(19)日本国特許庁(JP)　(12)特　許　公　報(B2)　(11)特許番号

特許第5756401号
(P5756401)

(45)発行日　平成27年7月29日(2015.7.29)　(24)登録日　平成27年6月5日(2015.6.5)

(51)Int.Cl.　F I

A61K 39/395 (2006.01)	A61K	39/395	D
A61P 35/00 (2006.01)	A61K	39/395	E
	A61P	35/00	

請求項の数 12　(全 15 頁)

(21)出願番号　特願2011-506217(P2011-506217)
(86)(22)出願日　平成21年4月23日(2009.4.23)
(65)公表番号　特表2011-518824(P2011-518824A)
(43)公表日　平成23年6月30日(2011.6.30)
(86)国際出願番号　PCT/NL2009/050220
(87)国際公開番号　WO2009/131453
(87)国際公開日　平成21年10月29日(2009.10.29)
審査請求日　平成24年1月31日(2012.1.31)
(31)優先権主張番号　08155011.3
(32)優先日　平成20年4月23日(2008.4.23)
(33)優先権主張国　欧州特許庁(EP)

前置審査

(73)特許権者　506332465
シュティヒティング　サンクイン　ブロエドフォールツィーニング
オランダ国，１０６６　シーエックス　アムステルダム，プレスマンラーン　１２５
(74)代理人　100085545
弁理士　松井　光夫
(74)代理人　100118599
弁理士　村上　博司
(72)発明者　ファン　デン　ベルグ，ティモ　カルス
オランダ国，１０７６　シーゼット　アムステルダム，ヤヒサヴェンウェヒ　１０ビー

審査官　吉田　佳代子

最終頁に続く

(54)【発明の名称】免疫系を増強する為の組成物および方法

(57)【特許請求の範囲】
【請求項１】
ガンの処置の為の医薬であって、
該医薬は、ＣＤ４７／ＳＩＲＰαに拮抗する抗体または抗体断片とヒトまたは非ヒト霊長類のＩｇＧ　Ｆｃ部分を有する追加の治療抗体との組み合わせを含み、前記拮抗する抗体が抗ＣＤ４７抗体又は抗ＳＩＲＰα抗体であり及び前記抗体断片が抗ＣＤ４７抗体又は抗ＳＩＲＰα抗体の断片であり、前記治療抗体が抗体依存性細胞性細胞毒性（ＡＤＣＣ）を誘発するものであり、
前記拮抗する抗体または抗体断片が、前記追加の治療抗体により引き起こされる、腫瘍細胞の抗体媒介性破壊を増強する、前記医薬。
【請求項２】
前記拮抗する抗体が、ＣＤ４７／ＳＩＲＰα相互作用の拮抗剤である、請求項１に記載の医薬。
【請求項３】
前記拮抗する抗体が抗ＣＤ４７抗体であり及び前記抗体断片が抗ＣＤ４７抗体の断片である、請求項１又は２に記載の医薬。
【請求項４】
前記拮抗する抗体が抗ＳＩＲＰα抗体であり及び前記抗体断片が抗ＳＩＲＰα抗体の断片である、請求項１又は２に記載の医薬。
【請求項５】

前記抗体断片が、Ｆａｂ断片、Ｆ（ａｂ’）$_2$断片、またはｓｃＦｖである、請求項１～４のいずれか１項に記載の医薬。
【請求項６】
前記追加の治療抗体が、リツキシマブ、ハーセプチン、トラスツズマブ、アレムツズマブ、ベバシズマブ、セツキシマブ、及びパニツムマブからなる群から選ばれたものである、請求項１～５のいずれか１項に記載の医薬。
【請求項７】
前記拮抗する抗体が、前記追加の治療抗体の投与に先立ち、該投与と同時に、または該投与の後に、投与される、請求項１～６のいずれか１項に記載の医薬。
【請求項８】
（ｉ）ＣＤ４７／ＳＩＲＰαに拮抗する抗体または抗体断片、ここで前記拮抗する抗体が抗ＣＤ４７抗体又は抗ＳＩＲＰα抗体であり及び前記抗体断片が抗ＣＤ４７抗体又は抗ＳＩＲＰα抗体の断片である、および（ｉｉ）追加の治療抗体、ここで前記追加の治療抗体が、リツキシマブ、ハーセプチン、トラスツズマブ、アレムツズマブ、ベバシズマブ、セツキシマブ、及びパニツムマブからなる群から選ばれたものである、
を含む、ガンの処置の為の組成物。
【請求項９】
前記拮抗する抗体が、ＣＤ４７／ＳＩＲＰα相互作用の拮抗剤である、請求項８に記載の組成物。
【請求項１０】
前記拮抗する抗体が抗ＣＤ４７抗体であり及び前記抗体断片が抗ＣＤ４７抗体の断片である、請求項８又は９に記載の組成物。
【請求項１１】
前記拮抗する抗体が抗ＳＩＲＰα抗体であり及び前記抗体断片が抗ＳＩＲＰα抗体の断片である、請求項８又は９に記載の組成物。
【請求項１２】
前記抗体断片が、Ｆａｂ断片、Ｆ（ａｂ’）$_2$断片、またはｓｃＦｖである、請求項８～１１のいずれか１項に記載の組成物。
【発明の詳細な説明】
【技術分野】
【０００１】
本発明は、分子医薬の分野に関する。特に、本発明は、宿主の免疫系による異常細胞、例えばガン細胞またはウィルスに感染した細胞など、の排除を増強する為の組成物および方法に関する。とりわけ、本発明は、特に抗体依存性細胞媒介性細胞障害性（ＡＤＣＣ）の増加を通じて、治療抗体によるヒト対象の処置の増大した効率を与える。
【背景技術】
【０００２】
免疫系は、感染、疾患および異物から体を守る。それは、多くの臓器および細胞から構成される。抗原は、免疫系が免疫応答と呼ばれる特定の応答をすることを引き起こす物質である。ウィルス、バクテリア、細菌、および寄生生物は、体の中に通常は存在しない物質を有し、そしてすなわち、免疫応答を引き起こす。免疫応答は、抗原およびその一部またはそれが付いたものの破壊をもたらしうる。いくつかの様々な種類の細胞が、抗原に対する免疫系の応答に関与する。とりわけ、該細胞は、マクロファージ、顆粒球、樹状細胞、ナチュラルキラー細胞およびリンパ球である。とりわけ、該リンパ球は、Ｂ細胞（Ｂリンパ球）、Ｔ細胞（Ｔリンパ球）、キラーＴ細胞、およびヘルパーＴ細胞である。
【０００３】
ガン細胞は、それらの外側表面上に抗原として作用しうる物質を有し、そしてすなわち該細胞を異なるまたは異常なものとして「マークする（特色づける）」。ウィルス、バクテリアおよび寄生生物は、正常ヒト細胞と実質的に異なる成分を有し、なぜならそれらは体に対して実に外来的でありおよび免疫系によって検出されるからである。しかしながら、

ガン細胞と正常ヒト細胞との間の差異は、免疫細胞にとって検出することがより困難であり得る。典型的にはモノクローナル抗体を用いるガン免疫療法は、免疫系がガン細胞を認識することおよび／またはガン細胞に対する免疫応答を強化することを助けそしてそれによってガンを破壊することが意図される。

【０００４】

ヒトにおける種々の治療戦略は治療抗体の使用に基づく。これは、例えば、標的細胞、特には病気の細胞、例えばウィルスに感染した細胞、腫瘍細胞または他の病原性細胞など、を枯渇させる為に開発された治療抗体の使用を包含する。そのような抗体は典型的には、ＩｇＧ種の、典型的にはヒトＩｇＧｌまたはＩｇＧ３　Ｆｃ部分を有する、モノクローナル抗体である。これらの抗体は、天然または組み換えの抗体、ヒト化マウス抗体（すなわち、種々の種からの機能的ドメイン、典型的にはヒトまたは非ヒト霊長類由来のＦｃ部分、およびマウス由来の可変領域または相補性決定領域（ＣＤＲ）を含む）でありうる。あるいは、該モノクローナル抗体は、ヒトＩｇ座位トランスジェニックマウスにおける免疫化による完全にヒトのものであってよくまたはヒト細胞から得られたｃＤＮＡライブラリーを通じて得られうる。そのような治療抗体の特定の例はリツキシマブ（Ｍａｂｔｈｅｒａ（商標）；Ｒｉｔｕｘａｎａ）であり、これは、ＣＤ２０特異性を与えるマウス可変ドメインに連結したヒトγ１およびκ定常領域（それゆえに、ヒトＩｇＧｌ　Ｆｃ部分を有する）で作られたキメラ抗ＣＤ２０モノクローナル抗体である。過去数年において、リツキシマブは、Ｂリンパ球増殖性悪性腫瘍、特には非ホジキンリンパ腫（ＮＨＬ）に対する治療戦略を相当に修正した。ヒト化ＩｇＧｌ抗体の他の例は、アレムツズマブ（Ｃａｍｐａｔｈ（商標））、これはＢ細胞悪性腫瘍の処置において用いられる、またはトラスツズマブ（Ｈｅｒｃｅｐｔｉｎ（商標））、これは乳ガンの処置において用いられる、を含む。

【０００５】

治療抗体は、種々のメカニズムを通じてそれらの治療効果を達成する。それらは、例えば腫瘍細胞において、アポトーシスまたはプログラムされた細胞死を生じさせることにおいて直接の効果を有しうる。それらは、増殖因子受容体をブロックすることができ、それにより腫瘍細胞の増殖を有効に停止する。

【０００６】

間接的な効果は、細胞障害性（細胞毒性）を有する細胞、例えば単球およびマクロファージなど、をリクルートすることを含む。この種の抗体媒介性細胞死滅は、抗体依存性細胞媒介性細胞障害性（ＡＤＣＣ）と呼ばれる。モノクローナル抗体は補体を結合することもでき、補体依存性細胞障害性（ＣＤＣ）として知られる、直接的な細胞障害性をもたらす。

【０００７】

治療抗体は、特には腫瘍の処置の為の、ヒトの治療への新規な特異的且つ効率的なアプローチを表す一方で、それらは、常に強力な効果を示すわけではない。例えば、単独のまたは化学療法との組合せにおけるリツキシマブは、低－中および高グレードのＮＨＬの両方の処置において有効であると示され、低グレードＮＨＬを有する患者の３０％～５０％はリツキシマブに対する臨床的な応答を有さない。リンパ腫細胞上のＣＤ２０発現の水準、処置の時点での高い腫瘍負荷の存在または低い血清リツキシマブ濃度がいくつかの患者におけるリツキシマブの効果の欠如を説明しうることが示唆されている。それにもかかわらず、処置失敗の実際の原因は大部分は未知のままである。それ故に、治療抗体の効率を増大することについて、当技術分野においてニーズがある。

【０００８】

また、ガンの兆候において試験された抗体の数を考えると、抗ガン抗体はＦＤＡにより承認された薬剤のリスト上の大部分の剤を含むだろうと予想するかもしれない。しかしながら、このリスト上の１２の抗体治療物質のうち４つだけが、ガン治療を標的としており、そしてこれは大部分は患者利益の不足に起因するとみえる。興味深いことに、これについての主な理由の一つが（それらの健康なカウンターパートのように）ガン細胞が免疫媒介

性殺害メカニズムに対して比較的耐性であることが、今明らかになってきている。宿主免疫に対するガン細胞のこの明白な耐性についてのメカニズムは確立されていない。

【発明の概要】

【発明が解決しようとする課題】

【０００９】

それ故に、本発明の目的は、異常細胞、例えばガン細胞に対する免疫および免疫治療を増強する為の手段および方法を同定することである。特に、異常細胞に対して宿主免疫エフェクター細胞をトリガーする（動作させる、trigger）ことができる治療化合物のｉｎｖｉｖｏ効果を増強することが目的である。

【課題を解決するための手段】

【００１０】

興味深いことに、本発明者らは、免疫エフェクター細胞により、異常細胞、例えばガン細胞など、の死滅（killing）を制限する内因的メカニズムを発見した（図１を参照されたい）。このメカニズムは、ＣＤ４７（これは、ガン細胞を含む、宿主の体内の本質的に全ての細胞の表面上に存在する）とＳＩＲＰα（これは、免疫細胞上に、特にはマクロファージおよび顆粒球上に、特異的に発現される（Adams et al., 1998. J.Immunol. 161:1853-18592））との間の分子相互作用を含む。重要なことに、ＣＤ４７とＳＩＲＰαとの間の相互作用を該２つの成分のいずれかに対する拮抗的抗体により阻止することは、抗ガン細胞抗体の存在下におけるガン細胞のｉｎ ｖｉｔｒｏ死滅を劇的に増大すると分かった（図２）。この効果は、ＳＩＲＰα変異マウスにおけるマウス肺腫瘍モデルにおいて確認された（図３）。これらのデータは、ＣＤ４７のＳＩＲＰαへの結合が、免疫系によりＡＤＣＣを抑制する抑制シグナルを生成することを示す。理論にとらわれることを望むことなく、ＳＩＲＰαを介した抑制シグナルの干渉が、おそらくＡＤＣＣメカニズムの増大を介して、異常細胞に対する免疫エフェクター細胞の増大した活性をもたらすことが仮定される。

【００１１】

それゆえに、本発明の１つの局面は、（ｉ）異常細胞に対する宿主免疫エフェクター細胞をトリガーすることができる治療化合物、ここで該治療化合物は、ヒトまたは非ヒト霊長類のＩｇＧ Ｆｃ部分を有する治療抗体であり、該抗体は抗体依存性細胞性細胞毒性（ＡＤＣＣ）を誘発する、および（ｉｉ）ＳＩＲＰαを介して開始される抑制シグナル変換を減少しまたは防ぐことができる少なくとも１つの剤を含む組成物に関する。例えば、ＳＩＲＰαとＣＤ４７との間の相互作用を抑制することができる剤が用いられ、その結果、ＣＤ４７－ＳＩＲＰα相互作用を介した該抑制シグナルが減少される。宿主は哺乳類であり、好ましくは霊長類またはげっ歯類、より好ましくはヒト対象である。

【００１２】

治療化合物は、治療抗体であり、特には抗体依存性細胞障害（ＡＤＣＣ、antibody-dependent cellular cytotoxicity）を誘発しまたは促進する抗体である。本明細書において用いられるときに、ＡＤＣＣは、抗体依存性細胞性食作用（ＡＤＣＰ、antibody-dependent cellular phagocytosis）も包含することが意味される。該治療抗体は、免疫複合体を形成することができる。一つの実施態様において、該治療抗体は、ヒトまたは非ヒト霊長類のＩｇＧ Ｆｃ部分を有する。好ましくは、該治療抗体は、モノクローナル抗体またはその機能的な断片もしくは誘導体であり、より好ましくはヒト化、ヒトもしくはキメラの抗体である。該その断片もしくは誘導体は、好ましくはＦａｂ断片、Ｆ（ａｂ’）２断片、ＣＤＲおよびｓｃＦｖから選ばれる。特定の実施態様において、該治療抗体は、ＦＤＡにより承認された治療抗体であり、例えばリツキシマブ、ハーセプチン、トラスツズマブ、アレムツズマブ、ベバシズマブ、セツキシマブまたはパニツムマブなどである。例えば、Strome et al., Oncologist 2007;12; 1084-1095、を参照されたい。

【００１３】

本発明に従い、ＳＩＲＰαを介して開始される抑制シグナル変換を減少しまたは防ぐことができる剤が用いられて、ＣＤ４７－ＳＩＲＰα複合体を介した該抑制シグナルを部分的

にまたは完全に妨害する。例えばＳＩＲＰαとＣＤ４７との間の相互作用を抑制することにより、ＳＩＲＰαを介して開始される抑制シグナル変換を減少しまたは防ぐことができる剤は、当技術分野で知られており、そしてさらに、剤は、下流のシグナル伝達イベントの読み出しに基づく既知の技術を用いて同定されうる。例えば、細胞に結合したＣＤ４７とミエロイド細胞の表面に発現されたＳＩＲＰαとの相互作用が、ＳＩＲＰαチロシンホスホリル化を引き起こすと知られており、および、チロシンホスファターゼＳＨＰ－１およびＳＨＰ－２ならびにＳＩＲＰαタンパク質の細胞質部分への多くの他のシグナル伝達タンパク質の動員および／または活性化を促進することが知られている（Oldenborg PA et al. (2000) Science 288:2051-4, Oshima et al. (2002) FEBS letters 519:1-7）。これらの成分、および特にはＳＨＰ－１、およびおそらくＳＨＰ－２も、種々の下流効果（抗体によりまたは補体により覆われた赤血球細胞のファゴサイトーシスを含む）（Oldenborg PA et al. (2001) J Exp Med. 193:855-62）に関するＳＩＲＰαトリガーすることの負の効果を媒介すると知られており、そしてそれ故に、ＡＤＣＣの抑制制御を媒介することにも関与する。ＣＤ４７－ＳＩＲＰα相互作用を抑制する治療剤は、同じように、ＳＨＰ－１、ＳＨＰ－２および／または他の示されるシグナル伝達分子のいくつかの動員および／または活性化も防ぐであろう。ＡＤＣＣの間のヒトＣＤ４７－ＳＩＲＰα相互作用を介して開始される抑制シグナル変換を減少しまたは防ぐ物質は、ｉ）一般にＣＤ４７－ＳＩＲＰα相互作用の減少（Liu et al. (2007) J Mol Biol. 365:680-93, Liu et al. (2004) J. Immunol. 172:2578-85）（図４）、ｉｉ）ＳＩＲＰαのＣＤ４７依存性チロシンホスホリル化（リン酸化）の減少および／またはＳＩＲＰαへのＳＨＰ－１動員および、結果として起こるＳＨＰ－１チロシンホスファターゼ活性の活性化（Oldenborg PA et al. (2000) Science 288:2051-4）、および／またはｉｉｉ）腫瘍（Mimura K et al. (2007) Oncology. 72:172-80, Shimadoi S et al. (2007) Cancer Sci. 98:1368-72, Lefebvre ML et al. (2006) J Immunother. 29:388-97）または他の細胞（例えば赤血球）に対する治療抗体（例えばトラスツズマブ、リツキシマブ）を用いたＡＤＣＣの増強、を検出することを目的とする一連のアッセイを用いて選択されうる。

【００１４】

国際公開第９９／４０９４０号パンフレットは、炎症、自己免疫疾患およびアレルギー疾患、移植片拒絶および／または慢性リンパ球性白血病の処置の為の、ＣＤ４７のリガンドおよび該リガンドに結合する剤、例えばＣＤ４７抗体およびＳＩＲＰαなど、を開示する。

【００１５】

ＳＩＲＰαと特異的抗体Ｆａｂ断片との連結が、マクロファージによる炎症性メディエーターの生産を抑制することができることが報告されている（Van den Berg et al., J. Leukocyte Biol. 1999; pg. 16）。

【００１６】

国際公開第０２／０９２７８４号パンフレットは、ＳＩＲＰα－ＣＤ４７相互作用の調節に関するポリヌクレオチドおよびポリペプチドに関する。

【００１７】

Ａｌｍａｎｔらは、抗ＣＤ４７モノクローナル抗体が、単球によるＩＬ－１２放出を選択的に抑制することを開示する（J. Exp. Med. Vol. 190, 1999, pg.1175-1181）。

【００１８】

Ｖａｎ ｄｅｒ Ｂｅｒｇらは、活性化したマクロファージがＣＮＳにおける炎症の間の組織損傷の主要な原因であることを報告する。ラットＳＩＲＰα受容体に結合する３つの抗体が選ばれた（J. Neuroimmunology, Vol. 90, 1998, pg. 53）。

【００１９】

米国特許出願公開第２００３／００２６８０３号明細書は、マクロファージ関与を伴う自己免疫疾患の処置の為の方法であって、ＣＤ４７とＳＩＲＰαとの間の相互作用を抑制する剤を投与することを含む前記方法を開示する。そこには、そのような剤を同定する方法

も記載されている。
【００２０】
しかしながら、本明細書において開示されるとおりの、すなわち、宿主免疫エフェクター細胞を増強する為の、ＣＤ４７／ＳＩＲＰα抑制剤の使用は、当技術分野において開示も示唆もされていなかった。
【図面の簡単な説明】
【００２１】
【図１】免疫系による腫瘍細胞の抗体依存性死滅を限定することにおけるＣＤ４７およびＳＩＲＰαの役割およびＣＤ４７－ＳＩＲＰα相互作用を阻止することによる腫瘍細胞破壊の増強作用についてのモデルを示す図である。
【図２】ＣＤ４７－ＳＩＲＰα相互作用を拮抗性モノクローナル抗体によりブロックすることは、ラットＮＲ８３８３マクロファージによるラットＣＣ５３１結腸ガン細胞のＣＣ５２抗体依存性細胞食作用を増強することを示す図である。
【図３】ＳＩＲＰαに由来するシグナルが、ｉｎ　ｖｉｖｏでＢ１６腫瘍細胞の死滅を限定することを示す図である。
【図４】Ｊｕｒｋａｔ急性Ｔ白血病細胞に向けたヒト単球のＡＤＣＣは、ＣＤ４７－ＳＩＲＰα相互作用をブロックすることにより増大されることを示す図である。
【図５】ヒト単球のＲａｊｉ　Ｂｕｒｋｉｔｔ’ｓ　Ｂ細胞リンパ腫細胞への、リツキシマブにより媒介されたＡＤＣＣが、ＣＤ４７－ＳＩＲＰα相互作用をブロックすることにより増大されることを示す図である。
【発明を実施するための形態】
【００２２】
「剤」または「拮抗剤」は、本明細書において言及されるときに、実質的に、該要求される機能を達成することができる、すなわち免疫エフェクター細胞の細胞溶解応答および／または食作用応答の、ＣＤ４７／ＳＩＲＰαにより誘発される抑制を減少しまたは防ぐことができる任意の分子またはプロセスでありうる（図１を参照されたい）。この機能は、ＣＤ４７－ＳＩＲＰα相互作用を抑制しまたは干渉することにより適当に達成される。ＣＤ４７／ＳＩＲＰα相互作用を「抑制する」ことは、該２つの分子の間の機能的な関係がＣＤ４７による該マクロファージに対する死滅抑制効果を減少しまたは排除するように変化されることを意味する。例えば、ＳＩＲＰαとＣＤ４７との間の該生物学的相互作用が減少されまたは変化され、それにより、ＳＩＲＰαを通じて誘発される抑制シグナル伝達を防ぐ。あるいは、ＳＩＲＰαを通じた該抑制シグナル伝達は、ＣＤ４７との相互作用に実際に影響することなく、防がれうる。
【００２３】
種々の種類の抑制分子が当技術分野で知られており、そして本発明に従う剤の設計のための基礎として用いられうる。同じまたは異なる種類の１またはそれより多い剤（例えば小分子および抗体）が用いられうる。１つの実施態様において、組成物は、ＳＩＲＰαとＣＤ４７との間の該相互作用を抑制することができるタンパク質様物質を含む。例えば、それはペプチド、抗体、または抗体断片である。本発明に従うペプチドは、ＳＩＲＰα、ＣＤ４７または該ＳＩＲＰα－ＣＤ４７機能的相互作用に関与する他のポリペプチドから役立つように得られる。好ましくは、該ペプチドは、ＳＩＲＰα－ＣＤ４７相互作用に関与するＳＩＲＰαまたはＣＤ４７中のＮ－末端Ｖ－型イムノグロブリンドメインから得られる。
【００２４】
好ましい剤は抗体または抗体断片であり、これは、当技術分野で既知の技術を用いて、容易に調製されることができおよび下に記載されるとおりに試験されうる。例えば、組成物は、ＣＤ４７／ＳＩＲＰαにより誘発されたシグナル伝達の拮抗剤として、抗ＣＤ４７抗体、抗ＳＩＲＰα抗体、またはそれらの断片を含む。
【００２５】
本発明における使用にとって適当なＣＤ４７／ＳＩＲＰα抑制剤は、該腫瘍細胞に対する

治療抗体の存在下における腫瘍細胞とマクロファージとの共インキュベーションおよび抗体依存性殺傷を増強するための候補の剤（例えばＣＤ４７またはＳＩＲＰαのいずれかに対するモノクローナル抗体のパネル）の効果を試験することを含む（ハイスループット）ｉｎ　ｖｉｔｒｏアッセイを用いて選択されうる。実施例１も参照されたい。例えば、治療抗体により媒介された、ヒト単球由来マクロファージ（ＭＤＭ）または骨髄単球性細胞株による培養されたヒト乳ガン細胞のファゴサイトーシスおよび細胞溶解が、候補拮抗剤の存在下または不在下において確立されうる。そのようなアッセイ系は、当技術分野で知られている。例えば、精製された単球は、ＧＭ－ＣＳＦもしくはＭ－ＣＳＦと一緒にまたはサイトカイン無しで、５または６日間培養されうる。抗体依存性細胞性ファゴサイトーシス（ＡＤＣＰ）および細胞溶解（ＡＤＣＣ）アッセイは、ＭＤＭおよびＨＥＲ－２／ｎｅｕ陽性標的細胞（ＳＫ－ＢＲ－３）により実施されうる。ＡＤＣＰは、ヒトＣＤ１４およびＣＤ１１ｂに対するＰＫＨ２（緑色蛍光染料）およびフィコエリトリン複合体化（赤）のモノクローナル抗体（ＭｏＡｂ）を用いた２色蛍光フローサイトメトリーにより測定されうる。ＡＤＣＣは、確立した放射性５１－Ｃｒ放出アッセイにより、または市販の非放射性ＬＤＨ検出キットにより、適当に測定されうる。しかしながら、他の方法もまた用いられうる。

【００２６】

理解されるであろうとおり、本発明は、任意の種類の異常細胞に対する宿主免疫エフェクター細胞をトリガーすることができる治療化合物のｉｎ　ｖｉｖｏ効果を増大する為に有利に用いられる。本明細書において用いられるときに、「異常細胞」は、宿主生物における任意の病気のあるいは望ましくない細胞をいう。

【００２７】

一つの実施態様において、それは癌細胞である。例えば、それは非ホジキンリンパ腫細胞、乳ガン細胞、慢性リンパ球性白血病細胞または結腸直腸ガン細胞である。

【００２８】

明白に、適当な拮抗剤によるＣＤ４７－ＳＩＲＰα相互作用の阻止（ブロッキング）は、ガン細胞の抗体媒介性破壊を増強する為に非常に有望である。主に、ガンに対する抗体治療の制限を解決することの付加価値は、少なくとも３つの異なるレベルで生じうる：

１．癌細胞死滅の閾値を減少することにより、抗体処置の投与量および／または頻度が低下されることができ、コストの有意な減少をもたらす。これは、抗体治療剤（これは一般にヒト化組み換えタンパク質である）の製造が高価であるので、適切である。

２．治癒率および生存率が、抗体治療の全体的な有効性を増大することにより優位に増加しうる。

３．ＡＤＣＣを増加することは、臨床的用途にとって適するだろう抗体治療剤の範囲に対する劇的な効果を有しうる。そうでなければ有益な効果を有さないだろう多くの抗体治療剤が、ＣＤ４７－ＳＩＲＰα拮抗剤との組み合わせにおいて、有効であることが判明しうる。実際に、これまで臨床試験において十分な活性を示さなかった多くの抗体治療剤がおそらく再検討されるべきである。

【００２９】

本発明の概念の利点の一つは、その広い適用可能性にある。原理上、ガンに対する任意の治療抗体、特には少なくとも部分的にＡＤＣＣによりそれらの効果を発揮する治療抗体の効果を高めることが期待されうる。さらに、ＣＤ４７－ＳＩＲＰα干渉の不在下においていずれのＡＤＣＣ成分も示さなかった治療抗体が、ＣＤ４７－ＳＩＲＰα相互作用の阻止の際に有益なＡＤＣＣ応答を上昇することができうる。前に示されたとおり、大抵のＦＤＡ承認済み治療抗体は、ヒトＩｇＧ１サブクラスのものであり、これは原理上ＡＤＣＣの効率的なインデューサであることが予期されうる。すなわち、本発明は、大部分の治療抗体と一緒に実施されうる。

【００３０】

本発明の一つの実施態様は、ＳＩＲＰαとＣＤ４７との間の相互作用を抑制する、ＳＩＲＰαを介して開始される抑制シグナル変換を減少しまたは防ぐことができる剤を、マクロ

ファージによる増大したファゴサイトーシスから恩恵を受けるだろう疾患または障害の処置または予防の為の医薬の調製において使用する方法に関する。マクロファージによる増大したファゴサイトーシスから恩恵を受けるだろう例となる疾患は、ガン、例えば非ホジキンリンパ腫、乳ガン、慢性リンパ球性白血病または直腸結腸ガンなど、である。すなわち、本発明は、ガンの処置の為の医薬であって、前記医薬が、ＣＤ４７／ＳＩＲＰαに拮抗する抗体または抗体断片と、ヒトまたは非ヒト霊長類のＩｇＧ　Ｆｃ部分を有する追加の治療抗体との組み合わせを含み、前記拮抗する抗体が抗ＣＤ４７抗体又は抗ＳＩＲＰα抗体であり及び前記抗体断片が抗ＣＤ４７抗体又は抗ＳＩＲＰα抗体の断片であり、前記治療抗体が抗体依存性細胞性細胞毒性（ＡＤＣＣ）を誘発するものであり、前記拮抗する抗体または抗体断片が、前記追加の治療抗体により引き起こされる、腫瘍細胞の抗体媒介性破壊を増強する、前記医薬を提供する。

【００３１】

実際に、異常細胞あるいは他の望ましくない細胞が関与する任意の疾患または障害の処置または予防が、本明細書において開示されるとおりの抑制剤の使用から利益を受けることができる。一つの局面において、該疾患は、ウィルス感染症、特にはポックスウィルス科のメンバーにより引き起こされる感染におけるウィルス感染症である。理解されるであろうとおり、抑制剤、または２またはそれより多い異なる抑制剤の組み合わせ、が追加の治療化合物と一緒に医薬の製造において用いられうる。好ましい実施態様において、該追加の治療化合物は、異常細胞に対する宿主免疫エフェクター細胞をトリガーすることができる。すなわち、本発明は、ウィルス感染により引き起こされる疾患を予防し又は処置する為の医薬であって、前記医薬が、ＣＤ４７／ＳＩＲＰαに拮抗する抗体または抗体断片を含み、前記拮抗する抗体が抗ＣＤ４７抗体又は抗ＳＩＲＰα抗体であり及び前記抗体断片が抗ＣＤ４７抗体又は抗ＳＩＲＰα抗体の断片である、前記医薬を提供する。

【００３２】

一つの局面において、本発明は、抗ガン処置を受けている対象においてＡＤＣＣを増大する方法に関し、該方法は該対象に、抗ガン医薬の投与に先立ち、該投与と同時に、または該投与の前もしくは後に、ＳＩＲＰαを介して開始される抑制シグナル変換を減少しまたは防ぐことができる剤を、ＡＤＣＣを増大するのに十分な量で投与することを含む。例えば、該抗ガン医薬は、ＳＩＲＰαとＣＤ４７との間の該相互作用を抑制する治療抗体である。処置されるべき該対象は、例えば非ホジキンリンパ腫、乳ガン、慢性リンパ球性白血病または直腸結腸ガンを患う患者である。

【００３３】

関連する局面において、治療抗体処置を受けている対象においてＡＤＣＣを増大する方法が提供され、該方法は該対象に、該治療抗体の投与に先立ち、該投与と同時に、または該投与の前もしくは後に、ＳＩＲＰαを介して開始される抑制シグナル変換を減少しまたは防ぐことができる剤を、ＡＤＣＣを増大するのに十分な量で投与することを含む。

【００３４】

また、本発明は、対象における治療抗体処置の効率を増大する方法を提供し、該方法は、該対象に、該治療抗体の投与に先立ち、該投与と同時に、該投与の前にまたは該投与の後に、ＳＩＲＰαを介して開始される抑制シグナル変換を減少しまたは防ぐことができる剤を投与することを含む。

【００３５】

他の実施態様において、本発明は、ＳＩＲＰαを介して開始される抑制シグナル変換を減少しまたは防ぐことができる剤を、ウィルス感染の処置または予防の為に使用する方法を提供する。一般に、宿主免疫系が、該ウィルスに対してより効率的に応答することを促すいずれの方法も、該ウィルスに対するその天然のまたは（例えばワクチン接種により）獲得された免疫を増加しそうである。特定の局面において、本発明は、ＳＩＲＰαとＣＤ４７との間の相互作用を抑制することができる剤を、ポックスウィルスにより引き起こされる疾患の処置または予防の為の医薬の製造の為に使用する方法を提供する。ポックスウィルス（ポックスウィルス科のメンバー）は、科として、脊椎動物および非脊椎動物の両方

に感染することができる。ポックスウィルス科の原型はワクシニアウィルスであり、これは天然痘ウィルスを根絶するための成功裏のワクチンとして用いられた。ワクシニアウィルスもまた、強力な宿主免疫応答を誘発するための外部タンパク質発現の為の有効な手段として用いられる。科の名前「ポックスウィルス科」は、皮膚に痘を作った疾患に関連するウィルスの当初の分類の遺産である。現代のウィルス分類は、ウィルスの形状および分子特徴に基づき、および天然痘ウィルスは、該科の最も有名なメンバーのままである。特異的にヒトに感染すると知られている唯一の他のポックスウィルスは、伝染性軟属腫ウィルス（ＭＣＶ）である。世界保健機関（ＷＨＯ）は、該ウィルスが根絶されたと１９７７年に宣言したが、２００１年９月１１日の後に、米国と英国の政府は、バイオテロリズムにおける、天然痘または天然痘様疾患の使用に対する増大した懸念を有した。

【００３６】

ポックスウィルスがＣＤ４７のホモログ（ウィルスＣＤ４７（ｖＣＤ４７）と称される）をコードすることが確立されている。免疫エフェクター細胞上でＳＩＲＰαと相互作用することにより、本発明者らは、ｖＣＤ４７が、内因性のＣＤ４７に加えて、ポックスウィルス感染細胞の死滅および／またはファゴサイトーシスを防ぐ負のシグナルを与えることができると仮定した。一つの実施態様において、すなわち、本発明は、（ｉ）ウィルス感染細胞、例えばポックスウィルスに感染した細胞など、に対する宿主免疫エフェクター細胞をトリガーすることができる治療化合物、および（ｉｉ）ＳＩＲＰαを介して開始される抑制シグナル変換（inhibitory signal transduction）を減少しまたは防ぐことができる少なくとも１つの剤を含む組成物を提供する。適当な治療化合物は、ウィルスワクチン、好ましくはポックスウィルスワクチンを包含する。

【００３７】

したがって、本発明は、ＳＩＲＰαを介して開始される、例えばｖＣＤ４７－ＳＩＲＰα相互作用により誘発される、抑制シグナル変換を減少しまたは防ぐ抑制剤を、（ｉ）ポックスウィルス病原体の感染に対する天然の宿主抵抗性を増大するために、（ｉｉ）ポックスウィルス病原体に対するワクチン接種の有効性を増大するために、および／または（ｉｉｉ）ポックスウィルスベクター、例えばワクシニアなど、によるワクチン接種の有効性を増大するために使用する方法も提供する。また、本発明は、（ｉ）ＣＤ４７／ＳＩＲＰαに拮抗する抗体または抗体断片、ここで前記拮抗する抗体が抗ＣＤ４７抗体又は抗ＳＩＲＰα抗体であり及び前記抗体断片が抗ＣＤ４７抗体又は抗ＳＩＲＰα抗体の断片である、および（ｉｉ）追加の治療抗体、ここで前記追加の治療抗体が、リツキシマブ、ハーセプチン、トラスツズマブ、アレムツズマブ、ベバシズマブ、セツキシマブ、及びパニツムマブからなる群から選ばれたものである、を含む、ガンの処置の為の組成物を提供する。

【００３８】

図面の説明

【００３９】

図１：免疫系による腫瘍細胞の抗体依存性殺を制限することにおけるＣＤ４７およびＳＩＲＰαの役割およびＣＤ４７－ＳＩＲＰα相互作用を阻止することによる腫瘍細胞破壊の増強作用についてのモデル。腫瘍細胞に対して向けられた抗体は、免疫細胞Ｆｃ受容体により認識され、そして、これは腫瘍細胞死滅を誘発する。正常な条件下では（左のパネル）、抗体により誘発されたこの死滅は、腫瘍細胞上のＣＤ４７と免疫細胞上のＳＩＲＰαとの相互作用により制限され、これは、該死滅応答を負に制御する細胞内シグナルを生成する。ＣＤ４７とＳＩＲＰαとの間の相互作用を阻止することにより（右のパネル）、抗体により誘発された腫瘍細胞死滅は増大される。なぜなら、それがこの制限から解放されるからである。

【００４０】

図２：ＣＤ４７－ＳＩＲＰα相互作用を拮抗性モノクローナル抗体によりブロックすることは、ラットＮＲ８３８３マクロファージによるラットＣＣ５３１結腸ガン細胞のＣＣ５２抗体依存性細胞性食作用を増強する。ＣＣ５３１腫瘍細胞およびＮＲ８３８３マクロファージが、ＣＣ５３１に対するＣＣ５２抗体および／またはＣＤ４７またはＳＩＲＰαの

いずれかに対するブロッキングモノクローナル抗体の不在下または存在下において、培地を有する培養プレート中でインキュベートされた。１．５時間後、ＡＤＣＰのパーセンテージが決定された。詳細について、実施例１を参照されたい。

【００４１】

図３：ＳＩＲＰαに由来するシグナルが、ｉｎ　ｖｉｖｏでＢ１６腫瘍細胞の死滅を制限する。ＣＤ４７を発現するＢ１６メラノーマ細胞が、対照（すなわち野生型）マウスへ、または、免疫細胞内の細胞内シグナル伝達を媒介するＳＩＲＰα細胞質テイルを欠くマウス（すなわちＳＩＲＰα－／－）へ、注入された。マウスの集団は、一日おきに二週間、Ｂ１６細胞上に存在するｇｐ７５腫瘍抗原に対して向けられた準最適用量（ａ　suboptimal　dose）の治療抗体ＴＡ９９により、処置された。１週間後、動物は屠殺され、そして、肺ガン負荷が定量された。これらのマウスの肺からの代表的な写真（パネルＡ）は、抗体により処置された野生型マウスと比べたときに、抗体により処置されたＳＩＲＰα－／－変異マウスにおいて、腫瘍形成は本質的に無いことを示し、ｉｎ　ｖｉｖｏでの腫瘍細胞排除におけるＳＩＲＰαシグナル伝達の負の役割を確認する。グラフ（パネルＢ）中のそれぞれの点は、ひとつの動物の評価を表す。*、ｐ＜０．００５、スチューデントのＴ検定。

【００４２】

図４：Ｊｕｒｋａｔ急性Ｔ白血病細胞に向けられたヒト単球のＡＤＣＣは、ＣＤ４７－ＳＩＲＰα相互作用を阻止することにより増大される。（Ａ）フローサイトメトリーにより評価されたときのＣＤ３（ＣＬＢ－Ｔ３／４．２ａ　ｍＡｂを用いた）およびＣＤ４７（Ｂ６Ｈ１２　ｍＡｂを用いた）の且つＪｕｒｋａｔ細胞上の表面発現。（Ｂ）マウスＩｇＧ$_{2a}$抗ＣＤ３（２０μｇ／ｍｌ）および／またはＢ６Ｈ１２（５０μｇ／ｍｌ）抗ＣＤ４７　Ｆ（ａｂ’）$_2$による予備インキュベーション後のヒト単球のＪｕｒｋａｔ細胞に向けられたＡＤＣＣ。Ｊｕｒｋａｔ細胞の抗ＣＤ４７　Ｆ（ａｂ’）$_2$による飽和が、パラレルなフローサイトメトリー染色により確認された（データは示されていない）。ＣＤ４７－ＳＩＲＰαブロッキングの不在下において抗ＣＤ３による死滅が実際上誘発されない一方で、抗ＣＤ４７　Ｆ（ａｂ’）$_2$の存在下において相当なレベルの死滅が引き起こされることを注目されたい。示された値は、３つのうちの代表的な実験からの平均±ＳＤ（ｎ＝３）である。

【００４３】

図５：ヒト単球のＲａｊｉ　Ｂｕｒｋｉｔｔ’ｓ　Ｂ細胞リンパ腫細胞に向けた、リツキシマブにより媒介されたＡＤＣＣが、ＣＤ４７－ＳＩＲＰα相互作用をブロックすることにより増大される。（Ａ）フローサイトメトリーにより評価されたときの、ＣＤ２０（抗ＣＤ２０リツキシマブを用いて）およびＣＤ４７（抗ＣＤ４７　Ｂ６Ｈ１２　ｍＡｂを用いて）の且つＲａｊｉ細胞上の表面発現。赤のヒストグラムは対照を表し、そして、青のヒストグラムはリツキシマブ（上のヒストグラム）またはＣＤ４７染色（下のヒストグラム）を表す。（Ｂ）リツキシマブ（２０μｇ／ｍｌ）および／またはＢ６Ｈ１２（１０μｇ／ｍｌ）抗ＣＤ４７による予備インキュベーション後のヒト単球のＲａｊｉ細胞に向けたＡＤＣＣ。ＡＤＣＣが、５０：１のエフェクター：標的の比で実施された。リツキシマブにより媒介されたＲａｊｉ細胞死滅が、抗ＣＤ４７ｍＡｂにより有意に増大されることを注目されたい。示された値は、代表的な実験からの平均±ＳＤ（ｎ＝３）である。*、統計的に有意な差異、ｐ＜０．０５。

【００４４】

本発明が、以下の実施例により例示される。

【実施例１】

【００４５】

実施例１：ＡＤＣＣにおけるＣＤ４７－ＳＩＲＰα相互作用の役割についてのｉｎ　ｖｉｔｒｏの証拠

【００４６】

マクロファージによる腫瘍細胞のＡＤＣＣの間のＣＤ４７－ＳＩＲＰα相互作用の寄与を

調査する為に、ＣＣ５３１ラット結腸ガン細胞がＣＣ５２抗体およびラットＮＲ８３８３エフェクター細胞マクロファージと一緒にインキュベートされるアッセイが用いられた。

【００４７】

材料と方法：

ラットＣＣ５３１結腸ガン細胞およびＮＲ８３８３ラット肺胞マクロファージ（alveolar macrophages）が、１０％ウシ胎仔血清（ＦＣＳ）（Ｇｉｂｃｏ　ＢＲＬ）および抗生物質を含むＲＰＭＩ－１６４０培地中で通常培養された。ＣＣ５３１が、擦り取りにより、組織フラスコから引き離され、ＰＢＳ中で洗浄され、そして、５μＭのＤｉＩ（分子プローブ）により１５分間室温で標識された。洗浄後、３．７５×10^5のＣＣ５３１細胞（５μｇ／ｍｌの抗ラットＣＤ４７抗体ＯＸ１０１と一緒に１５分間予備インキュベートされたまたはされていない）が、丸底９６ウェル組織培養プラスチックプレート中で０．５％ＢＳＡを有する２００μｌのＨＥＰＥＳ緩衝ＲＰＭＩ－１６４０中で、１．２５×10^5のＮＲ８３８３細胞（５μｇ／ｍｌの抗ラットＳＩＲＰα抗体ＥＤ９またはそのＦａｂ’断片と一緒に１５分間予備インキュベートされたまたはされていない）と一緒に、ＣＣ５３１反応性ｍＡｂ　ＣＣ５２（１μｇ／ｍｌ）の存在下または不在下において、インキュベートされた。３７℃での９０分間のインキュベーション後、細胞は洗浄され、そして、マクロファージ特異的ビオチン化抗体ＥＤ３（ラットシアロアドヘシンに対して向けられた）およびＦＩＴＣ標識化ストレプトアビジンを用いて染色された。ＡＤＣＰ（ＤｉＩ標識化ＣＣ５３１細胞を取り込んだＮＲ８３８３の％として表される）が、ＦＡＣＳｃａｎフローサイトメーター（Ｂｅｃｔｏｎ　ａｎｄ　Ｄｉｃｋｉｎｓｏｎ）で決定された。

【００４８】

結果：

ＣＤ４７（ＯＸ１０１）またはＳＩＲＰα（ＥＤ９）に対する阻止抗体の不在下において、非常に少ない抗体依存性細胞性食作用だけが観察される一方で、そのような抗体の存在下において、ＣＣ５３１は容易に貪食される（図２）。これは、腫瘍細胞およびマクロファージエフェクター細胞のそれぞれのＣＤ４７－ＳＩＲＰαの間の相互作用がｉｎ　ｖｉｔｒｏでのＡＤＣＣを負に制御できることを示す。

【実施例２】

【００４９】

実施例２：抗体依存性腫瘍細胞死滅におけるＳＩＲＰαシグナル伝達の役割についてのｉｎ　ｖｉｖｏ証拠

【００５０】

ＳＩＲＰαが腫瘍細胞死滅をｉｎ　ｖｉｖｏで抑制することを実証する為に、我々は、野生型およびＳＩＲＰα変異マウス（Yamao (2002) J Biol Chem. 277:39833-9）における抗体依存性腫瘍細胞死滅を、ｉｎ　ｖｉｖｏＢ１６Ｆ１０マウスメラノーマモデル（Bevaart L et al. (2006) Cancer Res. 66:1261-4）を用いて、比較した。ＳＩＲＰα変異マウスは、ＳＨＰ－１およびＳＨＰ－２についてのドッキング部位として働くＩＴＩＭモチーフを含む、全部の細胞質テイルを欠く。

【００５１】

材料と方法：

若い、成熟した（７週齢）Ｃ５７Ｂｌ／６野生型またはＳＩＲＰα変異マウス（Yamao (2002) J Biol Chem. 277:39833-9）が、静脈内に、１．５×10^5 Ｂ１６Ｆ１０メラノーマ細胞（１００μＬの生理食塩水中；Ｎａｔｉｏｎａｌ　Ｃａｎｃｅｒ　Ｉｎｓｔｉｔｕｔｅから得られた（Ｆｒｅｄｅｒｉｃｋ，ＭＤ））を、治療抗体ＴＡ９９の不在下または存在下において（腫瘍細胞注入後、０、２、４、７、９、および１１日目で１０μｇ／マウス）、注入された。２１日後、該動物は屠殺され、そして、転移の数および肺における腫瘍負荷が、記載されたとおりに決定された（Bevaart L et al. (2006) Cancer Res. 66:1261-4）。

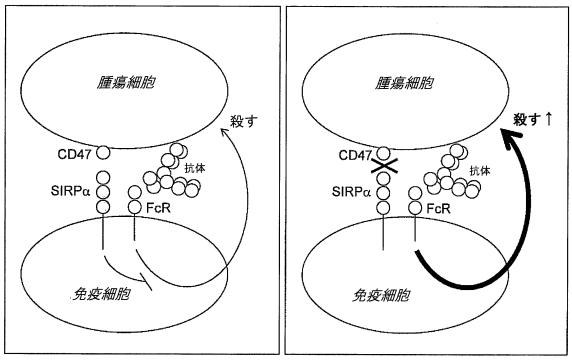
【００５２】

結果：
図３において見られるとおり、準最適濃度のモノクローナル治療抗体ＴＡ９９を用いて、野生型マウスと比較されたときに、ＳＩＲＰα変異マウスにおける腫瘍発達の有意により低いレベルがあった。これらの結果は、ＳＩＲＰαが、ｉｎ　ｖｉｖｏでの腫瘍細胞死滅の負の制御因子であることを実証する。
【実施例３】
【００５３】
骨髄系細胞による腫瘍細胞死滅におけるＣＤ４７－ＳＩＲＰα相互作用の負の役割についてのさらなる証拠を提供する為に、我々は、標的としてマウスＩｇＧ$_{2a}$抗ＣＤ３抗体によりオプソニン化された、ヒトＣＤ４７を発現するＪｕｒｋａｔ　Ｔ細胞白血病細胞（Van Lier RA et al. Eur J Immunol. 1987;17:1599-1604）（図４Ａ）、およびエフェクター細胞としてヒトＳＩＲＰαを発現する単球を採用するＡＤＣＣアッセイを確立し、そして、これを用いて、ＣＤ４７－ＳＩＲＰα相互作用をブロックする抗体の効果を試験した。
【００５４】
ＡＤＣＣアッセイ
単球が、健康なボランティアから得られたヘパリン化血から等張性Ｐｅｒｃｏｌｌ（Pharmacia Uppsala、スウェーデン）を用いた密度遠心により分離されたＰＢＭＣから、製造者の指示に従い、抗ＣＤ１４により覆われたビーズを用いることにより（Miltenyi Biotec B.V.、ユトレヒト、オランダ）磁性の細胞ソーティングにより分離された。該細胞は、１６時間、５ｎｇ／ｍｌの組み換えヒトＧＭ－ＣＳＦ（Pepro Tech Inc, 米国）を補われた完全ＲＰＭＩ中で培養され、穏やかなトリプシン処理により回収され、そして洗浄された。Ｊｕｒｋａｔ細胞（５～８×１０^{6}細胞）が集められ、そして、１００μＣｉ^{51}Ｃｒ（Perkin-Elmer、米国）により１ｍｌ中で９０分間３７℃で標識された。必要とされる場合、該細胞が、抗ＣＤ４７および／または抗ＣＤ３と一緒に予備インキュベートされ、そして再度洗浄された。単球は、回収され、そして、９ウェルＵ底組織培養プレート中に、１０％ＦＣＳ培地を有するＲＰＭＩ中にまかれた。該標的細胞（５×１０^{3}／ウェル）およびエフェクター細胞が、９６ウェルＵ底組織培養プレート中で、完全培地中で、Ｅ：Ｔ＝５０：１の比で、４時間、３７℃、５％ＣＯ$_{2}$で、共培養された。上清のアリコートが、回収され、そして、γ線カウンター中で放射活性について分析された。百分率相対的細胞毒性が、［（実験ｃｐｍ－自然ｃｐｍ）／（全ｃｐｍ－自然ｃｐｍ）］×１００％として決定された。すべての試料は三重に試験された。
【００５５】
結果：
図４Ｂにおいて見られるとおり、抗ＣＤ３により媒介される、Ｊｕｒｋａｔ細胞に対するＡＤＣＣ（これは高水準の表面ＣＤ４７を発現する（図４Ａ））は、ＣＤ４７がＳＩＲＰαに結合するのを阻止する飽和濃度の抗体Ｂ６Ｈ１２のＦ（ａｂ）’$_{2}$断片により、強く且つ相乗的に増強される。とりわけ、エフェクター抗ＣＤ３抗体の不在下において、抗ＣＤ４７Ｆ（ａｂ）’$_{2}$の効果は観察されず、ＣＤ４７－ＳＩＲＰα相互作用が選択的に働いて、腫瘍細胞死滅に対する、抗体によりおよびＦＣ受容体により媒介される影響を制限することを示唆する。
【００５６】
まとめると、これらのデータは、ＣＤ４７－ＳＩＲＰα相互作用、および骨髄系細胞中のＳＩＲＰαを介して、結果として得られる細胞内シグナルが、抗体により媒介される腫瘍細胞破壊についてのバリアを形成することを実証する。これらの結果は、ガン治療抗体の臨床的有効性を増大する目的で、ガン患者におけるＣＤ４７－ＳＩＲＰα相互作用の拮抗剤を採用することについての理論的根拠を与える。
【実施例４】
【００５７】
実施例４：ＣＤ４７－ＳＩＲＰα相互作用の阻止は、抗ガン治療抗体の効果を増大する。

【００５８】
ＣＤ４７－ＳＩＲＰα相互作用の阻止が実際に、確立された抗ガン治療抗体の効果を増大することを実証する為に、我々は、標的としてヒトＲａｊｉ　Ｂｕｒｋｉｔｔ’ｓ　Ｂリンパ腫細胞、エフェクター細胞としてヒト単球、および、ＣＤ２０に対するＦＤＡにより承認された治療抗体（リツキシマブ）を用いたＡＤＣＣアッセイを開発した。実験の詳細について、図５への説明を参照されたい。図５において見られるとおり、ＣＤ４７に対する阻止抗体（遮断抗体、blocking antibody）、Ｂ６Ｈ１２、は、Ｒａｊｉ細胞に向けられた、リツキシマブにより媒介される細胞障害作用を有意に増大することができた。

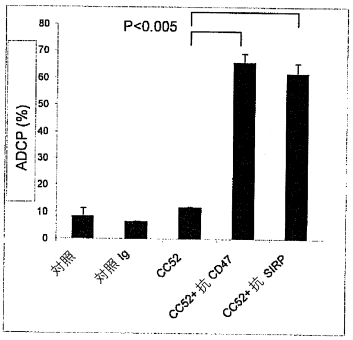
【図１】

図１



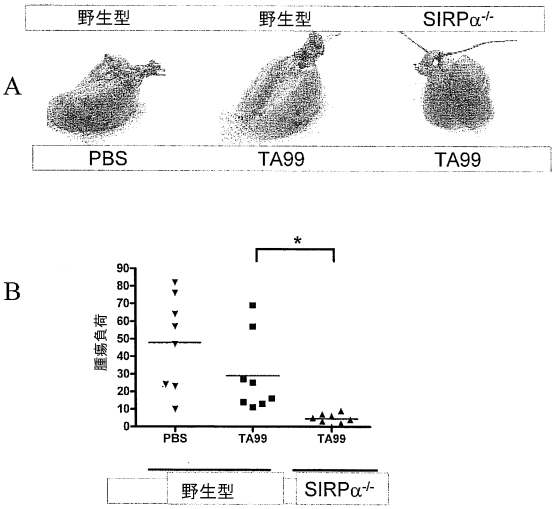
【図２】

図２



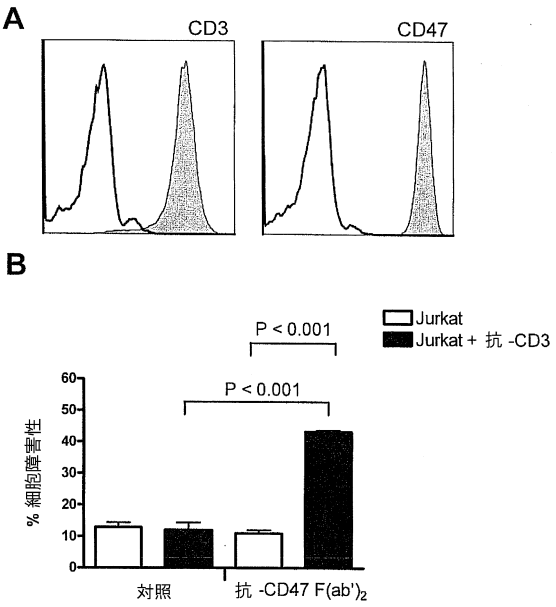
【図３】

図３



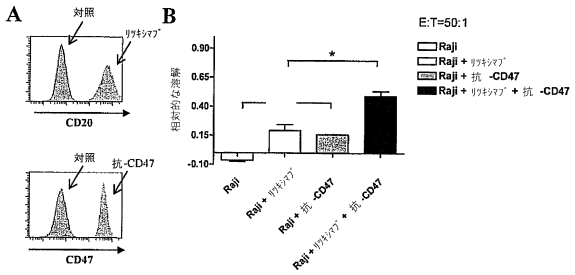
【図４】

図４



【図５】

図５



フロントページの続き

(56)参考文献 特開２００７－００８８９５（ＪＰ，Ａ）
国際公開第９９／０４０９４０（WO，Ａ１）
特表２００３－５３１１４９（ＪＰ，Ａ）
特表２００２－５２１０２２（ＪＰ，Ａ）
国際公開第２００６／０８９６９０（WO，Ａ１）
国際公開第０２／０９２７８４（WO，Ａ１）
特表２００７－５０８３３２（ＪＰ，Ａ）
特表２００６－５０６４４２（ＪＰ，Ａ）

(58)調査した分野(Int.Cl.，ＤＢ名)
Ａ６１Ｋ　３９／３９５
Ａ６１Ｐ　３５／００
ＣＡｐｌｕｓ／ＭＥＤＬＩＮＥ／ＥＭＢＡＳＥ／ＢＩＯＳＩＳ（ＳＴＮ）