(19)日本国特許庁(JP)　(12)公表特許公報(A)　(11)特許出願公表番号
特表2005-538115
(P2005-538115A)
(43)公表日　平成17年12月15日(2005.12.15)

(51)Int.Cl.[7]	F I	テーマコード（参考）
A61K 45/00	A61K 45/00	4C084
A61K 31/16	A61K 31/16	4C085
A61K 35/28	A61K 35/28	4C086
A61K 35/39	A61K 35/39	4C087
A61P 1/04	A61P 1/04	4C206

審査請求 未請求　予備審査請求 未請求　（全 21 頁）　最終頁に続く

(21)出願番号　特願2004-525386 (P2004-525386)
(86)(22)出願日　平成15年7月30日 (2003.7.30)
(85)翻訳文提出日　平成17年3月23日 (2005.3.23)
(86)国際出願番号　PCT/EP2003/008436
(87)国際公開番号　WO2004/012768
(87)国際公開日　平成16年2月12日 (2004.2.12)
(31)優先権主張番号　0217777.2
(32)優先日　平成14年7月31日 (2002.7.31)
(33)優先権主張国　英国(GB)

(71)出願人　597011463
ノバルティス　アクチエンゲゼルシャフト
スイス国、４０５６　バーゼル、リヒトシュトラーセ　３５
(74)代理人　100062144
弁理士　青山　葆
(74)代理人　100067035
弁理士　岩崎　光隆
(74)代理人　100064610
弁理士　中嶋　正二
(74)代理人　100072730
弁理士　小島　一晃
(72)発明者　アンドレアス・カトポディス
スイス、ツェーハー－４１０４オーバーヴィル、シュタレンマットシュトラーセ２番
最終頁に続く

(54)【発明の名称】ＬＦＡ－１インヒビターおよび同時刺激インヒビターおよび／またはｍＴＯＲインヒビターの組合せを用いる寛容誘導

(57)【要約】
レシピエントにおいて、ドナーの細胞、組織または器官に対してＴまたはＢ細胞を誘導または調節する方法であって、当該レシピエントに、同時刺激インヒビターおよび／またはｍＴＯＲインヒビターと組み合わせたＬＦＡ－１インヒビターを投与することを含む方法。

【特許請求の範囲】
【請求項１】
レシピエントにおいて、ドナーの細胞、組織または器官に対してＴまたはＢ細胞を誘導または調節する方法であって、当該レシピエントに、同時刺激インヒビターおよび／またはｍＴＯＲインヒビターと組み合わせたＬＦＡ－１インヒビターを投与することを含む方法。
【請求項２】
ドナーからの細胞、組織または臓器移植のレシピエントにおいて造血キメラ現象を誘導する方法であって、当該レシピエントに、
（ｉ）ドナーからの骨髄細胞または他の前駆体細胞；および
（ｉｉ）同時刺激インヒビターおよびｍＴＯＲインヒビターから選択される少なくとも１つの併用剤と組み合わせたＬＦＡ－１インヒビター
を投与することを含んでなる方法。
【請求項３】
糖尿病の処置方法であって、かかる処置を必要としている対象に、請求項２において定義した（ｉ）および（ｉｉ）に加えて、（ｉｉｉ）同種異系膵島細胞または他のインスリン誘導細胞を投与することを含んでなる方法。
【請求項４】
処置を必要としている対象において活性化Ｔ細胞のアポトーシスを誘導する方法であって、当該対象に、同時刺激インヒビターおよびｍＴＯＲインヒビターから選択される少なくとも１つの併用剤と組み合わせたＬＦＡ－１インヒビターの治療上有効量を投与することを含んでなる方法。
【請求項５】
対象における免疫寛容を誘導または調節することによる、対象のリンパ球様細胞の活性化に依存する免疫障害または疾患の進行遅延、重度の減弱化、抑制、軽減または処置のための方法であって、当該対象に同時刺激インヒビターおよびｍＴＯＲインヒビターから選択される少なくとも１つの併用剤と組み合わせたＬＦＡ－１インヒビターの治療上有効量を投与することを含んでなる方法。
【請求項６】
処置を必要としている対象において悪性腫瘍を処置する方法であって、完全または混合造血キメラ現象を達成するために、当該対象に、請求項２において定義した細胞（ｉ）および製品（ｉｉ）を投与することを含んでなる方法。
【請求項７】
非悪性疾患の骨髄機能不全の処置方法であって、完全または混合造血キメラ現象を達成するために、当該対象に、請求項２において定義した細胞（ｉ）および製品（ｉｉ）を投与することを含んでなる方法。
【請求項８】
レシピエントまたは対象に、１５－デオキシスペルガリンまたはそれらの免疫抑制ホモログ、アナログもしくは誘導体を投与することをさらに含む、請求項１～７のいずれかに記載の方法。
【請求項９】
請求項１～８のいずれか１項に記載した方法における、同時刺激インヒビターおよびｍＴＯＲインヒビターから選択される少なくとも１つの併用剤と組み合わせたＬＦＡ－１インヒビターの使用。
【請求項１０】
（ａ）ＬＦＡ－１インヒビター；および
（ｂ）同時刺激インヒビターおよびｍＴＯＲインヒビターから選択される少なくとも１つの併用剤
を含む医薬組合せ剤。
【請求項１１】

請求項１～８のいずれか１項に記載の方法において使用するための請求項１０に記載の組合せ剤。
【請求項１２】
１５－デオキシスペルガリンまたはそれらの免疫抑制ホモログ、アナログもしくは誘導体をさらに含む、請求項１０または１１に記載の組合せ剤。
【発明の詳細な説明】
【発明の詳細な説明】
【０００１】
本発明は、移植寛容、自己免疫疾患、遺伝的欠損および癌のためのストラテジーとして造血キメラ現象の誘導のための免疫調節に関する。
【０００２】
この２０年間にわたって、臓器移植は、末期の臓器不全を有する患者のための通常の治療法の選択肢となった。臓器移植後の短期および長期の両方の結果が改善された；それにもかかわらず、長期の罹病率および死亡率は依然として大きな問題のままである。臓器移植レシピエントが残りの生活において必要とする慢性免疫抑制は、慢性拒絶による移植片損失の予防に頻繁に失敗し、そして感染、悪性腫瘍、腎臓毒性および代謝障害を含む重度の副作用を伴う。免疫寛容の誘導は、同種移植の分野のみならず、一定の自己免疫疾患においてもこれらの急を要する問題に対する解決法を提供し得る。
【０００３】
「免疫寛容」は、選択した抗原に対してインビボでの免疫産生（productive immunity）の特異的欠損を意味する。したがって、同種抗原に対する免疫寛容は、感染または他の免疫学的刺激に対するレシピエントの正常な免疫応答を維持しながら、移植片拒絶を予防する。
【０００４】
キメラ現象は、宿主内のドナー由来細胞の確立を表す。多くの実験および臨床の目的で、キメラ現象の誘導は造血細胞について調べられ、そしてドナーの骨髄または骨髄由来幹細胞の移植に関与する。
【０００５】
宿主の予備的調整に依存して、これは、宿主内に共存するドナーおよび宿主の両方の型の細胞を有する混合キメラ現象として、またはドナー型の細胞が一式の宿主細胞に置き換わる完全キメラ現象として発症し得る。本発明の目的のために、キメラ現象とは、１またはそれ以上の血液細胞分画、たとえば顆粒球、リンパ球内の５％またはそれ以上のドナー由来細胞として定義されるマクロキメラ現象（macro-chimerism）を意味する。
【０００６】
造血キメラ現象の主要な適用は、同種抗原に対する中心性胸腺性寛容（central thymic tolerance）の誘導である。中心性免疫寛容は、自己抗原に高い親和性を有する発達中のＴ細胞が胸腺において除去されるプロセスを表す。操作されていない免疫系において、中心性寛容（central tolerance）は、自己抗原に制限される。キメラ造血系において、ドナー由来の抗原提示細胞は、宿主の胸腺に定住し、そして宿主およびドナーの両方に由来するＴ細胞前駆体に対する同種抗原の大きなレパートリーを提示する。
【０００７】
その結果、同種抗原は新自己抗原（neo-self antigen）とみなされ、そして寛容され得る。これは、可能性のある免疫寛容の最も安定な形態である。比較的非選択的な免疫抑制剤で今なお経験する問題および副作用の観点から、造血キメラ現象の誘導を経由する中心性寛容は治療的インターベンションのための非常に望ましい目標と考えられる。
【０００８】
混合または完全造血キメラ現象は、また、造血性および他の悪性腫瘍ならびに異常血色素症および免疫不全症の処置においても治療上有用であり得る。
【０００９】
造血キメラ現象を確立するために、レシピエントは、

１．レシピエントの前駆体細胞プールの恒常性制御（homeostatic regulation）による対抗に対するドナーの造血性前駆体細胞の移植を可能にし、そして
２．中心性寛容が確立されるまでのレシピエントの免疫応答からのドナー造血性前駆体を保護する
前処置を必要とする。

【００１０】

レシピエント自体の前駆体細胞数を減少させるためのよくある方法は、ブスルファン、フルダラビンなどの骨髄抑制剤、または、放射線を用いるものである。これらの処置は有害であり、そして大幅に減少した用量での、またはかかる剤を使用せずに造血キメラ現象を達成する方法は患者にとって大きな利益であろう。

【００１１】

中心性寛容が達成されるまでドナーの造血性細胞を保護するために、レシピエントの短期免疫調節がドナー細胞に対する同種免疫応答の産生を予防するために必要とされる。

【００１２】

この種の免疫調節は、不完全な胸腺での除去（incomplete thymic deletion）および改変されたパターンの自己認識による自己抗原に対する免疫の産生を予防するための末梢における「バックアップ」寛容のための生理学的免疫ストラテジーへの洞察を活用し得る。末梢寛容の１つの顕著な特徴は、同起源の抗原介在性相互作用中の、Ｔ細胞およびＡＰＣの間に形成された一定の同時刺激性レセプター／リガンド対の欠如である。ＡＰＣおよびＴ細胞の間の同時刺激性「クロストーク」の形成は免疫の産生に必須である。

【００１３】

したがって、インビボでの同時刺激ブロックは、しばしば、実験的誘導および／または末梢寛容の維持のための選択のストラテジーであり得る。したがって、キメラ現象の誘導のためにブロックされた遠隔性、主要同時刺激性経路は、ＣＤ４０／ＣＤ４０ＬおよびＣＤ２８／ＣＤ８０／ＣＤ８６リガンドレセプター対である。他の実験系において、ＩＣＯＳ、ＯＸ－４０、および（とりわけ）４－１ ＢＢも提案されてきた。

【００１４】

今回、驚くべきことに、インビボでのＬＦＡ－１の阻害を介する、安定、多系列の造血キメラ現象の誘導方法が見いだされた。

【００１５】

本発明の特定の知見にしたがって、以下のものが提供される。

１.１ レシピエントにおいて、ドナーの細胞、組織または器官に対してＴまたはＢ細胞を誘導または調節する方法であって、当該レシピエントに、同時刺激インヒビターおよび／またはｍＴＯＲインヒビターと組み合わせたＬＦＡ－１インヒビターを投与することを含む方法。

１.２ ドナーからの細胞、組織または臓器移植のレシピエントにおいて造血キメラ現象を誘導する方法であって、当該レシピエントに、
（ｉ）ドナーからの骨髄細胞または他の前駆体細胞；および
（ｉｉ）同時刺激インヒビターおよびｍＴＯＲインヒビターから選択される少なくとも１つの併用剤と組み合わせたＬＦＡ－１インヒビター
を投与することを含んでなる方法。

【００１６】

本明細書において使用されるように、「移植（transplant）」なる用語は、第１の哺乳類（またはドナー）から得られ、そして第２の哺乳類（レシピエント）、好ましくはヒトに移植され得る器官および／または組織および／または細胞を意味する。「移植」ならびに「細胞、組織または器官」なる用語は、たとえば、皮膚、目または目の部分（たとえば、角膜、網膜、水晶体）、骨髄、筋肉、心臓、肺、心肺、肝臓、腎臓、膵臓（たとえば、島細胞、β細胞）、副甲状腺、腸（たとえば、結腸、小腸、十二指腸）、神経組織、骨および脈管構造（たとえば、動脈、静脈）を包含する。

【００１７】

前駆体細胞は、たとえば幹細胞、造血性前駆体細胞またはリンパ球様細胞を含み、そしてドナーから回収された数種類の細胞の混合物として、あるいは富化または精製集団を得るために精製および／または培養した後に、投与され得る。

【００１８】

「移植」は、骨髄もしくは前駆体細胞（ｉ）と同時一体的に、またはレシピエントにおいて造血キメラ現象が最初に確立された後に、レシピエントに移植され得る。

【００１９】

１．３　糖尿病の処置方法であって、かかる処置を必要としている対象に、（ｉ）および（ｉｉ）に加えて、（ｉｉｉ）同種異系膵島細胞または他のインスリン誘導細胞を投与することを含んでなる方法。

【００２０】

１．４　処置を必要としている対象において活性化Ｔ細胞のアポトーシスを誘導する方法であって、当該対象に、同時刺激インヒビターおよびｍＴＯＲインヒビターから選択される少なくとも１つの併用剤と組み合わせたＬＦＡ－１インヒビターの治療上有効量を投与することを含んでなる方法。

【００２１】

１．５　対象における免疫寛容を誘導または調節することによる、対象のリンパ球様細胞、たとえばＴ細胞の活性化に依存する免疫障害または疾患の進行遅延、重度の減弱化、抑制、軽減または処置のための方法であって、当該対象に同時刺激インヒビターおよびｍＴＯＲインヒビターから選択される少なくとも１つの併用剤と組み合わせたＬＦＡ－１インヒビターの治療上有効量を投与することを含んでなる方法。

【００２２】

かかる障害または疾患の例としては、たとえばリウマチ様関節炎、多発性硬化症、全身性エリテマトーデス、皮膚炎、および炎症性腸疾患、たとえばクローン病または潰瘍性大腸炎が挙げられる。

【００２３】

１．６　処置を必要としている対象において悪性腫瘍を処置する方法であって、完全または混合造血キメラ現象を達成するために、当該対象に、上で示した細胞（ｉ）および製品（ｉｉ）を投与することを含んでなる方法。

【００２４】

悪性腫瘍の例は、たとえば造血性悪性腫瘍、たとえば急性または慢性骨髄性白血病、多発性骨髄腫、非ホジキン型リンパ腫、ホジキン病、リンパ腫など、および他の悪性腫瘍、たとえば乳癌、睾丸癌、神経芽細胞腫、結腸カルシノーマなどである。

【００２５】

１．７　非悪性疾患の骨髄機能不全の処置方法であって、完全または混合造血キメラ現象を達成するために、当該対象に、上で示した細胞（ｉ）および製品（ｉｉ）を投与することを含んでなる方法。

【００２６】

非悪性疾患の骨髄不全の例は、たとえば再生不良性貧血、サラセミア、鎌状赤血球細胞貧血、免疫不全障害、ゴーシェ病などである。

【００２７】

あるいは、本発明は、また、以下のものも提供する。

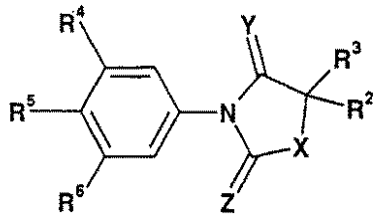
２．　たとえば上記１．１～１．７の方法のいずれかにおける、またはたとえば上記１．１～１．７の方法のいずれかにおいてかかる組合せ剤で使用するための医薬の製造における、同時刺激インヒビターおよびｍＴＯＲインヒビターから選択される少なくとも１つの併用剤と組み合わせたＬＦＡ－１インヒビターの使用。

【００２８】

３．　（ａ）ＬＦＡ－１インヒビター；および（ｂ）同時刺激インヒビターおよびｍＴＯＲインヒビターから選択される少なくとも１つの併用剤を含んでなる医薬組合せ剤（pharmaceutical combination）。

【００２９】
好適な組合せ剤は、ｍＴＯＲインヒビターを有するＬＦＡ－１インヒビター、またはｍＴＯＲインヒビターおよび同時刺激インヒビターを有するＬＦＡ－１インヒビターである。好ましくは、本発明の医薬組合せ剤は、上記１．１～１．７の方法のいずれかにおいて使用される。
【００３０】
ＬＦＡ－１インヒビターとは、たとえば、ＩＣＡＭ－ＬＦＡ－１結合またはＬＦＡ－１誘導性同時刺激およびシグナル伝達を制御し、たとえばＬＦＡ－１のこれらの機能を遮断し、調節し、または混乱させる剤を意味する。好ましくは、ＩＣＡＭは、ＩＣＡＭ－１、ＩＣＡＭ－２、またはＩＣＡＭ－３である。いっそうさらに好ましくは、ＩＣＡＭはＩＣＡＭ－１である。
【００３１】
ＩＣＡＭ－ＬＦＡ－１相互作用を制御する剤には、ＩＣＡＭおよびＬＦＡ－１が互いに結合することを妨害しないが、ＩＣＡＭ－ＬＦＡ－１結合の実質的な生理学的効果を妨害する、任意の化学的および／または生物学的分子が含まれる。さらに、ＩＣＡＭ－ＬＦＡ－１相互作用を制御する剤は、ＩＣＡＭおよびＬＦＡ－１の相互の結合、遮断的結合（block binding）を妨害するか、または結合を阻害する、任意の化学的および／または生物学的分子を含む。さらに特に、この剤は、ＩＣＡＭ－ＬＦＡ－１相互作用をブロックする。いっそうさらに特に、ＩＣＡＭ－ＬＦＡ－１相互作用を阻害する剤は、ＩＣＡＭおよび／またはＬＦＡ－１に結合し、そしてＩＣＡＭおよびＬＦＡ－１が互いに結合することを妨害するポリクローナルまたはモノクローナル抗体である。あるいは、ＩＣＡＭ－ＬＦＡ－１相互作用を制御する剤は、ＩＣＡＭおよび／またはＬＦＡ－１に結合し、そしてＩＣＡＭおよびＬＦＡ－１が互いに結合することを妨害するか、またはＩＣＡＭおよび／またはＬＦＡ－１発現を阻害する、非抗体化合物、たとえば小分子性アンタゴニストである。
【００３２】
可溶性ＩＣＡＭ－１誘導体は、また、「ＩＣＡＭ－ＬＦＡ－１相互作用を制御する剤」なるフレーズに含まれる。可溶性ＩＣＡＭ－１誘導体は、細胞膜に結合しない誘導体である。かかる誘導体は、膜貫通ドメインを欠くトランケートされた分子を含み得る。あるいは、それらは、膜貫通ドメインを有するにもかかわらず細胞膜に結合（または安定結合）する能力を欠く天然分子の変異系を含み得る。ＩＣＡＭ－１の可溶性誘導体およびそれらの製造は、Marlin, S. D. et al., Nature 344: 70-72 (1990) により開示され、この参考文献を、出典明示により本願の一部とする。ＩＣＡＭ－１の好適な機能性誘導体は、ＩＣＡＭ－１のドメイン１、２および３を含むＩＣＡＭ－１分子の可溶性フラグメントである。
【００３３】
ＩＣＡＭ－１のドメイン１および２を含むＩＣＡＭ－１分子の可溶性フラグメントがさらに好適である。ＩＣＡＭ－１のドメイン１を含むＩＣＡＭ－１分子の可溶性フラグメントが最も好適である。米国特許第５，２４８，９３１参照。
【００３４】
ＬＦＡ－１小分子アンタゴニストの例としては、たとえば、いわゆるＭＩＤＡＳ－部位（「金属イオン依存性結合部位」）またはＬ－部位またはサウスポールポケット（たとえばメビノリンまたはその誘導体、たとえばＷＯ９９／１１２５８において開示されたもの）に結合する分子が挙げられるが、これに限定されるわけではない。他の例は、たとえば
（ａ）ＷＯ９８／３９３０３において開示された化合物、たとえば式：

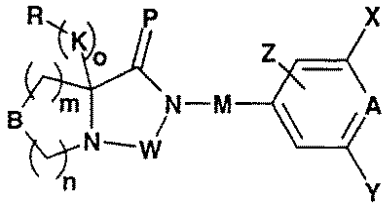
【化１】



〔式中、Ｘ、Ｙ、ＺおよびＲ^{2}～Ｒ６は、ＷＯ９８／３９３０３において開示されたとおりである。〕
で示される化合物、または医薬上許容されるその塩；

（ｂ）ＷＯ０１／３０７８１において開示された化合物、たとえば式：

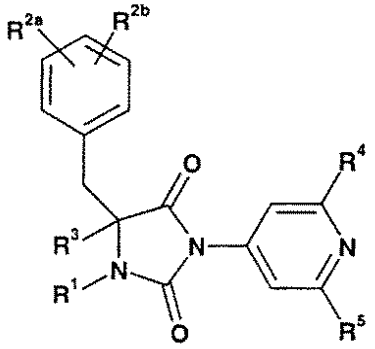
【化２】



〔式中、示された各基は、ＷＯ０１／３０７８１において開示されたとおりである。〕
で示される化合物、または医薬上許容されるその塩；

（ｃ）ＷＯ０１／９２２５３において開示された化合物、たとえば式：

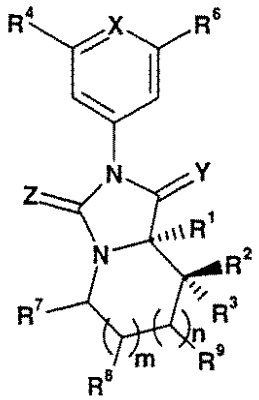
【化３】



〔式中、示された各基は、ＷＯ０１／９２２５３において開示されたとおりである。〕
で示される化合物、または医薬上許容されるその塩；

（ｄ）ＷＯ０１／０７０５２において開示された化合物、たとえば式：

【化４】



〔式中、示された各基は、ＷＯ０１／０７０５２において開示されたとおりである。〕

で示される化合物、または医薬上許容されるその塩である。
【００３５】
上で引用した刊行物の内容を、出典明示により本願の一部とする。
【００３６】
当業者は、過度の実験無しに、剤がＩＣＡＭ－１－ＬＦＡ－１相互作用を制御するか否かを決定することができる。たとえば、ＩＣＡＭ－１－ＬＦＡ－１相互作用のインビトロアッセイは、ＵＳ５,２８４,９３１またはＷＯ９９／１１２５８において提供されている。
【００３７】
同時刺激とは、抗原－レセプター－誘導性機能および／または活性化および／または細胞周期進行の制御に関与するリガンドおよび／またはレセプターのアゴニスト性結合（agonistic ligation）を意味する。かかるリガンドおよびレセプターとしては、ＣＤ１９、ＣＤ２１、ＣＤ２２、ＣＤ７２、ＣＤ２８、ＣＤ１５２、ＣＤ８０、ＣＤ８６、Ｂ７.ｈ、ＬＩＧＨＴ、ＩＣＯＳ、ＰＤ－１、ＰＤ－１Ｌ、ＣＤ４０、ＣＤ４４、ＣＤ４５、ＣＤ１５４、Ｏｘ４０、Ｏｘ４０Ｌ、ＣＤ１３７、ＣＤ１３７Ｌが挙げられる。本発明において示されたように、ＬＦＡ－１阻害と相乗的な阻害の標的として、同時刺激としては、好ましくは、Ｔリンパ球活性化の陽性同時刺激性リガンド－レセプター対、Ｏｘ４０－Ｏｘ４０Ｌ、ＣＤ１３７－ＣＤ１３７Ｌ、ＣＤ２８－ＣＤ８０／ＣＤ８６およびＣＤ４０－ＣＤ４０Ｌ、さらに好ましくはＣＤ２８－ＣＤ８０／ＣＤ８６およびＣＤ４０－ＣＤ４０Ｌが挙げられる。
【００３８】
同時刺激インヒビターは、たとえば、本発明において使用するための、同時刺激リガンド／レセプター（たとえばＣＤ４０－ＣＤ１５４）相互作用を制御し、遮断し、調節し、または混乱させる剤を意味する。かかる相互作用を制御する剤は、同時刺激リガンド－レセプターが互いに結合することを妨害しないが、かかる結合のその後の生理学的作用を妨害する任意の化学的および／または生物学的分子を包含する。
【００３９】
さらに、同時刺激リガンド－レセプター相互作用を制御する剤は、これらの分子の相互の結合、遮断的結合を妨害するか、または結合を阻害する、任意の化学的および／または生物学的分子を包含する。本発明における使用に好適な同時刺激インヒビターは、たとえばＣＤ４０－ＣＤ１５４相互作用またはＣＤ２８－ＣＤ８０／ＣＤ８６相互作用をブロックする剤である。同時刺激リガンド－レセプター相互作用を制御するさらに好適な剤は、ポリクローナルもしくはモノクローナル抗体、たとえば抗－ＣＤ１５４、または融合タンパク質、たとえばＣＴＬＡ４－Ｉｇまたはそれらの変異体、かかる分子に結合し、そしてそれらが互いに結合することを妨害するものである。あるいは、同時刺激を操作する剤は、非抗体化合物、たとえば小分子性アンタゴニスト、たとえばＣＤ４０および／またはＣＤ１５４に結合し、そしてＣＤ４０およびＣＤ１５４が互いに結合することを妨害するものである。
【００４０】
当業者は、インビトロのアッセイを用いて過度の実験無しに剤がＣＤ４０－ＣＤ１５４相互作用を制御するか否かを決定することができる。かかるアッセイは、たとえば、米国特許第５,６８３,６９３号、同５,８３３,９８７号、同５,８６９,０４９号、同５,９１６,５６０号、およびＷＯ ９７／２６０００において開示されている。
【００４１】
「抗－ＩＣＡＭ１抗体」は、ＩＣＡＭを特異的に認識し、そして結合する抗体を意味する。好ましくは、当該抗体は、ＩＣＡＭ－１、ＩＣＡＭ－２またはＩＣＡＭ－３に結合する。最も好ましくは、当該抗体は、ＩＣＡＭ－１に結合する。ポリクローナルおよび／またはモノクローナル抗体は、本発明の方法および組合せ剤において使用され得る。抗－ＩＣＡＭ－１抗体は、過度に実験無しに、当業者により製造および使用され得る。米国特許第５,２８４,９３１号参照。抗－ＩＣＡＭ－１抗体の例としては、モノクローナル抗体Ｒ

６－５－Ｄ６（ＡＴＣＣ ９５８０）、およびＹＮ１／１（ＡＴＣＣ ＣＲＬ－１８７８）が挙げられるが、これらに限定されるわけではない。完全抗－ＩＣＡＭ－１抗体の活性を保持する完全抗－ＩＣＡＭ－１抗体のフラグメントは、また、本発明の方法および組合せ剤に適している。完全抗－ＩＣＡＭ－１抗体の活性フラグメントは、当該フラグメントがＩＣＡＭ－１－ＬＦＡ－１相互作用を制御する場合、完全抗体の活性を保持している。

【００４２】

「抗－ＬＦＡ－１抗体」は、ＬＦＡ－１を特異的に認識し、そして結合する抗体を意味する。

ポリクローナルおよび／またはモノクローナル抗体は、本発明の方法および組成物において使用され得る。抗－ＬＦＡ－１抗体は、過度の実験無しに、当業者により製造および使用され得る。たとえば、米国特許第５,２８４,９３１号参照。抗－ＬＦＡ－１抗体の例としては、たとえばモノクローナル抗体Ｍ１７／４.４（ＡＴＣＣ ＴＩＢ－２１７）、ＴＳ２／１８.１.１（ＡＴＣＣ ＨＢ－１９５）、ＴＳ１／２２.１.１.１３（ＡＴＣＣ ＨＢ－２０２）、ＴＳ１／１８.１.２.１１（ＡＴＣＣ ＨＢ－２０３）、ＬＭ２／１.６.１１（ＡＴＣＣ ＨＢ－２０４）、ＴＳ２／９.１.４.３（ＡＴＣＣ ＨＢ－２０５）、２Ｅ６（ＡＴＣＣ ＨＢ－２２６）、ＢＥ２９Ｇ１（ＡＴＣＣ ＨＢ－２３３）、ＴＳ２／１６.２.１（ＡＴＣＣ ＨＢ－２４３）、ＴＳ２／４.１.１（ＡＴＣＣ ＨＢ－２４４）、ＴＳ２／７.１.１（ＡＴＣＣ ＨＢ－２４５）、Ｓ６Ｆ１（ＡＴＣＣ ＨＢ－９５７９）、Ｍ５／１１４.１５.２（ＡＴＣＣＴＩＢ－１２０）、Ｍ１／７０.１５.１１.５ＨＬ（ＡＴＣＣ ＴＩＢ－１２８）、ＦＤ４４１.８（ＡＴＣＣ ＴＩＢ－２１３）、Ｍ１７／４.４.１１.９（ＡＴＣＣＴＩＢ－２１７）、Ｍ１８／２.ａ.１２.７（ＡＴＣＣ'ＴＩＢ－２１８）、Ｍ１７／５.２（ＡＴＣＣＴＩＢ－２３７）、およびＭ５／４９.４.１（ＡＴＣＣＴＩＢ－２３８）が挙げられる。

【００４３】

完全抗－ＬＦＡ－１抗体の活性を保持する完全抗－ＬＦＡ－１抗体のフラグメントは、また、本発明の方法および組合せ剤に適している。

【００４４】

完全抗－ＬＦＡ－１抗体の活性フラグメントは、フラグメントがＩＣＡＭ－１－ＬＦＡ－１相互作用を制御する場合、完全抗体の活性を保持している。

【００４５】

「抗－ＣＤ４０抗体」は、ＣＤ４０を特異的に認識し、そして結合する抗体を意味する。

抗－ＣＤ４０抗体は、過度の実験無しに当業者により製造および使用され得る。米国特許第５,８０１,２２７号参照。完全抗－ＣＤ４０抗体の活性を保持する完全抗－ＣＤ４０抗体のフラグメントは、また、本発明の方法および組合せ剤に適している。完全抗－ＣＤ４０抗体の活性フラグメントは、フラグメントがＣＤ１５４－ＣＤ４０相互作用と干渉する場合、完全抗体の活性を保持する。

【００４６】

「抗－ＣＤ１５４抗体」は、ＣＤ４０リガンドを特異的に認識し、そして結合する抗体を意味する。抗－ＣＤ１５４抗体は、過度の実験無しに、当業者により製造および使用され得る。米国特許第５,６８３,６９３号、同５,８３３,９８７号、同５,８６９,０４９号、同５,９１６,５６０号およびＷＯ ９７／２６０００参照。抗－ＣＤ１５４抗体の例としては、Ｇｅｎｚｙｍｅ（Cambridge, MA）抗－ＣＤ１５４（製造番号８０－３７０２－０１）、マウス抗－ヒトＣＤ１５４抗体２４－３１、８９－７９、８９－７６、２４－４３、４０９－８および４０９－９、５ｃ８（ＡＴＣＣ番号ＨＢ １０９１６）、ＭＲ－１（ＡＴＣＣ番号ＨＢ－１１０４８）、およびＢＧ９５８８（ＮＩＨプロトコール番号：９９－ＡＲ－０１３３参照）、Alexis Biochemicalsからの抗－ヒトＣＤ１５４ ＭＫ１３Ａ４（Pullen et al., J. Biol. Chem. (1999)）、またはＡＢ１７９３（ＷＯ０１／６８８６０）が挙げられるが、これらに限定されるわけではない。

【００４７】

完全抗－ＣＤ１５４抗体の活性を保持する完全抗－ＣＤ１５４抗体のフラグメントもまた、本発明の方法および組成物に適している。完全抗－ＣＤ１５４抗体の活性フラグメントは、そのフラグメントがＣＤ４０－ＣＤ１５４相互作用を制御する場合、完全抗体の活性を保持する。

【００４８】

本発明の方法および組成物は、ポリクローナル、モノクローナル、ヒト化もしくはキメラ抗体または融合タンパク質を含む任意の種類の適当な抗体を用いて製造され、そして実施され得る。

【００４９】

キメラ抗体は、軽鎖および／または重鎖が異なる種からの領域を含む抗体である。たとえば、１つの種の１またはそれ以上の可変（Ｖ）領域セグメントを、別の種類の定常（ｃ）領域セグメントと連結してもよい。

【００５０】

典型的には、キメラ抗体は、ヒト定常領域セグメントに連結したマウスの可変領域のセグメントを含むが、他の哺乳動物種を使用してもよい。

【００５１】

ヒト化抗体は、ヒトフレームワーク領域セグメントに機能的に連結した非ヒト抗体の１またはそれ以上の相補性決定領域（ＣＤＲ）を含む抗体である。所望により、非ヒト抗体に関係する追加的残基が存在してもよい。典型的には、少なくとも１つの重鎖または１つの軽鎖は非ヒトＣＤＲを含む。

【００５２】

典型的に、非ヒトＣＤＲはマウスＣＤＲである。

【００５３】

ポリクローナル、モノクローナル、ヒト化またはキメラ抗体の作成は、当業者によく知られている。たとえば、Antibodies: A Laboratory Manual, E. Harlow, Ed., Cold Spring Harbor Laboratory Press （1998）; Vaswani, S. K. et al., Ann. Allergy, Asthema & ImmunoL 81: 105-115 （1998）; Cuoto, R. et al, Cancer Res. （Suppl.） 55: 5973s - 5977s （1995）; および 米国特許第５,７１４,３５０参照。

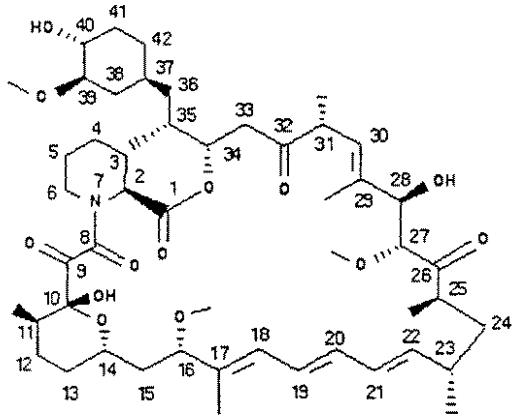
【００５４】

「活性フラグメント」は、完全抗体と比べて、同一または改善された治療効果を提供する完全抗体の部分を意味する。

【００５５】

剤（ｂ）としてのｍＴＯＲインヒビターは、ラパマイシン、すなわちシロリムス（Abraham, R. T.: Wiederrecht G. J. Immunopharmacology of Rapamycin, Annu. Rev. Immunol. 1996, 14, 483-510）またはその誘導体のような（ただし、排他的ではない）ｍＴＯＲの機能を阻害する分子を意味する。ラパマイシンは、ストレプトマイセス・ヒグロスコピカス（Streptomyces hygroscopicus）により誘導される既知のマクロライド抗生物質であり、式Ａ：

【化５】



(A)

で示される構造を有する。

【００５６】

４０位が置換されたラパマイシン誘導体、たとえば米国特許第５,２５８,３８９号およびＷＯ ９４／０９０１０に記載された４０－Ｏ－置換ラパマイシン誘導体、とりわけ４０－Ｏ－アルキル化ラパマイシン誘導体、たとえば４０－Ｏ－置換基がヒドロキシアルキル化されたもの、たとえば４０－Ｏ－（２－ヒドロキシエチル）ラパマイシン、すなわちエベロリムス、あるいは分子の４０位ならびに／または他の位置、たとえば２８および／もしくは１６位が置換された誘導体（そのエピマーを含む）、ならびに所望によりさらに水素化されたもの、たとえばＷＯ ９５／１４０２３およびＷＯ ９９／１５５３０において開示されたもの、たとえばＡＢＴ５７８、ＴＡＦＡ－９３、あるいはＷＯ ９８／０２４４１およびＷＯ ０１／１４３８７において開示されたラパログ（rapalog）、たとえばＡＰ２３５７３が特に興味深い。４０－Ｏ－（２－ヒドロキシエチル）ラパマイシンが、特に好適である。さらなる好適なラパマイシン誘導体は、また、３２位のオキソが還元された化合物、たとえば３２－デオキソラパマイシンもしくは１６－ペンター２－イニルオキシ－３２（Ｓ）－ジヒドロラパマイシンである。

【００５７】

本発明の方法にしたがって、免疫抑制処置の必要無しにドナーの移植片が許容される場合、寛容が誘導される。

【００５８】

寛容を誘導する上記の方法を、追加的な処置レジメンにより議論することができる。たとえば、該方法は、さらに、組合せ処置への曝露の前、同時、または後に胸腺の部分的全身照射（partial whole body irradiation）および／または局所照射を含み得る。

【００５９】

本発明の処置の前に、好ましくは細胞（ｉ）の投与の前に、レシピエントは、また、造血性幹細胞生着を促進する骨髄抑制治療、たとえばブスルファン、フルダラビン、６－チオグアニン、シクロホスファミドおよびＴ細胞低減化抗体、たとえば抗－胸腺細胞グロブリン、抗－ＣＤ３免疫毒素、Ｃａｍｐａｔｈ－１などから選択される少なくとも１つの化合物での処置を受け、そして／または照射を受けてもよい。

【００６０】

本発明の方法は、また、剤（ａ）および（ｂ）の投与の前、同時または後に、免疫抑制性、免疫調節性もしくは同時刺激遮断化合物またはかかる化合物の組合せを投与することを含み得る。

【００６１】

付加するためのかかる化合物の例としては、たとえばカルシニューリンインヒビター、たとえばシクロスポリンＡまたはＦＫ５０６；シクロホスファミド；アザチオプリン；メトトレキサート；レフルノミド；ミゾリビン；ミコフェノール酸またはその塩、たとえばＭｙｆｏｒｔｉｃ^{R}；ミコフェノール酸モフェチル；１５－デオキシスペルガリンまたは

それらの免疫抑制ホモログ、アナログもしくは誘導体；通常または高用量コルチコステロイド；リンパ球ホーミング促進剤、たとえばＦＴＹ７２０；免疫抑制モノクローナル抗体、たとえば白血球レセプター、たとえばＭＨＣ、ＣＤ２、ＣＤ３、ＣＤ４、ＣＤ７、ＣＤ８、ＣＤ２５、ＣＤ２７、Ｂ７（たとえばＢ７.１、Ｂ７.２またはＢ７.ｈ）、ＣＤ２８、ＣＤ４５、ＣＤ５８、ＣＤ８０、ＣＤ８６、ＣＤ１３４、ＣＤ１３７、ＣＤ１５２、ＩＣＯＳ、４－１ＢＢまたはＯＸ４０に対するモノクローナル抗体またはそれらのリガンド、たとえばＣＤ２７－リガンド、４－１ＢＢ－リガンド、ＯＸ４０－リガンド；ＣＴＬＡ４の細胞外ドメインの少なくとも一部分、たとえば非－ＣＴＬＡ４タンパク質配列、たとえばＣＴＬＡ４Ｉｇ（たとえばＡＴＣＣ ６８６２９で示される）もしくはその変異体、たとえばＬＥＡ２９Ｙと結合したＣＴＬＡ４もしくはその変異体の少なくとも細胞外の部分を有する組換え結合分子もしくはその変異体が挙げられる。

【００６２】

好適な組合せ剤は、（ａ）ＬＦＡ－１インヒビター、（ｂ）同時刺激インヒビターおよび／またはｍＴＯＲインヒビターおよび（ｃ）１５－デオキシスペルガリンまたはそれらの免疫抑制ホモログ、アナログもしくは誘導体を含む。

【００６３】

本発明の方法は、また、細胞、組織または臓器移植を受け、そして免疫抑制レジメンを受けている患者に使用され得る。これは、伝統的な免疫抑制治療および十分に実証されたネガティブの副作用を減らすかまたは排除する重要な機会を提供する。移植前の免疫抑制剤での処置も、特に死体移植において有用である。

【００６４】

寛容誘導において、ならびに前記の疾患および病状の処置において剤（ａ）および（ｂ）の組合せを用いることにより、動物試験において、たとえば後記の方法にしたがって、ならびにたとえば移植された器官、組織または細胞が通常のバイオプシーコントロールに付され、そして心臓移植の場合にはさらに超音波スキャンに付されてもよい臨床において証明され得る。

【００６５】

雌性６～８週齢ドナーおよびレシピエントマウスを、完全ＭＨＣミスマッチを有するＢＡＬＢ／Ｃ（ドナー）とＣ５７／ＢＬ６（レシピエント）の系統組合せで使用する。

【００６６】

骨髄の調製

Ｃ５７／ＢＬ６ドナーマウスを二酸化炭素吸入により屠殺し、そして７０％エタノールに一時的に入れる。大腿骨、脛骨および上腕骨から筋肉を切開し、そして骨を、１０ｍＭ Ｈｅｐｅｓ（Amresco, Solon, Ohio, U.S.A.）、１０μｇ／ｍｌのＤｎａｓｅ（Roche Diagnostic, Rotkranz, Switzerland）、および４μｇ／ｍｌのゲンタマイシン（Gibco BRL, Paisley, Scotland）を補った冷ＢＭＭ（Media 199, Amimed, Switzerland）中で回収する。骨髄（Ｂｍ）を、シリンジならびにそれぞれ脛骨および大腿骨または上腕骨について２３または２５ゲージニードルを用いて、ＢＭＭ入りのペトリ皿に骨から洗い流す。骨髄を、１９ゲージニードルを何回も通過させて、単一細胞懸濁液を調製する。懸濁液を、７０μｍのポアサイズのナイロン細胞濾過器（Falcon）を通過させ、そして４℃で４００×ｇにて５分間回転させる。骨髄細胞を冷ＢＭＭ中に再懸濁させ、そして赤血球細胞を除いた生細胞の密度（血球計測器中でＡＣＫ溶解）を０.５ｍｌあたり２０００万細胞に合わせる。第０日目に、０.５ｍｌの細胞懸濁液をマウスの尾静脈に静脈注射する。

【００６７】

化合物およびｍＡｂの調製

ブスルファン（Sigma, Switzerland）を、２０％ ＤＭＳＯ ８０％ ＰＥＧ／水、５０／５０中に３ｍｇ／ｍｌにて溶かす。マウスに、ＢｍＴｘの１日前に３０ｍｇ／ｋｇブスルファンを単回腹腔内注射する。ｍＴＯＲインヒビター、たとえば４０－（２－ヒドロキシエチル）－ラパマイシンを２０％ＫＺＩビヒクル８０％ＰＢＳで希釈し、そして３ｍｇ／ｋｇの用量でＢｍＴｘの第０～８日目に１日１回腹腔内注射する。使用したＬＦＡ－１

インヒビターおよびＣＤ１５４インヒビターは、ハイブリドーマ上清から精製したＧタンパク質であり、そしてＰＢＳで希釈したｍＡｂである。抗マウスＣＤ１５４ｍＡｂ（クローンＭＲ－１）を、第０および４日目に０．５ｍｇ／用量にて腹腔内注射する。抗マウスＬＦＡ－１（クローンＭ１７）を第０、２および４日目に０．１ｍｇ／用量にて腹腔内注射する。

【００６８】

フローサイトメトリー分析による造血キメラ現象の評価

キメラ現象形成の分析を、以下の細胞タイプを同定するように設計する：ＣＤ３＋ＣＤ４＋およびＣＤ３＋ＣＤ８＋Ｔ細胞、Ｂ細胞（Ｂ２２０＋）および顆粒球（ＣＤ１１ｂ＋）を、同種ＭＨＣクラスＩ発現に基づいて、レシピエントおよびドナーに由来する相対的割合について試験する。ＨＤ２ｄ ＭＨＣクラスＩ分子は、ドナー細胞にて発現するが、レシピエント細胞では発現しない。

【００６９】

マウスをイソフルランで簡便に麻酔し、そして伏在静脈（vena saphena）の穿刺により採血する。

血液を、ヘパリン処理１．５ｍｌ円錐管中に回収する。それぞれの染色のために、２０μｌの血液を１ｍｌサイズのＦＡＣＳ管に移す。すべてのｍＡｂおよびストレプトアビジンをPharmingen/BD Biosciences, Switzerlandから購入する。Ｆｃレセプターブロックのために、染色バッファー（ＰＢＳ、２％ＢＳＡ、０．００３％ ａ－Ｄ－マンノピラノシド、０．７％ＥＤＴＡ、ｐＨ６）中に１／２０００で希釈した１０μｌの精製ラット抗マウスＣＤ１６／ＣＤ３２（ＦｃｇＩＩＩ／ＩＩレセプター）を、各管に添加し、そしてＣＡＴ Ｓ２０振盪器上で室温にて３０分間インキュベートする。特異的染色のために、２セットの３または４色染色を、各血液試料について準備する。接触バッファー中で希釈し、そして予備混合したｍＡｂ（１０μｌ）を、チューブに添加する。最初の染色のために、ｍＡｂは、１／４０に希釈した抗－ＣＤ３ＦＩＴＣ、１／２００に希釈した抗－Ｈ２Ｄｄ－ビオチン、ともに１／４０に希釈した抗－ＣＤ８ａ－ＰｅｒＣＰおよび抗－ＣＤ４－ＡＰＣを含む。第２の染色は、１／４０に希釈した抗－ＣＤ１１ｂ－ＦＩＴＣ、１／２００に希釈した抗－Ｈ２Ｄｄ－ビオチン、および１／４０に希釈した抗－Ｂ２２０－ＰｅｒＣＰを含む。

【００７０】

緩やかに撹拌しながら、試料を室温にて１５分間インキュベートする。洗浄のために、２００μｌの「セルウオッシュ（Cell Wash）」（BD Biosciencesにより供給される最適化ＰＢＳ）を各管に添加し、そして試料を４００×ｇにて５分間回転させる。上清を吸引し、ペレットを再懸濁させ、そして染色バッファーで１／１０に希釈したストレプトアビジン－ＰＥ（２０μｌ）を、室温での１５分間のインキュベーションのために各管に添加する。細胞の固定および赤血球細胞の溶解のために、２０μｌのＣＡＬ－Ｌｙｓｅ（CALTAG, Burlingame, CA, U.S.A.）を、１０分間室温にて添加し、続いて５００μｌの蒸留水をさらに５分間添加する。細胞を４００×ｇにて５分間回転させ、そして５００μｌの「セルウオッシュ」で１回洗浄する。細胞を１５０μｌの「セルウオッシュ」中に再懸濁させ、そして４色データ捕捉のためのプロトコールを用いるＦＡＣＳ Ｃａｌｉｂｕｒ（BD Biosciences）で分析する。装置の設定を、ＢＡＬＢ／Ｃ、Ｃ５７／ＢＬ６マウス、ならびに抗体および蛍光－コンジュゲートアイソタイプコントロール抗体の種々の組合せを有する混合ＰＢＬ試料からのＰＢＬを用いる予備実験において決定した。データを、セルクエスト（CellQuest）ソフトウエアを用いて、入手および分析する。さらなる分析および図面の作成をマイクロソフトエクセル（Microsoft Excel）で行う。

【００７１】

キメラ現象形成の動力学を試験するために、ＰＢＬ試料を、ＢｍＴｘ後の種々の時点、典型的には第１４、２８、５６、および８６日頃に染色および分析する。

【００７２】

上記のアッセイにおいて、キメラ現象誘導に関して抗－ＣＤ１５４処置と抗－ＬＦＡ－

１ｍＡｂ処置の間に相乗効果が得られた（図２）が、抗－ＬＦＡ－１単独では効果がなかった。さらに、その後の実験において、抗－ＬＦＡ－１ｍＡｂを４０－（２－ヒドロキシエチル）－ラパマイシンと組み合わせた場合、抗－ＣＤ１５４ｍＡｂの不存在下のキメラ現象が観察される（図３）。これら３つの相乗効果の原理のいずれか、すなわち抗ＣＤ１５４＋４０－（２－ヒドロキシエチル）－ラパマイシン（図１）、抗ＬＦＡ－１＋抗ＣＤ１５４（図２および図３）、およびＬＦＡ－１＋４０－（２－ヒドロキシエチル）－ラパマイシン（図３）を適用した場合、各細胞タイプについてのキメラ現象の全体的なレベルも得られる。

【００７３】

細胞（ｉ）ならびに剤（ａ）および（ｂ）の組合せ剤は、同時的（simultaneously）、同時一体的（concurrently）または特定の時間制限無しに逐次的に、別個の物体としてレシピエントに投与され得る。ＬＦＡ－１インヒビターまたは同時刺激インヒビターが長い半減期を有する抗体である場合、それは細胞（ｉ）の投与の前に投与され得る。細胞（ｉ）ならびに剤（ａ）および（ｂ）の組合せ剤を、器官、組織または細胞の移植前にレシピエントに投与され得る。たとえば、細胞（ｉ）の投与は、細胞、組織または臓器移植の数日（たとえば５～８日）前に行われ得る。

【００７４】

（インヒビターと組み合わせた）ドナー細胞（ｉ）の投与は、ドナー細胞、組織または器官に対する寛容の誘導に十分であることが見いだされた。投与される細胞（ｉ）の数は、使用される細胞の種類、組織もしくは臓器移植の種類、レシピエントの体重、レシピエントの全身症状および当業者に既知の他の可変要素に依存して変動し得る。本発明の方法において使用するための細胞（ｉ）の適当な数は、当業者により決定され得、そしてドナー細胞の供給源、レシピエントの前処置および治療上の利点に必要なキメラ現象のレベルに依存する。

【００７５】

ドナー細胞の複数回注射は、本発明の範囲内である。細胞（ｉ）は、生理学的に許容される溶液、たとえば緩衝化生理食塩水溶液または同様のビヒクル中で投与され得る。細胞（ｉ）は、好ましくは経静脈的に投与される。

【００７６】

剤（ａ）および（ｂ）は、所望により、１またはそれ以上の医薬上許容される希釈剤または担体とともに、生物学的適合性の形態で投与される。適当な医薬組成物は、たとえば約０．１％～約９９．９％、好ましくは約１％～約６０％の活性成分を含有する。剤（ａ）および（ｂ）は、治療経過中の異なる時点で別個に、または分割もしくは単回組合せ形態で同時一体的に投与され得る。

【００７７】

本発明の方法において使用される各剤の有効量は、使用される特定の化合物または医薬組成物、投与様式、処置される病状、処置される病状の重度に依存して変動し得る。ＬＦＡ－１インヒビター同時または刺激インヒビターは、０．１ｍｇ～２ｇの用量で投与され得る。適当な治療レベルのキメラ現象が達成されるまで、－３から６ヶ月以内の時間差で、たとえば３または６日ごとに投与してもよい。好適な投与レジメンは、第－３日目に開始し、そして第３０日目まで２日の間隔、そしてその後６ヶ月まで週に１回の、０．３ｍｇ／ｋｇ～５ｍｇ／ｋｇのＬＦＡ－１抗体または７ｍｇ／ｋｇ～４０ｍｇ／ｋｇのＣＤ１５４抗体の投与を含む。抗体は、簡便には、非経腸的にまたは腹腔内に、たとえば経静脈的に投与され得る。比較的少量および／または比較的少ない頻度の投与が好適であり得る。

【００７８】

ｍＴＯＲインヒビターの１日用量は、もちろん、上で示した種々の因子に依存して変動する。しかしながら、一般に、満足な結果が、単回用量としてまたは分割用量で約０．２５～２５ｍｇ、特に０．７５～２５ｍｇのオーダーの１日用量の割合で、ラパマイシンまたはその誘導体の投与で達成される。ｍＴＯＲインヒビターは、簡便には、経腸的に、た

とえば経口的に投与され得る。

【００７９】

好適な実施態様において、ＬＦＡ－１インヒビターおよび／またはコーレセプターインヒビターおよび／またはｍＴＯＲインヒビターは、骨髄または前駆体細胞の投与の１～３日前、および造血キメラ現象が確立された後６ヶ月まで投与される。

【００８０】

好ましくは、剤（ａ）はＬＦＡ－１抗体である。剤（ｂ）として好適なＣＤ１５４インヒビターは抗－ＣＤ１５４抗体、好ましくはヒト化またはヒト抗－ＣＤ１５４抗体である。剤（ｂ）として好適なｍＴＯＲインヒビターは、４０－Ｏ－（２－ヒドロキシエチル）－ラパマイシンである。好適な組合せ剤は、ＬＦＡ－１インヒビター、たとえばＬＦＡ－１抗体、および４０－Ｏ－（２－ヒドロキシエチル）－ラパマイシンを含むもの；またはＬＦＡ－１インヒビター、たとえばＬＦＡ－１抗体およびＣＤ１５４インヒビター、たとえば抗－ＣＤ１５４抗体を含む組合せ剤；またはＬＦＡ－１インヒビター、たとえばＬＦＡ－１抗体、４０－Ｏ－（２－ヒドロキシエチル）－ラパマイシンおよびＣＤ１５４インヒビター、たとえば抗－ＣＤ１５４抗体を含む組合せ剤である。

【国際調査報告】

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International Application No
PCT/EP 03/08436

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER
IPC 7 A61K45/06 A61K38/17 A61K39/395 A61K31/436 A61P37/06

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

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)
IPC 7 A61K A61P

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

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practical, search terms used)
EPO-Internal, MEDLINE, WPI Data, PAJ, BIOSIS, EMBASE, CHEM ABS Data

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category °	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	WO 94 17773 A (ABRAMOWICZ DANIEL ;SCHANDENE LILIANE (BE); CAPEL PAUL (BE); DELVAU) 18 August 1994 (1994-08-18) claims 1-9	1-12
X	WO 01 95928 A (SQUIBB BRISTOL MYERS CO ;TODDERUD CHARLES GORDON (US); TOWNSEND RO) 20 December 2001 (2001-12-20) claims	1-12

-/--

[X] Further documents are listed in the continuation of box C. [X] Patent family members are listed in annex.

° Special categories of cited documents :

"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance
"E" earlier document but published on or after the international filing date
"L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)
"O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means
"P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed
"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention
"X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone
"Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art.
"&" document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search	Date of mailing of the international search report
14 October 2003	28/10/2003

Name and mailing address of the ISA	Authorized officer
European Patent Office, P.B. 5818 Patentlaan 2 NL – 2280 HV Rijswijk Tel. (+31–70) 340–2040, Tx. 31 651 epo nl, Fax (+31–70) 340–3016	Herrera, S

Form PCT/ISA/210 (second sheet) (July 1992)

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International Application No
PCT/EP 03/08436

C.(Continuation) DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category °	Citation of document, with indication,where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	STEPKOWSKI S M ET AL: "Blocking of heart allograft rejection by intercellular adhesion molecule-1 antisense oligonucleotides alone or in combination with other immunosuppressive modalities." JOURNAL OF IMMUNOLOGY (BALTIMORE, MD.: 1950) UNITED STATES 1 DEC 1994, vol. 153, no. 11, 1 December 1994 (1994-12-01), pages 5336-5346, XP002257677 ISSN: 0022-1767 abstract; table III	1-12

Form PCT/ISA/210 (continuation of second sheet) (July 1992)

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.
PCT/EP 03/08436

Box I Observations where certain claims were found unsearchable (Continuation of item 1 of first sheet)

This International Search Report has not been established in respect of certain claims under Article 17(2)(a) for the following reasons:

1. [X] Claims Nos.:
because they relate to subject matter not required to be searched by this Authority, namely:
see FURTHER INFORMATION sheet PCT/ISA/210

2. [X] Claims Nos.:
because they relate to parts of the International Application that do not comply with the prescribed requirements to such an extent that no meaningful International Search can be carried out, specifically:
see FURTHER INFORMATION sheet PCT/ISA/210

3. [ ] Claims Nos.:
because they are dependent claims and are not drafted in accordance with the second and third sentences of Rule 6.4(a).

Box II Observations where unity of invention is lacking (Continuation of item 2 of first sheet)

This International Searching Authority found multiple inventions in this international application, as follows:

1. [ ] As all required additional search fees were timely paid by the applicant, this International Search Report covers all searchable claims.

2. [ ] As all searchable claims could be searched without effort justifying an additional fee, this Authority did not invite payment of any additional fee.

3. [ ] As only some of the required additional search fees were timely paid by the applicant, this International Search Report covers only those claims for which fees were paid, specifically claims Nos.:

4. [ ] No required additional search fees were timely paid by the applicant. Consequently, this International Search Report is restricted to the invention first mentioned in the claims; it is covered by claims Nos.:

Remark on Protest

[ ] The additional search fees were accompanied by the applicant's protest.

[ ] No protest accompanied the payment of additional search fees.

International Application No. PCT/EP 03 08436

FURTHER INFORMATION CONTINUED FROM PCT/ISA/ 210

Continuation of Box I.1

Although claims 1-9 are directed to a method of treatment of the human/animal body, the search has been carried out and based on the alleged effects of the compound/composition.

Continuation of Box I.1

Rule 39.1(iv) PCT - Method for treatment of the human or animal body by therapy

---

Continuation of Box I.2

Present claims relate to an extremely large number of possible compounds. In fact, the claims contain so many possible combinations that a lack of clarity (and/or conciseness) within the meaning of Article 6 PCT arises to such an extent as to render a meaningful search of the claims impossible. The compousds used are all defined functionally, which renders the scope of the claim ver broad and with undefined boeardes per se, but additionally the term "costimulation inhibitor" is considered unclear. Consequently, the search has been carried out for those parts of the application which do appear to be clear (and/or concise), the definitions of the terms as described in the descrition as well as the explicit examples.

The applicant's attention is drawn to the fact that claims, or parts of claims, relating to inventions in respect of which no international search report has been established need not be the subject of an international preliminary examination (Rule 66.1(e) PCT). The applicant is advised that the EPO policy when acting as an International Preliminary Examining Authority is normally not to carry out a preliminary examination on matter which has not been searched. This is the case irrespective of whether or not the claims are amended following receipt of the search report or during any Chapter II procedure.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

International Application No
PCT/EP 03/08436

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member(s)	Publication date
WO 9417773 A	18-08-1994	AU 6000894 A	29-08-1994
		CA 2155109 A1	18-08-1994
		WO 9417773 A2	18-08-1994
		EP 0681589 A1	15-11-1995
		JP 8510719 T	12-11-1996
WO 0195928 A	20-12-2001	AU 7541101 A	24-12-2001
		CA 2411962 A1	20-12-2001
		CN 1438894 T	27-08-2003
		EP 1294391 A2	26-03-2003
		WO 0195928 A2	20-12-2001
		US 2002039577 A1	04-04-2002

Form PCT/ISA/210 (patent family annex) (July 1998)

フロントページの続き

(51)Int.Cl.[7]	FI	テーマコード（参考）
Ａ６１Ｐ 3/06	Ａ６１Ｐ 3/06	
Ａ６１Ｐ 3/10	Ａ６１Ｐ 3/10	
Ａ６１Ｐ 7/00	Ａ６１Ｐ 7/00	
Ａ６１Ｐ 7/06	Ａ６１Ｐ 7/06	
Ａ６１Ｐ 17/00	Ａ６１Ｐ 17/00	
Ａ６１Ｐ 19/02	Ａ６１Ｐ 19/02	
Ａ６１Ｐ 25/00	Ａ６１Ｐ 25/00	
Ａ６１Ｐ 29/00	Ａ６１Ｐ 29/00	
Ａ６１Ｐ 35/00	Ａ６１Ｐ 29/00 １０１	
Ａ６１Ｐ 35/02	Ａ６１Ｐ 35/00	
Ａ６１Ｐ 37/02	Ａ６１Ｐ 35/02	
Ａ６１Ｐ 37/06	Ａ６１Ｐ 37/02	
Ａ６１Ｐ 43/00	Ａ６１Ｐ 37/06	
// Ａ６１Ｋ 31/436	Ａ６１Ｐ 43/00 １０５	
Ａ６１Ｋ 39/395	Ａ６１Ｐ 43/00 １１１	
	Ａ６１Ｋ 31/436	
	Ａ６１Ｋ 39/395 D	
	Ａ６１Ｋ 39/395 N	

(81)指定国 EA(AM,AZ,BY,KG,KZ,MD,RU,TJ,TM),EP(AT,BE,BG,CH,CY,CZ,DE,DK,EE,ES,FI,FR,GB,GR,HU,IE,IT,LU,MC,NL,PT,RO,SE,SI,SK,TR),AE,AG,AL,AM,AT,AU,AZ,BA,BB,BG,BR,BY,BZ,CA,CH,CN,CO,CR,CU,CZ,DE,DK,DM,DZ,EC,EE,ES,FI,GB,GD,GE,GH,HR,HU,ID,IL,IN,IS,JP,KE,KG,KP,KR,KZ,LC,LK,LT,LU,LV,MA,MD,MK,MN,MX,NI,NO,NZ,OM,PG,PH,PL,PT,RO,RU,SC,SE,SG,SK,SY,TJ,TM,TN,TR,TT,UA,US,UZ,VC,VN,YU,ZA,ZW

(72)発明者 フィリップ・レイク
アメリカ合衆国０７９５０ニュージャージー州モリス・プレインズ、ブルックローン・ドライブ７０番
(72)発明者 バルバラ・メッツラー
ドイツ連邦共和国デー－７９５４０レラハ、コンラート－アデナウアー－シュトラーセ２５番

Ｆターム(参考) 4C084 AA17 AA20 MA52 MA56 MA66 NA05 NA14 ZA022 ZA512 ZA552
ZA662 ZA682 ZA892 ZA962 ZB052 ZB072 ZB082 ZB152 ZB212 ZB262
ZB272 ZC202 ZC332 ZC352
4C085 AA13 AA14 AA16 BB11 CC22 CC23 GG01 GG05 GG10
4C086 AA01 AA02 CB22 MA01 MA02 MA04 NA05 NA14 ZA02 ZA51
ZA55 ZA66 ZA68 ZA89 ZA96 ZB05 ZB07 ZB08 ZB15 ZB21
ZB26 ZB27 ZC20 ZC33 ZC35
4C087 AA01 AA02 BB44 BB51 NA05 NA14 ZA02 ZA51 ZA55 ZA66
ZA68 ZA89 ZA96 ZB05 ZB07 ZB08 ZB15 ZB21 ZB26 ZB27
ZC20 ZC33 ZC35
4C206 AA01 AA02 HA31 MA01 MA02 MA04 NA05 NA14 ZA02 ZA51
ZA55 ZA66 ZA68 ZA89 ZA96 ZB05 ZB07 ZB08 ZB15 ZB21
ZB26 ZB27 ZC20 ZC33 ZC35