

(19)日本国特許庁(JP)

## (12)特許公報(B2)

(11)特許番号  
特許第7247113号  
(P7247113)

(45)発行日 令和5年3月28日(2023.3.28)

(24)登録日 令和5年3月17日(2023.3.17)

(51)国際特許分類	F I
A 6 1 K 39/395 (2006.01)	A 6 1 K 39/395
A 6 1 P 25/28 (2006.01)	A 6 1 P 25/28
A 6 1 P 43/00 (2006.01)	A 6 1 K 39/395
C 0 7 K 16/28 (2006.01)	A 6 1 P 43/00 105
	C 0 7 K 16/28

請求項の数 5 (全24頁)

(21)出願番号	特願2019-567345(P2019-567345)	(73)特許権者	503146324
(86)(22)出願日	平成30年6月6日(2018.6.6)		ザ ブリガム アンド ウィメンズ ホスピタル インコーポレイテッド
(65)公表番号	特表2020-522535(P2020-522535)		The Brigham and Women's Hospital, Inc.
	A)		アメリカ合衆国 マサチューセッツ州 02115 ボストン フランシス ストリート 75
(43)公表日	令和2年7月30日(2020.7.30)	(74)代理人	100092783
(86)国際出願番号	PCT/US2018/036261		弁理士 小林 浩
(87)国際公開番号	WO2018/226833	(74)代理人	100120134
(87)国際公開日	平成30年12月13日(2018.12.13)		弁理士 大森 規雄
審査請求日	令和3年4月13日(2021.4.13)	(74)代理人	100186897
(31)優先権主張番号	62/515,711		弁理士 平川 さやか
(32)優先日	平成29年6月6日(2017.6.6)	(74)代理人	100104282
(33)優先権主張国・地域又は機関			
米国(US)			

最終頁に続く

(54)【発明の名称】 ミクログリアの活性化を抑制する方法

## (57)【特許請求の範囲】

## 【請求項1】

抗CD3抗体を含む、対象におけるアルツハイマー病を処置する、予防するまたは緩和する方法における使用のための組成物であって、前記方法はそれを必要とする対象に前記抗CD3抗体を鼻腔内投与により投与することを含み、前記抗CD3抗体は、アミノ酸配列G Y G M H (配列番号1)を含む重鎖相補性決定領域1(C D R H 1)、アミノ酸配列V I W Y D G S K K Y Y V D S V K G (配列番号3)を含む重鎖相補性決定領域2(C D R H 2)、アミノ酸配列Q M G Y W H F D L (配列番号4)を含む重鎖相補性決定領域3(C D R H 3)、アミノ酸配列R A S Q S V S S Y L A (配列番号5)を含む軽鎖相補性決定領域1(C D R L 1)、アミノ酸配列D A S N R A T (配列番号6)を含む軽鎖相補性決定領域2(C D R L 2)、およびアミノ酸配列Q Q R S N W P P L T (配列番号7)を含む軽鎖相補性決定領域3(C D R L 3)を含む、組成物。

## 【請求項2】

前記抗CD3抗体がモノクローナルまたはポリクローナル抗体である、請求項1に記載の組成物。

## 【請求項3】

前記抗CD3抗体が、完全ヒト、ヒト化またはキメラである、請求項1または2に記載の組成物。

## 【請求項4】

前記抗CD3抗体が、配列番号8のアミノ酸配列を含む可変重鎖アミノ酸配列、および

配列番号 9 のアミノ酸配列を含む可変軽鎖アミノ酸配列を含む、請求項 1 ~ 3 のいずれか一項に記載の組成物。

【請求項 5】

前記抗 C D 3 抗体が、配列番号 10 のアミノ酸配列を含む重鎖アミノ酸配列、および配列番号 11 のアミノ酸配列を含む軽鎖アミノ酸配列を含む、請求項 1 ~ 4 のいずれか一項に記載の組成物。

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0 0 0 1】

優先権の主張

10

本出願は、2017年6月6日に出願された米国仮特許出願第 62/515,711 号の利益を主張する。前述の全内容は、参照により本明細書に組み込まれる。

【0 0 0 2】

本発明は、一般に、ミクログリア細胞の活性化を抑制する方法、脳虚血または脳炎症の神経学的効果を改善させるまたは処置する方法、および抗 C D 3 抗体を投与することにより、C N S に影響を及ぼす特定の疾患を改善させるまたは処置する方法に関する。

【背景技術】

【0 0 0 3】

ヒト C D 3 抗原は、T 細胞の表面の T 細胞受容体と非共有結合によって会合している、最低 4 つのインバリアントポリペプチド鎖からなり、一般に現在、C D 3 抗原複合体と呼ばれる。ヒト C D 3 抗原は、T 細胞受容体による抗原認識に応答する T 細胞活性化のプロセスに密接に関与する。抗原応答の開始における C D 3 の基本的な性質により、この受容体に対するモノクローナル抗体は免疫プロセスを遮断し、または少なくとも調節することができ、したがって、炎症および / または自己免疫疾患の処置のための薬剤として提案されている。

20

【0 0 0 4】

中枢神経系 (C N S) は、相対免役特権の部位であると長く考えられてきた。しかしながら、急性および慢性神経学的疾患における C N S 細胞傷害は、C N S 炎症応答によって媒介され得ることが次第に認識されている。C N S 炎症応答は、主に炎症性サイトカインによって媒介される。

30

【発明の概要】

【0 0 0 5】

当技術分野では、ミクログリア細胞の活性化を制御するより特異的な治療標的化システムの必要性がある。さらに、神経変性障害を患っている患者におけるアミロイドplaques 形成を阻害する方法の必要性がある。

【0 0 0 6】

様々な態様では、本開示は、ミクログリア細胞を抗 C D 3 抗体と接触させることによってミクログリアの活性化を減少させる方法を提供する。細胞は、ミクログリアの炎症性表現型を抑制するのに十分な量の抗体と接触する。例えば、細胞は、C D 7 4 および / もしくは H 2 - A B 1 のミクログリアの発現を低減する、または C X 3 C R 1 および / もしくは T G F - 1 のミクログリアの発現を増加させるのに十分な量の抗体と接触する。代わりに、細胞は、C X 3 C R 1 、 C C R 2 、 H s p 4 0 または D u s p 1 のうちの 1 つまたは複数の L y 6 C h i g h 脾細胞発現を増加させるのに十分な量の抗体と接触する。

40

【0 0 0 7】

対象におけるミクログリアの活性化と関連する疾患の徴候または症状を処置する、予防するまたは緩和する方法であって、それを必要とする対象に抗 C D 3 抗体を投与することによる方法も本開示により提供される。投与は、経口または粘膜である。好ましくは、投与は、鼻腔内である。

【0 0 0 8】

含まれるミクログリアの活性化と関連する疾患は、例えば、神経変性障害、虚血関連疾

50

患または傷害、外傷性脳傷害またはリソソーム蓄積症である。神経変性疾患は、例えば、アルツハイマー病、パーキンソン病、筋萎縮性側索硬化症（ALS）、またはハンチントン病である。虚血関連疾患は、虚血再灌流傷害、卒中、心筋梗塞である。例えば、虚血再灌流傷害は、肺組織、心臓組織、および神経組織におけるものである。外傷性脳傷害は、脳振盪、例えば、繰り返し脳振盪傷害またはむち打ちである。リソソーム蓄積症は、ニーマン・ピック病である。

【0009】

ミクログリアの活性化と関連する疾患の徵候または症状は、例えば、アミロイドplaques形成である。

【0010】

抗CD3抗体はモノクローナルまたはポリクローナル抗体である。

10

【0011】

例えば抗CD3抗体は、完全ヒト、ヒト化またはキメラである。

【0012】

例示的な抗CD3抗体は、アミノ酸配列GYGMH（配列番号1）を有する重鎖相補性決定領域1（CDRH1）、アミノ酸配列VIWYDGSKKYYVDSDKG（配列番号3）を有する重鎖相補性決定領域2（CDRH2）、アミノ酸配列QMGYWHFDL（配列番号4）を有する重鎖相補性決定領域3（CDRH3）、アミノ酸配列RASQSVSSYLA（配列番号5）を有する軽鎖相補性決定領域1（CDRL1）、アミノ酸配列DASNRAAT（配列番号6）を有する軽鎖相補性決定領域2（CDRL2）、およびアミノ酸配列QQRSNWPPLT（配列番号7）を有する軽鎖相補性決定領域3（CDRL3）を有する。

20

【0013】

抗CD3抗体は、配列番号8のアミノ酸配列を有する可変重鎖アミノ酸配列、および配列番号9のアミノ酸配列を有する可変軽鎖アミノ酸配列を有する。代わりに、抗CD3抗体は、配列番号10のアミノ酸配列を有する重鎖アミノ酸配列および配列番号11のアミノ酸配列を有する軽鎖アミノ酸配列を含む。

【0014】

他に定義しない限り、本明細書で使用する全ての技術および科学用語は、本発明が属する分野の当業者によって一般に理解されるのと同じ意味を有する。本明細書に記載のものと同様または等価な方法および材料が本発明の実施に使用され得るが、好適な方法および材料が以下に記載される。本明細書で述べる全ての刊行物、特許出願、特許、および他の参考文献はその全体が参照により明確に組み込まれる。矛盾する場合には、定義を含む本明細書が規制する。さらに、本明細書に記載の材料、方法、および実施例は例示のみであり、制限することを意図しない。

30

【0015】

本発明の他の特徴および利点は、以下の詳細な説明および特許請求の範囲から明らかであり、それらに包含される。

【図面の簡単な説明】

【0016】

40

【図1-1】図1A～Bは、それぞれ、老齢（24カ月）野生型マウスにおけるミクログリアへの経鼻抗CD3の効果を示すヒートマップおよびダイアグラムである。図1Aは、抗CD3（クローン2C11）またはアイソタイプコントロールによって処置された24カ月齢の野生型マウスのFCRLS+ソートしたミクログリアにおけるRNAシークエンシング分析によって測定された116個の差次的に発現された遺伝子の階層的クラスタリングを示すヒートマップである。図1Bは、抗CD3が老齢マウス由来のミクログリアにおけるIRF-7駆動炎症ノードの発現を抑制することを実証する差次的に発現された遺伝子の精巧な経路分析のダイアグラムである。

【図1-2】図1-1と同様である。

【図2】図2は、若齢（2カ月）野生型マウスにおけるミクログリアへの経鼻抗CD3の

50

効果を示すヒートマップである。ヒートマップは、抗 C D 3 (クローン 2 C 1 1 ) またはアイソタイプコントロールによって処置された 2 カ月齢の野生型マウスの F C R L S + ソートしたミクログリアにおける R N A シークエンシング分析によって測定された 2 1 0 個の差次的に発現された遺伝子の階層的クラスタリングを示す。

【図 3 - 1】図 3 A ~ B は、それぞれ経鼻抗 C D 3 が繰り返し軽度外傷性脳傷害 ( T B I ) のマウスモデルにおけるミクログリア細胞の炎症性表現型を調節することを示す、ヒートマップおよび一連の 9 つのグラフである。繰り返し軽度 T B I ( 脳振盪傷害 ) マウスは、54 g 重および 42 ' 落下を使用して、5 日連続で 1 日 1 回の傷害、回転加速度での閉鎖性頭部重錘法によって処置された。鼻腔内抗 C D 3 またはアイソタイプコントロール抗体 ( 1 日 1  $\mu$  g ) を、各傷害の 1 時間後、次いでさらに 6 日間毎日投与した。 T B I モデルマウスは、最後の傷害の 7 日後に殺し、その脳は、ミエロイド細胞単離 ( P e r c o 1 1 ) 、続いて蛍光活性化細胞ソーティング ( F A C S ) のために回収した。ソートしたミクログリアから R N A を単離し、次いでミエロイドコードセットによる N a n o s t r i n g を使用して分析された。図 3 A は、抗 C D 3 またはアイソタイプコントロールによって処置された T B I モデルマウスから単離されたミクログリアにおける差次的に発現された遺伝子の階層的クラスタリングを示すヒートマップである。図 3 B は、抗 C D 3 ( 黒い棒 ) 処置した T B I マウスとアイソタイプコントロール ( 白い棒 ) 処置した T B I マウスの間の 9 つの個々の遺伝子の発現差を示す。コピー数は、Y 軸に示す。上の列、左から右へ : A d g r e 1 、 C X 3 C R 1 、 I N O S ; 中央の列、左から右へ : C D 6 8 、 C C R 2 、 T g f b 1 ; 下の列、左から右へ : C D 7 4 、 H 2 - A b 1 および T N F 。 \* ヒートマップは、抗 C D 3 とアイソタイプ群の間でコピー数が著しく異なった ( P < 0 . 0 5 ) 遺伝子を意味する。 C D 7 4 、 M H C I I 提示に関するインバリアント鎖は、抗 C D 3 群で下方制御される。同様に、 H 2 - A b 1 、 M H C I I 抗原の 1 つも、下方制御される。 C X 3 C R 1 および T G F b 1 ( 調節性 T 細胞の誘導における役割を有する ) は両方とも、抗 C D 3 群で著しく増加される。

【図 3 - 2】図 3 - 1 と同様である。

【図 4 - 1】図 4 A ~ B は、それぞれ、経鼻抗 C D 3 が、脾臓の L y 6 C h i 単核球の炎症性表現型を調節することを示す、ヒートマップおよび一連の 1 2 個のグラフである。 T B I マウスは、図 3 に記載したように生成、処置および分析された。図 4 A は、抗 C D 3 またはアイソタイプコントロールによって処置された T B I モデルマウスから単離された脾臓の L y 6 C h i 単核球における差次的に発現された遺伝子の階層的クラスタリングを示すヒートマップである。図 4 B は、抗 C D 3 ( 黒い棒 ) 処置した T B I マウスとアイソタイプコントロール ( 白い棒 ) 処置した T B I マウスの間の 1 2 個の個々の遺伝子の発現差を示す。コピー数は、Y 軸に示す。上の列、左から右へ : A d g r e 1 、 C X 3 C R 1 、 I N O S 、 H s p 4 0 ; 中央の列、左から右へ : C D 6 8 、 C C R 2 、 T g f b 1 、 D u s p 1 ; 下の列、左から右へ : C D 7 4 、 H 2 - A b 1 、 T N F および N o d 1 。 \* ヒートマップは、抗 C D 3 とアイソタイプ群の間でコピー数が著しく異なった ( P < 0 . 0 5 ) 遺伝子を意味する。 C X 3 C R 1 と C C R 2 は両方とも、抗 C D 3 群で増加される。 H s p 4 0 ( 別名 D n a j b 6 ) と D u s p 1 は両方とも、抗 C D 3 群で強く増加される。 H s p 4 0 は、 C N S 外傷では神経保護し、 D u s p 1 は抗炎症性分子であることが示された。

【図 4 - 2】図 4 - 1 と同様である。

【図 5】図 5 は、アルツハイマー病 ( A D ) の A P P P S 1 アミロイド - ベータトランスジェニックマウスモデルの抗 C D 3 処置の実験デザインを示すダイアグラムである。 A P P P S 1 モデルマウスは、1 日置きに鼻腔内に 1  $\mu$  g / マウスの抗 C D 3 ( クローン 2 C 1 1 ) で 3 カ月間処置された。殺時に、 C l e c 7 a + ミクログリアはトランスクリプトーム解析のためにソートされ、脳は共焦点免疫蛍光法によって分析された。

【図 6】図 6 は、図 5 に示した実験デザインに従って、抗 C D 3 またはアイソタイプコントロールによって鼻に処置された A P P P S 1 または野生型マウスからの C l e c 7 a + ミクログリアの R N A シークエンシングによって分析された差次的に発現された遺伝子の階

10

20

30

40

50

層的クラスタリングを実証するヒートマップである。クラスタリングは、アイソタイプコントロール処置に対して、全ての抗 C D 3 処置された A P P P S 1 マウスが一緒に分類された場合、経鼻抗 C D 3 処置が、 A P P P S 1 トランスジェニックマウスにおいて C 1 e c 7 + 炎症性ミクログリアのトランスクリプトームプロファイルを調節したことを実証する。W T マウスは、アイソタイプコントロールに対して抗 C D 3 のクラスタリングを実証しなかった。しかしながら、W T 対 A P P P S 1 A D マウスは、予測されたように独立してクラスタリングされた。経鼻抗 C D 3 は、 A P P P S 1 マウスにおける C 1 e c 7 + ミクログリアの遺伝子発現を調節するが、同腹仔のW T マウスでは調節しない。

【図 7】図 7 は、経鼻抗 C D 3 (下の列) またはアイソタイプコントロール (上の列) で処置された W T (左)、雄の A P P P S 1 (中央)、および雌の A P P P S 1 マウス (右) 由来の脳の一連の 6 個の免疫蛍光共焦点画像である。ヒトアミロイドベータは青、ホメオスタシスのミクログリアマーカー P 2 R y 1 2 は緑、および活性化マーカー C 1 e c 7 a は赤で染色された。抗 C D 3 によって処置された雄の A P P P S 1 マウスは、より少ない C 1 e c 7 a プラーク関連ミクログリアを実証する。

【図 8】図 8 は、アルツハイマー病の P 3 0 1 S ( T a u ) トランスジェニックマウスマodel の抗 C D 3 処置の実験デザインを示すダイアグラムである。P 3 0 1 S ( T a u トランスジェニックマウスマodel ) マウスは、1 日置きに鼻腔内に 1  $\mu$  g / マウスの抗 C D 3 ( クローン 2 C 1 1 ) で 2 ヶ月間処置された。殺時に、 C 1 e c 7 a + ミクログリアはトランスクリプトーム解析のためにソートされた。

【図 9】図 9 は、図 8 に示した実験デザインに従って、抗 C D 3 またはアイソタイプコントロールによって鼻に処置された P 3 0 1 S ( T a u ) トランスジェニックマウスにおける R N A シーケンシングによって分析された差次的に発現された遺伝子の階層的クラスタリングを実証するヒートマップである。クラスタリングは、アイソタイプコントロール処置に対して、全ての抗 C D 3 処置された P 3 0 1 S マウスが一緒に分類された場合、経鼻抗 C D 3 処置が、 T a u トランスジェニックマウスにおいて C 1 e c 7 + 炎症性ミクログリアのトランスクリプトームプロファイルを調節したことを実証する。これらの結果は、経鼻抗 C D 3 は、 T a u トランスジェニックマウスにおいて C 1 e c 7 + ミクログリアの遺伝子発現を調節できることを実証する。

【図 10】図 10 は、心虚血 / 再灌流における経鼻抗 C D 3 を示す一連の 3 つのグラフである。心筋虚血 / 再灌流のマウスマodel は経鼻抗 C D 3 によって処置された。マウスは、傷害時から開始して実験の終わりまで、 5  $\mu$  g / マウスの用量の抗 C D 3 ( a C D 3 、赤四角 ) またはアイソタイプコントロール ( I C 、黒丸 ) で毎日処置された。抗 C D 3 マウスは、コントロールの天然マウスと比較して、内径短縮率のパーセンテージ ( 左のグラフ ) 、駆出率 ( 中央のグラフ ) 、および面積変化率 ( 右のグラフ ) によって測定されたように、有益な効果を示した。

#### 【発明を実施するための形態】

##### 【 0 0 1 7 】

本明細書に記載の方法および組成物は、ミクログリア細胞の炎症性表現型が抗 C D 3 抗体によって調節されるという発見に一部基づく。特に、 C D 7 4 、 M H C I I 提示に関与するインバリアント鎖および H 2 - A B 1 、 M H C I I 抗原は、抗 C D 3 投与時にミクログリアにおいて下方制御されることが発見された。決定的に、抗 C D 3 投与は A P P P S 1 マウスにおける C 1 e c 7 + ミクログリアの遺伝子発現を調節するだけでなく、 C 1 e c 7 + プラーク関連ミクログリアの数も低減する。

##### 【 0 0 1 8 】

より具体的には、本明細書に記載の方法は C D 3 発現を低減することによるミクログリアの活性化の阻害に関する。

##### 【 0 0 1 9 】

ミクログリアは、発生中および成人中枢神経系に存在する非神経性マクロファージ様細胞である。神経傷害時に、ミクログリアは休止状態から活性状態へと転換され、形態学、免疫表現型、遊走、および増殖の変化によって特徴づけられる。活性化されたミクログリ

10

20

30

40

50

アは、ニューロンの食作用に関係し、さらにミクログリアのプロテアーゼは神経変性に関与する。

#### 【 0 0 2 0 】

本発明は、急性CNS傷害と関連する神経学的徴候および症状の予防、処置、または改善に有用である。急性CNS傷害は、虚血関連疾患を含む。虚血関連疾患は、例えば虚血再灌流傷害（肺、心臓または神経組織の）、卒中（血栓症、塞栓または血管収縮によって起こる）、全脳虚血（例えば、心筋梗塞、不整脈、出血性ショック、および冠動脈バイパス移植後脳傷害を含む、任意の原因の全身性低血圧による虚血）および頭蓋内出血を含む。急性CNS傷害はまた、外傷性脳傷害、例えば脳振盪（例えば、繰り返し脳振盪傷害）、むち打ち、および閉鎖性頭部傷害も含む。

10

#### 【 0 0 2 1 】

さらに、本方法および化合物は、限定はされないが、アルツハイマー病（AD）、パーキンソン病（PD）、ハンチントン病（HD）、筋萎縮性側索硬化症（ALS）、てんかん、HIV関連脳症、および AIDS 関連認知症を含む、慢性神経学的疾患と関連する神経学的徴候および症状の予防、処置、または改善に有用である。

#### 【 0 0 2 2 】

本方法および化合物はまた、限定はされないが、ニーマン・ピック病を含むCNSを含む神経系に影響するリソソーム（lysosomal）蓄積症と関連する神経学的徴候および症状の予防、処置、または改善にも有用である。

20

#### 【 0 0 2 3 】

本方法はまた、限定はされないが、急性散在性脳脊髄炎を含むCNSを含む神経系に影響する炎症状態と関連する神経学的徴候および症状の予防、処置、または改善にも有用である。

#### 【 0 0 2 4 】

違った方法で述べると、本方法および化合物は、急性または慢性CNS疾患の一部として起こるCNSにおけるミクログリアの活性化の予防、抑制または低減に有用である。ミクログリアの活性化の抑制または低減は、当業者に明らかな様々な方法によって評価され得る；そのような方法の1つは、活性化されたミクログリアによって産生されることが公知の化合物の産生または存在を測定し、そのような測定値をコントロール状態の同じ化合物のレベルと比較することである。代わりに、ミクログリアの活性化の抑制、低減または予防における本方法および化合物の効果は、処置されたおよびコントロール対象におけるCNS疾患の徴候および/または症状を比較することによって評価され得、そのような徴候および/または症状はミクログリアの活性化と関連するまたはミクログリアの活性化に続発する。

30

#### 【 0 0 2 5 】

アルツハイマー病（AD）の病理学的に顕著な特徴は、脳の細胞外に蓄積したアミロイド（A）plaques および細胞内の神経原線維変化を含む。活性化されたミクログリアは、A plaqueの周辺でも見出される。ADマウスモデルの脳の研究は、A plaque形成が既存のplaquesの付近に新しく生成されたplaquesクラスターの統合によって完了されることを明らかにした。A plaque周辺の活性化されたミクログリアはAを取り込み、それは in vivo で活性化されたミクログリアの内部に発生したクラスターであり、これはミクログリア細胞死へと続く。これらの死亡するミクログリアは、蓄積したAを細胞外空間へと放出し、A plaqueの増殖に寄与する。したがって、活性化されたミクログリアは、脳でミクログリア細胞死を起こすことによってA plaqueの形成および増殖に寄与し得る。したがって、本方法および化合物は、アミロイド（A）plaquesの蓄積と関連する疾患および障害の予防、処置、または改善にも有用である。

40

#### 【 0 0 2 6 】

本明細書で使用する場合、用語「対処する」、「処置する」および「改善する」は、処置される対象を悩ますCNS状態の根底にある疾患プロセスの回復または休止を示すことを必ずしも意味しない。そのような用語は、処置無しで起こるものと比較して、処置され

50

る状態と関連する有害な徵候および／または症状が和らげられもしくは低減され、または進行速度が低減されることを示す。疾患の徵候または症状の変化は、対象のレベルで（例えば、対象の機能または状態が評価される）、または組織もしくは細胞レベルで（例えば、グリア活性化のマーカーの産生が和らげられまたは低減される）評価され得る。本発明の方法が、慢性C N S状態（例えば、アルツハイマー病）を処置するために使用される場合、方法は、認知症などの症状の発症を減速または遅延させ得るが、必ずしも根底にある疾患プロセスに影響せず、それを回復しない。

### 【0027】

#### 抗C D 3抗体

抗C D 3抗体は、C D 3に特異的な任意の抗体であってよい。用語「抗体」は、本明細書で使用する場合、免疫グロブリン分子または免疫学的に活性なその部分、すなわち抗原結合部分を指す。免疫グロブリン分子の免疫学的に活性な部分の例としては、C D 3に結合する能力を保持するF ( a b ) およびF ( a b ' )<sub>2</sub>断片を含む。そのような断片は市販で、または当技術分野で公知の方法を使用して得ることができる。例えば、F ( a b )<sub>2</sub>断片は、酵素、例えばペプシン、通常1つのF ( a b )<sub>2</sub>断片とF c部分の多数の小さいペプチドを産生する非特異的エンドペプチダーゼにより抗体を処置することによって生成され得る。生じるF ( a b )<sub>2</sub>断片は、2つのジスルフィド結合したF a b単位からなる。F c断片は、十分に分解され、透析、ゲルfiltration、またはイオン交換クロマトグラフィーによってF ( a b )<sub>2</sub>から分離され得る。F ( a b )断片は、パパイン、還元剤の存在下でI g G分子をより小さいサイズの3つの断片：2つのF a b断片と1つのF c断片に消化する非特異的チオールエンドペプチダーゼを使用して生成され得る。F c断片が対象である場合、50,000ダルトンのF c断片を生じるため、パパインが最適な酵素であり；F ( a b )断片を単離するため、例えばプロテインA/Gを使用するアフィニティ精製によってF c断片は除去され得る。ImmunoPure Ig G1 F a bおよびF ( a b ' )<sub>2</sub>を含む、F ( a b )断片を生成するためのいくつかのキットが市販されている。調製キット（Pierce Biotechnology, Rockford, Ill.）。さらに、抗原結合断片を生成するための市販のサービス、例えばBio Express、West Lebanon, N. H. が使用され得る。

### 【0028】

抗体は、ポリクローナル、モノクローナル、組換え、例えばキメラ、脱免疫化またはヒト化、完全ヒト、非ヒト、例えばマウス、一本鎖抗体または単一ドメイン抗体であってよい。いくつかの実施形態では、抗体はエフェクター機能を有し、補体を固定し得る。いくつかの実施形態では、抗体は、F c受容体に結合する能力が低減し、または結合する能力がない。例えば、抗C D 3抗体は、例えば、F c受容体結合領域が変異導入または欠失した、F c受容体への結合を支持しない、アイソタイプまたはサブタイプ、断片または他の変異体であり得る。抗体はトキシンまたはイメージング剤に結合され得る。

### 【0029】

いくつかの抗C D 3抗体が公知であり、限定はされないが、OKT3（ムロモナブ／Orthoclone OKT3（商標）、Ortho Biotech, Raritan, N. J.；米国特許第4,361,549号明細書）；hOKT3（1（Herold et al., N.E.J.M. 346(22):1692-1698 (2002)）；HuM291（Nuvion（商標）、Protein Design Labs, Fremont, Calif.）；gOKT3-5（Alegre et al., J. Immunol. 148(11):3461-8 (1992)）；1F4（Tanaka et al., J. Immunol. 142:2791-2795 (1989)）；G4.18（Nicolls et al., Transplantation 55:459-468 (1993)）；145-2C11（Davignon et al., J. Immunol. 141(6):1848-54 (1988)）を含み；Frenken et al., Transplantation 51(4):881-7 (1991)；米国特許第6,491,911号明細書、第6,406,696号明細書、および第6,143,297号明細書に記載される。

### 【0030】

そのような抗体を作製する方法も公知である。全長C D 3タンパク質またはC D 3の抗

10

20

30

40

50

原性ペプチド断片は、免疫原として使用され、または他の免疫原、例えば、細胞、膜調製物等、例えば、米国特許第4,361,549号明細書および第4,654,210号明細書に記載のようにEロゼット陽性の精製された正常ヒト末梢T細胞によって作製された抗CD3抗体を同定するために使用され得る。抗CD3抗体は、CD3の任意のドメインまたは領域のエピトープを結合することができる。

#### 【0031】

キメラ、ヒト化、脱免疫化、または完全ヒト抗体は、反復投与、例えばヒト対象の治療処置を含む適用に望ましい。

#### 【0032】

キメラ抗体は、2つの異なる抗体、典型的には2つの異なる種の部分を含有する。通常、そのような抗体は、ヒト定常領域および別の種由来の可変領域、例えばマウス可変領域を含有する。例えば、親マウス抗体の結合特性およびヒト定常領域と関連するエフェクター機能を示すマウス/ヒトキメラ抗体が報告されている。例えば、その全てが参照により本明細書に組み込まれるCabilly et al., 米国特許第4,816,567号明細書; Shoemaker et al., 米国特許第4,978,745号明細書; Beavers et al., 米国特許第4,975,369号明細書; およびBoss et al., 米国特許第4,816,397号明細書を参照。通常、これらのキメラ抗体は、既存のマウスハイブリドーマから抽出したDNA由来のゲノム遺伝子ライブラリーを調製することによって構築される (Nishimura et al., *Cancer Research*, 47:999 (1987))。ライブラリーは次いで、正確な抗体断片再編成パターンを示す重鎖および軽鎖両方由来の可変領域遺伝子をスクリーニングされる。代わりに、cDNAライブラリーはハイブリドーマから抽出されたRNAから調製およびスクリーニングされ、または可変領域はポリメラーゼ連鎖反応によって得られる。クローニングされた可変領域遺伝子は次いで、適切な重鎖または軽鎖ヒト定常領域遺伝子のクローニングされたカセットを含有する発現ベクターにライゲートされる。キメラ遺伝子は次いで、最適な細胞系、例えばマウスミエローマ系において発現され得る。そのようなキメラ抗体はヒトの治療に使用されている。

#### 【0033】

ヒト化抗体が当技術分野で公知である。典型的には、「ヒト化」はオリジナル分子の抗原結合特性を完全に保持して免疫原性が低い抗体をもたらす。オリジナル抗体の全ての抗原結合特性を保持するため、その結合部位の構造は「ヒト化」バージョンで忠実に再現されなければならない。これは、(a)ヒト定常領域に非ヒト可変ドメイン全体を移植して、キメラ抗体を生成すること (Morrison et al., *Proc. Natl. Acad. Sci., USA* 81:6801 (1984); Morrison and Oi, *Adv. Immunol.* 44:65 (1988)) (リガンド結合特性を保つが、非ヒト可変ドメインの免疫原性も保持する); (b)重要なフレームワーク残基を保持したまたは保持していない、ヒトフレームワークおよび定常領域に非ヒトCDRのみを移植すること (Jones et al. *Nature*, 321:522 (1986); Verhoeyen et al., *Science* 239:1539 (1988)); または (c)非ヒト可変ドメイン全体を移植する (リガンド結合特性を保つため) が、露出した残基の意味のある置換によってヒト様表面によってそれらを「クローキング」もすること (抗原性を低減するため) (Padlan, *Molec. Immunol.* 28:489 (1991)) のいずれかにより、非ヒト抗体の結合部位をヒトフレームワークに移植することによって達成することができる。

#### 【0034】

CDR移植によるヒト化は、典型的には、ヒト断片のCDRのみをヒトフレームワークおよび定常領域へ移植することを含む。理論的には、これは免疫原性を実質的に除くべきである (アロタイプまたはイディオタイプ差が存在する場合を除く)。しかしながら、オリジナル抗体のいくつかのフレームワーク残基も保存される必要があることが報告されている (Riechmann et al., *Nature* 332:323 (1988); Queen et al., *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 86:10,029 (1989))。保存される必要があるフレームワーク残基は、コンピュータモデリングによって同定され得る。代わりに、重要なフレームワーク残基は、公知の抗体結合部位構造を比較することによって同定される可能性があり得る (Padlan, Mol

10

20

30

40

50

ec. Immun. 31(3):169-217 (1994)）。本発明は、重鎖および軽鎖の6CDRならびにマウスモノクローナル抗体の限られた数の構造アミノ酸が組換え技術によってCDR枯渇ヒトIgG足場に移植される、部分的にヒト化された抗体も含む (Jones et al., Nature 321:522-525 (1986))。

【0035】

脱免疫化抗体は、マウス可変ドメインの免疫原性エピトープを良性のアミノ酸配列と置換し、脱免疫化可変ドメインを生じることによって作製される。脱免疫化可変ドメインは、ヒトIgG定常ドメインに遺伝的に結合され、脱免疫化抗体を生じる (Biovation, Aberdeen, Scotland)。

【0036】

抗CD3抗体は、一本鎖抗体であってもよい。一本鎖抗体 (scFv) は工学的に作製され得る (例えば、Colcher et al., Ann. N. Y. Acad. Sci. 880:263-80 (1999); およびReiter, Clin. Cancer Res. 2:245-52 (1996) 参照)。一本鎖抗体は、二量体化または多量体化され、同じ標的CD3タンパク質の異なるエピトープに対する特異性を有する多価の抗体を生成することができる。いくつかの実施形態では、抗体は、例えば、参照により本明細書に組み込まれるAbbs et al., Ther. Immunol. 1(6):325-31 (1994)に記載のように、一価である。

【0037】

例示的な抗CD3抗体は、アミノ酸配列GYGMH (配列番号1) を含む重鎖相補性決定領域1 (CDRH1) 、アミノ酸配列V IWYDGSKKYYVDSVKG (配列番号3) を含む重鎖相補性決定領域2 (CDRH2) 、アミノ酸配列QMGYWHFDL (配列番号4) を含む重鎖相補性決定領域3 (CDRH3) 、アミノ酸配列RASQSVSSYLA (配列番号5) を含む軽鎖相補性決定領域1 (CDRL1) 、アミノ酸配列DASN RAT (配列番号6) を含む軽鎖相補性決定領域2 (CDRL2) 、およびアミノ酸配列QQRSNWPPLT (配列番号7) を含む軽鎖相補性決定領域3 (CDRL3) を含む。

【0038】

いくつかの実施形態では、抗CD3抗体は、

QVQLVESGGGVVQPGRSRLSCAASGFKFSGYGMHWVRQA  
PGKGLEWVAVIWYDGSKKYYVDSVKGRFTISRDNSKNTLY  
LQMNSLRAEDTAVYYCARQMGYWHFDLWGRGTLVTVSS (配列番号8) を含む可変重鎖アミノ酸配列および  
EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASQSVSSYLA  
WYQQKPGQAPRLLIYDASN RATGIPARFSGSGSGTDFTLTISSLEPE  
EDFAVYYCQQRSNWPPLTFGGGTKVEIK (配列番号9) を含む可変軽鎖アミノ酸配列を含む。

【0039】

好ましくは、抗CD3抗体は、

QVQLVESGGGVVQPGRSRLSCAASGFKFSGYGMHWVRQA  
PGKGLEWVAVIWYDGSKKYYVDSVKGRFTISRDNSKNTLY  
LQMNSLRAEDTAVYYCARQMGYWHFDLWGRGTLVTVSSAS  
TKGPSVFP LAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWN  
SGALTSGVHTFP AVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYI  
CNVNHKPSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPPCPAPEAE  
EGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEV  
KFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEY  
KCKVSNKALPAPIEKTIISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMT  
KNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTT  
PPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQK  
SLSLSPGK (配列番号10) を含む重鎖アミノ酸配列およびEIVLTQSPAT

10

20

30

30

40

50

L S L S P G E R A T L S C R A S Q S V S S Y L A W Y Q Q K P G Q A P R L L I Y D  
 A S N R A T G I P A R F S G S G S G T D F T L T I S S L E P E D F A V Y Y C Q Q  
 R S N W P P L T F G G G T K V E I K R T V A A P S V F I F P P S D E Q L K S G T  
 A S V V C L L N N F Y P R E A K V Q W K V D N A L Q S G N S Q E S V T E Q D S K  
 D S T Y S L S S T L T L S K A D Y E K H K V Y A C E V T H Q G L S S P V T K S F  
 N R G E C (配列番号11)を含む軽鎖アミノ酸配列を含む。この抗CD3抗体は、本明細書で、NI-0401、Foralumab、または28F11-AEと呼ばれる。例えば、Dean Y, Depis F, Kosco-Vilbois M. "Combination therapies in the context of anti-CD3 antibodies for the treatment of autoimmune diseases." Swiss Med Wkly. (2012)参照(その内容は、その全体が参照により本明細書に組み込まれる)。 10

#### 【0040】

いくつかの実施形態では、抗CD3抗体は完全ヒト抗体またはヒト化抗体である。いくつかの実施形態では、抗CD3抗体製剤は、全長抗CD3抗体を含む。代わりの実施形態では、抗CD3抗体製剤は、CD3に特異的に結合する抗体断片を含む。いくつかの実施形態では、抗CD3抗体製剤は、全長抗CD3抗体とCD3に特異的に結合する抗原結合断片の組合せを含む。

#### 【0041】

いくつかの実施形態では、抗体またはCD3に結合するその抗原結合断片は、モノクローナル抗体、ドメイン抗体、一本鎖、Fab断片、F(ab')<sub>2</sub>断片、scFv, scAb, dAb、單一ドメイン重鎖抗体、または單一ドメイン軽鎖抗体である。いくつかの実施形態では、そのような抗体またはCD3に結合するその抗原結合断片はマウス、他のげつ歯類、キメラ、ヒト化、または完全ヒトモノクローナル抗体である。 20

#### 【0042】

任意選択により、本開示の製剤に使用される抗CD3抗体またはその抗原結合断片は、少なくとも1つのアミノ酸変異を含む。典型的には、変異は定常領域にある。変異は、変更されたエフェクター機能を有する抗体を生じる。抗体のエフェクター機能は、Fc受容体または相補性成分などエフェクター分子への抗体の親和性を変更する、すなわち増強または低減することによって変更される。例えば、変異は、T細胞からのサイトカイン放出を低減することができる抗体を生じる。例えば、変異は、アミノ酸残基234、235、265、もしくは297の重鎖またはその組合せにある。好ましくは、変異は、234、235、265、もしくは297位のいずれかのアラニン残基、または235位のグルタミン酸残基、またはそれらの組合せを生じる。 30

#### 【0043】

好ましくは、本明細書で提供する抗CD3抗体は、in vivoでの1つまたは複数のサイトカインの重鎖定常領域媒介放出を妨げる1つまたは複数の変異を含有する。

#### 【0044】

いくつかの実施形態では、本開示の製剤に使用される抗CD3抗体またはその抗原結合断片は、完全ヒト抗体である。本明細書で使用する完全ヒトCD3抗体は、抗CD3抗体への曝露時にサイトカイン放出が著しく低減または除去されるように、例えば、Fc領域にL<sub>234</sub>L<sub>235</sub>A<sub>234</sub>E<sub>235</sub>変異を含む。本明細書で提供する抗CD3抗体のFc領域におけるL<sub>234</sub>L<sub>235</sub>A<sub>234</sub>E<sub>235</sub>変異は、抗CD3抗体がヒト白血球に曝露されるとサイトカイン放出を低減または除去するが、以下に記載の変異は著しいサイトカイン放出能力を維持する。例えば、サイトカイン放出の著しい低減は、Fc領域にL<sub>234</sub>L<sub>235</sub>A<sub>234</sub>E<sub>235</sub>変異を有する抗CD3抗体への曝露時のサイトカインの放出を、以下に記載の変異の1つまたは複数を有する別の抗CD3抗体への曝露時のサイトカイン放出のレベルと比較することによって定義される。Fc領域の他の変異は、例えば、L<sub>234</sub>L<sub>235</sub>A<sub>234</sub>A<sub>235</sub>、L<sub>235</sub>E<sub>235</sub>、N<sub>297</sub>A<sub>297</sub>、およびD<sub>265</sub>A<sub>265</sub>を含む。 40

#### 【0045】

用語「サイトカイン」は、細胞表面に発現される細胞外受容体に結合し、それにより細

胞機能を調節し、限定はされないが、IL-2、IFN-ガンマ、TNF-a、IL-4、IL-5、IL-6、IL-9、IL-10、およびIL-13を含む、当技術分野で公知の全てのヒトサイトカインを指す。

【0046】

医薬組成物

本明細書に記載の抗CD3抗体は、例えば、鼻、鼻腔内、肺、バッカル、舌下、直腸、または膣内投与を介して、例えば、摂取、吸入、または吸収により、経口または粘膜投与に好適な医薬組成物に組み込まれ得る。そのような組成物は、不活性な希釈剤または可食担体を含み得る。経口治療投与のために、活性化合物（例えば、抗CD3抗体）は賦形剤と組み込まれ、固体または液体（ゲルを含む）形態で使用され得る。経口抗CD3抗体組成物も、賦形剤を使用して調製され得る。薬学的に互換性の結合剤および/またはアジュバント物質は、組成物の一部として含まれ得る。抗CD3抗体を含む経口投与剤形が提供され、投与剤形は、経口投与時に治療有効血液レベルの抗CD3抗体を対象に提供する。抗CD3抗体を含む粘膜投与剤形も提供され、投与剤形は、粘膜投与時に治療有効血液レベルの抗CD3抗体を対象に提供する。粘膜治療投与のため、活性化合物（例えば抗CD3抗体）は、例えば、点鼻薬もしくは点鼻剤、または肛門もしくは膣坐剤を介して、吸入または吸収による投与に好適な賦形剤または担体と組み込まれ得る。

10

【0047】

固体経口投与剤形は、限定はされないが、錠剤（例えば咀嚼錠）、カプセル、カプレ、粉末剤、ペレット剤、顆粒剤、サッシェ剤中の粉末、腸溶剤、腸溶性ビーズ、および腸溶性ソフトゲルカプセルを含む。異なる層が異なる薬物を含有し得る多層錠も含まれる。固体投与剤形は、カプセル化される粉末剤、ペレット剤、および顆粒剤も含む。粉末剤、ペレット剤、および顆粒剤は、例えば、好適なポリマーまたは従来のコーティング材料によってコーティングされ、例えば消化管でより優れた安定性を達成する、または所望の放出速度を達成することができる。さらに、粉末剤、ペレット剤、または顆粒剤を含むカプセルはさらにコーティングされ得る。錠剤またはカプレに割線を入れ、必要に応じて投与量を調整しやすくするために分割を容易にすることができます。本発明の投与剤形は単位投与剤形であってよく、投与剤形は投与当たり1回の治療用量を送達することを意図され、例えば1つの錠剤は1回の用量と等しい。そのような投与剤形は、当業者に公知の調剤方法によって調製され得る（Remington's Pharmaceutical Sciences, 18th ed., Mack Publishing, Easton Pa. (1990)参照）。

20

30

【0048】

典型的な経口投与剤形は、完全に混和した活性成分を従来の医薬配合技術によって少なくとも1つの賦形剤と組み合わせることによって調製され得る。賦形剤は、投与に所望される調製の形態に応じて広範な形態をとり得る。例えば、固体経口投与剤形での使用に好適な賦形剤（例えば、粉末剤、錠剤、カプセル、およびカプレ）は、限定はされないが、デンプン、糖、微結晶セルロース、希釈剤、顆粒化剤、滑沢剤、結合剤、および崩壊剤を含む。経口液体投与剤形での使用に好適な賦形剤の例は、限定はされないが、水、グリコール、オイル、アルコール、香料、保存料、および着色料を含む。

40

【0049】

錠剤およびカプセルは、従来の医薬組成物および経口投与剤形を表し、この場合固体賦形剤が用いられる。所望される場合、錠剤は、標準的な水性または非水性技術によってコーティングされ得る。そのような投与剤形は、調剤方法のいずれかによって調製され得る。一般に、医薬組成物および投与剤形は、活性成分を液体担体、微粉末固体担体、または両方と均一かつ完全に混合し、次いで必要であれば所望の提示に産物を形作ることによって調製される。

【0050】

一例として、錠剤は、圧縮または造形によって調製され得る。圧縮された錠剤は、例えば、流動性形態、例えば粉末剤または顆粒剤の活性成分（例えば抗CD3抗体）を好適な機械で圧縮することによって調製され、任意選択により賦形剤と混合され得る。造形され

50

た錠剤は、例えば、好適な機械で、例えば不活性な液体希釈剤によって湿らせた粉末の抗 C D 3 抗体化合物の混合物を造形することによって作製され得る。

【 0 0 5 1 】

本発明の経口投与剤形で使用され得る賦形剤は、限定はされないが、結合剤、充填剤、崩壊剤、および滑沢剤を含む。医薬組成物および投与剤形での使用に好適な結合剤は、限定はされないが、コーンスターク、ジャガイモデンプン、または他のデンプン、トラガカントガムまたはゼラチン、アカシアなどの天然および合成ガム、アルギン酸ナトリウム、アルギン酸、他のアルギン酸塩、粉末トラガカント、グアーガム、セルロースおよびその誘導体（例えば、エチルセルロース、アセチルセルロース、カルボキシメチルセルロースカルシウム、カルボキシメチルセルロースナトリウム）、ポリビニルピロリドン、メチルセルロース、アルファ化デンプン、ヒドロキシプロピルメチルセルロース（例えば、No s . 2 2 0 8 、 2 9 0 6 、 2 9 1 0 ）、微結晶セルロース、およびそれらの混合物を含む。

【 0 0 5 2 】

微結晶セルロースの好適な形態は、限定はされないが、AVICEL（商標）PH-101、AVICEL（商標）PH-103、AVICEL（商標）.RC-581、AVICEL（商標）PH-105として販売されている物質（FMC Corporation、American Viscose Division、Avicel Sales、Marcus Hook、Pa. から入手可能）およびそれらの混合物を含む。特定の結合剤は、AVICEL（商標）RC-581として販売される微結晶セルロースとカルボキシメチルセルロースナトリウムの混合物である。好適な無水または低水分賦形剤または添加剤は、AVICEL（商標）PH-103およびStarch 1500（商標）LMを含む。

【 0 0 5 3 】

本明細書に開示の医薬組成物および投与剤形での使用に好適な充填剤の例は、限定はされないが、滑石、炭酸カルシウム（例えば、顆粒または粉末）、微結晶セルロース、粉末セルロース、デキストラート（Dextrates）、カオリノン、マンニトール、ケイ酸、ソルビトール、デンプン、アルファ化デンプン、およびそれらの混合物を含む。本発明の医薬組成物および投与剤形の結合剤または充填剤は、典型的には、医薬組成物および投与剤形の約 50 から約 99 重量パーセントで存在する。

【 0 0 5 4 】

崩壊剤は、本発明の医薬組成物および経口または粘膜投与剤形で使用され、水性環境に曝露されると崩壊する錠剤を提供し得る。過剰な崩壊剤を含有する錠剤は保存中に崩壊するが、過少な崩壊剤を含有するものは、所望の速度または所望の条件下で崩壊しないことがある。したがって、活性成分の放出を有害な方法で変更する多過ぎず少な過ぎない十分な量の崩壊剤が、本明細書に記載の医薬組成物および固体経口投与剤形を形成するために使用されるべきである。使用する崩壊剤の量は製剤のタイプによって変わり、当業者に容易に認識される。典型的には、医薬組成物および投与剤形は、約 0.5 から約 1.5 重量パーセントの崩壊剤、好ましくは約 1 から約 5 重量パーセントの崩壊剤を含む。

【 0 0 5 5 】

本発明の医薬組成物および経口または粘膜投与剤形で使用され得る崩壊剤は、限定はされないが、寒天、アルギン酸、炭酸カルシウム、ブリモゲル、微結晶セルロース、クロスカルメロースナトリウム、クロスボビドン、ポラクリリンカリウム、デンブングリコール酸ナトリウム、コーン、ジャガイモまたはタピオカデンプン、他のデンプン、アルファ化デンプン、他のデンプン、粘土、他のアルギン、他のセルロース、ガム、およびそれらの混合物を含む。

【 0 0 5 6 】

本発明の医薬組成物および投与剤形で使用され得る滑沢剤は、限定はされないが、ステアリン酸カルシウム、ステアリン酸マグネシウムまたはステローテス、ミネラルオイル、軽油、グリセリン、ソルビトール、マンニトール、ポリエチレングリコール、他のグリコール、ステアリン酸、ラウリル硫酸ナトリウム、滑石、水添植物油（例えば、ピーナツ油

10

20

30

40

50

、綿実油、ひまわり油、ごま油、オリーブ油、コーン油、および大豆油)、ステアリン酸亜鉛、オレイン酸エチル、ラウリン酸エチル(ethyl laurate)、寒天、およびそれらの混合物を含む。さらなる滑沢剤は、例えば、サイロイドシリカゲル(AEROSIL(商標)200、Baltimore, Md. のW. R. Grace Co. によって製造される)、合成シリカの凝固エアロゾル(Plano, Tex. のDegussa Co. によって販売される)、CAB-O-SIL(商標)(Boston, Mass. のCaboat Co. によって販売される熱分解性二酸化ケイ素産物)、およびそれらの混合物を含む。使用するとしても、滑沢剤は典型的にはそれらが組み込まれる医薬組成物または投与剤形の約1重量パーセントより少ない量で使用される。コロイド状二酸化ケイ素などの滑剤も使用され得る。

10

#### 【0057】

医薬組成物および経口または粘膜投与剤形は、活性成分が分解する速度を低減する1つまたは複数の化合物をさらに含み得る。したがって、本明細書に記載の経口投与剤形は、即時放出または持続放出投与剤形に処理され得る。即時放出投与剤形は、かなり短い時間で、例えば、数分から数時間以内に抗CD3抗体を放出し得る。持続放出投与剤形は、抗CD3抗体を数時間の期間にわたって、例えば所望であれば24時間またはそれ以上まで放出し得る。いずれの場合でも、送達は、送達期間にわたって実質的にある所定の速度に制御され得る。いくつかの実施形態では、固体経口投与剤形は、ポリマーまたは他の公知のコーティング材料でコーティングされ、例えば保管中または消化管内でのより優れた安定性を達成し、または薬物放出の制御を達成し得る。本明細書で使用するそのようなコーティング技術および材料は当技術分野で公知である。そのような化合物は、本明細書で「安定剤」と呼ばれ、限定はされないが、抗酸化剤、例えばアスコルビン酸および塩緩衝液を含む。例えば、中でも、酢酸フタル酸セルロース、ポリ酢酸ビニルフタレート、ヒドロキシプロピルメチルセルロースフタレート、メタクリル酸-メタクリル酸エステルコポリマー、トリメリト酸酢酸セルロース、カルボキシメチルエチルセルロース、およびヒドロキシプロピルメチルセルロースアセテートサクシネートが腸溶コーティングを達成するために使用され得る。ワックス、シェラック、ゼイン、エチルセルロース、アクリル樹脂、アセチルセルロース、シリコンエラストマーの混合物が持続放出コーティングを達成するために使用され得る。例えば、他のタイプのコーティング、技術および装置に関しては、Remington, supra, Chapter 93を参照。

20

#### 【0058】

経口または粘膜投与のための液体は、別の便利な投与剤形を示し、この場合溶媒が用いられ得る。いくつかの実施形態では、溶媒は、リン酸緩衝生理食塩水(PBS)などの緩衝液である。液体経口投与剤形は、活性成分を好適な溶媒に組み合わせることによって調製され、溶液、懸濁液、シロップ、または液体中の活性成分のエリキシル剤を形成することができる。溶液、懸濁液、シロップ、およびエリキシル剤は、任意選択により、限定はされないが、グリセリン、ソルビトール、プロピレングリコール、糖または他の甘味料、香料、および安定剤を含む他の添加剤を含み得る。香料は、限定はされないが、ペパーミント、サリチル酸メチル、またはオレンジ香料を含み得る。甘味料は、糖、アスパルテム、サッカリン、サイクラミン酸ナトリウムおよびキシリトールを含み得る。

30

#### 【0059】

処置された対象の胃内で経口投与された抗CD3抗体の不活性化の程度を低減するため、制酸剤が免疫グロブリンと同時に投与され得、消化管のそうでなければ酸性の特徴を中和する。したがって、いくつかの実施形態では、抗CD3抗体は、制酸剤、例えばMALLOX(商標)制酸剤またはMYLANTA(商標)。制酸剤などの水酸化アルミニウムもしくは水酸化マグネシウム、またはシメチジンもしくはラニチジンなどのH<sub>2</sub>ブロッカーと経口で投与される。当業者は、抗CD3抗体と併せて投与される制酸剤の用量は、使用する特定の制酸剤によると認識する。制酸剤が液体形態のMYLANTA(商標)制酸剤である場合、15mlと30mlの間、例えば約15mlが投与され得る。シメチジンH<sub>2</sub>ブロッカーが使用される場合、1日あたり約400と800mgの間が使用され得る。

40

50

## 【0060】

本明細書に記載のキットは、投与に備えてすでに調製された液体経口もしくは粘膜投与剤形として抗CD3抗体組成物を含み得る、または代わりに、溶媒と再構成され、液体経口投与剤形もしくは粘膜投与剤形を提供することができる固体医薬組成物として抗CD3抗体組成物を含み得る。キットが、溶媒と再構成され、液体投与剤形（例えば、経口または経鼻投与のため）を提供することができる固体医薬組成物として抗CD3抗体組成物を含む場合、キットは任意選択により、再構成溶媒を含み得る。この場合、構成または再構成溶媒は、活性成分と組み合わされ、活性成分の液体経口投与剤形を提供する。典型的には、活性成分は溶媒に可溶性であり、溶液を形成する。溶媒は、例えば、水、非水性液、または非水性成分と水性成分の組合せであってよい。好適な非水性成分は、限定はされないが、オイル；エタノールなどのアルコール；グリセリン；ならびにポリエチレングリコールおよびプロピレングリコールなどのグリコールを含む。いくつかの実施形態では、溶媒はリン酸緩衝生理食塩水（PBS）である。

10

## 【0061】

吸入による投与のため、粘膜抗CD3抗体化合物は、好適な推進薬、例えば二酸化炭素などのガスを含有する加圧容器もしくはディスペンサー、またはネブライザーからエアロゾルスプレーの形態で送達され得る。そのような方法は、米国特許第6,468,798号明細書に記載のものを含む。

20

## 【0062】

全身投与は、経粘膜手段によってでもよい。経粘膜投与のため、浸透するバリアに適切な浸透剤が製剤に使用される。そのような浸透剤は、通常当技術分野で公知であり、例えば、経粘膜投与のため、界面活性剤、胆汁酸塩、およびフシジン酸誘導体を含む。経粘膜投与は、点鼻剤もしくは点鼻薬、または肛門もしくは腔坐剤の使用によって達成され得る。

30

## 【0063】

抗CD3抗体化合物は、直腸送達のための坐剤（例えば、ココアバターおよび他のグリセリドなどの従来の坐剤基剤によって）または停留浣腸剤の形態で調製されてもよい。

## 【0064】

一実施形態では、経口または粘膜抗CD3抗体組成物は、抗CD3抗体を体からの急速な排除に対して保護する担体によって調製され、例えば、インプラントおよびマイクロカプセル送達システムを含む放出制御製剤である。生分解性、生体適合性ポリマーが使用され得、例えばエチレン酢酸ビニル、ポリ無水物、ポリグリコール酸、コラーゲン、ポリオルトエステル、およびポリ乳酸である。そのような製剤は、標準的な技術を使用して調製され得る。材料は、Alza CorporationおよびNova Pharmaceuticals, Inc.から市販で得ることもできる。リポソーム懸濁剤（ウイルス抗原に対するモノクローナル抗体により感染細胞を標的化したリポソームを含む）は、薬学的に許容される担体としても使用され得る。これらは、例えば、米国特許第4,522,811号明細書に記載のように当業者に公知の方法によって調製され得る。

30

## 【0065】

そのような抗CD3抗体組成物の投与量、毒性および治療効果は、例えば、LD<sub>50</sub>（集団の50%に致死用量）およびED<sub>50</sub>（集団の50%に治療有効用量）を決定するため、細胞培養（例えば、抗CD3抗体の粘膜投与後の動物から採取した細胞の）または実験動物の標準的な薬学的手順によって決定され得る。毒性と治療効果の間の用量比は治療指數であり、比LD<sub>50</sub> / ED<sub>50</sub>として表され得る。高い治療指數を示す組成物が好ましい。毒性副作用を示す抗CD3抗体組成物が使用され得るが、起こり得る損害を最小限にし、それにより副作用を低減するため、そのような化合物を患部組織の部位に標的化する送達システムを設計するように注意する必要がある。

40

## 【0066】

細胞培養（例えば、抗CD3抗体の粘膜投与後の動物から採取した細胞の）および動物研究から得られたデータは、ヒトでの使用のための投与量の範囲の製剤化に使用され得る。抗CD3抗体組成物の投与量は、好ましくは、毒性がほとんどまたは全く無いED<sub>50</sub>

50

を含む循環濃度の範囲内である。投与量は、用いられる投与剤形および利用する投与の経路に応じてこの範囲内で変わり得る。本明細書に記載の方法で使用される任意の経口または粘膜抗 C D 3 抗体組成物に関して、治療有効用量は、初めは細胞培養（例えば、抗 C D 3 抗体の粘膜投与後の動物から採取した細胞の）のアッセイから見積もられ得る。用量は動物モデルで製剤化され、細胞培養で決定された I C 5 0（すなわち、症状の最大半量阻害を達成する試験化合物の濃度）を含む範囲で、I L - 1 0 もしくは T G F 、または調節性細胞の所望の循環血漿濃度を達成することができる。そのような情報は、ヒトにおいて有用な用量をより正確に決定するために使用され得る。血漿の I L - 1 0 または T G F のレベルは当技術分野で公知の方法、例えば、E L I S A によって測定され得る。調節性細胞のレベルは当技術分野で公知の方法、例えば、フローサイトメトリーベースの方法によって測定され得る。

#### 【 0 0 6 7 】

本明細書で定義したように、抗 C D 3 抗体の治療有効量（すなわち、有効投与量）は、選択された抗体、送達の形態、および処置される状態による。例えば、およそ 1 : g / k g から 1 0 0 0 g / k g の範囲の単回投与量が投与され得；いくつかの実施形態では、約 5、1 0、5 0、1 0 0、または 5 0 0 : g / k g が投与され得る。いくつかの実施形態、例えば小児対象では、約 1 から 1 0 0 : g / k g、例えば約 2 5 または 5 0 : g / k g の抗 C D 3 抗体が投与され得る。抗 C D 3 抗体組成物は、1 日あたり 1 または複数回から週あたり 1 または複数回まで投与され得、1 日置きに 1 回を含む。経口または粘膜抗 C D 3 抗体組成物は、例えば約 1 0 から 1 4 日間またはそれ以上投与され得る。当業者は、特定の要因が、対象を効果的に処置するのに必要な投与量および時期に影響し得ることを認識し、限定はされないが、疾患または障害の重症度、前処置、対象の健康全般および/または年齢、ならびに存在する他の疾患を含む。さらに、治療有効量の化合物による対象の処置は、単回処置を含み得、または一連の処置を含み得る。

#### 【 0 0 6 8 】

経口または粘膜抗 C D 3 抗体組成物は、自己免疫障害の処置に有用な 1 つまたは複数の治療剤も含み得る。そのような治療剤は、例えばN S A I D ( C O X - 2 阻害剤を含む)；他の抗体、例えば抗サイトカイン抗体、例えばI F N - . - 逆位、I F N および/またはT N F 逆位に対する抗体；金含有化合物；免疫抑制薬（コルチコステロイドなど、例えばプレドニゾロンおよびメチルプレドニゾロン；シクロフォスファミド；アザチオプリン；ミコフェノール酸モフェチル（M M F ）；シクロスボリンおよびタクロリムス；メトトレキサート；またはコトリモキサゾール）；熱ショックタンパク質（例えば米国特許第 6,007,821 号明細書に記載）；およびM S の処置、例えば - インターフェロン（例えばインターフェロン - 1 a、インターフェロン - 1 b）、メトキサントロン、または酢酸グラチラマーを含み得る。

#### 【 0 0 6 9 】

医薬組成物は、投与の説明書と一緒に容器、包装、またはディスペンサーに含まれ得る。

#### 【 0 0 7 0 】

##### 処置および予防の方法

本明細書に記載の経口および粘膜抗 C D 3 抗体組成物は、ミクログリアの活性化と関連する障害の徴候または症状を処置、予防または緩和するために対象に投与され得る。

#### 【 0 0 7 1 】

ミクログリアの活性化と関連する障害の例は、例えば、神経変性障害、虚血関連疾患または傷害、外傷性脳傷害またはリソソーム蓄積症を含む。神経変性疾患は、限定はされないが、アルツハイマー病、パーキンソン病、筋萎縮性側索硬化症（A L S ）、およびハンチントン病を含む。虚血関連疾患は、限定はされないが、虚血再灌流傷害、卒中、および心筋梗塞を含む。虚血再灌流傷害は、肺組織、心臓組織、または神経組織への傷害を含む。外傷性脳傷害は、限定はされないが、脳振盪、例えば、繰り返し脳振盪傷害またはむち打ちを含む。リソソーム蓄積症は、例えばニーマン・ピック病を含む。

#### 【 0 0 7 2 】

10

20

30

40

50

ミクログリアの活性化と関連する疾患の徵候または症状は、例えば、限定はされないが、アミロイドplaques形成を含む。

【0073】

いくつかの実施形態では、治療有効量の経口または粘膜抗CD3抗体組成物は、例えば、約少なくとも20%ミクログリアの活性化を低減するために必要な量であり得る。いくつかの実施形態では、ミクログリアの活性化は、処置前のレベルから少なくとも約30%、約40%、約50%、約60%、約70%、約80%、または約90%低減される。さらに、TGF-1の濃度は測定され得る。例えば、TGF-1は、例えば酵素結合免疫吸着測定(ELISA)またはFACSスキャンなどの細胞ベースアッセイを使用して末梢血で測定され、寛容の誘導をモニターする。いくつかの実施形態では、治療有効量の経口または粘膜抗CD3抗体組成物は、約20%またはそれ以上TGF-1を分泌する細胞のレベルを増加させるのに必要な量である。いくつかの実施形態では、TGF-1を分泌する細胞のレベルは、少なくとも約60%、70%、80%、90%、または100%、例えば2倍に増加される。

【0074】

さらに、CD74、H2-A<sub>b</sub>および/またはCX3CR1の細胞発現が測定され得る。いくつかの実施形態では、治療有効量の経口または粘膜抗CD3抗体組成物は、CD74および/またはH2-A<sub>b</sub>-1の発現レベルを約20%またはそれ以上減少させるのに必要な量である。いくつかの実施形態では、CD74および/またはH2-A<sub>b</sub>-1の発現レベルは、少なくとも約60%、70%、80%、90%、または100%、例えば半分減少される。

【0075】

いくつかの実施形態では、治療有効量の経口または粘膜抗CD3抗体組成物は、CX3CR1の発現レベルを約20%またはそれ以上増加させるのに必要な量である。いくつかの実施形態では、CX3CR1の発現レベルは、少なくとも約60%、70%、80%、90%、または100%、例えば2倍増加される。

【0076】

さらに、Ly6C<sup>high</sup>脾細胞におけるCX3CR1および/またはCCR2の細胞発現が測定され得る。いくつかの実施形態では、治療有効量の経口または粘膜抗CD3抗体組成物は、Ly6C<sup>high</sup>脾細胞におけるCX3CR1および/またはCCR2の発現レベルを約20%またはそれ以上増加させるのに必要な量である。いくつかの実施形態では、Ly6C<sup>high</sup>脾細胞におけるCX3CR1および/またはCCR2の発現レベルは、少なくとも約60%、70%、80%、90%、または100%、例えば2倍増加される。

【0077】

さらに、Ly6C<sup>high</sup>脾細胞によるDusp1のHsp40の発現が測定され得る。いくつかの実施形態では、治療有効量の経口または粘膜抗CD3抗体組成物は、Ly6C<sup>high</sup>脾細胞によるDusp1のHsp40の発現レベルを約20%またはそれ以上増加させるのに必要な量である。いくつかの実施形態では、Ly6C<sup>high</sup>脾細胞によるDusp1のHsp40の発現レベルは、少なくとも約60%、70%、80%、90%、または100%、例えば2倍増加される。

【0078】

処置または予防の方法は、典型的には、粘膜免疫系を刺激するのに十分な経口または粘膜抗CD3抗体組成物を対象に投与するステップを含む。いくつかの実施形態では、方法は、末梢血におけるT細胞、例えば調節性T細胞により、例えば約100%、200%、300%またはそれ以上IL-10および/またはTGF-1産生を増加させるのに十分な経口または粘膜抗CD3抗体組成物を投与するステップを含む。いくつかの実施形態では、方法は、末梢血におけるT細胞増殖を、例えば約20%；例えば、いくつかの実施形態では、少なくとも約20%、30%、40%、50%、60%、70%、80%、90%、またはそれ以上減少させるのに十分な経口抗CD3抗体組成物を投与するステップを含む。

10

20

30

40

50

## 【0079】

サイトカイン放出症候群（C R S）は、経口または粘膜投与された抗C D 3 抗体と関連すると予想されないが、方法は、特に、最初の数回投与後だけでなく、治療の再開により処置中断後もサイトカイン放出症候群の徵候および症状に関して対象をモニターするステップを含み得、そのような方法は抗C D 3 抗体の経口または粘膜投与の安全性を決定するのに特に有用である。C R Sは、関節痛、筋肉痛、発熱、寒気、低酸素症、恶心、および嘔吐と関連し；重度サイトカイン放出症候群は、肺水腫および窒息を引き起こし得る。いくつかの実施形態では、方法は、任意の用量の抗C D 3 抗体組成物の投与前に対象の温度を約37.8（100°F）未満に下げるステップを含む。いくつかの実施形態では、方法は、容量過負荷、管理不良高血圧、または非代償性の心不全の臨床的エビデンスに関して対象をスクリーニングするステップを含む。いくつかの実施形態では、方法は、容量過負荷、管理不良高血圧、または非代償性の心不全のいずれかのエビデンスを有する対象に経口または粘膜抗C D 3 抗体を投与しないステップを含む。いくつかの実施形態では、方法は、対象の肺機能を評価するステップ、および鮮明な胸部X線を有しない対象に抗C D 3 抗体を投与しないステップを含む。いくつかの実施形態では、方法は、C D 3 + T細胞クリアランスおよび/または抗C D 3 抗体の血漿レベルをモニターするステップ、ならびに経口または粘膜抗C D 3 組成物の投与量をそれに従って調整するステップを含む。

10

## 【0080】

いくつかの実施形態では、方法は、例えば静脈内に、例えば経口または粘膜抗C D 3 抗体組成物の投与の1~4時間前に、メチルプレドニゾロンコハク酸エステルナトリウム8.0mg/kgを対象に投与するステップを含む。いくつかの実施形態では、方法は、経口または粘膜抗C D 3 組成物の投与前、投与と同時、または投与後に抗炎症剤、例えばアセトアミノフェンまたは抗ヒスタミン剤を対象に投与するステップを含み得る。

20

## 【0081】

いくつかの実施形態では、方法は、抗マウス抗体に関して対象を評価および/またはモニターするステップ、ならびに対象が約1:1000より高い抗マウス抗体力価を有する場合、経口または粘膜抗C D 3 抗体組成物の投与を中断するステップを含む。抗マウス抗体の発生は、経口または粘膜投与された抗C D 3 抗体によって予想されない。

## 【0082】

いくつかの実施形態では、経口または粘膜抗C D 3 抗体組成物は、1つまたは複数の第2の治療法、例えば、対症療法、高用量免疫抑制療法、および/または自家末梢血幹細胞移植（H S C T）と同時に投与される。そのような方法は、当技術分野で公知であり、自己免疫障害の処置に有用な薬剤、例えば、N S A I D（選択的C O X - 2 阻害剤を含む）；他の抗体、例えば抗サイトカイン抗体、例えばI F N - . - 逆位、I F N 、および/またはT N F 逆位に対する抗体；金含有化合物；熱ショックタンパク質（例えば米国特許第6,007,821号明細書に記載）；免疫抑制薬（コルチコステロイドなど、例えばブレドニゾロンおよびメチルブレドニゾロン；シクロフォスファミド；アザチオプリン；ミコフェノール酸モフェチル（M M F）；シクロスボリンおよびタクロリムス；メトトレキサート；またはコトリモキサゾール）ならびに治療細胞調製物、例えば対象特異的細胞療法、造血幹細胞療法の投与を含み得る。いくつかの実施形態では、方法は、多発性硬化症の1つまたは複数の処置、例えば - インターフェロン（例えばインターフェロン

30

1a、インターフェロン 1b）、ミトキサントロン、または酢酸グラチラマーを投与するステップを含む。いくつかの実施形態では、方法は、例えば経口または粘膜抗C D 3 組成物の投与前、投与中、または投与後に、1つまたは複数の非抗C D 3 免疫抑制薬（コルチコステロイドなど、例えばブレドニゾロンおよびメチルブレドニゾロン；シクロフォスファミド；アザチオプリン；ミコフェノール酸モフェチル（M M F）；シクロスボリンおよびタクロリムス；メトトレキサート；またはコトリモキサゾール）を対象に投与するステップを含む。

40

## 【実施例】

## 【0083】

50

## [実施例 1]

若齢および老齢野生型マウスにおけるミクログリアへの経鼻抗 C D 3 の効果

若齢 (2カ月) および老齢 (24カ月) マウスは、経鼻抗 C D 3 (a C D 3) またはアイソタイプコントロール (1  $\mu$ g / 5  $\mu$ l) で7日間毎日処置された。8日目にマウスは殺され、ミクログリアが単離された。RNAが単離され、50ngがRNASeqに使用された。100万個の転写産物当たりの個数 (TPM) が使用され、Multiplatform Array Viewer (MeV) ソフトウェアを使用して著しく変化した遺伝子のヒートマップを作成した。

## 【0084】

若齢マウスにおいて、経鼻 C D 3 は、210個の遺伝子の発現を著しく変化させた (図 10 2)。老齢マウスでは、同じ処置が116個の遺伝子の発現変化を誘導する (図 1A)。したがって、C D 3 処置は、若齢および老齢マウスにおけるミクログリアの遺伝子発現に影響を及ぼす。しかしながら、C D 3 効果は若齢マウスと老齢マウスで異なり、影響を受ける4つの遺伝子のみがマウスの年齢に非依存的である。

## 【0085】

## 他の実施形態

本発明は、その詳細な説明と併せて記載されるが、前述の説明は例示を意図し、本発明の範囲を制限せず、本発明の範囲は添付の特許請求の範囲によって規定される。他の態様、利点、および改変は以下の特許請求の範囲内である。

本発明の様々な実施形態を以下に示す。

1. ミクログリア細胞を抗 C D 3 抗体と接触させるステップを含む、ミクログリアの活性化を減少させる方法。

2. 前記細胞を、ミクログリアの炎症性表現型を抑制するのに十分な量の前記抗体と接触させる、上記 1 に記載の方法。

3. 前記細胞を、C D 7 4 および / または H 2 - A B 1 のミクログリアの発現を低減するのに十分な量の前記抗体と接触させる、上記 1 に記載の方法。

4. 前記細胞を、C X 3 C R 1 および / または T G F - 1 のミクログリアの発現を増加させるのに十分な量の前記抗体と接触させる、上記 1 に記載の方法。

5. 前記細胞を、C X 3 C R 1 、C C R 2 、H s p 4 0 または D u s p 1 の 1 つまたは複数の L y 6 C high 脾細胞発現を増加させるのに十分な量の前記抗体と接触させる、上記 1 に記載の方法。

6. 対象におけるミクログリアの活性化と関連する疾患の徴候または症状を処置する、予防するまたは緩和する方法であって、それを必要とする対象に抗 C D 3 抗体を投与するステップを含む方法。

7. 前記投与が、経口または粘膜である、上記 6 に記載の方法。

8. 前記粘膜投与が、鼻腔内である、上記 7 に記載の方法。

9. ミクログリアの活性化と関連する疾患が、神経変性障害、虚血関連疾患または傷害、外傷性脳傷害またはリソソーム蓄積症である、上記 6 に記載の方法。

10. 神経変性疾患が、アルツハイマー病、パーキンソン病、筋萎縮性側索硬化症 (A L S) 、またはハンチントン病である、上記 9 に記載の方法。

11. 前記虚血関連疾患が、虚血再灌流傷害、卒中、心筋梗塞である、上記 9 に記載の方法。

12. 前記虚血再灌流傷害が、肺組織、心臓組織、および神経組織におけるものである、上記 10 に記載の方法。

13. 前記外傷性脳傷害が、脳振盪またはむち打ちである、上記 9 に記載の方法。

14. 脳振盪が、繰り返し脳振盪傷害である、上記 12 に記載の方法。

15. リソソーム蓄積症が、ニーマン・ピック病である、上記 9 に記載の方法。

16. ミクログリアの活性化と関連する疾患の徴候または症状が、アミロイドplaques形成である、上記 9 に記載の方法。

17. 前記抗 C D 3 抗体がモノクローナルまたはポリクローナル抗体である、上記 1 ~ 1

10

20

30

40

50

## 6 のいずれかに記載の方法。

18. 前記抗 C D 3 抗体が、完全ヒト、ヒト化またはキメラである、上記 1 ~ 17 のいずれかに記載の方法。

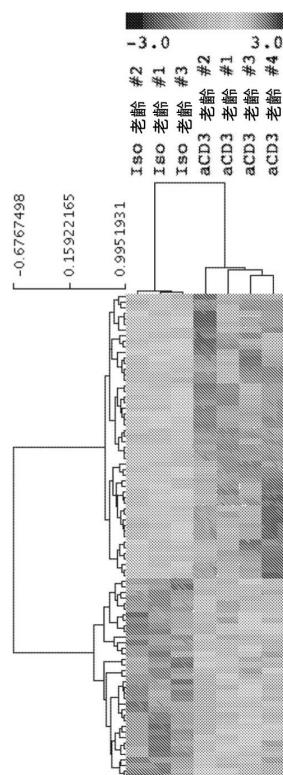
19. 前記抗CD3抗体が、アミノ酸配列GYGMH（配列番号1）を含む重鎖相補性決定領域1（CDRH1）、アミノ酸配列VIWYDGSKKYYVDHSVKG（配列番号3）を含む重鎖相補性決定領域2（CDRH2）、アミノ酸配列QMGYWHFDL（配列番号4）を含む重鎖相補性決定領域3（CDRH3）、アミノ酸配列RASQSVSSYLA（配列番号5）を含む軽鎖相補性決定領域1（CDRL1）、アミノ酸配列DASNRAAT（配列番号6）を含む軽鎖相補性決定領域2（CDRL2）、およびアミノ酸配列QQRSNWPPLT（配列番号7）を含む軽鎖相補性決定領域3（CDRL3）を含む、上記1～18のいずれかに記載の方法。

20. 前記抗 C D 3 抗体が、配列番号 8 のアミノ酸配列を含む可変重鎖アミノ酸配列、および配列番号 9 のアミノ酸配列を含む可変軽鎖アミノ酸配列を含む、上記 1 ~ 19 のいずれかに記載の方法。

21. 前記抗CD3抗体が、配列番号10のアミノ酸配列を含む重鎖アミノ酸配列、および配列番号11のアミノ酸配列を含む軽鎖アミノ酸配列を含む、上記1～20のいずれかに記載の方法。

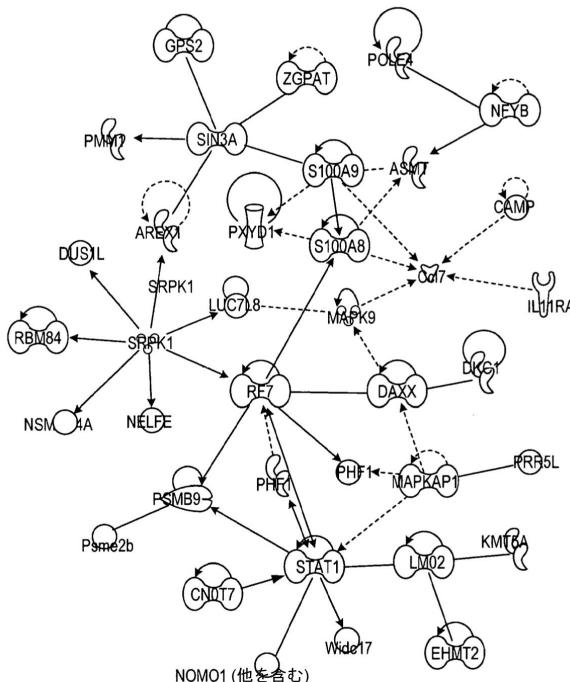
【四面】

### 【 図 1 - 1 】



1A

### 【図 1 - 2】



1B

【図 2】

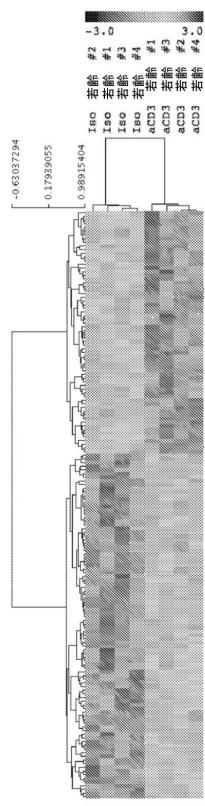


図 2

【図 3 - 1】

抗CD3 アイソタイプ

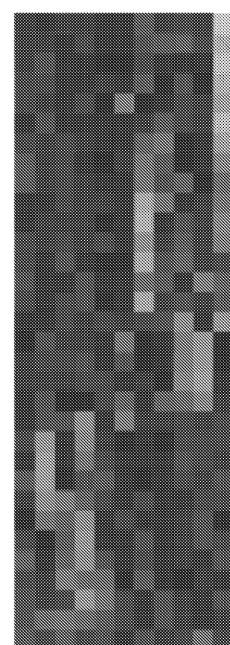
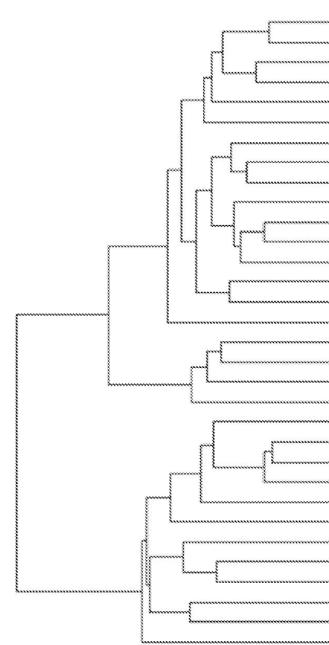
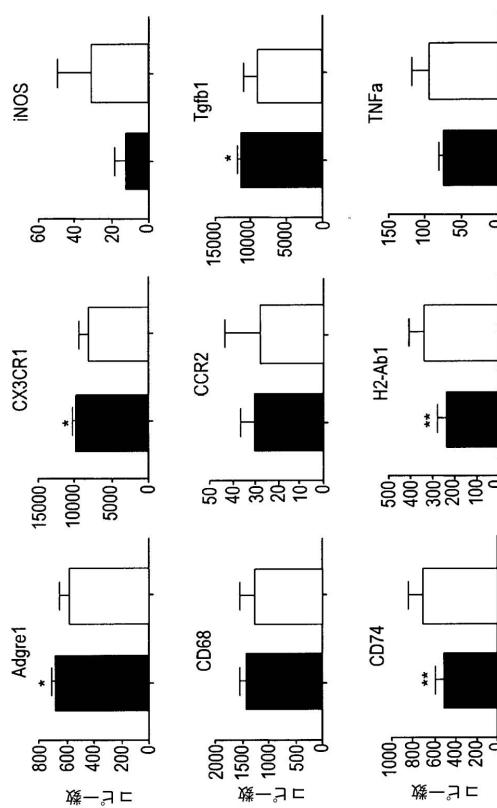


図 3A

10

20

【図 3 - 2】



■ 抗 CD3  
□ アイソタイプ

図 3B

【図 4 - 1】

抗 CD3 アイソタイプ

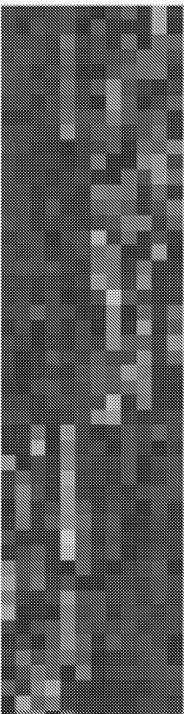
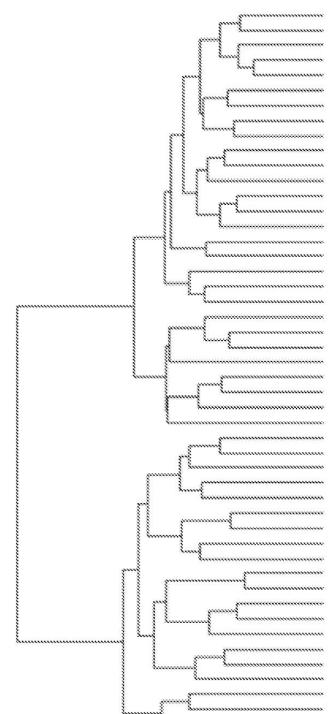


図 4A

30

40

50

【図 4 - 2】

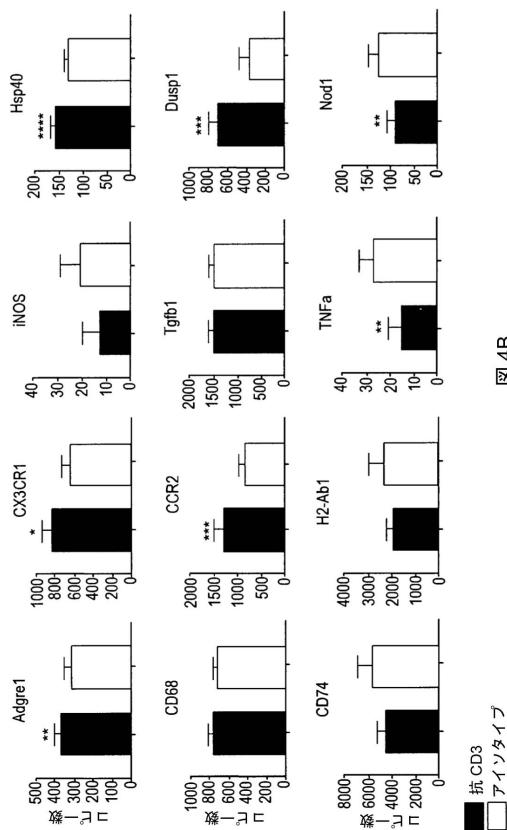


図 4B

【図 5】

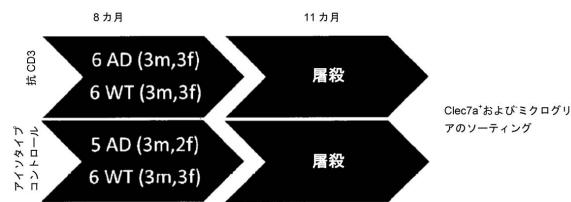


図 5

10

20

【図 6】

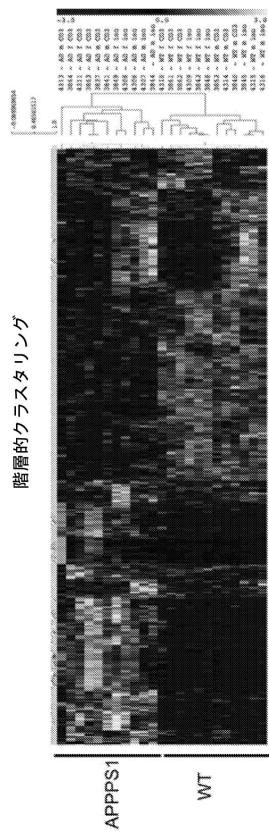


図 6

【図 7】

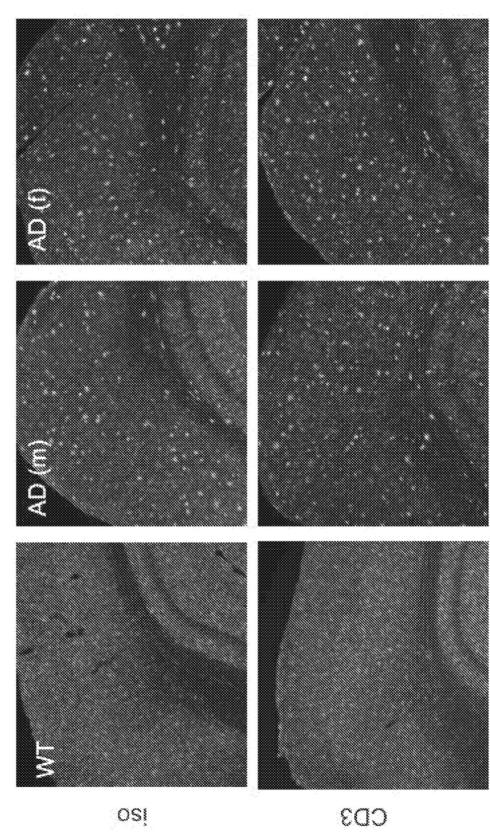


図 7

30

40

50

【図 8】



図 8

【図 9】

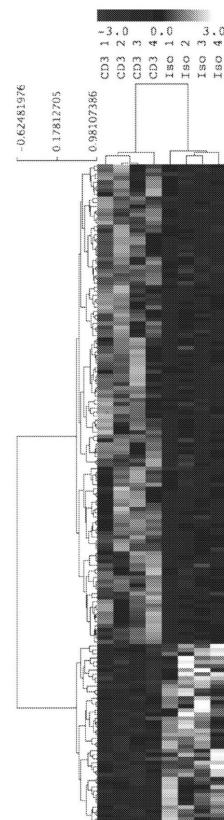
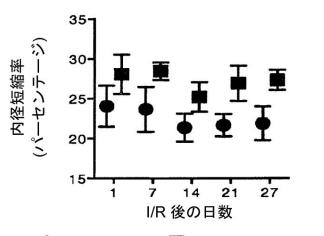


図 9

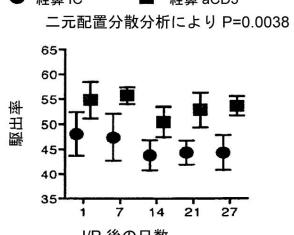
10

20

【図 10】



30



40

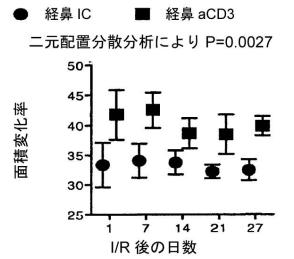


図 10

50

【配列表】

0007247113000001.app

10

20

30

40

50

---

フロントページの続き

弁理士 鈴木 康仁

(72)発明者 ブートフスキー, オレグ

アメリカ合衆国 マサチューセッツ州 02215, ボストン, パーク ドライブ 117, アパートメント ナンバー 1

(72)発明者 ウェイナー, ハワード

アメリカ合衆国 マサチューセッツ州 02445, ブルックライン, コルボーン クレセント 72

審査官 藤井 美穂

(56)参考文献 特表2008-503449 (JP, A)

Treatment of Alzheimer's disease by modulation of microglial neuroinflammation by nasal anti-CD3mAb, Alzheimer's Association International Conference Meeting Abstract, 2022, [retrieved on 2022\_10\_28], <https://alz.confex.com/alz/2022/meetingapp.cgi/Paper/68761>

BRAIN, 2016, Vol.139, pp.1939-1957

Molecular and Cellular Neuroscience, 2015, Vol.66, pp.91-98

Brain Behav. Immun., 2015, Vol.55, pp.236-248

Swiss. Med. Wkly., 2012, Vol.142, #w13711

(58)調査した分野 (Int.Cl., DB名)

A 61 K 39/00 - 39/44

A 61 P 1/00 - 43/00

J S T P l u s / J M E D P l u s / J S T 7 5 8 0 ( J D r e a m I I I )

C A p l u s / M E D L I N E / E M B A S E / B I O S I S ( S T N )

U n i P r o t / G e n e S e q

G o o g l e S c h o l a r