに限定されない。頻度は低いものの、HLA-DR4よりはむしろ他のMHCクラスII血清型（HLA-DR1及びHLA-DR14）が、RAの患者で発現される。DNA塩基配列決定技術の出現で、HLA-DR4（DRB1*0401）のβ鎖中の5つのアミノ酸の並び（70～74）が、RAに対する感受性と最も強く関連するHLA-DR4の領域であることが発見された。多くの場合、5つのアミノ酸配列は、DRB1*0401中にあるような、グルタミン-リシン-アルギニン-アラニン-アラニン（QKRAA）である。一部の場合、このアミノ酸配列は、わずかに異なり、QRRRA（DRB1*0404、DRB1*0101、及びDRB1*0405において）、またはRRRAA（DRB1*1001において）である。いずれの場合にも、71位において正に帯電しているアミノ酸（KまたはR）及び72位において正に帯電しているRがある。この5つのアミノ酸の並びの発現を共有しないDRB1*04対立遺伝子は、RA感受性には関連していない。この「共有エピトープ」（SE）は、ほぼ全てのヒトRA患者における共通因子であると思われる。その最も基本的な形態において、共有エピトープの仮説は、これらの5つの共通のアミノ酸が、RA患者において何とかして固有のペプチドがMHCクラスII分子に結合することを可能にすること、及びこのペプチド-MHCの組み合わせが、T細胞にとっては外来性と思われることを提案している。この関節炎性ペプチドの同定は、未だ決定されていない。

10

20

【0007】

RA患者における免疫応答の別の固有特徴は、抗シトルリン化タンパク質抗体（ACPA）の産生である。これらの抗体は、RA患者の約70%で見られ、他の疾患または健康な個体ではめったに見られない。ACPAの存在は、RAについての信頼性の高い診断ツールになっている。シトルリン化は、アルギニン（R）の別のアミノ酸のシトルリン（Cit）への酵素的転換（脱イミノ化）である。タンパク質またはペプチドのシトルリン化は、ペプチジルアルギニンデイミナーゼ（PAD）ファミリーメンバーのPAD1、PAD2、PAD3、及びPAD4によって媒介される。シトルリン化フィブリノゲン及びビメンチンを含むACPAによって結合されるいくつかの天然に存在するシトルリン化タンパク質が特定されている。ACPAがRAの病理に関与するかどうかは現在のところ未知である。これらの抗体の存在は、貯蔵血漿試料中で疾患の発症前に最長で10年間見出されており、これらが直接的病原性ではないことを示唆している。

30

【0008】

RAと関連する遺伝子または遺伝子突然変異を探求する複数の遺伝子関連研究が公開されている。最も強く遺伝的に関連するものは、圧倒的にHLA-DR4β鎖（DRB1*0401）または他の共有エピトープ含有MHCクラスII遺伝子である。PAD4（PAD14）をコード化する遺伝子を含む少数の他の遺伝子が複数の研究で関連付けられている。したがって、RA患者において、疾患は、1）特異的なMHCクラスII分子、2）タンパク質をシトルリン化する酵素、及び3）抗シトルリン化タンパク質抗体産生と強い相関がある。これらの観測結果は、ほぼ10年間の精力的な研究の焦点であった仮説の生成をもたらした。この仮説は、調節不全のPAD4が、通常は、免疫系によって外来性とは認識されない細胞外タンパク質（例えば、フィブリノゲンまたはビメンチン）をシトルリン化することを提案している。シトルリン化タンパク質は、シトルリン化タンパク質

40

50

を認識する表面受容体を発現するB細胞によって捕捉され、摂取されて、ペプチドに処理加工される。処理加工されたペプチドのいくつかは、これらがかつてアルギニンを発現したシトルリン残基を含有し、この帯電したアミノ酸の喪失は、修飾ペプチドを、未修飾ペプチドが結合することができなかったHLA-DR4に結合することを可能にする。シトルリン化ペプチドは、T細胞に提示され、T細胞はこの組み合わせを外来性として認識し、抗原提示B細胞に抗シトルリン化タンパク質抗体を産生させるように指示する。

【0009】

一部のシトルリン化ペプチドが、HLA-DR4に、天然の非シトルリン化ペプチドよりも良好に結合することができることを実証するいくつかの研究が公開されている。他の研究は、シトルリン化ビメンチンまたはフィブリノゲンに由来するペプチドが、HLA-DR4によって提示されると、T細胞にサイトカインを産生させるか、または未修飾のペプチドに応答するT細胞よりもわずかに多く増殖させることができることを報告している。1つの研究室は、ヒトHLA-DR4を発現するように遺伝子操作を受けたマウスが、シトルリン化ヒトフィブリノゲンで免疫化されると、関節炎を発症し得ることを報告しているが、他の研究室は、これらの所見の再現が不可能なことを報告している。長年にわたる多くの研究にもかかわらず、HLA-DR4によって提示されるとき、ヒトもしくはマウスにおいて関節炎を引き起こすか、またはT細胞における強力な増殖応答を生成することができる特異的なペプチドは特定されていない。したがって、元のペプチド提示仮説は、証明されていない。

【0010】

HLA-DR4共有エピトープのペプチド提示の役割を強力に支持するデータの不在下において、対立仮説が提示されている。Holoshitzらは、T細胞へのペプチド提示とは独立して、共有エピトープの代替機能を定義した。彼らは、共有エピトープが、自然免疫の強力なメディエーターであるカルレチキュリンに直接結合することができることを報告し、この相互作用が、それ自体がシグナル伝達及び一酸化窒素の生成を活性化する炎症誘発であると仮定した。この提案された共有エピトープの役割は、T細胞へのペプチド提示から独立しているだけでなく、これはまた、シトルリン化、PAD4、及びACAPからも独立している。

【先行技術文献】

【特許文献】

【0011】

【特許文献1】米国仮出願第62/293,621号

【発明の概要】

【課題を解決するための手段】

【0012】

第1の態様では、本発明は、対象における少なくとも1つのシトルリン化エピトープ：QKC i t A A、QRC i t A A、またはRRC i t A Aを有するHLA-DR4の存在によって媒介される、ヒト対象における自己免疫疾患、例えば、関節リウマチを治療するための方法を提供する。本方法は、治療有効量の、シトルリン化エピトープQKC i t A A、QRC i t A A、またはRRC i t A Aに特異的に結合する抗体またはその特異的結合断片を、それを必要とする対象に投与することを含む。

【0013】

第2の関連する態様では、本発明は、HLA-DR4受容体タンパク質配列中に存在する、ヒトシトルリン化エピトープQKC i t A A、QRC i t A A、もしくはRRC i t A Aに特異的に結合する、抗体またはその特異的結合断片を提供する。ヒトシトルリン化エピトープQKC i t A A、QRC i t A A、もしくはRRC i t A Aに特異的に結合する、抗体またはその特異的結合断片は、HLA-DR4受容体タンパク質配列中に存在するQKRAA、QRRRAA、またはRRRAAペプチド配列には、実質的に結合しない。

【図面の簡単な説明】

【0014】

【図 1】R A 患者において自己免疫応答を生成するための T 細胞を活性化するために、B 細胞上の H L A - D R 4 受容体からのシトルリン化共有エピートープの提示についての提案された機構の概略図を描写する。

【図 2】図 2 A は、様々な抗原：M H C クラス I I ペプチド (E Q K R A A)、シトルリン化 M H C クラス I I ペプチド (E Q K C i t A A)、エノラーゼ、シトルリン化エノラーゼ、H 3 タンパク質及びシトルリン化 H 3 タンパク質に対する単離された抗 M H C クラス I I ペプチド (E Q K C i t A A) モノクローナル抗体の E L I S A 結合の結果を描写する。図 2 B は、様々な抗原：M H C クラス I I ペプチド (E Q K R A A)、シトルリン化 M H C クラス I I ペプチド (E Q K C i t A A)、H 3 ペプチド (1 - 2 1) 及びシトルリン化 H 3 ペプチド (C i t R 2 + 8 + 1 7) に対する及び単離された抗 M H C クラス I I ペプチド (E Q K C i t A A) モノクローナル抗体の E L I S A 結合の結果を描写する。

10

【発明を実施するための形態】

【0015】

定義

本開示の目的のため、別段の定義がない限り、本明細書で使用される技術用語及び科学用語は、本発明が属する技術分野の当業者によって一般的に理解されている意味と同じ意味を有する。例えば、Singleton et al., Dictionary of Microbiology and Molecular Biology 2nd ed., J, Wiley & Sons (New York, N. Y. 1994)、Sambrook et al., Molecular Cloning, A Laboratory Manual., Cold Spring Harbor Press (Cold Spring Harbor, N. Y. 1989) を参照されたい。これらの参考文献は、これによって、その全体が参照により本開示に組み込まれる。

20

【0016】

本明細書に記述される全ての刊行物及び参考文献は、参照により組み込まれる。本明細書におけるいずれの内容も、本発明が先行発明によりそのような公開に先行する資格がないことを認めるものと解釈されるべきではない。

【0017】

本明細書及び添付の特許請求の範囲で使用する、単数形「a」、「an」、及び「the」は、文脈上他に明確に指示されない限り、複数の指示対象を含むことに留意されたい。

30

【0018】

移行句「～からなる」または「～から本質的になる」を含む実施形態は、列挙された構成要素及び不活性成分のみを含む。

【0019】

本明細書で 사용되는場合、「約」という用語は、それが使用されている数の数値のプラスまたはマイナス 10 % を意味する。したがって、約 50 % は、45 % ~ 55 % の範囲にあることを意味する。

【0020】

「任意」または「任意に」は、それに続いて記載される構造、事象または状況が発生していても発生していなくてもよく、事象が発生している場合の例及び発生していない場合の例の両方を含むことを意味するものであると取ってもよい。

40

【0021】

「エピートープ」という用語は、本明細書で 사용되는場合、抗体の抗原結合部位（パラトープと呼ばれる）によって抗体が結合する抗原上の領域を一緒に形成する、分子の一次構造及び電荷などの集合的な特徴を指す。エピートープは、タンパク質の一次配列中に一緒に近くに位置するアミノ酸残基のセットとして、または一次配列中で十分に分離されているが、タンパク質のその天然の完全に機能的な形状への自然の折り畳みの結果として一緒にされているアミノ酸残基のセットとしてのいずれかを定義することができる。一次配列

50

中に一緒に近くに位置する残基からなるエピトープは、隣接、連続、逐次または直線状エピトープと呼ばれ、一方一次配列における分離された残基からなるエピトープは、対照的に不連続、高次構造または組立エピトープと呼ばれる。

【0022】

エピトープは自然界に存在しており、ヒトによって、マッピングされ、単離され、精製され、ないしは別の方法で調製／誘導され得る。例えば、エピトープは、天然資源からの単離によって調製することができるか、またはこれらは、当該技術分野における標準プロトコルに従って合成することができる。これらの方法のうちの1つは、抗体による結合を可能にするために、全抗原の相同部分に十分に類似し得るタンパク質抗原の合成断片（ペプチド）の使用である。抗体のエピトープに対する親和性は、抗体／ペプチド複合体が、イムノアッセイの条件下で著しく解離することがないようにされねばならない。この状況は直線状エピトープで起こり、したがって、これらのエピトープを画定するためのペプチドの使用、及び個々のエピトープを画定するためのアミノ酸ならびにアミノ酸ミミックの使用を可能にする。誘導／調製されたエピトープは、天然エピトープの類似体であり得る。本開示を通して、エピトープ及びハプテンという用語は、しばしば互換的に使用される。

10

【0023】

「特異的結合分子」という用語は、本明細書において、分子、好ましくは、特異的な結合が可能な小分子を指すように使用される。特異的結合とは、この点において、分子が選択された標的分子に結合する能力があるが、一方これが、別の無関係の標的分子には同じ条件下で結合しないであろうことを意味するよう意図する。例えば、結合分子は、それが血清アルブミンに結合し、別の、または好ましくは血清中に見られる任意の他のタンパク質にはほとんどもしくは全く結合しない場合に、血清アルブミンに特異的に結合すると言われる。本発明において本明細書で使用される好ましい特異的結合分子には、特異的結合薬剤、例えば、シトルリン化エピトープ Q K C i t A A、またはシトルリン化エピトープ Q R C i t A A に結合する抗体もしくはその抗体断片が含まれ、あるいはこれは、シトルリン化エピトープ R R C i t A A に結合することができる。

20

【0024】

この文脈における「シトルリン化エピトープと特異的に反応する」または「シトルリン化エピトープと反応性」もしくは「シトルリンエピトープと反応性」という用語は、特異的結合分子または抗体が、シトルリン残基を含有するペプチド、例えば、シトルリン化エピトープ Q K C i t A A、またはシトルリン化エピトープ Q R C i t A A、またはシトルリン化エピトープ R R C i t A A などの構造と反応するが、一方この抗体、またはその抗体断片が、シトルリン残基の代わりにアルギニン残基を含有する同じ構造とはほとんど、または好ましくは全く結合しないことを意味する。「ペプチド」という用語は、本明細書に記載される特異的結合分子との免疫反応性のための適切な状況下において、好ましくは、それがヒトまたは動物の体内で出現するのと同じ状況下で、好ましくは天然ポリペプチドの状況において、シトルリン残基を提示することが可能である構造として解釈されるべきである。

30

【0025】

「特異的結合分子」は、標的化合物に特異的に結合することが可能である、DNA、RNA、ペプチド、タンパク質ドメイン、総タンパク質、またはこれらの組み合わせもしくはこれらの部分から構成される分子、好ましくは小分子であり得る。特異的結合分子の好ましい例は、ペプチドまたは抗体もしくはその抗体結合断片である。

40

【0026】

天然抗体（免疫グロブリンとしても知られる）は、脊椎動物の血液または他の体液中で見ることができるガンマグロブリンタンパク質であり、細菌及びウイルスなどの異物を特定して無効にするために免疫系によって使用される。

【0027】

天然抗体は、通常、それぞれが2つの大きな重鎖及び2つの小さな軽鎖を有する基本構

50

造単位から形成され、例えば、1つの単位を有するモノマー、2つの単位を有するダイマー、または5つの単位を有するペンタマーである。抗体は、B細胞と呼ばれる白血球によって産生される。重鎖のいくつかの異なる型があり、その結果、異なる種類の抗体をもたらす。抗体は、それらがどの重鎖を有するかに基づいて、異なるアイソタイプにグループ分けすることができる。異なる役割を実行し、それらが遭遇する異物のそれぞれの異なる種類に対して適切な免疫応答を支持する助けとなる、5つの異なる抗体アイソタイプが哺乳動物で知られている。ラクダ科動物（例えば、ラマ）及びサメなどの一部の動物種は、変型の抗体構造を有し得る。

【0028】

全ての抗体の一般構造は、非常に類似しているが、タンパク質の先端部における小領域は非常に多様であり、わずかに異なる先端構造を有する何百万もの抗体が存在することを可能にする。この領域は、超可変領域として知られている。これらの変型のそれぞれは、抗原として知られる異なる標的に結合することができる。抗体のこの巨大な多様性は、免疫系が抗原の同じように広範な多様性を認識することを可能にする。

【0029】

抗体によって認識される抗原の特有な部分がエピトープと呼ばれる。これらのエピトープは、抗体が、生体を作り上げている数百万もの異なる分子の真ただ中でそれらの特有な抗原を特定し、それに結合することを可能にする高度に特異的な相互作用で、それらの抗体と結合する。抗体による抗原の認識は、免疫系の他の部分による攻撃に対してそれをタグ付けする。抗体はまた、例えば、感染を引き起こすために必要とされる病原体の一部に結合することによって、標的を直接無効化することができる。

【0030】

抗体の大規模かつ多様な集団は、異なる抗原結合部位（すなわちパラトープ）をコード化する遺伝子セグメントのセットのランダムな組み合わせ、それに続く、さらなる多様性を生み出す、抗体遺伝子のこの領域におけるランダム突然変異によって生成される。抗体遺伝子はまた、重鎖の塩基を別のものに变化させて、抗原特異的可変領域を保持する抗体の異なるアイソタイプを創出する、クラススイッチ組換えと呼ばれるプロセスにおいて再編成される。これは、単一の抗体が、免疫系のいくつかの異なる部分によって、いくつかの異なるアイソタイプで使用されることを可能にする。

【0031】

野生型抗体は、通常、ポリペプチド鎖の2つの同一の対から構成されており、各対は、1つの軽鎖及び1つの重鎖を有する。重鎖及び軽鎖のそれぞれは、可変及び定常領域と称される、2つの別個の領域で構成されている。したがって、可変重鎖（VH）、定常重鎖（CH）、可変軽鎖（VL）及び定常軽鎖（CL）が存在する。抗体の可変領域（VH及びVL）は、分子の抗原結合配列を含有し、したがって、抗体のその標的抗原に対する特異性を決定する。可変領域において、重鎖及び軽鎖の可変ドメインのそれぞれについての3つのループが、抗原結合部位を形成する。3つのループのそれぞれは、相補性決定領域または「DCR」と称される。6つの、すなわち、重鎖につき3つ、そして軽鎖につき3つのCDRがあり、VHCDR1、VHCDR2、VHCDR3、VLCDR1、VLCDR2、及びVLCDR3と表記される。CDRの外側の、そしてCDRの間の可変領域は、フレームワーク領域と称される。

【0032】

抗体は、単鎖抗体、単鎖可変断片（scFv）、断片抗原結合領域（Fab）、組換え抗体、モノクローナル抗体、天然抗体もしくはアプタマーの抗原結合ドメインを含む融合タンパク質、VHH抗体としても知られるシングルドメイン抗体（sdab）、ナノボディ（ラクダ科動物由来シングルドメイン抗体）、VNARと呼ばれるサメIgNAR由来シングルドメイン抗体断片、アンチカリン、アプタマー（DNAまたはRNA）、及びこれらの活性成分もしくは断片からなる群から選択され得る。

【0033】

別の実施形態では、抗体は、天然抗体またはDNAもしくはRNAの形態のアプタマー

などのアプタマーの抗原結合ドメインを含む融合タンパク質である。

【0034】

抗体または他の特異的結合分子との関連において「またはその部分」または「その特異的結合断片」という用語は、抗体もしくは特異的結合分子の特異的結合部位を構成している抗体もしくは特異的結合分子の部分を目指すよう意味し、完全な抗体もしくは特異的結合分子と同じエピトープとなお反応することが可能である抗体もしくは特異的結合分子の部分として解釈されてもよい。

【0035】

ヒト抗体またはその特異的結合断片は、本開示の好ましい実施形態である。好ましくは、IgG1重鎖及びラムダもしくはカッパ軽鎖を有するIgG1（例えば、IgG1）抗体は、好都合に使用され得る。しかしながら、カッパもしくはラムダ軽鎖と組み合わせたIgG2、IgG3、IgG4、IgM、IgA1、IgA2、IgAsec、IgD及びIgEを含む、他のヒト抗体アイソタイプも本開示によって包含される。また、様々なアイソタイプの全ての動物由来の抗体も本開示で使用する事ができる。抗体は、完全長抗体、またはFab、F(ab')₂、単鎖Fv断片、またはシングルドメインVHH、VHもしくはVLシングルドメインを含む、抗体の抗原結合断片とすることができる。

【0036】

「シトルリン化HLA-DR4エピトープと反応性の特異的結合分子」という用語は、HLA-DR4ポリペプチドまたはその部分などのより大きな構造との関連においてシトルリン残基と特異的に反応する特異的結合分子と解釈されるべきである。

【0037】

「単離された」とは、その中に本発明による抗体、そのような抗体をコード化する核酸及び宿主細胞が、好ましくは存在する状態を指す。抗体及び核酸については、「単離された」とは、抗体及び核酸が、一般的に、それらがその天然の環境において、あるいはそれらが調製される環境において、そのような調製が組換えDNA技術によるものである場合（例えば、細胞培養）で、それらと共に見出される他のポリペプチドまたは核酸などの、それらが自然に結びついた物質を含まないか、または実質的に含まないことを意味する。宿主細胞に適用されるとき、「単離された」とは、例えば、細胞培養中の細胞などのそれらが由来する生物体から分離された宿主細胞を指す。抗体、核酸、及び宿主細胞は、希釈剤またはアジュバントと配合されてもよく、実用的な目的のために、さらに単離されてもよい。

【0038】

「アミノ酸修飾」とは、ポリペプチド配列中のアミノ酸残基の置換、挿入及び欠失を指す。「置換」とは、ポリペプチド配列中の特定の位置におけるアミノ酸残基の、別のアミノ酸残基による置き換えを指す。「挿入」とは、ポリペプチド配列中の特定の位置における、2つの既存のアミノ酸残基間のアミノ酸残基の付加を指す。「欠失」とは、ポリペプチド配列中の特定の位置におけるアミノ酸残基の除去を指す。

【0039】

様々な実施形態では、本開示は、HLA-DR4によるシトルリン化ペプチドの提示を必要としないが、PAD4及びACAPと関連付けられている、共有エピトープに対する新規な役割を提供する。

【0040】

A. 抗シトルリン化共有エピトープ抗体

本開示は、HLA-DR4によるシトルリン化ペプチドの提示を必要としないが、PAD4及びACAPと関連付けられている、共有エピトープに対する新規な役割を特定する。これは、以下の観察結果：1) PAD4が自己シトルリン化されること、2) RA患者のサブセットが、PAD4を認識する抗体を作り出すこと、3) 共有エピトープ配列QKRRAAが、シトルリン化され得るアルギニン残基を含有することを、活用する。本開示は、シトルリン化PAD4、非シトルリン化PAD4、またはPAD4によるシトルリン化の過程におけるタンパク質を認識することが可能な細胞表面受容体を有するB細胞が、細

胞表面上でPAD4を直接的または間接的に捕捉することができることを提案する。捕捉されたPAD4は、酵素的に活性のままであり、B細胞表面上またはファゴソーム内のいずれかで、共有エピトープQKRAA、QRRRA、またはRRRAAにおいて隣接するHLA-DR4分子をシトルリン化する。共有エピトープの72位のアルギニンは、シトルリン化残基のうちの1つである。このように修飾されると、シトルリン化HLA-DR4は、アロ反応性様式でT細胞にとって外来性に見なされる。あるいは、シトルリン化HLA-DR4は、HLA-DR4がシトルリン化されなかった場合に提示されないであろう特有のペプチドをT細胞に提示し得る。いずれかの状況において、応答T細胞は、B細胞に、抗PAD4、抗シトルリン化PAD4、または他のシトルリン化タンパク質を含む、表面受容体と同じ結合特異性を有する抗体を産生するように命令するであろう。

10

【0041】

この新規機序の認識は、細胞溶解性治療用抗体、抗体の共有エピトープ結合断片、またはシトルリン化共有エピトープに結合し、シトルリン化MHCクラスII分子を発現する細胞を破壊し、T細胞活性化を防止する抗体様生体分子が挙げられるが、これらに限定されない、RAの治療または予防のための新しい薬理学的薬剤の開発に情報を与える。

【0042】

図1に示すように、パートB～Dは、共有エピトープQKRAAのQKC i t A Aへの直接的シトルリン化を描写している。図示されていないが、共有エピトープはまた、PADによってシトルリン化されて、T細胞反応性エピトープQRC i t A A、及びRRC i t A Aを生成することができるQRRRA、またはRRRAAも含み得る。図1のパートBに示した例示的な実施形態では、シトルリン化タンパク質に特異的なB細胞膜面免疫グロブリン(Y)は、自己シトルリン化PADに結合する。PAD酵素は、近くのHLA-DR4分子上で、共有エピトープQKRAAをQKC i t A Aにシトルリン化する(HLA-DR4(H)上の小円)。シトルリン化HLA-DR4分子は、追加の結合ペプチドの有無にかかわらず、T細胞受容体(W)によって直接認識される。T細胞は、B細胞に、抗シトルリン化タンパク質抗体(ACAP)を産生するように命令する。

20

【0043】

図1のパートCにおいて、IgGに特異的なB細胞膜面免疫グロブリン(Y)は、PADに結合した抗体に結合する。結合したPADは、共有エピトープ配列を近くのHLA-DR4分子(H)上でシトルリン化する。シトルリン化HLA-DR4分子は、追加の結合ペプチドの有無にかかわらず、T細胞受容体(W)によって直接認識される。T細胞は、B細胞に、抗IgG抗体(リウマチ因子)を産生するように命令する。

30

【0044】

図1のパートDにおいて、PADに特異的なB細胞膜面免疫グロブリン(Y)は、PADに結合する。PADに結合したB細胞は、HLA-DR4(H)中の共有エピトープQKRAAを、近くのHLA-DR4分子(H)上でQKC i t A Aアミノ酸配列にシトルリン化する。シトルリン化HLA-DR4分子は、追加の結合ペプチドの有無にかかわらず、T細胞受容体(W)によって直接認識される。T細胞は、B細胞に、抗PAD抗体を産生するように命令する。本明細書で使用される場合、例示のPADとしては、PAD4またはPAD2もしくはこれらの組み合わせを挙げることができる。

40

【0045】

いかなる特定の理論にも拘束されることを望むものではないが、シトルリン化PAD4、非シトルリン化PAD4、またはPAD4によるシトルリン化の過程におけるタンパク質を認識し、またはこれに結合することが可能な細胞表面受容体を有するB細胞が、B細胞の細胞表面上でPAD4を直接的または間接的に捕捉することができると考えられる。捕捉されたPAD4は、酵素的に活性のままであり、B細胞表面上またはB細胞ファゴソーム内のいずれかで隣接するHLA-DR4分子をシトルリン化する。HLA-DR4の共有エピトープの72位のアルギニンは、シトルリン化残基のうちの1つである。このように修飾されると、シトルリン化HLA-DR4受容体は、アロ反応性様式でT細胞にとって外来性に見なされる。あるいは、シトルリン化HLA-DR4は、HLA-DR4が

50

シトルリン化されなかった場合にT細胞に提示されないであろう特有のペプチドをT細胞に提示し得る。いずれかの状況において、応答T細胞は、活性化されるようになり、TNF- α などの炎症性サイトカインを放出することに加えて、B細胞に、PAD4、シトルリン化PAD4、または他のシトルリン化タンパク質を含む、表面受容体と同じ結合特異性を有する抗体を産生するように命令するであろう。

【0046】

この新規機序の認識は、細胞溶解性治療用抗体、その抗原結合断片、またはシトルリン化共有エピトープQKC i t A A、QRC i t A A、またはRRC i t A Aに結合し、シトルリン化MHCクラスII分子を発現する細胞を破壊する抗体様生体分子が挙げられるが、これらに限定されない、RAの治療または予防のための新しい薬理学的薬剤の開発に情報を与える。抗体または抗体様生体分子の、抗原提示細胞、例えばB細胞上に存在するシトルリン化共有エピトープへの結合は、数ある機構の中でも特に、抗体依存性細胞傷害(ADCC)機構、及び補体依存性細胞傷害(CDC)を介して、これらの細胞の排除を可能にする。

【0047】

いくつかの実施形態では、本発明は、シトルリン化エピトープQKC i t A A、またはシトルリン化エピトープQRC i t A A、またはシトルリン化エピトープRRC i t A Aに特異的であり、かつこれらと高親和性で結合する哺乳動物抗体を含む有用な治療用組成物を提供する。本明細書で使用される場合、このアミノ酸配列は、シトルリン化共有エピトープを指し、シトルリン化する前のエピトープが、QKRAA、QRRRAA、またはRRRAAであり、シトルリン化する前のエピトープ中のアルギニン残基のうちの1つが、アルギニンをシトルリン(「C i t」)に脱イミノ化することによる酵素ペプチジルアルギニンデイミナーゼ(PAD)によって作用される。

【0048】

ペプチジルアルギニンデイミナーゼ(PAD、EC 3. 5. 3. 15)酵素は、タンパク質中のアルギニン残基のシトルリン残基への転換を触媒する。シトルリンにはtRNAは存在せず、タンパク質中のシトルリン残基の存在は、もっぱら翻訳後修飾の結果である。哺乳動物(ヒト、マウス及びラット)において、それぞれが全く別の遺伝子によってコードされる、5つのPADアイソタイプ(PAD1~PAD6、「PAD4」及び「PAD5」は、同じアイソタイプに使用される)が特定されている(Vossenaar et al., Bioessays 25, 1106-1118, 2003)。全てのこれらの酵素は、活性に関してCa²⁺の存在に強く依存しており、遊離L-アルギニンを遊離L-シトルリンに転化することはできない。遊離L-アルギニンは、真核生物では、一酸化窒素合成酵素(EC 1. 14. 13. 39)によって遊離L-シトルリンに転化され得るか、または細菌ではアルギニンデイミナーゼ(EC 3. 5. 3. 6)によって転化され得る。これらの酵素は、Ca²⁺依存性ではない。

【0049】

シトルリン化エピトープQKC i t A A、またはシトルリン化エピトープQRC i t A A、またはシトルリン化エピトープRRC i t A Aに特異的であり、かつこれらと高親和性で結合する、哺乳動物抗体またはその断片を作製するための方法は、当該技術分野において既知である。いくつかの実施形態では、その全体が参照により本明細書に組み込まれる、米国特許第5, 916, 771号に開示されるものなどの、モノクローナル抗体を作製するための細胞融合法を、本発明の方法において使用することができる。簡単に言えば、この方法によれば、所望の重鎖(または重鎖の断片)をコード化するDNAが、第1の哺乳動物宿主細胞中に導入され、一方で、所望の軽鎖(または軽鎖の断片)をコード化するDNAが、第2の哺乳動物宿主細胞中に導入される。第1の形質転換された宿主細胞及び第2の形質転換された宿主細胞が、次いで、細胞融合によって組み合わせられて、第3の細胞を形成する。第1及び第2の細胞の融合の前に、形質転換細胞は、特に所望の特性、例えば高レベルの発現について選択され得る。融合後に、得られたハイブリッド細胞は、所望の重鎖をコード化するDNA及び所望の軽鎖をコード化するDNAの両方を含有し、

10

20

30

40

50

かつこれらを発現して、多量体抗体の産生をもたらす。ある特定の実施形態では、モノクローナル抗体は、標準的な技法によって産生される。ある特定の実施形態では、モノクローナル抗体は、当該技術分野において周知であるハイブリドーマベースの方法によって産生される。様々な実施形態では、HLA-DR4の配列からのエピトープQKCitAAに対するマウスモノクローナル抗体の産生法が当業者に既知であり、例えば、ある特定のこのような実施形態では、マウス、ラット、ハムスター、サル、または他の哺乳動物などの好適な動物が、免疫原によって免疫化され、抗体分泌細胞を産生する。様々な実施形態では、免疫原は、シトルリン化エピトープQKCitAA、またはシトルリン化エピトープQRCitAA、またはシトルリン化エピトープRRCitAAとすることができるか、これは、ポリペプチドもしくはタンパク質に結合または融合したシトルリン化エピトープのうちの1つとすることができる。これらの実施形態では、スクリーニングプロセスが、シトルリン化エピトープQKCitAAには結合しているが、複合化ポリペプチドもしくはタンパク質には結合していないモノクローナル抗体を発現するハイブリドーマを産出するであろう。

10

【0050】

ある特定の実施形態では、抗体分泌細胞は、リンパ球または脾細胞などのB細胞である。ある特定の実施形態では、リンパ球（例えば、ヒトリンパ球）は、インビトロで免疫化され、抗体分泌細胞を生成する。例えば、Borreback et al., (1988) Proc. Nat'l Acad. Sci. USA 85:3995-3999を参照されたい。

20

【0051】

ある特定の実施形態では、抗体分泌細胞はハイブリドーマ細胞を産生するために、骨髄系細胞株などの「不死化」細胞株と融合される。ある特定の実施形態では、所望の抗体を産生するハイブリドーマ細胞が、例えばELISAによって特定される。ある特定の実施形態では、このような細胞は、次いで、標準的な方法を用いて、サブクローンされ培養され得る。ある特定の実施形態では、このような細胞は、好適な動物宿主における腹水腫瘍としてインビボで成長し得る。ある特定の実施形態では、モノクローナル抗体は、親和性クロマトグラフィーなどの標準的な分離手順を用いて、ハイブリドーマ培養培地、血清、または腹水から単離される。ある特定の実施形態によるハイブリドーマの産生及びモノクローナル抗体の精製について指針は、例えば、Harlow and Lane (1988) Antibodies: A Laboratory Manual Ch. 8 (Cold Spring Harbor Laboratory, Cold Spring Harbor, N. Y.) に提供されている。

30

【0052】

ある特定の実施形態では、マウスモノクローナル抗体は、遺伝子変調されたマウスを免疫原で免疫化することによって産生される。ある特定のこのような実施形態では、マウスは、HLA-DR4欠損マウスである。ある特定のこのような実施形態では、マウスは、ヒトHLA-DR4をコード化する遺伝子のうちの全てまたは一部を欠如する「ノックアウト」マウスである。ある特定の実施形態では、このようなノックアウトマウスは、シトルリン化エピトープQKCitAA、またはシトルリン化エピトープQRCitAA、またはシトルリン化エピトープRRCitAAで（単独で、またはポリペプチドもしくはタンパク質に複合化される場合のいずれかで）免疫化される。

40

【0053】

ある特定の実施形態では、ヒトモノクローナル抗体は、ヒト抗体を産生することが可能なトランスジェニック動物（例えば、マウス）において生じる。例えば、米国特許第6,075,181A号及び同第6,114,598A号、ならびにWO98/24893A2を参照されたい。例えば、ある特定の実施形態では、ヒト免疫グロブリン遺伝子が、内因性Ig遺伝子が不活性化されているマウスに導入される（例えば、酵母人工染色体、ヒト染色体断片、または生殖細胞系の統合を用いて）。例えば、Jakobovits et al. (1993) Nature 362:255-258、Tomizuka

50

et al., (2000) Proc. Nat'l Acad. Sci. USA 97: 722-727、及びMendez et al. (1997) Nat. Genet. 15: 146-156 (トランスジェニックマウスのXenomouse II. RTM. 系統を記載する)を参照されたい。

【0054】

ある特定の実施形態では、このようなトランスジェニックマウスは、免疫原で免疫化される。ある特定のこのような実施形態では、リンパ細胞（B細胞など）は、抗体を発現するマウスから得られる。ある特定のこのような実施形態では、このような回収された細胞は、ハイブリドーマ細胞を産生するために、骨髄系細胞株などの「不死化」細胞株と融合される。ある特定のこのような実施形態では、ハイブリドーマ細胞は、注目の抗原に対して特異的な抗体を産生するものを特定するために、スクリーニングかつ選択される。ヒトモノクローナル抗体の産生に好適な特定の例示的な方法及びトランスジェニックマウスは、例えば、Green (1999) J. Immunol. Methods 231: 11-23、及びWO 98/24893に記載されている。ある特定の実施形態では、シトルリン化エピトープQKCitAA、またはシトルリン化エピトープQRCitAA、またはシトルリン化エピトープRRCitAAに対するヒトモノクローナル抗体は、自己免疫疾患、例えば、関節リウマチの治療に治療用抗体またはその断片として使用するために好適である。

【0055】

ファージ及び酵母ディスプレイベースの方法

ある特定の実施形態では、ヒトモノクローナル抗体は、例えば、以下に記載されるもののいずれかなどのディスプレイベースの方法を用いて産生される。

【0056】

ある特定の実施形態では、モノクローナル抗体は、ファージディスプレイ技法によって産生される。ある特定の例示的な抗体ファージディスプレイ法は当業者に既知であり、例えば、Hoogenboom, Overview of Antibody Phage-Display Technology and Its Applications, from Methods in Molecular Biology: Antibody Phage Display: Methods and Protocols (2002) 178: 1-37 (O'Brien and Aitken, eds., Human Press, Totowa, N. J.)に記載されている。例えば、ある特定の実施形態では、抗体のライブラリーが、非溶解繊維状ファージfdまたはM13などの繊維状ファージの表面上に表示される。ある特定の実施形態では、抗体は、 V_H-V_L 対を安定化させるために操作された分子間ジスルフィド結合を有するscFv、Fab、Fvなどの抗体断片、及びダイアボディである。ある特定の実施形態では、次いで、所望の結合特異性を有する抗体が選択され得る。抗体ファージディスプレイ法のある特定の例示的な実施形態が、以下にさらに詳細に説明される。

【0057】

ある特定の実施形態では、抗体ファージディスプレイライブラリーは、当業者に既知のある特定の方法を用いて調製され得る。例えば、Hoogenboom, Overview of Antibody Phage-Display Technology and Its Applications, from Methods in Molecular Biology: Antibody Phage Display: Methods and Protocols (2002) 178: 1-37 (O'Brien and Aitken, eds., Human Press, Totowa, N. J.)を参照されたい。ある特定の実施形態では、可変遺伝子レパートリーが、抗体分泌細胞のmRNAに由来するゲノムDNAまたはcDNAのPCR増幅によって調製される。例えば、ある特定の実施形態では、cDNAは、シトルリン化エピトープQKCitAAに対する抗体を発現するB細胞のmRNAから調製される。ある特定の実施形態では、重鎖及び軽鎖の可変領域をコード化するcDNAが、例えばPCRによって増幅される。

【0058】

ある特定の実施形態では、重鎖 cDNA 及び軽鎖 cDNA は、好適なベクターにクローンされる。ある特定の実施形態では、重鎖 cDNA 及び軽鎖 cDNA は、クローニングプロセス中に無作為に組み合わせられ、これによって、多様な scFv または Fab をコード化する cDNA ライブラリーのアセンブリをもたらす。ある特定の実施形態では、重鎖 cDNA 及び軽鎖 cDNA は、好適なベクターにクローンされる前に連結される。ある特定の実施形態では、重鎖 cDNA 及び軽鎖 cDNA は、好適なベクターへの段階的なクローンによって連結される。

【0059】

ある特定の実施形態では、cDNA は、ファージミドベクターなどのファージディスプレイベクター中にクローンされる。ある特定の例示的なファージミドベクター、例えば pCES1 は、当業者に既知である。ある特定の実施形態では、重鎖及び軽鎖の両方をコード化する cDNA は、同じベクター上に存在する。例えば、ある特定の実施形態では、scFv をコード化する cDNA は、微量成分のファージコートタンパク質 p11 をコード化する遺伝子 III の全てまたは一部とインフレームでクローンされる。ある特定のこのような実施形態では、ファージミドは、ファージ表面上の scFv-p11 融合体の発現を指令する。あるいは、ある特定の実施形態では、重鎖（または軽鎖）をコード化する cDNA は、遺伝子 III の全てまたは一部とインフレームでクローンされ、軽鎖（または重鎖）をコード化する cDNA は、同じベクター内のシグナル配列の下流にクローンされる。シグナル配列は、軽鎖の（または重鎖の）宿主細胞のペリプラズム中での発現を指令し、ここで重鎖及び軽鎖が Fab 断片を組み立てる。あるいは、ある特定の実施形態では重鎖をコード化する cDNA 及び軽鎖をコード化する cDNA は、別々のベクター上に存在する。ある特定のこのような実施形態では、重鎖及び軽鎖 cDNA は、一方はファージミドに、そして他方はファージベクターに（これらの両方とも、宿主細胞におけるインビボ組換えのためのシグナルを含有する）、別々にクローンされる。組換えファージミドまたはファージベクターは、好適な細菌宿主、例えば E. coli 中に導入される。ファージミドを使用する、ある特定の実施形態では、宿主は、ヘルパーファージに感染され、ファージ構造タンパク質を供給し、これによって、抗体-p11 融合タンパク質を運ぶファージ粒子のファージ表面上での発現を可能にする。

【0060】

様々な例示的な実施形態では、「合成」抗体ライブラリーが、インビトロで再編成される可変遺伝子のレパートリーを用いて構築される。例えば、ある特定の実施形態では、重鎖または軽鎖をコード化する個々の遺伝子セグメント（それぞれ、V-D-J または V-J）が、PCR を用いて無作為に組み合わせられる。ある特定のこのような実施形態では、追加の配列多様性が、CDR 中に、可能であれば FR 中に、例えばエラープロン PCR によって導入され得る。ある特定のこのような実施形態では、追加の配列多様性は、CDR3 中に、例えば、重鎖の H3 に導入される。

【0061】

ある特定の実施形態では、「ナープ」または「ユニバーサル」ファージディスプレイライブラリーが、非免疫化動物からの核酸を用いて、上述のように構築される。ある特定の実施形態において、非免疫化動物は、ヒトである。ある特定の実施形態では、「免疫化」ファージディスプレイライブラリーが、免疫化動物からの核酸を用いて、上述のように構築される。ある特定の実施形態では、免疫化動物は、ヒト、ラット、マウス、ハムスター、またはサルである。ある特定のこのような実施形態では、動物は、以下に記載される免疫原のうちのいずれかで免疫化される。

【0062】

ある特定の実施形態では、所望の結合特異性を有する抗体のファージディスプレイライブラリーからの選択は、連続的パニングステップによって達成される。パニングのある特定の実施形態では、ライブラリーファージ調製物は、抗原に曝露される。ある特定のこのような実施形態では、ファージ-抗原複合体が洗浄され、未結合ファージが廃棄され

る。ある特定のこのような実施形態では、結合ファージが回収され、その後 *E. coli* を感染させることによって増幅される。ある特定のこのような実施形態では、モノクローナル抗体産生ファージは、単一プラークを採集することによってクローンされてもよい。ある特定の実施形態では、上記プロセスが繰り返される。

【0063】

ある特定実施形態では、パンニングで使用される抗原は、以下に記載される免疫原のうちのいずれかである。ある特定の実施形態では、抗原は、親和性クロマトグラフィーによる抗原結合ファージの精製を可能にするために、固体支持体上で固定化される。ある特定の実施形態では、抗原はビオチン化されており、これによって、ストレプトアビジンがコートされた磁性ビーズを用いて、結合ファージを未結合ファージから分離することを可能にする。ある特定の実施形態では、抗原は、細胞上に（直接パンニングのために）、組織凍結切片内に、または膜上に（例えば、ナイロンもしくはニトロセルロース膜）に固定化されてもよい。ある特定のパンニング手順の他の変更例は、当業者によって日常的に決定されてもよい。

【0064】

ある特定の実施形態では、酵母ディスプレイシステムは、モノクローナル抗体を産生するために使用される。ある特定のこのようなシステムでは、抗体は、酵母 AGA2 タンパク質のうちの全てまたは一部との融合タンパク質として発現され、酵母細胞壁の表面上に表示されるようになる。ある特定のこのような実施形態では、所望の結合特異性を有する抗体を発現する酵母細胞は、次いで、細胞を蛍光標識抗原に曝露することによって特定され得る。ある特定のこのような実施形態では、抗原に結合する酵母細胞は、次いで、フローサイトメトリーによって単離され得る。例えば、Boder et al. (1997) Nat. Biotechnol. 15: 553-557 を参照されたい。

【0065】

ある特定の実施形態では、モノクローナル抗体は、組換え技法によって産生される。例えば、米国特許第 4, 816, 567 号を参照されたい。ある特定のこのような実施形態では、モノクローナル抗体鎖をコード化する核酸は、好適な宿主細胞中でクローンされて発現される。例えば、ある特定の実施形態では、RNA は、標準的方法を用いて、成熟 B 細胞またはハイブリドーマ細胞などの所望の抗体を発現する細胞から調製され得る。ある特定の実施形態では、RNA は、次いで、標準的な方法を用いて、cDNA を作成するために使用され得る。ある特定の実施形態では、重鎖または軽鎖ポリペプチドをコード化する cDNA が、例えば特異的オリゴヌクレオチドプライマーを用いる PCR によって増幅される。ある特定の実施形態では、cDNA は、好適な発現ベクター中にクローンされる。ある特定の実施形態では、発現ベクターは、次いで、内因的に抗体を産生しない宿主細胞などの、好適な宿主細胞中に形質転換またはトランスフェクトされる。ある特定の例示的な宿主細胞としては、*E. coli*、COS 細胞、チャイニーズハムスター卵巣 (CHO) 細胞、及び骨髓腫細胞が挙げられるが、これらに限定されない。重鎖及び軽鎖が同じ宿主中で同時発現される、ある特定の実施形態では、再構成された抗体が単離されてもよい。

【0066】

ある特定の実施形態では、重鎖または軽鎖をコード化する cDNA は、修飾され得る。例えば、ある特定の実施形態では、マウス重鎖または軽鎖の定常領域は、ヒト重鎖または軽鎖の定常領域で置き換えることができる。このように、ある特定の実施形態では、ヒト抗体定常領域を有するが、マウス抗体の結合特異性を保持するキメラ抗体が産生され得る。

【0067】

ある特定の実施形態では、組換え抗体は、ある特定の細胞株で発現され得る。ある特定の実施形態では、特定の抗体をコード化する配列は、好適な哺乳動物宿主細胞の形質転換に使用され得る。ある特定の実施形態によれば、形質転換は、ポリヌクレオチドを宿主細胞中に導入するため任意の既知の方法によるものとすることができる。ある特定の例示的

な方法としては、ポリヌクレオチドをウイルス中に（またはウイルスベクター中に）パッケージングし、及び宿主細胞をウイルスで（またはベクターで）形質導入すること、ならびに米国特許第4,399,216号、同第4,912,040号、同第4,740,461号、及び同第4,959,455号に例示されるように、当該技術分野において既知のある特定のトランスフェクション手順を使用することが挙げられるが、これらに限定されない。ある特定の実施形態では、使用される形質転換手順は、形質転換される宿主に依存し得る。異種ポリヌクレオチドの哺乳動物細胞への導入のためのある特定の例示的な方法は、当該技術分野において既知であり、デキストラン媒介トランスフェクション、リン酸カルシウム沈殿、ポリブレン媒介トランスフェクション、原形質融合、電気穿孔法、ポリヌクレオチド（複数可）のリボソーム中の封入、及びDNAの核内への直接マイクロインジェクションが挙げられるが、これらに限定されない。

10

【0068】

発現のための宿主として利用可能なある特定の例示的な哺乳動物細胞株は、当該技術分野において既知であり、限定されるものではないが、チャイニーズハムスター卵巣（CHO）細胞、HEL細胞、ベビーハムスター腎臓（BHK）細胞、サル腎臓細胞（COS）、ヒト肝細胞癌細胞（例えば、Hep G2）を含むアメリカ合衆国培養細胞系統保存機関（ATCC）から入手可能な多くの不死化細胞株、及び多くの他の細胞株が挙げられるが、これらに限定されない。ある特定の実施形態では、細胞株は、どの細胞株が、シトルリン化エピトープQKCitAA、またはシトルリン化エピトープQRCitAA、またはシトルリン化エピトープRRCitAAに特異的に結合する高レベルの抗体を産生するかを決定することによって選択されてもよい。

20

【0069】

様々な実施形態では、シトルリン化HLA-DR4エピトープに結合する抗体は、ヒト化抗体である。本明細書で使用される場合、「ヒト化抗体」とは、ヒトフレームワーク領域と、非ヒトの（通常、マウスまたはラットの）免疫グロブリンからの1つ以上のCDRを含む免疫グロブリンを指す。CDRを提供する非ヒト免疫グロブリンは、「ドナー」と呼ばれ、フレームワークを提供するヒト免疫グロブリンは、「アクセプター」と呼ばれる。定常領域は存在する必要はないが、これらが存在する場合、これらは、ヒト免疫グロブリン定常領域と実質的に同一でなければならず、すなわち、少なくとも約85～90%、好ましくは約95%以上が同一である。したがって、ヒト化免疫グロブリンのうちの全ての部分が（CDRを除く可能性はある）、天然ヒト免疫グロブリン配列の対応する部分と実質的に同一である。

30

【0070】

「ヒト化抗体」は、ヒト化軽鎖及びヒト化重鎖免疫グロブリン含む抗体である。例えば、ヒト化抗体は、例えば、キメラ抗体の可変領域全体が非ヒトであるために、典型的なキメラ抗体を包含しないであろう。一説によれば、ドナー抗体は、得られたヒト化抗体が、CDRを提供するドナー抗体と同じ抗原に結合すると予想されるために、「ヒト化」のプロセスによって、「ヒト化」されている。ほとんどの場合、ヒト化抗体は、レシピエントの超可変領域残基が、所望の特異性、親和性、及び能力を有するマウス、ラット、ウサギ、または非ヒト霊長類等の非ヒト種（ドナー抗体）からの超可変領域残基によって置き換えられる、ヒト免疫グロブリン（レシピエント抗体）である。場合によっては、ヒト免疫グロブリンのフレームワーク領域（FR）残基は、対応する非ヒト残基によって置き換えられる。

40

【0071】

さらに、ヒト化抗体は、レシピエント抗体にもドナー抗体にも見られない残基を含み得る。これらの修飾は、抗体性能をさらに改良するために行われる。一般に、ヒト化抗体は、少なくとも1つ、典型的には2つの可変ドメインの実質的に全てを含み、超可変領域の全てまたは実質的に全てが、非ヒト免疫グロブリンの超可変領域に対応し、FRの全てまたは実質的に全てが、ヒト免疫グロブリン配列のFRである。ヒト化抗体は、任意に、免疫グロブリン定常領域（Fc）の少なくとも一部、典型的には、FcγRIIBポリペプ

50

チドに免疫特異的に結合するヒト免疫グロブリンのもので、アミノ酸残基置換、欠失または付加（すなわち、突然変異）の導入によって変更されているものも含むであろう。いくつかの実施形態では、ヒト化抗体は、誘導体である。このようなヒト化抗体は、1つ以上の非ヒトCDR中に、アミノ酸残基置換、欠失または付加を含む。ヒト化抗体誘導体は、非誘導体ヒト化抗体と比べて、同じ結合、より良好な結合、またはより不良な結合を実質的に有し得る。具体的な実施形態では、CDRのうちの1つ、2つ、3つ、4つ、または5つのアミノ酸残基が、置換、欠失または付加されている（すなわち、変異されている）。ヒト化抗体におけるさらなる詳細については、欧州特許第EP239,400号、同第EP592,106号、及び同第519,596号、国際公開第WO91/09967号及び同第WO93/17105号、米国特許第5,225,539号、同第5,530,101号、同第5,565,332号、同第5,585,089号、同第5,766,886号、及び同第6,407,213号を参照されたい。

10

【0072】

本明細書で使用される場合、「超可変領域」という用語は、抗原結合を担う抗体のアミノ酸残基を指す。超可変領域は、「相補性決定領域」すなわち「CDR」からのアミノ酸残基（すなわち、軽鎖可変ドメイン中の残基24～34（L1）、50～56（L2）及び89～97（L3）と、重鎖可変ドメイン中の31～35（H1）、50～65（H2）及び95～102（H3）、Kabat et al., SEQUENCES OF PROTEINS OF IMMUNOLOGICAL INTEREST, 5th Ed. Public Health Service, National Institutes of Health, Bethesda, Md. (1991)）及び／または「超可変ループ」からのこれらの残基（すなわち、軽鎖可変ドメイン中の残基26～32（L1）、50～52（L2）及び91～96（L3）と、重鎖可変ドメイン中の26～32（H1）、53～55（H2）及び96～101（H3）、Chothia and Lesk, 1987, J. Mol. Biol. 196:901-917）を含む。

20

【0073】

本明細書で使用される場合、「単鎖Fv」または「scFv」は、抗体のVH及びVLドメインを含む抗体を指し、これらのドメインは、単一のポリペプチド鎖内に存在する。一般に、Fvポリペプチドは、VHドメインとVLドメインとの間にポリペプチドリンカーをさらに含み、これにより、scFvが抗原結合に望ましい構造を形成することが可能になる。sFvの概説については、Pluckthun in THE PHARMACOLOGY OF MONOCLONAL ANTIBODIES, vol. 113, Rosenburg and Moore, eds. Springer-Verlag, New York, pp. 269-315 (1994)を参照されたい。具体的な実施形態では、scFvとしては、二重特異性scFv及びヒト化scFvが挙げられる。

30

【0074】

B. 治療法

このように、本開示は、したがって、例えば、炎症性関節炎、多発性硬化症、1型糖尿病、ライム病誘発性関節炎、関節リウマチ、ヒドララジン誘発性女性全身性エリテマトーデス、妊婦性類天疱瘡、落葉状天疱瘡、閉塞性肥大型心筋症、乾癬性関節炎、乾癬、IgA腎症、「共有症候群」—全身性硬化症／関節リウマチ及びリウマチ性多発性筋痛症を含み得る、シトルリン-HLA-DR4関連自己免疫疾患の治療または予防で使用するための、HLA-DR4分子上に存在するシトルリン化共有エピトープに結合する特異的結合分子に関する。いくつかの実施形態では、シトルリン-HLA-DR4関連自己免疫疾患の治療または予防で使用するための、本発明のHLA-DR4分子上に存在するシトルリン化共有エピトープに結合する特異的結合分子、例えば、抗体は、関節リウマチの治療に使用される。

40

【0075】

いくつかの実施形態では、本発明の方法を使用して治療可能な疾患及び病態としては、炎症性関節炎、関節リウマチ、乾癬性関節炎、及び乾癬を挙げることができる。したがっ

50

て、本開示は、関節炎、炎症性関節炎、関節リウマチ、乾癬性関節炎、及び乾癬からなる群から選択される疾患の治療または予防で使用するための、HLA-DR4分子上に存在するシトルリン化共有エピトープに特異的に結合する、特異的結合分子、例えば、抗体またはその特異的結合断片に関する。本開示は、特に、自己免疫疾患の治療及び／または予防のための、シトルリン化HLA-DR4共有エピトープ（例えば、QKCitAA、QRCitAA、またはRRCitAA）に対して高親和性を有し、かつこれらに特異的に結合する、特異的結合分子（例えば、抗体またはその特異的結合断片）に関する。これらの自己免疫疾患は、抗原提示細胞、例えば、B細胞上に存在するHLA-DR4受容体上に存在するシトルリン化エピトープQKCitAA、またはシトルリン化エピトープQRCitAA、またはシトルリン化エピトープRRCitAAの存在によって、全体または一部において媒介される。B細胞などの抗原提示細胞によって提示されたシトルリン化共有エピトープQKCitAA、またはシトルリン化エピトープQRCitAA、またはシトルリン化エピトープRRCitAAを担持するHLA-DR4分子は、T細胞によって外来性として認識され、これによって、T細胞活性化及び病原性免疫応答の開始をもたらす。

10

【0076】

いかなる特定の理論に束縛されるものではないが、シトルリン化HLA-DR4共有エピトープと反応性の特異的結合分子（例えば、抗体またはその特異的結合断片）の投与が、特異的結合分子の、抗原提示細胞、例えば、シトルリン化HLA-DR4共有エピトープをT細胞に提示するB細胞への結合をもたらし得ると考えられる。このように、本発明の抗体、またはその特異的結合断片を用いて、HLA-DR4分子上に存在するシトルリン化共有エピトープに結合し、患者のT細胞が、シトルリン化HLA-DR4エピトープを有する外来性に見えるHLA-DR4に反応することを防止する。これらの抗原提示細胞、例えばB細胞は、その後、とりわけ、抗体依存性細胞傷害性（ADCC）機構、及び補体依存性細胞傷害性（CDC）を通して排除され得る。

20

【0077】

ヒトの治療で使用する時、抗体、またはその抗体断片は、好ましくは、本発明の抗体またはその特異的結合断片に対する抗体の産生を引き起こさないように、主としてヒト抗体配列からなり、すなわち、これはヒト化されている。

【0078】

治療的使用については、適した抗体またはその特異的結合断片は、ヒト患者への投与後に安定である。例えば、投与後に、ヒトにおいて長い半減期を有するべきであり、かつ短時間にプロテアーゼによって分解されるべきではない。好適な抗体は、数日間よりはむしろ数週間の半減期を有する。

30

【0079】

いくつかの実施形態では、上記で概説したシトルリン-HLR-DR4関連自己免疫疾患を有するか、またはシトルリン-HLR-DR4関連自己免疫疾患を有すると疑われる対象は、有効量の特異的結合分子（例えば、本開示のシトルリン化HLA-DR4共有エピトープ（例えば、QKCitAA、QRCitAA、またはRRCitAA）に特異的に結合する抗体またはその特異的結合断片）と、薬学的に許容される賦形剤と、を含む薬学的組成物で治療され得る。様々な実施形態では、特異的結合分子は、シトルリン化共有エピトープ、例えば、QKCitAA、QRCitAA、またはRRCitAAに特異的に結合する抗体、またはその断片であり、例えば、シトルリン化HLA-DR4エピトープ、例えば、アミノ酸配列QKCitAA、QRCitAA、またはRRCitAAを有するシトルリン化共有エピトープに特異的に結合する、ポリクローナル、もしくはモノクローナル抗体、またはキメラ抗体もしくはヒト化抗体、あるいは完全ヒト抗体である。本明細書で使用される場合、「薬学的に許容される担体」または「薬学的に許容される賦形剤」は、活性成分と組み合わせられると、その成分が生物活性を保持することを可能にし、かつ対象の免疫系と非反応性である任意の物質を含み、生理学的適合性があり、非毒性で、活性抗シトルリン化共有エピトープ抗体またはその抗原結合断片の作用機序に干渉しな

40

50

い、ありとあらゆる溶媒、希釈剤、担体、分散媒体、コーティング、抗菌ならびに抗真菌剤、等張性ならびに吸収性遅延剤などを含み得る。好ましくは、薬学的に許容される賦形剤は、（例えば、注射または吸入による）静脈内、筋肉内、皮下、非経口、脊髄、または上皮投与に好適である。投与経路に応じて、活性成分、すなわち、特異的結合分子は、特異的結合分子を、特異的結合分子を不活性化し得る酸及び他のプロテアーゼの作用から保護するために物質中にコーティングされてもよい。

【0080】

本開示に従って使用される、抗シトルリン化共有エピトープQKC i t A A、QRC i t A A、またはRRC i t A A抗体もしくはその抗原結合断片の製剤は、Remington's Pharmaceutical Sciences 16th edition, Osol, A. Ed. [1980]に十分に説明かつ例証されているように、所望の純度を有する抗体もしくはその抗原結合断片を、任意の薬学的に許容される担体、賦形剤または安定剤と混合することによって、薬学的に許容される凍結製剤、溶液及び／または懸濁液として、保管用に調製され得る。許容される担体、賦形剤、緩衝液または安定剤は、使用される投与量及び濃度で、レシピエントに対して非毒性であり、本開示の薬学的組成物で用いることができる適切な水性及び／または非水性賦形剤、例えば、水、エタノール、ポリオール（グリセロール、プロピレングリコール、ポリエチレングリコールなど）、及びそれらの適切な混合物、オリーブオイルなどの植物油、及びオレイン酸エチルなどの注射可能な有機エステルを含む。適切な流動性は、例えば、レシチンなどのコーティング材料の使用により、分散液の場合は必要な粒径の維持により、かつ表面活性剤、リン酸、クエン酸、及び他の有機酸などの緩衝液の使用により、維持されてもよい。抗酸化剤、例えば、（1）水溶性抗酸化剤、例えば、アスコルビン酸、塩酸システイン、重硫酸ナトリウム、メタ重亜硫酸ナトリウム、硫酸ナトリウムなど、（2）油溶性抗酸化剤、例えば、パルミチン酸アスコルビル、ブチル化ヒドロキシアニソール（BHA）、ブチル化ヒドロキシトルエン（BHT）、レシチン、没食子酸プロピル、アルファートコフェロールなど、及び（3）金属キレート剤、例えば、クエン酸、エチレンジアミン四酢酸（EDTA）、ソルビトール、酒石酸、リンなど、防腐剤（例えば、塩化オクタデシルジメチルベンジルアンモニウム、塩化ヘキサメトニウム、塩化ベンザルコニウム、塩化ベンゼトニウム、フェノール、ブチルもしくはベンジルアルコール、メチルもしくはプロピルパラベンなどのアルキルパラベン、カテコール、レゾルシノール、シクロヘキサノール、3-ペンタノール、及びm-クレゾール）が含まれてもよい。他の例示的な薬学的に許容される賦形剤としては、ポリペプチド、血清アルブミン、ゼラチン、または免疫グロブリンなどのタンパク質、ポリビニルピロリドンなどの親水性ポリマー、グリシン、グルタミン、アスパラギン、ヒスチジン、アルギニン、またはリシンなどのアミノ酸、グルコース、マンノース、またはデキストリンが含まれる単糖類、二糖類、及び他の炭水化物、EDTAなどのキレート剤、スクロース、マンニトール、トレハロースまたはソルビトールなどの糖、ナトリウムなどの塩生成対イオン、金属錯体（例えば、Zn-タンパク質錯体）、及び／またはTWEEN（商標）、PLURONICS（商標）もしくはポリエチレングリコール（PEG）などの非イオン性界面活性剤を挙げることができる。

【0081】

1つの例示的な実施形態では、薬学的組成物は、任意に、pH調節剤及び緩衝剤、ならびに毒性調節剤など（例えば、酢酸ナトリウム、塩化ナトリウム、塩化カリウム、塩化カルシウム、及び乳酸ナトリウム）の生理学的条件に近づけるために必要とされる薬学的に許容される補助剤を含有し得る。いくつかの実施形態では、本開示の抗シトルリン化共有エピトープQKC i t A A、QRC i t A A、またはRRC i t A A抗体もしくはその抗原結合断片は製剤化され、当該技術分野において既知の凍結乾燥及び再構成技法に従って、使用する前に、保管用に凍結乾燥され、かつ好適な賦形剤中で再構成され得る。抗シトルリン化共有エピトープQKC i t A A、QRC i t A A、またはRRC i t A A抗体もしくはその抗原結合断片を含有する1つの例示的な薬学的組成物において、本組成物は、静脈内または皮下投与のために、抗シトルリン化共有エピトープQKC i t A A、QRC

i t A A、またはR R C i t A A抗体もしくはその抗原結合断片の無菌の、防腐剤を含まない溶液として製剤化される。本製剤は、単回使用プレフィルドペン、例えば単回使用の約1 mLのプレフィルドガラス注射器として、または単回使用の医療機関用バイアルとしてのいずれかで供給され得る。好ましくは、抗シトルリン化共有エピトープQ K C i t A A、Q R C i t A A、またはR R C i t A A抗体もしくはその抗原結合断片を含有する薬学的組成物は、約6.9～5.0のpH、好ましくは、6.5～5.0のpH、及びさらにより好ましくは約6.0～約5.0の範囲のpHを伴い、透明かつ無色である。様々な実施形態では、本薬学的組成物を含む製剤は、再構成されて、対象に投与されるとき、溶液1 mL当たり、約1,000 mg～約10 mg、または約500 mg～約20 mg、または約400 mg～約30 mg、または約300 mg～約50 mgの抗シトルリン化共有エピトープQ K C i t A A、Q R C i t A A、またはR R C i t A A抗体もしくはその抗原結合断片を含有することができる。非経口投与用の、例えば、静脈内、筋肉内、腹腔内、または皮下投与用の、例示的な注射または注入用賦形剤としては、マンニトール、クエン酸一水和物、第二リン酸ナトリウム二水和物、リン酸一ナトリウム二水和物、ポリソルベート80、塩化ナトリウム、クエン酸ナトリウム及び水を挙げることができる。

10

【0082】

別の例示的な実施形態では、抗シトルリン化共有エピトープQ K C i t A A、Q R C i t A A、またはR R C i t A A抗体もしくはその抗原結合断片は、約0.1 mg/mL～約100 mg/mL、またはより好ましくは、約5～75 mg/mL、またはさらにより好ましくは、約10～50 mg/mL、またはさらにより好ましくは、約10～40 mg/mLの抗体を、酢酸ナトリウム、ポリソルベート80、及び塩化ナトリウムと共に、約5～6の範囲のpHで含有する無菌水溶液として、静脈内または皮下投与用に製剤化される。好ましくは、静脈内または皮下製剤は、5、10、15、20、25、30、35、40、45、または50 mg/mLの抗シトルリン化共有エピトープQ K C i t A A抗体もしくはその抗原結合断片を、20 mMの酢酸ナトリウム、0.2 mg/mLのポリソルベート80、及び140 mMの塩化ナトリウムと共に、pH 5.5で含有する無菌水溶液である。さらに、抗シトルリン化共有エピトープQ K C i t A A、Q R C i t A A、またはR R C i t A A抗体もしくはその抗原結合断片を含む溶液は、多くの他の化合物の中でもとりわけ、ヒスチジン、マンニトール、スクロース、トレハロース、グリシン、ポリ(エチレン)グリコール、EDTA、メチオニン、及びこれらの任意の組み合わせ、ならびに関連技術において既知の多くの他の化合物を含むことができる。

20

30

【0083】

一実施形態では、本開示の薬学的組成物は、以下の成分：5～100 mgの本開示の抗シトルリン化共有エピトープQ K C i t A A、Q R C i t A A、またはR R C i t A A抗体もしくはその抗原結合断片、10 mMのヒスチジン、5%のスクロース、及び0.01%のポリソルベート80を、pH 5.8で含む。この組成物は、凍結乾燥粉末として提供され得る。粉末が最大容量で再構成されるとき、本組成物は同じ処方を持続する。あるいは、粉末は半分の容量で再構成されてもよく、この場合、組成物は、10～200 mgの本開示の抗シトルリン化共有エピトープQ K C i t A A抗体もしくはその抗原結合断片、20 mMのヒスチジン、10%のスクロース、及び0.02%のポリソルベート80をpH 5.8で含む。

40

【0084】

一実施形態では、用量の一部が静脈内ボラスによって投与され、残りが、抗体製剤の注入によって投与される。例えば、いくつかの実施形態では、約0.001～約200 mg/kgの範囲、例えば、約0.001 mg/kg～約100 mg/kg、または約0.001 mg/kg～約50 mg/kg、または約0.001 mg/kg～約10 mg/kgの量の抗シトルリン化共有エピトープQ K C i t A A、Q R C i t A A、またはR R C i t A A抗体もしくはその抗原結合断片が、ボラスとして、抗シトルリン化共有エピトープQ K C i t A A、Q R C i t A A、またはR R C i t A A抗体もしくはその抗原結合断片の静脈内投与を介して提供され、抗体用量の残りが、静脈内注射によって投与されて

50

もよい。抗シトルリン化共有エピトープ Q K C i t A A 抗体もしくはその抗原結合断片の所定の量が、例えば、1 時間から 2 時間、5 時間までの時間にわたって投与されてもよい。

【0085】

さらなる実施形態では、用量の一部が、皮下注射及び／またはボーラスの形態の注入による、静脈内投与によって投与され、残りが、抗体製剤の注入によって投与される。いくつかの例示的な用量では、抗体製剤は、約 0.001～約 200 mg/kg の範囲の、例えば、約 0.001～約 100 mg/kg、または約 0.001～約 50 mg/kg、または約 0.001～約 10 mg/kg の用量の抗シトルリン化共有エピトープ Q K C i t A A 抗体もしくはその抗原結合断片で、静脈内または皮下投与され得る。いくつかの実施形態では、用量は、ボーラスとして提供されてもよく、抗体用量の残りは、皮下または静脈内注射によって投与されてもよい。抗シトルリン化共有エピトープ Q K C i t A A、Q R C i t A A、または R R C i t A A 抗体もしくはその抗原結合断片の所定の量が、例えば、1 時間から 2 時間、5 時間までの時間にわたって投与されてもよい。

10

【0086】

本明細書に提供される例示的な製剤は、治療されている特定の適応症に対して必要に応じて 2 つ以上の活性薬剤、好ましくは、互いに悪影響を及ぼさない相補的活性を有する活性薬剤を含有してもよい。例えば、他の特異性を有する抗体を提供することが望ましい場合もある。あるいは、またはこれに加えて、本組成物は、抗炎症剤、化学療法剤、細胞傷害性剤、サイトカイン、増殖阻害剤、及び／または小分子酵素阻害剤、または受容体調節剤を含んでもよい。かかる分子は、好適には、意図される目的のために有効な量で組み合わせで存在する。

20

【0087】

インビボ投与に使用される製剤は、無菌であるべきか、またはほぼ無菌であるべきである。これは、滅菌濾過膜を通す濾過によって容易に達成される。

【0088】

様々な実施形態では、本明細書に記載される薬学的組成物の例示的な製剤は、製剤処方の分野において広く知られた方法を用いて、調製することができる。一般的に、そのような調製方法は、活性成分を 1 つ以上の担体または 1 つ以上の他の補助成分と関連付け、その後、望ましい場合、製品を所望の単回もしくは多回投与単位に梱包するステップを含む。

30

【0089】

いくつかの実施形態では、薬学的組成物はまた、小胞中、特に、1 つ以上のリボソーム表面部分、例えば、ポリエチレングリコール、抗体及びその抗体断片を含有するリボソーム中で送達することができ、リボソームは、特異的細胞または臓器中に選択的に輸送され、したがって、標的化薬物送達を向上させる。

【0090】

選択された媒体中の活性成分（複数可）の最適な濃度は、当業者に周知の手順に従って、経験的に決定することができ、望ましい最終的な製剤処方及び使用される用途に応じるであろう。

40

【0091】

本開示はまた、最小でも、本明細書に記載されるような抗シトルリン化共有エピトープ Q K C i t A A、Q R C i t A A、または R R C i t A A 抗体もしくはその抗原結合断片を含むであろう、本開示の薬学的組成物の成分のうちの 1 つ以上で充填された 1 つ以上の容器を含む医薬パックまたはキットも提供する。他の実施形態では、キットは、薬学的に許容される賦形剤、例えば、希釈剤を提供する、1 つ以上のさらなる容器を含有してもよい。一実施形態では、キットは、少なくとも 1 つの容器を含むことができ、この容器は、本開示の抗シトルリン化共有エピトープ Q K C i t A A、Q R C i t A A、または R R C i t A A 抗体もしくはその抗原結合断片、あるいは本明細書に開示される薬学的組成物及び／または抗炎症薬、及び／または細胞毒を含む免疫複合体、及び／または化学療法薬及

50

び／もしくは放射性同位元素を含むことができる。キットはまた、シトルリンーH L RーD R 4 媒介疾患または障害の治療のための、最終薬学的組成物を調製して、それを必要とする対象に投与するための説明書のセットも含み得る。

【0092】

様々な実施形態では、本明細書に記載される活性薬剤の適切な用量は、例えば治療に影響を及ぼすか、または治療に影響を及ぼすと予測されることが当該技術分野において既知であるか、またはその疑いがあるパラメータまたは因子を用いて、臨床医によって作成される。いくつかの実施形態では、堅実な医療行為により、初回量が、最適用量よりも幾分少ない量で開始し、その後、これが、所望または最適な効果がいかなる負の副作用と比べても達成されるまで、少しずつ増加されるであろう。重要な診断的尺度には、例えば、炎症のこれらの症状もしくは産生された炎症性サイトカインのレベル、自己抗体の力価、組織損傷、またはシトルリンーH L RーD R 4 媒介疾患過程、例えば関節リウマチにおける推定される活性もしくは段階が挙げられる。いくつかの実施形態では、本発明の薬学的組成物中の活性成分の実際の投薬量レベルは、患者に対して毒性であることなく、特定の対象、組成物、及び投与様式に関して所望の治療的応答を達成するのに有効な活性成分の量を得るように、変化され得る。本開示の抗シトルリン化共有エピトープQ K C i t A A、Q R C i t A A、またはR R C i t A A抗体もしくはその抗原結合断片は、1つ以上の投与様式によって、例えば、静脈内注射、連続注入によって、または、例えば、1日、数日、1週間の投与の間隔で、または1週間当たり1～7回の投与により、対象に、例えばヒト対象に投与され得る。投与は、非経口に、例えば、静脈内、または皮下で提供され得る。

10

20

【0093】

実例としてのみ、かつ適切な用量及び投与頻度を決定するための様々な因子を考慮に入れると、投与を必要とする患者に施される、抗シトルリン化共有エピトープQ K C i t A A、Q R C i t A A、またはR R C i t A A抗体もしくはその抗原結合断片を含む例示的な用量は、約0.01～約100mg/kg体重、より好ましくは、約0.02～約50、より好ましくは、約0.02～約10、より好ましくは、約0.02～約7、約0.03～約5、または約0.05～約3mg/kg体重（投与される）の単回用量で、1日当たり1回以上、及び／または1週間当たり1回以上、例えば、治療の必要に応じて、1週から4週の間、または1週から8週の間、または1週から12週の間、または1週から14週の間、または1ヶ月から数年の範囲の期間を含み得る。いくつかの実施形態では、例示的な投与計画は、有意な望ましくない副作用を回避する最大用量または投与頻度の投与を含み得る。いくつかの実施形態では、毎日の総用量または毎週の総用量は、少なくとも0.05µg/kg体重、少なくとも0.2µg/kg、少なくとも0.5µg/kg、少なくとも1µg/kg、少なくとも10µg/kg、少なくとも100µg/kg、少なくとも0.2mg/kg、少なくとも0.5mg/kg、少なくとも1.0mg/kg、少なくとも2.0mg/kg、少なくとも10mg/kg、少なくとも15mg/kg、少なくとも20mg/kg、少なくとも25mg/kg、または少なくとも50mg/kg、または少なくとも100mg/kgであってもよい。

30

【0094】

別の例では、投与を必要とする患者に施される、本開示の抗シトルリン化共有エピトープQ K C i t A A、Q R C i t A A、またはR R C i t A A抗体もしくはその抗原結合断片を含む例示的な用量（治療有効用量、または治療用量であり得る）は、1日当たり投与される患者の体重の約0.001mg/kg～約200mg/kgであり、これは、単回用量で、例えば、単位用量で投与されるか、または1日当たり2回以上の分割用量で投与されてもよい。投与を必要とする対象への投与量は、0.001mg/kg～200mg/kg、0.001mg/kg～100mg/kg、0.001mg/kg～50mg/kg、0.001mg/kg～25mg/kg、0.001mg/kg～10mg/kg、0.001mg/kg～5mg/kg、0.001mg/kg～1mg/kg、0.001mg/kg～0.5mg/kg、及びこれらの間の任意の投与量であってもよい。非

40

50

限定的な例として、本開示による治療は、単回用量または24、12、8、6、4、もしくは2時間毎の分割用量で、またはこれらの任意の組み合わせを用いて、治療の開始後、1、2、3、4、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、または40日目のうちの少なくとも1日に、あるいは治療開始後1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、または20週目のうちの少なくとも1週に、またはこれらの任意の組み合わせにおいて、1日当たり0.1~100mg/kgの量で、例えば、0.5、0.9、1.0、1.1、1.5、2、3、4、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、40、45、50、60、70、80、90または100mg/kgの量で、抗体もしくはその抗原結合断片の毎日投与量として提供されてもよい。

10

【0095】

病態の重症度、及び本明細書で論じられる様々な因子に応じて、治療の用量、頻度及び持続時間は、当業者に既知の適切な医療標準を考慮して、それに応じて調整することができる。ある特定の例示的な実施形態では、本開示の抗シトルリン化共有エピトープQKC i t A A、QRC i t A A、またはRRC i t A A抗体もしくはその抗原結合断片は、少なくとも約0.1mg~約800mg、約1~約500mg、約5~約300mg、または約10~約200mg、約100mgまで、または約50mgまでを初回量として投与することができる。第1の用量は初回負荷量であってもよく、これは、その後、複数の維持投与量に続く。ある特定の例示的な実施形態では、初回量は、初回量のものとはほぼ同じであるかまたは少なくすることができる抗体もしくはその抗原結合断片の第2または複数の後続用量に続くことができ、後続用量は、少なくとも1日~3日、少なくとも1週、少なくとも2週、少なくとも3週、少なくとも4週、少なくとも5週、少なくとも6週、少なくとも7週、少なくとも8週、少なくとも9週、少なくとも10週、少なくとも12週、または少なくとも14週まで離れているか、または本開示の抗シトルリン化共有エピトープQKC i t A A、QRC i t A A、またはRRC i t A A抗体もしくはその抗原結合断片の用量は、繰り返されてもよく、この投与は、少なくとも1日、2日、3日、5日、10日、15日、30日、45日、2ヶ月、75日、3ヶ月、または少なくとも6ヶ月まで離れてもよい。

20

30

【0096】

本開示の組成物の投与経路は、例えば、局所もしくは皮膚塗布、静脈内、腹腔内、皮下、脳内、筋肉内、眼球内、動脈内、皮内、脳髄液内、病巣内、表皮下、関節内、被膜下、くも膜下、脊髄内、硬膜外及び胸骨内注射ならびに注入による注射もしくは注入、または持続放出系もしくは移植片によるものであってもよい。注射可能な調製物は、静脈内、皮下、皮内、及び筋肉内注射、点滴などのための投与形態を含み得る。多数の再利用可能なペン及びオートインジェクタ送達得デバイスは、本発明の薬学的組成物の皮下送達における適用例を有する。本抗シトルリン化共有エピトープQKC i t A A抗体もしくはその抗原結合断片の投与において本明細書で企図される例示的なペンベースの送達方法としての例には、AUTOPEN（商標）（Owen Mumford, Inc., Woodstock, UK）、DIS-ETRONIC（商標）ペン（Disetronic Medical Systems, Burghdorf, Switzerland）、HUMALOG MIX 75/25（商標）ペン、HUMA-LOG（商標）ペン、HUMALIN 70/30（商標）ペン（Eli Lilly and Co., Indianapolis, Ind.）、NOVOPEN（商標）I、II及びIII（Novo Nordisk, Copenhagen, Denmark）、VOVOPEN JUNIOR（商標）（Novo Nordisk, Copenhagen, Denmark）、BD（商標）ペン（Becton Dickinson, Franklin Lakes, N. J.）、OPTIPEN（商標）、OPTIPEN PRO（商標）、OPTIPE

40

50

N STARLET（商標）、及びOPTICLIK（商標）（Sanofi-Aventis, Frankfurt, Germany）が挙げられるが、これらに必ずしも限定されるものではない。本開示の薬学的組成物の皮下送達における適用例を有するペンベースのデバイスの例示の実施例には、SOLOSTAR（商標）ペン（Sanofi-Aventis）、FLEXPEN（商標）（Novo Nordisk）、及びKWIKPEN（商標）（Eli Lilly）が挙げられる。

【0097】

様々な実施形態では、本発明による、抗シトルリン化共有エピトープQKCitAA、QRCitAA、またはRRCitAA抗体もしくはその抗原結合断片は、例えば、対象が、その全体が参照により本明細書に組み込まれる、2010 ACR/EULAR RA分類基準の点から見て、関節リウマチを有すると見なされるとき、堅実な医療行為に従う1つ以上の関節炎判定基準を呈する患者に投与され得る。いくつかの実施形態では、表1に本明細書で示した関節リウマチについての2010アメリカリウマチ学会／欧州リウマチ学会のリウマチ分類基準に従って、診断未確定関節炎、もしくは診断未確定滑膜炎を提示するか、または決定的なRAを有すると判定される対象は、本発明による抗シトルリン化共有エピトープQKCitAA、QRCitAA、またはRRCitAA抗体もしくはその抗原結合断片で治療され得る。様々な実施形態では、本発明による抗シトルリン化共有エピトープQKCitAA、QRCitAA、またはRRCitAA抗体もしくはその抗原結合断片の投与による治療は、いつでも開始することができ、症状が解消するまで継続されるか、または症状の寛解により示される所定の期間もしくは不特定の期間にわたって継続される。

10

20

【表 1】

表 1. 関節リウマチについての 2010 アメリカリウマチ学会／欧州リウマチ学会のリウマチ分類基準

	点数	
対象集団（誰が試験されるべきか？）：		
1) 少なくとも 1 つの関節が明らかな臨床的滑膜炎（腫脹関節）を有し*		
2) 別の疾患ではよく説明できない滑膜炎を有する†、患者		
RA についての分類基準（点数ベースのアルゴリズム：カテゴリー A～D の		10
点数を合計し、明らかな RA を有する患者の分類には、6 / 10 点以上の点		
数が必要‡		
A. 罹患関節 §		
大関節が 1 ケ所 ¶	0	
大関節が 2 ～ 10 ケ所	1	
小関節が 1 ～ 3 ケ所（大関節の障害の有無にかかわらず） #	2	
小関節が 4 ～ 10 ケ所（大関節の障害の有無にかかわらず）	3	
11 ケ所以上（1 つの小関節を含む） **	5	
B. 血清学（少なくとも 1 つの試験結果が分類に必要） † †		20
RF が陰性かつ ACPA が陰性	0	
RF が弱陽性か、または ACPA が弱陽性	2	
RF が強陽性か、または ACPA が強陽性	3	
C. 急性相反応物質（少なくとも 1 つの試験結果が分類に必要） † †		
CRP が正常かつ ESR が正常	0	
CRP が異常か、または ESR が異常	1	
D. 症状の持続期間 § §		
6 週未満	0	
6 週以上	1	

30

* この基準は、この基準は関節炎を新たに発症した患者の分類を目的としている。関節リウマチ（RA）に伴う典型的な骨びらんを有し、かつて 2010 基準を満たしたことがあれば関節リウマチと分類する。罹病期間が長い患者（治療の有無を問わず疾患活動性が消失している患者を含む）で、以前のデータで 2010 基準を満たしたことがあれば RA と分類する。

† 鑑別診断は患者の症状により多岐にわたるが、全身性エリテマトーデス、乾癬性関節炎、痛風などを含む。鑑別診断が困難な場合は、リウマチ専門医に意見を求めるべきである。

‡ 合計点が 5 / 10 点以下の場合は RA と分類できないが、将来的に分類可能となる場合もあるため、再評価してもよい。

40

§ 罹患関節とは、検査時に腫脹または圧痛が認められる関節を指し、滑膜炎の画像診断による証拠によって認められてもよい。遠位指節間関節、第 1 手根中手関節、及び第 1 中足趾節関節は評価対象から除外する。関節の分布に関する区分は、罹患関節の部位と数により分類し、罹患関節パターンに基づき、とりうる最高位の区分に分類する。

¶ 「大関節」とは、肩関節、肘関節、股関節、膝関節、足関節を指す。

「小関節」とは、中手指節関節、近位指節間関節、第 2 ～ 5 中足趾節関節、母指指節間関節、手関節を指す。

** このカテゴリーでは、少なくとも 1 ケ所以上の罹患関節が小関節である必要があるものの、他の関節には、大関節とさらなる小関節の組み合わせ、ならびに他に特記していないその他の関節（例えば、顎関節、肩鎖関節、胸鎖関節など）を含めることができる。

50

++陰性とは、該当する臨床検査及びアッセイについてIU値が正常上限値(ULN)以下である場合を指し、弱陽性とは、該当する臨床検査及びアッセイについてIU値がULNを超えるが、ULNの3倍以下である場合を指し、強陽性とは、該当する臨床検査及びアッセイについてIU値がULNの3倍を超える場合を指す。リウマチ因子(RF)について陽性または陰性の情報のみが得られている場合、陽性結果はRFについて弱陽性とし、陰性結果はスコア化する。ACPA=抗シトルリン化タンパク質抗体。

※※正常/異常は、各施設の臨床検査基準により判断する。CRP=C反応性タンパク質、ESR=赤血球沈降速度。

§§症状の持続期間とは、評価時点で臨床的に罹患が確認される関節について、患者が自己申告する滑膜炎の徴候または症状(例えば、疼痛、腫脹、圧痛)の持続期間を指す(治療の有無は問わない)。

【0098】

本発明による抗シトルリン化共有エピトープQKC i t A A、QRC i t A A、またはRRC i t A A抗体もしくはその抗原結合断片は、診断で、または研究ツールとして使用することができる。例えば、本発明による1つ以上の抗体は、シトルリン化HLA-DR4共有エピトープ(サイトカイン産生の上調調節(例えば、TNF- α 、IL-6及びIL-17)、T細胞増殖及び他の炎症誘発性細胞の動員を含むT細胞媒介免疫活性の促進における原因物質)を有する抗原提示細胞の存在を試験するための診断用キットに陽性対照として含まれてもよい。

【0099】

インビトロで使用される場合の抗体またはその特異的結合断片についての好適な濃度は、10 ng/mL~100 μ g/mLとすることができる。低バックグラウンドで(良好な信号対雑音比で)好適なシグナルを生成する適切な濃度は、当業者によって見出され得る。抗体の希釈に好適な媒体もまた当該技術分野において既知であり、例えば、任意にBSAを補充したリン酸緩衝生理食塩水とすることができる。

【0100】

本発明の1つのさらなる態様は、本発明による抗体を含む診断用キットである。このようなキットは、好ましくは、ELISAプレート、フローサイトメトリー、または抗体分析用の他のプラットフォーム、加えて標識化抗ヒト抗体などの抗体検出用試薬及び好適な緩衝液を含む。したがって、本発明による抗体は、インビトロ診断用に使用することができる。いくつかの実施形態では、対象は、患者の白血球の表面上に存在するシトルリン化エピトープQKC i t A A、QRC i t A A、またはRRC i t A Aの存在について最初にスクリーニングされ得る。この診断試験は、本発明による抗シトルリン化共有エピトープQKC i t A A、QRC i t A A、またはRRC i t A A抗体もしくはその抗原結合断片を用いて実行することができる。いくつかの実施形態では、抗シトルリン化共有エピトープQKC i t A A、QRC i t A A、またはRRC i t A A抗体もしくはその抗原結合断片は、検出部分、例えば、蛍光タンパク質または試薬(例えば、フルオレセイン、またはGFP)、放射性標識、化学発光標識などで標識される。患者の白血球、例えば、抗原提示細胞(例えば、B細胞)の表面上のシトルリン化共有エピトープQKC i t A A、QRC i t A A、またはRRC i t A Aの存在は、本明細書に定義される自己免疫疾患を有する対象が、抗シトルリン化共有エピトープQKC i t A A、QRC i t A A、またはRRC i t A A抗体もしくはその抗原結合断片を用いて治療可能であり得ることを示す。

【0101】

いくつかの実施形態では、RAを有することが確認され得ないが、治療の好適な候補であり得る対象は、シトルリン化共有エピトープQKC i t A A、QRC i t A A、またはRRC i t A Aを保有しているかどうかを決定するために、1つ以上の診断試験を実行しておくことができる。いくつかの実施形態では、診断試験は、末梢血B細胞上のシトルリン化共有エピトープの存在を検出するために使用されるであろう。いくつかのアッセイ、例えば、1)抗C i t S E m A bを用いるフローサイトメトリー、2)サンドイッチ内の補捉抗体として同じm A b(例えば、IF9モノクローナル抗QKC i t A A S E

10

20

30

40

50

H L A - D R 4 抗体、及び非シトルリン化天然エピトープを認識する第 2 の抗 D R 4 m A b) を用いる細胞溶解物の E L I S A、及び 3) 試験される対象に由来する B 細胞溶解物からの免疫沈降 H L A - D R 4 の質量分析法を使用することができる。免疫沈降は、任意の抗 H L A - D R 4 m A b (例えば、抗 D R 4 m A b (L 2 4 3)) を使用することができる。免疫沈降された物質は、次いで、トリプシン消化を受け、得られたペプチドは、L C - 質量分析または M S を用いて解明かつ特定することができ、これは、シトルリン化エピトープペプチドが、エピトープ Q K R A A、Q R R A A、または R R R A A 中のアルギニン残基のうちの 1 つがシトルリン化されていない場合、より大きいことが予期される質量を有するためである。いくつかの実施形態では、診断アッセイは、抗シトルリン化共有エピトープ Q K C i t A A、Q R C i t A A、または R R C i t A A 抗体もしくはその抗原結合断片を含む薬学的組成物を用いる治療から恩恵を被ることができる対象を特定するために使用することができる。本診断アッセイにおいて、R A 患者におけるリウマチ滑膜の分子イメージングは、単一光子放射断層 (S P E C T) イメージングでは ^{99m}Tc で標識された、または光学イメージングでは、近赤外染料 (N I R) で標識された、本発明の抗シトルリン化共有エピトープ Q K C i t A A、Q R C i t A A、または R R C i t A A 抗体もしくはその抗原結合断片を用いて実行され得る。

【実施例】

【0102】

実施例 1. シトルリン化 E Q K C i t A A ペプチドハプテンに対するモノクローナル抗体の産生

マウスの免疫化

アミノ酸配列 C - アミノヘキサン酸 - E Q K C i t A A を有するペプチドを、C a y m a n C h e m i c a l の科学者が設計し、その合成を L e f e T e i n, L L C に委託した。N 末端システイン (C) を、担体タンパク質への化学結合を可能にするために組み込んだ。アミノヘキサン酸は、担体タンパク質と所望のハプテンとの間に物理的空間を提供するリンカーである。D R B 1 * 0 4 0 1 からの合計で 6 つのアミノ酸、アミノ酸 6 9 ~ 7 4 (E Q K R A A) が、通常 7 2 位で見られるアルギニン (R) が、アミノ酸シトルリン (C i t) によって置き換えられた状態で、ハプテンとして含まれた。市販のキット (I m j e c t M a l e i m i d e A c t i v a t e d C a r r i e r P r o t e i n S p i n K i t, T h e r m o S c i e n t i f i c) を用いて、このペプチドをキーホールリンペットヘモシアニン (K L H) 担体タンパク質に連結させて、「免疫原」を生成した。

【0103】

免疫原を、リン酸緩衝生理食塩水 (P B S) 中で $200 \mu g / m l$ の濃度に希釈した。0 日目に、 $1 m l$ の免疫原を $1 m l$ の完全フロイントアジュバント (C F A) と混合して、乳化させた。3 匹の B A L B / c 雌マウスをそれぞれ、 $50 \mu g$ の免疫原 : C F A エマルジョンにより腹腔内 (I P) で免疫化した。14 日目及び 34 日目に、 $1 m l$ の免疫原を $1 m l$ の不完全フロイントアジュバント (I F A) と混合して、乳化させた。3 匹の B A L B / c 雌マウスのそれぞれに、 $50 \mu g$ の免疫原 : I F A エマルジョンを I P で再度注射 (追加免疫) した。65 日目に、 $50 \mu g$ の免疫原を、アジュバントなしに尾静脈に注射した。68 日目に、1 匹のマウスを犠死させて、ハイブリドーマ産生のために脾臓を採取した。

【0104】

モノクローナル抗体の産生

無菌単一細胞懸濁液を、R P M I - 1 6 4 0 基本培地中でマウス脾臓細胞から作製した。脾臓中の赤血球を、T R I S 緩衝塩化アンモニウムによる処理によって溶解させた。残りの白血球を、R P M I - 1 6 4 0 中で洗浄し、R P M I - 1 6 4 0 中に再懸濁させて、P 3 x 6 3 A g 8. 6 5 3 骨髓腫細胞と、5 : 1 の脾臓細胞 / 骨髓腫比で合わせた。細胞をペレット状にして、液体を吸引し、細胞ペレットを 50 % のポリエチレングリコールで処理して、細胞融合及びハイブリドーマ形成を誘導した。融合細胞を 96 ウェルの組織培

養プレートに播種し、H A T 培地中で増殖させて、ハイブリドーマを選択した。選択から 10 日後に、上清を、免疫原のペプチド部分に結合することが可能なモノクローナル抗体の存在について試験した。このスクリーニングは、プレート結合したハプテンペプチド (C-アミノヘキサ酸-E Q K C i t A A) に対する E L I S A によって行った。同様に、選択性を決定するためのカウンタースクリーニングを、シトルリンの代わりにアルギニンを含むペプチド結合対照ペプチド (C-アミノヘキサ酸-E Q K R A A) に対する E L I S A によって行った。1つのモノクローナル抗体、1 F 9 は、シトルリン含有ペプチドに結合するが、アルギニン含有ペプチドには結合しないことが判明した。このモノクローナル抗体を、プレート結合したヒトアルファエノラーゼ、シトルリン化ヒトアルファエノラーゼ、ヒストン H 3 (完全長タンパク質)、シトルリン化ヒストン H 3 (完全長タンパク質)、ヒストン H 3 テールペプチド (アミノ酸 1 ~ 21)、及びシトルリン化ヒストン H 3 テールペプチド (R 2、R 8、及び R 17 においてシトルリン化) への結合について、E L I S A でさらに特性化した。1 F 9 抗体は、シトルリン化ハプテンペプチド (C-アミノヘキサ酸-E Q K C i t A A) だけに結合した。これは、シトルリン化されているか、もしくはシトルリン化されていない、試験したいかなる他のペプチドまたはタンパク質にも結合しなかった。これは、1 F 9 モノクローナル抗体が、共有エピトープ配列のシトルリン化型に特異的であることを示している。1 F 9 モノクローナル抗体の特異的な結合が、共有エピトープ配列のシトルリン化型に特異的であるとの発見をサポートするために、様々な抗原を 96 ウェルプレートに置き、様々な濃度の 1 F 9 モノクローナル抗体を用いてスクリーニングした。プレートをコートするために使用された抗原は、M H C クラス I I ペプチド (E Q K R A A)、シトルリン化 M H C クラス I I ペプチド (E Q K C i t A A)、エノラーゼ、シトルリン化エノラーゼ、H 3 タンパク質及びシトルリン化 H 3 タンパク質を含んだ。図 2 A 及び 2 B に示すように、1 F 9 モノクローナル抗体は、シトルリン化ペプチドに特異的に結合する。ペプチド (例えば、H 3 (1-21) ペプチド及びシトルリン化 H 3 ペプチド (1-21) (2、8、及び 17 位での C i t アルギニン) を用いて、1 F 9 モノクローナル抗体の特異性を試験した場合でも、シトルリン化 M H C クラス I I ペプチドだけが、1 F 9 モノクローナル抗体に特異的に結合した。

【0105】

実施例 2. インビトロで組換え P A D 4 を用いた H L A - D R 4 トランスジェニックマウスからの B 細胞上での D R B 1 * 0 4 0 1 タンパク質のシトルリン化

内因性マウス M H C クラス I I 発現の不在下でヒト H L A - D R B 1 * 0 4 0 1 遺伝子を発現するマウスを、T a c o n i c、モデル # 4 1 4 9 - F または 4 1 4 9 - M から得る。これらのマウスの脾臓からの B 細胞は、共有エピトープアミノ酸配列 Q K R A A を含む D R B 1 * 0 4 0 1 ベータ鎖を含む、H L A - D R 4 ヘテロ二量体タンパク質をそれらの表面上で発現する。これらのマウスのうちの 1 匹からの脾臓を無菌条件下で採取し、その開示が、その全体において参照により本明細書に組み込まれる、C u r r e n t P r o t o c o l s i n I m m u n o l o g y , U n i t 3 . 1 , “ I s o l a t i o n o f M o u s e M o n o n u c l e a r C e l l s ” に記載されるように、単一細胞懸濁液を生成する。脾臓細胞を、1 m M の C a C l ₂ を補充した T R I S 緩衝生理食塩溶液中に、1 × 10⁷ 細胞 / m l で懸濁される。

【0106】

脾臓細胞の 0.5 m L のアリコート、組換えヒト P A D 4 (C a y m a n C h e m i c a l、カタログ番号 # 10500、A n n A r b o r , M I U S A) で、1 m L 当たり 0、0.05、0.2、1 及び 5 µ g で、30 分間、37 °C で処理する。細胞を 150 × g で 5 分間遠心分離して、上清を廃棄し、細胞ペレットを 0.2 m l の F A C S 緩衝液 (0.1 % のウシ血清アルブミン及び 0.01 % のアジ化ナトリウムで補充したハンクス平衡塩類溶液) 中に再懸濁させる。

【0107】

この細胞懸濁液に、2 µ L の F I T C 複合化抗 B 2 2 0 M A b (B i o L e g e n d カタログ # 103205) 及び 2 マイクログラムの A P C 複合化 1 F 9 m A b を添加

する。抗B200は全てのB細胞を染色し、1F9 mAbは、シトルリン化共有エピトープを発現するB細胞のみを染色する。細胞を氷上で30分間インキュベートし、150×gで遠心分離し、ペレットをFACS緩衝液中に再懸濁される。細胞は、フローサイトメトリーによって分析される。PAD4の処理は、1F9抗体によってその後認識されるDRB1*0401鎖の共有エピトープ領域のシトルリン化をもたらす。

【0108】

実施例3. HLA-DR4トランスジェニックマウスからのB細胞上でのDRB1*0401タンパク質のシトルリン化がT細胞増殖及びサイトカイン産生を誘導する

組換えヒトPAD4 (Cayman Chemical、カタログ番号#10500、Ann Arbor, MI USA) をヤギ抗マウスIgG/IgM/IgA抗体 (ThermoFisher カatalog番号A-10666) に、SolulinkからのS-HyNic/4FBコンジュゲーション技術 (Solulink Inc., カatalog番号S-1002、San Diego, CA USA) を用いて、製造業者の使用説明書に従って、1:1のモル比で、化学的に結合させる。本質的に、組換えヒトPAD4は、S-HyNicリンカー (スクシンイミジル-6-ヒドラジノーニコチンアミド) に複合化され、ヤギ抗マウスIgG/IgM/IgA抗体に結合された4FB (4-ホルミルベンズアミド) リンカーを介してヤギ抗マウスIgG/IgM/IgA抗体に複合化される。HyNic修飾組換えヒトPAD4を、TurboLink (商標) 触媒コンジュゲーション反応において、製造業者のプロトコールに従って (Solulink Inc., カatalog番号S-2006-105、San Diego, CA USA)、4FB修飾ヤギ抗マウスIgG/IgM/IgA抗体と共にインキュベートする。

【0109】

その結果、354nmにおいて測定可能な吸光度を有する、UVトレース可能な安定な結合 (ビス-アリアルヒドラゾン) を介して複合化された組換えヒトPAD4/ヤギ抗マウスIgG/IgM/IgA抗体複合体となる。この「PAD4/抗マウスIg複合体」を、完全培地中1mg/mLの濃度に希釈し、滅菌濾過して、4℃で保存する。

【0110】

内因性マウスMHCクラスII発現の不在下でヒトHLA-DRB1*0401遺伝子を発現するマウスを、Taconicから得る (Abbノックアウト/トランスジェニックHLA-DR4、カタログ番号4149-Fまたは4149-M、Taconic Biosciences Rensselaer, NY USA)。これらのマウスの脾臓からのB細胞は、共有エピトープ配列QKRAAを含有するDRB1*0401ベータ鎖を含む、HLA-DR4ヘテロ二量体タンパク質をそれらの表面上で発現する。これらのマウスのうちの1匹からの脾臓を無菌条件下で採取し、その開示が、その全体において参照により本明細書に組み込まれる、Current Protocols in Immunology, Unit 3.1, "Isolation of Mouse Mononuclear Cells"に記載されるように、単一細胞懸濁液を生成する。脾臓細胞を、「完全培地」 (10%のウシ胎児血清、1mMのCaCl₂、及び抗生物質を補充したRPMI-1640) 中に、 2×10^6 / mLの濃度で懸濁させて、氷上で4℃にて30分間冷却する。

【0111】

10mL (合計で 2×10^7 個の細胞) の脾臓細胞懸濁液を、4℃にて150×gで5分間遠心分離し、上清を廃棄して、細胞ペレットを1mLの4℃の完全培地中に再懸濁させる。この1mLの脾臓細胞懸濁液に、100μLの無菌PAD4/抗マウスIg複合体を添加し、氷上で1時間インキュベートする。次いで、細胞を、4℃にて150×gで5分間遠心分離し、上清を廃棄して、細胞ペレットを10mLの4℃の完全培地中に再懸濁させる。細胞を、4℃にて150×gで5分間遠心分離し、上清を廃棄して、細胞ペレットを10mLの4℃の完全培地中に再懸濁させる。この懸濁液中のB細胞上の膜面免疫グロブリン受容体が、ここで抗マウスIg/PAD4複合体によって結合され、未結合複合体を洗い流す。

10

20

30

40

50

【0112】

シトルリン化共有エпитープに結合する1F9モノクローナル抗体を、完全培地中、1 mg/mLで希釈し、滅菌濾過して、使用の準備ができるまで4℃で保持する。

【0113】

滅菌96ウェル丸底マイクロタイタープレートにおいて、脾臓細胞及び抗体を混合し、以下の条件で培養する：

A. PAD4／抗マウスIg複合体で処理されていない100μLの脾臓細胞懸濁液（ 2×10^5 個細胞）を含有する6つのウェルに、100μLの完全培地を加える。

B. PAD4／抗マウスIg複合体で処理されている100μLの脾臓細胞懸濁液（ 2×10^5 個細胞）を含有する6つのウェルに、100μLの完全培地を加える。

C. PAD4／抗マウスIg複合体で処理されていない100μLの脾臓細胞懸濁液（ 2×10^5 個細胞）を含有する6つのウェルに、100μLの1F9モノクローナル抗体希釈物を加える。

D. PAD4／抗マウスIg複合体で処理されている100μLの脾臓細胞懸濁液（ 2×10^5 個細胞）を含有する6つのウェルに、100μLの1F9モノクローナル抗体希釈物を加える。

【0114】

96ウェルを37℃のCO₂インキュベータに移し、72時間置く。培養の72時間後に、それぞれの条件での6つのウェルのうちの3つについての上清を取り出し、TNF-αの産生をELISAによって、製造業者の使用説明書に従って評価する（例えば、TNF-α（マウス）ELISAキット、カタログ番号500850、Cayman Chemical, Ann Arbor, MI USAを参照）。各条件での残りの3つのウェルについては、各ウェルにおけるT細胞増殖の度合いを、その開示が、全体において参照により本明細書に組み込まれる、Current Protocols in Immunology, Unit 7.10.16, Support Protocol 2に記載されるように、³H-チミジンの取込みによって評価する。

【0115】

TNF-αの産生またはT細胞増殖は、条件AまたはCの下では検出されていない。最高レベルのTNF-αの産生及びT細胞増殖が、条件Bの下で検出されている。中間レベルのTNF-α及びT細胞増殖が、条件Dの下で検出されている。

【0116】

実施例4. RA患者から単離したB細胞上でのシトルリン化HLA-DRB1*0401の特定

抗シトルリン化タンパク質抗体陽性（ACPA+）関節リウマチを有するヒト患者及び健常な対照から得られる新たに採取した末梢血を、Dx Biosamples（San Diego CA USA）（または他の有資格供給メーカー）から購入する。各血液試料2mLを、20mLのACK溶解緩衝液（Thermo Fisher カタログ#A1049201）に添加し、10分間室温で放置して赤血球を溶解させる。次いで、試料を150×gで5分間遠心分離し、生白血球を含有する細胞ペレットを、2mLの溶解緩衝液（50mMのトリス、150mMのNaCl、5mMのEDTA、0.5%のNP-40、10mMのヨードアセトアミド、及びタンパク質分解酵素抑制剤（Roche））中に再懸濁させる。溶解物を10,000×gで30分間遠心分離して、不溶性物質を除去する。浄化した溶解物を新しい管に移し、50μLのセファロースビーズと共に、4℃で30分間インキュベート（プレクリアー）する。溶解物を、10,000×gで10分間遠心分離して、セファロースをペレット状にする。プレクリアーした溶解物を、新しい管に移し、100μgのマウス抗ヒトHLA-DR [L243]モノクローナル抗体（Abcam、抗HLA-DR抗体 [L243]、カタログ番号ab136320、Cambridge, MA USA）に共有結合したセファロースビーズ50μLを溶解物に添加し、回転させながら1時間インキュベートする。溶解物及びL243-セファロースを、回転させながら4℃で4時間インキュベートする。管を、卓上小型微量遠心機におい

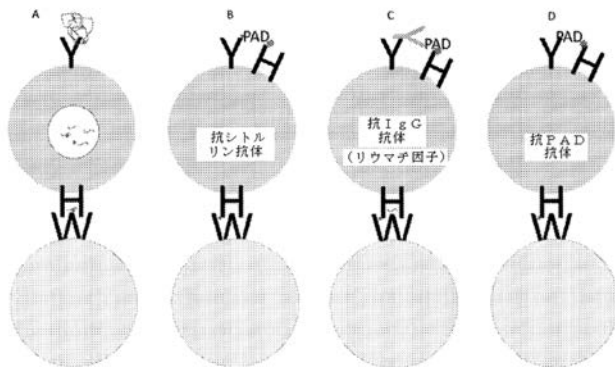
て $1,000\times g$ で10分間遠心分離し、ペレット状のL243-セファローズ複合体から上清を廃棄する。L243-セファローズ複合体を、1mLの溶解緩衝液で洗浄し、続いて、20mMのトリス-HCl、120mMのNaCl、pH8.0を含有する洗浄溶液1mLで洗浄する。0.5mLの0.1Mグリシン-HCl、pH3.0を添加することによって、HLA-DR分子を、L243-セファローズ複合体から溶出させる。溶出したHLA-DR4分子を、トリプシン消化アミノ酸分析のために、MS BioWorks (Ann Arbor MI, USA) に送り、共有エピトープ領域QKRAAのシトルリン化があるかどうかを決定する。

【0117】

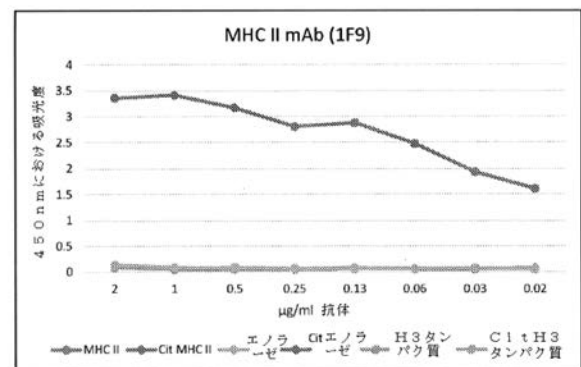
本発明は、その詳細な説明と併せて説明されているが、上記の説明は例示であり、添付の特許請求の範囲によって定義される本発明の範囲を限定するものではないことを理解されたい。他の態様、利点、及び修正は、特許請求の範囲内にある。

10

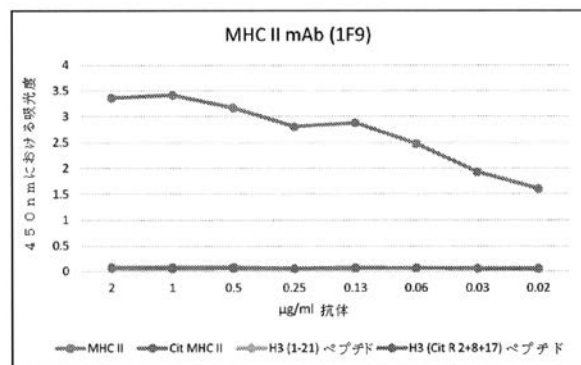
【図1】



【図2】



A



B

【国際調査報告】

INTERNATIONAL SEARCH REPORT		International application No. PCT/US 17/17373
A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER IPC(8) - A61K 38/08, A61K 38/10 (2017.01) CPC - A61K 38/08, A61K 38/10		
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)		
See Search History Document		
Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched		
See Search History Document		
Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)		
See Search History Document		
C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	US 2012/0225820 A1 (HILL et al.) 06 September 2012 (06.09.2012) para [0002]; [0017]; [0035]; [0050]; [0051]; [0088]; [0094]; [0095].	1-14
A	US 2007/0142622 A1 (PEAKMAN et al.) 21 June 2007 (21.06.2007) para [0158].	1-14
A	"Peptide motif analysis predicts alphaviruses as triggers for rheumatoid arthritis" (HOGEBOM) Molecular immunology 68.2 (December 2015): 465-475. entire document.	1-14
☐ Further documents are listed in the continuation of Box C.		
* Special categories of cited documents: "A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance "E" earlier application or patent but published on or after the international filing date "L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified) "O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means "P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed "T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention "X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone "Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art "&" document member of the same patent family		
Date of the actual completion of the international search 23 March 2017		Date of mailing of the international search report 05 MAY 2017
Name and mailing address of the ISA/US Mail Stop PCT, Attn: ISA/US, Commissioner for Patents P.O. Box 1450, Alexandria, Virginia 22313-1450 Facsimile No. 571-273-9300		Authorized officer: Lee W. Young PCT Helpdesk: 571-272-4300 PCT OSP: 571-272-7774

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	19/02	(2006.01)	A 6 1 P	19/02
A 6 1 P	25/00	(2006.01)	A 6 1 P	25/00
A 6 1 P	3/10	(2006.01)	A 6 1 P	3/10
A 6 1 P	17/00	(2006.01)	A 6 1 P	29/00 1 0 1
A 6 1 P	9/10	(2006.01)	A 6 1 P	17/00
A 6 1 P	9/04	(2006.01)	A 6 1 P	9/10
A 6 1 P	17/06	(2006.01)	A 6 1 P	9/04
A 6 1 P	13/12	(2006.01)	A 6 1 P	17/06
A 6 1 P	21/00	(2006.01)	A 6 1 P	13/12
A 6 1 K	45/00	(2006.01)	A 6 1 P	21/00
A 6 1 P	43/00	(2006.01)	A 6 1 K	45/00
A 6 1 P	35/00	(2006.01)	A 6 1 P	43/00 1 2 1
A 6 1 P	5/00	(2006.01)	A 6 1 P	35/00
G 0 1 N	33/53	(2006.01)	A 6 1 P	5/00
C 1 2 N	15/12	(2006.01)	A 6 1 P	43/00 1 1 1
			G 0 1 N	33/53 K
			C 1 2 N	15/12

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

Fターム(参考) 4C084 AA19 MA55 MA58 MA59 MA63 MA65 MA66 MA67 MA70 NA05
 NA14 ZA021 ZA081 ZA361 ZA401 ZA811 ZA891 ZA941 ZA961 ZB071
 ZB111 ZB112 ZB151 ZB262 ZC022 ZC202 ZC351 ZC412 ZC751
 4C085 AA14 BB33 BB34 BB35 BB36 BB37 BB41 BB42 BB43 EE01
 EE03 GG01 GG02 GG03 GG04 GG05 GG06 GG10
 4H045 AA11 AA20 AA30 BA10 CA42 DA76 EA22 EA54 FA74 GA26

专利名称(译)	抗瓜氨酸化的HLA多肽抗体及其用途		
公开(公告)号	JP2019508415A	公开(公告)日	2019-03-28
申请号	JP2018542695	申请日	2017-02-10
[标]申请(专利权)人(译)	开曼化学股份有限公司		
申请(专利权)人(译)	开曼化学公司，		
发明人	ジェームズ・レスリー・モブリー		
IPC分类号	A61K39/395 C07K16/28 C07K16/46 A61P37/02 A61P29/00 A61P19/02 A61P25/00 A61P3/10 A61P17/00 A61P9/10 A61P9/04 A61P17/06 A61P13/12 A61P21/00 A61K45/00 A61P43/00 A61P35/00 A61P5/00 G01N33/53 C12N15/12		
CPC分类号	C07K16/2833 A61K38/08 A61K38/10 A61K45/06 A61P19/02 A61P29/00 C07K16/44 C07K2317/34		
FI分类号	A61K39/395.N C07K16/28.ZNA C07K16/46 A61P37/02 A61P29/00 A61P19/02 A61P25/00 A61P3/10 A61P29/00.101 A61P17/00 A61P9/10 A61P9/04 A61P17/06 A61P13/12 A61P21/00 A61K45/00 A61P43/00.121 A61P35/00 A61P5/00 A61P43/00.111 G01N33/53.K C12N15/12		
F-TERM分类号	4C084/AA19 4C084/MA55 4C084/MA58 4C084/MA59 4C084/MA63 4C084/MA65 4C084/MA66 4C084/MA67 4C084/MA70 4C084/NA05 4C084/NA14 4C084/ZA021 4C084/ZA081 4C084/ZA361 4C084/ZA401 4C084/ZA811 4C084/ZA891 4C084/ZA941 4C084/ZA961 4C084/ZB071 4C084/ZB111 4C084/ZB112 4C084/ZB151 4C084/ZB262 4C084/ZC022 4C084/ZC202 4C084/ZC351 4C084/ZC412 4C084/ZC751 4C085/AA14 4C085/BB33 4C085/BB34 4C085/BB35 4C085/BB36 4C085/BB37 4C085/BB41 4C085/BB42 4C085/BB43 4C085/EE01 4C085/EE03 4C085/GG01 4C085/GG02 4C085/GG03 4C085/GG04 4C085/GG05 4C085/GG06 4C085/GG10 4H045/AA11 4H045/AA20 4H045/AA30 4H045/BA10 4H045/CA42 4H045/DA76 4H045/EA22 4H045/EA54 4H045/FA74 4H045/GA26		
代理人(译)	村山彦 安倍晋三龙彦		
优先权	62/293621 2016-02-10 US		
外部链接	Espacenet		

摘要(译)

本发明涉及用于治疗由受试者中至少一种瓜氨酸化表位介导的QKCitAA，QRCitAA或RRCitAA介导的人类受试者自身免疫疾病的方法，该方法包括治疗有效量的瓜氨酸。与修饰的表位QKCitAA，QRCitAA或RRCitAA特异性结合的抗体或其特异性结合片段的施用。本发明的另一方面包括与人瓜氨酸化表位QKCitAA，QRCitAA或RRCitAA特异性结合的抗体或其特异性结合片段。

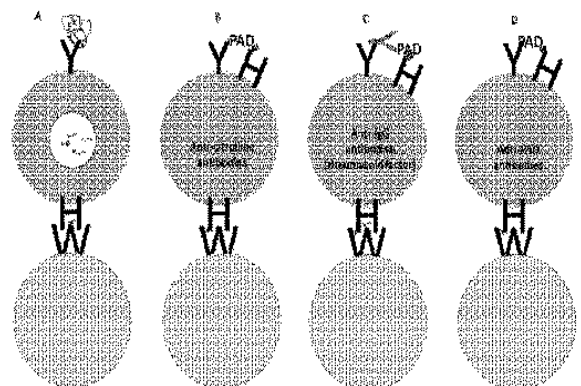


FIG. 1