

(19) 日本国特許庁 (JP)

(12) 特 許 公 報 (B2)

(11) 特許番号

特許第6789117号

(P6789117)

(45) 発行日 令和2年11月25日 (2020. 11. 25)

(24) 登録日 令和2年11月5日 (2020. 11. 5)

(51) Int. Cl.	F I
GO 1 N 33/53 (2006. 01)	GO 1 N 33/53 Z N A N
GO 1 N 33/50 (2006. 01)	GO 1 N 33/50 P
A 6 1 P 1/04 (2006. 01)	A 6 1 P 1/04
A 6 1 K 45/00 (2006. 01)	A 6 1 K 45/00
A 6 1 K 45/06 (2006. 01)	A 6 1 K 45/06

請求項の数 32 (全 48 頁) 最終頁に続く

(21) 出願番号	特願2016-564118 (P2016-564118)	(73) 特許権者	503146324
(86) (22) 出願日	平成27年4月23日 (2015. 4. 23)		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2017-520754 (P2017-520754A)		The Brigham and Wom en's Hospital, Inc.
(43) 公表日	平成29年7月27日 (2017. 7. 27)		アメリカ合衆国 マサチューセッツ州 O 2 1 1 5 ポストン フランシス ストリ ート 7 5
(86) 国際出願番号	PCT/US2015/027295		
(87) 国際公開番号	W02015/164605	(74) 代理人	100102978
(87) 国際公開日	平成27年10月29日 (2015. 10. 29)		弁理士 清水 初志
審査請求日	平成30年4月23日 (2018. 4. 23)	(74) 代理人	100102118
(31) 優先権主張番号	61/984, 652		弁理士 春名 雅夫
(32) 優先日	平成26年4月25日 (2014. 4. 25)	(74) 代理人	100160923
(33) 優先権主張国・地域又は機関	米国 (US)		弁理士 山口 裕孝

最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 免疫媒介性疾患を有する対象を処置するための組成物および方法

(57) 【特許請求の範囲】

【請求項 1】

(i) 免疫媒介性疾患を有することが疑われる対象から得られた生体サンプルを、Fc γ R2aの対立遺伝子を決定するためにアッセイする工程

を含む、アッセイ法であって、該対象におけるFc γ R2aのHis131対立遺伝子の発現が、抗FcRn治療剤を含む治療剤を選択することを示す、前記アッセイ法。

【請求項 2】

前記サンプルをFc γ R2aの対立遺伝子を決定するためにアッセイする工程が、

(i) 対象のサンプルからFc γ R2a受容体をコードする遺伝子を配列決定する工程；ならびに

(ii) 対象のサンプルからの配列を対照サンプルにおけるFc γ R2a配列と比較する工程を含む、請求項1記載のアッセイ法。

【請求項 3】

(i) サンプル中の全IgG、IgGサブクラス、および/または抗原特異的IgGのレベルを決定するためにサンプルをアッセイする工程

をさらに含み、

規準値と比べて、該対象における上昇した全IgGレベル、上昇したIgGサブクラスレベル、および/または増加した抗原特異的IgGレベルが、さらなる治療剤を選択することを示し、かつ

該さらなる治療剤が、スルファサラジンのような抗炎症薬；コルチコステロイドのような

免疫抑制薬；メルカプトプリン、メトトレキサート、もしくはシクロスポリンのような免疫調節薬；生物学的治療剤；またはキナーゼ阻害剤のような生物学的経路の小分子阻害剤；抗生物質、抗下痢剤、下剤、鎮痛剤、鉄分補給剤、食生活改善、ビタミンB-12補給剤、カルシウム補給剤、ビタミンD補給剤のうちいずれか1つまたは複数である、
請求項1または2記載のアッセイ法。

【請求項4】

IgGサブクラスが、IgG1、IgG2、IgG3、IgG4、またはそれらの組み合わせのいずれかである、請求項3記載のアッセイ法。

【請求項5】

前記全IgG、IgGサブクラス、および/または抗原特異的IgGのレベルについてサンプルをアッセイする工程が、免疫沈降アッセイ法、免疫ブロット分析、免疫吸着測定法、放射免疫拡散法、ネフェロメトリー、比濁法、ELISA、IgGの転写レベルの測定、IgGサブクラスの転写レベルの測定、またはそれらの組み合わせのうちいずれか1つまたは複数を含む、請求項3記載のアッセイ法。

【請求項6】

(i) 免疫媒介性疾患を有する対象から得られた生体サンプルを、FcγR2aの対立遺伝子を決定するためにアッセイする工程を含む、免疫媒介性疾患を有する対象のための治療剤を選択するためのアッセイ法であって、該対象におけるFcγR2aのHis131対立遺伝子の発現が、抗FcRn治療剤を含む治療剤を選択することを示す、前記アッセイ法。

【請求項7】

対象がヒトである、請求項1～6のいずれか一項記載のアッセイ法。

【請求項8】

免疫媒介性疾患が、意義不明の単クローン性ガンマグロブリン血症(MGUS)、炎症性腸疾患、天疱瘡もしくは類天疱瘡、重症筋無力症、自己免疫性溶血性貧血、川崎病、多発性骨髄腫、関節リウマチ、全身性エリテマトーデス(SLE)、肝硬変、慢性肝炎、慢性感染症、多発性硬化症(MS)、マクログロブリン血症、ウイルス性肝炎、単核球症、腎臓障害(ネフローゼ症候群)、セリアック病、アレルギー反応、喘息、アトピー性皮膚炎、がん、特発性血小板減少性紫斑病(ITP)、自己免疫性血小板減少症、免疫性好中球減少症、抗リン脂質症候群、ANCA関連疾患、多発性筋炎、重症筋無力症、糖尿病、自己免疫性甲状腺炎、視神経炎、グレーブス眼症、ギラン・バレー症候群、慢性多発ニューロパシー、急性骨髄性白血病、またはそれらの組み合わせのうちいずれか1つまたは複数である、請求項1～6のいずれか一項記載のアッセイ法。

【請求項9】

免疫媒介性疾患が、炎症性腸疾患、天疱瘡もしくは類天疱瘡、重症筋無力症、自己免疫性溶血性貧血、川崎病、関節リウマチ、全身性エリテマトーデス(SLE)、慢性肝炎、多発性硬化症(MS)、特発性血小板減少性紫斑病(ITP)、抗リン脂質症候群、ANCA関連疾患、多発性筋炎、重症筋無力症、視神経炎、ギラン・バレー症候群、慢性多発ニューロパシー、またはそれらの組み合わせのうちいずれか1つまたは複数である、請求項8記載のアッセイ法。

【請求項10】

免疫媒介性疾患が炎症性腸疾患(IBD)である、請求項8記載のアッセイ法。

【請求項11】

(i) 対象が、炎症性腸疾患の処置を受けたかもしくは受けている、または

(ii) 対象が、炎症性腸疾患の処置を受けていない、

請求項10記載のアッセイ法。

【請求項12】

IBDが、潰瘍性大腸炎、クローン病、コラーゲン蓄積大腸炎、リンパ球性大腸炎、顕微鏡的大腸炎、虚血性大腸炎、空置性大腸炎、ベーチェット病、不確定大腸炎、またはそれらの組み合わせである、請求項10記載のアッセイ法。

【請求項 1 3】

(a) 対象が、Fc γ R2aのHis131対立遺伝子に関してヘテロ接合性である、または

(b) 対象が、Fc γ R2aのHis131対立遺伝子に関してホモ接合性である、

請求項1～6のいずれか一項記載のアッセイ法。

【請求項 1 4】

さらなる治療剤が、スルファサラジンのような抗炎症薬；コルチコステロイドのような免疫抑制薬；メルカプトプリン、メトトレキサート、もしくはシクロスポリンのような免疫調節薬；生物学的治療剤；またはキナーゼ阻害剤のような生物学的経路の小分子阻害剤のうちいずれか1つまたは複数である、請求項3記載のアッセイ法。

【請求項 1 5】

抗FcRn治療剤が、FcRnを遮断する剤またはFcRnの発現を低減もしくは阻害する剤を含む、請求項1～6のいずれか一項記載のアッセイ法。

【請求項 1 6】

剤が、ペプチド、タンパク質、小分子、核酸、アプタマー、オリゴヌクレオチド、抗体、またはそれらの組み合わせのうちいずれか1つまたは複数である、請求項15記載のアッセイ法。

【請求項 1 7】

(i) 核酸が、FcRnに特異的なsiRNAである；

(ii) 抗体が、モノクローナル抗体またはその断片、ポリクローナル抗体またはその断片、キメラ抗体、ヒト化抗体、および一本鎖抗体からなる群より選択される；

(iii) 剤が、Fc γ 受容体およびFcRnに対する結合部位を含む二重特異性薬剤である；

(iv) 剤が、IgGおよびFc γ 受容体に対する結合部位を含む二重特異性薬剤である；

(v) 剤が、IgGおよびFcRnに対する結合部位を含む二重特異性薬剤である；または

(vi) 剤が、IgGの組み換えFc部分またはその生物学的に活性な部分またはそのタンパク質模倣体であり、好ましくは、該IgGのFc部分またはその生物学的に活性な部分が、哺乳類またはヒトのものである、

請求項16記載のアッセイ法。

【請求項 1 8】

抗FcRn治療剤が、FcRnを遮断する抗体を含む、請求項16記載のアッセイ法。

【請求項 1 9】

サンプルが組織または体液であり、好ましくは、該サンプルが、血清もしくは血液；鼻、中咽頭、胃腸管、胆管、もしくは尿生殖器管からの身体分泌物；任意の器官の組織生検；脳脊髄液、眼液、もしくは関節液のような組織液；またはそれらの組み合わせである、請求項1～6のいずれか一項記載のアッセイ法。

【請求項 2 0】

対象がFc γ R2aのHis131対立遺伝子を発現する場合の、免疫媒介性疾患の処置、免疫媒介性疾患の阻害、および／または免疫媒介性疾患の重症度の低減に使用するための、抗FcRn治療剤を含む組成物であって、

該対象が、請求項1～6のいずれか一項記載のアッセイ法によりFc γ R2aのHis131対立遺伝子を有すると同定されている、前記組成物。

【請求項 2 1】

対象がヒトである、請求項20記載の組成物。

【請求項 2 2】

免疫媒介性疾患が、意義不明の単クローン性ガンマグロブリン血症(MGUS)、炎症性腸疾患、天疱瘡もしくは類天疱瘡、重症筋無力症、自己免疫性溶血性貧血、川崎病、多発性骨髄腫、関節リウマチ、全身性エリテマトーデス(SLE)、肝硬変、慢性肝炎、慢性感染症、多発性硬化症(MS)、マクログロブリン血症、ウイルス性肝炎、単核球症、腎臓障害(ネフローゼ症候群)、セリアック病、アレルギー反応、喘息、アトピー性皮膚炎、がん、特発性血小板減少性紫斑病(ITP)、自己免疫性血小板減少症、免疫性好中球減少症、抗リン脂質症候群、ANCA関連疾患、多発性筋炎、重症筋無力症、糖尿病、自己免疫性甲状腺炎、視

10

20

30

40

50

神経炎、グレーブス眼症、ギラン・バレー症候群、慢性多発ニューロパシー、急性骨髄性白血病、またはそれらの組み合わせのうちいずれか1つまたは複数である、請求項20記載の組成物。

【請求項 2 3】

免疫媒介性疾患が、炎症性腸疾患、天疱瘡もしくは類天疱瘡、重症筋無力症、自己免疫性溶血性貧血、川崎病、関節リウマチ、全身性エリテマトーデス(SLE)、慢性肝炎、多発性硬化症(MS)、特発性血小板減少性紫斑病(ITP)、抗リン脂質症候群、ANCA関連疾患、多発性筋炎、重症筋無力症、視神経炎、ギラン・バレー症候群、慢性多発ニューロパシー、またはそれらの組み合わせのうちいずれか1つまたは複数である、請求項22記載の組成物。

10

【請求項 2 4】

免疫媒介性疾患が炎症性腸疾患(IBC)である、請求項22記載の組成物。

【請求項 2 5】

(i) 対象が、炎症性腸疾患の処置を受けたかもしくは受けている、または

(ii) 対象が、炎症性腸疾患の処置を受けていない、

請求項24記載の組成物。

【請求項 2 6】

IBDが、潰瘍性大腸炎、クローン病、コラーゲン蓄積大腸炎、リンパ球性大腸炎、顕微鏡的大腸炎、虚血性大腸炎、空置性大腸炎、ベーチェット病、不確定大腸炎、またはそれらの組み合わせである、請求項24記載の組成物。

20

【請求項 2 7】

(a) 対象が、Fc γ R2aのHis131対立遺伝子に関してヘテロ接合性である、または

(b) 対象が、Fc γ R2aのHis131対立遺伝子に関してホモ接合性である、

請求項20記載の組成物。

【請求項 2 8】

抗FcRn治療剤が、FcRnを遮断する剤またはFcRnの発現を低減もしくは阻害する剤を含む、請求項20記載の組成物。

【請求項 2 9】

剤が、ペプチド、タンパク質、小分子、核酸、アプタマー、オリゴヌクレオチド、抗体、またはそれらの組み合わせのうちいずれか1つまたは複数である、請求項28記載の組成物。

30

【請求項 3 0】

(i) 核酸が、FcRnに特異的なsiRNAである；

(ii) 抗体が、モノクローナル抗体またはその断片、ポリクローナル抗体またはその断片、キメラ抗体、ヒト化抗体、および一本鎖抗体からなる群より選択される；

(iii) 剤が、Fc γ 受容体およびFcRnに対する結合部位を含む二重特異性薬剤である；

(iv) 剤が、IgGおよびFc γ 受容体に対する結合部位を含む二重特異性薬剤である；

(v) 剤が、IgGおよびFcRnに対する結合部位を含む二重特異性薬剤である；または

(vi) 剤が、IgGの組み換えFc部分またはその生物学的に活性な部分またはそのタンパク質模倣体であり、好ましくは、該IgGのFc部分またはその生物学的に活性な部分が、哺乳類またはヒトのものである、

40

請求項29記載の組成物。

【請求項 3 1】

抗FcRn治療剤が、FcRnを遮断する抗体を含む、請求項29記載の組成物。

【請求項 3 2】

サンプルが組織または体液であり、好ましくは、該サンプルが、血清もしくは血液；鼻、中咽頭、胃腸管、胆管、もしくは尿生殖器管からの身体分泌物；任意の器官の組織生検；脳脊髄液、眼液、もしくは関節液のような組織液；またはそれらの組み合わせである、請求項20記載の組成物。

【発明の詳細な説明】

50

【技術分野】

【0001】

関連出願の相互参照

本出願は、2014年4月25日付で出願された米国特許仮出願第61/984,652の35 U.S.C. § 119(e)の下での恩典を主張するものであり、その内容は、参照によりその全体が本明細書に組み入れられる。

【0002】

政府支援

本発明は、米国国立衛生研究所により授与された、助成金交付番号DK53056の下での政府支援によりなされた。政府は、本発明に対して一定の権利を有する。

10

【0003】

発明の分野

抗FcRn治療剤に適している上昇したIgGレベルによって特徴付けられる免疫媒介性疾患を有する患者を選択するための、および選択した対象を抗FcRn治療剤で処置するためのアッセイ法、方法およびシステムを、本明細書において記載する。IgGのレベルをモニタリングすることにより対象における抗FcRn処置の効力を評価するための方法も、本明細書において提供される。

【背景技術】

【0004】

発明の背景

20

本明細書において引用される全ての刊行物は、各個々の刊行物または特許出願が具体的かつ個別的に参照により組み入れられることが示されたのと同じ程度に、参照によりその全体が組み入れられる。以下の記述は、本発明を理解するのに有用でありうる情報を含む。本明細書において提供される情報のいずれもが先行技術であり、または主張される本発明に関連しているということ、あるいは具体的または黙示的に言及されるいずれの刊行物も先行技術であるということを認めるものではない。

【0005】

多くの免疫媒介性疾患は、増加した免疫グロブリンG (IgG) レベルによって特徴付けられる。この特性を持つ多種多様の疾患が存在する。これらには、例えば、数ある中でも関節リウマチ、全身性エリテマトーデス、尋常性天疱瘡、および炎症性腸疾患 (IBD) が含まれる。IBDは高レベルのIgGが通常観察されるので、そのような疾患の原型であり、IgGレベルを低下させることは、それゆえ、この疾患を処置する上で望ましい。IBDは、消化管の全部または一部の慢性炎症を伴う。IBDは主に、潰瘍性大腸炎およびクローン病を含む。IBDは、多くの場合、有痛性かつ衰弱性であり、時として生命を脅かす合併症につながる。既存の治療法は、IBDの処置に普遍的に有効ではなく、ほとんどの治療法は有害な副作用を伴う。IBDに対する既存の治療法の性能不足は、潰瘍性大腸炎およびクローン病の両方について約50%の累積的1年再発率により明らかにされている[Moum B, et al. Clinical course during the 1st year after diagnosis in ulcerative colitis and Crohn's disease. Results of a large, prospective population-based study in southeastern Norway 1990-93. Scand J Gastroenterol. 1997;32:1005-1012 (非特許文献1)]。潰瘍性大腸炎のための結腸切除術を除き、それ自体は多くの患者において長期の罹患率を伴う手技であり、治療が治癒をもたらすことはない。[Carty, E and Rampton, DS., Evaluation of new therapies for inflammatory bowel disease. Br J Clin Pharmacol. 2003 October; 56(4): 351-361 (非特許文献2)]。既存の処置の限界を考えると、および全てのIBD治療法がIBDの処置に普遍的に有効であるわけではないことを考慮すると、治療が成功する可能性の高いIBD対象を選択し、かつ選択した対象に治療を施してIBDを処置するためのアッセイ法およびシステムが当技術分野において求められている。

30

40

【先行技術文献】

【非特許文献】

【0006】

50

【非特許文献1】Moum B, et al. Clinical course during the 1st year after diagnosis is in ulcerative colitis and Crohn's disease. Results of a large, prospective population-based study in southeastern Norway 1990-93. Scand J Gastroenterol. 1997;32:1005-1012

【非特許文献2】Carty, E and Rampton, DS., Evaluation of new therapies for inflammatory bowel disease. Br J Clin Pharmacol. 2003 October; 56(4): 351-361

【発明の概要】

【0007】

以下の態様およびその局面は、例示かつ例証であるものと意図され、範囲の限定ではないものと意図されるシステム、組成物および方法と併せて記述および例証される。

10

【0008】

本明細書において実証されるように、一つにはFcRn適格IgGおよびFcRn不適格IgGの存在下でのFcγRおよびFcRnの共免疫沈降により、受容体FcγRおよびFcRnのどちらかを通じて行われるシグナル伝達が多いほど、これらの2つの分子間には存在している生化学的相互作用(かくして依存性)は大きい。したがって、本明細書において実証されるように、FcγR2a His変種はFcRn遮断に対してより応答性が高い。

【0009】

患者を治療のために選択するために上昇したIgGレベルを用いるためのアッセイ法を、本明細書において記載する。増加したIgGレベルによって特徴付けられる免疫媒介性疾患(例えば、炎症性腸疾患)を有する対象からの生体サンプルを用意する工程および対象を一次治療剤のために選択する工程を含むアッセイ法が、本明細書において提供される。いくつかの態様において、対象はヒトである。いくつかの態様において、対象は、一次治療剤を含む組成物を投与される。一次治療剤を含む組成物を投与される対象は、同時にまたは連続的に二次治療剤を含む組成物を投与されてもよい。

20

【0010】

患者を抗FcRn治療剤のために選択するために上昇したIgGレベルおよびFcγR2a対立遺伝子使用頻度を用いるためのアッセイ法を、本明細書において記載する。増加したIgGレベルによって特徴付けられる免疫媒介性疾患を有する対象からの生体サンプルを用意する工程、対象によって発現されるFcγR2aの対立遺伝子を決定するためにサンプルをアッセイする工程、ならびに対象がFcγR2aのArg131 (NM_001136219.1によればArg167としても知られている)対立遺伝子を発現する場合に対象を一次治療剤のために選択する工程および対象がFcγR2aのHis131 (NM_001136219.1によればHis167対立遺伝子としても知られている)対立遺伝子を発現する場合に対象を二次治療剤のために選択する工程を含むアッセイ法が、本明細書において提供される。いくつかの態様において、対象はヒトである。いくつかの態様において、対象は、一次治療剤を含む組成物を投与される。いくつかの態様において、一次治療剤を含む組成物を投与される対象は、同時にまたは連続的に二次治療剤を含む組成物を任意で投与されてもよい。いくつかの態様において、二次治療剤を含む組成物を投与される対象は、同時にまたは連続的に一次治療剤を含む組成物を任意で投与されてもよい。

30

【0011】

免疫媒介性疾患を有することが疑われる対象または免疫媒介性疾患を有する対象のために治療剤を選択するための、および治療剤を任意で投与するためのアッセイ法も、本明細書において記載する。本アッセイ法は、免疫媒介性疾患を有する対象または免疫媒介性疾患を有することが疑われる対象からの生体サンプルを用意する工程、FcγR2aの対立遺伝子を決定するためにサンプルをアッセイする工程、ならびに対象がFcγR2aのArg131対立遺伝子を発現する場合に対象を一次治療剤のために選択し、かつ対象がFcγR2aのHis131対立遺伝子を発現する場合に二次治療剤を選択する工程を含む。1つの態様において、一次治療剤を処方された対象は、二次治療剤を処方されてもよい。1つの態様において、二次治療剤を処方された対象は、一次治療剤を処方されてもよい。

40

【0012】

50

さまざまな態様において、免疫媒介性疾患は、数ある中でも、意義不明の単クローン性ガンマグロブリン血症(MGUS)、炎症性腸疾患、天疱瘡もしくは類天疱瘡、重症筋無力症、自己免疫性溶血性貧血、川崎病、多発性骨髄腫、関節リウマチ、全身性エリテマトーデス(SLE)、肝硬変、慢性肝炎、慢性感染症、多発性硬化症(MS)、マクログロブリン血症、ウイルス性肝炎、単核球症、腎臓障害(ネフローゼ症候群)、セリアック病、アレルギー反応、喘息、アトピー性皮膚炎、がん、特発性血小板減少性紫斑病(ITP)、自己免疫性血小板減少症、免疫性好中球減少症、抗リン脂質症候群、ANCA関連疾患、多発性筋炎、重症筋無力症、糖尿病、自己免疫性甲状腺炎、視神経炎、グレーブス眼症、ギラン・バレー症候群、慢性多発ニューロパシー、急性骨髄性白血病、またはそれらの組み合わせのうちいずれか1つまたは複数を含むが、これらに限定されることはない。

10

【0013】

いくつかの態様において、免疫媒介性疾患は、炎症性腸疾患 潰瘍性大腸炎、クローン病、コラーゲン蓄積大腸炎、リンパ球性大腸炎、虚血性大腸炎、空置性大腸炎、ベーチェット病、不確定大腸炎、もしくはそれらの組み合わせであるか、または関節リウマチ、全身性エリテマトーデス、多発性硬化症、尋常性天疱瘡、免疫性血小板減少性紫斑病、もしくは自己免疫性溶血性貧血のような上昇したIgGレベルにより特徴付けられる別のタイプの免疫媒介性疾患である。

【0014】

疾患状態を有する対象のために治療剤を選択するための、および治療剤を任意で投与するためのアッセイ法も、本明細書において記載する。本アッセイ法は、疾患状態を有する対象からの生体サンプルを用意する工程、対象において発現されるFc γ R2aの対立遺伝子を決定するためにサンプルをアッセイする工程、ならびに対象がFc γ R2aのArg131対立遺伝子を発現する場合に対象を一次治療剤および任意で二次治療剤のために選択し、対象がFc γ R2aのHis131対立遺伝子を発現する場合に二次治療剤を選択する工程を含む。いくつかの態様において、疾患状態は、Fc γ R2aのHis131対立遺伝子の発現に関連している任意の疾患状態である。さまざまな態様において、疾患状態は、生殖腺の疾患、中枢神経系の疾患、眼の疾患、および脳の疾患またはそれらの組み合わせのうちいずれか1つまたは複数である。

20

【0015】

いくつかの態様において、対象は、免疫媒介性疾患、例えば炎症性腸疾患の処置を受けたか、または受けている。いくつかの局面において、対象は、炎症性腸疾患の処置を受けていない。

30

【0016】

いくつかの局面において、サンプルをアッセイすることは、対象のサンプルからFc γ R2a受容体をコードする遺伝子を配列決定すること、および対象のサンプルからの配列を対照サンプルにおけるFc γ R2a配列と比較することを含む。

【0017】

いくつかの態様において、一次治療剤は、スルファサラジンのような抗炎症薬；コルチコステロイドのような免疫抑制薬；メルカプトプリン、メトトレキサート、もしくはシクロスポリンのような免疫調節薬；生物学的療法；またはキナーゼ阻害剤のような生物学的経路の小分子阻害剤のうちいずれか1つまたは複数である。

40

【0018】

1つの態様において、二次治療剤のために選択される対象は、Fc γ R2aのHis131対立遺伝子を発現する。対象は、Fc γ R2aのHis131対立遺伝子に関してヘテロ接合性であるか、またはFc γ R2aのHis131対立遺伝子に関してホモ接合性でありうる。

【0019】

いくつかの局面において、二次治療剤は抗FcRn治療剤を含む。抗FcRn治療剤は、FcRnを遮断する薬剤またはFcRnの発現を低減もしくは阻害する薬剤を含みうる。

【0020】

いくつかの態様において、FcRnを遮断する薬剤は、ペプチド、タンパク質、小分子、核

50

酸、アプタマー、オリゴヌクレオチド、抗体、またはそれらの組み合わせのうちいずれか1つまたは複数である。核酸は、いくつかの態様において、FcRnに特異的なsiRNAであることができる。

【0021】

さまざまな態様において、抗体は、モノクローナル抗体またはその断片、ポリクローナル抗体またはその断片、キメラ抗体、ヒト化抗体、および一本鎖抗体からなる群より選択される。

【0022】

いくつかの態様において、FcRnを遮断する薬剤は、Fc γ 受容体およびFcRnに対する結合部位を含む二重特異性薬剤(例えば、二重特異性抗体)である。いくつかの態様において、薬剤はFcRnを標的化し、第2の異なる薬剤はFc γ 受容体を標的化し、この2種の薬剤は同時にまたは連続的に投与されうる。

10

【0023】

いくつかの態様において、FcRnを遮断する薬剤は、IgGおよびFc γ 受容体に対する結合部位を含む二重特異性薬剤(例えば、二重特異性抗体)である。

【0024】

いくつかの態様において、FcRnを遮断する薬剤は、IgGおよびFcRnに対する結合部位を含む二重特異性薬剤(例えば、二重特異性抗体)である。

【0025】

いくつかの態様において、FcRnを遮断する薬剤は、IgGの組み換えFc部分またはその生物学的に活性な部分またはそのタンパク質模倣体である。IgGのFc部分またはその生物学的に活性な部分は、哺乳類のものでありうる。IgGのFc部分またはその生物学的に活性な部分は、ヒトのものでありうる。いくつかの態様において、薬剤はSYK阻害剤である。

20

【0026】

いくつかの局面において、炎症性腸疾患を有する対象のための一次治療剤は、抗炎症剤、免疫抑制剤、免疫調節剤、抗生物質、抗下痢剤、下剤、鎮痛剤、鉄分補給剤、食生活改善、ビタミンB-12補給剤、カルシウム補給剤、ビタミンD補給剤、またはそれらの組み合わせのうちいずれか1つまたは複数である。

【0027】

いくつかの態様において、本アッセイ法は、一次治療剤を含む組成物の有効量を対象に投与する工程、および上昇したIgGレベルによって特徴付けられる免疫媒介性疾患を有するかまたは有することが疑われる対象に、二次治療剤の有効量を任意で投与する工程をさらに含む。

30

【0028】

いくつかの局面において、本アッセイ法は、対象がFc γ R2aのHis131対立遺伝子を発現する場合に、二次治療剤を含む組成物の有効量を対象に投与する工程を含む。いくつかの態様において、二次治療剤を投与される対象は、一次治療剤を任意で投与されてもよい。

【図面の簡単な説明】

【0029】

例示的な態様は、参照図面において例証される。本明細書において開示される態様および図面は、限定ではなく例証と見なされるべきであることが意図される。

40

【0030】

【図1】本発明の態様によって、Fc γ R2a131HisがFc γ R2a131Argよりも効率的にヒト免疫複合体に結合することを描く。

【図2】本発明の態様によって、Fc γ R2a131HisがFc γ R2a131Argと比較して、免疫複合体で刺激された際にサイトカイン発現の増加を媒介することを描く。

【図3】図3AおよびBは、本発明の態様によって、Fc γ R2a131HisがFc γ R2a131Argと比較して免疫複合体で刺激された際に下流シグナル伝達の増加を示すことを描く。

【図4】図4AおよびBは、本発明の態様によって、Fc γ R2a131HisがFc γ R2a131Argよりも効率的に免疫複合体化された抗原のMHC II提示およびMHC I交差提示を誘導することを描

50

く。

【図5】本発明の態様によって、Fc γ R2a131HisがFc γ R2a131Argよりも効率的に免疫複合体を内部移行させ、FcRnを含む区画へ移行させることを描く。GFPタグ付きのヒトFcRnを発現するHEK293細胞に、Fc γ R2a131Arg、Fc γ R2a131Hisまたはベクター対照を安定的にトランスフェクションし、表示した濃度についてヒトIgG2を含む免疫複合体で刺激した。青色：ヒトIgG2免疫複合体、緑色：GFPタグ付きのヒトFcRn、赤色：LAMP-1。

【図6】本発明の態様によって、FcRnが、免疫複合体化された抗原のMHC II抗原提示およびMHC I交差提示に不可欠なメディエーターであることを描く。

【図7】本発明の態様によって、Fc γ R2aで開始される抗原提示の増強がFcRn結合の喪失によって抑止されることを描く。

【図8】本発明の態様によって、FcRnのDVN24モノクローナル抗体による薬理的遮断がMHC II抗原提示を減少させることを描く。

【図9】図9A～Dは、本発明の態様によって、造血細胞におけるhFcRnのDVN24モノクローナル抗体による薬理的遮断がIgG媒介性大腸炎の発症から保護することを描く。

【図10】本発明の態様によって、DVN24モノクローナル抗体によるFcRnの薬理的遮断が、CD8⁺ T細胞の数および炎症性サイトカインの発現を腸において減少させることを描く。

【図11】本発明の態様によって、FcRnの薬理的阻害が、IgG依存性大腸炎における共生生物(抗原)特異的なCD4⁺ T細胞活性化を減少させることを描く。

【図12】本発明の態様によって、ヒトFcRnが、マウスIgGを含む免疫複合体に機能的に結合することを描く。

【図13】本発明の態様によって、ヒトFcRnおよびヒトFc γ Rが抗原提示細胞において共結合されることを描く。

【図14】本発明の態様によって、hFc γ R2a₁₃₁HISが、多数のIgGアイソタイプにわたってhFc γ R2a₁₃₁ARGよりも強い結合を示すことを描く。

【図15】図15A～Cは、本発明の態様によって、インビトロ交差提示アッセイ法の間のFcRn阻害が、hFc γ RIIa₁₃₁HISマウスの固有層におけるCD8⁺ T細胞のより大きな阻害をもたらすことを描く。hFc γ RIIa遺伝子の多数の多型が存在する。インビトロ実験のためのDC源として、マウスFc γ R欠損のバックグラウンドでこれらの対立遺伝子変種の2つ(hFc γ RIIa₁₃₁HISおよびhFc γ RIIa₁₃₁ARG)を発現するトランスジェニックマウスを用いた。図15A: FcRn遮断は、hFc γ RIIa₁₃₁マウスからのDCによる交差提示を抑止する。hFc γ RIIa₁₃₁トランスジェニックマウスからのDCを、異なる用量のFcRn遮断抗体(DVN24)またはアイソタイプ対照と組み合わせて、IgG ICまたは増強されたFcRn結合IgG変種を含む複合体(MST/HN-IgG IC)とともにインキュベートした。DCをその後、洗浄し、CD8⁺ T細胞とともに24時間インキュベートした。上清を回収し、IFN γ をELISAによって定量化した。(図15Bおよび15C) FcRnの阻害は、hFc γ RIIa₁₃₁ARGマウスと比較してhFc γ RIIa₁₃₁HISマウスから採取したDCによるT細胞活性化の、より大きな阻害をもたらした。図15Aからのデータを、(対応するアイソタイプ対照と比較して) %阻害として再プロットした。* P $\leq$ 0.05。

【図16】図16AおよびBは、本発明の態様によって、大腸炎の際のFcRn阻害が、hFc γ RIIa₁₃₁HISマウスの固有層におけるCD8⁺ T細胞の、より大きな変化をもたらすことを描く。図16A: IgG依存性大腸炎の誘導に用いられる処置計画。マウスに、-28日目および-14日目に、不完全フロイントアジュバント中のネズミチフス菌(*S. typhimurium*)由来フラジェリン10 μ gを免疫した。0日目に、2% DSSを水に添加し、T細胞の固有層含量を3日間のDSS処置後に評価した。図16B: Fc γ R^{-/-}マウスの固有層において減少することが知られているCD8⁺ T細胞を、大腸の固有層中のCD3⁺CD8⁺生細胞集団のフローサイトメトリー・ゲーティングによって評価した。

【図17】図17AおよびBは、本発明の態様によって、大腸炎の際のFcRn阻害が、hFc γ RIIa₁₃₁HISマウスにおける腸組織およびMLN DCでの炎症性サイトカイン産生の、より大きな低減を誘導することを描く。図17A: アイソタイプ対照処置マウスと比較して、FcRn遮断抗体で処置したマウスにおける表示のサイトカインに対する全組織転写産物レベルの%阻害

10

20

30

40

50

。マウスを図16Aに示すように処置し、組織転写産物を腸組織の回収後に評価した。図17B：アイソタイプ対照処置マウスと比較して、FcRn遮断抗体で処置したマウスにおける表示のサイトカインに対する腸間膜リンパ節(MLN)から単離されたDCの転写産物レベルの%阻害。 $* P \leq 0.05$ 。

【図18】図18AおよびBは、本発明の態様によって、K/BxNマウス由来の血清の移入により誘導される関節炎の際のFcRn阻害が、hFcγRIIa₁₃₁HISマウスにおける足首の厚さの、より大きな低減を誘導することを描く。図18A：関節炎誘導の処置計画。マウスを-1日目から5日目まで毎日FcRn遮断抗体またはアイソタイプ対照200 ugで処置した。0日目および2日目に、マウスにK/BxNマウス由来の血清100 ulを投与した。足首の厚さおよび炎症を0日目から15日目まで測定した。図18B：図15Aに示すように処置したhFcγRIIa₁₃₁HISマウスおよびhFcγRIIa₁₃₁ARGマウスにおける足首の厚さ。 $* P \leq 0.05$ 。

【図19】本発明の態様によって、K/BxNマウス由来の血清の移入により誘導される関節炎の際のFcRn阻害が、hFcγRIIa₁₃₁HISマウスにおける炎症の、より大きな低減を誘導することを描く。炎症は、図18Aに示すように処置したマウスにおいて以下の基準に基づきスコア化した：1 = 足の正常なV字形状を反転させるのに不十分な足首の軽度の腫れ(すなわち、つま先の付け根の足部が足首および足後部よりも広いままである)；2 = 足首および足中部の厚さを足前部とほぼ同じにさせるのに十分な腫れ；3 = 足の通常のV字形状の反転。 $* P \leq 0.05$ 。

【図20】本発明の態様によって、FcRn阻害が、hFcγRIIa₁₃₁HISについてキメラであり、しかしhFcγRIIa₁₃₁ARGについてはそうでないマウスにおいて移動性の保存をもたらすことを描く。動物を透明なビーカーに入れ、何回マウスがその前足を持ち上げて、ビーカーの側面に触れたかを1分間の時間スパンで評価することにより、骨髄キメラマウス(図20Aに記述)において移動性を評価した。 $* P \leq 0.05$ 。

【図21】本発明の態様によって、FcRnが、hFcγRIIa₁₃₁発現造血細胞による関節炎の誘導に必要であることを描く。WTマウスを2 x 600 radで放射線照射し、その後、hFcγRIIa₁₃₁HIS、hFcγRIIa₁₃₁HIS-mFcγrt^{-/-} (HISKO)、hFcγRIIa₁₃₁ARGおよびhFcγRIIa₁₃₁ARG-mFcγrt^{-/-} (ARGKO)ドナーから採取した骨髄で再構成した。キメラ化の8週間後、マウスを図18Aに示すようにK/BxN血清で処置した。 $* P \leq 0.05$ 、 $** P \leq 0.01$ 。同腹子対照に対する、ARGKOマウスと比較してHISKOマウスでの炎症が有意に低下していることに留意されたい。

【発明を実施するための形態】

【0031】

発明の詳細な説明

本明細書において引用される全ての参考文献は、全文記載されたものとして参照によりその全体が組み入れられる。他に定義されない限り、本明細書において用いられる技術的および科学的用語は、本発明が属する技術分野の当業者によって一般的に理解されるものと同じ意味を有する。Allen et al., Remington: The Science and Practice of Pharmacy 22nd ed., Pharmaceutical Press (September 15, 2012); Hornyak et al., Introduction to Nanoscience and Nanotechnology, CRC Press (2008); Singleton and Sainsbury, Dictionary of Microbiology and Molecular Biology 3rd ed., revised ed., J. Wiley & Sons (New York, NY 2006); Smith, March's Advanced Organic Chemistry Reaction s, Mechanisms and Structure 7th ed., J. Wiley & Sons (New York, NY 2013); Singleton, Dictionary of DNA and Genome Technology 3rd ed., Wiley-Blackwell (November 28, 2012); およびGreen and Sambrook, Molecular Cloning: A Laboratory Manual 4th ed., Cold Spring Harbor Laboratory Press (Cold Spring Harbor, NY 2012)は、本出願において用いられる用語の多くに対する一般的な指針を当業者に提供する。抗体を調製する方法に関する参考文献については、Greenfield, Antibodies A Laboratory Manual 2nd ed., Cold Spring Harbor Press (Cold Spring Harbor NY, 2013); Kohler and Milstein, Derivation of specific antibody-producing tissue culture and tumor lines by cell fusion, Eur. J. Immunol. 1976 Jul, 6(7):511-9; Queen and Selick, Humanized i

mmunoglobulins, U. S. Patent No. 5,585,089 (1996 Dec); およびRiechmann et al., Reshaping human antibodies for therapy, Nature 1988 Mar 24, 332(6162):323-7を参照されたい。

【0032】

当業者は、本明細書において記載するものと同様または等価であり、本発明の実践において用いられうる多くの方法および材料を認識するであろう。実際に、本発明は、記載する方法および材料に決して限定されない。本発明の目的で、以下の用語を下記に定義する。

【0033】

本明細書において用いられる場合、「サンプル」または「生体サンプル」は、組織サン
プル；細胞サンプル；細胞抽出物；血漿；血清；血液；臍帯血；尿；鼻、中咽頭、胃腸管
、胆管、もしくは尿生殖器管からの身体分泌物；任意の器官の組織生検；脳脊髄液、眼液
、もしくは関節液のような組織液；またはそれらの任意の組み合わせを含むが、これらに
限定されない、固体サンプル、半固体サンプルまたは液体サンプルを指すことができる。

【0034】

本明細書において用いられる場合、「免疫媒介性疾患」は、免疫系の1つもしくは複数の
成分、例えばB細胞、T細胞、マクロファージ、抗体が、疾患もしくは障害の開始もしくは
は病因に関与し、および/または免疫系の1つもしくは複数の成分のレベルの上昇が認めら
れる、任意の疾患または障害を指し、意義不明の単クローン性ガンマグロブリン血症(MGUS)、炎症性腸疾患、天疱瘡もしくは類天疱瘡、重症筋無力症、自己免疫性溶血性貧血、川
崎病、多発性骨髄腫、関節リウマチ、全身性エリテマトーデス(SLE)、肝硬変、慢性肝炎
、慢性感染症、多発性硬化症(MS)、マクログロブリン血症、ウイルス性肝炎、単核球症、
腎臓障害(ネフローゼ症候群)、セリアック病、アレルギー反応、喘息、アトピー性皮膚炎
、がん、特発性血小板減少性紫斑病(ITP)、自己免疫性血小板減少症、免疫性好中球減少
症、抗リン脂質症候群、ANCA関連疾患、多発性筋炎、重症筋無力症、糖尿病、自己免疫性
甲状腺炎、視神経炎、グレーブス眼症、ギラン・バレー症候群、慢性多発ニューロパシー
、急性骨髄性白血病、またはそれらの組み合わせのうちいずれか1つまたは複数を含むが
、これらに限定されることはない。

【0035】

本明細書において用いられる場合、「炎症性腸疾患」という用語は、例えば、潰瘍性大
腸炎、クローン病、コラーゲン蓄積大腸炎、リンパ球性大腸炎、虚血性大腸炎、空置性大
腸炎、ベーチェット病、不確定大腸炎、またはそれらの組み合わせを含む。

【0036】

本明細書において用いられる場合、生体サンプルに関して、「アッセイすること」とい
う用語は、生体サンプル中の全IgG、IgGサブクラス、および/または抗原特異的IgGのうち
いずれか1つの存在または量を定性的に評価または定量的に測定するために使用できる任
意の調査的または分析的方法または手順を指す。本明細書において記載する局面の場合、
「アッセイすること」は、かなり多数の技法および方法を包含し、マクサム・ギルバート
配列決定法、鎖終結法(サンガー配列決定法)、ショットガン配列決定法、架橋PCR、大規
模並列処理特徴配列決定法(MPSS)、ポロニー(Polony)配列決定法、454パイロ配列決定法
、イルミナ(ソレキサ)(Illumina (Solexa))配列決定法、SOLiD配列決定法、イオントレン
ト(Ion Torrent)半導体配列決定法、DNAナノボール配列決定法、Heliscope単分子配列決
定法、単分子リアルタイム(SMRT)配列決定法、ナノポアDNA配列決定法、トンネル電流DN
配列決定法、ハイブリダイゼーションによる配列決定法、質量分析による配列決定法、マ
イクロ流体サンガー配列決定法、RNAP配列決定法、またはそれらの任意の組み合わせを含
むが、これらに限定されない、DNA配列決定法；サザンブロットまたはインサイチューハ
イブリダイゼーション(例えば、FISHおよびFISHに加えてSKY)のような従来の「直接プロ
ーブ」法、比較ゲノムハイブリダイゼーション法(CGH) (例えば、cDNAに基づくCGHまたは
オリゴヌクレオチドに基づくCGH)のような「競合プローブ」法のような、サンプル中に存
在するIgGをコードする核酸の量を評価できる技法；蛍光発生定量的PCR法、リガーゼ連鎖

反応(LCR)法、転写増幅法、自家持続配列複製法、ドットPCR法およびリンカーアダプターPCR法などを含む、「定量的」および「半定量的」増幅の方法；サンドイッチ酵素免疫測定法(ELISA)、免疫吸着測定法、免疫沈降測定法、免疫ブロット測定法、放射性免疫測定法(RIA)、競合的結合アッセイ法、ホモジニアス(homogeneous)アッセイ法、ヘテロジニアス(heterogeneous)アッセイ法などを含む、免疫測定技法を含むが、これらに限定されることはない。

【0037】

本明細書において用いられる場合、「一次治療剤」は、スルファサラジンのような抗炎症薬；コルチコステロイドのような免疫抑制薬；メルカプトプリン、メトトレキサート、もしくはシクロスポリンのような免疫調節薬；生物学的療法；キナーゼ阻害剤のような生物学的経路の小分子阻害剤；抗生物質、抗下痢剤、下剤、鎮痛剤、鉄分補給剤、食生活改善、ビタミンB-12補給剤、カルシウム補給剤、ビタミンD補給剤；またはそれらの任意の組み合わせの1つまたは複数を指す。

【0038】

本明細書において用いられる「二次治療剤」は、この用語が本明細書において記載する場合、抗FcRn治療剤を指す。

【0039】

「抗FcRn治療剤」という用語は、ペプチド、タンパク質(例えば、IgGの組み換えFc部分もしくはその生物学的に活性な部分もしくはそのタンパク質模倣体)、小分子、核酸(例えば、FcRnに特異的なアンチセンスRNAもしくはsiRNA)、アプタマー、オリゴヌクレオチド、抗体もしくはその抗原結合断片(例えば、モノクローナル抗体もしくはその断片、ポリクローナル抗体もしくはその断片、キメラ抗体、ヒト化抗体および一本鎖抗体)、二重特異性薬剤(例えば、二重特異性抗体)、またはそれらの組み合わせのうちいずれか1つまたは複数を含むが、これらに限定されない、FcRnを遮断する薬剤またはFcRnの発現および/もしくはFcRnによって媒介されるシグナル伝達を低減もしくは阻害する薬剤の投与を指す。

【0040】

本明細書において用いられる場合、「抗体」という用語は、完全な免疫グロブリンを指し、または本明細書において「Fc断片」もしくは「Fcドメイン」といわれる、Fc(結晶化可能な断片)領域もしくはFc領域のFcRn結合断片を有するモノクローナルもしくはポリクローナル抗原結合断片を指す。抗原結合断片は、組み換えDNA技法により、または完全抗体の酵素的もしくは化学的切断により産生されうる。抗原結合断片は、とりわけ、Fab、Fab'、F(ab')₂、Fv、dAb、および相補性決定領域(CDR)断片、一本鎖抗体(scFv)、単ドメイン抗体、キメラ抗体、ダイアボディ、テトラボディおよび他の多量体化scFv部分ならびにポリペプチドに特異的な抗原結合を与えるのに十分である免疫グロブリンの少なくとも一部分を含むポリペプチドを含む。Fcドメインは、抗体の2つまたは3つのクラスに寄与する2つの重鎖の部分を含む。Fcドメインは、組み換えDNA技法によりまたは完全抗体の酵素的切断(例えばパパイン)切断もしくは化学的切断により産生されうる。

【0041】

本明細書において用いられる「抗体断片」という用語は、一般に完全抗体の抗原結合部位を含み、したがって抗原を結合する能力を保持した、完全抗体の一部分のみを含むタンパク質断片を指す。本定義によって包含される抗体断片の例としては、(i) VL、CL、VH、およびCH1ドメインを有する、Fab断片；(ii) CH1ドメインのC末端に1つもしくは複数のシステイン残基を有するFab断片である、Fab'断片；(iii) VHおよびCH1ドメインを有するFd断片；(iv) VHおよびCH1ドメインならびにCH1ドメインのC末端の1つもしくは複数のシステイン残基を有するFd'断片；(v) 抗体の単腕のVLおよびVHドメインを有するFv断片；(vi) VHドメインからなるdAb断片(Ward et al., Nature 341, 544-546 (1989))；(vii) 単離されたCDR領域；(viii) ヒンジ領域でジスルフィド架橋により連結された2つのFab'断片を含む二価断片であるF(ab')₂断片；(ix) 一本鎖抗体分子(例えば、一本鎖Fv；scFv) (Bird et al., Science 242:423-426 (1988))；およびHuston et al., PNAS (USA) 85:5879-5

10

20

30

40

50

883 (1988)); (x) 同じポリペプチド鎖中の軽鎖可変ドメイン(VL)に連結された重鎖可変ドメイン(VH)を含む、2つの抗原結合部位を有する「ダイアボディ(diabody)」(例えば、EP 404,097; WO 93/11161; およびHollinger et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 90:6444-6448 (1993)を参照のこと); (xi) 相補軽鎖ポリペプチドとともに、抗原結合領域の対を形成する、タンデムなFdセグメント(VH-CH1-VH-CH1)の対を含む「直線状抗体」(Zapata et al. Protein Eng. 8(10): 1057-1062 (1995); および米国特許第5,641,870号が挙げられる。

【0042】

本明細書において記載するように、「抗原」は、抗体またはその抗体断片などのポリペプチド作用物質上の結合部位によって結合される分子である。通常、抗原は抗体リガンドによって結合され、インビボで抗体応答を上昇させることができる。抗原は、ポリペプチド、タンパク質、核酸、脂質、または他の分子でありうる。従来の抗体およびその断片の場合、可変ループ(L1、L2、L3、およびH1、H2、H3)によって定義される抗体結合部位は、抗原に結合することができる。「抗原決定基」という用語は、抗原結合分子によって、より詳細には前記分子の抗原結合部位によって認識される抗原上のエピトープを指す。

【0043】

「Fv」断片は、完全な抗原認識および結合部位を含む抗体断片である。この領域は、例えばscFvでは、本質的に共有結合でありうる、堅固に結合した1つの重鎖可変ドメインおよび1つの軽鎖可変ドメインの二量体からなる。それは、この配置において、各可変ドメインの3つのCDRが相互に作用して、VH-VL二量体の表面の抗原結合部位を規定するということである。6つのCDRまたはこれらのサブセットは、集成的に、抗体に抗原結合特異性を与える。しかしながら、単一の可変ドメイン(または抗原に特異的な3つのCDRのみを含むFvの半分)でも、通常は結合部位全体よりも低い親和性であるが、抗原を認識かつ結合する能力を有する。

【0044】

本明細書において用いられる場合、「エピトープ」は、連続アミノ酸、またはタンパク質の三次折り畳み構造によって隣接される非連続アミノ酸の両方から形成されうる。連続アミノ酸から形成されるエピトープは、通常、変性溶媒にさらされたときに保持されるが、三次折り畳み構造によって形成されるエピトープは、通常、変性溶媒により処理されると失われる。エピトープは、通常、独特の空間配置の少なくとも3個、より一般的には少なくとも5個、約9個、または約8~10個のアミノ酸を含む。「エピトープ」は、免疫グロブリンV_H/V_L対によって従来通りに結合される構造の単位を含む。エピトープは抗体に対する最小限の結合部位を規定し、したがって抗体の特異性の標的を表す。単一ドメイン抗体の場合、エピトープは、単離された状態で可変ドメインによって結合される構造の単位を表す。「抗原決定基」および「エピトープ」という用語は、本明細書において互換的に用いることもできる。さまざまな態様において、エピトープはタンパク質、ペプチド、核酸、脂質、他の分子またはそれらの組み合わせでありうる。

【0045】

本明細書において用いられる「モノクローナル抗体」という用語は、単一分子組成の抗体分子の調製物の一部である抗体を指す。モノクローナル抗体の集団は、特定のエピトープに対する単一の結合特異性および親和性を有し、抗体は、少量で存在しうる可能性のある天然の変異を除いて同一である。したがって、「モノクローナル抗体」という用語は、任意の真核生物クローン、原核生物クローン、またはファージクローンを含む、単一のクローンに由来する抗体をいい、それが産生される方法をいうのではない。モノクローナル抗体は、ハイブリドーマ技術、組み換え技術、およびファージディスプレイ技術、またはそれらの組み合わせの使用を含む、当技術分野において公知の極めて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、当技術分野において知られているもの、および例えば、Harlow et al., Antibodies: A Laboratory Manual, 2nd ed., (Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, 1988); Hammerling, et al. eds., : Monoclonal Antibodies and T-Cell Hybridomas "In Research Monographs i

10

20

30

40

50

n Immunology, vol. 3 (J. L. Turk, General Editor) (Elsevier, N.Y., 1981), Kohler et al., Nature 256:495 (1975)中に教示されているものを含むハイブリドーマ技法を用いて産生することができ; 組み換えDNA法(例えば、米国特許第4,816,567号を参照のこと)によって作出することができ; または例えば、Clackson et al., Nature 352:624-628 (1991)もしくはMarks et al., J. Mol. Biol. 222:581-597 (1991)に記述されている技法を用いてファージ抗体ライブラリから単離することもできる。「モノクローナル」という修飾語句は、任意の特定の方法による抗体の産生を必要とすると解釈されるべきではない。

【0046】

本明細書において用いられる場合、「選択的に結合する」または「特異的に結合する」とは、本明細書において記載する抗体またはその抗体断片が、KD 10^{-5} M (10000 nM)またはそれ未満、例えば 10^{-6} M、 10^{-7} M、 10^{-8} M、 10^{-9} M、 10^{-10} M、 10^{-11} M、 10^{-12} M、またはそれ未満で、細胞表面に存在する分子などの標的に結合できるが、しかし類似の親和性で別の分子には結合できないことを指す。特異的結合は、例えば、ポリペプチド剤の親和性および結合力ならびにポリペプチド剤の濃度により影響を受ける可能性がある。当業者は、適当な細胞結合アッセイ法におけるポリペプチド剤の滴定などの任意の適当な方法を用いて、本明細書において記載するポリペプチド剤が標的と選択的に結合するための適切な条件を決定することができる。

【0047】

「対象」または「個体」または「動物」または「患者」または「哺乳類」は、診断、予後診断または治療が望まれる任意の対象、特に哺乳類対象を意味する。いくつかの態様において、対象は炎症性腸疾患を有する。いくつかの態様において、対象は、対象の生涯のある時点で炎症性腸疾患を有していた。いくつかの態様において、対象は自己免疫疾患を有する。

【0048】

本明細書において用いられる「哺乳類」とは、非限定的に、ヒト、家畜、農場動物、動物園動物、スポーツ動物、愛玩動物、例えばイヌ、ネコ、モルモット、ウサギ、ラット、マウス、ウマ、ウシ、雌ウシなど; 霊長類、例えば類人猿、サル、オランウータンおよびチンパンジーなど; イヌ科動物、例えばイヌおよびオオカミなど; ネコ科動物、例えばネコ、ライオンおよびトラなど; ウマ類、例えばウマ、ロバおよびシマウマなど; 食用動物、例えば雌ウシ、ブタおよびヒツジなど; 有蹄動物、例えばシカおよびキリンなど; げっ歯類、例えばマウス、ラット、ハムスターおよびモルモットなどを含む、哺乳綱(Mammalia)の任意の成員を指す。ある種の態様において、哺乳類はヒト対象である。この用語は、特定の年齢または性別を意味しない。

【0049】

本明細書において用いられる場合、「標的」という用語は、結合部位を有するポリペプチドドメインが選択的に結合できる生物学的分子(例えば、ペプチド、ポリペプチド、タンパク質、脂質、糖質)を指す。標的は、例えば、細胞内標的(例えば、細胞内タンパク質標的)または細胞表面標的(例えば、膜タンパク質、受容体タンパク質)でありうる。好ましくは、標的は、細胞表面タンパク質のような、細胞表面標的である。

【0050】

本明細書において用いられる場合、用語「処置する」、「処置」、「処置すること」、または「改善」は、疾患または障害と関連した状態の進行または重症度を逆行させる、軽減する、改善する、阻害する、遅らせる、または阻止することが目的である、治療的処置を指す。用語「処置すること」は、自己免疫疾患、慢性感染症、またはがんなどの、状態、疾患、または障害の少なくとも1つの有害作用または症状を低減することまたは軽減することを含む。処置は一般に、1つまたは複数の症状または臨床マーカーが低減される場合、「有効」である。あるいは、疾患の進行が低減または停止される場合、処置は「有効」である。つまり、「処置」は、症状またはマーカーの改善だけでなく、処置がない場合に予想されるであろう症状の進行または悪化の休止、少なくとも緩徐化も含む。有益なまたは所望の臨床結果には、検出可能であるか検出不能であるかにかかわらず、1つもしくは

は複数の症状の軽減、疾患の程度の縮減、安定化した(すなわち、悪化していない)疾患状態、疾患の進行の遅延もしくは緩徐化、疾患状態の改善もしくは緩和、および寛解(部分的であるか全体的であるかにかかわらず)が含まれるが、これらに限定されることはない。疾患の「処置」という用語はまた、疾患の症状または副次的作用からの解放の提供(待機的処置を含む)を含む。

【0051】

本明細書において用いられる場合、「投与すること」および「導入すること」という用語は、互換的に用いられ、所望の効果が生じるよう、炎症部位などの所望の部位における、FcRnを遮断または阻害する薬剤などの、薬剤の少なくとも部分的な局在化をもたらす方法または経路により、そのような薬剤を対象へ配置することを指し、注射、注入、点滴注入、および吸入投与を含むがこれらに限定されることはない。

10

【0052】

本明細書において用いられる用語「有効量」は、疾患または障害の少なくとも1つまたは複数の症状を軽減するために必要とされる、FcRnを遮断または阻害するための薬剤の量を指し、所望の効果を与えるのに、例えばIBDを処置するのに十分な薬理学的組成物の量に関する。用語「治療の有効量」はそれゆえ、典型的な対象への投与時に特定の効果をもたらすのに十分である、本明細書において開示される方法を用いてFcRnを遮断するための薬剤の量を指す。本明細書において用いられる有効量はまた、疾患の症状の発現を遅延させるのに、疾患の症状の経過を変化させるのに(例えば、限定されることはないが、疾患の症状の進行を遅らせるのに)、または疾患の症状を逆行させるのに十分な量を含む。したがって、正確な「有効量」を指定することは可能ではない。しかしながら、いかなる所与の場合でも、当業者は通常の実験法のみを用いて適切な「有効量」を決定することができる。

20

【0053】

FcRnは新生児Fc受容体である。FcRnは構造が、主要組織適合性遺伝子複合体I (MHC I)と類似している。ヒトFcRnは、その特異性に関して非常にストリンジェントであり、ヒトFcを結合するが、しかしマウス、ラット、ウシ、またはヒツジFcを結合しない。FcRnはIgGの2つの部位に結合することができる(Sanchez et al. Biochemistry 1999; 38(29):9471-6; Schuck et al., Mol Immunol. 1999 36(15-16):1117-25; West A.P. and Bjorkman, 2000 Biochemistry 2000 39(32):9698-708)。マウスIgGはヒトFcRnに効率的に結合せず、それゆえヒト中で短い半減期を有する(Frodin et al., 1990)が、免疫複合体としてのマウスIgGは、ヒトFcRnを結合することが可能であり、シグナル伝達を誘導することが可能である(例えば、図12を参照のこと)。対照的に、マウスFcRnは、分析されたあらゆる種由来のIgGを結合する(Ober et al., Int Immunol. 2001 13(12):1551-9)。

30

【0054】

大部分の血清タンパク質は、短い血清中半減期(約1~2日)を有する。しかしながら、2種類の血清タンパク質、すなわちアルブミンおよびIgGクラスの抗体は、非常に長い血清中半減期を有する。例えば、IgGの大部分のサブクラスは、ヒト中で約10~20日の半減期を有する。IgGのFc領域はこの半減期延長に必要とされる。したがって、Fc領域のみを保有している短縮IgGポリペプチド、および場合によっては同様に、短いFcRn結合ペプチド配列(FcBP)を保有しているタンパク質(Sockolosky et al. Proc Natl Acad Sci U S A 2012, 109, 16095-100)も、そのような延長された血清中半減期を示す。さらに、Fc領域が融合パートナー(例えば、生物学的に活性なタンパク質)と融合される場合、このFc融合タンパク質はFcRnとのその相互作用によって、延長された血清中半減期を示す。

40

【0055】

FcガンマR2a (Fc γ R2a)は、それ自体IgGに対する低親和性を示すことが以前に実証されており、そのため主にIgG免疫複合体、すなわち抗原に結合したIgGとの相互作用に関連するIgGの古典的Fc受容体である。Fc γ R2aは、ヒトがHis (NM_001136219.1によればHis167としても知られている)またはArg残基(NM_001136219.1によればArg167としても知られている)のいずれかを発現するように、アミノ酸残基番号131の位置で対立性を示す。対立遺

50

伝子頻度は、白色人種(25% R/R, 50% R/H, 25% H/H)と非白色人種、例えばアジア人(5% R/R, 35% R/H, 60% H/H)などとの間で異なり、His変種は単量体の場合でさえも、ヒトIgG2に対していっそう高い親和性を示す。

【0056】

Fc γ R2aのHis131 (HIS131)変種は、白色人種および非白色人種の両方において川崎病および炎症性腸疾患のような、いくつかの免疫媒介性疾患の遺伝的リスク対立遺伝子であり、したがってこの対立遺伝子を有する個体はこれらの疾患に対していっそう高いリスクを示す。本発明者らは、IgG2に対していっそう高い親和性を示すことに加えて、Fc γ R2aのHis変種が、IgG2およびIgG1免疫複合体に結合した場合、いっそう強力なシグナル伝達を示すことを発見し、これが炎症性サイトカインの産生の増加、ならびに免疫複合体に結合した抗原のMHCクラスIおよびMHCクラスII提示の両方の増強に関連することを発見した。Fc γ R2a His131 (NM_001136219.1によればHis167としても知られている)対立遺伝子によって増加するサイトカインの中には、IL-12がある。

10

【0057】

本明細書において記載するHis対立遺伝子による過剰な免疫複合体結合およびシグナル伝達に関連するT細胞の、増加したシグナル伝達および抗原提示、かくして活性化は、本明細書において実証されるように、抗原提示細胞によるFcRn発現の遮断または排除によって抑止される。このことから、Fc γ R2a-His131 (NM_001136219.1によればHis167としても知られている)対立遺伝子を有するいずれの個体も、はるかに大きなIgG駆動型の炎症を示すことが示唆され、FcRnを標的とした治療剤による炎症の遮断がこの炎症を排除することが示唆される。かくして、上昇したIgGレベルによって特徴付けられる免疫媒介性疾患を有する患者を、そのFc γ R2a対立遺伝子使用頻度に基づき、抗FcRn治療剤に対する応答の増強のために選択することができる。いくつかの態様において、上昇したレベルの抗細菌IgGを有し、かつFc γ R2a-His131対立遺伝子(NM_001136219.1によればHis167としても知られている)を有する対象は、本明細書において記載するように、FcRnを標的とした治療剤に応答するものと予測されよう。

20

【0058】

したがって、いくつかの局面において、患者を治療のために選択するために上昇したIgGレベルを用いるためのアッセイ法を、本明細書において記載する。1つの局面において、増加したIgGレベルによって特徴付けられる免疫媒介性疾患または障害(例えば、炎症性腸疾患)を有する対象由来の生体サンプルを用意する工程および対象を一次治療剤のために選択する工程を含むアッセイ法を、本明細書において提供する。いくつかの態様において、対象はヒトである。いくつかの態様において、対象は、一次治療剤を含む組成物を投与される。一次治療剤を含む組成物を投与される対象は、同時にまたは連続的に二次治療剤を含む組成物を任意で投与されてもよい。

30

【0059】

いくつかの局面において、患者を抗FcRn治療剤のために選択するために上昇したIgGレベルおよびFc γ R2a対立遺伝子使用頻度を用いるためのアッセイ法も、本明細書において記載する。増加した全IgG、特異的IgGアイソタイプ、または抗原特異的IgG(例えば、抗デスモグレイン、抗インスリン、抗フラジェリン)のレベルによって特徴付けられる免疫媒介性疾患を有する対象由来の生体サンプルを用意する工程、対象によって発現されるFc γ R2aの対立遺伝子を決定するためにサンプルをアッセイする工程、ならびに対象がFc γ R2aのArg131 (NM_001136219.1によればArg167としても知られている)対立遺伝子を発現する場合に対象を一次治療剤のために選択し、対象がFc γ R2aのHis131 (NM_001136219.1によればHis167対立遺伝子としても知られている)対立遺伝子を発現する場合に対象を二次治療剤のために選択する工程を含むアッセイ法が、本明細書において提供される。いくつかの態様において、対象はヒトである。いくつかの態様において、対象は、一次治療剤を含む組成物を投与される。一次治療剤を含む組成物を投与される対象は、同時にまたは連続的に二次治療剤を含む組成物を投与されてもよい。

40

【0060】

50

免疫媒介性疾患を有することが疑われる対象または免疫媒介性疾患を有する対象のために治療剤を選択するための、および治療剤を任意で投与するためのアッセイ法を、本明細書においてさらに記載する。本アッセイ法は、免疫媒介性疾患を有する対象または免疫媒介性疾患を有することが疑われる対象由来の生体サンプルを用意する工程、Fc γ R2aの対立遺伝子を決定するためにサンプルをアッセイする工程、ならびに対象がFc γ R2aのArg131対立遺伝子を発現する場合に対象を一次治療剤のために選択し、対象がFc γ R2aのHis131対立遺伝子を発現する場合に二次治療剤を選択する工程を含む。いくつかの態様において、一次治療剤を処方された対象は、二次治療剤を処方されてもよい。

【0061】

本明細書において記載するアッセイ法のさまざまな態様において、本アッセイ法は、対象がFc γ R2aのArg131対立遺伝子および増加したIgGレベルを発現する場合に対象に一次治療剤もしくは一次および二次治療剤の組み合わせを処方する工程、または対象がFc γ R2aのHis131対立遺伝子(および任意で、増加したIgGレベル)を発現する場合に二次治療剤を処方する工程をさらに含む。いくつかの態様において、対象は免疫媒介性疾患を有するか、または有することが疑われる。

10

【0062】

疾患状態を有する対象のために治療剤を選択するための、および治療剤を任意で投与するためのアッセイ法も、本明細書において記載する。本アッセイ法は、疾患状態を有する対象由来の生体サンプルを用意する工程、対象によって発現されるFc γ R2aの対立遺伝子を決定するためにサンプルをアッセイする工程、ならびに対象がFc γ R2aのArg131対立遺伝子を発現する場合に対象を一次治療剤および任意で二次治療剤のために選択し、対象がFc γ R2aのHis131対立遺伝子を発現する場合に二次治療剤を選択する工程を含む。さまざまな態様において、疾患状態は、Fc γ R2aのHis131対立遺伝子の発現に関連している任意の疾患状態である。いくつかの態様において、疾患状態は、生殖腺の疾患、中枢神経系の疾患、眼の疾患、および脳の疾患、またはそれらの組み合わせのうちいずれか1つまたは複数である。

20

【0063】

いくつかの局面において、必要とする対象において免疫媒介性疾患を処置するための、免疫媒介性疾患を阻害するための、および/または免疫媒介性疾患の重症度を低減するための方法が、本明細書においてさらに提供される。本方法は、増加した全IgG、アイソタイプIgG、または抗原特異的IgGのレベルによって特徴付けられる免疫媒介性疾患または障害を有する対象由来の生体サンプルを用意する工程、対象によって発現されるFc γ R2aの対立遺伝子を決定するためにサンプルをアッセイする工程、対象がFc γ R2aのArg131 (NM_001136219.1によればArg167としても知られている)対立遺伝子を発現する場合に対象を一次治療剤のために選択し、対象がFc γ R2aのHis131 (NM_001136219.1によればHis167対立遺伝子としても知られている)対立遺伝子を発現する場合に対象を二次治療剤のために選択する工程、ならびに対象において免疫媒介性疾患を処置する、阻害する、または免疫媒介性疾患の重症度を低減するように、対象がFc γ R2aのArg131対立遺伝子を発現する場合に一次治療剤および任意で二次治療剤を含む組成物の有効量を投与する工程または対象がFc γ R2aのArg131対立遺伝子を発現する場合に二次治療剤を含む組成物の有効量を投与する工程を含む。

30

40

【0064】

さらに、必要とする対象において免疫媒介性疾患を処置するための、免疫媒介性疾患を阻害するための、および/または免疫媒介性疾患の重症度を低減するための方法が、本明細書において提供される。本方法は、免疫媒介性疾患を有する対象または免疫媒介性疾患を有することが疑われる対象由来の生体サンプルを用意する工程、Fc γ R2aの対立遺伝子を決定するためにサンプルをアッセイする工程および対象がFc γ R2aのArg131対立遺伝子を発現する場合に対象を一次治療剤のために選択する工程および対象がFc γ R2aのHis131対立遺伝子を発現する場合に二次治療剤を選択する工程、ならびに対象において免疫媒介性疾患を処置する、阻害するまたは免疫媒介性疾患の重症度を低減するように対象がFc γ

50

R2aのArg131対立遺伝子を発現する場合に一次治療剤および任意で二次治療剤を含む組成物の有効量を投与する工程または対象がFc γ R2aのArg131対立遺伝子を発現する場合に二次治療剤を含む組成物の有効量を投与する工程を含む。His131対立遺伝子は、NM_001136219.1によればHis167対立遺伝子としても知られている。Arg131対立遺伝子は、NM_001136219.1によればArg167対立遺伝子としても知られている。

【0065】

二次治療剤を受けている免疫媒介性疾患を有する対象の、二次治療剤に対する応答性を評価するためのアッセイ法も、本明細書において提供される。さまざまな態様において、二次治療剤は、本明細書において記載するように、抗FcRn治療剤である。本アッセイ法は、抗FcRn治療剤を受けている免疫媒介性疾患を有する対象からの生体サンプルを用意する工程および規準値と比べてサンプル中のIgGのレベルを決定するためにサンプルをアッセイする工程を含む。いくつかの態様において、抗FcRn治療剤を受けている対象において、規準値と比べて全IgG、アイソタイプIgG、および/または抗原特異的IgGのレベルの減少は、抗FcRn治療剤に応答している対象を示しうる。あるいは、抗FcRn治療剤を受けている対象においてIgGレベルの変化またはIgGレベルの増加がないことは、抗FcRn治療剤に応答していない対象を示しうる。

10

【0066】

いくつかの態様において、免疫媒介性疾患は、意義不明の単クローン性ガンマグロブリン血症(MGUS)、炎症性腸疾患、天疱瘡もしくは類天疱瘡、重症筋無力症、自己免疫性溶血性貧血、川崎病、多発性骨髄腫、関節リウマチ、全身性エリテマトーデス(SLE)、肝硬変、慢性肝炎、慢性感染症、多発性硬化症(MS)、マクログロブリン血症、ウイルス性肝炎、単核球症、腎臓障害(ネフローゼ症候群)、セリアック病、アレルギー反応、喘息、アトピー性皮膚炎、がん、特発性血小板減少性紫斑病(ITP)、自己免疫性血小板減少症、免疫性好中球減少症、抗リン脂質症候群、ANCA関連疾患、多発性筋炎、重症筋無力症、糖尿病、自己免疫性甲状腺炎、視神経炎、グレーブス眼症、ギラン・バレー症候群、慢性多発ニューロパシー、急性骨髄性白血病、またはそれらの組み合わせのうちいずれか1つまたは複数を含むが、これらに限定されることはない。

20

【0067】

いくつかの態様において、対象は、炎症性腸疾患の処置を受けたか、または受けている。いくつかの局面において、対象は、炎症性腸疾患の処置をこれまでに受けていないか、または現在受けていない。さまざまな態様において、IBDは潰瘍性大腸炎、クローン病、コラーゲン蓄積大腸炎、リンパ球性大腸炎、虚血性大腸炎、空置性大腸炎、ベーチェット病、不確定大腸炎、またはそれらの組み合わせである。

30

【0068】

1つの態様において、二次治療剤のために選択される対象は、Fc γ R2aのHis131対立遺伝子を発現する。対象は、Fc γ R2aのHis131対立遺伝子に関してヘテロ接合性であり、またはFc γ R2aのHis131対立遺伝子に関してホモ接合性でありうる。His131対立遺伝子は、NM_001136219.1によればHis167対立遺伝子としても知られている。

【0069】

さまざまな態様において、一次治療剤は、スルファサラジンのような抗炎症薬；コルチコステロイドのような免疫抑制薬；メルカプトプリン、メトトレキサート、もしくはシクロスポリンのような免疫調節薬；生物学的療法；またはキナーゼ阻害剤のような生物学的経路の小分子阻害剤のうちいずれか1つまたは複数である。

40

【0070】

いくつかの局面において、IBDを有する対象における一次治療剤は、抗炎症剤、免疫抑制剤、抗生物質、抗下痢剤、下剤、鎮痛剤、鉄分補給剤、食生活改善、ビタミンB-12補給剤、カルシウム補給剤、ビタミンD補給剤、またはそれらの組み合わせのうちいずれか1つまたは複数である。

【0071】

さまざまな態様において、二次治療剤は、本明細書において記載するように抗FcRn治療

50

剤を含む。抗FcRn治療剤は、FcRnを遮断する薬剤またはFcRnの発現を低減もしくは阻害する薬剤を含みうる。いくつかの態様において、FcRnを遮断する薬剤は、ペプチド、タンパク質、小分子、核酸、アプタマー、オリゴヌクレオチド、抗体、またはそれらの組み合わせのうちいずれか1つまたは複数でありうる。核酸は、FcRnに特異的なsiRNAでありうる。

【0072】

さまざまな態様において、抗FcRn治療剤で用いるための抗体は、FcRnを特異的に認識し、かつ結合し、モノクローナル抗体またはその抗原結合断片、ポリクローナル抗体またはその抗原結合断片、キメラ抗体、ヒト化抗体、および一本鎖抗体からなる群より選択される。さまざまな態様において、FcRnに特異的な抗体は、FcRnによって媒介されるシグナル伝達を阻害する。

10

【0073】

いくつかの態様において、FcRnを遮断する薬剤は、Fc γ 受容体およびFcRnに対する結合部位を含む二重特異性薬剤(例えば、二重特異性抗体)である。いくつかの態様において、薬剤はFcRnを標的化し、第2の異なる薬剤はFc γ 受容体を標的化し、この2種の薬剤は同時にまたは連続的に投与されうる。

【0074】

いくつかの態様において、FcRnを遮断する薬剤は、IgGおよびFc γ 受容体に対する結合部位を含む二重特異性薬剤(例えば、二重特異性抗体)である。

【0075】

いくつかの態様において、FcRnを遮断する薬剤は、IgGおよびFcRnに対する結合部位を含む二重特異性薬剤(例えば、二重特異性抗体)である。

20

【0076】

いくつかの態様において、FcRnを遮断する薬剤は、IgGの組み換えFc部分またはその生物学的に活性な部分またはそのタンパク質模倣体である。IgGのFc部分またはその生物学的に活性な部分は、哺乳類のものでありうる。IgGのFc部分またはその生物学的に活性な部分は、ヒトのものでありうる。

【0077】

いくつかの態様において、FcRnを遮断する薬剤は、SYK阻害剤である。本明細書において用いられる場合、「SYK阻害剤」はSYK媒介性シグナル伝達を阻害または低減する。

【0078】

免疫媒介性疾患と診断された対象からサンプルが得られる、抗FcRn治療剤に対する対象の応答性を判定するためのシステムも、本明細書において提供される。本システムは、対象から得られたサンプル中に存在するIgGアイソタイプをコードするmRNAのシグナルを生成するように構成されたサンプル分析器と、IgG mRNAアイソタイプに基づいて、シグナルが規準値より大きいかまたは大きくないかを計算するようにプログラムされたコンピュータサブシステムとを含む。

30

【0079】

免疫媒介性疾患と診断された対象からサンプルが得られる、抗FcRn治療剤に対する対象の応答性を判定するためのシステムが、本明細書においてさらに提供される。本システムは、対象から得られたサンプル中に存在するIgGアイソタイプのシグナルを生成するように構成されたサンプル分析器と、IgGアイソタイプに基づいて、シグナルが規準値より大きいかまたは大きくないかを計算するようにプログラムされたコンピュータサブシステムとを含む。

40

【0080】

さまざまな態様において、コンピュータサブシステムは、IgGアイソタイプレベルが減少しない場合に抗FcRn治療剤に応答しないと、およびIgGレベルが減少する場合に応答すると、対象を分類するアルゴリズムに基づいて、抗FcRn治療剤に対する対象の応答性の可能性を判定するためにmRNAまたはタンパク質を比較するようにプログラムされる。いくつかの態様において、規準値は、免疫媒介性疾患を有しない対象の集団由来のIgGアイソタイプ発現レベルの平均または中央値である。いくつかの態様において、規準値は、免疫媒

50

介性疾患を有しかつ抗FcRn治療剤に応答する対象の集団由来のIgGアイソタイプ発現レベルの平均または中央値である。

【0081】

抗FcRn治療剤に応答するHis131 Fc γ R2a対立遺伝子を発現する対象(例えば、免疫媒介性疾患を有する対象)の可能性を検出するための診断キットも、本明細書において提供される。本キットは、例えば、全IgGまたは特異的IgGアイソタイプに対する検出可能な標識プローブまたはプライマーの組み合わせを含む約10種のプローブと、本明細書において記載するコンピュータプログラム製品とを含む。本キットは、10種を超えるプローブまたは10種未満のプローブを含むことができる。

【0082】

抗FcRn治療剤に応答するHis131 Fc γ R2a対立遺伝子を発現する対象(例えば、免疫媒介性疾患を有する対象)の可能性を検出するための診断キットも、本明細書において提供される。本キットは、例えば、全IgGまたは特異的IgGアイソタイプに結合する検出可能な標識抗体またはsiRNAの組み合わせを含む約10種のプローブと、記載するコンピュータプログラム製品とを含む。本キットは、10種を超えるプローブまたは10種未満のプローブを含むことができる。

【0083】

いくつかの態様において、生体サンプルは、固体、半固体、または液体である。1つの態様において、サンプルは組織である(Baker K, et al., Immunity 2013 39(6):1095-107)。さまざまな態様において、サンプルは、血清もしくは血液；鼻、中咽頭、胃腸管、胆管、もしくは尿生殖器官からの身体分泌物；任意の器官の組織生検；脳脊髄液、眼液、もしくは関節液のような組織液；またはそれらの組み合わせである。

【0084】

Fc γ R2a対立遺伝子およびIgG発現の分析

さまざまな態様において、本明細書において記載するアッセイ法、方法、およびシステムは、生体サンプル中のFc γ R2aの対立遺伝子ならびに/または生体サンプル中の全IgGの発現レベル、IgGの特異的アイソタイプのレベル、および/または抗原特異的IgGレベルを分析することを含む。

【0085】

本明細書において記載するアッセイ法および方法のさまざまな態様において、サンプルを分析することは、Fc γ R2a対立遺伝子特異的抗体(例えば、Fc γ R2aのHis131対立遺伝子を含むエピトープに特異的な抗体またはFc γ R2aのArg131対立遺伝子を含むエピトープに特異的な抗体(例えばMAB41H16) (Gosselin, EJ, Brown, MF, Anderson, CL, Zipf, TF, Guyre, PM. The monoclonal antibody 41H16 detects the Leu 4 responder form of human Fc γ R2a. J Immunol 1990. 144:1817-1822)でFc γ R2aの対立遺伝子を検出することを含む。本明細書において記載するアッセイ法および方法のいくつかの態様において、サンプルを分析することは、全IgG、IgGのアイソタイプのレベル、または抗原特異的IgGレベルを検出することを含む。さまざまな態様において、抗体は、モノクローナル抗体またはその断片、ポリクローナル抗体またはその断片、キメラ抗体、ヒト化抗体、ヒト抗体、および一本鎖抗体のうちいずれか1つまたは複数である。1つの態様において、抗体はモノクローナル抗体である。

【0086】

当業者には明らかであるように、サンプル中のFc γ R2aの対立遺伝子を分析するためにDNA配列決定法が用いられうる。DNA配列決定法は、マクサム・ギルバート配列決定法、鎖終結法(サンガー配列決定法)、ショットガン配列決定法、架橋PCR、大規模並列処理特徴配列決定法(MPSS)、ポロニー(Polony)配列決定法、454パイロ配列決定法、イルミナ(ソレキサ)(Illumina (Solexa))配列決定法、SOLiD配列決定法、イオントレント(Ion Torrent)半導体配列決定法、DNAナノボール配列決定法、Heliscope単分子配列決定法、単分子リアルタイム(SMRT)配列決定法、ナノポアDNA配列決定法、トンネル電流DN配列決定法、ハイブリダイゼーションによる配列決定法、質量分析による配列決定法、マイクロ流体サンガ

10

20

30

40

50

一配列決定法、RNAP配列決定法、またはそれらの任意の組み合わせを含むが、これらに限定されることはない。さらに、新しい配列決定法が開発されるにつれて、これらは、当業者によって理解されるように、生体サンプル中のFc γ R2aの対立遺伝子の分析に適用することができる。

【0087】

本明細書において記載するアッセイ法および方法のいくつかの態様において、サンプルを分析することは、ストリンジェントなハイブリダイゼーション条件の下でFc γ R2aの対立遺伝子に特異的なmRNAとハイブリダイズできるポリヌクレオチドにより、Fc γ R2aの特異的対立遺伝子をコードするmRNAを検出することを含む。1つの態様において、ポリヌクレオチドはFc γ R2aのHis131対立遺伝子とハイブリダイズするが、しかしFc γ R2aのArg131対立遺伝子とはハイブリダイズしない。別の態様において、ポリヌクレオチドはFc γ R2aのArg131対立遺伝子とハイブリダイズするが、しかしFc γ R2aのHis131対立遺伝子とはハイブリダイズしない。

10

【0088】

本明細書において記載するアッセイ法および方法のいくつかの態様において、サンプルを分析することは、ストリンジェントなハイブリダイゼーション条件の下で各IgGアイソタイプに特異的なmRNAとハイブリダイズできるポリヌクレオチドによって、サンプル中に存在するIgGのアイソタイプをコードするmRNAのレベルを測定することを含む。

【0089】

サンプル中に存在するIgGをコードする核酸の量を評価するために用いられうる技法には、インサイチューハイブリダイゼーションが含まれるが、これに限定されることはない(例えば、Angerer (1987) Meth. Enzymol 152: 649)。好ましいハイブリダイゼーションに基づくアッセイ法には、サザンブロットまたはインサイチューハイブリダイゼーション(例えば、FISHおよびFISHに加えてSKY)のような従来の「直接プローブ」法、ならびに比較ゲノムハイブリダイゼーション法(CGH)、例えば、cDNAに基づくCGHまたはオリゴヌクレオチドに基づくCGHのような「競合プローブ」法が含まれるが、これらに限定されることはない。これらの方法は、基材(例えば膜またはガラス)結合法またはアレイに基づく手法を含むが、これらに限定されない、多種多様の形式で用いることができる。核酸分析のために用いられうるプローブは、典型的には、例えば、放射性同位体または蛍光レポーターで標識される。好ましいプローブは、ストリンジェントな条件下で標的核酸と特異的にハイブリダイズするように十分に長い。好ましいサイズ範囲は約200塩基～約1000塩基である。本発明の方法で用いるのに適したハイブリダイゼーションプロトコルは、例えば、Albertson (1984) EMBO J. 3: 1227-1234; Pinkel (1988) Proc. Natl. Acad. Sci. USA 85: 9138-9142; EPO Pub. No. 430,402; Methods in Molecular Biology, Vol. 33: In situ Hybridization Protocols, Choo, ed., Humana Press, Totowa, N.J. (1994), Pinkel, et al. (1998) Nature Genetics 20: 207-211、および/またはKallioniemi (1992) Proc. Natl Acad Sci USA 89:5321-5325 (1992)に記述されている。

20

30

【0090】

「定量的」増幅の方法は、当業者には周知である。例えば、定量的PCRは、同じプライマーを用いて既知量の対照配列を同時に共増幅することを伴う。これは、PCR反応を較正するために用いられうる内部標準を提供する。定量的PCRの詳細なプロトコルは、Innis, et al. (1990) PCR Protocols, A Guide to Methods and Applications, Academic Press, Inc. N.Y.)において提供されている。定量的PCR分析を用いたマイクロサテライト遺伝子座でのDNAコピー数の測定は、Ginzonger, et al. (2000) Cancer Research 60:5405-5409に記述されている。遺伝子の公知の核酸配列は、当業者がプライマーを日常的に選択して、遺伝子の任意の部分を増幅できるようにするのに十分である。本発明の方法において蛍光発生定量的PCRも使用されうる。蛍光発生定量的PCRにおいて、定量は蛍光シグナル、例えば、TaqManおよびsybrグリーンの量に基づく。

40

【0091】

他の適当な増幅方法には、リガーゼ連鎖反応(LCR) (Wu and Wallace (1989) Genomics

50

4: 560, Landegren, et al. (1988) Science 241: 1077、およびBarringer et al. (1990) Gene 89: 117を参照のこと)、転写増幅(Kwoh, et al. (1989) Proc. Natl. Acad. Sci. USA 86: 1173)、自己維持配列複製(Guatelli, et al. (1990) Proc. Nat. Acad. Sci. U SA 87: 1874)、ドットPCR、およびリンカーアダプタPCRなどが含まれるが、これらに限定されることはない。

【0092】

不等分散を伴う両側スチューデントt検定を用いて、患者の全IgG、IgGアイソタイプ、および/または抗原特異的IgGレベルの発現と、正常サンプル、または患者自身のサンプル(マッチした対照)、または多くの対照サンプルをプールしているコンピュータアルゴリズムによって作成された参照との間の差異を測定することができる。有意差は、p値が0.05以下である場合に達成されうる。IgG mRNA発現を用いて、患者の予後および抗FcRn治療剤への応答を判定することもでき、ここでIgG mRNA発現は2つの群: 高いIgG発現を有するものおよび低いまたは検出できないIgG発現を有するものに分けられる。これらの群は、IgG発現の中央値により分けられ、カプラン・マイヤー曲線を用いて経時的にプロットされる。

10

【0093】

全IgGまたはIgGアイソタイプの発現レベルをアッセイするための適当な方法は、DNA配列決定法、比較ゲノムハイブリダイゼーション法(CGH)、アレイCGH法(aCGH)、SNP分析法、mRNA発現アッセイ法、RT-PCR法、リアルタイムPCR法、またはそれらの組み合わせの使用を含むが、これらに限定されることはない。さまざまな態様において、全IgGもしくはIgGアイソタイプをコードする核酸、または全IgGもしくはIgGアイソタイプのタンパク質レベルを検出するアッセイ法は、ノザンブロット分析法、サザンブロット分析法、逆転写-ポリメラーゼ連鎖反応法(RT-PCR)、ポリメラーゼ連鎖反応法(PCR)、酵素免疫測定法(ELISA)、放射性免疫測定法(RIA)、ドデシル硫酸ナトリウムポリアクリルアミドゲル電気泳動法(SDS-PAGE)、ウエスタンブロット分析法、またはそれらの組み合わせのうちいずれか1つまたは複数である。

20

【0094】

ポリクローナルおよびモノクローナルの両方の抗体は、当業者自らが周知の方法を用いて産生することができ、または既知のタンパク質配列に基づいて抗体を作製することを専門とするサービス提供会社によって製造することができる。本発明では、タンパク質配列が知られており、かくしてそれらに対する抗体の産生は日常的な実験の問題である。

30

【0095】

例えば、モノクローナル抗体の産生は、従来のハイブリドーマ法を用いて、まず初めに最適な単離タンパク質またはその断片(例えば、Fc γ R2aのHis131対立遺伝子を含む断片もしくはFc γ R2aのArg131対立遺伝子を含む断片またはIgGもしくはその断片またはその変種)でありうる抗原をマウスに免疫し、それぞれが特異的モノクローナル抗体を産生するハイブリドーマ細胞株を作製することによって行うことができる。次いで、異なるクローンによって分泌された抗体を、例えば、ELISAもしくは抗原マイクロアレイアッセイ法、または免疫ドットブロット技法を用いて、抗原に結合するその能力についてアッセイする。関心対象のタンパク質の検出に最も特異的な抗体は、常法を用いて、ならびに免疫に用いられる抗原および対照として他の抗原を用いて選択することができる。所望の抗原およびタンパク質を最も特異的に検出する抗体が、本明細書において記載するアッセイ法および方法のために選択され、それ以外の抗原またはタンパク質は選択されない。

40

【0096】

最良のクローンを次に、適当な細胞培地中で無限に増殖させることができる。それらをまた、抗体に富む腹水を産生するマウスへ(腸を取り囲む腹腔腔内に)注入することができ、そこから抗体を単離かつ精製することができる。抗体は、当業者に周知である技法を用いて精製することができる。

【0097】

本発明の方法およびアッセイ法において、Fc γ R2aの特異的対立遺伝子の存在またはIgG

50

の存在および/もしくはレベルは、Fc γ R2a対立遺伝子に特異的な抗体またはIgGに特異的な抗体を用いて、およびその各同族マーカーに対する各抗体の免疫特異的結合を検出して決定される。

【0098】

市販されているものを含めて、任意の適当な免疫アッセイ法が利用されうる。これらは当業者には知られているので、公知の免疫アッセイ技法の広範囲にわたる議論は、本明細書では必要とされない。典型的な適当な免疫アッセイ技法には、サンドイッチ酵素免疫測定法(ELISA)、放射性免疫測定法(RIA)、競合的結合アッセイ法、ホモジニアス(homogeneous)アッセイ法、ヘテロジニアス(heterogeneous)アッセイ法などが含まれる。さまざまな公知の免疫アッセイ法は、例えば、Methods in Enzymology, 70, pp. 30-70 and 166-198 (1980)に概説されている。

10

【0099】

本発明のアッセイ法において、「サンドイッチ型」アッセイ法の形式を用いることができる。そのようなサンドイッチ型アッセイ法のいくつかの例は、Grubbらの米国特許第4,168,146号およびTomらの米国特許第4,366,241号に記述されている。代替技法は「競合型」アッセイ法である。競合アッセイ法においては、標識されたプローブが、分析物と同一である分子または分析物の類似体である分子と、一般的に結合される。したがって、標識されたプローブは、利用できる受容的物質について関心対象の分析物と競合する。競合アッセイ法は、典型的には、ハプテンのような分析物の検出に用いられ、各ハプテンは一価であり、1つの抗体分子のみに結合することができる。競合免疫アッセイ法の装置の例は、Deutschらの米国特許第4,235,601号、Liottaの米国特許第4,442,204号、およびBuechlerらの米国特許第5,208,535号に記述されている。

20

【0100】

抗体は標識することができる。いくつかの態様において、検出抗体は、酵素に共有結合的に連結させること、蛍光化合物または金属による標識、化学発光化合物による標識によって標識される。例えば、検出抗体をカタラーゼで標識することができ、変換には、ヨウ化カリウム、過酸化水素、およびチオ硫酸ナトリウムを含む比色基質組成物を用い、酵素はアルコールデヒドロゲナーゼであることができ、変換には、アルコール、pH指示薬、およびpH緩衝液を含む比色基質組成物を用い、ここでpH指示薬はニュートラルレッドであり、pH緩衝液はグリシン-水酸化ナトリウムであり、酵素はヒポキサンチンオキシダーゼであることもでき、変換には、キサンチン、テトラゾリウム塩、および4,5-ジヒドロキシ-1,3-ベンゼンジスルホン酸を含む比色基質組成物を用いる。1つの態様において、検出抗体は、酵素に共有結合的に連結させること、蛍光化合物もしくは金属による標識、または化学発光化合物による標識によって標識される。

30

【0101】

直接および間接標識を免疫アッセイ法において用いることができる。直接標識は、天然状態で、裸眼もしくは光学フィルタの補助によっておよび/または蛍光を促進する刺激、例えば紫外線の適用によって、目に見える実体と定義することができる。使用できる着色標識の例としては、金属ゾル粒子、金ゾル粒子、色素ゾル粒子、染色ラテックス粒子、またはリポソーム中に封入された色素が挙げられる。他の直接標識には、放射性核種および蛍光部分または発光部分が含まれる。また、酵素のような間接標識を本発明によって用いることもできる。例えば、アルカリ性ホスファターゼ、西洋ワサビペルオキシダーゼ、リゾチーム、グルコース-6-リン酸デヒドロゲナーゼ、乳酸デヒドロゲナーゼ、およびウレアーゼのような、標識として用いるためのさまざまな酵素が知られている。免疫アッセイ法における酵素の詳細な考察に関しては、Engvall, Enzyme Immunoassay ELISA and EMIT, Methods of Enzymology, 70, 419-439 (1980)を参照されたい。

40

【0102】

抗体を表面に付着させることができる。所望の抗原を検出する目的で、抗体を付着させることができる有用な表面の例としては、ニトロセルロース、PVDF、ポリスチレン、およびナイロンが挙げられる。表面または支持体は多孔性支持体であってもよい(例えば、米

50

国特許第7,939,342号を参照のこと)。PB Diagnostic Systems, Incの米国特許第4,906,439号; 同第5,051,237号および同第5,147,609号に記載されるものを含めて、さまざまなアッセイ装置の形式においてアッセイを行うことができる。

【0103】

規準値

本明細書において記載するアッセイ法および方法のさまざまな態様において、規準値は、例えば、全IgG、IgGサブタイプ、または抗原特異的IgGレベルの発現レベルに基づく。1つの態様において、発現レベルは、免疫媒介性疾患を有する対象から得られたサンプル中のレベルである。別の態様において、発現レベルは、免疫媒介性疾患を有しない対象由来のサンプル中のレベルである。いくつかの態様において、規準値は、免疫媒介性疾患を有しない対象の集団における全IgGまたはIgGサブタイプの発現レベルの平均または中央値である。

10

【0104】

他の態様において、規準値は、免疫媒介性疾患を有するが抗FcRn治療剤のために選択されない対象(例えばFc γ R2aのHis131対立遺伝子を発現しないIBD対象)の集団における全IgG、IgGサブタイプ、または抗原特異的IgGレベルの発現レベルの平均または中央値である。他の態様において、規準値は、IBDを有しかつ抗FcRn治療剤に応答する対象の集団における全IgG、IgGサブタイプ、または抗原特異的IgGレベルの発現レベルの平均または中央値である。いくつかの態様において、免疫媒介性疾患を有しかつ抗FcRn治療剤に応答する対象の集団を含む規準値は、全IgG (もしくはIgGサブタイプ)の検出不能な発現を示し、または全IgG (もしくはIgGサブタイプおよび抗原特異的IgG)の低減した発現を示す。さらなる態様において、規準値は、診断中、処置前、処置後、またはそれらの組み合わせのような、異なる(例えば、より早い)時点からの対象から得られたサンプル中のIgGの発現レベルである。

20

【0105】

さまざまな態様において、免疫媒介性疾患と診断された対象(該対象はFc γ R2aのHis131対立遺伝子を発現する)におけるIgGの発現レベルは、規準値と比較して、少なくともまたは約10%、20%、30%、40%、50%、60%、70%、80%、90%、または100%だけ増加する。さまざまな態様において、免疫媒介性疾患と診断された対象におけるIgGの発現レベルは、規準値と比較して、少なくともまたは約1倍、2倍、3倍、4倍、5倍、10倍、15倍、20倍、25倍、30倍、35倍、40倍、45倍、50倍、55倍、60倍、65倍、70倍、75倍、80倍、85倍、90倍、95倍、100倍、またはそれを超えて増加する。

30

【0106】

さまざまな態様において、抗FcRn治療剤を受けている対象から得られたサンプル中のIgG発現レベルが、規準値と比較して、少なくともまたは約10%、20%、30%、40%、50%、60%、70%、80%、90%、または100%だけ低減される場合に、対象は抗FcRn治療剤に応答しているとみなされる。さまざまな態様において、免疫媒介性疾患と診断された対象におけるIgGの発現レベルは、規準値と比較して、少なくともまたは約1倍、2倍、3倍、4倍、5倍、10倍、15倍、20倍、25倍、30倍、35倍、40倍、45倍、50倍、55倍、60倍、65倍、70倍、75倍、80倍、85倍、90倍、95倍、100倍、またはそれを超えて増加する。

40

【0107】

治療法

本明細書において記載するように、いくつかの態様において、Fc γ R2aのHis131対立遺伝子を発現する免疫媒介性疾患を有する患者は、患者において免疫媒介性疾患を処置し、免疫媒介性疾患を阻害し、または免疫媒介性疾患の重症度を低減するように、抗FcRn剤を含む組成物の有効量を投与されうる。さまざまな態様において、抗FcRn剤は、FcRnを遮断する薬剤またはFcRnの発現を低減もしくは阻害する薬剤、あるいはそれらの組み合わせを含みうる。いくつかの態様において、FcRnを遮断する薬剤は、ペプチド、タンパク質、小分子、核酸、アプタマー、オリゴヌクレオチド、抗体、またはそれらの組み合わせのうちいずれか1つまたは複数でありうる。核酸は、FcRnに特異的なsiRNAでありうる。

50

【0108】

いくつかの局面において、組成物中の抗FcRn剤は、抗体(「抗体」は、抗体の抗原結合部分、例えばエピトープ結合ペプチドもしくは抗原結合ペプチド、パラトープ、機能的CD R; 組み換え抗体; キメラ抗体; トリボディ(tribody); ミディボディ(midibody); またはそれらの抗原結合誘導体、類似体、変種、部分、もしくは抗原結合断片を含む)、タンパク質結合剤、小分子、組み換えタンパク質、ペプチド、アプタマー、アビマー(avimer)およびそれらのタンパク質結合誘導体、部分もしくは断片、またはそれらの組み合わせのうちいずれか1つまたは複数を含むが、これらに限定されることはない。

【0109】

アンチセンスオリゴヌクレオチドは、特にFcRnアンタゴニストとして、本明細書において記載する組成物および方法において有用である別のクラスの薬剤に相当する。このクラスの薬剤ならびにそれらを調製および使用するための方法は、リボザイムおよびmiRNA分子のように、当技術分野において全て周知である。例えば、徹底的な議論についてはPCT US2007/024067を参照されたい。あるいは、抗FcRn剤は、本明細書において記載する組成物および方法のいくつかの態様において、例えば、組み換えFcもしくは結合体、またはタンパク質もしくは抗体、FcRn mRNAに特異的なもしくはFcRn mRNAに標的化された低分子干渉RNA、およびFcRnのmRNAとハイブリダイズするアンチセンスRNAを含むことができる。

【0110】

本明細書において記載する組成物および方法で用いるための、FcRnを遮断する他の薬剤には、例えば、FcRnに対する抗体が含まれ、これは、FcRnに特異的に反応するかまたはFcRnに特異的に結合する。いくつかの態様において、抗体は、遮断抗体であり、モノクローナル抗体もしくはその断片、ポリクローナル抗体もしくはその断片、キメラ抗体、ヒト化抗体、または一本鎖抗体のいずれかでありうる。

【0111】

いくつかの態様において、薬剤は、Fc γ 受容体およびFcRnに対する結合部位を含む二重特異性薬剤である。いくつかの態様において、薬剤はFcRnを標的化し、第2の異なる薬剤はFc γ 受容体を標的化し、この2種の薬剤は同時にまたは連続的に投与されうる。

【0112】

いくつかの態様において、薬剤は、二重特異性薬剤であり、IgGおよびFc γ 受容体に対する結合部位を含む。いくつかの態様において、薬剤は、二重特異性薬剤であり、IgGおよびFcRnに対する結合部位を含む。さまざまな態様において、異なる薬剤が、IgG、Fc γ 受容体、およびFcRnを標的化し、これらの薬剤の各々が、連続的にまたは同時に投与されうる。

【0113】

いくつかの態様において、薬剤は、IgGの組み換えFc部分またはその生物学的に活性な部分またはそのタンパク質模倣体であり、これはFcRnを結合する。Fc部分またはその生物学的に活性な部分は、哺乳類のものでありうる。Fc部分またはその生物学的に活性な部分は、ヒトのものでありうる。

【0114】

本明細書において用いられる場合、「遮断」抗体または抗体「アンタゴニスト」は、それが結合する抗原の生物学的活性を阻害または低減するものである。例えば、FcRn遮断抗体またはアンタゴニスト抗体は、FcRnを結合し、FcRnの機能および/または相互作用を阻害または低減する。1つの態様において、FcRnを特異的に結合するモノクローナル抗体は、DVN24 (Christianson et al., Landes Bioscience 2012 Vol 4:2 pp208-216)である。1つの態様において、DVN24はヒト化され、親和性成熟される。

【0115】

単純な結合アッセイ法を用いて、FcRnに結合する薬剤をスクリーニングまたは検出することができる。さらに、本明細書において記載する組成物および方法で用いるための、FcRnを遮断または阻害する薬剤は、組み換えFcRnペプチド模倣体を含み、例えば、細胞に、FcRnまたはその部分を発現する発現ベクターをトランスフェクションすること; 細胞を薬

10

20

30

40

50

剤と接触させること；細胞を溶解すること；および薬剤と接触させていない細胞と比べてFcRn相互作用を特徴付けることによって特定することができる。細胞は、例えば、共免疫沈降を用いて特徴付けることができる。

【0116】

FcRn遮断タンパク質の結合を決定するための別の種類のアッセイ法は、親和性バイオセンサ方法の使用によるものである。そのような方法は、圧電効果、電気化学、または光学的方法、例えば、楕円偏光法、光波ガイダンス(optical wave guidance)、および表面プラズモン共鳴(SPR)に基づきうる。例えば、FcRnの発現に及ぼすsiRNAの効力は、各遺伝子それぞれに特異的なオリゴヌクレオチドプライマーを用いる定量的RT-PCR、または血液サンプル由来のFcRnに対するELISAなどの、当技術分野において公知の方法を用いてモニタリングすることができる。あるいは、血液細胞の集団を、当技術分野において知られているかまたは本明細書において開示される特定の集団および亜集団に特徴的なマーカーを用いるフローサイトメトリー分析によって決定することができる。

10

【0117】

本明細書において用いられる用語「有効量」は、疾患または障害の少なくとも1つまたは複数の症状を軽減するために必要とされる、FcRnを遮断または阻害するための薬剤の量を指し、所望の効果を与えるのに、例えばIBDを処置するのに十分な薬理学的組成物の量に関する。用語「治療的有效量」はそれゆえ、典型的な対象への投与時に特定の効果をもたらすのに十分である、本明細書において開示される方法を用いてFcRnを遮断するための薬剤の量を指す。本明細書において用いられる有効量はまた、疾患の症状の発現を遅延させるのに、疾患の症状の経過を変化させるのに(例えば、限定されることはないが、疾患の症状の進行を遅らせるのに)、または疾患の症状を逆行させるのに十分な量を含む。したがって、正確な「有効量」を指定することは可能ではない。しかしながら、いかなる所与の場合でも、当業者は通常の実験法のみを用いて適切な「有効量」を決定することができる。

20

【0118】

有効量、毒性、および治療効力は、例えば、LD50 (集団の50%に対して致死的な用量)およびED50 (集団の50%において治療的に有効な用量)を決定するための、細胞培養物または実験動物での標準の薬学的手順によって決定することができる。投与量は、採用される剤形および利用される投与経路に依存して変化しうる。毒性と治療効果との間の用量比が治療指数であり、これはLD50/ED50比として表すことができる。大きい治療指数を示す組成物および方法が好ましい。治療的に有効な用量は、細胞培養アッセイ法から最初に推定することができる。また、細胞培養においてまたは適切な動物モデルにおいて決定されたようなIC50を含む循環血漿濃度範囲(すなわち、症状の最大半数阻害を達成する、FcRnを遮断するための薬剤の濃度)を達成するように、ある用量を動物モデルにおいて処方することができる。血漿中のレベルは、例えば、高性能液体クロマトグラフィーによって測定することができる。任意の特定の投与量の効果は、適当なバイオアッセイ法によってモニターすることができる。投与量は、医師が決定し、必要に応じて観察された処置の效果に合わせるよう、調整することができる。

30

【0119】

抗体および他のポリペプチドを含む、本明細書において記載する組成物および方法による有用な薬剤は、単離された薬剤であり、これは、その薬剤が、実質的に純粋であって、天然またはインビボ系においてともに見出されうる他の物質を、その意図した用途に対して実用的かつ適切な程度にまで、本質的に含まないことを意味する。具体的には、薬剤は、例えば、薬学的調製物の産生で有用であるように、十分に純粋であって、宿主細胞の他の生物学的成分を実質的に含まない。単離された薬剤は、薬学的調製物中で薬学的に許容される担体と混合されうるので、薬剤は調製物の重量でわずかな割合のみを構成してもよい。

40

【0120】

抗FcRn治療剤のための本明細書において記載する薬剤は、対象における有効な処置をも

50

たらず任意の適切な経路により、それを必要とする対象へ投与されうる。本明細書において用いられる場合、「投与すること」および「導入すること」という用語は、互換的に用いられ、所望の効果が生じるよう、炎症部位などの所望の部位における薬剤の少なくとも部分的な局在化をもたらす方法または経路により、そのような薬剤を対象へ配置することを指す。

【0121】

いくつかの態様において、抗FcRn治療剤で用いるための本明細書において記載する薬剤は、薬剤を全身に送達するかまたは所望の表面もしくは標的へ送達する、注射、注入、点滴注入、および吸入投与を含みうるがこれらに限定されない、任意の投与方法によって対象に投与される。ポリペプチド剤が消化管における不活化から防御されうる範囲で、経口投与形態も企図される。「注射」は、非限定的に、静脈内、筋肉内、動脈内、くも膜下腔内、脳室内、嚢内、眼窩内、心臓内、皮内、腹腔内、経気管、皮下、表皮下、関節内、嚢下、クモ膜下、脊髄内、脳脊髄内、および胸骨内への注射および注入を含む。いくつかの態様において、本明細書において記載する方法において用いるための、抗FcRn治療剤で用いるための薬剤は、静脈内への注入または注射により投与される。

10

【0122】

本明細書において用いられる「非経口投与」および「非経口的に投与される」という語句は、腸内投与および局所投与以外の投与方法、通常、注射による投与方法を指す。本明細書において用いられる「全身投与」、「全身に投与される」、「末梢投与」、および「末梢に投与される」という語句は、標的部位、標的組織、または標的臓器への直接投与以外の、薬剤が対象の循環系に入り、したがって代謝などの過程を受けるような、抗FcRn剤の投与を指す。

20

【0123】

本明細書において記載する方法の臨床用途のため、抗FcRn剤の投与は、非経口投与、例えば静脈内投与；粘膜投与、例えば鼻腔内投与；眼投与；または他の投与方法のための薬学的組成物または薬学的製剤への製剤化を含みうる。いくつかの態様において、抗FcRn剤は、対象における有効な処置をもたらす任意の薬学的に許容される担体化合物、材料、または組成物とともに投与されうる。したがって、本明細書において記載する方法で用いるための薬学的製剤は、1種または複数種の薬学的に許容される成分との組み合わせで、抗FcRn剤を含有してもよい。

30

【0124】

「薬学的に許容される」という語句は、健全な医学的判断の範囲内で、合理的な利益/リスク比に見合う、過度の毒性、刺激、アレルギー反応、または他の問題もしくは合併症なしに、ヒトおよび動物の組織と接触させて用いるのに適した、化合物、材料、組成物、および/または剤形を指す。本明細書において用いられる「薬学的に許容される担体」という語句は、FcRnとIgGまたはその断片またはその変種との相互作用を調節するための薬剤の安定性、可溶性、または活性の維持に関与する、液体または固体の増量剤、希釈剤、賦形剤、溶媒、媒質、封入材料、製造支援物質(例えば、滑沢剤、タルク、ステアリン酸マグネシウム、ステアリン酸カルシウムもしくはステアリン酸亜鉛、またはステアリン酸)、または溶媒を封入する材料などの、薬学的に許容される材料、組成物、または媒体を意味する。各担体は、製剤の他の成分と適合性があり、患者にとって有害ではない、という意味で「許容され」なければならない。薬学的に許容される担体として働きうる材料のいくつかの例としては、(1) ラクトース、グルコース、およびスクロースなどの糖類；(2) トウモロコシデンプンおよびジャガイモデンプンなどのデンプン；(3) セルロースおよびその誘導体、例えばカルボキシメチルセルロースナトリウム、メチルセルロース、エチルセルロース、微結晶セルロース、および酢酸セルロース；(4) 粉末トラガカント；(5) 麦芽；(6) ゼラチン；(7) カカオ脂および坐剤ワックスなどの賦形剤；(8) 落花生油、綿実油、サフラワー油、ゴマ油、オリーブ油、コーン油、およびダイズ油などの油；(9) プロピレングリコールなどのグリコール；(10) グリセリン、ソルビトール、マンニトール、およびポリエチレングリコール(PEG)などのポリオール；(11) オレイン酸エチルおよび

40

50

ラウリン酸エチルなどのエステル；(12) 寒天；(13) 水酸化マグネシウムおよび水酸化アルミニウムなどの緩衝剤；(14) アルギン酸；(15) 発熱物質を含まない水；(16) 等張食塩水；(17) リンゲル液；(18) pH緩衝化溶液；(19) ポリエステル、ポリカーボネート、および/またはポリ無水物；(20) ポリペプチドおよびアミノ酸などの増量剤；(21) 血清アルブミン、HDLおよびLDLなどの血清成分；(22) エタノールなどのC2～C12アルコール；ならびに(23) 薬学的製剤中で採用される他の無毒性の適合物質が挙げられる。放出剤、コーティング剤、保存料、および抗酸化物質も、製剤中に存在しうる。「賦形剤」、「担体」、「薬学的に許容される担体」などのような用語は、本明細書において互換的に用いられる。

【0125】

本明細書において記載する抗FcRn剤は、以下に対して適合させたものを含めて、固体、液体、またはゲルの形態での、対象への化合物の投与のために特別に製剤化されうる：(1) 非経口投与、例えば、滅菌溶液もしくは滅菌懸濁液、または持続放出性製剤として皮下注射、筋肉内注射、静脈内注射、または硬膜外注射による；(2) 局所適用、例えば、皮膚に適用されるクリーム、軟膏、または徐放性パッチもしくはスプレーとして；(3) 腔内もしくは直腸内に、例えば、腔坐薬、クリームもしくは気泡として；(4) 眼に；(5) 経皮；(6) 経粘膜；あるいは(7) 経鼻。さらに、抗FcRn剤は、患者へ移植されても、または薬物送達系を用いて注射されてもよい。例えば、Urquhart, et al., Ann. Rev. Pharmacol. Toxicol. 24: 199-236 (1984)；Lewis, ed. 「Controlled Release of Pesticides and Pharmaceuticals」 (Plenum Press, New York, 1981)；米国特許第3,773,919号；および米

【0126】

本明細書において記載する方法において用いることができる抗FcRn剤の投与の方法および製剤のさらなる態様を以下に例証する。

【0127】

非経口剤形

抗FcRn剤の非経口剤形はまた、皮下、静脈内(ボーラス注射を含む)、筋肉内、および動脈内を含むが、これらに限定されない、さまざまな経路によって対象に投与することができる。非経口剤形の投与では、典型的には、汚染物質に対する患者の自然防御が回避されるので、非経口剤形は好ましくは、無菌であり、または患者への投与の前に滅菌可能である。非経口剤形の例としては、すぐに注射することができる溶液、注射用の薬学的に許容される媒体にすぐに溶解または懸濁することができる乾燥品、すぐに注射できる懸濁液、徐放性の非経口剤形、および乳濁液が挙げられるが、これらに限定されることはない。

【0128】

開示の非経口剤形を提供するために用いられうる適当な媒体は、当業者には周知である。例としては、非限定的に、滅菌水；注射用水USP；生理食塩溶液；グルコース溶液；限定されることはないが、塩化ナトリウム注射液、リンゲル注射液、デキストロース注射液、デキストロースおよび塩化ナトリウム注射液、ならびに乳酸加リンゲル注射液などの、水性媒体；限定されることはないが、エチルアルコール、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、水混和性媒体；ならびに限定されることはないが、トウモロコシ油、綿実油、落花生油、ゴマ油、オレイン酸エチル、ミリスチン酸イソプロピル、および安息香酸ベンジルなどの、非水性媒体が挙げられる。

【0129】

エアロゾル製剤

抗FcRn剤は、加圧エアロゾル容器中に、適当な高圧ガス、例えば、プロパン、ブタン、またはイソブタンなどの炭化水素の高圧ガスと通常の補助剤とともに充填することができる。抗FcRn剤は、噴霧器または霧吹きのような加圧されない形態で投与することもできる。抗FcRn剤は、乾燥粉末の形態で、例えば、吸入具の使用により、気道に直接投与することもできる。

【0130】

適当な粉末組成物には、例証として、ラクトース、または気管支内投与に許容される他の不活性の粉末と十分に混合された抗FcRn剤の粉末状調製物が含まれる。粉末組成物はエアロゾルディスペンサを介して投与されてもよく、または破壊性のカプセル中に封入し、カプセルに穴を開けて吸入に適する定常流体として粉末を噴出する装置内に対象が挿入できるようにしたものであってもよい。組成物は、高圧ガス、界面活性剤、および共溶媒を含んでもよく、適当な計量弁で封鎖した従来のエアロゾル容器へ充填されてもよい。

【0131】

気道への送達のためのエアロゾルは、当技術分野において公知である。例えば、Adjei, A. and Garren, J. Pharm. Res., 1: 565-569 (1990); Zanen, P. and Lamm, J.-W. J. Int. J. Pharm., 114: 111-115 (1995); Gonda, I. 「Aerosols for delivery of therapeutic and diagnostic agents to the respiratory tract」, Critical Reviews in Therapeutic Drug Carrier Systems, 6中:273-313 (1990); Anderson et al., Am. Rev. Respir. Dis., 140: 1317-1324 (1989)、ペプチドおよびタンパク質の全身送達の可能性も有する(Patton and Platz, Advanced Drug Delivery Reviews, 8: 179-196 (1992)); Timsina et. al., Int. J. Pharm., 101: 1-13 (1995); およびTansey, I. P., Spray Technology Market, 4:26-29 (1994); French, D. L., Edwards, D. A. and Niven, R. W., Aerosol Sci., 27: 769-783 (1996); Visser, J., Powder Technology 58: 1-10 (1989)); Rudt, S. and R. H. Muller, J. Controlled Release, 22: 263-272 (1992); Tabata, Y, and Y. Ikada, Biomed. Mater. Res., 22: 837-858 (1988); Wall, D. A., Drug Delivery, 2: 10 1-20 1995); Patton, J. and Platz, R., Adv. Drug Del. Rev., 8: 179-196 (1992); Bryon, P., Adv. Drug. Del. Rev., 5: 107-132 (1990); Patton, J. S., et al., Controlled Release, 28: 15 79-85 (1994); Damms, B. and Bains, W., Nature Biotechnology (1996); Niven, R. W., et al., Pharm. Res., 12(9): 1343-1349 (1995); および Kobayashi, S., et al., Pharm. Res., 13(1): 80-83 (1996)を参照されたく、これらの全ての内容は、参照によりその全体が本明細書に組み入れられる。

【0132】

水はいくつかの化合物の分解を助長しうるため、本明細書において記載する抗FcRn剤の製剤は、開示された化合物を活性成分として含む、無水の薬学的組成物および剤形をさらに包含する。例えば、水(例えば、5%)の添加は、貯蔵寿命または経時的な製剤の安定性のような特徴を決定するための、長期保管をシミュレーションする手段として、薬学分野において広く認められている。例えば、Jens T. Carstensen, Drug Stability: Principles & Practice, 379-80 (2nd ed., Marcel Dekker, NY, N.Y.: 1995)を参照されたい。本開示の無水の薬学的組成物および剤形は、無水の成分または低水分含有成分、および低水分または低湿度の条件を用いて調製されうる。ラクトースおよび一級アミンまたは二級アミンを含む少なくとも1種の活性成分を含む薬学的組成物および剤形は、製造、パッケージング、および/または貯蔵の間の水分および/または湿気との実質的な接触が予想される場合、好ましくは、無水である。無水の組成物は、好ましくは、適当な処方キットに含まれるよう、水への曝露を防止することが既知の材料を用いてパッケージングされる。適当なパッケージングの例としては、密閉ホイル、プラスチック、乾燥剤を含むまたは含まない単位用量容器(例えば、バイアル)、プリスタパック、およびストリップパックが挙げられるが、これらに限定されることはない。

【0133】

徐放性剤形および遅延放出性剤形

本明細書において記載する方法のいくつかの態様において、抗FcRn剤は、徐放手段または遅延放出手段により対象へ投与することができる。理想的には、医学的処置における最適にデザインされた徐放性調製物の使用は、最小限の薬物物質が、最小限の時間で、状態の治癒または制御のために利用されることを特徴とする。徐放性製剤の利点には、以下のものが含まれる: 1) 薬物の活性の延長; 2) 投薬頻度の低減; 3) 患者コンプライアンスの増加; 4) より少ない全薬物の使用; 5) 局所または全身の副作用の低減; 6) 薬物蓄積の最小化; 7) 血中レベル変動の低減; 8) 処置の効力の改善; 9) 薬物活性の増強または

損失の低減; および10) 疾患または状態の制御速度の改善(Kim, Cherng-ju, Controlled Release Dosage Form Design, 2 (Technomic Publishing, Lancaster, Pa.: 2000))。徐放性製剤は、化合物の作用の開始、作用の継続時間、治療ウィンドウ内の血漿レベル、およびピーク血中レベルを制御するために用いることができる。特に、徐放性または長期放出性の剤形または製剤を用いて、薬物の過小投薬(すなわち、最小治療レベル未満)からも薬物の毒性レベルを超えることから起こる可能性のある有害効果および安全性懸念を最小化しつつ、式(I)の化合物の最大の有効性が達成されることを確実にすることができる。

【0134】

種々の公知の徐放性または長期放出性の剤形、製剤、および装置は、本明細書において記載する抗FcRn剤とともに用いるために適合されうる。例としては、各々、参照によりその全体が本明細書に組み入れられる、米国特許第3,845,770号; 同第3,916,899号; 同第3,536,809号; 同第3,598,123号; 同第4,008,719号; 同第5,674,533号; 同第5,059,595号; 同第5,591,767号; 同第5,120,548号; 同第5,073,543号; 同第5,639,476号; 同第5,354,556号; 同第5,733,566号; および同第6,365,185 B1号に記述されたものが挙げられるが、これらに限定されることはない。これらの剤形は、変動する割合で、所望の放出プロファイルを提供するため、例えば、ヒドロキシプロピルメチルセルロース、他の重合体マトリックス、ゲル、透過膜、浸透圧系(例えば、OROS(登録商標)(Alza Corporation, Mountain View, Calif. USA))、多層コーティング、微粒子、リポソームもしくはマイクロスフェア、またはそれらの組み合わせを用いて、1種または複数種の活性成分の遅延放出または徐放を提供するために用いることができる。さらに、開示された化合物の固定化され吸着された塩型を調製し、それにより薬物の制御された送達をもたらすために、イオン交換材料が用いられてもよい。具体的な陰イオン交換体の例としては、Duolite(登録商標) A568およびDuolite(登録商標) AP143 (Rohm&Haas, Spring House, Pa. USA)が挙げられるが、これらに限定されることはない。

【0135】

いくつかの態様において、本明細書において記載する方法で用いるための抗FcRn剤は、持続放出によってまたはパルスで対象へ投与される。パルス治療は、経時的な同一量の組成物の不連続投与の型ではなく、低減された頻度での同一用量の組成物の投与、または低減された用量の投与を含む。障害が対象に継続的に存在する時、例えば、対象がウイルス感染の継続的または慢性的な症状を有する場合、持続放出またはパルス投与が特に好ましい。各パルス用量を低減させることができるので、処置の過程を通して患者へ投与される抗FcRn剤の総量が最小化される。

【0136】

パルス間の間隔は、必要な場合、当業者によって決定されうる。しばしば、パルス間の間隔は、組成物または組成物の活性成分が、次のパルスの送達前に対象においてもはや検出可能でない時、組成物をもう一回投与することにより計算されうる。間隔は、組成物のインビボ半減期からも計算されうる。間隔は、インビボ半減期より長く、または組成物半減期の2倍、3倍、4倍、5倍、さらには10倍として計算されうる。注入またはその他の型の送達により組成物を患者へパルス投与するためのさまざまな方法および装置は、米国特許第4,747,825号; 同第4,723,958号; 同第4,948,592号; 同第4,965,251号および同第5,403,590号に開示されている。

【0137】

本明細書において開示されるさまざまな局面の例示的な態様は、以下の文字が付けられた項目の1つまたは複数によって記載されうる。

A.

- (i) 免疫媒介性疾患を有することが疑われる対象からの生体サンプルを用意する工程;
- (ii) サンプル中の全IgG、IgGサブクラス、および/または抗原特異的IgGのレベルを決定するためにサンプルをアッセイする工程; ならびに
- (iii) 対象が、規準値と比べて、上昇した全IgGレベル、上昇したIgGサブクラスレベル

、および/または増加した抗原特異的IgGレベルを有する場合、対象に一次治療剤を処方する工程を含む、アッセイ法。

B.

IgGサブクラスが、IgG1、IgG2、IgG3、IgG4、またはそれらの組み合わせのいずれかである、項目Aのアッセイ法。

C.

対象が、規準値と比べて、上昇した全IgGレベル、上昇したIgGサブクラスレベル、および/または増加した抗原特異的IgGレベルを有する場合、Fc γ R2aの対立遺伝子を決定するためにサンプルをアッセイする工程

10

をさらに含む、項目A～Bのいずれか一項のアッセイ法。

D.

IgG、IgGサブクラス、および/または抗原特異的IgGのレベルについてサンプルをアッセイする工程が、免疫沈降アッセイ法、免疫ブロット分析、免疫吸着測定法、放射免疫拡散法、ネフェロメトリー、比濁法、ELISA、IgGの転写レベルの測定、IgGサブクラスの転写レベルの測定、またはそれらの組み合わせのうちいずれか1つまたは複数を含む、項目Cのアッセイ法。

E.

Fc γ R2aの対立遺伝子を決定するためにサンプルをアッセイする工程が、

(i) 対象のサンプル由来のFc γ R2a受容体をコードする遺伝子を配列決定する工程、および

20

(ii) 対象のサンプル由来の配列を対照サンプルにおけるFc γ R2a配列と比較する工程を含む、項目C～Dのいずれか一項のアッセイ法。

F.

対象がFc γ R2aのHis131対立遺伝子を発現する場合、対象を二次治療剤のために選択する工程をさらに含む、項目A～Eのいずれか一項のアッセイ法。

G.

対象がヒトである、項目A～Fのいずれか一項のアッセイ法。

H.

免疫媒介性疾患が、意義不明の単クローン性ガンマグロブリン血症(MGUS)、炎症性腸疾患、天疱瘡もしくは類天疱瘡、重症筋無力症、自己免疫性溶血性貧血、川崎病、多発性骨髄腫、関節リウマチ、全身性エリテマトーデス(SLE)、肝硬変、慢性肝炎、慢性感染症、多発性硬化症(MS)、マクログロブリン血症、ウイルス性肝炎、単核球症、腎臓障害(ネフローゼ症候群)、セリアック病、アレルギー反応、喘息、アトピー性皮膚炎、がん、特発性血小板減少性紫斑病(ITP)、自己免疫性血小板減少症、免疫性好中球減少症、抗リン脂質症候群、ANCA関連疾患、多発性筋炎、重症筋無力症、糖尿病、自己免疫性甲状腺炎、視神経炎、グレーブス眼症、ギラン・バレー症候群、慢性多発ニューロパシー、急性骨髄性白血病、またはそれらの組み合わせのうちいずれか1つまたは複数である、項目A～Gのいずれか一項のアッセイ法。

30

I.

免疫媒介性疾患が炎症性腸疾患(IBD)である、項目A～Hのいずれか一項のアッセイ法。

40

J.

対象が、炎症性腸疾患の処置を受けたか、または受けている、項目Iのアッセイ法。

K.

対象が炎症性腸疾患の処置を受けていない、項目Iのアッセイ法。

L.

IBDが、潰瘍性大腸炎、クローン病、コラーゲン蓄積大腸炎、リンパ球性大腸炎、顕微鏡的大腸炎、虚血性大腸炎、空置性大腸炎、ベーチェット病、不確定大腸炎、またはそれらの組み合わせである、項目Iのアッセイ法。

M.

50

- 対象がFc γ R2aのHis131対立遺伝子に関してヘテロ接合性である、項目Fのアッセイ法。
- N.
対象がFc γ R2aのHis131対立遺伝子に関してホモ接合性である、項目Fのアッセイ法。
- O.
一次治療剤が、スルファサラジンのような抗炎症薬；コルチコステロイドのような免疫抑制薬；メルカプトプリン、メトトレキサート、もしくはシクロスポリンのような免疫調節薬；生物学的療法；またはキナーゼ阻害剤のような生物学的経路の小分子阻害剤のうちいずれか1つまたは複数である、項目A～Nのいずれか一項のアッセイ法。
- P.
二次治療剤が抗FcRn治療剤を含む、項目Fのアッセイ法。 10
- Q.
一次治療剤のために選択された対象が、一次治療剤を含む組成物を投与され、かつ任意で、二次治療剤を含む組成物を投与される、項目A～Pのいずれか一項のアッセイ法。
- R.
一次および二次治療剤を含む組成物が同時に投与される、項目Qのアッセイ法。
- S.
一次および二次治療剤を含む組成物が連続的に投与される、項目Qのアッセイ法。
- T.
抗FcRn治療剤が、FcRnを遮断する薬剤またはFcRnの発現を低減もしくは阻害する薬剤を含む、項目Pのアッセイ法。 20
- U.
薬剤が、ペプチド、タンパク質、小分子、核酸、アプタマー、オリゴヌクレオチド、抗体、またはそれらの組み合わせのうちいずれか1つまたは複数である、項目Tのアッセイ法。
- V.
核酸がFcRnに特異的なsiRNAである、項目Uのアッセイ法。
- W.
抗体が、モノクローナル抗体またはその断片、ポリクローナル抗体またはその断片、キメラ抗体、ヒト化抗体、および一本鎖抗体からなる群より選択される、項目Vのアッセイ法。 30
- X.
薬剤が、Fc γ 受容体およびFcRnに対する結合部位を含む二重特異性薬剤である、項目Tのアッセイ法。
- Y.
薬剤が、IgGおよびFc γ 受容体に対する結合部位を含む二重特異性薬剤である、項目Tのアッセイ法。
- Z.
薬剤が、IgGおよびFcRnに対する結合部位を含む二重特異性薬剤である、項目Tのアッセイ法。
- AA. 40
薬剤が、IgGの組み換えFc部分またはその生物学的に活性な部分またはそのタンパク質模倣体である、項目Tのアッセイ法。
- BB.
IgGのFc部分またはその生物学的に活性な部分が、哺乳類のものである、項目AAのアッセイ法。
- CC.
IgGのFc部分またはその生物学的に活性な部分が、ヒトのものである、項目AAのアッセイ法。
- DD. 50
対象がFc γ R2aのArg131対立遺伝子を発現する場合、対象に一次治療剤または一次およ

び二次治療剤を投与する工程をさらに含む、項目Eのアッセイ法。

EE.

対象がFc γ R2aのHis131対立遺伝子を発現する場合、対象に二次治療剤を投与する工程をさらに含む、項目Eのアッセイ法。

FF.

(i) 免疫媒介性疾患を有することが疑われる対象からの生体サンプルを用意する工程；
 (ii) Fc γ R2aの対立遺伝子を決定するためにサンプルをアッセイする工程；ならびに
 (iii) 対象がFc γ R2aのArg131対立遺伝子を発現する場合、一次治療剤および任意で二次治療剤を処方し、かつ対象がFc γ R2aのHis131対立遺伝子を発現する場合、二次治療剤を処方する工程
 を含む、アッセイ法。

10

GG.

免疫媒介性疾患が、意義不明の単クローン性ガンマグロブリン血症(MGUS)、炎症性腸疾患、天疱瘡もしくは類天疱瘡、重症筋無力症、自己免疫性溶血性貧血、川崎病、多発性骨髄腫、関節リウマチ、全身性エリテマトーデス(SLE)、肝硬変、慢性肝炎、慢性感染症、多発性硬化症(MS)、マクログロブリン血症、ウイルス性肝炎、単核球症、腎臓障害(ネフローゼ症候群)、セリアック病、アレルギー反応、喘息、アトピー性皮膚炎、がん、特発性血小板減少性紫斑病(ITP)、自己免疫性血小板減少症、免疫性好中球減少症、抗リン脂質症候群、ANCA関連疾患、多発性筋炎、重症筋無力症、糖尿病、自己免疫性甲状腺炎、視神経炎、グレーブス眼症、ギラン・バレー症候群、慢性多発ニューロパシー、急性骨髄性白血病、またはそれらの組み合わせのうちいずれか1つまたは複数である、項目FFのアッセイ法。

20

HH.

免疫媒介性疾患が炎症性腸疾患(IBD)である、項目FFのアッセイ法。

II.

対象が、炎症性腸疾患の処置を受けたか、または受けている、項目HHのアッセイ法。

JJ.

対象が炎症性腸疾患の処置を受けていない、項目HHのアッセイ法。

KK.

IBDが、潰瘍性大腸炎、クローン病、コラーゲン蓄積大腸炎、リンパ球性大腸炎、顕微鏡的大腸炎、虚血性大腸炎、空置性大腸炎、ベーチェット病、不確定大腸炎、またはそれらの組み合わせである、項目HHのアッセイ法。

30

LL.

対象がFc γ R2aのHis131対立遺伝子に関してヘテロ接合性である、項目FFのアッセイ法。

MM.

対象がFc γ R2aのHis131対立遺伝子に関してホモ接合性である、項目FFのアッセイ法。

NN.

一次治療剤が、スルファサラジンのような抗炎症薬；コルチコステロイドのような免疫抑制薬；メルカプトプリン、メトトレキサート、もしくはシクロスポリンのような免疫調節薬；生物学的療法；またはキナーゼ阻害剤のような生物学的経路の小分子阻害剤のうちいずれか1つまたは複数である、項目FFのアッセイ法。

40

OO.

二次治療剤が抗FcRn治療剤を含む、項目FFのアッセイ法。

PP.

抗FcRn治療剤が、FcRnを遮断する薬剤またはFcRnの発現を低減もしくは阻害する薬剤を含む、項目OOのアッセイ法。

QQ.

薬剤が、ペプチド、タンパク質、小分子、核酸、アプタマー、オリゴヌクレオチド、抗体、またはそれらの組み合わせのうちいずれか1つまたは複数である、項目PPのアッセイ

50

法。

RR.

核酸がFcRnに特異的なsiRNAである、項目QQのアッセイ法。

SS.

抗体が、モノクローナル抗体またはその断片、ポリクローナル抗体またはその断片、キメラ抗体、ヒト化抗体、および一本鎖抗体からなる群より選択される、項目QQのアッセイ法。

TT.

薬剤が、Fc γ 受容体およびFcRnに対する結合部位を含む二重特異性薬剤である、項目QQのアッセイ法。

10

UU.

薬剤が、IgGおよびFc γ 受容体に対する結合部位を含む二重特異性薬剤である、項目QQのアッセイ法。

VV.

薬剤が、IgGおよびFcRnに対する結合部位を含む二重特異性薬剤である、項目QQのアッセイ法。

WW.

薬剤が、IgGの組み換えFc部分またはその生物学的に活性な部分またはそのタンパク質模倣体である、項目QQのアッセイ法。

20

XX.

IgGのFc部分またはその生物学的に活性な部分が、哺乳類のものである、項目WWのアッセイ法。

YY.

IgGのFc部分またはその生物学的に活性な部分が、ヒトのものである、項目WWのアッセイ法。

ZZ.

(i) 項目AまたはFF記載のアッセイ法によって治療剤を処方する工程；および

(ii) 対象においてIBDを処置する、阻害する、またはIBDの重症度を低減するように、対象がFc γ R2aのArg131対立遺伝子を発現する場合、一次治療剤を含む組成物の有効量を投与する工程、または対象がFc γ R2aのArg131対立遺伝子を発現する場合、二次治療剤を含む組成物の有効量を投与する工程

30

を含む、必要とする対象においてIBDを処置する、阻害する、またはIBDの重症度を低減するための方法。

AAA.

一次および二次治療剤を含む組成物が連続的にまたは同時に投与される、項目ZZの方法。

BBB.

抗FcRn治療剤に対する対象の応答性を判定するためのシステムであって、サンプルが、免疫媒介性疾患と診断された対象から得られ、該システムが、

(i) 対象から得られたサンプル中に存在する全IgGまたは特異的IgGアイソタイプをコードするmRNAのシグナルを生成するように構成されたサンプル分析器；および

40

(ii) IgG mRNAアイソタイプに基づいて、シグナルが規準値より大きいかまたは大きくないかを計算するようにプログラムされたコンピュータサブシステム

を含む、システム。

CCC.

抗FcRn治療剤に対する対象の応答性を判定するためのシステムであって、サンプルが、免疫媒介性疾患と診断された対象から得られ、該システムが、

(i) 対象から得られたサンプル中に存在する全IgGまたは特異的IgGアイソタイプのシグナルを生成するように構成されたサンプル分析器；および

(ii) IgGアイソタイプに基づいて、シグナルが規準値より大きいかまたは大きくないか

50

を計算するようにプログラムされたコンピュータサブシステムを含む、システム。

DDD.

IgGレベルが減少していれば抗FcRn治療剤に応答性であり、IgGアイソタイプレベルが減少していなければ抗FcRn治療剤に応答性ではないと、対象を分類するアルゴリズムに基づいて、コンピュータサブシステムが、mRNAまたはタンパク質を比較して抗FcRn治療剤に対する対象の応答性の可能性を判定するようにプログラムされている、項目BBBまたはCCCのいずれかのシステム。

EEE.

規準値が、免疫媒介性疾患を有しない対象の集団由来の全IgG、アイソタイプIgG、または抗原特異的IgGの発現レベルの平均または中央値である、項目BBBまたはCCCのいずれかのシステム。

10

FFF.

規準値が、免疫媒介性疾患を有しかつ抗FcRn治療剤に応答する対象の集団由来の全IgG、アイソタイプIgG、または抗原特異的IgGの発現レベルの平均または中央値である、項目BBBまたはCCCのいずれかのシステム。

GGG.

免疫媒介性疾患が、意義不明の単クローン性ガンマグロブリン血症(MGUS)、炎症性腸疾患、天疱瘡もしくは類天疱瘡、重症筋無力症、自己免疫性溶血性貧血、川崎病、多発性骨髄腫、関節リウマチ、全身性エリテマトーデス(SLE)、肝硬変、慢性肝炎、慢性感染症、多発性硬化症(MS)、マクログロブリン血症、ウイルス性肝炎、単核球症、腎臓障害(ネフローゼ症候群)、セリアック病、アレルギー反応、喘息、アトピー性皮膚炎、がん、特発性血小板減少性紫斑病(ITP)、自己免疫性血小板減少症、免疫性好中球減少症、抗リン脂質症候群、ANCA関連疾患、多発性筋炎、重症筋無力症、糖尿病、自己免疫性甲状腺炎、視神経炎、グレーブス眼症、ギラン・バレー症候群、慢性多発ニューロパシー、急性骨髄性白血病、またはそれらの組み合わせのうちいずれか1つまたは複数である、項目BBBまたはCCCのいずれかのシステム。

20

HHH.

免疫媒介性疾患が炎症性腸疾患である、項目BBBまたはCCCのいずれかのシステム。

III.

30

IBDが、潰瘍性大腸炎、クローン病、コラーゲン蓄積大腸炎、リンパ球性大腸炎、顕微鏡的大腸炎、虚血性大腸炎、空置性大腸炎、バーチェット病、不確定大腸炎、またはそれらの組み合わせである、項目HHHのシステム。

JJJ.

コンピュータ上で実行された場合に、

(i) 免疫媒介性疾患を有する対象から得られたサンプル中の全IgG、アイソタイプIgGまたは抗原特異的IgGのレベルを検出する工程; および

(ii) 全IgG、アイソタイプIgG、または抗原特異的IgGのレベルを規準値と比較する工程を含むステップを行うコンピュータ可読媒体に組み込まれたコンピュータプログラム製品。

40

KKK.

規準値が、免疫媒介性疾患を有しない対象の集団由来の全IgG、アイソタイプIgG、または抗原特異的IgGのレベルの平均または中央値である項目JJJのコンピュータプログラム製品。

LLL.

規準値が、免疫媒介性疾患を有しかつ抗FcRn治療剤に応答する対象の集団由来の全IgG、アイソタイプIgG、または抗原特異的IgGのレベルの平均または中央値である、項目JJJのコンピュータプログラム製品。

MMM.

免疫媒介性疾患が炎症性腸疾患である、項目JJJ~LLLのいずれかのコンピュータプログ

50

ラム製品。

NNN.

IBDが、潰瘍性大腸炎、クローン病、コラーゲン蓄積大腸炎、顕微鏡的大腸炎、リンパ球性大腸炎、虚血性大腸炎、空置性大腸炎、ベーチェット病、不確定大腸炎、またはそれらの組み合わせである、項目MMMのコンピュータプログラム製品。

000.

(i) 疾患状態を有する対象からの生体サンプルを用意する工程、

(ii) Fc γ R2aの対立遺伝子を決定するためにサンプルをアッセイする工程、ならびに

(iii) 対象がFc γ R2aのArg131対立遺伝子を発現する場合、対象を一次治療剤および任意で二次治療剤のために選択し、かつ対象がFc γ R2aのHis131対立遺伝子を発現する場合、二次治療剤を選択する工程

を含む、疾患状態を有する対象のために治療剤を選択するための、および治療剤を任意で投与するためのアッセイ法。

10

PPP.

二次治療剤が抗FcRn治療剤を含む、項目000のアッセイ法。

QQQ.

抗FcRn治療剤が、FcRnを遮断する薬剤またはFcRnの発現を低減もしくは阻害する薬剤を含む、項目PPPのアッセイ法。

RRR.

薬剤が、ペプチド、タンパク質、小分子、核酸、アプタマー、オリゴヌクレオチド、抗体、またはそれらの組み合わせのうちいずれか1つまたは複数である、項目QQQのアッセイ法。

20

SSS.

核酸がFcRnに特異的なsiRNAである、項目RRRのアッセイ法。

TTT.

抗体が、モノクローナル抗体またはその断片、ポリクローナル抗体またはその断片、キメラ抗体、ヒト化抗体、および一本鎖抗体からなる群より選択される、項目RRRのアッセイ法。

UUU.

薬剤が、Fc γ 受容体およびFcRnに対する結合部位を含む二重特異性薬剤である、項目RRRのアッセイ法。

30

VVV.

薬剤が、IgGおよびFc γ 受容体に対する結合部位を含む二重特異性薬剤である、項目RRRのアッセイ法。

WWW.

薬剤が、IgGおよびFcRnに対する結合部位を含む二重特異性薬剤である、項目RRRのアッセイ法。

XXX.

薬剤が、IgGの組み換えFc部分またはその生物学的に活性な部分またはそのタンパク質模倣体である、項目RRRのアッセイ法。

40

YYY.

IgGのFc部分またはその生物学的に活性な部分が、哺乳類のものである、項目XXXのアッセイ法。

ZZZ.

IgGのFc部分またはその生物学的に活性な部分が、ヒトのものである、項目XXXのアッセイ法。

AAAA.

サンプルが組織または体液である、項目A、FF、または000記載のアッセイ法。

BBBB.

サンプルが、血清もしくは血液；鼻、中咽頭、胃腸管、胆管、もしくは尿生殖器管から

50

の身体分泌物；任意の器官の組織生検；脳脊髄液、眼液、もしくは関節液のような組織液；またはそれらの組み合わせである、項目AAAAのアッセイ法。

CCCC.

(i) 全IgG、アイソタイプIgG、または抗原特異的IgGに対する検出可能な標識プローブまたはプライマーの組み合わせを含む10種未満のプローブ；および

(ii) 項目62記載のコンピュータプログラム製品を含む、抗FcRnに応答する免疫媒介性疾患を有する対象の可能性を判定するための診断キット。

【実施例】

【0138】

以下の実施例は、主張する本発明をよりよく例証するために提供されており、本発明の範囲を限定するものと解釈されるべきではない。具体的な材料が言及される程度において、単に例示を目的とするものであり、本発明を限定することを意図するものではない。当業者は、発明の能力を実行することなく、かつ、本発明の範囲から逸脱することなく、同等の手段または反応物質を開発しうる。

【0139】

本明細書において記載するように、Fc γ R2aのH131変種は、白色人種および非白色人種の両方においていくつかの免疫媒介性疾患の遺伝的リスク対立遺伝子であり、したがってこの対立遺伝子を有する個体は特異的な免疫媒介性疾患に対していっそう高いリスクを示す。IgG2に対していっそう高い親和性を示すことに加えて、Fc γ R2aのHis変種は、IgG2およびIgG1免疫複合体に結合した場合、はるかに強力なシグナル伝達を示し、これは炎症性サイトカインの産生の増加、ならびに免疫複合体に結合した抗原のMHCクラスIおよびMHCクラスII提示の両方の増強に関連している。Fc γ R2a His131 (NM_001136219.1によればHis167としても知られている)対立遺伝子によって増加するサイトカインの中には、IL-12がある。

【0140】

His対立遺伝子による過剰な免疫複合体結合およびシグナル伝達に関連するT細胞の、増加したシグナル伝達および抗原提示、かくして活性化は、抗原提示細胞によるFcRn発現の遮断または排除によって抑止される。このことから、本明細書において記載するように、Fc γ R2a-His131 (NM_001136219.1によればHis167としても知られている)対立遺伝子を有するいずれの個体も、はるかに大きなIgG駆動型の炎症を示すものと予測され、FcRnを標的とした治療剤による炎症の遮断がこの炎症を排除するものと予測される。

【0141】

免疫複合体へのFc γ R2a131Hisの結合を分析した。メイディン・ダービー・イヌ腎臓(MDCK)細胞に、Fc γ R2a131Arg対立遺伝子を発現するベクター、Fc γ R2a131His対立遺伝子を発現するベクター、または対照ベクターをトランスフェクションした。異なるサブクラスのIgGと複合体化されたF(ab)₂断片からなるヒト免疫複合体の結合を、フローにより表示濃度で評価した。図1に示すように、Fc γ R2a131His対立遺伝子はFc γ R2a131Argよりも効率的にヒト免疫複合体を結合する。

【0142】

サイトカイン発現に及ぼすFc γ R2a131Hisの効果を評価した。マウス白血病単球マクロファージ(RAW 264.7)細胞に、Fc γ R2a131Arg対立遺伝子を発現するベクター、Fc γ R2a131His対立遺伝子を発現するベクター、または対照ベクターを安定的にトランスフェクションした。トランスフェクションした細胞を、IgG1-NIP結合OVA免疫複合体(IgG1)またはポリマーNIP-OVA免疫複合体(PC)で刺激した。NIPに特異的なFab領域を含んだキメラ抗体を用いて、免疫複合体を作製した(SM Claypool, Mol Biol Cell 2004 15:1746-59)。サイトカイン産生をqPCRによって評価した。異なるサブクラスのIgGと複合体化されたF(ab)₂断片からなるヒト免疫複合体の結合を、フローにより表示濃度で評価した。図2に示すように、Fc γ R2a131Hisは、Fc γ R2a131Argと比較して、免疫複合体による刺激時にサイトカイン発現の増加を媒介する。

10

20

30

40

50

【0143】

下流シグナル伝達に及ぼすFc γ R2a131Hisの効果を評価した。RAW 264.7マクロファージをFc γ R2a131Arg、Fc γ R2a131His、またはベクター対照で安定的にトランスフェクションし、表示時点の間にIgG1-NIP OVA免疫複合体で刺激した。初期のアダプター分子であるリン酸化SYK (pSYK)が最初に沈降し、その後、結合したhCD32がウエスタンブロッティングによって検出された(図3a)。全細胞SYKが最初に沈降し、その後、リン酸化SYK (pSYK)がウエスタンブロッティングによって検出された(図3b)。図3に示すように、Fc γ R2a131Hisは、Fc γ R2a131Argと比較して、免疫複合体による刺激時に下流シグナル伝達の増加を示す。

【0144】

Fc γ R2aのHis変種は、IgG2およびIgG1免疫複合体に結合した場合にはるかに強力なシグナル伝達を示し、これは炎症性サイトカインの産生の増加、ならびに免疫複合体に結合した抗原のMHCクラスIおよびMHCクラスII提示の両方の増強に関連している。図4A中のMHC I I抗原提示の場合、RAW 264.7マクロファージを、Fc γ R2a131Arg、Fc γ R2a131His、またはベクター対照で安定的にトランスフェクションし、表示濃度のIgG1-NIP OVA免疫複合体で刺激した。3時間後、OVA特異的CD4⁺ T細胞を添加し、24時間インキュベートし、CD4⁺ T細胞からのIL-2放出をELISAによって測定した。図4B中のMHC I交差提示の場合、H2-k^b発現HEK293T細胞マクロファージを、Fc γ R2a131Arg、Fc γ R2a131His、またはベクター対照で安定的にトランスフェクションし、表示濃度のIgG1-NIP OVA免疫複合体で刺激した。3時間後、OVA特異的CD8⁺ T細胞を添加し、24時間インキュベートし、CD4⁺ T細胞からのIL-2放

【0145】

GFPタグ付きのヒトFcRnを発現するHEK293細胞に、Fc γ R2a131Arg対立遺伝子を発現するベクター、Fc γ R2a131His対立遺伝子を発現するベクター、または対照ベクターを安定的にトランスフェクションした。トランスフェクションした細胞を、ヒトIgG2を含む免疫複合体で刺激した。図5に示すように、Fc γ R2a131Hisは、Fc γ R2a131Argよりも効率的に免疫複合体を内部移行させ、それらを、FcRnを含む細胞内区画へ移行させる。

【0146】

FcRn媒介性のMHC II提示およびMHC I交差提示の役割を、IL-2放出に応じて評価した。JAWS II樹状細胞をレンチウイルスにより、shRNAサイレンシングFcRn発現ウイルスまたは対照ウイルスで安定的に形質導入した。細胞を、IgG1を含んだNIP-OVA免疫複合体で3時間および抗原特異的CD4⁺ T細胞(左パネル)または抗原特異的CD8⁺ T細胞(右パネルを加えた)で刺激した。IL-2放出をELISAによって測定した。図6に示すように、FcRnは、免疫複合体化された抗原が提供される場合、MHC II抗原提示およびMHC I交差提示に不可欠なメディエーターである。

【0147】

Fc γ R2a131ARGまたはFc γ R2a131Hisを安定的に発現するRAWマクロファージを、野生型IgG1 NIP-OVA免疫複合体(WT)、非FcRn結合IgG1 NIP-OVA免疫複合体(IHH)、または非Fc γ R結合免疫複合体(N297a)で3時間刺激した。その後、抗原特異的CD4⁺ T細胞を添加し、CD4⁺ T細胞からのIL-2放出をELISAによって測定した。図7に示すように、Fc γ R2aで開始される抗原提示の増強は、FcRnまたはFc γ R結合の喪失によって抑止される。

【0148】

骨髄由来の樹状細胞を、IgGとFcRnの相互作用を遮断する抗体DVN24とともに予めインキュベートした。骨髄由来の樹状細胞を、IgGとFcRnの相互作用を遮断する抗体DVN24とともに予めインキュベートした。図8に示すように、広い濃度範囲にわたって、DVN24は、抗原特異的CD4⁺ T細胞からのIL-2放出によって示されるように、アイソタイプ対照と比較して、免疫複合体由来の抗原のMHC II提示を有意に低減する。

【0149】

骨髄キメラマウスを作製し(図9a)、細菌フラジェリンで免疫して高力価の抗細菌IgGを

誘導した。その後のデキストラン硫酸ナトリウム大腸炎の際に、100 ugのDVN24の腹腔内投与を毎日受けたマウスは、体重変化(図9b)および組織学的大腸炎スコアリング(図9cおよびd)によって評価された場合、アイソタイプ対照処置マウスと比較して、大腸炎の発症から比較的守られた。図9に示すように、造血細胞におけるDVN24を用いたhFcRnの薬理的遮断によって、IgG媒介性大腸炎の発症から保護された。

【0150】

CD8⁺ T細胞および炎症性サイトカインに及ぼすFcRn遮断の効果を評価した。骨髓区画においてヒトFcRnを発現するマウス、または骨髓におけるFcRn発現のない骨髓キメラマウスにフラジェリンを免疫して、高力価の抗細菌IgGを誘導した。その後のデキストラン硫酸ナトリウム大腸炎の際に、100 ugのDVN24の腹腔内投与を毎日受けたヒトFcRnキメラマウスは、アイソタイプ対照で処置したヒトFcRnキメラマウスと比較して、または造血区画におけるFcRn発現のないマウスと比較して固有層において低いCD8⁺ T細胞数を示した(図10、上パネル)。さらに、大腸炎の際にDVN24で腹腔内処置したヒトFcRnキメラマウスは、アイソタイプ対照処置マウスと比較して全結腸での(図10左下パネル)および固有層リンパ球画分からの(図10右下パネル)炎症性サイトカインの発現が有意に低かった。これらのデータは、DVN24モノクローナル抗体によるFcRnの薬理的遮断が、CD8⁺ T細胞の数および炎症性サイトカインの発現を腸において減少させることを示す。

10

【0151】

CD4⁺ T細胞に及ぼすFcRn遮断の効果を評価した。DSS大腸炎の際にDVN24またはアイソタイプ対照で処置したhFCGRT/hβ2M/mFcgrt^{-/-} BMキメラおよびDSS大腸炎の際にPBSで処置したmFcgrt^{-/-} BMキメラの固有層から単離されたCFSE標識CBirフラジェリン特異的CD4⁺ T細胞の増殖。DSS大腸炎の際にDVN24またはアイソタイプ対照で処置したhFCGRT/hβ2M/mFcgrt^{-/-} BMキメラおよびDSS大腸炎の際にPBSで処置したmFcgrt^{-/-} BMキメラの固有層(LP)または腸間膜リンパ節(MLN)から単離されたCD11c⁺ DC細胞を抗原提示細胞として用いたエクスピボ抗原提示アッセイ法におけるCBirフラジェリン特異的CD4⁺ T細胞からのIL-2産生。図11に示すように、DVN24モノクローナル抗体によるFcRnの薬理的阻害は、IgG依存性大腸炎における共生生物特異的なCD4⁺ T細胞活性化を減少させる。

20

【0152】

マウスIgGを含んだ免疫複合体へのヒトFcRnの機能的結合を評価した。ヒト単球由来DCを、表示された時間、IgG ICまたはFcRn非結合IHH-IgGとともにインキュベートした。細胞を溶解させ、抗CD16/CD32 (抗FcγRIII/FcγRII)で沈降させた。沈降したタンパク質をSDS-PAGEゲルによって分離し、ウエスタンブロッティングのためにニトロセルロース膜に転写した。この膜を抗hFCGRT抗体でプローブした。図12に示すように、多量体IgG免疫複合体によるFcRnの結合は、FcγRとの持続的相互作用をもたらす。

30

【0153】

本発明者らは抗原提示細胞におけるヒトFcRnとヒトFcγRの共結合を分析した。WT、Fcgrt^{-/-}、およびFCGRT/hβ2M/mFcgrt^{-/-}から単離された骨髓由来CD11c⁺ DCを、抗原提示細胞として用いた。DCを、ポリクローナルマウスIgGと複合体化されたNIP-OVAに曝露し、洗浄し、OVA特異的CD4⁺ T細胞と共培養した。図13に示すように、ヒトFcRnは、マウスIgG免疫複合体に応答してWT FcRnと同じくらい効率的にCD4⁺ T細胞への抗原提示を媒介する。

40

【0154】

hFcγR2a₁₃₁HisおよびhFcγR2a₁₃₁ArgのヒトIgGアイソタイプへの結合を評価した。中性pHでMDCK細胞の細胞表面上に発現されるhFcγRIIa変種に対するさまざまなアイソタイプの蛍光標識ヒトIgG免疫複合体の結合。図14に示すように、hFcγR2a₁₃₁Hisは、多数のIgGアイソタイプにわたってhFcγR2a₁₃₁Argよりも強い結合を示す。

【0155】

上記のさまざまな方法および技法は、本出願を実行するための多くの方法を提供する。もちろん、必ずしも記載する目的または利点の全てを、本明細書において記載する任意の特定の態様にしたがって達成できるわけではないことが理解されるべきである。したがって、例えば、当業者は、本明細書において教示された1つまたは1群の利点を、本明細書に

50

において教示または提示された他の目的または利点を必ずしも達成することなく達成または最適化するように、本方法を実行できることを認識するであろう。種々の代替物が、本明細書において述べられている。いくつかの好ましい態様は、具体的には、1つの、別のまたはいくつかの特徴を包含するが、一方、他の態様は、具体的には、1つの、別のまたはいくつかの特徴を除外し、一方、さらに他の態様は、1つの、別のまたはいくつかの有利な特徴の包含により特定の特徴を軽減することが理解されるべきである。

【0156】

さらに、当業者は、異なる態様からさまざまな特徴の適用可能性を認識するであろう。同様に、当業者は、本明細書において記載する原理にしたがって方法を実施するために、上記のさまざまな要素、特徴および工程、ならびに各々のこのような要素、特徴または工程に関する他の既知の等価物をさまざまな組み合わせで採用することができる。さまざまな要素、特徴、および工程の中で、多様な態様に特定の態様に包含されるものもあれば、特定の態様に除外されるものもある。

10

【0157】

ある種の態様および実施例に関連して本出願を開示してきたが、本出願の態様は具体的に開示された態様を越えて他の代替的態様ならびに/またはその使用および修正および等価物にまで広がるのが当業者に理解されよう。

【0158】

いくつかの態様において、本出願の特定の態様の記述に関して(とりわけ、特定の以下の特許請求の範囲に関して)用いられる「1つの(a)」および「1つの(an)」および「該、その(the)」という用語ならびに類似した指示対象は、単数および複数の両方を網羅するものと解釈することができる。本明細書における値の範囲の列挙は、単に、範囲内に入る別々の各値を個々にさす略記法として用いられているものと意図される。本明細書において他に示されない限り、個々の値は、各々、あたかも個々に本発明に列挙されたかのごとく、本明細書に組み入れられる。本明細書において他に示されない限り、または状況により明白に否定されない限り、本明細書において記載した全ての方法は、任意の適当な順序で実施されうる。本明細書においてある種の態様に関して提供された全ての任意の例、または例示的な語(例えば、「のような」)の使用は、本出願をよりよく説明するために意図されるに過ぎず、別途主張される本出願の範囲に制限をかけるものではない。本明細書中の語は、本出願の実践にとって不可欠な任意の、主張されていない要素を示すものと解釈されるべきではない。

20

30

【0159】

本出願を実施するための、本発明者らが知る最良の形態を含む本出願の好ましい態様を、本明細書において記載する。それらの好ましい態様の変動が、上記の記載を読み取ることにより、当業者に明白になるであろう。当業者は、適宜、そのような変動を利用しうるのが企図され、本明細書において具体的に記載したもの以外にも本出願が実践されうるのが企図される。したがって、本出願の多くの態様は、適用可能な法律により許容されるように、本明細書に添付された特許請求の範囲において列挙された主題の全ての修飾および等価物を含む。さらに、本明細書において他に示されない限り、または状況により明白に否定されない限り、全ての可能な変動における上記の要素の任意の組み合わせが、本出願に包含される。

40

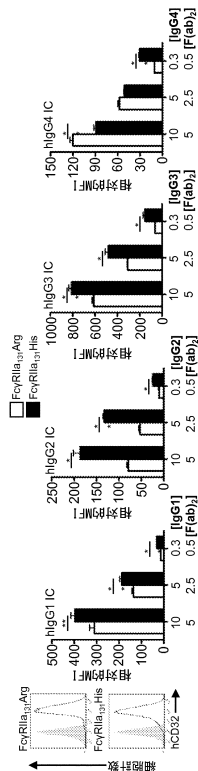
【0160】

本明細書において参照される特許、特許出願、特許出願の刊行物、および他の資料、例えば論文、書物、仕様書、刊行物、文書、事柄などおよび/またはその他は全て、全ての目的のために、本参照によりその全体が本明細書に組み入れられるが、ただし、それらに関連した任意の審査履歴、本発明の文書と一致しないかまたは矛盾するそれらのいずれか、あるいは本発明の文書にここでまたは後に関連する特許請求の最も広い範囲に関して限定的影響を及ぼしうるそれらのいずれかは除外する。例として、組み入れられた資料のいずれかと関連する記述、定義、および/または用語の使用と、本発明の文書と関連するものとの間に何らかの不一致または矛盾が存在する場合、本発明の文書における記述、定義

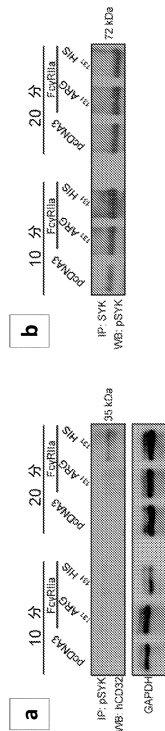
50

【 0 1 6 1 】

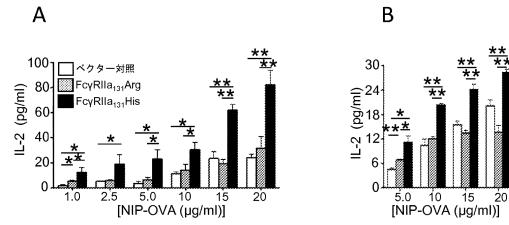
【図 1】

[illegible]

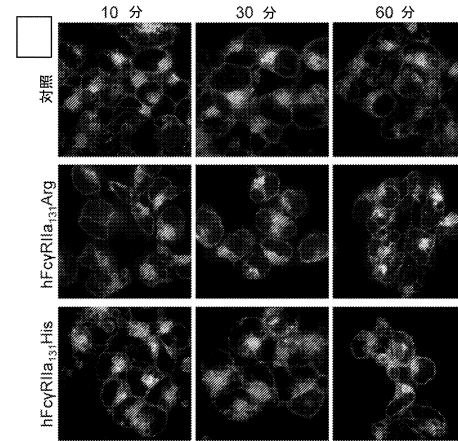
【図 3】



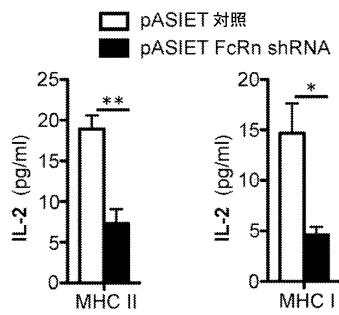
【図 4】



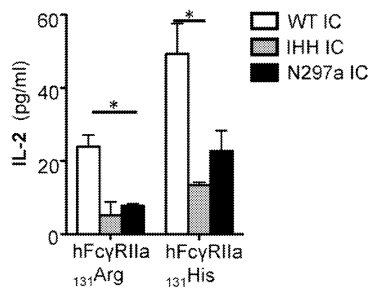
【図 5】



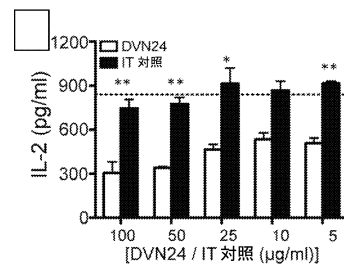
【図 6】



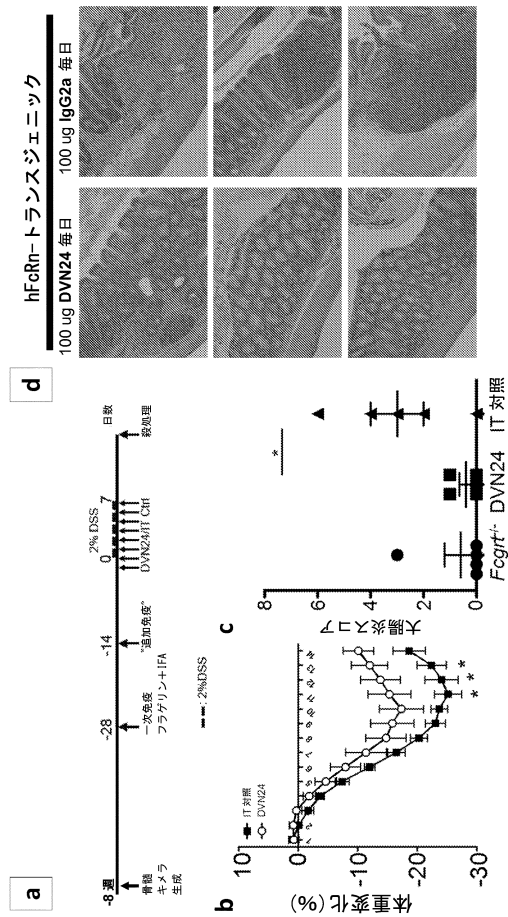
【図 7】



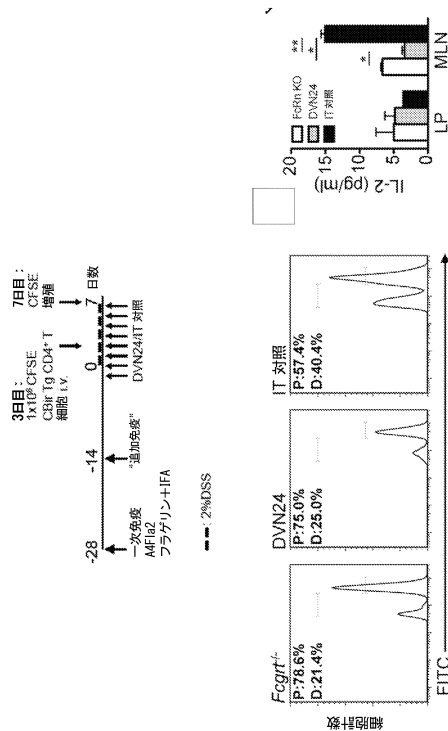
【図 8】



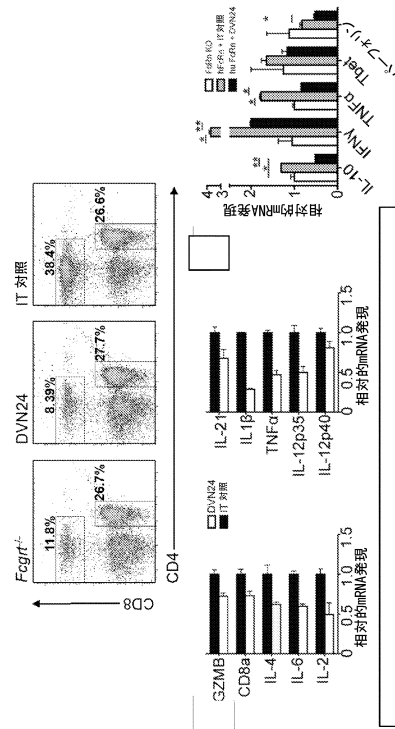
【図 9】



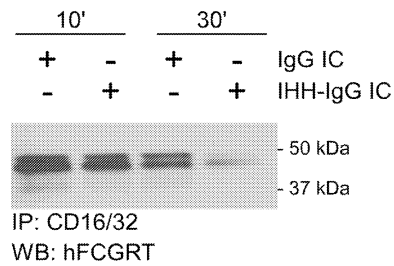
【図 11】



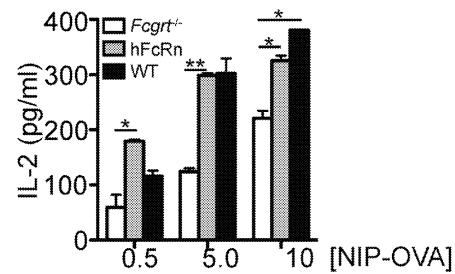
【図 10】



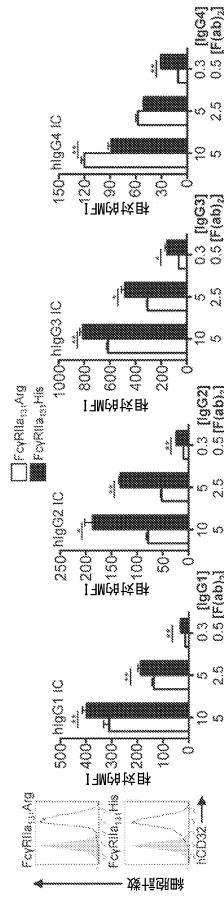
【図 12】



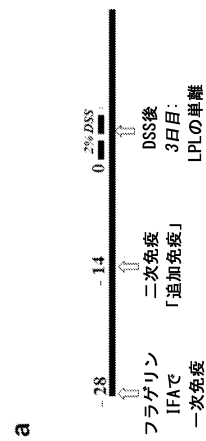
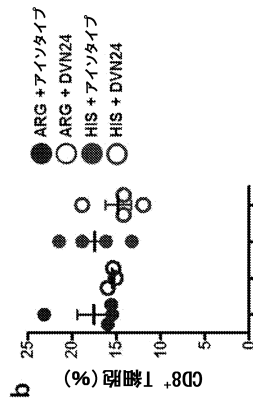
【図 13】



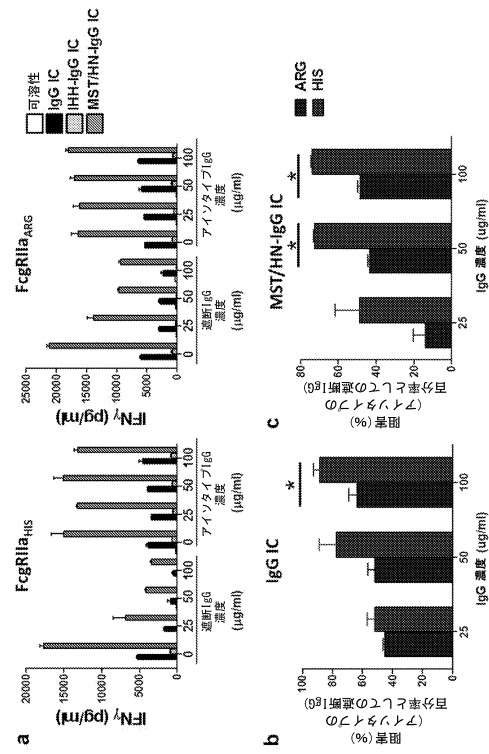
【図 14】



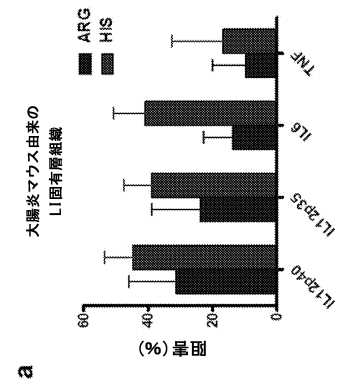
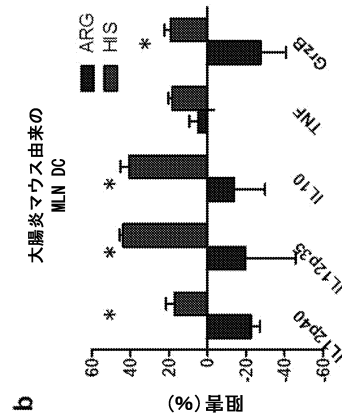
【図 16】



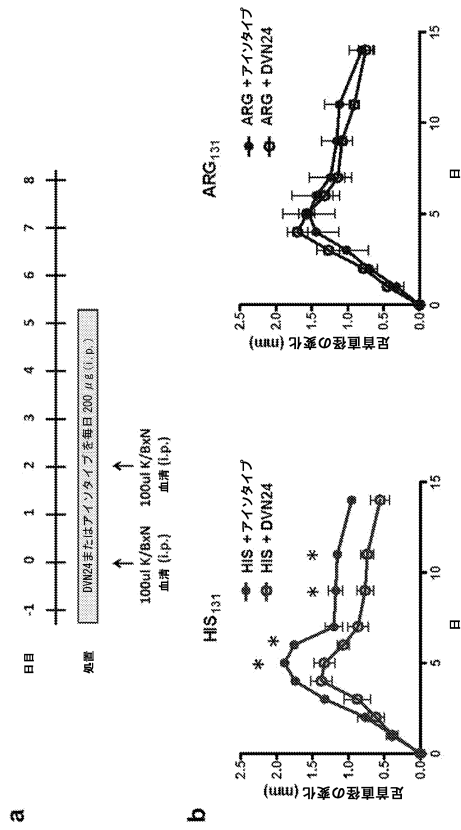
【図 15】



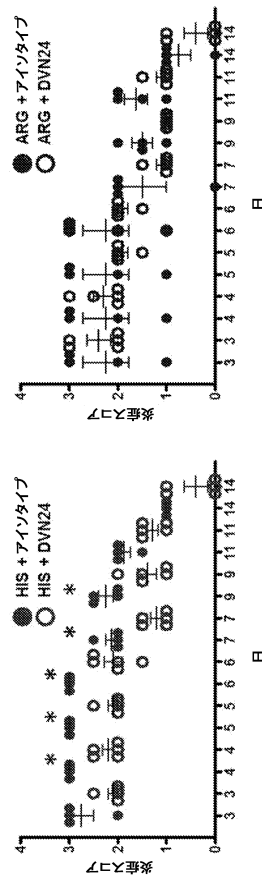
【図 17】



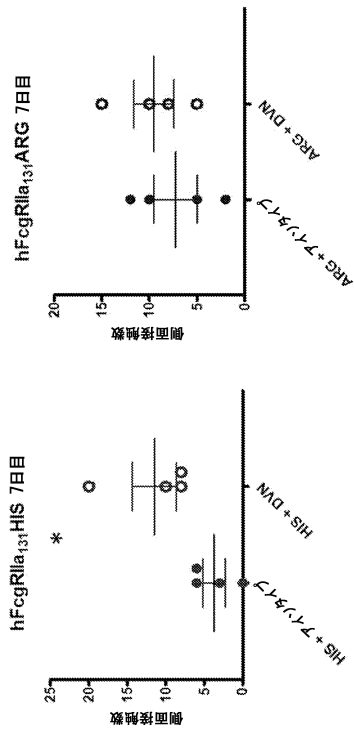
【図 18】



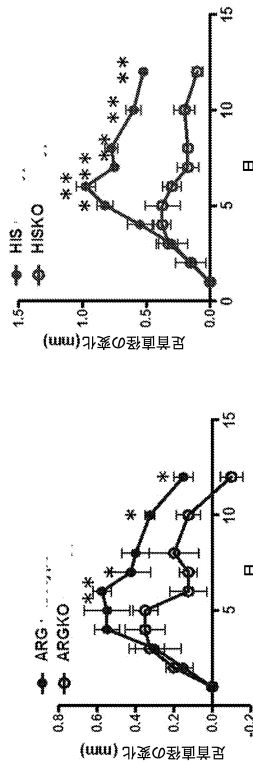
【図 19】



【図 20】



【図 21】



【配列表】

0006789117000001.app

フロントページの続き

(51)Int.Cl.

F I

A 6 1 P 43/00 (2006.01)
A 6 1 K 39/395 (2006.01)
A 6 1 P 37/02 (2006.01)
 C 0 7 K 16/00 (2006.01)
 C 1 2 N 15/113 (2010.01)
 C 1 2 N 15/115 (2010.01)
 A 6 1 K 31/713 (2006.01)

A 6 1 P 43/00 1 2 1
 A 6 1 K 39/395 D
 A 6 1 K 39/395 N
 A 6 1 P 37/02
 C 0 7 K 16/00
 C 1 2 N 15/113
 C 1 2 N 15/115
 A 6 1 K 31/713

(74)代理人 100119507

弁理士 刑部 俊

(74)代理人 100142929

弁理士 井上 隆一

(74)代理人 100148699

弁理士 佐藤 利光

(74)代理人 100128048

弁理士 新見 浩一

(74)代理人 100129506

弁理士 小林 智彦

(74)代理人 100205707

弁理士 小寺 秀紀

(74)代理人 100114340

弁理士 大関 雅人

(74)代理人 100114889

弁理士 五十嵐 義弘

(74)代理人 100121072

弁理士 川本 和弥

(72)発明者 ブラムバーグ リチャード エス.

アメリカ合衆国 0 2 4 5 1 マサチューセッツ州 ウォルサム フォックス ロード 1 9 5
 ユニット 1 0 1

(72)発明者 ベイカー クリスティ

カナダ ティー6ジー 1エイチ7 アルバータ州 エドモントン ワンハンドレッド アンド
 イレヴンス ストリート ノースウエスト 8 5 1 0 # 1 3 0 6

(72)発明者 ラス ティモ

アメリカ合衆国 0 2 4 4 5 マサチューセッツ州 ブルックライン ワシントン ストリート
 4 4 アpartment 3 1 6

審査官 西浦 昌哉

(56)参考文献 米国特許出願公開第2010/0291549 (US, A1)

特表2007-515185 (JP, A)

米国特許出願公開第2012/0094291 (US, A1)

特表2008-538919 (JP, A)

特表2011-523351 (JP, A)

米国特許出願公開第2006/0008825 (US, A1)

米国特許出願公開第2005/0075306 (US, A1)

韓国公開特許第10-2012-0099862 (KR, A)

米国特許出願公開第2005/0260680 (US, A1)
米国特許出願公開第2010/0254971 (US, A1)
米国特許出願公開第2014/0105913 (US, A1)

(58)調査した分野(Int.Cl., DB名)

G01N 33/48-33/98