(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2017-513813
(P2017-513813A)
(43)公表日　平成29年6月1日(2017.6.1)

(51)Int.Cl.		F I			テーマコード（参考）
C07K 16/24	(2006.01)	C07K	16/24	ZNA	4B065
C12N 15/09	(2006.01)	C12N	15/00	A	4C084
C12N 1/15	(2006.01)	C12N	1/15		4C085
C12N 1/19	(2006.01)	C12N	1/19		4H045
C12N 1/21	(2006.01)	C12N	1/21		

審査請求 未請求　予備審査請求 未請求　（全 157 頁）　最終頁に続く

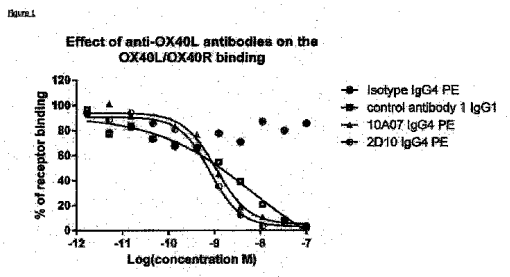
(21)出願番号　特願2016-555520 (P2016-555520)
(86)(22)出願日　平成27年3月3日 (2015.3.3)
(85)翻訳文提出日　平成28年10月17日 (2016.10.17)
(86)国際出願番号　PCT/GB2015/050614
(87)国際公開番号　WO2015/132580
(87)国際公開日　平成27年9月11日 (2015.9.11)
(31)優先権主張番号　1403775.8
(32)優先日　平成26年3月4日 (2014.3.4)
(33)優先権主張国　英国 (GB)

(71)出願人　512006066
カイマブ・リミテッド
イギリス・ＣＢ２２・３ＡＴ・ケンブリッジ・バブラハム・リサーチ・キャンパス・ザ・ベネット・ビルディング・（Ｂ９３０）
(74)代理人　110000338
特許業務法人ＨＡＲＡＫＥＮＺＯ　ＷＯＲＬＤ　ＰＡＴＥＮＴ　＆　ＴＲＡＤＥＭＡＲＫ
(72)発明者　キャンベル，ジェミー
イギリス，シービー２２　３エーティー　ケンブリッジ，バブラハム　リサーチ　キャンパス，メディトリーナ（ビー２６０）

最終頁に続く

(54)【発明の名称】抗体、使用、及び方法

(57)【要約】
本発明は、抗ヒトＯＸ４０Ｌ抗体、新たな医学的使用、及び方法に関する。



【特許請求の範囲】
【請求項１】
ｈＯＸ４０Ｌに特異的に結合し、前記ｈＯＸ４０Ｌへの結合について抗体０２Ｄ１０と競合する、抗体またはその断片であって、前記抗体またはその断片が、モチーフＶＲＧＸＹＹＹを含むＨＣＤＲ３を含むＶＨドメインを含み、Ｘが、任意のアミノ酸である、前記抗体またはその断片。
【請求項２】
Ｘが、中性アミノ酸、任意選択でＰまたはＧである、請求項１に記載の前記抗体または断片。
【請求項３】
ｈＯＸ４０Ｌに特異的に結合し、前記ｈＯＸ４０Ｌへの結合について前記抗体０２Ｄ１０と競合する、任意選択で請求項１または２に記載の抗体またはその断片であって、前記抗体または断片が、配列番号４０若しくは４６のＨＣＤＲ３配列、または５個未満のアミノ酸置換を含む配列番号４０若しくは４６のＨＣＤＲ３配列を含むＶＨドメインを含む、前記抗体またはその断片。
【請求項４】
前記ＶＨドメインが、１６～２７個のアミノ酸のＨＣＤＲ３を含み、ヒトＶＨ遺伝子分節、ヒトＤ遺伝子分節、及びヒトＪＨ遺伝子分節の組み換えに由来し、前記ヒトＪＨ遺伝子分節が、ＩＧＨＪ６（例えば、ＩＧＨＪ６＊０２）である、請求項１～３のいずれか一項に記載の抗体または断片。
【請求項５】
前記ＶＨドメインが、配列番号３６若しくは４２のＨＣＤＲ１配列、または４個未満のアミノ酸置換を含む配列番号３６若しくは４２のＨＣＤＲ１配列を含む、請求項１～５のいずれか一項に記載の前記抗体または断片。
【請求項６】
前記ＶＨドメインが、配列番号３８若しくは４４のＨＣＤＲ２配列、または５個未満のアミノ酸置換を含む配列番号３８若しくは４４のＨＣＤＲ２を含む、先行請求項のいずれかに記載の前記抗体または断片。
【請求項７】
前記ＶＨドメインが、配列番号３４のアミノ酸配列、または配列番号３４と少なくとも８０％（例えば、少なくとも８５％）同一である重鎖可変ドメインアミノ酸配列を含む、先行請求項のいずれかに記載の前記抗体または断片。
【請求項８】
前記ＶＨドメインの第１及び第２のコピーを含む、先行請求項のいずれかに記載の前記抗体または断片。
【請求項９】
配列番号５４若しくは６０のＬＣＤＲ１配列、または５個未満のアミノ酸置換を含む配列番号５４若しくは６０のＬＣＲＤ３配列を含む、ＶＬドメインを含む、先行請求項のいずれかに記載の前記抗体または断片。
【請求項１０】
ＶＬドメインまたは前記ＶＬドメインを含み、前記ＶＬドメインが、配列番号５２若しくは５８のＬＣＤＲ２配列、または２個未満のアミノ酸置換を含む配列番号５２若しくは５８のＬＣＲＤ２配列を含む、先行請求項のいずれかに記載の前記抗体または断片。
【請求項１１】
ＶＬドメインまたは前記ＶＬドメインを含み、前記ＶＬドメインが、配列番号５４若しくは６０のＬＣＤＲ１配列、または４個未満のアミノ酸置換を含む配列番号５４若しくは６０のＬＣＲＤ１配列を含む、先行請求項のいずれかに記載の前記抗体または断片。
【請求項１２】
ＶＬドメインまたは前記ＶＬドメインを含み、前記ＶＬドメインが、配列番号４８のアミノ酸配列、または配列番号４８と少なくとも８０％（例えば、少なくとも８５％）同一

である軽鎖可変ドメインアミノ酸配列を含む、先行請求項のいずれかに記載の前記抗体または断片。

【請求項１３】

前記ＶＬドメインの第１及び第２のコピーを含む、請求項９～１２のいずれか一項に記載の前記抗体または断片。

【請求項１４】

前記抗体または断片が、カッパ軽鎖を含む、請求項９～１３のいずれか一項に記載の前記抗体または断片。

【請求項１５】

前記アミノ酸置換が、保存的アミノ酸置換であり、任意選択で、前記保存的置換が、

１）アラニン（Ａ）、セリン（Ｓ）、トレオニン（Ｔ）、

２）アスパラギン酸（Ｄ）、グルタミン酸（Ｅ）、

３）アスパラギン（Ｎ）、グルタミン（Ｑ）、

４）アルギニン（Ｒ）、リジン（Ｋ）、

５）イソロイシン（Ｉ）、ロイシン（Ｌ）、メチオニン（Ｍ）、バリン（Ｖ）、及び

６）フェニルアラニン（Ｆ）、チロシン（Ｙ）、トリプトファン（Ｗ）から選択される６個の群（各群が互いに対して保存的置換であるアミノ酸を含む）のうちの１個からのものである、請求項３～１４のいずれか一項に記載の前記抗体または断片。

【請求項１６】

前記抗体または断片が、定常領域、例えば、ＩｇＧ４定常領域を含み、任意選択で、前記定常領域が、ＩｇＧ４－ＰＥ（配列番号１２８）である、先行請求項のいずれかに記載の前記抗体または断片。

【請求項１７】

前記抗体が、重鎖及び軽鎖を含み、前記重鎖アミノ酸配列が、配列番号６２の配列からなり、前記軽鎖アミノ酸配列が、配列番号６４の配列からなる、先行請求項のいずれかに記載の前記抗体。

【請求項１８】

自己免疫疾患若しくは状態、全身炎症性疾患若しくは状態、または移植片拒絶から選択されるｈＯＸ４０Ｌ媒介性疾患または状態、例えば、炎症性腸疾患（ＩＢＤ）、クローン病、リウマチ性関節炎、移植片拒絶、同種移植片拒絶、移植片対宿主病（ＧｖＨＤ）、潰瘍性大腸炎、全身性エリテマトーデス（ＳＬＥ）、糖尿病、ブドウ膜炎、強直性脊椎炎、接触過敏症、多発性硬化症、またはアテローム性動脈硬化症、特にＧｖＨＤの治療または防止に使用するための、請求項１～１７、２６、２７、２９、または３０のいずれか一項に定義の抗体または断片。

【請求項１９】

自己免疫疾患若しくは状態、全身炎症性疾患若しくは状態、または移植片／宿主拒絶から選択される、ヒトにおけるｈＯＸ４０Ｌ媒介性疾患または状態、例えば、炎症性腸疾患（ＩＢＤ）、クローン病、リウマチ性関節炎、移植片拒絶、同種移植片拒絶、移植片対宿主病（ＧｖＨＤ）、潰瘍性大腸炎、全身性エリテマトーデス（ＳＬＥ）、糖尿病、ブドウ膜炎、強直性脊椎炎、接触過敏症、多発性硬化症、またはアテローム性動脈硬化症、特にＧｖＨＤを治療または防止するために前記ヒトに投与するための医薬品の製造における、請求項１～１７、２６、２７、２９、または３０のいずれか一項に定義の抗体または断片の使用。

【請求項２０】

自己免疫疾患若しくは状態、全身炎症性疾患若しくは状態、または移植片拒絶、例えば、炎症性腸疾患（ＩＢＤ）、クローン病、リウマチ性関節炎、移植片拒絶、同種移植片拒絶、移植片対宿主病（ＧｖＨＤ）、潰瘍性大腸炎、全身性エリテマトーデス（ＳＬＥ）、糖尿病、ブドウ膜炎、強直性脊椎炎、接触過敏症、多発性硬化症、またはアテローム性動脈硬化症、特にヒトにおけるＧｖＨＤから選択される、ｈＯＸ４０Ｌ媒介性疾患または状態の治療または防止方法であって、治療有効量の請求項１～１７、２６、２７、２９、ま

たは３０のいずれか一項に定義の抗体または断片を前記ヒトに投与することを含み、前記ｈＯＸ４０Ｌ媒介性疾患または状態が、それにより治療または防止される、前記方法。
【請求項２１】
前記ｈＯＸ４０Ｌ媒介性疾患または状態が、ＧｖＨＤである、請求項１８に記載の前記抗体若しくは断片、請求項１９に記載の前記使用、または請求項２０に記載の前記方法。
【請求項２２】
前記抗体が、予防的に投与される、請求項１８～２１のいずれか一項に記載の前記抗体若しくは断片、前記使用、または前記方法。
【請求項２３】
１６～２７個のアミノ酸のＨＣＤＲ３を含み、ヒトＶＨ遺伝子分節、ヒトＤ遺伝子分節、及びヒトＪＨ遺伝子分節の組み換えに由来する、ヒト抗体またはその断片であって、前記ヒトＪＨ遺伝子分節が、自己免疫疾患若しくは状態、全身炎症性疾患若しくは状態、または移植片拒絶から選択される、ｈＯＸ４０Ｌ媒介性疾患または状態、例えば、炎症性腸疾患（ＩＢＤ）、クローン病、リウマチ性関節炎、移植片拒絶、同種移植片拒絶、移植片対宿主病（ＧｖＨＤ）、潰瘍性大腸炎、全身性エリテマトーデス（ＳＬＥ）、糖尿病、ブドウ膜炎、強直性脊椎炎、接触過敏症、多発性硬化症、またはアテローム性動脈硬化症、特にＧｖＨＤ（例えば、前記抗体がＧｖＨＤの防止用である）を治療または防止するために、ｈＯＸ４０Ｌに特異的に結合する、ＩＧＨＪ６（例えば、ＩＧＨＪ６＊０２）である、前記ヒト抗体またはその断片。
【請求項２４】
１６～２７個のアミノ酸のＨＣＤＲ３を含み、ヒトＶＨ遺伝子分節、ヒトＤ遺伝子分節、及びヒトＪＨ遺伝子分節の組み換えに由来する、ヒト抗体またはその断片の使用であって、前記ヒトＪＨ遺伝子分節が、自己免疫疾患若しくは状態、全身炎症性疾患若しくは状態、または移植片拒絶から選択される、ヒトにおけるｈＯＸ４０Ｌ媒介性疾患または状態、例えば、炎症性腸疾患（ＩＢＤ）、クローン病、リウマチ性関節炎、移植片拒絶、同種移植片拒絶、移植片対宿主病（ＧｖＨＤ）、潰瘍性大腸炎、全身性エリテマトーデス（ＳＬＥ）、糖尿病、ブドウ膜炎、強直性脊椎炎、接触過敏症、多発性硬化症、またはアテローム性動脈硬化症、特にＧｖＨＤを治療または防止するために前記ヒトに投与するための医薬品の製造における、ｈＯＸ４０Ｌに特異的に結合するＩＧＨＪ６（例えば、ＩＧＨＪ６＊０２）である、前記使用。
【請求項２５】
自己免疫疾患若しくは状態、全身炎症性疾患若しくは状態、または移植片拒絶、例えば、炎症性腸疾患（ＩＢＤ）、クローン病、リウマチ性関節炎、移植片拒絶、同種移植片拒絶、移植片対宿主病（ＧｖＨＤ）、潰瘍性大腸炎、全身性エリテマトーデス（ＳＬＥ）、糖尿病、ブドウ膜炎、強直性脊椎炎、接触過敏症、多発性硬化症、またはアテローム性動脈硬化症、特にヒトにおけるＧｖＨＤから選択される、ｈＯＸ４０Ｌ媒介性疾患または状態の治療または防止方法であって、前記ヒトに、１６～２７個のアミノ酸のＨＣＤＲ３を含み、ヒトＶＨ遺伝子分節、ヒトＤ遺伝子分節、及びヒトＪＨ遺伝子分節の組み換えに由来する、治療有効量のヒト抗体またはその断片を投与することを含み、前記ヒトＪＨ遺伝子分節が、ｈＯＸ４０Ｌに特異的に結合するＩＧＨＪ６（例えば、ＩＧＨＪ６＊０２）であり、前記ｈＯＸ４０Ｌ媒介性疾患または状態が、それにより治療または防止される、前記方法。
【請求項２６】
前記抗体または断片が、カッパ軽鎖であって、例えば、前記軽鎖のＶＬドメインが、ヒトＶＬ遺伝子分節及びヒトＪＬ遺伝子分節の組み換えに由来し、前記ヒトＶＬ遺伝子分節が、ＩＧＫＶ１Ｄ－３９（例えば、ＩＧＫＶ１Ｄ－３９＊０１）であり、任意選択で、前記ヒトＪＬ遺伝子分節が、ＩＧＫＪ１（例えば、ＩＧＫＪ１＊０１）またはＩＧＫＪ３（例えば、ＩＧＫＪ３＊０１）である、カッパ軽鎖を含む、請求項１４に記載の前記抗体若しくは断片、または請求項２３に記載の前記抗体若しくは断片、請求項２４に記載の前記使用、または請求項２５に記載の前記方法。

【請求項２７】
前記抗体または断片が、ハプロタイプ一致造血幹細胞移植のアカゲザルモデルにおいて、１２日目までに８０％を上回る幹細胞ドナーキメラ現象を可能にし、任意選択で、前記抗体が、ＧｖＨＤの防止用である、請求項１～１７、２６、２９、若しくは３０のいずれか一項に記載の前記抗体若しくは断片、または請求項１８～２６のいずれか一項に記載の前記抗体若しくは断片、使用、若しくは方法。
【請求項２８】
前記抗体が、請求項１～１７、２６、２７、２９、または３０のいずれか一項に定義の通りである、請求項２３～２７のいずれか一項に記載の前記抗体若しくは断片、使用、または方法。
【請求項２９】
前記抗体または断片が、１４日間の過成長期間でＬｏｎｚａバージョン８フィードシステムを使用する過成長流加培養において、１．５ｇ／Ｌを上回るレベルで、Ｌｏｎｚａ ＧＳ－Ｘｃｅｅｄ（商標）において安定してトランスフェクトされたプールとして発現する、請求項１～１７、２６、２７、若しくは３０のいずれか一項に記載の前記抗体若しくは断片、または請求項１８～２８のいずれか一項に記載の前記抗体若しくは断片、使用、若しくは方法。
【請求項３０】
前記抗体または断片が、ハプロタイプ一致造血幹細胞移植のアカゲザルモデルにおいて、１２日目に、全ＣＤ４$^{+}$Ｔ細胞集団の２０％超のＣＤ４$^{+}$Ｔ細胞の未感作集団を維持する、請求項１～１７、２６、２７、若しくは２９のいずれか一項に記載の抗体若しくは断片、または請求項１８～２９のいずれか一項に記載の前記抗体若しくは断片、使用、若しくは方法。
【請求項３１】
更なる治療薬を前記ヒトに投与することを更に含み、任意選択で、前記更なる治療薬が、独立して、ラパマイシン（シロリムス）、ラクロリムス（ｒａｃｒｏｌｉｍｕｓ）、シクロスポリン、コルチコステロイド（例えば、メチルプレドニゾロン）、メトトレキサート、ミコフェノール酸モフェチル、抗ＣＤ２８抗体、抗ＩＬ１２／ＩＬ－２３抗体（例えば、ウステキヌマブ）、抗ＣＤ２０抗体（例えば、リツキシマブ）、抗ＣＤ３０抗体（例えば、ブレンツキシマブ）、ＣＴＬＡ４－Ｆｃ分子（例えば、アバタセプト）、ＣＣＲ５受容体拮抗薬（例えば、マラビロク）、抗ＣＤ４０Ｌ抗体、抗ＶＬＡ４抗体（例えば、ナタリズマブ）、抗ＬＦＡ１抗体、フルダラビン、抗ＣＤ５２抗体（例えば、アレムツズマブ）、抗ＣＤ４５抗体、シクロホスファミド、抗胸腺細胞グロブリン、抗補体Ｃ５抗体（例えば、エクリズマブ）、抗ａ４ｂ７インテグリン抗体（例えば、ベドリズマブ）、抗ＩＬ６抗体（例えば、トシリズマブ）、抗ＩＬ２Ｒ抗体（例えば、バシリキスマブ（ｂａｓｉｌｉｘｕｍａｂ））、抗ＣＤ２５抗体（例えば、ダクリズマブ）、抗ＴＮＦａ／ＴＮＦａ－Ｆｃ分子（例えば、エタネルセプト、アダリムマブ、インフリキシマブ、ゴリムマブ、またはセトリズマブペゴール）、及びボリノスタット、特に、ラパマイシン（シロリムス）、ラクロリムス（ｒａｃｒｏｌｉｍｕｓ）、シクロスポリン、コルチコステロイド（例えば、メチルプレドニゾロン）、メトトレキサート、ミコフェノール酸モフェチル、抗ＣＤ２８抗体、ＣＴＬＡ４－Ｆｃ分子（例えば、アバタセプト）、抗ＣＤ４０Ｌ抗体、抗ＬＦＡ１抗体、抗ＣＤ５２抗体（例えば、アレムツズマブ）、シクロホスファミド、及び抗胸腺細胞グロブリンから成る群から選択される、請求項１８～３０のいずれか一項に記載の前記抗体若しくは断片、使用、または前記方法。
【請求項３２】
前記更なる治療薬が、前記抗ｈＯＸ４０Ｌ抗体または断片と連続的または同時に投与される、請求項３１に記載の前記抗体若しくは断片、使用、または前記方法。
【請求項３３】
請求項１～１７、２６、２７、２９、または３０のいずれか一項に定義の断片の抗体、及び薬学的に許容される賦形剤、希釈剤、または担体を含み、任意選択で、独立して、ラ

パマイシン（シロリムス）、ラクロリムス、シクロスポリン、コルチコステロイド（例えば、メチルプレドニゾロン）、メトトレキサート、ミコフェノール酸モフェチル、抗ＣＤ２８抗体、抗ＩＬ１２／ＩＬ－２３抗体（例えば、ウステキヌマブ）、抗ＣＤ２０抗体（例えば、リツキシマブ）、抗ＣＤ３０抗体（例えば、ブレンツキシマブ）、ＣＴＬＡ４－Ｆｃ分子（例えば、アバタセプト）、ＣＣＲ５受容体拮抗薬（例えば、マラビロク）、抗ＣＤ４０Ｌ抗体、抗ＶＬＡ４抗体（例えば、ナタリズマブ）、抗ＬＦＡ１抗体、フルダラビン、抗ＣＤ５２抗体（例えば、アレムツズマブ）、抗ＣＤ４５抗体、シクロホスファミド、抗胸腺細胞グロブリン、抗補体Ｃ５抗体（例えば、エクリズマブ）、抗ａ４ｂ７インテグリン抗体（例えば、ベドリズマブ）、抗ＩＬ６抗体（例えば、トシリズマブ）、抗ＩＬ２Ｒ抗体（例えば、バシリキスマブ）、抗ＣＤ２５抗体（例えば、ダクリズマブ）、抗ＴＮＦａ／ＴＮＦａ－Ｆｃ分子（例えば、エタネルセプト、アダリムマブ、インフリキシマブ、ゴリムマブ、またはセトリズマブペゴール）、及びボリノスタット、特に、ラパマイシン（シロリムス）、ラクロリムス、シクロスポリン、コルチコステロイド（例えば、メチルプレドニゾロン）、メトトレキサート、ミコフェノール酸モフェチル、抗ＣＤ２８抗体、ＣＴＬＡ４－Ｆｃ分子（例えば、アバタセプト）、抗ＣＤ４０Ｌ抗体、抗ＬＦＡ１抗体、抗ＣＤ５２抗体（例えば、アレムツズマブ）、シクロホスファミド、及び抗胸腺細胞グロブリンから成る群から選択される更なる治療薬を更に含む、薬学的組成物。

【請求項３４】

前記組成物が、自己免疫疾患若しくは状態、全身炎症性疾患若しくは状態、または移植片拒絶から選択される、ｈＯＸ４０Ｌ媒介性状態または疾患、例えば、炎症性腸疾患（ＩＢＤ）、クローン病、リウマチ性関節炎、移植片拒絶、同種移植片拒絶、移植片対宿主病（ＧｖＨＤ）、潰瘍性大腸炎、全身性エリテマトーデス（ＳＬＥ）、糖尿病、ブドウ膜炎、強直性脊椎炎、接触過敏症、多発性硬化症、及びアテローム性動脈硬化症、特にＧｖＨＤの治療及び／または防止用である、請求項３３に記載の薬学的組成物、または請求項３３に定義の薬学的組成物を含むキット。

【請求項３５】

ヒトにおける前記疾患若しくは状態の治療及び／若しくは防止に使用するためのラベル若しくは説明書と組み合わせた請求項３３若しくは請求項３４に記載の薬学的組成物、または前記ラベル若しくは説明書を含む請求項３４に記載のキットであって、任意選択で、前記ラベルまたは説明書が、販売承認番号（例えば、ＦＤＡまたはＥＭＡ承認番号）を含み、任意選択で、前記キットが、前記抗体または断片を含むＩＶまたは注射機器を含む、前記薬学的組成物または前記キット。

【請求項３６】

請求項１～１７、２６、２７、２９、または３０のいずれか一項に定義の前記抗体または断片のＨＣＤＲ３をコードする、核酸。

【請求項３７】

請求項１～１７、２６、２７、２９、または３０のいずれか一項に定義の抗体または断片のＶＨドメイン及び／またはＶＬドメインをコードする、核酸。

【請求項３８】

配列番号３３及び／または配列番号４７の配列と少なくとも８０％同一であるヌクレオチド配列を含む、請求項３７に記載の核酸。

【請求項３９】

請求項１～１７、２６、２７、２９、または３０のいずれか一項に挙げた抗体の重鎖または軽鎖をコードする、核酸。

【請求項４０】

請求項３６～３９のいずれか一項に記載の前記核酸を含むベクターであって、任意選択で、前記ベクターが、ＣＨＯまたはＨＥＫ２９３ベクターである、前記ベクター。

【請求項４１】

請求項３６～３９のいずれか一項に記載の前記核酸、または請求項４０に記載の前記ベクターを含む、宿主。

【発明の詳細な説明】
【技術分野】
【０００１】
本発明は、抗ヒトＯＸ４０Ｌ抗体、新たな医学的使用、及び方法に関する。
【背景技術】
【０００２】
ＯＸ４０リガンド（ＯＸ４０Ｌ）は、ＴＮＦファミリーメンバー、３４ｋＤａのＩＩ型膜貫通タンパク質である。ヒトＯＸ４０及びＯＸ４０Ｌの結晶化複合体は、１個のＯＸ４０Ｌ（三量体）及び３個のＯＸ４０単量体の三量体構成である。ヒト細胞外ドメインは、マウスＯＸ４０Ｌと４２％相同である。
【０００３】
ＯＸ４０Ｌは、構造的に発現しないが、Ｂ細胞、樹状細胞（ＤＣ）、及びマクロファージなどのプロフェッショナルＡＰＣ上に誘導し得る。ランゲルハンス細胞、内皮細胞、平滑筋細胞、マスト細胞、及びナチュラルキラー（ＮＫ）細胞などの他の細胞型を誘導して、ＯＸ４０Ｌを発現させることができる。Ｔ細胞もＯＸ４０Ｌを発現し得る。ＯＸ４０Ｌ受容体であるＯＸ４０は、活性化を欠く場合であっても、活性化Ｔ細胞（ＣＤ４及びＣＤ８Ｔ細胞、Ｔｈ２、Ｔｈ１、ならびにＴｈ１７細胞）及びＣＤ４$^{+}$Ｆｏｘｐ３$^{+}$細胞上に発現する。
【０００４】
ＯＸ４０とＯＸ４０Ｌとの間の相互作用は、抗原認識後２日または３日で、Ｔ細胞－ＤＣ相互作用中に発生する。ＤＣを離れた後、ＯＸ４０を発現しているＴ細胞は、ＤＣ以外のＯＸ４０Ｌを発現している細胞と相互作用し、この細胞からＯＸ４０シグナルを受信し得、これが、記憶Ｔ細胞の生成、Ｔｈ２応答の強化、及び炎症応答の延長のために必須のシグナルを提供し得る。受容体Ｔ細胞へのＯＸ４０シグナルにより、これらはＴｒｅｇ媒介性の抑制に耐性を持つ。
【０００５】
移植片対宿主病は、同種骨髄治療後の死亡率の主因である。疾患の急性型では、骨髄移植材中に存在する成熟Ｔ細胞は、ドナーの組織を損傷組織の環境における異物として認識し、これが、宿主ＡＰＣを介して、ドナーＴ細胞の活性化及び増殖、続くＴ細胞の肝臓、脾臓、胃腸、皮膚、及び肺への移動を引き起こすことで、ＣＴＬエフェクター応答及び炎症性サイトカイン／ケモカインの放出が起きる。急性疾患の発症は、通常、移植後最初の１００日以内である（Ｈｉｌｌ－Ｆｅｒｒａｒａ，Ｂｌｏｏｄ Ｍａｙ １，２０００ ｖｏｌ．９５ ｎｏ．９ ２７５４－２７５，Ｒｅｄｄｙ－Ｆｅｒｒａｒａ Ｂｌｏｏｄ，Ｖｏｌｕｍｅ １７，Ｉｓｓｕｅ ４，Ｄｅｃｅｍｂｅｒ ２００３）。
【０００６】
慢性ＧｖＨＤは、通常、移植後１００日で出現し、いくつかの因子が関与していると考えられており、これらの因子には、病原性Ｔ細胞の低減したクリアランスをもたらす先行する急性ＧｖＨＤが引き起こす胸腺損傷（Ｚｈａｎｇ ｅｔ ａｌ，Ｓｅｐｔｅｍｂｅｒ １，２００７ ｖｏｌ．１７９ ｎｏ．５ ３３０５－３３１４）、線維症を引き起こすＴＧＦ－βの上方調節（ＭｃＣｏｒｍｉｃｋ ｅｔ ａｌ Ｊ Ｉｍｍｕｎｏ，Ｎｏｖｅｍｂｅｒ １５，１９９９ ｖｏｌ．１６３ ｎｏ．１０ ５６９３－５６９９）、ならびに上昇したＢ細胞活性化因子（ＢＡＦＦ）によって動くＢ細胞成分（Ｓａｒａｎｔｏｐｏｕｌｏｓ ｅｔ ａｌ，Ｃｌｉｎ Ｃａｎｃｅｒ Ｒｅｓ Ｏｃｔｏｂｅｒ １５，２００７ １３；６１０７）及び血小板由来成長因子受容体に対する自己抗体（Ｓｖｅｇｌｉａｔｉ ｅｔ ａｌ，Ｂｌｏｏｄ Ｊｕｌｙ １，２００７ ｖｏｌ．１１０ ｎｏ．１ ２３７－２４１）が含まれる。
【０００７】
臨床研究は、ＯＸ４０が、急性（Ｍｏｒａｎｔｅ ｅｔ ａｌ，Ｃｌｉｎｉｃａｌ ａｎｄ Ｅｘｐｅｒｉｍｅｎｔａｌ Ｉｍｍｕｎｏｌｏｇｙ，１４５：３６－４３）及び

慢性（Ｋｏｔａｎｉ ｅｔ ａｌ，Ｂｌｏｏｄ Ｎｏｖｅｍｂｅｒ １５，２００１ ｖｏｌ．９８ ｎｏ．１０ ３１６２－３１６４）両方のＧｖＨＤにおいて上方調節されることを示している。拮抗的抗ＯＸ４０Ｌの投与は、４３日目までに全てが死亡した未治療群と比較して、治療した群における生存率は７０％と、ＧｖＨＤの致死的急性マウスモデルにおける生存率を強化し（Ｔｓｕｋａｄａ ｅｔ ａｌ，Ｂｌｏｏｄ，１ Ａｐｒｉｌ ２０００，Ｖｏｌｕｍｅ ９５，Ｎｕｍｂｅｒ ７）、一方で、拮抗的抗ＯＸ４０ Ａｂによる治療は、疾患及び死亡率を促進した（Ｂｌａｚａｒ ｅｔ ａｌ Ｂｌｏｏｄ Ｍａｙ １，２００３ ｖｏｌ．１０１ ｎｏ．９ ３７４１－３７４８）。ＯＸ４０－ＯＸ４０Ｌ相互作用の妨害は、大腸炎のマウスモデルを治療するために使用される抗ＯＸ４０Ｌ Ａｂを用いて、いくつかの他の炎症性疾患において有効であること（Ｔｏｔｓｕｋａ ｅｔ ａｌ．，ＡＪＰ － ＧＩ Ａｐｒｉｌ １，２００３ ｖｏｌ．２８４ ｎｏ．４ Ｇ５９５－Ｇ６０３）、及び抗ＯＸ４０Ｌ ＡｂはＮＯＤマウスにおける糖尿病の発現を妨害し得ること（Ｐａｋａｌａ ｅｔ ａｌ Ｅｕｒｏｐｅａｎ Ｊｏｕｒｎａｌ ｏｆ Ｉｍｍｕｎｏｌｏｇｙ Ｖｏｌｕｍｅ ３４，Ｉｓｓｕｅ １１，ｐａｇｅｓ ３０３９－３０４６，Ｎｏｖｅｍｂｅｒ ２００４）が示されている。

【０００８】

参照文献

Ｌａｍｂ，Ｌ．Ｓ．，Ａｂｈｙａｎｋａｒ，Ｓ．Ａ．，Ｈａｚｌｅｔｔ，Ｌ．，Ｏ’Ｎｅａｌ，Ｗ．，Ｆｏｌｋ，Ｒ．Ｓ．，Ｖｏｇｔ，Ｓ．，Ｐａｒｒｉｓｈ，Ｒ．Ｓ．，Ｂｒｉｄｇｅｓ，Ｋ．，Ｈｅｎｓｌｅｅ－Ｄｏｗｎｅｙ，Ｐ．Ｊ．ａｎｄ Ｇｅｅ，Ａ．Ｐ．（１９９９），Ｅｘｐｒｅｓｓｉｏｎ ｏｆ ＣＤ１３４（０Ｘ－４０）ｏｎ Ｔ－ｃｅｌｌｓ ｄｕｒｉｎｇ ｔｈｅ ｆｉｒｓｔ １００ ｄａｙｓ ｆｏｌｌｏｗｉｎｇ ａｌｌｏｇｅｎｅｉｃ ｂｏｎｅ ｍａｒｒｏｗ ｔｒａｎｓｐｌａｎｔａｔｉｏｎ ａｓ ａ ｍａｒｋｅｒ ｆｏｒ ｌｙｍｐｈｏｃｙｔｅ ａｃｔｉｖａｔｉｏｎ ａｎｄ ｔｈｅｒａｐｙ－ｒｅｓｉｓｔａｎｔ ｇｒａｆｔ－ｖｅｒｓｕｓ－ｈｏｓｔ ｄｉｓｅａｓｅ．Ｃｙｔｏｍｅｔｒｙ，３８：２３８－２４３。

【０００９】

Ｘｕｐｅｎｇ Ｇｅ，Ｊｕｌｉａ Ｂｒｏｗｎ，Ｍｅｇａｎ Ｓｙｋｅｓ，Ｖａｓｓｉｌｉｋｉ Ａ．Ｂｏｕｓｓｉｏｔｉｓ，ＣＤ１３４－Ａｌｌｏｄｅｐｌｅｔｉｏｎ Ａｌｌｏｗｓ Ｓｅｌｅｃｔｉｖｅ Ｅｌｉｍｉｎａｔｉｏｎ ｏｆ Ａｌｌｏｒｅａｃｔｉｖｅ Ｈｕｍａｎ Ｔ－ｃｅｌｌｓ ｗｉｔｈｏｕｔ Ｌｏｓｓ ｏｆ Ｖｉｒｕｓ－Ｓｐｅｃｉｆｉｃ ａｎｄ Ｌｅｕｋｅｍｉａ－Ｓｐｅｃｉｆｉｃ Ｅｆｆｅｃｔｏｒｓ，Ｂｉｏｌｏｇｙ ｏｆ Ｂｌｏｏｄ ａｎｄ Ｍａｒｒｏｗ Ｔｒａｎｓｐｌａｎｔａｔｉｏｎ，１４巻，５号，２００８年５月，５１８～５３０頁。

【００１０】

Ｎａｏｔｏ Ｉｓｈｉｉ，Ｔａｋｅｓｈｉ Ｔａｋａｈａｓｈｉ，Ｐｅｊｍａｎ Ｓｏｒｏｏｓｈ，Ｋａｚｕｏ Ｓｕｇａｍｕｒａ，Ｃｈａｐｔｅｒ ３ － ＯＸ４０－ＯＸ４０ Ｌｉｇａｎｄ Ｉｎｔｅｒａｃｔｉｏｎ ｉｎ Ｔ－Ｃｅｌｌ－Ｍｅｄｉａｔｅｄ Ｉｍｍｕｎｉｔｙ ａｎｄ Ｉｍｍｕｎｏｐａｔｈｏｌｏｇｙ，Ｉｎ：Ｆｒｅｄｅｒｉｃｋ Ｗ．Ａｌｔ，Ｅｄｉｔｏｒ（ｓ），Ａｄｖａｎｃｅｓ ｉｎ Ｉｍｍｕｎｏｌｏｇｙ，Ａｃａｄｅｍｉｃ Ｐｒｅｓｓ，２０１０，１０５巻，６３～９８頁。

【００１１】

Ｃｒｏｆｔ，Ｍ．，Ｓｏ，Ｔ．，Ｄｕａｎ，Ｗ．ａｎｄ Ｓｏｒｏｏｓｈ，Ｐ．（２００９），Ｔｈｅ ｓｉｇｎｉｆｉｃａｎｃｅ ｏｆ ＯＸ４０ ａｎｄ ＯＸ４０Ｌ ｔｏ Ｔ－ｃｅｌｌ ｂｉｏｌｏｇｙ ａｎｄ ｉｍｍｕｎｅ ｄｉｓｅａｓｅ．Ｉｍｍｕｎｏｌｏｇｉｃａｌ Ｒｅｖｉｅｗｓ，２２９：１７３－１９１。

【発明の概要】
【００１２】
本発明は、抗ヒトＯＸ４０Ｌ（ｈＯＸ４０Ｌ）抗体及び断片、ならびにヒトにおけるｈＯＸ４０Ｌ媒介性疾患または状態の治療または防止のための新規の医学的適用を提供する。この目的で、本発明は、以下を提供する。
【００１３】
第１の構成
抗体または断片がヒトに投与され、抗体または断片が、
ａ．ヒトにおける、ＴＮＦアルファ、ＩＬ－２、ＩＬ－３、ＩＬ－４、ＩＬ－５、ＩＬ－６、ＩＬ－８、ＩＬ－９、ＩＬ－１０、ＩＬ－１３、ＩＬ－１７、ＲＡＮＴＥＳ、及びインターフェロンガンマから選択されるサイトカインの分泌、
ｂ．ヒトの白血球の増殖、ならびに
ｃ．内皮細胞が発現するｈＯＸ４０ＬとのヒトＴ細胞によって発現されるｈＯＸ４０受容体の結合、のうちの１つ、１つ以上、または全てを減少させることによって、該ｈＯＸ４０Ｌ媒介性疾患または状態を治療または防止するためのものである、方法において、ヒトにおけるｈＯＸ４０Ｌ媒介性疾患または状態を治療または防止するための、ｈＯＸ４０Ｌに特異的に結合する抗体またはその断片。
【００１４】
第２の構成
ｈＯＸ４０Ｌに特異的に結合し、該ｈＯＸ４０Ｌへの結合について、０２Ｄ１０、１０Ａ０７、０９Ｈ０４、及び１９Ｈ０１から成る群から選択される抗体と競合する、抗体またはその断片。
【００１５】
第３の構成
抗体またはその断片の使用であって、
ａ．ヒトにおける、ＴＮＦアルファ、ＩＬ－２、ＩＬ－３、ＩＬ－４、ＩＬ－５、ＩＬ－６、ＩＬ－８、ＩＬ－９、ＩＬ－１０、ＩＬ－１３、ＩＬ－１７、ＲＡＮＴＥＳ、及びインターフェロンガンマから選択されるサイトカインの分泌、
ｂ．ヒトの白血球の増殖、ならびに
ｃ．内皮細胞が発現するｈＯＸ４０ＬとのヒトＴ細胞によって発現されるｈＯＸ４０受容体の結合、のうちの１つ、１つ以上、または全てを減少させることによって、ヒトにおけるｈＯＸ４０Ｌ媒介性疾患または状態を治療または防止するためにヒトに投与するための医薬品の製造における、ｈＯＸ４０Ｌに特異的に結合する抗体またはその断片の使用。
【００１６】
第４の構成
ａ．ヒトにおける、ＴＮＦアルファ、ＩＬ－２、ＩＬ－３、ＩＬ－４、ＩＬ－５、ＩＬ－６、ＩＬ－８、ＩＬ－９、ＩＬ－１０、ＩＬ－１３、ＩＬ－１７、ＲＡＮＴＥＳ、及びインターフェロンガンマから選択されるサイトカインの分泌、
ｂ．ヒトの白血球の増殖、ならびに
ｃ．内皮細胞が発現するｈＯＸ４０ＬとのヒトＴ細胞によって発現されるｈＯＸ４０受容体の結合、のうちの１つ、１つ以上、または全てを減少させることによる、ヒトにおけるｈＯＸ４０Ｌ媒介性疾患または状態の治療または防止方法であって、
本方法が、該ヒトに、ｈＯＸ４０Ｌに特異的に結合する治療有効量の抗体または断片を投与することを含む、方法。
【００１７】
第５の構成
ｈＯＸ４０Ｌに特異的に結合し、該ｈＯＸ４０Ｌへの結合について抗体０２Ｄ１０と競合する、抗体またはその断片であって、抗体またはその断片が、モチーフＶＲＧＸＹＹＹを含むＨＣＤＲ３を含むＶＨドメインを含み、Ｘが、任意のアミノ酸である、抗体またはその断片。

【００１８】
第６の構成
ｈＯＸ４０Ｌに特異的に結合し、該ｈＯＸ４０Ｌへの結合について抗体０２Ｄ１０と競合する、抗体またはその断片であって、抗体または断片が、配列番号４０若しくは４６のＨＣＤＲ３配列、または５個未満のアミノ酸置換を含む配列番号４０若しくは４６のＨＣＤＲ３配列を含むＶＨドメインを含む、抗体またはその断片。
【００１９】
第７の構成
１６～２７個のアミノ酸のＨＣＤＲ３を含み、ヒトＶＨ遺伝子分節、ヒトＤ遺伝子分節、及びヒトＪＨ遺伝子分節の組み換えに由来する、ヒト抗体またはその断片であって、ヒトＪＨ遺伝子分節が、自己免疫疾患若しくは状態、全身炎症性疾患若しくは状態、または移植片拒絶から選択される自己免疫疾患を治療または防止するために、ｈＯＸ４０Ｌに特異的に結合するＩＧＨＪ６である、ヒト抗体またはその断片。
【００２０】
第８の構成
１６～２７個のアミノ酸のＨＣＤＲ３を含み、ヒトＶＨ遺伝子分節、ヒトＤ遺伝子分節、及びヒトＪＨ遺伝子分節の組み換えに由来する、ヒト抗体またはその断片の使用であって、ヒトＪＨ遺伝子分節が、自己免疫疾患若しくは状態、全身炎症性疾患若しくは状態、または移植片拒絶から選択される、ヒトにおけるｈＯＸ４０Ｌ媒介性疾患または状態を治療または防止するためにヒトに投与するための医薬品の製造において、ｈＯＸ４０Ｌに特異的に結合するＩＧＨＪ６である、使用。
【００２１】
第９の構成
自己免疫疾患若しくは状態、全身炎症性疾患若しくは状態、または移植片拒絶から選択されるｈＯＸ４０Ｌ媒介性疾患または状態の治療または防止方法であって、該ヒトに、１６～２７個のアミノ酸のＨＣＤＲ３を含み、ヒトＶＨ遺伝子分節、ヒトＤ遺伝子分節、及びヒトＪＨ遺伝子分節の組み換えに由来する、治療有効量のヒト抗体またはその断片を投与することを含み、ヒトＪＨ遺伝子分節が、ｈＯＸ４０Ｌに特異的に結合するＩＧＨＪ６であり、ｈＯＸ４０Ｌ媒介性疾患または状態が、それにより治療または防止される、方法。
【００２２】
本発明はまた、薬学的組成物、キット、核酸、ベクター、及び宿主を提供する。
【図面の簡単な説明】
【００２３】
【図１】ＨＴＲＦリガンド／受容体中和アッセイにおける完全ヒト組み換え抗ＯＸ４０Ｌ抗体のプロファイリングである。示されるデータは、３つの繰り返し実験を代表するものである。
【図２】同種ＰＢＭＣ／Ｔ混合リンパ球反応における抗ＯＸ４０Ｌ抗体の効果の決定である。示されるデータは、３つの独立したドナー対からのものであり、各ドナーは異なる個体であるとする。
【発明を実施するための形態】
【００２４】
本発明は、以下の態様１～１１３を提供する。
【００２５】
本発明は、例えば、移植片対宿主病（ＧｖＨＤ）または同種移植片拒絶などの移植片拒絶の治療または防止に有用である。本発明はまた、例えば、ＵＣ若しくはＣＤなどの炎症性腸疾患の治療若しくは防止、または気道炎症性疾患若しくは状態の治療若しくは防止に有用である。一例では、この態様は、喘息の治療または防止に有用である。本発明はまた、例えば、線維症の治療または防止に有用である。本発明はまた、例えば、糖尿病の治療または防止に有用である。本発明はまた、例えば、ブドウ膜炎の治療または防止に有用で

ある。本発明はまた、例えば、壊疽性膿皮症の治療または防止に有用である。本発明はまた、例えば、巨細胞性動脈炎の治療または防止に有用である。本発明はまた、例えば、シュニッツラー症候群の治療または防止に有用である。本発明はまた、例えば、非感染性強膜炎の治療または防止に有用である。

【００２６】

１．抗体または断片がヒトに投与され、抗体または断片が、

ａ．ヒトにおける、ＴＮＦアルファ、ＩＬ－２、ＩＬ－３、ＩＬ－４、ＩＬ－５、ＩＬ－６、ＩＬ－８、ＩＬ－９、ＩＬ－１０、ＩＬ－１３、ＩＬ－１７、ＲＡＮＴＥＳ、及びインターフェロンガンマから選択されるサイトカインの分泌、

ｂ．ヒトの白血球の増殖、ならびに

ｃ．内皮細胞が発現するｈＯＸ４０ＬとのヒトＴ細胞によって発現されるｈＯＸ４０受容体の結合、のうちの１つ、１つ以上、または全てを減少させることによって、該ｈＯＸ４０Ｌ媒介性疾患または状態を治療または防止するためのものである、方法において、ヒトにおけるｈＯＸ４０Ｌ媒介性疾患または状態を治療または防止するための、ｈＯＸ４０Ｌに特異的に結合する抗体またはその断片。

【００２７】

発明者らは、故に、初めて、（ａ）、（ｂ）、及び（ｃ）の減少を、ヒトにおけるＯＸ４０Ｌ媒介性疾患及び状態の治療及び／または防止方法として特定し、この目的のための抗体及び抗体断片を提供する。

【００２８】

一例では、分泌は、白血球分泌である。一例では、（ａ）は、ヒト血液、血漿、または血清におけるサイトカイン（複数可）の著しく上昇したレベルによって示される。

【００２９】

一例では、サイトカインは、（ｉ）ＴＮＦアルファ、（ｉｉ）ＩＬ－２、及び（ｉｉｉ）インターフェロンガンマから選択される。例では、サイトカインＴＮＦアルファ。例では、サイトカインは、ＩＬ－２である。一例では、サイトカインは、インターフェロンガンマである。一例では、サイトカインは、（ｉ）及び（ｉｉ）、または（ｉ）及び（ｉｉｉ）、または（ｉｉ）及び（ｉｉｉ）、または（ｉ）～（ｉｉｉ）である。

【００３０】

一例では、（ａ）、（ｂ）、若しくは（ｃ）の減少、または本明細書に開示の任意の他の減少とは、ｈＯＸ４０Ｌ媒介性疾患若しくは状態の危険性があるか、またはそれを患うヒトにおけるレベルと比較して、少なくとも１０または２０％の減少である。一例では、後者は、抗体または断片の投与前の態様１で挙げるヒトであり、別の例では、後者であるヒトは、異なるヒトである。一例では、該減少は、少なくとも１０、２０、３０、４０、５０、または６０％である。

【００３１】

（ｉ）一例では、抗体または断片は、インビトロアッセイにおいて、白血球（例えば、ヒトＴ細胞）からの関係のあるサイトカインの分泌の減少に影響することができる故に（以下で更に説明する）、かかる抗体または断片のヒトへの投与が（ａ）の減少に繋がる。

【００３２】

（ｉｉ）一例では、抗体または断片は、インビトロアッセイにおいて、白血球（例えば、ヒトＰＢＭＣ及び／またはヒトＴ細胞）の増殖の減少に影響することができる故に（以下で更に説明する）、かかる抗体または断片のヒトへの投与が（ｂ）の減少に繋がる。

【００３３】

（ｉｉｉ）一例では、抗体または断片は、インビトロアッセイにおいて、内皮細胞が発現するｈＯＸ４０ＬとのヒトＴ細胞によって発現されるｈＯＸ４０受容体の結合の減少に影響することができる故に（以下で更に説明する）、かかる抗体または断片のヒトへの投与が（ｃ）の減少に繋がる。

【００３４】

一例では、（ｉ）及び（ｉｉ）、または（ｉ）及び（ｉｉｉ）、または（ｉｉ）及び（

ｉｉｉ）、または（ｉ）～（ｉｉｉ）が当てはまる。

【００３５】

加えてまたはあるいは、該減少の評定は、治療されるヒト由来の試料を使用して行うことができる。例えば、Ｊ．Ｃｌｉｎ．Ｉｍｍｕｎｏｌ．，２００４ Ｊａｎ，２４（１）：７４－８５；“Ｉｎｃｒｅａｓｅｄ ｅｘｐｒｅｓｓｉｏｎ ｏｆ ＣＣＬ２０ ｉｎ ｈｕｍａｎ ｉｎｆｌａｍｍａｔｏｒｙ ｂｏｗｅｌ ｄｉｓｅａｓｅ”；Ｋａｓｅｒ Ａ ｅｔ ａｌを参照する。この出版物は、組織生検を使用し、インビボの抗体による治療の後の減少したサイトカイン分泌を示す減少したサイトカインレベルの読み取る一般的に適用可能な技法の例を提供する。同様の方法を使用して、本発明の抗体を受けたヒトにおける１つ以上のサイトカインの分泌の減少を決定し得る。当業者であれば、例えば、組織生検、免疫組織化学、免疫蛍光法、組織染色、サイトカインｍＲＮＡ定量化（例えば、Ｔａｑｍａｎ（商標）ＰＣＲなどのＰＣＲを使用して）、サイトカインタンパク質検出及び定量化（例えば、ＥＬＩＳＡまたは別の標準的なタンパク質定量化技法などの、サイトカイン特異的ツール抗体及び定量化を使用して）のうちの１つ以上を使用することによる、患者及び患者試料におけるサイトカインレベルを評定するための技法に詳しいであろう。例えば、疾患または状態が消化管のうちの１つ（例えば、ＩＢＤ）である場合、本発明の抗体を受けた患者由来の関連する胃腸組織の生検、続いてサイトカインｍＲＮＡ及び／またはサイトカインタンパク質の定量化（例えば、定量的ＰＣＲを使用して）を行い得る。結果は、抗体投与前の同じ患者由来の生検した関連組織中のサイトカイン定量化と比較するか、あるいは同じ疾患または状態を患っているが、抗ＯＸ４０Ｌ治療または疾患若しくは状態に対する治療を受けていない別のヒト患者と比較することができる。このように、当業者であれば、本発明の抗体がヒトレシピエントにおいてサイトカインの分泌を減少させると決定することができる。胃腸組織レベルを評定する代わりに、疾患または状態の性質及び場所に応じて、ヒト患者由来の異なる組織または試料を代わりに使用することができる。例えば、疾患または状態が気道のうちの１つ（例えば、肺）である場合、サイトカイン評定のために肺または他の気道組織試料を採取することが可能である。あるいは、当業者には明らかとなるように、気管支肺胞洗浄（ＢＡＬ）試料を使用することができる。別の例では、一部の疾患または状態について、本発明の抗体を受けたヒトから採取した血液、血清、または血漿試料中のサイトカインの減少を評定し、その後、上で考察したように、抗体を受ける前のレベルと比較するか、または未治療のヒトにおけるレベルと比較することができる。

【００３６】

当該技術分野で既知であるように、「白血球」という用語は、例えば、リンパ球、多形核白血球、及び単球のうちの１つ以上を含む。また当業者には容易に明らかとなるように、「単球」という用語は、例えば、末梢血単核細胞（ＰＢＭＣ）または単球由来細胞、例えば、樹状細胞（ＤＣ）を含む。例えば、Ｉｍｍｕｎｏｂｉｏｌｏｇｙ，２０１３ Ｎｏｖ，２１８（１１）：１３９２－４０１．ｄｏｉ：１０．１０１６／ｊ．ｉｍｂｉｏ．２０１３．０７．００５．Ｅｐｕｂ ２０１３ Ｊｕｌ ２５；“Ｌｅｕｋｏｒｅｄｕｃｔｉｏｎ ｓｙｓｔｅｍ ｃｈａｍｂｅｒｓ ａｒｅ ａｎ ｅｆｆｉｃｉｅｎｔ，ｖａｌｉｄ，ａｎｄ ｅｃｏｎｏｍｉｃ ｓｏｕｒｃｅ ｏｆ ｆｕｎｃｔｉｏｎａｌ ｍｏｎｏｃｙｔｅ－ｄｅｒｉｖｅｄ ｄｅｎｄｒｉｔｉｃ ｃｅｌｌｓ ａｎｄ ｌｙｍｐｈｏｃｙｔｅｓ”，Ｐｆｅｉｆｆｅｒ ＩＡ ｅｔ ａｌ．を参照されたい。

【００３７】

白血球、例えば、固有層リンパ球（ＬＰＬ）の増殖は、当業者には明らかとなるように、組織生検、染色、及び組織学を使用して評定することができる。ヘマトキシリン及びエオシン染色（Ｈ＆Ｅ染色またはＨＥ染色）は、例えば、浸潤リンパ球、あらゆる種類のヒト組織を探すために組織学において一般に使用され、組織学における主要な染色の１つである。これは、医療診断において最も広く使用されている染色であり、多くの場合、究極の判断基準であるため、本発明のように白血球の増殖を評定するために使用することがで

きる。例えば、ｈＯＸ４０Ｌ媒介性疾患または状態を患っているか、またはその危険性があるヒト由来の消化管組織（例えば、胃腸組織）は、ＬＰＬの浸潤の程度について、採取、染色、及び評定することができる。本発明の抗体を受けたヒト由来のかかる組織と、抗体の投与前の同じヒト、または治療を受けておらず、かつ疾患若しくは状態の危険性があるか若しくはそれを患っている別のヒトから採取した組織における浸潤の程度との間で比較を行うことができる。例えば、比較は、ＩＢＤを患っている同じ（または異なる）ヒトから採取したヒト胃腸組織間で行う。

【００３８】

例えば、当業者に知られている標準的な結合アッセイを使用して、例えば、ＥＬＩＳＡまたはＳＰＲを使用して、抗体または断片が、ヒトＴ細胞によって発現されるｈＯＸ４０受容体のｈＯＸ４０Ｌによって発現される内皮細胞との結合を減少させることができるか否かを決定し得る。

【００３９】

炎症性腸疾患（ＩＢＤ）は、より重症の臨床表現型に対する発生率及び傾向が一見したところ増え続ける、消化管に影響する慢性炎症性障害である。この疾患は、腸内細菌叢のバリア機能の欠乏が関与し得ることを示唆する、内腔細菌叢への過度の免疫応答を特徴とし、研究は、この見解を支持している（Ｃｕｃｃｈｉａｒａ ｅｔ ａｌ．，２０１２；Ｊｏｓｔｉｎｓ ｅｔ ａｌ．，２０１２；Ｍａｎｉｃｈａｎｈ ｅｔ ａｌ．，２０１２；Ｓａｌｚｍａｎ ｅｔ ａｌ．，２００７、全てＤｅｕｒｉｎｇ ｅｔ ａｌ．，“Ｔｈｅ ｃｅｌｌ ｂｉｏｌｏｇｙ ｏｆ ｔｈｅ ｉｎｔｅｓｔｉｎａｌ ｅｐｉｔｈｅｌｉｕｍ ａｎｄ ｉｔｓ ｒｅｌａｔｉｏｎ ｔｏ ｉｎｆｌａｍｍａｔｏｒｙ ｂｏｗｅｌ ｄｉｓｅａｓｅ”，Ｔｈｅ Ｉｎｔｅｒｎａｔｉｏｎａｌ Ｊｏｕｒｎａｌ ｏｆ Ｂｉｏｃｈｅｍｉｓｔｒｙ ＆ Ｃｅｌｌ Ｂｉｏｌｏｇｙ ４５（２０１３）７９８－８０６）に引用されている）。ＩＢＤは、クローン病（ＣＤ）及び潰瘍性大腸炎（ＵＣ）という２つの主なグループを含む。ＣＤ患者は、患者の消化管全体において炎症性病変を有し得、一方で、ＵＣ患者における病変は、結腸に限定される。Ｈｉｓａｍａｔｓｕら（“Ｉｍｍｕｎｅ ａｓｐｅｃｔｓ ｏｆ ｔｈｅ ｐａｔｈｏｇｅｎｅｓｉｓ ｏｆ ｉｎｆｌａｍｍａｔｏｒｙ ｂｏｗｅｌ ｄｉｓｅａｓｅ”，Ｐｈａｒｍａｃｏｌｏｇｙ ＆ Ｔｈｅｒａｐｅｕｔｉｃｓ １３７（２０１３）２８３－２９７）及びその中で引用される文書も参照する。

【００４０】

肉芽腫形成は、ヒトクローン病の最も重要な病理学的特徴のうちの１つである。Ｍｉｚｏｇｕｃｈｉらは、Ｆ４／８０陽性の未熟なＣＤ１１ｃ$^{+}$樹状細胞（ＤＣ）が、ＩＬ－２３を産生し、マウス大腸炎モデルにおける肉芽腫形成に寄与することを示した（Ｍｉｚｏｇｕｃｈｉら、２００７年）。Ｔｈ１免疫応答は、クローン病において支配的である。実際、クローン病のＬＰにおけるＣＤ４$^{+}$Ｔ細胞は、Ｔ－ｂｅｔを発現し、大量のインターフェロン（ＩＦＮ）－γを産生した（Ｍａｔｓｕｏｋａら、２００４年）。Ｓａｋｕｒａｂａらは、クローン病を患う患者の腸間膜リンパ節におけるＤＣが、Ｔｈ１及びＴｈ１７免疫応答を強く助長することを示した（Ｓａｋｕｒａｂａら、２００９年）。腸間膜リンパ節ＤＣは、ＩＢＤの病因、特にクローン病の病因に寄与する。

【００４１】

疾患及び状態におけるサイトカインの役割

Ｍｕｚｅｓ ｅｔ ａｌ，Ｗｏｒｌｄ Ｊ Ｇａｓｔｒｏｅｎｔｅｒｏｌ ２０１２ Ｎｏｖｅｍｂｅｒ ７；１８（４１）：５８４８－５８６１ ＩＳＳＮ １００７－９３２７（ｐｒｉｎｔ） ＩＳＳＮ ２２１９－２８４０（ｏｎｌｉｎｅ），“Ｃｈａｎｇｅｓ ｏｆ ｔｈｅ ｃｙｔｏｋｉｎｅ ｐｒｏｆｉｌｅ ｉｎ ｉｎｆｌａｍｍａｔｏｒｙ ｂｏｗｅｌ Ｄｉｓｅａｓｅｓ”を参照する。

【００４２】

サイトカインは、正常な胃腸恒常性を維持するのに不可欠な粘膜関連免疫系のシグナルである。炎症の始動に有利なこれらのプロファイルの不均衡は、炎症性腸疾患（ＩＢＤ）

、例えば、クローン病（ＣＤ）及び潰瘍性大腸炎（ＵＣ）において観察されるものなどの疾患状態に繋がり得る。ＩＢＤにおける、ＩＬ－１α、ＩＬ－１β、ＩＬ－２、－６、－８、－１２、－１７、－２３、ＩＦＮ－ガンマ、またはＴＮＦアルファなどの炎症促進サイトカインの役割は、ＵＣ及びＣＤの始動及び進行に関連する。ＣＤは、主要な炎症性メディエータが、インターロイキン（ＩＬ）－１２、インターフェロン（ＩＦＮ）－γ、及び腫瘍壊死因子（ＴＮＦ）－αなどのＴｈ１サイトカインであるため、Ｔヘルパー（Ｔｈ）１媒介性疾患の原型として説明されることが多い。

【００４３】

ＴＮＦ様リガンドのそれらの受容体への結合は、細胞増殖、分化、及び生存に直接的に関与する細胞内経路を誘発する。ＴＮＦ／ＴＮＦ受容体タンパク質スーパーファミリーの大部分のメンバーは、免疫細胞上に発現し、免疫応答の複数の構成要素において重要な役割を果たす。ＴＮＦ－αは、ＩＢＤの病因におけるマスターサイトカインである。これは、接着分子、線維芽細胞増殖、凝血促進因子の発現、ならびに細胞毒性、アポトーシス、及び急性期応答の始動を通して、その多面発現効果を発揮する。ＩＢＤにおけるＴＮＦ－α源は、一部にはマクロファージまたは単球などの免疫細胞であり、また分化したＴｈ１細胞でもある。ＴＮＦ－αの血清レベルは、ＵＣ及びＣＤ［３１］の臨床活性と相関する。これは、ＩＢＤの結腸炎症において調整役を果たす。ＣＤにおけるＴＮＦ－αの役割は、広く調査されている。ＴＮＦ－αの血清可溶性ＴＮＦ受容体１及び２（ｓＴＮＦＲ１及び２）への結合は、炎症促進シグナリングを始動する。ｓＴＮＦＲ１及び２のレベルは、ＣＤにおいて上昇する。

【００４４】

ＴＮＦファミリーの別のメンバーである腫瘍壊死因子様因子（ＴＬ１Ａ）は、死受容体３（ＤＲ３）に結合することによってＩＦＮ－γ分泌を刺激する。ＤＲ３は、高い比率のＵＣ及びＣＤの粘膜生検由来の細胞によって発現され、ＩＦＮ－γレベルの上昇は、ＩＢＤ患者における疾患活性と共に観察されている。ＴＬ１Ａ／ＤＲ３系は、ＣＤの病因に関与する。固有層のマクロファージはＴＬ１Ａの主な産生者であり、その発現はＣＤにおいて著明に強化される。ＴＬ１Ａ及びＩＬ－２３は粘膜Ｔ細胞によるＩＦＮ－γの産生を相乗的に助長することが見い出されている。ＦＮ－Ｙ：は、ＴＨ１Ｔ細胞によって産生される。炎症が始動すると、ＩＦＮ－γが産生され、その後、免疫系の様々な分子及び経路を通して作用して、炎症プロセスを激化させる。ＩＦＮ－γの炎症促進性質を広範囲に記録している文献が数多く存在し、ＩＦＮ－γが炎症及び自己免疫疾患における主要な炎症促進サイトカインであるという主流の意見に繋がっている。インターフェロンガンマは、マウスにおける実験的炎症性腸疾患に原因として関与する（Ｉｔｏ ｅｔ ａｌ，Ｃｌｉｎｉｃａｌ ａｎｄ Ｅｘｐｅｒｉｍｅｎｔａｌ Ｉｍｍｕｎｏｌｏｇｙ（２００６），１４６：３３０－３３８）。研究は、ＩＦＮ－γ$^{-/-}$マウスが、体重減少、ＤＡＩ、組織学的スコア、及びＭＰＯ活性の程度の観点から、ＤＳＳによる刺激の後で弱毒大腸炎を表したことを明確に示した。ＩＦＮ－γの産生は、重度のＩＢＤ様症状を示したＤＳＳで処理したＷＴマウスの結腸において強まった。

【００４５】

インターロイキン－２（ＩＬ－２）は、Ｔ細胞によって産生され、Ｔ細胞がエフェクターＴ細胞に分化するのに最も重要なものである。ＩＬ－２は、Ｔ細胞の増殖にも重要である。これは、エフェクターＴ細胞が、ＩＢＤにおいて損傷を引き起こす主な細胞型であると考えられているため、ＩＢＤにとって重要である。

【００４６】

ＩＬ－８（インターロイキン８、別名ＣＸＣＬ８）は、好中球の活性化、ならびに末梢血から組織への及び炎症部位への移動を主に媒介する。ＩＬ－８の組織レベルは、正常な結腸組織と比較して活性なＵＣにおいてより高いこと、ならびにその血清濃度は、ＵＣの内視鏡的及び組織学的重症度に関係していることが見い出されている。ＩＬ－８は、炎症環境及び癌に重要である（例えば、“Ｔｈｅ Ｃｈｅｍｏｋｉｎｅ ＣＸＣＬ８ ｉｎ Ｃａｒｃｉｎｏｇｅｎｅｓｉｓ ａｎｄ Ｄｒｕｇ Ｒｅｓｐｏｎｓｅ”，ＩＳＲＮ

Ｏｎｃｏｌ．２０１３ Ｏｃｔ ９；２０１３：８５９１５４；Ｇａｌｅｓ Ｄｅｔ ａｌ．、及びＦｕｔｕｒｅ Ｏｎｃｏｌ．，２０１０ Ｊａｎ；６（１）：１１１－６．ｄｏｉ：１０．２２１７／ｆｏｎ．０９．１２８；“ＣＸＣＬ８ ａｎｄ ｉｔｓ ｃｏｇｎａｔｅ ｒｅｃｅｐｔｏｒｓ ｉｎ ｍｅｌａｎｏｍａ ｐｒｏｇｒｅｓｓｉｏｎ ａｎｄ ｍｅｔａｓｔａｓｉｓ”，Ｓｉｎｇｈ Ｓ ｅｔ ａｌ．を参照）。特に癌においては、ＩＬ－８は、血管新生を支援することによっても寄与すると考えられている。

【００４７】

本明細書のいずれかの構成、態様、または実施例において、抗体または断片は、ｈＯＸ４０ＬのＯＸ４０受容体への結合に拮抗する。

【００４８】

本明細書のいずれかの構成、態様、または実施例において、抗体または断片は、ｈＯＸ４０ＬのＯＸ４０への結合に拮抗する。

【００４９】

本明細書のいずれかの構成、態様、または実施例において、ＯＸ４０Ｌ受容体は、ヒトＯＸ４０であり得る。

【００５０】

本明細書のいずれかの構成、態様、または実施例において、ヒトは、喘息を患っているか、またはその危険性があり、抗体または断片は、ヒトにおいてＩｇＥを減少させる。

【００５１】

本明細書のいずれかの構成、態様、または実施例において、ヒトは、喘息を患っているか、またはその危険性があり、抗体または断片は、ヒトにおいてＩｇＥを減少させるためのものである。

【００５２】

２．抗体または断片が、内皮細胞が発現するｈＯＸ４０ＬとのヒトＴ細胞によって発現されるｈＯＸ４０受容体の結合を減少させ、かつヒトＴ細胞の増殖を減少させ、抗体または断片が、ＴＮＦアルファ、ＩＬ－２、ＩＬ－３、ＩＬ－４、ＩＬ－５、ＩＬ－６、ＩＬ－８、ＩＬ－９、ＩＬ－１０、ＩＬ－１３、ＩＬ－１７、ＲＡＮＴＥＳ、及びインターフェロンガンマから選択されるサイトカインの分泌を減少させることによって、該ｈＯＸ４０Ｌ媒介性疾患または状態を治療または防止するためのものである、態様１の抗体または断片。

【００５３】

一例では、サイトカインは、（ｉ）ＴＮＦアルファ、（ｉｉ）ＩＬ－２、及び（ｉｉｉ）インターフェロンガンマから選択される。一例では、サイトカインは、ＴＮＦアルファである。一例では、サイトカインは、ＩＬ－２である。一例では、サイトカインは、インターフェロンガンマである。一例では、サイトカインは、（ｉ）及び（ｉｉ）、または（ｉ）及び（ｉｉｉ）、または（ｉｉ）及び（ｉｉｉ）、または（ｉ）～（ｉｉｉ）である。

【００５４】

３．白血球が、多形核白血球、単球、末梢血単核細胞（ＰＢＭＣ）、リンパ球、Ｔ細胞、抗原提示細胞（ＡＰＣ）、樹状細胞（ＤＣ細胞）、及びナチュラルキラー細胞（ＮＫ細胞）から成る群から選択される、態様１の抗体または断片。

【００５５】

一実施形態では、白血球は、末梢血単核細胞（ＰＢＭＣ）及びＴ細胞（例えば、ＰＢＭＣ）である。

【００５６】

４．白血球が固有層リンパ球（ＬＰＬ）を含み、疾患または状態が消化管（ＧＩ管）の疾患または状態である、態様３の抗体または断片。

【００５７】

５．上皮細胞が、胃腸細胞、結腸細胞、腸細胞、及び気道（例えば、肺）上皮細胞から

成る群から選択される細胞を含む、いずれかの先行態様の抗体または断片。
【００５８】
別の実施形態では、上皮細胞は、胃腸細胞、結腸細胞、腸細胞、眼細胞、及び気道（例えば、肺）上皮細胞から成る群から選択される細胞を含む。別の実施形態では、上皮細胞は、胃腸細胞、結腸細胞、腸細胞、及び眼細胞から成る群から選択される細胞を含む。更なる実施形態では、上皮細胞は、眼細胞を含む。
【００５９】
６．該ヒトにおいてＴ細胞の増殖を減少させることによって、該ヒトにおいて該ｈＯＸ４０Ｌ媒介性疾患または状態を治療または防止するための、いずれかの先行態様の抗体または断片。
【００６０】
一例では、抗体または断片は、インビトロアッセイにおいて（例えば、ヒトＤＣ細胞／Ｔ細胞インビトロアッセイ、例えば、以下で更に説明されるものにおいて）Ｔ細胞の増殖の減少に影響する能力があり、故に、かかる抗体または断片のヒトへの投与は、該ヒトにおけるＴ細胞の増殖の減少に繋がる。
【００６１】
７．ｈＯＸ４０Ｌとヒトの白血球との間の相互作用に拮抗して、白血球の増殖を減少させることによって、該ヒトにおいて該ｈＯＸ４０Ｌ媒介性疾患または状態を治療または防止するための、いずれかの先行態様の抗体または断片。
【００６２】
一例では、抗体または断片は、インビトロアッセイにおいて（例えば、ＭＬＲインビトロアッセイ、例えば、以下で更に説明されるものにおいて）白血球（例えば、単核細胞）の増殖の減少に影響する能力があり、故に、かかる抗体または断片のヒトへの投与は、該ヒトにおける白血球の増殖の減少に繋がる。
【００６３】
８．該ヒトにおいてＴ細胞によって媒介されるＯＸ４０Ｌ／ＯＸ４０Ｌ受容体相互作用に拮抗することで、ヒトの白血球の増殖を減少させることによって、該ヒトにおいて該ｈＯＸ４０Ｌ媒介性疾患または状態を治療または防止するための、いずれかの先行態様の抗体または断片。
【００６４】
一例では、抗体または断片は、インビトロアッセイであって、抗体または断片が、該アッセイにおいてＴ細胞によって媒介されるＯＸ４０Ｌ／ＯＸ４０Ｌ受容体相互作用に拮抗する、インビトロアッセイにおいて、白血球（例えば、単核細胞）の増殖の減少に影響する能力があり、故に、かかる抗体または断片のヒトへの投与は、該ヒトにおける白血球の増殖の減少に繋がる。
【００６５】
９．ヒトにおいて、ＴＮＦアルファ、ＩＬ－２、及びインターフェロンガンマから選択されるサイトカインの分泌を減少させることによって、該ヒトにおいて該ｈＯＸ４０Ｌ媒介性疾患または状態を治療または防止するための、いずれかの先行態様の抗体または断片。
【００６６】
一例では、抗体または断片は、ヒトにおいて、（ｉ）ＩＬ－２及びインターフェロンガンマ、（ｉｉ）ＩＬ－２及びＴＮＦアルファ、または（ｉｉｉ）インターフェロンガンマ及びＴＮＦアルファの分泌を減少させることによって、該ヒトにおいて、該ｈＯＸ４０Ｌ媒介性疾患、状態、または上皮細胞損傷を治療または防止するためのものである。
【００６７】
一例では、抗体または断片は、インビトロアッセイにおいて（例えば、ＭＬＲインビトロアッセイ、例えば、以下で更に説明されるものにおいて）、ＩＬ－２、ＴＮＦアルファ、及びインターフェロンガンマから選択されるサイトカインの分泌の減少に影響する能力があり、故に、かかる抗体または断片のヒトへの投与は、該ヒトにおける該選択されたサ

イトカイン（複数可）の分泌の減少に繋がる。
【００６８】
一例では、抗体または断片は、インビトロアッセイにおいて（例えば、ＭＬＲインビトロアッセイ、例えば、以下で更に説明されるものにおいて）ＩＬ－８の分泌の減少に影響する能力があり、故に、かかる抗体または断片のヒトへの投与は、該ヒトにおけるＩＬ－８の分泌の減少に繋がる。
【００６９】
１０．ヒトにおいて、樹状細胞（ＤＣ細胞）のＴ細胞との相互作用によって媒介される該サイトカインの分泌を減少させることによって、該疾患または状態を治療または防止するための、態様９の抗体または断片。
【００７０】
一例では、抗体または断片は、ＤＣ細胞／Ｔ細胞インビトロアッセイ（例えば、以下で更に説明されるもの）において、該サイトカイン（複数可）分泌の減少に影響する能力があり、故に、かかる抗体または断片のヒトへの投与は、該ヒトにおける該サイトカイン（複数可）の分泌の減少に繋がる。
【００７１】
１１．胃腸細胞、結腸細胞、腸細胞、または気道（例えば、肺）細胞損傷が、ヒトにおける該疾患または状態の症状または原因である、いずれかの先行態様の抗体または断片。
【００７２】
別の実施形態では、上皮細胞は、胃腸細胞、結腸細胞、腸細胞、眼細胞、及び気道（例えば、肺）上皮細胞から成る群から選択される細胞を含む。別の実施形態では、上皮細胞は、胃腸細胞、結腸細胞、腸細胞、及び眼細胞から成る群から選択される細胞を含む。更なる実施形態では、上皮細胞は、眼細胞を含む。
【００７３】
１２．ヒトが、炎症性腸疾患（ＩＢＤ）、同種移植片拒絶、移植片対宿主病（ＧｖＨＤ）、糖尿病、または気道炎症を患っているか、またはその危険性があり、該方法が、ヒトにおいて、ＩＢＤ、同種移植片拒絶、ＧｖＨＤ、糖尿病、または気道炎症を治療または防止する、いずれかの先行態様の抗体または断片。
【００７４】
１２ａ．ヒトが、炎症性腸疾患（ＩＢＤ）、同種移植片拒絶、移植片対宿主病（ＧｖＨＤ）、ブドウ膜炎、壊疽性膿皮症、巨細胞性動脈炎、シュニッツラー症候群、非感染性強膜炎、糖尿病、または気道炎症を患っているか、またはその危険性があり、該方法が、ヒトにおいて、ＩＢＤ、同種移植片拒絶、ＧｖＨＤ、ブドウ膜炎、壊疽性膿皮症、巨細胞性動脈炎、シュニッツラー症候群、非感染性強膜炎、糖尿病、または気道炎症を治療または防止する、先行態様のいずれかに記載の抗体または断片。
【００７５】
先行態様のいずれかに記載の例では、ヒトは、炎症性または自己免疫疾患または状態を患っているか、またはその危険性があり、あるいはそのように診断されている。
【００７６】
一例では、自己免疫疾患または状態は、以下から選択される：
急性散在性脳脊髄炎（ＡＤＥＭ）
アジソン病
アレルギー性肉芽腫症及び血管炎またはチャーグストラウス症候群（ＣＳＳ）
脱毛症または円形脱毛症（ＡＡ）
強直性脊椎炎
自己免疫性慢性活動性肝炎（ＣＡＨ）
自己免疫性溶血性貧血
自己免疫性膵炎（ＡＩＰ）
自己免疫性網膜症（ＡＲ）（網膜炎を参照）
自己免疫性血小板減少性紫斑病

自己免疫性好中球減少症
自己免疫性内耳疾患（ＡＩＥＤ）
抗リン脂質抗体症候群（ＡＰＳ）
自己免疫性リンパ球増殖性症候群（ＡＬＰＳ）
ベーチェット症候群
水疱性類天疱瘡
セリアック病
チャーグストラウス症候群（ＣＳＳ）またはアレルギー性肉芽腫性血管炎
小児期慢性水疱性疾患
慢性炎症性脱髄性多発神経炎（ＣＩＤＰ）
瘢痕性類天疱瘡（ＣＰ）
中枢神経系血管炎
クローン病
クリオグロブリン血症
疱疹状皮膚炎（ＤＨ）
円板状エリテマトーデス（ＤＬＥ）
脳脊髄炎
後天性表皮水疱症（ＥＢＡ）
巨細胞性動脈炎（側頭動脈炎を参照）
移植片対宿主病
グレーブス病
ギランバレー症候群
アノー症候群（原発性胆汁性肝硬変を参照）
橋本甲状腺炎（自己免疫性甲状腺炎及び慢性リンパ球性甲状腺炎とも呼ばれる）
過敏性血管炎（ＨＶ）または小血管性血管炎
免疫媒介性不妊症
炎症性腸疾患
インスリン依存性糖尿病
中枢神経系の孤発性脈管炎またはＣＮＳ脈管炎
アイザックス症候群：神経性筋強直症
川崎病（ＫＤ）
ランバートイートン筋無力症候群（ＬＥＭＳ）
線状ＩｇＡ病
ループス（全身性エリテマトーデスを参照）
メニエール病
顕微鏡的多発血管炎（ＭＰＡ）
混合性結合組織疾患またはＭＣＴＤ
単クローン性免疫グロブリン血症
重症筋無力症
多発性硬化症
多巣性運動ニューロパチー
神経性筋強直症またはアイザックス症候群
好中球減少症（自己免疫性好中球減少症を参照）
卵巣炎
オプソクローヌスミオクローヌス症候群
精巣炎
神経学的腫瘍随伴障害
尋常性天疱瘡
落葉状天疱瘡（ＰＦ）
妊娠性類天疱瘡（ＰＧ）

悪性貧血
腫瘍随伴性天疱瘡（ＰＮＰ）
多発性血管炎（顕微鏡的多発血管炎を参照）
結節性多発性動脈炎（ＰＡＮ）
多発性筋炎／皮膚筋炎
リウマチ性多発筋痛症
原発性胆汁性肝硬変（ＰＢＣ）（アノー症候群とも呼ばれる）
原発性硬化性胆管炎（ＰＳＣ）
レイノー現象
リカバリン関連網膜炎（ＲＡＲ）（網膜炎を参照）
反応性関節炎（以前はライター症候群として知られた）
網膜炎
リウマチ性関節炎（ＲＡ）
サルコイドーシス
硬化性胆管炎（原発性硬化性胆管炎を参照）
シェーグレン症候群
全身性壊死性血管炎
スティフマン症候群またはメルシュヴォルトマン症候群
全身性エリテマトーデス
全身性硬化症（強皮症）
側頭動脈炎または巨細胞性動脈炎（ＧＣＶ）
高安動脈炎
閉塞性血栓血管炎またはバージャー病
甲状腺機能低下症を伴う甲状腺炎
甲状腺機能亢進症を伴う甲状腺炎
多腺性自己免疫症候群１型（ＰＡＳ）
多腺性自己免疫症候群２型
脈管炎
ウェゲナー肉芽腫症。

【００７７】

いずれかの態様、構成、または実施形態の一例において、ヒトは、ブドウ膜炎を患っている。例えば、ブドウ膜炎は、本質的に非感染性及び／または自己免疫性である、即ち、非感染性ブドウ膜炎であるか、または自己免疫性ブドウ膜炎である。例えば、非感染性／自己免疫性ブドウ膜炎は、ベーチェット病、フックス虹彩毛様体炎、多発血管性肉芽腫症、ＨＬＡ－Ｂ２７関連ブドウ膜炎、若年性特発性関節炎、サルコイドーシス、椎骨関節炎、交感性眼炎、尿細管間質性腎炎、またはブドウ膜炎症候群によって引き起こされ、及び／またはそれらと関連付けられる。一例では、ブドウ膜炎は、本質的に全身性である、即ち、全身性ブドウ膜炎である。例えば、全身性ブドウ膜炎は、強直性脊椎炎、ベーチェット病、慢性肉芽腫性疾患、腱付着部炎、炎症性腸疾患、若年性リウマチ性関節炎、川崎病、多発性硬化症、結節性多発性動脈炎、乾癬性関節炎、反応性関節炎、サルコイドーシス、全身性エリテマトーデス、フォークト・小柳・原田症候群、またはウィップル病によって引き起こされ、及び／またはそれらと関連付けられる。

【００７８】

いずれかの態様、構成、または実施形態の一例において、ヒトは、壊疽性膿皮症、巨細胞性動脈炎、シュニッツラー症候群、または非感染性強膜炎を患っている。一例では、ヒトは、壊疽性膿皮症を患っている。一例では、ヒトは、巨細胞性動脈炎を患っている。一例では、ヒトは、シュニッツラー症候群を患っている。一例では、ヒトは、非感染性強膜炎を患っている。

【００７９】

いずれかの態様、構成、または実施形態の一例において、ヒトは、自己免疫疾患若しく

は状態、全身炎症性疾患若しくは状態、または移植片拒絶から選択される、ｈＯＸ４０Ｌ媒介性疾患または状態、例えば、炎症性腸疾患（ＩＢＤ）、クローン病、リウマチ性関節炎、移植片拒絶、同種移植片拒絶、移植片対宿主病（ＧｖＨＤ）、潰瘍性大腸炎、全身性エリテマトーデス（ＳＬＥ）、糖尿病、ブドウ膜炎、強直性脊椎炎、接触過敏症、多発性硬化症、及びアテローム性動脈硬化症、特にＧｖＨＤを患っている。別の実施形態では、ヒトは、多臓器移植片拒絶を患っているか、またはその危険性がある。

【００８０】

１３．ｈＯＸ４０Ｌに特異的に結合し、該ｈＯＸ４０Ｌへの結合について、０２Ｄ１０、１０Ａ０７、０９Ｈ０４、及び１９Ｈ０１から成る群から選択される抗体と競合する、抗体またはその断片。

【００８１】

いずれかの態様、構成、または実施形態の一例において、競合は、表面プラズモン共鳴（ＳＰＲ）によって決定され、かかる技法は、当業者には容易に明らかである。ＳＰＲは、Ｂｉａｃｏｒｅ（商標）、Ｐｒｏｔｅｏｎ（商標）、または別の標準的なＳＰＲ技法を使用して実行することができる。かかる競合は、例えば、同一のまたは重複するｈＯＸ４０Ｌのエピトープに結合する抗体／断片に起因し得る。いずれかの態様、構成、または実施形態の一例において、競合は、ＥＬＩＳＡによって決定され、かかる技法は、当業者には容易に明らかである。いずれかの態様、構成、または実施形態の一例において、競合は、均一時間分解蛍光（ＨＴＲＦ）によって決定され、かかる技法は、当業者には容易に明らかである。いずれかの態様、構成、または実施形態の一例において、競合は、蛍光活性化細胞選別（ＦＡＣＳ）によって決定され、かかる技法は、当業者には容易に明らかとなる。一態様では、ＨＴＲＦ、ＥＬＩＳＡ、及び／またはＦＡＣＳ法は、後述の実施例に記載の通りに実行される。

【００８２】

１４．抗体または断片が、態様１～１２のいずれか１つに従う、態様１３の抗体または断片。

【００８３】

１５．ラムダ軽鎖可変ドメイン（任意選択でヒトである）を含む、いずれかの先行態様の抗体または断片。

【００８４】

本発明のいずれかの態様、構成、または実施形態の一例において、抗体または断片の可変ドメインは、ヒトであるか、またはヒト化されている。加えて、任意選択で、抗体または断片は、ヒトまたはヒト化定常領域（例えば、ヒトＦｃ及び／またはヒトＣＬ）を更に含む。本発明のいずれかの態様の一例において、抗体または断片の可変ドメインは、トランスジェニック動物（例えば、齧歯動物、マウス、ラット、ウサギ、ニワトリ、ヒツジ、ラクダ、またはサメ）によって産生される。本発明のいずれかの態様の一例において、抗体または断片の可変ドメインは、ファージディスプレイ、リボソームディスプレイ、または酵母ディスプレイによって産生または特定される。

【００８５】

本発明のいずれかの態様、構成、または実施形態の一例において、抗体または断片は、組み換えである。

【００８６】

本発明のいずれかの態様、構成、または実施形態の一例において、抗体または断片は、組み換えの哺乳動物、細菌、昆虫、植物、または酵母細胞によって産生される。一例では、哺乳動物細胞は、ＣＨＯまたはＨＥＫ２９３細胞であり、抗体または断片は、ＣＨＯまたはＨＥＫ２９３細胞グリコシル化を含む。

【００８７】

本発明のいずれかの態様、構成、または実施形態の一例において、抗体または断片は、単離されている。

【００８８】

１６．いずれかの先行態様の抗体または断片であって、
ａ．０２Ｄ１０（抗体または断片は、該ｈＯＸ４０Ｌへの結合について０２Ｄ１０と競合する）、
ｂ．１０Ａ０７（抗体または断片は、該ｈＯＸ４０Ｌへの結合について１０Ａ０７と競合する）、
ｃ．０９Ｈ０４（抗体または断片は、該ｈＯＸ４０Ｌへの結合について０９Ｈ０４と競合する）、及び
ｄ．１９Ｈ０１（抗体または断片は、該ｈＯＸ４０Ｌへの結合について１９Ｈ０１と競合する）のＨＣＤＲ１から成る群から選択されるＨＣＤＲ１配列を含むＶＨドメインを含む、抗体または断片。

【００８９】
１７．いずれかの先行態様の抗体または断片であって、
ａ．０２Ｄ１０（抗体または断片は、該ｈＯＸ４０Ｌへの結合について０２Ｄ１０と競合する）、
ｂ．１０Ａ０７（抗体または断片は、該ｈＯＸ４０Ｌへの結合について１０Ａ０７と競合する）、
ｃ．０９Ｈ０４（抗体または断片は、該ｈＯＸ４０Ｌへの結合について０９Ｈ０４と競合する）、及び
ｄ．１９Ｈ０１（抗体または断片は、該ｈＯＸ４０Ｌへの結合について１９Ｈ０１と競合する）のＨＣＤＲ２から成る群から選択されるＨＣＤＲ２配列を含むＶＨドメインを含む、抗体または断片。

【００９０】
１８．いずれかの先行態様の抗体または断片であって、
ａ．０２Ｄ１０（抗体または断片は、該ｈＯＸ４０Ｌへの結合について０２Ｄ１０と競合する）、
ｂ．１０Ａ０７（抗体または断片は、該ｈＯＸ４０Ｌへの結合について１０Ａ０７と競合する）、
ｃ．０９Ｈ０４（抗体または断片は、該ｈＯＸ４０Ｌへの結合について０９Ｈ０４と競合する）、及び
ｄ．１９Ｈ０１（抗体または断片は、該ｈＯＸ４０Ｌへの結合について１９Ｈ０１と競合する）のＨＣＤＲ３から成る群から選択されるＨＣＤＲ３配列を含むＶＨドメインを含む、抗体または断片。

【００９１】
１９．いずれかの先行態様の抗体または断片であって、（ｉ）ＣＤＲ１及び２、（ｉｉ）ＣＤＲ１及び３、（ｉｉｉ）ＣＤＲ２及び３、または（ｉｖ）ＣＤＲ１、２、及び３の配列：
ａ．抗体若しくは断片が、該ｈＯＸ４０Ｌへの結合について０２Ｄ１０と競合する、態様１６～１８の（ａ）において挙げたもの、
ｂ．抗体若しくは断片が、該ｈＯＸ４０Ｌへの結合について１０Ａ０７と競合する、態様１６～１８の（ｂ）において挙げたもの、
ｃ．抗体若しくは断片が、該ｈＯＸ４０Ｌへの結合について０９Ｈ０４と競合する、態様１６～１８の（ｃ）において挙げたもの、または
ｄ．抗体若しくは断片が、該ｈＯＸ４０Ｌへの結合について１９Ｈ０１と競合する、態様１６～１８の（ｄ）において挙げたもの、を含むＶＨドメインを含む、抗体または断片。

【００９２】
２０．配列リスト中のＶＨアミノ酸配列から成る群から選択されるアミノ酸配列を含むＶＨドメインを含む、いずれかの先行態様の抗体または断片。

【００９３】
一態様では、本発明は、配列リスト中のＶＨアミノ酸配列から成る群から選択されるア

ミノ酸配列を含むＶＨドメインを含む、抗ｈＯＸ４０Ｌ抗体または断片（任意選択で、本明細書に挙げる他の態様に従う）を提供する。一態様では、ＶＨドメインは、配列番号２、配列番号３４、配列番号６６、配列番号９４、配列番号１２２、配列番号１２４、配列番号１２６、配列番号１２８、配列番号１３２、または配列番号１３４から選択されるアミノ酸配列を含む。

【００９４】

本発明の別の例では、抗体または断片は、以下の配列リストに提示するＶＨドメインアミノ酸配列を含む。加えてまたはあるいは、抗体または断片は、以下の配列リストに提示するＨＣＤＲ１ドメインアミノ酸配列（即ち、配列番号４、配列番号１０、配列番号３６、配列番号４２、配列番号６８、配列番号７４、配列番号９６、または配列番号１０２、特に、配列番号３６または配列番号４２）を含む。加えてまたはあるいは、抗体または断片は、以下の配列リストに提示するＨＣＤＲ２ドメインアミノ酸配列（即ち、配列番号６、配列番号１２、配列番号３８、配列番号４４、配列番号７０、配列番号７６、配列番号９８、または配列番号１０４、特に、配列番号３８または配列番号４４）を含む。加えてまたはあるいは、抗体または断片は、以下の配列リストに提示するＨＣＤＲ３ドメインアミノ酸配列（即ち、配列番号８、配列番号１４、配列番号４０、配列番号４６、配列番号７２、配列番号７８、配列番号１００、または配列番号１０６、特に、配列番号４０または配列番号４６）を含む。

【００９５】

本発明の一例では、抗体または断片は、以下の配列リストに提示するＶＬドメインアミノ酸配列を含む。加えてまたはあるいは、抗体または断片は、以下の配列リストに提示するＬＣＤＲ１ドメインアミノ酸配列（即ち、配列番号１８、配列番号２４、配列番号５０、配列番号５６、配列番号８２、配列番号８８、配列番号１１０、または配列番号１１６、特に、配列番号５０または配列番号５６）を含む。加えてまたはあるいは、抗体または断片は、以下の配列リストに提示するＬＣＤＲ２ドメインアミノ酸配列（即ち、配列番号２０、配列番号２６、配列番号５２、配列番号５８、配列番号８４、配列番号９０、配列番号１１２、または配列番号１１８、特に、配列番号５２または配列番号５８）を含む。加えてまたはあるいは、抗体または断片は、以下の配列リストに提示するＬＣＤＲ３ドメインアミノ酸配列（即ち、配列番号２２、配列番号２８、配列番号５４、配列番号６０、配列番号８６、配列番号９２、配列番号１１４、または配列番号１２０、特に、配列番号５４または配列番号６０）を含む。

【００９６】

本明細書のいずれかの態様の一例において、抗体または断片は、配列リスト中の重鎖定常領域配列番号（即ち、配列番号１２６、１２８、１３２、または１３４のうちのいずれか、特に、配列番号１２８の定常領域）から成る群から選択される定常領域を含む重鎖、及び任意選択で、態様１９または２０に挙げたＶＨドメインを含む。一例では、抗体または断片は、かかる重鎖の２つのコピーを含む。別の例では、重鎖は、齧歯動物、ラット、マウス、ヒト、ウサギ、ニワトリ、ラクダ、ヒツジ、ウシ、非ヒト霊長類、またはサメの定常領域（例えば、Ｆｃ）、特に、マウスの定常領域を含む。

【００９７】

本明細書のいずれかの態様の一例において、抗体または断片は、ガンマ（例えば、ヒトガンマ）定常領域、例えば、ヒトガンマ１定常領域を含む重鎖を含む。本明細書のいずれかの態様の別の例では、断片の抗体は、ヒトガンマ４定常領域を含む。別の実施形態では、重鎖定常領域は、Ｆｃ－γ受容体に結合せず、例えば、Ｌｅｕ２３５Ｇｌｕ変異（即ち、野生型ロイシン残基のグルタミン酸残基への変異）を含む。別の実施形態では、重鎖定常領域は、Ｓｅｒ２２８Ｐｒｏ変異を含んで、安定性を増加させる。別の実施形態では、重鎖定常領域は、Ｌｅｕ２３５Ｇｌｕ変異とＳｅｒ２２８Ｐｒｏ変異との両方を含むＩｇＧ４である。この重鎖定常領域を、本明細書では「ＩｇＧ４－ＰＥ」と称する。

【００９８】

本明細書のいずれかの態様の一例において、抗体または断片は、キメラであり、例えば

、これは、ヒト可変ドメイン及び非ヒト（例えば、マウスなどの、齧歯動物、マウス、またはラット）の定常領域を含む。

【００９９】

２１．該ＶＨドメインの第１及び第２のコピーを含む、態様１６～２０のいずれか１つの抗体または断片。

【０１００】

２２．いずれかの先行態様の抗体または断片であって、

ａ．０２Ｄ１０（抗体または断片は、該ｈＯＸ４０Ｌへの結合について０２Ｄ１０と競合する）、

ｂ．１０Ａ０７（抗体または断片は、該ｈＯＸ４０Ｌへの結合について１０Ａ０７と競合する）、

ｃ．０９Ｈ０４（抗体または断片は、該ｈＯＸ４０Ｌへの結合について０９Ｈ０４と競合する）、及び

ｄ．１９Ｈ０１（抗体または断片は、該ｈＯＸ４０Ｌへの結合について１９Ｈ０１と競合する）のＬＣＤＲ１から成る群から選択されるＬＣＤＲ１配列を含むＶＬドメインを含む、抗体または断片。

【０１０１】

２３．いずれかの先行態様の抗体または断片であって、

ａ．０２Ｄ１０（抗体または断片は、該ｈＯＸ４０Ｌへの結合について０２Ｄ１０と競合する）、

ｂ．１０Ａ０７（抗体または断片は、該ｈＯＸ４０Ｌへの結合について１０Ａ０７と競合する）、

ｃ．０９Ｈ０４（抗体または断片は、該ｈＯＸ４０Ｌへの結合について０９Ｈ０４と競合する）、及び

ｄ．１９Ｈ０１（抗体または断片は、該ｈＯＸ４０Ｌへの結合について１９Ｈ０１と競合する）のＬＣＤＲ２から成る群から選択されるＬＣＤＲ２配列を含むＶＬドメインを含む、抗体または断片。

【０１０２】

２４．いずれかの先行態様の抗体または断片であって、

ａ．０２Ｄ１０（抗体または断片は、該ｈＯＸ４０Ｌへの結合について０２Ｄ１０と競合する）、

ｂ．１０Ａ０７（抗体または断片は、該ｈＯＸ４０Ｌへの結合について１０Ａ０７と競合する）、

ｃ．０９Ｈ０４（抗体または断片は、該ｈＯＸ４０Ｌへの結合について０９Ｈ０４と競合する）、及び

ｄ．１９Ｈ０１（抗体または断片は、該ｈＯＸ４０Ｌへの結合について１９Ｈ０１と競合する）のＬＣＤＲ３から成る群から選択されるＬＣＤＲ３配列を含むＶＬドメインを含む、抗体または断片。

【０１０３】

２５．いずれかの先行態様の抗体または断片であって、（ｉ）ＣＤＲ１及び２、（ｉｉ）ＣＤＲ１及び３、（ｉｉｉ）ＣＤＲ２及び３、または（ｉｖ）ＣＤＲ１、２、及び３の配列：

ａ．抗体若しくは断片が、該ｈＯＸ４０Ｌへの結合について０２Ｄ１０と競合する、態様２２～２４の（ａ）において挙げたもの、

ｂ．抗体若しくは断片が、該ｈＯＸ４０Ｌへの結合について１０Ａ０７と競合する、態様２２～２４の（ｂ）において挙げたもの、

ｃ．抗体若しくは断片が、該ｈＯＸ４０Ｌへの結合について０９Ｈ０４と競合する、態様２２～２４の（ｃ）において挙げたもの、または

ｄ．抗体若しくは断片が、該ｈＯＸ４０Ｌへの結合について１９Ｈ０１と競合する、態様２２～２４の（ｄ）において挙げたもの、を含むＶＬドメインを含む、抗体または断

片。
２６．配列リスト中のＶＬアミノ酸配列から成る群から選択されるアミノ酸配列を含むＶＬドメインを含む、いずれかの先行態様の抗体または断片。
【０１０４】
本発明の一態様では、配列リスト中のＶＬアミノ酸配列（即ち、配列番号１６、配列番号４８、配列番号８０、または配列番号１０８、特に、配列番号４８）から成る群から選択されるアミノ酸配列を含むＶＬドメインを含む、抗ｈＯＸ４０Ｌ抗体または断片（任意選択で、本明細書のいずれかの他の態様に従う）が提供される。
【０１０５】
本明細書のいずれかの態様の一例において、抗体または断片は、配列リスト中の軽鎖定常領域配列（即ち、配列番号１３６、配列番号１３８、配列番号１４０、配列番号１４２、配列番号１４４、配列番号１４６、配列番号１４８、配列番号１５２、配列番号１５４、配列番号１５６、配列番号１５８、配列番号１６０、配列番号１６２、配列番号１６４、または配列番号１６６）から成る群から選択される定常領域を含む軽鎖（例えば、ラムダ軽鎖）、及び任意選択で、態様２５または２６に挙げたＶＬドメイン（例えば、ラムダＶＬ）を含む。一例では、抗体または断片は、かかる軽鎖の２つのコピー（また任意選択で、上記の重鎖の２つのコピー）を含む。別の例では、軽鎖は、齧歯動物、ラット、マウス、ヒト、ウサギ、ニワトリ、ラクダ、ヒツジ、ウシ、非ヒト霊長類、またはサメの定常領域を含む。
【０１０６】
本明細書のいずれかの態様の一例において、抗体または断片は、配列リスト中の軽鎖定常領域配列（即ち、配列番号１３６、配列番号１３８、配列番号１４０、配列番号１４２、配列番号１４４、配列番号１４６、配列番号１４８、配列番号１５２、配列番号１５４、配列番号１５６、配列番号１５８、配列番号１６０、配列番号１６２、配列番号１６４、または配列番号１６６）から成る群から選択される定常領域を含む軽鎖（例えば、カッパ軽鎖）、及び任意選択で、態様２５または２６に挙げたＶＬドメイン（例えば、カッパＶＬ）を含む。一例では、抗体または断片は、かかる軽鎖の２つのコピー（また任意選択で、上記の重鎖の２つのコピー）を含む。別の例では、軽鎖は、齧歯動物、ラット、マウス、ヒト、ウサギ、ニワトリ、ラクダ、ヒツジ、ウシ、非ヒト霊長類、またはサメの定常領域を含む。
【０１０７】
一例では、抗体または断片は、配列リスト中の軽鎖定常領域配列（即ち、配列番号１４６、配列番号１４８、配列番号１５２、配列番号１５４、配列番号１５６、配列番号１５８、配列番号１６０、配列番号１６２、配列番号１６４、または配列番号１６６）から成る群から選択される定常領域を含むラムダ軽鎖、及び任意選択でラムダＶＬドメインを含む。
【０１０８】
一例では、抗体または断片は、配列リスト中の軽鎖定常領域配列（即ち、配列番号１３６、配列番号１３８、配列番号１４０、配列番号１４２、または配列番号１４４）から成る群から選択される定常領域を含むカッパ軽鎖、及び任意選択で、カッパＶＬドメインを含む。
【０１０９】
一例では、抗体または断片のＶＬドメインは、ラムダ軽鎖可変ドメインである。一例では、抗体または断片のＶＬドメインは、カッパ軽鎖可変ドメインである。
【０１１０】
２７．該ＶＬドメインの第１及び第２のコピーを含む、態様２２～２６のいずれか１つの抗体または断片。
【０１１１】
２８．ｈＯＸ４０Ｌが、例えば、内皮細胞（例えば、気道または消化管内皮細胞）上などのヒト細胞に表面発現されたｈＯＸ４０Ｌである、いずれかの先行態様の抗体または断

片。
【０１１２】
別の実施形態では、上皮細胞は、胃腸細胞、結腸細胞、腸細胞、眼細胞、及び気道（例えば、肺）上皮細胞から成る群から選択される細胞を含む。別の実施形態では、上皮細胞は、胃腸細胞、結腸細胞、腸細胞、及び眼細胞から成る群から選択される細胞を含む。更なる実施形態では、上皮細胞は、眼細胞を含む。
【０１１３】
２９．抗体または断片が、インビトロでの混合リンパ球反応（ＭＬＲ）アッセイにおけるｈＯＸ４０Ｌの存在下でのヒトＰＢＭＣまたはＴ細胞の増殖を、ｈＯＸ４０Ｌに特異的な抗体の不在下でのインビトロでの対照ＭＬＲアッセイにおけるｈＯＸ４０Ｌの存在下でのヒトＰＢＭＣまたはＴ細胞の増殖と比較して、少なくとも２０、３０、４０、５０、または６０％減少させる、いずれかの先行態様の抗体または断片。好適なアッセイの説明は、以下の実施例で提供する。
【０１１４】
３０．アッセイにおけるｈＯＸ４０Ｌが、ヒト樹状細胞（ＤＣ細胞）上に表面発現される、態様２９の抗体または断片。
【０１１５】
好適なアッセイの説明は、以下の実施例で提供する。
【０１１６】
３１．抗体または断片が、ｈＯＸ４０Ｌの存在下でインビトロでｈＯＸ４０受容体を発現しているヒトＨＴ－１０８０細胞におけるＮＦ－κＢ活性を減少させる、いずれかの先行態様の抗体または断片。
【０１１７】
一例では、抗体または断片、ＮＦ－κＢ活性の減少は、インビトロでのＨＴ－１０８０細胞（ＡＴＣＣ（登録商標）ＣＣＬ－１２１）（任意選択で、ｈＯＸ４０の存在下でｈＯＸ４０受容体とトランスフェクトした）によるＩＬ－８分泌の減少の検出によって決定される。
【０１１８】
３２．ｈＯＸ４０Ｌの存在下でインビトロでｈＯＸ４０受容体を発現しているヒトＨＴ－１０８０細胞からのＩＬ－８分泌を減少させる、いずれかの先行態様の抗体または断片。
【０１１９】
３３．抗体または断片が、ＩＬ－８分泌を、ｈＯＸ４０Ｌに特異的な抗体の不在下、ｈＯＸ４０Ｌの存在下におけるインビトロでのｈＯＸ４０受容体を発現しているＨＴ－１０８０細胞によるＩＬ－８産生と比較して、少なくとも２０、３０、４０、５０、または６０％減少させる、態様３２の抗体または断片。
【０１２０】
３４．抗体または断片が、インビトロでのｈＯＸ４０Ｌ刺激性のヒトＴ細胞増殖を減少させる、いずれかの先行態様の抗体または断片。
【０１２１】
３５．抗体または断片が、インビトロでのヒトＴ細胞からのｈＯＸ４０Ｌ刺激性のＩＬ－２分泌を減少させる、いずれかの先行態様の抗体または断片。
【０１２２】
３６．抗体または断片が、ヒト樹状細胞（ＤＣ細胞）のヒトＴ細胞との相互作用によって媒介されるサイトカイン分泌を減少させ、サイトカインが、ＴＮＦアルファ、ＩＬ－２、ＩＬ－３、ＩＬ－４、ＩＬ－５、ＩＬ－６、ＩＬ－８、ＩＬ－９、ＩＬ－１０、ＩＬ－１３、ＩＬ－１７、ＲＡＮＴＥＳ、及びインターフェロンガンマのうちの１つ、２つ、それ以上、または全てから選択される、いずれかの先行態様の抗体または断片。
【０１２３】
これは、例えば、ＭＬＲインビトロアッセイ（例えば、ＤＣ／Ｔ細胞ＭＬＲインビトロ

アッセイ）を使用して評定され得る。好適なアッセイの説明は、以下の実施例で提供する。

【０１２４】

一例では、ＤＣ細胞は、例えば、ＤＣ細胞がＴ細胞のヒト源とは異なるヒトからのものであるときに可能であるように、Ｔ細胞と不整合、例えば、ＭＨＣ不整合である。一例では、ＤＣ細胞は、ヒトＧＭＣＳＦ及びＩＬ－４を持つヒト単球のインビトロでの誘導によって産生される。

【０１２５】

３７．抗体または断片が、インターフェロンガンマ分泌を、ｈＯＸ４０Ｌに特異的である抗体の不在下でのヒト樹状細胞（ＤＣ細胞）のヒトＴ細胞との相互作用によって媒介されるインターフェロンガンマの産生と比較して、少なくとも２０、３０、４０、５０、または６０％減少させる、いずれかの先行態様の抗体または断片。

【０１２６】

３８．抗体または断片が、ＴＮＦアルファ分泌を、ｈＯＸ４０Ｌに特異的である抗体の不在下でのヒト樹状細胞（ＤＣ細胞）のヒトＴ細胞との相互作用によって媒介されるＴＮＦアルファの産生と比較して、少なくとも２０、３０、４０、５０、または６０％減少させる、いずれかの先行態様の抗体または断片。

【０１２７】

３９．抗体または断片が、ＩＬ－２分泌を、ｈＯＸ４０Ｌに特異的である抗体の不在下でのヒト樹状細胞（ＤＣ細胞）のヒトＴ細胞との相互作用によって媒介されるＩＬ－２の産生と比較して、少なくとも１０、２０、３０、４０、５０、または６０％減少させる、いずれかの先行態様の抗体または断片。

【０１２８】

４０．抗体または断片が、ヒト末梢血単核細胞（ＰＢＭＣ）混合リンパ球（ＭＬＲ）アッセイにおいて、サイトカイン分泌（例えば、白血球サイトカイン分泌）を減少させ、サイトカインが、ＴＮＦアルファ、ＩＬ－２、ＩＬ－４、ＩＬ－３、ＩＬ－６、ＩＬ－８、ＩＬ－１０、ＩＬ－１７、ＲＡＮＴＥＳ、及びインターフェロンガンマのうちの１つ、２つ、それ以上、または全てから選択される、いずれかの先行態様の抗体または断片。

【０１２９】

４１．抗体または断片が、インターフェロンガンマ分泌を、ｈＯＸ４０Ｌに特異的である抗体の不在下でのヒトＰＢＭＣ　ＭＬＲアッセイにおけるインターフェロンガンマの産生と比較して、少なくとも２０、３０、４０、５０、または６０％減少させる、いずれかの先行態様の抗体または断片。

【０１３０】

一実施形態では、比較は、抗体の不在下でのヒトＰＢＭＣ　ＭＬＲアッセイにおけるインターフェロンガンマの産生に対してされる。

【０１３１】

４２．抗体または断片が、ＴＮＦアルファ分泌を、ｈＯＸ４０Ｌに特異的である抗体の不在下でのヒトＰＢＭＣ　ＭＬＲアッセイにおけるＴＮＦアルファの産生と比較して、少なくとも２０、３０、４０、５０、または６０％減少させる、いずれかの先行態様の抗体または断片。

【０１３２】

４３．抗体または断片が、ＩＬ－２分泌を、ｈＯＸ４０Ｌに特異的である抗体の不在下でのヒトＰＢＭＣ　ＭＬＲアッセイにおけるＩＬ－２の産生と比較して、少なくとも１０、２０、３０、４０、５０、または６０％減少させる、いずれかの先行態様の抗体または断片。

【０１３３】

４４．細胞が初代細胞である、態様３６～４３のいずれか１つの抗体または断片。

【０１３４】

「初代細胞」は、ヒト中の細胞、またはインビトロでの本発明の抗体若しくは断片への

結合のための患者から採取された細胞（例えば、ヒトにおけるＯＸ４０Ｌの状況または疾患／状態の状況の診断方法において有用であり得る）を指す。初代細胞は、本明細書で使用する場合、典型的には多くのインビトロでの培養を受けてきたヒト細胞株の細胞でない。この実施形態においてｈＯＸ４０Ｌが受容体に結合するのを特異的に阻害する本発明の抗体または断片の能力は、ｈＯＸ４０Ｌ媒介性疾患または状態を患っているかまたはその危険性があるヒト患者において細胞に対処するための可用性の直接的指標を提供するため、有利である。

【０１３５】

４５．抗体または断片が、ＨＴＲＦ（均一時間分解蛍光）アッセイにおいて1×10^{-8}以下のIC_{50}で、ｈＯＸ４０ＬのｈＯＸ４０Ｌ受容体（例えば、ｈＯＸ４０）への結合を阻害する、いずれかの先行態様の抗体または断片。

【０１３６】

一例では、IC_{50}は、1×10^{-8}～1×10^{-11}の範囲、または1×10^{-9}～1×10^{-10}の範囲である。

【０１３７】

４６．いずれの先行態様の抗体若しくは断片、及び希釈剤、賦形剤、または担体を含み、任意選択で、抗炎症薬を更に含む、ＯＸ４０Ｌ媒介性の状態または疾患を治療及び／または防止するための薬学的組成物。

【０１３８】

一例では、抗炎症薬は、独立して、コルチコステロイド（例えば、メチルプレドニゾロン）、抗ＩＬ１２／ＩＬ－２３抗体（例えば、ウステキヌマブ）、抗ＶＬＡ４抗体（例えば、ナタリズマブ）、抗ＬＦＡ１抗体、抗補体Ｃ５抗体（例えば、エクリズマブ）、抗ａ４ｂ７インテグリン抗体（例えば、ベドリズマブ）、抗ＩＬ６抗体（例えば、トシリズマブ）、抗ＩＬ２Ｒ抗体（例えば、バシリキスマブ（ｂａｓｉｌｉｘｕｍａｂ））、または抗ＴＮＦａ抗体／ＴＮＦａ－Ｆｃ分子（例えば、エタネルセプト、アダリムマブ、インフリキシマブ、ゴリムマブ、セトリズマブペゴール）から成る群から選択される。一例では、抗炎症薬は、独立して、コルチコステロイド（例えば、メチルプレドニゾロン）及び抗ＬＦＡ１抗体から成る群から選択される。

【０１３９】

４７．ＯＸ４０Ｌ媒介性の状態または疾患を治療及び／または防止するための薬学的組成物またはキットであって、本発明の抗体または断片（及び任意選択で、抗炎症薬）を、任意選択で、ヒトにおける該疾患または状態の治療及び／または防止に使用するためのラベルまたは説明書と組み合わせて含み、任意選択で、ラベルまたは説明書が、販売承認番号（例えば、ＦＤＡまたはＥＭＡ承認番号）を含み、任意選択で、キットが、抗体または断片を含むＩＶまたは注射機器を含む、薬学的組成物またはキット。

【０１４０】

４８．態様１～４５のいずれか１つにおいて挙げた抗体のＨＣＤＲ３をコードする核酸。

【０１４１】

一実施形態では、本明細書のＨＣＤＲは、カバット命名法に従う。別の実施形態では、本明細書のＨＣＤＲは、ＩＭＧＴ命名法に従う。

【０１４２】

４９．配列リスト中のＨＣＤＲ３配列と、少なくとも８０、８５、９０、９５、９６、９７、９８、若しくは９９％同一であるか、または１００％同一であるヌクレオチド配列を含む、態様４８の核酸。

【０１４３】

一態様では、本発明は、抗ｈＯＸ４０Ｌ抗体のＶＨドメインをコードするヌクレオチド配列を含む核酸を提供し、このヌクレオチド配列は、配列リスト中のＨＣＤＲ３配列と、少なくとも８０、８５、９０、９５、９６、９７、９８、若しくは９９％同一であるか、または１００％同一である、ＨＣＤＲ３配列を含む。任意選択で、抗体は、本明細書の任

意の他の態様に従う。

【０１４４】

別の実施形態では、１、２、または３個のヌクレオチド置換を除いて、配列リスト中のＨＣＤＲ３配列と１００％同一であるヌクレオチド配列を含む、態様４８の核酸が提供され、各置換は、アミノ酸変化を産生しないか、または対応するタンパク質配列において保存的アミノ酸変化を産生する（即ち、ヌクレオチド置換が同義的置換である）。当業者であれば、保存的アミノ酸変化に精通しているであろう。

【０１４５】

アミノ酸置換は、アミノ酸が異なる天然型アミノ酸残基で代置される改変を含む。かかる置換は、「保存的」として分類されてもよく、この場合、ポリペプチド中に含有されるアミノ酸残基は、極性、側鎖官能基、またはサイズのいずれかに関して同様の特徴を持つ別の天然型アミノ酸で代置される。かかる保存的置換は当該技術分野で公知である。本発明に包含される置換はまた、「非保存的」であってもよく、ここでは、ペプチド中に存在するアミノ酸残基は、異なる基からの天然型アミノ酸などの異なる特性を有するアミノ酸で置換（例えば、荷電または疎水性アミノ酸をアラニンで置換）されるか、あるいは、天然型アミノ酸は、非在来型アミノ酸で置換される。

【０１４６】

加えてまたはあるいは、１、２、３、４、５、６、または７個の同義的ヌクレオチド置換、及び対応するタンパク質配列において保存的アミノ酸変化を産生する、０、１、２、または３個のヌクレオチド置換を除いて、配列リスト中のＨＣＤＲ３配列と１００％同一であるヌクレオチド配列を含む、態様４９の核酸が提供される。

【０１４７】

５０．任意選択で、核酸が態様４８または４９に従う、態様１～４５のいずれか１つにおいて挙げた抗体のＨＣＤＲ２をコードする核酸。

【０１４８】

５１．配列リスト中のＨＣＤＲ２配列と、少なくとも８０、８５、９０、９５、９６、９７、９８、若しくは９９％同一であるか、または１００％同一であるヌクレオチド配列を含む、態様５０の核酸。

【０１４９】

一態様では、本発明は、抗ｈＯＸ４０Ｌ抗体のＶＨドメインをコードするヌクレオチド配列を含む核酸を提供し、このヌクレオチド配列は、配列リスト中のＨＣＤＲ２配列と、少なくとも８０、８５、９０、９５、９６、９７、９８、若しくは９９％同一であるか、または１００％同一である、ＨＣＤＲ２配列を含む。任意選択で、抗体は、本明細書の任意の他の態様に従う。

【０１５０】

別の実施形態では、１、２、または３個のヌクレオチド置換を除いて、配列リスト中のＨＣＤＲ２配列と１００％同一であるヌクレオチド配列を含む、態様５１の核酸が提供され、各置換は、アミノ酸変化を産生しないか、または対応するタンパク質配列において保存的アミノ酸変化を産生する（即ち、ヌクレオチド置換が同義的置換である）。当業者であれば、保存的アミノ酸変化に精通しているであろう。

【０１５１】

加えてまたはあるいは、１、２、３、４、５、６、または７個の同義的ヌクレオチド置換、及び対応するタンパク質配列において保存的アミノ酸変化を産生する、０、１、２、または３個のヌクレオチド置換を除いて、配列リスト中のＨＣＤＲ２配列と１００％同一であるヌクレオチド配列を含む、態様５０の核酸が提供される。

【０１５２】

５２．任意選択で、核酸が態様４８～５１のいずれか１つに従う、態様１～４５のいずれか１つにおいて挙げた抗体のＨＣＤＲ１をコードする核酸。

【０１５３】

５３．配列リスト中のＨＣＤＲ１と、少なくとも８０、８５、９０、９５、９６、９７

、９８、若しくは９９％同一であるか、または１００％同一であるヌクレオチド配列を含む態様５２の核酸。

【０１５４】

一態様では、本発明は、抗ｈＯＸ４０Ｌ抗体のＶＨドメインをコードするヌクレオチド配列を含む核酸を提供し、このヌクレオチド配列は、配列リスト中のＨＣＤＲ１配列と、少なくとも８０、８５、９０、９５、９６、９７、９８、若しくは９９％同一であるか、または１００％同一である、ＨＣＤＲ１配列を含む。任意選択で、抗体は、本明細書の任意の他の態様に従う。

【０１５５】

別の実施形態では、１、２、または３個のヌクレオチド置換を除いて、配列リスト中のＨＣＤＲ１配列と１００％同一であるヌクレオチド配列を含む、態様５２の核酸が提供され、各置換は、アミノ酸変化を産生しないか、または対応するタンパク質配列において保存的アミノ酸変化を産生する（即ち、ヌクレオチド置換が同義的置換である）。当業者であれば、保存的アミノ酸変化に精通しているであろう。

【０１５６】

加えてまたはあるいは、１、２、３、４、５、６、または７個の同義的ヌクレオチド置換、及び対応するタンパク質配列において保存的アミノ酸変化を産生する、０、１、２、または３個のヌクレオチド置換を除いて、配列リスト中のＨＣＤＲ１配列と１００％同一であるヌクレオチド配列を含む、態様５２の核酸が提供される。

【０１５７】

５４．態様１～４５のいずれか１つにおいて挙げた抗体のＶＨドメイン及び／またはＶＬドメインをコードする、核酸。

【０１５８】

５５．配列リスト中のＶＨドメインヌクレオチド配列と、少なくとも８０、８５、９０、９５、９６、９７、９８、若しくは９９％同一であるか、または１００％同一であるヌクレオチド配列を含む態様５４の核酸。

【０１５９】

別の実施形態では、１、２、または３個のヌクレオチド置換を除いて、配列リスト中のＶＨドメインヌクレオチド配列と１００％同一であるヌクレオチド配列を含む、態様５４の核酸が提供され、各置換は、アミノ酸変化を産生しないか、または対応するタンパク質配列において保存的アミノ酸変化を産生する（即ち、ヌクレオチド置換が同義的置換である）。当業者であれば、保存的アミノ酸変化に精通しているであろう。

【０１６０】

加えてまたはあるいは、１、２、３、４、５、６、または７個の同義的ヌクレオチド置換、及び対応するタンパク質配列において保存的アミノ酸変化を産生する、０、１、２、または３個のヌクレオチド置換を除いて、配列リスト中のＶＨドメインヌクレオチド配列と１００％同一であるヌクレオチド配列を含む、態様５４の核酸が提供される。

【０１６１】

５６．配列リスト中のＶＬドメインヌクレオチド配列と、少なくとも８０、８５、９０、９５、９６、９７、９８、若しくは９９％同一であるか、または１００％同一である、ヌクレオチド配列を含む、態様５４～５５の核酸。

【０１６２】

別の実施形態では、１、２、または３個のヌクレオチド置換を除いて、配列リスト中のＶＬドメインヌクレオチド配列と１００％同一であるヌクレオチド配列を含む、態様５４または５５の核酸が提供され、各置換は、アミノ酸変化を産生しないか、または対応するタンパク質配列において保存的アミノ酸変化を産生する（即ち、ヌクレオチド置換が同義的置換である）。当業者であれば、保存的アミノ酸変化に精通しているであろう。

【０１６３】

加えてまたはあるいは、１、２、３、４、５、６、または７個の同義的ヌクレオチド置換、及び対応するタンパク質配列において保存的アミノ酸変化を産生する、０、１、２、

または３個のヌクレオチド置換を除いて、配列リスト中のＶＬドメインヌクレオチド配列と１００％同一であるヌクレオチド配列を含む、態様５４または５５の核酸が提供される。

【０１６４】

５７．態様１～４５のいずれか１つに挙げた抗体の重鎖または軽鎖をコードする、核酸。

【０１６５】

５８．態様４８～５６のいずれか１つに挙げたヌクレオチド配列を含む、態様５７の核酸。

【０１６６】

５９．態様４８～５８のいずれか１つの核酸を含むベクター（例えば、哺乳動物の発現ベクター）であって、任意選択で、ベクターが、ＣＨＯまたはＨＥＫ２９３ベクターである、ベクター。一例では、ベクターは、酵母ベクター、例えば、サッカロミセス属またはピキア属ベクターである。

【０１６７】

６０．態様４８～５８のいずれか１つの核酸、または態様５９のベクターを含む、宿主。一例では、宿主は、哺乳動物（例えば、ヒト、例えば、ＣＨＯまたはＨＥＫ２９３）細胞株、または酵母若しくは細菌細胞株である。

【０１６８】

６１．

ａ．ヒトにおける、ＴＮＦアルファ、ＩＬ－２、ＩＬ－３、ＩＬ－４、ＩＬ－５、ＩＬ－６、ＩＬ－８、ＩＬ－９、ＩＬ－１０、ＩＬ－１３、ＩＬ－１７、ＲＡＮＴＥＳ、及びインターフェロンガンマから選択されるサイトカインの分泌、

ｂ．ヒトの白血球の増殖、ならびに

ｃ．内皮細胞が発現するｈＯＸ４０ＬとのヒトＴ細胞によって発現されるｈＯＸ４０受容体の結合、のうちの１つ、１つ以上、または全てを減少させることによって、ヒトにおいてｈＯＸ４０Ｌ媒介性疾患または状態を治療または防止するためにヒトに投与するための医薬品の製造における、ｈＯＸ４０Ｌに特異的に結合する抗体またはその断片の使用。

【０１６９】

任意選択でこの使用について準用する、先行態様、構成、実施例、または実施形態のいずれかの特徴。

【０１７０】

一例では、ヒトは、喘息を患っているか、またはその危険性があり、抗体または断片は、ヒトにおいてＩｇＥを減少させることにより、ヒトにおいて喘息を治療、防止、または低減するためのものである。

【０１７１】

６２．

ａ．ヒトにおける、ＴＮＦアルファ、ＩＬ－２、ＩＬ－３、ＩＬ－４、ＩＬ－５、ＩＬ－６、ＩＬ－８、ＩＬ－９、ＩＬ－１０、ＩＬ－１３、ＩＬ－１７、ＲＡＮＴＥＳ、及びインターフェロンガンマから選択されるサイトカインの分泌、

ｂ．ヒトの白血球の増殖、ならびに

ｃ．内皮細胞が発現するｈＯＸ４０ＬとのヒトＴ細胞によって発現されるｈＯＸ４０受容体の結合、のうちの１つ、１つ以上、または全てを減少させることによる、ヒトにおけるｈＯＸ４０Ｌ媒介性疾患または状態の治療または防止方法であって、

本方法が、該ヒトに、ｈＯＸ４０Ｌに特異的に結合する治療有効量の抗体または断片を投与することを含む、方法。

【０１７２】

先行態様、実施例、または実施形態のいずれかの特徴は、この方法について準用する。

【０１７３】

本発明の方法は、ヒトにおいて該疾患または状態を治療または防止する。抗体または断

片の「治療有効量」は、該治療または防止をもたらすのに有効な量（一度に投与されるか、または時間をあけて行ってもよい、例えば、実質的に月間の、数回の投薬で投与される）その量である。これは、当業者には容易に明らかとなり、特定のヒト患者、及び対処する疾患または状態に従って異なり得る。

【０１７４】

一例では、ヒトは、喘息を患っているか、またはその危険性があり、抗体または断片は、ヒトにおいてＩｇＥを減少させることにより、ヒトにおいて喘息を治療、防止、または低減する。

【０１７５】

６３．該ヒトにおいてＴ細胞の増殖を減少させることによって、該ヒトにおいて、該ｈＯＸ４０Ｌ媒介性疾患、状態、または上皮細胞損傷を治療または防止するための、態様６１～６２の方法または使用。

【０１７６】

６４．ｈＯＸ４０Ｌとヒトの白血球との間の相互作用に拮抗して白血球の増殖を減少させることによって、該ヒトにおいて、該ｈＯＸ４０Ｌ媒介性疾患、状態、または上皮細胞損傷を治療または防止するための、態様６１～６３のいずれか１つの方法または使用。

【０１７７】

６５．該ヒトにおいてＴ細胞によって媒介されるＯＸ４０Ｌ／ＯＸ４０Ｌ受容体相互作用に拮抗することで、ヒトの白血球の増殖を減少させることによって、該ヒトにおいて、該ｈＯＸ４０Ｌ媒介性疾患、状態、または上皮細胞損傷を治療または防止するための、態様６１～６４のいずれか１つの方法または使用。

【０１７８】

６６．ヒトにおいてＩＬ－８サイトカインの分泌を減少させることによって、該ヒトにおいて、該ｈＯＸ４０Ｌ媒介性疾患、状態、または上皮細胞損傷を治療または防止するための、態様６１～６５のいずれか１つの方法または使用。

【０１７９】

６７．ヒトにおいて、樹状細胞（ＤＣ細胞）のＴ細胞との相互作用によって媒介される該ＩＬ－８を減少させることによって、該疾患、状態、または上皮細胞損傷を治療または防止するための、態様６６の方法。

【０１８０】

６８．胃腸細胞、結腸細胞、腸細胞、または気道（例えば、肺）細胞損傷が、ヒトにおける該疾患または状態の症状または原因である、態様６１～６７のいずれか１つの方法または使用。

【０１８１】

別の実施形態では、上皮細胞は、胃腸細胞、結腸細胞、腸細胞、眼細胞、及び気道（例えば、肺）上皮細胞から成る群から選択される細胞を含む。別の実施形態では、上皮細胞は、胃腸細胞、結腸細胞、腸細胞、及び眼細胞から成る群から選択される細胞を含む。更なる実施形態では、上皮細胞は、眼細胞を含む。

【０１８２】

６９．ヒトが、炎症性腸疾患（ＩＢＤ）、同種移植片拒絶、移植片対宿主病（ＧｖＨＤ）、糖尿病、または気道炎症を患っているか、またはその危険性があり、該方法が、ヒトにおいて、ＩＢＤ、同種移植片拒絶、ＧｖＨＤ、糖尿病、または気道炎症を治療または防止する、態様６１～６８のいずれか１つの方法。

【０１８３】

６９ａ．ヒトが、炎症性腸疾患（ＩＢＤ）、同種移植片拒絶、移植片対宿主病（ＧｖＨＤ）、ブドウ膜炎、壊疽性膿皮症、巨細胞性動脈炎、シュニッツラー症候群、非感染性強膜炎、糖尿病、または気道炎症を患っているか、またはその危険性があり、該方法が、ヒトにおいて、ＩＢＤ、同種移植片拒絶、ＧｖＨＤ、ブドウ膜炎、壊疽性膿皮症、巨細胞性動脈炎、シュニッツラー症候群、非感染性強膜炎、糖尿病、または気道炎症を治療または防止する、態様６１～６８のいずれか１つに記載の方法または使用。

【０１８４】
いずれかの態様、構成、または実施形態において、ヒトは、自己免疫疾患若しくは状態、全身炎症性疾患若しくは状態、または移植片拒絶から選択される、ｈＯＸ４０Ｌ媒介性疾患または状態、例えば、炎症性腸疾患（ＩＢＤ）、クローン病、リウマチ性関節炎、移植片拒絶、同種移植片拒絶、移植片対宿主病（ＧｖＨＤ）、潰瘍性大腸炎、全身性エリテマトーデス（ＳＬＥ）、糖尿病、ブドウ膜炎、強直性脊椎炎、接触過敏症、多発性硬化症、及びアテローム性動脈硬化症、特にＧｖＨＤを患っているか、またはその危険性がある。
【０１８５】
７０．抗体または断片が、態様１～４５のいずれか１つ、または本明細書に記載のいずれかの実施例、構成、態様、または実施形態に従う、態様６１～６９ａのいずれか１つの方法または使用。
【０１８６】
７１．ヒトにおいて炎症または自己免疫疾患または状態を治療または防止するためか、あるいはヒトにおいて血管新生を低減または防止するための、いずれかの先行態様の抗体、断片、組成物、キット、方法、または使用。
【０１８７】
７２．疾患または状態が、炎症性腸疾患（ＩＢＤ）、クローン病、リウマチ性関節炎、乾癬、細気管支炎、歯肉炎、移植片拒絶、同種移植片拒絶、移植片対宿主病（ＧｖＨＤ）、喘息、成人性呼吸促迫症候群（ＡＲＤＳ）、敗血症性ショック、潰瘍性大腸炎、シェーグレン症候群、気道炎症、全身性エリテマトーデス（ＳＬＥ）、糖尿病、接触過敏症、多発性硬化症、及びアテローム性動脈硬化症から成る群から選択される、いずれかの先行態様の抗体、断片、組成物、キット、方法、または使用。
【０１８８】
７２ａ．疾患または状態が、炎症性腸疾患（ＩＢＤ）、クローン病、リウマチ性関節炎、乾癬、細気管支炎、歯肉炎、移植片拒絶、同種移植片拒絶、移植片対宿主病（ＧｖＨＤ）、喘息、成人性呼吸促迫症候群（ＡＲＤＳ）、敗血症性ショック、潰瘍性大腸炎、シェーグレン症候群、気道炎症、全身性エリテマトーデス（ＳＬＥ）、ブドウ膜炎、壊疽性膿皮症、巨細胞性動脈炎、シュニッツラー症候群、非感染性強膜炎、糖尿病、接触過敏症、多発性硬化症、及びアテローム性動脈硬化症から成る群から選択される、いずれかの先行態様の抗体、断片、組成物、キット、方法、または使用。
【０１８９】
いずれかの態様、構成、または実施形態において、ヒトは、自己免疫疾患若しくは状態、全身炎症性疾患若しくは状態、または移植片拒絶から選択される、ｈＯＸ４０Ｌ媒介性疾患または状態、例えば、炎症性腸疾患（ＩＢＤ）、クローン病、リウマチ性関節炎、移植片拒絶、同種移植片拒絶、移植片対宿主病（ＧｖＨＤ）、潰瘍性大腸炎、全身性エリテマトーデス（ＳＬＥ）、糖尿病、ブドウ膜炎、強直性脊椎炎、接触過敏症、多発性硬化症、及びアテローム性動脈硬化症、特にＧｖＨＤを患っているか、またはその危険性がある。
【０１９０】
一例では、疾患または状態は、米国第７８１２１３３号または欧州第１７９１８６９号に開示のＯＸ４０Ｌ媒介性疾患または状態である。
【０１９１】
一例では、疾患または状態は、炎症または自己免疫疾患または状態である。一例では、疾患または状態は、移植片拒絶である。
【０１９２】
本明細書で使用する場合、炎症性疾患または状態は、例えば、好中球走化性によって引き起こされる炎症をもたらす病理的状態を指す。かかる障害の例としては、乾癬を含む炎症性皮膚疾患；炎症性腸疾患と関連付けられる応答（クローン病及び潰瘍性大腸炎など）；虚血再灌流；成人性呼吸促迫症候群；皮膚炎；髄膜炎；脳炎；ブドウ膜炎；リウマチ性

関節炎、シェーグレン症候群、脈管炎などの自己免疫疾患；白血球漏出を伴う疾患；中枢神経系（ＣＮＳ）炎症性障害、敗血症または外傷に続発する多臓器損傷症候群；アルコール性肝炎、細菌性肺炎、抗原抗体複合体媒介性疾患；胸膜炎、肺胞炎、脈管炎、肺炎、慢性気管支炎、気管支拡張症、及び嚢胞性線維症を含む、肺の炎症などが挙げられる。好ましい兆候は、細菌性肺炎、及び潰瘍性大腸炎などの炎症性腸疾患である。本発明は、故に、かかる状態のうちの任意の１つ以上を治療または防止するために提供される例の中にある。

【０１９３】

一例では、疾患または状態は、癌である。

【０１９４】

一例では、疾患は、全身性ブドウ膜炎または自己免疫性／非感染性ブドウ膜炎などのブドウ膜炎である。

【０１９５】

７３．ｈＯＸ４０Ｌに特異的に結合し、該ｈＯＸ４０Ｌへの結合について抗体０２Ｄ１０と競合する、抗体またはその断片であって、抗体またはその断片が、モチーフＶＲＧＸＹＹＹを含むＨＣＤＲ３を含むＶＨドメインを含み、Ｘが、任意のアミノ酸である、抗体またはその断片。

【０１９６】

本明細書に記載の態様、構成、実施例、または実施形態のいずれかの抗体の特徴は、任意選択で、これらの抗体について準用し、例えば、抗体は、本明細書に記載の機能的特徴を有するヒト抗体またはキメラ抗体であってもよい。競合は、本明細書に記載のいずれかの態様、実施形態、実施例、または構成において記載するように、例えば、ＳＰＲ、ＥＬＩＳＡ、ＨＴＲＦ、またはＦＡＣＳによって、決定され得る。

【０１９７】

一実施形態では、抗体または断片は、０２Ｄ１０の可変領域と競合する（例えば、配列番号３４の重鎖可変領域及び配列番号４８の軽鎖可変領域を含む抗体と競合する）。別の実施形態では、抗体または断片は、配列番号６２の重鎖アミノ酸配列及び配列番号６４の軽鎖アミノ酸配列を有する０２Ｄ１０　ＩｇＧ４－ＰＥと競合する。故に、例えば、抗体または断片がｈＯＸ４０Ｌへの結合について抗体０２Ｄ１０と競合する能力は、配列番号６２の重鎖アミノ酸配列及び配列番号６４の軽鎖アミノ酸配列を有するＩｇＧ４－ＰＥ抗体を参照０２Ｄ１０抗体として使用して、ＳＰＲによって決定され得る（本明細書に記載の通り）。

【０１９８】

別の実施形態では、抗体または断片は、加えてまたはあるいは１０Ａ７と競合する。一実施形態では、抗体または断片は、１０Ａ７の可変領域と競合する（例えば、配列番号２の重鎖可変領域及び配列番号１６の軽鎖可変領域を含む抗体と競合する）。別の実施形態では、抗体または断片は、配列番号３０の重鎖アミノ酸配列及び配列番号３２の軽鎖アミノ酸配列を有する０２Ｄ１０　ＩｇＧ４－ＰＥと競合する。

【０１９９】

一実施形態では、アミノ酸は、任意の天然型アミノ酸である。

【０２００】

７４．Ｘが、中性アミノ酸、任意選択で、ＰまたはＧである、態様７３に従う抗体または断片。

【０２０１】

一実施形態では、Ｘは、ＰまたはＧである。一実施形態では、Ｘは、Ｐ、Ｎ、Ａ、またはＧから選択される。別の実施形態では、Ｘは、Ｐ、Ｇ、またはＮから選択される。別の実施形態では、Ｘは、Ｐ、Ｇ、またはＡから選択される。

【０２０２】

７５．ｈＯＸ４０Ｌに特異的に結合し、該ｈＯＸ４０Ｌへの結合について抗体０２Ｄ１０と競合する、任意選択で請求項１または２に記載の抗体またはその断片であって、抗体

または断片が、配列番号４０若しくは４６のＨＣＤＲ３配列、または５個未満のアミノ酸置換を含む配列番号４０若しくは４６のＨＣＤＲ３配列を含むＶＨドメインを含む、抗体またはその断片。

【０２０３】

本明細書に記載の態様、構成、実施例、または実施形態のいずれかの抗体の特徴は、任意選択で、これらの抗体について準用し、例えば、抗体は、本明細書に記載の機能的特徴を有するヒト抗体またはキメラ抗体であってもよい。競合は、本明細書に記載のいずれかの態様、実施形態、実施例、または構成において記載するように、例えば、ＳＰＲ、ＥＬＩＳＡ、ＨＴＲＦ、またはＦＡＣＳによって、決定され得る。

【０２０４】

一実施形態では、配列番号４０または４６のＨＣＤＲ３配列は、４個未満（即ち、３個以下）のアミノ酸置換を含む。一実施形態では、配列番号４０または４６のＨＣＤＲ３配列は、３個未満のアミノ酸置換（即ち、２個または１個の置換）を含む。一実施形態では、配列番号４０または４６のＨＣＤＲ３配列は、２個未満のアミノ酸置換（即ち、１個の置換）を含む。

【０２０５】

一実施形態では、抗体または断片は、０２Ｄ１０の可変領域と競合する（例えば、配列番号３４の重鎖可変領域及び配列番号４８の軽鎖可変領域を含む抗体と競合する）。別の実施形態では、抗体または断片は、配列番号６２の重鎖アミノ酸配列及び配列番号６４の軽鎖アミノ酸配列を有する０２Ｄ１０　ＩｇＧ４－ＰＥと競合する。

【０２０６】

別の実施形態では、抗体または断片は、加えてまたはあるいは１０Ａ７と競合する。一実施形態では、抗体または断片は、１０Ａ７の可変領域と競合する（例えば、配列番号２の重鎖可変領域及び配列番号１６の軽鎖可変領域を含む抗体と競合する）。別の実施形態では、抗体または断片は、配列番号３０の重鎖アミノ酸配列及び配列番号３２の軽鎖アミノ酸配列を有する０２Ｄ１０　ＩｇＧ４－ＰＥと競合する。

【０２０７】

７６．ＶＨドメインが、１６～２７個のアミノ酸のＨＣＤＲ３を含み、ヒトＶＨ遺伝子分節、ヒトＤ遺伝子分節、及びヒトＪＨ遺伝子分節の組み換えに由来し、ヒトＪＨ遺伝子分節が、ＩＧＨＪ６（例えば、ＩＧＨＪ６＊０２）である、態様７３～７５のいずれか１つに記載の抗体または断片。

【０２０８】

一実施形態では、ヒトＪＨ遺伝子分節は、ＩＧＨＪ６＊０１、ＩＧＨＪ６＊０２、ＩＧＨＪ６＊０３、及びＩＧＨＪ６＊０４から選択される。別の実施形態では、ヒトＪＨ遺伝子分節は、ＩＧＨＪ６＊０１、ＩＧＨＪ６＊０２、及びＩＧＨＪ６＊０４から選択される。別の実施形態では、ＪＨ遺伝子分節は、ＩＧＨＪ６＊０２である。

【０２０９】

更なる実施形態では、ヒトＶＨ遺伝子分節は、ＩＧＨＶ３－２３であり、例えば、ＩＧＨＶ３－２３＊０１、ＩＧＨＶ３－２３＊０２、ＩＧＨＶ３－２３＊０３、ＩＧＨＶ３－２３＊０４、またはＩＧＨＶ３－２３＊０５から選択される。別の実施形態では、ヒトＶＨ遺伝子分節は、ＩＧＨＶ３－２３＊０１またはＩＧＨＶ３－２３＊０４、特に、ＩＧＨＶ３－２３＊０４である。

【０２１０】

更なる実施形態では、ヒトＤＨ遺伝子分節は、ＩＧＨＤ３－１０であり、例えば、ＩＧＨＤ３－１０＊０１またはＩＧＨＤ３－１０＊０２から選択される。一実施形態では、ヒトＤＨ遺伝子分節は、ＩＧＨＤ３－１０＊０１である。一実施形態では、ヒトＤＨ遺伝子分節は、ＩＧＨＤ３－１０＊０２である。

【０２１１】

７７．ＶＨドメインが、配列番号３６若しくは４２のＨＣＤＲ１配列、または４個未満のアミノ酸置換を含む配列番号３６若しくは４２のＨＣＤＲ１配列を含む、態様７３～７

６のいずれか１つに記載の抗体または断片。
【０２１２】
一実施形態では、配列番号３６または４２のＨＣＤＲ１配列は、３個未満のアミノ酸置換（即ち、２個または１個の置換）を含む。一実施形態では、配列番号３６または４２のＨＣＤＲ１配列は、２個未満のアミノ酸置換（即ち、１個の置換）を含む。
【０２１３】
７８．ＶＨドメインが、配列番号３８若しくは４４のＨＣＤＲ２配列、または５個未満のアミノ酸置換を含む配列番号３８若しくは４４のＨＣＤＲ２配列を含む、態様７３～７７のいずれか１つに記載の抗体または断片。
【０２１４】
一実施形態では、配列番号３８または４４のＨＣＤＲ２配列は、４個未満（即ち、３個以下）のアミノ酸置換を含む。一実施形態では、配列番号３８または４４のＨＣＤＲ２配列は、３個未満のアミノ酸置換（即ち、２個または１個の置換）を含む。一実施形態では、配列番号３８または４４のＨＣＤＲ２配列は、２個未満のアミノ酸置換（即ち、１個の置換）を含む。
【０２１５】
７９．ＶＨドメインが、配列番号３４のアミノ酸配列、または配列番号３４と少なくとも８０％（例えば、少なくとも８５％）同一である重鎖可変ドメインアミノ酸配列を含む、態様７３～７８のいずれか１つに記載の抗体または断片。
【０２１６】
一実施形態では、重鎖可変ドメインアミノ酸配列は、配列番号３４と、少なくとも８５％、少なくとも９０％、少なくとも９５％、最小９６％、少なくとも９７％、少なくとも９８％、または少なくとも９９％同一である。
【０２１７】
８０．該ＶＨドメインの第１及び第２のコピーを含む、態様７３～７９のいずれか１つに記載の抗体または断片。
【０２１８】
８１．配列番号５４若しくは６０のＬＣＤＲ１配列、または５個未満のアミノ酸置換を含む配列番号５４若しくは６０のＬＣＲＤ３配列を含む、ＶＬドメインを含む、態様７３～８０のいずれか１つに記載の抗体または断片。
【０２１９】
一実施形態では、配列番号５４または６０のＬＣＲＤ３配列は、４個未満（即ち、３個以下）のアミノ酸置換を含む。一実施形態では、配列番号５４または６０のＬＣＲＤ３配列は、３個未満のアミノ酸置換（即ち、２個または１個の置換）を含む。一実施形態では、配列番号５４または６０のＬＣＲＤ３配列は、２個未満のアミノ酸置換（即ち、１個の置換）を含む。
【０２２０】
８２．ＶＬドメインまたは該ＶＬドメインを含み、ＶＬドメインが、配列番号５２若しくは５８のＬＣＤＲ２配列、または２個未満のアミノ酸置換を含む配列番号５２若しくは５８のＬＣＲＤ２配列を含む、態様７３～８１のいずれか１つに記載の抗体または断片。
【０２２１】
８３．ＶＬドメインまたは該ＶＬドメインを含み、ＶＬドメインが、配列番号５４若しくは６０のＬＣＤＲ１配列、または４個未満のアミノ酸置換を含む配列番号５４若しくは６０のＬＣＲＤ１配列を含む、態様７３～８２のいずれか１つに記載の抗体または断片。
【０２２２】
一実施形態では、配列番号５４または６０のＬＣＲＤ１配列は、３個未満のアミノ酸置換（即ち、２個または１個の置換）を含む。一実施形態では、配列番号５４または６０のＬＣＤＲ１配列は、２個未満のアミノ酸置換（即ち、１個の置換）を含む。
【０２２３】
８４．ＶＬドメインまたは該ＶＬドメインを含み、ＶＬドメインが、配列番号４８のア

ミノ酸配列、または配列番号４８と少なくとも８０％（例えば、少なくとも８５％）同一である軽鎖可変ドメインアミノ酸配列を含む、態様７３～８３のいずれか１つに記載の抗体または断片。

【０２２４】

一実施形態では、軽鎖可変ドメインアミノ酸配列は、配列番号４８と、少なくとも８５％、少なくとも９０％、少なくとも９５％、最小９６％、少なくとも９７％、少なくとも９８％、または少なくとも９９％同一である。

【０２２５】

８５．該ＶＬドメインの第１及び第２のコピーを含む、態様８１～８４のいずれか１つに記載の抗体または断片。

【０２２６】

８６．抗体または断片が、カッパ軽鎖を含む、態様８１～８５のいずれか１つに記載の抗体または断片。

【０２２７】

別の実施形態では、ＶＬドメインは、カッパＶＬドメインである。一実施形態では、カッパＶＬドメインは、ヒトＶＬ遺伝子分節及びヒトＪＬ遺伝子分節の組み換えに由来し、ヒトＶＬ遺伝子分節は、ＩＧＫＶ１Ｄ－３９である。別の実施形態では、ＶＬ遺伝子分節は、ＩＧＫＶ１Ｄ－３９＊０１である。

【０２２８】

更なる実施形態では、ヒトＪＬ遺伝子分節は、ＩＧＫＪ１またはＩＧＫＪ３である。別の実施形態では、ＪＬ遺伝子分節は、ＩＧＫＪ１＊０１である。別の実施形態では、ＪＬ遺伝子分節は、ＩＧＫＪ３＊０１である。

【０２２９】

８７．アミノ酸置換が、保存的アミノ酸置換であり、任意選択で、保存的置換が、

１）アラニン（Ａ）、セリン（Ｓ）、トレオニン（Ｔ）、

２）アスパラギン酸（Ｄ）、グルタミン酸（Ｅ）、

３）アスパラギン（Ｎ）、グルタミン（Ｑ）、

４）アルギニン（Ｒ）、リジン（Ｋ）、

５）イソロイシン（Ｉ）、ロイシン（Ｌ）、メチオニン（Ｍ）、バリン（Ｖ）、及び

６）フェニルアラニン（Ｆ）、チロシン（Ｙ）、トリプトファン（Ｗ）から選択される６個の群（各群が互いに対して保存的置換であるアミノ酸を含む）のうちの１個からのものである、態様７５～８６のいずれか１つに記載の抗体または断片。

【０２３０】

一実施形態では、保存的アミノ酸置換は、本明細書に記載の通りである。例えば、置換は、ＹのＦによる置換、ＴのＳまたはＫによる置換、ＰのＡによる置換、ＥのＤまたはＱによる置換、ＮのＤまたはＧによる置換、ＲのＫによる置換、ＧのＮまたはＡによる置換、ＴのＳまたはＫによる置換、ＤのＮまたはＥによる置換、ＩのＬまたはＶによる置換、ＦのＹによる置換、ＳのＴまたはＡによる置換、ＲのＫによる置換、ＧのＮまたはＡによる置換、ＫのＲによる置換、ＡのＳ、Ｋ、またはＰによる置換であってもよい。別の実施形態では、保存的アミノ酸置換は、ＹがＦによって置換され、ＴのＡまたはＳによる置換、ＩのＬまたはＶによる置換、ＷのＹによる置換、ＭのＬによる置換、ＮのＤによる置換、ＧのＡによる置換、ＴのＡまたはＳによる置換、ＤのＮによる置換、ＩのＬまたはＶによる置換、ＦのＹまたはＬによる置換、ＳのＡまたはＴによる置換、及びＡのＳ、Ｇ、Ｔ、またはＶによる置換であってもよい。

【０２３１】

８８．抗体または断片が、定常領域、例えば、ＩｇＧ４定常領域を含み、任意選択で、定常領域が、ＩｇＧ４－ＰＥ（配列番号１２８）である、態様７３～８７のいずれか１つに記載の抗体または断片。

【０２３２】

本明細書のいずれかの態様の別の例では、断片の抗体は、ヒトガンマ４定常領域を含む

。別の実施形態では、重鎖定常領域は、Ｆｃ－γ受容体に結合せず、例えば、Ｌｅｕ２３５Ｇｌｕ変異（即ち、野生型ロイシン残基のグルタミン酸残基への変異）を含む。別の実施形態では、重鎖定常領域は、Ｓｅｒ２２８Ｐｒｏ変異を含んで、安定性を増加させる。

【０２３３】

８９．抗体が、重鎖及び軽鎖を含み、重鎖アミノ酸配列が、配列番号６２の配列からなり、軽鎖アミノ酸配列が、配列番号６４の配列からなる、態様７３～７８のいずれか１つに記載の抗体。

【０２３４】

９０．自己免疫疾患若しくは状態、全身炎症性疾患若しくは状態、または移植片拒絶から選択されるｈＯＸ４０Ｌ媒介性疾患または状態、例えば、炎症性腸疾患（ＩＢＤ）、クローン病、リウマチ性関節炎、移植片拒絶、同種移植片拒絶、移植片対宿主病（ＧｖＨＤ）、潰瘍性大腸炎、全身性エリテマトーデス（ＳＬＥ）、糖尿病、ブドウ膜炎、強直性脊椎炎、接触過敏症、多発性硬化症、またはアテローム性動脈硬化症、特にＧｖＨＤの治療または防止に使用するための、態様７３～８９、９８、９９、１０１、または１０２のいずれか１つに定義の抗体または断片。

【０２３５】

本明細書に記載の態様、構成、実施例、または実施形態のうちのいずれかの抗体の特徴及びｈＯＸ４０Ｌ媒介性疾患は、任意選択で、この使用について準用する。本明細書のいずれかの態様、構成、実施例、または実施形態に記載の組成物、投薬スケジュール、または投与様式のいずれも、この使用について準用する。

【０２３６】

９１．自己免疫疾患若しくは状態、全身炎症性疾患若しくは状態、または移植片／宿主拒絶から選択される、ヒトにおけるｈＯＸ４０Ｌ媒介性疾患または状態、例えば、炎症性腸疾患（ＩＢＤ）、クローン病、リウマチ性関節炎、移植片拒絶、同種移植片拒絶、移植片対宿主病（ＧｖＨＤ）、潰瘍性大腸炎、全身性エリテマトーデス（ＳＬＥ）、糖尿病、ブドウ膜炎、強直性脊椎炎、接触過敏症、多発性硬化症、またはアテローム性動脈硬化症、特にＧｖＨＤを治療または防止するためにヒトに投与するための医薬品の製造における、態様７３～８９、９８、９９、１０１、または１０２のいずれか１つに定義の抗体または断片の使用。

【０２３７】

本明細書に記載の態様、構成、実施例、または実施形態のうちのいずれかの抗体の特徴及びｈＯＸ４０Ｌ媒介性疾患は、任意選択で、この使用について準用する。本明細書のいずれかの態様、構成、実施例、または実施形態に記載の組成物、投薬スケジュール、または投与様式のいずれも、この使用について準用する。

【０２３８】

９２．自己免疫疾患若しくは状態、全身炎症性疾患若しくは状態、または移植片拒絶、例えば、炎症性腸疾患（ＩＢＤ）、クローン病、リウマチ性関節炎、移植片拒絶、同種移植片拒絶、移植片対宿主病（ＧｖＨＤ）、潰瘍性大腸炎、全身性エリテマトーデス（ＳＬＥ）、糖尿病、ブドウ膜炎、強直性脊椎炎、接触過敏症、多発性硬化症、またはアテローム性動脈硬化症、特にヒトにおけるＧｖＨＤから選択される、ｈＯＸ４０Ｌ媒介性疾患または状態の治療または防止方法であって、治療有効量の態様７３～８９、９８、９９、１０１、または１０２のいずれか１つに定義の抗体または断片を該ヒトに投与することを含み、ｈＯＸ４０Ｌ媒介性疾患または状態が、それにより治療または防止される、方法。

【０２３９】

本明細書に記載の態様、構成、実施例、または実施形態のうちのいずれかの抗体の特徴及びｈＯＸ４０Ｌ媒介性疾患は、任意選択で、この方法について準用する。本明細書のいずれかの態様、構成、実施例、または実施形態に記載の組成物、投薬スケジュール、または投与様式のいずれも、この方法について準用する。

【０２４０】

９３．ｈＯＸ４０Ｌ媒介性疾患または状態が、ＧｖＨＤである、態様９０に記載の抗体

若しくは断片、態様９１に記載の使用、または請求項９２に記載の方法。
【０２４１】
別の実施形態では、抗体または断片は、ＧｖＨＤを治療または防止することが可能である。
【０２４２】
９４．抗体が、予防的に投与される、態様９０～９３のいずれか１つに記載の抗体若しくは断片、使用、または方法。
【０２４３】
一実施形態では、予防は、疾患若しくは状態、または疾患若しくは状態の症状の発症を防止する。一実施形態では、予防的治療は、疾患または状態の悪化または発症を防止する。一実施形態では、予防的治療は、疾患または状態の悪化を防止する。
【０２４４】
別の実施形態では、該抗体は、静脈内投与される。別の実施形態では、該抗体は、約５～１０ｍｇ／ｋｇの用量で（例えば、約８ｍｇ／ｋｇで）投与される。別の実施形態では、該抗体は、約０．１ｍｇ／ｋｇ、約０．５ｍｇ／ｋｇ、約１ｍｇ／ｋｇ、３ｍｇ／ｋｇ、５ｍｇ／ｋｇ、約１０ｍｇ／ｋｇ、約１５ｍｇ／ｋｇ、約２０ｍｇ／ｋｇ、約２５ｍｇ／ｋｇ、約３０ｍｇ／ｋｇ、約４０ｍｇ／ｋｇ、約５０ｍｇ／ｋｇ、約６０ｍｇ／ｋｇ、約７０ｍｇ／ｋｇ、約８０ｍｇ／ｋｇ、約９０ｍｇ／ｋｇ、または約１００ｍｇ／ｋｇ、特に、約１ｍｇ／ｋｇ、または約３ｍｇ／ｋｇから選択される用量で投与される。
【０２４５】
別の実施形態では、該抗体は、移植の１～４日前、例えば、移植の１～３日前または移植の１～２日前に投与される。別の実施形態では、該抗体は、移植後、週間、隔週、または月間、例えば、隔週で投与される。更なる実施形態では、該抗体は、約５～１０ｍｇ／ｋｇ（例えば、約８ｍｇ／ｋｇ）の用量で、予防的に移植の１～３日前に静脈内投与され、その後は、約５～１０ｍｇ／ｋｇ（例えば、約８ｍｇ／ｋｇ）の用量で、隔週で静脈内投与される。
【０２４６】
別の実施形態では、患者は、移植後、ＧｖＨＤの発現（例えば、急性ＧｖＨＤ）を予測するバイオマーカーの存在について定期的にモニタリングされ、バイオマーカーレベルが、患者がＧｖＨＤ（例えば、急性ＧｖＨＤ）の発現の危険性を有すると決定されるレベルになると、本発明の抗ＯＸ４０Ｌ抗体が投与される。この戦略は、薬物の不要な投薬及び免疫系の不要な抑制を回避し得る。急性ＧｖＨＤの予測的バイオマーカーとして有用であり得るバイオマーカーの例は、Ｌｅｖｉｎｅ ｅｔ ａｌ．，「Ａ ｐｒｏｇｎｏｓｔｉｃ ｓｃｏｒｅ ｆｏｒ ａｃｕｔｅ ｇｒａｆｔ－ｖｅｒｓｕｓ－ｈｏｓｔ ｄｉｓｅａｓｅ ｂａｓｅｄ ｏｎ ｂｉｏｍａｒｋｅｒｓ： ａ ｍｕｌｔｉｃｅｎｔｒｅ ｓｔｕｄｙ」，Ｌａｎｃｅｔ Ｈａｅｍａｔｏｌ ２０１５；２：ｅ２１－２９で特定されているものであり得る。これらのバイオマーカーとしては、ＴＮＦＲ１、ＳＴ－２、エラフィン、ならびにＩＬ２Ｒα及びＲｅｇ３αが挙げられるが、これらに限定されない。
９５．１６～２７個のアミノ酸のＨＣＤＲ３を含み、ヒトＶＨ遺伝子分節、ヒトＤ遺伝子分節、及びヒトＪＨ遺伝子分節の組み換えに由来する、ヒト抗体またはその断片であって、ヒトＪＨ遺伝子分節が、自己免疫疾患若しくは状態、全身炎症性疾患若しくは状態、または移植片拒絶から選択される、ｈＯＸ４０Ｌ媒介性疾患または状態、例えば、炎症性腸疾患（ＩＢＤ）、クローン病、リウマチ性関節炎、移植片拒絶、同種移植片拒絶、移植片対宿主病（ＧｖＨＤ）、潰瘍性大腸炎、全身性エリテマトーデス（ＳＬＥ）、糖尿病、ブドウ膜炎、強直性脊椎炎、接触過敏症、多発性硬化症、またはアテローム性動脈硬化症、特にＧｖＨＤ（例えば、前記抗体がＧｖＨＤの防止用である）を治療または防止するために、ｈＯＸ４０Ｌに特異的に結合する、ＩＧＨＪ６（例えば、ＩＧＨＪ６＊０２）である、ヒト抗体またはその断片。
【０２４７】
態様、構成、実施例、または実施形態のうちのいずれかの抗体の特徴及びｈＯＸ４０Ｌ

媒介性疾患は、任意選択で、この使用について準用する。本明細書のいずれかの態様、構成、実施例、または実施形態に記載の組成物、投薬スケジュール、または投与様式のいずれも、この使用について準用する。

【０２４８】

９６．１６～２７個のアミノ酸のＨＣＤＲ３を含み、ヒトＶＨ遺伝子分節、ヒトＤ遺伝子分節、及びヒトＪＨ遺伝子分節の組み換えに由来する、ヒト抗体またはその断片の使用であって、ヒトＪＨ遺伝子分節が、自己免疫疾患若しくは状態、全身炎症性疾患若しくは状態、または移植片拒絶から選択される、ヒトにおけるｈＯＸ４０Ｌ媒介性疾患または状態、例えば、炎症性腸疾患（ＩＢＤ）、クローン病、リウマチ性関節炎、移植片拒絶、同種移植片拒絶、移植片対宿主病（ＧｖＨＤ）、潰瘍性大腸炎、全身性エリテマトーデス（ＳＬＥ）、糖尿病、ブドウ膜炎、強直性脊椎炎、接触過敏症、多発性硬化症、またはアテローム性動脈硬化症、特にＧｖＨＤを治療または防止するために前記ヒトに投与するための医薬品の製造における、ｈＯＸ４０Ｌに特異的に結合するＩＧＨＪ６（例えば、ＩＧＨＪ６＊０２）である、使用。

【０２４９】

態様、構成、実施例、または実施形態のうちのいずれかの抗体の特徴及びｈＯＸ４０Ｌ媒介性疾患は、任意選択で、この使用について準用する。本明細書のいずれかの態様、構成、実施例、または実施形態に記載の組成物、投薬スケジュール、または投与様式のいずれも、この使用について準用する。

【０２５０】

９７．自己免疫疾患若しくは状態、全身炎症性疾患若しくは状態、または移植片拒絶、例えば、炎症性腸疾患（ＩＢＤ）、クローン病、リウマチ性関節炎、移植片拒絶、同種移植片拒絶、移植片対宿主病（ＧｖＨＤ）、潰瘍性大腸炎、全身性エリテマトーデス（ＳＬＥ）、糖尿病、ブドウ膜炎、強直性脊椎炎、接触過敏症、多発性硬化症、またはアテローム性動脈硬化症、特にヒトにおけるＧｖＨＤから選択される、ｈＯＸ４０Ｌ媒介性疾患または状態の治療または防止方法であって、該ヒトに、１６～２７個のアミノ酸のＨＣＤＲ３を含み、ヒトＶＨ遺伝子分節、ヒトＤ遺伝子分節、及びヒトＪＨ遺伝子分節の組み換えに由来する、治療有効量のヒト抗体またはその断片を投与することを含み、ヒトＪＨ遺伝子分節が、ｈＯＸ４０Ｌに特異的に結合するＩＧＨＪ６（例えば、ＩＧＨＪ６＊０２）であり、ｈＯＸ４０Ｌ媒介性疾患または状態が、それにより治療または防止される、方法。

【０２５１】

態様、構成、実施例、または実施形態のうちのいずれかの抗体の特徴及びｈＯＸ４０Ｌ媒介性疾患は、任意選択で、この方法について準用する。本明細書のいずれかの態様、構成、実施例、または実施形態に記載の組成物、投薬スケジュール、または投与様式のいずれも、この方法について準用する。

【０２５２】

態様９５～９７のいずれか１つの実施形態では、ヒトＪＨ遺伝子分節は、ＩＧＨＪ６＊０１、ＩＧＨＪ６＊０２、ＩＧＨＪ６＊０３、及びＩＧＨＪ６＊０４から選択される。態様９５～９７のいずれか１つの別の態様では、ヒトＪＨ遺伝子分節は、ＩＧＨＪ６＊０１、ＩＧＨＪ６＊０２、及びＩＧＨＪ６＊０４から選択される。態様９５～９７のいずれか１つの別の態様では、ＪＨ遺伝子分節は、ＩＧＨＪ６＊０２である。

【０２５３】

態様９５～９７のいずれか１つの更なる実施形態では、ヒトＶＨ遺伝子分節は、ＩＧＨＶ３－２３であり、例えば、ＩＧＨＶ３－２３＊０１、ＩＧＨＶ３－２３＊０２、ＩＧＨＶ３－２３＊０３、ＩＧＨＶ３－２３＊０４、またはＩＧＨＶ３－２３＊０５から選択される。態様９５～９７のいずれか１つの別の実施形態では、ヒトＶＨ遺伝子分節は、ＩＧＨＶ３－２３＊０１またはＩＧＨＶ３－２３＊０４、特に、ＩＧＨＶ３－２３＊０４である。

【０２５４】

態様９５～９７のいずれか１つの更なる実施形態では、ヒトＤＨ遺伝子分節は、ＩＧＨ

Ｄ３－１０であり、例えば、ＩＧＨＤ３－１０＊０１またはＩＧＨＤ３－１０＊０２から選択される。態様９５～９７のいずれか１つの一実施形態では、ヒトＤＨ遺伝子分節は、ＩＧＨＤ３－１０＊０１である。態様９５～９７のいずれか１つの一実施形態では、ヒトＤＨ遺伝子分節は、ＩＧＨＤ３－１０＊０２である。

【０２５５】

態様９０～９７のいずれか１つの実施形態では、抗体は、ＧｖＨＤを治療または防止することが可能である。態様９０～９７のいずれか１つの別の実施形態では、抗体または断片は、ＧｖＤ以外の疾患の治療または防止に使用されるが、抗体または断片は、ＧｖＨＤを治療または防止することが可能である。

【０２５６】

９８．抗体または断片が、カッパ軽鎖であって、例えば、軽鎖のＶＬドメインが、ヒトＶＬ遺伝子分節及びヒトＪＬ遺伝子分節の組み換えに由来し、ヒトＶＬ遺伝子分節が、ＩＧＫＶ１Ｄ－３９（例えば、ＩＧＫＶ１Ｄ－３９＊０１）であり、任意選択で、ヒトＪＬ遺伝子分節が、ＩＧＫＪ１（例えば、ＩＧＫＪ１＊０１）またはＩＧＫＪ３（例えば、ＩＧＫＪ３＊０１）である、カッパ軽鎖を含む、態様８６に記載の抗体または断片、態様９５に記載の抗体または断片、態様９６に記載の使用、または態様９７に記載の方法。

【０２５７】

別の実施形態では、ＶＬドメインは、カッパＶＬドメインである。一実施形態では、カッパＶＬドメインは、ヒトＶＬ遺伝子分節及びヒトＪＬ遺伝子分節の組み換えに由来し、ヒトＶＬ遺伝子分節は、ＩＧＫＶ１Ｄ－３９である。別の実施形態では、ＶＬ遺伝子分節は、ＩＧＫＶ１Ｄ－３９＊０１である。

【０２５８】

更なる実施形態では、ヒトＪＬ遺伝子分節は、ＩＧＫＪ１である。別の実施形態では、ＪＬ遺伝子分節は、ＩＧＫＪ１＊０１である。更なる実施形態では、ヒトＪＬ遺伝子分節は、ＩＧＫＪ３である。別の実施形態では、ＪＬ遺伝子分節は、ＩＧＫＪ３＊０１である。

【０２５９】

９９．抗体または断片が、ハプロタイプ一致造血幹細胞移植のアカゲザルモデルにおいて、１２日目までに８０％を上回る幹細胞ドナーキメラ現象を可能にし、任意選択で、抗体が、ＧｖＨＤの防止用である、態様７３～８９、９８、１０１、若しくは１０２のいずれか１つに記載の抗体若しくは断片、または態様９０～９８のいずれか１つに記載の抗体または断片、使用若しくは方法。

【０２６０】

別の態様では、態様９５～９８のいずれか１つに記載の抗体若しくは断片、使用、または方法が提供され、抗体または断片は、ドナーヒト造血幹細胞移植後、ヒトにおいて１２日目までに８０％を上回る幹細胞ドナーキメラ現象を可能にすることによって、該ヒトにおいて移植片拒絶（例えば、ＧｖＨＤ）を治療または防止するためのものである。

【０２６１】

別の実施形態では、態様７３～８９、９８、１０１、または１０２のいずれか１つに記載の抗体または断片が提供され、抗体または断片は、ハプロタイプ一致造血幹細胞移植のアカゲザルモデルにおいて、１２日目までに８０％を上回る幹細胞ドナーキメラ現象を可能にする。

【０２６２】

一実施形態では、キメラ現象は、Ｔ細胞（ＣＤ３$^{+}$／ＣＤ２０$^{-}$）キメラ現象である。別の実施形態では、キメラ現象は、末梢血キメラ現象である。別の実施形態では、キメラ現象は、末梢血またはＴ細胞（ＣＤ３$^{+}$／ＣＤ２０$^{-}$）キメラ現象である。

【０２６３】

一実施形態では、幹細胞ドナーキメラ現象（例えば、末梢血またはＴ細胞（ＣＤ３$^{+}$／ＣＤ２０$^{-}$）キメラ現象）は、ドナー特異的アンプリコン及びレシピエント特異的アンプリコンのピーク高を比較することによる分岐的ドナー及びレシピエント特異的ＭＨＣ結合

マイクロサテライトマーカーを使用して、決定される。別の実施形態では、幹細胞ドナーキメラ現象は、Ｋｅａｎ，ＬＳ，ｅｔａｌ．，“Ｉｎｄｕｃｔｉｏｎｏｆｃｈｉｍｅｒｉｓｍｉｎｒｈｅｓｕｓｍａｃａｑｕｅｓｔｈｒｏｕｇｈｓｔｅｍｃｅｌｌｔｒａｎｓｐｌａｎｔａｎｄｃｏｓｔｉｍｕｌａｔｉｏｎｂｌｏｃｋａｄｅ－ｂａｓｅｄｉｍｍｕｎｏｓｕｐｐｒｅｓｓｉｏｎ”，ＡｍＪＴｒａｎｓｐｌａｎｔ．２００７Ｆｅｂ；７（２）：３２０－３５に記載のように決定される。別の実施形態では、幹細胞ドナーキメラ現象は、実施例７に記載のように決定される。

【０２６４】

一実施形態では、ハプロタイプ一致造血幹細胞のアカゲザルモデルは、移植片（ＨＳＣＴ）レシピエント動物によって行われ、この動物は、抗ＯＸ４０Ｌ抗体投与と共に前処置手順を受け、続いて半同胞ドナー動物から単離した末梢血産生物の注入された後、継続して本発明の抗ＯＸ４０Ｌ抗体の週間投薬を受け、血液試料を採取されてキメラ現象について分析される。

【０２６５】

別の実施形態では、ＨＳＣＴモデルにおいて、レシピエント動物は、本発明の抗ＯＸ４０Ｌ抗体の静脈内投与前に宿主の造血系を除去するための（－２日目、後続して５日目、１２日目、１９日目、２６日目、３３日目、４０日目、４７日目に静脈内投与）、４回の投与に分割し２日かけた（実験－２日目及び－１日目）１０２０ｃＧｙの前処置放射線投与、ならびにレシピエントの免疫系を再構成するためのＭＨＣ半整合（半同胞）ドナー動物からの白血球及び幹細胞を多く含む末梢血の移植、それを併せた継続的な支持療法、血液サンプリング、及びＧＶＨＤの兆候のモニタリングを受ける。

【０２６６】

一実施形態では、抗体若しくは断片、使用、または方法は、ＧｖＨＤの防止のためのものである。

【０２６７】

一実施形態では、本発明の抗ｈＯＸ４０Ｌ抗体は、予防的に投与される。一実施形態では、予防的治療は、疾患または状態の悪化または発症を防止する。

【０２６８】

別の実施形態では、該抗体は、静脈内投与される。別の実施形態では、該抗体は、約５～１０ｍｇ／ｋｇの用量で（例えば、約８ｍｇ／ｋｇで）投与される。別の実施形態では、該抗体は、静脈内投与される。別の実施形態では、該抗体は、約５～１０ｍｇ／ｋｇの用量で（例えば、約８ｍｇ／ｋｇで）投与される。別の実施形態では、該抗体は、約０．１ｍｇ／ｋｇ、約０．５ｍｇ／ｋｇ、約１ｍｇ／ｋｇ、３ｍｇ／ｋｇ、５ｍｇ／ｋｇ、約１０ｍｇ／ｋｇ、約１５ｍｇ／ｋｇ、約２０ｍｇ／ｋｇ、約２５ｍｇ／ｋｇ、約３０ｍｇ／ｋｇ、約４０ｍｇ／ｋｇ、約５０ｍｇ／ｋｇ、約６０ｍｇ／ｋｇ、約７０ｍｇ／ｋｇ、約８０ｍｇ／ｋｇ、約９０ｍｇ／ｋｇ、または約１００ｍｇ／ｋｇ、特に、約１ｍｇ／ｋｇ、または約３ｍｇ／ｋｇから選択される用量で投与される。

【０２６９】

別の実施形態では、該抗体は、移植の１～４日前、例えば、移植の１～３日前または移植の１～２日前に投与される。別の実施形態では、該抗体は、移植後、週間、隔週、または月間、例えば、隔週で投与される。更なる実施形態では、該抗体は、約５～１０ｍｇ／ｋｇ（例えば、約８ｍｇ／ｋｇ）の用量で、予防的に移植の１～３日前に静脈内投与され、その後は、約５～１０ｍｇ／ｋｇ（例えば、約８ｍｇ／ｋｇ）の用量で、隔週で静脈内投与される。

【０２７０】

別の実施形態では、患者は、移植後、ＧｖＨＤの発現（例えば、急性ＧｖＨＤ）を予測するバイオマーカーの存在について定期的にモニタリングされ、バイオマーカーレベルが、患者がＧｖＨＤ（例えば、急性ＧｖＨＤ）の発現の危険性を有すると決定されるレベルになると、本発明の抗ＯＸ４０Ｌ抗体が投与される。この戦略は、薬物の不要な投薬及び免疫系の不要な抑制を回避し得る。急性ＧｖＨＤの予測的バイオマーカーとして有用であ

り得るバイオマーカーの例は、Ｌｅｖｉｎｅ ｅｔ ａｌ．，「Ａ ｐｒｏｇｎｏｓｔｉｃ ｓｃｏｒｅ ｆｏｒ ａｃｕｔｅ ｇｒａｆｔ－ｖｅｒｓｕｓ－ｈｏｓｔ ｄｉｓｅａｓｅ ｂａｓｅｄ ｏｎ ｂｉｏｍａｒｋｅｒｓ：ａ ｍｕｌｔｉｃｅｎｔｒｅ ｓｔｕｄｙ」，Ｌａｎｃｅｔ Ｈａｅｍａｔｏｌ ２０１５；２：ｅ２１－２９で特定されているものであり得る。これらのバイオマーカーとしては、ＴＮＦＲ１、ＳＴ－２、エラフィン、ならびにＩＬ２Ｒα及びＲｅｇ３αが挙げられるが、これらに限定されない。

【０２７１】

更なる実施形態では、ＨＳＣＴモデルは、Ｍｉｌｌｅｒ，Ｗｅｓｔｏｎ Ｐ．，ｅｔ ａｌ．“ＧＶＨＤ ａｆｔｅｒ ｈａｐｌｏｉｄｅｎｔｉｃａｌ ｔｒａｎｓｐｌａｎｔａｔｉｏｎ：ａ ｎｏｖｅｌ，ＭＨＣ－ｄｅｆｉｎｅｄ ｒｈｅｓｕｓ ｍａｃａｑｕｅ ｍｏｄｅｌ ｉｄｅｎｔｉｆｉｅｓ ＣＤ２８$^{-}$ ＣＤ８$^{+}$ Ｔ ｃｅｌｌｓ ａｓ ａ ｒｅｓｅｒｖｏｉｒ ｏｆ ｂｒｅａｋｔｈｒｏｕｇｈ Ｔ－ｃｅｌｌ ｐｒｏｌｉｆｅｒａｔｉｏｎ ｄｕｒｉｎｇ ｃｏｓｔｉｍｕｌａｔｉｏｎ ｂｌｏｃｋａｄｅ ａｎｄ ｓｉｒｏｌｉｍｕｓ－ｂａｓｅｄ ｉｍｍｕｎｏｓｕｐｐｒｅｓｓｉｏｎ．” Ｂｌｏｏｄ，１１６，２４（２０１０）：５４０３－５４１８に記載のように実施される。更なる実施形態では、ＨＳＣＴモデルは、実施例７に記載のように実行される。

【０２７２】

１００．抗体が、態様７３～８９、９８、９９、１０１、または１０２のいずれか１つに定義の通りである、態様９５～９９のいずれか１つに記載の抗体若しくは断片、使用、または方法。

【０２７３】

１０１．抗体または断片が、１４日間の過成長期間でＬｏｎｚａバージョン８フィードシステムを使用する過成長流加培養において、１．５ｇ／Ｌを上回るレベルで、Ｌｏｎｚａ ＧＳ－Ｘｃｅｅｄ（商標）において安定してトランスフェクトされたプールとして発現する、態様７３～８９、９８、９９、若しくは１０２のいずれか１つに記載の抗体若しくは断片、または態様９０～１００のいずれか１つに記載の抗体若しくは断片、使用、若しくは方法。

【０２７４】

一実施形態では、発現レベルは、１．０ｇ／Ｌ超、１．１ｇ／Ｌ超、１．２ｇ／Ｌ超、１．３ｇ／Ｌ超、または１．４ｇ／Ｌ超である。

【０２７５】

１０２．抗体または断片が、ハプロタイプ一致造血幹細胞移植のアカゲザルモデルにおいて、１２日目に、全ＣＤ４$^{+}$Ｔ細胞集団の２０％超のＣＤ４$^{+}$Ｔ細胞の未感作集団を維持する、態様７３～８９、９８、９９、若しくは１０１のいずれか１つに記載の抗体または断片、または態様９０～１０１のいずれか１つに記載の抗体若しくは断片、使用、若しくは方法。

【０２７６】

別の態様では、態様７３～８９、９８、９９、若しくは１０１のいずれか１つに記載の抗体若しくは断片、または態様９０～１０１のいずれか１つに記載の抗体若しくは断片、使用、若しくは方法が提供され、抗体または断片は、ドナーヒト造血幹細胞移植後、ヒトにおいて、１２日目に、全ＣＤ４$^{+}$Ｔ細胞集団の２０％超のドナーＣＤ４$^{+}$Ｔ細胞の未感作集団を維持することによって、該ヒトにおいて移植片拒絶を治療または防止するためのものである。

【０２７７】

一実施形態では、ＨＳＣＴモデルは、上文で企図したいずれかの実施形態に記載の通り、例えば、態様９９に関連して記載の通りである。

【０２７８】

別の実施形態では、未感作集団は、フローサイトメトリーを使用して、特定のＴ細胞表現型の相対的比率を評価することによって測定され、ここでは、細胞サブセットは、蛍光

抗体プローブを用いて標識することで、未感作ＣＤ４またはＣＤ８Ｔ細胞が、それぞれ、ＣＤ４$^{+}$／ＣＤ２８$^{+}$／ＣＤ９５$^{-}$またはＣＤ８$^{+}$／ＣＤ２８$^{+}$／ＣＤ９５$^{-}$と標識され、中央メモリーＣＤ４またはＣＤ８Ｔ細胞が、それぞれ、ＣＤ４$^{+}$／ＣＤ２８$^{+}$／ＣＤ９５$^{+}$またはＣＤ８$^{+}$／ＣＤ２８$^{+}$／ＣＤ９５$^{+}$と標識され、エフェクターメモリーＣＤ４またはＣＤ８Ｔ細胞が、それぞれ、ＣＤ４$^{+}$／ＣＤ２８$^{-}$／ＣＤ９５$^{+}$またはＣＤ８$^{+}$／ＣＤ２８$^{-}$／ＣＤ９５$^{+}$と標識されることによって、特定される。

【０２７９】

１０３．更なる治療薬をヒトに投与することを更に含み、任意選択で、更なる治療薬が、独立して、ラパマイシン（シロリムス）、ラクロリムス（ｒａｃｒｏｌｉｍｕｓ）、シクロスポリン、コルチコステロイド（例えば、メチルプレドニゾロン）、メトトレキサート、ミコフェノール酸モフェチル、抗ＣＤ２８抗体、抗ＩＬ１２／ＩＬ－２３抗体（例えば、ウステキヌマブ）、抗ＣＤ２０抗体（例えば、リツキシマブ）、抗ＣＤ３０抗体（例えば、ブレンツキシマブ）、ＣＴＬＡ４－Ｆｃ分子（例えば、アバタセプト）、ＣＣＲ５受容体拮抗薬（例えば、マラビロク）、抗ＣＤ４０Ｌ抗体、抗ＶＬＡ４抗体（例えば、ナタリズマブ）、抗ＬＦＡ１抗体、フルダラビン、抗ＣＤ５２抗体（例えば、アレムツズマブ）、抗ＣＤ４５抗体、シクロホスファミド、抗胸腺細胞グロブリン、抗補体Ｃ５抗体（例えば、エクリズマブ）、抗ａ４ｂ７インテグリン抗体（例えば、ベドリズマブ）、抗ＩＬ６抗体（例えば、トシリズマブ）、抗ＩＬ２Ｒ抗体（例えば、バシリキスマブ（ｂａｓｉｌｉｘｕｍａｂ））、抗ＣＤ２５抗体（例えば、ダクリズマブ）、抗ＴＮＦａ／ＴＮＦａ－Ｆｃ分子（例えば、エタネルセプト、アダリムマブ、インフリキシマブ、ゴリムマブ、またはセトリズマブペゴール）、及びボリノスタット、特に、ラパマイシン（シロリムス）、ラクロリムス（ｒａｃｒｏｌｉｍｕｓ）、シクロスポリン、コルチコステロイド（例えば、メチルプレドニゾロン）、メトトレキサート、ミコフェノール酸モフェチル、抗ＣＤ２８抗体、ＣＴＬＡ４－Ｆｃ分子（例えば、アバタセプト）、抗ＣＤ４０Ｌ抗体、抗ＬＦＡ１抗体、抗ＣＤ５２抗体（例えば、アレムツズマブ）、シクロホスファミド、及び抗胸腺細胞グロブリンから成る群から選択される、態様９０～１０２のいずれか１つに記載の抗体若しくは断片、使用、または方法。

【０２８０】

一実施形態では、更なる治療薬は、抗炎症薬である。別の実施形態では、抗炎症薬は、独立して、コルチコステロイド（例えば、メチルプレドニゾロン）、抗ＩＬ１２／ＩＬ－２３抗体（例えば、ウステキヌマブ）、抗ＶＬＡ４抗体（例えば、ナタリズマブ）、抗ＬＦＡ１抗体、抗補体Ｃ５抗体（例えば、エクリズマブ）、抗ａ４ｂ７インテグリン抗体（例えば、ベドリズマブ）、抗ＩＬ６抗体（例えば、トシリズマブ）、抗ＩＬ２Ｒ抗体（例えば、バシリキスマブ）、または抗ＴＮＦａ抗体／ＴＮＦａ－Ｆｃ分子（例えば、エタネルセプト、アダリムマブ、インフリキシマブ、ゴリムマブ、セトリズマブペゴール）から成る群から選択される。一例では、抗炎症薬は、独立して、コルチコステロイド（例えば、メチルプレドニゾロン）及び抗ＬＦＡ１抗体から成る群から選択される。

【０２８１】

１０４．更なる治療薬が、抗ｈＯＸ４０Ｌ抗体または断片と連続的または同時に投与される、態様１０３に記載の抗体若しくは断片、使用、または方法。

【０２８２】

１０５．態様７３～８９、９８、９９、１０１、または１０２のいずれか１つに定義の断片の抗体、及び薬学的に許容される賦形剤、希釈剤、または担体を含み、任意選択で、独立して、ラパマイシン（シロリムス）、ラクロリムス、シクロスポリン、コルチコステロイド（例えば、メチルプレドニゾロン）、メトトレキサート、ミコフェノール酸モフェチル、抗ＣＤ２８抗体、抗ＩＬ１２／ＩＬ－２３抗体（例えば、ウステキヌマブ）、抗ＣＤ２０抗体（例えば、リツキシマブ）、抗ＣＤ３０抗体（例えば、ブレンツキシマブ）、ＣＴＬＡ４－Ｆｃ分子（例えば、アバタセプト）、ＣＣＲ５受容体拮抗薬（例えば、マラビロク）、抗ＣＤ４０Ｌ抗体、抗ＶＬＡ４抗体（例えば、ナタリズマブ）、抗ＬＦＡ１抗体、フルダラビン、抗ＣＤ５２抗体（例えば、アレムツズマブ）、抗ＣＤ４５抗体、シク

ロホスファミド、抗胸腺細胞グロブリン、抗補体Ｃ５抗体（例えば、エクリズマブ）、抗ａ４ｂ７インテグリン抗体（例えば、ベドリズマブ）、抗ＩＬ６抗体（例えば、トシリズマブ）、抗ＩＬ２Ｒ抗体（例えば、バシリキスマブ）、抗ＣＤ２５抗体（例えば、ダクリズマブ）、抗ＴＮＦａ／ＴＮＦａ－Ｆｃ分子（例えば、エタネルセプト、アダリムマブ、インフリキシマブ、ゴリムマブ、またはセトリズマブペゴール）、及びボリノスタット、特に、ラパマイシン（シロリムス）、ラクロリムス、シクロスポリン、コルチコステロイド（例えば、メチルプレドニゾロン）、メトトレキサート、ミコフェノール酸モフェチル、抗ＣＤ２８抗体、ＣＴＬＡ４－Ｆｃ分子（例えば、アバタセプト）、抗ＣＤ４０Ｌ抗体、抗ＬＦＡ１抗体、抗ＣＤ５２抗体（例えば、アレムツズマブ）、シクロホスファミド、及び抗胸腺細胞グロブリンから成る群から選択される更なる治療薬を更に含む、薬学的組成物。

【０２８３】

本明細書に記載の薬学的に許容される賦形剤、希釈剤、または担体は、これらの組成物について準用する。

【０２８４】

一実施形態では、更なる治療薬は、抗炎症薬である。別の実施形態では、抗炎症薬は、独立して、コルチコステロイド（例えば、メチルプレドニゾロン）、抗ＩＬ１２／ＩＬ－２３抗体（例えば、ウステキヌマブ）、抗ＶＬＡ４抗体（例えば、ナタリズマブ）、抗ＬＦＡ１抗体、抗補体Ｃ５抗体（例えば、エクリズマブ）、抗ａ４ｂ７インテグリン抗体（例えば、ベドリズマブ）、抗ＩＬ６抗体（例えば、トシリズマブ）、抗ＩＬ２Ｒ抗体（例えば、バシリキスマブ）、または抗ＴＮＦａ抗体／ＴＮＦａ－Ｆｃ分子（例えば、エタネルセプト、アダリムマブ、インフリキシマブ、ゴリムマブ、セトリズマブペゴール）から成る群から選択される。一例では、抗炎症薬は、独立して、コルチコステロイド（例えば、メチルプレドニゾロン）及び抗ＬＦＡ１抗体から成る群から選択される。

【０２８５】

１０６．組成物が、自己免疫疾患若しくは状態、全身炎症性疾患若しくは状態、または移植片拒絶から選択される、ｈＯＸ４０Ｌ媒介性状態または疾患、例えば、炎症性腸疾患（ＩＢＤ）、クローン病、リウマチ性関節炎、移植片拒絶、同種移植片拒絶、移植片対宿主病（ＧｖＨＤ）、潰瘍性大腸炎、全身性エリテマトーデス（ＳＬＥ）、糖尿病、ブドウ膜炎、強直性脊椎炎、接触過敏症、多発性硬化症、及びアテローム性動脈硬化症、特にＧｖＨＤの治療及び／または防止用である、態様１０５に記載の薬学的組成物、または態様１０５に定義の薬学的組成物を含むキット。

【０２８６】

本明細書に記載の態様、構成、実施例、または実施形態のいずれか１つのｈＯＸ４０Ｌ媒介性疾患は、任意選択で、この組み合わせについて準用する。

【０２８７】

１０７．ヒトにおける該疾患若しくは状態の治療及び／若しくは防止に使用するためのラベル若しくは説明書と組み合わせた態様１０５若しくは態様１０６に記載の薬学的組成物、またはラベル若しくは説明書を含む態様１０６に記載のキットであって、任意選択で、ラベルまたは説明書が、販売承認番号（例えば、ＦＤＡまたはＥＭＡ承認番号）を含み、任意選択で、キットが、抗体または断片を含むＩＶまたは注射機器を含む、薬学的組成物またはキット。

【０２８８】

本明細書に記載の態様、構成、実施例、または実施形態のいずれか１つのラベル、説明書、ｈＯＸ４０Ｌ媒介性疾患、及び状態は、任意選択で、この組み合わせについて準用する。

【０２８９】

１０８．態様７３～８９、９８、９９、１０１、または１０２のいずれか１つに定義の抗体または断片のＨＣＤＲ３をコードする、核酸。

【０２９０】

１０９．態様７３～８９、９８、９９、１０１、または１０２のいずれか１つに定義の抗体または断片のＶＨドメイン及び／またはＶＬドメインをコードする、核酸。

【０２９１】

１１０．配列番号３３及び／または配列番号４７の配列と少なくとも８０％同一であるヌクレオチド配列を含む、態様１０９に記載の核酸。

【０２９２】

一例では、ヌクレオチド配列は、配列番号３３及び／または配列番号４７の配列と、少なくとも８５％同一、少なくとも９０％同一、少なくとも９５％同一、少なくとも９６％同一、少なくとも９７％同一、少なくとも９８％同一、または少なくとも９９％同一である。

【０２９３】

１１１．態様７３～８９、９８、９９、１０１、または１０２のいずれか１つに挙げた抗体の重鎖または軽鎖をコードする、核酸。

【０２９４】

１１２．態様１０８～１１１のいずれか１つに記載の核酸を含むベクターであって、任意選択で、ベクターが、ＣＨＯまたはＨＥＫ２９３ベクターである、ベクター。

【０２９５】

１１３．態様１０８～１１１のいずれか１つの核酸、または請求項１１２のベクターを含む、宿主。

【０２９６】

実施例で説明するように、発明者らは、本発明の抗体及び断片を特定するのに特に有用な一式の基準を考案した。これらの基準とは、

（ａ）抗体または断片が、（任意選択で、完全長ヒトＯＸ４０Ｌでトランスフェクトした）ＣＨＯ－Ｓ細胞上の細胞表面ｈＯＸ４０Ｌに結合し、かつ／またはＨＴＲＦアッセイにおいて組み換えｈＯＸ４０Ｌに結合する能力、

（ｂ）抗体または断片が、受容体中和ＨＴＲＦアッセイ及び／またはフローサイトメトリー受容体中和アッセイにおいて、ヒトＯＸ４０を中和する（例えば、ヒトＯＸ４０受容体に結合するヒトＯＸ４０Ｌを中和する）能力、

（ｃ）抗体または断片が、ヒトＯＸ４０Ｌとアカゲザルの両方に特異的に結合する能力（抗体または断片のＰＫ、ＰＤ、効能、及び他のパラメータが、ヒトの代理としてアカゲザルモデルにおいて評定され得るために有用である）。

【０２９７】

故に、本発明の一例では、抗体または断片は、基準（ａ）、（ｂ）、及び（ｃ）を満たす。

【０２９８】

一例では、基準（ａ）は、抗体または断片が、ＦＡＣＳによるＣＨＯ－Ｓ細胞が発現するｈＯＸ４０Ｌへの受容体結合を７０％未満示すように設定される。

【０２９９】

一例では、基準（ａ）は、抗体または断片が、ＨＴＲＦアッセイにおいてＯＸ４０Ｌへの受容体結合を９０％未満示すように設定される。

【０３００】

一例では、基準（ａ）は、抗体または断片が、ＨＴＲＦアッセイにおいて少なくとも２０％の効果を示すように設定される。

【０３０１】

一例では、ＯＸ４０が基準（ｂ）で使用される。

【０３０２】

一実施形態では、本発明の抗体または断片のアッセイまたは試験は、ｐＨ７で、または実質的にｐＨ７で（例えば、インビトロにおける試験及びアッセイに対して）、及びｒｔｐで、または実質的にｒｔｐで実行される。

【０３０３】

任意選択で、抗体または断片は、ＳＰＲによって、例えば、本明細書に開示のＳＰＲ条件下で決定して、１マイクロＭ未満、１０００ｎＭ～１００ｎＭ、１００ｎＭ～１０ｎＭ、１０ｎＭ～１ｎＭ、１０００ｐＭ～５００ｐＭ、５００ｐＭ～２００ｐＭ、２００ｐＭ未満、２００ｐＭ～１５０ｐＭ、２００ｐＭ～１００ｐＭ、１００ｐＭ～１０ｐＭ、１０ｐＭ～１ｐＭ、例えば、１ｍＭ～１ｐＭの範囲（例えば、１ｍＭ～１００ｐＭ、１０ｎＭ～１００ｐＭ、１ｎＭ～１０ｐＭ、または１００ｐＭ～１ｐＭ）の親和性（見掛けの親和性、Ｋｄ）で、ｈＯＸ４０Ｌに特異的に結合する。加えてまたはあるいは、抗体または断片は、ＳＰＲによって、例えば、本明細書に開示のＳＰＲ条件下で決定して、１マイクロＭ未満、１０００ｎＭ～１００ｎＭ、１００ｎＭ～１０ｎＭ、１０ｎＭ～１ｎＭ、１０００ｐＭ～５００ｐＭ、５００ｐＭ～２００ｐＭ、２００ｐＭ未満、２００ｐＭ～１５０ｐＭ、２００ｐＭ～１００ｐＭ、１００ｐＭ～１０ｐＭ、１０ｐＭ～１ｐＭ、例えば、１ｍＭ～１ｐＭの範囲（例えば、１ｍＭ～１００ｐＭ、１０ｎＭ～１００ｐＭ、１ｎＭ～１０ｐＭ、または１００ｐＭ～１ｐＭ）の親和性（見掛けの親和性、Ｋｄ）で、アカゲザルＯＸ４０Ｌに特異的に結合する。かかる結合測定は、例えば、Ｂｉａｃｏｒｅ（商標）などの表面プラズモン共鳴（ＳＰＲ）を使用して、またはＰｒｏｔｅＯｎ　ＸＰＲ３６（商標）（Ｂｉｏ－Ｒａｄ（登録商標）を使用して、ＫｉｎＥｘＡ（登録商標）（Ｓａｐｉｄｙｎｅ　Ｉｎｓｔｒｕｍｅｎｔｓ，Ｉｎｃ）を使用して、またはＦｏｒｔｅＢｉｏ　Ｏｃｔｅｔ（Ｐａｌｌ　ＦｏｒｔｅＢｉｏ　Ｃｏｒｐ．）を使用して、当該技術分野で既知の様々な結合アッセイを使用して行われ得る。

【０３０４】

ＯＸ４０Ｌ結合能力、特異性、及び親和性（Ｋｄ、K_{off}及び／またはK_{on}）は、当該技術分野における任意の常法によって、例えば、表面プラズモン共鳴（ＳＰＲ）によって決定され得る。「Ｋｄ」という用語は、本明細書で使用する場合、特定の抗体抗原相互作用の平衡解離定数を指すことが意図される。

【０３０５】

一実施形態では、表面プラズモン共鳴（ＳＰＲ）は、２５℃で実行される。別の実施形態では、ＳＰＲは、３７℃で実行される。

【０３０６】

一実施形態では、ＳＰＲは、約ｐＨ７などの生理学的ｐＨで、または約ｐＨ７．６で（例えば、ｐＨ７．６のＨｅｐｅｓ緩衝生理食塩水（ＨＢＳ－ＥＰとも称される）を使用して）実行される。

【０３０７】

一実施形態では、ＳＰＲは、生理学的塩分濃度、例えば、１５０ｍＭのＮａＣｌで実行される。

【０３０８】

一実施形態では、ＳＰＲは、０．０５体積％以下の洗剤濃度で、例えば、０．０５％のＰ２０（ポリソルベート２０、例えば、Ｔｗｅｅｎ－２０（商標））及び３ｍＭのＥＤＴＡの存在下で、実行される。

【０３０９】

一例では、ＳＰＲは、ｐＨ７．６の緩衝液、１５０ｍＭのＮａＣｌ、０．０５％の洗剤（例えば、Ｐ２０）、及び３ｍＭのＥＤＴＡ中で、２５℃または３７℃で、実行される。緩衝液は、１０ｍＭのＨｅｐｅｓを含有し得る。一例では、ＳＰＲは、ＨＢＳ－ＥＰ中で２５℃または３７℃で実行される。ＨＢＳ－ＥＰは、Ｔｅｋｎｏｖａ　Ｉｎｃ（カリフォルニア、カタログ番号Ｈ８０２２）から入手可能である。

【０３１０】

一例では、抗体または断片の親和性は、ＳＰＲを使用して、
１．１級アミン結合などによって、抗マウス（または他の関係のあるヒト、ラット、若しくは非ヒト脊椎動物抗体定常領域種整合）ＩｇＧ（例えば、Ｂｉａｃｏｒｅ（商標）ＢＲ－１００８－３８）を、バイオセンサーチップ（例えば、ＧＬＭチップ）に結合させること、

２．抗マウスＩｇＧ（または他の整合種抗体）を試験ＩｇＧ抗体に曝露して、チップ上に試験抗体を捕捉すること、
３．試験抗原を、０ｎＭと共に（即ち、緩衝液のみ）、１０２４ｎＭ、２５６ｎＭ、６４ｎＭ、１６ｎＭ、４ｎＭで、チップの捕捉面に渡すこと、
４．及び、試験抗体の試験抗原への結合の親和性を、表面プラズモン共鳴を使用して、例えば、上で考察したＳＰＲ条件下で（例えば、生理学的緩衝液中２５℃で）決定することによって、決定される。ＳＰＲは、Ｂｉａｃｏｒｅ（商標）などの任意の標準的なＳＰＲ装置を使用するか、またはＰｒｏｔｅＯｎ　ＸＰＲ３６（商標）（Ｂｉｏ－Ｒａｄ（登録商標）を使用して実行され得る。

【０３１１】

捕捉表面の再生は、ｐＨ１．７の１０ｍＭのグリセリンを用いて実行され得る。これにより、捕捉された抗体が除去され、表面を別の相互作用に使用することが可能となる。結合データは、標準的な技法を使用して、例えば、ＰｒｏｔｅＯｎ　ＸＰＲ３６（商標）分析ソフトウェアに固有のモデルを使用して、１：１の固有モデルに適合させ得る。

【０３１２】

一例では、本発明の抗体または断片は、医療用容器、例えば、バイアル、注射器、ＩＶ容器、または注射機器（例えば、眼内または硝子体内注射機器）中に収容される。一例では、抗体または断片は、インビトロ、例えば、滅菌容器中にある。一例では、本発明は、本発明の抗体または断片、包装、及びＯＸ４０Ｌによって媒介される疾患若しくは状態のヒトにおける治療若しくは防止若しくは診断における使用説明書を含むキットを提供する。一例では、説明書は、抗体または断片をヒトに投与する前に、ヒトが、本発明のＯＸ４０Ｌ変異体配列について遺伝子型を同定されるべきであることを示す。一例では、説明書は、抗体または断片をヒトに投与する前に、ヒトが、本発明のＯＸ４０Ｌ変異体配列について表現型を同定されるべきであることを示す。一例では、ヒトは中華（例えば、漢ＣＨＳ）民族であり、説明書は中国語（例えば、北京語）である。

【０３１３】

一例では、抗体または断片の結合部位（複数可）は、複数の結合部位（例えば、ライブラリ）から選択される。例えば、複数の結合部位は、複数の４鎖抗体またはその断片、例えば、ｄＡｂｓ、Ｆａｂｓ、またはｓｃＦｖｓを含むか、あるいはそれらから成る。スクリーニングに対して複数の結合部位を産生するための好適な方法としては、ファージディスプレイ（抗体結合部位のファージディスプレイライブラリを産生する）、リボソームディスプレイ（抗体結合部位のリボソームディスプレイライブラリを産生する）、酵母ディスプレイ（抗体結合部位の酵母ディスプレイライブラリを産生する）、またはｈＯＸ４０Ｌ若しくはｈＯＸ４０Ｌエピトープによる非ヒト脊椎動物の免疫付与（例えば、齧歯動物、例えば、マウスまたはラット、例えば、Ｖｅｌｏｃｉｍｏｕｓｅ（商標）、Ｋｙｍｏｕｓｅ（商標）、Ｘｅｎｏｍｏｕｓｅ（商標）、Ａｌｉｖａ　Ｍｏｕｓｅ（商標）、ＨｕＭａｂ　Ｍｏｕｓｅ（商標）、Ｏｍｎｉｍｏｕｓｅ（商標）、Ｏｍｎｉｒａｔ（商標）、またはＭｅＭｏ　Ｍｏｕｓｅ（商標））ならびに抗体産生細胞のレパートリー（例えば、Ｂ細胞、血漿細胞、または形質芽球レパートリー）及び／若しくは単離した抗体、断片、若しくは結合部位のレパートリーが挙げられる。

【０３１４】

「エピトープ」という用語は、抗体または断片が結合する抗原の領域である。エピトープは、構造的または機能性と定義され得る。機能的エピトープは、概して、構造的エピトープのサブセットであり、相互作用の親和性に直接的に寄与する残基を有する。エピトープはまた、立体配座であってもよく、これはつまり、非線形アミノ酸で構成されてもよいということである。ある特定の実施形態では、エピトープは、アミノ酸、糖側鎖、ホスホリル基、またはスルホニル基などの、分子の化学的活性表面グループである決定基を含んでもよく、ある特定の実施形態では、特定の三次元構造の特徴及び／または特定の荷電特徴を有してもよい。

【０３１５】

本発明の任意の態様に関する「単離された」という用語、例えば、単離された抗体または断片は、対象の抗体または断片などが、（１）それが通常見られる少なくとも一部の他のタンパク質を含まない、（２）同一源、例えば同一種からの他のタンパク質を本質的に含まない、（３）異なる種からの細胞によって発現される、（４）少なくとも約５０パーセントのポリヌクレオチド、脂質、炭水化物、若しくはそれが自然界で関連付けられる他の物質から分離されている、（５）それが自然界で関連付けられないポリペプチドと機能可能に関連付けられる、または（６）自然界で発生しないことを意味する。典型的には、「単離された」抗体、断片などは、所与の試料の少なくとも約５％、少なくとも約１０％、少なくとも約２５％、または少なくとも約５０％、６０％、７０％、８０％、８５％、９０％、９２％、９５％、９７％、９８％、９９％、または９９％超を構成する。合成起源のゲノムＤＮＡ、ｃＤＮＡ、ｍＲＮＡ、若しくは他のＲＮＡ、またはこれらの任意の組み合わせは、かかる単離された抗体、断片などをコードし得る。好ましくは、単離された抗体、断片などは、タンパク質若しくはポリペプチド、またはその治療的、診断的、予防的、研究的、若しくは他の使用に干渉し得るその自然環境において見られる他の汚染物質を実質的に含まない。

【０３１６】

例えば、「単離された」抗体は、その産生環境（例えば、天然または組み換え）の構成要素から特定され、分離され、かつ／または回収されたものである。好ましくは、単離されたポリペプチドは、例えば、抗体がＦＤＡによって認可可能な基準または認可された基準に単離されているように、その産生環境からの全ての他の構成要素との関連がない。組み換えトランスフェクト細胞から生じるものなどの、その産生環境の汚染構成要素は、抗体への研究的、診断的、または治療的使用に典型的に干渉し得る物質であり、酵素、ホルモン、及び他のタンパク性または非タンパク性溶質を含んでもよい。好ましい実施形態では、ポリペプチドは、（１）例えばローリー法によって決定して、９５重量％超の抗体、一部の実施形態では、９９重量％超の抗体に、（２）スピニングカップシークエネーターの使用によって、Ｎ末端若しくは内部アミノ酸配列の少なくとも１５個の残基を得るのに十分な程度に、または（３）クマシーブルー、好ましくは銀染色を使用して、非還元若しくは還元条件下で、ＳＤＳ－ＰＡＧＥによって均一に、精製されることになる。単離された抗体は、抗体の自然環境の少なくとも１つの構成要素が存在しなくなるため、組み換え細胞内でその場で抗体を含む。一般には、単離されたポリペプチドまたは抗体は、少なくとも１つの精製ステップによって調製されることになる。

【０３１７】

免疫抱合体

本発明は、細胞毒素、化学療法薬、免疫抑制剤、または放射性同位体などの、治療部分と複合体化された抗体または断片（「免疫抱合体」）を包含する。細胞毒素剤は、細胞を害する任意の薬剤を含む。免疫抱合体を形成するための好適な細胞毒素剤及び化学療法剤の例は、当該技術分野で既知であり、例えば、その全体が参照により本明細書に組み込まれる国際公開第０５／１０３０８１号を参照されたい。

【０３１８】

二重特異性

本発明の抗体及び断片は、単一特異性、二重特異性、または多特異性であってもよい。多特異性ｍＡｂｓは、１個の標的ポリペプチドの異なるエピトープに特異的であってもよく、または１個超の標的ポリペプチドに特異的な抗原結合ドメインを含んでもよい。例えば、Ｔｕｔｔ　ｅｔ　ａｌ．，（１９９１）Ｊ．Ｉｍｍｕｎｏｌ．１４７：６０－６９を参照されたい。ヒト抗ｈＯＸ４０Ｌ抗体または断片は、別の機能分子、例えば、別のペプチドまたはタンパク質に結合され得るか、またはそれと共発現され得る。例えば、抗体またはその断片は、別の抗体または抗体断片などの１つ以上の他の分子実体に機能的に（例えば、化学的カップリング、遺伝子融合、非共有結合性会合などによって）結合されて、第２の結合特異性を持つ二重特異性または多特異性抗体を産生し得る。

【０３１９】

本発明の文脈において使用され得る例示的な二重特異性抗体形式は、第１の免疫グロブリン（Ｉｇ）ＣＨ３ドメイン及び第２のＩｇＣＨ３ドメインの使用を伴い、第１及び第２のＩｇＣＨ３ドメインは、互いに少なくとも１つのアミノ酸だけ異なり、少なくとも１つのアミノ酸の差異は、アミノ酸の差異を欠く二重特異性抗体と比較して、二重特異性抗体のタンパク質Ａへの結合を低減する。一実施形態では、第１のＩｇＣＨ３ドメインは、タンパク質Ａに結合し、第２のＩｇＣＨ３ドメインは、Ｈ９５Ｒ修飾（ＩＭＧＴエクソン付番による；ＥＵ付番ではＨ４３５Ｒ）などの、タンパク質結合を低減するかまたは消失させる変異体を含む。第２のＣＨ３は、Ｙ９６Ｆ修飾（ＩＭＧＴによる、ＥＵではＹ４３６Ｆ）を更に含んでもよい。第２のＣＨ３内に見い出され得る更なる修飾としては、ＩｇＧ１抗体の場合、Ｄ１６Ｅ、Ｌ１８Ｍ、Ｎ４４Ｓ、Ｋ５２Ｎ、Ｖ５７Ｍ、及びＶ８２１（ＩＭＧＴによる；ＥＵでは、Ｄ３５６Ｅ、Ｌ３５８Ｍ、Ｎ３８４Ｓ、Ｋ３９２Ｎ、Ｖ３９７Ｍ、及びＶ４２２Ｉ）、ＩｇＧ２抗体の場合、Ｎ４４Ｓ、Ｋ５２Ｎ、及びＶ８２Ｉ（ＩＭＧＴによる；ＥＵでは、Ｎ３８４Ｓ、Ｋ３９２Ｎ、及びＶ４２２Ｉ）、ならびにＩｇＧ４抗体の場合、Ｑ１５Ｒ、Ｎ４４Ｓ、Ｋ５２Ｎ、Ｖ５７Ｍ、Ｒ６９Ｋ、Ｅ７９Ｑ、及びＶ８２Ｉ（ＩＭＧＴによる；ＥＵでは、Ｑ３５５Ｒ、Ｎ３８４５、Ｋ３９２Ｎ、Ｖ３９７Ｍ、Ｒ４０９Ｋ、Ｅ４１９Ｑ、及びＶ４２２Ｉ）が挙げられる。上記の二重特異性抗体形式上の変異体は、本発明の範囲内であることが企図される。

【０３２０】

ある特定の実施形態では、抗体またはそのＯＸ４０Ｌ結合断片は、６個未満のＣＤＲを含む。一部の実施形態では、抗体またはその抗原結合断片は、ＨＣＤＲ１、ＨＣＤＲ２、ＨＣＤＲ３、ＬＣＤＲ１、ＬＣＤＲ２、及びＬＣＤＲ３から成る群から選択される、１個、２個、３個、４個、または５個のＣＤＲを含むか、またはそれらから成る。特定の実施形態では、抗体またはその抗原結合断片は、配列リスト中の、ＨＣＤＲ１、ＨＣＤＲ２、ＨＣＤＲ３、ＬＣＤＲ１、ＬＣＤＲ２、及びＬＣＤＲ３配列から成る群から選択される、１個、２個、３個、４個、または５個のＣＤＲを含むか、またはそれらから成る（即ち、ＨＣＤＲ１については、配列番号４、配列番号１０、配列番号３６、配列番号４２、配列番号６８、配列番号７４、配列番号９６、または配列番号１０２、特に、配列番号３６または配列番号４２；ＨＣＤＲ２については、配列番号６、配列番号１２、配列番号３８、配列番号４４、配列番号７０、配列番号７６、配列番号９８、または配列番号１０４、特に、配列番号３８または配列番号４４；ＨＣＤＲ３については、配列番号８、配列番号１４、配列番号４０、配列番号４６、配列番号７２、配列番号７８、配列番号１００、または配列番号１０６、特に、配列番号４０または配列番号４６；ＬＣＤＲ１については、配列番号１８、配列番号２４、配列番号５０、配列番号５６、配列番号８２、配列番号８８、配列番号１１０、または配列番号１１６、特に、配列番号５０または配列番号５６；ＬＣＤＲ２については、配列番号２０、配列番号２６、配列番号５２、配列番号５８、配列番号８４、配列番号９０、配列番号１１２、または配列番号１１８、特に、配列番号５２または配列番号５８；及びＬＣＤＲ３については、配列番号２２、配列番号２８、配列番号５４、配列番号６０、配列番号８６、配列番号９２、配列番号１１４、または配列番号１２０、特に、配列番号５４または配列番号６０）。

【０３２１】

特定の実施形態では、本発明の抗体は、完全ヒト抗体、モノクローナル抗体、組み換え抗体、拮抗抗体、ｈＯＸ４０Ｌ中和抗体、またはこれらの任意の組み合わせであるか、あるいは、本発明は、そのｈＯＸ４０Ｌ結合断片を提供する。一例では、抗体は、ヒト可変ドメイン及び非ヒト（例えば、マウスまたはラットまたはウサギ）定常ドメインを含むキメラ抗体である。特定の実施形態では、抗体は、ｈＯＸ４０Ｌに特異的に結合する、完全ヒトモノクローナル抗体などの完全ヒト抗体、またはその抗原結合断片である。好ましい実施形態では、抗体は、拮抗抗体である。好ましい実施形態では、抗体は、中和抗体である。

【０３２２】

一例では、抗体または断片は、ラムダ型抗体または断片である（即ち、その可変ドメイ

ンはラムダ可変ドメインである）。任意選択で、抗体または断片はまた、ラムダ定常ドメインを含む。

【０３２３】

ある特定の実施形態では、抗体は、細胞に表面発現されたｈＯＸ４０Ｌまたは可溶性ｈＯＸ４０ＬなどのｈＯＸ４０Ｌへの結合について、ＯＸ４０またはその融合タンパク質（例えば、Ｆｃ：ＯＸ４０）と（例えば、用量依存様式で）競合する。例示的な競合的遮断試験は、本明細書の実施例において提供される。

【０３２４】

別の態様では、ｈＯＸ４０Ｌポリペプチド（例えば、細胞に表面発現されたｈＯＸ４０Ｌまたは可溶性ｈＯＸ４０Ｌ）、ｈＯＸ４０Ｌポリペプチド断片、またはｈＯＸ４０Ｌエピトープに特異的に結合する抗体をコードする単離された核酸が本明細書にて提供される。ある特定の実施形態では、核酸は、配列リストに開示のように、ＶＨ鎖、ＶＬ鎖、ＶＨドメイン、ＶＬドメイン、ＨＣＤＲ１、ＨＣＤＲ２、ＨＣＤＲ３、ＬＣＤＲ１、ＬＣＤＲ２、及びＬＣＤＲ３をコードする（即ち、ＶＨ鎖については配列番号３０または配列番号６２；ＶＬ鎖については配列番号３２または配列番号６４；ＶＨドメインについては、配列番号配列番号２、配列番号３４、配列番号６６、または配列番号９４、特に、配列番号３４；ＶＬドメインについては、配列番号１６、配列番号４８、配列番号８０、または配列番号１０８、特に、配列番号４８；ＨＣＤＲ１については、配列番号４、配列番号１０、配列番号３６、配列番号４２、配列番号６８、配列番号７４、配列番号９６、または配列番号１０２、特に、配列番号３６または配列番号４２；ＨＣＤＲ２については、配列番号６、配列番号１２、配列番号３８、配列番号４４、配列番号７０、配列番号７６、配列番号９８、または配列番号１０４、特に、配列番号３８または配列番号４４；ＨＣＤＲ３については、配列番号８、配列番号１４、配列番号４０、配列番号４６、配列番号７２、配列番号７８、配列番号１００、または配列番号１０６、特に、配列番号４０または配列番号４６；ＬＣＤＲ１については、配列番号１８、配列番号２４、配列番号５０、配列番号５６、配列番号８２、配列番号８８、配列番号１１０、または配列番号１１６、特に、配列番号５０または配列番号５６；ＬＣＤＲ２については、配列番号２０、配列番号２６、配列番号５２、配列番号５８、配列番号８４、配列番号９０、配列番号１１２、または配列番号１１８、特に、配列番号５２または配列番号５８；及びＬＣＤＲ３については、配列番号２２、配列番号２８、配列番号５４、配列番号６０、配列番号８６、配列番号９２、配列番号１１４、または配列番号１２０、特に、配列番号５４または配列番号６０）。

【０３２５】

別の態様では、本発明の抗体または断片をコードする核酸を含む、ベクター及び宿主細胞が本明細書で提供される。

【０３２６】

ある特定の実施形態では、抗体は、１つ以上のｈＯＸ４０Ｌの一塩基多型（ＳＮＰ）変異体に特異的に結合する。本発明のいずれかの態様の一例では、ｈＯＸ４０Ｌは、単量体の三量体である。

【０３２７】

一態様では、対象（例えば、ヒト対象）において、ｈＯＸ４０ＬのＯＸ４０への結合を（例えば、少なくとも２０、３０、４０、５０、若しくは６０％、または７０％、８０％、９０％、９５％、若しくは９０％超）減少させるか、または完全に阻害するための方法が本明細書で提供され、本方法は、ｈＯＸ４０Ｌ（例えば、細胞に表面発現されたｈＯＸ４０Ｌまたは可溶性ｈＯＸ４０Ｌ）に特異的に結合する有効量の本発明の抗体またはその断片を対象に投与することを含む。

【０３２８】

一態様では、対象（例えば、ヒト対象）におけるｈＯＸ４０Ｌ媒介性疾患または状態の治療または防止方法が本明細書で提供され、本方法は、ｈＯＸ４０Ｌ（例えば、細胞に表面発現されたｈＯＸ４０Ｌまたは可溶性ｈＯＸ４０Ｌ）に特異的に結合する有効量の本発

明の抗体またはその断片を対象に投与することを含み、これにおいて、疾患または状態は、抗体または断片によって治療または防止される。一例では、本方法は、対象における、ＩＬ－２、ＩＬ－８、ＴＮＦアルファ、及びインターフェロンガンマのうちの１つ、１つ以上、または全ての分泌などのｈＯＸ４０Ｌ生物活性の減少または阻害を含む。一例では、生物活性は、ＩＬ－２、ＴＮＦアルファ、及びインターフェロンガンマのうちの１つ、１つ以上、または全ての分泌から選択される。一例では、生物活性は、ＩＬ－８、ＣＣＬ２０、及びＲＡＮＴＥＳのうちの１つ、１つ以上、または全ての分泌から選択される。

【０３２９】

一態様では、対象（例えば、ヒト対象）における、ＩＬ－２、ＩＬ－８、ＴＮＦアルファ、及びインターフェロンガンマのうちの１つ、１つ以上、または全ての分泌などのｈＯＸ４０Ｌ生物活性の減少または阻害方法が本明細書で提供され、本方法は、ｈＯＸ４０Ｌ（例えば、細胞に表面発現されたｈＯＸ４０Ｌまたは可溶性ｈＯＸ４０Ｌ）に特異的に結合する有効量の本発明の抗体またはその断片を対象に投与することを含み、これにおいて、ｈＯＸ４０Ｌ生物活性は、抗体または断片によって減少する。一例では、生物活性は、ＩＬ－２、ＴＮＦアルファ、及びインターフェロンガンマのうちの１つ、１つ以上、または全ての分泌から選択される。一例では、生物活性は、ＩＬ－８、ＣＣＬ２０、及びＲＡＮＴＥＳのうちの１つ、１つ以上、または全ての分泌から選択される。

【０３３０】

「約」または「およそ」という用語は、所与の値または範囲の２０％以内、好ましくは１０％以内、より好ましくは５％（または４％、または３％、または２％、または一例では１％以下）以内を意味する。

【０３３１】

本明細書で使用する場合、「投与する」または「投与」は、体外に存在する物質（例えば、本明細書で提供される抗ｈＯＸ４０Ｌ抗体）を、粘膜、皮内、静脈内、筋肉内送達、及び／または本明細書に記載されているか若しくは当該技術分野で既知である身体的送達の任意の他の方法などによって、患者へと注射あるいは身体的に送達する行動を指す。疾患またはその症状が治療される場合、物質の投与は、典型的には、疾患またはその症状の発症後に起こる。疾患またはその症状が防止される場合、物質の投与は、典型的には、疾患またはその症状の発症前に起こる。

【０３３２】

２つの核酸配列の２つのアミノ酸配列の同一率を決定するために、配列を、最適な比較を目的として整列させる（例えば、ギャップを、第２のアミノ酸または核酸配列との最適な整列のために、第１のアミノ酸の配列または核酸配列中に導入し得る）。その後、対応するアミノ酸位置におけるアミノ酸残基またはヌクレオチドを比較する。第１の配列中の位置が、第２の配列中の対応する位置として同じアミノ酸残基またはヌクレオチドによって占有される場合には、分子は、その位置にて同一である。２つの配列間の同一率は、配列によって共有される同一の位置の数の関数である（即ち、同一％＝同一の重複している位置の数／位置の総数×１００％）。一実施形態では、２つの配列は、同じ長さである。

【０３３３】

２つの配列（例えば、アミノ酸配列または核酸配列）間の同一率の決定はまた、数学アルゴリズムを使用して獲得され得る。２つの配列の比較に利用される数学アルゴリズムの好ましい非限定的な例は、Ｋａｒｌｉｎ ａｎｄ Ａｌｔｓｃｈｕｌ，１９９０，Ｐｒｏｃ．Ｎａｔｌ．Ａｃａｄ．Ｓｃｉ．Ｕ．Ｓ．Ａ．８７：２２６４ ２２６８（Ｋａｒｌｉｎ ａｎｄ Ａｌｔｓｃｈｕｌ，１９９３，Ｐｒｏｃ．Ｎａｔｌ．Ａｃａｄ．Ｓｃｉ．Ｕ．Ｓ．Ａ．９０：５８７３ ５８７７において改変）のアルゴリズムである。かかるアルゴリズムは、Ａｌｔｓｃｈｕｌ ｅｔ ａｌ．，１９９０，Ｊ．Ｍｏｌ．Ｂｉｏｌ．２１５：４０３のＮＢＬＡＳＴ及びＸＢＬＡＳＴプログラムに組み込まれる。ＢＬＡＳＴヌクレオチド検索は、本発明の核酸分子に相同であるヌクレオチド配列を得るために、例えば、スコア＝１００、ワード長＝１２に設定したＮＢＬＡＳＴヌクレオチドプログラムパラメータで行われ得る。ＢＬＡＳＴタンパク質検索は、

本発明のタンパク質分子に相同であるアミノ酸配列を得るために、例えば、スコア５０、ワード長＝３に設定したＸＢＬＡＳＴプログラムパラメータで行われ得る。比較目的でギャップのある整列を得るためには、ギャップＢＬＡＳＴを、Ａｌｔｓｃｈｕｌ ｅｔ ａｌ．，１９９７，Ｎｕｃｌｅｉｃ Ａｃｉｄｓ Ｒｅｓ．２５：３３８９ ３４０２に記載の通りに利用し得る。あるいは、ＰＳＩ ＢＬＡＳＴを使用して、分子間の距離的関係（Ｉｄ．）を検出する反復検索を行い得る。ＢＬＡＳＴ、ギャップＢＬＡＳＴ、及びＰＳＩ Ｂｌａｓｔプログラムを利用する場合、それぞれのプログラムの（例えば、ＸＢＬＡＳＴ及びＮＢＬＡＳＴの）初期設定プログラムを使用し得る（例えば、インターネットウェブｎｃｂｉ．ｎｌｍ．ｎｉｈ．ｇｏｖのＮａｔｉｏｎａｌ Ｃｅｎｔｅｒ ｆｏｒ Ｂｉｏｔｅｃｈｎｏｌｏｇｙ Ｉｎｆｏｒｍａｔｉｏｎ（ＮＣＢＩ）を参照されたい）。配列の比較に利用される数学アルゴリズムの別の好ましい非限定な例は、Ｍｙｅｒｓ ａｎｄ Ｍｉｌｌｅｒ，１９８８，ＣＡＢＩＯＳ ４：１１ １７のアルゴリズムである。かかるアルゴリズムは、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）に組み込まれる。アミノ酸配列の比較にＡＬＩＧＮプログラムを利用する場合は、ＰＡＭ１２０重量残基テーブル（ｗｅｉｇｈｔ ｒｅｓｉｄｕｅ ｔａｂｌｅ）、１２のギャップ長ペナルティ、及び４のギャップペナルティを使用し得る。

【０３３４】

２つの配列間の同一率は、ギャップを存在させて、または存在させずに、上記のものと同様の技法を使用して決定し得る。同一率の計算においては、典型的には、完全一致のみを計数する。

【０３３５】

本明細書で使用する場合、ｈＯＸ４０Ｌの「拮抗薬」または「阻害剤」は、ｈＯＸ４０Ｌを発現している細胞またはｈＯＸ４０Ｌリガンドを発現している細胞においてなど、ｈＯＸ４０Ｌの生物活性のうちの１つ以上を阻害するかまたは減少させる能力があるリガンド（例えば、抗体または断片）を指す。例えば、ある特定の実施形態では、本発明の抗体は、細胞に表面発現されたＯＸ４０を有する細胞からのＣＣＬ２０、ＩＬ－８及び／またはＲＡＮＴＥＳの分泌を、該抗体が該細胞と接触するときに、阻害するかまたは減少させる拮抗抗体である。一部の実施形態では、ｈＯＸ４０Ｌの拮抗薬（例えば、本発明の拮抗的抗体）は、例えば、ＯＸ４０Ｌを発現している細胞の活性化及び／または細胞シグナル経路を阻害するかまたは減少させ、それにより拮抗薬が存在しない場合のｈＯＸ４０Ｌ媒介性生物活性と比べて、ｈＯＸ４０Ｌ媒介性生物活性を阻害することによって作用する。ある特定の実施形態では、本明細書で提供される抗体は、完全にヒトである拮抗的抗ｈＯＸ４０Ｌ抗体、好ましくは、完全にヒトであるモノクローナルの拮抗的抗ｈＯＸ４０Ｌ抗体である。

【０３３６】

「抗体」、及び「免疫グロブリン」または「Ｉｇ」は、本明細書では置き換え可能に使用されてもよい。ｈＯＸ４０Ｌ抗原に特異的に結合する抗体またはその断片は、関係する抗原と交差反応性であってもよい。好ましくは、ｈＯＸ４０Ｌ抗原に特異的に結合する抗体またはその断片は、他の抗原と交差反応しない（しかし、任意選択で、異なる種、例えば、アカゲザルまたはマウスのＯＸ４０Ｌとは交差反応し得る）。ｈＯＸ４０Ｌ抗原に特異的に結合する抗体またはその断片は、例えば、免疫測定法、ＢＩＡｃｏｒｅ（商標）、または当業者に既知の他の技法によって特定され得る。抗体またはその断片は、放射免疫測定法（ＲＩＡ）及び酵素結合免疫吸着検査法（ＥＬＩＳＡ）などの実験技法を使用して決定して、いずれの交差反応性抗原との結合よりも高い親和性でｈＯＸ４０Ｌ抗原と結合するときに、ｈＯＸ４０Ｌ抗原に特異的に結合する。典型的には、特異的または選択的反応は、少なくとも２倍のバックグラウンドシグナルまたはノイズ、より典型的には１０倍超のバックグラウンドとなる。例えば、抗体特異性に関する考察については、Ｐａｕｌ，ｅｄ．，１９８９，Ｆｕｎｄａｍｅｎｔａｌ Ｉｍｍｕｎｏｌｏｇｙ Ｓｅｃｏｎｄ Ｅｄｉｔｉｏｎ，Ｒａｖｅｎ Ｐｒｅｓｓ，Ｎｅｗ Ｙｏｒｋの ａｔ ｐａｇ

ｅｓ　３３２－３３６を参照されたい。

【０３３７】

本発明の抗体としては、合成抗体、モノクローナル抗体、組み換えによって産生された抗体、多特異性抗体（二重特異性抗体を含む）、ヒト抗体、ヒト化抗体、キメラ抗体、細胞内抗体、単鎖Ｆｖｓ（ｓｃＦｖ）（例えば、単一特異性、二重特異性などを含む）、ラクダ化抗体、Ｆａｂ断片、Ｆ（ａｂ′）断片、ジスルフィド結合Ｆｖｓ（ｓｄＦｖ）、抗イディオタイプ（抗Ｉｄ）抗体、及び上記のうちのいずれかのエピトープ結合断片が挙げられるが、これらに限定されない。特に、本発明の抗体は、免疫グロブリン分子、及び免疫グロブリン分子の免疫学的に活性な部分、即ち、ｈＯＸ４０Ｌ抗原に特異的に結合する抗原結合部位を含む抗原結合ドメインまたは分子（例えば、抗ｈＯＸ４０Ｌ抗体の１つ以上の相補性決定領域（ＣＤＲ））を含む。本発明の抗体は、免疫グロブリン分子の任意の種類（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、特に、ＩｇＧ４）、または任意のサブクラス（例えば、ＩｇＧ２ａ及びＩｇＧ２ｂ）のものであり得る。好ましい実施形態では、ｈＯＸ４０Ｌ抗体は、完全ヒトモノクローナルｈＯＸ４０Ｌ抗体など、完全にヒトである。ある特定の実施形態では、本発明の抗体は、ＩｇＧ抗体、またはそのクラス（例えば、ヒトＩｇＧ１またはＩｇＧ４）若しくはクラスサブクラスである。ある特定の実施形態では、本発明の抗体は、ヒトガンマ４定常領域を含む。別の実施形態では、重鎖定常領域は、Ｆｃ－γ受容体と結合せず、例えば、Ｌｅｕ２３５Ｇｌｕ変異体を含む。別の実施形態では、重鎖定常領域は、Ｓｅｒ２２８Ｐｒｏ変異を含んで、安定性を増加させる。別の実施形態では、重鎖定常領域は、ＩｇＧ４－ＰＥである。

【０３３８】

「抗原結合ドメイン」、「抗原結合領域」、「抗原結合断片」という用語、及び同様の用語は、抗原と相互作用し、結合剤に抗原に対するその特異性及び親和性を授けるアミノ酸残基を含む抗体の部分（例えば、相補性決定領域（ＣＤＲ））を指す。抗原結合領域は、齧歯動物（例えば、ウサギ、ラット、またはハムスター）及びヒトなどの任意の動物種に由来し得る。好ましくは、抗原結合領域は、ヒト起源のものである。

【０３３９】

本明細書で使用する場合、「組成物」という用語は、任意選択で指定の量の指定の成分（例えば、本発明の抗体）を含有する産生物、及び任意選択で指定の量の指定の成分の組み合わせから直接的または間接的にもたらされる任意の産生物を包含することを意図している。

【０３４０】

ポリペプチドの文脈において、「誘導体」という用語は、本明細書で使用する場合、ｈＯＸ４０Ｌポリペプチドのアミノ酸配列、ｈＯＸ４０Ｌポリペプチドの断片、またはアミノ酸残基置換、欠失、若しくは付加の導入によって改変されたｈＯＸ４０Ｌポリペプチドに特異的に結合する抗体を含むポリペプチドを指す。「誘導体」という用語はまた、本明細書で使用する場合、ｈＯＸ４０Ｌポリペプチド、ｈＯＸ４０Ｌポリペプチドの断片、または例えば任意の種類の分子のポリペプチドとの共有結合によって化学的に修飾されたｈＯＸ４０Ｌポリペプチドに特異的に結合する抗体を指す。例えば、限定的ではなく、ｈＯＸ４０Ｌポリペプチド、ｈＯＸ４０Ｌポリペプチドの断片、またはｈＯＸ４０Ｌ抗体は、例えば、グリコシル化、アセチル化、ペグ化、リン酸化、アミド化、誘導体化、既知の保護／ブロッキング基による誘導体化、タンパク質分解的切断、細胞リガンドまたは他のタンパク質への連結などによって化学的に修飾されてもよい。誘導体は、結合した分子の種類または場所のいずれかにおいて天然型または出発ペプチドまたはポリペプチドとは異なる様式で修飾される。誘導体は、ペプチドまたはポリペプチド上に天然に存在する１つ以上の化学基の欠失を更に含む。ｈＯＸ４０Ｌポリペプチド、ｈＯＸ４０Ｌポリペプチドの断片、またはｈＯＸ４０Ｌ抗体の誘導体は、特異的化学切断、アセチル化、製剤化、ツニカマイシンの代謝合成などを含むがこれらに限定されない当業者に既知の技法を使用する化学修飾によって化学的に修飾されてもよい。更に、ｈＯＸ４０Ｌポリペプチド、ｈＯＸ

４０Ｌポリペプチドの断片、またはｈＯＸ４０Ｌ抗体の誘導体は、１つ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、ｈＯＸ４０Ｌポリペプチド、ｈＯＸ４０Ｌポリペプチドの断片、または本明細書に記載のｈＯＸ４０Ｌ抗体と同様または同一の機能を保有する。

【０３４１】

「有効量」という用語は、本明細書で使用する場合、所与の疾患及び／またはそれに関連する症状の重症度及び／または期間を低減及び／または緩和するのに十分である治療（例えば、本明細書で提供される抗体または薬学的組成物）の量を指す。この用語はまた、所与の疾患の発展若しくは進行の低減若しくは緩和、再発の低減若しくは緩和、所与の疾患の発現若しくは発症、及び／または別の治療（例えば、本明細書で提供される抗ｈＯＸ４０Ｌ抗体以外の治療）の予防的または治療的効果（複数可）を向上若しくは強化するために必要な量を包含する。一部の実施形態では、本発明の抗体の有効量は、約０．１ｍｇ／ｋｇ（対象の体重１ｋｇ当たりの抗体のｍｇ）～約１００ｍｇ／ｋｇである。ある特定の実施形態では、本明細書で提供される抗体の有効量は、約０．１ｍｇ／ｋｇ、約０．５ｍｇ／ｋｇ、約１ｍｇ／ｋｇ、３ｍｇ／ｋｇ、５ｍｇ／ｋｇ、約１０ｍｇ／ｋｇ、約１５ｍｇ／ｋｇ、約２０ｍｇ／ｋｇ、約２５ｍｇ／ｋｇ、約３０ｍｇ／ｋｇ、約３５ｍｇ／ｋｇ、約４０ｍｇ／ｋｇ、約４５ｍｇ／ｋｇ、約５０ｍｇ／ｋｇ、約６０ｍｇ／ｋｇ、約７０ｍｇ／ｋｇ、約８０ｍｇ／ｋｇ、約９０ｍｇ／ｋｇ、または約１００ｍｇ／ｋｇ（またはこの中の範囲）である。一部の実施形態では、「有効量」はまた、本明細書で使用する場合、指定の結果（例えば、細胞からのＣＣＬ２０、ＩＬ－８、若しくはＲＡＮＴＥＳ、またはＩＮＦ－γ、ＴＮＦ－α、若しくはＩＬ－２、特に、ＩＮＦ－γの分泌の阻害などの、細胞のｈＯＸ４０Ｌ生物活性の阻害）を達成するための本発明の抗体の量を指す。

【０３４２】

「エピトープ」という用語は、本明細書で使用する場合、抗体の１つ以上の抗原結合領域に結合することができ、動物、好ましくは哺乳動物、最も好ましくはヒトにおいて、免疫応答を引き出すことができる抗原活性または免疫原性活性を有する、ｈＯＸ４０ＬポリペプチドまたはｈＯＸ４０Ｌポリペプチド断片などの抗原表面上に局在する領域を指す。免疫原性活性を有するエピトープは、動物において抗体応答を引き出すポリペプチドの一部である。抗原活性を有するエピトープは、当該技術分野で周知の任意の方法、例えば、本明細書に記載の免疫測定法によって決定した場合に、抗体が特異的に結合するポリペプチドの一部である。抗原エピトープは、必ずしも免疫原性であることを必要としない。エピトープは、通常、アミノ酸または糖側鎖などの分子の化学的活性表面グループから成り、特定の三次元構造の特徴及び特定の荷電特徴を有する。エピトープに寄与するポリペプチドの領域は、ポリペプチドの隣接アミノ酸であってもよく、あるいはエピトープは、ポリペプチドの２つ以上の非隣接領域から同時に生じてもよい。エピトープは、抗原の三次元表面特徴である場合もない場合もある。ある特定の実施形態では、ｈＯＸ４０Ｌエピトープは、ｈＯＸ４０Ｌポリペプチドの三次元表面特徴（例えば、ｈＯＸ４０Ｌポリペプチドの三量体型）である。他の実施形態では、ｈＯＸ４０Ｌエピトープは、ｈＯＸ４０Ｌポリペプチドの線形特徴（例えば、ｈＯＸ４０Ｌポリペプチドの三量体型または単量体型）である。本明細書で提供される抗体は、ｈＯＸ４０Ｌの単量体（変性）型のエピトープ、ｈＯＸ４０Ｌの三量体（自然）型のエピトープ、またはｈＯＸ４０Ｌの単量体（変性）型と三量体（自然）型との両方に特異的に結合してもよい。特定の実施形態では、本明細書で提供される抗体は、ｈＯＸ４０Ｌの三量体型のエピトープに特異的に結合するが、ｈＯＸ４０Ｌの単量体型には特異的に結合しない。

【０３４３】

「賦形剤」という用語は、本明細書で使用する場合、薬物用の希釈剤、ビヒクル、防腐剤、結合剤、または安定剤として一般に使用される不活性物質を指し、これらとしては、タンパク質（例えば、血清アルブミンなど）、アミノ酸（例えば、アスパラギン酸、グルタミン酸、リジン、アルギニン、グリシン、ヒスチジンなど）、脂肪酸及びリン脂質（例えば、スルホン酸アルキル、カプリル酸塩など）、界面活性剤（例えば、ＳＤＳ、ポリソ

ルベート、非イオン性界面活性剤など）、サッカリド（例えば、スクロース、マルトース、トレハロースなど）、ならびにポリオール（例えば、マンニトール、ソルビトールなど）が挙げられるが、これらに限定されない。また、全体が参照により本明細書に組み込まれる、Ｒｅｍｉｎｇｔｏｎ’ｓ Ｐｈａｒｍａｃｅｕｔｉｃａｌ Ｓｃｉｅｎｃｅｓ（１９９０） Ｍａｃｋ Ｐｕｂｌｉｓｈｉｎｇ Ｃｏ．, Ｅａｓｔｏｎ, Ｐａ．を参照されたい。

【０３４４】

ペプチドまたはポリペプチドの文脈において、「断片」という用語は、本明細書で使用する場合、完全長未満のアミノ酸配列を含むペプチドまたはポリペプチドを指す。かかる断片は、例えば、アミノ末端での短縮化、カルボキシ末端での短縮化、及び／またはアミノ酸配列からの残基（複数可）の内部欠失から発生し得る。断片は、例えば、代替的なＲＮＡスプライスから、またはインビボのプロテアーゼ活性から生じ得る。ある特定の実施形態では、ｈＯＸ４０Ｌ断片は、ｈＯＸ４０ＬポリペプチドまたはｈＯＸ４０Ｌポリペプチドに特異的に結合する抗体のアミノ酸配列の、少なくとも５個の隣接アミノ酸残基、少なくとも１０個の隣接アミノ酸残基、少なくとも１５個の隣接アミノ酸残基、少なくとも２０個の隣接アミノ酸残基、少なくとも２５個の隣接アミノ酸残基、少なくとも４０個の隣接アミノ酸残基、少なくとも５０個の隣接アミノ酸残基、少なくとも６０個の隣接アミノ残基、少なくとも７０個の隣接アミノ酸残基、少なくとも８０個の隣接アミノ酸残基、少なくとも９０個の隣接アミノ酸残基、少なくとも隣接する１００個のアミノ酸残基、少なくとも１２５個の隣接アミノ酸残基、少なくとも１５０個の隣接アミノ酸残基、少なくとも１７５個の隣接アミノ酸残基、少なくとも２００個の隣接アミノ酸残基、または少なくとも２５０個の隣接アミノ酸残基のアミノ酸配列を含むポリペプチドを含む。特定の実施形態では、ｈＯＸ４０Ｌポリペプチドの断片、またはｈＯＸ４０Ｌ抗原に特異的に結合する抗体は、ポリペプチドまたは抗体の少なくとも１つ、少なくとも２つ、または少なくとも３つの機能を保持する。

【０３４５】

「完全ヒト抗体」または「ヒト抗体」という用語は、本明細書では置き換え可能に使用され、ヒト可変領域、最も好ましくはヒト定常領域を含む抗体を指す。特定の実施形態では、これらの用語は、ヒト起源の可変領域及び定常領域を含む抗体を指す。「完全ヒト」抗ｈＯＸ４０Ｌ抗体は、ある特定の実施形態では、ｈＯＸ４０Ｌポリペプチドと結合し、ヒト生殖細胞系列免疫グロブリン核酸配列の天然型体細胞変異体である核酸配列によってコードされる抗体を包含し得る。特定の実施形態では、本明細書で提供される抗ｈＯＸ４０Ｌ抗体は、完全ヒト抗体である。「完全ヒト抗体」という用語は、Ｋａｂａｔらによって説明されているような、ヒト生殖細胞系列免疫グロブリン配列に対応する可変領域及び定常領域を有する抗体を含む（Ｋａｂａｔ ｅｔ ａｌ．（１９９１） Ｓｅｑｕｅｎｃｅｓ ｏｆ Ｐｒｏｔｅｉｎｓ ｏｆ Ｉｍｍｕｎｏｌｏｇｉｃａｌ Ｉｎｔｅｒｅｓｔ, Ｆｉｆｔｈ Ｅｄｉｔｉｏｎ, Ｕ．Ｓ．Ｄｅｐａｒｔｍｅｎｔ ｏｆ Ｈｅａｌｔｈ ａｎｄ Ｈｕｍａｎ Ｓｅｒｖｉｃｅｓ, ＮＩＨ Ｐｕｂｌｉｃａｔｉｏｎ Ｎｏ．９１－３２４２を参照されたい）。完全ヒト抗体を産生する例示的な方法は、例えば、本明細書の実施例において提供されるが、当該技術分野で既知の任意の方法を使用してもよい。

【０３４６】

「組み換えヒト抗体」という語句は、宿主細胞にトランスフェクトされた組み換え発現ベクターを使用して発現させた抗体、組み換えのコンビナトリアルヒト抗体ライブラリから単離した抗体、ヒト免疫グロブリン遺伝子導入及び／若しくは染色体導入動物（例えば、マウスまたはウシ）から単離した抗体などの、組み換え手段によって調製、発現、創出、若しくは単離したヒト抗体（例えば、Ｔａｙｌｏｒ, Ｌ．Ｄ．ｅｔ ａｌ．（１９９２） Ｎｕｃｌ．Ａｃｉｄｓ Ｒｅｓ．２０：６２８７－６２９５を参照）、またはヒト免疫グロブリン遺伝子配列の他のＤＮＡ配列へのスプライスを伴う任意の他の手段によって調製、発現、創出、若しくは単離した抗体を含む。かかる組み換えヒト抗体

は、ヒト生殖細胞系列免疫グロブリン配列に由来する可変領域及び定常領域を有し得る（Ｋａｂａｔ，Ｅ．Ａ．ｅｔ ａｌ．（１９９１）Ｓｅｑｕｅｎｃｅｓ ｏｆ Ｐｒｏｔｅｉｎｓ ｏｆ Ｉｍｍｕｎｏｌｏｇｉｃａｌ Ｉｎｔｅｒｅｓｔ，Ｆｉｆｔｈ Ｅｄｉｔｉｏｎ，Ｕ．Ｓ．Ｄｅｐａｒｔｍｅｎｔ ｏｆ Ｈｅａｌｔｈ ａｎｄ Ｈｕｍａｎ Ｓｅｒｖｉｃｅｓ，ＮＩＨ Ｐｕｂｌｉｃａｔｉｏｎ Ｎｏ．９１－３２４２を参照されたい）。しかしながら、ある特定の実施形態では、かかる組み換えヒト抗体は、インビトロの変異誘発（あるいは、ヒトＩｇ配列遺伝子導入動物を使用する場合、インビボの体細胞変異誘発）に供され、故に、組み換え抗体のＶＨ及びＶＬ領域のアミノ酸配列は、ヒト生殖細胞系列ＶＨ及びＶＬ配列に由来し、それに関係しながらも、インビボのヒト抗体生殖細胞系列レパートリー中に自然に存在しない場合がある配列である。

【０３４７】

「融合タンパク質」という用語は、本明細書で使用する場合、抗体のアミノ酸配列、及び異種ポリペプチドまたはタンパク質（即ち、通常は抗体（例えば、非抗ｈＯＸ４０Ｌ抗原抗体）の一部ではないポリペプチドまたはタンパク質）のアミノ酸配列を含むポリペプチドを指す。「融合」という用語は、ｈＯＸ４０Ｌまたは抗ｈＯＸ４０Ｌ抗体に関して使用するとき、ペプチド若しくはポリペプチド、またはその断片、変異体、及び／若しくは誘導体の異種ペプチドまたはポリペプチドとの接合を指す。好ましくは、融合タンパク質は、ｈＯＸ４０Ｌまたは抗ｈＯＸ４０Ｌ抗体の生物活性を保持する。ある特定の実施形態では、融合タンパク質は、ｈＯＸ４０Ｌ抗体ＶＨドメイン、ＶＬドメイン、ＶＨ　ＣＤＲ（１個、２個、または３個のＶＨ　ＣＤＲ）、及び／またはＶＬ　ＣＤＲ（１個、２個、または３個のＶＬ　ＣＤＲ）を含み、この融合タンパク質は、ｈＯＸ４０Ｌエピトープに特異的に結合する。

【０３４８】

「重鎖」という用語は、抗体に関連して使用するとき、重鎖定常ドメインのアミノ酸配列に基づく、アルファ（α）、デルタ（δ）、イプシロン（ε）、ガンマ（γ）、及びミュー（μ）と呼ばれる５つの異なる種類を指す。これらの異なる重鎖の種類は周知であり、それぞれ、ＩｇＧの４つのサブクラス、つまりＩｇＧ１、ＩｇＧ１、ＩｇＧ３、及びＩｇＧ４を含む、ＩｇＡ、ＩｇＤ、ＩｇＥ、ＩｇＧ、及びＩｇＭという抗体の５つのクラスを生じさせる。重鎖は、ヒト重鎖であることが好ましい。一例では、重鎖は、無能ＩｇＧアイソタイプ、例えば、無能ＩｇＧ４である。ある特定の実施形態では、本発明の抗体は、ヒトガンマ４定常領域を含む。別の実施形態では、重鎖定常領域は、Ｆｃ－γ受容体と結合せず、例えば、Ｌｅｕ２３５Ｇｌｕ変異体を含む。別の実施形態では、重鎖定常領域は、Ｓｅｒ２２８Ｐｒｏ変異を含んで、安定性を増加させる。別の実施形態では、重鎖定常領域は、ＩｇＧ４－ＰＥである。

【０３４９】

「宿主」という用語は、本明細書で使用する場合、動物、好ましくは哺乳動物、最も好ましくはヒトを指す。

【０３５０】

「宿主細胞」という用語は、本明細書で使用する場合、核酸分子でトランスフェクトした特定の対象細胞、及びかかる細胞の子孫または可能性のある子孫を指す。かかる細胞の子孫は、後世において生じ得る変異若しくは環境的影響または核酸分子の宿主細胞ゲノムへの統合に起因して、核酸分子でトランスフェクトした親細胞と同一でない場合がある。

【０３５１】

免疫調節剤を含むがこれに限定されない「免疫調節剤」及びその変異体は、本明細書で使用する場合、宿主の免疫系を調節する薬剤を指す。ある特定の実施形態では、免疫調節剤は、免疫抑制剤である。ある特定の他の実施形態では、免疫調節剤は、免疫刺激剤である。本発明に従い、本発明の併用療法で使用される免疫調節剤は、抗ｈＯＸ４０Ｌ抗体または抗原結合断片を含まない。免疫調節剤は、小分子、ペプチド、ポリペプチド、タンパク質、融合タンパク質、抗体、無機分子、模倣剤、及び有機分子を含むが、これらに限定

されない。

【０３５２】

本明細書で使用する場合、他の療法の投与の文脈における「組み合わせて」という用語は、１つ超の療法の使用を指す。「組み合わせて」という用語の使用は、感染症を持つ対象に療法を投与する順番は制限しない。第１の療法は、ｈＯＸ４０Ｌ媒介性疾患を有した、有する、またはそれに罹りやすい対象への第２の療法の投与の前に（例えば、１分、４５分、３０分、４５分、１時間、２時間、４時間、６時間、１２時間、２４時間、４８時間、７２時間、９６時間、１週間、２週間、３週間、４週間、５週間、６週間、８週間、または１２週間前に）、それと同時に、またはその後で（例えば、１分、４５分、３０分、４５分、１時間、２時間、４時間、６時間、１２時間、２４時間、４８時間、７２時間、９６時間、１週間、２週間、３週間、４週間、５週間、６週間、８週間、または１２週間後に）投与され得る。任意の追加の療法が、他の追加の療法と共に任意の順番で投与され得る。ある特定の実施形態では、本発明の抗体は、１つ以上の療法（例えば、ｈＯＸ４０Ｌ媒介性疾患を防止、治療、管理、及び／または緩和するために目下投与されている本発明の抗体ではない療法）と組み合わせて投与され得る。本発明の抗体と組み合わせて投与され得る療法の非限定的な例としては、鎮痛剤、麻酔薬、抗生物質、若しくは免疫調節剤、または米国薬局方及び／若しくは医師用卓上参考書に列挙されている任意の他の薬剤が挙げられる。

【０３５３】

「単離された」または「精製された」抗体は、例えば、抗体が由来する細胞若しくは組織源からの細胞物質または他の汚染タンパク質を実質的に含まないか、あるいは化学合成時には化学的前駆体または他の化学物質を実質的に含まない。「細胞物質を実質的に含まない」という言葉は、抗体が、それが単離または組み換えによって産生される細胞の細胞成分から分離される、抗体の調製物を含む。故に、細胞物質を実質的に含まない抗体は、約３０％、２０％、１０％、または５％（乾燥重量％）未満の異種タンパク質（本明細書では「汚染タンパク質」とも称される）を有する抗体の調製物を含む。抗体が組み換えによって産生される場合、抗体は、培地も実質的に含まない、即ち、培地は、タンパク質調製物の体積の約２０％、１０％、または５％を占めることが好ましい。抗体が化学合成によって産生される場合、抗体は、化学的前駆体または他の化学物質を実質的に含まない、即ち、抗体は、タンパク質の合成に関与する化学的前駆体または他の化学物質から分離されることが好ましい。したがって、かかる抗体の調製物は、約３０％、２０％、１０％、５％（乾燥重量％）未満の化学的前駆体または目的の抗体以外の化合物を有する。好ましい実施形態では、本発明の抗体は、単離または精製される。

【０３５４】

「単離された」核酸分子は、核酸分子の天然源に存在する他の核酸分子から分離される分子である。更に、ｃＤＮＡ分子などの「単離された」核酸分子は、他の細胞物質、または組み換え技法によって産生される場合は培地を実質的に含まないか、あるいは化学合成時には化学的前駆体または他の化学物質を実質的に含まなくてもよい。特定の実施形態では、本発明の抗体をコードする核酸分子（複数可）は、単離または精製される。

【０３５５】

「ヒトＯＸ４０Ｌ」、「ｈＯＸ４０Ｌ」、または「ｈＯＸ４０Ｌポリペプチド」、及び同様の用語は、配列リスト中のアミノ酸配列、及び関係するポリペプチド（そのＳＮＰ変異体を含む）を含むポリペプチド（「ポリペプチド」、「ペプチド」、及び「タンパク質」は、本明細書では置き換え可能に使用される）を指す。関係するポリペプチドは、好ましくは、ｈＯＸ４０Ｌ活性を保持し、かつ／または抗ｈＯＸ４０Ｌ免疫応答を生成するのに十分である、対立遺伝子変異体（例えば、ＳＮＰ変異体）；スプライス変異体；断片；誘導体；置換、欠失、及び挿入変異体；融合ポリペプチド；ならびに種間相同物を含む。抗ｈＯＸ４０Ｌ免疫応答を生成するのに十分である可溶型のｈＯＸ４０Ｌも包含される。当業者であれば理解するであろう通り、本発明の抗ｈＯＸ４０Ｌ抗体は、ｈＯＸ４０Ｌポリペプチド、ポリペプチド断片、抗原、及び／またはエピトープに結合し得、これは、エ

ピトープがより大型の抗原の一部であるためであり、このより大型の抗原は、より大型のポリペプチド断片の一部であり、このより大型のポリペプチド断片は、同様に、ｈＯＸ４０Ｌが三量体（自然）型または単量体（変性）型で存在できるより大型のポリペプチドの一部である。

【０３５６】

「カバット付番」という用語及び同様の用語は、当該技術分野で認識されており、抗体の重鎖可変領域またはその抗原結合部分において他のアミノ酸残基よりも可変（即ち、超可変）であるアミノ酸残基の付番システムを指す（Ｋａｂａｔ ｅｔ ａｌ．（１９７１）Ａｎｎ．ＮＹ Ａｃａｄ．Ｓｃｉ．１９０：３８２－３９１、及びＫａｂａｔ ｅｔ ａｌ．（１９９１）Ｓｅｑｕｅｎｃｅｓ ｏｆ Ｐｒｏｔｅｉｎｓ ｏｆ Ｉｍｍｕｎｏｌｏｇｉｃａｌ Ｉｎｔｅｒｅｓｔ，Ｆｉｆｔｈ Ｅｄｉｔｉｏｎ，Ｕ．Ｓ．Ｄｅｐａｒｔｍｅｎｔ ｏｆ Ｈｅａｌｔｈ ａｎｄ Ｈｕｍａｎ Ｓｅｒｖｉｃｅｓ，ＮＩＨ Ｐｕｂｌｉｃａｔｉｏｎ Ｎｏ．９１－３２４２）。重鎖可変領域について、超可変領域は、典型的には、ＣＤＲ１についてはアミノ酸位置３１～３５、ＣＤＲ２についてはアミノ酸位置５０～６５、及びＣＤＲ３についてはアミノ酸位置９５～１０２の範囲である。

【０３５７】

「モノクローナル抗体」という用語は、均一または実質的に均一な抗体の集団から得た抗体を指し、各モノクローナル抗体は、典型的には、抗原上の単一のエピトープを認識することになる。好ましい実施形態では、「モノクローナル抗体」は、本明細書で使用する場合、単一のハイブリドーマまたは他の細胞によって産生される抗体であり、この抗体は、例えば、ＥＬＩＳＡ、または当該技術分野で既知の若しくは本明細書で提供する実施例中の他の抗原結合若しくは競合的結合アッセイによって決定して、ｈＯＸ４０Ｌエピトープのみに特異的に結合する。「モノクローナル」という用語は、抗体を作製するためのいずれの特定の方法にも限定されない。例えば、本発明のモノクローナル抗体は、Ｋｏｈｌｅｒ ｅｔ ａｌ．；Ｎａｔｕｒｅ，２５６：４９５（１９７５）に記載のようにハイブリドーマ法によって作製してもよく、あるいは、例えば、本明細書に記載の技法を使用して、ファージライブラリから単離してもよい。クローン細胞株及びそれが発現するモノクローナル抗体の調製のための他の方法は、当該技術分野で既知である（例えば、Ｓｈｏｒｔ Ｐｒｏｔｏｃｏｌｓ ｉｎ Ｍｏｌｅｃｕｌａｒ Ｂｉｏｌｏｇｙ，（２００２）５ｔｈ Ｅｄ．，Ａｕｓｕｂｅｌ ｅｔ ａｌ．，ｅｄｓ．，Ｊｏｈｎ Ｗｉｌｅｙ ａｎｄ Ｓｏｎｓ，Ｎｅｗ Ｙｏｒｋ中の第１１章を参照されたい）。他のモノクローナル抗体を産生するための他の例示的な方法は、本明細書の実施例で提供される。

【０３５８】

「天然」または「自然」という用語は、生体物質、例えば、核酸分子、ポリペプチド、宿主細胞などに関連して使用する場合、自然界に見られ、ヒトによって操作されていないものを指す。

【０３５９】

「薬学的に許容される」という用語は、本明細書で使用する場合、動物、及びより具体的にはヒトにおける使用について、連邦政府または州政府の規制機関によって承認されているか、あるいは米国薬局方、欧州薬局方、または他の一般に認識されている薬局方に列挙されていることを指す。

【０３６０】

「ポリクローナル抗体」は、本明細書で使用する場合、多くのエピトープを有するタンパク質への免疫応答において生成された抗体集団を指し、故に、それに向けられた様々な異なる抗体、またはタンパク質中の異なるエピトープに向けられた様々な異なる抗体を含む。ポリクローナル抗体を産生するための方法は、当該技術分野で既知である（例えば、Ｓｈｏｒｔ Ｐｒｏｔｏｃｏｌｓ ｉｎ Ｍｏｌｅｃｕｌａｒ Ｂｉｏｌｏｇｙ，（２００２）５ｔｈ Ｅｄ．，Ａｕｓｕｂｅｌ ｅｔ ａｌ．，ｅｄｓ．，Ｊｏｈｎ

Ｗｉｌｅｙ ａｎｄ Ｓｏｎｓ， Ｎｅｗ Ｙｏｒｋ中の第１１章を参照されたい）。

【０３６１】

本明細書で使用する場合、「ポリヌクレオチド」、「ヌクレオチド」、「核酸」、「核酸分子」という用語、及び他の同様の用語は、置き換え可能に使用され、ＤＮＡ、ＲＮＡ、ｍＲＮＡなどを含む。

【０３６２】

本明細書で使用する場合、「防止する」、「防止している」、及び「防止」は、本明細書で提供する療法または療法の組み合わせ（例えば、本発明の抗体などの、予防薬または治療薬の組み合わせ）の投与に起因する、ｈＯＸ４０Ｌ媒介性疾患及び／またはそれに関する症状の発現、再発、発症、または転移の完全または部分的阻害を指す。

【０３６３】

本明細書で使用する場合、「予防薬」という用語は、対象におけるｈＯＸ４０Ｌ媒介性疾患及び／またはそれに関する症状の発現、再発、発症、または転移を完全にまたは部分的に阻害し得る任意の薬剤を指す。ある特定の実施形態では、「予防薬」という用語は、本発明の抗体を指す。ある特定の他の実施形態では、「予防薬」という用語は、本発明の抗体以外の薬剤を指す。好ましくは、予防薬は、ｈＯＸ４０Ｌ媒介性疾患及び／若しくはそれに関する症状を防止するか、またはｈＯＸ４０Ｌ媒介性疾患及び／若しくはそれに関する症状の発症、発現、進行、及び／若しくは重症度を妨げるために有用であることが知られているか、またはそのために使用されてきた若しくは現在使用されている薬剤である。特定の実施形態では、予防薬は、完全ヒト抗ｈＯＸ４０Ｌ　モノクローナル抗体などの完全ヒト抗ｈＯＸ４０Ｌ抗体である。

【０３６４】

一実施形態では、予防は、疾患若しくは状態、または疾患若しくは状態の症状の発症を防止する。一実施形態では、予防的治療は、疾患または状態の悪化または発症を防止する。一実施形態では、予防的治療は、疾患または状態の悪化を防止する。

【０３６５】

別の実施形態では、本発明の抗ＯＸ４０Ｌ抗体は、静脈内投与される（例えば、移植、例えば、血液若しくは臓器移植の前か、またはそれを同時に）静脈内投与される。別の実施形態では、該抗体は、約５～１０ｍｇ／ｋｇの用量で（例えば、約８ｍｇ／ｋｇで）投与される。別の実施形態では、該抗体は、約０．１ｍｇ／ｋｇ、約０．５ｍｇ／ｋｇ、約１ｍｇ／ｋｇ、３ｍｇ／ｋｇ、５ｍｇ／ｋｇ、約１０ｍｇ／ｋｇ、約１５ｍｇ／ｋｇ、約２０ｍｇ／ｋｇ、約２５ｍｇ／ｋｇ、約３０ｍｇ／ｋｇ、約４０ｍｇ／ｋｇ、約５０ｍｇ／ｋｇ、約６０ｍｇ／ｋｇ、約７０ｍｇ／ｋｇ、約８０ｍｇ／ｋｇ、約９０ｍｇ／ｋｇ、または約１００ｍｇ／ｋｇ、特に、約１ｍｇ／ｋｇ、または約３ｍｇ／ｋｇから選択される用量で投与される。

【０３６６】

別の実施形態では、該抗体は、（例えば、血液または臓器）移植の１～４日前、例えば、移植の１～３日前、または移植の１～２日前に投与される。別の実施形態では、該抗体は、移植後、週間、隔週、または月間、例えば、隔週で投与される。更なる実施形態では、該抗体は、約５～１０ｍｇ／ｋｇ（例えば、約８ｍｇ／ｋｇ）の用量で、予防的に移植の１～３日前に静脈内投与され、その後は、約５～１０ｍｇ／ｋｇ（例えば、約８ｍｇ／ｋｇ）の用量で、隔週で静脈内投与される。

【０３６７】

別の実施形態では、患者は、移植後、移植片拒絶またはＧｖＨＤの発現（例えば、急性ＧｖＨＤ）を予測するバイオマーカーの存在について定期的にモニタリングされ、バイオマーカーレベルが、患者が移植片拒絶またはＧｖＨＤ（例えば、急性ＧｖＨＤ）の発現の危険性を有すると決定されるレベルになると、本発明の抗ＯＸ４０Ｌ抗体が投与される。この戦略は、薬物の不要な投薬及び免疫系の不要な抑制を回避し得る。急性ＧｖＨＤの予測的バイオマーカーとして有用であり得るバイオマーカーの例は、Ｌｅｖｉｎｅ ｅｔ ａｌ．，「Ａ ｐｒｏｇｎｏｓｔｉｃ ｓｃｏｒｅ ｆｏｒ ａｃｕｔｅ ｇｒａｆｔ－

ｖｅｒｓｕｓ－ｈｏｓｔ ｄｉｓｅａｓｅ ｂａｓｅｄ ｏｎ ｂｉｏｍａｒｋｅｒｓ：ａ ｍｕｌｔｉｃｅｎｔｒｅ ｓｔｕｄｙ」，Ｌａｎｃｅｔ Ｈａｅｍａｔｏｌ ２０１５；２：ｅ２１－２９で特定されているものであり得る。これらのバイオマーカーとしては、ＴＮＦＲ１、ＳＴ－２、エラフィン、ならびにＩＬ２Ｒα及びＲｅｇ３αが挙げられるが、これらに限定されない。

【０３６８】

エピトープに寄与するｈＯＸ４０Ｌの領域は、ポリペプチドの隣接アミノ酸であってもよく、あるいはエピトープは、ポリペプチドの２つ以上の非隣接領域から同時に生じてもよい。エピトープは、抗原の三次元表面特徴である場合もない場合もある。免疫応答を引き出すことができるｈＯＸ４０Ｌ抗原の表面上に局在する領域が、ｈＯＸ４０Ｌエピトープである。エピトープは、抗原の三次元表面特徴である場合もない場合もある。

【０３６９】

「ｈＯＸ４０Ｌ媒介性疾患」及び「ｈＯＸ４０Ｌ媒介性状態」は、置き換え可能に使用され、完全に若しくは部分的にｈＯＸ４０Ｌによって引き起こされるか、またはｈＯＸ４０Ｌの結果である、任意の疾患または状態を指す。ある特定の実施形態では、ｈＯＸ４０Ｌは、細胞の表面上に異常に（例えば、高度に）発現する。一部の実施形態では、ｈＯＸ４０Ｌは、特定の細胞型に異常に上方調節され得る。他の実施形態では、正常、異常、または過剰な細胞シグナリングが、ｈＯＸ４０ＬのｈＯＸ４０Ｌリガンドへの結合によって引き起こされる。ある特定の実施形態では、ｈＯＸ４０Ｌリガンドは、例えば、結腸上皮細胞などの細胞の表面上に発現するＯＸ４０である。ある特定の実施形態では、ｈＯＸ４０Ｌ媒介性疾患は、クローン病（ＣＤ）または潰瘍性大腸炎（ＵＣ）などの炎症性腸疾患（ＩＢＤ）である。他の実施形態では、ｈＯＸ４０Ｌ媒介性疾患は、移植片対宿主病（ＧＶＨＤ）である。他の実施形態では、ｈＯＸ４０Ｌ媒介性疾患は、壊疽性膿皮症、巨細胞性動脈炎、シュニッツラー症候群、非感染性強膜炎、及びブドウ膜炎（非感染性／自己免疫性及び／または全身性）から選択される。他の実施形態では、ｈＯＸ４０Ｌ媒介性疾患または状態は、自己免疫疾患若しくは状態、全身炎症性疾患若しくは状態、または移植片拒絶から選択され、例えば、炎症性腸疾患（ＩＢＤ）、クローン病、リウマチ性関節炎、移植片拒絶、同種移植片拒絶、移植片対宿主病（ＧｖＨＤ）、潰瘍性大腸炎、全身性エリテマトーデス（ＳＬＥ）、糖尿病、ブドウ膜炎、強直性脊椎炎、接触過敏症、多発性硬化症、及びアテローム性動脈硬化症、特にＧｖＨＤである。

【０３７０】

「ｈＯＸ４０Ｌ受容体」または「ｈＯＸ４０Ｌ結合受容体」は、本明細書では置き換え可能に使用され、ｈＯＸ４０Ｌに結合する受容体ポリペプチドを指す。特定の実施形態では、ｈＯＸ４０Ｌ受容体は、Ｈｏｘ４０である。一部の実施形態では、ｈＯＸ４０Ｌ受容体は、結腸上皮細胞などの細胞の表面上、または移植片若しくは移植組織上、または宿主組織上に発現する。

【０３７１】

本明細書で使用する場合、「対象」及び「患者」という用語は、置き換え可能に使用される。本明細書で使用する場合、対象は、好ましくは、非霊長類（例えば、ウシ、ブタ、ウマ、ネコ、イヌ、ラットなど）または霊長類（例えば、サル及びヒト）などの哺乳動物、最も好ましくはヒトである。一実施形態では、対象は、ｈＯＸ４０Ｌ媒介性疾患を有する哺乳動物、好ましくはヒトである。別の実施形態では、対象は、ｈＯＸ４０Ｌ媒介性疾患を発現する危険性がある哺乳動物、好ましくはヒトである。

【０３７２】

本明細書で使用する場合、「実質的に全て」は、少なくとも約６０％、少なくとも約７０％、少なくとも約７５％、少なくとも約８０％、少なくとも約８５％、少なくとも約９０％、少なくとも約９５％、少なくとも約９８％、少なくとも約９９％、または約１００％を指す。

【０３７３】

「界面活性剤を実質的に含まない」という用語は、本明細書で使用する場合、ｈＯＸ４

０Ｌ抗原に特異的に結合する抗体の製剤を指し、該製剤は、０．０００５％未満、０．０００３％未満、若しくは０．０００１％未満の界面活性剤、及び／または０．０００５％未満、０．０００３％未満、若しくは０．０００１％未満の界面活性剤を含有する。

【０３７４】

「塩を実質的に含まない」という用語は、本明細書で使用する場合、ｈＯＸ４０Ｌ抗原に特異的に結合する抗体の製剤を指し、該製剤は、０．０００５％未満、０．０００３％未満、または０．０００１％未満の無機塩を含有する。

【０３７５】

「界面活性剤」という用語は、本明細書で使用する場合、両親媒性構造を有する有機物質を指し、つまりこれらは、反対の可溶性傾向の基、典型的には油溶性炭化水素鎖及び水溶性イオン基で構成される。界面活性剤は、界面活性部分の荷電に応じて、アニオン性、カチオン性、及び非イオン性界面活性剤に分類することができる。界面活性剤は、多くの場合、湿潤剤、乳化剤、可溶化剤、及び分散剤として、様々な薬学的組成物及び生体物質の調製物に使用される。

【０３７６】

本明細書で使用する場合、「タグ」という用語は、例えば、ｈＯＸ４０ＬまたはｈＯＸ４０Ｌ抗体若しくはその抗原結合断片をコードするポリペプチド及び／またはポリヌクレオチドに付着する部分の任意の種類を指す。例えば、ｈＯＸ４０Ｌ、ｈＯＸ４０Ｌ抗体、またはその抗原結合断片をコードするポリヌクレオチドは、例えば、検出可能な部分または親和性精製に役立つ部分をコードする、１つ以上の追加のタグコード化ヌクレオチド配列を含み得る。翻訳時、タグ及び抗体は、融合タンパク質の形態であり得る。タグに関する「検出可能」または「検出」という用語は、可視化可能な任意のタグ、またはさもなければタグの存在を決定及び／または測定することができる（例えば、定量化によって）ことを指す。検出可能なタグの非限定的な例は、蛍光タグである。

【０３７７】

本明細書で使用する場合、「治療薬」という用語は、ｈＯＸ４０Ｌ媒介性疾患及び／またはそれに関する症状の治療、管理、または緩和に使用することができる任意の薬剤を指す。ある特定の実施形態では、「治療薬」という用語は、本発明の抗体を指す。ある特定の他の実施形態では、「治療薬」という用語は、本発明の抗体以外の薬剤を指す。好ましくは、治療薬は、ｈＯＸ４０Ｌ媒介性疾患若しくはそれに関する１つ以上の症状の治療、管理、若しくは緩和に有用であるか、またはそのために使用されてきた若しくは現在使用されている薬剤である。特定の実施形態では、治療薬は、完全ヒト抗ｈＯＸ４０Ｌモノクローナル抗体などの完全ヒト抗ｈＯＸ４０Ｌ抗体である。

【０３７８】

任意の２つ以上の単独療法の相加効果よりも効果的な療法（例えば、予防薬または治療薬の使用）の組み合わせ。例えば、予防薬及び／または治療薬の組み合わせの相乗効果により、薬剤のうちの１つ以上のより低い用量の使用、及び／またはｈＯＸ４０Ｌ媒介性疾患を有する対象への該薬剤のより低い投与頻度が可能となる。より低い用量の予防的療法若しくは治療的療法を利用できること、及び／または該療法をより低い頻度で投与できることは、ｈＯＸ４０Ｌ媒介性疾患の防止、管理、治療、または緩和における該療法の効能を低減することなく、該療法の対象への投与に関連する毒性を低減する。加えて、相乗効果は、ｈＯＸ４０Ｌ媒介性疾患の防止における、またはその管理、治療、若しくは緩和における、療法の向上した効能に繋がり得る。最後に、療法（例えば、予防薬または治療薬）の組み合わせの相乗効果により、任意の単独療法の使用に関連する有害なまたは望まない副作用が回避または低減され得る。

【０３７９】

一実施形態では、組み合わせは、本発明の抗ＯＸ４０Ｌ抗体と、独立して、ラパマイシン（シロリムス）、ラクロリムス（ｒａｃｒｏｌｉｍｕｓ）、シクロスポリン、コルチコステロイド（例えば、メチルプレドニゾロン）、メトトレキサート、ミコフェノール酸モフェチル、抗ＣＤ２８抗体、抗ＩＬ１２／ＩＬ－２３抗体（例えば、ウステキヌマブ）、

抗ＣＤ２０抗体（例えば、リツキシマブ）、抗ＣＤ３０抗体（例えば、ブレンツキシマブ）、ＣＴＬＡ４－Ｆｃ分子（例えば、アバタセプト）、ＣＣＲ５受容体拮抗薬（例えば、マラビロク）、抗ＣＤ４０Ｌ抗体、抗ＶＬＡ４抗体（例えば、ナタリズマブ）、抗ＬＦＡ１抗体、フルダラビン、抗ＣＤ５２抗体（例えば、アレムツズマブ）、抗ＣＤ４５抗体、シクロホスファミド、抗胸腺細胞グロブリン、抗補体Ｃ５抗体（例えば、エクリズマブ）、抗ａ４ｂ７インテグリン抗体（例えば、ベドリズマブ）、抗ＩＬ６抗体（例えば、トシリズマブ）、抗ＩＬ２Ｒ抗体（例えば、バシリキスマブ（ｂａｓｉｌｉｘｕｍａｂ））、抗ＣＤ２５抗体（例えば、ダクリズマブ）、抗ＴＮＦａ／ＴＮＦａ－Ｆｃ分子（例えば、エタネルセプト、アダリムマブ、インフリキシマブ、ゴリムマブ、またはセトリズマブペゴール）、及びボリノスタットから成る群から選択される、更なる治療薬と、を含む。別の実施形態では、組み合わせは、本発明の抗ＯＸ４０Ｌ抗体と、独立して、ラパマイシン（シロリムス）、ラクロリムス（ｒａｃｒｏｌｉｍｕｓ）、シクロスポリン、コルチコステロイド（例えば、メチルプレドニゾロン）、メトトレキサート、ミコフェノール酸モフェチル、抗ＣＤ２８抗体、ＣＴＬＡ４－Ｆｃ分子（例えば、アバタセプト）、抗ＣＤ４０Ｌ抗体、抗ＬＦＡ１抗体、抗ＣＤ５２抗体（例えば、アレムツズマブ）、シクロホスファミド、及び抗胸腺細胞グロブリンから成る群から選択される、更なる治療薬と、を含む。

【０３８０】

本明細書で使用する場合、「療法」という用語は、ｈＯＸ４０Ｌ媒介性疾患（例えば、ＩＢＤまたはＧＶＨＤ）の防止、管理、治療、及び／または緩和に使用することができる、任意のプロトコル、方法、及び／または薬剤を指す。ある特定の実施形態では、「療法（単数及び複数）」という用語は、医療従事者などの当業者には既知である、ｈＯＸ４０Ｌ媒介性疾患の防止、管理、治療、及び／または緩和に有用な、生物療法、支持療法、及び／または他の療法を指す。

【０３８１】

本明細書で使用する場合、「治療する」、「治療」、及び「治療している」という用語は、１つ以上の療法（本発明の抗体などの１つ以上の予防薬または治療薬を含むが、これらに限定されない）の投与に起因する、ｈＯＸ４０Ｌ媒介性疾患（例えば、ＩＢＤまたはＧＶＨＤ）の進行、重症度、及び／または期間の低減または緩和を指す。特定の実施形態では、かかる用語は、ｈＯＸ４０ＬのＯＸ４０への結合の低減若しくは阻害、細胞発現ｈＯＸ４０若しくはｈＯＸ４０ＬからのＣＣＬ２０の産生若しくは分泌の低減若しくは阻害、細胞発現ｈＯＸ４０若しくはｈＯＸ４０ＬからのＩＬ－８の産生若しくは分泌の低減若しくは阻害、細胞発現ｈＯＸ４０若しくはｈＯＸ４０ＬからのＲＡＮＴＥＳの産生若しくは分泌の低減若しくは阻害、及び／またはＩＢＤ若しくはＧＶＨＤなどのｈＯＸ４０Ｌ媒介性疾患に関連する１つ以上の症状の阻害若しくは低減を指す。特定の実施形態では、かかる用語は、ｈＯＸ４０ＬのＯＸ４０への結合の低減若しくは阻害、細胞発現ｈＯＸ４０若しくはｈＯＸ４０ＬからのＩＮＦ－γの産生若しくは分泌の低減若しくは阻害、細胞発現ｈＯＸ４０若しくはｈＯＸ４０ＬからのＴＮＦ－αの産生若しくは分泌の低減若しくは阻害、細胞発現ｈＯＸ４０若しくはｈＯＸ４０ＬからのＩＬ－２の産生若しくは分泌の低減若しくは阻害、及び／またはＩＢＤ若しくはＧＶＨＤ（特に、ＧｖＨＤ）などのｈＯＸ４０Ｌ媒介性疾患に関連する１つ以上の症状の阻害若しくは低減を指す。一例では、細胞は、ヒト細胞である。特定の実施形態では、予防薬は、完全ヒト抗ｈＯＸ４０Ｌモノクローナル抗体などの完全ヒト抗ｈＯＸ４０Ｌ抗体である。

【０３８２】

「可変領域」または「可変ドメイン」は、ＯＸ４０Ｌ及び重鎖の一部、典型的には、重鎖におけるアミノ末端およそ１２０～１３０のアミノ酸、軽鎖におけるおよそ１００～１１０のアミノ酸を指し、これは、抗体間で配列が大きく異なり、各特定の抗体のその特定の抗原に対する結合及び特異性において使用される。配列の変動は、相補性決定領域（ＣＤＲ）と呼ばれる領域に集中し、可変ドメインにおけるより高度に保存された領域は、フレームワーク領域（ＦＲ）と呼ばれる。ＯＸ４０Ｌ及び重鎖のＣＤＲは、抗体の抗原との相互作用に一義的な責任を負う。アミノ酸位置の付番は、Ｋａｂａｔ　ｅｔ　ａｌ．　（

１９９１）Ｓｅｑｕｅｎｃｅｓ ｏｆ ｐｒｏｔｅｉｎｓ ｏｆ ｉｍｍｕｎｏｌｏｇｉｃａｌ ｉｎｔｅｒｅｓｔ．（Ｕ．Ｓ．Ｄｅｐａｒｔｍｅｎｔ ｏｆ Ｈｅａｌｔｈ ａｎｄ Ｈｕｍａｎ Ｓｅｒｖｉｃｅｓ，Ｗａｓｈｉｎｇｔｏｎ，Ｄ．Ｃ．）５ｔｈ ｅｄ．（“Ｋａｂａｔ ｅｔ ａｌ．”）にあるように、ＥＵ Ｉｎｄｅｘに従う。好ましい実施形態では、可変領域は、ヒト可変領域である。

【０３８３】

抗体

本発明の抗体としては、合成抗体、モノクローナル抗体、組み換えによって産生された抗体、多特異性抗体（二重特異性抗体を含む）、ヒト抗体、ヒト化抗体、キメラ抗体、細胞内抗体、単鎖Ｆｖｓ（ｓｃＦｖ）（例えば、単一特異性、二重特異性などを含む）、ラクダ化抗体、Ｆａｂ断片、Ｆ（ａｂ′）断片、ジスルフィド結合Ｆｖｓ（ｓｄＦｖ）、抗イディオタイプ（抗Ｉｄ）抗体、及び上記のうちのいずれかのエピトープ結合断片が挙げられるが、これらに限定されない。

【０３８４】

特に、本明細書で提供される抗体は、免疫グロブリン分子、及び免疫グロブリン分子の免疫学的に活性な部分、即ち、ｈＯＸ４０Ｌ抗原に特異的に結合する抗原結合部位を含む分子を含む。本明細書で提供する免疫グロブリン分子は、免疫グロブリン分子の任意の種類（例えば、ＩｇＧ、ＩｇＥ、ＩｇＭ、ＩｇＤ、ＩｇＡ、及びＩｇＹ）、クラス（例えば、ＩｇＧ１、ＩｇＧ２、ＩｇＧ３、ＩｇＧ４、ＩｇＡ１、及びＩｇＡ２）、またはサブクラスのものであり得る。特定の実施形態では、本明細書で提供する抗体は、ＩｇＧ抗体、好ましくはＩｇＧ１またはＩｇＧ４である。ある特定の実施形態では、本発明の抗体は、ヒトガンマ４定常領域を含む。別の実施形態では、重鎖定常領域は、Ｆｃ－γ受容体と結合せず、例えば、Ｌｅｕ２３５Ｇｌｕ変異体を含む。別の実施形態では、重鎖定常領域は、Ｓｅｒ２２８Ｐｒｏ変異を含んで、安定性を増加させる。別の実施形態では、重鎖定常領域は、ＩｇＧ４－ＰＥである。

【０３８５】

抗体の変異体及び誘導体は、エピトープに特異的に結合する能力を保持する抗体断片を含む。好ましい断片としては、Ｆａｂ断片；Ｆａｂ′（ヒンジ領域を通してＦａｂ及び重鎖の追加部分を含む単一の抗結合ドメインを含む抗体断片）；Ｆ（ａｂ′）$_2$（重鎖のヒンジ領域において鎖間ジスルフィド結合によって接合された２個のＦａｂ′分子；Ｆａｂ′分子は、同じまたは異なるエピトープに向けて方向付けられ得る；二重特異性Ｆａｂ（各々が異なるエピトープに方向付けられ得る２個の抗原結合ドメインを有するＦａｂ分子）；ｓＦｖとしても知られる、可変領域を含む単鎖Ｆａｂ鎖；ジスルフィド連結Ｆｖ、またはｄｓＦｖ；抗体の単一重鎖のラクダ化ＶＨ（可変の抗原結合決定領域であり、この中では、ＶＨ界面での一部のアミノ酸は天然型ラクダ抗体の重鎖中に見られるものである）；二重特異性ｓＦｖ（各々が異なるエピトープに方向付けられ得る２個の抗原結合ドメインを有するｓＦｖまたはｄｓＦｖ分子）；ダイアボディ（第１のｓＦｖのＶＨドメインが第２のｓＦｖのＶＬドメインと集合し、第１のｓＦｖのＶＬドメインが第２のｓＦｖのＶＨドメインと集合するときに形成される、二量体化されたｓＦｖ；ダイアボディの２個の抗原結合領域は、同じまたは異なるエピトープに向けて方向付けられ得る）、ならびにトリアボディ（ダイアボディと同様であるが、３個の抗原結合ドメインが単一の複合体中に創出され、これらの３個の抗原結合ドメインが同じまたは異なるエピトープに向けて方向付けられ得る様式で形成される、三量体化されたｓＦｖ）、が挙げられる。抗体の誘導体はまた、抗体結合部位の１つ以上のＣＤＲ配列を含む。ＣＤＲ配列は、２つ以上のＣＤＲ配列が存在する場合に、骨格上で共に連結され得る。ある特定の実施形態では、本発明と共に使用される抗体は、単鎖Ｆｖ（「ｓｃＦｖ」）を含む。ｓｃＦｖは、抗体のＶＨ及びＶＬドメインを含む抗体断片であり、これらのドメインは、単一のポリペプチド鎖中に存在する。概して、ｓｃＦｖポリペプチドは、ｓｃＦｖが抗原結合のための所望の構造を形成することを可能にする、ＶＨドメインとＶＬドメインとの間のポリペプチドリンカーを更に含む。ｓｃＦｖの総説については、Ｐｌｕｃｋｔｈｕｎ ｉｎ Ｔｈｅ Ｐｈａｒｍ

acology of Monoclonal Antibodies, vol. 113, Rosenburg and Moore eds. Springer－Verlag, New York, pp. 269－315 （1994）を参照されたい。

【0386】

本発明の抗体は、鳥類及び哺乳動物（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、またはニワトリ）を含む任意の動物起源からのものであってよい。ある特定の実施形態では、本発明の抗体は、ヒトまたはヒト化モノクローナル抗体である。本明細書で使用する場合、「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を含み、ヒト免疫グロブリンライブラリから、またはヒト遺伝子からの抗体を発現するマウスから単離される抗体を含む。

【0387】

好ましい実施形態では、本発明の抗体は、ｈＯＸ４０Ｌポリペプチド、ｈＯＸ４０Ｌポリペプチド断片、またはｈＯＸ４０Ｌエピトープに特異的に結合する完全ヒト抗体などの完全ヒト抗体である。かかる完全ヒト抗体は、対象への投与時に、非完全ヒト抗体（例えば、他の種に由来する抗ｈＯＸ４０Ｌ抗体）に向けられる免疫応答などの望まないまたは不要な副作用の発現を最低限に抑えるために、完全マウス（または他の完全若しくは部分的非ヒト種抗体）、ヒト化抗体、またはキメラ抗体よりも有利である。

【0388】

本発明の抗体は、単一特異性、二重特異性、三重特異性、またはより多い多特異性であってもよい。多特異性抗体は、ｈＯＸ４０Ｌポリペプチドの異なるエピトープに特異的であってもよく、あるいはｈＯＸ４０Ｌポリペプチドと異種ポリペプチドまたは固体支持物質などの異種エピトープとの両方に特異的であってもよい。好ましい実施形態では、本明細書で提供される抗体は、ｈＯＸ４０Ｌポリペプチドの所与のエピトープに対して単一特異性であり、他のエピトープには特異的に結合しない。

【0389】

Ｂ細胞（例えば、不死化Ｂ細胞）、または本明細書に記載の抗ｈＯＸ４０Ｌ抗体若しくは断片を産生するハイブリドーマも本明細書で提供される。

【0390】

ある特定の実施形態では、ｈＯＸ４０Ｌエピトープに特異的に結合する単離された抗体が本明細書で提供され、ここでは、ｈＯＸ４０Ｌエピトープへの抗体による結合は、本発明の抗体または断片によって、競合的に遮断される（例えば、用量依存的様式で）。抗体は、完全ヒト抗体である場合もない場合もある。好ましい実施形態では、抗体は、完全にヒトであるモノクローナルの抗ｈＯＸ４０Ｌ抗体、更により好ましくは、完全にヒトであるモノクローナルの拮抗的抗ｈＯＸ４０Ｌ抗体である。使用できる例示的な競合的遮断試験は、本明細書の実施例において提供される。

【0391】

一部の実施形態では、本発明の抗体または断片は、細胞に表面発現されたｈＯＸ４０Ｌへの結合について、ＯＸ４０受容体（またはその融合タンパク質）と競合する（例えば、用量依存的様式で）。他の実施形態では、本発明の抗体または断片は、可溶性ｈＯＸ４０Ｌへの結合について、ＯＸ４０受容体（またはその融合タンパク質）と競合する（例えば、用量依存的様式で）。使用できる例示的な競合的結合アッセイは、本明細書の実施例において提供される。一実施形態では、抗体または断片は、ｈＯＸ４０Ｌなどの細胞に表面発現されたＯＸ４０ＬへのｈＯＸ４０の結合を部分的または完全に阻害する。別の実施形態では、抗体は、可溶性ｈＯＸ４０ＬへのｈＯＸ４０の結合を部分的または完全に阻害する。一部の実施形態では、抗体または断片は、細胞に表面発現されたＯＸ４０を有する細胞からの、ＣＣＬ２０、ＩＬ－８、及び／若しくはＲＡＮＴＥＳ、またはＩＮＦ－γ、ＴＮＦ－α、若しくはＩＬ－２、特に、ＩＮＦ－γの分泌を、部分的または完全に阻害する。ある特定の実施形態では、ＯＸ４０を発現している細胞は、結腸上皮細胞である。

【0392】

好ましくは、本発明の抗体は、ｈＯＸ４０Ｌに特異的に結合する完全にヒトであるモノ

クローナルの拮抗的抗体などの完全ヒトモノクローナル抗体である。

【０３９３】

一部の実施形態では、本明細書で提供される抗体または断片は、ｈＯＸ４０Ｌポリペプチドの三次元表面特徴である（例えば、ｈＯＸ４０Ｌポリペプチドの三量体型の）ｈＯＸ４０Ｌエピトープに結合する。エピトープに寄与しているｈＯＸ４０Ｌポリペプチドの領域は、ポリペプチドの隣接アミノ酸であってもよく、あるいはエピトープは、ポリペプチドの２つ以上の非隣接領域から同時に生じてもよい。ｈＯＸ４０Ｌエピトープは、（ａ）ｈＯＸ４０Ｌの三量体型（「三量体ｈＯＸ４０Ｌエピトープ」）、（ｂ）ｈＯＸ４０Ｌの単量体型（「単量体ｈＯＸ４０Ｌエピトープ」）、（ｃ）ｈＯＸ４０Ｌの三量体及び単量体型の両方、（ｄ）ｈＯＸ４０Ｌの単量体型ではなく三量体型、または（ｅ）ｈＯＸ４０Ｌの三量体型ではなく単量体型中に存在してもよい。

【０３９４】

例えば、一部の実施形態では、エピトープは、単量体（自然）型における結合のために存在するか、または利用可能であるが、抗ｈＯＸ４０Ｌ抗体による単量体（変性）型における結合のためには存在しないか、または利用可能ではない。他の実施形態では、ｈＯＸ４０Ｌエピトープは、ｈＯＸ４０Ｌポリペプチドの線形特徴（例えば、ｈＯＸ４０Ｌポリペプチドの三量体型または単量体型）である。本明細書で提供される抗体は、（ａ）ｈＯＸ４０Ｌの単量体型のエピトープ、（ｂ）ｈＯＸ４０Ｌの三量体型のエピトープ、（ｃ）ｈＯＸ４０Ｌの三量体型ではなく単量体型のエピトープ、（ｄ）ｈＯＸ４０Ｌの単量体型ではなく三量体型のエピトープ、または（ｅ）ｈＯＸ４０Ｌの単量体型及び三量体型の両方に特異的に結合してもよい。好ましい実施形態では、本明細書で提供される抗体は、ｈＯＸ４０Ｌの三量体型のエピトープに特異的に結合するが、ｈＯＸ４０Ｌの単量体型のエピトープには特異的に結合しない。

【０３９５】

本発明はまた、ｈＯＸ４０Ｌエピトープに特異的に結合する抗体を提供し、これらの抗体は、ｈＯＸ４０Ｌ抗原に特異的に結合する本明細書に記載のＶＨドメイン、ＶＨ　ＣＤＲ、ＶＬドメイン、及びＶＬ　ＣＤＲの誘導体を含む抗体を含む。本発明はまた、実施例で開示される抗体の誘導体を含む抗体を提供し、該抗体は、ｈＯＸ４０Ｌエピトープに特異的に結合する。当業者に既知の標準的な技法を使用して、本発明の分子をコードするヌクレオチド配列に、例えば部位指定変異誘発及びＰＣＲ媒介性変異誘発を含む変異を誘導し、これが、アミノ酸置換をもたらす。好ましくは、誘導体は、元の分子に対して、２５個未満のアミノ酸置換、２０個未満のアミノ酸置換、１５個未満のアミノ酸置換、１０個未満のアミノ酸置換、５個未満のアミノ酸置換、４個未満のアミノ酸置換、３個未満のアミノ酸置換、２個未満のアミノ酸置換を含む。別の実施形態では、誘導体は、保存的アミノ酸置換を有する。好ましい実施形態では、誘導体は、１つ以上の予測された非必須アミノ酸残基にて成される保存的アミノ酸置換を有する。あるいは、変異は、飽和変異誘発などによって、コード配列の全てまたは一部に沿ってランダムに導入され得、結果として得られる変異体は、活性を保持する変異体を識別するために生物活性についてスクリーニングされ得る。変異誘発後、コードされたタンパク質が発現し得、タンパク質の活性が決定され得る。

【０３９６】

別の実施形態では、ｈＯＸ４０Ｌエピトープに特異的に結合する抗体は、配列リストの可変ドメインアミノ酸配列と、少なくとも３５％、少なくとも４０％、少なくとも４５％、少なくとも５０％、少なくとも５５％、少なくとも６０％、少なくとも６５％、少なくとも７０％、少なくとも７５％、少なくとも８０％、少なくとも８５％、少なくとも９０％、少なくとも９５％、または少なくとも９９％同一である可変ドメインアミノ酸配列を含む。

【０３９７】

特定の実施形態では、抗体は、完全ヒトモノクローナル抗体などの完全ヒト抗ヒト抗体である。完全ヒト抗体は、当該技術分野で既知の任意の方法によって産生され得る。例示

的な方法としては、内因性免疫グロブリン産生の不在下でヒト抗体のレパートリーを産生することができるトランスジェニック動物（例えば、マウス）のｈＯＸ４０Ｌ抗原（免疫応答を引き出すことができ、任意選択で担体と複合体化される、任意のｈＯＸ４０Ｌポリペプチド）による免疫付与が挙げられる。例えば、Ｊａｋｏｂｏｖｉｔｓ ｅｔ ａｌ．，（１９９３）Ｐｒｏｃ．Ｎａｔｌ．Ａｃａｄ．Ｓｃｉ．，９０：２５５１；Ｊａｋｏｂｏｖｉｔｓ ｅｔ ａｌ．，（１９９３）Ｎａｔｕｒｅ，３６２：２５５ ２５８（１９９３）；Ｂｒｕｇｇｅｒｍａｎｎ ｅｔ ａｌ．，（１９９３）Ｙｅａｒ ｉｎ Ｉｍｍｕｎｏｌ．，７：３３を参照されたい。完全ヒト抗ｈＯＸ４０Ｌ抗体の他の産生方法は、本明細書で提供する実施例において見い出すことができる。

【０３９８】

あるいは、完全ヒト抗体は、ファージディスプレイ抗体ライブラリのインビトロスクリーニングを通して生成されてもよい。例えば、参照により本明細書に組み込まれる、Ｈｏｏｇｅｎｂｏｏｍ ｅｔ ａｌ．，Ｊ．Ｍｏｌ．Ｂｉｏｌ．，２２７：３８１（１９９１）；Ｍａｒｋｓ ｅｔ ａｌ．，Ｊ．Ｍｏｌ．Ｂｉｏｌ．，２２２：５８１（１９９１）を参照されたい。様々な抗体を含むファージディスプレイライブラリが説明されており、当業者によって容易に調製され得る。ライブラリは、適切な標的に対してスクリーニングされ得る、ヒトＦａｂ、Ｆｖ、及びｓｃＦｖ断片などの多様なヒト抗体配列を含み得る。

【０３９９】

本発明の抗体及び断片は、化学的に修飾される、即ち、任意の種類の分子の抗体への共有結合によって修飾される、抗体及び断片を含む。例えば、限定的ではなく、抗体誘導体は、例えば、グリコシル化、アセチル化、ペグ化、リン酸化、アミド化、既知の保護／ブロッキング基による誘導体化、タンパク質分解的切断、細胞リガンドまたは他のタンパク質への連結などによって、化学的に修飾された抗体を含む。多数の化学修飾のうちのいずれもが、特異的化学切断、アセチル化、製剤化、ツニカマイシンの代謝合成などを含むがこれらに限定されない既知の技術によって実行され得る。加えて、抗体は、１個以上の非古典的アミノ酸を含んでもよい。

【０４００】

本発明はまた、当業者に既知のフレームワーク領域を含むｈＯＸ４０Ｌ抗原に特異的に結合する抗体（例えば、ヒトまたは非ヒト断片）を提供する。フレームワーク領域は、例えば、天然型またはコンセンサスフレームワーク領域であってもよい。最も好ましくは、本発明の抗体のフレームワーク領域は、ヒトである（例えば、ヒトフレームワーク領域のリストについては、全体が参照により本明細書に組み込まれる、Ｃｈｏｔｈｉａ ｅｔ ａｌ．，１９９８，Ｊ．Ｍｏｌ．Ｂｉｏｌ．２７８：４５７－４７９を参照されたい）。Ｋａｂａｔ ｅｔ ａｌ．（１９９１）Ｓｅｑｕｅｎｃｅｓ ｏｆ Ｐｒｏｔｅｉｎｓ ｏｆ Ｉｍｍｕｎｏｌｏｇｉｃａｌ Ｉｎｔｅｒｅｓｔ（Ｕ．Ｓ．Ｄｅｐａｒｔｍｅｎｔ ｏｆ Ｈｅａｌｔｈ ａｎｄ Ｈｕｍａｎ Ｓｅｒｖｉｃｅｓ，Ｗａｓｈｉｎｇｔｏｎ，Ｄ．Ｃ．）５ｔｈ ｅｄ．も参照されたい。

【０４０１】

特定の実施形態では、本発明は、ｈＯＸ４０Ｌ抗原に特異的に結合する抗体を提供し、該抗体は、配列リスト中のＣＤＲのうちの１つ以上のアミノ酸配列（即ち、配列番号４、配列番号１０、配列番号３６、配列番号４２、配列番号６８、配列番号７４、配列番号９６、または配列番号１０２、特に、ＨＣＤＲ１については、配列番号３６または配列番号４２；ＨＣＤＲ２については、配列番号６、配列番号１２、配列番号３８、配列番号４４、配列番号７０、配列番号７６、配列番号９８、または配列番号１０４、特に、配列番号３８または配列番号４４；ＨＣＤＲ３については、配列番号８、配列番号１４、配列番号４０、配列番号４６、配列番号７２、配列番号７８、配列番号１００、または配列番号１０６、特に、配列番号４０または配列番号４６；ＬＣＤＲ１については、配列番号１８、配列番号２４、配列番号５０、配列番号５６、配列番号８２、配列番号８８、配列番号１

１０、または配列番号１１６、特に、配列番号５０または配列番号５６；ＬＣＤＲ２については、配列番号２０、配列番号２６、配列番号５２、配列番号５８、配列番号８４、配列番号９０、配列番号１１２、または配列番号１１８、特に、配列番号５２または配列番号５８；及びＬＣＤＲ３については、配列番号２２、配列番号２８、配列番号５４、配列番号６０、配列番号８６、配列番号９２、配列番号１１４、または配列番号１２０、特に、配列番号５４または配列番号６０）、ならびに以下の残基：（ａ）マウス抗体フレームワーク（即ち、ドナー抗体フレームワーク）とヒト抗体フレームワーク（即ち、アクセプター抗体フレームワーク）との間で異なる希少フレームワーク残基、（ｂ）ドナー抗体フレームワークとアクセプター抗体フレームワークとの間で異なるときのバーニヤ（ｖｅｒｎｉｅｒ）ゾーン残基；（ｃ）ドナー抗体フレームワークとアクセプター抗体フレームワークとの間で異なるＶＨ／ＶＬ界面にある鎖間パッキング残基；（ｄ）ドナー抗体フレームワーク配列とアクセプター抗体フレームワーク配列（特に、マウス抗体ＣＤＲループの正準クラスの定義に不可欠なフレームワーク領域）との間で異なる正準残基；（ｅ）ＣＤＲに隣接する残基；（ｇ）抗原と相互作用することができる残基；（ｈ）ＣＤＲと相互作用することができる残基；及び（ｉ）ＶＨドメインとＶＬドメインとの間の接触残基、のうちの１つ、２つ、３つ、またはそれ以上にて１つ以上のアミノ酸置換を持つ、ヒトフレームワーク領域を含む。ある特定の実施形態では、上で特定した残基のうちの１つ、２つ、３つ、またはそれ以上にて１つ以上のアミノ酸置換を持つヒトフレームワーク領域を含む、ｈＯＸ４０Ｌ抗原に特異的に結合する抗体は、拮抗的ｈＯＸ４０Ｌ抗体である。

【０４０２】

本発明は、ｈＯＸ４０Ｌ抗原に特異的に結合する抗体を包含し、該抗体は、配列リスト中のＶＨドメイン及び／またはＶＬドメインのアミノ酸配列（即ち、ＶＨドメインについては、配列番号２、配列番号３４、配列番号６６、または配列番号９４、特に、配列番号３４；ＶＬドメインについては、配列番号１６、配列番号４８、配列番号８０、または配列番号１０８、特に、配列番号４８）を含むが、フレームワーク領域における変異（例えば、１つ以上のアミノ酸置換）を有する。ある特定の実施形態では、ｈＯＸ４０Ｌ抗原に特異的に結合する抗体は、ＶＨドメイン及び／またはＶＬドメインのフレームワーク領域において１つ以上のアミノ酸残基置換を持つ実施例に開示の抗体のＶＨドメイン及び／若しくはＶＬドメインのアミノ酸配列またはその抗原結合断片を含む。

【０４０３】

一部の実施形態では、本明細書で提供される抗体は、ｈＯＸ４０Ｌ　ｈＯＸ４０の結合を減少させるかまたは阻害し、かつ／あるいは対象（例えば、ヒト対象）における、ＣＣＬ２０、ＩＬ８及び／若しくはＲＡＮＴＥＳ、またはＩＮＦ－γ、ＴＮＦ－α、若しくはＩＬ－２、特に、ＩＮＦ－γの分泌などの、ｈＯＸ４０Ｌ生物活性を減少させるかまたは阻害する。ある特定の実施形態では、ヒトモノクローナル抗ｈＯＸ４０Ｌ抗体などの本明細書で提供される抗体は、可溶性または細胞に表面発現されたｈＯＸ４０ＬのｈＯＸ４０への結合を減少させるか、または阻害し、かつ／あるいは対象における、可溶性または細胞に表面発現されたｈＯＸ４０Ｌとの接触後の、ＣＣＬ２０及び／若しくはＲＡＮＴＥＳ、またはＩＮＦ－γ、ＴＮＦ－α、若しくはＩＬ－２、特に、ＩＮＦ－γの分泌を、減少させるかまたは阻害する。ｈＯＸ４０に結合するｈＯＸ４０Ｌの本明細書で提供される抗体の遮断活性は、実施例に記載のアッセイを使用して検出することができる。本明細書で提供されるｈＯＸ４０Ｌ抗体によるＯＸ４０を発現している細胞の生物活性の阻害は、実施例に記載のアッセイを使用して検出することができる。

【０４０４】

本発明はまた、ｈＯＸ４０Ｌ抗原に特異的に結合する本明細書で提供される抗体及び異種ポリペプチドを含む融合タンパク質を提供する。一部の実施形態では、抗体が融合する異種ポリペプチドは、抗体が、細胞に表面発現されたｈＯＸ４０Ｌを有する細胞を標的化するのに有用である。

【０４０５】

抗体複合体及び融合タンパク質

複合体及び融合タンパク質についての以下の考察は、断片にも適用されるため、抗体に言及する開示は、本発明の断片についても準用し得る。

【０４０６】

一部の実施形態では、本発明の抗体は、診断用薬、検出可能な薬剤、若しくは治療薬、または任意の他の分子と複合体化されるか、または組み換えによって融合される。複合体化または組み換えによって融合された抗体は、例えば、特定の療法の効能の決定などの、臨床試験手順の一環としての、ｈＯＸ４０Ｌ媒介性疾患の発症、発現、進行、及び／または重症度のモニタリングまたは予知に有用であり得る。

【０４０７】

かかる診断及び検出は、例えば、抗体を、様々な酵素、例えば、限定的ではなく、西洋ワサビペルオキシダーゼ、アルカリホスファターゼ、ベータガラクトシダーゼ、またはアセチルコリンエステラーゼ；補欠分子族、例えば、限定的ではなく、ストレプトアビジン／ビオチン及びアビジン／ビオチン；蛍光物質、例えば、限定的ではなく、ウンベリフェロン、フルオレセイン、フルオレセインイソチオシネート（ｉｓｏｔｈｉｏｃｙｎａｔｅ）、ローダミン、ジクロロトリアジニルアミンフルオレセイン、塩化ダンシル、またはフィコエリトリン；発光物質、例えば、限定的ではなく、ルミノール；生物発光物質、例えば、限定的ではなく、ルシフェラーゼ、ルシフェリン、及びエクオリン；放射性物質、例えば、限定的ではなく、ヨウ素（^{131}Ｉ、^{125}Ｉ、^{123}Ｉ、及び^{121}Ｉ）、炭素（^{14}Ｃ）、硫黄（^{35}Ｓ）、トリチウム（^{3}Ｈ）、インジウム（^{115}Ｉｎ、^{113}Ｉｎ、^{112}Ｉｎ、及び^{111}Ｉｎ）、テクネチウム（^{99}Ｔｃ）、タリウム（^{201}Ｔｉ）、ガリウム（^{68}Ｇａ、^{67}Ｇａ）、パラジウム（^{103}Ｐｄ）、モリブデン（^{99}Ｍｏ）、キセノン（^{133}Ｘｅ）、フッ素（^{18}Ｆ）、^{153}Ｓｍ、^{177}Ｌｕ、^{159}Ｇｄ、^{149}Ｐｍ、^{140}Ｌａ、^{175}Ｙｂ、^{166}Ｈｏ、^{90}Ｙ、^{47}Ｓｃ、^{186}Ｒｅ、^{188}Ｒｅ、^{142}Ｐｒ、^{105}Ｒｈ、^{97}Ｒｕ、^{68}Ｇｅ、^{57}Ｃｏ、^{65}Ｚｎ、^{85}Ｓｒ、^{32}Ｐ、^{153}Ｇｄ、^{169}Ｙｂ、^{51}Ｃｒ、^{54}Ｍｎ、^{75}Ｓｅ、^{113}Ｓｎ、及び^{117}Ｓｎ；ならびに様々な陽電子放出断層撮影法を使用する陽電子放出金属、及び非放射性常磁性金属イオン、を含むがこれらに限定されない、検出可能な物質とカップリングすることによって、獲得され得る。

【０４０８】

本発明は、治療部分（または１つ以上の治療部分）と複合体化されるか、または組み換えによって融合される本発明の抗体の使用を更に包含する。抗体は、細胞毒素などの治療部分、例えば、細胞増殖抑制剤若しくは細胞殺傷剤、治療薬、または放射性金属イオン、例えば、アルファ放出体と複合体化されるか、または組み換えによって融合されてもよい。細胞毒素または細胞毒性剤は、細胞に有害となる任意の薬剤を含む。治療部分としては、代謝拮抗薬（例えば、メトトレキサート、６－メルカプトプリン、６－チオグアニン、シタラビン、５－フルオロウラシルダカルバジン）；アルキル化剤（例えば、メクロレタミン、チオテパクロラムブシル（ｔｈｉｏｅｐａ ｃｈｌｏｒａｍｂｕｃｉｌ）、メルファラン、カルムスチン（ＢＣＮＵ）及びロムスチン（ＣＣＮＵ）、シクロトスファミド（ｃｙｃｌｏｔｈｏｓｐｈａｍｉｄｅ）、ブスルファン、ジブロモマンニトール、ストレプトゾトシン、マイトマイシンＣ、ならびにｃｉｓジクロロジアミン白金（ＩＩ）（ＤＤＰ）、ならびにシスプラチン）；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（ａｎｔｈｒａｍｙｃｉｎ）（ＡＭＣ））；オーリスタチン分子（例えば、オーリスタチンＰＨＥ、ブリオスタチン１、及びソラスタチン１０；全て参照により本明細書に組み込まれる、Ｗｏｙｋｅ ｅｔ ａｌ．, Ａｎｔｉｍｉｃｒｏｂ. Ａｇｅｎｔｓ Ｃｈｅｍｏｔｈｅｒ. ４６：３８０２－８（２００２）、Ｗｏｙｋｅ ｅｔ ａｌ．, Ａｎｔｉｍｉｃｒｏｂ. Ａｇｅｎｔｓ Ｃｈｅｍｏｔｈｅｒ. ４５：３５８０－４（２００１）、Ｍｏｈａｍｍａｄ ｅｔ ａｌ．, Ａｎｔｉｃａｎｃｅｒ Ｄｒｕｇｓ １２：７３５－４０（２００１）、Ｗａｌｌ ｅｔ ａｌ．, Ｂｉｏｃｈｅｍ. Ｂｉｏｐｈｙ

ｓ．Ｒｅｓ．Ｃｏｍｍｕｎ ２６６：７６－８０ （１９９９）、Ｍｏｈａｍｍａｄ ｅｔ ａｌ．，Ｉｎｔ．Ｊ．Ｏｎｃｏｌ．１５：３６７－７２ （１９９９）を参照されたい）；ホルモン（例えば、グルココルチコイド、プロゲスチン、アンドロゲン、及びエストロゲン）、ＤＮＡ修復酵素阻害剤（例えば、エトポシドまたはトポテカン）、キナーゼ阻害剤（例えば、化合物ＳＴ１５７１、メシル酸イマチニブ（Ｋａｎｔａｒｊｉａｎ ｅｔ ａｌ．，Ｃｌｉｎ Ｃａｎｃｅｒ Ｒｅｓ．８（７）：２１６７－７６ （２００２））；細胞毒性剤（例えば、パクリタキセル、サイトカラシンＢ、グラミシジンＤ、臭化エチジウム、エメチン、マイトマイシン、エトポシド、テノポシド（ｔｅｎｏｐｏｓｉｄｅ）、ビンクリスチン、ビンブラスチン、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、ミトキサントロン、ミトラマイシン、アクチノマイシンＤ、１－デヒドロテストステロン、グルコルチコイド、プロカイン、テトラカイン、リドカイン、プロプラノロール、及びピューロマイシン、及びその類似体または相同体、ならびに米国特許第６，２４５，７５９号、第６，３９９，６３３号、第６，３８３，７９０号、第６，３３５，１５６号、第６，２７１，２４２号、第６，２４２，１９６号、第６，２１８，４１０号、第６，２１８，３７２号、第６，０５７，３００号、第６，０３４，０５３号、第５，９８５，８７７号、第５，９５８，７６９号、第５，９２５，３７６号、第５，９２２，８４４号、第５，９１１，９９５号、第５，８７２，２２３号、第５，８６３，９０４号、第５，８４０，７４５号、第５，７２８，８６８号、第５，６４８，２３９号、第５，５８７，４５９号に開示の化合物）；ファルネシルトランスフェラーゼ阻害剤（例えば、Ｒ１１５７７７、ＢＭＳ－２１４６６２、及び例えば、米国特許第６，４５８，９３５号、第６，４５１，８１２号、第６，４４０，９７４号、第６，４３６，９６０号、第６，４３２，９５９号、第６，４２０，３８７号、第６，４１４，１４５号、第６，４１０，５４１号、第６，４１０，５３９号、第６，４０３，５８１号、第６，３９９，６１５号、第６，３８７，９０５号、第６，３７２，７４７号、第６，３６９，０３４号、第６，３６２，１８８号、第６，３４２，７６５号、第６，３４２，４８７号、第６，３００，５０１号、第６，２６８，３６３号、第６，２６５，４２２号、第６，２４８，７５６号、第６，２３９，１４０号、第６，２３２，３３８号、第６，２２８，８６５号、第６，２２８，８５６号、第６，２２５，３２２号、第６，２１８，４０６号、第６，２１１，１９３号、第６，１８７，７８６号、第６，１６９，０９６号、第６，１５９，９８４号、第６，１４３，７６６号、第６，１３３，３０３号、第６，１２７，３６６号、第６，１２４，４６５号、第６，１２４，２９５号、第６，１０３，７２３号、第６，０９３，７３７号、第６，０９０，９４８号、第６，０８０，８７０号、第６，０７７，８５３号、第６，０７１，９３５号、第６，０６６，７３８号、第６，０６３，９３０号、第６，０５４，４６６号、第６，０５１，５８２号、第６，０５１，５７４号、及び第６，０４０，３０５号によって開示されているもの）；トポイソメラーゼ阻害剤（例えば、カンプトテシン；イリノテカン；ＳＮ－３８；トポテカン；９－アミノカンプトテシン；ＧＧ－２１１（ＧＩ １４７２１１）；ＤＸ－８９５１ｆ；ＩＳＴ－６２２；ルビテカン；ピラゾロアクリジン；ＸＲ－５０００；サイントピン；ＵＣＥ６；ＵＣＥ１０２２；ＴＡＮ－１５１８Ａ；ＴＡＮ １５１８Ｂ；ＫＴ６００６；ＫＴ６５２８；ＥＤ－１１０；ＮＢ－５０６；ＥＤ－１１０；ＮＢ－５０６；及びレベッカマイシン）；ブルガレイン；ヘキスト（Ｈｏｅｓｃｈｔ）染料３３３４２及びヘキスト染料３３２５８などのＤＮＡ小溝結合剤；ニチジン；ファガロニン；エピベルベリン；コラリン；ベータラパコン；ＢＣ－４－１；ビスホスフォネート（例えば、アレンドロネート、シマドロンテ（ｃｉｍａｄｒｏｎｔｅ）、クロドロネート、チルドロネート、エチドロネート、イバンドロネート、ネリドロネート、オルパンドロネート（ｏｌｐａｎｄｒｏｎａｔｅ）、リセドロネート、ピリドロネート（ｐｉｒｉｄｒｏｎａｔｅ）、パミドロネート、ゾレンドロネート）；ＨＭＧ－ＣｏＡレダクターゼ阻害剤（例えば、ロバスタチン、シンバスタチン、アトルバスタチン、プラバスタチン、フルバスタチン、スタチン、セリバスタチン、レスコール、ルピトール、ロスバスタチン、及びアトルバスタチン）；アンチセンスオリゴヌクレオチド（例えば、米国特許第６，２７７，８３２号、第５，

９９８，５９６号、第５，８８５，８３４号、第５，７３４，０３３号、及び第５，６１８，７０９号）；アデノシンデアミナーゼ阻害剤（例えば、リン酸フルダラビン及び２－クロロデオキシアデノシン）；イブリツモマブチウキセタン（Ｚｅｖａｌｉｎ（登録商標））；トシツモマブ（Ｂｅｘｘａｒ（登録商標））、ならびにその薬学的に許容される塩、溶媒和物、包接体、及びプロドラッグが挙げられるが、これらに限定されない。

【０４０９】

更に、本発明の抗体は、所与の生物学的応答を改変する治療部分と複合体化されるか、または組み換えによって融合されてもよい。治療部分または薬物部分は、古典的な化学治療薬に限定されるものではない。例えば、薬物部分は、所望の生物活性を保有するタンパク質、ペプチド、またはポリペプチドであってもよい。かかるタンパク質としては、例えば、アブリン、リシンＡ、シュードモナス外毒素、コレラ毒、若しくはジフテリア毒などの毒素；腫瘍壊死因子、γ－インターフェロン、α－インターフェロン、神経成長因子、血小板由来増殖因子、組織プラスミノーゲン活性化因子、アポトーシス剤、例えば、ＴＮＦ－γ、ＡＩＭ　Ｉ（国際公開第９７／３３８９９号参照）、ＡＩＭ　ＩＩ（国際公開第９７／３４９１１号参照）、Ｆａｓリガンド（Ｔａｋａｈａｓｈｉ　ｅｔ　ａｌ．，１９９４，　Ｊ．　Ｉｍｍｕｎｏｌ．，　６：１５６７－１５７４）、及びＶＥＧＦ（国際公開第９９／２３１０５号参照）、抗脈管形成剤、例えば、アンジオスタチン、エンドスタチン、若しくは凝固経路の構成要素（例えば、組織因子）などのタンパク質；または例えば、リンホカイン（例えば、インターフェロンガンマ、インターロイキン－１（「ＩＬ－１」）、インターロイキン－２（「ＩＬ－２」）、インターロイキン－５（「ＩＬ－５」）、インターロイキン－６（「ＩＬ－６」）、インターロイキン－７（「ＩＬ－７」）、インターロイキン－９（「ＩＬ－９」）インターロイキン－１０（「ＩＬ－１０」）、インターロイキン－１２（「ＩＬ－１２」）、インターロイキン－１５（「ＩＬ－１５」）、インターロイキン－２３（「ＩＬ－２３」）、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」）などの生物応答修飾物質、または増殖因子（例えば、成長ホルモン（「ＧＨ」））、または凝固剤（例えば、カルシウム、ビタミンＫ、組織因子、例えば、限定的ではなく、Ｈａｇｅｍａｎ因子（因子ＸＩＩ）、高分子量キニノーゲン（ＨＭＷＫ）、プレカリクレイン（ＰＫ）、凝固タンパク質因子ＩＩ（プロトロンビン）、因子Ｖ、ＸＩＩａ、ＶＩＩＩ、ＸＩＩＩａ、ＸＩ、Ｘｉａ、ＩＸ、ＩＸａ、Ｘ、リン脂質、及びフィブリンモノマー）を挙げることができる。

【０４１０】

本発明は、異種タンパク質またはポリペプチド（またはその断片、好ましくは、約１０、約２０、約３０、約４０、約５０、約６０、約７０、約８０、約９０、または約１００個のアミノ酸のポリペプチド）と組み換えによって融合されるか、または化学的に複合体化（共有結合性または非共有結合性複合体化）されて、融合タンパク質を生成する、本発明の抗体を包含する。特に、本発明は、本発明の抗体の抗原結合断片（例えば、Ｆａｂ断片、Ｆｄ断片、Ｆｖ断片、Ｆ（ａｂ）２断片、ＶＨドメイン、ＶＨ　ＣＤＲ、ＶＬドメイン、またはＶＬ　ＣＤＲ）、及び異種タンパク質、ポリペプチド、またはペプチドを含む、融合タンパク質を提供する。一実施形態では、抗体が融合される異種タンパク質、ポリペプチド、またはペプチドは、抗体が、ｈＯＸ４０ＬまたはｈＯＸ４０Ｌ受容体を発現する細胞などの特定の細胞型を標的化するのに有用である。例えば、特定の細胞型（例えば、免疫細胞）によって発現される細胞表面受容体に特異的に結合する抗体は、修飾された本発明の抗体に融合または複合体化され得る。

【０４１１】

本発明の複合体化または融合タンパク質は、本明細書に記載の任意の本発明の抗体及び異種ポリペプチドを含む。一実施形態では、本発明の複合体化または融合タンパク質は、実施例に開示の抗体の可変ドメイン及び異種ポリペプチドを含む。

【０４１２】

加えて、本発明の抗体は、治療部分、例えば、^{131}Ｉｎ、^{131}Ｌｕ、^{131}Ｙ、^{1}

^{31}Ｈｏ、^{131}Ｓｍを含むがこれらに限定されない放射性金属イオンをポリペプチドと複合体化するのに有用な^{213}Ｂｉまたは大環状キレート剤などのアルファ放出体といった放射性金属イオンに複合体化され得る。ある特定の実施形態では、大環状キレート剤は、リンカー分子を介して抗体と結合し得る１，４，７，１０－テトラアザシクロドデカン－Ｎ，Ｎ′，Ｎ″，Ｎ″′－四酢酸（ＤＯＴＡ）である。かかるリンカー分子は、一般に当該技術分野で公知であり、Ｄｅｎａｒｄｏ ｅｔ ａｌ．，１９９８，Ｃｌｉｎ Ｃａｎｃｅｒ Ｒｅｓ．４（１０）：２４８３－９０；Ｐｅｔｅｒｓｏｎ ｅｔ ａｌ．，１９９９，Ｂｉｏｃｏｎｊｕｇ．Ｃｈｅｍ．１０（４）：５５３－７、及びＺｉｍｍｅｒｍａｎ ｅｔ ａｌ．，１９９９，Ｎｕｃｌ．Ｍｅｄ．Ｂｉｏｌ．，２６（８）：９４３－５０に記載されており、各々は、それらの全体が参照により本明細書に組み込まれる。

【０４１３】

更に、本発明の抗体は、精製を促進するため、ペプチドなどのマーカー配列と融合させることができる。好ましい実施形態では、好ましい実施形態では、マーカーアミノ酸配列は、多くが市販されている他のものの中でも、ｐＱＥベクター（ＱＩＡＧＥＮ，Ｉｎｃ．）において提供されているタグなどのヘキサヒスチジンペプチドである。例えば、Ｇｅｎｔｚ ｅｔ ａｌ．，１９８９，Ｐｒｏｃ．Ｎａｔｌ．Ａｃａｄ．Ｓｃｉ．ＵＳＡ ８６：８２１－８２４に記載されているように、ヘキサヒスチジンは、融合タンパク質の簡便な精製を提供する。精製に有用な他のペプチドタグとしては、精製に有用な他のペプチドタグとしては、インフルエンザ血球凝集素タンパク質由来のエピトープに相当する血球凝集素「ＨＡ」タグ（Ｗｉｌｓｏｎ ｅｔ ａｌ．，１９８４，Ｃｅｌｌ ３７：７６７）、及び「ＦＬＡＧ」タグが挙げられるが、これらに限定されない。

【０４１４】

治療部分（ポリペプチドを含む）の抗体との融合または複合体化のための方法は周知であり、例えば、全体が参照により本明細書に組み込まれる、Ａｒｎｏｎ ｅｔ ａｌ．，“Ｍｏｎｏｃｌｏｎａｌ Ａｎｔｉｂｏｄｉｅｓ Ｆｏｒ Ｉｍｍｕｎｏｔａｒｇｅｔｉｎｇ Ｏｆ Ｄｒｕｇｓ Ｉｎ Ｃａｎｃｅｒ Ｔｈｅｒａｐｙ”，ｉｎ Ｍｏｎｏｃｌｏｎａｌ Ａｎｔｉｂｏｄｉｅｓ Ａｎｄ Ｃａｎｃｅｒ Ｔｈｅｒａｐｙ，Ｒｅｉｓｆｅｌｄ ｅｔ ａｌ．（ｅｄｓ．），ｐｐ．２４３－５６（Ａｌａｎ Ｒ．Ｌｉｓｓ，Ｉｎｃ．１９８５）；Ｈｅｌｌｓｔｒｏｍ ｅｔ ａｌ．，“Ａｎｔｉｂｏｄｉｅｓ Ｆｏｒ Ｄｒｕｇ Ｄｅｌｉｖｅｒｙ”，ｉｎ Ｃｏｎｔｒｏｌｌｅｄ Ｄｒｕｇ Ｄｅｌｉｖｅｒｙ（２ｎｄ Ｅｄ．），Ｒｏｂｉｎｓｏｎ ｅｔ ａｌ．（ｅｄｓ．），ｐｐ．６２３－５３（Ｍａｒｃｅｌ Ｄｅｋｋｅｒ，Ｉｎｃ．１９８７）；Ｔｈｏｒｐｅ，“Ａｎｔｉｂｏｄｙ Ｃａｒｒｉｅｒｓ Ｏｆ Ｃｙｔｏｔｏｘｉｃ Ａｇｅｎｔｓ Ｉｎ Ｃａｎｃｅｒ Ｔｈｅｒａｐｙ：Ａ Ｒｅｖｉｅｗ”，ｉｎ Ｍｏｎｏｃｌｏｎａｌ Ａｎｔｉｂｏｄｉｅｓ ８４：Ｂｉｏｌｏｇｉｃａｌ Ａｎｄ Ｃｌｉｎｉｃａｌ Ａｐｐｌｉｃａｔｉｏｎｓ，Ｐｉｎｃｈｅｒａ ｅｔ ａｌ．（ｅｄｓ．），ｐｐ．４７５－５０６（１９８５）；“Ａｎａｌｙｓｉｓ，Ｒｅｓｕｌｔｓ，Ａｎｄ Ｆｕｔｕｒｅ Ｐｒｏｓｐｅｃｔｉｖｅ Ｏｆ Ｔｈｅ Ｔｈｅｒａｐｅｕｔｉｃ Ｕｓｅ Ｏｆ Ｒａｄｉｏｌａｂｅｌｅｄ Ａｎｔｉｂｏｄｙ Ｉｎ Ｃａｎｃｅｒ Ｔｈｅｒａｐｙ”，ｉｎ Ｍｏｎｏｃｌｏｎａｌ Ａｎｔｉｂｏｄｉｅｓ Ｆｏｒ Ｃａｎｃｅｒ Ｄｅｔｅｃｔｉｏｎ Ａｎｄ Ｔｈｅｒａｐｙ，Ｂａｌｄｗｉｎ ｅｔ ａｌ．（ｅｄｓ．），ｐｐ．３０３－１６（Ａｃａｄｅｍｉｃ Ｐｒｅｓｓ １９８５），Ｔｈｏｒｐｅ ｅｔ ａｌ．，１９８２，Ｉｍｍｕｎｏｌ．Ｒｅｖ．６２：１１９－５８；米国特許第５，３３６，６０３号、第５，６２２，９２９号、第５，３５９，０４６号、第５，３４９，０５３号、第５，４４７，８５１号、第５，７２３，１２５号、第５，７８３，１８１号、第５，９０８，６２６号、第５，８４４，０９５号、第５，１１２，９４６号；欧州特許第３０７，４３４号、同第３６７，１６６号、同第３９４，８２７号、ＰＣＴ公開第９１／０６５７０号、国際公開第９６／０４３８８、同第９６／２２０２４号、同第９７／３４６３

１号、及び同第９９／０４８１３号；Ａｓｈｋｅｎａｚｉ ｅｔ ａｌ．，Ｐｒｏｃ．Ｎａｔｌ．Ａｃａｄ．Ｓｃｉ．ＵＳＡ，８８：１０５３５－１０５３９，１９９１；Ｔｒａｕｎｅｃｋｅｒ ｅｔ ａｌ．，Ｎａｔｕｒｅ，３３１：８４－８６，１９８８；Ｚｈｅｎｇ ｅｔ ａｌ．，Ｊ．Ｉｍｍｕｎｏｌ．，１５４：５５９０－５６００，１９９５；Ｖｉｌ ｅｔ ａｌ．，Ｐｒｏｃ．Ｎａｔｌ．Ａｃａｄ．Ｓｃｉ．ＵＳＡ，８９：１１３３７－１１３４１，１９９２を参照されたい。

【０４１５】

融合タンパク質は、例えば、遺伝子シャッフリング、モチーフシャッフリング、エキソンシャッフリング、及び／またはコドンシャッフリング（「ＤＮＡシャッフリング」として総称される）の技術によって生成してもよい。ＤＮＡシャフリングを用いて、本発明の抗体の活性（例えば、より高い親和性及びより低い解離速度を持つ抗体）の活性を変更し得る。概して、米国特許第５，６０５，７９３号、第５，８１１，２３８号、第５，８３０，７２１号、第５，８３４，２５２号、及び第５，８３７，４５８号；Ｐａｔｔｅｎ ｅｔ ａｌ．，１９９７，Ｃｕｒｒ．Ｏｐｉｎｉｏｎ Ｂｉｏｔｅｃｈｎｏｌ．８：７２４－３３；Ｈａｒａｙａｍａ，１９９８，Ｔｒｅｎｄｓ Ｂｉｏｔｅｃｈｎｏｌ．１６（２）：７６－８２；Ｈａｎｓｓｏｎ ｅｔ ａｌ．，１９９９，Ｊ．Ｍｏｌ．Ｂｉｏｌ．２８７：２６５－７６；及びＬｏｒｅｎｚｏ ａｎｄ Ｂｌａｓｃｏ，１９９８，Ｂｉｏｔｅｃｈｎｉｑｕｅｓ ２４（２）：３０８－３１３を参照されたい（これらの特許及び出版物の各々は、それらの全体が参照により本明細書に組み込まれる）。抗体またはコードされる抗体は、エラープローンＰＣＲ、ランダムヌクレオチド挿入、または組み換えに先立つ他の方法による無作為な変異誘発に供されることにより変更され得る。本発明の抗体をコードするポリヌクレオチドは、１つ以上の異種分子の１つ以上の構成要素、モチーフ、セクション、部分、断片などと組み換えられてもよい。

【０４１６】

本発明の抗体は、全体が参照により本明細書に組み込まれる米国特許第４，６７６，９８０号に記載のように、第２の抗体に複合体化されて、抗体ヘテロ接合体を形成することもできる。

【０４１７】

ｈＯＸ４０Ｌ抗原に特異的に結合する本発明の抗体と複合体化されるか、または組み換えによって融合される治療部分または薬物は、所望の予防または治療効果（複数可）を達成するように選択されるべきである。ある特定の実施形態では、抗体は、修飾された抗体である。臨床医または他の医療従事者は、どの治療部分または薬物を本発明の抗体と複合体化させるかまたは組み換えによって融合させるかについて決定するときには、疾患の性質、疾患の重症度、及び対象の状態を考慮に入れるべきである。

【０４１８】

本発明の抗体はまた、免疫測定法または標的抗原の精製に特に有用な固体支持体と結合させてもよい。かかる固体支持体としては、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、またはポリプロピレンが挙げられるが、これらに限定されない。

【０４１９】

薬学的組成物

組成物についての以下の考察は、断片にも適用されるため、抗体に言及する開示は、本発明の断片についても準用し得る。

【０４２０】

本明細書で提供される１つ以上の本発明の抗体を含有する治療用製剤は、所望の純度を有する抗体を、任意選択の生理学的に許容される担体、賦形剤、または安定剤（Ｒｅｍｉｎｇｔｏｎ’ｓ Ｐｈａｒｍａｃｅｕｔｉｃａｌ Ｓｃｉｅｎｃｅｓ（１９９０）Ｍａｃｋ Ｐｕｂｌｉｓｈｉｎｇ Ｃｏ．，Ｅａｓｔｏｎ，Ｐａ．）と混合することに

よって、凍結乾燥製剤または水溶液の形態で、貯蔵に対して調製することができる。許容可能な担体、賦形剤、または安定剤は、用いる用量及び濃度ではレシピエントに対して非毒性であり、リン酸塩、クエン酸塩、及び他の有機酸などの緩衝液；アスコルビン酸及びメチオニンを含む抗酸化剤；防腐剤（オクタデシルジメチルベンジルアンモニウムクロリド；ヘキサメトニウムクロリド；ベンザルコニウムクロリド、ベンゼトニウムクロリド；フェノール、ブチル、若しくはベンジルアルコール；メチル若しくはプロピルパラベンなどのアルキルパラベン；カテコール；レゾルシノール；シクロヘキサノール；３－ペンタノール；及びｍ－クレゾールなど）；低分子量（約１０個未満の残基）ポリペプチド；血清アルブミン、ゼラチン、または免疫グロブリンなどのタンパク質；ポリビニルピロリドンなどの親水性ポリマー；グリシン、グルタミン、アスパラギン、ヒスチジン、アルギニン、若しくはリジンなどのアミノ酸；単糖、二糖、及びグルコース、マンノース、若しくはデキストリンを含む他の炭水化物；ＥＤＴＡなどのキレート剤；スクロース、マンニトール、トレハロース、若しくはソルビトールなどの糖；ナトリウムなどの塩形成対イオン；金属錯体（例えば、Ｚｎ－タンパク質錯体）；ならびに／またはＴＷＥＥＮ（商標）、ＰＬＵＲＯＮＩＣＳ（商標）、若しくはポリエチレングリコール（ＰＥＧ）などの非イオン性界面活性剤を含む。

【０４２１】

本明細書で提供される本発明の抗体はまた、例えば、リポソームにおいて製剤化され得る。目的とする分子を含有するリポソームは、Ｅｐｓｔｅｉｎ ｅｔ ａｌ．（１９８５）Ｐｒｏｃ．Ｎａｔｌ．Ａｃａｄ．Ｓｃｉ．ＵＳＡ ８２：３６８８；Ｈｗａｎｇ ｅｔ ａｌ．（１９８０）Ｐｒｏｃ．Ｎａｔｌ．Ａｃａｄ．Ｓｃｉ．ＵＳＡ ７７：４０３０；及び米国特許第４，４８５，０４５号及び第４，５４４，５４５号に記載のされているものなどの、当該技術分野で既知の方法によって調製される。循環時間が強化されたリポソームは、米国特許第５，０１３，５５６号に開示されている。

【０４２２】

特に有用な免疫リポソームは、ホスファチジルコリン、コレステロール、及びＰＥＧ誘導体化ホスファチジルエタノールアミン（ＰＥＧ－ＰＥ）を含有する脂質組成物を用いて、逆相蒸発法によって生成され得る。リポソームを、規定の細孔径のフィルタを通して押し出して、所望の直径のリポソームを得る。本明細書で提供される抗体のＦａｂ′断片は、ジスルフィド交換反応を介して、Ｍａｒｔｉｎ ｅｔ ａｌ．（１９８２）Ｊ．Ｂｉｏｌ．Ｃｈｅｍ．２５７：２８６－２８８に記載のように、リポソームと複合体化され得る。化学治療薬（Ｄｏｘｏｒｕｂｉｃｉｎなど）が、任意選択でリポソーム内に含有される。Ｇａｂｉｚｏｎ ｅｔ ａｌ．，（１９８９）Ｊ．Ｎａｔｉｏｎａｌ Ｃａｎｃｅｒ Ｉｎｓｔ．８１（１９）：１４８４を参照されたい。

【０４２３】

本明細書に記載のものなどの製剤はまた、治療される特定の兆候に必要な２つ以上の活性化合物を含有し得る。ある特定の実施形態では、製剤は、本発明の抗体、及び互いに悪影響を与えない相補活性を持つ１つ以上の活性化合物を含む。かかる分子は、意図する目的に有効である量で組み合わされて好適に存在する。例えば、本発明の抗体は、１つ以上の他の治療薬と組み合わせることができる。かかる併用療法は、連続的に、同時に、または順番に投与され得る。

【０４２４】

一実施形態では、組み合わせは、本発明の抗ＯＸ４０Ｌ抗体と、独立して、ラパマイシン（シロリムス）、ラクロリムス（ｒａｃｒｏｌｉｍｕｓ）、シクロスポリン、コルチコステロイド（例えば、メチルプレドニゾロン）、メトトレキサート、ミコフェノール酸モフェチル、抗ＣＤ２８抗体、抗ＩＬ１２／ＩＬ－２３抗体（例えば、ウステキヌマブ）、抗ＣＤ２０抗体（例えば、リツキシマブ）、抗ＣＤ３０抗体（例えば、ブレンツキシマブ）、ＣＴＬＡ４－Ｆｃ分子（例えば、アバタセプト）、ＣＣＲ５受容体拮抗薬（例えば、マラビロク）、抗ＣＤ４０Ｌ抗体、抗ＶＬＡ４抗体（例えば、ナタリズマブ）、抗ＬＦＡ

１抗体、フルダラビン、抗ＣＤ５２抗体（例えば、アレムツズマブ）、抗ＣＤ４５抗体、シクロホスファミド、抗胸腺細胞グロブリン、抗補体Ｃ５抗体（例えば、エクリズマブ）、抗ａ４ｂ７インテグリン抗体（例えば、ベドリズマブ）、抗ＩＬ６抗体（例えば、トシリズマブ）、抗ＩＬ２Ｒ抗体（例えば、バシリキスマブ（ｂａｓｉｌｉｘｕｍａｂ））、抗ＣＤ２５抗体（例えば、ダクリズマブ）、抗ＴＮＦａ／ＴＮＦａ－Ｆｃ分子（例えば、エタネルセプト、アダリムマブ、インフリキシマブ、ゴリムマブ、またはセトリズマブペゴール）、及びボリノスタットから成る群から選択される、更なる治療薬と、を含む。別の実施形態では、組み合わせは、本発明の抗ＯＸ４０Ｌ抗体と、独立して、ラパマイシン（シロリムス）、ラクロリムス（ｒａｃｒｏｌｉｍｕｓ）、シクロスポリン、コルチコステロイド（例えば、メチルプレドニゾロン）、メトトレキサート、ミコフェノール酸モフェチル、抗ＣＤ２８抗体、ＣＴＬＡ４－Ｆｃ分子（例えば、アバタセプト）、抗ＣＤ４０Ｌ抗体、抗ＬＦＡ１抗体、抗ＣＤ５２抗体（例えば、アレムツズマブ）、シクロホスファミド、及び抗胸腺細胞グロブリンから成る群から選択される、更なる治療薬と、を含む。

【０４２５】

本発明の抗体は、それぞれ、コロイド薬物送達系（例えば、リポソーム、アルブミンミクロスフェア、マイクロエマルション、ナノ粒子、及びナノカプセル）またはマクロエマルション中に、ヒドロキシメチルセルロースまたはゼラチンマイクロカプセル及びポリ－（メチルメタクリレート）マイクロカプセルなど、例えば、コアセルベーション技法によって、または界面重合によって、調製されるマイクロカプセル中に封入することもできる。かかる技法は、Ｒｅｍｉｎｇｔｏｎ’ｓ Ｐｈａｒｍａｃｅｕｔｉｃａｌ Ｓｃｉｅｎｃｅｓ （１９９０） Ｍａｃｋ Ｐｕｂｌｉｓｈｉｎｇ Ｃｏ．， Ｅａｓｔｏｎ，Ｐａに開示されている。

【０４２６】

インビボ投与に使用されることになる製剤は、滅菌され得る。これは、例えば、滅菌濾過膜を通した濾過によって容易に獲得することができる。

【０４２７】

持続放出型調製物を調製することもできる。持続放出調製物の好適な例としては、拮抗薬を含有する固体疎水性ポリマーの半透過性マトリックスが挙げられ、このマトリックスは、成形物品、例えば、フィルムまたはマイクロカプセルの形態である。持続放出性マトリックスの例としては、ポリエステル、ヒドロゲル（例えば、ポリ（２－ヒドロキシエチル－メタクリレート）またはポリ（ビニルアルコール））、ポリラクチド（米国特許第３，７７３，９１９号）、Ｌ－グルタミン酸とエチル－Ｌ－グルタミン酸塩とのコポリマー、非分解性エチレンビニルアセテート、ＬＵＰＲＯＮ ＤＥＰＯＴ（商標）（乳酸－グリコール酸コポリマー及び酢酸ロイプロリドで構成される注射可能なミクロスフェア）などの分解性乳酸－グリコール酸コポリマー、及びポリ－Ｄ－（－）－３－ヒドロキシ酪酸が挙げられる。エチレン－ビニルアセテート及び乳酸－グリコール酸などのポリマーは１００日かけて分子を放出することを可能にするが、ある特定のヒドロゲルは、より短期間でタンパク質を放出する。カプセル化された抗体が長期間体内に留まるとき、それらは、３７℃での湿気への露出の結果として変性または凝集して、生物活性の喪失及び免疫原性の変化の可能性をもたらし得る。安定化のための合理的な戦略は、関与するメカニズムに応じて考案することができる。例えば、凝集メカニズムがチオ－ジスルフィド交換を通した分子間Ｓ－Ｓ結合形成であることが分かった場合、安定化は、スルフヒドリル残基の修飾、酸性溶液からの凍結乾燥、含水量の制御、適切な添加剤の使用、及び特定のポリマーマトリックス組成物の創出によって達成され得る。

【０４２８】

本明細書で提供される薬学的組成物は、薬学的に許容される担体中の、治療有効量の本明細書で提供される本発明の抗体のうちの１つ以上、及び任意選択の治療薬の１つ以上の更なる予防薬を含有する。かかる薬学的組成物は、炎症性腸疾患、移植片拒絶、ＧｖＨＤ、またはこれらの症状のうちの１つ以上などの、ｈＯＸ４０Ｌ媒介性疾患の防止、治療、管理、または緩和に有用である。

【０４２９】
本明細書で提供される化合物の投与に好適な薬学的担体としては、特定の投与様式に好適であることが当業者に知られている任意の担体が挙げられる。
【０４３０】
加えて、本発明の抗体は、組成物中唯一の薬学的活性成分として製剤化してもよく、あるいは他の活性成分（１つ以上の他の予防薬または治療薬など）と組み合わせてもよい。
【０４３１】
本組成物は、１つ以上の本発明の抗体を含有し得る。一実施形態では、抗体は、経口投与のための溶液、懸濁液、錠剤、分散性錠剤、丸薬、カプセル剤、粉末剤、持続放出製剤、またはエリキシル剤などの薬学的調製物、非経口投与のための滅菌溶液または懸濁液中の薬学的組成物、ならびに経皮パッチ調製物及び乾燥粉末吸入器などの薬学的組成物へと製剤化される。一実施形態では、上記の抗体は、当該技術分野で周知の技法及び手順を使用して薬学的組成物へと製剤化される（例えば、Ａｎｓｅｌ （１９８５） Ｉｎｔｒｏｄｕｃｔｉｏｎ ｔｏ Ｐｈａｒｍａｃｅｕｔｉｃａｌ Ｄｏｓａｇｅ Ｆｏｒｍｓ，４ｔｈ Ｅｄ．， ｐ． １２６を参照されたい）。
【０４３２】
組成物において、有効な濃度の１つ以上の抗体またはその誘導体は、好適な薬学的担体と混合される。組成物中の化合物の濃度は、投与時にｈＯＸ４０Ｌ媒介性疾患またはその症状を治療、防止、または緩和する量の送達に有効である。
【０４３３】
一実施形態では、組成物は、単回用量投与のために製剤化される。組成物を製剤化するために、治療される状態を軽減、防止するか、または１つ以上の症状を緩和する重量分率の化合物が、選択される担体において有効な濃度で、溶解、懸濁、分散、または混合される。
【０４３４】
本発明の抗体は、治療される患者への望ましくない副作用なく、治療的に有用な効果を発揮するのに十分な有効量で、薬学的に許容される担体中に含まれる。治療的に有効な濃度は、常法を使用して、化合物をインビトロ及びインビボ系において試験した後、それからヒト用の用量に外挿することによって、実験的に決定することができる。
【０４３５】
薬学的組成物中の抗体の濃度は、例えば、抗体の物理化学的特徴、投薬スケジュール、及び投与量、ならびに当業者に既知の他の因子に依存することになる。
【０４３６】
一実施形態では、治療的に有効な用量は、約０．１ｎｇ／ｍｌから約５０～１００μｇ／ｍｌまでの抗体の血清濃度を産生する。薬学的組成物は、別の実施形態では、一日体重１キログラム当たり約０．００１ｍｇ～約２０００ｍｇの抗体の用量を提供する。薬学的単位剤形は、約０．０１ｍｇ、０．１ｍｇ、または１ｍｇ～約５００ｍｇ、１０００ｍｇ、または２０００ｍｇ、一実施形態では、単位剤形当たり約１０ｍｇ～約５００ｍｇの抗体及び／または他の任意選択の成分、必須成分の組み合わせを提供するように調製することができる。
【０４３７】
抗体は、一度に投与することができ、あるいはある数のより小さい用量に分割して時間間隔をあけて投与してもよい。正確な用量及び治療期間は、治療される疾患の関数であり、既知の試験プロトコルを使用して、またはインビボ若しくはインビトロ試験データからの外挿によって、実験的に決定することができることが理解される。濃度及び用量値は、緩和される状態の重症度により異なり得ることに留意されたい。任意の特定の対象に対して、個々のニーズ、及び組成物を投与しているかまたは投与を監督している専門家の判断に従って、特定の投薬レジメンを徐々に調整できること、ならびに本明細書に示す濃度範囲は例示のみであり、請求の組成物の範囲または実施を限定するようには意図していないことを更に理解されたい。

【０４３８】
抗体を混合または添加した後、結果として得られる混合物は、溶液、懸濁液、エマルションなどであり得る。結果として得られる混合物の形態は、意図する投与様式、及び選択される担体またはビヒクル中の化合物の可溶性を含む、ある数の因子に依存する。有効な濃度は、治療される疾患、障害、または状態の症状を緩和するのに十分なものであり、実験的に決定し得る。
【０４３９】
薬学的組成物は、錠剤、カプセル剤、丸剤、粉末剤、顆粒剤、滅菌非経口用溶液または懸濁液、及び経口用溶液または懸濁液、ならびに好適な量の化合物またはその薬学的に許容される誘導体を含有する油水エマルションなどの単位剤形で、ヒト及び動物への投与のために提供される。抗体は、一実施形態では、単位剤形または多剤形で製剤化または投与される。単位剤形は、本明細書で使用する場合、当該技術分野で既知である通り、ヒト及び動物対象に好適であり、個別に包装された、物理的に別々の単位を指す。各単位用量は、必要とされる薬学的担体、ビヒクル、または希釈剤と併せて、所望の治療効果を生むのに十分な所定の量の抗体を含有する。単位剤形の例としては、アンプル及び注射器、ならびに個別に包装された錠剤またはカプセル剤が挙げられる。単位剤形は、その分数または倍数で投与することができる。多剤形は、分離した単位剤形で投与するために単一の容器中に包装した複数の同一の単位剤形である。多剤形の例としては、バイアル、錠剤若しくはカプセル剤のボトル、またはパイント及びガロンのボトルが挙げられる。よって、多剤形は、分離して包装されていない単位用量の倍数である。
【０４４０】
好ましい実施形態では、１つ以上の本発明の抗ｈＯＸ４０Ｌ抗体は、液体の薬学的製剤中にある。液体の薬学的に投与可能な組成物は、例えば、上で定義した活性化合物及び任意選択の薬学的アジュバントを、例えば、水、生理食塩水、ブドウ糖水溶液、グリセロール、グリコール、エタノールなどの担体中に溶解すること、分散させること、または混合することによって溶液または懸濁液を形成することで、調製し得る。所望の場合、投与する薬学的組成物は、湿潤剤、乳化剤、可溶化剤、ｐＨ緩衝剤などの非毒性補助物質、例えば、酢酸、クエン酸ナトリウム、シクロデキストリン誘導体、ソルビタンモノラウレート、トリエタノールアミン酢酸ナトリウム、オレイン酸トリエタノールアミン、及び他のこのような薬剤を少量含有することもできる。
【０４４１】
かかる剤形の実際の調製方法は、当業者には既知であるか、または明らかとなり、例えば、Ｒｅｍｉｎｇｔｏｎ’ｓ Ｐｈａｒｍａｃｅｕｔｉｃａｌ Ｓｃｉｅｎｃｅｓ（１９９０） Ｍａｃｋ Ｐｕｂｌｉｓｈｉｎｇ Ｃｏ．, Ｅａｓｔｏｎ, Ｐａを参照されたい。
【０４４２】
０．００５％～１００％の範囲で抗体を含有し、残りは非毒性担体から成る剤形または組成物を調製することができる。これらの組成物の調製方法は、当該技術分野で既知である。
【０４４３】
経口剤形は、固体、ゲル、または液体のいずれかである。固体剤形は、錠剤、カプセル剤、顆粒剤、及び原末である。経口錠剤の種類としては、腸溶性コーティング、糖コーティング、またはフィルムコーティングを施され得る、圧縮剤、チュアブルロゼンジ剤、及び錠剤が挙げられる。カプセル剤は、硬質または軟質ゼラチンカプセルであり得、一方で、顆粒剤及び粉末剤は、当業者に既知の他の成分と組み合わせて、非発泡または発泡形態で提供され得る。
【０４４４】
ある特定の実施形態では、製剤は、固体剤形である。ある特定の実施形態では、製剤は、カプセル剤または錠剤である。錠剤、丸剤、カプセル剤、トローチなどは、以下の成分のうちの１つ以上、または同様の性質の化合物を含有し得る：結合剤、潤滑剤、希釈剤、

流動促進剤、崩壊剤、着色剤、甘味料、風味剤、湿潤剤、催吐コーティング、及びフィルムコーティング。結合剤の例としては、微結晶性セルロース、トラガカントゴム、グルコース、アラビアゴム漿、ゼラチン溶液、糖蜜、ポリイニルピロリドン（ｐｏｌｙｉｎｙｌｐｙｒｒｏｌｉｄｉｎｅ）、ポビドン、クロスポビドン、スクロース、及びデンプン糊が挙げられる。潤滑剤としては、タルク、デンプン、ステアリン酸マグネシウムまたはステアリン酸カルシウム、石松子、及びステアリン酸が挙げられる。希釈剤としては、例えば、ラクトース、スクロース、デンプン、カオリン、塩、マンニトール、及びリン酸二カルシウムが挙げられる。流動促進剤としては、コロイド状二酸化ケイ素が挙げられるが、これに限定されない。崩壊剤としては、クロスカルメロースナトリウム、デンプングリコール酸ナトリウム、アルギニン酸、トウモロコシデンプン、ジャガイモデンプン、ベントナイト、メチルセルロース、寒天、及びカルボキシメチルセルロースが挙げられる。着色剤としては、例えば、認可された認定水溶性ＦＤ及びＣ染料、これらの混合物、ならびにアルミナ水和物上に懸濁させた水溶性ＦＤ及びＣ染料のうちの任意のものが挙げられる。甘味料としては、スクロース、ラクトース、マンニトール、及びサッカリンなどの人工甘味料、ならびに任意の数の噴霧乾燥風味剤が挙げられる。風味剤としては、果実などの植物から抽出した天然風味、ならびにペパーミント及びサリチル酸メチルなどであるがこれらに限定されない、快感を生む化合物の合成ブレンドが挙げられる。湿潤剤としては、モノステアリン酸プロピレングリコール、モノオレイン酸ソルビタン、モノラウリン酸ジエチレングリコール、及びポリオキシエチレンラウラルエーテル（ｐｏｌｙｏｘｙｅｔｈｙｌｅｎｅ　ｌａｕｒａｌ　ｅｔｈｅｒ）が挙げられる。催吐コーティングとしては、脂肪酸、脂肪、ワックス、アンモニア処理したセラック、及び酢酸フタル酸セルロースが挙げられる。フィルムコーティングとしては、ヒドロキシエチルセルロース、カルボキシメチルセルロースナトリウム、ポリエチレングリコール４０００、及び酢酸フタル酸セルロースが挙げられる。

【０４４５】

本発明の抗体は、胃の酸性環境からそれ／それらを保護する組成物中で提供され得る。例えば、組成物は、胃においてその完全性を維持し、腸において活性化合物を放出する腸溶性コーティング中に製剤化され得る。組成物はまた、制酸薬または他のかかる成分と組み合わせて製剤化され得る。

【０４４６】

単位剤形がカプセル剤である場合、これは、上記の種類の物質に加えて、脂肪油などの液体担体を含有し得る。加えて、単位剤形は、単位剤形の物理的形態を改変する様々な他の物質、例えば、糖及び他の腸溶性薬剤のコーティングを含有し得る。化合物はまた、エリキシル剤、懸濁液、シロップ剤、ウエハ剤、粉剤、チューインガムなどの構成要素として投与することもできる。シロップは、活性化合物に加えて、甘味料及びある特定の防腐剤としてのスクロース、染料及び着色剤、ならびに風味剤を含有してもよい。

【０４４７】

抗体は、所望の作用を損なわない他の活性物質、または制酸薬、Ｈ２遮断薬、及び利尿薬などの、所望の活性を補う物質と混合することもできる。活性成分は、本明細書に記載の抗体またはその薬学的に許容される誘導体である。より高濃度、最大約９８重量％の活性成分を含めることができる。

【０４４８】

全ての実施形態において、錠剤及びカプセル製剤は、活性成分の溶解を改変または維持するために、当業者に既知であるように、コーティングし得る。故に、例えば、これらは、サリチル酸フェニル、ワックス、及び酢酸フタル酸セルロースなどの従来の経腸可消化コーティングでコーティングしてもよい。

【０４４９】

好ましい実施形態では、製剤は、液体剤形である。液体経口剤形としては、水溶液、エマルション、懸濁液、溶液、ならびに／または非発泡顆粒剤から再構成した懸濁液及び発泡顆粒剤から再構成した発泡調製物が挙げられる。水溶液としては、例えば、エリキシル

剤及びシロップ剤が挙げられる。エマルションとしては、水中油型または油中水型のいずれかである。

【０４５０】

エリキシル剤は、透明で甘味のある含水調製物である。エリキシル中で使用される薬学的に許容される担体としては、溶媒が挙げられる。シロップ剤は、糖、例えばスクロースの濃縮水溶液であり、防腐剤を含有してもよい。エマルションは、一方の液体が別の液体全体に小球の形態で分散している二相系である。エマルション中で使用される薬学的に許容される担体は、非水液体、乳化剤、及び防腐剤である。懸濁液は、薬学的に許容される懸濁化剤及び防腐剤を使用する。

【０４５１】

液体経口剤形へと再構成されることになる非発泡顆粒剤中で使用される薬学的に許容される物質としては、希釈在、甘味料、及び湿潤剤が挙げられる。液体経口剤形へと再構成されることになる発泡顆粒剤中で使用される薬学的に許容される物質としては、有機酸及び二酸化炭素源が挙げられる。着色剤及び風味剤は、上記の剤形の全てにおいて使用される。

【０４５２】

溶媒としては、グリセリン、ソルビトール、エチルアルコール、及びシロップが挙げられる。防腐剤の例としては、グリセリン、メチルパラベン及びプロピルパラベン、安息香酸、安息香酸ナトリウム、ならびにアルコールが挙げられる。エマルション中で利用される非水液体の例としては、鉱油及び綿実油が挙げられる。乳化剤の例としては、ゼラチン、アカシア、トラガカント、ベントナイト、及びモノオレイン酸ポリオキシエチレンソルビタンなどの界面活性剤が挙げられる。懸濁化剤としては、カルボキシメチルセルロースナトリウム、ペクチン、トラガカント、Ｖｅｅｇｕｍ、及びアカシアが挙げられる。甘味料としては、スクロース、シロップ、グリセリン、及びサッカリンなどの人口甘味料が挙げられる。湿潤剤としては、モノステアリン酸プロピレングリコール、モノオレイン酸ソルビタン、モノラウリン酸ジエチレングリコール、及びポリオキシエチレンラウリルエーテルが挙げられる。有機酸としては、クエン酸及び酒石酸が挙げられる。二酸化炭素源としては、重炭酸ナトリウム及び炭酸ナトリウムが挙げられる。着色剤としては、認可された認定水溶性ＦＤ及びＣ染料、及びこれらの混合物のうちの任意のものが挙げられる。風味剤としては、果実などの植物から抽出した天然風味、ならびに味覚的快感を生む化合物の合成ブレンドが挙げられる。

【０４５３】

固形剤形について、例えば、炭酸プロピレン、植物油、またはトリグリセリド中の溶液または懸濁液は、一実施形態では、ゼラチンカプセル中にカプセル化される。かかる溶液、ならびにそれらの調製及びカプセル化は、米国特許第４，３２８，２４５号、第４，４０９，２３９号、及び第４，４１０，５４５号に開示されている。液体剤形について、例えば、例えば、ポリエチレングリコール中の溶液は、投与のための容易な測定に十分な量の薬学的に許容される液体担体、例えば、水で希釈することができる。

【０４５４】

あるいは、液体または半固体経口製剤は、活性化合物または塩を、植物油、グリコール、トリグリセリド、プロピレングリコールエステル（例えば、炭酸プロピレン）、及び他のこのような担体中に溶解または分散させ、これらの溶液または懸濁液を硬質または軟質ゼラチンカプセルシェル中にカプセル化することによって調製し得る。他の有用な製剤としては、米国特許第ＲＥ２８，８１９号及び第４，３５８，６０３号に示されているものが挙げられる。端的には、かかる製剤としては、本明細書で提供される化合物、１，２－ジメトキシメタン、ジグリム、トリグリム、テトラグリム、ポリエチレングリコール－３５０－ジメチルエーテル、ポリエチレングリコール－５５０－ジメチルエーテル、ポリエチレングリコール－７５０－ジメチルエーテルを含むこれらに限定されない、ジアルキル化モノ若しくはポリアルキレングリコール（３５０、５５０、及び７５０は、ポリエチレングリコールのおよその平均分子量を指す）、ブチル化ヒドロキシトルエン（ＢＨＴ）、

ブチル化ヒドロキシアニソール（ＢＨＡ）、没食子酸プロピル、ビタミンＥ、ヒドロキノン、ヒドロキシクマリン、エタノールアミン、レシチン、セファリン、アスコルビン酸、リンゴ酸、ソルビトール、リン酸、チオジプロピオン酸及びそのエステル、ならびにジチオカルバメートなどの１つ以上の抗酸化剤を含有するものが挙げられるが、これらに限定されない。

【０４５５】

他の製剤としては、薬学的に許容されるアセタールを含むアルコール水溶液が挙げられるが、これらに限定されない。これらの製剤中で使用されるアルコールは、プロピレングリコール及びエタノールを含むがこれらに限定されない、１つ以上のヒドロキシル基を有する任意の薬学的に許容される水混和性溶媒である。アセタールとしては、アセトアルデヒドジエチルアセタールなどの、アセトアルデヒド低級アルキルアルデヒドのジ（低級アルキル）アセタールが挙げられるが、これらに限定されない。

【０４５６】

非経口投与は、一実施形態では、皮下注射、筋肉内注射、または静脈注射のいずれかを特徴とし、これも本明細書で企図される。注射剤は、従来の形式で、液体溶液若しくは懸濁液として、注射前の液体中の溶液若しくは懸濁液に好適な固体形態、またはエマルションとしてのいずれかで、調製することができる。注射剤、溶液、及びエマルションはまた、１つ以上の賦形剤を含有する。好適な賦形剤は、例えば、水、生理食塩水、ブドウ糖、グリセロール、またはエタノールである。加えて、所望の場合、投与される薬学的組成物は、湿潤剤若しくは乳化剤、ｐＨ緩衝剤、安定剤、溶解度向上剤、及び他のこのような薬剤などの非毒性補助物質、例えば、酢酸ナトリウム、ソルビタンモノラウレート、オレイン酸トリエタノールアミン、及びシクロデキストリンを少量含有することもできる。

【０４５７】

一定レベルの用量が維持されるような遅延放出または持続放出系の注入（例えば、米国特許第３，７１０，７９５号を参照されたい）も本明細書で企図される。端的には、本明細書で提供される化合物は、固体内部マトリックス、例えば、体液中で不溶性である、ポリメチルメタクリレート、ポリブチルメタクリレート、可塑化または無可塑ポリ塩化ビニル、可塑化ナイロン、可塑化ポリエチレンテレフタレート、天然ゴム、ポリイソプレン、ポリイソブチレン、ポリブタジエン、ポリエチレン、エチレン－酢酸ビニルコポリマー、シリコーンゴム、ポリジメチルシロキサン、シリコーン炭酸塩コポリマー、アクリル酸及びメタクリル酸のエステルのヒドロゲルなどの親水性ポリマー、コラーゲン、架橋されたポリビニルアルコール及びポリマー外膜によって取り囲まれる架橋され部分的に加水分解されたポリ酢酸ビニル、例えば、ポリエチレン、ポリプロピレン、エチレン／プロピレンコポリマー、エチレン／酢酸エチルコポリマー、エチレン／酢酸ビニルコポリマー、シリコーンゴム、ポリメチルシロキサン、ネオプレンゴム、塩素化ポリエチレン、ポリ塩化ビニル、塩化ビニルの酢酸ビニル、塩化ビニリデン、エチレン、及びプロピレンとのコポリマー、アイオノマーテレフタル酸ポリエチレン、ブチルゴムエピクロルヒドリンゴム、エチレン／ビニルアルコールコポリマー、エチレン／酢酸ビニル／ビニルアルコールターポリマー、ならびにエチレン／ビニルオキシエタノールコポリマー中に分散される。抗体は、放出速度制御ステップにおいて外側ポリマー膜を通過して放散する。かかる非経口組成物中に含有される抗体の量は、その特定の性質、ならびに化合物の活性及び対象のニーズに大きく依存する。

【０４５８】

非経口投与のための調製物としては、注射への準備ができている滅菌溶液と、皮下錠剤、注射の準備ができている滅菌懸濁液、使用直前にビヒクルと組み合わせる準備ができている滅菌乾燥不溶性産生物を含む、使用直前に溶媒と組み合わせる準備ができている凍結乾燥粉末などの滅菌乾燥可溶性産生物と、滅菌エマルションとが挙げられる。溶液は、水性または非水性のいずれかであり得る。

【０４５９】

静脈投与の場合の好適な担体としては、生理食塩水またはリン酸緩衝生理食塩水（ＰＢ

Ｓ）、ならびにグルコース、ポリエチレングリコール、及びポリエチレングリコール、及びこれらの混合物などの、増粘剤及び可溶化剤を含有する溶液が挙げられる。

【０４６０】

非経口調製物中で使用される薬学的に許容される担体としては、水性ビヒクル、非水ビヒクル、抗菌薬、等張剤、緩衝液、抗酸化剤、局部麻酔薬、懸濁化剤及び分散剤、乳化剤、金属イオン封鎖剤またはキレート剤、ならびに他の薬学的に許容される物質が挙げられる。

【０４６１】

水性ビヒクルの例としては、塩化ナトリウム注射液、リンゲル注射液、等張ブドウ糖注射液、滅菌水注射液、ブドウ糖及び乳酸加リンゲル注射液が挙げられる。非水非経口ビヒクルとしては、植物起源の固定油、綿実油、トウモロコシ油、胡麻油、落花生油が挙げられる。静菌性濃縮物及び静真菌性濃縮物中の抗菌薬は、多用量容器中に包装された非経口調製物に添加され得、これは、フェノールまたはクレゾール、水銀剤、ベンジルアルコール、クロロブタノール、メチル及びプロピルｐ－ヒドロキシ安息香酸エステル、チメロサール塩化ベンザルコニウム、ならびに塩化ベンゼトニウムを含む。等張剤としては、塩化ナトリウム及びブドウ糖が挙げられる。緩衝液としては、リン酸塩及びクエン酸塩が挙げられる。抗酸化剤としては、重硫酸ナトリウムが挙げられる。局部麻酔薬としては、塩酸プロカインが挙げられる。懸濁化及び分散剤としては、カルボキシメチルセルロースナトリウム、ヒドロキシプロピルメチルセルロース、及びポリビニルピロリドンが挙げられる。乳化剤としては、ポリソルベート８０（ＴＷＥＥＮ（登録商標）８０）が挙げられる。金属イオンの金属イオン封鎖剤またはキレート剤としては、ＥＤＴＡが挙げられる。また、薬学的担体としては、水混和製ビヒクルのためには、エチルアルコール、ポリエチレングリコール、及びプロピレングリコール、ｐＨ調整のためには、水酸化ナトリウム、塩酸、クエン酸、または乳酸が挙げられる。

【０４６２】

薬学的に活性な化合物の濃度は、注射が所望の薬理効果を生むのに有効な量を提供するように調製される。正確な用量は、当該技術分野で既知であるように、患者または動物の年齢、体重、及び状態に依存する。

【０４６３】

単位用量非経口調製物は、アンプル、バイアル、または針付きの注射器中に包装することができる。非経口投与用の全ての調製物は、当該技術分野で既知であり実施されているように、滅菌し得る。

【０４６４】

例として、活性化合物を含有する滅菌水溶液の静脈内または動脈内注入は、有効な投与様式である。別の実施形態は、所望の薬理効果を生むために必要に応じて注射される活性物質を含有する滅菌水性または油性溶液または懸濁液である。

【０４６５】

注射剤は、局所投与及び全身投与のために設計される。一実施形態では、治療的に有効な用量は、治療される組織（複数可）に対して、少なくとも約０．１％ｗ／ｗ、最大約９０％ｗ／ｗ以上、ある特定の実施形態では、１％ｗ／ｗ超の濃度の活性化合物を含有するように製剤化される。

【０４６６】

抗体は、微粉化形態または他の好適な形態で懸濁され得る。結果として得られる混合物の形態は、意図する投与様式、及び選択される担体またはビヒクル中の化合物の可溶性を含む、ある数の因子に依存する。有効濃度は、状態の症状を緩和するのに十分なものであり、実験的に決定し得る。

【０４６７】

他の実施形態では、薬学的製剤は、溶液、エマルション、及び他の混合物として投与のために再構成され得る凍結乾燥粉末である。これらはまたは、固体またはゲルとして再構成及び製剤化されてもよい。

【０４６８】
凍結乾燥粉末は、本明細書で提供される抗体またはその薬学的に許容される誘導体を、好適な溶媒中に溶解させることによって調製される。一部の実施形態では、凍結乾燥粉末は滅菌である。溶媒は、粉末または粉末から調製される再構成された溶液の安定性または他の薬理的構成要素を向上させる賦形剤を含有してもよい。使用してもよい賦形剤としては、ブドウ糖、ソルビタル（ｓｏｒｂｉｔａｌ）、フルクトース、コーンシロップ、キシリトール、グリセリン、グルコース、スクロース、または他の好適に薬剤が挙げられるが、これらに限定されない。溶媒はまた、クエン酸塩、ナトリウム、若しくはリン酸カリウムなどの緩衝液、または当業者に既知の他のこのような緩衝液を、一実施形態ではおよそ中性ｐＨで、含有してもよい。当業者に既知の標準的条件下での後続の溶液の滅菌濾過、その後の凍結乾燥により、所望の製剤が産生される。一実施形態では、結果として得られる溶液は、凍結乾燥のためにバイアルに分配されることになる。各バイアルは、単回用量または複数回用量の化合物を含有する。凍結乾燥粉末は、約４℃～室温など、適切な条件下で貯蔵することができる。

【０４６９】
注射のための水を用いたこの凍結乾燥粉末の再構成により、非経口投与における使用のための製剤が提供される。再構成のためには、凍結乾燥粉末を滅菌水または他の好適な担体に添加する。正確な量は、選択する化合物に依存する。かかる量は、実験的に決定することができる。

【０４７０】
外用混合物は、局所投与及び全身投与について記載した通りに調製される。結果として得られる混合物は、溶液、懸濁液、エマルションなどであることができ、クリーム剤、ゲル剤、軟膏、エマルション、溶液、エリキシル剤、ローション剤、懸濁液、チンキ剤、ペースト剤、泡剤、エアロゾル剤、潅注剤、噴霧剤、坐薬、絆創膏、皮膚パッチ、または外用投与に好適な任意の他の製剤として製剤化することができる。

【０４７１】
本発明の抗体は、吸入などによる外適用のためのエアロゾル剤として製剤化し得る（例えば、炎症性疾患、特に喘息の治療に有用なステロイドの送達のためのエアロゾル剤を説明している米国特許第４，０４４，１２６号、第４，４１４，２０９号、及び第４，３６４，９２３号を参照されたい）。気道投与用のこれらの製剤は、ネブライザー用エアロゾルまたは溶液の形態であるか、あるいは送気用の超微粒粉末として、単独、またはラクトースなどの不活性担体と組み合わせであり得る。かかる場合には、製剤の粒子は、一実施形態では、５０ミクロン未満、一実施形態では、１０ミクロン未満の直径を有する。

【０４７２】
化合物は、ゲル剤、クリーム剤、及びローション剤の形態で、皮膚、及び眼中などの粘膜への外適用などといった、局所適用若しくは外適用のため、眼への適用のため、または嚢内若しくは髄腔内適用のために、製剤化され得る。外用投与は、経皮送達に対して企図され、眼若しくは粘膜への投与、または吸入療法に対しても企図される。単独の、または他の薬学的に許容される賦形剤と組み合わせた活性化合物の点鼻溶液も投与することができる。

【０４７３】
これらの溶液、特に眼科用途を意図した溶液は、適用な塩を含むｐＨ約５～７の０．０１％～１０％等張溶液として製剤化してもよい。

【０４７４】
イオン導入及び電気泳動機器を含む経皮パッチ、ならびに直腸投与などの他の投与経路も本明細書で企図される。

【０４７５】
イオン導入及び電気泳動機器を含む経皮パッチは、当業者に周知である。例えば、かかるパッチは、米国特許第６，２６７，９８３号、第６，２６１，５９５号、第６，２５６，５３３号、第６，１６７，３０１号、第６，０２４，９７５号、第６，０１０７１５号

、第５，９８５，３１７号、第５，９８３，１３４号、第５，９４８，４３３号、及び第５，８６０，９５７号に開示されている。

【０４７６】

例えば、直腸投与用の薬学的剤形は、全身的効果のための直腸坐薬、カプセル剤、及び錠剤である。直腸坐薬は、本明細書で使用する場合、体温で溶けるかまたは軟化して１つ以上の薬理的または薬学的に活性な成分を放出する、直腸への挿入用の固形物を意味する。直腸坐薬中で利用される薬学的に許容される物質は、融点を上昇させるための基剤またはビヒクル及び薬剤である。基剤の例としては、ココアバター（テオブロマ油）、グリセリン－ゼラチン、カルボワックス（ポリエチレングリコール）、ならびに脂肪酸のモノ、ジ、及びトリグリセリドの適用な混合物が挙げられる。様々な基剤の組み合わせを使用してよい。坐薬の融点を上昇させる薬剤としては、鯨蝋及びワックスが挙げられる。直腸坐薬は、圧縮法か成形かのいずれかによって調製され得る。直腸坐薬の重量は、一実施形態では、約２～３ｇｍである。

【０４７７】

直腸投与用の錠剤及びカプセル剤は、経口投与用の製剤と同じ薬学的に許容される物質を使用して、同じ方法によって、製造することができる。

【０４７８】

本明細書で提供される抗体及び他の組成物はまた、治療される対象の特定の組織、受容体、または体の他のエリアを標的にするように製剤化されてもよい。多くのかかる標的化方法が当業者に周知である。全てのかかる標的化方法が、本組成物における使用について本明細書で企図される。標的化方法の非限定的な例については、例えば、米国特許第６，３１６，６５２号、第６，２７４，５５２号、第６，２７１，３５９号、第６，２５３，８７２号、第６，１３９，８６５号、第６，１３１，５７０号、第６，１２０，７５１号、第６，０７１，４９５号、第６，０６０，０８２号、第６，０４８，７３６号、第６，０３９，９７５号、第６，００４，５３４号、第５，９８５，３０７号、第５，９７２，３６６号、第５，９００，２５２号、第５，８４０，６７４号、第５，７５９，５４２号、及び第５，７０９，８７４号を参照されたい。一部の実施形態では、本発明の抗ｈＯＸ４０Ｌ抗体は、ＩＢＤを有するか、有する危険性がある患者などにおいて、結腸を標的とする（または結腸に投与される）。一部の実施形態では、本発明の抗ｈＯＸ４０Ｌ抗体は、ブドウ膜炎を有するか、または有する危険性がある患者などにおいて、眼を標的とする（または眼に投与される）。

【０４７９】

一実施形態では、腫瘍標的化リポソームなどの組織標的化リポソームを含むリポソーム懸濁液も、薬学的に許容される担体として好適であり得る。これらは、当該技術分野で既知の方法に従って調製され得る。例えば、リポソーム製剤は、米国特許第４，５２２，８１１号に記載されているように調製することができる。端的には、多重膜小胞（ＭＬＶ）などのリポソームは、卵ホスファチジルコリン及び脳ホスファチジルセリン（モル比７：３）をフラスコの内部で乾燥させることによって形成され得る。二価陽イオンを欠くリン酸緩衝生理食塩水（ＰＢＳ）中の本明細書で提供される化合物の溶液を添加し、脂肪フィルムが分散するまでフラスコを振る。結果として得られる小胞を洗浄して、カプセル化されていない化合物を除去し、遠心分離によってペレット化した後、ＰＢＳ中に再懸濁する。

【０４８０】

投与及び投薬方法

本発明は、ｈＯＸ４０Ｌ媒介性疾患（またはその症状）の防止、管理、治療、及び／または緩和における使用のための１つ以上の本発明の抗体または断片を含む組成物を更に提供する。抗体に関する考察は、本発明の断片について準用する。代替手段においては、本発明は、対象におけるＯＸ４０Ｌ媒介性疾患（またはその症状）の防止、管理、治療、及び／または緩和における使用のための１つ以上の本発明の抗体または断片を含む組成物を更に提供し、ここでは、ＯＸ４０Ｌは、非ヒト（例えば、イヌ、ネコ、ウマ、ウシ、ヒツ

ジ、またはブタ）であり、対象は、それぞれ、イヌ、ネコ、ウマ、ウシ、ヒツジ、またはブタである。

【０４８１】

ある特定の実施形態では、ＩＢＤ（例えば、潰瘍性大腸炎またはクローン病）などのｈＯＸ４０Ｌ媒介性疾患またはその症状の防止、管理、治療、及び／または緩和における使用のための１つ以上の本発明の抗体を含む組成物が本明細書にて提供される。ＩＢＤの症状は、軽度から重度まで幅があり、概して、関与する腸管の部分に依存する。ＩＢＤの例示的な症状としては、腹部の痙攣及び疼痛、血性下痢、切迫した便意、発熱、食欲不振、体重減少、貧血、疲労、及び／または下腿、足首、ふくらはぎ、大腿部、及び腕の痛みが挙げられる。例示的なＩＢＤの腸合併症としては、潰瘍からの大量出血、腸の穿孔若しくは破裂、狭窄及び閉塞、瘻孔（異常な排便）及び肛門周囲疾患、中毒性巨大結腸（例えば、結腸の急性非閉塞性拡張）、及び／または悪性腫瘍（例えば、結腸または小腸の癌）が挙げられる。ＩＢＤの例示的な腸外合併症としては、関節炎、皮膚疾患、眼の炎症、肝臓及び腎臓障害、及び／または骨量減少が挙げられる。これらの症状のいずれの組み合わせも、本明細書で提供される組成物及び方法を使用して、防止、管理、治療、及び／または緩和され得る。

【０４８２】

ある特定の実施形態では、ＧＶＨＤなどのｈＯＸ４０Ｌ媒介性疾患またはその症状の防止、管理、治療、及び／または緩和における使用のための１つ以上の本発明の抗体を含む組成物が本明細書にて提供される。ＧＶＨＤは、概して、同種または適合非血縁骨髄移植（ＢＭＴ）の後に起こる。

【０４８３】

一部の実施形態では、ＧＶＨＤは、急性ＧＶＨＤである。急性ＧＶＨＤの症状は、急速に発生し得、軽度または重度であり得る。ある特定の場合において、ＧＶＨＤは、移植後に血球数が回復するときなど、移植後約３カ月以内に発現する。ある特定の場合において、急性ＧＶＨＤは、皮膚、消化（ＧＩ）管、及び／または肝臓に影響を及ぼす。例えば、一部の患者においては、急性皮膚ＧＶＨＤは、例えば、患者の手のひら、足の裏、または肩の湿疹から始まる。しかしながら、湿疹は、拡大する可能性があり、痒く痛み、かつ／または水疱ができ剥離し得る。急性肝臓ＧＶＨＤは、肝臓酵素などの肝臓の正常機能に影響し得、それにより黄疸を引き起こし得る。急性肝臓ＧＶＨＤはまた、肝臓が肥大すると、患者の腹部を膨張させ痛みを引き起こし得る。最後に、急性胃腸ＧＶＨＤ（または消化系のＧＶＨＤ）の症状としては、下痢、便中の粘液または血液、痙攣または腹痛、消化不良、吐き気、及び／または食欲不振を挙げることができる。急性ＧＶＨＤの他の一般的な症状としては、貧血、微熱、及び／または感染症への罹患傾向を挙げることができる。これらの急性ＧＶＨＤの症状のいずれの組み合わせも、本明細書で提供される組成物及び方法を使用して、防止、管理、治療、及び／または緩和され得る。

【０４８４】

他の実施形態では、ＧＶＨＤは、慢性ＧＶＨＤである。慢性ＧＶＨＤは、移植後約３カ月～約１年、またはそれ以上に発生し得る。慢性ＧＶＨＤは、軽度または重度であり得、概して、急性ＧＶＨＤの症状と同様の症状を含む。慢性ＧＶＨＤは、皮膚、及び肝臓を含む消化系に影響し得るが、他の臓器及び免疫系（例えば、患者が感染症に罹りやすくなる）ならびに／または結合組織も巻き込み得る。慢性皮膚ＧＶＨＤの症状としては、湿疹、乾燥肌、皮膚の引きつれ、皮膚の痒み、皮膚の黒ずみ、皮膚の肥厚が挙げられ、かつ／または頭髪（例えば、抜け毛、白髪化）若しくは爪（例えば、硬い爪または脆い爪）に影響し得る。慢性胃腸ＧＶＨＤは、消化系、口、食道、胃の内壁、及び／または腸の内壁に影響し得、症状としては、下痢、口渇または口の痛み、嚥下痛、胃による栄養素吸収の低下、膨満、胃痙攣が挙げられる。慢性肝臓ＧＶＨＤは、肝臓の損傷及び瘢痕化（肝硬変）を引き起こし得る。眼の慢性ＧＶＨＤは、涙液を作る腺に影響して、眼の乾燥、ひりひりする感覚及び痛み、または眩しい光に対する不耐性を引き起こし得る。慢性肺ＧＶＨＤは、息切れ、喘鳴、持続性の咳、及び／または肺感染症に罹りやすくし得る。慢性ＧＶＨＤは

、筋を骨に繋いでいる腱に影響して（例えば、炎症）、腕及び脚の曲げ伸ばしを困難にする。慢性ＧＶＨＤのこれらの症状の任意の組み合わせは、本明細書で提供する組成物及び方法を使用して、防止、管理、治療、及び／または緩和され得る。

【０４８５】

ある特定の実施形態では、ブドウ膜炎などのｈＯＸ４０Ｌ媒介性疾患またはその症状の防止、管理、治療、及び／または緩和における使用のための１つ以上の本発明の抗体を含む組成物が、本明細書にて提供される。

【０４８６】

ある特定の実施形態では、壊疽性膿皮症、巨細胞性動脈炎、シュニッツラー症候群、または非感染性強膜炎などのｈＯＸ４０Ｌ媒介性疾患の防止、管理、治療、及び／または緩和における使用のための１つ以上の本発明の抗体を含む組成物が、本明細書にて提供される。

【０４８７】

ある特定の実施形態では、自己免疫疾患若しくは状態、全身炎症性疾患若しくは状態、または移植片拒絶から選択される、ｈＯＸ４０Ｌ媒介性疾患または状態、例えば、炎症性腸疾患（ＩＢＤ）、クローン病、リウマチ性関節炎、移植片拒絶、同種移植片拒絶、移植片対宿主病（ＧｖＨＤ）、潰瘍性大腸炎、全身性エリテマトーデス（ＳＬＥ）、糖尿病、ブドウ膜炎、強直性脊椎炎、接触過敏症、多発性硬化症、及びアテローム性動脈硬化症、特にＧｖＨＤの防止、管理、治療、及び／または緩和における使用のための１つ以上の本発明の抗体を含む組成物が、本明細書にて提供される。

【０４８８】

特定の実施形態では、ｈＯＸ４０Ｌ媒介性疾患の防止、管理、治療、及び／または緩和における使用のための組成物は、本発明の抗体、例えば、実施例で開示する抗体のＯＸ４０Ｌ結合部位を含む。

【０４８９】

別の実施形態では、ｈＯＸ４０Ｌ媒介性疾患の防止、管理、治療、及び／または緩和における使用のための組成物は、配列リスト中のＶＨドメインのうちのいずれか１つのアミノ酸配列（即ち、配列番号２、配列番号３４、配列番号６６、または配列番号９４、特に、配列番号３４）を有する１つ以上のＶＨドメインを含む１つ以上の抗体を含む。別の実施形態では、ｈＯＸ４０Ｌ媒介性疾患の防止、管理、治療、及び／または緩和における使用のための組成物は、配列リスト中のＶＨ　ＣＤＲ１のうちのいずれか１つのアミノ酸配列（即ち、配列番号４、配列番号１０、配列番号３６、配列番号４２、配列番号６８、配列番号７４、配列番号９６、または配列番号１０２、特に、配列番号３６または配列番号４２）を有する１つ以上のＶＨ　ＣＤＲ１を含む１つ以上の抗体を含む。別の実施形態では、ｈＯＸ４０Ｌ媒介性疾患の防止、管理、治療、及び／または緩和における使用のための組成物は、配列リスト中のＶＨ　ＣＤＲ２のうちのいずれか１つのアミノ酸配列（即ち、配列番号６、配列番号１２、配列番号３８、配列番号４４、配列番号７０、配列番号７６、配列番号９８、または配列番号１０４、特に、配列番号３８または配列番号４４）を有する１つ以上のＶＨ　ＣＤＲ２を含む１つ以上の抗体を含む。好ましい実施形態では、ｈＯＸ４０Ｌ媒介性疾患の防止、管理、治療、及び／または緩和における使用のための組成物は、配列リスト中のＶＨ　ＣＤＲ３のうちのいずれか１つのアミノ酸配列（即ち、配列番号８、配列番号１４、配列番号４０、配列番号４６、配列番号７２、配列番号７８、配列番号１００、または配列番号１０６、特に、配列番号４０または配列番号４６）を有する１つ以上のＶＨ　ＣＤＲ３を含む１つ以上の抗体を含む。

【０４９０】

別の実施形態では、ｈＯＸ４０Ｌ媒介性疾患の防止、管理、治療、及び／または緩和における使用のための組成物は、配列リスト中のＶＬドメインのうちのいずれか１つのアミノ酸配列（即ち、配列番号１６、配列番号４８、配列番号８０、または配列番号１０８、特に、配列番号４８）（任意選択で、配列リスト（即ち、配列番号２／１６、配列番号３４／４８、配列番号６６／８０、または配列番号９４／１０８、特に、配列番号３４／４

８）中に提示する同族ＶＨドメインも含む）を有する１つ以上のＶＬドメインを含む１つ以上の抗体を含む。別の実施形態では、ｈＯＸ４０Ｌ媒介性疾患の防止、管理、治療、及び／または緩和における使用のための組成物は、配列リスト中のＶＬ　ＣＤＲ１のうちのいずれか１つのアミノ酸配列（即ち、配列番号１８、配列番号２４、配列番号５０、配列番号５６、配列番号８２、配列番号８８、配列番号１１０、または配列番号１１６、特に、配列番号５０または配列番号５６）を有する１つ以上のＶＬ　ＣＤＲ１を含む１つ以上の抗体を含む。別の実施形態では、ｈＯＸ４０Ｌ媒介性疾患の防止、管理、治療、及び／または緩和における使用のための組成物は、配列リスト中のＶＬ　ＣＤＲ２のうちのいずれか１つのアミノ酸配列（即ち、配列番号２０、配列番号２６、配列番号５２、配列番号５８、配列番号８４、配列番号９０、配列番号１１２、または配列番号１１８、特に、配列番号５２または配列番号５８）を有する１つ以上のＶＬ　ＣＤＲ２を含む１つ以上の抗体を含む。好ましい実施形態では、ｈＯＸ４０Ｌ媒介性疾患の防止、管理、治療、及び／または緩和における使用のための組成物は、配列リスト中のＶＬ　ＣＤＲ３のうちのいずれか１つのアミノ酸配列（即ち、配列番号２２、配列番号２８、配列番号５４、配列番号６０、配列番号８６、配列番号９２、配列番号１１４、または配列番号１２０、特に、配列番号５４または配列番号６０）を有する１つ以上のＶＬ　ＣＤＲ３を含む１つ以上の抗体を含む。

【０４９１】

別の実施形態では、ｈＯＸ４０Ｌ媒介性疾患の防止、管理、治療、及び／または緩和における使用のための組成物は、配列リスト中のＶＨドメインのうちのいずれか１つのアミノ酸配列（即ち、配列番号２、配列番号３４、配列番号６６、または配列番号９４、特に、配列番号３４）を有する１つ以上のＶＨドメイン、及び配列リスト中のＶＬドメインのうちのいずれか１つのアミノ酸配列（即ち、配列番号１６、配列番号４８、配列番号８０、または配列番号１０８、特に、配列番号４８）を有する１つ以上のＶＬドメインを含む、１つ以上の抗体を含む。

【０４９２】

別の実施形態では、ｈＯＸ４０Ｌ媒介性疾患の防止、管理、治療、及び／または緩和における使用のための組成物は、配列リスト中のＶＨ　ＣＤＲ１のうちのいずれか１つのアミノ酸配列（即ち、配列番号４、配列番号１０、配列番号３６、配列番号４２、配列番号６８、配列番号７４、配列番号９６、または配列番号１０２、特に、配列番号３６または配列番号４２）を有する１つ以上のＶＨ　ＣＤＲ１、及び配列リスト中のＶＬ　ＣＤＲ１のうちのいずれか１つのアミノ酸配列（即ち、配列番号１８、配列番号２４、配列番号５０、配列番号５６、配列番号８２、配列番号８８、配列番号１１０、または配列番号１１６、特に、配列番号５０または配列番号５６）を有する１つ以上のＶＬ　ＣＤＲ１を含む、１つ以上の抗体を含む。別の実施形態では、ｈＯＸ４０Ｌ媒介性疾患の防止、管理、治療、及び／または緩和における使用のための組成物は、配列リスト中のＶＨ　ＣＤＲ１のうちのいずれか１つのアミノ酸配列（即ち、配列番号４、配列番号１０、配列番号３６、配列番号４２、配列番号６８、配列番号７４、配列番号９６、または配列番号１０２、特に、配列番号３６または配列番号４２）を有する１つ以上のＶＨ　ＣＤＲ１、及び配列リスト中のＶＬ　ＣＤＲ２のうちのいずれか１つのアミノ酸配列（即ち、配列番号２０、配列番号２６、配列番号５２、配列番号５８、配列番号８４、配列番号９０、配列番号１１２、または配列番号１１８、特に、配列番号５２または配列番号５８）を有する１つ以上のＶＬ　ＣＤＲ２を含む、１つ以上の抗体を含む。別の実施形態では、ｈＯＸ４０Ｌ媒介性疾患の防止、管理、治療、及び／または緩和における使用のための組成物は、配列リスト中のＶＨ　ＣＤＲ１のうちのいずれか１つのアミノ酸配列（即ち、配列番号４、配列番号１０、配列番号３６、配列番号４２、配列番号６８、配列番号７４、配列番号９６、または配列番号１０２、特に、配列番号３６または配列番号４２）を有する１つ以上のＶＨ　ＣＤＲ１を含む１つ以上の抗体、及び配列リスト中のＶＬ　ＣＤＲ３のうちのいずれか１つのアミノ酸配列（即ち、配列番号２２、配列番号２８、配列番号５４、配列番号６０、配列番号８６、配列番号９２、配列番号１１４、または配列番号１２０、特に、配列番

号５４または配列番号６０）を有するＶＬ　ＣＤＲ３のうちのいずれか１つのアミノ酸配列を有する１つ以上のＶＬ　ＣＤＲ３を含む、１つ以上の抗体を含む。

【０４９３】

本明細書の他箇所でより詳細に考察する通り、本発明の組成物は、単独で、または他の化合物若しくは組成物と組み合わせて、使用してもよい。重ねて、本抗体は、更に、異種ポリペプチドと組み換えによってＮ末端若しくはＣ末端にて融合されるか、またはポリペプチド若しくは他の組成物と化学的に複合体化（共有及び非共有複合体化を含む）されてもよい。例えば、本発明の抗体は、検出アッセイにおいて標識として有用な分子、及び異種ポリペプチド、薬物、放射性ヌクレオチド、若しくは毒素などのエフェクター分子と、組み換えによって融合されるか、または複合体化されてもよい。例えば、ＰＣＴ国際公開第９２／０８４９５号、同第９１／１４４３８号、同第８９／１２６２４号、米国特許第５，３１４，９９５号、及び欧州特許第３９６，３８７号を参照されたい。

【０４９４】

一部の実施形態では、対象（例えば、ヒト対象）においてｈＯＸ４０ＬのＯＸ４０Ｌ受容体または同族リガンド（例えば、ＯＸ４０）との結合を減少させるかまたは阻害するための方法が本明細書にて提供され、本方法は、ｈＯＸ４０Ｌポリペプチドに特異的に結合する有効量の抗体（例えば、細胞に表面発現されたｈＯＸ４０Ｌまたは可溶性ｈＯＸ４０Ｌ）を対象に投与することを含む。一部の実施形態では、ＣＣＬ２０、ＩＬ８、及び／若しくはＲＡＮＴＥＳ、またはＩＮＦ－γ、ＴＮＦ－α、若しくはＩＬ－２、特に、ＩＮＦ－γ、または本明細書に開示の別のサイトカインの分泌などのｈＯＸ４０Ｌ生物活性も、対象において、例えば、少なくとも１０、２０、３０、４０、５０、または６０％、または７０％、または８０％、または９０％、または９５％、または９５％超、減少する。

【０４９５】

ある特定の実施形態では、インターフェロンガンマ、ＩＬ－２、ＣＣＬ２０、ＩＬ８、及び／若しくはＲＡＮＴＥＳ、または他のサイトカイン、またはＩＮＦ－γ、ＴＮＦ－α、若しくはＩＬ－２、特に、ＩＮＦ－γの分泌などのｈＯＸ４０Ｌ生物活性を対象（例えば、ヒト対象）において減少させるかまたは阻害するための方法が提供され、本方法は、ｈＯＸ４０Ｌポリペプチド（例えば、細胞に表面発現されたｈＯＸ４０Ｌ）に特異的に結合する有効量の抗体を対象に投与することを含み、本方法では、本抗体によってｈＯＸ４０Ｌ生物活性が減少する。

【０４９６】

他の実施形態では、細胞を、ｈＯＸ４０Ｌポリペプチド（例えば、細胞に表面発現されたｈＯＸ４０Ｌまたは可溶性ｈＯＸ４０Ｌ）に特異的に結合する有効量の抗体、例えば、ｈＯＸ４０Ｌポリペプチド、ｈＯＸ４０Ｌポリペプチド断片、またはｈＯＸ４０Ｌエピトープと接触させ、細胞に表面発現されたｈＯＸ４０Ｌを有する細胞におけるｈＯＸ４０ＬのＯＸ４０Ｌ受容体または同族リガンド（例えば、ＯＸ４０）との結合を減少させるかまたは阻害するための方法が本明細書にて提供される。一部の実施形態では、インターフェロンガンマ、ＩＬ－２、ＣＣＬ２０、ＩＬ８、及び／若しくはＲＡＮＴＥＳ、またはＩＮＦ－γ、ＴＮＦ－α、若しくはＩＬ－２、特に、ＩＮＦ－γ、または本明細書に開示の他のサイトカインの分泌などのｈＯＸ４０Ｌ生物活性も、細胞において減少する。

【０４９７】

ある特定の実施形態では、細胞を、ｈＯＸ４０Ｌポリペプチド（例えば、細胞に表面発現されたｈＯＸ４０Ｌまたは可溶性ｈＯＸ４０Ｌ）に特異的に結合する有効量の抗体と接触させ、細胞に表面発現されたｈＯＸ４０Ｌ受容体（ＯＸ４０など）を有する細胞において、インターフェロンガンマ、ＩＬ－２、ＣＣＬ２０、ＩＬ８、及び／若しくはＲＡＮＴＥＳ、または本明細書に開示の他のサイトカインの分泌などのｈＯＸ４０Ｌ生物活性を減少させるかまたは阻害するための方法が本明細書にて提供され、本方法では、本抗体によってｈＯＸ４０Ｌ生物活性が減少する。

【０４９８】

本発明の抗体を使用して、インビトロ及びインビボ両方の診断及び治療法において、例

えば、ｈＯＸ４０Ｌ抗原を精製、検出、及び標的化し得る。例えば、修飾された抗体は、生体試料中のｈＯＸ４０Ｌのレベルを定性的及び定量的に測定するための免疫測定法において役立つ。例えば、Ｈａｒｌｏｗ ｅｔ ａｌ．，Ａｎｔｉｂｏｄｉｅｓ：Ａ Ｌａｂｏｒａｔｏｒｙ Ｍａｎｕａｌ，（Ｃｏｌｄ Ｓｐｒｉｎｇ Ｈａｒｂｏｒ Ｌａｂｏｒａｔｏｒｙ Ｐｒｅｓｓ，２ｎｄ ｅｄ．１９８８）を参照されたい（その全体は参照により本明細書に組み込まれる）。

【０４９９】

本発明はまた、有効量の抗体、または本発明の抗体を含む薬学的組成物を対象に投与することによって、ｈＯＸ４０Ｌ媒介性疾患を防止、管理、治療、及び／または緩和する方法を提供する。一態様では、抗体は、実質的に精製されている（即ち、その効果を限定するかまたは望ましくない副作用を産生する物質を実質的に含まない）。好ましい実施形態では、本抗体は、完全ヒトモノクローナル拮抗抗体などの完全ヒトモノクローナル抗体である。療法を投与される対象は、好ましくは、哺乳動物、例えば、非霊長類（例えば、ウシ、ブタ、ウマ、ネコ、イヌ、齧歯動物、マウス、またはラット）または霊長類（例えば、アカゲザル若しくはカニクイザルなどのサル、またはヒト）である。好ましい実施形態では、対象はヒトである。別の好ましい実施形態では、対象は、ヒトの幼児または未熟児で生まれたヒトの幼児である。別の実施形態では、対象は、ｈＯＸ４０Ｌ媒介性疾患を持つヒトである。

【０５００】

様々な送達系が既知であり、予防薬または治療薬（例えば、本発明の抗体）を投与するために使用することができる。これらの送達系としては、リポソーム中のカプセル化、微小粒子、抗体を発現することができる組み換え細胞、受容体媒介性エンドサイトーシス（例えば、Ｗｕ ａｎｄ Ｗｕ，Ｊ．Ｂｉｏｌ．Ｃｈｅｍ．２６２：４４２９－４４３２（１９８７）参照）、レトロウイルスまたは他のベクターの一部としての核酸の構築などが挙げられるが、これらに限定されない。予防薬または治療薬（例えば、本発明の抗体）、または薬学的組成物の投与方法としては、非経口投与（例えば、皮内、筋肉内、腹腔内、静脈内、及び皮下）、硬膜外、及び粘膜（例えば、鼻腔内及び経口経路）が挙げられるが、これらに限定されない。特定の実施形態では、予防薬若しくは治療薬（例えば、本発明の抗体）、または薬学的組成物は、鼻腔内投与、筋肉内投与、静脈内投与、または皮下投与される。予防薬若しくは治療薬、または組成物は、例えば、注入またはボーラス注射、上皮または皮膚粘膜内面（例えば、口腔粘膜、鼻腔内粘膜、直腸及び腸管粘膜など）からの吸収によるなど、任意の簡便な経路によって投与してもよく、他の生物学的に活性な薬剤と共に投与してもよい。投与は全身投与または局所投与であり得る。加えて、例えば、吸入器またはネブライザー及びエアゾロル化剤による製剤の使用によって、肺内投与を用いることもできる。例えば、各々全体が参照により本明細書に組み込まれる、米国特許第６，０１９，９６８号、第５，９８５，３２０号、第５，９８５，３０９号、第５，９３４，２７２号、第５，８７４，０６４号、第５，８５５，９１３号、第５，２９０，５４０号、及び第４，８８０，０７８号、ならびにＰＣＴ国際公開第９２／１９２４４号、第９７／３２５７２号、第９７／４４０１３号、第９８／３１３４６号、及び第９９／６６９０３号を参照されたい。

【０５０１】

特定の実施形態では、予防薬若しくは治療薬、または薬学的本発明の組成物は、治療を必要とするエリアに局所的に投与されることが望ましい場合がある。これは例えば、限定的ではなく、局所注入、外用投与（例えば、経鼻噴霧）、注射、またはインプラント手段により達成してもよく、該インプラントは、シアラスチック膜などの膜、または繊維を含む、多孔質、無孔質、またはゼラチン状物質である。好ましくは、本発明の抗体の投与時には、抗体が吸収されない材料を使用するように注意を払う必要がある。

【０５０２】

別の実施形態では、予防薬若しくは治療薬、または本発明の組成物は、ベシクル、特に、リポソーム中で送達され得る（Ｌａｎｇｅｒ，１９９０，Ｓｃｉｅｎｃｅ ２４９

：１５２７－１５３３、Ｔｒｅａｔ ｅｔ ａｌ．，ｉｎ Ｌｉｐｏｓｏｍｅｓ ｉｎ ｔｈｅ Ｔｈｅｒａｐｙ ｏｆ Ｉｎｆｅｃｔｉｏｕｓ Ｄｉｓｅａｓｅ ａｎｄ Ｃａｎｃｅｒ，Ｌｏｐｅｚ－Ｂｅｒｅｓｔｅｉｎ ａｎｄ Ｆｉｄｌｅｒ（ｅｄｓ．），Ｌｉｓｓ，Ｎｅｗ Ｙｏｒｋ，ｐｐ．３５３－３６５（１９８９）、Ｌｏｐｅｚ－Ｂｅｒｅｓｔｅｉｎ，ｉｂｉｄ．，ｐｐ．３１７－３２７を参照；概して同書を参照）。

【０５０３】

別の実施形態では、予防薬若しくは治療薬、または本発明の組成物は、制御放出または持続放出系で送達することができる。一実施形態では、ポンプを使用して、制御または持続放出を達成してもよい（Ｌａｎｇｅｒ，ｓｕｐｒａ；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）。別の実施形態では、ポリマー材料を使用して、予防薬若しくは治療薬（例えば、本発明の抗体）または本発明の組成物の制御または持続放出を達成することができる（例えば、Ｍｅｄｉｃａｌ Ａｐｐｌｉｃａｔｉｏｎｓ ｏｆ Ｃｏｎｔｒｏｌｌｅｄ Ｒｅｌｅａｓｅ，Ｌａｎｇｅｒ ａｎｄ Ｗｉｓｅ（ｅｄｓ．），ＣＲＣ Ｐｒｅｓ．，Ｂｏｃａ Ｒａｔｏｎ，Ｆｌａ．（１９７４）、Ｃｏｎｔｒｏｌｌｅｄ Ｄｒｕｇ Ｂｉｏａｖａｉｌａｂｉｌｉｔｙ，Ｄｒｕｇ Ｐｒｏｄｕｃｔ Ｄｅｓｉｇｎ ａｎｄ Ｐｅｒｆｏｒｍａｎｃｅ，Ｓｍｏｌｅｎ ａｎｄ Ｂａｌｌ（ｅｄｓ．），Ｗｉｌｅｙ，Ｎｅｗ Ｙｏｒｋ（１９８４）、Ｒａｎｇｅｒ ａｎｄ Ｐｅｐｐａｓ，１９８３，Ｊ．，Ｍａｃｒｏｍｏｌ．Ｓｃｉ．Ｒｅｖ．Ｍａｃｒｏｍｏｌ．Ｃｈｅｍ．２３：６１参照、また、Ｌｅｖｙ ｅｔ ａｌ．，１９８５，Ｓｃｉｅｎｃｅ ２２８：１９０、Ｄｕｒｉｎｇ ｅｔ ａｌ．，１９８９，Ａｎｎ．Ｎｅｕｒｏｌ．２５：３５１、Ｈｏｗａｒｄ ｅｔ ａｌ．，１９８９，Ｊ．Ｎｅｕｒｏｓｕｒｇ．７１：１０５）、米国特許第５，６７９，３７７号、同第５，９１６，５９７号、同第５，９１２，０１５号、同第５，９８９，４６３号、同第５，１２８，３２６号、ＰＣＴ国際公開第９９／１５１５４号、及び同９９／２０２５３号も参照。持続放出製剤に使用されるポリマーの例としては、ポリ（２－ヒドロキシエチルメタクリレート）、ポリ（メチルメタクリレート）、ポリ（アクリル酸）、ポリ（エチレン－コ－ビニルアセテート）、ポリ（メタクリル酸）、ポリグリコリド（ＰＬＧ）、ポリ酸無水物、ポリ（Ｎ－ビニルピロリドン）、ポリ（ビニルアルコール）、ポリアクリルアミド、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挙げられるが、これらに限定されない。好ましい実施形態では、持続放出製剤に使用されるポリマーは、不活性で、溶出性の不純物を含まず、貯蔵に対して安定性であり、滅菌、及び生分解性である。更に別の実施形態では、制御または持続放出系は、治療標的、即ち、鼻腔または肺に接近して配置することができるので、全身用用量の一部の用量しか必要としない（例えば、Ｇｏｏｄｓｏｎ，ｉｎ Ｍｅｄｉｃａｌ Ａｐｐｌｉｃａｔｉｏｎｓ ｏｆ Ｃｏｎｔｒｏｌｌｅｄ Ｒｅｌｅａｓｅ，ｓｕｐｒａ，ｖｏｌ．２，ｐｐ．１１５－１３８（１９８４）参照）。制御放出系は、Ｌａｎｇｅｒ（１９９０，Ｓｃｉｅｎｃｅ ２４９：１５２７－１５３３）による総説において考察されている。当該技術分野で既知の任意の技術を使用して、１つ以上の本発明の抗体を含む持続放出製剤を産生することができる。例えば、各々全体が参照により本明細書に組み込まれる、米国特許第４，５２６，９３８号、ＰＣＴ国際公開第９１／０５５４８号、同９６／２０６９８号、Ｎｉｎｇ ｅｔ ａｌ．，１９９６，“Ｉｎｔｒａｔｕｍｏｒａｌ Ｒａｄｉｏｉｍｍｕｎｏｔｈｅｒａｐｙ ｏｆ ａ Ｈｕｍａｎ Ｃｏｌｏｎ Ｃａｎｃｅｒ Ｘｅｎｏｇｒａｆｔ Ｕｓｉｎｇ ａ Ｓｕｓｔａｉｎｅｄ－Ｒｅｌｅａｓｅ Ｇｅｌ，”Ｒａｄｉｏｔｈｅｒａｐｙ ＆ Ｏｎｃｏｌｏｇｙ ３９：１７９－１８９、Ｓｏｎｇ ｅｔ ａｌ．，１９９５，“Ａｎｔｉｂｏｄｙ Ｍｅｄｉａｔｅｄ Ｌｕｎｇ Ｔａｒｇｅｔｉｎｇ ｏｆ Ｌｏｎｇ－Ｃｉ

rculating Emulsions,” PDA Journal of Pharmaceutical Science & Technology 50：372－397、Cleek et al., 1997, “Biodegradable Polymeric Carriers for a bFGF Antibody for Cardiovascular Application,” Pro. Int’l. Symp. Control. Rel. Bioact. Mater. 24：853－854、及びLam et al., 1997, “Microencapsulation of Recombinant Humanized Monoclonal Antibody for Local Delivery,” Proc. Int’l. Symp. Control Rel. Bioact. Mater. 24：759－760を参照されたい。

【０５０４】

特定の実施形態では、本発明の組成物が予防薬または治療薬（例えば、本発明の抗体）をコードする核酸である場合、核酸は、それを適切な核酸発現ベクターの一部として構築し、例えば、レトロウイルスベクターの使用によって、それが細胞内となるように投与することによって（米国特許第４，９８０，２８６号参照）、あるいは直接注射によって、あるいは微小粒子衝撃（例えば、遺伝子ガン；Ｂｉｏｌｉｓｔｉｃ，Ｄｕｐｏｎｔ）の使用によって、あるいは脂質若しくは細胞表面受容体またはトランスフェクト剤でコーティングすることによって、あるいは核に進入することが知られているホメオボックス様ペプチドへの結合中に投与することによって、そのコードされる予防薬または治療薬の発現を助長するためにインビボで投与することができる（例えば、Ｊｏｌｉｏｔ ｅｔ ａｌ．，１９９１，Ｐｒｏｃ．Ｎａｔｌ．Ａｃａｄ．Ｓｃｉ．ＵＳＡ ８８：１８６４－１８６８など参照）。あるいは、核酸は、相同的組み換えによって発現のために細胞内に導入し、宿主細胞ＤＮＡ内に組み込み得る。

【０５０５】

特定の実施形態では、本発明の組成物は、１つ、２つ、またはそれ以上の本発明の抗体または断片を含む。別の実施形態では、本発明の組成物は、１つ、２つ、またはそれ以上の本発明の抗体または断片、及び本発明の抗体以外の予防薬または治療薬を含む。好ましくは、薬剤は、有用であることが知られているか、またはｈＯＸ４０Ｌ媒介性疾患の防止、管理、治療、及び／若しくは緩和に有用であることが知られているか、またはそのために使用されてきた若しくは現在使用されている。予防薬または治療薬に加えて、本発明の組成物はまた、担体を含んでもよい。

【０５０６】

本発明の組成物は、単位剤形の調製物中で使用することができる薬学的組成物（例えば、対象または患者への投与に好適である組成物）の製造に有用な原薬組成物を含む。好ましい実施形態では、本発明の組成物は、薬学的組成物である。かかる組成物は、予防または治療有効量の１つ以上の予防薬または治療薬（例えば、本発明の抗体または他の予防薬若しくは治療薬）、及び薬学的に許容される担体を含む。薬学的組成物は、対象への投与経路に好適であるように製剤化されることが好ましい。

【０５０７】

特定の実施形態では、「担体」という用語は、希釈剤、アジュバント（例えば、フロイントのアジュバント（完全及び不完全））、賦形剤、または治療薬と共に投与されるビヒクルを指す。かかる薬学的担体は、滅菌液、例えば、水、及び石油、動物、植物、または合成起源のものを含む油、例えば、落花生油、大豆油、鉱油、胡麻油などであり得る。薬学的組成物が静脈投与される場合には、水が好ましい担体である。生理食塩水ならびにブドウ糖及びグリセロール水溶液も、特に注射溶液用の液体担体として用いることができる。好適な薬学的賦形剤としては、デンプン、グルコース、ラクトース、スクロース、ゼラチン、麦芽、米、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、エタノールなどが挙げられる。組成物はまた、所望の場合、少

量の湿潤剤若しくは乳化剤、またはｐＨ緩衝剤を含有し得る。これらの組成物は、溶液、懸濁液、エマルション、錠剤、丸剤、カプセル剤、粉末剤、持続放出製剤などの形態を採ることができる。経口製剤は、医薬品グレードのマンニトール、ラクトース、デンプン、ステアリン酸マグネシウム、サッカリンナトリウム、セルロース、炭酸マグネシウムなどの標準的担体を含み得る。好適な薬学的担体の例は、Ｒｅｍｉｎｇｔｏｎ’ｓ Ｐｈａｒｍａｃｅｕｔｉｃａｌ Ｓｃｉｅｎｃｅｓ（１９９０） Ｍａｃｋ Ｐｕｂｌｉｓｈｉｎｇ Ｃｏ．, Ｅａｓｔｏｎ, Ｐａに記載されている。かかる組成物は、好ましくは精製された形態の予防または治療有効量の抗体を、患者への適当な投与のための形態を提供するのに好適な量の担体と共に含有することになる。製剤は、投与様式に適しているべきである。

【０５０８】

好ましい実施形態では、組成物は、ヒトへの静脈内投与に適合させた薬学的組成物として、通常手順に従って製剤化される。典型的には、静脈内投与用の組成物は、滅菌等張緩衝液中の溶液である。必要であれば、組成物はまた、可溶化剤、及びリグノカムネ（ｌｉｇｎｏｃａｍｎｅ）などの局部麻酔を含んで、注射部位の疼痛を和らげてもよい。しかし、かかる組成物は、静脈内以外の経路で投与され得る。

【０５０９】

概して、本発明の組成物の成分は、例えば、活性薬剤の量を示すアンプルまたはサシェなどの湿気から密封された容器中の凍結乾燥粉末または無水濃縮物として、別々に、または単位剤形中で共に混合されて、供給される。組成物が注入によって投与される場合、滅菌の医薬品グレードの水または生理食塩水を含む輸液瓶で分注することができる。組成物が注射によって投与される場合、投与前に成分を混合できるように、注射用滅菌水または生理食塩水のアンプルを提供することができる。

【０５１０】

本発明はまた、抗体の量を示すアンプルまたはサシェなどの密閉された容器中に包装されることを提供する。一実施形態では、抗体は、湿気から密封された容器中の乾燥滅菌凍結乾燥粉末または無水濃縮物として供給され、例えば、水または生理食塩水によって、対象への投与に適切な濃度に再構成され得る。好ましくは、抗体は、湿気から密封された容器中の乾燥滅菌凍結乾燥粉末として、少なくとも０．１ｍｇ、少なくとも０．５ｍｇ、少なくとも１ｍｇ、少なくとも２ｍｇ、または少なくとも３ｍｇ、より好ましくは、少なくとも５ｍｇ、少なくとも１０ｍｇ、少なくとも１５ｍｇ、少なくとも２５ｍｇ、少なくとも３０ｍｇ、少なくとも３５ｍｇ、少なくとも４５ｍｇ、少なくとも５０ｍｇ、少なくとも６０ｍｇ、少なくとも７５ｍｇ、少なくとも８０ｍｇ、少なくとも８５ｍｇ、少なくとも９０ｍｇ、少なくとも９５ｍｇ、または少なくとも１００ｍｇの単位用量で供給される。凍結乾燥された抗体は、その元の容器中で２～８℃で貯蔵され得、この抗体は、再構成後、１２時間以内、好ましくは６時間以内、５時間以内、３時間以内、または１時間以内に投与され得る。代替的な実施形態では、抗体は、抗体の量及び濃度を示す湿気から密封された容器中の液体形態で供給される。好ましくは、液体形態の抗体は、少なくとも０．１ｍｇ／ｍｌ、少なくとも０．５ｍｇ／ｍｌ、または少なくとも１ｍｇ／ｍｌ、より好ましくは、少なくとも５ｍｇ／ｍｌ、少なくとも１０ｍｇ／ｍｌ、少なくとも１５ｍｇ／ｍｌ、少なくとも２５ｍｇ／ｍｌ、少なくとも３０ｍｇ／ｍｌ、少なくとも４０ｍｇ／ｍｌ、少なくとも５０ｍｇ／ｍｌ、少なくとも６０ｍｇ／ｍｌ、少なくとも７０ｍｇ／ｍｌ、少なくとも８０ｍｇ／ｍｌ、少なくとも９０ｍｇ／ｍｌ、または少なくとも１００ｍｇ／ｍｌで湿気から密封された容器中で供給される。

【０５１１】

本発明の組成物は、中性形態または塩形態として製剤化することができる。薬学的に許容される塩としては、塩酸、リン酸、酢酸、シュウ酸、酒石酸などに由来するものなど、アニオンで形成される塩、及びナトリウム、カリウム、アンモニウム、カルシウム、水酸化第二鉄、イソプロピルアミン、トリエチルアミン、２－エチルアミノエタノール、ヒスチジン、プロカインなどに由来するものなど、カチオンで形成される塩が挙げられる。

【０５１２】
ｈＯＸ４０Ｌ媒介性疾患の防止、管理、治療、及び／または緩和に有効となる、予防薬若しくは治療薬（例えば、本発明の抗体）、または本発明の組成物の量は、標準的な臨床技法によって決定され得る。
【０５１３】
したがって、約０．１μｇ／ｍｌ～約４５０μｇ／ｍｌ、一部の実施形態では、少なくとも０．１μｇ／ｍｌ、少なくとも０．２μｇ／ｍｌ、少なくとも０．４μｇ／ｍｌ、少なくとも０．５μｇ／ｍｌ、少なくとも０．６μｇ／ｍｌ、少なくとも０．８μｇ／ｍｌ、少なくとも１μｇ／ｍｌ、少なくとも１．５μｇ／ｍｌ、好ましくは、少なくとも２μｇ／ｍｌ、少なくとも５μｇ／ｍｌ、少なくとも１０μｇ／ｍｌ、少なくとも１５μｇ／ｍｌ、少なくとも２０μｇ／ｍｌ、少なくとも２５μｇ／ｍｌ、少なくとも３０μｇ／ｍｌ、少なくとも３５μｇ／ｍｌ、少なくとも４０μｇ／ｍｌ、少なくとも５０μｇ／ｍｌ、少なくとも７５μｇ／ｍｌ、少なくとも１００μｇ／ｍｌ、少なくとも１２５μｇ／ｍｌ、少なくとも１５０μｇ／ｍｌ、少なくとも２００μｇ／ｍｌ、少なくとも２５０μｇ／ｍｌ、少なくとも３００μｇ／ｍｌ、少なくとも３５０μｇ／ｍｌ、少なくとも４００μｇ／ｍｌ、または少なくとも４５０μｇ／ｍｌの用量の血清力価をもたらす抗体または組成物が、ｈＯＸ４０Ｌ媒介性疾患の防止、管理、治療、及び／または緩和のために、ヒトに用途され得る。加えて、最適な用量範囲の特定を助けるために、任意選択でインビトロアッセイを用いてもよい。製剤中で用いられる正確な用量は、投与経路、及びｈＯＸ４０Ｌ媒介性疾患の深刻さにも依存することになり、施術者の判断及び各患者の状況に従って決定されるべきである。
【０５１４】
有効な用量は、インビトロまたは動物モデル試験系から導出した用量応答曲線から外挿してもよい。
【０５１５】
本発明の抗体について、患者への投与量は、典型的には、患者の体重の０．１ｍｇ／ｋｇ～１００ｍｇ／ｋｇである。一部の実施形態では、患者への投与量は、患者の体重の約１ｍｇ／ｋｇ～約７５ｍｇ／ｋｇである。好ましくは、患者への投与量は、患者の体重の１ｍｇ／ｋｇ～２０ｍｇ／ｋｇ、より好ましくは、患者の体重の１ｍｇ／ｋｇ～５ｍｇ／ｋｇである。概して、ヒト抗体は、外来ポリペプチドに対する免疫応答のために、他種由来の抗体よりもヒトの体内で長い半減期を有する。故に、多くの場合、ヒト抗体の低用量化及び低投与頻度化が可能である。更に、本発明の抗体の投与量及び投与頻度は、例えば、脂質化などの修飾により抗体の取り込み及び組織浸透を強化することにより低減され得る。
【０５１６】
一実施形態では、約１００ｍｇ／ｋｇ以下、約７５ｍｇ／ｋｇ以下、約５０ｍｇ／ｋｇ以下、約２５ｍｇ／ｋｇ以下、約１０ｍｇ／ｋｇ以下、約５ｍｇ／ｋｇ以下、約１ｍｇ／ｋｇ以下、約０．５ｍｇ／ｋｇ以下、または約０．１ｍｇ／ｋｇ以下の本発明の抗体または断片を、５回、４回、３回、２回、または好ましくは１回投与して、ｈＯＸ４０Ｌ媒介性疾患を管理する。一部の実施形態では、本発明の抗体は約１～１２回投与され、この用量は、医師の決定により、例えば、週間、隔週、月間、隔月、３カ月ごとなど、必要に応じて投与されてもよい。一部の実施形態では、低用量（例えば、１～１５ｍｇ／ｋｇ）をより頻繁に（例えば、３～６回）を投与し得る。他の実施形態では、高用量（例えば、２５～１００ｍｇ／ｋｇ）をより少ない頻度で（例えば、１～３回）投与し得る。しかしながら、当業者には明らかとなるように、他の投薬量及びスケジュールを容易に決定することができ、これは本発明の範囲内である。
【０５１７】
特定の実施形態では、約１００ｍｇ／ｋｇ、約７５ｍｇ／ｋｇ以下、約５０ｍｇ／ｋｇ以下、約２５ｍｇ／ｋｇ以下、約１０ｍｇ／ｋｇ以下、約５ｍｇ／ｋｇ以下、約１ｍｇ／ｋｇ以下、約０．５ｍｇ／ｋｇ以下、約０．１ｍｇ／ｋｇ以下の本発明の抗体または断片

を、対象、好ましくはヒトに持続放出製剤で投与して、ｈＯＸ４０Ｌ媒介性疾患を防止、管理、治療、及び／または緩和する。別の特定の実施形態では、約１００ｍｇ／ｋｇ、約７５ｍｇ／ｋｇ以下、約５０ｍｇ／ｋｇ以下、約２５ｍｇ／ｋｇ以下、約１０ｍｇ／ｋｇ以下、約５ｍｇ／ｋｇ以下、約１ｍｇ／ｋｇ以下、約０．５ｍｇ／ｋｇ以下、または約０．１ｍｇ／ｋｇ以下の本発明の抗体を、ｈＯＸ４０Ｌ媒介性疾患を防止、管理、治療、及び／または緩和するために、対象、好ましくはヒトに、持続放出製剤ではなくボーラスで投与し、ある特定の期間の後、約１００ｍｇ／ｋｇ、約７５ｍｇ／ｋｇ以下、約５０ｍｇ／ｋｇ以下、約２５ｍｇ／ｋｇ以下、約１０ｍｇ／ｋｇ以下、約５ｍｇ／ｋｇ以下、約１ｍｇ／ｋｇ以下、約０．５ｍｇ／ｋｇ以下、または約５ｍｇ／ｋｇ以下の本発明の抗体を、２回、３回、または４回（好ましくは１回）、持続放出で該対象に投与（例えば、鼻腔内または筋肉内）する。この実施形態に従うと、ある特定の期間とは、１～５日、１週間、２週間、または１カ月であり得る。

【０５１８】

一部の実施形態では、単回投与の本発明の抗体または断片を、ｈＯＸ４０Ｌ媒介性疾患を防止、管理、治療、及び／または緩和するために、２回、３回、４回、５回、６回、７回、８回、９回、１０回、１１回、１２回、１３回、１４回、１５回、１６回、１７回、１８回、１９回、２０回、２１回、２２回、２３回、２４回、２５回、または２６回、隔週（例えば、約１４日）の間隔で、１年に渡って患者に投与し、この用量は、約０．１ｍｇ／ｋｇ、約０．５ｍｇ／ｋｇ、約１ｍｇ／ｋｇ、約５ｍｇ／ｋｇ、約１０ｍｇ／ｋｇ、約１５ｍｇ／ｋｇ、約２０ｍｇ／ｋｇ、約２５ｍｇ／ｋｇ、約３０ｍｇ／ｋｇ、約３５ｍｇ／ｋｇ、約４０ｍｇ／ｋｇ、約４５ｍｇ／ｋｇ、約５０ｍｇ／ｋｇ、約５５ｍｇ／ｋｇ、約６０ｍｇ／ｋｇ、約６５ｍｇ／ｋｇ、約７０ｍｇ／ｋｇ、約７５ｍｇ／ｋｇ、約８０ｍｇ／ｋｇ、約８５ｍｇ／ｋｇ、約９０ｍｇ／ｋｇ、約９５ｍｇ／ｋｇ、約１００ｍｇ／ｋｇ、またはこれらの組み合わせ（即ち、各用量月間用量は、同一である場合もそうでない場合もある）から成る群から選択される。

【０５１９】

別の実施形態では、単回用量の本発明の抗体を、ｈＯＸ４０Ｌ媒介性疾患を防止、管理、治療、及び／または緩和するために、２回、３回、４回、５回、６回、７回、８回、９回、１０回、１１回、または１２回、約毎月（例えば、約３０日）の間隔で、１年に渡って患者に投与し、この用量は、約０．１ｍｇ／ｋｇ、約０．５ｍｇ／ｋｇ、約１ｍｇ／ｋｇ、約５ｍｇ／ｋｇ、約１０ｍｇ／ｋｇ、約１５ｍｇ／ｋｇ、約２０ｍｇ／ｋｇ、約２５ｍｇ／ｋｇ、約３０ｍｇ／ｋｇ、約３５ｍｇ／ｋｇ、約４０ｍｇ／ｋｇ、約４５ｍｇ／ｋｇ、約５０ｍｇ／ｋｇ、約５５ｍｇ／ｋｇ、約６０ｍｇ／ｋｇ、約６５ｍｇ／ｋｇ、約７０ｍｇ／ｋｇ、約７５ｍｇ／ｋｇ、約８０ｍｇ／ｋｇ、約８５ｍｇ／ｋｇ、約９０ｍｇ／ｋｇ、約９５ｍｇ／ｋｇ、約１００ｍｇ／ｋｇ、またはこれらの組み合わせ（即ち、各用量月間用量は、同一である場合もそうでない場合もある）から成る群から選択される。

【０５２０】

一実施形態では、単回用量の本発明の抗体または断片を、ｈＯＸ４０Ｌ媒介性疾患を防止、管理、治療、及び／または緩和するために、２回、３回、４回、５回、または６回、約隔月（例えば、約６０日）の間隔で、１年に渡って患者に投与し、この用量は、約０．１ｍｇ／ｋｇ、約０．５ｍｇ／ｋｇ、約１ｍｇ／ｋｇ、約５ｍｇ／ｋｇ、約１０ｍｇ／ｋｇ、約１５ｍｇ／ｋｇ、約２０ｍｇ／ｋｇ、約２５ｍｇ／ｋｇ、約３０ｍｇ／ｋｇ、約３５ｍｇ／ｋｇ、約４０ｍｇ／ｋｇ、約４５ｍｇ／ｋｇ、約５０ｍｇ／ｋｇ、約５５ｍｇ／ｋｇ、約６０ｍｇ／ｋｇ、約６５ｍｇ／ｋｇ、約７０ｍｇ／ｋｇ、約７５ｍｇ／ｋｇ、約８０ｍｇ／ｋｇ、約８５ｍｇ／ｋｇ、約９０ｍｇ／ｋｇ、約９５ｍｇ／ｋｇ、約１００ｍｇ／ｋｇ、またはこれらの組み合わせ（即ち、各隔月用量は、同一である場合もそうでない場合もある）から成る群から選択される。

【０５２１】

一部の実施形態では、単回用量の本発明の抗体または断片を、ｈＯＸ４０Ｌ媒介性疾患を防止、管理、治療、及び／または緩和するために、２回、３回、または４回、約３カ月

（例えば、約１２０日）の間隔で、１年に渡って患者に投与し、この用量は、約０．１ｍｇ／ｋｇ、約０．５ｍｇ／ｋｇ、約１ｍｇ／ｋｇ、約５ｍｇ／ｋｇ、約１０ｍｇ／ｋｇ、約１５ｍｇ／ｋｇ、約２０ｍｇ／ｋｇ、約２５ｍｇ／ｋｇ、約３０ｍｇ／ｋｇ、約３５ｍｇ／ｋｇ、約４０ｍｇ／ｋｇ、約４５ｍｇ／ｋｇ、約５０ｍｇ／ｋｇ、約５５ｍｇ／ｋｇ、約６０ｍｇ／ｋｇ、約６５ｍｇ／ｋｇ、約７０ｍｇ／ｋｇ、約７５ｍｇ／ｋｇ、約８０ｍｇ／ｋｇ、約８５ｍｇ／ｋｇ、約９０ｍｇ／ｋｇ、約９５ｍｇ／ｋｇ、約１００ｍｇ／ｋｇ、またはこれらの組み合わせ（即ち、各３カ月ごとの用量は、同一である場合もそうでない場合もある）から成る群から選択される。

【０５２２】

ある特定の実施形態では、本発明の抗体または断片のある用量の患者への投与経路は、鼻腔内、筋肉内、静脈内、またはこれらの組み合わせであるが、本明細書に記載の他の経路も許容される。ある特定の実施形態では、投与経路は眼内である。各用量は、同一の投与経路によって投与される場合もそうでない場合もある。一部の実施形態では、本発明の抗体または断片は、同じまたは異なる本発明の抗体または断片の他の投薬と同時にまたはそれに続いて、複数の投与経路によって投与してもよい。

【０５２３】

ある特定の実施形態では、本発明の抗体または断片は、予防的または治療的に対象に投与される。本発明の抗体または断片を予防的または治療的に対象に投与して、ｈＯＸ４０Ｌ媒介性疾患またはその症状を防止、軽減、または緩和することができる。

【０５２４】

遺伝子療法

特定の実施形態では、特定の実施形態では、本発明の核酸またはヌクレオチド配列は、遺伝子療法によってｈＯＸ４０Ｌ媒介性疾患を防止、管理、治療、及び／または緩和するために投与される。遺伝子療法は、発現した、または発現可能な核酸の対象への投与によって行われる療法を指す。本発明の一実施形態では、これらの核酸は、それらのコードされた抗体を産生し、この抗体は、予防効果または治療効果を媒介する。

【０５２５】

当該技術分野で利用可能な遺伝子療法のための方法のいずれも、本発明に従って使用可能である。

【０５２６】

抗体の診断的使用

抗体は診断的使用に関して言及されるが、本開示は、本発明の断片について準用するように読まれるべきである。

【０５２７】

ｈＯＸ４０Ｌ抗原に特異的に結合する、標識された抗体または本発明の抗体、ならびに誘導体及びその類似体を診断目的で使用して、ｈＯＸ４０Ｌ媒介性疾患を検出、診断、またはモニタリングすることができる。本発明は、ｈＯＸ４０Ｌ媒介性疾患の検出のための方法を提供し、本方法は、（ａ）対象の細胞または組織試料におけるｈＯＸ４０Ｌ抗原の発現を、ｈＯＸ４０Ｌ抗原に特異的に結合する１つ以上の本発明の抗体を使用してアッセイすること、及び（ｂ）ｈＯＸ４０Ｌ抗原のレベルを、対照レベル、例えば、正常な組織試料におけるレベル（例えば、ｈＯＸ４０Ｌ媒介性疾患を有しない患者由来、または疾患発症前の同じ患者由来）と比較すること（これによるｈＯＸ４０Ｌ抗原の対照レベルと比較したｈＯＸ４０Ｌ抗原のアッセイレベルにおける増加がｈＯＸ４０Ｌ媒介性疾患を示す）を含む。

【０５２８】

本発明は、ｈＯＸ４０Ｌ媒介性疾患を診断するための診断的アッセイを提供し、このアッセイは、（ａ）個体の細胞または組織試料におけるｈＯＸ４０Ｌ抗原のレベルを、ｈＯＸ４０Ｌ抗原に特異的に結合する１つ以上の本発明の抗体を使用してアッセイすること、及び（ｂ）ｈＯＸ４０Ｌ抗原のレベルを、対照レベル、例えば、正常な組織試料におけるレベルと比較すること（これによるｈＯＸ４０Ｌ抗原の対照レベルと比較したアッセイｈ

ＯＸ４０Ｌ抗原レベルにおける増加がｈＯＸ４０Ｌ媒介性疾患を示す）を含む。ｈＯＸ４０Ｌ媒介性疾患のより確定的な診断により、医療従事者は、早期に防止対策または積極的治療を用いることができ、そうすることで、ｈＯＸ４０Ｌ媒介性疾患の発現または更なる進行を防止し得る。

【０５２９】

本発明の抗体は、本明細書に記載のまたは当業者に既知の古典的な免疫組織学的方法を使用した生体試料におけるｈＯＸ４０Ｌ抗原レベルのアッセイに使用することができる（例えば、Ｊａｌｋａｎｅｎ ｅｔ ａｌ．，１９８５，Ｊ．Ｃｅｌｌ．Ｂｉｏｌ．１０１：９７６－９８５、及びＪａｌｋａｎｅｎ ｅｔ ａｌ．，１９８７，Ｊ．Ｃｅｌｌ．Ｂｉｏｌ．１０５：３０８７－３０９６を参照）。タンパク質遺伝子発現を検出するのに有用な他の抗体に基づく方法としては、酵素結合免疫吸着検査法（ＥＬＩＳＡ）及び放射免疫測定法（ＲＩＡ）などの免疫測定法が挙げられる。好適な抗体アッセイ標識は当該技術分野で既知であり、これらとしては、グルコースオキシダーゼ法などの酵素標識；ヨウ素（^{125}Ｉ、^{121}Ｉ）、炭素（^{14}Ｃ）、硫黄（^{35}Ｓ）、トリチウム（^{3}Ｈ）、インジウム（^{121}Ｉｎ）、及びテクネチウム（^{99}Ｔｃ）などの放射性同位体；ルミノールなどの発光標識；ならびにフルオレセイン及びローダミンなどの蛍光標識、及びビオチンが挙げられる。

【０５３０】

本発明の一態様は、ヒトにおけるｈＯＸ４０Ｌ媒介性疾患の検出及び診断である。一実施形態では、診断は、ａ）ｈＯＸ４０Ｌ抗原に特異的に結合する有効量の標識した抗体を対象に投与する（例えば、非経口、皮下、または腹腔内）こと、ｂ）投与後一定期間待機して、標識した抗体を、対象におけるｈＯＸ４０Ｌ抗原が発現する部位に選択的に集中させる（及び非結合の標識された分子をバックグラウンドレベルに消す）こと、ｃ）バックグラウンドレベルを決定すること、及びｄ）対象における標識した抗体を検出すること（バックグラウンドレベルを上回る標識した抗体の検出は、対象がｈＯＸ４０Ｌ媒介性疾患を有することを示す）を含む。バックグラウンドレベルは、様々な方法によって決定することができ、これらとしては、検出した標識した分子の量を特定の系についてあらかじめ決定された標準値と比較することが挙げられる。

【０５３１】

対象のサイズ及び使用するイメージングシステムが、診断イメージを産出するのに必要なイメージング部分の量を決定することになることは、当該技術分野において理解される。放射性同位体部分の場合、ヒト対象に対しては、注射する放射能の量は、通常、約５～２０ミリキュリーの^{99}Ｔｃの範囲となる。その後、標識した抗体は、特定のタンパク質を含有する細胞の場所に選択的に蓄積することになる。インビボ腫瘍イメージングは、Ｓ．Ｗ．Ｂｕｒｃｈｉｅｌ ｅｔ ａｌ．，“Ｉｍｍｕｎｏｐｈａｒｍａｃｏｋｉｎｅｔｉｃｓ ｏｆ Ｒａｄｉｏｌａｂｅｌｅｄ Ａｎｔｉｂｏｄｉｅｓ ａｎｄ Ｔｈｅｉｒ Ｆｒａｇｍｅｎｔｓ．”（Ｔｕｍｏｒ Ｉｍａｇｉｎｇ：Ｔｈｅ Ｒａｄｉｏｃｈｅｍｉｃａｌ Ｄｅｔｅｃｔｉｏｎ ｏｆ Ｃａｎｃｅｒ，Ｓ．Ｗ．Ｂｕｒｃｈｉｅｌ ａｎｄ Ｂ．Ａ．Ｒｈｏｄｅｓ，ｅｄｓ．，Ｍａｓｓｏｎ Ｐｕｂｌｉｓｈｉｎｇ Ｉｎｃ．（１９８２）中の第１３章）に記載されている。

【０５３２】

使用する標識の種類及び投与様式を含むいくつかの変数に応じて、標識した抗体を対象中の部位に選択的に集中させるための、及び非結合の標識した抗体をバックグラウンドレベルに消すための投与後の期間は、６～４８時間、または６～２４時間、または６～１２時間である。別の実施形態では、投与後の期間は、５～２０日、または５～１０日である。

【０５３３】

一実施形態では、ｈＯＸ４０Ｌ媒介性疾患のモニタリングは、ｈＯＸ４０Ｌ媒介性疾患を診断するための方法を、例えば、初期診断後１カ月、初期診断後６カ月、初期診断後１年などに繰り返すことによって行う。

【０５３４】
標識した分子の存在は、インビボスキャニングの分野で既知の方法を使用して、対象において検出し得る。これらの方法は、使用する標識の種類に依存する。当業者であれば、特定の標識を検出するための適切な方法を決定することができるであろう。本発明の診断方法において使用し得る方法及び機器としては、コンピュータ断層撮影法（ＣＴ）、ポジションエ放出断層撮影法（ＰＥＴ）などの全身スキャン、磁気共鳴画像法（ＭＲＩ）、及び超音波検査法が挙げられるが、これらに限定されない。
【０５３５】
特定の実施形態では、分子は、放射性同位体で標識され、放射線応答性外科用機器を使用して患者において検出される（Ｔｈｕｒｓｔｏｎら、米国特許第５，４４１，０５０号）。別の実施形態では、分子は、蛍光化合物で標識され、蛍光応答性スキャニング機器を使用して患者において検出される。別の実施形態では、分子は、陽電子放出金属で標識され、陽電子放出断層撮影法を使用して患者において検出される。また別の実施形態では、分子は、磁気標識で標識され、磁気共鳴画像法（ＭＲＩ）を使用して患者において検出される。
【０５３６】
抗体の産生方法
抗原に特異的に結合する本発明の抗体及び断片（ＯＸ４０Ｌ）は、抗体の合成のための当該技術分野で既知の任意の方法、特に、化学合成、または好ましくは組み換え発現技法によって、産生することができる。本発明の実施は、別途指示がない限り、分子生物学、微生物学、遺伝子分析、組み換えＤＮＡ、有機化学、生化学、ＰＣＲ、オリゴヌクレオチド合成及び修飾、核酸ハイブリダイゼーション、ならびに当該技術分野内の関連分野における、従来の技法を用いる。これらの技法は、本明細書で引用する参照文献中に記載されており、文献中で十分に説明されている。例えば、Ｍａｎｉａｔｉｓ ｅｔ ａｌ．（１９８２）Ｍｏｌｅｃｕｌａｒ Ｃｌｏｎｉｎｇ：Ａ Ｌａｂｏｒａｔｏｒｙ Ｍａｎｕａｌ，Ｃｏｌｄ Ｓｐｒｉｎｇ Ｈａｒｂｏｒ Ｌａｂｏｒａｔｏｒｙ Ｐｒｅｓｓ、Ｓａｍｂｒｏｏｋ ｅｔ ａｌ．（１９８９），Ｍｏｌｅｃｕｌａｒ Ｃｌｏｎｉｎｇ：Ａ Ｌａｂｏｒａｔｏｒｙ Ｍａｎｕａｌ，Ｓｅｃｏｎｄ Ｅｄｉｔｉｏｎ，Ｃｏｌｄ Ｓｐｒｉｎｇ Ｈａｒｂｏｒ Ｌａｂｏｒａｔｏｒｙ Ｐｒｅｓｓ、Ｓａｍｂｒｏｏｋ ｅｔ ａｌ．（２００１）Ｍｏｌｅｃｕｌａｒ Ｃｌｏｎｉｎｇ：Ａ Ｌａｂｏｒａｔｏｒｙ Ｍａｎｕａｌ，Ｃｏｌｄ Ｓｐｒｉｎｇ Ｈａｒｂｏｒ Ｌａｂｏｒａｔｏｒｙ Ｐｒｅｓｓ，Ｃｏｌｄ Ｓｐｒｉｎｇ Ｈａｒｂｏｒ，Ｎ．Ｙ．、Ａｕｓｕｂｅｌ ｅｔ ａｌ．，Ｃｕｒｒｅｎｔ Ｐｒｏｔｏｃｏｌｓ ｉｎ Ｍｏｌｅｃｕｌａｒ Ｂｉｏｌｏｇｙ，Ｊｏｈｎ Ｗｉｌｅｙ & Ｓｏｎｓ（１９８７及び年次更新版）、Ｃｕｒｒｅｎｔ Ｐｒｏｔｏｃｏｌｓ ｉｎ Ｉｍｍｕｎｏｌｏｇｙ，Ｊｏｈｎ Ｗｉｌｅｙ & Ｓｏｎｓ（１９８７及び年次更新版）Ｇａｉｔ（ｅｄ．）（１９８４）Ｏｌｉｇｏｎｕｃｌｅｏｔｉｄｅ Ｓｙｎｔｈｅｓｉｓ：Ａ Ｐｒａｃｔｉｃａｌ Ａｐｐｒｏａｃｈ，ＩＲＬ Ｐｒｅｓｓ、Ｅｃｋｓｔｅｉｎ（ｅｄ．）（１９９１）Ｏｌｉｇｏｎｕｃｌｅｏｔｉｄｅｓ ａｎｄ Ａｎａｌｏｇｕｅｓ：Ａ Ｐｒａｃｔｉｃａｌ Ａｐｐｒｏａｃｈ，ＩＲＬ Ｐｒｅｓｓ、Ｂｉｒｒｅｎ ｅｔ ａｌ．（ｅｄｓ．）（１９９９）Ｇｅｎｏｍｅ Ａｎａｌｙｓｉｓ：Ａ Ｌａｂｏｒａｔｏｒｙ Ｍａｎｕａｌ，Ｃｏｌｄ Ｓｐｒｉｎｇ Ｈａｒｂｏｒ Ｌａｂｏｒａｔｏｒｙ Ｐｒｅｓｓを参照されたい。
【０５３７】
抗原に特異的に結合するポリクローナル抗体は、当該技術分野で周知の様々な手順により産生することができる。例えば、ヒト抗原を、ウサギ、マウス、ラットなどを含むがこれらに限定されない様々な宿主動物に投与して、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産生を誘導することができる。宿主種に応じて様々なアジュバントを使用して免疫応答を増加させてもよく、アジュバントとしては、フロイント（完全または不完全）、水酸化アルミニウムなどの無機ゲル、リゾレシチンなどの界面活性物質、プルロ

ニックポリオール、ポリアニオン、ペプチド、オイルエマルション、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、ならびにＢＣＧ（カルメット・ゲラン桿菌）及びコリネバクテリウム・パルブム（ｃｏｒｙｎｅｂａｃｔｅｒｉｕｍ ｐａｒｖｕｍ）などの有用である可能性のあるヒトアジュバントが挙げられるが、これらに限定されない。かかるアジュバントも当該技術分野で周知である。

【０５３８】

モノクローナル抗体は、ハイブリドーマ、組み換え体、及びファージディスプレイ技術、またはこれらの組み合わせの使用を含む、当該技術分野で既知の多様な技術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、当該技術分野で既知であり、例えば、Ｈａｒｌｏｗ ｅｔ ａｌ．，Ａｎｔｉｂｏｄｉｅｓ：Ａ Ｌａｂｏｒａｔｏｒｙ Ｍａｎｕａｌ，（Ｃｏｌｄ Ｓｐｒｉｎｇ Ｈａｒｂｏｒ Ｌａｂｏｒａｔｏｒｙ Ｐｒｅｓｓ，２ｎｄ ｅｄ．１９８８）、Ｈａｍｍｅｒｌｉｎｇ ｅｔ ａｌ．，ｉｎ：Ｍｏｎｏｃｌｏｎａｌ Ａｎｔｉｂｏｄｉｅｓ ａｎｄ Ｔ－Ｃｅｌｌ Ｈｙｂｒｉｄｏｍａｓ ５６３ ６８１（Ｅｌｓｅｖｉｅｒ，Ｎ．Ｙ．，１９８１）（該参照文献は、それらの全体が参照により本明細書に組み込まれる）で教示されているものを含むハイブリドーマ技術を使用して産生することができる。「モノクローナル抗体」という用語は、本明細書で使用する場合、ハイブリドーマ技術によって産生される抗体に限定されない。例えばＫＭ Ｍｏｕｓｅ（商標）の使用などの、他の例示的なモノクローナル抗体産生方法は、本明細書の他箇所で考察する。更なる例示的なモノクローナル抗体産生方法は、本明細書の実施例で提供する。

【０５３９】

ハイブリドーマ技術を使用して特異的抗体を産生及びスクリーニングするための方法は慣例のものであり、当技術分野では周知である。端的には、マウスをｈＯＸ４０Ｌ抗原で免疫付与し、免疫応答が検出されたところで、例えば、ｈＯＸ４０Ｌ抗原に特異的な抗体がマウス血清中に検出されたところで、マウスの脾臓を採取し、脾細胞を単離する。次に、これらの脾細胞を、周知の技術により任意の好適な骨髄腫細胞、例えば、ＡＴＣＣから入手可能な細胞株ＳＰ２０由来の細胞と融合させる。ハイブリドーマは制限希釈法により選択及びクローニングする。

【０５４０】

加えて、ＲＩＭＭＳ（反復的免疫付与多重部位）技法を使用して動物に免疫付与することができる（全体が参照により本明細書に組み込まれる、Ｋｉｌｐｔｒａｃｋ ｅｔ ａｌ．，１９９７ Ｈｙｂｒｉｄｏｍａ １６：３８１－９）。次に、ハイブリドーマクローンを、本発明のポリペプチドと結合する能力のある抗体を分泌する細胞について、当該技術分野で既知の方法によってアッセイする。マウスを陽性ハイブリドーマクローンで免疫付与することにより、一般に高レベルの抗体を含有する腹水を生成することができる。

【０５４１】

したがって、本発明は、モノクローナル抗体を作製する方法、ならびに本発明の修飾された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って抗体を生成する方法を提供し、本方法では、好ましくは、このハイブリドーマは、ｈＯＸ４０Ｌ抗原で免疫付与したマウスから単離された脾細胞と骨髄腫細胞とを融合することにより生成され、次に、融合から得られたハイブリドーマを、ｈＯＸ４０Ｌ抗原と結合することが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スクリーニングする。

【０５４２】

特定のｈＯＸ４０Ｌ抗原を認識する抗体断片は、当業者に既知の任意の技術によって生成し得る。例えば、本発明のＦａｂ及びＦ（ａｂ′）$_2$断片は、パパイン（Ｆａｂ断片の産生のため）またはペプシン（Ｆ（ａｂ′）$_2$断片の生成のため）などの酵素を使用して、免疫グロブリン分子のタンパク質分解的切断によって産生してもよい。Ｆ（ａｂ′）$_2$断片は、可変領域、軽鎖定常領域、及び重鎖のＣＨ１ドメインを含む。更に、本発明の抗体はまた、当該技術分野で既知の様々なファージディスプレイ法を使用して生成すること

もできる。

【０５４３】

例えば、抗体は、様々なファージディスプレイ法を使用して生成することもできる。ファージディスプレイ法では、それらをコードするポリヌクレオチド配列を担持するファージ粒子の表面に機能的抗体ドメインが提示される。特に、ＶＨドメイン及びＶＬドメインをコードするＤＮＡ配列は、動物ｃＤＮＡライブラリ（例えば、罹患組織のヒトまたはネズミｃＤＮＡライブラリ）から増幅される。ＶＨドメイン及びＶＬドメインをコードするＤＮＡをＰＣＲによってｓｃＦｖリンカーと共に組み換え、ファージミドベクターにクローニングする。このベクターを大腸菌にエレクトロポレーションし、その大腸菌をヘルパーファージに感染させる。これらの方法で使用するファージは、典型的には、ｆｄ及びＭ１３を含む繊維状ファージであり、ＶＨドメイン及びＶＬドメインは、通常は、ファージ遺伝子ＩＩＩまたは遺伝子ＶＩＩＩのいずれかに組み換えによって融合される。特定の抗原と結合する抗原結合ドメインを発現するファージは、例えば、標識抗原、または固体表面若しくはビーズに結合した、若しくは捕捉された抗原を使用して、抗原によって選択または識別することができる。本発明の抗体を作製するために使用し得るファージディスプレイ法の例としては、各々全体が参照により本明細書に組み込まれる、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出願第ＰＣＴ／ＧＢ９１／０１１３４号；国際公開第９０／０２８０９号、同第９１／１０７３７号、同第９２／０１０４７号、同第９２／１８６１９号、同第９３／１１２３６号、同第９５／１５９８２号、同第９５／２０４０１号、及び同第９７／１３８４４号；ならびに米国特許第５，６９８，４２６号、第５，２２３，４０９号、第５，４０３，４８４号、第５，５８０，７１７号、第５，４２７，９０８号、第５，７５０，７５３号、第５，８２１，０４７号、第５，５７１，６９８号、第５，４２７，９０８号、第５，５１６，６３７号、第５，７８０，２２５号、第５，６５８，７２７号、第５，７３３，７４３号、及び第５，９６９，１０８号に開示のものが挙げられる。

【０５４４】

上記の参照文献に記載されているように、ファージ選択の後、ファージから抗体コード領域を単離し、それを使用して、ヒト抗体を含む完全抗原、または任意の他の所望の抗原結合断片を生成し、例えば、下記のように、哺乳動物細胞、昆虫細胞、植物細胞、酵母、及び細菌を含む任意の所望の宿主内で発現させることができる。ＰＣＴ公開第９２／２２３２４号；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（該参照文献は、全体が参照により本明細書に組み込まれる）に開示されているものなど、当該技術分野で既知の方法を使用する、Ｆａｂ、Ｆａｂ′、及びＦ（ａｂ′）$_2$断片を組み換えによって産生する技術を用いることもできる。

【０５４５】

完全抗体を生成するためには、ＶＨヌクレオチド配列またはＶＬヌクレオチド配列、制限部位、及びその制限部位を保護するためのフランキング配列を含むＰＣＲプライマーを使用して、ｓｃＦｖクローン中のＶＨ配列またはＶＬ配列を増幅することができる。当業者に既知のクローニング技術を利用して、ＰＣＲ増幅されたＶＨドメインを、ＶＨ定常領域、例えば、ヒトガンマ４定常領域を発現するベクターにクローンニングすることができ、ＰＣＲ増幅されたＶＬドメインを、ＶＬ定常領域、例えば、ヒトカッパまたはラムダ定常領域を発現するベクターにクローニングすることができる。ＶＨドメイン及びＶＬドメインはまた、必要な定常領域を発現する１つのベクターにクローニングしてもよい。次に

、当業者に既知の技術を使用して、この重鎖交換ベクター及び軽鎖交換ベクターを細胞株に同時トランスフェクトして、完全長抗体、例えば、ＩｇＧを発現する安定細胞株または一時的細胞株を生成する。

【０５４６】

ヒトにおける抗体のインビボ使用及びインビトロ検出アッセイを含むいくつかの使用では、ヒト抗体またはキメラ抗体を使用するのが好ましい場合がある。ヒト対象の治療処置には完全ヒト抗体が特に望ましい。ヒト抗体は、ヒト免疫グロブリン配列に由来する抗体ライブラリを使用して、上記のファージディスプレイ法を含む当該技術分野で既知の様々な方法によって作製することができる。各々その全体が参照により本明細書に組み込まれる、米国特許第４，４４４，８８７号及び第４，７１６，１１１号；ならびに国際公開第９８／４６６４５号、同第９８／５０４３３号、同第９８／２４８９３号、同第９８／１６６５４号、同第９６／３４０９６号、同第９６／３３７３５号、及び同第９１／１０７４１号も参照されたい。

【０５４７】

好ましい実施形態では、ヒト抗体が産生される。ヒト抗体及び／または完全ヒト抗体は、本明細書で提供する実施例を含む、当該技術分野で既知の任意の方法を使用して産生することができる。例えば、機能的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。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、マウス胚幹細胞に無作為に、または相同的組み換えによって導入することができる。あるいは、ヒト重鎖及び軽鎖遺伝子に加えて、ヒト可変領域、定常領域、及び多様性領域をマウス胚幹細胞に導入してもよい。マウス重鎖及び軽鎖免疫グロブリン遺伝子は、相同的組み換えによるヒト免疫グロブリン遺伝子座の導入とは別に、または導入と同時に非機能型とされてもよい。特に、ＪＨ領域のホモ接合性欠失により、内因性の抗体産生が避けられる。この改変された胚幹細胞を増殖させ、胚盤胞にマイクロインジェクションして、キメラマウスを産生する。次に、このキメラマウスを交配させて、ヒト抗体を発現するホモ接合性の後代を産生する。このトランスジェニックマウスを、通常の様式で、選択された抗原、例えば、本発明のポリペプチドの全体または一部で免疫付与する。この抗原に向けられたモノクローナル抗体は、従来のハイブリドーマ技術を使用して、免疫付与したトランスジェニックマウスから得ることができる。トランスジェニックマウスが宿すヒト免疫グロブリン導入遺伝子は、Ｂ細胞の分化中に再配列され、その後、クラスの切り替え及び体細胞変異を受ける。故に、かかる技術を使用して、治療的に有用なＩｇＧ、ＩｇＡ、ＩｇＭ、及びＩｇＥ抗体を産生することが可能である。ヒト抗体を作製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）を参照されたい。ヒト抗体及びヒトモノクローナル抗体を産生するためのこの技術、ならびにかかる抗体を産生するためのプロトコルの詳細な考察については、例えば、全体が参照により本明細書に組み込まれる、国際公開第９８／２４８９３号、同第９６／３４０９６号、及び同第９６／３３７３５号；ならびに５，４１３，９２３号、第５，６２５，１２６号、第５，６３３，４２５号、第５，５６９，８２５号、第５，６６１，０１６号、第５，５４５，８０６号、第５，８１４，３１８号、及び第５，９３９，５９８号を参照されたい。他の方法は、本明細書の実施例において詳述する。加えて、Ａｂｇｅｎｉｘ，Ｉｎｃ／Ａｍｇｅｎ．（Ｔｈｏｕｓａｎｄ Ｏａｋｓ，Ｃａｌｉｆ．）、ＯＭＴ（Ｐａｏｌｏ Ａｌｔｏ，Ｃａｌｉｆ．）、Ａｒｇｅｎ－ｘ（Ｂｒｅｄａ，Ｎｅｔｈｅｒｌａｎｄｓ）、Ａｂｌｅｘｉｓ（Ｓａｎ Ｆｒａｎｃｉｓｃｏ，Ｃａｌｉｆ．）、またはＨａｒｂｏｕｒ Ａｎｔｉｂｏｄｉｅｓ（Ｃａｍｂｒｉｄｇｅ，Ｍａｓｓ．）などの企業が、上記のものと同様の技術を使用して、選択された抗原に向けたヒト抗体の提供に従事している。

【０５４８】

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している分子である。キメラ抗体を産生する方法は、当該技術分野で既知である。例えば、全体が参照によ

り本明細書に組み込まれる、Ｍｏｒｒｉｓｏｎ，１９８５，Ｓｃｉｅｎｃｅ ２２９：１２０２、Ｏｉ ｅｔ ａｌ．，１９８６，ＢｉｏＴｅｃｈｎｉｑｕｅｓ ４：２１４、Ｇｉｌｌｉｅｓ ｅｔ ａｌ．，１９８９，Ｊ．Ｉｍｍｕｎｏｌ．Ｍｅｔｈｏｄｓ １２５：１９１－２０２；及び米国特許第５，８０７，７１５号、第４，８１６，５６７号、第４，８１６，３９７号、及び第６，３３１，４１５号を参照されたい。

【０５４９】

ヒト化抗体は、所定の抗原と結合することができ、かつ、実質的にヒト免疫グロブリンのアミノ酸配列を有するフレームワーク領域と、実質的に非ヒト免疫グロブリンのアミノ酸配列を有するＣＤＲとを含む、抗体またはその変異体若しくは断片である。ヒト化抗体は、少なくとも１つの、典型的には２つの可変ドメイン（Ｆａｂ、Ｆａｂ′、Ｆ（ａｂ′）$_2$、Ｆａｂｃ、Ｆｖ）の実質的に全てを含み、ここでは、ＣＤＲ領域の全てまたは実質的に全てが非ヒト免疫グロブリン（即ち、ドナー抗体）のＣＤＲ領域に対応し、フレームワーク領域の全てまたは実質的に全てがヒト免疫グロブリンコンセンサス配列のフレームワーク領域である。好ましくは、ヒト化抗体は、免疫グロブリン定常領域（Ｆｃ）の少なくとも一部、典型的にはヒト免疫グロブリンのものも含む。通常、この抗体は、軽鎖と、重鎖の少なくとも可変ドメインとの両方を含むことになる。この抗体はまた、重鎖のＣＨ１、ヒンジ、ＣＨ２、ＣＨ３、及びＣＨ４領域を含んでもよい。ヒト化抗体は、ＩｇＭ、ＩｇＧ、ＩｇＤ、ＩｇＡ、及びＩｇＥを含む免疫グロブリンのいずれかのクラス、ならびにＩｇＧ１、ＩｇＧ２、ＩｇＧ３、及びＩｇＧ４を含むいずれかのアイソタイプから選択することができる。通常、定常ドメインは補体結合定常ドメインであり、この場合、このヒト化抗体は細胞傷害活性を呈することが望ましく、そのクラスは典型的にはＩｇＧ１である。かかる細胞傷害活性が望ましくない場合、定常ドメインはＩｇＧ２クラスのものであってもよい。ある特定の実施形態では、本発明の抗体は、ヒトガンマ４定常領域を含む。別の実施形態では、重鎖定常領域は、Ｆｃ－γ受容体と結合せず、例えば、Ｌｅｕ２３５Ｇｌｕ変異体を含む。別の実施形態では、重鎖定常領域は、Ｓｅｒ２２８Ｐｒｏ変異を含んで、安定性を増加させる。別の実施形態では、重鎖定常領域は、ＩｇＧ４－ＰＥである。本発明のある特定の実施形態で使用することができるＶＬ定常ドメイン及びＶＨ定常ドメインの例としては、Ｊｏｈｎｓｏｎ ｅｔ ａｌ．（１９９７）Ｊ．Ｉｎｆｅｃｔ．Ｄｉｓ．１７６，１２１５－１２２４に記載されているＣ－カッパ及びＣ－ガンマ－１（ｎＧ１ｍ）、ならびに米国特許第５，８２４，３０７号に記載されているものが挙げられるが、これらに限定されない。ヒト化抗体は、１つ超のクラスまたはアイソタイプからの配列を含んでもよく、所望のエフェクター機能を最適化するように特定の定常ドメインを選択することは、当該技術分野における通常の技術の範囲内である。ヒト化抗体のフレームワーク領域及びＣＤＲ領域は親配列に厳密に対応する必要はなく、例えば、ドナーＣＤＲまたはコンセンサスフレームワークは、その部位のＣＤＲまたはフレームワーク残基がコンセンサス抗体または輸出抗体のいずれにも対応しないように、少なくとも１つの残基の置換、挿入、または欠失により変異誘発されてもよい。しかしながら、かかる変異は広範囲にわたるものではない。通常、ヒト化抗体残基の少なくとも７５％が親ＦＲ配列及びＣＤＲ配列の残基に対応し、多くの場合には９０％、最も好ましくは、９５％を超える残基に対応する。ヒト化抗体は、当該技術分野で既知の様々な技法を使用して産生することができ、これらとしては、ＣＤＲグラフティング（欧州特許第２３９，４００号；国際公開第９１／０９９６７号；ならびに米国特許第５，２２５，５３９号、第５，５３０，１０１号、及び第５，５８５，０８９号）、ベニアリングまたはリサーフェーショング（欧州特許第５９２，１０６号及び同第５１９，５９６号；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）、チェーンシャッフリング（米国特許第５，５６５，３３２号）、ならびに例えば、米国特許第６，４０７，２１３号、同第５，７６６，８８６号、国際公開第９３１７１０５号、Ｔａｎ ｅｔ ａｌ．，Ｊ．Ｉｍｍｕｎ

ol. 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 J S, Gene 150(2)：409－10 (1994)、及びPedersen et al., J. Mol. Biol. 235(3)：959－73 (1994)に開示されている技法が挙げられるが、これらに限定されない。また、全体は参照により本明細書に組み込まれる、米国特許公開第２００５／００４２６６４ Ａ１号（２００５年２月２４日）を参照されたい。多くの場合、フレームワーク領域内のフレームワーク残基は、抗原結合を改変、好ましくは向上させるために、ＣＤＲドナー抗体由来の対応する残基で置換されることになる。これらのフレームワーク置換は、当該技術分野で周知の方法により、例えば、抗原結合に重要なフレームワーク残基を識別するためのＣＤＲとフレームワーク残基との相互作用のモデリング、及び特定の部位において通常でないフレームワーク残基を識別するための配列比較により、識別される。（例えば、全体が参照により本明細書に組み込まれる、Ｑｕｅｅｎらの米国特許第５，５８５，０８９、及びＲｅｉｃｈｍａｎｎ ｅｔ ａｌ．，１９８８，Ｎａｔｕｒｅ ３３２：３２３を参照されたい）。

【０５５０】

単一ドメイン抗体、例えば、軽鎖を欠く抗体は、当該技術分野で周知の方法によって産生することができる。各々全体が参照により本明細書に組み込まれる、Ｒｉｅｃｈｍａｎｎ ｅｔ ａｌ．，１９９９，Ｊ．Ｉｍｍｕｎｏｌ．２３１：２５－３８、Ｎｕｔｔａｌｌ ｅｔ ａｌ．，２０００，Ｃｕｒｒ．Ｐｈａｒｍ．Ｂｉｏｔｅｃｈｎｏｌ．１(３)：２５３－２６３、Ｍｕｙｌｄｅｒｍａｎ，２００１，Ｊ．Ｂｉｏｔｅｃｈｎｏｌ．７４(４)：２７７３０２；米国特許第６，００５，０７９号；ならびに国際公開第９４／０４６７８号、同第９４／２５５９１号、及び同第０１／４４３０１号を参照されたい。

【０５５１】

更に、同様に、ｈＯＸ４０Ｌ抗原に特異的に結合する抗体を利用し、当該技術分野で周知の技法を使用して抗原を「模倣」する抗イディオタイプ抗体を生成し得る。（例えば、Ｇｒｅｅｎｓｐａｎ ＆ Ｂｏｎａ，１９８９，ＦＡＳＥＢ Ｊ．７(５)：４３７－４４４、及びＮｉｓｓｉｎｏｆｆ，１９９１，Ｊ．Ｉｍｍｕｎｏｌ．，１４７(８)：２４２９－２４３８を参照されたい）。

【０５５２】

キット

本発明はまた、本明細書で提供する１つ以上の抗体または断片など、本発明の薬学的組成物の成分のうちの１つ以上を充填した１つ以上の容器を含む医薬または診断パックまたはキットも提供する。任意選択で、かかる容器（複数可）には、医薬品または生物学的製品の製造、使用、または販売を規制する政府機関により指定された形式で注意書きが添付されていてもよく、この注意書きはヒト投与に関する製造、使用、または販売の機関による認可を表している。

【０５５３】

本発明は、上記の方法において使用し得るキットを提供する。一実施形態では、キットは、本発明の抗体、好ましくは精製された抗体を、１つ以上の容器中に含む。特定の実施形態では、本発明のキットは、実質的に単離されたｈＯＸ４０Ｌ抗原を対照として含む。好ましくは、本発明のキットは、ｈＯＸ４０Ｌ抗原と反応しない対照抗体を更に含む。別の特定の実施形態では、本発明のキットは、修飾された抗体のｈＯＸ４０Ｌ抗原への結合

を検出するための手段を含む（例えば、抗体を、蛍光化合物、酵素基質、放射性化合物、若しくは発光化合物などの検出可能な基質と複合体化させてもよく、または第１の抗体を認識する第２の抗体を、検出可能な基質と複合体化させもよい）。特定の実施形態では、キットは、組み換えによって産生されたまたは化学的に合成されたｈＯＸ４０Ｌ抗原を含んでもよい。本キットにおいて提供するｈＯＸ４０Ｌ抗原はまた、固体支持体に結合していてもよい。より具体的な実施形態では、上記のキットの検出手段は、ｈＯＸ４０Ｌ抗原が結合している固体支持体を含む。かかるキットはまた、非結合のレポーターで標識された抗ヒト抗体を含んでもよい。この実施形態では、抗原のｈＯＸ４０Ｌ抗原への結合は、該レポーターで標識された抗体の結合によって検出することができる。

【０５５４】

「保存的アミノ酸置換」は、１つのアミノ酸を、類似した構造及び／または化学的特性を有する別のアミノ酸で代置すること、例えば、ロイシンのイソロイシン若しくはバリンによる代置、アスパラギン酸塩のグルタミン酸塩による代置、またはトレオニンのセリンによる代置から生じる。故に、特定のアミノ酸配列の「保存的置換」は、必須アミノ酸の置換でさえもペプチドの活性（即ち、血液脳関門（ＢＢＢ）を透過するペプチドの能力）を低減しないようにする、ポリペプチド活性に必須ではないアミノ酸の置換、またはアミノ酸の、類似した特性（例えば、酸性、塩基性、陽性または陰性負荷、極性または非極性など）を有する他のアミノ酸による置換を指す。機能的に類似したアミノ酸を提供する保存的置換表は、当該技術分野で周知である。例えば、以下の６グループは、各々、互いに保存的置換であるアミノ酸を含む：１）アラニン（Ａ）、セリン（Ｓ）、トレオニン（Ｔ）；２）アスパラギン酸（Ｄ）、グルタミン酸（Ｅ）；３）アスパラギン（Ｎ）、グルタミン（Ｑ）；４）アルギニン（Ｒ）、リジン（Ｋ）；５）イソロイシン（Ｉ）、ロイシン（Ｌ）、メチオニン（Ｍ）、バリン（Ｖ）；及び６）フェニルアラニン（Ｆ）、チロシン（Ｙ）、トリプトファン（Ｗ）。（全体が参照により本明細書に組み込まれる、Ｃｒｅｉｇｈｔｏｎ，Ｐｒｏｔｅｉｎｓ，Ｗ．Ｈ．Ｆｒｅｅｍａｎ ａｎｄ Ｃｏｍｐａｎｙ（１９８４）も参照されたい）。一部の実施形態では、１個のアミノ酸またはごく一部のアミノ酸を改変、付加、または欠失する個々の置換、欠失、または付加も、その変化がペプチドの活性を低減しない場合は「保存的置換」と見なされ得る。挿入または欠失は、典型的には、約１～５個のアミノ酸の範囲である。保存的アミノ酸の選択は、ペプチドにおける置換されるアミノ酸の位置、例えば、アミノ酸がペプチドの外側にあり溶媒に露出するか、または内側にあり溶媒に露出しないかに基づいて選択してもよい。

【０５５５】

代替的な実施形態では、既存のアミノ酸を置換することになるアミノ酸を、その既存のアミノ酸の位置、即ち、溶媒への露出（即ち、アミノ酸が溶媒に露出するか、または溶媒に露出しない内側に位置するアミノ酸と比較して、ペプチドまたはポリペプチドの外面に存在するか）に基づいて選択し得る。かかる保存的アミノ酸置換の選択は、例えば、Ｄｏｒｄｏ ｅｔ ａｌ，Ｊ．Ｍｏｌ Ｂｉｏｌ，１９９９，２１７，７２１－７３９ ａｎｄ Ｔａｙｌｏｒ ｅｔ ａｌ．，Ｊ．Ｔｈｅｏｒ．Ｂｉｏｌ．１１９（１９８６）；２０５－２１８、及びＳ．Ｆｒｅｎｃｈ ａｎｄ Ｂ．Ｒｏｂｓｏｎ，Ｊ．Ｍｏｌ．Ｅｖｏｌ．，１９（１９８３）１７１に開示されているように、当該技術分野で周知である。したがって、タンパク質またはペプチドの外側にあるアミノ酸（即ち、溶媒に露出するアミノ酸）に好適な保存的アミノ酸置換を選択することができ、例えば、限定的ではなく、以下の置換を使用することができる：ＹのＦによる置換、ＴのＳまたはＫによる置換、ＰのＡによる置換、ＥのＤまたはＱによる置換、ＮのＤまたはＧによる置換、ＲのＫによる置換、ＧのＮまたはＡによる置換、ＴのＳまたはＫによる置換、ＤのＮまたはＥによる置換、ＩのＬまたはＶによる置換、ＦのＹによる置換、ＳのＴまたはＡによる置換、ＲのＫによる置換、ＧのＮまたはＡによる置換、ＫのＲによる置換、ＡのＳ、Ｋ、またはＰによる置換。

【０５５６】

代替的な実施形態では、タンパク質またはペプチドの内側にあるアミノ酸に好適な含ま

れる保存的アミノ酸置換を選択することもでき、例えば、タンパク質またはペプチドの内側にあるアミノ酸（即ち、アミノ酸が溶媒に露出しない）に好適な保存的置換を使用することができ、例えば、以下の保存的置換を使用することができる：ＹがＦで置換され、ＴがＡまたはＳで置換され、ＩがＬまたはＶで置換され、ＷがＹで置換され、ＭがＬで置換され、ＮがＤで置換され、ＧがＡで置換され、ＴがＡまたはＳで置換され、ＤがＮで置換され、ＩがＬまたはＶで置換され、ＦがＹまたはＬで置換され、ＳがＡまたはＴで置換され、かつＡがＳ、Ｇ、Ｔ、またはＶで置換される。一部の実施形態では、非保存的アミノ酸置換も、変化形の範囲内に包含される。

【０５５７】

本明細書で使用する場合、「抗体」は、抗体を自然に酸性する任意の種に由来するか、組み換えＤＮＡ技術によって創出されるか、血清、Ｂ細胞、ハイブリドーマ、トランスフェクトーマ、酵母、または細菌から単離される、ＩｇＧ、ＩｇＭ、ＩｇＡ、ＩｇＤ、若しくはＩｇＥ分子、またはその抗原特異的抗体断片（Ｆａｂ、Ｆ（ａｂ’）$_2$、Ｆｖ、ジスルフィド結合Ｆｖ、ｓｃＦｖ、単一ドメイン抗体、閉配座多特異性抗体、ジスルフィド結合ｓｃｆｖ、ダイアボディが挙げられるがこれらに限定されない）を指す。抗体は、慣習的技術を使用してヒト化することができる。

【０５５８】

本明細書に記載のように、「抗原」は、抗体剤上の結合部位によって結合する分子である。典型的には、抗原は、抗体リガンドによって結合され、インビボで抗体応答を惹起することができる。抗原は、ポリペプチド、タンパク質、核酸、または他の分子若しくはそのタンパク質であり得る。「抗原決定基」という用語は、抗原結合分子、より具体的には、該分子の抗原結合部位によって認識される抗原上のエピトープを指す。

【０５５９】

本明細書で使用する場合、「抗体断片」という用語は、少なくとも１つの免疫グロブリン可変ドメインまたは免疫グロブリン可変ドメイン配列を含み、所与の抗原に特異的に結合するポリペプチドを指す。抗体断片は、抗体、または抗体の抗原結合ドメインを含むポリペプチドを含む。一部の実施形態では、抗体断片は、モノクローナル抗体、またはモノクローナル抗体の抗原結合ドメインを含むポリペプチドを含み得る。例えば、抗体は、重（Ｈ）鎖可変領域（本明細書ではＶＨと略記）及びＯＸ４０Ｌ（Ｌ）鎖可変領域（本明細書ではＶＬと略記）を含み得る。別の例では、抗体は、２つの重（Ｈ）鎖可変領域及び２つのＯＸ４０Ｌ（Ｌ）鎖可変領域を含む。「抗体断片」という用語は、抗体の抗原結合断片（例えば、単鎖抗体、Ｆａｂ及びｓＦａｂ断片、Ｆ（ａｂ’）２、Ｆｄ断片、Ｆｖ断片、ｓｃＦｖ、及びドメイン抗体（ｄＡｂ）断片（例えば、ｄｅ Ｗｉｌｄｔ ｅｔ ａｌ．，Ｅｕｒ Ｊ．Ｉｍｍｕｎｏｌ．，１９９６；２６（３）：６２９－３９（その全体が参照により本明細書に組み込まれる）を参照）、ならびに完全抗体を包含する。抗体は、ＩｇＡ、ＩｇＧ、ＩｇＥ、ＩｇＤ、ＩｇＭ（ならびにその亜型及び組み合わせ）の構造的特徴を有し得る。抗体は、マウス、ウサギ、ブタ、ラット、ならびに霊長類（ヒト及び非ヒト霊長類）及び霊長類化抗体を含む任意の抗体源に由来し得る。抗体はまた、ミディボディ（ｍｉｄｉｂｏｄｉｅｓ）、ヒト化抗体、キメラ抗体などを含む。

【０５６０】

本明細書で使用する場合、「抗体可変ドメイン」は、相補性決定領域（ＣＤＲ、即ち、ＣＤＲ１、ＣＤＲ２、及びＣＤＲ３）及びフレームワーク領域（ＦＲ）のアミノ酸配列を含む抗体分子のＯＸ４０Ｌ及び重鎖の部分を指す。ＶＨは、重鎖の可変ドメインを指す。ＶＬは、軽鎖の可変ドメインを指す。本発明で使用する方法に従い、ＣＤＲ及びＦＲに割り当てられたアミノ酸位置は、カバット（Ｓｅｑｕｅｎｃｅｓ ｏｆ Ｐｒｏｔｅｉｎｓ ｏｆ Ｉｍｍｕｎｏｌｏｇｉｃａｌ Ｉｎｔｅｒｅｓｔ（Ｎａｔｉｏｎａｌ Ｉｎｓｔｉｔｕｔｅｓ ｏｆ Ｈｅａｌｔｈ，Ｂｅｔｈｅｓｄａ，Ｍｄ．，１９８７ ａｎｄ １９９１））またはＩＭＧＴ命名法に従って定義されてもよい。

【０５６１】

本明細書で使用する場合、「抗体結合部位」という用語は、抗体の１つ以上のＣＤＲを

含み、抗原に結合することができるポリペプチドまたはドメインを指す。例えば、ポリペプチドは、ＣＤＲ３（例えば、ＨＣＤＲ３）を含む。例えば、ポリペプチドは、ＣＤＲ１及び２（例えば、ＨＣＤＲ１及び２）、または抗体の可変ドメインのＣＤＲ１～３（例えば、ＨＣＤＲ１～３）を含む。一例では、抗体結合部位は、単一の可変ドメイン（例えば、ＶＨまたはＶＬドメイン）によって提供される。別の例では、結合部位は、ＶＨ／ＶＬ対またはかかる対の２つ以上を含む。

【０５６２】

本明細書で使用する場合、「遺伝子型同定」は、ゲノム内の１つ以上の位置での細胞及び／または対象の特異的対立遺伝子組成を、例えば、その位置の核酸配列を決定することによって、決定するプロセスを指す。遺伝子型同定は、核酸分析及び／または核酸レベルでの分析を指す。本明細書で使用する場合、「表現型同定」は、細胞及び／または対象の発現産物のアイデンティティ及び／または組成を、例えば、その発現産物のポリペプチド配列を決定することによって、決定するプロセスを指す。表現型同定は、タンパク質分析及び／またはタンパク質レベルでの分析を指す。

【０５６３】

本明細書で使用する場合、「治療する」、「治療」、「治療している」、または「緩和」という用語は、疾患または障害に関連する状態の進行または重症度を、逆転、軽減、緩和、阻害、減速、または停止することが目的である、治療処置を指す。「治療している」という用語は、状態、疾患、または障害の少なくとも１つの悪影響または症状を低減または軽減することを含む。治療は、１つ以上の症状または臨床マーカーが低減する場合に、概して「有効」である。あるいは、治療は、疾患の進行が低減するかまたは阻止される場合に、「有効」である。つまり、「治療」は、症状またはマーカーの向上だけでなく、治療しない場合に予期されるものと比較した、症状の進行または悪化の休止または少なくとも減速を含む。有益または所望の臨床結果としては、１つ以上の症状（複数可）の軽減、疾患の程度の縮小、安定した（即ち、悪化しない）疾患状態、疾患進行の遅延若しくは原則、疾患状態の緩和若しくは改善、寛解（部分寛解または完全寛解）、及び／または検出可能若しくは不可能に関わらず死亡率の低下が挙げられるが、これらに限定されない。疾患の「治療」という用語はまた、疾患の症状または副作用からの解放を提供することを含む（姑息的治療を含む）。治療が有効となることについて、完治は企図されない。本方法は、ある特定の態様では、治癒も含む。

【０５６４】

本明細書で使用する場合、「薬学的組成物」という用語は、薬学的に許容される担体、例えば、医薬品業界で一般に使用されている担体と組み合わせた活性薬剤を指す。「薬学的に許容される」という語句は、健全な医学的判断の範囲内で、妥当なベネフィット／リスク比に見合った、過度の毒性、刺激、アレルギー応答、または他の問題若しくは合併症のない、ヒト及び動物の組織と接触する使用に好適である、化合物、物質、組成物、及び／または剤形を指すように本明細書では用いられる。

【０５６５】

本明細書で使用する場合、「投与する」という用語は、所望の部位における薬剤の少なくとも部分的な送達をもたらす方法または経路によって、本明細書に開示の化合物を対象中に置くことを指す。本明細書に開示の化合物を含む薬学的組成物は、対象において有効な治療をもたらす任意の適切な経路によって投与することができる。

【０５６６】

複数の組成物を個別にまたは同時に投与し得る。個別投与は、２つの組成物を、異なる時間に、例えば、少なくとも１０分、２０分、３０分、若しくは１０～６０分間隔で、または１時間、２時間、３時間、４時間、５時間、６時間、７時間、８時間、９時間、１０時間、１２時間間隔で、投与することを指す。また、組成物を２４時間間隔、または更に長い間隔で投与することもできる。あるいは、２つ以上の組成物を、同時に、例えば、１０分未満または５分未満の間隔で投与することができる。同時に投与する組成物は、一部の態様では、構成要素の各々に対する同様のまたは異なる徐放機構の有無に関わらず、混

合物として投与し得る。

【０５６７】

本明細書で使用する場合、「承認番号」または「販売承認番号」は、規制機関によって、特定の医薬製品及び／または組成物をその機関の管轄エリアにおいてマーケティング及び／または販売してもよいことをその機関が決定する際に、発行される番号を指す。本明細書で使用する場合、「規制機関」は、例えば、医薬製品及び／または組成物の安全性及び効能の評価、ならびにかかる製品及び／または組成物の所与のエリアにおけるマーケティング／販売の制御に責任を負う機関のうちの１つを指す。米国の食品医薬品局（ＦＤＡ）及び欧州医薬品庁（ＥＰＡ）は、かかる規制機関のほんの２つの例である。他の非限定的な例としては、ＳＤＡ、ＭＰＡ、ＭＨＰＲＡ、ＩＭＡ、ＡＮＭＡＴ、香港保健薬物省（Ｈｏｎｇ Ｋｏｎｇ Ｄｅｐａｒｔｍｅｎｔ ｏｆ Ｈｅａｌｔｈ－Ｄｒｕｇ Ｏｆｆｉｃｅ）、ＣＤＳＣＯ、Ｍｅｄｓａｆｅ、及びＫＦＤＡを挙げることができる。

【０５６８】

本明細書で使用する場合、「注射機器」は、注射を実行するために設計される機器を指し、注射は、注射機器を人の組織、典型的には皮下組織に一時的に流体的に繋ぐステップを含む。注射は、ある量の液体薬物を組織中に投与し、注射機器を組織から切り離すまたは除去することを更に含む。一部の実施形態では、注射機器は、静脈内機器またはＩＶ機器であり得、これは、標的組織が循環系内の血液、例えば、血管中の血液であるときに使用される種類の注射機器である。注射機器の一般的であるが非限定的な例は、針及び注射器である。

【０５６９】

本明細書で使用する場合、「緩衝液」は、ある特定の量の酸または塩基を、ｐＨの強い変動を受けることなく吸収することができる化学薬品を指す。

【０５７０】

本明細書で使用する場合、「包装」は、構成要素を整理及び／または拘束して流通及び／または使用に適したユニットにする方法を指す。包装は、例えば、箱、袋、注射器、アンプル、バイアル、チューブ、クラムシェル型包装、バリア、及び／または滅菌性、ラベル表示などを維持するための容器を含み得る。

【０５７１】

本明細書で使用する場合、「説明書」は、物品の直接容器上の文書、印刷物、または図形物、例えば、薬学的活性剤を含むバイアル上に表示される文書、または目的の組成物を含むキットに含まれる目的の製品の組成及び使用についての詳細の表示を指す。説明書は、投与または実行されることが企図される治療の方法を示す。

【０５７２】

本明細書で使用する場合、「含む（ｃｏｍｐｒｉｓｉｎｇ）」または「含む（ｃｏｍｐｒｉｓｅｓ）」は、抗体、断片、使用、組成物、方法、及びその対応する構成要素（複数可）に関連して使用され、方法または構成要素に不可欠であるが、不可欠であるか否かに関わらず不特定の要素を含む余地がある。

【０５７３】

「から成る」という用語は、本明細書に記載の抗体、断片、使用、組成物、方法、及びその対応する構成要素を指し、その実施形態の記載において挙げられていないいずれの要素も含まない。

【０５７４】

本明細書で使用する場合、「本質的に～から成る」という用語は、所与の実施形態に必要な要素を指す。この用語は、その実施形態の基本的かつ新規のまたは機能的な特徴（複数可）に物質的に影響しない要素の存在を認める。

【０５７５】

単数形「ａ」、「ａｎ」、及び「ｔｈｅ」は、文脈が別途明確に示さない限り、複数の指示対象を含む。同様に、「または」という語は、文脈が別途明確に示さない限り、「及び」を含むことを意図している。本明細書に記載のものと同様または等価である方法及び

材料を本開示の実施または試験において使用することができるが、好適な方法及び材料を以下に記載する。略記「例えば（ｅ．ｇ．）」は、ラテン語のｅｘｅｍｐｌｉ ｇｒａｔｉａに由来し、本明細書では非限定的な例を示すために使用される。故に、略記「ｅ．ｇ．」は、「例えば（ｆｏｒ ｅｘａｍｐｌｅ）」という用語と同義である。

【０５７６】

細胞生物学及び分子生物学における一般用語の定義は、“Ｔｈｅ Ｍｅｒｃｋ Ｍａｎｕａｌ ｏｆ Ｄｉａｇｎｏｓｉｓ ａｎｄ Ｔｈｅｒａｐｙ”, １９ｔｈ Ｅｄｉｔｉｏｎ（Ｍｅｒｃｋ Ｒｅｓｅａｒｃｈ Ｌａｂｏｒａｔｏｒｉｅｓにより出版）, ２００６ （ＩＳＢＮ ０－９１１９１０－１９－０）、Ｒｏｂｅｒｔ Ｓ．Ｐｏｒｔｅｒ ｅｔ ａｌ．（ｅｄｓ．）, Ｔｈｅ Ｅｎｃｙｃｌｏｐｅｄｉａ ｏｆ Ｍｏｌｅｃｕｌａｒ Ｂｉｏｌｏｇｙ（Ｂｌａｃｋｗｅｌｌ Ｓｃｉｅｎｃｅ Ｌｔｄ．により出版）, １９９４ （ＩＳＢＮ ０－６３２－０２１８２－９）、Ｂｅｎｊａｍｉｎ Ｌｅｗｉｎ, Ｇｅｎｅｓ Ｘ（Ｊｏｎｅｓ ＆ Ｂａｒｔｌｅｔｔ Ｐｕｂｌｉｓｈｉｎｇにより出版）, ２００９ （ＩＳＢＮ－１０：０７６３７６６３２１）、Ｋｅｎｄｒｅｗ ｅｔ ａｌ．（ｅｄｓ．）, Ｍｏｌｅｃｕｌａｒ Ｂｉｏｌｏｇｙ ａｎｄ Ｂｉｏｔｅｃｈｎｏｌｏｇｙ：ａ Ｃｏｍｐｒｅｈｅｎｓｉｖｅ Ｄｅｓｋ Ｒｅｆｅｒｅｎｃｅ（ＶＣＨ Ｐｕｂｌｉｓｈｅｒｓ, Ｉｎｃ．により出版）, １９９５ （ＩＳＢＮ １－５６０８１－５６９－８）、及びＣｕｒｒｅｎｔ Ｐｒｏｔｏｃｏｌｓ ｉｎ Ｐｒｏｔｅｉｎ Ｓｃｉｅｎｃｅｓ ２００９, Ｗｉｌｅｙ Ｉｎｔｅｒｓｃｉｅｎｃｅｓ, Ｃｏｌｉｇａｎ ｅｔ ａｌ．, ｅｄｓに見い出すことができる。

【０５７７】

別途記述がない限り、本発明は、例えば、全てその全体が参照により本明細書に組み込まれる、Ｓａｍｂｒｏｏｋ ｅｔ ａｌ．, Ｍｏｌｅｃｕｌａｒ Ｃｌｏｎｉｎｇ：Ａ Ｌａｂｏｒａｔｏｒｙ Ｍａｎｕａｌ （４ ｅｄ．）, Ｃｏｌｄ Ｓｐｒｉｎｇ Ｈａｒｂｏｒ Ｌａｂｏｒａｔｏｒｙ Ｐｒｅｓｓ, Ｃｏｌｄ Ｓｐｒｉｎｇ Ｈａｒｂｏｒ, Ｎ．Ｙ．, ＵＳＡ （２０１２）、Ｄａｖｉｓ ｅｔ ａｌ．, Ｂａｓｉｃ Ｍｅｔｈｏｄｓ ｉｎ Ｍｏｌｅｃｕｌａｒ Ｂｉｏｌｏｇｙ, Ｅｌｓｅｖｉｅｒ Ｓｃｉｅｎｃｅ Ｐｕｂｌｉｓｈｉｎｇ, Ｉｎｃ．, Ｎｅｗ Ｙｏｒｋ, ＵＳＡ （１９９５）、またはＭｅｔｈｏｄｓ ｉｎ Ｅｎｚｙｍｏｌｏｇｙ：Ｇｕｉｄｅ ｔｏ Ｍｏｌｅｃｕｌａｒ Ｃｌｏｎｉｎｇ Ｔｅｃｈｎｉｑｕｅｓ Ｖｏｌ．１５２, Ｓ．Ｌ．Ｂｅｒｇｅｒ ａｎｄ Ａ．Ｒ．Ｋｉｍｍｅｌ Ｅｄｓ．, Ａｃａｄｅｍｉｃ Ｐｒｅｓｓ Ｉｎｃ．, Ｓａｎ Ｄｉｅｇｏ, ＵＳＡ （１９８７）、Ｃｕｒｒｅｎｔ Ｐｒｏｔｏｃｏｌｓ ｉｎ Ｐｒｏｔｅｉｎ Ｓｃｉｅｎｃｅ （ＣＰＰＳ） （Ｊｏｈｎ Ｅ．Ｃｏｌｉｇａｎ, ｅｔ ａｌ．, ｅｄ．, Ｊｏｈｎ Ｗｉｌｅｙ ａｎｄ Ｓｏｎｓ, Ｉｎｃ．）, Ｃｕｒｒｅｎｔ Ｐｒｏｔｏｃｏｌｓ ｉｎ Ｃｅｌｌ Ｂｉｏｌｏｇｙ （ＣＰＣＢ） （Ｊｕａｎ Ｓ．Ｂｏｎｉｆａｃｉｎｏ ｅｔ ａｌ．ｅｄ．, Ｊｏｈｎ Ｗｉｌｅｙ ａｎｄ Ｓｏｎｓ, Ｉｎｃ．）、及びＲ．Ｉａｎ ＦｒｅｓｈｎｅｙによるＣｕｌｔｕｒｅ ｏｆ Ａｎｉｍａｌ Ｃｅｌｌｓ：Ａ Ｍａｎｕａｌ ｏｆ Ｂａｓｉｃ Ｔｅｃｈｎｉｑｕｅ（出版社：Ｗｉｌｅｙ－Ｌｉｓｓ）；５ｔｈ ｅｄｉｔｉｏｎ （２００５）, Ａｎｉｍａｌ Ｃｅｌｌ Ｃｕｌｔｕｒｅ Ｍｅｔｈｏｄｓ （Ｍｅｔｈｏｄｓ ｉｎ Ｃｅｌｌ Ｂｉｏｌｏｇｙ, Ｖｏｌ．５７, Ｊｅｎｎｉｅ Ｐ．Ｍａｔｈｅｒ ａｎｄ Ｄａｖｉｄ Ｂａｒｎｅｓ ｅｄｉｔｏｒｓ, Ａｃａｄｅｍｉｃ Ｐｒｅｓｓ, １ｓｔ ｅｄｉｔｉｏｎ, １９９８）に記載されているように、標準的な手順を使用して行った。

【０５７８】

他の用語は、本明細書にて本発明の様々な態様の記載の中で定義される。

【０５７９】

本出願全体で引用する参照文献、発行済み特許、公開特許出願、及び同時係属特許出願を含む、全ての特許及び他の出版物は、例えば、本明細書に記載の技術と組み合わせ使用

し得るかかる出版物に記載されている方法を記載及び開示する目的で、参照により明確に本明細書に組み込まれる。これらの出版物は、本出願の出願日に先行するそれらの開示のみのために提供される。これに関するいずれも、発明者らが、先行発明または任意の他の理由によって、かかる開示に先行する資格がないことの承認であると企図されるべきではない。全ての日付についての記述及びこれらの文書の内容についての表現は、出願者らが利用可能な情報に基づいており、これらの文書の日付または内容の正確性についてのいずれの承認ともみなされない。

【０５８０】

本開示の実施形態の記載は、徹底的であること、または本開示を開示されている正確な形式に限定することを意図していない。本開示の特定の実施形態及び例が例示目的で本明細書に記載されるが、当業者であれば認識するであろう通り、様々な等価の改変が本開示の範囲内で可能である。例えば、方法ステップまたは機能は所与の順番で提示されるが、代替的な実施形態では、異なる順番で機能を実行してもよく、あるいは、機能が実質的に同時に実行されてもよい。本明細書に開示の本開示の教示は、必要に応じて他の手順または方法に適用することができる。本明細書に記載の様々な実施形態を組み合わせて、更なる実施形態を提供することができる。本開示の態様は、必要であれば、上記の参照及び出願の組成物、機能、及び概念を用いるように改変して、本開示のまた更なる実施形態を提供することができる。更に、生物学的機能等価性の検討に起因して、種類または量における生物学的または化学的活性に影響することなくタンパク質構造を一部変更し得る。これら及び他の変更は、詳細な説明のＯＸ４０Ｌにおける開示に対して行うことができる。全てのかかる改変は、添付の特許請求の範囲の範囲内に含まれることが意図される。

【０５８１】

前述の実施形態のうちのいずれの特定の要素も、他の実施形態における要素と組み合わせるか、またはそれらで置き換えることができる。更に、本開示のある特定の実施形態に関連する利点は、これらの実施形態の文脈において記載されているが、他の実施形態もかかる利点を呈し得、本開示の範囲内に含まれるために、全ての実施形態が必ずしもかかる利点を呈する必要はない。

【０５８２】

本明細書に記載の特定の構成、態様、実施例、節、及び実施形態は、例示目的で示されるのであって、本発明を限定するものではないことが理解される。本発明の主要な特徴は、本発明の範囲から逸脱することなく様々な実施形態で用いることができる。当業者であれば、本明細書に記載の特定の手順の多数の等価物を認識し、あるいは日常的な研究のみを使用して確認することができる。かかる等価物は、本発明の範囲内であり、特許請求の範囲によって網羅されるとみなされる。本明細書で言及される全ての出版物及び特許出願は、本発明が関連する技術分野の当業者のレベルを示す。全ての出版物及び特許出願は、個々の出版物または特許出願の各々が参照により組み込まれることが具体的に及び個別に示される場合と同程度に、参照により本明細書に組み込まれる。「ａ」または「ａｎ」という語の使用は、特許請求の範囲及び／または明細書中で「含む」という用語と併せて使用される場合、「１つ」を意味し得るが、「１つ以上」、「少なくとも１つ」、及び「１つまたは１つ超」の意味とも一致する。特許請求の範囲における「または」という用語の使用は、唯一の選択肢を指すか、または選択肢が相互排他的であることが明確に示されない限り、「及び／または」を意味するように使用されるが、本開示は、唯一の選択肢及び「及び／または」を指す定義を支持する。本明細書全体を通して、「約」という用語は、値が、デバイス、値を決定するために用いられる方法、または研究対象間に存在する変動についての固有の誤差の変動を含むことを示すために使用される。

【０５８３】

本明細書及び特許請求の範囲（複数可）で使用する場合、「含む（ｃｏｍｐｒｉｓｉｎｇ）」（ならびに「ｃｏｍｐｒｉｓｅ」及び「ｃｏｍｐｒｉｓｅｓ」などのｃｏｍｐｒｉｓｉｎｇの任意の形式）、「有する（ｈａｖｉｎｇ）」（ならびに「ｈａｖｅ」及び「ｈａｓ」などのｈａｖｉｎｇの任意の形式）、「含む（ｉｎｃｌｕｄｉｎｇ）」（ならびに

「ｉｎｃｌｕｄｅｓ」及び「ｉｎｃｌｕｄｅ」などのｉｎｃｌｕｄｉｎｇの任意の形式）または「含有する（ｃｏｎｔａｉｎｉｎｇ）」（ならびに「ｃｏｎｔａｉｎｓ」及び「ｃｏｎｔａｉｎ」などのｃｏｎｔａｉｎｉｎｇの任意の形式）は、包含的または無制限であり、追加的な挙げられていない要素または方法ステップを除外しない。

【０５８４】

本開示のいずれの部分も、別途文脈から明らかでない限り、本開示のいずれの別の部分とも組み合わせて読んでよい。

【０５８５】

本明細書に開示され、特許請求される組成物及び／または方法の全ては、本開示のＯＸ４０Ｌにおける不適切な実験なしで作製及び実施し得る。本発明の組成物及び方法を好ましい実施形態の観点から記載してきたが、本発明の概念、趣旨、及び範囲から逸脱することなく、変化を、組成物及び／または方法、ならびに本明細書に記載の方法のステップまたは一連のステップに適用してもよいことが、当業者には明らかとなる。当業者には明らかである全てのかかる同様の置き換え及び改変は、添付の特許請求の範囲によって定義される、本発明の趣旨、範囲、及び概念の内であると見なされる。

【実施例】

【０５８６】

〔実施例１〕

抗原調製、免疫付与手順、及びハイブリドーマ生成

以下の実施例は、ＫｙＭｏｕｓｅ（商標）系を使用する、抗ヒトＯＸ４０Ｌモノクローナル抗体のパネルの生成及び識別の詳細な説明を提供する（例えば、国際公開第２０１１／００４１９２号を参照）。このために、多数のヒト免疫グロブリン遺伝子を含む遺伝子組み換えマウスに、可溶性組み換えヒトＯＸ４０Ｌ（市販または自家製）またはマウス胎児線維芽細胞（ＭＥＦ）上に提示される表面発現されたヒトＯＸ４０Ｌで免疫付与した。従来の腹腔内注射及び複数部位での高速免疫付与体制を含む、様々な免疫付与体制を用意し、数週間にわたって動物をブーストした。各体制の終了時に、脾臓、及び一部の場合にはリンパ節などの、二次リンパ組織を除去した。組織を単一細胞懸濁液中に調製し、ＳＰ２／０細胞と融合させて、安定したハイブリドーマ細胞株を生成した。

【０５８７】

材料及び方法

組み換えアカゲザル及びヒトＯＸ４０Ｌのクローニング発現及び生成

ヒトＯＸ４０Ｌの細胞外ドメインをコードしているｃＤＮＡを、標準的な分子生物学技法を使用してｐＲＥＰ４発現プラスミド（Ｉｎｖｉｔｒｏｇｅｎ）にクローニングした。構築物には、生成を助けるためのＦＬＡＧペプチドモチーフ、及び三量化を助けるためのイソロイシンジッパーモチーフも含めた。構築物を、それらの適正な配列組成を確実にするように配列した。

【０５８８】

アカゲザル（ｍａｃａｃａ　ｍｕｌａｔｔａ）ＯＸ４０Ｌを、上で創出したヒトＯＸ４０Ｌプラスミドを鋳型として使用し、アミノ酸変化を誘導するための部位指定変異誘発を使用して創出した。

【０５８９】

ヒトＯＸ４０Ｌ及びアカゲザルＯＸ４０Ｌを一過性に発現させて、ＩｎｖｉｔｒｏｇｅｎのＦｒｅｅＳｔｙｌｅ（商標）ＣＨＯ－Ｓ懸濁液適合化細胞株を使用して組み換えタンパク質を産生した。プラスミドを、ＰＥＩ（ポリエチレンイミン　ＭＷ　４００００）を使用して細胞へとトランスフェクトし、１３日間過成長させた後、精製のために上清を採取した。過成長プロセス中は、ＧＥ　ＨｅａｌｔｈｃａｒｅからのＡｃｔｉＣＨＯ（商標）Ｆｅｅｄ　Ａ及びＢで細胞に給餌して、生産力をブーストし、細胞の寿命を強化した。過成長プロセス中は、定期的に試料を採取して、細胞成長及び生存能力をモニタリングした。

【０５９０】

ＦＬＡＧ標識ＯＸ４０Ｌタンパク質を２ステップから成るプロセスにおいて精製した。まず、ＣＨＯ－Ｓ発現からの澄ました組織培養上清を、Ｍ２抗ＦＬＡＧ親和性クロマトグラフィーを使用して精製した。その後、ＯＸ４０Ｌタンパク質を含有する溶出した分画をサイズ排除クロマトグラフィーに供し、ＳＤＳ－ＰＡＧＥ分析によって純度について評定し、ＯＤ２８０ｎｍでの分光光度計によって定量化した。

【０５９１】

組み換えアカゲザル及びヒトＯＸ４０受容体のクローニング発現及び生成

ヒトＯＸ４０受容体の細胞外ドメインをコードしているｃＤＮＡを、標準的な制限酵素消化及びライゲーションを使用してｐＲＥＰ４発現プラスミド（Ｉｎｖｉｔｒｏｇｅｎ）にクローニングした。構築物には、精製を助けるためにヒトＦｃ部分を含めた。構築物を、それらの適正な配列組成を確実にするように配列した。

【０５９２】

ヒトＯＸ４０受容体を一過性に発現させて、ＩｎｖｉｔｒｏｇｅｎのＦｒｅｅＳｔｙｌｅ（商標）ＣＨＯ－Ｓ懸濁液適合化細胞株を使用して組み換えタンパク質を産生した。プラスミドを、ＰＥＩ（ポリエチレンイミン　ＭＷ　４００００）を使用して細胞へとトランスフェクトし、１３日間過成長させた後、精製のために上清を採取した。過成長プロセス中は、ＧＥ　ＨｅａｌｔｈｃａｒｅからのＡｃｔｉＣＨＯ（商標）Ｆｅｅｄ　Ａ及びＢで細胞に給餌して、生産力をブーストし、細胞の寿命を強化した。過成長プロセス中は、定期的に試料を採取して、細胞成長及び生存能力をモニタリングした。

【０５９３】

ＦＬＡＧ標識ＯＸ４０受容体タンパク質を２ステップから成るプロセスにおいて精製した。まず、ＣＨＯ－Ｓ発現からの澄ました組織培養上清を、タンパク質Ｇ親和性クロマトグラフィーを使用して精製した。その後、ＯＸ４０受容体タンパク質を含有する溶出した分画をサイズ排除クロマトグラフィーに供し、ＳＤＳ－ＰＡＧＥ分析によって純度について評定し、ＯＤ２８０ｎｍでの分光光度計によって定量化した。

【０５９４】

安定的にトランスフェクトしたヒトＯＸ４０Ｌを発現しているＭＥＦ及びＣＨＯ－Ｓ細胞の生成

完全ヒトＯＸ４０Ｌ配列を哺乳動物発現に対してコドン最適化し（配列番号１７３）、両側が３’及び５’ｐｉｇｇｙＢａｃ特異的末端反復配列であるＣＭＶプロモーターの下で発現ベクターへとクローニングして、細胞ゲノムへの安定した統合を促進した（“Ａｈｙｐｅｒａｃｔｉｖｅ　ｐｉｇｇｙＢａｃ　ｔｒａｎｓｐｏｓａｓｅ　ｆｏｒ　ｍａｍｍａｌｉａｎ　ａｐｐｌｉｃａｔｉｏｎｓ”；Ｙｕｓａ Ｋ，Ｚｈｏｕ Ｌ，Ｌｉ ＭＡ，Ｂｒａｄｌｅｙ Ａ，Ｃｒａｉｇ ＮＬ．Ｐｒｏｃ Ｎａｔｌ Ａｃａｄ Ｓｃｉ Ｕ Ｓ Ａ．２０１１ Ｊａｎ ２５を参照）。更に、発現ベクターには、安定した細胞株生成を促進するために、ピューロマイシンまたはネオマイシン選択カセットのいずれかを含めた。ＦｒｅｅＳｔｙｌｅ　Ｍａｘトランスフェクション試薬（Ｉｎｖｉｔｒｏｇｅｎ）を製造業者の指示に従って使用して、ｈＯＸ４０Ｌ発現プラスミドを、ｐｉｇｇｙＢａｃトランスポゼースをコードしているプラスミドと共に、自家由来のマウス胎児線維芽細胞（ＭＥＦ）細胞株（この細胞株を生成するのに使用した胚は、Ｃ５７ＢＬ６雌マウスと交配した１２９Ｓ５から得た）及びＣＨＯ－Ｓ細胞へと同時トランスフェクトした。トランスフェクトから２４時間後、培地にＧ４１８またはネオマイシンを補充し、培地を３～４日ごとに交換しながら少なくとも２週間成長させて、安定した細胞株を選択した。ｈＯＸ４０Ｌの発現を、抗ヒトＯＸ４０Ｌ－ＰＥ複合体化抗体（ｅＢｉｏｓｃｉｅｎｃｅ）を使用して、フローサイトメトリーによって評定した。完全ＭＥＦ培地は、１０％ｖ／ｖのウシ胎仔血清（Ｇｉｂｃｏ）を補充したＤｕｌｂｅｃｃｏ’ｓ　Ｍｏｄｉｆｉｅｄ　Ｅａｇｌｅ’ｓ　Ｍｅｄｉｕｍ（Ｇｉｂｃｏ）で構成された。完全ＣＨＯ－Ｓ培地は、８ｍＭのｇｌｕｔａｍａｘ（Ｇｉｂｃｏ）を補充したＣＤ－ＣＨＯ培地で構成された。

【０５９５】

ＨＴ１０８０を発現しているＯＸ４０Ｒ及びＮＦ－カッパレポーター遺伝子の生成

完全ヒトＯＸ４０受容体配列を哺乳動物発現に対してコドン最適化し（配列番号１７５）、両側が３’及び５’ｐｉｇｇｙＢａｃ特異的末端反復配列であるＣＭＶプロモーターの下で発現ベクターへとクローニングして、細胞ゲノムへの安定した統合を促進した（“Ａ ｈｙｐｅｒａｃｔｉｖｅ ｐｉｇｇｙＢａｃ ｔｒａｎｓｐｏｓａｓｅ ｆｏｒ ｍａｍｍａｌｉａｎ ａｐｐｌｉｃａｔｉｏｎｓ”；Ｙｕｓａ Ｋ，Ｚｈｏｕ Ｌ，Ｌｉ ＭＡ，Ｂｒａｄｌｅｙ Ａ，Ｃｒａｉｇ ＮＬ．Ｐｒｏｃ Ｎａｔｌ Ａｃａｄ Ｓｃｉ Ｕ Ｓ Ａ．２０１１ Ｊａｎ ２５を参照）。更に、発現ベクターには、安定した細胞株生成を促進するために、ピューロマイシン選択カセットのいずれかを含めた。ＦｒｅｅＳｔｙｌｅ Ｍａｘトランスフェクション試薬（Ｉｎｖｉｔｒｏｇｅｎ）を製造業者の指示に従って使用して、ｈＯＸ４０受容体発現プラスミドを、ｐｉｇｇｙＢａｃトランスポゼースをコードしているプラスミドと共に、ＨＴ１０８０細胞（ＡＴＣＣ（登録商標）ＣＣＬ－１２１）へと同時トランスフェクトした。トランスフェクトから２４時間後、培地にピューロマイシンを補充し、培地を３～４日ごとに交換しながら少なくとも２週間成長させて、安定した細胞株を選択した。ＯＸ４０受容体の発現を、抗ヒトＯＸ４０受容体－ＰＥ複合体化抗体（Ｒ＆Ｄ、クローン４４３３１８）を使用して、フローサイトメトリーによって評定した。ＯＸ４０受容体を発現している安定した細胞株を生成した後、細胞を５個の反復ＮＦｋＢ転写因子結合部位を含むｐＮｉＦｔｙ－２－ＳＥＡＰプラスミド（ｉｎｖｉｖｏｇｅｎ）でトランスフェクトした後、分泌型アルカリホスファターゼを続けた。新たな培地を３～４日ごとに添加しながら、ゼオシンを培地に添加し、安定した細胞を選択した。完全なＨＴ１０８０培地は、１０％のウシ胎仔血清を補充したＭＥＭで構成された。

【０５９６】

マウス免疫付与のためのＭＥＦ細胞の調製

細胞培地を除去し、細胞を１×ＰＢＳで一度洗浄した。細胞を５分間トリプシンで処理して、細胞を組織培養表面から解した。細胞を収集し、トリプシンを、１０％ｖ／ｖのウシ胎仔血清（ＦＣＳ）を含有する完全培地の添加によって中和した。その後、細胞を１０分間３００ｘｇで遠心分離させ、２５ｍＬの１×ＰＢＳで洗浄した。細胞を計数し、適切な濃度で１×ＰＢＳ中に再懸濁した。

【０５９７】

免疫付与手順：

トランスジェニックＫｙｍｉｃｅに、ＣＨＯ－Ｓ細胞によって発現される可溶性の組み換え形態、または安定的にトランスフェクトしたＭＥＦ細胞によって発現される膜結合形態のいずれかのｈＯＸ４０Ｌで免疫付与した。

【０５９８】

細胞で免疫付与する場合は、アジュバントを１：１ｖ／ｖの比率で細胞と混合し、腹腔内注射の前にピペッティングにより穏やかに混合する。タンパク質で免疫付与する場合は、アジュバントを１：１ｖ／ｖの比率でタンパク質と混合し、繰り返しボルテックスする。全てのマウスを下準備の前に採血し、その後、３週間ごとにブーストした。少なくとも２週間あけた少なくとも３回の連続採血を収集し、ＥＬＩＳＡまたはフローサイトメトリーに基づくアッセイを使用して、ｈＯＸ４０Ｌ特異的ＩｇＧ力価について分析した。

【０５９９】

ＣＨＯ－Ｓが発現するｈＯＸ４０Ｌを使用したＦＡＣＳによる血清力価の決定

ＦＡＣＳ緩衝液（ＰＢＳ＋１％ｗ／ｖのＢＳＡ＋０．１％ｗ／ｖのNaN_3）中で希釈した、ｈＯＸ４０Ｌを発現しているＣＨＯ－Ｓ細胞またはトランスフェクトしていないＣＨＯ－Ｓ細胞を、ウェル当たり1×10^5細胞の密度で９６ウェルＶ字底プレート（Ｇｒｅｉｎｅｒ）に分配した。細胞を１５０μＬのＰＢＳで洗浄し、３分間３００ｘｇで遠心分離させた。上清を吸引し、１５０μＬのＰＢＳを添加した。この洗浄ステップを繰り返した。試料をＦＡＣＳ緩衝液中に希釈して、マウス血清の滴定を調製した。その後、この滴定の５０μＬ／ウェルを細胞プレートに添加した。免疫付与による活性レベルの変化を

決定するために、免疫付与前の各動物からの血清をＦＡＣＳ緩衝液中で１／１００で希釈し、５０μＬ／ウェルを細胞に添加した。好適な参照抗体（抗ＯＸ４０Ｌ抗体ＭＡＢ１０５４１、Ｒ＆Ｄ　ｓｙｓｔｅｍｓ）またはマウスＩｇＧ１対照抗体（Ｓｉｇｍａ）ＦＡＣＳ緩衝液（１～９μｇ／ｍＬ）中で希釈し、５０μＬを細胞に添加した。細胞を４℃で３０分間インキュベートした。細胞を１５０μＬのＰＢＳで２回洗浄し、各洗浄ステップの後に遠心分離させ、上清を吸引した（３００ｘｇで３分間遠心分離）。抗体結合を検出するために、ＡＰＣヤギ－抗マウスＩｇＧ（Ｊａｃｋｓｏｎ　ＩｍｍｕｎｏＲｅｓｅａｒｃｈ）をＦＡＣＳ緩衝液中で１／５００で希釈し、５０μＬを細胞に添加した。細胞を暗闇で３０分間４℃でインキュベートした。細胞を１５０μＬのＰＢＳで２回洗浄し、各洗浄ステップの後に遠心分離させ、上清を吸引した（３００ｘｇで３分間遠心分離）。細胞を固定するために、１００μＬの２％ｖ／ｖパラホルムアルデヒドを添加し、細胞を３０分間４℃でインキュベートし、細胞を３００ｘｇでの遠心分離によってペレット化し、プレートを５０μＬのＦＡＣＳ緩衝液中に再懸濁した。ＡＰＣシグナル強度（幾何平均）を、ＢＤ　ＦＡＣＳ　Ａｒｒａｙ計器を使用して、フローサイトメトリーによって測定した。

【０６００】

組み換えｈＯＸ４０Ｌを使用したＤＥＬＦＩＡ免疫測定法による血清力価の決定

マウス血清試料における力価を、逆ＯＸ４０Ｌ　ＥＬＩＳＡプロトコルを使用して決定した。抗マウスＩｇＧ捕捉抗体（Ｓｏｕｔｈｅｒｎ　Ｂｉｏｔｅｃｈ）（ＰＢＳ中に希釈した４μｇ／ｍＬ、５０μＬ／ウェル）を、一晩４℃で、９６ウェルの低自動蛍光高タンパク質結合プレート（Ｃｏｓｔａｒ）に吸収させた。過剰なＩｇＧをＰＢＳ－Ｔｗｅｅｎ（０．１％ｖ／ｖ）で洗浄して除去し、ウェルを、１時間室温でＰＢＳ中の１％ｗ／ｖのウシ血清アルブミン（ＢＳＡ、Ｓｉｇｍａ）によってブロックした後、プレートを前述のように洗浄した。試料を試薬希釈剤（０．１％ｗ／ｖのＢＳＡ／ＰＢＳ）中に希釈して、マウス血清の滴定を調製した。その後、この滴定の５０μＬ／ウェルをＥＬＩＳＡプレートに添加した。免疫付与による活性レベルの変化を決定するために、免疫付与前の各動物からの血清を試薬希釈剤中で１／１００で希釈し、５０μＬ／ウェルをＥＬＩＳＡプレートに添加した。ビオチン化ＯＸ４０Ｌ結合に対する陽性対照として、１μｇ／ｍＬに希釈した抗ＯＸ４０Ｌ抗体（ＭＡＢ１０５４１、Ｒ＆Ｄ　ｓｙｓｔｅｍｓ）を５０μＬでプレートに添加した。マウスＩｇＧ１アイソタイプ対照（Ｓｉｇｍａ）を陰性対照として含め、試薬希釈剤中で１μｇ／ｍＬに希釈し、５０μＬ／ウェルをＥＬＩＳＡプレートに添加した。一部の例では、無関係な抗原で免疫付与したマウス由来の血清試料を１／１０００で希釈し、５０μＬ／ウェルをＥＬＩＳＡプレートに添加した。プレートを室温で少なくとも１時間インキュベートした。インキュベーション後、プレートを以前のように洗浄して、非結合タンパク質を除去した。その後、ビオチン化ＯＸ４０Ｌ（試薬希釈剤中１００ｎｇ／ｍＬ、５０μＬ／ウェル）をプレートに添加し、室温で１時間インキュベートした。非結合ビオチン化ＯＸ４０ＬをＰＢＳ－Ｔｗｅｅｎ（０．１％ｖ／ｖ）で洗浄して除去し、一方で残りのビオチン化ＯＸ４０Ｌを、ＤＥＬＦＩＡ（登録商標）アッセイ緩衝液（Ｐｅｒｋｉｎ　Ｅｌｍｅｒ）中で希釈したストレプトアビジン－ユーロピウム３＋複合体（ＤＥＬＦＩＡ（登録商標）検出、ＰｅｒｋｉｎＥｌｍｅｒ）または試薬希釈剤中で希釈したストレプトアビジン－ＨＲＰによって検出した。

【０６０１】

ストレプトアビジン－ＨＲＰの場合、プレートを前述のように洗浄し、５０μＬのＴＭＢ（Ｓｉｇｍａ）をプレートに添加した。その後、５０μＬの１Ｍ硫酸（Ｆｌｕｋａ　ａｎａｌｙｔｉｃａｌ）を添加して反応を停止した。４５０ｎｍのＯＤがＥｎｖｉｓｉｏｎプレートリーダー（ＰｅｒｋｉｎＥｌｍｅｒ）上で測定された。

【０６０２】

ストレプトアビジン－ユーロピウム３の場合、プレートをＴＢＳ（トリス緩衝生理食塩水）－Ｔｗｅｅｎ（０．１％ｖ／ｖ）で洗浄し、２００μＬ／ウェルのＤＥＬＦＩＡ　Ｅｎｈａｎｃｅｍｅｎｔ溶液（Ｐｅｒｋｉｎ　Ｅｌｍｅｒ）をプレートに添加した。時間分解蛍光がＥｎｖｉｓｉｏｎプレートリーダー（ＰｅｒｋｉｎＥｌｍｅｒ）上で６１５ｎｍ

で測定された。蛍光データをユーロピウム数としてプロットした。

【０６０３】

マウス組織の単離及び調製：

脾臓を免疫化マウスから摘出し、１×ＰＢＳ中で洗浄し、更なる処理まで氷上で保存した。組織を、１×ＰＢＳ（Ｉｎｖｉｔｒｏｇｅｎ）及び３％の加熱不活性化ＦＢＳ（Ｉｎｖｉｔｒｏｇｅｎ）を含有する緩衝液中で調製した。脾細胞を、４５μｍの漉し器（ＢＤ Ｆａｌｃｏｎ）を通して組織を潰し、３０ｍＬの３％ＦＢＳ／ＰＢＳ緩衝液ですすいだ後、７００ｇで１０分間４℃で遠心分離させることによって分散させた。赤血球細胞を除去するために、ペレット化脾細胞を４ｍＬの赤血球細胞融解緩衝液（Ｓｉｇｍａ）中に再懸濁した。４分間のインキュベーション後、３％ＦＢＳ／１×ＰＢＳ緩衝液を添加して融解反応を停止した。細胞塊を４５μｍの漉し器で濾過して除去した。残りの脾細胞を、更なる手順のためにペレット化した。

【０６０４】

ハイブリドーマ融合

ＫＭ０５５実験のために、ペレット化脾細胞を、いかなる選択または一晩のＣｐＧ刺激もせずに融合に直接進めた。ＫＭ０４０実験のために、Ｂ細胞を、ＭＡＣＳ（登録商標）分離システムを使用して正の選択法に供した。細胞を1×10^{7}細胞当たり８０μＬの３％ＦＢＳ／ＰＢＳ緩衝液中に再懸濁した後、抗マウスＩｇＧ１＋抗マウスＩｇＧ２ａ＋ｂ ＭｉｃｒｏＢｅａｄｓ（Ｍｉｌｔｅｎｙｉ Ｂｉｏｔｅｃ）を添加し、１５分間４℃でインキュベートした。その後、細胞／ＭｉｃｒｏＢｅａｄｓ混合物を、磁気ＭＡＣＳ分離器に配置した事前に湿らせたＬＳカラムに適用し、３％ＦＢＳ／ＰＢＳ緩衝液で洗浄した。ＩｇＧ陽性細胞を、３％ＦＢＳ／ＰＢＳ緩衝液中の標識したカラム結合分画中に収集した。

【０６０５】

ＫＭ０４０実験のために、濃縮したＢ細胞をＣｐＧで一晩処理し（最終濃度２５μＭ）、翌日、ＢＳＡ融合緩衝液（０．３ＭのＤ－Ｓｏｒｂｉｔｏｌ、０．１１ｍＭの酢酸カルシウム水和物、０．５ｍＭの酢酸マグネシウム四水和物、及び０．１％ＢＳＡ（ｖ／ｗ）、ｐＨ７．２に調整）中で一度洗浄した。ＫＭ０５５実験のために、赤血球細胞融解からのペレット化脾細胞を組織調製と同じ日にＢＳＡ融合緩衝液中で一度洗浄した。融合は、これ以降、両実験について同じように進行する。洗浄した細胞を２００μＬのＢＳＡ融合緩衝液中に再懸濁し、細胞数を決定した。ＳＰ２／０細胞を、ＢＳＡ融合緩衝液で２回洗浄することを除いて同じように処理した。Ｂ細胞を、ＢＴＸ ＥＣＭ ２００１ Ｅｌｅｃｔｒｏ Ｃｅｌｌ Ｍａｎｉｐｕｌａｔｏｒ（Ｈａｒｖａｒｄ Ａｐｐａｒａｔｕｓ）を使用して電気融合によって、３：１の比率でＳＰ２／０骨髄腫細胞と融合させた。各融合を、回収培地（ダルベッコ変法イーグル培地－高グルコース（フェノールレッドなし、Ｌ－Ｇなし）含有ＯＰＩ（Ｓｉｇｍａ）、Ｌ－Ｇｌｕｔａｍａｘ（Ｇｉｂｃｏ）、２０％ＦＢＳ（Ｇｉｂｃｏ、ｂａｔｃｈ－ハイブリドーマについてバッチ試験済み）及び２－メルカプトエタノール）中に一晩置いた。最終日に、細胞をペレット化し、回復培地１部：半固体培地９部（ＣｌｏｎａＣｅｌｌ－ＨＹ Ｈｙｂｒｉｄｏｍａ Ｓｅｌｅｃｔｉｏｎ Ｍｅｄｉｕｍ Ｄ、Ｓｔｅｍｃｅｌｌ Ｔｅｃｈｎｏｌｏｇｉｅｓ）中に懸濁した後、１０ｃｍのペトリ皿に播種した。１２日後にコロニーを９６ウェルプレート中に採取し、スクリーニング前に更に２～３日間培養した。

【０６０６】

〔実施例２〕

ハイブリドーマ上清スクリーニング

ハイブリドーマクローンの生成後、ハイブリドーマ上清を、連続した一次及び二次スクリーニングにおいて評定し、適切なハイブリドーマクローンを、ＣＨＯが発現するｈＯＸ４０Ｌに結合する抗体及び受容体中和活性の基準に基づいて選択した（材料及び方法における詳細を参照）（表１）。

【０６０７】

一次スクリーニングについては、発明者らは、以下の選択基準を設けた：上清中に存在する抗体が細胞表面に発現した自然に提示されたｈＯＸ４０Ｌに結合し得る場合、ハイブリドーマクローンを含むウェルを選択した。このアッセイは、細胞表面にｈＯＸ４０Ｌを発現しているＣＨＯ－Ｓ細胞をプレーティングした後、ハイブリドーマ上清、次に蛍光検出抗体とインキュベートすることによって用意した。上清中の抗ＯＸ４０Ｌ抗体の存在を、適切な蛍光を読むことができるプレートリーダーを使用して読み取った。更に、発明者らは、ハイブリドーマ上清を、ＨＴＲＦ（均一時間分解蛍光）アッセイを使用して、組み換えによって発現させたヒトＯＸ４０Ｌへの結合について評定した。発明者らは、ハイブリドーマ上清がヒト組み換えＯＸ４０ＬのヒトＯＸ４０ＲＦｃへの結合を低減する能力を有したか否かも決定した。その後、上述の３つの主要なスクリーニングアッセイからのデータを使用して特定の選択基準（以下の更に詳細な説明を参照）を満たしたクローンを入念に選び、二次スクリーニングに移り、ここで、各抗体がその受容体であるＯＸ４０受容体（別名ＣＤ１３４）に結合するｈＯＸ４０Ｌを中和する能力を決定した。発明者らは、受容体中和ＨＴＲＦアッセイ及びフローサイトメトリーに基づく受容体中和アッセイを使用してこれを評定することにした。最後に、発明者らは、ハイブリドーマ上清をＳＰＲによって分析して、組み換え三量体ヒトＯＸ４０Ｌに対する抗体の見掛けの親和性、及びアカゲザルＯＸ４０Ｌへの交差反応性を評価することにした。

【０６０８】

抗体は、ハイブリドーマ上清中の抗体が、高い見掛けの親和性及び組み換えアカゲザルＯＸ４０Ｌとの交差反応性でｈＯＸ４０Ｌに結合した場合に、二次ヒットとして定義した。加えて、上清中の抗体は、ＨＴＲＦまたはフローサイトメトリーに基づくアッセイのいずれかにおいて、その受容体、即ち、ＯＸ４０受容体（別名ＣＤ１３４）に結合するＯＸ４０Ｌを中和する能力を示す必要があった。

【０６０９】

材料及び方法

一次スクリーニング－細胞に発現したヒトＯＸ４０Ｌへの結合

ハイブリドーマ細胞から収集した上清を試験して、分泌型抗体が、ＣＨＯ－Ｓ細胞の表面に発現したｈＯＸ４０Ｌに結合する能力を評定した。ＣＨＯ－ＳｈＯＸ４０Ｌ結合を決定するために、細胞を、１０％ｖ／ｖのＦＢＳ（ＧＩＢＣＯ）を補充したＦ１２培地（ＧＩＢＣＯ）において、2×10^{4}細胞／ウェルで透明底の組織培養処理３８４ウェルプレート（ＣｏｓｔａｒまたはＢＲＡＮＤ）中にプレーティングし、一晩培養した。培地を３８４ウェルアッセイプレートから除去した。ハイブリドーマ維持培地（ＨＭＭ）中に希釈した、少なくとも４０μＬのハイブリドーマ上清または陽性対照抗ヒトＯＸ４０Ｌ参照抗体（１μｇ／ｍＬの最終濃度）またはアイソタイプＩｇＧ１対照抗体（１μｇ／ｍＬの最終濃度、一部の例ではＣｍ７、Ｓｉｇｍａ　Ｍ９２６９と称される）を各ウェルに添加した。ハイブリドーマ維持培地は、１×Ｇｌｕｔａｍａｘ（Ｇｉｂｃｏ）、２０％ｖ／ｖのＦＢＳ（Ｇｉｂｃｏ）、０．０５ｍＭのβ－メルカプトエタノール、１×ＨＴサプリメント（Ｇｉｂｃｏ）、及び１×ペニシリン／ストレプトマイシン（Ｇｉｂｃｏ）を補充したＡｄｖａｎｃｅｄ　ＤＭＥＭ（Ｇｉｂｃｏ）で構成された。プレートを１時間４℃でインキュベートした。培地を吸引し、０．２μＭのＤＲＡＱ５（Ｂｉｏｓｔａｔｕｓ）を補充し、ＦＡＣＳ緩衝液（ＰＢＳ＋１％ｗ／ｖのＢＳＡ＋０．１％ｖ／ｖのNaN_3）中で希釈した、１０００ｎｇ／ｍＬの５０μＬのヤギ抗マウスＡｌｅｘａ　Ｆｌｕｏｒ　７９０（Ｊａｃｋｓｏｎ　ＩｍｍｕｎｏＲｅｓｅａｒｃｈ、１１５－６５５－０７１）を添加した。プレートを再度１時間４℃でインキュベートした。上清を吸引し、２５μＬの４％ｖ／ｖのパラホルムアルデヒドを添加し、プレートを１５分室温でインキュベートした。プレートを１００μＬのＰＢＳで２回洗浄した後、洗浄緩衝液を完全に除去した。蛍光強度を、Ｏｄｙｓｓｅｙ　Ｉｎｆｒａｒｅｄ　Ｉｍａｇｉｎｇ　Ｓｙｓｔｅｍ（ＬＩ－ＣＯＲ（登録商標））を使用してプレートをスキャニングすることによって読み取った。抗マウス結合（８００ｎｍチャネル）を、ＬＩ－ＣＯＲ（登録商標）推奨のアルゴリズムに従って、細胞数（７００ｎｍチャネル）に正規化した。効果パーセントを以下に詳述するよう

に計算した（方程式１）。全結合は、参照抗体を１μｇ／ｍｌの最終アッセイ濃度で使用して定義した。非特異的結合は、マウスＩｇＧ１アイソタイプ対照（Ｓｉｇｍａ）を１μｇ／ｍＬの最終アッセイ濃度で使用して定義した。ウェルは、効果パーセントが５％以上であった場合に、ヒットとして定義した。

【０６１０】

方程式１：一次スクリーニング（ＬＩ－ＣＯＲ）及びＨＴＲＦからの効果パーセンテージの計算

（８００％の応答値（ＬＩ－ＣＯＲ）または６６５／６２０ｎｍの比率（方程式２参照）（ＨＴＲＦ）を使用）

【０６１１】

【数１】

$$\text{効果パーセント} = \frac{\text{試料ウェル－非特異的結合}}{\text{全結合－非特異的結合}}$$

【０６１２】

非特異的結合＝アイソタイプ対照マウスＩｇＧ１またはＨＭＭまたは緩衝液を含むウェルからの値

全結合（ＨＴＲＦ及びＬＩＣＯＲの結合）＝参照抗体を含むウェルからの値全結合（ＯＸ４０Ｌ／ＯＸ４０ＲＦｃアッセイ）＝ＯＸ４０Ｌ及びＯＸ４０ＲＦｃ。

【０６１３】

一次スクリーニング：組み換えヒトＯＸ４０Ｌへの結合：

ＣＨＯ－Ｓが発現するＯＸ４０Ｌへの結合についてのスクリーニングと平行して、ハイブリドーマウェルから収集した上清を試験して、分泌型抗体が、組み換えタンパク質として発現したｈＯＸ４０Ｌ（自家製、実施例１における詳細を参照）に結合する能力も評定した。分泌型抗体の組み換えｈＯＸ４０Ｌへの結合を、ビオチン化ｈＯＸ４０Ｌを使用して、ＨＴＲＦ（登録商標）（均一時間分解蛍光、Ｃｉｓｂｉｏ）アッセイフォーマットによって特定した。５μＬのハイブリドーマ上清を、白色の３８４ウェル少量非結合表面ポリスチレンプレート（Ｇｒｅｉｎｅｒ）に移した。その後、ＨＴＲＦ緩衝液（ＰＢＳ（Ｓｉｇｍａ）＋０．５３ＭのＫＦ（Ｓｉｇｍａ）＋０．１％ｗ／ｖのＢＳＡ（Ｓｉｇｍａ））中で希釈した５μＬのビオチン化ｈＯＸ４０Ｌ（作業濃度２０ｎＭ）を添加した。５μＬの組み合わせた検出試薬である、最終希釈１：４００にＨＴＲＦアッセイ緩衝液中で１：１００で希釈したストレプトアビジンＤ２（Ｃｉｓｂｉｏ）と、最終希釈１：４００にＨＴＲＦアッセイ緩衝液中で１：１００で希釈した、ユーロピウムクリプテート（Ｃｉｓｂｉｏ）で標識したヤギ抗マウスＩｇＧ（Ｓｏｕｔｈｅｒｎ　Ｂｉｏｔｅｃｈ）とを添加した。ユーロピウムクリプテートで標識したヤギ抗マウスＩｇＧ（Ｓｏｕｔｈｅｒｎ　Ｂｉｏｔｅｃｈ）の濃度はバッチ依存性であり、一部の場合には、１：１０００の希釈を行って、１：４０００の最終アッセイ濃度を達成した。全アッセイ体積を２０μＬに調整するために、５μＬのＨＴＲＦアッセイ緩衝液を全てのウェルに添加した。非特異的結合を定義するために、陽性対照抗体またはハイブリドーマ培地の添加を、ＨＴＲＦアッセイ緩衝液またはＨＭＭで代置した。プレートを３時間暗闇でインキュベートさせた後、ＥｎＶｉｓｉｏｎプレートリーダー（Ｐｅｒｋｉｎ　Ｅｌｍｅｒ）を使用して、６２０ｎｍ及び６６５ｎｍの発光波長での時間分解蛍光を読み取った。ＨＴＲＦ（登録商標）アッセイ技術の更なる詳細は、Ｍａｔｈｉｓ　（１９９５）　Ｃｌｉｎｉｃａｌ　Ｃｈｅｍｉｓｔｒｙ　４１（９），　１３９１－１３９７において見い出すことができる。各試料についての６６５／６２０比率及び効果パーセントをそれぞれ方程式２及び方程式１に従って計算して、データを分析した。

【０６１４】

方程式２：６６５／６２０比率の計算

【０６１５】

【数２】

６６５／６２０比率＝　（試料の６６５／６２０ｎｍ値）×１００００

【０６１６】

ＫＭ０４０－１及びＫＭ０５５－１由来のクローンについては、発明者らは、表１に記載の組み換えｈＯＸ４０Ｌ結合からのヒットに加えて、２０パーセント以上の効果の選択基準を適用して定義した。

【０６１７】

一次スクリーニング：ヒトＯＸ４０Ｌ／ヒトＯＸ４０Ｒ　Ｆｃ結合アッセイ

ハイブリドーマウェルから収集した上清が、ＯＸ４０ＬのＯＸ４０ＲＦｃへの結合を阻害するか否かを決定するために、分泌型抗体を、ＯＸ４０Ｌ／ＯＸ４０ＲＦｃ結合ＨＴＲＦアッセイにおいて試験した。５μＬのハイブリドーマ上清を、白色の３８４ウェル少量非結合表面ポリスチレンプレート（Ｇｒｅｉｎｅｒ）に移した。ビオチン化ＯＸ４０ＬをＨＴＲＦアッセイ緩衝液中で２．４ｎＭの作業濃度に希釈して、５μＬ添加した。その後、ＯＸ４０ＲＦｃを４．８ｎＭの作業濃度に希釈して、５μＬ添加した。非特異的結合を、ＯＸ４０ＲＦｃをアッセイ緩衝液またはＨＭＭで代置することによって定義した。ストレプトアビジンクリプテート（ＣＩＳＢＩＯ）及び抗ヒトＦｃ　Ｄ２（ＣＩＳＢＩＯ）を、ＨＴＲＦアッセイ緩衝液中で１：１００の作業濃度及びそれぞれ５ｎＭに希釈した。プレートを覆って光から保護し、室温で３時間インキュベートした後、ＥｎＶｉｓｉｏｎプレートリーダー（Ｐｅｒｋｉｎ　Ｅｌｍｅｒ）を使用して、６２０ｎｍ及び６６５ｎｍの発光波長での時間分解蛍光を読み取った。各試料についての６６５／６２０比率及び効果パーセントをそれぞれ方程式２及び方程式５に従って計算して、データを分析した。

【０６１８】

ＫＭ０４０－１及びＫＭ０５５－１由来のクローンについては、発明者らは、表１に記載のヒットに加えて、９０パーセント以上のＯＸ４０Ｌに結合するＯＸ４０受容体Ｆｃのアッセイシグナルの選択基準を適用して定義した。

【０６１９】

二次スクリーニング：発現された細胞及び組み換えヒトＯＸ４０Ｌへの結合

一次スクリーニング選択基準を使用して選択したウェルが、発明者らが設定した必要とされる特徴を有したか否かを決定するために、ある数のアッセイを実行した。一次スクリーニングからヒットとして選択されたハイブリドーマクローンを３日間培養し、ハイブリドーマ細胞から収集した上清を試験して、ＣＨＯ－Ｓが発現するｈＯＸ４０Ｌに結合する分泌型抗体が、一部の場合に、トランスフェクトしていないＣＨＯ－Ｓ細胞に結合するか否か、及びそれらが、ＣＨＯ－Ｓ　ｈＯＸ４０Ｌに結合する組み換えＯＸ４０Ｒ　Ｆｃを中和するか否か、及び組み換えビオチン化ｈＯＸ４０Ｌに結合するＯＸ４０Ｒを中和する能力を評定した。

【０６２０】

ＣＨＯ－Ｓが発現したｈＯＸ４０Ｌ及び受容体への結合及び中和

ＦＡＣＳ緩衝液（ＰＢＳ＋１％ｗ／ｖのＢＳＡ＋０．１％ｗ／ｖのＮａＮ$_3$）中で希釈した、ｈＯＸ４０Ｌを発現しているＣＨＯ－Ｓ細胞またはトランスフェクトしていないＣＨＯ－Ｓ細胞を、ウェル当たり１×１０^{5}細胞の密度で９６ウェルＶ字底プレート（Ｇｒｅｉｎｅｒ）に分配した。細胞を１５０μＬのＰＢＳで洗浄し、３分間３００ｘｇで遠心分離させた。上清を吸引し、１５０μＬのＰＢＳを添加した。この洗浄ステップを繰り返した。

【０６２１】

ＦＡＣＳ緩衝液中で希釈した、２５μＬのハイブリドーマ上清またはハイブリドーマ上清からの精製抗体を、洗浄した細胞に添加し、１０～１５分間インキュベートした。参照抗体またはマウスＩｇＧ１対照抗体（Ｓｉｇｍａ）をＦＡＣＳ緩衝液中で２０μｇ／ｍＬに希釈し、細胞に２５μＬ添加した。その後、ＦＡＣＳ緩衝液中で１０００ｎｇ／ｍＬに希釈した２５μＬのヒトＯＸ４０Ｒ　Ｆｃ（自家）をウェルに添加した。細胞を４℃で３

０分間インキュベートした。
【０６２２】
細胞を１５０μＬのＰＢＳで２回洗浄し、各洗浄ステップの後に遠心分離させ、上清を吸引した（３００ｘｇで３分間遠心分離）。
【０６２３】
抗体及び受容体結合を検出するために、ＦＡＣＳ緩衝液中で１／５００で希釈した５０μＬのヤギ抗ヒトＩｇＧ－ＰＥ（Ｊａｃｋｓｏｎ　ＩｍｍｕｎｏＲｅｓｅａｒｃｈ）及びＡＰＣ　抗マウスＩｇＧ（Ｊａｃｋｓｏｎ　ＩｍｍｕｎｏＲｅｓｅａｒｃｈ）を細胞に添加した。細胞を暗闇で３０分間４℃でインキュベートした。
【０６２４】
細胞を１５０μＬのＰＢＳで２回洗浄し、各洗浄ステップの後に遠心分離させ、上清を吸引した（３００ｘｇで３分間遠心分離）。
【０６２５】
細胞を固定するために、１００μＬの２％ｖ／ｖパラホルムアルデヒドを添加し、細胞を３０分間４℃でインキュベートし、細胞を３００ｘｇでの遠心分離によってペレット化し、プレートを５０μＬのＦＡＣＳ緩衝液中に再懸濁した。ＰＥ及びＡＰＣシグナル強度（幾何平均）を、ＢＤ　ＦＡＣＳ　Ａｒｒａｙ計器を使用して、フローサイトメトリーによって測定した。
【０６２６】
対照結合の％を、方程式１に記載のように幾何平均蛍光を使用して計算し、ここでは、全結合が１０μｇ／ｍＬの参照抗体として、非特異的結合が１０μｇ／ｍＬマウスＩｇＧ１抗体として定義された。受容体結合％を、方程式３を使用して計算した。
【０６２７】
方程式３：受容体結合のパーセンテージ（ＦＡＣＳ）
幾何平均蛍光に基づき、
【０６２８】
【数３】

$$\text{受容体結合\%} = \frac{\text{試料値} - \text{非特異的結合}}{\text{全結合} - \text{非特異的結合}} \times 100$$

【０６２９】
非特異的結合＝抗体なし、受容体なし
全結合＝受容体（ＯＸ４０Ｒ）のみの結合（阻害剤なし）＋１０μｇ／ｍＬのアイソタイプ対照。
【０６３０】
二次スクリーニング－ＨＴＲＦリガンド／受容体中和
一次スクリーニングから特定した抗体がＯＸ４０ＲＦｃに結合するＯＸ４０Ｌを中和するか否かを決定するために、ヒトＯＸ４０Ｌ／ヒトＯＸ４０Ｒ　Ｆｃ結合アッセイを、一次スクリーニングについて記載したように行った。
【０６３１】
プレートを暗闇で３時間インキュベートさせた後、ＥｎＶｉｓｉｏｎプレートリーダー（Ｐｅｒｋｉｎ　Ｅｌｍｅｒ）を使用して、６２０ｎｍ及び６６５ｎｍの発光波長での時間分解蛍光を読み取った。ＨＴＲＦ（登録商標）アッセイ技術の更なる詳細は、Ｍａｔｈｉｓ　（１９９５）　Ｃｌｉｎｉｃａｌ　Ｃｈｅｍｉｓｔｒｙ　４１（９），　１３９１－１３９７において見い出すことができる。方程式４に記載の通りにデルタＦを、方程式５に従って各試料についての受容体のパーセントを計算することによってデータを分析した。
【０６３２】
方程式４：デルタＦ％の計算
【０６３３】

【数４】

$$\text{デルタＦ\%} = \frac{\text{（試料の６６５／６２０ｎｍ比率値）－（非特異的対照の６６５／６２０ｎｍ比率値）}}{\text{（非特異的対照の６６５／６２０ｎｍ比率）}} \times １００$$

【０６３４】

方程式５：受容体結合のパーセンテージ（ＨＴＲＦ）

デルタＦ％（方程式４）または６６５／６２０比率（方程式２）の掲載に基づき、

【０６３５】

【数５】

$$\text{受容体結合\%} = \frac{\text{試料値－非特異的結合}}{\text{全結合－非特異的結合}} \times １００$$

【０６３６】

非特異的結合＝ＨＭＭまたは緩衝液＋ＯＸ４０Ｌ（受容体なし）

全結合＝受容体（ＯＸ４０Ｒ）及びＯＸ４０Ｌ（阻害剤なし）。

【０６３７】

二次スクリーニングからのヒット基準選択：

ヒットのパネルを、結合及び中和アッセイに基づいて計算した。ＣＨＯ－Ｓ　ＯＸ４０Ｌ結合アッセイにおけるヒットは、ＦＡＣＳによって、ＣＨＯ－Ｓ　ＯＸ４０Ｌ細胞への顕著な結合及びＣＨＯ－Ｓ細胞への結合なしとして、発明者らが定義した。ヒットは、組み換えＯＸ４０Ｌに結合するＯＸ４０ＲＦｃを顕著に低減する能力を有する（ＨＴＲＦ）、及びＣＨＯ細胞に発現したｈＯＸ４０Ｌに結合するＯＸ４０ＲＦｃを顕著に低減する能力を有すると更に定義した。データを表１に要約する。ＳＰＲによる見掛けの親和性測定も考慮した。

【０６３８】

〔実施例３〕

抗体主導特性評価

選択したスクリーニングに基づいて、ウェルを拡張し、マウス／ヒトキメラ抗体を、標準的なタンパク質Ｇに基づく親和性クロマトグラフィー精製を使用して精製した（以下の方法を参照）。抗体を様々なアッセイに供し、受容体ＯＸ４０Ｒに結合するｈＯＸ４０Ｌをブロックするその能力、ならびに各抗体がヒト及びアカゲザルＯＸ４０Ｌに高い見掛けの親和性で結合する能力を評定した。どの抗体が最良であるかを解明するために、選択したクローンを、ＯＸ４０Ｌ／ＯＸ４０ＲＦｃ　ＨＴＲＦアッセイ、及び一次ヒトＴ細胞からのＯＸ４０Ｌ誘導性ＩＬ２放出を使用して試験した。

【０６３９】

【表１】

表１：ｍＡｂ主導要約

抗体	FACS結合	HTRF受容体中和 IC_{50}nM(+/-SEM)	一次Ｔ細胞アッセイ IC_{50}nM(+/-SEM)	見掛けの親和性 hOX40L (nM)	見掛けの親和性 RhsOX40L (nM)
10A07（ハイブリドーマ）	あり	+++	+++	CNROR	CNROR
10A07（ヒト）	検出なし	+++ 1.2nM(+/-0.17)	+++ 0.83nM(+/-1.2)	CNROR	CNROR
2D10（ハイブリドーマ）	あり	+++	検出なし	CNROR	CNROR
2D10（ヒト）	検出なし	+++ 0.75nM(+/-0.04)	+++ 0.81nM(+/-0.06)	CNROR	CNROR
9H04（ハイブリドーマ）	あり	+	検出なし	5.3	検出なし
19H01（ハイブリドーマ）	あり	++	検出なし	2.2	検出なし

ＣＮＲＯＲ＝オフレートを解決できず

IC_{50}データは、３つの独立した実験またはドナーについての算術平均＋／－標準誤差（ＳＥＭ）を表す。

【０６４０】

材料及び方法：

ハイブリドーマ上清からの抗体の精製：

タンパク質Ｇ親和性クロマトグラフィーを使用して抗体を精製した。抗体を、ＩｇＧ溶出試薬（Ｐｉｅｒｃｅ）を使用してタンパク質Ｇ培地から溶出させ、この溶出した抗体を、使用の前にＰＢＳへと緩衝液交換した。抗体精製を、ＳＤＳ－ＰＡＧＥ分析を使用して評定し、ＯＤ２８０ｎｍで分光光度計によって定量化した。

【０６４１】

ハイブリドーマ上清から精製した抗体の結合を、本明細書に記載のように実行した。

【０６４２】

ＨＴＲＦリガンド／受容体中和：

アッセイにおいてIC_{50}値によって測定したクローン効力を確立するために、以下の方法を、阻害剤の滴定を用いて実行した。ハイブリドーマから精製した抗体を、ＨＴＲＦアッセイ緩衝液中で希釈することによって滴定し、この滴定の５μＬを、白色の３８４ウェル少量非結合表面ポリスチレンプレート（Ｇｒｅｉｎｅｒ）に移した。ビオチン化ＯＸ４０ＬをＨＴＲＦアッセイ緩衝液中で２．４ｎＭの作業濃度に希釈して、５μＬ添加した。その後、ＯＸ４０ＲＦｃを４．８ｎＭの作業濃度に希釈して、５μＬ添加した。非特異的結合を、ＯＸ４０ＲＦｃをアッセイ緩衝液またはＨＭＭで代置することによって定義し

た。ストレプトアビジンクリプテート（ＣＩＳＢＩＯ）及び抗ヒトＦｃ　Ｄ２（ＣＩＳＢＩＯ）を、ＨＴＲＦアッセイ緩衝液中で１：１００の作業濃度及びそれぞれ５ｎＭに希釈した。プレートを覆って光から保護し、室温で３時間インキュベートした後、ＥｎＶｉｓｉｏｎプレートリーダー（Ｐｅｒｋｉｎ　Ｅｌｍｅｒ）を使用して、６２０ｎｍ及び６６５ｎｍの発光波長での時間分解蛍光を読み取った。方程式４に記載の通りにデルタＦを、方程式５、または一部の場合には方程式６に従って各試料についての受容体のパーセントを計算することによってデータを分析した。IC_{50}値を、４パラメータロジスティクス方程式（方程式７）を使用した曲線適合によってＧｒａｐｈＰａｄ　Ｐｒｉｓｍソフトウェアを使用して決定した。

【０６４３】

方程式６：受容体結合のパーセンテージ（ＨＴＲＦ）

デルタＦ％の計算（方程式８）に基づき、

【０６４４】

【数６】

$$\text{受容体結合\%} = \frac{\text{試料値}}{\text{全結合}} \times 100$$

【０６４５】

全結合＝受容体（ＯＸ４０Ｒ）及びＯＸ４０Ｌ（阻害剤なし）

方程式７：４パラメータロジスティクス計算

Ｙ＝下部＋（上部－下部）／（１＋１０＾（（ログＩＣ５０－Ｘ）＊山の傾斜））

Ｘ＝濃度の対数

Ｙ＝特異的結合（方程式６）

上部及び下部＝Ｙ（特異的結合）と同じ単位のプラトー

Ｘと同じ単位のログIC_{50}。Ｙは、下部で始まり、Ｓ字形で上部に進む。特異的結合は、Ｘが増加するにつれて減少する。

【０６４６】

ＨＴＲＦリガンド／受容体中和アッセイにおける完全ヒト組み換え抗ＯＸ４０Ｌ抗体のプロファイリング

組み換えによって発現させた完全にヒトである精製したＩｇＧがＯＸ４０ＲＦｃに結合するヒトＯＸ４０Ｌを阻害するか否かを決定するために、以下の方法を実行した。アッセイにおいてIC_{50}値によって測定したクローン効力を確立するために、完全にヒトである精製したＩｇＧまたは他の阻害剤を試験した。組み換えによって発現させ、精製した抗体を、ＨＴＲＦアッセイ緩衝液中で希釈することによって滴定し、この滴定の５μＬを、白色の３８４ウェル少量非結合表面ポリスチレンプレート（Ｇｒｅｉｎｅｒ）に移した。ビオチン化ＯＸ４０ＬをＨＴＲＦアッセイ緩衝液中で２．４ｎＭの作業濃度に希釈して、５μＬ添加した。その後、ＡＦ６４７で直接標識したＯＸ４０ＲＦｃを１０ｎＭの作業濃度に希釈して、５μＬ添加した。非特異的結合を、ＯＸ４０ＲＦｃ－ＡＦ６４７をアッセイ緩衝液またはＨＭＭで代置することによって定義した。ストレプトアビジンクリプテート（ＣＩＳＢＩＯ）を、ＨＴＲＦアッセイ緩衝液中で１：１００の作業濃度に希釈し、５μＬをプレートの全てのウェルに添加した。プレートを覆って光から保護し、室温で３時間インキュベートした後、ＥｎＶｉｓｉｏｎプレートリーダー（Ｐｅｒｋｉｎ　Ｅｌｍｅｒ）を使用して、６２０ｎｍ及び６６５ｎｍの発光波長での時間分解蛍光を読み取った。方程式４に記載の通りにデルタＦを、方程式５、または一部の場合には方程式６に従って各試料についての受容体のパーセントを計算することによってデータを分析した。IC_{50}値を、４パラメータロジスティクス方程式（方程式７）を使用した曲線適合によってＧｒａｐｈＰａｄ　Ｐｒｉｓｍソフトウェアを使用して決定した（図１）。

【０６４７】

一次単離Ｔ細胞からの組み換えＯＸ４０Ｌ誘導性ＩＬ２放出に対する抗ＯＸ４０Ｌ抗体の効果の決定

組み換えヒトＯＸ４０Ｌ（自家）を培地中で４００ｎｇ／ｍＬの濃度に希釈し、５０μＬを組織培養処理９６ウェルプレート（Ｃｏｓｔａｒ）に添加した。抗ＯＸ４０Ｌ抗体または適切な種のアイソタイプ対照（Ｓｉｇｍａまたは自家）を９６ウェルプレート（ｇｒｅｉｎｅｒ）中の培地において滴定した後、５０μＬの滴定を５０μＬのＯＸ４０Ｌを含む９６ウェルプレートに移した。抗体滴定を組み換えＯＸ４０Ｌと共に３０分間室温でインキュベートした後、ＣＤ３陽性Ｔ細胞を添加した。

【０６４８】

ＰＢＭＣを、密度勾配遠心分離によってＦｉｃｏｌｌ－Ｐａｑｕｅ　ｐｌｕｓ（ＧＥ　Ｈｅａｌｔｈｃａｒｅ）を使用して白血球除去系チャンバから単離した（ＮＨＳＢＴ）。ＣＤ３陽性細胞（Ｔ細胞）を、製造業者の推奨に従い、磁気マイクロビーズ（Ｍｉｌｔｅｎｙｉ　Ｂｉｏｔｅｃｈ）を使用して負の選択法によってヒトＰＢＭＣから単離した。単離した細胞を３００ｘｇ／５分で遠心分離させ、培地中に再懸濁し（培地は、ＲＰＭＩ（Ｇｉｂｃｏ）＋１０％ｖ／ｖのＦＢＳまたはＲＰＭＩ＋５％ｖ／ｖのヒトＡＢ血清のいずれかとして定義した）、５０μＬの細胞懸濁液を組み換えＯＸ４０Ｌ及び抗体滴定を含む９６ウェルプレートに添加して、2×10^{5}細胞／ウェルの最終濃度を達成した。

【０６４９】

その後、８μｇ／ｍＬの５０μＬのＰＨＡを全てのウェルに添加して、２μｇ／ｍＬの最終アッセイ濃度を達成した。細胞を３７℃で３日間インキュベートした後、上清を採取し、ＩＬ－２濃度について分析した。最大ＩＬ－２放出は、阻害剤不在下のＯＸ４０Ｌ刺激によって定義した。最小ＩＬ－２放出は、培地のみ（ＯＸ４０Ｌなし）によって定義した。

【０６５０】

上清におけるＩＬ－２レベルを、製造業者の推奨に従い、ヒトＩＬ－２のＤｕｏｓｅｔ　ＥＬＩＳＡキット（Ｒ　＆　Ｄ）　Ｓｙｓｔｅｍｓ）を使用して決定した。ＩＬ－２捕捉抗体（ＰＢＳ中に希釈した４μｇ／ｍＬ、５０μＬ／ウェル）を、一晩４℃で、９６ウェルの低自動蛍光高タンパク質結合プレート（Ｃｏｓｔａｒ）に吸収させた。過剰なＩｇＧをＰＢＳ－Ｔｗｅｅｎで洗浄して除去し、ウェルを、１時間室温でＰＢＳ中の１％のウシ血清アルブミン（ＢＳＡ）によってブロックした後、プレートを前述のように洗浄した。その後、５０μＬ／ウェルの前処置した培地にＩＬ－２標準（２０００ｐｇ／ｍＬから、１：２希釈）を添加し、またＥＬＩＳＡ対照としてＥＬＩＳＡプレートにも添加し、そのプレートを室温で少なくとも１時間インキュベートした。

【０６５１】

インキュベーション後、プレートを以前のように洗浄して、非結合タンパク質を除去した。その後、ビオチン化ＩＬ－２検出Ａｂ（試薬希釈剤（０．１％のＢＳＡ／ＰＢＳ）中２００ｎｇ／ｍＬ、５０μＬ／ウェル）をプレートに添加し、室温で１時間インキュベートした。非結合検出抗体をＰＢＳ－Ｔｗｅｅｎ（０．１％ｖ／ｖ）で洗浄して除去し、一方で残りのビオチン化抗体を、ストレプトアビジン－ユーロピウム３＋複合体（ＤＥＬＦＩＡ（登録商標）検出、ＰｅｒｋｉｎＥｌｍｅｒ）によって検出した。時間分解蛍光がＥｎｖｉｓｉｏｎプレートリーダー（ＰｅｒｋｉｎＥｌｍｅｒ）上で６１５ｎｍで測定された。蛍光データを、ユーロピウム数、または製造業者の推奨に従い線形回帰によって標準曲線から計算したＩＬ－２放出の濃度としてプロットした。IC_{50}値を、４パラメータロジスティクス方程式（方程式７）を使用した曲線適合によってＧｒａｐｈＰａｄ　Ｐｒｉｓｍソフトウェアを使用して決定した。

【０６５２】

表面プラズモン共鳴分析：

ＳＰＲ分析を、ＰｒｏｔｅＯｎ（商標）ＸＰＲ３６　Ａｒｒａｙ　Ｓｙｓｔｅｍ（ＢｉｏＲａｄ）を使用して実行した。抗マウスＩｇＧ（ＧＥ　Ｈｅａｌｔｈｃａｒｅ　ＢＲ－１００８－３８）を、アミンカップリングを使用してＧＬＭバイオセンサー表面上に固定化し、表面を、１Ｍのエタノールアミンを使用してブロックした。試験抗体をこの表面上に捕捉し、組み換えｈＯＸ４０Ｌ（ヒト及びアカゲザル）を２５６ｎＭの単一濃度で使用

し、結合センサーグラムを、緩衝液注射（即ち、０ｎＭ）を使用して二重参照（ｄｏｕｂｌｅ　ｒｅｆｅｒｅｎｃｅ）して、基線変動及び注射アーチファクトを除去した。ＯＸ４０Ｌ－抗体相互作用に対する見掛けの親和性を、ＰｒｏｔｅＯｎ　ＸＰＲ３６分析ソフトウェアに固有の１：１モデルを使用して決定した。アッセイを、ＨＢＳ－ＥＰ（Ｔｅｋｎｏｖａ）を実施緩衝液として使用して実施し、２５℃で実行した。

【０６５３】

〔実施例４〕

主導抗体候補の配列回復

主導候補の選択及び特性評価の後、それらの完全ヒト可変ドメインを、順方向プライマーと逆方向プライマーとの混合物を使用するＲＴ－ＰＣＲを使用して回復した。抗体をヒトＩｇＧ４骨格（ＩｇＧ４－ＰＥ）に再フォーマット化し、ＣＨＯ－Ｓ細胞において一過性発現系を使用して発現させた。全ての配列の要約を配列リストに示す。

【０６５４】

ハイブリドーマ細胞からのＲＮＡ単離：

全ＲＮＡを、ＴＲＩｚｏｌ（商標）試薬（Ｉｎｖｉｔｒｏｇｅｎ）を使用してハイブリドーマ細胞から抽出した。単離したＲＮＡの量及び質を分光光度法によって分析した。

【０６５５】

ＲＴ－ＰＣＲによる抗体可変ドメイン回復：

選択したクローンを、全ＲＮＡを調製するために使用し、これをＲＴ－ＰＣＲ反応に使用して、重鎖Ｖ領域を回復した。ＩｇＧ特異的逆方向プライマー及びＩｇリーダー配列特異的順方向プライマーセット、または代替的にＩｇＧ特異的逆方向プライマー及びＩｇ５’非翻訳領域（ＵＴＲ）配列特異的順方向プライマーセットを重鎖に使用した。カッパ定常領域特異的逆方向プライマー及びカッパリーダー配列特異的順方向プライマーセット、または代替的にカッパ定常領域特異的逆方向プライマー及びカッパ５’ＵＴＲ配列特異的順方向プライマーセットをカッパＯＸ４０Ｌ鎖に使用した。ＲＴ－ＰＣＲ産生物を、順方向及び逆方向に配列される予測サイズのＤＮＡを用いてアガロースゲル電気泳動法によって分離した。あるいは、ＲＴ－ＰＣＲ産生物を、配列決定のために提示された個々のコロニーのクローニングベクター及びＤＮＡへとサブクローニングした。

【０６５６】

組み換え抗体のクローニング

ｍＡｂ　１０Ａ７の重鎖可変領域をコードしているＤＮＡを、ヒトＩｇＧ１定常領域を持つインフレームのｐＲＥＰ４発現プラスミド（Ｉｎｖｉｔｒｏｇｅｎ）にクローニングし、ｍＡｂ　１０Ａ７の軽鎖可変領域をコードしているＤＮＡを、標準的な制限酵素消化ライゲーションを使用して、ヒトカッパ定常領域を持つインフレームのｐＲＥＰ４発現プラスミドにクローニングした。

【０６５７】

ヒトＩｇＧ４－ＰＥ定常領域を持つインフレームのｍＡｂｓ　１０Ａ７及び２Ｄ１０の重鎖可変領域コード配列を、哺乳動物発現に対してコドン最適化し、ｐＸＣ－１８．４発現プラスミド（Ｌｏｎｚａ）にクローニングし、ヒトカッパ定常領域を持つインフレームのｍＡｂｓ　１０Ａ７及び２Ｄ１０の軽鎖コード配列を、哺乳動物発現に対してコドン最適化し、標準的な制限酵素消化及びライゲーションを使用して、ｐＸＣ－１７．４発現プラスミド（Ｌｏｎｚａ）にクローニングした。重鎖及び軽鎖の同時発現のために、標準的な制限酵素消化及びライゲーションを使用して、ベクターであるｐＸＣ－１７．４及びｐＸＣ－１８．４を１つの単一ベクターへと融合させた。

【０６５８】

全ての構築物を、それらの適正な配列組成を確実にするように配列した。

【０６５９】

ＯＸ４０Ｌ抗体の一過性発現

抗体を一過性に発現させて、ＩｎｖｉｔｒｏｇｅｎのＦｒｅｅＳｔｙｌｅ（商標）ＣＨＯ－Ｓ懸濁液適合化細胞株を使用して組み換えタンパク質を産生した。プラスミドを、Ｐ

ＥＩ（ポリエチレンイミン　ＭＷ　４００００）を使用して細胞へとトランスフェクトし、１３日間過成長させた後、精製のために上清を採取した。過成長プロセス中は、ＧＥ　ＨｅａｌｔｈｃａｒｅからのＡｃｔｉＣＨＯ（商標）Ｆｅｅｄ　Ａ及びＢで細胞に給餌して、生産力をブーストし、細胞の寿命を強化した。過成長プロセス中は、定期的に試料を採取して、細胞成長及び生存能力をモニタリングした。

【０６６０】

安定性Ｌｏｎｚａプールの生成

毒物学研究に必要なグラム量を産生するために、１０Ａ７及び２Ｄ１０　ＯＸ４０Ｌ抗体を、安定した発現のためのＬｏｎｚａ　ＧＳ　Ｘｃｅｅｄシステムに移した。まず、各抗体のためのＨＣ及びＬＣを、ＧｅｎｅｗｉｚによってＣＨＯ細胞における発現に対してコドン最適化した。その後、標準的な制限酵素消化及びライゲーションを使用して、ＨＣカセット（最適化したＩｇＧ４ＰＥ定常領域を含む）をＬｏｎｚａのｐＸＣ１８．４ベクターへとクローニングし、ＬＣカセット（最適化したカッパ定常領域を含む）をＬｏｎｚａのｐＸＣ１７．４ベクターへとクローニングした。その後、ＨＣ配列及びＬＣ配列の両方をコードしている二重遺伝子ベクター（ＤＧＶ）を制限酵素消化及びライゲーションによって創出し、発現の前に配列を確定した。

【０６６１】

安定性プール創出の前に、ＨＣ配列及びＬＣ配列を別々にコードしている単一遺伝子ベクター、ならびに両方を含むＤＧＶを、ＰＥＩ（ポリエチレンイミンＭＷ　４００００）を使用して、Ｌｏｎｚａ　ＣＨＯＫ１ＳＶＫＯ細胞株中で一過性に発現させた。細胞を１３日間過成長させた後、上清を精製のために採取した。この期間中、ＧＥ　ＨｅａｌｔｈｃａｒｅからのＡｃｔｉＣＨＯ（商標）Ｆｅｅｄ　Ａ及びＢで細胞に給餌して、生産力をブーストし、細胞の寿命を強化した。過成長プロセス中は、定期的に試料を採取して、細胞成長及び生存能力をモニタリングした。一過性発現を確認し、精製した物質を分析した後、抗体を安定性プールとして発現させた。

【０６６２】

安定性プールを、Ｌｏｎｚａの専有方法及び培地を使用して生成した。抗体当たり４つのプールを創出し、１０～１５日間かけて回復させた。細胞を回復させた後、細胞のプレシードストック（ＰＳＳ）を、ＭＣＢの後の回復及び創出のために凍結させた。その後、バッチ過成長物を入れた小規模（５０ｍＬ）の振とうフラスコを、Ｌｏｎｚａの専有培地を使用して用意した。細胞を１４日間過成長させた。この期間中、細胞を、過成長、生存能力、及びグルコースレベルについてモニタリングした。細胞に、Ｌｏｎｚａの専有フィード及び４００ｇ／Ｌのグルコースを適宜補充した。試料を、粗試料定量化のためのプロセス全てにかけた。過成長プロセスの終了時に、上清を精製のために採取した。

【０６６３】

安定性プールを、Ｌｏｎｚａの専有方法及び培地を使用して生成した。抗体当たり４つのプールを創出し、１０～１５日間かけて回復させた。細胞を回復させた後、細胞のプレシードストック（ＰＳＳ）を、ＭＣＢの後の回復及び創出のために凍結させた。その後、バッチ過成長物を入れた小規模（５０ｍＬ）の振とうフラスコを、Ｌｏｎｚａの専有培地を使用して用意した。細胞を１４日間過成長させた。この期間中、細胞を、過成長、生存能力、及びグルコースレベルについてモニタリングした。細胞に、Ｌｏｎｚａの専有フィード及び４００ｇ／Ｌのグルコースを適宜補充した。試料を、粗試料定量化のためのプロセス全てにかけた。過成長プロセスの終了時に、上清を精製のために採取した。

【０６６４】

２Ｄ１０及び１０Ａ０７は配列においては類似していたが、安定したＬｏｎｚａプールにおけるそれらの発現プロファイルは異なり、４つの別個の生成された安定性プールにおいて振とうフラスコを使用したときの最適条件下で、１０Ａ０７は非常に低い力価に発現した一方で、２Ｄ１０は、はるかに大きな力価で発現した（表２を参照）。

【０６６５】

【表２】

表２（ｍｇ／Ｌ単位の濃度）

安定性プール	７日目	８日目	９日目	10日目	11日目	12日目	13日目	14日目
2D10-1	261	492	681	993	1157	1590	1530	1575
2D10-2	245	461	665	983	1127	1485	2025	1995
2D10-3	317	528	731	1163	1367	1785	1905	1860
2D10-4	372	677	785	1286	1350	1935	1965	1800
対照抗体１	92	129	167	229	297	357	416	N/A
対照抗体１	66	95	127	161	208	238	266	N/A
対照抗体１	68	102	132	192	266	324	314	N/A
対照抗体１	88	129	165	245	328	410	385	N/A

【０６６６】

発現後、アカゲザルＧｖＨＤモデルにおいて使用する抗体を、２ステップから成る精製プロセスを使用して精製した。まず、抗体を、ＭａｂＳｅｌｅｃｔ　ＳｕＲｅ（ＧＥ　Ｈｅａｌｔｈｃａｒｅ）親和性クロマトグラフィーを使用して精製した。抗体を、ＩｇＧ　Ｅｌｕｔｅ試薬（Ｐｉｅｒｃｅ）を使用してＭａｂＳｅｌｅｃｔ　ＳｕＲｅ培地から溶出させ、この溶出した抗体を、第２の精製ステップの前に、酢酸ナトリウム（ｐＨ５．５）緩衝液中で透析した。その後、抗体をカチオン交換によって精製し、酢酸ナトリウム緩衝液中で塩化ナトリウムを用いて溶出させた。溶出した抗体をＰＢＳ中で透析した。抗体をＯＤ２８０ｎｍでの分光光度計によって定量化し、所望の濃度（１０ｍｇ／ｍｌ）に調整した。抗体純度をＳＤＳ－ＰＡＧＥ分析及びサイズ排除クロマトグラフィーによって評定した。内毒素濃度を、Ｅｎｄｏｓａｆｅ　ＰＴＳ及びＬＡＬ　Ｔｅｓｔ　Ｃａｒｔｒｉｄｇｅ（Ｃｈａｒｌｅｓ　Ｒｉｖｅｒ　Ｌａｂｏｒａｔｏｒｉｅｓ）を用いて測定した。

【０６６７】

〔実施例５〕

同種ＰＢＭＣ混合リンパ球反応における抗ＯＸ４０Ｌ抗体の効果の決定

ＰＢＭＣを、密度勾配遠心分離によってＦｉｃｏｌｌ－Ｐａｑｕｅ　ｐｌｕｓ（ＧＥ　Ｈｅａｌｔｈｃａｒｅ）を使用して白血球除去系チャンバから単離する（ＮＨＳＢＴ）。ＰＢＭＣを、３７℃で１時間、ＰＢＳ中１０μｇ／ｍＬでマイトマイシンＣ（Ｓｉｇｍａ）と共に事前インキュベートする。その後、細胞をＰＢＳ中で３回洗浄し、３００ｘｇで３分間遠心分離させ、各洗浄の後に上清を吸引する。同種ＰＢＭＣ（マイトマイシンＣ処理していない）を、２×１０^{6}／ｍｌの濃度、５０μＬ／ウェルで、１０％ｖ／ｖのＦＢＳを補充したＲＰＭＩ中の９６ウェルプレートに添加する。抗ＯＸ４０Ｌ抗体を培地中で希釈し、５０μＬ／ウェルでＰＢＭＣ（マイトマイシンＣ処理なし）を含む９６ウェルプレートに添加する。その後、マイトマイシンＣ処理したＰＢＭＣを、細胞数／ウェルに基づいて１：１～４：１の範囲のマイトマイシンＣ処理対非マイトマイシンＣの最終細胞比で、９６ウェルプレート中の同種ＰＢＭＣ（マイトマイシンＣ処理していない）に添加する。細胞を、３７℃／５％のＣＯ$_{2}$で５日間インキュベートする。５日後、ＴＮＦ－α、ＩＦＮ－γ、及びＩＬ－２を、製造業者の推奨に従い、デュオセットＥＬＩＳＡ（Ｒ＆Ｄ　Ｓｙｓｔｅｍｓ）によって測定する。増殖を、製造業者の推奨に従い、ＣＦＳＥ希釈によって測定する。

【０６６８】

ＰＢＭＣを、密度勾配遠心分離によってＦｉｃｏｌｌ－Ｐａｑｕｅ　ｐｌｕｓ（ＧＥ　Ｈｅａｌｔｈｃａｒｅ）を使用して白血球除去系チャンバから単離した（ＮＨＳＢＴ）。ＰＢＭＣを、３７℃で１時間、ＰＢＳ中１０μｇ／ｍＬでマイトマイシンＣ（Ｓｉｇｍａ）と共に事前インキュベートした。その後、細胞をＰＢＳ中で３回洗浄し、３００ｘｇで

３分間遠心分離させ、各洗浄の後に上清を吸引した。一部の場合にはＣＤ３陽性であり、他の場合にはＣＤ４及びＣＤ８陽性であるＴ－リンパ球（Ｔ細胞）を、製造業者の推奨に従い、磁気マイクロビーズ（Ｍｉｌｔｅｎｙｉ　Ｂｉｏｔｅｃｈ）を使用して負の選択法によって同種ＰＢＭＣから単離した。一部の場合には、マイトマイシンＣ処理していないＰＢＭＣをＴ細胞の代わりに使用した。単離した細胞を３００ｘｇ／５分で遠心分離させ、培地中に再懸濁し（培地は、ＲＰＭＩ（Ｇｉｂｃｏ）＋１０％ｖ／ｖのＦＢＳまたはＲＰＭＩ＋５％ｖ／ｖのヒトＡＢ血清のいずれかとして定義した）、５０μＬの細胞懸濁液を組み換えＯＸ４０Ｌ及び抗体滴定を含む９６ウェルプレートに添加して、2×10^{5}細胞／ウェルの最終濃度を達成した。抗ＯＸ４０Ｌ抗体を最終アッセイ濃度１００ｎＭに培地中で希釈し、あるいは一部の場合には、抗体の滴定を使用した。抗体を、５０μＬ／ウェルで、Ｔ細胞またはマイトマイシンＣ処理していないＰＢＭＣを含む９６ウェルプレートに添加した。その後、マイトマイシンＣ処理したＰＢＭＣを、細胞数／ウェルに基づいて１：１～４：１の範囲のマイトマイシンＣ処理したＰＢＭＣ対Ｔ細胞（またはＰＢＭＣ）の最終細胞比で、９６ウェルプレート中のＴ細胞またはマイトマイシンＣ処理していないＰＢＭＣに添加した。細胞を、３７℃／５％のCO_2で５日間インキュベートした。５日後、ＩＦＮ－γを、製造業者の推奨に従い、デュオセットＥＬＩＳＡ（Ｒ＆Ｄ　Ｓｙｓｔｅｍｓ）によって測定した。

【０６６９】

抗ＯＸ４０Ｌ抗体は、因子放出（ＩＦＮ－γ，）の２０％超の阻害（方程式８を参照）が抗体の不在下で対照ウェルと比べて観察された場合に、同種ＰＢＭＣ／Ｔ細胞ＭＬＲまたはＰＢＭＣ／ＰＢＭＣｌ　ＭＬＲにおいて阻害剤であると定義した。行った４つの実験のうち１つの実験は技術的失敗であり、同種ドナー間でのＭＬＲ応答（ＩＦＮ－γ放出）の検出なしと定義した。残りの３つの実験のうち３つ全てが、２Ｄ１０、１０Ａ０７、及び陽性対照１で阻害を示した（因子放出（ＩＦＮ－γ，）の２０％超の阻害が抗体の不在下で対照ウェルと比べて観察された）が、３つの実験のうちの１つでは、アイソタイプ対照抗体でも顕著な阻害が観察された（図２）。ＰＢＭＣ／ＰＢＭＣ　ＭＬＲについて、３つの実験を行った。３つの実験のうち２つは、ＩＦＮ－γ放出がないかまたは低かったために技術的失敗と見なした。しかしながら、別の実験では、１０Ａ０７は、アイソタイプ対照と比較してＩＦＮ－γ放出を阻害した。

【０６７０】

方程式８：阻害パーセンテージ（ＭＬＲ）

記載の通りに決定したＩＦＮ－γまたはＩＬ２放出（ｐｇ／ｍＬ）に基づき、

【０６７１】

【数７】

$$\text{阻害\%}=100-\frac{\text{試料値－刺激剤なし}}{\text{ＩｇＧなし－刺激剤なし}}\times100$$

【０６７２】

刺激剤なし＝Ｔ細胞またはマイトマイシンＣ処理していないＰＢＭＣのみ（マイトマイシンＣ処理したＰＢＭＣなし）を添加するウェル

ＩｇＧなし＝Ｔ細胞または一部の場合にはマイトマイシンＣ処理していないＰＢＭＣ、及びマイトマイシンＣ処理したＰＢＭＣを添加するが、ＩｇＧなしのウェル。

【０６７３】

〔実施例６〕

ＣＤ３で下準備したヒトＴリンパ球に対する抗ＯＸ４０Ｌ抗体の効果の決定

抗ＯＸ４０ＬがＯＸ４０Ｌの不在下でＴ細胞応答を誘導する能力を有するか否かを決定するために、以下のアッセイを、拮抗的抗ＯＸ４０Ｌ抗体を記載しているＷａｎｇ　ｅｔ　ａｌ．，　Ｈｙｂｒｉｄｏｍａ　（Ｌａｒｃｈｍｔ）．，　２００９　Ａｕｇ；　２８（４）：２６９－７６から取り入れた方法を使用して行った。

【０６７４】

マウス抗ヒトＣＤ３抗体（Ｂｅｃｔｏｎ　Ｄｉｃｋｉｎｓｏｎ）を滅菌ＰＢＳ中で０．５μｇ／ｍＬに希釈し、５０μＬ／ウェルを９６ウェルの高結合滅菌プレートに添加し、一晩４℃でインキュベートした。

【０６７５】

一晩のインキュベーションに続いて、プレートを１００μＬの滅菌ＰＢＳで３回洗浄した。

【０６７６】

Ｔ細胞（ＣＤ３陽性）を、実施例３に記載のように、白血球除去系チャンバ由来のＰＢＭＣから単離した（ＮＨＳＢＴ）。単離に続いて、細胞を１００μＬでウェルに添加して、1×10^{5}細胞／ウェルの最終濃度を達成した。

【０６７７】

試験抗体をＲＰＭＩ＋１０％のＦＢＳ中で希釈し、５０μＬまたは１００μＬ／ウェルをセルプレートに添加して、１０μｇ／ｍＬの最終アッセイ濃度を達成した。一部の場合には、マウス抗ヒトＣＤ２８抗体（Ｂｅｃｔｏｎ　Ｄｉｃｋｉｎｓｏｎ）も、１μｇ／ｍｌの最終濃度でウェルに添加した。

【０６７８】

アッセイを５日間インキュベートした。５日後、上清を採取して、上清中のＩＦＮ－γレベルを実施例５に記載のように決定した。

【０６７９】

アッセイを４人の独立したドナーにおいて行い、ＩｇＧ４ＰＥフォーマットの１０Ａ０７または２Ｄ１０の添加の影響は、ヒトＩｇＧ４ＰＥアイソタイプ対照で観察されたものを超えては観察されなかった（ＩＦＮ－γ放出）。

【０６８０】

〔実施例７〕

アカゲザル移植片対宿主病（ＧｖＨＤ）モデル

ＧｖＨＤ治療用の単剤療法予防薬としての抗体２Ｄ１０　ＩｇＧ４ＰＥの有効性をハプロタイプ一致造血幹細胞移植（ＨＳＣＴ）のアカゲザルモデルにおいて調査した。このモデルにおけるＨＳＣＴを受けているサルの生存期間は６～８日であったことがこれまでに説明されている（Ｍｉｌｌｅｒ，　Ｗｅｓｔｏｎ　Ｐ．，　ｅｔ　ａｌ．“ＧＶＨＤ　ａｆｔｅｒ　ｈａｐｌｏｉｄｅｎｔｉｃａｌ　ｔｒａｎｓｐｌａｎｔａｔｉｏｎ：　ａ　ｎｏｖｅｌ，　ＭＨＣ－ｄｅｆｉｎｅｄ　ｒｈｅｓｕｓ　ｍａｃａｑｕｅ　ｍｏｄｅｌ　ｉｄｅｎｔｉｆｉｅｓ　ＣＤ２８$^{-}$　ＣＤ８$^{+}$　Ｔ　ｃｅｌｌｓ　ａｓ　ａ　ｒｅｓｅｒｖｏｉｒ　ｏｆ　ｂｒｅａｋｔｈｒｏｕｇｈ　Ｔ－ｃｅｌｌ　ｐｒｏｌｉｆｅｒａｔｉｏｎ　ｄｕｒｉｎｇ　ｃｏｓｔｉｍｕｌａｔｉｏｎ　ｂｌｏｃｋａｄｅ　ａｎｄ　ｓｉｒｏｌｉｍｕｓ－ｂａｓｅｄ　ｉｍｍｕｎｏｓｕｐｐｒｅｓｓｉｏｎ．”　Ｂｌｏｏｄ，　１１６，　２４（２０１０）：５４０３－５４１８）。

【０６８１】

全ての移植は、１つのＭＨＣハプロタイプが不整合である半同胞対の間であった（「ハロタイプ一致ＨＣＴ」）。レシピエント動物は、線形加速器を使用する放射線に基づく事前の骨髄破壊的移植前処置を有した。線量率：７ｃＧｙ／分。線量１０２０ｃＧｙを４分割で与えた。白血球除去ドナー動物は、ＧＣＳＦモビリゼーションを受け、Ｓｐｅｃｔｒａ　Ｏｐｔｉａアフェレーシスマシンを使用して白血球除去を受けた。以下の表は、４つの成功した実験についての、ＣＤ３$^{+}$細胞及びＣＤ３４$^{+}$細胞の全有核細胞（ＴＮＣ）線量の１ｋｇ当たりの線量を付与する。

【０６８２】

【表３】

表３

レシピエントID#	動物番号	レシピエント体重(kg)	TNC (10^9/kg)	$CD3^+$T細胞 10^6/kg	$CD34^+$細胞 10^6/kg
A14079	#2	9.75	1.13	149.76	0.51
A14081	#4	7.02	2.99	389.08	4.79
A14082	#5	7.6	2.24	312.95	2.69
A14087	#6	5.75	3.44	385.66	9.99

【０６８３】

２Ｄ１０　ＩｇＧ４ＰＥを、移植後－２日目、＋５日目、＋１２日目、＋１９日目、＋２６日目、＋３３日目、＋４０日目、＋４７日目に行われる計画した投薬スケジュールに従って、１０ｍｇ／ｋｇで投薬した。深刻な有害投薬副作用は、動物のいずれでも、２Ｄ１０　ＩｇＧ４ＰＥの投与の結果として見られなかった。

【０６８４】

試料を研究過程で採取して、ドナーキメラ現象（表４）、及び白血球数もモニタリングした。主要エンドポイントは生存率に基づき、１５日間の生存率を成功した予防的治療の兆候と見なした（予防法なしでの６～８日の記録された生存と比較して）。ＧｖＨＤ格付けスコア、Ｔ細胞活性化のマーカー（Ｋｉ－６７及びグランザイムＢなど）、及び遺伝子アレイ分析を用いた完全な病理学及び組織学を計画したが、それらは組み入れることができなかった。

【０６８５】

これらの研究のための方法は、本質的には、Ｍｉｌｌｅｒ　ＷＰ　ｅｔ　ａｌ．，（２０１０）“ＧＶＨＤ　ａｆｔｅｒ　ｈａｐｌｏｉｄｅｎｔｉｃａｌ　ｔｒａｎｓｐｌａｎｔａｔｉｏｎ：　ａ　ｎｏｖｅｌ，　ＭＨＣ－ｄｅｆｉｎｅｄ　ｒｈｅｓｕｓ　ｍａｃａｑｕｅ　ｍｏｄｅｌ　ｉｄｅｎｔｉｆｉｅｓ　ＣＤ２８－　ＣＤ８＋　Ｔ　ｃｅｌｌｓ　ａｓ　ａ　ｒｅｓｅｒｖｏｉｒ　ｏｆ　ｂｒｅａｋｔｈｒｏｕｇｈ　Ｔ－ｃｅｌｌ　ｐｒｏｌｉｆｅｒａｔｉｏｎ　ｄｕｒｉｎｇ　ｃｏｓｔｉｍｕｌａｔｉｏｎ　ｂｌｏｃｋａｄｅ　ａｎｄ　ｓｉｒｏｌｉｍｕｓ－ｂａｓｅｄ　ｉｍｍｕｎｏｓｕｐｐｒｅｓｓｉｏｎ”，　Ｂｌｏｏｄ　１１６：５４０３－５４１８に記載されている通りである。

【０６８６】

ＧｖＨＤの臨床病期分類

臨床症状の採点は、観測的評定及び臨床化学に基づき、表５に示す基準に従って分類した。

【０６８７】

組織病理学

肺、肝臓、皮膚、及び消化管を含む組織を剖検にて収集し、ホルマリン固定及びパラフィン包埋した。切片を切り取り、スライドに載せ、リンパ球による組織浸潤の可視化のために、ヘマトキシリン／エオシンまたはＴ細胞マーカーで染色した。調製したスライドを、半定量的採点システムを使用して、ＧｖＨＤの専門知識を用いた組織病理学によって読み取った。

【０６８８】

フローサイトメトリー

長期的末梢血試料を、リンパ球サブセットのフローサイトメトリー分析のために造血幹細胞移植前後及び剖検にて収集した。肺、肝臓、結腸、脾臓、及びリンパ節（腋窩及び鼠径）組織を剖検にて収集し、フローサイトメトリーによるリンパ球浸潤の後続分析に適切なように、解離または酵素的に消化した。試料を、以下のＴリンパ球マーカープローブを使用するＬＳＲＦｏｒｔｅｓｓａ細胞分析器（ＢＤ　Ｂｉｏｓｃｉｅｎｃｅｓ）を使用し

て、多色フローサイトメトリーによって分析した：ＣＤ３（ＡＰＣ－Ｃｙ７標識；クローンＳＰ３４－２、ＢＤ Ｂｉｏｓｃｉｅｎｃｅｓ）、ＣＤ４（ＢＶ７８６標識；クローンＬ２００、ＢＤ Ｂｉｏｓｃｉｅｎｃｅｓ）、ＣＤ８（ＢＵＶ３９５標識；クローンＲＰＡ－Ｔ８、ＢＤ Ｂｉｏｓｃｅｎｃｅｓ）、ＣＤ２８（ＰＥ－Ｃｙ７標識；クローンＣＤ２８．２、ｅＢｉｏｓｃｉｅｎｃｅ）、ＣＤ９５（ＢＶ６０５標識；クローンＤＸ２、Ｂｉｏｌｅｇｅｎｄ）。増殖している細胞集団がＫｉ－６７（ＦＩＴＣ標識、Ｄａｋｏ）を使用して特定された。ＣＤ４＋またはＣＤ８＋Ｔ細胞サブコンパートメントを以下のように標識した：未感作Ｔ細胞（ＣＤ２８＋／ＣＤ９５－）、中心記憶Ｔ細胞（ＣＤ２８＋／ＣＤ９５＋）、エフェクター記憶Ｔ細胞（ＣＤ２８－／ＣＤ９５＋）。

【０６８９】

キメラ現象

末梢血またはＴ細胞（ＣＤ３＋／ＣＤ２０－）キメラ現象を、ドナー特異的アンプリコン及びレシピエント特異的アンプリコンのピーク高を比較することによる分岐的ドナー及びレシピエント特異的ＭＨＣ結合マイクロサテライトマーカーを使用して、決定した（Ｐｅｎｅｄｏ ＭＣ ｅｔ ａｌ．，（２００５）“Ｍｉｃｒｏｓａｔｅｌｌｉｔｅ ｔｙｐｉｎｇ ｏｆ ｔｈｅ アカゲザル ＭＨＣ ｒｅｇｉｏｎ”，Ｉｍｕｎｏｇｅｎｅｔｉｃｓ ５７：１９８－２０９）。

【０６９０】

【表４】

表５

ステージ	皮膚	肝臓（ビリルビン）	ＧＩ
０	ＧＶＨＤ湿疹なし	基線の４倍未満の増加	下痢なし
１	表面積の２５％未満の湿疹	４～８倍の増加	「軽度」の下痢
２	表面積の２５～５０％の湿疹	８～２０倍の増加	「中等度」の下痢
３	表面積の５０％超の湿疹	２０～５０倍の増加	「重度」の下痢
４	水疱形成を伴う全身性紅皮症	５０倍超の増加	「極めて重度」の下痢

【０６９１】

ＨＳＣＴを受ける動物を全部で６匹選択した。これら６匹の動物のうち、実験の２つを技術的失敗と見なし、１匹の動物は、生着を妨げた可能性のあるウイルスの再活性化を経験し、ドナーキメラ現象が最初は上昇したがその後下降したことが分かり、これは、第２の再構成が自己再増殖であったことを示す。単一の高いサイトメガロウイルス（ＣＭＶ）及びアカゲザルリンフォクリプトウイルス（ｒｈＬＣＶ）の読み値が、キメラ現象及び自己再増殖における下降と同時に見られた。第２の技術的失敗は、アフェレーシスマシンが移植に好適な産生物を産生できなかった結果である。レシピエント動物は既に放射線照射を受けていたため、殺処分せざるを得なかった。他の４匹の動物は全て１５日の主要エンドポイントまで生存し、過去及び同時両方の予防法なしの対照と比較して、延長した生存を呈した。以下の表６は、この研究における各動物の要約を概説する。

【０６９２】

〔実施例８〕

薬物動態

０日目、アカゲザルに、１０ｍｇ／ｋｇの２Ｄ１０、または適切な非機能的アイソタイ

プ対照抗体を投薬した。試料を、＋１５分後、＋１時間後、＋８時間後、＋２４～３６時間後、＋７２時間後、＋９６時間後、＋８日目、＋１１日目日目、＋１５日目、＋１８日目、＋２２日目、＋２５日目に採取した。２９日目、動物に、３ｍｇ／ｋｇの２Ｄ１０、または適切な非機能的アイソタイプ対照抗体を投薬した。試料を、２９日目で、＋１５分、＋１時間、＋８時間後に採取し、その後、２９日目の後は２４～３６時間後に採取した。試料を、＋３２日目、＋３３日目、＋３６日目、＋３９日目、＋４３日目、＋４６日目、＋５０日目、＋５３日目、＋５７日目、＋６０日目、＋６４日目、＋６７日目、及び＋７１日目に採取し続けた。

【０６９３】

ＰＫを決定するために、抗ヒトＩｇＧをＰＢＳ中で８μｇ／ｍＬに希釈し、一晩４℃で、９６ウェルの低自動蛍光高タンパク質結合プレート（Ｃｏｓｔａｒ）に吸収させる。過剰なＩｇＧをＰＢＳ－Ｔｗｅｅｎで洗浄して除去し、ウェルを、１時間室温で５％ｗ／ｖの脱脂粉乳（ブロッキング緩衝液）によってブロックする。インキュベーション期間の後、プレートを洗浄する。血漿試料をブロッキング緩衝液中で希釈する（複数回希釈）。標準曲線も、１０μｇ／ｍＬからブロッキング緩衝液中で希釈した（３分の１希釈）陽性対照抗ＯＸ４０Ｌ抗体の滴定を使用して生成する。滴定または希釈血漿試料のいずれかをプレートに添加し、１時間室温でインキュベートする。その後、プレートを洗浄し、ビオチン化ヒトＯＸ４０Ｌをブロッキング緩衝液中で５００ｎｇ／ｍＬに希釈して、１時間室温で添加する。その後、プレートを洗浄し、ＤＥＬＦＩＡ（登録商標）アッセイ緩衝液（Ｐｅｒｋｉｎ　Ｅｌｍｅｒ）中で希釈したストレプトアビジン－ユーロピウム３＋複合体（ＤＥＬＦＩＡ（登録商標）検出、ＰｅｒｋｉｎＥｌｍｅｒ）を添加する。その後、プレートをトリス緩衝生理食塩水＋０．１％のｔｗｅｅｎ中で３回洗浄する。その後、ＤＥＬＦＩＡ　Ｅｎｈａｎｃｅｍｅｎｔ溶液（Ｐｅｒｋｉｎ　Ｅｌｍｅｒ）をプレートに添加し、時間分解蛍光をＥｎｖｉｓｉｏｎプレートリーダー（ＰｅｒｋｉｎＥｌｍｅｒ）上で６１５ｎｍで測定する。血漿中の抗ＯＸ４０Ｌ抗体の濃度を、４パラメータロジスティクス曲線適合アルゴリズムを使用して、蛍光値を、試料ウェルから、陽性対照抗ＯＸ４０Ｌ抗体の滴定から生成した標準曲線から得たものに外挿することによって計算する。

【０６９４】

【0695】

表４

動物番号	動物 ID	生存期間（日数）	全血キメラ現象(%)															
			0 日目	1 日目	4 日目	5 日目	6 日目	7 日目	8 日目	11 日目	12 日目	14 日目	15 日目	16 日目	18 日目	20 日目	21 日目	23 日目	26 日目
(#1)	(13189)	(24)	0		6.6			27.5		90.4		81.8			19.7		0		
#2	14079	16	0	5.7		31.7			66.3		82.3		88.2	79.8					
(#3)	(14075)	(0)																	
#4	14081	26		22.9		68.2			82.9		92.1		97.5			98.4		98.8	98.7
#5	14082	22				91.4			98.4		98.6		99.1			99.2		98.6	
#6	14087	16		16.6		66.3			97.4		99.5		99.4						

括弧の中のデータは、感染（動物１）または技術的失敗（動物３）に起因する実験失敗を示す。

【表５】

【表６】

表６

2D10 IgG4PE アカゲザル GvHD 研究	
動物	詳細
＃1	24 日目まで生存。2D10 IgG4PE の投薬を 4 回受ける。二相性の造血再構成；末梢血キメラ現象データは、CMV 及び rhLCV 感染の証拠を伴って、初期のドナー生着、続く自己再増殖を示した。ウイルス感染が生着不全の可能性のある原因と考えられる。技術的失敗として記録。
＃2	16 日目まで生存。2D10 IgG4PE の投薬を 3 回受ける。15 日目でピーク末梢血ドナーキメラ現象の 88%。CMV または rhLCV 感染の証拠なし。研究はカテーテル部位の創傷に起因して獣医の助言により終了（治療または GvHD には関係しないと見なす）。剖検での GvHD 病期分類：皮膚 1（25%未満の湿疹）；肝臓 0（ビリルビン上昇なし）；GI0（下痢なし）。
＃3	技術的失敗として記録。アフェレーシス設備の失敗により、大幅に準最適な血液産生がもたらされた。
＃4	26 日目まで生存。2D10 IgG4PE の投薬を 4 回受ける。明確な造血再構成、23 日目までにピーク末梢血ドナーキメラ現象の 99%。CMV または rhLCV 感染の証拠なし。研究は陰嚢浮腫に起因して獣医の助言により終了。剖検での GvHD 病期分類：皮膚 2（25～50%未満の湿疹）；肝臓 0（ビリルビン上昇なし）；GI0（下痢なし）。肉眼的剖検により顕性の内臓 GvHD は確認されなかった。
＃5	22 日目まで生存。2D10 IgG4PE の投薬を 4 回受ける。明確な造血再構成、12 日目までにピーク末梢血ドナーキメラ現象の 99%。CMV または rhLCV 感染の証拠なし。研究は、高い出血リスクを伴う持続性の血小板数の低下、及び急性全身性 GVHD の兆候の発現に起因して終了。剖検での GvHD 病期分類：皮膚 3（50%超の湿疹）；肝臓 1（4～8 倍のビリルビン上昇）；GI3（重症の下痢）。
＃6	16 日目まで生存。2D10 IgG4PE の投薬を 3 回受ける。明確な造血再構成、12 日目にピーク末梢血ドナーキメラ現象の 100%。CMV または rhLCV 感染の証拠なし。剖検での GvHD 病期分類：皮膚 2（25～50%の湿疹）；肝臓 1（4～8 倍のビリルビン上昇）；GI2（中等度の下痢）。

【０６９６】

【表７】

配列リスト

配列番号			
1	10A07	VH ヌクレオチド配列	GAGGTGCAACTGGTGGAGTCTGGGGGAGTCTTGGTACAGCCGGGGGGGTCCCTGAGACTCTCCTGTGCAG CCTCTGGATTCACCTTTAGCAGTTATATTATGACTTGGGTCCGCCAGGCTCCAGGGAAGGGGCTGGAGTG GGTCTCAGGTATTAGTGGTAGTGGTGGTACATACTACGCAGACTCCATGAAGGGCCGGTTCACCATC TCCAGAGACAATTCCAAGAACACGCTGTATCTGCAGATGAACAGCCTGAGAGTCGAGGACACGGCCGTAT ATTACTGTGCGAAAGATCGGTTAGGTCCGATTACTTTGGTTCGGGGGGGGCTATTACTACGGTATGGACGT CTGGGGCCAAGGGACCACGGTCACCGTCTCCTCA
2		VH アミノ酸配列	EVQLVESGGVLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYIMTWVRQAPGKGLEWVSGISGSGGGTYYADSMKGRFTI SRDNSKNTLYLQMNSLRVEDTAVYYCAKDRLGPITLVRGGYYYGMDVWGQGTTVTVSS
3		HCDR1 ヌクレオチド配列(IMGT)	GGATTCACCTTTAGCAGTTATATT
4		HCDR1 アミノ酸配列(IMGT)	GFTFSSYI
5		HCDR2 ヌクレオチド配列(IMGT)	ATTAGTGGTAGTGGTGGTGGTACA
6		HCDR2 アミノ酸配列(IMGT)	ISGSGGGT
7		HCDR3 ヌクレオチド配列(IMGT)	GCGAAAGATCGGTTAGGTCCGATTACTTTGGTTCGGGGGGGCTATTACTACGGTATGGACGTC
8		HCDR3 アミノ酸配列(IMGT)	AKDRLGPITLVRGGYYYGMDV
9		HCDR1 ヌクレオチド配列(KABAT)	AGTTATATTATGACT
10		HCDR1 アミノ酸配列(KABAT)	SYIMT
11		HCDR2 ヌクレオチド配列(KABAT)	GGTATTAGTGGTAGTGGTGGTGGTACATACTACGCAGACTCCATGAAGGGC
12		HCDR2 アミノ酸配列(KABAT)	GISGSGGGTYYADSMKG
13		HCDR3 ヌクレオチド配列(KABAT)	GATCGGTTAGGTCCGATTACTTTGGTTCGGGGGGGGCTATTACTACGGTATGGACGTC
14		HCDR3 アミノ酸配列(KABAT)	DRLGPITLVRGGYYYGMDV
15		VL ヌクレオチド配列	GACATCCAGATGACCCAGTCTCCATCCTCCCTGTCTGCATCTGTAGGAGACAGAGTCACCATCACTTGCC GGGCAAGTCAGAGCATTAGCGACTATTTAAATTGGTATCAGCAGAAACCAGGGAAAGCCCCTAAGTTCCT GATCTATGCTGCATCCAGTTTGCAAAGTGGAGTCCCATCAAGGTTCAGTGGCAGTGGATCTGGGACAGAT TTCACTCTCACCGTCAGCAGTCTGCAACCTGAAGATTTTGCAACTTACTACTGTCAACAGAGTTACAGTA CCCCTCGGACGTTCGGCCAAGGGACCAGGGTGGAAAATCAAA

【０６９７】

【表８】

16	VL アミノ酸配列	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQSISDYLNWYQQKPGKAPKFLIYAASSLQSGVPSRFSGSGSGTD FTLTVSSLQPEDFATYYCQQSYSTPRTFGQGTRVEIK	
17	LCDR1 ヌクレオチド配列(IMGT)	CAGAGCATTAGCGACTAT	
18	LCDR1 アミノ酸配列(IMGT)	QSISDY	
19	LCDR2 ヌクレオチド配列(IMGT)	GCTGCATCC	
20	LCDR2 アミノ酸配列(IMGT)	AAS	
21	LCDR3 ヌクレオチド配列(IMGT)	CAACAGAGTTACAGTACCCCTCGGACG	
22	LCDR3 アミノ酸配列(IMGT)	QQSYSTPRT	
23	LCDR1 ヌクレオチド配列(KABAT)	CGGGCAAGTCAGAGCATTAGCGACTATTTAAAT	
24	LCDR1 アミノ酸配列(KABAT)	RASQSISDYLN	
25	LCDR2 ヌクレオチド配列(KABAT)	GCTGCATCCAGTTTGCAAAGT	
26	LCDR2 アミノ酸配列(KABAT)	AASSLQS	
27	LCDR3 ヌクレオチド配列(KABAT)	CAACAGAGTTACAGTACCCCTCGGACG	
28	LCDR3 アミノ酸配列(KABAT)	QQSYSTPRT	
29	重鎖ヌクレオチド配列	GAGGTCCAGCTCGTGGAAAGCGGAGGAGTGCTCGTGCAGCCTGGAGGCAGCCTCAGGCTGTCCTGTGCCG CCTCCGGCTTCACCTTCAGCAGCTACATCATGACCTGGGTGAGGCAGGCTCCCGGAAAAGGCCTGGAGTG GGTGTCCGGCATCTCCGGATCCGGAGGAGGCACATACTACGCCGACAGCATGAAGGGCCGGTTCACCATC AGCCGGGACAATAGCAAGAATACCCTCTACCTGCAAATGAACAGCCTGCGGGTGGAGGATACCGCCGTGT ACTACTGCGCCAAAGATAGGCTGGGCCCCATTACCCTCGTGAGGGGAGGCTATTACTACGGCATGGATGT GTGGGGCCAGGGCACCACCGTGACAGTGTCCAGCGCCAGCACCAAGGGCCCTTCCGTGTTCCCCCTGGCC CCTTGCAGCAGGAGCACCTCCGAATCCACAGCTGCCCTGGGCTGTCTGGTGAAGGACTACTTTCCCGAGC CCGTGACCGTGAGCTGGAACAGCGGCGCTCTGACATCCGGCGTCCACACCTTTCCTGCCGTCCTGCAGTC CTCCGGCCTCTACTCCCTGTCCTCCGTGGTGACCGTGCCTAGCTCCTCCCTCGGCACCAAGACCTACACC TGTAACGTGGACCACAAACCCTCCAACACCAAGGTGGACAAAGCGGTCGAGAGCAAGTACGGCCCTCCCT GCCCTCCTTGTCCTGCCCCCGAGTTCGAAGGCGGACCCAGCGTGTTCCTGTTCCCTCCTAAGCCCAAGGA CACCCTCATGATCAGCCGGACACCCGAGGTGACCTGCGTGGTGGTGGATGTGAGCCAGGAGGACCCTGAG GTCCAGTTCAACTGGTATGTGGATGGCGTGGAGGTGCACAACGCCAAGACAAAGCCCCGGGAAGAGCAGT	

【０６９８】

【表９】

			TCAACTCCACCTACAGGGTGGTCAGCGTGCTGACCGTGCTGCATCAGGACTGGCTGAACGGCAAGGAGTA CAAGTGCAAGGTCAGCAATAAGGGACTGCCCAGCAGCATCGAGAAGACCATCTCCAAGGCTAAAGGCCAG CCCCGGGAACCTCAGGTGTACACCCTGCCTCCCAGCCAGGAGGAGATGACCAAGAACCAGGTGAGCCTGA CCTGCCTGGTGAAGGGATTCTACCCTTCCGACATCGCCGTGGAGTGGGAGTCCAACGGCCAGCCCGAGAA CAATTATAAGACCACCCCTCCCGTCCTCGACAGCGACGGATCCTTCTTCTTTCTGTACTCCAGGCTGACCGTG GATAAGTCCAGGTGGCAGGAAGGCAACGTGTTCAGCTGCTCCGTGATGCACGAGGCCCTGCACAATCACT ACACCCAGAAGTCCCTGAGCCTGTCCCTGGGAAAG
30	重鎖アミノ酸配列		EVQLVESGGVLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYIMTWVRQAPGKGLEWVSGISGSGGTYYADSMKGRFTI SRDNSKNTLYLQMNSLRVEDTAVYYCAKDRLGPITLVRGGYYYGMDVWGQGTTVTVSSASTKGPSVFPLA PCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTKTYT CNVDHKPSNTKVDKRVESKYGPPCPPCPAPEFEGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSQEDPE VQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTISKAKGQ PREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSRLTV DKSRWQEGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSLGK
31	軽鎖ヌクレオチド配列		GACATCCAGATGACCCAGTCCCCTTCCTCCCTGTCCGCCTCCGTGGGAGACAGGGTGACCATCACCTGCC GGGCCAGCCAGTCCATCAGCGACTACCTGAACTGGTATCAGCAGAAGCCCGGCAAGGCCCCTAAGTTCCT GATCTACGCCGCTTCCTCCCTGCAGTCCGGAGTGCCCAGCAGGTTTTCCGGCTCCGGATCCGGCACCGAC TTCACCCTGACCGTGTCCAGCCTGCAGCCCGAGGACTTCGCCACCTACTACTGCCAGCAGAGCTACAGCA CCCCCAGGACATTTGGCCAGGGCACCCGGGTGGAGATCAAGAGGACCGTCGCTGCCCCCTCCGTGTTTAT CTTCCCCCCCAGCGACGAGCAGCTGAAATCCGGCACCGCCTCCGTGGTCTGCCTGCTGAATAACTTCTAC CCTCGGGAGGCCAAGGTGCAGTGGAAGGTGGACAACGCCCTGCAGAGCGGAAACTCCCAGGAGAGCGTGA CCGAGCAGGACTCCAAGGACTCCACATACTCCCTGTCCTCCACCCTGACACTGTCCAAGGCCGATTACGA GAAGCACAAGGTGTACGCCTGCGAGGTGACCCACCAGGGACTGTCCTCCCCCGTGACCAAGTCCTTCAAC CGGGGCGAGTGC
32	軽鎖アミノ酸配列		DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQSISDYLNWYQQKPGKAPKFLIYAASSLQSGVPSRFSGSGSGTD FTLTVSSLQPEDFATYYCQQSYSTPRTFGQGTRVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFY PREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFN RGEC

【０６９９】

【表１０】

33	02D10	VH ヌクレオチド配列	GAGGTGCAGTTGGTGGAGTCTGGGGGAGGCTTGGTACAGCCTGGGGGGTCCCTGAGACTCTCCTGTGCAG CCTCTGGATTCACTTTTAGCAACTATGCCATGAACTGGGTCCGCCAGGCTCCAGGGAAGGGGCTGGAGTG GGTCTCAACTATTAGCGGAAGTGGTGGTGCCACAAGGTATGCAGACTCCGTGAAGGGCCGATTCACCATA TCCAGAGACAATTCCAGGAACACGGTGTATCTGCAAATGAACAGCCTGAGAGTCGAGGACACGGCCGTTT TTTACTGTACGAAAGATCGGCTCATTATGGCTACGGTTCGGGGACCCTATTACTACGGTATGGACGTCTG GGGCCAAGGGACCACGGTCACCGTCTCCTCA
34		VH アミノ酸配列	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSNYAMNWVRQAPGKGLEWVSTISGSGGATRYADSVKGRFTI SRDNSRNTVYLQMNSLRVEDTAVFYCTKDRLIMATVRGPYYYGMDVWGQGTTVTVSS
35		HCDR1 ヌクレオチド配列(IMGT)	GGATTCACTTTTAGCAACTATGCC
36		HCDR1 アミノ酸配列(IMGT)	GFTFSNYA
37		HCDR2 ヌクレオチド配列(IMGT)	ATTAGCGGAAGTGGTGGTGCCACA
38		HCDR2 アミノ酸配列(IMGT)	ISGSGGAT
39		HCDR3 ヌクレオチド配列(IMGT)	ACGAAAGATCGGCTCATTATGGCTACGGTTCGGGGACCCTATTACTACGGTATGGACGTC
40		HCDR3 アミノ酸配列(IMGT)	TKDRLIMATVRGPYYYGMDV
41		HCDR1 ヌクレオチド配列(KABAT)	AACTATGCCATGAAC
42		HCDR1 アミノ酸配列(KABAT)	NYAMN
43		HCDR2 ヌクレオチド配列(KABAT)	ACTATTAGCGGAAGTGGTGGTGCCACAAGGTATGCAGACTCCGTGAAGGGC
44		HCDR2 アミノ酸配列(KABAT)	TISGSGGATRYADSVKG
45		HCDR3 ヌクレオチド配列(KABAT)	GATCGGCTCATTATGGCTACGGTTCGGGGACCCTATTACTACGGTATGGACGTC
46		HCDR3 アミノ酸配列(KABAT)	DRLIMATVRGPYYYGMDV
47		VL ヌクレオチド配列	GACATCCAGATGACCCAGTCTCCATCCTCCCTGTCTGCATCTGTAGGAGACAGAGTCACCATCACTTGCC GGGCAAGTCAGAGCATTAGCAGCTATTTAAATTGGTATCAGCAGAAACCAGGGAAAGCCCCTAACCTCCT GATCTATGCTGCATCCAGTTTGCAAAGTGGGGTCCCATCAAGGTTCAGTGGCAGTGGATCTGAGACAGAT TTCACTCTCACCATCAGCAGTCTGCAACCTGAAGATTTTGCAACTTACTACTGTCAACAGAGTCACAGTG TCTCATTCACTTTCGGCCCTGGGACCAAAGTGGATATCAAA
48		VL アミノ酸配列	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQSISSYLNWYQQKPGKAPNLLIYAASSLQSGVPSRFSGSGSETD FTLTISSLQPEDFATYYCQQSHSVSFTFGPGTKVDIK

【０７００】

【表１１】

49	LCDR1 ヌクレオチド配列(IMGT)	CAGAGCATTAGCAGCTAT
50	LCDR1 アミノ酸配列(IMGT)	QSISSY
51	LCDR2 ヌクレオチド配列(IMGT)	GCTGCATCC
52	LCDR2 アミノ酸配列(IMGT)	AAS
53	LCDR3 ヌクレオチド配列(IMGT)	CAACAGAGTCACAGTGTCTCATTCACT
54	LCDR3 アミノ酸配列(IMGT)	QQSHSVSFT
55	LCDR1 ヌクレオチド配列(KABAT)	CGGGCAAGTCAGAGCATTAGCAGCTATTTAAAT
56	LCDR1 アミノ酸配列(KABAT)	RASQSISSYLN
57	LCDR2 ヌクレオチド配列(KABAT)	GCTGCATCCAGTTTGCAAAGT
58	LCDR2 アミノ酸配列(KABAT)	AASSLQS
59	LCDR3 ヌクレオチド配列(KABAT)	CAACAGAGTCACAGTGTCTCATTCACT
60	LCDR3 アミノ酸配列(KABAT)	QQSHSVSFT
61	重鎖ヌクレオチド配列	GAAGTGCAACTGGTGGAGTCCGGAGGAGGCCTGGTGCAGCCTGGAGGAAGCCTGAGGCTGAGCTGTGCCG CCAGCGGCTTCACCTTCAGCAACTACGCCATGAACTGGGTGAGGCAGGCCCCTGGCAAGGGACTGGAGTG GGTCTCCACCATCAGCGGCTCCGGAGGCGCTACACGGTACGCCGATAGCGTGAAGGGCCGGTTTACCATT TCCCGGGACAACTCCCGGAACACCGTGTACCTCCAGATGAACAGCCTGAGGGTGGAGGATACCGCCGTGT TCTACTGCACCAAGGACAGGCTGATTATGGCCACCGTGAGGGGACCTTACTACTATGGCATGGATGTGTG GGGCCAGGGCACAACCGTCACCGTGTCCTCCGCCTCCACCAAGGGACCTAGCGTGTTCCCTCTCGCCCCC TGTTCCAGGTCCACACAAGCGAGTCCACCGCTGCCCTCGGCTGTCTGGTGAAAGACTACTTTCCCGAGCCCG TGACCGTCTCCTGGAATAGCGGAGCCCTGACCTCCGGCGTGCACACATTTCCCGCCGTGCTGCAGAGCAG CGGACTGTATAGCCTGAGCAGCGTGGTGACCGTGCCCAGCTCCAGCCTCGGCACCAAAACCTACACCTGC AACGTGGACCACAAGCCCTCCAACACCAAGGTGGACAAGCGGGTGGAGAGCAAGTACGGCCCCCCTTGCC CTCCTTGTCCTGCCCCTGAGTTCGAGGGAGGACCCTCCGTGTTCCTGTTTCCCCCAAACCCAAGGACAC CCTGATGATCTCCCGGACACCCGAGGTGACCTGTGTGGTCGTGGACGTCAGCCAGGAGGACCCCGAGGTG CAGTTCAACTGGTATGTGGACGGCGTGGAGGTGCACAATGCCAAAACCAAGCCCAGGGAGGAGCAGTTCA ATTCCACCTACAGGGTGGTGAGCGTGCTGACCGTCCTGCATCAGGATTGGCTGAACGGCAAGGAGTACAA GTGCAAGGTGTCCAACAAGGGACTGCCCAGCTCCATCGAGAAGACCATCAGCAAGGCTAAGGGCCAGCCG

【０７０１】

【表１２】

			AGGGAGCCCCAGGTGTATACCCTGCCTCCTAGCCAGGAAGAGATGACCAAGAACCAAGTGTCCCTGACCT
			GCCTGGTGAAGGCATTCTACCCCTCCGACATCGCCGTGGAGTGGGAGAGCAATGGCCAGCCCGAGAACAA
			CTACAAAACAACCCCTCCCGTGCTCGATAGCGACGGCAGCTTCTTTCTCTACAGCCGGCTGACAGTGGAC
			AAGAGCAGGTGGCAGGAGGGCAACGTGTTCTCCTGTTCCGTGATGCACGAGGCCCTGCACAATCACTACA
			CCCAGAAGAGCCTCTCCCTGTCCCTGGGCAAG
62		重鎖アミノ酸配列	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSNYAMNWVRQAPGKGLEWVSTISGSGGATRYADSVKGRFTI
			SRDNSRNTVYLQMNSLRVEDTAVFYCTKDRLIMATVRGPYYYGMDVWGQGTTVTVSSASTKGPSVFPLAP
			CSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTKTYTC
			NVDHKPSNTKVDKRVESKYGPPCPPCPAPEFEGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSQEDPEV
			QFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTISKAKGQP
			REPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSRLTVD
			KSRWQEGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSLGK
63		軽鎖ヌクレオチド配列	GACATCCAGATGACCCAGTCCCCTTCCTCCCTGAGCGCTAGCGTGGGAGATAGGGTGACCATCACCTGCA
			GGGCCTCCCAAAGCATCTCCTCCTACCTGAACTGGTACCAGCAGAAACCCGGCAAGGCCCCCAACCTGCT
			GATCTACGCTGCCTCCTCCCTCCAGTCCGGCGTGCCTAGCAGGTTTAGCGGCTCCGGAAGCGGAGACCGAC
			TTCACCCTGACCATCTCCTCCCTGCAGCCCGAGGACTTCGCCACCTACTACTGCCAGCAATCCCACAGCG
			TGTCCTTCACCTTCGGCCCCGGCACCAAGGTGGACATCAAGAGGACCGTGGCCGCCCCCTCCGTGTTCAT
			CTTTCCCCCCTCCGATGAACAGCTGAAGAGCGGCACCGCTAGCGTGGTGTGCCTGCTGAACAACTTCTAC
			CCCAGGGAGGCCAAGGTGCAGTGGAAGGTGGACAATGCCCTGCAGTCCGGCAACAGCCAGGAGAGCGTGA
			CCGAGCAGGACTCCAAGGACAGCACCTACAGCCTGTCCTCCACCCTGACCCTGTCCAAGGCCGACTACGA
			GAAGCACAAAGTGTACGCCTGCGAAGTGACCCATCAGGGCCTGAGCTCCCCCGTGACCAAGTCCTTTAAC
			AGGGGCGAGTGC
64		軽鎖アミノ酸配列	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQSISSYLNWYQQKPGKAPNLLIYAASSLQSGVPSRFSGSGSETD
			FTLTISSLQPEDFATYYCQQSHSVSFTFGPGTKVDIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFY
			PREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFN
			RGEC

【０７０２】

【表１３】

65	09H04	VH ヌクレオチド配列	CAGGTGCAGCTGGTGGAGTCTGGGGGAGGCTTGGTCAAGCCTGGAGGGTCCCTGAGACTCTCCTGTGCAG CCTCTCGATTCACCCTCAGTGACTACATGACCTGGATCCGCCAGGCTCCAGGGAAGGGGCTGGAGTG GGTTTCATACATTAGTAGTAGTGGTAATACCATATACTACGCAGACTCTGTGAAGGGCCGATTCACCATC TCCAGGGACAACGCCAAGAACTCACTGTATCTGCAAATGAACAGCCTGAGAGCCGAGGACACGGCCGTGT ATTACTGTGCGAGAGATCTGAGTGGGAGCTACTACTACGGTATGGACGTCTGGGGCCAAGG GACCACGGTCACCGTCTCCTCA
66		VH アミノ酸配列	QVQLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASRFTLSDYYMTWIRQAPGKGLEWVSYISSSGNTIYYADSVKGRFTI SRDNAKNSLYLQMNSLRAEDTAVYYCARDLSGSYWDYYYGMDVWGQGTTVTVSS
67		HCDR1 ヌクレオチド配列(IMGT)	CGATTCACCCTCAGTGACTACTAC
68		HCDR1 アミノ酸配列(IMGT)	RFTLSDYY
69		HCDR2 ヌクレオチド配列(IMGT)	ATTAGTAGTAGTGGTAATACCATA
70		HCDR2 アミノ酸配列(IMGT)	ISSSGNTI
71		HCDR3 ヌクレオチド配列(IMGT)	GCGAGAGATCTGAGTGGGAGCTACTGGGACTACTACTACGGTATGGACGTC
72		HCDR3 アミノ酸配列(IMGT)	ARDLSGSYWDYYYGMDV
73		HCDR1 ヌクレオチド配列(KABAT)	GACTACTACATGACC
74		HCDR1 アミノ酸配列(KABAT)	DYYMT
75		HCDR2 ヌクレオチド配列(KABAT)	TACATTAGTAGTAGTGGTAATACCATATACTACGCAGACTCTGTGAAGGGC
76		HCDR2 アミノ酸配列(KABAT)	YISSSGNTIYYADSVKG
77		HCDR3 ヌクレオチド配列(KABAT)	GATCTGAGTGGGAGCTACTACTACGGTATGGACGTC
78		HCDR3 アミノ酸配列(KABAT)	DLSGSYWDYYYGMDV
79		VL ヌクレオチド配列	GCCATCCAGTTGACCCAGTCTCCATCCTCCCTGTCTACATCTGTAGGAGACAGAGTCACCATCGCTTGCC GGGCAAGTCAGGGCATTAACAATGCTTTAGCCTGGTATCAGCAGAAACCAGGGAAAGCTCCTAAGCTCCT GATCTATGATGCCTCCAGTTTGGAAAGTGGGGTCCCATCAAGGTTCAGCGGCAGTGGATCTGGGACAGAT TTCACTCTCACCATCAGCAGCCTGCAGCCTGAAGATTTTGCAACTTATTACTGTCAACAGTTTAATAGTT ACCCTCGGACGTTCGGCCAAGGGACCAAGGTGGAAATCAAA
80		VL アミノ酸配列	AIQLTQSPSSLSTSVGDRVTIACRASQGINNALAWYQQKPGKAPKLLIYDASSLESGVPSRFSGSGSGTD FTLTISSLQPEDFATYYCQQFNSYPRTFGQGTKVEIK

【０７０３】

【表１４】

81		LCDR1 ヌクレオチド配列(IMGT)	CAGGGCATTAACAATGCT
82		LCDR1 アミノ酸配列(IMGT)	QGINNA
83		LCDR2 ヌクレオチド配列(IMGT)	GATGCCTCC
84		LCDR2 アミノ酸配列(IMGT)	DAS
85		LCDR3 ヌクレオチド配列(IMGT)	CAACAGTTTAATAGTTACCCTCGGACG
86		LCDR3 アミノ酸配列(IMGT)	QQFNSYPRT
87		LCDR1 ヌクレオチド配列(KABAT)	CGGGCAAGTCAGGGCATTAACAATGCTTTAGCC
88		LCDR1 アミノ酸配列(KABAT)	RASQGINNALA
89		LCDR2 ヌクレオチド配列(KABAT)	GATGCCTCCAGTTTGGAAAGT
90		LCDR2 アミノ酸配列(KABAT)	DASSLES
91		LCDR3 ヌクレオチド配列(KABAT)	CAACAGTTTAATAGTTACCCTCGGACG
92		LCDR3 アミノ酸配列(KABAT)	QQFNSYPRT
93	19H01	VH ヌクレオチド配列	GAGGTGCAGCTGGTGGAGTCTGGGGGAGGCTTGGTAAAGCCTGGGGGGTCCCTTAGACTCTCCTGTGCAG CCTCTGGATTCACTTTCAGTAACGCCTGGATGAGCTGGGTCCGCCAGGCTCCAGGGAAGGGGCTGGAGTG GGTTGGCCGTATTAAAAGCAAAACTGAAGGTGGGACAACAGACTACGCTGCACCCGTGAAAGGCAGATTC ACCATCTCAAGAGATGATTCAAAAAACACGCTGTATCTGCAAATGAACAGCCTGAAAACCGAGGACACAG CCGTGTATTACTGTACCACAGATTTTCTATGGTTCGGGGAGTTCCCTTTTGACTACTGGGGCCAGGGAAC CCTGGTCACCGTCTCCTCA
94		VH アミノ酸配列	EVQLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFSNAWMSWVRQAPGKGLEWVGRIKSKTEGGTTDYAAPVKGRF TISRDDSKNTLYLQMNSLKTEDTAVYYCTTDFLWFGEFPFDYWGQGTLVTVSS
95		HCDR1 ヌクレオチド配列(IMGT)	GGATTCACTTTCAGTAACGCCTGG
96		HCDR1 アミノ酸配列(IMGT)	GFTFSNAW
97		HCDR2 ヌクレオチド配列(IMGT)	ATTAAAAGCAAAACTGAAGGTGGGACAACA
98		HCDR2 アミノ酸配列(IMGT)	IKSKTEGGTT
99		HCDR3 ヌクレオチド配列(IMGT)	ACCACAGATTTTCTATGGTTCGGGGAGTTCCCTTTTGACTAC
100		HCDR3 アミノ酸配列(IMGT)	TTDFLWFGEFPFDY
101		HCDR1 ヌクレオチド配列(KABAT)	AACGCCTGGATGAGC

【０７０４】

【表１５】

102		HCDR1 アミノ酸配列(KABAT)	NAWMS
103		HCDR2 ヌクレオチド配列(KABAT)	CGTATTAAAAGCAAAACTGAAGGTGGGACAACAGACTACGCTGCACCCGTGAAAGGC
104		HCDR2 アミノ酸配列(KABAT)	RIKSKTEGGTTDYAAPVKG
105		HCDR3 ヌクレオチド配列(KABAT)	GATTTTCTATGGTTCGGGGAGTTCCCTTTTGACTAC
106		HCDR3 アミノ酸配列(KABAT)	DFLWFGEFPFDY
107		VL ヌクレオチド配列	GACATCCAGATGACCCAGTCTCCATCCTCCCTGTCTGCATCTGTAGGAGACAGAGTCACCATCACTTGCC GGGCGAGTCAGGGCATTAGCAATTATTTAGCCTGGTATCAGCAGAAACCAGGGAAAATTCCTAAGCTCCT GATCTATGCTGCATCCACTTTGCAATCAGGGGTCCCATCTCGGTTCAGTGGCAGTGGATCTGGGACAGAT TTCACTCTCACCATCAGCAGCCTGCAGCCTGAAGATGTTGCAACTTATTACTGTCAAAAGTATAACAGTG CCCCTCGGACGTTCGGCCAAGGGACCAAGGTGGAAATCAAA
108		VL アミノ酸配列	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQGISNYLAWYQQKPGKIPKLLIYAASTLQSGVPSRFSGSGSGTD FTLTISSLQPEDVATYYCQKYNSAPRTFGQGTKVEIK
109		LCDR1 ヌクレオチド配列(IMGT)	CAGGGCATTAGCAATTAT
110		LCDR1 アミノ酸配列(IMGT)	QGISNY
111		LCDR2 ヌクレオチド配列(IMGT)	GCTGCATCC
112		LCDR2 アミノ酸配列(IMGT)	AAS
113		LCDR3 ヌクレオチド配列(IMGT)	CAAAAGTATAACAGTGCCCCCTCGGACG
114		LCDR3 アミノ酸配列(IMGT)	QKYNSAPRT
115		LCDR1 ヌクレオチド配列(KABAT)	CGGGCGAGTCAGGGCATTAGCAATTATTTAGCC
116		LCDR1 アミノ酸配列(KABAT)	RASQGISNYLA
117		LCDR2 ヌクレオチド配列(KABAT)	GCTGCATCCACTTTGCAATCA
118		LCDR2 アミノ酸配列(KABAT)	AASTLQS
119		LCDR3 ヌクレオチド配列(KABAT)	CAAAAGTATAACAGTGCCCCCTCGGACG
120		LCDR3 アミノ酸配列(KABAT)	QKYNSAPRT

【０７０５】

【表１６】

121	ヒトIgG4重鎖定常領域#1	IGHG*01	重鎖定常領域ヌクレオチド配列
			gcttccaccaagggcccatccgtcttccccctggcgccctgctccaggagcacctccgagagcacagccg ccctgggctgcctggtcaaggactacttccccgaaccggtgacggtgtcgtggaactcaggcgccctgac cagcggcgtgcacaccttcccggctgtcctacagtcctcaggactctactccctcagcagcgtggtgacc gtgccctccagcagcttgggcacgaagacctacacctgcaacgtagatcacaagcccagcaacaccaagg tggacaagagagttgagtccaaatatggtcccccatgcccatcatgcccagcacctgagttcctgggggg accatcagtcttcctgttcccccaaaacccaaggacactctcatgatctcccggacccctgaggtcacg tgcgtggtggtggacgtgagccaggaagaccccgaggttccagttcaactggtacgtggatggcgtggagg tgcataatgccaagacaaagccgcgggaggagcagttcaacagcacgtaccgtgtggtcagcgtcctcac cgtcctgcaccaggactggctgaacggcaaggagtacaagtgcaaggtctccaacaaaggcctcccgtcc tccatcgagaaaaccatctccaaagccaaagggcagccccgagagccacaggtgtacaccctgcccccat cccaggaggagatgaccaagaaccaggtcagcctgacctgcctggtcaaaggcttctacccagcgacat cgccgtggagtgggagagcaatgggcagccggagaacaactacaagaccacgcctcccgtgctggactcc gacggctccttctttcctctacagcaggctaaccgtggacaagagcaggtggcaggaggggaatgtcttct catgctccgtgatgcatgaggctctgcacaacaccactacacagaagagcctctccctgtctctgggtaa a
122			重鎖定常領域アミノ酸配列
			ASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVT VPSSSLGTKTYTCNVDHKPSNTKVDKRVESKYGPPCPSCPAPEFLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVT CVVVDVSQEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPS SIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDS DGSFFLYSRLTVDKSRWQEGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSLGK
123	ヒトIgG4重鎖定常領域#2	IGHG*02	重鎖定常領域ヌクレオチド配列
			gcttccaccaagggcccatccgtcttccccctggcgccctgctccaggagcacctccgagagcacagccg ccctgggctgcctggtcaaggactacttccccgaaccggtgacggtgtcgtggaactcaggcgccctgac cagcggcgtgcacaccttcccggctgtcctacagtcctcaggactctactccctcagcagcgtggtgacc gtgccctccagcagcttgggcacgaagacctacacctgcaacgtagatcacaagcccagcaacaccaagg tggacaagagagttgagtccaaatatggtcccccgtgcccatcatgcccagcacctgagttcctgggggg accatcagtcttcctgttcccccaaaacccaaggacactctcatgatctcccggacccctgaggtcacg tgcgtggtggtggacgtgagccaggaagaccccgaggttccagttcaactggtacgtggatggcgtggagg tgcataatgccaagacaaagccgcgggaggagcagttcaacagcacgtaccgtgtggtcagcgtcctcac

【０７０６】

【表１７】

				cgtcgtgcaccaggactggctgaacggcaaggagtacaagtgcaaggtctccaacaaaggcctcccgtcc tccatcgagaaaaccatctccaaagccaaagggcagccccgagagccacaggtgtacaccctgcccccat cccaggaggagatgaccaagaaccaggtcagcctgacctgcctggtcaaaggcttctaccccagcgacat cgccgtggagtgggagagcaatgggcagccggagaacaactacaagaccacgcctcccgtgctggactcc gacggctccttctttcctctacagcaggctaaccgtggacaagagcaggtggcaggaggggaatgtcttct catgctccgtgatgcatgaggctctgcacaaccactacacgcagaagagcctctccctgtctctgggtaa a
	重鎖定常領域アミノ酸配列			ASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVT VPSSSLGTKTYTCNVDHKPSNTKVDKRVESKYGPPCPSCPAPEFLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVT CVVVDVSQEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVVHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPS SIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDS DGSFFLYSRLTVDKSRWQEGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSLGK
124				
125	ヒト IgG4 重鎖定常領域 #3	IGHG*03	重鎖定常領域ヌクレオチド配列	gcttccaccaagggcccatccgtcttccccctggcgccctgctccaggagcacctccgagagcacagccg ccctgggctgcctggtcaaggactacttccccgaaccggtgacggtgtcgtggaactcaggcgccctgac cagcggcgtgcacaccttcccggctgtcctacagtcctcaggactctactccctcagcagcgtggtgacc gtgccctccagcagcttgggcacgaagacctacacctgcaacgtagatcacaagcccagcaacaccaaagg tggacaagagagttgagtccaaatatggtccccccatgcccatcatgcccagcacctgagttcctgggggg accatcagtcttcctgttcccccaaaacccaaggacactctcatgatctcccggaccctgaggtcacg tgcgtggtggtggacgtgagccaggaagaccccgaggttccagttcaactggtacgtggatggcgtggagg tgcataatgccaagacaaagccgcgggaggagcagttcaacagcacgtaccgtgtggtcagcgtcctcac cgtcctgcaccaggactggctgaacggcaaggagtacaagtgcaaggtctccaacaaaggcctcccgtcc tccatcgagaaaaccatctccaaagccaaagggcagccccgagagccacaggtgtacaccctgcccccat cccaggaggagatgaccaagaaccaggtcagcctgacctgcctggtcaaaggcttctaccccagcgacat cgccgtggagtgggagagcaatgggcagccggagaacaactacaagaccacgcctcccgtgctggactcc gacggctccttctttcctctacagcaagctcaccgtggacaagagcaggtggcaggaggggaacgtcttct catgctccgtgatgcatgaggctctgcacaaccactacacgcagaagagcctctccctgtctctgggtaa a

【０７０７】

【表１８】

126		重鎖定常領域アミノ酸配列	ASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVT VPSSSLGTKTYTCNVDHKPSNTKVDKRVESKYGPPCPSCPAPEFLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVT CVVVDVSQEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPS SIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDS DGSFFLYSKLTVDKSRWQEGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSLGK
127	IgG4 重鎖 定常 領域	重鎖定常領域スクレオチド配列 -合成バージョンA	gcctccaccaagggcccatccgtcttccccctggcgccctgctccaggagcacctccgagagcacggccg ccctgggctgcctggtcaaggactacttccccgaaccagtgacggtgtcgtggaactcaggcgccctgac cagcggcgtgcacaccttcccggctgtcctacagtcctcaggactctactccctcagcagcgtggtgacc gtgccctccagcagctgggcacgaagacctacacctgcaacgtagatcacaagcccagcaacaccaagg tggacaagagagttgagtccaaatatggtcccccatgcccaccatgcccagcgcctgaatttgaggggg accatcagtcttcctgttccccccaaaacccaaggacactctcatgatctcccggaccccctgaggtcacg tgcgtggtggtggacgtgaggccaggaagaccccgaggtccagtttcaactggtacgtggatggcgtgagg tgcataatgccaagacaaagccgcgggaggagcagttcaacagcacgtaccgtgtggtcagcgtcctcac cgtcctgcaccaggactggctgaacggcaaggagtacaagtgcaaggtctccaacaaaggcctcccgtca tcgatcgagaaaaccatctccaaagccaaagggcagccccgagagccacaggtgtacaccctgcccccat cccaggaggagatgaccaagaaccaggtcagcctgacctgcctggtcaaaggcttctaccccagcgacat cgccgtggagtgggagagcaatgggcagccggagaacaactacaagaccacgcctcccgtgctggactcc gacggatccttcttcctctacagcaggctaaccgtggacaagagcaggtggcaggaggggaatgtcttct catgctccgtgatgcatgaggctctgcacaacaccactacacacagaagagcctctccctgtctctgggtaa a
128	IgG4 重鎖 定常 領域- IgG4- PE	重鎖定常領域アミノ酸配列-合成バージョンA、B、及びCによってコードされる	ASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVT VPSSSLGTKTYTCNVDHKPSNTKVDKRVESKYGPPCPPCPAPEFEGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVT CVVVDVSQEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPS SIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDS DGSFFLYSRLTVDKSRWQEGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSLGK

【０７０８】

【表１９】

129	IgG4 重鎖 定常 領域	重鎖定常領域スクレオチド配列 -合成バージョンB	Gcctccaccaagggacctagcgtgttccctctgccccctgttccaggtccacaagcgagtccaccgctg ccctcggctgtctggtgaaagactactttccgagcccgtgaccgtctcctggaatagcggagccctgac ctccggcgtgcacacatttcccgccgtgctgcagagcagcggactgtatagcctgagcagcgtggtgacc gtgcccagctccagcctcggcaccaaaacctacacctgcaacgtggaccacaagcccctccaacaccaagg tggacaagcgggtggagagcaagtacggccccctgccctcctgtcctgcccctgagttcgagggagg accctccgtgttcctgtttcccccaaccaaggacaccctgatgatctcccggacacccgaggtgacc tgtgtggtcgtggacgtcagccaggaggaccccgaggtgcagttcaactggtatgtggacggcgtggagg tgcacaatgccaaaaccaagcccaggaggagcagttcaatttccacctacagggtggtgagcgtgctgac cgtcctgcatcaggattggctgaacggcaaggagtacaagtgcaaggtgtccaacaaggactgcccagc tccatcgagaagaccatcagcaaggctaagggccagccgaggagccccagtgtatacctgcctccta gccaggaagagatgaccaagaacaggtcctgacctgcctggtgaaggattctacccctccgacat cgccgtggagtgggagagcaatggccagccgagaacaactacaaaacaccctcccgtgctcgatagc gacggcagcttctttctctacagccggctgacagtggacaagagcaggtggcaggaggggcaacgtgttct cctgttccgtgatgcacgaggccctgcacaatcactacacccagaagagcctctccctgtccctgggcaa g
130	IgG4 重鎖 定常 領域	重鎖定常領域スクレオチド配列 -合成バージョンC	gccagcaccaagggcccttccgtgttccccctggccccttgcagcaggagcacctccgaatccacagctg ccctgggctgtctggtgaaggactactttcccgagcccgtgaccgtgagctggaacagcggcgctctgac atccggcgtccacaccttttcctgccgtcctgcagtcctccggcctctactccctgtcctccgtggtgacc gtgcctagctcctccctcggcaccaagacctacacctgtaacgtggaccacaaaaccctccaacaccaagg tggacaaacgggtcgagagcaagtacggccctccctgccctccttgtcctgccccgagttcgaaggcgg acccagcgtgttcctgtttcctgtaagcccaaggacaccctcatgatcagccggacacccgaggtgacc tgcgtggtggtggatgtgagccagaggaggaccctgaggtccagttcaactggtatgtggatggcgtggagg tgcacaacgccaagacaaagccccgggaagagcagttcaactccacctacagggtggtcagcgtgctgac cgtgctgcatcaggactggctgaacggcaaggagtacaagtgcaaggtcagcaataagggactgcccagc agcatcgagaagaccatctccaaggctaaagggcagccccgggaacctcaggtgtacaccctgcctccca gccaggaggagatgaccaagaaccaggtgagcctgacctgcctggtgaagggattctaccctccgacat cgccgtggagtgggagtccaacgggcagccccgagaacaattataagaccacccctcccgtcctcgacagc gacggatccttctttctgtactccaggctgaccgtggataagtccaggtggcaggaaggcaacgtgttca

【０７０９】

【表２０】

				gctgctccgtgatgcacgaggccctgcacaatcactacacccagaagtccctgagcctgtccctgggaaa g
131	IgG4 重鎖 定常 領域		重鎖定常領域スクレオチド配列 -合成バージョンD	gcctccaccaagggcccatccgtcttccccctggcgccctgctccaggagcacctccgagagcacggccg ccctgggctgcctggtcaaggactacttccccgaaccagtgacggtgtcgtggaactcaggcgccctgac cagcggcgtgcacaccttcccggctgtcctacagtcctcaggactctactccctcagcagcgtggtgacc gtgccctccagcagcttgggcacgaagacctacacctgcaacgtagatcacaagcccagcaacaccaagg tggacaagagagttgagtccaaatatggtcccccatgcccaccatgcccagcgcctccagtttgcgggggg accatcagtcttcctgttcccccaaaacccaaggacactctcatgatctcccggaccccctgaggtcacg tgcgtggtggtggacgtgagccaggaagaccccgaggtccagttcaactggtacgtggatggcgtggagg tgcataatgccaagacaaagccgcgggaggagcagttcaacagcacgtaccgtgtggtcagcgtcctcac cgtcctgcaccaggactggctgaacggcaaggagtacaagtgcaaggtctccaacaaaggcctcccgtca tcgatcgagaaaaccatctccaaagccaaagggcagccccgagagccacaggtgtacaccctgcccccat cccaggaggagatgaccaagaaccaggtcagcctgacctgcctggtcaaaggcttctaccccagcgacat cgccgtggagtgggagagcaatgggcagccggagaacaactacaagaccacgcctcccgtgctggactcc gacggatccttcttcctctacagcaggctaaccgtggacaagagcaggtggcaggagggaatgtcttct catgctccgtgatgcatgaggctctgcacaaccactacacagaagagcctctccctgtctctgggtaa a
132			重鎖定常領域アミノ酸配列-合成バージョンDによってコードされる	ASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVT VPSSSLGTKTYTCNVDHKPSNTKVDKRVESKYGPPCPPCPAPPVAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVT CVVVDVSQEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPS SIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDS DGSFFLYSRLTVDKSRWQEGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSLGK

【０７１０】

【表２１】

133	ヒトIgG1重鎖定常領域		重鎖定常領域ヌクレオチド配列
			gcctccaccaagggcccatcggtcttccccctggcaccctcctccaagagcacctctgggggcacagcgg ccctgggctgcctggtcaaggactacttccccgaaccggtgacggtgtcgtggaactcaggcgccctgac cagcggcgtgcacaccttcccggctgtcctacagtcctcaggactctactccctcagcagcgtggtgacc gtgccctccagcagcttgggcacccagacctacatctgcaacgtgaatcacaagcccagcaacaccaagg tggacaagaaagtggagcccaaatcttgtgacaaaactcacacatgcccaccgtgcccagcacctgaact cgcgggggcaccgtcagtcttcctcttccccccaaaacccaaggacaccctcatgatctcccggaccccct gaggtcacatgcgtggtggtggacgtgagccacgaagaccctgaggtcaagtttcaactggtacgtggacg gcgtggaggtgcataatgccaagacaaagccgcgggaggagcagtacaacagcacgtaccgtgtggtcag cgtcctcaccgtcctgcaccaggactggctgaatggcaaggagtacaagtgcaaggtctccaacaaagcc ctcccagccccccatcgagaaaaccatctccaaagccaaagggcagccccgagaaccacaggtgtacaccc tgccccatcccgggatgagctgaccaagaaccaggtcagcctgacctgcctggtcaaaggctctatcc cagcgacatcgccgtggagtgggagagcaatgggcagccggagaacaactacaagaccacgcctcccgtg ctggactccgacggctccttctttcctctacagcaagctcaccgtggacaagagcaggtggcagcaggga acgtcttctcatgctccgtgatgcatgaggctctgcacaaccactacacgcagaagagcctctccctgtc tccgggtaaa
134		重鎖定常領域アミノ酸配列	ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVT VPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELAGAPSVFLFPPKPKDTLMISRTP EVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKA LPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPV LDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK
135	ヒトCκ定常領域	IGKC*01	Cκ軽鎖定常領域ヌクレオチド配列
			cgtacggtggccgctcccttccgtgttcatcttcccacctccgacgagctgaagtccggcaccgcttt ctgtcgtgtgcctgctgaacaacttctaccccgcgaggccaaggtgcagtggaaggtggacaacgccct gcagtccggcaactcccaggaatccgtgaccgagcaggactccaaggacagcacctactccctgtcctcc accctgaccctgtccaaggccgactacgagaagcacaaggtgtacgcctgcgaagtgacccaccagggcc tgtctagcccctgtgaccaagtctttcaaccgggcgagtgt
136			Cκ軽鎖定常領域アミノ酸配列
			RTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSS TLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC

【０７１１】

【表２２】

137	ヒト Cκ 定常領域	IGKC*02	Cκ 軽鎖定常領域ヌクレオチド配列	cgaactgtggctgcaccatctgtcttcatcttcccgccatctgatgagcagttgaaatctggaactgcct ctgttgtgtgcctgctgaataacttctatcccagaggccaaagtacagtggaaggtggataacgccct ccaatcgggtaactcccaggagagtgtcacagagcaggagcaaggacagcacctacagcctcagcagc accctgacgctgagcaaagcagactacgagaaacacaaagtctacgcccgcgaagtcacccatcagggcc tgagctcgcccgtcacaaagagcttcaacaggggagagtgt
138			Cκ 軽鎖定常領域アミノ酸配列	RTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQFSKDSTYSLSS TLTLSKADYEKHKVYAGEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
139	ヒト Cκ 定常領域	IGKC*03	Cκ 軽鎖定常領域ヌクレオチド配列	cgaactgtggctgcaccatctgtcttcatcttcccgccatctgatgagcagttgaaatctggaactgcct ctgttgtgtgcctgctgaataacttctatcccagaggccaaagtacagcggaaggtggataacgccct ccaatcgggtaactcccaggagagtgtcacagagcaggagcaaggacagcacctacagcctcagcagc accctgacgctgagcaaagcagactacgagaaacacaaagtctacgcctgcgaagtcacccatcagggcc tgagctcgcccgtcacaaagagcttcaacaggggagagtgt
140			Cκ 軽鎖定常領域アミノ酸配列	RTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQRKVDNALQSGNSQESVTEQFSKDSTYSLSS TLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
141	ヒト Cκ 定常領域	IGKC*04	Cκ 軽鎖定常領域ヌクレオチド配列	cgaactgtggctgcaccatctgtcttcatcttcccgccatctgatgagcagttgaaatctggaactgcct ctgttgtgtgcctgctgaataacttctatcccagaggccaaagtacagtggaaggtggataacgccct ccaatcgggtaactcccaggagagtgtcacagagcaggacaaggacagcacctacagcctcagcagc accctgacgctgagcaaagcagactacgagaaacacaaactctacgcctgcgaagtcacccatcagggcc tgagctcgcccgtcacaaagagcttcaacaggggagagtgt
142			Cκ 軽鎖定常領域アミノ酸配列	RTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSS TLTLSKADYEKHKLYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
143	ヒト Cκ 定常領域	IGKC*05	Cκ 軽鎖定常領域ヌクレオチド配列	cgaactgtggctgcaccatctgtcttcatcttcccgccatctgatgagcagttgaaatctggaactgcct ctgttgtgtgcctgctgaataacttctatcccagaggaggccaaagtacagtggaaggtggataacgccct ccaatcgggtaactcccaggagagtgtcacagagcaggacaaggacagcacctacagcctcagcaac accctgacgctgagcaaagcagactacgagaaacacaaagtctacgcctgcgaagtcacccatcagggcc tgagctcgcccgtcacaaagagcttcaacaggggagagtgc
144			Cκ 軽鎖定常領域アミノ酸配列	RTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSN

【０７１２】

【表２３】

				TLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
145	ヒト Cλ 定常領域	IGC λ1 *01	Cλ 軽鎖定常領域ヌクレオチド配列	cccaaggccaaccccacggtcactctgttcccgccctcctctgaggagctccaagccaacaaggccacac tagtgtctgatcagtgacttctacccgggagctgtgacagtggctggaaggcagatggcagccccgt caaggcgggagtggagacgaccaaaccctccaaacagagcaacaacaagtacgcggccagcagctacctg agcctgacgcccgagcagtggaagtcccacagaagctacagctgccaggtcacgcatgaagggagcaccg tggagaagacagtggcccctacagaatgttca
146			Cλ 軽鎖定常領域アミノ酸配列	PKANPTVTLFPPSSEELQANKATLVCLISDFYPGAVTVAWKADGSPVKAGVETTKPSKQSNNKYAASSYL SLTPEQWKSHRSYSCQVTHEGSTVEKTVAPTECS
147	ヒト Cλ 定常領域	IGC λ1 *02	Cλ 軽鎖定常領域ヌクレオチド配列	ggtcagcccaaggccaaccccactgtcactctgttcccgccctcctctgaggagctccaagccaacaaagg ccacactagtgtgtctgatcagtgacttctacccgggagctgtgacagtggcctggaaggcagatggcag cccgtcaaggcgggagtggagaccaccaaaccctccaaacagagcaacaacaagtacgcggccagcagc tacctgagcctgacgcccgagcagtggaagtcccacagaagctacagctgccaggtcacgcatgaaggga gcaccgtggagaagacagtggcccctacagaatgttca
148			Cλ 軽鎖定常領域アミノ酸配列	GQPKANPTVTLFPPSSEELQANKATLVCLISDFYPGAVTVAWKADGSPVKAGVETTKPSKQSNNKYAASS YLSLTPEQWKSHRSYSCQVTHEGSTVEKTVAPTECS
149	ヒト Cλ 定常領域	IGC λ2 *01	Cλ 軽鎖定常領域ヌクレオチド配列−バージョン A	ggtcagcccaaggccaaccccactgtcactctgttcccgccctcctctgaggagctccaagccaacaaagg ccacactagtgtgtctgatcagtgacttctacccgggagctgtgacagtggcctggaaggcagatggcag cccgtcaaggcgggagtggagaccaccaaaccctccaaacagagcaacaacaagtacgcggccagcagc tacctgagcctgacgcccgagcagtggaagtcccacagaagctacagctgccaggtcacgcatgaaggga gcaccgtggagaagacagtggcccctacagaatgttca
150			Cλ 軽鎖定常領域ヌクレオチド配列−バージョン B	ggccagcctaaggccgctccttctgtgaccctgttcccccatcctccgaggaactgcaggctaacaagg ccaccctcgtgtgcctgatcagcgacttctaccctgggccgtgaccgtggcctggaaggctgatagctc tcctgtgaaggccgggcgtggaaaccaccacccctccaagcagtccaacacaaatacgccgcctcctcc tacctgtccctgaccctgagcagtggaagtcccaccggtcctacagctgccaagtgacccacgagggct
151			Cλ 軽鎖定常領域ヌクレオチド配列−バージョン C	ggccagcctaaagctgccccccagcgtcaccctgtttcctcccctccagcgaggagctccaggccaacaagg ccaccctcgtgtgcctgatctccgacttctatcccggccgctgtgaccgtggcttggaaagccgactccag

【０７１３】

【表２４】

				ccctgtcaaagccggcgtggagaccacccacaccctccaagcagtccaacaacaagtacgccgcctccagc tatctctccctgaccccctgagcagtggaagtcccaccggtcctactcctgtcaggtgacccacgagggct ccaccgtggaaaagaccgtcgccccccaccgagtgctcc
152			Cλ 軽鎖定常領域アミノ酸配列－バージョンA、B、及びCによってコードされる	GQPKANPTVTLFPPSSEELQANKATLVCLISDFYPGAVTVAWKADGSPVKAGVETTKPSKQSNNKYAASS YLSLTPEQWKSHRSYSCQVTHEGSTVEKTVAPTECS
153	ヒト Cλ 定常領域	IGC λ2 *02	Cλ 軽鎖定常領域ヌクレオチド配列	ggtcagcccaaggctgcccccctcggtcactctgttcccgccctcctctgaggagcttcaagccaacaaagg ccacactggtgtgtctcataagtgacttctaccgggagccgtgacagtggcctggaaggcagatagcag cccgtcaaggcgggagtggagaccaccacacctccaaacaaagcaacaacaagtacgcggccagcagc tatctgagcctgacgcctgagcagtggaagtcccacagaagctacagctgccaggtcacgcatgaaggga gcaccgtggagaaagacagtggcccctacagaatgttca
154			Cλ 軽鎖定常領域アミノ酸配列	GQPKAAPSVTLFPPSSEELQANKATLVCLISDFYPGAVTVAWKADSSPVKAGVETTPSKQSNNKYAASS YLSLTPEQWKSHRSYSCQVTHEGSTVEKTVAPTECS
155	ヒト Cλ 定常領域	IGC λ3 *01	Cλ 軽鎖定常領域ヌクレオチド配列	cccaaggctgcccccctcggtcactctgttcccaccctcctctgaggagcttcaagccaacaaggccacac tggtgtgtctcataagtgacttctaccgggagccgtgacagttgcctggaaggcagatagcagcccgt caaggcgggggtggagaccaccacacctccaaacaaagcaacaacaagtacgcggccagcagctacctg agcctgacgcctgagcagtggaagtcccacaaaagctacagctgccaggtcacgcatgaaggagcaccg tggagaagacagttgcccctacggaatgttca
156			Cλ 軽鎖定常領域アミノ酸配列	PKAAPSVTLFPPSSEELQANKATLVCLISDFYPGAVTVAWKADSSPVKAGVETTPSKQSNNKYAASSYL SLTPEQWKSHKSYSCQVTHEGSTVEKTVAPTECS
157	ヒト Cλ 定常領域	IGC λ3 *02	Cλ 軽鎖定常領域ヌクレオチド配列	ggtcagcccaaggctgcccccctcggtcactctgttcccaccctcctctgaggagcttcaagccaacaagg ccacactggtgtgtctcataagtgacttctaccgggggccagtgacagttgcctggaaggcagatagcag ccccgtcaaggcgggggtggagaccaccacacctccaaacaaagcaacaacaagtacgcggccagcagc tacctgagcctgacgcctgagcagtggaagtcccacaaaaagctacagctgccaggtcacgcatgaaggga gcaccgtggagaaagacagtggcccctacggaatgttca
158			Cλ 軽鎖定常領域アミノ酸配列	GQPKAAPSVTLFPPSSEELQANKATLVCLISDFYPGPVTVAWKADSSPVKAGVETTPSKQSNNKYAASS YLSLTPEQWKSHKSYSCQVTHEGSTVEKTVAPTECS

【０７１４】

【表２５】

159	ヒト Cλ 定常領域	IGC λ3 *03	Cλ 軽鎖定常領域ヌクレオチド配列	ggtcagcccaaggctgcccccctcggtcactctgttcccaccctcctctgaggagcttcaagccaacaagg ccacactggtgtgtctcataagtgacttctaccgggagccgtgacagtggcctggaaggcagatagcag cccgtcaaggcgggagtggagaccacacacctccaaacaaagcaacacacaagtacgcggccagcagc tacctgagcctgacgcctgagcagtggaagtcccacaaaagctacagctgccaggtcacgcatgaaggga gcaccgtggagaagacagtggcccctacagaatgttca
160			Cλ 軽鎖定常領域アミノ酸配列	GQPKAAPSVTLFPPSSEELQANKATLVCLISDFYPGAVTVAWKADSSPVKAGVETTTPSKQSNNKYAASS YLSLTPEQWKSHKSYSCQVTHEGSTVEKTVAPTECS
161	ヒト Cλ 定常領域	IGC λ3 *04	Cλ 軽鎖定常領域ヌクレオチド配列	ggtcagcccaaggctgcccccctcggtcactctgttcccgccctcctctgaggagcttcaagccaacaagg ccacactggtgtgtctcataagtgacttctaccgggagccgtgacagtggcctggaaggcagatagcag cccgtcaaggcgggagtggagaccacacacctccaaacaaagcaacacacaagtacgcggccagcagc tacctgagcctgacgcctgagcagtggaagtcccacagaagctacagctgccaggtcacgcatgaaggga gcaccgtggagaagacagtggcccctacagaatgttca
162			Cλ 軽鎖定常領域アミノ酸配列	GQPKAAPSVTLFPPSSEELQANKATLVCLISDFYPGAVTVAWKADSSPVKAGVETTTPSKQSNNKYAASS YLSLTPEQWKSHRSYSCQVTHEGSTVEKTVAPTECS
163	ヒト Cλ 定常領域	IGC λ6 *01	Cλ 軽鎖定常領域ヌクレオチド配列	ggtcagcccaaggctgccccatcggtcactctgttcccgccctcctctgaggagcttcaagccaacaagg ccacactggtgtgcctgatcagtgacttctaccccgggagctgtgaaagtggcctggaaggcagatggcag cccgtcaacacgggagtggagaccacacacctccaaacagagcaacacaacaagtacgcggccagcagc tacctgagcctgacgcctgagcagtggaagtcccacagaagctacagctgccaggtcacgcatgaaggga gcaccgtggagaagacagtggcccctgcagaatgttca
164			Cλ 軽鎖定常領域アミノ酸配列	GQPKAAPSVTLFPPSSEELQANKATLVCLISDFYPGAVKVAWKADGSPVNTGVETTTPSKQSNNKYAASS YLSLTPEQWKSHRSYSCQVTHEGSTVEKTVAPAECS
165	ヒト Cλ 定常領域	IGC λ7 *02	Cλ 軽鎖定常領域ヌクレオチド配列	ggtcagcccaaggctgccccatcggtcactctgttcccacccctcctctgaggagcttcaagccaacaagg ccacactggtgtgtctctgtaagtgacttctacccgggagccgtgacagtggcctggaaggcagatggcag cccgtcaaggtgggagtgggagaccacccaaacccctccaaacaaagcaacacacaagtatgcggcccagcagc tacctgagcctgacgcccgagcagtggaagtcccacagaagctacagctgccgggtcacgcatgaaggga gcaccgtggagaagacagtggcccctgcagaatgctct
166			Cλ 軽鎖定常領域アミノ酸配列	GQPKAAPSVTLFPPSSEELQANKATLVCLVSDFYPGAVTVAWKADGSPVKVGVETTKPSKQSNNKYAASS

【０７１５】

【表２６】

				YLSLTPEQWKSHRSYSCRVTHEGSTVEKTVAPAECS
167	組み換えヒトOX40L（リーダー配列、イソロイシンジッパー、及びFLAG配列を含む）		ヌクレオチド配列	ATGGGCTGGTCCTGCATCATCCTGTTTCTGGTGGCCACCGCCGCCCACCGGCGTGCACAGCGATTACAAGGATG ACGACGATAAGCGTATGAAACAGATCGAAGATAAAATTGAAGAGATCTTGAGCAAAATCTATCATATCGA AAACGAAATTGCGCGTATCAAAAAGCTGATTGGCGAACGTGGCGGTGGCAGCGGTGGCGGTAGCGGCGGT GGCAGCCAGGTGTCCCACCGATACCCCAGGATCCAGTCCATCAAGGTCCAGTTCACCGAGTACAAAAAGG AGAAGGGATTCATCCTGACCTCCCAAAAGGAGGACGAGATCATGAAGGTGCAAAACAACTCCGTGATCAT CAACTGCGACGGCTTCTACCTGATCTCCCTGAAGGGCTACTTCTCCCAGGAGGTGAACATCTCCCTGCAC TACCAGAAGGACGAGGAGCCCCTGTTCCAGCTGAAGAAGGTGAGGTCCGTGAATTCCCTGATGGTGGCCA GCCTGACCTACAAGGACAAGGTCTACCTGAACGTGACCACCGACAACACCAGCCTGGACGACTTCCATGT CAACGGCGGCGAGCTGATCCTGATCCATCAGAACCCCGGCGAGTTTTGCGTCCTG
168			アミノ酸配列	MGWSCIILFLVATATGVHSDYKDDDDKRMKQIEDKIEEILSKIYHIENEIARIKKLIGERGGGSGGGSGG GSQVSHRYPRIQSIKVQFTEYKKEKGFILTSQKEDEIMKVQNNSVIINCDGFYLISLKGYFSQEVNISLH YQKDEEPLFQLKKVRSVNSLMVASLTYKDKVYLNVTTDNTSLDDFHVNGGELILIHQNPGEFCVL
169	組み換えアカゲザルOX40L（リーダー		ヌクレオチド配列	ATGGGCTGGTCCTGCATCATCCTGTTTCTGGTGGCCACCGCCGCCCACCGGCGTGCACAGCGATTACAAGGATG ACGACGATAAGCGTATGAAACAGATCGAAGATAAAATTGAAGAGATCTTGAGCAAAATCTATCATATCGA AAACGAAATTGCGCGTATCAAAAAGCTGATTGGCGAACGTGGCGGTGGCAGCGGTGGCGGTAGCGGCGGT GGCAGCCAGGTGTCCCACCAATACCCCAGGATCCAGTCCATCAAGGTCCAGTTCACCGAGTACAAAAAGG AGGAGGGATTCATCCTGACCTCCCAAAAGGAGGACGAGATCATGAAGGTGCAAAACAACTCCGTGATCAT CAACTGCGACGGCTTCTACCTGATCTCCCTGAAGGGCTACTTCTCCCAGGAGGTGAACATCTCCCTGCAC TACCAGAAGGACGAGGAGCCCCTGTTCCAGCTGAAGAAGGTGAGGTCCGTGAATTCCCTGATGGTGGCCA GCCTGACCTACAAGGACAAGGTCTACCTGAACGTGACCACCGACAACACCAGCCTGGACGACTTCCATGT

【０７１６】

【表２７】

	配列、FLAG、及びイソロイシンジッパーを含む)			CAACGGCGGCGAGCTGATCCTGATCCATCAGAACCCCGGCGAGTTTTGCGTCCTG
170		アミノ酸配列		MGWSCIILFLVATATGVHSDYKDDDDKRMKQIEDKIEEILSKIYHIENEIARIKKLIGERGGGSGGGSGG GSQVSHQYPRIQSIKVQFTEYKKEGFILTSQKEDEIMKVQNNSVIINCDGFYLISLKGYFSQEVNISLH YQKDEEPLFQLKKVRSVNSLMVASLTYKDKVYLNVTTDNTSLDDFHVNGGELILIHQNPGEFCVL
171	組み換えヒトOX40R(リーダー配列及びヒトFc配列を含む)	ヌクレオチド配列		ATGGGCTGGTCCTGCATCATCCTGTTTCTGGTGGCCACCGCCACCGGCGTGCACAGCCTGCATTGCGTGG GCGACACCTATCCCTCCAACGACAGGTGCTGCCACGAGTGCAGGCCTGGAAACGGCATGGTGAGCAGGTG CAGCCGGTCCCAGAATACCGTGTGTAGGCCCTGCGGGCCCCGGCTTTTACAACGACGTGGTGTCCTCCAAG CCCTGCAAGCCCTGCACATGGTGCAACCTGCGGTCCGGCAGCGAGAGGAAGCAGCTCTGCACAGCCACCC AGGACACCGTCTGTAGGTGTAGGGCTGGCACCCAGCCTCTGGACTCCTACAAGCCCGGCGTGGATTGTGC TCCTTGCCCTCCCGGCCATTTCTCCCCTGGCGACAACCAGGCTTGCAAGCCCTGGACCAACTGTACCCTG GCCGGCAAGCATACACTGCAGCCTGCTTCCAACTCCTCCGACGCTATCTGCGAGGATAGGGACCCCCCTG CCACACAACCCCAGGAGACACAGGGCCCTCCTGCTAGGCCCATCACAGTCCAACCCACCGAAGCCTGGCC CAGGACATCCCAAGGCCCTTCCACCAGGCCTGTGGAAGTGCCTGGAGGAAGGGCTGTGGCCATTGAAGGT CGTATGGATGAACCCAAGTCCTGCGACAAGACCCACACCTGTCCCCCTTGTCCTGCCCCTGAACTGCTGG GCGGACCTTCCGTGTTCCTGTTCCCCCCAAAGCCCAAGGACACCCTGATGATCTCCCGGACCCCCGAAGT GACCTGCGTGGTGGTGGATGTGTCCCACGAGGACCCTGAAGTGAAGTTCAATTGGTACGTGGACGGCGTG GAAGTGCACAACGCCAAGACCAAGCCTAGAGAGGAACAGTACAACTCCACCTACCGGGTGGTGTCCGTGC TGACCGTGCTGCACCAGGATTGGCTGAACGGCAAAGAGTACAAGTGCAAGGTGTCCAACAAGGCCCTGCC TGCCCCCATCGAAAAGACCATCTCCAAGGCCAAGGGCCAGCCCCGGGAACCCCAGGTGTACACACTGCCC CCTAGCAGGGACGAGCTGACCAAGAACCAGGTGTCCCTGACCTGTCTCGTGAAAGGCTTCTACCCCTCCG ATATCGCCGTGGAATGGGAGTCCAACGGCCAGCCTGAGAACAACTACAAGACCACCCCCCCTGTGCTGGA

【０７１７】

【表２８】

			CTCCGACGGCTCATTCTTCCTGTACAGCAAGCTGACAGTGGACAAGTCCCGGTGGCAGCAGGGCAACGTG TTCTCCTGCTCCGTGATGCACGAGGCCCTGCACAACCACTACACCCAGAAGTCCCTGTCCCTGAGCCCCT GA
172		アミノ酸配列	MGWSCIILFLVATATGVHSLHCVGDTYPSNDRCCHECRPGNGMVSRCSRSQNTVCRPCGPGFYNDVVSSK PCKPCTWCNLRSGSERKQLCTATQDTVCRCRAGTQPLDSYKPGVDCAPCPPGHFSPGDNQACKPWTNCTL AGKHTLQPASNSSDAICEDRDPPATQPQETQGPPARPITVQPTEAWPRTSQGPSTRPVEVPGGRAVAIEG RMDEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGV EVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLP PSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNV FSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSP
173	細胞が発現するOX40L(CHO/MEF)(リーダー配列を含む)	ヌクレオチド配列	ATGGAGAGGGTGCCAGCCCCTCGAGGAGAACGTGGGAAACGCCGCCAGGCCTAGGTTCGAGAGGAACAAGC TGCTGCTGGTGGCTTCCGTGATCCAAGGACTCGGCCTGCTCTGCTTCACCTACATCTGCCTCCACTT CAGCGCCCTGCAGGTGTCCCACCGATACCCCAGGATCCAGTCCATCAAGGTCCAGTTCACCGAGTACAAA AAGGAGAAGGGATTCATCCTGACCTCCCAAAAGGAGGACGAGATCATGAAGGTGCAAAACAACTCCGTGA TCATCAACTGCGACGGCTTCTACCTGATCTCCCTGAAGGGCTACTTCTCCCAGGAGGTGAACATCTCCCT GCACTACCAGAAGGACGAGGAGCCCCTGTTCCAGCTGAAGAAGGTGAGGTCCGTGAATTCCCTGATGGTG GCCAGCCTGACCTACAAGGACAAGGTCTACCTGAACGTGACCACCGACAACACCAGCCTGGACGACTTCC ATGTCAACGGCGGCGAGCTGATCCTGATCCATCAGAACCCCGGCGAGTTTTGCGTCCTGTAA
174		アミノ酸配列	MERVQPLEENVGNAARPRFERNKLLLVASVIQGLGLLLCFTYICLHFSALQVSHRYPRIQSIKVQFTEYK KEKGFILTSQKEDEIMKVQNNSVIINCDGFYLISLKGYFSQEVNISLHYQKDEEPLFQLKKVRSVNSLMV ASLTYKDKVYLNVTTDNTSLDDFHVNGGELILIHQNPGEFC

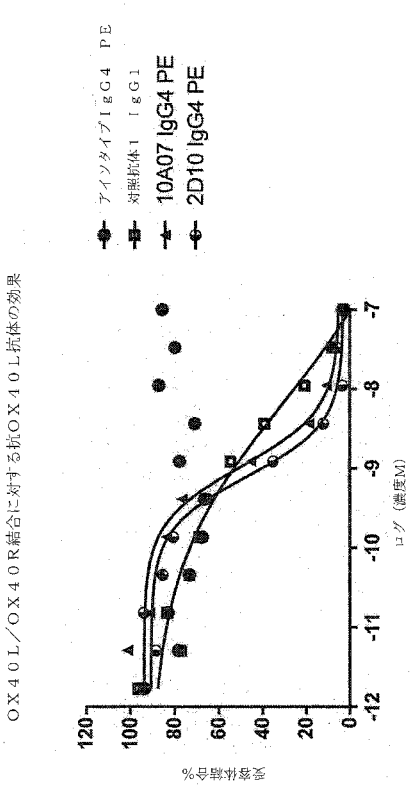
【０７１８】

【表２９】

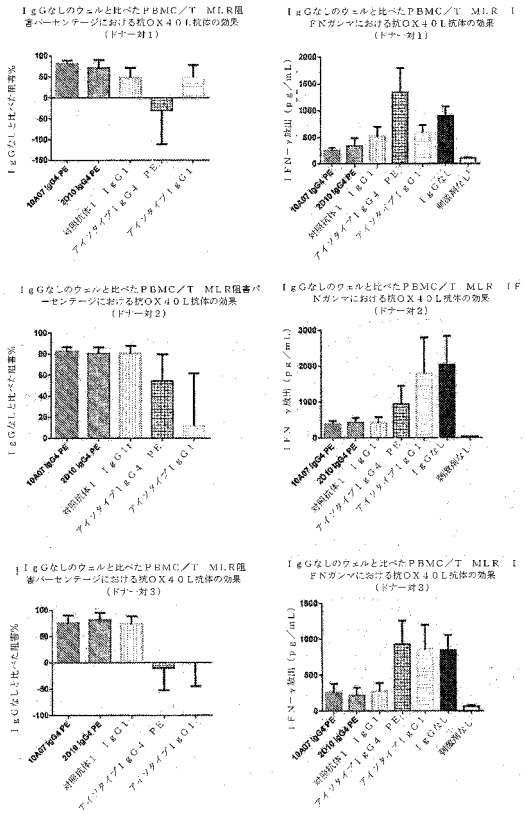
175	細胞が発現するOX40受容体(HT1080)	ヌクレオチド配列	ATGTGCGTGGGGGCTCGGCGGCTGGGCCGCGGCCGTGTGCGGCTCTGCTCCTCCTGGGCCTGGGGCTGA
			GCACCGTGACGGGGGCTCCACTGTGTCGGGGACACCTACCCCAGCAACGACCGGTGCTGCCACGAGTGCAG
			GCCAGGCAACGGGATGGTGAGCCGCTGCAGCCGCTCCCAGAACACGGTGTGCCGTCCGTGCGGGCCGGGC
			TTCTACAACGACGTGGTCAGCTCCAAGCCGTGCAAGCCCTGCACGTGGTGTAACCTCAGAAGTGGGAGTG
			AGCGGAAGCAGCTGTGCACGGCCACACAGGACACAGTCTGCCGCTGCCGGGCGGGCACCCAGCCCCTGGA
			CAGCTACAAGCCTGGAGTTGACTGTGCCCCCTGCCCTCCAGGGCACTTCTCCCCAGGCGACAACCAGGCC
			TGCAAGCCCTGGACCAACTGCACCTTGGCTGGGAAGCACACCCTGCAGCCGGCCAGCAATAGCTCGGACG
			CAATCTGTGAGGACAGGGACCCCCCAGCCACGCAGCCCCAGGAGACCCAGGGCCCCCCGGCCAGGCCCAT
			CACTGTCCAGCCCACTGAAGCCTGGCCCAGAACCTCACAGGGACCCTCCACCCGGCCCGTGGAGGTCCCC
			GGGGGCCGTGCGGTTGCCGCCATCCTGGGCCTGGGCCTGGTGCTGGGGCCCCCTGGCCATCC
			TGCTGGCCCTGTACCTGCTCCGGAGGGACCAGAGGCTGCCCCCCGATGCCCACAAGCCCCCTGGGGGAGG
			CAGTTTCCGGACCCCCATCCAAGAGGAGCAGGCCGACGCCCACTCCACCCTGGCCAAGATCTGA
176		アミノ酸配列	MCVGARRLGRGPCAALLLLGLGLSTVTGLHCVGDTYPSNDRCCHECRPGNGMVSRCSRSQNTVCRPCGPG
			FYNDVVSSKPCKPCTWCNLRSGSERKQLCTATQDTVCRCRAGTQPLDSYKPGVDCAPCPPGHFSPGDNQA
			CKPWTNCTLAGKHTLQPASNSSDAICEDRDPPATQPQETQGPPARPITVQPTEAWPRTSQGPSTRPVEVP
			GGRAVAAILGLGLVLGLLGPLAILLALYLLRRDQRLPPDAHKPPGGGSFRTPIQEEQADAHSTLAKI

IMGTは、CDRがIMGT命名法を使用して決定されることを示す。
KABATは、CDRがKABAT命名法を使用して決定されることを示す。
配列相関表中の付番は、本文中の他箇所にあるいずれの不整合な付番にも優先する。

【図１】



【図２】



【配列表】

2017513813000001.app

【国際調査報告】

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No
PCT/GB2015/050614

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER
INV. A61K39/395 C07K16/00 C07K16/28
ADD.

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

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)
A61K C07K

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

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

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	WO 2006/029879 A2 (HOFFMANN LA ROCHE [CH]; ENDL JOSEF [DE]; EUGUI ELSIE [US]; FUENTES MAR) 23 March 2006 (2006-03-23) claims 1-25, 28-30,37, 41-46 page 10, paragraph 4	1-41
A	WO 2013/008171 A1 (GLENMARK PHARMACEUTICALS SA [CH]; ATTINGER ANTOINE [CH]; BLEIN STANISL) 17 January 2013 (2013-01-17) claims 1-67	1-41

-/--

[X] Further documents are listed in the continuation of Box C. [X] See patent family annex.

* Special categories of cited documents :

"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance

"E" earlier application or patent but published on or after the international filing date

"L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)

"O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means

"P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed

"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention

"X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone

"Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art

"&" document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search	Date of mailing of the international search report
18 June 2015	24/06/2015

Name and mailing address of the ISA/	Authorized officer
European Patent Office, P.B. 5818 Patentlaan 2 NL - 2280 HV Rijswijk Tel. (+31-70) 340-2040, Fax: (+31-70) 340-3016	Klee, Barbara

3

Form PCT/ISA/210 (second sheet) (April 2005)

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No
PCT/GB2015/050614

C(Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	MICHAEL CROFT: "Control of Immunity by the TNFR-Related Molecule OX40 (CD134)", ANNUAL REVIEW OF IMMUNOLOGY, vol. 28, no. 1, 1 March 2010 (2010-03-01), pages 57-78, XP055039398, ISSN: 0732-0582, DOI: 10.1146/annurev-immunol-030409-101243 page 70 - page 71; tables 1,2	1-41
X	WO 2011/073180 A1 (ABLYNX NV [BE]; VERDONCK FRANK [BE]; CORNELIS SIGRID [BE]; STAELENS ST) 23 June 2011 (2011-06-23) claims 1-56	1-41

Form PCT/ISA/210 (continuation of second sheet) (April 2005)

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

International application No
PCT/GB2015/050614

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member(s)	Publication date
WO 2006029879 A2	23-03-2006	AR 051925 A1	21-02-2007
		AU 2005284310 A1	23-03-2006
		BR PI0515554 A	29-07-2008
		CA 2580140 A1	23-03-2006
		CN 101684157 A	31-03-2010
		EP 1791869 A2	06-06-2007
		EP 2218782 A2	18-08-2010
		ES 2433916 T3	13-12-2013
		HK 1108000 A1	18-10-2013
		IL 181575 A	31-07-2012
		JP 4594986 B2	08-12-2010
		JP 2008512995 A	01-05-2008
		JP 2010280673 A	16-12-2010
		KR 20070050972 A	16-05-2007
		KR 20080059471 A	27-06-2008
		MY 149442 A	30-08-2013
		NZ 553333 A	25-09-2009
		NZ 579022 A	30-04-2010
		RU 2007114328 A	27-10-2008
		RU 2009126723 A	20-01-2011
		SG 147444 A1	28-11-2008
		TW I309240 B	01-05-2009
		TW 200911838 A	16-03-2009
		US 7501496 B1	10-03-2009
		US 2010166740 A1	01-07-2010
		US 2011070239 A1	24-03-2011
		WO 2006029879 A2	23-03-2006
WO 2013008171 A1	17-01-2013	AU 2012282116 A1	13-02-2014
		CA 2840460 A1	17-01-2013
		CN 103717263 A	09-04-2014
		CO 7020848 A2	11-08-2014
		EA 201490053 A1	29-08-2014
		EP 2731677 A1	21-05-2014
		JP 2014523248 A	11-09-2014
		KR 20140043811 A	10-04-2014
		PE 22432014 A1	11-01-2015
		US 2013183315 A1	18-07-2013
		US 2014294824 A1	02-10-2014
		WO 2013008171 A1	17-01-2013
WO 2011073180 A1	23-06-2011	EP 2513145 A1	24-10-2012
		US 2013018175 A1	17-01-2013
		WO 2011073180 A1	23-06-2011

Form PCT/ISA/210 (patent family annex) (April 2005)

フロントページの続き

(51)Int.Cl.			FI			テーマコード（参考）
C12N	*5/10*	*(2006.01)*	C12N	5/10		
A61P	*37/06*	*(2006.01)*	A61P	37/06		
A61P	*29/00*	*(2006.01)*	A61P	29/00		
A61P	*1/04*	*(2006.01)*	A61P	1/04		
A61P	*37/02*	*(2006.01)*	A61P	29/00	101	
A61P	*3/10*	*(2006.01)*	A61P	37/02		
A61P	*25/00*	*(2006.01)*	A61P	3/10		
A61P	*9/10*	*(2006.01)*	A61P	25/00		
A61K	*39/395*	*(2006.01)*	A61P	9/10		
A61K	*45/00*	*(2006.01)*	A61K	39/395	N	
			A61K	45/00		

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

(72)発明者 ホルムズ，スティーブ
イギリス，シービー２２　３エーティー　ケンブリッジ，バブラハム　リサーチ　キャンパス，メディトリーナ（ビー２６０）
(72)発明者 カービィ，イアン
イギリス，シービー２２　３エーティー　ケンブリッジ，バブラハム　リサーチ　キャンパス，メディトリーナ（ビー２６０）
(72)発明者 コスマック，ミハ
イギリス，シービー２２　３エーティー　ケンブリッジ，バブラハム　リサーチ　キャンパス，メディトリーナ（ビー２６０）

Ｆターム(参考) 4B065 AA01X AA57X AA72X AA87X AA90Y AB01 AC14 BA02 BA08 CA24
CA44
4C084 AA19 NA05
4C085 AA14 AA16 BB36 CC23 EE01
4H045 AA11 AA30 BA10 CA40 DA75 EA20 FA74 GA22 GA26