(19)日本国特許庁(JP)　(12)公開特許公報(A)　(11)特許出願公開番号
特開2016-29027
(P2016-29027A)
(43)公開日　平成28年3月3日(2016.3.3)

(51)Int.Cl.		F I			テーマコード（参考）
C07K 16/44	(2006.01)	C07K	16/44	ZNA	
C12N 15/09	(2006.01)	C12N	15/00	A	
A61K 47/42	(2006.01)	A61K	47/42		
A61K 47/48	(2006.01)	A61K	47/48		
A61K 39/395	(2006.01)	A61K	39/395	N	

審査請求 有　請求項の数 30　ＯＬ　外国語出願　（全 134 頁）　最終頁に続く

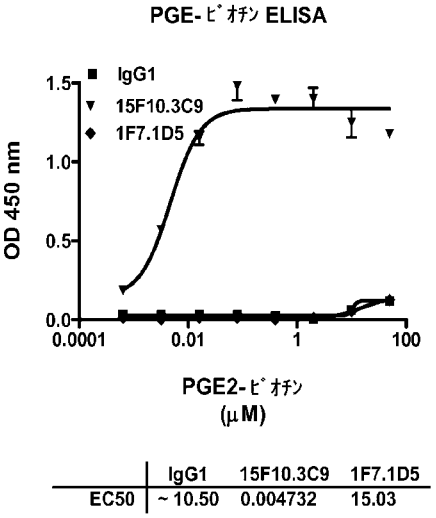
(21)出願番号　特願2015-117773 (P2015-117773)
(22)出願日　平成27年6月10日 (2015.6.10)
(62)分割の表示　特願2011-517571 (P2011-517571)の分割
原出願日　平成21年7月8日 (2009.7.8)
(31)優先権主張番号　61/134,264
(32)優先日　平成20年7月8日 (2008.7.8)
(33)優先権主張国　米国 (US)
(31)優先権主張番号　61/197,258
(32)優先日　平成20年10月23日 (2008.10.23)
(33)優先権主張国　米国 (US)

(71)出願人　512212195
アッヴィ・インコーポレイテッド
アメリカ合衆国、イリノイ・６００６４、ノース・シカゴ、ノース・ワウキガン・ロード・１
(74)代理人　110001173
特許業務法人川口國際特許事務所
(72)発明者　ジージエ・グー
アメリカ合衆国、マサチユーセツツ・０１５４５、シユルーズベリー、ターン・ドライブ・１２
(72)発明者　チヤールズ・ダブリユ・ハツチンス
アメリカ合衆国、イリノイ・６００４８、グリーン・オークス、プレイリー・リツジ・ロード・３１００５

最終頁に続く

(54)【発明の名称】プロスタグランジンＥ２結合タンパク質およびこの使用

(57)【要約】　（修正有）
【課題】プロスタグランジンＥ$_2$（ＰＧＥ$_2$）結合タンパク質、及び、結合タンパク質を含む抗体構築物、医薬組成物の提供。
【解決手段】野生型、キメラ、ＣＤＲ移植された及びヒト化された抗体であり、インビトロ及びインビボにおいて、プロスタグランジンＥ$_2$に対して高親和性を有し、プロスタグランジンＥ$_2$活性を中和、並びに、プロスタグランジンＥ$_2$活性が有害である障害に罹っているヒト対象においてプロスタグランジンＥ$_2$活性を抑制するのに有用である抗体又はその抗原結合断片。
【選択図】図１



	IgG1	15F10.3C9	1F7.1D5
EC50	~10.50	0.004732	15.03

FIGURE 1

【特許請求の範囲】
【請求項１】
抗原結合ドメインを含むＣＤＲ移植された結合タンパク質またはこの断片であって、前記結合タンパク質が$ＰＧＥ_2$に結合することができ、前記抗原結合ドメインがＧＹＴＦＴＫＹＷＬＧ（配列番号５４）、ＤＩＹＰＧＹＤＹＴＨＹＮＥＫＦＫＤ（配列番号５５）、ＳＤＧＳＳＴＹ（配列番号５６）、ＴＳＳＱＮＩＶＨＳＮＧＮＴＹＬＥ（配列番号５７）、ＫＶＳＮＲＦＳＧ（配列番号５８）、ＦＱＶＳＨＶＰＹＴ（配列番号５９）からなる群から選択されるアミノ酸配列を含む少なくとも１つのＣＤＲを含む、結合タンパク質またはこの断片。
【請求項２】
結合タンパク質またはこの断片が、プロスタグランジン$Ｅ_2$の生物学的機能を調節することが可能である、請求項１の結合タンパク質。
【請求項３】
結合タンパク質またはこの断片が、プロスタグランジン$Ｅ_2$を中和することが可能である、請求項１の結合タンパク質。
【請求項４】
結合タンパク質またはこの断片が、プロスタグランジン$Ｅ_2$受容体ＥＰ１へのプロスタグランジン$Ｅ_2$の結合を妨げることが可能である、請求項１の結合タンパク質。
【請求項５】
結合タンパク質またはこの断片が、ＥＰ１、ＥＰ２、ＥＰ３およびＥＰ４からなる群から選択される少なくとも１つのプロスタグランジン$Ｅ_2$受容体へのプロスタグランジン$Ｅ_2$の結合を妨げることが可能である、請求項１の結合タンパク質。
【請求項６】
結合タンパク質またはこの断片が、ＥＬＩＳＡアッセイを使用して、約１×１０^{-6}から約１×１０^{-7}Ｍ、約１×１０^{-7}から約１×１０^{-8}Ｍ、約１×１０^{-8}から約１×１０^{-9}Ｍ、約１×１０^{-9}から約１×１０^{-10}Ｍ、約１×１０^{-10}から約１×１０^{-11}Ｍおよび約１０^{-11}から約１０^{-12}Ｍからなる群から選択される$ＥＣ_{50}$でプロスタグランジン$Ｅ_2$に結合する、請求項１の結合タンパク質。
【請求項７】
結合タンパク質またはこの断片が、ＥＰ４受容体媒介ＦＬＩＰＲアッセイにおいて、約１×１０^{-6}から約１×１０^{-7}Ｍ、約１×１０^{-7}から約１×１０^{-8}Ｍ、約１×１０^{-8}から約１×１０^{-9}Ｍ、約１×１０^{-9}から約１×１０^{-10}Ｍ、約１×１０^{-10}から約１×１０^{-11}Ｍおよび約１０^{-11}から約１０^{-12}からなる群から選択される$ＩＣ_{50}$で、プロスタグランジン$Ｅ_2$受容体ＥＰ４に対して、プロスタグランジン$Ｅ_2$により誘導されるカルシウム流入を抑制する、請求項１の結合タンパク質。
【請求項８】
結合タンパク質またはこの断片が親和性成熟されている、請求項１の結合タンパク質。
【請求項９】
結合タンパク質が$プロスタグランジンＥ_2$に結合することができ、抗原結合ドメインが、配列番号６、７、８、１０、１１、１２、１４、１５、１６、１８、１９、２０、２２、２３、２６、２７、２８、３０、３１、３２、３４、３５、３７、３８、３９、５４、５５、５６、５７、５８および５９からなる群から選択されるアミノ酸配列を含む少なくとも１つのＣＤＲを含む、抗原結合ドメインを含む結合タンパク質またはこの断片。
【請求項１０】
結合タンパク質が$プロスタグランジンＥ_2$に結合することができ、抗原結合ドメインが、配列番号５、１３、２１、２５、３３、４０、４２および４４からなる群から選択されるアミノ酸配列を含む少なくとも１つのＶＨ領域を含む、抗原結合ドメインを含む結合タンパク質またはこの断片。
【請求項１１】
結合タンパク質が$プロスタグランジンＥ_2$に結合することができ、抗原結合ドメインが

、配列番号９、１７、２４、２９、３６、４１、４３および４５からなる群から選択されるアミノ酸配列を含む少なくとも１つのＶＬ領域を含む、抗原結合ドメインを含む結合タンパク質またはこの断片。
【請求項１２】
結合タンパク質がプロスタグランジンＥ$_2$に結合することができ、抗原結合ドメインが、配列番号５４－５９からなる群から選択されるアミノ酸配列を含む少なくとも１つのＣＤＲ領域を含む、抗原結合ドメインを含むヒト化結合タンパク質またはこの断片。
【請求項１３】
少なくとも３つのＣＤＲを含む、請求項９の結合タンパク質。
【請求項１４】
少なくとも３つのＣＤＲが、配列番号６、７および８；配列番号１４、１５および１６；配列番号１４、２２および２３；配列番号２６、２７および２８；配列番号２６、３４および３５；ならびに配列番号５４、５５および５６からなる群から選択されるＶＨ　ＣＤＲセットから選択される、請求項１３の結合タンパク質。
【請求項１５】
少なくとも３つのＣＤＲが、配列番号１０、１１および１２；配列番号１８、１９および２０；配列番号３０、３１および３２；配列番号３７、３８および３９；配列番号５７、５８、５９からなる群から選択されるＶＬ　ＣＤＲセットから選択される、請求項１３の結合タンパク質。
【請求項１６】
少なくとも３つのＣＤＲが、配列番号５４、５５および５６のアミノ酸配列のＶＨ　ＣＤＲセットならびに／または配列番号５７、５８および５９のアミノ酸配列のＶＬ　ＣＤＲセットを含む、請求項１３の結合タンパク質。
【請求項１７】
結合タンパク質が少なくとも２つの可変ドメインＣＤＲセットを含む、請求項９の結合タンパク質。
【請求項１８】
少なくとも２つの可変ドメインＣＤＲセットが、配列番号６、７、８および配列番号１０、１１、１２；配列番号１４、１５、１６および配列番号１８、１９、２０；配列番号１４、２２、２３および配列番号１０、１１、１２；配列番号２６、２７、２８および配列番号３０、３１、３２；配列番号２６、３４、３５および配列番号３７、３８、３９；ならびに配列番号５４、５５、５６および配列番号５７、５８、５９からなる群から選択される、請求項１７の結合タンパク質。
【請求項１９】
プロスタグランジンＥ$_2$に結合するヒト化抗体またはこの断片であって、ヒト化抗体が、配列番号６０、６２、６４、６６、６８、７０、７２、７４、７６、７８および８０からなる群から選択されるアミノ酸配列を含む少なくとも１つのＶＨ領域を含む、ヒト化抗体またはこの断片。
【請求項２０】
プロスタグランジンＥ$_2$に結合するヒト化抗体またはこの断片であって、ヒト化抗体が、配列番号６１、６３、６５、６７、６９、７１、７３、７５、７７、７９および８１からなる群から選択されるアミノ酸配列を含む少なくとも１つのＶＬ領域を含む、ヒト化抗体またはこの断片。
【請求項２１】
ヒトアクセプターフレームワークをさらに含む、請求項１に記載の結合タンパク質。
【請求項２２】
前記ヒトアクセプターフレームワークが、配列番号４６、４７、４８、４９、５０、５１、５２および５３からなる群から選択される少なくとも１つのアミノ酸配列を含む、請求項２１に記載の結合タンパク質。
【請求項２３】

ヒトアクセプターフレームワークが、重鎖可変領域の位置４８のＭ（ヒト）からＩ（マウス）、位置６８のＶ（ヒト）からＡ（マウス）、位置７０のＭ（ヒト）からＬ（マウス）、および位置７２のＴ（ヒト）からＶ（マウス）、ならびに軽鎖可変領域の位置２のＩ（ヒト）からＶ（マウス）および位置３のＶ（ヒト）からＬ（マウス）からなる群から選択される少なくとも１つのフレームワーク領域アミノ酸置換を含む、請求項２１または２２のヒト化抗体。

【請求項２４】

少なくとも１つのＶＨ領域または少なくとも１つのＶＬ領域が、少なくとも１つのアミノ酸置換を含むヒトアクセプターフレームワーク配列を含み、前記フレームワーク配列のアミノ酸配列がヒトアクセプターフレームワーク配列の配列に少なくとも６５％同一である、請求項１９または２０のヒト化抗体。

【請求項２５】

ヒトアクセプターフレームワークが、キーとなる残基に少なくとも１つのフレームワークアミノ酸置換を含み、前記キーとなる残基が、ＣＤＲに隣接する残基、グリコシル化部位残基、希少残基、プロスタグランジンE_2と相互作用をすることが可能である残基、ＣＤＲと相互作用をすることが可能である残基、カノニカル残基、重鎖可変領域と軽鎖可変領域との間の接触残基、バーニアゾーン内の残基、およびＣｈｏｔｈｉａ定義可変重鎖ＣＤＲ１とＫａｂａｔ定義第一重鎖フレームワークとの間で重複している領域の残基からなる群から選択される、請求項２３のヒト化抗体。

【請求項２６】

２つの可変ドメインを含み、前記２つの可変ドメインが、配列番号５および配列番号９；配列番号１３および配列番号１７；配列番号２１および配列番号２４；配列番号２５および配列番号２９；配列番号３３および配列番号３６；配列番号４０および配列番号４１；配列番号４２および配列番号４３；ならびに配列番号４４および配列番号４５からなる群から選択されるアミノ酸配列を有する、請求項１の結合タンパク質。

【請求項２７】

２つの可変ドメインを含み、前記２つの可変ドメインが、配列番号６０および配列番号６１；配列番号６２および配列番号６３；配列番号６４および配列番号６５；配列番号６６および配列番号６７；配列番号６８および配列番号６９；配列番号７０および配列番号７１；配列番号７２および配列番号７３；配列番号７４および配列番号７５；配列番号７６および配列番号７７；配列番号７８および配列番号７９；ならびに配列番号８００および配列番号８１からなる群から選択されるアミノ酸配列を有する、請求項１の結合タンパク質。

【請求項２８】

請求項１の結合タンパク質を含み、リンカーポリペプチドまたは免疫グロブリン定常ドメインをさらに含む、抗体構築物。

【請求項２９】

免疫グロブリン分子、ジスルフィド連結Ｆｖ、モノクローナル抗体、ｓｃＦｖ、キメラ抗体、単一ドメイン抗体、ＣＤＲ移植された抗体、ダイアボディ、ヒト化抗体、多特異的抗体、Ｆａｂ、二重特異的抗体、Ｆａｂ’、二特異的抗体、Ｆ（ａｂ’）２およびＦｖからなる群から選択される、請求項１の結合タンパク質。

【請求項３０】

結合タンパク質が、免疫グロブリン分子、ジスルフィド連結Ｆｖ、モノクローナル抗体、ｓｃＦｖ、キメラ抗体、単一ドメイン抗体、ＣＤＲ移植された抗体、ダイアボディ、ヒト化抗体、多特異的抗体、Ｆａｂ、二重特異的抗体、Ｆａｂ’、二特異的抗体、Ｆ（ａｂ’）２およびＦｖからなる群から選択される、請求項２８の抗体構築物。

【請求項３１】

結合タンパク質が、ヒトＩｇＭ定常ドメイン、ヒトＩｇＧ４定常ドメイン、ヒトＩｇＧ１定常ドメイン、ヒトＩｇＥ定常ドメイン、ヒトＩｇＧ２定常ドメイン、およびヒトＩｇＧ３定常ドメイン、およびヒトＩｇＡ定常ドメインからなる群から選択される重鎖免疫グ

ロブリン定常ドメインを含む、請求項２８の抗体構築物。
【請求項３２】
配列番号１－４からなる群から選択されるアミノ酸配列を有する免疫グロブリン定常ドメインを含む、請求項２８の抗体構築物。
【請求項３３】
結合タンパク質がヒトグリコシル化パターンを有する、請求項２８の抗体構築物。
【請求項３４】
結晶化抗体構築物である、請求項２８の抗体構築物。
【請求項３５】
前記結晶化抗体構築物が無担体医薬徐放結晶化抗体構築物である、請求項３３の抗体構築物。
【請求項３６】
請求項３４に記載の抗体構築物であって、インビボにおいて、前記抗体構築物の可溶性対応物よりも長い半減期を有する、抗体構築物。
【請求項３７】
生物学的活性を保持している、請求項３４の抗体構築物。
【請求項３８】
請求項２８の抗体構築物を含み、免疫接着分子、造影剤、治療剤および細胞毒性剤からなる群から選択される因子をさらに含む、抗体連結体。
【請求項３９】
作用物質が、放射性標識、酵素、蛍光標識、発光標識、生物発光標識、磁気標識およびビオチンからなる群から選択される造影剤である、請求項３７の抗体連結体。
【請求項４０】
造影剤が、^{3}Ｈ、^{14}Ｃ、^{35}Ｓ、^{90}Ｙ、^{99}Ｔｃ、^{111}Ｉｎ、^{125}Ｉ、^{131}Ｉ、^{177}Ｌｕ、^{166}Ｈｏおよび^{153}Ｓｍからなる群から選択される放射性標識である、請求項３７の抗体連結体。
【請求項４１】
作用物質が、代謝抑制剤、アルキル化剤、抗生物質、増殖因子、サイトカイン、抗血管新生剤、抗有糸分裂剤、アントラサイクリン、トキシンおよびアポトーシス剤からなる群から選択される治療剤または細胞毒性剤である、請求項３７の抗体連結体。
【請求項４２】
結合タンパク質が結晶化された結合タンパク質である、請求項１の結合タンパク質。
【請求項４３】
結晶化結合タンパク質が無担体医薬徐放結晶化抗体である、請求項４１の結合タンパク質。
【請求項４４】
請求項１の結合タンパク質をコードする単離された核酸。
【請求項４５】
請求項２８の抗体構築物をコードする単離された核酸。
【請求項４６】
請求項４３または４４に記載の単離された核酸を含むベクター。
【請求項４７】
ベクターが、ｐｃＤＮＡ、ｐＴＴ、ｐＴＴ３、ｐＥＦＢＯＳ、ｐＢＶ、ｐＪＶ、ｐＢＪおよびｐＡ２からなる群から選択される、請求項４５のベクター。
【請求項４８】
請求項４５のベクターを含む宿主細胞。
【請求項４９】
宿主細胞が原核細胞である、請求項４７の宿主細胞。
【請求項５０】
宿主細胞がＥ．コリ（Ｅ．ｃｏｌｉ）である、請求項４８の宿主細胞。

【請求項５１】
宿主細胞が真核細胞である、請求項４７の宿主細胞。
【請求項５２】
真核細胞が、原生生物細胞、動物細胞、植物細胞および真菌細胞からなる群から選択される、請求項５０の宿主細胞。
【請求項５３】
真核細胞が、哺乳動物細胞、鳥類細胞および昆虫細胞からなる群から選択される動物細胞である、請求項５０の宿主細胞。
【請求項５４】
宿主細胞がＣＨＯ細胞である、請求項５０の宿主細胞。
【請求項５５】
宿主細胞がＣＯＳまたはＨＥＫ２９３である、請求項５０の宿主細胞。
【請求項５６】
宿主細胞が酵母細胞である、請求項５０の宿主細胞。
【請求項５７】
酵母細胞がサッカロミセス・セレビシアエ（Ｓａｃｃｈａｒｏｍｙｃｅｓ　ｃｅｒｅｖｉｓｉａｅ）である、請求項５５の宿主細胞。
【請求項５８】
宿主細胞が昆虫Ｓｆ９細胞である、請求項４７の宿主細胞。
【請求項５９】
プロスタグランジン$Ｅ_2$に結合することが可能である結合タンパク質を産生するのに十分な条件下で、請求項４７に記載の宿主細胞を培地中で培養する工程を含む、プロスタグランジン$Ｅ_2$に結合することが可能であるタンパク質を作製する方法。
【請求項６０】
請求項５８の方法に従って生産されたタンパク質。
【請求項６１】
（ａ）請求項４１に記載の結晶化された結合タンパク質を含む製剤、
（ｂ）成分、および
（ｃ）少なくとも１つのポリマー担体
を含む、結合タンパク質の放出のための組成物。
【請求項６２】
ポリマー担体が、ポリ（アクリル酸）、ポリ（シアノアクリル酸）、ポリ（アミノ酸）、ポリ（無水物）、ポリ（デプシペプチド）、ポリ（エステル）、ポリ（乳酸）、ポリ（乳酸コグリコール酸）またはＰＬＧＡ、ポリ（ｂ－ヒドロキシ酪酸）、ポリ（カプロラクトン）、ポリ（ジオキサノン）、ポリ（エチレングリコール）、ポリ（（ヒドロキシプロピル）メタクリルアミド）、ポリ［（オルガノ）ホスファゼン］、ポリ（オルトエステル）、ポリ（ビニルアルコール）、ポリ（ビニルピロリドン）、無水マレイン酸－アルキルビニルエーテルコポリマー、プルロニックポリオール、アルブミン、アルギン酸、セルロースおよびセルロース誘導体、コラーゲン、フィブリン、ゼラチン、ヒアルロン酸、オリゴ糖、グリカミノグリカン、硫酸多糖類、ならびにそれらの混合物および／またはコポリマーからなる群から選択されるポリマーである、請求項６０の組成物。
【請求項６３】
成分が、アルブミン、ショ糖、トレハロース、ラクチトール、ゼラチン、ヒドロキシプロピル－β－シクロデキストリン、メトキシポリエチレングリコールおよびポリエチレングリコールからなる群から選択される、請求項６０の組成物。
【請求項６４】
有効量の請求項６０の組成物を哺乳動物に投与する工程を含む、プロスタグランジン$Ｅ_2$活性が有害である障害を有する哺乳動物を治療するための方法。
【請求項６５】
請求項１の結合タンパク質および医薬として許容される担体を含む医薬組成物。

【請求項６６】
医薬として許容される担体が、結合タンパク質の吸収または分散を増加させるのに有用なアジュバンドとして機能する、請求項６５の医薬組成物。
【請求項６７】
アジュバンドがヒアルロニダーゼである、請求項６４の医薬組成物。
【請求項６８】
プロスタグランジンE_2活性が有害である障害を治療するための少なくとも１つの追加の治療剤をさらに含む、請求項６４の医薬組成物。
【請求項６９】
追加の治療剤が、治療剤、造影剤、細胞毒性剤、血管新生阻害剤、キナーゼ阻害剤、共刺激分子遮断剤、接着分子遮断剤、抗サイトカイン抗体またはその機能的断片、メトトレキサート；シクロスポリン；ラパマイシン；ＦＫ５０６、検出可能な標識またはレポーター、ＴＮＦアンタゴニスト、抗リウマチ薬、筋肉弛緩剤、麻酔薬、非ステロイド系抗炎症薬（ＮＳＡＩＤ）、鎮痛剤、麻酔、鎮静剤、局所麻酔、神経筋肉遮断剤、抗微生物剤、抗乾癬剤、コルチコステロイド、アナボリックステロイド、エリスロポエチン、免疫化、イムノグロブリン、免疫抑制剤、成長ホルモン、ホルモン置換薬、放射性医薬、抗うつ剤、抗精神病薬、刺激物質、喘息薬、βアゴニスト、吸入用ステロイド、経口ステロイド、エピネフリンまたはこの類似体、サイトカインおよびサイトカインアンタゴニストからなる群から選択される、請求項６７の医薬組成物。
【請求項７０】
プロスタグランジンE_2活性が減少するように、プロスタグランジンE_2を請求項１の結合タンパク質に接触させる工程を含む、プロスタグランジンE_2活性を減少させるための方法。
【請求項７１】
ヒト対象におけるプロスタグランジンE_2活性が減少するように、ヒト対象に請求項１の結合タンパク質を投与する工程を含む、プロスタグランジンE_2活性が有害である障害に罹っているヒト対象においてプロスタグランジンE_2活性を減少させるための方法。
【請求項７２】
治療が達成されるように、対象に請求項１の結合タンパク質を投与する工程を含む、プロスタグランジンE_2活性が有害である少なくとも１つの疾患または障害について対象を治療するための方法。
【請求項７３】
障害が、自己免疫障害、炎症性障害、腫瘍、関節リウマチ、アレルギー性関節炎、ギランバレー症候群、感染性単核球症、ウイルス性リンパ節症、ヘルペスウイルスによる感染症、多発性硬化症、脱髄疾患、血液障害、溶血性貧血、血小板減少症、内分泌学的障害、糖尿病、アジソン病、特発性副甲状腺機能低下症、慢性リンパ性甲状腺炎、コラーゲン障害、全身性エリテマトーデス、生殖障害、無月経、不妊症、反復流産、子癇、頭頸部腫瘍、肺癌、胃癌、前立腺癌、膵癌、胃腸器官疾患、炎症性腸疾患、潰瘍性大腸炎、クローン病、疼痛、変形性関節炎に関連する疼痛、視覚障害および加齢性黄斑変性症からなる群から選択される、請求項７１の方法。
【請求項７４】
疾患が、関節リウマチ、骨関節炎、若年性慢性関節炎、化膿性関節炎、ライム関節炎、乾癬性関節炎、反応性関節炎、脊椎関節症、全身性紅斑性狼瘡、クローン病、潰瘍性大腸炎、炎症性腸疾患、インシュリン依存性糖尿病、甲状腺炎、喘息、アレルギー性疾患、乾癬、皮膚炎、強皮症、移植片対宿主病、臓器移植拒絶、臓器移植に関連する急性または慢性免疫疾患、サルコイドーシス、アテローム性動脈硬化症、播種性血管内凝固、川崎病、バセドウ病、ネフローゼ症候群、慢性疲労症候群、ウェゲナー肉芽腫症、ヘノッホ・シェーライン紫斑症、腎臓の顕微鏡的血管炎、慢性活動性肝炎、ブドウ膜炎、敗血症性ショック、毒素性ショック症候群、敗血症症候群、悪液質、感染性疾患、寄生性疾患、後天性免疫不全症候群、急性横断性脊髄炎、ハンチントン舞踏病、パーキンソン病、アルツハイマ

ー病、発作、原発性胆汁性肝硬変、溶血性貧血、悪性腫瘍、心不全、心筋梗塞、アジソン病、孤発性の、多内分泌腺機能低下症候群Ｉ型および多内分泌腺機能低下症候群ＩＩ型、シュミット症候群、成人（急性）呼吸促迫症候群、脱毛症、円形脱毛症、血清反応陰性関節炎、関節炎、ライター病、乾癬性関節炎、潰瘍性大腸性関節炎、腸疾患性滑膜炎、クラミジア、エルシニアおよびサルモネラ関連関節炎、脊椎関節症、アテローム性疾患／アテローム性動脈硬化症、アトピー性アレルギー、自己免疫性水疱性疾患、尋常性天疱瘡、落葉状天疱瘡、類天疱瘡、線状ＩｇＡ病、自己免疫性溶血性貧血、クームス陽性溶血性貧血、後天性悪性貧血、若年性悪性貧血、筋痛性脳脊髄炎／ロイヤルフリー病、慢性粘膜皮膚カンジダ症、巨細胞性動脈炎、原発性硬化性肝炎、突発性自己免疫性肝炎、後天性免疫不全症候群、後天性免疫不全関連疾患、Ｂ型肝炎、Ｃ型肝炎、分類不能型免疫不全症（分類不能型原発性低γグロブリン血症）、拡張型心筋症、女性不妊症、卵巣機能不全、早期卵巣機能不全、繊維性肺疾患、突発性間質性肺炎、炎症後間質性肺疾患、間質性肺炎、結合組織疾患関連間質性肺疾患、混合性結合組織疾患関連肺疾患、全身性硬化症関連間質性肺疾患、関節リウマチ関連間質性肺疾患、全身性紅斑性狼瘡関連肺疾患、皮膚筋炎／多発性筋炎関連肺疾患、シェーグレン病関連肺疾患、強直性脊椎炎関連肺疾患、血管炎性びまん性肺疾患（ｖａｓｃｕｌｉｔｉｃ ｄｉｆｆｕｓｅ ｌｕｎｇ ｄｉｓｅａｓｅ）、ヘモシデローシス関連肺疾患、薬物によって誘導された間質性肺疾患、繊維症、放射性繊維症、閉塞性細気管支炎、慢性好酸球性肺炎、リンパ球浸潤性肺疾患、感染後間質性肺疾患、通風関節炎、自己免疫性肝炎、１型自己免疫性肝炎（古典的自己免疫性またはルポイド肝炎）、２型自己免疫性肝炎（抗ＬＫＭ抗体肝炎）、自己免疫媒介性低血糖症、黒色表皮腫を伴うＢ型インシュリン抵抗性、副甲状腺機能低下症、臓器移植に関連する急性免疫疾患、臓器移植に関連する慢性免疫疾患、変形性関節症、原発性硬化性胆管炎、１型乾癬、２型乾癬、特発性白血球減少症、自己免疫性好中球減少症、腎臓病ＮＯＳ、糸球体腎炎、腎臓の顕微鏡的血管炎、ライム病、円板状紅斑性狼瘡、男性不妊症特発性またはＮＯＳ、精子自己免疫、多発性硬化症（すべてのサブタイプ）、交感性眼炎、結合組織疾患に続発する肺高血圧症、グッドパスチャー症候群、結節性多発動脈炎の肺症状、急性リウマチ熱、リウマチ性脊椎炎、スチル病、全身性硬化症、シェーグレン症候群、高安病／動脈炎、自己免疫性血小板減少症、特発性血小板減少症、自己免疫性甲状腺疾患、甲状腺機能亢進症、甲状腺腫自己免疫性甲状腺機能低下症（橋本病）、萎縮性自己免疫性甲状腺機能低下症、原発性粘液水腫（ｐｒｉｍａｒｙ ｍｙｘｏｅｄｅｍａ）、水晶体起因性ブドウ膜炎、原発性血管炎、白斑急性肝疾患、慢性肝疾患、アルコール性肝硬変、アルコール誘発性肝障害、胆汁うっ滞（ｃｈｏｌｅｏｓａｔａｔｉｓ）、特異体質性肝疾患、薬物誘発性肝炎、非アルコール性脂肪性肝炎、アレルギーおよび喘息、Ｂ群連鎖球菌（ＧＢＳ）感染、精神障害（例えば、うつ病および統合失調症）、Ｔｈ２型およびＴｈ１型によって媒介される疾病、急性および慢性疼痛（疼痛の様々な形態）、ならびに、肺癌、乳癌、胃癌、膀胱癌、大腸癌、膵臓癌、卵巣癌、前立腺癌および腎臓癌および造血性悪性病変（白血病およびリンパ腫）などの癌、無βリポタンパク質血症、先端チアノーゼ、急性および慢性寄生性または感染性プロセス、急性白血病、急性リンパ芽球性白血病（ＡＬＬ）、急性骨髄性白血病（ＡＭＬ）、急性または慢性細菌感染、急性膵炎、急性腎不全、腺癌、心房（ａｅｒｉａｌ）異所性拍動、ＡＩＤＳ認知症複合、アルコール誘発性肝炎、アレルギー性結膜炎、アレルギー性接触性皮膚炎、アレルギー性鼻炎、同種移植拒絶、α－１－アンチトリプシン欠乏症、筋萎縮性側索硬化症、貧血、狭心症、前角細胞変性、抗ｃｄ３治療、抗リン脂質症候群、抗受容体過敏症反応（ａｎｔｉ－ｒｅｃｅｐｔｏｒ ｈｙｐｅｒｓｅｎｓｉｔｉｖｉｔｙ ｒｅａｃｔｉｏｎｓ）、大動脈（ａｏｒｄｉｃ）および動脈瘤、大動脈解離、動脈性高血圧、動脈硬化症、動静脈瘻、運動失調、心房細動（持続的または発作性）、心房粗動、房室ブロック、Ｂ細胞リンパ腫、骨移植拒絶、骨髄移植（ＢＭＴ）拒絶、脚ブロック、バーキットリンパ腫、火傷、心不整脈、心機能不全症候群（ｃａｒｄｉａｃ ｓｔｕｎ ｓｙｎｄｒｏｍｅ）、心臓腫瘍、心筋症、心肺バイパス炎症反応、軟骨移植拒絶、小脳皮質変性、小脳疾患、無秩序なまたは多巣性心房頻脈、化学療法関連疾患、慢性骨髄性白血病（ＣＭＬ）、慢性アルコール症、慢性炎症性病変、慢性リンパ性白血病（

ＣＬＬ）、慢性閉塞性肺疾患（ＣＯＰＤ）、慢性サリチル酸中毒、結腸直腸癌、うっ血性心不全、結膜炎、接触性皮膚炎、肺性心、冠動脈疾患、クロイツフェルトーヤコブ病、培養陰性敗血症、嚢胞性繊維症、サイトカイン療法関連疾患、ボクサー脳、脱髄性疾患、デング出血熱、皮膚炎、皮膚科学的症状、糖尿病、真性糖尿病、糖尿病性動脈硬化疾患、瀰漫性レビー小体病、拡張型うっ血性心筋症、大脳基底核の疾患、中年のダウン症候群、中枢神経ドーパミン受容体を遮断する薬物によって誘発された薬物誘発性運動疾患、薬物感受性、湿疹、脳脊髄炎、心内膜炎、内分泌疾患、喉頭蓋炎、エプスタインーバーウイルス感染、紅痛症、垂体外路および小脳疾患、家族性血球貪食性リンパ組織球症（ｆａｍｉｌｉａｌ ｈｅｍａｔｏｐｈａｇｏｃｙｔｉｃ ｌｙｍｐｈｏｈｉｓｔｉｏｃｙｔｏｓｉｓ）、致死的胸腺移植組織拒絶、フリードライヒ失調症、機能的末梢動脈疾患、真菌性敗血症、ガス壊疽、胃潰瘍、糸球体腎炎、いずれかの臓器または組織の移植片拒絶、グラム陰性敗血症、グラム陽性敗血症、細胞内生物に起因する肉芽腫、有毛細胞白血病、ハラーホルデン・スパッツ病、橋本甲状腺炎、枯草熱、心臓移植拒絶、血色素症、血液透析、溶血性尿毒症症候群／血栓溶解血小板減少紫斑病、出血、肝炎（Ａ型）、ヒス束不整脈、ＨＩＶ感染／ＨＩＶ神経障害、ホジキン病、運動過剰疾患、過敏症反応、過敏性肺炎、高血圧、運動低下疾患、視床下部－下垂体－副腎皮質系評価、特発性アジソン病、特発性肺繊維症、抗体媒介性細胞毒性、無力症、乳児脊髄性筋萎縮症、大動脈の炎症、Ａ型インフルエンザ、電離放射線曝露、虹彩毛様体炎／ブドウ膜炎／視神経炎、虚血再灌流障害、虚血性発作、若年性関節リウマチ、若年性脊髄性筋萎縮症、カポジ肉腫、腎移植拒絶、レジオネラ、リーシュマニア症、ハンセン病、皮質脊髄系の病変、脂肪血症（ｌｉｐｅｄｅｍａ）、肝臓移植拒絶、リンパ浮腫（ｌｙｍｐｈｅｄｅｒｍａ）、マラリア、悪性リンパ腫、悪性組織球増殖症、悪性黒色腫、髄膜炎、髄膜炎菌血症（ｍｅｎｉｎｇｏｃｏｃｃｅｍｉａ）、代謝性／特発性、偏頭痛、ミトコンドリア多系疾患（ｍｉｔｏｃｈｏｎｄｒｉａｌ ｍｕｌｔｉ．ｓｙｓｔｅｍ ｄｉｓｏｒｄｅｒ）、混合性結合組織病、モノクローナル高ガンマグロブリン血症、多発性骨髄腫、多系統変性（メンセル・デジェリーヌートーマス・シャイードレーガーおよびマシャドージョセフ）、重症筋無力症、マイコバクテリウム・アビウム・イントラセルラーレ、マイコバクテリウム・チュバキュロシス、骨髄形成異常、心筋梗塞、真菌虚血疾患、上咽頭癌、新生児慢性肺疾患、腎炎、ネフローゼ、神経変性疾患、神経原性Ｉ筋萎縮、好中球減少性発熱、非ホジキンリンパ腫、腹部大動脈およびその分枝の閉塞、閉塞性動脈疾患、ｏｋｔ３療法、精巣炎／精巣上体炎、精巣炎／精管復元術処置、臓器肥大、骨粗鬆症、膵臓移植拒絶、膵癌、腫瘍随伴性症候群／悪性腫瘍の高カルシウム血症、副甲状腺移植拒絶、骨盤内炎症性疾患、通年性鼻炎、心膜疾患、末梢アテローム硬化性疾患、末梢血管疾患、腹膜炎、悪性貧血、ニューモシスチス・カリニ肺炎、肺炎、ＰＯＥＭＳ症候群（多発神経炎、臓器肥大、内分泌疾患、単クローン性γグロブリン血症および皮膚変化症候群（ｓｋｉｎ ｃｈａｎｇｅｓ ｓｙｎｄｒｏｍｅ））、灌流後症候群（ｐｏｓｔ ｐｅｒｆｕｓｉｏｎ ｓｙｎｄｒｏｍｅ）、ポンプ後症候群（ｐｏｓｔ ｐｕｍｐ ｓｙｎｄｒｏｍｅ）、心筋梗塞後開心術症候群、子癇前症、進行性核上性麻痺、原発性肺高血圧、放射線療法、レイノー現象および病、レイノー病、レフサム病、規則的なＱＲＳ幅の狭い頻脈症（ｒｅｇｕｌａｒ ｎａｒｒｏｗ ＱＲＳ ｔａｃｈｙｃａｒｄｉａ）、腎血管性高血圧、再灌流障害、拘束型心筋症、肉腫、強皮症、老年性舞踏病、レビー小体型の老年性認知症、血清反応陰性関節炎、ショック、鎌形赤血球貧血症、皮膚同種異系移植拒絶、皮膚変化症候群、小腸移植拒絶、固形腫瘍、固有不整脈（ｓｐｅｃｉｆｉｃ ａｒｒｙｔｈｍｉａｓ）、脊髄性運動失調、脊髄小脳変性、連鎖球菌性筋炎、小脳の構造的病変、亜急性硬化性全脳炎、湿疹、心血管系の梅毒、全身性アナフィラキシー、全身性炎症反応症候群、全身性発症若年性関節リウマチ、Ｔ細胞またはＦＡＢＡＬＬ、毛細血管拡張症、閉塞性血栓血管炎、血小板減少症、毒性、移植、外傷／出血、ＩＩＩ型過敏症反応、ＩＶ型過敏症、不安定狭心症、尿毒症、尿路性敗血症、じんましん、心臓弁膜症、静脈瘤、血管炎、静脈疾患、静脈血栓症、心室細動、ウイルスおよび真菌感染、ウイルス性脳炎（ｖｉｔａｌ ｅｎｃｅｐｈａｌｉｔｉｓ）／無菌性髄膜炎、ウイルス関連血球貪食症候群、ウェルニッケーコルサコフ症候群、ウィルソン病、いずれかの

臓器または組織の異種移植拒絶、急性冠症候群、急性特発性多発性神経炎、急性炎症性脱髄性多発神経根神経障害、急性虚血、成人スチル病、円形脱毛症、アナフィラキシー、抗リン脂質抗体症候群、再生不良性貧血、動脈硬化症、アトピー性湿疹、アトピー性皮膚炎、自己免疫性皮膚炎、連鎖球菌感染に伴う自己免疫障害、自己免疫性腸疾患、自己免疫性難聴、自己免疫性リンパ増殖症候群（ＡＬＰＳ）、自己免疫性心筋炎、自己免疫性早期卵巣機能不全、眼瞼炎、気管支拡張症、水疱性類天疱瘡、循環器疾患、劇症型抗リン脂質抗体症候群、セリアック病、頸椎症、慢性虚血、瘢痕性類天疱瘡、多発性硬化症のリスクを伴う臨床的孤立性症候群（ＣＩＳ）、結膜炎、若年発症精神障害、慢性閉塞性肺疾患（ＣＯＰＤ）、涙嚢炎、皮膚筋炎、糖尿病性網膜症、糖尿病、椎間板ヘルニア、椎間板脱出症、薬物誘発性免疫性溶血性貧血、心内膜炎、子宮内膜症、眼内炎、上強膜炎、多形性紅斑、多形滲出性紅斑、妊娠性類天疱瘡、ギランバレー症候群（ＧＢＳ）、枯草熱、ヒューズ症候群、特発性パーキンソン病、特発性間質性肺炎、ＩｇＥ媒介アレルギー、免疫性溶血性貧血、封入体筋炎、感染性眼炎症性疾患、炎症性脱髄疾患、炎症性心疾患、炎症性腎疾患、間質性肺線維症／通常型間質性肺炎、紅彩炎、角膜炎、乾性角結膜炎（Ｋｅｒａｔｏｊｕｎｔｉｖｉｔｉｓ　ｓｉｃｃａ）、クスマウル病またはクスマウルマイヤー病、ランドリー麻痺、ランゲルハンス細胞組織球症、網状皮斑、黄斑変性症、顕微鏡的多発血管炎、ベヒテレフ病、運動ニューロン障害、粘膜類天疱瘡、多臓器不全、重症筋無力症、骨髄異形成症候群、心筋炎、神経根障害、神経障害、非Ａ非Ｂ型肝炎、視神経炎、骨溶解症、小関節型若年性関節リウマチ、末梢動脈閉塞性疾患（ＰＡＯＤ）、末梢血管疾患（ＰＶＤ）、末梢動脈疾患（ＰＡＤ）、静脈炎、結節性多発動脈炎（または結節性動脈周囲症）、多発性軟骨炎、リウマチ性多発筋痛症、白毛症、多関節型若年性関節リウマチ、多内分泌欠乏症候群、多発性筋炎、リウマチ性多発筋痛症（ＰＭＲ）、ポンプ後症候群、一次性パーキンソン症候群、前立腺炎、赤芽球癆、原発性副腎機能不全、再発性視神経脊髄炎、再狭窄、リウマチ性心疾患、ＳＡＰＨＯ（滑膜炎、ざ瘡、膿疱症、骨増殖症および骨炎）、強皮症、続発性アミロイドーシス、ショック肺、強膜炎、坐骨神経痛、続発性副腎機能不全、シリコン関連結合組織病、スネッドンウィルキンソン皮膚症、強直性脊椎炎、スティーブンスジョンソン症候群（ＳＪＳ）、全身性炎症反応症候群、側頭動脈炎、トキソプラスマ性網膜炎、中毒性表皮壊死症、横断性脊椎炎、ＴＲＡＰＳ（腫瘍壊死因子受容体）、１型アレルギー反応、ＩＩ型糖尿病、蕁麻疹、通常型間質性肺炎（ＵＩＰ）、血管炎、春季カタル、ウイルス性網膜炎、フォークト小柳原田症候群（ＶＫＨ症候群）、滲出型黄斑変性ならびに創傷治癒からなる群から選択される、請求項７１の方法。

【請求項７５】

請求項１の結合タンパク質を、第二の因子の投与前に、同時に、または後に投与する工程を含み、前記第二の因子が、メトトレキサート、レフルノミド、低用量のコルチコステロイド、プレドニゾン、コルチゾン、抗マラリア薬剤、ヒドロキシクロロキン、金、スルファサラジン、ペニシラミン、シクロホスファミド、シクロスポリン、ミノサイクリン、アセトアミノフェン、アスピリン、イブプロフェン、ナプロキセン、セレコキシブ、インフリキシマブ、エタネルセプト、アダリムマブ、アバタセプト、リツキシマブ、アナキンラ、生物学的因子ならびにＩＬ－６、ＩＬ－６Ｒ、ＩＬ－１７、ＩＬ－１８、ＩＬ－２３およびＢ７．１／Ｂ７．２を標的する経口デリバリー薬剤からなる群から選択される関節リウマチまたは若年性関節リウマチ薬；アセトアミノフェン、アスピリン、イブプロフェン、ナプロキセン、セレコキシブ、ステロイド、人工滑液、シンヴィクスおよびヒアルガンからなる群から選択される変形性関節炎薬；アダリムマブ、アザサン（ａｚａｓａｎ）、アサコール、アザチオプリン、アザルフィジン、ブデソニド、エントコート、フラジール、イムラン、インフリキシマブ、メルカプトプリン、メトロニダゾール、プロトスタット（ｐｒｏｔｏｓｔａｔ）、プリネトール（ｐｕｒｉｎｅｔｈｏｌ）、レミケードおよびスルファサラジンからなる群から選択されるクローン病薬；アセトコット（ａｃｅｔｏｃｏｔ）、アセチルサリチル酸、アキュプリン（ａｃｕｐｒｉｎ）８１、アダリムマブ、アリーブ（ａｌｅｖｅ）、アムコート（ａｍｃｏｒｔ）、アナプロックス（ａｎａｐｒｏｘ

）、アリストコート（ａｒｉｓｔｏｃｏｒｔ）、アスピリン、アスピルタブ（ａｓｐｉｒｔａｂ）、アズマコート（ａｚｍａｃｏｒｔ）、バファリン、ブフェックス（ｂｕｆｆｅｘ）、カタフラム、セレブレックス（ｃｅｌｅｂｒｅｘ）、クリノリル、コルチゾン、ジクロフェナク、ディペンタム（ｄｉｐｅｎｔｕｍ）、アスピリン（ｅａｓｐｒｉｎ）、エタネルセプト、インドシン（ｉｎｄｏｃｉｎ）、インドメタシン、インフリキシマブ、ナプロキセン、レミケード、トリアムシノロンおよびボルタレンからなる群から選択される強直性脊椎炎薬；アボネックス（Ａｖｏｎｅｘ）、アザサン（ａｚａｓａｎ）、アザチオプリン、ベタセロン（Ｂｅｔａｓｅｒｏｎ）、バブリプレッド（Ｂｕｂｂｌｉ－Ｐｒｅｄ）、コパクソン（Ｃｏｐａｘｏｎｅ）、コトロン（Ｃｏｔｏｌｏｎｅ）、グラチラマー、イムラン、インターフェロンベーター－ｌａ、インターフェロンベーター－ｌｂ溶液、キープレッド（Ｋｅｙ－Ｐｒｅｄ）、キープレッドＳＰ（Ｋｅｙ－Ｐｒｅｄ　ＳＰ）、ミトキサントロン、ナタリズマブ、ノバトロン（Ｎｏｖａｔｒｏｎｅ）、オラプレッド（Ｏｒａｐｒｅｄ）、オラプレッドＯＤＴ（Ｏｒａｐｒｅｄ　ＯＤＴ）、ペディアプレッド（Ｐｅｄｉａｐｒｅｄ）、Ｐｒｅｄ－Ｊｅｃｔ－５０、プレダコート（Ｐｒｅｄａｃｏｒｔ）５０、プレダロン（Ｐｒｅｄａｌｏｎｅ）５０、プレデート（Ｐｒｅｄａｔｅ）－５０、プレドニゾロン、プレロン（Ｐｒｅｌｏｎｅ）、レビフ（Ｒｅｂｉｆ）およびタイサブリからなる群から選択される多発性硬化症薬；アブラキサン、アドリアマイシン、アドルシル（Ａｄｒｕｃｉｌ）、アルダラ（Ａｌｄａｒａ）、アレムツズマブ、アリムタ、アミノレブリン酸、アナストロゾール、アプレピタン、アリミデックス、アロマシン、アラノン、亜ヒ酸、アバスチン（ベバシズマブ）、アザシチジン、ベバシズマブ、ベキサロテン、ボルテゾミブ、キャンパス（アレムツズマブ）、カンプトサール（塩酸イリノテカン）、カペシタビン、カルボプラチン、セツキシマブ、シスプラチン、クラフェン（Ｃｌａｆｅｎ）（シクロホスファミド）、クロファラビン、クロファレックス（Ｃｌｏｆａｒｅｘ）（クロファラビン）、クロラール（Ｃｌｏｌａｒ）（クロファラビン）、シクロホスファミド、シタラビン、サイトサール（Ｃｙｔｏｓａｒ）－Ｕ（シタラビン）、シトキサン（シクロホスファミド）、ダコゲン（Ｄａｃｏｇｅｎ）（デシタビン）、ダサチニブ、デシタビン、デポサイト（リポソームシタラビン）、デポフォーム（ＤｅｐｏＦｏａｍ）（リポソームシタラビン）、塩酸デクスラゾキサン、ドセタキセル、ドキシル（塩酸ドキソルビシンリポソーム）、塩酸ドキソルビシン、塩酸ドキソルビシンリポソーム、Ｄｏｘ－ＳＬ（塩酸ドキソルビシンリポソーム）、エフデックス（Ｅｆｕｄｅｘ）（フルオロウラシル）、エレンス（Ｅｌｌｅｎｃｅ）（塩酸エピルビシン）、エロキサチン（Ｅｌｏｘａｔｉｎ）（オキサリプラチン）、エメンド（アプレピタント）、塩酸エピルビシン、アービタックス（セツキシマブ）、塩酸エルロチニブ、エバセト（Ｅｖａｃｅｔ）（塩酸ドキソルビシンリポソーム）、エビスタ（塩酸ラロキシフェン）、エキセメスタン、ファスロデックス（フルベストラント）、フェマーラ（レトロゾール）、フルオロプレックス（Ｆｌｕｏｒｏｐｌｅｘ）（フルオロウラシル）、フルオロウラシル、フルベストラント、ゲフィチニブ、塩酸ゲムシタビン、ゲムツズマブオゾガマイシン、ジェムザール（塩酸ゲムシタビン）、グリベック（メシル酸イマチニブ）、ハーセプチン（トラスツズマブ）、ハイカムチン（塩酸トポテカン）、メシル酸イマチニブ、イミキモド、イレッサ（ゲフィニチブ）、塩酸イリノテカン、イクサベピロン、イグゼンプラ（イクサベピロン）、ケオキシフェン（Ｋｅｏｘｉｆｅｎｅ）（塩酸ラロキシフェン）、ケピバンス（パリフェルミン）、ラパチニブトシル酸、レナリドミド、レトロゾール、レブラン（Ｌｅｖｕｌａｎ）（アミノレブリン酸）、リポドックス（ＬｉｐｏＤｏｘ）（塩酸ドキソルビシンリポソーム）、リポソームシタラビン、メタゾラストン（Ｍｅｔｈａｚｏｌａｓｔｏｎｅ）（テモゾロミド）、マイロサール（Ｍｙｌｏｓａｒ）（アザシチジン）、マイロターグ（ゲムツズマブオゾガマイシン）、ナノ粒子パクリタキセル（パクリタキセルアルブミン安定化ナノ粒子製剤）、ネララビン、ネオサール（Ｎｅｏｓａｒ）（シクロホスファミド）、ネクサバール（トシル酸ソラフェニブ）、ニロチニブ、ノルバデックス（クエン酸タモキシフェン）、オンキャスパー（Ｏｎｃａｓｐａｒ）（ペグアスパルガーゼ）、オキサリプラチン、パクリタキセル、パクリタキセルアルブミン安定化ナノ粒子製剤、パリフェルミン、パニツム

マブ、パラプラット（カルボプラチン）、パラプラチン（カルボプラチン）、ペグアスパルガーゼ、ペメトレキセド二ナトリウム、プラチノール（Ｐｌａｔｉｎｏｌ）－ＡＱ（シスプラチン）、プラチノール（Ｐｌａｔｉｎｏｌ）（シスプラチン）、塩酸ラロキシフェン、レブリミド（レナリドミド）、リツキサン（リツキシマブ）、リツキシマブ、スクレロゾル胸膜内エアロゾル（タルク）、トシル酸ソラフェニブ、スプリセル（ダサチニブ）、滅菌タルクパウダー（タルク）、ステリタルク（Ｓｔｅｒｉｔａｌｃ）（タルク）、リンゴ酸スニチニブ、スーテント（リンゴ酸スニチニブ）、シノビル（Ｓｙｎｏｖｉｒ）（サリドマイド）、タルク、クエン酸タモキシフェン、タラビン（Ｔａｒａｂｉｎｅ）ＰＦＳ（シタラビン）、タルセバ（塩酸エルロニチブ）、ターグレチン（ベキサロテン）、タシグナ（ニロチニブ）、タキソール（パクリタキセル）、タキソテール（ドセタキセル）、テモダール（テモゾロミド）、テモゾロミド、テムシロリムス、サロミド（Ｔｈａｌｏｍｉｄ）（サリドマイド）、サリドマイド、トテクト（Ｔｏｔｅｃｔ）（塩酸デクスラゾキサン）、塩酸トポテカン、トリセル（Ｔｏｒｉｓｅｌ）（テムシロリムス）、トラスツズマブ、トリセノックス（亜ヒ酸）、タイケルブ（トシル酸ラパニチブ）、ベクチビックス（パニツムマブ）、ベルケイド（ボルテゾミブ）、ビダザ（アザシチジン）、ボリノスタット、ゼローダ（カペシタビン）、ザインカード（塩酸デクスラゾキサン）、ゾレドロン酸、ゾリンザ（ボリノスタット）、およびゾメタ（ゾレドロン酸）からなる群から選択される癌または悪性腫瘍薬からなる群から選択される、プロスタグランジンE_2が有害である障害に罹っている患者の治療方法。

【請求項７６】

対象への前記投与が、非経口、皮下、筋肉内、静脈内、関節内、気管支内、腹腔内、嚢内、軟骨内、腔内（ｉｎｔｒａｃａｖｉｔｙ）、腔内（ｉｎｔｒａｃｅｌｉａｌ）、小脳内、脳室内、結腸内、頸管内、胃内、肝臓内、心筋内、骨内、骨盤内、心臓周囲内、腹腔内、胸膜内、前立腺内、肺内、結腸内、腎臓内、網膜内、脊髄内、滑膜内、胸腔内、子宮内、膀胱内、ボーラス、膣、直腸、口内、舌下、鼻内および経皮から選択される少なくとも１つの様式による、請求項７４に記載の方法。

【請求項７７】

プロスタグランジンE_2に結合し、細胞表面ベース受容体結合アッセイにおいて、約1×10^{-6}から1×10^{-7}M、1×10^{-7}から1×10^{-8}M、1×10^{-8}から1×10^{-9}M、10^{-9}から10^{-10}M、1×10^{-10}から1×10^{-11}M、および10^{-11}から10^{-12}Mからなる群から選択されるIC_{50}で、またはＥＬＩＳＡベース受容体結合アッセイにおいて、約1×10^{-6}から1×10^{-7}M、1×10^{-7}から1×10^{-8}M、1×10^{-8}から1×10^{-9}M、10^{-9}から10^{-10}M、1×10^{-10}から1×10^{-11}M、および10^{-11}から10^{-12}Mからなる群から選択されるIC_{50}でＥ１、Ｅ２、Ｅ３およびＥ４受容体のうちの少なくとも１つへのプロスタグランジンE_2の結合を阻害する、単離された抗体またはこの抗原結合断片。

【請求項７８】

PGE_2に結合し、カラゲナン誘発足浮腫モデル、カラゲナン誘発痛覚過敏モデル、コラーゲン誘発関節炎モデルおよびアジュバンド誘発関節炎モデルからなる群から選択される疾患モデルにおいて、PGE_2活性を約５０％抑制する、単離された抗体またはこの抗原結合断片。

【請求項７９】

カラゲナン誘発足浮腫モデル、カラゲナン誘発痛覚過敏モデル、コラーゲン誘発関節炎モデルおよびアジュバンド誘発関節炎モデルからなる群から選択される疾患モデルにおいて、PGE_2活性を約７０％抑制する、請求項７７の抗体。

【請求項８０】

PGE_2に結合し、カラゲナン誘発足浮腫モデル、カラゲナン誘発痛覚過敏モデル、コラーゲン誘発関節炎モデルおよびアジュバンド誘発関節炎モデルからなる群から選択される疾患モデルにおいて、炎症を約９０％抑制する、単離された抗体またはこの抗原結合断片。

【請求項８１】
２Ｂ５である、請求項７７の抗体。
【請求項８２】
プロスタグランジンＥ$_2$に結合し、細胞表面ベース受容体結合アッセイにおいてまたはＥＬＩＳＡベース受容体結合アッセイにおいて、Ｅ１、Ｅ２、Ｅ３およびＥ４受容体のうちの少なくとも１つへのプロスタグランジンＥ$_2$の結合を約１００ｎＭの濃度で約７０－１００％阻害する、単離された抗体またはこの抗原結合断片。
【請求項８３】
１９Ｃ９、４Ｆ１０、１５Ｆ１０、Ｋ１Ｂ、Ｋ７Ｈ、Ｋ３Ａ、Ｌ１１、Ｌ２１、２Ｂ５－７．０、２Ｂ５－８．０および２Ｂ５－９．０からなる群から選択される、請求項８１の抗体。
【請求項８４】
プロスタグランジンＥ$_2$の生物学的機能を調節することが可能である、請求項８１の抗体またはこの抗原結合断片。
【請求項８５】
プロスタグランジンＥ$_2$を中和することが可能である、請求項８１の抗体またはこの抗原結合断片。
【請求項８６】
免疫グロブリン分子、モノクローナル抗体、キメラ抗体、ＣＤＲ移植された抗体、ヒト化抗体、Ｆａｂ、Ｆａｂ’、Ｆ（ａｂ’）２、Ｆｖ、ジスルフィド連結Ｆｖ、ｓｃＦｖ、単一ドメイン抗体、ダイアボディ、多特異的抗体、二重特異的抗体、および二特異的抗体からなる群から選択される、請求項８１の抗体またはこの抗原結合断片。
【請求項８７】
ヒト化抗体である、請求項８１の抗体またはこの抗原結合断片。
【請求項８８】
請求項８１の抗体またはこの抗原結合断片および医薬として許容される担体を含む医薬組成物。
【請求項８９】
プロスタグランジンＥ$_2$活性が有害である障害を治療するための少なくとも１つの追加の治療剤をさらに含む、請求項８７の医薬組成物。
【請求項９０】
非ヒト動物をプロスタグランジンＥ$_2$－サイログロブリンを用いて免疫し、抗プロスタグランジンＥ$_2$抗体を含む体液または器官を収集し、ならびに前記抗プロスタグランジンＥ$_2$抗体を単離する工程を含む、プロスタグランジンＥ$_2$に結合する抗体またはこの断片を作製する方法。
【請求項９１】
プロスタグランジンＥ$_2$に結合することができ、配列番号５４－５９からなる群から選択されるアミノ酸配列を含む少なくとも１つのＣＤＲ領域を含む抗原結合ドメインを含む、ヒト化抗体。
【請求項９２】
プロスタグランジンＥ$_2$に結合することができ、配列番号５４－５９からなる群から選択されるアミノ酸配列に少なくとも約６０％、少なくとも約６５％、少なくとも約７０％、少なくとも約７５％、少なくとも約８０％、少なくとも約８５％、少なくとも約９０％、少なくとも約９５％、または少なくとも約９８％相同であるアミノ酸配列を含む少なくとも１つのＣＤＲ領域を含む抗原結合ドメインを含む、ヒト化抗体。
【発明の詳細な説明】
【技術分野】
【０００１】
（関連出願への参照）
本出願は、２００８年7月8日提出の米国特許仮出願第６１／１３４，２６４号、およ

び２００８年１０月２３日出願の米国特許仮出願第６１／１９７，２５８号の優先権を主張する非仮出願であり、この２つの仮出願の内容は参照により本明細書に組み込むものとする。

【０００２】

（発明の分野）

本発明は、結合タンパク質およびこの組成物、例えば、プロスタグランジンE_2（PGE_2）などの脂質代謝物に特異的な抗体および抗原結合部分、ならびに、疾患の予防、診断および治療における結合タンパク質およびこの組成物の作製、特徴づけおよび使用方法に関する。

【背景技術】

【０００３】

（発明の背景）

プロスタグランジン（ＰＧ）、トロンボキサン（ＴＸ）、ロイコトリエン（ＬＴ）およびスフィンゴシン－１－リン酸などの生理活性脂質は、様々な障害の原因において決定的な生理学的役割を果たしている（Ｗｙｍａｎｎ、ＭＰ ａｎｄ Ｓｃｈｎｅｉｔｅｒ Ｒ、Ｎａｔ．Ｒｅｖ．Ｍｏｌ．Ｃｅｌｌ．Ｂｉｏｌ．９（２）：１６２－７６（２００８））。炎症中、細胞ホスホリパーゼ、特にホスホリパーゼＡ２およびＣは、活性化されて細胞膜リン脂質をアラキドン酸（ＡＡ）まで分解する。ＡＡは、２種類の主要経路、すなわちシクロオキシゲナーゼ（ＣＯＸ）経路およびリポキシゲナーゼ（ＬＯ）経路により代謝される。ＣＯＸ経路はプロスタグランジン（PGD_2、PGE_2、$PGF_{2\alpha}$、プロスタサイクリンまたはPGI_2、およびトロンボキサンＡ２またはTXA_2）を産生する。ＬＯ経路は２つの分岐を有し、すなわち５－ＬＯ経路はロイコトリエン（例えば、ＬＴＡ４、ＬＴＢ４、ＬＴＣ４、ＬＴＤ４、ＬＴＥ４およびＬＴＦ４）を産生し、１５－ＬＯ経路はリポキシン（例えば、ＬＸＡ４、ＬＸＢ４）を産生する。プロスタグランジン（ＰＧ）、トロンボキサン（ＴＸ）およびロイコトリエン（ＬＴ）などのプロスタノイドは、身体内の局所的恒常性を維持するための様々な生理活性を有する（Ｔｈｅ Ｐｈａｒｍａｃｏｌｏｇｉｃａｌ Ｂａｓｉｓ ｏｆ Ｔｈｅｒａｐｅｕｔｉｃｓ、Ｇｉｌｍａｎ、ｅｔ ａｌ．、ｅｄｓ．、７ｔｈ Ｅｄ．、６６０頁、Ｍａｃｍｉｌｌａｎ Ｐｕｂｌｉｓｈｉｎｇ Ｃｏ．、Ｎｅｗ Ｙｏｒｋ（１９８５））。ＣＯＸの産物、すなわちＰＧ Ｇ２／ＰＧ Ｈ２は、組織特異的イソメラーゼの作用により特異的ＰＧに変換されて、PGI_2、TXA_2、PGD_2、PGE_2および$PGF_{2\alpha}$をもたらす。ＰＧの生物学的機能は、組織特異的細胞表面ロドプシン様７回膜貫通型Ｇタンパク質共役受容体（ＧＰＣＲ）により媒介される。各ＰＧの正確な生理学的／病理学的役割は、細胞状況、受容体発現プロファイル、リガンド親和性およびシグナル伝達経路への差次的共役により決定される（Ｈａｌｕｓｋａ ｅｔ ａｌ．、Ａｎｎｕ．Ｒｅｖ．Ｐｈａｒｍ．Ｔｏｘ．１０：２１３（１９８９）；Ｐｒｏｓｔａｎｏｉｄｓ ａｎｄ ｔｈｅｉｒ Ｒｅｃｅｐｔｏｒｓ．Ｉｎ Ｃｏｍｐｒｅｈｅｎｓｉｖｅ Ｍｅｄｉｃｉｎａｌ Ｃｈｅｍｉｓｔｒｙ、６４３頁、Ｐｅｒｇａｍｏｎ Ｐｒｅｓｓ、Ｏｘｆｏｒｄ（１９９０））。ＰＧは血管運動性の調節、睡眠／覚醒周期、腸内分泌、脂肪分解、糸球体濾過、マスト細胞脱顆粒、神経伝達、血小板凝集、黄体溶解、子宮収縮および分娩、炎症および関節炎、動脈管開存性、細胞増殖および分化ならびに免疫応答全般の制御において広範囲の生理学的役割を果たしている。病態生理学的には、ＰＧは、疼痛および炎症、癌、神経性疾患、心血管性疾患ならびに高血圧を含む様々な疾患に結びつけられてきた。

【０００４】

プロスタグランジンE_2（PGE_2）はプロスタノイドファミリーの一員である。PGE_2は、消化管、胃酸の分泌、平滑筋の弛緩および神経伝達物質の放出に広く関与している。PGE_2に対しては、ＥＰ１、ＥＰ２、ＥＰ３、およびＥＰ４を含む４サブタイプ受容体が同定されており（Ｎｅｇｉｓｈｉ、Ｍ．ｅｔ ａｌ．、Ｊ．Ｌｉｐｉｄ Ｍｅｄｉａｔｏｒｓ Ｃｅｌｌ Ｓｉｇｎａｌｌｉｎｇ、１２：３７９－３９１（１９９５））、このそれぞれが異なるシグナル伝達経路に関与している。

【０００５】
ＰＧＥ$_2$は、ＡＡ代謝のＣＯＸ経路の主産物である。ＰＧＥ$_2$は関節で合成される主要なＰＧであり、炎症および関節炎の病変形成において重要な役割を果たしている。５つのＰＧＥ$_2$シンターゼが同定されている。（Ｓｍｉｔｈ　ＷＬ、Ａｍ．Ｊ．Ｐｈｙｓｉｏｌ．２６３（２Ｐｔ２）：Ｆ１８１－９１頁（１９９２））。これら５つのうち、膜ＰＧＥシンターゼ（ｍＰＧＥＳ）－１は、ＰＧＥ$_2$産生に関与するキーとなるＰＧＥ$_2$変換酵素であると思われる。ＭＰＧＥＳ－１は、他のＰＧＥシンターゼと比べてもっとも高い触媒活性を示しており、ＣＯＸ－１および／またはＣＯＸ－２と連動して機能し、ＰＧＨ$_2$をＰＧＥ$_2$に変換する。ｍＰＧＥＳ－１　ＫＯマウス（Ｋａｍｅｉ、Ｄ．、ｅｔ　ａｌ．、Ｊ．Ｂｉｏｌ．Ｃｈｅｍ．、２７９（３２）：３３６８４－９５（２００４）；Ｔｒｅｂｉｎｏ、Ｃ．Ｆ．、ｅｔ　ａｌ．、Ｐｒｏｃ．Ｎａｔｌ．Ａｃａｄ．Ｓｃｉ．ＵＳＡ　１００（１５）：９０４４－９（２００３））、特異的ＰＧＥ$_2$受容体アイソフォームＫＯマウス（ＭｃＣｏｙ、Ｊ．Ｍ．、ｅｔ　ａｌ．、Ｊ．Ｃｌｉｎ．Ｉｎｖｅｓｔ．、１１０（５）：６５１－８（２００２）；Ｍａｊｉｍａ、Ｍ．、ｅｔ　ａｌ．Ｔｒｅｎｄｓ　Ｐｈａｒｍａｃｏｌ．Ｓｃｉ．、２４（１０）：５２４－９（２００３）；ａｎｄ　Ａｍａｎｏ、Ｈ．、ｅｔ　ａｌ．，Ｊ．Ｅｘｐ．Ｍｅｄ．，１９７（２）２２１－３２（２００３））および抗ＰＧＥ$_2$特異的抗体（Ｐｏｒｔａｎｏｖａ、Ｊ．Ｐ．、ｅｔ　ａｌ．、Ｊ．Ｅｘｐ．Ｍｅｄ．、１８４（３）：８８３－９１（１９９６）；Ｚｈａｎｇ、Ｙ．、ｅｔ　ａｌ．、Ｊ．Ｐｈａｒｍａｃｏｌ．Ｅｘ．Ｔｈｅｒ．、２８３（３）：１０６９－７５（１９９７））を使用する研究によれば、ＰＧＥ$_2$は、関節リウマチ（ＲＡ）、疼痛および炎症ならびに癌発生の動物モデルにおいて主要な役割を果たしていることが示唆されている。ｍＰＧＥＳ－１不在下では、ＣＯＸ－１、ＣＯＸ－２および他のＰＧＥ$_2$シンターゼのレベルは比較的不変のままである。ｍＰＧＥＳ－１ＫＯマウスは、野生型マウスと比べても、生存可能であり、繁殖力があり、正常に成長する。しかしながら、ｍＰＧＥＳ－１ＫＯマウスは、ＰＧＥ$_2$産生の基礎レベルでも、様々な炎症性刺激を用いたチャレンジに続くマクロファージからのＰＧＥ$_2$産生においても劇的減少を示す。さらに、ＴＸＡ２産生は増加する。ｍＰＧＥＳ－１ＫＯマウスは、関節炎発生の頻度および重症度の減少を示し、様々なモデルにおいて疼痛および炎症に対する抵抗性を示している。いくつかの研究室が、独立して様々なＥＰ受容体アイソフォームＫＯマウスを作製した。これらのマウスは生存可能であり、繁殖力があり、正常に成長する。特異的ＥＰアイソフォームＫＯマウスを使用する研究によれば、ＰＧＥ$_2$の様々な機能は特異的ＥＰアイソフォームを介して媒介されることが実証されている。例えば、ＥＰ４アイソフォームの欠如はマウスにおける関節炎発生の重症度に明らかに影響を与えるが、ＥＰ３の欠如は、間質細胞および血管新生によるＶＥＧＦ産生を調節することによって腫瘍発生および進行に影響を与える。

【０００６】
プロスタグランジンの生合成および代謝の欠損は、現在では、自己免疫性および炎症性障害の原因に重要な役割を果たしていると考えられている。例えば、関節リウマチに罹っている患者由来の滑膜組織は、非罹対象由来の滑膜組織と比べて多量のＰＧＥ$_2$およびプロスタグランジンＦ$_{2\alpha}$（ＰＧＦ$_{2\alpha}$）を産生する（Ｂｌｏｔｍａｎ、Ｆ．、ｅｔ　ａｌ．、Ｒｅｖ．Ｒｈｕｍ．Ｍａｌ．Ｏｓｔｅｏａｒｔｉｃ、４６（４）：２４３－７（１９７９））。同様に、食物不耐性に続発する全身性および胃腸症状を示す患者ではＰＧＥ$_2$およびＰＧＦ$_{2\alpha}$の合成の増加が起こる。したがって、ある種の食物の摂取に続発する偏頭痛は、２系統のプロスタグランジンの合成が増加した結果であり得る。多発性硬化症も、プロスタグランジンのＰＧＥ$_1$とＰＧＥ$_2$の正常レベルの不均衡に関連している。生殖の多くの局面、例えば、受精能、妊娠および分娩は、プロスタグランジンに制御されている可能性がある。プロスタグランジンは生殖生理機能においても主要な役割を果たしている。過剰なプロスタグランジン合成は、月経困難症および出産を引き起こし、これらは、プロスタグランジンを静脈内に投与することにより、またはプロスタグランジンペッサリーの挿入により誘発されることがある。（Ｗａｎｇ　Ｌ．ｅｔ　ａｌ．、Ｏｃｃｕｐ．Ｅ

ｎｖｉｒｏｎ．Ｍｅｄ．６１（１２）：１０２１－１０２６（２００４））。PGE_2の過剰な合成は、不妊症、反復流産、子癇前症および子癇などの生殖の障害においても主要な役割を果たしている。したがって、PGE_2に特異的でこの生物学的機能を遮断するまたは調節する抗体の必要性が存在し、この抗体は、PGE_2の過剰産生に伴う疾患を予防し治療する他にも診断目的で使用され得る。

【０００７】

高度に特異的で高親和性（K_Dは約３００ｐＭ。）抗PGE_2、ｍＡｂ、２Ｂ５の作製が報告されている。（Ｍｎｉｃｈ　ＳＪ、ｅｔ　ａｌ．Ｊ．Ｉｍｍｕｎｏｌ．１５５（９）：４４３７－４４（１９９５））。ＣＯＸ－１，２阻害薬であるインドメタシンと比べた２Ｂ５の有効性が、マウスでの疼痛および炎症のおよびラットでのアジュバンド誘発関節炎の動物モデルにおいて決定された。（Ｐｏｒｔａｎｏｖａ　ＪＰ　ｅｔ　ａｌ．、Ｊ．Ｅｘｐ．Ｍｅｄ．１８４（３）：８８３－９１（１９９６））。これらの研究により、２Ｂ５は、関節炎の疼痛および炎症の他に重症度も軽減するのにインドメタシンと同程度に有効であることが明確に示され、PGE_2が、これらの動物モデルにおけるＡＡ代謝のＣＯＸ－１，２経路でのキーとなる関与物であることを示唆している。

【０００８】

ＣＯＸ阻害薬による全ＰＧ産生抑制は、数十年間確立した治療方針となっている。ＣＯＸの２種類のアイソフォーム、ＣＯＸ－１とＣＯＸ－２は公知であり、そのそれぞれが別々の遺伝子にコードされている。これら２種類のアイソフォームは、基本的に同じ触媒反応を実行し、類似の三次構造を有する（Ｇａｒａｖｉｔｏ　ＲＭ、ｅｔ　ａｌ．、Ａｎｎｕ．Ｒｅｖ．Ｂｉｏｐｈｙｓ．Ｂｉｏｍｏｌ．Ｓｔｒｕｃｔ．３２：１８３－２０６（２００３））。ＣＯＸ－１はほぼすべての組織で構成的に発現され、主に、胃細胞保護および恒常性などの正常「ハウスキーピング」機能に主として関与していると考えられている。これとは対照的に、ＣＯＸ－２は特定の組織で構成的に発現され、炎症および癌の部位では高度に誘導性である。したがって、ＣＯＸ－２媒介ＰＧ産生は、炎症および癌の部位で重要な役割を果たしていると考えられている。従来の非ステロイド系抗炎症剤（ＮＳＡＩＤ）、例えば、アスピリン、インドメタシン、イブプロフェンは両ＣＯＸアイソフォームを阻害する。これらの化合物は、疼痛、関節リウマチ（ＲＡ）、変形性関節炎（ＯＡ）および循環器疾患に対してもっとも広く使用されている薬剤であり、結腸癌およびＡＤの予防に対して現在検討中である。従来のＮＳＡＩＤの主要なライアビリティーは、高リスク集団における胃と腎臓の有害事象であり、この有害事象はＣＯＸ－１が阻害されるせいであると考えられている。したがって、第二世代のＮＳＡＩＤである、ＣＯＸ－２選択的阻害薬（例えば、セレコキシブ、Ｃｅｌｅｂｒｅｘ；ロフェコキシブ、Ｖｉｏｘｘ；バルデコキシブ、Ｂｅｘｔｒａ）は、よりすぐれた治療プロファイルを有すると考えられている。この仮定により、選択的阻害薬は、疼痛、ＲＡおよびＯＡに広く使用されるようになった。１９９９年の最初のＣＯＸ－２阻害薬の承認以降、２００４年のＣＯＸ－２阻害薬の総売上高はおよそ米ドル５０億ドルであった。しかしながら、最近一部のＣＯＸ－２選択的阻害薬が市場から回収され、ある種のＣＯＸ－２阻害薬に対する高リスク患者での循環器副作用のせいでＦＤＡの再調査中である。ＣＯＸ阻害薬に関連するライアビリティーは、おそらく、すべてのＰＧを阻害するこの能力のせいで、特に、両方が循環器恒常性を維持するのに重要な役割を果たしているPGI_2およびTXA_2産生を差次的に妨げるこの能力のせいで生じた（Ｍａｒｔｉｎｅｚ－Ｇｏｎｚａｌｅｚ　Ｊ．ｅｔ　ａｌ．、Ｃｕｒｒ．Ｐｈａｒｍ．Ｄｅｓ．１３（２２）：２２１５－２２２７（２００７））。ＣＯＸが阻害されると、より多くのＡＡをＬＯ経路が利用可能になり得て、したがって、ロイコトリエンおよびリポキシンの産生を増加させ、これがＣＯＸ阻害関連有害作用の一因となり得る。ＣＯＸ－１および／またはＣＯＸ－２ノックアウトマウスならびにＣＯＸ－１およびＣＯＸ－２特異的阻害薬を使用する最近の研究によれば、２種類のＣＯＸアイソフォームの生理学的役割に関する仮定は正しくない可能性があることも示唆されている。（Ｌｏｆｔｉｎ、Ｃ．Ｄ．、ｅｔ　ａｌ．、Ｐｒｏｓｔａｇｌａｎｄｉｎｓ　Ｏｔｈｅｒ　Ｌｉｐｉｄ　Ｍｅｄｉａｔ．６８－６９：１７７－８５（２００２））。これらの研究は、

ＣＯＸ－１とＣＯＸ－２の両方が、組織恒常性を維持するためのＰＧを供給するのに重要な役割を果たしており、両アイソフォームは、疼痛、炎症および癌などの疾患発症の一因となり得ることを示唆している。したがって、ＣＯＸ－１およびＣＯＸ－２経路の有害なＰＧＥ$_2$下流を特異的抗体を用いて遮断すれば、ある種のヒト疾患の治療のための魅力的なアプローチになると思われる。

【０００９】

重要な生理活性プロスタグランジンのもう１つの例はＰＧＤ$_2$である。ＰＧＤ$_2$は免疫学的チャレンジをするとマスト細胞から産生されるアラキドン酸の主要なシクロオキシゲナーゼ産物である（Ｌｅｗｉｓ、ｅｔ　ａｌ．、Ｊ．Ｉｍｍｕｎｏｌ．１２９：１６２７－１６３１（１９８２））。活性化されたマスト細胞、すなわちＰＧＤ$_2$の主要供給源は、喘息、アレルギー性鼻炎、アレルギー性結膜炎、アレルギー性皮膚炎および他の疾患などの状態においてアレルギー応答を推進するのにキーとなる役割を果たす物質の１つである（Ｂｒｉｇｈｔｌｉｎｇ、ｅｔ　ａｌ．、Ｃｌｉｎ．Ｅｘｐ．Ａｌｌｅｒｇｙ　３３：５５０－５５６（２００３））。最近の研究では、様々なヒト組織で発現されている２つの異なるＧ－タンパク質共役型受容体（ＧＰＣＲ）、すなわちＤ－プロスタノイド受容体（ＤＰ）とヘルパーＴ２型細胞上で発現される相同分子である化学誘引物質受容体（ＣＲＴＨ２）を通じて、ＰＧＤ$_2$はこの効果を発揮することが明らかにされている。ＰＧＤ$_2$／ＣＲＴＨ２系は、アレルギー性炎症の誘導に関与している好酸球、好塩基球およびＴｈ２細胞の走化性を媒介する（Ｕｌｖｅｎ　Ｔ　ｅｔ　ａｌ．、Ｃｕｒｒ．Ｔｏｐ．Ｍｅｄ．Ｃｈｅｍ．６（１３）：１４２７－１４４４（２００６））。ＰＧＤ$_2$の作用の多くが、上皮および平滑筋上で発現されるＧタンパク質共役型受容体であるＤ型プロスタグランジン（「ＤＰ」）受容体上でのこの作用を通じて媒介される。喘息では、呼吸上皮が、この疾患の進行を推進する炎症性サイトカインおよびケモカインのキーとなる供給源として長い間認識されてきた（Ｈｏｌｇａｔｅ、ｅｔ　ａｌ．、Ａｍ．Ｊ．Ｒｅｓｐｉｒ．Ｃｒｉｔ．Ｃａｒｅ　Ｍｅｄ．１６２：１１３－１１７（２０００））。喘息の実験マウスモデルでは、ＤＰ受容体は、抗原チャレンジすると気道上皮上で劇的に上方調節される（Ｍａｔｓｕｏｋａ、ｅｔ　ａｌ．、Ｓｃｉｅｎｃｅ　２８７：２０１３－２０１７（２０００））。ＤＰ受容体は、くしゃみ、そう痒、鼻漏および鼻閉という症状により特徴づけられる頻発性アレルギー疾患であるヒトアレルギー性鼻炎に関与している。ＤＰアンタゴニストは、複数の種においてアレルギー性鼻炎の症状を軽減するのに効果的であることが明らかにされており、さらに具体的には、アレルギー性鼻炎のもっとも明白な症状である、抗原誘発鼻閉を抑制することが明らかにされている（Ｊｏｎｅｓ、ｅｔ　ａｌ．、Ａｍ．Ｊ．Ｒｅｓｐ．Ｃｒｉｔ．Ｃａｒｅ　Ｍｅｄ．１６７：Ａ２１８（２００３）；Ａｒｉｍｕｒａ、ｅｔ　ａｌ．，Ｓ－５７５１．Ｊ．Ｐｈａｒｍａｃｏｌ．Ｅｘｐ．Ｔｈｅｒ．２９８（２）：４１１－９（２００１））。ＤＰアンタゴニストは、アレルギー性結膜炎およびアレルギー性皮膚炎の実験モデルでも効果的である（Ａｒｉｍｕｒａ　ｅｔ　ａｌ．、Ｓ－５７５１．Ｊ．Ｐｈａｒｍａｃｏｌ．Ｅｘｐ．Ｔｈｅｒ．２９８（２）：４１１－９（２００１）；Ｔｏｒｉｓｕ、ｅｔ　ａｌ．、Ｂｉｏｏｒｇ．＆　Ｍｅｄ．Ｃｈｅｍ．１２：５３６１－５３７８（２００４））。したがって、ＰＧＤ$_2$に対して特異的な抗体の必要性も存在しており、したがって、ＰＧＤ$_2$の生物学的機能を遮断するまたは調節することを利用すれば、ＰＧＤ$_2$の過剰産生に伴う疾患を予防し治療し得る。

【００１０】

スフィンゴシン－１－リン酸（Ｓ１Ｐ）は、血小板凝集、細胞増殖、細胞形態、腫瘍細胞浸潤、内皮細胞走化性および内皮細胞インビトロ血管新生をもたらす細胞効果を含む多くの細胞効果を誘導する生物学的活性脂質のもう１つの例である。したがって、Ｓ１Ｐ受容体は、創傷治癒および腫瘍増殖阻害などの治療的適用のための良好な標的である。Ｓ１Ｐは、Ｓ１Ｐ１、Ｓ１Ｐ２、Ｓ１Ｐ３、Ｓ１Ｐ４およびＳ１Ｐ５（以前はそれぞれＥＤＧ－１、ＥＤＧ－５、ＥＤＧ－３、ＥＤＧ－６およびＥＤＧ－８と呼ばれた）と名付けられた一組のＧタンパク質共役型受容体を一部分介して細胞に信号を送る。これらの受容体は、構造的に関係するリゾホスファチジン酸（ＬＰＡ）に対する３種の他の受容体（ＬＰＡ

１、ＬＰＡ２およびＬＰＡ３（以前はＥＤＧ－２、ＥＤＧ－４およびＥＤＧ－７と呼ばれた））と５０－５５％アミノ酸およびクラスター同一性を共有する。（Ｉｓｈｉｉ、Ｉ．ｅｔ　ａｌ．、Ｍｏｌ．Ｐｈａｒｍａｃｏｌ．５８（５）：８９５－９０２（２０００））。リガンドがこの受容体に結合し、ＧＤＰが関連Ｇタンパク質のαサブユニット上でＧＴＰに置き換えられ、続いてＧタンパク質が細胞質に放出されると、Ｇタンパク質共役型受容体（ＧＰＣＲ）において立体構造変化が誘導される。次に、αサブユニットが、βγ－サブユニットから解離し、それぞれのサブユニットは、次にエフェクタータンパク質に会合することができ、これが細胞応答をもたらす第二のメッセンジャーを活性化する。最終的に、Ｇタンパク質上のＧＴＰはＧＤＰに加水分解されて、Ｇタンパク質のサブユニットは互いに再会合し、次に受容体と会合する。増殖は一般ＧＰＣＲ経路において主要な役割を果たしている。１つのリガンドの１つの受容体への結合により、多くのＧタンパク質が活性化され、それぞれが多くのエフェクタータンパク質と会合することができて、増幅された細胞応答をもたらす。Ｓ１Ｐ受容体は、個々の受容体が組織特異的でもあり、応答特異的でもあるために良好な薬物標的になる。Ｓ１Ｐ受容体の組織特異性は重要である。なぜならば、１つの受容体に対して選択的なアゴニストまたはアンタゴニストが開発されれば、細胞応答をその受容体を含有する組織に限局して、不必要な副作用を制限するからである。Ｓ１Ｐ受容体の応答特異性も、他の応答に影響を与えずにある種の細胞応答を開始するまたは抑制するアゴニストまたはアンタゴニストの開発を可能にするので重要である。例えば、Ｓ１Ｐ受容体の応答特異性は、細胞形態に影響を与えずに血小板凝集を開始するＳ１Ｐ模倣薬を可能にすることが可能である。

【００１１】

Ｓ１Ｐは、スフィンゴシンキナーゼとのその反応におけるスフィンゴシンの代謝物として形成され、高レベルのスフィンゴシンキナーゼが存在しスフィンゴシンリアーゼが不在である血小板凝集体に豊富に蓄えられている。Ｓ１Ｐは、血小板凝集中に放出され、血清中に蓄積し、悪性腹水にも存在する。Ｓ１Ｐ生分解は、おそらく、エクトホスホヒドロラーゼ、具体的には、スフィンゴシン－１－リン酸ホスホヒドロラーゼによる加水分解を介して進行する。したがって、自己免疫疾患、炎症性疾患および癌を予防するまたは治療するのに使用するために、受容体とのその相互作用を遮断することにより、またはＳ１Ｐを安定化してこの生物学的効果を増強することによりその生物学的機能を調節するためのＳ１Ｐに特異的な抗体の必要性が存在する。

【先行技術文献】

【非特許文献】

【００１２】

【非特許文献１】Ｗｙｍａｎｎ、ＭＰ　ａｎｄ　Ｓｃｈｎｅｉｔｅｒ　Ｒ、Ｎａｔ．Ｒｅｖ．Ｍｏｌ．Ｃｅｌｌ．Ｂｉｏｌ．９（２）：１６２－７６（２００８）

【非特許文献２】Ｔｈｅ　Ｐｈａｒｍａｃｏｌｏｇｉｃａｌ　Ｂａｓｉｓ　ｏｆ　Ｔｈｅｒａｐｅｕｔｉｃｓ、Ｇｉｌｍａｎ、ｅｔ　ａｌ．、ｅｄｓ．、７ｔｈ　Ｅｄ．、６６０頁、Ｍａｃｍｉｌｌａｎ　Ｐｕｂｌｉｓｈｉｎｇ　Ｃｏ．、Ｎｅｗ　Ｙｏｒｋ（１９８５）

【非特許文献３】Ｈａｌｕｓｋａ　ｅｔ　ａｌ．、Ａｎｎｕ．Ｒｅｖ．Ｐｈａｒｍ．Ｔｏｘ．１０：２１３（１９８９）

【非特許文献４】Ｐｒｏｓｔａｎｏｉｄｓ　ａｎｄ　ｔｈｅｉｒ　Ｒｅｃｅｐｔｏｒｓ．Ｉｎ　Ｃｏｍｐｒｅｈｅｎｓｉｖｅ　Ｍｅｄｉｃｉｎａｌ　Ｃｈｅｍｉｓｔｒｙ、６４３頁、Ｐｅｒｇａｍｏｎ　Ｐｒｅｓｓ、Ｏｘｆｏｒｄ（１９９０）

【非特許文献５】Ｎｅｇｉｓｈｉ、Ｍ．ｅｔ　ａｌ．、Ｊ．Ｌｉｐｉｄ　Ｍｅｄｉａｔｏｒｓ　Ｃｅｌｌ　Ｓｉｇｎａｌｌｉｎｇ、１２：３７９－３９１（１９９５）

【非特許文献６】Ｓｍｉｔｈ　ＷＬ、Ａｍ．Ｊ．Ｐｈｙｓｉｏｌ．２６３（２　Ｐｔ　２）：Ｆ１８１－９１（１９９２）

【非特許文献７】Ｋａｍｅｉ、Ｄ．、ｅｔ　ａｌ．、Ｊ．Ｂｉｏｌ．Ｃｈｅｍ．、２７９（３２）：３３６８４－９５（２００４）

【非特許文献８】Ｔｒｅｂｉｎｏ、Ｃ．Ｆ．、ｅｔ ａｌ．、Ｐｒｏｃ．Ｎａｔｌ．Ａｃａｄ．Ｓｃｉ．ＵＳＡ １００（１５）：９０４４－９（２００３）
【非特許文献９】ＭｃＣｏｙ、Ｊ．Ｍ．、ｅｔ ａｌ．、Ｊ．Ｃｌｉｎ．Ｉｎｖｅｓｔ．、１１０（５）：６５１－８（２００２）
【非特許文献１０】Ｍａｊｉｍａ、Ｍ．、ｅｔ ａｌ．Ｔｒｅｎｄｓ Ｐｈａｒｍａｃｏｌ．Ｓｃｉ．、２４（１０）：５２４－９（２００３）
【非特許文献１１】Ａｍａｎｏ、Ｈ．、ｅｔ ａｌ．，Ｊ．Ｅｘｐ．Ｍｅｄ．，１９７（２）２２１－３２（２００３）
【非特許文献１２】Ｐｏｒｔａｎｏｖａ、Ｊ．Ｐ．、ｅｔ ａｌ．、Ｊ．Ｅｘｐ．Ｍｅｄ．、１８４（３）：８８３－９１（１９９６）
【非特許文献１３】Ｚｈａｎｇ、Ｙ．、ｅｔ ａｌ．、Ｊ．Ｐｈａｒｍａｃｏｌ．Ｅｘ．Ｔｈｅｒ．、２８３（３）：１０６９－７５（１９９７）
【非特許文献１４】Ｂｌｏｔｍａｎ、Ｆ．、ｅｔ ａｌ．、Ｒｅｖ．Ｒｈｕｍ．Ｍａｌ．Ｏｓｔｅｏａｒｔｉｃ、４６（４）：２４３－７（１９７９）
【非特許文献１５】Ｗａｎｇ Ｌ．ｅｔ ａｌ．、Ｏｃｃｕｐ．Ｅｎｖｉｒｏｎ．Ｍｅｄ．６１（１２）：１０２１－１０２６（２００４）
【非特許文献１６】Ｍｎｉｃｈ ＳＪ、ｅｔ ａｌ．Ｊ．Ｉｍｍｕｎｏｌ．１５５（９）：４４３７－４４（１９９５）
【非特許文献１７】Ｐｏｒｔａｎｏｖａ ＪＰ ｅｔ ａｌ．、Ｊ．Ｅｘｐ．Ｍｅｄ．１８４（３）：８８３－９１（１９９６）
【非特許文献１８】Ｇａｒａｖｉｔｏ ＲＭ、ｅｔ ａｌ．、Ａｎｎｕ．Ｒｅｖ．Ｂｉｏｐｈｙｓ．Ｂｉｏｍｏｌ．Ｓｔｒｕｃｔ．３２：１８３－２０６（２００３）
【非特許文献１９】Ｍａｒｔｉｎｅｚ－Ｇｏｎｚａｌｅｚ Ｊ．ｅｔ ａｌ．、Ｃｕｒｒ．Ｐｈａｒｍ．Ｄｅｓ．１３（２２）：２２１５－２２２７（２００７）
【非特許文献２０】Ｌｏｆｔｉｎ、Ｃ．Ｄ．、ｅｔ ａｌ．、Ｐｒｏｓｔａｇｌａｎｄｉｎｓ Ｏｔｈｅｒ Ｌｉｐｉｄ Ｍｅｄｉａｔ．６８－６９：１７７－８５（２００２）
【非特許文献２１】Ｌｅｗｉｓ、ｅｔ ａｌ．、Ｊ．Ｉｍｍｕｎｏｌ．１２９：１６２７－１６３１（１９８２）
【非特許文献２２】Ｂｒｉｇｈｔｌｉｎｇ、ｅｔ ａｌ．、Ｃｌｉｎ．Ｅｘｐ．Ａｌｌｅｒｙ ３３：５５０－５５６（２００３）
【非特許文献２３】Ｕｌｖｅｎ Ｔ ｅｔ ａｌ．、Ｃｕｒｒ．Ｔｏｐ．Ｍｅｄ．Ｃｈｅｍ．６（１３）：１４２７－１４４４（２００６）
【非特許文献２４】Ｈｏｌｇａｔｅ、ｅｔ ａｌ．、Ａｍ．Ｊ．Ｒｅｓｐｉｒ．Ｃｒｉｔ．Ｃａｒｅ Ｍｅｄ．１６２：１１３－１１７（２０００）
【非特許文献２５】Ｍａｔｓｕｏｋａ、ｅｔ ａｌ．、Ｓｃｉｅｎｃｅ ２８７：２０１３－２０１７（２０００）
【非特許文献２６】Ｊｏｎｅｓ、ｅｔ ａｌ．、Ａｍ．Ｊ．Ｒｅｓｐ．Ｃｒｉｔ．Ｃａｒｅ Ｍｅｄ．１６７：Ａ２１８（２００３）
【非特許文献２７】Ａｒｉｍｕｒａ、ｅｔ ａｌ．，Ｓ－５７５１．Ｊ．Ｐｈａｒｍａｃｏｌ．Ｅｘｐ．Ｔｈｅｒ．２９８（２）：４１１－９頁（２００１）
【非特許文献２８】Ｔｏｒｉｓｕ、ｅｔ ａｌ．、Ｂｉｏｏｒｇ．＆ Ｍｅｄ．Ｃｈｅｍ．１２：５３６１－５３７８（２００４）
【非特許文献２９】Ｉｓｈｉｉ、Ｉ．ｅｔ ａｌ．、Ｍｏｌ．Ｐｈａｒｍａｃｏｌ．５８（５）：８９５－９０２（２０００）

【発明の概要】
【発明が解決しようとする課題】
【００１３】
様々なヒト障害におけるPGE_2の役割のせいで、PGE_2活性を抑制するまたは相殺する治療方針が考案されている。特に、ヒトに送達するのに適していて、PGE_2に結合して中和する治療抗体は、まだ報告されていない。PGE_2に結合して中和することが可

能である改良された抗体の必要性が当技術分野には存在する。
【課題を解決するための手段】
【００１４】
（発明の要旨）
本発明は、プロスタグランジンＥ$_2$（ＰＧＥ$_2$）などの脂質代謝物に特異的な結合タンパク質に関する。本発明のＰＧＥ$_2$結合タンパク質は、ＰＧＥ$_2$に結合することが可能である抗体、抗原結合断片および様々なスキャホールドを有する抗原結合断片を含むが、これらに限定されない。
【００１５】
本発明の一態様は、ＰＧＥ$_2$に結合することが可能である結合タンパク質に関する。一実施形態において、本発明の結合タンパク質は、中和、安定化、アンタゴニスト、および／またはアゴニスト活性を有する。別の実施形態において、結合タンパク質はＰＧＥ$_2$の生物学的機能を調節することが可能である。例えば、結合タンパク質は少なくとも部分的にＰＧＥ$_2$を中和することが可能である。
【００１６】
本発明の一態様において、結合タンパク質は、ＰＧＥ$_2$に結合して１つまたはそれ以上のＰＧＥ$_2$受容体（例えば、ＥＰ１、ＥＰ２、ＥＰ３およびＥＰ４）へのＰＧＥ$_2$の結合を妨げることが可能である。本発明の実施形態において、結合タンパク質は、ＰＧＥ$_2$に結合してＥＰ１、ＥＰ２、ＥＰ３およびＥＰ４受容体へのＰＧＥ$_2$の結合を妨げることが可能である。
【００１７】
本発明は、ＰＧＥ$_2$結合タンパク質を作製し、特徴づけ、単独療法としてまたは他の治療剤との組合せ療法として使用する方法ならびにＰＧＥ$_2$に媒介される疾患、例えば、関節リウマチ、クローン病、変形性関節炎、ＡＭＤ、リンパ節腫脹、溶血性貧血、紫斑病、強直性脊椎炎、多発性硬化症、糖尿病、癌、疼痛、骨量減少／回復、動脈硬化性疾患、生殖障害および他の疾患などの、例えば、自己免疫および炎症性疾患の予防および／または治療における方法を提供する。本発明の結合タンパク質は、そのような疾患の診断でも使用することが可能である。
【００１８】
本発明の実施形態において、結合タンパク質は、ＰＧＥ$_2$に結合する単離された抗体、またはこの抗原結合断片である。そのような結合は、ビオチン化ＰＧＥ$_2$ＥＬＩＳＡベースアッセイにおいて、約１×１０$^{-6}$から約１×１０$^{-7}$Ｍ、約１×１０$^{-7}$から約１×１０$^{-8}$Ｍ、約１×１０$^{-8}$から約１×１０$^{-9}$Ｍ、約１×１０$^{-9}$から約１×１０$^{-10}$Ｍ、約１×１０$^{-10}$から約１×１０$^{-11}$Ｍおよび約１０$^{-11}$から約１０$^{-12}$Ｍからなる群から選択されるＥＣ$_{50}$を用いて実証され得る。別の実施形態において、結合タンパク質のＰＧＥ$_2$への結合は、^{3}Ｈ標識ＰＧＥ$_2$ベースラジオイムノアッセイにおいて、約１×１０$^{-6}$から約１×１０$^{-7}$Ｍ、約１×１０$^{-7}$から約１×１０$^{-8}$Ｍ、約１×１０$^{-8}$から約１×１０$^{-9}$Ｍ、約１×１０$^{-9}$から約１×１０$^{-10}$Ｍ、約１×１０$^{-10}$から約１×１０$^{-11}$Ｍ、および約１０$^{-11}$から約１０$^{-12}$からなる群から選択されるＫ$_D$を用いて実証される。別の実施形態において、結合タンパク質のＰＧＥ$_2$への結合は、その受容体ＥＰ４を通じて媒介されるＰＧＥ$_2$誘発カルシウム流入が結合タンパク質のＰＧＥ$_2$への結合により抑制されるＦＬＩＰＲにおいて、約１×１０$^{-6}$から約１×１０$^{-7}$Ｍ、約１×１０$^{-7}$から約１×１０$^{-8}$Ｍ、約１×１０$^{-8}$から約１×１０$^{-9}$Ｍ、約１×１０$^{-9}$から約１×１０$^{-10}$Ｍ、約１×１０$^{-10}$から約１×１０$^{-11}$Ｍおよび約１０$^{-11}$から約１０$^{-12}$からなる群から選択されるＩＣ$_{50}$を用いて実証される。
【００１９】
一実施形態において、抗体は、ＦＡＣＳベース受容体結合アッセイにおいて細胞表面のＥＰ１、ＥＰ２、ＥＰ３および／もしくはＥＰ４受容体へのビオチン化ＰＧＥ$_2$の結合を阻害し、または抗体は、ＥＬＩＳＡベース受容体結合アッセイにおいて、約１×１０$^{-6}$

から約１×１０$^{-7}$Ｍ、約１×１０$^{-7}$から約１×１０$^{-8}$Ｍ、約１×１０$^{-8}$から約１×１０$^{-9}$Ｍ、約１×１０$^{-9}$から約１×１０$^{-10}$Ｍ、約１×１０$^{-10}$から約１×１０$^{-11}$Ｍおよび約１０$^{-11}$から約１０$^{-12}$のＩＣ$_{50}$で、受容体発現細胞を使用して作製された膜調製物上のＥＰ１、ＥＰ２、ＥＰ３および／もしくはＥＰ４受容体へのビオチン化ＰＧＥ$_2$の結合を阻害し、または抗体は、^{3}Ｈ　ＰＧＥ$_2$ベースラジオイムノアッセイにおいて、約１×１０$^{-6}$から約１×１０$^{-7}$Ｍ、約１×１０$^{-7}$から約１×１０$^{-8}$Ｍ、約１×１０$^{-8}$から約１×１０$^{-9}$Ｍ、約１×１０$^{-9}$から約１×１０$^{-10}$Ｍ、約１×１０$^{-10}$から約１×１０$^{-11}$Ｍおよび約１０$^{-11}$から約１０$^{-12}$のＩＣ$_{50}$で、細胞表面上のもしくは膜調製物上のＥＰ１、ＥＰ２、ＥＰ３および／もしくはＥＰ４への^{3}Ｈ－ＰＧＥ$_2$の結合を阻害し、ならびに／または抗体は、ＥＰ４媒介ＦＬＩＰＲアッセイにおいて、約１×１０$^{-6}$から約１×１０$^{-7}$Ｍ、約１×１０$^{-7}$から約１×１０$^{-8}$Ｍ、約１×１０$^{-8}$から約１×１０$^{-9}$Ｍ、約１×１０$^{-9}$から約１×１０$^{-10}$Ｍ、約１×１０$^{-10}$から約１×１０$^{-11}$Ｍおよび約１０$^{-11}$から約１０$^{-12}$のＩＣ$_{50}$でＰＧＥ$_2$誘発カルシウム流入を抑制する。一実施形態において、細胞表面ベース受容体結合アッセイにおいてまたはラジオイムノアッセイベース受容体結合アッセイにおいて、抗体またはこの抗原結合断片はＰＧＥ$_2$に結合して、１００ｎＭの濃度で約７０－１００％、その受容体のうちの少なくとも１つへのＰＧＥ$_2$の結合を阻害する。

【００２０】

一実施形態において、抗体は１９Ｃ９、４Ｆ１０、１５Ｆ１０、Ｋ１Ｂ、Ｋ７Ｈ、Ｋ３Ａ、Ｌ１１、Ｌ２１、２Ｂ５－７．０、２Ｂ５－８．０もしくは２Ｂ５－９．０またはこれらのバリアントである。一実施形態において、バリアントは、Ｈｕ２Ｂ５．Ｐ１またはＨｕ２Ｂ５．Ｐ２などのヒト化バリアントである。

【００２１】

別の態様において、本発明は、カラゲナン誘発齧歯類足浮腫モデルにおいて、ＰＧＥ$_2$に結合して、足浮腫を約１０％、２０％、３０％、４０％、５０％、６０％、７０％、８０％、９０％または１００％抑制する単離された抗体、またはこの抗原結合断片を提供する。特定の実施形態において、抗体は、カラゲナン誘発齧歯類足浮腫モデルにおいて、足浮腫を約１０％より多く抑制する。

【００２２】

別の態様において、本発明は、齧歯類コラーゲン誘発関節炎モデルにおいて、ＰＧＥ$_2$に結合して、足腫脹または平均関節炎スコアーを約１０％、２０％、３０％、４０％、５０％、６０％、７０％、８０％、９０％または１００％抑制する単離された抗体、またはこの抗原結合断片を提供する。特定の実施形態において、抗体は、齧歯類コラーゲン誘発関節炎モデルにおいて、足腫脹または平均関節炎スコアーを１０％より多く抑制する。

【００２３】

別の態様において、本発明は、カラゲナン誘発齧歯類足浮腫モデルにおいて、ＰＧＥ$_2$に結合して、足浮腫を約１０％、２０％、３０％、４０％、５０％、６０％、７０％、８０％、９０％または１００％抑制する単離された抗体、またはこの抗原結合断片を提供する。特定の実施形態において、抗体は、カラゲナン誘発齧歯類足浮腫モデルにおいて、足浮腫を約１０％より多く抑制する。

【００２４】

別の態様において、本発明は、齧歯類コラーゲン誘発関節炎モデルにおいて、ＰＧＥ$_2$に結合して、足腫脹または平均関節炎スコアーを約１０％、２０％、３０％、４０％、５０％、６０％、７０％、８０％、９０％または１００％抑制する単離された抗体、またはこの抗原結合断片を提供する。特定の実施形態において、抗体は、齧歯類コラーゲン誘発関節炎モデルにおいて、足腫脹または平均関節炎スコアーを１０％より多く抑制する。

【００２５】

別の実施形態において、本発明の結合タンパク質は、ＰＧＥ$_2$に対してラジオイムノアッセイにより測定される最大で約１０$^{-3}$ｓ$^{-1}$、最大で約１０$^{-4}$ｓ$^{-1}$、最大で約１０$^{-5}$ｓ$^{-1}$、または最大で約１０$^{-6}$ｓ$^{-1}$の解離速度定数（Ｋ$_{off}$）を有する。好

ましくは、本発明の結合タンパク質は、PGE_2に対してラジオイムノアッセイにより測定される約$10^{-3}s^{-1}$から約$10^{-4}s^{-1}$の、約$10^{-4}s^{-1}$から約$10^{-5}s^{-1}$の、または約$10^{-5}s^{-1}$から約$10^{-6}s^{-1}$の解離速度定数（K_{off}）を有する。

【００２６】

別の実施形態において、本発明の結合タンパク質は、ラジオイムノアッセイにより決定される、最大で約10^{-6}M、最大で約10^{-7}M、最大で約10^{-8}M、最大で約10^{-9}M、最大で約10^{-10}M、最大で約10^{-11}M、最大で約10^{-12}M、または最大で約10^{-13}MのPGE_2に対する解離定数（K_D）を有する。好ましくは、本発明の結合タンパク質は、約10^{-7}Mから約10^{-8}Mの、約10^{-8}Mから約10^{-9}Mの、約10^{-9}Mから約10^{-10}Mの、約10^{-10}から約10^{-11}Mの、約10^{-11}Mから約10^{-12}Mの、または約10^{-12}Mから約10^{-13}MのPGE_2に対する解離定数（K_D）を有する。本発明の一態様は、本発明の少なくとも１つのPGE_2結合タンパク質に少なくとも１つのPGE_2抗イディオタイプ抗体を提供する。抗イディオタイプ抗体には、本発明の結合タンパク質中に取り込まれることができる、重鎖もしくは軽鎖またはそのリガンド結合部分の少なくとも１つの相補性決定領域（ＣＤＲ）、重鎖または軽鎖可変領域、重鎖または軽鎖定常領域、フレームワーク領域またはそのいずれかの一部など（これらに限定されない。）、免疫グロブリン分子の少なくとも一部を含むいずれかのタンパク質またはペプチド含有分子が含まれる。

【００２７】

別の態様において、本発明は、プロスタグランジンE_2に結合し、細胞表面ベース受容体結合アッセイにおいて、約1×10^{-6}から1×10^{-7}M、1×10^{-7}から1×10^{-8}M、1×10^{-8}から1×10^{-9}M、10^{-9}から10^{-10}M、1×10^{-10}から1×10^{-11}Mおよび10^{-11}から10^{-12}Mからなる群から選択されるIC_{50}で、またはＥＬＩＳＡベース受容体結合アッセイにおいて、約1×10^{-6}から1×10^{-7}M、1×10^{-7}から1×10^{-8}M、1×10^{-8}から1×10^{-9}M、1×10^{-9}から10^{-10}M、1×10^{-10}から1×10^{-11}Mおよび10^{-11}から10^{-12}Mからなる群から選択されるIC_{50}で、Ｅ１、Ｅ２、Ｅ３およびＥ４受容体のうちの少なくとも１つへのプロスタグランジンE_2の結合を阻害する単離された抗体またはこの抗原結合断片を提供する。

【００２８】

別の実施形態において、抗体またはこの抗原結合断片は、Ｅ１、Ｅ２、Ｅ３およびＥ４受容体のうちの少なくとも１つを発現している細胞または発現している細胞膜調製物を使用する細胞表面ベース受容体結合アッセイにおいてまたは$^3H-PGE_2$ベースラジオイムノアッセイにおいて、プロスタグランジンE_2に結合し、Ｅ１、Ｅ２、Ｅ３およびＥ４受容体のうちの少なくとも１つへのプロスタグランジンE_2の結合を約１００ｎＭの濃度で約７０－１００％阻害する。一実施形態において、抗体は、１９Ｃ９、４Ｆ１０、１５Ｆ１０、Ｋ１Ｂ、Ｋ７Ｈ、Ｋ３Ａ、Ｌ１１、Ｌ２１、２Ｂ５－７．０、２Ｂ５－８．０および２Ｂ５－９．０からなる群から選択される。別の実施形態において、抗体またはこの抗原結合断片は、プロスタグランジンE_2を中和するなどの、プロスタグランジンE_2の生物学的機能を調節することが可能である。抗体またはこの抗原結合断片は、免疫グロブリン分子、モノクローナル抗体、キメラ抗体、ＣＤＲ移植された抗体、ヒト化抗体、Ｆａｂ、Ｆａｂ’、Ｆ（ａｂ’）２、Ｆｖ、ジスルフィド連結Ｆｖ、ｓｃＦｖ、単一ドメイン抗体、ダイアボディ、多重特異的抗体、二重特異的抗体、および二特異的抗体からなる群から選択される。一実施形態では、抗体またはこの抗原結合断片はヒト化抗体である。別の実施形態において、抗体は、Ｈｕ２Ｂ５．Ｐ１およびＨｕ２Ｂ５．Ｐ２からなる群から選択される。本発明は、抗体またはこの抗原結合断片を含む医薬組成物および医薬として許容できる担体も提供する。一実施形態では、プロスタグランジンE_2活性が有害である障害を治療するための少なくとも１つの追加の治療剤をさらに含む。

【００２９】

別の態様において、本発明は、非ヒト動物をプロスタグランジンＥ$_2$－サイログロブリンで免疫し、抗プロスタグランジンＥ$_2$抗体を含む体液または器官を収集し、抗プロスタグランジンＥ$_2$抗体を単離する工程を含む、プロスタグランジンＥ$_2$に結合する抗体またはこの断片を作製する方法を提供する。

【００３０】

別の態様において、本発明は、配列番号５４－５９からなる群から選択されるアミノ酸配列を含む少なくとも１つのＣＤＲ領域を含む、プロスタグランジンＥ$_2$に結合することが可能である抗原結合ドメインを含むヒト化抗体を提供する。別の実施形態において、本発明は、配列番号５４－５９からなる群から選択されるアミノ酸配列に少なくとも約６０％、少なくとも約６５％、少なくとも約７０％、少なくとも約７５％、少なくとも約８０％、少なくとも約８５％、少なくとも約９０％、少なくとも約９５％、または少なくとも約９８％相同であるアミノ酸配列を含む少なくとも１つのＣＤＲ領域を含む抗原結合ドメインを含むヒト化抗体を提供する。一実施形態において、ヒト化抗体は、配列番号７８、７９、８０および８１からなる群から選択されるアミノ酸配列を含む。

【００３１】

一態様において、本発明は、ＰＧＥ$_2$に結合することが可能である結合タンパク質を提供し、前記抗原結合ドメインは、ＣＤＲ－Ｈ１：ＧＹＴＦＴＫＹＷＬＧ（配列番号５４）、ＣＤＲ－Ｈ２：ＤＩＹＰＧＹＤＹＴＨＹＮＥＫＦＫＤ（配列番号５５）、ＣＤＲ－Ｈ３：ＳＤＧＳＳＴＹ（配列番号５６）、ＣＤＲ－Ｌ１：ＴＳＳＱＮＩＶＨＳＮＧＮＴＹＬＥ（配列番号５７）、ＣＤＲ－Ｌ２：ＫＶＳＮＲＦＳＧ（配列番号５８）、ＣＤＲ－Ｌ３：ＦＱＶＳＨＶＰＹＴ（配列番号５９）からなる群から選択されるアミノ酸配列を含む少なくとも１つのＣＤＲを含む。

【００３２】

別の実施形態において、本発明は、配列番号６、７、８、１０、１１、１２、１４、１５、１６、１８、１９、２０、２２、２３、２６、２７、２８、３０、３１、３２、３４、３５、３７、３８および３９からなる群から選択されるアミノ酸配列を含む少なくとも１つのＣＤＲを含む抗原結合ドメインを含む結合タンパク質またはこの断片を提供する。別の実施形態において、結合タンパク質またはこの断片は、配列番号５、１３、２１、２５、３３、４０、４２および４４からなる群から選択されるアミノ酸配列を含む少なくとも１つのＶＨ領域を含む抗原結合ドメインを含む。さらに別の実施形態において、結合タンパク質またはこの断片は、配列番号９、１７、２４、２９、３６、４１、４３および４５からなる群から選択されるアミノ酸配列を含む少なくとも１つのＶＬ領域を含む抗原結合ドメインを含む。さらに別の実施形態において、結合タンパク質またはこの断片は、配列番号５４－５９からなる群から選択されるアミノ酸配列を含む少なくとも１つのＣＤＲ領域を含む抗原結合ドメインを含む。

【００３３】

一実施形態において、結合タンパク質は、例えば、配列番号６、７および８；配列番号１４、１５および１６；配列番号１４、２２および２３；配列番号２６、２７および２８および３２；配列番号２６、３４および３５；ならびに配列番号５４、５５および５６からなる群から選択されるＶＨ　ＣＤＲセットから選択される少なくとも３つのＣＤＲを含む。別の実施形態において、上記少なくとも３つのＣＤＲは、配列番号１０、１１および１２；配列番号１７、１８および１９；配列番号３０、３１および３２；配列番号３７、３８および３９；配列番号４２、４３および４４；ならびに配列番号５７、５８および５９からなる群から選択されるＶＬ　ＣＤＲセットから選択される。さらに別の実施形態において、上記少なくとも３つのＣＤＲは、配列番号５４、５５および５６のアミノ酸配列のＶＨ　ＣＤＲセット、ならびに／または配列番号５７、５８および５９のアミノ酸配列のＶＬ　ＣＤＲセットを含む。

【００３４】

別の実施形態において、結合タンパク質は、例えば、配列番号６、７、８および配列番号１０、１１、１２；配列番号１４、１５、１６および配列番号１８、１９、２０；配列

番号１４、２２、２３および配列番号１０、１１、１２；配列番号２６、２７、２８および配列番号３０、３１、３２；ならびに配列番号２６、３４、３５および配列番号３７、３８、３９からなる群から選択される少なくとも２つの可変ドメインＣＤＲセットを含む。

【００３５】

別の実施形態において、本発明の結合タンパク質は、配列番号５および配列番号９；配列番号１３および配列番号１７；配列番号２１および配列番号２４；配列番号２５および配列番号２９；配列番号３３および配列番号３６；配列番号４０および配列番号４１；配列番号４２および配列番号４３；ならびに配列番号４４および配列番号４５からなる群から選択されるアミノ酸配列を有する２つの可変ドメインを含む。別の実施形態において、上記２つの可変ドメインは、配列番号６０および配列番号６１；配列番号６２および配列番号６３；配列番号６４および配列番号６５；配列番号６６および配列番号６７；配列番号６８および配列番号６９；配列番号７０および配列番号７１；配列番号７２および配列番号７３；配列番号７４および配列番号７５；ならびに配列番号７６および配列番号７７からなる群から選択されるアミノ酸配列を有する。別の実施形態では、上記２つの可変ドメインは、配列番号７８および配列番号７９；ならびに配列番号８０および配列番号８１からなる群から選択されるアミノ酸配列を有する。

【００３６】

別の態様において、本発明は、プロスタグランジンE_2に結合するヒト化抗体またはこの断片を提供し、上記ヒト化抗体は、配列番号６０、６２、６４、６６、６８、７０、７２、７４、７６、７８および８０からなる群から選択されるアミノ酸配列を含む少なくとも１つのＶＨ領域を含む。別の実施形態において、ヒト化抗体またはこの断片は、配列番号６１、６３、６５、６７、６９、７１、７３、７５、７７、７９および８１からなる群から選択されるアミノ酸配列を含む少なくとも１つのＶＬ領域を含む。さらに別の実施形態において、上記少なくとも１つのＶＨ領域または少なくとも１つのＶＬ領域は、少なくとも１つのアミノ酸置換を含むヒトアクセプターフレームワーク配列を含み、上記フレームワーク配列のアミノ酸配列は、ヒトアクセプターフレームワーク配列の配列に少なくとも６５％同一である。例えば、ヒトアクセプターフレームワークは、キーとなる残基に少なくとも１つのフレームワークアミノ酸置換を含んでいてもよく、上記キーとなる残基は、ＣＤＲに隣接する残基、グリコシル化部位残基、希少残基、プロスタグランジンE_2と相互作用をすることが可能である残基、ＣＤＲと相互作用をすることが可能である残基、カノニカル残基、重鎖可変領域と軽鎖可変領域間の接触残基、バーニアゾーン内の残基、およびＣｈｏｔｈｉａ定義可変重鎖ＣＤＲ１とＫａｂａｔ定義第一重鎖フレームワーク間で重複している領域の残基からなる群から選択される。

【００３７】

別の実施形態において、結合タンパク質は、ヒトアクセプターフレームワークをさらに含む。

【００３８】

本発明の一実施形態において、ヒト重鎖および軽鎖受容体配列は、表７および表８（実施例４．２．１）に記載の配列から選択される。他のヒト重鎖および軽鎖受容体配列は当技術分野では公知であり、本発明と一緒に使用するのに適している。一実施形態において、結合タンパク質は、PGE_2に結合することが可能であるＣＤＲ移植された抗体またはこの抗原結合部分である。別の実施形態において、結合タンパク質は、PGE_2に結合することが可能であるヒト化抗体またはこの抗原結合部分である。一実施形態において、ＣＤＲ移植された抗体またはヒト化抗体、またはこれらの抗原結合部分は、本明細書に開示される１つまたはそれ以上のＣＤＲ、例えば、３つまたはそれ以上、４つまたはそれ以上、５つまたはそれ以上または６つまたはそれ以上のＣＤＲを含む。別の実施形態において、ＣＤＲ移植された抗体またはヒト化抗体、またはこれらの抗原結合部分は、ヒトアクセプターフレームワークを含む。前記ヒトアクセプターフレームワークは、ヒト免疫グロブリンのどんなアクセプターフレームワークでも可能である。特定の実施形態において、ヒ

トアクセプターフレームワークは、本明細書に開示されるヒトアクセプターフレームワークのうちのいずれか１つである。一実施形態において、ＣＤＲは、ヒトアクセプターフレームワークのヒト抗体可変ドメインに組み込まれている。一実施形態では、ヒト抗体可変ドメインは、コンセンサスヒト可変ドメインである。別の実施形態において、ヒトアクセプターフレームワークは、キーとなる残基に少なくとも１つのフレームワーク領域アミノ酸置換を含み、上記キーとなる残基は、ＣＤＲに隣接する残基；グリコシル化部位残基；希少残基；PGE_2と相互作用をすることが可能である残基；ＣＤＲと相互作用をすることが可能である残基；カノニカル残基；重鎖可変領域と軽鎖可変領域間の接触残基；バーニアゾーン内の残基；およびＣｈｏｔｈｉａ定義可変重鎖ＣＤＲ１とＫａｂａｔ定義第一重鎖フレームワーク間で重複している領域の残基からなる群から選択される。一実施形態において、ヒトアクセプターフレームワークは、少なくとも１つのフレームワーク領域アミノ酸置換を含み、フレームワークのアミノ酸配列は、上記ヒトアクセプターフレームワークの配列に少なくとも６５％同一であり、前記ヒトアクセプターフレームワークに同一の少なくとも７０アミノ酸残基を含む。一実施形態において、キーとなる残基におけるフレームワーク領域アミノ酸置換は、重鎖可変領域の位置４８のＭ（ヒト）からＩ（マウス）、位置６８のＶ（ヒト）からＡ（マウス）、位置７０のＭ（ヒト）からＬ（マウス）および位置７２のＴ（ヒト）からＶ（マウス）、ならびに軽鎖可変領域の位置２のＩ（ヒト）からＶ（マウス）および位置３のＶ（ヒト）からＬ（マウス）からなる群から選択される。

【００３９】

別の態様において、本発明は、結合タンパク質およびリンカーポリペプチドおよび／または免疫グロブリン定常ドメインのうちのいずれか１つを含む抗体構築物を提供する。一実施形態において、抗体構築物は、免疫グロブリン分子、モノクローナル抗体、キメラ抗体、ＣＤＲ移植された抗体、ヒト化抗体、Ｆａｂ、Ｆａｂ’、Ｆ（ａｂ’）２、Ｆｖ、ジスルフィド連結Ｆｖ、ｓｃＦｖ、単一ドメイン抗体、ダイアボディ、多重特異的抗体、二重特異的抗体および二特異的抗体からなる群から選択される。一実施形態において、抗体構築物は、ヒトＩｇＭ定常ドメイン、ヒトＩｇＧ１定常ドメイン、ヒトＩｇＧ２定常ドメイン、ヒトＩｇＧ３定常ドメイン、ヒトＩｇＧ４定常ドメイン、ヒトＩｇＥ定常ドメインおよびヒトＩｇＡ定常ドメインからなる群から選択される重鎖免疫グロブリン定常ドメインを含む。一実施形態において、抗体構築物は、配列番号１；配列番号２；配列番号３；配列番号４；および配列番号５からなる群から選択されるアミノ酸配列を有する免疫グロブリン定常ドメインを含む。

【００４０】

別の実施形態において、本発明は、抗PGE_2抗体構築物と、免疫接着分子、造影剤、治療剤および細胞毒性剤からなる群から選択される因子を含む抗PGE_2抗体連結体を提供する。一実施形態において、上記因子は、放射性標識、酵素、蛍光標識、発光標識、生物発光標識、磁気標識およびビオチンからなる群から選択される造影剤である。別の実施形態では、造影剤は、例えば、^{3}H、^{14}C、^{35}S、^{90}Y、^{99}Tc、^{111}In、^{125}I、^{131}I、^{177}Lu、^{166}Hoおよび^{153}Smからなる群から選択される放射性標識である。別の実施形態において、因子は、代謝抑制剤、アルキル化剤、抗生物質、成長因子、サイトカイン、抗血管新生剤、抗有糸分裂剤、アントラサイクリン、トキシンおよびアポトーシス剤からなる群から選択される治療剤または細胞毒性剤である。

【００４１】

別の実施形態において、結合タンパク質はグリコシル化されている。特定の実施形態において、PGE_2結合タンパク質はヒトグリコシル化パターンを有する。

【００４２】

別の実施形態において、PGE_2結合タンパク質、抗体構築物または抗体連結体は結晶化されている（例えば、結晶として存在する。）。一実施形態において、上記結晶は無担体医薬徐放結晶である。別の実施形態において、結晶化結合タンパク質、結晶化抗体構築物または結晶化抗体連結体は、これらの可溶性対応物よりも大きなインビボ半減期を有す

る。別の実施形態において、結晶化結合タンパク質、結晶化抗体構築物または結晶化抗体連結体は、結晶化後も生物学的活性を保持している。

【００４３】

本発明の一態様は、PGE_2が可能である結合タンパク質を含むＤＶＤ結合タンパク質に関する。好ましくは、ＤＶＤ結合タンパク質は、２つのPGE_2結合部位に結合する、またはPGE_2と第二の標的に結合することが可能である。第二の標的は、ＣＳＦ１（ＭＣＳＦ）、ＣＳＦ２（ＧＭ－ＣＳＦ）、ＣＳＦ３（ＧＣＳＦ）、ＦＧＦ２、ＩＦＮα１、ＩＦＮβ１、ＩＦＮγ、ヒスタミンとヒスタミン受容体、ＩＬ－１α、ＩＬ－１β、ＩＬ－２、ＩＬ－３、ＩＬ－４、ＩＬ－５、ＩＬ－６、ＩＬ－７、ＩＬ－８、ＩＬ－９、ＩＬ－１０、ＩＬ－１１、ＩＬ－１２α、ＩＬ－１２β、ＩＬ－１４、ＩＬ－１５、ＩＬ－１６、ＩＬ－１７、ＩＬ－１８、ＩＬ－１９、ＫＩＴＬＧ、ＰＤＧＦＢ、ＩＬ－２Ｒβ、ＩＬ－４Ｒ、ＩＬ－５Ｒα、ＩＬ－８Ｒα、ＩＬ－８Ｒβ、ＩＬ－１２Ｒβ１、ＩＬ－１２Ｒβ２、ＩＬ－１３Ｒα１、ＩＬ－１３Ｒα２、ＩＬ－１８Ｒ１、ＴＳＬＰ、ＣＣＬ１、ＣＣＬ２、ＣＣＬ３、ＣＣＬ４、ＣＣＬ５、ＣＣＬ７、ＣＣＬ８、ＣＣＬ１３、ＣＣＬ１７、ＣＣＬ１８、ＣＣＬ１９、ＣＣＬ２０、ＣＣＬ２２、ＣＣＬ２４、ＣＸ３ＣＬ１、ＣＸＣＬ１、ＣＸＣＬ２、ＣＸＣＬ３、ＸＣＬ１、ＣＣＲ２、ＣＣＲ３、ＣＣＲ４、ＣＣＲ５、ＣＣＲ６、ＣＣＲ７、ＣＣＲ８、ＣＸ３ＣＲ１、ＧＰＲ２、ＸＣＲ１、ＦＯＳ、ＧＡＴＡ３、ＪＡＫ１、ＪＡＫ３、ＳＴＡＴ６、ＴＢＸ２１、ＴＧＦＢ１、ＴＮＦＳＦ６、ＹＹ１、ＣＹＳＬＴＲ１、ＦＣＥＲ１Ａ、ＦＣＥＲ２、ＬＴＢ４Ｒ、ＴＢ４Ｒ２、ＬＴＢＲおよびキチナーゼからなる群から選択される。一実施形態において、ＤＶＤ結合タンパク質は、PGE_2とＩＬ－１β；PGE_2とＩＬ－９；PGE_2とＩＬ－４；PGE_2とＩＬ－５；PGE_2とＩＬ－２５；PGE_2とＴＡＲＣ；PGE_2とＭＤＣ；PGE_2とＭＩＦ；PGE_2とＴＧＦ－β；PGE_2とＬＨＲアゴニスト；PGE_2とＣＬ２５；PGE_2とＳＰＲＲ２ａ；PGE_2とＳＰＲＲ２ｂ；またはPGE_2とＡＤＡＭ８を識別することが可能である。一実施形態において、ＤＶＤ結合タンパク質はPGE_2とＴＮＦαに結合することが可能である。

【００４４】

別の態様において、本発明は、PGE_2結合タンパク質、抗体構築物または抗体連結体をコードする単離された核酸を提供する。追加の実施形態は、本発明の単離された核酸を含むベクターを提供し、上記ベクターは、ｐｃＤＮＡ；ｐＴＴ（Ｄｕｒｏｃｈｅｒ ｅｔ ａｌ．、Ｎｕｃｌｅｉｃ Ａｃｉｄｓ Ｒｅｓｅａｒｃｈ ２００２、Ｖｏｌ３０、Ｎｏ．２）；ｐＴＴ３（追加の複数のクローニング部位のあるｐＴＴ）；ｐＥＦＢＯＳ（Ｍｉｚｕｓｈｉｍａ、Ｓ．ａｎｄ Ｎａｇａｔａ、Ｓ．，（１９９０）Ｎｕｃｌｅｉｃ Ａｃｉｄｓ Ｒｅｓｅａｒｃｈ Ｖｏｌ１８、Ｎｏ．１７）；ｐＢＶ；ｐＪＶ；ｐＡ２およびｐＢＪからなる群から選択される。

【００４５】

別の態様において、本発明は、本発明のベクターで形質転換された宿主細胞を提供する。一実施形態において、宿主細胞は原核細胞（例えば、Ｅ．コリ（Ｅ．ｃｏｌｉ））である。別の実施形態において、宿主細胞は真核細胞、例えば、原生細胞、動物細胞、トリ細胞、植物細胞、真菌細胞（例えば、サッカロマイセス・セレビシエ（Ｓａｃｃｈａｒｏｍｙｃｅｓ ｃｅｒｅｖｉｓｉａｅ）などの酵母細胞）、哺乳動物細胞（例えば、ＣＨＯ、ＣＯＳおよびＨＥＫ２９３）、昆虫細胞（例えば、Ｓｆ９）である。

【００４６】

別の態様において、本発明は、PGE_2に結合する結合タンパク質を産生するのに十分な条件下で本発明の宿主細胞のいずれか１つを培地中で培養することを含む、PGE_2に結合するタンパク質を産生する方法を提供する。別の実施形態は、本発明の方法に従って産生される結合タンパク質を提供する。

【００４７】

別の態様において、本発明は、結晶化PGE_2結合タンパク質、結晶化抗体構築物もしくは結晶化抗体連結体、成分、および／または少なくとも１つのポリマー担体を含む製剤

を提供する。一実施形態において、ポリマー担体は、ポリ（アクリル酸）、ポリ（シアノアクリル酸）、ポリ（アミノ酸）、ポリ（無水物）、ポリ（デプシペプチド）、ポリ（エステル）、ポリ（乳酸）、ポリ（乳酸コグリコール酸）またはＰＬＧＡ、ポリ（ｂ－ヒドロキシ酪酸）、ポリ（カプロラクトン）、ポリ（ジオキサノン）、ポリ（エチレングリコール）、ポリ（（ヒドロキシプロピル）メタクリルアミド）、ポリ［（オルガノ）ホスファゼン］、ポリ（オルトエステル）、ポリ（ビニルアルコール）、ポリ（ビニルピロリドン）、無水マレイン酸－アルキルビニルエーテルコポリマー、プルロニックポリオール、アルブミン、アルギン酸、セルロースおよびセルロース誘導体、コラーゲン、フィブリン、ゼラチン、ヒアルロン酸、オリゴ糖、グリカミノグリカン、硫酸多糖類、ならびにその混合物および／またはコポリマーからなる群から選択されるポリマーである。別の実施形態において、成分は、アルブミン、ショ糖、トレハロース、ラクチトール、ゼラチン、ヒドロキシプロピル－β－シクロデキストリン、メトキシポリエチレングリコールおよびポリエチレングリコールからなる群から選択される。

【００４８】

別の態様において、本発明は、PGE_2結合タンパク質、抗体構築物、連結体または組成物の有効量を対象に投与する工程を含む、対象を治療するための方法を提供する。一実施形態において、対象は、炎症性疾患または本明細書に記載される他の障害などに罹っているヒトなどの哺乳動物である。一実施形態において、本発明は、（ａ）関節リウマチ、アレルギー性関節炎、若年性関節炎、強直性脊椎炎および変形性関節炎；（ｂ）ギランバレー症候群、感染性単核球症、他のウイルス性リンパ節症およびヘルペスウイルスによる感染症などのウイルスにより誘発されるある種の疾患；（ｃ）多発性硬化症および他の脱髄疾患；（ｄ）溶血性貧血および血小板減少症などの血液障害；（ｅ）糖尿病、アジソン病、特発性副甲状腺機能低下症および慢性リンパ性甲状腺炎などの内分泌学的障害；（ｆ）全身性エリテマトーデスなどのコラーゲン障害；ならびに（ｇ）無月経、不妊症、反復流産および子癇などの生殖障害；ならびに（ｈ）頭頸部腫瘍、肺癌、胃癌、前立腺癌、膵癌等などの腫瘍；ならびに（ｉ）クローン病および潰瘍性大腸炎を含む炎症性腸疾患；ならびに（ｊ）変形性関節炎および他の障害に伴う疼痛；ならびに（ｋ）加齢性黄斑変性症（ＡＭＤ）などの視覚障害の症状などのそのような疾患または障害の１つまたはそれ以上の症状を軽減する、寛解するまたは予防する方法を提供する。

【００４９】

他の態様において、本発明は、PGE_2結合タンパク質、抗体、構築物、連結体または組成物および医薬として許容される担体を含む医薬組成物を提供する。一実施形態において、医薬として許容される担体は、結合タンパク質の吸収または分散を増加するのに有用なアジュバンドとして機能する。一実施形態において、アジュバンドはヒアルロニダーゼである。医薬組成物は、PGE_2活性が有害である障害を診断するまたは治療するための少なくとも１つの追加の因子、例えば、治療剤、造影剤；細胞毒性剤；血管新生抑制剤（例えば、抗ＶＥＧＦ抗体またはＶＥＧＦトラップ）；キナーゼ阻害剤（例えば、ＫＤＲまたはＴＩＥ－２阻害剤）；共刺激分子遮断剤（例えば、抗Ｂ７．１、抗Ｂ７．２、ＣＴＬ４－Ｉｇまたは抗ＣＤ２０）；接着分子遮断剤（例えば、抗ＬＦＡ－１、抗Ｅ／Ｌセレクチンまたは小分子阻害物質）；抗サイトカイン抗体またはこの機能的断片（例えば、抗ＩＬ－１８、抗ＴＮＦまたは抗ＩＬ－６／サイトカイン受容体抗体）；メトトレキサート；シクロスポリン；ラパマイシン；ＦＫ５０６；検出可能標識またはレポーター；ＴＮＦアンタゴニスト；抗リウマチ薬；筋肉弛緩剤；麻酔薬；非ステロイド系抗炎症薬（ＮＳＡＩＤ）；鎮痛剤；麻酔；鎮静剤；局所麻酔；神経筋肉遮断剤；抗微生物剤；抗乾癬剤；コルチコステロイド；アナボリックステロイド；エリスロポエチン；免疫化；イムノグロブリン；免疫抑制剤；成長ホルモン；ホルモン置換薬：放射性医薬；抗うつ剤；抗精神病薬；刺激物質；喘息薬；βアゴニスト；吸引用ステロイド；経口ステロイド；エピネフリンまたはこの類似体；サイトカインおよびサイトカインアンタゴニストからなる群から選択される因子をさらに含んでいてよい。

【００５０】

別の態様において、本発明は、PGE_2活性が抑制されるおよび／または減少されるように、PGE_2をPGE_2結合タンパク質に接触させることを含む、PGE_2活性を抑制するおよび／または減少するための方法を提供する。一実施形態において、本発明は、対象におけるPGE_2活性が抑制されるおよび／または減少されるように、対象に結合タンパク質を投与することを含む、PGE_2活性が有害である障害に罹っている対象におけるPGE_2活性を抑制するおよび／または減少するための方法を提供する。別の実施形態において、上記方法は、治療が達成されるように本発明のPGE_2結合タンパク質を対象に投与することを含む。

【００５１】

別の態様において、本発明は、対象におけるPGE_2関連障害を治療する（例えば、治癒する、抑制する、寛解する、上記障害の発病を遅延させるもしくは予防するもしくは上記障害の再発を予防する）または上記障害を予防する方法を提供する。上記方法は、PGE_2結合タンパク質（特に、アンタゴニスト）、例えば、抗PGE_2抗体またはこの断片を、PGE_2関連障害を治療するまたは予防するのに十分な量、対象に投与することを含む。PGE_2アンタゴニスト、例えば、抗PGE_2抗体またはこの断片は、単独でまたは他の治療モダリティと組み合わせて対象に投与することが可能である。

【００５２】

一実施形態において、対象は哺乳動物、例えば、１つまたはそれ以上のPGE_2関連障害（例えば、過剰なPGE_2レベルまたは生合成により特徴づけられる）に罹っているヒトである。一実施形態において、本発明は、その方法がPGE_2に特異的な有効量の抗体を対象に投与することを含む、その障害が過剰なPGE_2生合成により特徴づけられ得る対象における炎症性障害および免疫障害を治療するための方法を提供する。本発明に従った方法により治療され得る障害には、過剰なPGE_2合成が関係している自己免疫疾患および炎症性疾患および腫瘍が含まれる。そのような障害には、（ａ）関節リウマチ、アレルギー性関節炎、若年性関節炎、強直性脊椎炎および変形性関節炎；（ｂ）ギランバレー症候群、感染性単核球症、他のウイルス性リンパ節症およびヘルペスウイルスによる感染症などのウイルスにより誘発されるある種の疾患；（ｃ）多発性硬化症および他の脱髄疾患；（ｄ）溶血性貧血および血小板減少症などの血液障害；（ｅ）糖尿病、アジソン病、特発性副甲状腺機能低下症および慢性リンパ性甲状腺炎などの内分泌学的障害；（ｆ）全身性エリテマトーデスなどのコラーゲン障害；ならびに（ｇ）無月経、不妊症、反復流産および子癇などの生殖障害；ならびに（ｈ）頭頸部腫瘍、肺癌、胃癌、前立腺癌、膵癌等などの腫瘍；ならびに（ｉ）クローン病および潰瘍性大腸炎を含む炎症性腸疾患；（ｊ）変形性関節炎および他の障害を伴う疼痛；ならびに（ｋ）加齢性黄斑変性症（ＡＭＤ）などの視覚障害が含まれる。別の態様では、本出願は、インビトロ試料（例えば、血清、血漿、組織、バイオプシーなどの生体試料）におけるPGE_2の存在を検出するための方法を提供する。本方法を使用して、障害、例えば、免疫細胞関連障害を診断することが可能である。上記方法は、（ｉ）試料または対照試料を本明細書に記載される抗PGE_2抗体またはこの断片に接触させること、および（ｉｉ）抗PGE_2抗体またはこの断片と試料または対照試料間の複合体の形成を検出し、対照試料と比べて試料における複合体の形成の統計的に有意な変化が試料中のPGE_2の存在を示していることを含む。

【００５３】

さらに別の態様において、本願は、インビボでのPGE_2の存在を検出するための方法（例えば、対象におけるインビボ画像化）を提供する。本方法を使用して、障害、例えば、PGE_2関連障害を診断することが可能である。上記方法は、（ｉ）抗体または断片のPGE_2への結合を可能にする条件下で、本明細書に記載される抗PGE_2抗体またはこの断片を対象または対照対象に投与すること、および（ｉｉ）抗体または断片とPGE_2間の複合体の形成を検出し、対照対象と比べて対象における複合体の形成の統計的に有意な変化がPGE_2の存在を示していることを含む。

【００５４】

別の態様において、本発明の結合タンパク質は、関節炎、骨関節炎、若年性慢性関節炎

、化膿性関節炎、ライム関節炎、乾癬性関節炎、反応性関節炎、脊椎関節症、全身性紅斑性狼瘡、クローン病、潰瘍性大腸炎、炎症性腸疾患、インシュリン依存性糖尿病、甲状腺炎、喘息、アレルギー性疾患、乾癬、皮膚炎、強皮症、移植片対宿主病、臓器移植拒絶、臓器移植に関連する急性または慢性免疫疾患、サルコイドーシス、アテローム性動脈硬化症、播種性血管内凝固、川崎病、バセドウ病、ネフローゼ症候群、慢性疲労症候群、ウェゲナー肉芽腫症、ヘノッホ・シェーライン紫斑症、腎臓の顕微鏡的血管炎、慢性活動性肝炎、ブドウ膜炎、敗血症性ショック、毒素性ショック症候群、敗血症症候群、悪液質、感染性疾患、寄生性疾患、後天性免疫不全症候群、急性横断性脊髄炎、ハンチントン舞踏病、パーキンソン病、アルツハイマー病、発作、原発性胆汁性肝硬変、溶血性貧血、悪性腫瘍、心不全、心筋梗塞、アジソン病、孤発性の、多内分泌腺機能低下症候群Ｉ型および多内分泌腺機能低下症候群ＩＩ型、シュミット症候群、成人（急性）呼吸促迫症候群、脱毛症、円形脱毛症、血清反応陰性関節炎、関節炎、ライター病、乾癬性関節炎、潰瘍性大腸性関節炎、腸疾患性滑膜炎、クラミジア、エルシニアおよびサルモネラ関連関節炎、脊椎関節症、アテローム性疾患／アテローム性動脈硬化症、アトピー性アレルギー、自己免疫性水疱性疾患、尋常性天疱瘡、落葉状天疱瘡、類天疱瘡、線状ＩｇＡ病、自己免疫性溶血性貧血、クームス陽性溶血性貧血、後天性悪性貧血、若年性悪性貧血、筋痛性脳脊髄炎／ロイヤルフリー病、慢性粘膜皮膚カンジダ症、巨細胞性動脈炎、原発性硬化性肝炎、突発性自己免疫性肝炎、後天性免疫不全症候群、後天性免疫不全関連疾患、Ｂ型肝炎、Ｃ型肝炎、分類不能型免疫不全症（分類不能型原発性低γグロブリン血症）、拡張型心筋症、女性不妊症、卵巣機能不全、早期卵巣機能不全、繊維性肺疾患、突発性間質性肺炎、炎症後間質性肺疾患、間質性肺炎、結合組織疾患関連間質性肺疾患、混合性結合組織疾患関連肺疾患、全身性硬化症関連間質性肺疾患、関節リウマチ関連間質性肺疾患、全身性紅斑性狼瘡関連肺疾患、皮膚筋炎／多発性筋炎関連肺疾患、シェーグレン病関連肺疾患、強直性脊椎炎関連肺疾患、血管炎性びまん性肺疾患（ｖａｓｃｕｌｉｔｉｃ　ｄｉｆｆｕｓｅ　ｌｕｎｇ　ｄｉｓｅａｓｅ）、ヘモシデローシス関連肺疾患、薬物によって誘導された間質性肺疾患、繊維症、放射性繊維症、閉塞性細気管支炎、慢性好酸球性肺炎、リンパ球浸潤性肺疾患、感染後間質性肺疾患、通風関節炎、自己免疫性肝炎、１型自己免疫性肝炎（古典的自己免疫性またはルポイド肝炎）、２型自己免疫性肝炎（抗ＬＫＭ抗体肝炎）、自己免疫媒介性低血糖症、黒色表皮腫を伴うＢ型インシュリン抵抗性、副甲状腺機能低下症、臓器移植に関連する急性免疫疾患、臓器移植に関連する慢性免疫疾患、変形性関節症、原発性硬化性胆管炎、１型乾癬、２型乾癬、特発性白血球減少症、自己免疫性好中球減少症、腎臓病ＮＯＳ、糸球体腎炎、腎臓の顕微鏡的血管炎、ライム病、円板状紅斑性狼瘡、男性不妊症特発性またはＮＯＳ、精子自己免疫、多発性硬化症（すべてのサブタイプ）、交感性眼炎、結合組織疾患に続発する肺高血圧症、グッドパスチャー症候群、結節性多発動脈炎の肺症状、急性リウマチ熱、リウマチ性脊椎炎、スチル病、全身性硬化症、シェーグレン症候群、高安病／動脈炎、自己免疫性血小板減少症、特発性血小板減少症、自己免疫性甲状腺疾患、甲状腺機能亢進症、甲状腺腫自己免疫性甲状腺機能低下症（橋本病）、萎縮性自己免疫性甲状腺機能低下症、原発性粘液水腫（ｐｒｉｍａｒｙ　ｍｙｘｏｅｄｅｍａ）、水晶体起因性ブドウ膜炎、原発性血管炎、白斑急性肝疾患、慢性肝疾患、アルコール性肝硬変、アルコール誘発性肝障害、胆汁うっ滞（ｃｈｏｌｅｏｓａｔａｔｉｓ）、特異体質性肝疾患、薬物誘発性肝炎、非アルコール性脂肪性肝炎、アレルギーおよび喘息、Ｂ群連鎖球菌（ＧＢＳ）感染、精神障害（例えば、うつ病および統合失調症）、Ｔｈ２型およびＴｈ１型によって媒介される疾病、急性および慢性疼痛（疼痛の様々な形態）、ならびに、肺癌、乳癌、胃癌、膀胱癌、大腸癌、膵臓癌、卵巣癌、前立腺癌および腎臓癌および造血性悪性病変（白血病およびリンパ腫）などの癌、無βリポタンパク質血症、先端チアノーゼ、急性および慢性寄生性または感染性プロセス、急性白血病、急性リンパ芽球性白血病（ＡＬＬ）、急性骨髄性白血病（ＡＭＬ）、急性または慢性細菌感染、急性膵炎、急性腎不全、腺癌、心房（ａｅｒｉａｌ）異所性拍動、ＡＩＤＳ認知症複合、アルコール誘発性肝炎、アレルギー性結膜炎、アレルギー性接触性皮膚炎、アレルギー性鼻炎、同種移植拒絶、α－１－アンチトリプシン欠乏症、筋萎縮性側索硬化症、貧血、狭心症、前

角細胞変性、抗ｃｄ３治療、抗リン脂質症候群、抗受容体過敏症反応（ａｎｔｉ－ｒｅｃｅｐｔｏｒ　ｈｙｐｅｒｓｅｎｓｉｔｉｖｉｔｙ　ｒｅａｃｔｉｏｎｓ）、大動脈および動脈瘤、大動脈解離、動脈性高血圧、動脈硬化症、動静脈瘻、運動失調、心房細動（持続的または発作性）、心房粗動、房室ブロック、Ｂ細胞リンパ腫、骨移植拒絶、骨髄移植（ＢＭＴ）拒絶、脚ブロック、バーキットリンパ腫、火傷、心不整脈、心機能不全症候群（ｃａｒｄｉａｃ　ｓｔｕｎ　ｓｙｎｄｒｏｍｅ）、心臓腫瘍、心筋症、心肺バイパス炎症反応、軟骨移植拒絶、小脳皮質変性、小脳疾患、無秩序なまたは多巣性心房頻脈、化学療法関連疾患、慢性骨髄性白血病（ＣＭＬ）、慢性アルコール症、慢性炎症性病変、慢性リンパ性白血病（ＣＬＬ）、慢性閉塞性肺疾患（ＣＯＰＤ）、慢性サリチル酸中毒、結腸直腸癌、うっ血性心不全、結膜炎、接触性皮膚炎、肺性心、冠動脈疾患、クロイツフェルト－ヤコブ病、培養陰性敗血症、嚢胞性繊維症、サイトカイン療法関連疾患、ボクサー脳、脱髄性疾患、デング出血熱、皮膚炎、皮膚科学的症状、糖尿病、真性糖尿病、糖尿病性動脈硬化疾患、瀰漫性レビー小体病、拡張型うっ血性心筋症、大脳基底核の疾患、中年のダウン症候群、中枢神経ドーパミン受容体を遮断する薬物によって誘発された薬物誘発性運動疾患、薬物感受性、湿疹、脳脊髄炎、心内膜炎、内分泌疾患、喉頭蓋炎、エプスタイン－バーウイルス感染、紅痛症、垂体外路および小脳疾患、家族性血球貪食性リンパ組織球症（ｆａｍｉｌｉａｌ　ｈｅｍａｔｏｐｈａｇｏｃｙｔｉｃ　ｌｙｍｐｈｏｈｉｓｔｉｏｃｙｔｏｓｉｓ）、致死的胸腺移植組織拒絶、フリードライヒ失調症、機能的末梢動脈疾患、真菌性敗血症、ガス壊疽、胃潰瘍、糸球体腎炎、いずれかの臓器または組織の移植片拒絶、グラム陰性敗血症、グラム陽性敗血症、細胞内生物に起因する肉芽腫、有毛細胞白血病、ハラーホルデン・スパッツ病、橋本甲状腺炎、枯草熱、心臓移植拒絶、血色素症、血液透析、溶血性尿毒症症候群／血栓溶解血小板減少紫斑病、出血、肝炎（Ａ型）、ヒス束不整脈、ＨＩＶ感染／ＨＩＶ神経障害、ホジキン病、運動過剰疾患、過敏症反応、過敏性肺炎、高血圧、運動低下疾患、視床下部－下垂体－副腎皮質系評価、特発性アジソン病、特発性肺繊維症、抗体媒介性細胞毒性、無力症、乳児脊髄性筋萎縮症、大動脈の炎症、Ａ型インフルエンザ、電離放射線曝露、虹彩毛様体炎／ブドウ膜炎／視神経炎、虚血再灌流障害、虚血性発作、若年性関節リウマチ、若年性脊髄性筋萎縮症、カポジ肉腫、腎移植拒絶、レジオネラ、リーシュマニア症、ハンセン病、皮質脊髄系の病変、脂肪血症（ｌｉｐｅｄｅｍａ）、肝臓移植拒絶、リンパ浮腫（ｌｙｍｐｈｅｄｅｒｍａ）、マラリア、悪性リンパ腫、悪性組織球増殖症、悪性黒色腫、髄膜炎、髄膜炎菌血症（ｍｅｎｉｎｇｏｃｏｃｃｅｍｉａ）、代謝性／特発性疾患、偏頭痛、ミトコンドリア多系疾患（ｍｉｔｏｃｈｏｎｄｒｉａｌ　ｍｕｌｔｉ．ｓｙｓｔｅｍ　ｄｉｓｏｒｄｅｒ）、混合性結合組織病、モノクローナル高ガンマグロブリン血症、多発性骨髄腫、多系統変性（メンセル・デジェリーヌ－トーマス・シャイ－ドレーガーおよびマシャド－ジョセフ）、重症筋無力症、マイコバクテリウム・アビウム・イントラセルラーレ、マイコバクテリウム・チュバキュロシス、骨髄形成異常、心筋梗塞、真菌虚血疾患、上咽頭癌、新生児慢性肺疾患、腎炎、ネフローゼ、神経変性疾患、神経原性Ｉ筋萎縮、好中球減少性発熱、非ホジキンリンパ腫、腹部大動脈およびその分枝の閉塞、閉塞性動脈疾患、ｏｋｔ３療法、精巣炎／精巣上体炎、精巣炎／精管復元術処置、臓器肥大、骨粗鬆症、膵臓移植拒絶、膵癌、腫瘍随伴性症候群／悪性腫瘍の高カルシウム血症、副甲状腺移植拒絶、骨盤内炎症性疾患、通年性鼻炎、心膜疾患、末梢アテローム硬化性疾患、末梢血管疾患、腹膜炎、悪性貧血、ニューモシスチス・カリニ肺炎、肺炎、ＰＯＥＭＳ症候群（多発神経炎、臓器肥大、内分泌疾患、単クローン性γグロブリン血症および皮膚変化症候群（ｓｋｉｎ　ｃｈａｎｇｅｓ　ｓｙｎｄｒｏｍｅ））、灌流後症候群（ｐｏｓｔ　ｐｅｒｆｕｓｉｏｎ　ｓｙｎｄｒｏｍｅ）、ポンプ後症候群（ｐｏｓｔ　ｐｕｍｐ　ｓｙｎｄｒｏｍｅ）、心筋梗塞後開心術症候群、子癇前症、進行性核上性麻痺、原発性肺高血圧、放射線療法、レイノー現象および病、レイノー病、レフサム病、規則的なＱＲＳ幅の狭い頻脈症（ｒｅｇｕｌａｒ　ｎａｒｒｏｗ　ＱＲＳ　ｔａｃｈｙｃａｒｄｉａ）、腎血管性高血圧、再灌流障害、拘束型心筋症、肉腫、強皮症、老年性舞踏病、レビー小体型の老年性認知症、血清反応陰性関節炎、ショック、鎌形赤血球貧血症、皮膚同種異系移植拒絶、皮膚変化症候群、小腸移植拒絶、固形腫

瘍、固有不整脈（ｓｐｅｃｉｆｉｃ　ａｒｒｙｔｈｍｉａｓ）、脊髄性運動失調、脊髄小脳変性、連鎖球菌性筋炎、小脳の構造的病変、亜急性硬化性全脳炎、湿疹、心血管系の梅毒、全身性アナフィラキシー、全身性炎症反応症候群、全身性発症若年性関節リウマチ、Ｔ細胞またはＦＡＢＡＬＬ、毛細血管拡張症、閉塞性血栓血管炎、血小板減少症、毒性、移植、外傷／出血、ＩＩＩ型過敏症反応、ＩＶ型過敏症、不安定狭心症、尿毒症、尿路性敗血症、じんましん、心臓弁膜症、静脈瘤、血管炎、静脈疾患、静脈血栓症、心室細動、ウイルスおよび真菌感染、ウイルス性脳炎（ｖｉｔａｌ　ｅｎｃｅｐｈａｌｉｔｉｓ）／無菌性髄膜炎、ウイルス関連血球貪食症候群、ウェルニッケ－コルサコフ症候群、ウィルソン病、いずれかの臓器または組織の異種移植拒絶、急性冠症候群、急性特発性多発性神経炎、急性炎症性脱髄性多発神経根神経障害、急性虚血、成人スチル病、円形脱毛症、アナフィラキシー、抗リン脂質抗体症候群、再生不良性貧血、アテローム性動脈硬化症、アトピー性湿疹、アトピー性皮膚炎、自己免疫性皮膚炎、連鎖球菌感染に伴う自己免疫異常、自己免疫性腸症、自己免疫性難聴、自己免疫性リンパ増殖症候群（ＡＬＰＳ）、自己免疫性心筋炎、自己免疫性早期卵巣不全、眼瞼炎、気管支拡張症、水疱性類天疱瘡、心血管疾患、劇症型抗リン脂質症候群、セリアック病、頚部脊椎症、慢性虚血、瘢痕性類天疱瘡、多発性硬化症のリスクを有する臨床的孤発症候群（ＣＩＳ）、結膜炎、小児発症精神障害、慢性閉塞性肺疾患（ＣＯＰＤ）、涙嚢炎、皮膚筋炎、糖尿病性網膜症、真性糖尿病、椎間板ヘルニア、椎間板脱出、薬物誘発免疫性溶血性貧血、心内膜炎、子宮内膜症、眼内炎、上強膜炎、多形性紅斑、重症型多形性紅斑、妊娠性類天疱瘡、ギランバレー症候群（ＧＢＳ）、枯草熱、ヒューズ症候群、特発性パーキンソン病、特発性間質性肺炎、ＩｇＥ媒介性アレルギー、免疫性溶血性貧血、封入体筋炎、感染性眼炎症疾患、炎症性脱髄疾患、炎症性心疾患、炎症性腎疾患、ＩＰＦ／ＵＩＰ、虹彩炎、角膜炎、乾性角結膜炎（ｋｅｒａｔｏｊｕｎｔｉｖｉｔｉｓ　ｓｉｃｃａ）、クスマウル病またはクスマウル－マイヤー病、ランドリー麻痺、ランゲルハンス細胞性組織球症、網状皮斑、黄斑変性、顕微鏡的多発性血管炎、モルブス・ベヒテレフ（ｍｏｒｂｕｓ　ｂｅｃｈｔｅｒｅｖ）、運動ニューロン疾患、粘膜性類天疱瘡、多臓器不全、重症筋無力症、骨髄異形成症候群、心筋炎、神経根障害、神経障害、非Ａ非Ｂ型肝炎、視神経炎、骨溶解、小関節性ＪＲＡ、末梢動脈閉
塞疾患（ＰＡＯＤ）、末梢血管疾患（ＰＶＤ）、末梢動脈疾患（ＰＡＤ）、静脈炎、結節性多発性動脈炎（または結節性動脈周囲炎）、多発性軟骨炎、リウマチ性多発性筋痛、白毛症、多関節性ＪＲＡ、多内分泌欠損症候群、多発性筋炎、リウマチ性多発性筋痛（ＰＭＲ）、ポンプ後症候群、原発性パーキンソニズム、前立腺炎、赤芽球癆、原発性副腎不全、再発性視神経脊髄炎、再狭窄、リウマチ性心疾患、ＳＡＰＨＯ（滑膜炎、アクネ、膿疱症、骨過形成および骨髄炎）、強皮症、続発性アミロイドーシス、ショック肺、強膜炎、坐骨神経痛、坐骨神経痛、シリコーン関連結合組織病、スネドン－ウィルキンソン皮膚症、強直性脊椎炎、スティーブンス・ジョンソン症候群（ＳＪＳ）、全身性炎症反応症候群、側頭動脈炎、トキソプラスマ性網膜炎、中毒性表皮剥離症、横断性脊髄炎、ＴＲＡＰＳ（腫瘍壊死因子受容体）、１型アレルギー反応、ＩＩ型糖尿病、じんましん、通常型間質性肺炎（ＵＩＰ）、血管炎、春季結膜炎、ウイルス性網膜炎、フォークト・小柳・原田症候群（ＶＫＨ症候群）、滲出型黄斑変性、および創傷治癒からなる群から選択される疾患を治療するのに有用である。

【００５５】

一実施形態において、本発明の組成物および方法を用いて治療するまたは診断することが可能である。疾患には、乳癌、結腸癌、直腸癌、肺癌、中咽頭癌、下咽頭癌、食道癌、胃癌、膵癌、肝癌、胆嚢癌および胆管癌、小腸癌、尿路（腎臓、膀胱および尿路上皮を含む）癌、雌生殖器癌（子宮頸部癌、子宮癌および卵巣癌の他に絨毛癌および妊婦性トロボブラスト疾患を含む）、雄生殖器癌（前立腺癌、精嚢癌、精巣癌および胚細胞腫瘍を含む）、内分泌腺癌（甲状腺癌、副腎癌および脳下垂体癌を含む）、ならびに皮膚癌の他にも血管腫、メラノーマ、肉腫（骨および軟組織から生じる肉腫の他にもカポジ肉腫を含む）、脳、神経、目および髄膜の腫瘍（星状細胞腫、神経膠腫、神経膠芽腫、網膜芽細胞腫、

神経腫、神経芽細胞腫、シュワン腫および髄膜腫を含む）、白血病およびリンパ腫（ホジキンリンパ腫と非ホジキンリンパ腫の両方）などの造血器腫瘍から生じる固形腫瘍を含む原発性癌および転移性癌が含まれるが、これらに限定されるものではない。

【００５６】

上記方法は、ＰＧＥ$_2$アンタゴニスト、例えば、ＰＧＥ$_2$抗体またはこの断片を、１つまたはそれ以上の症状を治療する（例えば、軽減する、寛解する）または予防するのに十分な量、対象に投与することを含む。ＰＧＥ$_2$抗体は、治療的に、または予防的に、または両方で投与することが可能である。ＰＧＥ$_2$アンタゴニスト、例えば、抗ＰＧＥ$_2$抗体またはこの断片は、単独で、または本明細書に記載される他の治療モダリティと一緒に対象に投与することが可能である。好ましくは、対象は、哺乳動物、例えば、本明細書に記載されるＰＧＥ$_2$関連障害に罹っているヒトである。

【００５７】

別の態様において、本発明の結合タンパク質は、急性リンパ性白血病、急性骨髄性白血病、副腎皮質癌、肛門癌、虫垂癌、小脳星状細胞腫、大脳星状細胞腫、基底細胞癌、胆管癌、肝外、膀胱癌、骨癌、骨肉腫／悪性線維性組織球腫脳幹神経膠腫、脳腫瘍、脳幹神経膠腫、大脳星状細胞腫／悪性神経膠腫、上衣腫、髄芽腫、テント上原始神経外胚葉性腫瘍、神経路および視床下部膠腫、乳癌、気管支腺腫／カルチノイド、カルチノイド腫瘍、カルチノイド腫瘍、原発不明の胃腸癌、中枢神経系リンパ腫、原発小脳星状細胞腫、子宮頸癌、慢性リンパ腫白血病、慢性骨髄性白血病慢性骨髄増殖性障害、結腸癌、結腸直腸癌、皮膚Ｔ細胞リンパ腫、子宮内膜癌、上衣腫、食道癌、腫瘍のユーイングファミリー、頭蓋外胚細胞腫瘍、性腺外胚細胞腫瘍、肝外胆管癌、眼癌、眼内メラノーマ網膜芽細胞腫、胆嚢癌、胃癌、胃腸カルチノイド腫瘍、胃腸間質性腫瘍（ＧＩＳＴ）、頭蓋外胚細胞腫瘍、性腺外胚細胞腫瘍、卵巣胚細胞腫瘍、妊娠性トホロブラスト腫瘍、神経膠腫、脳幹神経膠腫、大脳星状細胞腫神経膠腫、小児神経路および視床下部膠腫、ヘアリー細胞白血病、頭頸部癌、肝細胞癌、ホジキンリンパ腫、下咽頭癌、眼球内黒色腫、膵島細胞腫（膵内分泌部）、カポジ肉腫、腎（腎細胞）癌、喉頭癌、急性リンパ性白血病、急性骨髄性白血病、慢性リンパ腫白血病、慢性骨髄性白血病、ヘアリー細胞白血病、唇および口腔癌、肝癌、非小細胞肺癌、小細胞肺癌、ＡＩＤＳ関連リンパ腫、バーキットリンパ腫、皮膚Ｔ細胞リンパ腫、ホジキンリンパ腫、非ホジキンリンパ腫、原発中枢神経系リンパ腫、ワルデンシュトレームマクログロブリン血症、骨の悪性線維性組織球腫／骨肉腫、髄芽腫、メラノーマ、眼内メラノーマ、メルケル細胞癌、悪性中皮腫、原発不明の転移性頸部扁平上皮癌、口腔癌、多発性内分泌腫瘍症候群、多発性骨髄腫／形質細胞腫瘍、菌状息肉腫、骨髄異形成症候群、骨髄異形成／骨髄増殖性疾患、骨髄性白血病、慢性骨髄球性白血病、多発性骨髄腫、骨髄増殖性疾患、鼻腔および副鼻腔癌、上咽頭癌、神経芽細胞腫、口腔癌、口腔癌、唇および中咽頭癌、骨肉腫／骨の悪性線維性組織球腫、卵巣癌、卵巣上皮癌、卵巣胚細胞癌、卵巣低悪性度腫瘍、膵癌、膵島細胞癌、副鼻腔および鼻腔癌、副甲状腺癌、陰茎癌、咽頭癌、褐色細胞腫、松果体芽腫およびテント上原始神経外胚葉性腫瘍、下垂体腫瘍、形質細胞腫瘍／多発性骨髄腫、胸膜肺芽腫、前立腺癌、直腸癌、腎細胞（腎）癌、腎盂および尿管、移行細胞癌、網膜芽細胞腫、唾液腺癌、肉腫、腫瘍のユーイングファミリー、カポジ肉腫、軟部組織肉腫、子宮肉腫、セザリー症候群、皮膚癌（非メラノーマ性の）、皮膚癌（メラノーマ性の）、メルケル細胞皮膚癌、小腸癌、扁平上皮癌、原発不明の転移性頸部扁平上皮癌、胃癌、テント上原始神経外胚葉性腫瘍、皮膚Ｔ細胞リンパ腫、精巣癌、咽頭癌、胸腺腫、胸腺腫および胸腺癌、甲状腺癌、腎盂および尿管の移行細胞癌、妊娠性トロホブラスト腫瘍、尿管および腎芋、移行細胞癌、尿道癌、子宮癌、子宮内膜子宮癌肉腫、膣癌、視覚路および視床下部神経膠腫、外陰腫、ワルデンシュトレームマクログロブリン血症、ウィルムス腫瘍からなる群から選択される障害の治療のために有用である。

【００５８】

別の態様において、本発明は、上記に論述されているような第二の作用物質の投与前、投与と同時または投与後に、本明細書に開示されている結合タンパク質のいずれか１つを投与する工程を含む、ＰＧＥ２が有害である疾患に罹患している患者を治療する方法を提

供する。実施形態において、１つまたはそれ以上のＰＧＥ$_2$アンタゴニスト（例えば、抗ＰＧＥ$_2$抗体またはこの断片）と一緒に同時投与するおよび／または同時処方することが可能である、第二の治療剤には、吸入用ステロイド、経口ステロイド；βアゴニスト、例えば、短時間作用または長時間作用βアゴニスト；ロイコトリエンまたはロイコトリエン受容体のアンタゴニスト；ＡＤＶＡＩＲなどの合剤；ＩｇＥ阻害剤、例えば、抗ＩｇＥ抗体（例えば、ＸＯＬＡＩＲ）；ホスホジエステラーゼ阻害剤（例えば、ＰＤＥ４阻害剤）；キサンチン；抗コリン剤；クロモリンなどのマスト細胞安定化剤；ＩＬ－４阻害剤；ＩＬ－５阻害剤；エオタキシン／ＣＣＲ３阻害剤；ヒスタミンまたはＨ１、Ｈ２、Ｈ３およびＨ４を含むこの受容体のアンタゴニストならびにプロスタグランジンＤまたはこの受容体（ＤＰ１およびＣＲＴＨ２）のアンタゴニストのうちの１つまたはそれ以上が含まれるが、これらに限定されない。そのような組合せを使用して、喘息および他の呼吸障害を治療することが可能である。１つまたはそれ以上の抗ＰＧＥ$_2$抗体またはこの断片と一緒に同時投与するおよび／または同時処方することが可能である、治療剤の追加の例は、とりわけ、ＴＮＦアンタゴニスト（例えば、ＴＮＦ受容体の可溶性断片、例えば、ｐ５５またはｐ７５ヒトＴＮＦ受容体またはこれらの誘導体、例えば、７５ｋＤ　ＴＮＦＲ－ＩｇＧ（７５ｋＤ　ＴＮＦ受容体－ＩｇＧ融合タンパク質、ＥＮＢＲＥＬ））；ＴＮＦ酵素アンタゴニスト、例えば、ＴＮＦ変換酵素（ＴＡＣＥ）阻害剤；ムスカリン受容体アンタゴニスト；ＴＧＦβアンタゴニスト；インターフェロンγ；パーフェニドン；化学療法剤、例えば、メトトレキサート、レフルノミドまたはシロリムス（ラパマイシン）またはこの類似体、例えば、ＣＣＩ－７７９；ＣＯＸ２およびｃＰＬＡ２阻害剤；ＮＳＡＩＤ；免疫調節剤；ｐ３８阻害剤、ＴＰＬ－２、ＭＫ－２およびＮＦｋＢ阻害剤のうちの１つまたはそれ以上を含む。追加の第二の作用物質は、ブデノシド、上皮増殖因子、コルチコステロイド、シクロスポリン、スルファサラジン、アミノサリチラート、６－メルカプトプリン、アザチオプリン、メトロニダゾール、リポキシゲナーゼ阻害剤、メサラミン、オルサラジン、バルサラジド、抗酸化剤、トロンボキサン阻害剤、ＩＬ－１受容体アンタゴニスト、抗ＩＬ－１β、モノクローナル抗体、抗ＩＬ－６モノクローナル抗体、増殖因子、エラスターゼ阻害剤、ピリジニル－イミダゾール化合物、ＴＮＦ、ＬＴ、ＩＬ－１、ＩＬ－２、ＩＬ－６、ＩＬ－７、ＩＬ－８、ＩＬ－１５、ＩＬ－１６、ＩＬ－１８、ＥＭＡＰ－ＩＩ、ＧＭ－ＣＳＦ、ＦＧＦおよびＰＤＧＦの抗体またはアゴニスト、ＣＤ２、ＣＤ３、ＣＤ４、ＣＤ８、ＣＤ２５、ＣＤ２８、ＣＤ３０、ＣＤ４０、ＣＤ４５、ＣＤ６９、ＣＤ９０またはこれらのリガンドの抗体、メトトレキサート、シクロスポリン、ＦＫ５０６、ラパマイシン、ミコフェノラート・モフェチル、レフルノミド、ＮＳＡＩＤ、イブプロフェン、コルチコステロイド、プレドニゾロン、ホスホジエステラーゼ阻害剤、アデノシンアゴニスト、抗血栓剤、補体阻害剤、アドレナリン作動薬、ＩＲＡＫ、ＮＩＫ、ＩＫＫ、ｐ３８、ＭＡＰキナーゼ阻害剤、ＩＬ－１β変換酵素阻害剤、ＴＮＦα変換酵素阻害剤、Ｔ細胞シグナル伝達阻害剤、メタロプロテイナーゼ阻害剤、スルファサラジン、アザチオプリン、６－メルカプトプリン、アンギオテンシン変換酵素阻害剤、可溶性サイトカイン受容体、可溶性ｐ５５ＴＮＦ受容体、可溶性ｐ７５ＴＮＦ受容体、ｓＩＬ－１ＲＩ、ｓＩＬ－１ＲＩＩ、ｓＩＬ－６Ｒ、抗炎症性サイトカイン、ＩＬ－４、ＩＬ－１０、ＩＬ－１１、およびＴＧＦβからなる群から選択される。

【００５９】

特定の実施形態において、本発明は、方法が本発明の結合タンパク質を第二の因子の投与の前に、同時に、または投与後に投与する工程を含む、第二の因子が様々なヒト疾患および障害の治療のために現在使用されている薬物のからなる群から選択される、プロスタグランジンＥ$_2$が有害である障害に罹っている患者を治療する方法を提供する。そのような薬物の一覧表は、インターネットのｗｗｗ．ｄｒｕｇｓ．ｃｏｍから入手可能である。この一覧表は、様々なヒト疾患の治療の最新技術を反映するため頻繁に更新されている。そのような薬物の一覧表は最新の薬物ガイドからも入手可能である（Ｃｏｍｐｌｅｔｅ　Ｇｕｉｄｅ　ｔｏ　Ｐｒｅｓｃｒｉｐｔｉｏｎ　＆　Ｎｏｎｐｒｅｓｃｒｉｐｔｉｏｎ　Ｄｒｕｇｓ　２００８．ｂｙ　Ｈ．Ｗｉｎｔｅｒ　Ｇｒｉｆｆｉｔｈ、Ｓｔｅｐｈｅｎ

Ｍｏｏｒｅ、ＩＳＢＮ－１３：９７８－０３９９５３３７２３）。抗ＰＧＥ$_2$結合タンパク質は、特定の疾患状態のための上記一覧表中の治療法のいずれとも組み合わせることが可能である。例えば、抗ＰＧＥ$_2$結合タンパク質は、関節リウマチおよび若年性関節リウマチの治療のための１つまたはそれ以上の薬剤と組み合わせることが可能である。これらの薬剤の例は、メトトレキサート、レフルノミド、プレドニゾンまたはコルチゾンなどの低用量の副腎皮質ステロイド、ヒドロキシクロロキンなどの抗マラリア薬物、金、スルファサラジン、ペニシラミン、シクロホスファミド、シクロスポリン、ミノサイクリン、アセトアミノフェン、アスピリン、イブプロフェン、ナプロキセン、セレコキシブ、インフリキシマブ、エタネルセプト、アダリムマブ、アバタセプト、リツキシマブ、アナキンラならびに他の新しい生物剤およびＩＬ－６、ＩＬ－６Ｒ、ＩＬ－１７、ＩＬ－１８、ＩＬ－２３、Ｂ７．１／Ｂ７．２を標的する経口デリバリー薬剤を含むが、これらに限定されない。抗ＰＧＥ$_2$結合タンパク質は、変形性関節炎の治療のための１つまたはそれ以上の薬剤と組み合わせることが可能である。これらの薬剤の例は、アセトアミノフェン、アスピリン、イブプロフェン、ナプロキセン、セレコキシブ、ステロイド剤、シンヴィクスなどの人工滑液およびヒアルガンを含むが、これらに限定されない。抗ＰＧＥ$_2$結合タンパク質は、クローン病の治療のための１つまたはそれ以上の薬剤と組み合わせることが可能である。これらの薬剤の例は、アダリムマブ、アザサン（ａｚａｓａｎ）、アサコール、アザチオプリン、アザルフィジン、ブデソニド、エントコート、フラジール、イムラン、インフリキシマブ、メルカプトプリン、メトロニダゾール、プロトスタット（ｐｒｏｔｏｓｔａｔ）、プリネトール（ｐｕｒｉｎｅｔｈｏｌ）、レミケードおよびスルファサラジンを含むが、これらに限定されない。抗ＰＧＥ$_2$結合タンパク質は、強直性脊椎炎の治療のための１つまたはそれ以上の薬剤と組み合わせることが可能である。これらの薬剤の例は、アセトコット（ａｃｅｔｏｃｏｔ）、アセチルサリチル酸、アキュプリン（ａｃｕｐｒｉｎ）８１、アダリムマブ、アリーブ（ａｌｅｖｅ）、アムコート（ａｍｃｏｒｔ）、アナプロックス（ａｎａｐｒｏｘ）、アリストコート（ａｒｉｓｔｏｃｏｒｔ）、アスピリン、アスピルタブ（ａｓｐｉｒｔａｂ）、アズマコート（ａｚｍａｃｏｒｔ）、バファリン、ブフェックス（ｂｕｆｆｅｘ）、カタフラム、セレブレックス（ｃｅｌｅｂｒｅｘ）、クリノリル、コルチゾン、ジクロフェナク、ディペンタム（ｄｉｐｅｎｔｕｍ）、アスピリン（ｅａｓｐｒｉｎ）、エタネルセプト、インドシン（ｉｎｄｏｃｉｎ）、インドメタシン、インフリキシマブ、ナプロキセン、レミケード、トリアムシノロンおよびボルタレンを含むが、これらに限定されない。抗ＰＧＥ$_2$結合タンパク質は、多発性硬化症の治療のための１つまたはそれ以上の薬剤と組み合わせることが可能である。これらの薬剤の例は、アボネックス（Ａｖｏｎｅｘ）、アザサン（ａｚａｓａｎ）、アザチオプリン、ベタセロン（Ｂｅｔａｓｅｒｏｎ）、バブリプレッド（Ｂｕｂｂｌｉ－Ｐｒｅｄ）、コパクソン（Ｃｏｐａｘｏｎｅ）、コトロン（Ｃｏｔｏｌｏｎｅ）、グラチラマー、イムラン、インターフェロンベーター－ｌａ、インターフェロンベーター－ｌｂ溶液、キープレッド（Ｋｅｙ－Ｐｒｅｄ）、キープレッドＳＰ（Ｋｅｙ－Ｐｒｅｄ　ＳＰ）、ミトキサントロン、ナタリズマブ、ノバトロン（Ｎｏｖａｔｒｏｎｅ）、オラプレッド（Ｏｒａｐｒｅｄ）、オラプレッドＯＤＴ（Ｏｒａｐｒｅｄ　ＯＤＴ）、ペディアプレッド（Ｐｅｄｉａｐｒｅｄ）、Ｐｒｅｄ－Ｊｅｃｔ－５０、プレダコート（Ｐｒｅｄａｃｏｒｔ）５０、プレダロン（Ｐｒｅｄａｌｏｎｅ）５０、プレデート（Ｐｒｅｄａｔｅ）－５０、プレドニゾロン、プレロン（Ｐｒｅｌｏｎｅ）、レビフ（Ｒｅｂｉｆ）およびタイサブリを含むが、これらに限定されない。抗ＰＧＥ$_2$結合タンパク質は、様々なヒト癌および悪性腫瘍の治療のための１つもしくはそれ以上の薬剤または治療法と組み合わせることが可能である。インターネットウェブサイトのｗｗｗ．ｄｒｕｇｓ．ｃｏｍからおよび最新の薬物ガイド（Ｃｏｍｐｌｅｔｅ　Ｇｕｉｄｅ　ｔｏ　Ｐｒｅｓｃｒｉｐｔｉｏｎ　＆　Ｎｏｎｐｒｅｓｃｒｉｐｔｉｏｎ　Ｄｒｕｇｓ　２００８．ｂｙ　Ｈ．Ｗｉｎｔｅｒ　Ｇｒｉｆｆｉｔｈ、Ｓｔｅｐｈｅｎ　Ｍｏｏｒｅ、ＩＳＢＮ－１３：９７８－０３９９５３３７２３）から入手可能である一覧表に加えて、ＮＣＩも、癌または癌に関連する状態の治療のために米国食品医薬品局（ＦＤＡ）により承認されるある種の薬物に関しての薬物情報を維持して

いる。これらの因子の例は、アブラキサン、アドリアマイシン、アドルシル（Ａｄｒｕｃｉｌ）、アルダラ（Ａｌｄａｒａ）、アレムツズマブ、アリムタ、アミノレブリン酸、アナストロゾール、アプレピタン、アリミデックス、アロマシン、アラノン、亜ヒ酸、アバスチン（ベバシズマブ）、アザシチジン、ベバシズマブ、ベキサロテン、ボルテゾミブ、キャンパス（アレムツズマブ）、カンプトサール（塩酸イリノテカン）、カペシタビン、カルボプラチン、セツキシマブ、シスプラチン、クラフェン（Ｃｌａｆｅｎ）（シクロホスファミド）、クロファラビン、クロファレックス（Ｃｌｏｆａｒｅｘ）（クロファラビン）、クロラール（Ｃｌｏｌａｒ）（クロファラビン）、シクロホスファミド、シタラビン、サイトサール（Ｃｙｔｏｓａｒ）－Ｕ（シタラビン）、シトキサン（シクロホスファミド）、ダコゲン（Ｄａｃｏｇｅｎ）（デシタビン）、ダサチニブ、デシタビン、デポサイト（リポソームシタラビン）、デポフォーム（ＤｅｐｏＦｏａｍ）（リポソームシタラビン）、塩酸デクスラゾキサン、ドセタキセル、ドキシル（塩酸ドキソルビシンリポソーム）、塩酸ドキソルビシン、塩酸ドキソルビシンリポソーム、Ｄｏｘ－ＳＬ（塩酸ドキソルビシンリポソーム）、エフデックス（Ｅｆｕｄｅｘ）（フルオロウラシル）、エレンス（Ｅｌｌｅｎｃｅ）（塩酸エピルビシン）、エロキサチン（Ｅｌｏｘａｔｉｎ）（オキサリプラチン）、エメンド（アプレピタント）、塩酸エピルビシン、アービタックス（セツキシマブ）、塩酸エルロチニブ、エバセト（Ｅｖａｃｅｔ）（塩酸ドキソルビシンリポソーム）、エビスタ（塩酸ラロキシフェン）、エキセメスタン、ファスロデックス（フルベストラント）、フェマーラ（レトロゾール）、フルオロプレックス（Ｆｌｕｏｒｏｐｌｅｘ）（フルオロウラシル）、フルオロウラシル、フルベストラント、ゲフィチニブ、塩酸ゲムシタビン、ゲムツズマブオゾガマイシン、ジェムザール（塩酸ゲムシタビン）、グリベック（メシル酸イマチニブ）、ハーセプチン（トラスツズマブ）、ハイカムチン（塩酸トポテカン）、メシル酸イマチニブ、イミキモド、イレッサ（ゲフィニチブ）、塩酸イリノテカン、イクサベピロン、イグゼンプラ（イクサベピロン）、ケオキシフェン（Ｋｅｏｘｉｆｅｎｅ）（塩酸ラロキシフェン）、ケピバンス（パリフェルミン）、ラパチニブトシル酸、レナリドミド、レトロゾール、レブラン（Ｌｅｖｕｌａｎ）（アミノレブリン酸）、リポドックス（ＬｉｐｏＤｏｘ）（塩酸ドキソルビシンリポソーム）、リポソームシタラビン、メタゾラストン（Ｍｅｔｈａｚｏｌａｓｔｏｎｅ）（テモゾロミド）、マイローサル（Ｍｙｌｏｓａｒ）（アザシチジン）、マイロターグ（ゲムツズマブオゾガマイシン）、ナノ粒子パクリタキセル（パクリタキセルアルブミン安定化ナノ粒子製剤）、ネララビン、ネオサール（Ｎｅｏｓａｒ）（シクロホスファミド）、ネクサバール（トシル酸ソラフェニブ）、ニロチニブ、ノルバデックス（クエン酸タモキシフェン）、オンキャスパー（Ｏｎｃａｓｐａｒ）（ペグアスパルガーゼ）、オキサリプラチン、パクリタキセル、パクリタキセルアルブミン安定化ナノ粒子製剤、パリフェルミン、パニツムマブ、パラプラット（カルボプラチン）、パラプラチン（カルボプラチン）、ペグアスパルガーゼ、ペメトレキセド二ナトリウム、プラチノール（Ｐｌａｔｉｎｏｌ）－ＡＱ（シスプラチン）、プラチノール（Ｐｌａｔｉｎｏｌ）（シスプラチン）、塩酸ラロキシフェン、レブリミド（レナリドミド）、リツキサン（リツキシマブ）、リツキシマブ、スクレロゾル胸膜内エアロゾル（タルク）、トシル酸ソラフェニブ、スプリセル（ダサチニブ）、滅菌タルクパウダー（タルク）、ステリタルク（Ｓｔｅｒｉｔａｌｃ）（タルク）、リンゴ酸スニチニブ、スーテント（リンゴ酸スニチニブ）、シノビル（Ｓｙｎｏｖｉｒ）（サリドマイド）、タルク、クエン酸タモキシフェン、タラビン（Ｔａｒａｂｉｎｅ）ＰＦＳ（シタラビン）、タルセバ（塩酸エルロニチブ）、ターグレチン（ベキサロテン）、タシグナ（ニロチニブ）、タキソール（パクリタキセル）、タキソテール（ドセタキセル）、テモダール（テモゾロミド）、テモゾロミド、テムシロリムス、サロミド（Ｔｈａｌｏｍｉｄ）（サリドマイド）、サリドマイド、トテクト（Ｔｏｔｅｃｔ）（塩酸デクスラゾキサン）、塩酸トポテカン、トリセル（Ｔｏｒｉｓｅｌ）（テムシロリムス）、トラスツズマブ、トリセノックス（亜ヒ酸）、タイケルブ（トシル酸ラパニチブ）、ベクチビックス（パニツムマブ）、ベルケイド（ボルテゾミブ）、ビダザ（アザシチジン）、ボリノスタット、ゼローダ（カペシタビン）、ザインカード（塩酸デクスラゾキサン）、ゾレドロン酸、ゾリ

ンザ（ボリノスタット）およびゾメタ（ゾレドロン酸）を含むが、これらに限定されない。

【００６０】

好ましい実施形態において、上記に開示されているＰＧＥ２結合タンパク質医薬組成物は、非経口、皮下、筋肉内、静脈内、関節内、気管支内、腹腔内、嚢内、軟骨内、腔内（ｉｎｔｒａｃａｖｉｔｙ）、腔内（ｉｎｔｒａｃｅｌｉａｌ）、小脳内、脳室内、結腸内、頸管内、胃内、肝臓内、心筋内、骨内、骨盤内、心臓周囲内、腹腔内、胸膜内、前立腺内、肺内、結腸内、腎臓内、網膜内、脊髄内、滑膜内、胸腔内、子宮内、膀胱内、ボーラス、膣、直腸、口内、舌下、鼻内および経皮から選択される少なくとも１つの様式によって、対象に投与される。

【００６１】

本発明の上記および他の目的、特徴および利点ならびに本発明自体は、添付している図面と一緒に読む場合、好ましい実施形態の以下の説明からより完全に理解される。

【図面の簡単な説明】

【００６２】

【図１】実施例１．１．Ａに記載されるＥＬＩＳＡにおける２つのハイブリドーマ由来ｍＡｂ、すなわち１５Ｆ１０．３Ｃ９と１Ｆ７．１Ｄ５のビオチン－PGE_2への結合の測定を示すグラフである。

【図２】実施例１．１．Ａに記載されるＥＬＩＳＡにおける２つのハイブリドーマ由来ｍＡｂ、すなわち１９Ｃ９．４Ｂ１０と４Ｆ１０．３Ｂ９のビオチン－PGE_2への結合の測定を示すグラフである。

【図３】実施例１．１．Ａに記載されるＥＬＩＳＡにおけるＰＲＯｆｕｓｉｏｎ（商標）由来ｍＡｂ、すなわちＫ１Ｂ、Ｋ７Ｈ、Ｋ３Ａ、Ｌ１１およびＬ２１のビオチン－PGE_2への結合の測定を示すグラフである。

【図４】実施例１．１．Ａに記載されるＥＬＩＳＡにおける組み換え抗PGE_2ｍＡｂ、すなわち２Ｂ５－７．０、２Ｂ５－８．０および２Ｂ５－９．０のビオチン－PGE_2への結合を示すグラフである。ハイブリドーマ由来抗体２Ｂ５は、このアッセイにおいては正の対照である。

【図５】実施例１．１．Ｃ１に記載されるＦＬＩＰＲにより測定されるＥＰ４形質移入されたＨＥＫ２９３　Ｇα１６安定細胞系統における、抗PGE_2ｍＡｂの２Ｂ５－８．０によるPGE_2誘導Ca^{++}流入の中和を示すグラフである。ハイブリドーマ由来抗体２Ｂ５は、このアッセイにおいては正の対照である。

【図６】実施例１．１．Ｃ１に記載されるＦＬＩＰＲにより測定されるＥＰ４形質移入されたＨＥＫ２９３　Ｇα１６安定細胞系統における、ヒト化抗PGE_2ｍＡｂの２Ｂ５．５、２Ｂ５．６、２Ｂ５．７および２Ｂ５．８によるPGE_2誘導Ca^{++}流入の中和を示すグラフである。

【図７】実施例１．１．Ｃ１に記載されるＦＬＩＰＲにより測定されるＥＰ４形質移入されたＨＥＫ２９３　Ｇα１６安定細胞系統における、ヒト化抗PGE_2ｍＡｂの２Ｂ５．１、２Ｂ５．２、２Ｂ５．３および２Ｂ５．４によるPGE_2誘導Ca^{++}流入の中和を示すグラフである。

【図８】実施例３に記載される、抗PGE_2抗体の２Ｂ５．７、２Ｂ５．８および２Ｂ５．９のＶＨ領域およびＶＬ領域のアライメントを示す図である。

【図９】ＭＡＳ（平均関節炎スコアー）により測定される、コラーゲン誘発関節炎における、抗PGE_2抗体、抗マウスＴＮＦ抗体およびこれらの組合せの有効性を示すグラフである。

【発明を実施するための形態】

【００６３】

（発明の詳細な記述）

本発明は、プロスタグランジンE_2（PGE_2）結合タンパク質、特に、PGE_2に結合する抗PGE_2抗体またはこの抗原結合断片に関する。本発明の様々な態様は、抗体お

よび抗体断片、ならびにこの医薬組成物の他にも、そのような抗体および断片を作製するための核酸、組み換え発現ベクターおよび宿主細胞に関する。インビトロまたはインビボにおいて、PGE_2を検出し、１つまたはそれ以上のPGE_2活性を抑制し、遺伝子発現を調節するための本発明の抗体を使用する方法も本発明により包含されている。

【００６４】

本明細書に別段の定義がなければ、本発明に関連して使用される科学および技術用語は、当業者によって一般的に理解される意味を有するものとする。しかしながら、何らかの曖昧さが伏在している場合には、用語の意味および範囲は明確であるべきであり、本明細書中に付与されている定義は、すべての辞書または本明細書外の定義に優越する。さらに、文脈上別段の必要がなければ、単数形の用語は複数形を含むものとし、複数形の用語は単数を含むものとする。本願において、「または」の使用は、別段の記載がなければ、「および／または」を意味する。さらに、「含んでいる」という用語ならびに「含む」および「含まれた」などのその他の形式の使用は、限定的なものではない。また、「要素」または「成分」などの用語は、別段の記載がなければ、１つのユニットを含む要素および成分ならびに１より多いサブユニットを含む要素および成分をともに包含する。

【００６５】

一般的に、本明細書に記載されている細胞および組織培養、分子生物学、免疫学、微生物学、遺伝学ならびにタンパク質および核酸化学およびハイブリッド形成に関連して使用される命名法およびこれらの技術は、周知のものであり、本分野において一般的に使用されている。一般に、本発明の方法および技術は、別段の記載がなければ、本分野において周知の慣用方法に従い、ならびに本明細書を通じて引用および論述されている様々な一般的参考文献およびより具体的な参考文献中に記載されているように、実施することができる。酵素反応および精製技術は、製造業者の説明書に従って、本分野で一般的に遂行されているように、または本明細書に記載されているように、実施される。本明細書に記載されている分析化学、合成有機化学および医薬品化学および薬化学に関して使用される命名法、ならびに本明細書に記載されている分析化学、合成有機化学および医薬品化学および薬化学の実験室操作および技術は、周知のものであり、本分野で一般的に使用されているものである。化学合成、化学分析、医薬の調製、調合、および送達、および患者の治療に対しては、標準的な技術を使用し得る。

【００６６】

本発明をさらに容易に理解し得るように、いくつかの用語を以下に定義する。

【００６７】

本明細書において使用される「ポリペプチド」という用語は、アミノ酸のあらゆるポリマー鎖を表す。「ペプチド」および「タンパク質」という用語は、ポリペプチドという用語と互換的に使用され、同じく、アミノ酸のポリマー鎖を表す。「ポリペプチド」という用語は、固有または人工のタンパク質、タンパク質断片およびタンパク質配列のポリペプチド類似体を包含する。ポリペプチドは、単量体または多量体であり得る。

【００６８】

「単離されたタンパク質」または「単離されたポリペプチド」という用語は、その由来起源または由来源のために、その固有の状態において当該タンパク質またはポリペプチドとともに存在する天然に随伴される成分を伴わないタンパク質またはポリペプチドであり、同じ種に由来する他のタンパク質を実質的に含まず、異なる種から得られた細胞によって発現され、または天然には存在しない。したがって、化学的に合成されたポリペプチド、またはポリペプチドが本来由来する細胞とは異なる細胞系の中で合成されたポリペプチドは、それに本来付随している成分から「単離」されている。タンパク質は、本分野で周知のタンパク質精製技術を使用し、単離によって、本来付随している成分が実質的に存在しないようにすることもできる。

【００６９】

本明細書において使用される「回収する」という用語は、例えば、本分野で周知のタンパク質精製技術を使用して、単離によって、ポリペプチドなどの化学種を、本来付随する

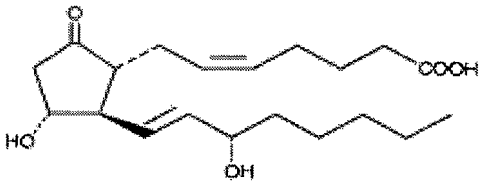
成分を実質的に含まないようにする方法を表す。

【００７０】

「プロスタグランジンＥ$_2$」（本明細書ではＰＧＥ$_2$と略記される）という用語は、本明細書において、一部のまたはすべてのＰＧＥ$_2$活性を保持する以下の構造またはこの変異体を有するプロスタグランジンを表す。

【００７１】

【化１】



【００７２】

本明細書において使用される「生物学的活性」とは、サイトカインの固有の生物学的特性を表す。ＰＧＥ$_2$の生物学的特性には、ＰＧＥ$_2$受容体に結合することが含まれるが、これに限定されない。

【００７３】

第二の化学種との抗体、タンパク質またはペプチドの相互作用に関して、本明細書において使用される「特異的結合」または「特異的に結合する」という用語は、相互作用が、化学種、例えば、抗体上の特定の構造（例えば、抗原決定基またはエピトープ）の存在に依存し、例えば、抗体がタンパク質一般ではなく、特異的なタンパク質構造を認識し、結合することを意味する。抗体がエピトープ「Ａ」に対して特異的であれば、標識された「Ａ」および抗体を含有する反応中での、エピトープＡを含有する分子（すなわち、標識されていない遊離のＡ）の存在は、抗体に結合した、標識されたＡの量を減少させる。

【００７４】

本明細書において使用される「抗体」という用語は、４つのポリペプチド鎖（２つの重（Ｈ）鎖および２つの軽（Ｌ）鎖）から構成されるあらゆる免疫グロブリン（Ｉｇ）分子またはＩｇ分子の本質的なエピトープ結合特性を保持したすべての機能的断片、変異体、バリアントまたはこれらの誘導体を広く表すものとする。このような変異体、バリアントまたは誘導体抗体のフォーマットは、本分野において公知である。これらの非限定的な実施形態は、以下に論述されている。

【００７５】

完全長の抗体において、各重鎖は、重鎖可変領域（本明細書において、ＨＣＶＲまたはＶＨと略称される。）および重鎖定常領域から構成される。重鎖定常領域は、３つのドメインＣＨ１、ＣＨ２およびＣＨ３から構成される。各軽鎖は、軽鎖可変領域（本明細書において、ＬＣＶＲまたはＶＬと略称される。）および軽鎖定常領域から構成される。軽鎖定常領域は、１つのドメインＣＬから構成される。ＶＨおよびＶＬ領域は、より保存された領域（フレームワーク領域（ＦＲ）と称される。）が散在された超可変領域（相補性決定領域（ＣＤＲ）と称される。）へ、さらに細分割することが可能である。各ＶＨおよびＶＬは、ＦＲ１、ＣＤＲ１、ＦＲ２、ＣＤＲ２、ＦＲ３、ＣＤＲ３、ＦＲ４の順で、アミノ末端からカルボキシ末端に配置された３つのＣＤＲおよび４つのＦＲから構成される。免疫グロブリン分子は、あらゆる種類（例えば、ＩｇＧ、ＩｇＥ、ＩｇＭ、ＩｇＤ、ＩｇＡおよびＩｇＹ）、クラス（例えば、ＩｇＧ１、ＩｇＧ２、ＩｇＧ３、ＩｇＧ４、ＩｇＡ１およびＩｇＡ２）またはサブクラスであり得る。

【００７６】

本明細書において使用される抗体の「抗原結合部分」または「抗原結合断片」（または単に「抗体部分」）という用語は、抗原に特異的に結合する能力を保持する、抗体の１つ以上の断片を表す（例えば、ＰＧＥ$_2$）。抗体の抗原結合機能は、完全長抗体の断片によって実行可能である。このような抗体の実施形態は、二特異的、二重特異的または多重特異的フォーマットを有することもでき、２つまたはそれ以上の異なる抗原に特異的に結合

する。抗体の「抗原結合部分」という用語に包含される結合断片の例には、（ｉ）Ｆａｂ断片（ＶＬ、ＶＨ、ＣＬおよびＣＨ１ドメインからなる一価断片）、（ｉｉ）Ｆ（ａｂ’）$_2$断片（ヒンジ領域において、ジスルフィド架橋によって連結された２つのＦａｂ断片を含む二価断片）、（ｉｉｉ）ＶＨおよびＣＨ１ドメインからなるＦｄ断片、（ｉｖ）抗体の単一アームのＶＬおよびＶＨドメインからなるＦｖ断片、（ｖ）単一の可変ドメインを含むｄＡｂ断片（Ｗａｒｄ ｅｔ ａｌ．（１９８９）Ｎａｔｕｒｅ ３４１：５４４－５４６、Ｗｉｎｔｅｒ ｅｔ ａｌ．，ＰＣＴ公開ＷＯ９０／０５１４４Ａ１）および（ｖｉ）単離された相補性決定領域（ＣＤＲ）が含まれる。さらに、Ｆｖ断片の２つのドメインであるＶＬおよびＶＨは別個の遺伝子によってコードされているが、これらは、ＶＬおよびＶＨ領域が対合して一価分子を形成している単一のタンパク質鎖として、これらの作製を可能とする合成リンカーによって、組み換え法を用いて連結することが可能である（一本鎖Ｆｖ（ｓｃＦｖ）として知られている。例えば、Ｂｉｒｄ ｅｔ ａｌ．（１９８８）Ｓｃｉｅｎｃｅ ２４２：４２３－４２６；およびＨｕｓｔｏｎ ｅｔ ａｌ．（１９８８）Ｐｒｏｃ．Ｎａｔｌ．Ａｃａｄ．Ｓｃｉ．ＵＳＡ８５：５８７９－５８８３を参照）。このような一本鎖抗体も、抗体の「抗原結合部分」という用語に包含される。ダイアボディなどの一本鎖抗体の他の形態も包含される。ダイアボディは、ＶＨおよびＶＬドメインが一本鎖ポリペプチド鎖上に発現されているが、同一鎖上にある２つのドメイン間での対合を可能とするには短すぎるリンカーを使用することにより、両ドメインを別の鎖の相補的ドメインと対合するように強制し、２つの抗原結合部位を作出する二価の二特異的抗体である（例えば、Ｈｏｌｌｉｇｅｒ，Ｐ．，ｅｔ ａｌ．（１９９３）Ｐｒｏｃ．Ｎａｔｌ．Ａｃａｄ．Ｓｃｉ．ＵＳＡ９０：６４４４－６４４８；Ｐｏｌｊａｋ，Ｒ．Ｊ．，ｅｔ ａｌ．（１９９４）Ｓｔｒｕｃｔｕｒｅ２：１１２１－１１２３を参照）。このような抗体結合部分は、本分野において公知である（Ｋｏｎｔｅｒｍａｎｎ ａｎｄ Ｄｕｂｅｌ ｅｄｓ．，Ａｎｔｉｂｏｄｙ Ｅｎｇｉｎｅｅｒｉｎｇ（２００１）Ｓｐｒｉｎｇｅｒ－Ｖｅｒｌａｇ．Ｎｅｗ Ｙｏｒｋ．７９０ ｐｐ．（ＩＳＢＮ３－５４０－４１３５４－５）。

【００７７】

本明細書で使用される「抗体構築物」という用語は、リンカーポリペプチドまたは免疫グロブリン定常ドメインに連結された本発明の１つまたはそれ以上の抗原結合部分を含むポリペプチドを表す。リンカーポリペプチドは、ペプチド結合により結合された２つまたはそれ以上のアミノ酸残基を含み、１つまたはそれ以上の抗原結合部分を連結するのに使用される。このようなリンカーポリペプチドは、本分野において周知である（例えば、Ｈｏｌｌｉｇｅｒ，Ｐ．，ｅｔ ａｌ．（１９９３）Ｐｒｏｃ．Ｎａｔｌ．Ａｃａｄ．Ｓｃｉ．ＵＳＡ ９０：６４４４－６４４８；Ｐｏｌｊａｋ，ＲＪ．，ｅｔ ａｌ．（１９９４）Ｓｔｒｕｃｔｕｒｅ ２：１１２１－１１２３参照）。免疫グロブリン定常ドメインは、重鎖または軽鎖定常ドメインを表す。ヒトＩｇＧ重鎖および軽鎖定常ドメインアミノ酸配列は当技術分野では公知であり、表１に示されている。

【００７８】

【表１】

表１：ヒトＩｇＧ重鎖定常ドメインおよび軽鎖定常ドメインの配列

タンパク質	配列識別子	配列
		1234567890123456789012345678901 2
Ｉｇγ−１定常領域	配列番号１	ASTKGPSVFFLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDY FPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYS LSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDK KVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPP KPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNW YVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVL HQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKG QPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFY PSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFF LYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYT QKSLSLSPGK
Ｉｇγ−１定常領域変異体	配列番号２	ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDY FPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYS LSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDK KVEPKSCDKTHTCPPCPAPEAAGGPSVFLFPP KPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNW YVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVL HQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKG QPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFY PSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFF LYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYT QKSLSLSPGK
Ｉｇκ定常領域	配列番号３	TVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFY PREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDST YSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSP VTKSFNRGEC
Ｉｇλ定常領域	配列番号４	QPKAAPSVTLFPPSSEELQANKATLVCLISDF YPGAVTVAWKADSSPVKAGVETTTPSKQSNNK YAASSYLSLTPEQWKSHRSYSCQVTHEGSTVE KTVAPTECS

【００７９】

さらに、抗体またはこの抗原結合部分は、抗体または抗体部分と１つまたはそれ以上の他のタンパク質またはペプチドとの共有結合または非共有結合により形成されるより大きな免疫接着分子の一部であってよい。そのような免疫接着分子の例は、四量体ｓｃＦｖ分子を作製するためのストレプトアビジンコア領域の使用（Ｋｉｐｒｉｙａｎｏｖ、Ｓ．Ｍ．、ｅｔ　ａｌ．（１９９５）Ｈｕｍａｎ　Ａｎｔｉｂｏｄｉｅｓ　ａｎｄ　Ｈｙｂｒｉｄｏｍａｓ　６：９３－１０１）ならびに二価およびビオチン化ｓｃＦｖ分子を作製するためのシステイン残基、マーカーペプチドおよびＣ末端ポリヒスチジンタグの使用（Ｋｉｐｒｉｙａｎｏｖ、Ｓ．Ｍ．、ｅｔ　ａｌ．（１９９４）Ｍｏｌ．Ｉｍｍｕｎｏｌ．３１：１０４７－１０５８）を含む。ＦａｂおよびＦ（ａｂ’）$_2$断片などの抗体部分は、抗体全体の、それぞれパパイン消化またはペプシン消化などの従来の技術を使用して、抗体全体から調製することが可能である。さらに、抗体、抗体部分および免疫接着分子は、本明細書に記載される標準組み換えＤＮＡ技術を使用して得ることが可能である。

【００８０】

「単離された抗体」は、本明細書において、異なる抗原特異性を有する他の抗体が実質的にない抗体（例えば、ＰＧＥ$_2$に特異的に結合する単離された抗体に、ＰＧＥ$_2$以外の抗原に特異的に結合する抗体が実質的にない。）を表すことを意図されている。しかし、ＰＧＥ$_2$に特異的に結合する単離された抗体は、プロスタグランジンＥ１（ＰＧＥ$_1$）分子などの他の抗原に対して交差反応性を有していてもよい。さらに、単離された抗体には、他の細胞物質および／または化学物質が実質的になくてもよい。

【００８１】

本明細書において使用される「ヒト抗体」という用語は、ヒト生殖系列免疫グロブリン配列に由来する可変領域および定常領域を有する抗体を含むものとする。本発明のヒト抗体は、例えば、ＣＤＲ、特にＣＤＥ３中に、ヒト生殖系列免疫グロブリン配列によってコードされないアミノ酸残基（例えば、インビトロでのランダムな突然変異導入もしくは部

位特異的突然変異導入によって、またはインビボでの体細胞変異によって導入された変異）を含み得る。しかしながら、本明細書において使用される「ヒト抗体」という用語は、マウスなどの別の哺乳動物種の生殖系列に由来するＣＤＲ配列がヒトフレームワーク配列上に移植された抗体を含まないものとする。

【００８２】

本明細書において使用される「組み換えヒト抗体」という用語は、宿主細胞中に形質移入された組み換え発現ベクターを用いて発現された抗体（以下のＩＩ節Ｃでさらに記載されている。）、組み換えコンビナトリアルヒト抗体ライブラリーから単離された抗体（Ｈｏｏｇｅｎｂｏｏｍ Ｈ．Ｒ．，（１９９７）ＴＩＢ Ｔｅｃｈ．１５：６２－７０；Ａｚｚａｚｙ Ｈ．，ａｎｄ Ｈｉｇｈｓｍｉｔｈ Ｗ．Ｅ．，（２００２）Ｃｌｉｎ．Ｂｉｏｃｈｅｍ．３５：４２５－４４５；Ｇａｖｉｌｏｎｄｏ Ｊ．Ｖ．，ａｎｄ Ｌａｒｒｉｃｋ Ｊ．Ｗ．（２００２）ＢｉｏＴｅｃｈｎｉｑｕｅｓ ２９：１２８－１４５；Ｈｏｏｇｅｎｂｏｏｍ Ｈ．，ａｎｄ Ｃｈａｍｅｓ Ｐ．（２０００）Ｉｍｍｕｎｏｌｏｇｙ Ｔｏｄａｙ ２１：３７１－３７８）、ヒト免疫グロブリン遺伝子に対して遺伝子導入されている動物（例えば、マウス）から単離された抗体（例えば、Ｔａｙｌｏｒ，Ｌ．Ｄ．，ｅｔ ａｌ．（１９９２）Ｎｕｃｌ．Ａｃｉｄｓ Ｒｅｓ．２０：６２８７－６２９５；Ｋｅｌｌｅｒｍａｎｎ Ｓ－Ａ．，ａｎｄ Ｇｒｅｅｎ Ｌ．Ｌ．（２００２）Ｃｕｒｒｅｎｔ Ｏｐｉｎｉｏｎ ｉｎ Ｂｉｏｔｅｃｈｎｏｌｏｇｙ １３：５９３－５９７；Ｌｉｔｔｌｅ Ｍ．ｅｔ ａｌ（２０００）Ｉｍｍｕｎｏｌｏｇｙ Ｔｏｄａｙ ２１：３６４－３７０参照）またはヒト免疫グロブリン遺伝子配列の、他のＤＮＡ配列へのスプライシングを含む他のいずれかの手段によって調製され、発現され、作製され、もしくは単離された抗体など、組み換え手段によって調製され、発現され、作製され、もしくは単離されたすべてのヒト抗体を含むものとする。このような組み換えヒト抗体は、ヒト生殖系列免疫グロブリン配列に由来する可変領域および定常領域を有する。しかしながら、ある種の実施形態において、このような組み換えヒト抗体は、インビトロ突然変異導入（または、ヒトＩｇ配列に対して遺伝子導入された動物が使用される場合には、インビボ体細胞突然変異導入）に供され、したがって、組み換え抗体のＶＨおよびＶＬ領域のアミノ酸配列は、ヒト生殖系列ＶＨおよびＶＬ配列に由来し、これらの配列に関連しつつも、インビボで、ヒト抗体生殖系列レパートリー内には、天然に存在しない場合があり得る配列である。一実施形態は、PGE_2に結合することができ、Ｊｅｒｍｕｔｕｓ ｅｔ ａｌ．、ＰＣＴ公開番号ＷＯ ２００５／００７６９９ Ａ２に開示されているファージライブラリーなどのヒトＩｇファージライブラリーを使用するなどの、しかしこれに限定されない、当技術分野では周知の技術を使用して作製することが可能である完全ヒト抗体を提供する。

【００８３】

「キメラ抗体」という用語は、ヒト定常領域に連結されたマウス重鎖および軽鎖可変領域を有する抗体など、ある種に由来する重鎖および／または軽鎖可変領域配列ならびに別の種に由来する定常領域配列を含む抗体を表す。

【００８４】

「ＣＤＲ移植された抗体」という用語は、マウスＣＤＲの１つ以上（例えば、ＣＤＲ３）がヒトＣＤＲ配列で置換されているマウス重鎖および軽鎖可変領域を有する抗体など、ある種に由来する重鎖および／または軽鎖可変領域配列を含むが、ＶＨおよび／またはＶＬのＣＤＲ領域の１つ以上の配列が、別の種のＣＤＲ配列と置換されている抗体を表す。

【００８５】

「ヒト化抗体」という用語は、ヒト以外の種（例えば、マウス）由来の重鎖および軽鎖可変領域配列を含むが、ＶＨおよび／またはＶＬ配列の少なくとも一部が、より「ヒト類似に」、すなわち、ヒト生殖系列可変配列により類似するように改変された抗体を表す。ヒト化抗体の１つの種類は、ヒトＣＤＲ配列がヒト以外のＶＨおよびＶＬ配列中に導入されて、対応する非ヒトＣＤＲ配列が置換されているＣＤＲ移植された抗体である。一実施形態において、ヒト化抗PGE_2抗体および抗原結合部分が提供される。そのような抗体

は、従来のハイブリドーマ技術を使用してマウス抗PGE_2モノクローナル抗体を得て、続いて、Ｋａｓａｉａｎ　ｅｔ　ａｌ　ＰＣＴ公開番号ＷＯ　２００５／１２３１２６Ａ２に開示されている遺伝子工学などのインビトロ遺伝子工学を使用するヒト化により作製された。

【００８６】

「Ｋａｂａｔ番号」、「Ｋａｂａｔ定義」および「Ｋａｂａｔ標識」という用語は、本明細書において、互換的に使用される。本分野において認められているこれらの用語は、抗体またはその抗原結合部分の重鎖および軽鎖可変領域中の他のアミノ酸残基に比べて、より可変的な（すなわち、超可変的な）アミノ酸残基に付番するシステムを表す（Ｋａｂａｔ　ｅｔ　ａｌ．（１９７１）Ａｎｎ．ＮＹ　Ａｃａｄ，Ｓｃｉ．１９０：３８２－３９１およびＫａｂａｔ，Ｅ．Ａ．，ｅｔ　ａｌ．（１９９１）Ｓｅｑｕｅｎｃｅｓ　ｏｆ　Ｐｒｏｔｅｉｎｓ　ｏｆ　Ｉｍｍｕｎｏｌｏｇｉｃａｌ　Ｉｎｔｅｒｅｓｔ，Ｆｉｆｔｈ　Ｅｄｉｔｉｏｎ，Ｕ．Ｓ．Ｄｅｐａｒｔｍｅｎｔ　ｏｆ　Ｈｅａｌｔｈ　ａｎｄ　Ｈｕｍａｎ　Ｓｅｒｖｉｃｅｓ，ＮＩＨ　Ｐｕｂｌｉｃａｔｉｏｎ　ＮＯ．９１－３２４２）。重鎖可変領域の場合、超可変領域は、ＣＤＲ１に対するアミノ酸位置３１から３５、ＣＤＲ２に対するアミノ酸位置５０から６５およびＣＤＲ３に対するアミノ酸位置９５から１０２にわたる。軽鎖可変領域の場合、超可変領域は、ＣＤＲ１に対するアミノ酸位置２４から３４、ＣＤＲ２に対するアミノ酸位置５０から５６およびＣＤＲ３に対するアミノ酸位置８９から９７にわたる。

【００８７】

本明細書において、「アクセプター」および「アクセプター抗体」という用語は、フレームワーク領域のうちの１つまたはそれ以上のアミノ酸配列の少なくとも８０％、少なくとも８５％、少なくとも９０％、少なくとも９５％、少なくとも９８％または１００％を提供するまたはコードする抗体または核酸配列を表す。一部の実施形態において、「アクセプター」という用語は、定常領域（複数可）を提供するまたはコードする抗体アミノ酸または核酸配列を表す。さらに別の実施形態において、「アクセプター」という用語は、フレームワーク領域および定常領域（複数可）のうちの１つまたはそれ以上を提供するまたはコードする抗体アミノ酸または核酸配列を表す。特定の実施形態において、「アクセプター」という用語は、フレームワーク領域のうちの１つまたはそれ以上のアミノ酸配列の少なくとも８０％、好ましくは、少なくとも８５％、少なくとも９０％、少なくとも９５％、少なくとも９８％または１００％を提供するまたはコードするヒト抗体アミノ酸または核酸配列を表す。本実施形態に従って、アクセプターは、ヒト抗体の１つまたはそれ以上の特定の位置に存在しない少なくとも１つ、少なくとも２つ、少なくとも３つ、少なくとも４つ、少なくとも５つ、または少なくとも１０のアミノ酸残基を含有していてよい。アクセプターフレームワーク領域および／またはアクセプター定常領域（複数可）は、例えば、生殖系列抗体遺伝子、成熟抗体遺伝子、機能的抗体（例えば、当技術分野で周知の抗体、開発中の抗体または市販されている抗体）に由来していても、から得られてもよい。

【００８８】

本明細書で使用される「ＣＤＲ」という用語は、抗体可変配列内の相補性決定領域を表す。重鎖および軽鎖の各可変領域中には３つのＣＤＲが存在し、これらは、各可変領域に対して、ＣＤＲ１、ＣＤＲ２およびＣＤＲ３と表記される。本明細書において使用される「ＣＤＲセット」という用語は、抗原に結合することが可能な単一の可変領域中に存在する３つのＣＤＲの群を表す。これらのＣＤＲの正確な境界は、異なる系に従って、異なって定義されてきた。Ｋａｂａｔによって記載された系（Ｋａｂａｔ　ｅｔ　ａｌ．，Ｓｅｑｕｅｎｃｅｓ　ｏｆ　Ｐｒｏｔｅｉｎｓ　ｏｆ　Ｉｍｍｕｎｏｌｏｇｉｃａｌ　Ｉｎｔｅｒｅｓｔ（Ｎａｔｉｏｎａｌ　Ｉｎｓｔｉｔｕｔｅｓ　ｏｆ　Ｈｅａｌｔｈ，Ｂｅｔｈｅｓｄａ，Ｍｄ．（１９８７）ａｎｄ（１９９１））は、抗体のいずれの可変領域に対しても適用可能な明瞭な残基付番系を提供するのみならず、３つのＣＤＲを定義する正確な残基境界を提供する。これらのＣＤＲは、ＫａｂａｔＣＤＲと称され得る。Ｃｈｏｔｈｉ

ａおよび共同研究者（Ｃｈｏｔｈｉａ＆Ｌｅｓｋ，Ｊ．Ｍｏｌ．Ｂｉｏｌ．１９６：９０１－９１７（１９８７）およびＣｈｏｔｈｉａ　ｅｔ　ａｌ．，Ｎａｔｕｒｅ　３４２：８７７－８８３（１９８９））は、ＫａｂａｔＣＤＲ内のある種の亜部分が、アミノ酸配列のレベルで大きな多様性を有するにも関わらず、ほぼ同一のペプチド骨格立体構造を採ることを見出した。これらの亜部分は、Ｌ１、Ｌ２およびＬ３またはＨ１、Ｈ２およびＨ３（「Ｌ」および「Ｈ」は、それぞれ、軽鎖および重鎖領域を表記する。）と表記される。これらの領域は、ＣｈｏｔｈｉａＣＤＲと称される場合があり、これは、ＫａｂａｔＣＤＲと重複する境界を有する。ＫａｂａｔＣＤＲと重複するＣＤＲを定義する他の境界が、Ｐａｄｌａｎ（ＦＡＳＥＢ　Ｊ．９：１３３－１３９（１９９５））およびＭａｃＣａｌｌｕｍ（Ｊ　Ｍｏｌ　Ｂｉｏｌ　２６２（５）：７３２－４５（１９９６））によって記載されている。さらに別のＣＤＲ境界定義が、上記系の１つに厳格に従わない場合があり得るが、それにも関わらず、ＫａｂａｔＣＤＲと重複するが、これらは、特定の残基または残基の群またはさらにはＣＤＲ全体が、抗原結合に著しい影響を与えないという予測または実験的な発見に照らして、短縮または延長され得る。本明細書に使用されている方法は、これらの系のいずれかに従って定義されたＣＤＲを使用し得るが、好ましい実施形態は、ＫａｂａｔまたはＣｈｏｔｈｉａによって定義されたＣＤＲを使用する。

【００８９】

本明細書において、「カノニカル」残基という用語は、Ｃｈｏｔｈｉａ　ｅｔ　ａｌ．、Ｊ．Ｍｏｌ．Ｂｉｏｌ．１９６：９０１－９０７（１９８７）；Ｃｈｏｔｈｉａ　ｅｔ　ａｌ．、Ｊ．Ｍｏｌ．Ｂｉｏｌ．２２７：７９９（１９９２）により定義されている特定のカノニカルＣＤＲ構造を定義するＣＤＲまたはフレームワーク中の残基を表す。Ｃｈｏｔｈｉａ　ｅｔ　ａｌ．、によれば、多くの抗体のＣＤＲの極めて重要な部分は、アミノ酸配列のレベルには大きな多様性があるが、ほぼ同一のペプチド骨格構造を有する。カノニカル構造はそれぞれ、ループを形成するアミノ酸残基の近接するセグメントに対する一組のペプチド骨格ねじれ角を主に特定している。

【００９０】

本明細書において、「ドナー」および「ドナー抗体」という用語は、１つまたはそれ以上のＣＤＲを提供する抗体を表す。好ましい実施形態において、ドナー抗体は、フレームワーク領域が得られるまたは由来する元の抗体とは異なる種由来の抗体である。ヒト化抗体という状況では、「ドナー抗体」という用語は、１つまたはそれ以上のＣＤＲを提供する非ヒト抗体を表す。

【００９１】

本明細書で使用される「フレームワーク」または「フレームワーク配列」という用語は、ＣＤＲを差し引いた可変領域の残りの配列を表す。ＣＤＲ配列の正確な定義は、異なる系によって決定され得るので、フレームワーク配列の意義は、これに対応して、異なる解釈に供せられる。６つのＣＤＲ（軽鎖のＣＤＲ－Ｌ１、ＣＤＲ－Ｌ２およびＣＤＲ－Ｌ３ならびに重鎖のＣＤＲ－Ｈ１、ＣＤＲ－Ｈ２およびＣＤＲ－Ｈ３）は、軽鎖および重鎖上のフレームワーク領域も、各鎖上の４つの亜領域（ＦＲ１、ＦＲ２、ＦＲ３およびＦＲ４）に分割し、ＣＤＲ１はＦＲ１とＦＲ２の間に位置し、ＣＤＲ２はＦＲ２とＦＲ３の間に、ＣＤＲ３はＦＲ３とＦＲ４の間に位置する。他者によって表記されるように、ＦＲ１、ＦＲ２、ＦＲ３またはＦＲ４として特定の亜領域を特定せずに、フレームワーク領域は、天然に存在する単一の免疫グロブリン鎖の可変領域内の組み合わされたＦＲを表す。本明細書において使用される、１つのＦＲは、４つの亜領域の１つを表し、複数のＦＲは、フレームワーク領域を構成する４つの亜領域の２つまたはそれ以上を表す。典型的なＦＲ配列については表５および６を参照されたい。

【００９２】

本明細書において使用される「生殖系列抗体遺伝子」または「生殖系列抗体遺伝子断片」という用語は、特定の免疫グロブリンの発現のために遺伝的再編成および変異をもたらす成熟プロセスを経ていない非リンパ系細胞によってコードされる免疫グロブリン配列を表す。（例えば、Ｓｈａｐｉｒｏ　ｅｔ　ａｌ．，Ｃｒｉｔ．Ｒｅｖ．Ｉｍｍｕｎｏｌ．

２２（３）：１８３－２００（２００２）；Ｍａｒｃｈａｌｏｎｉｓ ｅｔ ａｌ．，Ａｄｖ Ｅｘｐ Ｍｅｄ Ｂｉｏｌ．４８４：１３－３０（２００１）参照）。本発明の様々な実施形態によって提供される利点の１つは、生殖系列抗体遺伝子は、成熟した抗体遺伝子より、種内の個体に特徴的な必須のアミノ酸配列構造を保存する傾向がより大きく、このため、その種において治療的に使用された場合に、外来源に由来するものと認識される可能性がより低いという認識から生じる。

【００９３】

本明細書において、「キーとなる」残基という用語は、抗体、特にヒト化抗体の結合特異性および／または親和性により大きな影響を与える可変領域内のある種の残基を表す。キーとなる残基は、以下の、ＣＤＲに隣接する残基、潜在的グリコシル化部位（Ｎ－グリコシル化部位でもＯ－グリコシル化部位でも可能である）、希少残基、抗原と相互作用をすることが可能である残基、ＣＤＲと相互作用をすることが可能である残基、カノニカル残基、重鎖可変領域と軽鎖可変領域間の接触残基、バーニアゾーン内の残基および可変重鎖ＣＤＲ１のＣｈｏｔｈｉａ定義と第一の重鎖フレームワークのＫａｂａｔ定義間で重複する領域内の残基のうちの１つまたはそれ以上を含むがこれらに限定されない。

【００９４】

本明細書において、「ヒト化抗体」という用語は、目的の抗原に免疫特異的に結合し、ヒト抗体のアミノ酸配列を実質的に有するフレームワーク（ＦＲ）領域および非ヒト抗体のアミノ酸配列を実質的に有する相補性決定領域（ＣＤＲ）を含む、抗体もしくは変異体、誘導体、類似体またはこれらの断片を表す。本明細書において、ＣＤＲという状況での「実質的に」という用語は、非ヒト抗体ＣＤＲのアミノ酸配列に対して少なくとも８０％、好ましくは、少なくとも８５％、少なくとも９０％、少なくとも９５％、少なくとも９８％または少なくとも９９％同一であるアミノ酸配列を有するＣＤＲを表す。ヒト化抗体は、すべてのまたは実質的にすべてのＣＤＲ領域が非ヒト免疫グロブリン（すなわち、ドナー抗体）のＣＤＲ領域に一致し、すべてのまたは実質的にすべてのフレームワーク領域がヒト免疫グロブリンコンセンサス配列のフレームワーク領域である少なくとも１つの、典型的には２つの可変ドメイン（例えば、Ｆａｂ、Ｆａｂ’、Ｆ（ａｂ’）２、ＦａｂＣ、Ｆｖ）の実質的にすべてを含む。好ましくは、ヒト化抗体は、免疫グロブリン定常領域（Ｆｃ）、典型的には、ヒト免疫グロブリンの定常領域の少なくとも一部分も含む。一部の実施形態において、ヒト化抗体は、軽鎖の他にも少なくとも重鎖の可変ドメインの両方を含有している。上記抗体は重鎖のＣＨ１、ヒンジ、ＣＨ２、ＣＨ３およびＣＨ４領域も含んでいてよい。一部の実施形態において、ヒト化抗体はヒト化軽鎖のみを含有する。一部の実施形態において、ヒト化抗体はヒト化重鎖のみを含有する。特定の実施形態において、ヒト化抗体は、軽鎖のヒト化可変ドメインおよび／またはヒト化重鎖のみを含有する。

【００９５】

ヒト化抗体は、ＩｇＭ、ＩｇＧ、ＩｇＤ、ＩｇＡおよびＩｇＥを含む任意のクラスの免疫グロブリン、ならびに、限定されることなくＩｇＧ１、ＩｇＧ２、ＩｇＧ３およびＩｇＧ４を含む任意のアイソタイプから選択することが可能である。ヒト化抗体は、１つを超えるクラスまたはアイソタイプ由来の配列を含んでいてよく、当技術分野で周知の技術を使用して目的のエフェクター機能を最適化する特定の定常ドメインを選択してもよい。

【００９６】

ヒト化抗体のフレームワークおよびＣＤＲ領域は、親配列、例えば、ドナー抗体ＣＤＲに正確に一致する必要はなく、またはコンセンサスフレームワークは、その部位のＣＤＲまたはフレームワーク残基がドナー抗体ともコンセンサスフレームワークとも一致しないように、少なくとも１つのアミノ酸残基の置換、挿入および／または欠失により変異誘発されてもよい。しかしながら、好ましい実施形態において、そのような変異体は広範囲には及ばない。ヒト化抗体残基の、通常少なくとも８０％、好ましくは少なくとも８５％、さらに好ましくは少なくとも９０％、もっとも好ましくは少なくとも９５％が、親ＦＲおよびＣＤＲ配列の残基に一致する。本明細書において、「コンセンサスフレームワーク」

という用語は、コンセンサス免疫グロブリン配列におけるフレームワーク領域を表す。本明細書において、「コンセンサス免疫グロブリン配列」という用語は、関連する免疫グロブリン配列のファミリーにおいてもっとも多く存在するアミノ酸（またはヌクレオチド）から形成される配列を表す（例えば、Ｗｉｎｎａｋｅｒ、Ｆｒｏｍ Ｇｅｎｅｓ ｔｏ Ｃｌｏｎｅｓ（Ｖｅｒｌａｇｓｇｅｓｅｌｌｓｃｈａｆｔ、Ｗｅｉｎｈｅｉｍ、Ｇｅｒｍａｎｙ、１９８７）参照）。免疫グロブリンファミリーでは、コンセンサス配列における各位置は、ファミリーにおいてその位置にもっとも多く存在するアミノ酸により占められている。２種類のアミノ酸が等しく頻繁に存在する場合には、どちらでもコンセンサス配列に含むことが可能である。

【００９７】

本明細書において、「バーニア」ゾーンは、Ｆｏｏｔｅ ａｎｄ Ｗｉｎｔｅｒ（１９９２）Ｊ．Ｍｏｌ．Ｂｉｏｌ．２２４：４８７－４９９により記載されている通りに、ＣＤＲ構造を調製し抗原への適合を微調整する可能性があるフレームワーク残基のサブセットを表す。バーニアゾーン残基は、ＣＤＲの基礎にある層を形成し、ＣＤＲの構造および抗体の親和性に影響を与える可能性がある。

【００９８】

「多価結合タンパク質」という用語は、２つまたはそれ以上の抗原結合部位を含む結合タンパク質を意味するために本明細書では使用されている。多価結合タンパク質は、好ましくは３つまたはそれ以上の抗原結合部位を有するように工学的に操作されており、一般には天然に存在する抗体ではない。「多特異的結合タンパク質」という用語は、２つまたはそれ以上の関連するまたは無関係の標的に結合することが可能である結合タンパク質を表す。本明細書で使用される二重可変ドメイン（ＤＶＤ）結合タンパク質は、２つまたはそれ以上の抗原結合部位を含む結合タンパク質であり、四価または多価結合タンパク質である。そのようなＤＶＤ結合タンパク質は、単一特異的である、すなわち、１つの抗原に結合することができても、または多特異的である、すなわち、２つまたはそれ以上の抗原に結合することができてもよい。２つの重鎖ＤＶＤポリペプチドおよび２つの軽鎖ＤＶＤポリペプチドを含むＤＶＤ結合タンパク質は、ＤＶＤ－Ｉｇ（商標）と呼ばれている。ＤＶＤ－Ｉｇの各半分は、重鎖ＤＶＤポリペプチドおよび軽鎖ＤＶＤポリペプチドおよび２つの抗原結合部位を含む。各結合部位は、重鎖可変ドメインおよび軽鎖可変ドメインを含み、抗原結合部位あたり合計で６つのＣＤＲが抗原結合に関与している。

【００９９】

本明細書において、「中和すること」という用語は、結合タンパク質がサイトカインまたは脂質代謝物に特異的に結合すると、サイトカインまたは脂質代謝物の生物学的活性を中和することを表す。好ましくは、中和結合タンパク質は、PGE_2へのその結合により、PGE_2の生物学的活性が抑制される中和抗体である。好ましくは、中和結合タンパク質は、PGE_2に結合し、PGE_2の生物学的活性を少なくとも約１０％、２０％、４０％、６０％、８０％、８５％またはそれ以上減少させる。中和結合タンパク質によるPGE_2の生物学的活性の抑制は、当技術分野で周知のPGE_2生物学的活性の１つまたはそれ以上の指標を測定することにより評価することが可能である。例えば、ＥＰ４受容体を過剰発現しているＨＥＫ２９３細胞を使用するＥＰ４アッセイによるPGE_2誘導カルシウム流入の抑制である（実施例１．１．Ｃ１参照）。

【０１００】

「活性」という用語は、抗原に対する抗体、例えば、PGE_2抗原に結合する抗PGE_2抗体の結合特異性／親和性、および／または抗体、例えば、PGE_2へのその結合がPGE_2の生物学的活性を抑制する、例えば、ＥＰ４受容体を過剰発現しているＨＥＫ２９３細胞を使用するＥＰ４アッセイによるPGE_2誘導カルシウム流入の抑制（実施例１．１．Ｃ１参照）のような抗PGE_2抗体の中和効力などの活性を含む。

【０１０１】

「エピトープ」という用語には、免疫グロブリンまたはＴ細胞受容体に特異的に結合することができる、あらゆるポリペプチド決定基が含まれる。ある種の実施形態において、

エピトープ決定基は、アミノ酸、糖側鎖、ホスホリルまたはスルホリルなどの分子の化学的に活性な表面基を含み、ある種の実施形態において、特異的な三次元構造的特徴および／または特異的な電荷特徴を有し得る。エピトープとは、抗体によって結合される抗原の領域である。ある種の実施形態において、抗体が、タンパク質および／または高分子の複雑な混合物中で、その標的抗原を優先的に認識する場合に、抗体は抗原を特異的に結合する。

【０１０２】

本明細書において使用される「表面プラズモン共鳴」という用語は、例えば、ＢＩＡｃｏｒｅシステム（Ｐｈａｒｍａｃｉａ　Ｂｉｏｓｅｎｓｏｒ　ＡＢ、Ｕｐｐｓａｌａ、Ｓｗｅｄｅｎおよび Ｐｉｓｃａｔａｗａｙ、ＮＪ）を用いて、バイオセンサーマトリックス内のタンパク質濃度の変化を検出することによって、リアルタイムな生物特異的相互作用の分析を可能とする光学現象を表す。さらなる記載については、Ｊｏｎｓｓｏｎ，Ｕ．，ｅｔ　ａｌ．（１９９３）Ａｎｎ．Ｂｉｏｌ．Ｃｌｉｎ．５１：１９－２６；Ｊｏｎｓｓｏｎ，Ｕ．，ｅｔ　ａｌ．（１９９１）Ｂｉｏｔｅｃｈｎｉｑｕｅｓ　１１：６２０－６２７；Ｊｏｈｎｓｓｏｎ，Ｂ．，ｅｔ　ａｌ．（１９９５）Ｊ．Ｍｏｌ．Ｒｅｃｏｇｎｉｔ．８：１２５－１３１；およびＪｏｈｎｎｓｏｎ，Ｂ．，ｅｔ　ａｌ．（１９９１）Ａｎａｌ．Ｂｉｏｃｈｅｍ．１９８：２６８－２７７を参照されたい。

【０１０３】

本明細書において使用される「K_{on}」という用語は、本分野で知られている抗体／抗原複合体を形成するための、抗体の抗原への結合についての結合速度（ｏｎ　ｒａｔｅ）定数を表すものとする。

【０１０４】

本明細書において使用される「K_{off}」という用語は、本分野で知られている抗体／抗原複合体からの、抗体の解離についての解離速度（ｏｆｆ　ｒａｔｅ）定数を表すものとする。

【０１０５】

本明細書において使用される「K_D」という用語は、本分野で知られている特定の抗体－抗原相互作用の解離定数を表すものとする。

【０１０６】

本明細書において使用される「標識された結合タンパク質」という用語は、結合タンパク質の同定を与える標識が取り込まれたタンパク質を表す。好ましくは、標識は、検出可能なマーカーであり、例えば、放射性標識されたアミノ酸の取り込み、または印を付けたアビジン（例えば、光学的方法または比色分析法によって検出することができる、蛍光マーカーまたは酵素活性を含有するストレプトアビジン）によって検出することができるビオチン部分のポリペプチドへの付着である。ポリペプチド用の標識の例には、以下の放射性同位体または放射性核種（例えば、^{3}H、^{14}C、^{35}S、^{90}Y、^{99}Tc、^{111}In、^{125}I、^{131}I、^{177}Lu、^{166}Hoまたは^{153}Sm）；蛍光標識（例えば、ＦＩＴＣ、ローダミン、ランタニドリン光体）；酵素的標識（例えば、西洋ワサビペルオキシダーゼ、ルシフェラーゼ、アルカリホスファターゼ）；化学発光マーカー；ビオチニル基、二次レポーターによって認識される所定のポリペプチドエピトープ（例えば、ロイシンジッパー対配列、二次抗体に対する結合部位、金属結合ドメイン、エピトープタグ）；およびガドリニウムキレートなどの磁気作用物質が含まれるが、これらに限定されない。

【０１０７】

「抗体連結体」という用語は、第二の化学部分（治療剤または細胞毒性剤など）に化学的に連結された抗体などの結合タンパク質を表す。本明細書において、「作用物質」という用語は、化学的化合物、化学的化合物の混合物、生物学的高分子または生物由来物質から作製された抽出物を表記するために使用される。好ましくは、治療剤または細胞毒性剤には、百日咳毒素、タキソール、サイトカラシンＢ、グラミシジンＤ、臭化エチジウム、エメチン、マイトマイシン、エトポシド、テノポシド、ビンクリスチン、ビンブラスチン

、コルヒチン、ドキソルビシン、ダウノルビシン、ジヒドロキシアントラシンジオン、ミトキサントロン、ミトラマイシン、アクチノマイシンＤ、１－デヒドロテストステロン、グルココルチコイド、プロカイン、テトラカイン、リドカイン、プロプラノロールおよびピューロマイシンならびにこれらの類似体または相同体が含まれるが、これらに限定されるものではない。

【０１０８】

本明細書において使用される「結晶」および「結晶化された」という用語は、結晶の形態で存在する抗体またはその抗原結合部分を表す。結晶は、物質の固体状態の一形態であり、これは、非晶質の固体状態または液体の結晶状態などの他の形態とは異なる。結晶は、原子、イオン、分子（例えば、抗体などのタンパク質）または分子集合体（例えば、抗原／抗体複合体）の規則的な反復する三次元配列から構成される。これらの三次元配列は、特異的な数学的関係に従って整列されている。結晶中で反復されている基礎的単位または構築ブロックは、非対称単位と呼ばれる。所定の十分に整えられた結晶的対称性に合致する配置での非対称単位の反復は、結晶の「単位格子」を与える。すべての三次元中での規則的な転換による単位格子の反復は、結晶を与える。Ｇｉｅｇｅ，Ｒ．ａｎｄ Ｄｕｃｒｕｉｘ，Ａ．Ｂａｒｒｅｔｔ，Ｃｒｙｓｔａｌｌｉｚａｔｉｏｎ ｏｆ Ｎｕｃｌｅｉｃ Ａｃｉｄｓ ａｎｄ Ｐｒｏｔｅｉｎｓ，ａ Ｐｒａｃｔｉｃａｌ Ａｐｐｒｏａｃｈ，２ｎｄ ｅａ．，ｐｐ．２０１－１６，Ｏｘｆｏｒｄ Ｕｎｉｖｅｒｓｉｔｙ Ｐｒｅｓｓ，Ｎｅｗ Ｙｏｒｋ，Ｎｅｗ Ｙｏｒｋ，（１９９９）を参照されたい。

【０１０９】

一実施形態は、結合タンパク質の放出のための組成物を提供し、上記組成物は、順次に上に開示される結晶化結合タンパク質、結晶化抗体構築物または結晶化抗体連結体および成分を含む製剤、ならびに少なくとも１つのポリマー担体を含む製剤を含む。好ましくは、ポリマー担体は、ポリ（アクリル酸）、ポリ（シアノアクリル酸）、ポリ（アミノ酸）、ポリ（無水物）、ポリ（デプシペプチド）、ポリ（エステル）、ポリ（乳酸）、ポリ（乳酸コグリコール酸）またはＰＬＧＡ、ポリ（ｂ－ヒドロキシ酪酸）、ポリ（カプロラクトン）、ポリ（ジオキサノン）、ポリ（エチレングリコール）、ポリ（（ヒドロキシプロピル）メタクリルアミド）、ポリ［（オルガノ）ホスファゼン］、ポリ（オルトエステル）、ポリ（ビニルアルコール）、ポリ（ビニルピロリドン）、無水マレイン酸－アルキルビニルエーテルコポリマー、プルロニックポリオール、アルブミン、アルギン酸、セルロースおよびセルロース誘導体、コラーゲン、フィブリン、ゼラチン、ヒアルロン酸、オリゴ糖、グリカミノグリカン、硫酸多糖類、ならびにその混合物およびコポリマーからなる群のうちの１つまたはそれ以上から選択されるポリマーである。好ましくは、上記成分は、アルブミン、ショ糖、トレハロース、ラクチトール、ゼラチン、ヒドロキシプロピル－β－シクロデキストリン、メトキシポリエチレングリコールおよびポリエチレングリコールからなる群から選択される。別の実施形態は、上に開示される組成物の有効量を哺乳動物に投与する工程を含む、哺乳動物を治療するための方法を提供する。

【０１１０】

本明細書において称される「ポリヌクレオチド」という用語は、２つまたはそれ以上のヌクレオチド（リボヌクレオチドもしくはデオキシヌクレオチドのいずれかまたはヌクレオチドのいずれかのタイプの修飾された形態）のポリマー形態を意味する。本用語は、ＤＮＡの一本鎖および二本鎖形態を含むが、二本鎖ＤＮＡが好ましい。

【０１１１】

本明細書において使用される「単離されたポリペプチド」という用語は、（例えば、ゲノム、ｃＤＮＡもしくは合成起源またはこれらのいくつかの組合せの）ポリヌクレオチドを意味するものとし、その起源のために、「単離されたポリヌクレオチド」は、「単離されたポリヌクレオチド」が本来その中でともに見出されるポリヌクレオチドの全部または一部と会合していない、本来連結されていないポリヌクレオチドに作用可能に連結されている、またはより大きな配列の一部として本来存在しない、ことを意味する。

【０１１２】

本明細書において使用される「ベクター」という用語は、核酸分子に連結されている別の核酸を輸送することができる該核酸分子を表すものとする。ベクターの１つの種類は「プラスミド」であり、これは、その中にさらなるＤＮＡセグメントを連結し得る環状二本鎖ＤＮＡループを表す。ベクターの別の種類はウイルスベクターであり、ここで、追加のＤＮＡセグメントはウイルスゲノム中に連結され得る。ある種のベクターは、当該ベクターがその中に導入された宿主細胞中で自律的複製を行うことができる（例えば、細菌の複製起点を有する細菌ベクターおよびエピソーム哺乳動物ベクター）。他のベクター（例えば、非エピソーム哺乳動物ベクター）は、宿主細胞中へ導入されて、宿主細胞のゲノム中に組み込まれることが可能であり、これにより、宿主ゲノムとともに複製される。さらに、ある種のベクターは、それらが作用可能に連結されている遺伝子の発現を誘導することが可能である。このようなベクターは、本明細書において、「組み換え発現ベクター」（または単に、「発現ベクター」）と称される。一般に、組み換えＤＮＡ技術において有用な発現ベクターは、しばしば、プラスミドの形態である。プラスミドは、もっとも一般的に使用されるベクターの形態であるので、本明細書において、「プラスミド」および「ベクター」は互換的に使用され得る。しかしながら、本発明は、均等な機能を果たす、ウイルスベクターなどの（例えば、複製欠損レトロウイルス、アデノウイルスおよびアデノ随伴ウイルス）発現ベクターのような他の形態を含むものとする。

【０１１３】

「作用可能に連結された」という用語は、記載された成分をそれらを所期の様式で機能させることができる関係にある併置状態を表す。コード配列に対して「作用可能に連結された」制御配列は、制御配列と適合的な条件下で、コード配列の発現が達成されるように連結されている。「作用可能に連結された」配列は、目的の遺伝子と連続する発現調節配列および目的の遺伝子を調節するように、トランスにてまたは離れて作用する発現調節配列の両方を含む。本明細書において使用される「発現調節配列」という用語は、連結されているコード配列の発現およびプロセッシングに影響を与えるために必要であるポリヌクレオチド配列を表す。発現調節配列には、適切な転写開始、終結、プロモーターおよびエンハンサー配列；スプライシングおよびポリアデニル化シグナルなどの効率的なＲＮＡプロセッシングシグナル；細胞質ｍＲＮＡを安定化させる配列；翻訳効率を増強する配列（すなわち、Ｋｏｚａｋコンセンサス配列）；タンパク質の安定性を増強する配列；および所望であれば、タンパク質分泌を増強させる配列が含まれる。このような調節配列の性質は、宿主生物に応じて異なる。原核生物では、このような調節配列は、一般に、プロモーター、リボソーム結合部位および転写終結配列を含む。真核生物では、一般に、このような調節配列には、プロモーターおよび転写終結配列が含まれ得る。「調節配列」という用語は、その存在が発現およびプロセッシングに不可欠である成分を含むものとし、その存在が有利である追加の成分、例えば、リーダー配列および融合対配列も含むことが可能である。発現カセット、ベクター、組み換え宿主細胞ならびに単一オープンリーディングフレームからの組み換えポリタンパク質とタンパク質前駆体の組み換え発現およびタンパク質プロセシングのための方法を含む、当技術分野で公知の発現ベクターおよび宿主細胞を使用して、本発明のタンパク質構築物を発現させ精製することが可能である（例えば、ＷＯ　２００７／０１４１６２）。

【０１１４】

本明細書で定義される「形質転換」とは、外来ＤＮＡが宿主細胞に入るすべてのプロセスを表す。形質転換は、本分野で周知の様々な方法を用いて、自然の条件または人工の条件下で起こり得る。形質転換は、原核または真核宿主細胞中へ外来核酸配列を挿入するためのいずれかの公知の方法に依拠し得る。本方法は、形質転換されている宿主細胞に基づいて選択され、ウイルス感染、電気穿孔、リポフェションおよび粒子照射を含み得るが、これらに限定されない。このような「形質転換された」細胞には、挿入されたＤＮＡが、自律的に複製するプラスミドとして、または宿主染色体の一部として、その中で複製することできる安定に形質転換された細胞が含まれる。これらには、挿入されたＤＮＡまたはＲＮＡを、限られた時間にわたって一過性に発現する細胞も含まれる。

【０１１５】
本明細書において使用される「組み換え宿主細胞」（または単に、「宿主細胞」）という用語は、外来ＤＮＡがその中に導入されている細胞を表すものとする。このような用語は、当該細胞を表すのみならず、このような細胞の子孫も表すことを理解すべきである。突然変異または環境的な影響のために、後続の世代中にある種の修飾が生じ得るので、このような子孫は、実際には親細胞と同一でないことがあり得るが、本明細書において使用される「宿主細胞」という用語の範囲になお含まれる。好ましくは、宿主細胞には、原核細胞および真核細胞、昆虫細胞または生物のいずれかの界から選択される細胞が含まれる。好ましい真核細胞には、原生生物、真菌、植物および動物細胞が含まれる。もっとも好ましい宿主細胞には、原核細胞株Ｅ．コリ；哺乳動物細胞株ＣＨＯ、ＨＥＫ２９３およびＣＯＳ；昆虫細胞株Ｓｆ９および真菌細胞Ｓ．セレビシアエが含まれるが、これらに限定されるものではない。

【０１１６】
組み換えＤＮＡ、オリゴヌクレオチド合成および組織培養および形質転換（例えば、電気穿孔、リポフェクション）に対しては標準的な技術が使用され得る。酵素反応および精製技術は、製造業者の説明書に従って、または本分野で一般的に遂行されているように、または本明細書に記載されているように、実施され得る。一般に、先述の技術および手順は、本分野で周知の慣用的な方法に従い、ならびに本明細書を通じて引用および論述されている様々な一般的参考文献およびより具体的な参考文献中に記載されているように、実施し得る。例えば、Ｓａｍｂｒｏｏｋ ｅｔ ａｌ．Ｍｏｌｅｃｕｌａｒ Ｃｌｏｎｉｎｇ：Ａ Ｌａｂｏｒａｔｏｒｙ Ｍａｎｕａｌ（２ｄ ｅｄ．，Ｃｏｌｄ Ｓｐｒｉｎｇ Ｈａｒｂｏｒ Ｌａｂｏｒａｔｏｒｙ Ｐｒｅｓｓ，Ｃｏｌｄ Ｓｐｒｉｎｇ Ｈａｒｂｏｒ，Ｎ．Ｙ．（１９８９））を参照されたい。

【０１１７】
本分野において公知であり、本明細書において使用される「トランスジェニック生物」とは、導入遺伝子を含有する細胞を有する生物を表し、生物中に導入された導入遺伝子（または生物の子孫）は、生物中に自然に発現されていないポリペプチドを発現する。「導入遺伝子」とは、細胞のゲノム中に安定におよび作用可能に組み込まれているＤＮＡ構築物であり、この細胞からトランスジェニック生物が発達し、トランスジェニック生物の１つ以上の細胞種または組織中で、コードされた遺伝子産物の発現を誘導する。

【０１１８】
「制御する」または「調節する」という用語は互換的に使用され、本明細書において使用される場合、目的の分子の活性（例えば、PGE_2の生物学的活性）の変化または変更を表す。調節は、目的の分子の一定の活性または機能の規模の増加または減少であり得る。分子の典型的な活性および機能には、結合特性、酵素活性、細胞受容体活性化およびシグナル伝達が含まれるが、これらに限定されない。

【０１１９】
これに対応して、本明細書において使用される「調節物質」という用語は、目的の分子の活性または機能（例えば、PGE_2の生物学的活性）を変化または変更させることが可能な化合物である。例えば、調節物質は、調節物質の不存在下で観察される活性または機能の規模と比べて、分子のある種の活性または機能の規模の増加または減少を引き起こし得る。ある種の実施形態において、調節物質は、分子の少なくとも１つの活性または機能の規模を減少させる阻害剤である。典型的な阻害剤には、タンパク質、ペプチド、抗体、ペプチバディ、炭水化物または小有機分子が含まれるが、これらに限定されるものではない。ペプチバディは、例えば、ＷＯ０１／８３５２５に記載されている。

【０１２０】
本明細書において使用される「アゴニスト」という用語は、目的分子と接触したときに、アゴニストの不存在下で観察される活性または機能の規模と比べて、分子のある種の活性または機能の規模の増加を引き起こす調節物質を表す。興味深い特定のアゴニストには、PGE_2またはポリペプチド、核酸、炭水化物またはPGE_2に結合する他のすべての

分子が含まれるが、これらに限定されるものではない。

【０１２１】

本明細書において使用される「アンタゴニスト」または「阻害剤」という用語は、目的分子と接触したときに、アンタゴニストの不存在下で観察される活性または機能の規模と比べて、分子のある種の活性または機能の規模の減少を引き起こす調節物質を表す。興味深い具体的なアンタゴニストには、ＰＧＥ$_2$の生物学的または免疫学的活性を遮断または調節するアンタゴニストが含まれる。ＰＧＥ$_2$のアンタゴニストおよび阻害剤には、タンパク質、核酸、炭水化物またはＰＧＥ$_2$に結合する他のすべての分子が含まれ得るが、これらに限定されるものではない。

【０１２２】

「受容体への結合を阻害する」という用語は、その受容体のうちの１つまたはそれ以上へのＰＧＥ$_2$の結合を妨げる結合タンパク質の能力を表す。受容体への結合をそのように阻害すれば、その受容体または複数の受容体へのＰＧＥ$_2$の結合により媒介される生物学的活性が減少するまたは消滅すると考えられる。

【０１２３】

本明細書において使用される「有効量」という用語は、疾患もしくはその１つもしくはそれ以上の症候の重度および／または持続時間を低下もしくは軽減し、疾患の進行を抑制し、疾患の退行を引き起こし、疾患に伴う１つもしくはそれ以上の症候の再発、発達、発症もしくは進行を予防し、疾患を検出し、または別の療法（例えば、予防的または治療的剤）の予防的または治療的効果を増強もしくは改善するのに十分である療法の量を表す。

【０１２４】

本明細書で使用される「試料」という用語は、もっとも広義で使用される。本明細書において使用される「生物学的試料」は、生物または生物であったものから得られた物質のいずれかの量を含むが、これらに限定されない。このような生物には、ヒト、マウス、ラット、サル、イヌ、ウサギおよびその他の動物が含まれるが、これらに限定されない。このような物質には、血液、血清、尿、滑液、細胞、臓器、組織、骨髄、リンパ節および脾臓が含まれるが、これらに限定されない。

【０１２５】

好ましい実施形態において、結合タンパク質は、ＰＧＥ$_2$に結合することが可能であるＣＤＲ移植された抗体またはこの抗原結合部分である。好ましくは、ＣＤＲ移植された抗体またはこの抗原結合部分は、上で開示される２Ｂ５－７．０、または２Ｂ５－８．０、または２Ｂ５－９．０由来の１つまたはそれ以上のＣＤＲを含む。好ましくは、ＣＤＲ移植された抗体またはこの抗原結合部分は、ヒトアクセプターフレームワークを含む。さらに好ましくは、ヒトアクセプターフレームワークは、２Ｂ５－７．０、または２Ｂ５－８．０、または２Ｂ５－９．０のマウス抗体フレームワークに６０％を超える相同性を有するヒトアクセプターフレームワークのうちのいずれか１つである。

【０１２６】

好ましい実施形態において、結合タンパク質は、ＰＧＥ$_2$に結合することが可能であるヒト化抗体またはこの抗原結合部分である。好ましくは、ヒト化抗体またはこの抗原結合部分は、ヒトアクセプターフレームワークのヒト抗体可変ドメインに組み込まれている上で開示されている１つまたはそれ以上のＣＤＲを含む。好ましくは、ヒト抗体可変ドメインはコンセンサスヒト可変ドメインである。さらに好ましくは、ヒトアクセプターフレームワークは、キーとなる残基に少なくとも１つのフレームワーク領域アミノ酸置換を含み、上記キーとなる残基はＣＤＲに隣接する残基、グリコシル化部位残基、希少残基、ＰＧＥ$_2$と相互作用をすることが可能である残基、ＣＤＲと相互作用をすることが可能である残基、カノニカル残基、重鎖可変領域と軽鎖可変領域間の接触残基、バーニアゾーン内の残基およびＣｈｏｔｈｉａ定義可変重鎖ＣＤＲ１とＫａｂａｔ定義第一重鎖フレームワーク間で重複する領域の残基からなる群から選択される。好ましくは、ヒトアクセプターフレームワークは、少なくとも１つのフレームワーク領域アミノ酸置換を含み、上記フレームワークのアミノ酸配列が、ヒトアクセプターフレームワークの配列に対して少なくとも

６５％同一であり、ヒトアクセプターフレームワークに同一の少なくとも７０アミノ酸残基を含む。

【０１２７】

一実施形態において、ヒト化抗体またはこの抗原結合部分は、上に開示されている３つまたはそれ以上のＣＤＲを含む。ある種の実施形態において、ヒト化抗体またはこの抗原結合部分は、上に開示されている６つのＣＤＲを含む。

【０１２８】

本発明の一実施形態は、上に開示されている結合タンパク質のうちのいずれか１つおよびリンカーポリペプチドまたは免疫グロブリンを含む抗体構築物を提供する。好ましい実施形態において、抗体構築物は、免疫グロブリン分子、モノクローナル抗体、キメラ抗体、ＣＤＲ移植された抗体、ヒト化抗体、Ｆａｂ、Ｆａｂ’、Ｆ（ａｂ’）２、Ｆｖ、ジスルフィド連結Ｆｖ、ｓｃＦｖ、単一ドメイン抗体、ダイアボディ、多重特異的抗体、二重特異的抗体、ＤＶＤ－Ｉｇ（商標）および二特異的抗体からなる群から選択される。好ましい実施形態において、抗体構築物は、ヒトＩｇＭ定常ドメイン、ヒトＩｇＧ１定常ドメイン、ヒトＩｇＧ２定常ドメイン、ヒトＩｇＧ３定常ドメイン、ヒトＩｇＧ４定常ドメイン、ヒトＩｇＥ定常ドメインおよびヒトＩｇＡ定常ドメインからなる群から選択される重鎖免疫グロブリン定常ドメインを含む。別の実施形態において、本発明は、上に開示されている抗体構築物ならびに免疫接着分子、造影剤、治療剤および細胞毒性剤からなる群から選択される因子を含む抗体連結体を提供する。好ましい実施形態において、造影剤は、放射性標識、酵素、蛍光標識、発光標識、化学発光標識、磁気標識およびビオチンからなる群から選択される。さらに好ましくは、造影剤は、^{3}Ｈ、^{14}Ｃ、^{35}Ｓ、^{90}Ｙ、^{99}Ｔｃ、^{111}Ｉｎ、^{125}Ｉ、^{131}Ｉ、^{177}Ｌｕ、^{166}Ｈｏおよび^{153}Ｓｍからなる群から選択される放射性標識である。好ましい実施形態において、治療または細胞毒性剤は、代謝拮抗剤、アルキル化剤、抗生物質、成長因子、サイトカイン、抗血管新生剤、有糸分裂阻害剤、アントラサイクリン、毒素およびアポトーシス剤からなる群から選択される。

【０１２９】

別の実施形態において、抗体構築物はグリコシル化されている。好ましくは、グリコシル化はヒトグリコシル化パターンである。

【０１３０】

別の実施形態において、上に開示されている結合タンパク質、抗体構築物または抗体連結体は結晶である。好ましくは、上記結晶は無担体医薬徐放結晶である。好ましい実施形態において、結晶化結合タンパク質、結晶化抗体構築物または結晶化抗体連結体は、これらの可溶性対応物よりも大きなインビボ半減期を有する。別の好ましい実施形態において、結晶化結合タンパク質、結晶化抗体構築物または結晶化抗体連結体は、結晶化後でも生物学的活性を保持している。

【０１３１】

本発明の一態様は、上に開示されている結合タンパク質、抗体構築物または抗体連結体のうちのいずれか１つをコードしている単離された核酸に関する。追加の実施形態は、上に開示されている単離された核酸を含むベクターを提供し、上記ベクターはｐｃＤＮＡ；ｐＴＴ（Ｄｕｒｏｃｈｅｒ ｅｔ ａｌ．、Ｎｕｃｌｅｉｃ Ａｃｉｄｓ Ｒｅｓｅａｒｃｈ ２００２、Ｖｏｌ ３０、Ｎｏ．２）；ｐＴＴ３（追加の複数のクローニングサイトを有するｐＴＴ）；ｐＥＥＢＯＳ（Ｍｉｚｕｓｈｉｍａ、Ｓ．ａｎｄ Ｎａｇａｔａ、Ｓ．（１９９０）Ｎｕｃｌｅｉｃ ａｃｉｄｓ Ｒｅｓｅａｒｃｈ Ｖｏｌ １８、Ｎｏ．１７）；ｐＢＶ；ｐＪＶ；ｐＡ２およびｐＢＪからなる群から選択される。

【０１３２】

別の態様において、宿主細胞は上に開示されているベクターで形質転換されている。好ましくは、宿主細胞は原核細胞である。さらに好ましくは、宿主細胞はイー・コリである。別の実施形態において、宿主細胞は真核細胞である。好ましくは、真核細胞は、原生細胞、動物細胞、植物細胞および真菌細胞からなる群から選択される。さらに好ましくは、

宿主細胞は、ＣＨＯ、ＨＥＫ２９３およびＣＯＳを含むがこれらに限定されない哺乳動物細胞；またはサッカロマイセス・セレビシエなどの真菌細胞；またはＳｆ９などの昆虫細胞である。

【０１３３】

本発明の別の態様は、PGE_2に結合する結合タンパク質を産生するのに十分な条件下で、上に開示されている宿主細胞のうちのいずれか１つを培地中で培養することを含む、PGE_2に結合する結合タンパク質を産生する方法を提供する。別の実施形態は、上に開示されている方法に従って産生される結合タンパク質を提供する。

【０１３４】

本発明は、上に開示されている結合タンパク質、抗体構築物または抗体連結体および医薬として許容しうる担体を含む医薬組成物も提供する。追加の実施形態では、医薬組成物は、PGE_2活性が有害である障害を治療するための少なくとも１つの追加の治療剤を含む。好ましくは、追加の因子は、治療剤、造影剤、細胞毒性剤、血管新生阻害剤（抗ＶＥＧＦ抗体またはＶＥＧＦトラップを含むが、これらに限定されない）；キナーゼ阻害剤（ＫＤＲおよびＴＩＥ－２阻害剤を含むが、これらに限定されない）；共刺激分子遮断剤（抗Ｂ７．１、抗Ｂ７．２、ＣＴＬＡ４－Ｉｇ、抗ＣＤ２０を含むが、これらに限定されない）；接着分子遮断剤（抗ＬＦＡ－１　Ａｂ、抗Ｅ／Ｌセレクチンａｂ、小分子阻害剤を含むが、これらに限定されない）；抗サイトカイン抗体またはこの機能的断片（抗ＩＬ－１８、抗ＴＮＦ、抗ＩＬ－６／サイトカイン受容体抗体を含むが、これらに限定されない）；メトトレキサート；シクロスポリン；ラパマイシン；ＦＫ５０６；検出可能な標識またはレポーター；ＴＮＦアンタゴニスト；抗リウマチ剤；筋肉弛緩剤、麻酔、非ステロイド系抗炎症薬（ＮＳＡＩＤ）、鎮痛剤、麻酔剤、鎮静剤、局所麻酔、神経筋肉遮断薬、抗微生物剤、抗乾癬剤、コルチコステロイド、アナボリックステロイド、エリスロポエチン、免疫化、イムノグロブリン、免疫抑制剤、成長ホルモン、ホルモン置換剤、放射性薬剤、抗うつ剤、抗精神病薬、刺激物質、喘息薬、βアゴニスト、吸引用ステロイド、エピネフリンまたはその類似体、サイトカインおよびサイトカインアンタゴニストからなる群から選択される。

【０１３５】

別の態様において、本発明は、PGE_2活性が抑制されるように、PGE_2を上に開示されている結合タンパク質に接触させることを含む、PGE_2活性を抑制するための方法を提供する。関連する態様において、本発明は、ヒト対象におけるPGE_2活性が抑制され治療が達成されるように、ヒト対象に上に開示されている結合タンパク質を投与することを含む、PGE_2活性が有害である障害に罹っているヒト対象におけるPGE_2活性を抑制するための方法を提供する。

【０１３６】

別の態様において、本発明は、対象においてPGE_2関連障害を治療する（例えば、治癒する、抑制する、寛解する、上記障害の発病を遅延させるもしくは予防するもしくは上記障害の再発を予防する）または上記障害を予防する方法を提供する。上記方法は、PGE_2結合剤（特に、アンタゴニスト）、例えば、本明細書に記載されている抗PGE_2抗体またはこの断片を、PGE_2関連障害を治療するまたは予防するのに十分な量、対象に投与することを含む。PGE_2アンタゴニスト、例えば、抗PGE_2抗体またはこの断片は、単独でまたは本明細書に記載されている他の治療モダリティと組み合わせて対象に投与することが可能である。

【０１３７】

一実施形態において、本発明は、哺乳動物対象、例えば、過剰なPGE_2合成が関与している自己免疫疾患、炎症性疾患および腫瘍を含む１つまたはそれ以上のPGE_2関連障害に罹っているヒトにおける１つまたはそれ以上の症状を治療する（例えば、軽減する、寛解する）または予防するための方法および組成物を提供する。そのような障害は、（ａ）関節リウマチおよびアレルギー性関節炎；（ｂ）ギランバレー症候群、感染性単核球症、他のウイルス性リンパ節症およびヘルペスウイルスによる感染症などのウイルスにより

誘発されるある種の疾患；（ｃ）多発性硬化症および他の脱髄疾患；（ｄ）溶血性貧血および血小板減少症などの血液障害；（ｅ）糖尿病、アジソン病、特発性副甲状腺機能低下症および慢性リンパ性甲状腺炎などの内分泌学的障害；（ｆ）全身性エリテマトーデスなどのコラーゲン障害；ならびに（ｇ）無月経、不妊症、反復流産および子癇などの生殖障害；ならびに（ｈ）頭頸部腫瘍、肺癌、胃癌、前立腺癌、膵癌等などの腫瘍；ならびに（ｉ）胃腸器官障害（例えば、潰瘍性大腸炎および／またはクローン病などの炎症性腸疾患（ＩＢＤ））；ならびに（ｊ）変形性関節炎および他の障害に伴う疼痛などの疼痛障害；ならびに（ｋ）加齢性黄斑変性症（ＡＭＤ）などの視覚障害を含む。したがって、本開示は、治療のためのPGE_2結合剤（例えば、抗PGE_2抗体またはこの断片）の使用および治療のための薬物を調製するためのPGE_2結合剤（例えば、抗PGE_2抗体またはこの断片）の使用を含む。

【０１３８】

上記方法は、PGE_2アンタゴニスト、例えば、PGE_2抗体またはこの断片を、１つまたはそれ以上の症状を治療する（例えば、軽減する、寛解する）または予防するのに十分な量、対象に投与することを含む。PGE_2抗体は、治療的にもしくは予防的に、またはその両方で投与することが可能である。PGE_2アンタゴニスト、例えば、抗PGE_2抗体またはこの断片は、単独でまたは本明細書に記載されている他の治療モダリティと組み合わせて対象に投与することが可能である。好ましくは、対象は哺乳動物、例えば、本明細書に記載されているPGE_2関連障害に罹っているヒトである。

【０１３９】

別の態様において、本願は、試料（例えば、血清、血漿、組織、バイオプシーなどの生体試料）中のPGE_2の存在をインビトロで検出するための方法を提供する。本方法を使用して、障害、例えば、免疫細胞関連障害を診断することが可能である。上記方法は、（ｉ）試料または対照試料を、本明細書に記載されている抗PGE_2抗体またはこの断片に接触させること、および（ｉｉ）抗PGE_2抗体またはこの断片と試料または対照試料間の複合体の形成を検出し、対照試料と比べて試料中の複合体の形成における統計的に有意な変化が試料中のPGE_2の存在を示していることを含む。

【０１４０】

別の態様において、本発明は、上記のように第二の因子の投与前に、同時に、または投与後に上に開示されている結合タンパク質のうちのいずれか１つを投与する工程を含む、PGE_2が有害である障害に罹っている患者を治療する方法を提供する。好ましい実施形態において、１つまたはそれ以上のPGE_2アンタゴニスト（例えば、抗PGE_2抗体またはこの断片）と同時投与するおよび／または同時処方することが可能である、追加の治療剤は、ＭＴＸ；経口ステロイド；メタロプロテアーゼ阻害剤；スルファサラジン；アザチオプリン；６－メルカプトプリン；アンギオテンシン変換酵素阻害剤；可溶性サイトカイン受容体；可溶性ｐ５５　ＴＮＦ受容体；可溶性ｐ７５　ＴＮＦ受容体；ｓＩＬ－１ＲＩ、ｓＩＬ－１ＲＩＩ、ｓＩＬ－６Ｒ、抗炎症性サイトカイン、ＩＬ－４、ＩＬ－１０、ＩＬ－１１およびＴＧＦβを含むが、これらに限定されない。

【０１４１】

好ましい実施形態において、上に開示されている医薬組成物は、非経口、皮下、筋肉内、静脈内、関節内、気管支内、腹腔内、嚢内、軟骨内、腔内（ｉｎｔｒａｃａｖｉｔａｒｙ）、腔内（ｉｎｔｒａｃｅｌｉａｌ）、小脳内、脳室内、結腸内、頸部内、胃内、肝内、心筋内、骨内、骨盤内、心膜内、腹腔内、胸膜内、前立腺内、肺内、直腸内、腎臓内、網膜内、脊髄内、滑膜内、胸腔内、子宮内、膀胱内、ボーラス、膣、直腸、頬側、舌下、鼻腔内および経皮的から選択される少なくとも１つの様式によって、対象に投与される。

【０１４２】

本発明の一態様は、少なくとも１つのPGE_2抗イディオタイプ抗体を本発明の少なくとも１つのPGE_2結合タンパク質に提供する。抗イディオタイプ抗体は、本発明の結合タンパク質に組み込むことが可能である、重鎖もしくは軽鎖の少なくとも１つの相補性決定領域（ＣＤＲ）またはこのリガンド結合部分、重鎖もしくは軽鎖可変領域、重鎖もしく

は軽鎖定常領域、フレームワーク領域、またはこれらの任意の部分などの、しかしこれらに限定されない、免疫グロブリン分子の少なくとも一部分を含む任意のタンパク質またはペプチド含有分子を含む。

【０１４３】

Ｉ．プロスタグランジンＥ$_2$に結合する抗体

本発明は、高親和性、緩慢な解離速度および高中和能でＰＧＥ$_2$に結合するマウスモノクローナル抗体またはこの抗原結合部分を提供する。本発明は、ＰＧＥ$_2$に結合するキメラ抗体も提供する。本発明は、ＰＧＥ$_2$に結合するヒト化抗体またはこの抗原結合部分も提供する。好ましくは、抗体またはこの部分は単離された抗体である。好ましくは、本発明の抗体は、中和ヒト抗ＰＧＥ$_2$および／またはヒト抗ＰＧＥ$_2$抗体である。

【０１４４】

Ａ．抗プロスタグランジンＥ$_2$抗体の作製方法

本発明の抗体および抗体断片は、例えば、ハイブリドーマ、微生物（例えば、ファージ、細菌、酵母）、組み換え体、リボソーム、ｍＲＮＡおよびＤＮＡディスプレイ、またはこれらの組合せなどの任意の当技術分野で公知の方法により作製し得る。多くの方法を使用して、抗体を操作して、当技術分野で周知のヒト化、親和性成熟、抗体アイソタイプ転換、生理化学的性質および薬物動態プロファイル改良などを含む抗体特性を改変することが可能である。

【０１４５】

１．ハイブリドーマ技術を使用する抗プロスタグランジンＥ$_2$モノクローナル抗体

モノクローナル抗体は、ハイブリドーマ、組み換え、ファージ、および酵母ディスプレイ技術またはこれらの組合せの使用など、本分野で公知の多様な技術を用いて調製することが可能である。例えば、モノクローナル抗体は、本分野において公知であり、例えば、Ｈａｒｌｏｗ ｅｔ ａｌ．，Ａｎｔｉｂｏｄｉｅｓ：Ａ Ｌａｂｏｒａｔｏｒｙ Ｍａｎｕａｌ，（Ｃｏｌｄ Ｓｐｒｉｎｇ Ｈａｒｂｏｒ Ｌａｂｏｒａｔｏｒｙ Ｐｒｅｓｓ，２ｎｄ ｅｄ．１９８８）；Ｈａｍｍｅｒｌｉｎｇ，ｅｔ ａｌ．，ｉｎ：Ｍｏｎｏｃｌｏｎａｌ Ａｎｔｉｂｏｄｉｅｓ ａｎｄ Ｔ－ＣｅＩｌ Ｈｙｂｒｉｄｏｍａｓ ５６３－６８１（Ｅｌｓｅｖｉｅｒ，Ｎ．Ｙ．，１９８１）に教示されているものなど、ハイブリドーマ技術を用いて作製することが可能である。本明細書において使用される「モノクローナル抗体」という用語は、ハイブリドーマ技術を通じて産生された抗体に限定されない。「モノクローナル抗体」という用語は、あらゆる真核、原核またはファージクローンなど、単一のクローンに由来する抗体を表し、それが産生される方法によらない。

【０１４６】

ハイブリドーマ技術を使用して特定の抗体を作製しスクリーニングするための方法は、当技術分野では常用であり周知である。一実施形態において、本発明はモノクローナル抗体の他にも、本発明の抗体を分泌するハイブリドーマ細胞を培養することを含む方法により産生される抗体を作製する方法を提供し、好ましくは、ハイブリドーマは、本発明の抗原で免疫されたマウスから単離される脾細胞を骨髄腫細胞と融合させ、次に本発明のポリペプチドに結合することが可能である抗体を分泌するハイブリドーマクローンを求めて上記融合から生じるハイブリドーマをスクリーニングすることにより作製される（実施例１．２参照）。手短に言えば、マウスは、ハプテン担体タンパク質連結体として知られる担体タンパク質連結体ＰＧＥ$_2$で免疫することが可能である。ここで、ハプテンはＰＧＥ$_2$であり、担体タンパク質は、ウシサイログロブリン、キーホールリンペットヘモシアニン、ウシ血清アルブミン、卵白アルブミンなどのいずれであっても可能である。好ましい実施形態において、ＰＧＥ$_2$－サイログロブリン連結体は、免疫応答を刺激するアジュバンドと一緒に投与される。そのようなアジュバンドには、完全または不完全フロイントアジュバンド、ＲＩＢＩ（ムラミルジペプチド）またはＩＳＣＯＭ（免疫賦活性複合体）が含まれる。そのようなアジュバンドは、ポリペプチチドを限局性沈着に隔離することにより急速な分散から保護してよい、または宿主を刺激してマクロファージおよび免疫系の他の成分に対して走化性である因子を分泌させる物質を含有していてもよい。好ましくは、ポ

リペプチドが投与中であれば、免疫スケジュールは、数週間にわたって広がっているポリペプチドの２回またはそれ以上の投与を伴う。

【０１４７】

ＰＧＥ$_2$－サイログロブリン連結体での動物の免疫化後に、抗体および／または抗体産生細胞をその動物から得てもよい。抗ＰＧＥ$_2$抗体含有血清は、上記動物を出血させるまたは屠殺することにより上記動物から入手される。血清は上記動物から入手されると同時に使用してもよく、免疫グロブリン画分を血清から得てもよく、または抗ＰＧＥ$_2$抗体を上記血清から精製してもよい。このような形で得られる血清または免疫グロブリンはポリクローナルであり、したがって、不均一な配列の特性を有する。

【０１４８】

免疫応答が検出されると、例えば、抗原のＰＧＥ$_2$に特異的な抗体がマウス血清中で検出されると、マウス脾臓は回収され脾細胞は単離される。次に、脾細胞は周知の技術により任意の適切な骨髄腫細胞、例えば、ＡＴＣＣから入手可能な細胞系統ＳＰ２０由来の細胞に融合される。ハイブリドーマは限界希釈により選択されクローン化される。次に、ハイブリドーマクローンは、ＰＧＥ$_2$に結合することが可能である抗体を分泌する細胞を求めて当技術分野では公知の方法によりアッセイされる。腹水液は、通常、高レベルの抗体を含有しているが、マウスを陽性ハイブリドーマクローンで免疫することにより作製することが可能である。

【０１４９】

別の実施形態において、抗体産生不死化ハイブリドーマは、免疫化動物から調製され得る。免疫化後、動物は屠殺され、脾臓Ｂ細胞は、当技術分野で周知の不死化骨髄腫細胞に融合される。例えば、Ｈａｒｌｏｗ　ａｎｄ　Ｌａｎｅ、上記を参照されたい。好ましい実施形態において、骨髄腫細胞は免疫グロブリンポリペプチドを分泌しない（非分泌性細胞系統）。融合および抗生物質選択後、ハイブリドーマは、ＰＧＥ$_2$またはこの一部分、またはＰＧＥ$_2$を発現している細胞を使用してスクリーニングされる。好ましい実施形態において、最初のスクリーニングは、酵素連結免疫アッセイ（ＥＬＩＳＡ）またはラジオイムノアッセイ（ＲＩＡ）、好ましくはＥＬＩＳＡを使用して実施される。ＥＬＩＳＡスクリーニングの例は、ＷＯ　００／３７５０４に提供されている。

【０１５０】

抗ＰＧＥ$_2$抗体産生ハイブリドーマは、以下にさらに記載されているように、選択され、クローニングされ、頑強なハイブリドーマ増殖、高い抗体産生および所望の抗体特性など、所望の特性についてさらにスクリーニングされる。ハイブリドーマは、培養され、同系の動物中で、免疫系を欠く動物（例えば、ヌードマウス）中で、インビボで、または細胞培養中で、インビトロで増殖され得る。ハイブリドーマを選択し、クローニングし、増殖させる方法は、当業者に周知である。

【０１５１】

好ましい実施形態において、上記に記載されたように、ハイブリドーマはマウスハイブリドーマである。別の好ましい実施形態において、ハイブリドーマは、ラット、ヒツジ、ブタ、ヤギ、ウシまたはウマなど、非ヒト非マウス種の中で産生される。別の実施形態において、ハイブリドーマは、ヒト非分泌性骨髄腫が、抗ＰＧＥ$_2$抗体を発現するヒト細胞と融合されているヒトハイブリドーマである。

【０１５２】

特定のエピトープを認識する抗体断片は、公知の技術により作製してよい。例えば、本発明のＦａｂおよびＦ（ａｂ’）２断片は、パパイン（Ｆａｂ断片を作製するため）またはペプシン（Ｆ（ａｂ’）２断片を作製するため）などの酵素を使用して、免疫グロブリン分子のタンパク質切断により作製してもよい。Ｆ（ａｂ’）２断片は、可変領域、軽鎖定常領域および重鎖のＣＨ１ドメインを含有している。

【０１５３】

２．ＳＬＡＭを使用する抗プロスタグランジンＥ$_2$モノクローナル抗体

本発明の別の態様において、組み換え抗体は、米国特許第５，６２７，０５２号、ＰＣ

Ｔ公開ＷＯ９２／０２５５１およびＢａｂｃｏｃｋ，Ｊ．Ｓ．ｅｔ　ａｌ．（１９９６）Ｐｒｏｃ．Ｎａｔｌ．Ａｃａｄ．Ｓｃｉ．ＵＳＡ　９３：７８４３－７８４８に記載されているように、選択リンパ球抗体法（ＳＬＡＭ；ｓｅｌｅｃｔｅｄ　ｌｙｍｐｈｏｃｙｔｅ　ａｎｔｉｂｏｄｙ　ｍｅｔｈｏｄ）として本分野で呼ばれている手法を用いて、単一の単離されたリンパ球から作製される。本方法では、目的の抗体を分泌している単一細胞、例えば、セクション１に記載されている免疫化動物のいずれか１つ由来のリンパ球は、抗原PGE_2、PGE_2のサブユニットまたはこれらの断片がビオチンなどのリンカーを使用してヒツジ赤血球に連結され、これを使用してPGE_2に特異性を有する抗体を分泌する単一細胞を同定する抗原特異的溶血プラークアッセイを使用してスクリーニングされる。目的の抗体分泌細胞の同定に続いて、重鎖および軽鎖可変領域ｃＤＮＡは、逆転写酵素－ＰＣＲにより細胞から救出され、次に、これらの可変領域は、ＣＯＳ、ＨＥＫ２９３またはＣＨＯ細胞などの哺乳動物宿主細胞中で適切な免疫グロブリン定常領域（例えば、ヒト定常領域）との関連で発現されることが可能である。増幅された免疫グロブリン配列で形質移入され、インビボで選択されたリンパ球に由来する宿主細胞は、次いで、例えば、PGE_2に対する抗体を発現する細胞を単離するために、形質移入された細胞をパニングすることによって、インビトロで、さらに分析および選択を行うことが可能である。増幅された免疫グロブリン配列は、さらに、ＰＣＴ公開ＷＯ９７／２９１３１およびＰＣＴ公開ＷＯ００／５６７７２に記載されているものなど、インビトロでのアフィニティー成熟方法によるなど、インビトロで操作することが可能である。

【０１５４】

３．トランスジェニック動物を使用する抗プロスタグランジンE_2モノクローナル抗体

本発明の別の実施形態において、抗体は、PGE_2担体タンパク質連結体を有するヒト免疫グロブリン遺伝子座のいくつかまたはすべてを含む非ヒト動物を免疫することによって産生される。好ましい実施形態において、非ヒト動物は、ＸＥＮＯＭＯＵＳＥトランスジェニックマウス（ヒト免疫グロブリン遺伝子座の巨大断片を含み、マウス抗体産生を欠失している改変されたマウス系統）である。例えば、Ｇｒｅｅｎ　ｅｔ　ａｌ．Ｎａｔｕｒｅ　Ｇｅｎｅｔｉｃｓ　７：１３－２１（１９９４）ならびに米国特許第５，９１６，７７１号、第５，９３９，５９８号、第５，９８５，６１５号、第５，９９８，２０９号、第６，０７５，１８１号、第６，０９１，００１号、第６，１１４，５９８号および第６，１３０，３６４号を参照されたい。１９９１年７月２５日に公開されたＷＯ９１／１０７４１、１９９４年２月３日に公開されたＷＯ９４／０２６０２、ともに１９９６年１０月３１日に公開されたＷＯ９６／３４０９６およびＷＯ９６／３３７３５、１９９８年４月２３日に公開されたＷＯ９８／１６６５４、１９９８年６月１１日に公開されたＷＯ９８／２４８９３、１９９８年１１月１２日に公開されたＷＯ９８／５０４３３、１９９９年９月１０日に公開されたＷＯ９９／４５０３１、１９９９年１０月２１日に公開されたＷＯ９９／５３０４９、２０００年２月２４日に公開されたＷＯ　００　０９５６０および２０００年６月２９日に公開されたＷＯ００／０３７５０４も参照されたい。ＸＥＮＯＭＯＵＳＥトランスジェニックマウスは、完全なヒト抗体の成人様ヒトレパートリーを産生し、抗原特異的ヒトＭａｂを生成する。ＸＥＮＯＭＯＵＳＥトランスジェニックマウスは、ヒト重鎖遺伝子座およびｘ軽鎖遺伝子座のメガ塩基サイズの生殖系列配置ＹＡＣ断片の導入を通じて、ヒト抗体レパートリーの約８０％を含有する。Ｍｅｎｄｅｚ　ｅｔ　ａｌ．，Ｎａｔｕｒｅ　Ｇｅｎｅｔｉｃｓ　１５：１４６－１５６（１９９７）、Ｇｒｅｅｎ　ａｎｄ　Ｊａｋｏｂｏｖｉｔｓ　Ｊ．Ｅｘｐ．Ｍｅｄ．１８８：４８３－４９５（１９９８）を参照されたい。

【０１５５】

４．組み換え抗体ライブラリーを使用する抗プロスタグランジンE_2モノクローナル抗体

本発明の抗体を作製するために、インビトロ法も使用することが可能であり、抗体ライブラリーは、所望の結合特異性を有する抗体を同定するためにスクリーニングされる。組み換え抗体ライブラリーのこのようなスクリーニングの方法は、本分野において周知であり、例えば、Ｌａｄｎｅｒ　ｅｔ　ａｌ．米国特許第５，２２３，４０９号；Ｋａｎｇ

et al.PCT公開WO92/18619;Dower et al.PCT公開WO91/17271;Winter et al.PCT公開WO92/20791;Markland et al.PCT公開WO92/15679;Breitling et al.PCT公開WO93/01288;McCafferty et al.PCT公開WO92/01047;Garrard et al.PCT公開WO92/09690;Fuchs et al.(1991)Bio/Technology 9:1370-1372;Hay et al.(1992)Hum Antibod Hybridomas 3:81-85;Huse et al.(1989)Science 246:1275-1281;McCafferty et al.,Nature(1990)348:552-554;Griffiths et al.(1993)EMBO J 12:725-734;Hawkins et al.(1992)J Mol Biol 226:889-896;Clackson et al.(1991)Nature 352:624-628;Gram et al.(1992)PNAS 89:3576-3580;Garrad et al.(1991)Bio/Technology 9:1373-1377;Hoogenboom et al.(1991)Nuc Acid Res 19:4133-4137;およびBarbas et al(1991)PNAS 88:7978-7982、米国特許出願公開第20030186374号およびPCT公開WO97/29131に記載されている方法が含まれる。

【0156】

組み換え抗体ライブラリーは、PGE_2-担体タンパク質連結体で免疫された対象由来でもよい。代わりに、組み換え抗体ライブラリーは、未処置対象、すなわち、PGE_2-担体タンパク質連結体で免疫されたことがないヒト対象由来のヒト抗体ライブラリーなどの、PGE_2-担体タンパク質連結体で免疫されたことがない対象由来でもよい。PGE_2を含む因子を用いて組み換え抗体ライブラリーをスクリーニングし、それによりPGE_2を認識する抗体を選択することにより、本発明の抗体は選択される。前段落の参考文献に記載されているなどの、そのようなスクリーニングおよび選択を行うための方法は当技術分野では周知である。特定の解離速度定数(k_{off})でPGE_2から解離する抗体などの、PGE_2に対して特定の結合親和性を有する本発明の抗体を選択するためには、表面プラズモン共鳴という当技術分野で公知の方法を使用して、目的の解離速度定数(k_{off})を有する抗体を選択することが可能である。特定のIC_{50}を有する抗体などの、PGE_2に対して特定の中和活性を有する本発明の抗体を選択するためには、PGE_2活性の抑制を評価するための当技術分野で公知の標準法を使用してよい。

【0157】

例えば、本発明の抗体は、本分野で公知の様々なファージディスプレイ法を用いて作製することも可能である。ファージディスプレイ法では、機能的抗体ドメインは、これらをコードしているポリヌクレオチド配列を担持するファージ粒子の表面上にディスプレイされる。特に、このようなファージは、レパートリーまたはコンビナトリアル抗体ライブラリー(例えば、ヒトまたはマウス)から発現される抗原結合ドメインをディスプレイするために使用することが可能である。目的の抗原に結合する抗原結合ドメインを発現するファージは、抗原を用いて、例えば、標識された抗原または固体表面もしくはビーズに結合もしくは捕捉された抗原を用いて、選択または同定することが可能である。これらの方法で使用されるファージは、典型的には、ファージ遺伝子IIIまたは遺伝子VIIIタンパク質のいずれかに組み換え的に融合されたFab、Fvまたはジスルフィドで安定化されたFv抗体ドメインとともにファージから発現されたfdおよびM13結合ドメインを含む糸状ファージである。本発明の抗体を作製するために使用することが可能なファージディスプレイ法の例には、Brinkman et al.,J.Immunol.Methods182:41-50(1995);Ames et al.,J.Immunol.Methods 184:177-186(1995);Kettleborough et al.,Eur.J.Immunol.24:952-958(1994)

；Ｐｅｒｓｉｃ ｅｔ ａｌ．，Ｇｅｎｅ １８７ ９－１８（１９９７）；Ｂｕｒｔｏｎ ｅｔ ａｌ．，Ａｄｖａｎｃｅｓ ｉｎ Ｉｍｍｕｎｏｌｏｇｙ ５７：１９１－２８０（１９９４）；ＰＣＴ出願ＰＣＴ／ＧＢ９１／０１１３４；ＰＣＴ公開ＷＯ９０／０２８０９；ＷＯ９１／１０７３７；ＷＯ９２／０１０４７；ＷＯ９２／１８６１９；ＷＯ９３／１１２３６；ＷＯ９５／１５９８２；ＷＯ９５／２０４０１；ならびに米国特許第５，６９８，４２６号；第５，２２３，４０９号；第５，４０３，４８４号；第５，５８０，７１７号；第５，４２７，９０８号；第５，７５０，７５３号；第５，８２１，０４７号；第５，５７１，６９８号；第５，４２７，９０８号；第５，５１６，６３７号；第５，７８０，２２５号；第５，６５８，７２７号；第５，７３３，７４３号および第５，９６９，１０８号に開示されているものが含まれる。

【０１５８】

上の参考文献に記載されているように、ファージ選択後、ヒト抗体または他の所望されるすべての抗原結合断片を含む完全な抗体を作製するために、ファージから得た抗体コード領域を単離および使用し、例えば、以下に詳述されているように、哺乳動物細胞、昆虫細胞、植物細胞、酵母および細菌など、あらゆる所望の宿主中で発現させることが可能である。例えば、ＰＣＴ公開ＷＯ９２／２２３２４；Ｍｕｌｌｉｎａｘ ｅｔ ａｌ．，ＢｉｏＴｅｃｈｎｉｑｕｅｓ １２（６）：８６４－８６９（１９９２）；およびＳａｗａｉ ｅｔ ａｌ．，ＡＪＲＩ ３４：２６－３４（１９９５）；およびＢｅｔｔｅｒ ｅｔ ａｌ．，Ｓｃｉｅｎｃｅ ２４０：１０４１－１０４３（１９８８）に開示されている方法などの本分野で公知の方法を用いて、Ｆａｂ、Ｆａｂ’およびＦ（ａｂ’）２断片を組み換え的に産生するための技術も使用することが可能である。一本鎖Ｆｖおよび抗体を作製するために使用することが可能な技術の例には、米国特許第４，９４６，７７８号および第５，２５８，４９８号；Ｈｕｓｔｏｎ ｅｔ ａｌ．，Ｍｅｔｈｏｄｓ ｉｎ Ｅｎｚｙｍｏｌｏｇｙ ２０３：４６－８８（１９９１）；Ｓｈｕ ｅｔ ａｌ．，ＰＮＡＳ ９０：７９９５－７９９９（１９９３）；ならびにＳｋｅｒｒａ ｅｔ ａｌ．，Ｓｃｉｅｎｃｅ ２４０：１０３８－１０４０（１９８８）に記載されているものが含まれる。

【０１５９】

ファージディスプレイによる組み換え抗体ライブラリーのスクリーニングに代えて、巨大なコンビナトリアルライブラリーをスクリーニングするための本分野で公知の他の方法を、本発明の二重特異性抗体の同定のために適用することが可能である。代替的発現系の１つの種類は、ＳｚｏｓｔａｋおよびＲｏｂｅｒｔｓによるＰＣＴ公開ＷＯ９８／３１７００ならびにＲｏｂｅｒｔｓ，Ｒ．Ｗ．ａｎｄ Ｓｚｏｓｔａｋ，Ｊ．Ｗ．（１９９７）Ｐｒｏｃ．Ｎａｔｌ．Ａｃａｄ．Ｓｃｉ．ＵＳＡ ９４，１２２９７－１２３０２に記載されているような、組み換え抗体ライブラリーがＲＮＡ－タンパク質融合物として発現されるものである。この系において、ピューロマイシン、ペプチジルアクセプター抗生物質をそれらの３’末端に担持する合成ｍＲＮＡのインビトロ翻訳によって、ｍＲＮＡおよびこれがコードするペプチドまたはタンパク質の間に共有結合的融合物が作製される。したがって、特異的なｍＲＮＡは、コードされているペプチドまたはタンパク質、例えば抗体またはその一部の特性（抗体またはその一部の、二重特異性抗原への結合など）に基づいて、ｍＲＮＡの複雑な混合物（例えば、コンビナトリアルライブラリー）から濃縮することが可能である。このようなライブラリーのスクリーニングから回収された、抗体またはその一部をコードする核酸配列は、本明細書に記載されているような組み換え手段によって（例えば、哺乳動物宿主細胞中で）発現されることが可能であり、さらに、最初に選択された配列中に変異が導入されているｍＲＮＡ－ペプチド融合物のスクリーニングのさらなるラウンドによって、または本明細書に記載されているように、組み換え抗体のインビトロでの親和性成熟のためのその他の方法によって、さらなる親和性成熟に供することが可能である。

【０１６０】

別のアプローチにおいて、本発明の抗体は、本分野で公知の酵母ディスプレイ法を用い

て作製することも可能である。酵母ディスプレイ法では、抗体ドメインを酵母細胞壁に繋留し、これらを酵母の表面上にディスプレイするために、遺伝学的な方法が使用される。特に、このような酵母は、レパートリーまたはコンビナトリアル抗体ライブラリー（例えば、ヒトまたはマウス）から発現される抗原結合ドメインをディスプレイするために使用することが可能である。本発明の抗体を作製するために使用することが可能な酵母ディスプレイ法の例には、Ｗｉｔｔｒｕｐ，ｅｔ　ａｌ．米国特許第６，６９９，６５８号に開示されているものが含まれる。

【０１６１】

５．ＰＲＯｆｕｓｉｏｎ　ｍＲＮＡディスプレイを使用する抗プロスタグランジンＥ$_2$モノクローナル抗体

ＰＲＯｆｕｓｉｏｎ（商標）技術は、上記のｍＲＮＡディスプレイ技術のうちの１つである。ＰＲＯｆｕｓｉｏｎ（商標）技術を使用すれば、様々な抗原に対して選択するため、それをコードするＤＮＡ配列と連結しているヒト抗体断片（ＶＨまたはＶＬまたはｓｃＦｖ）をディスプレイすることが可能である。本発明の抗体を作製するために使用することが可能であるｍＲＮＡディスプレイ法の例は、Ｓｚｏｓｔａｋ、ｅｔ　ａｌ．米国特許第６，２０７，４４６号；米国特許第６，２１４，５５３号；およびＧｏｌｄ、ｅｔ　ａｌ．米国特許第６，１９４，５５０号およびＲｏｂｅｒｔｓ、Ｒ．Ｗ．ａｎｄ　Ｓｚｏｓｔａｋ、Ｊ．Ｗ．（１９９７）Ｐｒｏｃ．Ｎａｔｌ．Ａｃａｄ．Ｓｃｉ．ＵＳＡ　９４：１２２９７－１２３０２に開示されている方法を含む。このシステムでは、その３’末端にペプチジル受容体抗生物質であるピューロマイシンを担っている合成ｍＲＮＡのインビトロ翻訳により、ｍＲＮＡとそのｍＲＮＡがコードしているペプチドまたはタンパク質の間で共有結合融合体が作り出される。したがって、二重特異性抗原への抗体またはこの部分の結合などの、コードされているペプチドまたはタンパク質、例えば、抗体またはこの部分の特性に基づいて、ｍＲＮＡの複合混合物（例えば、コンビナトリアルライブラリー）から特定のｍＲＮＡを濃縮することが可能である。そのようなライブラリーのスクリーニングから回収される、抗体またはこの部分をコードする核酸配列は、上記の組み換え手段により（例えば、哺乳動物宿主細胞において）発現させることができ、さらに、変異体が最初に選択された配列（複数可）に導入されているｍＲＮＡ－ペプチド融合体のスクリーニングの追加のラウンドにより、または上記の組み換え抗体のインビトロ親和性成熟のための他の方法により、さらに親和性成熟に供することが可能である。

【０１６２】

６．抗プロスタグランジンＥ$_2$モノクローナル抗体の親和性成熟

エラープローンＰＣＲまたは合成コンビナトリアルオリゴヌクレオチドまたはオリゴヌクレオチド定方向突然変異誘発を使用して、１つの最初の抗体のＣＤＲおよび／またはフレームワークに点突然変異（複数可）を導入することにより変異誘発抗体ライブラリーが作製される、本発明の抗体の親和性成熟のためのインビトロ法も使用することが可能である。次に、変異誘発ライブラリーをスクリーニングして、改良された結合特異性を有する抗体を同定することが可能である。組み換え抗体ライブラリーのそのようなスクリーニングのための方法は、当技術分野では周知であり、例えば、Ｌａｄｎｅｒ　ｅｔ　ａｌ．米国特許第５，２２３，４０９号；Ｋａｎｇ　ｅｔ　ａｌ．ＰＣＴ公開番号ＷＯ　９２／１８６１９；Ｄｏｗｅｒ　ｅｔ　ａｌ．ＰＣＴ公開番号ＷＯ　９１／１７２７１；Ｗｉｎｔｅｒ　ｅｔ　ａｌ．ＰＣＴ公開番号ＷＯ　９２／２０７９１；Ｍａｒｋｌａｎｄ　ｅｔ　ａｌ．ＰＣＴ公開番号ＷＯ　９２／１５６７９；Ｂｒｅｉｔｌｉｎｇ　ｅｔ　ａｌ．ＰＣＴ公開番号ＷＯ　９３／０１２８８；ＭｃＣａｆｆｅｒｔｙ　ｅｔ　ａｌ．ＰＣＴ公開番号ＷＯ　９２／０１０４７；Ｇａｒｒａｒｄ　ｅｔ　ａｌ．ＰＣＴ公開番号ＷＯ　９２／０９６９０；Ｆｕｃｈｓ　ｅｔ　ａｌ．（１９９１）Ｂｉｏ／Ｔｅｃｈｎｏｌｏｇｙ　９：１３７０－１３７２；Ｈａｙ　ｅｔ　ａｌ．（１９９２）Ｈｕｍ　Ａｎｔｉｂｏｄ　Ｈｙｂｒｉｄｏｍａｓ　３：８１－８５；Ｈｕｓｅ　ｅｔ　ａｌ．（１９８９）Ｓｃｉｅｎｃｅ　２４６：１２７５－１２８１；ＭｃＣａｆｆｅｒｔｙ　ｅｔ　ａｌ．、Ｎａｔｕｒｅ（１９９０）３４８：５５２－５５４；Ｇｒｉｆｆｉｔｈｓ　ｅｔ　ａｌ．（１９９

３）ＥＭＢＯ Ｊ １２：７２５－７３４；Ｈａｗｋｉｎｓ ｅｔ ａｌ．（１９９２）Ｊ Ｍｏｌ Ｂｉｏｌ ２２６：８８９－８９６；Ｃｌａｃｋｓｏｎ ｅｔ ａｌ．（１９９１）Ｎａｔｕｒｅ ３５２：６２４－６２８；Ｇｒａｍ ｅｔ ａｌ．（１９９２）ＰＮＡＳ ８９：３５７６－３５８０；Ｇａｒｒａｄ ｅｔ ａｌ．（１９９１）Ｂｉｏ／Ｔｅｃｈｎｏｌｏｇｙ ９：１３７３－１３７７；Ｈｏｏｇｅｎｂｏｏｍ ｅｔ ａｌ．（１９９１）Ｎｕｃ Ａｃｉｄ Ｒｅｓ １９：４１３３－４１３７；およびＢａｒｂａｓ ｅｔ ａｌ．（１９９１）ＰＮＡＳ ８８：７９７８－７９８２；米国特許出願公開第２００３０１８６３７４号およびＰＣＴ公開番号ＷＯ ９７／２９１３１に記載されている方法を含む。

【０１６３】

前段落の参考文献に記載されているなどの、そのようなスクリーニングおよび選択を行うための方法は当技術分野では周知である。特定の解離速度定数（k_{off}）でPGE_2から解離する抗体などの、PGE_2に対して特定の結合親和性を有する本発明の抗体を選択するために、表面プラズモン共鳴という当技術分野では公知の方法を使用して、目的の解離速度定数（k_{off}）を有する抗体を選択することが可能である。特定のIC_{50}を有する抗体などの、PGE_2に対する特定の中和活性を有する本発明の抗体を選択するために、PGE_2活性の抑制を評価するための当技術分野で公知の標準法を使用してよい。

【０１６４】

例えば、本発明の抗体は、当技術分野で公知の様々なディスプレイ法を使用して親和性成熟させることも可能である。ファージディスプレイ法では、機能的抗体ドメインが、これをコードするポリヌクレオチド配列を担うファージ粒子の表面上にディスプレイされる。特に、そのようなファージを利用して、レパートリーまたはコンビナトリアル抗体ライブラリー（例えば、ヒトまたはマウス）から発現される抗原結合ドメインをディスプレイすることが可能である。目的の抗原に結合する抗原結合ドメインを発現しているファージは、抗原を用いて、例えば、標識抗原または固体表面もしくはビーズに結合しているもしくは捕捉されている抗原を使用して、選択するまたは同定することが可能である。これらの方法で使用されるファージは、典型的には、ファージ遺伝子ＩＩＩまたは遺伝子ＶＩＩＩタンパク質のいずれかに組み換え的に融合しているＦａｂ、Ｆｖまたはジスルフィド安定化Ｆｖ抗体ドメインを有するファージから発現されるｆｄおよびＭ１３結合ドメインを含む糸状ファージである。本発明の抗体を作製するために使用することが可能であるファージディスプレイ法の例は、Ｂｒｉｎｋｍａｎ ｅｔ ａｌ．、Ｊ．Ｉｍｍｕｎｏｌ．Ｍｅｔｈｏｄｓ １８２：４１－５０（１９９５）；Ａｍｅｓ ｅｔ ａｌ．、Ｊ．Ｉｍｍｕｎｏｌ．Ｍｅｔｈｏｄｓ １８４：１７７－１８６（１９９５）；Ｋｅｔｔｌｅｂｏｒｏｕｇｈ ｅｔ ａｌ．、Ｅｕｒ．Ｊ．Ｉｍｍｕｎｏｌ．２４：９５２－９５８（１９９４）；Ｐｅｒｓｉｃ ｅｔ ａｌ．、Ｇｅｎｅ １８７ ９－１８（１９９７）；Ｂｕｒｔｏｎ ｅｔ ａｌ．、Ａｄｖａｎｃｅｓ ｉｎ Ｉｍｍｕｎｏｌｏｇｙ ５７：１９１－２８０（１９９４）；ＰＣＴ出願番号ＰＣＴ／ＧＢ９１／０１１３４；ＰＣＴ Ｐｕｂｌｉｃａｔｉｏｎ ＷＯ ９０／０２８０９；ＷＯ ９１／１０７３７；ＷＯ ９２／０１０４７；ＷＯ ９２／１８６１９；ＷＯ ９３／１１２３６；ＷＯ ９５／１５９８２；ＷＯ ９５／２０４０１；および米国特許第５，６９８，４２６号、米国特許第５，２２３，４０９号、米国特許第５，４０３，４８４号、米国特許第５，５８０，７１７号、米国特許第５，４２７，９０８号、米国特許第５，７５０，７５３号、米国特許第５，８２１，０４７号、米国特許第５，５７１，６９８号、米国特許第５，４２７，９０８号、米国特許第５，５１６，６３７号、米国特許第５，７８０，２２５号、米国特許第５，６５８，７２７号、米国特許第５，７３３，７４３号および米国特許第５，９６９，１０８号に開示されている方法を含む。

【０１６５】

上の参考文献に記載されているように、ファージ選択後、ファージ由来の抗体コード領域を単離して、これを使用して、ヒト抗体または他のどんな目的の抗原結合断片でも含む抗体全体を作製し、例えば、下に詳細に記載されている哺乳動物細胞、昆虫細胞、植物細

胞、酵母および細菌を含むどんな目的の宿主においても発現させることが可能である。例えば、ＰＣＴ公開ＷＯ　９２／２２３２４；Ｍｕｌｌｉｎａｘ　ｅｔ　ａｌ．、Ｂｉｏ　Ｔｅｃｈｎｉｑｕｅｓ　１２（６）：８６４－８６９（１９９２）；およびＳａｗａｉ　ｅｔ　ａｌ．、ＡＪＲＩ　３４：２６－３４（１９９５）；およびＢｅｔｔｅｒ　ｅｔ　ａｌ．、Ｓｃｉｅｎｃｅ　２４０：１０４１－１０４３（１９８８）に開示されている方法などの当技術分野で公知の方法を使用して、Ｆａｂ、Ｆａｂ’およびＦ（ａｂ’）２断片を組み換え的に作製する技術も用いることが可能である。一本鎖Ｆｖおよび抗体を作製するのに使用することが可能である技術の例は、米国特許第４，９４６，７７８号および米国特許第５，２５８，４９８号；Ｈｕｓｔｏｎ　ｅｔ　ａｌ．、Ｍｅｔｈｏｄｓ　ｉｎ　Ｅｎｚｙｍｏｌｏｇｙ　２０３：４６－８８頁（１９９１）；Ｓｈｕ　ｅｔ　ａｌ．、ＰＮＡＳ　９０：７９９５－７９９９（１９９３）；およびＳｋｅｒｒａ　ｅｔ　ａｌ．、Ｓｃｉｅｎｃｅ　２４０：１０３８－１０４０（１９８８）に記載されている技術を含む。

【０１６６】

ファージディスプレイによる組み換え抗体ライブラリーのスクリーニングに代えて、大型コンビナトリアルライブラリーをスクリーニングするための当技術分野で公知の他の方法を、本発明の二重特異性抗体の同定に適用することが可能である。代替的発現系の１つの種類は、ＰＣＴ公開番号ＷＯ　９８／３１７００　ｂｙ　Ｓｚｏｓｔａｋ　ａｎｄ　ＲｏｂｅｒｔｓおよびＲｏｂｅｒｔｓ、Ｒ．Ｗ．ａｎｄ　Ｓｚｏｓｔａｋ、Ｊ．Ｗ．（１９９７）Ｐｒｏｃ．Ｎａｔｌ．Ａｃａｄ．Ｓｃｉ．ＵＳＡ　９４：１２２９７－１２３０２に記載されているＲＮＡ－タンパク質融合体として組み換え抗体ライブラリーが発現される発現系である。この系では、その３’末端にペプチジル受容体抗生物質であるピューロマイシンを担っている合成ｍＲＮＡのインビトロ翻訳により、ｍＲＮＡとそのｍＲＮＡがコードしているペプチドまたはタンパク質の間で共有結合融合体が作製される。したがって、二重特異性抗原への抗体またはこの部分の結合などの、コードされているペプチドまたはタンパク質、例えば、抗体またはこの部分の特性に基づいて、ｍＲＮＡの複合混合物（例えば、コンビナトリアルライブラリー）から特定のｍＲＮＡを濃縮することが可能である。そのようなライブラリーのスクリーニングから回収される、抗体またはこの部分をコードする核酸配列は、上記の組み換え手段により（例えば、哺乳動物宿主細胞において）発現することができ、さらに、変異体が最初に選択された配列（複数可）に導入されているｍＲＮＡ－ペプチド融合体のスクリーニングの追加のラウンドにより、または上記の組み換え抗体のインビトロ親和性成熟のための他の方法により、さらに親和性成熟に供することが可能である。

【０１６７】

別のアプローチでは、本発明の抗体は、当技術分野で公知の酵母ディスプレイ法を使用して作製することが可能である。酵母ディスプレイ法では、遺伝学的手法を使用して、抗体ドメインを酵母細胞壁に繋ぎ止め、抗体ドメインを酵母の表面にディスプレイする。特に、そのような酵母を利用すれば、レパートリーまたはコンビナトリアル抗体ライブラリー（例えば、ヒトまたはマウス）から発現される抗原結合ドメインをディスプレイすることが可能である。本発明の抗体を作製するために使用することの可能である酵母ディスプレイ法の例は、Ｗｉｔｔｒｕｐ、ｅｔ　ａｌ．米国特許第６，６９９，６５８号に開示されている方法を含む。

【０１６８】

Ｂ．組み換えプロスタグランジンＥ$_2$抗体の作製

本発明の抗体は、本分野で公知の多数のいずれかによって作製され得る。例えば、宿主細胞からの発現において、重鎖および軽鎖をコードする発現ベクターは、標準的な技術によって、宿主細胞中に形質移入される。「形質移入」という用語の様々な形態は、原核または真核宿主細胞中への外来ＤＮＡの導入のために一般に使用される多様な技術、例えば、電気穿孔、リン酸カルシウム沈殿、ＤＥＡＥ－デキストラン形質移入などを包含するものとする。原核または真核宿主細胞のいずれの中でも、本発明の抗体を発現することは可

能であるが、真核細胞（特に、哺乳動物細胞）は、原核細胞に比べて、適切に折り畳まれ、免疫学的に活性な抗体を集合および分泌する傾向がより大きいので、真核細胞中での抗体の発現が好ましく、哺乳動物宿主細胞中での発現がもっとも好ましい。

【０１６９】

本発明の組み換え抗体を発現するための好ましい哺乳動物宿主細胞には、チャイニーズハムスター卵巣（ＣＨＯ細胞）（Ｕｒｌａｕｂ ａｎｄ Ｃｈａｓｉｎ，（１９８０）Ｐｒｏｃ．Ｎａｔｌ．Ａｃａｄ．Ｓｃｉ．ＵＳＡ ７７：４２１６－４２２０に記載されており、例えばＲ．Ａ．Ｋａｕｆｍａｎ ａｎｄ Ｐ．Ａ．Ｓｈａｒｐ（１９８２）Ｍｏｌ．Ｂｉｏｌ．１５９：６０１－６２１に記載されているようにＤＨＦＲ選択可能マーカーとともに使用されるｄｈｆｒ－ＣＨＯ細胞を含む。）、ＮＳ０骨髄腫細胞、ＣＯＳ細胞およびＳＰ２細胞が含まれる。抗体遺伝子をコードする組み換え発現ベクターが哺乳動物宿主細胞中に導入されると、宿主細胞中で抗体の発現を可能とするのに十分な期間にわたってまたは、より好ましくは、宿主細胞がその中で増殖されている培地中への抗体の分泌を可能とするのに十分な期間にわたって宿主細胞を培養することによって、抗体が産生される。抗体は、標準的なタンパク質精製方法を用いて、培地から回収することが可能である。

【０１７０】

宿主細胞を使用して、Ｆａｂ断片またはｓｃＦｖ分子などの機能的抗体断片を産生することも可能である。上記手順の変形は本発明の範囲内であることは理解される。例えば、本発明の抗体の軽鎖および／または重鎖のいずれかの機能的断片をコードしているＤＮＡを用いて宿主細胞をトランスフェクトすることは望ましい可能性がある。組み換えＤＮＡ技術を使用して、目的の抗原に結合するのに必要ではない軽鎖および重鎖のいずれかまたは両方をコードしているＤＮＡの一部、または全部を取り除いてもよい。そのような切断されたＤＮＡ分子から発現される分子も本発明の抗体に包含されている。さらに、１つの重鎖および１つの軽鎖が本発明の抗体であり、もう１つの重鎖および軽鎖が目的の抗原以外の抗原に特異的である二機能性抗体を、標準化学的架橋法により本発明の抗体を第二の抗体に架橋することによって作製し得る。

【０１７１】

本発明の抗体またはこの抗原結合部分の組み換え発現用の好ましいシステムにおいて、リン酸カルシウムによって媒介された形質移入によって、抗体重鎖および抗体軽鎖の両方をコードする組み換え発現ベクターが、ｄｈｆｒ－ＣＨＯ細胞中に導入される。組み換え発現ベクター内で、抗体重鎖および軽鎖遺伝子は、遺伝子の転写の高いレベルを誘導するために、各々、ＣＭＶエンハンサー／ＡｄＭＰＬプロモーター制御要素へ作用可能に連結されている。組み換え発現ベクターは、メトトレキサート選択／増幅を用いて、ベクターで形質移入されたＣＨＯ細胞の選択を可能とするＤＨＦＲ遺伝子も担持する。選択された形質転換体宿主細胞は、抗体重鎖および軽鎖の発現を可能とするために培養され、完全な状態の抗体が培地から回収される。組み換え発現ベクターを調製し、宿主細胞を形質移入し、形質転換体を選択し、宿主細胞を培養し、培地から抗体を回収するために、標準的な分子生物学的技術が使用される。さらに、本発明は、本発明の組み換え抗体が合成されるまで、適切な培地中で、本発明の宿主細胞を培養することによって、本発明の組み換え抗体を合成する方法を提供する。本方法は、培地から組み換え抗体を単離することをさらに含むことが可能である。

【０１７２】

抗プロスタグランジンE_2キメラ抗体の作製

キメラ抗体は、マウスモノクローナル抗体由来の可変領域とヒト免疫グロブリン定常領域を有する抗体などの、抗体の異なる部分が異なる動物種由来である分子である。キメラ抗体を作製するための方法は当技術分野では公知であり、実施例２．１において詳細に考察されている。例えば、Ｍｏｒｒｉｓｏｎ、Ｓｃｉｅｎｃｅ ２２９：１２０２（１９８５）；Ｏｉ ｅｔ ａｌ．、Ｂｉｏ Ｔｅｃｈｎｉｑｕｅｓ ４：２１４（１９８６）；Ｇｉｌｌｉｅｓ ｅｔ ａｌ．、（１９８９）Ｊ．Ｉｍｍｕｎｏｌ．Ｍｅｔｈｏｄｓ １

２５：１９１－２０２；米国特許第５，８０７，７１５号；米国特許第４，８１６，５６７号；および米国特許第４，８１６，３９７号を参照されたい。さらに、適切な抗原特異性のマウス抗体分子由来の遺伝子を適切な生物学的活性のヒト抗体分子由来の遺伝子とスプライスすることによる「キメラ抗体」の作製のために開発された技術（Ｍｏｒｒｉｓｏｎ ｅｔ ａｌ．、１９８４、Ｐｒｏｃ．Ｎａｔｌ．Ａｃａｄ．Ｓｃｉ．８１：８５１－８５５；Ｎｅｕｂｅｒｇｅｒ ｅｔ ａｌ．１９８４、Ｎａｔｕｒｅ ３１２：６０４－６０８；Ｔａｋｅｄａ ｅｔ ａｌ．、１９８５、Ｎａｔｕｒｅ ３１４：４５２－４５４）を使用することが可能である。

【０１７３】

一実施形態において、本発明のキメラ抗体は、セクション１に記載されるマウスモノクローナル抗ＰＧＥ$_2$抗体の重鎖定常領域をヒトＩｇＧ１定常領域で置き換えることにより作製される。特定の実施形態において、本発明のキメラ抗体は、配列番号６０、６２、６４、６６、６８、７０、７２、７４、７６、７８および８０のアミノ酸配列を含む重鎖可変領域（V_H）と配列番号６１、６３、６５、６７、６９、７１、７３、７５、７７、７９および８１の軽鎖可変領域（V_L）を含む。

【０１７４】

抗プロスタグランジンＥ$_2$ヒト化抗体

ヒト化抗体は、非ヒト種由来の１つまたはそれ以上の相補性決定領域（ＣＤＲ）とヒト免疫グロブリン分子由来のフレームワーク領域を有し、目的の抗原に結合する非ヒト種抗体由来の抗体分子である。公知のヒトＩｇ配列は、例えば、ｗｗｗ．ｎｃｂｉ．ｎｌｍ．ｎｉｈ．ｇｏｖ／ｅｎｔｒｅｚ－／ｑｕｅｒｙ．ｆｃｇｉ；ｗｗｗ．ａｔｃｃ．ｏｒｇ／ｐｈａｇｅ／ｈｄｂ．ｈｔｍｌ；ｗｗｗ．ｓｃｉｑｕｅｓｔ．ｃｏｍ／；ｗｗｗ．ａｂｃａｍ．ｃｏｍ／；ｗｗｗ．ａｎｔｉｂｏｄｙｒｅｓｏｕｒｃｅ．ｃｏｍ／ｏｎｌｉｎｅｃｏｍｐ．ｈｔｍｌ；ｗｗｗ．ｐｕｂｌｉｃ．ｉａｓｔａｔｅ．ｅｄｕ／．ａｂｏｕｔ．ｐｅｄｒｏ／ｒｅｓｅａｒｃｈ＿ｔｏｏｌｓ．ｈｔｍｌ；ｗｗｗ．ｍｇｅｎ．ｕｎｉｈｅｉｄｅｌｂｅｒｇ．ｄｅ／ＳＤ／ＩＴ／ＩＴ．ｈｔｍｌ；ｗｗｗ．ｗｈｆｒｅｅｍａｎ．ｃｏｍ／ｉｍｍｕｎｏｌｏｇｙ／ＣＨ－０５／ｋｕｂｙ０５．ｈｔｍ；ｗｗｗ．ｌｉｂｒａｒｙ．ｔｈｉｎｋｑｕｅｓｔ．ｏｒｇ／１２４２９／Ｉｍｍｕｎｅ／Ａｎｔｉｂｏｄｙ．ｈｔｍｌ；ｗｗｗ．ｈｈｍｉ．ｏｒｇ／ｇｒａｎｔｓ／ｌｅｃｔｕｒｅｓ／１９９６／ｖｌａｂ／；ｗｗｗ．ｐａｔｈ．ｃａｍ．ａｃ．ｕｋ／．ａｂｏｕｔ．ｍｒｃ７／ｍｉｋｅｉｍａｇｅｓ．ｈｔｍｌ；ｗｗｗ．ａｎｔｉｂｏｄｙｒｅｓｏｕｒｃｅ．ｃｏｍ／；ｍｃｂ．ｈａｒｖａｒｄ．ｅｄｕ／Ｂｉｏ Ｌｉｎｋｓ／Ｉｍｍｕｎｏｌｏｇｙ．ｈｔｍｌ．ｗｗｗ．ｉｍｍｕｎｏｌｏｇｙｌｉｎｋ．ｃｏｍ／；ｐａｔｈｂｏｘ．ｗｕｓｔｌ．ｅｄｕ／．ａｂｏｕｔ．ｈｃｅｎｔｅｒ／ｉｎｄｅｘ．－ｈｔｍｌ；ｗｗｗ．ｂｉｏｔｅｃｈ．ｕｆｌ．ｅｄｕ／．ａｂｏｕｔ．ｈｃｌ／；ｗｗｗ．ｐｅｂｉｏ．ｃｏｍ／ｐａ／３４０９１３／３４０９１３．ｈｔｍｌ－；ｗｗｗ．ｎａｌ．ｕｓｄａ．ｇｏｖ／ａｗｉｃ／ｐｕｂｓ／ａｎｔｉｂｏｄｙ／；ｗｗｗ．ｍ．ｅｈｉｍｅ－ｕ．ａｃｊｐ／．ａｂｏｕｔ．ｙａｓｕｈｉｔｏ－／Ｅｌｉｓａ．ｈｔｍｌ；ｗｗｗ．ｂｉｏｄｅｓｉｇｎ．ｃｏｍ／ｔａｂｌｅ．ａｓｐ；ｗｗｗ．ｉｃｎｅｔ．ｕｋ／ａｘｐ／ｆａｃｓ／ｄａｖｉｅｓ／ｌｉｎ－ｋｓ．ｈｔｍｌ；ｗｗｗ．ｂｉｏｔｅｃｈ．ｕｆｌ．ｅｄｕ／．ａｂｏｕｔ．ｆｃｃｌ／ｐｒｏｔｏｃｏｌ．ｈｔｍｌ；ｗｗｗ．ｉｓａｃ－ｎｅｔ．ｏｒｇ／ｓｉｔｅｓ＿ｇｅｏ．ｈｔｍｌ；ａｘｉｍｔｌ．ｉｍｔ．ｕｎｉ－ｍａｒｂｕｒｇ．ｄｅ／．ａｂｏｕｔ．ｒｅｋ／ＡＥＰ－Ｓｔａｒｔ．ｈｔｍｌ；ｂａｓｅｒｖ．ｕｃｉ．ｋｕｎ．ｎｌ／．ａｂｏｕｔ．ｊｒａａｔｓ／ｌｉｎｋｓｌ．ｈｔｍｌ；ｗｗｗ．ｒｅｃａｂ．ｕｎｉ－ｈｄ．ｄｅ／ｉｍｍｕｎｏ．ｂｍｅ．ｎｗｕ．ｅｄｕ／；ｗｗｗ．ｍｒｃ－ｃｐｅ．ｃａｍ．ａｃ．ｕｋ／ｉｍｔ－ｄｏｃ／ｐｕ－ｂｌｉｃ／ＩＮＴＲＯ．ｈｔｍｌ；ｗｗｗ．ｉｂｔ．ｕｎａｍ．ｍｘ／ｖｉｒ／Ｖ＿ｍｉｃｅ．ｈｔｍｌ；ｉｍｇｔ，ｃｎｕｓｃ．ｆｒ：８１０４／；ｗｗｗ．ｂｉｏｃｈｅｍ．ｕｃｌ．ａｃ．ｕｋ／．ａｂｏｕｔ．ｍａｒｔｉｎ／ａｂｓ／ｉｎｄｅｘ．ｈｔｍｌ；ａｎｔｉｂｏｄｙ．ｂａｔｈ．ａｃ．ｕｋ／；ａｂｇｅｎ．ｃｖｍ．ｔａｍｕ．ｅｄｕ／ｌａｂ／ｗｗｗａｂｇｅｎ．ｈｔｍｌ；ｗｗｗ．ｕ

ｎｉｚｈ．ｃｈ／．ａｂｏｕｔ．ｈｏｎｅｇｇｅｒ／ＡＨＯｓｅｍｉｎａｒ／Ｓｌｉｄｅ０１．ｈｔｍｌ；ｗｗｗ．ｃｒｙｓｔ．ｂｂｋ．ａｃ．ｕｋ／．ａｂｏｕｔ．ｕｂｃｇ０７ｓ／；ｗｗｗ．ｎｉｍｒ．ｍｒｃ．ａｃ．ｕｋ／ＣＣ／ｃｃａｅｗｇ／ｃｃａｅｗｇ．ｈｔｍ；ｗｗｗ．ｐａｔｈ．ｃａｍ．ａｃ．ｕｋ／．ａｂｏｕｔ．ｍｒｃ７／ｈｕｍａｎｉｓａｔｉｏｎ／ＴＡＨＨＰ．ｈｔｍｌ；ｗｗｗ．ｉｂｔ．ｕｎａｍ．ｍｘ／ｖｉｒ／ｓｔｒｕｃｔｕｒｅ／ｓｔａｔ＿ａｉｍ．ｈｔｍｌ；ｗｗｗ．ｂｉｏｓｃｉ．ｍｉｓｓｏｕｒｉ．ｅｄｕ／ｓｍｉｔｈｇｐ／ｉｎｄｅｘ．ｈｔｍｌ；ｗｗｗ．ｃｒｙｓｔ．ｂｉｏｃ．ｃａｍ．ａｃ．ｕｋ／．ａｂｏｕｔ．ｆｍｏｌｉｎａ／Ｗｅｂ－ｐａｇｅｓ／Ｐｅｐｔ／ｓｐｏｔｔｅｃｈ．ｈｔｍｌ；ｗｗｗ．ｊｅｒｉｎｉ．ｄｅ／ｆｒ ｒｏｄｕｃｔｓ．ｈｔｍ；ｗｗｗ．ｐａｔｅｎｔｓ．ｉｂｍ．ｃｏｍ／ｉｂｍ．ｈｔｍｌ．Ｋａｂａｔ ｅｔ ａｌ．、Ｓｅｑｕｅｎｃｅｓ ｏｆ Ｐｒｏｔｅｉｎｓ ｏｆ Ｉｍｍｕｎｏｌｏｇｉｃａｌ Ｉｎｔｅｒｅｓｔ、Ｕ．Ｓ．Ｄｅｐｔ．Ｈｅａｌｔｈ（１９８３）に開示されている。そのような移入された配列を使用して、当技術分野で公知のように、免疫原性を減少させるまたは結合、親和性、結合速度、解離速度、結合活性、特異性、半減期、もしくは他の任意の適切な特徴を減少する、増強するもしくは改変することが可能である。

【０１７５】

ヒトフレームワーク領域におけるフレームワーク残基を、ＣＤＲドナー抗体由来の対応する残基で置き換えて、抗原結合を改変する、好ましくは改良してもよい。当技術分野では周知の方法により、例えば、抗原結合にとり重要なフレームワーク残基を同定するためのＣＤＲとフレームワーク残基の相互作用のモデル化および特定の位置で異常なフレームワーク残基を同定するための配列比較により、これらのフレームワーク置換体は同定される。（例えば、Ｑｕｅｅｎ ｅｔ ａｌ．，米国特許第５，５８５，０８９号；Ｒｉｅｃｈｍａｎｎ ｅｔ ａｌ．、Ｎａｔｕｒｅ ３３２：３２３（１９８８）参照）。三次元免疫グロブリンモデルは一般に利用可能であり、当業者には周知である。選択された候補免疫グロブリン配列の有望な三次元立体構造を模式化し表示するコンピュータプログラムが利用可能である。これらのディスプレイを調査すれば、候補免疫グロブリン配列の機能化に残基が果たす見込みのある役割の解析、すなわち、その抗原に結合する候補免疫グロブリンの能力に影響を与える残基の解析が可能になる。このような方法で、標的抗原（複数可）に対する増加した親和性などの目的の抗体特徴が得られるように、コンセンサスおよび移入配列からＦＲ残基を選択し組み合わせることが可能である。一般に、ＣＤＲ残基は抗原結合に影響を与えることに直接、もっとも実質的に関与している。Ｊｏｎｅｓ ｅｔ ａｌ．、Ｎａｔｕｒｅ ３２１：５２２（１９８６）；Ｖｅｒｈｏｅｙｅｎ ｅｔ ａｌ．、Ｓｃｉｅｎｃｅ ２３９：１５３４（１９８８）；Ｓｉｍｓ ｅｔ ａｌ．、Ｊ．Ｉｍｍｕｎｏｌ．１５１：２２９６（１９９３）；Ｃｈｏｔｈｉａ ａｎｄ Ｌｅｓｋ、Ｊ．Ｍｏｌ．Ｂｉｏｌ．１９６：９０１（１９８７）；Ｃａｒｔｅｒ ｅｔ ａｌ．、Ｐｒｏｃ．Ｎａｔｌ．Ａｃａｄ．Ｓｃｉ．Ｕ．Ｓ．Ａ．８９：４２８５（１９９２）；Ｐｒｅｓｔａ ｅｔ ａｌ．、Ｊ．Ｉｍｍｕｎｏｌ．１５１：２６２３（１９９３）、Ｐａｄｌａｎ、Ｍｏｌｅｃｕｌａｒ Ｉｍｍｕｎｏｌｏｇｙ ２８（４／５）：４８９－４９８（１９９１）；Ｓｔｕｄｎｉｃｋａ ｅｔ ａｌ．、Ｐｒｏｔｅｉｎ Ｅｎｇｉｎｅｅｒｉｎｇ ７（６）：８０５－８１４（１９９４）；Ｒｏｇｕｓｋａ．ｅｔ ａｌ．、ＰＮＡＳ ９１：９６９－９７３（１９９４）；ＰＣＴ公開ＷＯ ９１／０９９６７、ＰＣＴ／：ＵＳ９８／１６２８０、ＵＳ９６／１８９７８、ＵＳ９１／０９６３０、ＵＳ９１／０５９３９、ＵＳ９４／０１２３４、ＧＢ８９／０１３３４、ＧＢ９１／０１１３４、ＧＢ９２／０１７５５；ＷＯ９０／１４４４３、ＷＯ９０／１４４２４、ＷＯ９０／１４４３０、ＥＰ ２２９２４６、ＥＰ ５９２，１０６；ＥＰ ５１９，５９６、ＥＰ ２３９，４００、米国特許第５，５６５，３３２号、第５，７２３，３２３号、第５，９７６，８６２号、第５，８２４，５１４号、第５，８１７，４８３号、第５８１４４７６号、第５７６３１９２号、第５７２３３２３号、第５，７６６，８８６号、第５，７１４，３５２号、第６，２０４，０２３号、第６，１８０，３７０号、第５，６９３，７６２号、第５，５３０，１０１号、第５，５８５，０８９号、第５，２２５，５３９号および第

４，８１６，５６７号に記載されている技術などの、しかしこれらに限定されない、当技術分野で公知の様々な技術を使用して抗体をヒト化することが可能である。

【０１７６】

Ｃ．抗体および抗体産生細胞系統の作製

好ましくは、本発明の抗PGE_2抗体は、例えば、当技術分野で公知のいくつかのインビトロおよびインビボアッセイ法のいずれか１つにより評価されるように、PGE_2活性を減少するまたは中和する高能力を示す（例えば、実施例１．１．Ｃ参照）。例えば、これらの抗体は、ＥＰ４アッセイにおいてPGE_2誘導カルシウム流入を、少なくとも約10^{-6}Ｍ、約10^{-7}Ｍ、約10^{-8}Ｍ、約10^{-9}Ｍ、約10^{-10}Ｍ、約10^{-11}Ｍまたは約10^{-12}Ｍの範囲のIC_{50}値で中和する。

【０１７７】

好ましい実施形態において、単離された抗体またはこの抗原結合部分はPGE_2に結合し、抗体またはその抗原結合部分は、ラジオイムノアッセイにより決定されるように、約０．１s^{-1}またはそれ以下の解離速度定数（k_{off}）でPGE_2から解離するまたは約1×10^{-6}Ｍまたはそれ以下のIC_{50}でPGE_2活性を抑制する。代わりに、抗体またはこの抗原結合部分は、ラジオイムノアッセイにより決定されるように、約$1\times10^{-2}s^{-1}$またはそれ以下の解離速度定数（k_{off}）でPGE_2から解離してもよく、または約1×10^{-7}Ｍまたはそれ以下のIC_{50}でPGE_2活性を抑制してもよい。代わりに、抗体またはこの抗原結合部分は、ラジオイムノアッセイにより決定されるように、約$1\times10^{-3}s^{-1}$またはそれ以下の解離速度定数（k_{off}）でPGE_2から解離してもよく、または約1×10^{-8}Ｍまたはそれ以下のIC_{50}でPGE_2活性を抑制してもよい。代わりに、抗体またはこの抗原結合部分は、ラジオイムノアッセイにより決定されるように、約$1\times10^{-4}s^{-1}$またはそれ以下の解離速度定数（k_{off}）でPGE_2から解離してもよく、または約1×10^{-9}Ｍまたはそれ以下のIC_{50}でPGE_2活性を抑制してもよい。代わりに、抗体またはこの抗原結合部分は、ラジオイムノアッセイにより決定されるように、約$1\times10^{-5}s^{-1}$またはそれ以下のk_{off}速度定数でPGE_2から解離してもよく、または約1×10^{-10}Ｍまたはそれ以下のIC_{50}でPGE_2活性を抑制してもよい。代わりに、抗体またはこの抗原結合部分は、ラジオイムノアッセイにより決定されるように、約$1\times10^{-6}s^{-1}$またはそれ以下のk_{off}速度定数でPGE_2から解離してもよく、または約1×10^{-11}Ｍまたはそれ以下のIC_{50}でPGE_2活性を抑制してもよい。

【０１７８】

本発明のモノクローナル抗体は、ＥＰ１、ＥＰ２、ＥＰ３およびＥＰ４受容体のうちの少なくとも１つへのPGE_2結合を遮断する。細胞表面上でのＦＡＣＳベース受容体結合アッセイも^{3}Ｈ標識PGE_2結合アッセイも、マウス型とヒト型抗PGE_2の両方が、その受容体へのPGE_2結合を効果的に遮断することが可能であることを実証している。PGE_2とヒト化抗PGE_2抗体Ｈｕ２Ｂ５．７のＦａｂ部分との複合体の結晶構造は、本発明により描かれている。

【０１７９】

ある種の実施形態において、抗体は、ＩｇＧ１、ＩｇＧ２、ＩｇＧ３、ＩｇＧ４、ＩｇＡ、ＩｇＥ、ＩｇＭまたはＩｇＤ定常領域などの重鎖定常領域を含む。好ましくは、重鎖定常領域は、ＩｇＧ１重鎖定常領域またはＩｇＧ４重鎖定常領域である。さらに、抗体は、κ軽鎖定常領域またはλ軽鎖定常領域のどちらかである、軽鎖定常領域を含むことが可能である。好ましくは、抗体はκ軽鎖定常領域を含む。代わりに、抗体部分は、例えば、Ｆａｂ断片または一本鎖Ｆｖ断片であることが可能である。

【０１８０】

抗体エフェクター機能を改変するＦｃ部分のアミノ酸残基の置換は当技術分野では公知である（Ｗｉｎｔｅｒ、ｅｔ　ａｌ．米国特許第５，６４８，２６０号；第５６２４８２１号）。抗体のＦｃ部分は、いくつかの重要なエフェクター機能、例えば、サイトカイン誘導、ＡＤＣＣ、食作用、補体依存性細胞毒性（ＣＤＣ）および抗体と抗原抗体複合体の

半減期／排除速度を媒介する。いくつかの場合、これらのエフェクター機能は治療抗体には望ましいが、他の場合には治療対象に応じて不必要または有害にさえなることもある。ある種のヒトＩｇＧアイソタイプ、特に、ＩｇＧ１およびＩｇＧ３は、それぞれＦｃγＲおよび補体Ｃ１ｑへの結合を介してＡＤＣＣおよびＣＤＣを媒介する。新生児Ｆｃ受容体（ＦｃＲｎ）は、抗体の循環半減期を決定する極めて重要な成分である。さらに別の実施形態において、少なくとも１つのアミノ酸残基が、抗体のエフェクター機能が改変されるように、抗体の定常領域、例えば、抗体のＦｃ領域において置き換えられる。別の実施形態において、Ｆｃ部分のＮ－連結グリカンのシアリル化により、Ｆｃ断片の活性を大いに増強することが可能である（例えば、免疫グロブリン（ＩｇＧ）の位置２９７のＡｓｎに存在する複合二分岐グリカン上の最後から２番目のガラクトースへの２，６結合を用いて）（Ａｎｔｈｏｎｙ、ＲＭ（２００８）Ｓｃｉｅｎｃｅ　３２０：３７３－３７６）。

【０１８１】

一実施形態は、標識された結合タンパク質を提供し、ここで、本発明の抗体または抗体部分は、別の機能的分子（例えば、別のペプチドまたはタンパク質）へ誘導体化され、または連結される。例えば、本発明の標識された結合タンパク質は、別の抗体（例えば、二特異的抗体またはダイアボティ）、検出可能作用物質、細胞毒性剤、薬剤および／または別の分子（例えば、ストレプトアビジンコア領域またはポリヒスチジンタグなど）との、抗体または抗体部分の会合を媒介可能なタンパク質もしくはペプチドなどの１つ以上の他の分子実体へ、（例えば、化学的カップリング、遺伝的融合、非共有会合またはその他によって）本発明の抗体または抗体部分を機能的に連結することによって誘導することが可能である。

【０１８２】

本発明の抗体または抗体部分を誘導体化し得る有用な検出可能作用物質には、蛍光化合物が含まれる。典型的な蛍光検出可能作用物質には、フルオレセイン、フルオレセインイソチオシアナート、ローダミン、５－ジメチルアミン－１－ナフタレンスルホニルクロリド、フィコエリトリンなどが含まれる。抗体は、アルカリホスファターゼ、西洋ワサビペルオキシダーゼ、グルコースオキシダーゼなどの検出可能な酵素でも誘導体化され得る。抗体が検出可能な酵素で誘導体化される場合には、検出可能な反応産物を生成させるために、本酵素が使用するさらなる試薬を添加することによって抗体が検出される。例えば、検出可能作用物質西洋ワサビペルオキシダーゼが存在する場合には、過酸化水素およびジアミノベンジジンの添加は、検出可能な発色した反応産物をもたらす。抗体は、ビオチンを用いて誘導体化し、アビジンまたはストレプトアビジン結合の間接的な測定を通じても検出され得る。

【０１８３】

本発明の別の実施形態は、結晶化された結合タンパク質を提供する。好ましくは、本発明は、本明細書に開示される抗PGE_2抗体全体およびこの断片の結晶、ならびにこのような結晶を含む製剤および組成物に関する。一実施形態において、結晶化された結合タンパク質は、結合タンパク質の可溶性対応物より大きなインビボ半減期を有する。別の実施形態において、結合タンパク質は、結晶化後の生物活性を保持する。

【０１８４】

本発明の結晶化された結合タンパク質は、本分野で公知の方法に従って、およびＷＯ０２０７２６３６に開示されているように産生され得る。

【０１８５】

本発明の別の実施形態は、抗体またはその抗原結合部分が１つ以上の炭水化物残基を含む、グリコシル化された結合タンパク質を提供する。新生インビボタンパク質産生は、翻訳後修飾として知られるさらなるプロセッシングを経ることがあり得る。特に、糖（グリコシル）残基は、酵素的に付加され得る（グリコシル化として知られる方法）。共有結合されたオリゴ糖側鎖を有する得られたタンパク質は、グリコシル化されたタンパク質または糖タンパク質として知られる。抗体は、Ｆｃドメイン中、および可変ドメイン中に１つ以上の炭水化物残基を有する糖タンパク質である。Ｆｃドメイン中の炭水化物残基は、抗

体の抗原結合または半減期に対する効果を最小限に抑えながら、Ｆｃドメインのエフェクター機能に対して重要な効果を有する（Ｒ．Ｊｅｆｆｅｒｉｓ，Ｂｉｏｔｅｃｈｎｏｌ．Ｐｒｏｇ．２１（２００５），ｐｐ．１１－１６）。これに対して、可変ドメインのグリコシル化は、抗体の抗原結合活性に対して影響を及ぼし得る。可変ドメイン中のグリコシル化は、おそらくは、立体的な妨害のために、抗体結合親和性に対して負の影響を有し得（Ｃｏ，Ｍ．Ｓ．，ｅｔ　ａｌ．，Ｍｏｌ．Ｉｍｍｕｎｏｌ．（１９９３）３０：１３６１－１３６７）または抗原に対する増加した親和性をもたらし得る（Ｗａｌｌｉｃｋ，Ｓ．Ｃ．，ｅｔ　ａｌ．，Ｅｘｐ．Ｍｅｄ．（１９８８）１６８：１０９９－１１０９；Ｗｒｉｇｈｔ，Ａ．，ｅｔ　ａｌ．，ＥＭＢＯ　Ｊ．（１９９１）１０：２７１７　２７２３）。

【０１８６】

本発明の一態様は、結合タンパク質のＯ結合型またはＮ結合型グリコシル化部位が変異されているグリコシル化部位変異体を作製することに関する。当業者は、標準的な周知の技術を用いて、このような変異体を作製することが可能である。生物学的活性を保持するが、増加または減少した結合活性を有するグリコシル化部位変異体が、本発明の別の目的である。

【０１８７】

さらに別の実施形態において、本発明の抗体または抗原結合部分のグリコシル化は修飾される。例えば、無グリコシル化抗体を作製することが可能である（すなわち、抗体は、グリコシル化を欠如する。）。グリコシル化は、例えば、抗原に対する抗体の親和性を増加させるために改変することが可能である。このような炭水化物修飾は、例えば、抗体配列内のグリコシル化の１つ以上の部位を変化させることによって達成することが可能である。例えば、それによって、当該部位のグリコシル化を除去するために、１つ以上の可変領域グリコシル化部位の除去をもたらす１つ以上のアミノ酸置換を施すことが可能である。このような無グリコシル化は、抗原に対する抗体の親和性を増加させ得る。このようなアプローチは、ＰＣＴ公開ＷＯ２００３０１６４６６Ａ２ならびに米国特許第５，７１４，３５０号および第６，３５０，８６１号に、さらに詳しく記載されている。

【０１８８】

これに加えてまたはこれに代えて、フコシル残基の減少した量を有する低フコシル化抗体または増加した二分岐ＧｌｃＮＡｃ構造を有する抗体など、グリコシル化の変化した種類を有する本発明の修飾された抗体を作製することが可能である。このような変化されたグリコシル化パターンは、抗体のＡＤＣＣ能力を増加させることが示されている。このような炭水化物修飾は、例えば、変化したグリコシル化機構を有する宿主細胞中で抗体を発現させることによって達成することが可能である。変化したグリコシル化機構を有する細胞は本分野において記載されており、その中で、本発明の組み換え抗体を発現させることによって、変化したグリコシル化を有する抗体を産生するための宿主細胞として使用することができる。例えば、Ｓｈｉｅｌｄｓ，Ｒ．Ｌ．ｅｔ　ａｌ．（２００２）Ｊ．Ｂｉｏｌ．Ｃｈｅｍ．２７７：２６７３３－２６７４０；Ｕｍａｎａ　ｅｔ　ａｌ．（１９９９）Ｎａｔ．Ｂｉｏｔｅｃｈ．１７：１７６－１および欧州特許ＥＰ１，１７６，１９５；ＰＣＴ公開ＷＯ０３／０３５８３５；ＷＯ９９／５４３４２８０を参照されたい。

【０１８９】

タンパク質グリコシル化は、対象のタンパク質のアミノ酸配列およびその中でタンパク質が発現される宿主細胞に依存する。異なる生物は、異なるグリコシル化酵素（例えば、グリコシル転移酵素およびグリコシダーゼ）を産生し得、利用可能な異なる基質（ヌクレオチド糖）を有し得る。このような要因のために、タンパク質グリコシル化パターンおよびグリコシル残基の組成は、タンパク質がその中で発現されている宿主系に応じて異なり得る。本発明において有用なグリコシル残基には、グルコース、ガラクトース、マンノース、フコース、ｎ－アセチルグルコサミンおよびシアル酸が含まれ得るが、これらに限定されない。好ましくは、グリコシル化された結合タンパク質は、グリコシル化パターンがヒトであるように、グリコシル残基を含む。

【０１９０】
異なるタンパク質グリコシル化は異なるタンパク質特性をもたらし得ることが、当業者に公知である。例えば、酵母などの微生物宿主中で産生され、酵母内在経路を用いてグリコシル化された治療用タンパク質の効力は、ＣＨＯ細胞株などの哺乳動物細胞中で発現された同じタンパク質の効力と比べて低下され得る。また、このような糖タンパク質は、ヒトにおいて免疫原性であり得、投与後に、減少したインビボ半減期を示し得る。ヒトおよび他の動物中の特異的な受容体は、特異的なグリコシル残基を認識し得、血流からのタンパク質の迅速な除去を促進し得る。他の有害な効果は、タンパク質の折り畳み、溶解度、プロテアーゼに対する感受性、運搬、輸送、区画化、分泌、他のタンパク質または因子による認識、抗原性またはアレルゲン性の変化が含まれ得る。したがって、当業者は、グリコシル化の特異的な組成およびパターン、例えば、ヒト細胞中または意図される対象動物の種特異的細胞中で産生されるものと同一または少なくとも類似のグリコシル化組成およびパターンを有する治療タンパク質を選択し得る。
【０１９１】
宿主細胞のものとは異なるグリコシル化されたタンパク質を発現することは、異種グリコシル化酵素を発現するために宿主細胞を遺伝的に修飾することによって達成され得る。本分野で公知の技術を使用して、当業者は、ヒトタンパク質グリコシル化を呈する抗体またはその抗原結合部分を作製し得る。例えば、酵母株中で産生されたグリコシル化されたタンパク質（すなわち、糖タンパク質）が、動物細胞、特にヒト細胞のものと同一のタンパク質グリコシル化を呈するように（米国特許出願第２００４００１８５９０号および第２００２０１３７１３４号ならびにＰＣＴ公開ＷＯ２００５１００５８４Ａ２）、酵母株は、天然に存在しないグリコシル化酵素を発現するように遺伝的に修飾されている。
【０１９２】
結合タンパク質に加えて、本発明は、本発明のこのような結合タンパク質に対して特異的な抗イディオタイプ（抗Ｉｄ）抗体にも関する。抗Ｉｄ抗体は、別の抗体の抗原結合領域と一般的に付随する固有の決定基を認識する抗体である。抗Ｉｄは、結合タンパク質またはそのＣＤＲ含有領域で動物を免疫化することによって調製することが可能である。免疫された動物は、免疫抗体のイディオタイプ決定基を認識し、これに応答し、抗Ｉｄ抗体を産生する。抗Ｉｄ抗体は、さらに別の動物における免疫応答を誘導して、いわゆる抗抗Ｉｄ抗体を産生する「免疫原」として使用することも可能である。
【０１９３】
さらに、ライブラリーのメンバー宿主細胞がバリアントグリコシル化パターンを有する目的のタンパク質を産生するように、様々なグリコシル化酵素を発現するように遺伝学的に改変された宿主細胞のライブラリーを用いて、目的のタンパク質を発現させ得ることが、当業者によって理解されている。次いで、当業者は、特定の新規グリコシル化パターンを有する目的のタンパク質を選択および単離し得る。好ましくは、特に選択された新規グリコシル化パターンを有するタンパク質は、改善または改変された生物学的特性を示す。
【０１９４】
Ｄ．抗プロスタグランジン$Ｅ_2$抗体の使用
本発明の$ＰＧＥ_2$は、抗$ＰＧＥ_2$抗体またはこれらの部分に結合することができるので、本発明の$ＰＧＥ_2$は、酵素結合免疫吸着検定法（ＥＬＩＳＡ）ラジオイムノアッセイ（ＲＩＡ）または組織免疫組織化学など慣用のイムノアッセイを用いて、（例えば、血清または血漿などの生物学的試料中で）$ＰＧＥ_2$を検出するために使用することが可能である。本発明は、生体試料を本発明の抗体または抗体部分に接触させ、$ＰＧＥ_2$に結合している抗体（もしくは抗体部分）または未結合抗体（もしくは抗体部分）のどちらかを検出し、それによって生体試料中の$ＰＧＥ_2$を検出することを含む、生体試料中の$ＰＧＥ_2$を検出するための方法を提供する。抗体は、結合したまたは結合していない抗体の検出を促進するために、検出可能な物質で直接または間接的に標識される。適切な検出可能な物質には、様々な酵素、補欠分子族、蛍光物質、発光物質および放射性物質が含まれる。適切な酵素の例には、西洋ワサビペルオキシダーゼ、アルカリホスファターゼ、β－ガラクトシ

ダーゼまたはアセチルコリンエステラーゼが含まれる。適切な補欠分子族複合体の例には、ストレプトアビジン／ビオチンおよびアビジン／ビオチンが含まれる。適切な蛍光物質の例には、ウンベリフェロン、フルオレセイン、フルオレセインイソチオシアナート、ローダミン、ジクロロトリアジニルアミンフルオレセイン、ダンシルクロリドまたはフィコエリトリンが含まれる。発光物質の例には、ルミノールが含まれる；および適切な放射性材料の例には、^{3}H、^{14}C、^{35}S、^{90}Y、^{99}Tc、^{111}In、^{125}I、^{131}I、^{177}Lu、^{166}Hoまたは^{153}Smが含まれる。

【０１９５】

抗体を標識する代わりに、検出可能物質で標識されたPGE_2標準と非標識抗PGE_2抗体を利用する競合免疫アッセイにより体液中でPGE_2をアッセイすることが可能である。このアッセイにおいて、生体試料、標識PGE_2標準および抗PGE_2抗体を組み合わせて、非標識抗体に結合している標識PGE_2標準の量が決定される。生体試料中のPGE_2の量は、抗PGE_2抗体に結合している標識PGE_2標準の量に逆比例している。同様に、検出可能物質で標識されたPGE_2標準と非標識抗PGE_2抗体を利用する競合免疫アッセイにより体液中でPGE_2をアッセイすることも可能である。

【０１９６】

本発明の抗体および抗体部分は、好ましくは、インビトロでもインビボでもPGE_2活性を中和することが可能である。したがって、本発明のそのような抗体および抗体部分を使用すれば、例えば、PGE_2を含有する細胞培養物において、ヒト対象において、または本発明の抗体が交差反応するPGE_2を有する他の哺乳動物対象において、PGE_2活性を抑制することが可能である。一実施形態において、本発明は、PGE_2活性が抑制されるように、PGE_2を本発明の抗体または抗体部分に接触させることを含む、PGE_2活性を抑制するための方法を提供する。例えば、PGE_2を含有するまたは含有すると疑われる細胞培養物において、本発明の抗体または抗体部分を培地に添加して、培養物中のPGE_2活性を抑制することが可能である。

【０１９７】

別の実施形態において、本発明は、PGE_2活性が有害である疾患または障害に罹っている対象において、有利に対象からPGE_2活性を減少させるための方法を提供する。本発明は、対象におけるPGE_2活性を減少させるように、その方法が本発明の抗体または抗体部分を対象に投与することを含む、そのような疾患または障害に罹っている対象においてPGE_2活性を減少させるための方法を提供する。好ましくは、対象はヒト対象である。代わりに、対象は、本発明の抗体が結合することが可能であるPGE_2を発現している哺乳動物であることが可能である。さらに、対象は、（例えば、PGE_2の投与によりまたはPGE_2合成酵素導入遺伝子の発現により）PGE_2が導入されている哺乳動物であることも可能である。本発明の抗体は、治療目的でヒト対象に投与することが可能である。さらに、本発明の抗体は、獣医学的目的のためにまたはヒト疾患の動物モデルとして、抗体が結合することが可能であるPGE_2を発現している非ヒト哺乳動物に投与することが可能である。後者に関しては、そのような動物モデルは、本発明の抗体の治療効果を評価する（例えば、投与量の試験および投与の時間的経過）のに有用であり得る。

【０１９８】

本明細書において使用される「抗原活性が有害である疾患」という用語は、本疾患に罹患している対象中でのPGE_2の存在が、疾患の病態生理の原因であることがまたは疾患の悪化に寄与している因子であることが示されており、または疑われている疾病およびその他の疾患を含むものとする。したがって、PGE_2活性が有害である疾患は、PGE_2活性の低下が疾患の症候および／または進行を緩和することが予測される疾患である。このような疾患は、例えば、上記の抗PGE_2抗体を使用して検出できる、例えば、本疾患に罹患している患者の生物学的液体中のPGE_2濃度の増加（例えば、対象の血清、血漿、滑液中などのPGE_2の濃度の増加）によって明らかとされ得る。本発明の抗体で治療することが可能な疾患の非限定的な例には、本発明の抗体の医薬組成物に関する以下のセクションに論述されている疾患が含まれる。

【０１９９】
ＰＧＥ$_2$は、関節リウマチに伴う病理学的応答を引き起こすのに中心的役割を有するとして意味づけられてきた。しかしながら、差次的免疫学経路の他のメディエータも、関節炎に関与しており、ＰＧＥ$_2$に加えてこれらのメディエータを遮断すれば、追加の治療効果を提供し得る。したがって、本発明の結合タンパク質は、ＤＶＤ－Ｉｇ（商標）が、ＰＧＥ$_2$および腫瘍壊死因子α（ＴＮＦ－α）などの炎症促進性サイトカインを含むがこれらに限定されない標的対に結合することが可能であるＤＶＤ－Ｉｇ（商標）タンパク質に組み込まれていてよい。ＰＧＥ$_2$とＴＮＦ－αの両方を遮断すれば、ＴＮＦ－αのＤＭＡＲＤ効果とＰＧＥ$_2$を遮断することからの疼痛軽減を組み合わせる有益な効果がある可能性がある。好ましい実施形態において、本発明のＤＶＤ－Ｉｇ（商標）は標的のＰＧＥ$_2$とＴＮＦ－αに結合し、関節リウマチを治療するのに使用される。
【０２００】
本発明の一態様において、ＰＧＥ$_2$に結合することが可能である結合タンパク質を含むＤＶＤ－Ｉｇ（商標）結合タンパク質に関する。好ましくは、ＤＶＤ－Ｉｇ（商標）結合タンパク質は、ＰＧＥ$_2$と第二の標的に結合することが可能である。第二の標的は、ＴＮＦ、ＥＧＦ、ＥＧＦＲ、ＩＧＦ１、ＩＧＦ２、ＩＧＦ１／２、ＩＧＦＲ、Ｅｒｂ２、Ｅｒｂ３、ＶＥＧＦ、ＶＥＧＦＲ、Ｍｕｃ－１、ＣＳＦ１（ＭＣＳＦ）、ＣＳＦ２（ＧＭ－ＣＳＦ）、ＣＳＦ３（ＧＣＳＦ）、ＦＧＦ２、ＩＦＮγ１、ＩＦＮγ１、ＩＦＮγ、ヒスタミンとヒスタミン受容体、ＩＬ－１α、ＩＬ－１β、ＩＬ－２、ＩＬ－３、ＩＬ－４、ＩＬ－５、ＩＬ－６、ＩＬ－７、ＩＬ－８、ＩＬ－９、ＩＬ－１０、ＩＬ－１１、ＩＬ－１２α、ＩＬ－１２β、ＩＬ－１４、ＩＬ－１５、ＩＬ－１６、ＩＬ－１７、ＩＬ－１８、ＩＬ－１９、ＫＩＴＬＧ、ＰＤＧＦＢ、ＩＬ－２Ｒα、ＩＬ－４Ｒ、ＩＬ－５Ｒα、ＩＬ－８Ｒα、ＩＬ－８Ｒβ、ＩＬ－１２Ｒβ，１、ＩＬ－１２Ｒβ，２、ＩＬ－１８Ｒ１、ＴＳＬＰ、ＣＣＬ１、ＣＣＬ２、ＣＣＬ３、ＣＣＬ４、ＣＣＬ５、ＣＣＬ７、ＣＣＬ８、ＣＣＬ１３、ＣＣＬ１７、ＣＣＬ１８、ＣＣＬ１９、ＣＣＬ２０、ＣＣＬ２２、ＣＣＬ２４、ＣＸ３ＣＬ１、ＣＸＣＬ１、ＣＸＣＬ２、ＣＸＣＬ３、ＸＣＬ１、ＣＣＲ２、ＣＣＲ３、ＣＣＲ４、ＣＣＲ５、ＣＣＲ６、ＣＣＲ７、ＣＣＲ８、ＣＸ３ＣＲ１、ＧＰＲ２、ＸＣＲ１、ＦＯＳ、ＧＡＴＡ３、ＪＡＫ１、ＪＡＫ３、ＳＴＡＴ６、ＴＢＸ２１、ＴＧＦＢ１、ＴＮＦＳＦ６、ＹＹ１、ＣＹＳＬＴＲ１、ＦＣＥＲ１Ａ、ＦＣＥＲ２、ＬＴＢ４Ｒ、ＴＢ４Ｒ２、ＬＴＢＲおよびキチナーゼからなる群から選択される。さらに好ましくは、ＤＶＤ結合タンパク質は、ＰＧＥ$_2$とＴＮＦα、ＰＧＥ$_2$とＩＬ－６、ＰＧＥ$_2$とＩＬ－１β、ＰＧＥ$_2$とＩＬ－６Ｒ、ＰＧＥ$_2$とＣＴＬＡ－４、ＰＧＥ$_2$とＥＧＦ；ＰＧＥ$_2$とＩＧＦ－１／２、ＰＧＥ$_2$とＥｒｂ２、ＰＧＥ$_2$とＥｒｂ３、ＰＧＥ$_2$とＶＥＧＦを識別することが可能である。もっとも好ましくは、ＤＶＤ結合タンパク質は、ＰＧＥ$_2$とＴＮＦαに結合することが可能である。自己免疫疾患を治療するために好ましいＤＶＤ－Ｉｇは、抗ＰＧＥ$_2$抗体およびＴＮＦα、ＩＬ－１α、ＩＬ－１β、ＩＬ－６もしくはＩＬ－６Ｒ、ＣＴＬＡ－４Ｉｇ、ＢＡＦＦ、ＴＡＣＩ、ＲＡＮＫＬもしくはＤＫＫ１またはＳＯＣＴ、ＭＭＰ１３、もしくはＭＭＰ１もしくはＭＭＰ４からなる群から選択される標的を含有するＤＶＤ－Ｉｇを含むが、これらに限定されない。好ましくは癌治療のための標的対は、ＰＧＥ$_2$＋ＥＧＦまたはＥＧＦＲ、ＰＧＥ$_2$＋ＩＧＦ１またはＩＧＦ１Ｒ、ＰＧＥ$_2$＋ＩＧＦ２またはＩＧＦ２Ｒ、ＰＧＥ$_2$＋ＩＧＦ１／２、ＰＧＥ$_2$＋ＶＥＧＦまたはＶＥＧＦＲ、ＰＧＥ$_2$＋Ｅｒｂ２、ＰＧＥ$_2$＋Ｅｒｂ３およびＰＧＥ$_2$＋Ｓ１Ｐを含む。
【０２０１】
ＰＧＥ$_2$は、関節リウマチまたは癌に伴う病理学的応答を引き起こすのに中心的役割を有するとして意味づけられてきた。しかしながら、差次的免疫学経路の他のメディエータも、関節炎または癌に関与しており、ＰＧＥ$_2$に加えてこれらのメディエータを遮断すれば、追加の治療効果を提供し得る。現在様々なヒト疾患および障害の治療に使用されている薬物の一覧表は、インターネットのｗｗｗ．ｄｒｕｇｓ．ｃｏｍで入手可能である。この一覧表は、様々なヒト疾患の治療の最新技術を反映するため頻繁に更新されている。抗ＰＧＥ$_2$は、特定の病状に対するその一覧表中の治療法のどれとでも組み合わせることが

可能である。数例が下に提供されている。抗ＰＧＥ$_2$は、関節リウマチおよび若年性関節リウマチの治療のための１つまたはそれ以上の因子と組み合わせることが可能である。これらの因子の例は、下に収載されている因子、例えば、疼痛および炎症を減少させる一方で異常な滑膜組織（関節の内側を覆う組織）の成長を減少させる薬物を含むが、これに限定されない。これらの薬物は、メトトレキサートおよび低用量のコルチコステロイド（例えば、プレドニゾンまたはコルチゾン）を含む。一部のヒトでは、これらの薬物は関節破壊も減少させる。関節リウマチを治療するために使用される他の薬物は、抗マラリア薬（例えば、ヒドロキシクロロキン）、金、スルファサラジン、ペニシラミン、シクロホスファミド、シクロスポリンおよびミノサイクリンを含む。さらに、２種類以上の薬物が処方されてもよい。特定の炎症性因子（サイトカイン）の効果を遮断するさらに新しい生物学的因子が現在では利用可能である。インフリキシマブ、エタネルセプトおよびアダリムマブはサイトカインのＴＮＦαを遮断し、アバタセプトはＴ細胞共刺激を遮断し、リツキシマブはＢ細胞を枯渇させ、アナキンラはサイトカインのインターロイキン－１を遮断し、他の新しい生物学的因子はＩＬ－６、ＩＬ－６Ｒ、ＩＬ－１７、ＩＬ－１８、ＩＬ－２３、Ｂ７．１／Ｂ７．２を標的する。抗ＰＧＥ$_2$は、強直性脊椎炎の治療のための１つまたはそれ以上の因子と組み合わせることが可能である。これらの因子の例は、コルチコステロイド、細胞毒性剤およびごく最近では抗ＴＮＦα剤を含むが、これらに限定されない。抗ＰＧＥ$_2$は、多発性硬化症の治療のための１つまたはそれ以上の因子と組み合わせることが可能である。これらの因子の例は、アボネックス（Ａｖｏｎｅｘ）、アザサン（Ａｚａｓａｎ）、アザチオプリン、ベタセロン（Ｂｅｔａｓｅｒｏｎ）、バブリプレッド（Ｂｕｂｂｌｉ－Ｐｒｅｄ）、コパクソン（Ｃｏｐａｘｏｎｅ）、コトロン（Ｃｏｔｏｌｏｎｅ）、グラチラマー、イムラン、インターフェロンβ－１ａ、インターフェロンβ－１ｂ溶液、キープレッド（Ｋｅｙ－Ｐｒｅｄ）、キープレッドＳＰ（Ｋｅｙ－Ｐｒｅｄ　ＳＰ）、ミトキサントロン、ナタリズマブ、ノバントロン（Ｎｏｖａｎｔｒｏｎｅ）、オラプレッド（Ｏｒａｐｒｅｄ）、オラプレッドＯＤＴ（Ｏｒａｐｒｅｄ　ＯＤＴ）、ペディアプレッド（Ｐｅｄｉａｐｒｅｄ）、プレッドジェクト－５０（Ｐｒｅｄ－Ｊｅｃｔ－５０）、プレダコート５０（Ｐｒｅｄａｃｏｒｔ　５０）、プレダロン５０（Ｐｒｅｄａｌｏｎｅ　５０）、プレデート５０（Ｐｒｅｄａｔｅ　５０）、プレドニゾロン、プレロン（Ｐｒｅｌｏｎｅ）、レビフ（Ｒｅｂｉｆ）およびタイサブリを含むが、これらに限定されない。抗ＰＧＥ$_2$は、疼痛の治療のためのｗｗｗ．ｄｒｕｇｓ．ｃｏｍに収載されている１つもしくはそれ以上の因子または治療手順と組み合わせることが可能である。抗ＰＧＥ$_2$は、クローン病の治療のためのｗｗｗ．ｄｒｕｇｓ．ｃｏｍに収載されている１つもしくはそれ以上の因子または治療手順と組み合わせることが可能である。抗ＰＧＥ$_2$は、様々なヒト癌および悪性腫瘍の治療のためのｗｗｗ．ｄｒｕｇｓ．ｃｏｍに収載されている１つもしくはそれ以上の因子または治療手順と組み合わせることが可能である。

【０２０２】

Ｅ．医薬組成物

本発明は、本発明の抗体またはこの抗原結合部分および医薬として許容される担体を含む医薬組成物も提供する。本発明の抗体を含む医薬組成物は、疾患を診断し、検出し、もしくはモニタリングし、疾患または１つもしくはそれ以上のその症候を予防し、治療し、管理し、もしくは軽減する上で、および／または研究において使用されるが、これらに限定されない。特定の実施形態において、医薬組成物は、１つ以上の本発明の抗体を含む。別の実施形態において、医薬組成物は、１つ以上の本発明の抗体、およびＰＧＥ$_2$活性が有害である疾患を治療するための、本発明の抗体以外の１つ以上の予防または治療剤を含む。好ましくは、予防剤または治療剤は、疾患または１つもしくはそれ以上のその症候の予防、治療、管理または軽減に有用であることが知られており、または疾患または１つもしくはそれ以上のその症候の予防、治療、管理または軽減においてこれまで使用されており、もしくは現在使用されている。これらの実施形態に従えば、組成物は、担体、希釈剤または賦形剤をさらに含み得る。

【０２０３】

本発明の抗体または抗体部分は、対象に投与するのに適した医薬組成物中に取り込ませることが可能である。典型的には、医薬組成物は、本発明の抗体または抗体部分および医薬として許容される担体を含む。本明細書において使用される「医薬として許容される担体」には、生理的に適合性がある、あらゆる溶媒、分散媒、コーティング、抗菌剤および抗真菌剤、等張剤および吸収遅延剤などが含まれる。医薬として許容される担体の例には、水、生理的食塩水、リン酸緩衝化された生理的食塩水、デキストロース、グリセロール、エタノールなどの１つ以上およびこれらの組合せが含まれる。多くの場合において、等張剤、例えば、糖、マニトール、ソルビトールなどの多価アルコールまたは塩化ナトリウムが組成物中に含まれることが好ましい。医薬として許容される担体は、抗体または抗体部分の保存期間または有効性を増強する、湿潤剤または乳化剤、防腐剤または緩衝剤などの補助物質の微量をさらに含み得る。

【０２０４】

様々な送達系が公知であり、例えば、リポソーム、微粒子、ミクロカプセル、抗体または抗体断片を発現することができる組み換え細胞、受容体によって媒介されるエンドサイトーシス（例えば、Ｗｕ　ａｎｄ　Ｗｕ，Ｊ．Ｂｉｏｌ．Ｃｈｅｍ．２６２：４４２９－４４３２（１９８７）参照）、レトロウイルスまたは他のベクターの一部としての核酸の構築物などに封入して、本発明の１つもしくはそれ以上の抗体または本発明の１つもしくはそれ以上の抗体および疾患または１つもしくはそれ以上のその症候を予防し、管理し、治療し、もしくは軽減するのに有用な予防剤または治療剤の組合せを投与するために使用することが可能である。本発明の予防剤または治療剤を投与する方法には、非経口投与（例えば、皮内、筋肉内、腹腔内、静脈内および皮下）、硬膜外投与、腫瘍内投与および粘膜投与（例えば、鼻内および経口経路）が含まれるが、これらに限定されない。さらに、例えば、吸入装置または噴霧器およびエアロゾル化剤を加えた製剤の使用によって、経肺投与を使用することが可能である。例えば、米国特許第６，０１９，９６８号；第５，９８５，３２０号；第５，９８５，３０９号；第５，９３４，２７２号；第５，８７４，０６４号；第５，８５５，９１３号；第５，２９０，５４０号；および第４，８８０，０７８号；ならびにＰＣＴ公開ＷＯ９２／１９２４４；ＷＯ９７／３２５７２；ＷＯ９７／４４０１３；ＷＯ９８／３１３４６；およびＷＯ９９／６６９０３を参照されたい。一実施形態において、本発明の抗体、組合せ療法または本発明の組成物は、ＡｌｋｅｒｍｅｓＡＩＲ（登録商標）経肺薬物送達技術（Ａｌｋｅｒｍｅｓ，Ｉｎｃ．，Ｃａｍｂｒｉｄｇｅ，Ｍａｓｓ．）を用いて投与される。特定の実施形態において、本発明の予防剤または治療剤は、筋肉内、静脈内、腫瘍内、経口、鼻内、経肺または皮下投与される。予防剤または治療剤は、あらゆる都合のよい経路によって、例えば、注入もしくはボーラス注射によって、上皮または粘膜皮下の裏打ち（例えば、口粘膜、直腸および腸粘膜など）を通じた吸収によって投与され得、生物学的に活性な他の作用物質と一緒に投与され得る。投与は、全身または局所であり得る。

【０２０５】

特定の実施形態において、治療を必要としている部位へ局所的に、本発明の予防剤または治療剤を投与することが望ましい場合があり得る。これは、例えば、局所的注入によって、注射によって、またはインプラントの手段によって達成され得るが、このようなインプラントは、シアラスチック（ｓｉａｌａｓｔｉｃ）膜、ポリマー、繊維性マトリックス（例えば、Ｔｉｓｓｕｅｌ（登録商標））またはコラーゲンマトリックスなどの、膜およびマトリックスを含む多孔性または非多孔性材料である。一実施形態において、本発明の１つ以上の抗体の有効量は、疾患またはその症候を予防し、治療し、管理し、および／または軽減するために、対象の罹患した部位へ局所的に投与される。別の実施形態において、本発明の１つ以上の抗体の有効量は、疾患または１つもしくはそれ以上のその症候を予防し、治療し、管理し、および／または軽減するために、本発明の抗体以外の１つ以上の治療薬（例えば、１つ以上の予防剤または治療剤）の有効量と組み合わせて、対象の罹患した部位へ局所的に投与される。

【０２０６】

別の実施形態において、本発明の予防剤または治療剤は、調節された放出系または徐放系に入れて送達することが可能である。一実施形態において、調節された放出または徐放を達成するためにポンプを使用し得る（Ｌａｎｇｅｒ，上記；Ｓｅｆｔｏｎ，１９８７，ＣＲＣ Ｃｒｉｔ．Ｒｅｆ．Ｂｉｏｍｅｄ．Ｅｎｇ．１４：２０；Ｂｕｃｈｗａｌｄ ｅｔ ａｌ，１９８０，Ｓｕｒｇｅｒｙ ８８：５０７；Ｓａｕｄｅｋ ｅｔ ａｌ．，１９８９，Ｎ．Ｅｎｇｌ．Ｊ．Ｍｅｄ．３２１：５７４参照）。別の実施形態において、本発明の治療薬の調節された放出または徐放を達成するために、ポリマー材料を使用することが可能である。（例えば、Ｍｅｄｉｃａｌ Ａｐｐｌｉｃａｔｉｏｎｓ ｏｆ Ｃｏｎｔｒｏｌｌｅｄ Ｒｅｌｅａｓｅ，Ｌａｎｇｅｒ ａｎｄ Ｗｉｓｅ（ｅｄｓ．），ＣＲＣ Ｐｒｅｓ．，Ｂｏｃａ Ｒａｔｏｎ，Ｆｌａ．（１９７４）；Ｃｏｎｔｒｏｌｌｅｄ Ｄｒｕｇ Ｂｉｏａｖａｉｌａｂｉｌｉｔｙ，Ｄｒｕｇ Ｐｒｏｄｕｃｔ Ｄｅｓｉｇｎ ａｎｄ Ｐｅｒｆｏｒｍａｎｃｅ，Ｓｍｏｌｅｎ ａｎｄ Ｂａｌｌ（ｅｄｓ．），Ｗｉｌｅｙ，Ｎｅｗ Ｙｏｒｋ（１９８４）；Ｒａｎｇｅｒ ａｎｄ Ｐｅｐｐａｓ，１９８３，Ｊ．，Ｍａｃｒｏｍｏｌ．Ｓｃｉ．Ｒｅｖ．Ｍａｃｒｏｍｏｌ．Ｃｈｅｍ．２３：６１を参照されたい。Ｌｅｖｙ ｅｔ ａｌ．，１９８５，Ｓｃｉｅｎｃｅ ２２８：１９０；Ｄｕｒｉｎｇ ｅｔ ａｌ．，１９８９，Ａｎｎ．Ｎｅｕｒｏｌ．２５：３５１；Ｈｏｗａｒｄ ｅｔ ａｌ．，１９８９，Ｊ．Ｎｅｕｒｏｓｕｒｇ．７１：１０５）；米国特許第５，６７９，３７７号；米国特許第５，９１６，５９７号；米国特許第５，９１２，０１５号；米国特許第５，９８９，４６３号；米国特許第５，１２８，３２６号；ＰＣＴ公開ＷＯ９９／１５１５４；およびＰＣＴ公開ＷＯ９９／２０２５３も参照されたい。徐放製剤中で使用されるポリマーの例には、ポリ（２－ヒドロキシエチルメタクリラート）、ポリ（メチルメタクリラート）、ポリ（アクリル酸）、ポリ（エチレン－コビニルアセタート）、ポリ（メタクリル酸）、ポリグリコリド（ＰＬＧ）、ポリ無水物、ポリ（Ｎ－ビニルピロリドン）、ポリ（ビニルアルコール）、ポリアクリルアミド、ポリ（エチレングリコール）、ポリラクチド（ＰＬＡ）、ポリ（ラクチド－コ－グリコリド）（ＰＬＧＡ）およびポリオルトエステルが含まれるが、これらに限定されるものではない。好ましい実施形態において、徐放製剤中で使用されるポリマーは、不活性であり、溶脱可能な不純物を含まず、保存時に安定であり、無菌であり、生物分解性である。さらに別の実施形態において、調節された放出系または徐放系は、予防剤または治療剤の近くに配置されて、全身投薬量の一部のみを必要とするようにすることができる（例えば、Ｇｏｏｄｓｏｎ，ｉｎ Ｍｅｄｉｃａｌ Ａｐｐｌｉｃａｔｉｏｎｓ ｏｆ Ｃｏｎｔｒｏｌｌｅｄ Ｒｅｌｅａｓｅ，ｓｕｐｒａ，ｖｏｌ．２，ｐｐ．１１５－１３８（１９８４）参照）。

【０２０７】

徐放系は、Ｌａｎｇｅｒ（１９９０，Ｓｃｉｅｎｃｅ ２４９：１５２７－１５３３）による概説中に論述されている。本発明の１つ以上の治療剤を含む徐放製剤を作製するために、当業者に公知のあらゆる技術を使用することが可能である。例えば、米国特許第４，５２６，９３８号、ＰＣＴ公開ＷＯ９１／０５５４８、ＰＣＴ公開ＷＯ９６／２０６９８、Ｎｉｎｇ ｅｔ ａｌ．，１９９６，“Ｉｎｔｒａｔｕｍｏｒａｌ Ｒａｄｉｏｉｍｍｕｎｏｔｈｅｒａｐｈｙ ｏｆ ａ Ｈｕｍａｎ Ｃｏｌｏｎ Ｃａｎｃｅｒ Ｘｅｎｏｇｒａｆｔ Ｕｓｉｎｇ ａ Ｓｕｓｔａｉｎｅｄ－Ｒｅｌｅａｓｅ Ｇｅｌ，”Ｒａｄｉｏｔｈｅｒａｐｙ＆Ｏｎｃｏｌｏｇｙ ３９：１７９－１８９，Ｓｏｎｇ ｅｔ ａｌ．，１９９５，“Ａｎｔｉｂｏｄｙ Ｍｅｄｉａｔｅｄ Ｌｕｎｇ Ｔａｒｇｅｔｉｎｇ ｏｆ Ｌｏｎｇ－Ｃｉｒｃｕｌａｔｉｎｇ Ｅｍｕｌｓｉｏｎｓ，”ＰＤＡ Ｊｏｕｒｎａｌ ｏｆ Ｐｈａｒｍａｃｅｕｔｉｃａｌ Ｓｃｉｅｎｃｅ＆Ｔｅｃｈｎｏｌｏｇｙ ５０：３７２－３９７，Ｃｌｅｅｋ ｅｔ ａｌ．，１９９７，“Ｂｉｏｄｅｇｒａｄａｂｌｅ Ｐｏｌｙｍｅｒｉｃ Ｃａｒｒｉｅｒｓ ｆｏｒ ａ ｂＦＧＦ Ａｎｔｉｂｏｄｙ ｆｏｒ Ｃａｒｄｉｏｖａｓｃｕｌａｒ Ａｐｐｌｉｃａｔｉｏｎ，”Ｐｒｏ．Ｌｎｔ’ｌ．Ｓｙｍｐ．Ｃｏｎｔｒｏｌ．Ｒｅｌ．Ｂｉｏａｃｔ．Ｍａｔｅｒ．２４：８５３－８５４およびＬａｍ ｅｔ ａｌ．，１９９７，“Ｍｉｃｒｏｅｎｃａｐｓｕｌ

ａｔｉｏｎ ｏｆ Ｒｅｃｏｍｂｉｎａｎｔ Ｈｕｍａｎｉｚｅｄ Ｍｏｎｏｃｌｏｎａｌ Ａｎｔｉｂｏｄｙ ｆｏｒ Ｌｏｃａｌ Ｄｅｌｉｖｅｒｙ，”Ｐｒｏｃ．Ｉｎｔ’ｌ．Ｓｙｍｐ．Ｃｏｎｔｒｏｌ Ｒｅｌ．Ｂｉｏａｃｔ．Ｍａｔｅｒ．２４：７５９－７６０を参照されたい。

【０２０８】

本発明の組成物が予防剤または治療剤をコードする核酸である特定の実施形態において、適切な核酸発現ベクターの一部として、核酸を構築し、例えば、レトロウイルスベクター（米国特許第４，９８０，２８６号）の使用によって、または直接の注射によって、または微粒子照射（例えば、遺伝子銃；Ｂｉｏｌｉｓｔｉｃ，Ｄｕｐｏｎ）の使用によって、核酸が細胞内となるように核酸を投与し、または脂質もしくは細胞表面受容体もしくは形質移入剤でコーティングし、または核内に入ることが知られているホメオボックス様ペプチドに連結して核酸を投与することによって（例えば、Ｊｏｌｉｏｔ ｅｔ ａｌ．，１９９１，Ｐｒｏｃ．Ｎａｔｌ．Ａｃａｄ．Ｓｃｉ．ＵＳＡ ８８：１８６４－１８６８参照）、核酸がコードしている予防剤または治療剤の発現を促進するために、核酸をインビボで投与することが可能である。あるいは、相同的組み換えによる発現のために、核酸を細胞内に導入し、宿主細胞ＤＮＡ内に取り込むことが可能である。

【０２０９】

本発明の医薬組成物は、その予定された投与経路と適合的であるように製剤化される。投与の経路の例には、非経口、例えば、静脈内、皮内、皮下、経口、鼻内（例えば、吸入）、経皮（例えば、局所）、経粘膜および直腸投与が含まれるが、これらに限定されない。特異的な実施形態において、組成物は、ヒトへの静脈内、皮下、筋肉内、経口、鼻内または局所投与に適合された医薬組成物として、定型的な手法に従って製剤化される。典型的には、静脈内投与のための組成物は、無菌の等張水性緩衝液中の溶液である。必要な場合には、組成物は、可溶化剤および注射の部位における痛みを和らげるための局所麻酔剤（リグノカムンｌｉｇｎｏｃａｍｎｅ）なども含み得る。

【０２１０】

本発明の組成物が局所的に投与されるべき場合には、組成物は、軟膏、クリーム、経皮パッチ、ローション、ゲル、シャンプー、スプレー、エアロゾル、溶液、エマルジョンの形態でまたは当業者に知られている他の形態で製剤化することが可能である。例えば、Ｒｅｍｉｎｇｔｏｎ’ｓ Ｐｈａｒｍａｃｅｕｔｉｃａｌ Ｓｃｉｅｎｃｅｓ ａｎｄ Ｉｎｔｒｏｄｕｃｔｉｏｎ ｔｏ Ｐｈａｒｍａｃｅｕｔｉｃａｌ Ｄｏｓａｇｅ Ｆｏｒｍｓ，１９ｔｈ ｅｄ．，Ｍａｃｋ Ｐｕｂ．Ｃｏ．，Ｅａｓｔｏｎ，Ｐａ．（１９９５）を参照されたい。噴霧不能な局所剤形の場合には、局所適用に適合性のある担体または１つもしくはそれ以上の賦形剤を含み、好ましくは水より大きな動粘性係数を有する粘性ないし半固体または固体の形態が典型的には使用される。適切な製剤は、所望であれば、滅菌され、または、例えば、浸透圧などの様々な特性に影響を及ぼすための補助剤（例えば、防腐剤、安定化剤、湿潤剤、緩衝剤または塩）と混合された、溶液、懸濁液、エマルジョン、クリーム、軟膏（ｏｉｎｔｍｅｎｔ）、粉末、リニメント剤、軟膏（ｓａｌｖｅ）など（これらに限定されない）を含む。他の適切な局所剤形には、好ましくは、固体または液体不活性担体と組み合わされた活性成分が、加圧された揮発性物質（例えば、フレオンなどの気体状噴射剤）との混合物中または搾り出し瓶中に梱包されている噴霧可能なエアロゾル調製物が含まれる。所望であれば、医薬組成物および剤形に、加湿剤または湿潤剤も添加することが可能である。このような追加の成分の例は、本分野において周知である。

【０２１１】

本発明の方法が組成物の鼻内投与を含む場合には、組成物は、エアロゾル形態、スプレー、ミスト中に、または点鼻薬の形態で製剤化することが可能である。特に、本発明に従って使用するための予防剤または治療剤は、適切な噴射剤（例えば、ジクロロジフルオロメタン、トリクロロフルオロメタン、ジクロロテトラフルオロエタン、二酸化炭素またはその他の適切な気体）を用いて、加圧されたパックまたは噴霧器からエアロゾルスプレー

提示の形態で都合よく送達することが可能である。加圧されたエアロゾルの場合には、投薬単位は、定量された量を送達するためのバルブを付与することによって決定され得る。化合物とラクトースまたはデンプンなどの適切な粉末基剤との粉末混合物を含有する、吸入装置またはガス注入装置で使用するためのカプセルおよびカートリッジ（例えば、ゼラチンから構成される。）を製剤化し得る。

【０２１２】

本発明の方法が経口投与を含む場合、錠剤、カプセル、カシェ剤、ゲルキャップ、溶液、懸濁液などの形態で、組成物を製剤化することが可能である。錠剤またはカプセルは、従来の手段によって、結合剤（例えば、予めゼラチン化されたトウモロコシデンプン、ポリビニルピロリドンまたはヒドロキシプロピルメチルセルロース）；充填剤（例えば、ラクトース、微結晶セルロースまたはリン酸水素カルシウム）；潤滑剤（例えば、ステアリン酸マグネシウム、タルクまたはシリカ）；崩壊剤（例えば、イモデンプンまたはグリコール酸デンプンナトリウム）；または湿潤剤（例えば、ラウリル硫酸ナトリウム）などの、医薬として許容される賦形剤とともに調製することが可能である。錠剤は、本分野において周知な方法によって被覆され得る。経口投与用の液体調製物は、溶液、シロップもしくは懸濁液の形態（これらに限定されない。）を採り得、または、使用前に、水もしくは他の適切なビヒクルを用いて構成するための乾燥製品として与えられ得る。このような液体調製物は、慣用の手段によって、懸濁剤（例えば、ソルビトールシロップ、セルロース誘導体または硬化食用脂肪）；乳化剤（例えば、レシチンまたはアカシア）；非水性ビヒクル（例えば、アーモンド油、油状エステル、エチルアルコールまたは分画された植物油）；および防腐剤（例えば、ｐ－ヒドロキシ安息香酸メチルもしくはプロピルまたはソルビン酸）などの医薬として許容される添加物とともに調製され得る。調製物は、適宜、緩衝液塩、着香剤、着色剤および甘味剤も含有し得る。経口投与用調製物は、予防剤または治療剤の遅い放出、調節された放出または徐放のために、適切に製剤化され得る。

【０２１３】

本発明の方法は、例えば、吸入装置または噴霧器の使用、エアロゾル化剤とともに製剤化された組成物の使用によって、経肺投与を含み得る。例えば、米国特許第６，０１９，９６８号；第５，９８５，３２０号；第５，９８５，３０９号；第５，９３４，２７２号；第５，８７４，０６４号；第５，８５５，９１３号；第５，２９０，５４０号；および第４，８８０，０７８号；ならびにＰＣＴ公開ＷＯ９２／１９２４４；ＷＯ９７／３２５７２；ＷＯ９７／４４０１３；ＷＯ９８／３１３４６；およびＷＯ９９／６６９０３を参照されたい。特定の実施形態において、本発明の抗体、組合せ療法および／または本発明の組成物は、ＡｌｋｅｒｍｅｓＡＩＲ（登録商標）経肺薬物送達技術（Ａｌｋｅｒｍｅｓ，Ｉｎｃ．Ｃａｍｂｒｉｄｇｅ，Ｍａｓ．）を用いて投与される。

【０２１４】

本発明の方法は、注射による（例えば、ボーラス注射または連続的注入による）非経口投与のために製剤化された組成物の投与を含み得る。注射用製剤は、添加された防腐剤とともに、単位剤形で（例えば、アンプルまたは複数投薬容器に入れて）与え得る。組成物は、油性または水性ビヒクル中の懸濁液、溶液またはエマルジョンなどの形態を採り得、懸濁剤、安定化剤および／または分散剤などの処方剤を含有し得る。あるいは、活性成分は、使用前に適切なビヒクル（例えば、発熱物質を含まない無菌水）で構成するための粉末形態であり得る。

【０２１５】

本発明の方法は、さらに、デポ調製物として製剤化された組成物の投与を含み得る。このような長期作用製剤は、（例えば、皮下または筋肉内への）植え込みによって、または筋肉内注射によって投与され得る。したがって、例えば、組成物は、適切なポリマー材料もしくは疎水性材料（例えば、許容される油中のエマルジョンとして）またはイオン交換樹脂とともに、または難溶性誘導体として（例えば、難溶性塩として）調合され得る。

【０２１６】

本発明の方法は、中性または塩形態として製剤化された組成物の投与を包含する。医薬

として許容される塩には、塩酸、リン酸、酢酸、シュウ酸、酒石酸などに由来するものなどの陰イオンとともに形成された塩、水酸化ナトリウム、水酸化カリウム、水酸化アンモニウム、水酸化カルシウム、水酸化第二鉄、イソプロピルアミン、トリエチルアミン、２－エチルアミノエタノール、ヒスチジン、プロカインなどに由来するものなど、陽イオンとともに形成された塩が含まれる。

【０２１７】

一般的には、組成物の成分は、別個に、または単位剤形中に（例えば、活性剤の量を示した注射器またはにおい袋など、密閉された容器中の凍結乾燥された乾燥粉末または無水濃縮物として）一緒に混合されて供給される。投与の様式が注入である場合には、組成物は、医薬等級の無菌水または生理的食塩水を含有する注入瓶を用いて分配することが可能である。投与の様式が注射による場合には、注射用の無菌水または生理的食塩水の注射器は、投与前に成分が混合され得るように提供することが可能である。

【０２１８】

特に、本発明は、本発明の予防剤もしくは治療剤の１つもしくはそれ以上または本発明の医薬組成物が、薬剤の量を示した注射器またはにおい袋など、密閉された容器中に梱包されることも提供する。一実施形態において、本発明の予防剤もしくは治療剤の１つもしくはそれ以上または医薬組成物は、密閉された容器中の凍結乾燥された乾燥無菌粉末または無水濃縮物として供給され、対象に投与するための適切な濃度になるように（例えば、水または生理的食塩水で）再構成することができる。好ましくは、本発明の予防剤もしくは治療剤の１つもしくはそれ以上または医薬組成物は、少なくとも５ｍｇ、より好ましくは少なくとも１０ｍｇ、少なくとも１５ｍｇ、少なくとも２５ｍｇ、少なくとも３５ｍｇ、少なくとも４５ｍｇ、少なくとも５０ｍｇ、少なくとも７５ｍｇまたは少なくとも１００ｍｇの単位投薬量で、密封された容器中の凍結乾燥された乾燥無菌粉末として供給される。本発明の凍結乾燥された予防もしくは治療剤または医薬組成物は、その元の容器中で、２℃と８℃の間で保存されるべきであり、本発明の予防剤もしくは治療剤または医薬組成物は、再構成後、１週以内、好ましくは５日以内、７２時間以内、４８時間以内に、２４時間以内に、１２時間以内に、６時間以内に、５時間以内に、３時間以内に、または１時間以内に投与されるべきである。別の実施形態において、本発明の予防剤もしくは治療剤の１つもしくはそれ以上または本発明の医薬組成物は、薬剤の量および濃度を示す密閉された容器中に、液体形態で供給される。好ましくは、投与された組成物の液体形態は、少なくとも０．２５ｍｇ／ｍｌ、より好ましくは少なくとも０．５ｍｇ／ｍｌ、少なくとも１ｍｇ／ｍｌ、少なくとも２．５ｍｇ／ｍｌ、少なくとも５ｍｇ／ｍｌ、少なくとも８ｍｇ／ｍｌ、少なくとも１０ｍｇ／ｍｌ、少なくとも１５ｍｇ／ｋｇ、少なくとも２５ｍｇ／ｍｌ、少なくとも５０ｍｇ／ｍｌ、少なくとも７５ｍｇ／ｍｌまたは少なくとも１００ｍｇ／ｍｌで、密封された容器中に供給される。液体形態は、その元の容器中で、２℃と８℃の間で保存されるべきである。

【０２１９】

本発明の抗体または抗体部分は、非経口投与に適した医薬組成物中に取り込ませることが可能である。好ましくは、抗体または抗体部分は、０．１－２５０ｍｇ／ｍＬの抗体を含有する注射可能溶液として調製される。注射可能溶液は、フリント容器または琥珀色の容器、注射器または予め充填されたシリンジ中の液体または凍結乾燥された剤形から構成され得る。緩衝液は、ｐＨ５．０から７．０（最適にはｐＨ６．０）のＬ－ヒスチジン（１－５０ｍＭ）、最適には５－１０ｍＭであり得る。他の適切な緩衝液には、コハク酸ナトリウム、クエン酸ナトリウム、リン酸ナトリウムまたはリン酸カリウムが含まれるが、これらに限定されない。０－３００ｍＭの濃度に（最適には、液体剤形に対して１５０ｍＭ）の溶液の毒性を修飾するために、塩化ナトリウムを使用することが可能である。凍結乾燥された剤形に対して、凍結保護剤、主に、０－１０％のスクロース（最適には、０．５－１．０％）を含めることが可能である。他の適切な凍結保護剤には、トレハロースおよびラクトースが含まれる。凍結乾燥された剤形に対して、充填剤、主に、１－１０％のマニトール（最適には、２－４％）を含めることが可能である。液体および凍結乾燥され

た両剤形において、安定化剤、主に１－５０ｍＭのＬ－メチオニン（最適には、５－１０ｍＭ）を使用することが可能である。他の適切な充填剤には、グリシン、アルギニンが含まれ、０－０．０５％のポリソルベート－８０（最適には、０．００５－０．０１％）として含めることが可能である。さらなる界面活性剤には、ポリソルベート２０およびＢＲＩＪ界面活性剤が含まれるが、これらに限定されない。非経口投与用の注射可能な溶液として調製された本発明の抗体または抗体部分を含む医薬組成物は、治療用タンパク質（例えば、抗体）の吸収または分散を増加させるために使用されるものなど、アジュバントとして有用な作用物質をさらに含むことが可能である。特に有用なアジュバントは、Ｈｙｌｅｎｅｘ（登録商標）（組み換えヒトヒアルロニダーゼ）などのヒアルロニダーゼである。注射可能な溶液中へのヒアルロニダーゼの添加は、非経口投与、特に皮下投与後に、ヒト生物学的利用可能性を改善する。痛みおよび不快感がより小さく、注射部位反応の発生を最小限に抑えながら、より大きな注射部位容量（すなわち、１ｍＬより大きい）も可能である（ＷＯ２００４０７８１４０およびＵＳ２００６１０４９６８を参照）。

【０２２０】

本発明の組成物は、様々な形態であり得る。これらには、例えば、液体溶液（例えば、注射可能な溶液および注入可能な溶液）など、分散液または懸濁液、錠剤、丸薬、粉末、リポソームおよび坐薬などの、液体、半固体および固体剤形が含まれる。好ましい形態は、予定される投与の様式および治療用途に依存する。典型的な好ましい組成物は、他の抗体を用いたヒトの受動免疫に対して使用される組成物と同様の組成物など、注射可能溶液または注入可能溶液の形態である。投与の好ましい様式は、非経口（例えば、静脈内、皮下、腹腔内、筋肉内）である。好ましい実施形態において、抗体は、静脈内注入または注射によって投与される。別の好ましい実施形態において、抗体は、筋肉内注入または皮下注射によって投与される。

【０２２１】

治療組成物は、典型的には、製造および保存の条件下で、無菌および安定でなければならない。組成物は、溶液、ミクロエマルジョン、分散液、リポソームまたは高薬物濃度に適したその他の秩序化された構造として製剤化することが可能である。無菌注射可能溶液は、本明細書に列記されている成分の１つまたは組合せを加えた適切な溶媒中に、必要な量で活性な化合物（すなわち、抗体、抗体部分）を取り込ませた後、必要に応じて、濾過滅菌を行うことによって調製することが可能である。一般的に、分散液は、塩基性分散溶媒および上記に列記されたものから得られる必要なその他の成分を含有する無菌ビヒクル中に活性化合物を取り込ませることによって調製される。無菌注射可能溶液の調製のための凍結乾燥された無菌粉末の場合には、好ましい調製の方法は、予め滅菌濾過されたその溶液から、あらゆる追加の所望される成分を加えた活性成分の粉末を与える真空乾燥および粉末乾燥である。溶液の適切な流動性は、例えば、レシチンなどのコーティング材料を使用することによって、分散液の場合に必要な粒径を維持することによって、および界面活性剤を使用することによって維持することができる。注射可能組成物の延長された吸収は、吸収を遅延させる薬剤、例えば、モノステアリン酸塩およびゼラチンを組成物中に含めることによって実現することができる。

【０２２２】

本発明の抗体または抗体部分は、本分野で公知の様々な方法によって投与することが可能であるが、多くの治療用途において、好ましい投与経路／様式は皮下注射、静脈内注射または注入である。当業者によって理解されるように、投与の経路および／または様式は、所望される結果に応じて変動する。ある種の実施形態において、活性化合物は、インプラント、経皮パッチおよび微小封入された送達系を含む徐放製剤など、迅速な放出に対して化合物を保護する担体とともに調製され得る。エチレン酢酸ビニル、ポリ無水物、ポリグリコール酸、コラーゲン、ポリオルトエステルおよびポリ乳酸など、生物分解可能な生物適合性ポリマーを使用することが可能である。このような製剤の多くの調製方法は、特許が付与されているまたは一般的に当業者に公知である。例えば、Ｓｕｓｔａｉｎｅｄ ａｎｄ Ｃｏｎｔｒｏｌｌｅｄ Ｒｅｌｅａｓｅ Ｄｒｕｇ Ｄｅｌｉｖｅｒｙ Ｓｙｓ

ｔｅｍｓ，Ｊ．Ｒ．Ｒｏｂｉｎｓｏｎ，ｅｄ．，Ｍａｒｃｅｌ　Ｄｅｋｋｅｒ，Ｉｎｃ．，Ｎｅｗ　Ｙｏｒｋ，１９７８を参照されたい。

【０２２３】

ある種の実施形態において、本発明の抗体または抗体部分は、例えば、不活性希釈剤または同化可能な食用担体とともに経口投与され得る。また、化合物（および、所望であれば、その他の成分）は、硬いもしくは軟い殻のゼラチンカプセル中に封入され、錠剤へと圧縮され、または患者の食事中に直接取り込ませ得る。経口治療投与の場合、化合物は、賦形剤とともに取り込まれ、摂取可能な錠剤、口腔錠、トローチ、カプセル、エリキシル、懸濁液、シロップ、ウェハースなどの形態で使用され得る。非経口投与以外によって本発明の化合物を投与するために、その不活化を妨げるための物質で化合物を被覆し、またはその不活化を妨げるための物質とともに化合物を同時投与することが必要であり得る。

【０２２４】

補助的活性化合物も、組成物中に取り込ませることが可能である。ある種の実施形態において、本発明の抗体または抗体部分は、PGE_2活性が有害である疾患を治療するのに有用である、１つ以上のさらなる治療剤とともに共製剤化され、および／または同時投与される。例えば、本発明の抗PGE_2抗体または抗体部分は、他の錠剤に結合する１つ以上のさらなる抗体（例えば、他のサイトカインに結合する抗体または細胞表面分子に結合する抗体）とともに共製剤化され、および／または同時投与され得る。さらに、本発明の１つ以上の抗体は、先述の治療剤の２つまたはそれ以上と組み合わせて使用され得る。このような組合せ療法は、投与される治療剤のより低い投薬量を有利に使用し得るので、様々な単独療法に伴って生じ得る毒性または合併症が回避される。

【０２２５】

ある種の実施形態において、PGE_2への抗体またはこの断片は、本分野で公知の半減期延長ビヒクルに連結される。このようなビヒクルには、Ｆｃドメイン、ポリエチレングリコールおよびデキストランが含まれるが、これらに限定されない。このようなビヒクルは、例えば、米国出願第０９／４２８，０８２号および公開されたＰＣＴ出願ＷＯ９９／２５０４４に記載されている。

【０２２６】

特定の実施形態において、本発明の抗体または本発明の別の予防剤もしくは治療剤をコードするヌクレオチド配列を含む核酸配列は、遺伝子治療によって、疾患または１つもしくはそれ以上のその症候を治療し、予防し、管理し、または軽減するために投与される。遺伝子治療は、発現された核酸または発現可能な核酸の、対象への投与によって実行される治療を表す。本発明の本実施形態において、核酸は、予防的効果または治療的効果を媒介する、本発明のコードされたそれらの抗体または予防剤もしくは治療剤を産生する。

【０２２７】

本発明に従って、本分野で利用可能な遺伝子治療のためのあらゆる方法を使用することが可能である。遺伝子治療の方法の一般的な概説については、Ｇｏｌｄｓｐｉｅｌ　ｅｔ　ａｌ．，１９９３，Ｃｌｉｎｉｃａｌ　Ｐｈａｒｍａｃｙ　１２：４８８－５０５；Ｗｕ　ａｎｄ　Ｗｕ，１９９１，Ｂｉｏｔｈｅｒａｐｙ　３：８７－９５；Ｔｏｌｓｔｏｓｈｅｖ，１９９３，Ａｎｎ．Ｒｅｖ．Ｐｈａｒｍａｃｏｌ．Ｔｏｘｉｃｏｌ．３２：５７３－５９６；Ｍｕｌｌｉｇａｎ，Ｓｃｉｅｎｃｅ　２６０：９２６－９３２（１９９３）；およびＭｏｒｇａｎ　ａｎｄ　Ａｎｄｅｒｓｏｎ，１９９３，Ａｎｎ．Ｒｅｖ．Ｂｉｏｃｈｅｍ．６２：１９１－２１７；Ｍａｙ，１９９３，ＴＩＢＴＥＣＨ　１１（５）：１５５－２１５を参照されたい。使用可能な組み換えＤＮＡ技術の分野で一般的に知られた方法は、Ａｕｓｕｂｅｌ　ｅｔ　ａｌ．（ｅｄｓ．），Ｃｕｒｒｅｎｔ　Ｐｒｏｔｏｃｏｌｓ　ｉｎ　Ｍｏｌｅｃｕｌａｒ　Ｂｉｏｌｏｇｙ，Ｊｏｈｎ　Ｗｉｌｅｙ＆Ｓｏｎｓ，ＮＹ（１９９３）；およびＫｒｉｅｇｌｅｒ，Ｇｅｎｅ　Ｔｒａｎｓｆｅｒ　ａｎｄ　Ｅｘｐｒｅｓｓｉｏｎ，Ａ　Ｌａｂｏｒａｔｏｒｙ　Ｍａｎｕａｌ，Ｓｔｏｃｋｔｏｎ　Ｐｒｅｓｓ，ＮＹ（１９９０）に記載されている。遺伝子治療の様々な方法の詳細な記述は、ＵＳ２００５００４２６６４Ａ１に開示されている。

【０２２８】
別の態様において、本出願は、対象においてＰＧＥ$_2$関連障害を治療する（例えば、治癒する、抑制する、寛解する、上記障害の発病を遅延させるもしくは予防するもしくは上記障害の再発を予防する）または上記障害を予防する方法を特色とする。上記方法は、ＰＧＥ$_2$結合剤（特に、アンタゴニスト）、例えば、本明細書に記載されている抗ＰＧＥ$_2$抗体またはこの断片を、ＰＧＥ$_2$関連障害を治療するまたは予防するのに十分な量、対象に投与することを含む。ＰＧＥ$_2$アンタゴニスト、例えば、抗ＰＧＥ$_2$抗体またはこの断片は、単独でまたは本明細書に記載される他の治療モダリティと組み合わせて対象に投与することが可能である。

【０２２９】
本発明は、その方法がＰＧＥ$_2$に特異的な抗体の有効量を対象に投与することを含む、その障害が過剰なＰＧＥ$_2$生合成により特徴づけられる対象における炎症性障害および免疫障害を治療するための方法を提供する。本発明に従った方法により治療し得る障害は、過剰なＰＧＥ$_2$合成が関係している自己免疫障害および炎症性障害および腫瘍を含む。そのような障害は、（ａ）関節リウマチおよびアレルギー性関節炎；（ｂ）ギランバレー症候群、感染性単核球症、他のウイルス性リンパ節症およびヘルペスウイルスによる感染症などのウイルスにより誘発されるある種の疾患；（ｃ）多発性硬化症および他の脱髄疾患；（ｄ）溶血性貧血および血小板減少症などの血液障害；（ｅ）糖尿病、アジソン病、特発性副甲状腺機能低下症および慢性リンパ性甲状腺炎などの内分泌学的障害；（ｆ）全身性エリテマトーデスなどのコラーゲン障害；ならびに（ｇ）無月経、不妊症、反復流産および子癇などの生殖障害；ならびに（ｈ）頭頸部腫瘍、肺癌、胃癌、前立腺癌、膵癌等などの腫瘍；ならびに（ｉ）皮膚および胃腸器官の炎症性および／または自己免疫状態（例えば、潰瘍性大腸炎および／またはクローン病などの炎症性腸疾患（ＩＢＤ））；ならびに（ｊ）変形性関節炎および他の障害に伴う疼痛；ならびに（ｋ）加齢性黄斑変性症（ＡＭＤ）などの視覚障害を含む。したがって、本開示は、本明細書に記載される治療のためのＰＧＥ$_2$結合剤（例えば、本明細書に記載される抗ＰＧＥ$_2$抗体またはこの断片）の使用および本明細書に記載される治療のための薬物を調製するためのＰＧＥ$_2$結合剤（例えば、本明細書に記載される抗ＰＧＥ$_2$抗体またはこの断片）の使用を含む。

【０２３０】
ＰＧＥ$_2$関連障害の例には、関節炎、関節リウマチ、骨関節炎、若年性慢性関節炎、化膿性関節炎、ライム関節炎、乾癬性関節炎、反応性関節炎、脊椎関節症、全身性紅斑性狼瘡、クローン病、潰瘍性大腸炎、炎症性腸疾患、インシュリン依存性糖尿病、甲状腺炎、喘息、アレルギー性疾患、乾癬、皮膚炎、強皮症、アトピー性皮膚炎、移植片対宿主病、臓器移植拒絶、臓器移植に関連する急性または慢性免疫疾患、サルコイドーシス、アテローム性動脈硬化症、播種性血管内凝固、川崎病、バセドウ病、ネフローゼ症候群、慢性疲労症候群、ウェゲナー肉芽腫症、ヘノッホ・シェーライン紫斑症、腎臓の顕微鏡的血管炎、慢性活動性肝炎、ブドウ膜炎、敗血症性ショック、毒素性ショック症候群、敗血症症候群、悪液質、感染性疾患、寄生性疾患、後天性免疫不全症候群、急性横断性脊髄炎、ハンチントン舞踏病、パーキンソン病、アルツハイマー病、発作、原発性胆汁性肝硬変、溶血性貧血、悪性腫瘍、心不全、心筋梗塞、アジソン病、孤発性の、多内分泌腺機能低下症候群Ｉ型および多内分泌腺機能低下症候群ＩＩ型、シュミット症候群、成人（急性）呼吸促迫症候群、脱毛症、円形脱毛症、血清反応陰性関節炎、関節炎、ライター病、乾癬性関節炎、潰瘍性大腸性関節炎、腸疾患性滑膜炎、クラミジア、エルシニアおよびサルモネラ関連関節炎、脊椎関節症、アテローム性疾患／アテローム性動脈硬化症、アトピー性アレルギー、自己免疫性水疱性疾患、尋常性天疱瘡、落葉状天疱瘡、類天疱瘡、線状ＩｇＡ病、自己免疫性溶血性貧血、クームス陽性溶血性貧血、後天性悪性貧血、若年性悪性貧血、筋痛性脳脊髄炎／ロイヤルフリー病、慢性粘膜皮膚カンジダ症、巨細胞性動脈炎、原発性硬化性肝炎、突発性自己免疫性肝炎、後天性免疫不全症候群、後天性免疫不全関連疾患、Ｂ型肝炎、Ｃ型肝炎、分類不能型免疫不全症（分類不能型原発性低γグロブリン血症）、拡張型心筋症、女性不妊症、卵巣機能不全、早期卵巣機能不全、繊維性肺疾患、突発性間質

性肺炎、炎症後間質性肺疾患、間質性肺炎、結合組織疾患関連間質性肺疾患、混合性結合組織疾患関連肺疾患、全身性硬化症関連間質性肺疾患、関節リウマチ関連間質性肺疾患、全身性紅斑性狼瘡関連肺疾患、皮膚筋炎／多発性筋炎関連肺疾患、シェーグレン病関連肺疾患、強直性脊椎炎関連肺疾患、血管炎性びまん性肺疾患（ｖａｓｃｕｌｉｔｉｃ ｄｉｆｆｕｓｅ ｌｕｎｇ ｄｉｓｅａｓｅ）、ヘモシデローシス関連肺疾患、薬物によって誘導された間質性肺疾患、繊維症、放射性繊維症、閉塞性細気管支炎、慢性好酸球性肺炎、リンパ球浸潤性肺疾患、感染後間質性肺疾患、通風関節炎、自己免疫性肝炎、１型自己免疫性肝炎（古典的自己免疫性またはルポイド肝炎）、２型自己免疫性肝炎（抗ＬＫＭ抗体肝炎）、自己免疫媒介性低血糖症、黒色表皮腫を伴うＢ型インシュリン抵抗性、副甲状腺機能低下症、臓器移植に関連する急性免疫疾患、臓器移植に関連する慢性免疫疾患、変形性関節症、原発性硬化性胆管炎、１型乾癬、２型乾癬、特発性白血球減少症、自己免疫性好中球減少症、腎臓病ＮＯＳ、糸球体腎炎、腎臓の顕微鏡的血管炎、ライム病、円板状紅斑性狼瘡、男性不妊症特発性またはＮＯＳ、精子自己免疫、多発性硬化症（すべてのサブタイプ）、交感性眼炎、結合組織疾患に続発する肺高血圧症、グッドパスチャー症候群、結節性多発動脈炎の肺症状、急性リウマチ熱、リウマチ性脊椎炎、スチル病、全身性硬化症、シェーグレン症候群、高安病／動脈炎、自己免疫性血小板減少症、特発性血小板減少症、自己免疫性甲状腺疾患、甲状腺機能亢進症、甲状腺腫自己免疫性甲状腺機能低下症（橋本病）、萎縮性自己免疫性甲状腺機能低下症、原発性粘液水腫（ｐｒｉｍａｒｙ ｍｙｘｏｅｄｅｍａ）、水晶体起因性ブドウ膜炎、原発性血管炎、白斑急性肝疾患、慢性肝疾患、アルコール性肝硬変、アルコール誘発性肝障害、胆汁うっ滞（ｃｈｏｌｅｏｓａｔａｔｉｓ）、特異体質性肝疾患、薬物誘発性肝炎、非アルコール性脂肪性肝炎、アレルギーおよび喘息、Ｂ群連鎖球菌（ＧＢＳ）感染、精神障害（例えば、うつ病および統合失調症）、Ｔｈ２型およびＴｈ１型によって媒介される疾病、急性および慢性疼痛（疼痛の様々な形態）、ならびに、肺癌、乳癌、胃癌、膀胱癌、大腸癌、膵臓癌、卵巣癌、前立腺癌および腎臓癌および造血性悪性病変（白血病およびリンパ腫）などの癌、無βリポタンパク質血症、先端チアノーゼ、急性および慢性寄生性または感染性プロセス、急性白血病、急性リンパ芽球性白血病（ＡＬＬ）、急性骨髄性白血病（ＡＭＬ）、急性または慢性細菌感染、急性膵炎、急性腎不全、腺癌、心房（ａｅｒｉａｌ）異所性拍動、ＡＩＤＳ認知症複合、アルコール誘発性肝炎、アレルギー性結膜炎、アレルギー性接触性皮膚炎、アレルギー性鼻炎、同種移植拒絶、α－１－アンチトリプシン欠乏症、筋萎縮性側索硬化症、貧血、狭心症、前角細胞変性、抗ｃｄ３治療、抗リン脂質症候群、抗受容体過敏症反応（ａｎｔｉ－ｒｅｃｅｐｔｏｒ ｈｙｐｅｒｓｅｎｓｉｔｉｖｉｔｙ ｒｅａｃｔｉｏｎｓ）、大動脈（ａｏｒｄｉｃ）および動脈瘤、大動脈解離、動脈性高血圧、動脈硬化症、動静脈瘻、運動失調、心房細動（持続的または発作性）、心房粗動、房室ブロック、Ｂ細胞リンパ腫、骨移植拒絶、骨髄移植（ＢＭＴ）拒絶、脚ブロック、バーキットリンパ腫、火傷、心不整脈、心機能不全症候群（ｃａｒｄｉａｃ ｓｔｕｎ ｓｙｎｄｒｏｍｅ）、心臓腫瘍、心筋症、心肺バイパス炎症反応、軟骨移植拒絶、小脳皮質変性、小脳疾患、無秩序なまたは多巣性心房頻脈、化学療法関連疾患、慢性骨髄性白血病（ＣＭＬ）、慢性アルコール症、慢性炎症性病変、慢性リンパ性白血病（ＣＬＬ）、慢性閉塞性肺疾患（ＣＯＰＤ）、慢性サリチル酸中毒、結腸直腸癌、うっ血性心不全、結膜炎、接触性皮膚炎、肺性心、冠動脈疾患、クロイツフェルトーヤコブ病、培養陰性敗血症、嚢胞性繊維症、サイトカイン療法関連疾患、ボクサー脳、脱髄性疾患、デング出血熱、皮膚炎、皮膚科学的症状、糖尿病、真性糖尿病、糖尿病性動脈硬化疾患、瀰漫性レビー小体病、拡張型うっ血性心筋症、大脳基底核の疾患、中年のダウン症候群、中枢神経ドーパミン受容体を遮断する薬物によって誘発された薬物誘発性運動疾患、薬物感受性、湿疹、脳脊髄炎、心内膜炎、内分泌疾患、喉頭蓋炎、エプスタインーバーウイルス感染、紅痛症、垂体外路および小脳疾患、家族性血球貪食性リンパ組織球症（ｆａｍｉｌｉａｌ ｈｅｍａｔｏｐｈａｇｏｃｙｔｉｃ ｌｙｍｐｈｏｈｉｓｔｉｏｃｙｔｏｓｉｓ）、致死的胸腺移植組織拒絶、フリードライヒ失調症、機能的末梢動脈疾患、真菌性敗血症、ガス壊疽、胃潰瘍、糸球体腎炎、いずれかの臓器または組織の移植片拒絶、グラム陰性敗血症、グラム陽性敗血症、細胞内生

物に起因する肉芽腫、有毛細胞白血病、ハラーホルデン・スパッツ病、橋本甲状腺炎、枯草熱、心臓移植拒絶、血色素症、血液透析、溶血性尿毒症症候群／血栓溶解血小板減少紫斑病、出血、肝炎（Ａ型）、ヒス束不整脈、ＨＩＶ感染／ＨＩＶ神経障害、ホジキン病、運動過剰疾患、過敏症反応、過敏性肺炎、高血圧、運動低下疾患、視床下部－下垂体－副腎皮質系評価、特発性アジソン病、特発性肺繊維症、抗体媒介性細胞毒性、無力症、乳児脊髄性筋萎縮症、大動脈の炎症、Ａ型インフルエンザ、電離放射線曝露、虹彩毛様体炎／ブドウ膜炎／視神経炎、虚血再灌流障害、虚血性発作、若年性関節リウマチ、若年性脊髄性筋萎縮症、カポジ肉腫、腎移植拒絶、レジオネラ、リーシュマニア症、ハンセン病、皮質脊髄系の病変、脂肪血症（ｌｉｐｅｄｅｍａ）、肝臓移植拒絶、リンパ浮腫（ｌｙｍｐｈｅｄｅｒｍａ）、マラリア、悪性リンパ腫、悪性組織球増殖症、悪性黒色腫、髄膜炎、髄膜炎菌血症（ｍｅｎｉｎｇｏｃｏｃｃｅｍｉａ）、代謝性／特発性、偏頭痛、ミトコンドリア多系疾患（ｍｉｔｏｃｈｏｎｄｒｉａｌ ｍｕｌｔｉ．ｓｙｓｔｅｍ ｄｉｓｏｒｄｅｒ）、混合性結合組織病、モノクローナル高ガンマグロブリン血症、多発性骨髄腫、多系統変性（メンセル・デジェリーヌ－トーマス・シャイ－ドレーガーおよびマシャド－ジョセフ）、重症筋無力症、マイコバクテリウム・アビウム・イントラセルラーレ、マイコバクテリウム・チュバキュロシス、骨髄形成異常、心筋梗塞、真菌虚血疾患、上咽頭癌、新生児慢性肺疾患、腎炎、ネフローゼ、神経変性疾患、神経原性Ｉ筋萎縮、好中球減少性発熱、非ホジキンリンパ腫、腹部大動脈およびその分枝の閉塞、閉塞性動脈疾患、ｏｋｔ３療法、精巣炎／精巣上体炎、精巣炎／精管復元術処置、臓器肥大、骨粗鬆症、膵臓移植拒絶、膵癌、腫瘍随伴性症候群／悪性腫瘍の高カルシウム血症、副甲状腺移植拒絶、骨盤内炎症性疾患、通年性鼻炎、心膜疾患、末梢アテローム硬化性疾患、末梢血管疾患、腹膜炎、悪性貧血、ニューモシスチス・カリニ肺炎、肺炎、ＰＯＥＭＳ症候群（多発神経炎、臓器肥大、内分泌疾患、単クローン性γグロブリン血症および皮膚変化症候群（ｓｋｉｎ ｃｈａｎｇｅｓ ｓｙｎｄｒｏｍｅ））、灌流後症候群（ｐｏｓｔ ｐｅｒｆｕｓｉｏｎ ｓｙｎｄｒｏｍｅ）、ポンプ後症候群（ｐｏｓｔ ｐｕｍｐ ｓｙｎｄｒｏｍｅ）、心筋梗塞後開心術症候群、子癇前症、進行性核上性麻痺、原発性肺高血圧、放射線療法、レイノー現象および病、レイノー病、レフサム病、規則的なＱＲＳ幅の狭い頻脈症（ｒｅｇｕｌａｒ ｎａｒｒｏｗ ＱＲＳ ｔａｃｈｙｃａｒｄｉａ）、腎血管性高血圧、再灌流障害、拘束型心筋症、肉腫、強皮症、老年性舞踏病、レビー小体型の老年性認知症、血清反応陰性関節炎、ショック、鎌形赤血球貧血症、皮膚同種異系移植拒絶、皮膚変化症候群、小腸移植拒絶、固形腫瘍、固有不整脈（ｓｐｅｃｉｆｉｃ ａｒｒｙｔｈｍｉａｓ）、脊髄性運動失調、脊髄小脳変性、連鎖球菌性筋炎、小脳の構造的病変、亜急性硬化性全脳炎、湿疹、心血管系の梅毒、全身性アナフィラキシー、全身性炎症反応症候群、全身性発症若年性関節リウマチ、Ｔ細胞またはＦＡＢＡＬＬ、毛細血管拡張症、閉塞性血栓血管炎、血小板減少症、毒性、移植、外傷／出血、ＩＩＩ型過敏症反応、ＩＶ型過敏症、不安定狭心症、尿毒症、尿路性敗血症、じんましん、心臓弁膜症、静脈瘤、血管炎、静脈疾患、静脈血栓症、心室細動、ウイルスおよび真菌感染、ウイルス性脳炎（ｖｉｔａｌ ｅｎｃｅｐｈａｌｉｔｉｓ）／無菌性髄膜炎、ウイルス関連血球貪食症候群、ウェルニッケ－コルサコフ症候群、ウィルソン病、いずれかの臓器または組織の異種移植拒絶、急性冠症候群、急性特発性多発性神経炎、急性炎症性脱髄性多発神経根神経障害、急性虚血、成人スチル病、円形脱毛症、アナフィラキシー、抗リン脂質抗体症候群、再生不良性貧血、アテローム性動脈硬化症、アトピー性湿疹、アトピー性皮膚炎、自己免疫性皮膚炎、連鎖球菌感染に伴う自己免疫異常、自己免疫性腸疾患、自己免疫性難聴、自己免疫性リンパ増殖症候群（ＡＬＰＳ）、自己免疫性心筋炎、自己免疫性早期卵巣機能不全、眼瞼炎、気管支拡張症、水疱性類天疱瘡、心血管疾患、劇症型抗リン脂質症候群、セリアック病、頚部脊椎症、慢性虚血、瘢痕性類天疱瘡、多発性硬化症のリスクを有する臨床的孤発症候群（ＣＩＳ）、結膜炎、小児発症精神障害、慢性閉塞性肺疾患（ＣＯＰＤ）、涙嚢炎、皮膚筋炎、糖尿病性網膜症、真性糖尿病、椎間板ヘルニア、椎間板脱出、薬物誘発免疫性溶血性貧血、心内膜炎、子宮内膜症、眼内炎、上強膜炎、多形性紅斑、重症型多形性紅斑、妊娠性類天疱瘡、ギランバレー症候群（ＧＢＳ）、枯草熱、ヒューズ症候群、特発性パーキン

ソン病、特発性間質性肺炎、ＩｇＥ媒介性アレルギー、免疫性溶血性貧血、封入体筋炎、感染性眼炎症疾患、炎症性脱髄疾患、炎症性心疾患、炎症性腎疾患、ＩＰＦ／ＵＩＰ、虹彩炎、角膜炎、乾性角結膜炎（ｋｅｒａｔｏｊｕｎｔｉｖｉｔｉｓ　ｓｉｃｃａ）、クスマウル病またはクスマウルーマイヤー病、ランドリー麻痺、ランゲルハンス細胞性組織球症、網状皮斑、黄斑変性、顕微鏡的多発性血管炎、モルブス・ベヒテレフ（ｍｏｒｂｕｓ　ｂｅｃｈｔｅｒｅｖ）、運動ニューロン疾患、粘膜性類天疱瘡、多臓器不全、重症筋無力症、骨髄異形成症候群、心筋炎、神経根障害、神経障害、非Ａ非Ｂ型肝炎、視神経炎、骨溶解、小関節性ＪＲＡ、末梢動脈閉塞疾患（ＰＡＯＤ）、末梢血管疾患（ＰＶＤ）、末梢動脈疾患（ＰＡＤ）、静脈炎、結節性多発性動脈炎（または結節性動脈周囲炎）、多発性軟骨炎、リウマチ性多発性筋痛、白毛症、多関節性ＪＲＡ、多内分泌欠損症候群、多発性筋炎、リウマチ性多発性筋痛（ＰＭＲ）、ポンプ後症候群、原発性パーキンソニズム、前立腺炎、赤芽球癆、原発性副腎不全、再発性視神経脊髄炎、再狭窄、リウマチ性心疾患、ＳＡＰＨＯ（滑膜炎、アクネ、膿疱症、骨過形成および骨髄炎）、強皮症、続発性アミロイドーシス、ショック肺、強膜炎、坐骨神経痛、二次性副腎不全、シリコーン関連結合組織病、スネドンーウィルキンソン皮膚症、強直性脊椎炎、スティーブンス・ジョンソン症候群（ＳＪＳ）、全身性炎症反応症候群、側頭動脈炎、トキソプラスマ性網膜炎、中毒性表皮剥離症、横断性脊髄炎、ＴＲＡＰＳ（腫瘍壊死因子受容体）、１型アレルギー反応、ＩＩ型糖尿病、じんましん、通常型間質性肺炎（ＵＩＰ）、血管炎、春季結膜炎、ウイルス性網膜炎、フォークト・小柳・原田症候群（ＶＫＨ症候群）、滲出型黄斑変性、ならびに創傷治癒の１つ以上をからなる群から選択される障害が含まれるが、これらに限定されない。

【０２３１】

別の態様において、本発明の結合タンパク質は、急性リンパ性白血病、急性骨髄性白血病、副腎皮質癌、肛門癌、虫垂癌、小脳星状細胞腫、大脳星状細胞腫、基底細胞癌、胆管癌、肝外、膀胱癌、骨癌、骨肉腫／悪性線維性組織球腫脳幹神経膠腫、脳腫瘍、脳幹神経膠腫、大脳星状細胞腫／悪性神経膠腫、上衣腫、髄芽腫、テント上原始神経外胚葉性腫瘍、神経路および視床下部膠腫、乳癌、気管支腺腫／カルチノイド、カルチノイド腫瘍、カルチノイド腫瘍、原発不明の胃腸癌、中枢神経系リンパ腫、原発小脳星状細胞腫、子宮頸癌、慢性リンパ腫白血病、慢性骨髄性白血病慢性骨髄増殖性障害、結腸癌、結腸直腸癌、皮膚Ｔ細胞リンパ腫、子宮内膜癌、上衣腫、食道癌、腫瘍のユーイングファミリー、頭蓋外胚細胞腫瘍、性腺外胚細胞腫瘍、肝外胆管癌、眼癌、眼内メラノーマ網膜芽細胞腫、胆嚢癌、胃癌、胃腸カルチノイド腫瘍、胃腸間質性腫瘍（ＧＩＳＴ）、頭蓋外胚細胞腫瘍、性腺外胚細胞腫瘍、卵巣胚細胞腫瘍、妊娠性トホロブラスト腫瘍、神経膠腫、脳幹神経膠腫、大脳星状細胞腫神経膠腫、小児神経路および視床下部膠腫、ヘアリー細胞白血病、頭頸部癌、肝細胞癌、ホジキンリンパ腫、下咽頭癌、眼球内黒色腫、膵島細胞腫（膵内分泌部）、カポジ肉腫、腎（腎細胞）癌、喉頭癌、急性リンパ性白血病、急性骨髄性白血病、慢性リンパ腫白血病、慢性骨髄性白血病、ヘアリー細胞白血病、唇および口腔癌、肝癌、非小細胞肺癌、小細胞肺癌、ＡＩＤＳ関連リンパ腫、バーキットリンパ腫、皮膚Ｔ細胞リンパ腫、ホジキンリンパ腫、非ホジキンリンパ腫、原発中枢神経系リンパ腫、ワルデンシュトレームマクログロブリン血症、骨の悪性線維性組織球腫／骨肉腫、髄芽腫、メラノーマ、眼内メラノーマ、メルケル細胞癌、悪性中皮腫、原発不明の転移性頸部扁平上皮癌、口腔癌、多発性内分泌腫瘍症候群、多発性骨髄腫／形質細胞腫瘍、菌状息肉腫、骨髄異形成症候群、骨髄異形成／骨髄増殖性疾患、骨髄性白血病、慢性骨髄球性白血病、多発性骨髄腫、骨髄増殖性疾患、鼻腔および副鼻腔癌、上咽頭癌、神経芽細胞腫、口腔癌、口腔癌、唇および中咽頭癌、骨肉腫／骨の悪性線維性組織球腫、卵巣癌、卵巣上皮癌、卵巣胚細胞癌、卵巣低悪性度腫瘍、膵癌、膵島細胞癌、副鼻腔および鼻腔癌、副甲状腺癌、陰茎癌、咽頭癌、褐色細胞腫、松果体芽腫およびテント上原始神経外胚葉性腫瘍、下垂体腫瘍、形質細胞腫瘍／多発性骨髄腫、胸膜肺芽腫、前立腺癌、直腸癌、腎細胞（腎）癌、腎盂および尿管、移行細胞癌、網膜芽細胞腫、唾液腺癌、肉腫、腫瘍のユーイングファミリー、カポジ肉腫、軟部組織肉腫、子宮肉腫、セザリー症候群、皮膚癌（非メラノーマ性の）、

皮膚癌（メラノーマ性の）、メルケル細胞皮膚癌、小腸癌、扁平上皮癌、原発不明の転移性頸部扁平上皮癌、胃癌、テント上原始神経外胚葉性腫瘍、皮膚Ｔ細胞リンパ腫、精巣癌、咽頭癌、胸腺腫、胸腺腫および胸腺癌、甲状腺癌、腎盂および尿管の移行細胞癌、妊娠性トロホブラスト腫瘍、尿管および腎芋、移行細胞癌、尿道癌、子宮癌、子宮内膜子宮癌肉腫、膣癌、視覚路および視床下部神経膠腫、外陰腫、ワルデンシュトレームマクログロブリン血症、ウィルムス腫瘍からなる群から選択される障害の治療のために有用である。

【０２３２】

別の態様において、本発明は、試料（例えば、血清、血漿、組織、バイオプシーなどの生体試料）中のＰＧＥ$_2$の存在をインビトロで検出するための方法を提供する。本方法を使用して、障害、例えば、免疫細胞関連障害を診断することが可能である。上記方法は、（ｉ）試料または対照試料を本明細書に記載されている抗ＰＧＥ$_2$抗体またはこの断片に接触させること、および（ｉｉ）抗ＰＧＥ$_2$抗体またはこの断片と試料または対照試料間の複合体の形成を検出し、対照試料と比べて試料における複合体の形成における統計的に有意な変化が試料中のＰＧＥ$_2$の存在を示していることを含む。

【０２３３】

さらに別の態様において、本願は、ＰＧＥ$_2$の存在をインビボで検出するための方法（例えば、対象におけるインビボ画像化）を提供する。本方法を使用して、障害、例えば、ＰＧＥ$_2$関連障害を診断することが可能である。上記方法は、（ｉ）抗体または断片のＰＧＥ$_2$への結合を可能にする条件下で、本明細書に記載されている抗ＰＧＥ$_2$抗体またはこの断片を対象または対照対象に投与すること、および（ｉｉ）抗体または断片とＰＧＥ$_2$間の複合体の形成を検出し、対照対象と比べて対象における複合体の形成における統計的に有意な変化がＰＧＥ$_2$の存在を示していることを含む。

【０２３４】

本発明の抗体、またはこの抗原結合部分は、そのような疾患を治療するために単独でまたは組み合わせて使用することが可能である。本発明の抗体またはこの抗原結合部分は、単独で、または追加の作用物質、例えば治療剤と組み合わせて使用することが可能であり、前記追加の作用物質は、その意図される目的に対して、当業者によって選択されることを理解すべきである。例えば、追加の作用物質は、本発明の抗体によって治療されている疾病または症状を治療するのに有用であると本分野で認識されている治療剤とすることが可能である。追加の作用物質は、治療組成物に有益な属性を付与する作用物質、例えば、組成物の粘性に影響を与える作用物質とすることも可能である。

【０２３５】

本発明に含まれるべき組合せは、それらの意図される目的に対して有用な組合せであることをさらに理解すべきである。以下に記されている作用物質は、例示を目的とするものであって、限定を意図するものではない。本発明の一部である組合せは、本発明の抗体および以下のリストから選択される少なくとも１つの追加の作用物質であり得る。当該組合せにおいて、形成された組成物がその意図される機能を実行することが可能であれば、組合せは、２以上の追加の作用物質、例えば、２または３個の追加の作用物質を含むこともできる。

【０２３６】

組合せ療法は、１つまたはそれ以上のＰＧＥ$_2$アンタゴニスト、例えば、１つまたはそれ以上の追加の治療剤、例えば、本明細書にはさらに多く記載されているように、１つまたはそれ以上のサイトカインおよび成長因子阻害剤、免疫抑制剤、抗炎症剤（例えば、全身性抗炎症剤）、抗線維化剤、代謝阻害剤、酵素阻害剤および／または細胞毒性もしくは細胞増殖抑制剤と一緒に同時処方されるおよび／またはと一緒に同時投与される抗ＰＧＥ$_2$抗体またはこの断片を含むことが可能である。１つまたはそれ以上のＰＧＥ$_2$アンタゴニスト、例えば、抗ＰＧＥ$_2$抗体またはこの断片と一緒に同時投与するおよび／または同時処方することが可能である好ましい追加の治療剤の例は、吸入用ステロイド；βアゴニスト、例えば、短時間作用または長時間作用βアゴニスト；ロイコトリエンまたはロイコトリエン受容体のアンタゴニスト；ＡＤＶＡＩＲなどの合剤；ＩｇＥ阻害剤、例えば、抗

ＩｇＥ抗体（例えば、ＸＯＬＡＩＲ）；ホスホジエステラーゼ阻害剤（例えば、ＰＤＥ４阻害剤）；キサンチン；抗コリン剤；クロモリンなどのマスト細胞安定化剤；ＩＬ－４阻害剤；ＩＬ－５阻害剤；エオタキシン／ＣＣＲ３阻害剤；Ｈ１、Ｈ２、Ｈ３およびＨ４を含むヒスタミンまたはこの受容体のアンタゴニストならびにプロスタグランジンＤまたはこの受容体（ＤＰ１およびＣＲＴＨ２）のアンタゴニストのうちの１つまたはそれ以上を含むが、これらに限定されない。そのような組合せを使用して、喘息および他の呼吸障害を治療することが可能である。１つまたはそれ以上の抗PGE_2抗体またはこの断片と一緒に同時投与するおよび／または同時処方することが可能である治療剤の追加の例は、とりわけ、ＴＮＦアンタゴニスト（例えば、ＴＮＦ受容体の可溶性断片、例えば、ｐ５５またはｐ７５ヒトＴＮＦ受容体またはこの誘導体、例えば、７５ｋＤ　ＴＮＦＲ－ＩｇＧ（７５ｋＤ　ＴＮＦ受容体－ＩｇＧ融合タンパク質、ＥＮＢＲＥＬ））；ＴＮＦ酵素アンタゴニスト、例えば、ＴＮＦ変換酵素（ＴＡＣＥ）阻害剤；ムスカリン受容体アンタゴニスト；ＴＧＦβアンタゴニスト；インターフェロンγ；パーフェニドン；化学療法剤、例えば、メトトレキサート、レフルノミドまたはシロリムス（ラパマイシン）またはこの類似体、例えば、ＣＣＩ－７７９；ＣＯＸ２およびｃＰＬＡ２阻害剤；ＮＳＡＩＤ；免疫調節剤；ｐ３８阻害剤、ＴＰＬ－２、ＭＫ－２およびＮＦｋＢ阻害剤のうちの１つまたはそれ以上を含む。他の組合せは、サイトカイン抑制性抗炎症薬（ＣＳＡＩＤ）；その他のヒトサイトカインまたは成長因子（例えば、ＴＮＦ、ＬＴ、ＩＬ－１、ＩＬ－２、ＩＬ－３、ＩＬ－４、ＩＬ－５、ＩＬ－６、ＩＬ－７、ＩＬ－８、ＩＬ－１５、ＩＬ－１６、ＩＬ－１８、ＩＬ－２１、ＩＬ－３１、インターフェロン、ＥＭＡＰ－ＩＩ、ＧＭ－ＣＳＦ、ＦＧＦ、ＥＧＦ、ＰＤＧＦ）およびエドセリン－１、ならびにこれらのサイトカインの受容体および増殖因子である。本発明の抗体またはその抗原結合部分は、ＣＤ２、ＣＤ３、ＣＤ４、ＣＤ８、ＣＤ２５、ＣＤ２８、ＣＤ３０、ＣＤ４０、ＣＤ４５、ＣＤ６９、ＣＤ８０（Ｂ７．１）、ＣＤ８６（Ｂ７．２）、ＣＤ９０、ＣＴＬＡまたはＣＤ１５４を含むこれらのリガンド（ｇｐ３９またはＣＤ４０Ｌ）などの細胞表面分子に対する抗体と組み合わせることが可能である。

【０２３７】

好ましい治療剤の組合せは、異なる点で、炎症カスケードを干渉し得る。好ましい例には、キメラ、ヒト化またはヒトＴＮＦ抗体、Ｄ２Ｅ７（ＰＣＴ公開ＷＯ９７／２９１３１）、ＣＡ２（Ｒｅｍｉｃａｄｅ（商標））、ＣＤＰ５７１、および可溶性ｐ５５またはｐ７５ＴＮＦ受容体、これらの誘導体、（ｐ７５ＴＮＦＲＩｇＧ（Ｅｎｂｒｅｌ（商標））またはｐ５５ＴＮＦＲ１ｇＧ（Ｌｅｎｅｒｃｅｐｔ）およびＴＮＦα変換酵素（ＴＡＣＥ）阻害剤などのようなＴＮＦアンタゴニストが含まれる。同様にＩＬ－１阻害剤（インターロイキン－１変換酵素阻害剤、ＩＬ－１ＲＡなど）は、同じ理由のために有効であり得る。

【０２３８】

本発明の医薬組成物は、本発明の抗体または抗体部分の「治療的有効量」または「予防的有効量」を含み得る。「治療的有効量」は、所望の治療的結果を達成するための投薬量で、および所望の治療的結果を達成するために必要な期間にわたって有効な量を表す。抗体または抗体部分の治療的有効量は、当業者によって決定され得、病状、年齢、性別および個体の体重ならびに抗体または抗体部分が個体内で所望の応答を惹起する能力などの因子に従って変動し得る。治療的有効量は、抗体または抗体部分のあらゆる毒性効果または有害効果が、治療的に有益な効果によって凌駕される量でもある。「予防的有効量」は、所望の予防的結果を達成するために必要な投薬量で、および所望の予防的結果を達成するために必要な期間にわたって有効な量を表す。典型的には、疾病のより初期段階の前にまたは疾病のより初期段階において、予防的投薬が患者に使用されるので、予防的有効量は、治療的有効量より少ない。

【０２３９】

投薬計画は、最適な所望の応答（例えば、治療的応答または予防的応答）を与えるように調整され得る。例えば、単一のボーラスを投与することができ、複数の分割された用量

を経時的に投与することができ、または、治療状況の緊急性によって示されるように、用量を比例的に減少もしくは増加させ得る。投与の容易さおよび投薬量の均一性のために、投薬単位形態で非経口組成物を製剤化することが特に有利である。本明細書において使用される投薬単位形態は、治療されるべき哺乳動物患者に対する統一された投薬として適した、物理的に分離された単位を表し、各単位は、必要とされる医薬担体とともに、所望される治療効果を生じるように計算された活性化合物の所定量を含有する。本発明の投薬単位形態に対する規格は、（ａ）活性化合物の特有の特徴および達成されるべき具体的な治療効果または予防効果ならびに（ｂ）個体における過敏症の治療用のこのような活性化合物を配合する分野に固有の制約によって規定され、これらに直接依存する。

【０２４０】

本発明の抗体または抗体部分の治療的または予防的有効量に対する典型的な非限定的範囲は、０．１－２０ｍｇ／ｋｇ、例えば１－１０ｍｇ／ｋｇである。緩和されるべき症状の種類および重度に応じて、投薬量の値が変化し得ることに注意すべきである。いずれかの具体的な患者に対して、個体の要求に従って、組成物の投与を行いまたは監督している者の専門的判断に従って、特異的投薬計画を経時的に調整すべきこと、および、本明細書に記載されている投薬量の範囲は典型的なものに過ぎず、特許請求の範囲に記載されている組成物の範囲または実施に限定することを意図したものではないことをさらに理解すべきである。

【０２４１】

本明細書に記載されている本発明の方法の他の適切な改変および適合が明白であり、本発明の範囲または本明細書に開示されている実施形態から逸脱することなく、適切な均等物を用いてこれらを行い得ることが当業者に自明である。ここに、本発明を詳しく記載してきたが、例示のみを目的とし、本発明を限定することを意図したものではない以下の実施例を参照することによって、本発明がより明確に理解される。

【実施例】

【０２４２】

実施例１

抗プロスタグランジンＥ$_2$モノクローナル抗体の産生および単離

実施例１．１：抗ヒトプロスタグランジンＥ$_2$抗体を特定するアッセイ

以下のアッセイは、別段の記載がない限り、抗プロスタグランジンＥ$_2$抗体を特定し、特徴付けるために使用された。

【０２４３】

実施例１．１．Ａ：ＥＬＩＳＡ

プロスタグランジンＥ$_2$に結合する抗体をスクリーニングするための酵素結合免疫吸着検定法を以下の２つの方法のうちの少なくとも１つに従って行った：

方法１

ＥＬＩＳＡプレート（Ｃｏｓｔａｒ　３３６９，Ｃｏｒｎｉｎｇ，ＮＹ）は、ＰＢＳ（Ｉｎｖｉｔｒｏｇｅｎ　Ｃａｒｌｓｂａｄ，ＣＡ）中、２μｇ／ｍｌの抗宿主Ｆｃ　ＩｇＧ（Ｓｉｇｍａ，Ｓｔ．Ｌｏｕｉｓ，ＭＯ）の５０μｌを用いて被覆された。４℃で一晩温置後、ＰＢＳで洗浄し、２００μｌのＳｕｐｅｒｂｌｏｏｋ（Ｐｉｅｒｃｅ　＃３７５３５，Ｒｏｃｋｆｏｒｄ，ＩＬ）を用いてプレートをブロックした。ＩｇＧを含む試料は、アッセイ緩衝液（０．０５％Ｓｕｒｆａｃｔａｍｐｓ（Ｐｉｅｒｃｅ　＃３７５３５，Ｒｏｃｋｆｏｒｄ，ＩＬ）を含むＰＢＳ中の１０％Ｓｕｐｅｒｂｌｏｏｋ）中で１μｇ／ｍｌに希釈され、各ウェルに５０μｌ／ウェルを添加され、１時間室温で温置された。Ｔｗｅｅｎ－Ｔｒｉｓ緩衝溶液（ＴＴＢＳ）を用いてプレートを４回洗浄した。ＰＧＥ２結合について、ＰＧＥ２－ビオチンアミド（Ｃａｙｍａｎ　Ｃｈｅｍｉｃａｌｓ，Ａｎｎ　Ａｒｂｏｒ，ＭＩ）を３０ｎＭに希釈し、アッセイ緩衝液中に連続して１：３に希釈した。滴定曲線試料は、５０μｌ／ウェルにて各ＩｇＧ試料に添加され、１時間室温にて温置された。プレートを前述したように洗浄し、５０μｌの１：５０００に希釈したアッセイ緩衝液中のストレプトアビジンｐｏｌｙｈｒｐ４０（Ｆｉｔｚｇｅｒａｌｄ　Ｉｎｄｕｓ

ｔｒｉｅｓ，Ｃｏｎｃｏｒｄ，ＭＡ）を各ウェルに添加し、４５分間室温にて温置した。最終洗浄工程を行い、一工程のＴＭＢシステム（Ｓｉｇｍａ　＃Ｔ８６６５，Ｓｔ．Ｌｏｕｉｓ，ＭＯ）および１００μｌ／ウェル２ＮのＨ$_2$ＳＯ$_4$を用いて発色させた。Ｍｏｌｅｃｕｌａｒ　Ｄｅｖｉｃｅｓ社のＳｐｅｃｔｒａｍａｘプレートリーダー（Ｓｕｎｎｙｖａｌｅ，ＣＡ）上で４５０ｎｍにてプレートを読んだ。ＧｒａｐｈＰａｄ　Ｐｒｉｓｍ　５（ＧｒａｐｈＰａｄ　Ｓｏｆｔｗａｒｅ，Ｌａ　Ｊｏｌｌａ，ＣＡ）を用いてＥＣ$_{50}$を測定した。

【０２４４】

方法２

あるいは、プロスタグランジン結合は、^{3}Ｈ－ＰＧＥ$_2$　ＥＬＩＳＡを用いて測定された。ＰＢＳ中の５μｇ／ｍｌのヤギ抗ヒトＩｇＧ（Ｆｃ）（Ｔｈｅｒｍｏ　Ｓｃｉｅｎｔｉｆｉｃ　＃３１１７０，Ｈｕｄｓｏｎ，ＮＨ）またはヤギ抗マウスＩｇＧ（Ｆｃ）（Ｔｈｅｒｍｏ　Ｓｃｉｅｎｔｉｆｉｃ　＃３１１２５，Ｈｕｄｓｏｎ，ＮＨ）を用いて５０ｕｌ／ウェルにてプレートを被覆し、一晩４℃で温置した。翌日、プレートを軽く振って、吸い取って乾燥させた。２００μＬ／ウェルのＳｕｐｅｒｂｌｏｏｋ（Ｔｈｅｒｍｏ　Ｓｃｉｅｎｔｉｆｉｃ　＃３７５１５，Ｈｕｄｓｏｎ，ＮＨ）を用いて、１時間室温にてプレートをブロックした。プレートを軽く振って、吸い取って乾燥させた。モノクローナル抗体をリン酸緩衝液Ｔｗｅｅｎ２０（ＰＢＳＴ）（Ａｂｂｏｔｔ　Ｂｉｏｒｅｓｅａｒｃｈ　Ｃｅｎｔｅｒ，Ｗｏｒｃｅｓｔｅｒ，ＭＡ）および１０％Ｓｕｐｅｒｂｌｏｏｋで０．０４μｇ／ｍｌに希釈し、５０μＬの各抗体は、予めブロックされたＥＬＩＳＡプレートの各ウェルに２ｎｇ／ウェルにて添加され、１時間室温にて温置された。ＰＢＳ＋０．１％Ｔｗｅｅｎ－２０を用いてウェルを３回洗浄した。^{3}Ｈ－ＰＧＥ$_2$（Ｐｅｒｋｉｎ　Ｅｌｍｅｒ　＃ＮＥＴ－４２８，Ｗａｌｔｈａｍ，ＭＡ）の連続的な３倍滴定がＰＢＳＴ／１０％Ｓｕｐｅｒｂｌｏｏｋ中に調製された。５０μｌの^{3}Ｈ－ＰＧＥ２溶液をプレートの各ウェルに添加し、１時間室温にて温置した。ＰＢＳＴ／１０％Ｓｕｐｅｒｂｌｏｏｋでウェルを手動で６回洗浄し、５０μＬのシンチレーション液（Ｐｅｒｋｉｎ　Ｅｌｍｅｒ　＃６０１３６２１，Ｗａｌｔｈａｍ，ＭＡ）を各ウェルに添加した。５分のカウント遅延でプレートをＴｏｐＣｏｕｎｔリーダー（Ｐｅｒｋｉｎ　Ｅｌｍｅｒ，Ｗａｌｔｈａｍ，ＭＡ）を用いて読んだ。ＥＣ$_{50}$値は、ＧｒａｐｈＰａｄ　Ｐｒｉｓｍｅ　５（ＧｒａｐｈＰａｄ　Ｓｏｆｔｗａｒｅ，Ｌａ　Ｊｏｌｌａ，ＣＡ）を用いて測定された。

【０２４５】

実施例１．１．Ｂ：ＰＧＥ$_2$競合ＥＬＩＳＡ

プロスタグランジンＥ$_2$に結合する抗体に対するプロスタグランジン結合特異性を決定するための競合酵素結合免疫吸着検定法を以下の２つの方法のうちの少なくとも１つに従って行った。

方法１

ＥＬＩＳＡプレート（Ｃｏｓｔａｒ　３３６９，Ｃｏｒｎｉｎｇ，ＮＹ）は、ＰＢＳ（Ｉｎｖｉｔｒｏｇｅｎ，Ｃａｒｌｓｂａｄ，ＣＡ）中の２μｇ／ｍｌの抗宿主Ｆｃ　ＩｇＧ（Ｓｉｇｍａ，Ｓｔ．Ｌｏｕｉｓ，ＭＯ）の５０μｌ／ウェルを用いて被覆された。４℃にて一晩温置後、２００μｌのＳｕｐｅｒｂｌｏｏｋ（Ｐｉｅｒｃｅ　＃３７５３５，Ｒｏｃｋｆｏｒｄ，ＩＬ）を用いてプレートをブロックした。ＩｇＧ試料は、アッセイ緩衝液（０．０５％Ｓｕｒｆａｃｔａｍｐｓ（Ｐｉｅｒｃｅ　＃３７５３５，Ｒｏｃｋｆｏｒｄ，ＩＬ）を含むＰＢＳ中の１０％Ｓｕｐｅｒｂｌｏｏｋ）中で６μｇ／ｍｌに希釈された。ＰＧＥ$_2$－ビオチンアミドをアッセイ緩衝液において３ｎＭに希釈した。アッセイ緩衝液における滴定曲線は、３００ｎＭで開始し、１：１０の連続希釈することによってプロスタグランジンＰＧＡ$_2$（Ｃａｙｍａｎ　Ｃｈｅｍｉｃａｌｓ，Ａｎｎ　Ａｒｂｏｒ，ＭＩ）、ＰＧＤ$_2$（Ｃａｙｍａｎ　Ｃｈｅｍｉｃａｌｓ，Ａｎｎ　Ａｒｂｏｒ，ＭＩ）およびＰＧＥ$_2$（Ｃａｙｍａｎ　Ｃｈｅｍｉｃａｌｓ，Ａｎｎ　Ａｒｂｏｒ，ＭＩ）について調製された。ウェルあたり各々５０μｌの体積にて試薬を管に添加し、１時間室温にてプレ温置した。プレ温置後、ブロックされたプレートにその混合物を移し、１時間室温

にて温置させた。次に、Ｔｗｅｅｎ　２０－Ｔｒｉｓ緩衝溶液（ＴＴＢＳ）を用いてプレートを４回洗浄した。次に、１：５０００に希釈したアッセイ緩衝液（Ｆｉｔｚｇｅｒａｌｄ　Ｉｎｄｕｓｔｒｉｅｓ，Ｃｏｎｃｏｒｄ，ＭＡ）中のストレプトアビジンｐｏｌｙｈｒｐ４０をウェルに添加し、４５分間室温にて温置した。最終洗浄工程を行い、１回工程のＴＭＢシステム（Ｓｉｇｍａ　＃Ｔ８６６５，Ｓｉｇｍａ，Ｓｔ．Ｌｏｕｉｓ，ＭＯ）および１００μｌ／ウェル２ＮのH_2SO_4を用いてプレートを発色させた。Ｍｏｌｅｃｕｌａｒ　Ｄｅｖｉｃｅｓ社のＳｐｅｃｔｒａｍａｘプレートリーダー（Ｓｕｎｎｙｖａｌｅ，ＣＡ）上で４５０ｎｍにてプレートを読んだ。未標識のプロスタグランジンが結合についてＰＧＥ$_2$－ビオチンアミドと競合したウェルは、シグナルの減少をもたらした。IC_{50}値は、ＧｒａｐｈＰａｄ　Ｐｒｉｓｍｅ　５（ＧｒａｐｈＰａｄ　Ｓｏｆｔｗａｒｅ，Ｌａ　Ｊｏｌｌａ，ＣＡ）を用いて測定された。次に、交差反応性指数をＰＧＥ$_2$のIC_{50}／他の（複数の）プロスタグランジンのIC_{50}によって計算した。

方法２

あるいは、^{3}Ｈ－ＰＧＥ$_2$競合ＥＬＩＳＡを用いてプロスタグランジン選択性を決定した。ＰＢＳ中のｕＬ／ｍｌのヤギ抗ヒトＩｇＧ（Ｆｃ）（Ｔｈｅｒｍｏ　Ｓｃｉｅｎｔｉｆｉｃ　＃３１１７０，Ｈｕｄｓｏｎ，ＮＨ）またはヤギ抗マウスＩｇＧ（Ｆｃ）（Ｔｈｅｒｍｏ　Ｓｃｉｅｎｔｉｆｉｃ　＃３１１２５，Ｈｕｄｓｏｎ，ＮＨ）の５０μＬ／ウェルを用いてプレートを被覆し、一晩４℃で温置した。翌日、プレートを軽く振って、吸い取って乾燥させた。２００μＬ／ウェルのＳｕｐｅｒｂｌｏｏｋ（Ｔｈｅｒｍｏ　Ｓｃｉｅｎｔｉｆｉｃ　＃３７５１５，Ｈｕｄｓｏｎ，ＮＨ）を用いて、１時間室温にてプレートをブロックした。プレートを軽く振って、吸い取って乾燥させた。モノクローナル抗体をＰＢＳＴ（Ａｂｂｏｔｔ　Ｂｉｏｒｅｓｅａｒｃｈ　Ｃｅｎｔｅｒ，Ｗｏｒｃｅｓｔｅｒ，ＭＡ）／１０％Ｓｕｐｅｒｂｌｏｏｋ中に０．０４μｇ／ｍｌに希釈し、各々の５０μＬは、予めブロックされたＥＬＩＳＡプレートの各ウェル（２ｎｇ／ウェル）に添加され、１時間室温にて温置された。ＰＢＳ／０．１％Ｔｗｅｅｎ－２０を用いてウェルを３回洗浄した。^{3}Ｈ－ＰＧＥ$_2$（Ｐｅｒｋｉｎ　Ｅｌｍｅｒ　＃ＮＥＴ－４２８，Ｗａｌｔｈａｍ，ＭＡ）は、ＰＢＳＴ／１０％Ｓｕｐｅｒｂｌｏｏｋ中に６ｎＭに希釈された（２×ストック）。各プロスタグランジン（Ｃａｙｍａｎ　Ｃｈｅｍｉｃａｌｓ，Ａｎｎ　Ａｒｂｏｒ，ＭＩ）は、２０００μＭ（２×ストック）－０．００００４μＭ（２×）の範囲の様々な濃度でＰＢＳＴ＋１０％Ｓｕｐｅｒｂｌｏｏｋ中に調製された。^{3}Ｈ－ＰＧＥ$_2$容積および各プロスタグランジン希釈液の等体積を混合した。次に、この混合物の５０μｌをプレートの各ウェルに添加し、１時間室温にて温置した。ＰＢＳＴ／１０％Ｓｕｐｅｒｂｌｏｏｋを用いてウェルを手動で６回洗浄し、５０μＬのシンチレーション液（Ｐｅｒｋｉｎ　Ｅｌｍｅｒ　＃６０１３６２１，Ｗａｌｔｈａｍ，ＭＡ）を各ウェルに添加した。５分のカウント遅延でプレートをＴｏｐＣｏｕｎｔリーダー（Ｐｅｒｋｉｎ　Ｅｌｍｅｒ，Ｗａｌｔｈａｍ，ＭＡ）を用いて読んだ。IC_{50}値は、ＧｒａｐｈＰａｄ　Ｐｒｉｓｍ　５（ＧｒａｐｈＰａｄ　Ｓｏｆｔｗａｒｅ，Ｌａ　Ｊｏｌｌａ，ＣＡ）を用いて測定された。次に、ＰＧＥ$_2$のIC_{50}／他の（複数の）プロスタグランジンのIC_{50}によって交差反応性指数を計算した。

【０２４６】

実施例１．１．Ｃ：抗プロスタグランジンE_2抗体の機能活性の測定

本発明の抗ＰＧＥ$_2$抗体の機能活性を調べるため、ＰＧＥ$_2$活性を抑制する抗体の能力を測定する以下のインビトロおよびインビボアッセイにおいて上記抗体は使用された。

【０２４７】

実施例１．１．Ｃ．１：ＥＰ４バイオアッセイ

インビトロでＰＧＥ$_2$の細胞応答を抑制する抗ＰＧＥ$_2$抗体の能力は、ヒトＥＰ４受容体を用いて安定にトランスフェクトされているＨＥＫ２９３　Ｇα１６細胞（Ａｂｂｏｔｔ　Ｂｉｏｒｅｓｅａｒｃｈ　Ｃｅｎｔｅｒ、Ｗｏｒｃｅｓｔｅｒ、ＭＡ）におけるCa^{++}流入アッセイで決定された。手短に言えば、４種のヒトＰＧＥ$_2$受容体のうちの１つであるＥＰ４をコードする発現プラスミドおよびＧα１６をコードする発現プラスミドは、

ヒト胚性腎細胞系統２９３細胞（ＡＴＣＣ受託番号ＣＲＬ１５７３、Ｍａｎａｓｓａｓ、Ｖｉｒｇｉｎｉａ）に同時トランスフェクトされた。ヒトＥＰ４とＧα１６タンパク質の両方を同時発現している安定なクローンは、標準法を使用して選択され（Ｊｏｓｅｐｈ Ｓａｍｂｒｏｏｋ ａｎｄ Ｄａｖｉｄ Ｗ．Ｒｕｓｓｅｌｌ．Ｍｏｌｅｃｕｌａｒ Ｃｌｏｎｉｎｇ：Ａ Ｌａｂｏｒａｔｏｒｙ Ｍａｎｕａｌ Ｐｕｂｌｉｓｈｅｒ．ｐｕｂｌｉｓｈｅｄ ｂｙ Ｃｏｌｄ Ｓｐｒｉｎｇ Ｈａｒｂｏｒ Ｌａｂｏｒａｔｏｒｙ Ｐｒｅｓｓ、２００１）、ＥＰ４バイオアッセイに使用された。

【０２４８】

ブラック／透明ポリ－Ｄ－リジンプレート（Ｃｏｒｎｉｎｇ ＃３６６７，Ｃｏｒｎｉｎｇ，ＮＹ）にＨＥＫ２９３Ｇα１６細胞を播種し、Ca^{++}感受性色素（Ｍｏｌｅｃｕｌａｒ Ｄｅｖｉｃｅｓ，Ｓｕｎｎｙｖａｌｅ，ＣＡ）とともに９０分間温置した。ストックPGE_2（２００標準エタノール中）をＦＬＩＰＲ緩衝液［１×ＨＢＳＳ（Ｉｎｖｉｔｒｏｇｅｎ，Ｃａｒｌｓｂａｄ，ＣＡ）、２０ｍＭのＨＥＰＥＳ（Ｉｎｖｉｔｒｏｇｅｎ，Ｃａｒｌｓｂａｄ，ＣＡ）、０．１％ＢＳＡ（Ｓｉｇｍａ，Ｓｔ．Ｌｏｕｉｓ，ＭＯ）および２．５ｍＭのＰｒｏｂｅｎｅｃｉｄ（Ｓｉｇｍａ，Ｓｔ．Ｌｏｕｉｓ，ＭＯを含む］を用いて希釈した。また、抗PGE_2抗体またはアイソタイプ適合対照抗体をＦＬＩＰＲ緩衝液に予め希釈した。２５μｌのPGE_2または予め温置されたPGE_2／抗体混合物は、細胞を予め播種したウェルに添加された。PGE_2の用量反応は、PGE_2の連続滴定によって決定され、ＦＬＩＰＲ１またはＴｅｔｒａ（Ｍｏｌｅｃｕｌａｒ Ｄｅｖｉｃｅｓ，Ｓｕｎｎｙｖａｌｅ，ＣＡ）を用いて、EC_{50}は、ＧｒａｐｈＰａｄ Ｐｒｉｓｍｅ ５（グラフトパッド・ソフトウェア（ＧｒａｆｔＰａｄ Ｓｏｆｔｗａｒｅ，Ｌａ Ｊｏｌｌａ，ＣＡ）を用いて決定された。抗体を試験するために、EC_{50}濃度のPGE_2は、種々の濃度の被検抗体またはアイソタイプ適合抗体（負の対照）（ＡＢＣ）とともに２０分間温置され、ＨＥＫ２９３ Ｇα１６細胞の色素を有するヒトＥＰ４に添加された。ＦＬＩＰＲ１を用いてCa^{++}流出をモニタリングし、ＧｒａｐｈＰａｄ Ｐｒｉｓｍｅ ５（グラフトパッド・ソフトウェア（ＧｒａｆｔＰａｄ Ｓｏｆｔｗａｒｅ，Ｌａ Ｊｏｌｌａ，ＣＡ）を用いてデータ分析した。

【０２４９】

実施例１．１．Ｃ．２：^{3}Ｈ－PGE_2を用いた抗プロスタグランジンE_2抗体によるPGE_2受容体へのPGE_2結合の競合阻害

抗PGE_2抗体によるPGE_2受容体、例えば、ＥＰ４またはＥＰ３へのPGE_2結合の競合阻害は、^{3}Ｈ－PGE_2（プロスタグランジンＥ２、［５，６，８，１１，１２，１４，１５－３Ｈ（Ｎ）］、Ｐｅｒｋｉｎ Ｅｌｍｅｒ，Ｗａｌｔｈａｍ，ＭＡ、カタログ＃ＮＥＴ４２８２５０ＵＣ）を用いた、細胞系または膜系の受容体結合アッセイを使用して決定される。

【０２５０】

ＥＰ４受容体を内因的に発現しているまたは安定に過剰発現している細胞（すなわち、ＥＰ４バイオアッセイに使用されるＨＥＫ２９３－ＥＰ４細胞またはＨＥＫ－２９３－ＥＰ４－Ｇα１６細胞）（10^5個の細胞／ｍＬ）は、２４ウェルプレートにおいてＤＭＥＭ培地（Ｉｎｖｉｔｒｏｇｅｎ，Ｃａｒｌｓｂａｄ，ＣＡ）／１０％ＦＣＳ（Ｓｉｇｍａ ＃Ｔ８６６５，Ｓｉｇｍａ，Ｓｔ．Ｌｏｕｉｓ，ＭＯ）中で一晩増殖される。培地を取り除き、１００μｌの結合緩衝液（ＦＣＳを含まない培地）を添加する。プレートを氷上に１０分間置く。非放射性PGE_2（０－１μＭ）を１００μｌ体積のトレーサー（４０ｐＭの^{3}Ｈ－PGE_2）とともに添加する。９０分間４℃にて平衡受容体結合を行う。培地を取り除き、２００μｌの冷却培地を用いて細胞を４回洗浄する。２０μｌの０．５Ｍ ＮａＯＨの添加によって細胞を回収する。溶解物を液体シンチレーションプレートに移す。１００μｌのＡｑｕａｓａｆｅ ５００（Ｚｉｎｓｓｅｒ Ａｎａｌｙｔｉｃ，Ｆｒａｎｋｆｕｒｔ，Ｇｅｒｍａｎｙ）＋ＬＳＣカクテル（Ｌｕｍａｃ ＬＳＣ，Ｇｒｏｎｉｎｇｅｎ，Ｔｈｅ Ｎｅｔｈｅｒｌａｎｄｓ）を各ウェルに添加し、混合する。その細胞結合の放射活性は、液体シンチレーションカウントによって決定される。大部分のアゴニ

ストー受容体相互作用について、アゴニスト（PGE_2）による受容体結合阻害は1サイトモデルに従うことが想定される。EC_{50}、K_iおよびK_d値は、GraphPad Prisme 5（GraphPad Software, La Jolla, CA）を用いて計算される。

【0251】

EP3受容体への^3H－PGE_2（プロスタグランジンE2、[5, 6, 8, 11, 12, 14, 15－3H（N）]、Perkin Elmer, Watham, MA、カタログ#NET428250UC）の結合に対する抗PGE_2抗体の阻害は、EP3受容体を過剰発現する細胞由来の膜調製物（Millipore, Billerica, MA）を用いて行われた。結合アッセイ前に、50μl／ウェルの0．3％ポリエチレンイミン（PEI）（Sigma, St. Louis, MO）をUnifilter－96GF／Bフィルタープレート（Perkin Elmer, Watham, MA）に添加し、使用直前の1時間、4℃に置いた。1：3に希釈した抗体は、結合緩衝液（50mMのHEPES pH7．0、10mMの$MgCl_2$、1mMのEDTA、0．2％BSA）中に2×濃度で調製された。^3H－PGE_2は、結合緩衝液中に2×濃度で調製された。次に、50μlの連続3倍希釈した抗体は、50μlの200pMの^3H－PGE_2を含む各ウェルに添加され、よく混合され室温にて10分間放置された。凍結膜を解凍し、結合緩衝液に再懸濁した。5μgの膜を各ウェルに添加した。Packard社の96ウェルハーベスターを用いて、調製されたGF／B濾過プレートに濾過する前に室温にて60分間、混合物を温置した。次に、Microscint（商標）20（Perkin Elmer, Watham, MA）を添加する前に、プレートを1時間乾燥した。その後、プレートを密閉し、TopCountリーダー（Perkin Elmer, Waltham, MA）上でカウントした。非特異的な結合は、100μMのコールドPGE_2の存在下で決定された。測定された放射活性（cpm）を用いて、Graphpad Prism（GraphPad Software、La Jolla, CA）を用いてIC_{50}値を決定した。

【0252】

実施例1．1．C．3：細胞ベースFACSアッセイを使用する抗プロスタグランジンE_2抗体によるPGE_2受容体へのPGE_2結合の競合阻害

抗PGE_2抗体によるPGE_2受容体、例えばEP4へのPGE_2結合の競合阻害は、PGE_2ビオチンイミド（Cayman Chemical、Ann Arbor、Michigan、カタログ番号10006987）およびストレプトアビジン－R－フィコエリトリン（SA－RPE；Invitrogen、Carlsbad、CA、カタログ番号15－4301）を使用する細胞ベースFACSアッセイを使用して決定することが可能である。EP4を内因的に発現しているまたはEP4を安定して過剰発現している細胞（1×10^6）（すなわち、EP4バイオアッセイのために使用されるHEK293－EP4細胞またはHEK293－EP4－Gα16細胞）はDMEM培地（Invitrogen、Carlsbad、CA）／10％FCS（Sigma#T8665、Sigma、St. Louis、MO）中で培養される。細胞は回収され、500μl洗浄緩衝液（PBS／1％BSA）を用いて数回洗浄される。細胞は、500μlFACS結合緩衝液（FCSのない培養液）中に再懸濁される。20μlのPGE_2－ビオチンイミドが細胞懸濁液に添加され、4℃で1時間温置される。細胞は洗浄緩衝液で3回洗浄される。上記細胞は500μlFACS結合緩衝液中に再懸濁され、20μlのSA－RPEが細胞に添加されて、4℃で30分間温置される。次に、細胞は500μlFACS結合緩衝液中に再懸濁され、細胞表面上のPGE_2の結合は、フローサイトメトリーにより解析される。抗PGE_2抗体の阻害は、PGE_2－ビオチンイミドとSA－RPEと一緒の温置前に抗PGE_2抗体の滴定を用いて細胞をプレ温置することにより決定することが可能である。

【0253】

実施例1．2：ハイブリドーマアプローチによる抗プロスタグランジンE_2モノクロー

ナル抗体の作製

抗プロスタグランジンE_2マウスモノクローナル抗体は以下の通りに得られた。

【０２５４】

実施例１．２．Ａ：プロスタグランジンE_2－サイログロブリン連結体を用いたマウスの免疫化

完全フロイントアジュバント（Ｐｉｅｒｃｅ，Ｒｏｃｋｆｏｒｄ，ＩＬ）またはＩｍｍｕｎｏｅａｓｙアジュバント（Ｑｉａｇｅｎ，Ｖａｌｅｎｃｉａ，ＣＡ）と混合されたPGE_2／チログロブリン連結体の２０μｇを５匹の６－８週齢のＢａｌｂ／Ｃマウス、５匹のＣ５７Ｂ／６マウス、および５匹のＡＪマウスに１日目に皮下注射した。２４日目、３８日目、および４９日目に、不完全フロイントアジュバントまたはＩｍｍｕｎｏｅａｓｙアジュバントと混合されたPGE_2／チログロブリン連結体の２５μｇを同じマウスに皮下注射した。８４日目または１１２日目または１４４日目に、PGE_2／チログロブリン連結体の１μｇをマウスに静脈内注射した。

【０２５５】

実施例１．２．Ｂ：ハイブリドーマの生成

実施例１．２．Ａに記載された免疫されたマウスから得た脾細胞は、ハイブリドーマを生成するために、Ｋｏｈｌｅｒ，Ｇ．ａｎｄ Ｍｉｌｓｔｅｉｎ，Ｎａｔｕｒｅ，２５６：４９５（１９７５）に記載の確立された方法に従って、ＳＰ２／Ｏ－Ａｇ－１４細胞と５：１の比で融合された。融合生成物は、ウェルあたり２．５×10^6個の脾細胞の密度で９６ウェルプレート内のアザセリン（Ｐｉｅｒｃｅ，Ｒｏｃｋｆｏｒｄ，ＩＬ）およびヒポキサンチン（Ｐｉｅｒｃｅ，Ｒｏｃｋｆｏｒｄ，ＩＬ）を含む選択培地に置かれた。融合の７－１０日後、肉眼で見られるハイブリドーマのコロニーを観察した。ハイブリドーマコロニーを含有する各ウェル由来の上清は、PGE_2に対する抗体の存在についてＥＬＩＳＡ（実施例１．１．Ａに記載されている）により試験された。

【０２５６】

PGE_2は、ウシサイログロブリン、キーホールリンペットヘモシアニス、ウシ血清アルブミンおよび卵白アルブミンを含むいくつかの異なる担体タンパク質に連結された。（Ａｍｉｒａｍ、ｅｔ ａｌ．Ｅｕｒ．Ｊ．Ｂｉｏｃｈｅｍ．５３：１４５－１５０（１９７５））。マウスは、実施例１．２．Ａに記載されているこれらの連結されたPGE_2－タンパク質複合体で免疫された。次に、免疫されたマウス由来の脾細胞を融合させて、実施例１．２．Ｂに記載されているハイブリドーマを作製した。PGE_2に特異的な抗体を産生しているハイブリドーマを単離し、実施例１．１．Ａに記載されているビオチン化されたPGE_2 ＥＬＩＳＡを使用して抗体は特徴づけられた。

【０２５７】

実施例１．２．Ｃ：抗プロスタグランジンE_2モノクローナル抗体の同定と特徴づけ

PGE_2に結合する抗体を産生し、実施例１．２．Ｂに従って作製されたハイブリドーマは、限界希釈によりスケールアップされクローンされた。

【０２５８】

PGE_2に特異的な１９Ｃ９、４Ｆ１０および１５Ｆ１０と命名されたいくつかの抗体が単離された。これらの抗体の親和性は実施例１．１．Ａに記載されているビオチン化されたPGE_2を使用するＥＬＩＳＡにより決定された（図１および２）。これらの抗体のPGE_2に対する特異性は、実施例１．１．Ｂに記載されている様々なプロスタグランジンを用いた競合ＥＬＩＳＡによりさらに決定された（表２）。

【０２５９】

【表２】

表２：１９Ｃ９、４Ｆ１０、１５Ｆ１０および２Ｂ５抗体の親和性と交差反応性

	１９Ｃ９	４Ｆ１０	１５Ｆ１０	２Ｂ５
ＥＣ５０（ｎＭ）	１６	６	２	０．０４８
	２３	１４	５	０．０３３
交差反応性指標	ＰＧＥ１：＜５．６％	ＰＧＥ１：＜３．２％	ＰＧＥ１：＜２．９％	ＰＧＥ１：約２０％
	ＰＧＡ２：約０．１％	ＰＧＡ２：約０．１％	ＰＧＡ２：＜０．１％	ＰＧＡ２：約０．６％
	ＰＧＤ２：＜０．０１％	ＰＧＤ２：＜０．０１％	ＰＧＤ２：＜０．０１％	ＰＧＤ２：＜０．０１％

【０２６０】

実施例２

インビトロディスプレイ技術によるヒト抗プロスタグランジンＥ$_2$抗体

実施例２．１：インビトロディスプレイ技術により非免疫ヒト抗体ライブラリーから選択されるヒト抗プロスタグランジンＥ$_2$抗体

ＰＲＯｆｕｓｉｏｎ（商標）ｍＲＮＡディスプレイを使用して、ヒト抗ＰＧＥ$_2$抗体は、インビトロディスプレイ技術により単一鎖Ｆｖ（ｓｃＦｖ）フォーマットで非免疫ヒト抗体ライブラリーから選択された。ビオチン化ＰＧＥ$_2$結合ｓｃＦｖタンパク質をコードする抗体アミノ酸配列は、ストレプトアビジンまたはニュートラアビジン磁気ビーズを使用して収集され、複数ラウンドの選択によりライブラリーからさらに濃縮された。バルクアウトプットｓｃＦｖ核酸配列は細菌増殖に適したプラスミドＤＮＡにサブクローンされ、個々の細菌コロニーは、ｓｃＦｖ配列解析およびライブラリー選択において使用されたのと同じ抗原結合アッセイによるそのＰＧＥ$_2$結合の確認のために採取された。次に、ＰＧＥ$_2$結合ｓｃＦｖクローンのＶＨおよびＶＬ　ＤＮＡは、それぞれヒトＩｇＧ発現重鎖および軽鎖ベクターに別々にサブクローンされ、ＩｇＧ発現のためにＣＯＳ７細胞にトランスフェクトされた。次に、ヒトＩｇＧ含有ＣＯＳ７媒体を使用して、実施例１．１．Ａに記載されているＥＬＩＳＡによりＰＧＥ$_2$結合を確認した（表３）。

【０２６１】

【表３】

表３：ＰＲＯｆｕｓｉｏｎライブラリー由来ＰＧＥ$_2$抗体のＰＧＥ$_2$－ビオチンアミドへの結合（OD_{450}）

ビオチン－PGE_2（μＭ）	抗体							
	Ｋ１Ｂ	Ｋ７Ｈ	Ｋ３Ａ	Ｌ１１	Ｌ１２Ａ	Ｌ２１	Ｌ２０	対照
４５	０．８８	０．２４	０．５８	０．０７	０．２６	０．４６	０．１２	０．０７
１５	０．８２	０．２９	０．７８	０．０７	０．２２	０．４１	０．０９	０．０５
５	０．６７	０．１３	０．６７	０．０７	０．１８	０．３１	０．０７	０．０５
２	０．２７	０．１０	０．６１	０．０７	０．１３	０．３２	０．０６	０．０８
１	０．２９	０．０６	０．５１	０．０５	０．０９	０．２５	０．０６	０．０５
０．３	０．２１	０．０４	０．３４	０．０４	０．０９	０．１６	０．０５	０．０３
０．１	０．１３	０．０３	０．２２	０．０４	０．０７	０．１０	０．０６	０．０４
０	０．０７	０．０４	０．１１	０．０４	０．０８	０．０８	０．０７	０．０３

【０２６２】

表４は、ＰＲＯｆｕｓｉｏｎ（商標）ｍＲＮＡディスプレイライブラリー由来ヒト抗ＰＧＥ$_2$抗体のＶＨおよびＶＬ領域のアミノ酸配列の一覧表を提供している。

【０２６３】

【表４】

表４：ＶＨおよびＶＬ領域のアミノ酸配列の一覧表

配列番号	タンパク質領域		配列
			1234567890123456789012345678 90
5	VH PGE2LNK1B		EVQLVQSGAEVKRPGASVKVSCKTSGYTFT **NYDIN**WVRLAPGQGLEWMG**CMNPTTGKTGY AQKFQG**RVTMTRDTTIATAYMELSRLTSED TAVYYCAR**GRGYSPGYGVAYADY**WGQGTLV TVSS
6	VH PGE2LNK1B CDR-H1	配列番号５の 残基３１－３５	**NYDIN**
7	VH PGE2LNK1B CDR-H2	配列番号５の 残基５０－６６	**CMNPTTGKTGYAQKFQG**
8	VH PGE2LNK1B CDR-H3	配列番号５の 残基９９－１１３	**GRGYSPGYGVAYADY**
			1234567890123456789012345678 90
9	VL PGE2LNK1B		DIQLTQSPSSLPASVGDRVTITC**RASQSIS TYLN**WYQQTPGKAPSLLIY**AASSLQS**GVPS RFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYC**QQ SYSPPPT**FGGGTKVEIKR
10	VL PGE2LNK1B CDR-L1	配列番号９の 残基２４－３４	**RASQSISTYLN**
11	VL PGE2LNK1B CDR-L2	配列番号９の 残基５０－５６	**AASSLQS**
12	VL PGE2LNK1B CDR-L3	配列番号９の 残基８９－９７	**QQSYSPPPT**
			1234567890123456789012345678 90
13	VH PGE2LNK3A		EVQLVQSGAETKKPGASVEVSCKASGYSFT **EYGIS**WVRQAPGQGPEWMG**CISPYNGKLHY AQEFQG**RVTMTTGTSTNTAYMELGSLRSDD TAVYYCAR**GGFSFYDSSGYYYVTDH**WGQGT LVTVSS
14	VH PGE2LNK3A CDR-H1	配列番号１３の 残基３１－３５	**EYGIS**
15	VH PGE2LNK3A CDR-H2	配列番号１３の 残基５０－６６	**CISPYNGKLHYAQEFQG**
16	VH PGE2LNK3A CDR-H3	配列番号１３の 残基９９－１１５	**GGFSFYDSSGYYYVTDH**
			1234567890123456789012345678 90
17	VL PGE2LNK3A		DIRLTQSPSSLSASVGDRVTITC**RASQSIG SYLN**WYQQKSGKAPKLLIY**AASKLQS**GVPS RFSGSGFGTDFTLTISSLQPEDSATYYC**QQ SDTTPFT**FGQGTKLEIKR

配列番号	タンパク質領域		配列
			12345678901234567890123456789**0**
18	VL PGE2LNK3A CDR-L1	配列番号１７の残基２４－３４	**RASQSIGSYLN**
19	VL PGE2LNK3A CDR-L2	配列番号１７の残基５０－５６	**AASKLQS**
20	VL PGE2LNK3A CDR-L3	配列番号１７の残基８９－９７	**QQSDTTPFT**
			12345678901234567890123456789**0**
21	**VH PGE2LNK7H**		EVQLVQSGSELKKPGASVKVSCKASGYSFT**EYGIS**WVRQAPGQGPEWMG**CISPYNGKLHY****AQKFLG**RVTMTTDTSTNTAYMELRSLKSDD TAVYYCARGGFSSYDSSGYYYVTDHWGQGT LVTVSS
14	VH PGE2LNK7H CDR-H1	配列番号２１の残基３１－３５	**EYGIS**
22	VH PGE2LNK7H CDR-H2	配列番号２１の残基５０－６６	**CISPYNGKLHYAQKFLG**
23	VH PGE2LNK7H CDR-H3	配列番号２１の残基９９－１１５	**GGFSSYDSSGYYYVTDH**
			12345678901234567890123456789**0**
24	**VL PGE2LNK7H**		DIRLTQSPSSLPASVGDRVTITC**RASQSIS****TYLN**WYQQTPGKAPSLLIY**AASSLQS**GVPS RFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYC**QQ****SYSPPPT**FGGGTKVEIKR
10	VL PGE2LNK7H CDR-L1	配列番号２４の残基２４－３４	**RASQSISTYLN**
11	VL PGE2LNK7H CDR-L2	配列番号２４の残基５０－５６	**AASSLQS**
12	VL PGE2LNK7H CDR-L3	配列番号２４の残基８９－９７	**QQSYSPPPT**
			12345678901234567890123456789**0**
25	**VH PGE2LNL11**		EVQLVQSGPELKKPGTSVKVSCKASGYTLT**TYAMN**WVRQAPGQGLEWMG**WIDTSTGNPTY****APGFLG**RFVFSLDTSLSTTYLQISSLKPDD TAVYYCAR**SSHTRPGDF**WGQGTLVTVSS
26	VH PGE2LNL11 CDR-H1	配列番号２５の残基３１－３５	**TYAMN**
27	VH PGE2LNL11 CDR-H2	配列番号２５の残基５０－６６	**WIDTSTGNPTYAPGFLG**
28	VH PGE2LNL11 CDR-H3	配列番号２５の残基９９－１１３	**SSHTRPGDF**
			12345678901234567890123456789**0**
29	**VL PGE2LNL11**		QSGLTQPPSVSGTPGQRVTISC**SGSESNVG****TNSVN**WYQQLPGAAPRLLIR**GNSDRP**SGVP DRFSASKSGTSASLAISRLQSEDEADYFC**G****ACDGRLSGLYV**FGTGTKVTVL

配列番号	タンパク質領域		配列
			12345678901234567890123456789**0**
30	VL PGE2LNL11 CDR-L1	配列番号２９の残基２３－３５	**SGSESNVGTNSVN**
31	VL PGE2LNL11 CDR-L2	配列番号２９の残基５１－５６	**GNSDRP**
32	VL PGE2LNL11 CDR-L3	配列番号２９の残基９０－１０１	**GACDGRLSGLYV**
			12345678901234567890123456789**0**
33	**VH PGE2LNL21**		EVQLVQSGSELKKPGTSVKVSCKASGYTLT **TYAMN**WVRQAPGQGLEWMG**WIGTSTGNPTY** **AQGFTG**RFVFSLDTSVNTAHLQIYSLKAED TALYYCAR**SSLTRPADY**WGQGTLVTVSS
26	VH PGE2LNL21 CDR-H1	配列番号３３の残基３１－３５	**TYAMN**
34	VH PGE2LNL21 CDR-H2	配列番号３３の残基５０－６６	**WIGTSTGNPTYAQGFTG**
35	VH PGE2LNL21 CDR-H3	配列番号３３の残基９９－１０７	**SSLTRPADY**
			12345678901234567890123456789**0**
36	**VL PGE2LNL21**		QSGLTQPPSVSGAPGQRVTISC**FGSSSNIG** **AGYDVH**WYQQLPGAAPKLLIF**GNNNRP**SGV PDRFSGSKSGTSASLAITGLQAEDEADYYC **QSCDSSLSGAV**FGTGTKVTVL
37	VL PGE2LNL21 CDR-L1	配列番号３６の残基２３－３６	**FGSSSNIGAGYDVH**
38	VL PGE2LNL21 CDR-L2	配列番号３６の残基５２－５７	**GNNNRP**
39	VL PGE2LNL21 CDR-L3	配列番号３６の残基９１－１０１	**QSCDSSLSGAV**

【０２６４】

実施例３

エドマン分解法、質量スペクトル分析およびＢＬＡＳＴの組合せによる溶解タンパク質配列に従った組み換え抗プロスタグランジンＥ$_2$抗体の作製および特徴づけ

ＰＧＥ$_2$に特異的なハイブリドーマ由来マウス抗体のタンパク質配列は、上記のようにエドマン分解、質量スペクトル分析およびＢＬＡＳＴ（Ｂａｓｉｃ Ｌｏｃａｌ Ａｌｉｇｎｍｅｎｔ Ｓｅａｒｃｈ Ｔｏｏｌ、ＮＣＢＩ、ＮＩＨ、Ｂｅｔｈｅｓｄａ、ＭＤ）の組合せを使用してアミノ酸配列を解析することにより作製された（Ｐｈａｍ、Ｖ．ｅｔａｌ．Ａｎａｌｙｔ．Ｂｉｏｃｈｅｍ．３５２：７７－８６（２００６））。０．４５ｍｇの抗ＰＧＥ$_2$抗体は、１００ｍＭのＤＴＴ（Ｉｎｖｉｔｒｏｇｅｎ、Ｃａｒｌｓｂａｄ、ＣＡ）を用いて、軽鎖および重鎖まで還元された。抗ＰＧＥ$_2$抗体の軽鎖および重鎖は、Ｖｙｄａｃ Ｃ－１８逆相カラム（Ｈ－Ｐ Ｓｅｐａｒａｔｉｏｎｓ Ｇｒｏｕｐ、Ｈｅｓｐｅｒｉａ、ＣＡ）を用いてＳｈｉｍａｄｚｕ ＨＰＬＣ ｓｙｓｔｅｍ（Ｓｈｉｍａｄｚｕ Ｓｃｉｅｎｔｉｆｉｃ Ｉｎｓｔｒｕｍｅｎｔｓ、Ｃｏｌｕｍｂｉａ、ＭＤ）で、逆相ＨＰＬＣにより分離された。軽鎖と重鎖の分子量は、Ａｐｐｌｉｅｄ Ｂｉｏｓｙｓｔｅｍｓ ＡＰＩ ＱＳＴＡＲ Ｐｕｌｓａｒ ｉ 質量分析計（Ａｐｐｌｉｅｄ Ｂｉｏｓｙｓｔｅｍｓ、Ｆｏｓｔｅｒ Ｃｉｔｙ、ＣＡ）およびＡｇｉｌｅｎｔ Ｑ－ＴＯＦ質量分析計（Ａｇｉｌｅｎｔ、Ｐａｌｏ Ａｌｔｏ、ＣＡ）で測定された。軽鎖のＮ末端配列決定は、ＰＥ Ａｐｐｌｉｅｄ Ｂｉｏｓｙｓｔｅｍｓ４９４／７８５Ａ／１

４０Ｃ／６１０Ａタンパク質ペプチド配列決定装置（Ａｐｐｌｉｅｄ Ｂｉｏｓｙｓｔｅｍｓ、Ｆｏｓｔｅｒ Ｃｉｔｙ、ＣＡ）で、溶液中で実施された。抗ＰＧＥ$_2$２Ｂ５抗体の４５μＬの軽鎖はフィルターの中心に充填され、４２サイクルが実施された。抗ＰＧＥ$_2$抗体の重鎖のＮ末端はピログルタミン酸を用いて遮断され、エドマン分解によっては直接配列決定をすることはできなかった。重鎖のＮ末端エドマン分解法に先立って、重鎖Ｎ末端はピログルタミン酸アミノペプチダーゼ（Ｓｉｇｍａ、Ｓｔ．Ｌｏｕｉｓ、ＭＯ）を使用して遮断解除された。８０μｇの抗ＰＧＥ$_2$抗体は、５０ｍＭのＤＴＴを用いて３７℃で３０分間還元された。０．４２μｌの０．５Ｍ ＥＤＴＡ、ｐＨ７．５（Ｉｎｖｉｔｒｏｇｅｎ、Ｃａｒｌｓｂａｄ、ＣＡ）が還元された試料に最終ＥＤＴＡ濃度１ｍＭまで添加された。５０μｌの再構成組み換えパイロコッカス・フリオサス（ｐｙｒｏｃｏｃｃｕｓ ｆｕｒｉｏｓｕｓ）ピログルタミン酸アミノペプチダーゼ（Ｓｉｇｍａ、Ｓｔ．Ｌｏｕｉｓ、ＭＯ）が試料に添加された。試料溶液を４０℃で１５時間温置した後、温度はさらに2時間６０℃に上げられた。追加の１０μｌの再構成パイロコッカス・フリオサスピログルタミン酸アミノペプチダーゼが添加され、試料は６０℃でさらに１時間温置された。４μｌの試料が、１５時間、１７時間および１８時間時点でのＬＣ／ＭＳ解析のために使用されて、遮断解除プロセスの程度をモニターした。遮断解除反応が完了すると、溶液はｓｐｅｅｄ－ｖａｃｕｕｍ（Ｅｐｐｅｎｄｏｒｆ、Ｗｅｓｔｂｕｒｙ、ＮＹ）により、約１００μｌまで濃縮された。遮断解除された重鎖はＳＤＳ－ＰＡＧＥにより軽鎖から分離され、次に、エドマン分解法のためにＰＶＤＦ膜（Ｉｎｖｉｔｒｏｇｅｎ、Ｃａｒｌｓｂａｄ、ＣＡ）に移された（Ｎｉａｌｌ、ＨＤ、Ｍｅｔｈｏｄｓ Ｅｎｚｙｍｏｌ．２７：９４２－１０１０（１９７３））。

【０２６５】

抗ＰＧＥ$_2$抗体の内部ペプチド配列を得るために、抗体は、アルキル化処理をしてまたはせずに、複数のプロテアーゼを用いて消化された。先ず、試料はＤＴＴで還元された。還元された試料は、プロテアーゼで直接消化された、または消化する前にヨードアセトアミド（Ｓｉｇｍａ、Ｓｔ．Ｌｏｕｉｓ、ＭＯ）を用いてアルキル化された。この実験で使用されたプロテアーゼは、トリプシン、ｇｕｌ－Ｃ、ａｓｐ－Ｎおよびキモトリプシン（Ｓｉｇｍａ、Ｓｔ．Ｌｏｕｉｓ、ＭＯ）を含む。プロテアーゼ消化ペプチドの画分はＨＰＬＣで分離され、各画分は、ＭＳまたはエドマン分解法のために分離エッペンドルフチューブに収集された。ＬＣ／ＭＳ／ＭＳ解析のため、ＬＣＱ－ｄｅｃａ、ＡＰＩ ＱＳｔａｒ Ｐｕｌｓａｒ（Ａｐｐｌｉｅｄ Ｂｉｏｓｙｓｔｅｍｓ、Ｆｏｓｔｅｒ Ｃｉｔｙ、ＣＡ）とＡｇｉｌｅｎｔ Ｑ－ＴＯＦ（Ａｇｉｌｅｎｔ、Ｐａｌｏ Ａｌｔｏ、ＣＡ）のいずれかを用いるＭＡＬＤＩ－ＭＳ（Ａｐｐｌｉｅｄ Ｂｉｏｓｙｓｔｅｍｓ、Ｆｏｓｔｅｒ Ｃｉｔｙ、ＣＡ）、ナノＬＣ／ＥＳＩ－ＭＳ／ＭＳ（Ａｐｐｌｉｅｄ Ｂｉｏｓｙｓｔｅｍｓ、Ｆｏｓｔｅｒ Ｃｉｔｙ、ＣＡ）が使用された。ＨＰＬＣ条件は移動相Ａ＝０．１％ギ酸；移動相Ｂ＝８０％ＡＣＮ／２０％ ０．１％ギ酸であった。１－３時間勾配（５－５０％Ｂ）が用いられた。エドマン分解法では、プロテアーゼ消化から生じるペプチドを含有する画分は、ＰｒｏＳｏｒｂカートリッジ（Ａｐｐｌｉｅｄ Ｂｉｏｓｙｓｔｅｍｓ、Ｆｏｓｔｅｒ Ｃｉｔｙ、ＣＡ）によりＰＶＤＦ膜に移された。各画分は１００μｌの０．１％ＴＦＡ溶液（Ｓｉｇｍａ、Ｓｔ．Ｌｏｕｉｓ、ＭＯ）に希釈された。ＰＶＤＦ膜（Ｉｎｖｉｔｒｏｇｅｎ、Ｃａｒｌｓｂａｄ、ＣＡ）を１０μｌメタノール（Ｓｉｇｍａ、Ｓｔ．Ｌｏｕｉｓ、ＭＯ）を用いてリザーバー中で湿らせた後、試料をリザーバー中に添加した。試料をリザーバーから取り除いて、ＰＶＤＦ膜は空気乾燥させた。ＰＶＤＦ膜は打ち出され、５μｌの１０％希釈バイオブレーン溶液（Ｓｉｇｍａ、Ｓｔ．Ｌｏｕｉｓ、ＭＯ）を添加し、膜は完全に乾燥させた。ＰＶＤＦ膜を１５μｌの０．１％ＴＦＡを用いて１５秒間洗浄した後、表面を濾紙でふき取った。４μｌのメタノールをＰＶＤＦ膜に添加し、完全に乾燥させた。乾燥されたＰＶＤＦ膜はエドマン分解法に使用された。

【０２６６】

抗ＰＧＥ$_2$抗体のＶＨおよびＶＬの生殖系列配列は、マウス生殖系列配列のＶＨおよび

ＶＬデータベース（Ｉｇ－ＢＬＡＳＴ、ＮＣＢＩ、ＮＩＨ、Ｂｅｔｈｅｓｄａ、ＭＤ）を用いた上記方法に従って、重鎖および軽鎖の溶解された可変領域のアライメントにより決定された。ＭＳおよびエドマン分解法で未解明の領域は、もっとも近い生殖系列配列が割り当てられた。考えうるホットスポット突然変異は、それぞれＭＳにより決定される抗ＰＧＥ$_2$抗体の重鎖および軽鎖の実験分子量に適合するように手作業で同定された。抗ＰＧＥ$_2$抗体のタンパク質配列は上記の方法を用いて解明された。

【０２６７】

いくつかの型の組み換え抗ＰＧＥ$_2$抗体（２Ｂ５－７．０、２Ｂ５－８．０および２Ｂ５－９．０）が、この解明されたタンパク質配列に基づいて構築され、それぞれが少数の未解明位置に異なる残基を有していた（表５）。これらの組み換え抗体の試験は実施例４に記載されている。抗体ＣＤＲのアミノ酸配列は抗体の結合特異性、効力および親和性にとり極めて重要であるが、フレームワークにおいておよびＣＤＲにおいてさえ少数の残基の置換、改変、欠失または付加があっても、それでも抗体の結合特異性、効力および親和性は大部分維持され得る。少なくとも１つまたは少数のそのような置換（複数可）、改変、欠失または付加のある型の抗体は、それでも本発明の範囲内にある。抗ＰＧＥ$_2$抗体（２Ｂ５－７．０、２Ｂ５－８．０および２Ｂ５－９．０）のＶＨおよびＶＬ領域のアライメントは図８に示されている。

【０２６８】

【表５】

表５：マウス抗ＰＧＥ$_2$抗体に対するいくつかの型の解明されたタンパク質配列

配列番号	タンパク質領域		配列
			123456789**0**123456789**0**1234567890
40	**VH 2B5-7.0**		QVQLQQSGPELVRPGSSVKISCKAS**GYTFTK YWLG**WVKQRPGHGLEWIG**DIYPGYDYTHYNE KFKD**KATLTVDTSSSTAYMQLSSLTSEDSAV YFCAR**SDGSSTY**WGQGTLVTVSA
41	**VL 2B5-7.0**		DVLMTQTPLSLPVSLGDQASISC**TSSQNIVH SNGNTYLE**WYLQRPGQSPKLLIY**KVSNRFSG** VPDRFSGSGSGTVFTLKISRVEAEDLGVYYC **FQVSHVPYT**FGGGTKLEIKR
42	**VH 2B5-8.0**		QVQLQQSGPELVRPGSSVKISCKAS**GYTFTK YWLG**WVKQRPGHGLEWIG**DIYPGYDYTHYNE KFKD**KATLTVDTSSSTAYMQLSSLTSEDSAI YYCAR**SDGSSTY**WGQGTLVTVSA
43	**VL 2B5-8.0**		DVLMTQTPLSLPVSLGDQASISC**TSSQNIVH SNGNTYLE**WYLQRPGQSPKLLIY**KVSNRFSG** VPDRFSGSGSGTVFTLKISRVEAEDLGVYYC **FQVSHVPYT**FGGGTKLEIKR
44	**VH 2B5-9.0**		QVQLQQSGPELVRPGSSVKISCKAS**GYTFTK YWLG**WVKQRPGHGLEWIG**DIYPYGDYTHYNE KFKD**KATLTVDTSSSTAYMQLSSLTSEDSAV YFCAR**SDGSSTY**WGQGTLVTVSA
45	**VL 2B5-9.0**		DVLMTQTPLSLPVSLGDQASISC**TSSQNIVH SNGNTYLE**WYLQRPGQSPKLLIY**KVSNRFSG** VPDRFSGSGSGTVFTLKISRVEAEDLGVYYC **FQVSHVPYTF**GGGTKLEIKR

【０２６９】

実施例４

組み換え抗プロスタグランジンＥ$_2$抗体

実施例４．１：組み換え抗プロスタグランジンＥ$_2$抗体の構築および発現

マウス抗ＰＧＥ$_2$抗体の２Ｂ５－７．０、２Ｂ５－８．０または２Ｂ５－９．０の重鎖可変領域をコードするＤＮＡは、細菌中での相同組み換えにより、ヒトＩｇＧ１定常領域、マウスＩｇＧ１定常またはマウスＩｇＧ２ａ定常領域のいずれかをコードするｃＤＮＡ断片に融合された（Ｚｈａｎｇ、Ｙ ｅｔ ａｌ．Ｎａｔｕｒｅ Ｂｉｏｔｅｃｈｎｏｌ．１８（１２）：１３１４－７（２０００））。２Ｂ５－７．０、２Ｂ５－８．０または

２Ｂ５－９．０の軽鎖可変領域をコードするＤＮＡは、ヒトκ定常領域またはマウスκ定常領域に融合された。全長の抗体は、ｐＴＴ３発現プラスミドに重鎖および軽鎖のｃＤＮＡリガンドの同時の形質移入によって２９３細胞において一時的に発現された（Ｄｕｒｏｃｈｅｒ，Ｙ ｅｔ ａｌ．Ｎｕｃｌｅｉｃ Ａｃｉｄｓ Ｒｅｓ．３０（２）：Ｅ９（２００２））。組み換えキメラ抗体を含む細胞上清は、プロテインＡセファロースクロマトグラフィーによって精製され、結合した抗体は酸性緩衝液の添加によって溶出された。抗体は中和され、ＰＢＳ中で透析された。（Ｍａｋｉｎｇ ａｎｄ Ｕｓｉｎｇ Ａｎｔｉｂｏｄｉｅｓ：Ａ Ｐｒａｃｔｉｃａｌ Ｈａｎｄｂｏｏｋ，Ｅｄｉｔｅｄ ｂｙ Ｇａｒｙ Ｃ．Ｈｏｗａｒｄ ａｎｄ Ｍａｔｔｈｅｗ Ｒ．Ｋａｓｅｒ．Ｐｕｂｌｉｓｈｅｄ ｂｙ ＣＲＣ（２００６））。

【０２７０】

次に、精製されたキメラ抗PGE_2モノクローナル抗体の２Ｂ５－７．０、２Ｂ５－８．０および２Ｂ５－９．０は、実施例１．１．Ａに記載されているＥＬＩＳＡアッセイにおいてPGE_2へのその結合能力について（表６）、および実施例１．１．Ｂ（表６）に記載されている競合ＥＬＩＳＡにおいてその選択性について（表６）試験された。３種の組み換え抗PGE_2モノクローナル抗体の２Ｂ５－７．０、２Ｂ５－８．０および２Ｂ５－９．０はすべて、PGE_2に対する類似の特異性でPGE_2に強力に結合した。２Ｂ５－８．０が、PGE_2に対するもっとも高い結合能力を実証し、PGE_2生理活性を中和するその能力を特徴づけるためのＥＰ４バイオアッセイにおいて、およびプロスタグランジンの完全パネルを使用してそのプロスタグランジン選択性を特徴づけるための^3H－PGE_2競合ＥＬＩＳＡにおいて追加の特徴づけのために選択された。２Ｂ５－８．０は、実施例１．１．Ｃに記載されているＥＰ４バイオアッセイにおいて、PGE_2誘導カルシウム流入を強力に抑制した（表６）。

【０２７１】

【表６】

表６：遺伝子工学的に処理された抗PGE_2MabのPGE$_2$結合、プロスタグランジン結合選択性およびPGE_2中和効力の特徴づけ

抗PGE_2mAb		2B5	2B5−7.0	2B5−8.0	2B5−9.0
ビオチン−PGE_2ELISAにおけるPGE$_2$結合（EC50、nM）		2.99	2.46	1.03	3.04
ビオチン−PGE_2競合ELISAにおけるPG選択性（CRI%）	PGE_1	41	27	28	23
	PGA_2	0.29	0.11	0.21	0.24
	PGD_2	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01
^{3}H−PGE_2ELISAにおけるPGE$_2$結合（EC50、pM）		315		253	
^{3}H−PGE_2競合ELISAにおけるPG選択性（CRI%）	PGE2	100		100	
	PGE1	12		3.6	
	PGA2	0.17		0.04	
	PGD2	0.04		$<1\times10^{-4}$	
	PGF2α	0.25		0.05	
	PGI2	該当なし		0.16	
	イロプロスト	該当なし		0.01	
	カルバプロスタサイクリン	該当なし		0.18	
	ピナンTXA2	該当なし		0.00033	
	15R−ピナンTXA2	該当なし		0.00043	
	炭素環式TXA2	該当なし		0.0005	
	TXB2	<0.01		<0.01	
	6−ケトPGF1α	0.4		0.64	
	PGB2	0.03		0.00038	
	8−イソPGE2α	0.02		0.092	
	13，14−ジヒドロキシル−15−ケトPGE2	<0.01		0.012	
	2，3−ジノル−6−ケト−PGF1α	該当なし		0.019	
	15−ケトPGE2	<0.01		0.013	
	19R−ヒドロキシPGE2	<0.01		0.09	
	LTE4	<0.01		0.012	
	5（S）−HETE	<0.01		<0.01	
	アラキドン酸	<0.01		<0.01	
細胞EP4アッセイにおけるPGE$_2$中和効力（IC50、pM）		38		44	

【０２７２】

実施例４．２：ヒト化抗プロスタグランジンE_2抗体の構築および発現

実施例４．２．１：ヒト抗体フレームワークの選択

ヒト化は、アミノ酸配列ホモロジー、ＣＤＲクラスター分析、発現されたヒト抗体のうちの使用頻度、およびヒト抗体の結晶構造に関する入手可能な情報に基づいていた。抗体結合、ＶＨ－ＶＬ対、および他の因子に対する可能な効果を考慮すると、マウス残基はヒト残基に変異され、この場合、若干の例外はあるが、マウスおよびヒトのフレームワーク残基は異なっていた。さらなるヒト化戦略は、ヒト生殖細胞系列の抗体配列またはそれら

のサブグループの分析に基づいて設計され、それは、マウス抗体の可変領域の実際のアミノ酸配列に対して高い程度のホモロジー、すなわち、配列類似性を有していた。

【０２７３】

ホモロジーモデリングは、抗体の構造ＣＤＲに不可欠であることが予測されるマウス抗体の配列に特有の残基を特定するために用いられた。目的の標的タンパク質と同様であり、三次元座標が知られている基準タンパク質共有配列は、初期座標およびそれらのさらなる修正のための誘導を得るために用いられた。基準タンパク質および標的タンパク質の一次配列は、２つのタンパク質の初期部分の座標とともに整列されるように整列される。例えば、残基変異、挿入または欠失に基づく、２つのタンパク質のミスマッチ部分についての座標は、すでに整列されたモデル座標との一貫性を確かめるために精緻化された包括的構造の鋳型およびエネルギーから構築される。この計算されたタンパク質構造は、さらに精緻化されてもよくまたはモデリング研究に直接使用されてもよい。

【０２７４】

２Ｂ５－８．０のマウス可変重鎖および可変軽鎖遺伝子配列は、Ｖｅｃｔｏｒ ＮＴＩソフトウェアを使用して、４４ヒト免疫グロブリン生殖系列可変重鎖または４６生殖系列可変軽鎖配列（ｈｔｔｐ：／／ｗｗｗ．ｎｃｂｉ．ｎｌｍ．ｎｉｈ．ｇｏｖ／ｉｇｂｌａｓｔ／ｒｅｔｒｉｅｖｅｉｇ．ｈｔｍｌ．のＮＣＢＩ Ｉｇ ＢＬＡＳＴウェブサイトから得られる）に対して別々に整列された。ＢＬＡＳＴ検索および目視検査の組合せを用いて、適切な基準構造を特定した。基準と標的アミノ酸配列との間の２５％の配列同一性は、ホモロジーモデリング実行を試みるために必要最小限であると考えられる。配列アラインメントは手動で構築され、モデル座標はジャッカル（Ｊａｃｋａｌ）プログラムを用いて作り出された（Ｐｅｔｒｅｙ，Ｄ．ｅｔ ａｌ．Ｐｒｏｔｅｉｎｓ ５３（Ｓｕｐｐｌ．６）：４３０－４３５（２００３））。２Ｂ５－８．０ヒト化では、ヒトＶおよびＪセグメント配列に対する相同性検索に基づいて、２Ｂ５－８．０のヒト化重鎖可変領域にフレームワークを提供するためにＶＨセグメントのＶＨ１－１８およびＪセグメントのＪＨ４が選択された。２Ｂ５－８．０軽鎖可変領域には、ＶＬセグメントの０１およびＪセグメントのＪＫ４が使用された（表７および８参照）。２Ｂ５－８．０ＶＨとアクセプターヒトＶＨ１－１８およびＪＨ４セグメント間のフレームワークアミノ酸の同一性は８０．２％であり、２Ｂ５－８．０ＶＬとアクセプターヒト０１およびＪＫ４セグメント間の同一性は９０．３％であった。好ましいヒトフレームワークアクセプターＶＨ／ＪＨおよびＶＬ／ＪＫの特定の対が２Ｂ５－８．０のヒト化のためのアクセプターとして選択されたが、マウスフレームワークに対して最低２５％の配列同一性を有する他のヒトフレームワークアクセプターも２Ｂ５－８．０のヒト化のために使用することができ、したがって、本発明の範囲内であることは当技術分野では公知である。

【０２７５】

【表７】

表７：２Ｂ５－８．０のヒト化のための重鎖アクセプター配列

配列番号	タンパク質領域	配列
		123456789**0**123456789**0**123456789**0**12
46	VH1-18&JH4 FR1	QVQLQQSGPELVRPGSSVKISCKAS
47	VH1-18&JH4 FR2	WVKQRPGHGLEWIG
48	VH1-18&JH4 FR3	KATLTVDTSSSTAYMQLSSLTSEDSAIYYCAR
49	VH1-18&JH4 FR4	WGQGTLVTVSA

【０２７６】

【表８】

表８：２Ｂ５－８．０のヒト化のための軽鎖アクセプター配列

配列番号	タンプク質領域	配列
		123456789**0**123456789**0**123456789**0**12
50	01&JK4 FR1	DVLMTQTPLSLPVSLGDQASISC
51	01&JK4 FR2	WYLQRPGQSPKLLIY
52	01&JK4 FR3	VPDRFSGSGSGTVFTLKISRVEAEDLGVYYC
53	01&JK4 FR4	FGGGTKLEIKR

【０２７７】

選択された抗体のマウスおよびヒトフレームワーク領域の一次配列は、有意な同一性を有する。異なっている残基位置は、マウス抗体の観察された結合有効性を保持するために、ヒト化配列におけるマウス残基を包含する候補対象である。キーとなる残基でのそのようなフレームワーク領域アミノ酸置換（マウス残基に逆突然変異しているヒト残基）はフレームワーク逆突然変異と呼ばれ、キーとなる残基は、ＣＤＲに隣接する残基；グルコシル化部位残基；希少残基；PGE_2と相互作用することが可能である残基；ＣＤＲと相互作用することが可能である残基；カノニカル残基；重鎖可変領域と軽鎖可変領域間の接触残基；バーニアゾーン内の残基、およびＣｈｏｔｈｉａ定義可変重鎖ＣＤＲ１とＫａｂａｔ定義第一重鎖フレームワーク間で重複している領域の残基からなる群から選択される。一実施形態において、ヒトアクセプターフレームワークは、少なくとも１つのフレームワーク領域アミノ酸置換を含み、上記フレームワークのアミノ酸配列は、上記ヒトアクセプターフレームワークの配列に少なくとも６５％同一であり、上記ヒトアクセプターフレームワークに同一の少なくとも７０アミノ酸残基を含む。２Ｂ５－８．０のヒト化では、キーとなる残基でのフレームワーク領域アミノ酸置換は、重鎖可変領域の位置４８のＭ（ヒト）からＩ（マウス）、位置６８のＶ（ヒト）からＡ（マウス）、位置７０のＭ（ヒト）からＬ（マウス）、および位置７２のＴ（ヒト）からＶ（マウス）、ならびに軽鎖可変領域の位置２のＩ（ヒト）からＶ（マウス）および位置３のＶ（ヒト）からＬ（マウス）からなる群から選択される。

【０２７８】

所定のフレームワーク残基が抗体の結合特性に影響を及ぼす可能性は、ＣＤＲ残基へのその残基の近接に依存する。したがって、モデル構造を用いると、マウス配列とヒト配列との間で異なる残基は、PGE_2と接触する傾向があるＣＤＲ中の任意の原子からのそれらの残基の距離に従って位置付けられた。任意のＣＤＲ原子の４．５Åの範囲に入るそれらの残基が最重要なものとして特定され、ヒト化抗体へのマウス残基の保持（すなわち、フレームワーク復帰突然変異）についての候補対象にみなされた。

【０２７９】

２Ｂ５－８．０抗体可変領域のヒト化では、本発明において提供される一般的アプローチは以下の通りであった。先ず、２Ｂ５－８．０抗体可変領域の分子モデルが、コンピュータプログラムＡＢＭＯＤおよびＥＮＣＡＤの助けを借りて構築された（Ｌｅｖｉｔｔ、Ｍ．、Ｊ．Ｍｏｌ．Ｂｉｏｌ．１６８：５９５－６２０（１９８３））。次に、ヒトＶおよびＪセグメント配列に対する相同性検索に基づいて、２Ｂ５－８．０のヒト化重鎖可変領域にフレームワークを提供するためにＶＨセグメントＶＨ１－１８（Ｔｈｅ Ｉｍｍｕｎｏｇｌｏｂｕｌｉｎ Ｆａｃｔｓ Ｂｏｏｋ．２００１、Ｍａｒｉｅ－Ｐａｕｌｅ Ｌｅｆｒａｎｃ ａｎｄ Ｇｅｒａｌｄ Ｌｅｆｒａｎｃ著、Ａｃａｄｅｍｉｃ Ｐｒｅｓｓから出版）およびＪセグメントのＪＨ４（同上）が選択された。２Ｂ５－８．０軽鎖可変領域には、ＶＬセグメントの０１（同上）およびＪセグメントのＬＫ４（同上）が使用された。２Ｂ５－８．０ＶＨとアクセプターヒトＶＨ１－１８およびＪＨ４セグメント間のフレームワークアミノ酸の同一性は８０．２％であり、２Ｂ５－８．０ＶＬとアクセプターヒト０１およびＪＫ４セグメント間の同一性は９０．３％であった。コンピュータモデルは、逆突然変異させる必要のあるＣＤＲとの意味ある接触残基を同定しなかった。そ

れ以上の置換は行われなかった。

【０２８０】

ＨＵ２Ｂ５．１、ＨＵ２Ｂ５．２、ＨＵ２Ｂ５．３、ＨＵ２Ｂ５．４、ＨＵ２Ｂ５．５、ＨＵ２Ｂ５．６、ＨＵ２Ｂ５．７、ＨＵ２Ｂ５．８およびＨＵ２Ｂ５．９と命名された９種の異なる型のヒト化２Ｂ５－８．０が設計された。９種の抗体は、上記の重鎖可変領域の位置４８、６８、７０および７２ならびに軽鎖可変領域の位置２および３でフレームワーク逆突然変異が異なっていた。

【０２８１】

【表９】

表９：マウス抗PGE_2 抗体２Ｂ－８．０のＣＤＲ

配列番号	タンパク質領域		配列
			123456789**0**123456789**0**1234567890
54	**CDR H1**		**GYTFTKYWLG**
55	**CDR-H2**		**DIYPGYDYTHYNEKFKD**
56	**CDR-H3**		**SDGSSTY**
57	**CDR-L1**		**TSSQNIVHSNGNTYLE**
58	**CDR-L2**		**KVSNRFSG**
59	**CDR-L3**		**FQVSHVPYT**

【０２８２】

【表１０】

表10：２Ｂ５－８．０のＣＤＲを有する９種のヒト化抗ＰＧＥ$_2$抗体

配列番号	タンパク質領域		配列
			123456789**0**123456789**0**1234567890
60	VH Hu2B5.1		EVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKAS**GYTFT** **KYWLG**WVRQAPGQGLEWIG**DIYPGYDYTHY** **NEKFKD**RATLTVDTSTSTAYMELRSLRSDD TAVYYCAR**SDGSSTY**WGQGTLVTVSS
61	VL HU2B5.1		DVVMTQTPLSLPVTPGEPASISC**TSSQNIV** **HSNGNTYLE**WYLQKPGQSPQLLIY**KVSNRF** **SG**VPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGV YYC**FQVSHVPYT**FGGGTKVEIKR
62	VH HU2B5.2		EVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKAS**GYTFT** **KYWLG**WVRQAPGQGLEWIG**DIYPGYDYTHY** **NEKFKD**RATLTVDTSTSTAYMELSSLRSDD TAVYYCAR**SDGSSTY**WGQGTLVTVSS
63	VL HU2B5.2		DVVMTQTPLSLPVTPGEPASISC**TSSQNIV** **HSNGNTYLE**WYLQKPGQSPQLLIY**KVSNRF** **SG**VPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGV YYC**FQVSHVPYT**FGGGTKVEIKR
64	VH HU2B5.3		EVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKAS**GYTFT** **KYWLG**WVRQAPGQGLEWIG**DIYPGYDYTHY** **NEKFKD**RATLTVDTSTSTAYMELRSLRSDD TAVYYCAR**SDGSSTY**WGQGTLVTVSS
65	VL HU2B5.3		DVLMTQTPLSLPVTPGEPASISC**TSSQNIV** **HSNGNTYLE**WYLQKPGQSPQLLIY**KVSNRF** SGVPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGV YYC**FQVSHVPYT**FGGGTKVEIKR
66	VH HU2B5.4		EVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKAS**GYTFT** **KYWLG**WVRQAPGQGLEWIG**DIYPGYDYTHY** **NEKFKD**RATLTVDTSTSTAYMELSSLRSDD TAVYYCAR**SDGSSTY**WGQGTLVTVSS
67	VL HU2B5.4		DVLMTQTPLSLPVTPGEPASISC**TSSQNIV** **HSNGNTYLE**WYLQKPGQSPQLLIY**KVSNRF** **SG**VPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGV YYC**FQVSHVPYT**FGGGTKVEIKR
68	VH HU2B5.5		EVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKAS**GYTFT** **KYWLG**WVRQAPGQGLEWMG**DIYPGYDYTHY** **NEKFKD**RVTLTTDTSTSTAYMELRSLRSDD TAVYYCAR**SDGSSTY**WGQGTLVTVSS
69	VL HU2B5.5		DVVMTQTPLSLPVTPGEPASISC**TSSQNIV** **HSNGNTYLE**WYLQKPGQSPQLLIY**KVSNRF** SGVPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGV YYC**FQVSHVPYT**FGGGTKVEIKR
70	VH HU2B5.6		EVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKAS**GYTFT** **KYWLG**WVRQAPGQGLEWMG**DIYPGYDYTHY** **NEKFKD**RVTLTTDTSTSTAYMELSSLRSDD TAVYYCAR**SDGSSTY**WGQGTLVTVSS
71	VL HU2B5.6		DVVMTQTPLSLPVTPGEPASISC**TSSQNIV** **HSNGNTYLE**WYLQKPGQSPQLLIY**KVSNRF** **SG**VPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGV YYC**FQVSHVPYT**FGGGTKVEIKR
72	VH HU2B5.7		EVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKAS**GYTFT** **KYWLG**WVRQAPGQGLEWMG**DIYPGYDYTHY** **NEKFKD**RVTLTTDTSTSTAYMELRSLRSDD TAVYYCAR**SDGSSTY**WGQGTLVTVSS

配列番号	タンパク質領域		配列
			123456789**0**123456789**0**123456789**0**
73	VL HU2B5.7		DVLMTQTPLSLPVTPGEPASISC**TSSQNIV HSNGNTYLE**WYLQKPGQSPQLLIY**KVSNRF SG**VPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGV YYC**FQVSHVPYT**FGGGTKVEIKR
74	VH HU2B5.8		EVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKAS**GYTFT KYWLG**WVRQAPGQGLEWMG**DIYPGYDYTHY NEKFKD**RVTLTTDTSTSTAYMELSSLRSDD TAVYYCAR**SDGSSTY**WGQGTLVTVSS
75	VL HU2B5.8		DVLMTQTPLSLPVTPGEPASISC**TSSQNIV HSNGNTYLE**WYLQKPGQSPQLLIY**KVSNRF SG**VPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGV YYC**FQVSHVPYT**FGGGTKVEIKR
76	VH HU2B5.9		EVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKAS**GYTFT KYWLG**WVRQAPGQGLEWMG**DIYPGYDYTHY NEKFKD**RVTMTTDTSTSTAYMELRSLRSDD TAVYYCAR**SDGSSTY**WGQGTLVTVSS
77	VL HU2B5.9		DIVMTQTPLSLPVTPGEPASISC**TSSQNIV HSNGNTYLE**WYLQKPGQSPQLLIY**KVSNRF SG**VPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGV YYC**FQVSHVPYT**FGGGTKVEIKR

【０２８３】

実施例４．２．２：ヒト化抗体の構築

実施例４．２．１に記載されたインシリコで設計されたヒト化抗体は、オリゴヌクレオチドを用いてデノボに構築された。各可変領域のｃＤＮＡについて、各々６０－８０ヌクレオチドのうちの６オリゴヌクレオチドは、各オリゴヌクレオチドの５’末端および／または３’末端で２０ヌクレオチドまで互いに重複するように設計された。アニーリング反応では、すべての６オリゴを組合せ、ボイルし、ｄＮＴＰの存在下でアニーリングした。ＤＮＡポリメラーゼＩ、ラージ（クレノウ）断片（Ｎｅｗ Ｅｎｇｌａｎｄ Ｂｉｏｌａｂｓ ＃Ｍ０２１０，Ｂｅｖｅｒｌｅｙ，ＭＡ）を添加して、重複しているオリゴヌクレオチド間の約４０ｂｐギャップを埋めた。次に、修飾されたｐＴＴ３ベクターのマルチクローニングサイトに相補的な突出している配列を含む２つの最外部プライマーを用いて、完全な可変領域遺伝子を増幅するためにＰＣＲを行った。各ｃＤＮＡアセンブリ由来のＰＣＲ産物をアガロースゲル上で分離し、予測される可変領域ｃＤＮＡサイズに対応するバンドを切り出し、精製した。可変重領域は、細菌において相同組み換えによって、野生型のヒトＩｇＧ１定常領域または２つのヒンジ領域のアミノ酸変異を含むヒトＩｇＧ１定常領域をコードするｃＤＮＡ断片にフレームを合わせて挿入された（Ｚｈａｎｇ，Ｙ ｅｔ ａｌ．Ｎａｔｕｒｅ Ｂｉｏｔｅｃｈｎｏｌ．１８（１２）：１３１４－７（２０００））。この変異は、２３４位（ＥＵ番号付け）のロイシンからアラニンへの変更、２３５位のロイシンからアラニンへの変更であった（Ｌｕｎｄ ｅｔ ａｌ．Ｊ．Ｉｍｍｕｎｏｌ．１４７：２６５７（１９９１））。可変軽鎖領域は、相同組み換えによってヒトκ定常領域にフレームを合わせて挿入された。細菌コロニーを単離し、プラスミドＤＮＡを抽出し、ｃＤＮＡ挿入物を全体として配列決定した。各抗体に対応する正しいヒト化重鎖および軽鎖を含むｐＴＴ３ベクターをＨＥＫ２９３細胞に同時に形質移入し、全長ヒト化抗ＰＥＧ$_2$抗体を一時的に生成した。組み換えキメラ抗体を含む細胞上清をプロテインＡセファロースクロマトグラフィーによって精製し、結合した抗体を０．１Ｎの酢酸／０．１５Ｍ ＮａＣＬ（ｐＨ３．０）の添加によって溶出した。抗体を中和し、ＰＢＳ中で透析した。

【０２８４】

実施例４．２．３：ヒト化抗ＰＧＥ$_2$抗体の別の構築

本実施例は抗ＰＧＥ$_2$抗体のヒト化を記載している。マウスモノクローナル抗体２Ｂ５－８．０のヒト化は、基本的にＱｕｅｅｎ、Ｃ．、ｅｔ ａｌ．、Ｐｒｏｃ．Ｎａｔｌ．

Ａｃａｄ．Ｓｃｉ．ＵＳＡ８６：１００２９－１００３３（１９８９）の手法に従って実施された。先ず、２Ｂ５－８．０ＶＨまたはＶＬアミノ酸配列に高い相同性のあるヒトＶセグメントが同定された。次に、相補性決定領域（ＣＤＲ）配列が、ＣＤＲの構造を維持するのに重要なフレームワークアミノ酸と一緒に、選択されたヒトフレームワーク配列に移植された。さらに、対応するＶ領域サブグループ中では稀であることが見出されたヒトフレームワークアミノ酸が、潜在的免疫原性を減少させるためにコンセンサスアミノ酸で置換された。

【０２８５】

２Ｂ５－８．０可変領域のヒト化では、本発明において提供される一般的アプローチに従った。先ず、２Ｂ５－８．０可変領域の分子モデルが、コンピュータプログラムＡＢＭＯＤおよびＥＮＣＡＤの助けを借りて構築された（Ｌｅｖｉｔｔ、Ｍ．、Ｊ．Ｍｏｌ．Ｂｉｏｌ．１６８：５９５－６２０（１９８３））。次に、ヒトＶおよびＪセグメント配列に対する相同性検索に基づいて、Ｈｕ２Ｂ５－８．０重鎖可変領域にフレームワークを提供するために、ＶＨセグメントＭＵＣ１－１’ＣＬ（Ｇｒｉｆｆｉｔｈｓ、Ａ．Ｄ．、ｅｔ　ａｌ．、ＥＭＢＯ　Ｊ．１２：７２５－７３４（１９９３））およびＪセグメントのＪＨ４（Ｒａｖｅｔｃｈ、Ｊ．Ｖ．、ｅｔ　ａｌ．、Ｃｅｌｌ　２７：５８３－５９１（１９８１））が選択された。Ｈｕ２Ｂ５－８．０軽鎖可変領域では、ＶＬセグメントＴＲ１．３７’ＣＬ（Ｐｏｒｔｏｌａｎｏ、Ｓ．、ｅｔ　ａｌ．、Ｊ．Ｉｍｍｕｎｏｌ．１５１：２８３９－２８５１（１９９３））およびＪセグメントＪＫ２（Ｈｉｅｔｅｒ、Ｐ．Ａ．、ｅｔ　ａｌ．、Ｊ．Ｂｉｏｌ．Ｃｈｅｍ．２５７：１５１６－１５２２（１９８２））が使用された。２Ｂ５－８．０ＶＨとアクセプターヒトＭＵＣ１－１’ＣＬおよびＪＨ４セグメント間のフレームワークアミノ酸の同一性は７６％であり、２Ｂ５－８．０ＶＬとアクセプターヒトＴＲ１．３７’ＣＬおよびＪＫ２セグメント間の同一性は８４％であった。

【０２８６】

コンピュータモデルがＣＤＲとの意味ある接触を示唆したフレームワーク位置で、マウスＶ領域由来のアミノ酸が元のヒトフレームワークアミノ酸の代わりに使われた。２Ｂ５－８．０のヒト化では、キーとなる残基でのフレームワーク領域アミノ酸置換は、重鎖可変領域の位置４８のＭ（ヒト）からＩ（マウス）、位置６７のＲ（ヒト）からＫ（マウス）、位置６８のＶ（ヒト）からＡ（マウス）、位置７０のＩ（ヒト）からＬ（マウス）、および位置７２のＲ（ヒト）からＶ（マウス）、ならびに軽鎖可変領域の位置７５のＤ（ヒト）からＶ（マウス）からなる群から選択される。さらに、潜在的免疫原性を除去するために、少数のアミノ酸が同一のヒト可変ドメインサブグループにおけるコンセンサスアミノ酸に変わっていて、その変化は重鎖可変領域における位置７６でのＡからＴ置換ならびに軽鎖可変領域における位置１でのＥからＤ置換および位置２でのＬからＩ置換を含む。

【０２８７】

ＣＤＲ移植された可変ドメイン（Ｈｕ２Ｂ５．Ｐ１のＶＨおよびＶＬ）ならびにこのヒト化解析に基づくすべての逆突然変異およびコンセンサス置換（Ｈｕ２Ｂ５．Ｐ２のＶＨおよびＶＬ）を組み込んだ可変ドメインのタンパク質配列は下に提供されている。１つまたは少数のそのような逆突然変異およびコンセンサス置換を有するどんなヒト化型も本発明の範囲内に収まることは一般に理解されている。抗体ＥはＶＨ　Ｈｕ２Ｂ５．Ｐ２およびＶＬ　Ｈｕ２Ｂ５．Ｐ２を含み；抗体ＦはＶＨ　Ｈｕ２Ｂ５．Ｐ２およびＶＬ　Ｈｕ２Ｂ５．Ｐ１を含み；抗体ＧはＶＨ　Ｈｕ２Ｂ５．Ｐ１およびＶＬ　Ｈｕ２Ｂ５．Ｐ２を含み；ならびに抗体ＩはＶＨ　Ｈｕ２Ｂ５．Ｐ１およびＶＬ　Ｈｕ２Ｂ５．Ｐ１を含んでいた。

【０２８８】

【表１１】

表11：２Ｂ５－８．０のヒト化抗ＰＧＥ$_2$抗体

配列番号	タンパク質領域	配列
		123456789**0**123456789**0**123456789**01234567890**
78	**VH Hu2B5.P1**	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKAS**GYTFTKYWLG**WVRQA PGQGLEWMG**DIYPGYDYTHYNEKFKD**RVTITRDTSASTAY MELSSLRSEDTAVYYCAR**SDGSSTY**WGQGTLVTVSS
79	**VL HU2B5.P1**	ELVMTQSPLSLPVTPGEPASISC**TSSQNIVHSNGNTYLE**W YLQKPGQSPQLLIY**KVSNRFS**GVPDRFSGSGSGTDFTLKI SRVEAEDVGVYYC**FQVSHVPYT**FGQGTKLEIK

配列番号	タンパク質領域	配列
		123456789**0**123456789**0**123456789**01234567890**
80	**VH HU2B5.P2**	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKAS**GYTFTKYWLG**WVRQA PGQGLEWIG**DIYPGYDYTHYNEKFKD**KATLTVDTSTSTAY MELSSLRSEDTAVYYCAR**SDGSSTY**WGQGTLVTVSS
81	**VL HU2B5.P2**	DIVMTQSPLSLPVTPGEPASISC**TSSQNIVHSNGNTYLE**W YLQKPGQSPQLLIY**KVSNRFS**GVPDRFSGSGSGTVFTLKI SRVEAEDVGVYYC**FQVSHVPYT**FGQGTKLEIK

【０２８９】

実施例４．２．４：ヒト化抗ＰＧＥ$_2$抗体の特徴づけ

ＰＧＥ$_2$に結合する精製されたヒト化抗ＰＧＥ$_2$抗体の能力は、実施例１．１．Ａに記載されているビオチン－ＰＧＥ$_2$ＥＬＩＳＡまたは^{3}Ｈ－ＰＧＥ$_2$ラジオイムノアッセイにより決定された。ヒト化抗ＰＧＥ$_2$抗体の交差反応性は、実施例１．１．Ｂに記載されている競合ビオチン－ＰＧＥ$_2$ＥＬＩＳＡまたは^{3}Ｈ－ＰＧＥ$_2$ラジオイムノアッセイにより決定された。ヒト化抗ＰＧＥ$_2$抗体によるＰＧＥ$_2$活性の抑制は、実施例１．１．Ｃに記載されているＥＰ４バイオアッセイを使用して決定された。

【０２９０】

ヒト化抗ＰＧＥ$_2$抗体はすべて、ビオチン－ＰＧＥ$_2$ＥＬＩＳＡにおいてＰＧＥ$_2$に結合することができた（図６および７；表１２）。ヒト化抗ＰＧＥ$_2$抗体は、ＥＰ４　ＦＬＩＰＲアッセイにおいてＰＧＥ$_2$媒介カルシウム流入を中和し遮断することができた。代わりに設計されたヒト化抗ＰＧＥ$_2$抗体のＥ、Ｆ、ＧおよびＩも、^{3}Ｈ－ＰＧＥ$_2$ＥＬＩＳＡにおいてＰＧＥ$_2$に結合することができた（表１３）。Ｈｕ２Ｂ５．７は、^{3}Ｈ－ＰＧＥ$_2$競合ＥＬＩＳＡにおいてプロスタグランジン結合特異性の追加の特徴づけのために選択され、ＰＧＥ$_2$に対する特異性を実証した（表１３）。

【０２９１】

【表１２】

表１２：ヒト化抗体の特徴づけ

ヒト化抗体		Ch2B5−8.0	Hu2B5.1	Hu2B5.2	Hu2B5.3	Hu2B5.4	Hu2B5.5	Hu2B5.6	Hu2B5.7	Hu2B5.8	Hu2B5.9
EC 50（pM）ELISA		41−60	63	55	59	57	37	89	79	87	NT
EP4アッセイにおけるIC50（pM）@PGE_2 25pm細胞効力		55	55	55	47	40	47	52	78	78	125
交差反応性指標（%）	PGE1	12	16	14	14	14	11	11	9.3	8.5	NT
	PGA2	0.17	0.21	0.18	0.18	0.22	0.18	0.15	0.15	0.20	NT
	PGD2	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01	NT

【０２９２】

【表１３】

表１３：ヒト化抗PGE_2抗体の特徴づけ（続き）

ヒト化抗体ID	A	E	F	G	I
VH／VL	Hu2B5.9	VH Hu2B5.P2／VL Hu2B5.P2	VH Hu2B5.P2／VL Hu2B5.P1	VH Hu2B5.P1／VL Hu2B5.P2	VH Hu2B5.P2／VL Hu2B5.P2
^3H−PGE_2 ELISAにおけるPGE_2結合（IC_{50}、nM）	0.704	0.416	0.955	0.574	1.299

【０２９３】

【表１４】

表１４：ヒト化抗PGE_2抗体Ｈｕ２Ｂ５．７についてのプロスタグランジン選択性の特徴づけ

抗PGE_2mAb		2B5	Hu2B5−7．0
^{3}H−PGE_2競合ＥＬＩＳＡにおけるＰＧ選択性（ＣＲＩ%）	ＰＧＥ２	１００	１００
	ＰＧＥ１	１２	５．６
	ＰＧＡ２	０．１７	０．０２
	ＰＧＤ２	０．０４	＜1×10^{-4}
	ＰＧＦ２α	０．２５	０．０６
	ＰＧＩ２	該当なし	０．１２
	イロプロスト	該当なし	０．００６
	カルバプロスタサイクリン	該当なし	０．１６
	ピナンＴＸＡ２	該当なし	０．００００１６
	１５Ｒ−ピナンＴＸＡ２	該当なし	０．００２９
	カルボサイクリックＴＸＡ２	該当なし	０．００００１１
	ＴＸＢ２	＜０．０１	＜０．０１
	６−ケトＰＧＦ１α	０．４	０．４７
	ＰＧＢ２	０．０３	０．０００４
	８−イソＰＧＦ２α	０．０２	０．０６
	１３，１４−ジヒドロキシル−１５−ケトPGE_2	＜０．０１	０．００９２
	２，３−ジノル−６−ケト−ＰＧＦ１α	該当なし	０．１９
	１５−ケトPGE_2	＜０．０１	０．０１１
	１９Ｒ−ヒドロキシPGE_2	＜０．０１	０．０７
	ＬＴＥ４	＜０．０１	０．０１
	５（Ｓ）−ＨＥＴＥ	＜０．０１	＜０．０１
	アラキドン酸	＜０．０１	＜０．０１

【０２９４】

実施例４．２．４．Ａ：ヒト化抗PGE_2抗体はPGE_2受容体へのPGE_2の結合を遮断する

抗PGE_2抗体による、PGE_2受容体、例えば、ＥＰ４に結合するPGE_2の競合阻害は、実施例１．１．Ｄに記載されている^{3}Ｈ−PGE_2を使用する細胞ベースまたは膜ベース受容体結合アッセイおよび実施例１．１．Ｅに記載されている細胞ベースＦＡＣＳアッセイにより決定することが可能である。

【０２９５】

ヒトで１０から２０日間の血清半減期を有する治療ｍＡｂでは、血清濃度は通常、１週または２週ＩＶまたはＳＣ　３ｍｐｋもしくはそれ以下投与計画で５−１５μｇ／ｍｌの間である。この計算に基づけば、ｈｕ２Ｂ５．１−Ｈｕ２Ｂ５．９は、モノクローナル抗体の従来の投与計画下、１００ｎＭ（または１５μｇ／ｍｌ）の血清濃度で、治療ｍＡｂとしてインビボにおけるPGE_2のＥＰ４への結合を完全に（１００％）遮断する可能性がある。

【０２９６】

実施例４．２．５：ヒト化抗PGE_2抗体の生物物理化学的特徴づけ

試験された基準は、内因的安定性を示すパラメーターなどの一般的薬物様特性パラメー

ター（示差走査熱量測定またはＤＳＣ）から一般的物理的化学的安定性（例えば、ＳＥＣによる断片化および集合モニタリングを含む純度）の範囲であった。

【０２９７】

生物物理化学的特徴づけのために使用された解析方法：

実施例４．２．５．１：サイズ排除クロマトグラフィー（ＳＥＣ）

サイズ排除クロマトグラフィーを用いて、サイズに基づいてタンパク質を分離した。タンパク質は、水系移動相中で、カラムに装填された多孔性固定相樹脂を通して運ばれる。カラム中の保持時間は、タンパク質の流体力学的サイズ、および装填された樹脂床の微細孔のサイズの関数である。小さな分子は、樹脂の小さな微細孔に侵入し、大きな分子よりも長く保持され得る。カラムからの溶出により、タンパク質はＵＶ吸収によって検出される。ＳＥＣ法はＴＳＫゲルガード（ＴＯＳＯＨ Ｂｉｏｓｃｉｅｎｃｅｓ，Ｍｏｎｔｇｏｍｅｒｙｖｉｌｌｅ，ＰＡ、カタログ番号０８５４３）、およびＴＳＫゲルＧ３０００ＳＷｘＬ（ＴＯＳＯＨ Ｂｉｏｓｃｉｅｎｃｅｓ，Ｍｏｎｔｇｏｍｅｒｙｖｉｌｌｅ，ＰＡ、カタログ番号０８５４１）を使用した。移動相は、１００ｍＭのＮａ２ＨＰＯ４、２００ｍＭのＮａ２ＳＯ４、ｐＨ７．０であった。流速は０．３ｍＬ／分であった。注入体積は、１ｍｇ／ｍＬ試料の２０μＬであった。カラム温度は室温であった。オートサンプラー温度は２－８℃であった。全実行時間は５０分であった。検出は、バンド幅を８ｎｍに設定した２１４ｎｍ波長でのＵＶ吸収に基づき、バンド幅を１００ｎｍにした３６０ｎｍの基準波長を用いた。

【０２９８】

実施例４．２．５．１：示差走査熱量測定（ＤＳＣ）

ＤＳＣ装置を用いて抗PEG_2抗体の熱安定性を評価した。使用されたＤＳＣ装置は、Ｃａｐｉｌｌａｒｙ Ｃｅｌｌ（Ｍｉｃｒｏｃａｌ，ＧＥ Ｈｅａｌｔｈｃａｒｅ Ｌｔｄ．／Ｍｉｃｒｏｃａｌ，Ｂｕｃｋｉｎｇｈａｍｓｈｉｒｅ，ＵＫ）を備えた自動化ＶＰ－ＤＳＣ設備であった。分子のアンフォールディングは、１ｍｇ／ｍＬの試料について２５℃－９５℃の温度範囲の全体で、１℃／分のスキャン速度を適用して研究された。適用した追加の測定パラメーターは、フィッティング時間１６秒、プレスキャンウェイト時間１０分であり、測定は非フィードバックモードで行った。個々の測定ごとに、４２０μＬの試料／ブランクをＤＳＣ測定試料ホルダーに満たし、以下に示されるようにプレート充填スキームを用いた。得られるサーモグラムは、異なる遷移の中間点温度およびエンタルピーを得るために、非２状態モデルにフィットさせた。

【０２９９】

成功する生物製剤開発候補に求められる追加の要件は、タンパク質がその天然の状態と立体構造のままであることである。水溶液中のタンパク質は、天然の（折り畳まれた）立体構造とその変性した（折り畳まれていない）立体構造の間で平衡状態にある。天然状態の安定性は、系のギブズ自由エネルギー（ＤＧ）の大きさおよびエンタルピー（ＤＨ）とエントロピー（ＤＳ）変化との間の熱力学的関係に基づいている。正のＤＧは、天然状態の方が変性状態より安定であることを示しており、ＤＧが正であるほど、安定性も大きくなる。タンパク質が解けるためには、安定化力は壊される必要がある。立体構造エントロピーは、エントロピーが優勢になる温度では安定化力を圧倒し、タンパク質を解かせる。ＤＳＣは、熱変性によるタンパク質アンフォールディングのＤＨを測定する。通則として、遷移中間点（Ｔｍ）が高いほど、低いほうの温度でもタンパク質は安定であると言える。同一実験中に、ＤＳＣはタンパク質変性のための熱容量（ＤＣｐ）の変化も測定する。タンパク質アンフォールディングに伴う熱容量変化は、主に、天然状態では埋もれていたが変性状態では溶媒曝露される側鎖の水和の変化のせいである。ＤＳＣは、タンパク質および他の生物学的巨大分子に対する液剤安定性の貴重な予測因子であることが明らかにされている（Ｒｅｍｍｅｌｅ、Ｒ．Ｌ．Ｊｒ．、Ｇｏｍｂｏｔｚ、Ｗ．Ｒ．、ＢｉｏＰｈａｒｍ １３、３６－４６、２０００；およびＲｅｍｍｅｌｅ、Ｒ．Ｌ．Ｊｒ．、Ｎｉｇｈｔｌｉｎｇｅｒ、Ｎ．Ｓ．、Ｓｒｉｎｉｖａｓｅｎ、Ｓ．、Ｇｏｍｂｏｔｚ、Ｗ．Ｒ．、Ｐｈａｒｍ．Ｒｅｓ．１５、２００－２０８、１９９８）。

【０３００】

実施例４．２．６：クローン選択過程中のヒト化抗ＰＧＥ$_2$抗体Ｈｕ２Ｂ５．７の安定性

実施例４．２．６．Ａ：ＤＳＣおよびＳＥＣを使用するヒト化抗ＰＧＥ$_2$抗体Ｈｕ２Ｂ５．７の安定性

親抗ＰＧＥ$_2$抗体の一連のクローン（例えば、抗ＰＧＥ$_2$抗体）の安定性は、ＤＳＣを使用する内在性熱力学的クローン安定性決定（０．７９ｍｇ／ｍＬクローン濃度、１０ｍＭクエン酸、１０ｍＭリン酸緩衝液中ｐＨ６で処方される）を使用することにより、およびクローン安定性がＳＥＣを用いてモニターされる加速安定性スクリーニング（０．７９ｍｇ／ｍＬクローン濃度、１０ｍＭクエン酸、１０ｍＭリン酸緩衝液中ｐＨ６で処方される、５０℃で７日間）により評価された（表１５）。

【０３０１】

【表１５】

表１５：ＳＥＣにより決定されるＨｕ２Ｂ５ヒト化抗体バリアントＨｕ２Ｂ５．１－Ｈｕ２Ｂ５．９クローン試料における凝集体および断片の形成（安定性実験の開始）

クローン	凝集体（%）	モノマー（%）	断片（%）
Ｈｕ２Ｂ５．１	１．８０７１	９３．７８８５	４．４０４４
Ｈｕ２Ｂ５．２	１．８４６	９４．８５１６	３．３０２５
Ｈｕ２Ｂ５．３	２．１１６	９４．１９８７	３．６８５３
Ｈｕ２Ｂ５．４	２．２３４	９４．５５１３	３．２１４６
Ｈｕ２Ｂ５．５	１．５９０６	９５．１４０６	３．２６８８
Ｈｕ２Ｂ５．６	１．８２６５	９５．４４６	２．７２７５
Ｈｕ２Ｂ５．７	１．９６６８	９５．５８１８	２．４５１４
Ｈｕ２Ｂ５．８	２．１１２６	９４．５９６９	３．２９０４
Ｈｕ２Ｂ５．９	１．８５５９	９５．６０３１	２．５４１

【０３０２】

【表１６】

表１６：ＳＥＣにより決定されるＨｕ２Ｂ５ヒト化抗体バリアントＨｕ２Ｂ５．１－Ｈｕ２Ｂ５．９クローン試料における凝集体および断片の形成（５０℃で７日間貯蔵）

クローン	凝集体（%）	モノマー（%）	断片（%）
Ｈｕ２Ｂ５．１	２．５６１１	９１．０７１５	６．３６７５
Ｈｕ２Ｂ５．２	２．１７５３	９３．１４９１	４．６７５５
Ｈｕ２Ｂ５．３	２．６０４２	９２．３５１８	５．０４４
Ｈｕ２Ｂ５．４	２．１６８９	９１．２８８９	６．５４２３
Ｈｕ２Ｂ５．５	１．９０１	９３．７３７６	４．３６１４
Ｈｕ２Ｂ５．６	２．１５７７	９３．８１７	４．０２５３
Ｈｕ２Ｂ５．７	２．２０５	９３．９０５	３．８９
Ｈｕ２Ｂ５．８	２．５１４４	９３．３０１６	４．１８４
Ｈｕ２Ｂ５．９	１．９５５９	９４．６３１３	３．４１２７

【０３０３】

表１５および１６は、加速安定性スクリーニングの開始時と終了時のモノマーレベルを示す、最長７日間貯蔵のヒト化抗ＰＧＥ$_2$抗体に対するＳＥＣ試験の結果を提供している。Ｈｕ２Ｂ５．７とＨｕ２Ｂ５．９が、７日間加速安定性スクリーニング後の最高のモノマーレベルを明らかにした。表１７に示される結果は、ｈｕ２Ｂ５．７は、パネルの他の

クローン（例えば、Ｈｕ２Ｂ５．４）と比べて非常に好ましい内在性安定性プロファイル（ＤＳＣデータ）も有していることを実証した。

【０３０４】

ＩｇＧ抗体は、典型的に、３つのアンフォールディング遷移（Ｔｍ）を示しており；無傷の抗体のアンフォールディングは、Ｆｃ断片におけるＣＨ２ドメインの融解、Ｆｃ断片におけるＣＨ３ドメインの融解およびＦａｂ断片の融解に関連している。望ましい薬物様特性を有する抗PGE_2抗体を選択するために、Ｈｕ２Ｂ５．７などの高Ｔｍ値および高内在性安定性を有するクローンが選択された（表１７）。

【０３０５】

【表１７】

表１７：ＤＳＣを介するヒト化抗PGE_2抗体クローンの内在性熱力学的クローン安定性決定（０．７９ｍｇ／ｍＬクローン抗体濃度、１０ｍＭクエン酸、１０ｍＭリン酸緩衝液中ｐＨ６で処方される）

クローン	Tm1 (℃)	Tm2 (℃)	Tm3 (℃)
Hu2B5. 1	72. 835	75. 02	82. 785
Hu2B5. 2	72. 845	75. 08	82. 67
Hu2B5. 3	72. 67	72. 96	82. 67
Hu2B5. 4	71. 095	72. 41	82. 58
Hu2B5. 5	73. 31	75. 755	82. 97
Hu2B5. 6	73. 035	75. 585	82. 95
Hu2B5. 7	72. 67	75. 445	82. 795
Hu2B5. 8	72. 96	75. 33	82. 83
Hu2B5. 9	73. 235	75. 965	83. 04

【０３０６】

実施例４．２．６．Ｂ：Ｈｕ２Ｂ５．１－Ｈｕ２Ｂ５．９のキャピラリーゾーン電気泳動

キャピラリーゾーン電気泳動は、キャピラリーが緩衝液で充填され、分離機構が緩衝液を通る分析物の電気泳動移動性の差に基づいているキャピラリー電気泳動法である。分子の電気泳動移動性は電荷対サイズ比に関係している。Ｂｅｃｋｍａｎ－Ｃｏｕｌｔｅｒ ＰｒｏｔｅｏｍｅＬａｂ ＰＡ８００（Ｂｅｃｋｍａｎ Ｃｏｕｌｔｅｒ、Ｆｕｌｌｅｒｔｏｎ、ＣＡ）がＣＺＥ解析に使用された。中性キャピラリー（ｅＣＡＰ中性、全長５６ｃｍ、５０μｍ Ｉ．Ｄ．Ｂｅｃｋｍａｎ－Ｃｏｕｌｔｅｒ、Ｐ／Ｎ４７７４４１、Ｆｕｌｌｅｒｔｏｎ、ＣＡ）が使用された。上記方法は、検出窓が試料導入口から２０．２ｃｍに付いた３０．２ｃｍのキャピラリーを使用した。泳動緩衝液は０．１％のＭＣ（１％メチルセルロース溶液より、Ｃｏｎｖｅｒｇｅｎｔ Ｂｉｏｓｃｉｅｎｃｅ、カタログ番号１０１８７６、Ｔｏｒｏｎｔｏ、ＯＮ、Ｃａｎａｄａ）を含む１００ｍＭのＥＡＣＡ（６－アミノカプロン酸、Ｓｉｇｍａ Ａ７８２４－１００ Ｇ、Ｓｔ．Ｌｏｕｉｓ、ＭＯ）、ｐＨ５．５であった。

【０３０７】

上記結果は、Ｈｕ２Ｂ５．１、Ｈｕ２Ｂ５．３、Ｈｕ２Ｂ５．５、Ｈｕ２Ｂ５．７、Ｈ

ｕ２Ｂ５．９は、Ｈｕ２Ｂ５．２、Ｈｕ２Ｂ５．４、Ｈｕ２Ｂ５．６、Ｈｕ２Ｂ５．８よりも塩基性で移動すること（例えば、移動時間が短かった。）を明らかにした。これは、Ｈｕ２Ｂ５．１、Ｈｕ２Ｂ５．３、Ｈｕ２Ｂ５．５、Ｈｕ２Ｂ５．７、Ｈｕ２Ｂ５．９はすべて重鎖８４番目アミノ酸にＲを有し、他の４試料は同位置にＳを有するという事実のせいである可能性がある。９試料はすべて主要ピークおよびマイナーな酸性および塩基性種を示したが、異なる種の分布間にはそれほど差はなかった。

【０３０８】

実施例４．３：PGE_2に複合体化したＨｕ２Ｂ５．７の結晶化

Ｈｕ２Ｂ５．７のＦａｂ部分はPGE_2と複合体を形成し、上記複合体の結晶は以下の通りに作製される。

【０３０９】

実施例４．３．１：Ｈｕ２Ｂ５．７Ｆａｂ断片の調製および精製

Ｈｕ２Ｂ５．７Ｆａｂ断片を調製するため、先ず、０．１５Ｍ　ＰＢＳ緩衝液中のＨｕ２Ｂ５．７　ＩｇＧは、Ｕｌｔｒａｆｒｅｅ－１５　Ｂｉｏｍａｘ　１０ｋＤａ分子量カットオフ（ＭＷＣＯ）遠心分離濾過装置（Ｍｉｌｌｉｐｏｒｅ）を使用して、２ｍｇ／ｍｌまで濃縮される。パパインゲルスラリー（Ｐｉｅｒｃｅ）は、緩衝液Ａ（２０ｍＭ　Na_2HPO_4、１０ｍＭ　ＥＤＴＡ、２０ｍＭ　システイン）を用いて予洗され、１対１の容積比で２－３×にチャージされる。次に、濃縮された抗体は５０％パパインゲルスラリーと混合され、激しく振盪させながら３７℃で２４時間温置される。抗体／スラリー混合物は遠心分離され（Ｂｅｃｋｍａｎ　６ＫＲ）、上清は予め平衡化されたＳｕｐｅｒｄｅｘ７５上に充填される。主ピークを溶出させ、タンパク質がプールされる。２５ｍＬ　Ｐｒｏｔｅｉｎ　Ａ　Ｓｅｐｈａｒｏｓｅ　４　Ｆａｓｔ　Ｆｌｏｗアフィニティーカラム（Ａｍｅｒｓｈａｍ　Ｐｈａｒｍａｃｉａ）は、１００ｍＬのＰＢＳを用いて洗浄することにより準備される。プールされた抗体断片はアフィニティーカラムに適用される（流速２ｍＬ／分）。Ｈｕ２Ｂ５．７Ｆａｂ断片を含有する画分（２８０ｎｍでＵＶ吸光度によりモニターされる）はフロースルーに収集される。０．３ｍｇ／ｍＬよりも大きいＨｕ２Ｂ５．７Ｆａｂ断片濃度を含有する画分（２８０ｎｍでＵＶ吸光度により決定される）がプールされ、－８０℃で凍結される。試料純度はＳＤＳ－ＰＡＧＥを用いて評価される。

【０３１０】

実施例４．３．２：PGE_2／Ｈｕ２Ｂ５．７Ｆａｂ複合体調製

PGE_2とＨｕ２Ｂ５．７Ｆａｂタンパク質を１対１のモル比で混合され、４℃で１時間温置される。複合体試料は、予め平衡化させた（２０ｍＭ　Ｔｒｉｓ　ｐＨ７．５、１５０ｍＭ　ＮａＣｌ）Ｓｕｐｅｒｄｅｘ２００カラムに０．５ｍｌ／分で充填される。複合体がプールされ、Ｕｌｔｒａｆｒｅｅ－１５　Ｂｉｏｍａｘ　１０ｋＤａ分子量カットオフ（ＭＷＣＯ）遠心分離濾過装置（Ｍｉｌｌｉｐｏｒｅ）を使用して、２４ｍｇ／ｍＬまで濃縮され、－８０℃で凍結される。試料純度はＳＤＳ－ＰＡＧＥを用いて評価される。

【０３１１】

実施例４．３．３：PGE_2／Ｈｕ２Ｂ５．７Ｆａｂ複合体の結晶化

凍結されたPGE_2／Ｈｕ２Ｂ５．７複合体ストック（２４ｍｇ／ｍＬ同等）は氷上で解凍される。上記複合体（１．０μＬ）は、１．０μＬの貯蔵液（１．７５Ｍ　硫酸アンモニウム、１００ｍＭ　ＭＥＳ　ｐＨ６．５、１０ｍＭ　$CaCl_2$）と混合される。こうして得られる液滴は、約１８℃、貯蔵所上でシッティングドロップウェル（ＣｒｙｓＣｈｅｍ　ｓｉｔｔｉｎｇ－ｄｒｏｐ　ｐｌａｔｅ）で混合される。一般に１週間以内にダイアモンド様結晶が現れた。

【０３１２】

実施例４．３．４：PGE_2／Ｈｕ２Ｂ５．７Ｆａｂ複合体結晶の凍結保護および瞬間冷却

PGE_2／Ｈｕ２Ｂ５．７Ｆａｂ複合体の結晶は、母液＋２０％グリセロール中ファイ

バーループを使用して回収される。続いて、結晶は、液体窒素中に投入することにより瞬間冷却される。

【０３１３】

実施例４．３．５：PGE_2／Ｈｕ２Ｂ５．７Ｆａｂ複合体のＸ線回折データ収集

PGE_2／Ｈｕ２Ｂ５．７Ｆａｂ結晶からのＸ線回折データは、Ａｄｖａｎｃｅｄ Ｐｈｏｔｏｎ Ｓｏｕｒｃｅ ｉｎ Ａｒｇｏｎｎｅ、ＩＬのＩＭＣＡビームラインで収集される。結晶は、データ収集中は、Ｏｘｆｏｒｄ Ｃｒｙｏｓｙｓｔｅｍｓ Ｃｒｙｏｓｔｒｅａｍ冷却機を用いて温度１００Ｋに維持される。合計で１８０フレームが、振幅幅１．０°で収集される。データは、ＨＫＬ２０００スイートのプログラム（Ｏｔｗｉｎｏｗｓｋｉ ａｎｄ Ｍｉｎｏｒ、１９９７）を用いて処理される。結晶方位を決定した後、データはＤＥＮＺＯを用いて積分され、ＳＣＡＬＥＰＡＣＫを用いてスケール変更されてマージされ、絶対尺度上に置かれて、ＴＲＵＮＣＡＴＥを用いて構造因子振幅に変えられる（Ｆｒｅｎｃｈ ａｎｄ Ｗｉｌｓｏｎ、１９７８）。固有反射数の５％が、フリーＲ－因子（Ｒｆｒｅｅ）の計算のために、無作為な形で、「フリー」セットに割り当てられ（Ｂｒｕｎｇｅｒ、１９９２）、反射数の残り９５％は、Ｒ－因子（Ｒ）の計算のための「作業」セットをなす。

【０３１４】

実施例４．３．６：PGE_2／Ｈｕ２Ｂ５．７Ｆａｂ複合体結晶構造の分子置換法および精密化

最尤分子置換法は、プログラムＰＨＡＳＥＲを使用して決定される（Ｒｅａｄ、２００１）。合計で６PGE_2／Ｈｕ２Ｂ５．７モノマーは、解像度３．０Åで適切な空間群に解析される。検索モデルは、すでに報告されているＦａｂの結晶構造である（Ｐｒｏｔｅｉｎ Ｄａｔａ Ｂａｎｋ ｅｎｔｒｙ １ＢＪ１；Ｍｕｌｌｅｒ ｅｔ ａｌ．１９９８）。座標は、分子置換法に基づいて作製される。

【０３１５】

PGE_2／Ｈｕ２Ｂ５．７Ｆａｂ複合体結晶構造の精密化は、適切な空間群において上記の分子置換法座標を用いて始まる。精密化は、ＣＣＰ４スイートのプログラムにおいて利用可能であるプログラムＲＥＦＭＡＣによる剛体精密化を使用して始まる（Ｍｕｒｓｈｕｄｏｖ ｅｔ ａｌ．、１９９７、Ｃｏｌｌａｂｏｒａｔｉｖｅ Ｃｏｍｐｕｔａｔｉｏｎａｌ Ｐｒｏｊｅｃｔ、１９９４）。新規のPGE_2電子密度が観測される。６PGE_2モノマーの手動構築は、分子グラフィックスプログラムＯ（Ｊｏｎｅｓ ｅｔ ａｌ．、１９９１）ならびに２Ｆｏ－ＦｃおよびＦｏ－Ｆｃ電子密度地図の試験を使用する周知のPGE_2ＮＭＲ構造１ＩＪＺ（Ｍｏｙ ｅｔ ａｌ．，２００１）により導かれる。精密化プログラムＲＥＦＭＡＣ（Ｍｕｒｓｈｕｄｏｖ ｅｔ ａｌ．、１９９７）は、控えめな精密化の反復ラウンドのために使用され、以下の統計値：２５．８％のＲ（Ｒｆｒｅｅ３０．５％）となる。

【０３１６】

実施例５．０：薬物動態解析

実施例５．１：組み換えマウス抗PGE_2抗体の薬物動態解析

マウスｍＡｂ ２Ｂ５．８．０を用いる薬物動態実験は、スプラークドーリーラットおよびＢａｌｂ／Ｃマウスにおいて実施された。雄と雌のラットおよびマウスは、単回投与の４ｍｇ／ｋｇ ２Ｂ５．８．０を用いて、静脈内にまたは腹腔内に（マウスのみ）投与され、血清試料は抗原捕捉ベース化学発光ＭＳＤ（メソスケールディスカバリー）法（Ｍｅｓｏ Ｓｃａｌｅ Ｄｉｓｃｏｖｅｒｙ、Ｇａｉｔｈｅｒｓｂｕｒｇ、Ｍａｒｙｌａｎｄ）を使用して解析された。薬物動態パラメーターは、ＷｉｎＮｏｎｌｉｎを使用する非区画解析により計算された。

【０３１７】

実施例５．１．１：ＰＫ血清試料中の２Ｂ５．８．０を定量化するために使用されるアッセイ

以下のＭＳＤアッセイを使用して、ラットおよびマウス血清中の抗体濃度を測定した。

ＭＳＤストレプトアビジンプレート（Ｍｅｓｏ　Ｓｃａｌｅ　Ｄｉｓｃｏｖｅｒｙ、Ｇａｉｔｈｅｒｓｂｕｒｇ、ＭＤ）は、０．０５％　Ｔｗｅｅｎ－２０を含有するリン酸緩衝生理食塩水（Ｓｉｇｍａ、Ｓｔ．Ｌｏｕｉｓ、ＭＯ）を用いて洗浄された。プレートは、室温で振盪（６００ｒｐｍ）しながら覆いをかけて１時間、２５０μＬ／ウェル　ブロッキング溶液（ＭＳＤ　Ｂｌｏｃｋ、Ｍｅｓｏ　Ｓｃａｌｅ　Ｄｉｓｃｏｖｅｒｙ、ＰＢＳ中３％最終濃度まで希釈）を用いて遮断された。洗浄後、７０μＬのビオチン化$ＰＧＥ_2$（プロスタグランジン$Ｅ_2$－ビオチンアミド、Ｃａｙｍａｎ　Ｃｈｅｍｉｃａｌ、Ａｎｎ　Ａｒｂｏｒ、Ｍｉｃｈｉｇａｎ、カタログ番号１０００６９８７、ロット番号１９０８３１－１９１０２８、アッセイ緩衝液中０．０１μｇ／ｍＬ）を各ウェルに添加した。プレートは覆いをされ、室温で１時間、振盪（６００ｒｐｍ）しながら温置された。

【０３１８】

解析に先立って、ラットとマウスの血清試料は氷上で解凍され、ゆっくりと混合され、エッペンドルフ遠心分離機において４℃で３分間、１４０００ｒｐｍで遠心分離された。検量線および対照試料はラットとマウス血清で調製された。Ｔｅｃａｎ　Ｅｖｏ自動化リキッドハンドリングステーションを使用して、検量線、高、中および低対照、ならびに血清試料をアッセイ緩衝液中に希釈し、１％最終血清濃度を一定に保った。ＭＳＤプレートは再度洗浄され、実験試料、検量線試料およびブランクの他に高、中および低対照が添加された（７０μＬ／ウェル）。プレートは覆いをされ、室温で振盪（６００ｒｐｍ）しながら１時間温置された。

【０３１９】

温置後、ＭＳＤプレートは洗浄され、７０μＬのスルフォタグ付きヤギ抗マウスＩｇＧ（Ｍｅｓｏ　Ｓｃａｌｅ　Ｄｉｓｃｏｖｅｒｙ；アッセイ緩衝液で１μｇ／ｍＬまで希釈）が各ウェルに添加された。ＭＳＤプレートは覆いをされ、室温で１時間、振盪（６００ｒｐｍ）しながら温置され、次に、プレートは洗浄されて、２×Ｒｅａｄ　Ｂｕｆｆｅｒ（Ｍｅｓｏ　Ｓｃａｌｅ　Ｄｉｓｃｏｖｅｒｙ）を用いて展開された。化学発光は、ＭＳＤ　Ｓｅｃｔｏｒ　Ｉｍａｇｅｒ　６０００上で１０分以内に測定された。

【０３２０】

検量線は、４パラメーターロジスティックフィットを使用して解析され、試料濃度は、ＸＬｆｉｔ４ソフトウェア２．２．１版Ｂｕｉｌｄ１６（Ｍｉｃｒｏｓｏｆｔ　Ｃｏｒｐｏｒａｔｉｏｎ、Ｒｅｄｍｏｎｄ、ＷＡ）により計算された。薬物動態パラメーターは、非区画解析により、Ｗｉｎｏｎｌｉｎソフトウェア５．０．１版（Ｐｈａｒｓｉｇｈｔ　Ｃｏｒｐｏｒａｔｉｏｎ、Ｍｏｕｎｔａｉｎ　Ｖｉｅｗ、ＣＡ）を使用して動物ごとに計算された。

【０３２１】

実施例５．１．２：ＳＤラットおよびＢａｌｂ／Ｃマウスにおいて実施される２Ｂ５．８．０の薬物動態実験

外科的に改変された（頸静脈カニューレ処置された、ＪＶＣ）通常の雄と雌のスプラークドーリーラット（生後ほぼ７週間、体重２４０－３９０グラム）は、Ｃｈａｒｌｅｓ　Ｒｉｖｅｒ　Ｌａｂｏｒａｔｏｒｉｅｓ（Ｗｉｌｍｉｎｇｔｏｎ、ＭＡ）から購入された。動物は、１２時間明／暗周期下、一定温度と湿度に維持された部屋に収容され、通常の齧歯類固形飼料で飼われ、適宜、餌と水を与えられた。動物の水和および臨床状態は毎日モニターされた。

【０３２２】

雄と雌のＢａｌｂ／Ｃマウス（体重ほぼ０．０２５ｋｇ）は、Ｃｈａｒｌｅｓ　Ｒｉｖｅｒ　Ｌａｂｏｒａｔｏｒｉｅｓ（Ｗｉｌｍｉｎｇｔｏｎ、ＭＡ）から購入された。動物は、適宜、餌と水を与えられた。血液試料は様々な時点で（各時点で５マウス）収集され（ラットからは尾静脈を介して、マウスからは心穿刺により０．２ｍＬ）、室温で３０分間、凝固させ、１３２００ｒｐｍで３分間遠心分離され、血清はエッペンドルフチューブに移され、－８０℃で凍結保存された。

【０３２３】

ラットでの静脈内投与に続いて、２Ｂ５．８．０は、抗体に典型的な二相指数関数的減衰を示した。２Ｂ５．８．０排除および分布容積は低く（表１８）、半減期は長くＴ１／２：９．１と８．９日（それぞれ、雄と雌で）であった。大きな動物間可変性は雌ラット間で見られたが、雄では見られなかった。

【０３２４】

Ｂａｌｂ／ＣマウスにおけるＩＶ投与に続いて、２Ｂ５．８．０は非常に長い半減期（雄と雌でそれぞれ２６．３日と１６．２日）を示し、排除と分布容積は低かった（表１８）。マウスにおける腹腔内投与に続いて、初期の時点では、雌で大きな動物間可変性が観察された。吸収は遅く、高Ｃｍａｘの３７－４９μｇ／ｍｌは１－２日間までに到達された。半減期は長く（１３．８－１６．１日）、バイオアベイラビリティは良好であった（６５．８－７２．０％）。

【０３２５】

【表１８】

表１８；スプラークドーリーラットおよびＢａｌｂ／Ｃマウスにおける２Ｂ５．８．０の主要薬物動態パラメーター

ＩＶ							
種／用量		$T_{1/2}$（日）	ＣＬ（mL／hr／kg）	Ｖｚ（mL／kg）	Ｖｓｓ（mL／kg）	$AUC_{0-\infty}$（mg・hr／mL）	ＭＲＴ（日）
ラット（4mg／kg）	M（N=5）	9．1±1．3	0．41±0．03	127±18．9	122±18．5	9．9±0．7	12．6±1．6
	F（N=3）	8．5±2．2	0．37±0．13	101±13．1	88±6．2	12．0±4．6	10．8±3．5
マウス（4mg／kg）	M	26．3	0．15	135	134	26．9	37．5
	F	16．2	0．16	92	89	24．5	22．8
ＩＰ							
種／用量		C_{max}（μg／mL）	Ｔｍａｘ（日）	$T_{1/2}$（日）	ＭＲＴ（日）	$AUC_{0-\infty}$（mg・hr／mL）	Ｆ（%）
マウス（4mg／kg）	M	37．3	2	16．1	23．4	19．4	72
	F	49．4	1	13．8	19．3	16．1	65．8

【０３２６】

実施例５．１．３：組み換えヒト化抗ＰＧＥ$_2$　ｈｕ２Ｂ５．７およびｈｕ２Ｂ５．４の薬物動態解析

ｈｕ２Ｂ５．７およびｈｕ２Ｂ５．４を用いる薬物動態実験がスプラークドーリーラットにおいて実施された。雄のラットは、単回投与の４ｍｇ／ｋｇのｈｕ２Ｂ５．７およびｈｕ２Ｂ５．４を静脈内投与され、血清試料は抗原捕捉ベース化学発光ＭＳＤ（Ｍｅｓｏ　Ｓｃａｌｅ　Ｄｉｓｃｏｖｅｒｙ）法を使用して解析された。薬物動態パラメーターは、ＷｉｎＮｏｎｌｉｎを使用する非区画解析により計算された。

【０３２７】

実施例５．１．３．１：ＰＫ血清試料中のＨｕ２ｂ５．７を定量化するために使用されるアッセイ

以下のＭＳＤアッセイを使用して、ラット血清中のｈｕ２Ｂ５．７およびｈｕ２Ｂ５．４濃度を測定した。

【０３２８】

ＭＳＤストレプトアビジンプレート（Ｍｅｓｏ　Ｓｃａｌｅ　Ｄｉｓｃｏｖｅｒｙ）は

、０．０５％Ｔｗｅｅｎ－２０を含有するリン酸緩衝生理食塩水（１０×ＰＢＳ、Ａｂｂｏｔｔ Ｂｉｏｒｅｓｅａｒｃｈ Ｃｅｎｔｅｒ、Ｍｅｄｉａ Ｒｏｏｍ、Ｗｏｒｃｅｓｔｅｒ、ＭＡおよびＴｗｅｅｎ－２０、Ｓｉｇｍａ、Ｓｔ．Ｌｏｕｉｓ、ＭＯから希釈）を用いて洗浄された。プレートは、室温で振盪（６００ｒｐｍ）しながら覆いをかけて１時間、２５０μＬ／ウェル ブロッキング溶液（ＭＳＤ Ｂｌｏｃｋ、Ｍｅｓｏ Ｓｃａｌｅ Ｄｉｓｃｏｖｅｒｙ、ＰＢＳ中３％最終濃度まで希釈）を用いて遮断された。洗浄後、７０μＬのビオチン化PGE_2（プロスタグランジンE_2－ビオチンアミド、Ｃａｙｍａｎ Ｃｈｅｍｉｃａｌ、Ａｎｎ Ａｒｂｏｒ、Ｍｉｃｈｉｇａｎ、カタログ番号１００６９８７、ロット番号１９０８３１－１９１０２８、アッセイ緩衝液中０．０１μｇ／ｍＬ）を各ウェルに添加した。プレートは覆いをされ、室温で１時間、振盪（６００ｒｐｍ）しながら温置された。

【０３２９】

解析に先立って、ラット血清試料は氷上で解凍され、ゆっくりと混合され、エッペンドルフ遠心分離機において４℃で３分間、１４０００ｒｐｍで遠心分離された。検量線および対照試料はラット血清で調製された。Ｔｅｃａｎ Ｅｖｏ自動化リキッドハンドリングステーションを使用して、検量線、高、中および低対照、ならびに血清試料をアッセイ緩衝液中に希釈し、１％最終血清濃度を一定に保った。ＭＳＤプレートは再度洗浄され、実験試料、検量線試料およびブランクの他に高、中および低対照が添加された（７０μＬ／ウェル）。プレートは覆いをされ、室温で振盪（６００ｒｐｍ）しながら１時間温置された。

【０３３０】

温置後、ＭＳＤプレートは洗浄され、７０μＬのスルフォタグ付きヤギ抗ヒトＩｇＧ（Ｍｅｓｏ Ｓｃａｌｅ Ｄｉｓｃｏｖｅｒｙ；アッセイ緩衝液で１μｇ／ｍＬまで希釈）が各ウェルに添加された。ＭＳＤプレートは覆いをされ、室温で１時間、振盪（６００ｒｐｍ）しながら温置され、次に、プレートは洗浄されて、２×Ｒｅａｄ Ｂｕｆｆｅｒ（Ｍｅｓｏ Ｓｃａｌｅ Ｄｉｓｃｏｖｅｒｙ）を用いて展開された。化学発光は、ＭＳＤ Ｓｅｃｔｏｒ Ｉｍａｇｅｒ ６０００上で１０分以内に測定された。

【０３３１】

検量線は、４パラメーターロジスティックフィットを使用して解析され、試料濃度は、ＸＬｆｉｔ４ソフトウェア２．２．１版Ｂｕｉｌｄ１６（Ｍｉｃｒｏｓｏｆｔ Ｃｏｒｐｏｒａｔｉｏｎ、Ｒｅｄｍｏｎｄ、ＷＡ）により計算された。薬物動態パラメーターは、非区画解析により、Ｗｉｎｏｎｌｉｎソフトウェア５．０．１版（Ｐｈａｒｓｉｇｈｔ Ｃｏｒｐｏｒａｔｉｏｎ、Ｍｏｕｎｔａｉｎ Ｖｉｅｗ、ＣＡ）を使用して動物ごとに計算された。

【０３３２】

実施例５．１．３．２：スプラークドーリーラットにおいて実施される薬物動態実験

外科的に改変された（頸静脈カニューレ処置された、ＪＶＣ）雄のスプラークドーリーラット（生後ほぼ7週間、体重２４０－３９０グラム）は、Ｃｈａｒｌｅｓ Ｒｉｖｅｒ Ｌａｂｏｒａｔｏｒｉｅｓ（Ｗｉｌｍｉｎｇｔｏｎ、ＭＡ）から購入された。動物は、１２時間明／暗周期下、一定温度と湿度に維持された部屋に収容され、通常の齧歯類固形飼料で飼われ、適宜、餌と水を与えられた。動物の水和および臨床状態は毎日モニターされた。

【０３３３】

０．２ｍＬの血液試料は様々な時点でラットから収集され、室温で３０分間、凝固させ、１３２００ｒｐｍで３分間遠心分離され、血清はエッペンドルフチューブに移され、－８０℃で凍結保存された。

【０３３４】

静脈内投与に続いて、ｈｕ２Ｂ５．７およびｈｕ２Ｂ５．４血清濃度は、抗体に典型的な二相指数関数的に低下した。Ｈｕ２Ｂ５．７およびｈｕ２Ｂ５．４排除および分布容積は低く、半減期は長くＴ１／２：両方の抗体で１２．４日であった（表１９）。約１０－

１４日後、数匹の動物は血清ｈｕ２Ｂ５．７濃度の思いがけない低下を示した。これらの突然の低下は、抗薬物抗体（ＡＤＡ）の発生のせいであった可能性があるが、これは確証されなかった。考えられるＡＤＡ応答を起こした動物は、最終薬物動態計算から取り除かれた。

【０３３５】

【表１９】

表１９：４ｍｇ／ｋｇの静脈内投与後の雄のスプラークドーリーラットにおけるｈｕ２Ｂ５．７およびｈｕ２Ｂ５．４の主要薬物動態パラメーター

ＩＶ							
抗体／用量		$T_{1/2}$（日）	ＣＬ（mL／hr／kg）	Ｖｚ（mL／kg）	Ｖｓｓ（mL／kg）	$AUC_{0-\infty}$（mg・hr／mL）	ＭＲＴ（日）
ｈｕ２Ｂ５．７／４ｍｇ／ｋｇ	（Ｎ＝３）	１２．４±０．６	０．４１±０．０７	１７６±３０．８	１６５±１９．８	９．９±１．８	１６．８±１．０
ｈｕ２Ｂ５．４／４ｍｇ／ｋｇ	（Ｎ＝４）	１２．４±５．１	０．３５±０．０７	１４３±４０．２	１４５±３１．８	１１．８±２．０	１８．０±６．０

【０３３６】

実施例４．４：組み換えマウスおよびヒト化ＰＧＥ$_2$抗体のインビボ効力

抗ＰＧＥ$_2$抗体のインビボ効力は以下の通りに評価される。

【０３３７】

実施例４．４．１：カラゲニン誘導足蹠浮腫モデルにおけるマウスおよびヒト化抗ＰＧＥ$_2$抗体のインビボ効力

カラゲニン誘導足蹠浮腫は、生得的免疫機能の急性型齧歯類モデルである。マウス抗ＰＧＥ$_2$抗体２Ｂ５－８．０のインビボ効力は、カラゲニン誘導足浮腫モデルにおいて評価される。カラゲニンを用いた足炎症の誘導はすでに記載されているのと同様に実施される（Ｊｏｓｅｐｈ Ｐ．Ｐｏｒｔａｎｏｖａ、ｅｔ ａｌ．Ｊ．Ｅｘｐ．Ｍｅｄ．１８４：８８３－８９１（１９９６））。炎症性物質の内皮（ＩＤ）注射により、好中球と流動性浮腫が急速に流入し、これはほぼ４時間でピークに達し、続いてマクロファージと単球が流入し、これはほぼ４８時間でピークに達する。Ｃ５７．ＢＬ／６マウス（生後８－１０週間、Ｊａｃｋｓｏｎ Ｌａｂｏｒａｔｏｒｉｅｓ、Ｂａｒ Ｈａｒｂｏｒ、ＭＥ）は、３０μＬのＰＢＳ（左）またはＰＢＳ中のλカラゲニン（Ｓｉｇｍａ Ａｌｄｒｉｃｈ、Ｓｔ．Ｌｏｕｉｓ、ＭＯ）（右）を濃度５．０ｍｇ／ｍＬ（１５０μｇ／マウス）で、後ろ足蹠に内皮注射された。後ろ足蹠の厚みは、基線（時間＝０）とカラゲニンチャレンジ４時間後に、Ｄｙｐｅｒバネ測径器モデル番号３１０－１１９により測定された。足蹠の厚みの有意差は、スチューデント両側ｔ検定で、処置群ごとの平均足膨脹を媒体と比較することにより決定された。マウスは、カラゲニンチャレンジの１８時間前に腹腔内（ＩＰ）に用量漸増法の抗ＰＧＥ$_2$抗体（２Ｂ５－８．０）を、またはチャレンジの２時間前にインドメタシンを経口で与えられた。測定されたエンドポイントは、処置４時間後の右足と左足間の足膨脹（浮腫）の差であった。抗ＰＧＥ$_2$抗体は、足浮腫を用量依存的に抑制し、インドメタシンにより達成される最大抑制に匹敵する、１０ｍｇ／ｋｇで足膨脹の最大４０－５０％抑制を提供した（表２０）。

【０３３８】

【表２０】

表２０：Ａｂ処置後のマウスカラゲニン誘導足蹠浮腫における足膨脹

	媒体（ＰＢＳ）	抗PGE_2（１０ｍｇ／ｋｇ、腹腔内）	インドメタシン（３ｍｇ／ｋｇ、経口）
△足膨脹（ｍｍ）	０．８５７±０．０６	０．５２９±０．０４	０．４８６±０．０３
抑制（％）	該当なし	３８±４．６	５７±３．５

【０３３９】

実施例４．４．２：カラゲニン誘導痛覚過敏モデルにおけるマウスおよびヒト化抗PGE_2抗体のインビボ効力

マウス抗PGE_2抗体２Ｂ５－８．０およびヒト化抗PGE_2抗体Ｈｕ２Ｂ５．７のインビボ効力は、カラゲニン誘導痛覚過敏を決定することにより評価される。カラゲニンを用いる足炎症の誘導は、すでに記載されている通りに実施される（Ｊｏｓｅｐｈ Ｐ．Ｐｏｒｔａｎｏｖａ、ｅｔ ａｌ．Ｊ．Ｅｘｐ．Ｍｅｄ．１８４：８８３－８９１（１９９６））。痛覚過敏は、無菌食塩水中０．１％カラゲニン溶液（ＦＭＣ Ｃｏｒｐ．、Ｒｏｃｋｌａｎｄ、ＭＥ）を０．１ｍｌ、２００ｇ雄スプラークドーリーラット（Ｃｈａｒｌｅｓ Ｒｉｖｅｒ Ｌａｂｏｒａｔｏｒｉｅｓ、Ｐｏｒｔａｇｅ、ＭＥ）の後の足蹠に注射することにより誘導される。熱刺激に対する痛覚過敏応答は、Ｈａｒｇｒｅａｖｅｓ ｅｔ ａｌ．Ｐａｉｎ．３２：７７－８８頁（１９８８）の方法により同一動物において決定される。後足は、注射後の選択された時間に高強度の映写用電球から放射される放射熱に曝露される。各後足が熱源に接触したままでいる時間は最近の０．１秒まで測定される。痛覚過敏応答は、各動物のカラゲニンおよび食塩水を注射された足間の潜時離脱期間の差として表される。ある種の実験では、ラットは、カラゲニン投与の１時間前に、０．５％メチルセルロース／０．０２５％Ｔｗｅｅｎ８０（Ｓｉｇｍａ Ｃｈｅｍｉｃａｌ Ｃｏ．、Ｓｔ．Ｌｏｕｉｓ、ＭＯ）中のインドメタシンを強制経口投与により投与される。他のラットは、カラゲニン注射１８時間前に、マウス抗PGE_2ｍＡｂである２Ｂ５－８．９、またはヒト化抗PGE_2抗体であるＨｕ２Ｂ５．７、またはアイソタイプ対応抗体を腹腔内に注射される。

【０３４０】

実施例４．４．２：コラーゲン誘発関節炎におけるマウス抗PGE_2抗体のインビボ効力

ＩＩ型ウシコラーゲン（凍結乾燥された）は、ユタ大学（Ｓａｌｔ Ｌａｋｅ Ｃｉｔｙ、ＵＴ）から入手された。雄のＤＢＡ／Ｊマウス（生後８－１０週間、Ｊａｃｋｓｏｎ Ｌａｂｏｒａｔｏｒｉｅｓ、Ｂａｒ Ｈａｒｂｏｒ、ＭＥ）は、０．１Ｎの酢酸に溶解された１００μｇのＩＩ型ウシコラーゲンと１００μｇの熱不活性化されたマイコバクテリウム・ツベルクローシス（Ｍｙｃｏｂａｃｔｅｒｉｕｍ ｔｕｂｅｒｃｕｌｏｓｉｓ）Ｈ３７Ｒａ（Ｃｏｍｐｌｅｔｅ Ｆｒｅｕｎｄ’ｓ Ａｄｊｕｖａｎｔ、Ｄｉｆｃｏ、Ｌａｕｒｅｎｃｅ、ＫＳ）を含有する１００μＬの乳濁液を尾部の基部の皮内に免疫された。コラーゲンを用いた免疫化の２１日後、マウスは、１ｍｇのザイモサンＡ（Ｓｉｇｍａ、Ｓｔ．Ｌｏｕｉｓ、ＭＯ）を用いて腹腔内に追加免疫された。追加免疫に続いて、マウスは関節炎について毎日モニターされた。各足は、以下の基準：すなわち、０＝正常；１＝一部位、足または足首の膨脹；２＝足と足首の膨脹、および３＝強直症により点数化された。点数は動物ごとに合計され、各群中のすべての動物の総平均はＭＡＳとして表された。臨床点数に加えて、マウスは、Ｄｙｐｅｒバネ測径器モデル番号３１０－１１９を使用して、足浮腫についても評価された。２４日目から２８日目の間に疾患の最初の臨床的徴候があったマウスが実験用に登録された。実験終了時に、各群から６足が回収され、マイクロＣＴおよび組織学的検査のために１０％中性緩衝ホルマリン中に保存された。

【０３４１】
マイクロコンピュータ断層撮影法は、Ｓｃａｎｃｏ μＣＴ－４０装置（Ｓｃａｎｃｏ Ｍｅｄｉｃａｌ ＡＧ）上、６０ｋＶｐで１６０μＡで実施された。後足（７０％エタノールに保存された）は、イメージングチューブにしっかり留められ、足根骨容積は脛骨の根元から足骨／中足骨関節までのマウス足首の１．８ｍｍ切片について１８μｍの解像度で測定された。次に、生のマイクロコンピュータ断層撮影画像は、Ｓｃａｎｃｏ ＡＧ μＣＴ評価プログラムを使用して解析された。

【０３４２】
病理組織学解析では、ホルマリン固定足は切開され、Ｇｉｌｌｓ ３ヘマトキシリン（Ｒｉｃｈａｒｄ－Ａｌｌａｎ Ｓｃｉｅｎｔｉｆｉｃ、Ｋａｌａｍａｚｏｏ、ＭＩ）およびフロキシンを有するエオシン（Ｎｅｗｃｏｍｅｒ Ｓｕｐｐｌｙ、Ｍｉｄｄｌｅｔｏｎ、ＭＩ）を用いて染色された。疾患の重症度は、以下の基準：すなわち、０＝正常；１＝最小変化；２＝軽度変化；３＝中程度変化；および４＝重症変化を使用して、組織学的に評価された。点数は動物ごとに合計され、総計は各群のすべての動物の平均として表された。

【０３４３】
抗PGE_2単独の治療効果は、ヒト関節リウマチの標準前臨床モデルであるマウス（雄のＤＢＡ／１Ｊ）コラーゲン誘導関節炎において評価された。薬物処置は、ウシＩＩ型コラーゲンを用いる免疫化後マウスが関節炎疾患の徴候を現した後に開始された。マウスは関節炎の臨床的徴候について視覚的に点数化され、結果は、平均関節炎点数（ＭＡＳ）として記録された。時間をかけてモニターされた足膨脹およびＭＡＳは、曲線下面積（ＡＵＣ）としても表された（表２１）。疾患発症後、抗PGE_2ｍＡｂ ２Ｂ５を用いた処置により、ＭＡＳを表すＡＵＣは２２％減少した。

【０３４４】
【表２１】

表２１：抗$PGE_2$２Ｂ５－８．０処置後のマウスＣＩＡにおける疾患点数、膨脹および骨容積

	媒体（ＰＢＳ）	抗PGE_2（８ｍｇ／ｋｇ、２×／週、腹腔内）
ＭＡＳ（ＡＵＣ）（点数#日）	７４±７．３	５７．４±６．７
足膨脹（ＡＵＣ）（mm#日）	１４．３±１．６	８．４±１．３
骨容積（mm^3）	１．２±０．２	１．６±０．１

【０３４５】
実施例４．４．２：アジュバンド誘発関節炎におけるマウス抗PGE_2抗体のインビボ効力

マウス抗PGE_2抗体２Ｂ５－８．０のインビボ効力は、アジュバンド誘発関節炎モデルにおいて評価される。関節炎は、すでに記載されているミネラルオイル中のマイコバクテリア・ブチリクム（Ｍｙｃｏｂａｃｔｅｒｉｕｍ ｂｕｔｙｒｉｃｕｍ）（Ｄｉｆｃｏ Ｌａｂｏｒａｔｏｒｉｅｓ、Ｄｅｔｒｏｉｔ、ＭＩ）の足蹠注射により雄のルイスラット（Ｈａｒｌａｎ、Ｉｎｄｉａｎａｐｏｌｉｓ、ＩＮ）に誘導される。デキサメタゾンおよびインドメタシン（Ｓｉｇｍａ Ｃｈｅｍｉｃａｌ Ｃｏ．）はメチルセルロース／Ｔｗｅｅｎ中に懸濁され、投与量それぞれ０．１および２ｍｇ／ｋｇで強制投与により１日２回投与される。２Ｂ５－８．０およびアイソタイプ対照は、用量１０ｍｇ／ｋｇで腹腔内注射により毎日投与される。処置は、アジュバンド注射の１５日後に開始され、２１日目の未注射対側足の足容積の最終評価まで続けられる。マウスは、末梢関節における関節炎の外観について週２回慎重に検査され、疾患活動性を表す点数が決定される。

【０３４６】

参照による組み込み

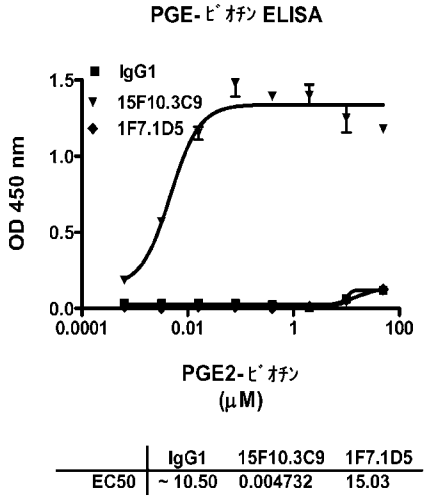
本出願を通して引用されてもよい、すべての引用される参考資料（参考文献、特許、特許出願およびウェブサイトを含む）の内容は、これによって、これらの参考資料がそこに記載されているかのように、参考資料の全体を参照することにより明確に組み込まれる。本発明の実施は、別段の記載がない限り、当該技術分野において周知である免疫学、分子生物学および細胞生物学の従来技術を使用する。

【０３４７】

均等

本発明は、その精神または本質的な特徴から逸脱せずに他の具体的な形態において体現されもよい。したがって、前述の実施形態は、本明細書に記載されている本発明を限定するというよりはむしろ、すべての点において例示していると考えるべきである。よって、本発明の範囲は、前述の記載によるというよりはむしろ、添付される特許請求の範囲によって示され、したがって、特許請求の範囲の意味および均等の範囲内にあるすべての変更は本明細書に包含されることが意図される。

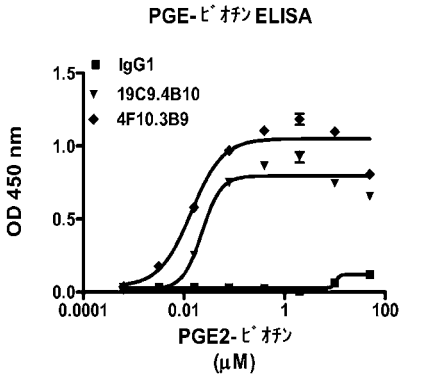
【図１】



	IgG1	15F10.3C9	1F7.1D5
EC50	~ 10.50	0.004732	15.03

FIGURE 1

【図２】



	IgG1	19C9.4B10	4F10.3B9
EC50	~ 10.50	0.02297	0.01400

FIGURE 2

【図３】

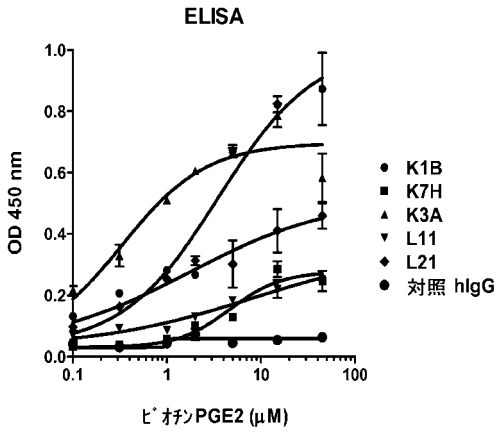


FIGURE 3

【図４】

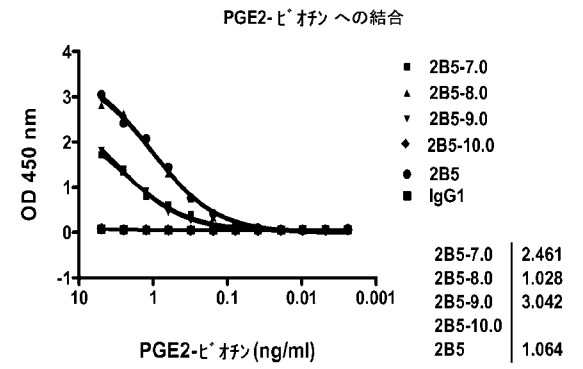


FIGURE 4

【図５】

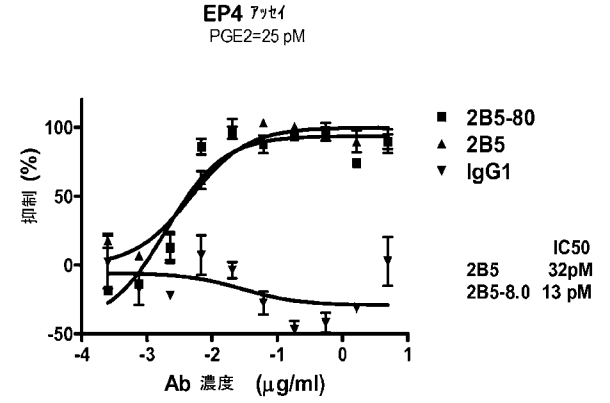


FIGURE 5

【図６】

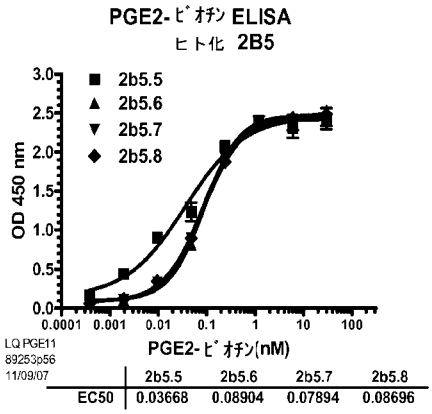


FIGURE 6

【図７】

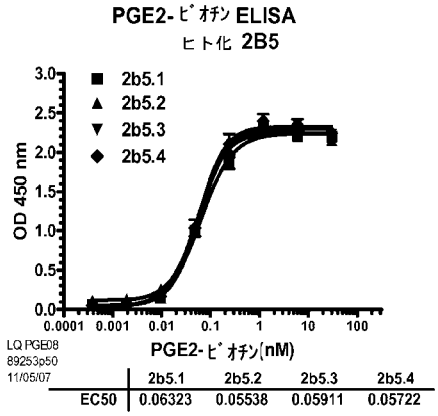


FIGURE 7

【図８】



FIGURE 8

【図９】

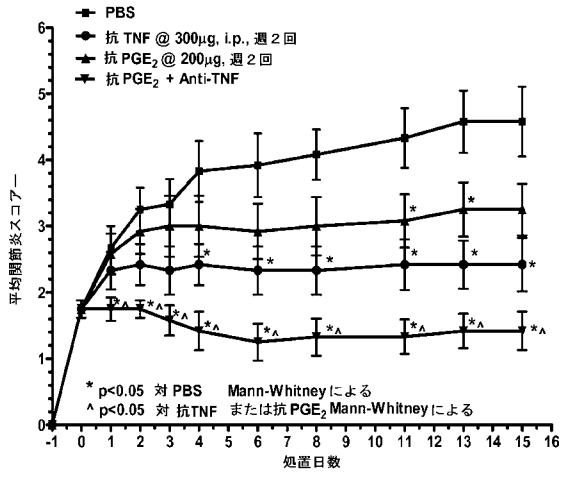


FIGURE 9

【配列表】
2016029027000001.app
【手続補正書】
【提出日】平成27年7月8日(2015.7.8)
【手続補正１】
【補正対象書類名】特許請求の範囲
【補正対象項目名】全文
【補正方法】変更
【補正の内容】
【特許請求の範囲】
【請求項１】
抗体またはその抗原結合断片であって、前記抗体又は抗原結合断片がプロスタグランジンＥ$_2$（ＰＧＥ$_2$）に結合することができ、前記抗体又は抗原結合断片は配列番号４４の相補性決定領域（ＣＤＲ）（ＧＹＴＦＴＫＹＷＬＧ、ＤＩＹＰＹＧＤＹＴＨＹＮＥＫＦＫＤ及びＳＤＧＳＳＴＹ）及び配列番号４５のＣＤＲ（ＴＳＳＱＮＩＶＨＳＮＧＮＴＹＬＥ、ＫＶＳＮＲＦＳＧ及びＦＱＶＳＨＶＰＹＴＦ）を含む、抗体またはその抗原結合断片。
【請求項２】
抗体又はその抗原結合断片が、プロスタグランジンＥ$_2$に結合することができ、前記抗体又はその抗原結合断片が、下記の（ａ）及び（ｂ）からなる群から選択される可変ドメイン配列を含む前記抗体又はその抗原結合断片、
（ａ）配列番号４４及び配列番号４５及び
（ｂ）配列番号４０及び配列番号４１。
【請求項３】
抗体又はその抗原断片が、
（ａ）プロスタグランジンＥ$_2$の生物学的機能を調節することが可能である、
（ｂ）プロスタグランジンＥ$_2$を中和することが可能である、
（ｃ）ＥＰ１、ＥＰ２、ＥＰ３およびＥＰ４からなる群から選択される１以上のプロスタグランジンＥ$_2$受容体へのプロスタグランジンＥ$_2$の結合を妨げることが可能である、
（ｄ）プロスタグランジンＥ$_2$受容体であるＥＰ１、ＥＰ２、ＥＰ３およびＥＰ４へのプロスタグランジンＥ$_2$の結合を妨げることが可能である、
（ｅ）ＥＬＩＳＡアッセイを使用して、約１×１０$^{-6}$から約１×１０$^{-7}$Ｍ、約１×１０$^{-7}$から約１×１０$^{-8}$Ｍ、約１×１０$^{-8}$から約１×１０$^{-9}$Ｍ、約１×１０$^{-9}$から約１×１０$^{-10}$Ｍ、約１×１０$^{-10}$から約１×１０$^{-11}$Ｍおよび約１×１０$^{-11}$から約１×１０$^{-12}$Ｍからなる群から選択されるＥＣ$_{50}$でプロスタグランジンＥ$_2$に結合することが可能である、及び／又は
（ｆ）ＥＰ４受容体媒介ＦＬＩＰＲアッセイにおいて、約１×１０$^{-6}$から約１×１０$^{-7}$Ｍ、約１×１０$^{-7}$から約１×１０$^{-8}$Ｍ、約１×１０$^{-8}$から約１×１０$^{-9}$Ｍ、約１×１０$^{-9}$から約１×１０$^{-10}$Ｍ、約１×１０$^{-10}$から約１×１０$^{-11}$Ｍおよび約１×１０$^{-11}$から約１×１０$^{-12}$からなる群から選択されるＩＣ$_{50}$で、プロスタグランジンＥ$_2$受容体ＥＰ４に対して、プロスタグランジンＥ$_2$により誘導されるカルシウム流入を抑制することが可能である、
請求項１又は２に記載の抗体又はその抗原結合断片。
【請求項４】
親和性成熟されている、請求項１－３のいずれか一項に記載の抗体又はその抗原結合断片。
【請求項５】
さらにリンカーポリペプチドを含む、請求項１－４のいずれか一項に記載の抗体又は抗原結合断片。
【請求項６】
ヒトアクセプターフレームワーク配列をさらに含む、請求項１に記載の抗体又は抗原結

合断片。
【請求項７】
免疫グロブリン分子、ジスルフィド連結Ｆｖ、モノクローナル抗体、ｓｃＦｖ、キメラ抗体、単一ドメイン抗体、ＣＤＲ移植された抗体、ダイアボディ、ヒト化抗体、多特異的抗体、Ｆａｂ、二重特異的抗体、Ｆａｂ’、二特異的抗体、Ｆ（ａｂ’）２およびＦｖからなる群から選択される、請求項１－６のいずれか一項に記載の抗体又はその抗原結合断片。
【請求項８】
ヒトＩｇＭ定常ドメイン、ヒトＩｇＧ４定常ドメイン、ヒトＩｇＧ１定常ドメイン、ヒトＩｇＥ定常ドメイン、ヒトＩｇＧ２定常ドメイン、およびヒトＩｇＧ３定常ドメイン、およびヒトＩｇＡ定常ドメインからなる群から選択される重鎖免疫グロブリン定常ドメインをさらに含む、請求項１－７のいずれか一項に記載の抗体又はその抗原結合断片。
【請求項９】
免疫グロブリン定常ドメインが、配列番号１－４からなる群から選択されるアミノ酸配列を有する、請求項８に記載の抗体又はその抗原結合断片。
【請求項１０】
請求項１－９のいずれか一項に記載の抗体又はその抗原結合断片を含む抗体連結体であって、さらに免疫接着分子、造影剤、治療剤又は細胞毒性剤をさらに含む、抗体連結体。
【請求項１１】
造影剤が、放射性標識、酵素、蛍光標識、発光標識、生物発光標識、磁気標識およびビオチンからなる群から選択される造影剤である、請求項１０に記載の抗体連結体。
【請求項１２】
放射性標識が、^{3}Ｈ、^{14}Ｃ、^{35}Ｓ、^{90}Ｙ、^{99}Ｔｃ、^{111}Ｉｎ、^{125}Ｉ、^{131}Ｉ、^{177}Ｌｕ、^{166}Ｈｏおよび^{153}Ｓｍからなる群から選択される放射性標識である、請求項１１に記載の抗体連結体。
【請求項１３】
治療剤又は細胞毒性剤が、代謝抑制剤、アルキル化剤、抗生物質、増殖因子、サイトカイン、抗血管新生剤、抗有糸分裂剤、アントラサイクリン、トキシン又はアポトーシス剤である、請求項１０に記載の抗体連結体。
【請求項１４】
請求項１－９のいずれか一項に記載の抗体又はその抗原結合断片であって、
（ａ）抗体又はその抗原結合断片がヒトグリコシル化パターンを有する、
（ｂ）抗体又はその抗原結合断片が結晶化されている、
（ｃ）抗体又はその抗原結合断片が無担体医薬徐放結晶である、
（ｄ）インビボにおいて、可溶性対応物よりも長い半減期を有する、（ａ）～（ｃ）の抗体又はその抗原結合断片、及び／又は
（ｅ）結晶化の後、生物学的活性を保持している、（ａ）～（ｄ）の抗体又はその抗原結合断片である、
抗体又はその抗原結合断片。
【請求項１５】
請求項１－９のいずれか一項に記載の抗体又は抗原結合断片をコードする単離された核酸。
【請求項１６】
ｐｃＤＮＡ、ｐＴＴ、ｐＴＴ３、ｐＥＦＢＯＳ、ｐＢＶ、ｐＪＶ、ｐＢＪ又はｐＡ２を含んでもよい、請求項１５に記載の単離された核酸を含むベクター。
【請求項１７】
宿主細胞が原核細胞、Ｅ．コリ（Ｅ．ｃｏｌｉ）細胞、真核細胞、原生生物細胞、動物細胞、植物細胞、真菌細胞、哺乳動物細胞、鳥類細胞、昆虫細胞、ＣＨＯ細胞、ＣＯＳ細胞、ＨＥＫ２９３細胞、酵母細胞、サッカロミセス・セレビシアエ（Ｓａｃｃｈａｒｏｍｙｃｅｓ　ｃｅｒｅｖｉｓｉａｅ）細胞および昆虫Ｓｆ９細胞からなる群から選択されて

もよい請求項１６に記載のベクターを含む宿主細胞。
【請求項１８】
プロスタグランジンＥ$_2$に結合することが可能である抗体又はその抗原結合断片を産生するのに十分な条件下で、請求項１７に記載の宿主細胞を培養する工程を含む、プロスタグランジンＥ$_2$に結合することが可能である抗体又はその抗原結合断片を作製する方法。
【請求項１９】
（ａ）請求項１４に記載の結晶化された抗体又はその抗原結合断片、
（ｂ）アルブミン、ショ糖、トレハロース、ラクチトール、ゼラチン、ヒドロキシプロピル－β－シクロデキストリン、メトキシポリエチレングリコールおよびポリエチレングリコールからなる群から選択される成分、および
（ｃ）ポリ（アクリル酸）、ポリ（シアノアクリル酸）、ポリ（アミノ酸）、ポリ（無水物）、ポリ（デプシペプチド）、ポリ（エステル）、ポリ（乳酸）、ポリ（乳酸コグリコール酸）またはＰＬＧＡ、ポリ（ｂ－ヒドロキシ酪酸）、ポリ（カプロラクトン）、ポリ（ジオキサノン）、ポリ（エチレングリコール）、ポリ（（ヒドロキシプロピル）メタクリルアミド）、ポリ［（オルガノ）ホスファゼン］、ポリ（オルトエステル）、ポリ（ビニルアルコール）、ポリ（ビニルピロリドン）、無水マレイン酸－アルキルビニルエーテルコポリマー、プルロニックポリオール、アルブミン、アルギン酸、セルロースおよびセルロース誘導体、コラーゲン、フィブリン、ゼラチン、ヒアルロン酸、オリゴ糖、グリカミノグリカン、硫酸多糖類、ならびにそれらの混合物および／またはコポリマーからなる群から選択されてもよい、少なくとも１つのポリマー担体、
を含む、抗体又はその抗原結合断片の放出のための組成物。
【請求項２０】
請求項１－９のいずれか一項に記載の抗体又はその抗原結合断片および医薬として許容される担体を含む医薬組成物。
【請求項２１】
医薬として許容される担体が、抗体又はその抗原結合断片の吸収または分散を増加させるのに有用なアジュバンドとして機能し、該アジュバンドがヒアルロニダーゼであってもよい、請求項２０に記載の医薬組成物。
【請求項２２】
治療剤、造影剤、細胞毒性剤、血管新生阻害剤、キナーゼ阻害剤、共刺激分子遮断剤、接着分子遮断剤、抗サイトカイン抗体またはその機能的断片、メトトレキサート、シクロスポリン、ラパマイシン、ＦＫ５０６、検出可能な標識またはレポーター、ＴＮＦアンタゴニスト、抗リウマチ薬、筋肉弛緩剤、麻酔薬、非ステロイド系抗炎症薬（ＮＳＡＩＤ）、鎮痛剤、麻酔、鎮静剤、局所麻酔、神経筋肉遮断剤、抗微生物剤、抗乾癬剤、コルチコステロイド、アナボリックステロイド、エリスロポエチン、免疫化、イムノグロブリン、免疫抑制剤、成長ホルモン、ホルモン置換薬、放射性医薬、抗うつ剤、抗精神病薬、刺激物質、喘息薬、βアゴニスト、吸入用ステロイド、経口ステロイド、エピネフリンまたはこの類似体、サイトカインおよびサイトカインアンタゴニストからなる群から選択される追加の治療剤をさらに含む、請求項２１に記載の医薬組成物。
【請求項２３】
ヒト対象においてプロスタグランジンＥ$_2$活性を減少させるための請求項１－９のいずれか一項に記載の抗体又はその抗原結合断片を含む組成物。
【請求項２４】
ヒト対象が、自己免疫障害、炎症性障害、腫瘍、関節リウマチ、アレルギー性関節炎、ギランバレー症候群、感染性単核球症、ウイルス性リンパ節症、ヘルペスウイルスによる感染症、多発性硬化症、脱髄疾患、血液障害、溶血性貧血、血小板減少症、内分泌学的障害、糖尿病、アジソン病、特発性副甲状腺機能低下症、慢性リンパ性甲状腺炎、コラーゲン障害、全身性エリテマトーデス、生殖障害、無月経、不妊症、反復流産、子癇、頭頸部腫瘍、肺癌、胃癌、前立腺癌、膵癌、胃腸器官疾患、炎症性腸疾患、潰瘍性大腸炎、クローン病、疼痛、変形性関節炎に関連する疼痛、視覚障害、加齢性黄斑変性症、関節リウマ

チ、骨関節炎、若年性慢性関節炎、化膿性関節炎、ライム関節炎、乾癬性関節炎、反応性関節炎、脊椎関節症、全身性紅斑性狼瘡、クローン病、潰瘍性大腸炎、炎症性腸疾患、インシュリン依存性糖尿病、甲状腺炎、喘息、アレルギー性疾患、乾癬、皮膚炎、強皮症、移植片対宿主病、臓器移植拒絶、臓器移植に関連する急性または慢性免疫疾患、サルコイドーシス、アテローム性動脈硬化症、播種性血管内凝固、川崎病、バセドウ病、ネフローゼ症候群、慢性疲労症候群、ウェゲナー肉芽腫症、ヘノッホ・シェーライン紫斑症、腎臓の顕微鏡的血管炎、慢性活動性肝炎、ブドウ膜炎、敗血症性ショック、毒素性ショック症候群、敗血症症候群、悪液質、感染性疾患、寄生性疾患、後天性免疫不全症候群、急性横断性脊髄炎、ハンチントン舞踏病、パーキンソン病、アルツハイマー病、発作、原発性胆汁性肝硬変、溶血性貧血、悪性腫瘍、心不全、心筋梗塞、アジソン病、孤発性の、多内分泌腺機能低下症候群Ｉ型および多内分泌腺機能低下症候群ＩＩ型、シュミット症候群、成人（急性）呼吸促迫症候群、脱毛症、円形脱毛症、血清反応陰性関節炎、関節炎、ライター病、乾癬性関節炎、潰瘍性大腸性関節炎、腸疾患性滑膜炎、クラミジア、エルシニアおよびサルモネラ関連関節炎、脊椎関節症、アテローム性疾患／アテローム性動脈硬化症、アトピー性アレルギー、自己免疫性水疱性疾患、尋常性天疱瘡、落葉状天疱瘡、類天疱瘡、線状ＩｇＡ病、自己免疫性溶血性貧血、クームス陽性溶血性貧血、後天性悪性貧血、若年性悪性貧血、筋痛性脳脊髄炎／ロイヤルフリー病、慢性粘膜皮膚カンジダ症、巨細胞性動脈炎、原発性硬化性肝炎、突発性自己免疫性肝炎、後天性免疫不全症候群、後天性免疫不全関連疾患、Ｂ型肝炎、Ｃ型肝炎、分類不能型免疫不全症（分類不能型原発性低γグロブリン血症）、拡張型心筋症、女性不妊症、卵巣機能不全、早期卵巣機能不全、繊維性肺疾患、突発性間質性肺炎、炎症後間質性肺疾患、間質性肺炎、結合組織疾患関連間質性肺疾患、混合性結合組織疾患関連肺疾患、全身性硬化症関連間質性肺疾患、関節リウマチ関連間質性肺疾患、全身性紅斑性狼瘡関連肺疾患、皮膚筋炎／多発性筋炎関連肺疾患、シェーグレン病関連肺疾患、強直性脊椎炎関連肺疾患、血管炎性びまん性肺疾患（ｖａｓｃｕｌｉｔｉｃ　ｄｉｆｆｕｓｅ　ｌｕｎｇ　ｄｉｓｅａｓｅ）、ヘモシデローシス関連肺疾患、薬物によって誘導された間質性肺疾患、繊維症、放射性繊維症、閉塞性細気管支炎、慢性好酸球性肺炎、リンパ球浸潤性肺疾患、感染後間質性肺疾患、通風関節炎、自己免疫性肝炎、１型自己免疫性肝炎（古典的自己免疫性またはルポイド肝炎）、２型自己免疫性肝炎（抗ＬＫＭ抗体肝炎）、自己免疫媒介性低血糖症、黒色表皮腫を伴うＢ型インシュリン抵抗性、副甲状腺機能低下症、臓器移植に関連する急性免疫疾患、臓器移植に関連する慢性免疫疾患、変形性関節症、原発性硬化性胆管炎、１型乾癬、２型乾癬、特発性白血球減少症、自己免疫性好中球減少症、腎臓病ＮＯＳ、糸球体腎炎、腎臓の顕微鏡的血管炎、ライム病、円板状紅斑性狼瘡、男性不妊症特発性またはＮＯＳ、精子自己免疫、多発性硬化症（すべてのサブタイプ）、交感性眼炎、結合組織疾患に続発する肺高血圧症、グッドパスチャー症候群、結節性多発動脈炎の肺症状、急性リウマチ熱、リウマチ性脊椎炎、スチル病、全身性硬化症、シェーグレン症候群、高安病／動脈炎、自己免疫性血小板減少症、特発性血小板減少症、自己免疫性甲状腺疾患、甲状腺機能亢進症、甲状腺腫自己免疫性甲状腺機能低下症（橋本病）、萎縮性自己免疫性甲状腺機能低下症、原発性粘液水腫（ｐｒｉｍａｒｙ　ｍｙｘｏｅｄｅｍａ）、水晶体起因性ブドウ膜炎、原発性血管炎、白斑急性肝疾患、慢性肝疾患、アルコール性肝硬変、アルコール誘発性肝障害、胆汁うっ滞（ｃｈｏｌｅｏｓａｔａｔｉｓ）、特異体質性肝疾患、薬物誘発性肝炎、非アルコール性脂肪性肝炎、アレルギーおよび喘息、Ｂ群連鎖球菌（ＧＢＳ）感染、精神障害（例えば、うつ病および統合失調症）、Ｔｈ２型およびＴｈ１型によって媒介される疾病、急性および慢性疼痛（疼痛の様々な形態）、ならびに、肺癌、乳癌、胃癌、膀胱癌、大腸癌、膵臓癌、卵巣癌、前立腺癌および腎臓癌および造血性悪性病変（白血病およびリンパ腫）などの癌、無βリポタンパク質血症、先端チアノーゼ、急性および慢性寄生性または感染性プロセス、急性白血病、急性リンパ芽球性白血病（ＡＬＬ）、急性骨髄性白血病（ＡＭＬ）、急性または慢性細菌感染、急性膵炎、急性腎不全、腺癌、心房（ａｅｒｉａｌ）異所性拍動、ＡＩＤＳ認知症複合、アルコール誘発性肝炎、アレルギー性結膜炎、アレルギー性接触性皮膚炎、アレルギー性鼻炎、同種移植拒絶、α－１－アンチトリプシン欠乏症、筋萎縮

性側索硬化症、貧血、狭心症、前角細胞変性、抗ｃｄ３治療、抗リン脂質症候群、抗受容体過敏症反応（ａｎｔｉ－ｒｅｃｅｐｔｏｒ ｈｙｐｅｒｓｅｎｓｉｔｉｖｉｔｙ ｒｅａｃｔｉｏｎｓ）、大動脈（ａｏｒｄｉｃ）および動脈瘤、大動脈解離、動脈性高血圧、動脈硬化症、動静脈瘻、運動失調、心房細動（持続的または発作性）、心房粗動、房室ブロック、Ｂ細胞リンパ腫、骨移植拒絶、骨髄移植（ＢＭＴ）拒絶、脚ブロック、バーキットリンパ腫、火傷、心不整脈、心機能不全症候群（ｃａｒｄｉａｃ ｓｔｕｎ ｓｙｎｄｒｏｍｅ）、心臓腫瘍、心筋症、心肺バイパス炎症反応、軟骨移植拒絶、小脳皮質変性、小脳疾患、無秩序なまたは多巣性心房頻脈、化学療法関連疾患、慢性骨髄性白血病（ＣＭＬ）、慢性アルコール症、慢性炎症性病変、慢性リンパ性白血病（ＣＬＬ）、慢性閉塞性肺疾患（ＣＯＰＤ）、慢性サリチル酸中毒、結腸直腸癌、うっ血性心不全、結膜炎、接触性皮膚炎、肺性心、冠動脈疾患、クロイツフェルトーヤコブ病、培養陰性敗血症、嚢胞性繊維症、サイトカイン療法関連疾患、ボクサー脳、脱髄性疾患、デング出血熱、皮膚炎、皮膚科学的症状、糖尿病、真性糖尿病、糖尿病性動脈硬化疾患、瀰漫性レビー小体病、拡張型うっ血性心筋症、大脳基底核の疾患、中年のダウン症候群、中枢神経ドーパミン受容体を遮断する薬物によって誘発された薬物誘発性運動疾患、薬物感受性、湿疹、脳脊髄炎、心内膜炎、内分泌疾患、喉頭蓋炎、エプスタインーバーウイルス感染、紅痛症、垂体外路および小脳疾患、家族性血球貪食性リンパ組織球症（ｆａｍｉｌｉａｌ ｈｅｍａｔｏｐｈａｇｏｃｙｔｉｃ ｌｙｍｐｈｏｈｉｓｔｉｏｃｙｔｏｓｉｓ）、致死的胸腺移植組織拒絶、フリードライヒ失調症、機能的末梢動脈疾患、真菌性敗血症、ガス壊疽、胃潰瘍、糸球体腎炎、いずれかの臓器または組織の移植片拒絶、グラム陰性敗血症、グラム陽性敗血症、細胞内生物に起因する肉芽腫、有毛細胞白血病、ハラーホルデン・スパッツ病、橋本甲状腺炎、枯草熱、心臓移植拒絶、血色素症、血液透析、溶血性尿毒症症候群／血栓溶解血小板減少紫斑病、出血、肝炎（Ａ型）、ヒス束不整脈、ＨＩＶ感染／ＨＩＶ神経障害、ホジキン病、運動過剰疾患、過敏症反応、過敏性肺炎、高血圧、運動低下疾患、視床下部－下垂体－副腎皮質系評価、特発性アジソン病、特発性肺繊維症、抗体媒介性細胞毒性、無力症、乳児脊髄性筋萎縮症、大動脈の炎症、Ａ型インフルエンザ、電離放射線曝露、虹彩毛様体炎／ブドウ膜炎／視神経炎、虚血再灌流障害、虚血性発作、若年性関節リウマチ、若年性脊髄性筋萎縮症、カポジ肉腫、腎移植拒絶、レジオネラ、リーシュマニア症、ハンセン病、皮質脊髄系の病変、脂肪血症（ｌｉｐｅｄｅｍａ）、肝臓移植拒絶、リンパ浮腫（ｌｙｍｐｈｅｄｅｒｍａ）、マラリア、悪性リンパ腫、悪性組織球増殖症、悪性黒色腫、髄膜炎、髄膜炎菌血症（ｍｅｎｉｎｇｏｃｏｃｃｅｍｉａ）、代謝性／特発性、偏頭痛、ミトコンドリア多系疾患（ｍｉｔｏｃｈｏｎｄｒｉａｌ ｍｕｌｔｉ．ｓｙｓｔｅｍ ｄｉｓｏｒｄｅｒ）、混合性結合組織病、モノクローナル高ガンマグロブリン血症、多発性骨髄腫、多系統変性（メンセル・デジェリーヌートーマス・シャイードレーガーおよびマシャドージョセフ）、重症筋無力症、マイコバクテリウム・アビウム・イントラセルラーレ、マイコバクテリウム・チュバキュロシス、骨髄形成異常、心筋梗塞、真菌血症疾患、上咽頭癌、新生児慢性肺疾患、腎炎、ネフローゼ、神経変性疾患、神経原性Ｉ筋萎縮、好中球減少性発熱、非ホジキンリンパ腫、腹部大動脈およびその分枝の閉塞、閉塞性動脈疾患、ｏｋｔ３療法、精巣炎／精巣上体炎、精巣炎／精管復元術処置、臓器肥大、骨粗鬆症、膵臓移植拒絶、膵癌、腫瘍随伴性症候群／悪性腫瘍の高カルシウム血症、副甲状腺移植拒絶、骨盤内炎症性疾患、通年性鼻炎、心膜疾患、末梢アテローム硬化性疾患、末梢血管疾患、腹膜炎、悪性貧血、ニューモシスチス・カリニ肺炎、肺炎、ＰＯＥＭＳ症候群（多発神経炎、臓器肥大、内分泌疾患、単クローン性γグロブリン血症および皮膚変化症候群（ｓｋｉｎ ｃｈａｎｇｅｓ ｓｙｎｄｒｏｍｅ））、灌流後症候群（ｐｏｓｔ ｐｅｒｆｕｓｉｏｎ ｓｙｎｄｒｏｍｅ）、ポンプ後症候群（ｐｏｓｔ ｐｕｍｐ ｓｙｎｄｒｏｍｅ）、心筋梗塞後開心術症候群、子癇前症、進行性核上性麻痺、原発性肺高血圧、放射線療法、レイノー現象および病、レイノー病、レフサム病、規則的なＱＲＳ幅の狭い頻脈症（ｒｅｇｕｌａｒ ｎａｒｒｏｗ ＱＲＳ ｔａｃｈｙｃａｒｄｉａ）、腎血管性高血圧、再灌流障害、拘束型心筋症、肉腫、強皮症、老年性舞踏病、レビー小体型の老年性認知症、血清反応陰性関節炎、ショック、鎌形赤血球貧血症、皮膚同種異系移植

拒絶、皮膚変化症候群、小腸移植拒絶、固形腫瘍、固有不整脈（ｓｐｅｃｉｆｉｃ ａｒｒｙｔｈｍｉａｓ）、脊髄性運動失調、脊髄小脳変性、連鎖球菌性筋炎、小脳の構造的病変、亜急性硬化性全脳炎、湿疹、心血管系の梅毒、全身性アナフィラキシー、全身性炎症反応症候群、全身性発症若年性関節リウマチ、Ｔ細胞またはＦＡＢＡＬＬ、毛細血管拡張症、閉塞性血栓血管炎、血小板減少症、毒性、移植、外傷／出血、ＩＩＩ型過敏症反応、ＩＶ型過敏症、不安定狭心症、尿毒症、尿路性敗血症、じんましん、心臓弁膜症、静脈瘤、血管炎、静脈疾患、静脈血栓症、心室細動、ウイルスおよび真菌感染、ウイルス性脳炎（ｖｉｔａｌ ｅｎｃｅｐｈａｌｉｔｉｓ）／無菌性髄膜炎、ウイルス関連血球貪食症候群、ウェルニッケ－コルサコフ症候群、ウィルソン病、いずれかの臓器または組織の異種移植拒絶、急性冠症候群、急性特発性多発性神経炎、急性炎症性脱髄性多発神経根神経障害、急性虚血、成人スチル病、円形脱毛症、アナフィラキシー、抗リン脂質抗体症候群、再生不良性貧血、動脈硬化症、アトピー性湿疹、アトピー性皮膚炎、自己免疫性皮膚炎、連鎖球菌感染に伴う自己免疫障害、自己免疫性腸疾患、自己免疫性難聴、自己免疫性リンパ増殖症候群（ＡＬＰＳ）、自己免疫性心筋炎、自己免疫性早期卵巣機能不全、眼瞼炎、気管支拡張症、水疱性類天疱瘡、循環器疾患、劇症型抗リン脂質抗体症候群、セリアック病、頸椎症、慢性虚血、瘢痕性類天疱瘡、多発性硬化症のリスクを伴う臨床的孤立性症候群（ＣＩＳ）、結膜炎、若年発症精神障害、慢性閉塞性肺疾患（ＣＯＰＤ）、涙嚢炎、皮膚筋炎、糖尿病性網膜症、糖尿病、椎間板ヘルニア、椎間板脱出症、薬物誘発性免疫性溶血性貧血、心内膜炎、子宮内膜症、眼内炎、上強膜炎、多形性紅斑、多形滲出性紅斑、妊娠性類天疱瘡、ギランバレー症候群（ＧＢＳ）、枯草熱、ヒューズ症候群、特発性パーキンソン病、特発性間質性肺炎、ＩｇＥ媒介アレルギー、免疫性溶血性貧血、封入体筋炎、感
染性眼炎症性疾患、炎症性脱髄疾患、炎症性心疾患、炎症性腎疾患、間質性肺線維症／通常型間質性肺炎、紅彩炎、角膜炎、乾性角結膜炎（Ｋｅｒａｔｏｊｕｎｔｉｖｉｔｉｓ ｓｉｃｃａ）、クスマウル病またはクスマウルマイヤー病、ランドリー麻痺、ランゲルハンス細胞組織球症、網状皮斑、黄斑変性症、顕微鏡的多発血管炎、ベヒテレフ病、運動ニューロン障害、粘膜類天疱瘡、多臓器不全、重症筋無力症、骨髄異形成症候群、心筋炎、神経根障害、神経障害、非Ａ非Ｂ型肝炎、視神経炎、骨溶解症、小関節型若年性関節リウマチ、末梢動脈閉塞性疾患（ＰＡＯＤ）、末梢血管疾患（ＰＶＤ）、末梢動脈疾患（ＰＡＤ）、静脈炎、結節性多発動脈炎（または結節性動脈周囲症）、多発性軟骨炎、リウマチ性多発筋痛症、白毛症、多関節型若年性関節リウマチ、多内分泌欠乏症候群、多発性筋炎、リウマチ性多発筋痛症（ＰＭＲ）、ポンプ後症候群、一次性パーキンソン症候群、前立腺炎、赤芽球癆、原発性副腎機能不全、再発性視神経脊髄炎、再狭窄、リウマチ性心疾患、ＳＡＰＨＯ（滑膜炎、ざ瘡、膿疱症、骨増殖症および骨炎）、強皮症、続発性アミロイドーシス、ショック肺、強膜炎、坐骨神経痛、続発性副腎機能不全、シリコン関連結合組織病、スネッドンウィルキンソン皮膚症、強直性脊椎炎、スティーブンスジョンソン症候群（ＳＪＳ）、全身性炎症反応症候群、側頭動脈炎、トキソプラスマ性網膜炎、中毒性表皮壊死症、横断性脊椎炎、ＴＲＡＰＳ（腫瘍壊死因子受容体）、１型アレルギー反応、ＩＩ型糖尿病、蕁麻疹、通常型間質性肺炎（ＵＩＰ）、血管炎、春季カタル、ウイルス性網膜炎、フォークト小柳原田症候群（ＶＫＨ症候群）、滲出型黄斑変性ならびに創傷治癒からなる群から選択される疾患に罹患している、請求項２３の組成物。

【請求項２５】

ヒト対象が、以下から選択される疾患に罹患している請求項２３に記載の組成物、

（ａ）関節リウマチ、アレルギー性関節炎、若年性関節炎、強直性脊椎炎および変形性関節炎；

（ｂ）ウイルスにより誘発されるある種の疾患であって、ギランバレー症候群、感染性単核球症、他のウイルス性リンパ節症およびヘルペスウイルスによる感染症から選択されてもよい疾患；

（ｃ）多発性硬化症および他の脱髄疾患；

（ｄ）血液障害であって、溶血性貧血および血小板減少症から選択されてもよい障害；

（ｅ）内分泌学的障害であって、糖尿病、アジソン病、特発性副甲状腺機能低下症および慢性リンパ性甲状腺炎から選択されてもよい障害；
（ｆ）コラーゲン障害及び／又は全身性エリテマトーデス；
（ｇ）生殖障害であって、無月経、不妊症、反復流産および子癇から選択されてもよい障害；
（ｈ）腫瘍であって、頭頸部腫瘍、肺癌、胃癌、前立腺癌および膵癌から選択されてもよい腫瘍；
（ｉ）炎症性腸疾患であって、クローン病および潰瘍性大腸炎から選択されてもよい疾患；
（ｊ）変形性関節炎および他の障害を伴う疼痛；又は
（ｋ）視覚障害及び／又は加齢性黄斑変性症（ＡＭＤ）。
【請求項２６】
抗体又はその抗原結合断片が、第二の因子の投与前に、同時に、または後に投与される請求項２３に記載の組成物であって、前記第二の因子が、メトトレキサート、レフルノミド、低用量のコルチコステロイド、プレドニゾン、コルチゾン、抗マラリア薬剤、ヒドロキシクロロキン、金、スルファサラジン、ペニシラミン、シクロホスファミド、シクロスポリン、ミノサイクリン、アセトアミノフェン、アスピリン、イブプロフェン、ナプロキセン、セレコキシブ、インフリキシマブ、エタネルセプト、アダリムマブ、アバタセプト、リツキシマブ、アナキンラ、生物学的因子ならびにＩＬ－６、ＩＬ－６Ｒ、ＩＬ－１７、ＩＬ－１８、ＩＬ－２３およびＢ７．１／Ｂ７．２を標的する経口デリバリー薬剤からなる群から選択される関節リウマチまたは若年性関節リウマチ薬；アセトアミノフェン、アスピリン、イブプロフェン、ナプロキセン、セレコキシブ、ステロイド、人工滑液、シンヴィクス（商標）およびヒアルガン（商標）、アダリムマブ、アザサン（ａｚａｓａｎ）（商標）、アサコール（商標）、アザチオプリン、アザルフィジン（商標）、ブデソニド、エントコート（商標）、フラジール（商標）、イムラン（商標）、インフリキシマブ、メルカプトプリン、メトロニダゾール、プロトスタット（ｐｒｏｔｏｓｔａｔ）、プリネトール（ｐｕｒｉｎｅｔｈｏｌ）（商標）、レミケード（商標）、スルファサラジン；アセトコット（ａｃｅｔｏｃｏｔ）、アセチルサリチル酸、アキュプリン（ａｃｕｐｒｉｎ）８１、アダリムマブ、アリーブ（ａｌｅｖｅ）（商標）、アムコート（ａｍｃｏｒｔ）、アナプロックス（ａｎａｐｒｏｘ）（商標）、アリストコート（ａｒｉｓｔｏｃｏｒｔ）（商標）、アスピリン、アスピルタブ（ａｓｐｉｒｔａｂ）、アズマコート（ａｚｍａｃｏｒｔ）（商標）、バファリン（商標）、ブフェックス（ｂｕｆｆｅｘ）、カタフラム（商標）、セレブレックス（ｃｅｌｅｂｒｅｘ）（商標）、クリノリル（商標）、コルチゾン、ジクロフェナク、ディペンタム（ｄｉｐｅｎｔｕｍ）（商標）、アスピリン（ｅａｓｐｒｉｎ）（商標）、エタネルセプト、インドシン（ｉｎｄｏｃｉｎ）（商標）、インドメタシン、インフリキシマブ、ナプロキセン、レミケード、トリアムシノロンおよびボルタレン（商標）、アボネックス（Ａｖｏｎｅｘ）（商標）、アザサン（ａｚａｓａｎ）（商標）、アザチオプリン、ベタセロン（Ｂｅｔａｓｅｒｏｎ）（商標）、バブリプレッド（Ｂｕｂｂｌｉ－Ｐｒｅｄ）（商標）、コパクソン（Ｃｏｐａｘｏｎｅ）（商標）、コトロン（Ｃｏｔｏｌｏｎｅ）、グラチラマー、イムラン（商標）、インターフェロンベーター１ａ、インターフェロンベーター１ｂ溶液、キープレッド（Ｋｅｙ－Ｐｒｅｄ）、キープレッドＳＰ（Ｋｅｙ－Ｐｒｅｄ　ＳＰ）、ミトキサントロン、ナタリズマブ、ノバントロン（Ｎｏｖａｎｔｒｏｎｅ）（商標）、オラプレッド（Ｏｒａｐｒｅｄ）（商標）、オラプレッドＯＤＴ（Ｏｒａｐｒｅｄ　ＯＤＴ）（商標）、ペディアプレッド（Ｐｅｄｉａｐｒｅｄ）（商標）、Ｐｒｅｄ－Ｊｅｃｔ－５０、プレダコート（Ｐｒｅｄａｃｏｒｔ）５０、プレダロン（Ｐｒｅｄａｌｏｎｅ）５０、プレデート（Ｐｒｅｄａｔｅ）－５０、プレドニゾロン、プレロン（Ｐｒｅｌｏｎｅ）（商標）、レビフ（Ｒｅｂｉｆ）（商標）およびタイサブリ（商標）、アブラキサン（商標）、アドリアマイシン、アドルシル（Ａｄｒｕｃｉｌ）（商標）、アルダラ（Ａｌｄａｒａ）（商標）、アレムツズマブ、アリムタ（商標）、アミノレブリン酸、アナストロゾール、アプレピタン、アリミデックス

（商標）、アロマシン（商標）、アラノン（商標）、亜ヒ酸、アバスチン（商標）（ベバシズマブ）、アザシチジン、ベバシズマブ、ベキサロテン、ボルテゾミブ、キャンパス（商標）（アレムツズマブ）、カンプトサール（商標）（塩酸イリノテカン）、カペシタビン、カルボプラチン、セツキシマブ、シスプラチン、クラフェン（Ｃｌａｆｅｎ）（シクロホスファミド）、クロファラビン、クロファレックス（Ｃｌｏｆａｒｅｘ）（クロファラビン）、クロラール（Ｃｌｏｌａｒ）（商標）（クロファラビン）、シクロホスファミド、シタラビン、サイトサール（Ｃｙｔｏｓａｒ）－Ｕ（シタラビン）、シトキサン（シクロホスファミド）、ダコゲン（Ｄａｃｏｇｅｎ）（商標）（デシタビン）、ダサチニブ、デシタビン、デポサイト（商標）（リポソームシタラビン）、デポフォーム（商標）（ＤｅｐｏＦｏａｍ）（リポソームシタラビン）、塩酸デクスラゾキサン、ドセタキセル、ドキシル（商標）（塩酸ドキソルビシンリポソーム）、塩酸ドキソルビシン、塩酸ドキソルビシンリポソーム、Ｄｏｘ－ＳＬ（塩酸ドキソルビシンリポソーム）、エフデックス（Ｅｆｕｄｅｘ）（商標）（フルオロウラシル）、エレンス（Ｅｌｌｅｎｃｅ）（商標）（塩酸エピルビシン）、エロキサチン（Ｅｌｏｘａｔｉｎ）（商標）（オキサリプラチン）、エメンド（商標）（アプレピタント）、塩酸エピルビシン、アービタックス（商標）（セツキシマブ）、塩酸エルロチニブ、エバセト（Ｅｖａｃｅｔ）（塩酸ドキソルビシンリポソーム）、エビスタ（商標）（塩酸ラロキシフェン）、エキセメスタン、ファスロデックス（商標）（フルベストラント）、フェマーラ（商標）（レトロゾール）、フルオロプレックス（Ｆｌｕｏｒｏｐｌｅｘ）（商標）（フルオロウラシル）、フルオロウラシル、フルベストラント、ゲフィチニブ、塩酸ゲムシタビン、ゲムツズマブオゾガマイシン、ジェムザール（商標）（塩酸ゲムシタビン）、グリベック（商標）（メシル酸イマチニブ）、ハーセプチン（商標）（トラスツズマブ）、ハイカムチン（商標）（塩酸トポテカン）、メシル酸イマチニブ、イミキモド、イレッサ（商標）（ゲフィニチブ）、塩酸イリノテカン、イクサベピロン、イグゼンプラ（商標）（イクサベピロン）、ケオキシフェン（Ｋｅｏｘｉｆｅｎｅ）（塩酸ラロキシフェン）、ケピバンス（商標）（パリフェルミン）、ラパチニブトシル酸、レナリドミド、レトロゾール、レブラン（Ｌｅｖｕｌａｎ）（商標）（アミノレブリン酸）、リポドックス（ＬｉｐｏＤｏｘ）（商標）（塩酸ドキソルビシンリポソーム）、リポソームシタラビン、メタゾラストン（Ｍｅｔｈａｚｏｌａｓｔｏｎｅ）（テモゾロミド）、マイロサール（Ｍｙｌｏｓａｒ）（アザシチジン）、マイロターグ（商標）（ゲムツズマブオゾガマイシン）、ナノ粒子パクリタキセル（パクリタキセルアルブミン安定化ナノ粒子製剤）、ネララビン、ネオサール（Ｎｅｏｓａｒ）（商標）（シクロホスファミド）、ネクサバール（商標）（トシル酸ソラフェニブ）、ニロチニブ、ノルバデックス（クエン酸タモキシフェン）、オンキャスパー（商標）（Ｏｎｃａｓｐａｒ）（ペグアスパルガーゼ）、オキサリプラチン、パクリタキセル、パクリタキセルアルブミン安定化ナノ粒子製剤、パリフェルミン、パニツムマブ、パラプラット（カルボプラチン）、パラプラチン（商標）（カルボプラチン）、ペグアスパルガーゼ、ペメトレキセド二ナトリウム、プラチノール（Ｐｌａｔｉｎｏｌ）－ＡＱ（シスプラチン）、プラチノール（Ｐｌａｔｉｎｏｌ）（商標）（シスプラチン）、塩酸ラロキシフェン、レブリミド（レナリドミド）、リツキサン（商標）（リツキシマブ）、リツキシマブ、スクレロゾル胸膜内エアロゾル（タルク）、トシル酸ソラフェニブ、スプリセル（商標）（ダサチニブ）、滅菌タルクパウダー（タルク）、ステリタルク（Ｓｔｅｒｉｔａｌｃ）（商標）（タルク）、リンゴ酸スニチニブ、スーテント（商標）（リンゴ酸スニチニブ）、シノビル（Ｓｙｎｏｖｉｒ）（サリドマイド）、タルク、クエン酸タモキシフェン、タラビン（Ｔａｒａｂｉｎｅ）ＰＦＳ（シタラビン）、タルセバ（商標）（塩酸エルロニチブ）、ターグレチン（商標）（ベキサロテン）、タシグナ（商標）（ニロチニブ）、タキソール（商標）（パクリタキセル）、タキソテール（商標）（ドセタキセル）、テモダール（商標）（テモゾロミド）、テモゾロミド、テムシロリムス、サロミド（Ｔｈａｌｏｍｉｄ）（商標）（サリドマイド）、サリドマイド、トテクト（Ｔｏｔｅｃｔ）（商標）（塩酸デクスラゾキサン）、塩酸トポテカン、トリセル（Ｔｏｒｉｓｅｌ）（商標）（テムシロリムス）、トラスツズマブ、トリセノックス（商標）（亜ヒ酸）、タイケルブ（商標）（トシル酸

ラパニチブ）、ベクチビックス（商標）（パニツムマブ）、ベルケイド（商標）（ボルテゾミブ）、ビダザ（商標）（アザシチジン）、ボリノスタット、ゼローダ（商標）（カペシタビン）、ザインカード（商標）（塩酸デクスラゾキサン）、ゾレドロン酸、ゾリンザ（商標）（ボリノスタット）、およびゾメタ（商標）（ゾレドロン酸）からなる群から選択される、組成物。

【請求項２７】

抗体又はその抗原結合断片が、非経口、皮下、筋肉内、静脈内、関節内、気管支内、腹腔内、嚢内、軟骨内、腔内（ｉｎｔｒａｃａｖｉｔｙ）、腔内（ｉｎｔｒａｃｅｌｉａｌ）、小脳内、脳室内、結腸内、頸管内、胃内、肝臓内、心筋内、骨内、骨盤内、心臓周囲内、腹腔内、胸膜内、前立腺内、肺内、結腸内、腎臓内、網膜内、脊髄内、滑膜内、胸腔内、子宮内、膀胱内、ボーラス、膣、直腸、口内、舌下、鼻内または経皮から投与される、請求項２３に記載の組成物。

【請求項２８】

イムノアッセイにより、試料中のプロスタグランジンＥ$_2$又はその断片の存在を決定する方法であって、該イムノアッセイが試料を、少なくとも１つの請求項１－９のいずれか一項に記載の抗体又はその抗原結合断片と少なくとも１つの検出可能なラベルと接触させることを含む方法。

【請求項２９】

請求項２８に記載の方法であって、さらに

（ａ）試料を少なくとも１つの抗体又はその抗原結合断片と接触させ、該抗体又はその抗原結合断片はプロスタグランジンＥ$_2$またはその断片のエピトープに結合し、第一の複合体を形成するステップ、

（ｂ）該複合体を少なくとも１つの検出可能なラベルに接触させ、該検出可能なラベルは抗体若しくはその抗原結合断片又は、抗体若しくはその抗原結合断片が結合していないプロスタグランジンＥ$_2$若しくはその断片に結合し、第二の複合体を形成するステップ、及び

（ｃ）第二の複合体における検出可能なラベルによって生成されたシグナルに基づき、試料中のプロスタグランジンＥ$_2$またはその断片の存在を検出するステップであって、プロスタグランジンＥ$_2$またはその断片は、直接的に検出可能なラベルによって生成されたシグナルと相関するステップ、

を含む方法。

【請求項３０】

請求項２８に記載の方法であって、さらに

（ａ）試料を少なくとも１つの抗体又はその抗原結合断片と接触させ、該抗体又はその抗原結合断片はプロスタグランジンＥ$_2$またはその断片のエピトープに結合し、第一の複合体を形成するステップ、

（ｂ）該複合体を少なくとも１つの検出可能なラベルに接触させ、該検出可能なラベルはプロスタグランジンＥ$_2$またはその断片と競合して、抗体又はその抗原結合断片と結合し、第二の複合体を形成するステップ、及び

（ｃ）第二の複合体における検出可能なラベルによって生成されたシグナルに基づき、試料中のプロスタグランジンＥ$_2$またはその断片の存在を検出するステップであって、プロスタグランジンＥ$_2$またはその断片は、間接的に検出可能なラベルによって生成されたシグナルと相関するステップ、

を含む方法。

フロントページの続き

(51)Int.Cl.		F I			テーマコード（参考）
A61K 49/00	*(2006.01)*	A61K	39/395	V	
A61K 49/04	*(2006.01)*	A61K	49/00	A	
A61K 51/00	*(2006.01)*	A61K	49/04	A	
A61K 45/00	*(2006.01)*	A61K	49/02	C	
A61K 38/22	*(2006.01)*	A61K	49/02	B	
A61K 38/00	*(2006.01)*	A61K	45/00		
A61K 31/704	*(2006.01)*	A61K	37/24		
A61K 47/26	*(2006.01)*	A61K	37/02		
A61K 47/40	*(2006.01)*	A61K	31/704		
A61K 47/36	*(2006.01)*	A61K	47/26		
A61K 47/34	*(2006.01)*	A61K	47/40		
A61K 47/32	*(2006.01)*	A61K	47/36		
A61K 39/39	*(2006.01)*	A61K	47/34		
A61K 38/27	*(2006.01)*	A61K	47/32		
A61K 31/519	*(2006.01)*	A61K	39/39		
A61K 31/436	*(2006.01)*	A61K	37/36		
A61K 31/56	*(2006.01)*	A61K	43/00		
A61K 31/573	*(2006.01)*	A61K	31/519		
A61K 31/137	*(2006.01)*	A61K	31/436		
A61P 43/00	*(2006.01)*	A61K	31/56		
A61P 37/06	*(2006.01)*	A61K	31/573		
A61P 29/00	*(2006.01)*	A61K	31/137		
A61P 35/00	*(2006.01)*	A61P	43/00	１１１	
A61P 19/02	*(2006.01)*	A61P	37/06		
A61P 31/12	*(2006.01)*	A61P	29/00		
A61P 7/00	*(2006.01)*	A61P	35/00		
A61P 25/00	*(2006.01)*	A61P	29/00	１０１	
A61P 7/06	*(2006.01)*	A61P	19/02		
A61P 5/00	*(2006.01)*	A61P	31/12		
A61P 3/10	*(2006.01)*	A61P	7/00		
A61P 5/18	*(2006.01)*	A61P	25/00		
A61P 5/14	*(2006.01)*	A61P	7/06		
A61P 37/02	*(2006.01)*	A61P	5/00		
A61P 15/00	*(2006.01)*	A61P	3/10		
A61P 15/06	*(2006.01)*	A61P	5/18		
A61P 11/00	*(2006.01)*	A61P	5/14		
A61P 1/04	*(2006.01)*	A61P	37/02		
A61P 13/08	*(2006.01)*	A61P	15/00		
A61P 25/04	*(2006.01)*	A61P	15/06		
A61P 27/02	*(2006.01)*	A61P	11/00		
A61P 17/00	*(2006.01)*	A61P	1/04		
A61P 11/06	*(2006.01)*	A61P	13/08		
A61P 37/08	*(2006.01)*	A61P	25/04		
A61P 17/06	*(2006.01)*	A61P	27/02		
A61P 9/10	*(2006.01)*	A61P	17/00		
A61P 7/02	*(2006.01)*	A61P	11/06		
A61P 13/12	*(2006.01)*	A61P	37/08		

Ａ６１Ｐ	*31/04*	*(2006.01)*	Ａ６１Ｐ	17/06	
Ａ６１Ｐ	*1/16*	*(2006.01)*	Ａ６１Ｐ	9/10	
Ａ６１Ｐ	*9/00*	*(2006.01)*	Ａ６１Ｐ	7/02	
Ａ６１Ｐ	*31/18*	*(2006.01)*	Ａ６１Ｐ	13/12	
Ａ６１Ｐ	*25/14*	*(2006.01)*	Ａ６１Ｐ	31/04	
Ａ６１Ｐ	*25/16*	*(2006.01)*	Ａ６１Ｐ	1/16	
Ａ６１Ｐ	*25/28*	*(2006.01)*	Ａ６１Ｐ	9/00	
Ａ６１Ｐ	*9/04*	*(2006.01)*	Ａ６１Ｐ	31/18	
Ａ６１Ｐ	*17/14*	*(2006.01)*	Ａ６１Ｐ	25/14	
Ａ６１Ｐ	*33/00*	*(2006.01)*	Ａ６１Ｐ	25/16	
Ａ６１Ｐ	*31/00*	*(2006.01)*	Ａ６１Ｐ	25/28	
Ａ６１Ｐ	*13/10*	*(2006.01)*	Ａ６１Ｐ	9/04	
Ａ６１Ｐ	*1/18*	*(2006.01)*	Ａ６１Ｐ	17/14	
Ａ６１Ｐ	*35/02*	*(2006.01)*	Ａ６１Ｐ	33/00	
Ａ６１Ｐ	*11/02*	*(2006.01)*	Ａ６１Ｐ	43/00	１０５
Ａ６１Ｐ	*21/00*	*(2006.01)*	Ａ６１Ｐ	31/00	
Ａ６１Ｐ	*9/06*	*(2006.01)*	Ａ６１Ｐ	13/10	
Ａ６１Ｐ	*17/02*	*(2006.01)*	Ａ６１Ｐ	1/18	
Ａ６１Ｐ	*25/32*	*(2006.01)*	Ａ６１Ｐ	35/02	
Ａ６１Ｐ	*31/10*	*(2006.01)*	Ａ６１Ｐ	11/02	
Ａ６１Ｐ	*9/12*	*(2006.01)*	Ａ６１Ｐ	21/00	
Ａ６１Ｐ	*21/04*	*(2006.01)*	Ａ６１Ｐ	9/10	１０１
Ａ６１Ｐ	*11/04*	*(2006.01)*	Ａ６１Ｐ	9/06	
Ａ６１Ｐ	*19/10*	*(2006.01)*	Ａ６１Ｐ	17/02	
Ａ６１Ｐ	*17/04*	*(2006.01)*	Ａ６１Ｐ	25/32	
Ａ６１Ｐ	*17/08*	*(2006.01)*	Ａ６１Ｐ	31/10	
Ａ６１Ｐ	*27/16*	*(2006.01)*	Ａ６１Ｐ	9/12	
Ａ６１Ｐ	*19/00*	*(2006.01)*	Ａ６１Ｐ	21/04	
Ａ６１Ｐ	*27/14*	*(2006.01)*	Ａ６１Ｐ	11/04	
Ｇ０１Ｎ	*33/53*	*(2006.01)*	Ａ６１Ｐ	19/10	
Ｇ０１Ｎ	*33/531*	*(2006.01)*	Ａ６１Ｐ	17/04	
Ｃ１２Ｎ	*1/15*	*(2006.01)*	Ａ６１Ｐ	17/08	
Ｃ１２Ｎ	*1/19*	*(2006.01)*	Ａ６１Ｐ	27/16	
Ｃ１２Ｎ	*1/21*	*(2006.01)*	Ａ６１Ｐ	19/00	
Ｃ１２Ｎ	*5/10*	*(2006.01)*	Ａ６１Ｐ	27/14	
			Ｇ０１Ｎ	33/53	Ｓ
			Ｇ０１Ｎ	33/531	Ａ
			Ｃ１２Ｎ	1/15	
			Ｃ１２Ｎ	1/19	
			Ｃ１２Ｎ	1/21	
			Ｃ１２Ｎ	5/00	１０２
			Ｃ１２Ｎ	5/00	１０３

(72)発明者　ロンーロン・ジユウ
アメリカ合衆国、マサチユーセツツ・０１７７２、サウスボロー、パーカービル・ロード・１９３
(72)発明者　ジエンウエイ・シエン
アメリカ合衆国、イリノイ・６００４４、レイク・ブラフ、メドウ・サークル・１２５４９・ウエスト
(72)発明者　マリア・チ・ハリス
アメリカ合衆国、マサチユーセツツ・０１５４５、シユルーズベリー、トローブリツジ・レイン・

５５
(72)発明者　アイリーン・ベランジヤー
アメリカ合衆国、マサチユーセツツ・０１５３４、ノースブリツジ、オリビア・ドライブ・５２０
(72)発明者　アンワー・ムルタザ
アメリカ合衆国、マサチユーセツツ・０１５８１、ウエストボロー、ツリートツプ・パーク・３０
(72)発明者　エデイツト・タークサ
アメリカ合衆国、マサチユーセツツ・０１５８１、ウエストボロー、ロビン・サークル・１
(72)発明者　ウイリアム・ビー・スタイン
アメリカ合衆国、マサチユーセツツ・０１５４５、シユルーズベリー、クウエイル・ホロー・ドライブ・１８
(72)発明者　チヨン－ミン・シエ
アメリカ合衆国、マサチユーセツツ・０２４５９、ニユートン、オールデイ・フイールド・ロード・２２

【外国語明細書】
2016029027000001.pdf

专利名称(译)	前列腺素E2结合蛋白及其用途		
公开(公告)号	JP2016029027A	公开(公告)日	2016-03-03
申请号	JP2015117773	申请日	2015-06-10
[标]申请(专利权)人(译)	阿布维公司		
申请(专利权)人(译)	AVVI公司		
[标]发明人	ジージエグー チヤールズダブリユハツチンス ロンロンジユウ ジエンウエイシエン マリアチハリス アイリーンベランジヤー アンワームルタザ エデイツトタークサ ウイリアムビースタイン チヨンミンシエ		
发明人	ジージエ·グー チヤールズ·ダブリユ·ハツチンス ロン-ロン·ジユウ ジエンウエイ·シエン マリア·チ·ハリス アイリーン·ベランジヤー アンワー·ムルタザ エデイツト·タークサ ウイリアム·ビー·スタイン チヨン-ミン·シエ		
IPC分类号	C07K16/44 C12N15/09 A61K47/42 A61K47/48 A61K39/395 A61K49/00 A61K49/04 A61K51/00 A61K45/00 A61K38/22 A61K38/00 A61K31/704 A61K47/26 A61K47/40 A61K47/36 A61K47/34 A61K47/32 A61K39/39 A61K38/27 A61K31/519 A61K31/436 A61K31/56 A61K31/573 A61K31/137 A61P43/00 A61P37/06 A61P29/00 A61P35/00 A61P19/02 A61P31/12 A61P7/00 A61P25/00 A61P7/06 A61P5/00 A61P3/10 A61P5/18 A61P5/14 A61P37/02 A61P15/00 A61P15/06 A61P11/00 A61P1/04 A61P13/08 A61P25/04 A61P27/02 A61P17/00 A61P11/06 A61P37/08 A61P17/06 A61P9/10 A61P7/02 A61P13/12 A61P31/04 A61P1/16 A61P9/00 A61P31/18 A61P25/14 A61P25/16 A61P25/28 A61P9/04 A61P17/14 A61P33/00 A61P31/00 A61P13/10 A61P1/18 A61P35/02 A61P11/02 A61P21/00 A61P9/06 A61P17/02 A61P25/32 A61P31/10 A61P9/12 A61P21/04 A61P11/04 A61P19/10 A61P17/04 A61P17/08 A61P27/16 A61P19/00 A61P27/14 G01N33/53 G01N33/531 C12N1/15 C12N1/19 C12N1/21 C12N5/10		
CPC分类号	A61K31/405 A61K31/573 A61K2039/505 A61P1/00 A61P1/04 A61P1/16 A61P1/18 A61P3/10 A61P3/12 A61P5/00 A61P5/14 A61P5/18 A61P7/00 A61P7/02 A61P7/04 A61P7/06 A61P9/00 A61P9/04 A61P9/06 A61P9/10 A61P9/12 A61P9/14 A61P11/00 A61P11/02 A61P11/04 A61P11/06 A61P13/00 A61P13/08 A61P13/10 A61P13/12 A61P15/00 A61P15/06 A61P15/08 A61P17/00 A61P17/02 A61P17/04 A61P17/06 A61P17/08 A61P17/14 A61P19/00 A61P19/02 A61P19/10 A61P21/00 A61P21/04 A61P25/00 A61P25/04 A61P25/14 A61P25/16 A61P25/28 A61P25/32 A61P27/02 A61P27/14 A61P27/16 A61P29/00 A61P31/00 A61P31/04 A61P31/10 A61P31/12 A61P31/18 A61P31/22 A61P33/00 A61P35/00 A61P35/02 A61P37/02 A61P37/06 A61P37/08 A61P43/00 C07K16/26 C07K2317/21 C07K2317/24 C07K2317/55 C07K2317/56 C07K2317/565 C07K2317/622 C07K2317/76 Y02A50/386 Y02A50/401 Y02A50/41 Y02A50/412 Y02A50/478 Y02A50/481 A61K39/39533 C07K16/18		
FI分类号	C07K16/44.ZNA C12N15/00.A A61K47/42 A61K47/48 A61K39/395.N A61K39/395.V A61K49/00.A A61K49/04.A A61K49/02.C A61K49/02.B A61K45/00 A61K37/24 A61K37/02 A61K31/704 A61K47/26		

	A61K47/40 A61K47/36 A61K47/34 A61K47/32 A61K39/39 A61K37/36 A61K43/00 A61K31/519 A61K31/436 A61K31/56 A61K31/573 A61K31/137 A61P43/00.111 A61P37/06 A61P29/00 A61P35/00 A61P29/00.101 A61P19/02 A61P31/12 A61P7/00 A61P25/00 A61P7/06 A61P5/00 A61P3/10 A61P5/18 A61P5/14 A61P37/02 A61P15/00 A61P15/06 A61P11/00 A61P1/04 A61P13/08 A61P25/04 A61P27/02 A61P17/00 A61P11/06 A61P37/08 A61P17/06 A61P9/10 A61P7/02 A61P13/12 A61P31/04 A61P1/16 A61P9/00 A61P31/18 A61P25/14 A61P25/16 A61P25/28 A61P9/04 A61P17/14 A61P33/00 A61P43/00.105 A61P31/00 A61P13/10 A61P1/18 A61P35/02 A61P11/02 A61P21/00 A61P9/10.101 A61P9/06 A61P17/02 A61P25/32 A61P31/10 A61P9/12 A61P21/04 A61P11/04 A61P19/10 A61P17/04 A61P17/08 A61P27/16 A61P19/00 A61P27/14 G01N33/53.S G01N33/531.A C12N1/15 C12N1/19 C12N1/21 C12N5/00.102 C12N5/00.103 A61K49/00 A61K49/04 A61K51/00.200 A61K51/02.200 C12N5/10
F-TERM分类号	4B024/AA01 4B024/BA61 4B024/CA01 4B024/DA01 4B024/DA02 4B024/DA05 4B024/DA06 4B024/DA11 4B024/EA04 4B024/GA03 4B024/GA11 4B024/HA08 4B065/AA01X 4B065/AA26X 4B065/AA57X 4B065/AA72X 4B065/AA80X 4B065/AA87X 4B065/AA90X 4B065/AA90Y 4B065/AB01 4B065/BA02 4B065/CA24 4C076/CC41 4C076/DD09 4C076/DD67 4C076/EE02 4C076/EE06 4C076/EE08 4C076/EE09 4C076/EE13 4C076/EE15 4C076/EE16 4C076/EE23 4C076/EE24 4C076/EE26 4C076/EE30 4C076/EE31 4C076/EE36 4C076/EE37 4C076/EE39 4C076/EE41 4C076/EE42 4C076/EE43 4C076/EE48 4C076/EE59 4C084/AA12 4C084/AA17 4C084/DA01 4C084/DA11 4C084/DA32 4C084/DA58 4C084/DB22 4C084/DB52 4C084/DB56 4C084/NA05 4C084/ZA042 4C084/ZA052 4C084/ZA082 4C084/ZA122 4C084/ZA182 4C084/ZA212 4C084/ZA592 4C084/ZA892 4C084/ZA942 4C084/ZB082 4C084/ZB112 4C084/ZB152 4C084/ZB212 4C084/ZB312 4C084/ZB322 4C084/ZC202 4C084/ZC212 4C084/ZC412 4C084/ZC422 4C085/AA14 4C085/AA15 4C085/AA16 4C085/AA25 4C085/AA33 4C085/AA38 4C085/BB33 4C085/BB35 4C085/BB36 4C085/BB37 4C085/BB41 4C085/BB42 4C085/BB43 4C085/BB50 4C085/FF13 4C085/GG02 4C085/GG03 4C085/GG04 4C085/GG06 4C085/GG10 4C085/HH01 4C085/HH03 4C085/KA04 4C085/KA05 4C085/KA27 4C085/KA28 4C085/KA29 4C085/KB02 4C085/KB09 4C085/KB11 4C085/KB15 4C085/KB18 4C085/KB82 4C086/AA01 4C086/CB09 4C086/CB22 4C086/DA08 4C086/DA10 4C086/EA10 4C086/NA05 4C206/AA01 4C206/FA14 4C206/KA01 4C206/NA05 4H045/AA11 4H045/AA30 4H045/BA09 4H045/BA40 4H045/BA51 4H045/BA71 4H045/BA72 4H045/CA40 4H045/DA75 4H045/DA83 4H045/DA86 4H045/EA20 4H045/FA74
优先权	61/134264 2008-07-08 US 61/197258 2008-10-23 US
外部链接	Espacenet

摘要(译)

要解决的问题：提供抗体构建体和包含前列腺素E <sub> 2 </ sub>（PGE <sub> 2 </ sub>）结合蛋白和结合蛋白的药物组合物。野生型，嵌合，CDR嫁接和人源化抗体，在体外和体内，有前列腺素E 2 ，前列环素的亲和性高前列腺素E 2 中和活性，以及受损的前列腺素E 2 活性是有害抗体或其抗原结合片段可用于抑制有害人类受试者中的前列腺素E 2 活性。

(21)出願番号	特願2015-117773 (P2015-117773)
(22)出願日	平成27年6月10日 (2015.6.10)
(62)分割の表示	特願2011-517571 (P2011-517571)の分割
原出願日	平成21年7月8日 (2009.7.8)
(31)優先権主張番号	61/134,264
(32)優先日	平成20年7月8日 (2008.7.8)
(33)優先権主張国	米国 (US)
(31)優先権主張番号	61/197,258
(32)優先日	平成20年10月23日 (2008.10.23)
(33)優先権主張国	米国 (US)

(71)出願人	512212195 アッヴィ・インコーポレイテッド アメリカ合衆国、イリノイ・60064、ノース・シカゴ、ノース・ワウキガン・ロード・1
(74)代理人	110001173 特許業務法人川口國際特許事務所
(72)発明者	ジージエ・グー アメリカ合衆国、マサチユーセツツ・01545、シユルーズベリー、ターン・ドライブ・12
(72)発明者	チヤールズ・ダブリユ・ハツチンス アメリカ合衆国、イリノイ・60048、グリーン・オークス、プレイリー・リツジ・ロード・31005

最終頁に続く