

(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2009-544761

(P2009-544761A)

(43) 公表日 平成21年12月17日(2009.12.17)

(51) Int.Cl.

A61K 39/395 (2006.01)
A61P 37/00 (2006.01)
A61K 45/00 (2006.01)
A61P 43/00 (2006.01)
A61K 38/28 (2006.01)

F 1

A 61 K 39/395
A 61 P 37/00
A 61 K 39/395
A 61 K 45/00
A 61 P 43/00
A 61 P 43/00

D

N

テーマコード(参考)

4 C 084

4 C 085

4 H 045

審査請求 未請求 予備審査請求 未請求 (全 96 頁) 最終頁に続く

(21) 出願番号

特願2009-530688 (P2009-530688)

(86) (22) 出願日

平成19年6月14日 (2007.6.14)

(85) 翻訳文提出日

平成21年2月4日 (2009.2.4)

(86) 國際出願番号

PCT/US2007/071275

(87) 國際公開番号

W02007/147090

(87) 國際公開日

平成19年12月21日 (2007.12.21)

(31) 優先権主張番号

60/813,903

(32) 優先日

平成18年6月14日 (2006.6.14)

(33) 優先権主張国

米国(US)

(31) 優先権主張番号

60/871,361

(32) 優先日

平成18年12月21日 (2006.12.21)

(33) 優先権主張国

米国(US)

(71) 出願人

504438727

マクロジェニクス、インコーポレーテッド
アメリカ合衆国 20850 メリーランド州、ロックヴィル、イースト グードライブ 1500

(74) 代理人

100091096

弁理士 平木 英輔

(74) 代理人

100096183

弁理士 石井 貞次

(74) 代理人

100118773

弁理士 藤田 節

(74) 代理人

100111741

弁理士 田中 夏夫

最終頁に続く

(54) 【発明の名称】低毒性免疫抑制モノクローナル抗体を用いて自己免疫疾患を治療する方法

(57) 【要約】

本発明は、抗ヒトCD3抗体の使用によって、T細胞介在性免疫疾患、特に自己免疫疾患(例えば、自己免疫性糖尿病(すなわち、1型糖尿病またはインスリン依存性糖尿病(IDDM))および多発性硬化症)を治療し、予防し、その進行を緩慢にし、またはその症候群を改善する方法を提供する。本発明の抗体は低用量投与レジメン、慢性投与レジメンまたはある特定の期間後の再投与に関わるレジメンで用いることが好ましい。本発明の方法は、ヒトCD3複合体内のサブユニットと特異的に結合する抗体の投与を提供する。かかる抗体はT細胞受容体/アロ抗原相互作用をモジュレートし、従って自己免疫障害に関連してT細胞が介在する細胞傷害性を調節する。さらに本発明の方法は、改変されてない抗ヒトCD3抗体と比較して、エフェクター機能およびT細胞活性化が低下または消失した改変された抗ヒトCD3抗体の使用を提供する。

【特許請求の範囲】**【請求項 1】**

自己免疫障害と診断された患者における、前記障害の1以上の症候群を治療し、進行を緩慢にし、または改善する方法であって；野生型Fcドメインを有する抗体と比較して、少なくとも1つのFc Rに対する結合が少なくとも50%低下している抗ヒトCD3抗体の治療上有効な量による治療のコースを前記患者に投与することを含んでなり；前記投与により、マウスOKT3の同等の投与と比較して、サイトカイン放出の症候群が軽減することを特徴とし；前記治療のコースにおいて9000 μg/m²未満、または静脈内に投与するOKT3 1(ala-ala)の9000 μg/m²未満の薬理学当量を投与する前記方法。

【請求項 2】

自己免疫障害の素因を有するが前記障害と診断されてない患者における前記障害の発症を予防するまたは遅延する方法であって；野生型Fcドメインを有する抗体と比較して、少なくとも1つのFc Rに対する結合が少なくとも50%低下している抗ヒトCD3抗体の治療上有効な量を前記患者に投与することを含んでなり；前記投与により、マウスOKT3の同等の投与と比較して、サイトカイン放出の症候群が軽減することを特徴とし；前記治療のコースにおいて9000 μg/m²未満、または静脈内に投与するOKT3 1(ala-ala)の9000 μg/m²未満の薬理学当量を投与する前記方法。

【請求項 3】

前記抗ヒトCD3抗体が野生型Fcドメインをもつ抗体と比較して、それぞれのFc Rに対する結合が少なくとも50%低下している、請求項1または2に記載の方法。

【請求項 4】

前記抗体がいかなるFc Rにも、検出できる程度には結合しない、請求項1または2に記載の方法。

【請求項 5】

前記抗体のC1qに対する結合が少なくとも50%低下している、請求項1または2に記載の方法。

【請求項 6】

前記抗体がC1qに、検出できる程度には結合しない、請求項1または2に記載の方法。

【請求項 7】

前記抗CD3抗体がキメラであるか又はヒト化されている、請求項1または2に記載の方法。

【請求項 8】

前記抗体がOKT3、Leu-4、500A2、CLB-T3/3、M291、YTH12.5またはBMA030のヒト化体またはキメラ体である、請求項1または2に記載の方法。

【請求項 9】

前記抗体がグリコシル化されていない、請求項1または2に記載の方法。

【請求項 10】

前記抗体がアミノ酸改変を有するFcドメインを含み、改変FcドメインはいかなるFc Rにも結合しない、請求項1または2に記載の方法。

【請求項 11】

前記抗体がヒト化OKT3 1 ala-alaである、請求項10に記載の方法。

【請求項 12】

抗体がChAglyCD3またはビジリズマブである、請求項10に記載の方法。

【請求項 13】

前記治療が少なくとも4連続日の前記抗体の用量の投与を含んでなる、請求項1または2に記載の方法。

【請求項 14】

前記治療コースが14連続日を超える前記抗体の用量の投与を含んでなる、請求項1または2に記載の方法。

【請求項 15】

10

20

30

40

50

前記治療コースにおいて、前記抗体を4連続日に投与し、次いで3連続日に抗体を投与せず、次いで4連続日に抗体を投与するというように、用量の合計数を投与するまで続ける、請求項1または2に記載の方法。

【請求項16】

前記治療が、前記治療コースの少なくとも最初の3日間は前記抗体の量が増加する用量である投与レジメンを含んでなる、請求項1または2に記載の方法。

【請求項17】

前記用量が、前記治療コースの少なくとも最初の3日間は毎日2倍増加する、請求項16に記載の方法。

【請求項18】

前記投与レジメンが5日間以下である、請求項16に記載の方法。

【請求項19】

第1日の用量がほぼ $51 \mu\text{g}/\text{m}^2$ であり、第2日の用量がほぼ $103 \mu\text{g}/\text{m}^2$ であり、第3日の用量がほぼ $207 \mu\text{g}/\text{m}^2$ であり、第4日の用量がほぼ $413 \mu\text{g}/\text{m}^2$ であり、そしてその後の日の用量がほぼ $826 \mu\text{g}/\text{m}^2$ であるか、またはこれらの量のOKT3 1 (ala-ala) の静脈内投与の薬理学的当量である、請求項16に記載の方法。

【請求項20】

前記投与レジメンが6日以下である、請求項19に記載の方法。

【請求項21】

第1日の用量がほぼ $17 \mu\text{g}/\text{m}^2$ であり、第2日の用量がほぼ $34.3 \mu\text{g}/\text{m}^2$ であり、第3日の用量がほぼ $69 \mu\text{g}/\text{m}^2$ であり、第4日の用量がほぼ $137 \mu\text{g}/\text{m}^2$ であり、そしてその後の日の用量がほぼ $275 \mu\text{g}/\text{m}^2$ であるか、またはこれらの量のOKT3 1 (ala-ala) の静脈内投与の薬理学的当量である、請求項16に記載の方法。

【請求項22】

前記投与レジメンが6日間以下である、請求項21に記載の方法。

【請求項23】

前記治療コースが少なくとも50%の組合わせたT細胞受容体コーティングとモジュレーションを達成する、請求項1または2に記載の方法。

【請求項24】

前記抗体を静脈内投与する、請求項1または2に記載の方法。

【請求項25】

前記抗体を少なくとも18時間にわたる1回の注入で投与する、請求項1または2に記載の方法。

【請求項26】

前記投与により遊離抗ヒトCD3抗体のレベルが $200\text{ng}/\text{ml}$ を超えないようにする、請求項25に記載の方法。

【請求項27】

前記治療のコースの最初の投与後、少なくとも2年で、前記治療コースの第2ラウンドを、前記患者に再投与することを含んでなる請求項1または2に記載の方法。

【請求項28】

前記治療コースの最初の投与後、少なくとも3年で、前記治療コースの前記第2ラウンドを投与する、請求項27に記載の方法。

【請求項29】

患者に2年毎に再投与する、請求項27に記載の方法。

【請求項30】

前記投与が免疫抑制剤の投与との併用である、請求項1または2に記載の方法。

【請求項31】

前記自己免疫障害が1型 糖尿病である、請求項1または2に記載の方法。

【請求項32】

前記自己免疫障害が多発性硬化症である、請求項1または2に記載の方法。

10

20

30

40

50

【請求項 3 3】

もし前記治療コースの最初の投与後少なくとも2年でインスリンの平均日用量が50%以上増加すれば、前記患者に再投与する、請求項31に記載の方法。

【請求項 3 4】

もし前記治療コースの最初の投与後少なくとも2年で1種以上の膵島細胞抗原が前記患者に検出されれば、前記患者に再投与する、請求項31に記載の方法。

【請求項 3 5】

もし前記治療コースの最初の投与後少なくとも2年で膵島細胞抗原に特異的なT細胞が前記患者に検出されれば、前記患者に再投与する、請求項31に記載の方法。

【請求項 3 6】

もし前記治療コースの最初の投与後少なくとも2年で細胞マスが50%以上減少すれば、前記患者に再投与する、請求項31に記載の方法。

【請求項 3 7】

もし前記治療コースの最初の投与後少なくとも2年で低血糖性またはケトアシドーシス症状発現の出現率が患者に1日当たり1件以上だけ増加すれば、前記患者に再投与する、請求項31に記載の方法。

【請求項 3 8】

前記治療により、前記治療後6ヶ月にインスリンの平均日用量が0.2U/kg/日以下しか増加しない、請求項31に記載の方法。

【請求項 3 9】

前記治療により、前記治療後1年にHbA1cが7.5%未満になる、請求項31に記載の方法。

【請求項 4 0】

前記治療により、前記治療後12ヶ月のMMTTに対するCペプチド反応が前記治療前の前記患者のMMTTに対するCペプチド反応の少なくとも90%である、請求項31に記載の方法。

【請求項 4 1】

前記治療により、治療後12ヶ月にMRIにより測定した損傷の合計数または合計面積が10%以下しか増加しない、請求項32に記載の方法。

【請求項 4 2】

前記治療により、治療後12ヶ月にMRIにより測定した損傷の合計数または合計面積が治療前レベルと比較して増加しない、請求項32に記載の方法。

【請求項 4 3】

前記治療により、EDSSスコアが治療後12ヶ月間増加しない、請求項32に記載の方法。

【請求項 4 4】

前記抗体を筋肉内にまたは皮下に投与する、請求項1または2に記載の方法。

【請求項 4 5】

前記投与をインスリンの投与と併用する、請求項31に記載の方法。

【請求項 4 6】

前記投与により、EBV誘導性リンパ増殖性疾患を引き起こさないか、又は1000リンパ球/ μ l血清未満のリンパ球数を与えない、請求項1または2に記載の方法。

【請求項 4 7】

自己免疫障害と診断された患者における、前記自己免疫障害の1以上の症候群を治療し、進行を緩慢にし、または改善する方法であって；野生型Fcドメインを有する抗体より、少なくとも1つのFc Rに対する結合が少なくとも50%低下している抗ヒトCD3抗体の治療上有効な量を前記患者に慢性的に投与することを含んでなり；前記投与により、マウスOK T3の同等の投与と比較して、サイトカイン放出の症候群が軽減することを特徴とする前記方法。

【請求項 4 8】

自己免疫障害の素因を有するが前記障害と診断されてない患者における前記自己免疫障害の発症を予防するまたは遅延する方法であって；野生型Fcドメインを有する抗体より、少なくとも1つのFc Rに対する結合が少なくとも50%低下している抗ヒトCD3抗体の治療

10

20

30

40

50

上有効な量を前記患者に慢性的に投与することを含んでなり；前記投与により、マウスOKT3の同等の投与と比較して、サイトカイン放出の症候群が軽減することを特徴とする前記方法。

【請求項 4 9】

前記自己免疫障害が1型糖尿病である、請求項47または48に記載の方法。

【請求項 5 0】

前記自己免疫障害が多発性硬化症である、請求項47または48に記載の方法。

【請求項 5 1】

前記患者が前記慢性投与の前に前記抗ヒトCD3抗体による治療の6～20日コースを投与されている、請求項47または48に記載の方法。

10

【請求項 5 2】

前記自己免疫障害が乾癬、慢性関節リウマチ、狼瘡、炎症性腸疾患（IBD）、潰瘍性大腸炎、クローン疾患、多発性硬化症、臓器移植の副作用、または移植片対宿主疾患（GVHD）である、請求項1、2、47または48に記載の方法。

【請求項 5 3】

多発性硬化症と診断された患者における、多発性硬化症の1以上の症候群を治療し、進行を緩慢にし、または改善する方法であって；野生型Fcドメインを有する抗体と比較して、少なくとも1つのFc Rに対する結合が少なくとも50%低下している抗ヒトCD3抗体の治療上有効な量による治療のコースを前記患者に投与することを含んでなり；前記投与により、マウスOKT3の同等の投与と比較して、サイトカイン放出の症候群が軽減することを特徴とする前記方法。

20

【請求項 5 4】

多発性硬化症の素因を有するが前記障害と診断されてない患者における多発性硬化症の発症を予防するか、または遅延する方法であって；野生型Fcドメインを有する抗体と比較して、少なくとも1つのFc Rに対する結合が少なくとも50%低下している抗ヒトCD3抗体の治療上有効な量を前記患者に投与することを含んでなり；前記投与により、マウスOKT3の同等の投与と比較して、サイトカイン放出の症候群が軽減することを特徴とする前記方法。

30

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0 0 0 1】

関係出願の相互参照

本出願は米国予備特許出願第60/813,903号（2006年6月14日出願）および米国予備特許出願第60/871,361号（2006年12月21日出願）の優先権を主張し、前記特許出願のそれぞれの内容は本明細書に全ての目的に対する参照により組み入れられる。

【0 0 0 2】

1. 緒言

本発明は、T細胞介在性免疫疾患、特に自己免疫疾患（例えば、自己免疫性糖尿病（すなわち、1型糖尿病またはインスリン依存性糖尿病（IDDM））および多発性硬化症）を抗ヒトCD3抗体の使用を通して治療し、予防し、進行を緩慢にし、または症候群を改善する方法を提供する。本発明の抗体は低用量投与レジメン、慢性（長期）投与レジメンまたはある特定の期間後の再投与を伴う投与レジメンで用いることが好ましい。本発明の方法は、ヒトCD3複合体内のサブユニットと特異的に結合する抗体の投与を提供する。かかる抗体はT細胞受容体／アロ抗原相互作用をモジュレートし、従って自己免疫障害に関係するT細胞が介在する細胞傷害性を調節する。さらに本発明の方法は、未改変の抗ヒトCD3抗体と比較して、低いまたは喪失したエフェクター機能およびT細胞活性化を示す改変された抗ヒトCD3抗体の使用を提供する。

40

【背景技術】

【0 0 0 3】

2. 本発明の背景

50

2.1 自己免疫疾患

自己免疫疾患は、正常では細菌、ウイルスおよび他の感染性作用物質に対抗して防御する身体の免疫系が「自己」組織、細胞および臓器を攻撃するときに発症する。かかる自己標的にに対する免疫系の反応を自己免疫と名付ける。ある程度の自己免疫はそれぞれの個体に存在するが、強固な制御系が免疫系の自己認識性細胞を抑制するので自己免疫は通常は無症候である。制御系に何らかの妨害があって自己免疫性細胞が抑制されないとき、または標的組織に何らかの変化があって自己と認識されないときに発症する。これらの変化の原因となる機構はよく理解されてないが、遺伝的に素因を有する個体における異常な免疫刺激の結果であるという理論が立てられている。

【0004】

10

自己免疫疾患は臓器特異的または全身性であり得て、色々な病原機構により発症する。臓器特異的自己免疫は、T細胞コンパートメント内の寛容および抑制、主要組織適合複合体（MHC）抗原の異常発現、抗原模倣およびMHC遺伝子における対立遺伝子変異により特徴付けられる。全身性自己免疫疾患は通常、ポリクローナルB細胞活性化および免疫調節性T細胞、T細胞受容体およびMHC遺伝子の異常に関わる。臓器特異的自己免疫疾患の例は、糖尿病、皮膚乾癬、潰瘍性大腸炎、甲状腺機能亢進症、自己免疫性副腎機能不全、溶血性貧血、多発性硬化症およびリウマチ心炎である。代表的な全身性自己免疫疾患としては、全身性エリテマトーデス、慢性関節リウマチ、乾癬性関節炎、シェーグレン症候多発性筋炎、皮膚筋炎および強皮症が挙げられる。

【0005】

20

また自己免疫障害を有しないものの、臓器移植レシピエントはしばしば自己免疫患者と類似した症候群を経験し、類似した治療を必要とする。移植した臓器に対する免疫系の攻撃は臓器不全またはさらに重症の全身性複合症、例えば、骨髄移植レシピエントにおける移植片対宿主疾患（GVHD）をもたらしうる。

【0006】

自己免疫障害を治療するおよび／または免疫反応をモジュレートする手法の改善は明らかに必要である。現在、免疫系障害はコルチゾン、アスピリン誘導体、ヒドロキシクロロキン、メトトレキセート、アザチオプリン、シクロホスファミドなどの免疫抑制薬および抗TNF抗体などの様々な生物薬、および／またはこれらの併用によって治療されている。これらの治療が成功するかは、個々の患者および障害に応じて様々である。しかし、かかる一般的免疫抑制治療法使用のジレンマは、免疫抑制が大きいほど、従って自己免疫障害の治療を成功させる能力が高いほど、患者は日和見感染を発症するリスクが大きいという点にある。さらに、かかる患者の免疫系は低下するという性質があるので、マイナーな感染ですら急速に重篤な事態になりうる。

30

【0007】

2.1.1. 糖尿病

糖尿病は典型的には2つの型：1型または2型糖尿病の1つとして分類される。2型糖尿病は典型的には成人で診断される非自己免疫疾患である。これは進行性疾患であって、身体が十分なインスリンを産生しないかまたは産生するインスリンを効果的に利用できないときに発症する（インスリン抵抗性として知られる現象）。2型糖尿病と診断される患者は典型的には45才を超える、過体重（25以上のBMI）であり、または肥満（30以上のBMI）であり、身体が不活性であり、高血圧（成人で140/90mmHg以上の血圧）を有し、35mg/dL以下のHDLコレステロールおよび／もしくは250mg/dLのトリグリセリドレベルを有する。

40

【0008】

1型糖尿病は若年性糖尿病またはインスリン依存性糖尿病としても知られ、典型的には小児に診断される自己免疫疾患である（成人発症1型糖尿病は成人にも存在しうるが）。インスリン依存性糖尿病（IDDM）は米国で1500万人の人たちを冒し、さらに現在は無症候でこの病気であることに気付いてない1200万人の人たちがいる。1型糖尿病を発症するリスク因子としては、推定される遺伝因子、小児期ウイルスまたは他の環境因子への曝露、および／または他の自己免疫障害の存在が挙げられる。1型糖尿病に関連する遺伝因子は

50

完全に判っていないが、疾患の発症に対するリスクは家族歴と民族性の両方と結び付けられている。例えば、1型糖尿病の親または兄弟を有する小児は非糖尿病の両親または非糖尿病の兄弟を有する小児より1型糖尿病を発症するリスクが高い。さらに、1型糖尿病を発症するリスクに関連する遺伝因子は特にHLA型と連結しているようであり：HLA-DR3およびDR4は白人において高いリスクと関係があり、HLA-DR7はアフリカ人子孫において高いリスクと関係があり、HLA-DR9は日本人子孫において高いリスクと関係がある。

【0009】

小児期ウイルスまたはいくつかの他の環境因子（例えばある特定の食品または化学品への曝露）への曝露を含む未知の因子もまた、受け継いだ遺伝因子を増強または活性化しあつ1型糖尿病の発症の原因となるという理論も立てられている。1型糖尿病に関するウイルスとしては、コクサッキーBウイルス、腸内ウイルス、アデノウイルス、風疹、サイトメガロウイルス、およびエブスタイン・バーウイルスが挙げられる。最後に、甲状腺疾患およびセリアック病などの他の自己免疫障害の存在が1型糖尿病を発症するリスクとなる。

10

【0010】

1型糖尿病は、膵臓のインスリンを産生する細胞（膵島細胞としても知られる）が徐々に破壊される自己免疫反応が病因である。この疾患の初期段階は膵島炎と呼ばれ、白血球の膵臓中への浸潤により特徴付けられ、膵臓炎症と抗細胞-細胞傷害性抗体の放出の両方に関連する。疾患が進行すると、障害組織はリンパ球を引き付けることもでき、細胞にさらなる障害を与える。また、リンパ球のその後の一般的な活性化（例えば、ウイルス感染、食品アレルギー、化学品、またはストレスに反応して）もさらに膵島細胞の破壊をもたらす。糖尿病の臨床症候群は典型的には細胞の約80%が破壊された後に顕著になるので、疾患の初期段階はしばしば見過ごされるか誤診される。いったん症候群が現れると、1型糖尿病は通常、一生涯インスリン依存性となる。糖尿病に関する血液-血糖レベルの調節不全は失明、腎不全、神経障害をもたらし、脳卒中、冠動脈心疾患およびその他の血管障害の病因の主な寄与因子である。

20

【0011】

2.1.2 多発性硬化症

多発性硬化症（MS）は中枢神経系（CNS）の、慢性でしばしば能力障害を伴う炎症疾患である。MSは病理学的に脳および脊髄内の多発性炎症病巣、脱髓鞘病変、神経膠症、および軸索病理が典型的である。この疾患を誘起する原因となる事象は未知であるが、証拠を集めて得られる結論はこの疾患が免疫機能の搅乱により起こることを示唆する。この搅乱は免疫系細胞がミエリン、CNS（すなわち、脳および脊髄）内に位置する軸索を囲む絶縁シースを攻撃することを許容する。顕微鏡で観察すると、病変は炎症細胞、アストロцитア細胞、浮腫、および破壊されたミエリン断片から構成される。ミエリンが損傷すると、電気インパルスは脳および脊髄内の神経纖維経路に沿って速やかに移動できなくなる。電気伝導性の破損は、疲労と視覚、力、協調、バランス、感覚、ならびに膀胱および腸機能の搅乱をもたらす。従って、典型的な症候群としては、1以上の四肢における1以上の虚脱または麻痺、1以上の四肢における震え、筋肉痙攣、筋肉萎縮、運動の機能障害、知覚麻痺またはいずれかの域における異常感覚、刺痛、顔面疼痛、末端疼痛、片方または両方の眼の視覚喪失、二重視覚、眼の不快感、速やかな眼運動の制御不能、協調低下、バランスの喪失、細かいまたは複雑な運動を制御する能力の低下、歩行または歩調異常、筋痙攣、めまい、眩暈、尿の躊躇、尿の切迫、頻尿、失調、記憶低下、自発性低下、判断低下、抽象的思考能力の喪失、一般化能力の喪失、うつ病、注意範囲の縮小、早口で不明瞭な話し方、会話もしくは会話理解の困難、疲労、便秘、聴力喪失、および／または陽性バビンスキー反射が挙げられる。症候群は周期的に、数日から数ヶ月再発し、次いで軽減または消失する。再発の都度、その症候群は新しい域が冒されるにつれて変化するかまたは完全に異なりうる。

30

【0012】

MSの自然歴の研究は、色々なパターンの疾患活性が存在することを示唆する。いくつか

40

50

の患者はほとんど発作がなく、いくつかの患者はしばしば発作があり、他の患者は発作を経験することなく徐々にであるが着実に悪化する。MSと診断された10年後にほとんど発作がなくかつ機能不全がほとんどない患者は良性MSであると呼ばれる。このグループは全MS患者集団の約10~15%を占めるだけであるが、このコースは現在評価されているよりもっと一般的なものでありうることを示唆するいくつかの証拠が存在する。発作が全面的にまたは部分的に回復しあつ、そうでない状態には、発作の間は安定している患者は再発寛解型MSと定義される。MSの患者のほぼ80~90%は最初に再発寛解型コースを経験する。これらのなかで、ほぼ50%は発症後15年に歩行困難となり、そして80%は最終的に（約25年後に）発作を伴うかまたは発作を伴わない能力障害の緩慢な進行を経験しうる。最初に悪化を経験し、その後、能力障害の緩慢な進行を経験する患者は二次進行性MSである。MS患者のほぼ10~15%は最初の発作を経験しない。最初の症候の出現後、徐々に悪化する患者は一次進行性MSである。一次進行性MSの少数の患者はその後、悪化を経験する。これらの患者は進行性再発性MSである。

10

20

30

40

50

【0013】

MSを治療する方法はまだ存在しない。多数の患者は、とりわけ多種の医薬品が重篤な副作用を有しかついくつかは有意なリスクを伴うので、どの治療法とも巧くやって行けない。しかし、3つの型の インターフェロン；アボネックス (AVONEX(登録商標)) (インターフェロン -1a)、ベタセロン (BETASERON(登録商標)) (インターフェロン -1b)、およびレビフ (REBIF(登録商標)) (インターフェロン -1a) が現在、米国食品医薬品庁 (FDA) により再発性寛解性MSの治療用に認可されている。インターフェロンは多数の悪化を軽減することが示されていて、身体的能力障害の進行を緩慢にすることができます。発作が起こる場合、発作はより短くかつより軽くなる傾向がある。FDAはまた、再発性寛解性MSの治療用にミエリン塩基性タンパク質の合成型であるコポリマーIまたはコパキソン (COPAXONE(登録商標)) (酢酸グラチラマー) も認可している。コポリマーIは少しの副作用しかなく、かつ研究はこの薬剤が再発率をほとんど3分の1に低下しうることを示す。免疫抑制治療薬、ノバトロン (NOVATRONE(登録商標)) (ミトキサントロン) もFDAにより進行性または慢性MSの治療用に認可されている。

【0014】

2.2 糖尿病と他の自己免疫障害におけるT細胞機能

糖尿病における 細胞の破壊、多発性硬化症におけるミエリンの破壊、または他の自己免疫障害の標的細胞の破壊には、標的細胞由来の抗原ペプチドを特異的に認識する細胞傷害性T-リンパ球 (CD8+T細胞としても知られるCTL) が主として介在すると考えられる。CTL、ならびに他の型のT細胞はそのT細胞受容体 (TcR) を介してこれらの抗原ペプチドを認識する。可溶性全非自己タンパク質を抗原として認識する抗体と異なり、TcRは、代わりに、主要組織適合性複合体 (MHC) タンパク質との複合体でのみ提示される小ペプチド抗原と相互作用する。

【0015】

身体のほとんどの細胞は様々なクラスのMHC分子をその表面に発現し、発現されるMHCのクラスに応じて、可溶性抗原、リンパおよび／もしくは循環系内に分散した抗原、またはそれらの細胞質タンパク質の断片を提示しうる。MHC分子（ヒトではヒト白血球抗原またはHLAと呼ばれる）とTcRは極めて多型であり、それぞれのクローニング変異体は単一のペプチド配列または類似したペプチド類似体のセットを認識してそれと結合する。免疫系に特異的な細胞、すなわち、B細胞およびT細胞は別として、身体の細胞はMHC分子の複数種の変異体を発現し、それぞれの変異体は異なるペプチド配列と結合する。対照的に、B細胞およびT細胞は成熟中にそれぞれMHCおよびTcRの複数種の変異体を発現する能力を失う。成熟T細胞はそれ故に、可能なTcRの変異体のうちのただ1種を発現し、従って、単一種のMHC／抗原複合体を認識し／結合しうる。

【0016】

TcRとMHC／抗原複合体との結合は、T細胞内の（活性化と呼ばれる）細胞内シグナルカスケードを誘発し、T細胞のモノクローナル増殖およびクラス特異的T細胞応答をもたらす。

例えば、CTLにおいて活性化に対する応答は標的細胞のアポトーシス／破壊をもたらす細胞傷害性酵素の放出も含む。

【0017】

2.3 T細胞活性化のモノクローナル抗体によるモジュレーション

自己免疫疾患は少なくとも部分的に異常なT細胞作用が原因であるという知見から、問題となるT細胞クローニング（自己抗原に対するTcRを発現するクローニング）を排除するかまたは望ましくないT細胞活性／活性化を選択的に低減する治療法の研究が進められている。しかし、TcR結合に因るT細胞活性化は、応答するT細胞集団上に発現される様々な細胞表面分子の参加に因る予想外に複雑な現象である（Billadeau et al, 2002, J. Clin. Invest. 109:161-168; Weiss, 1990, J. Clin. Invest. 86:1015-1022; Leo et al, 1987, PNAS 84:1374-1378; Weiss et al, 1984, PNAS 81:4169-4173; Hoffman et al, 1985, J. Immunol. 135:5-8）。

【0018】

総てのT細胞活性化を標的とする療法は、TcRがジスルフィド連結ヘテロ二量体から構成され、2つのクローニングに分布した内在性膜糖タンパク質鎖、および、または、およびを含有する点で問題があった。T細胞活性化モジュレーションの研究のほとんどは臓器移植レシピエントにおける免疫抑制の改善との関係で行われた。T細胞活性化を選択的に低減する方法で最初に臨床上成功した方法の1つはモノクローナル抗体の使用であった。米国特許第4,658,019号は、本質的に全ての正常なヒト末梢T細胞に見出される抗原に対するマウスモノクローナル抗体（OKT3と名付けられた）を産生する新規ハイブリドーマ（ATCC受託番号CRL-8001）を記載している。OKT3とT細胞とのin vivo結合は明白な可逆的免疫抑制を生じる。OKT3はヒトCD3複合体内のサブユニット上のエピトープを認識することが見出された（Salmeron et al, 1991, J. Immunol. 147:3047-3052; Transy et al, 1989, Eur. J. Immunol. 19:947-950；米国特許第4,658,019号も参照されたい）。CD3複合体（T3としても知られる）はTcRと非共有結合で結合する低分子量インバリアントタンパク質から構成される（Samelson et al, 1985, Cell 43:223-231）。このCD3構造は、TcRとそのリガンドとの結合で開始される活性化シグナルの伝達エレメントでありうるアクセサリー分子を表すと考えられる。

【0019】

OKT3は強力なT細胞活性化および抑制的特性を有する（Van Sechteren, 1987, J. Immunol. 139:2545-2550; Weiss, 1986, Ann. Rev. Immunol. 4:593-619）。TcRに結合した抗CD3-mAbの、Fc受容体が介在する架橋はT細胞活性化マーカー発現、および増殖をもたらす（Weiss et al, 1986, Ann. Rev. Immunol. 4:593-619）。同様に、OKT3のin vivo投与はT細胞活性化と免疫反応抑制の両方をもたらす（Ellenhorn et al, 1990, Transplantation 50:608-12; Chatenoud, 1990, Transplantation 49:697）。OKT3の毎日投与を繰り返すと著しい免疫抑制が起こって腎移植後の拒絶に有効な治療を提供する（Thistlethwaite, 1984, Transplantation 38:695）。

【0020】

治療用mAbの使用は、例えばOKT3を含めて、穏やかなインフルエンザ様症候群から重症の毒性にわたる「初回投与」副作用の問題があるので制限される。初回投与副作用はT細胞活性化により刺激されたサイトカイン産生が原因であると思われる。抗CD3モノクローナル抗体の活性化特性は、T細胞と（その可変域を介して）およびFc R保持細胞と（そのFcドメインを介して）結合した抗体が介在するTcR架橋からもたらされることが示されている（Palacios et al, 1985, Eur. J. Immunol. 15:645-651; Ceuppens et al, 1985, J. Immunol. 134:1498-1502; Kan et al, 1986, Cell Immunol. 98:181-185）。例えば、OKT3を使用すると、免疫抑制を成し遂げる前に、mAbが結合したT細胞とFc R保持細胞の活性化を誘発してサイトカインの大量全身放出をもたらす（Abramowicz, 1989, Transplantation 47:P606; Chatenoud, 1989, N. Eng. J. Med. 25:1420-1421）。報じられるOKT3療法の副作用としては、mAbの初回および場合によっては第二回注入後に起こるインフルエンザ様症候群、呼吸困難、神経学的症候群、および急性尿細管壞死が挙げられる（Abramo

10

20

30

40

50

wicz, 1989. Transplantation 47:P606 ; Chatenoud, 1989, N. Eng. J. Med. 25:1420-1421 ; Toussaint, 1989. Transplantation 48:524 ; Thistlethwaite, 1988, Am. J. Kid. Dis. 11:112 ; Goldman, 1990. Transplantation 50:148)。

【0021】

チンパンジーおよびマウスの実験モデルを用いて得たデータは、抗CD3-mAbにより誘導される細胞活性化を防止または中和するとこれらの薬剤の毒性が低下することを示唆している(Parleviet, 1990. Transplantation 50:889; Rao, 1991. Transplantation 52:691 ; Alegre, 1990, Eur. J. Immunol. 20:707; Alegre, 1990. Transplantation Proc. 22:1920.; Alegre, 1991, Transplantation. 52:674; Alegre, 1991, J. Immun. 146:1184-1191; Ferran, 1990. Transplantation 50:642)。145-2C11(OKT3と多くの特性を共有するハムスター抗マウスCD3)のF(ab')₂断片を用いたマウスについて報じられた先の結果は、抗CD3-mAbがFc R結合および細胞活性化無しに少なくともいくらかの免疫抑制特性をin vivoで保持することを示唆している(Hirsch, 1991. Transplantation Proc. 23:270; Hirsch, 1991, J. Immunol. 147:2088)。さらに、Fc Rとの結合が低下した抗CD3抗体のヒト患者への投与は、一般的に穏やかな副作用を生じただけで、OKT3投与に関連する厳しい第一クラスの作用を生じなかった(Herold et al, 2005, Diabetes 54:1763)。

10

【0022】

2.4 低下したT細胞活性化を示す免疫抑制モノクローナル抗体

米国特許第6,491,916号、米国特許出願公開第2005/0064514号および米国特許出願公開第2005/0037000号は免疫グロブリンのFc域の改変を記載していて、その変異体分子は、野生型Fcドメインをもつ免疫グロブリンと比較して、様々なFc受容体との結合が増強されるかまたは低減される。特に前記特許／出願は、Fc Rに対する親和性を選択的に増強または低減されるIgG抗体のFc域に対する改変を記載している。活性化または抑制的Fc受容体に対する親和性を調整することにより、治療薬mAbにより誘発される特異的免疫反応をさらに選択的に制御することができる。例えば、ヒト化OKT3 IgG4のCH₂部分における突然変異は同定されていて(P234AおよびL235A)、ヒトおよびマウスFc RIおよびIIに対するmAbの結合が有意に低下するとin vitroで活性化表現型の顕著な低下が生じる(Alegre et al, 1992, 8th International Congress of Immunology 23-28 ; Alegre et al, 1994, Transplantation 57 : 1537-1543 ; Xu et al, 2000, Cell Immunol. 200 : 16-26)。重要なこととして、この変異mAbはTcRモジュレーションおよび免疫抑制を誘導する能力を保持した(Xu et al, 2000, Cell Immunol. 200 : 16-26)。抗CD3抗体のFcドメインに対する他の改変、例えば、抗体を非グルコシル化する突然変異またはFc Rとの結合を低下させるFcドメイン残基の突然変異は毒性を低下する一方、免疫抑制活性を維持することが見出されている(例えば、全て参照により本明細書にその全てが組み入れられる米国特許第6,491,916号；米国特許第5,834,597号；Keymeulen et al, 2005, N. Eng. J. Med. 325 : 2598を参照)。

20

【発明の概要】

【0023】

3. 本発明の概要

本発明は、T細胞介在性免疫疾患、特に自己免疫疾患と診断された被験者(および/またはかかる疾患または障害を発症する素因を有する被験者)におけるかかる疾患を、それを必要とする被験者に治療上または予防上有効な量の抗CD3抗体を投与することにより、治療し、予防し、その進行を緩慢にし、かつその症候群を改善する方法を提供する。特に、本発明の方法は、ヒトCD3複合体内のサブユニットと特異的に結合する抗体の投与を提供する。例えば、かかる抗体は、抗体Leu-4、500A2、CLB-T3/3、M291、YTH12.5もしくはBMA030の1つであるかまたはそれら由来(例えば、それらのヒト化またはキメラバージョン)であってもよく、Leu-4、500A2、CLB-T3/3、M291、YTH12.5もしくはBMA030の1つと結合について競合してもよい(例えば、ELISAまたは免疫沈降アッセイで)。ある好ましい実施形態において、本発明の抗体は、マウスモノクローナル抗体OKT3の結合特異性を有し(例えば、参照により本明細書にその全てが組み入れられる米国特許第4,658,019号

30

40

50

および第6,113,901号を参照）、例えば、OKT3と同じエピトープに結合しある／または抗体OKT3のヒト化バージョン、例えば、OKT3-7（本明細書に参照によりその全てが組み入れられる米国特許第6,491,916号を参照）などのOKT3と結合について競合する（すなわち、ELISAまたは免疫沈降アッセイで）。好ましい実施形態において、本発明の抗CD3抗体は、当技術分野の日常のアッセイにより測定して、（野生型、グリコシル化Fcドメインを有する抗体による結合と比較して、例えば、限定されるものでないが、50%未満、40%未満、30%未満、20%未満、10%未満、5%未満または1%未満）減少した、または、より好ましくは、不検出の結合を、Fcドメインを介する1以上のいずれかのFc_R（例えば、Fc_{RI}、Fc_{RII}またはFc_{RIII}）に対して有する。さらにまたは代わりに、本発明の抗CD3抗体は、日常使用するアッセイで測定して、（野生型、グリコシル化Fcドメインを有する抗体による結合と比較して、例えば、限定されるものでないが、50%未満、40%未満、30%未満、20%未満、10%未満、5%未満または1%未満）減少した、または、より好ましくは、不検出の結合を、C1qなどのいずれかの補体受容体に対して有する。特別な実施形態において、抗体はグリコシル化されてない。他の実施形態においては、抗体はFcドメインを欠く（例えば、Fab断片、F(ab')₂または1本鎖抗体である）。他の実施形態において、抗体は、Fcドメインと1以上のFc_Rとの結合を低減するかまたは消滅させる1以上のアミノ酸改変を有するFcドメインを有する。ある特定の実施形態において、Fcドメインはアミノ酸改変（すなわち、挿入、置換、欠失）を残基234、235、236、または237の1以上において有する。好ましい実施形態において、FcドメインはFc域（CH2）の位置234にアラニンおよび／またはFc域（CH2）の位置235にアラニンを有し、特に、OKT3-1(ala-ala)のように234および235にアラニンを有する。他の実施形態において、Fcドメインは位置235にグルタミン酸を有する。

【0024】

本発明は特に、1型糖尿病、多発性硬化症、乾癬、慢性関節リウマチ、狼瘡（特に、皮膚の）、炎症性腸疾患（IBD）、クローン疾患、潰瘍性大腸炎、臓器移植による影響、移植片対宿主疾患（GVHD）などの自己免疫疾患を治療し、予防し、進行を緩慢にし、および／または症候群を改善する方法を提供する。特に、本発明の方法は、初期段階疾患の被験者において自己免疫からの障害を遅延するかまたは軽減し、および高レベルの機能を維持する、および／または他の療法の必要を低下するために有利であり；例えば、1型糖尿病の治療または予防において本発明の方法は被験者における外因性インスリン投与の必要を減じうる。さらに、本発明の方法は有利なことに、治療抗体の、および、特に、従来、抗CD3抗体の投与に伴ったサイトカイン放出症候の出現を軽減するかまたは出現しないようにする。サイトカイン放出症候は例えば、頭痛、吐き気、嘔吐、熱、筋肉痛、関節痛および振盪により現れ、例えば、IL-2、IL-6、IL-10、TNF、およびIFNの血清レベルの増加が原因となりうる。本発明の方法はまた、他の有害な作用、例えば、限定されるものでないが、EBV活性化、免疫原性（抗イディオタイプ抗体、特にIgE抗イディオタイプ抗体の產生）、リンパ球減少症、血小板減少症または好中球減少症の出現率および重症度も軽減する。

【0025】

好ましい実施形態においては、本発明の抗ヒトCD3抗体を従来の投与レジメンより低い用量でまたは短い期間にわたって投与する。特に、本発明は9,000 μg/m²未満、および好ましくは、8,000 μg/m²未満、7,500 μg/m²未満、7,000 μg/m²未満、または6,000 μg/m²未満の合計抗ヒトCD3抗体、特にOKT3-1(ala-ala)、またはChAgIgCD3（TRX4（登録商標））もしくはHUM291（ビジリズマブ；NUVION（登録商標））などの他の抗ヒトCD3抗体を、投与の期間全体にわたり投与する投与レジメンを意図している。ある特定の実施形態においては、本発明の抗体をそれを必要とする被験者に静脈内投与以外の方式を用いて投与し、前記の静脈内投与するOKT3-1(ala-ala)の量と薬理学的に同等な効果を与える。本発明はさらに、患者に慢性的に低用量の抗ヒトCD3抗体を投与する方法、ならびに、患者に、最初の治療後、任意に臨床パラメーターに応じて、ほぼ6ヶ月、9ヶ月、12ヶ月、18ヶ月、2年、3年または5年の1以上の追加のラウンドの抗ヒトCD3治療レジメンを投与するかまたは

10

20

30

40

50

、任意に臨床パラメーターに応じて、ほぼ6ヶ月、9ヶ月、12ヶ月、18ヶ月、2年、3年または5年毎に別のラウンドの抗ヒトCD3抗体による治療を投与する方法を意図している。

【0026】

本発明は特に自己免疫疾患および障害、例えば、1型糖尿病の症候群を、低下した毒性を有する（例えばFc Rと低下した結合を有する）抗ヒトCD3抗体の投与により治療し、予防し、進行を緩慢にし、または改善する方法を提供する。特に、本発明の方法は、初期段階の疾患の被験者において自己免疫からの障害を緩慢にしまたは軽減して高いレベルの機能を維持するために有利である。ある特定の実施形態において、本発明の方法はまた、自己免疫疾患または障害に対するさらなる療法の必要性を減じることもでき、例えば、1型糖尿病の治療または管理において、本発明の方法は被験者における外因性インスリンの投与の必要性を減じるかまたは排除することができる。さらに、本発明の方法は有利なことに、OKT3などの抗ヒトCD3抗体の投与に従来関連したサイトカイン放出症候の出現率を低下するかまたは出現を無くする。サイトカイン放出症候は例えば、頭痛、吐き気、嘔吐、熱、筋肉痛、関節痛および身震いにより現れ、例えば、IL-2、IL-6、IL-10、TNF 、およびIFN の血清レベルの増加が原因でありうる。本発明の方法はまた、他の有害な作用、例えば、限定されるものでないが、EBV活性化、免疫原性（抗イディオタイプ抗体、特にIgE抗イディオタイプ抗体の產生）、リンパ球減少症、血小板減少症または好中球減少症の出現率および重症度も減じる。10

【0027】

他の実施形態において、本発明は、自己免疫疾患または障害の発生の素因を有するが、まだ前記疾患または障害の症候群を経験していないかまたは当技術分野で容認された判定基準（例えば、1型糖尿病では、American Diabetes Associationが設定した判定基準による診断：例えば、本明細書に参照によりその全てが組み入れられる Mayfield et al. et al. 2006, Am. Fam. Physician 58 : 1355-1362を参照）により前記疾患または障害と診断されてない被験者において、自己免疫疾患または障害の発症を予防または遅延する方法を提供する。他の実施形態において、本発明の抗体の投与は、治療を受けなかった類似の臨床パラメーターを有する被験者と比較して、2ヶ月、4ヶ月、6ヶ月、8ヶ月、10ヶ月、12ヶ月、15ヶ月、18ヶ月、21ヶ月、または24ヶ月だけ、該障害の発症および／または発生を予防し、該障害の症候群の発症を予防し、および／または前記障害の陽性診断を遅延する。20

【0028】

本発明によれば、抗ヒトCD3抗体を投与して、抗体投与に関連するサイトカイン放出、EBV活性化（EBV誘導性リンパ球増殖疾患、例えば、単核球症により立証される）またはリンパ球減少症（<1000リンパ球 / μL血清として定義される）などの有害な作用を軽減し、そして用量数および投与期間も減じる。本明細書で使用する「治療のコース」または「治療のラウンド」はある期間、例えば1～30日について毎日、2日毎または3日毎または4日毎、抗ヒトCD3抗体を投与することを意味する。特別な実施形態において、本発明は2日間、3日間、4日間、5日間、6日間、7日間、8日間、9日間、10日間、11日間、12日間、13日間または14日間、抗ヒトCD3抗体の1用量を投与する治療レジメンを提供する。好ましい実施形態においては、投与を連続日に行うが、隔日に、または抗ヒトCD3抗体を投与する連続日数と抗体を投与しない連続日数を交互に繰り返すスケジュールで行ってもよい。ある特定の実施形態においては、投与する用量はレジメンのそれぞれの日に同じ用量である。しかし、好ましい実施形態においては、投与する用量はレジメンの最初の数日にわたり増量し（例えば、レジメンの最初の4日間にわたり増量し）、サイトカイン放出症候の出現率を低下させるかまたは排除する。30

【0029】

具体的な実施形態において、投与する用量はほぼ5～50 μg/kg/日、好ましくは、20～30 μg/kg/日、より好ましくは、ほぼ22～28 μg/kg/日またはほぼ25～26 μg/kg/日である。他の具体的な実施形態において、レジメンの第1日の用量は1～3 μg/kg/日、好ましくはほぼ1.6 μg/kg/日であり、そして第3、4、5、6または7日にかけてその日用量まで増加する。例えば、第1日に被験者にはほぼ1.6 μg/kg/日の用量を投与し、第2日に3.2 μg/kg/日、第40

3日に6.5 μg/kg/日、第4日に13 μg/kg/日、そしてレジメンの次の日に26 μg/kg/日を投与する。この実施形態による他の例では、第1日に、被験者にはほぼ1.42 μg/kg/日の用量、第2日に5.7 μg/kg/日、第3日にほぼ11 μg/kg/日、第4日にほぼ22.6 μg/kg/日、そしてレジメンの次の日に45.4 μg/kg/日を投与してもよい。

【0030】

具体的な実施形態において、投与する用量は表面積に基づく。例えば、投与する用量は5～1200 μg/m²/日、好ましくは、51～826 μg/m²/日である。ある特定の実施形態においては、レジメンの第1日の用量は5～100 μg/m²/日であり、第1日の用量のほぼ2、4、5、8、10、12、15または20倍の日用量、例えば、直ぐ前に挙げた投与量に、第3日、第4日、第5日、第6日または第7日に増加する。最初の第2日、第3日、第4日または第5日について、用量をそれぞれの次の日に1.5倍、2倍、3倍、または4倍だけ増加してもよい。例えば、被験者に、第1日にほぼ51 μg/m²/日、第2日にほぼ103 μg/m²/日の用量、第3日にほぼ207 μg/m²/日の用量、第4日にほぼ413 μg/m²/日の用量、そしてレジメンのその後の日（例えば第5～14日）に826 μg/m²/日だけ投与する。他の実施形態においては、第1日にほぼ227 μg/m²/日、第2日にほぼ459 μg/m²/日の用量、第3日以後にほぼ919 μg/m²/日だけ投与する。他の実施形態においては、第1日に被験者にほぼ284 μg/m²/日、第2日にはほぼ574 μg/m²/日、第3日以後に、1148 μg/m²/日の用量を投与する。

10

【0031】

具体的な実施形態においては、サイトカイン放出の可能性および他の有害な作用を低下するために、レジメンの最初の1、2、3、または4用量または全ての用量を、静脈内投与により、ボーラス注入と比較して、さらに徐々に投与する。例えば、51 μg/m²/日の用量を約5分間、約15分間、約30分間、約45分間、約1時間、約2時間、約4時間、約6時間、約8時間、約10時間、約12時間、約14時間、約16時間、約18時間、約20時間、および約22時間にわたり投与してもよい。ある特定の実施形態においては、用量を例えば、20～24時間にわたる遅い注入により投与する。具体的な実施形態においては、用量をポンプにより、好ましくは、注入が進むにつれて投与する抗体濃度を増加しながら注入する。

20

【0032】

あるいは、全体の日用量を2以上の等分に分けて、1日にわたり6、8、10または12時間の間隔でボーラス注入として投与してもよい。例えば、13 μg/kg/日の用量を3～4 μg/kgの4用量として6時間間隔に投与し、抗体の投与により引き起こされるサイトカイン放出のレベルを低下してもよい。

30

【0033】

他の実施形態においては、前記51 μg/m²/日～826 μg/m²/日のレジメンに対する用量の一式の分率(fraction)を、用量を増加して投与する。ある特定の実施形態においては、その分率は前記レジメンの日用量の1/10、1/4、1/3、1/2、2/3または3/4である。従って、例えば、分率が1/10である場合、日用量は第1日に5.1 μg/m²、第2日に10.3 μg/m²、第3日に20.7 μg/m²、第4日に41.3 μg/m²および第5～14日に82.6 μg/m²でありうる。分率が1/4であるとき、用量は第1日に12.75 μg/m²、第2日に25.5 μg/m²、第3日に51 μg/m²、第4日に103 μg/m²および第5～14日に207 μg/m²でありうる。分率が1/3であるとき、用量は第1日に17 μg/m²、第2日に34.3 μg/m²、第3日に69 μg/m²、第4日に137.6 μg/m²および第5～14日に275.3 μg/m²でありうる。分率が1/2であるとき、用量は第1日に25.5 μg/m²、第2日に51 μg/m²、第3日に103 μg/m²、第4日に207 μg/m²および第5～14日に413 μg/m²でありうる。分率が2/3であるとき、用量は第1日に34 μg/m²、第2日に69 μg/m²、第3日に137.6 μg/m²、第4日に275.3 μg/m²および第5～14日に550.1 μg/m²でありうる。分率が3/4であるとき、用量は第1日に38.3 μg/m²、第2日に77.3 μg/m²、第3日に155.3 μg/m²、第4日に309.8 μg/m²および第5～14日に620 μg/m²でありうる。他の実施形態において、レジメンは前記の1つと同一であるが、第1～4日、第1～5日、第1～6日にわたるだけである。例えば、ある特別な実施形態において、用量は第1日に17 μg/m²、第2日に34.3 μg/m²、第3日に69 μg/m²、第4日に137.6 μg/m²および第5日および第6日に275.3 μg/m²でありうる。

40

【0034】

50

他の実施形態においては、レジメンの用量がある特定の連続日数に投与し、その後、ある特定の日数はいずれの用量も投与せず、その後再び、用量がある特定の連続日数に投与し、そのようにして、例えば、合計で14（または、例えば、6、7、8、9、10、11、12、13、15、16、17、18、19または20）用量を投与するまで続ける。例えば、前記レジメンの1つの第1日、第2日、第3日および第4日用量を4連続日にわたり投与し、次いで無投与の3日間、次いで第5日、第6日、第7日および第8日用量を投与し、次いで別の無投与の3日間、次いで第9日、第10日、第11日、第12日用量を投与し、次いで無投与の3日間、そして最後に第13日および第14日用量を投与してもよい。

【0035】

ある特定の実施形態において、これらのレジメンに従って投与する抗体はOKT3 1(ala-ala)である。他の実施形態においては、その抗体がOKT3 1(ala-ala)でなく、OKT3 1(ala-ala)の投与、好ましくは、OKT3 1(ala-ala)の静脈内投与により達成される1以上の薬物動態学的なパラメーター（例えば、レジメンの最終日の後、1日、2日、3日、4日、5日、6日、7日、2週、3週または1ヶ月における、投与した抗体の血清力価）を達成するように投与される（すなわち、「薬物学的動態に等価の」用量を達成するように投与される）。

【0036】

ある特定の実施形態においては、当技術分野で周知の方法（例えば、本明細書に参照によりその全てが組み入れられる米国特許出願公開第US 2003/0108548号の実施例11を参照）により測定したT細胞上のT細胞受容体複合体のコーティングとモジュレーションの組合せがある特定のレベルを達成するように、抗ヒトCD3抗体を投与する。具体的な実施形態において、投与レジメンは少なくとも50%、60%、70%、80%、90%、95%または100%の結合したT細胞受容体コーティングとモジュレーションを達成するとともに、具体的な実施形態において、遊離した抗ヒトCD3抗体は僅かしかまたは全く検出されない（例えば、当技術分野で公知の標準法によって患者の血液中に200ng/mL未満の薬物しか検出されない）。

【0037】

具体的な実施形態においては、抗ヒトCD3抗体を日用量により数日にわたり投与するのではなく、むしろ、中断しない方式で4時間、6時間、8時間、10時間、12時間、15時間、18時間、20時間、24時間、30時間または36時間にわたり注入により投与する。注入は一定であってもまたは、例えば、最初の1、2、3、5、6、または8時間の注入は低い用量で出発して、次いでその後は、より高い用量へ増加してもよい。注入のコース全体にわたって、患者は、例えば、5~20日の前記レジメンに投与される量と等しい用量を受給する。例えば、ほぼ150 μg/m²、200 μg/m²、250 μg/m²、500 μg/m²、750 μg/m²、1000 μg/m²、1500 μg/m²、2000 μg/m²、3000 μg/m²、4000 μg/m²、5000 μg/m²、6000 μg/m²、7000 μg/m²、8000 μg/m²、または9000 μg/m²の用量である。特に、注入の速度と期間は、投与後の被験者の遊離抗ヒトCD3抗体のレベルが最小化されるように設計する。ある特定の実施形態において、遊離抗ヒトCD3抗体のレベルは200ng/ml遊離抗体を越えてはならない。さらに、注入は、結合したT細胞受容体コーティングとモジュレーションの少なくとも50%、60%、70%、80%、90%、95%または100%を達成するように設計する。

【0038】

他の実施形態においては、抗ヒトCD3抗体を慢性的に投与して自己免疫疾患または障害を治療し、管理し、維持し、予防し、またはその進行を遅くするかまたはその発症を遅延する。例えば、ある特定の実施形態においては、低用量の抗ヒトCD3抗体を、月1回、月2回、月当たり3回、週1回またはさらにもっと頻繁に、前記6~14日投与レジメンの代わりとしてまたはかかるレジメンの投与後に投与してその治療効果を高めるかまたは維持する。かかる低用量は、1 μg/m²~100 μg/m²のいずれか、好ましくは、ほぼ5 μg/m²、10 μg/m²、15 μg/m²、20 μg/m²、25 μg/m²、30 μg/m²、35 μg/m²、40 μg/m²、45 μg/m²、または50 μg/m²でありうる。ある特定の実施形態においては、抗ヒトCD3抗体を前記1~30日投与レジメンの投与後に慢性的に投与して、例えば、レジメンの治療効果を維持する。

10

20

30

40

50

【0039】

他の実施形態においては、被験者に抗ヒトCD3抗体投与レジメンの投与後のある時点に、好ましくは、1以上の生理学的パラメーターに基づいて、再投与してもよいが、これは当然のことであろう。1つの投与レジメンの投与後6ヶ月、9ヶ月、1年、15ヶ月、18ヶ月、2年、30ヶ月または3年に、かかる再投与を投与してもよいおよび／またはかかる再投との必要性を評価してもよく、かかる再投与には6ヶ月毎、9ヶ月、1年、15ヶ月、18ヶ月、2年、30ヶ月または3年の治療のコースを投与することが含まれる。

【0040】

具体的な実施形態においては、被験者に抗ヒトCD3抗体治療のその後のラウンドを、CD4 / CD8細胞比、CD8細胞数、CD4 / CD3反転（インバージョン）、CD4 / CD25細胞比、CD4 / FoxP3細胞比、CD4 / CD40細胞比、CD4 / IL-10細胞比、および／またはCD4/TGF- β 細胞比の1以上の組合せに基づいて投与する。その後の治療ラウンドを投与するかどうかを決定する他のパラメーターとしては、本明細書に記載のおよび／または当技術分野で公知の自己免疫疾患または障害に対する診断指標の出現または悪化が挙げられる。例えば、1型糖尿病については、GADAs、IA-2抗体、ICA抗体または抗インスリン抗体などの抗胰島細胞抗体の出現もしくは増加、または胰島細胞抗原に特異的なT細胞の出現もしくはレベルの増加が挙げられる。1型糖尿病についてのさらなる例には、細胞数または細胞活性または機能が、前のラウンドの治療の投与中の細胞数または活性または機能と比較して、20%、30%、40%、50%、60%、70%、80%または90%だけ減少する場合の引き続いての用量が含まれる。細胞機能は、当技術分野で公知のいずれかの方法、例えば、MMTT、OGTT、IGTT、または二相グルコースクランプに対するCペプチド反応、または第一相インスリン放出（FPIR）試験により決定することができ、これらの方法は本明細書で考察されたかまたは当技術分野で公知である。1型糖尿病の治療または管理中に再投与すべきかどうかを決定するために使用しうる他のパラメーターとしては、HA1またはHA1cレベル、外因性インスリン投与の必要性または外因性インスリンの投与量の0.2U/kg/日、0.5U/kg/日、1U/kg/日、2U/kg/日、5U/kg/日、または10U/kg/日を超える増加が挙げられる。他の実施形態においては、日、週、月基準での低血糖症状発現またはケトアシドーシス症状発現の出現または数の増加（平均で1、2、3、4、5、8、10、15、または20の増加など）、持続期間および／または重症度に基づいてさらなる用量を投与してもよい。

10

20

30

【0041】

好ましい実施形態においては、抗ヒトCD3抗体を非経口で、例えば、静脈内に、筋肉内にまたは皮下に投与するか、または、代わりに、経口投与する。抗ヒトCD3抗体を徐放性製剤として投与してもよい。

【0042】

さらにある特定の実施形態において、本発明は、限定されるものでないが、サイトカイン放出、アポトーシス、EBVの活性化、抗ヒトCD3抗体に対する免疫反応、リンパ球減少症、貧血、好中球減少、血小板減少症または二次感染などの有害な作用の重症度および／または出現率を低下する抗ヒトCD3抗体を投与する、方法およびレジメンを提供する。

40

【0043】

これらの発明の好ましい実施形態においては、1型糖尿病または障害を治療し、進行を緩慢にし、発症を遅延または予防する点について、被験者は治療の開始前に少なくとも95%、90%、80%、70%、60%、50%、40%、30%または20%細胞機能を保持しており、そして、いくつかの実施形態において、細胞機能は少なくとも5%、10%、20%、30%または40%だけ治療前レベル以上に改善する。

【0044】

ある特定の実施形態において、1型糖尿病の発生に対する素因は障害性空腹時血糖レベル、すなわち、空腹時（食事なしで8時間）100～125mg/dLの血糖レベルの少なくとも1つの確認として現れるか、または、75グラム経口血糖負荷試験（OGTT）に対する反応における障害性血糖負荷、すなわち、75 OGTTに対する反応における140～199mg/dLの2時間血糖レベルの少なくとも1つの確認である。他の実施形態において、被験者は胰島細胞抗原に

50

対する1以上の自己抗体、例えばGAD65および／もしくはGAD67などのGAD抗体、IA-2または抗インスリン抗体に対して陽性である。他の実施形態において、1型糖尿病の発症の素因は、1型糖尿病と診断された一親等もしくは二親等の血族を有することである。ある特定の実施形態において、その素因は、少なくとも1つの他の自己免疫障害の当技術分野で認められた判定基準による患者においてまたは一親等もしくは二親等の血族において陽性診断であり、前記自己免疫障害には、限定されるものでないが、甲状腺疾患、1型糖尿病、慢性関節リウマチ、全身エリテマトーデス、多発性内分泌腺腫症、およびセリアック病が含まれる。いくつかの実施形態において、自己免疫障害はMHCDR3および／またはDR4に関係する自己免疫疾患である。

【0045】

10

診断した患者における1型糖尿病の治療、および素因を有する個人における1型糖尿病の症候群の予防／遅延については、毒性の低下した抗ヒトCD3抗体を投与して、8%未満、7.5%未満、7%未満、6.5%未満、6%未満、5.5%未満または5%以下のグリコシル化ヘモグロビン(HA1またはHA1c)のレベルを達成するかまたは維持する。治療の開始時に、患者は8%未満、7.5%未満、7%未満、6.5%未満、6%未満、または、より好ましくは、4%～6%（好ましくは、外因性インスリンの投与などの他の糖尿病の治療をせずに測定して）のHA1またはHA1cレベルを有することが好ましい。

【0046】

20

ある特定の実施形態においては、1種以上のCD3結合分子（例えば、1種以上の抗ヒトCD3抗体）を投与して自己免疫性糖尿病に関連する細胞質量の低下を防止する。いくつかの実施形態において、本発明による抗ヒトCD3抗体を用いる治療の1以上のコースの後に、患者の細胞質量のレベルは、最初の治療後、少なくとも3ヶ月、少なくとも6ヶ月、少なくとも9ヶ月、少なくとも1年、少なくとも18ヶ月、少なくとも2年、少なくとも3年、少なくとも5年、少なくとも7年または少なくとも10年の間、治療前レベルの、1%未満、5%未満、10%未満、20%未満、30%未満、40%未満、50%未満、60%未満、または70%未満しか減少しない。本発明のさらに他の実施形態においては、本発明による抗CD3抗体を用いた治療の1以上のコースの後、患者の細胞質量のレベルは最初の治療のラウンド後、少なくとも4ヶ月、少なくとも6ヶ月、少なくとも9ヶ月、少なくとも12ヶ月、少なくとも18ヶ月、少なくとも24ヶ月、少なくとも30ヶ月、少なくとも3年、少なくとも5年、または少なくとも10年の間、治療前レベルの少なくとも99%、少なくとも95%、少なくとも90%、少なくとも80%、少なくとも70%、少なくとも60%、少なくとも50%、少なくとも40%、または少なくとも30%が維持される。

30

【0047】

40

本発明の他の実施形態においては、1型糖尿病の治療について、本発明による抗CD3抗体を用いた治療の1以上のコースの後、患者の細胞機能のレベルは治療の終了後または最初の治療のラウンド後、少なくとも4ヶ月、少なくとも6ヶ月、少なくとも9ヶ月、少なくとも12ヶ月、少なくとも18ヶ月、少なくとも24ヶ月、少なくとも30ヶ月の間、治療前レベルの少なくとも99%、少なくとも95%、少なくとも90%、少なくとも80%、少なくとも70%、少なくとも60%、少なくとも50%が維持され、かつ、患者の平均リンパ球数は前記期間に、800細胞以上、750細胞以上、700細胞以上、650細胞以上、600細胞以上、550細胞以上、500細胞以上、400細胞以上、300細胞以上または200細胞以上である。本発明の他の実施形態において、本発明による抗CD3抗体を用いた治療の1つのコースの後、患者の細胞機能のレベルは治療の終了後、少なくとも4ヶ月、少なくとも6ヶ月、少なくとも9ヶ月、少なくとも12ヶ月、少なくとも18ヶ月、少なくとも24ヶ月、少なくとも30ヶ月の間、治療前レベルの少なくとも99%、少なくとも95%、少なくとも90%、少なくとも80%、少なくとも70%、少なくとも60%、少なくとも50%が維持され、かつ、患者の平均血小板数は100,000,000血小板/ml以上、75,000,000血小板/ml以上、50,000,000血小板/ml以上、25,000,000血小板/ml以上、1,000,000血小板/ml以上、750,000血小板/ml以上、500,000血小板/ml以上、250,000血小板/ml以上、150,000血小板/ml以上または100,000血小板/ml以上である。

50

【0048】

抗CD3抗体の投与は膵島細胞の損傷を予防し、それにより疾患の発症を遅延し、または、診断しうる疾患が起こると、疾患進行を遅延し、インスリン投与の必要を減じおよび/もしくは遅延する。さらに本発明は、抗CD3抗体による（好ましくは、抗CD3抗体による介入治療なしに）単一の治療のラウンドまたは6ヶ月毎、9ヶ月毎、12ヶ月毎、15ヶ月毎、18ヶ月毎、または24ヶ月毎の治療のラウンドが、前の治療ラウンドまたは最初の治療ラウンド後、6ヶ月、9ヶ月、12ヶ月、15ヶ月、18ヶ月、または24ヶ月に、7%以下、6.5%以下、6%以下、5.5%以下、または5%以下であるHA1またはHA1cのレベルしかもたらさない治療の方法を提供する。具体的に、本発明のかかる方法において、抗CD3抗体による（好ましくは、抗ヒトCD3抗体による介入治療なしに）単一の治療のラウンドまたは6ヶ月毎、9ヶ月毎、12ヶ月毎、15ヶ月毎、18ヶ月毎、または24ヶ月毎の治療のラウンドは、前の治療ラウンドまたは最初の治療ラウンド後、6ヶ月、9ヶ月、12ヶ月、15ヶ月、18ヶ月、または24ヶ月に患者のHA1またはHA1cの平均レベルを治療前レベルと比較して、約5%、約10%、約15%、約20%、約25%、約30%、約35%、約40%、約45%、約50%、約55%、約60%、約65%または約70%だけ減少する。さらに、本発明による抗CD3抗体による単一の治療のラウンドまたは6ヶ月毎、9ヶ月毎、12ヶ月毎、15ヶ月毎、18ヶ月毎、または24ヶ月毎に繰り返した治療のラウンドの治療後（好ましくは、抗ヒトCD3抗体による介入治療なしに）、患者のHA1またはHA1cの平均レベルは、前の治療ラウンドまたは最初の治療ラウンド後、6ヶ月、9ヶ月、12ヶ月、15ヶ月、18ヶ月、または24ヶ月に、治療前レベルと比較して、約0.5%、約1%、約2.5%、約5%、約10%、約15%、約20%、約25%、約30%、約35%、約40%、約45%、または約50%しか増加しない。他の実施形態において、本発明の方法による抗ヒトCD3抗体による単一の治療のラウンドまたは6ヶ月毎、9ヶ月毎、12ヶ月毎、15ヶ月毎、18ヶ月毎、または24ヶ月毎の治療のラウンド後（好ましくは、抗ヒトCD3抗体による介入治療なしに）、患者のHA1またはHA1cの平均レベルは、通常の治療を同様の臨床パラメーターを用いて開始しつつ通常の治療と同じ時間後に投与した患者のレベルより、約10%、約20%、約30%、約40%、約50%、約60%、約70%以上または約100%以上低く、前記レベルは前の治療ラウンドまたは最初の治療ラウンド後、6ヶ月、9ヶ月、12ヶ月、15ヶ月、18ヶ月、または24ヶ月に測定される。

【0049】

他の実施形態においては、混合金属負荷試験（MMTT）、経口血糖負荷試験（OGTT）、静脈内負荷試験（IGTT）または二相グルコースクランプ法により測定して自己免疫性糖尿病と診断された、またはそれに対する素因を有する被験者におけるCペプチド反応を達成または維持するために、抗ヒトCD3抗体を投与する。好ましい実施形態において、患者はMMTT、OGTT、IGTT、または二相グルコースクランプ法（好ましくはMMTT）に対して少なくとも80pmol/ml/240分、好ましくは、少なくとも90pmol/ml/240分、より好ましくは少なくとも100pmol/ml/240分、またはさらに少なくとも110pmol/ml/240分の曲線下面積（AUC）をもたらすCペプチド反応を有する。さらに、本発明は、抗ヒトCD3抗体による単一の治療のラウンドまたは6ヶ月毎、9ヶ月毎、12ヶ月毎、15ヶ月毎、18ヶ月毎、または24ヶ月毎の治療のラウンド後（好ましくは、抗ヒトCD3抗体による介入治療なしに）、患者におけるCペプチド反応のレベルが、前の治療ラウンドまたは最初の治療のラウンド後、6ヶ月、9ヶ月、12ヶ月、15ヶ月、18ヶ月、または24ヶ月において測定した治療前反応の少なくとも99%、少なくとも98%、少なくとも95%、少なくとも90%、少なくとも85%、少なくとも80%、少なくとも75%、少なくとも70%、少なくとも65%または少なくとも60%である治療の方法を提供する。具体的に、本発明のかかる方法において、本発明の方法による抗ヒトCD3抗体による単一の治療のラウンドまたは6ヶ月毎、9ヶ月毎、12ヶ月毎、15ヶ月毎、18ヶ月毎、または24ヶ月毎の治療のラウンド後（好ましくは、抗ヒトCD3抗体による介入治療なしに）、患者におけるMMTT、OGTT、IGTT、または二相グルコースクランプ法に対するCペプチド反応の平均レベルは、前の治療ラウンドまたは最初の治療のラウンド後、6ヶ月、9ヶ月、12ヶ月、15ヶ月、18ヶ月、または24ヶ月に測定した治療前レベルの1%未満、5%未満、10%未満、20%未満、30%未満、40%未満、50%未満しか減少しない。さらに、

10

20

30

40

50

本発明の方法による抗ヒトCD3抗体による単一の治療のラウンドまたは6ヶ月毎、9ヶ月毎、12ヶ月毎、15ヶ月毎、18ヶ月毎、または24ヶ月毎の治療のラウンド後（好ましくは、抗ヒトCD3抗体による介入治療なしに）、MMTT、OGTT、IGTT、または二相グルコースクランプ法に対するCペプチド反応の平均レベルは、通常の治療を同様の臨床パラメーターを用いて開始しつつ通常の糖尿病療法を6ヶ月、9ヶ月、12ヶ月、15ヶ月、18ヶ月間にわたり投与した患者またはいずれの療法も受けなかった患者のレベルより少なくとも10%、20%、30%、40%、50%、70%または100%高く、前記ペプチド反応は前の治療後、6ヶ月、9ヶ月、12ヶ月、15ヶ月、18ヶ月、または24ヶ月に測定される。

【0050】

具体的な実施形態において、本発明の方法による抗CD3抗体による単一の治療のラウンドまたは6ヶ月毎、9ヶ月毎、12ヶ月毎、15ヶ月毎、18ヶ月毎、または24ヶ月毎の治療のラウンド後（好ましくは、抗ヒトCD3抗体による介入治療なしに）、自己免疫性糖尿病と診断したまたはその素因を有する患者のMMTT、OGTT、IGTTまたは二相血糖クランプ法（好ましくは、MMTT）に対するCペプチド反応は、AUCで少なくとも40pmol/ml/240分、50pmol/ml/240分、60pmol/ml/240分、70pmol/ml/240分、80pmol/ml/240分、好ましくは、少なくとも90pmol/ml/240分、より好ましくは少なくとも100pmol/ml/240分、またはさらに少なくとも110pmol/ml/240分を与え、前記反応は6ヶ月、9ヶ月、12ヶ月、15ヶ月、18ヶ月、または24ヶ月に測定される。10

【0051】

Cペプチド反応の測定は当業者に公知である 細胞機能の尺度である。他の実施形態においては、細胞機能または残留 細胞機能は第一相インスリン放出（FPIR）により測定する。好ましい実施形態において、本発明の方法による抗CD3抗体による治療前の患者は少なくとも300pmol/l、少なくとも350pmol/l、少なくとも400pmol/l、少なくとも450pmol/l、少なくとも500pmol/l、好ましくは、少なくとも550pmol/l、より好ましくは少なくとも600pmol/l、またはeven少なくとも700pmol/lのFPIRを有する。さらに、本発明は、本発明の方法による抗CD3抗体による単一の治療のラウンドまたは6ヶ月毎、9ヶ月毎、12ヶ月毎、15ヶ月毎、18ヶ月毎、または24ヶ月毎に繰り返した治療のラウンドの治療後（好ましくは、抗ヒトCD3抗体による介入治療なしに）、FPIRが治療前反応の少なくとも99%、少なくとも98%、少なくとも95%、少なくとも90%、少なくとも85%、少なくとも80%、少なくとも75%、少なくとも70%、少なくとも65%または少なくとも60%であり、前記FPIRは前の治療または最初の治療後、6ヶ月、9ヶ月、12ヶ月、15ヶ月、18ヶ月、または24ヶ月に測定したものである方法を提供する。具体的に、本発明のかかる方法において、本発明の方法による抗CD3抗体による単一の治療のラウンドまたは6ヶ月毎、9ヶ月毎、12ヶ月毎、15ヶ月毎、18ヶ月毎、または24ヶ月毎に繰り返した治療のラウンドの治療後（好ましくは、抗ヒトCD3抗体による介入治療なしに）、患者の平均FPIRは治療前レベルの1%未満、5%未満、10%未満、20%未満、30%未満、40%未満、50%未満しか減少せず、前記FPIRは前の治療後、6ヶ月、9ヶ月、12ヶ月、15ヶ月、18ヶ月、または24ヶ月に測定される。さらに、本発明の方法による抗CD3抗体による単一の治療のラウンドまたは6ヶ月毎、9ヶ月毎、12ヶ月毎、15ヶ月毎、18ヶ月毎、または24ヶ月毎に繰り返した治療のラウンドの治療後（好ましくは、抗ヒトCD3抗体による介入治療なしに）、患者の平均FPIRは、通常の治療を同様の臨床パラメーターを用いて開始しつつ通常の糖尿病療法を6ヶ月、9ヶ月、12ヶ月、15ヶ月、18ヶ月間にわたり投与した患者のレベルより少なくとも 10%、20%、30%、40%、50%、70%または100%高く、前記FPIRは前の治療または最初の治療のラウンド後、6ヶ月、9ヶ月、12ヶ月、15ヶ月、18ヶ月、または24ヶ月に測定される。具体的な実施形態において、本発明の方法による抗CD3抗体による単一の治療のラウンドまたは6ヶ月毎、9ヶ月毎、12ヶ月毎、15ヶ月毎、18ヶ月毎、または24ヶ月毎に繰り返した治療のラウンドの治療後（好ましくは、抗ヒトCD3抗体による介入治療なしに）、患者は少なくとも300 pmol/l、少なくとも400pmol/l、好ましくは、少なくとも500pmol/l、より好ましくは少なくとも600pmol/l、またはさらに少なくとも700pmol/lのFPIRを有し、前記FPIRは前の治療または最初の治療のラウンド後、6ヶ月、9ヶ月、12ヶ月、15ヶ月、18ヶ月、または24ヶ月20304050

に測定される。

【0052】

1型糖尿病の治療に関する本発明の他の具体的な実施形態においては、治療の開始時に被験者はインスリンの投与を必要としないかまたは1U/kg/日未満、好ましくは0.5U/kg/日未満、さらにより好ましくは0.25U/kg/日未満、およびさらにより好ましくは0.1U/kg/日未満しか必要としない。ある特定の実施形態において、本発明の方法によるCD3抗体による（好ましくは、抗ヒトCD3抗体による介入治療なしに）単一の治療または6ヶ月毎、9ヶ月毎、12ヶ月毎、15ヶ月毎、18ヶ月毎、または24ヶ月毎の治療のラウンドは、インスリンの投与の必要性を無くしましたはインスリンを投与する必要性を少なくとも6ヶ月、少なくとも1年、少なくとも18ヶ月、少なくとも2年、少なくとも30ヶ月、少なくとも3年、少なくとも5年、少なくとも7年または少なくとも10年（1型糖尿病患者の集団に対する平均で）だけ遅延する。他の実施形態において、本発明の方法によるCD3抗体による（好ましくは、抗ヒトCD3抗体による介入治療なしに）単一の治療または6ヶ月毎、9ヶ月毎、12ヶ月毎、15ヶ月毎、18ヶ月毎、または24ヶ月毎の治療のラウンドは、平均で1日当たり必要とするインスリンの量の（例えば、10%、20%、30%、40%、または50%の）減少、または1日当たり必要とするインスリンの平均量の不变、または、1日当たりインスリンの治療前平均用量と比較して、平均で1日当たり投与されるインスリンの1%未満、5%未満、10%未満、20%未満または30%未満の増加をもたらす。ある特定の実施形態において、本発明の方法によるCD3抗体による単一の治療または6ヶ月毎、9ヶ月毎、12ヶ月毎、15ヶ月毎、18ヶ月毎、または24ヶ月毎の治療のラウンド（好ましくは、抗ヒトCD3抗体による介入治療なしに）は、抗ヒトCD3抗体治療を受けなかった類似した立場の患者（すなわち、月間または年間の最初に類似した化学パラメーターを有する）に対して必要とするインスリンの平均日用量より10%、20%、50%、75%、90%、99%少ないインスリンの平均日用量をもたらす。
10
20

【0053】

他の実施形態において、本発明の方法は、自己免疫性糖尿病と診断したまたはその素因を有する被験者の治療について、本発明による抗ヒトCD3抗体を投与してなかった類似した立場の患者と比較して、1日、2日、5日、10日または15日の期間に、1、2、3、4、5、6回以上の症状発現の減少をもたらす。

【0054】

具体的な実施形態において、被験者は移植される膵島細胞を受けかつ本発明の方法による抗ヒトCD3抗体の予防上または治療上有効な量が投与される。具体的な実施形態において、移植される膵島細胞を受ける被験者は成人である。他の具体的な実施形態において、移植される膵島細胞を受ける被験者は21歳より若いかまたは18歳より若い。
30

【0055】

多発性硬化症の治療については、抗CD3抗体を投与して1.0、1.5、2.0、2.5、3.0、3.5、4.0、4.5、5.0、5.5、6.0、6.5、7.0、7.5、8.0、8.5、または9.0のKurtzke総合障害度スケール（EDSS：Expanded Disability Scale）による障害度スコアを達成するかまたは維持する。さらに、本発明は、本発明の方法による抗CD3抗体による単一の治療、または6ヶ月毎、9ヶ月毎、12ヶ月毎、15ヶ月毎、18ヶ月毎、2年毎、2.5年毎または3年毎の治療後（好ましくは、抗CD3抗体による介入治療なしに）、EDSSスコアは治療前EDSSスコアと比較して同じ、0.5ステップ以下、1ステップ以下、1.5ステップ以下、2ステップ以下、2.5ステップ以下、3ステップ以下、3.5ステップ以下、4ステップ以下、4.5ステップ以下、5ステップ以下、5.5ステップ以下、6ステップ以下、6.5ステップ以下、7ステップ以下、7.5ステップ以下、8ステップ以下、または8.5ステップ以下の大きさであり、前記EDSSスコアは前の治療後、6ヶ月、9ヶ月、12ヶ月、15ヶ月、18ヶ月、または24ヶ月に測定したものである方法を提供する。具体的には、本発明のかかる方法において、本発明の方法による抗CD3抗体による単一の治療または6ヶ月毎、9ヶ月毎、12ヶ月毎、15ヶ月毎、18ヶ月毎、2年毎、2.5年毎または3年毎の治療後（好ましくは、抗CD3抗体による介入治療なしに）、患者の平均EDSSスコアは、治療前EDSSスコアと比較して0.5ステップ、1ステップ、1.
40
50

5ステップ、2ステップ、2.5ステップ、3ステップ、3.5ステップ、4ステップ、4.5ステップ、5ステップ、5.5ステップ、6ステップ、6.5ステップ、7ステップ、7.5ステップ、8ステップ、または8.5ステップ以下しか増加せず、前記スコアは前の治療後、6ヶ月、9ヶ月、12ヶ月、15ヶ月、18ヶ月、または24ヶ月に測定したものである方法を提供する。さらに、本発明のかかる方法において、本発明の方法による抗CD3抗体による単一の治療または6ヶ月毎、9ヶ月毎、12ヶ月毎、15ヶ月毎、18ヶ月毎、2年毎、2.5年毎または3年毎の治療後（好ましくは、抗CD3抗体による介入治療なしに）、患者の平均EDSSスコアは、類似した臨床パラメーターをもつ通常の多発性硬化症療法を開始し、6ヶ月、9ヶ月、12ヶ月、15ヶ月、18ヶ月、2年、2.5年または3年の期間にわたり通常の多発性硬化症療法を投与した患者のスコアより、0.5ステップ、1ステップ、1.5ステップ、2ステップ、2.5ステップ、3ステップ、3.5ステップ、4ステップ、4.5ステップ、5ステップ、5.5ステップ、6ステップ、6.5ステップ、7ステップ、7.5ステップ、8ステップ、または8.5ステップ以下低く、前記スコアは前の治療後、6ヶ月、9ヶ月、12ヶ月、15ヶ月、18ヶ月、または24ヶ月に測定したものである方法を提供する。具体的な実施形態において、治療後（好ましくは、抗CD3抗体による介入治療なしに）、6ヶ月、9ヶ月、12ヶ月、15ヶ月、18ヶ月、2年、2.5年または3年に、患者は少なくとも1.0、1.5、2.0、2.5、3.0、3.5、4.0、4.5、5.0、5.5、6.0、6.5、7.0、7.5、8.0、8.5、または9.0のEDSSスコアを有する。

10

【0056】

本発明の具体的な実施形態において、多発性硬化症と診断した（例えば、McDonald判定基準によって）患者は本発明の抗CD3抗体の投与前に少なくとも1.0、1.5、2.0、2.5、3.0、3.5、4.0、4.5、5.0、5.5、6.0、6.5、7.0、7.5、8.0、8.5、9.0または9.5のEDSSスコアを有する。

20

【0057】

多発性硬化症の治療に関する他の実施形態においては、抗CD3抗体を投与してMS発作の頻度、持続時間および／または重症度の低下を、療法前の同じ患者と比較して達成する。さらに、本発明は本発明の方法による抗CD3抗体による単一の治療または6ヶ月毎、9ヶ月毎、12ヶ月毎、15ヶ月毎、18ヶ月毎、2年毎、2.5年毎または3年毎の治療後に（好ましくは、抗CD3抗体による介入治療なしに）、MS発作の頻度、持続時間および／または重症度を治療前レベルと比較して5%、10%、20%、30%、40%、50%、60%、70%、80%、または90%だけ低下し、前記測定は前の治療後、6ヶ月、9ヶ月、12ヶ月、15ヶ月、18ヶ月、または24ヶ月に行われたものである治療の方法を提供する。具体的に、本発明のかかる方法においては、本発明の方法による抗CD3抗体による単一の治療または6ヶ月毎、9ヶ月毎、12ヶ月毎、15ヶ月毎、18ヶ月毎、2年毎、2.5年毎または3年毎の治療後に（好ましくは、抗CD3抗体による介入治療なしに）、患者のMS発作の頻度、重症度および／または持続期間は、治療前の状態と比較して5%、10%、20%、30%、40%、50%、60%、70%、80%、または90%以下しか増加せず、前記測定は前の治療後、6ヶ月、9ヶ月、12ヶ月、15ヶ月、18ヶ月、または24ヶ月に行われる。さらに、本発明の方法による抗CD3抗体による単一の治療または6ヶ月毎、9ヶ月毎、12ヶ月毎、15ヶ月毎、18ヶ月毎、2年毎、2.5年毎または3年毎の治療後に（好ましくは、抗CD3抗体による介入治療なしに）、MS発作の平均頻度、重症度および／または持続期間は、類似した臨床パラメーターをもつ通常の多発性硬化症療法を開始しつつ通常の多発性硬化症療法を6ヶ月、9ヶ月、12ヶ月、15ヶ月、18ヶ月、2年、2.5年または3年の期間にわたり投与した患者と比較して低下し、前記測定は前の治療後、6ヶ月、9ヶ月、12ヶ月、15ヶ月、18ヶ月、または24ヶ月に行われる。

30

【0058】

乾癬の治療に関する他の実施形態においては、抗CD3抗体を投与して、被験者の乾癬の面積と重症度指数（PASI）スコアの低下を、治療前の状態と比較して、少なくとも20%、少なくとも30%、少なくとも35%、少なくとも40%、少なくとも45%、少なくとも50%、少なくとも55%、少なくとも60%、少なくとも65%、少なくとも70%、少なくとも75%、少なくとも80%、または少なくとも85%だけ達成し、前記測定は前の治療後、6ヶ月、9ヶ月、12ヶ月、15ヶ月、18ヶ月、または24ヶ月に行われる。あるいは、本発明の方法は被験

40

50

者の総合評価スコアを、治療前の状態と比較して少なくとも25%、少なくとも35%、少なくとも30%、少なくとも40%、少なくとも45%、少なくとも50%、少なくとも55%、少なくとも60%、少なくとも65%、少なくとも70%、少なくとも75%、少なくとも80%、少なくとも85%、少なくとも90%、または少なくとも95%だけ改善し、前記測定は前の治療後、6ヶ月、9ヶ月、12ヶ月、15ヶ月、18ヶ月、または24ヶ月に行われる。

【0059】

慢性関節リウマチに関する他の実施形態においては、抗CD3抗体を投与して、当技術分野で公知の関節炎重症度（例えば、慢性関節リウマチ重症度スケール（RASS））により評価した被験者の症状を、治療前の状態と比較して少なくとも25%、少なくとも35%、少なくとも30%、少なくとも40%、少なくとも45%、少なくとも50%、少なくとも55%、少なくとも60%、少なくとも65%、少なくとも70%、少なくとも75%、少なくとも80%、少なくとも85%、少なくとも90%、少なくとも95%、または少なくとも100%だけ改善し、前記測定は前の治療後、6ヶ月、9ヶ月、12ヶ月、15ヶ月、18ヶ月、または24ヶ月に行われる。
10。

【0060】

ある特定の実施形態においては、自己免疫障害の診断または自己免疫障害の素因の徵候は、被験者の末梢血および／または免疫障害の標的組織中のドナー特異的抗原を認識する細胞傷害性Tリンパ球（“CTL”）（すなわち自己反応性CTL）の検出に基づく。ある特定の実施形態においては、本発明の抗CD3抗体を投与して、治療前の状態と比較して、免疫スポットアッセイ（例えば、ELISPOT）により測定した自己反応性CTLの絶対数または比率の、少なくとも10%、少なくとも20%、少なくとも35%、少なくとも30%、少なくとも40%、少なくとも45%、少なくとも50%、少なくとも55%、少なくとも60%、少なくとも65%、少なくとも70%、少なくとも75%、少なくとも80%、または少なくとも85%だけの低下を達成し、前記測定は前の治療後、6ヶ月、9ヶ月、12ヶ月、15ヶ月、18ヶ月、または24ヶ月に行われる。
20

【0061】

好みの実施形態において、患者は21歳未満、18歳未満、15歳未満、12歳未満、9歳未満、もしくは5歳未満、または乳児～3歳、2～5歳、5～9歳、9～12歳、12～20歳である。他の実施形態において、患者は成人である。

【0062】

本発明はまた、併用療法も提供する。本発明の方法は、特別な徵候に対するいずれかの標準治療、例えば、自己免疫疾患を治療または改善するために投与する標準の免疫抑制薬および／または抗炎症性治療薬と組み合わせて行うことができる。例えば、1型糖尿病の治療については、本発明の抗ヒトCD3抗体療法を糖尿病のための他の治療法、例えば、限定されるものでないが、インスリン、エキセナチド、プラムリンチドまたはそれらの組合せの投与と併用して投与してもよい。多発性硬化症の治療については、本発明の抗ヒトCD3抗体療法を当技術分野で公知の多発性硬化症を治療するための他の療法、例えば、限定されるものでないが、インターフェロン（例えば、アボネックス（AVONEX（登録商標）、ベタセロン（BETASERON（登録商標））、レビフ（REBIF（登録商標）））、免疫抑制薬（例えば、ミトキサントロン）、ミエリン塩基性タンパク質コポリマー1（例えば、コパキソン（COPAXONE（登録商標）））、またはそれらの組合せの投与と併用して投与してもよい。本発明のCD3抗体をさらに他の療法、例えば、抗IL-2抗体、サイトカインアンタゴニスト、およびステロイド療法（例えば、限定されるものでないが、グルココルチコイド、デキサメタゾン、コルチゾン、ヒドロコルチゾン、プレドニソン、プレドニソロン、トリアムシノロン、アザルフィジン、など）、非ステロイド抗炎症薬（NSAIDS）、例えば、限定されるものでないが、アスピリン、イブプロフェン、ジクロフェナク、エトドラク、フェノプロフェン、インドメタシン、ケトロラク、オキサプロジン、ナブメトン、スリンダク、トルメンチン（tolmentin）、ナブロキセン、またはケトプロフェン、免疫抑制薬、例えば、メトレキセートまたはシクロスボリン、およびTNF-インヒビター、例えば、限定されるものでないが、エタネルセプトおよびインフリキシマブと併用して投与してもよ
40

10

20

30

40

50

い。本発明のある特定の実施形態においては、通常の治療に対して不応性となった被験者を、本発明の方法を用いて治療する。ある特定の実施形態においては、抗ヒトCD3抗体を1以上の胰島細胞抗原、例えば、GAD、IA-2または1型糖尿病の患者に見出される自己抗原と結合している他の抗原と併用して投与する。

【0063】

本発明は、他の実施形態においては、CHO細胞において抗ヒトCD3抗体、特にOKT3由来の抗体、例えば、限定されるものでないが、ヒト化OKT 1(ala-ala)を産生する方法を提供する。特別な実施形態において、本発明は抗ヒトCD3抗体を産生する方法であって、(a)発現ベクターpMGX1303を用いてトランスフェクトされたCHO細胞またはその子孫を培地において前記抗ヒトCD3抗体の発現に好適な条件下で培養するステップ、；および(b)前記抗ヒトCD3抗体を前記培地から回収するステップを含んでなる方法を提供する。
10

【0064】

3.1 技術用語

本明細書で用いる用語「約」または「ほぼ」が数に関連して使用される場合、参照した数の1、5または10%以内の、または測定に用いた方法の典型的な実験誤差以内のいずれかの数を意味する。

【0065】

本明細書で用いるポリペプチドに関する用語「類似体」は、別のポリペプチドと類似または同一の機能を保持するが、必ずしも別のポリペプチドと類似または同一のアミノ酸配列を含むものでないか、または別のポリペプチドと類似または同一の構造を保持するポリペプチドを意味する。類似したアミノ酸配列を有するポリペプチドは少なくとも次の条件の1つを満たす別のポリペプチドを意味する：(a)別のポリペプチドのアミノ酸配列と少なくとも30%、少なくとも35%、少なくとも40%、少なくとも45%、少なくとも50%、少なくとも55%、少なくとも60%、少なくとも65%、少なくとも70%、少なくとも75%、少なくとも80%、少なくとも85%、少なくとも90%、少なくとも95%または少なくとも99%同一であるアミノ酸配列を有するポリペプチド；(b)別のポリペプチドの少なくとも5個の連続アミノ酸残基、少なくとも10個の連続アミノ酸残基、少なくとも15個の連続アミノ酸残基、少なくとも20個の連続アミノ酸残基、少なくとも25個の連続アミノ酸残基、少なくとも40個の連続アミノ酸残基、少なくとも50個の連続アミノ酸残基、少なくとも60個の連続アミノ酸残基、少なくとも70個の連続アミノ酸残基、少なくとも80個の連続アミノ酸残基、少なくとも90個の連続アミノ酸残基、少なくとも100個の連続アミノ酸残基、少なくとも125個の連続アミノ酸残基、または少なくとも150個の連続アミノ酸残基をコードするヌクレオチド配列とストリンジエントな条件下でハイブリダイズするヌクレオチド配列によりコードされるポリペプチド；および(c)別のポリペプチドをコードするヌクレオチド配列と少なくとも30%、少なくとも35%、少なくとも40%、少なくとも45%、少なくとも50%、少なくとも55%、少なくとも60%、少なくとも65%、少なくとも70%、少なくとも75%、少なくとも80%、少なくとも85%、少なくとも90%、少なくとも95%または少なくとも99%同一であるヌクレオチド配列によりコードされたポリペプチド。別のポリペプチドと類似した構造をもつポリペプチドは第2のポリペプチドと類似した二次、三次、または四次構造を有するポリペプチドを意味する。ポリペプチドの構造は、当業者に公知の方法により決定することができ、その方法には、限定されるものでないが、ペプチド配列決定、X線結晶学、核磁気共鳴、円二色性、および結晶電子顕微鏡が含まれる。
20
30
40

【0066】

2つのアミノ酸配列のまたは2つの核酸配列の同一性パーセントを決定するためには、配列を、最適な比較のためにアラインメントする（例えばギャップを第1のアミノ酸または核酸配列の配列に、第2のアミノ酸または核酸配列と最適なアラインメントとなるように導入することができる）。次いで対応するアミノ酸位置またはヌクレオチド位置のアミノ酸残基またはヌクレオチドを比較する。第1の配列のある位置が第2の配列の対応する位置と同じアミノ酸残基またはヌクレオチドにより占められていると、その分子はその位置で同一である。2つの配列間の同一性パーセントは配列が共有する同一位置の数の関数であ
50

る（すなわち、同一性パーセント = 同一の重複位置の数 / 位置の全数 × 100%）。一実施形態において、2つの配列は同じ長さである。

【0067】

2つの配列間の同一性パーセントの決定はまた、数学アルゴリズムを用いて実施することもできる。2つの配列を比較するために利用される好ましい、限定されるものでない数学アルゴリズムの例は、Karlin and Altschul, 1990, Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. 87:2264-2268およびその改訂版であるKarlin and Altschul, 1993, Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. 90:5873-5877のアルゴリズムである。かかるアルゴリズムはNBLASTおよびXBLASTプログラム (Altschul et al., 1990, J. Mol. Biol. 215:403) に組込まれている。BLASTヌクレオチド検索をNBLASTヌクレオチドプログラムパラメーターセット、例えばスコア=100、ワード長=12を用いて実施して、本発明の核酸分子と相同なヌクレオチド配列を得ることができる。BLASTタンパク質検索をXBLASTプログラムパラメーターセット、例えばスコア=50、ワード長=3を用いて実施して、本発明のタンパク質分子と相同なアミノ酸配列を得ることができる。比較の目的でギャップ付きアラインメントを得るために、Altschul et al., 1997, Nucleic Acids Res. 25:3389-3402に記載のギャップ付きBLASTを利用することができる。あるいはPSI-BLASTを用いて繰り返し検索を行い、分子間の遠隔関係性（同著）を検出することができる。BLAST、ギャップ付きBLAST、および PSI-Blastプログラムを利用する場合、それぞれのプログラム（例えば、XBLASTおよびNBLAST）のデフォルトパラメーターを用いることができる（例えば、NCBIウェブサイトを参照）。配列を比較するために利用される数学アルゴリズムの他の好ましい、限定されるものでない例はMyers and Miller, 1988, CABIOS 4:11-17のアルゴリズムである。かかるアルゴリズムを、GCC配列アラインメント・ソフトウェアパッケージの一部であるALIGNプログラム（バージョン2.0）に組込む。アミノ酸配列を比較するためにALIGNプログラムを利用する場合、PAM120加重残基表、ギャップ長さペナルティ12、およびギャップペナルティ4を用いることができる。

10

20

30

【0068】

2つの配列間の同一性パーセントは前記の技法と類似した技法を用いてギャップを認めることまたは認めないで決定することができる。同一性パーセントの計算において、典型的なもののは正確な一致（マッチ）だけを数える。

【0069】

本明細書で用いる、非タンパク質類似体に関する用語「類似体」は、第1の有機または無機分子と類似したまたは同一の機能を保持しつつ第1の有機または無機分子と構造的に類似した第2の有機または無機分子を意味する。

30

【0070】

本明細書で用いる用語「アンタゴニスト」は、他の分子の機能、活性および/または発現をブロック、阻止、低減または中和するいずれかのタンパク質、ポリペプチド、ペプチド、抗体、抗体断片、大分子、または小分子（10kD未満）を意味する。様々な実施形態において、アンタゴニストは他の分子の機能、活性および/または発現をリン酸緩衝化生理食塩水（PBS）などの対照と比較して、少なくとも10%、少なくとも15%、少なくとも20%、少なくとも25%、少なくとも30%、少なくとも35%、少なくとも40%、少なくとも45%、少なくとも50%、少なくとも55%、少なくとも60%、少なくとも65%、少なくとも70%、少なくとも75%、少なくとも80%、少なくとも85%、少なくとも90%、少なくとも95%または少なくとも99%だけ低下させる。

40

【0071】

本明細書で使用される「抗体」および「抗体」はモノクローナル抗体、多特異的抗体、ヒト抗体、ヒト化抗体、キメラ抗体、1本鎖Fv (scFv)、1本鎖抗体、Fab断片、F(ab')断片、ジスルフィド連結Fv (sdFv)、および抗イディオタイプ（抗Id）抗体（例えば、本発明の抗体に対する抗Id抗体を含む）、および以上のいずれかのエピトープ結合断片を意味する。特に、抗体には、免疫グロブリン分子および免疫グロブリン分子の免疫学的活性断片、すなわち、抗原結合部位分子を含有する分子が含まれる。免疫グロブリンはいずれの

50

型（例えば、IgG、IgE、IgM、IgD、IgAおよびIgY）、クラス（例えば、IgG₁、IgG₂、IgG₃、IgG₄、IgA₁およびIgA₂）またはサブクラスであってもよい。

【0072】

本明細書で用いる用語「Cペプチド」は、インスリンへ変換する際にプロインスリンから切断される31個のアミノ酸のペプチドを意味する。プロインスリンはA鎖、結合ペプチド（Cペプチド）、およびB鎖から構成される。プロインスリンが切断された後、Cペプチドは臍臓内の細胞の分泌性顆粒中にインスリンと共に残存し、血糖刺激に応答してインスリンと共に分泌される。Cペプチドはこの様にして臍臓からインスリンと等モル量で放出され、内因性インスリン産生のマーカーとして用いることができる。

【0073】

本明細書で用いる、ポリペプチドに関する用語「誘導体」は、アミノ酸残基置換、欠失または付加の導入により改変されたアミノ酸配列を含むポリペプチドを意味する。本明細書で用いる用語「誘導体」はまた、いずれかの型の分子のポリペプチドとの共有結合により修飾されたポリペプチドも意味する。例えば、限定されるものでないが、抗体を例えれば、グリコシル化、アセチル化、PEG化、リン酸化、アミド化、公知の保護/プロッキング基による誘導体化、タンパク質分解による切断、細胞のリガンドまたは他のタンパク質との連結などにより修飾してもよい。誘導体ポリペプチドを、当業者に公知の技法を用いて化学的修飾により調製してもよく、それらの技法としては、限定されるものでないが、特異的化学切断、アセチル化、ホルミル化、ツニカマイシンの代謝性合成などが含まれる。さらに、誘導体ポリペプチドは1以上の非古典的アミノ酸を含有してもよい。ポリペプチド誘導体は、それが誘導される元のポリペプチドと類似または同一の機能を保持する。

10

20

【0074】

本明細書で用いる用語「障害」および「疾患」は互換的に使用されて被験者の状態を意味する。特に、用語「自己免疫疾患」は用語「自己免疫障害」と互換的に使用され、自分自身の細胞、組織および/または臓器に対する被験者の免疫学的反応により引き起こされる細胞、組織および/または臓器障害により特徴付けられる被験者の症状を意味する。

【0075】

本明細書で用いる用語「エピトープ」は、動物、好ましくは哺乳動物、そして最も好ましくはヒトにおいて抗原性または免疫原性活性を有するポリペプチドまたはタンパク質の断片を意味する。免疫原性活性を有するエピトープは動物において抗体反応を誘発するポリペプチドまたはタンパク質の断片である。抗原活性を有するエピトープは、それに対して抗体が免疫特異的に結合するポリペプチドまたはタンパク質の断片であり、当業者に周知のいずれかの方法により、例えばイムノアッセイにより決定される。抗原性エピトープは必ずしも免疫原性である必要はない。

30

【0076】

本明細書で用いる用語「Fc域」はIgG重鎖のC末端域を定義するために使用される。その境界は僅かに変わりうるが、ヒトIgG重鎖Fc域はCys226～カルボキシ末端に延びると定義される。IgGのFc域は2つの定常ドメイン、CH2およびCH3を含む。ヒトIgGFc域のCH2ドメインは通常アミノ酸231～アミノ酸341に延びる。ヒトIgGFc域のCH3ドメインは通常アミノ酸342～447に延びる。IgGのFc域は2つの定常ドメイン、CH2およびCH3を含む。ヒトIgGFc域のCH2ドメイン（「C_2」ドメインとも呼ばれる）は通常アミノ酸231～341に延びる。CH2ドメインは、他のドメインと密接に対応していない点がユニークである。むしろ、2つのN-連結分枝糖鎖が無傷の未変性IgGの2つのCH2ドメインの間に介在する。

40

【0077】

本発明全体を通して、IgG重鎖の残基の番号付けは、本明細書に参照により明示して組み込まれる、Kabat et al., Sequences of Proteins of Immunological Interest, 5th Ed. Public Health Service, NH1, MD (1991)に記載のEU指数の番号付けである。「KabatのEU指数」はヒトIgG1 EU抗体の番号付けを意味する。

【0078】

「ヒンジ域」は一般にヒトIgG1のGlu216～Pro230に延びると定義される。他のIgGアイ

50

ソタイプのヒンジ域と前記IgG1配列とは、重鎖間S-S結合を形成する最初と最後のシステム残基を同じ位置に置くことによりアラインすることができる。

【0079】

本明細書で用いる用語「断片」は、別のポリペプチドのアミノ酸配列の少なくとも5個の連続アミノ酸残基、少なくとも10個の連続アミノ酸残基、少なくとも15個の連続アミノ酸残基、少なくとも20個の連続アミノ酸残基、少なくとも25個の連続アミノ酸残基、少なくとも40個の連続アミノ酸残基、少なくとも50個の連続アミノ酸残基、少なくとも60連続アミノ残基、少なくとも70個の連続アミノ酸残基、少なくとも80個の連続アミノ酸残基、少なくとも90個の連続アミノ酸残基、少なくとも100個の連続アミノ酸残基、少なくとも125個の連続アミノ酸残基、少なくとも150個の連続アミノ酸残基、少なくとも175個の連続アミノ酸残基、少なくとも200個の連続アミノ酸残基、または少なくとも250個の連続アミノ酸残基のアミノ酸配列を含むペプチドまたはポリペプチドを意味する。具体的な実施形態において、ポリペプチドの断片はそのポリペプチドの少なくとも1つの機能を保持する。

【0080】

本明細書で用いる用語「機能性断片」は、別の異なるポリペプチドのアミノ酸配列の少なくとも5個の連続アミノ酸残基、少なくとも10個の連続アミノ酸残基、少なくとも15個の連続アミノ酸残基、少なくとも20個の連続アミノ酸残基、少なくとも25個の連続アミノ酸残基、少なくとも40個の連続アミノ酸残基、少なくとも50個の連続アミノ酸残基、少なくとも60連続アミノ残基、少なくとも70個の連続アミノ酸残基、少なくとも80アミノ酸残基、少なくとも90個の連続アミノ酸残基、少なくとも100個の連続アミノ酸残基、少なくとも125個の連続アミノ酸残基、少なくとも150個の連続アミノ酸残基、少なくとも175個の連続アミノ酸残基、少なくとも200個の連続アミノ酸残基、または少なくとも250個の連続アミノ酸残基を含むペプチドまたはポリペプチドを意味し、このペプチドまたはポリペプチドは別の異なるポリペプチドの少なくとも1つの機能を保持する。

【0081】

本明細書で用いる用語「融合タンパク質」は、第1のタンパク質またはその機能性断片、類似体もしくはその誘導体のアミノ酸配列と異種タンパク質（すなわち、第1のタンパク質またはその機能性断片、類似体もしくは誘導体と異なる第2のタンパク質またはその機能性断片、類似体もしくは誘導体）のアミノ酸配列とを含むポリペプチドを意味する。特別な実施形態において、融合タンパク質はCD3結合分子と異種タンパク質、ポリペプチド、またはペプチドを含む。

【0082】

本明細書で用いる用語「宿主細胞」は核酸分子をトランスフェクトした特別な対象細胞およびかかる細胞の子孫または潜在的子孫を意味する。かかる細胞の子孫は、後の世代で起こりうる突然変異もしくは環境上の影響または核酸分子の宿主細胞ゲノムへの組込みによって、核酸分子を用いてトランスフェクトした親細胞と同一でなくてもよい。

【0083】

本明細書で用いる用語「ストリン杰ントな条件下でハイブリダイズする」は、お互いに少なくとも60%（65%、70%、好ましくは75%、80%、85%、およびより好ましくは90%、または95%）同一であるヌクレオチド配列が、典型的にはお互いとハイブリダイズして残る、ハイブリダイゼーションおよび洗浄の条件を記載する。かかるストリン杰ントな条件は当業者に公知であり、Current Protocols in Molecular Biology, John Wiley & Sons, N.Y. (1989), 6.3.1-6.3.6.に見出すことができる。一つの非限定的な例において、ストリン杰ントなハイブリダイゼーション条件は、6×塩化ナトリウム／クエン酸ナトリウム(SSC)中の約45%でのハイブリダイゼーションと次いで0.1×SSC、0.2% SDS中の約68%での1回以上の洗浄からなる。好ましい非限定的な例では、ストリン杰ントなハイブリダイゼーション条件は、6×SSC中の約45%でのハイブリダイゼーション、次いで、0.2×SSC、0.1% SDS中の約50～65%での1回以上の洗浄（すなわち、50%、55%、60%または65%での1回以上の洗浄）からなる。本発明の核酸は、これらの条件下で、AまたはT

ヌクレオチドだけから構成されるヌクレオチド配列と専らハイブリダイズする核酸分子を含まないことが判っている。

【0084】

本明細書で用いる用語「低血糖の症状発現」は、被験者における60mg/dL未満の血糖レベルを意味し、このレベルは発汗、吐き気、視力障害（例えば、スポットが見える）、震え、唇及び／又は舌の麻痺、いらいら、失神、冷たく湿った皮膚、錯乱、神経過敏、脱力感、及び／又は心拍数上昇などの低血糖症の典型的な症候群をもたらす。

【0085】

本明細書で用いる用語「免疫調節薬」およびその変種は宿主の免疫系をモジュレートする薬剤を意味する。ある特定の実施形態において、免疫調節薬は免疫抑制薬である。ある特定の他の実施形態において、免疫調節薬は免疫刺激薬である。免疫調節薬には、限定されるものでないが、小分子、ペプチド、ポリペプチド、融合タンパク質、抗体、無機分子、模倣薬、および有機分子が含まれる。

10

【0086】

本明細書で用いる用語「免疫特異的に抗原と結合する」および類似の用語は、ある抗原またはある断片と特異的に結合するが、他の抗原と特異的に結合しないペプチド、ポリペプチド、融合タンパク質および抗体またはその断片を意味する。例えば、イムノアッセイ、ビアコア(BIAcore)、または当技術分野で公知の他のアッセイで測定したとき、ある抗原と免疫特異的に結合するペプチドまたはポリペプチドは、他のペプチドまたはポリペプチドとはより低い親和性で結合しうる。ある抗原と免疫特異的に結合する抗体または断片は関連する抗原と交差反応しうる。好ましくは、ある抗原と免疫特異的に結合する抗体または断片は他の抗原と交差反応しない。

20

【0087】

本明細書で用いる用語「CD3ポリペプチドと免疫特異的に結合する」および類似の用語は、CD3ポリペプチドまたはその断片と特異的に結合するが、他のポリペプチドと特異的に結合しないペプチド、ポリペプチド、融合タンパク質および抗体またはその断片を意味する。CD3ポリペプチドと免疫特異的に結合するペプチドまたはポリペプチドは、例えば、イムノアッセイ、ビアコア(BIAcore)、または当技術分野で公知の他のアッセイで測定したとき、より低い親和性で他のペプチドまたはポリペプチドと結合しうる。CD3ポリペプチドと免疫特異的に結合する抗体または断片は、関連する抗原と交差反応しうる。好ましくは、CD3ポリペプチドまたはその断片と免疫特異的に結合する抗体または断片は、他の抗原と交差反応しない。CD3ポリペプチドと免疫特異的に結合する抗体または断片は、例えば、イムノアッセイ、ビアコア(BIAcore)、または当技術分野で公知の他の技法を用いて同定することができる。ラジオイムノアッセイ(RIA)や酵素結合イムノソルベントアッセイ(ELISA)などの実験手法を用いて測定して、ある抗体またはその断片が他のどのような交差反応性の抗原と結合するよりも高い親和性でCD3ポリペプチドと結合する場合、その抗体または断片はCD3ポリペプチドと特異的に結合する。抗体特異性に関する考察については、例えば、Paul, ed., 1989, Fundamental Immunology Second Edition, Raven Press, New York at pages 332-336を参照されたい。

30

【0088】

本明細書で用いる用語「組合せて」は2種以上の予防薬および／または治療薬を使用することを意味する。用語「組合せて」の使用は、疾患または障害を有する被験者に予防薬および／または治療薬を投与する順序を限定しない。第1の予防薬もしくは治療薬を、第2の予防薬もしくは治療薬（第1の予防薬もしくは治療薬と異なる）の投与の前に（例えば、5分、15分、30分、45分、1時間、2時間、4時間、6時間、12時間、24時間、48時間、72時間、96時間、1週間、2週間、3週間、4週間、5週間、6週間、8週間、または12週間に）、投与と同時に、または投与の後に（例えば、5分、15分、30分、45分、1時間、2時間、4時間、6時間、12時間、24時間、48時間、72時間、96時間、1週間、2週間、3週間、4週間、5週間、6週間、8週間、または12週間に後）、疾患または障害を有する被験者に投与することができる。

40

50

【0089】

本明細書において、ペプチド、ポリペプチド、融合タンパク質、又は抗体の関連における用語「単離された」は、そこからこれが得られた細胞又は組織源からの細胞物質又は汚染タンパク質を実質的に含まないか、又は化学合成した場合は化学前駆体又は他の化学物質を実質的に含まない、ペプチド、ポリペプチド、融合タンパク質、又は抗体を意味する。「細胞物質を実質的に含まない」という表現は、ペプチド、ポリペプチド、融合タンパク質、又は抗体が、これが単離されたか又は組換え產生された細胞の細胞成分からペプチド、ポリペプチド、融合タンパク質、又は抗体が分離している、ペプチド、ポリペプチド、融合タンパク質、又は抗体の調製物を含む。すなわち細胞物質を実質的に含まないペプチド、ポリペプチド、融合タンパク質、又は抗体は、異種タンパク質（ここでは「汚染タンパク質」とも呼ぶ）の約30%、20%、10%、又は5%（乾燥重量）未満を有するペプチド、ポリペプチド、融合タンパク質、又は抗体の調製物を含む。ペプチド、ポリペプチド、融合タンパク質、又は抗体が組換え產生される時は、これはまた好ましくは培養培地を実質的に含まず、すなわち培養培地は、タンパク質調製物の容量の約20%、10%、又は5%未満である。ペプチド、ポリペプチド、融合タンパク質、又は抗体が化学合成により產生される時は、これは好ましくは化学前駆体又は他の化学物質を実質的に含まず、すなわちペプチド、ポリペプチド、融合タンパク質、又は抗体の合成に關与する化学前駆体又は他の化学物質から分離している。従ってペプチド、ポリペプチド、融合タンパク質、又は抗体のかかる調製物は、目的のペプチド、ポリペプチド、融合タンパク質、又は抗体以外の化学前駆体又は化合物の約30%、20%、10%、5%（乾燥重量）未満を有する。好ましい実施形態において、CD3結合分子は単離されている。他の好ましい実施形態において、抗CD3抗体は単離されている。10

【0090】

本明細書において、核酸分子との関連における用語「単離された」は、天然起源の核酸分子中に存在する他の核酸分子から分離されている核酸分子を意味する。さらに「単離された」核酸分子（例えばcDNA分子）は、組換え法により生産された場合には他の細胞物質もしくは培地を実質的に含まない、又は化学合成された場合には化学前駆体又は他の化学物質を実質的に含まない、そして核酸ライブラリー中の他のクローンから単離された場合にはcDNAもしくは他のゲノムDNA分子を含まない。ある好ましい実施形態において、CD3結合分子をコードする核酸分子は単離されている。他の好ましい実施形態において、抗CD3抗体をコードする核酸分子は単離されている。20

【0091】

本明細書において用語「非応答性」及び「不応性」は、現在利用できる自己免疫疾患の予防薬又は治療薬で治療されていて、自己免疫疾患が引き起こす1つ又はそれ以上の症状を軽減するのに臨床的に充分ではない患者を示す。典型的にはかかる患者は、重症の持続性の活動期の疾患に罹っていて、その自己免疫疾患に關連する症状を改善するには追加の療法を必要とする。30

【0092】

1型糖尿病について本明細書で用いる用語、疾患の「発症」は、1型糖尿病の診断について米国糖尿病学会（American Diabetes Association）により確立されている判定基準（Mayfield et al., 2006, Am. Fam. Physician 58:1355-1362を参照）に適合する患者を意味する。40

【0093】

本明細書で用いる用語「核酸」および「ヌクレオチド配列」は、DNA分子（例えば、cDNAまたはゲノムDNA）、RNA分子（例えば、mRNA）、DNA分子とRNA分子の組合せまたはハイブリッドDNA / RNA分子、およびDNAまたはRNA分子の類似体を含む。かかる類似体は、例えば、限定されるものでないが、イノシンやトリチル化塩基を含むヌクレオチド類似体を用いて作製することができる。かかる類似体はまた、ヌクレアーゼ耐性または細胞膜横断能の増加などの、その分子に有利な特性を与える主鎖の改変を有するDNAまたはRNA分子を含みうる。核酸またはヌクレオチド配列は1本鎖であっても2本鎖であってもよく、1本鎖部50

分と2本鎖部分の両方を含んでもよく、また、3本鎖部分を含んでもよいが、好ましくは2本鎖DNAである。

【0094】

本明細書で用いる用語「予防薬」は、自己免疫疾患の1以上の症候群の予防、治療、管理または改善に用いることができるCD3結合分子を意味する。ある特定の実施形態において、用語「予防薬」は抗ヒトCD3抗体（例えば、OKT3ならびにその変異体および誘導体）を意味する。

【0095】

本明細書で用いる用語「予防上有効な量」は、障害の1以上の症候群の発生、再発または発症を予防するのに十分なCD3結合分子の量を意味する。ある特定の実施形態において、用語「予防上有効な量」は、障害の1以上の症候群の発生、再発または発症を予防するのに十分な抗ヒトCD3抗体の量を意味する。

10

【0096】

本明細書中で用いる用語「予防する」および「予防」は、予防薬もしくは治療薬投与または療法の組合せ（例えば、予防および／または治療薬）の結果としてもたらされる、被験者における自己免疫障害または炎症障害の1以上の症候群の再発または発症の予防を意味する。

【0097】

本明細書中で用いる用語「プロトコル」は、投与スケジュールおよび投与レジメンを含む。本明細書においてプロトコルは使用の方法であり、予防および治療プロトコルを含む。「投与レジメン」または「治療のコース」は1～20日にわたる治療薬または予防薬のいくつかの用量の投与を含みうる。

20

【0098】

本明細書中で用いる表現「副作用」は予防薬もしくは治療薬の欲しない作用および有害な作用を包含するが、欲しない作用は必ずしも有害ではない。

【0099】

本明細書で用いる用語「被験者（または被験体）」および「患者」は互換的に用いられる。本明細書で用いる用語「被験者（または被験体）」は、動物、好ましくは非霊長類（例えば、ウシ、ブタ、ウマ、ネコ、イヌ、ラット、およびマウス）および霊長類（例えば、サルまたはヒト）を含む哺乳動物、より好ましくはヒトを意味する。

30

【0100】

本明細書で用いる用語「相乗的」は、個々に投与するときの組合せの薬剤の相加効果よりもさらに効果的である予防薬もしくは治療薬の組合せを意味する。予防薬もしくは治療薬の組合せの相乗効果は、自己免疫障害を患う被験者に対する1種以上の薬剤のより低い用量および／または前記薬剤のより低い頻度の投与の使用を可能にしうる。予防薬もしくは治療薬のより低い用量を利用できることおよび／または前記薬剤をより低い頻度で投与できることは、自己免疫障害の予防または治療における前記薬剤の効力を低下させることなく前記薬剤の被験者への投与に関連する毒性を軽減する。さらに、相乗効果は自己免疫障害の予防または治療における薬剤の効力の改善をもたらす。最後に、予防薬もしくは治療薬の組合せの相乗効果は単剤治療法に関連する有害な欲しない副作用を回避または低下しうる。

40

【0101】

本明細書で用いる用語「治療薬」は自己免疫疾患または炎症疾患の1以上の症候群の予防、治療、管理または改善に用いることができるCD3結合分子を意味する。ある特定の実施形態において、用語「治療薬」は抗ヒトCD3抗体（例えば、OKT3およびその変異体もしくは誘導体）を意味する。

【0102】

本明細書で用いる用語「治療上有効な量」は、障害の1以上の症候群の改善をもたらすのに十分な治療薬の量を意味する。糖尿病についての治療上有効な量は、好ましくは被験者の平均毎日インスリン必要量を少なくとも20%、少なくとも25%、少なくとも30%、少

50

なくとも35%、少なくとも40%、少なくとも45%、少なくとも50%、少なくとも55%、少なくとも60%、少なくとも65%、少なくとも70%、少なくとも75%、少なくとも80%、少なくとも85%、少なくとも90%、少なくとも95%だけ低下する。

【0103】

本明細書で用いる用語「治療」は、1種以上のCD3結合分子の投与からもたらされる、1以上の自己免疫障害または炎症障害に関連する1以上の症候群の改善を意味する。特に、かかる用語は1種以上の抗ヒトCD3抗体の投与からもたらされる自己免疫障害に関連する1以上の症候群の改善を意味する。

【図面の簡単な説明】

【0104】

4. 図面の説明

【図1A】図1Aおよび1Bはヒト化OKT3可変域の配列である。図1Aおよび図1Bは、OKT3軽鎖のアラインメント（図1A）（配列番号1）および重鎖（図1B）（配列番号5）可変ドメインアミノ酸配列（行1）、軽および重鎖受容体フレームワークとして選んだヒト抗体からの可変ドメイン配列（行2）（それぞれ、配列番号2および6）、ならびにヒト化OKT3可変ドメイン配列（行3～5）（配列番号3、配列番号4、配列番号7、配列番号8および配列番号9）を示す。CDR選択は單一下線を引いた。行3～5はヒト受容体配列からの相違部分だけを示し、非CDR相違部は二重下線で示した。ダッシュはアラインメントを最大化するために配列に導入したギャップを示す。番号付けは、参照により本明細書に組み入れられる、Kabat et al., Sequences of Proteins of Immunological Interest, 5th Ed. Public Health Service, NH1, MD (1991)に従った。

【図1B】図1Aおよび1Bはヒト化OKT3可変域の配列である。図1Aおよび図1Bは、OKT3軽鎖のアラインメント（図1A）（配列番号1）および重鎖（図1B）（配列番号5）可変ドメインアミノ酸配列（行1）、軽および重鎖受容体フレームワークとして選んだヒト抗体からの可変ドメイン配列（行2）（それぞれ、配列番号2および6）、ならびにヒト化OKT3可変ドメイン配列（行3～5）（配列番号3、配列番号4、配列番号7、配列番号8および配列番号9）を示す。CDR選択は單一下線を引いた。行3～5はヒト受容体配列からの相違部分だけを示し、非CDR相違部は二重下線で示した。ダッシュはアラインメントを最大化するために配列に導入したギャップを示す。番号付けは、参照により本明細書に組み入れられる、Kabat et al., Sequences of Proteins of Immunological Interest, 5th Ed. Public Health Service, NH1, MD (1991)に従った。

【図2A】図2Aおよび2Bは、それぞれヒト化OKT3 1の軽鎖のヌクレオチドおよびアミノ酸配列を示す（それぞれ、配列番号10および11）。

【図2B】図2Aおよび2Bは、それぞれヒト化OKT3 1の軽鎖のヌクレオチドおよびアミノ酸配列を示す（それぞれ、配列番号10および11）。

【図2C】図2Cおよび2Dは、それぞれヒト化OKT3 1(ala-ala)の重鎖のヌクレオチドおよびアミノ酸配列を示す（それぞれ、配列番号12および13）。

【図2D】図2Cおよび2Dは、それぞれヒト化OKT3 1(ala-ala)の重鎖のヌクレオチドおよびアミノ酸配列を示す（それぞれ、配列番号12および13）。

【図3】図3は、ヒト化OKT3のコード領域を含有しつつCHO細胞においてヒト化抗体の発現を促進できる哺乳動物の発現ベクターpMGX1303の模式図を示す。

【発明を実施するための形態】

【0105】

5 発明の詳細な説明

本発明はタンパク質、特に、ヒトT細胞受容体（またはTcR）と結合したCD3複合体に対する抗体を用いて、自己免疫疾患または障害を治療し、予防し、進行を緩慢にし、そして症候群を改善する方法を提供する。特別な実施形態において、抗体はCD3複合体のサブユニットと結合する。本発明の方法には、本明細書に記載のまたは当技術分野で公知の抗ヒトCD3抗体、例えば、OKT3、ChAglyCD3（TRX4（登録商標））、HUM291（ビジリズマブ（vifilizumab；NUVION（登録商標）））、UCHT1、Leu4、500A2、CLB-T3/3、BMA030およびYTH1

10

20

30

40

50

2.5、ならびにその変種または誘導体を用いることができる。本発明の一実施形態において、抗体はOKT3、好ましくはOKT3のヒト化バージョンまたは、例えば、免疫沈降アッセイまたはELISAにより測定したときに、結合をOKT3と競合する抗体である。他の実施形態において、抗体は1以上のアミノ酸残基が改変されていて、例えば、Fcドメインの残基番号234にアラニン、およびFcドメインの残基番号235にアラニンを有する非改変ヒト化OKT3抗体と比較すると、T細胞活性化および/またはFcR結合の低下を示すヒト化OKT3である。好ましくは、抗ヒトCD3抗体を、前の投与レジメンより低い投与量でまたは短い期間にわたって投与する。特に、本発明が意図する投与レジメンでは、9,000 μg/m²未満、好ましくは、8,000 μg/m²未満、7,500 μg/m²未満、7,000 μg/m²未満、または6,000 μg/m²未満の合計抗ヒトCD3抗体、特にOKT3 1(ala-ala)を、投薬期間にわたって静脈内投与する、またはこのOKT3 1(ala-ala)の用量と薬理学当量の他の抗ヒトCD3抗体を静脈内投与する、および/またはいずれかの抗ヒトCD3抗体を静脈以外の投与経路ならびに慢性投与方法および再投与もしくは反復投与方法により投与する。

10

【0106】

抗CD3mAbはヒトTcRと結合したインバリアント・タンパク質複合体に対する強力な免疫抑制剤である (Van Wauwe, 1980, J. Immunol. 124:2708)。CD3複合体は、TcRとそのリガンドとの結合時に惹起した活性化シグナルを伝達するアクセサリー構造であると思われる。抗CD3抗体OKT3とTcRとの結合は、TcR遮断を媒介してアロ抗原認識および細胞介在性細胞傷害を阻止する (Landegren et al, 1982, J. Exp. Med. 155:1579; van Sechteren et al, 1987, J. Immunol. 139:2545; Weiss et al, 1986, Ann. Rev. Immunol. 4:593)。しかし、OKT3および他の抗CD3抗体を含む、いくつかの免疫細胞に対する抗体の投与は、IL-2、IL-6、TNF-α およびIFN-γ を含む数種のサイトカインの全身放出を含むT細胞活性化を誘発しうる (Abramowicz, 1989, Transplantation, 47:606-608; Chatenoud, 1989, New Eng. J. Med. 320:1420-1421)。このサイトカインの産生はmAbの最初の注入後にしばしば観察される有害な副作用と関係付けられていて (Van Wauwe, 1980, J. Immunol. 124:2708; Chatenoud, 1989, New Eng. J. Med. 320:1420-1421; Thistlethwaite, 1988, Am J Kidney Dis., 11:112-9)、治療の1もしくは2週間後に数人の患者で起こる抗アイソタイプおよび抗イディオタイプ抗体の産生を増加しうる。この免疫反応は特異的抗体、ならびに同じクラス(アイソタイプ)の他の抗体を中和しうるので、その後の治療を不可能にする (Thistlethwaite, 1988, Am J Kidney Dis. 11:112-9)。

20

30

【0107】

いくつかの確証は、これらの副作用が、例えば、OKT3を含む抗体のFc部分を介するTリンパ球とFc受容体(FcR)保持細胞の間の架橋の結果であり、この架橋が両方の細胞型の活性化をもたらすことを示唆する (Debets, 1990, J. Immunol. 144:1304; Krutman, 1990, J. Immunol. 145:1337) : 1) 抗CD3mAbは、プラスチックに固定されるかまたは培養に含まれるFcR+抗原を提示する細胞と結合しない限り、in vitroでT細胞増殖を刺激しなかった (van Lier, 1989, Immunol. 68:45) ; 2) FcRIとIIを介するOKT3の架橋は、in vitroでIL-2に応答して増殖を増強した (van Lier, 1987, J. Immunol. 139:2873) ; 3) 145-2C11(マウスCD3複合体に対するハムスターモノクローナル抗体)により誘発されるマウスT細胞の増殖は抗FcR抗体、2.4G2によりブロックすることができた ; 4) 145-2C11のF(ab')₂断片のマウスへの注入は、完全なT細胞活性化を誘発することなく有意な免疫抑制を誘発し (Hirsch, 1990, Transplantation, 49:1117-23)、マウスにおいて全抗体より毒性が低かった (Alegre, 1990, Transplant Proc. 22:1920-1) ; ならびに5) OKT3 IgG2aと比較してFcR介在性T細胞活性化の低下を示すOKT3 IgAスイッチ変異体の投与は、in vivoでチンパンジーにおいてさらに少い副作用しかもたらさなかった (Parlevliet, 1990, Brief Communications 50:889-892)。

40

【0108】

ある特定の抗CD3抗体の投与はまた、一過性レトロウイルス活性化、特に休止状態エプスタイン・バーウィルス(EBV)感染の活性化を伴った。抗CD3抗体治療はまた、活性化T細胞に対して溶解性があり、いくつかのT細胞集団に対してアポトーシス性であることも

50

見出された。これらの作用の理由は不明であるが、これらは用量と関係がありおそらく最適ではないシグナル伝達をもたらすTcR複合体のモジュレーションの結果であろう。

【0109】

このように、抗CD3-mAb療法の改善は、抗体を分子的に修飾してFcRに対する親和性を低下することにより得られる。得られた変異Abはin vivoで細胞活性化の低下をもたらしつつ毒性を低下しうるが、抗体の元来の免疫抑制特性は保持する。

【0110】

5.1 CD3ポリペプチドと免疫特異的に結合する抗体

CD3ポリペプチドと免疫特異的に結合する抗体が当技術分野で公知であることは認識されている。CD3ポリペプチドと免疫特異的に結合する公知の抗体の例としては、限定されるものでないが、OKT3、HuM291、ChAgyCD3、UCHT1、Leu4、500A2、CLB-T3/3、BMA030、YTH12.5およびラットCD3抗体 (Herold et al., 2005, Diabetes 54:1763-1769 ; Carpenter et al., 2005, Biol. Blood Marrow Transplant 11:465-471 ; Keymeulen et al., 2005, N. Engl. J. Med. 352:26422644 ; Schwinzer et al., 1992, J. Immunol. 148:1322-1328 ; Tsoukas et al., 1985, J. Immunol. 135:1719-1723 ; 米国特許第6,491,916号 ; Brams et al., 1989, Immunol., 66:348-353 ; van Lier et al., 1989, Immunol. 68:45-50 ; Walker et al., 1987, Eur. J. Immunol. 17:1611-1618 ; Routledge et al., 1991, Eur. J. Immunol. 21:2717-2725をそれぞれ参照されたい) が挙げられる。

10

【0111】

本発明は、T細胞などの免疫細胞により発現されるCD3ポリペプチドと免疫特異的に結合する抗体であってかつ前記T細胞の活性または機能をモジュレートする前記抗体を用いて、自己免疫障害を治療し、予防し、その症候群の進行を緩慢にしかつ改善する方法を提供する。具体的な実施形態において、CD3ポリペプチドと免疫特異的に結合する抗体はリンパ球、好ましくは末梢血T細胞の活性を直接または間接にモジュレートする。特に、本発明は、T細胞により発現されるCD3ポリペプチドと免疫特異的に結合する抗体であって、末梢血T細胞の活性をモジュレートする抗体を提供する。

20

【0112】

具体的な実施形態において、CD3ポリペプチドと免疫特異的に結合する抗体は、本明細書に記載のまたは当業者に周知のin vivoまたはin vitroアッセイで、T細胞活性化を少なくとも25%、少なくとも30%、少なくとも35%、少なくとも40%、少なくとも50%、少なくとも55%、少なくとも60%、少なくとも65%、少なくとも70%、少なくとも75%、少なくとも80%、少なくとも85%、少なくとも90%、少なくとも95%、または少なくとも98%だけ阻害しかつT細胞増殖を少なくとも25%、少なくとも30%、少なくとも35%、少なくとも40%、少なくとも50%、少なくとも55%、少なくとも60%、少なくとも65%、少なくとも70%、少なくとも75%、少なくとも80%、少なくとも85%、少なくとも90%、少なくとも95%、または少なくとも98%だけ阻害する。他の実施形態において、CD3ポリペプチドと免疫特異的に結合する抗体は、本明細書に記載のまたは当業者に周知のin vivoまたはin vitroアッセイで、T細胞によるアロ抗原認識を少なくとも25%、少なくとも30%、少なくとも35%、少なくとも40%、少なくとも50%、少なくとも55%、少なくとも60%、少なくとも65%、少なくとも70%、少なくとも75%、少なくとも80%、少なくとも85%、少なくとも90%、少なくとも95%、または少なくとも98%だけ阻害する。他の実施形態において、CD3ポリペプチドと免疫特異的に結合する抗体は、本明細書に記載のまたは当業者に周知のin vivoまたはin vitroアッセイで、T細胞介在性細胞傷害を少なくとも25%、少なくとも30%、少なくとも35%、少なくとも40%、少なくとも50%、少なくとも55%、少なくとも60%、少なくとも65%、少なくとも70%、少なくとも75%、少なくとも80%、少なくとも85%、少なくとも90%、少なくとも95%、または少なくとも98%だけ阻害する。

30

40

【0113】

他の実施形態において、本発明の方法はCD3ポリペプチドと免疫特異的に結合する抗体を使用し、本明細書に記載のまたは当業者に周知のin vivoまたはin vitroアッセイでサ

50

イトカイン発現および／または放出を誘導しないかまたは低下する（無改变の抗体、例えば、マウスOKT3モノクローナル抗体と比較して）。具体的な実施形態において、CD3ポリペプチドと免疫特異的に結合する抗体は、かかる抗体を投与した被験者の血清中の例えば、IFN- γ 、IL-2、IL-4、IL-6、IL-9、IL-12、およびIL-15などのサイトカイン濃度の増加を誘導しない。代わりの実施形態において、CD3ポリペプチドと免疫特異的に結合する抗体は、本明細書に記載のまたは当業者に周知のin vivoまたはin vitroアッセイでサイトカイン発現および／または放出を誘導するが、マウスOKT3モノクローナル抗体などの無改变の抗ヒトCD3抗体により誘導されるレベルより低いレベルである。サイトカインの血清濃度は、例えば、ELISAなどの当業者に周知のいずれの技法により測定することができる。

10

【0114】

他の実施形態において、CD3ポリペプチドと免疫特異的に結合する抗体は、当業者に周知のin vivoまたはin vitroアッセイで、T細胞アネルギーを誘導する。代わりの実施形態において、CD3ポリペプチドと免疫特異的に結合する抗体は、当業者に周知のin vivoまたはin vitroアッセイで、T細胞アネルギーを誘導しない。他の実施形態において、CD3ポリペプチドと免疫特異的に結合する抗体は、当業者に周知のin vivoまたはin vitroアッセイで、少なくとも30分間、少なくとも1時間、少なくとも2時間、少なくとも6時間、少なくとも12時間、少なくとも24時間、少なくとも2日間、少なくとも5日間、少なくとも7日間、少なくとも10日間またはそれ以上、抗原特異的非応答性の状態を誘導する。

20

【0115】

他の実施形態において、CD3ポリペプチドと免疫特異的に結合する抗体は、当業者に周知のin vivoまたはin vitroアッセイで、T細胞活性化を少なくとも25%、少なくとも30%、少なくとも35%、少なくとも40%、少なくとも50%、少なくとも55%、少なくとも60%、少なくとも65%、少なくとも70%、少なくとも75%、少なくとも80%、少なくとも85%、少なくとも90%、少なくとも95%、または少なくとも98%だけ阻害しかつT細胞増殖を少なくとも25%、少なくとも30%、少なくとも35%、少なくとも40%、少なくとも50%、少なくとも55%、少なくとも60%、少なくとも65%、少なくとも70%、少なくとも75%、少なくとも80%、少なくとも85%、少なくとも90%、少なくとも95%、少なくとも98%だけ阻害する。

30

【0116】

さらに他の実施形態において、CD3ポリペプチドと免疫特異的に結合する抗体は、当業者に周知のin vivoまたはin vitroアッセイで、T細胞コーティングまたはモジュレーションを少なくとも50%、少なくとも55%、少なくとも60%、少なくとも65%、少なくとも70%、少なくとも75%、少なくとも80%、少なくとも85%、少なくとも90%、少なくとも95%、または少なくとも98%だけ達成しかつT細胞増殖を少なくとも25%、少なくとも30%、少なくとも35%、少なくとも40%、少なくとも50%、少なくとも55%、少なくとも60%、少なくとも65%、少なくとも70%、少なくとも75%、少なくとも80%、少なくとも85%、少なくとも90%、少なくとも95%、少なくとも98%、少なくとも99%、および好ましくは100%だけ阻害する。

40

【0117】

他の実施形態において、CD3ポリペプチドと免疫特異的に結合する抗体のFcドメインは、T細胞、単球、およびマクロファージなどの免疫細胞により発現される1以上のFc受容体（「FcR」）FcRI、FcRII、および／またはFcRIIIと検出できる程度に結合しない。

【0118】

CD3ポリペプチドと免疫特異的に結合する抗体としては、限定されるものでないが、モノクローナル抗体、多特異的抗体、ヒト抗体、ヒト化抗体、キメラ抗体、1本鎖Fv(scFv)、1本鎖抗体、Fab断片、F(ab')断片、F(ab')₂断片、ジスルフィド連結Fv(sdFv)、および抗イディオタイプ(抗Id)抗体（例えば、本発明の抗体に対する抗Id抗体を含む）、ならびに以上のいずれかのエピトープ結合断片が挙げられる。特に、CD3ポリペプチドと免疫特異的に結合する抗体としては、免疫グロブリン分子および免疫グロブリン分子の免疫学的

50

活性部分、すなわち、CD3ポリペプチドと免疫特異的に結合する抗原結合部位を含有する分子が挙げられる。本発明の免疫グロブリン分子は、免疫グロブリン分子のいずれの型（例えば、IgG、IgE、IgM、IgD、IgAおよびIgY）、クラス（例えば、IgG₁、IgG₂、IgG₃、IgG₄、IgA₁およびIgA₂）またはサブクラスであってもよい。具体的な実施形態において、CD3ポリペプチドと免疫特異的に結合しかつT細胞の活性を媒介する抗体はFcドメインまたはその断片（例えば、FcドメインのCH2、CH3、および／またはヒンジ域）を含む。ある好ましい実施形態において、CD3ポリペプチドと免疫特異的に結合しかつT細胞の活性を媒介する抗体は、免疫細胞により発現されるFcR（例えば、1以上のFcRI、FcRIIまたはFcRIII）と検出できる程度に結合しないまたは野生型Fcドメインをもつ抗体と比較してFcR結合の低下したFcドメインまたはその断片を含む。

10

【0119】

CD3ポリペプチドと免疫特異的に結合する抗体は、鳥類および哺乳動物（例えば、ヒト、マウス、ロバ、ヒツジ、ウサギ、ヤギ、モルモット、ラクダ、ウマ、またはニワトリ）を含むいずれの動物起源由来であってもよい。好ましくは、本発明の抗体はヒト、ヒト化またはキメラモノクローナル抗体である。ヒトCD3ポリペプチドと免疫特異的に結合する抗体としては、ヒト免疫グロブリンのアミノ酸配列を有する抗体およびヒト免疫グロブリンライブラリーからまたはヒト遺伝子由来の抗体を発現するマウスから単離された抗体が挙げられる。

【0120】

CD3ポリペプチドと免疫特異的に結合する抗体は单特異的、二特異的、三特異的または多特異的であってもよい。多特異的抗体はCD3ポリペプチドの異なるエピトープに対して特異的であってもよいし、またはCD3ポリペプチドならびに異種エピトープ（例えば異種ポリペプチドもしくは固体支持体物質）の両方に対して特異的であってもよい。例えば、PCT公報WO 93/17715、WO 92/08802、WO 91/00360、およびWO 92/05793；Tutt、et al、J. Immunol. 147：60-69（1991）；米国特許第4,474,893号、第4,714,681号、第4,925,648号、第5,573,920号、および第5,601,819号；ならびにKostelny et al、J. Immunol. 148：1547-1553（1992）を参照されたい。

20

【0121】

本発明は、CD3ポリペプチドと高い結合親和性を有する抗体を提供する。具体的な実施形態において、CD3ポリペプチドと免疫特異的に結合する抗体は少なくとも $10^5 M^{-1} s^{-1}$ 、少なくとも $5 \times 10^5 M^{-1} s^{-1}$ 、少なくとも $10^6 M^{-1} s^{-1}$ 、少なくとも $5 \times 10^6 M^{-1} s^{-1}$ 、少なくとも $10^7 M^{-1} s^{-1}$ 、少なくとも $5 \times 10^7 M^{-1} s^{-1}$ 、または少なくとも $10^8 M^{-1} s^{-1}$ の結合速度定数または k_{on} 速度（抗体（Ab）+抗原（Ag） kon Ab-Ag）を有する。ある好ましい実施形態において、CD3ポリペプチドと免疫特異的に結合する抗体は少なくとも $2 \times 10^5 M^{-1} s^{-1}$ 、少なくとも $5 \times 10^5 M^{-1} s^{-1}$ 、少なくとも $10^6 M^{-1} s^{-1}$ 、少なくとも $5 \times 10^6 M^{-1} s^{-1}$ 、少なくとも $10^7 M^{-1} s^{-1}$ 、少なくとも $5 \times 10^7 M^{-1} s^{-1}$ 、または少なくとも $10^8 M^{-1} s^{-1}$ の k_{on} を有する。

30

【0122】

他の実施形態において、CD3ポリペプチドと免疫特異的に結合する抗体は $10^{-1} s^{-1}$ 未満、 $5 \times 10^{-1} s^{-1}$ 未満、 $10^{-2} s^{-1}$ 未満、 $5 \times 10^{-2} s^{-1}$ 未満、 $10^{-3} s^{-1}$ 未満、 $5 \times 10^{-3} s^{-1}$ 未満、 $10^{-4} s^{-1}$ 未満、 $5 \times 10^{-4} s^{-1}$ 未満、 $10^{-5} s^{-1}$ 未満、 $5 \times 10^{-5} s^{-1}$ 未満、 $10^{-6} s^{-1}$ 未満、 $5 \times 10^{-6} s^{-1}$ 未満、 $10^{-7} s^{-1}$ 未満、 $5 \times 10^{-7} s^{-1}$ 未満、 $10^{-8} s^{-1}$ 未満、 $5 \times 10^{-8} s^{-1}$ 未満、 $10^{-9} s^{-1}$ 未満、 $5 \times 10^{-9} s^{-1}$ 、または $10^{-10} s^{-1}$ 未満の k_{off} 速度（抗体（Ab）+抗原（Ag） koff Ab-Ag）を有する。ある好ましい実施形態において、CD3ポリペプチドと免疫特異的に結合する抗体は $5 \times 10^{-4} s^{-1}$ 未満、 $10^{-5} s^{-1}$ 未満、 $5 \times 10^{-5} s^{-1}$ 未満、 $10^{-6} s^{-1}$ 未満、 $5 \times 10^{-6} s^{-1}$ 未満、 $10^{-7} s^{-1}$ 未満、 $5 \times 10^{-7} s^{-1}$ 未満、 $10^{-8} s^{-1}$ 未満、 $5 \times 10^{-8} s^{-1}$ 未満、 $10^{-9} s^{-1}$ 未満、 $5 \times 10^{-9} s^{-1}$ 未満、または $10^{-10} s^{-1}$ 未満の k_{off} を有する。

40

【0123】

他の実施形態において、CD3ポリペプチドと免疫特異的に結合する抗体は、少なくとも $10^2 M^{-1}$ 、少なくとも $5 \times 10^2 M^{-1}$ 、少なくとも $10^3 M^{-1}$ 、少なくとも $5 \times 10^3 M^{-1}$ 、少なくとも $10^4 M^{-1}$ 、少なくとも $5 \times 10^4 M^{-1}$ 、少なくとも $10^5 M^{-1}$ 、少なくとも $5 \times 10^5 M^{-1}$ 、少なくとも $10^6 M^{-1}$

50

¹、少なくとも $5 \times 10^6 M^{-1}$ 、少なくとも $10^7 M^{-1}$ 、少なくとも $5 \times 10^7 M^{-1}$ 、少なくとも $10^8 M^{-1}$ 、少なくとも $5 \times 10^8 M^{-1}$ 、少なくとも $10^9 M^{-1}$ 、少なくとも $5 \times 10^9 M^{-1}$ 、少なくとも $10^{10} M^{-1}$ 、少なくとも $5 \times 10^{10} M^{-1}$ 、少なくとも $10^{11} M^{-1}$ 、少なくとも $5 \times 10^{11} M^{-1}$ 、少なくとも $10^{12} M^{-1}$ 、少なくとも $5 \times 10^{12} M^{-1}$ 、少なくとも $10^{13} M^{-1}$ 、少なくとも $5 \times 10^{13} M^{-1}$ 、少なくとも $10^{14} M^{-1}$ 、少なくとも $5 \times 10^{14} M^{-1}$ 、少なくとも $10^{15} M^{-1}$ 、または少なくとも $5 \times 10^{15} M^{-1}$ の親和性定数または $K_a (k_{on}/k_{off})$ を有する。さらに他の実施形態において、CD3ポリペプチドと免疫特異的に結合する抗体は、 $10^{-2} M$ 未満、 $5 \times 10^{-2} M$ 未満、 $10^{-3} M$ 未満、 $5 \times 10^{-3} M$ 未満、 $10^{-4} M$ 未満、 $5 \times 10^{-4} M$ 未満、 $10^{-5} M$ 未満、 $5 \times 10^{-5} M$ 未満、 $10^{-6} M$ 未満、 $5 \times 10^{-6} M$ 未満、 $10^{-7} M$ 未満、 $5 \times 10^{-7} M$ 未満、 $10^{-8} M$ 未満、 $5 \times 10^{-8} M$ 未満、 $10^{-9} M$ 未満、 $5 \times 10^{-9} M$ 未満、 $10^{-10} M$ 未満、 $5 \times 10^{-10} M$ 未満、 $10^{-11} M$ 未満、 $5 \times 10^{-11} M$ 未満、 $10^{-12} M$ 未満、 $5 \times 10^{-12} M$ 未満、 $10^{-13} M$ 未満、 $5 \times 10^{-13} M$ 未満、 $10^{-14} M$ 未満、 $5 \times 10^{-14} M$ 未満、 $10^{-15} M$ 未満、または $5 \times 10^{-15} M$ 未満の解離定数または $K_d (k_{off}/k_{on})$ を有する。
10

【0124】

具体的な実施形態において、CD3ポリペプチドと免疫特異的に結合する抗体はヒト化OKT3またはその抗原結合断片（例えば、ヒト化OKT3の1以上の相補性決定領域（CDRs））である。OKT3は、例えば、米国特許第4,658,019号、第6,113,901号および第6,491,916号（それぞれが本明細書に参照によりその全てが組み入れられる）に開示されたアミノ酸配列、またはAmerican Type Culture Collection (ATCC (登録商標))，10801 University Boulevard, Manassas, Virginia 20110-2209に1993年7月28日にアクセッション番号CRL-8001（本明細書に参照により組み入れられる）として寄託された細胞株により產生されるモノクローナル抗体のアミノ酸配列を有する。OKT3のいくつかのヒト化バージョンは米国特許第6,491,916号にも報じられている。代わりの実施形態において、CD3ポリペプチドと免疫特異的に結合する抗体は、OKT3、OKT3の誘導体、例えばヒト化OKT3、OKT3の抗原結合断片でなく、または、より好ましくは、そのヒト化またはキメラバージョンでない。
20

【0125】

具体的な実施形態において、本発明はまた、CD3ポリペプチドと免疫特異的に結合する抗体であって、ヒト化OKT3のVHドメインのアミノ酸配列（例えば、配列番号5、配列番号7、配列番号8、または配列番号9；図1B）を有する可変重鎖（「VH」）ドメインを含む前記抗体も提供する。ある好ましい実施形態において、ヒト化OKT3抗体は図2D（配列番号13）に与えたhOKT3 1 (ala-ala) のアミノ酸配列をもつ重鎖、または図2C（配列番号12）に与えたhOKT3 1 (ala-ala) のヌクレオチド配列によりコードされる重鎖を含む。
30

【0126】

具体的な実施形態において、本発明はまた、CD3ポリペプチドと免疫特異的に結合する抗体であって、ヒト化OKT3のVLドメインのアミノ酸配列（例えば、配列番号1、配列番号3、または配列番号4；図1A）を有する可変軽（「VL」）ドメインを含む前記抗体も提供する。ある好ましい実施形態において、ヒト化OKT3抗体は図2B（配列番号11）に与えたhOKT3 1のアミノ酸配列をもつ軽鎖、または図2A（配列番号10）に与えたhOKT3 1のヌクレオチド配列によりコードされる軽鎖を含む。
40

【0127】

本発明はまた、CD3ポリペプチドと免疫特異的に結合する抗体であって、本明細書に開示したVHドメインまたは本明細書に開示した抗体のVHドメインを、本明細書に開示したVLドメインまたは他のVLドメインと組合させて含む前記抗体も提供する。本発明はさらに、CD3ポリペプチドと免疫特異的に結合する抗体であって、本明細書に開示したVLドメイン、または本明細書に開示した抗体のVLドメインを、本明細書に開示したVHドメインもしくは他のVHドメインと組合させて含む前記抗体も提供する。
50

【0128】

一実施形態において、単離された核酸分子は、CD3ポリペプチドと免疫特異的に結合する抗体であって、ヒト化OKT3のVHドメインのアミノ酸配列（例えば、配列番号5；配列番号7、配列番号8；配列番号9、図1B）を有するVHドメインを含む前記抗体をコードする。

【0129】

ある好ましい実施形態において、単離された核酸分子は、CD3ポリペプチドと免疫特異的に結合する抗体であって、図2Dに開示したhOKT3 -1(ala-ala)の重鎖のアミノ酸配列(配列番号13)を有する重鎖を含む前記抗体をコードする。

【0130】

一実施形態において、単離された核酸分子はCD3ポリペプチドと免疫特異的に結合する抗体であって、ヒト化OKT3、例えば、配列番号1；配列番号3または4(図1A)のVLドメインのアミノ酸配列を有するVLドメインを含む前記抗体をコードする。

【0131】

ある好ましい実施形態において、単離された核酸分子は、CD3ポリペプチドと免疫特異的に結合する抗体であって、図2Bに開示したhOKT3 -1の軽鎖のアミノ酸配列(配列番号11)を有する軽鎖を含む前記抗体をコードする。

10

【0132】

他の実施形態において、単離された核酸分子は、CD3ポリペプチドと免疫特異的に結合する抗体であって、ヒト化OKT3のVHドメインのアミノ酸配列、例えば、配列番号7、配列番号8、または配列番号9(図1B)を有するVHドメインおよびヒト化OKT3のVLドメインのアミノ酸配列、例えば、配列番号3または配列番号4(図1A)を有するVLドメインを含む前記抗体をコードする。他の実施形態において、単離された核酸分子は、CD3ポリペプチドと免疫特異的に結合する抗体であって、ヒト化OKT3の重鎖のアミノ酸配列、例えば図2Dに開示したhOKT3 -1重鎖のアミノ酸配列(配列番号13)、およびヒト化OKT3の軽鎖のアミノ酸配列、例えば図2Bに開示したhOKT3 -1のアミノ酸配列(配列番号11)を含む前記抗体をコードする。

20

【0133】

一実施形態において、CD3ポリペプチドと免疫特異的に結合する抗体は1以上の図1Bに開示したVH CDRを含む。他の実施形態において、CD3ポリペプチドと免疫特異的に結合する抗体は2個以上の図1Bに開示したVH CDRを含む。

【0134】

一実施形態において、CD3ポリペプチドと免疫特異的に結合する抗体は1以上の図1Aに開示したVL CDRを含む。他の実施形態において、CD3ポリペプチドと免疫特異的に結合する抗体は2個以上の図1Aに開示したVL CDRを含む。

30

【0135】

他の実施形態において、CD3ポリペプチドと免疫特異的に結合する抗体は1以上の図1Bに開示したVH CDRおよび1以上の図1Aに開示したVL CDRを含む。さらに他の実施形態において、CD3ポリペプチドと免疫特異的に結合する抗体は2個以上の図1Bに開示したVH CDRおよび2個以上の図1Aに開示したVL CDRを含む。

【0136】

本発明はまた、CD3ポリペプチドと免疫特異的に結合する抗体であって、本明細書に開示した、または当業者が入手しうる、CD3ポリペプチドと免疫特異的に結合するVHドメイン、VH CDR、VLドメイン、またはVL CDRの誘導体を含む前記抗体も提供する。当業者に公知の標準技法を用いて本発明の抗体をコードするヌクレオチド配列中に、例えば、アミノ酸置換をもたらす部位特異的突然変異およびPCR介在突然変異を導入することができる。好ましくは、前記誘導体は、元来の分子と比較して、25個未満のアミノ酸置換、20個未満のアミノ酸置換、15個未満のアミノ酸置換、10個未満のアミノ酸置換、5個未満のアミノ酸置換、4個未満のアミノ酸置換、3個未満のアミノ酸置換、または2個未満のアミノ酸置換を含む。ある好ましい実施形態において、前記誘導体は、1以上の非本質的と予想されるアミノ酸残基(すなわち、抗体にとってCD3ポリペプチドと免疫特異的に結合するのに重要でないアミノ酸残基)に行われた保存的アミノ酸置換を有する。「保存アミノ酸置換」は、アミノ酸残基を、類似した電荷をもつ側鎖を有するアミノ酸残基によって置き換える置換である。類似した電荷をもつ側鎖を有するアミノ酸残基のファミリーは当技術分野で定義されている。これらのファミリーとしては、塩基性側鎖を有するアミノ酸(例えば、リシン、アルギニン、ヒスチジン)、酸性側鎖を有するアミノ酸(例えば、アスパラ

40

50

ギン酸、グルタミン酸)、非荷電極性側鎖を有するアミノ酸(例えば、グリシン、アスパラギン、グルタミン、セリン、スレオニン、チロシン、システイン)、非極性側鎖を有するアミノ酸(例えば、アラニン、バリン、ロイシン、イソロイシン、プロリン、フェニルアラニン、メチオニン、トリプトファン)、分枝側鎖を有するアミノ酸(例えば、スレオニン、バリン、イソロイシン)および芳香族側鎖を有するアミノ酸(例えば、チロシン、フェニルアラニン、トリプトファン、ヒスチジン)が挙げられる。あるいは、突然変異を、無作為にコード配列の全体を通してまたは一部分に、例えば、飽和突然変異誘発により導入してもよく、得られる突然変異体を生物学的活性についてスクリーニングして活性を保有する突然変異体を同定してもよい。突然変異誘発の後に、コードした抗体を発現させ、抗体の活性を測定することができる。

10

【0137】

具体的な実施形態において、本発明は、CD3ポリペプチドと免疫特異的に結合する抗体であって、可変軽(VL)ドメインおよび/または可変重(VH)ドメインに1以上のアミノ酸残基置換をもつヒト化OKT3のアミノ酸配列を含む前記抗体を提供する。本発明はまた、CD3ポリペプチドと免疫特異的に結合する抗体であって、1以上のVL CDRおよび/または1以上のVH CDRに1以上のアミノ酸残基置換をもつマウスの重鎖および軽鎖可変ドメインのアミノ酸配列(それぞれ、配列番号5および1)を含む前記抗体も提供する。ヒト化OKT3のVHドメイン、VHCDR、VLドメインおよび/またはVLCDRに置換を導入することにより作製した抗体を、*in vitro*および*in vivo*で、例えば、CD3ポリペプチドと結合する能力について、またはT細胞活性化を阻害する能力について、またはT細胞増殖を阻害する能力について、またはT細胞溶解を誘導する能力について、または自己免疫障害に関連する1以上の症候群を予防、治療または改善する能力について試験することができる。

20

【0138】

具体的な実施形態において、CD3ポリペプチドと免疫特異的に結合する抗体は、ATCC(登録商標)にアクセッション番号CRL-8001として寄託された細胞株により產生されるモノクローナル抗体をコードするヌクレオチド配列とストリンジェントな条件(例えば、フィルターに結合したDNAとの $6 \times$ 塩化ナトリウム/クエン酸ナトリウム(SSC)中で約45におけるハイブリダイゼーション、次いで1回以上の $0.2 \times$ SSC/ 0.1% SDS中の約50~65における洗浄)下で、高度にストリンジェントな条件(例えば、フィルターと結合した核酸と $6 \times$ SSC中で約45におけるハイブリダイゼーション、次いで1回以上の $0.1 \times$ SSC/ 0.2% SDS中の約68における洗浄)下で、または当業者に公知である他のストリンジェントな条件(例えば、Ausubel, F.M. et al, eds., 1989, Current Protocols in Molecular Biology, Vol. I, Green Publishing Associates, Inc.およびJohn Wiley & Sons, Inc., New York at pages 6.3.1-6.3.6および2.10.3を参照)下でハイブリダイズするヌクレオチド配列を含む。

30

【0139】

具体的な実施形態において、CD3ポリペプチドと免疫特異的に結合する抗体は、ヒト化OKT3をコードするヌクレオチド配列とストリンジェントな条件(例えば、フィルターに結合したDNAとの $6 \times$ 塩化ナトリウム/クエン酸ナトリウム(SSC)中で約45におけるハイブリダイゼーション、次いで1回以上の $0.2 \times$ SSC/ 0.1% SDS中の約50~65における洗浄)下で、高度にストリンジェントな条件(例えば、フィルターと結合した核酸と $6 \times$ SSC中で約45におけるハイブリダイゼーション、次いで1回以上の $0.1 \times$ SSC/ 0.2% SDS中の約68における洗浄)下で、または当業者に公知である他のストリンジェントな条件(例えば、Ausubel, F.M. et al, eds., 1989, Current Protocols in Molecular Biology, Vol. I, Green Publishing Associates, Inc.およびJohn Wiley & Sons, Inc., New York at pages 6.3.1-6.3.6および2.10.3を参照)下でハイブリダイズするヌクレオチド配列を含む。

40

【0140】

具体的な実施形態において、CD3ポリペプチドと免疫特異的に結合する抗体は、ヒト化OKT3のVHまたはVLドメインをコードするヌクレオチド配列とストリンジェントな条件(例えば、フィルターに結合したDNAとの $6 \times$ 塩化ナトリウム/クエン酸ナトリウム(SSC)中で

50

約45におけるハイブリダイゼーション、次いで1回以上の $0.2 \times \text{SSC}/0.1\% \text{SDS}$ 中の約50～65における洗浄)下で、高度にストリンジエントな条件(例えば、フィルターと結合した核酸と $6 \times \text{SSC}$ 中で約45におけるハイブリダイゼーション、次いで1回以上の $0.1 \times \text{SSC}/0.2\% \text{SDS}$ 中の約68における洗浄)下で、または当業者に公知である他のストリンジエントな条件(例えば、Ausubel, F.M. et al, eds., 1989, Current Protocols in Molecular Biology, Vol. I, Green Publishing Associates, Inc.およびJohn Wiley & Sons, Inc.、New York at pages 6.3.1-6.3.6および2.10.3を参照)下でハイブリダイズするヌクレオチド配列によりコードされるVHドメインのアミノ酸配列またはVLドメインのアミノ酸配列を含む。

【0141】

他の実施形態において、CD3ポリペプチドと免疫特異的に結合する抗体は、ATCC(登録商標)に受託番号CRL-8001として寄託された細胞株により產生されるモノクローナル抗体のVH CDRまたはVL CDRのいずれか1つをコードするヌクレオチド配列とストリンジエントな条件(例えば、フィルターに結合したDNAとの $6 \times \text{塩化ナトリウム}/\text{クエン酸ナトリウム}$ (SSC)中で約45におけるハイブリダイゼーション、次いで1回以上の $0.2 \times \text{SSC}/0.1\% \text{SDS}$ 中の約50～65における洗浄)下で、高度にストリンジエントな条件(例えば、フィルターと結合した核酸との $6 \times \text{SSC}$ 中で約45におけるハイブリダイゼーション、次いで1回以上の $0.1 \times \text{SSC}/0.2\% \text{SDS}$ 中の約68における洗浄)下で、または当業者に公知である他のストリンジエントな条件下でハイブリダイズするヌクレオチド配列によりコードされるVH CDRのアミノ酸配列またはVL CDRのアミノ酸配列を含む。

10

【0142】

他の実施形態において、CD3ポリペプチドと免疫特異的に結合する抗体は、ATCC(登録商標)に受託番号CRL-8001として寄託された細胞株により產生されるモノクローナル抗体をコードするヌクレオチド配列とストリンジエントな条件(例えば、フィルターに結合したDNAとの $6 \times \text{塩化ナトリウム}/\text{クエン酸ナトリウム}$ (SSC)中で約45におけるハイブリダイゼーション、次いで1回以上の $0.2 \times \text{SSC}/0.1\% \text{SDS}$ 中の約50～65における洗浄)下で、高度にストリンジエントな条件(例えば、フィルターと結合した核酸と $6 \times \text{SSC}$ 中で約45におけるハイブリダイゼーション、次いで1回以上の $0.1 \times \text{SSC}/0.2\% \text{SDS}$ 中の約68における洗浄)下で、または当業者に公知である他のストリンジエントな条件下でハイブリダイズするヌクレオチド配列によりコードされるVH CDRのアミノ酸配列およびVL CDRのアミノ酸配列を含む。

20

【0143】

具体的な実施形態において、CD3ポリペプチドと免疫特異的に結合する抗体は、ATCC(登録商標)に受託番号CRL-8001として寄託された細胞株により產生されるモノクローナル抗体のアミノ酸配列と少なくとも35%、少なくとも40%、少なくとも45%、少なくとも50%、少なくとも55%、少なくとも60%、少なくとも65%、少なくとも70%、少なくとも75%、少なくとも80%、少なくとも85%、少なくとも90%、少なくとも95%、または少なくとも99%同一であるアミノ酸配列を含む。他の実施形態において、CD3ポリペプチドと免疫特異的に結合する抗体は、ヒト化OKT3のアミノ酸配列と少なくとも35%、少なくとも40%、少なくとも45%、少なくとも50%、少なくとも55%、少なくとも60%、少なくとも65%、少なくとも70%、少なくとも75%、少なくとも80%、少なくとも85%、少なくとも90%、少なくとも95%、または少なくとも99%同一であるアミノ酸配列を含む。

30

【0144】

他の実施形態において、CD3ポリペプチドと免疫特異的に結合する抗体は、ヒト化OKT3のVHドメインと少なくとも35%、少なくとも40%、少なくとも45%、少なくとも50%、少なくとも55%、少なくとも60%、少なくとも65%、少なくとも70%、少なくとも75%、少なくとも80%、少なくとも85%、少なくとも90%、少なくとも95%、または少なくとも99%同一であるVHドメインのアミノ酸配列を含む。

40

【0145】

他の実施形態において、CD3ポリペプチドと免疫特異的に結合する抗体は、ヒト化OKT3

50

のVLドメインと少なくとも35%、少なくとも40%、少なくとも45%、少なくとも50%、少なくとも55%、少なくとも60%、少なくとも65%、少なくとも70%、少なくとも75%、少なくとも80%、少なくとも85%、少なくとも90%、少なくとも95%、または少なくとも99%同一であるVLドメインのアミノ酸配列を含む。

【0146】

本発明は、CD3ポリペプチドとの結合について本明細書に記載の抗体と競合する抗体を包含する。具体的な実施形態において、本発明は、当技術分野で公知の抗CD3抗体、その誘導体またはその抗原結合断片と競合する抗体を包含する。例えば、本発明により提供される抗体は、CD3ポリペプチドとの結合についてOKT3またはその誘導体、例えばヒト化OKT3、またはその抗原結合断片と競合する。他の具体的な実施形態において、本発明は、CD3ポリペプチドとの結合についてChAgIyCD3またはその誘導体またはその抗原結合断片と競合する抗体を包含する。他の具体的な実施形態において、本発明は、CD3ポリペプチドとの結合についてHuM291またはその誘導体またはその抗原結合断片と競合する抗体を包含する。他の具体的な実施形態において、本発明は、CD3ポリペプチドとの結合についてUCHT1またはその誘導体またはその抗原結合断片と競合する抗体を包含する。他の具体的な実施形態において、本発明は、CD3ポリペプチドとの結合についてLeu4またはその誘導体またはその抗原結合断片と競合する抗体を包含する。他の具体的な実施形態において、本発明は、CD3ポリペプチドとの結合についてYTH 12.5またはその誘導体またはその抗原結合断片と競合する抗体を包含する。他の具体的な実施形態において、本発明は、CD3ポリペプチドとの結合についてCLB-T3/3またはその誘導体またはその抗原結合断片と競合する抗体を包含する。他の具体的な実施形態において、本発明は、CD3ポリペプチドとの結合についてBMA030またはその誘導体またはその抗原結合断片と競合する抗体を包含する。

10

20

30

40

【0147】

本発明はまた、CD3ポリペプチドとの結合について、本明細書に開示した抗体のVHドメインと、または当技術分野で公知の他の抗ヒトCD3抗体またはその誘導体もしくは変異体のVHドメインと競合するVHドメインを包含する。具体的な実施形態において、本発明は、CD3ポリペプチドとの結合について、OKT3またはその誘導体、例えばヒト化OKT3のVHドメインと競合するVHドメインを包含する。本発明はまた、CD3ポリペプチドとの結合について、本明細書に開示した抗体のVLドメインと、または当技術分野で公知の他の抗ヒトCD3抗体またはその誘導体もしくは変異体のVLドメインと競合するVLドメインを包含する。具体的な実施形態において、本発明は、CD3ポリペプチドとの結合について、OKT3またはその誘導体、例えばヒト化OKT3のVLドメインと競合するVLドメインを包含する。

【0148】

CD3ポリペプチドと免疫特異的に結合する抗体には、いずれかの型の分子と抗体との共有結合により修飾された誘導体が含まれる。例えば、限定されるものでないが、抗体誘導体には、例えば、グリコシル化、アセチル化、PEG化、リン酸化、アミド化、公知の保護/プロッキング基による誘導体化、タンパク質分解切断、細胞リガンドまたは他のタンパク質との連結、などにより修飾された抗体が含まれる。数多くの化学的修飾、限定されるものでないが、特異的化学切断、アセチル化、ホルミル化、ツニカマイシン代謝合成などを含む公知の技法のいずれかを行うことができる。さらに誘導体は1以上の非古典的アミノ酸を含有してもよい。

【0149】

本発明はまた、CD3ポリペプチドに免疫特異的に結合する抗体であって、当業者に公知のフレームワーク領域を含む抗体を提供する。好ましくは、本発明の抗体のフラグメント域はヒトである。

【0150】

本発明はまた、CD3ポリペプチドと免疫特異的に結合する抗体、およびその使用の方法も包含し、前記抗体はフレームワーク域内に突然変異（例えば、1以上のアミノ酸置換）

50

をもつOKT3またはその誘導体、例えばヒト化OKT3のアミノ酸配列を含む。ある特定の実施形態において、CD3ポリペプチドと免疫特異的に結合する抗体は、VHおよび／またはVLドメインのフレームワーク域内に1以上のアミノ酸残基置換をもつOKT3またはその誘導体、例えばヒト化OKT3のアミノ酸配列を含む。

【0151】

本発明はまた、CD3ポリペプチドと免疫特異的に結合する抗体であって、OKT3またはその誘導体、例えば可変およびフレームワーク域に突然変異（例えば、1以上のアミノ酸残基置換）をもつヒト化OKT3のアミノ酸配列を含む前記抗体も包含する。

【0152】

本発明はまた、CD3ポリペプチドおよび異種ポリペプチドと免疫特異的に結合する抗体を含む融合タンパク質も提供する。好ましくは、抗体と融合した前記異種ポリペプチドは抗体をT細胞に標的化するために有用である。

10

【0153】

本発明の抗体には、他の方法により、すなわち、抗体が抗原と結合するのをおよび／または抗イディオタイプ反応を生成するのを共有結合が妨害しないようにして、いずれかの型の分子と抗体との共有結合により修飾した誘導体が含まれる。例えば、限定されるものでないが、抗体誘導体には、例えば、グリコシル化、アセチル化、PEG化、リン酸化、アミド化、公知の保護／プロッキング基による誘導体化、タンパク質分解切断、細胞リガンドまたは他のタンパク質との連結、などにより修飾された抗体が含まれる。数多くの化学的修飾、限定されるものでないが、特異的化学切断、アセチル化、ホルミル化、ツニカマイシン代謝合成などを含む公知の技法のいずれかを行うことができる。さらに誘導体は1以上の非古典的アミノ酸を含有してもよい。

20

【0154】

5.1.1 変異Fc域をもつポリペプチドおよび抗体

治療用モノクローナル抗体の使用は「初回投与」副作用の問題により制限される。初回投与副作用は、穏やかなインフルエンザ様症候群から重度の毒性までにわたり軽症～重症でありうるのであって、かかる副作用には高熱、悪寒／硬直、頭痛、震え、吐き気／嘔吐、下痢、腹部疼痛、倦怠感、筋肉／関節痛および疼痛、および全身脱力感などの症候群が含まれる。初回投与副作用は、抗体のFc域がFc_R含有細胞上のFc_Rと結合しつつ活性化することにより刺激されるリンホカイン産生とサイトカイン放出により引き起こされると思われる。

30

【0155】

FcRは1以上のアイソタイプの免疫グロブリンを、Fc受容体の鎖上の認識ドメインを介して認識する。Fc受容体は免疫グロブリンサブタイプに対する特異性により定義される。例えば、IgGに対するFc受容体はFc_Rと呼ばれる。異なるアクセサリー細胞は異なるアイソタイプの抗体に対するFc受容体を保持し、抗体のアイソタイプがどのアクセサリー細胞が所与の反応に関わりうるかを決定する（総括は、Ravetch J.V. et al. 1991, Annu. Rev. Immunol. 9: 457-92 ; Gerber J.S. et al. 2001 Microbes and Infection, 3: 131-139 ; Billadeau D.D. et al. 2002, The Journal of Clinical Investigation, 2(109): 161-168 ; Ravetch J.V. et al., 2000, Science, 290: 84-89 ; Ravetch J.V. et al., 2001, Annu. Rev. Immunol. 19:275-90 ; Ravetch J.V. 1994, Cell 78: 553-60を参照）。

40

【0156】

従って本発明は、Fcと1以上のFc_Rとの結合を低下させるかまたは排除することにより、初回投与副作用に関連する少なくとも1つの症候を軽減または排除するCD3結合分子を包含する。かかるCD3結合タンパク質は、野生型Fc域と比較して、1以上のアミノ酸改変を有する変異Fc域を含む。改変は、比較しうる野生型Fc域と比較して、Fcと1以上のFc_Rとの結合を減少するかまたは排除する。改変は典型的にはアミノ酸置換である。しかし、改変はアミノ酸挿入および／または欠失であってもよい。典型的には、改変はCH2および／またはヒンジ域に起こる。あるいは、Fcと1以上のFc_Rとの結合を、Fcドメイン上の1以上のグリコシル基を変えるかまたは排除することにより減少するかまたは排除ことができる

50

。Fcグリコシル化は当技術分野で周知の方法により変えるかまたは排除することができる。例えば、Fcグリコシル化は、Fcをフコシル化が欠失している細胞（例えば、fuc6ヌル細胞）で產生することにより改変するか、または脱グリコシル化酵素によりまたはグリコシル化部位（例えば、CH2ドメインの位置297～299におけるN-X-S/Tグリコシル化部位）を変えるかもしくは排除するアミノ酸改変により排除することができる。Fc R結合は当技術分野で公知のかつ本明細書に例示した標準の方法を用いて測定することができる。従って、本発明の抗体はリンホカイン產生またはサイトカイン放出に起因するin vivo毒性を軽減するので、特に有用である。FcRに対する本発明の分子の親和性および結合特性を最初に、Fc-FcR相互作用、すなわち、Fc域とFcRとの特異的結合を測定する当技術分野で公知のin vitroアッセイ（生化学または免疫学に基づくアッセイ）を用いて測定する（前記in vitroアッセイには、限定されるものでないが、ELISAアッセイ、表面プラズモン共鳴アッセイ、免疫沈降アッセイが含まれる）（第5.4節を参照）。好ましくは、本発明の分子の結合特性はまた、1以上のFc Rメディエーターエフェクター細胞機能を測定するin vitro機能アッセイにより特徴付けることもできる（第5.4節を参照）。最も好ましい実施形態において、本発明の分子はin vitroアッセイにおけると同様なin vivoモデル（本明細書に記載し開示したモデルなど）における結合特性を有する。しかし、本発明は、in vitroアッセイで所望の表現型を示さないが、in vivoで所望の表現型を示す本発明の分子を除外するものではない。

10

【0157】

5.1.1.1 Fc 受容体

20

このファミリーのそれぞれのメンバーは、免疫グロブリン関係ドメインのC2セットに関する細胞外ドメイン、単一の膜スパニングドメインおよび可変長の細胞質内ドメインを保持する内在性の膜糖タンパク質である。Fc RI (CD64)、Fc RII (CD32)、及びFc RIII (CD16)と呼ばれる3種の公知のFc Rがあり、これらは顕著な相同性を有するが、異なる遺伝子にコードされる。活性化シグナルと阻害シグナルの両方が、ライゲーション後にFc Rを介して伝達される。これらの全く反する機能は異なる受容体アイソタイプ間の構造的相違から生じる。一般に、Fc RI、Fc RIIAおよびFc RIIIAに相補的なFcドメインの結合は下流基質（例えば、PI₃K）の活性化をもたらし、炎症誘発メディエーターの放出に導く。対照的に、Fc RIIBに相補的なFcドメインの結合は、Fc RIIBのリン酸化およびイノシトールポリリン酸-5'-ホスファターゼ (SHIP) とSH2ドメインとの結合をもたらす。SHIPは、Fc RI介在性チロシンキナーゼ活性化の結果として放出されたホスホイノシトール・メッセンジャーを加水分解し、その結果、細胞内Ca⁺⁺の流入を阻止する。Fc RIIBの架橋はFc Rライゲーションに対する活性化反応を抑制して細胞の反応性を阻害する。

30

【0158】

リンホカイン產生およびサイトカイン放出を測定する方法は公知であり、当技術分野で日常的に行われてあり本明細書に包含される。例えば、サイトカイン放出の測定は、限定されるものでないが、TNF- α 、GM-CSF、IFN- γ を含むサイトカインの分泌を測定することにより行うことができる。例えば、それが本明細書に参照によりその全てが組み入れられる米国特許第6,491,916号； Isaacs et al, 2001, Rheumatology, 40: 724-738を参照されたい。リンホカイン產生の測定は、限定されるものでないが、インターロイキン-2 (IL-2)、インターロイキン-4 (IL-4)、インターロイキン-6 (IL-6)、インターロイキン-12 (IL-12)、インターロイキン-16 (IL-16)、PDGF、TGF- β 、TGF- α 、TNF- α 、GCSF、GM-CSF、MCSF、IFN- α 、IFN- β 、TFN- α 、IGF-I、IGF-IIを含むリンホカインの分泌を測定することにより行うことができる。例えば、それぞれ、本明細書に参照によりその全てが組み入れられる、 Isaacs et al, 2001, Rheumatology, 40: 724-738； Soubrane et al, 1993, Blood, 81 (1) : 15-19を参照されたい。

40

【0159】

本明細書で用いる用語「Fc域」はIgG重鎖のC末端領域を定義するために使われる。その境界は僅かに変わりうるが、ヒトIgG重鎖Fc域はCys226からカルボキシ末端に延びると定

50

義される。IgGのFc域は2つの定常ドメイン、CH2およびCH3を含む。ヒトIgGFc域のCH2ドメインは通常アミノ酸231からアミノ酸341に延びる。ヒトIgGFc域のCH3ドメインは通常アミノ酸342からアミノ酸447に延びる。ヒトIgGFc域のCH2ドメイン（「C₂」ドメインとも呼ばれる）は通常アミノ酸231～340に延びる。CH2ドメインは、他のドメインと密接に対合しない点でユニークである。むしろ2つのN-連結した分枝糖鎖が、無傷の生来のIgGの2つのCH2ドメイン間に挿入されている。

【0160】

好ましい実施形態において本発明は、変異Fc域を含む分子を包含し、ここで変異Fc域は野生型Fc域と比較して少なくとも1つのアミノ酸改変を含み、前記変異Fc域は、公知のおよび本明細書に開示した標準アッセイにより測定すると、野生型Fc域を含む相当する分子と比較して、いずれのFc_Rとも結合しない。具体的な実施形態において、全てのFc_Rとの結合を消滅させる1以上のアミノ酸改変は、位置233にフェニルアラニン；または位置238にアルギニン；または位置265にアラニン；または位置265にグルタミン酸；または位置270にアラニン；または位置270にアスパラギン；または位置297にアラニン；または位置297にグルタミン；または位置298にフェニルアラニン；または位置298にアスパラギン；または位置299にセリンまたはスレオニン以外のいずれかのアミノ酸；または位置265および位置297にアラニン；または位置265にアラニンおよび位置297にグルタミン；または位置265にグルタミン酸および位置297にアラニン；または位置265にグルタミン酸および位置297にグルタミン；または位置234にアラニンおよび位置235にアラニンを有するFc域を含む。他の実施形態において、全てのFc_Rとの結合を消滅させる1以上のアミノ酸改変は、本明細書に掲げた改変の組合せ、または本明細書に掲げた改変と、本明細書に開示のまたは当業者に公知の方法により測定して、Fc_{RIIIA}、Fc_{RIIIB}、およびFc_{RIIA}に対してヌル結合を与えるいずれかの改変との組合せを含む。

10

20

30

【0161】

本発明は、患者に本発明の1種以上の抗体の有効な量を投与することを含んでなる、初回投与副作用に関連する少なくとも1つの症候を軽減または排除する方法を包含する。本発明の方法は、限定されるものでないが、高熱、悪寒／硬直、頭痛、震え、吐き気／嘔吐、下痢、腹痛、倦怠感、筋肉痛／関節痛および疼痛、および全身脱力感を含むサイトカイン放出症候に関連する少なくとも1つの症候を軽減する。

【0162】

本発明は、in vivoで長い半減期を有する、CD3ポリペプチドと免疫特異的に結合する抗体を提供する。特に、本発明は動物、好ましくは哺乳動物、そして最も好ましくはヒトにおいて、3日より長い、7日より長い、10日より長い、好ましくは15日より長い、25日より長い、30日より長い、35日より長い、40日より長い、45日より長い、2ヶ月より長い、3ヶ月より長い、4ヶ月より長い、または5ヶ月より長い半減期を有する、CD3ポリペプチドと免疫特異的に結合する抗体を提供する。

40

【0163】

抗体（例えば、モノクローナル抗体、1本鎖抗体およびFab断片）の血清循環をin vivoで延長するために、例えば、高分子量ポリエチレングリコール（PEG）などの不活性ポリマー分子を抗体と多機能性リンカーを用いてまたは用いないで、PEGと抗体のN末端もしくはC末端との部位特異的結合を介してまたはリシン残基上のアミノ基経由で結合することができる。生物学的活性の喪失を最小限に抑える直鎖または分枝鎖ポリマー誘導体化を利用しうる。結合の程度をSDS-PAGEおよび質量分析により厳密にモニターしてPEG分子と抗体との適切な結合を確実なものにすることができる。未反応PEGを、抗体-PEGコンジュゲートからサイズ排除またはイオン-交換クロマトグラフィにより分離することができる。PEG誘導体化した抗体を、結合活性についてならびにin vivo効力について、当業者に周知の方法を用いて、例えば、本明細書に記載のイムノアッセイにより試験することができる。

50

【0164】

長いin vivo半減期を有する抗体はまた、1以上のアミノ酸改変（すなわち、置換、挿入

50

または欠失)をIgG定常ドメイン、またはそのFcRnと結合する断片(好ましくはFcまたはヒンジ-Fcドメイン断片)中に導入して、作製することができる。例えば、それぞれ本明細書に参照によりその全てが組み入れられる国際特許公開第WO 98/23289号;国際特許公開第WO 97/34631号;および米国特許第6,277,375号を参照されたい。

【0165】

5.1.2 抗体コンジュゲート

本発明は、異種ポリペプチド(またはその断片、好ましくは少なくとも5、少なくとも10、少なくとも20、少なくとも30、少なくとも40、少なくとも50、少なくとも60、少なくとも70、少なくとも80、少なくとも90または少なくとも100個の連続アミノ酸のポリペプチド)と遺伝子組換えにより融合してまたは化学的に結合(共有結合による結合と非共有結合による結合の両方を含む)して作製した融合タンパク質である、免疫特異的にCD3ポリペプチドと結合する抗体またはその抗原結合断片を包含する。融合は必ずしも直接である必要はなく、リンカー配列を介してもよい。例えば、抗体に特定の細胞表面受容体(例えば、CD4及びCD8)に特異的な抗体を融合又は結合することにより、in vitroまたはin vivoで、抗体を用いて異種ポリペプチドを特定のタイプの細胞(例えばT細胞)に標的化することができる。

【0166】

本発明はまた、ペプチドなどのマーカー配列と融合して精製を容易にした、免疫特異的にCD3ポリペプチドと結合する抗体またはその抗原結合断片も包含する。

【0167】

好ましい実施形態において、マーカーアミノ酸配列はヘキサ-ヒスチジンペプチド、例えばとりわけ、pQEベクター(QIAGEN, Inc., 9259 Eton Avenue, Chatsworth, CA, 91311)として提供されるタグであり、その多くは市販されている。Gentz et al, 1989, Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 86:821-824に記載の通り、例えば、ヘキサ-ヒスチジンは融合タンパク質の好都合な精製を提供する。精製に有用な他のペプチドとしては、限定されるものでないが、インフルエンザヘマグルチニンタンパク質から誘導されるエピトープに対応するヘマグルチニン「HA」タグ(Wilson et al, 1984, Cell, 37)および「flag」タグが挙げられる。

【0168】

本発明はさらに、治療上有用な可能性のある薬剤に結合した、免疫特異的にCD3ポリペプチドと結合する抗体または抗原結合断片を包含する。免疫特異的にCD3ポリペプチドと結合する抗体またはその抗原結合断片を、治療成分、例えば、細胞静止剤または殺細胞薬などの細胞毒、治療上有用な可能性のある薬剤、または放射性金属イオン、例えば、線放出核種などと結合してもよい。細胞毒または細胞傷害薬は、細胞に有害であるいずれかの薬剤を含む。細胞毒または細胞傷害薬の例としては、限定されるものでないが、パクリタキセル、サイトカラシンB、グラミシジンD、臭化工チジウム、エメチン、マイトイシン、エトポシド、テノポシド、ビンクリスチン、ビンプラスチニン、コルヒチン、ドキソルビシン、ダウノルビシン、ジヒドロキシアントラシンジオン、ミトキサントロン、ミトラマイシン、アクチノマイシンD、1-デヒドロテストステロン、グルココルチコイド、プロカイン、テトラカイン、リドカイン、プロプラノロール、およびピューロマイシンならびにそれらの類似体または同族体が挙げられる。治療上有用な可能性のある薬剤としては、限定されるものでないが、代謝拮抗物質(例えば、メトレキセート、6-メルカブトブリニン、6-チオグアニン、シタラビン、5-フルオロウラシルデカルバジン)、アルキル化剤(例えば、メクロレタミン、チオエパクロランブシル、メルファラン、カルムスチニン(BSNU)およびロムスチニン(CCNU)、シクロホスファミド、ブスルファン、ジブロモマンニトル、ストレプトゾトシン、マイトイシンC、およびシス-ジクロロジアミニ白金(II)(DDP)シスプラチン)、アントラサイクリン(例えばダウノルビシン(旧名ダウノマイシン)およびドキソルビシン)、抗生物質(例えば、ダクチノマイシン(旧名アクチノマイシン)、ブレオマイシン、ミトラマイシン、およびアントラマイシン(AMC))、および抗有糸分裂薬(例えば、ビンクリスチンおよびビンプラスチニン)が挙げられる。

10

20

30

40

50

【0169】

さらに、抗体または免疫特異的にCD3ポリペプチドと結合する抗原結合断片を治療薬または所与の生物学的反応を改変する薬物成分と結合させることができる。治療上有用な可能性のある薬剤または薬物成分は古典的な化学治療薬に限定されるものではない。例えば、薬物成分は所望の生物学的活性を有するタンパク質またはポリペプチドであってもよい。かかるタンパク質としては、例えば毒素、例えばアブリン、リシンA、シュードモナス外毒素、またはジフテリア毒素；タンパク質、例えば腫瘍壊死因子、 α -インターフェロン(IFN- α)、 β -インターフェロン(IFN- β)、神経成長因子(NGF)、血小板由来成長因子(PDGF)、組織プラスミノーゲン活性化因子(TPA)、アポトーシス薬、例えば、TNF- α 、TNF- β 、AIM I(国際公開特許WO 97/33899を参照)、AIM II(国際公開特許WO 97/34911を参照)、Fasリガンド(Takahashi et al., J. Immunol., 6:1567-1574, 1994)、およびVEGF(国際公開特許WO99/23105を参照)、血栓薬または抗血管形成薬(例えば、アンギオスタチンまたはエンドスタチン)；または生物学的応答調節物質、例えば、リンホカイン(例えば、インターロイキン-1('IL-1')、IL-2、IL-6、IL-10、顆粒球マクロファージコロニー刺激因子('GM-CSF')、および顆粒球コロニー刺激因子('G-CSF')、または成長因子(例えば、成長ホルモン('GH'))が挙げられる。

10

【0170】

かかる治療成分を抗体と結合する技術は周知であり、例えば、Arnon et al., "Monoclonal Antibodies For Immunotargeting Of Drugs In Cancer Therapy", in Monoclonal Antibodies And Cancer Therapy, Reisfeld et al. (eds.), pp. 243-56 (Alan R. Liss, Inc. 1985)；Hellstrom et al., "Antibodies For Drug Delivery", in Controlled Drug Delivery (2nd Ed.), Robinson et al. (eds.), pp. 623-53 (Marcel Dekker, Inc. 1987)；Thorpe, "Antibody Carriers Of Cytotoxic Agents In Cancer Therapy: A Review", in Monoclonal Antibodies '84: Biological And Clinical Applications, Pinczera et al. (eds.), pp. 475-506 (1985)；"Analysis, Results, And Future Prospective Of The Therapeutic Use Of Radiolabeled Antibody In Cancer Therapy", in Monoclonal Antibodies For Cancer Detection And Therapy, Baldwin et al. (eds.), pp. 303-16 (Academic Press 1985)；およびThorpe et al., 1982, Immunol. Rev. 62:119-58を参照されたい。

20

【0171】

30

免疫特異的にCD3ポリペプチドと結合する抗体またはその抗原結合断片を第2の抗体と結合して、本明細書に参照によりその全てが組み入れられる米国特許第4,676,980号にSegalが記載した抗体ヘテロコンジュゲートを形成することができる。

【0172】

30

CD3ポリペプチドに免疫特異的に結合する抗体又はその抗原結合断片を固体支持体に結合してもよく、これはT細胞のようなCD3+免疫細胞の精製に特に有用である。かかる固体支持体としては、限定されるものでないが、ガラス、セルロース、ポリアクリルアミド、ナイロン、ポリスチレン、ポリビニル 塩化物またはポリプロピレンが挙げられる。

【0173】

40

5.2 予防法と治療法

本発明は、自己免疫障害の1以上の症候群を予防し、治療し、発症を遅延し、進行を緩慢にしましたは改善するために、CD3結合分子、特に抗ヒトCD3抗体を被験者、好ましくはヒト被験者に投与することに関わる治療法に関する。特に、本発明は、自己免疫障害、例えば、1型糖尿病の1以上の症候群を予防し、治療し、発症を遅延し、進行を緩慢にしましたは改善するために、CD3結合分子、特に抗ヒトCD3抗体、さらに特に、Fc受容体と結合しないかまたは結合が有意に低下したFcドメインを有する抗ヒトCD3抗体のヒトまたはヒト化型、例えばOKT3 1(ala-ala)、ChAglyCD3、およびビジリズマブを、被験者、好ましくはヒト被験者に投与することに関わる治療法に関する。本明細書に開示した方法は、一般に、低用量のおよび/またはより短い時間にわたる投与を可能にしてなお臨床の効力を達成しあつ毒性を回避する、改善された投与方法である。特に、本発明が意図する投与レジメ

50

ンにおいては、9,000 µg/m²未満、好ましくは、8,000 µg/m²未満、7,500 µg/m²未満、7,000 µg/m²未満、または6,000 µg/m²未満の、特にOKT3 1(ala-ala)の合計抗ヒトCD3抗体、またはChAgIyCD3(TRX4(登録商標))もしくはHUM291(ビジリズマブ ; NUVION(登録商標))などの他の抗ヒトCD3抗体、またはOKT3 1(ala-ala)の薬理学当量を投薬期間にわたって静脈内に投与する。本発明はさらに、患者に慢性的に低用量の抗ヒトCD3抗体を投与する方法、ならびに、患者に、最初の治療後に、ある特定の臨床パラメーターに応じてまたは応じないで、ほぼ6ヶ月、9ヶ月、12ヶ月、18ヶ月、2年、3年または5年の1以上の追加のラウンドの抗ヒトCD3抗体を投与するかまたは、ある特定の臨床パラメーターに応じてまたは応じないで、ほぼ6ヶ月、9ヶ月、12ヶ月、18ヶ月、2年、3年または5年毎に他のラウンドの抗ヒトCD3抗体による治療を投与する方法を意図する。

10

【 0 1 7 4 】

本発明の分子を投与することにより治療できる自己免疫障害の例には、限定されるものでないが、円形脱毛症、強直性脊椎炎、抗リン脂質症候群、自己免疫アジソン病、副腎の自己免疫疾患、自己免疫溶血性貧血、自己免疫肝炎、自己免疫卵巣炎および睾丸炎、自己免疫血小板減少症、ベーチェット病、類天疱瘡、心筋症、セリアックスプルー皮膚炎、慢性疲労免疫機能障害症候群(CFIDS)、慢性炎症性脱髓性多発性神経障害、チャーグス・トラウス症候群、瘢痕類天疱瘡、CREST症候群、寒冷凝集素病、クローン病、円板状狼瘍、本態性混合クリオグロブリン血症、線維筋痛-線維筋炎、糸球体腎炎、グレーヴズ病、ギヤン・バレー、橋本甲状腺炎、特発性肺線維症、特発性血小板減少性紫斑病(ITP)、過敏性腸疾患(IBD)、IgA神経障害、若年性関節炎、扁平苔癬、エリテマトーデス、メニエール病、混合結合組織病、多発性硬化症、1型または免疫性糖尿病、重症筋無力症、尋常性天疱瘡、悪性貧血、結節性多発性動脈炎、多発性軟骨炎、多腺症候群、リウマチ性多発性筋痛、多発性筋炎および皮膚筋炎、原発無ガンマグロブリン血症、原発胆汁性肝硬変、乾癬、乾癬性関節炎、レーノー現象、ライター症候群、慢性関節リウマチ、サルコイドーシス、強皮症、シェーグレン症候群、スティッフマン症候群、全身エリテマトーデス、エリテマトーデス、高安動脈炎、側頭動脈炎/巨細胞性動脈炎、潰瘍性大腸炎、ブドウ膜炎、脈管炎、例えば疱疹状皮膚炎脈管炎、白斑、およびウェゲナー肉芽腫症が挙げられる。いくつかの自己免疫障害はまた、炎症性症状とも関係している。従って、自己免疫障害および炎症性障害とみなされる症状の間には重複がある。それ故に、いくつかの自己免疫障害は炎症性障害としても特徴付けられる。本発明の方法によって予防し、治療または管理することができる炎症性障害の例としては、限定されるものでないが、喘息、脳炎、炎症性腸疾患、慢性閉塞性肺疾患(COPD)、アレルギー障害、肺線維症、未分化脊椎関節症、未分化関節症、関節炎、炎症性骨溶解、および慢性ウイルスまたは細菌感染から生じる慢性炎症が挙げられる。本発明の組成物および方法によって治療しうる型の乾癬の例としては、限定されるものでないが、尋常性乾癬、膿疱性乾癬、紅皮性乾癬、滴状乾癬およびインバース乾癬が挙げられる。

20

30

30

【 0 1 7 5 】

5.2.1 糖尿病

免疫性糖尿病または1型糖尿病は、インスリンを产生する臍臓の細胞が徐々に破壊されることが病因である。細胞の破壊は主にCTL(CD8+T細胞)が媒介すると思われる。インスリン炎と呼ばれるこの病気の初期段階は、白血球の臍臓中への浸潤により特徴付けられ、臍臓炎症と抗細胞-細胞傷害性抗体の放出の両方を伴う。疾患の初期段階はしばしば見過ごされるか誤診され、糖尿病の臨床症候群は典型的には細胞の約80%が破壊された後に明らかになる。免疫抑制療法を用いても、細胞集団は有意な程度まで回復しない;それ故に、いったん症候群が現れると、1型糖尿病は通常、一生涯インスリン依存性となる。インスリンが1型糖尿病の症候群を治療するための現在唯一の標準療法である。メトトレキセートおよびシクロスルホリンなどの免疫抑制薬、ならびに通常の免疫抑制薬は、1型糖尿病の治療、例えば、細胞機能の維持に、初期の臨床において有望であったが、その長期使用はいくつかの重篤な副作用を伴った。従って、糖尿病に関する本発明の使用は、治療の時点に存在する細胞のレベルおよび機能を持続/保護する方法を包含する

40

50

。

【0176】

具体的な実施形態において、抗ヒトCD3抗体療法は急性糖尿病を治療するためでなく、むしろ、最近診断した（若年性糖尿病と診断された小児を含む）個人における疾患の進行を阻止するために用いられる（Herold et al, 2005, Diabetes 54 : 1763-1769を参照）。具体的な実施形態において、抗ヒトCD3療法は、本明細書に記載のまたは当業者に公知の方法により決定して残存 細胞を有する患者にだけ用いられる。他の実施形態において、抗ヒトCD3抗体療法は、臍臓移植レシピエントにおいて移植した 細胞機能を維持するために用いられる。

【0177】

代わりの実施形態において、本発明は、1型糖尿病を発症する素因を有するがAmerican Diabetes AssociationまたはImmunology of Diabetes Societyが設定した診断判定基準に適合しない個人への、1型糖尿病の発症を予防または遅延するためおよび／またはかかる患者へのインスリンの投与の必要性を防止または遅延するための抗ヒトCD3抗体の投与を包含する。ある特定の実施形態において、本実施形態による素因を有する被験者の同定に対するハイリスク因子は、1型糖尿病と診断された一親等または二親等の血族を有すること、障害性空腹時血糖レベル、（すなわち、空腹時（食事なしで8時間）100～125mg/dLの血糖レベルの少なくとも1つの確認）、75g OGTTに対する応答における障害性血糖負荷（すなわち、75g OGTTに対する応答における140～199mg/dLの2時間血糖レベル）、白人におけるHLA型のDR7、黒人（アフリカ系）におけるHLA型のDR4、日本人におけるHLA型のDR9、幼児期ウイルス（例えば、コクサッキーBウイルス、腸内ウイルス、アデノウイルス、風疹、サイトメガロウイルス、エプスタイン・バーウイルス）への曝露、当技術分野で認められる判定基準による少なくとも1つの他の自己免疫障害（例えば、甲状腺疾患、セリック病）の陽性診断、および／または血清または他の組織中の自己抗体、特にICAの検出である。ある特定の実施形態において、本発明の方法によって1型糖尿病を発生する素因を有すると同定された被験者は、少なくとも1つの本明細書に記載のおよび／または当技術分野で公知のリスク因子を有する。本発明はまた、前記被験者が本明細書に開示のもしくは当技術分野で公知のリスク因子の2以上、3以上または4以上、または5以上の組合せを示す場合、1型糖尿病の発症の素因を有する被験者と同定することも包含する。

【0178】

1型糖尿病または1型糖尿病発症の素因に関係する血清自己抗体は臍島細胞自己抗体（例えば、抗ICA512自己抗体）、グルタミン酸デカルバミラーゼ自己抗体（例えば、抗GAD65自己抗体）、および／または抗インスリン自己抗体である。従って、この実施形態による具体例において、本発明は、1型糖尿病の発症の素因に関係するまたは初期段階1型糖尿病に関係する検出可能な自己抗体（例えば、抗IA2、抗ICA512、抗GADまたは抗インスリン自己抗体）をもつ個人の治療を包含し、ここで、前記個人は1型糖尿病と診断されてなかつたおよび／または1型糖尿病の一親等もしくは二親等の血族である。ある特定の実施形態においては、自己抗体の存在を、ELISA、ラジオアッセイ（例えば、Yu et al, 1996, J. Clin. Endocrinol. Metab. 81 : 4264-4267を参照）により、または本発明に記載のもしくは当業者に公知の抗体を免疫特異的に検出するいずれかの他の方法により検出する。

【0179】

治療前、治療中、および治療後の 細胞機能を、本発明に記載のもしくは当業者に公知のいずれかの方法により評価することができる。例えば、糖尿病管理と合併症治験（Diabetes Control and Complications Trial）（DCCT）研究グループは、パーセントグリコシル化ヘモグロビン（HA1およびHA1c）のモニタリングを血糖制御を評価するための標準として確立した（DCCT, 1993, N. Engl. J. Med. 329 : 977-986）。あるいは、毎日のインスリン必要量の特徴付け、Cペプチド レベル／応答、低血糖症状発現、および／または FPIRを 細胞機能のマーカーとしてまたは治療指數を確立するために用いることができる（例えば、Keymeulen et al, 2005, N. Engl. J. Med. 352 : 2598-2608； Herold et al, 2005, Diabetes 54 : 1763-1769； 米国特許出願公開第2004/0038867 A1号； およびGreen

10

20

30

40

50

baum et al, 2001, Diabetes 50 : 470-476をそれぞれ参照されたい）。例えば、FPIRはIG TTの1分後及び3分後のインスリン値の合計として計算し、これは膵島細胞抗体登録ユーザー研究 (Islet Cell Antibody Register User's Study) のプロトコルによって実施する（例えば、Bingley et al, 1996, Diabetes 45 : 1720-1728およびMcCulloch et al, 1993, Diabetes Care 16 : 911-915を参照）。

【0180】

5.2.2 多発性硬化症

MSの診断は、典型的には、現れる症候群のなかの他のより一般的な原因を排除するために、複数の神経学的評価を必要とする。2001年に、MS診断の国際パネル (the International Panel on MS Diagnosis) は、多発性硬化症を確定するための診断判定基準の改定を推奨し、これはMRI技法の進歩（例えば、損傷部のイメージングの改善）およびその他のパラ臨床診断方法を含むものである。最新の判定基準は、報文の主著者にちなんでMcDonald 判定基準と呼ばれており、従来の診断判定基準、すなわちPoserおよびSchumacher 判定基準を上回る改善が行われている (McDonald et al, 2001, Ann. Neurol. 50 : 121-127を参照)。

10

【0181】

MSの自然歴の研究は、色々なパターンの疾患活性が存在することを示唆するが、4種の主な変種：再発／寛解性MS (RRMS) 、二次進行性MS (SPMS) 、進行再発性MS (PRMS) 、および一次進行性MS (PPMS) （例えば、Lublin et al, 1996, Neurology 46 : 907-911を参照）が認識されている。変種間の区別は発作の頻度および重症度ならびにその進行性に依っている。RRMSは発作間の全面的または部分的回復と、基線症状の一般的安定性により特徴付けられ、再発／寛解性MSを有すると定義される。数例において、RRMSは良性」MSを含み、これはMS診断後10年の稀な発作と最小限の能力障害により特徴付けられる。RRMSを経験する患者はMS患者のほぼ80～90%を構成する。これらの患者のうち、ほぼ50%は発症後15年に歩行困難であり、80%は最終的に（25年後に）発作を伴うまたは伴わない能力障害を徐々に経験する。最初に悪化を経験しあつその後徐々に能力障害の進行を経験する患者はSPMSを有する。ほぼ10-15%のMS患者は最初の発作を経験しない。最初の症候が現れた後に徐々に悪化する患者はPPMSを有する。一次進行性MSの少数の患者は後に悪化を経験しうる；これらの患者はPRMSを有する。

20

【0182】

MS進行を診断および／またはモニターするための臨床試験としては、例えば、損傷を検出するかまたは損傷サイズをモニターする磁気共鳴イメージング (MRI) 走査、炎症の確認を検出する腰椎穿刺、（視覚、聴覚、または疼痛それぞれの）刺激に応答して脳からのメッセージが神経に沿って通過する速度を測定する誘起電位試験（眼、耳、または皮膚）、症候群の重症度を測定するKurtzke総合障害度スケール (expanded disability status scale) (EDSS) の使用、尿サンプル中のミエリン塩基性タンパク質様物質のレベルを測定する尿検査、脳または脊髄の委縮の測定、およびブラックホール (MRI走査で非常に低いシグナルを放つ領域) の検出が挙げられる。従って、本発明は、疾患を有する1以上の症候を示すかまたはMcDonald判定基準による診断が確立されている患者の、多発性硬化症を治療するための本発明の抗CD3抗体の使用を包含する。

30

【0183】

特別な作用機構に拘束されるのではないが、抗CD3抗体、特にhOKT3 ala-alaの投与は、免疫寛容の誘導により、例えば、1型糖尿病およびMSを含む自己免疫障害の治療に導く。多数の研究はhOKT3yl ala-alaが寛容を誘発しうるいくつかの可能な機構を同定しており、それらの機構としては、T細胞アネルギー（T細胞が静止状態になって自己抗原と反応しないプロセス）の誘発； T_{Reg} 集団（最近同定された、hOKT3y1-ala-alaによりin vivoで拡大されて自己反応性T細胞にドミナントな阻害効果を作用するT細胞の亜集団）の活性化；および(T_{Reg} 介在性抑制 in vivoに寄与する) IL-10およびTGF-などの免疫調節性Th2型サイトカインの産生の亢進が挙げられる（例えば、Kohm et al, 2005, Int. Rev. Immunol. 24 : 361-392, Filippi et al, 2005, Int. Rev. Immunol. 24 : 341-360, およびChe

40

50

n et al., 2004, Cell. Mol. Immunol. 1 : 328-335を参照)。

【0184】

5.2.3 乾癬

乾癬は慢性、炎症性、過増殖性皮膚疾患であって、全人口の1~2%が罹患し、同数の男女が罹患している (Nevitt, G.J. et al., 1996, British J. of Dermatology 135 : 533-537)。乾癬のほぼ15万の新事例およびほぼ400人の乾癬による死亡が毎年報じられる (Stern, R.S., 1995, Dermatol. Clin. 13 : 717-722)。乾癬の最も普通の型は慢性プラーク症候である。多くの患者の症状は慢性であり、疾患の間、寛解と再発の期間がある (Ashcroft, D.M., et al., 2000, J. of Clin. Pharm. And Therap. 25 : 1-10)。

【0185】

乾癬は、通常、頭皮または肘および膝の伸筋側面に存在することがほとんどであるが皮膚のいずれの部位にも存在しうる、硬化した紅斑性スケーリングプラークにより特徴付けられる。乾癬の治療に利用できる治療選択肢としては、局所薬、光線療法および全身薬が挙げられる。局所治療薬は軽度ないし中度のプラーク乾癬の患者に対する第一選択の治療法である。全身治療は一般に、局所療法が現実的でないかまたは無効である、乾癬の重篤な事例に対して処方される。光線療法は単独でまたは局所または全身薬と組合させて投与することができる。残念なことに、これらの治療選択肢は重篤な副作用を伴う。乾癬を治療するために利用されるほとんどの局所薬は皮膚刺激、毒性および発癌可能性を伴う (Ashcroft, D.M., et al., 2000, J. of Clin. Pharm. and Therap. 25:1-10)。広帯域 (UVB) 又は長波 (UVA) の光線療法は小胞発生、吐き気、紅斑、頭痛および皮膚痛などの短期リスクならびに光線性角化症、皮膚の早老、不規則性色素沈着および扁平上皮細胞癌の長期リスクを伴い、これらは患者の4分の1において報じられている (Stern, R.S., 1994, Cancer 73:2759-2764)。全身薬も有害な副作用を伴い、ほとんでは妊娠中の患者に利用することはできない。特に、重症の乾癬の治療に「最も効果的な標準薬 (gold standard)」とみなされるメトトレキセートは長期使用すると肝毒性のリスクがある。さらに、患者は、それぞれの治療の開始時もしくはその近くに、および1.0~1.5 mg MTXの累積用量後にライナー生検を行うことが推奨される (Roenigk, H.H. et al., 1988, J. of the Am. Acad. Of Dermatology)。

【0186】

患者が現在利用しうる乾癬の治療法の有害な作用の可能性に関する通知を受けると、多くはしばしば治療を受けるよりもその症状と付き合うことを選ぶ (Greaves M. W., 1995, New England J. of Medicine 332:581-588)。従って、現在利用しうる治療法よりさらに優れた乾癬を治療する方法の必要性が残っている。

【0187】

乾癬に関する本発明の使用は、それ故に、急性期の疾患を治療する方法ならびに乾癬の症候群の再発を予防する方法を包含する。乾癬に関する抗CD3療法の応答は、本明細書に記載の方法によりまたは当業者に公知の方法により評価することができる。乾癬の症候群をモニターするために使用する普通の方法としては、限定されるものでないが、乾癬面積および重症度指数 (PASI)、医師包括的評価 (PhysicianGlobalAssessment) (PGA) およびNPF乾癬スコア (NPF-PS) (Ashcroft et al., 1999, Br. J. Dermatol. 141:185-191; van der Kerkhof et al., 1997, Br. J. Dermatol. 137:661-662 and Krueger et al., 1999, National Psoriasis Foundation Psoriasis Forum 5:1-5をそれぞれ参照されたい) が挙げられる。

【0188】

5.2.4 慢性関節リウマチ

慢性関節リウマチは、身体の免疫系が関節の潤滑液を分泌する滑膜を誤って非自己と同定する場合に起こる自己免疫障害である。炎症が生じ、関節内および周囲の軟骨と組織が損傷または破壊される。重症の事例では、この炎症が他の関節組織および周囲の軟骨に広がり、骨と軟骨を侵食または破壊して関節変形をもたらしうる。身体は損傷した組織を瘢痕組織で置き換え、その結果、関節内の正常な空間は狭くなり、骨はお互いに癒着する。

10

20

30

40

50

慢性関節リウマチは硬直、腫脹、疲労、貧血、体重減少、発熱、およびしばしば、身体不自由な苦痛を引き起こす。慢性関節リウマチのいくつかの一般的な症状としては、覚醒時の1時間以上続く関節の硬直；特定の指または手首の腫脹；関節周囲の軟組織の腫脹；および関節の両側の腫脹が挙げられる。腫脹は痛みを伴う場合と伴わない場合があり、かつ進行して悪化する場合または数年間同じ状態で留まった後に進行することもある。慢性関節リウマチ以外に、自己免疫性炎症に関連する他の型の関節炎としては次が挙げられる：乾癬性関節炎、ライター症候および強直性脊椎炎関節炎。慢性関節リウマチは身体の両側の関節（両方の手、手首または膝）に起こる。この対称性は慢性関節リウマチを他の型の関節炎から区別することができる。慢性関節リウマチは関節を冒すだけでなく、皮膚、眼、肺、心臓、血液または神経を冒すこともある。

10

【0189】

慢性関節リウマチは、世界の人口の約1%を冒し、身体障害となる可能性がある。アメリカ合衆国には約290万の慢性関節リウマチ例がある。男性の2~3倍の女性が罹患している。慢性関節リウマチが発症する典型的な年齢は25~50才である。若年性慢性関節リウマチは、71,000人の若い米国人（18歳以下）が罹患し、男子より6倍多い女子が罹患している。

【0190】

現在、関節炎に利用しうる療法は、抗炎症薬または免疫抑制薬を用いて関節の炎症を軽減することに向けられている。関節炎の第一選択の治療薬は、通常、抗炎症薬、例えばアスピリン、イブプロフェンおよびCox-インヒビター、例えばセレコキシブおよびロフェコキシブである。「第2選択の薬」は、金、メトトレキセートおよびステロイドがある。これらは十分確立された関節炎の治療薬であるが、これらの治療薬だけではごく僅かの患者しか治らない。最近、慢性関節リウマチの病原の理解が進んで、メトトレキセートを、サイトカインまたは組換え可溶性受容体に対する抗体と併用されるようになった。しかし、メトトレキセートと抗TNF 薬（例えばTNF- α に対する組換え可溶性受容体）の組合せで治療した患者のほぼ50%しか臨床上有意な改善を示さない。多数の患者は、治療にも関わらず不応のまま留まっている。慢性関節リウマチを患う患者にとって困難な治療問題はまだ残っている。現在の治療法の多くは、副作用の頻度が高く、疾患の進行を完全に防ぐことができない。

20

【0191】

RAに関する本発明の使用は、それ故に、疾患の急性期を治療する方法とRAの症候群の再発を予防する方法を包含する。RAに関する本発明の治療方法に対する応答は本明細書に記載の方法によりまたは当業者に公知の方法により評価することができる。例えば、多くの（全てではないが）慢性関節リウマチを患う人達はリウマチ様因子抗体をその血液中に有する；しかしリウマチ因子を産生する他の症状も知られているため、この存在自体はRAの明確な診断を決定するものではない。それ故に、慢性関節リウマチの診断および評価は、最も普通には、複数の因子の組み合わせに基づいて行われ、その因子としては、限定されるものでないが、痛みのある関節の特定の部位と対称性、朝の関節硬直の存在、皮膚下の瘤および小節（リウマチ小節）の存在、慢性関節リウマチを示すX線試験結果、および/またはリウマチ因子と呼ばれる血液試験の陽性結果が挙げられる。本発明は、当技術分野で認められている症状の重症度を評価するいずれかの方法を包含する。普通の評価方法は、被験者の痛みに関する質問書に対する主観的な応答（例えば、機能障害、痛み重症度、および健康状態サブスケールによる健康評価質問書（HAQ）に基づく；しかしかかる自覚的評価は被験者の心理学的機能により惑わされることが多い。従って、治療医師による慢性関節リウマチの評価を可能とする客観的スケール、例えば、慢性関節リウマチ重症度スケール（「RASS」；例えば、参照により本明細書にその全てが組み入れられる、Bardwell et al., 2002, Rheumatology 41:38-45を参照）が開発されている。

30

【0192】

5.2.5 組織移植

遺伝的に同一でない個人間の組織移植は、T細胞依存性機構による組織の免疫学的拒絶

40

50

を引き起こす。同種移植片拒絶を予防するために、一般的にT細胞機能を妨害する薬剤を用いて、TcRシグナル伝達をモジュレートすることにより免疫抑制を達成する（例えば、Borel, J. F., 1989, Pharmacol. Rev. 42:260-372; Morris, P. J., 1991, Curr. Opin. Immunol. 3:748-751; Sigal et al., 1992, Ann. Rev. Immunol. 10:519-560; and L'Azou et al., 1999, Arch. Toxicol. 73:337-345を参照）。さらに、免疫抑制薬の効果は短時間であるので、移植レシピエントは通常一生涯にわたり移植拒絶を予防する免疫抑制薬の治療を必要とする。長期の免疫抑制治療を受ける移植レシピエントは感染および腫瘍を発症する高いリスクを有する。例えば、免疫療法を受けている患者はリンパ腫、皮膚腫瘍および脳腫瘍を発症する高いリスクがある（例えば、Fellstrom et al., 1993, Immunol. Rev. 134 : 83-98を参照）。同種移植片拒絶の予防用に現在用いられる総括的免疫抑制薬の代わりに、OKT3を含むモノクローナル抗体の使用がT細胞刺激活性化に関わる受容体を特異的にブロックするのに成功している。

10

【0193】

組織移植に関する本発明の使用は、それ故に、拒絶の急性期を治療する方法ならびに拒絶の症候群の再発を予防する方法を包含する。組織に関する本発明の治疗方法に対する応答は、本明細書に記載の方法によりまたは当業者に公知の方法により評価することができる；しかし、ドナー抗原を認識するCTLの頻度の増加を検出すること以外に、移植がレシピエントにより拒絶されるかどうかをモニターする一般的な方法は現在存在しない。いくつかの移植片（すなわち、腎臓または肝臓）の機能は直接モニタリングできるが、拒絶の最初の明確な徴候は組織の完全に生理学的不全であることが多く、その時点では組織を救出することは通常不可能である。

20

【0194】

5.2.6 自己免疫障害の診断、予測および評価

自己免疫障害の患者は一般的に自己抗原を認識するCTLの頻度が増加している。組織移植の場合、患者はドナー特異的抗原を認識するCTLの頻度が増加しうる。かかる自己反応性またはドナー反応性CTLは末梢血または標的組織中に検出しうる。例えば、糖尿病患者では、自己反応性CTLを膵島細胞組織に検出しうるし；乾癬の患者では、自己反応性CTLを上皮または皮膚組織に検出しうるし；関節炎患者では、自己反応性CTLを滑膜細胞組織中に検出しうるし、そして臓器移植レシピエントでは、ドナー反応性CTLを移植片中に検出しうる。自己反応性またはドナー反応性CTLの生成は、自己／ドナー抗体の発生および免疫障害の臨床症候群の他の指標に先行すると思われるので、特異的CTLの検出は、いくつかの事例において障害のより高感度で特異的な診断を可能にする。

30

【0195】

臨床前の被験者および療法を受けた患者の両方における、末梢血サンプルなどのサンプル中に存在する自己反応性CTLの絶対数と比率の両方を数値化するために、アッセイを用いることができる。いくつかの実施形態においては、かかるアッセイを用いて、自己免疫性または同種移植片障害の重症度および経過の両方を予測しあつ追跡することができる。例えば、ヒトMHCクラスI分子HLA-A0201を、糖尿病自己抗原、例えばIA-2と組合させて用いて、臨床前の被験者または本発明の方法を用いる療法を現在行っている糖尿病患者の末梢血サンプル中に存在する自己反応性CTLを検出することができる。

40

【0196】

本発明の化合物はまた、*in vivo*で、例えば、イメージング技法または他の*in vivo*検出法と組合せて使用し、本発明の化合物または製剤を結合して標識したCTLを検出することができる。

【0197】

抗原特異的CTLは、イムノスポット（例えば、ELISPOT）アッセイ、MHCクラスI四量体アッセイ、または本明細書に記載のまたは当業者に公知の他のアッセイを含む色々なアッセイを用いて検出することができる。

【0198】

障害進行または治療有効性のバイオマーカーを評価する期間は、単一用量または長い治

50

療期間、例えば、数時間、数日、数週、又は数ヶ月の期間でありうる。

【0199】

5.2.7 治療および予防方法

本発明の組成物および方法は、患部組織中へのリンパ球のT細胞浸潤の増加を特徴とする自己免疫障害、T細胞活性化の増加および／または異常な抗原提示および／または認識を特徴とする自己免疫障害などのT細胞介在性疾患の予防、治療または改善に対して特に有用である。この組成物および方法はまた、T細胞活性化の増加および／または異常な抗原提示を特徴とする炎症性障害の予防、治療または改善に対しても有用である。具体的な実施形態において、本発明は、自己免疫疾患、特に、1型糖尿病、多発性硬化症、潰瘍性大腸炎、乾癬、慢性関節リウマチ、狼瘡（特に、皮膚の）、乾癬性関節炎、炎症性腸疾患（IBD）、臓器移植による影響、および移植片対宿主疾患（GVHD）の症候群を治療、予防、管理、または改善する方法を提供する。好ましくは、本明細書に記載の治療レジメンを、免疫反応から生じる軽い組織障害を示しあつ疾患を管理するために最小限の医療介入、例えば標準療法の低用量を必要とする患者に、自己免疫疾患の初期段階に投与する。本明細書に記載の治療レジメンは高レベル機能化を維持しあつさらなる組織障害を予防し、緩慢にしあつは低減する。従って、本発明の方法は疾患または障害、および／またはその症候群を治療し、管理しあつは改善するさらなる療法の必要性を減じうる。

10

【0200】

ある特定の実施形態においては、本明細書に記載の1型糖尿病の発症に対する素因をもつ被験者に、1種以上のCD3結合分子（例えば、1種以上の抗ヒトCD3抗体）を含む医薬組成物を1回以上、好ましくは複数回の用量を2～20日間にわたる治療レジメンで投与して、自己免疫性糖尿病障害の症候群を治療し、管理しあつは改善し、自己免疫性糖尿病に関連する細胞機能の低下を予防しあつは緩慢にし、または自己免疫性糖尿病障害の発症を遅延する。さらに他の実施形態において、膵島細胞組織を含む同種移植を行った被験者に、1種以上のCD3結合分子（例えば、1種以上の抗CD3抗体）を含む1種以上の医薬組成物を1回以上投与して糖尿病に関連する細胞機能の低下を予防する。これらの実施形態に従って、被験者の細胞機能の変化は、当技術分野で公知の毎日インスリン必要量、HbA1cレベル、Cペプチド機能／レベル、低血糖症状発現の頻度またはFPIRの特徴付けにより評価することができる。

20

【0201】

ある特定の実施形態においては、本発明の方法による抗CD3抗体を用いる治療のコースを2ヶ月、4ヶ月、6ヶ月、8ヶ月、9ヶ月、10ヶ月、12ヶ月、15ヶ月、18ヶ月、24ヶ月、30ヶ月、または36ヶ月間隔で繰り返す。具体的な実施形態においては、本発明の抗CD3抗体を用いる治療の効力を、前の治療の後、2ヶ月、4ヶ月、6ヶ月、9ヶ月、12ヶ月、15ヶ月、18ヶ月、24ヶ月、30ヶ月、または36ヶ月に、本明細書に記載した通りまたは当技術分野で公知のように確認する。

30

【0202】

他の実施形態においては、被験者に1種以上の抗CD3抗体のほぼ0.5～50 μg/kg、ほぼ0.5～40 μg/kg、ほぼ0.5～30 μg/kg、ほぼ0.5～20 μg/kg、ほぼ0.5～15 μg/kg、ほぼ0.5～10 μg/kg、ほぼ0.5～5 μg/kg、ほぼ1～5 μg/kg、ほぼ1～10 μg/kg、ほぼ20～40 μg/kg、ほぼ20～30 μg/kg、ほぼ22～28 μg/kgまたはほぼ25～26 μg/kgの1以上の単位用量を投与して、自己免疫障害、特に糖尿病の1以上の症候群を予防、治療または改善する。

40

【0203】

他の実施形態においては、被験者に1種以上の抗CD3抗体の200 μg/kg、178 μg/kg、180 μg/kg、128 μg/kg、100 μg/kg、95 μg/kg、90 μg/kg、85 μg/kg、80 μg/kg、75 μg/kg、70 μg/kg、65 μg/kg、60 μg/kg、55 μg/kg、50 μg/kg、45 μg/kg、40 μg/kg、35 μg/kg、30 μg/kg、26 μg/kg、25 μg/kg、20 μg/kg、15 μg/kg、13 μg/kg、10 μg/kg、6.5 μg/kg、5 μg/kg、3.2 μg/kg、3 μg/kg、2.5 μg/kg、2 μg/kg、1.6 μg/kg、1.5 μg/kg、1 μg/kg、0.5 μg/kg、0.25 μg/kg、0.1 μg/kg、または0.05 μg/kgの1以上の単位用量を投与して、自己免疫障害、特に糖尿病の1以上の症候群を予防、治療または改善する。

50

【0204】

一実施形態においては、被験者に1種以上の本発明の抗CD3抗体の200 μg/kg以下、175 μg/kg以下、150 μg/kg以下、128 μg/kg以下、100 μg/kg以下、95 μg/kg以下、90 μg/kg以下、85 μg/kg以下、80 μg/kg以下、75 μg/kg以下、70 μg/kg以下、65 μg/kg以下、60 μg/kg以下、55 μg/kg以下、50 μg/kg以下、45 μg/kg以下、40 μg/kg以下、35 μg/kg以下、30 μg/kg以下、25 μg/kg以下、20 μg/kg以下、15 μg/kg以下、10 μg/kg以下、5 μg/kg以下、2.5 μg/kg以下、2 μg/kg以下、1.5 μg/kg以下、1 μg/kg以下、0.5 μg/kg以下、0.25 μg/kg以下、0.1 μg/kg以下、または0.05 μg/kg以下の1以上の単位用量を投与して、限定されるものでないが、糖尿病などの自己免疫障害の1以上の症候群を予防し、治療したまは改善する。

10

【0205】

特別な実施形態においては、被験者に約5~1200 μg/m²、好ましくは、51~826 μg/m²の1以上の用量を投与する。他の実施形態においては、被験者に1種以上の抗CD3抗体の1200 μg/m²、1150 μg/m²、1100 μg/m²、1050 μg/m²、1000 μg/m²、950 μg/m²、900 μg/m²、850 μg/m²、800 μg/m²、750 μg/m²、700 μg/m²、650 μg/m²、600 μg/m²、550 μg/m²、500 μg/m²、450 μg/m²、400 μg/m²、350 μg/m²、300 μg/m²、250 μg/m²、200 μg/m²、150 μg/m²、100 μg/m²、50 μg/m²、40 μg/m²、30 μg/m²、20 μg/m²、15 μg/m²、10 μg/m²、または5 μg/m²の1以上の単位用量を投与して、自己免疫障害または疾患の1以上の症候群を予防し、治療し、その進行を緩慢にし改善する。

20

【0206】

他の実施形態においては、被験者に予防上または治療上有効な量の1種以上の抗ヒトCD3抗体の1以上の用量を含む治療レジメンを投与することを含んでなり、ここで治療のコースは2日間、3日間、4日間、5日間、6日間、7日間、8日間、9日間、10日間、11日間、12日間、13日間または14日間にわたって投与される。一実施形態において、治療レジメンは、1種以上の抗ヒトCD3抗体の予防上または治療上有効な量の用量を、毎日、2日毎、3日毎、4毎に投与することを含んでなる。ある特定の実施形態において、治療レジメンは、14用量、13用量、12用量、11用量、10用量、9用量、または8用量を投与し終わるまで、所との週の月曜日、火曜日、水曜日、木曜日に1種以上の抗ヒトCD3抗体の予防上または治療上有効な量の用量を投与し、そして同じ週の金曜日、土曜日、および日曜日に1種以上の抗ヒトCD3抗体の予防上または治療上有効な量の用量を投与しないことを含んでなる。ある特定の実施形態においては、レジメンのそれぞれの日に投与する用量が同じである。ある特定の実施形態においては、被験者に、1種以上の抗ヒトCD3抗体の予防上または治療上有効な量の1以上の用量を含んでなる治療レジメンを投与し、ここで予防上または治療上有効な量は200 μg/kg/日、175 μg/kg/日、150 μg/kg/日、125 μg/kg/日、100 μg/kg/日、95 μg/kg/日、90 μg/kg/日、85 μg/kg/日、80 μg/kg/日、75 μg/kg/日、70 μg/kg/日、65 μg/kg/日、60 μg/kg/日、55 μg/kg/日、50 μg/kg/日、45 μg/kg/日、40 μg/kg/日、35 μg/kg/日、30 μg/kg/日、26 μg/kg/日、25 μg/kg/日、20 μg/kg/日、15 μg/kg/日、13 μg/kg/日、10 μg/kg/日、6.5 μg/kg/日、5 μg/kg/日、3.2 μg/kg/日、3 μg/kg/日、2.5 μg/kg/日、2 μg/kg/日、1.6 μg/kg/日、1.5 μg/kg/日、1 μg/kg/日、0.5 μg/kg/日、0.25 μg/kg/日、0.1 μg/kg/日、または0.05 μg/kg/日であり；および/またはここで予防上または治療上有効な量は1200 μg/m²/日、1150 μg/m²/日、1100 μg/m²/日、1050 μg/m²/日、1000 μg/m²/日、950 μg/m²/日、900 μg/m²/日、850 μg/m²/日、800 μg/m²/日、750 μg/m²/日、700 μg/m²/日、650 μg/m²/日、600 μg/m²/日、550 μg/m²/日、500 μg/m²/日、450 μg/m²/日、400 μg/m²/日、350 μg/m²/日、300 μg/m²/日、250 μg/m²/日、200 μg/m²/日、150 μg/m²/日、100 μg/m²/日、50 μg/m²/日、40 μg/m²/日、30 μg/m²/日、20 μg/m²/日、15 μg/m²/日、10 μg/m²/日、または5 μg/m²/日である。他の実施形態においては、1種以上の抗CD3抗体の1200 μg/m²以下、1150 μg/m²以下、1100 μg/m²以下、1050 μg/m²以下、1000 μg/m²以下、950 μg/m²以下、900 μg/m²以下、850 μg/m²以下、800 μg/m²以下、750 μg/m²以下、700 μg/m²以下、650 μg/m²以下、600 μg/m²以下、550 μg/m²以下、500 μg/m²以下、450 μg/m²以下、400 μg/m²以下、350 μg/m²以下、300 μg/m²以下、250 μg/m²以下、200 μg/m²以下、150 μg/m²以下、100 μg/m²以下、50 μg/m²以下、40 μg/m²以下、30 μg/m²以下、20 μg/m²以下、15 μg/m²以下、10 μg/m²以下、または5 μg/m²以下である。

30

40

50

/m²以下、150 μg/m²以下、100 μg/m²以下、50 μg/m²以下、40 μg/m²以下、30 μg/m²以下、20 μg/m²以下、15 μg/m²以下、10 μg/m²以下、または5 μg/m²以下の静脈内用量を、約24時間、約22時間、約20時間、約18時間、約16時間、約14時間、約12時間、約10時間、約8時間、約6時間、約4時間、約2時間、約1.5時間、約1時間、約50分間、約40分間、約30分間、約20分間、約10分間、約5分間、約2分間、約1分間、約30秒間または約10秒間にわたって投与して、1型糖尿病の1以上の症候群を予防し、治療しましたは改善する。レジメンの期間全体にわたる合計投与量は、好ましくは、合計9000 μg/m²、8000 μg/m²、7000 μg/m²、6000 μg/m²未満であり、かつ5000 μg/m²、4000 μg/m²、3000 μg/m²、2000 μg/m²、または1000 μg/m²未満であってもよい。具体的な実施形態において、レジメンで投与される合計投与量は100 μg/m²～200 μg/m²、100 μg/m²～500 μg/m²、100 μg/m²～1000 μg/m²、または500 μg/m²～1000 μg/m²である。

10

【0207】

好ましい実施形態において、1種以上の抗ヒトCD3抗体の予防上または治療上有効な日用量に到達するまで、用量は治療レジメンの用量の最初の4分の1、最初の2分の1または最初の3分の2にわたって（例えば、1日当たり1用量の或る10、12、14、16、18または20日レジメンの最初の2、3、4、5、または6日にわたって）増加する。ある特定の実施形態においては、被験者に、1種以上の抗ヒトCD3抗体の予防上または治療上有効な量の1以上の用量を含んでなる治療レジメンを投与し、ここで、予防上または治療上有効な量を、治療の進行とともに毎日、例えば、0.01 μg/kg、0.02 μg/kg、0.04 μg/kg、0.05 μg/kg、0.06 μg/kg、0.08 μg/kg、0.1 μg/kg、0.2 μg/kg、0.25 μg/kg、0.5 μg/kg、0.75 μg/kg、1 μg/kg、1.5 μg/kg、2 μg/kg、4 μg/kg、5 μg/kg、10 μg/kg、15 μg/kg、20 μg/kg、25 μg/kg、30 μg/kg、35 μg/kg、40 μg/kg、45 μg/kg、50 μg/kg、55 μg/kg、60 μg/kg、65 μg/kg、70 μg/kg、75 μg/kg、80 μg/kg、85 μg/kg、90 μg/kg、95 μg/kg、100 μg/kg、または125 μg/kgだけ増加する；または毎日、例えば、1 μg/m²、5 μg/m²、10 μg/m²、15 μg/m²、20 μg/m²、30 μg/m²、40 μg/m²、50 μg/m²、60 μg/m²、70 μg/m²、80 μg/m²、90 μg/m²、100 μg/m²、150 μg/m²、200 μg/m²、250 μg/m²、300 μg/m²、350 μg/m²、400 μg/m²、450 μg/m²、500 μg/m²、550 μg/m²、600 μg/m²、または650 μg/m²だけ増加する。ある特定の実施形態においては、被験者に、1種以上の抗ヒトCD3抗体の予防上または治療上有効な量の1以上の用量を含んでなる治療レジメンを投与し、ここで、予防上または治療上有効な量を、1種以上の抗ヒトCD3抗体の予防上または治療上有効な日量に到達するまで、1.25倍、1.5倍、2倍、2.25倍、2.5倍、5倍だけ増加する。

20

【0208】

具体的な実施形態においては、被験者に、筋肉内に1種以上の抗CD3抗体の200 μg/kg以下、好ましくは175 μg/kg以下、150 μg/kg以下、125 μg/kg以下、100 μg/kg以下、95 μg/kg以下、90 μg/kg以下、85 μg/kg以下、80 μg/kg以下、75 μg/kg以下、70 μg/kg以下、65 μg/kg以下、60 μg/kg以下、55 μg/kg以下、50 μg/kg以下、45 μg/kg以下、40 μg/kg以下、35 μg/kg以下、30 μg/kg以下、25 μg/kg以下、20 μg/kg以下、15 μg/kg以下、10 μg/kg以下、5 μg/kg以下、2.5 μg/kg以下、2 μg/kg以下、1.5 μg/kg以下、1 μg/kg以下、0.5 μg/kg以下、0.5 μg/kg以下の1以上の単位用量を投与して、自己免疫障害の1以上の症候群を予防し、治療しましたは改善する。

30

【0209】

他の実施形態においては、被験者に、皮下に1種以上の抗CD3抗体の200 μg/kg以下、好ましくは175 μg/kg以下、150 μg/kg以下、125 μg/kg以下、100 μg/kg以下、95 μg/kg以下、90 μg/kg以下、85 μg/kg以下、80 μg/kg以下、75 μg/kg以下、70 μg/kg以下、65 μg/kg以下、60 μg/kg以下、55 μg/kg以下、50 μg/kg以下、45 μg/kg以下、40 μg/kg以下、35 μg/kg以下、30 μg/kg以下、25 μg/kg以下、20 μg/kg以下、15 μg/kg以下、10 μg/kg以下、5 μg/kg以下、2.5 μg/kg以下、2 μg/kg以下、1.5 μg/kg以下、1 μg/kg以下、0.5 μg/kg以下、0.5 μg/kg以下の1以上の単位用量を投与して、自己免疫障害の1以上の症候群を予防し、治療しましたは改善する。

40

【0210】

50

他の実施形態においては、被験者に、静脈内に1種以上の抗CD3抗体の100 μg/kg以下、95 μg/kg以下、90 μg/kg以下、85 μg/kg以下、80 μg/kg以下、75 μg/kg以下、70 μg/kg以下、65 μg/kg以下、60 μg/kg以下、55 μg/kg以下、50 μg/kg以下、45 μg/kg以下、40 μg/kg以下、35 μg/kg以下、30 μg/kg以下、25 μg/kg以下、20 μg/kg以下、15 μg/kg以下、10 μg/kg以下、5 μg/kg以下、2.5 μg/kg以下、2 μg/kg以下、1.5 μg/kg以下、1 μg/kg以下、0.5 μg/kg以下、0.5 μg/kg以下の1以上の単位用量を投与して、自己免疫障害の1以上の症候群を予防し、治療しましたは改善する。他の実施形態において、1種以上の抗ヒトCD3抗体の100 μg/kg以下、95 μg/kg以下、90 μg/kg以下、85 μg/kg以下、80 μg/kg以下、75 μg/kg以下、70 μg/kg以下、65 μg/kg以下、60 μg/kg以下、55 μg/kg以下、50 μg/kg以下、45 μg/kg以下、40 μg/kg以下、35 μg/kg以下、30 μg/kg以下、25 μg/kg以下、20 μg/kg以下、15 μg/kg以下、10 μg/kg以下、5 μg/kg以下、2.5 μg/kg以下、2 μg/kg以下、1.5 μg/kg以下、1 μg/kg以下、0.5 μg/kg以下、または0.5 μg/kg以下の静脈内用量を、約6時間、約4時間、約2時間、約1.5時間、約1時間、約50分間、約40分間、約30分間、約20分間、約10分間、約5分間、約2分間、約1分間、約30秒間にわたり投与して、自己免疫障害の1以上の症候群を予防し、治療しましたは改善する。
10

【0211】

増加する用量を投与する具体的な実施形態においては、投与レジメンの最初の日について、レジメンの第1日の用量は5~100 μg/m²/日、好ましくは51 μg/m²/日であり、そして第3、4、5、6または7日にかけて前記の日用量へ増加する。例えば、第1日に被験者にほぼ51 μg/m²/日、第2日にほぼ103 μg/m²/日、第3日にほぼ207 μg/m²/日、第4日にほぼ413 μg/m²/日およびレジメンのその後の日に（例えば、5~14日に）826 μg/m²/日の用量を投与する。他の実施形態においては、第1日に被験者にほぼ227 μg/m²/日、第2日にほぼ459 μg/m²/日、第3日およびその後の日にほぼ919 μg/m²/日の用量を投与する。他の実施形態においては、第1日に被験者にほぼ284 μg/m²/日、第2日にほぼ574 μg/m²/日、第3日およびその後の日にほぼ1148 μg/m²/日の用量を投与する。
20

【0212】

他の実施形態において、最初の用量は日用量の1/4、1/2であり、レジメンの終わりには日用量に等しいが、6、8、10または12時間の間隔で小分けして投与する。例えば、13 μg/kg/日の用量を3~4 μg/kgの4用量で6時間の間隔にて投与し、抗体の投与によるサイトカイン放出のレベルを低下させる。
30

【0213】

具体的な実施形態において、サイトカイン放出の可能性および他の有害な作用を低下させるために、レジメンの最初の1、2、3、または4用量または全ての用量をさらに徐々に静脈内投与により投与する。例えば、51 μg/m²/日の用量を、約5分間、約15分間、約30分間、約45分間、約1時間、約2時間、約4時間、約6時間、約8時間、約10時間、約12時間、約14時間、約16時間、約18時間、約20時間、および約22時間にわたって投与してもよい。ある特定の実施形態においては、用量を、例えば、20~24時間にわたる緩慢な注入により投与する。具体的な実施形態においては、用量をポンプで注入し、好ましくは、注入の進行とともに投与する抗体の濃度を増加する。
40

【0214】

他の実施形態においては、前記51 μg/m²/日~826 μg/m²/日のレジメンに対する用量の一式の分率を、用量を増加して投与する。ある特定の実施形態において、分率は前記投与レジメンの日用量の1/10、1/4、1/3、1/2、2/3または3/4である。従って、分率が1/10である場合、日用量は第1日に5.1 μg/m²、第2日に10.3 μg/m²、第3日に20.7 μg/m²、第4日に41.3 μg/m²、第5~14日に82.6 μg/m²でありうる。分率が1/4である場合、日用量は第1日に12.75 μg/m²、第2日に25.5 μg/m²、第3日に51 μg/m²、第4日に103 μg/m²、第5~14日に207 μg/m²でありうる。分率が1/3である場合、日用量は第1日に17 μg/m²、第2日に34.3 μg/m²、第3日に69 μg/m²、第4日に137.6 μg/m²、第5~14日に275.3 μg/m²でありうる。分率が1/2である場合、日用量は第1日に25.5 μg/m²、第2日に51 μg/m²、第3日に103 μg/m²
50

²、第4日に207 μg/m²、第5～14日に413 μg/m²でありうる。分率が2/3である場合、日用量は第1日に34 μg/m²、第2日に69 μg/m²、第3日に137.6 μg/m²、第4日に275.3 μg/m²、第5～14日に550.1 μg/m²でありうる。分率が3/4である場合、日用量は第1日に38.3 μg/m²、第2日に77.3 μg/m²、第3日に155.3 μg/m²、第4日に309.8 μg/m²、第5～14日に620 μg/m²でありうる。他の実施形態において、投与レジメンは前記の1つと同一であるが、第1～4日、第1～5日、第1～6日にわたるだけである。例えば、特別な実施形態においては、用量は第1日に17 μg/m²、第2日に34.3 μg/m²、第3日に69 μg/m²、第4日に137.6 μg/m²、第5日および第6日に275.3 μg/m²でありうる。

【0215】

具体的な実施形態において、抗ヒトCD3抗体を日用量により数日にわたって投与しないで、むしろ途切れない方式で注入により4時間、6時間、8時間、10時間、12時間、15時間、18時間、20時間、24時間、30時間または36時間にわたって投与する。注入は一定であってもよく、または、低用量で、例えば、最初の1、2、3、5、6、または8時間の注入をスタートし、その後に、より高い用量へ増加してもよい。注入のコースにわたって、患者は前記の5～20日レジメンで投与される量に等しい用量を受ける。例えば、ほぼ150 μg/m²、200 μg/m²、250 μg/m²、500 μg/m²、750 μg/m²、1000 μg/m²、1500 μg/m²、2000 μg/m²、3000 μg/m²、4000 μg/m²、5000 μg/m²、6000 μg/m²、7000 μg/m²、8000 μg/m²、または9000 μg/m²の用量である。特に、注入の速度と持続時間は、投与後の被験者の遊離抗ヒトCD3抗体のレベルを最小限にするように設計する。ある特定の実施形態において、遊離抗ヒトCD3抗体のレベルは200ng/ml遊離抗体を越えてはならない。さらに、注入は、少なくとも50%、60%、70%、80%、90%、95%または100%の組合せられたT細胞受容体コーティングとモジュレーションを達成するように設計する。
10

【0216】

ある特定の実施形態において、これらのレジメンによって投与する抗体はOKT3 1(ala-ala)である。他の実施形態において、抗体はOKT3 1(ala-ala)でなく、OKT3 1(ala-ala)の投与により(例えば静脈内投与により)達成される1以上の薬物動態学パラメーター(例えば、投与される抗体の血清力価)を、投与レジメンの最終日の後、1日、2日、3日、4日、5日、6日、7日、2週、3週または1ヶ月に達成するように投与される。
20

【0217】

ある特定の実施形態においては、抗ヒトCD3抗体を、当技術分野で周知の方法(例えば、本明細書に参照によりその全てが組み入れられる米国特許出願公開US2003/0108548の実施例11を参照)により測定して、T細胞上のT細胞受容体複合体のコーティングとモジュレーションの組合せがある特定のレベルを達成するように投与する。具体的な実施形態においては、その投与レジメンは、少なくとも50%、60%、70%、80%、90%、95%または100%のT細胞受容体コーティングとモジュレーションの組合せを達成し、かつ、具体的な実施形態において、遊離の抗ヒトCD3抗体は少ししかまたは全く検出されなかつた(例えば、200ng/mL未満の薬物が患者の血液に検出された)。
30

【0218】

他の実施形態においては、抗ヒトCD3抗体を慢性的に投与して、1型糖尿病の1以上の症候群を治療し、予防し、またはその発症もしくは進行を緩慢にしもしくは遅延化または改善する。例えば、ある特定の実施形態においては、前記の6～14日投与レジメンの代わりとしてまたはかかるレジメンの投与後、低用量の抗ヒトCD3抗体を月に1回、月に2回、月に3回、週に1回またはさらにもっと頻繁に投与して、その治療効果を増強するかまたは維持する。かかる低用量は1 μg/m²～100 μg/m²のいずれであってもよく、好ましくは、ほぼ5 μg/m²、10 μg/m²、15 μg/m²、20 μg/m²、25 μg/m²、30 μg/m²、35 μg/m²、40 μg/m²、45 μg/m²、または50 μg/m²である。
40

【0219】

他の実施形態においては、被験者に、抗ヒトCD3抗体投与レジメンの投与後の或る時点に、好ましくは、1以上の生理学的パラメーターに基づいて再投与してもよく、または当然のこととして行ってもよい。投与レジメンの投与後、2ヶ月、4ヶ月、6ヶ月、8ヶ月、9
50

ヶ月、1年、15ヶ月、18ヶ月、2年、30ヶ月または3年にかかる再投与を実施してもよくおよび／またはかかる再投与の必要性を評価してもよく、そして6ヶ月、9ヶ月、1年、15ヶ月、18ヶ月、2年、30ヶ月または3年毎の治療のコースを無期限に投与することを含んでもよい。

【0220】

具体的な実施形態においては、被験者に、次の組合せ：CD4/CD8細胞比、CD8細胞計数値、CD4/CD3反転（インバージョン）、CD4/CD25細胞比、CD4/FoxP3細胞比、CD4/CD40細胞比、CD4/IL-10細胞比、および／またはCD4/TGF- β 細胞比の1以上の測定値に基づいて、その後のラウンドの抗ヒトCD3抗体治療を投与する。

【0221】

1型糖尿病の管理の治療については、その後のラウンドの治療を投与するかどうかを決定する他のパラメーターとしては、GADA、IA-2抗体、または抗インスリン抗体などの抗胰島細胞抗体の出現もしくは増加、または胰島細胞抗原に特異的なT細胞の出現もしくはレベルの増加が挙げられる。もし 細胞数または 細胞活性または機能が、前のラウンドの治療の投与中の 細胞数または活性または機能と比較して20%、30%、40%、50%、60%、70%、80%または90%だけ減少すれば、引き続いての用量を投与してもよい。細胞機能は、当技術分野で公知のいずれかの方法、例えば、前に考察した、MMTT、OGTT、IGTT、または二相グルコースクランプに対するCペプチド反応、または第一相インスリン放出（FPIR）試験により決定することができる。再投与するかどうかを決定するために利用しうる他のパラメーターとしては、HA1またはHA1cレベル、外因性インスリン投与の必要性または0.1U/kg/日、0.2U/kg/日、0.5U/kg/日、0.6U/kg/日、1U/kg/日、または2U/kg/日以上の外因性インスリンの投与量の増加が挙げられる。例えば、患者のMMTT、OGTT、IGTTまたは二相グルコースクランプ法に対するCペプチド反応またはFPIRが治療前レベルの1%超、5%超、10%超、20%超、30%超、40%超または50%超だけ減少する場合、被験者にその後のラウンドの治療を投与してもよい。特別な実施形態において、もし被験者のMMTT、OGTT、IGTTまたは二相グルコースクランプ法（好ましくは、MMTT）に対するCペプチド反応が40pmol/ml/240分未満、50pmol/ml/240分未満、60pmol/ml/240分未満、70pmol/ml/240分未満、80pmol/ml/240分未満、または少なくとも90pmol/ml/240分未満のAUCをもたらすのであれば、被験者に再投与してもよい。具体的な実施形態において、もし被験者が300 pmol/l未満、400 pmol/l未満、500 pmol/l未満、600 pmol/l、または700 pmol/l未満のFPIRを有するのであれば、被験者に再投与してもよい。また例えば、被験者のHA1またはHA1cレベルが、治療前レベルと比較して少なくとも 5%、少なくとも 10%、少なくとも 20%、少なくとも 30%、少なくとも 40%、少なくとも 50%、少なくとも 60%、少なくとも 70%、少なくとも 80%または少なくとも 90%だけ増加するか、または絶対レベルが8%より高い、7.5%より高い、もしくは7%より高い場合、被験者に再投与してもよい。他の実施形態においては、さらなる用量を、日、週または月基準における低血糖症状発現のまたはケトアシドーシス症状発現の出現または数の増加（平均で、1、2、3、4、5、8、10、15、または20の増加などの）、持続時間および／または重症度に基づいて投与してもよい。

【0222】

具体的な実施形態においては、抗ヒトCD3療法を、同じ集団（すなわち、年齢、性別、人種、および一般的健康）中の糖尿病の徴候が無いまたは糖尿病の素因を有しない個人と比較し、本明細書に記載のまたは当業者に公知の方法で決定して、少なくとも99%、少なくとも95%、少なくとも90%、少なくとも85%、少なくとも80%、少なくとも75%、少なくとも70%、少なくとも75%、少なくとも60%、少なくとも50%の残存 細胞機能を有する1型糖尿病患者に用いる。他の実施形態において、本発明による抗ヒトCD3抗体による治療のコース後、患者の 細胞機能のレベルは、治療前レベルの1%未満、5%未満、10%未満、20%未満、30%未満、40%未満、50%未満しか減少しない。本発明のさらに他の実施形態において、本発明による抗ヒトCD3抗体による治療のコース後、患者の 細胞機能のレベルは、治療前レベルの少なくとも99%、少なくとも95%、少なくとも90%、少なく

10

20

30

40

50

とも80%、少なくとも70%、少なくとも60%、または少なくとも50%に、治療後、少なくとも4ヶ月、少なくとも6ヶ月、少なくとも9ヶ月、少なくとも12ヶ月、少なくとも18ヶ月、少なくとも24ヶ月、または少なくとも30ヶ月の間、維持される。本発明の他の実施形態において、本発明による抗ヒトCD3抗体による治療のコース後、患者の細胞機能のレベルは、治療前レベルの少なくとも99%、少なくとも95%、少なくとも90%、少なくとも80%、少なくとも70%、少なくとも60%、または少なくとも50%に、治療後、少なくとも4ヶ月、少なくとも6ヶ月、少なくとも9ヶ月、少なくとも12ヶ月、少なくとも18ヶ月、少なくとも24ヶ月、または少なくとも30ヶ月の間、維持され、かつ、患者の平均リンパ球数は同期間に、800細胞/ml未満、750細胞/ml未満、700細胞/ml未満、650細胞/ml未満、600細胞/ml未満、550細胞未満、500細胞/ml未満、400細胞/ml未満、300細胞/ml未満、または200細胞/ml未満にならない。本発明の他の実施形態において、本発明による抗ヒトCD3抗体による治療のコース後、患者の細胞機能のレベルは、治療前レベルの少なくとも99%、少なくとも95%、少なくとも90%、少なくとも80%、少なくとも70%、少なくとも60%、または少なくとも50%に、治療後、少なくとも4ヶ月、少なくとも6ヶ月、少なくとも9ヶ月、少なくとも12ヶ月、少なくとも18ヶ月、少なくとも24ヶ月、または少なくとも30ヶ月の間、維持され、かつ、患者の平均血小板数は100,000,000 血小板/ml未満、75,000,000 血小板/ml未満、50,000,000 血小板/ml未満、25,000,000 血小板/ml未満、1,000,000 血小板/ml未満、750,000 血小板/ml未満、500,000 血小板/ml未満、250,000 血小板/ml未満、150,000 血小板/mlまたは100,000 血小板/ml未満にならない。

【0223】

ある特定の実施形態において、1種以上のCD3結合分子（例えば、1種以上の抗ヒトCD3抗体）を含む1種以上の医薬組成物を、1型糖尿病を患う被験者に投与し、自己免疫性糖尿病に関連する細胞マスの減少を予防または緩慢にする。いくつかの実施形態において、本発明による抗ヒトCD3抗体による治療のコース後、患者の細胞マスのレベルは、治療前レベルの1%未満、5%未満、10%未満、20%未満、30%未満、40%未満、50%未満、60%未満、または70%未満しか減少しない。本発明のさらに他の実施形態において、本発明による抗ヒトCD3抗体による治療のコース後、患者の細胞機能のレベルは、治療前レベルの少なくとも99%、少なくとも95%、少なくとも90%、少なくとも80%、少なくとも70%、少なくとも60%、少なくとも50%、少なくとも40%、または少なくとも30%に、治療後、少なくとも4ヶ月、少なくとも6ヶ月、少なくとも9ヶ月、少なくとも12ヶ月、少なくとも18ヶ月、少なくとも24ヶ月、または少なくとも30ヶ月の間、維持される。本発明の他の実施形態において、本発明による抗ヒトCD3抗体による治療のコース後、患者の細胞機能のレベルは、治療前レベルの少なくとも99%、少なくとも95%、少なくとも90%、少なくとも80%、少なくとも70%、少なくとも60%、または少なくとも50%に、治療後、少なくとも4ヶ月、少なくとも6ヶ月、少なくとも9ヶ月、少なくとも12ヶ月、少なくとも18ヶ月、少なくとも24ヶ月、または少なくとも30ヶ月の間、維持され、かつ、患者の平均リンパ球数は同期間に、800細胞/ml未満、750細胞/ml未満、700細胞/ml未満、650細胞/ml未満、600細胞/ml未満、550細胞未満、500細胞/ml未満、400細胞/ml未満、300細胞/ml未満、または200細胞/ml未満にならない。本発明の他の実施形態において、本発明による抗ヒトCD3抗体による治療のコース後、患者の細胞機能のレベルは、治療前レベルの少なくとも99%、少なくとも95%、少なくとも90%、少なくとも80%、少なくとも70%、少なくとも60%、または少なくとも50%に、治療後、少なくとも4ヶ月、少なくとも6ヶ月、少なくとも9ヶ月、少なくとも12ヶ月、少なくとも18ヶ月、少なくとも24ヶ月、または少なくとも30ヶ月の間、維持され、かつ、患者の平均血小板数は100,000,000 血小板/ml未満、75,000,000 血小板/ml未満、50,000,000 血小板/ml未満、25,000,000 血小板/ml未満、1,000,000 血小板/ml未満、750,000 血小板/ml未満、500,000 血小板/ml未満、250,000 血小板/ml未満、150,000 血小板/ml未満または100,000 血小板/ml未満にならない。

【0224】

本発明の方法では、抗ヒトCD3療法を、毎日インスリンを必要としない患者、または平均インスリン必要量が0.05U/kg/日未満、0.1U/kg/日未満、0.2U/kg/日未満、0.4U/kg/日

10

20

30

40

50

未満、0.6U/kg/日未満、0.8U/kg/日未満、1U/kg/日未満、2U/kg/日未満、5U/kg/日未満、10U/kg/日未満または50U/kg/日未満である患者に投与する。他の実施形態においては、自己免疫性糖尿病障害を患う患者に、1種以上の抗ヒトCD3抗体の予防上または治療上有効な量の用量のレジメンを投与して、インスリンを投与するかまたは投与するインスリンの用量を増加する必要性を、6ヶ月、1年、18ヶ月、24ヶ月、30ヶ月、36ヶ月、5年、7年または10年間以上回避するかまたは遅延する。他の実施形態においては、外因性のインスリンを必要とする患者において、本発明の方法は、毎日のインスリン必要量の減少を、治療前レベルの少なくとも10%、少なくとも15%、少なくとも20%、少なくとも25%、少なくとも30%、少なくとも40%、少なくとも45%、少なくとも50%、少なくとも55%、少なくとも60%、少なくとも65%、少なくとも70%、少なくとも75%、少なくとも80%、少なくとも85%、または少なくとも90%だけ達成する。さらに本発明の他の実施形態においては、外因性のインスリンを必要とする患者において、本発明による抗ヒトCD3抗体による治療のコース後、患者の毎日インスリン必要量の減少が、治療前レベルの少なくとも10%、少なくとも15%、少なくとも20%、少なくとも25%、少なくとも30%、少なくとも40%、少なくとも45%、少なくとも50%、少なくとも55%、少なくとも60%、少なくとも65%、少なくとも70%、少なくとも75%、少なくとも80%、少なくとも85%、または少なくとも90%だけ、治療のコース後、少なくとも4ヶ月、少なくとも6ヶ月、少なくとも9ヶ月、少なくとも12ヶ月、少なくとも18ヶ月、少なくとも24ヶ月、または少なくとも30ヶ月の間、維持される。さらに本発明の他の実施形態において、本発明による抗ヒトCD3抗体による治療のコース後、患者の毎日のインスリン必要量の減少が、治療前レベルの少なくとも10%、少なくとも15%、少なくとも20%、少なくとも25%、少なくとも30%、少なくとも40%、少なくとも45%、少なくとも50%、少なくとも55%、少なくとも60%、少なくとも65%、少なくとも70%、少なくとも75%、少なくとも80%または少なくとも85%だけ、治療のコース後、少なくとも4ヶ月、少なくとも6ヶ月、少なくとも9ヶ月、少なくとも12ヶ月、少なくとも18ヶ月、少なくとも24ヶ月、または少なくとも30ヶ月の間、維持され、かつ、患者の平均リンパ球数は同期間にわたって、800細胞/ml未満、750細胞/ml未満、700細胞/ml未満、650細胞/ml未満、600細胞/ml未満、550細胞未満、500細胞/ml未満、400細胞/ml未満、300細胞/ml未満、または200細胞/ml未満にならない。

【0225】

他の実施形態においては、外因性インスリンを必要とする患者において、本発明の方法は、インスリンの毎日必要量の増加を、治療前レベルと比較して、1%以下、5%以下、10%以下、15%以下、20%以下、25%以下、30%以下、40%以下、45%以下、50%以下、55%以下、60%以下、65%以下、70%以下、または75%以下しかもたらさない。さらに外因性のインスリンを必要とする患者における他の実施形態において、本発明による抗ヒトCD3抗体による治療のコース後、患者の毎日インスリン必要量の増加は、治療前レベルの1%以下、5%以下、10%以下、15%以下、20%以下、25%以下、30%以下、40%以下、45%以下、50%以下、55%以下、60%以下、65%以下、70%以下、または75%以下に、治療のコース後、少なくとも4ヶ月、少なくとも6ヶ月、少なくとも9ヶ月、少なくとも12ヶ月、少なくとも18ヶ月、少なくとも24ヶ月、または少なくとも30ヶ月の間、維持される。

【0226】

さらに本発明の他の実施形態において、本発明による抗ヒトCD3抗体による治療のコース後、患者の毎日インスリン必要量の増加は、治療前レベルの1%以下、5%以下、10%以下、15%以下、20%以下、25%以下、30%以下、40%以下、45%以下、50%以下、55%以下、60%以下、65%以下、70%以下、または75%以下に、治療のコース後、少なくとも4ヶ月、少なくとも6ヶ月、少なくとも9ヶ月、少なくとも12ヶ月、少なくとも18ヶ月、少なくとも24ヶ月、または少なくとも30ヶ月の間、維持され、かつ、患者の平均リンパ球数は同期間にわたって、800細胞/ml未満、750細胞/ml未満、700細胞/ml未満、650細胞/ml未満、600細胞/ml未満、550細胞未満、500細胞/ml未満、400細胞/ml未満、300細胞/ml未満、または200細胞/ml未満にならない。

【0227】

10

20

30

40

50

さらに他の実施形態においては、1型糖尿病にかかったヒト被験者、または1型糖尿病を発症する素因を有すると同定されたヒトに、1コースの1種以上の抗ヒトCD3抗体の予防上または治療上有効な量を投与すると、治療後、約2週、約1ヶ月、約2ヶ月、約4ヶ月、約5ヶ月、約6ヶ月、約7ヶ月、約8ヶ月、約9ヶ月、約10ヶ月、約11ヶ月、約12ヶ月、約15ヶ月、約18ヶ月、約21ヶ月または約24ヶ月にわたり、MMTT、OGTT、IGTTまたは二相グルコースクランプ法に対する被験者のCペプチド反応またはFPIRを保存する。好ましい実施形態において、患者は最初にMMTT、OGTT、IGTT、または二相グルコースクランプ法（好ましくはMMTT）に対して、少なくとも80pmol/ml/240分、好ましくは、少なくとも90pmol/ml/240分、より好ましくは少なくとも100pmol/ml/240分、またはさらに少なくとも110pmol/ml/240分の曲線下面積（AUC）をもたらすCペプチド反応を有する。好ましい実施形態において、本発明による抗ヒトCD3抗体による治療前の患者は少なくとも300pmol/l、少なくとも350pmol/l、少なくとも400pmol/l、少なくとも450pmol/l、少なくとも500pmol/l、好ましくは、少なくとも550pmol/l、より好ましくは少なくとも600pmol/l、またはeven少なくとも700pmol/lのFPIRを有する。本発明の他の実施形態において、本発明による抗ヒトCD3抗体による治療のコース後、患者のMMTT、OGTT、IGTT、または二相グルコースクランプ法に対するCペプチド反応またはFPIRは、治療前レベルの1%未満、5%未満、10%未満、20%未満、30%未満、40%未満または50%未満しか減少しない。さらに本発明の他の実施形態において、本発明による抗ヒトCD3抗体による治療のコース後、患者のMMTT、OGTT、IGTT、または二相グルコースクランプ法に対するCペプチド反応またはFPIRは、治療前レベルの少なくとも99%、少なくとも95%、少なくとも90%、少なくとも80%、少なくとも70%、少なくとも60%、または少なくとも50%に、治療のコース後、少なくとも4ヶ月、少なくとも6ヶ月、少なくとも9ヶ月、少なくとも12ヶ月、少なくとも18ヶ月、少なくとも24ヶ月、または少なくとも30ヶ月の間、維持される。本発明の他の実施形態において、本発明による抗ヒトCD3抗体による治療のコース後、患者のMMTT、OGTT、IGTT、または二相グルコースクランプ法に対するCペプチド反応またはFPIRは、治療前レベルの少なくとも99%、少なくとも95%、少なくとも90%、少なくとも80%、少なくとも70%、少なくとも60%、または少なくとも50%に、治療の終了後、少なくとも4ヶ月、少なくとも6ヶ月、少なくとも9ヶ月、少なくとも12ヶ月、少なくとも18ヶ月、少なくとも24ヶ月、または少なくとも30ヶ月の間、維持され、かつ、患者の平均リンパ球数は同じ期間にわたって、800細胞/ml未満、750細胞/ml未満、700細胞/ml未満、650細胞/ml未満、600細胞/ml未満、550細胞未満、500細胞/ml未満、400細胞/ml未満、300細胞/ml未満、または200細胞/ml未満にならない。

【 0 2 2 8 】

特別な実施形態において、本発明は、抗ヒトCD3抗体による（好ましくは、抗ヒトCD3抗体による介入治療なしに）单一の治療のラウンドまたは毎6ヶ月、毎9ヶ月、毎12ヶ月、毎15ヶ月、毎18ヶ月、または毎24ヶ月の治療のラウンドが、7%以下、6.5%以下、6%以下、5.5%以下、または5%以下であるHA1またはHA1cのレベルを、前の治療ラウンドまたは最初の治療ラウンド後、6ヶ月、9ヶ月、12ヶ月、15ヶ月、18ヶ月、または24ヶ月の間、もたらす治療の方法を提供する。具体的な実施形態において、本発明の方法による抗CD3抗体による单一の治療のラウンドまたは毎6ヶ月、毎9ヶ月、毎12ヶ月、毎15ヶ月、毎18ヶ月、または毎24ヶ月に繰り返した治療のラウンドの治療後（好ましくは、抗ヒトCD3抗体による介入治療なしに）、患者はMMTT、OGTT、IGTTまたは二相グルコースクランプ法（好ましくは、MMTT）に対するCペプチド反応を有して少なくとも40pmol/ml/240分、50pmol/ml/240分、60pmol/ml/240分、70pmol/ml/240分、80pmol/ml/240分、好ましくは、少なくとも90pmol/ml/240分、より好ましくは少なくとも100pmol/ml/240分、またはさらに少なくとも110pmol/ml/240分のAUCをもたらし、前記反応は、前の治療のラウンド後または前の治療のラウンド後、6ヶ月、9ヶ月、12ヶ月、15ヶ月、18ヶ月、または24ヶ月に測定される。具体的な実施形態において、本発明の方法による抗CD3抗体による单一の治療のラウンドまたは毎6ヶ月、毎9ヶ月、毎12ヶ月、毎15ヶ月、毎18ヶ月、または毎24ヶ月に繰り返した治療のラウンドの治療後（好ましくは、抗ヒトCD3抗体による介入治療なしに）、患者は

10

20

30

40

50

少なくとも 300 pmol/l、少なくとも 400 pmol/l、好ましくは、少なくとも 500 pmol/l、より好ましくは 少なくとも 600 pmol/l、または さらに 少なくとも 700 pmol/lのFPIRを有し、前記FPIRは前の治療または最初の治療のラウンド後、6ヶ月、9ヶ月、12ヶ月、15ヶ月、18ヶ月、または24ヶ月に測定される。

【 0 2 2 9 】

MSの治療に関する他の実施形態においては、1種以上のCD3結合分子（例えば、1種以上の抗ヒトCD3抗体）を含む医薬組成物を1回以上投与して、被験者のMSに関連するEDSSスコアの増加を予防または低減するか、または増加を緩慢にするかまたは低減する。さらに他の実施形態においては、1種以上のCD3結合分子（例えば、1種以上の抗ヒトCD3抗体）を含む医薬組成物を1回以上投与して、被験者のMSに関連する発作の頻度、重症度 および／または 持続期間 の増加を予防する。なおさらに他の実施形態においては、1種以上のCD3結合分子（例えば、1種以上の抗ヒトCD3抗体）を含む医薬組成物を1回以上投与して、被験者のMSに関連する、例えば、MRIにより検出した損傷部の数および／または合計体積の増加を予防する。これらの実施形態において、被験者のEDSSスコアおよび／または発作の頻度、持続期間および／または重症度の決定は有資格の医療技術者により当技術分野で通常容認されかつ周知の方法によって評価することができる。ある特定の実施形態において、被験者は良性のMSである。他の実施形態において、被験者はRRMS、SPMS、PRMS、またはPPMSである。ある特定の実施形態においては、1種以上のCD3結合分子（例えば、1種以上の抗ヒトCD3抗体）を含む医薬組成物を1回以上投与して、被験者のMSに関連する、本明細書に記載のまたは当技術分野で公知の症候群の出現率、重症度および／または持続期間を低減する。ある特定の実施形態において、MSに関連する症候群としては、限定されるものでないが、疲労、視覚の搅乱、力の搅乱、協調の搅乱、バランスの搅乱、膀胱／腸機能の搅乱、虚弱または麻痺、1以上の四肢における震え、筋肉痙攣、筋肉委縮、機能障害性運動、知覚麻痺またはいずれかの域における異常な感覚、刺痛、顔面疼痛、末端疼痛、片方または両方の眼の視覚喪失、二重視覚、眼の不快感、制御できない速やかな眼の運動、協調低下、バランスの喪失、細かいまたは複雑な運動を制御する能力の低下、歩行または歩調異常、筋痙攣、めまい、眩暈、尿の躊躇、尿の切迫、頻尿、失調、記憶低下、自発性低下、判断低下、抽象的思考能力の喪失、一般化能力の喪失、うつ病、注意範囲の縮小、早口で不明瞭な話し方、話すこともしくは会話理解能力の困難、疲労、便秘、聴力喪失、および／または陽性のバビンスキー反射が挙げられる。

【 0 2 3 0 】

具体的な実施形態においては、抗CD3療法を用いて、本明細書に記載のまたは当業者に公知の方法により測定して1.0、1.5、2.0、2.5、3.0、3.5、4.0、4.5、5.0、5.5、6.0、6.5、7.0、7.5、8.0、8.5、9.0または9.5 のKurtzke総合障害度スケール（EDSS : Expanded Disability Scale）による障害度スコアを有する患者のMSを治療する。他の実施形態において、本発明による抗CD3抗体 による1以上のコース後に、患者のEDSSスコアは、治療前スコアと比較して、0.5ステップ以下、1ステップ以下、1.5ステップ以下、2ステップ以下、2.5ステップ以下、3ステップ以下、3.5ステップ以下、4ステップ以下、4.5ステップ以下、5ステップ以下、5.5ステップ以下、6ステップ以下、6.5ステップ以下、7ステップ以下、7.5ステップ以下、8ステップ以下、または8.5ステップ以下しか増加しない。

【 0 2 3 1 】

本発明のさらに他の実施形態において、本発明による抗CD3を用いる1以上の治療のコースの後、患者のEDSSスコアは、治療の終了後、少なくとも4ヶ月、少なくとも6ヶ月、少なくとも9ヶ月、少なくとも12ヶ月、少なくとも15ヶ月、少なくとも18ヶ月、少なくとも24ヶ月、少なくとも2.5年または少なくとも3年の間、治療前スコアと比較して維持されるかまたは0.5ステップ以下、1ステップ以下、1.5ステップ以下、2ステップ以下、2.5ステップ以下、3ステップ以下、3.5ステップ以下、4ステップ以下、4.5ステップ以下、5ステップ以下、5.5ステップ以下、6ステップ以下、6.5ステップ以下、7ステップ以下、7.5ステップ以下、8ステップ以下、または8.5ステップ以下しか増加しない。

【 0 2 3 2 】

10

20

30

40

50

本発明の他の実施形態において、本発明による抗CD3を用いる1以上の治療のコースの後、患者のEDSSスコアは、治療の終了後、少なくとも4ヶ月、少なくとも6ヶ月、少なくとも9ヶ月、少なくとも12ヶ月、少なくとも15ヶ月、少なくとも18ヶ月、少なくとも24ヶ月、少なくとも2.5年または少なくとも3年の間、治療前スコアと比較して維持されるかまたは0.5ステップ以下、1ステップ以下、1.5ステップ以下、2ステップ以下、2.5ステップ以下、3ステップ以下、3.5ステップ以下、4ステップ以下、4.5ステップ以下、5ステップ以下、5.5ステップ以下、6ステップ以下、6.5ステップ以下、7ステップ以下、7.5ステップ以下、8ステップ以下、または8.5ステップ以下しか増加せず、かつ、患者の平均リンパ球数は、800細胞/ml未満、750細胞/ml未満、700細胞/ml未満、650細胞/ml未満、600細胞/ml未満、550細胞未満、500細胞/ml未満、400細胞/ml未満、300細胞/ml未満、または200細胞/ml以下に低下しない。
10

【0233】

本発明の他の実施形態において、本発明による抗CD3を用いる1以上の治療のコースの後、患者のEDSSスコアは、治療の終了後、少なくとも4ヶ月、少なくとも6ヶ月、少なくとも9ヶ月、少なくとも12ヶ月、少なくとも15ヶ月、少なくとも18ヶ月、少なくとも24ヶ月、少なくとも2.5年または少なくとも3年の間、治療前スコアと比較して維持されるかまたは0.5ステップ以下、1ステップ以下、1.5ステップ以下、2ステップ以下、2.5ステップ以下、3ステップ以下、3.5ステップ以下、4ステップ以下、4.5ステップ以下、5ステップ以下、5.5ステップ以下、6ステップ以下、6.5ステップ以下、7ステップ以下、7.5ステップ以下、8ステップ以下、または8.5ステップ以下しか増加せず、かつ、患者の平均血小板数は100,000,000血小板/ml未満、75,000,000血小板/ml未満、50,000,000血小板/ml未満、25,000,000血小板/ml未満、1,000,000血小板/ml未満、750,000血小板/ml未満、500,000血小板/ml未満、250,000血小板/ml未満、150,000血小板/ml未満または100,000血小板/ml以下に低下しない。
20

【0234】

他の実施形態において、本発明による抗CD3を用いる1以上の治療のコースの後、患者における症候群の平均出現率、頻度、重症度または持続期間および/またはMSに関連する発作は、治療前の状態と比較して2%、5%、10%、15%、20%、25%、30%、35%、40%、45%、50%、55%、60%、65%、70%または75%以下しか増加しない。本発明のさらに他の実施形態において、本発明による抗CD3を用いる1以上の治療のコースの後、患者における症候群の平均出現率、頻度、重症度または持続期間および/またはMSに関連する発作は、治療の終了後、少なくとも4ヶ月、少なくとも6ヶ月、少なくとも9ヶ月、少なくとも12ヶ月、少なくとも15ヶ月、少なくとも18ヶ月、少なくとも24ヶ月、少なくとも2.5年または少なくとも3年の間、治療前の状態と比較して2%、5%、10%、15%、20%、25%、30%、35%、40%、45%、50%、55%、60%、65%、70%または75%以下しか増加しない。
30

【0235】

本発明の他の実施形態において、本発明による抗CD3を用いる1以上の治療のコースの後、患者における症候群の平均出現率、頻度、重症度または持続期間および/またはMSに関連する発作は、治療の終了後、少なくとも4ヶ月、少なくとも6ヶ月、少なくとも9ヶ月、少なくとも12ヶ月、少なくとも15ヶ月、少なくとも18ヶ月、少なくとも24ヶ月、少なくとも2.5年または少なくとも3年の間、治療前の状態と比較して2%、5%、10%、15%、20%、25%、30%、35%、40%、45%、50%、55%、60%、65%、70%または75%以下しか増加せず、かつ、患者の平均リンパ球数は、800細胞/ml未満、750細胞/ml未満、700細胞/ml未満、650細胞/ml未満、600細胞/ml未満、550細胞未満、500細胞/ml未満、400細胞/ml未満、300細胞/ml未満、または200細胞/ml以下に低下しない。
40

【0236】

本発明の他の実施形態において、本発明による抗CD3を用いる1以上の治療のコースの後、患者における症候群の平均出現率、頻度、重症度または持続期間および/またはMSに関連する発作は、治療の終了後、少なくとも4ヶ月、少なくとも6ヶ月、少なくとも9ヶ月、少なくとも12ヶ月、少なくとも15ヶ月、少なくとも18ヶ月、少なくとも24ヶ月、少なくとも2.5年

も2.5年または少なくとも3年の間、治療前の状態と比較して2%、5%、10%、15%、20%、25%、30%、35%、40%、45%、50%、55%、60%、65%、70%または75%以下しか増加せず、かつ、患者の平均血小板数は100,000,000血小板/ml未満、75,000,000血小板/ml未満、50,000,000血小板/ml未満、25,000,000血小板/ml未満、1,000,000血小板/ml未満、750,000血小板/ml未満、500,000血小板/ml未満、250,000血小板/ml未満、150,000血小板/ml未満または100,000血小板/ml以下に低下しない。

【0237】

他の具体的な実施形態において、本発明による抗CD3を用いる1以上の治療のコースの後、患者におけるMRIにより測定したMSに関連する損傷の数および/または合計体積は、治療前の状態の2%、5%、10%、15%、20%、25%、30%、35%、40%、45%、50%、55%、60%、65%、70%または75%以下しか増加しない。さらに本発明の他の実施形態において、本発明による抗CD3を用いる1以上の治療のコースの後、患者におけるMRIにより測定したMSに関連する損傷の数および/または合計体積は、治療の終了後、少なくとも4ヶ月、少なくとも6ヶ月、少なくとも9ヶ月、少なくとも12ヶ月、少なくとも15ヶ月、少なくとも18ヶ月、少なくとも24ヶ月、少なくとも2.5年または少なくとも3年の間、治療前の状態と比較して、2%、5%、10%、15%、20%、25%、30%、35%、40%、45%、50%、55%、60%、65%、70%または75%以下しか増加しない。

【0238】

本発明の他の実施形態において、本発明による抗CD3を用いる1以上の治療のコースの後、患者におけるMRIにより測定したMSに関連する損傷の数および/または合計体積は、治療の終了後、少なくとも4ヶ月、少なくとも6ヶ月、少なくとも9ヶ月、少なくとも12ヶ月、少なくとも15ヶ月、少なくとも18ヶ月、少なくとも24ヶ月、少なくとも2.5年または少なくとも3年の間、治療前の状態と比較して、2%、5%、10%、15%、20%、25%、30%、35%、40%、45%、50%、55%、60%、65%、70%または75%以下しか増加せず、かつ、患者の平均リンパ球数は、800細胞/ml未満、750細胞/ml未満、700細胞/ml未満、650細胞/ml未満、600細胞/ml未満、550細胞未満、500細胞/ml未満、400細胞/ml未満、300細胞/ml未満、または200細胞/ml以下に低下しない。

【0239】

本発明の他の実施形態において、本発明による抗CD3を用いる1以上の治療のコースの後患者におけるMRIにより測定したMSに関連する損傷の数および/または合計体積は、治療の終了後、少なくとも4ヶ月、少なくとも6ヶ月、少なくとも9ヶ月、少なくとも12ヶ月、少なくとも15ヶ月、少なくとも18ヶ月、少なくとも24ヶ月、少なくとも2.5年または少なくとも3年の間、治療前の状態と比較して、2%、5%、10%、15%、20%、25%、30%、35%、40%、45%、50%、55%、60%、65%、70%または75%以下しか増加せず、かつ、患者の平均血小板数は100,000,000血小板/ml未満、75,000,000血小板/ml未満、50,000,000血小板/ml未満、25,000,000血小板/ml未満、1,000,000血小板/ml未満、750,000血小板/ml未満、500,000血小板/ml未満、250,000血小板/ml未満、150,000血小板/ml未満または100,000血小板/ml以下に低下しない。

【0240】

他の具体的な実施形態において、本発明による抗CD3を用いる1以上の治療のコースの後、乾癬を患う患者の乾癬面積および重症度指数(PASI)スコアは、治療前の状態と比較して、少なくとも20%、少なくとも35%、少なくとも30%、少なくとも40%、少なくとも45%、少なくとも50%、少なくとも55%、少なくとも60%、少なくとも65%、少なくとも70%、少なくとも75%、少なくとも80%、または少なくとも85%だけ減少する。本発明のさらに他の実施形態において、本発明による抗CD3を用いる1以上の治療のコースの後、乾癬を患う患者の乾癬面積および重症度指数(PASI)スコアは、治療の終了後、少なくとも4ヶ月、少なくとも6ヶ月、少なくとも9ヶ月、少なくとも12ヶ月、少なくとも15ヶ月、少なくとも18ヶ月、少なくとも24ヶ月、少なくとも2.5年または少なくとも3年の間、治療前の状態と比較して、少なくとも20%、少なくとも35%、少なくとも30%、少なくとも40%、少なくとも45%、少なくとも50%、少なくとも55%、少なくとも60%、少なくとも65%、

10

20

30

40

50

少なくとも70%、少なくとも75%、少なくとも80%、または少なくとも85%だけ減少する。

【0241】

本発明の他の実施形態において、本発明による抗CD3を用いる1以上の治療のコースの後、乾癬と診断された患者の乾癬面積および重症度指数（PASI）スコアは、治療の終了後、少なくとも4ヶ月、少なくとも6ヶ月、少なくとも9ヶ月、少なくとも12ヶ月、少なくとも15ヶ月、少なくとも18ヶ月、少なくとも24ヶ月、少なくとも2.5年または少なくとも3年の間、治療前の状態と比較して、少なくとも20%、少なくとも35%、少なくとも30%、少なくとも40%、少なくとも45%、少なくとも50%、少なくとも55%、少なくとも60%、少なくとも65%、少なくとも70%、少なくとも75%、少なくとも80%、または少なくとも85%だけ減少し、かつ、患者の平均リンパ球数は、800細胞/ml未満、750細胞/ml未満、700細胞/ml未満、650細胞/ml未満、600細胞/ml未満、550細胞未満、500細胞/ml未満、400細胞/ml未満、300細胞/ml未満、または200細胞/ml以下に低下しない。10

【0242】

本発明の他の実施形態において、本発明による抗CD3を用いる1以上の治療のコースの後、乾癬と診断された患者の乾癬面積および重症度指数（PASI）スコアは、治療の終了後、少なくとも4ヶ月、少なくとも6ヶ月、少なくとも9ヶ月、少なくとも12ヶ月、少なくとも15ヶ月、少なくとも18ヶ月、少なくとも24ヶ月、少なくとも2.5年または少なくとも3年の間、治療前の状態と比較して、少なくとも20%、少なくとも35%、少なくとも30%、少なくとも40%、少なくとも45%、少なくとも50%、少なくとも55%、少なくとも60%、少なくとも65%、少なくとも70%、少なくとも75%、少なくとも80%、または少なくとも85%だけ減少し、かつ、患者の平均血小板数は100,000,000血小板/ml未満、75,000,000血小板/ml未満、50,000,000血小板/ml未満、25,000,000血小板/ml未満、1,000,000血小板/ml未満、750,000血小板/ml未満、500,000血小板/ml未満、250,000血小板/ml未満、150,000血小板/ml未満または100,000血小板/ml以下に低下しない。20

【0243】

他の具体的な実施形態において、本発明による抗CD3を用いる1以上の治療のコースの後、乾癬と診断された患者の総合評価スコアは、治療前の状態と比較して、少なくとも25%、少なくとも35%、少なくとも30%、少なくとも40%、少なくとも45%、少なくとも50%、少なくとも55%、少なくとも60%、少なくとも65%、少なくとも70%、少なくとも75%、少なくとも80%、少なくとも85%、少なくとも90%、または少なくとも95%だけ改善する。さらに本発明の他の実施形態において、本発明による抗CD3を用いる1以上の治療のコースの後、乾癬と診断された患者の総合評価スコアは、治療の終了後、少なくとも4ヶ月、少なくとも6ヶ月、少なくとも9ヶ月、少なくとも12ヶ月、少なくとも15ヶ月、少なくとも18ヶ月、少なくとも24ヶ月、少なくとも2.5年または少なくとも3年の間、治療前の状態と比較して、少なくとも25%、少なくとも35%、少なくとも30%、少なくとも40%、少なくとも45%、少なくとも50%、少なくとも55%、少なくとも60%、少なくとも65%、少なくとも70%、少なくとも75%、少なくとも80%、少なくとも85%、少なくとも80%、または少なくとも90%だけ改善する。30

【0244】

本発明の他の実施形態において、本発明による抗CD3を用いる1以上の治療のコースの後、乾癬と診断された患者の総合評価スコアは、治療の終了後、少なくとも4ヶ月、少なくとも6ヶ月、少なくとも9ヶ月、少なくとも12ヶ月、少なくとも15ヶ月、少なくとも18ヶ月、少なくとも24ヶ月、少なくとも2.5年または少なくとも3年の間、治療前の状態と比較して、少なくとも25%、少なくとも35%、少なくとも30%、少なくとも40%、少なくとも45%、少なくとも50%、少なくとも55%、少なくとも60%、少なくとも65%、少なくとも70%、少なくとも75%、少なくとも80%、少なくとも85%、少なくとも90%、または少なくとも95%だけ改善し、かつ、患者の平均リンパ球数は、800細胞/ml未満、750細胞/ml未満、700細胞/ml未満、650細胞/ml未満、600細胞/ml未満、550細胞未満、500細胞/ml未満、400細胞/ml未満、300細胞/ml未満、または200細胞/ml以下に低下しない。40

50

20

30

40

50

【 0 2 4 5 】

本発明の他の実施形態において、本発明による抗CD3を用いる1以上の治療のコースの後、乾癬と診断された患者の総合評価スコアは、治療の終了後、少なくとも4ヶ月、少なくとも6ヶ月、少なくとも9ヶ月、少なくとも12ヶ月、少なくとも15ヶ月、少なくとも18ヶ月、少なくとも24ヶ月、少なくとも2.5年または少なくとも3年の間、治療前の状態と比較して、少なくとも25%、少なくとも35%、少なくとも30%、少なくとも40%、少なくとも45%、少なくとも50%、少なくとも55%、少なくとも60%、少なくとも65%、少なくとも70%、少なくとも75%、少なくとも80%、少なくとも85%、少なくとも90%、または少なくとも95%だけ改善し、かつ、患者の平均血小板数は100,000,000血小板/ml未満、75,000,000血小板/ml未満、50,000,000血小板/ml未満、25,000,000血小板/ml未満、1,000,000血小板/ml未満、750,000血小板/ml未満、500,000血小板/ml未満、250,000血小板/ml未満、150,000血小板/ml未満または100,000血小板/ml以下に低下しない。

10

【 0 2 4 6 】

他の具体的な実施形態において、本発明による抗CD3を用いる1以上の治療のコースの後、当技術分野で公知の関節炎重症度スケール（例えば、RASS）により評価した被験者の状態は、治療前の状態と比較して、少なくとも25%、少なくとも35%、少なくとも30%、少なくとも40%、少なくとも45%、少なくとも50%、少なくとも55%、少なくとも60%、少なくとも65%、少なくとも70%、少なくとも75%、少なくとも80%、少なくとも85%、少なくとも90%、少なくとも95%、または少なくとも100%だけ改善する。さらに本発明の他の実施形態において、本発明による抗CD3を用いる1以上の治療のコースの後、当技術分野で公知の関節炎重症度スケール（例えば、RASS）により評価した被験者の状態は、治療の終了後、少なくとも4ヶ月、少なくとも6ヶ月、少なくとも9ヶ月、少なくとも12ヶ月、少なくとも15ヶ月、少なくとも18ヶ月、少なくとも24ヶ月、少なくとも2.5年または少なくとも3年の間、治療前の状態と比較して、少なくとも25%、少なくとも35%、少なくとも30%、少なくとも40%、少なくとも45%、少なくとも50%、少なくとも55%、少なくとも60%、少なくとも65%、少なくとも70%、少なくとも75%、少なくとも80%、少なくとも85%、少なくとも90%、少なくとも95%、または少なくとも100%だけ改善する。

20

【 0 2 4 7 】

本発明の他の実施形態において、本発明による抗CD3を用いる1以上の治療のコースの後、当技術分野で公知の関節炎重症度スケール（例えば、RASS）により評価した被験者の状態は、治療の終了後、少なくとも4ヶ月、少なくとも6ヶ月、少なくとも9ヶ月、少なくとも12ヶ月、少なくとも15ヶ月、少なくとも18ヶ月、少なくとも24ヶ月、少なくとも2.5年または少なくとも3年の間、治療前の状態と比較して、少なくとも25%、少なくとも35%、少なくとも30%、少なくとも40%、少なくとも45%、少なくとも50%、少なくとも55%、少なくとも60%、少なくとも65%、少なくとも70%、少なくとも75%、少なくとも80%、少なくとも85%、少なくとも90%、少なくとも95%、または少なくとも100%だけ改善し、かつ、患者の平均リンパ球数は、800細胞/ml未満、750細胞/ml未満、700細胞/ml未満、650細胞/ml未満、600細胞/ml未満、550細胞未満、500細胞/ml未満、400細胞/ml未満、300細胞/ml未満、または200細胞/ml以下に低下しない。

30

【 0 2 4 8 】

本発明の他の実施形態において、本発明による抗CD3を用いる1以上の治療のコースの後、当技術分野で公知の関節炎重症度スケール（例えば、RASS）により評価した被験者の状態は、治療の終了後、少なくとも4ヶ月、少なくとも6ヶ月、少なくとも9ヶ月、少なくとも12ヶ月、少なくとも15ヶ月、少なくとも18ヶ月、少なくとも24ヶ月、少なくとも2.5年または少なくとも3年の間、治療前の状態と比較して、少なくとも25%、少なくとも35%、少なくとも30%、少なくとも40%、少なくとも45%、少なくとも50%、少なくとも55%、少なくとも60%、少なくとも65%、少なくとも70%、少なくとも75%、少なくとも80%、少なくとも85%、少なくとも90%、少なくとも95%、または少なくとも100%だけ改善し、かつ、患者の平均血小板数は100,000,000血小板/ml未満、75,000,000血小板/ml未満、50,000,000血小板/ml未満、25,000,000血小板/ml未満、1,000,000血小板/ml未満、750,

40

50

000血小板/ml未満、500,000血小板/ml未満、250,000血小板/ml未満、150,000血小板/ml未満または100,000血小板/ml以下に低下しない。

【0249】

他の具体的な実施形態において、本発明による抗CD3を用いる1以上の治療のコースの後、イムノスポットアッセイ（例えば、ELISPOT）により測定した被験者の自己反応性CTLの絶対数、または比率は、治療前の状態と比較して、少なくとも10%、少なくとも15%、少なくとも20%、少なくとも25%、少なくとも30%、少なくとも35%、少なくとも40%、少なくとも45%、少なくとも50%、少なくとも55%、少なくとも60%、少なくとも65%、少なくとも70%、少なくとも75%、少なくとも80%、少なくとも85%、少なくとも90%、少なくとも95%、または少なくとも100%だけ減少する。さらに本発明の他の実施形態において、本発明による抗CD3を用いる1以上の治療のコースの後、イムノスポットアッセイ（例えば、ELISPOT）により測定した被験者の自己反応性CTLの絶対数、または比率は、治療の終了後、少なくとも4ヶ月、少なくとも6ヶ月、少なくとも9ヶ月、少なくとも12ヶ月、少なくとも15ヶ月、少なくとも18ヶ月、少なくとも24ヶ月、少なくとも2.5年または少なくとも3年の間、治療前の状態と比較して、少なくとも10%、少なくとも15%、少なくとも20%、少なくとも25%、少なくとも30%、少なくとも35%、少なくとも40%、少なくとも45%、少なくとも50%、少なくとも55%、少なくとも60%、少なくとも65%、少なくとも70%、少なくとも75%、少なくとも80%、少なくとも85%、少なくとも90%、少なくとも95%、または少なくとも100%だけ減少する。

10

【0250】

本発明の他の実施形態において、本発明による抗CD3を用いる1以上の治療のコースの後、イムノスポットアッセイ（例えば、ELISPOT）により測定した被験者の自己反応性CTLの絶対数、または比率は、治療の終了後、少なくとも4ヶ月、少なくとも6ヶ月、少なくとも9ヶ月、少なくとも12ヶ月、少なくとも15ヶ月、少なくとも18ヶ月、少なくとも24ヶ月、少なくとも2.5年または少なくとも3年の間、治療前の状態と比較して、少なくとも10%、少なくとも15%、少なくとも20%、少なくとも25%、少なくとも30%、少なくとも35%、少なくとも40%、少なくとも45%、少なくとも50%、少なくとも55%、少なくとも60%、少なくとも65%、少なくとも70%、少なくとも75%、少なくとも80%、少なくとも85%、少なくとも90%、少なくとも95%、または少なくとも100%だけ減少し、かつ、患者の平均リンパ球数は、800細胞/ml未満、750細胞/ml未満、700細胞/ml未満、650細胞/ml未満、600細胞/ml未満、550細胞未満、500細胞/ml未満、400細胞/ml未満、300細胞/ml未満、または200細胞/ml以下に低下しない。

20

30

【0251】

本発明の他の実施形態において、本発明による抗CD3を用いる1以上の治療のコースの後、イムノスポットアッセイ（例えば、ELISPOT）により測定した被験者の自己反応性CTLの絶対数、または比率は、治療の終了後、少なくとも4ヶ月、少なくとも6ヶ月、少なくとも9ヶ月、少なくとも12ヶ月、少なくとも15ヶ月、少なくとも18ヶ月、少なくとも24ヶ月、少なくとも2.5年または少なくとも3年の間、治療前の状態と比較して、少なくとも10%、少なくとも15%、少なくとも20%、少なくとも25%、少なくとも30%、少なくとも35%、少なくとも40%、少なくとも45%、少なくとも50%、少なくとも55%、少なくとも60%、少なくとも65%、少なくとも70%、少なくとも75%、少なくとも80%、少なくとも85%、少なくとも90%、少なくとも95%、または少なくとも100%だけ減少し、かつ、患者の平均血小板数は100,000,000血小板/ml未満、75,000,000血小板/ml未満、50,000,000血小板/ml未満、25,000,000血小板/ml未満、1,000,000血小板/ml未満、750,000血小板/ml未満、500,000血小板/ml未満、250,000血小板/ml未満、150,000血小板/ml未満または100,000血小板/ml以下に低下しない。

40

【0252】

好みの実施形態においては、抗ヒトCD3抗体を非経口で、例えば、静脈内に、筋肉内にまたは皮下に投与するか、または、代わりに、経口で投与する。抗ヒトCD3抗体はまた、徐放製剤として投与してもよい。

50

【 0 2 5 3 】

具体的な実施形態においては、自己免疫障害を患う被験者の平均絶対リンパ球数を、1種以上の抗ヒトCD3抗体の予防上または治療上有効な量の1以上の用量の投与前および／または後に評価して、1種以上の抗ヒトCD3抗体の予防上または治療上有効な量の1以上の引き続いての用量を前記被験者に投与すべきかどうかを決定する。他の実施形態においては、自己免疫障害を患う被験者の平均絶対リンパ球数を、1種以上の抗ヒトCD3抗体の予防上または治療上有効な量の1以上の用量の投与前および／または後に評価して、1種以上の抗ヒトCD3抗体の予防上または治療上有効な量の1以上の引き続いての用量を前記被験者に投与すべきかどうかを決定する。好ましくは、もしリンパ球数が800細胞/ml未満、750細胞/ml未満、700細胞/ml未満、650細胞/ml未満、600細胞/ml未満、550細胞未満、500細胞/ml未満、400細胞/ml未満、300細胞/ml未満であれば、1種以上の抗ヒトCD3抗体の予防上または治療上有効な量の引き続いての用量を投与しない。

10

【 0 2 5 4 】

他の実施形態においては、自己免疫障害を患う被験者の平均絶対リンパ球数を、1種以上の抗ヒトCD3抗体の予防上または治療上有効な量の初回用量の投与の前に測定し、かつ、1種以上の抗ヒトCD3抗体の予防上または治療上有効な量の1以上の引き続いての用量の投与の前に、平均絶対リンパ球数をモニターする。好ましくは、1種以上の抗ヒトCD3抗体の初回用量の投与の前に、被験者の平均絶対リンパ球数は少なくとも900細胞/mm³、好ましくは少なくとも950細胞/mm³、少なくとも1000細胞/mm³、少なくとも1050細胞/mm³、少なくとも1100細胞/mm³、少なくとも1200細胞/mm³、または少なくとも1250細胞/mm³である。

20

【 0 2 5 5 】

他の実施形態においては、1種以上の抗ヒトCD3抗体の予防上または治療上有効な量の1以上の用量を投与することにより、ほぼ700細胞/ml～ほぼ1200細胞/ml、ほぼ700細胞/ml～ほぼ1100細胞/ml、ほぼ700細胞/ml～ほぼ1000細胞/ml、ほぼ700～ほぼ900細胞/ml、ほぼ750細胞/ml～ほぼ1200細胞/ml、ほぼ750細胞/ml～ほぼ1100細胞/ml、ほぼ750細胞/ml～ほぼ1000細胞/ml、ほぼ750細胞/ml～ほぼ900細胞/ml、ほぼ800細胞/ml～ほぼ1200細胞/ml、ほぼ800細胞/ml～ほぼ1100細胞/ml、ほぼ800細胞/ml～ほぼ1000細胞/ml、ほぼ900細胞/ml～ほぼ1200細胞/ml、またはほぼ1000細胞～ほぼ1200細胞/mlの平均絶対リンパ球数が、1型糖尿病障害を患う被験者において維持される。他の実施形態においては、1種以上の抗ヒトCD3抗体の予防上または治療上有効な量の1以上の用量を投与することにより、ほぼ700細胞/ml～1000細胞/ml以下の平均絶対リンパ球数が、自己免疫障害を有する被験者において維持される。

30

【 0 2 5 6 】

具体的な実施形態においては、1種以上の抗ヒトCD3抗体の予防上または治療上有効な量の1以上の用量または投与レジメンの投与は、他の免疫抑制薬と比較して、次の1以上の欲しないまたは有害な作用を誘発しないかまたは軽減する：生命徵候の異常（熱、頻脈、徐脈、高血圧、低血圧）、血液学的事象（貧血、リンパ球減少症、白血球減少症、血小板減少症）、頭痛、悪寒、めまい、吐き気、無力症、背痛、胸痛（胸部圧迫感）、下痢、筋肉痛、疼痛、そう痒、乾癬、鼻炎、発汗、注射部位反応、血管拡張、日和見感染リスクの増大、エプスタインバーウイルスの活性化、T細胞のアポトーシスおよびある特定の型の癌を発生するリスクの増加。他の具体的な実施形態においては、1種以上の抗ヒトCD3抗体の予防上または治療上有効な量の1以上の用量の投与は、他の免疫抑制薬と比較して、次の欲しないまたは有害な作用の1以上を誘発しないかまたは軽減する：生命徵候の異常（熱、頻脈、徐脈、高血圧、低血圧）、血液学的事象（貧血、リンパ球減少症、白血球減少症、血小板減少症）、頭痛、悪寒、めまい、吐き気、無力症、背痛、胸痛（胸部圧迫感）、下痢、筋肉痛、疼痛、そう痒、乾癬、鼻炎、発汗、注射部位反応、血管拡張、日和見感染リスクの増大、エプスタインバーウイルス活性化、T細胞のアポトーシスおよびある特定の型の癌を発生するリスクの増加。

40

50

【 0 2 5 7 】

本発明によれば、自己免疫障害を治療するための1種以上の抗ヒトCD3抗体の予防上または治療上有効な量を含む用量または投与レジメンを、1種以上の抗ヒトCD3抗体の予防上または治療上有効な量を含む最初のまたは前の用量または投与レジメンの後に、1ヶ月、2ヶ月、4ヶ月、6ヶ月、8ヶ月、12ヶ月、15ヶ月、18ヶ月または24ヶ月以上反復することができる。反復用量または反復投与レジメンは、もちろん、前記自己免疫障害に関連する症候群が最初のもしくは前の用量または投与レジメンの後に再発したとき、または、前記自己免疫障害に関連する症候群が本発明による抗CD3抗体の最初の用量または投与レジメンの後に改善されないときに投与してもよい。糖尿病について、例えば、被験者の平均毎日インスリン使用が抗CD3抗体による最初のもしくは前の治療後、1ヶ月、2ヶ月、4ヶ月、6ヶ月、8ヶ月、12ヶ月、15ヶ月、18ヶ月または24ヶ月以上、治療前レベルと比較して少なくとも5%、少なくとも10%、少なくとも20%、少なくとも30%、少なくとも40%、少なくとも50%、少なくとも60%、少なくとも70%、少なくとも80%または少なくとも90%しか減少しないとき、1種以上の抗ヒトCD3抗体の予防上または治療上有効な量を含む反復用量または投与レジメンを被験者に投与してもよい。あるいは、糖尿病について、例えば、被験者のHA1またはHA1Cレベルが抗CD3抗体による最初のもしくは前の治療後、1ヶ月、2ヶ月、4ヶ月、6ヶ月、8ヶ月、12ヶ月、15ヶ月、18ヶ月または24ヶ月以上、治療前レベルと比較して少なくとも5%、少なくとも10%、少なくとも20%、少なくとも30%、少なくとも40%、少なくとも50%、少なくとも60%、少なくとも70%、少なくとも80%または少なくとも90%しか減少しないとき、1種以上の抗ヒトCD3抗体の予防上または治療上有効な量を含む反復用量または投与レジメンを被験者に投与してもよい。糖尿病についての他の実施形態において、例えば、被験者のCペプチド反応が抗CD3抗体による最初のもしくは前の治療後、1ヶ月、2ヶ月、4ヶ月、6ヶ月、8ヶ月、12ヶ月、15ヶ月、18ヶ月または24ヶ月以上、治療前レベルと比較して少なくとも5%、少なくとも10%、少なくとも20%、少なくとも30%、少なくとも40%、少なくとも50%、少なくとも60%、少なくとも70%、少なくとも80%または少なくとも90%だけ減少するとき、1種以上の抗ヒトCD3抗体の予防上または治療上有効な量を含む反復用量または投与レジメンを被験者に投与してもよい。

10

20

30

40

50

【 0 2 5 8 】**5.2.8 併用療法**

本発明は、1種以上の抗ヒトCD3抗体と抗ヒトCD3抗体以外の1種以上の予防薬もしくは治療薬を含む医薬組成物、ならびに、それを必要とする被験者に1種以上の前記組成物を投与することを含んでなる、該被験者の自己免疫障害、例えば、炎症性自己免疫障害に関連する1以上の症候群を予防し、治療し、発症を遅延し、進行を緩慢にしましたは改善する方法を提供する。治療もしくは予防薬としては、限定されるものでないが、ペプチド、ポリペプチド、融合タンパク質、核酸分子、小分子、模倣薬、合成薬、無機分子、および有機分子が挙げられる。自己免疫障害、特に1型糖尿病に関連する1以上の症候群の予防、治療または改善に有用であることが公知である、または使用されたことのあるまたは現在使用されているいずれかの薬剤を、本明細書に記載した本発明に関連する抗CD3抗体と組合させて使用することができる。かかる薬剤の例としては、限定されるものでないが、抗体断片、GLP-1類似体または誘導体、GLP-1アゴニスト（例えばエキセンジン-4；エキセンタチド）、アミリン類似体または誘導体、インスリン、発疹および腫脹に対する皮膚用薬（例えば、光線療法、すなわち、B紫外線照射）、光化学治療（例えば、PUVA）および局所薬、例えば、軟化薬、サリチル酸、コールタール、局所ステロイド、局所コルチコステロイド、局所ビタミンD3類似体（例えば、カルシポトリエン）、タザロテン、および局所レチノイド^s）、抗炎症薬{例えば、コルチコステロイド（例えば、プレドニゾンおよびヒドロコルチゾン）、グルココルチコイド、ステロイド、非ステロイド抗炎症薬（例えば、アスピリン、イブプロフェン、ジクロフェナク、およびCOX-2インヒビター）、-アゴニスト、抗コリン薬およびメチルキサンチン}、免疫調節薬（例えば、小有機分子、T細胞受容体モジュレーター、サイトカイン受容体モジュレーター、T細胞枯渇薬、サイトカインアンタゴニスト、モノカインアンタゴニスト、リンパ球インヒビター^s、または抗癌薬）、

金注入、スルファサラジン、ペニシルアミン、抗血管形成薬（例えば、アンギオスタチン、TNF-アンタゴニスト（例えば、抗TNF抗体）、およびエンドスタチン）、ダプソン、ソラレン（例えば、メトキサレンおよびトリオキサレン）、抗マラリア薬（例えば、ヒドロキシクロロキン）、抗ウイルスの薬、および抗生物質（例えば、エリスロマイシンおよびベニシリン）が挙げられる。当業者に周知のいずれの免疫調節薬も本発明の方法および組成物に用いることができる。免疫調節薬は被験者の免疫反応の1以上のまたは全ての態様に影響を与える。免疫反応の態様としては、限定されるものでないが、炎症反応、補体力スケード、白血球およびリンパ球分化、増殖、および／またはエフェクター機能、単球および／または好塩基球数、免疫系細胞間の細胞コミュニケーションが挙げられる。本発明のある特定の実施形態においては、免疫調節薬は免疫反応の1つの態様をモジュレートする。他の実施形態においては、免疫調節薬は免疫反応の2以上の態様をモジュレートする。本発明のある好ましい実施形態において、免疫調節薬の被験者への投与は、被験者の免疫反応能力の1以上の態様を阻害するかまたは低下させる。本発明の具体的な実施形態において、免疫調節薬は被験者の免疫反応を阻害するかまたは抑制する。本発明によれば、免疫調節薬は抗ヒトCD3抗体でない。ある特定の実施形態において、免疫調節薬は抗炎症薬でない。他の実施形態において、免疫調節薬はCD3結合分子でない。さらに他の実施形態において、免疫調節薬はOKT3またはその誘導体でない。

10

【0259】

免疫調節薬を選択して、Tヘルパーサブセット（TH1またはTH2）とB細胞の間の相互作用を妨害して中和化抗体形成を阻害することができる。免疫調節薬を選択して、TH1細胞とCTLの間の相互作用を阻害してCTL介在性死滅の発生を低減することができる。免疫調節薬を選択して、CD4⁺および／またはCD8⁺T細胞の増殖、分化、活性および／または機能を改変することができる。例えば、T細胞に特異的な抗体を免疫調節薬として用いて、CD4⁺および／またはCD8⁺T細胞の増殖、分化、活性および／または機能を欠失、または改変することができる。

20

【0260】

具体的な実施形態においては、抗ヒトCD3結合分子をサイトカインアンタゴニストと共に投与する。他の実施形態においては、抗ヒトCD3結合分子を、例えば、ダクリズマブ、バシリキシマブもしくはMT204（Micromet）などの抗IL-2抗体、または、限定されるものでないが、ラバマイシン、シクロスボリン、またはタクロリスムスなどの他のIL-2インヒビターと共に投与する。

30

【0261】

他の実施形態においては、抗ヒトCD3結合分子を、抗膵島細胞抗体が標的化する抗原（例えば、限定されるものでないが、GAD（GAD65など）、インスリン、IA-2、ICA512、または1型糖尿病患者において見出される自己抗体に対する他の抗原）と共に投与する。かかる共投与は、膵島細胞抗原に対する寛容をもたらしうる。

30

【0262】

ある好ましい実施形態において、予防もしくは治療の免疫調節薬として利用されるタンパク質、ポリペプチドまたはペプチド（抗体を含む）は、該タンパク質、ポリペプチドまたはペプチドのレシピエントと同じ種から誘導してこれらのタンパク質、ポリペプチドまたはペプチドに対する免疫反応の可能性を低減する。他の好ましい実施形態においては、被験者がヒトである場合、免疫調節薬として利用するタンパク質、ポリペプチドまたはペプチドはヒトであるかまたはヒト化される。

40

【0263】

本発明によれば、1種以上の予防薬、治療薬または免疫調節薬を、炎症性または自己免疫疾患を患う被験者に、本発明の治療薬および／または予防薬の前、後、または同時に投与する。好ましくは、1種以上の予防薬、治療薬または免疫調節薬を、炎症性または自己免疫疾患を患う被験者に、疾患または免疫反応の態様1以上の症候群を軽減または阻害するために、必要に応じて投与する。当業者に周知のいずれかの技法を用いて、特別な被験者における免疫反応の1以上の態様を測定し、それにより免疫調節薬を前記被験者に投与

50

するのが必要である時を決定することができる。ある好ましい実施形態においては、被験者の絶対リンパ球数をほぼ500細胞/mm³、好ましくは600細胞/mm³、さらに好ましくは700細胞/mm³、そして最も好ましくは800細胞/mm³に維持する。他の好ましい実施形態においては、もし被験者の絶対リンパ球数が500細胞/mm³以下、550細胞/mm³以下、600細胞/mm³以下、650細胞/mm³以下、700細胞/mm³以下、750細胞/mm³以下、または800細胞/mm³以下であれば、自己免疫性または炎症性障害を患う被験者に、免疫調節薬を投与しない。

【0264】

ある好ましい実施形態においては、1種以上の予防薬、治療薬または免疫調節薬を、炎症性または自己免疫性障害を患う被験者に投与して、疾患または免疫反応の1以上の態様を一過的に低下させるかまたは阻害する。かかる疾患または免疫系の1以上の態様の一過的な阻害または軽減は数時間、数日、数週、または数ヶ月の間、持続してもよい。好ましくは、疾患または免疫反応の1以上の態様の一過的な阻害または低下は、数時間（例えば、2時間、4時間、6時間、8時間、12時間、14時間、16時間、18時間、24時間、36時間、または48時間）、数日間（例えば、3日間、4日間、5日間、6日間、7日間、または14日間）、または数週間（例えば、3週間、4週間、5週間または6週間）持続する。疾患または免疫反応の1以上の態様の一過的な低下または阻害は抗CD3抗体の予防および/または治療能力を増強する。

10

【0265】

本発明によれば、1種以上の予防薬、治療薬または免疫調節薬を、1型糖尿病またはその素因を有する被験者に、本発明の治療薬および/または予防薬の前、後、または同時に投与する。かかる方法を用いて、1型糖尿病の1以上の症候群を治療し、予防し、発症を遅延化し、進行を緩慢にしまたは改善することができる。

20

【0266】

具体的な実施形態において、本発明は1型糖尿病の1以上の症候群を予防し、治療し、管理し、発症を遅延し、進行を緩慢にし、または改善する方法であって、前記被験者に、1種以上の抗ヒトCD3抗体の予防上または治療上有効な量およびインスリンの予防上または治療上有効な量を投与することを含んでなる前記方法を提供する。一実施形態において、本発明は、1型糖尿病の1以上の症候群を予防し、治療し、管理し、発症を遅延し、進行を緩慢にし、または改善する方法であって、前記被験者に、1種以上の抗ヒトCD3抗体の予防上または治療上有効な量およびGLP1またはGLP1類似体の予防上または治療上有効な量を投与することを含んでなる前記方法を提供する。一実施形態において、本発明は、1型糖尿病の1以上の症候群を予防し、治療し、管理し、発症を遅延し、進行を緩慢にし、または改善する方法であって、前記被験者に、1種以上の抗ヒトCD3抗体の予防上または治療上有効な量およびエキセンジン-4またはその類似体の予防上または治療上有効な量を投与することを含んでなる前記方法を提供する。一実施形態において、本発明は、1型糖尿病の1以上の症候群を予防し、治療し、管理し、発症を遅延し、進行を緩慢にし、または改善する方法であって、前記被験者に、1種以上の抗ヒトCD3抗体の予防上または治療上有効な量およびアミリンまたはその類似体の予防上または治療上有効な量を投与することを含んでなる前記方法を提供する。他の実施形態において、本発明は、1型糖尿病の1以上の症候群を予防し、治療し、管理し、発症を遅延し、進行を緩慢にし、または改善する方法であって、前記被験者に、ヒト化抗ヒトCD3抗体であるOKT3の予防上または治療上有効な量およびインスリンの予防上または治療上有効な量を投与することを含んでなる前記方法を提供する。

30

【0267】

予防、治療または免疫調節性活性をもつタンパク質、ポリペプチド、またはペプチドをコードする核酸分子、または予防、治療または免疫調節性活性をもつタンパク質、ポリペプチド、またはペプチドを、本発明の方法によって、自己免疫障害をもつ被験者に投与することができる。さらに、予防、治療または免疫調節性活性をもつタンパク質、ポリペプチド、またはペプチドの誘導体、類似体、断片または変異体をコードする核酸分子、または予防、治療または免疫調節性活性をもつタンパク質、ポリペプチド、またはペプチドの

40

50

誘導体、類似体、断片または変異体を、本発明の方法によって、被験者に投与することができる。好ましくは、かかる誘導体、類似体、断片または変異体は完全長の野生型タンパク質、ポリペプチド、またはペプチドの予防、治療または免疫調節性活性を保持する。

【0268】

予防薬、治療薬または免疫調節薬として用いることができるタンパク質、ポリペプチド、またはペプチドは、当業者に周知のまたは本明細書に記載のいずれかの方法により作製することができる。例えば、本明細書に参照によりその全てが組み入れられる、Ausube I et al. (eds.), 1999, *Short Protocols in Molecular Biology*, Fourth Edition, John Wiley & Sons, NY、の16章を参照されたい。予防薬、治療薬または免疫調節薬として用いることができる抗体は、例えば、本明細書に参照によりその全てが組み入れられる、米国特許第6,245,527号およびHarlow and Lane *Antibodies: A Laboratory Manual*, Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, NY, 1988に記載の方法により作製することができる。好ましくは、市販されるおよび予防薬、治療薬または免疫調節薬として公知である薬剤を本発明の組成物および方法に用いる。薬剤の予防、治療または免疫調節活性は、*in vitro*および/または*in vivo*で、例えば、CTLアッセイ、増殖アッセイ、および共刺激分子およびサイトカインなどの特別なタンパク質の発現に対するイムノアッセイ（例えばELISA）を含む当業者に周知のいずれかの技法により測定することができる。
10

【0269】

1種以上の抗ヒトCD3抗体と抗ヒトCD3抗体以外の1種以上の予防薬もしくは治療薬との組合せは、自己免疫障害、またはその素因をもつ被験者において、いずれかの治療単独よりも優れた予防または治療効果を生じる。ある特定の実施形態において、抗ヒトCD3抗体と抗ヒトCD3抗体以外の予防薬もしくは治療薬との組合せは、いずれかの治療単独よりも20%、25%、30%、35%、40%、45%、50%、55%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、95%または98%優れた予防または治療効果を、自己免疫障害、またはその素因をもつ被験者において生じる。特別な実施形態において、1種以上の抗CD3抗体と抗CD3抗体以外の予防薬もしくは治療薬との組合せは、いずれかの治療単独よりも、20%、25%、30%、35%、40%、45%、50%、55%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、95%または98%大きい、特別な臓器、組織または関節の炎症の軽減を、炎症性障害または炎症を伴う自己免疫障害をもつ被験者において達成する。他の実施形態において、1種以上の抗CD3抗体と抗CD3抗体以外の1種以上の予防薬もしくは治療薬との組合せは、自己免疫性または炎症性障害をもつ被験者において相加より大きい効果または相乗効果を有する。
20

【0270】

本発明の併用療法は、より低用量の抗ヒトCD3抗体および/またはより低頻度の抗ヒトCD3抗体の、自己免疫疾患障害をもつ被験体への投与により、予防又は治療効果を達成することを可能にする。本発明の併用療法は、抗ヒトCD3抗体と共に利用するより低用量の予防薬もしくは治療薬および/またはより低頻度のかかる予防薬もしくは治療薬の投与により、予防または治療効果を達成することを可能にする。
30

【0271】

本発明の併用療法の予防薬もしくは治療薬は、一緒に、同時にまたは逐次的に投与してもよい。本発明の併用療法の予防薬もしくは治療薬はまた、サイクルで投与してもよい。サイクル療法は、ある期間の第1の予防薬もしくは治療薬の投与、続いている期間の第2の予防薬もしくは治療薬の投与、およびこの連続投与、すなわち、サイクル投与を繰り返して、薬剤の1つに対する耐性の発生を低下し、薬剤の1つの副作用を軽減しおよび/または治療の効力を改善する療法である。
40

【0272】

5.2.8.1 併用療法を使用する方法

具体的な実施形態において、本発明は、被験者の自己免疫性または炎症性障害に関連する1以上の症候群を予防、治療、管理、または改善する方法であって、前記被験者に、1種
50

以上の抗CD3抗体と抗CD3抗体以外の1種以上の予防薬もしくは治療薬とを投与することを含んでなる前記方法を提供する。ある好ましい実施形態において、本発明は、被験者の自己免疫性または炎症性障害に関連する1以上の症候群を予防、治療、管理、または改善する方法であって、前記被験者に、1種以上の抗CD3抗体と抗CD3抗体以外の1種以上の予防薬もしくは治療薬とを投与することを含んでなり、少なくとも1種の抗CD3抗体がヒト化OKT3である前記方法を提供する。

【0273】

本発明は、被験者における自己免疫性または炎症性障害に関連する1以上の症候群を予防、治療、管理または改善する方法であって、前記被験者に、1種以上の抗CD3抗体と1種以上の予防薬、治療薬または免疫調節薬とを投与することを含んでなる前記方法を提供する。好ましくは、該免疫調節薬を、自己免疫性または炎症性障害を有してその絶対リンパ球数が500細胞/mm³未満、550細胞/mm³未満、600細胞/mm³未満、650細胞/mm³未満、700細胞/mm³未満、750細胞/mm³未満、800細胞/mm³未満、850細胞/mm³未満または900細胞/mm³未満である被験者には投与しない。従って、ある好ましい実施形態においては、自己免疫性または炎症性障害を有する被験者に対する1種以上の免疫調製薬の1以上の投与量の投与または後に、前記被験者の絶対リンパ球数を、例えば、フローサイトメトリーまたはトリパンブルー計数を含む当業者に周知の技法により測定する。

【0274】

一実施形態において、本発明は糖尿病に関連する1以上の症候群を予防、治療、管理または改善する方法であって、前記被験者に、1種以上の抗CD3抗体の予防上または治療上有効な量とインスリンの予防上または治療上有効な量とを投与することを含んでなる前記方法を提供する。一実施形態において、本発明は糖尿病に関連する1以上の症候群を予防、治療、管理または改善する方法であって、前記被験者に、1種以上の抗CD3抗体の予防上または治療上有効な量とGLP1またはGLP1類似体の予防上または治療上有効な量とを投与することを含んでなる前記方法を提供する。一実施形態において、本発明は糖尿病に関連する1以上の症候群を予防、治療、管理または改善する方法であって、前記被験者に、1種以上の抗CD3抗体の予防上または治療上有効な量とエキセンジン-4またはその類似体の予防上または治療上有効な量とを投与することを含んでなる前記方法を提供する。一実施形態において、本発明は糖尿病に関連する1以上の症候群を予防、治療、管理または改善する方法であって、前記被験者に、1種以上の抗CD3抗体の予防上または治療上有効な量とアミリンまたはその類似体の予防上または治療上有効な量とを投与することを含んでなる前記方法を提供する。他の実施形態において、本発明は糖尿病に関連する1以上の症候群を予防、治療、管理または改善する方法であって、前記被験者に、ヒト化抗CD3抗体であるOKT3の予防上または治療上有効な量とインスリンの予防上または治療上有効な量とを投与することを含んでなる前記方法を提供する。他の実施形態において、本発明は乾癬に関連する1以上の症候群を予防、治療、管理または改善する方法であって、前記被験者に、1種以上の抗CD3抗体の予防上または治療上有効な量とメトレキセートの予防上または治療上有効な量とを投与することを含んでなる前記方法を提供する。他の実施形態において、本発明は被験者における乾癬に関連する1以上の症候群を予防、治療、管理または改善する方法であって、前記被験者に、ヒト化抗CD3抗体であるOKT3の予防上または治療上有効な量とメトレキセートの予防上または治療上有効な量とを投与することを含んでなる前記方法を提供する。

【0275】

5.3 医薬組成物

本発明は、自己免疫障害に関連する1以上の症候群を治療し、予防し、および改善するための組成物を提供する。具体的な実施形態において、組成物は1種以上の抗ヒトCD3抗体を含む。他の実施形態において、組成物は1種以上の抗ヒトCD3抗体の重鎖および軽鎖をコードする1種以上の核酸分子を含む。

【0276】

具体的な実施形態において、組成物は、好ましくは、FcドメインとFc受容体との結合を

10

20

30

40

50

低下させて、それにより抗体の毒性を減ずるように改変したヒトまたはヒト化モノクローナル抗体である抗ヒトCD3抗体を含む。さらに他の好ましい実施形態において、組成物はヒト化OKT3、CD3ポリペプチドと免疫特異的に結合するその類似体、誘導体、断片、好ましくはOKT3 1(ala-ala)を含むが、また、ChAglyCD3 (TRX4 (登録商標))、またはHUM291 (ビジリズマブ visilizumab ; NUVION (登録商標))を含んでもよい。

【0277】

好ましい実施形態において、本発明の組成物は医薬組成物である。かかる組成物は、予防または治療上有効な量の1種以上の抗ヒトCD3抗体と製薬上許容される担体を含む。具体的な実施形態において、用語「製薬上許容される」は、動物、さらに特にヒトにおける使用について、連邦政府もしくは州政府の規制当局により認可されているかまたは米国薬局方もしくは他の一般的に認められた薬局方に掲げられていることを意味する。用語「担体」は、治療薬とともに投与される希釈剤、アジュバント(例えば、フロインドのアジュバント(完全および不完全))、賦形剤、またはビヒクルを意味する。かかる製薬用担体は水および、落花生油、大豆油、鉱物油、胡麻油などの石油、動物、植物または合成起源のものを含む油のような無菌の液体でもよい。医薬組成物を静脈内に投与する場合、水が好ましい担体である。生理食塩水およびブドウ糖水およびグリセロール水溶液も液状担体として、特に注射溶液用の使用することができる。好適な医薬賦形剤としては、デンプン、グルコース、ラクトース、スクロース、ゼラチン、麦芽、コメ、コムギ、チョーク、シリカゲル、ステアリン酸ナトリウム、モノステアリン酸グリセロール、タルク、塩化ナトリウム、乾燥スキムミルク、グリセロール、プロピレン、グリコール、水、エタノールなどが挙げられる(例えば、参照により本明細書にその全てが組み入れられる、Handbook of Pharmaceutical Excipients, Arthur H. Kibbe (ed), 2000, Am. Pharmaceutical Association, Washington, DCを参照)。所望であれば、組成物はまた、少量の湿潤剤もしくは乳化剤、またはpH緩衝剤を含有してもよい。これらの組成物は、液剤、懸濁液剤、乳濁液剤、錠剤、丸薬、カプセル剤、散剤、徐放製剤などの形態をとってもよい。経口製剤は、製薬グレードのマンニトール、ラクトース、デンプン、ステアリン酸マグネシウム、サツカリンナトリウム、セルロース、炭酸マグネシウムなどの標準の担体を含んでもよい。適当な医薬担体の例は、E. W. Martinによる“Remington's Pharmaceutical Sciences”に記載されている。かかる組成物は、好ましくは精製した形態の予防薬もしくは治療薬の予防または治療上有効な量を、担体の好適な量と一緒に含有して、患者への適当な投与形態を提供するであろう。製剤は投与の様式に適合しなければならない。好ましい実施形態において、医薬組成物は無菌であり、かつ被験体、好ましくは動物被験体、さらに好ましくは哺乳類被験体、そして最も好ましくはヒト被験体への投与に好適な剤形である。

【0278】

具体的な実施形態においては、本発明の医薬組成物を治療を必要とする領域へ局所投与することが望ましく；これは、例えば、限定されるものでないが、局所注入により、注射により、またはインプラント(インプラントは多孔質、非多孔質またはシラスチック膜などの膜もしくは纖維を含むゼラチン状材料である)を使うことにより達成することができる。好ましくは、抗ヒトCD3抗体を投与する場合、抗ヒトCD3抗体を吸収しない材料を使用するように注意しなければならない。

【0279】

他の実施形態においては、組成物を小胞、特にリポソームに入れて送達することができる(Langer, Science 249:1527-1533 (1990); Treat et al., in Liposomes in the Therapy of Infectious Disease and Cancer, Lopez-Berestein and Fidler (eds.), Liss, New York, pp. 353- 365 (1989); Lopez-Berestein, ibid., pp. 3 17-327を参照；同書を全般的に参照されたい)。

【0280】

さらに他の実施形態においては、組成物を制御放出または持続放出系で送達することができる。一実施形態においては、ポンプを利用して制御または持続放出を達成することができる(Langer, 前掲; Sefton, 1987, CRC Crit. Ref. Biomed. Eng. 14:20; Buchwald

10

20

30

40

50

et al., 1980, *Surgery* 88:507; Saudek et al., 1989, *N. Engl. J. Med.* 321:574を参考)。他の実施形態においては、ポリマー材料を利用して本発明の抗体またはその断片の制御または持続放出を達成することができる(例えば、*Medical Applications of Controlled Release*, Langer and Wise (eds.), CRC Pres., Boca Raton, Florida (1974); *Controlled Drug Bioavailability, Drug Product Design and Performance*, Smolen and Ball (eds.), Wiley, New York (1984); Ranger and Peppas, 1983, *J. Macromol. Sci. Rev. Macromol. Chem.* 23:61を参照; また、Levy et al., 1985, *Science* 228:190; Durig et al., 1989, *Ann. Neurol.* 25:351; Howard et al., 1989, *J. Neurosurg.* 71:105; 米国特許第5,679,377号; 米国特許第5,916,597号; 米国特許第5,912,015号; 米国特許第5,989,463号; 米国特許第5,128,326号; PCT公開WO 99/15154; およびPCT公開WO 99/20253も参照)。持続放出製剤に使用されるポリマーの例としては、限定されるものでないが、ポリ(2-ヒドロキシエチルメタクリレート)、ポリ(メチルメタクリレート)、ポリ(アクリル酸)、ポリ(エチレン-コ-酢酸ビニル)、ポリ(メタクリル酸)、ポリグリコリド(PLG)、ポリ酸無水物、ポリ(N-ビニルピロリドン)、ポリ(ビニルアルコール)、ポリアクリラミド、ポリ(エチレングリコール)、ポリラクチド(PLA)、ポリ(ラクチド-コ-グリコリド)(PLGA)、およびポリオルトエステルが挙げられる。好ましい実施形態において、持続放出製剤に利用されるポリマーは不活性であって、浸出性不純物を含まず、貯蔵に安定で、無菌かつ生物分解性である。さらに他の実施形態においては、制御または持続放出系を治療標的、すなわち肺の近くに配置することができ、こうして全身用量のほんの一部しか必要としない(例えば、Goodson, *Medical Applications of Controlled Release*, 前掲, vol. 2, pp.115-138 (1984)を参照)。

【0281】

制御放出系はLangerの総説に考察されている(1990, *Science* 249:1527-1533)。当業者に公知のいずれの技術を利用して1以上の本発明の抗体またはその断片を含む持続放出製剤を生産することができる。例えば、それぞれ本明細書に参照によりその全文が組み入れられる、米国特許第4,526,938号、PCT公開WO 91/05548、PCT公開WO 96/20698、Ning et al, 1996, *Radiotherapy & Oncology* 39:179-189、Song et al, 1995, *PDA Journal of Pharmaceutical Science & Technology* 50:372-397、Cleek et al, 1997, *Proc. Int'l. Symp. Control. Rel. Bioact. Mater.* 24:853-854、およびLam et al, 1997, *Proc. Int'l. Symp. Control Rel. Bioact. Mater.* 24:759-760を参照されたい。

【0282】

本発明の医薬組成物は、その意図する投与経路と適合しうるように製剤する。投与経路の例は、限定されるものでないが、非経口、例えば、静脈内、皮内、皮下、口腔内(例えば、吸入)、鼻内、経皮(局所)、経粘膜、および直腸投与が挙げられる。具体的な実施形態においては、組成物を、ヒトに対する静脈内、皮下、筋肉内、経口、鼻内または局所投与用に適合させた医薬組成物として日常的方法に従って製剤する。好ましい実施形態においては、医薬組成物を、ヒトに対する皮下投与用に日常的方法に従って製剤する。典型的には、静脈内投与用組成物は無菌等張性バッファー水溶液である。必要な場合、組成物はまた、可溶化剤および(注射部位の疼痛を和らげるリグノカインなどの)局所麻酔薬を含んでもよい。

【0283】

本発明の組成物を局所に投与するのであれば、組成物を、例えば、軟膏、クリーム、経皮パッチ、ローション、ゲル、シャンプー、スプレー、エーロゾル、液剤、乳濁液剤の形態、または当業者に周知のその他の形態に製剤することができる。例えば、Remington's *Pharmaceutical Sciences and Introduction to Pharmaceutical Dosage Forms*, 4th ed., Lea & Febiger, Philadelphia, PA (1985)を参照されたい。非噴霧型局所用剤形については、局所適用に適合性がある担体または1種以上の賦形剤を含有しあつ好ましくは水より大きい動粘性を有する粘性ないし半固体または固体剤形が典型的に使用される。好適な製剤としては、限定されるものでないが、液剤、懸濁液剤、乳濁液剤、クリーム、膏薬、粉末、塗布薬、軟膏などが挙げられ、これらは、所望であれば、無菌化するか、または、

10

20

30

40

50

例えば浸透圧などの様々な特性に影響を与るために助剤（例えば、保存剤、安定化剤、湿潤剤、バッファー、もしくは塩）と混合する。他の好適な局所用剤形としては、活性成分を、好ましくは固体もしくは液体不活性担体と組合させて、加圧揮発成分（例えば、フレオンなどの気体噴霧剤）との混合物で、またはスクイズボトルにパッケージしたスプレー可能なエーロゾル製剤が挙げられる。所望であれば、加湿剤または保湿剤を、医薬組成物および剤形に添加してもよい。かかる添加成分の例は、当技術分野では周知である。

【0284】

本発明の組成物を鼻内に投与する場合には、組成物をエーロゾル剤形、スプレー、ミストまたは液滴の剤形で製剤化することができる。特に、本発明に従って使用する予防薬もしくは治療薬は、エーロゾルスプレーの剤形で加圧パックまたは噴霧器から、適当な噴霧剤、例えば、ジクロロジフルオロメタン、トリクロロフルオロメタン、ジクロロテトラフルオロエタン、二酸化炭素または他の好適な気体の使用により、好都合に送達することができる。加圧エーロゾルの場合、投与単位は、計量した量を送達するバルブを備えることにより決定することができる。吸入器または吹送器に使用する、例えば、ゼラチンのカプセルおよびカートリッジは、化合物とラクトースもしくはデンプンなどの適当な粉末基剤とのパウダーミックスを含有するように製剤化することができる。

10

【0285】

本発明の組成物を経口投与する場合には、組成物を経口用に、例えば、錠剤、カプセル剤、カシェ剤、ゲルキャップ剤、液剤、懸濁液剤などの剤形で製剤することができる。錠剤またはカプセル剤は通常の方法により、結合剤（例えば、アルファ化トウモロコシデンプン、ポリビニルピロリドンもしくはヒドロキシプロピルメチルセルロース）；增量剤（例えば、ラクトース、微結晶セルロースもしくはリン酸水素カルシウム）；滑沢剤（例えば、ステアリン酸マグネシウム、タルクもしくはシリカ）；崩壊剤（例えば、ジャガイモデンプンもしくはグリコールデンプンナトリウム）；または湿潤剤（例えば、ラウリル硫酸ナトリウム）などの製薬上許容される賦形剤を用いて調製することができる。錠剤は、当技術分野で公知の方法によりコーティングすることができる。経口投与用の液体製剤は、例えば、液剤、シロップ剤もしくは懸濁液剤の剤形であってもよいし、またはそれらを水もしくは他の適当なビヒクルを用いて使用前に調合する乾燥製品として提供してもよい。かかる液体製剤は、通常の方法により、製薬上許容される添加剤、例えば、懸濁化剤（例えば、ソルビトールシロップ、セルロース誘導体または食用硬化油脂）；乳化剤（例えば、レシチンまたはアカシア）；非水性ビヒクル（例えば、アーモンドオイル、油状エステル、エチルアルコールまたは分留植物油）；および保存剤（例えば、p-ヒドロキシ安息香酸メチルもしくはp-ヒドロキシ安息香酸プロピルまたはソルビン酸）などを用いて調製することができる。製剤はまた、緩衝塩、香料、着色料および甘味剤を適宜含有してもよい。経口投与用製剤は、予防薬もしくは治療薬の徐放、制御放出または持続放出に適するように製剤することができる。

20

【0286】

本発明の組成物は、注射による（例えばボーラス注射または連続注入による）非経口投与用に製剤化することができる。注射用製剤は、単位投与剤形で（例えばアンプルまたは複数用量容器で）保存剤を加えて提供することができる。組成物は、油性もしくは水性ビヒクル中の懸濁液、溶液または乳濁液などの剤形であってもよく、かつ製剤用薬剤（例えば、懸濁化剤、安定化剤および/または分散化剤）を含有してもよい。あるいは、活性成分は、使用前に適当なビヒクル（例えば、発熱物質を含まない滅菌水）を用いて調合する粉末剤形であってもよい。

30

【0287】

具体的な実施形態において、本発明は、抗ヒトCD3抗体を数時間または数日間の期間にわたる、例えば、1時間、2時間、3時間、4時間、6時間、8時間、10時間、12時間、16時間、20時間、24時間、30時間、36時間、4日間、5日間、7日間、10日間または14日間の期間にわたる連続的な投与（例えば、ポンプまたはかかる送達用の他の装置と協同して）を可能にする投与剤形を提供する。他の具体的な実施形態において、本発明は、24時間、30時

40

50

間、36時間、4日間、5日間、7日間、10日間または14日間の期間にわたって連続的に増加する、例えば、 $51 \mu\text{g}/\text{m}^2/\text{日}$ から $826 \mu\text{g}/\text{m}^2/\text{日}$ へ増加する投与を可能にする投与剤形を提供する。

【0288】

本発明の組成物はまた、例えば、ココアバターまたは他のグリセリドなどの通常の座薬基剤を含有する、座剤または保持浣腸などの直腸組成物に製剤化することもできる。

【0289】

以上記載した製剤に加えて、本発明の組成物はまた、デポ製剤として製剤化することもできる。かかる長期作用製剤は、埋植（例えば皮下または筋肉内）によりまたは筋肉内注射により投与することができる。従って、例えば、組成物を、好適なポリマーまたは疎水性物質（例えば許容しうる油中の乳濁液として）もしくはイオン交換樹脂を用いて、または難溶性誘導体（例えば難溶性塩）として製剤化してもよい。

10

【0290】

本発明の組成物は、中性もしくは塩の形態として製剤化することができる。製薬上許容される塩としては、塩酸、リン酸、酢酸、シュウ酸、酒石酸などから誘導されるアニオンにより形成される塩、および水酸化ナトリウム、水酸化カリウム、水酸化アンモニウム、水酸化カルシウム、水酸化第2鉄、イソプロピルアミン、トリエチルアミン、2-エチルアミノエタノール、ヒスチジン、プロカインなどに由来するカチオンら誘導される塩が挙げられる。

20

【0291】

一般的に、本発明の組成物の成分は、別々にまたは一緒に混合して単位投与剤形で、例えば、活性薬剤の量を示すアンプルまたはサシェットなどの密封容器に入れて、乾燥した凍結乾燥粉末または水を含まない濃縮物として供給される。組成物を注入により投与する場合、それを無菌の製薬グレードの水または生理食塩水を含有する点滴瓶を用いて供給することができる。組成物を注射により投与する場合、注射用滅菌水または生理食塩水のアンプルを提供し、投与前に成分を混合することができる。

20

【0292】

特に、本発明は、活性薬剤の量を示すアンプルまたはサシェットなどの密封容器にパッケージされた、本発明の1種以上の抗ヒトCD3抗体または医薬組成物を提供する。一実施形態においては、本発明の1種以上の抗ヒトCD3抗体または医薬組成物を、密封容器に入った乾燥滅菌済凍結乾燥粉末または水を含まない濃縮物として供給し、例えば、水または生理食塩水を用いて被験者への投与に適当な濃度に再調合することができる。好ましくは、本発明の1種以上の抗ヒトCD3抗体または医薬組成物を、乾燥した無菌の凍結乾燥粉末として密封容器に入れて、少なくとも5mg、さらに好ましくは、少なくとも10mg、少なくとも15mg、少なくとも25mg、少なくとも35mg、少なくとも45mg、少なくとも50mg、少なくとも75mg、または少なくとも100mgの単位用量にて供給する。凍結乾燥した本発明の予防薬もしくは治療薬または医薬組成物は、2~8でその元の容器中で保存しなければならないし、かつ、本発明の予防薬もしくは治療薬または医薬組成物は、再調合後、1週間以内、好ましくは、5日間以内、72時間以内、48時間以内、24時間以内、12時間以内、6時間以内、5時間以内、3時間以内、または1時間以内に投与しなければならない。代わりの実施形態においては、本発明の1種以上の抗ヒトCD3抗体、または医薬組成物を、液剤形で、活性薬剤の量と濃度を示す密封容器に入れて供給する。好ましくは、投与される組成物の液剤形は、少なくとも $0.25 \text{mg}/\text{ml}$ 、さらに好ましくは、少なくとも $0.5 \text{mg}/\text{ml}$ 、少なくとも $1 \text{mg}/\text{ml}$ 、少なくとも $2.5 \text{mg}/\text{ml}$ 、少なくとも $5 \text{mg}/\text{ml}$ 、少なくとも $8 \text{mg}/\text{ml}$ 、少なくとも $10 \text{mg}/\text{ml}$ 、少なくとも $15 \text{mg}/\text{kg}$ 、少なくとも $25 \text{mg}/\text{ml}$ 、少なくとも $50 \text{mg}/\text{ml}$ 、少なくとも $75 \text{mg}/\text{ml}$ または少なくとも $100 \text{mg}/\text{ml}$ で密封容器に入れて供給する。液剤形はその元の容器中で2~8にて保存しなければならない。

30

【0293】

好ましい実施形態において、本発明は、本発明の組成物を、抗ヒトCD3抗体の量を示すアンプルなどの密封容器またはサシェットにパッケージして提供する。

40

50

【0294】

組成物は、所望であれば、活性成分を含有する1以上の単位投与剤形を含有してもよいパックまたはディスペンサーで提供することができる。パックは、例えばプリスター・パックなどの金属またはプラスチック箔であってもよい。

【0295】

一般的に、本発明の組成物の成分は、かかる組成物のレシピエントと同じ種起源または種反応性である被験者由来である。従って、好ましい実施形態においては、ヒトまたはヒト化抗体を、治療または予防するヒト患者に投与する。

【0296】

自己免疫性糖尿病障害に関連する1以上の症状の治療、予防、または改善にとって有効でありうる本発明の組成物の量は、標準の臨床技法により決定することができる。製剤に使用する正確な用量はまた、投与経路および症状の重症度にも依存しうるのであって、医師の判断およびそれぞれの患者の状況に従って決定すべきである。有効な用量は、*in vitro*または動物モデル試験システムから誘導した用量-応答曲線から外挿することができる。

10

【0297】

5.4 抗CD3治療または予防の効用の特徴付け

CD3結合分子の特徴は様々な方法で解析することができる。特に、CD3結合分子を、CD3ポリペプチドと免疫特異的に結合する能力について試験することができる。かかるアッセイは、溶液中で（例えば、Houghten, 1992, Bio/Techniques 13 : 412-421）、ビーズ上で（Lam, 1991, Nature 354 : 82-84）、チップ上で（Fodor, 1993, Nature 364 : 555-556）、細菌で（米国特許第5,223,409号）、胞子で（米国特許第5,571,698号；第5,403,484号；および第5,223,409号）、プラスミドで（Cull et al, 1992, Proc. Natl. Acad. Sci. USA 89 : 1865-1869）またはファージで（Scott and Smith, 1990, Science 249 : 386-390；Devlin, 1990, Science 249 : 404-406；Cwirla et al, 1990, Proc. Natl. Acad. Sci. USA 87 : 6378-6382；およびFelici, 1991, J. Mol. Biol. 222 : 301-310）実施することができる（これらの参照のそれぞれは本明細書にその全てが参照により組み入れられる）。CD3 ポリペプチドと免疫特異的に結合すると同定されたCD3結合分子を、次いでCD3ポリペプチドに対する特異性および親和性について試験することができる。

20

【0298】

CD3結合分子を、CD3ポリペプチドとの免疫特異的結合および他のポリペプチドとの交差反応性について当技術分野で公知のいずれかの方法を用いて試験することができる。免疫特異的結合および交差反応性を分析するために利用しうるイムノアッセイとしては、限定されるものでないが、そのいくつかを挙げれば、ウェスタンプロット、ラジオイムノアッセイ、ELISA（酵素結合免疫吸着アッセイ）、「サンドイッチ」イムノアッセイ、免疫沈降アッセイ、沈降素反応、ゲル拡散沈降素反応、免疫拡散アッセイ、凝集アッセイ、補体固定アッセイ、イムノラジオメトリックアッセイ、蛍光イムノアッセイ、プロテインAイムノアッセイなどの技法を用いる競合および非競合アッセイシステムが挙げられる。かかるアッセイは日常的に行われ、当技術分野では周知である（例えば、参照により本明細書にその全てが組み入れられるAusubel et al, eds, 1994, Current Protocols in Molecular Biology, Vol. 1, John Wiley & Sons, Inc., New Yorkを参照）。イムノアッセイの例を以下に概要を記載する（しかしこれは限定を意図するものではない）。

30

【0299】

免疫沈降プロトコルは一般的に、細胞の集団を、タンパク質ホスファターゼおよび/またはプロテアーゼ阻害剤（例えば、EDTA、PMSF、アブロチニン、バナジン酸ナトリウム）を補充したRIPAバッファー（1% NP-40またはTriton X-100、1% デオキシコール酸ナトリウム、0.1% SDS、0.15M NaCl、0.01Mリン酸ナトリウム、pH 7.2、1% トراجیلور）などの溶解バッファーに溶解し；目的のCD3結合分子を細胞溶解物に加え；ある時間（例えば、1~4時間）40℃にてインキュベートし；プロテインAおよび/またはプロテインGセファロースビーズを細胞溶解液に加え；約1時間以上40℃にてインキュベートし；ビーズを

40

50

溶解バッファーで洗浄し；SDS / サンプルバッファーに再懸濁することを含んでなる。目的のCD3結合分子の特定抗原と免疫沈降する能力は、例えばウェスタンプロット分析により評価することができる。当業者であれば、CD3結合分子のCD3ポリペプチドとの結合を増加しつつバックグラウンドを減少するように改変しうるパラメーター（例えば、セファロースビーズによる細胞溶解液のブレクリーニングする）に精通するであろう。免疫沈降プロトコルに関するさらなる考察については、例えば、Ausubel et al, eds, 1994, Current Protocols in Molecular Biology, Vol.1, John Wiley & Sons, Inc., New Yorkの第10.16.1節を参照されたい。

【0300】

ウェスタンプロット分析は一般的に、タンパク質サンプルを調製し；タンパク質サンプルをポリアクリルアミド中で電気泳動（例えば、抗原の分子量に基づいて8%～20% SDS-PAGE）し；タンパク質サンプルをポリアクリルアミドゲルからニトロセルロース、PVDFまたはナイロンなどのメンプランに移し；メンプランをブロッキング溶液（例えば、3% BS Aまたは無脂肪乳入りのPBS）中でブロックし；メンプランを洗浄バッファー（例えば、PBS-Tween 20）で洗浄し；メンプランをブロッキング溶液に希釈した目的のCD3結合分子（例えば、目的の抗体）を用いてブロックし；メンプランを洗浄バッファーで洗浄し；メンプランを、ブロッキング溶液に希釈した酵素基質（例えば、西洋わさびペルオキシダーゼまたはアルカリホスファターゼ）もしくは放射性分子（例えば³²Pまたは¹²⁵I）と結合した抗体（本抗体はCD3結合分子を認識する）を用いてブロックし；メンプランを洗浄バッファーで洗浄し；およびCD3ポリペプチドの存在を検出することを含んでなる。当業者であれば、検出されるシグナルを増加しつつバックグラウンドノイズを減少するように改変することができるパラメーターに精通するであろう。ウェスタンプロットプロトコルに関するさらなる考察については、例えば、Ausubel et al, eds, 1994, Current Protocols in Molecular Biology, Vol.1, John Wiley & Sons, Inc., New Yorkの第10.8.1節を参照されたい。

【0301】

ELISAは、CD3ポリペプチドを調製し；96ウェルマイクロタイプレートのウエルをCD3ポリペプチドによりコーティングし；酵素基質（例えば、西洋わさびペルオキシダーゼまたはアルカリホスファターゼ）などの検出可能な化合物と結合した目的のCD3結合分子をウエルに加え；ある時間インキュベートし；およびCD3ポリペプチドの存在を検出することを含んでなる。ELISAにおいては、目的のCD3結合分子を検出可能な化合物と必ずしも結合させる必要はなく；代わりに検出可能な化合物と結合した抗体（目的のCD3結合分子を認識する）をウエルに加えてもよい。さらに、ウエルをCD3ポリペプチドによりコーティングする代わりに、CD3結合分子をウエルにコーティングしてもよい。この場合、コーティングしたウエルにCD3ポリペプチドを加えた後、検出可能な化合物と結合した抗体を加えてもよい。当業者であれば、検出されるシグナルを増加するように改変することができるパラメーターだけでなく当技術分野で公知のELISAの他の変法にも精通するであろう。ウェスタンプロットプロトコルに関するさらなる考察については、例えば、Ausubel et al, eds, 1994, Current Protocols in Molecular Biology, Vol.1, John Wiley & Sons, Inc., New Yorkの第11.2.1節を参照されたい。

【0302】

CD3結合分子のCD3ポリペプチドとの結合親和性およびCD3結合分子-CD3ポリペプチド相互作用の解離速度（off-rate）は、競合結合アッセイにより測定することができる。競合結合アッセイの一例はラジオイムノアッセイであって、これは、増加量の無標識CD3ポリペプチドの存在のもとでの、標識（例えば、³Hまたは¹²⁵I）したCD3ポリペプチドと目的のCD3結合分子とのインキュベーション、および標識したCD3ポリペプチドと結合したCD3結合分子の検出を含んでなる。CD3結合分子のCD3ポリペプチドに対する親和性および解離速度は、データからスキャチャードプロット解析により決定することができる。第2のCD3結合分子との競合をラジオイムノアッセイを用いて測定することもできる。この場合、第2の無標識のCD3結合分子の増加量の存在のもとで、CD3ポリペプチドを標識（例えば、

10

20

30

40

50

³Hまたは¹²⁵I)した化合物と結合したCD3結合分子とともにインキュベートする。

【0303】

好ましい実施形態においては、ピアコア(BIAcore)動力学分析を用いてCD3結合分子のCD3ポリペプチドとの会合および解離速度を決定することができる。ピアコア(BIAcore)動力学分析は、その表面上にCD3結合分子を固定したチップからの、CD3ポリペプチドの結合および解離を分析することを含んでなる。

【0304】

本発明のCD3結合分子、特に抗ヒトCD3抗体、および組成物を、T細胞活性化をモジュレートするその能力について試験することができる。T細胞活性化は、例えば、サイトカインおよび/またはT細胞活性化マーカーの発現レベルを測定することにより決定することができる。限定されるものでないが、免疫沈降と続いてのウェスタンプロット分析、ELISA、フローサイトメトリー、ノーザンプロット分析、およびRT-PCRを含む当業者に公知の技術を利用して、サイトカインおよびT細胞活性化マーカーの発現を測定することができる。好ましい実施形態においては、本発明のCD3結合分子または組成物をIFN-αおよび/またはIL-2を誘導するその能力について試験する。

10

【0305】

本発明の抗CD3抗体および組成物はまた、T細胞シグナル伝達を誘導するその能力について試験することもできる。本発明のCD3拮抗薬または組成物のT細胞シグナル伝達を誘導する能力は、例えば、キナーゼアッセイおよび電気泳動シフトアッセイにより試験することができる。

20

【0306】

本発明の抗CD3抗体、および組成物をin vitroおよび/またはin vivoでT細胞増殖をモジュレートするその能力について試験することができる。例えば、本発明のCD3拮抗薬または組成物のT細胞増殖をモジュレートするその能力は、³H-チミジン組込み、トリパンブルー細胞数、および蛍光活性化細胞ソーティング(FACS)により試験することができる。

【0307】

本発明の抗ヒトCD3抗体、またはの組成物をin vitroおよび/またはin vivoで細胞溶解を誘導するその能力について試験することができる。例えば、本発明の抗CD3抗体、または組成物の細胞溶解を誘導するその能力は、例えば、⁵¹Cr-放出アッセイにより試験することができる。

30

【0308】

本発明の抗CD3抗体、および組成物をin vitroおよび/またはin vivoで末梢血T細胞の枯渇および/またはNK細胞の枯渇を媒介するその能力について試験することができる。例えば、本発明の抗CD3抗体または組成物の末梢血T細胞の枯渇を媒介するその能力は、例えば、フローサイトメトリー分析を用いてT細胞数を測定することにより試験することができる。

【0309】

本発明の抗CD3抗体、および組成物をin vivoで末梢血リンパ球数を媒介するその能力について試験することができる。例えば、本発明の抗CD3抗体または組成物の末梢血リンパ球数を媒介する能力は、例えば、被験者から末梢血のサンプルを得て、リンパ球を、例えば、Ficoll勾配を用いて血漿などの末梢血の他の成分から分離し、そしてリンパ球をトリパンブルーを用いて数えることにより試験する。

40

【0310】

5.4.1 変異Fc域をもつ免疫グロブリン分子の特徴付け

好ましい実施形態においては、改変されたFc-R親和性(例えば、ヌルFc-R結合)をもつ変異Fc域を含む分子の特徴付けを、1以上の生化学に基づくアッセイを用いて、好ましくは、ハイスループット方式で行う。1以上の生化学アッセイは、Fc-Fc-R相互作用、すなわち、Fc域とFc-Rとの特異的結合を同定するための当技術分野で公知のいずれのアッセイであってもよく、それらのアッセイとしては、限定されるものでないが、ELISAアッセイ、表面プラズモン共鳴アッセイ、免疫沈降アッセイ、アフィニティクロマトグラフィ

50

、および平衡透析が挙げられる。機能に基づくアッセイは1以上のFc R介在性エフェクター細胞機能を特徴付けるための当技術分野で公知のいずれのアッセイであってもよい。本発明の改変されたFc域をもつ抗体と対照抗体との比較は、Fc-Fc R相互作用の減少または排除の程度の尺度を提供する。本発明の方法によって用いることができるエフェクター細胞機能の非限定的な例としては、限定されるものでないが、抗体依存性細胞介在細胞傷害性（ADCC）、抗体依存性食作用、食作用、オプソニン作用、オプソニン食作用、細胞結合、ロゼッティング、C1q結合、および補体依存性細胞介在細胞傷害性が挙げられる。好ましい実施形態において、改変されたFc R親和性をもつ変異Fc域（例えば、ヌルFcR結合）を含む分子の特徴付けは、1以上の機能性に基づくアッセイと一緒にまたは平行して1以上の生化学に基づくアッセイを用いて、好ましくはハイスループット方式で行う。

10

【0311】

いくつかの実施形態において、改変されたFc R親和性（例えば、ヌルFc R結合）をもつ変異Fc域を含む分子の特徴付けは、変異Fc域を含む分子とFc R（1以上の）との結合を、Fc-Fc R相互作用を確認する生化学アッセイ、好ましくは、ELISAに基づくアッセイを用いて特徴付けること；次いでその結果を対照、すなわち非改変抗体を用いて得た同じアッセイの結果と比較することを含んでなる。いったん変異Fc域を含む分子が1以上のFc Rとのその相互作用について特徴付けられ、少なくとも1つの生化学に基づくアッセイ、例えば、ELISAアッセイにより、1以上のFc Rとヌル結合を有すると確認されると、その分子を当技術分野で公知の標準の組換えDNA技法を用いて遺伝子操作して完全な免疫グロブリンを作製し、変異Fc域を含む免疫グロブリンを哺乳動物細胞に発現させてさらなる生化学的特徴付けを行うことができる。本発明の変異Fc域を導入する（例えば、免疫グロブリンのFc域を置き換える）相手の免疫グロブリンはいずれの免疫グロブリンであってもよく、限定されるものでないが、ポリクローナル抗体、モノクローナル抗体、二特異的抗体、多特異的抗体、ヒト化抗体、およびキメラ抗体であってもよい。好ましい実施形態においては、変異Fc域を、ヒトTCRに付随するCD3複合体に特異的な免疫グロブリン中に導入する。

20

【0312】

好ましくは免疫グロブリンについての変異Fc域をさらに1以上の生化学アッセイおよび/または1以上の機能性アッセイを用いて、好ましくはハイスループット方式で、特徴付けることができる。いくつかの代わりの実施形態においては、変異Fc域を免疫グロブリン中に導入しないで、さらに1以上の生化学に基づくアッセイおよび/または1以上の機能性アッセイを用いて、好ましくはハイスループット方式で、特徴付ける。1以上の生化学アッセイは、Fc-Fc R相互作用を同定するための、当技術分野で公知のいずれのアッセイであってもよく、それらとしては、限定されるものでないが、ELISAアッセイ、およびFc-Fc

30

R相互作用の動力学的パラメーターを決定するための表面プラズモン共鳴に基づくアッセイ、例えば、ビアコア（BIAcore）アッセイが挙げられる。1以上の機能性アッセイは、当業者に公知のまたは本明細書に記載した1以上のFc Rが介在するエフェクター細胞機能を特徴付けるための、当技術分野で公知のいずれのアッセイであってもよい。具体的な実施形態においては、変異Fc域を含む免疫グロブリンをELISAアッセイで1以上のFc R、例えば、Fc RIIIA、Fc RIIA、Fc RIIAとの結合について試験し；続いて1以上のADCCアッセイにより試験する。いくつかの実施形態においては、変異Fc域を含む免疫グロブリンをさらに表面プラズモン共鳴に基づくアッセイ、例えば、ビアコア（BIAcore）用いて試験する。変異Fc域を含む免疫グロブリンの特徴付けのさらに詳しい考察については、米国特許出願公開第2005/0064514 A1号および第20050037000 A1号を参照されたい。

40

【0313】

変異Fc域を含む免疫グロブリンをいずれかの点にて、表面プラスモン系共鳴に基づくアッセイ、例えば、ビアコア（BIAcore）を用いて分析し、当業者に公知の方法を用いてFc-Fc R相互作用の動力学的パラメーターを規定することができる。

【0314】

最も好ましい実施形態においては、変異Fc域を含む免疫グロブリンを、動物モデルでFc

50

Rとの相互作用について、さらに特徴付ける。本発明の方法における好ましい動物モデルは、例えば、ヒトFc Rを発現するトランスジェニックマウス、例えば、本明細書に参照によりその全てが組み入れられる米国特許第5,877,397号に記載されたいずれかのマウスモデルである。本発明の方法に用いるトランスジェニックマウスとしては、限定されるものでないが、ヒトFc RIIIAを保持するヌードノックアウトFc RIIIAマウス；ヒトFc RIIIAを保持するヌードノックアウトFc RIIIAマウス；ヒトFc RIIBおよびヒトFc RIIAを保持するヌードノックアウトFc RIIBマウス；ヒトFc RIIBおよびヒトFc RIIAを保持するヌードノックアウトFc RIIIAマウスが挙げられる。

【0315】

5.4.2 in vitroおよびin vivoでの特徴付け

本発明の医薬組成物または抗CD3抗体の複数の態様を、ヒトにおける使用の前に、in vitroすなわち細胞培養系においておよびげっ歯類動物モデル系などの動物モデル生物において、所望の治療活性について試験することが好ましい。例えば、具体的な医薬組成物の投与が適応症であるどうかを決定するために利用しうるアッセイとしては、患者組織サンプルを培養物として増殖させ、医薬組成物に曝すかまたはさもなくば接触させ、そしてかかる組成物の組織サンプルに与える効果を観察する細胞培養アッセイが挙げられる。組織サンプルは患者から生検により得ることができる。この試験は、それぞれの個々の患者に対して治療上最も効果的な腫瘍標的化細菌および治療上最も有効な治療分子の同定を可能にする。様々な具体的な実施形態においては、自己免疫または炎症性障害に関わる細胞型の代表的細胞（例えば、T細胞）を用いるin vitroアッセイを実施して、本発明の医薬組成物がかかる細胞型に所望の効果を与えるか決定してもよい。

10

20

30

40

50

【0316】

本発明によれば、抗CD3抗体の予防および／または治療効力を実証するかめにヒト被験者について臨床試験を実施する必要はない。抗CD3抗体を用いるIn vitroおよび動物モデル研究をヒトに外挿することができ、それは前記抗CD3抗体の予防および／または治療効用を実証するためには十分である。

【0317】

ヒトにおける使用の前に、抗CD3抗体を好適な動物モデルで試験することができる。かかる動物モデル系としては、限定されるものでないが、ラット、マウス、ニワトリ、ウシ、サル、ブタ、イヌ、ウサギなどが挙げられる。当技術分野で周知のいずれの動物系を用いてもよい。本発明の具体的な実施形態においては、CD3結合分子をマウスモデル系で試験する。かかるモデル系は広く使用されていて当業者に周知である。CD3結合分子を繰り返して投与することができる。手順のいくつかの態様は代わりうる。前記態様としては、CD3結合分子を投与する時間レジメンおよびかかる薬剤を別々に投与するかまたは混合物として投与するかどうかが挙げられる。

【0318】

本発明の抗CD3抗体または医薬組成物の抗炎症活性は、当技術分野で公知のかつCofford L.J. and Wilder R.L., "Arthritis and Autoimmunity in Animals", in Arthritis and Allied Conditions: A Textbook of Rheumatology, McCarty et al.(eds.), Chapter 30 (Lee and Febiger, 1993)に記載の様々な炎症性関節炎の実験動物モデルを利用して決定することができる。炎症性関節炎と自己免疫リウマチ疾患の実験的かつ自発性動物モデルはまた、本発明の抗CD3抗体または医薬組成物の抗炎症活性を評価するために利用することもできる。以下は例として挙げたいいくつかのアッセイであり、限定されるものではない。

【0319】

当技術分野で公知のかつ広く利用される関節炎または炎症疾患用の主な動物モデルとしては、アジュバントが誘導する関節炎ラットモデル、コラーゲンが誘導する関節炎ラットおよびマウスモデル、ならびに、抗原が誘導する関節炎ラット、ウサギおよびハムスターモデルが挙げられ、これらは全て、参照により本明細書にその全文が組み入れられる、Cofford L.J. and Wilder R.L., "Arthritis and Autoimmunity in Animals", in Arthritis

is and Allied Conditions: A Textbook of Rheumatology, McCarty et al.(eds.), Chapter 30 (Lee and Febiger, 1993)に記載されている。コラーゲンが誘導する関節炎(CIA)はヒト自己免疫疾患慢性関節リウマチ(RA)に対する動物モデルである(Trenthorn et al., 1977, J. Exp. Med. 146:857)。この疾患は、異種2型コラーゲンの投与により多数の種で誘導することができる(Courtenay et al., 1980, Nature 283:665; and Cathcart et al., 1986, Lab. Invest. 54:26)。関節炎の動物モデルについては、さらに、例えば、Holmdahl, R., 1999, Curr. Biol. 15:R528-530を参照されたい。

【0320】

さらに、炎症性腸疾患の動物モデルを用いて、本発明の抗CD3抗体または医薬組成物の効力を評価することもできる(Kim et al., 1992, Scand. J. Gastroenterol. 27:529-537; Strober, 1985, Dig. Dis. Sci. 30(12 Suppl):35-105)。潰瘍性大腸炎およびクローアン病は動物に誘導することができるヒト炎症性腸疾患である。硫酸化多糖体(限定されるものでないが、アミロペクチン、カラギーナン、アミロペクチン硫酸およびデキストラン硫酸を含む)または化学刺激剤(限定されるものでないが、トリニトロベンゼンスルホン酸(TNBS)および酢酸を含む)を動物に経口投与して炎症性腸疾患を誘導することができる。

10

【0321】

喘息に対する動物モデルを利用して、本発明の併用療法の効力を評価することもできる。このようなモデルの一例は、マウス養子移入モデルであり、このモデルでは、TH1またはTH2受給マウスの空気アレルゲン吸入誘発により、気道へのTHエフェクター細胞の遊走が起り、激しい好中球(TH1)および好酸球(TH2)肺粘膜炎症性応答を起こす(Cohn et al., 1997, J. Exp. Med. 186:1737-1747)。

20

【0322】

自己免疫障害用の動物モデルを利用して、本発明の抗CD3抗体または医薬組成物の効力を評価することもできる。自己免疫障害、例えば1型糖尿病、甲状腺自己免疫、全身エリテマトーデス、および糸球体腎炎に対する動物モデルが開発されている(Bluestone et al., 2004, PNAS 101:14622-14626; Flanders et al., 1999, Autoimmunity 29:235-246; Krogh et al., 1999, Biochimie 81:511-515; Foster, 1999, Semin. Nephrol. 19:12-24)。

30

【0323】

本発明の抗CD3抗体または医薬組成物の効力はまた、実験アレルギー性脳脊髄炎(EAE)モデルなどの自己免疫障害モデルで試験することもできる。EAEは中枢神経系(CNS)の実験自己免疫疾患であり(Zamvil et al., 1990, Ann. Rev. Immunol. 8:579)かつヒト自己免疫症状、多発性硬化症(MS)の疾患モデルである。EAEはT細胞が介在する細胞介在性自己免疫障害の一例である。EAEは哺乳動物種において、CNSまたは脳炎誘発プロテオリピド(PLP)から精製されるミエリン塩基性タンパク質(MBP)の免疫感作により容易に誘導される。SJL/Jマウスはマウス(H-2u)の感受性株であり、EAEの誘導時、これらのマウスは急性の麻痺疾患を発症し、急性細胞の浸潤がCNS内で同定される。EAEは、RAG-1-欠失バックグラウンドのMBP1-17ペプチド特異的T細胞受容体(TCR)トランスジェニックマウス(TgMBP+)において自然に発症する(Lafaille et al., 1994, Cell 78:399)。

40

【0324】

さらに、当業者に公知のいずれかのアッセイを利用して、本発明に開示した抗CD3抗体または医薬組成物を自己免疫および/または炎症疾患について評価することができる。

【0325】

本発明の抗CD3抗体または医薬組成物の毒性および効力は、例えば、LD₅₀(集団の50%に対する致死用量)およびED₅₀(集団の50%における治療上有効な用量)を確認するための細胞培養または実験動物の標準の薬剤学的方法により測定することができる。毒性と治療効果の間の用量比は治療指數であり、LD₅₀/ED₅₀比として表現される。大きい治療指數を示す抗CD3抗体が好ましい。毒性の副作用を示す抗CD3抗体を使用してもよいが、無感染細胞に対する潜在的な損傷を最小化して、それにより、副作用を軽減するために、かかる

50

薬物を罹患組織の部位に標的化する送達系を設計するよう注意しなければならない。

【0326】

細胞培養アッセイおよび動物研究から得たデータを、ヒトに使用する抗ヒトCD3抗体の投与量の範囲を処方するのに利用することができる。かかる薬物の投与量は、好ましくは、ED₅₀を含みかつ少しの毒性しかないか無毒の循環濃度の範囲内にある。投与量は、利用する投与剤形および投与経路に依存して変わりうる。本発明の方法に使用するいずれの薬物に対しても、治療上有効な用量は最初に細胞培養アッセイから推定することができる。動物モデルでは、用量を細胞培養で決定したIC₅₀（すなわち、症候群の最大抑制の半分を達成する試験化合物の濃度）を含む循環血漿濃度範囲を達成するように処方もよい。かかる情報を利用して、ヒトにおいて有用な投与量をさらに正確に決定することができる。
血漿中のレベルは、例えば、高性能液体クロマトグラフィにより測定することができる。

10

【0327】

自己免疫障害を予防または治療する効力は、本発明の抗ヒトCD3抗体または組成物の、例えば、自己免疫障害の1以上の症候群を軽減する能力、平均絶対リンパ球数を低下する能力、T細胞活性化を低下する能力、T細胞増殖を低下する能力、サイトカイン産生を低下する能力、または1種以上の特別なサイトカインプロファイルをモジュレートする能力を検出することにより実証することができる。糖尿病を治療する効力は、本発明の抗ヒトCD3抗体または組成物の、例えば、糖尿病の1以上の症候群を軽減する能力、MMTTに対するCペプチド反応を保存する能力、レベルHA1またはHA1cを低下させる能力、インスリンの毎日必要量を低減する能力、または膵島組織のT細胞活性化を低下する能力を検出することにより実証することができる。炎症性障害を予防または治療する効力は、例えば、抗CD3抗体の、炎症性障害の1以上の症候群を軽減する能力、T細胞活性化を低下する能力、T細胞増殖を低下する能力、1種以上の特別なサイトカインプロファイルをモジュレートする能力、サイトカイン産生を低減する能力、関節、臓器または組織の炎症を軽減する能力または生活の質を改善する能力を検出することにより実証することができる。

20

【0328】

炎症疾患活性の変化は、圧痛および腫大のある関節数、疼痛と疾患活性に対する患者と医師の総合スコア、ならびにESR / CRPを介して評価することができる。構造的間接障害の進行は、手、手首、および足のX線の数値スコアにより評価することができる（Sharpの方法）。炎症性障害についてのヒトの機能性状態の変化は、健康評価質問表（HAQ）を用いて評価することができ、また生活の質の変化はSF-36を用いて評価する。

30

【0329】

5.5 リンパ球数および結合パーセントをモニターする方法

1種以上の抗ヒトCD3抗体または組成物の1以上の用量の、末梢血リンパ球数に与える効果は、当業者に公知の標準技法を用いてモニター／評価することができる。哺乳動物の末梢血リンパ球は、例えば、前記哺乳動物から末梢血のサンプルを得て、血漿などの末梢血の他の成分から、例えば、Ficoll-Hyphaque（Pharmacia）勾配遠心分離を用いてリンパ球を分離し、そしてトリパンブルーを用いてリンパ球を計数することにより測定できる。哺乳動物の末梢血T細胞数は、例えば、血漿などの末梢血の他の成分から、例えば、Ficoll-Hyphaque（Pharmacia）勾配遠心分離を用いてリンパ球を分離し、T細胞を、FITCまたはフィコエリトリンと結合しているCD2、CD3、CD4、およびCD8などのT細胞抗原に対する抗体を用いて標識し、そしてT細胞数をFACSにより測定することができる。さらに、T細胞の特別なサブセット（例えば、CD2⁺、CD4⁺、CD8⁺、CD4⁺RO⁺、CD8⁺RO⁺、CD4⁺RA⁺、またはCD8⁺RA⁺細胞）に与える効果は、FACSなどの当業者に公知の標準技法により決定することができる。

40

【0330】

抗CD3抗体の1以上の用量の投与前に、または投与後に、または投与前と投与後の両方に、抗CD3抗体が結合した末梢血リンパ球により発現されたCD3ポリペプチドのパーセントは、当業者に公知の標準技法により評価することができる。抗CD3抗体が結合した末梢血リ

50

ンパ球により発現されたCD3ポリペプチドのパーセントは、哺乳動物から末梢血のサンプルを得て、例えば、Ficoll-Hypaque (Pharmacia) 勾配遠心分離を用いて血漿などの末梢血の他の成分からリンパ球を分離し、そしてFITCと結合した本発明の抗体以外の抗CD3結合分子抗体およびフィコエリトリンと結合しているCD3、CD4またはCD8などのT細胞抗原に対する抗体を用いてT細胞を標識し、そして、FACSを用いて、抗CD3結合分子抗体により標識したT細胞数とT細胞抗原に対する抗体により標識したT細胞数と比較して測定することにより決定することができる。

【0331】

5.6 抗体を產生する方法

CD3ポリペプチドと免疫特異的に結合する抗体は、抗体を合成するための当技術分野で公知の任意の方法により、特に化学合成または好ましくは組換え発現技術により產生することができる。

【0332】

抗原と免疫特異的に結合するポリクローナル抗体は、当技術分野で公知の様々な方法により製造することができる。例えば、ヒト抗原を、限定されるものでないが、ウサギ、マウス、ラットその他を含む様々な宿主動物に投与して、ヒト抗原に対して特異的なポリクローナル抗体を含有する血清の產生を誘導することができる。宿主種に依存して様々なアジュバントを使用して、免疫応答を増加させてもよく、かかるアジュバントとしては、限定されるものでないが、フロイントのアジュバント（完全および不完全）、水酸化アルミニウムなどのミネラルゲル、リゾレシチンなどの表面活性物質、プロロニックポリオール、ポリアニオン、ペプチド、油性乳濁液、キーホールリンペットヘモシアニン、ジニトロフェノール、およびBCG（カルメット・グラン桿菌(*bacille Calmette-Guerin*)）およびコリネバクテリウム・パルブム (*corynebacterium parvum*)などの可能性のある有用なヒトアジュバントが挙げられる。かかるアジュバントはまた、当技術分野で周知である。

【0333】

モノクローナル抗体は、ハイブリドーマ技術、組換え技術、およびファージディスプレイ技術、またはそれらの組合せの利用を含む、当技術分野で公知の多種多様な技術を用いて調製することができる。例えば、モノクローナル抗体は、当技術分野で公知であって、例えば、Harlow et al, *Antibodies: A Laboratory Manual*, (Cold Spring Harbor Laboratory Press, 2nd ed. 1988) ; Hammerling et al, *Monoclonal Antibodies and T-Cell Hybridomas*, 563-681に収載 (Elsevier, N. Y., 1981) (前記参考文献は、参照により全文が組み入れられる)に教示される方法をはじめとするハイブリドーマ技術を利用して產生することができる。本明細書に用いる用語「モノクローナル抗体」は、ハイブリドーマ技術によって產生される抗体に限定されない。用語「モノクローナル抗体」は、それが產生される方法ではなく、任意の真核生物、原核生物、またはファージクローンを含む單一クローンから得られる抗体を意味する。

【0334】

ハイブリドーマ技術を用いて特異的抗体を製造しスクリーニングする方法は、当技術分野では日常的に利用されかつ公知である。簡単に説明すると、マウスを、CD3抗原を用いて免疫感作し、いったん免疫応答が検出されれば（例えば、CD3抗原（好ましくは、CD3抗原）に特異的な抗体がマウス血清中に検出されれば）、マウス脾臓を採取して脾細胞を単離する。次いでその脾細胞を公知の技術により任意の適当な骨髄腫細胞、例えばATCCから入手しうる培養細胞株SP20由来の細胞と融合する。ハイブリドーマを選択し、限定希釈によりクローン化する。次いで、ハイブリドーマクローンを、当技術分野で公知の方法により、本発明のポリペプチドと結合できる抗体を分泌する細胞について試験する。一般的に高レベルの抗体を含有する腹水液は、マウスを陽性ハイブリドーマクローンを用いて免疫感作することにより生成することができる。

【0335】

従って、本発明は、本発明の抗体を分泌するハイブリドーマ細胞を培養することを含んでなる抗体を作製する方法であって、好ましくは、該ハイブリドーマが、CD3抗原を用い

10

20

30

40

50

て免疫感作したマウスから単離した脾細胞を骨髄腫細胞と融合し、次いで融合から得たハイブリドーマを、CD3抗原（好ましくは、CD3 抗原）と結合しうる抗体を分泌するハイブリドーマクローンについてスクリーニングすることにより作製される、前記方法を提供する。

【 0 3 3 6 】

特異的なCD3抗原（好ましくは、CD3 抗原）を認識する抗体断片は、当業者に公知のいかななる技術により作製してもよい。例えば、本発明のFabおよびF(ab')₂断片は、パパイン（Fab断片を生成する）またはペプシン（F(ab')₂断片を生成する）などの酵素を用いて、免疫グロブリン分子のタンパク質分解切斷により生成することができる。F(ab')₂断片は可変領域、軽鎖定常領域および重鎖CH1ドメインを含有する。さらに、本発明の抗体はまた、当技術分野で公知の様々なファージディスプレイ法を用いて作製することができる。10

【 0 3 3 7 】

ファージディスプレイ法においては、機能性抗体ドメインが、同ドメインをコードするポリヌクレオチド配列を保持するファージ粒子の表面に提示される。特に、VHおよびVLドメインをコードするDNA配列を、動物cDNAライブラリー（例えば、罹患組織のヒトまたはマウスcDNAライブラリー）から増幅する。VHおよびVLドメインをコードするDNAをPCRによりscFvリンカーと一緒に組換えて、ファージミドベクター中にクローニングする。そのベクターを大腸菌（E.coli）中にエレクトロポレーションして大腸菌（E.coli）をヘルパー・ファージに感染させる。これらの方法で使用されるファージは、典型的には、fdおよびM13を含む纖維状ファージであり、VHおよびVLドメインを通常、組換え法によりファージ遺伝子IIIまたは遺伝子VIIIのいずれかに融合させる。特定の抗原と結合する抗原結合ドメインを発現するファージを、抗原により、例えば、標識した抗原または固体表面もしくはビーズに結合もしくは捕獲された抗原を用いて、選択または同定することができる。本発明の抗体を作製するために利用しうるファージディスプレイ法の例としては、Brinkman et al, 1995, J. Immunol. Methods 182:41-50 ; Ames et al, 1995, J. Immunol. Methods 184:177-186 ; Kettleborough et al, 1994, Eur. J. Immunol. 24:952-958 ; Persic et al, 1997, Gene 187:9-18 ; Burton et al, 1994, Advances in Immunology 57:191-280 ; PCT出願PCT/GB91/01134 ; 国際公開WO 90/02809、WO 91/10737、WO 92/01047、WO 92/18619、WO 93/11236、WO 95/15982、WO 95/20401、およびW097/13844；ならびに米国特許第5,698,426号、第5,223,409号、第5,403,484号、第5,580,717号、第5,427,908号、第5,750,753号、第5,821,047号、第5,571,698号、第5,427,908号、第5,516,637号、第5,780,225号、第5,658,727号、第5,733,743号、および第5,969,108号に開示された方法が挙げられ、これらはそれぞれ参照によりその全文が本明細書に組み入れられる。20

【 0 3 3 8 】

以上の参考文献に記載の通り、ファージ選択の後、ファージからの抗体コード領域を単離し、それを使用して、ヒト抗体を含む全抗体、または任意の他の所望の抗原結合断片を作製し、それらを、例えば以下に記載のようにして、哺乳動物細胞、昆虫細胞、植物細胞、酵母、および細菌を含む任意の所望の宿主にて発現させることができる。組換え法によりFab、Fab' およびF(ab')₂断片を生産する技術はまた、PCT公開WO 92/22324 ; Mullinax et al, 1992, BioTechniques 12 (6):864-869 ; Sawai et al, 1995, AJRI 34:26-34；ならびにBetter et al, 1988, Science 240:1041-1043（上記参考文献は参照によりその全文が組み入れられる）に開示された方法などの当技術分野で公知の方法を用いて、使用することができる。30

【 0 3 3 9 】

全抗体を作製するために、VHまたはVLヌクレオチド配列、制限酵素切断部位、および制限酵素切断部位を保護するフランкиング配列を含むPCRプライマーを用いて、scFvクローン中のVHまたはVL配列を増幅することができる。当業者に公知のクローニング技術を利用して、PCR増幅されたVHドメインをVH定常領域、例えば、ヒト 4定常領域を発現するベクター中にクローニングし、また、PCR増幅したVLドメインをVL定常領域、例えばヒト もしくは 定常領域を発現するベクター中にクローニングすることができる。好ましくは、40

10

20

30

40

50

VHまたはVLドメインを発現するベクターは、EF-1 プロモーター、分泌シグナル、可変ドメイン、定常ドメインおよびネオマイシンなどの選択マーカーに対するクローニング部位を含む。VHおよびVLドメインを、必要な定常領域を発現する1つのベクター中にクローニングすることもできる。次いで、重鎖変換ベクターおよび軽鎖変換ベクターを培養細胞株中に同時トランスフェクトし、当業者に公知の技術を用いて、完全長抗体、例えばIgGを発現する安定した一過性の培養細胞株を作製する。

【0340】

ヒトにおける抗体のin vivo使用、およびin vitro検出アッセイを含む複数の用途について、ヒトまたはキメラ抗体を使用することが好ましい場合がある。完全なヒト抗体は、ヒト被験者の治療のためには特に所望される。ヒト抗体は、ヒト免疫グロブリン配列由來の抗体ライブラリーを用いる上記のファージディスプレイ法を含む、当技術分野で公知の様々な方法により作製することができる。米国特許第4,444,887号および第4,716,111号、；ならびに国際公開WO 98/46645、WO 98/50433、WO 98/24893、W098/16654、WO 96/34096、WO 96/33735、およびWO 91/10741も参照されたい；これらはそれぞれ参考によりその全文が本明細書に組み入れられる。10

【0341】

ヒト抗体はまた、機能性の内因性免疫グロブリンを発現できないがヒト免疫グロブリン遺伝子を発現できるトランスジェニックマウスを用いて產生することもできる。例えば、ヒト重鎖および軽鎖免疫グロブリン遺伝子複合体を、無作為にまたは相同組換えによりマウス胚幹細胞中に導入してもよい。あるいは、ヒト重鎖および軽鎖遺伝子に加えて、ヒト可変領域、定常領域、および多様性領域を、マウス胚性幹細胞中に導入してもよい。相同組換えによりヒト免疫グロブリン遺伝子座を導入して、マウス重鎖および軽鎖免疫グロブリン遺伝子を別々にまたは同時に非機能化してもよい。特に、J_H領域のホモ接合性欠失は内因性抗体產生を妨げる。改変した胚幹細胞を増殖させ、胚盤胞中にマイクロインジェクションしてキメラマウスを作る。次いでキメラマウスを交配し、ヒト抗体を発現するホモ接合性子孫を作る。そのトランスジェニックマウスを、通常の方式で、選択した抗原、例えば本発明のポリペプチドの全体もしくは部分を用いて、免疫感作する。その抗原に対するモノクローナル抗体を、免疫感作したトランスジェニックマウスから通常のハイブリドーマ技術を利用して得ることができる。トランスジェニックマウスによって保持されるヒト免疫グロブリントランスジーンは 細胞分化の際に再配列し、その後、クラススイッチングおよび体細胞突然変異を受ける。従って、かかる技法を利用して、治療上有用なIgG、IgA、IgMおよびIgE抗体を生産することが可能である。ヒト抗体を生産するためのこの技術の総括については、LonbergおよびHuszar (1995, Int. Rev. Immunol. 13:65-93) を参考すること。ヒト抗体およびヒトモノクローナル抗体を产生するためのこの技術ならびにかかる抗体を产生するためのプロトコルの詳細な考察については、例えば、参考によりその全文が本明細書に組み入れられる、PCT公開WO 98/24893、WO 96/34096、およびWO 96/33735；および米国特許第5,413,923号、第5,625,126号、第5,633,425号、第5,569,825号、第5,661,016号、第5,545,806号、第5,814,318号、および第5,939,598号を参考すること。さらに、Abgenix, Inc. (Freemont, CA) およびGenpharm (San Jose, CA) などの会社と、選択した抗原に対するヒト抗体を上記と類似の技術を利用して提供する契約を結ぶことができる。203040

【0342】

キメラ抗体は、抗体の異なる部分が異なる免疫グロブリンに由来する分子である。キメラ抗体を製造する方法は当技術分野で公知である。例えば、Morrison, 1985, Science 229:1202 ; Oi et al, 1986, BioTechniques 4:214 ; Gillies et al, 1989, J. Immunol. Methods 125:191-202；ならびに米国特許第5,807,715号、第4,816,567号、第4,816,397号、および第6,331,415号（これらは本明細書に参照によりその全文が組み入れられる）を参考すること。

【0343】

ヒト化抗体は、所定の抗原と結合することができ、そして実質的にヒト免疫グロブリン

のアミノ酸配列を有するフレームワークおよび実質的に非ヒト免疫グロブリンのアミノ酸配列を有するCDRを含んでなる抗体またはその変異体もしくはその断片である。ヒト化抗体は、実質的に少なくとも1つの、そして典型的には2つの可変ドメイン(Fab、Fab'、F(ab')₂、Fabc、Fv)を含んでなり、ここでCDR領域の全てまたは実質的に全てが非ヒト免疫グロブリン(すなわち、ドナー抗体)のCDR領域と対応しあつフレームワーク領域の全てまたは実質的に全てがヒト免疫グロブリンコンセンサス配列のフレームワーク領域である。好ましくは、ヒト化抗体はまた、少なくとも免疫グロブリン定常領域(Fc)の一部分、典型的にはヒト免疫グロブリンの一部分を含む。通常、抗体は軽鎖ならびに重鎖の少なくとも可変ドメインの両方を含有しうる。抗体はまた、重鎖のCH1、ヒンジ、CH2、CH3、およびCH4域を含んでもよい。ヒト化抗体は、IgM、IgG、IgD、IgAおよびIgEを含む免疫グロブリンのいずれのクラス、ならびにIgG1、IgG2、IgG3およびIgG4を含むいづれのアイソタイプから選択することができる。通常、定常ドメインは、ヒト化抗体が細胞傷害活性を示すことが所望される補体固定定常ドメインであり、そのクラスは典型的にはIgG₁である。かかる細胞傷害活性が所望でない場合、定常ドメインはIgG₂クラスである。本発明のある特定の実施形態において用いることができるVLおよびVH定常ドメインの例には、限定されるものでないが、Johnson et al., (1997) J. Infect. Dis. 176, 1215-1224に記載のC-10 およびC-2-1(nG1m)ならびに米国特許第5,824,307号に記載のものが含まれる。

ヒト化抗体は1以上のクラスまたはアイソタイプからの配列を含んでもよく、そして所望のエフェクター機能を最適化するための特定の定常ドメインの選択は当技術分野の通常の技術に包含される。ヒト化抗体のフレームワークおよびCDR領域は正確に親配列に対応する必要はなく、例えば、ドナーCDRまたはコンセンサスフレームワークは少なくとも1つの残基の置換、挿入または欠失により突然変異されていてその部位におけるCDRまたはフレームワーク残基がコンセンサスまたはインポート抗体に対応しないようにしてもよい。しかしながら突然変異は広汎なものではないであろう。通常、ヒト化抗体残基の少なくとも75%、さらにはしばしば90%、そして最も好ましくは95%超が親FRおよびCDR配列の残基と対応しうる。ヒト化抗体は、当技術分野で公知の様々な技術を用いて製造することができ、そのような技術としては、限定されるものでないが、CDRグラフト(欧洲特許EP 239,400; 国際公開WO 91/09967; および米国特許第5,225,539号、第5,530,101号、第5,585,089号)、ベニアリング(veneering)または再表面形成(resurfacing)(欧洲特許EP 592,106; EP 519,596; Padlan, 1991, Molecular Immunology 28 (4/5):489-498; Studnicka et al., 1994, Protein Engineering 7 (6):805-814; およびRoguska et al., 1994, PNAS 91:969-973)、チェーンシャッフリング(chain shuffling)(米国特許第5,565,332号)、ならびに、例えば、米国特許第6,407,213号、第5,766,886号、国際公開WO 9317105、Tan et al., J. Immunol. 169:1119-25 (2002)、Caldas et al., Protein Eng. 13(5):353-60 (2000)、Morea et al., Methods 20(3):267-79 (2000)、Baca et al., J. Biol. Chem. 272(16):10678-84 (1997)、Roguska et al., Protein Eng. 9(10):895-904 (1996)、Couto et al., Cancer Res. 55 (23 Supp):5973s-5977s (1995)、Couto et al., Cancer Res. 55(8):1717-22 (1995)、Sandhu JS, Gene 150(2):409-10 (1994)、およびPedersen et al., J. Mol. Biol. 235(3):959-73 (1994)に開示された技術が挙げられる。参考により本明細書にその全てが組み入れられる米国特許公開第US 2005/0042664 A1号(2005年、2月24日)も参照されたい。しばしば、フレームワーク領域のフレームワーク残基を、CDRドナー抗体由来の対応する残基によって置換して、抗原結合を改変し、好ましくは改良する。これらのフレームワーク置換は、当技術分野で公知の方法によって、例えば、CDRとフレームワーク残基の相互作用をモデル化して抗原結合に重要なフレームワーク残基を同定し、さらに配列比較により特定位置の異常なフレームワーク残基を同定することにより確認する(例えば、本明細書に参照によりその全文が組み入れられる、Queen et al., 米国特許第5,585,089号; およびRiechmann et al., 1988, Nature 332:323を参照)。

【0344】

単一ドメイン抗体、例えば、軽鎖を欠く抗体は、当技術分野で公知の方法により作製することができる。それぞれ、本明細書に参照により組み入れられるRiechmann et al., 19

10

20

30

40

50

99, J. Immuno. 231:25-38 ; Nuttall et al., 2000, Curr. Pharm. Biotechnol. 1(3):25 3-263 ; Muylderman, 2001, J. Biotechnol. 74(4):277302 ; 米国特許第6,005,079号；および国際公開WO 94/04678、WO 94/25591、およびWO 01/44301を参照されたい。

【0345】

5.7 抗体をコードするポリヌクレオチド

本発明は、CD3ポリペプチドと免疫特異的に結合する抗体をコードするヌクレオチド配列を含むポリヌクレオチドを提供する。本発明はまた、例えば、先に規定したような、高いストリンジェンシー、中度のもしくは低いストリンジェンシーのハイブリダイゼーション条件のもとで、本発明の抗体をコードするポリヌクレオチドとハイブリダイズするポリヌクレオチドも包含する。

10

【0346】

ポリヌクレオチドを得て、当技術分野で公知のいずれかの方法によりポリヌクレオチドのヌクレオチド配列を決定することができる。CD3ポリペプチドに対して免疫特異的な抗体のヌクレオチド配列は、例えば、文献またはGenBankなどのデータベースから得ることができる。例えば、ヒト化OKT3のアミノ酸配列は既知であるので、これらの抗体をコードするヌクレオチド配列を、当技術分野で公知の方法を利用して（すなわち、特定のアミノ酸をコードすることが知られるヌクレオチドコドンを、抗体をコードする核酸を生成するように組み立てて）決定することができる。抗体をコードするかかるポリヌクレオチドは、化学合成したオリゴヌクレオチドから組み立てることができ（例えば、Kutmeier et al., 1994, BioTechniques 17:242に記載の通り）、これは、簡単に説明すると、抗体をコードする配列の一部分を含有する重複オリゴヌクレオチドの合成、これらのオリゴヌクレオチドのアニーリングおよびライゲーション、次いでライゲートしたオリゴヌクレオチドのPCRによる増幅を伴う。

20

【0347】

あるいは、抗体をコードするポリヌクレオチドを、好適な起源由来の核酸から作製することができる。特定の抗体をコードする核酸を含有するクローンが入手できなくても、その抗体分子の配列が既知であれば、その免疫グロブリンをコードする核酸は、化学的に合成することができるし、あるいは、適当な起源（例えば、本発明の抗体を発現するように選択されたハイブリドーマ細胞などの、抗体を発現する任意の組織もしくは細胞からから作製した抗体cDNAライブラリーもしくはcDNAライブラリー、またはそれらから単離した核酸、好ましくはポリA+RNA）からその配列の3'および5'末端にハイブリダイズする合成プライマーを用いるPCR増幅によるか、または、例えば、cDNAライブラリーから前記抗体をコードするcDNAクローンを同定する特定の遺伝子配列に特異的なオリゴヌクレオチドプローブを用いてクローニングすることにより、取得することができる。PCRにより作製された増幅核酸は、次いで、当技術分野で公知の方法を用いて複製可能なクローニングベクター中にクローニングすることができる。

30

【0348】

抗体のヌクレオチド配列が一度決定されると、抗体のヌクレオチド配列を、ヌクレオチド配列の遺伝子操作に関する当技術分野で公知の方法、例えば組換えDNA技法、位置指定突然変異、PCRなど（例えば、Sambrook et al, 1990, Molecular Cloning, A Laboratory Manual, 2d Ed., Cold Spring Harbor Laboratory, Cold Spring Harbor, NY、および、Ausubel et al, eds, 1998, Current Protocols in Molecular Biology, John Wiley & Sons, NY、に記載の技法を参照、これらの文献は本明細書に参照によりその全文が組み入れられる）を用いて遺伝子操作して、異なるアミノ酸配列を有する抗体を作製し、例えばアミノ酸置換、欠失、および／または挿入を創出することができる。

40

【0349】

具体的な実施形態においては、1以上のCDRを、日常の組換えDNA技術を利用してフレームワーク領域内に挿入する。フレームワーク領域は、天然またはコンセンサスフレームワーク領域であってもよく、好ましくはヒトフレームワーク領域である（例えば、ヒトフレームワーク領域の例挙については、Chothia et al, 1998, J. Mol. Biol. 278:457-479を

50

参照）。好ましくは、フレームワーク領域とCDRの組合せにより作製されたポリヌクレオチドは、CD3ポリペプチドと特異的に結合する抗体をコードする。好ましくは先に考察したように、1以上のアミノ酸置換をフレームワーク領域内で行ってもよく、かつ好ましくはそのアミノ酸置換は抗体のその抗原との結合を改良するものである。さらに、かかる方法を利用して、鎖内ジスルフィド結合に参加する1以上の可変領域システイン残基のアミノ酸置換もしくは欠失を行って、1以上の鎖内ジスルフィド結合を欠く抗体分子を作製してもよい。ポリヌクレオチドに対するその他の改変が本発明により包含されかつ当技術分野の範囲内にある。

【0350】

5.8 本発明の分子の組換え発現

10

本発明の抗体分子をコードするポリヌクレオチドがいったん得られると、抗体分子を產生するためのベクターは、当技術分野で公知の技術を利用して組換えDNA技術により作製することができる。当業者に公知の方法を利用して、本発明の分子に対するコード配列および適当な転写および翻訳制御シグナルを含有する発現ベクターを構築することができる。これらの方法としては、例えば、*in vitro*組換えDNA技術、合成技術、および*in vivo*遺伝子組換えが挙げられる（例えば、Sambrook et al, 1990, Molecular Cloning, A Laboratory Manual, 2d Ed., Cold Spring Harbor Laboratory, Cold Spring Harbor, NY、およびAusubel et al, eds., 1998, Current Protocols in Molecular Biology, John Wiley & Sons, NY、に記載の技法を参照されたい）。

【0351】

20

本発明の方法により同定した分子（すなわち、抗体）のヌクレオチド配列を含む発現ベクターを、慣用の技法（例えば、エレクトロポレーション、リポソームトランスフェクション、およびリン酸カルシウム沈降）により宿主細胞に導入し、導入した細胞を次いで通常の技法により培養して本発明の分子を生産することができる。具体的な実施形態においては、本発明の分子の発現を構成的、誘導性または組織、特異的プロモーターにより調節する。具体的な実施形態において、その発現ベクターはpMGX1303である（図3）。

【0352】

30

本発明の方法により同定される分子を発現するために、とりわけ組換え免疫グロブリン分子全体を発現するために用いる宿主細胞は、大腸菌などの細菌細胞、または、好ましくは、真核細胞のいずれであってもよい。特に、ヒトサイトメガロウイルスからの主要中間初期遺伝子プロモーターエレメントなどのベクターと合同したチャイニーズハムスター卵巣細胞（CHO）などの哺乳動物細胞は、免疫グロブリンに対する効果的な発現系である（Foecking et al, 1998, Gene 45 : 101 ; Cockett et al, 1990, Bio/Technology 8 : 2）。

【0353】

40

様々な宿主発現ベクター系を利用して、本発明の方法により同定される分子を発現させることができる。かかる宿主発現系は、本発明の分子を產生し次いで精製するために用いられるビヒブルを意味するのみならず、適当なヌクレオチドコード配列を用いて形質転換またはトランスフェクトすると、本発明の分子を*in situ*で発現することができる細胞も意味する。これらとしては、限定されるものでないが、本発明の方法により同定される分子のコード配列を含有する組換えバクテリオファージDNA、プラスミドDNAまたはコスミドDNA発現ベクターを用いて形質転換した細菌などの微生物（例えば、大腸菌（*E. coli*）および枯草菌（*B. subtilis*））；本発明の方法により同定される分子の配列を含有する組換え酵母発現ベクターを用いて形質転換した酵母（例えば、サッカロミセス・ピキア（*Saccharomyces Pichia*））；本発明の方法により同定される分子の配列を含有する組換えウイルス発現ベクター（例えば、バキュロウイルス）に感染した昆虫細胞系；組換えウイルス発現ベクター（例えば、カリフラワーモザイクウイルス（CaMV）；タバコモザイクウイルス、TMV）に感染したかもしくは本発明の方法により同定される分子の配列を含有する組換えプラスミド発現ベクター（例えば、Tiプラスミド）を用いて形質転換した植物細胞系；または、哺乳類細胞のゲノム由来のプロモーター（例えば、メタロチオネインプロモーター）もしくは哺乳類ウイルス由来のプロモーター（例えば、アデノウイルス後期プロモーター）

50

口モーター；ワクシニアウイルス7.5Kプロモーター）を含有する組換え発現構築物を保持する哺乳類細胞系（例えば、COS、CHO、BHK、293、293T、3T3細胞、リンパ向性細胞（米国特許第5,807,715号を参照）、Per C.6細胞（Crucellが開発したヒト網膜細胞）が挙げられる。

【0354】

細菌系においては、様々な発現ベクターを、発現される分子に対して意図される用途に依存して有利に選択することができる。例えば、抗体の医薬組成物を作製するために大量のかかるタンパク質を生産する場合には、容易に精製される融合タンパク質産物の高レベルの発現を指令するベクターが望ましい。かかるベクターとしては、限定されるものでないが、抗体コード配列を個々にlac Zコード領域とイン・フレームとなるようにベクター中にライゲートして融合タンパク質を產生させうる大腸菌（*E.coli*）発現ベクターpUR278（Ruther et al, 1983, EMBO 12:1791）；pINベクター（Inouye & Inouye, 1985, Nucleic Acids Res. 13:3101-3109；Van Heeke & Schuster, 1989, J. Biol. Chem. 24:5503-5509）などが挙げられる。pGEXベクターを利用して、非自己ポリペプチドをグルタチオン-5-トランスフェラーゼ（GST）との融合タンパク質として発現させることもできる。一般的に、かかる融合タンパク質は可溶であり、マトリックスであるグルタチオンアガロースビーズへの吸着および結合と、それに続く遊離グルタチオンの存在下での溶出により、溶解細胞から容易に精製することができる。pGEXベクターを、トロンビンまたはXa因子プロテアーゼ切断部位を含むように設計し、クローニングした標的遺伝子産物をGST部分から遊離させることができる。

10

20

30

40

【0355】

昆虫系においては、オートグラファ・カリフォルニカ核多角体病ウイルス（*Autographa californica nuclear polyhedrosis virus*）（AcNPV）を、非自己遺伝子を発現するベクターとして利用する。該ウイルスは、スpodoptera frugiperda）細胞で増殖する。抗体コード配列を個々にそのウイルスの非必須領域（例えば、ポリヘドリン遺伝子）中にクローニングしてAcNPVプロモーター（例えば、ポリヘドリンプロモーター）の制御下に置くことができる。

【0356】

哺乳類宿主細胞においては、様々なウイルスに基づく発現系を使用することができる。アデノウイルスを発現ベクターとして利用する場合、目的の抗体コード配列を、アデノウイルス転写／翻訳制御複合体、例えば、後期プロモーターおよびトリパータイト（tripartite）リーダー配列とライゲートしてもよい。次いでこのキメラ遺伝子を、in vitroまたはin vivo組換えによりアデノウイルスゲノムに挿入することができる。ウイルスゲノムの非必須領域（例えば、領域E1またはE3）への挿入により、感染宿主において生存可能でかつ免疫グロブリン分子を発現しうる組換えウイルスを得ることができる（例えば、Logan & Shenk, 1984, Proc. Natl. Acad. Sci. USA 81:355-359を参照）。特定の開始シグナルも、挿入された抗体コード配列の効率的な翻訳に必要でありうる。これらのシグナルとしてはATG開始コドンおよび隣接配列が挙げられる。さらに、開始コドンは所望のコード配列のリーディングフレームと同期していく全インサートの翻訳を保証しなければならない。これらの外因性翻訳制御シグナルおよび開始コドンは、天然および合成の両方の様々な起源のものであってよい。発現効率は、適当な転写エンハンサーメント、転写ターミネーターなど（例えば、Bittner et al, 1987, Methods in Enzymol. 153:51-544を参照）を組み入れることにより増強することができる。

30

40

【0357】

さらに、挿入された配列の発現をモジュレートするか、または所望の特定の様式で遺伝子産物を修飾およびプロセシングする宿主細胞株を選択することができる。タンパク質産物のかかる修飾（例えば、グリコシル化）およびプロセシング（例えば、切断）は、タンパク質の機能にとって重要でありうる。異なる宿主細胞は、タンパク質および遺伝子産物の翻訳後プロセシングおよび修飾のための特有かつ特定の機構を有する。適当な細胞系または宿主系を選んで、発現された非自己タンパク質の正しい修飾とプロセシングを保証す

50

ことができる。この目的のために、適切な一次転写のプロセシング、遺伝子産物のグリコシリ化およびリン酸化のための細胞機構を持つ宿主真核細胞を使用することができる。かかる哺乳類宿主細胞としては、限定されるものでないが、CHO、VERY、BHK、HeLa、COS、MDCK、293、293T、3T3、W138、BT483、Hs578T、HTB2、BT20およびT47D、CRL7030およびHs78Bstが挙げられる。

【0358】

組換えタンパク質の長期間にわたる高収量の生産のためには、安定した発現が好ましい。例えば、安定して本発明の抗体を発現する培養細胞株を遺伝子操作によって作ることができる。ウイルスの複製起点を含有する発現ベクターを用いるのではなくに、宿主細胞を、適当な発現制御エレメント（例えば、プロモーター、エンハンサー、配列、転写ターミネーター、ポリアデニル化部位など）により制御したDNA、および選択マーカーを用いて形質転換することができる。非自己DNAの導入後、遺伝子操作した細胞を、1~2日間富栄養培地で増殖させ、次いで選択培地に切り換えてよい。組換えプラスミド中の選択マーカーは、選択に対する耐性を付与し、細胞がプラスミドをその染色体中に安定的に組み込み、増殖して細胞巣を形成することを可能にするので、これを次にクローニングして培養細胞株に拡大することができる。この方法を利用して本発明の抗体を発現する細胞系を遺伝子操作により有利に作製することができる。かかる遺伝子操作で作製した培養細胞株は、本発明の抗体と直接または間接に相互作用する化合物をスクリーニングしたり評価したりするのに特に有用である。

【0359】

様々な選択系を利用することができます、限定されるものでないが、例えば単純ヘルペスウイルスチミジンキナーゼ（Wigler et al, 1977, Cell 11:223）、ヒポキサンチン-グアニン・ホスホリボシルトランスフェラーゼ（Szybalska & Szybalski, 1992, Proc. Natl. Acad. Sci. USA 89:202）、およびアデニン・ホスホリボシルトランスフェラーゼ（Lowy et al, 1980, Cell 22:8-17）遺伝子が挙げられ、これらはそれぞれtk-、hprt-またはapt-細胞において使用することができる。また、以下の遺伝子については代謝拮抗物質耐性を選択の基礎として利用することができる：メトトレキセート耐性を付与するdhfr（Wigler et al, 1980, Natl. Acad. Sci. USA 77:357；O'Hare et al, 1981, Proc. Natl. Acad. Sci. USA 78:1527）；ミコフェノール酸耐性を付与するgpt（Mulligan & Berg, 1981, Proc. Natl. Acad. Sci. USA 78:2072）；アミノグリコシドG-418耐性を付与するneo（WuおよびWu, 1991, Biotherapy 3:87-95；Tolstoshev, 1993, Ann. Rev. Pharmacol. Toxicol. 32:573-596；Mulligan, 1993, Science 260:926-932；ならびにMorgan and Anderson, 1993, Ann. Rev. Biochem. 62:191-217；May, 1993, TIB TECH 11 (5):155-215）、ならびにハイグロマイシン耐性を与えるhygro（Santerre et al, 1984, Gene 30: 147）。組換えDNA技法の技術分野で公知の利用しうる方法は、例えば、Ausubelら（eds），Current Protocols in Molecular Biology, John Wiley & Sons, NY (1993)；Kriegler, Gene Transfer and Expression, A Laboratory Manual, Stockton Press, NY (1990)；およびDracopoliら（eds），Current Protocols in Human Genetics, John Wiley & Sons, NY (1994)の第12章及び第13章；Colberre-Garapin et al, 1981, J. Mol. Biol. 150:1に記載されている。

【0360】

本発明の抗体の発現レベルは、ベクター増幅により増加させることができる（総説についてには、Bebbington and Hentschel, The use of vectors based on gene amplification for the expression of cloned genes in mammalian cells in DNA cloning, Vol.3. (Academic Press, New York, 1987)を参照）。抗体を発現するベクター系中のマーカーが増幅可能であれば、宿主細胞培養中に存在するインヒビターレベルの増加は、マーカー遺伝子のコピー数を増加しうる。増幅される領域は、抗体の分子配列と関連しているので、抗体の產生も増加しうる（Crouse et al, 1983, Mol. Cell. Biol. 3:257）。

【0361】

宿主細胞を、本発明の2つの発現ベクター、すなわち、重鎖由来のポリペプチドをコ-

10

20

30

40

50

ドする第1ベクターと軽鎖由来のポリペプチドをコードする第2ベクターとを用いて同時トランスフェクトすることができる。その2つのベクターは、重鎖ポリペプチドと軽鎖ポリペプチドの同等の発現を可能にする同一の選択マーカーを含有してもよい。あるいは、重鎖ポリペプチドと軽鎖ポリペプチドの両方をコードする単一ベクターを利用してもよい。かかる状況では重鎖の前に軽鎖を配置して、毒性である遊離の重鎖が過剰になることを避けなければならない(Proudfoot, 1986, Nature 322:52; およびKohler, 1980, Proc. Natl. Acad. Sci. USA 77:2 197)。重鎖と軽鎖のコード配列はcDNAまたはゲノムDNAを含んでもよい。

【0362】

本発明の分子(すなわち、抗体)が一旦遺伝子組換えで発現されれば、その分子は、ポリペプチドまたは抗体を精製するための当技術分野で公知の任意の方法により、例えば、クロマトグラフィー(例えば、イオン交換、アフィニティ、特に、プロテインAの後の特異的抗原に対するアフィニティ、およびサイズ分離カラムクロマトグラフィ)により、遠心分離、示差溶解度により、またはタンパク質を精製する他の任意の標準技術により、精製することができる。

10

【実施例】

【0363】

6. 実施例

6.1 1型患者に対する抗CD3モノクローナル抗体療法

患者：1型糖尿病を患う40人の患者を次の判定基準に従って参加を募る：年齢7～20歳、6週間以内のAmerican Diabetes Association判定基準による診断、ならびに抗GAD65、抗ICA512、および/または抗インスリン自己抗体の存在の確認。患者を研究コースの間、患者のかかりつけの医師の看護下におく。

20

【0364】

適格な患者を無作為に対照グループおよび抗ヒトCD3抗体治療グループに割り付ける。無作為化した後、血液サンプルを採取して、基線HA1cレベルを確立し、MMTTに対する治療前Cペプチド反応を確立し、そしてIGTTに対する治療前FPIRを実施した。両グループの患者を入院させて、抗ヒトCD3モノクローナル抗体hOKT3 1(al-a-al)またはプラセボのいずれかの6日間コースを受けさせる。抗体を静脈内に次の投与量で投与する：第1日に17 μ g/m²、第2日に34.3 μ g/m²、第3日に、69 μ g/m²、第4日に137.6 μ g/m²、および第5日および第6日に275.3 μ g/m²。あるいは、抗体を静脈内に次の投与量で投与する：第1日に1.6 μ g/kg/日；第2日に3.2 μ g/kg/日；第3日に6.5 μ g/kg/日；第4日に13 μ g/kg/日；および第5日～第14日に26 μ g/kg/日。用量増加研究において、治療は、例えば、第1日に1.42 μ g/kg/日；第2日に5.7 μ g/kg/日；第3日に11 μ g/kg/日；第4日に26 μ g/kg/日；および第5日～第14日に45.4 μ g/kg/日であってもよい。続いての研究においては、療法を変えて、投与量を增量する、および/または治療の時間コースを短縮する。例えば、続いての研究においては、患者に次の4日間の治療：第1日に6.4 μ g/kg/日；第2日に13 μ g/kg/日、および第3日および第4日に26 μ g/kg/日を投与してもよく；さらなる用量増加研究においては、前記治療は第1日に8 μ g/kg/日；第2日に16 μ g/kg/日；および第3日～第4日に32 μ g/kg/日であってもよい。

30

【0365】

最初の研究期間中、最初の3日間の治療における抗体投与量は緩慢な静脈注入を介して20時間にわたり投与し、有害な反応をモニターする。続いての研究では、投与時間を減少しおよび/または投与量を2～4等分に分割し、ボーラス注入として12時間のコースにわたり均等に分布して投与する。対照グループの患者は代謝および免疫学的試験を受けるがモノクローナル抗体は受給されない。患者を抗ヒトCD3モノクローナル抗体hOKT3 1(al-a-al)の免疫抑制効果の研究期間中モニターする。

40

【0366】

患者を治療後18ヶ月間モニターする。細胞機能を、障害血糖負荷の場合は毎6ヶ月に、また正常血糖負荷の場合は毎12ヶ月に測定する。患者は正常な食事をとることが認めら

50

れ、研究期間中、患者のかかりつけの医師の看護下におかれる。免疫学的アッセイを6ヶ月間隔で繰り返す。インスリン療法を患者のかかりつけの医師の指示に従って患者に与える。

【0367】

細胞機能を、ラジオイムノアッセイにより測定したCペプチドレベルの変化によって分析する。基線Cペプチドおよび血糖のサンプルを採取後、患者に混合食を与える。15、30、60、90、120、150、180、210、および240分後に採取したサンプルのCペプチドレベルを測定する。混合金属負荷試験（MMTT）に対するCペプチド反応は、反応曲線下面積（AUC）として表わされる。もし反応が研究開始時の反応から7.5%超の差があれば、反応に変化が起こったとみなす。患者のMMTTに対するCペプチド反応を、治療後6ヶ月、9ヶ月、12ヶ月、15ヶ月および18ヶ月にモニターする。あるいは、細胞機能をIGTTに対するFPIRにより評価する。血清インスリンレベルは、モノヨウ素化チロシンA14で標識したインスリン（Amersham Pharmacia）を用いる二重抗体ラジオイムノアッセイの改変法により測定する。FPIRは、血糖負荷（0.5g/kg）の1および3分後におけるインスリンレベルの和として計算される。グリコシル化ヘモグロビンレベルをラテックス凝集阻害試験により測定する。
10

【0368】

免疫学的モニタリング：GAD65、IA2/ICA512、およびインスリンに対する自己抗体のレベルを、当技術分野で公知の放射結合アッセイ（radiobinding assay）を用いて測定する（例えば、Woo et al, 2000, J. Immunol Methods 244 : 91-103）。HLA-DQAおよびHLA-DQB遺伝子型判定は、PCR増幅後のエキソン2多形の直接配列決定により実施する。モノクローナル抗体の投与後、血清中のサイトカインのレベルを酵素結合免疫吸着アッセイ（ELISA）により測定する。抗イディオタイプ抗体の產生は、プレート結合したhOKT3 1 (ala-ala) を用いるELISAアッセイにより、またはCD3に対するhOKT3 1 (ala-ala) -FITCの結合の遮断を測定するフローサイトメトリーによりモニターする。
20

【0369】

統計解析：データ解析は残存 細胞機能、自己抗体レベル、サイトカインレベル、およびグリコシル化ヘモグロビンレベルについて実施しうる。²分析を実施して薬物投与前および投与後の薬物治療の効果を試験しうる。対照グループと治療グループとの間の比較はマン・ホイットニー（Mann-Whitney）U検定を用いて行いうる。
30

【0370】

6.2 1型糖尿病の素因を有する被験者における抗CD3モノクローナル抗体療法

患者：1型糖尿病を発症する素因を有する被験者のスクリーニングは、診断された1型糖尿病の一親等または二親等の血族；障害性空腹時血糖レベル；OGTTに対する障害性血糖反応；GAD65に対する、IA2/ICA512に対する、および／またはインスリンに対する血清自己抗体の存在；またはCペプチド反応またはFPIRにより確認したMMTT、OGTT、IGTTまたは二相グルコースクランプ法後の障害性インスリン産生に基づく。医師よりAmerican Diabetes Associationが設定した判定基準に従い1型糖尿病と診断されているかまたは別な方法で前記判定基準に適合する患者は本研究から排除する。
40

【0371】

研究用に選択した患者を2つの等しいサイズのグループに無作為に配置する。治療プロトコルと臨床モニタリングは第6.1節に記載の通りである。さらに抗体療法を残存 細胞機能との関係で調節してもよく、すなわち、Cペプチド反応またはFPIRにより測定した細胞機能に、より大きい障害を有する患者はより高い用量の抗CD3モノクローナル抗体を受給しうる。例えば、40および110pmol/ml/240分のCペプチド反応をもつ2人の患者の場合、障害性反応をもつ患者には2種の試験投与量のうちのさらに高い投与量、例えば、第1日に1.42 μg/kg/日；第2日に5.7 μg/kg/日；第3日に11 μg/kg/日；第4日に26 μg/kg/日；および第5日～第14日に45.4 μg/kg/日を与える。

【0372】

患者を治療後18ヶ月間モニターする。細胞機能を、障害血糖負荷の場合は毎6ヶ月に
50

、また正常血糖負荷の場合は毎12ヶ月に測定する。患者は正常な食事をとることが認められ、研究期間中、患者のかかりつけの医師の看護下におかれる。免疫学的アッセイを6ヶ月間隔で繰り返す。インスリン療法を患者のかかりつけの医師の指示に従って患者に与える。

【0373】

6.3 多発性硬化症の抗CD3モノクローナル抗体療法

患者：Poserおよび/またはMcDonald判定基準に従って確認した再発寛解型または二次進行性多発性硬化症を患う患者が本研究に含まれる。一次選択判定基準はまた、過去2年間ににおける少なくとも2件の悪化の記載、18歳以上、および0~5の基線EDSSスコアも含む。

【0374】

選択した患者を治療グループと対照グループに無作為に割り付ける。治療プロトコルは第6.1節に概説した通りである。全患者は、研究のコースの期間中、かかりつけの医師の看護下におかれて、同等の時点に同等の神経学的モニタリングを受ける。

【0375】

MSのモニタリング：基線値を確立するために治療前の、およびその後、毎3ヶ月、合計36ヶ月間の神経学的試験のスケジュールを立てる。患者の臨床評価は2人の神経内科医が実施し、発作の頻度増加、持続期間および/または重症度をモニターし、および/またはEDSSスコアの増加をモニターする。さらに脳または脊髄損傷数および/または体積の基線測定を得るためにガドリニウム造影MRIスキャンを実施し、これを毎3ヶ月、合計36ヶ月繰返す。患者は、研究コースの期間中、かかりつけの医師の看護下におく。再発した患者はアボネックス(Avonex)を用いて治療し、そして月間隔で少なくとも6ヶ月間再試験する。

【0376】

少なくとも2回のスケジュールされた神経学的試験に対して持続するEDSSの1点の増加は、能力障害の進行を示す。治療の効力は、最初の再発までの時間、再発率、および永久的身体能力障害の蓄積に従って評価する。比較は、治療グループと対照グループの間で行い、MRIにおける活性損傷の程度と数も記録しあつ比較しうる。

【0377】

7 同等物

当業者であれば、本明細書に記載の特定の実施形態に対する多数の同等物を認識しうるかまたはさらに慣用的実験を行うことなく確認できるであろう。かかる同等物は以下の請求項に包含されると考える。

【0378】

本明細書に記述した全ての公開文献、特許および特許出願は、あたかもそれぞれの個々の公開文献、特許または特許出願が特定してかつ個々に参照により本明細書に組み入れられると示されたのと同じように、参照により本明細書にその全文が組み入れられる。

【 図 1 A 】

1	10	20	30	40	50	60
Okt 3 v/ REI 9LA	QIVLTOSPANISASPREKTTHTCSASS-SUSYMMYDQSGTSPEKRTVDTKLASGPA- DIOMTOSPSA-SASVGDRITTCASODITKLYMVOQTSGKAPKLIVYEASNLQASVS-SA-S-SUS.M.....SA-S-SUS.M.....
Okt 3 v/ REI 9LC	70	80	90	100	108	
	HFRSSGGTSLSITSSMEADATTYCQASNSNPETFGSKLEINR (SEQ ID NO:1) RFSSGGSDTYFISSLQPEDATTYCQDNTSPVTFGGTRLQLTR (SEQ ID NO:2)MS.N.F.....MS.N.F.....MS.N.F.....MS.N.F.....					

【 図 1 B 】

(図 2 B)

OKT3 γ 1軽鎖のアミノ酸配列
 MGWSCLILFLVATATGVHSDIQMTQSPSSLSASVGDRVITTCASSSVSYMNVWYQQTP
 GKAPKARRWIYDTDSKLQAGVPSRFSGSGLQDIDYTFITSSLQPEIDATYTCQCQWSSNNPTF
 GQGTKLQTTRVAAPSFVPPSDEQLKSGTASVCLLNNFYPREAKVQKQVVDNALQ
 SGNSQESVTEQDSKDDSTYSLSSTLILSKADYEKHKVYACEVTQHGLSSPVTKSFNRG
 EC

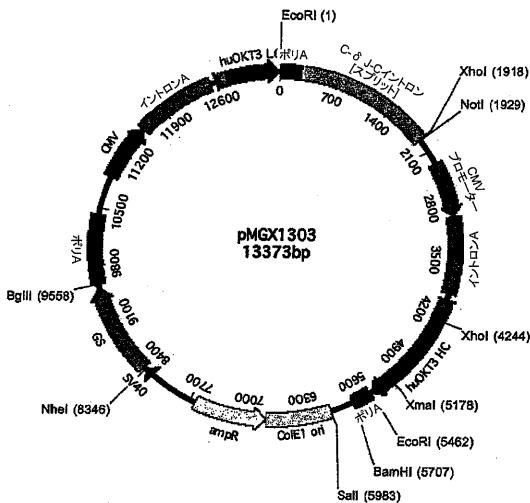
(図 2 C)

【 図 2 D 】

OKT3 γ 1 (ala-ala)重鎖のアミノ酸配列
 MGWSCLLFLWVATAGHVSQQLVQSGGGVVQPGRSLRLSCKASGYTFTRYTMHWW
 RQAFKGKLEGWYINPNSRGVYTNNQVKDRFTISRDNSKNTAFLQMDSLRPEDTGTVY
 FCARYYYDDHHCLDYWGQGTPTVSSASTKGPSPVFLAPSSPKSTSGTAALGLCKVLK
 YFPEPVTFVWSNLGATLSGVHTFPVWSSLGYLSSLYVTPVSSPLGQTICVNCWNHKP
 SNTKVDKKEPPVCSKDCLTHCPCKPAPAEAAAGGSPVFLLPPKPDKLMLISRPTEVTCVVF
 DVSHEDPEVKFNWYVVDGVEVHNAKTPREEQYNTSYTRVVSLSVTLVLFQDWLNKGK
 YVKCWSKVNALKPAEIKTISKAGKQPRQFVYTLPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSD
 IAVEWQDNPPENNYK1TPVPLSDSGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVHMHEAL
 HINHYTQKSLSSLPGK

OKT3 γ 1軽鎖のヌクレオ

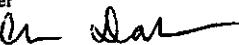
【 図 3 】



【配列表】

2009544761000001.app

【国際調査報告】

INTERNATIONAL SEARCH REPORT		International application No. PCT/US07/71275						
A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER IPC: A61K 39/395(2006.01),39/40(2006.01) A61K 39/21(2006.01) USPC: 424/130.1,133.1,141.1,143.1 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) U.S. : 424/130.1,133.1,141.1,143.1								
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) EAST (all databases) and STN (medline, embase, biosis, caplus)								
C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT <table border="1" style="width: 100%; border-collapse: collapse;"> <thead> <tr> <th style="text-align: left; padding: 2px;">Category *</th> <th style="text-align: left; padding: 2px;">Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages</th> <th style="text-align: left; padding: 2px;">Relevant to claim No.</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td style="padding: 2px;">X</td> <td style="padding: 2px;">US Patent Application 2005/0196395 (Weiner et al.) 8 September 2005 (08.09.2005).</td> <td style="padding: 2px;">1-54</td> </tr> </tbody> </table>			Category *	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.	X	US Patent Application 2005/0196395 (Weiner et al.) 8 September 2005 (08.09.2005).	1-54
Category *	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.						
X	US Patent Application 2005/0196395 (Weiner et al.) 8 September 2005 (08.09.2005).	1-54						
<input type="checkbox"/> Further documents are listed in the continuation of Box C. <input type="checkbox"/> 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 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								
Date of the actual completion of the international search 24 July 2008 (24.07.2008)		Date of mailing of the international search report 08 AUG 2008						
Name and mailing address of the ISA/US Mail Stop PCT, Attn: ISA/US Commissioner for Patents P.O. Box 1450 Alexandria, Virginia 22313-1450 Facsimile No. (571) 273-3201		Authorized officer Chun Dahle  Telephone No. 571-272-1600						

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 3/10 (2006.01)	A 6 1 K 37/26	
A 6 1 P 25/00 (2006.01)	A 6 1 P 3/10	
A 6 1 P 17/06 (2006.01)	A 6 1 P 25/00	
A 6 1 P 19/02 (2006.01)	A 6 1 P 17/06	
A 6 1 P 17/00 (2006.01)	A 6 1 P 19/02	
A 6 1 P 1/04 (2006.01)	A 6 1 P 17/00	
A 6 1 P 37/06 (2006.01)	A 6 1 P 1/04	
A 6 1 P 21/00 (2006.01)	A 6 1 P 37/06	
A 6 1 P 25/04 (2006.01)	A 6 1 P 21/00	
A 6 1 P 27/02 (2006.01)	A 6 1 P 25/04	
A 6 1 P 13/00 (2006.01)	A 6 1 P 27/02	
A 6 1 P 25/28 (2006.01)	A 6 1 P 13/00	
A 6 1 P 25/24 (2006.01)	A 6 1 P 25/28	
A 6 1 P 1/10 (2006.01)	A 6 1 P 25/24	
A 6 1 P 27/16 (2006.01)	A 6 1 P 1/10	
C 0 7 K 16/28 (2006.01)	A 6 1 P 27/16	
	C 0 7 K 16/28	Z N A

(81) 指定国 AP(BW,GH,GM,KE,LS,MW,MZ,NA,SD,SL,SZ,TZ,UG,ZM,ZW),EA(AM,AZ,BY,KG,KZ,MD,RU,TJ,TM),EP(AT,BE,BG,CH,CY,CZ,DE,DK,EE,ES,FI,FR,GB,GR,HU,IE,IS,IT,LT,LU,LV,MC,MT,NL,PL,PT,RO,SE,SI,SK,TR),OA(BF,BJ,CF,CG,CI,CM,GA,GN,GQ,GW,ML,MR,NE,SN,TD,TG),AE,AG,AL,AM,AT,AU,AZ,BA,BB,BG,BH,BR,BW,BY,BZ,CA,CH,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,IS,JP,KE,KG,KM,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,PG,PH,PL,PT,RO,RS,RU,SC,SD,SE,SG,SK,SL,SM,SV,SY,TJ,TM,TN,TR,TT,TZ,UA,UG,US,UZ,VC,VN,ZA,ZM,ZW

(72) 発明者 コエニグ , スコット

アメリカ合衆国 2 0 8 5 2 メリーランド州 , ロックヴィル , ラルストン ロード 1 0 9 0 1

(72) 発明者 ワイルダー , 口ナルド

アメリカ合衆国 2 0 8 5 1 メリーランド州 , ロックヴィル , ターブレー ドライブ 7 5 0 8

(72) 発明者 ボンヴィニ , エズィオ

アメリカ合衆国 2 0 8 5 1 メリーランド州 , ロックヴィル , シェトランド コート 2

(72) 発明者 ジョンソン , レスリー , エス .

アメリカ合衆国 2 0 8 7 4 メリーランド州 , ダーネスタウン , ポプラー ヒル ロード 4 4
1 1

(72) 発明者 ピルマー , スタンレー

アメリカ合衆国 2 0 8 7 8 メリーランド州 , ノース ポトマック , クワイエットウッド テラ
ス 1 4 4 0 8

F ターム(参考) 4C084 AA01 AA02 AA22 DB34 MA02 MA65 MA66 NA14 ZA02 ZA08
ZA12 ZA15 ZA33 ZA34 ZA66 ZA72 ZA81 ZA89 ZA94 ZA96
ZB07 ZC35 ZC75
4C085 AA13 AA14 BB11 DD62 DD63 EE01 GG02 GG03 GG04
4H045 AA11 AA30 BA09 CA40 DA75 EA20 FA74