

(19) 日本国特許庁(JP)

(12) 公表特許公報(A)

(11) 特許出願公表番号

特表2016-534114

(P2016-534114A)

(43) 公表日 平成28年11月4日(2016.11.4)

(51) Int.Cl.	F I	テーマコード (参考)
A 6 1 K 49/00 (2006.01)	A 6 1 K 49/00	Z N A A 4 C 0 8 4
A 6 1 K 51/00 (2006.01)	A 6 1 K 49/00	C 4 C 0 8 5
A 6 1 K 45/00 (2006.01)	A 6 1 K 49/02	B 4 C 0 9 6
A 6 1 P 1/18 (2006.01)	A 6 1 K 49/02	C 4 H 0 4 5
A 6 1 P 9/10 (2006.01)	A 6 1 K 45/00	
審査請求 未請求 予備審査請求 未請求 (全 82 頁) 最終頁に続く		

(21) 出願番号	特願2016-536398 (P2016-536398)	(71) 出願人	503385923
(86) (22) 出願日	平成26年8月20日 (2014. 8. 20)		ベーリンガー インゲルハイム インター
(85) 翻訳文提出日	平成28年4月19日 (2016. 4. 19)		ナショナル ゲゼルシャフト ミット ベ
(86) 国際出願番号	PCT/US2014/051779		シュレンクテル ハフツング
(87) 国際公開番号	W02015/026884		ドイツ連邦共和国 5 5 2 1 6 インゲル
(87) 国際公開日	平成27年2月26日 (2015. 2. 26)		ハイム アム ライン ビンガー シュト
(31) 優先権主張番号	61/868, 144		ラーセ 1 7 3
(32) 優先日	平成25年8月21日 (2013. 8. 21)	(74) 代理人	110001508
(33) 優先権主張国	米国 (US)		特許業務法人 津国

最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 C X 3 C R 1 標的化イメージング剤並びに疾病の診断及び処置におけるその使用

(57) 【要約】

本発明は、C X 3 C R 1 標的化イメージング剤、並びに疾病の処置及び診断におけるその使用に関する。検出標識に連結された単一ドメイン C X 3 C R 1 標的化ポリペプチド及び動脈硬化プラークのインビボでのイメージングにおけるその使用が説明される。前記 C X 3 C R 1 標的化イメージング剤は、アテローム性動脈硬化症をはじめとする C X 3 C R 1 により媒介される疾病の処置及び診断に有用である。

【特許請求の範囲】

【請求項 1】

検出標識に連結された C X 3 C R 1 標的化ポリペプチドを含む、イメージング剤。

【請求項 2】

前記 C X 3 C R 1 標的化ポリペプチドは免疫グロブリン単一可変ドメインである、請求項 1 記載のイメージング剤。

【請求項 3】

前記 C X 3 C R 1 標的化ポリペプチドは V H H ドメインである、請求項 1 又は 2 記載のイメージング剤。

【請求項 4】

前記 C X 3 C R 1 標的化ポリペプチドは、

- それぞれ、配列番号 1 4 1、1 6 2 及び 1 8 6 ; 又は
- それぞれ、配列番号 1 4 1、1 6 3 及び 1 8 7 ; 又は
- それぞれ、配列番号 1 4 1、1 6 4 及び 1 8 6 ; 又は
- それぞれ、配列番号 1 4 1、1 6 6 及び 1 8 6 ; 又は
- それぞれ、配列番号 1 4 1、1 6 7 及び 1 8 6 ; 又は
- それぞれ、配列番号 1 4 1、1 6 7 及び 1 8 9 ; 又は
- それぞれ、配列番号 1 4 1、1 6 8 及び 1 8 6 ; 又は
- それぞれ、配列番号 1 4 1、1 6 8 及び 1 8 7 ; 又は
- それぞれ、配列番号 1 4 1、1 6 9 及び 1 9 0 ; 又は
- それぞれ、配列番号 1 4 1、1 7 0 及び 1 8 6 ; 又は
- それぞれ、配列番号 1 4 1、1 7 1 及び 1 8 6 ; 又は
- それぞれ、配列番号 1 4 1、1 7 4 及び 1 8 6 ; 又は
- それぞれ、配列番号 1 4 1、1 7 5 及び 1 8 7 ; 又は
- それぞれ、配列番号 1 4 2、1 6 5 及び 1 8 8 ; 又は
- それぞれ、配列番号 1 4 2、1 7 3 及び 1 8 8 ; 又は
- それぞれ、配列番号 1 4 3、1 6 4 及び 1 8 6 ; 又は
- それぞれ、配列番号 1 4 4、1 7 2 及び 1 8 7 ; 又は
- それぞれ、配列番号 1 4 5、1 7 2 及び 1 8 7 ; 又は
- それぞれ、配列番号 1 4 1、2 1 4 及び 1 8 6 ; 又は
- それぞれ、配列番号 1 4 1、2 1 5 及び 1 8 6 ; 又は
- それぞれ、配列番号 1 4 1、2 1 6 及び 1 8 6 ; 又は
- それぞれ、配列番号 1 4 1、2 1 7 及び 1 8 6 ; 又は
- それぞれ、配列番号 1 4 1、2 1 8 及び 1 8 6 ; 又は
- それぞれ、配列番号 1 4 1、2 1 9 及び 1 8 6 ; 又は
- それぞれ、配列番号 1 4 1、2 2 0 及び 1 8 6 ; 又は
- それぞれ、配列番号 2 1 3、2 2 1 及び 1 8 6 ; 又は
- それぞれ、配列番号 2 1 3、2 1 4 及び 1 8 6 ; 又は
- それぞれ、配列番号 1 4 6、1 7 6 及び 1 9 1 ; 又は
- それぞれ、配列番号 1 4 6、1 7 7 及び 1 9 1 ; 又は
- それぞれ、配列番号 1 4 7、1 7 8 及び 1 9 2 ; 又は
- それぞれ、配列番号 1 4 7、1 7 9 及び 1 9 2 ; 又は
- それぞれ、配列番号 1 4 7、1 7 9 及び 1 9 4 ; 又は
- それぞれ、配列番号 1 4 8、1 7 9 及び 1 9 3 ; 又は
- それぞれ、配列番号 1 4 9、1 7 9 及び 1 9 2 ; 又は
- それぞれ、配列番号 1 4 9、1 8 0 及び 1 9 2 ; 又は
- それぞれ、配列番号 1 4 9、1 8 1 及び 1 9 2 ; 又は
- それぞれ、配列番号 1 4 9、1 8 3 及び 1 9 2 ; 又は
- それぞれ、配列番号 1 4 9、1 8 5 及び 1 9 2 ; 又は
- それぞれ、配列番号 1 5 0、1 7 9 及び 1 9 4 ; 又は

10

20

30

40

50

- それぞれ、配列番号 1 5 0、1 8 2 及び 1 9 4 ; 又は
- それぞれ、配列番号 1 5 1、1 7 9 及び 1 9 3 ; 又は
- それぞれ、配列番号 1 5 1、1 8 2 及び 1 9 4 ; 又は
- それぞれ、配列番号 1 5 1、1 8 4 及び 1 9 6 ; 又は
- それぞれ、配列番号 1 5 2、1 7 9 及び 1 9 5 ; 又は
- それぞれ、配列番号 1 5 3、1 7 9 及び 1 9 4 ; 又は
- それぞれ、配列番号 1 5 4、1 8 2 及び 1 9 4 ; 又は
- それぞれ、配列番号 1 5 5、1 7 9 及び 1 9 5 ; 又は
- それぞれ、配列番号 1 5 6、1 8 1 及び 1 9 2 ; 又は
- それぞれ、配列番号 1 5 7、1 7 9 及び 1 9 4 ; 又は
- それぞれ、配列番号 1 5 8、1 7 9 及び 1 9 2 ; 又は
- それぞれ、配列番号 1 5 9、1 7 8 及び 1 9 2 ; 又は
- それぞれ、配列番号 1 6 0、1 7 9 及び 1 9 4 ; 又は
- それぞれ、配列番号 1 6 1、1 7 9 及び 1 9 4

10

から選択された C D R 1、C D R 2 及び C D R 3 の配列を含む、請求項 1 ~ 3 のいずれかが記載のイメージング剤。

【請求項 5】

前記 C X 3 C R 1 標的化ポリペプチドは、

- それぞれ、配列番号 1 4 1、1 6 2 及び 1 8 6 ; 又は
- それぞれ、配列番号 1 4 1、2 1 4 及び 1 8 6 ; 又は
- それぞれ、配列番号 1 4 1、2 1 5 及び 1 8 6 ; 又は
- それぞれ、配列番号 1 4 1、2 1 6 及び 1 8 6 ; 又は
- それぞれ、配列番号 1 4 1、2 1 7 及び 1 8 6 ; 又は
- それぞれ、配列番号 1 4 1、2 1 8 及び 1 8 6 ; 又は
- それぞれ、配列番号 1 4 1、2 1 9 及び 1 8 6 ; 又は
- それぞれ、配列番号 1 4 1、2 2 0 及び 1 8 6 ; 又は
- それぞれ、配列番号 2 1 3、2 2 1 及び 1 8 6 ; 又は
- それぞれ、配列番号 2 1 3、2 1 4 及び 1 8 6 ; 又は
- それぞれ、配列番号 1 4 7、1 7 8 及び 1 9 2 ; 又は
- それぞれ、配列番号 1 4 6、1 7 6 及び 1 9 1

20

30

から選択された C D R 1、C D R 2 及び C D R 3 の配列を含む、請求項 1 ~ 4 のいずれかが記載のイメージング剤。

【請求項 6】

前記 C X 3 C R 1 標的化ポリペプチドは、配列番号 1 ~ 1 4 0 又は 1 9 7 ~ 2 0 2 のいずれか 1 つから選択された配列を有する V H H ドメインである、請求項 1 ~ 3 のいずれかが記載のイメージング剤。

【請求項 7】

前記 C X 3 C R 1 標的化ポリペプチドは、配列番号 1、1 1、4 9、5 3、1 2 1 ~ 1 4 0、又は 1 9 7 ~ 2 0 2 のいずれか 1 つから選択された配列を有する V H H ドメインである、請求項 1 ~ 3 又は 6 のいずれかが記載のイメージング剤。

40

【請求項 8】

前記 C X 3 C R 1 標的化ポリペプチドは二価であり、リンカーペプチドによって共有結合で連結された 2 つの V H H ドメインを含み、前記二価 C X 3 C R 1 標的化ポリペプチドは配列番号 2 0 3 ~ 2 1 2、2 2 2 又は 2 2 3 のいずれか 1 つから選択され、前記 2 つの V H H ドメインは同一であっても異なってもよい、請求項 1 又は 2 記載のイメージング剤。

【請求項 9】

前記二価 C X 3 C R 1 標的化ポリペプチドの配列は配列番号 2 0 8、2 2 2 又は 2 2 3 のいずれか 1 つから選択される、請求項 1、2 又は 8 のいずれかが記載のイメージング剤。

【請求項 10】

50

前記検出標識は、放射性同位体、イメージング用色素、常磁性体、又は微小気泡から選択される、請求項 1 ~ 9 のいずれか記載のイメージング剤。

【請求項 1 1】

前記検出標識は放射性同位体である、請求項 1 ~ 1 0 のいずれか記載のイメージング剤。

【請求項 1 2】

前記検出標識は、 ^{99m}Tc 、 ^{111}In 、 ^{123}I 、 ^{201}Tl 、 ^{133}Xe 、 ^{11}C 、 ^{64}Cu 、 ^{18}F 、 ^{68}Ga 、 ^{13}N 、 ^{15}O 、 ^{82}Rb 、 ^{124}I 及び ^{89}Zr から選択される、請求項 1 ~ 1 1 のいずれか記載のイメージング剤。

【請求項 1 3】

前記検出標識は ^{99m}Tc 及び ^{68}Ga から選択される、請求項 1 ~ 1 2 のいずれか記載のイメージング剤。

【請求項 1 4】

前記 C X 3 C R 1 標的化ポリペプチドは、配列番号 2 2 4、2 2 5、2 2 6、2 2 7 又は 2 2 8 のいずれか 1 つから選択された V H H ドメインと、C X 3 C R 1 への結合について競合する免疫グロブリンである、請求項 1 記載のイメージング剤。

【請求項 1 5】

a) 請求項 1 ~ 1 4 のいずれか記載のイメージング剤を被験者に投与する工程；及び
b) 被験者の非罹患組織と比較して、罹患組織においてより高いレベルのイメージング剤の結合を検出する工程
を含む、被験者における C X 3 C R 1 の発現上昇によって特徴付けられる疾病をインビボで診断するための方法。

【請求項 1 6】

前記疾病が、心臓及び脳血管の動脈硬化性疾患、末梢動脈疾患、再狭窄、糖尿病性腎症、糸球体腎炎、ヒト半月板形成性糸球体腎炎、I g A 腎症、膜性腎症、ループス腎炎、膵炎、ヘノッホ・シェーンライン紫斑病及びウェゲナー肉芽腫症を含む血管炎、関節リウマチ、変形性関節症、同種移植片拒絶、全身性硬化症、神経変性疾患及び脱髄疾患、多発性硬化症 (M S)、アルツハイマー病、C O P D、喘息のような肺疾患、神経障害性疼痛、炎症性疼痛、及び癌から選択される、請求項 1 5 記載の方法。

【請求項 1 7】

前記疾病がアテローム性動脈硬化症である、請求項 1 5 又は 1 6 記載の方法。

【請求項 1 8】

前記イメージング剤の結合を検出するための方法は、

a) 単一光子放射型コンピュータ断層撮影法；
b) 陽電子放出断層撮影法；
c) 近赤外線蛍光イメージング；
d) 超音波イメージング；及び
e) 磁気共鳴イメージング
から選択される、請求項 1 5 ~ 1 7 のいずれか記載の方法。

【請求項 1 9】

前記イメージング剤の結合を検出するための方法は陽電子放出断層撮影法である、請求項 1 5 ~ 1 8 のいずれか記載の方法。

【請求項 2 0】

被験者がヒトである、請求項 1 5 ~ 1 9 のいずれか記載の方法。

【請求項 2 1】

1) 被験者の組織試料を、請求項 1 ~ 1 4 のいずれか記載のイメージング剤と接触させる工程；及び
2) 試料中の特異的に結合したイメージング剤を検出する工程
を含む、被験者における C X 3 C R 1 の上昇した発現によって特徴付けられる疾病をエクスピボで診断するための方法。

10

20

30

40

50

【請求項 2 2】

a) 非罹患組織と比較して罹患組織において請求項 1 ~ 1 4 のいずれか記載のイメージング剤のより高いレベルの結合を有するとして患者を同定する工程；

b) 治療剤を患者に投与する工程

を含む、C X 3 C R 1 の上昇した発現によって特徴付けられる疾病を有する患者を処置するための方法。

【請求項 2 3】

前記疾病が、心臓及び脳血管の動脈硬化性疾患、末梢動脈疾患、再狭窄、糖尿病性腎症、糸球体腎炎、ヒト半月板形成性糸球体腎炎、I g A 腎症、膜性腎症、ループス腎炎、膵炎、ヘノッホ・シェーンライン紫斑病及びウェゲナー肉芽腫症を含む血管炎、関節リウマチ、変形性関節症、同種移植片拒絶、全身性硬化症、神経変性疾患及び脱髄疾患、多発性硬化症(M S)、アルツハイマー病、C O P D、喘息のような肺疾患、神経障害性疼痛、炎症性疼痛、及び癌から選択される、請求項 2 2 記載の方法。

10

【請求項 2 4】

前記疾病はアテローム性動脈硬化症である、請求項 2 2 又は 2 3 記載の方法。

【請求項 2 5】

効果的な治療剤はC X 3 C R 1 アンタゴニストである、請求項 2 2 ~ 2 4 のいずれか記載の方法。

【請求項 2 6】

a) C X 3 C R 1 標的化ポリペプチドの生成

20

b) 検出標識の結合、及び

c) 場合によりさらなる賦形剤の混合

の工程を含む、請求項 1 ~ 1 4 のいずれか記載のイメージング剤の製造法。

【請求項 2 7】

請求項 1 ~ 1 4 のいずれか記載のイメージング剤の製造のための放射性同位体、イメージング用色素、常磁性体、又は微小気泡から選択された検出標識の使用。

【請求項 2 8】

被験者におけるC X 3 C R 1 の発現上昇によって特徴付けられる疾病の診断法に使用するための請求項 1 ~ 1 4 のいずれか記載のイメージング剤を含む組成物。

30

【請求項 2 9】

請求項 1 ~ 1 4 のいずれか記載のイメージング剤を含む、被験者におけるC X 3 C R 1 の発現上昇によって特徴付けられる疾病の診断法に使用するためのキット。

【請求項 3 0】

被験者におけるC X 3 C R 1 の発現上昇によって特徴付けられる疾病の診断法の使用説明書をさらに含む、請求項 2 9 記載のキット。

【発明の詳細な説明】**【技術分野】****【0 0 0 1】**

発明の分野

本発明は、C X 3 C R 1 結合ポリペプチド、並びに、アテローム性動脈硬化症をはじめとする疾病の診断及び処置のためのインビボでのイメージングにおけるその使用に関する。

40

【0 0 0 2】

背景

心臓血管疾患は、米国及び他の先進国において主要な死因である。アテローム性動脈硬化症は進行性の動脈壁の疾病であり、脂質沈着及び慢性炎症によりプラークが発達する。大半のプラークは無症候性のままであるが、いくつかは血栓症(不安定)及び破裂が起こりやすく、その結果、心筋梗塞又は心臓発作が起こり得る。血管壁を見るために様々な画像診断法が開発されている(Verjans, 2013; J. of Cardiovasc. Trans. Res. ePub June, 2013)。光干渉断層撮影法(O C T)及び血管内超音波検査(I V U S)などのいくつ

50

かの技術がプラークの組成及び安定性に関する情報を与えることができるが、それらは侵襲的な手順を必要とする。別の技術は、プラーク中のマクロファージなどの活発に代謝している細胞によって取り込まれ、陽電子放出断層撮影法 (PET) によって検出することができる基質である ^{18}F -フルオロデオキシグルコースを利用する。 ^{18}F -FDG PETは、プラークの炎症をモニタリングするための臨床的有用性を示したが、それはまた多くの組織にも非選択的に取り込まれる可能性がある。動脈硬化性疾患の進行及び不安定プラークの発達を駆り立てる活発な細胞プロセス及び分子プロセスへの洞察を提供するために、新規な分子イメージングツールが必要とされる。高度な炎症を有する及び/又は破裂しがちな病変の検出を支援するツールは、リスクのある患者の同定のための及び新規療法の効力の評価のための価値ある機序を提供するだろう。

10

【0003】

発明の要約

本発明は、新規なCX3CR1標的化イメージング剤を提供する。別の態様では、これらのイメージング剤は、動脈硬化性疾患を診断するのに有用である。別の態様では、これらのイメージング剤は、CX3CR1アンタゴニスト治療薬による処置又は動脈硬化性疾患のための他の公知の処置によって恩恵を受けるであろうアテローム性動脈硬化症患者を選択又は層別化するのに有用である。さらなる態様では、これらのイメージング剤は、組織におけるCX3CR1の上昇した発現によって特徴付けられる疾病の診断において有用である。

20

【図面の簡単な説明】

【0004】

【図1】CHO-hCX3CR1及びCHO-WT細胞に対する $^{99\text{m}}\text{Tc}$ -VHHドメイン (1nM) の標準化された結合。

【図2】静脈内注射から3時間後に得られたC57BL/6マウス及びhCX3CR1 KIマウスにおける一価VHHドメイン $^{99\text{m}}\text{Tc}$ -CX3CR1BII66B02及び二価VHHドメイン $^{99\text{m}}\text{Tc}$ -CX3CR1BII318の体内分布の代表的なインビボでのSPECT/CT全身最大値投影像。L = 肝臓、Kd = 腎臓、Bl = 膀胱、LN = リンパ節、St = 胃、B = 骨、Int = 腸、Spl = 脾臓、i.s. = 注射部位。

【図3】高脂肪、高コレステロールの食餌を16週間与えられたhCX3CR1 KI ApoE $^{-/-}$ マウスにおける $^{99\text{m}}\text{Tc}$ -CX3CR1BII66B02及び $^{99\text{m}}\text{Tc}$ -CX3CR1BII318の体内分布の全身SPECT/CT画像。横断面図、冠状面図、及び矢状面図は、大動脈の底部にある動脈硬化性病変 (白い矢印) への $^{99\text{m}}\text{Tc}$ -VHHドメインの取り込みの可視化を可能とする。過剰な標識されていないVHHドメインを共投与して特異性 (+ 遮断) を実証した。

30

【図4A】病変スコアに従って順位付けられた、ApoE $^{-/-}$ マウスと、hCX3CR1 KI ApoE $^{-/-}$ マウスと、過剰な標識されていないVHHドメインを共投与されたhCX3CR1 KI ApoE $^{-/-}$ マウスとの大動脈セグメントへの $^{99\text{m}}\text{Tc}$ -CX3CR1BII66B02の取り込みのエクスピボでの定量化。

【図4B】病変スコアに従って順位付けられた、ApoE $^{-/-}$ マウスと、hCX3CR1 KI ApoE $^{-/-}$ マウスと、過剰な標識されていないVHHドメインを共投与されたhCX3CR1 KI ApoE $^{-/-}$ マウスとの大動脈セグメントへの $^{99\text{m}}\text{Tc}$ -CX3CR1BII318の取り込みのエクスピボでの定量化。

40

【図5】 $^{99\text{m}}\text{Tc}$ -CX3CR1BII66B02の注射されたhCX3CR1 KI ApoE $^{-/-}$ マウスから単離された大動脈セグメントの代表的なカラースケールオートラジオグラフ画像。白い矢印は、病変スコア1を有するセグメントにおける小さな個々のプラークを指し示す。

【0005】

発明の詳細な説明

本発明は、CX3CR1に特異的に結合する免疫グロブリン単一可変ドメインポリペプチドに基づいたイメージング用トレーサーとしても知られるイメージング剤、及び診断用

50

ツールとしてのその使用に関する。イメージング剤は、検出標識に連結された C X 3 C R 1 標的化単一可変ドメインポリペプチドからなる。本発明のイメージング剤を含む単一可変ドメインポリペプチドは好ましくは、本明細書において以後定義されているような、ラクダに由来する V H H ドメイン（又は単に「V H H」）であるが、これに限定されない。

【0006】

C X 3 C R 1 は、G タンパク質共役膜内在性タンパク質で、ケモカイン受容体ファミリーの一員である。それは、膜内在性タンパク質として産生される、フラクタルカインという独特なリガンドを有する。それはまた、タンパク質分解切断によって循環中へと放出され得る。ヒトにおいて活性の低下した C X 3 C R 1 変異体（V 2 4 9 I / T 2 8 0 M）は、低リスクの心臓血管疾患（冠動脈心疾患、脳血管疾患、又は末梢血管疾患）（McDermott, 2001; Circ. Res. 89:401）、冠動脈疾患（血管造影による狭窄のエビデンス）（McDermott, 2003; J. Clin. Invest. 111:1241）、及び頸動脈閉塞疾患（Ghilardi, 2004; Stroke 35:1276）に関連することが示された。いくつかの独立したマウス遺伝子研究は、アテローム性動脈硬化症に対する C X 3 C R 1 欠損症の有益な効果を示した。高脂肪食餌を与えられた 2 つの独立に由来した C X 3 C R 1^{-/-} a p o E^{-/-} マウス系統において、大動脈弓及び胸部大動脈における病変領域の減少、並びにプラークにおける単球 / マクロファージ蓄積の減少が見られた（Combadiere, 2003; Circulation, 107:1009, Lesnik, 2003; J. Clin. Invest. 111:333）。

10

【0007】

C X 3 C R 1 は、動脈硬化プラークの発症及び進行に関連している単球、樹状細胞及び T 細胞などの細胞タイプに主に発現される。それは、循環中のヒト中間型単球（C D 1 4⁺ C D 1 6⁺）及び非古典的な単球（C D 1 4^{d i m} C D 1 6⁺）上に高度に発現されている（Cros, 2010; Immunity 33:375）。血管内 O C T によって決定される破裂したプラークのエビデンスを有する不安定狭心症患者において、循環中に増加した数の C D 1 6⁺ C X 3 C R 1⁺ 単球が観察された（Ikejima, 2010; Circ. J. 74:337）。同様に、循環中の上昇した C D 1 6⁺ 単球レベルは、不安定狭心症患者において多検出器コンピュータ断層撮影法によって測定されるような不安定プラークに相関し（Kashiwagii, 2010; Atherosclerosis 212:71）、C D 1 4⁺ C D 1 6⁺ 単球レベルは独立して、待機冠動脈造影を受けている患者における心血管イベントを予測した（Ragacev, 2012; J. Am. Coll. Cardiol. 60:1512）。免疫組織化学検査によって、C X 3 C R 1 はまた、ヒト頸動脈プラークにおいても発現されていることが示され、C X 3 C R 1⁺ 細胞数は病変の発生と共に増加した（Stolla, 2012; PLOS One 7:e43572）。C X 3 C R 1 は、炎症レベルが上昇したプラークについてのマーカーであるようである。

20

30

【0008】

免疫グロブリン単一可変（V H H）ドメインは、イメージング剤としての使用に十分に適している（De Vos, 2013; Expert Opin. Biol. Ther. 8:1149）。ある種の V H H は、ラクダー本鎖抗体の抗原結合ドメインに由来する。血液からの急速なクリアランスをもたらすその小さなサイズ（15 kDa 未満）と、特異的な標的の結合を可能とするその高い親和性のために、バックグラウンドに対する良好なシグナルを用いての、患者への曝露を最小限にする短寿命の放射性同位体の使用を可能とするイメージングを、投与直後に実施することができる。V H H ドメインはまた良好な物理化学的特性を有し、そして、様々な画像診断法での使用のために、血中及び標識に必要とされる条件下で安定である。C X 3 C R 1 に特異的な V H H ドメインは、炎症性又は不安定性プラークを同定する価値ある非侵襲的なイメージングツールを提供し得、かつ、患者の選択、層別化、診断、予後予測、又は新規なアテローム性動脈硬化症療法についての処置の成功のモニタリングに使用され得る。それはまた、組織での上昇した C X 3 C R 1 の発現によって特徴付けられる他の疾病におけるインビボでのイメージングのために使用され得る。

40

【0009】

特に指定又は定義されていない限り、使用される全ての用語は、当技術分野におけるその通常の意味を有し、これは当業者には明らかであろう。例えば、標準的なハンドブック

50

、例えばSambrook et al., 「Molecular Cloning: A Laboratory Manual」(2nd Ed.), Vols. 1-3, Cold Spring Harbor Laboratory Press (1989); Lewin, 「Genes IV」, Oxford University Press, New York, (1990)、及びRoitt et al., 「Immunology」(2nd Ed.), Gower Medical Publishing, London, New York (1989)、並びに、そこに引用された一般的な背景技術について言及する。さらに、特記しない限り、具体的に詳述されていない全ての方法、工程、技術、及び操作を実施することができ、かつそれらは当業者には明らかであろうように、それ自体公知の方法で実施される。例えば、再び、標準的なハンドブック、上記に参照した一般的な背景技術、及び、そこに引用されているさらに他の参考文献も言及する。

【0010】

特記しない限り、「免疫グロブリン」及び「免疫グロブリン配列」という用語は、(本明細書において、重鎖抗体又は慣用的な4本鎖抗体を指すために使用される)完全サイズの抗体、その個々の鎖、並びに、その全ての部分、ドメイン又はフラグメント(抗原結合ドメイン又はフラグメント、例えばそれぞれVHHドメイン又はVH/VLドメインを含むがこれらに限定されない)の両方を含む一般的な用語として使用される。さらに、本明細書において使用される「配列」という用語(例えば、「免疫グロブリン配列」、「抗体配列」、「(単一)可変ドメイン配列」、「VHH配列」又は「タンパク質配列」のような用語における)は一般的に、脈絡からより限定された解釈が必要とされない限り、関連アミノ酸配列並びにそれをコードする核酸配列若しくはヌクレオチド配列の両方を含むと理解されるべきである。

【0011】

本明細書において使用される(ポリペプチド又はタンパク質の)「ドメイン」という用語は、タンパク質の残りの部分とは独立してその3次構造を保持する能力を有する、折り畳まれたタンパク質構造を指す。一般的には、ドメインは、タンパク質の個別の機能的特性に関与し、かつ、多くの場合、タンパク質の残りの部分及び/又はドメインの機能を消失することなく、他のタンパク質に添加、除去、又は移行され得る。

【0012】

本明細書において使用される「免疫グロブリンドメイン」という用語は、抗体鎖(例えば、慣用的な4本鎖抗体又は重鎖抗体の鎖)の球状領域、又は、このような球状領域から本質的になるポリペプチドを指す。免疫グロブリンドメインは、保存されたジスルフィド結合によって場合により安定化された、2枚の β -シートに並べられた2層の約7個の逆平行 β 鎖のサンドイッチからなる、抗体分子に特徴的な免疫グロブリン折り畳みを保持することで特徴付けられる。

【0013】

本明細書において使用される「免疫グロブリン可変ドメイン」という用語は、当技術分野及び本明細書の下記において、「フレームワーク領域1」又は「FR1」;「フレームワーク領域2」又は「FR2」;「フレームワーク領域3」又は「FR3」;及び「フレームワーク領域4」又は「FR4」とそれぞれ称される、4つの「フレームワーク領域」から本質的になる免疫グロブリンドメインを意味し;これらのフレームワーク領域は、当技術分野及び本明細書の下記において、「相補性決定領域1」又は「CDR1」;「相補性決定領域2」又は「CDR2」;及び「相補性決定領域3」又は「CDR3」とそれぞれ称される、3つの「相補性決定領域」又は「CDR」によって分断されている。したがって、免疫グロブリン可変ドメインの一般的な構造又は配列は、以下のように示すことができる: FR1 - CDR1 - FR2 - CDR2 - FR3 - CDR3 - FR4。それは、抗原結合部位を有することによって抗原に対する特異性を抗体に付与する免疫グロブリン可変ドメイン(群)である。

【0014】

本明細書において使用される「免疫グロブリン単一可変ドメイン」及び「単一可変ドメイン」という用語は、さらなる免疫グロブリン可変ドメインと対を形成することなく、抗原のエピトープに特異的に結合することのできる免疫グロブリン可変ドメインを意味する

10

20

30

40

50

。本発明の意味における免疫グロブリン単一可変ドメインの一例は、「ドメイン抗体」、例えば免疫グロブリン単一可変ドメインV_H及びV_L(V_Hドメイン及びV_Lドメイン)である。免疫グロブリン単一可変ドメインの別の例は、本明細書において以後定義されているような、ラクダ由来の「V_HHドメイン」(又は単に「V_HH」)である。

【0015】

上記の定義の観点から、慣用的な4本鎖抗体(例えば、当技術分野において公知であるIgG、IgM、IgA、IgD、又はIgE分子)又はFabフラグメント、F(ab')₂フラグメント、Fvフラグメント、例えばジスルフィドに連結したFv若しくはscFvフラグメント、又はこのような慣用的な4本鎖抗体から導かれたディアボディ(全て当技術分野において公知である)の抗原結合ドメインは通常、免疫グロブリン単一可変ドメインと捉えられないだろう。なぜなら、これらの場合、抗原のそれぞれのエピトープへの結合は通常、1つの(単一の)免疫グロブリンドメインによってではなく、それぞれの抗原のエピトープと一緒に結合する一对の(会合している)免疫グロブリンドメイン、例えば軽鎖及び重鎖可変ドメイン、すなわち免疫グロブリンドメインのV_H-V_L対によって起こるからである。

【0016】

V_HH、V_HHドメイン、V_HH抗体フラグメント、及びV_HH抗体としても知られる「V_HHドメイン」は当初、「重鎖抗体」(すなわち、「軽鎖の欠失した抗体」; C. Hamers-Casterman et al., 1993; Nature363: 446)の抗原結合免疫グロブリン(可変)ドメインとして記載されている。「V_HHドメイン」という用語は、これらの可変ドメインを、慣用的な4本鎖抗体に存在する重鎖可変ドメイン(本明細書において「V_Hドメイン」又は「V_Hドメイン」と称される)から、及び慣用的な4本鎖抗体に存在する軽鎖可変ドメイン(本明細書において「V_Lドメイン」又は「V_Lドメイン」と称される)から区別するために選択された。V_HHドメインは、追加の抗原結合ドメインを有することなく、エピトープに特異的に結合することができる(慣用的な4本鎖抗体におけるV_H又はV_Lドメインとは逆で、慣用的な4本鎖抗体の場合には、エピトープはV_Hドメインと共にV_Lドメインによって認識される)。V_HHドメインは、単一免疫グロブリンドメインによって形成された小さく、頑強で、効率的な抗原認識単位である。

【0017】

本発明の脈絡において、V_HHドメイン、V_HH、V_HHドメイン、V_HH抗体フラグメント、V_HH抗体、並びに「ナノボディ(登録商標)」及び「ナノボディ(登録商標)ドメイン」(「ナノボディ」はAblynx N.V.社; ヘント; ベルギーの商標名である)という用語は同義語として使用され、かつ、免疫グロブリン単一可変ドメイン(構造: FR1-C_DR1-FR2-C_DR2-FR3-C_DR3-FR4を有し、第二の免疫グロブリン可変ドメインの存在を必要とすることなくエピトープに特異的に結合する)を示し、例えば国際公開公報第2009/109635号、図1に定義されているような、いわゆる「特徴的な残基」によってV_Hドメインから区別される。

【0018】

V_HHドメインのアミノ酸残基は、例えばRiechmann and Muyldermans, 1999; J. Immunol. Methods, 231: 25の図2に示されているようなラクダ由来のV_HHドメインに適用されるような、Kabat et al. (「Sequence of proteins of immunological interest」、米国公衆衛生局、米国国立衛生研究所、ベテスダ、MD、出版番号91)によって示されるV_Hドメインについての一般的な番号付けに従って番号付けされる。この番号付けによると、

- FR1は、1~30位のアミノ酸残基を含み、
- C_DR1は、31~35位のアミノ酸残基を含み、
- FR2は、36~49位のアミノ酸を含み、
- C_DR2は、50~65位のアミノ酸残基を含み、
- FR3は、66~94位のアミノ酸残基を含み、
- C_DR3は、95~102位のアミノ酸残基を含み、及び

- F R 4 は、1 0 3 ~ 1 1 3 位のアミノ酸残基を含む。

【0 0 1 9】

しかし、V_Hドメイン及びV_HHドメインについて当技術分野において周知であるように、各C D Rにおけるアミノ酸残基の総数は変更されてもよく、Kabat番号付けによって示されるアミノ酸残基の総数に対応しなくてもよい（すなわち、Kabat番号付けによる1つ以上の位置は実際の配列において占有されていなくてもよい、又は、実際の配列は、Kabat番号付けによって許容される数よりも多いアミノ酸残基を含んでいてもよい）。このことは、一般的に、Kabatによる番号付けは、実際の配列中のアミノ酸残基の実際の番号付けに対応していても対応していなくてもよいことを意味する。

【0 0 2 0】

10

V_Hドメインのアミノ酸残基を番号付けするための代替的な方法（この方法を、V_HHドメインにも同じように適用することができる）は当技術分野において公知である。しかし、本明細書、特許請求の範囲、及び図面において、Kabatによるかつ上記のようにV_HHドメインに適用された番号付けが、特記しない限り行なわれるだろう。

【0 0 2 1】

V_HHドメイン中のアミノ酸残基の総数は通常、1 1 0 ~ 1 2 0、しばしば1 1 2 ~ 1 1 5の範囲内である。しかし、より短い及びより長い配列も、本明細書に記載の目的に適切であり得ることが認識されるべきである。

【0 0 2 2】

20

C D R領域の決定はまた、様々な方法に従って実施され得る。KabatによるC D Rの決定において、V_HHのF R 1は、1 ~ 3 0 位のアミノ酸残基を含み、V_HHのC D R 1は3 1 ~ 3 5 位のアミノ酸残基を含み、V_HHのF R 2は3 6 ~ 4 9 位のアミノ酸を含み、V_HHのC D R 2は5 0 ~ 6 5 位のアミノ酸残基を含み、V_HHのF R 3は6 6 ~ 9 4 位のアミノ酸残基を含み、V_HHのC D R 3は9 5 ~ 1 0 2 位のアミノ酸残基を含み、V_HHのF R 4は1 0 3 ~ 1 1 3 位のアミノ酸残基を含む。

【0 0 2 3】

しかし、本明細書において、C D R配列は、Kontermann及びDubel (Eds., Antibody Engineering, vol 2, Springer Verlag Heidelberg Berlin, Martin, Chapter 3, pp. 33-51, 2010)に従って決定された。この方法によると、F R 1は、1 ~ 2 5 位のアミノ酸残基を含み、C D R 1は2 6 ~ 3 5 位のアミノ酸残基を含み、F R 2は3 6 ~ 4 9 位のアミノ酸を含み、C D R 2は5 0 ~ 5 8 位のアミノ酸残基を含み、F R 3は5 9 ~ 9 4 位のアミノ酸残基を含み、C D R 3は9 5 ~ 1 0 2 位のアミノ酸残基を含み、F R 4は1 0 3 ~ 1 1 3 位のアミノ酸残基を含む。

30

【0 0 2 4】

V_HHドメイン及びそれを含有するポリペプチドのさらなる構造的特徴及び機能的特性を以下のように要約することができる：

【0 0 2 5】

40

（軽鎖可変ドメインが存在しなくても、及び軽鎖可変ドメインと全く相互作用しなくても、抗原に機能的に結合するように自然界で「設計」された）V_HHドメインは、単一の、比較的小さい、機能的な抗原結合構造単位、ドメイン、又はポリペプチドとして機能することができる。これにより、単独では一般的に、単一抗原結合タンパク質又は免疫グロブリン単一可変ドメインとして実用的な適用には適しておらず、何らかの形又は別の形で合体させて、機能的な抗原結合単位（例えば、F a bフラグメントなどの慣用的な抗体フラグメント；V_Lドメインに共有結合で連結されたV_Hドメインからなるs c F vにおけるような）をもたらす必要がある、慣用的な4本鎖抗体のV_Hドメイン及びV_LドメインからV_HHドメインが区別される。

【0 0 2 6】

これらの独特な特性のために、単独で又はより大きなポリペプチドの一部としてのいずれかでの、V_HHドメインの使用は、慣用的なV_H及びV_Lドメイン、s c F v又は慣用的な抗体フラグメント（例えばF a b又はF (a b') 2フラグメント）の使用を上回る

50

多くの有意な利点を与える：

- 高い親和性及び高い選択性で抗原に結合するために、僅か1つのドメインだけが必要とされるので、2つの別々のドメインが存在することは必要なく、また、これらの2つのドメインが正しい空間的コンフォメーション及び立体配置で存在することを確保する（すなわち、s c F vのように、特別に設計されたリンカーの使用を通して）必要もない；
- V H Hドメインは、単一の遺伝子から発現させることができ、翻訳後折り畳み又は修飾を必要としない；
- V H Hドメインは、（本明細書においてさらに考察されているように）多価及び多重特異的フォーマットへと容易に工学操作することができる；
- V H Hドメインは溶解度が高く、（Ward et al., 1989; Nature, 341: 544によって記載されたマウス由来抗原結合ドメインのように）凝集する傾向を有さない；
- V H Hドメインは、熱、p H、プロテアーゼ及び他の変性剤、又は条件に対して非常に安定であり、したがって、冷凍設備を使用することなく調製、保存、又は輸送され得、費用、時間、及び環境保全をもたらす；
- V H Hドメインは、生産に必要とされる規模でさえ、調製が容易で比較的安価である。例えば、V H Hドメイン及びそれを含有するポリペプチドは、（例えば以下にさらに記載されているような）微生物発酵を使用して生成することができ、例えば慣用的な抗体フラグメントのように、哺乳動物発現系の使用を必要としない；
- V H Hドメインは、慣用的な4本鎖抗体及びその抗原結合フラグメントと比較して比較的小さく（約15 kDa、すなわち慣用的なI g Gより10倍小さい）、それ故、
——組織への（より）高い透過性を示し、かつ
——このような慣用的な4本鎖抗体及びその抗原結合フラグメントよりも高用量で投与することができる；
- V H Hドメインは、いわゆる空洞結合特性を示し得（とりわけ、慣用的なV Hドメインと比較して、その伸張したC D R 3ループに因り）、それ故、慣用的な4本鎖抗体及び抗原結合フラグメントが近づけない標的及びエピトープにも近づくことができる。

【0027】

特異的抗原又はエピトープに結合するV H Hドメインを得る方法は以前に、例えば、国際公開公報第2006/040153号及び第2006/122786号に記載されている。これもまたそこに詳細に記載されているように、ラクダに由来するV H Hドメインは、元来のV H H配列のアミノ酸配列中の1つ以上のアミノ酸残基を、ヒト由来の慣用的な4本鎖抗体由来のV Hドメイン中の対応する位置（群）に存在する1つ以上のアミノ酸残基によって置換することによって「ヒト化」することができる。ヒト化V H Hドメインは、1つ以上の部分的又は完全なヒトフレームワーク領域配列を含有し得、さらにより特定の実施態様では、場合によりJ H 5などのJ H配列と合体させた、D P - 29、D P - 47、D P - 51、又はその一部に由来するヒトフレームワーク領域配列を含有し得る。

【0028】

同義語として使用され得る「エピトープ」及び「抗原性決定基」という用語は、本発明の慣用的な抗体又はポリペプチドなどの抗原結合分子によって、より特定すると該分子の抗原結合部位によって認識される、ポリペプチドなどの巨大分子の一部を指す。エピトープは、免疫グロブリンに結合する最小部位を定義し、したがって、免疫グロブリンに特異的な標的を示す。

【0029】

特定のエピトープ、抗原又はタンパク質（又は少なくともその一部分、そのフラグメント、又はそのエピトープ）に「結合する」又は「特異的に結合する」ことができる、「標的化」する又は「に対して標的化する」、「に対する親和性を有する」及び/又は「に対する特異性を有する」、ポリペプチド（例えば本発明の免疫グロブリン、抗体、免疫グロブリン単一可変ドメイン、ポリペプチド、又は一般的には抗原結合分子若しくはそのフラグメント）は、該エピトープ、抗原、又はタンパク質に「対する」又は「対して指向される」と言われるか、あるいは、このようなエピトープ、抗原又はタンパク質に対して「結

10

20

30

40

50

合する」分子であるか、あるいは、「抗」 - エピトープ、「抗」 - 抗原、又は「抗」 - タンパク質（例えば抗 C X 3 C R 1）と言われる。

【 0 0 3 0 】

一般的に、「特異性」という用語は、特定の抗原結合分子又は抗原結合タンパク質（例えば本発明の免疫グロブリン、抗体、免疫グロブリン単一可変ドメイン、又はポリペプチド）が結合することのできる、様々な種類の抗原又はエピトープの数を指す。抗原結合タンパク質の特異性は、その親和性及び／又は結合力に基づいて決定することができる。抗原と抗原結合タンパク質との解離についての平衡定数（ K_D ）によって示される親和性は、 K_D の数値が低いほど、エピトープと抗原結合分子との間の結合強度は強くなる（あるいは、親和性はまた、親和性定数（ K_A ）として表現され得、これは $1 / K_D$ である）。当業者には（例えば、本明細書のさらなる開示に基づいて）明らかであろうとおり、親和性は、それ自体公知の方法で、関心対象の具体的な抗原に依存して決定することができる。結合力は、抗原結合分子（例えば本発明の免疫グロブリン、抗体、免疫グロブリン単一可変ドメイン、又はポリペプチド）と関連抗原との間の結合の強度の尺度である。結合力は、エピトープと、抗原結合分子上のその抗原結合部位との間の親和性、及び、抗原結合分子上に存在する関連結合部位の数の両方に関連する。

【 0 0 3 1 】

アミノ酸残基は、一般的に当技術分野において公知でありかつ認められているように、標準的な 3 文字又は 1 文字アミノ酸コードに従って示されるだろう。2 つのアミノ酸配列を比較する場合、「アミノ酸の差異」という用語は、第二配列と比較して、基準配列の位置における指定された番号のアミノ酸残基の挿入、欠失、又は置換を指す。置換（群）の場合、このような置換（群）は好ましくは、保存的アミノ酸の置換（群）であり、これは、アミノ酸残基が、類似した化学的構造で、該ポリペプチドの機能、活性、又は他の生物学的特性に対して殆ど又は全く影響を及ぼさない、別のアミノ酸残基で置換されることを意味する。このような保存的アミノ酸置換は、当技術分野において、例えば国際公開公報第 9 8 / 4 9 1 8 5 号から周知であり、保存的アミノ酸置換は好ましくは、以下の群（i）～（v）内の 1 つのアミノ酸が、同じ群：（i）小さな脂肪族であるか非極性であるか又は僅かに極性である残基：A l a、S e r、T h r、P r o 及び G l y；（ii）極性で負に荷電した残基及びその（荷電していない）アミド：A s p、A s n、G l u 及び G l n；（iii）極性で正に荷電した残基：H i s、A r g 及び L y s；（iv）大きな脂肪族で非極性の残基：M e t、L e u、I l e、V a l、及び C y s；並びに（v）芳香族残基：P h e、T y r 及び T r p 内の別のアミノ酸残基によって置換されている、置換である。特に好ましい保存的アミノ酸置換は以下の通りである：

A l a から G l y 又は S e r へ；
 A r g から L y s へ；
 A s n から G l n 又は H i s へ；
 A s p から G l u へ；
 C y s から S e r へ；
 G l n から A s n へ；
 G l n から A s p へ；
 G l y から A l a 又は P r o へ；
 H i s から A s n 又は G l n へ；
 I l e から L e u 又は V a l へ；
 L e u から I l e 又は V a l へ；
 L y s から A r g へ、G l n へ、又は G l u へ；
 M e t から L e u へ、T y r へ、又は I l e へ；
 P h e から M e t へ、L e u へ、又は T y r へ；
 S e r から T h r へ；
 T h r から S e r へ；

Trp から Tyr へ ;
Tyr から Trp 又は Phe へ ;
Val から Ile 又は Leu へ。

【 0 0 3 2 】

例えば 2 つの免疫グロブリン単一可変ドメイン配列間の「配列同一率」は、これらの 2 つの配列間で同一であるアミノ酸の比率を示す。それは、国際公開公報第 0 8 / 0 2 0 0 7 9 号の 4 9 頁及び 5 0 頁の段落 f) に記載のように計算又は決定され得る。「配列同一率」は、同一であるか又は保存的アミノ酸置換を示すかのいずれかである、アミノ酸の比率を示す。

【 0 0 3 3 】

10

標的特異性

本発明の C X 3 C R 1 標的化ポリペプチドは、ヒト C X 3 C R 1 に対する特異性を有する。したがって、C X 3 C R 1 標的化ポリペプチド及び検出標識を含む本発明のイメージング剤は好ましくはヒト C X 3 C R 1 (配列番号 2 3 0) に結合する。

【 0 0 3 4 】

本明細書に記載のイメージング剤の C X 3 C R 1 標的化ポリペプチド部分は、V H H ドメインから構成される。代表的な V H H ドメインは、表 1、2、3 (それぞれファミリー 1 0 1、9、及び 1 3 の代表的なポリペプチド) 及び 4 (ファミリー 1 0 1 の最適化変異体の代表的なポリペプチド) に示された C D R 配列を有する。最適化変異体は、ヒト化されている、並びに / 又は、安定性、効力、製造可能性、及び / 若しくはヒトフレームワーク領域に対する類似性のために最適化されている。

20

【 0 0 3 5 】

【表 1】

表1: ファミリー101

VHH ドメイン	配列 番号	CDR1*	CDR1 の配列 番号	CDR2*	CDR2 の配列 番号	CDR3*	CDR3 の配列 番号
CX3CR1BI IPMP66B0 2	1	GSIFSSNA MA	141	AINSVGV TK	162	DPRRGW DTRY	186
CX3CR1BI IPMP54A1 2	2	GSIFSSNA MA	141	VINSVGIT K	163	DARRGW DTRY	187
CX3CR1BI IPMP54A3	3	GSIFSSNA MA	141	GINSVGIT K	164	DPRRGW DTRY	186
CX3CR1BI IPMP54A4	4	GSIFSSNA MA	141	GINSVGIT K	164	DPRRGW DTRY	186
CX3CR1BI IPMP54A5	5	GSIFSSNA MA	141	GINSVGIT K	164	DPRRGW DTRY	186
CX3CR1BI IPMP54A7	6	GTIFSSN AMA	142	GINSVDIT K	165	DPRRGW NTRY	188
CX3CR1BI IPMP54B1	7	GSIFSSNA MA	141	GINSVGIT K	164	DPRRGW DTRY	186
CX3CR1BI IPMP54B2	8	GTIFSSN AMA	142	GINSVDIT K	165	DPRRGW NTRY	188
CX3CR1BI IPMP54B3	9	GSIFSSNA MA	141	AINSVGIT K	166	DPRRGW DTRY	186

10

20

30

40

CX3CR1BI IPMP54B5	10	GSIFSSNA MA	141	GINSVGIT K	164	DPRRGW DTRY	186
CX3CR1BI IPMP54D5	11	GSIFSSNA MA	141	LINSVGIT K	167	DGRRGW DTRY	189
CX3CR1BI IPMP54D8	12	GSIFSSNA MA	141	GINSVGIT K	164	DPRRGW DTRY	186
CX3CR1BI IPMP54F6	13	GSIFSSNA MA	141	AINSVGIT K	166	DPRRGW DTRY	186
CX3CR1BI IPMP54G3	14	GSIFSSNA MA	141	LINSVGIT K	167	DPRRGW DTRY	186
CX3CR1BI IPMP54H1	15	GTIFSSN AMA	142	GINSDIT K	165	DPRRGW NTRY	188
CX3CR1BI IPMP54H4	16	GSIFSSNA MA	141	VINSVGIT K	163	DARRGW DTRY	187
CX3CR1BI IPMP61F1 0	17	GTIFSSN AMA	142	GINSDIT K	165	DPRRGW NTRY	188
CX3CR1BI IPMP61D1	18	GSIFSSNA MA	141	LINSVGIT K	167	DPRRGW DTRY	186
CX3CR1BI IPMP61D5	19	GSIFSSNA MA	141	LINSVGIT K	167	DPRRGW DTRY	186
CX3CR1BI IPMP61E2	20	GSIFSSNA MA	141	GINSVGIT K	164	DPRRGW DTRY	186

10

20

30

40

CX3CR1BI IPMP61F1 1	21	GSIFSSNA MA	141	AINSVGIT K	166	DPRRGW DTRY	186
CX3CR1BI IPMP61G2	22	GSIFSSNA MA	141	LINSVGIT K	167	DPRRGW DTRY	186
CX3CR1BI IPMP61G3	23	GSIFSSNA MA	141	AINSVGIT K	166	DPRRGW DTRY	186
CX3CR1BI IPMP61G4	24	GSIFSSNA MA	141	AINSVGIT K	166	DPRRGW DTRY	186
CX3CR1BI IPMP61F4	25	GSIFSSNA MA	141	VINTVGI TK	168	DARRGW DTRY	187
CX3CR1BI IPMP61A1 1	26	GSIFSSNA MA	141	VINSVGIT K	163	DARRGW DTRY	187
CX3CR1BI IPMP61B2	27	GSIFSSNA MA	141	VINTVGI TK	168	DARRGW DTRY	187
CX3CR1BI IPMP61C9	28	GSIFSSNA MA	141	LIDSAGIT K	169	DARRGW NTKY	190
CX3CR1BI IPMP65H0 2	29	GSIFSSNA MA	141	AINSVGIT K	166	DPRRGW DTRY	186
CX3CR1BI IPMP65E1 1	30	GSIFSSNA MA	141	GINSVGI AK	170	DPRRGW DTRY	186

10

20

30

40

CX3CR1BI IPMP65E1 0	31	GSIFSSNA KA	143	GINSVGIT K	164	DPRRGW DTRY	186
CX3CR1BI IPMP65E0 5	32	GSIFSSNA MA	141	GINSVGIT K	164	DPRRGW DTRY	186
CX3CR1BI IPMP65B1 1	33	GSIFSSNA MA	141	VINKVGI TK	171	DPRRGW DTRY	186
CX3CR1BI IPMP65B0 7	34	GSIFSSNA MA	141	AINSVGIT K	166	DPRRGW DTRY	186
CX3CR1BI IPMP65B0 9	35	GSIFSRN AMA	144	SINSVGIT K	172	DARRGW DTRY	187
CX3CR1BI IPMP65H0 1	36	GGIFSRN AMA	145	SINSVGIT K	172	DARRGW DTRY	187
CX3CR1BI IPMP65G0 7	37	GTIFSSN AMA	142	GINSDIT R	173	DPRRGW NTRY	188
CX3CR1BI IPMP66H0 8	38	GSIFSSNA MA	141	LINSVGIT K	167	DPRRGW DTRY	186

10

20

30

40

CX3CR1BI IPMP66H0 4	39	GSIFSSNA MA	141	AINSVGIT K	166	DPRRGW DTRY	186
CX3CR1BI IPMP66F0 2	40	GSIFSSNA MA	141	LINSVGIT K	167	DPRRGW DTRY	186
CX3CR1BI IPMP66E1 1	41	GSIFSSNA MA	141	AINSVGIT TK	174	DPRRGW DTRY	186
CX3CR1BI IPMP66D1 0	42	GSIFSSNA MA	141	LINSVGIT K	167	DPRRGW DTRY	186
CX3CR1BI IPMP66D0 8	43	GSIFSSNA MA	141	GINSVGIT K	164	DPRRGW DTRY	186
CX3CR1BI IPMP66A0 4	44	GSIFSSNA MA	141	LINSVGIT K	167	DPRRGW DTRY	186
CX3CR1BI IPMP66D0 4	45	GTIFSSN AMA	142	GINSDIT K	165	DPRRGW NTRY	188
CX3CR1BI IPMP66D0 2	46	GSIFSSNA MA	141	VINSVGIT K	163	DARRGW DTRY	187

10

20

30

40

CX3CR1BI IPMP66D0 6	47	GSIFSSNA MA	141	SIDSVGIT K	175	DARRGW DTRY	187
CX3CR1BI IPMP66G0 1	48	GSIFSSNA MA	141	LINSVGIT K	167	DGRRGW DTRY	189

10

【 0 0 3 6 】

【 表 2 】

表2: ファミリー9

VHH ドメイン	配列 番号	CDR1*	CDR1 の配列 番号	CDR2*	CDR2 の配列 番号	CDR3*	CDR3 の配列 番号
CX3CR1BI IPMP11H1 1	49	GRTFSSY AMG	146	GISGSAS RKY	176	SNSYPKV QFDY	191
CX3CR1BI IPMP12B6	50	GRTFSSY AMG	146	GISGSAS RKY	176	SNSYPKV QFDY	191
CX3CR1BI IPMP12G9	51	GRTFSSY AMG	146	GISGSGS RKY	177	SNSYPKV QFDY	191
CX3CR1BI IPMP15G1 1	52	GRTFSSY AMG	146	GISGSGS RKY	177	SNSYPKV QFDY	191

20

30

【 0 0 3 7 】

40

* C D R 配列は、Konetermann & Dubel (Eds.), Springer Verlag Heidelberg Berlin, 2010によるAntibody Engineering第2巻に従って決定された。表中の配列番号 (S E Q) は、本出願の配列表中の配列を指す。

【 0 0 3 8 】

【表 3】

表3: ファミリー13

VHH ドメイン	配列 番号	CDR1*	CDR1 の配列 番号	CDR2*	CDR2 の配列 番号	CDR3*	CDR3 の配列 番号
CX3CR1BI IPMP18E6	53	GTIFSNN AMG	147	SISSSGST N	178	DARRGW NTAY	192
CX3CR1BI IPMP12C2	54	GTIFSNT AMG	148	SISNSGST N	179	DARRGW NSGY	193
CX3CR1BI IPMP18A1 0	55	GIIFSNNA MG	149	SISNSGST N	179	DARRGW NTAY	192
CX3CR1BI IPMP18A2	56	GIIFSNNA MG	149	SIGSTYST N	180	DARRGW NTAY	192
CX3CR1BI IPMP18A8	57	RTIFRSN AMG	150	SISNSGST N	179	DARRGW NTGY	194
CX3CR1BI IPMP18A9	58	GIIFSNNA MG	149	SISSTYST N	181	DARRGW NTAY	192
CX3CR1BI IPMP18B7	59	GTIFRSN AMG	151	SISNSGST N	179	DARRGW NSGY	193
CX3CR1BI IPMP18B9	60	GTIFSNN AMG	147	SISSSGST N	178	DARRGW NTAY	192
CX3CR1BI IPMP18C6	61	GTIFSNN AMG	147	SISNSGST N	179	DARRGW NTAY	192

10

20

30

40

CX3CR1BI IPMP18C9	62	GIIFSNNA MG	149	SISNSGST N	179	DARRGW NTAY	192
CX3CR1BI IPMP18D1	63	GIIFSNNA MG	149	SISNSGST N	179	DARRGW NTAY	192
CX3CR1BI IPMP18D1 0	64	GTIFSNN AMG	147	SISNSGST N	179	DARRGW NTAY	192
CX3CR1BI IPMP18D1 2	65	GTIFSNN AMG	147	SISNSGST N	179	DARRGW NTAY	192
CX3CR1BI IPMP18F1	66	GTIFSNN AMG	147	SISNSGST N	179	DARRGW NTAY	192
CX3CR1BI IPMP18F5	67	GTIFSNN AMG	147	SISNSGST N	179	DARRGW NTAY	192
CX3CR1BI IPMP18F6	68	GTIFSNN AMG	147	SISNSGST N	179	DARRGW NTAY	192
CX3CR1BI IPMP18F9	69	GTIFRTN AMG	152	SISNSGST N	179	DGRRGW NTGY	195
CX3CR1BI IPMP18G5	70	RTIFRSN AMG	150	SISNSGST N	179	DARRGW NTGY	194
CX3CR1BI IPMP18H1	71	GTIFSNN AMG	147	SISNSGST N	179	DARRGW NTAY	192
CX3CR1BI IPMP18H1 0	72	KTIFRSN AMG	153	SISNSGST N	179	DARRGW NTGY	194

10

20

30

40

CX3CR1BI IPMP18H7	73	GIIFSNNA MG	149	SISNSGST N	179	DARRGW NTAY	192
CX3CR1BI IPMP18H9	74	GTIFSNNA AMG	147	SISNSGST N	179	DARRGW NTAY	192
CX3CR1BI IPMP20B3	75	GIIFSNNA MG	149	SIGSTYST N	180	DARRGW NTAY	192
CX3CR1BI IPMP20C1 2	76	GTIFRSN AMG	151	SISNSGST N	179	DARRGW NSGY	193
CX3CR1BI IPMP20C3	77	GIIFSNNA MG	149	SISNSGST N	179	DARRGW NTAY	192
CX3CR1BI IPMP20C6	78	GTIFSNNA AMG	147	SISNSGST N	179	DARRGW NTAY	192
CX3CR1BI IPMP20D8	79	GTIFRSN AMG	154	SITNSGST N	182	DARRGW NTGY	194
CX3CR1BI IPMP20E1 1	80	RTIFRSN AMG	150	SITNSGST N	182	DARRGW NTGY	194
CX3CR1BI IPMP20E5	81	GTIFSNNA AMG	147	SISNSGST N	179	DARRGW NTGY	194
CX3CR1BI IPMP20F3	82	GTIFSNNA AMG	147	SISSSGST N	178	DARRGW NTAY	192
CX3CR1BI IPMP20F4	83	ATIFRSN AMG	155	SISNSGST N	179	DGRRGW NTGY	195

10

20

30

40

CX3CR1BI IPMP20F5	84	ATIFRSN AMG	155	SISNSGST N	179	DGRRGW NTGY	195
CX3CR1BI IPMP21B6	85	GTIFSNN AMG	147	SISNSGST N	179	DARRGW NTAY	192
CX3CR1BI IPMP24A1 2	86	GIIFSNNA MG	149	SISNSGSA N	183	DARRGW NTAY	192
CX3CR1BI IPMP24A6	87	GTIFSNN AMG	147	SISNSGST N	179	DARRGW NTAY	192
CX3CR1BI IPMP24B9	88	GTIFRSN AMG	151	SISISGST N	184	DARRGW NTGF	196
CX3CR1BI IPMP24D3	89	GIIFSNNA MG	149	SISSTYST N	181	DARRGW NTAY	192
CX3CR1BI IPMP24F7	90	GLIFSNN AMG	156	SISSTYST N	181	DARRGW NTAY	192
CX3CR1BI IPMP28B4	91	ATIFRSN AMG	155	SISNSGST N	179	DGRRGW NTGY	195
CX3CR1BI IPMP28F1	92	GIIFSNNA MG	149	SIGSTYST N	180	DARRGW NTAY	192
CX3CR1BI IPMP28F6	93	GIIFSNNA MG	149	SISNSGST N	179	DARRGW NTAY	192
CX3CR1BI IPMP28F9	94	GTIFSNN AMG	147	SISNSGST N	179	DARRGW NTGY	194
CX3CR1BI IPMP29A5	95	GTIFSNN AMG	147	SISNSGST N	179	DARRGW NTAY	192

10

20

30

40

CX3CR1BI IPMP29D5	96	GTIFRSN AMG	151	SISNSGST N	179	DARRGW NSGY	193
CX3CR1BI IPMP29E3	97	KTIFRSN AMG	153	SISNSGST N	179	DARRGW NTGY	194
CX3CR1BI IPMP29E7	98	KTIFRSN AMG	153	SISNSGST N	179	DARRGW NTGY	194
CX3CR1BI IPMP29G1 0	99	GTIFRSN AMG	151	SITNSGST N	182	DARRGW NTGY	194
CX3CR1BI IPMP29G7	100	GIIFSNNA MG	149	SITNTGST N	185	DARRGW NTAY	192
CX3CR1BI IPMP29H1	101	GTIFSNN AMG	147	SISNSGST N	179	DARRGW NTAY	192
CX3CR1BI IPMP37A8	102	RTIFRSN AMG	150	SISNSGST N	179	DARRGW NTGY	194
CX3CR1BI IPMP37B9	103	GTIFSNN AMG	147	SISNSGST N	179	DARRGW NTAY	192
CX3CR1BI IPMP37C1 2	104	GSIFRSN AMG	157	SISNSGST N	179	DARRGW NTGY	194
CX3CR1BI IPMP37C7	105	RTIFSNN AMG	158	SISNSGST N	179	DARRGW NTAY	192
CX3CR1BI IPMP37D9	106	GTVFSNN AMG	159	SISSSGST N	178	DARRGW NTAY	192

10

20

30

40

CX3CR1BI IPMP37E1 2	107	KPIFRSN AMG	160	SISNSGST N	179	DARRGW NTGY	194
CX3CR1BI IPMP41B1 0	108	GTIFSNN AMG	147	SISNSGST N	179	DARRGW NTAY	192
CX3CR1BI IPMP41B1 1	109	GTIFSNN AMG	147	SISNSGST N	179	DARRGW NTAY	192
CX3CR1BI IPMP41B8	110	GIIFSNNA MG	149	SIGSTYST N	180	DARRGW NTAY	192
CX3CR1BI IPMP41C1 0	111	RTIFRSN AMG	150	SISNSGST N	179	DARRGW NTGY	194
CX3CR1BI IPMP41F9	112	GIIFSNNA MG	149	SIGSTYST N	180	DARRGW NTAY	192
CX3CR1BI IPMP41H1 0	113	GLTLDDY AMG	161	SISNSGST N	179	DARRGW NTGY	194
CX3CR1BI IPMP46B5	114	RTIFRSN AMG	150	SISNSGST N	179	DARRGW NTGY	194
CX3CR1BI IPMP46D3	115	GTIFSNN AMG	147	SISNSGST N	179	DARRGW NTGY	194
CX3CR1BI IPMP46H5	116	GIIFSNNA MG	149	SISSTYST N	181	DARRGW NTAY	192

10

20

30

40

CX3CR1BI IPMP48B8	117	KTIFRSN AMG	153	SISNSGST N	179	DARRGW NTGY	194
CX3CR1BI IPMP48D1 1	118	RTIFRSN AMG	150	SISNSGST N	179	DARRGW NTGY	194
CX3CR1BI IPMP48G8	119	RTIFRSN AMG	150	SISNSGST N	179	DARRGW NTGY	194
CX3CR1BI IPMP48H9	120	GTIFSNN AMG	147	SISNSGST N	179	DARRGW NTAY	192

10

【 0 0 3 9 】

* C D R 配列は、Konettermann & Dubel (Eds.), Springer Verlag Heidelberg Berlin, 2010によるAntibody Engineering第2巻に従って決定された。表中の配列番号 (S E Q) は、本出願の配列表中の配列を指す。

【 0 0 4 0 】

【表 4】

表4: 最適化変異体

VHH ドメイン	配列 番号	CDR1	CDR1 の配列 番号	CDR2	CDR2 の配列 番号	CDR3	CDR3 の配列 番号
CX3CR1BI IPMP66B0 2	1	GSIFSSNA MA	141	AINSVGV TK	162	DPRRGW DTRY	186
CX3CR1BI I043	121	GSIFSSNA MA	141	AINSVGV TK	162	DPRRGW DTRY	186
CX3CR1BI I045	122	GSIFSSNA MA	141	AINSVGV TK	162	DPRRGW DTRY	186
CX3CR1BI I047	123	GSIFSSNA MA	141	AINSVGV TK	162	DPRRGW DTRY	186
CX3CR1BI I048	124	GSIFSSNA MA	141	AINSVGV TK	162	DPRRGW DTRY	186
CX3CR1BI I049	125	GSIFSSNA MA	141	AINSVGV TK	162	DPRRGW DTRY	186
CX3CR1BI I050	126	GSIFSSNA MA	141	AINSVGV TK	162	DPRRGW DTRY	186
CX3CR1BI I061	127	GSIFSSNA MA	141	AINSVGV TK	162	DPRRGW DTRY	186
CX3CR1BI I056	128	GSIFSSNA MA	141	AINSVGV TK	162	DPRRGW DTRY	186
CX3CR1BI I057	129	GSIFSSNA MA	141	AINSVGV TK	162	DPRRGW DTRY	186
CX3CR1BI I060	130	GSIFSSNA MA	141	AINSVGV TK	162	DPRRGW DTRY	186
CX3CR1BI I065	131	GSIFSSNA MA	141	AISSVGV TK	214	DPRRGW DTRY	186

10

20

30

40

CX3CR1BI I067	132	GSIFSSNA MA	141	AIQSVGV TK	215	DPRRGW DTRY	186
CX3CR1BI I068	133	GSIFSSNA MA	141	AIGSVGV TK	216	DPRRGW DTRY	186
CX3CR1BI I074	134	GSIFSSNA MA	141	AITSVGV TK	217	DPRRGW DTRY	186
CX3CR1BI I118	135	GSIFSSNA MA	141	AINTVGV TK	218	DPRRGW DTRY	186
CX3CR1BI I129	136	GSIFSSNA MA	141	AINGVGV TK	219	DPRRGW DTRY	186
CX3CR1BI I158	137	GSIFSSNA MA	141	AINPVG TK	220	DPRRGW DTRY	186
CX3CR1BI I306	138	GSIFSSTA MA	213	AISSVGV TK	214	DPRRGW DTRY	186
CX3CR1BI I307	139	GSIFSSTA MA	213	AISTVGV TK	221	DPRRGW DTRY	186
CX3CR1BI I308	140	GSIFSSNA MA	141	AINSVGV TK	162	DPRRGW DTRY	186

10

20

【 0 0 4 1 】

* C D R 配列は、Konetermann & Dubel (Eds.), Springer Verlag Heidelberg Berlin, 2010によるAntibody Engineering第2巻に従って決定された。表中の配列番号 (S E Q) は、本出願の配列表中の配列を指す。

30

【 0 0 4 2 】

本明細書に記載のイメージング剤の C X 3 C R 1 標的化ポリペプチド部分を含み得る V H H ドメインの代表的な配列を以下の表 5 及び 6 に示す：

【 0 0 4 3 】

【表 5】

表5: VHHドメイン

配列番号1～48は、ファミリー101のVHHドメインである。配列番号49～52は、ファミリー9のVHHドメインである。配列番号53～120は、ファミリー13のVHHドメインである。

CX3CR1BI IPMP66B0 2	EVQLVESGGGSVQAGESLRLSCAASGSIFSSNA MAWYRQAPGKRRDLVAAINSVGVTKYADSVK GRFTISRDNANKNTVYLMNSLKPEDTAVYYCT SDPRRGWDTRYWGQGTQVTVSS	配列番号	1	10
CX3CR1BI IPMP54A1 2	EVQLVESGGGSVQAGESLRLSCAASGSIFSSNA MAWYRQAPGKQRDLVAVINSVGITKYADSVK GRFTISGDNAKNTVYLMNSLKPEDTAVYYCT SDARRGWDTRYWGQGTQVTVSS	配列番号	2	
CX3CR1BI IPMP54A3	EVQLVESGGGSVQAGESLRLSCAASGSIFSSNA MAWYRQAPGKQRDLVAGINSVGITKYADSVK GRFTISRDNANKNTVYLMNSLKPEDTAVYYCT SDPRRGWDTRYWGQGTQVTVSS	配列番号	3	20
CX3CR1BI IPMP54A4	EVQLVESGRGSVQAGESLRLSCAASGSIFSSNA MAWYRQAPGKQRDLVAGINSVGITKYADSVK GRFTISRDNANKNTVYLMNSLKPEDTAVYYCT SDPRRGWDTRYWGQGTQVTVSS	配列番号	4	
CX3CR1BI IPMP54A5	EVQLVESGGGSVQAGESLRLSCAASGSIFSSNA MAWYRQAPGKQRDLVAGINSVGITKYADSVK GRFTISRDNANKNTVYLMNSLKPEDTAVYYCT SDPRRGWDTRYWGQGTQVTVSS	配列番号	5	30
CX3CR1BI IPMP54A7	EVQLVESGGGSVQAGESLRLSCAASGTIFSSNA MAWYRQAPGKQRDLVAGINSVDITKYADSVK GRFTISRDNANKNTVYLMNSLKPEDTAVYYCT SDPRRGWNTRYWGQGTQVTVSS	配列番号	6	
CX3CR1BI IPMP54B1	EVQLVESGGGSVQAGESLRLSCAASGSIFSSNA MAWYRQAPGKQRDLVAGINSVGITKYADSVK GRFTISRDNANKNTAYLMNSLKPEDTAVYYCT SDPRRGWDTRYWGQGTQVTVSS	配列番号	7	40

CX3CR1BI IPMP54B2	EVQLVESGGGSVQAGESLRLSCAASGTIFSSNA MAWYRQAPGKQRDLVAGINSVDITKYADSVK GRFTISRDNANTVYLMNSLKPEDTAVYYCT SDPRRGWNTRYWGQGTLLTVSS	配列番号	8
CX3CR1BI IPMP54B3	EVQLVESGGGSVQAGESLRLSCAASGSIFSSNA MAWYRQAPGKQRDLVAAINSVGITKYADSVK GRFTISRDNANTVYLMNSLKPEDTAVYYCT SDPRRGWDTRYWGQGTQVTVSS	配列番号	9
CX3CR1BI IPMP54B5	EVQLVESGGGSVQAGESLRLSCAASGSIFSSNA MAWYRQAPGKQRDLVAGINSVGITKYADSVK GRFTISRDNANTAYLMNSLKPEDTAVYYCT SDPRRGWDTRYWGQGTLLTVSS	配列番号	10
CX3CR1BI IPMP54D5	EVQLVESGGGSVQAGESLRLSCAASGSIFSSNA MAWYRQAPPGKQRDLVALINSVGITKYADSV KGRFTISSDNANTVYLEMNSLKPEDTAVYYC TSDGRRGWDTRYWGQGTQVTVSS	配列番号	11
CX3CR1BI IPMP54D8	EVQLVESGGGSVQAGGSLRLSCAASGSIFSSNA MAWYRQAPGKQRDLVAGINSVGITKYADSVK GRFTISRDNANTVYLMNSLKPEDTAVYYCT SDPRRGWDTRYWGQGTLLTVSS	配列番号	12
CX3CR1BI IPMP54F6	KVQLVESGGGSVQAGESLRLSCAASGSIFSSNA MAWYRQAPGKQRDLVAAINSVGITKYADSVK GRFTISRDNANTVYLMNSLKPEDTAVYYCT SDPRRGWDTRYWGQGTLLTVSS	配列番号	13
CX3CR1BI IPMP54G3	EVQLVESGGGSVQAGESLRLSCAASGSIFSSNA MAWYRQAPGKQRDLVALINSVGITKYADSVK GRFTISRDNANTVYLMNSLKPEDTAVYYCT SDPRRGWDTRYWGQGTLLTVSS	配列番号	14
CX3CR1BI IPMP54H1	EVQLVESGGGSVQAGESLRLSCAASGTIFSSNA MAWYRQAPGKQRDLVAGINSVDITKYADSVK GRFTVSRDNANTVYLMNSLKPEDTAVYYC TSDPRRGWNTRYWGQGTQVTVSS	配列番号	15

10

20

30

40

CX3CR1BI IPMP54H4	EVQLVESGGGSVQAGESLRLSCAASGSIFSSNA MAWYRQAPGKQRDLVAVINSVGITKYADSVK GRFTISGDNAKNTVYLQMNSLKPEDTAVYYCT SDARRGWDTRYWGQGTQVTVSS	配列番号	16
CX3CR1BI IPMP61F1 0	KVQLVESGGGSVQAGESLRLSCAASGTIFSSNA MAWYRQAPGKQRDLVAGINSVDITKYADSVK GRFTISRDNNAKNTVYLQMNSLKPEDTAVYYCT SDPRRGWNTRYWGQGTQVTVSS	配列番号	17
CX3CR1BI IPMP61D1	EVQLVESGGGSVQAGESLRLSCAASGSIFSSNA MAWYRQAFGKQRDLVALINSVGITKYADSVK GRFTISRDNNAKNTVYLQMNSLKPEDTAVYYCT SDPRRGWDTRYWGQGTQVTVSS	配列番号	18
CX3CR1BI IPMP61D5	KVQLVESGGGSVQAGESLRLSCAASGSIFSSNA MAWYRQAFGKQRDLVALINSVGITKYADSVK GRFTISRDNNAKNTVYLQMNSLKPEDTAVYYCT SDPRRGWDTRYWGQGTQVTVSS	配列番号	19
CX3CR1BI IPMP61E2	EVQLVESGGGSVQAGESLRLSCAASGSIFSSNA MAWYRQAPGKQRDLVAGINSVGITKYADSVK GRFTISRDNNAKNTVYLQMNSLKPEDMAVYYCT SDPRRGWDTRYWGQGTQVTVSS	配列番号	20
CX3CR1BI IPMP61F1 1	KVQLVESGGGSVQAGESLRLSCAASGSIFSSNA MAWYRQPPGKQRDLVAAINSVGITKYADSVK GRFTIFRDNNAKNTVYLQMNSLKPEDTAVYYCT SDPRRGWDTRYWGQGTQVTVSS	配列番号	21
CX3CR1BI IPMP61G2	EVQLVKSGGGSVQAGESLRLSCAASGSIFSSNA MAWYRQAPGKQRDLVALINSVGITKYADSVK GRFTISRDNNAKNTVYLQMNSLKPEDTAVYYCT SDPRRGWDTRYWGQGTQVTVSS	配列番号	22
CX3CR1BI IPMP61G3	KVQLVESGGGSMQAGESLRLSCAASGSIFSSNA MAWYRQAPGKQRDLVAAINSVGITKYADSVK GRFTISRDNNAKNTVYLQMMSLKPEDTAVYYCT SDPRRGWDTRYWGQGTQVTVSS	配列番号	23

10

20

30

40

CX3CR1BI IPMP61G4	KVQLVESGGGSVQAGGSLRLSCAASGSIFSSNA MAWYRQAPGKQRDLVAAINSVGITKYADSVK GRFTISRDNANKNTVYLMMSLKPEDTAVYYCT SDPRRGWDTRYWGQGTQVTVSS	配列番号	24
CX3CR1BI IPMP61F4	EVQLVESGGGSVQAGASLRLSCAASGSIFSSNA MAWYRQAPGKQRDLVAVINTVGITKYADSVK GRFTISRDNANKNTVYLMNSLKPEDTAVYYCT SDARRGWDTRYWGQGTTLTVSS	配列番号	25
CX3CR1BI IPMP61A1 1	EVQLVESRGGSVQAGESLRLSCAASGSIFSSNA MAWYRQAPGKQRDLVAVINSVGITKYADSVK GRFTISGDNAKNTVYLMNSLKPEDTAVYYCT SDARRGWDTRYWGQGTQVTVSS	配列番号	26
CX3CR1BI IPMP61B2	EVQLVESRGGSVQAGASLRLSCAASGSIFSSNA MAWYRQAPGKQRDLVAVINTVGITKYADSVK GRFTISRDNANKNTVYLMNSLKPEDTAVYYCT SDARRGWDTRYWGQGTQVTVSS	配列番号	27
CX3CR1BI IPMP61C9	EVQLVKSGGGSVQAGESLRLSCAASGSIFSSNA MAWYRQALGKQRDLVALIDSAGITKYADSVK GRFTISRDNANKNTVYLMNRLKPEDTAVYYCA SDARRGWNTKYWGQGTTLTVSS	配列番号	28
CX3CR1BI IPMP65H0 2	EVQLVESGGGSVQAGESLRLSCAASGSIFSSNA MAWYRQAPGKQRDLVAAINSVGITKYADSVK GRFTISRDNANKNTVHLQMNSLKPEDTAVYYCT SDPRRGWDTRYWGQGTTLTVSS	配列番号	29
CX3CR1BI IPMP65E1 1	EVQLVESGGGSVQAGESLRLSCAASGSIFSSNA MAWYRQAPGKQRDLVAGINSVGIAKYADSVK GRFTISRDNANKNTVYLMNSLKPEDTAVYYCT SDPRRGWDTRYWGQGTTLTVSS	配列番号	30
CX3CR1BI IPMP65E1 0	EVQLVESGGGSVQAGESLRLSCAASGSIFSSNA KAWYRQAPGKQRDLVAGINSVGITKYADSVK GRFTISRDNANKNTVYLMNSLKPEDTAVYYCT SDPRRGWDTRYWGQGTTLTVSS	配列番号	31

10

20

30

40

CX3CR1BI IPMP65E0 5	KVQLVESGGGSVQAGESLRLSCAASGSIFSSNA MAWYRQAPGKQRDLVAGINSVGITKYADSVK GRFTISRDNANKNTVYLMNSLKPEDTAVYYCT SDPRRGWDTRYWGQGTLLTVSS	配列番号	32
CX3CR1BI IPMP65B1 1	EVQLVKSGGGSVQAGESLRLSCAASGSIFSSNA MAWYRQAPGKQRDLVAVINKVGITKYADSVK GRFTISRDNANKNTVYLMNSLKPEDTAVYYCT SDPRRGWDTRYWGQGTQVTVSS	配列番号	33
CX3CR1BI IPMP65B0 7	EVQLVESGGGSVQAGESLRLSCAASGSIFSSNA MAWYRQAPGKQRDLVAAINSVGITKYADSVK GRFTISRDNANKNTVYLMNSLKPEDTAVYYCT SDPRRGWDTRYWGQGTLLTVSS	配列番号	34
CX3CR1BI IPMP65B0 9	EVQLVESGGGSVQAGESLRLSCAASGSIFSRNA MAWYRQAPGKQRDLVASINSVGITKYGDSVK GRFTISRDNANKNTVYLMNSLKPEDTAVYYCT SDARRGWDTRYWGQGTLLTVSS	配列番号	35
CX3CR1BI IPMP65H0 1	EVQLVESGGGSVQAGESLRLSCAASGGIFSRNA MAWYRQAPGKQRDLVASINSVGITKYGDSVK GRFTISRDNANKNTVYLMNSLKPEDTAVYYCT SDARRGWDTRYWGQGTQVTVSS	配列番号	36
CX3CR1BI IPMP65G0 7	EVQLVESGGGSVQAGESLRLSCAASGTIFSSNA MAWYRQAPGKQRDLVAGINSVDITRYADSVK GRFTISRDNANKNTVYLMNSLKPEDTAVYYCT SDPRRGWNTRYWGQGTQVTVSS	配列番号	37
CX3CR1BI IPMP66H0 8	EVQLVESGGGSVQAGESLRLSCAASGSIFSSNA MAWYRQAPGKQRDLVALINSVGITKYADSVK GRFTISRDNANKNTVYLMNSLKPEDTAVYYCT SDPRRGWDTRYWGQGTQVTVSS	配列番号	38
CX3CR1BI IPMP66H0 4	EVQLVESGGGSVQAGGSLRLSCAASGSIFSSNA MAWYRQAPGKQRDLVAAINSVGITKYADSVK GRFTISRDNANKNTVYLMMSLKPEDTAVYYCT SDPRRGWDTRYWGQGTLLTVSS	配列番号	39

10

20

30

40

CX3CR1BI IPMP66F0 2	EVQLVESGGGSVQAGESLRLSCAASGSIFSSNA MAWYRQAPGKQRDLVALINSVGITKYAGSVK GRFTISRDNANTVYLMNSLKPEDTAVYYCT SDPRRGWDTRYWGQGTQVTVSS	配列番号	40
CX3CR1BI IPMP66E1 1	EVQLVESGGGSVQAGESLRLSCAASGSIFSSNA MAWYRQAPGKQRDLVAAINSVGTTKYADSVK GRFTISRDNANTVYLMNSLKPEDTAVYYCT SDPRRGWDTRYWGQGTQVTVSS	配列番号	41
CX3CR1BI IPMP66D1 0	EVQLVESGGGSVQAGESLRLSCAASGSIFSSNA MAWYRQALGKQRDLVALINSVGITKYADSVK GRFTISRDNANTVYLMNSLKPEDTAVYYCT SDPRRGWDTRYWGQGTQVTVSS	配列番号	42
CX3CR1BI IPMP66D0 8	EVQLMESGGGSVQAGESLRLSCAASGSIFSSNA MAWYRQAPGKQRDLVAGINSVGITKYADSVK GRFTISRDNANTVYLMNSLKPEDTAVYYCT SDPRRGWDTRYWGQGTQVTVSS	配列番号	43
CX3CR1BI IPMP66A0 4	EVQLVESGGGSVQAGESLRLSCAASGSIFSSNA MAWYRQALGKQRDLVALINSVGITKYADSVK GRFTISRDNANTVYLMNSLKPEDTAVYYCT SDPRRGWDTRYWGQGTQVTVSS	配列番号	44
CX3CR1BI IPMP66D0 4	KVQLVESGGGSVQAGESLRLSCAASGTIFSSNA MAWYRQAPGKQRDLVAGINSVDITKYADSVK GRFTISRDNANTVYLMNSLKPEDTAVYYCT SDPRRGWNTRYWGQGTQVTVSS	配列番号	45
CX3CR1BI IPMP66D0 2	EVQLVESGGGSVQAGESLRLSCAASGSIFSSNA MAWYRQAPGKQRDLVAVINSVGITKYADSVK GRFTTSGDNAKNTVYLMNSLKPEDTAVYYC TSDARRGWDTRYWGQGTQVTVSS	配列番号	46
CX3CR1BI IPMP66D0 6	EVQLVESGGGSVQAGESLRLSCAASGSIFSSNA MAWYRQAPGKQRDLVASIDSVGITYRDSVK GRFTISRDNANTVYLMNSLKPEDTAVYYCT SDARRGWDTRYWGQGTQVTVSS	配列番号	47

10

20

30

40

CX3CR1BI IPMP66G0 1	EMQLVESGGGSVQAGESLRLSCAASGSIFSSNA MAWYRQAPGKQRDLVALINSVGITKYADSVK GRFTISRDNANTVYLMNSLKPEDTAVYYCT SDGRRGWDTRYWGQGTQVTVSS	配列番号	48
CX3CR1BI IPMP11H1 1	EVQLVESGGGLVQAGGSLRLSCVASGRTFSSY AMGWFRQAPGKERAFVAGISGSASRKYYADS VKGRFTVSRDNARNTVYLMNSLKPEDTAVY YCAASNSYPKVQFDYYGQGTQVTVSS	配列番号	49
CX3CR1BI IPMP12B6	EVQLVQSGGGLVQAGGSLRLSCVASGRTFSSY AMGWFRQAPGRERAFVAGISGSASRKYYADS VKGRFTVSRDNARNTVYLMNSLKPEDTAVY YCAASNSYPKVQFDYYGQGTQVTVSS	配列番号	50
CX3CR1BI IPMP12G9	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCVASGRTFSSYA MGWFRQAPGKEREFVAGISGSGSRKYADSVK GRFTISRDNARNTVYLMNSLKPEDRAVYYCA ASNSYPKVQFDYYGQGTQVTVSS	配列番号	51
CX3CR1BI IPMP15G1 1	EVQLVESGGGLVQAGGSLRLSCVASGRTFSSY AMGWFRQAPGKEREFVAGISGSGSRKYADSV KGRFTISRDNARNTVYLMNSLKPEDRAVYYC AASNSYPKVQFDYYGQGTQVTVSS	配列番号	52
CX3CR1BI IPMP18E6	KVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCATSGTIFSNN MGWYRQAPGKKRDLVASISSSGSTNYADSVK GRFTVSRDNDKNTGYLMNSLKPEDTGYYC TLDARRGWNTAYWGQGAQVTVSS	配列番号	53
CX3CR1BI IPMP12C2	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCATSGTIFSNTA MGWYRQAPGKKRDLVASISNSGSTNYADSVK GRFTVSRDNDKNTGYLMNSLKPEDTGYYC TVDARRGWNSGYWGQGTQVTVSS	配列番号	54
CX3CR1BI IPMP18A1 0	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCATSGIIFSNN MGWYRQAPGKKRDLVASISNSGSTNYADSAK GRFTVSRDNDKNTGYLMNSLKPEDTGYYC TVDARRGWNTAYWGQGTQVTVSS	配列番号	55

10

20

30

40

CX3CR1BI IPMP18A2	EVQLVESGGGVVQPGGSLRLSCVTSGIIFSNNA MGWYRQGP GKKRDLVASIGSTYSTNYADSVK GRFTVSRDNDKNTGYLQMNSLKPEDTGVYYC TIDARRGWNTAYWGQGTPTVTVSS	配列番号	56
CX3CR1BI IPMP18A8	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCATSRTIFRSNA MGWYRQAPGKKRDLVASISNSGSTNYADSVK GRFTVSRDNDKNTGYLQMNSLKPEDTGVYYC TIDARRGWNTGYWGQGTQVTVSS	配列番号	57
CX3CR1BI IPMP18A9	EVQLVESGGGVVQPGGSLRLSCVTSGIIFSNNA MGWYRQGP GKKRDLVASISSTYSTNYADSVK GRFTVSRDNDKNTGYLQMNSLKPEDTGVYYC TIDARRGWNTAYWGQGTPTVTVSS	配列番号	58
CX3CR1BI IPMP18B7	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCATSGTIFRSNA MGWYRQAPGKKRDLVASISNSGSTNYADSVK GRFTVSRDNDKNTGYLQMNSLKPEDTGVYYC TVDARRGWNSGYWGQGTQVTVSS	配列番号	59
CX3CR1BI IPMP18B9	EVQLVESRGGLVQPGGSLRLSCATSGTIFSNNA MGWYRQAPGKKRDLVASISSSGSTNYADSVK GRFTVSRDNDKNTGYLQMNSLKPEDTGVYYC TLDARRGWNTAYWGQGTQVTVSS	配列番号	60
CX3CR1BI IPMP18C6	EVQLMESGGGLVQPGGSLRLSCATSGTIFSNNA MGWYRQAPGKKRDLVASISNSGSTNYADSVK GRFTVSRDNDKNTGYLQMNSLKPEDTGVYYC TVDARRGWNTAYWGQGTQVTVSS	配列番号	61
CX3CR1BI IPMP18C9	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCATSGIIFSNNA MGWYRQAPGKKRDLVASISNSGSTNYADSVK GRFTVSRDNDKNTGYLQMNSLKPEDTGVYYC TVDARRGWNTAYWGQGTQVTVSS	配列番号	62
CX3CR1BI IPMP18D1	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCATSGIIFSNNA MGWYRQAPGKKRDLVASISNSGSTNYADSVK GRFTVSRDNDKSTGYLQMNSLKPEDTGVYYCT VDARRGWNTAYWGQGTQVTVSS	配列番号	63

10

20

30

40

CX3CR1BI IPMP18D1 0	EVQLVESGGGLVQPGGSLGLSCATSGTIFSNNA MGWYRQAPGKKRDLVASISNSGSTNYADSVK GRFTVSRDNDKNTGYLQMNSLKPEDTGYYC TVDARRGWNTAYWGQGTQVTVSS	配列番号	64
CX3CR1BI IPMP18D1 2	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCTTSGTIFSNNA MGWYRQAPGKKRDLVASISNSGSTNYADSVK GRFTVSRDNDKNTGYLQMNNLKPEDTGYYC TLDARRGWNTAYWGQGTQVTVSS	配列番号	65
CX3CR1BI IPMP18F1	KVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCATSGTIFSNNA MGWYRQAPGKKRDLVASISNSGSTNYADSVK GRFTVSRDNDKNTGYLQMNSLKPEDTGYYC TVDARRGWNTAYWGQGTQVTVSS	配列番号	66
CX3CR1BI IPMP18F5	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCATSGTIFSNNA MGWYRQAPGKKRDLVASISNSGSTNYADSVK GRFTVSRDNDKNTGYLQMNSLKPEDTGYYC TVDARRGWNTAYWGQGTQVTVSS	配列番号	67
CX3CR1BI IPMP18F6	EVQLVDSGGGLVQPGGSLRLSCATSGTIFSNNA MGWYRQAPGKKRDLVASISNSGSTNYADSVK GRFTVSRDNDKNTGYLQMNSLKPEDTGYYC TVDARRGWNTAYWGQGTQVTVSS	配列番号	68
CX3CR1BI IPMP18F9	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCATSGTIFRTNA MGWYRQAPGKKRDLVASISNSGSTNYADSVK GRFTVSRDNDKNTAYLQMNSLKPEDTGYYC TIDGRRGWNTGYWGQGTQVTVSS	配列番号	69
CX3CR1BI IPMP18G5	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCATSRTIFRSNA MGWYRQAPGKKRDLVASISNSGSTNYADSVK GRFTVSRDNDKNTGYLQMNSLKPEDTGYYC TVDARRGWNTGYWGQGTQVTVSS	配列番号	70
CX3CR1BI IPMP18H1	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCATSGTIFSNNA MGWYRQALGKKRDLVASISNSGSTNYADSVK GRFTVSRDNDKNTGYLQMNSLKPEDTGYYC TVDARRGWNTAYWGQGTQVTVSS	配列番号	71

10

20

30

40

CX3CR1BI IPMP18H1 0	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCATSKTIFRSNA MGWYRQAPGKKRDLVASISNSGSTNYADSVK GRFTVSRDNDKNTGYLQMNSLKPEDTGVYYC TVDARRGWNTGYWGQGTQVTVSS	配列番号	72
CX3CR1BI IPMP18H7	EVQLVESRGGLVQPGGSLRLSCATSGIIFSNNA MGWYRQAPGKKRDLVASISNSGSTNYADSVK GRFTVSRDNDKNTGYLQMNSLKPEDTGVYYC TVDARRGWNTAYWGQGTQVTVSS	配列番号	73
CX3CR1BI IPMP18H9	EVQLVKSGGGLVQPGGSLRLSCTTSGTIFSNNA MGWYRQAPGKKRDLVASISNSGSTNYADSVK GRFTVSRDNDKNTGYLQMNNLKPEDTGVYYC TLDARRGWNTAYWGQGTQVTVSS	配列番号	74
CX3CR1BI IPMP20B3	EVQLVESGGGLVQAGGSLRLSCVTSGIIFSNNA MGWYRQGP GKKRDLVASIGSTYSTNYADSVK GRFTVSRDNDKNTGYLQMNSLKPEDTGVYYC TIDARRGWNTAYWGQGTPTVTVSS	配列番号	75
CX3CR1BI IPMP20C1 2	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCATSGTIFRSNA MGWYRQAPGKKRDLVASISNSGSTNYADSVK GRFTVSRDNDKNTGYLQMNSLKPEDTGVYYC TVDARRGWNSGYWGQGTQVTVSS	配列番号	76
CX3CR1BI IPMP20C3	KVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCATSGIIFSNNA MGWYRQAPGKKRDLVASISNSGSTNYADSVK GRFTVSRDNDKNTGYLQMNSLKPEDTGVYYC TVDARRGWNTAYWGQGTQVTVSS	配列番号	77
CX3CR1BI IPMP20C6	EVQLVESGGGLVQAGGSLRLSCATSGTIFSNNA MGWYRQAPGKKRDLVASISNSGSTNYADSVK GRFTVSRDNDKNTGYLQMNSLKPEDTGVYYC TVDARRGWNTAYWGQGTQVTVSS	配列番号	78
CX3CR1BI IPMP20D8	EVQLVESGGGLVQPGRSLRLSCATSGTTFRSNA MGWYRQGP GKKRDLVASITNSGSTNYADSVK GRFTVSRDNDKNTGYLQMSSLKPEDTGVYYCT LDARRGWNTGYWGQGTQVTVSS	配列番号	79

10

20

30

40

CX3CR1BI IPMP20E1 1	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCATSRTIFRSNA MGWYRQGP GKKRDLVASITNSGSTNYADSVK GRFTVSRDNDNRNTGYLQMNSLKPEDTGVYYC TVDARRGWNTGYWGQGTQVTVSS	配列番号	80
CX3CR1BI IPMP20E5	KVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCATSGTIFSNNA MGWYRQVP GKKRDLVASISNSGSTNYADSVK GRFTVSRDNDKNTGYLQMNSLKPEDTGVYYC TVDARRGWNTGYWGQGTQVTVSS	配列番号	81
CX3CR1BI IPMP20F3	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCATSGTIFSNNA MGWYRQAP GKKRDLVASISSSGSTNYADSVK GRFTVSRDNDKNTGYLQMNSLKPEDTGVYYC TLDARRGWNTAYWGQGTQVTVSS	配列番号	82
CX3CR1BI IPMP20F4	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCATSATIFRSNA MGWYRQAP GKKRDLVASISNSGSTNYADSVK GRFTVSRDNDKNTAYLQMNSLKPEDTGVYYC TIDGRRGWNTGYWGQGTQVTVSS	配列番号	83
CX3CR1BI IPMP20F5	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCATSATIFRSNA MGWYRQAP GKKRDLVASISNSGSTNYADSVK GRSTVSRDNDKNTAYLQMNSLKPEDTGVYYC TIDGRRGWNTGYWGQGTQVTVSS	配列番号	84
CX3CR1BI IPMP21B6	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCATSGTIFSNNA MGWYRQAP GKKRDLVASISNSGSTNYADSVK GRFTVSRDNDKNTGYLQMNSLKPEDMGVYYC TVDARRGWNTAYWGQGTQVTVSS	配列番号	85
CX3CR1BI IPMP24A1 2	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCATSGIIFSNNA MGWYRQAP GKKRDLVASISNSGSANYADSVK GRFTVSRDNDKNTGYLQMNSLKPEDTGVYYC TVDARRGWNTAYWGQGTQVTVSS	配列番号	86
CX3CR1BI IPMP24A6	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCTTSGTIFSNNA MGWYRQAP GKKRDLVASISNSGSTNYADSVK GRFTVSGDNDKNTGYLQMNNLKPEDTGVYYC TLDARRGWNTAYWGQGTQVTVSS	配列番号	87

10

20

30

40

CX3CR1BI IPMP24B9	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCATSGTIFRSNA MGWYRQAPGKKRDLVASISISGSTNYADSVKG RFTVSRDNDKNTGYLQMNSLKPEDTGVYYCT VDARRGWNTGFWGQGTQVTVSS	配列番号	88
CX3CR1BI IPMP24D3	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCVTSGIIFSNN MGWYRQGP GKKRDLVASISSTYSTNYADSVK GRFTVSRDNDKNTGYLQMNSLKPEDTGVYYC TIDARRGWNTAYWGQGTPTVTVSS	配列番号	89
CX3CR1BI IPMP24F7	EVQLMESGGGMVQVGGSLRLSCTASGLIFSNN AMGWYRQGP GKKRDLVASISSTYSTNYADSV KGRFTVSRDNDKNTGYLQMNSLKPEDTGVYY CTIDARRGWNTAYWGQGTPTVTVSS	配列番号	90
CX3CR1BI IPMP28B4	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAISATIFRSNA MGWYRQAPGKKRDLVASISNSGSTNYADSVK GRFTVSRDNDKNTAYLQMNSLKPEDTGVYYC TIDGRRGWNTGYWGQGTQVTVSS	配列番号	91
CX3CR1BI IPMP28F1	EMQLVESGGGVVQPGGSLRLSCVTSGIIFSNN MGWYRQGP GKKRDLVASIGSTYSTNYADSVK GRFTVSRDNDKNTGYLQMNSLKPEDTGVYYC TIDARRGWNTAYWGQGTPTVTVSS	配列番号	92
CX3CR1BI IPMP28F6	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCATSGIIFSNN MGWYRQAPGKKRDLVASISNSGSTNHADSVK GRFTVSRDNDKNTGYLQMNSLKPEDTGVYYC TVDARRGWNTAYWGQGTQVTVSS	配列番号	93
CX3CR1BI IPMP28F9	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCATSGTIFSNN MGWYRQVP GKKRDLVASISNSGSTNYADSVK GRFTVSRDNDKNTGYLQMNSLKPEDTGVYYC TVDARRGWNTGYWGQGTQVTVSS	配列番号	94
CX3CR1BI IPMP29A5	EVQLVESRGGLVQPGGSLRLSCATSGTIFSNN MGWYRQAPGKKRDLVASISNSGSTNYADSVK GRFTVSRDNDKNTGYLQMNSLKPEDTGVYYC TVDARRGWNTAYWGQGTQVTVSS	配列番号	95

10

20

30

40

CX3CR1BI IPMP29D5	KVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCATSGTIFRSNA MGWYRQAPGKKRDLVASISNSGSTNYADSVK GRFTVSRDNDKNTGYLQMNSLKPEDTGVYYC TVDARRGWNSGYWGQGTQVTVSS	配列番号	96
CX3CR1BI IPMP29E3	EVQLVESEGGLVQPGGSLRLPCATSKTIFRSNA MGWYRQAPGKKRDLVASISNSGSTNYADSVK GRFTVSRDNDKNTGYLQMNSLKPEDTGVYYC TVDARRGWNTGYWGQGTQVTVSS	配列番号	97
CX3CR1BI IPMP29E7	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCATSKTIFRSNA MGWYRQAPGKKRGLVASISNSGSTNYADSVK GRFTVSRDNDKNTGYLQMNSLKPEDTGVYYC TVDARRGWNTGYWGQGTQVTVSS	配列番号	98
CX3CR1BI IPMP29G1 0	EVQLMESGGGLVQPGGSLRLSCATSGTIFRSNA MGWYRQGP GKKRDLVASITNSGSTNYADSVK GRFTVSRDNDKNTGYLQMSS LKPEDTGVYYCT LDARRGWNTGYWGQGTQVTVSS	配列番号	99
CX3CR1BI IPMP29G7	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCATSGIIFSNNA MGWYRQGP GKKRDLVASITNTGSTNYADSVK GRFTVSRDND RNTVYLQMNSLKPEDTGVYYC TVDARRGWNTAYWGQGTQVTVSS	配列番号	100
CX3CR1BI IPMP29H1	EVQLVESGGGLVQAGGSLRLSCTTSGTIFSNNA MGWYRQAPGKKRDLVASISNSGSTNYADSVK GRFTVSRDNDKNTGYLQMNN LKPEDTGVYYC TLDARRGWNTAYWGQGTQVTVSS	配列番号	101
CX3CR1BI IPMP37A8	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCATSRTIFRSNA MGWYRQAPGKKRDLVASISNSGSTNYADSAK GRFTVSRDNDKNTGYLQMNSLKPEDTGVYYC TVDARRGWNTGYWGQGTQVTVSS	配列番号	102
CX3CR1BI IPMP37B9	EVQLVESGGLVQPGGSLRLSCATSGTIFSNNAM GWYRQAPGKKRDLVASISNSGSTNYADSVKGR FTVSRDNDKNTGYLQMNSLKPEDTGVYYCTV DARRGWNTAYWGQGTQVTVSS	配列番号	103

10

20

30

40

CX3CR1BI IPMP37C1 2	EVQLVESGGGLVQAGGSLRLSCVASGSIFRSNA MGWYRQAPGKKRDLVASISNSGSTNYADSVK GRFTVSRDNDKNTGYLQMNSLKPEDTGVYYC TIDARRGWNTGYWGQGTQVTVSS	配列番号	104
CX3CR1BI IPMP37C7	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCATSRTIFSNN MGWYRQAPGKKRDLVASISNSGSTNYADSVK GRFTVSRDNDKNTGYLQMNSLKPEDTGVYYC TVDARRGWNTAYWGQGTQVTVSS	配列番号	105
CX3CR1BI IPMP37D9	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCATSGTVFSNN AMGWYRQAPGKKRDLVASISSGSTNYADSV KGRFTVSRDNDKNTGYLQMNSLKPEDTGVYY CTLDARRGWNTAYWGQGTQVTVSS	配列番号	106
CX3CR1BI IPMP37E1 2	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCATSKPIFRSNA MGWYRQAPGKKRDLVASISNSGSTNYADSVK GRFTVSRDNDKNTGYLQMNSLKPEDTGVYYC TVDARRGWNTGYWGQGTQVTVSS	配列番号	107
CX3CR1BI IPMP41B1 0	EVQLVESEGGLVQPGGSLRLSCTTSGTIFSNN MGWYRQAPGKKRDLVASISNSGSTNYADSVK GRFTVSRDNDKNTGYLQMNNLKPEDTGVYYC TLDARRGWNTAYWGQGTQVTVSS	配列番号	108
CX3CR1BI IPMP41B1 1	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCATSGTIFSNN MGWYRQAPGKKRDLVASISNSGSTNYADSVK GRFTVSRDNDKNTGYLQMNSPKPEDTGVYYC TVDARRGWNTAYWGQGTQVTVSS	配列番号	109
CX3CR1BI IPMP41B8	EVQLVESEGGLVQPGGSLRLSCVTSGIIFSNN MGWYRQGP GKKRDLVASIGSTYSTNYADSVK GRFTVSRDNDKNTGYLQMNSLKPEDTGVYYC TIDARRGWNTAYWGQGTPTVTVSS	配列番号	110
CX3CR1BI IPMP41C1 0	EMQLVESGGGLVQPGGSLRLSCATSRTIFRSNA MGWYRQAPGKKRDLVASISNSGSTNYADSVK GRFTVSRDNDKSTGYLQMNSLKPEDTGVYYCT VDARRGWNTGYWGQGTQVTVSS	配列番号	111

10

20

30

40

CX3CR1BI IPMP41F9	EVQLVESGGGVVQPGESLRLSCVTSGIIFSNNAMGWYRQGP GKKRDLVASIGSTYSTNYADSVKGRFTVSRDNDKNTGYLQMNSLKPEDTGVYYCTIDARRGWNTAYWGQGTPTVTVSS	配列番号	112	10
CX3CR1BI IPMP41H1 0	KVQLVESGGGLVQPGDSLRLSCAASGLTLDDYAMGWYRQAPGKKRDLVASISNSGSTNYADSVKGRFTVSRDNDKNTGYLQMNSLKPEDTGVYYCTIDARRGWNTGYWGQGTQVTVSS	配列番号	113	
CX3CR1BI IPMP46B5	KVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCATSRTIFRSNAMGWYRQAPGKKRDLVASISNSGSTNYADSVKGRFTVSRDNDKNTGYLQMNSLKPEDTGVYYCTIDARRGWNTGYWGQGTQVTVSS	配列番号	114	
CX3CR1BI IPMP46D3	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCATSGTIFSNNAMGWYRQVPGKKRDLVASISNSGSTNYADSVKGRFTVSRDNDKNTGYLRMNSLKPEDTGVYYCTVDARRGWNTGYWGQGTQVTVSS	配列番号	115	20
CX3CR1BI IPMP46H5	EVQLVESGGGLVQAGGSLRLSCVTSGIIFSNNAMGWYRQGP GKKRDLVASISSTYSTNYADSVKGRFTVSRDNDKNTGYLQMNSLKPEDTGVYYCTIDARRGWNTAYWGQGTPTVTVSS	配列番号	116	
CX3CR1BI IPMP48B8	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCATSKTIFRSNAMGWYRQAPGKKRDLVASISNSGSTNYTDSVKGRFTVSRDNDKNTGYLQMNSLKPEDTGVYYCTVDARRGWNTGYWGQGTQVTVSS	配列番号	117	
CX3CR1BI IPMP48D1 1	KVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCATSRTIFRSNAMGWYRQAPGKKRDLVASISNSGSTNYADSVKGRFTVSRDNDKNTGYLQMNSLKPEDTGVYYCTVDARRGWNTGYWGQGTQVTVSS	配列番号	118	30
CX3CR1BI IPMP48G8	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCATSRTIFRSNAMGWYRQAPGKKRDLVASISNSGSTNYADSVKGRFAVSRDNDKNTGYLQMNSLKPEDTGVYYCTVDARRGWNTGYWGQGTQVTVSS	配列番号	119	
CX3CR1BI IPMP48H9	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCATSGTIFSNNAMGWYRQAPGKKRDLVASISNSGSTNYADFVKGRFTVSRDNDKNTGYLQMNSLKPEDTGVYYCTVDARRGWNTAYWGQGTQVTVSS	配列番号	120	

10

20

30

40

【表 6】

表6: 最適化VHHドメイン

CX3CR1BI I043	EVQLVESGGGSVQPGESLRLSCAASGSIFSSNA MAWYRQAPGKRRDLVAAINSVGVTKYADSVK GRFTISRDNSKNTVYLMNSLRPEDTAVYYCT SDPRRGWDTRYWGQGTLLTVSS	配列番号	121
CX3CR1BI I045	DVQLVESGGGSVQPGESLRLSCAASGSIFSSNA MAWYRQAPGKRRDLVAAINSVGVTKYADSVK GRFTISRDNSKNTVYLMNSLRPEDTAVYYCT SDPRRGWDTRYWGQGTLLTVSS	配列番号	122
CX3CR1BI I047	EVQLVESGGGLVQPGESLRLSCAASGSIFSSNA MAWYRQAPGKRRDLVAAINSVGVTKYADSVK GRFTISRDNSKNTVYLMNSLRPEDTAVYYCT SDPRRGWDTRYWGQGTLLTVSS	配列番号	123
CX3CR1BI I048	EVQLVESGGGSVQPGGSLRLSCAASGSIFSSNA MAWYRQAPGKRRDLVAAINSVGVTKYADSVK GRFTISRDNSKNTVYLMNSLRPEDTAVYYCT SDPRRGWDTRYWGQGTLLTVSS	配列番号	124
CX3CR1BI I049	EVQLVESGGGSVQPGESLRLSCAASGSIFSSNA MAWYRQAPGKQRDLLVAAINSVGVTKYADSVK GRFTISRDNSKNTVYLMNSLRPEDTAVYYCT SDPRRGWDTRYWGQGTLLTVSS	配列番号	125
CX3CR1BI I050	EVQLVESGGGSVQPGESLRLSCAASGSIFSSNA MAWYRQAPGKRRELVAAINSVGVTKYADSVK GRFTISRDNSKNTVYLMNSLRPEDTAVYYCT SDPRRGWDTRYWGQGTLLTVSS	配列番号	126
CX3CR1BI I061	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGSIFSSNA MAWYRQAPGKRRDLVAAINSVGVTKYADSVK GRFTISRDNSKNTVYLMNSLRPEDTAVYYCT SDPRRGWDTRYWGQGTLLTVSS	配列番号	127
CX3CR1BI I056	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGSIFSSNA MAWYRQAPGKQRDLLVAAINSVGVTKYADSVK GRFTISRDNSKNTVYLMNSLRPEDTAVYYCT SDPRRGWDTRYWGQGTLLTVSS	配列番号	128

10

20

30

40

CX3CR1BI I057	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGSIFSSNA MAWYRQAPGKRRELVAAINSVGVTKYADSVK GRFTISRDNKNTVYLMNSLRPEDTAVYYCT SDPRRGWDTRYWGQGTLVTVSS	配列番号	129
CX3CR1BI I060	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGSIFSSNA MAWYRQAPGKQRELVAAINSVGVTKYADSVK GRFTISRDNKNTVYLMNSLRPEDTAVYYCT SDPRRGWDTRYWGQGTLVTVSS	配列番号	130
CX3CR1BI I065	EVQLVESGGGSVQAGESLRLSCAASGSIFSSNA MAWYRQAPGKRRDLVAAISSVGVTKYADSVK GRFTISRDNKNTVYLMNSLKPEDTAVYYCT SDPRRGWDTRYWGQGTLVTVSS	配列番号	131
CX3CR1BI I067	EVQLVESGGGSVQAGESLRLSCAASGSIFSSNA MAWYRQAPGKRRDLVAAIQSVGVTKYADSVK GRFTISRDNKNTVYLMNSLKPEDTAVYYCT SDPRRGWDTRYWGQGTLVTVSS	配列番号	132
CX3CR1BI I068	EVQLVESGGGSVQAGESLRLSCAASGSIFSSNA MAWYRQAPGKRRDLVAAIGSVGVTKYADSVK GRFTISRDNKNTVYLMNSLKPEDTAVYYCT SDPRRGWDTRYWGQGTLVTVSS	配列番号	133
CX3CR1BI I074	EVQLVESGGGSVQAGESLRLSCAASGSIFSSNA MAWYRQAPGKRRDLVAAITSVGVTKYADSVK GRFTISRDNKNTVYLMNSLKPEDTAVYYCT SDPRRGWDTRYWGQGTLVTVSS	配列番号	134
CX3CR1BI I118	EVQLVESGGGSVQAGESLRLSCAASGSIFSSNA MAWYRQAPGKRRDLVAAINTVGVTKYADSVK GRFTISRDNKNTVYLMNSLKPEDTAVYYCT SDPRRGWDTRYWGQGTLVTVSS	配列番号	135
CX3CR1BI I129	EVQLVESGGGSVQAGESLRLSCAASGSIFSSNA MAWYRQAPGKRRDLVAAINGVGVTKYADSV KGRFTISRDNKNTVYLMNSLKPEDTAVYYC TSDPRRGWDTRYWGQGTLVTVSS	配列番号	136

10

20

30

40

CX3CR1BI I158	EVQLVESGGGSVQAGESLRLSCAASGSIFSSNA MAWYRQAPGKRRDLVAAINPVGVTKYADSVK GRFTISRDNKNTVYLMNSLKPEDTAVYYCT SDPRRGWDTRYWGQGTLVTVSS	配列番号	137
CX3CR1BI I306	DVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGSIFSSTA MAWYRQAPGKRRDLVAAISSVGVTKYADSVK GRFTISRDNKNTVYLMNSLRPEDTAVYYCT SDPRRGWDTRYWGQGTLVTVSS	配列番号	138
CX3CR1BI I307	DVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGSIFSSTA MAWYRQAPGKRRDLVAAISTVGVTKYADSVK GRFTISRDNKNTVYLMNSLRPEDTAVYYCT SDPRRGWDTRYWGQGTLVTVSS	配列番号	139
CX3CR1BI I308	DVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGSIFSSNA MAWYRQAPGKRRDLVAAINSVGVTKYADSVK GRFTISRDNKNTVYLMNSLRPEDTAVYYCT SDPRRGWDTRYWGQGTLVTVSS	配列番号	140
CX3CR1BI I00306 (D1E)	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGSIFSSTA MAWYRQAPGKRRDLVAAISSVGVTKYADSVK GRFTISRDNKNTVYLMNSLRPEDTAVYYCT SDPRRGWDTRYWGQGTLVTVSS	配列番号	197
CX3CR1BI I00307 (D1E)	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGSIFSSTA MAWYRQAPGKRRDLVAAISTVGVTKYADSVK GRFTISRDNKNTVYLMNSLRPEDTAVYYCT SDPRRGWDTRYWGQGTLVTVSS	配列番号	198
CX3CR1BI I00308 (D1E)	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGSIFSSNA MAWYRQAPGKRRDLVAAINSVGVTKYADSVK GRFTISRDNKNTVYLMNSLRPEDTAVYYCT SDPRRGWDTRYWGQGTLVTVSS	配列番号	199
CX3CR1BI I00307A	DVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGSIFSSTA MAWYRQAPGKRRDLVAAISTVGVTKYADSVK GRFTISRDNKNTVYLMNSLRPEDTAVYYCT SDPRRGWDTRYWGQGTLVTVSSA	配列番号	200

10

20

30

40

CX3CR1BI I00307K	DVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGSIFSSTA MAWYRQAPGKRRDLVAAISTVGVTKYADSVK GRFTISRDN SKNTVY LQMNSLRPEDTAVYYCT SDPRRGWDTRYWGQGTLVTVSSK	配列番号	201
CX3CR1BI I00307AK	DVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGSIFSSTA MAWYRQAPGKRRDLVAAISTVGVTKYADSVK GRFTISRDN SKNTVY LQMNSLRPEDTAVYYCT SDPRRGWDTRYWGQGTLVTVSSAK	配列番号	202

【 0 0 4 5 】

本明細書に記載のイメージング剤の C X 3 C R 1 標的化ポリペプチド部分を含み得る、C X 3 C R 1 に結合する二価 V H H ドメインの代表的な配列を以下の表 7 に示す。配列に見られるように、2つの V H H ドメインは G l y / S e r リンカーによって接続されている：

【 0 0 4 6 】

【表 7】

表7: CX3CR1に結合する二価VHHドメイン

CX3CR1BII007	EVQLVESGGGLVQAGGSLRLSCVASGRTFSSYA MGWFRQAPGKERAFVAGISGSASRKYADSVK GRFTVSRDNARNTVYLQMNSLKPEDTAVYYCA ASNSYPKVQFDYYGQGTQVTVSSGGGGSGGGGS GGGGSGGGSGGGSGGGSGGGSGGGGSKVQLVES GGGLVQPGGSLRLSCATSGTIFSNNAMGWYRQA PGKKRDLVASISSSGSTNYADSVKGRFTVSRDND KNTGYLQMNSLKPEDTGVIYCTLDARRGWNTA YWGQGAQVTVSS	配列番号	203
CX3CR1BII009	KVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCATSGTIFSNNAM GWYRQAPGKKRDLVASISSSGSTNYADSVKGRF TVSRDNDKNTGYLQMNSLKPEDTGVIYCTLDA RRGWNTAYWGQGAQVTVSSGGGGSGGGSGGG GGSGGGSGGGSGGGSGGGSGGGSEVQLVESGG GLVQAGGSLRLSCVASGRTFSSYAMGWFRQAPG KERAFVAGISGSASRKYADSVKGRFTVSRDNA RNTVYLQMNSLKPEDTAVYYCAASNSYPKVQFD YYGQGTQVTVSS	配列番号	204
CX3CR1BII012	EVQLVESGGGSVQAGGSLRLSCAASGSIFSNNAM AWYRQAPGKQRDLVAGINSVGITKYADSVKGRF TISRDNANKNTVYLQMNSLKPEDTAVYYCTSDPR RGWDTRYWGQGTTLVTVSSGGGGSGGGSGGGG SGGGSGGGSGGGSGGGSGGGGSKVQLVESGGGL VQPGGSLRLSCATSGTIFSNNAMGWYRQAPGKK RDLVASISSSGSTNYADSVKGRFTVSRDNDKNTG YLQMNSLKPEDTGVIYCTLDARRGWNTAYWG QGAQVTVSS	配列番号	205

10

20

30

40

CX3CR 1BII016	EVQLVESGGGSVQAGESLRLSCAASGSIFSSNAM AWYRQAPGKQRDLVAVINSVGITKYADSVKGRF TISGDNAKNTVYLQMNSLKPEDTAVYYCTSDAR RGWDTRYWGQGTQVTVSSGGGGSGGGGSGGG GSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSEVQLVESGGGS VQAGESLRLSCAASGSIFSSNAMAWYRQAPGKQ RDLVAVINSVGITKYADSVKGRFTISGDNAKNTV YLQMNSLKPEDTAVYYCTSDARRGWDTRYWGQ GTQVTVSS	配列番号	206	10
CX3CR 1BII017	EVQLVESGGGSVQAGESLRLSCAASGSIFSSNAM AWYRQAPPGKQRDLVALINSVGITKYADSVKGR FTISSDNAKNTVYLEMNSLKPEDTAVYYCTSDGR RGWDTRYWGQGTQVTVSSGGGGSGGGGSGGG GSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSEVQLVESGGGS VQAGESLRLSCAASGSIFSSNAMAWYRQAPPGK QRDLVALINSVGITKYADSVKGRFTISSDNAKNT VYLEMNSLKPEDTAVYYCTSDGRRGWDTRYWG QGTQVTVSS	配列番号	207	20
CX3CR 1BII018	EVQLVESGGGSVQAGESLRLSCAASGSIFSSNAM AWYRQAPGKRRDLVAAINSVGVTKYADSVKGR FTISRDNKNTVYLQMNSLKPEDTAVYYCTSDP RRGWDTRYWGQGTQVTVSSGGGGSGGGGSGG GGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSEVQLVESGG GSVQAGESLRLSCAASGSIFSSNAMAWYRQAPG KRRDLVAAINSVGVTKYADSVKGRFTISRDNK NTVYLQMNSLKPEDTAVYYCTSDPRRGWDTRY WGQGTQVTVSS	配列番号	208	30 40

CX3CR 1BII019	EMQLVESGGGSVQAGESLRLSCAASGSIFSSNAM AWYRQAPGKQRDLVALINSVGITKYADSVKGRF TISRDNANTVYLQMNSLKPEDTAVYYCTSDGR RGWDTRYWGQGTQVTVSSGGGGSGGGGSGGG GSGGGSGGGGSGGGGSGGGGSEMQLVESGGG SVQAGESLRLSCAASGSIFSSNAMAWYRQAPGK QRDLVALINSVGITKYADSVKGRFTISRDNANT VYLQMNSLKPEDTAVYYCTSDGRRGWDTRYWG QGTQVTVSS	配列番号	209
CX3CR 1BII020	EVQLVESGGGSVQAGESLRLSCAASGSIFSSNAM AWYRQAPGKQRDLVAGINSVGITKYADSVKGRF TISRDNANTAYLQMNSLKPEDTAVYYCTSDPR RGWDTRYWGQGTTLTVSSGGGGSGGGGSGGGG SGGGSGGGGSGGGGSGGGGSEVQLVESGGGSV QAGESLRLSCAASGSIFSSNAMAWYRQAPGKQR DLVAGINSVGITKYADSVKGRFTISRDNANTAY LQMNSLKPEDTAVYYCTSDPRRGWDTRYWGQG TLTVSS	配列番号	210
CX3CR 1BII026	EVQLVESGGGLVQAGGSLRLSCVASGRTFSSYA MGWFRQAPGKERAFVAGISGSASRKYYADSVK GRFTVSRDNARNTVYLQMNSLKPEDTAVYYCA ASNSYPKVQFDYYGQGTQVTVSSGGGGSGGGG GGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSEVQLVES GGGSVQAGESLRLSCAASGSIFSSNAMAWYRQA PGKRRDLVAAINSVGVTKYADSVKGRFTISRDN AKNTVYLQMNSLKPEDTAVYYCTSDPRRGWDT RYWGQGTQVTVSS	配列番号	211

10

20

30

40

CX3CR 1BII027	EVQLVESGGGLVQAGGSLRLSCVASGRTFSSYA MGWFRQAPGKERAFVAGISGSASRKYYADSVK GRFTVSRDNARNTVYVLQMNSLKPEDTAVYYCA ASNSYPKVQFDYYGQGTQVTVSSGGGGSGGGGS GGGGSGGGSGGGSGGGSGGGSGGGGSEVQLVES GGGSVQAGESLRLSCAASGSIFSSNAMAWYRQA PGKQRDLVAGINSVGITKYADSVKGRFTISRDN KNTAYLQMNSLKPEDTAVYYCTSDPRRGWDTR YWGQGTLLTVSS	配列番号	212
CX3CR 1BII006	EVQLVESGGGLVQAGGSLRLSCVASGRTFSSYA MGWFRQAPGKERAFVAGISGSASRKYYADSVK GRFTVSRDNARNTVYVLQMNSLKPEDTAVYYCA ASNSYPKVQFDYYGQGTLLTVSSGGGGSGGGGS GGGGSGGGSGGGSGGGSGGGSGGGGSEVQLVES GGGLVQAGGSLRLSCVASGRTFSSYAMGWFRQ APGKERAFVAGISGSASRKYYADSVKGRFTVSR DNARNTVYVLQMNSLKPEDTAVYYCAASNSYPK VQFDYYGQGTLLTVSS	配列番号	222
CX3CR 1BII101	DVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGSIFSSTAM AWYRQAPGKRRDLVAAISTVGVTKYADSVKGR FTISRDN SKNTVYVLQMNSLRPEDTAVYYCTSDPR RGWDTRYWGQGTLLTVSSGGGGSGGGSGGGG SGGGSGGGSGGGSGGGSGGGGSEVQLVESGGGL VQPGGSLRLSCAASGSIFSSTAMAWYRQAPGKR RDLVAAISTVGVTKYADSVKGRFTISRDN SKNTV YLQMNSLRPEDTAVYYCTSDPRRGWDTRYWGQ GTLTVSS	配列番号	223

10

20

30

40

【 0 0 4 7 】

イメージング剤のCX3CR1標的化部分を含む、VHHドメイン又は二価VHHドメインは、当技術分野において公知の方法によってさらに改変され、本明細書の以下に記載のとおり検出標識への連結を可能とし得る。例えば、トリカルボニル法（下記）による⁹_mTc検出標識への連結を可能とするために、ヘキサヒスチジン又はmyc-ヘキサヒスチジntagを、所望のVHHドメイン又は二価VHHドメインのC末端に付加し得る。このような改変された一価又は二価のVHHドメインの代表例を以下の表8に示す。

【 0 0 4 8 】

【表 8】

表8: C末端において改変されたCX3CR1に結合するVHHドメイン

CX3CR1BI I18E06	KVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCATSGTIFSNNA MGWYRQAPGKKRDLVASISSSGSTNYADSVK GRFTVSRDNDKNTGYLQMNSLKPEDTGYYC TLDARRGWNTAYWGQGAQVTVSSAAAEQKLI SEEDLNAAHHHHHH	配列番号	224
CX3CR1BI I66B02	EVQLVESGGGSVQAGESLRLSCAASGSIFSSNA MAWYRQAPGKRRDLVAAINSVGVTKYADSVK GRFTISRDNANTVYLMNSLKPEDTAVYYCT SDPRRGWDTRYWGQGTQVTVSSAAAEQKLISE EDLNAAHHHHHH	配列番号	225
CX3CR1BI I315	EVQLVESGGGLVQAGGSLRLSCVASGRTFSSY AMGWFRQAPGKERAFVAGISGSASRKYYADS VKGRFTVSRDNARNTVYLMNSLKPEDTAVY YCAASNSYPKVQFDYYGQGTQVTVSSAAAEQ KLISEEDLNAAHHHHHH	配列番号	226
CX3CR1BI I316	EVQLVESGGGSVQAGESLRLSCAASGSIFSSNA MAWYRQAPPGKQRDLVALINSVGITKYADSV KGRFTISSDNAKNTVYLEMNSLKPEDTAVYYC TSDGRRGWDRYWGQGTQVTVSSAAAEQKLI SEEDLNAAHHHHHH	配列番号	227
CX3CR1BI I317	EVQLVESGGGLVQAGGSLRLSCVASGRTFSSY AMGWFRQAPGKERAFVAGISGSASRKYYADS VKGRFTVSRDNARNTVYLMNSLKPEDTAVY YCAASNSYPKVQFDYYGQGTQVTVSSGGGGSG GGGGGGGGGGGGGGGGGGGGGGGGGGGGGGSEV QLVESGGGLVQAGGSLRLSCVASGRTFSSYAM GWFRQAPGKERAFVAGISGSASRKYYADSVKG RFTVSRDNARNTVYLMNSLKPEDTAVYYCA ASNSYPKVQFDYYGQGTQVTVSSAAAEQKLIS EEDLNAAHHHHHH	配列番号	228

10

20

30

40

CX3CR1BI I318	EVQLVESGGGSVQAGESLRLSCAASGSIFSSNA MAWYRQAPGKRRDLVAAINSVGVTKYADSVK GRFTISRDNAKNTVYLQMNSLKPEDTAVYYCT SDPRRGWDTRYWGQGTQVTVSSGGGGSGGGG SGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSEVQLV ESGGGSVQAGESLRLSCAASGSIFSSNAMAWY RQAPGKRRDLVAAINSVGVTKYADSVKGRFTI SRDNAKNTVYLQMNSLKPEDTAVYYCTSDPRR GWDTRYWGQGTQVTVSSAAAEQKLISEEDLN GAAHHHHHH	配列番号	229
------------------	--	------	-----

10

【 0 0 4 9 】

本明細書に記載のイメージング剤の C X 3 C R 1 標的化ポリペプチド成分は、当技術分野において公知の方法によって調製され得、例えば、参照により本明細書に組み入れられた米国出願番号第 1 3 / 7 7 5 , 3 0 7 号を参照されたい。このような方法は一般的に以下の工程を含む：

- 本発明のポリペプチドの発現を可能とする条件下で所望のポリペプチドをコードすることのできる核酸を含む宿主細胞を培養する工程；及び
- 宿主細胞によって発現されたポリペプチドを培養液から回収又は単離する工程；及び
- 場合により本発明のポリペプチドをさらに精製及び / 又は改変及び / 又は製剤化する工程。

20

【 0 0 5 0 】

本発明の 1 つの態様では、これらのイメージング剤を、例えば動脈硬化性疾患を診断するために、アテローム性動脈硬化症の非侵襲的なイメージングに使用し得る。別の態様では、本発明のイメージング剤は、C X 3 C R 1 アンタゴニスト治療の診断に用いる用品として有用であろう。すなわち、それらは患者の層別化のために使用され得、すなわち、C X 3 C R 1 アンタゴニスト治療に好ましく応答する可能性のあるアテローム性動脈硬化症患者を予め選択するために使用され得る。イメージング剤はまた、動脈硬化病変の進行又は減退を評価することによってあらゆる治療薬を用いての処置の効果をモニタリングするために使用され得る。

30

【 0 0 5 1 】

本発明の別の態様では、イメージング剤は、C X 3 C R 1 の上昇した発現によって特徴付けられる他の疾病を診断するための非侵襲的なイメージングに使用され得る。C X 3 C R 1 の上昇した発現はまた、複数の炎症性疾患状態、又は、容態、例えば、心臓及び脳血管の動脈硬化性疾患、末梢動脈疾患、再狭窄、糖尿病性腎症、糸球体腎炎、ヒト半月板形成性糸球体腎炎、I g A 腎症、膜性腎症、ループス腎炎、膵炎、血管炎、例えばヘノッホ・シェーンライン紫斑病及びウェゲナー肉芽腫症、関節リウマチ、変形性関節症、同種移植片拒絶、全身性硬化症、神経変性疾患及び脱髄疾患、多発性硬化症 (M S)、アルツハイマー病、肺疾患、例えば C O P D、喘息、神経障害性疼痛、炎症性疼痛、及び癌にも関連していることが知られている。

40

【 0 0 5 2 】

単一可変ドメインポリペプチド、例えば V H H ドメインは、イメージング剤に使用するための好ましい特性を有する。それらは、その標的に対する高い親和性及び特異性、並びに、良好な物理化学的特性、例えば血清中での安定性を有する。それらは、糸球体濾過の腎のカットオフ値より低い分子量を有し、それ故、急速にクリアランスされ、特異的結合が起こる組織のインビボでのイメージングが可能となる。1 つの実施態様では、イメージング剤を含む C X 3 C R 1 に結合する単一可変ドメインは、一価 V H H ドメインである。別の実施態様では、それは二価であり、リンカーペプチドによって共有結合で連結された

50

、同一であっても異なってもよい、2つのVHHドメインを含む。リンカーペプチドは、天然の配列であっても非天然の配列であってもよいが、好ましくは非免疫原性である。リンカー配列の非限定的な例は、様々な長さのGly/Serリンカー、例えば(gly_xser_y)_zリンカー、例えば(gly₄ser)₃、(gly₄ser)₄、(gly₄ser)、(gly₃ser)、gly₃、及び(gly₃ser₂)₃である。
【0053】

イメージング剤としての使用のために、単一可変ドメインポリペプチドは検出標識に連結されている。様々な検出標識及び連結法が当技術分野において公知である。例えば、検出標識の非限定的な例としては、蛍光、化学発光、生物発光、リン光の標識、常磁性標識、放射性同位体、又は放射性トレーサー標識、微小気泡、又はイメージング用色素が挙げられ得る。検出標識は、所望の用途及びイメージング適用に従って選択され得る。

【0054】

様々なイメージング技術が当技術分野において周知であり、かつ現在使用されている。使用され得るイメージング適用又は技術の非限定的な例としては以下が挙げられ得る：

【0055】

単一光子放射型コンピュータ断層撮影法(SPECT)。SPECTイメージングのための検出標識に使用され得る放射性同位体の非限定的な例としては、^{99m}Tc、¹¹¹In、¹²³I、²⁰¹Tl、及び¹³³Xeが挙げられる。

【0056】

陽電子放出断層撮影法(PET)。PETイメージングのための検出標識に使用され得る放射性同位体の非限定的な例としては、¹¹C、⁶⁴Cu、¹⁸F、⁶⁸Ga、¹³N、¹⁵O、⁸²Rb、¹²⁴I、及び⁸⁹Zrが挙げられる。

【0057】

近赤外線蛍光イメージング(NIR又はNIRF)。NIRFのための検出標識に使用され得るイメージング用色素の非限定的な例としては、Cy5.5、Alexa680、Dylight680、Dylight800及びIRDye800CWが挙げられる。

【0058】

超音波イメージング。超音波イメージングに適した検出標識の非限定的な例は微小気泡である。

【0059】

磁気共鳴イメージング(MRI)。MRIイメージングに適した常磁性体の非限定的な例としては、酸化鉄又は炭素でコーティングされた鉄-コバルトナノ粒子及びガドリニウムキレートが挙げられる。

【0060】

標的化抗体フラグメント、例えばCX3CR1標的化単一ドメインポリペプチドに検出標識を連結させるための方法は当技術分野において周知である。検出標識を、別の連結用分子を介して、直接的に又は間接的に、標的化ポリペプチドに連結させ得る。検出標識は、例えば、アミノ酸とのアミド結合の形成によって共有結合的に、又は、例えば連結用のキレート分子とのイオン性相互作用によって非共有結合的に接続され得る。

【0061】

共有結合的な連結法の非限定的な例としては以下が挙げられる：
トリカルボニル法による^{99m}Tcの連結。^{99m}Tc-トリカルボニルをヘキサヒスチジンでタグ化された標的化ポリペプチドと反応させ、その後、精製する(例えば、V. Cortez-Retamozo, 2008; Curr Radiopharm 1:37参照)。

【0062】

NHS-エステル法によるIRDye800CWの連結。IRDye800CW N-ヒドロキシスクシンイミド(NHS)エステルを標的化ポリペプチドと反応させ、その後、精製する(例えば、S. Oliveira, 2012; Mol. Imaging, 7:254-264参照)。

【0063】

ビオチン-ストレプトアビジン橋による微小気泡の連結。標的化ポリペプチドをビオチ

10

20

30

40

50

ニル化する。ビオチニル化標的化ポリペプチドをビオチン - ストレプトアビジン橋によってビオチニル化微小気泡に結合させる（例えば、S. Hernot, 2012; J. Control. Release 158:346-353参照）。

【 0 0 6 4 】

キレート連結法の非限定的な例としては以下が挙げられる：

【 0 0 6 5 】

標的化ポリペプチドを D f - B z - N C S と反応させキレートリンカーを形成する。その後、改変された標的化ポリペプチドを ^{6 8} G a を用いて放射性標識する（例えば、M.J. W.D. Vosjan, 2011; Eur J. Nucl. Med. Mol. Imaging, 38:753-763参照）。

【 0 0 6 6 】

標的化ポリペプチドを S - 2 - (4 - イソチオシアネートベンジル) - 1 , 4 , 7 - トリアザシクロノナン - 1 , 4 , 7 - トリ酢酸 (p - S C N - B n - N O T A) とコンジュゲートさせ、その後、^{6 8} G a を用いて放射標識する（例えば、C. Xavier, 2013; J. Nucl. Med., 54: 776-784参照）。

【 0 0 6 7 】

インビボでのイメージングに使用するために、本発明のイメージング剤は、(i) 本発明の少なくとも1つのイメージング剤、及び(i i) 少なくとも1つの薬学的に許容される担体、希釈剤、賦形剤、補助剤、及び/又は安定化剤を含む、医薬調製物として製剤化され得る。「薬学的に許容される」とは、それぞれの材料が、個体に投与された場合に、全く生物学的作用又は他の望ましくない作用を及ぼさず、かつ、それが含まれている医薬組成物（例えばイメージング剤）の他のどの成分とも有害な様式で相互作用しないことを意味する。具体例は、例えばRemington's Pharmaceutical Sciences、第18巻、Mack Publishing Company、米国（1990）などの標準的なハンドブックに見られ得る。例えば、本発明のイメージング剤は、慣用的な抗体及び抗体フラグメント及び他の薬学的に活性なタンパク質についてそれ自体公知の任意の方法で製剤化及び投与され得る。したがって、さらなる実施態様によると、本発明は、本発明の少なくとも1つのイメージング剤及び少なくとも1つの薬学的に許容される担体、希釈剤、賦形剤、補助剤、及び/又は安定化剤を含有する、医薬組成物又は調製物に関する。

【 0 0 6 8 】

このような製剤は、非経口投与（例えば、静脈内、筋肉内、皮下、くも膜下腔内、陰茎海綿体内、又は腹腔内注射、又は静脈内注入による）に適した剤形であり得る。このような適した剤形（これは投与法に応じて、固体、半固体、又は液体であり得る）並びにその調製に使用するための方法及び担体は、当業者には明らかであろう。好ましい製剤及び投与経路は当業者には公知であり、一部には使用されるイメージング法及び調べる組織に依存するだろう。

【 0 0 6 9 】

非経口投与のための調製物は、例えば、活性成分を含み、かつ、場合によりさらなる溶解工程又は希釈工程の後の注入又は注射に適した、無菌溶液、懸濁液、分散液、乳液、又は粉末であり得る。このような調製物のために適した担体又は希釈剤としては、例えば、滅菌水及び薬学的に許容される水性緩衝液及び溶液、例えば生理的リン酸緩衝食塩水、リンガー液、デキストロース溶液、及びハंक溶液；水油；グリセロール；エタノール；グリコール、例えばプロピレングリコール、並びに、鉱油、動物油、及び植物油、例えばピーナッツ油、大豆油、並びにその適切な混合物が挙げられるがそれらに限定されない。

【 0 0 7 0 】

インビボでのイメージングに使用するために、イメージング剤を含有する検出可能な量の組成物を被験者に投与する。検出可能な量は、イメージング剤、投与経路、イメージング法、並びに検査する被験者及び組織をはじめとする多くの因子に依存して変化し得、そしてこれは当業者によって決定され得る。

【 0 0 7 1 】

本発明は、

1) 本発明のイメージング剤を被験者に投与する工程；及び
 2) 検査する脈管構造に結合したイメージング剤の存在を検出する工程
 を含む、インビボでC X 3 C R 1を含有する動脈硬化プラークを検出するための方法を提供し、結合したイメージング剤の存在は、動脈硬化プラークの存在を示す。

【0072】

動脈硬化プラークを検出するためにインビボでのイメージングによって検査され得る脈管構造としては、例えば、頸動脈、冠動脈、大腿動脈、腹部動脈、及び胸部動脈が挙げられる。

【0073】

本発明はまた、

1) 動脈硬化プラークを含有すると疑われる組織の試料を準備する工程、
 2) 該組織を本発明のイメージング剤と接触させる工程；
 3) 結合していないイメージング剤を除去する工程；及び
 4) 試料中の特異的に結合したイメージング剤を検出する工程
 を含む、動脈硬化性疾患のエクスピボでの検出のための方法を提供し、結合したイメージング剤の存在は、動脈硬化プラークの存在を示す。

【0074】

さらなる態様では、本発明は、以下を提供する：

【0075】

実施態様1：検出標識に連結されたC X 3 C R 1標的化ポリペプチドを含むイメージング剤。

【0076】

実施態様2：C X 3 C R 1標的化ポリペプチドが免疫グロブリン単一可変ドメインである、実施態様1記載のイメージング剤。

【0077】

実施態様3：C X 3 C R 1標的化ポリペプチドがV H Hドメインである、実施態様1又は2記載のイメージング剤。

【0078】

実施態様4：C X 3 C R 1標的化ポリペプチドが

- それぞれ、配列番号141、162及び186；又は
- それぞれ、配列番号141、163及び187；又は
- それぞれ、配列番号141、164及び186；又は
- それぞれ、配列番号141、166及び186；又は
- それぞれ、配列番号141、167及び186；又は
- それぞれ、配列番号141、167及び189；又は
- それぞれ、配列番号141、168及び186；又は
- それぞれ、配列番号141、168及び187；又は
- それぞれ、配列番号141、169及び190；又は
- それぞれ、配列番号141、170及び186；又は
- それぞれ、配列番号141、171及び186；又は
- それぞれ、配列番号141、174及び186；又は
- それぞれ、配列番号141、175及び187；又は
- それぞれ、配列番号142、165及び188；又は
- それぞれ、配列番号142、173及び188；又は
- それぞれ、配列番号143、164及び186；又は
- それぞれ、配列番号144、172及び187；又は
- それぞれ、配列番号145、172及び187；又は
- それぞれ、配列番号141、214及び186；又は
- それぞれ、配列番号141、215及び186；又は
- それぞれ、配列番号141、216及び186；又は

10

20

30

40

50

- それぞれ、配列番号 1 4 1、2 1 7 及び 1 8 6 ; 又は
- それぞれ、配列番号 1 4 1、2 1 8 及び 1 8 6 ; 又は
- それぞれ、配列番号 1 4 1、2 1 9 及び 1 8 6 ; 又は
- それぞれ、配列番号 1 4 1、2 2 0 及び 1 8 6 ; 又は
- それぞれ、配列番号 2 1 3、2 2 1 及び 1 8 6 ; 又は
- それぞれ、配列番号 2 1 3、2 1 4 及び 1 8 6 ; 又は
- それぞれ、配列番号 1 4 6、1 7 6 及び 1 9 1 ; 又は
- それぞれ、配列番号 1 4 6、1 7 7 及び 1 9 1 ; 又は
- それぞれ、配列番号 1 4 7、1 7 8 及び 1 9 2 ; 又は
- それぞれ、配列番号 1 4 7、1 7 9 及び 1 9 2 ; 又は
- それぞれ、配列番号 1 4 7、1 7 9 及び 1 9 4 ; 又は
- それぞれ、配列番号 1 4 8、1 7 9 及び 1 9 3 ; 又は
- それぞれ、配列番号 1 4 9、1 7 9 及び 1 9 2 ; 又は
- それぞれ、配列番号 1 4 9、1 8 0 及び 1 9 2 ; 又は
- それぞれ、配列番号 1 4 9、1 8 1 及び 1 9 2 ; 又は
- それぞれ、配列番号 1 4 9、1 8 3 及び 1 9 2 ; 又は
- それぞれ、配列番号 1 4 9、1 8 5 及び 1 9 2 ; 又は
- それぞれ、配列番号 1 5 0、1 7 9 及び 1 9 4 ; 又は
- それぞれ、配列番号 1 5 0、1 8 2 及び 1 9 4 ; 又は
- それぞれ、配列番号 1 5 1、1 7 9 及び 1 9 3 ; 又は
- それぞれ、配列番号 1 5 1、1 8 2 及び 1 9 4 ; 又は
- それぞれ、配列番号 1 5 1、1 8 4 及び 1 9 6 ; 又は
- それぞれ、配列番号 1 5 2、1 7 9 及び 1 9 5 ; 又は
- それぞれ、配列番号 1 5 3、1 7 9 及び 1 9 4 ; 又は
- それぞれ、配列番号 1 5 4、1 8 2 及び 1 9 4 ; 又は
- それぞれ、配列番号 1 5 5、1 7 9 及び 1 9 5 ; 又は
- それぞれ、配列番号 1 5 6、1 8 1 及び 1 9 2 ; 又は
- それぞれ、配列番号 1 5 7、1 7 9 及び 1 9 4 ; 又は
- それぞれ、配列番号 1 5 8、1 7 9 及び 1 9 2 ; 又は
- それぞれ、配列番号 1 5 9、1 7 8 及び 1 9 2 ; 又は
- それぞれ、配列番号 1 6 0、1 7 9 及び 1 9 4 ; 又は
- それぞれ、配列番号 1 6 1、1 7 9 及び 1 9 4

10

20

30

から選択された、C D R 1、C D R 2 及び C D R 3 の配列を含む、実施態様 1 ~ 3 のいずれか 1 つに記載のイメージング剤。

【 0 0 7 9 】

実施態様 5 : C X 3 C R 1 標的化ポリペプチドが、

- それぞれ、配列番号 1 4 1、1 6 2 及び 1 8 6 ; 又は
- それぞれ、配列番号 1 4 1、2 1 4 及び 1 8 6 ; 又は
- それぞれ、配列番号 1 4 1、2 1 5 及び 1 8 6 ; 又は
- それぞれ、配列番号 1 4 1、2 1 6 及び 1 8 6 ; 又は
- それぞれ、配列番号 1 4 1、2 1 7 及び 1 8 6 ; 又は
- それぞれ、配列番号 1 4 1、2 1 8 及び 1 8 6 ; 又は
- それぞれ、配列番号 1 4 1、2 1 9 及び 1 8 6 ; 又は
- それぞれ、配列番号 1 4 1、2 2 0 及び 1 8 6 ; 又は
- それぞれ、配列番号 2 1 3、2 2 1 及び 1 8 6 ; 又は
- それぞれ、配列番号 2 1 3、2 1 4 及び 1 8 6 ; 又は
- それぞれ、配列番号 1 4 7、1 7 8 及び 1 9 2 ; 又は
- それぞれ、配列番号 1 4 6、1 7 6 及び 1 9 1

40

から選択された C D R 1、C D R 2 及び C D R 3 の配列を含む、実施態様 1 ~ 4 のいずれか 1 つに記載のイメージング剤。

50

【0080】

実施態様6：CX3CR1標的化ポリペプチドが、配列番号1～140又は197～202のいずれか1つから選択された配列を有するVHHドメインである、実施態様1～3のいずれか1つに記載のイメージング剤。

【0081】

実施態様7：CX3CR1標的化ポリペプチドが、配列番号1、11、49、53、121～140、又は197～202のいずれか1つから選択された配列を有するVHHドメインである、実施態様6記載のイメージング剤。

【0082】

実施態様8：CX3CR1標的化ポリペプチドが二価であり、リンカーペプチドによって共有結合で連結された同一であっても異なってもよい2つのVHHドメインを含み、VHHドメインの配列は、配列番号203～212、222又は223のいずれか1つから選択される、実施態様1又は2記載のイメージング剤。

10

【0083】

実施態様9：二価CX3CR1標的化ポリペプチド配列が、配列番号208、222又は223のいずれか1つから選択される、実施態様1、2又は8のいずれか1つに記載のイメージング剤。

【0084】

実施態様10：検出標識が、放射性同位体、イメージング用色素、常磁性体、又は微小気泡から選択される、実施態様1～9のいずれか1つに記載のイメージング剤。

20

【0085】

実施態様11：検出標識が放射性同位体である、実施態様1～10のいずれか1つに記載のイメージング剤。

【0086】

実施態様12：検出標識が、 ^{99m}Tc 、 ^{111}In 、 ^{123}I 、 ^{201}Tl 、 ^{133}Xe 、 ^{11}C 、 ^{64}Cu 、 ^{18}F 、 ^{68}Ga 、 ^{13}N 、 ^{15}O 、 ^{82}Rb 、 ^{124}I 、及び ^{89}Zr から選択される、実施態様1～11のいずれか1つに記載のイメージング剤。

【0087】

実施態様13：検出標識が ^{99m}Tc 及び ^{68}Ga から選択される、実施態様1～12のいずれか1つに記載のイメージング剤。

30

【0088】

実施態様14：CX3CR1標的化ポリペプチドが、配列番号224、225、226、227又は228のいずれか1つから選択されたVHHドメインと、CX3CR1への結合に関して競合する免疫グロブリンである、実施態様1記載のイメージング剤。

【0089】

実施態様15：a) 実施態様1～14のいずれか1つに記載のイメージング剤を投与する工程、

b) イメージング剤の結合を検出する工程

を含む、被験者におけるCX3CR1の上昇した発現によって特徴付けられる疾病をインビボで診断するための方法であって、前記イメージング剤は、非罹患組織よりも検出可能なより高いレベルで罹患組織のCX3CR1に特異的に結合し、観察された結合は該疾病の指標となる。

40

【0090】

実施態様16：被験者におけるCX3CR1の上昇した発現によって特徴付けられる疾病をインビボで診断するための方法であって、該方法は、

a) 被験者に、実施態様1～14のいずれかに記載のイメージング剤を投与する工程；及び

b) 被験者の非罹患組織と比較して、罹患組織においてより高いレベルのイメージング剤の結合を検出する工程を含む。

【0091】

50

実施態様 17：前記疾病が、心臓及び脳血管の動脈硬化性疾患、末梢動脈疾患、再狭窄、糖尿病性腎症、糸球体腎炎、ヒト半月板形成性糸球体腎炎、IgA 腎症、膜性腎症、ループス腎炎、膵炎、ヘノッホ・シェーンライン紫斑病及びウェゲナー肉芽腫症を含む血管炎、関節リウマチ、変形性関節症、同種移植片拒絶、全身性硬化症、神経変性疾患及び脱髄疾患、多発性硬化症（MS）、アルツハイマー病、COPD、喘息のような肺疾患、神経障害性疼痛、炎症性疼痛、及び癌から選択される、実施態様 15 又は 16 記載の方法。

【0092】

実施態様 18：該疾病がアテローム性動脈硬化症である、実施態様 15～17 のいずれか 1 つに記載の方法。

【0093】

実施態様 19：イメージング剤の結合を検出するための方法が、

- a) 単一光子放射型コンピュータ断層撮影法；
- b) 陽電子放出断層撮影法；
- c) 近赤外線蛍光イメージング；
- d) 超音波イメージング；及び
- e) 磁気共鳴イメージング

から選択される、実施態様 15～18 のいずれか 1 つに記載の方法。

【0094】

実施態様 20：イメージング剤の結合を検出するための方法が陽電子放出断層撮影法である、実施態様 15～19 のいずれか 1 つに記載の方法。

【0095】

実施態様 21：被験者がヒトである、実施態様 15～20 のいずれか 1 つに記載の方法。

【0096】

実施態様 22：1) 被験者から疾病に罹患していることが疑われる組織を、実施態様 1～14 のいずれか記載のイメージング剤と接触させる工程；

2) 結合していないイメージング剤を除去する工程；及び

3) 試料中の特異的に結合したイメージング剤を検出する工程

を含む、被験者における CX3CR1 の上昇した発現によって特徴付けられる疾病をエクスピボで診断するための方法であって、

イメージング剤は、非罹患組織よりも検出可能なより高いレベルで罹患組織の CX3CR1 に特異的に結合し、観察された結合は CX3CR1 により媒介される疾病の指標となる。

【0097】

実施態様 23：1) 被験者の組織試料を、実施態様 1～14 のいずれか記載のイメージング剤と接触させる工程；及び

2) 試料中の特異的に結合したイメージング剤を検出する工程

を含む、被験者における CX3CR1 の発現上昇によって特徴付けられる疾病をエクスピボで診断するための方法。

【0098】

実施態様 24：a) 実施態様 1～14 のいずれか記載のイメージング剤を投与する工程；

b) イメージング剤の結合を検出し、

イメージング剤が、非罹患組織よりも検出可能なより高いレベルで罹患組織の CX3CR1 に特異的に結合するならば、該疾病に対して有効であることが知られている治療剤の治療有効量を用いて患者を処置する工程

を含む、CX3CR1 の上昇した発現によって特徴付けられる疾病を患う患者を同定及び処置するための方法。

【0099】

実施態様 25：a) 非罹患組織と比較して、罹患組織において、実施態様 1～14 のい

10

20

30

40

50

ずれか記載のイメージング剤のより高いレベルの結合を有するとして患者を同定する工程；

b) 治療剤を患者に投与する工程

を含む、C X 3 C R 1 の上昇した発現によって特徴付けられる疾病を有する患者を処置するための方法。

【0100】

実施態様26：該疾病が、心臓及び脳血管の動脈硬化性疾患、末梢動脈疾患、再狭窄、糖尿病性腎症、糸球体腎炎、ヒト半月板形成性糸球体腎炎、IgA腎症、膜性腎症、ループス腎炎、膵炎、ヘノッホ・シェーンライン紫斑病及びウェゲナー肉芽腫症を含む血管炎、関節リウマチ、変形性関節症、同種移植片拒絶、全身性硬化症、神経変性疾患及び脱髄疾患、多発性硬化症(MS)、アルツハイマー病、COPD、喘息のような肺疾患、神経障害性疼痛、炎症性疼痛、及び癌から選択される、実施態様24又は25記載の方法。

10

【0101】

実施態様27：該疾病がアテローム性動脈硬化症である、実施態様25又は26記載の方法。

【0102】

実施態様28：有効な治療剤がC X 3 C R 1 アンタゴニストである、実施態様24～27のいずれか記載の方法。

【0103】

実施態様29：a) C X 3 C R 1 標的化ポリペプチドの作製、

20

b) 検出標識の結合、及び

c) 場合によりさらなる賦形剤の混合

の工程を含む、実施態様1～14のいずれか記載のイメージング剤の製造法。

【0104】

実施態様30：実施態様1～14のいずれか記載のイメージング剤の製造のための、放射性同位体、イメージング用色素、常磁性体、又は微小気泡から選択された検出標識の使用。

【0105】

実施態様31：被験者におけるC X 3 C R 1 の発現上昇によって特徴付けられる疾病の診断用の組成物の調製のための、実施態様1～14のいずれか記載のイメージング剤の使用。

30

【0106】

実施態様32：被験者におけるC X 3 C R 1 の発現上昇によって特徴付けられる疾病の診断法に使用するための、実施態様1～14のいずれか記載のイメージング剤を含む組成物。

【0107】

実施態様33：実施態様1～14のいずれか記載のイメージング剤を含む、被験者におけるC X 3 C R 1 の発現上昇によって特徴付けられる疾病の診断法に使用するためのキット。

【0108】

40

実施態様34：被験者におけるC X 3 C R 1 の発現上昇によって特徴付けられる疾病の診断法の使用説明書をさらに含む、実施態様33記載のキット。

【0109】

実施態様35：抗C X 3 C R 1 免疫グロブリン単一可変ドメインを含むポリペプチドであって、該ポリペプチドは、ヒトC X 3 C R 1 へのヒトフラクタルカインの結合を遮断することができ、該抗C X 3 C R 1 免疫グロブリン単一可変ドメインは、配列番号200～202のいずれか1つに示される配列を含むVHHドメインである。

【0110】

実施態様36：実施態様35記載のポリペプチドをコードする核酸分子。

【0111】

50

実施態様 37 : (i) 実施態様 35 記載のポリペプチド、並びに (i i) 薬学的に許容される担体、並びに場合により (i i i) 希釈剤、賦形剤、補助剤及び / 又は安定化剤を含む、医薬組成物。

【 0 1 1 2 】

実施態様 38 : 治療量の実施態様 35 記載の化合物をそれを必要とする患者に投与することを含む、C X 3 C R 1 関連疾病、疾患、又は容態の処置法。

【 0 1 1 3 】

実施態様 39 : 該疾病、疾患、又は容態が、心臓及び脳血管の動脈硬化性疾患、末梢動脈疾患、再狭窄、糖尿病性腎症、糸球体腎炎、ヒト半月板形成性糸球体腎炎、I g A 腎症、膜性腎症、ループス腎炎、ヘノッホ・シェーンライン紫斑病及びウェゲナー肉芽腫症を含む血管炎、関節リウマチ、変形性関節症、同種移植片拒絶、全身性硬化症、神経変性疾患及び脱髄疾患、多発性硬化症 (M S)、アルツハイマー病、C O P D、喘息のような肺疾患、神経障害性疼痛、炎症性疼痛、又は癌から選択される、実施態様 38 記載の方法。

10

【 0 1 1 4 】

実施態様 40 : 該疾病、疾患、又は容態がアテローム性動脈硬化症である、実施態様 39 記載の方法。

【 0 1 1 5 】

実施例

実施例 1 : 抗ヒト C X 3 C R 1 V H H ドメインの作製

ラマを、p V A X 1 - h C X 3 C R 1 プラスミドベクター (Invitrogen、カールズバッド、C A、米国)、ヒト C X 3 C R 1 を過剰発現しているラクダ腎臓 (C a k i) 細胞、及び / 又は B S A に結合させた C X 3 C R 1 の N 末端及び第 3 細胞外ループから導かれた組換えペプチドを用いて標準的なプロトコールに従って免疫化した。ペプチドを Neo MPS (Polypeptidegroup、ストラスブール、フランス) に注文し、標準的なプロトコールに従って B S A に結合させた。免疫化の期間中の様々な時点と、最後の免疫原の注射の後とに、重鎖抗体を産生する B 細胞源としての役目を果たす血液試料及びリンパ節生検材料をラマから回収した。血液試料から、末梢血リンパ球 (P B L) を、製造業者の説明書 (Amer sham Biosciences、ピスカタウェイ、N J、米国) に従ってフィコールハイバックを使用して調製した。P B L 及びリンパ節生検材料 (L N) から全 R N A を抽出し、これを R T - P C R のための出発物質として使用して、V H H をコードする D N A セグメントを増幅した。

20

30

【 0 1 1 6 】

免疫化されたラマ各個体から、免疫化計画の特定のサブセット由来の、すなわち 1 つの種類の免疫化抗原の後の試料から単離された全 R N A をプールすることによってライブラリーを構築し、一部のラマについては、異なる個体からの試料を 1 つのライブラリーにプールした。要するに、P C R により増幅された V H H レパートリーを、特定の制限酵素部位を介して、V H H ライブラリーのファージディスプレイを容易にするように設計されたベクターにクローニングした。ベクターは p U C 1 1 9 から導かれ、かつ L a c Z プロモーター、M 1 3 ファージ g I I I タンパク質コード配列、アンピシリン又はカルベニシリンに対する耐性遺伝子、マルチクローニングサイト、及びハイブリッド g I I I - p e l B リーダー配列 (p A X 0 5 0) を含有する。V H H コード配列のインフレームで、ベクターは C 末端 c - m y c タグ及びヘキサヒスチジンタグをコードする。ファージを標準的なプロトコールに従って調製し、そして滅菌濾過した後にさらなる使用のために 4 - 又は - 8 0 で 2 0 % グリセロール中で保存した。

40

【 0 1 1 7 】

全てのラマから得られかつファージライブラリーとしてクローニングされた V H H レパートリーを、非常に多数の選択条件を適用して、様々な選択戦略に使用した。全てのコーティングされた固相での選択を Maxisorp 9 6 ウェルプレート (Nunc、ウィースバーデン、ドイツ) において実施した。選択は以下のように実施された : 固相 (リボソーム / V L P 上に発現された C X 3 C R 1、Integral Molecular、フィラデルフィア、P A、米国) 及

50

び液相 (C X 3 C R 1 を組換え発現している細胞) の選択フォーマットのための C X 3 C R 1 抗原調製物を、複数の濃度で提示した。ファージライブラリーと共に 2 時間インキュベートし、その後、十分に洗浄した後、結合したファージをトリプシン (1 mg/mL) を用いて 15 分間かけて溶出した。トリプシンがファージ溶出のために使用された場合、0.8 mM のプロテアーゼ阻害剤 A B S F を適用することによってプロテアーゼ活性を直ちに中和した。対照として、抗原を含まない選択を平行して実施した。

【0118】

ファージ作出物を使用して大腸菌に感染させ、これをその後、今度は次の選択ラウンド (ファージレスキュー) のためのファージの調製に使用した。2 回目の選択後、ファージの作出物を使用して大腸菌に感染させ、これをその後、寒天プレート (L B + カルベニシリン + ブドウ糖²%) 上に個々の V H H クローンの分析のために播種した。特異的な結合物質について選択作出物をスクリーニングするために、単一のコロニーを寒天プレートから拾い上げ、96 ウェル深型プレート 1 mL 中で増殖させた。L a c Z で制御された V H H 発現を、ブドウ糖の非存在下で I P T G (最終 1 mM) を添加することによって誘導した。ペリプラズムペリプラズム抽出物 (約 80 μ L の容量) を標準的なプロトコールに従って調製した。

10

【0119】

ペリプラズムペリプラズム抽出物を、ヒト C X 3 C R 1 / ヒトフラクタルカイン F A C S 競合アッセイにおいてスクリーニングして、発現された V H H が、独特な C X 3 C R 1 リガンドの受容体への結合を遮断する能力を評価した。ヒト C X 3 C R 1 を C H O 細胞上に提示した。検出試薬として、1 の標識度で A l e x a F l u o r 6 4 7 (A 6 4 7 - フラクタルカイン) で標識されたフラクタルカイン (R&D Systems、ミネアポリス、M N、米国) を使用した。簡潔には、ペリプラズム抽出物 50 μ L を 6 nM の標識されたフラクタルカイン (50 μ L) 及び 2×10^5 個の C H O - h C X 3 C R 1 細胞に加えた。4 で 1 時間インキュベートした後、細胞を 3 回洗浄し、その後、F A C S アレイ (Becton Dickinson) で分析した。まずゲートを、散乱プロファイルから決定されたインタクトな細胞上に設定した。次に、死滅細胞を、P I 染色 (Sigma、セントルイス、米国) に由来するその蛍光プロファイルによってゲートアウトした。各試料について A l e x a F l u o r 6 4 7 標識からの蛍光プロファイルを決定し、これを遮断能の計算のために使用した。対照として、条件は、ペリプラズム抽出物に全く V H H が存在しなかった、又は、公知の非関連 V H H 及び試料を過剰の冷却フラクタルカインと共に含めたものとした。各試料について遮断率を、対照試料を使用して決定して、アッセイ窓を決定した。

20

30

【0120】

このスクリーニングから V H H を選択し、そして配列分析により、ファミリー 9、13 及び 101 と称される 3 つの異なる B 細胞系統に属する独特な V H H が判明した。一価 V H H を二価分子としてフォーマット化することにより、作用強度及び / 又は効力は高まるかどうかを決定するために、二価分子を遺伝子工学操作によって構築した。2 つの V H H を、2 つの構築ブロック間に 35 G S リンカーを用いて互いに遺伝子的に連結させた。

【0121】

抗 C X 3 C R 1 V H H をさらなる特徴付けのために発現させかつ精製した。一価及び二価 V H H を大腸菌 T G 1 において、c - m y c、H i s 6 でタグ化されたタンパク質として発現させた。発現を、1 mM I P T G の添加によって誘導し、そして 37 で 4 時間継続させた。細胞培養液を回転させた後、ペレットを凍結解凍することによってペリプラズム抽出物を調製した。これらの抽出物を出発物質として使用し、V H H を I M A C を介して精製し、サイズ排除クロマトグラフィー (S E C) により S D S - P A G E を介して評価したところ 95 % の純度が得られた。

40

【0122】

様々なファミリーに由来し、かつ多様な予測された電荷及び p I を有する、代表的なエピトープでタグ化された一価及び二価 V H H ドメインを、イメージング試薬としての評価のために選択した。これらの全ての V H H ドメインが、上記に概略が示されている競合 F

50

A C S アッセイにおいて受容体へのフラクタルカインの結合を遮断することが示された。B A / F 3 - h C X 3 C R 1 細胞、C H O - h C X 3 C R 1 細胞、又は一過性にトランスフェクトされた H E K 2 9 3 細胞のいずれかを使用した。様々な競合設定において使用された標識リガンドの量も変化させた。ヒト C X 3 C R 1 へのヒトフラクタルカインの相互作用を遮断する V H H の $I C_{50}$ 値を表 9 に示す。

【 0 1 2 3 】

ヒト C C R 2、ヒト C C R 5、又はマウス C X 3 C R 1 を発現している C H O - K 1 親細胞又は C H O 細胞上で F A C S 結合実験を実施することによって、h C X 3 C R 1 受容体に対する特異性を評価した。V H H を、4 で 3 0 分間それぞれの細胞株と共にインキュベートし、その後、3 回の洗浄工程を行ない、続いて、検出試薬と共にインキュベートした。検出として、マウス抗 c m y c 抗体 (Serotec, MCA2200)、その後、P E に結合させたヤギ抗マウス抗体 (Jackson 115-116-071) を使用し、各インキュベーションは 4 で 3 0 分間であり、その後、3 回の洗浄工程を行なった。各細胞株について、受容体特異的抗体を用いての品質対照が含まれた。さらに、最高濃度の各 V H H も、陽性対照として h C X 3 C R 1 を発現している C H O 細胞と共にインキュベートした。マウス C X 3 C R 1、ヒト C C R 2、又はヒト C C R 5 への結合は全く観察できなかった。

【 0 1 2 4 】

【 表 9 】

表9: イメージング研究のために選択されたVHHドメインの特徴付け

試料 I D	ファミリー	電荷/pI	細胞株	IC_{50} (M)	遮断%	反復回数
CX3CR1BII18E06	13	3/7.67	BA/F3-hCX3CR1	2.8 E-9	71	3
CX3CR1BII66B02	101	4/8.24	HEK 293-hCX3CR1	2.5 E-9	102	2
CX3CR1BII315	9	5/8.65	BA/F3-hCX3CR1	8.1 E-9	100	3
CX3CR1BII316	101	1/6.79	HEK 293-hCX3CR1	5.3 E-9	94	5
CX3CR1BII317	9 二価	10/9.29	CHO-hCX3CR1	3.4 E-9	105	4
CX3CR1BII318	101 二価	8/9.05	HEK 293-hCX3CR1	3.0 E-10	102	2

【 0 1 2 5 】

実施例 2 : V H H ドメインの標識

V H H ドメインの放射性標識

V H H ドメインを、 ^{99m}Tc -トリカルボニル法を使用して ^{99m}Tc を用いて部位特異的にそのヘキサヒスチジンタグ上に放射性標識した。 $^{99m}TcO_4^-$ 溶液 ($^{99m}Mo / ^{99m}Tc$ 発生溶出液; 0.74 ~ 3.7 GBq; Drytec; GE Healthcare、ピスカタウェイ、N J) を Isolink キット (Covidien、セントルイス、M O) に加えることによって、 $[^{99m}Tc(H_2O)_3(CO)_3]^+$ (^{99m}Tc -トリカルボニル) を合成した。バイアルを 100 で 20 分間インキュベートした。冷却後、 ^{99m}Tc -トリカルボニル溶液を 1 M H C l を用いて pH 7.4 へと中和した。その後、 ^{99m}Tc -トリカルボニル 500 μ l を V H H ドメイン 50 μ l (一価 V H H ドメインについては 1 mg/ml、二価 V H H ドメインについては 2 mg/ml) に加え、50 で 90 分間インキュベートした。

遊離標識からの標識分子の分離、及びリン酸緩衝食塩水 (P B S) への緩衝液の交換を、セファデックス G 2 5 使い捨てカラム (NAP-5; GE Healthcare、ピスカタウェイ、N J) を使用してゲル濾過によって実施した。その後、標識された V H H ドメインを 0 . 2 2 μ m のフィルター (Millipore、ベッドフォード、M A) に通し凝集物を除去した。

【 0 1 2 6 】

全ての V H H ドメインを ^{99}mTc を用いて成功裡に標識した。放射化学純度は、移動相としてアセトンを使用して即時薄層クロマトグラフィーによって 9 5 % 超であることが示された。放射化学純度はまた R P - H P L C によっても評価され、分析用 C 4 カラム 2 1 4 T P 5 3 (Grace Vydac、ディアフィールド、I L) を、移動相として H_2O 中 0 . 1 % トリフルオロ酢酸 (溶媒 A) / アセトニトリル中 0 . 1 % トリフルオロ酢酸 (溶媒 B) と共に使用して、8 9 % 超であることが示された。

10

【 0 1 2 7 】

実施例 3 : インビトロでの、細胞と、標識された V H H ドメインの結合

標識された V H H ドメイン分子が C X 3 C R 1 へのその結合を保持したかどうかを確認するために、C H O - h C X 3 C R 1 細胞を使用して結合研究を実施した。トランスフェクトされていない C H O 細胞 (C H O - W T) を対照として含めた。C H O - h C X 3 C R 1 又は C H O - W T 細胞を、1 0 % F B S、5 0 0 $\mu\text{g/ml}$ G 4 1 8 及び 1 0 0 $\mu\text{g/ml}$ ゼオシンの補充された F 1 2 培地 (C H O - h C X 3 C R 1)、又は 1 0 % F B S、1 0 0 U/ml ペニシリン、1 0 0 $\mu\text{g/ml}$ ストレプトアビジン及び 2 mM L - グルタミンの補充された R P M I 培地 (C H O - W T) を含有する 2 4 ウェルプレート中 2×10^5 個の細胞 / ウェルで播種し、3 7 °C で一晩インキュベートした。F 1 2 培地中 0 . 5 % H S A を用いて非特異的結合を遮断した後、0 . 5 ml の F 1 2 培地 + 0 . 5 % H S A 中 1 nM の ^{99}mTc - V H H ドメインを 3 枚のウェルに加え、プレートを 3 7 °C で 1 時間インキュベートした。細胞を氷冷 P B S + 0 . 5 % H S A で 3 回洗浄することによって、結合していない ^{99}mTc - V H H ドメインを除去した。細胞を 1 M N a O H を用いて可溶化し、 ^{99}mTc をガンマウェルカウンター (Cobra II Inspector 5003, Canberra-Packard) で定量した。結果を図 1 に示す。C H O - h C X 3 C R 1 細胞への特異的結合を、C X 3 C R 1 陰性 C H O - W T 細胞への結合に対して標準化した (結合 / C H O - W T 細胞上での結合)。統計分析のために、独立スチューデント t 検定を使用した (SPSS Statistics 20)。0 . 0 5 未満の P 値が有意と判断された。

20

30

【 0 1 2 8 】

C X 3 C R 1 陽性 C H O 細胞への結合は、6 つ全ての ^{99}mTc 標識 V H H ドメインについて、トランスフェクトされていない細胞よりも有意に高く ($* p < 0 . 0 0 1$)、C X 3 C R 1 への特異的結合が、 ^{99}mTc による V H H ドメインの標識で保存されたことを実証した。強力な結合及び大きな窓が、6 中 5 個の V H H ドメインで観察されたが、より弱い結合が C X 3 C R 1 B I I 3 1 5 で見られた。

【 0 1 2 9 】

実施例 4 : 健康な h C X 3 C R 1 K I マウス及び C 5 7 B L / 6 マウスにおける標識 V H H ドメインの体内分布

健康な (疾病を有さない) マウスにおける標識 V H H ドメインの体内分布を調べるために実験を行なった。同定された V H H ドメインはマウス C X 3 C R 1 とは交差反応しなかったため、ヒト C X 3 C R 1 ノックインマウス系統 (h C X 3 C R 1 K I) を Taconic Artemis (ケルン、ドイツ) で作製し、マウス疾病モデルにおけるこれらの分子の試験を可能とした。内因性マウスタンパク質の発現を破壊しつつ、対応するマウスプロモーターの制御下でヒトケモカイン受容体の発現を可能とする戦略を実施した。簡潔には、エキソン 2 内のマウス C X 3 C R 1 コード領域を、完全ヒト C X 3 C R 1 オープンリーディングフレームで置き換え、かつ選択マーカー及び lo x P 部位によってフランキンクされた、標的化ベクターを構築した。標的化ベクターをマウス E S 細胞に導入し、そして相同的組換えを成功裡に受けたクローンを使用してキメラマウスを作製した。これらのマウスを高度に効率的な F l p 欠失マウスと交雑して、選択マーカーの除去及び生殖細胞系列伝達が成し

40

50

遂げられた。C 5 7 B L / 6 マウスを対照として使用して、非特異的な標的とは独立した結合を評価した。

【 0 1 3 0 】

1 7 週令の雌 C 5 7 B L / 6 マウス ($n = 35$) 及び h C X C R 3 K I マウス ($n = 35$) に通常の固形飼料食餌が与えられた。各 V H H ドメインを、 $^{99m}\text{Tc} - \text{CX3CR1BI315}$ マウス ($2 \times n = 5$) を除く、6 匹の C 5 7 B L / 6 マウス及び 6 匹の h C X 3 C R 1 K I マウスにおいて評価した。 $^{99m}\text{Tc} - \text{VHH}$ ドメイン溶液 ($53 \pm 10 \text{ MBq}$) $100 \mu\text{l}$ を、尾静脈を介して静脈内注射した。注射から 3 時間後、麻酔した動物をうつ伏せにして動物のベッドに 6 匹の ^{57}Co ランドマークと共に置き、順次、ピンホール S P E C T 及びマイクロ C T にかけた。ピンホール S P E C T 収集は、3 個から構成される 1.5 mm のピンホールコリメーターの装備された、デュアルヘッドガンマカメラ (e.cam¹⁸⁰ Siemens Medical Solutions、ホイートン、I L、米国) を使用して実施した。各 10 秒間の 64 回の投影を、 360° 回転させながら、ズーム比 1 で 128×128 のマトリクスに収集した。マイクロ C T イメージングを以下の収集パラメーターを使用して Skyscan 1178 (Skyscan、コンティフ、ベルギー) で実施した : 50 kV 、 $615 \mu\text{A}$ 、及び $83 \mu\text{m}$ 解像度。再構成後、両方のデータセットを 6 匹の ^{57}Co ランドマークに基づいて自動的に融合させた。画像をソフトウェア Amide (<http://amide.sourceforge.net>) 及び Osirix (Pixmeo SARL、ベルネ、スイス) を用いて分析した。S P E C T 画像のカーブスケールを $\text{IA} / \text{cm}^3\%$ に標準化することにより、動物間の直接的な目視による比較が可能となった (図 2) 。

【 0 1 3 1 】

イメージング後、動物を、ペントバルビタールナトリウム (CEVA、リブルヌ、フランス) の過剰投与によって安楽死させた。全ての主要な臓器及び組織を収集し、秤量し、その放射能をガンマウェルカウンターで定量した。計数をバックグラウンド及び崩壊に対して修正し、組織 1 g あたりに注射された放射能比 ($\text{IA} / \text{g}\%$) として表現された。統計分析をパラメトリック検定 (分散分析) 及びノンパラメトリック検定 (マンホイットニー U 検定) (SPSS Statistics 20) の両方を使用して実施した。 0.05 未満の P 値を有意と判断した。

【 0 1 3 2 】

C 5 7 B L / 6 マウス及び h C X 3 C R 1 K I マウスにおける $^{99m}\text{Tc} - \text{VHH}$ ドメインの体内分布データを表 10 に要約する。

【 0 1 3 3 】

10

20

30

【表 10】

表10: C57BL/6マウス及びhCX3CR1 KIマウスにおけるエクスピボでのVHHドメインの体内分布

	18E06		66B02		315	
	C57Bl/6	hCX3CR1 KI	C57Bl/6	hCX3CR1 KI	C57Bl/6	hCX3CR1 KI
	n=6	n=6	n=6	n=6	n=5	n=5
心臓	0.24 ± 0.03	0.34 ± 0.04*	0.19 ± 0.02	0.44 ± 0.05*	0.35 ± 0.10	0.40 ± 0.07
肺	0.47 ± 0.11	0.88 ± 0.11*	0.45 ± 0.12	1.11 ± 0.21*	0.70 ± 0.15	0.83 ± 0.21
肝臓	1.31 ± 0.12	1.81 ± 0.15*	1.55 ± 0.16	1.85 ± 0.17*	1.94 ± 0.27	2.00 ± 0.20
脾臓	0.47 ± 0.04	1.41 ± 0.21*	0.58 ± 0.08	2.22 ± 0.36*	0.66 ± 0.29	0.77 ± 0.09
膵臓	0.13 ± 0.02	0.22 ± 0.04*	0.11 ± 0.02	0.26 ± 0.03*	0.17 ± 0.02	0.19 ± 0.02
左腎臓	237 ± 30	228 ± 29	279 ± 45	218 ± 31*	206 ± 47	235 ± 15
右腎臓	233 ± 28	243 ± 27	298 ± 32	233 ± 29*	217 ± 50	257 ± 11
脳	0.01 ± 0.00	0.03 ± 0.00*	0.01 ± 0.00	0.03 ± 0.01*	0.02 ± 0.00	0.02 ± 0.01
大動脈	0.16 ± 0.02	0.19 ± 0.04	0.15 ± 0.04	0.24 ± 0.05*	0.29 ± 0.08	0.32 ± 0.10
胃	0.24 ± 0.10	0.42 ± 0.06*	0.21 ± 0.06	0.80 ± 0.20*	0.28 ± 0.06	0.35 ± 0.08
小腸	0.35 ± 0.05	1.22 ± 0.25*	0.38 ± 0.10	2.32 ± 0.29*	0.69 ± 0.44	0.57 ± 0.10
大腸	0.27 ± 0.19	1.12 ± 0.31*	0.24 ± 0.06	1.48 ± 0.68*	0.38 ± 0.33	0.53 ± 0.38
筋肉	0.04 ± 0.01	0.06 ± 0.01*	0.05 ± 0.01	0.07 ± 0.03	0.07 ± 0.01	0.08 ± 0.02
骨	0.11 ± 0.02	0.41 ± 0.09*	0.11 ± 0.02	0.71 ± 0.08*	0.15 ± 0.02	0.16 ± 0.03
リンパ節	0.14 ± 0.05	0.45 ± 0.24*	0.15 ± 0.02	0.74 ± 0.29*	0.37 ± 0.30	0.25 ± 0.05
血液	0.55 ± 0.09	0.66 ± 0.13	0.43 ± 0.04	0.49 ± 0.05*	0.77 ± 0.15	0.92 ± 0.16

10

20

30

	316		317		318	
	C57Bl/6	hCX3CR1 KI	C57Bl/6	hCX3CR1 KI	C57Bl/6	hCX3CR1 KI
	n=6	n=6	n=6	n=6	n=6	n=6
心臓	0.18 ± 0.02	0.34 ± 0.04*	0.37 ± 0.09	0.45 ± 0.08	0.22 ± 0.03	0.57 ± 0.06*
肺	0.56 ± 0.13	1.11 ± 0.22*	0.86 ± 0.29	1.42 ± 0.41*	0.63 ± 0.23	0.89 ± 0.25†
肝臓	2.12 ± 0.22	2.53 ± 0.08*	3.21 ± 0.53	3.49 ± 0.47	1.87 ± 0.06	1.98 ± 0.25
脾臓	0.89 ± 0.18	2.10 ± 0.25*	0.77 ± 0.21	1.80 ± 0.24*	0.60 ± 0.06	3.63 ± 0.79*
膵臓	0.09 ± 0.01	0.19 ± 0.02*	0.18 ± 0.03	0.28 ± 0.04*	0.11 ± 0.01	0.46 ± 0.07*
左腎臓	214 ± 32	203 ± 20	243 ± 9	201 ± 25*	252 ± 34	196 ± 40*
右腎臓	229 ± 33	205 ± 22	252 ± 15	214 ± 22*	278 ± 28	213 ± 42*
脳	0.01 ± 0.00	0.02 ± 0.00*	0.02 ± 0.01	0.03 ± 0.01§	0.01 ± 0.00	0.03 ± 0.01*
大動脈	0.13 ± 0.03	0.16 ± 0.03	0.34 ± 0.09	0.37 ± 0.09	0.27 ± 0.04	0.44 ± 0.08*
胃	0.16 ± 0.02	0.60 ± 0.45*	0.29 ± 0.07	0.70 ± 0.06*	0.29 ± 0.06	1.38 ± 0.38*
小腸	0.37 ± 0.14	1.16 ± 0.12*	0.49 ± 0.12	1.92 ± 0.14*	0.41 ± 0.12	3.11 ± 0.36*
大腸	0.31 ± 0.15	0.73 ± 0.29*	0.43 ± 0.22	0.62 ± 0.15	0.30 ± 0.18	1.27 ± 0.12*
筋肉	0.04 ± 0.01	0.05 ± 0.01*	0.09 ± 0.01	0.11 ± 0.03	0.07 ± 0.01	0.08 ± 0.03
骨	0.12 ± 0.02	0.48 ± 0.10*	0.20 ± 0.04	0.57 ± 0.11*	0.16 ± 0.04	0.77 ± 0.20*
リンパ節	0.12 ± 0.03	0.47 ± 0.13*	0.25 ± 0.06	0.70 ± 0.15*	0.18 ± 0.04	1.52 ± 0.32*
血液	0.46 ± 0.07	0.49 ± 0.09	0.47 ± 0.16	0.53 ± 0.18	0.28 ± 0.02	0.21 ± 0.02*

10

20

30

40

50

【 0 1 3 4 】

データは、組織 1 g あたりに注射された放射能比として示される (I A / g % ; * p < 0 . 0 5 各 V H H ドメインについて C 5 7 B L / 6 マウス対 h C X 3 C R 1 K I マウス (分散分析及びマンホイットニー U 検定 (同じ結果)) ; § 分散分析では p < 0 . 0 5 であるが、マンホイットニー U 検定ではそうではない ; † マンホイットニー U 検定では p < 0 . 0 5 であるが、分散分析ではそうではない)。

【 0 1 3 5 】

C 5 7 B L / 6 マウスでは、全ての V H H ドメインが、6 0 kDa 未満の分子量を有する分子の典型的な体内分布：高度な腎からの排出と迅速な血中クリアランスを示した (表 1 0、図 2)。注射から 3 時間後、腎臓の数値は、2 0 0 I A / g % より高く、血液の数値は 0 . 2 1 ~ 0 . 9 2 I A / g % の範囲であった。肝臓を除く、全ての他の臓器及び組織において、数値はその時点で 1 I A / g % より低かった。肝臓では、数値は、^{9 9} m T c - C X 3 C R 1 B I I 1 8 E 0 6 についての 1 . 3 1 I A / g % から ^{9 9} m T c - C X 3 C R 1 B I I 3 1 7 についての 3 . 2 1 I A / g % の範囲であった。h C X 3 C R 1 K I マウスでは、殆ど全ての臓器及び組織において、^{9 9} m T c - V H H ドメイン C X 3 C R 1 B I I 3 1 5 (表 1 0) を除いて (そのより弱い細胞への結合と一致する)、^{9 9} m T c - V H H ドメインのより高度な取り込みが観察された。

【 0 1 3 6 】

有意であるが、これらの差異は、以下の臓器：心臓、肺、肝臓、膵臓、腎臓、脳、大動脈、及び筋肉について小さかった。差異は脾臓、胃、腸、骨、及びリンパ節についてより顕著であったが、おそらく、マクロファージ及び樹状細胞などの、これらの臓器における組織に常在する免疫細胞への結合を反映している。最も高い特異的な標的化が、一価 ^{9 9} m T c - C X 3 C R 1 B I I 6 6 B 0 2 及び二価 ^{9 9} m T c - C X 3 C R 1 B I I 3 1 8 で観察された。

【 0 1 3 7 】

実施例 5：高脂肪食餌を与えられた A p o E^{-/-} マウスの動脈硬化プラークに結合している C X 3 C R 1 V H H ドメインの同定

動脈硬化性疾患を有するマウスにおけるインビボでの競合実験

動脈硬化プラークへの抗 C X 3 C R 1 V H H ドメインの特異的標的化を示すために、h C X 3 C R 1 K I マウスを A p o E^{-/-} マウス (The Jackson Laboratory、バーハーバー、メイン、米国) と交雑させて、h C X 3 C R 1 K I A p o E^{-/-} マウスを作製した。A p o E^{-/-} マウスモデルは、部位特異的なプラーク形成の局在化、組織学的組成、及び公知のリスク因子 (コレステロール、炎症、高血圧など) に関してヒト疾病と著しく類似している、広範囲に及ぶ動脈硬化プラーク形成を誘起する頑強な方法を提供する。

10

【0138】

4 週令の雌 A p o E^{-/-} マウス及び h C X 3 C R 1 K I A p o E^{-/-} マウスに、1.5% コレステロールを含有する高脂肪 / 高コレステロール食餌を 16 週間与えた。各々の^{99m}Tc - V H H ドメインを、6 匹の A p o E^{-/-} マウス及び 6 匹の h C X 3 C R 1 K I A p o E^{-/-} マウスにおいて評価した (一価^{99m}Tc - V H H ドメイン C X 3 C R 1 B I I 3 1 5 を、インビトロでの細胞への結合によって観察された^{99m}Tc - 標識後の機能の低下、及び疾病を有さないマウスにおける体内分布研究に基づいて除外した)。細菌酵素に対して作製された対照^{99m}Tc - V H H ドメイン c A b B C I I 1 0 (Conrath, 2001; Antimicrob. Agents Chemother. 45: 2807) を 6 匹の h C X 3 C R 1 K I A p o E^{-/-} マウスにおいて評価した。^{99m}Tc - V H H ドメイン溶液 (61 ± 1.6 MBq) 100 µl を尾静脈経由で静脈内に注射した。1 群のマウスには、100 倍過剰の等価な標識されていない V H H 分子 (「遮断」とも呼ばれる) も共注射した。注射から 3 時間後、麻酔した動物をうつ伏せにして動物のベッドに 6 匹の⁵⁷Co ランドマークと共に置き、実施例 4 に記載のようにピンホール S P E C T 及びマイクロ C T に順次かけた。イメージング後、動物を過剰な投与量のペントバルビタールナトリウムによって安楽死させ、組織及び臓器をさらなるエクスビボでの分析のために収集した。

20

【0139】

A p o E^{-/-} マウス及び h C X 3 C R 1 K I A p o E^{-/-} マウス (遮断あり及び遮断なし) における^{99m}Tc - C X 3 C R 1 B I I 6 6 B 0 2 及び^{99m}Tc - C X 3 C R 1 B I I 3 1 8 の体内分布の代表的な画像を図 3 に示す。注射から 3 時間後、h C X 3 C R 1 K I A p o E^{-/-} マウスにおける大動脈の底部及び大動脈弓にある大動脈病変において (白い矢印)、抗 h C X 3 C R 1^{99m}Tc - V H H ドメインの高いシグナルが全身 S P E C T / C T 画像において検出された。大動脈病変及び全ての他の臓器への特異的な取り込みが競合によって抑制された。A p o E^{-/-} マウスには特異的な蓄積は全く観察されなかった。同様に、疾病を有さない h C X 3 C R 1 マウスにも蓄積は全く観察されなかった (実施例 4 及び図 2)。

30

【0140】

各 V H H ドメインのエクスビボでの体内分布を、A p o E^{-/-} マウス及び h C X 3 C R 1 K I A p o E^{-/-} マウスにおいてだけでなく、過剰な標識されていない V H H ドメインの存在下の h C X 3 C R 1 K I A p o E^{-/-} マウスにおいても評価した。h C X 3 C R 1 特異的 V H H ドメインの取り込みは、上記に提示した S P E C T / C T 画像に関連し、そして A p o E^{-/-} マウスよりも、h C X 3 C R 1 K I A p o E^{-/-} マウスにおいてより高く、これは C X 3 C R 1 の標的発現に一致した (表 11)。V H H ドメインの取り込みは、標識されていない V H H ドメインとの競合によって遮断された。対照である^{99m}Tc - V H H ドメイン c A b B c I I 1 0 は、哺乳動物細胞におけるどの標的も認識しないので、腎臓を通したクリアランスが全ての V H H ドメインと同じように観察されたが、^{99m}Tc - c A b B C I I 1 0 はどの他の臓器によっても取り込まれなかった。結果は主に、h C X 3 C R 1 K I マウスにおいて得られた体内分布データに対応し、このことは、健康なマウスと動脈硬化性疾患を有するマウスとの間の抗 h C X 3 C R 1 標的化 V H H ドメインの体内分布において大きな差がなかったことを実証する。

40

50

【 0 1 4 1 】

【 表 1 1 】

表11: ApoE^{-/-}マウス、ApoE^{-/-}-hCX3CR1 KIマウス、及び過剰な標識されていないVHHドメインの共注射されたApoE^{-/-}-hCX3CR1 KIマウスにおけるエクスピボでのVHHドメインの体内分布。

	18E06		
	平均値±標準偏差		
	ApoE ^{-/-}	ApoE ^{-/-} hCX3CR1 KI	ApoE ^{-/-} hCX3CR1 KI + 遮断
	n=6	n=6	n=6
心臓	0.19 ± 0.03	0.35 ± 0.09	0.10 ± 0.02
肺	0.43 ± 0.11	0.90 ± 0.50	0.20 ± 0.09
肝臓	1.59 ± 0.22	1.51 ± 0.29	1.07 ± 0.16
脾臓	0.91 ± 0.21	1.92 ± 0.44	0.76 ± 0.23
膵臓	0.15 ± 0.03	0.24 ± 0.10	0.07 ± 0.03
右腎臓	214 ± 13	167 ± 37	98 ± 13
左腎臓	213 ± 19	180 ± 44	102 ± 19
胃	0.20 ± 0.04	0.80 ± 0.29	0.22 ± 0.08
小腸	0.62 ± 0.35	1.79 ± 0.58	0.35 ± 0.06
大腸	0.46 ± 0.31	0.90 ± 0.35	0.26 ± 0.15
筋肉	0.08 ± 0.01	0.07 ± 0.02	0.05 ± 0.02
骨	0.16 ± 0.02	0.31 ± 0.14	0.11 ± 0.02
血液	0.59 ± 0.08	0.42 ± 0.13	0.22 ± 0.03

	66B02		
	平均値±標準偏差		
	ApoE ^{-/-}	ApoE ^{-/-} hCX3CR1 KI	ApoE ^{-/-} hCX3CR1 KI + 遮断
	n=6	n=6	n=6
心臓	0.23 ± 0.06	0.65 ± 0.14	0.12 ± 0.02
肺	0.70 ± 0.30	1.48 ± 0.58	0.27 ± 0.12
肝臓	1.48 ± 0.60	1.63 ± 0.32	0.99 ± 0.28
脾臓	0.74 ± 0.24	2.85 ± 0.71	0.61 ± 0.20
膵臓	0.14 ± 0.04	0.46 ± 0.15	0.08 ± 0.02
右腎臓	2.05 ± 35	177 ± 8	118 ± 19
左腎臓	227 ± 33	181 ± 9	124 ± 16
胃	0.23 ± 0.06	1.14 ± 0.29	0.26 ± 0.13
小腸	1.01 ± 0.97	3.09 ± 0.54	0.51 ± 0.20
大腸	0.29 ± 0.11	1.69 ± 0.42	0.52 ± 0.34
筋肉	0.08 ± 0.02	0.13 ± 0.10	0.04 ± 0.01
骨	0.17 ± 0.05	0.53 ± 0.12	0.12 ± 0.04
血液	0.65 ± 0.34	0.53 ± 0.27	0.20 ± 0.07

10

20

30

40

50

316			
平均值±標準偏差			
ApoE-/-	ApoE-/- hCX3CR1 KI	ApoE-/- hCX3CR1 KI + 遮断	
<i>n</i> =6	<i>n</i> =6	<i>n</i> =6	
心臓	0.26 ± 0.10	0.43 ± 0.11	0.22 ± 0.15
肺	0.92 ± 0.61	1.18 ± 0.41	0.55 ± 0.40
肝臓	7.97 ± 4.69	6.25 ± 3.06	5.48 ± 1.94
脾臓	3.23 ± 2.14	4.01 ± 1.26	2.68 ± 1.36
膵臓	0.18 ± 0.05	0.25 ± 0.05	0.10 ± 0.02
右腎臓	202 ± 34	177 ± 21	89 ± 13
左腎臓	210 ± 40	186 ± 27	90 ± 12
胃	0.25 ± 0.05	0.71 ± 0.10	0.18 ± 0.02
小腸	0.54 ± 0.24	1.76 ± 0.22	0.39 ± 0.04
大腸	0.25 ± 0.05	0.87 ± 0.07	0.30 ± 0.11
筋肉	0.08 ± 0.06	0.11 ± 0.03	0.05 ± 0.02
骨	0.29 ± 0.10	0.44 ± 0.13	0.21 ± 0.04
血液	0.79 ± 0.23	0.60 ± 0.08	0.30 ± 0.02

317				30
平均值±標準偏差				
ApoE-/-	ApoE-/- hCX3CR1 KI	ApoE-/- hCX3CR1 KI + 遮断		
<i>n</i> =6	<i>n</i> =6	<i>n</i> =6		
心臓	0.28 ± 0.05	0.32 ± 0.04	0.17 ± 0.04	30
肺	0.81 ± 0.21	0.95 ± 0.38	0.30 ± 0.04	
肝臓	2.34 ± 0.50	2.09 ± 0.34	1.32 ± 0.17	
脾臓	0.49 ± 0.07	1.55 ± 0.22	0.36 ± 0.06	
膵臓	0.17 ± 0.02	0.25 ± 0.03	0.12 ± 0.02	
右腎臓	217 ± 38	183 ± 44	85 ± 19	
左腎臓	231 ± 57	193 ± 48	89 ± 16	
胃	0.26 ± 0.02	0.68 ± 0.12	0.22 ± 0.03	
小腸	0.43 ± 0.05	1.89 ± 0.19	0.29 ± 0.04	
大腸	0.29 ± 0.08	0.86 ± 0.08	0.36 ± 0.09	
筋肉	0.12 ± 0.03	0.11 ± 0.01	0.09 ± 0.01	
骨	0.25 ± 0.02	0.36 ± 0.08	0.18 ± 0.04	
血液	0.46 ± 0.11	0.32 ± 0.04	0.25 ± 0.07	

318

	平均値±標準偏差		
	ApoE-/-	ApoE-/- hCX3CR1 KI	ApoE-/- hCX3CR1 KI + 遮断
	n=6	n=6	n=6
心臓	0.36 ± 0.11	0.81 ± 0.24	0.21 ± 0.03
肺	1.05 ± 0.34	1.05 ± 0.24	0.43 ± 0.14
肝臓	1.80 ± 0.20	1.77 ± 0.08	1.23 ± 0.13
脾臓	0.70 ± 0.15	3.65 ± 0.79	0.50 ± 0.07
膵臓	0.18 ± 0.02	0.67 ± 0.12	0.12 ± 0.02
右腎臓	274 ± 31	207 ± 33	79 ± 4
左腎臓	283 ± 41	207 ± 31	78 ± 14
胃	0.32 ± 0.08	1.43 ± 0.29	0.26 ± 0.07
小腸	0.63 ± 0.18	3.67 ± 0.29	0.40 ± 0.07
大腸	0.32 ± 0.07	1.89 ± 0.60	0.30 ± 0.12
筋肉	0.12 ± 0.02	0.14 ± 0.02	0.10 ± 0.02
骨	0.23 ± 0.06	0.71 ± 0.10	0.18 ± 0.03
血液	0.53 ± 0.11	0.36 ± 0.07	0.28 ± 0.04

10

20

cAbBCII10

	平均値±標準偏差	
	ApoE-/- hCX3CR1 KI	
	n=6	
心臓	0.15 ± 0.03	
肺	0.88 ± 0.25	
肝臓	0.54 ± 0.10	
脾臓	0.30 ± 0.04	
膵臓	0.11 ± 0.02	
右腎臓	190 ± 17	
左腎臓	201 ± 27	
胃	0.29 ± 0.08	
小腸	0.30 ± 0.05	
大腸	0.26 ± 0.19	
筋肉	0.06 ± 0.02	
骨	0.11 ± 0.03	
血液	0.41 ± 0.08	

30

40

【 0 1 4 2 】

S P E C T / C Tを介した生存動物におけるアテローム性動脈硬化症の主要な部位の同定

患部と心臓の比を、心筋に近い冠動脈における動脈硬化病変を定量するための解読値として計算した。アテローム硬化性マウスにおける主要なプラーク形成部位が、大動脈根及び大動脈弓であり、これらの部位は最も高い^{9 9 m T c - C X 3 C R 1 B I I 6 6 B 0 2}の蓄積を伴うことが、解剖分析及びオートラジオグラフィーから明らかである。上記に考

50

察されかつ図3に示されているように、この領域への $^{99m}\text{Tc}-\text{CX3CR1BII66B02}$ の取り込みがSPECT/CT画像において観察される。これらのシグナルはさらに、大動脈根/大動脈弓部位での関心対象の領域(関心領域)を描き、かつ注射された放射能比/ cm^3 ($\text{IA}/\text{cm}^3\%$)としてそれらを表現することによって定量した(表12)。

【0143】

【表12】

表12: 大動脈セグメントへの ^{99m}Tc -VHHドメインの取り込み

	大動脈弓: 血液 (大動脈弓: 心臓の 左心室)	大動脈弓における IA/ $\text{cm}^3\%$
ApoE ^{-/-} -hCX3CR1 KIにおける 66B02	3.07 ± 1.51	0.32 ± 0.03
ApoE ^{-/-} における 66B02	$1.43 \pm 0.36^{**}$	$0.15 \pm 0.02^{***}$
ApoE ^{-/-} -hCX3CR1 KI+過剰な 66B02 における 66B02	$1.81 \pm 0.38^*$	$0.05 \pm 0.01^{***}$
C57BL6 hCX3CR1 KIにおける 66B02	$1.50 \pm 0.25^{**}$	N.A.
WT C57BL6 における 66B02	$1.19 \pm 0.43^{***}$	N.A.
ApoE ^{-/-} -hCX3CR1 KIにおける cAbBcII10	$1.00 \pm 0.21^{***}$	$0.08 \pm 0.01^{***}$

*/**/** hCX3CR1KI ApoE^{-/-}マウスにおける ^{99m}Tc -CX3CR1BII66B02 に対して、 $P < 0.05/0.01/0.001$ 。

【0144】

標的化群(hCX3CR1KI ApoE^{-/-}マウスにおける $^{99m}\text{Tc}-\text{CX3CR1BII66B02}$)と比較して、トレーサー結合が標識されていない66B02の注射によって遮断された場合には、大動脈弓シグナルは6~8倍低く、分子標的の非存在下では2~3倍低かった(ApoE^{-/-}マウス)。hCX3CR1KI ApoE^{-/-}マウスにおける対照VHHドメイン $^{99m}\text{Tc}-\text{cAbBcII10}$ の大動脈弓シグナルは、標的化群より約4倍低かった。CT画像を使用して、関心対象の等サイズの領域(関心領域)を、大動脈弓/根上及び心臓左心室(血液プール活性の尺度としての)上に描いた。これらの関心領域におけるSPECTシグナルを計算し、注射された放射能比/体積($\text{IA}/\text{cm}^3\%$)として表現した。これらの数値を使用して、大動脈弓と血液の比率を計算した。統計分析を、パラメトリック検定(分散分析)を使用して実施した。0.05未満のP値を有意と判断した。

【0145】

大動脈弓と血液の比を、血液プールの測定値としての心臓左心室(LV)における関心領域を描くことによって計算した(表12)。アテローム硬化症マウスにおける大動脈弓と血液の比は、 $^{99m}\text{Tc}-\text{CX3CR1BII66B02}$ の取り込みが、過剰の未標識66B02の注射によって遮断された場合、又はhCX3CR1発現の非存在下において、2~3倍低かった。動脈硬化性疾患を有さないマウスにおいて $^{99m}\text{Tc}-\text{cAbBcII10}$ 又は $^{99m}\text{Tc}-\text{CX3CR1BII66B02}$ について類似した有意差が観察された。アテローム硬化性大動脈弓及び大動脈根への $^{99m}\text{Tc}-\text{CX3CR1BII66B02}$ 及び $^{99m}\text{Tc}-\text{CX3CR1BII318}$ の特異的取り込みがSPECT/CT画像において明瞭に視認でき、生存動物個体における動脈硬化病変の非侵襲的イメージ

ングの放射性トレーサーとしての ^{99m}Tc -VHHドメインの有用性を実証する。

【0146】

大動脈セグメントのエキスビボでの分析

試験における各マウスの大動脈を注意深く切り出し、接着組織から離して洗浄し、10個のセグメントに切断した。目視による検査時に、各セグメントに0～3のスコアを与えた(0:0%、1:1～50%、2:51～75%、3:76～100%の領域が動脈硬化病変で覆われている)。他の臓器及び組織と共に全てのセグメントを収集し、秤量し、その放射能を定量した。計数をバックグラウンド及び崩壊について修正し、組織1gあたりに注射された放射能比($\text{IA/g\%}$)として表現した。統計分析をパラメトリック検定(分散分析)を使用して実施した。0.05未満のP値を有意と判断した。各動物について、専用の蛍光面(Typhoon FLA 7000, GE Healthcare)に全ての大動脈セグメントを一晚曝した後にオートラジオグラフ画像が得られた。画像をImageQuant (GE Healthcare Biosciences、ピッツバーグ、PA)を用いて分析した。

10

【0147】

全大動脈の目視による検査に基づいて、動脈硬化病変は、大動脈根及び大動脈弓において最も多いことが認められた。これらのセグメントは一般的に3又は2の病変スコアを有していた。大動脈の腹部切片では、小さな個々の病変を有するセグメントと、病変を有さないセグメントとが交互に存在した。これらのセグメントはそれぞれ1及び0とスコア付けされた。大動脈セグメントのスコアは、0～2の間で変動した。全てのマウスにおいて及び全ての条件について、セグメントへの ^{99m}Tc -VHHドメインの取り込みは、 $\text{hCX3CR1KI ApoE}^{-/-}$ マウスにおける hCX3CR1 特異的 ^{99m}Tc -VHHドメインについて有意に増加していた(表13)。

20

【0148】

【表 13】

表13: 大動脈セグメントへの^{99m}Tc-VHHドメインの取り込み

18E06						
ApoE-/-			ApoE-/- hCX3CR1 KI		ApoE-/- hCX3CR1 KI + 遮断	
	平均値±標準偏差	n	平均値±標準偏差	n	平均値±標準偏差	n
スコア 0	0.34 ± 0.14	14	0.38 ± 0.15	10	0.27 ± 0.19	10
スコア 1	0.33 ± 0.09	28	0.59 ± 0.29	33	0.22 ± 0.06	24
スコア 2	0.39 ± 0.06	8	0.63 ± 0.32	7	0.25 ± 0.10	9
スコア 3	0.46 ± 0.12	10	1.34 ± 0.70	9	0.30 ± 0.09	9
66B02						
ApoE-/-			ApoE-/- hCX3CR1 KI		ApoE-/- hCX3CR1 KI + 遮断	
	平均値±標準偏差	n	平均値±標準偏差	n	平均値±標準偏差	n
スコア 0	0.44 ± 0.15	13	0.65 ± 0.49	13	0.24 ± 0.11	8
スコア 1	0.44 ± 0.19	25	0.80 ± 0.30	23	0.31 ± 0.14	23
スコア 2	0.64 ± 0.24	10	1.00 ± 0.30	8	0.41 ± 0.11	5
スコア 3	0.72 ± 0.30	6	2.68 ± 1.03	6	0.49 ± 0.12	5
316						
ApoE-/-			ApoE-/- hCX3CR1 KI		ApoE-/- hCX3CR1 KI + 遮断	
	平均値±標準偏差	n	平均値±標準偏差	n	平均値±標準偏差	n
スコア 0	0.24 ± 0.09	20	0.25 ± 0.12	14	0.20 ± 0.17	9
スコア 1	0.24 ± 0.06	27	0.31 ± 0.13	24	0.17 ± 0.09	27
スコア 2	0.31 ± 0.05	9	0.45 ± 0.17	18	0.19 ± 0.07	11
スコア 3	0.34 ± 0.07	8	1.29 ± 0.44	5	0.23 ± 0.00	2
317						
ApoE-/-			ApoE-/- hCX3CR1 KI		ApoE-/- hCX3CR1 KI + 遮断	
	平均値±標準偏差	n	平均値±標準偏差	n	平均値±標準偏差	n
スコア 0	0.43 ± 0.15	15	0.58 ± 0.44	8	0.38 ± 0.19	10
スコア 1	0.71 ± 0.27	24	0.60 ± 0.24	23	0.45 ± 0.22	25
スコア 2	1.06 ± 0.17	7	0.91 ± 0.27	9	0.80 ± 0.13	8
スコア 3	1.05 ± 0.23	7	1.56 ± 0.40	10	0.89 ± 0.22	6
318						
ApoE-/-			ApoE-/- hCX3CR1 KI		ApoE-/- hCX3CR1 KI + 遮断	
	平均値±標準偏差	n	平均値±標準偏差	n	平均値±標準偏差	n
スコア 0	0.52 ± 0.17	18	0.45 ± 0.08	11	0.35 ± 0.14	10
スコア 1	0.54 ± 0.22	24	0.60 ± 0.15	31	0.55 ± 0.48	26
スコア 2	0.91 ± 0.40	15	1.19 ± 0.40	19	0.75 ± 0.33	18
スコア 3	1.14 ± 0.42	10	2.37 ± 0.67	7	0.93 ± 0.08	7

cAbBCII10		
ApoE ^{-/-} hCX3CR1 KI		
	平均値±標準偏差	n
スコア 0	0.26 ± 0.10	14
スコア 1	0.37 ± 0.09	22
スコア 2	0.44 ± 0.11	13
スコア 3	0.52 ± 0.14	10

【 0 1 4 9 】

10

スコア 3 のセグメントにおける最も高い数値が、一価 VHH ドメイン^{99mTc}-CX3CR1BII66B02 及び二価 VHH ドメイン^{99mTc}-CX3CR1BII318 について得られ、それぞれ平均値は 2.68 及び 2.37 IA/g% であった (表 14)。過剰の未標識 VHH ドメインの添加は、抗 hCX3CR1^{99mTc}-VHH ドメインの取り込みを、対照条件 (ApoE^{-/-} マウスにおける抗 hCX3CR1^{99mTc}-VHH ドメイン又は hCX3CR1 KI ApoE^{-/-} マウスにおける^{99mTc}-cAbBCII10、図 4A 及び 4B) の取り込みレベルまで減少させ、これにより結合特異性が確認された。図 4A 及び 4B において、各スコアについて、左、中央及び右の棒グラフは、ApoE^{-/-} マウス、ApoE^{-/-} hCX3CR1 KI マウス、及び遮断されている ApoE^{-/-} hCX3CR1 KI マウスについてそれぞれ見いだされた IA/g% を示す。

20

【 0 1 5 0 】

【 表 1 4 】

表14: 大動脈セグメントへの^{99m}Tc-VHHドメインの取り込み

	病変における IA/g% (スコア 3)	病変:正常な 大動脈 (スコア 3: スコア 0)	病変: 血液 (スコア 3: 血液)	病変: 心臓 (スコア 3: 血液)
ApoE ^{-/-} hCX3CR1 KI における 66B02	2.68±1.03	4.29±2.07	5.63±2.83	4.01±1.04
ApoE ^{-/-} における 66B02	0.72±0.30**	1.90±1.32*	1.23±0.68**	3.03±1.12
ApoE ^{-/-} hCX3CR1 KI +過剰な 66B02 における 66B02	0.49±0.12**	2.14±0.49*	2.45±0.41**	4.11±0.42

30

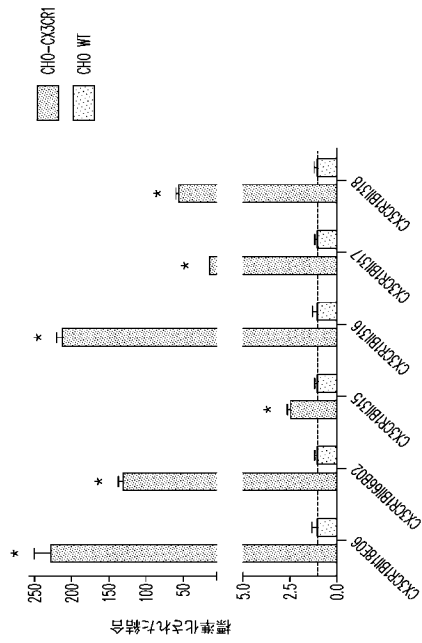
*/**hCX3CR1 KI ApoE^{-/-} マウスにおける^{99m}Tc-CX3CR1BII66B02 に対して P<0.05/0.01

【 0 1 5 1 】

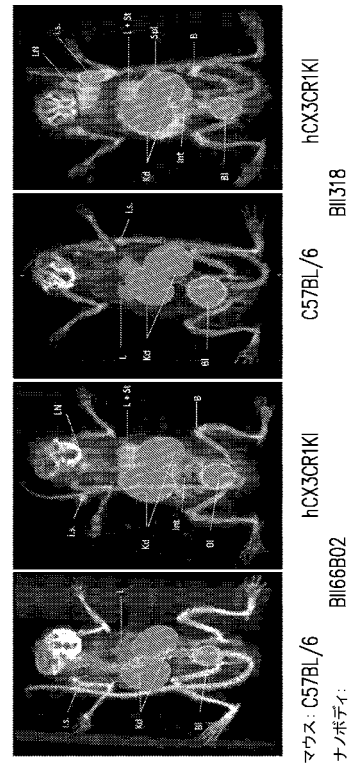
40

病変重量の定量及び放射能の計数によって個々の大動脈セグメントへのトレーサーの取り込みを評価する他に、これらのセグメントをまた放射線感受性蛍光面に曝して、放射性シグナルの空間的分布を可視化した。ApoE^{-/-} マウスのセグメント、又は hCX3CR1 KI ApoE^{-/-} マウスに^{99mTc}-cAbBCII10 を有するセグメントと比較して、hCX3CR1 KI ApoE^{-/-} マウスにおいて増加した病変の負荷を有するセグメントにおいて、^{99mTc}-CX3CR1BII66B02 の増加した取り込みが観察された。^{99mTc}-CX3CR1BII66B02 は、低い病変スコアを有するセグメント中の小さなプラークに限局的に結合することが示された (図 5 の白い矢印)。

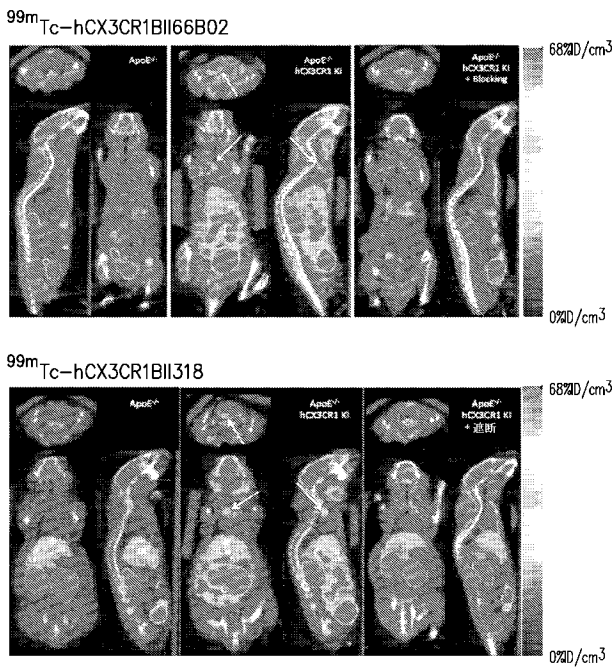
【 図 1 】



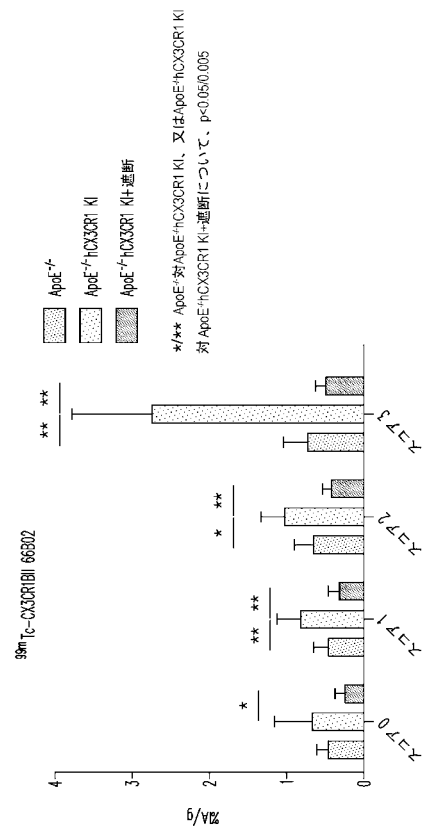
【 図 2 】



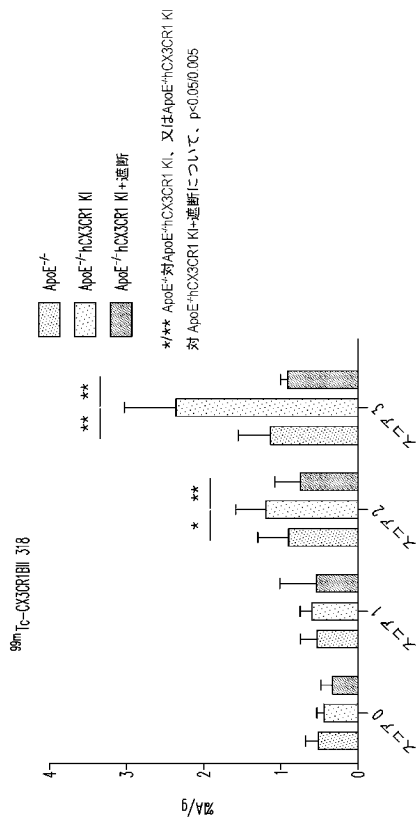
【 図 3 】



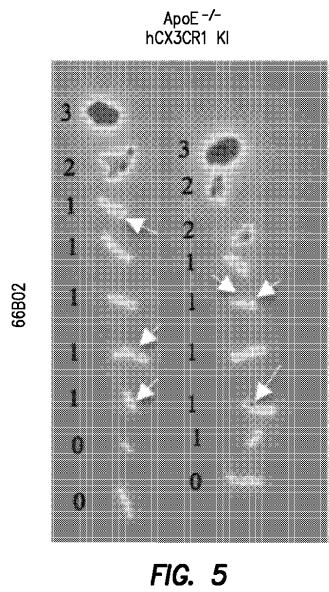
【 図 4 A 】



【 図 4 B 】



【 図 5 】



【 配 列 表 】

2016534114000001.app

【 国際調査報告 】

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No

PCT/US2014/051779

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

INV. A61K51/10 A61P9/10
ADD.

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

A61K

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)

EPO-Internal, BIOSIS, EMBASE, PASCAL, CHEM ABS Data, DISSERTATION ABS, WPI Data

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	Y. LIU ET AL: "PET Imaging of Chemokine Receptors in Vascular Injury-Accelerated Atherosclerosis", THE JOURNAL OF NUCLEAR MEDICINE, vol. 54, no. 7, 8 May 2013 (2013-05-08), pages 1135-1141, XP055153395, ISSN: 0161-5505, DOI: 10.2967/jnumed.112.114777 abstract page 1136 - page 1137, left-hand column page 1137, right-hand column, paragraph Results - page 1139, right-hand column, paragraph 1 page 1140, right-hand column, paragraph Conclusion ----- -/--	1-30

☒ Further documents are listed in the continuation of Box C.☒ See patent family annex.

* Special categories of cited documents :

"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance

"E" earlier application or patent but published on or after the international filing date

"L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)

"O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means

"P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed

"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention

"X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone

"Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art

"&" document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search

21 November 2014

Date of mailing of the international search report

28/11/2014

Name and mailing address of the ISA/

European Patent Office, P.B. 5818 Patentlaan 2
NL - 2280 HV Rijswijk
Tel. (+31-70) 340-2040,
Fax: (+31-70) 340-3016

Authorized officer

Dullaart, Anwyn

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No

PCT/US2014/051779

C(Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	CHEN S ET AL: "In vivo inhibition of CC and CX3C chemokine-induced leukocyte infiltration and attenuation of glomerulonephritis in Wistar-Kyoto (WKY) rats by vMIP-II", THE JOURNAL OF EXPERIMENTAL MEDICINE, vol. 188, no. 1, 6 July 1998 (1998-07-06), pages 193-198, XP002158114, ISSN: 0022-1007, DOI: 10.1084/JEM.188.1.193	21,26-30
Y	abstract page 194, left-hand column, last paragraph - right-hand column, paragraph 2 -----	1-30
X	WO 2010/070394 A1 (UNIV PARIS CURIE [FR]; GOROCHOV GUY [FR]; DORGHAM KARIM [FR]; COMBADIE) 24 June 2010 (2010-06-24)	21,26-30
Y	example 1 claims -----	1-30
X	HIROKAZU SAWAI ET AL: "T cell costimulation by fractalkine-expressing synoviocytes in rheumatoid arthritis", ARTHRITIS & RHEUMATISM, vol. 52, no. 5, 1 May 2005 (2005-05-01), pages 1392-1401, XP055153444, ISSN: 0004-3591, DOI: 10.1002/art.21140	21,26-30
Y	abstract page 1393, right-hand column -----	1-30
X	WO 2005/103684 A2 (BAYER HEALTHCARE AG [DE]; GOLZ STEFAN [DE]; BRUEGGEMEIER ULF [DE]; GEE) 3 November 2005 (2005-11-03)	21-30
Y	examples 7,8,13 -----	1-30
X	C. COMBADIERE ET AL: "Identification of CX 3CR1: A CHEMOTACTIC RECEPTOR FOR THE HUMAN CX 3C CHEMOKINE FRACTALKINE AND A FUSION CORECEPTOR FOR HIV-1", JOURNAL OF BIOLOGICAL CHEMISTRY, vol. 273, no. 37, 11 September 1998 (1998-09-11), pages 23799-23804, XP055153304, ISSN: 0021-9258, DOI: 10.1074/jbc.273.37.23799	21,26-30
	abstract figures page 23800, right-hand column, paragraph 2 -----	
X,P	WO 2013/130381 A1 (BOEHRINGER INGELHEIM INT [DE]; SINGH SANJAYA [US]) 6 September 2013 (2013-09-06) cited in the application	1-30
L	the whole document -----	1-10, 14-30

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

International application No

PCT/US2014/051779

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member(s)	Publication date
WO 2010070394	A1	24-06-2010	CA 2746976 A1 15-07-2010
			EP 2358738 A2 24-08-2011
			JP 2012511921 A 31-05-2012
			US 2012141538 A1 07-06-2012
			WO 2010070394 A1 24-06-2010
			WO 2010079063 A2 15-07-2010

WO 2005103684	A2	03-11-2005	NONE

WO 2013130381	A1	06-09-2013	AR 090158 A1 22-10-2014
			AU 2013226340 A1 31-07-2014
			CA 2862182 A1 06-09-2013
			TW 201348256 A 01-12-2013
			US 2013224224 A1 29-08-2013
			UY 34644 A 02-09-2013
			WO 2013130381 A1 06-09-2013

フロントページの続き

(51) Int. Cl.	F I	テーマコード (参考)
A 6 1 P 9/00 (2006.01)	A 6 1 P 1/18	
A 6 1 P 13/12 (2006.01)	A 6 1 P 9/10	1 0 1
A 6 1 P 19/02 (2006.01)	A 6 1 P 9/00	
A 6 1 P 11/00 (2006.01)	A 6 1 P 13/12	
A 6 1 P 19/00 (2006.01)	A 6 1 P 19/02	
A 6 1 P 25/00 (2006.01)	A 6 1 P 11/00	
A 6 1 P 25/28 (2006.01)	A 6 1 P 19/00	
A 6 1 P 29/00 (2006.01)	A 6 1 P 25/00	
A 6 1 P 25/04 (2006.01)	A 6 1 P 25/28	
A 6 1 P 35/00 (2006.01)	A 6 1 P 29/00	1 0 1
A 6 1 P 37/06 (2006.01)	A 6 1 P 25/04	
A 6 1 P 43/00 (2006.01)	A 6 1 P 35/00	
G 0 1 N 33/53 (2006.01)	A 6 1 P 37/06	
A 6 1 B 5/055 (2006.01)	A 6 1 P 43/00	1 1 1
C 0 7 K 16/28 (2006.01)	G 0 1 N 33/53	Y
	A 6 1 B 5/05	3 8 3
	C 0 7 K 16/28	

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

- (72) 発明者 ウォーターマン, アリサ・ケイ
アメリカ合衆国、コネチカット 0 6 8 7 7 - 0 3 6 8、リッジフィールド、リッジベリー・ロード 9 0 0、ピー・オー・ボックス 3 6 8、シーノール・ベーリンガー・インゲルハイム・ユーエスエイ・コーポレーション、ブイビー・アイビー・リーガル
- (72) 発明者 デフォーフト, ニック・マーク
ベルギー国、ペー - 1 0 5 0 ブリュッセル、プレヌヌラン・2、フリーイエ・ユニヴェルシテイト・ブリュッセル
- (72) 発明者 ラフーテ, トニー
ベルギー国、ペー - 2 8 7 5 ブリュッセル、ジェット・1 0 9 0、ラルピークラン・1 0 1、ユニヴェルシテール・ジークンホイス・ブリュッセル
- (72) 発明者 シュナイダー, マティアス
アメリカ合衆国、コネチカット 0 6 8 7 7 - 0 3 6 8、リッジフィールド、リッジベリー・ロード 9 0 0、ピー・オー・ボックス 3 6 8、シーノール・ベーリンガー・インゲルハイム・ユーエスエイ・コーポレーション、ブイビー・アイビー・リーガル
- (72) 発明者 シン, サンジャヤ
アメリカ合衆国、コネチカット 0 6 8 7 7 - 0 3 6 8、リッジフィールド、リッジベリー・ロード 9 0 0、ピー・オー・ボックス 3 6 8、シーノール・ベーリンガー・インゲルハイム・ユーエスエイ・コーポレーション、ブイビー・アイビー・リーガル
- (72) 発明者 フェルフェルケン, セドリック・ヨーゼフ・ネオテレ
ベルギー国、ペー - 9 0 5 2 ヘントノツヴィナールデ、テヒノロジーパルク・4、アブリンクス・エンヴェー

F ターム(参考) 4C084 AA17 MA17 MA21 MA22 MA23 MA27 MA43 MA66 NA05 NA06
ZA021 ZA022 ZA081 ZA082 ZA161 ZA162 ZA361 ZA362 ZA591 ZA592
ZA811 ZA812 ZA961 ZA962 ZB081 ZB082 ZB151 ZB152 ZB261 ZB262
ZC411 ZC412
4C085 HH03 HH07 HH11 JJ02 JJ03 JJ11 KA03 KB02 KB03 KB07
KB09 KB18 KB20 KB21 LL01 LL05 LL09 LL11 LL13 LL17
LL18
4C096 AA10 AA11 AC03 AC04 AC05 AC08 FC14
4H045 AA11 AA30 BA41 CA40 DA76 EA20 FA74

专利名称(译)	CX3CR1靶向显像剂及其在疾病诊断和治疗中的应用		
公开(公告)号	JP2016534114A	公开(公告)日	2016-11-04
申请号	JP2016536398	申请日	2014-08-20
[标]申请(专利权)人(译)	百灵佳殷格翰国际股份有限公司		
申请(专利权)人(译)	勃林格殷格翰国际法理社会手套Beshurenkuteru有限公司		
[标]发明人	ウォーターマンアリサケイ デフォーフトニックマーク ラフーテトニー シュナイダーマティアス シンサンジャヤ フェルフェルケンセドリックヨーゼフネオテレ		
发明人	ウォーターマン,アリサ・ケイ デフォーフト,ニック・マーク ラフーテ,トニー シュナイダー,マティアス シン,サンジャヤ フェルフェルケン,セドリック・ヨーゼフ・ネオテレ		
IPC分类号	A61K49/00 A61K51/00 A61K45/00 A61P1/18 A61P9/10 A61P9/00 A61P13/12 A61P19/02 A61P11/00 A61P19/00 A61P25/00 A61P25/28 A61P29/00 A61P25/04 A61P35/00 A61P37/06 A61P43/00 G01N33 /53 A61B5/055 C07K16/28		
CPC分类号	C07K16/28 A61K49/0058 A61K49/04 A61K49/221 A61K51/10 A61K51/1021 A61K51/1093 A61K2039 /505 A61P9/10 C07K16/2866 C07K2317/22 C07K2317/569 C07K2317/94 G01N33/56966 G01N33 /6872 G01N2333/7158		
FI分类号	A61K49/00.ZNA.A A61K49/00.C A61K49/02.B A61K49/02.C A61K45/00 A61P1/18 A61P9/10.101 A61P9/00 A61P13/12 A61P19/02 A61P11/00 A61P19/00 A61P25/00 A61P25/28 A61P29/00.101 A61P25/04 A61P35/00 A61P37/06 A61P43/00.111 G01N33/53.Y A61B5/05.383 C07K16/28		
F-TERM分类号	4C084/AA17 4C084/MA17 4C084/MA21 4C084/MA22 4C084/MA23 4C084/MA27 4C084/MA43 4C084 /MA66 4C084/NA05 4C084/NA06 4C084/ZA021 4C084/ZA022 4C084/ZA081 4C084/ZA082 4C084 /ZA161 4C084/ZA162 4C084/ZA361 4C084/ZA362 4C084/ZA591 4C084/ZA592 4C084/ZA811 4C084 /ZA812 4C084/ZA961 4C084/ZA962 4C084/ZB081 4C084/ZB082 4C084/ZB151 4C084/ZB152 4C084 /ZB261 4C084/ZB262 4C084/ZC411 4C084/ZC412 4C085/HH03 4C085/HH07 4C085/HH11 4C085 /JJ02 4C085/JJ03 4C085/JJ11 4C085/KA03 4C085/KB02 4C085/KB03 4C085/KB07 4C085/KB09 4C085/KB18 4C085/KB20 4C085/KB21 4C085/LL01 4C085/LL05 4C085/LL09 4C085/LL11 4C085 /LL13 4C085/LL17 4C085/LL18 4C096/AA10 4C096/AA11 4C096/AC03 4C096/AC04 4C096/AC05 4C096/AC08 4C096/FC14 4H045/AA11 4H045/AA30 4H045/BA41 4H045/CA40 4H045/DA76 4H045 /EA20 4H045/FA74		
优先权	61/868144 2013-08-21 US		
外部链接	Espacenet		

摘要(译)

本发明涉及靶向CX3CR1的显像剂及其在疾病的治疗和诊断中的用途。描述了连接到检测标记的单结构域CX3CR1靶向多肽及其在动脉粥样硬化斑块的体内成像中的用途。靶向CX3CR1的成像剂可用于治疗 and 诊断由CX3CR1介导的疾病，包括动脉粥样硬化。

VHH ドメイン	配列 番号	CDR1*	CDR1 の配列 番号	CDR2*	CDR2 の配列 番号	CDR3*	CDR3 の配列 番号
CX3CR1BI IPMP66B0 2	1	GSIFSSNA MA	141	AINSVGV TK	162	DPRRGW DTRY	186
CX3CR1BI IPMP54A1 2	2	GSIFSSNA MA	141	VINSVGIT K	163	DARRGW DTRY	187
CX3CR1BI IPMP54A3	3	GSIFSSNA MA	141	GINSVGIT K	164	DPRRGW DTRY	186
CX3CR1BI IPMP54A4	4	GSIFSSNA MA	141	GINSVGIT K	164	DPRRGW DTRY	186
CX3CR1BI IPMP54A5	5	GSIFSSNA MA	141	GINSVGIT K	164	DPRRGW DTRY	186
CX3CR1BI IPMP54A7	6	GTIFSSN AMA	142	GINSVDIT K	165	DPRRGW NTRY	188
CX3CR1BI IPMP54B1	7	GSIFSSNA MA	141	GINSVGIT K	164	DPRRGW DTRY	186
CX3CR1BI IPMP54B2	8	GTIFSSN AMA	142	GINSVDIT K	165	DPRRGW NTRY	188
CX3CR1BI IPMP54B3	9	GSIFSSNA MA	141	AINSVGIT K	166	DPRRGW DTRY	186