

(19) 日本国特許庁(JP)

## (12) 公表特許公報(A)

(11) 特許出願公表番号

特表2009-500457

(P2009-500457A)

(43) 公表日 平成21年1月8日(2009.1.8)

(51) Int.Cl.	F 1	テーマコード (参考)
<b>A 61 K 39/395</b> (2006.01)	A 61 K 39/395	Z N A U 4 B 0 2 4
<b>C 12 N 15/09</b> (2006.01)	C 12 N 15/00	A 4 B 0 6 4
<b>C 12 P 21/08</b> (2006.01)	C 12 P 21/08	4 C 0 8 4
<b>A 61 P 37/06</b> (2006.01)	A 61 P 37/06	4 C 0 8 5
<b>A 61 P 3/10</b> (2006.01)	A 61 P 3/10	4 H 0 4 5

審査請求 未請求 予備審査請求 未請求 (全 75 頁) 最終頁に続く

(21) 出願番号	特願2008-521639 (P2008-521639)	(71) 出願人	504438727
(86) (22) 出願日	平成18年7月11日 (2006.7.11)		マクロジェニクス、インコーポレーテッド
(85) 翻訳文提出日	平成20年3月6日 (2008.3.6)		アメリカ合衆国 20850 メリーラン
(86) 國際出願番号	PCT/US2006/027386		ド州、ロックヴィル、イースト グード
(87) 國際公開番号	W02007/009064		ドライブ 1500
(87) 國際公開日	平成19年1月18日 (2007.1.18)	(74) 代理人	100091096
(31) 優先権主張番号	60/698,517		弁理士 平木 祐輔
(32) 優先日	平成17年7月11日 (2005.7.11)	(74) 代理人	100096183
(33) 優先権主張国	米国(US)		弁理士 石井 貞次
		(74) 代理人	100118773
			弁理士 藤田 節
		(74) 代理人	100111741
			弁理士 田中 夏夫

最終頁に続く

(54) 【発明の名称】毒性の低下した免疫抑制モノクローナル抗体を使用する自己免疫疾患の治療法

## (57) 【要約】

本発明は、T細胞性免疫疾患、特に自己免疫疾患の症状を抗CD3抗体を使用して治療、予防、又は改善する方法を提供する。特に本発明の方法は、ヒトCD3複合体内的イブシロンサブユニットに特異的に結合する抗体の投与を提供する。かかる抗体は、T細胞受容体／アロ抗原相互作用を調節し、従って自己免疫疾患に伴うT細胞性細胞障害を調節する。さらに本発明は、抗CD3抗体が非修飾抗CD3抗体と比較して、エフェクター機能とT細胞活性化が低下しているか又は排除されているようにする、抗CD3抗体の修飾を提供する。

Okt3v1 1 10 20 30 40  
 REI QIVLTQSPAIMSASPGEKVMTCSASS-SVSYMNWYQQKS  
 gLA .....SA-S-SVS.M.....  
 gLC .....SA-S-SVS.M.....

50 60 70 80  
 Okt3v1 GTSPKRWIYDTSKLASGVPAHFRGSGSGT'SYSLTISGMEA  
 REI GKAPKLLIYEASNLQAGVPSRFSGSGSGTDTFTTSSLQP  
 gLA .....DT.K.AS.....  
 gLC .....RW.DT.K.AS.....

90 100 108  
 Okt3v1 EDAATYYCQQWSSNPFTFGSGTKLEINR (SEQ ID NO:1)  
 REI EDIATYYCQQYQSLPYTFGQGTKLQITR (SEQ ID NO:2)  
 gLA .....WS.N.F..... (SEQ ID NO:3)  
 gLC .....WS.N.F..... (SEQ ID NO:4)

**【特許請求の範囲】****【請求項 1】**

治療の必要な患者の自己免疫疾患を治療するか又はその症状を改善する方法であって、野生型Fcドメインを有する抗体より、少なくとも1つのFc Rに対する結合が少なくとも50%低下している抗CD3抗体の治療的有効量を該患者に投与することを含んでなり、該投与により、毒性が最小になることを特徴とする上記方法。

**【請求項 2】**

治療の必要な患者の自己免疫疾患を治療するか又はその症状を改善する方法であって、野生型Fcドメインを有する抗体より、少なくとも1つのFc Rに対する結合が少なくとも50%低下している抗CD3抗体の治療的有効量を該患者に投与することを含んでなり、該投与により、マウスOKT3の同等の投与と比較して、サイトカイン放出症候群の症状が低下することを特徴とする上記方法。

10

**【請求項 3】**

抗体はFc Rに、検出できる程度には結合しない、請求項1又は2に記載の方法。

**【請求項 4】**

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

**【請求項 5】**

抗体は補体関連受容体に、検出できる程度には結合しない、請求項1又は2に記載の方法。

20

**【請求項 6】**

抗体はC1qに、検出できる程度には結合しない、請求項1又は2に記載の方法。

**【請求項 7】**

投与の6ヶ月後に、患者は、該自己免疫疾患を管理するための補助療法の増加を必要としない、請求項1又は2に記載の方法。

**【請求項 8】**

患者は、自己免疫疾患の早期段階にある、請求項1又は2に記載の方法。

**【請求項 9】**

抗CD3抗体はキメラであるか又はヒト化されている、請求項1又は2に記載の方法。

30

**【請求項 10】**

抗体は、OKT3、Leu-4、500A2、CLB-T3/3、M291、YTH12.5、又はBMA030のヒト化体又はキメラ体である、請求項9記載の方法。

**【請求項 11】**

抗体はグリコシリ化されていない、請求項9記載の方法。

**【請求項 12】**

抗体はグリコシリ化されていない、請求項10記載の方法。

**【請求項 13】**

抗体はアミノ酸修飾を有するFcドメインを含み、修飾FcドメインはいかなるFc Rにも結合しない、請求項9記載の方法。

**【請求項 14】**

抗体はアミノ酸修飾を有するFcドメインを含み、修飾FcドメインはいかなるFc Rにも結合しない、請求項10記載の方法。

40

**【請求項 15】**

抗体はヒト化OKT3 1 ala-alaである、請求項14記載の方法。

**【請求項 16】**

自己免疫疾患は、1型糖尿病、乾癬、慢性関節リウマチ、ループス、炎症性腸疾患（IBD）、潰瘍性大腸炎、クローン病、多発性硬化症、臓器移植の影響、又は移植片対宿主反応病（GVHD）である、請求項1又は2に記載の方法。

**【請求項 17】**

抗体はグリコシリ化されていない、請求項16記載の方法。

50

**【請求項 1 8】**

抗体は少なくとも1つのアミノ酸修飾を有するFcドメインを含み、修飾FcドメインはいかなるFc Rにも結合しない、請求項16記載の方法。

**【請求項 1 9】**

自己免疫疾患は1型糖尿病である、請求項16記載の方法。

**【請求項 2 0】**

治療の前に、該患者のHA1cは7.5%未満であるか、又は混合金属負荷試験（MMTT）に対する患者のC-ペプチド応答は、最初の4時間の曲線下の平均面積が少なくとも100pmol/mlである、請求項19記載の方法。

**【請求項 2 1】**

治療の6ヶ月後に、患者のインスリンの平均1日用量は、治療前の平均1日用量と比較して30U/kg/日以下の上昇である、請求項19記載の方法。

**【請求項 2 2】**

治療の6ヶ月後に、患者のインスリンの平均1日用量は、治療前の平均1日用量と比較して10U/kg/日以下の上昇である、請求項19記載の方法。

**【請求項 2 3】**

治療の6ヶ月後に、患者のインスリンの平均1日用量は、治療前の平均1日用量と比較して上昇していない、請求項19記載の方法。

**【請求項 2 4】**

治療の6ヶ月後に、患者は0.5U/kg/日以下のインスリンの平均1日用量を必要とする、請求項19記載の方法。

**【請求項 2 5】**

治療の6ヶ月後に、患者は0.2U/kg/日以下のインスリンの平均1日用量を必要とする、請求項19記載の方法。

**【請求項 2 6】**

治療の6ヶ月後に、患者のHA1cは7.5%未満である、請求項19記載の方法。

**【請求項 2 7】**

治療の12ヶ月後に、患者のHA1cは7.5%未満である、請求項19記載の方法。

**【請求項 2 8】**

治療の12ヶ月後に、MMTTに対する患者のC-ペプチド応答は、治療前の応答と比較して10%以下の低下である、請求項19記載の方法。

**【請求項 2 9】**

治療の12ヶ月後に、MMTTに対する患者のC-ペプチド応答は、治療前の応答と比較して5%以下の低下である、請求項19記載の方法。

**【請求項 3 0】**

治療の6ヶ月後に、患者のHA1cは7.5%未満である、請求項20記載の方法。

**【請求項 3 1】**

治療の12ヶ月後に、患者のHA1cは7.5%未満である、請求項20記載の方法。

**【請求項 3 2】**

治療の12ヶ月後に、MMTTに対する患者のC-ペプチド応答は、治療前の応答と比較して10%以下の低下である、請求項20記載の方法。

**【請求項 3 3】**

治療の12ヶ月後に、MMTTに対する患者のC-ペプチド応答は、治療前の応答と比較して5%以下の低下である、請求項20記載の方法。

**【請求項 3 4】**

治療は少なくとも連続4日間の抗体の投与を含む、請求項1又は2に記載の方法。

**【請求項 3 5】**

治療は少なくとも連続5日間の抗体の投与を含む、請求項1又は2に記載の方法。

**【請求項 3 6】**

治療は少なくとも連続6日間の抗体の投与を含む、請求項1又は2に記載の方法。

10

20

30

40

50

**【請求項 3 7】**

治療は少なくとも連続7日間の抗体の投与を含む、請求項1又は2に記載の方法。

**【請求項 3 8】**

治療は少なくとも連続8日間の抗体の投与を含む、請求項1又は2に記載の方法。

**【請求項 3 9】**

治療は少なくとも連続9日間の抗体の投与を含む、請求項1又は2に記載の方法。

**【請求項 4 0】**

治療は少なくとも連続10日間の抗体の投与を含む、請求項1又は2に記載の方法。

**【請求項 4 1】**

治療は少なくとも連続11日間の抗体の投与を含む、請求項1又は2に記載の方法。

**【請求項 4 2】**

治療は連続11日間以下の抗体の投与を含む、請求項1又は2に記載の方法。

**【請求項 4 3】**

治療は連続10日間以下の抗体の投与を含む、請求項1又は2に記載の方法。

**【請求項 4 4】**

治療は連続9日間以下の抗体の投与を含む、請求項1又は2に記載の方法。

**【請求項 4 5】**

治療は連続8日間以下の抗体の投与を含む、請求項1 6記載の方法。

**【請求項 4 6】**

治療は連続7日間以下の抗体の投与を含む、請求項1 6記載の方法。

**【請求項 4 7】**

治療は連続6日間以下の抗体の投与を含む、請求項1又は2に記載の方法。

**【請求項 4 8】**

治療は連続5日間以下の抗体の投与を含む、請求項1 6記載の方法。

**【請求項 4 9】**

治療は連続4日間以下の抗体の投与を含む、請求項1又は2に記載の方法。

**【請求項 5 0】**

治療は、投与処方の少なくとも最初の3日間は抗体の投与量が増加する投与処方を含む、請求項1 6記載の方法。

**【請求項 5 1】**

投与処方は4日間又はそれ以下である、請求項5 0記載の方法。

**【請求項 5 2】**

投与処方は5日間又はそれ以下である、請求項5 0記載の方法。

**【請求項 5 3】**

投与処方は6日間又はそれ以下である、請求項5 0記載の方法。

**【請求項 5 4】**

投与処方は7日間又はそれ以下である、請求項5 0記載の方法。

**【請求項 5 5】**

投与処方は8日間又はそれ以下である、請求項5 0記載の方法。

**【請求項 5 6】**

投与処方は9日間又はそれ以下である、請求項5 0記載の方法。

**【請求項 5 7】**

投与処方は10日間又はそれ以下である、請求項5 0記載の方法。

**【請求項 5 8】**

投与処方は11日間又はそれ以下である、請求項5 0記載の方法。

**【請求項 5 9】**

投与処方は12日間又はそれ以下である、請求項5 0記載の方法。

**【請求項 6 0】**

投与処方は13日間又はそれ以下である、請求項5 0記載の方法。

**【請求項 6 1】**

10

20

30

40

50

投与処方は14日間又はそれ以下である、請求項50記載の方法。

【請求項62】

1日目の用量は約1.6 μg/kgであり、2日目の用量は約3.2 μg/kgであり、3日目の用量は約6.5 μg/kgであり、4日目の用量は約13 μg/kgであり、それ以降の日の用量は約26 μg/kgである、請求項50記載の方法。

【請求項63】

投与処方は5日間又はそれ以下である、請求項62記載の方法。

【請求項64】

投与処方は6日間又はそれ以下である、請求項62記載の方法。

【請求項65】

投与処方は7日間又はそれ以下である、請求項62記載の方法。

【請求項66】

投与処方は8日間又はそれ以下である、請求項62記載の方法。

【請求項67】

投与処方は9日間又はそれ以下である、請求項62記載の方法。

【請求項68】

投与処方は10日間又はそれ以下である、請求項62記載の方法。

【請求項69】

投与処方は11日間又はそれ以下である、請求項62記載の方法。

【請求項70】

投与処方は12日間又はそれ以下である、請求項62記載の方法。

【請求項71】

投与処方は13日間又はそれ以下である、請求項62記載の方法。

【請求項72】

投与処方は14日間又はそれ以下である、請求項62記載の方法。

【請求項73】

治療は複数日の投与処方を含み、ここで該複数日投与処方の少なくとも初日は、抗体はほぼ等しい量で、少なくとも6時間の間隔、少なくとも8時間の間隔、又は少なくとも12時間の間隔で投与されることを特徴とする、請求項1又は2に記載の方法。

【請求項74】

治療は複数日の投与処方を含み、ここで該複数日投与処方の少なくとも初日は、抗体は増加する量で、少なくとも6時間の間隔、少なくとも8時間の間隔、又は少なくとも12時間の間隔で投与されることを特徴とする、請求項1又は2に記載の方法。

【請求項75】

投与は、静脈内、筋肉内、皮下及び経口投与よりなる群から選択される、請求項1又は2に記載の方法。

【請求項76】

投与は静脈内であり、少なくとも30分間にわたって行われる、請求項75記載の方法。

【請求項77】

投与はインスリンの投与と組合わされる、請求項19記載の方法。

【請求項78】

投与は免疫抑制剤の投与と組合わされる、請求項1又は2に記載の方法。

【請求項79】

投与はエキセナチドの投与と組合わされる、請求項19記載の方法。

【請求項80】

投与はプラムリンチドの投与と組合わされる、請求項19記載の方法。

【請求項81】

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

【請求項82】

10

20

30

40

50

ヒト化抗CD3抗体を產生する方法であって、

(a) 発現ベクターpMGX1303又はその子孫でトランスフェクトされたCHO細胞を、培地中で、該抗CD3抗体の発現に適した条件下で培養し；そして

(b) 該培地から該抗CD3抗体を回収することを含んでなる、上記方法。

【請求項 8 3】

抗CD3抗体はOKT3 1 (ala-ala) である、請求項 8 2 記載の方法。

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0 0 0 1】

本出願は、2005年7月11日に出願された米国仮特許出願第60/698,517号（これは参照することによりその全体が本明細書に組み込まれる）の優先権を主張する。

10

【0 0 0 2】

1. 序論

本発明は、T細胞性免疫疾患、特に自己免疫疾患の症状を抗CD3抗体を使用して治療、予防、又は改善する方法を提供する。特に本発明の方法は、ヒトCD3複合体内のイプシロンサブユニットに特異的に結合する抗体の投与を提供する。かかる抗体は、T細胞受容体／アロ抗原相互作用を調節し、従って自己免疫疾患に伴うT細胞性細胞障害を調節する。さらに本発明は、抗CD3抗体が非修飾抗CD3抗体と比較して、エフェクター機能とT細胞活性化が低下しているか又は排除されているようにする、抗CD3抗体の修飾を提供する。

20

【0 0 0 3】

2. 発明の背景

2.1 自己免疫疾患

自己免疫疾患は、通常は細菌、ウイルス、及び他の感染性物質に対して体を防御する体の免疫系が、「自己」の組織、細胞、及び臓器を攻撃する時引き起こされる。かかる「自己」標的に対する免疫系の動員は自己免疫と呼ばれる。すべてのヒトにある程度の自己免疫が存在するが、通常自己免疫が無症候性である程度に、厳密な制御系が免疫系の自己認識細胞を抑制している。この制御系が一部妨害されて自己免疫細胞がその抑制を逃れる時、又は標的組織がもう自己として認識されない何らかの変化がある時に、疾患状態が発生する。これらの変化の背後にある機構は充分理解されていないが、遺伝的素因のある個体の異常な免疫刺激の結果であると想定されている。

30

【0 0 0 4】

自己免疫疾患は臓器特異的か又は全身性の場合があり、異なる病理機構により誘発される。臓器特異的自己免疫は、T細胞コンパートメント内の寛容と抑制、主要組織適合遺伝子複合体（MHC）抗原の異常発現、MHC遺伝子における抗原模倣と対立遺伝子変化が特徴である。全身性自己免疫疾患は、ポリクローナルB細胞活性化と免疫調節性T細胞、T細胞受容体、及びMHC遺伝子の異常が関与する。臓器特異的自己免疫疾患の例は、糖尿病、皮膚乾癬、潰瘍性大腸炎、甲状腺機能亢進症、自己免疫性副腎不全、溶血性貧血、多発性硬化症、及びリウマチ性心臓炎である。代表的な全身性自己免疫疾患は、全身性エリテマトーデス、慢性関節リウマチ、乾癬性関節炎、シェーグレン症候群、多発性筋炎、皮膚筋炎、及び強皮症である。

40

【0 0 0 5】

また自己免疫疾患ではないが、臓器移植受容者はしばしば同様の症状を経験し、自己免疫疾患患者と同様の治療が必要である。移植臓器に対する免疫系の攻撃が、臓器不全又はより重症の全身性合併症、すなわち骨髄移植受容者病及び移植片対宿主反応病（GVHD）を引き起こすことがある。

【0 0 0 6】

自己免疫疾患を治療するための及び／又は免疫応答を調節するための、改良された方策に対する明らかなニーズがある。現在免疫系疾患は、免疫抑制剤（例えば、コルチゾン、アスピリン誘導体、ヒドロキシクロロキン、メソトレキセート、アザチオプリン、シクロホスファミド）、及び種々の生物学的製剤（例えば、抗TNF抗体）、又はこれらの組合せ

50

により治療されている。治療の成功度合いは、個々の患者や疾患により様々である。しかし免疫抑制が強いほど、従って自己免疫疾患治療の成功する確率が高いほど、患者が日和見感染を発症するリスクが高いという、かかる一般的免疫抑制療法の使用におけるジレンマが発生する。さらに患者の免疫系が弱っているために、小さな感染でも急激に重症になることがある。

#### 【0007】

##### 2.2 糖尿病

最も一般的な自己免疫疾患の1つは1型糖尿病であり、これは若年性糖尿病又はインスリン依存性糖尿病としても知られている。これはアメリカ合衆国で1500万人が罹患しており、無症候性者がさらに1200万人いると推定され、すなわち彼らはこの疾患有することに気づいていない。糖尿病は、脾臓のインスリン産生細胞（島細胞としても知られている）が徐々に破壊される自己免疫応答により引き起こされる。この疾患の早期段階（インスリン炎と呼ぶ）は、脾臓へのリンパ球浸潤が特徴であり、脾炎と抗細胞細胞障害性抗体の放出を伴う。疾患が進行すると、傷害組織はまたリンパ球を誘引し、細胞にさらなる傷害を引き起こす。また、以後の例えばウイルス感染、食物アレルギー、化学物質、又はストレスに応答したリンパ球の一般的活性化により、さらなる島細胞が破壊される。糖尿病の臨床症状は典型的には、細胞の約80%が破壊された後になって初めて出現するため、疾患の早期段階はしばしば見逃がされるか、又は誤診される。いったん症状が出ると、1型糖尿病は通常一生インスリン依存性となる。糖尿病に伴う血中グルコースレベルの調節異常が、失明、腎不全、神経傷害を引き起こし、卒中、冠動脈性心疾患、及び他の血管障害に大きく寄与する原因である。

10

20

30

#### 【0008】

##### 2.3 糖尿病と他の自己免疫疾患におけるT細胞機能

糖尿病における細胞又は他の自己免疫疾患の標的細胞の破壊は、抗原性標的細胞由来ペプチドを特異的に認識する細胞障害性Tリンパ球（CTL - CD8+ T細胞としても知られている）により主に仲介される。CTL及び他の型のT細胞は、その特異的T細胞受容体（TcR）により抗原性ペプチドを認識する。可溶性全外来タンパク質を抗原として認識する抗体とは異なり、TcRは、主要組織適合遺伝子複合体（MHC）タンパク質との複合体で提示された小さなペプチド抗原のみと相互作用する。

#### 【0009】

体の多くの細胞は、発現されるMHCのクラスに依存して、その表面の種々のクラスのMHC分子を発現し、可溶性抗原、リンパ系及び/又は循環系内に分散された抗原、又はその細胞質タンパク質の断片を提示する。MHC分子（ヒト白血球抗原又はヒトHLAと呼ばれる）及びTcRは極めて多型性であり、各クローニング変異が、単一のペプチド配列を又は同様のペプチド類似体セットを認識し結合する。免疫系に特異的な細胞（すなわちB細胞とT細胞）とは別に、体の細胞はMHC分子の複数の変種を発現し、それぞれの変種が異なるペプチド配列に結合する。これに対して、B細胞とT細胞は成熟中に、それぞれMHCとTcRの複数の変種を発現する能力を失う。従って成熟T細胞は、TcRの可能な変種の1つのみを発現し、従って単一のMHC / 抗原複合体を認識 / 結合する。

#### 【0010】

MHC / 抗原複合体へのTcRの結合は、T細胞内の細胞内シグナルカスケードを放出し（活性化と呼ぶ）、これが、T細胞のクローニング増殖及びクラス特異的T細胞応答を引き起こす。例えばCTLでは活性化への応答は、細胞障害性酵素の放出（これは標的細胞のアポトーシス / 破壊を引き起こす）を含む。

40

#### 【0011】

##### 2.4 モノクローナル抗体によるT細胞活性化の調節

自己免疫疾患が少なくとも部分的には異常T細胞作用により引き起こされるという知見により、問題のT細胞クローニング（自己抗原に対してTcRを発現するもの）を排除するか又は不要なT細胞活性 / 活性化を選択的に低下させる治療法が研究されるようになった。しかしTcR結合によるT細胞活性化は、応答するT細胞集団上で発現される種々の細胞表面

50

分子の参加のために、予想外に複雑な現象である (Billadeau et al., 2002, *J. Clin. Invest.* 109:161-168; Weiss, 1990, *J. Clin. Invest.* 86:1015-1022; Leo et al., 1987, *PNAS* 84:1374-1378; Weiss et al., 1984, *PNAS* 81:4169-4173; Hoffman et al., 1985, *J. Immunol.* 135:5-8)。

#### 【0012】

TcRは2つのクローニングに分布した必須の膜糖タンパク質鎖（αとβ、又はγとδ）を含有するジスルフィド結合ヘテロダイマーからなる点で、T細胞活性化に対する標的療法は問題がある。T細胞活性化の調節についての研究の多くは、臓器移植受容者の免疫抑制を改善することに関連して行われた。T細胞活性化を選択的に低下させる最初の臨床的成功の1つは、モノクローナル抗体の使用である。US Patent No. 4,658,019は、基本的にすべての健常人の末梢T細胞上に存在する抗原に対するマウスモノクローナル抗体を、產生することができる新規ハイブリドーマ (OKT3、ATCC受け入れ番号CRL-8001) を記載している。*in vivo*でのT細胞へのOKT3の結合は、顕著な可逆的免疫抑制を発生させる。OKT3は、ヒトCD3複合体内のα-サブユニット上のエピトープを認識することがわかった (Salmeron et al., 1991, *J. Immunol.* 147:3047-3052; Transy et al., 1989, *Eur. J. Immunol.* 19:947-950; また、U.S. Pat. No. 4,658,019も参照)。CD3複合体 (T3としても知られている) は低分子量不变タンパク質からなり、これはTcRと非共有結合する (Samelson et al., 1985, *Cell* 43:223-231)。CD3構造は、TcR α-β のそのリガンドへの結合により開始される活性化シグナルの伝達要素の可能性がある付属分子であると考えられている。

#### 【0013】

OKT3は強力なT細胞活性化能及び抑制能を有する (Landgren, 1982; Van Sechteren, 1987; Weiss, 1986)。TcR結合抗CD3モノクローナル抗体のFc受容体性架橋は、T細胞活性化マーカー発現と増殖とを引き起こす (Weiss et al., 1986, *Ann. Rev. Immunol.* 4:593)。同様にOKT3の*in vivo*投与は、T細胞活性化と免疫応答抑制の両方を引き起こす (Elliott et al., 1992, *Transplantation*; Chatenoud, 1990, *Transplantation* 49:697)。OKT3を毎日繰り返し投与すると、顕著な免疫抑制が起きて、腎移植後の拒絶反応の有効な治療法となる (Thistlethwaite, 1984, *Transplantation* 38:695)。

#### 【0014】

例えばOKT3を含む治療用モノクローナル抗体の使用は、軽いインフルエンザ様症状～重い毒性の範囲の「初回投与」副作用の問題により限定される。初回投与副作用は、T細胞活性化に刺激されたサイトカイン産生により起きると考えられている。モノクローナル抗体の活性化は、T細胞 (そのF(ab')2部分を介して) とFc受容体持細胞 (そのFc部分を介して) とに結合したモノクローナル抗体により仲介されるTcR架橋によることが証明されている (Palacios et al., 1985, *Eur. J. Immunol.* 15:645-651; Ceuppens et al., 1985, *J. Immunol.* 134:1498-1502; Kan et al., 1986, *Cell Immunol.* 98:181-185)。例えばOKT3の使用は、免疫抑制を達成する前にモノクローナル抗体結合T細胞とFc受容体持細胞の活性化を引き起こし、大量のサイトカインの全身性放出を引き起こすことがわかった (Abramowicz, 1989, *Transplantation* 47:P606; Chatenoud, 1989)。OKT3療法の報告された副作用には、モノクローナル抗体の第1回目の注入及び時に第2回目の注入後のインフルエンザ様症状、呼吸困難、神経症状、及び急性尿細管壞死がある (Abramowicz, 1989; Chatenoud, 1989; Toussaint, 1989, *Transplantation* 48:524; Thistlethwaite, 1988, *Am. J. Kid. Dis.* 11:112; Goldman, 1990, *Transplantation* 50:148)。

#### 【0015】

チンパンジーとマウスの実験モデルを使用して得られたデータは、抗CD3モノクローナル抗体に誘発される細胞活性化を防止又は中和することが、これらの物質の毒性を低下させることを示唆している (Parlevliet, 1990, *Transplantation* 50:889; Rao, 1991, *Transplantation* 52:691; Alegre, *Eur. J. Immunol.*, 1990, 20:707; Alegre, 1990, *Transplant Proc.* 22:1920.; Alegre, *Transplantation*, 52:674, 1991; Alegre, *J. Immun.*, 1991; Ferran, 1990, *Transplantation*, 50:642)。さらにハムスターの抗マウスCD3である145-2C11のF(ab')2断片を使用してマウスで報告された以前の結果は、Fc受容体結合と細胞活性

10

20

30

40

50

化が無い場合、抗CD3モノクローナル抗体は少なくとも一部の免疫抑制性を *in vivo* で保持することを示唆している (Hirsch, *Transplant Proc.*, 1991, 23:270; Hirsch, *J. Immunol.*, 1991, 147:2088)。

【0016】

2.5 低下したT細胞活性化を示す免疫抑制モノクローナル抗体

U.S. Pat. No. 6,491,916、U.S. Pat. 出願公報 2005/0064514 及びU.S. Pat. 出願公報 2005/0037000は、野生型Fcドメインを有する免疫グロブリンと比較すると、変種分子は種々のFc受容体への結合が上昇又は低下しているような、免疫グロブリンのFc領域の修飾を記載している。特にこれらの特許 / 出願は、Fc Rへの親和性が選択的に上昇又は低下するような、IgG抗体のFc領域への修飾を記載する。活性化又は抑制性Fc受容体に対する親和性を調整することにより、治療用モノクローナル抗体により誘発する特異的免疫応答が、より選択的に制御される。例えば、ヒトとマウスのFc RIとIIへのモノクローナル抗体の結合を大きく低下させ、*in vitro*での活性化表現型を顕著に低下させたヒト化OKT3 IgG4のCH2部分の変異が、同定されている (P234AとL235A) (Alegre et al., 1992, 8th International Congress of Immunology 23-28; Alegre et al., 1994, *Transplantation* 57: 1537-1543; Xu et al., 2000, *Cell Immunol.* 200:16-26)。この変種モノクローナル抗体がTcR調節と免疫抑制を誘導する能力を保持したことは、重要である (Xu et al., 2000)。

10

【発明の開示】

【0017】

20

3. 発明の要約

本発明は、治療的又は予防的に許容される量の抗CD3抗体を被験体に投与することにより、T細胞性免疫疾患、特に自己免疫疾患の症状を治療、予防、及び改善する方法を提供する。特に本発明の方法は、ヒトCD3複合体内のイプシロンサブユニットに特異的に結合する抗体の投与を提供する。例えばかかる抗体は、抗体Leu-4、500A2、CLB-T3/3、M291、YTH 12.5又はBMA030の1つであるかもしくはこれに由来 (例えば、そのヒト化体又はキメラ体) し、又は抗体Leu-4、500A2、CLB-T3/3、M291、YTH 12.5又はBMA030の1つと結合について競合し、そしておそらくIgG1、IgG2、IgG3又はIgG4骨格に基づく。好適な実施形態において抗体は、マウスモノクローナル抗体OKT3 (U.S. Patent Nos. 4,658,019及び6,113,901を参照、これらは参考することによりその全体が本明細書に組み込まれる) の結合特異性を有し、例えばOKT3と同じエピトープに結合するか及び / 又は結合についてOKT3例えば抗体OKT3ヒト化体 (例えばOKT3-7) と競合する (U.S. Patent No. 6,491,916を参照 ; これは参考することによりその全体が本明細書に組み込まれる)。ある実施形態において、抗CD3抗体は低下している (例えば、野生型のグリコシル化Fcドメインを有する抗体による結合と比較すると、特に限定されないが、50%未満、40%未満、30%未満、20%未満、10%未満、5%未満、又は1%未満である) か、又はさらに好ましくは当該分野でルーチンに行われるアッセイにより測定すると、少なくとも1つのFc Rに対する結合が検出されない。他の実施形態において、抗CD3抗体は低下している (例えば、野生型のグリコシル化Fcドメインを有する抗体による結合と比較すると、特に限定されないが、50%未満、40%未満、30%未満、20%未満、10%未満、5%未満、又は1%未満である) か、又はさらに好ましくは当該分野でルーチンに行われるアッセイにより測定すると、1つ又はそれ以上のFc Rに対する結合が検出されない。さらに又はあるいは、抗CD3抗体は低下している (例えば、野生型のグリコシル化Fcドメインを有する抗体による結合と比較すると、特に限定されないが、50%未満、40%未満、30%未満、20%未満、10%未満、5%未満、又は1%未満である) か、又はさらに好ましくはルーチンに使用されるアッセイにより測定すると、任意の補体受容体 (例えばC1q) に対する結合が検出されない。具体的な実施形態において抗体はグリコシル化されていない。他の実施形態において抗体はFcドメインが欠如している (例えば、fab断片、F(ab')2、又は1本鎖抗体)。他の実施形態において抗体は、少なくとも1つのFc R及び / 又は1つ又はそれ以上のFc RへのFcドメインの結合を低下させるか又は排除する1つ又はそれ以上のアミノ酸修飾を有するFcドメインを含み、Fcド

30

40

50

メインは、IgG1、IgG2、IgG3、又はIgG4から得られるか及び／又はIgG1、IgG2、IgG3、又はIgG4の1つ又はそれ以上のドメイン（例えば、CH2、CH3）を含む。ある実施形態において本発明の抗体は、Fc領域の234位（CH2）及びFc領域の235位（CH2）に修飾（例えば、置換、挿入、欠失）を有するFcドメインを含む。この実施形態の具体例では、本発明の抗体は、アラニンによるFc領域の234位（CH2）の置換とアラニンによるFc領域の235位（CH2）の置換とを有するFcドメインを含む。この実施形態の別の例では、本発明の抗体は、アラニンによるFc領域の234位（CH2）の置換とグルタミン酸によるFc領域の235位（CH2）の置換とを有するFcドメインを含む。別の実施形態において本発明の抗体は、Fc領域の234位（CH2）にアラニンとFc領域の235位（CH2）にアラニンを含むFcドメインを含む（「ala-ala」抗体とも呼ばれる）。さらに別の実施形態において本発明の抗体は、Fc領域の234位（CH2）にアラニンとFc領域の235位（CH2）にグルタミン酸を含むFcドメインを含む。具体的な実施形態において本発明の抗体は、本明細書に記載の変異及び／又はFc領域を含むOKT3-7である（例えば、OKT3 1(ala-ala)、US Patent No. 6,491,916を参照；これは参考することによりその全体が本明細書に組み込まれる）。他の実施形態において本発明の抗体は、235位にグルタミン酸を有するFcドメインを含む。

10

## 【0018】

本発明は特に、1型糖尿病、乾癬、慢性関節リウマチ、ループス（特に皮膚）、炎症性腸疾患（IBD）、クローン病、潰瘍性大腸炎、多発性硬化症、臓器移植の影響、移植片対宿主反応病（GVHD）などの自己免疫疾患の症状を治療、予防、又は改善する方法を提供する。特に本発明の方法は、自己免疫からの傷害を遅延させるか又は低下させ、高レベルの機能を維持し、及び／又は他の治療法の必要性を低下させるために、早期段階の疾患有する被験体で有効である。さらに本発明の方法は、以前は治療用抗体、特に抗CD3抗体の投与に伴ったサイトカイン放出症候群の発生率を有效地に低下させるか、又は発生させない。サイトカイン放出合成は、例えば頭痛、吐き気、嘔吐、発熱、筋肉痛、関節痛、及び震えに現れ、例えばIL-2、IL-6、IL-10、TNF、及びIFNの血清レベルの上昇により引き起こされる。ある実施形態において本発明の方法は、マウスOKT3の同様の投与に対して、本発明の抗体の投与に伴うサイトカイン放出症候群の症状の発生率を低下させるか、及び／又は重症度を低下させる。この方法はまた、例えば特に限定されないが、EBV活性化、免疫原性（抗イディオタイプ抗体の產生、特にIgE抗イディオタイプ抗体）、リンパ球減少、血小板減少、又は好中球減少のような他の有害作用の発生率と重症度を低下させる。

20

## 【0019】

ある実施形態において、本発明の方法に従って被験体に抗CD3抗体を1回又はそれ以上投与した後に、ELISA又は血清タンパク質の検出のための当該分野で公知の任意の他の方法により、該被験体の血清中にサイトカイン（例えば、IL-2、IL-6、IL-10、TNF、IFN）が検出されない。他の実施形態において、本発明の方法に従って該被験体に抗CD3抗体を1回又はそれ以上投与した後に被験体の血清中に1つ又はそれ以上のサイトカイン（例えば、IL-2、IL-6、IL-10、TNF、IFN）が、約250/ml未満、約225pg/ml未満、約200pg/ml未満、約175pg/ml未満、約150pg/ml未満、約125pg/ml未満、約100pg/ml未満、約90pg/ml未満、約80pg/ml未満、約70pg/ml未満、約60pg/ml未満、約50pg/ml未満、約45pg/ml未満、約40pg/ml未満、約35pg/ml未満、約30pg/ml未満、約25pg/ml未満、約20pg/ml未満、約15pg/ml未満、約14pg/ml未満、約13pg/ml未満、約12pg/ml未満、約11pg/ml未満、約10pg/ml未満、約9pg/ml未満、約8pg/ml未満、約7pg/ml未満、約6pg/ml未満、約5pg/ml未満、約4pg/ml未満、約3pg/ml未満、約2pg/ml未満、約1pg/ml未満の濃度で検出される（例えば、ELISA又は当該分野で公知の任意の他の方法による）。さらに別の実施形態において、本発明の方法に従って該被験体に抗CD3抗体を1回又はそれ以上投与した後に被験体の血清中に1つ又はそれ以上のサイトカイン（例えば、IL-2、IL-6、IL-10、TNF、IFN）が、検出されない～10pg/ml未満、検出されない～15pg/ml未満、検出されない～20pg/ml未満、検出されない～25pg/ml未満、検出されない～30pg/ml未満、検出されない～35pg/ml未満、検出されない～40pg/ml未満、検出されない～50pg/ml未満、検出されない～75pg/ml未満、検出されない～100pg/ml未満、検出されない～150pg/ml未満、検出されない～200pg/ml未満、

30

40

50

未満、検出されない～250pg/ml未満、検出されない～300pg/ml未満、検出されない～350pg/ml未満、又は検出されない～400pg/ml未満の濃度範囲で検出される（例えば、ELISA又は当該分野で公知の任意の他の方法による）。さらに別の実施形態において、本発明の方法に従って該被験体に抗CD3抗体を1回又はそれ以上投与した後に被験体の血清中に1つ又はそれ以上のサイトカイン（例えば、IL-2、IL-6、IL-10、TNF、IFN）が、約5pg/ml～約10pg/ml未満、約5pg/ml～約15pg/ml未満、約5pg/ml～約20pg/ml未満、約5pg/ml～約25pg/ml未満、約5pg/ml～約30pg/ml未満、約5pg/ml～約35pg/ml未満、約5pg/ml～約40pg/ml未満、約5pg/ml～約50pg/ml未満、約5pg/ml～約75pg/ml未満、約5pg/ml～約100pg/ml未満、約5pg/ml～約150pg/ml未満、約5pg/ml～約200pg/ml未満、約5pg/ml～約250pg/ml未満、約5pg/ml～約300pg/ml未満、又は約5pg/ml～約350pg/ml未満の濃度範囲で検出される（例えば、ELISA又は当該分野で公知の任意の他の方法による）。

10

#### 【0020】

さらに別の実施形態において、本発明の方法は、該被験体に抗CD3抗体を1回又はそれ以上投与した後に、該被験体の血清中の1つ又はそれ以上のサイトカインの検出可能な（例えばELISAにより）濃度を、マウスOKT3の同様の投与の結果として被験体の血清中の該1つ又はそれ以上のサイトカインの濃度と比較して、少なくとも約10%、少なくとも約25%、少なくとも約50%、少なくとも約75%、少なくとも約100%、少なくとも約125%、少なくとも約150%、少なくとも約175%、少なくとも約200%、少なくとも約225%、少なくとも約250%、少なくとも約275%、少なくとも約300%、少なくとも約325%、少なくとも約350%、少なくとも約375%、少なくとも約400%、少なくとも約500%、少なくとも約600%、少なくとも約700%、少なくとも約800%、少なくとも約900%、少なくとも約1000%低下させる。別の実施形態において本発明の方法は、該被験体に抗CD3抗体を1回又はそれ以上投与した後に、該被験体の血清中の1つ又はそれ以上のサイトカインの検出可能な（例えばELISAにより）濃度を、マウスOKT3の同様の投与の結果として被験体の血清中の該1つ又はそれ以上のサイトカインの濃度と比較して、少なくとも約1倍、少なくとも約2倍、少なくとも約3倍、少なくとも約4倍、少なくとも約5倍、少なくとも約6倍、少なくとも約7倍、少なくとも約8倍、少なくとも約9倍、少なくとも約10倍、少なくとも約12倍、少なくとも約14倍、少なくとも約16倍、少なくとも約18倍、少なくとも約20倍、少なくとも約25倍、少なくとも約30倍、少なくとも約35倍、少なくとも約40倍、少なくとも約45倍、少なくとも約50倍、少なくとも約75倍、又は少なくとも約100倍低下させる。

20

#### 【0021】

1型糖尿病の治療について、抗CD3抗体は、グリコシル化ヘモグロビン（HA1又はHA1c）の8%未満、7.5%未満、7%未満、6.5%未満、6%未満、5.5%未満、又は5%又はそれ以下のレベルを達成するように、又はこれを維持するように投与される。治療の開始時に患者は、8%未満、7.5%未満、7%未満、6.5%未満、6%未満、又はさらに好ましくは4%～6%のHA1又はHA1cレベルを有する（好ましくは糖尿病の他の治療法、例えば外因性インスリンの投与、無しで測定される）。かかる患者は、治療の開始前にベータ細胞機能の少なくとも95%、90%、80%、70%、60%、50%、40%、30%、又は20%を保持している。抗CD3抗体の投与は傷害を防ぎ、従って疾患の開始又は進行を遅らせ、インスリン投与の必要性を低下させる。さらに本発明は、抗CD3抗体による1回の治療又は6ヶ月毎、9ヶ月毎、12ヶ月毎、15ヶ月毎、18ヶ月毎、又は24ヶ月毎の治療（好ましくは、抗CD3抗体による介在治療無しで）により、HA1又はHA1cレベルが以前の治療の6ヶ月後、9ヶ月後、12ヶ月後、15ヶ月後、18ヶ月後、又は24ヶ月後の7%又はそれ以下、6.5%又はそれ以下、6%又はそれ以下、5.5%又はそれ以下、又は5%又はそれ以下であるような、治療法を提供する。特に本発明のかかる方法において、抗CD3抗体による1回の治療又は6ヶ月毎、9ヶ月毎、12ヶ月毎、15ヶ月毎、18ヶ月毎、又は24ヶ月毎の治療（好ましくは、抗CD3抗体による介在治療無しで）は、患者のHA1又はHA1cレベルを、以前の治療の6ヶ月後、9ヶ月後、12ヶ月後、15ヶ月後、18ヶ月後、又は24ヶ月後の治療前レベルと比較して、約5%、約10%、約15%、約20%、約25%、約30%、約35%、約40%、約45%、約50%、約55%、約60%、約65%、又は約70%低下させる。さらに1回の投与又は6ヶ月毎、9ヶ月毎、12ヶ月毎、15ヶ月

30

40

50

毎、18ヶ月毎、又は24ヶ月毎（好ましくは、抗CD3抗体による介在治療無しで）の繰り返し投与の本発明に従うCD3抗体による治療後に、患者のHA1又はHA1cの平均レベルは、以前の治療の6ヶ月後、9ヶ月後、12ヶ月後、15ヶ月後、18ヶ月後、又は24ヶ月後の治療前レベルと比較して、約0.5%、約1%、約2.5%、約5%、約10%、約15%、約20%、約25%、約30%、約35%、約40%、約45%、又は約50%だけ上昇する。別の実施形態において、本発明の方法に従う抗CD3抗体による1回の治療又は6ヶ月毎、9ヶ月毎、12ヶ月毎、15ヶ月毎、18ヶ月毎、又は24ヶ月毎の治療（好ましくは、抗CD3抗体による介在治療無しで）後に、患者のHA1又はHA1cの平均レベルは、同様の臨床パラメータで従来の治療を開始し同じ期間後に従来の治療を受けた患者のレベル（このレベルは、以前の治療の6ヶ月後、9ヶ月後、12ヶ月後、15ヶ月後、18ヶ月後、又は24ヶ月後に測定した）より、約10%、約20%、約30%、約40%、約50%、約60%、約70%、又は約100%大きい。  
10

#### 【0022】

別の実施形態において、混合金属負荷試験（MMTT）、経口ブドウ糖負荷試験（OGTT）、経静脈負荷試験（IGTT）、又は2相ブドウ糖クランプ法により測定して、被験体のC-ペプチド応答を達成又は維持するために、抗CD3抗体を投与した。好ましくは治療の開始時に患者は、当業者に公知のように、MMTT、OGTT、IGTT、又は2相ブドウ糖クランプ法に対するC-ペプチド応答により測定される残存細胞機能を持っている。好適な実施形態において患者は、少なくとも80pmol/ml/240分、好ましくは少なくとも90pmol/ml/240分、さらに好ましくは少なくとも100pmol/ml/240分、又はさらに少なくとも110pmol/ml/240分の曲線下の面積（AUC）を与えるMMTT、OGTT、IGTT、又は2相ブドウ糖クランプ法（好ましくはMMTT）に対するC-ペプチド応答を有する。さらに本発明は、抗CD3抗体による1回の治療又は6ヶ月毎、9ヶ月毎、12ヶ月毎、15ヶ月毎、18ヶ月毎、又は24ヶ月毎の治療（好ましくは、抗CD3抗体による介在治療無しで）後に、患者のC-ペプチド応答のレベルが、以前の治療の6ヶ月後、9ヶ月後、12ヶ月後、15ヶ月後、18ヶ月後、又は24ヶ月後に測定した治療前応答の、少なくとも99%、少なくとも98%、少なくとも95%、少なくとも90%、少なくとも85%、少なくとも80%、少なくとも75%、少なくとも70%、少なくとも65%、又は少なくとも60%であるような治療法を提供する。具体的には本発明のかかる方法において、本発明の方法に従う抗CD3抗体による1回の治療又は6ヶ月毎、9ヶ月毎、12ヶ月毎、15ヶ月毎、18ヶ月毎、又は24ヶ月毎の治療（好ましくは、抗CD3抗体による介在治療無しで）後に、患者のMMTT、OGTT、IGTT、又は2相ブドウ糖クランプ法に対するC-ペプチド応答の平均レベルは、以前の治療の6ヶ月後、9ヶ月後、12ヶ月後、15ヶ月後、18ヶ月後、又は24ヶ月後に測定した治療前レベルの、1%未満、5%未満、10%未満、20%未満、30%未満、40%未満、50%未満だけ低下する。さらに、本発明の方法に従う抗CD3抗体による1回の治療又は6ヶ月毎、9ヶ月毎、12ヶ月毎、15ヶ月毎、18ヶ月毎、又は24ヶ月毎の治療（好ましくは、抗CD3抗体による介

在治療無しで）後に、患者のMMTT、OGTT、IGTT、又は2相ブドウ糖クランプ法に対するC-ペプチド応答の平均レベルは、同様の臨床パラメータで従来の糖尿病治療を開始し、6ヶ月、9ヶ月、12ヶ月、15ヶ月、又は18ヶ月にわたって従来の糖尿病治療を受けた患者のレベルより、少なくとも10%、20%、30%、40%、50%、70%、又は約100%大きい（該ペプチド応答は、以前の治療の6ヶ月後、9ヶ月後、12ヶ月後、15ヶ月後、18ヶ月後、又は24ヶ月後に測定した）。

#### 【0023】

具体的な実施形態において、本発明の方法に従う抗CD3抗体による1回の治療又は6ヶ月毎、9ヶ月毎、12ヶ月毎、15ヶ月毎、18ヶ月毎、又は24ヶ月毎の治療（好ましくは、抗CD3抗体による介在治療無しで）後に、患者はMMTT、OGTT、IGTT、又は2相ブドウ糖クランプ法（好ましくはMMTT）に対するC-ペプチド応答が、少なくとも40pmol/ml/240分、50pmol/ml/240分、60pmol/ml/240分、70pmol/ml/240分、80pmol/ml/240分、好ましくは少なくとも90pmol/ml/240分、さらに好ましくは少なくとも100pmol/ml/240分、又はさらに少なくとも110pmol/ml/240分のAUCとなる（該応答は、以前の治療の6ヶ月後、9ヶ月後、12ヶ月

10

20

30

40

50

後、15ヶ月後、18ヶ月後、又は24ヶ月後に測定した)。

【0024】

C-ペプチド応答の測定は、当業者に公知のように 細胞機能の尺度である。別の実施形態において 細胞機能又は残存 細胞機能は、第1相インスリン放出 (FPIR) により測定される。好適な実施形態において、8才より上で本発明の抗CD3抗体の投与前の患者は、少なくとも300pmol/l、少なくとも350pmol/l、少なくとも400pmol/l、少なくとも450pmol/l、少なくとも500pmol/l、少なくとも550pmol/l、さらに好ましくは少なくとも600pmol/l、又はさらに少なくとも700pmol/lのFPIRを有する。好適な実施形態において8才未満で抗CD3抗体の投与前の患者では、FPIRは少なくとも50pmol/l、少なくとも100pmol/l、少なくとも200pmol/l、少なくとも300pmol/l、少なくとも350pmol/l、少なくとも400pmol/l、少なくとも450pmol/l、少なくとも500pmol/l、少なくとも550pmol/l、さらに好ましくは少なくとも600pmol/l、又はさらに少なくとも700pmol/lである。さらに本発明は、本発明の方法に従う抗CD3抗体による1回の治療又は6ヶ月毎、9ヶ月毎、12ヶ月毎、15ヶ月毎、18ヶ月毎、又は24ヶ月毎の治療(好ましくは、抗CD3抗体による介在治療無しで)後に、FPIRが治療前の応答の少なくとも99%、少なくとも98%、少なくとも95%、少なくとも90%、少なくとも85%、少なくとも80%、少なくとも75%、少なくとも70%、少なくとも65%、又は少なくとも60%である(該応答は、以前の治療の6ヶ月後、9ヶ月後、12ヶ月後、15ヶ月後、18ヶ月後、又は24ヶ月後に測定した)のような治療法を提供する。具体的には本発明のかかる方法において、本発明の方法に従う抗CD3抗体による1回の治療又は6ヶ月毎、9ヶ月毎、12ヶ月毎、15ヶ月毎、18ヶ月毎、又は24ヶ月毎の治療(好ましくは、抗CD3抗体による介在治療無しで)後に、患者の平均FPIRは、治療前レベルの1%未満、5%未満、10%未満、20%未満、30%未満、40%未満、50%未満低下する(該FPIRは、以前の治療の6ヶ月後、9ヶ月後、12ヶ月後、15ヶ月後、18ヶ月後、又は24ヶ月後に測定した)。さらに、本発明の方法に従う抗CD3抗体による1回の治療又は6ヶ月毎、9ヶ月毎、12ヶ月毎、15ヶ月毎、18ヶ月毎、又は24ヶ月毎の治療(好ましくは、抗CD3抗体による介在治療無しで)後に、患者の平均FPIRは、同様の臨床パラメータで従来の糖尿病治療を開始し、6ヶ月、9ヶ月、12ヶ月、15ヶ月、又は18ヶ月にわたって従来の糖尿病治療を受けた患者のレベルよりも、少なくとも10%、20%、30%、40%、50%、70%、又は約100%大きい(該FPIRは、以前の治療の6ヶ月後、9ヶ月後、12ヶ月後、15ヶ月後、18ヶ月後、又は24ヶ月後に測定した)。具体的な実施形態において、本発明の方法に従う抗CD3抗体による1回の治療又は6ヶ月毎、9ヶ月毎、12ヶ月毎、15ヶ月毎、18ヶ月毎、又は24ヶ月毎の治療(好ましくは、抗CD3抗体による介在治療無しで)後に、患者のFPIRは、少なくとも300pmol/l、少なくとも400pmol/l、好ましくは少なくとも500 pmol/l、さらに好ましくは少なくとも600 pmol/l、又はさらに少なくとも700 pmol/l(8才以上の患者について)、又は少なくとも50pmol/l、少なくとも100pmol/l、少なくとも200 pmol/l、さらに好ましくは少なくとも350 pmol/l、又はさらに少なくとも400 pmol/l(8才未満の患者について)となる(該FPIRは、以前の治療の6ヶ月後、9ヶ月後、12ヶ月後、15ヶ月後、18ヶ月後、又は24ヶ月後に測定した)。

【0025】

1型糖尿病の治療に関する本発明の他の具体的な実施形態において、治療の開始時に患者はインスリンの投与を必要としないか、又は30U/kg/日未満、20U/kg/日未満、10U/kg/日未満、5U/kg/日未満、1U/kg/日未満、好ましくは0.5U/kg/日未満、さらに好ましくは0.25U/kg/日未満が必要である。別の実施形態において、本発明の方法に従う抗CD3抗体による1回の治療又は6ヶ月毎、9ヶ月毎、12ヶ月毎、15ヶ月毎、18ヶ月毎、又は24ヶ月毎の治療(好ましくは、抗CD3抗体による介在治療無しで)により、治療前のインスリンの1日の平均投与量と比較して、1日当たり必要なインスリンの平均量が低下(例えば、10%、20%、30%、40%、又は50%)するか、又は1日当たり必要なインスリンの平均量に変化がないか、又は1日当たり投与されるインスリンの量が、1%未満、5%未満、10%未満、20%未満、又は30%未満増加する。ある実施形態において、本発明の方法に従う抗CD3抗体による1回の治療又は6ヶ月毎、9ヶ月毎、12ヶ月毎、15ヶ月毎、18ヶ月毎、又は24ヶ月毎

の治療（好ましくは、抗CD3抗体による介在治療無しで）により、抗CD3抗体治療を受けたことの無い同様の状況の患者（すなわち、月間又は年間の最初に同様の化学パラメータ）について1日当たり必要なインスリンの平均量より、10%、20%、50%、75%、90%、99%少ない1日当たり必要なインスリンの平均量となる。

#### 【0026】

ある実施形態において、本発明の方法は低血糖症状の出現が、本発明の抗CD3抗体を投与されていない同様の状況の患者と比較して、1日、2日、5日、10日、又は15日間に1回、2回、3回、4回、5回、6回、又はそれ以上の回数低下する。

#### 【0027】

好適な実施形態において、患者は21才未満、18才、15才未満、12才未満、9才未満、5才未満、又は乳児～3才、2～5才、5～9才、9～12才、12～20才である。別の実施形態において患者は成人である。

#### 【0028】

具体的な実施形態において、被験体は島細胞を移植され、予防的又は治療的有効量の本発明の抗CD3抗体を投与される。具体的な実施形態において島細胞を移植された被験体は成人である。別の具体的な実施形態において島細胞を移植された被験体は、21才より若いか又は18才より若い。

#### 【0029】

本発明のある実施形態において、好ましくはその初期段階の自己免疫疾患に罹っている被験体は、疾患の進行を低下させるか又は遅延させるために、かつ疾患を管理するのに必要な治療レベルの上昇（例えば免疫抑制剤又は抗炎症剤の投与）を低下させるか又は防ぐために、抗CD3抗体を投与される。

#### 【0030】

本発明はまた併用療法を提供する。本発明の方法は、特定の適応症の標準的治療法（例えば、自己免疫疾患の治療又は改善のために投与される標準的免疫抑制剤及び／又は抗炎症治療）と組合せて行うことができる。例えば1型糖尿病について、本発明の抗CD3抗体療法は、糖尿病の他の治療法（例えば、特に限定されないが、インスリン、GLP-1類似体、GLP-1アゴニスト（例えばエクセナチド）、プラムリンチド、又はこれらの組合せの投与）とともに行うことができる。本発明のCD3抗体はさらに、他の治療法、例えば抗炎症剤、ステロイド療法（例えば、特に限定されないが、糖質コルチコイド、デキサメタゾン、コルチゾン、ヒドロコルチゾン、プレドニソン、プレドニソロン、トリアムシノロン、アズルフィジンなど）、非ステロイド抗炎症剤（NSAIDS）（例えば、特に限定されないが、COX-2インヒビター、アスピリン、イブプロフェン、ジクロフェナック、エトドラック、フェノプロフェン、インドメタシン、ケトロラック、オキサプロジン、ナブメトン、スリンドラック、トルメンチン、ナブロキセン、ケトプロフェンなど）、ベータアゴニスト、抗コリン作動薬、免疫調節剤（例えば、特に限定されないが、T細胞受容体調節物質、サイトカイン受容体調節物質、T細胞枯渇剤、サイトカインアンタゴニスト、モノカインアゴニスト、リンホカインインヒビターなど）、免疫抑制剤（例えば、特に限定されないが、メソトレキセート又はシクロスボリン）、抗血管形成剤（例えば、アンギオスタチン、及びTNF-αアンタゴニスト及び／又はインヒビター（例えば、特に限定されないが、エタネルセプト及びインフリキシマブ））、ダプソン及びソラーレン、とともにに行われる。本発明のある実施形態において、従来の治療法に対して抵抗性になった被験体は、本発明の方法を使用して治療される。

#### 【0031】

本発明において、抗CD3抗体の投与を用いて、例えば抗体投与に伴うサイトカイン放出、EBV活性化（EBV誘導性リンパ増殖性疾患、例えば単核細胞症）又はリンパ球減少症（<1000リンパ球/μl血清として定義される）のような有害作用を低下させるために、及び投与の回数と期間と低減させるために、抗CD3抗体が投与される。具体的な実施形態において、本発明は、2日間、3日間、4日間、5日間、6日間、7日間、8日間、9日間、10日間、11日間、12日間、13日間、又は14日間の抗CD3抗体投与の治療法を提供する。好適な実施形

10

20

30

40

50

態において、投与は連日行われ、例えば投与は少なくとも連続4日間、少なくとも連続5日間、少なくとも連続6日間、少なくとも連続7日間、少なくとも連続8日間、少なくとも連続9日間、少なくとも連続10日間、少なくとも連続11日間、又は少なくとも連続12日間投与される。別の実施形態において、本発明の抗CD3抗体の投与は、連続2日間以下、連続3日間以下、連続4日間以下、連続5日間以下、連続6日間以下、連続7日間以下、連続8日間以下、連続9日間以下、連続10日間以下、連続11日間以下、又は連続12日間以下行われる。さらに別の実施形態において、投与法は2日間又はそれ以下、3日間又はそれ以下、4日間又はそれ以下、5日間又はそれ以下、6日間又はそれ以下、7日間又はそれ以下、8日間又はそれ以下、9日間又はそれ以下、10日間又はそれ以下、11日間又はそれ以下、12日間又はそれ以下、13日間又はそれ以下、又は14日間又はそれ以下である。ある実施形態において投与量は、治療期間中毎日同じである。しかし好適な実施形態において、サイトカイン放出症候群の発生を低下させるか又は排除するために、投与量は、最初の数日間、例えば最初の3日間にわたって上昇する。

10

20

30

40

50

#### 【0032】

具体的な実施形態において、投与量は5～50 μg/kg/日、好ましくは20～30 μg/kg/日、さらに好ましくは約22～28 μg/kg/日、又は約25～26 μg/kg/日である。別の具体的な実施形態において、治療の第1日の投与量は1～3 μg/kg/日、好ましくは1.6 μg/kg/日であり、上記したように3、4、5、6、又は7日目までは毎日用量が上昇する。例えば1日目に被験体は約1.6 μg/kg/日、2日目に約3.2 μg/kg/日、3日目に約6.5 μg/kg/日、4日目に約13 μg/kg/日、そして以後は26 μg/kg/日の用量が投与される。別の実施形態において、1日目に被験体は約1.42 μg/kg/日、2日目に約5.7 μg/kg/日、3日目に約11 μg/kg/日、4日目に約22.6 μg/kg/日、そして以後は45.4 μg/kg/日の用量が投与される。

#### 【0033】

別の具体的な実施形態では、投与量は表面積に基づく。例えば投与量は177～1412 μg/m<sup>2</sup>/日、好ましくは706～1059 μg/m<sup>2</sup>/日、さらに好ましくは約781～990 μg/m<sup>2</sup>/日、又は約884～916 μg/m<sup>2</sup>/日である。別の実施形態において、治療の第1日の投与量は35～106 μg/m<sup>2</sup>/日、好ましくは57 μg/m<sup>2</sup>/日であり、上記したように3、4、5、6、又は7日目までは毎日用量が上昇する。例えば1日目に被験体は約57 μg/m<sup>2</sup>/日、2日目に約460 μg/m<sup>2</sup>/日、3日目に約230 μg/m<sup>2</sup>/日、4日目に約460 μg/m<sup>2</sup>/日、そして以後は919 μg/m<sup>2</sup>/日の用量が投与される。別の実施形態において、1日目に被験体は約455 μg/m<sup>2</sup>/日、2日目に約919 μg/m<sup>2</sup>/日、3日目及び以後は約1818 μg/m<sup>2</sup>/日の用量が投与される。別の実施形態において、1日目に被験体は約227 μg/m<sup>2</sup>/日、2日目に約459 μg/m<sup>2</sup>/日、3日目及び以後は約919 μg/m<sup>2</sup>/日の用量が投与される。別の実施形態において、1日目に被験体は約284 μg/m<sup>2</sup>/日、2日目に約574 μg/m<sup>2</sup>/日、3日目及び以後は約1148 μg/m<sup>2</sup>/日の用量が投与される。

#### 【0034】

具体的な実施形態において、サイトカイン放出と他の有害作用の可能性を低下させるために、最初の1、2、3、又は4回目の投与はIVによりゆっくり行う。例えば13 μg/kg/日の用量を約5分、約15分、約30分、約45分、約1時間、約2時間、約4時間、又は約6時間かけて行う。

#### 【0035】

より具体的な実施形態において最初の量は、治療の最終の1日当たりの用量の1/4～1/2～等量であるが、6、8、10、又は12時間の間隔で少しづつ投与される。例えば13 μg/kg/日の用量は、抗体の投与により引き起こされるサイトカイン放出のレベルを低下させるために、6時間の間隔で3～4 μg/kgを4回投与される。ある実施形態において、治療用量は等量で6、8、10、又は12時間間隔で投与される。別の実施形態において、6、8、10、又は12時間間隔で投与量の増加が起きるように、以後の各間隔で投与量部分が上昇する。

#### 【0036】

好適な実施形態において抗CD3抗体は、非経口的、例えば静脈内、筋肉内、又は皮下投与されるか、又は経口的に投与される。抗CD3抗体はまた、持続放出性製剤として投与してもよい。

## 【0037】

さらにある実施形態において本発明は、例えば特に限定されないが、サイトカイン放出、アポトーシス、EBVの活性化、抗CD3抗体に対する免疫反応、リンパ球減少、貧血、好中球減少、血小板減少、又は二次感染のような有害作用の重症度及び/又は発生率を低下させる、抗CD3抗体の投与方法と投与処方を提供する。別の実施形態において本発明は、同様の臨床的パラメータを有する被験体にマウスOKT3抗体を投与する同様の処方に伴う副作用と比較して、例えば特に限定されないが、サイトカイン放出、アポトーシス、EBVの活性化、抗CD3抗体に対する免疫反応、リンパ球減少、貧血、好中球減少、血小板減少、又は二次感染のような有害作用の重症度及び/又は発生率を低下させる、抗CD3抗体の投与方法と投与処方を提供する。

10

## 【0038】

別の実施形態において本発明は、CHO細胞中で抗CD3抗体、特にOKT3由来抗体、例えば特に限定されないがヒト化OKT 1(ala-ala)を産生する方法を提供する。具体的な実施形態において本発明は、(a)発現ベクターpMGX1303又はその子孫でトランスフェクトされたCHO細胞を、培地中で該抗CD3抗体の発現に適した条件下で培養し；そして(b)該培地から該抗CD3抗体を回収することを含んでなる、抗CD3抗体の製造方法を提供する。

## 【0039】

## 3.1 用語

本明細書において用語「約 (about)」又は「約 (approximately)」は、数とともに使用される時、言及されている数の1、5、又は10%以内の数を意味する。

20

## 【0040】

本明細書において、ポリペプチドの関連で用語「類似体」は、第2のポリペプチドとして同様のもしくは同一の機能を有するが、第2のポリペプチドの必ずしも類似のもしくは同一のアミノ酸配列は持たないか、又は第2のポリペプチドの類似のもしくは同一の構造を有するポリペプチドを意味する。同様のアミノ酸配列を有するポリペプチドは、少なくとも以下の1つを満足する第2のポリペプチドを意味する：(a)第2のポリペプチドのアミノ酸配列と、少なくとも30%、少なくとも35%、少なくとも40%、少なくとも45%、少なくとも50%、少なくとも55%、少なくとも60%、少なくとも65%、少なくとも70%、少なくとも75%、少なくとも80%、少なくとも85%、少なくとも90%、少なくとも95%、又は少なくとも99%同一のアミノ酸配列を有するポリペプチド；(b)少なくとも5個の連続したアミノ酸残基、少なくとも10個の連続したアミノ酸残基、少なくとも15個の連続したアミノ酸残基、少なくとも20個の連続したアミノ酸残基、少なくとも25個の連続したアミノ酸残基、少なくとも40個の連続したアミノ酸残基、少なくとも50個の連続したアミノ酸残基、少なくとも60個の連続したアミノ酸残基、少なくとも70個の連続したアミノ酸残基、少なくとも80個の連続したアミノ酸残基、少なくとも90個の連続したアミノ酸残基、少なくとも100個の連続したアミノ酸残基、少なくとも125個の連続したアミノ酸残基、又は少なくとも150個の連続したアミノ酸残基の第2のポリペプチドをコードするヌクレオチド配列と厳密性条件下でハイブリダイズするヌクレオチド配列によりコードされるポリペプチド；及び(c)第2のポリペプチドをコードするヌクレオチド配列と、少なくとも30%、少なくとも35%、少なくとも40%、少なくとも45%、少なくとも50%、少なくとも55%、少なくとも60%、少なくとも65%、少なくとも70%、少なくとも75%、少なくとも80%、少なくとも85%、少なくとも90%、少なくとも95%、又は少なくとも99%同一のヌクレオチド配列によりコードされるポリペプチド。第2のポリペプチドと同様の構造を有するポリペプチドは、第2のポリペプチドと類似の2次、3次構造、又は4次構造を有するポリペプチドを意味する。ポリペプチドの構造は、当業者に公知の方法（特に限定されないが、ペプチド配列決定、X線結晶学、核磁気共鳴、円偏光二色性、及び結晶電子顕微鏡を含む）により決定することができる。

30

## 【0041】

2つのアミノ酸配列又は2つの核酸配列の同一性パーセントを決定するために、最適比較目的のために配列が整列される（例えば、第2のアミノ酸配列又は核酸配列との最適な整

40

50

列のために、第1のアミノ酸配列又は核酸配列の配列中にギャップが導入される）。次に、対応するアミノ酸位置又はヌクレオチド位置のアミノ酸残基又はヌクレオチドが比較される。第1の配列中の位置が、第2の配列中の対応する位置で同じアミノ酸残基又はヌクレオチドで占められる時、分子はその位置で同一である。2つの配列の同一性パーセントは、配列が共有する同一の位置の数の閾数である（すなわち、%同一性 = 同一の重複位置の数 / 位置の総数 × 100%）。ある実施形態において2つの配列は同じ長さである。

#### 【0042】

2つの配列間の同一性パーセントの決定はまた、数学的アルゴリズムを使用して行われる。2つの配列の比較のために使用される数学的アルゴリズムの好適な非限定例は、Karlin and Altschul, 1990, Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. 87:2264 2268で、Karlin and Altschul, 1993, Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. 90:5873 5877として変更されている（これらはそれぞれ、参照することによりその全体が本明細書に組み込まれる）。かかるアルゴリズムは、Altschul, et al., 1990, J. Mol. Biol. 215:403のNBALST及びXBLASTプログラムに取り込まれている。BLASTヌクレオチド検索は、NBALSTヌクレオチドプログラムパラメータセット、例えばscore=100、wordlength=12を使用して、本発明の核酸分子と相同的なヌクレオチド配列を得ることができる。BLASTタンパク質検索は、XBLASTプログラムパラメータセット、例えばscore=50、wordlength=3を使用して、本発明のタンパク質分子と相同的なアミノ酸配列を得ることができる。比較目的のためにギャップト整列を得るために、Altschul et al., 1997, Nucleic Acids Res. 25:3389-3402に記載されたように、Gapped BLASTを使用することができる。あるいはPSI-BLASTを使用して、分子間の離れた関係を検出する反復検索を行うことができる（Id.）。BLAST、Gapped BLAST、及びPSI-BLASTプログラムを使用する時は、各プログラムの（例えばXBLAST及びNBALSTの）デフォルトパラメータを使用することができる（例えば、NCBIウェブサイト参照）。配列の比較に使用される数学的アルゴリズムの他の好適な非限定例は、Myers and Miller, 1988, CABIOS 4:11 17のアルゴリズムである（これは参照することによりその全体が本明細書に組み込まれる）。かかるアルゴリズムは、GCG配列整列ソフトウェアパッケージの一部であるALIGNプログラム（バージョン2.0）に取り込まれている。アミノ酸配列を比較するためにALIGNプログラムを使用する時は、PAM120 weight residue表、gap length penaltyが12、gap penaltyが4を使用することができる。

#### 【0043】

2つの配列間の同一性パーセントは、gap有り又は無しで上記と同様の方法を使用して決定することができる。同一性パーセントの計算においては、典型的には正確な一致のみが計数される。

#### 【0044】

本明細書において、非タンパク質類似体の関連で用語「類似体」は、第1の有機又は無機分子と同様の又は同一の機能を有し、かつ第1の有機又は無機分子と構造的に同様の第2の有機又は無機分子を意味する。

#### 【0045】

本明細書において用語「アンタゴニスト」は、別の分子の機能、活性、及び / 又は発現を阻止、阻害、低下、又は中和する任意のタンパク質、ポリペプチド、ペプチド、抗体、抗体断片、大分子、又は小分子（10kD未満）を意味する。種々の実施形態においてアンタゴニストは、別の分子の機能、活性、及び / 又は発現を、例えばリン酸緩衝化生理食塩水（PBS）のような対照と比較して、少なくとも10%、少なくとも15%、少なくとも20%、少なくとも25%、少なくとも30%、少なくとも35%、少なくとも40%、少なくとも45%、少なくとも50%、少なくとも55%、少なくとも60%、少なくとも65%、少なくとも70%、少なくとも75%、少なくとも80%、少なくとも85%、少なくとも90%、少なくとも95%、又は少なくとも99%低下させる。

#### 【0046】

本明細書において用語「抗体」は、モノクローナル抗体、多重特異的抗体、ヒト抗体、ヒト化抗体、キメラ抗体、1本鎖Fv（scFv）、1本鎖抗体、Fab断片、F(ab')断片、ジスル

10

20

30

40

50

フィド結合Fv ( sdFv ) 、及び抗イディオタイプ ( 抗Id ) 抗体 ( 例えば、本発明の抗体に対する抗Id抗体を含む ) 、及び上記の任意の抗体のエピトープ結合断片を意味する。特に抗体は、免疫グロブリン分子、及び免疫グロブリン分子の免疫活性断片、すなわち抗原結合部位を含有する分子を含む。免疫グロブリン分子は、任意のタイプ ( 例えば、IgG、IgE、IgM、IgD、IgA、及びIgY ) 、任意のクラス ( 例えば、IgG1、IgG2、IgG3、IgG4、IgA1、及びIgA2 ) 又はサブクラスでよい。

【 0 0 4 7 】

本明細書において用語「C-ペプチド」は、プロインスリンがインスリンに変換される時に切断される31アミノ酸のペプチドを意味する。プロインスリンは、A鎖、連結ペプチド ( C-ペプチド ) 、及びB鎖からなる。プロインスリンが切断された後、C-ペプチドはインスリンとともに膵臓のベータ細胞の分泌顆粒中に留まり、グルコース刺激に応答してインスリンとともに同時分泌される。C-ペプチドはこうしてインスリンとともに等モルで膵臓から放出され、内因性インスリン産生のマーカーとして使用される。

10

【 0 0 4 8 】

本明細書において、ポリペプチドの関連で用語「誘導体」は、アミノ酸残基の置換、欠失、又は付加により改変されたアミノ酸配列を含むポリペプチドを意味する。本明細書において用語「誘導体」はまた、修飾された、すなわちポリペプチドへの任意のタイプの分子の共有結合により修飾されたポリペプチドを意味する。例えば抗体は、例えば、グリコシル化、アセチル化、PEG化、リン酸化、アミド化、既知の保護基 / プロッキング基による誘導体化、タンパク質分解切断、細胞リガンド又は他のタンパク質への結合などにより修飾される。誘導体ポリペプチドは、当業者に公知の方法 ( 特に限定されないが、特異的化学的切断、アセチル化、ホルミル化、ツニカマイシンの代謝的合成などがある ) を使用する化学修飾により産生される。さらに誘導体ポリペプチドは、1つ又はそれ以上の非古典的アミノ酸を含有してもよい。ポリペプチド誘導体は、これが得られたポリペプチドと同様の又は同一の機能を有する。

20

【 0 0 4 9 】

本明細書において用語「障害」及び「疾患」は、同義で被験体の症状を示す。特に用語「自己免疫疾患」は用語「自己免疫障害」と同義に使用されて、自身の細胞、組織及び / 又は臓器への被験体の免疫反応により引き起こされる細胞、組織及び / 又は臓器傷害と特徴とする被験体の状態を意味する。

30

【 0 0 5 0 】

本明細書において用語「エピトープ」は、動物、好ましくは哺乳動物、特に好ましくはヒトの抗原性又は免疫原性を有するポリペプチド又はタンパク質の断片を意味する。免疫原活性を有するエピトープは、動物で抗体応答を誘発するポリペプチド又はタンパク質の断片である。抗原活性を有するエピトープは、当業者に公知の方法 ( 例えばイムノアッセイ ) により測定すると、抗体が免疫特異的に結合するポリペプチド又はタンパク質の断片である。抗原性エピトープは、必ずしも免疫原性ではない。

【 0 0 5 1 】

本明細書において用語「Fc領域」は、IgG重鎖のC末端領域を規定するのに使用される。境界はわずかに変化するが、ヒトIgG重鎖のFc領域は、Cys226からカルボキシ末端に延びると定義される。IgGのFc領域は、2つの定常ドメイン ( CH2とCH3 ) を含む。ヒトIgG Fc領域のCH2ドメイン ( 「C\_2」ドメインとも呼ぶ ) は、通常アミノ酸231からアミノ酸341に延びる。ヒトIgG Fc領域のCH3ドメインは、通常アミノ酸342からアミノ酸447に延びる。CH2ドメインは、他のドメインとは密接に対応していない点でユニークである。むしろ2つのN-結合分岐炭水化物鎖は、完全な未変性のIgGの2つのCH2ドメイン間に挿入される。

40

【 0 0 5 2 】

本明細書を通して、IgG重鎖中の残基の番号付けは、Kabat et al., Sequences of Proteins of Immunological Interest, 5th Ed. Public Health Service, NH1, MD (1991) 中のようなEU指標の番号付けである ( 明らかに参照することにより本明細書に組み込まれる ) 。「KabatのようなEU指標」は、ヒトIgG1 EU抗体の番号付けを意味する。

50

## 【0053】

「ヒンジ領域」は一般に、ヒトIgG1のGlu216からPRO230へのストレッチであると定義される。他のIgGイソタイプのヒンジ領域は、重鎖間S-S結合を形成する最初と最後のシステイン残基を同じ位置に置くことにより、IgG1配列と整列される。

## 【0054】

本明細書において、自己免疫疾患又は炎症性障害に関する用語「早期段階」は、本明細書で定義されたか又は当該分野で公知の該障害の明確な診断について少なくとも最小の基準を満足する臨床状態を意味する。さらに早期段階の自己免疫疾患又は炎症性障害は、典型的には自己免疫反応に起因する最小又は軽い組織傷害を示し、疾患を管理するのにほんのわずかの医療介入（例えば、低用量の標準的治療）が必要なだけである。

10

## 【0055】

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

20

## 【0056】

本明細書において用語「機能性断片」は、第2の異なるポリペプチドのアミノ酸配列の少なくとも5個の連続的アミノ酸残基、少なくとも10個の連続的アミノ酸残基、少なくとも15個の連続的アミノ酸残基、少なくとも20個の連続的アミノ酸残基、少なくとも25個の連続的アミノ酸残基、少なくとも40個の連続的アミノ酸残基、少なくとも50個の連続的アミノ酸残基、少なくとも60個の連続的アミノ酸残基、少なくとも70個の連続的アミノ酸残基、少なくとも連続的80個のアミノ酸残基、少なくとも連続的90個のアミノ酸残基、少なくとも連続的100個のアミノ酸残基、少なくとも連続的125個のアミノ酸残基、少なくとも連続的150個のアミノ酸残基、少なくとも連続的175個のアミノ酸残基、少なくとも連続的200個のアミノ酸残基、又は少なくとも連続的250個のアミノ酸残基のアミノ酸配列を含むペプチド又はポリペプチドを意味し、ここで該ペプチド又はポリペプチドは第2の異なるポリペプチドの少なくとも1つの機能を保持する。

30

## 【0057】

本明細書において用語「融合タンパク質」は、第1のタンパク質、又はその機能性断片、類似体、もしくは誘導体のアミノ酸配列と、異種タンパク質のアミノ酸配列（すなわち、第1のタンパク質、又はその機能性断片、類似体、もしくは誘導体とは異なる、第2のタンパク質、又はその機能性断片、類似体、もしくは誘導体）とを含むポリペプチドを意味する。具体的な実施形態において融合タンパク質は、CD3結合分子と異種タンパク質、ポリペプチド、又はペプチドとを含む。

40

## 【0058】

本明細書において用語「宿主細胞」は、核酸分子でトランスフェクトされた特定の対象細胞、及びかかる細胞の子孫又は子孫候補を意味する。かかる細胞の子孫は、以後の世代で起きる可能性のある変異もしくは環境の影響、又は宿主細胞ゲノムへの核酸分子の組み込みのために、核酸分子でトランスフェクトされた親細胞とは同一ではない。

## 【0059】

本明細書において用語「厳密性条件下でハイブリダイズする」は、互いに少なくとも60%（65%、70%、好ましくは75%）同一であるヌクレオチド配列が互いにハイブリダイズしたままである、ハイブリダイゼーション及び洗浄のための条件を示す。かかる厳密性条

50

件は当業者に公知であり、Current Protocols in Molecular Biology, John Wiley & Sons, N.Y. (1989), 6.3.1-6.3.6に記載されている（これは参照することによりその全体が本明細書に組み込まれる）。ある非限定例において厳密性ハイブリダイゼーション条件は、約45℃で6×SSC、0.2%SDSで1回又はそれ以上の洗浄である。好適な非限定例において厳密性ハイブリダイゼーション条件は、約45℃で6×SSCでハイブリダイゼーション、次に約50～65℃で0.2×SSC、0.1%SDSで1回又はそれ以上の洗浄（すなわち、50℃、55℃、60℃、又は65℃で1回又はそれ以上の洗浄）である。本発明の核酸は、これらの条件下でA又はTヌクレオチドからなるヌクレオチド配列にのみハイブリダイズする核酸分子は含まれないことは理解される。

10

## 【0060】

本明細書において用語「低血糖症エピソード」は、例えば発汗、吐き気、視力障害（例えば、スポットが見える）、震え、唇及び／又は舌の麻痺、いらいら、失神、ねっとりと冷たい皮膚、錯乱、神経過敏、脱力感、及び／又は心拍数上昇のような低血糖症の典型的症状を引き起こす、60mg/dL未満の被験体の血中グルコースレベルを意味する。

## 【0061】

本明細書において用語「免疫調節剤」及びその変種は、宿主の免疫系を調節する物質を意味する。ある実施形態において、免疫調節剤は免疫抑制剤である。別の実施形態において、免疫調節剤は免疫刺激剤である。免疫調節剤には、特に限定されないが、小分子、ペプチド、ポリペプチド、融合タンパク質、抗体、無機分子、模倣物、及び有機分子がある。

20

## 【0062】

本明細書において用語「抗原に免疫特異的に結合する」及び類似の用語は、抗原又はその断片に特異的に結合するが、他の抗原には特異的に結合しないペプチド、ポリペプチド、融合タンパク質、及び抗体又はその断片を意味する。抗原に免疫特異的に結合するペプチド又はポリペプチドは、例えばイムノアッセイ、ビアコア(BIAcore)、又は当該分野で公知の他のアッセイで測定すると、より低い親和性で他のペプチド又はポリペプチドに結合する。抗原に免疫特異的に結合する抗体又は断片は、関連抗原と交差反応する。好ましくは抗原に免疫特異的に結合する抗体又は断片は、他の抗原とは交差反応しない。

## 【0063】

本明細書において用語「CD3ポリペプチドに免疫特異的に結合する」及び類似の用語は、CD3ポリペプチド又はその断片に特異的に結合するが、他のポリペプチドには特異的に結合しないペプチド、ポリペプチド、融合タンパク質、及び抗体又はその断片を意味する。CD3ポリペプチドに免疫特異的に結合するペプチド又はポリペプチドは、例えばイムノアッセイ、ビアコア(BIAcore)、又は当該分野で公知の他のアッセイで測定すると、より低い親和性で他のペプチド又はポリペプチドに結合する。CD3ポリペプチドに免疫特異的に結合する抗体又は断片は、関連抗原と交差反応する。好ましくはCD3ポリペプチドに免疫特異的に結合する抗体又は断片は、他の抗原とは交差反応しない。D3ポリペプチドに免疫特異的に結合する抗体又は断片は、例えばイムノアッセイ、ビアコア(BIAcore)、又は当該分野で公知の他のアッセイにより同定することができる。実験的方法、例えばラジオイムノアッセイ(RIA)及び酵素結合免疫吸着測定法(ELISA)を使用して測定すると、任意の交差反応抗原に対するより高親和性でCD3ポリペプチドに結合する時、抗体又はその断片はCD3ポリペプチドに特異的に結合する。抗体特異性についての考察は、Paul編、1989, Fundamental Immunology Second Edition, Raven Press, New York at pages 332-336を参照されたい（これは参照することによりその全体が本明細書に組み込まれる）。

30

## 【0064】

本明細書において用語「組合せて」は、2つ以上の予防薬及び／又は治療薬の使用を意味する。用途「組合せて」は、予防薬及び／又は治療薬が障害を有する被験体に投与される順序を限定しない。第1の予防薬又は治療薬は、障害を有する被験体への第2の予防薬又は治療薬の投与の前（5分、15分、30分、45分、1時間、2時間、4時間、6時間、12時間、2

40

50

4時間、48時間、72時間、96時間、1週、2週、3週、4週、5週、6週、8週、又は12週前）、と同時に、又はその後（例えば、5分、15分、30分、45分、1 hour, 2時間、4時間、6時間、12時間、24時間、48時間、72時間、96時間、1週、2週、3週、4週、5週、6週、8週、又は12週後）投与することができる。

【0065】

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

【0066】

本明細書において核酸分子の関連で用語「単離された」は、天然起源の核酸分子中には存在するが他の核酸分子からは分離されている核酸分子を意味する。さらに「単離された」核酸分子（例えばcDNA分子）は、他の細胞物質を実質的に含まないか、組換え法により産生された時は培養培地であるか、又は化学合成された時は化学前駆体又は他の化学物質を実質的に含まない。好適な実施形態において、CD3結合分子をコードする核酸分子は単離されている。別の好適な実施形態において、抗CD3抗体をコードする核酸分子は単離されている。

【0067】

本明細書において本発明の方法（例えば抗CD3抗体療法）について「最小の毒性」は、患者が該方法に伴う1つ又はそれ以上の副作用（例えば、初回投与作用、サイトカイン放出症候群）に罹っているが、治療の利益が有害作用及び／又は該1つ又はそれ以上の副作用より大きいため、患者は治療により利益を得るか及び／又は治療を続ける（続けるように助言される）状態を意味する。

【0068】

本明細書において用語「非応答性」及び「抵抗性」は、自己免疫疾患が引き起こす1つ又はそれ以上の症状を軽減するのに臨床的に充分ではない、現在利用できる自己免疫疾患の予防薬又は治療薬で治療されている患者を示す。典型的にはこのような患者は、重症の持続性の活動期の疾患に罹っており、その自己免疫疾患に伴う症状を改善するのに追加の治療を必要とする。

【0069】

本明細書において用語「核酸」及び「ヌクレオチド配列」は、DNA分子（例えば、cDNA又はゲノムDNA）、RNA分子（例えば、mRNA）、DNAとRNA分子との組合せ、又はハイブリッドDNA／RNA分子、及びDNA分子又はRNA分子の類似体を含む。このような類似体は、例えば

10

20

30

40

50

ヌクレオチド類似体（これは、特に限定されないが、イノシン又はトリチル化塩基を含む）を使用して作成することができる。このような類似体はまた、分子に有効な性質（例えば、ヌクレアーゼ耐性又は細胞膜を通過する能力の上昇）を与える修飾骨格を含むDNA分子又はRNA分子を含む。核酸配列又はヌクレオチド配列は、1本鎖、2本鎖でもよく、1本鎖部分と2本鎖部分とを含有してもよく、及び3本鎖部分を含有してもよいが、好ましくは2本鎖DNAである。

#### 【0070】

本明細書において用語「予防薬」及び「治療薬」は、自己免疫疾患の1つ又はそれ以上の症状の予防、治療、管理、又は改善で使用できるCD3結合分子を意味する。ある実施形態において用語「治療薬」は抗CD3抗体（例えば、OKT3変種及びその誘導体）を意味する。

10

#### 【0071】

本明細書において用語「予防的に有効な量」は、障害の1つ又はそれ以上の症状の進行、再発、又は発症を予防するのに充分なCD3結合分子の量を意味する。ある実施形態において用途「予防的に有効な量」は、障害の1つ又はそれ以上の症状の進行、再発、又は発症を予防するのに充分な抗CD3抗体の量を意味する。

#### 【0072】

本明細書において用語「予防する」、「予防性」及び予防は、予防薬又は治療薬の投与により生じる、被験体の自己免疫疾患又は炎症性疾患の1つ又はそれ以上の症状の再発又は発症の予防を意味する。

20

#### 【0073】

本明細書において「プロトコール」は、投与スケジュールと投与処方を含む。本明細書のプロトコールは、使用法であり、予防と治療プロトコールを含む。

#### 【0074】

本明細書において用語「副作用」は、治療（例えば予防薬又は治療薬）の不要な有害作用を包含する。有害作用はいつも不要であるが、不要な作用が必ずしも有害ではない。治療（例えば予防薬又は治療薬）の有害作用は、有害であるか不快であるか危険である。抗CD3抗体の投与に伴う副作用の例には、初回投与副作用及び／又はサイトカイン放出症候群があり、いずれも、例えば当該分野で公知のように、インフルエンザ様症状、呼吸困難、神経症状、急性尿細管壊死、アポトーシス、EBVの活性化、リンパ球減少、貧血、好中球減少、血小板減少、二次感染、高熱、寒気／悪寒、頭痛、震え、吐き気／嘔吐、下痢、腹痛、倦怠感、筋肉痛／関節痛、及び疼痛、全身脱力感、頭痛、吐き気、嘔吐、発熱、筋肉痛、関節痛、震え、及び例えばIL-2、IL-6、IL-10、TNF、IFN、及びリンホカインの血清レベルの上昇として現れる。患者が経験する追加の好ましくない作用は無数にあり、当該分野で公知である。

30

#### 【0075】

本明細書において用語「被験体」及び「患者」は同義に使用される。本明細書において用語「被験体」は、動物、好ましくは非靈長類（例えば、ウシ、ブタ、ウマ、ネコ、イヌ、ラット、及びマウス）を含む哺乳動物、及び靈長類（例えば、サル又はヒト）、及びさらに好ましくはヒトを意味する。

40

#### 【0076】

本明細書において用語「相乗的」は、任意の2つ又はそれ以上の单一薬剤の付加的作用より有効な予防薬又は治療薬の組合せを意味する。予防薬又は治療薬の組合せの相乗作用は、1つ又はそれ以上の薬剤のより低用量の使用、及び／又は自己免疫疾患を有する被験体への該薬剤のより少ない回数の投与を可能にする。より低用量の予防薬又は治療薬を使用でき及び／又は該薬剤の投与がより少ない回数でよいことは、自己免疫疾患の予防又は治療において該薬剤の効力を低下させることなく、被験体への該薬剤の投与に伴う毒性を低下させる。さらに相乗作用は、自己免疫疾患の予防又は治療において薬剤の効力を改善させる。最終的に予防薬又は治療薬の組合せの相乗作用は、併用療法の使用に伴う有害な又は不要な副作用を避けるか又は低下させる。

50

## 【0077】

本明細書において用語「治療薬」は、自己免疫疾患又は炎症性疾患の1つ又はそれ以上の症状の予防、治療、管理、又は改善に使用できるCD3結合分子を意味する。ある実施形態において用語「治療薬」は、抗CD3抗体を意味する（例えば、OKT3及びその変種又は誘導体）。

## 【0078】

本明細書において用語「治療的有効量」は、障害の1つ又はそれ以上の症状の改善を引き起こすのに充分な治療薬の量を意味する。糖尿病について治療的有効量は、好ましくは被験体の1日の平均インスリン必要量を、少なくとも20%、少なくとも30%、少なくとも35%、少なくとも40%、少なくとも45%、少なくとも50%、少なくとも55%、少なくとも60%、少なくとも65%、少なくとも70%、少なくとも75%、少なくとも80%、少なくとも85%、少なくとも90%、少なくとも95%だけ低下させる治療薬の量を意味する。乾癬の治療について治療的有効量は、好ましくはヒトのPsoriasis Area and Severity Index (PASI) スコアを、少なくとも20%、少なくとも35%、少なくとも30%、少なくとも40%、少なくとも45%、少なくとも50%、少なくとも55%、少なくとも60%、少なくとも65%、少なくとも70%、少なくとも75%、少なくとも80%、少なくとも85%だけ低下させる治療薬の量を意味する。あるいは乾癬の治療について治療的有効量は、好ましくはヒトの包括的評価スコアを、少なくとも25%、少なくとも35%、少なくとも30%、少なくとも40%、少なくとも45%、少なくとも50%、少なくとも55%、少なくとも60%、少なくとも65%、少なくとも70%、少なくとも75%、少なくとも80%、少なくとも85%、少なくとも90%、少なくとも95%だけ改善する治療薬の量を意味する。

10

20

30

## 【0079】

本明細書において用語「治療する」、「治療」及び「治療性」は、1つ又はそれ以上のCD3結合分子の投与により生じる自己免疫疾患又は炎症性疾患に伴う1つ又はそれ以上の症状の改善を意味する。特にこのような用語は、1つ又はそれ以上の抗CD3抗体の投与により生じる自己免疫疾患に伴う1つ又はそれ以上の症状の改善を意味する。ある実施形態においてこのような用語は、そのような障害を有する被験体への1つ又はそれ以上のCD3結合分子、好ましくは1つ又はそれ以上の抗CD3抗体の投与により生じる自己免疫疾患又は炎症性疾患に伴う、1つ又はそれ以上の関節の腫脹の低下又は疼痛の低下を意味する。別の実施形態においてそのような用語は、ヒトのPASIスコアの低下を意味する。別の実施形態においてそのような用語は、ヒトの包括的評価スコアの低下を意味する。別の実施形態においてそのような用語は、ヒトの低血糖症エピソードの平均回数の低下を意味する。別の実施形態においてそのような用語は、末梢血中のC-ペプチドの参照レベルの維持を意味する。

## 【0080】

4. 図面の説明

図面の説明は後述する。

## 【発明を実施するための最良の形態】

## 【0081】

5. 発明の詳細な説明

本発明は、ヒトTcRに関連するCD3複合体に対するモノクローナル抗体、及び自己免疫疾患の治療のためのその投与方法及び/又は使用方法を提供する。具体的な実施形態において、抗体はCD3複合体のイプシロンサブユニットに結合する。本発明の方法は、本明細書に記載の又は当該分野で公知の任意の抗CD3抗体、例えばOKT3、ChAglyCD3 ( TRX4 (登録商標) )、HUM291 ( ビジリズマブ ; Nuvion (登録商標) )、UCHT1、Leu4、500A2、CLB-T3/3、BMA030、BH11、T2/30、AG3、BC3、SP34、RIV-9、UCHT1、64.1、M291、及びYTH 12.5、及びこれらの変種又は誘導体とともに使用される。本発明のある実施形態において抗体はOKT3、好ましくはOKT3のヒト化体、又はOKT3との結合について競合する抗体である。別の実施形態において抗体はヒト化OKT3であり、これは非修飾ヒト化OKT3抗体と比較した時、T細胞活性化及び/又はFcR結合の低下を示すように、本明細書に記載の1つ又はそれ以上のアミノ酸残基で修飾されている。

40

50

## 【0082】

抗CD3モノクローナル抗体は、ヒトTCRに関連する不变タンパク質複合体に対する強力な免疫抑制剤である (Van Wauwe, 1980, *J. Immunol.* 124:2708; これは参考することによりその全体が本明細書に組み込まれる)。CD3複合体は、TcRのそのリガンドへの結合により開始される活性化シグナルを伝達する付属構造であると考えられている。抗CD3抗体OKT3のTcRへの結合は、TcR阻止を仲介し、アロ抗原認識と細胞性細胞障害性を阻害する (Lan degren et al., 1982, *J. Exp. Med.* 155:1579; van Seventer et al., 1987, *J. Immunol.* 139:2545; Weiss et al., 1986, *Ann. Rev. Immunol.* 4:593、これらはそれぞれ参考することによりその全体が本明細書に組み込まれる)。しかしいくつかの免疫細胞に対するモノクローナル抗体 (OKT3を含む) の投与は、T細胞活性化 (IL-2、IL-6、TNF- $\alpha$ 、及びIFN- $\gamma$ を含む) を誘導する (Abramowicz, 1989; Chatenoud, 1989)。このサイトカイン産生は、モノクローナル抗体の第1回目の注入後にしばしば観察される有害な副作用と相関しており (Van Wauwe, 1980; Chatenoud, 1989; Thistlethwaite, 1988)、1週間又は2週間の治療後にある患者で現れる抗イソタイプ抗体及び抗イディオタイプ抗体の産生を増強する。この免疫応答は、特異的モノクローナル抗体、ならびに同じクラス (イソタイプ) の他の抗体を中和し、以後の治療を妨害する (Thistlethwaite, 1988)。

10

## 【0083】

いくつかの証拠は、これらの副作用が、モノクローナル抗体 (OKT3を含む) のFc部分を介するTリンパ球とFc受容体 (FcR) 搀持細胞との架橋の結果であることを強く示唆する (Debets, 1990, *J. Immunol.* 144:1304; Krutman, 1990, *J. Immunol.* 145:1337、これらはそれぞれ参考することによりその全体が本明細書に組み込まれる) : 1) 抗CD3モノクローナル抗体は、プラスチックに固定化するか又は培養物中に含まれるFcR+抗原提示細胞に結合しない場合は、in vitroでT細胞増殖を刺激しなかった (van Lier, 1989, *Immunol.* 68:45; これは参考することによりその全体が本明細書に組み込まれる) ; 2) FcRIとIIを介するOKT3の架橋は、in vitroでIL-2に応答して増殖を増強した (van Lier, 1987, *J. Immunol.* 139:2873; これは参考することによりその全体が本明細書に組み込まれる) ; 3) 145-2C11 (マウスCD3複合体に対するハムスターモノクローナル抗体) に誘導されるマウスT細胞の増殖は抗FcR抗体2.4G2により阻止することができた; 4) 145-2C11のF(ab')2断片のマウスへの注入は、完全なT細胞活性化を誘発することなく顕著な免疫抑制を誘導し (Hirsch, 1990)、全モノクローナル抗体よりマウスで毒性が低かった (Alegre, 1990) ; 及び5) OKT3 IgG2aと比較してFcR介在T細胞活性化の低下を示したOKT3 IgAスイッチ変種の投与は、in vivoでチンパンジーでより少ない副作用を示した (Parlevliet, 1990)。

20

## 【0084】

抗CD3抗体の投与はまた、一過性レトロウイルス活性化、特に休止状態エプスタインバーワイルス (EBV) 感染の活性化を引き起こす。抗CD3抗体治療はまた、活性化T細胞に対して溶解性であり、いくつかのT細胞集団に対してアポトーシス性であった。これらの作用の理由は不明であるが、これらは投与量に関連し、TcR複合体の調節の結果として最適ではないシグナル伝達が起きたためかも知れない。

30

## 【0085】

すなわち抗CD3モノクローナル抗体療法の改善は、抗体を分子的に修飾してそのFcRに対する親和性を低下させることにより得られる。得られた変異抗体は細胞活性化を低下させ in vivoでの毒性を低下することができたが、抗体の元々の免疫抑制性を保持している。

40

## 【0086】

## 5.1 CD3ポリペプチドに免疫特異的に結合する抗体

CD3ポリペプチドに免疫特異的に結合する抗体が当該分野で公知であることは認識されている。CD3ポリペプチドに免疫特異的に結合する公知の抗体の例には、特に限定されないが、OKT3、HuM291、M291、ChAglyCD3、UCHT1、Leu4、500A2、CLB-T3/3、BMA030、YTH 1.2.5、SP34、RIV-9、UCHT1 (それぞれ、Herold et al., 2005, *Diabetes* 54:1763-1769; Carpenter et al., 2005, *Biol. Blood Marrow Transplant* 11:465-471; Cole et al., 19

50

99, Transplantation 68:563-571; Keymeulen et al., 2005, N. Engl. J. Med. 352:264 22644; Schwinzer et al., 1992, J. Immunol. 148:1322-1328; Tsoukas et al., 1985, J. Immunol. 135:1719-1723; Brams et al., 1989, Immunol., 66:348-353; van Lier et al., 1989, Immunol. 68:45-50; Walker et al., 1987, Eur. J. Immunol. 17:1611-1618; Routledge et al., 1991, Eur. J. Immunol. 21:2717-2725, Yang et al., 1986, J. Immunol. 137:1097-1100; Vaessen et al., 1989, Transplant. Proc. 21:1026-1037; Callard et al., 1981, Clin. Exp. Immunol. 43:497-505; Tsoukas et al., 1984, Cell. Immunol. 89:66-74を参照、これらは参考することによりその全体が本明細書に組み込まれる)、及びBH11、T2/30、AG3、及びBC3 (Takas et al., 1987, J. Immunol. 138:687-698を参照; これは参考することによりその全体が本明細書に組み込まれる)がある。 10

#### 【0087】

本発明は、T細胞のような免疫細胞により発現されるCD3ポリペプチドに免疫特異的に結合する抗体であって、該T細胞の活性又は機能を調節する抗体を提供する。具体的な実施形態において、CD3ポリペプチドに免疫特異的に結合する抗体は、リンパ球(好ましくは末梢血T細胞)の活性を直接又は間接に調節する。特に本発明は、T細胞により発現されるCD3ポリペプチドに免疫特異的に結合する抗体であって、末梢血T細胞の活性を調節する抗体を提供する。

#### 【0088】

具体的な実施形態においてCD3ポリペプチドに免疫特異的に結合する抗体は、本明細書に記載の又は当業者に公知のin vivo又はin vitroアッセイで、T細胞活性化を少なくとも25%、少なくとも30%、少なくとも35%、少なくとも40%、少なくとも50%、少なくとも55%、少なくとも60%、少なくとも65%、少なくとも70%、少なくとも75%、少なくとも80%、少なくとも85%、少なくとも90%、少なくとも95%、又は少なくとも98%阻害し、T細胞増殖を少なくとも25%、少なくとも30%、少なくとも35%、少なくとも40%、少なくとも50%、少なくとも55%、少なくとも60%、少なくとも65%、少なくとも70%、少なくとも75%、少なくとも80%、少なくとも85%、少なくとも90%、少なくとも95%、又は少なくとも98%阻害する。別の実施形態においてCD3ポリペプチドに免疫特異的に結合する抗体は、本明細書に記載の又は当業者に公知のin vivo又はin vitroアッセイで、T細胞によるアロ抗原認識を少なくとも25%、少なくとも30%、少なくとも35%、少なくとも40%、少なくとも50%、少なくとも55%、少なくとも60%、少なくとも65%、少なくとも70%、少なくとも75%、少なくとも80%、少なくとも85%、少なくとも90%、少なくとも95%、又は少なくとも98%阻害し、T細胞増殖を少なくとも25%、少なくとも30%、少なくとも35%、少なくとも40%、少なくとも50%、少なくとも55%、少なくとも60%、少なくとも65%、少なくとも70%、少なくとも75%、少なくとも80%、少なくとも85%、少なくとも90%、少なくとも95%、又は少なくとも98%阻害する。別の実施形態においてCD3ポリペプチドに免疫特異的に結合する抗体は、本明細書に記載の又は当業者に公知のin vivo又はin vitroアッセイで、T細胞性細胞障害を少なくとも25%、少なくとも30%、少なくとも35%、少なくとも40%、少なくとも50%、少なくとも55%、少なくとも60%、少なくとも65%、少なくとも70%、少なくとも75%、少なくとも80%、少なくとも85%、少なくとも90%、少なくとも95%、又は少なくとも98%阻害し、T細胞増殖を少なくとも25%、少なくとも30%、少なくとも35%、少なくとも40%、少なくとも50%、少なくとも55%、少なくとも60%、少なくとも65%、少なくとも70%、少なくとも75%、少なくとも80%、少なくとも85%、少なくとも90%、少なくとも95%、又は少なくとも98%阻害する。 20

、少なくとも40%、少なくとも50%、少なくとも55%、少なくとも60%、少なくとも65%、少なくとも70%、少なくとも75%、少なくとも80%、少なくとも85%、少なくとも90%、少なくとも95%、又は少なくとも98%阻害する。 30

#### 【0089】

別の実施形態においてCD3ポリペプチドに免疫特異的に結合する抗体は、本明細書に記載の又は当業者に公知のin vivo又はin vitroアッセイで、サイトカイン発現及び/又は放出を誘導せず低下もさせない。さらに別の実施形態においてCD3ポリペプチドに免疫特異的に結合する抗体は、本明細書に記載の又は当業者に公知のin vivo又はin vitroアッセイで、マウスL3に関連するサイトカイン発現及び/又は放出と比較して、サイトカイン 40

10

20

30

40

50

発現及び／又は放出を低下させる。具体的な実施形態においてCD3ポリペプチドに免疫特異的に結合する抗体は、かかる抗体を投与された被験体の血清中のサイトカイン（例えばIFN-、IL-2、IL-4、IL-6、IL-9、IL-12、及びIL-15）濃度の上昇を誘導しない。別の実施形態においてCD3ポリペプチドに免疫特異的に結合する抗体は、本明細書に記載の又は当業者に公知の *in vivo* 又は *in vitro* アッセイで、サイトカイン発現及び／又は放出を誘導する。サイトカインの血清濃度は、当業者に公知の任意の方法（例えばELISA）により測定することができる。

【 0 0 9 0 】

ある実施形態において、本発明の方法による被験体への抗CD3抗体の1回又はそれ以上の投与後に、ELISA又は血清タンパク質の検出のための当該分野で公知の他の方法により、該被験体の血清中にサイトカイン（例えば、IL-2、IL-6、IL-10、TNF 、IFN ）は検出されない。ある実施形態において、本発明の方法による被験体への抗CD3抗体の1回又はそれ以上の投与後に、該被験体の血清中に1つ又はそれ以上のサイトカイン（例えばIL-2、IL-6、IL-10、TNF 、IFN ）が、約250pg/ml未満、約225pg/ml未満、約200pg/ml未満、約175pg/ml未満、約150pg/ml未満、約125pg/ml未満、約100pg/ml未満、約90pg/ml未満、約80pg/ml未満、約70pg/ml未満、約60pg/ml未満、約50pg/ml未満、約45pg/ml未満、約40pg/ml未満、約35pg/ml未満、約30pg/ml未満、約25pg/ml未満、約20pg/ml未満、約15pg/ml未満、約14pg/ml未満、約13pg/ml未満、約12pg/ml未満、約11pg/ml未満、約10pg/ml未満、約9pg/ml未満、約8pg/ml未満、約7pg/ml未満、約6pg/ml未満、約5pg/ml未満、約4pg/ml未満、約3pg/ml未満、約2pg/ml、又は約1pg/ml未満の濃度で検出される。さらに別の実施形態において、本発明の方法による被験体への抗CD3抗体の1回又はそれ以上の投与後に、該被験体の血清中（例えば、ELISA又は当該分野で公知の他の方法により）に1つ又はそれ以上のサイトカイン（例えばIL-2、IL-6、IL-10、TNF 、IFN ）が、検出されない～約10pg/ml未満、検出されない～約15pg/ml未満、検出されない～約20pg/ml未溎、検出されない～約25pg/ml未溎、検出されない～約30pg/ml未溎、検出されない～約40pg/ml未溎、検出されない～約50pg/ml未溎、検出されない～約75pg/ml未溎、検出されない～約100pg/ml未溎、検出されない～約150pg/ml未溎、検出されない～約200pg/ml未溎、検出されない～約250pg/ml未溎、検出されない～約300pg/ml未溎、検出されない～約350 pg/ml、又は検出されない～約400pg/ml未溎の濃度で検出される。さらに別の実施形態において、本発明の方法による被験体への抗CD3抗体の1回又はそれ以上の投与後に、該被験体の血清中（例えば、ELISA又は当該分野で公知の他の方法により）に1つ又はそれ以上のサイトカイン（例えばIL-2、IL-6、IL-10、TNF 、IFN ）が、約5pg/ml～10pg/ml未溎、約5 pg/ml～約15pg/ml未溎、約5pg/ml～約20pg/ml未溎、約5pg/ml～約25pg/ml未溎、約5pg/ml～約30pg/ml未溎、約5pg/ml～約35pg/ml未溎、約5pg/ml～約40pg/ml未溎、約5pg/ml～約50pg/ml未溎、約5pg/ml～約75pg/ml未溎、約5pg/ml～約100pg/ml未溎、約5pg/ml～約150pg/ml未溎、約5 pg/ml～約200pg/ml未溎、約5pg/ml～約250pg/ml未溎、約5pg/ml～約300pg/ml未溎、約5pg/ml～約350pg/ml未溎の濃度で検出される。

【 0 0 9 1 】

さらに別の実施形態において、本発明の方法は、被験体への抗CD3抗体の1回又はそれ以上の投与後に、該被験体の血清中に1つ又はそれ以上のサイトカインの検出可能（例えばELISAにより）な濃度を、マウスOKT3の同様の投与の結果として被験体の血清中の該1つ又はそれ以上のサイトカインの濃度と比較して、少なくとも約10%、少なくとも約25%、少なくとも約50%、少なくとも約75%、少なくとも約100%、少なくとも約125%、少なくとも約150%、少なくとも約175%、少なくとも約200%、少なくとも約225%、少なくとも約250%、少なくとも約275%、少なくとも約300%、少なくとも約325%、少なくとも約350%、少なくとも約375%、少なくとも約400%、少なくとも約500%、少なくとも約600%、少なくとも約700%、少なくとも約800%、少なくとも約900%、少なくとも約1000%低下させる。別の実施形態において、本発明の方法は、被験体への抗CD3抗体の1回又はそれ以上の投与後に、該被験体の血清中に1つ又はそれ以上のサイトカインの検出可能（例えばELISAにより）な濃度を、マウスOKT3の同様の投与の結果として被験体の血清中の該1つ又

10

20

30

40

50

はそれ以上のサイトカインの濃度と比較して、少なくとも約1倍、少なくとも約2倍、少なくとも約3倍、少なくとも約4倍、少なくとも約5倍、少なくとも約6倍、少なくとも約7倍、少なくとも約8倍、少なくとも約9倍、少なくとも約10倍、少なくとも約12倍、少なくとも約14倍、少なくとも約16倍、少なくとも約18倍、少なくとも約20倍、少なくとも約25倍、少なくとも約30倍、少なくとも約35倍、少なくとも約40倍、少なくとも約45倍、少なくとも約50倍、少なくとも約75倍、又は少なくとも約100倍低下させる。

【0092】

別の実施形態においてCD3ポリペプチドに免疫特異的に結合する抗体は、本明細書に記載の又は当業者に公知の *in vivo* 又は *in vitro* アッセイで T 細胞アネルギーを誘導する。別の実施形態においてCD3ポリペプチドに免疫特異的に結合する抗体は、本明細書に記載の又は当業者に公知の *in vivo* 又は *in vitro* アッセイで T 細胞アネルギーを誘導しない。別の実施形態においてCD3ポリペプチドに免疫特異的に結合する抗体は、本明細書に記載の又は当業者に公知の *in vivo* 又は *in vitro* アッセイで抗原特異的非応答性状態を、少なくとも30分間、少なくとも1時間、少なくとも2時間、少なくとも6時間、少なくとも12時間、少なくとも24時間、少なくとも2日間、少なくとも5日間、少なくとも7日間、少なくとも10日間又はそれ以上誘発する。

10

【0093】

別の実施形態においてCD3ポリペプチドに免疫特異的に結合する抗体は、本明細書に記載の又は当業者に公知の *in vivo* 又は *in vitro* アッセイで、T 細胞活性化を at least 25%、少なくとも30%、少なくとも35%、少なくとも40%、少なくとも50%、少なくとも55%、少なくとも60%、少なくとも65%、少なくとも70%、少なくとも75%、少なくとも80%、少なくとも85%、少なくとも90%、少なくとも95%、又は少なくとも98% 阻害し、T 細胞増殖を少なくとも25%、少なくとも30%、少なくとも35%、少なくとも40%、少なくとも50%、少なくとも55%、少なくとも60%、少なくとも65%、少なくとも70%、少なくとも75%、少なくとも80%、少なくとも85%、少なくとも90%、少なくとも95%、又は少なくとも98% 阻害する。

20

【0094】

別の実施形態においてCD3ポリペプチドに免疫特異的に結合する抗体のFcドメインは、T 細胞、単球、及びマクロファージのような免疫細胞により発現される少なくとも1つのFc受容体（「FcR」）に、検出できる程度に結合しない。さらに又はあるいは、CD3ポリペプチドに免疫特異的に結合する抗体のFcドメインは、T 細胞、単球、及びマクロファージのような免疫細胞により発現される1つ又はそれ以上のFcRに、検出できる程度に結合しない。

30

【0095】

CD3ポリペプチドに免疫特異的に結合する抗体には、特に限定されないが、モノクローナル抗体、多重特異的抗体、ヒト抗体、ヒト化抗体、キメラ抗体、1本鎖Fv (scFv)、1本鎖抗体、Fab断片、F(ab')断片、ジスルフィド結合Fv (sdFv)、及び抗イディオタイプ(抗Id)抗体（例えば、本発明の抗体に対する抗Id抗体を含む）、及び上記の任意のエピトープ結合断片がある。特にCD3ポリペプチドに免疫特異的に結合する抗体には、免疫グロブリン分子、及び免疫グロブリン分子の免疫活性断片、すなわちCD3ポリペプチドに免疫特異的に結合する抗原結合部位を含有する分子がある。本発明の免疫グロブリン分子は、免疫グロブリン分子の任意のタイプ（例えば、IgG、IgE、IgM、IgD、IgA、及びIgY）、任意のクラス（例えば、IgG1、IgG2、IgG3、IgG4、IgA1、及びIgA2）又はサブクラスでよい。具体的な実施形態において、CD3ポリペプチドに免疫特異的に結合し、T 細胞の活性を仲介する抗体は、Fcドメイン又はその断片（例えば、CH2、CH3、及び / 又はFcドメインのヒンジ領域）を含むか、又は免疫グロブリン分子の任意のタイプ（例えば、IgG、IgE、IgM、IgD、IgA、及びIgY）、任意のクラス（例えば、IgG1、IgG2、IgG3、IgG4、IgA1、及びIgA2）又はサブクラスからの1つ又はそれ以上の断片及び / 又はドメインを含む。好適な実施形態において、CD3ポリペプチドに免疫特異的に結合し、T 細胞の活性を仲介する抗体は、免疫細胞により発現されるFcRに結合しないFcドメイン又はその断片を含む。

40

50

## 【0096】

CD3ポリペプチドに免疫特異的に結合する抗体は、鳥及び哺乳動物（例えば、ヒト、マウス、ロバ、ヒツジ、ウサギ、ヤギ、モルモット、ラクダ、ウマ、又はニワトリ）を含む任意の動物起源でよい。好ましくは本発明の抗体は、ヒトモノクローナル抗体又はヒト化モノクローナル抗体である。CD3ポリペプチドに免疫特異的に結合するヒト抗体は、ヒト免疫グロブリンのアミノ酸配列を有する抗体、及びヒト免疫グロブリンライブラリーから単離された抗体、又はヒト遺伝子から抗体を発現するマウスからの抗体を含む。

## 【0097】

CD3ポリペプチドに免疫特異的に結合する抗体は、単一特異的、二重特異的、三重特異的、又はそれ以上の多重特異的でもよい。多重特異的抗体は、CD3ポリペプチドの異なるエピトープに特異的であるか、又はCD3ポリペプチドならびに異種エピトープ（例えば異種ポリペプチド又は固体支持体物質）の両方に特異的でもよい。例えばPCT公報 WO 93/17715、WO 92/08802、WO 91/00360、及びWO 92/05793；Tutt, et al., J. Immunol. 147:60-69(1991)；U.S. Patent Nos. 4,474,893, 4,714,681, 4,925,648, 5,573,920, 及び5,601,819；及びKostelny et al., J. Immunol. 148:1547-1553 (1992)を参照されたい（これらのそれぞれは参考することによりその全体が本明細書に組み込まれる）。

10

## 【0098】

本発明は、CD3ポリペプチドに対して高い結合親和性を有する抗体を提供する。具体的な実施形態においてCD3ポリペプチドに免疫特異的に結合する抗体は、結合速度定数すなわち $k_{on}$ 速度（抗体(Ab) + 抗原(Ag) $^{k_{on}}$  Ab-Ag）が、少なくとも $10^5 \text{ M}^{-1}\text{s}^{-1}$ 、少なくとも $5 \times 10^5 \text{ M}^{-1}\text{s}^{-1}$ 、少なくとも $10^6 \text{ M}^{-1}\text{s}^{-1}$ 、少なくとも $5 \times 10^6 \text{ M}^{-1}\text{s}^{-1}$ 、少なくとも $10^7 \text{ M}^{-1}\text{s}^{-1}$ 、少なくとも $5 \times 10^7 \text{ M}^{-1}\text{s}^{-1}$ 、又は少なくとも $10^8 \text{ M}^{-1}\text{s}^{-1}$ である。好適な実施形態においてCD3ポリペプチドに免疫特異的に結合する抗体は、 $k_{on}$ が、少なくとも $2 \times 10^5 \text{ M}^{-1}\text{s}^{-1}$ 、少なくとも $5 \times 10^5 \text{ M}^{-1}\text{s}^{-1}$ 、少なくとも $10^6 \text{ M}^{-1}\text{s}^{-1}$ 、少なくとも $5 \times 10^6 \text{ M}^{-1}\text{s}^{-1}$ 、少なくとも $10^7 \text{ M}^{-1}\text{s}^{-1}$ 、少なくとも $5 \times 10^7 \text{ M}^{-1}\text{s}^{-1}$ 、又は少なくとも $10^8 \text{ M}^{-1}\text{s}^{-1}$ である。

20

## 【0099】

別の実施形態においてCD3ポリペプチドに免疫特異的に結合する抗体は、 $k_{off}$ 速度（抗体(Ab) + 抗原(Ag) $^{k_{off}}$  Ab-Ag）が、 $10^{-1} \text{ s}^{-1}$ 未満、 $5 \times 10^{-1} \text{ s}^{-1}$ 未満、 $10^{-2} \text{ s}^{-1}$ 未満、 $5 \times 10^{-2} \text{ s}^{-1}$ 未満、 $10^{-3} \text{ s}^{-1}$ 未満、 $5 \times 10^{-3} \text{ s}^{-1}$ 未満、 $10^{-4} \text{ s}^{-1}$ 未満、 $5 \times 10^{-4} \text{ s}^{-1}$ 未満、 $10^{-5} \text{ s}^{-1}$ 未満、 $5 \times 10^{-5} \text{ s}^{-1}$ 未満、 $10^{-6} \text{ s}^{-1}$ 未満、 $5 \times 10^{-6} \text{ s}^{-1}$ 未満、 $10^{-7} \text{ s}^{-1}$ 未満、 $5 \times 10^{-7} \text{ s}^{-1}$ 未満、 $10^{-8} \text{ s}^{-1}$ 未満、 $5 \times 10^{-8} \text{ s}^{-1}$ 未満、 $10^{-9} \text{ s}^{-1}$ 未満、 $5 \times 10^{-9} \text{ s}^{-1}$ 未満、 $10^{-10} \text{ s}^{-1}$ 未満である。好適な実施形態においてCD3ポリペプチドに免疫特異的に結合する抗体は、 $k_{on}$ が、 $5 \times 10^{-4} \text{ s}^{-1}$ 未満、 $10^{-5} \text{ s}^{-1}$ 未満、 $5 \times 10^{-5} \text{ s}^{-1}$ 未満、 $10^{-6} \text{ s}^{-1}$ 未満、 $5 \times 10^{-6} \text{ s}^{-1}$ 未満、 $10^{-7} \text{ s}^{-1}$ 未満、 $5 \times 10^{-7} \text{ s}^{-1}$ 未満、 $10^{-8} \text{ s}^{-1}$ 未満、 $5 \times 10^{-8} \text{ s}^{-1}$ 未満、 $10^{-9} \text{ s}^{-1}$ 未満、 $5 \times 10^{-9} \text{ s}^{-1}$ 未満、又は $10^{-10} \text{ s}^{-1}$ 未満である。

30

## 【0100】

別の実施形態においてCD3ポリペプチドに免疫特異的に結合する抗体は、 $K_a$  ( $k_{on}/k_{off}$ ) が、少なくとも $10^2 \text{ M}^{-1}$ 、少なくとも $5 \times 10^2 \text{ M}^{-1}$ 、少なくとも $10^3 \text{ M}^{-1}$ 、少なくとも $5 \times 10^3 \text{ M}^{-1}$ 、少なくとも $10^4 \text{ M}^{-1}$ 、少なくとも $5 \times 10^4 \text{ M}^{-1}$ 、少なくとも $10^5 \text{ M}^{-1}$ 、少なくとも $5 \times 10^5 \text{ M}^{-1}$ 、少なくとも $10^6 \text{ M}^{-1}$ 、少なくとも $5 \times 10^6 \text{ M}^{-1}$ 、少なくとも $10^7 \text{ M}^{-1}$ 、少なくとも $5 \times 10^7 \text{ M}^{-1}$ 、少なくとも $10^8 \text{ M}^{-1}$ 、少なくとも $5 \times 10^8 \text{ M}^{-1}$ 、少なくとも $10^9 \text{ M}^{-1}$ 、少なくとも $5 \times 10^9 \text{ M}^{-1}$ 、少なくとも $10^{10} \text{ M}^{-1}$ 、少なくとも $5 \times 10^{10} \text{ M}^{-1}$ 、少なくとも $10^{11} \text{ M}^{-1}$ 、少なくとも $5 \times 10^{11} \text{ M}^{-1}$ 、少なくとも $10^{12} \text{ M}^{-1}$ 、少なくとも $5 \times 10^{12} \text{ M}^{-1}$ 、少なくとも $10^{13} \text{ M}^{-1}$ 、少なくとも $5 \times 10^{13} \text{ M}^{-1}$ 、少なくとも $10^{14} \text{ M}^{-1}$ 、少なくとも $5 \times 10^{14} \text{ M}^{-1}$ 、少なくとも $10^{15} \text{ M}^{-1}$ 、又は少なくとも $5 \times 10^{15} \text{ M}^{-1}$ である。さらに別の実施形態においてCD3ポリペプチドに免疫特異的に結合する抗体は、 $K_d$  ( $k_{off}/k_{on}$ ) が、 $10^{-2} \text{ M}$ 未満、 $5 \times 10^{-2} \text{ M}$ 未満、 $10^{-3} \text{ M}$ 未満、 $5 \times 10^{-3} \text{ M}$ 未満、 $10^{-4} \text{ M}$ 未満、 $5 \times 10^{-4} \text{ M}$ 未満、 $10^{-5} \text{ M}$ 未満、 $5 \times 10^{-5} \text{ M}$ 未満、 $10^{-6} \text{ M}$ 未満、 $5 \times 10^{-6} \text{ M}$ 未満、 $10^{-7} \text{ M}$ 未満、 $5 \times 10^{-7} \text{ M}$ 未満、 $10^{-8} \text{ M}$ 未満、 $5 \times 10^{-8} \text{ M}$ 未満、 $10^{-9} \text{ M}$ 未満、 $5 \times 10^{-9} \text{ M}$ 未満、 $10^{-10} \text{ M}$ 未満、 $5 \times 10^{-10} \text{ M}$ 未満、 $10^{-11} \text{ M}$ 未満、 $5 \times 10^{-11} \text{ M}$ 未満、 $10^{-12} \text{ M}$ 未満、 $5 \times 10^{-12} \text{ M}$ 未満、 $10^{-13} \text{ M}$ 未満、 $5 \times 10^{-13} \text{ M}$ 未満、 $10^{-14} \text{ M}$ 未

40

50

満、 $5 \times 10^{-14}$  M未満、 $10^{-15}$  M未満、又は少なくとも $5 \times 10^{-15}$  M未満である。

#### 【0101】

具体的な実施形態において、CD3ポリペプチドに免疫特異的に結合する抗体は、ヒト化OKT3又はその抗原結合断片（例えば、ヒト化OKT3の1つ又はそれ以上の相補性決定領域（CDR））である。OKT3は、U.S. Patent No. 4,658,019, 6,113,901及び6,491,916（これらのそれぞれは参照することによりその全体が本明細書に組み込まれる）に開示されたアミノ酸配列を有するか、又は American Type Culture Collection (ATCC (登録商標)) (1080 1 University Boulevard, Manassas, Virginia 20110-2209) に1993年7月28日に受け入れ番号CRL-8001で寄託された細胞株により產生されるモノクローナル抗体のアミノ酸配列を有する。OKT3のいくつかのヒト化体はまた、U.S. Patent No. 6,491,916に報告されている。別の実施形態において、CD3ポリペプチドに免疫特異的に結合する抗体は、OKT3、OKT3の誘導体、例えばヒト化OKT3、OKT3の抗原結合断片、又はさらに好ましくはこれらのヒト化体もしくはキメラ体ではない。

10

#### 【0102】

具体的な実施形態において本発明はまた、CD3ポリペプチドに免疫特異的に結合する抗体であって、ヒト化OKT3のVHドメインのアミノ酸配列を有する可変重鎖（「VH」）ドメインを含む抗体を提供する（例えば、配列番号7、配列番号8、又は配列番号9；図1B）。好適な実施形態においてヒト化OKT3抗体は、配列番号13（図2D）に示すhOKT3-1(ala-ala)重鎖のアミノ酸配列を含む重鎖、及び/又は配列番号12（図2C）に示すヌクレオチド配列を含む核酸分子によりコードされる重鎖を含む。

20

#### 【0103】

具体的な実施形態において本発明はまた、CD3ポリペプチドに免疫特異的に結合する抗体であって、ヒト化OKT3のVLドメインのアミノ酸配列を有する可変軽鎖（「VL」）ドメインを含む抗体を提供する（例えば、配列番号3又は配列番号4；図1A）。好適な実施形態においてヒト化OKT3抗体は、配列番号11（図2B）に示すhOKT3-1軽鎖のアミノ酸配列を含む軽鎖、及び/又は配列番号10（図2A）に示すヌクレオチド配列を含む核酸分子によりコードされる軽鎖を含む。

20

#### 【0104】

本発明はまた、CD3ポリペプチドに免疫特異的に結合する抗体であって、本明細書に開示されたVHドメイン又は本明細書に開示された抗体のVHドメインを、本明細書に開示されたVLドメイン又は他のVLドメインと組合せて含む抗体を提供する。本発明はさらに、CD3ポリペプチドに免疫特異的に結合する抗体であって、本明細書に開示されたVLドメイン又は本明細書に開示された抗体のVLドメインを、本明細書に開示されたVHドメイン又は他のVHドメインと組合せて含む抗体を提供する。

30

#### 【0105】

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

#### 【0106】

好適な実施形態において単離された核酸分子は、CD3ポリペプチドに免疫特異的に結合する抗体であって、図2Dに開示されたhOKT3-1(ala-ala)の重鎖のアミノ酸配列（配列番号13）を有する重鎖を含む抗体をコードする。

40

#### 【0107】

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

#### 【0108】

好適な実施形態において単離された核酸分子は、CD3ポリペプチドに免疫特異的に結合する抗体であって、図2Bに開示されたhOKT3-1の軽鎖のアミノ酸配列（配列番号11）を有する軽鎖を含む抗体をコードする。

50

## 【0109】

別の実施形態において単離された核酸分子は、CD3ポリペプチドに免疫特異的に結合する抗体であって、ヒト化OKT3のVHドメインのアミノ酸配列（配列番号7、配列番号8、又は配列番号9；図1B）を有するVHドメインと、ヒト化OKT3のVLドメインのアミノ酸配列（配列番号3又は配列番号4；図1A）を有するVLドメインとを含む抗体をコードする。別の実施形態において単離された核酸分子は、CD3ポリペプチドに免疫特異的に結合する抗体であって、ヒト化OKT3の重鎖のアミノ酸配列、例えば図2Dに開示されたhOKT3 -1(ala-ala)、を有する重鎖と、及び／又はヒト化OKT3の軽鎖のアミノ酸配列、例えば図2Bに開示されたhOKT3 -1のアミノ酸配列（配列番号11）、を含む軽鎖とを含む抗体をコードする。別の実施形態において本発明は、CD3ポリペプチドに免疫特異的に結合する抗体であって、配列番号12（図2C）のヌクレオチド配列を含む核酸分子によりコードされる重鎖と、及び／又は配列番号10（図2A）のヌクレオチド配列を含む核酸分子によりコードされる軽鎖とを含む抗体を提供する。

10

## 【0110】

ある実施形態においてCD3ポリペプチドに免疫特異的に結合する抗体は、図1Bに開示された1つ又はそれ以上のVH CDRを含む。別の実施形態においてCD3ポリペプチドに免疫特異的に結合する抗体は、図1Bに開示された2つ以上のVH CDRを含む。

20

## 【0111】

ある実施形態においてCD3ポリペプチドに免疫特異的に結合する抗体は、図1Aに開示された1つ又はそれ以上のVL CDRを含む。別の実施形態においてCD3ポリペプチドに免疫特異的に結合する抗体は、図1Aに開示された2つ以上のVL CDRを含む。

20

## 【0112】

ある実施形態においてCD3ポリペプチドに免疫特異的に結合する抗体は、図1Bに開示された1つ又はそれ以上のVH CDRと、図1Aに開示された1つ又はそれ以上のVL CDRとを含む。さらに別の実施形態においてCD3ポリペプチドに免疫特異的に結合する抗体は、図1Bに開示された2つ以上のVH CDRと、図1Aに開示された2つ以上のVL CDRとを含む。

30

## 【0113】

別の実施形態においてCD3ポリペプチドに免疫特異的に結合する抗体は、Kabat et al. (1987) の番号付けに従って234位にアラニンと235位にアラニンを含むFcドメインを含む。

30

## 【0114】

本発明はまた、CD3ポリペプチドに免疫特異的に結合する抗体であって、CD3ポリペプチドに免疫特異的に結合する、VHドメインの誘導体、VH CDR、VLドメイン、又は本明細書に記載されているか又は当業者が利用できるVL CDRを含む抗体を提供する。当業者に公知の標準的方法（例えば、アミノ酸置換を引き起こす部位特異的突然変異誘発及びPCR介在突然変異誘発）を使用して、本発明の抗体をコードするヌクレオチド配列に変異を導入することができる。好ましくは誘導体は、元々の分子に対して25未満のアミノ酸置換、20未満のアミノ酸置換、15未満のアミノ酸置換、10未満のアミノ酸置換、5未満のアミノ酸置換、4未満のアミノ酸置換、3未満のアミノ酸置換、又は2未満のアミノ酸置換を含む。好適な実施形態において誘導体は、1つ又はそれ以上の非必須アミノ酸残基（すなわち、抗体がCD3ポリペプチドに免疫特異的に結合するのに決定的に重要ではないアミノ酸残基）に保存的アミノ酸置換を有する。「保存的アミノ酸置換」は、そのアミノ酸残基が、同様の電荷を有する側鎖を有するアミノ酸残基で置換されたものである。同様の電荷を有する側鎖を有するアミノ酸残基の群は、当該分野で定義されている。これらの群は、塩基性側鎖を有するアミノ酸（例えば、リジン、アルギニン、ヒスチジン）、酸性側鎖を有するアミノ酸（例えば、アスパラギン酸、グルタミン酸）、非荷電極性側鎖を有するアミノ酸（例えば、グリシン、アスパラギン、グルタミン、セリン、スレオニン、チロシン、システイン）、非極性側鎖を有するアミノ酸（例えば、アラニン、バリン、ロイシン、イソロイシン、プロリン、フェニルアラニン、メチオニン、トリプトファン）、ベータ分岐側鎖を有するアミノ酸（例えば、スレオニン、バリン、イソロイシン）、及び芳香族側鎖を有する

40

50

アミノ酸（例えば、チロシン、フェニルアラニン、トリプトファン、ヒスチジン）がある。あるいは、例えば飽和突然変異誘発により、コード配列のすべて又は一部に沿って変異をランダムに導入することができ、得られる変異体を生物活性についてスクリーニングして、活性を保持する変異体を同定することができる。突然変異誘発後、コードされた抗体を発現させ、抗体の活性を決定することができる。

【0115】

具体的な実施形態において本発明はCD3ポリペプチドに免疫特異的に結合する抗体であって、可変軽鎖（VL）ドメイン及び／又は可変重鎖（VH）ドメインに1つ又はそれ以上のアミノ酸残基置換を有するヒト化OKT3のアミノ酸配列を含む抗体を提供する。本発明はまたCD3ポリペプチドに免疫特異的に結合する抗体であって、1つ又はそれ以上のVL CDR及び／又は1つ又はそれ以上のVH CDRに1つ又はそれ以上のアミノ酸残基置換を有するマウスOKT3のアミノ酸配列を含む抗体を提供する。ヒト化OKT3のVHドメイン、VH CDR、VLドメイン、及び／又はVL CDRに置換を導入することにより作成される抗体は、*in vitro*及び*in vivo*で、例えばCD3ポリペプチドに結合する能力、又はT細胞活性化を阻害する能力、又はT細胞増殖を阻害する能力、又はT細胞溶解を誘導する能力、又は自己免疫疾患に伴う1つ又はそれ以上の症状を予防、治療又は改善する能力について試験することができる。

10

【0116】

具体的な実施形態においてCD3ポリペプチドに免疫特異的に結合する抗体は、ATCC（登録商標）に受け入れ番号CRL-8001で寄託された細胞株により產生されるモノクローナル抗体をコードするヌクレオチド配列に、厳密性条件下（例えば、フィルター結合DNAに $6 \times$  SSC / 0.1% SDSで約50～65でハイブリダイゼーション）で、高厳密性条件下（フィルター結合核酸に $6 \times$  SSCで約45でハイブリダイゼーション後、0.1×SSC / 0.2% SDSで約68で1回又はそれ以上の洗浄）で、又は当業者に公知の他の厳密性ハイブリダイゼーション条件下（例えば、Ausubel, F.M. et al.編, 1989, *Current Protocols in Molecular Biology*, Vol. 1, Green Publishing Associates, Inc. 及び John Wiley & Sons, Inc., New York、6.3.1-6.3.6頁、及び2.10.3頁を参照；これは参考することによりその全体が本明細書に組み込まれる）でハイブリダイズするヌクレオチド配列を含む。

20

【0117】

具体的な実施形態においてCD3ポリペプチドに免疫特異的に結合する抗体は、ヒト化OKT3をコードするヌクレオチド配列に、厳密性条件下（例えば、フィルター結合DNAに $6 \times$  塩化ナトリウム／クエン酸ナトリウム（SSC）で約45でハイブリダイゼーション後、0.2×SSC / 0.1% SDSで約50～65で1回又はそれ以上の洗浄）で、高厳密性条件下（フィルター結合核酸に $6 \times$  SSCで約45でハイブリダイゼーション後、0.1×SSC / 0.2% SDSで約68で1回又はそれ以上の洗浄）で、又は当業者に公知の他の厳密性ハイブリダイゼーション条件下（例えば、Ausubel, F.M. et al.編, 1989, *Current Protocols in Molecular Biology*, Vol. 1, Green Publishing Associates, Inc. 及び John Wiley & Sons, Inc., New York、6.3.1-6.3.6頁、及び2.10.3頁を参照；これは参考することによりその全体が本明細書に組み込まれる）でハイブリダイズするヌクレオチド配列を含む。

30

【0118】

具体的な実施形態においてCD3ポリペプチドに免疫特異的に結合する抗体は、ヒト化OKT3のVHドメイン又はVLドメインをコードするヌクレオチド配列に、厳密性条件下（例えば、フィルター結合DNAに $6 \times$  塩化ナトリウム／クエン酸ナトリウム（SSC）で約45でハイブリダイゼーション後、0.2×SSC / 0.1% SDSで約50～65で1回又はそれ以上の洗浄）で、高厳密性条件下（フィルター結合核酸に $6 \times$  SSCで約45でハイブリダイゼーション後、0.1×SSC / 0.2% SDSで約68で1回又はそれ以上の洗浄）で、又は当業者に公知の他の厳密性ハイブリダイゼーション条件下（例えば、Ausubel, F.M. et al.編, 1989, *Current Protocols in Molecular Biology*, Vol. 1, Green Publishing Associates, Inc. 及び John Wiley & Sons, Inc., New York、6.3.1-6.3.6頁、及び2.10.3頁を参照；これは参考することによりその全体が本明細書に組み込まれる）でハイブリダイズするヌクレオチド配列によりコードされるVHドメインのアミノ酸配列又はVLドメインのアミノ酸配列を含む

40

50

。

## 【0119】

別の実施形態においてCD3ポリペプチドに免疫特異的に結合する抗体は、ATCC(登録商標)に受け入れ番号CRL-8001で寄託された細胞株により產生されるモノクローナル抗体のVH CDR又はVL CDRの任意の1つをコードするヌクレオチド配列に、厳密性条件下(例えば、フィルター結合DNAに6×塩化ナトリウム/クエン酸ナトリウム(SSC)で約45でハイブリダイゼーション後、0.2×SSC/0.1%SDSで約50~65で1回又はそれ以上の洗浄)で、高厳密性条件下(フィルター結合核酸に6×SSCで約45でハイブリダイゼーション後、0.1×SSC/0.2%SDSで約68で1回又はそれ以上の洗浄)で、又は当業者に公知の他の厳密性ハイブリダイゼーション条件下でハイブリダイズするヌクレオチド配列によりコードされるVH CDRのアミノ酸配列又はVL CDRのアミノ酸配列を含む。10

## 【0120】

別の実施形態においてCD3ポリペプチドに免疫特異的に結合する抗体は、ATCC(登録商標)に受け入れ番号CRL-8001で寄託された細胞株により產生されるモノクローナル抗体をコードするヌクレオチド配列に、厳密性条件下(例えば、フィルター結合DNAに6×塩化ナトリウム/クエン酸ナトリウム(SSC)で約45でハイブリダイゼーション後、0.2×SSC/0.1%SDSで約50~65で1回又はそれ以上の洗浄)で、高厳密性条件下(フィルター結合核酸に6×SSCで約45でハイブリダイゼーション後、0.1×SSC/0.2%SDSで約68で1回又はそれ以上の洗浄)で、又は当業者に公知の他の厳密性ハイブリダイゼーション条件下でハイブリダイズするヌクレオチド配列によりコードされるVH CDRのアミノ酸配列又はVL CDRのアミノ酸配列を含む。20

## 【0121】

具体的な実施形態においてCD3ポリペプチドに免疫特異的に結合する抗体は、ATCC(登録商標)に受け入れ番号CRL-8001で寄託された細胞株により產生されるモノクローナル抗体のアミノ酸配列と、少なくとも35%、少なくとも40%、少なくとも45%、少なくとも50%、少なくとも55%、少なくとも60%、少なくとも65%、少なくとも70%、少なくとも75%、少なくとも80%、少なくとも85%、少なくとも90%、少なくとも95%、又は少なくとも99%同一であるアミノ酸配列を含む。別の実施形態においてCD3ポリペプチドに免疫特異的に結合する抗体は、ヒト化OKT3(例えば、hOKT3-1)のアミノ酸配列と、少なくとも35%、少なくとも40%、少なくとも45%、少なくとも50%、少なくとも55%、少なくとも60%、少なくとも65%、少なくとも70%、少なくとも75%、少なくとも80%、少なくとも85%、少なくとも90%、少なくとも95%、又は少なくとも99%同一であるアミノ酸配列を含む。30

## 【0122】

別の実施形態においてCD3ポリペプチドに免疫特異的に結合する抗体は、ヒト化OKT3(例えば、hOKT3-1)のVHドメインと、少なくとも35%、少なくとも40%、少なくとも45%、少なくとも50%、少なくとも55%、少なくとも60%、少なくとも65%、少なくとも70%、少なくとも75%、少なくとも80%、少なくとも85%、少なくとも90%、少なくとも95%、又は少なくとも99%同一であるVHドメインのアミノ酸配列を含む。

## 【0123】

別の実施形態においてCD3ポリペプチドに免疫特異的に結合する抗体は、ヒト化OKT3(例えば、hOKT3-1)のVLドメインと、少なくとも35%、少なくとも40%、少なくとも45%、少なくとも50%、少なくとも55%、少なくとも60%、少なくとも65%、少なくとも70%、少なくとも75%、少なくとも80%、少なくとも85%、少なくとも90%、少なくとも95%、又は少なくとも99%同一であるVLドメインのアミノ酸配列を含む。40

## 【0124】

本発明は、CD3ポリペプチドへの結合について本明細書に記載の抗体と競合する抗体を包含する。具体的な実施形態において本発明は、当該分野で公知の抗CD3抗体、その誘導体、又はその抗原結合断片と競合する抗体を包含する。例えば本発明により提供される抗体は、CD3ポリペプチドへの結合について、OKT3又はその誘導体、例えばヒト化OKT3、又

10

20

30

40

50

はその抗原結合断片と競合する。別の具体的な実施形態において本発明は、CD3ポリペプチドへに結合について、ChAg1yCD3又はその誘導体又はその抗原結合断片と競合する抗体を包含する。別の具体的な実施形態において本発明は、CD3ポリペプチドへに結合について、HuM291又はその誘導体又はその抗原結合断片と競合する抗体を包含する。別の具体的な実施形態において本発明は、CD3ポリペプチドへに結合について、UCHT1又はその誘導体又はその抗原結合断片と競合する抗体を包含する。別の具体的な実施形態において本発明は、CD3ポリペプチドへに結合について、Leu4又はその誘導体又はその抗原結合断片と競合する抗体を包含する。別の具体的な実施形態において本発明は、CD3ポリペプチドへに結合について、YTH12.5又はその誘導体又はその抗原結合断片と競合する抗体を包含する。別の具体的な実施形態において本発明は、CD3ポリペプチドへに結合について、500A2又はその誘導体又はその抗原結合断片と競合する抗体を包含する。別の具体的な実施形態において本発明は、CD3ポリペプチドへに結合について、CLB-T3/3又はその誘導体又はその抗原結合断片と競合する抗体を包含する。別の具体的な実施形態において本発明は、CD3ポリペプチドへに結合について、BMA030又はその誘導体又はその抗原結合断片と競合する抗体を包含する。別の具体的な実施形態において本発明は、CD3ポリペプチドへに結合について、BH11又はその誘導体又はその抗原結合断片と競合する抗体を包含する。別の具体的な実施形態において本発明は、CD3ポリペプチドへに結合について、T2/30又はその誘導体又はその抗原結合断片と競合する抗体を包含する。別の具体的な実施形態において本発明は、CD3ポリペプチドへに結合について、AG3又はその誘導体又はその抗原結合断片と競合する抗体を包含する。別の具体的な実施形態において本発明は、CD3ポリペプチドへに結合について、BC3又はその誘導体又はその抗原結合断片と競合する抗体を包含する。別の具体的な実施形態において本発明は、CD3ポリペプチドへに結合について、SP34又はその誘導体又はその抗原結合断片と競合する抗体を包含する。別の具体的な実施形態において本発明は、CD3ポリペプチドへに結合について、RIV-9又はその誘導体又はその抗原結合断片と競合する抗体を包含する。別の具体的な実施形態において本発明は、CD3ポリペプチドへに結合について、64.1又はその誘導体又はその抗原結合断片と競合する抗体を包含する。別の具体的な実施形態において本発明は、CD3ポリペプチドへに結合について、M291又はその誘導体又はその抗原結合断片と競合する抗体を包含する。

#### 【 0 1 2 5 】

本発明はまた、CD3ポリペプチドへの結合について、本明細書に開示の抗体のVHドメインと、又は当該分野で公知の他の抗CD3抗体又はその誘導体もしくは変種のVHドメインと競合するVHドメインを包含する。具体的な実施形態において本発明は、CD3ポリペプチドへの結合について、OKT3又はその誘導体、例えばヒト化OKT3、のVHドメインと競合するVHドメインを包含する。本発明はまた、CD3ポリペプチドへの結合について、本明細書に開示の抗体のVLドメインと、又は当該分野で公知の他の抗CD3抗体又はその誘導体もしくは変種のVLドメインと競合するVLドメインを包含する。具体的な実施形態において本発明は、CD3ポリペプチドへの結合について、OKT3又はその誘導体、例えばヒト化OKT3、のVLドメインと競合するVLドメインを包含する。

#### 【 0 1 2 6 】

CD3ポリペプチドに免疫特異的に結合する抗体は、抗体への任意のタイプの分子の共有結合により修飾された誘導体を含む。例えば、特に限定されないが、抗体誘導体は、例えばグリコシル化、アセチル化、PEG化、リン酸化、アミド化、既知の保護基／ブロッキング基による誘導体化、タンパク質分解切断、細胞リガンド又は他のタンパク質への結合などにより修飾された抗体を含む。無数にある化学修飾の任意のものが、公知の方法（特に限定されないが、特異的化学切断、アセチル化、ホルミル化、ツニカマイシンの代謝的合成などを含む）により行われる。さらに誘導体は1つ又はそれ以上の非古典的アミノ酸を含有する。

#### 【 0 1 2 7 】

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

10

20

30

40

50

領域はヒトである。

【0128】

本発明はまた、CD3ポリペプチドに免疫特異的に結合する抗体であって、OKT3又はその誘導体、例えばフレームワーク領域に変異（例えば、1つ又はそれ以上のアミノ酸置換）を有する、OKT3又はその誘導体、例えばヒト化OKT3（例えば、hOKT3-1）のアミノ酸配列を含む抗体を包含する。ある実施形態においてCD3ポリペプチドに免疫特異的に結合する抗体は、VHドメイン及び/又はVLドメインのフレームワーク領域に1つ又はそれ以上のアミノ酸残基置換を有するOKT3又はその誘導体、例えばヒト化OKT3（例えば、hOKT3-1）のアミノ酸配列を含む抗体を包含する。

【0129】

本発明はまた、CD3ポリペプチドに免疫特異的に結合する抗体であって、可変領域及びフレームワーク領域に変異（例えば、1つ又はそれ以上のアミノ酸残基置換）を有するOKT3又はその誘導体、例えばヒト化OKT3（例えば、hOKT3-1）のアミノ酸配列を含む抗体を包含する。

【0130】

本発明はまた、CD3ポリペプチドに免疫特異的に結合する抗体と異種ポリペプチドとを含む融合タンパク質を提供する。好ましくは抗体が融合する異種ポリペプチドは、抗体をT細胞に標的化するのに有用である。

【0131】

本発明の抗体は、抗体が抗原に結合し、及び/又は抗イディオタイプ応答を生成することを、共有結合が妨害しないように、抗体に任意のタイプの分子を共有結合することにより、本来は修飾されている誘導体を含む。例えば、特に限定されないが、抗体誘導体は、例えばグリコシル化、アセチル化、PEG化、リン酸化、アミド化、既知の保護基/プロテキシング基による誘導体化、タンパク質分解切断、細胞リガンド又は他のタンパク質への結合などにより修飾された抗体を含む。無数にある化学修飾の任意のものが、公知の方法（特に限定されないが、特異的化学切断、アセチル化、ホルミル化、ツニカマイシンの代謝的合成などを含む）により行われる。さらに誘導体は1つ又はそれ以上の非古典的アミノ酸を含有する。

【0132】

### 5.1.1 ポリペプチドと変種Fc領域を有する抗体

治療用モノクローナル抗体の使用は、「初回投与」副作用の問題により限定される。初回投与副作用は、軽いインフルエンザ様症状から純粋な毒性までの範囲があり、軽症～重症でもあり、高熱、寒気/悪寒、頭痛、震え、吐き気/嘔吐、下痢、腹痛、倦怠感、筋肉痛/関節痛、及び疼痛、全身脱力感のような症状がある。初回投与副作用は、モノクローナル抗体のFc領域がFcR含有細胞上のFcRに結合し活性化することにより刺激されるリンホカイン産生とサイトカイン放出により引き起こされると考えられている。

【0133】

FcRは、Fc受容体の鎖上の認識ドメインを介して1つ又はそれ以上のイソタイプの免疫グロブリンを認識する。Fc受容体は、その免疫グロブリンサブタイプに対する特異性により定義される。例えば、IgGに対するFc受容体はFcRと呼ばれる。異なる付属細胞は異なるイソタイプの抗体のFc受容体を担持し、抗体のイソタイプが、どの付属細胞がある応答に関与するかを決定する（総説については、Ravetch J.V. et al. 1991, Annu. Rev. Immunol. 9: 457-92; Gerber J.S. et al. 2001 Microbes and Infection, 3: 131-139; Billadeau D.D. et al. 2002, The Journal of Clinical Investigation, 2(109): 161-168; Ravetch J.V. et al. 2000, Science, 290: 84-89; Ravetch J.V. et al., 2001 Annu. Rev. Immunol. 19:275-90; Ravetch J.V. 1994, Cell, 78(4): 553-60を参照；これらのそれぞれは参照することによりその全体が本明細書に組み込まれる）。異なるFc受容体、これらを発現される細胞、及びこれらのイソタイプ特異性は、表1に要約される（Immunobiology: The Immune System in Health and Disease, 4th ed. 1999, Elsevier Science Ltd/Garland Publishing, New Yorkから改変した；これは参照することによりその全体が

10

20

30

40

50

本明細書に組み込まれる)。

【0134】

従って本発明は、1つ又はそれ以上のFc RへのFcの結合を低下させるか又は排除することにより、初回投与副作用に伴う少なくとも1つの症状を低下させるか又は排除し、及び/又は本発明の抗体の投与に伴う毒性を最小にするCD3結合分子を包含する。かかるCD3結合タンパク質は、野生型Fc領域と比較して、1つ又はそれ以上のアミノ酸修飾を有する変種Fc領域を含み、ここでFc領域は、免疫グロブリン分子の任意のタイプ(例えば、IgG、IgE、IgM、IgD、IgA、及びIgY)、任意のクラス(例えば、IgG1、IgG2、IgG3、IgG4、IgA1、及びIgA2)又はサブクラスから得られることを特徴とする。この修飾は、匹敵する野生型Fc受容体と比較して、1つ又はそれ以上のFc RへのFcの結合を低下させるか又は排除する。この修飾は典型的にはアミノ酸置換である。しかし修飾は、アミノ酸挿入及び/又は欠失でもよい。典型的には修飾は、CH2及び/又はヒンジ領域で起きる。あるいは1つ又はそれ以上のFc RへのFcの結合は、1つ又はそれ以上のFc領域中の1つ又はそれ以上のグリコシル基を改変又は排除することにより、低下させるか又は排除することができる。Fcグリコシル化は、当該分野の方法により改変されるか又は排除することができる。例えばFcグリコシル化は、フコシル化が欠失している細胞(例えば、fuc6 null細胞)中でFcを産生することにより改変できるか、又はグリコシル化部位(例えば、CH2ドメイン中の297~299位のN-X-S/Tグリコシル化部位)を改変するか又は排除する脱グリコシル化酵素又はアミノ酸修飾により改変することができる。Fc R結合は、当該分野で公知で本明細書で示した標準的方法を使用して測定することができる。従って本発明の抗体は、リンホカイン産生又はサイトカイン放出により引き起こされるin vivo毒性が低下しているか又は全く無いため、特に有用である。本発明の分子のFcRに対する親和性及び結合性は、まずFc-FcR相互作用(すなわち、FcRへのFc受容体の特異的結合)の測定について当業者に公知のin vitroアッセイ(生化学的又は免疫学的ベースの測定法)(特に限定されないが、ELISAアッセイ、表面プラズモン共鳴アッセイ、免疫沈降アッセイを含む)を使用して測定される(セクション5.4を参照)。好ましくは本発明の分子の結合性はまた、1つ又はそれ以上のFc Rメディエーターエフェクター細胞機能を測定するためのin vitro機能アッセイにより性状解析することができる(セクション5.4を参照)。最も好適な実施形態において本発明の分子は、in vivo法(本明細書に記載され開示されたものを含む)とin vitroベースの測定法で同様の結合性を有する。しかし本発明は、in vitroベースの測定法で所望の表現型を示さないが、in vivoで所望の表現型を示す本発明の分子を排除しない。

【0135】

Fc 受容体

この群の各メンバーは、重要な膜糖タンパク質であり、免疫グロブリン関連ドメインのC2セットに関連する細胞外ドメイン、単一の膜スパニングドメイン及び種々の長さの細胞質内ドメインを有する。Fc RI(CD64)、Fc RII(CD32)、及びFc RIII(CD16)と呼ぶ3つのFc Rがあり、これらは顕著な相同性を有するが、異なる遺伝子にコードされる。活性化シグナルと阻害シグナルの両方が、連結後にFc Rを介してシグナル伝達される。異なる受容体アイソフォーム間の構造的差により、これらの相いれない機能が得られる。一般にFc RI、Fc RIIA、及びFc RIIIAへの相補的Fcドメインの結合により、下流の基質(例えば、PI<sub>3</sub>K)が活性化され、炎症促進メディエーターが放出される。これに対して、Fc RIIBへの相補的Fcドメインの結合によりFc RIIBがリン酸化され、SH2ドメインにイノシトールポリリン酸5'-ホスフェート(SHIP)が結合する。SHIPは、Fc RI仲介チロシンキナーゼ活性化の結果として放出されたホスホイノシトールメッセンジャーを加水分解し、こうして細胞内Ca<sup>++</sup>の流入を防ぐ。Fc RIIBの架橋はFc R結合への活性化応答を弱め、細胞応答性を阻害する。

【0136】

リンホカイン産生とサイトカイン放出の方法は、当該分野で公知でルーチンであり、本明細書に包含される。例えばサイトカイン放出は、サイトカイン(特に限定されないが、TNF-、GM-CSF、IFN-を含む)の分泌を測定することにより決定される。例えば、U.S.

10

20

30

40

50

Patent No. 6,491,916; Isaacs et al., 2001, *Rheumatology*, 40: 724-738を参照（これらのそれぞれは参考することによりその全体が本明細書に組み込まれる）。リンホカイン産生は、リンホカイン（特に限定されないが、インターロイキン-2（IL-2）、インターロイキン-4（IL-4）、インターロイキン-6（IL-6）、インターロイキン-12（IL-12）、インターロイキン-16（IL-16）、PDGF、TGF- $\alpha$ 、TGF- $\beta$ 、TNF- $\alpha$ 、TNF- $\beta$ 、GCSF、GM-CSF、MCSF、IFN- $\alpha$ 、IFN- $\beta$ 、TFN- $\alpha$ 、IGF-I、IGF-IIを含む）の分泌を測定することにより決定される。例えば、Isaacs et al., 2001, *Rheumatology*, 40: 724-738; Soubrane et al., 1993, *Blood*, 81(1): 15-19を参照（これらのそれぞれは参考することによりその全体が本明細書に組み込まれる）。

## 【0137】

10

本明細書において用語「Fc領域」は、IgG重鎖のC末端領域を規定するのに使用される。境界はわずかに変化するが、ヒトIgG重鎖のFc領域は、Cys226からカルボキシ末端に延びると定義される。IgGのFc領域は、2つの定常ドメイン（CH2とCH3）を含む。ヒトIgG Fc領域のCH2ドメイン（「C2」ドメインとも呼ぶ）は、通常アミノ酸231からアミノ酸341に延びる。ヒトIgG Fc領域のCH3ドメインは、通常アミノ酸342からアミノ酸447に延びる。CH2ドメインは、他のドメインとは密接に対応していない点でユニークである。むしろ2つのN-結合分岐炭水化物鎖は、完全な未変性のIgGの2つのCH2ドメイン間に挿入される。

## 【0138】

20

好適な実施形態において本発明は、変種Fc領域を含み、ここで変種Fc領域は、免疫グロブリン分子の任意のタイプ（例えば、IgG、IgE、IgM、IgD、IgA、及びIgY）、任意のクラス（例えば、IgG1、IgG2、IgG3、IgG4、IgA1、及びIgA2）又はサブクラスであり、かつここで変種Fc領域は、野生型Fc領域と比較して少なくとも1つのアミノ酸修飾を含み、この変種Fc領域は、当該分野で公知で本明細書に開示の標準的アッセイにより測定すると、野生型Fc領域を含む匹敵する分子と比較して、どのFcRにも結合しない。具体的な実施形態において、すべてのFcRへの結合を排除する1つ又はそれ以上のアミノ酸修飾は、233位にフェニルアラニンによる置換；又は238位にアルギニンによる置換；又は265位にアラニンによる置換；又は265位にグルタミン酸による置換；又は270位にアラニンによる置換；又は270位にアスパラギンによる置換；又は297位にアラニンによる置換；又は297位にグルタミンによる置換；又は298位にフェニルアラニンによる置換；又は298位にアスパラギンによる置換；又は299位にセリン又はスレオニン以外の任意のアミノ酸による置換；又は265位にアラニンによる置換と297位にアラニンによる置換；又は265位にアラニンによる置換と297位にグルタミンによる置換；又は265位にグルタミン酸による置換と297位にアラニンによる置換；又は265位にグルタミン酸による置換と297位にグルタミンによる置換；又は234位にアラニンによる置換と235位にアラニンによる置換；又は234位にアラニンによる置換と235位にグルタミン酸による置換を含む。別の実施形態において、すべてのFcRへの結合を排除する1つ又はそれ以上のアミノ酸修飾は、上記修飾の組合せ、又は本明細書に開示の又は当業者に公知の方法により測定すると、CD32A、CD32B、及びCD16Aへのnull結合を与える任意のものとの本明細書に記載の修飾の組合せを含む。

30

## 【0139】

40

本発明は、患者の初回投与副作用に伴う少なくとも1つの症状を低下又は排除するか、及び/又は本発明の1つ又はそれ以上の抗体の有効量を投与することを含む、本発明の抗体の投与に伴う毒性を最小にする方法を包含する。本発明の方法は、サイトカイン放出症候群に伴う少なくとも1つの症状（特に限定されないが、高熱、寒気/悪寒、頭痛、震え、吐き気/嘔吐、下痢、腹痛、倦怠感、筋肉痛/関節痛、及び疼痛、全身脱力感を含む）を低下させる。ある実施形態において本発明は、本発明の1つ又はそれ以上の抗体の有効量を投与することを含んでなる、初回投与副作用に伴う少なくとも1つの症状を低下させるか、及び/又は本発明の抗体の投与に伴う毒性を最小にする（例えば、サイトカイン放出症候群に伴う少なくとも1つの症状を最小にする）方法を包含し、ここで該低下は、本明細書に記載の又は当該分野で公知のin vitro又はin vivoアッセイにより、マウスOKT3の同様の量の投与に伴うものと比較して測定される。

50

## 【 0 1 4 0 】

本発明は、長い *in vivo* 半減期を有する CD3 ポリペプチドに免疫特異的に結合する抗体を提供する。特に本発明は、動物、好ましくは哺乳動物、及び最も好ましくはヒトでの半減期が、3日より長い、7日より長い、10日より長い、15日より長い、25日より長い、30日より長い、35日より長い、40日より長い、45日より長い、2ヶ月より長い、3ヶ月より長い、4ヶ月より長い、又は5ヶ月より長い CD3 ポリペプチドに免疫特異的に結合する抗体を提供する。

## 【 0 1 4 1 】

*in vivo* での抗体（例えば、モノクローナル抗体、側鎖抗体及び Fab 断片）の血清循環を延長するために、高分子量ポリエチレンギリコール（PEG）のような不活性ポリマー分子を、多官能性リンカー有り又は無しで、抗体の - 又は C 末端への PEG の部位特異的結合を介して、又はリジン残基上に存在するイプシロンアミノ基を介して、抗体に結合することができる。生物活性の喪失が最小となる線状又は分岐ポリマー誘導体化が使用されるであろう。抗体への PEG 分子の正しい結合を確実にするために、結合の程度は SDS-PAGE 及び質量スペクトル法により厳密に追跡される。未反応 PEG は、サイズ排除クロマトグラフィー又はイオン交換クロマトグラフィーにより、抗体 - PEG 結合体から分離することができる。PEG 誘導体化抗体は、当業者に公知の方法（例えば本明細書に記載のイムノアッセイ）を使用して、結合活性ならびに *in vivo* 効力について試験することができる。

10

## 【 0 1 4 2 】

*in vivo* 半減期が向上した抗体はまた、1つ又はそれ以上のアミノ酸修飾（すなわち、置換、挿入、又は欠失）を IgG 定常ドメイン、又はその FcRn 結合断片（好ましくは、Fc 又はヒンジ - Fc ドメイン断片）に導入することにより作成することができる。例えば国際特許公報 WO 98/23289；国際特許公報 WO 97/34631；及び U.S. Patent No. 6,277,375（これらのそれぞれは参考することによりその全体が本明細書に組み込まれる）を参照されたい。

20

## 【 0 1 4 3 】

## 5.1.2 抗体コンジュゲート

本発明は、融合タンパク質を生成するために異種ポリペプチド（又はその断片、好ましくは少なくとも 5、少なくとも 10、少なくとも 20、少なくとも 30、少なくとも 40、少なくとも 50、少なくとも 60、少なくとも 70、少なくとも 80、少なくとも 90、又は少なくとも 100 個の連続的アミノ酸のポリペプチド）に組換え融合又は化学的に結合した（共有結合及び非共有結合を含む）CD3 ポリペプチドに免疫特異的に結合する抗体又はその抗原結合断片を包含する。融合は必ずしも直接である必要は無く、リンカー配列を介してもよい。例えば、特定の細胞表面受容体（例えば、CD4 及び CD8）に特異的な抗体に抗体を融合又は結合することにより、*in vitro* 又は *in vivo* で特定のタイプの細胞（例えば T 細胞）に異種ポリペプチドを標的化するために抗体が使用される。

30

## 【 0 1 4 4 】

本発明はまた、精製を促進するためにペプチドのようなマーカー配列に融合した、CD3 ポリペプチドに免疫特異的に結合する抗体又はその抗原結合断片を包含する。好適な実施形態においてマーカーアミノ酸配列は、例えば特に pQE ベクター（QIAGEN, Inc., 9259 Ethan Avenue, Chatsworth, CA, 91311）で提供されるタグのようなヘキサヒスチジンペプチドである（その多くは市販されている）。例えば Gentz et al., 1989, Proc. Natl. Acad. Sci. USA 86:821-824（これは参考することによりその全体が本明細書に組み込まれる）に記載されているように、ヘキサンヒスチジンは融合タンパク質の便利な精製を提供する。精製で有用な他のペプチドタグには、特に限定されないが、血球凝集素「HA」タグ（これは、インフルエンザ血球凝集素タンパク質から得られるエピトープに対応する；Wilson et al., 1984, Cell 37:767；これは参考することによりその全体が本明細書に組み込まれる）、及び「flag」タグがある。

40

## 【 0 1 4 5 】

本発明はさらに、治療的に有用な可能性のある物質に結合した CD3 ポリペプチドに免疫

50

特異的に結合する抗体又はその抗原結合断片を包含する。CD3ポリペプチドに免疫特異的に結合する抗体又はその抗原結合断片は、治療成分、例えば治療的に有用な可能性のあるサイトトキシン（例えば細胞静止剤又は細胞死滅剤）、又は放射活性金属イオン、例えばアルファ放出体、に結合される。サイトトキシン又は細胞障害剤は、細胞に有害な任意の物質を含む。サイトトキシン又は細胞障害剤の例には、特に限定されないが、パクリタキセル、サイトカラシンB、グラミシジンD、臭化工チジウム、エメチン、マイトマイシン、エトポシド、テネポシド、ビンクリスチン、ビンプラスチン、コルヒチン、ドキソルビシン、ダウノルビシン、ジヒドロキシアントラシンジオン、ミトキサンtron、メトラマイシン、アクチノマイシンD、1-デヒドロテストステロン、糖質コルチコイド、プロカイン、テトラカイン、リドカイン、プロプラノロール、及びプロマイシン、及びこれらの類似体又は同族物がある。治療的に有用な可能性のある物質には、特に限定されないが、代謝拮抗剤（例えば、メソトレキセート、6-メルカプトプリン、6-チオグアニン、シタラビン、5-フルオロウラシルデカルバジン）、アルキル化剤（例えば、メクロレタミン、チオエパクロランプシル、メルファラン、カルムスチン（BSNU）及びロムスチン（CCNU）、シクロホスファミド、ブスルファン、ジプロモマンニトール、ストレプトゾトシン、マイトマイシンC、及びシスジクロロジアミン白金（II）（DDP）シスプラチン）、アントラサイクリン（例えば、ダウノルビシン（以前はダウノマイシン）及びドキソルビシン）、抗生物質（例えば、ダクチノマイシン（以前はアクチノマイシン）、ブレオマイシン、ミトラマイシン、及びアントラマイシン（AMC））、及び細胞分裂抑制薬（例えば、ビンクリスチン及びビンプラスチン）がある。

10

20

30

## 【0146】

さらにCD3ポリペプチドに免疫特異的に結合する抗体又はその抗原結合断片は、ある生物学的応答を修飾する治療薬又は薬剤成分に結合される。治療的に有用な可能性のある物質又は薬剤成分は、古典的化学治療薬に限定されるものではない。例えば薬剤成分は、所望の生物活性を有するタンパク質又はポリペプチドでもよい。かかるタンパク質には、例えば毒素、例えばアブリン、リシンA、シュードモナス外毒素、又はジフテリア毒素；タンパク質、例えば腫瘍壞死因子、インターフェロン- $\alpha$ （「IFN- $\alpha$ 」）、インターフェロン- $\beta$ （「IFN- $\beta$ 」）、神経増殖因子（「NGF」）、血小板由来増殖因子（「PDGF」）、組織プラスミノーゲンアクチベータ（「TPA」）、アポトーシス剤、例えばTNF- $\alpha$ 、TNF-

、血栓剤又は抗血管形成剤、例えばアンギオスタチン又はエンドスタチン；又は生物学的応答調節物質、例えばリンホカイン（例えば、インターロイキン-1（「IL-1」）、IL-2、IL-6、IL-10、顆粒球マクロファージコロニー刺激因子（「GM-CSF」）、及び顆粒球コロニー刺激因子（「G-CSF」）；又は成長因子（例えば、成長ホルモン（「GH」）がある。このようなタンパク質にはまた、AIM I, AIM II、Fasリガンド、及び/又はVEGFがある（国際特許公報 WO 97/33899；国際特許公報 WO 97/34911；Takahashi et al., 1994, J. Immunol., 6:1567-1574；及び国際特許公報 WO 99/23105を参照；これらのそれぞれは参照することによりその全体が本明細書に組み込まれる）。

30

## 【0147】

このような治療成分を抗体に結合させる方法は公知であり、例えばArnon et al., "Monoclonal Antibodies For Immunotargeting Of Drugs In Cancer Therapy", Monoclonal Antibodies And Cancer Therapy中, Reisfeld et al. (編), pp. 243-56 (Alan R. Liss, Inc. 1985); Hellstrom et al., "Antibodies For Drug Delivery", Controlled Drug Delivery (2nd Ed.)中, Robinson et al. (編), pp. 623-53 (Marcel Dekker, Inc. 1987); Thorpe, "Antibody Carriers Of Cytotoxic Agents In Cancer Therapy: A Review", Monoclonal Antibodies '84: Biological And Clinical Applications中, Pinchera et al. (編), pp. 475-506 (1985); "Analysis, Results, And Future Prospective Of The Therapeutic Use Of Radiolabeled Antibody In Cancer Therapy", Monoclonal Antibodies For Cancer Detection And Therapy中, Baldwin et al. (編), pp. 303-16 (Academic Press 1985); 及びThorpe et al., 1982, Immunol. Rev. 62:119-58を参照；これらのそれぞれは参照することによりその全体が本明細書に組み込まれる）を参照されたい。

40

50

## 【 0 1 4 8 】

SegalのU.S. Patent No. 4,676,980（これは参考することによりその全体が本明細書に組み込まれる）に記載されているように、CD3ポリペプチドに免疫特異的に結合する抗体又はその抗原結合断片は第2の抗体に結合させて、抗体ヘテロコンジュゲートを作成することができる。

## 【 0 1 4 9 】

CD3ポリペプチドに免疫特異的に結合する抗体又はその抗原結合断片は固体支持体に結合してもよく、これはT細胞のようなCD3+免疫細胞の精製に特に有用である。このような固体支持体には、特に限定されないが、ガラス、セルロース、ポリアクリルアミド、ナイロン、ポリスチレン、ポリ塩化ビニル、又はポリプロピレンがある。

10

## 【 0 1 5 0 】

5.2 予防法と治療法

本発明は、自己免疫疾患又はその1つ又はそれ以上の症状を予防、治療、又は改善するために、被験体、好ましくはヒト被験体に、CD3結合分子、特に抗CD3抗体を投与することを含んでなる治療法に関する。特に本発明は、糖尿病の1つ又はそれ以上の症状を予防、治療、又は改善するために、被験体、好ましくはヒト被験体に、CD3結合分子、詳しくは抗CD3抗体、さらに詳しくはFc受容体に結合しないFcドメインを有するヒト化型のOKT3を投与することを含んでなる治療法に関する。

## 【 0 1 5 1 】

本発明の分子を投与することにより治療される自己免疫疾患の例には、特に限定されないが、円形脱毛症、強直性脊椎炎、抗リン脂質症候群、自己免疫性アジソン病、副腎の自己免疫疾患、自己免疫性溶血性貧血、自己免疫性肝炎、自己免疫性卵巣炎及び睾丸炎、自己免疫性血小板減少、ベーチェット病、水疱性類天疱瘡、心筋症、セリアックスプルーピ膚炎、慢性疲労免疫機能障害症候群(CFIDS)、慢性炎症性脱髓性多発神経障害、チャーチー

20

ストラウス症候群、瘢痕性類天疱瘡、クレステ症候群、寒冷凝集素症、クローン病、円盤状ループス、本態性混合クリオグロブリン血症、線維筋痛症-筋炎、糸球体腎炎、グレーブズ病、ギラン-バーレ、橋本甲状腺炎、特発性肺線維症、特発性血小板減少紫斑病(ITP)、炎症性腸疾患(IBD)、IgA神経障害、若年性関節炎、扁平苔癬、エリテマトーデス、メニエール病、混合結合組織病、多発性硬化症、1型糖尿病又は免疫性糖尿病、重症筋無力症、尋常性天疱瘡、悪性貧血、結節性多発性動脈炎、多発性軟骨炎、多腺性症候群、リウマチ性多発筋痛、多発筋炎、皮膚筋炎、原発性無ガンマグロブリン血症、原発性胆汁性肝硬変、乾癬、乾癬性関節炎、レイノー症候群、ライター症候群、慢性関節リウマチ、類肉腫症、硬皮症、シェーグレン症候群、スティフマン症候群、全身性エリテマトーデス、紅斑性狼瘡、タカヤス動脈炎、側頭動脈炎、潰瘍性大腸炎、ぶどう膜炎、脈管炎（例えば、疱疹状皮膚炎脈管炎、白斑、及びヴェゲナー肉芽腫症）がある。またいくつかの自己免疫性障害も炎症状態に関連している。従って自己免疫疾患であると考えられるものと炎症性疾患の間には重複がある。従ってまた、いくつかの自己免疫性障害は炎症性疾患としても特徴付けられる。本発明の方法により予防、治療、又は管理できる炎症性疾患の例には、特に限定されないが、喘息、脳炎、炎症性腸疾患、慢性閉塞性肺疾患(COPD)、アレルギー障害、肺線維症、未分化脊椎関節症、未分化関節症、関節炎、炎症性骨溶解、及び慢性ウイルス感染又は細菌感染により生じる慢性炎症がある。本発明の組成物と方法により治療できる乾癬の種類の例には、特に限定されないが、粥状乾癬、膿疱性乾癬、滴状乾癬、及び逆乾癬がある。

30

40

## 【 0 1 5 2 】

5.2.1 糖尿病

1型糖尿病又は免疫性糖尿病は、膵臓のインスリン産生細胞が徐々に破壊される自己免疫応答により引き起こされる。細胞の破壊は、主にCTL(CD8+T細胞)により仲介されると考えられている。この疾患の早期段階（インスリン炎と呼ぶ）は、膵臓へのリンパ球浸潤が特徴であり、膵炎と抗細胞細胞障害性抗体の放出を伴う。糖尿病の臨床症状は典型的には、細胞の約80%が破壊された後になって初めて出現するため、疾患の早期段

50

階はしばしば見逃がされるか、又は誤診される。免疫抑制療法を用いても、細胞集団はあまり回復しないため、いったん症状が出ると、1型糖尿病は通常一生インスリン依存性となる。インスリンは現在1型糖尿病の症状を治療するための唯一の標準的治療法である。免疫抑制剤（例えばメソトレキセート及びシクロスボリン）は、1型糖尿病の治療において早期に臨床的有望性（細胞機能の維持、ならびに全身の免疫抑制）を示したが、その長期使用は多くの重症の副作用を引き起こした。

#### 【0153】

すなわち糖尿病における本発明の使用は、治療時に存在する細胞のレベルと機能を維持／防御するための方法を包含する。具体的な実施形態において抗CD3抗体療法は、急性糖尿病の治療には使用されないが、診断されて間もない個体（若年性糖尿病と診断された小児を含む）の疾患の進行を防ぐために使用される（Herold et al., 2005, Diabetes 54:1763-1769参照）。具体的な実施形態において抗CD3療法は、同じ集団（すなわち、年齢、性、人種、及び全身の健康）中の個体と比較して、残存細胞機能を有する患者でのみ使用され、本明細書に記載の又は当業者に公知の方法により決定される。別の実施形態において抗CD3抗体療法は、臍臓移植受容者の移植された細胞機能を維持するのに使用される。

10

#### 【0154】

治療前、治療中、及び治療後の細胞機能は、本明細書に記載の方法又は当業者に公知の任意のものにより評価される。例えば糖尿病管理と合併症治験（Diabetes Control and Complications Trial）（DCCT）研究グループは、パーセントグリコシル化ヘモグロビン（HA1とHA1c）のモニタリングを血中グルコース調節の評価のための標準法として確立した（DCCT, 1993, N. Engl. J. Med. 329:977-986）。あるいは日々のインスリン必要性、C-ペプチドレベル／応答、低血糖症エピソード、及び／又はFPIRの解析が、治療指標を確立するための細胞機能のマーカーとして使用される（Keymeulen et al., 2005, N. Engl. J. Med. 352:2598-2608; Herold et al., 2005, Diabetes 54:1763-1769; U.S. Pat. Appl. Pub. No. 2004/0038867 A1; 及びGreenbaum et al., 2001, Diabetes 50:470-476参照）。例えばFPIRは、IGTTの1分後及び3分後のインスリン値の合計として計算され、これはIslet Cell Antibody Register User's Studyプロトコールに従って行われる（例えば、Bingley et al., 1996, Diabetes 45:1720-1728 及びMcCulloch et al., 1993, Diabetes Care 16:911-915を参照）（該文献のそれぞれは参考することによりその全体が本明細書に組み込まれる）。

20

#### 【0155】

##### 5.2.2 乾癬

乾癬は、慢性の炎症性高増殖性皮膚疾患であり、人口全体の約1～2%が罹患し、同数の男性と女性が罹患している（Nevitt, G.J. et al., 1996, British J. of Dermatology 135:533-537；これは参考することによりその全体が本明細書に組み込まれる）。乾癬の約15万の新しい症例と乾癬による約400の死亡例が毎年報告される（Stern, R.S., 1995, Dermatol. Clin. 13:717-722；これは参考することによりその全体が本明細書に組み込まれる）。最も一般的なタイプの乾癬は、慢性plaques症候群である。多くの患者にとってその症状は慢性であり、疾患の間、緩解と再発の期間がある（Ashcroft, D.M., et al., 2000, J. of Clin. Pharm. And Therap. 25:1-10）。

30

#### 【0156】

乾癬は、頭皮又は肘や膝の伸筋面に存在する硬化した紅斑性スケーリング斑が特徴であるが、皮膚のあらゆる部位に起こり得る。乾癬の治療に利用できる治療選択肢には、局所薬、光線療法、及び全身薬がある。局所治療は、軽度～中度のplaques乾癬の患者の最も重要な治療法である。重症の乾癬については一般に全身性治療法が処方され、局所的治療は現実的でないか又は無効である。光線療法は、単独で又は局所薬又は全身薬とともに投与できる。残念ながらこれらの各治療法は重症の副作用を伴う。乾癬の治療に利用できる多くの局所薬は、皮膚刺激、毒性、及び発癌可能性を伴う（Ashcroft, D.M., et al., 2000, J. of Clin. Pharm. and Therap. 25:1-10）。光線療法（広帯域（UVB）又は長波（U

40

50

VA) には、短期リスク、例えば水疱発生、吐き気、紅斑、頭痛、及び皮膚痛、ならびに長期リスクの紫外線角膜炎、皮膚の早期老化、不規則性色素沈着、及び扁平上皮細胞癌（これは患者の4分の1で報告されている）を引き起こす（Stern, R.S., 1994, Cancer 73:2759-2764, これは参照することによりその全体が本明細書に組み込まれる）。全身薬もまた有害な副作用を伴い、妊婦患者にはほとんど利用できない。特に、重症の乾癬の治療には「標準的治療」と考えられているメソトレキセートは、長期に使用すると肝毒性のリスクがある。さらに、患者は、各治療の開始時又はその近くで、及び各1.0~1.5mgのメソトレキセート累積用量の後に線状生検を受ける用に勧められる（Roenigk, H.H. et al., 1988, J. of the Am. Acad. Of Dermatology；これは参照することによりその全体が本明細書に組み込まれる）。

10

## 【0157】

乾癬における現在利用できる治療法の起こりうる有害作用についての情報を与えられると患者は、しばしば治療を受けるより現在の状態のまま生きることを選択する（Greaves M.W., 1995, New England J. of Medicine 332:581-588；これは参照することによりその全体が本明細書に組み込まれる）。すなわち、現在利用できる治療法より乾癬の治療のより良い方法に対するニーズがある。

## 【0158】

従って乾癬における本発明の使用は、疾患の急性期を治療する方法と、乾癬の症状の再発を防ぐ方法とを包含する。乾癬における抗CD3療法に対する応答は、本明細書に記載の又は当業者に公知の任意の方法により評価される。乾癬の症状を追跡するのに使用される一般的な方法には、特に限定されないが、Psoriasis Area and Severity Index (PASI)、Physician Global Assessment (PGA) 及び NPF Psoriasis Score (NPF-PS) がある（Ashcroft et al., 1999, Br. J. Dermatol. 141:185-191; van der Kerkhof et al., 1997, Br. J. Dermatol. 137:661-662 及び Krueger et al., 1999, National Psoriasis Foundation Psoriasis Forum 5:1-5を参照；これらのそれぞれは参照することによりその全体が本明細書に組み込まれる）。

20

## 【0159】

5.2.3 慢性関節リウマチ

慢性関節リウマチ (RA) は、体の免疫系が、関節内で潤滑液を分泌する滑膜を間違って異物として認識する自己免疫疾患である。炎症が発生し、関節中及びその周りの軟骨や組織が傷害されるか又は破壊される。重症の症例では、この炎症が他の関節組織や周りの軟骨まで延長し、ここで骨や軟骨を侵食し関節が変形する。体は傷害組織を瘢痕組織で置き換え、関節内の普通の空間が狭くなり骨が癒着する。慢性関節リウマチは、こわばり、腫脹、疲労、貧血、体重減少、発熱、そしてしばしば激しい痛みを引き起こす。慢性関節リウマチのいくつかの一般的な症状には、目覚めた時の1時間又はそれ以上続く関節のこわばり；特定の指又は手首関節の腫脹；関節周りの軟組織の腫脹；及び関節両方側の腫脹がある。腫脹は疼痛が有る場合と無い場合があり、徐々に悪化するか、又は数年間同じ状態を維持した後進行する場合がある。慢性関節リウマチ以外に他のタイプの自己免疫性炎症に伴う関節炎には以下がある：乾癬性関節炎、ライター症候群、及び強直性脊椎炎性関節炎。慢性関節リウマチは体の両側の関節（例えば両手、手首、膝）に起きる。この対称性により慢性関節リウマチは他のタイプに関節炎から区別される。関節を侵す以外に、慢性関節リウマチは、皮膚、目、心臓、血液、又は神経を侵すこともある。

30

## 【0160】

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

40

## 【0161】

関節炎の正常な利用可能な治療法は、抗炎症剤又は免疫抑制剤により関節の炎症を低下

50

させることに焦点を当てている。関節炎の第一選択治療法は、通常抗炎症剤、例えばアスピリン、イブプロフェン、及びCox-2インヒビター（例えばセレコキシブ及びロフェコキシブ）である。「第2選択薬」には、金、メソトレキセート、及びステロイドがある。これらは関節炎の充分確立された治療法であるが、これらの治療法のみではほとんどの患者は寛解しない。慢性関節リウマチの病理発生の知識の最近の進歩のために、サイトカイン又は組換え可溶性受容体に対する抗体と組合せてメソトレキセートを使用するようになった。しかしメソトレキセートと抗TNF- 薬（例えばTNF- の組換え可溶性受容体）との組合せで治療された患者の約50%のみしか、臨床的に有意な改善を示さない。多くの患者は治療に抵抗性のままである。慢性関節リウマチの患者には、困難な治療の問題が存在する。現在の治療法の多くは、副作用の頻度が高く、疾患の進行を完全に防ぐことができない。

10

#### 【0162】

従ってRAにおける本発明の使用は、疾患の急性期を治療する方法と、RAの症状の再発を防ぐ方法とを包含する。RAにおける本発明の治療法に対する応答は、本明細書に記載の又は当業者に公知の任意の方法により評価される。例えばすべてではないが多くの慢性関節リウマチ患者は、血液中にリウマチ因子抗体を有する；しかしリウマチ因子を産生する他の症状も知られているため、この存在自体はRAの明確な診断を決定するものではない。従って慢性関節リウマチの診断と評価は一般に多くの要因（特に限定されないが、関節痛の特定の部位と対称性、朝の関節のこわばりの存在、皮膚の舌の隆起と結節の存在（リウマチ結節）、慢性関節リウマチを示唆するX線検査の結果を含む）の組合せに基づく。

20

#### 【0163】

##### 5.2.4 組織移植

遺伝的に同一ではない個体間の組織移植は、T細胞依存性機構による組織の免疫学的拒絶を引き起こす。同種移植片拒絶を防ぐために、一般にTcRシグナル伝達を調節してT細胞機能を妨害する薬剤により免疫抑制剤が行われる（Borel, J. F., 1989, Pharmacol. Rev. 42:260-372; Morris, P. J., 1991, Curr. Opin. Immunol. 3:748-751; Sigal et al., 1992, Ann. Rev. Immunol. 10:519-560; 及び L'Azou et al., 1999, Arch. Toxicol. 73:337-345、これらのそれぞれは参考することによりその全体が本明細書に組み込まれる）。さらに免疫抑制剤の作用が短時間であるため、移植受容者は移植拒絶を防ぐために通常一生にわたって免疫抑制剤の治療を必要とする。長期の免疫抑制剤治療を受けている移植受容者は、感染症や腫瘍を発症する高いリスクを有する。例えば免疫療法を受けている患者は、リンパ腫、皮膚腫瘍、及び脳腫瘍を発症するリスクが高い（Fellstrom et al., 1993, Immunol. Rev. 134:83-98；これは参考することによりその全体が本明細書に組み込まれる）。同種移植片拒絶の防止のために現在使用されている一般的免疫抑制剤の代わりに、T細胞刺激／活性化に関する受容体を特異的にブロックするのに、OKT3を含むモノクローナル抗体の使用が成功している。

30

#### 【0164】

従って組織移植における本発明の使用は、拒絶の急性期を治療する方法と、拒絶の症状の再発を防ぐ方法とを包含する。組織における本発明の治療法に対する応答は、本明細書に記載の又は当業者に公知の任意の方法により評価される。しかし、ドナー抗原（後述）を認識するCTLの頻度の上昇を検出する以外に、移植植物が受容者に拒絶されているかどうかを追跡する一般的的方法が存在しない。一部の移植植物（すなわち、腎臓又は肝臓）の機能は直接追跡できるが、拒絶の最初の兆候はしばしば、組織の完全な生理学的失敗であり、この時点では組織は通常救出不可能である。

40

#### 【0165】

##### 5.2.5 自己免疫疾患の診断、予測、及び評価

自己免疫疾患の患者は一般に、自己抗原を認識するCTLの頻度が上昇している。組織移植において患者は、ドナー特異的抗原を認識するCTLの頻度の上昇を示す。このような自己反応性又はドナー反応性CTLが、末梢血又は標的組織で検出される。例えば糖尿病患者では、自己反応性CTLが膵臓島細胞組織中で検出される；乾癬患者では、自己反応性CTLが

50

表皮又は皮膚組織中で検出される；関節炎患者では、自己反応性CTLが滑膜細胞組織中で検出され、臓器移植受容者では、ドナー反応性CTLが移植片中で検出される。自己反応性又は、ドナー反応性CTLの生成は自己抗体／ドナー抗体の出現や免疫障害の臨床症状の他の指標の出現に先行するため、特異的CTLの検出は、ある場合には障害のより高感度で特異的な診断を可能にする。

【0166】

臨床前の被験体と治療を受けた患者の両方でサンプル（例えば末梢血サンプル）中に存在する自己反応性CTLの絶対数と比率を定量するために、アッセイを使用することもできる。ある実施形態において自己免疫疾患又は同種移植片障害の重症度と経過は、かかるアッセイを使用して予測し追跡される。例えば糖尿病前被験体又は現在治療を受けている糖尿病患者の末梢血サンプル中に存在する自己反応性CTLを検出するために、本発明の方法を使用して、糖尿病自己抗原（例えばIA-2）と組合せてヒトMHCクラスI分子HLA-A0201を使用することができる。

10

【0167】

本発明の化合物はまた、例えば本発明の化合物又は調製物を結合させて標識したCTLを検出するためのイメージング法又は他のin vivo検出法と組合せてin vivoで使用することもできる。

【0168】

抗原特異的CTLは、免疫スポット（例えばELISPOT）アッセイ、MHCクラスIテトラマーアッセイ、又は本明細書に記載の又は当業者に公知の他のアッセイを含む多種類のアッセイを使用して検出することができる。

20

【0169】

疾患の進行又は治療の有効性のバイオマーカーが評価される期間は、単回投与の期間又は延長治療期間であり、例えば数時間、数日、数週、又は数ヶ月である。

【0170】

### 5.2.6 治療法と予防法

本発明の組成物と方法は、患部組織へのリンパ球のT細胞浸潤の上昇を特徴とする自己免疫疾患、又はT細胞活性化及び／又は異常抗原提示及び／又は認識の上昇を特徴とする自己免疫疾患のようなT細胞性疾患の予防、治療、又は改善に特に有用である。この組成物と方法はまた、T細胞活性化及び／又は異常抗原提示の上昇を特徴とする炎症性疾患の予防、治療、又は改善にも有用である。具体的な実施形態において本発明は、自己免疫疾患、特に1型糖尿病、潰瘍性大腸炎、乾癬、慢性関節リウマチ、ループス（特に皮膚）、乾癬性関節炎、炎症性腸疾患（IBD）、潰瘍性大腸炎、多発性硬化症、臓器移植の影響、移植片対宿主反応病（GVHD）などの自己免疫疾患の症状を治療、予防、管理、又は改善する方法を提供する。好ましくは本明細書に記載される治療処方は、自己免疫反応による軽い組織傷害を示し、疾患を管理するために最小の医療介入（低用量の標準的治療）を必要とする自己免疫疾患の早期段階の患者に投与される。本明細書に記載される治療処方は、高レベルの機能を維持し、追加の組織傷害を防止、遅延、又は低下させる。すなわち本発明の方法は、疾患又は障害を治療、管理、又は改善するための追加の治療の必要性を低下させる。

30

【0171】

好適な実施形態において、被験体の1型糖尿病に伴う 細胞機能の低下を防止するか又は低下させる、又は遅延もしくは低下させるために、1つ又はそれ以上のCD3結合分子（例えば、1つ又はそれ以上の抗CD3抗体）を含む医薬組成物が1回又はそれ以上投与される。さらに別の実施形態において、膵臓島細胞組織を含む同種移植片を受けた被験体の糖尿病に伴う 細胞機能の低下を防止するために、1つ又はそれ以上のCD3結合分子（例えば、1つ又はそれ以上の抗CD3抗体）を含む1つ又はそれ以上の医薬組成物が1回又はそれ以上投与される。これらの実施形態において、被験体の 細胞機能の変化は、セクション5.2.1に記載のように、日々のインスリン必要量、HbA1cレベル、C-ペプチド機能／レベル、又は低血糖症エピソードの頻度を解析することにより評価される。

40

50

【 0 1 7 2 】

具体的な実施形態において、抗CD3療法が同じ集団（すなわち、年齢、性、人種、及び全身の健康）中の個体と比較して、及び本明細書に記載の又は当業者に公知の方法により測定すると、少なくとも99%、少なくとも95%、少なくとも90%、少なくとも85%、少なくとも80%、少なくとも75%、少なくとも70%、少なくとも75%、少なくとも60%、少なくとも50%、少なくとも40%、少なくとも30%、少なくとも20%、又は少なくとも10%の残存 細胞機能を有する患者で使用される。別の実施形態において、本発明の抗CD3抗体による1クール又はそれ以上の治療後に、患者の 細胞機能のレベルは、治療前のレベルの1%未満、5%未満、10%未満、20%未満、30%未満、40%未満、又は50%未満、だけ低下する。本発明のさらに別の実施形態において、本発明の抗CD3抗体による1クール又はそれ以上の治療後に、患者の 細胞機能のレベルは、治療終了後少なくとも4ヶ月、少なくとも6ヶ月、少なくとも9ヶ月、少なくとも12ヶ月、少なくとも18ヶ月、少なくとも24ヶ月、又は少なくとも30ヶ月間、治療前レベルの少なくとも99%、少なくとも95%、少なくとも90%、少なくとも80%、少なくとも70%、少なくとも60%、又は少なくとも50%に維持される。本発明の別の実施形態において、本発明の抗CD3抗体による1クール又はそれ以上の治療後に、患者の 細胞機能のレベルは、治療前レベルの少なくとも99%、少なくとも95%、少なくとも90%、少なくとも80%、少なくとも70%、少なくとも60%、又は少なくとも50%に、治療終了後少なくとも4ヶ月、少なくとも6ヶ月、少なくとも9ヶ月、少なくとも12ヶ月、少なくとも18ヶ月、少なくとも24ヶ月、又は少なくとも30ヶ月間維持され、患者の平均リンパ球数を800細胞/ml未満、750細胞/ml未満、700細胞/ml未満、650細胞/ml未満、600細胞/ml未満、550細胞/ml未満、500細胞/ml未満、400細胞/ml未満、300細胞/ml未満、又は200細胞/mlもしくはそれ以下に低下させない。本発明の別の実施形態において、本発明の抗CD3抗体による1クール又はそれ以上の治療後に、患者の 細胞機能のレベルは、治療終了後少なくとも4ヶ月、少なくとも6ヶ月、少なくとも9ヶ月、少なくとも12ヶ月、少なくとも18ヶ月、少なくとも24ヶ月、又は少なくとも30ヶ月間、治療前レベルの少なくとも99%、少なくとも95%、少なくとも90%、少なくとも80%、少なくとも70%、少なくとも60%、又は少なくとも50%に維持され、患者の平均血小板数を100,000,000血小板/ml未満、75,000,000血小板/ml未満、50,000,000血小板/ml未満、25,000,000血小板/ml未満、1,000,000血小板/ml未満、750,000血小板/ml未満、500,000血小板/ml未満、250,000血小板/ml未満、150,000血小板/ml未満、又は100,000血小板/mlもしくはそれ以下に低下させない。

【 0 1 7 3 】

具体的な実施形態において抗CD3療法は、平均インスリン必要量が少なくとも0.2U/kg/日、少なくとも0.25U/kg/日、少なくとも0.5U/kg/日、少なくとも4U/kg/日、少なくとも10U/kg/日、少なくとも50U/kg/日、少なくとも100U/kg/日、又は200U/kg/日又はそれ以上である患者で使用される。別の実施形態においてヒトは、該ヒトの日々のインスリン必要量を、治療前レベルの少なくとも10%、少なくとも15%、少なくとも20%、少なくとも35%、少なくとも30%、少なくとも40%、少なくとも45%、少なくとも50%、少なくとも55%、少なくとも60%、少なくとも65%、少なくとも70%、少なくとも75%、少なくとも80%、少なくとも85%、又は少なくとも90%だけ低下させるために、予防的又は治療的有効量の1つ又はそれ以上の抗CD3抗体を投与される。本発明のさらに別の実施形態において、本発明の抗CD3抗体による1ケール又はそれ以上の治療後に、患者の日々のインスリン必要量の少なくとも10%、少なくとも15%、少なくとも20%、少なくとも35%、少なくとも30%、少なくとも40%、少なくとも45%、少なくとも50%、少なくとも55%、少なくとも60%、少なくとも65%、少なくとも70%、少なくとも75%、少なくとも80%、又は少なくとも85%の低下は、治療終了後少なくとも4ヶ月、少なくとも6ヶ月、少なくとも9ヶ月、少なくとも12ヶ月、少なくとも18ヶ月、少なくとも24ヶ月、又は少なくとも30ヶ月間維持される。本発明のさらに別の実施形態において、本発明の抗CD3抗体による1ケール又はそれ以上の治療後に、患者の日々のインスリン必要量の少なくとも10%、少なくとも15%、少なくとも20%、少なくとも35%、少なくとも30%、少なくとも40%、少なくとも45%、少

なくとも50%、少なくとも55%、少なくとも60%、少なくとも65%、少なくとも70%、少なくとも75%、少なくとも80%、又は少なくとも85%の低下は、治療終了後少なくとも4ヶ月、少なくとも6ヶ月、少なくとも9ヶ月、少なくとも12ヶ月、少なくとも18ヶ月、少なくとも24ヶ月、又は少なくとも30ヶ月間維持され、患者の平均リンパ球数を800細胞/ml未満、750細胞/ml未満、700細胞/ml未満、

650細胞/ml未満、600細胞/ml未満、550細胞/ml未満、500細胞/ml未満、400細胞/ml未満、300細胞/ml未満、又は200細胞/mlもしくはそれ以下に低下させない。

#### 【0174】

さらに別の実施形態において、1型糖尿病を有するヒト被験体は、MMTT、OGTT、又はIGTTに対する該ヒトのC-ペプチド又はFPIR応答を、約2週間以上、約1ヶ月、約2ヶ月、約4ヶ月、約5ヶ月、約6ヶ月、約7ヶ月、約8ヶ月、約9ヶ月、約10ヶ月、約11ヶ月、約12ヶ月、約15ヶ月、約18ヶ月、約21ヶ月又は、約24ヶ月維持するために、予防的又は治療的有効量の1つ又はそれ以上の抗CD3抗体を1回又はそれ以上投与される。本発明の別の実施形態において、本発明の抗CD3抗体による1クール又はそれ以上の治療後に、MMTT、OGTT、又はIGTTに対する患者のC-ペプチド応答又はFPIRは、治療前レベルの1%未満、5%未満、10%未満、20%未満、30%未満、40%未満、又は50%未満だけ低下する。本発明のさらに別の実施形態において、本発明の抗CD3抗体による1クール又はそれ以上の治療後に、MMTT、OGTT、又はIGTTに対する患者のC-ペプチド応答又はFPIRは、治療前レベルの少なくとも99%、少なくとも95%、少なくとも90%、少なくとも80%、少なくとも70%、少なくとも60%、又は少なくとも50%に、治療終了後少なくとも4ヶ月、少なくとも6ヶ月、少なくとも9ヶ月、少なくとも12ヶ月、少なくとも18ヶ月、少なくとも24ヶ月、又は少なくとも30ヶ月間維持される。本発明の別の実施形態において、本発明の抗CD3抗体による1クール又はそれ以上の治療後に、MMTT、OGTT、又はIGTTに対する患者のC-ペプチド応答又はFPIRは、治療前レベルの少なくとも99%、少なくとも95%、少なくとも90%、少なくとも80%、少なくとも70%、少なくとも60%、又は少なくとも50%に、治療終了後少なくとも4ヶ月、少なくとも6ヶ月、少なくとも9ヶ月、少なくとも12ヶ月、少なくとも18ヶ月、少なくとも24ヶ月、又は少なくとも30ヶ月間維持され、患者の平均リンパ球数を800細胞/ml未満、750細胞/ml未満、700細胞/ml未満、650細胞/ml未満、600細胞/ml未満、550細胞/ml未満、500細胞/ml未満、400細胞/ml未満、300細胞/ml未満、又は200細胞/mlもしくはそれ以下に低下させない。

10

20

30

40

50

#### 【0175】

別の実施形態において、自己免疫疾患、特に糖尿病の1つ又はそれ以上の症状を予防、治療、又は改善するために、被験体は、約0.5-50 μg/kg、約0.5-40 μg/kg、約0.5-30 μg/kg、約0.5-20 μg/kg、約0.5-15 μg/kg、約0.5-10 μg/kg、約0.5-5 μg/kg、約1-5 μg/kg、約1-10 μg/kg、約20-40 μg/kg、約20-30 μg/kg、約22-28 μg/kg、又は約25-26 μg/kgの、1つ又はそれ以上の抗CD3抗体の1つ又はそれ以上の単位用量を投与される。別の実施形態において、自己免疫疾患、特に糖尿病の1つ又はそれ以上の症状を予防、治療、又は改善するために、被験体は、200 μg/kg、175 μg/kg、150 μg/kg、125 μg/kg、100 μg/kg、95 μg/kg、90 μg/kg、85 μg/kg、80 μg/kg、75 μg/kg、70 μg/kg、65 μg/kg、60 μg/kg、55 μg/kg、50 μg/kg、45 μg/kg、40 μg/kg、35 μg/kg、30 μg/kg、26 μg/kg、25 μg/kg、20 μg/kg、15 μg/kg、13 μg/kg、10 μg/kg、6.5 μg/kg、5 μg/kg、3.2 μg/kg、3 μg/kg、2.5 μg/kg、2 μg/kg、1.6 μg/kg、1.5 μg/kg、1 μg/kg、0.5 μg/kg、0.25 μg/kg、0.1 μg/kg、又は0.05 μg/kgの、1つ又はそれ以上の抗CD3抗体の1つ又はそれ以上の単位用量を投与される。

#### 【0176】

ある実施形態において、自己免疫疾患、特に糖尿病の1つ又はそれ以上の症状を予防、治療、又は改善するために、被験体は、200 μg/kg又はそれ以下、175 μg/kg又はそれ以下、150 μg/kg又はそれ以下、125 μg/kg又はそれ以下、100 μg/kg又はそれ以下、95 μg/kg又はそれ以下、90 μg/kg又はそれ以下、85 μg/kg又はそれ以下、80 μg/kg又はそれ以下、75 μg/kg又はそれ以下、70 μg/kg又はそれ以下、65 μg/kg又はそれ以下、60 μg/kg又はそ

れ以下、55 μg/kg又はそれ以下、50 μg/kg又はそれ以下、45 μg/kg又はそれ以下、40 μg/kg又はそれ以下、35 μg/kg又はそれ以下、30 μg/kg又はそれ以下、26 μg/kg又はそれ以下、25 μg/kg又はそれ以下、20 μg/kg又はそれ以下、15 μg/kg又はそれ以下、13 μg/kg又はそれ以下、10 μg/kg又はそれ以下、6.5 μg/kg又はそれ以下、5 μg/kg又はそれ以下、3.2 μg/kg又はそれ以下、3 μg/kg又はそれ以下、2.5 μg/kg又はそれ以下、2 μg/kg又はそれ以下、1.6 μg/kg又はそれ以下、1.5 μg/kg又はそれ以下、1 μg/kg又はそれ以下、0.5 μg/kg又はそれ以下、0.25 μg/kg又はそれ以下、0.1 μg/kg又はそれ以下、又は0.05 μg/kg又はそれ以下の、1つ又はそれ以上の抗CD3抗体の1つ又はそれ以上の単位用量を投与される。

## 【0177】

ある実施形態において被験体は、予防的又は治療的有効量の1つ又はそれ以上の抗CD3抗体の1回又はそれ以上の投与を含む治療处方を受け、ここで治療のクールは、2日間、3日間、4日間、5日間、6日間、7日間、8日間、9日間、10日間、11日間、12日間、13日間、又は14日間行われる。別の実施形態において被験体は、予防的又は治療的有効量の1つ又はそれ以上の抗CD3抗体の1回又はそれ以上の投与を含む治療处方を受け、ここで治療のクールは、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、又は14日間連続して行われる。さらに別の実施形態において被験体は、予防的又は治療的有効量の1つ又はそれ以上の抗CD3抗体の1回又はそれ以上の投与を含む治療处方を受け、ここで治療のクールは、2日間以下、3日間以下、4日間以下、5日間以下、6日間以下、7日間以下、8日間以下、9日間以下、10日間以下、11日間以下、12日間以下、13日間以下、又は14日間以下連続して行われる。さらに別の実施形態において被験体は、予防的又は治療的有効量の1つ又はそれ以上の抗CD3抗体の1回又はそれ以上の投与を含む治療处方を受け、ここで治療のクールは、2日間又はそれ以下、3日間又はそれ以下、4日間又はそれ以下、5日間又はそれ以下、6日間又はそれ以下、7日間又はそれ以下、8日間又はそれ以下、9日間又はそれ以下、10日間又はそれ以下、11日間又はそれ以下、12日間又はそれ以下、13日間又はそれ以下、又は14日間又はそれ以下にわたって行われる。ある実施形態において治療处方は、予防的又は治療的有効量の1つ又はそれ以上の抗CD3抗体の、毎日、2日毎、3日毎、又は4日毎の投与を含む。ある実施形態において、投与される用量は处方の各日に同じである。ある実施形態において被験体は、予防的又は治療的有効量の1つ又はそれ以上の抗CD3抗体の1回又はそれ以上の投与を含む治療处方を受け、ここで予防的又は治療的有効量は、200 μg/kg/日、175 μg/kg/日、150 μg/kg/日、125 μg/kg/日、100 μg/kg/日、95 μg/kg/日、90 μg/kg/日、85 μg/kg/日、80 μg/kg/日、75 μg/kg/日、70 μg/kg/日、65 μg/kg/日、60 μg/kg/日、55 μg/kg/日、50 μg/kg/日、45 μg/kg/日、40 μg/kg/日、35 μg/kg/日、30 μg/kg/日、26 μg/kg/日、25 μg/kg/日、20 μg/kg/日、15 μg/kg/日、13 μg/kg/日、10 μg/kg/日、6.5 μg/kg/日、5 μg/kg/日、3.2 μg/kg/日、3 μg/kg/日、2.5 μg/kg/日、2 μg/kg/日、1.6 μg/kg/日、1.5 μg/kg/日、1 μg/kg/日、0.5 μg/kg/日、0.25 μg/kg/日、0.1 μg/kg/日、又は0.05 μg/kg/日である。ある実施形態において、1つ又はそれ以上の抗CD3抗体の予防的又は治療的有効量が達成されるまで、用量は治療处方の用量の最初の4分の1、最初の半分、又は最初の2/3をかけて上昇する。好適な実施形態において1つ又はそれ以上の抗CD3抗体の予防的又は治療的有効量が達成されるまで、用量は治療处方の用量の最初の3日間をかけて上昇する。ある実施形態において、投与される用量は处方の各日に同じである。ある実施形態において被験体は、予防的又は治療的有効量の1つ又はそれ以上の抗CD3抗体の1回又はそれ以上の投与を含む治療处方を受け、ここで予防的又は治療的有効量は、治療が進行するのに伴い、例えば0.01 μg/kg、0.02 μg/kg、0.04 μg/kg、0.05 μg/kg、0.06 μg/kg、0.08 μg/kg、0.1 μg/kg、0.2 μg/kg、0.25 μg/kg、0.5 μg/kg、0.75 μg/kg、1 μg/kg、1.5 μg/kg、2 μg/kg、4 μg/kg、5 μg/kg、10 μg/kg、15 μg/kg、20 μg/kg、25 μg/kg、30 μg/kg、35 μg/kg、40 μg/kg、45 μg/kg、50 μg/kg、55 μg/kg、60 μg/kg、65 μg/kg、70 μg/kg、75 μg/kg、80 μg/kg、85 μg/kg、90 μg/kg、95 μg/kg、100 μg/kg、又は125 μg/kgだけ上昇する。ある実施形態において、被験体は、予防的又は治療的有効量の1つ又はそれ以上の抗CD3抗体の1回又はそれ以

10

20

30

40

50

上の投与を含む治療処方を受け、ここで予防的又は治療的有効量は、1つ又はそれ以上の抗CD3抗体の予防的又は治療的有効量が達成されるまで、1.25倍、1.5倍、2倍、2.25倍、2.5倍、5倍上昇する。

#### 【0178】

具体的な実施形態において、自己免疫疾患の1つ又はそれ以上の症状を予防、治療、又は改善するために、被験体は、200 μg/kg又はそれ以下、好ましくは175 μg/kg又はそれ以下、150 μg/kg又はそれ以下、125 μg/kg又はそれ以下、100 μg/kg又はそれ以下、95 μg/kg又はそれ以下、90 μg/kg又はそれ以下、85 μg/kg又はそれ以下、80 μg/kg又はそれ以下、75 μg/kg又はそれ以下、70 μg/kg又はそれ以下、65 μg/kg又はそれ以下、60 μg/kg又はそれ以下、55 μg/kg又はそれ以下、50 μg/kg又はそれ以下、45 μg/kg又はそれ以下、40 μg/kg又はそれ以下、35 μg/kg又はそれ以下、30 μg/kg又はそれ以下、25 μg/kg又はそれ以下、20 μg/kg又はそれ以下、15 μg/kg又はそれ以下、10 μg/kg又はそれ以下、5 μg/kg又はそれ以下、2.5 μg/kg又はそれ以下、2 μg/kg又はそれ以下、1.5 μg/kg又はそれ以下、1 μg/kg又はそれ以下、0.5 μg/kg又はそれ以下、又は0.5 μg/kg又はそれ以下の、1つ又はそれ以上の抗CD3抗体を1回又はそれ以上筋肉内投与される。

10

#### 【0179】

具体的な実施形態において、自己免疫疾患の1つ又はそれ以上の症状を予防、治療、又は改善するために、被験体は、200 μg/kg又はそれ以下、好ましくは175 μg/kg又はそれ以下、150 μg/kg又はそれ以下、125 μg/kg又はそれ以下、100 μg/kg又はそれ以下、95 μg/kg又はそれ以下、90 μg/kg又はそれ以下、85 μg/kg又はそれ以下、80 μg/kg又はそれ以下、75 μg/kg又はそれ以下、70 μg/kg又はそれ以下、65 μg/kg又はそれ以下、60 μg/kg又はそれ以下、55 μg/kg又はそれ以下、50 μg/kg又はそれ以下、45 μg/kg又はそれ以下、40 μg/kg又はそれ以下、35 μg/kg又はそれ以下、30 μg/kg又はそれ以下、25 μg/kg又はそれ以下、20 μg/kg又はそれ以下、15 μg/kg又はそれ以下、10 μg/kg又はそれ以下、5 μg/kg又はそれ以下、2.5 μg/kg又はそれ以下、2 μg/kg又はそれ以下、1.5 μg/kg又はそれ以下、1 μg/kg又はそれ以下、0.5 μg/kg又はそれ以下、又は0.5 μg/kg又はそれ以下の、1つ又はそれ以上の抗CD3抗体を1回又はそれ以上皮下投与される。

20

#### 【0180】

具体的な実施形態において、自己免疫疾患の1つ又はそれ以上の症状を予防、治療、又は改善するために、被験体は、100 μg/kg又はそれ以下、好ましくは95 μg/kg又はそれ以下、90 μg/kg又はそれ以下、85 μg/kg又はそれ以下、80 μg/kg又はそれ以下、75 μg/kg又はそれ以下、70 μg/kg又はそれ以下、65 μg/kg又はそれ以下、60 μg/kg又はそれ以下、55 μg/kg又はそれ以下、50 μg/kg又はそれ以下、45 μg/kg又はそれ以下、40 μg/kg又はそれ以下、35 μg/kg又はそれ以下、30 μg/kg又はそれ以下、25 μg/kg又はそれ以下、20 μg/kg又はそれ以下、15 μg/kg又はそれ以下、10 μg/kg又はそれ以下、5 μg/kg又はそれ以下、2.5 μg/kg又はそれ以下、2 μg/kg又はそれ以下、1.5 μg/kg又はそれ以下、1 μg/kg又はそれ以下、0.5 μg/kg又はそれ以下、又は0.5 μg/kg又はそれ以下の、1つ又はそれ以上の抗CD3抗体を1回又はそれ以上静脈内投与される。別の実施形態において、100 μg/kg又はそれ以下、好ましくは95 μg/kg又はそれ以下、90 μg/kg又はそれ以下、85 μg/kg又はそれ以下、80 μg/kg又はそれ以下、75 μg/kg又はそれ以下、70 μg/kg又はそれ以下、65 μg/kg又はそれ以下、60 μg/kg又はそれ以下、55 μg/kg又はそれ以下、50 μg/kg又はそれ以下、45 μg/kg又はそれ以下、40 μg/kg又はそれ以下、35 μg/kg又はそれ以下、30 μg/kg又はそれ以下、25 μg/kg又はそれ以下、20 μg/kg又はそれ以下、15 μg/kg又はそれ以下、10 μg/kg又はそれ以下、5 μg/kg又はそれ以下、2.5 μg/kg又はそれ以下、2 μg/kg又はそれ以下、1.5 μg/kg又はそれ以下、1 μg/kg又はそれ以下、0.5 μg/kg又はそれ以下、又は0.5 μg/kg又はそれ以下の静脈内用量の、1つ又はそれ以上の抗CD3抗体は、自己免疫疾患の1つ又はそれ以上の症状を予防、治療、又は改善するために、約6時間、約4時間、約2時間、約1.5時間、約1時間、約50分、約40分、約30分、約20分、約10分、約5分、約2分、約1分、約30秒、又は約10秒かけて投与される。

30

40

#### 【0181】

50

具体的な実施形態において、予防的又は治療的有効量の抗CD3抗体の1回又はそれ以上の投与前及び／又は投与後に、自己免疫疾患有する被験体の平均絶対リンパ球数を評価して、予防的又は治療的有効量の1つ又はそれ以上の抗CD3抗体を被験体に1回又はそれ以上の以後の投与をするかどうかを決定する。別の実施形態において、予防的又は治療的有効量の抗CD3抗体の1回又はそれ以上の投与前及び／又は投与後に、自己免疫疾患有する被験体の平均絶対リンパ球数を評価して、予防的又は治療的有効量の1つ又はそれ以上の抗CD3抗体を被験体に1回又はそれ以上の以後の投与をするかどうかを決定する。好ましくはリンパ球数が、800細胞/mm<sup>3</sup>未満、750細胞/mm<sup>3</sup>未満、700細胞/mm<sup>3</sup>未満、650細胞/mm<sup>3</sup>未満、600細胞/mm<sup>3</sup>未満、500細胞/mm<sup>3</sup>未満、400細胞/mm<sup>3</sup>未満、又は300細胞/mm<sup>3</sup>又はそれ以下の場合は、予防的又は治療的有効量の1つ又はそれ以上の抗CD3抗体は被験体に以後投与されない。

10

## 【0182】

別の実施形態において、予防的又は治療的有効量の抗CD3抗体の1回目の投与前に、自己免疫疾患有する被験体の平均絶対リンパ球数が測定され、予防的又は治療的有効量の抗CD3抗体の1回又はそれ以上の以後の投与前に、自己免疫疾患有する被験体の平均絶対リンパ球数が追跡される。好ましくは、被験体の平均絶対リンパ球数は、抗CD3抗体の1回目の投与前は、少なくとも900細胞/mm<sup>3</sup>、好ましくは少なくとも950細胞/mm<sup>3</sup>、少なくとも1000細胞/mm<sup>3</sup>、at least 1050細胞/mm<sup>3</sup>、少なくとも1100細胞/mm<sup>3</sup>、少なくとも1200細胞/mm<sup>3</sup>、又は少なくとも1250細胞/mm<sup>3</sup>である。

20

## 【0183】

別の実施形態において、1つ又はそれ以上の抗CD3抗体の予防的又は治療的有効量の1回又はそれ以上の投与により、自己免疫疾患有する被験体において、約700細胞/ml～約1200細胞/ml、約700細胞/ml～約1100細胞/ml、約700細胞/ml～約1000細胞/ml、約700～約900細胞/ml、約750細胞/ml～約1200細胞/ml、約750細胞/ml～約1100細胞/ml、約750細胞/ml～約1000細胞/ml、約750細胞/ml～約900細胞/ml、約800細胞/ml～約1200細胞/ml、約800細胞/ml～約1100細胞/ml、約800細胞/ml～約1000細胞/ml、約900細胞/ml～約1100細胞/ml、約900細胞/ml～約1000細胞/ml、又は約1000細胞～約1200細胞/mlの平均絶対リンパ球数が維持される。別の実施形態において、1つ又はそれ以上の抗CD3抗体の予防的又は治療的有効量の1回又はそれ以上の投与により、自己免疫疾患有する被験体において、約700細胞/ml～約1000細胞/ml未満の平均絶対リンパ球数が維持される。

30

## 【0184】

具体的な実施形態において、1つ又はそれ以上の抗CD3抗体の予防的又は治療的有効量の1回又はそれ以上の投与又は投与処方は、他の免疫抑制剤と比較して、1つ又はそれ以下の不要な又は有害な作用を誘導しないか又は低下させる：生命徵候の異常（発熱、頻脈、徐脈、高血圧、低血圧）、血液学的イベント（貧血、リンパ球減少、白血球減少、血小板減少）、頭痛、寒気、めまい、吐き気、無力症、腰痛、胸痛（胸の圧力）、下痢、筋肉痛、疼痛、そう痒、乾癬、鼻炎、発汗、注射部位反応、血管拡張、日和見感染リスクの増大、エプスタインバーウイルスの活性化、T細胞のアポトーシス、及びある型の癌を発症するリスクの上昇。別の具体的な実施形態において、1つ又はそれ以上の抗CD3の予防的又は治療的有効量の1回又はそれ以上の投与は、他の免疫抑制剤と比較して、1つ又はそれ以下の不要な又は有害な作用を誘導しないか又は低下させる：生命徵候の異常（発熱、頻脈、徐脈、高血圧、低血圧）、血液学的イベント（貧血、リンパ球減少、白血球減少、血小板減少）、頭痛、寒気、めまい、吐き気、無力症、腰痛、胸痛（胸の圧力）、下痢、筋肉痛、疼痛、そう痒、乾癬、鼻炎、発汗、注射部位反応、血管拡張、日和見感染リスクの増大、エプスタインバーウイルス活性化、T細胞のアポトーシス、及びある型の癌を発症するリスクの上昇。

40

## 【0185】

本発明において、自己免疫疾患の治療のための1つ又はそれ以上の抗CD3抗体の予防的又は治療的有効量を含む投与又は投与処方は、1つ又はそれ以上の抗CD3抗体の予防的又は治

50

療的有効量を含む最初の又は以前の投与又は投与処方の1ヶ月後、2ヶ月後、4ヶ月後、6ヶ月後、8ヶ月後、12ヶ月後、15ヶ月後、18ヶ月後、又は24ヶ月後、又はそれ以上後に繰り返される。最初の又は以前の投与又は投与処方後の改善後に自己免疫疾患に伴う症状が再発する時、又は本発明の抗CD3抗体の最初の又は以前の投与又は投与処方後に自己免疫疾患に伴う症状が改善しない時は、繰り返し投与又は投与処方が当然行われる。糖尿病について、例えば抗CD3抗体による最初の又は以前の治療の1ヶ月後、2ヶ月後、4ヶ月後、6ヶ月後、8ヶ月後、12ヶ月後、15ヶ月後、18ヶ月後、又は24ヶ月後、又はそれ以上後の被験体の平均1日インスリン使用量が、治療前レベルと比較して、少なくとも5%、少なくとも10%、少なくとも20%、少なくとも30%、少なくとも40%、少なくとも50%、少なくとも60%、少なくとも70%、少なくとも80%、又は少なくとも90%だけ低下しない場合、1つ又はそれ以上の抗CD3抗体の予防的又は治療的有効量を含む繰り返し投与又は投与処方が被験体に行われる。あるいは糖尿病について、例えば抗CD3抗体による最初の又は以前の治療の1ヶ月後、2ヶ月後、4ヶ月後、6ヶ月後、8ヶ月後、12ヶ月後、15ヶ月後、18ヶ月後、又は24ヶ月後、又はそれ以上後の被験体のHA1又はHA1Cレベルが、治療前レベルと比較して、少なくとも5%、少なくとも10%、少なくとも20%、少なくとも30%、少なくとも40%、少なくとも50%、少なくとも60%、少なくとも70%、少なくとも80%、又は少なくとも90%だけ低下しない場合、1つ又はそれ以上の抗CD3抗体の予防的又は治療的有効量を含む繰り返し投与又は投与処方が被験体に行われる。別の実施形態において、糖尿病について、例えば抗CD3抗体による最初の又は以前の治療の1ヶ月後、2ヶ月後、4ヶ月後、6ヶ月後、8ヶ月後、12ヶ月後、15ヶ月後、18ヶ月後、又は24ヶ月後、又はそれ以上後の被験体のC-ペプチド応答が、治療前レベルと比較して、少なくとも5%、少なくとも10%、少なくとも20%、少なくとも30%、少なくとも40%、少なくとも50%、少なくとも60%、少なくとも70%、少なくとも80%、又は少なくとも90%だけ低下しない場合、1つ又はそれ以上の抗CD3抗体の予防的又は治療的有効量を含む繰り返し投与又は投与処方が被験体に行われる。

#### 【 0 1 8 6 】

##### 5.2.7 併用療法

本発明は、1つ又はそれ以上の抗CD3抗体と抗CD3抗体以外の1つ又はそれ以上の予防薬又は治療薬とを含む組成物と、被験体に1つ又はそれ以上の該組成物を投与することを含んでなる、該被験体の炎症性疾患又は自己免疫疾患に伴う1つ又はそれ以上の症状を予防、治療、又は改善する方法を提供する。治療的又は予防的に許容される物質には、特に限定されないが、ペプチド、ポリペプチド、融合タンパク質、核酸分子、小分子、模倣物、合成薬、無機分子、及び有機分子がある。炎症性疾患又は自己免疫疾患に伴う1つ又はそれ以上の症状を予防、治療、又は改善するために有用であることが公知であるか、又は使用されたことのある、又は現在使用されている任意の物質を、本明細書に記載の発明の抗CD3抗体と組合せて使用することができる。そのような物質の例には、特に限定されないが、抗体断片、GLP-1類似体もしくは誘導体、GLP-1アゴニスト（例えば、エキセンチン-4；エキセンタチド）、アミリン類似体もしくは誘導体、発疹及び腫脹のための皮膚病薬（例えば、光線療法（すなわちB紫外線）、光化学療法（例えば、PUVA）、及び局所薬、例えば皮膚軟化薬、サリチル酸、コールタール、局所ステロイド、局所コルチコステロイド、局所ビタミンD3類似体（例えば、カルシポトリエン）、タザロテン、及び局所レチノイド）、抗炎症剤（例えば、コルチコステロイド（例えば、プレドニゾン及びヒドロコルチゾン）、糖質コルチコイド、ステロイド、非ステロイド抗炎症剤（例えば、アスピリン、イブプロフェン、ジクロフェナック、及びCox-2インヒビター）、ベータアゴニスト、抗コリン作動性薬、及びメチルキサンチン）、免疫調節薬（例えば、小有機分子、T細胞受容体調節物質、サイトカイン受容体調節物質、T細胞枯渇剤、サイトカインアンタゴニスト、モノカインアゴニスト、リンホカインインヒビター、又は抗癌剤）、金注射剤、スルファサラジン、ペニシラミン、抗血管形成剤（例えば、アンギオスタチン、及びTNF-αアンタゴニスト（例えば、抗TNF-α抗体）、及びエンドスタチン）、ダブソン、ソラーレン（例えば、メトキサレン及びトリオキサレン）、抗マラリア薬（例えば、ヒドロキシクロロ

10

20

30

40

50

キン)、抗ウイルス薬、及び抗生物質(エリスロマイシン及びペニシリン)がある。当業者に公知の任意の免疫調節薬がまた、本発明の方法と組成物で使用される。免疫調節薬は、被験体の免疫応答の1つ又はそれ以上の又はすべての態様に影響を与える。免疫応答の態様には、特に限定されないが、補体カスケード、白血球及びリンパ球分化、増殖、及び/又はエフェクター機能、単球及び/又は好塩基球数、及び免疫系の細胞間の細胞コミュニケーションがある。本発明のある実施形態において、免疫調節薬は免疫応答の1つの態様を調節する。ある実施形態において、免疫調節薬は免疫応答の2つ以上の態様を調節する。本発明の好適な実施形態において、被験体への免疫調節薬の投与は、被験体の免疫応答能の1つ又はそれ以上の態様を阻害するか又は低下させる。本発明の具体的な実施形態において、免疫調節薬は被験体の免疫応答を阻害又は抑制する。本発明において、免疫調節薬は抗CD3抗体ではない。ある実施形態において、免疫調節薬は抗炎症剤ではない。別の実施形態において、免疫調節薬はCD3結合分子ではない。さらに別の実施形態において、免疫調節薬はOKT3又はその誘導体ではない。

10

#### 【0187】

免疫調節薬は、Tヘルパーサブセット(TH1又はTH2)とB細胞との相互作用を妨害して中和抗体の生成を阻害するように選択される。免疫調節薬は、TH1細胞とCTLとの相互作用を阻害して、CTL性死滅の発生を低下させるように選択される。免疫調節薬は、CD4+及び/又はCD8+T細胞の増殖、分化、活性、及び/又は機能を改変(例えば、阻害又は抑制)するように選択される。例えばT細胞に特異的な抗体は免疫調節薬として使用して、CD4+及び/又はCD8+T細胞を枯渇させるか、又はこれらの増殖、分化、活性、及び/又は機能を改変することができる。

20

#### 【0188】

好適な実施形態において、予防薬、治療薬、又は免疫調節薬として使用されるタンパク質、ポリペプチド、又はペプチド(抗体を含む)は、これらのタンパク質、ポリペプチド、又はペプチドに対する免疫応答の可能性を低下させるために、タンパク質、ポリペプチド、又はペプチドの受容者と同じ種から得られる。別の好適な実施形態において、被験体がヒトである時、免疫調節薬として使用されるタンパク質、ポリペプチド、又はペプチドはヒトであるか又はヒト化されている。

#### 【0189】

本発明において、1つ又はそれ以上の予防薬、治療薬、又は免疫調節薬は、本発明の治療薬及び/又は予防薬の前、後、又は同時に、炎症性疾患又は自己免疫疾患有する被験体に投与される。好ましくは、1つ又はそれ以上の予防薬、治療薬、又は免疫調節薬は、必要に応じて疾患の1つ又はそれ以上の症状又は免疫応答の態様を低下させるか又は阻害するために、炎症性疾患又は自己免疫疾患有する被験体に投与される。特定の被験体の免疫応答の1つ又はそれ以上の態様を測定するために当業者に公知の任意の方法を使用することができ、こうして該被験体に免疫調節薬を投与することが必要な時を決定することができる。好適な実施形態において、約500細胞/mm<sup>3</sup>、好ましくは600細胞/mm<sup>3</sup>、さらに700細胞/mm<sup>3</sup>、及び最も好ましくは800細胞/mm<sup>3</sup>、の絶対リンパ球数が維持される。別の好適な実施形態において、自己免疫疾患又は炎症性疾患有する被験体は、その絶対リンパ球数が500細胞/mm<sup>3</sup>又はそれ以下、550細胞/mm<sup>3</sup>又はそれ以下、600細胞/mm<sup>3</sup>又はそれ以下、650細胞/mm<sup>3</sup>又はそれ以下、700細胞/mm<sup>3</sup>又はそれ以下、又は800細胞/mm<sup>3</sup>又はそれ以下である場合、免疫調節薬は投与されない。

30

#### 【0190】

好適な実施形態において、1つ又はそれ以上の予防薬、治療薬、又は免疫調節薬は、疾患の又は免疫応答の1つ又はそれ以上の態様を一過性に低下させるか又は阻害するために、炎症性疾患又は自己免疫疾患有する被験体に投与される。疾患の又は免疫系の1つ又はそれ以上の態様のこのような一過性阻害又は低下は、数時間、数日間、数週間、又は数ヶ月間続くことができる。好ましくは疾患の又は免疫応答の1つ又はそれ以上の態様の一過性阻害又は低下は、数時間(例えば、2時間、4時間、6時間、8時間、12時間、14時間、16時間、18時間、24時間、36時間、又は48時間)、数日間(例えば、3日間、4日間、5日

40

50

間、6日間、7日間、又は14日間)、又は数週間(例えば、3週間、4週間、5週間、又は6週間)続く。疾患の又は免疫応答の1つ又はそれ以上の態様の一過性低下又は阻害は、抗CD3抗体の予防及び/又は治療能力を上昇させる。

#### 【0191】

予防、治療、又は免疫調節活性を有するタンパク質、ポリペプチド、又はペプチドをコードする核酸分子、又は予防、治療、又は免疫調節活性を有するタンパク質、ポリペプチド、又はペプチドは、本発明の方法に従って、炎症性疾患又は自己免疫疾患を有する被験体に投与することができる。さらに、予防、治療、又は免疫調節活性を有するタンパク質、ポリペプチド、又はペプチドの誘導体、類似体、断片、又は変種をコードする核酸分子、又は予防、治療、又は免疫調節活性を有するタンパク質、ポリペプチド、又はペプチドの誘導体、類似体、断片、又は変種は、本発明の方法に従って、炎症性疾患又は自己免疫疾患を有する被験体に投与することができる。好ましくはそのような誘導体、類似体、変種、及び断片は、完全長の野生型のタンパク質、ポリペプチド、又はペプチドの予防、治療、又は免疫調節活性を保持する。

#### 【0192】

予防薬、治療薬、又は免疫調節薬として使用できるタンパク質、ポリペプチド、又はペプチドは、当業者に公知であるか又は本明細書に記載の任意の方法により产生することができる。例えば、Chapter 16 Ausubel et al. (編), 1999, *Short Protocols in Molecular Biology, Fourth Edition*, John Wiley & Sons, NYを参照;これは参考することによりその全体が本明細書に組み込まれる)は、タンパク質、ポリペプチド、又はペプチドを产生する方法を記載する(これは参考することによりその全体が本明細書に組み込まれる)。予防薬、治療薬、又は免疫調節薬として使用できる抗体は、例えばU.S. Patent No. 6,245,527 及び Harlow and Lane *Antibodies: A Laboratory Manual*, Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, NY, 1988(これらは参考することによりその全体が本明細書に組み込まれる)に記載の方法により产生することができる。好ましくは、市販されており予防薬、治療薬、又は免疫調節薬として機能することが公知の物質が、本発明の組成物と方法で使用される。ある物質の予防、治療、又は免疫調節活性は、同時刺激分子やサイトカインのような特定のタンパク質の発現について当業者に公知の任意の方法(例えば、CTLアッセイ、増殖アッセイ、及びイムノアッセイ(例えば、ELISA))により、in vitro及び/又はin vivoで測定することができる。

#### 【0193】

1つ又はそれ以上の抗CD3抗体と抗CD3抗体以外の1つ又はそれ以上の予防薬又は治療薬の組合せは、いずれかの治療法単独の場合より良好な予防又は治療効果を与える。ある実施形態において抗CD3抗体と抗CD3抗体以外の予防薬又は治療薬の組合せは、いずれかの治療法単独の場合より、20%、25%、30%、35%、40%、45%、50%、55%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、95%又は98%優れた予防又は治療効果を、自己免疫疾患又は炎症性疾患を有する被験体において示す。具体的な実施形態において1つ又はそれ以上の抗CD3抗体と抗CD3抗体以外の予防薬又は治療薬の組合せは、いずれかの治療法単独の場合より、特定の臓器、組織、又は関節の炎症の20%、好ましくは25%、30%、35%、40%、45%、50%、55%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、95%又は98%大きい低下を、炎症を伴う炎症性疾患又は自己免疫疾患を有する被験体において示す。ある実施形態において、1つ又はそれ以上の抗CD3抗体と抗CD3抗体以外の1つ又はそれ以上の予防薬又は治療薬の組合せは、自己免疫疾患又は炎症性疾患を有する被験体において、付加作用以上の又は相乗作用を有する。

#### 【0194】

本発明の併用療法は、自己免疫疾患又は炎症性疾患を有する被験体へのより低用量の抗CD3抗体及び/又はより低頻度の抗CD3抗体の投与により、予防又は治療効果を達成することを可能にする。本発明の併用療法は、自己免疫疾患又は炎症性疾患を有する被験体への、自己免疫疾患又は炎症性疾患の予防又は治療のために抗CD3抗体とともに使用されるより低用量の予防薬又は治療薬及び/又はより低頻度のかかる予防薬又は治療薬の投与によ

10

20

30

40

50

り、予防又は治療効果を達成することを可能にする。本発明の併用療法は、自己免疫疾患又は炎症性疾患の現在の単一薬剤治療法及び／又は既存の併用療法に伴う不要な又は有害な副作用を低下させるか又は避け、これは治療プロトコールへの患者のコンプライアンスを改善する。

#### 【0195】

本発明の併用療法の予防薬又は治療薬は、同時 (concomitantly) に、同時に (concurrently)、又は連続して投与することができる。本発明の併用療法の予防薬又は治療薬はまた、循環して投与することができる。循環療法は、第1の予防薬又は治療薬を一定時間投与し、次に第2の予防薬又は治療薬を一定時間投与し、この連続投与を繰り返し、すなわち循環させ、こうして薬剤の1つに対する耐性の出現を低下させ、薬剤の1つの副作用を避けるか又は低下させ、及び／又は治療の効力を改良する。

10

#### 【0196】

##### 5.2.7.1 併用療法の使用法

具体的な実施形態において本発明は、被験体の自己免疫疾患又は炎症性疾患に伴う1つ又はそれ以上の症状を予防、治療、管理又は改善する方法であって、1つ又はそれ以上の抗CD3抗体と抗CD3抗体以外の1つ又はそれ以上の予防薬又は治療薬とを該被験体に投与することを含んでなる方法を提供する。好適な実施形態において本発明は、被験体の自己免疫疾患又は炎症性疾患に伴う1つ又はそれ以上の症状を予防、治療、管理又は改善する方法であって、1つ又はそれ以上の抗CD3抗体と抗CD3抗体以外の1つ又はそれ以上の予防薬又は治療薬とを該被験体に投与することを含んでなり、抗CD3抗体の少なくとも1つはヒト化OKT3であることを特徴とする方法を提供する。

20

#### 【0197】

本発明は、被験体の自己免疫疾患又は炎症性疾患に伴う1つ又はそれ以上の症状を予防、治療、管理又は改善する方法であって、1つ又はそれ以上の抗CD3抗体と1つ又はそれ以上の予防薬、治療薬、又は免疫調節薬とを該被験体に投与することを含んでなる方法を提供する。好ましくは免疫調節薬は、その絶対リンパ球数が500細胞/mm<sup>3</sup>未満、550細胞/mm<sup>3</sup>未満、600細胞/mm<sup>3</sup>未満、650細胞/mm<sup>3</sup>未満、700細胞/mm<sup>3</sup>未満、750細胞/mm<sup>3</sup>未満、800細胞/mm<sup>3</sup>未満、850細胞/mm<sup>3</sup>未満、又は900細胞/mm<sup>3</sup>未満である、自己免疫疾患又は炎症性疾患有する被験体には投与されない。すなわち好適な実施形態において、自己免疫疾患又は炎症性疾患有する被験体に1つ又はそれ以上の免疫調節薬の1回又はそれ以上の投与の前又は後に、該被験体の絶対リンパ球数が当業者に公知の方法（例えば、フローサイトメトリー又はトリパンブルー計測を含む）により測定される。

30

#### 【0198】

ある実施形態において本発明は、糖尿病に伴う1つ又はそれ以上の症状を予防、治療、管理又は改善する方法であって、予防的又は治療的有効量の1つ又はそれ以上の抗CD3抗体と予防的又は治療的有効量のインスリンとを、該被験体に投与することを含んでなる方法を提供する。ある実施形態において本発明は、糖尿病に伴う1つ又はそれ以上の症状を予防、治療、管理又は改善する方法であって、予防的又は治療的有効量の1つ又はそれ以上の抗CD3抗体と予防的又は治療的有効量のGLP1又はGLP1類似体とを、該被験体に投与することを含んでなる方法を提供する。ある実施形態において本発明は、糖尿病に伴う1つ又はそれ以上の症状を予防、治療、管理又は改善する方法であって、予防的又は治療的有効量の1つ又はそれ以上の抗CD3抗体と予防的又は治療的有効量のエキセンデン-4又はその類似体とを、該被験体に投与することを含んでなる方法を提供する。ある実施形態において本発明は、糖尿病に伴う1つ又はそれ以上の症状を予防、治療、管理又は改善する方法であって、予防的又は治療的有効量の1つ又はそれ以上の抗CD3抗体と予防的又は治療的有効量のアミリン又はその類似体とを、該被験体に投与することを含んでなる方法を提供する。ある実施形態において本発明は、糖尿病に伴う1つ又はそれ以上の症状を予防、治療、管理又は改善する方法であって、予防的又は治療的有効量の1つ又はそれ以上の抗CD3抗体OKT3と予防的又は治療的有効量のインスリンとを、該被験体に投与することを含んでなる方法を提供する。ある実施形態において本発明は、乾癬に伴う1つ又はそれ以上の症状を

40

50

予防、治療、管理又は改善する方法であって、予防的又は治療的有効量の1つ又はそれ以上の抗CD3抗体と予防的又は治療的有効量のメソトレキセートとを、該被験体に投与することを含んでなる方法を提供する。ある実施形態において本発明は、乾癬に伴う1つ又はそれ以上の症状を予防、治療、管理又は改善する方法であって、予防的又は治療的有効量の1つ又はそれ以上の抗CD3抗体OKT3と予防的又は治療的有効量のメソトレキセートとを、該被験体に投与することを含んでなる方法を提供する。

【0199】

### 5.3 医薬組成物

本発明は、自己免疫疾患又は炎症性疾患に伴う1つ又はそれ以上の症状の治療、予防、及び改善のための組成物を提供する。具体的な実施形態において、組成物は1つ又はそれ以上の抗CD3抗体を含む。別の実施形態において、組成物は1つ又はそれ以上の抗CD3抗体をコードする1つ又はそれ以上の核酸分子を含む。

10

【0200】

具体的な実施形態において、組成物は抗CD3抗体を含み、該抗CD3抗体はヒトモノクローナル抗体又はヒト化モノクローナル抗体である。さらに別の好適な実施形態において、組成物はCD3ポリペプチドに免疫特異的に結合するヒト化OKT3、その類似体、誘導体、断片を含む。

【0201】

好適な実施形態において、本発明の組成物は医薬組成物である。かかる組成物は、予防的又は治療的有効量の1つ又はそれ以上の抗CD3抗体と薬剤学的に許容される担体とを含む。具体的な実施形態において用語「薬剤学的に許容される」は、動物さらにはヒトでの使用が、連邦政府又は州政府の管理機関により認可されているか、又は米国薬局方又は他の一般的に認められた薬局方に記載されていることを意味する。用語「担体」は、治療薬と一緒に投与される希釈剤、アジュバント（例えば、フロインドアジュバント（完全及び不完全）、賦形剤、又はビヒクルを意味する。かかる薬剤学的担体は、無菌液体、例えば水や油、例えば石油起源、動物起源、植物起源もしくは合成起源のもの、例えばピーナツ油、ダイズ油、ミネラル油、ゴマ油などでもよい。医薬組成物が静脈内投与される時は、水が好適な担体である。食塩水溶液及びブドウ糖水及びグリセロール溶液もまた液体担体として、特に注射溶液のために使用される。適切な薬剤学的賦形剤には、デンプン、グルコース、乳糖、ショ糖、ゼラチン、麦芽、コメ、小麦粉、チョーク、シリカゲル、ステアリン酸ナトリウム、モノステアリン酸グリセロール、タルク、塩化ナトリウム、乾燥スキムミルク、グリセロール、プロピレングリコール、水、エタノールなどがある（例えば、Handbook of Pharmaceutical Excipients, Arthur H. Kibbe（編），2000（これは参照することによりその全体が本明細書に組み込まれる）、Am. Pharmaceutical Association, Washington, DC）。所望であれば組成物はまた、少量の湿潤剤もしくは乳化剤、又はpH緩衝剤を含有してもよい。組成物は、液剤、懸濁剤、エマルジョン、錠剤、丸剤、カプセル剤、散剤、持続放出性製剤などの形を取ることができる。経口製剤は、標準的な担体（例えば、薬剤学的グレードのマンニトール、乳糖、デンプン、ステアリン酸マグネシウム、サッカリンナトリウム、セルロース、炭酸マグネシウムなど）を含むことができる。適切な薬剤学的担体は、E.W. Martinの“Remington's Pharmaceutical Sciences”に記載されている。かかる組成物は、患者への正しい投与用の型を提供するように、予防的又は治療的有効量の予防薬又は治療薬を精製された形で、適切な量の担体とともに含有するであろう。この製剤は投与モードに適合するはずである。好適な実施形態において医薬組成物は無菌であり、被験体、好ましくは動物被験体、さらに好ましくは哺乳動物被験体、最も好ましくはヒト被験体への投与に適した形である。

20

【0202】

具体的な実施形態において、本発明の医薬組成物を治療の必要な部位に局所投与することが好ましいであろう；これは、例えば特に限定されないが、注射又はインプラントによる局所的注入により行われ、該インプラントは、多孔性、非多孔性、又はゼラチン性物質でもよく、膜、例えばシアラスティック膜、又は繊維である。好ましくは、抗CD3抗体を

30

40

50

投与する時は、抗CD3抗体が吸着しない材料を使用するように注意しなければならない。

【0203】

別の実施形態において組成物は、小胞、特にリポソームで提供される (Langer, *Science* 249:1527-1533 (1990); Treat et al., *Liposomes in the Therapy of Infectious Disease and Cancer* 中, Lopez-Berestein and Fidler (編), Liss, New York, pp. 353- 365 (1989); Lopez-Berestein, *ibid.*, pp. 317-327; 一般的には同節を参照; これらのそれぞれは参考することによりその全体が本明細書に組み込まれる)。

【0204】

さらに別の実施形態において組成物は、制御放出系又は持続放出系で投与することができる。ある実施形態において、制御放出又は遅延放出を達成するのにポンプが使用される (Langer, 前述; Sefton, 1987, *CRC Crit. Ref. Biomed. Eng.* 14:20; Buchwald et al., 1980, *Surgery* 88:507; Saudek et al., 1989, *N. Engl. J. Med.* 321:574 参照; これらのそれぞれは参考することによりその全体が本明細書に組み込まれる)。別の実施形態において、本発明の抗体又はその断片の制御放出又は遅延放出を達成するのにポリマー物質が使用される (例えば、*Medical Applications of Controlled Release*, Langer and Wise (編), CRC Pres., Boca Raton, Florida (1974); *Controlled Drug Bioavailability, Drug Product Design and Performance*, Smolen and Ball (編), Wiley, New York (1984); Ranger and Peppas, 1983, *J. Macromol. Sci. Rev. Macromol. Chem.* 23:61; see also Levy et al., 1985, *Science* 228:190; During et al., 1989, *Ann. Neurol.* 25:351; Howard et al., 1989, *J. Neurosurg.* 71:105); U.S. Patent No. 5,679,377; U.S. Patent No. 5,916,597; U.S. Patent No. 5,912,015; U.S. Patent No. 5,989,463; U.S. Patent No. 5,128,326; PCT公報 WO 99/15154; 及び PCT公報 WO 99/20253、これらのそれぞれは参考することによりその全体が本明細書に組み込まれる)。持続放出性製剤で使用されるポリマーの例には、特に限定されないが、ポリ(2-ヒドロキシエチルメタクリレート)、ポリ(メチオニンメタクリル酸)、ポリ(アクリル酸)、ポリ(エチレン-コ-ビニルアセテート)、ポリ(メタクリル酸)、ポリグリコリド(PLG)、ポリ無水物、ポリ(N-ビニルピロリドン)、ポリ(ビニルアルコール)、ポリアクリルアミド、ポリ(エチレングリコール)、ポリラクチド(PLA)、ポリ(ラクチド-コ-グリコリド)(PLGA)、及びポリオルトエステルがある。好適な実施形態において、持続放出性製剤で使用されるポリマーは不活性であり、浸出性不純物を含まず、保存しても安定であり、無菌であり、生体分解性である。さらに別の実施形態において制御放出系又は遅延放出系は、治療標的(すなわち、肺)の近くに置くことができ、こうして全身性用量の一部しか必要としない (例えば、Goodson, in *Medical Applications of Controlled Release*, 前述, vol. 2, pp. 115-138 (1984); これは参考することによりその全体が本明細書に組み込まれる)。

【0205】

制御放出系はLangerの総説で議論されている (1990, *Science* 249:1527-1533; これは参考することによりその全体が本明細書に組み込まれる)。本発明の1つ又はそれ以上の抗体又はその断片を含む持続放出性製剤を製造するのに、当業者に公知の任意の方法が使用できる。例えば、U.S. Patent No. 4,526,938, PCT公報 WO 91/05548, PCT公報 WO 96/20698, Ning et al., 1996, 「遅延放出ゲルを使用するヒト結腸癌の腫瘍内放射線療法」、*Radiotherapy & Oncology* 39:179-189, Song et al., 1995, 「長時間循環エマルジョンの抗体介在肺ターゲティング」 *PDA Journal of Pharmaceutical Science & Technology* 50:372-397, Cleek et al., 1997, 「心血管応用のためのbFGF抗体の生体分解性ポリマー担体」、*Proc. Int'l. Symp. Control. Rel. Bioact. Mater.* 24:853-854, 及び Lam et al., 1997, 「局所的投与のための組換えヒト化モノクローナル抗体のマイクロカプセル化」、*Proc. Int'l. Symp. Control Rel. Bioact. Mater.* 24:759-760を参照; これらのそれぞれは参考することによりその全体が本明細書に組み込まれる)。

【0206】

本発明の医薬組成物は、目的の投与経路と適合性であるように調製される。投与経路の

10

20

30

40

50

例には、特に限定されないが、非経口、例えば静脈内、皮内、皮下、経口（例えば吸入）、鼻内、経皮（局所）、経粘膜、及び直腸投与がある。具体的な実施形態において組成物は、ヒトへの静脈内、皮下、筋肉内、経口、鼻内、又は局所的投与に適応させた医薬組成物として、ルーチン法に従って調製される。好適な実施形態において医薬組成物は、ヒトへの皮下投与のためのルーチン法に従って調製される。強い静脈内投与のための組成物は、無菌の等張水性バッファー中の溶液である。必要であれば組成物はまた、可溶化剤と注射部位の疼痛を軽減するためのリグノカムネ（lignocamne）のような局所麻酔薬とを含む。

#### 【0207】

本発明の組成物が局所投与される場合、組成物は、例えば軟膏剤、クリーム剤、経皮パッチ、ローション、ゲル、シャンプー、スプレー、エアゾル剤、液剤、エマルジョン、又は当業者に公知の他の型で調製することができる。例えばRemington's Pharmaceutical Sciences and Introduction to Pharmaceutical Dosage Forms, 4th ed., Lea & Febiger, Philadelphia, PA (1985)を参照；これは参照することによりその全体が本明細書に組み込まれる。非噴霧性の局所投与型のために、典型的には担体又は局所投与に適合性の1つ又はそれ以上の賦形剤を含み、好ましくは水より大きな動的粘度を有する粘性～半固体型又は固体型が使用される。適切な調製物には、特に限定されないが、溶液、懸濁物、エマルジョン、クリーム、軟膏、粉末、塗布薬、軟膏などがあり、これらは所望であれば、種々の性質（EEG、浸透圧）に影響を与える付属物質（例えば、保存剤、安定剤、湿潤剤、バッファー、塩）を用いて滅菌されるか又はこれらと混合される。他の適切な局所投与型には、噴霧可能なエアゾル調製物があり、これは、好ましくは固体又は液体不活性担体と一緒に活性成分が、加圧された揮発性物質（例えば、ガス噴射剤、例えばフレオン）との混合物で又はスクリーズボトルでパッケージされている。医薬組成物及び所望であれば投与型に、加湿剤又は保湿剤も加えることができる。かかる追加の成分の例は当該分野で公知である。

10

20

30

40

50

#### 【0208】

本発明の組成物を鼻内に投与する場合は、組成物はエアゾル型、スプレー型、ミスト型、又は液滴の形で調製することができる。特に本発明で使用される予防薬又は治療薬は、適切な噴射剤、例えばジクロロジフルオロメタン、トリクロロフルオロメタン、ジクロロテトラフルオロエタン、二酸化炭素、又は他の適切なガスを使用して、加圧パック又はネプライザーからエアゾルスプレー供給型で投与することができる。加圧エアゾル剤の場合、投与単位は、計量された量を提供する弁を与えることにより決定される。例えば、化合物と適切な粉末ベース（例えば乳糖又はデンプン）との粉末ミックスを含有する吸入器又は注入器で使用される、ゼラチンのカプセル及びカートリッジを調製してもよい。

#### 【0209】

本発明の組成物が経口投与される場合、組成物は、例えば錠剤、カプセル剤、カシェ剤、ゲルキャップ剤、液剤、懸濁剤の形で経口的に調製することができる。錠剤又はカプセル剤は、薬剤学的に許容される賦形剤、例えば生物学的物質（例えば、化トウモロコシデンプン、ポリビニルピロリドン、又はヒドロキシプロピルメチルセルロース）；増量剤（例えば、乳糖、微結晶セルロース、又はリン酸水素カルシウム）；滑沢剤（例えば、ステアリン酸マグネシウム、タルク、又はシリカ）；崩壊剤（例えば、ジャガイモデンプン、又はグリコール酸ナトリウムデンプン）；又は湿潤剤（例えば、ラウリル硫酸ナトリウム）とともに従来法で調製することができる。錠剤は、当該分野で公知の方法により被覆される。経口投与用の液体調製物は、例えば液剤、シロップ剤、又は懸濁剤の形でもよく、又はこれらは、使用前に水又は他の適切なビヒクルで復元するための乾燥生成物として提供してもよい。かかる液体調製物は、薬剤学的に許容される添加物、例えば懸濁剤（例えば、ソルビトールシロップ、セルロース誘導体、又は水素化食用脂肪）；乳化剤（例えば、レシチン又はアカシア）；非水性ビヒクル（例えば、アーンモンド油、油性エステル、エチルアルコール、又は分画植物油）；及び保存剤（例えば、メチル又はプロピル-p-ヒドロキシ安息香酸又はソルビン酸）を用いて調製される。調製物はまた、緩衝塩、香味

剤、着色剤、及び甘味剤を適宜含有してもよい。経口投与用調製物は、予防薬又は治療薬の遅延放出、制御放出、又は持続放出のために適切に調製される。

【0210】

本発明の組成物は、注射（例えば、大量注射又は点滴）により非経口投与される。注射用調製物は、単位用量剤型（例えば、アンプル又は多回投与容器中）で添加した保存剤とともに提供される。組成物は、油性又は水性ビヒクル中の懸濁物、液剤、又はエマルジョンの形でもよく、調製剤（例えば、懸濁剤、安定剤、及び／又は分散剤）を含有してもよい。あるいは活性成分は、使用前に適切なビヒクル（例えば、無菌の発熱性物質を含まない水）で復元するための粉末型でもよい。

【0211】

本発明の組成物はまた、直腸組成物（例えば、ココア脂又は他のグリセリドのような通常の坐剤ベースを含有する坐剤又は保持浣腸剤）で調製してもよい。

【0212】

上記調製物以外に本発明の組成物はまた、デポ製剤として調製してもよい。かかる長期作用性調製物は、埋植（例えば皮下又は筋肉内）又は筋肉内注射により投与してもよい。例えば組成物は、適切なポリマー性又は疎水性物質（例えば、許容される油中のエマルジョン）又はイオン交換樹脂、又はわずかに可溶性の誘導体、例えばわずかに可溶性の塩を用いて調製してもよい。

【0213】

本発明の組成物は、中性又は塩型として調製することができる。薬剤学的に許容される塩には、陰イオン（例えば、塩酸、リン酸、酢酸、シュウ酸、酒石酸などから得られるもの）、及び陽イオン（水酸化ナトリウム、カリウム、アンモニウム、カルシウム、第2鉄、イソプロピルアミン、トリエチルアミン、2-エチルアミノエタノール、ヒスチジン、プロカインなどから得られるもの）がある。

【0214】

一般に本発明の組成物の成分は、別々に分けて又は単位用量剤型で一緒に混合して、例えば乾燥凍結粉末又は活性成分の量を示す密封容器（例えばアンプル又はサシェ剤）中の無水濃縮物として供給される。組成物が点滴により投与される場合、これは、無菌の薬剤学的グレードの水又は食塩水を含む点滴ピンで投与される。組成物が注射により投与される場合、注射前に成分が混合されるように、注射用無菌水又は食塩水のアンプルが提供される。

【0215】

特に本発明では、1つ又はそれ以上の抗CD3抗体又は本発明の医薬組成物は密封容器中にパッケージされる。ある実施形態において1つ又はそれ以上の抗CD3抗体又は本発明の医薬組成物は、密封容器中の乾燥凍結された乾燥粉末又は無水濃縮物として供給され、被験体への投与のために水又は食塩水で適切な濃度に復元することができる。好ましくは1つ又はそれ以上の抗CD3抗体又は本発明の医薬組成物は、密封容器中で、少なくとも5mg、さらに好ましくは少なくとも10mg、少なくとも15mg、少なくとも25mg、少なくとも35mg、少なくとも45mg、少なくとも50mg、少なくとも75mg、又は少なくとも100mgの単位用量で供給される。凍結乾燥予防薬又は治療薬又は本発明の医薬組成物は、その元々の容器中で2~8

で保存すべきであり、予防薬又は治療薬又は本発明の医薬組成物は、復元後1週間以内、好ましくは5日以内、72時間以内、48時間以内、24時間以内、12時間以内、6時間以内、5時間以内、3時間以内、又は1時間以内に投与すべきである。別の実施形態において、1つ又はそれ以上の抗CD3抗体又は本発明の医薬組成物は、薬剤の量を示す密封容器内の液体型で供給される。好ましくは投与される組成物の液体型は、密封容器中で少なくとも0.25mg/ml、さらに好ましくは少なくとも0.5mg/ml、少なくとも1mg/ml、少なくとも2.5mg/ml、少なくとも5mg/ml、少なくとも8mg/ml、少なくとも10mg/ml、少なくとも15mg/kg、少なくとも25mg/ml、少なくとも50mg/ml、少なくとも75mg/ml、又は少なくとも100mg/mlで供給される。液体型はその元々の容器中で2~8で保存すべきである。

【0216】

10

20

30

40

50

好適な実施形態において本発明では、本発明の組成物は抗CD3抗体の量を示すアンプル又はサシェ剤のような密封容器にパッケージされる。

【0217】

組成物は、所望であれば、活性成分を含有する1つ又はそれ以上の単位用量剤型を含むパック又はディスペンサー器具中で提供される。パックは、例えば金属又はプラスチック箔、例えばプリスターパックでもよい。

【0218】

一般に本発明の組成物の成分は、かかる組成物の受容者と同じ種起源又は同じ種反応性である被験体から得られる。すなわち好適な実施形態において、治療又は予防のためにヒト抗体又はヒト化抗体がヒト患者に投与される。

10

【0219】

炎症性疾患又は自己免疫疾患に伴う1つ又はそれ以上の症状の治療、予防、又は改善に有効な本発明の組成物の量は、標準的臨床方法により決定することができる。調製物で使用される正確な用量はまた、投与経路及び症状の重症度に依存し、医師の判断と患者の状況に従って決定すべきである。有効量は、*in vitro*又は動物モデル試験系から得られる用量応答曲線から外挿される。

【0220】

本発明に包含されるタンパク質、ポリペプチド、ペプチド、及び融合タンパク質について、投与される量は典型的には、0.0001mg/kg ~ 100mg/kg患者体重である。好ましくは患者に投与される量は、0.0001mg/kg ~ 20mg/kg、0.0001mg/kg ~ 10mg/kg、0.0001mg/kg ~ 5mg/kg、0.0001 ~ 2mg/kg、0.0001 ~ 1mg/kg、0.0001mg/kg ~ 0.75mg/kg、0.0001mg/kg ~ 0.5mg/kg、0.0001mg/kg ~ 0.25mg/kg、0.0001 ~ 0.15mg/kg、0.0001 ~ 0.10mg/kg、0.001 ~ 0.5mg/kg、0.01 ~ 0.25mg/kg、又は0.01 ~ 0.10mg/kg患者体重である。一般に外来ポリペプチドに対する免疫応答のために、ヒト抗体は人体中で他の種の抗体より長い半減期を有する。すなわち低用量のヒト抗体及び低頻度の投与がしばしば可能である。さらに脂質化のような修飾により抗体の取り込みと組織貫通を増強することにより、本発明の抗体又はその断片の投与量と投与頻度は低下される。

20

【0221】

5.4 抗CD3の治療的又は予防的有用性の性状解析

CD3結合分子は種々の方法で性状解析される。特にCD3結合分子は、CD3ポリペプチドに免疫特異的に結合する能力について評価される。そのようなアッセイは、溶液中（例えば、Houghten, 1992, *Bio/Techniques* 13:412 421）、ビーズ上（Lam, 1991, *Nature* 354:82 84）、チップ上（Fodor, 1993, *Nature* 364:555 556）、細菌上（U.S. Patent No. 5,223,409）、胞子上（U.S. Patent Nos. 5,571,698; 5,403,484; 及び5,223,409）、プラスミド上（Cull et al., 1992, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 89:1865 1869）、又はファージ上（Scott and Smith, 1990, *Science* 249:386 390; Devlin, 1990, *Science* 249:404 406; Cwirla et al., 1990, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 87:6378 6382; 及びFelici, 1991, *J. Mol. Biol.* 222:301 310）で行われる（これらのそれぞれは参照することによりその全体が本明細書に組み込まれる）。CD3ポリペプチドに免疫特異的に結合することが同定されているCD3結合分子は次に、CD3ポリペプチドに対するその特異性と親和性について測定することができる。

30

【0222】

CD3結合分子は、CD3ポリペプチドへの免疫特異的結合と他のポリペプチドとの交差反応性について当業者に公知の任意の方法により測定される。免疫特異的結合と交差反応性を分析するのに使用されるイムノアッセイには、特に限定されないが、少し例を挙げれば、ウェスタンプロット、ラジオイムノアッセイ、ELISA（酵素結合免疫吸着測定法）、「サンドイッチ」イムノアッセイ、免疫沈降アッセイ、沈降素反応、ゲル拡散沈降素反応、免疫拡散アッセイ、凝集アッセイ、補体結合アッセイ、イムノラジオメトリックアッセイ、蛍光イムノアッセイ、プロテインAイムノアッセイ、のような方法を使用する競合及び非競合アッセイ系がある。かかるアッセイは当該分野で公知でルーチンであり周知されてい

40

50

る（例えば、Ausubel et al, eds, 1994, *Current Protocols in Molecular Biology*, Vol. 1, John Wiley & Sons, Inc., New York 参照；これは参考することによりその全体が本明細書に組み込まれる）。イムノアッセイの例は以下で簡単に説明される（しかしこれは限定するものではない）。

【0223】

免疫沈降プロトコールは一般に、タンパク質ホスファターゼ及び／又はプロテアーゼインヒビター（例えば、EDTA、PMSF、アプロチニン、バナジウム酸ナトリウム）を補足したRIPAバッファー（1% NP-40又はトリトンX-100、1% デオキシコール酸ナトリウム、0.1% SDS、0.15M NaCl、0.01M リン酸ナトリウム、pH7.2、1% トライロール）のような溶解バッファー中で細胞の集団を溶解し、目的のCD3結合分子を細胞溶解物に加え、40 10 で一定時間（例えば、1～4時間）インキュベートし、溶解バッファーでビーズを洗浄し、ビーズをSDS/サンプルバッファーに再懸濁することを含む。目的のCD3結合分子が特定の抗原を免疫沈降させる能力は、例えばウェスタンプロット解析により評価することができる。当業者は、CD3ポリペプチドへのCD3結合分子の結合を上昇させ、バックグラウンドを低下させる（例えば、細胞溶解物をセファロースベースでプレクリニーニング）ために修飾できるパラメータは周知しているであろう。免疫沈降プロトコールのさらなる考察については、Ausubel et al編, 1994, *Current Protocols in Molecular Biology*, Vol. 1, John Wiley & Sons, Inc., New York, 10.16.1を参考されたい（これは参考することによりその全体が本明細書に組み込まれる）。

【0224】

ウェスタンプロット解析は一般に、タンパク質サンプルを調製し、ポリアクリルアミドゲル（例えば、抗原の分子量に依存して8%～20% SDS-PAGE）中でタンパク質サンプルを電気泳動し、タンパク質サンプルをポリアクリルアミドゲルからニトロセルロース、PVDF、又はナイロンのような膜に移し、ブロッキング溶液（例えば、3% BSA又は脱脂乳を有するPBS）中で膜をブロックし、洗浄バッファー（例えば、PBS-ツイーン20）中で膜を洗浄し、ブロッキングバッファーで希釈した目的のCD3結合分子で膜を洗浄し、ブロッキングバッファーで希釈した酵素基質（例えば、西洋ワサビペルオキシダーゼ又はアルカリホスファターゼ）又は放射活性分子（例えば、<sup>32</sup>P又は<sup>125</sup>I）に結合した抗体（CD3結合分子を認識する）で膜をブロックし、洗浄バッファーで膜を洗浄し、CD3ポリペプチドの存在を検出することを含んでなる。当業者は、検出されるシグナルを増強しバックグラウンドノイズを低下させるために修飾できるパラメータは周知しているであろう。ウェスタンプロットプロトコールのさらなる考察については、Ausubel et al編, 1994, *Current Protocols in Molecular Biology*, Vol. 1, John Wiley & Sons, Inc., New York, 10.8.1を参考されたい（これは参考することによりその全体が本明細書に組み込まれる）。

【0225】

ELISAは、CD3ポリペプチドを調製し、96ウェルマイクロタイタープレートのウェルをCD3ポリペプチドで被覆し、酵素基質（例えば、西洋ワサビペルオキシダーゼ又はアルカリホスファターゼ）のような検出可能な化合物に結合した目的のCD3結合分子をウェルに加え、一定時間インキュベートし、CD3ポリペプチドの存在を検出することを含んでなる。ELISAでは、目的のCD3結合分子は検出可能な化合物に結合する必要は無く、その代わりに、検出可能な化合物に抗体（これは目的のCD3結合分子を認識する）をウェルに加える。さらに、CD3ポリペプチドでウェルを被覆する代わりに、CD3結合分子をウェルに被覆してもよい。この場合、被覆ウェルにCD3ポリペプチドを添加後、検出可能な化合物に結合した抗体が加えられる。当業者は、検出されるシグナルを増強しバックグラウンドノイズを低下させるために修飾できるパラメータは周知しているであろう。ELISAのさらなる考察については、Ausubel et al編, 1994, *Current Protocols in Molecular Biology*, Vol. 1, John Wiley & Sons, Inc., New York, 11.2.1を参考されたい（これは参考することによりその全体が本明細書に組み込まれる）。

【0226】

CD3ポリペプチドへのCD3結合分子の結合親和性及びCD3結合分子 - CD3ポリペプチド相互

10

20

30

40

50

作用の解離速度は、競合的結合アッセイにより測定することができる。競合的結合アッセイの1つの例は、標識CD3ポリペプチド（例えば、<sup>3</sup>H又は<sup>125</sup>I）と目的のCD3結合分子とを増加量の非標識CD3ポリペプチドの存在下でインキュベートし、標識CD3ポリペプチドに結合したCD3結合分子を検出することを含んでなるラジオイムノアッセイである。CD3ポリペプチドに対するCD3結合分子の親和性と結合解離速度は、スキャチャードプロット解析によるデータから決定することができる。第2CD3結合分子との競合はまた、ラジオイムノアッセイを使用して測定することができる。この場合CD3ポリペプチドは、標識化合物（例えば<sup>3</sup>H又は<sup>125</sup>I）に結合したCD3結合分子と、増加量の第2の非標識CD3結合分子の存在下でインキュベートされる。

## 【0227】

10

好適な実施形態においてCD3結合分子のCD3ポリペプチドへの結合結合速度と解離速度を測定するために、ビアコア (BIAcore) 動力学的分析が使用される。ビアコア (BIAcore) 動力学的分析は、その表面に固定化CD3結合分子を有するチップからのCD3ポリペプチドの結合と解離を分析することを含んでなる。

## 【0228】

CD3結合分子、特に抗CD3抗体、及び本発明の組成物はまた、T細胞活性化を調節する能力について測定することもできる。T細胞活性化は、例えばサイトカイン及び/又はT細胞活性化マーカーの発現レベルの変化を測定することにより決定することができる。当業者に公知の方法（特に限定されないが、免疫沈降の後にウェスタンプロット解析、ELISA、フローサイトメトリー、ノーザンプロット解析、及びRT-PCRを含む）を使用して、サイトカインとT細胞活性化マーカー発現を測定することができる。好適な実施形態においてCD3結合分子又は本発明の組成物は、IFN- $\gamma$ 及び/又はIL-2の発現を誘導する能力について試験される。

20

## 【0229】

抗CD3抗体及び本発明の組成物はまた、T細胞シグナル伝達を誘導する能力について測定することもできる。抗CD3抗体又は本発明の組成物のT細胞シグナル伝達を誘導する能力は、例えばキナーゼアッセイ及び電気泳動シフトアッセイ (EMSA) により測定することができる。

## 【0230】

30

抗CD3抗体及び本発明の組成物は、T細胞増殖を調節する能力についてin vitro又はin vivoで試験することができる。例えば抗CD3抗体又は本発明の組成物のT細胞増殖を調節する能力は、例えば<sup>3</sup>H-チミジン取り込み、トリパンブルー細胞計測、及び蛍光活性化細胞ソーター解析 (FACS) により評価することができる。

## 【0231】

抗CD3抗体及び本発明の組成物は、細胞溶解を誘導する能力についてin vitro又はin vivoで試験することができる。例えば抗CD3抗体又は本発明の組成物が細胞溶解を誘導する能力は、例えば<sup>51</sup>Cr放出アッセイを使用して評価することができる。

## 【0232】

40

抗CD3抗体及び本発明の組成物は、末梢血T細胞の喪失を誘導する能力についてin vitro又はin vivoで試験することができる。例えば抗CD3抗体又は本発明の組成物が末梢血T細胞の喪失を誘導する能力は、例えばフローサイトメトリー分析を使用してT細胞数を測定することにより評価することができる。

## 【0233】

抗CD3抗体及び本発明の組成物は、末梢血リンパ球数計測を仲介する能力についてin vitro又はin vivoで試験することができる。例えば抗CD3抗体又は本発明の組成物が末梢血リンパ球数計測を仲介する能力は、例えば被験体から末梢血サンプルを得て、末梢血の成分（例えば血漿）から例えばフィコール勾配を使用してリンパ球を分離し、そしてトリパンブルーを使用してリンパ球を計測することにより評価することができる。

## 【0234】

5.4.1 変種Fc領域を有する免疫グロブリン分子の性状解析

50

好適な実施形態において改変されたFc R親和性（例えば、ゼロFc R結合）を有する変種Fc領域を含む分子の性状解析は、好ましくは高スループット法で1つ又はそれ以上の生化学ベースの測定法を用いて行われる。1つ又はそれ以上の生化学的測定法は、Fc-Fc R相互作用、すなわちFc RへのFc領域の特異的結合、を同定するための当該分野で公知の任意の測定法（特に限定されないが、ELISAアッセイ、表面プラズモン共鳴アッセイ、免疫沈降アッセイ、親和性クロマトグラフィー、及び平衡透析を含む）がある。機能ベースの測定法は、1つ又はそれ以上のFc R介在エフェクター細胞機能を性状解析するための当該分野で公知の任意の測定法がある。本発明の改変されたFc領域を有する抗体と対照抗体との比較は、Fc-Fc R相互作用の減少又は排除の尺度を与える。本発明の方法で使用できるエフェクター細胞機能の非限定例には、特に限定されないが、抗体依存性細胞障害（ADCC）、抗体依存性食作用、食作用、オプソニン作用、オプソ食作用、細胞結合、ロゼット形成、C1q結合、及び補体依存性性細胞障害剤がある。好適な実施形態において、Fc R親和性（例えば、ゼロFc R結合）を有する変種Fc領域を含む分子の性状解析は、好ましくは高スループット法で1つ又はそれ以上の機能ベースの測定法と組合せて又はこれと平行して行われる。

【0235】

ある実施形態において改変されたFc R親和性（例えば、ゼロFc R結合）を有する変種Fc領域を含む分子の性状解析は、Fc R（1つ又はそれ以上）に対する変種Fc領域を含む分子の結合を、Fc-Fc R相互作用を測定するための生化学的測定法（好ましくはELISAベースの測定法）を使用して解析し、次に結果を対照（すなわち非修飾）抗体を用いて得られた同じ測定法の結果と比較することを含む。少なくとも1つの生化学的測定法（例えばELISAアッセイ）により、変種Fc領域を含む分子が1つ又はそれ以上のFc Rとの相互作用についていったん解析され、1つ又はそれ以上のFc Rに対するゼロ結合を有することが決定されると、当該分野で公知の標準的組換えDNA法と、さらなる生化学的解析のために哺乳動物細胞中で発現される変種Fc領域を含む免疫グロブリンとを使用して、分子は完全に免疫グロブリンに作成される。本発明の変種Fc領域が導入される（例えば免疫グロブリンのFc領域を置換する）免疫グロブリンは、任意の免疫グロブリンであり、特に限定されないが、例えばポリクローナル抗体、モノクローナル抗体、二重特異的抗体、多重特異的抗体、ヒト化抗体、及びキメラ抗体がある。好適な実施形態において変種Fc領域は、ヒトTCRに関連するCD3複合体に特異的な免疫グロブリン中に導入される。

【0236】

好ましくは免疫グロブリンについて変種Fc領域は、1つ又はそれ以上の生化学的測定法及び/又は1つ又はそれ以上の機能的測定法を、好ましくは高スループット法で使用して、さらに性状解析される。別の実施形態において、変種Fc領域は免疫グロブリン中に導入されず、1つ又はそれ以上の生化学的測定法及び/又は1つ又はそれ以上の機能的測定法を、好ましくは高スループット法で使用して、さらに性状解析される。1つ又はそれ以上の生化学的測定法は、Fc-Fc R相互作用を同定するための当該分野で公知任意の測定法であり、特に限定されないが、ELISAアッセイ、及びFc-Fc R相互作用の動力学パラメータを測定するための表面プラズモン共鳴ベースの測定法（例えば、ビアコア（BIAcore）アッセイ）がある。1つ又はそれ以上の機能的測定法は、当業者に公知又は本明細書に記載される1つ又はそれ以上のFc R介在エフェクター細胞機能を解析するために当該分野で公知の任意の測定法である。具体的な実施形態において変種Fc領域を含む免疫グロブリンは、1つ又はそれ以上のFc R（例えば、Fc RIIIA、Fc RIIA、Fc RIIA）への結合のためのELISAアッセイ、次に1つ又はそれ以上のADCCアッセイにより測定される。ある実施形態において変種Fc領域を含む免疫グロブリンは、表面プラズモン共鳴ベースの測定法（例えばビアコア（BIAcore））を使用してさらに測定される。変種Fc領域を含む免疫グロブリンの性状解析のさらなる考察については、U.S. Pat. Appl. Pub. No. 2005/0064514 A1及びU.S. Pat. Appl. Pub. No. 20050037000 A1を参照されたい。

【0237】

変種Fc領域を含む免疫グロブリンは、Fc-Fc R相互作用の動力学パラメータを画定する

10

20

30

40

50

ための、表面プラズモン共鳴ベースの測定法（例えばビアコア（BIAcore））をあらゆる時点で使用して、当業者に公知の方法を使用して分析される。

【0238】

最も好適な実施形態において、変種Fc領域を含む免疫グロブリンは、Fc Rとの相互作用について動物モデルでさらに性状解析される。本発明の方法での使用の好適な動物モデルは、例えばヒトFc Rを発現するトランスジェニックマウスであり、U.S. Patent No. 5,877,397（これは参照することによりその全体が本明細書に組み込まれる）に記載された任意のマウスモデルである。本発明の方法で使用するためのトランスジェニックマウスには、特に限定されないが、ヒトFc RIIIAを有するヌードノックアウトFc RIIIAマウス、ヒトFc RIIIAを有するヌードノックアウトFc RIIIAマウス、ヒトFc RIIBとFc RIIAを有するヌードノックアウトFc RIIIAマウスがある。

10

【0239】

#### 5.4.2 in vitro及びin vivo性状解析

本発明の医薬組成物又は抗CD3抗体のいくつかの態様が、ヒトでの使用前に所望の治療活性について、好ましくはin vitroで細胞培養系で、かつ動物モデル生物（例えばげっ歯動物モデル）系で試験される。例えば特定の医薬組成物の投与が示されるかどうかを決定するのに使用できる測定法には細胞培養アッセイがあり、ここで、患者の組織サンプルが培養され、医薬組成物に暴露されるか又は接触され、組織サンプルに対するかかる組成物の作用が観察される。組織サンプルは、患者の生検サンプルにより得ることができる。この試験は、各患者について、治療的に最も有効な腫瘍標的化細菌及び治療的に最も有効な治療分子の同定を可能にする。種々の具体的な実施形態において、自己免疫疾患又は炎症性疾患に関する細胞態様の代表的細胞（例えば、T細胞）を用いてin vitroアッセイを行い、本発明の医薬組成物がかかるタイプの細胞に対する所望の作用を有するかどうかを決定することができる。

20

【0240】

本発明において、抗CD3抗体の予防的及び/又は治療的効力を証明するために、ヒト被験体を用いる臨床治験を行う必要は無い。抗CD3抗体を使用するin vitro研究及び動物モデル研究はヒトに外挿することができ、該抗CD3抗体の予防的及び/又は治療的有用性を証明するのに充分である。

30

【0241】

抗CD3抗体は、ヒトで使用する前に適切な動物モデル系で試験することができる。かかる動物モデル系には、特に限定されないが、ラット、マウス、ニワトリ、ウシ、サル、ブタ、イヌ、ウサギなどがある。当該分野で公知の動物系が使用される。本発明の具体的な実施形態においてCD3結合分子は、マウスモデル系で試験される。かかるモデル系は広く使用されており、当業者に公知である。CD3結合分子は繰り返し投与することができる。方法のいくつかの態様は変化してもよい。該態様には、CD3結合分子を投与する一時的方法、及び表面物質が別々に又は混合物で投与されるかどうかがある。

【0242】

抗CD3抗体又は本発明の医薬組成物の抗炎症活性は、当業者に公知であり、Cofford L. J. and Wilder R.L., 「動物における関節炎と自己免疫」, *Arthritis and Allied Conditions: A Textbook of Rheumatology*中, McCarty et al. (編), Chapter 30 (Lee and Febiger, 1993)（これは参照することによりその全体が本明細書に組み込まれる）に記載されている、炎症性関節炎の種々の実験動物モデルを使用して測定することができる。抗CD3抗体又は本発明の医薬組成物の抗炎症活性を評価するのに、炎症性関節炎と自己免疫リウマチ疾患の実験的及び自発的動物モデルを使用することができる。以下のいくつかの例は、例として提供されるものであり、限定するものではない。

40

【0243】

当該分野で公知で広く使用されている関節炎又は炎症性疾患の主要な動物モデルには以下がある：アジュバント誘導性の関節炎ラットモデル、コラーゲン誘導性関節炎ラット及びマウスモデル、及び抗原誘導性関節炎ラット、ウサギ、及びハムスターモデル、これら

50

はすべて、Croxton L.J. and Wilder R.L., 「動物における関節炎と自己免疫」, *Arthritis and Allied Conditions: A Textbook of Rheumatology*中, McCarty et al.(編), Chapter 30 (Lee and Febiger, 1993) (これは参照することによりその全体が本明細書に組み込まれる)に記載されている。コラーゲン誘導性関節炎(CIA)は、ヒト自己免疫疾患慢性関節リウマチ(RA)の動物モデルである (Trenthorn et al., 1977, *J. Exp. Med.* 146:857; これは参照することによりその全体が本明細書に組み込まれる)。この疾患は多くの種で、異種II型コラーゲンの投与により誘導することができる (Courtenay et al., 1980, *Nature* 283:665; 及びCathcart et al., 1986, *Lab. Invest.* 54:26)。関節炎の動物モデルについては、さらに例えばHolmdahl, R., 1999, *Curr. Biol.* 15:R528-530 (これらのそれぞれは参照することによりその全体が本明細書に組み込まれる)を参照されたい。

10

## 【0244】

さらに炎症性腸疾患の動物モデルを使用して、抗CD3抗体又は本発明の医薬組成物の効力を評価することができる (Kim et al., 1992, *Scand. J. Gastroenterol.* 27:529-537; Strober, 1985, *Dig. Dis. Sci.* 30(12 Suppl):3S-10S) (これらのそれぞれは参照することによりその全体が本明細書に組み込まれる)。潰瘍性大腸炎とクロhn病は、動物で誘導することができるヒトの炎症性腸疾患である。炎症性腸疾患を誘導するために、硫酸化多糖(特に限定されないが、アミロペクチン、カラゲニン、硫酸アミロペクチン、及びデキストラン硫酸を含む)又は化学刺激物質(特に限定されないが、トリニトロベンゼンスルホン酸(TNBS)及び酢酸を含む)を動物に経口投与することができる。

20

## 【0245】

喘息の動物モデルもまた、抗CD3抗体又は本発明の医薬組成物の効力を評価するのに使用することができる。そのようなモデルの1つは、マウス養子移入モデルであり、ここでTH1又はTH2受容体マウスの空気アレルゲン誘発により、気道へのTHエフェクター細胞遊走が起き、強い好中球性(TH1)及び好酸球性(TH2)肺粘膜炎症応答を伴う (Cohn et al., 1997, *J. Exp. Med.* 186:1737-1747; これは参照することによりその全体が本明細書に組み込まれる)。

30

## 【0246】

自己免疫疾患の動物モデルもまた、抗CD3抗体又は本発明の医薬組成物の効力を評価するのに使用することができる。自己免疫疾患、例えば1型糖尿病、甲状腺自己免疫、全身性エリテマトーデス、及び糸球体腎炎の動物モデルが開発されている (Bluestone et al., 2004, *PNAS* 101:14622-14626; Flanders et al., 1999, *Autoimmunity* 29:235-246; Krugh et al., 1999, *Biochimie* 81:511-515; Foster, 1999, *Semin. Nephrol.* 19:12-24; これらのそれぞれは参照することによりその全体が本明細書に組み込まれる)。

## 【0247】

抗CD3抗体又は本発明の医薬組成物の効力はまた、実験アレルギー脳脊髄炎(EAE)モデルとしての自己免疫疾患モデルで試験することができる。EAEは中枢神経系(CNS)の実験的自己免疫疾患 (Zamvil et al., 1990, *Ann. Rev. Immunol.* 8:579; これは参照することによりその全体が本明細書に組み込まれる)であり、ヒト自己免疫状態、多発性硬化症(MS)の疾患モデルである。EAEは、T細胞が介する細胞性自己免疫疾患の例である。EAEは、CNSから精製されたミエリン塩基性タンパク質(MBP)又は脳炎誘発プロテオ脂質(PLP)の免疫により、哺乳動物種で容易に誘導される。SJL/Jマウスはマウス(H-2u)の感受性株であり、EAEの誘導により、これらのマウスは急性麻痺性疾患を発症し、CNS中で急性細胞浸潤が同定される。EAEは、RAG-1-欠損バックグラウンドのMBP1-17ペプチド特異的T細胞受容体(TCR)トランスジェニックマウス(TgMBP+)で自然に発症する (Lafaille et al., 1994, *Cell* 78:399; これは参照することによりその全体が本明細書に組み込まれる)。

40

## 【0248】

さらに、抗CD3抗体又は自己免疫疾患及び/又は炎症性疾患のために本明細書に開示された医薬組成物を評価するために、当業者に公知の任意の測定法が使用できる。

50

## 【0249】

抗CD3抗体又は本発明の医薬組成物の毒性及び／又は効力は、細胞培養物又は実験動物で、LD<sub>50</sub>（50%の集団の治療量）とED<sub>50</sub>（50%の集団に治療的に有効な用量）を測定するための標準的薬剤学的方法により測定することができる。毒性と治療作用との用量比は治療指數であり、LD<sub>50</sub>/ED<sub>50</sub>として表すことができる。大きな治療指數を示す抗CD3抗体が好ましい。毒性の副作用を示す抗CD3抗体が使用される場合、非感染細胞への傷害の可能性を最小にし、従って副作用を低下させるために、そのような物質を患部組織部位に標的化する送達系を設計するように注意すべきである。

## 【0250】

細胞培養アッセイと動物試験から得られるデータは、本発明で使用される抗CD3抗体の用量範囲を作成するために使用できる。そのような物質の用量は好ましくは、ほとんど又は全く毒性の無いED<sub>50</sub>を含む循環濃度の範囲内である。用量は、使用される投与型及び使用される投与経路に依存して、この範囲内で変動する。本発明の方法で使用されるすべての薬剤について、治療的有効量はまず細胞培養アッセイから推定することができる。細胞培養で決定されたようにIC<sub>50</sub>（すなわち、症状の最大阻害の半分を達成する試験化合物の濃度）を含む循環血漿濃度範囲を達成するために、ある用量が動物モデルで画定される。このような情報を使用して、ヒトで有用な用量をさらに正確に決定することができる。血漿中のレベルは、例えば高速液体クロマトグラフィーにより測定される。

10

## 【0251】

例えば自己免疫疾患の1つ又はそれ以上の症状を低下させるか、平均絶対リンパ球数を低下させるか、T細胞活性化を低下させるか、T細胞増殖を低下させるか、サイトカイン産生を低下させるか、1つ又はそれ以上の特定のサイトカインプロフィールを調節する抗CD3抗体又は本発明の組成物の能力を検出することにより、自己免疫疾患の予防又は治療における効力が証明される。糖尿病を治療する効力は、例えば糖尿病の1つ又はそれ以上の症状を低下させるか、MMTTに対するC-ペプチド応答を維持するか、HA1又はHA1cレベルを低下させるか、1日のインスリン必要量を低下させるか、又は膵臓島組織中のT細胞活性化を低下させる抗CD3抗体又は本発明の組成物の能力を検出することにより、証明される。炎症性疾患を予防又は治療する効力は、例えば炎症性疾患の1つ又はそれ以上の症状を低下させるか、T細胞活性化を低下させるか、T細胞増殖を低下させるか、1つ又はそれ以上のサイトカインプロフィールを調節するか、サイトカイン産生を低下させるか、関節、臓器、又は組織の炎症を低下させるか、又はクオリティオブライフを改善する抗CD3抗体の能力を検出することにより、証明される。

20

## 【0252】

炎症性疾患活性の変化は、痛みのある腫脹した関節の数、疼痛と疾患活性の患者と医師の総合スコア、及びESR/CRPにより評価される。構造的関節傷害の進行は、手、手首、及び足のX線の定量スコアにより評価される（Sharp法）。炎症性疾患有するヒトの機能状態の変化は、健康評価アンケート（Health Assessment Questionnaire (HAQ)）を使用して評価され、クオリティオブライフの変化はSF-36を用いて評価される。

30

## 【0253】

5.5 リンパ球数と結合パーセントを追跡する方法

40

自己免疫疾患又はドナー特異的免疫疾患の1つ又はそれ以上の症状を低下させる抗CD3抗体又は本発明の組成物の1つ又はそれ以上の能力の1つ又はそれ以上の用量の、末梢血リンパ球数に対する作用は、当業者に公知の標準的方法を使用して追跡／評価することができる。哺乳動物の末梢血リンパ球数は、例えば該哺乳動物から末梢血サンプルを得て、末梢血の他の成分（例えば血漿）からフィコール・ハイパーク（Pharmacia）勾配遠心分離を使用してリンパ球を分離し、そしてトリパンブルーを使用してリンパ球を計測することにより測定できる。哺乳動物の末梢血T細胞数は、例えば末梢血の他の成分（例えば血漿）からフィコール・ハイパーク（Pharmacia）勾配遠心分離を使用してリンパ球を分離し、CD2、CD3、CD4、及びCD8などのT細胞抗原（これはFITC又はフィコエリトリンに結合している）に対する抗体を用いてT細胞を標識し、FACSによりT細胞の数を測定することによ

50

り決定できる。さらにT細胞に対する特定のサブセット（例えば、CD2<sup>+</sup>、CD4<sup>+</sup>、CD8<sup>+</sup>、CD4<sup>+</sup>RO<sup>+</sup>、CD8<sup>+</sup>RO<sup>+</sup>、CD4<sup>+</sup>RA<sup>+</sup>、又はCD8<sup>+</sup>RA<sup>+</sup>）に対する作用は、当業者に公知の標準的方法（例えばFACS）を使用して測定することができる。

【0254】

1つ又はそれ以上の抗CD3抗体の応答成分の前、後、又は前と後の両方の、抗CD3抗体が結合した末梢血リンパ球により発現されるCD3ポリペプチドのパーセントは、当業者に公知の標準的方法を使用して評価することができる。抗CD3抗体が結合した末梢血リンパ球により発現されるCD3ポリペプチドのパーセントは、例えば哺乳動物から末梢血サンプルを得て、末梢血の他の成分（例えば血漿）からフィコール・ハイパーク（Pharmacia）勾配遠心分離を使用してリンパ球を分離し、FITCに結合した本発明の抗体以外の抗CD3結合分子抗体、及びCD2、CD3、CD4、及びCD8などのT細胞抗原（これはFITC又はフィコエリトリンに結合している）に対する抗体を用いてT細胞を標識し、FACSを使用して、T細胞抗原に対する抗体で標識したT細胞の数に対する抗CD3結合分子抗体で標識したT細胞の数を測定することにより決定できる。

10

【0255】

5.6 抗体の產生方法

CD3ポリペプチドに免疫特異的に結合する抗体は、抗体の合成、特に化学合成、又は好ましくは組換え発現方法について当該分野で公知の任意の方法により產生することができる。

20

【0256】

抗原に免疫特異的に結合するポリクローナル抗体は、当該分野で公知の種々の方法により產生することができる。例えばヒト抗原を種々の宿主動物（特に限定されないが、ウサギ、マウス、ラットなどを含む）に投与して、ヒト抗原に特異的なポリクローナル抗体を含有する血清の產生を誘導することができる。宿主の種に依存して免疫学的応答を上昇させるのに種々の補助剤が使用され、特に限定されないが、フロイント（完全及び不完全）、ミネラルゲル、例えば水酸化アルミニウム、表面活性物質、例えばリソレシチン、ブルロニックポリオール、ポリアニオン、ペプチド、油エマルジョン、キーホールリンペットヘモシアニン、ジニトロフェノール、及び有用な可能性のあるヒト補助剤、例えばBCG（カルメット・グラン菌）、及びコリネバクテリウム・パルブム（*Corynebacterium parvum*）がある。かかる補助剤もまた、当該分野で公知である。

30

【0257】

モノクローナル抗体は、当該分野で公知の多種類の方法（ハイブリドーマ法、組換え法、及びファージ表示法、又はこれらの組合せの使用がある）を使用して調製することができる。例えばモノクローナル抗体は、ハイブリドーマ技術[例えば当該分野で公知のもの、及び例えばHarlow et al., *Antibodies: A Laboratory Manual*, (Cold Spring Harbor Laboratory Press, 2nd ed. 1988); Hammerling, et al., *Monoclonal Antibodies and T cell Hybridomas*中、563-681 (Elsevier, N.Y., 1981)（該文献は参照することによりその全体が本明細書に組み込まれる）に教示されたものを含む]を使用して產生することができる。本明細書において用語「モノクローナル抗体」は、ハイブリドーマ技術により產生される抗体に限定されない。用語「モノクローナル抗体」は、単一のクローニー（任意の真核生物、原核生物、又はファージクローニーを含む）から得られる抗体を意味し、それが產生される方法ではない。

40

【0258】

ハイブリドーマ技術を使用して特異抗体を產生及びスクリーニングする方法は、当該分野で公知でルーチン的である。簡単に説明するとマウスをCD3抗原で免疫し、いったん免疫応答が検出されたら、例えばマウス血清中にCD3抗原（好ましくはCD3抗原）に特異的な抗体が検出されたら、マウス脾臓を採取し、脾臓細胞を単離する。次に脾臓細胞を公知の方法により任意の適切なミエローマ細胞（例えばATCCから入手できるSP20細胞株からの細胞）に融合させる。ハイブリドーマが選択され、限界希釈法により着色される。次にハイブリドーマクローニーは、本発明のポリペプチドに結合できる抗体を分泌する細胞につい

50

て、当該分野で公知の方法により測定される。マウスを陽性のハイブリドーマクローンで免疫することにより、腹水（これは一般に高レベルの抗体を含有する）を作成することができる。

【0259】

従って本発明は、本発明の抗体を分泌するハイブリドーマ細胞を培養することにより抗体を作成する方法であって、ここで好ましくは、ハイブリドーマは、CD3抗原で免疫したマウスから単離した脾臓細胞をミエローマ細胞に融合し、CD3抗原（好ましくはCD3 抗原）に結合できる抗体を分泌するハイブリドーマクローンについて、融合体から得られるハイブリドーマをスクリーニングすることを含む方法を提供する。

【0260】

特異的CD3抗原（好ましくはCD3 抗原）を認識する抗体断片は、当該分野で公知の任意の標準的方法により作成される。例えば本発明のFabとF(ab')2断片は、パパイン（Fab断片を產生するために）又はペプシン（F(ab')2断片を產生するために）のような酵素を使用して、免疫グロブリン分子のタンパク質分解により產生される。F(ab')2断片は、可変領域、軽鎖コード領域、及び重鎖のCH1ドメインを含有する。さらに本発明の抗体はまた、当該分野で公知の種々のファージ表示法を使用して作成することもできる。

【0261】

ファージ表示法では、ファージ粒子をコードするポリヌクレオチド配列を有するファージ粒子の表面に機能性抗体ドメインが表示される。特にVH及びVLドメインをコードするDNA配列が、動物cDNAライブラリー（例えば、患部組織のヒト又はマウスcDNAライブラリー）から増幅される。VH及びVLドメインをコードするDNA配列はPCRによりscFvリンカーとともに組換えられ、ファジミドベクター中にクローニングされる。ベクターは大腸菌（*E. coli*）中で電気穿孔され、大腸菌（*E. coli*）はヘルパーファージにより感染される。これらの方法で使用されるファージは、典型的にはfdとM13とを含む纖維状ファージであり、VH及びVLドメインは通常ファージ遺伝子III又は遺伝子VIIIを組換え融合される。特定の抗原に結合する抗原結合ドメインを発現するファージは、例えば標識抗原又は固体支持体又はビーズに結合したか又は捕捉された抗原を使用して、抗原で選択され同定される。本発明の抗体を作成するのに使用できるファージ表示法の例は、以下に開示されているものがある：Brinkman et al., 1995, *J. Immunol. Methods* 182:41-50; Ames et al., 1995, *J. Immunol. Methods* 184:177-186; Kettleborough et al., 1994, *Eur. J. Immunol.* 24:952-958; Persic et al., 1997, *Gene* 187:9-18; Burton et al., 1994, *Advances in Immunology* 57:191-280; PCT出願 PCT/GB91/01 134; 国際特許公報 WO 90/02809, WO 91/10737, WO 92/01047, WO 92/18619, WO 93/1 1236, WO 95/15982, WO 95/20401, 及びWO97/13844; 及びU.S. Patent Nos. 5,698,426, 5,223,409, 5,403,484, 5,580,717, 5,427,908, 5,750,753, 5,821,047, 5,571,698, 5,427,908, 5,516,637, 5,780,225, 5,658,727, 5,733,743 及び5,969,108（これらのそれぞれは参照することによりその全体が本明細書に組み込まれる）。

【0262】

上記文献に記載されているように、ファージ選択後、ファージからの抗体コード領域を単離し、これを使用して、全抗体（ヒト抗体を含む）又は任意の他の所望の抗原結合断片を作成し、任意の所望の宿主（例えば後述するように、哺乳動物細胞、昆虫細胞、植物細胞、酵母、及び細菌を含む）で発現することができる。Fab、Fab'、及びF(ab')2断片を組換えるに産生する方法は、例えばPCT公報 WO 92/22324; Mullinax et al., 1992, *BioTechniques* 12(6):864-869; Sawai et al., 1995, *AJRI* 34:26-34; 及びBetter et al., 1988, *Science* 240:1041-1043（これは参照することによりその全体が本明細書に組み込まれる）のように当該分野で公知の方法を使用して、利用することができる。

【0263】

全抗体を作成するために、VH又はVLヌクレオチド配列、制限部位、及びフランкиング配列を含むPCRプライマーを使用して、scFvクローン中でVH又はVL配列を増幅する。当業者に公知のクローニング法を使用して、VHコード領域（例えば、ヒトガンマ4コード領域）

10

20

30

30

40

50

を発現するベクター中にPCR増幅したVHドメインをクローン化し、VLコード領域（例えば、ヒトカッパ又はラムダコード領域）を発現するベクター中にPCR増幅したVLドメインをクローン化する。好ましくはVH又はVLドメインを発現するためのベクターは、EF-1プロモーター、分泌シグナル、可変ドメイン、定常ドメインのためのクローニング部位、及びネオマイシンのような選択マーカーを含む。VH及びVLドメインはまた、必要なコード領域を発現する1つのベクター中にクローン化される。次に、当業者に公知の方法を使用して、重鎖変換ベクターと軽鎖変換ベクターが細胞株に同時トランスフェクトされて、完全長抗体（例えばIgG）を発現する安定な又は一過性細胞株を作成される。

## 【0264】

いくつかの用途（ヒトでの抗体のin vivo使用及びin vitro検出測定法を含む）のために、ヒト又はキメラ抗体を使用することが好ましい場合がある。完全にヒトの抗体は、ヒト被験体の治療に特に好ましい。ヒト抗体は、当該分野で公知の種々の方法（ヒト免疫グロブリン配列から得られる抗体ライブラリーを使用する、上記ファージ表示法を含む）により作成することができる。U.S. Patent Nos. 4,444,887 及び 4,716,111；及び国際特許公報 Nos. WO 98/46645, WO 98/50433, WO 98/24893, WO98/16654, WO 96/34096, WO 96/33735, 及び WO 91/10741も参照されたい（これらのそれぞれは参考することによりその全体が本明細書に組み込まれる）。

10

## 【0265】

ヒト抗体はまた、機能性内因性免疫グロブリンを発現することはできないがヒト免疫グロブリン遺伝子を発現することができるトランスジェニックマウスを使用して、產生することもできる。例えばヒト重鎖及び軽鎖免疫グロブリン遺伝子複合体は、ランダムに又は相同的組換えによりマウス胚幹細胞に導入してもよい。あるいはヒト可変領域、定常領域、及び多様性領域は、ヒト重鎖及び軽鎖遺伝子以外に、マウス胚幹細胞中に導入される。マウス重鎖及び軽鎖免疫グロブリン遺伝子は、相同的組換えによりヒト免疫グロブリン遺伝子座の導入と別に又は同時に非機能性にされる。特にJH領域のホモ接合性欠失は、内因性抗体產生を妨害する。修飾胚幹細胞は拡張され、胚盤胞中に微量注入されてキメラマウスを產生する。次にキメラマウスは、ヒト抗体を発現するホモ接合性子孫を生むように交配される。トランスジェニックマウスは、選択された抗原（例えば、本発明のポリペプチドのすべて又は一部）で通常の方法で免疫される。従来のハイブリドーマ技術を使用して免疫したトランスジェニックマウスから、抗原に対するモノクローナル抗体が得られる。トランスジェニックマウスが有するヒト免疫グロブリン遺伝子はB細胞の分化中に再構成され、次にクラススイッ칭と体細胞変異を受ける。すなわちかかる方法を使用して、治療的に有用なIgG、IgA、IgM、及びIgE抗体を產生することができる。ヒト抗体を產生するためのこの技術の総説については、Lonberg and Huszar (1995, Int. Rev. Immunol. 13:65-93；これは参考することによりその全体が本明細書に組み込まれる）を参考されたい。ヒト抗体とヒトモノクローナル抗体を產生するためのこの技術及びかかる抗体を產生するためのプロトコールの詳細な議論については、例えばPCT公報 WO 98/24893, WO 96/34096, 及び WO 96/33735；及び U.S. Patent Nos. 5,413,923, 5,625,126, 5,633,425, 5,569,825, 5,661,016, 5,545,806, 5,814,318, 及び 5,939,598（これは参考することによりその全体が本明細書に組み込まれる）を参考されたい。さらにAbgenix, Inc. (Freemont, CA) や Genpharm (San Jose, CA) のような会社は、上記したものと類似の技術を使用して、選択された抗原に対するヒト抗体を提供することができる。

20

## 【0266】

キメラ抗体は、抗体の異なる部分が異なる免疫グロブリン分子に由来する分子である。キメラ抗体を產生するための方法は当該分野で公知である。例えばMorrison, 1985, Science 229:1202; Oi et al., 1986, BioTechniques 4:214; Gillies et al., 1989, J. Immunol. Methods 125:191-202；及び U.S. Patent Nos. 5,807,715, 4,816,567, 4,816,397, 及び 6,331,415（これらは参考することによりその全体が本明細書に組み込まれる）を参考されたい。

30

## 【0267】

40

50

ヒト化抗体は、所定の抗原に結合することができ、ヒト免疫グロブリンのアミノ酸配列を実質的に有するフレームワーク領域と非ヒト免疫グロブリンのアミノ酸配列を実質的に有するCDRを含む。ヒト化抗体は、少なくとも1つの及び典型的には2つの可変ドメイン(Fab、Fab'、F(ab')2、Fabc、Fv)を含み、ここでCDR領域のすべて又は実質的にすべては、非ヒト免疫グロブリン(すなわち、ドナー抗体)のものに対応し、フレームワーク領域のすべて又は実質的にすべては、ヒト免疫グロブリンコンセンサス配列のものである。好ましくはヒト化抗体はまた、免疫グロブリン定常領域の少なくとも一部(Fc)、典型的にはヒト免疫グロブリンのものを含む。通常は抗体は軽鎖ならびに重鎖の少なくとも可変ドメインを含有する。抗体はまた、重鎖のCH1、ヒンジ、CH2、CH3、及びCH4領域を含む。ヒト化抗体は任意のクラスの免疫グロブリン(IgM、IgG、IgD、IgA、及びIgEを含む)及び任意のイソタイプ(IgG1、IgG2、IgG3、及びIgG4)を含む。定常ドメインは通常、補体結合定常ドメインであり、ここではヒト化抗体は細胞障害性を示し、クラスは典型的にはIgG1であることが好ましい。このような細胞障害活性が好ましくない場合、定常ドメインはIgG2クラスでもよい。本発明のいくつかの実施形態で使用できるVL及びVH定常ドメインの例には、特に限定されないが、Johnson et al. (1997) *J. Infect. Dis.* 176, 1215-1224に記載のC-カッパ及びC-ガンマ-1(nG1m)及びU.S. Patent No. 5,824,307(これらのそれぞれは参考することによりその全体が本明細書に組み込まれる)に記載のものがある。ヒト化抗体は、2つ以上のクラス又はイソタイプからの配列を含み、所望のエフェクター機能を最適化するために特定の定常ドメインを選択することは、当業者の技術範囲である。ヒト化抗体のフレームワーク領域及びCDR領域は正確に親配列に対応する必要は無く、例えばドナーCDR又はコンセンサスフレームワークは、少なくとも1つの残基の置換、挿入、又は欠失により突然変異誘発されて、その部位のCDR又はフレームワーク残基がコンセンサス又は移入抗体に対応しなくてもよい。しかしこのような変異は広範ではない。通常ヒト化抗体残基の少なくとも75%は、親FR及びCDR配列に対応し、さらに好ましくは90%、最も好ましくは95%が対応する。ヒト化抗体は当該分野で公知の種々の方法を使用して產生され、特に限定されないが、CDR移植(ヨーロッパ特許 EP 239,400; 国際特許公報 WO 91/09967; 及び U.S. Patent Nos. 5,225,539, 5,530,101, 及び 5,585,089), 被膜(ve neering)又は表面付け替え(resurfacing)(ヨーロッパ特許 Nos. EP 592,106 及び EP 5 19,596; Padlan, 1991, *Molecular Immunology* 28(4/5):489-498; Studnicka et al., 1994, *Protein Engineering* 7(6):805-814; 及び Roguska et al., 1994, *PNAS* 91:969-973), 鎮シャフリング(U.S. Patent No. 5,565,332), 及び、例えば、U.S. Pat. No. 6,407,213, U.S. Pat. No. 5,766,886, WO 9317105, Tan et al., *J. Immunol.* 169:1119 25 (2002), Caldas et al., *Protein Eng.* 13(5):353-60 (2000), Morea et al., *Methods* 20(3):267 79 (2000), Baca et al., *J. Biol. Chem.* 272(16):10678-84 (1997), Roguska et al., *Protein Eng.* 9(10):895 904 (1996), Couto et al., *Cancer Res.* 55 (23 Supp):5973s- 5977s (1995), Couto et al., *Cancer Res.* 55(8):1717-22 (1995), Sandhu JS, Gene 150(2):409-10 (1994), Pedersen et al., *J. Mol. Biol.* 235(3):959-73 (1994).及び U.S. Patent Pub. No. US 2005/0042664 A1 (Feb. 24, 2005)に開示される方法がある(これらのそれぞれは参考することによりその全体が本明細書に組み込まれる)。フレームワーク領域のフレームワーク残基は、しばしばCDRドナー抗体からの対応する残基で置換されて、抗原結合を改変、好ましくは改良する。これらのフレームワーク置換は、当該分野で公知の方法により同定され、例えば抗原結合に重要なFR残基を同定するためのCDR及びフレームワーク残基の相互作用のモデル化、及び特定の位置の異常なフレームワーク残基を同定するための配列比較がある(例えば、Queen et al., U.S. Patent No. 5,585,089; 及び Riechmann et al., 1988, *Nature* 332:323参照; これは参考することによりその全体が本明細書に組み込まれる)。

### 【0268】

単一ドメイン抗体(例えば、軽鎖が欠如した抗体)は、当該分野で公知の方法により产生することができる。Riechmann et al., 1999, *J. Immuno.* 231:25-38; Nuttall et al., 2000, *Curr. Pharm. Biotechnol.* 1(3):253-263; Muylderman, 2001, *J. Biotechnol.*

10

20

30

40

50

74(4):277302; U.S. Patent No. 6,005,079; 及び国際特許公報 Nos. WO 94/04678, WO 94/25591, 及びWO 01/44301参照（これらのそれぞれは参照することによりその全体が本明細書に組み込まれる）。

【0269】

5.7 抗体をコードするポリヌクレオチド

本発明は、CD3ポリペプチドに免疫特異的に結合する抗体をコードするヌクレオチド配列を含むポリヌクレオチドを提供する。本発明はまた、高厳密性、中厳密性、又は低厳密性条件（例えば上記で定義したもの）下で、本発明の抗体をコードするポリヌクレオチドにハイブリダイズするポリヌクレオチドを包含する。

【0270】

当該分野で公知の方法により、ポリヌクレオチドを得て、ポリヌクレオチドのヌクレオチド配列が決定される。CD3ポリペプチドに免疫特異的な抗体のヌクレオチド配列は、例えば文献から又はGenBankのようなデータベースから得ることができる。例えばヒト化OKT3のアミノ酸配列は公知であるため、これらの抗体をコードするヌクレオチド配列は当該分野で公知の方法を使用して決定でき、すなわち特定のアミノ酸をコードすることが既知のヌクレオチドコドンを組み立てて、抗体をコードする核酸を作成する。抗体をコードするそのようなポリヌクレオチドは、化学合成したオリゴヌクレオチド（例えば、Kutmeier et al., 1994, BioTechniques 17:242（これは参照することによりその全体が本明細書に組み込まれる）に記載されたように組み立てられ、これは簡単に説明すると、抗体をコードする配列の部分を含有する重複オリゴヌクレオチドを合成し、これらのオリゴヌクレオチドをアニーリング及び結合させ、次に結合したオリゴヌクレオチドをPCRにより増幅することを含む。

【0271】

あるいは抗体をコードするポリヌクレオチドは、適切な供給源からの核酸から作成してもよい。特定の抗体をコードする核酸を含有するクローニングが入手できなくても抗体分子の配列が公知なら、免疫グロブリンをコードする核酸を化学合成するか、又は適切な供給源（例えば、抗体cDNAライブラリー、又は本発明の抗体を発現するように選択されたハイブリドーマ細胞のような、抗体を発現する組織又は細胞から単離された核酸、好ましくはpRI A+ RNAから作成されるcDNAライブラリー）から、配列の3'末端及び5'末端にハイブリダイズ可能な合成プライマーを使用するPCR増幅により、又は特定の遺伝子配列に特異的なオリゴヌクレオチドプローブを使用するクローニングにより、例えば抗体をコードするcDNAライブラリーからcDNAクローニングを同定することにより、得ることができる。PCRにより作成された増幅核酸は、次にヌクレオチド配列の操作について当該分野で公知の方法を使用して、複製可能なクローニングベクターにクローニング化される。

【0272】

いったん抗体のヌクレオチド配列が化学的されると、抗体のヌクレオチド配列は、ヌクレオチド配列の操作について当該分野で公知の方法、例えば例えば組換えDNA法、部位特異的突然変異誘発、PCRなど（例えば、Sambrook et al., 1990, Molecular Cloning, A Laboratory Manual, 2d Ed., Cold Spring Harbor Laboratory, Cold Spring Harbor, NY 及びAusubel et al., 編, 1998, Current Protocols in Molecular Biology, John Wiley & Sons, NYに記載の方法；これは参照することによりその全体が本明細書に組み込まれる）を使用して、異なるアミノ酸配列（例えばアミノ酸置換、欠失、及び／又は挿入を作成）を有する抗体が生成される。

【0273】

具体的な実施形態において、ルーチンの組換えDNA法を使用して、1つ又はそれ以上のCDRがフレームワーク領域内に挿入される。フレームワーク領域は天然に存在するか又はコンセンサスフレームワーク領域でもよく、好ましくはヒトフレームワーク領域である（例えば、ヒトフレームワーク領域のリストについてChothia et al., 1998, J. Mol. Biol. 278: 457-479参照；これは参照することによりその全体が本明細書に組み込まれる）。好ましくはフレームワーク領域とCDRとの組合せにより作成されるポリヌクレオチドは、CD3

10

20

30

40

50

ポリペプチドに特異的に結合する抗体をコードする。好ましくは上記したように、1つ又はそれ以上のアミノ酸置換をフレームワーク領域内に作成してもよく、好ましくはアミノ酸置換はその抗原への抗体の結合を改良する。さらにそのような方法を使用して、鎖内ジスルフィド結合に参加する1つ又はそれ以上の可変領域システイン残基のアミノ酸置換又は欠失を作成して、1つ又はそれ以上の鎖内ジスルフィド結合が欠如した抗体分子を作成してもよい。ポリヌクレオチドへの他の改変は、当該分野の技術内であり本発明により包含される。

【0274】

#### 5.8 本発明の分子の組換え発現

本発明の分子（すなわち抗体）をコードする核酸配列がいったん得られると、当該分野で公知の方法を使用して組換えDNA法により、該分子の產生のためのベクターが產生される。当該分野で公知の方法を使用して、本発明の分子及び適切な転写及び翻訳制御シグナルのコード配列を含有する発現ベクターを構築することができる。これらの方には、例えば *in vitro*組換えDNA法、合成法、及び *in vivo*遺伝子組換えがある（例えば、Sambrook et al., 1990, Molecular Cloning, A Laboratory Manual, 2d Ed., Cold Spring Harbor Laboratory, Cold Spring Harbor, NY、及び Ausubel et al. 編, 1998, Current Protocols in Molecular Biology, John Wiley & Sons, NYに記載の方法を参照；これらのそれぞれは参考することによりその全体が本明細書に組み込まれる）。

10

【0275】

本発明の方法により同定される分子（すなわち、抗体）のヌクレオチド配列を含む発現ベクターは、従来法（例えば、電気穿孔法、リポソームトランスフェクション、及びリン酸カルシウム沈殿法）により宿主細胞に移送することができ、次にトランスフェクトされた細胞は従来法により培養されて本発明の分子を產生する。具体的な実施形態において本発明の分子の発現は、構成性、誘導性、又は組織特異的プロモーターにより制御される。具体的な実施形態において発現ベクターはpMGX1303である（図4）。

20

【0276】

本発明の方法により同定される分子を発現するのに使用される宿主細胞は、細菌細胞（例えば大腸菌（*Escherichia coli*））又は好ましくは真核細胞、特に組換え免疫グロブリン分子の発現用のものでもよい。特にヒトサイトメガロウイルスからの主要即時早期遺伝子プロモーター要素のようなベクターと組合せたチャイニーズハムスター卵巣細胞（CHO）のような哺乳動物細胞は、免疫グロブリンの有効な発現系である（Foecking et al., 1998, Gene 45:101; Cockett et al., 1990, Bio/Technology 8:2；これらのそれぞれは参考することによりその全体が本明細書に組み込まれる）。

30

【0277】

本発明の方法により同定される分子を発現するために、種々の宿主・発現ベクター系が使用される。そのような宿主・発現系はビヒクル（これにより本発明の分子のコード配列が產生され次に精製される）であり、また適切なヌクレオチドコード配列で形質転換又はトランスフェクトされた時、本発明の分子を *in situ*で発現する細胞である。これらには、特に限定されないが、本発明の方法により同定される分子のコード配列を含有する組換えバクテリオファージDNA、プラスミドDNA又はコスミドDNA発現ベクターで形質転換した細菌（例えば、大腸菌（*E. coli*）及び枯草菌（*B. subtilis*））；本発明の方法により同定される分子をコードする配列を含有する組換え酵母発現ベクターで形質転換した酵母（例えば、サッカロミセス（*Saccharomyces*）ピキア（*Pichia*））；本発明の方法により同定される分子をコードする配列を含有する組換えウイルス発現ベクター（例えば、バキュロウイルス）を感染させた昆虫細胞系；組換えウイルス発現ベクター（例えば、カリフラワーモザイクウイルス（CaMV）及びタバコモザイクウイルス（TMV））を感染させたか、又は本発明の方法により同定される分子をコードする配列を含有する組換えプラスミド発現ベクター（Tiプラスミド）で形質転換した植物細胞系；又は、哺乳動物細胞のゲノムからのプロモーター（例えば、メタロチオネインプロモーター）又は哺乳動物ウイルスからのプロモーター（例えば、アデノウイルス後期プロモーター；ワクシニアウイルス7.5Kプロモーター）

40

50

口モーター)を含有する組換え発現構築体を有する、哺乳動物細胞系(例えば、COS、CHO、BHK、293、3T3細胞、リンパ細胞(U.S. 5,807,715参照)、PerC.6細胞(Crucellにより開発されたヒトレチナル細胞)がある。

【0278】

細菌系では、発現される分子の目的用途により、多くの発現ベクターが有利に選択される。例えば抗体の医薬組成物の作成のために、多量のかかるタンパク質が発現される場合は、容易に精製できる高レベルの融合タンパク質生成物の発現を指令するベクターが好ましい。かかるベクターには、特に限定されないが、大腸菌(*E. coli*)発現ベクターpUR278(Ruther et al., 1983, EMBO J. 2:1791; これは参考することによりその全体が本明細書に組み込まれる)があり、ここで抗体をコードする配列は1つずつベクター内にlacZコード領域とフレーム内で個々に連結され、融合タンパク質が産生される; pINベクター(I nouye & Inouye, 1985, Nucleic Acids Res. 13:3101-3109; Van Heeke & Schuster, 1989, J. Biol. Chem. 24:5503-5509; これらのそれぞれは参考することによりその全体が本明細書に組み込まれる); などがある。グルタチオン-S-トランスフェラーゼ(GST)との融合タンパク質として外来ポリペプチドを発現するのに、pGEXベクターも使用される。一般にかかる融合タンパク質は可溶性であり、マトリックスグルタチオン-アガロースビーズへ吸着及び結合して、遊離グルタチオンの存在下で溶出することにより、容易に精製することができる。pGEXベクターは、クローン化標的遺伝子産物がGST成分から放出できるように、トロンビン又はXa因子を含むように設計される。

【0279】

昆虫系では、外来遺伝子を発現するためのベクターとして、オートグラファ・カリホルニカ(*Autographa californica*)核ポリヘドロシスウイルス(AcNPV)が使用される。抗体コード配列は1つずつ、ウイルスの非必須領域(例えば、ポリヘドリン遺伝子)中にクローン化され、AcNPVプロモーター(例えば、ポリヘドリンプロモーター)の制御下に置かれる。

【0280】

哺乳動物宿主細胞では、多くのウイルスベースの発現系が使用される。アデノウイルスが発現ベクターとして使用される場合、目的の抗体コード配列はアデノウイルス転写/翻訳制御複合体(例えば、後期プロモーター及び3成分リーダー配列)に連結される。次にin vitro又はin vivo組換えにより、アデノウイルスゲノム中にキメラ遺伝子が挿入される。ウイルスゲノムの非必須領域(例えば、E1又はE3領域)への挿入により、生存活性があり、感染宿主中で免疫グロブリン分子を発現することができる組換えウイルスが得られる(Logan & Shenk, 1984, Proc. Natl. Acad. Sci. USA 81:355-359参照; これは参考することによりその全体が本明細書に組み込まれる)。挿入された抗体コード配列の効率的翻訳のために、特異的開始シグナルも必要である。これらのシグナルには、ATG開始コドンと隣接配列がある。さらに開始コドンは、全挿入体の翻訳を確実にするために、所望のコード配列の読みとり枠と同期していなければならない。これらの外来翻訳制御シグナル及び開始コドンは、種々の起源(天然及び合成)のものでもよい。発現の効率は、適切な転写増強要素、転写ターミネーターなどを含めることにより増強される(Bittner et al., 1987, Methods in Enzymol. 153:51-544; これは参考することによりその全体が本明細書に組み込まれる)。

【0281】

さらに、挿入された配列の発現を調節するか、又は所望の特異的方法で遺伝子産物を修飾及び処理する宿主細胞株が選択される。タンパク質産物のかかる修飾(例えば、グリコシル化)及び処理(例えば、切断)は、タンパク質の機能に重要なことがある。異なる宿主細胞は、タンパク質や遺伝子産物の翻訳後プロセシングや修飾に特徴的かつ特異的機構を有する。発現される外来タンパク質の正しい修飾及びプロセシングを増強するために、適切な細胞株又は宿主系を選択することができる。このために、1次転写体の正しいプロセシング、遺伝子産物のグリコシル化、及びリン酸化のための細胞機構を有する真核生物宿主細胞が使用される。かかる哺乳動物宿主細胞には、特に限定されないが、CHO、VERY

10

20

30

40

50

、BHK、HeLa、COS、MDCK、293、293T、3T3、WI38、BT483、Hs578T、HTB2、BT20、及びT47D、CRL7030、及びHs578Bstがある。

【0282】

組換えタンパク質の長期高収率産生のために、安定な発現が好ましい。例えば本発明の抗体を安定に発現する細胞株が作成される。ウイルスの複製開始点を含有する発現ベクターを使用するよりも、適切な発現制御要素（例えば、プロモーター、エンハンサー、配列、転写ため、ポリアデニル化部位など）及び選択マーカーにより制御されるDNAを用いて、宿主細胞が形質転換される。外来DNAの導入後、作成された細胞は強化倍地中で1～2日間増殖され、次に選択培地に転換される。組換えプラスミド中の選択マーカーは選択に耐性を与え、細胞がその染色体中にプラスミドを安定に組み込みことを可能にし、増殖巣を生成し、これは次にクローン化し、拡張して細胞株にすることができる。この方法は、本発明の抗体を発現する細胞株を作成するのに有利に使用される。かかる作成細胞株は、本発明の抗体と直接又は間接に相互作用する化合物のスクリーニングと評価に特に有用である。

【0283】

多くの選択系が使用され、特に限定されないが、単純ヘルペスウイルスチミジンキナーゼ (Wigler et al., 1977, *Cell* 11: 223)、ヒポキサンチン-グアニンホスホリボシルトランスフェラーゼ (Szybalska & Szybalski, 1992, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 89: 202)、及びアデニンホスホリボシルトランスフェラーゼ (Lowy et al., 1980, *Cell* 22: 817) 遺伝子が、それぞれtk-、hprt-、又はaprt- 細胞で使用できる。また、以下の遺伝子の選択の基礎として代謝拮抗剤耐性を使用することもできる： dhfr、これはメソトレキセートに対する耐性を付与する (Wigler et al., 1980, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 77: 357; O'Hare et al., 1981, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 78: 1527); gpt、これはミコフェノール酸に対する耐性を付与する (Mulligan & Berg, 1981, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 78: 2072); neo、これはアミノグリコシド G-418 に対する耐性を付与する (Clinical Pharmacy 12: 488-505; Wu and Wu, 1991, 3:87-95; Tolstoshev, 1993, *Ann. Rev. Pharmacol. Toxicol.* 32:573-596; Mulligan, 1993, *Science* 260:926-932; 及び Morgan and Anderson, 1993, *Ann. Rev. Biochem.* 62:191-217; May, 1993, *TIB TECH* 11(5):1 55-215)。組換えDNA法の分野で一般的に公知の使用可能な方法は、Ausubel et al. (編) 1993, *Current Protocols in Molecular Biology*, John Wiley & Sons, NY; Kriegler, 1990, *Gene Transfer and Expression, A Laboratory Manual*, Stockton Press, NY; 及び in Chapters 12 and 13, Dracopoli et al. (編), 1994, *Current Protocols in Human Genetics*, John Wiley & Sons, NY.; Colberre-Garapin et al., 1981, *J. Mol. Biol.* 150:1に記載されている；及びhygro、これはヒグロマイシンに対する耐性を付与する (Sant erre et al., 1984, *Gene* 30:147) (これらのそれぞれは参照することによりその全体が本明細書に組み込まれる)。

【0284】

本発明の抗体の発現レベルは、ベクター増幅により上昇させることができる（総説については、Bebbington and Hentschel, The use of vectors based on gene amplification for the expression of cloned genes in mammalian cells in DNA cloning, Vol. 3 (Academic Press, New York, 1987、参照）（これは参照することによりその全体が本明細書に組み込まれる）。抗体を発現するベクター系のマーカーが増幅可能な場合、宿主細胞の培養物中に存在するインヒビターのレベルを上昇させると、マーカー遺伝子のコピー数が上昇する。増幅領域は抗体のヌクレオチド配列に伴うため、抗体の産生も上昇する (Crouse et al., 1983, *Mol. Cell. Biol.* 3:257)。

【0285】

宿主細胞は本発明の2つの発現ベクター（第1のベクターは重鎖由来ポリペプチドをコードし、第2のベクターは軽鎖由来のポリペプチドをコードする）を用いて同時トランスフェクションされる。2つのベクターは、重鎖ポリペプチドと軽鎖ポリペプチドの等しい発現を可能にする同一の選択マーカーを含有してもよい。あるいは重鎖ポリペプチドと軽鎖

10

20

30

40

50

ポリペプチドの両方をコードする单一のベクターを使用してもよい。そのような場合、過剰の有害な遊離重鎖を避けるために、軽鎖は重鎖の前に置くべきである (Proudfoot, 1986, *Nature* 322:52; Kohler, 1980, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 77:2197; これらのそれは参照することによりその全体が本明細書に組み込まれる)。重鎖及び軽鎖のコード配列は、cDNA又はゲノムDNAを含む。

【0286】

いったん本発明の分子（すなわち、抗体）が組換え発現されると、これは、ポリペプチド又は抗体の精製について当該分野で公知の方法、例えばクロマトグラフィー（例えば、イオン交換、親和性、特にプロテインA後の特異抗原に対する親和性、及びサイズ排除カラムクロマトグラフィー）、遠心分離、示差的溶解度、又はポリペプチド又は抗体の精製のための他の標準的方法により精製される。

10

【0287】

6. 同等物

当業者は、ルーチン程度の実験を使用して、本明細書に記載の発明の具体的な実施形態の多くの同等物を認識し、確認することができるであろう。そのような同等物は、以下の請求の範囲に包含されると企図される。

【0288】

本明細書に記載されたすべての刊行物、特許、及び特許出願は、各刊行物、特許、又は特許出願が具体的かつ個々に参照によりあたかも本明細書に取り込まれたのと同じ程度に、参考することにより本明細書に組み込まれる。

20

【図面の簡単な説明】

【0289】

【図1A】ヒト化OKT3可変領域の配列を示す。図1Aと図1Bは、OKT3軽鎖可変ドメイン（図1A）（配列番号1）と重鎖可変ドメイン（図1B）（配列番号5）のアミノ酸配列の整列を示す；（図1Aと図1Bのそれぞれの1行目）。また図1Aと図1Bのそれぞれの2行目には、アクセプターフレームワークとして選択されたヒト抗体の可変ドメインのアミノ酸配列、軽鎖可変ドメイン（図1A）のREI（配列番号2）、及び重鎖可変ドメインのKOL（配列番号6）を示す。図1Aの3～4行目（配列番号3と配列番号4）及び図1Bの3～5行目（配列番号7、配列番号8、及び配列番号9）は、それぞれ交互のヒト化OKT3軽鎖と重鎖可変ドメインのアミノ酸配列を示す。CDR選択部分は下線が引いてある。図1Aの3～4行目及び図1Bの3～5行目は、ヒトアクセプター配列との差のみを示し、非CDRの差は二本線が引いてある。ダッシュは、整列を最大にするために配列中に導入されたgapを示す。番号付けはKabat et al. (1987) に従う。

30

【図1B】ヒト化OKT3可変領域の配列を示す。図1aと図1Bは、OKT3軽鎖可変ドメイン（図1A）（配列番号1）と重鎖可変ドメイン（図1B）（配列番号5）のアミノ酸配列の整列を示す；（図1Aと図1Bのそれぞれの1行目）。また図1Aと図1Bのそれぞれの2行目には、アクセプターフレームワークとして選択されたヒト抗体の可変ドメインのアミノ酸配列、軽鎖可変ドメイン（図1A）のREI（配列番号2）、及び重鎖可変ドメインのKOL（配列番号6）を示す。図1Aの3～4行目（配列番号3と配列番号4）及び図1Bの3～5行目（配列番号7、配列番号8、及び配列番号9）は、それぞれ交互のヒト化OKT3軽鎖と重鎖可変ドメインのアミノ酸配列を示す。CDR選択部分は下線が引いてある。図1Aの3～4行目及び図1Bの3～5行目は、ヒトアクセプター配列との差のみを示し、非CDRの差は二本線が引いてある。ダッシュは、整列を最大にするために配列中に導入されたgapを示す。番号付けはKabat et al. (1987) に従う。

40

【図2A】ヒト化OKT3 1 (ala-ala) の軽鎖のヌクレオチド配列を示す。

【図2B】ヒト化OKT3 1 (ala-ala) の軽鎖のアミノ酸配列を示す。

【図2C】ヒト化OKT3の重鎖のヌクレオチド配列を示す。

【図2D】ヒト化OKT3の重鎖のアミノ酸配列を示す。

【図3】ヒト化OKT3 1のコード領域を含有し、CHO細胞中のヒト化抗体の発現を促進することができる哺乳動物発現ベクターpMGX1303の略図。

50

【 図 1 A 】

1	10	20	30	40
Okt3v1	QIVLTQSPAIMSASPGEKVMTCSASS- <u>SVSYMNWYQQKS</u>			
REI	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCQASQDIIKYLNWYQQTP			
gLA	.....	.....	SA. S-SVS. M.	.....
gLC	.....	.....	SA. S-SVS. M.	.....

	50	60	70	80
Okt3v1	GTSPKRWIYDTSKLASGVPFAHFRGSGSGTYSLTISGMEA			
REI	GKAPKLLIYEASNLQAGVPFSRFGSGSGTDTYFTTISSLQP			
gLA	.....DT.K.AS.....			
gLC	.....RW.DT.K.AS.....			

90	100	108
Okt3v1	EDAATYYC <b>Q</b> QWSSNPFTFGSGTKLEINR	(SEQ ID NO:1)
REI	EDIATYYC <b>Q</b> QYQSLPFTFGQGTLQITR	(SEQ ID NO:2)
gLA	..... <u>W.S.N.F.</u> .....	(SEQ ID NO:3)
gLC	..... <u>W.S.N.F.</u> .....	(SEQ ID NO:4)

【 図 1 B 】

	1	10	20	30	40	
Okt3vh	QVQLQSQGELARPAGASVKMSCKASGYFTFRYTMHWVKQR					
KOL	QVQLVESGGGVQPGRLSRLSCSSSGFIFTSSYAMYWVRQA					
gH	.....	.....	.....	YT	TR.T.H	
gHA	.....	.....	.....	KA	YT	TR.T.H
gHG	.....	.....	.....	KA	YT	TR.T.H

```

          50   a   60   b   70
Okt3v1 PGQGLEWIGVNPNSRGYTNYNOKFKDATTDKSSSTA
KOL PGKGLEWVAAIWDGSDHGYADSVKGRFTISRDNSKNL
gH ..... Y.NPSRGYTN.NOK.F.D. ....
gHA ..... IGY.NPSRGYTN.NOK.D. .... T.K. S.A
gHG ..... IGY.NPSRGYTN.NOK.D. .... A

```

```

Okt3v1 YMQLSSLTSEDASVYCCARYDDHYCL-----DYGWQ
KOL FLMQDSLRPEDTGCYVFCARDGGHCSASCFCGPDYWGQ
gH . . . . . . . . . . YYDDHY.L . . . . .
gHA . . . . . . . . . . A. Y. YYDDHY.L . . . . .
gHG . . . . . . . . . . YYDDHY.L . . . . .

```

【 2 A 】

### **Nucleotide Sequence of OKT3 $\gamma$ 1 Light Chain**

( 2 B )

### Amino-Acid Sequence of OKT3 $\gamma$ 1 Light Chain

MGWSUJLFLVATATGVHSIDIQMTQSPSSLSASVGRDRVITTCASASSVSYMNWYQQTP  
GKAPKRWYDITSKLAVGSRSPRSFGSGSGTIDTFTISSLQSPDILATYCCQWNSNPFIT  
GQGTKLQJITRVAAPSPFIPPSDTEQLKSCTASVCLLNFNPYPREAKVQWKVDNALQ  
SGNSQESVTEQDSKSTDSTYSLSTLTLKADYIEKHKVYACEVTHQGLSPVTKSPNFRG  
EC

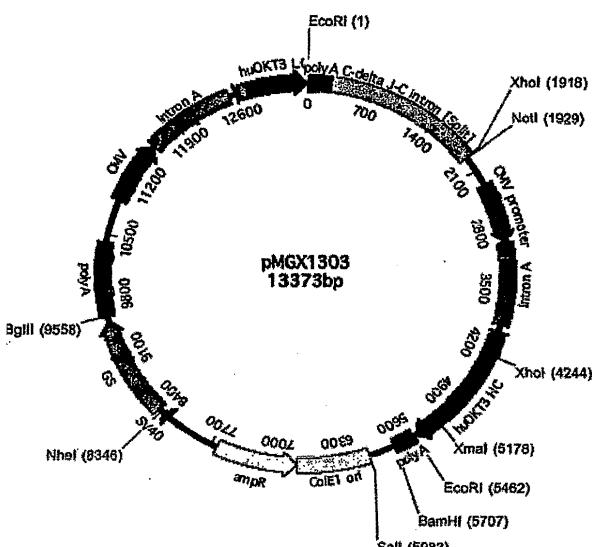
( 义 2 C )

### Nucleotide Sequence of OKT3γ1 (ala-ala) Heavy Chain

( 义 2 D )

### **Amino-Acid Sequence of OKT3 $\gamma$ 1 (ala-ala) Heavy Chain**

( 义 3 )



【配列表】

2009500457000001.xml

## フロントページの続き

(51) Int.Cl.	F I	テーマコード(参考)
A 6 1 P 1/04 (2006.01)	A 6 1 P 1/04	
A 6 1 P 17/06 (2006.01)	A 6 1 P 17/06	
A 6 1 P 25/28 (2006.01)	A 6 1 P 25/28	
A 6 1 P 19/02 (2006.01)	A 6 1 P 19/02	
A 6 1 P 29/00 (2006.01)	A 6 1 P 29/00	1 0 1
A 6 1 P 41/00 (2006.01)	A 6 1 P 41/00	
C 0 7 K 16/28 (2006.01)	C 0 7 K 16/28	
A 6 1 K 38/28 (2006.01)	A 6 1 K 37/26	
A 6 1 K 38/22 (2006.01)	A 6 1 K 37/24	
A 6 1 K 45/00 (2006.01)	A 6 1 K 45/00	

(81)指定国 AP(BW,GH,GM,KE,LS,MW,MZ,NA,SD,SL,SZ,TZ,UG,ZM,ZW),EA(AM,AZ,BY,KG,KZ,MD,RU,TJ,TM),EP(AT,BE,BG,CH,CY,CZ,DE,DK,EE,ES,FI,FR,GB,GR,HU,IE,IS,IT,LT,LU,LV,MC,NL,PL,PT,RO,SE,SI,SK,TR),OA(BF,BJ,CF,CG,CI,CM,GA,GN,GQ,GW,ML,MR,NE,SN,TD,TG),AE,AG,AL,AM,AT,AU,AZ,BA,BB,BG,BR,BW,BY,BZ,CA,CH,CN,CO,CR,CU,CZ,DE,DK,DM,DZ,EC,EE,EG,ES,FI,GB,GD,GE,GH,GM,HN,HR,HU,ID,IL,IN,IS,JP,KE,KG,KM,KN,KP,KR,KZ,LA,L  
C,LK,LR,LS,LT,LU,LV,LY,MA,MD,MG,MK,MN,MW,MZ,NA,NG,NI,NO,NZ,OM,PG,PH,PL,PT,RO,RS,RU,SC,SD,SE,SG,SK,SL,SM,SY,TJ,TM,TN,TR,TT,TZ,UA,UG,US,UZ,VC,VN,ZA,ZM,ZW

(72)発明者 コーニグ , スコット

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

(72)発明者 ワイルダー , ロナルド

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

(72)発明者 ボンヴィニ , エツィオ

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

(72)発明者 ジョンソン , レスリー , エス .

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

F ターム(参考) 4B024 AA01 BA43 CA07 DA02 EA04 GA11 HA03  
4B064 AG27 CA10 CA19 CC24 CE12 DA01  
4C084 AA02 AA19 BA44 DB01 DB34 DB52 MA02 MA52 MA66 NA14  
ZA15 ZA55 ZA66 ZA81 ZA89 ZA96 ZB02 ZB08 ZB15 ZC03  
ZC06 ZC35 ZC75  
4C085 AA14 AA16 BB17 BB18 BB42 DD62 EE01 GG02 GG03 GG04  
GG08  
4H045 AA11 AA20 AA30 BA10 BA41 CA40 DA50 DA76 EA22 EA28  
FA74 GA26