(19)日本国特許庁(JP)　(12)公開特許公報(A)　(11)特許出願公開番号
特開2019-26625
(P2019-26625A)
(43)公開日　平成31年2月21日(2019.2.21)

(51)Int.Cl.		F I			テーマコード（参考）
C07K 16/28	(2006.01)	C07K	16/28		4C085
A61K 39/395	(2006.01)	A61K	39/395	N	4H045
A61P 43/00	(2006.01)	A61K	39/395	T	
A61P 35/02	(2006.01)	A61P	43/00	111	
A61P 35/00	(2006.01)	A61P	43/00	171	

審査請求 未請求　請求項の数 6　ＯＬ　（全 11 頁）　最終頁に続く

(21)出願番号　特願2017-151009 (P2017-151009)
(22)出願日　平成29年8月3日 (2017.8.3)

(71)出願人　591281220
日本全薬工業株式会社
福島県郡山市安積町笹川字平ノ上１番地の１
(74)代理人　110000774
特許業務法人　もえぎ特許事務所
(72)発明者　水野　拓也
山口県山口市吉田１６７７－１国立大学法人山口大学共同獣医学部内

Ｆターム(参考)　4C085 AA14　CC23　EE01
4H045 AA11　AA30　DA76　EA20　FA74

(54)【発明の名称】抗イヌＣＤ２０モノクローナル抗体

(57)【要約】
【課題】既存のものとは異なる機能を有し、効果が優れたイヌCD20に対するモノクローナル抗体の提供を課題とする。
【解決手段】
配列番号１に記載のアミノ酸配列あるいは配列番号１のアミノ酸配列において１若しくは数個のアミノ酸が欠失、置換若しくは付加されたアミノ酸配列からなる重鎖可変領域、及び、配列番号２に記載のアミノ酸配列あるいは配列番号２のアミノ酸配列において１若しくは数個のアミノ酸が欠失、置換若しくは付加されたアミノ酸配列からなる軽鎖可変領域を有するイヌCD20に対するモノクローナル抗体又は抗体フラグメントをする。
【選択図】なし

【特許請求の範囲】
【請求項１】
配列番号１に記載のアミノ酸配列あるいは配列番号１のアミノ酸配列において１若しくは数個のアミノ酸が欠失、置換若しくは付加されたアミノ酸配列からなる重鎖可変領域、及び、配列番号２に記載のアミノ酸配列あるいは配列番号２のアミノ酸配列において１若しくは数個のアミノ酸が欠失、置換若しくは付加されたアミノ酸配列からなる軽鎖可変領域を有するイヌCD20に対するモノクローナル抗体又は抗体フラグメント。
【請求項２】
請求項１に記載の抗体又は抗体フラグメントを有効成分とする、イヌB細胞の減少用組成物。
【請求項３】
請求項１に記載の抗体又は抗体フラグメントを有効成分とする、イヌB細胞の増加による疾患の治療用組成物。
【請求項４】
疾患が、B細胞性リンパ腫、白血病または自己免疫疾患のいずれかである請求項３に記載の治療用組成物。
【請求項５】
請求項１に記載の抗体又は抗体フラグメントを含む、イヌB細胞検出用キット。
【請求項６】
請求項１に記載の抗体又は抗体フラグメントを含む、イヌB細胞の増加による疾患の診断用キット。

【発明の詳細な説明】
【技術分野】
【０００１】
本発明はイヌCD20に対するモノクローナル抗体又は抗体フラグメントに関する。さらに詳しくは既存のものとは異なる機能を有し、効果が優れたイヌCD20に対するモノクローナル抗体又は抗体フラグメントに関する。
【背景技術】
【０００２】
近年、医療の発達により抗体医薬が確立してきた。特にヒトのB細胞型リンパ腫に対して多剤併用抗がん剤療法であるCHOP療法に加えて、抗CD20抗体による治療が標準療法として用いられている。
イヌ等のペットにおいても寿命が延びてヒトと同様に腫瘍の発生が増加しており、外科手術、放射線療法、及び化学療法の従来から用いられている3大療法に加えて、より有用な新たな治療法の提供が求められている。
【０００３】
イヌのB細胞型リンパ腫においてもCD20の関連が知られており、CD20をターゲットとした抗体医薬が開発されている。例えば、特許文献１、２においては、特定のアミノ酸配列からなる重鎖可変領域、及び特定のアミノ酸配列からなる軽い鎖可変領域を有するイヌCD20の細胞外領域に対するモノクローナル抗体又は抗体フラグメント等が開示されている。また、Blontless，Aratana社が米国において販売している。
【０００４】
特許文献３、４においては、特定のアミノ酸配列で表されるL鎖可変領域とH鎖可変領域を含んでなるCD20と結合するヒト化モノクローナル抗体又はその抗原結合フラグメントや、CDR１、CDR２及びQQCDR３を有するL鎖可変領域とH鎖可変領域を含んでなる、CD20と結合するキメラ又はヒト化モノクローナル抗体又はその抗原結合フラグメントが開示されている。そして、これらの抗体がイヌも対象とし得ること、びまん性大細胞型B細胞リンパ腫と診断されたイヌに1F5キメラモノクローナル抗体による処置を施したことにより、リンパ腫の痕跡がなくなったこと等が開示されている。

【０００５】
さらに、特許文献５、６においては、特定のアミノ酸配列から選択されるCDR領域を含む軽鎖における超可変ドメイン及び重鎖における超加減ドメインを含むイヌ又はネコCD20を認識する抗体又は抗体フラグメントが開示されている。
このように様々なCD20に対する抗体が開発されているものの、抗体によって効果がまちまちであり、優れた効果を有する抗体が得られているとは言えなかった。
そこで、本発明者は本発明において、既存のものとは異なる機能を有し、効果が優れたイヌCD20に対するモノクローナル抗体の作製を試みた。
【先行技術文献】
【特許文献】
【０００６】
【特許文献１】特開2016-13104号公報
【特許文献２】特表2014-532649号公報
【特許文献３】特表2006-500904号公報
【特許文献４】特開2009-291197号公報
【特許文献５】特表2013-520990号公報
【特許文献６】特開2016-1779978号公報
【発明の概要】
【発明が解決しようとする課題】
【０００７】
本発明は、既存のものとは異なる機能を有し、効果が優れたイヌCD20に対するモノクローナル抗体の提供を課題とする。
【課題を解決するための手段】
【０００８】
この課題を解決するために、本発明者は鋭意検討した結果、配列番号１に記載のアミノ酸配列あるいは配列番号１のアミノ酸配列において１若しくは数個のアミノ酸が欠失、置換若しくは付加されたアミノ酸配列からなる重鎖可変領域、及び、配列番号２に記載のアミノ酸配列あるいは配列番号２のアミノ酸配列において１若しくは数個のアミノ酸が欠失、置換若しくは付加されたアミノ酸配列からなる軽鎖可変領域を有するイヌCD20に対するモノクローナル抗体又は抗体フラグメントが、既存のものとは異なる機能を有し、効果が優れたイヌCD20に対するモノクローナル抗体又は抗体フラグメントであることを見出し、本発明を完成するに至った。
【０００９】
即ち、上記の課題を解決するための本発明は、次の（１）～（６）に示されるイヌCD20に対するモノクローナル抗体、抗体フラグメント等に関する。
（１）配列番号１に記載のアミノ酸配列あるいは配列番号１のアミノ酸配列において１若しくは数個のアミノ酸が欠失、置換若しくは付加されたアミノ酸配列からなる重鎖可変領域、及び、配列番号２に記載のアミノ酸配列あるいは配列番号２のアミノ酸配列において１若しくは数個のアミノ酸が欠失、置換若しくは付加されたアミノ酸配列からなる軽鎖可変領域を有するイヌCD20に対するモノクローナル抗体又は抗体フラグメント。
（２）上記（１）に記載の抗体又は抗体フラグメントを有効成分とする、イヌB細胞の減少用組成物。
（３）上記（１）に記載の抗体又は抗体フラグメントを有効成分とする、イヌB細胞の増加による疾患の治療用組成物。
（４）疾患が、B細胞性リンパ腫、白血病または自己免疫疾患のいずれかである上記（３）に記載の治療用組成物。
（５）上記（１）に記載の抗体又は抗体フラグメントを含む、イヌB細胞検出用キット。
（６）上記（１）に記載の抗体又は抗体フラグメントを含む、イヌB細胞の増加による疾患の診断用キット。
【発明の効果】

【００１０】
本発明により、既存のものとは異なる機能を有し、効果が優れたイヌCD20に対するモノクローナル抗体又は抗体フラグメントの提供が可能となる。そして、このモノクローナル抗体又は抗体フラグメントを有効成分とする、イヌB細胞の減少用組成物や、B細胞性リンパ腫、白血病または自己免疫疾患等のイヌB細胞の増加による疾患の治療用組成物等の提供も可能となる。
【図面の簡単な説明】
【００１１】
【図１】4E1-7抗体が濃度依存的にJurkat/cCD20に結合することを示した図である（実施例）。
【図２】4E1-7抗体がイヌCD20分子を特異的に認識することを示した図である（実施例）。
【図３】4E1-7抗体のCLBL-1への反応性を示した図である（実施例）。
【図４】4E1-7抗体のイヌの末梢血リンパ球に対する反応性を示した図である（実施例）。
【図５】4E1-7抗体のイヌのリンパ腫症例より採取したリンパ腫細胞に対する反応性を示した図である（実施例）。
【図６】4E1-7抗体の補体依存性細胞傷害活性を調べた結果の図である（実施例）。
【図７】4E1-7抗体の直接の細胞傷害活性を調べた結果の図である（実施例）。
【発明を実施するための形態】
【００１２】
本発明の「抗イヌCD20モノクローナル抗体又は抗体ラグメント」とは、イヌのCD20分子を認識する抗体又は抗体フラグメントであって、配列番号１に記載のアミノ酸配列あるいは配列番号１のアミノ酸配列において１若しくは数個のアミノ酸が欠失、置換若しくは付加されたアミノ酸配列からなる重鎖可変領域、及び、配列番号２に記載のアミノ酸配列あるいは配列番号２のアミノ酸配列において１若しくは数個のアミノ酸が欠失、置換若しくは付加されたアミノ酸配列からなる軽鎖可変領域を有する抗体又は抗体フラグメントのことをいう。ここで、重鎖可変領域又は軽可変領域における数個とは、15個、14個、13個、12個、11個、10個、9個、8個、7個、6個、5個、4個、3個又は2個を意味する。数個とは、5個、4個、3個又は2個等を意味する。
【００１３】
本発明の「抗イヌCD20モノクローナル抗体又は抗体ラグメント」は、イヌCD20の細胞外領域に良好に結合することができ、イヌの生きた細胞や組織を用いたFACS解析、蛍光顕微鏡観察等によるCD20陽性細胞の動態等の解析に用いることができる。
い。
【００１４】
本発明の「抗イヌCD20モノクローナル抗体又は抗体ラグメント」は、抗体の定常領域部分が、他の動物由来の抗体の定常領域部分に置き換えられたキメラ抗体であってもよい。また、可変領域中の相補性決定領域（CDR）のみがラット等の非イヌ動物抗体由来であり、CDR以外の可変領域中のフレームワーク領域（FR）及び定常領域がイヌ抗体由来であるイヌ化抗体であってもよい。抗体の定常領域部分がイヌ抗体に置き換えられたキメラ抗体又はイヌ化抗体であれば、異種抗原に対する免疫応答が惹起され、アナフィラキシーショック等の重篤な副作用が生じることがないため好ましい。
このキメラ抗体又はイヌ化抗体は、IgG、IgM、IgA、IgD、IgEのいずれであってもよいが、特にIgGであることが好ましい。
【００１５】
本発明の「イヌB細胞の減少用組成物」とは、本発明の「抗イヌCD20モノクローナル抗体又は抗体ラグメント」を有効成分とする、イヌB細胞を減らすための組成物のことをいう。イヌB細胞の減少に有用であれば、これらの有効成分に加えて、その他の成分を含むものであってもよく、抗癌剤、放射性核種等の薬剤をさらに含むものであってもよい。ま

た、薬学的に許容可能な添加物を含んでいてもよく、このような添加物として、水等の溶媒、界面活性剤、塩化ナトリウム、クエン酸ナトリウム、無水クエン酸、ｐＨ調整剤等が挙げられる。

【００１６】

本発明の「イヌB細胞の増加による疾患の治療用組成物」は、本発明の「抗イヌCD20モノクローナル抗体又は抗体ラグメント」を有効成分とする、イヌB細胞の増加による疾患の治療するための組成物のことをいう。

このような疾患として、たとえば、イヌB細胞の増加により生じるイヌB細胞リンパ腫、増加したB細胞が腫瘍化した白血病や、正常なB細胞が増えすぎて起こる自己免疫疾患等が挙げられる。

例えば、治療の対象となる疾患がB細胞性リンパ腫である場合、本発明の「イヌB細胞の増加による疾患の治療用組成物」を罹患したイヌに投与することにより、有効成分である「抗イヌCD20モノクローナル抗体又は抗体ラグメント」がB細胞性リンパ腫細胞の表面に過剰発現しているCD20に結合することで、抗体依存性細胞傷害（Antibody-Dependent-Cellular-Cytotoxicity、ADCC）活性、補体依存性細胞障害（Complement-Dependent Cytotoxicity、CDC）活性、アポトーシス誘導等の機構により、イヌB細胞性リンパ腫細胞の殺傷等が可能となる。

【００１７】

本発明の「イヌB細胞の増加による疾患の治療用組成物」は、有効成分である「抗イヌCD20モノクローナル抗体又は抗体ラグメント」からなる組成物であってもよく、これらの有効成分に加えて、抗癌剤、放射性核種等のその他の成分や薬剤をさらに含むものであってもよい。

また、イヌB細胞の増加による疾患の治療に有効な形態であればどのような形態の剤としてもよく、静脈注射や点滴用の液体や粉末、錠剤、カプセル剤等として提供されてもよい。

本発明の治療用組成物を用いた治療方法としては、例えば、静脈注射、点滴等により、本発明の「抗イヌCD20モノクローナル抗体又は抗体ラグメント」が1～10mg/kgとなるように１週間に１回程度の間隔で投与する等が挙げられる。

【００１８】

本発明の「イヌB細胞検出用キット」とは、本発明の「抗イヌCD20モノクローナル抗体又は抗体ラグメント」を用いて、試料にイヌB細胞が含まれているか否かを検出するためのキットのことをいう。また、本発明の「イヌB細胞の増加による疾患の診断用キット」とは、イヌB細胞リンパ腫、白血病や自己免疫疾患等のイヌB細胞の増加による疾患に対象となるイヌが罹患しているか否か等を診断するためのキットのことをいう。

これらのキットは少なくとも本発明の「抗イヌCD20モノクローナル抗体又は抗体ラグメント」を構成物のひとつとして含む。

本発明のキットに含まれる「抗イヌCD20モノクローナル抗体又は抗体ラグメント」は非標識であってもよく、酵素、蛍光物質又は放射性物質等の従来知られている標識物質で標識されていてもよい。

【００１９】

このような標識物質としては、酵素ではペルオキシダーゼ、β－ガラクトシダーゼ、アルカリフォスファターゼ、グルコースオキシダーゼ、アセチルコリンエステラーゼ、乳酸デヒドロゲナーゼ又はアミラーゼ等が挙げられる。蛍光物質としては、フルオレセインイソチオシアネート（FITC)、テトラメチルローダミンイソチオシアネート（TRITC）、Cy3、Cy5、R-フィコエリトリン、B-フィコエリトリン、アレクサフルオロ488又はアレクサフルオロ647等が挙げられ、放射性物質としてはトリチウム、ヨウ素125、ヨウ素131等が挙げられる。また、ビオチン、ストレプトアビジン等を用いても良い。

【００２０】

本発明の「イヌB細胞検出用キット」や「イヌB細胞の増加による疾患の診断用キット」の使用にあたり、イヌB細胞の検出やイヌB細胞の増加による疾患の診断に有用な従来知ら

れているいずれの試薬、機器等を用いても良い。
診断の対象となるイヌから血液等の生体組織からリンパ球を分離し、これらのキットに含まれる「抗イヌCD20モノクローナル抗体又は抗体ラグメント」を作用させる。FACS解析や蛍光顕微鏡観察等により、CD20陽性細胞の動態や形態を観察することにより、イヌB細胞の検出やイヌB細胞の増加による疾患の診断が可能となる。
これらのキットを用いることにより、生きた細胞を検出または診断の対象とでき、細胞の固定操作等も不要であるため、正確かつ簡便に検出または診断を行うことが可能となる。

【００２１】
以下に本発明の実施例等を示すが、本発明はこれらのみに限定されるものではない。

【実施例】
【００２２】
１．抗イヌCD20モノクローナル抗体の作製
１）イヌCD20過剰発現細胞(NRK/cCD20)の樹立
すでに報告されているイヌCD20分子のcDNAをクローニングした後、このC末端にFLAGタグを付加し、pMx-IPベクター（東京大学医科学研究所北村俊雄博士より分与）に組み込んだ。これをPLAT-gp細胞（東京大学医科学研究所北村俊雄博士より分与）にpCVSVGとともに遺伝子導入した後、産生されたレトロウイルスを用いて、ラット腎臓細胞株NRKに感染させた。これによってイヌCD20過剰発現細胞(NRK/cCD20)を得た。

【００２３】
２）ラットの免疫及びハイブリドーマの作製
上記１）にて樹立したNRK/cCD20をSDラットに免疫した。即ち、NRK/cCD20をアジュバントであるTiter Max（登録商標） Gold（CytRx社）と混合し、Wistarラット（日本エスエルシー株式会社）のフットパッドに投与し、初回免疫７日後及び１４日後にブーストを行った。最終免疫から３日後に、膝下リンパ節及び鼠径リンパ節を採取し、リンパ球を回収した。続いて、回収したリンパ球及びマウスミエローマ細胞株であるP3X63-Ag8.653細胞を細胞融合した。得られた細胞を、HAT培養液で培養して、リンパ球とマウスミエローマ細胞とが融合したハイブリドーマを選択した。

【００２４】
得られたハイブリドーマの培養上清中の抗体を、NRK/cCD20と反応させ、フローサイトメトリー（FACS）により、反応性を有するモノクローナル抗体を産生するハイブリドーマをスクリーニングした。２次抗体としては、蛍光標識された抗ラットIgG抗体を使用した。
更に、候補のハイブリドーマの培養上清中の抗体を、イヌ末梢リンパ球と反応させ、FACSにより、反応性を有するモノクローナル抗体を産生するハイブリドーマをスクリーニングした。有望なハイブリドーマについて、限界希釈法によりクローニングを行い、イヌCD20に対するラットモノクローナル抗体(4E1-7)を産生するハイブリドーマ細胞株を得た。

【００２５】
３）4E1-7抗体の反応性の確認
各種濃度に希釈した4E1-7抗体を、上記１）と同様の方法で作製したFLAGタグとイヌCD20の融合タンパクを過剰発現したJurkat細胞（Jurkat/cCD20）とインキュベートした。これに二次抗体を反応させ、その後フローサイトメトリー（Becton Dickinson社、BD Accuri）により蛍光強度を測定することにより、4E1-7抗体が濃度依存的にJurkat/cCD20に結合することを確認した（図1）。そして、この抗体をprotein Aカラムで精製した後、この4E1-7抗体がラットIgG2a, kappa鎖を有することを確認した。

【００２６】
２．4E1-7抗体の解析
１）Jurkat/cCD20を用いた免疫沈降反応及びウェスタンブロッティング
4E1-7抗体が、イヌCD20分子を特異的に認識すること確認するために、Jurkat/cCD20を使用した免疫沈降反応及びウェスタンブロッティングを行った。Jurkat/cCD20を1%NP40 1

ysis bufferで溶解させて得られた細胞溶解物と1μgの4E1-7抗体を反応させ、さらにproteinGセファロースビーズ (GE healthscience)を加えて免疫沈降させた後、遠心操作により4E1-7抗体と標的抗原の複合体を沈降物として得た。免疫沈降物をSDS-PAGE用サンプルとして泳動した後、抗FLAGタグ抗体 (Clone M2, SIGMA)を用いたウェスタンブロッティングにより検出した。その結果、図2に示すように、イヌCD20分子に相当する分子量付近に陽性バンドが認められた(lane4)。

一方、Jurkat/cCD20の陰性対照としてイヌCD20分子を発現させていないJurkat細胞、あるいは4E1-7抗体の陰性対照としてアイソタイプコントロール抗体(rat IgG2a, ebioscience)を使用して同様の試験を実施した場合、イヌCD20に相当するバンドは検出されなかった(lane1-3)。これらの結果より、4E1-7がイヌCD20分子を特異的に認識していることが確認された。

【００２７】

２）イヌリンパ腫細胞株に対する反応性

イヌリンパ腫細胞株9種 (T細胞型：CLC, CLK, Ema, Nody-1, EO-1, GL-1, UL-1, 17-71, CLGL-90及びB細胞型：CLBL-1)を用いて、フローサイトメトリーにより4E1-7抗体の反応性を解析した。その結果、4E1-7抗体はB細胞型リンパ腫細胞株であるCLBL-1にのみ反応性を示した。図3に4E1-7抗体のCLBL-1への反応性の結果を示した。

【００２８】

３）イヌの末梢血リンパ球に対する反応性

健常ビーグルイヌ4頭の末梢血よりリンパ球を分離し、フローサイトメトリーにより4E1-7抗体の反応性を解析した。その結果、図4に示すように4E1-7抗体はCD21陽性B細胞にのみ反応性を示した。なお、図4には4頭中1頭の結果を示した。

【００２９】

４）イヌのリンパ腫症例より採取したリンパ腫細胞に対する反応性

イヌリンパ腫症例から採取したリンパ腫細胞(B細胞型4例及びT細胞型1例)に対する4E1-7抗体の反応性をフローサイトメトリーにより解析した。その結果、図5に示すように、4E1-7抗体はB細胞型リンパ腫細胞に対しては4例中4例に反応し、T細胞型リンパ腫1例には反応性を示さなかった。なお、図5には、B細胞型及びT細胞型それぞれ1頭の結果を示した。

【００３０】

３．補体依存性細胞傷害活性の評価

4E1-7抗体が補体依存性細胞傷害活性を発揮する能力について、イヌB細胞型リンパ腫細胞株CLBL-1を標的細胞株として試験した。0～10μg/mLの各種濃度に希釈した4E1-7抗体（図６：●）又はアイソタイプコントロール(rat IgG2a, ebioscience（図７：○）)を96穴プレートに播種された標的細胞に加えた。そこへウサギ補体 (Low-Tox-M, CEDARLANE)を最終濃度 (1:40)で各ウェルに加え、37℃で90分間インキュベートした。その後、トリパンブルー法によって細胞の生存率を測定した。その結果、図６に示すように4E1-7抗体の濃度に関らず生存率の減少は認められず補体依存性細胞傷害活性の誘導は認められなかった。

【００３１】

４．直接的な細胞傷害活性の評価

4E1-7抗体が、補体や細胞傷害性細胞に依存することなく直接的に細胞死を誘導する能力について、CLBL-1を標的細胞株として試験した。0～10μg/mLの各種濃度に希釈した4E1-7(図７：●)あるいはアイソタイプコントロール(rat IgG2a, ebioscience（図７：○）)を96穴プレートに播種された標的細胞に加え、37℃で72時間インキュベートした。その後、cell counting kit-8 (DOJINDO) を用いて細胞の増殖率を測定した。その結果、図7に示すように4E1-7抗体を加えた場合に濃度依存的な細胞増殖率の低下が認められ、直接的な細胞傷害活性を発揮することが確認された。

【００３２】

５．重鎖及び軽鎖の可変領域のアミノ酸配列の特定

4E1-7抗体を産生するハイブリドーマからtotal RNAを抽出し、これを鋳型としてSupers

cript（登録商標）III（Invitrogen）とラット抗体(IgG)の定常領域に特異的なプライマーを用いて逆転写反応を実施した。

プライマーには、軽鎖の増幅にYTM1224（配列番号3）、重鎖の増幅にYTM172（配列番号4）を用いた。得られたcDNAを鋳型として、軽鎖に対してはYTM166（配列番号5）とYTM1224（配列番号3）、重鎖に対してはYTM166（配列番号5）とYTM172（配列番号4）をプライマーとして用いて１次PCRを行った。続いてPCR産物をゲル精製し、軽鎖又は重鎖の全ての可変領域を増幅するために、YTM170（配列番号6）とYTM173（配列番号7）、又はYTM170（配列番号6）とYTM174（配列番号8）を用いてnested PCRを行った。nested PCR産物をpBluescript SK(-)ベクターにクローニングすることにより塩基配列及びその塩基配列がコードするアミノ酸配列を決定した。重鎖可変領域のアミノ酸配列は配列表配列番号1、軽鎖可変領域のアミノ酸配列は配列表配列番号2に示した。

【００３３】

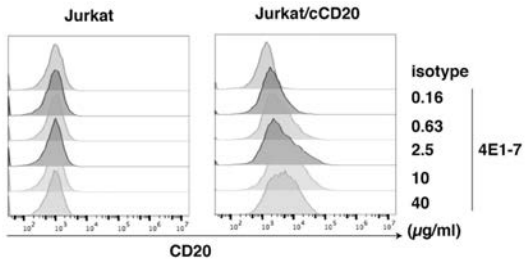
上記１．～５．の工程により、配列番号１に記載のアミノ酸配列からなる重鎖可変領域、及び、配列番号２に記載のアミノ酸配列からなる軽鎖可変領域を有するイヌCD20に対するモノクローナル抗体又は抗体フラグメントを得た。

【産業上の利用可能性】

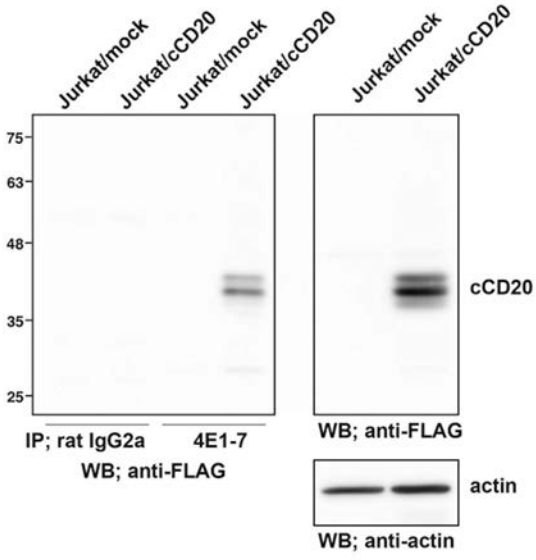
【００３４】

本発明により、既存のものとは異なる機能を有し、効果が優れたイヌCD20に対するモノクローナル抗体又は抗体フラグメントの提供が可能となる。そして、このモノクローナル抗体又は抗体フラグメントを有効成分として、イヌB細胞の減少用組成物や、B細胞性リンパ腫、白血病または自己免疫疾患等のイヌB細胞の増加による疾患の治療用組成物等の提供も可能となる。

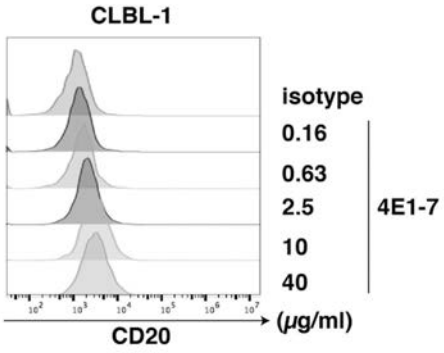
【図１】



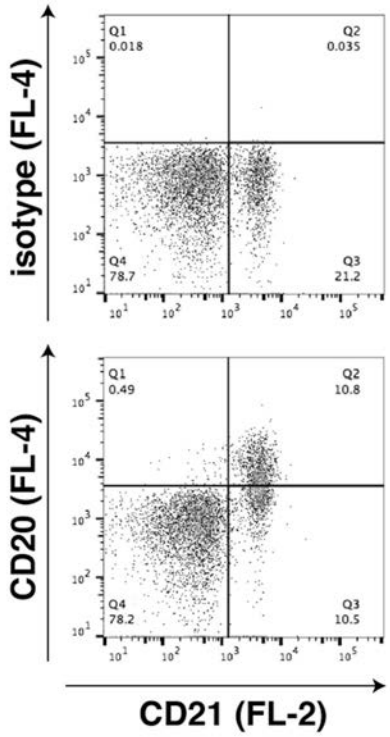
【図２】



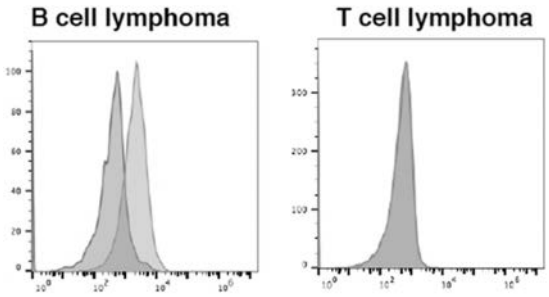
【図３】



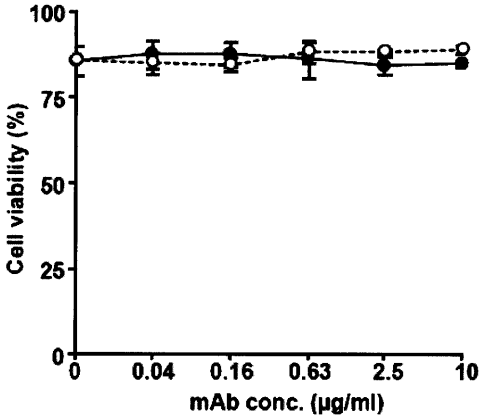
【図４】


isotype (FL-4)
Q1
0.018
Q2
0.035
Q4
78.7
Q3
21.2
CD20 (FL-4)
Q1
0.49
Q2
10.8
Q4
78.2
Q3
10.5
CD21 (FL-2)

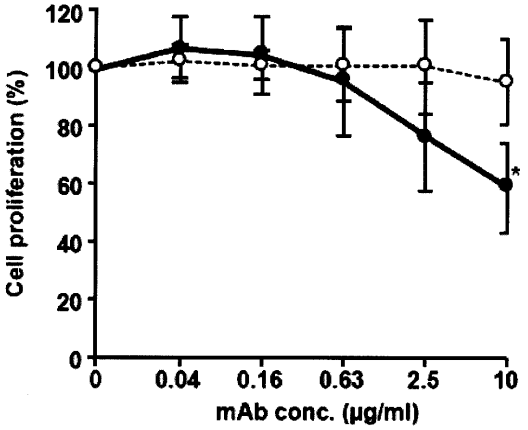
【図５】


B cell lymphoma
T cell lymphoma

【図６】


Cell viability (%)
100
75
50
25
0
0
0.04
0.16
0.63
2.5
10
mAb conc. (μg/ml)

【図７】


Cell proliferation (%)
120
100
80
60
40
20
0
0
0.04
0.16
0.63
2.5
10
mAb conc. (μg/ml)
*

【配列表】
2019026625000001.app

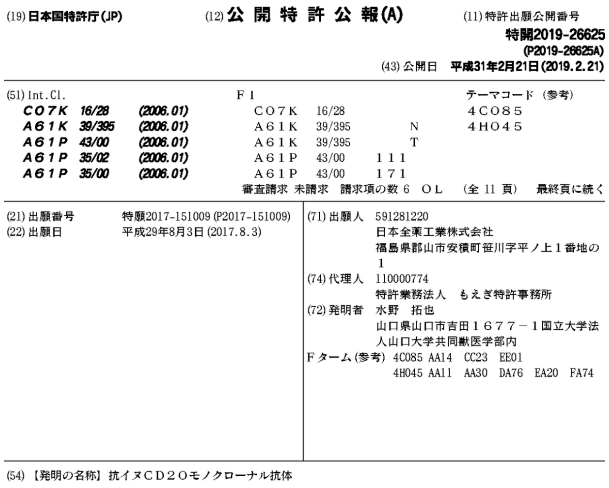
フロントページの続き

(51)Int.Cl.			FI			テーマコード（参考）
A61P 37/06		***(2006.01)***	Ａ６１Ｐ	35/02		
G01N 33/53		***(2006.01)***	Ａ６１Ｐ	35/00		
C12N 15/09		*(2006.01)*	Ａ６１Ｐ	37/06		
C12N 15/00		*(2006.01)*	Ｇ０１Ｎ	33/53	Ｙ	
			Ｃ１２Ｎ	15/00	Ａ	
			Ｃ１２Ｎ	15/00	ＺＮＡ	

专利名称(译)	抗犬cd20单克隆抗体		
公开(公告)号	JP2019026625A	公开(公告)日	2019-02-21
申请号	JP2017151009	申请日	2017-08-03
申请(专利权)人(译)	Nihonzen'yakukogyo有限公司		
[标]发明人	水野拓也		
发明人	水野 拓也		
IPC分类号	C07K16/28 A61K39/395 A61P43/00 A61P35/02 A61P35/00 A61P37/06 G01N33/53 C12N15/09 C12N15/00		
FI分类号	C07K16/28 A61K39/395.N A61K39/395.T A61P43/00.111 A61P43/00.171 A61P35/02 A61P35/00 A61P37/06 G01N33/53.Y C12N15/00.A C12N15/00.ZNA		
F-TERM分类号	4C085/AA14 4C085/CC23 4C085/EE01 4H045/AA11 4H045/AA30 4H045/DA76 4H045/EA20 4H045/FA74		
外部链接	Espacenet		

摘要(译)

要解决的问题：提供一种抗犬CD20的单克隆抗体，该单克隆抗体的功能与现有抗体不同，并且效果极好。 [解决方案] 重链可变区，其由SEQ ID NO：1所示的氨基酸序列或SEQ ID NO：1的氨基酸序列（其中一个或多个氨基酸缺失，取代或添加）和SEQ ID NO：2所示的氨基酸序列组成。 或者，制备针对犬CD20的单克隆抗体或抗体片段，其具有轻链可变区，所述轻链可变区由氨基酸序列组成，其中在SEQ ID NO：2的氨基酸序列中缺失，取代或添加了一个或多个氨基酸。 [选择图]无



(19)日本国特許庁(JP)　(12)公開特許公報(A)　(11)特許出願公開番号 特開2019-26625 (P2019-26625A)

(43)公開日　平成31年2月21日(2019.2.21)

(51)Int.Cl.		FI			テーマコード（参考）
C07K 16/28	(2006.01)	C07K	16/28		4C085
A61K 39/395	(2006.01)	A61K	39/395	N	4H045
A61P 43/00	(2006.01)	A61K	39/395	T	
A61P 35/02	(2006.01)	A61P	43/00	111	
A61P 35/00	(2006.01)	A61P	43/00	171	

審査請求 未請求　請求項の数 6　OL　（全 11 頁）　最終頁に続く

(21)出願番号　特願2017-151009 (P2017-151009)
(22)出願日　平成29年8月3日 (2017.8.3)

(71)出願人　591281220
日本全薬工業株式会社
福島県郡山市安積町荒川字平ノ上１番地の１
(74)代理人　110000774
特許業務法人　もえぎ特許事務所
(72)発明者　水野　拓也
山口県山口市吉田１６７７－１国立大学法人山口大学共同獣医学部内
Fターム(参考)　4C085 AA14 CC23 EE01
4H045 AA11 AA30 DA76 EA20 FA74

(54)【発明の名称】抗イヌＣＤ２０モノクローナル抗体