

(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2007-510639

(P2007-510639A)

(43) 公表日 平成19年4月26日(2007.4.26)

(51) Int. Cl.	F I	テーマコード (参考)
A 6 1 K 39/395 (2006.01)	A 6 1 K 39/395 D	4 C 0 8 4
A 6 1 K 45/00 (2006.01)	A 6 1 K 45/00	4 C 0 8 5
A 6 1 K 48/00 (2006.01)	A 6 1 K 48/00	4 C 0 8 6
A 6 1 K 31/711 (2006.01)	A 6 1 K 31/711	
A 6 1 P 1/04 (2006.01)	A 6 1 K 39/395 U	
審査請求 未請求 予備審査請求 未請求 (全 28 頁) 最終頁に続く		

(21) 出願番号 特願2006-537439 (P2006-537439)
 (86) (22) 出願日 平成16年11月3日 (2004. 11. 3)
 (85) 翻訳文提出日 平成18年7月3日 (2006. 7. 3)
 (86) 国際出願番号 PCT/GB2004/004652
 (87) 国際公開番号 W02005/046657
 (87) 国際公開日 平成17年5月26日 (2005. 5. 26)
 (31) 優先権主張番号 0325836.5
 (32) 優先日 平成15年11月5日 (2003. 11. 5)
 (33) 優先権主張国 英国 (GB)

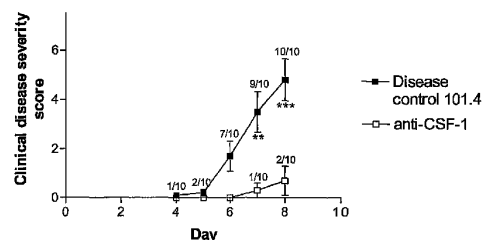
(71) 出願人 501460693
 セルテック アール アンド ディ リミ
 テッド
 イギリス国、パークシャー、スラウ、パス
 ロード 208
 (74) 代理人 100066692
 弁理士 浅村 皓
 (74) 代理人 100072040
 弁理士 浅村 肇
 (74) 代理人 100102897
 弁理士 池田 幸弘
 (74) 代理人 100088926
 弁理士 長沼 暉夫

最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 炎症性腸疾患の治療方法

(57) 【要約】

本発明は、治療有効量のCSF-1活性阻害剤の投与を含む、炎症性腸疾患 (IBD) の治療方法及び/又は予防方法を提供する。



【特許請求の範囲】

【請求項 1】

炎症性腸疾患（IBD）の治療及び／又は予防のための医薬を製造するための CSF - 1 活性阻害剤の使用。

【請求項 2】

前記阻害剤が核酸である、請求項 1 に記載の使用。

【請求項 3】

前記阻害剤が小分子（NCE）である、請求項 1 に記載の使用。

【請求項 4】

前記阻害剤が抗体又は機能活性のあるその断片若しくは誘導体である、請求項 1 に記載の使用。 10

【請求項 5】

前記抗体又はその断片が、モノクローナル、ポリクローナル、キメラ、ヒト化、又は二重特異性である、請求項 4 に記載の使用。

【請求項 6】

前記抗体断片が、Fab、Fab'、F(ab')₂、scFv、又はこれらのエピトープ結合断片である、請求項 4 又は請求項 5 に記載の使用。

【請求項 7】

前記抗体又はその断片が、1 種又は複数のエフェクター分子に結合している、請求項 4 から 6 までのいずれか一項に記載の使用。 20

【請求項 8】

前記抗体又はその断片が CSF - 1 に結合する、請求項 4 から 7 までのいずれか一項に記載の使用。

【請求項 9】

前記抗体又はその断片が CSF - 1 R に結合する、請求項 4 から 7 までのいずれか一項に記載の使用。

【請求項 10】

炎症性腸疾患がクローン病である、請求項 1 から 9 までのいずれか一項に記載の使用。

【請求項 11】

炎症性腸疾患が潰瘍性大腸炎である、請求項 1 から 9 までのいずれか一項に記載の使用 30

【請求項 12】

炎症性腸疾患（IBD）の治療及び／又は予防方法であって、治療有効量の CSF - 1 活性阻害剤の投与を含む方法。

【請求項 13】

前記阻害剤が核酸である、請求項 12 に記載の方法。

【請求項 14】

前記阻害剤が小分子（NCE）である、請求項 12 に記載の方法。

【請求項 15】

前記阻害剤が抗体又は機能活性のあるその断片若しくは誘導体である、請求項 12 に記載の方法。 40

【請求項 16】

前記抗体又はその断片が、モノクローナル、ポリクローナル、キメラ、ヒト化、又は二重特異性である、請求項 15 に記載の方法。

【請求項 17】

前記抗体断片が、Fab、Fab'、F(ab')₂、scFv、又はこれらのエピトープ結合断片である、請求項 15 又は請求項 16 に記載の方法。

【請求項 18】

前記抗体又はその断片が、1 種又は複数のエフェクター分子に結合している、請求項 15 から 17 までのいずれか一項に記載の方法。 50

【請求項 19】

前記抗体又はその断片が C S F - 1 に結合する、請求項 15 から 18 までのいずれか一項に記載の方法。

【請求項 20】

前記抗体又はその断片が C S F - 1 R に結合する、請求項 15 から 18 までのいずれか一項に記載の方法。

【請求項 21】

炎症性腸疾患がクローン病である、請求項 12 から 20 までのいずれか一項に記載の方法。

【請求項 22】

炎症性腸疾患が潰瘍性大腸炎である、請求項 12 から 20 までのいずれか一項に記載の方法。

【請求項 23】

前記 C S F - 1 活性阻害剤を、治療活性のある 1 種又は複数の他の化合物と組み合わせて投与する、請求項 12 から 22 までのいずれか一項に記載の方法。

【請求項 24】

前記治療活性のある他の化合物が別の抗 I B D 治療薬である、請求項 23 に記載の方法。

【請求項 25】

前記治療活性のある他の化合物が抗癌治療薬である、請求項 23 に記載の方法。

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0001】

本発明は、一般に、炎症性腸疾患の治療方法、より詳細には、炎症性腸疾患治療のための医薬を製造するための C S F - 1 活性阻害剤の使用に関する。

【背景技術】

【0002】

マクロファージコロニー刺激因子 (M - C S F) としても知られているコロニー刺激因子 1 (C S F - 1) は、マクロファージ、内皮細胞、及び線維芽細胞を含む様々な細胞によって産生されるサイトカインである。C S F - 1 は、2 つの「単量体」ポリペプチドから構成され、これらポリペプチドが、生物活性のある二量体 C S F - 1 タンパク質を形成している。C S F - 1 は、選択的 m R N A スプライシングのために、少なくとも 3 種の成熟型で存在する (C e r r e t t i ら、M o l e c u l a r I m m u n o l o g y、第 25 巻：761 ページ (1988 年) を参照のこと)。C S F - 1 の 3 形態は、アミノ末端に 32 アミノ酸のシグナル配列を有し、カルボキシル末端付近に約 23 アミノ酸の推定上の膜貫通領域を有する、256 ~ 554 アミノ酸からなるポリペプチド単量体をコードする異なる m R N A 前駆体から翻訳される。前駆体ペプチドは、その後、アミノ末端及びカルボキシル末端のタンパク質分解切断によるプロセッシングを受けて、成熟 C S F - 1 を放つ。C S F - 1 の 3 種すべての成熟形態の残基 1 ~ 149 は同一であり、C S F - 1 の生物活性に不可欠な配列を含むと考えられている。i n v i v o では、C S F - 1 単量体は、ジスルフィド結合によって二量体化され、さらにグリコシル化を受ける。C S F - 1 は、血球の産生を促進する生物学的アゴニストのグループに属する。詳細には、C S F - 1 は、単核貪食細胞系列の骨髄前駆細胞の増殖及び分化因子として働く。さらに、C S F - 1 は、応答している細胞上の特異的な受容体を介して成熟マクロファージの増殖及び機能を刺激する。C S F - 1 受容体は、c - f m s 遺伝子産物又は C D 115 とも呼ばれる。総説については、R o t h 及び S t a n l e y、1992 年、C u r r e n t T o p i c s i n M i c r o b i o l o g y a n d I m m u n o l o g y、第 181 巻、141 ~ 167 ページを参照されたい。

【0003】

用語「炎症性腸疾患」(I B D) とは、消化管の様々な部位の慢性の炎症を特徴とする

10

20

30

40

50

重症の慢性腸管障害を指し、具体的には、潰瘍性大腸炎（UC）及びクローン病（CD）が含まれる。IBDの原因は不明であるが、正常な管腔内細菌叢の存在によって統御される粘膜免疫系の不適切かつ継続する活性化のために起こると考えるのが最も一般的である。この異常な応答は、おそらくは腸上皮及び粘膜免疫系の双方のバリア機能の欠如によって促進され、遺伝的要因及び環境要因の両方がIBDの罹りやすさの一因であると考えられている（Podolsky、2002年、N. Engl. J. Med、第347巻6号、417～429ページ）。IBDの治療は、通常、ステロイド薬及び5-アミノサリチル酸薬から始まるが、長期間の使用には問題が伴う。その上、IBD患者の約30%はどちらの治療にも十分に応答せず、免疫抑制及び免疫調節の薬剤や手術など、他の処置が必要となる（Sandborn、1996年、Am. J. Gastroenterol、第91巻、423～432ページ）。炎症性腸疾患の患者及びネズミのモデルでは、粘膜の免疫応答の活性化を持続させて、免疫細胞集団及び炎症介在物質の徹底した特徴付けがなされている。活動性のCD及びUCでは、腸内マクロファージ数の増加が認められており、単球がIBDの全段階に関与するようである（Fiocchi、1998年、Gastroenterology、第115巻、182～205ページ）。Th1サイトカインは、マクロファージを活性化し、マクロファージは、インターロイキン-12、インターロイキン-18、及びマクロファージ遊走抑制因子を産生し、したがって自己持続循環でTh1をさらに刺激すると考えられる。また、活性化したマクロファージは、TNF、インターロイキン1、及びインターロイキン6を含む、炎症サイトカインの強力な混合物を産生する（Podolsky、2002年、N. Engl. J. Med、第347巻、417～429ページ）。CDが定着している患者の粘膜では、インターフェロン、インターロイキン（IL-）2の発現が増大した後、炎症誘発性サイトカインであるTNF及びIL-1、次いでNF- κ Bの産生が順次増大すること、並びにTh2を媒介とする抗炎症性サイトカインであるIL-10及びトランスフォーミング成長因子 β が代償的に増加することを特徴とする、I型ヘルパーT細胞（Th1）の表現型を示すCD4+リンパ球が優位を占める。UCでは、患者の粘膜は、非定型の2型ヘルパーT細胞（Th2）の表現型を示し、Th1応答が比較的弱くなっているCD4+リンパ球が優位を占めることがある。Th2応答は、IL-4、IL-5、IL-6、IL-10、及びIL-13の発現の増大を特徴とする。

【0004】

IBDに影響を与える多くの異なるサイトカイン及びTリンパ球の細胞型は、すべてがIBD治療の潜在的なターゲットとなる。多くの異なる治療が開発の最中にあり、そのターゲットとしては、TNF、 α 4インテグリン、IL-2、IL-12、インターフェロン、ICAM-1、及びCD-40リガンドが挙げられる（Sandborn、2002年、Gastroenterology、第122巻、1592～1608ページ）。

【0005】

CSF-1がIBDの病因において役割を果たしているのかどうかは不明である。CSF-1は、CSF-1を欠いたマウスが常在腸内マクロファージ集団を失うので、マクロファージ産生において役割を担うことがわかっている（Cecchiniら、1994年、Development、第120巻、1357～1372ページ）。活動性のIBDの患者では、寛解期の患者又は健康な対照と比べて血清CSF-1レベルの増大が認められている（Makiyamaら、Gastroenterol. Jpn. 1993年、28巻、740ページ）。炎症を起こしているIBDの腸についての一研究では、粘膜固有層中でCSF-1 mRNA及びCSF-1タンパク質を発現させる細胞数の有意な増大が認められた。しかし、大腸粘膜生検では全体としてのCSF-1 mRNAレベルに差はなく、この生検でmRNAレベルと粘膜の炎症の程度とに相関はなかった。この研究で認められたCSF-1発現の頻度又は細胞分布の変化は、腸結核及び虚血性大腸炎でも同様の発見があったので、どれもIBDに特異的でなかった（Klebl、2001年、Journal of Pathology、第195巻、609～615ページ）。

【0006】

C S F - 1 は、免疫抑制の治療、細菌、ウイルス、若しくは真菌感染の治療若しくは予防、白血球の刺激、及び創傷治癒において使用され、C S F - 1 の阻害剤は、腫瘍疾患の治療に使用されている (E P 1 2 2 3 9 8 0) 。 C S F - 1 活性の阻害剤は、当業界でよく知られており、たとえば、C S F - 1 及び C S F - 1 R に対する中和抗体の記載があり (Weir ら、1996 年、J Bone Miner. Res. 第 11 巻、1474 ~ 1481 ページ ; Haran - Ghera ら、1997 年、Blood、第 89 巻、2537 ~ 2545 ページ) 、C S F - 1 のアンチセンスアンタゴニストも記載されている (E P 1 2 2 3 9 8 0) 。

【発明の開示】

【発明が解決しようとする課題】

10

【0007】

驚くべきことに、発明者らは、C S F - 1 活性の阻害剤が、I B D の動物モデルにおいて活性を示すことを実証できた。詳細には、発明者らは、C S F - 1 活性を阻害する抗 C S F - 1 抗体が、I B D の動物モデルにおいて活性を示すことを実証できたのである。

【課題を解決するための手段】

【0008】

したがって、本発明は、C S F - 1 活性の阻害剤を治療有効量投与することを含む、I B D の治療及び / 又は予防方法を提供する。本発明は、炎症性腸疾患の治療及び / 又は予防のための医薬を製造するための C S F - 1 活性の阻害剤の使用も提供する。

【発明を実施するための最良の形態】

20

【0009】

本出願では、用語「炎症性腸疾患」は、消化管中の様々な部位の慢性の炎症を特徴とする疾患を含む。好例となる炎症性腸疾患には、その限りでないが、限局性腸炎 (又はクローン病) 、特発性潰瘍性結腸炎、特発性直腸結腸炎、及び感染性腸炎が含まれる。

【0010】

用語「C S F - 1 活性」とは、本明細書では、当業界で C S F - 1 、特にヒト C S F - 1 に対して理解されている活性、すなわち、Metcalf、J. Cell. Physiol (1970 年) 76 ~ 89 ページの標準の in vitro コロニー刺激アッセイに適用したときの活性のスペクトルを指す。

【0011】

30

本発明による C S F - 1 活性の阻害剤は、C S F - 1 の活性、特に I B D の際の C S F - 1 活性を妨害する薬剤である。特に好ましいものは、ヒトにおいて I B D の際の C S F - 1 活性を妨害する薬剤である。本発明による阻害剤は、C S F - 1 活性を部分的又は完全に抑制することができる。本発明で使用する阻害剤としては、限定するものではないが、C S F - 1 若しくは C S F - 1 受容体 (C S F - 1 R) 又は C S F - 1 若しくは C S F - 1 R をコードする核酸分子と相互に作用し得る (たとえば、それに結合し、又はそれを認識し得る) 阻害剤、又は C S F - 1 若しくは C S F - 1 R の発現を抑制することのできる阻害剤、又は C S F - 1 と C S F - 1 R の相互作用を阻害することのできる阻害剤が挙げられる。そのような阻害剤は、限定するものではないが、抗体、核酸 (たとえば、DNA、RNA、アンチセンス RNA、siRNA) 、炭水化物、脂質、タンパク質、ポリペプチド、ペプチド、ペプチド模倣物、小分子、及び他の薬物でよい。

40

【0012】

適切な阻害剤の例としては、その限りでないが、C S F - 1 に結合し、天然型 C S F - 1 受容体への結合を妨げる、合成の C S F - 1 受容体機能性断片、C S F - 1 若しくは C S F - 1 受容体に結合し、C S F - 1 受容体リガンドとの相互作用の妨げとなる抗体、C S F - 1 若しくは C S F 受容体をコードする mRNA と特異的にハイブリッド形成するアンチセンス核酸分子、又は C S F - 1 若しくはその受容体の活性を抑制する小分子若しくは他の薬物が挙げられる。

【0013】

C S F - 1 活性の阻害剤は、当業界でよく知られており、そのような阻害剤を同定し、

50

製造する方法も同様である。たとえば、Weirら、1996年、J Bone Miner Res. 第11巻、1474~1481ページ；及びHaran-Gheraら、1997年、Blood、第89巻、2537~2545ページには、中和抗CSF-1抗体が記載されている。後者は、抗CSF-1R抗体も記載しており、CSF-1アンチセンスアンタゴニストについての記載もある(EP1223980)。適切な阻害剤となり得る薬剤は、広範な種類の候補薬剤から選択することができる。候補薬剤の例には、その限りでないが、核酸(たとえば、DNA及びRNA)、炭水化物、脂質、タンパク質、ポリペプチド、ペプチド、ペプチド模倣物、小分子、及び他の薬物が含まれる。薬剤は、生物学的ライブラリー；空間的にアドレス指定可能な並列固相若しくは溶液相ライブラリー；デコンヴォリューションを要する合成ライブラリー法；「one-bead one-compound」ライブラリー法；及びアフィニティークロマトグラフィーによる選択を用いる合成ライブラリー法を含む、当業界で知られているコンビナトリアルライブラリー法の数多くの手法のいずれかを使用して得ることができる。生物学的ライブラリーの手法はペプチドライブラリーに適し、他の4種のアプローチは、ペプチド、非ペプチドオリゴマー、又は小分子ライブラリーの化合物に適用可能である(Lam、1997年、Anticancer Drug Des. 第12巻：145ページ；米国特許第5,738,996号、及び同第5,807,683号)。

10

【0014】

この記述に基づく、分子ライブラリーの合成に適する方法の例は、当業界、たとえば、DeWittら、1993年、Proc. Natl. Acad. Sci. USA 第90巻：6909ページ；Erbら、1994年、Proc. Natl. Acad. Sci. USA 第91巻：11422ページ；Zuckermannら、1994年、J. Med. Chem. 第37巻：2678ページ；Choら、1993年、Science 第261巻：1303ページ；Carrellら、1994年、Angew. Chem. Int. Ed. Engl. 第33巻：2059ページ；Carrellら、1994年、Angew. Chem. Int. Ed. Engl. 第33巻：2061ページ；及びGallopら、1994年、J. Med. Chem. 第37巻：1233ページで見ることができる。

20

【0015】

化合物のライブラリーは、たとえば、溶液中(たとえば、Houghten、1992年、Bio/Techniques 第13巻：412~421ページ)、又はビーズ(Lam、1991年、Nature 第354巻：82~84ページ)、チップ(Fodor、1993年、Nature 第364巻：555~556ページ)、細菌(米国特許第5,223,409号)、胞子(米国特許第5,571,698号；同第5,403,484号；及び同第5,223,409号)、プラスミド(Cullら、1992年、Proc. Natl. Acad. Sci. USA 第89巻：1865~1869年)、若しくはファージ(Scott及びSmith、1990年、Science 第249巻：386~390ページ；Devlin、1990年、Science 第249巻：404~406ページ；Cwirllaら、1990年、Proc. Natl. Acad. Sci. USA 第87巻：6378~6382ページ；及びFelici、1991年、J. Mol. Biol. 第222巻：301~310ページ)上に提供されるものでよい。

30

40

【0016】

一例では、本発明で使用する阻害剤は核酸でよい。詳細には、CSF-1又はCSF-1Rの核酸分子をアンチセンス分子として使用して、そのそれぞれのポリペプチドの発現を、相補的な核酸への結合によって変更することができる。CSF-1又はCSF-1Rの核酸は、標準のクローニング技術を使用して、たとえば、ゲノムDNA又はcDNAから得ることができ、又はよく知られ、市販品になっている技術を使用して合成することもできる。このCSF-1又はCSF-1R核酸は、CSF-1又はCSF-1R核酸のヌクレオチド配列中に1回又は複数のヌクレオチド置換、付加、又は欠失を含んでいて構わない。突然変異の導入には、たとえば、部位特異的突然変異誘発及びPCRを媒介とする突然変異誘発を含む、当業者に知られている標準の技術を使用することができる。本発明

50

によるアンチセンス核酸としては、それぞれのポリペプチドをコードするRNA（好ましくはmRNA）の一部分に相補的ないくつかの配列の力でハイブリッド形成することのできるCSF-1又はCSF-1R核酸が挙げられる。アンチセンス核酸は、そのようなポリペプチドをコードするmRNAのコード領域及び/又は非コード領域に相補的なものにすることができる。アンチセンス核酸は、CSF-1又はCSF-1Rポリペプチドの発現の障害をもたらすことが最も好ましい。したがって、本発明は、IBDの治療方法及び/又は予防方法であって、CSF-1活性の障害剤を治療有効量投与することを含み、前記障害剤が、CSF-1又はCSF-1Rポリペプチドをコードする遺伝子又はcDNAに対してアンチセンスである少なくとも8個のヌクレオチドを含む方法を提供する。本発明は、CSF-1又はCSF-1Rポリペプチドをコードする遺伝子又はcDNAに対してアンチセンスである少なくとも8個のヌクレオチドを含む核酸の、IBDの治療及び/又は予防で使用する医薬を製造するための使用も提供する。適切な配列の例は、EP1223980に示されており、それらを参照により本明細書に援用する。

10

【0017】

IBDの治療及び/又は予防で使用する障害剤は、CSF-1又はその受容体と相互に作用し（すなわち、それに結合し、又はそれを認識し）、CSF-1の活性を障害する抗体であることが最も好ましい。したがって、IBDの治療及び/又は予防で使用する医薬を製造するための、CSF-1の活性を障害する抗体の使用を提供する。また、対象におけるIBDの治療方法及び/又は予防方法であって、前記対象にCSF-1の活性を障害する抗体を治療有効量投与することを含む方法も提供する。

20

【0018】

一例では、抗体は、CSF-1と選択的に相互に作用する。選択的に相互に作用する（たとえば、認識し、又は結合する）とは、抗体が、CSF-1ポリペプチドに対して他のポリペプチドよりも強い親和性を有することを意味する。適切な抗体の例は、たとえば、CSF-1のその受容体への結合を妨げて、それが生物活性をもたないようにするなどして、CSF-1への結合によるCSF-1の活性化を障害するものである。したがって、本発明は、IBDの治療及び/又は予防で使用する医薬を製造するための抗CSF-1抗体の使用を提供する。また、対象におけるIBDの治療方法及び/又は予防方法であって、前記対象への治療有効量の抗CSF-1抗体の投与を含む方法も提供する。

30

【0019】

別の例では、抗体は、CSF-1受容体と選択的に相互に作用する。選択的に相互に作用する（たとえば、認識し、又は結合する）とは、抗体が、CSF-1受容体ポリペプチドに対して他のポリペプチドよりも強い親和性を有することを意味する。適切な抗体の例は、たとえば、CSF-1がCSF-1受容体に結合しないようにして、受容体からのCSF-1を媒介とするシグナル伝達を妨げることでCSF-1の活性を障害するものである。したがって、本発明は、IBDの治療及び/又は予防で使用する医薬を製造するための抗CSF-1R抗体の使用を提供する。また、対象におけるIBDの治療方法及び/又は予防方法であって、前記対象への治療有効量の抗CSF-1R抗体の投与を含む方法も提供する。

40

【0020】

CSF-1若しくはCSF-1受容体のポリペプチド、又は前記ポリペプチドを発現させる細胞を使用して、前記ポリペプチドを特異的に認識する抗体を産生させることができる。CSF-1及びCSF-1Rポリペプチドは、「成熟」ポリペプチドでも、又は生物活性のあるその断片若しくは誘導體でもよい。CSF-1ポリペプチドは、生物活性にとって重要であると考えられるアミノ酸1~149を含んでいることが好ましい。CSF-1及びCSF-1Rポリペプチドは、発現系を含む遺伝子操作された宿主細胞から、当業界でよく知られている方法によって調製してもよいし、自然の生物供給源から回収してもよい。本出願では、用語「ポリペプチド」は、ペプチド、ポリペプチド、及びタンパク質を含む。別段の指定がない限り、これらを区別なく使用する。CSF-1又はCSF-1Rポリペプチドは、場合によっては、たとえばアフィニティタグに融合させた融合タン

50

パク質など、より大きなタンパク質の一部でもよい。よく知られた、常法どおりのプロトコルを使用して、動物、好ましくはヒトでない動物にポリペプチドを投与することで、これらのポリペプチドに対して産生された抗体を得ることができる。たとえば、「実験免疫学の手引き (Handbook of Experimental Immunology)」、D. M. Weir (編)、第4巻、Blackwell Scientific Publishers、英国オックスフォード、1986年)を参照されたい。ウサギ、マウス、ラット、ヒツジ、ウシ、ブタなどの多くの温血動物を免疫感作することができる。しかし、マウス、ウサギ、ブタ、及びラットが一般に好ましい。

【0021】

本発明で使用する抗CSF-1抗体及び抗CSF-1受容体抗体には、完全抗体、及び機能活性のあるその断片若しくは誘導体が含まれ、その限りでないが、ポリクローナル抗体、モノクローナル抗体、多価抗体、多重特異性抗体、ヒト化若しくはキメラ抗体、一本鎖抗体、Fab断片、Fab'及びF(ab')₂断片、Fab発現ライブラリーによって生成される断片、抗イデオタイプ(抗Id)抗体、及び上記のいずれかのエピトープ結合断片でよい。

【0022】

抗体としては、免疫グロブリン分子、及び免疫グロブリン分子の免疫活性部分、すなわち、抗原を特異的に結合する抗原結合部位を含む分子が挙げられる。本発明の免疫グロブリン分子は、免疫グロブリン分子のどのクラス(たとえば、IgG、IgE、IgM、IgD、IgA)又はどのサブクラスのものでもよい。

【0023】

モノクローナル抗体は、ハイブリドーマ法(Kohler & Milstein、1975年、Nature、第256巻: 495~497ページ)、トリオーマ法、ヒトB細胞ハイブリドーマ法(Kozborら、1983年、Immunology Today、第4巻: 72ページ)、EBV-ハイブリドーマ法(Coleら、「モノクローナル抗体と癌治療(Monoclonal Antibodies and Cancer Therapy)」、77~96ページ、Alan R. Liss, Inc.、1985年)など、当業界で知られているどんな方法によって調製してもよい。

【0024】

本発明で使用する抗体は、たとえば、Babcock, J. ら、1996年、Proc. Natl. Acad. Sci. USA第93巻(15): 7843~7848ページ、WO92/02551、及びWO2004051268に記載の方法によって、特定の抗体を産生させるために選択した単一のリンパ球から生成される免疫グロブリン可変領域cDNAを発現させ、クローン化することによる、単一リンパ球抗体法を使用して生成することもできる。

【0025】

ヒト化抗体とは、ヒトでない種の1箇所又は複数の相補性決定領域(CDRs)と、ヒト免疫グロブリン分子のフレームワーク領域とを有する、ヒトでない種に由来する抗体分子である(たとえば、米国特許第5,585,089号を参照のこと)。

【0026】

キメラ抗体とは、軽鎖及び重鎖の遺伝子が、異なる種に属する免疫グロブリン遺伝子区分から構成されるように遺伝子操作してある免疫グロブリン遺伝子によってコードされる抗体である。このようなキメラ抗体は、抗原性がより弱いと思われる。二価抗体は、当業界で知られている方法によって製することができる(Milsteinら、1983年、Nature第305巻: 537~539ページ; WO93/08829; Trautnerら、1991年、EMBO J.第10巻: 3655~3659ページ)。多価抗体は、多種類の特異性を含むものでも、単一特異性のものもよい(たとえば、WO92/22853を参照のこと)。

【0027】

本発明で使用する抗体は、当業界で知られている様々なファージディスプレイ法を使用

10

20

30

40

50

して生成することもでき、これには、Brinkmanら(J. Immunol. Methods、1995年、第182巻：41～50ページ)、Amesら(J. Immunol. Methods、1995年、第184巻：177～186ページ)、Kettlboroughら(Eur. J. Immunol. 1994年、第24巻：952～958ページ)、Persicら(Gene、1997年、第187巻、9～18ページ)、Burtonら(Advances in Immunology、1994年、第57巻：191～280ページ)、及びWO90/02809、WO91/10737、WO92/01047、WO92/18619、WO93/11236、WO95/15982、WO95/20401、米国特許第5,698,426号、同第5,223,409号、同第5,403,484号、同第5,580,717号、同第5,427,908号、同第5,750,753号、同第5,821,047号、同第5,571,698号、同第5,427,908号、同第5,516,637号、同第5,780,225号、同第5,658,727号、同第5,733,743号、及び同第5,969,108号で開示されているものが含まれる。米国特許第4,946,778号に記載のものなどの一本鎖抗体生成技術を適合させて、CSF-1又はCSF-1Rポリペプチドに対する一本鎖抗体を生成することもできる。また、トランスジェニックマウス、又は他の哺乳動物を含む他の生物体を使用して、ヒト化抗体を発現させることもできる。

【0028】

抗体断片及びその生成方法は、当業界でよく知られており、たとえば、Vermaら、1998年、Journal of Immunological Methods、第216巻、165～181ページを参照されたい。

【0029】

本発明で使用する抗体断片の詳細な例は、天然型又は改変型のヒンジ領域を有するFab断片である。いくつかの改変型ヒンジ領域が、たとえば米国特許第5,677,425号、WO9915549、及びWO9825971で既に記載されており、これらを参照により本明細書に援用する。

【0030】

本発明で使用する詳細な抗体断片の別の例としては、国際特許出願PCT/GB2004/002810、PCT/GB2004/002870、及びPCT/GB2004/002871(すべて2004年7月1日出願)に記載のものが挙げられる。特に、国際特許出願PCT/GB2004/002810に記載されている改変型抗体Fab断片が好ましい。

【0031】

所望であれば、本発明で使用する抗体を1種又は複数のエフェクター分子に結合させてもよい。用語エフェクター分子は、本明細書では、たとえば、抗腫瘍薬、薬物、毒素、生物活性のあるタンパク質、たとえば酵素、他の抗体若しくは抗体断片、合成若しくは自然に存在するポリマー、核酸及びその断片、たとえばDNA、RNA、及びこれらの断片、放射性核種、特に放射性ヨウ化物、放射性同位体、キレート金属、ナノ粒子、及び蛍光化合物やNMR若しくはESR分光法によって検出できる化合物などのレポーター基を含む。一例では、抗CSF-1抗体又は抗CSF-1R抗体を、細胞毒、放射性ヨウ化物、薬物部分などのエフェクター分子に結合させて、所与の生物応答を変更することができる。たとえば、治療薬は、所望の生物活性を有するタンパク質又はポリペプチドでよい薬物部分となり得る。そのような部分としては、たとえば、限定するものではないが、アブリン、リシンA、シュドモナス属外毒素、ジフテリア毒素などの毒素；腫瘍壊死因子、インターフェロン、インターフェロン、神経成長因子、血小板由来増殖因子、組織プラスミノゲン活性化因子などのタンパク質；抗血栓薬；抗血管形成剤、たとえばアンギオスタチンやエンドスタチン；又はリンホカイン、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6(IL-6)、顆粒球マクロファージコロニー刺激因子(GM-CSF)、顆粒球コロニー刺激因子(G-CSF)、神経成長因子(NGF)、他の成長因子などの生体応答変更因子を挙げることができる。

【0032】

別の例では、エフェクター分子は、細胞にとって有害な（たとえば、細胞を殺す）薬剤を含む細胞毒又は細胞障害剤（cytotoxic agent）でよい。例としては、タキソール、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、ピンクリスチン、ピンブラスチン、コルヒチン、ドキソルピシン、ダウノルピシン、ジヒドロキシアントラシンジオン、ミトキサントロン、ミスラマイシン、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、ピューロマイシン、及びこれらの類似体若しくは同族体が挙げられる。エフェクター分子には、その限りでないが、代謝拮抗薬（たとえば、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（たとえば、メクロレタミン、チオエパクロランブシル、メルファラン、カルムスチン（BSNU）、ロムスチン（CCNU）、シクロトスファミド（cyclotriphosphamide）、ブスルファン、ジプロモマンニトール、ストレプトゾトシン、マイトマイシンC、シス-ジクロロジアミン白金（II）（DDP）（シスプラチン））、アントラサイクリン（たとえば、ダウノルピシン（以前はダウノマイシン）やドキソルピシン）、抗生物質（たとえば、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、ミスラマイシン、アンスラマイシン（AMC）、カリケアマイシン、デュオカルマイシン）、及び細胞分裂抑制剤（たとえば、ピンクリスチンやピンブラスチン）も含まれる。

10

【0033】

他のエフェクター分子としては、 ^{111}In 及び ^{90}Y 、 ^{177}Lu 、ビスマス ^{213}Bi 、カリフォルニウム ^{252}Cf 、イリジウム ^{192}Ir 、タングステン ^{188}Tm / レニウム ^{188}Re などの放射性核種、又はその限りでないが、アルキルホスホコリン、トポイソメラーゼI阻害剤、タキソイド、スラミンなどの薬物を挙げるができる。このようなエフェクター分子を抗体に結合させる技術は、当業界でよく知られている（Hellstromら、「制御型薬物送達（Controlled Drug Delivery）」第2版、Robinsonら編、1987年、623～53ページ；Thorpeら、1982年、Tmmunol. Rev.、第62巻：119～58ページ；及びDubowchikら、1999年、Pharmacology and Therapeutics、第83巻、67～123ページを参照のこと）。一例では、抗体又はその断片を、N側でもC側でもよい末端での共有結合（たとえば、ペプチド結合）によって、別のタンパク質（又はその部分、好ましくはそのタンパク質の少なくとも10、20、若しくは50アミノ酸の部分）のアミノ酸配列と融合させる。抗体又はその断片をその抗体の定常ドメインのN末端を他のタンパク質に結合させることが好ましい。たとえば、WO86/01533及びEP0392745に記載されているような組換えDNA手順を使用して、このような融合物を作ることができる。

20

30

【0034】

別の例では、エフェクター分子は、in vivo半減期を延長し、かつ/又は免疫原性を低減し、かつ/又は免疫系への上皮バリア越しの抗体の送達を増強することができる。適切なエフェクター分子の例には、ポリマー、及びアルブミンやアルブミン結合タンパク質などのタンパク質が含まれる。適切なポリマーの例としては、たとえば、任意選択で置換されている直鎖状若しくは分枝鎖状のポリアルキレン、ポリアルケニレン、若しくはポリオキシアルキレンポリマー、又は分枝鎖状若しくは分枝鎖状でない多糖、たとえば、ラクトース、アミロース、デキストラン、グリコーゲンなどのホモ若しくはヘテロ多糖を含む、合成又は自然に存在する、実質的に水溶性、実質的に非抗原性のポリマーが挙げられる。上述の合成ポリマー上に存在してよいオプシンの詳細な置換基には、1個又は複数のヒドロキシ、メチル、又はメトキシの各基が含まれる。合成ポリマーの詳細な例としては、任意選択で置換されている直鎖状又は分枝鎖状のポリ（エチレングリコール）、ポリ（ピロピレングリコール）、ポリ（ビニルアルコール）、又はこれらの誘導体、特に、メトキシポリ（エチレングリコール）などの任意選択で置換されているポリ（エチレング

40

50

リコール)が挙げられる。ポリマーは、ポリエチレングリコール(P E G)などのポリアルキレンオキシドであることが好ましい。

【0035】

一例では、本発明で使用する抗体をポリ(エチレングリコール)(P E G)部分に結合させる。詳細な一例では、抗体は抗体断片であり、P E G分子は、抗体断片中に位置する利用可能な任意のアミノ酸側鎖官能基又は末端アミノ酸官能基、たとえば、任意の遊離アミノ基、イミノ基、チオール基、ヒドロキシル基、又はカルボキシル基を介して結合させることができる。そのようなアミノ酸は、抗体断片中にもともと存在するものでもよいし、又は組換えDNA法を使用して断片中に組み込まれたものでもよい。たとえば、米国特許第5,219,996号を参照されたい。複数の部位を使用すると、2個以上のP E G分子に結合させることができる。P E G分子は、抗体断片中に存在する少なくとも1個のシステイン残基のチオール基を介して共有結合させることが好ましい。チオール基を結合点として使用する場合は、適切に活性化されたエフェクター分子、たとえば、マレイミドなどのチオール選択的な誘導体、及びシステイン誘導体を使用することができる。

10

【0036】

抗体は、たとえば、EP0948544、並びに国際特許出願PCT/GB2004/002810、PCT/GB2004/002870、及びPCT/GB2004/002871(すべて2004年7月1日出願)に記載の方法に従ってP E G化されている、すなわち、P E G(ポリ(エチレングリコール))がそれに共有結合している改変型Fab断片であることが好ましい[「ポリ(エチレングリコール)-化学、生物工学、及び生物医学での適用例(Poly(ethyleneglycol) Chemistry, Biotechnical and Biomedical Applications)」、1992年、J. Milton Harris(編)、Plenum Press、米国ニューヨーク;「ポリ(エチレングリコール)-化学及び生物学での適用例(Poly(ethyleneglycol) Chemistry and Biological Applications)」、1997年、J. Milton Harris及びS. Zalipsky(編)、American Chemical Society、米国ワシントンDC;「生物医学のための生体結合タンパク質の結合技術(Bioconjugation Protein Coupling Techniques for the Biomedical Sciences)」、1998年、M. Aslam及びA. Dent、Grove Publishers、米国ニューヨーク;Chapman、A.、2002年、Advanced Drug Delivery Reviews 2002、第54巻:531~545ページも参照のこと]。断片に結合したP E Gの合計量は、必要に応じて様々でよいが、一般に、250~100,000Da、好ましくは5,000~50,000Da、より好ましくは10,000~40,000Da、さらに好ましくは20,000~40,000Daの範囲の平均分子量となる。P E Gの大きさは、特に、意図する製品用途、たとえば、腫瘍などのある組織に局在化させる能力、又は循環半減期を延長する能力に基づいて選択することができる(総説については、Chapman、2002年、Advanced Drug Delivery Reviews、第54巻、531~545ページを参照のこと)。

20

30

40

【0037】

抗体は、改変型Fab'断片であり、P E Gがヒンジ領域のシステインに結合していることが好ましい。一例では、P E Gによって改変されたFab'断片は、改変されたヒンジ領域中の単一のチオール基に共有結合したマレイミド基を有する。マレイミド基にリジン残基を共有結合させてもよく、リジン残基上のアミン基それぞれに、分子量が約20,000Daであるメトキシポリ(エチレングリコール)ポリマーを結合させることができる。したがって、Fab'断片に結合させるP E Gの合計分子量は、約40,000Daとなり得る。

【0038】

別の好ましい実施形態では、本発明で使用する抗体断片は、国際出願PCT/GB20

50

04/002810(2004年7月1日出願)に記載されているような、PEG化された(すなわち、PEG(ポリ(エチレングリコール))がそれに結合している)Fab断片である。このPEG化Fab断片は、PEGがそれぞれの鎖間システムに結合していることが好ましい。鎖間システムに結合した各PEGの分子量は20,000Daであり、Fab断片に結合したPEGの合計分子量は40,000Daであることが好ましい。

【0039】

CSF-1活性の阻害剤を同定するために、当業者はいくつかの異なる手法を取ることができる。一例では、まずCSF-1又はCSF-1Rと相互に作用する作用物質を同定し、その後CSF-1活性を阻害するものを同定すべくそうした作用物質を試験して、阻

10

【0040】

CSF-1又はCSF-1Rと相互に作用する薬剤は、任意の適切な方法、たとえば、CSF-1又はCSF-1Rポリペプチドを候補薬剤と接触させ、その候補薬剤がポリペプチドと相互に作用し得るかどうかを決定する、無細胞アッセイ系又は細胞アッセイ系を使用して同定することができる。候補薬剤がCSF-1又はCSF-1Rポリペプチドと相互に作用する能力は、基準範囲又は対照と比べることが好ましい。所望であれば、このアッセイを使用して、複数のCSF-1又はCSF-1Rポリペプチドサンプルを用いながら、複数(たとえば、ライブラリー)の候補薬剤をスクリーニングすることができる。無細胞アッセイの一例では、天然型又は組換え型のCSF-1又はCSF-1Rポリペ

20

チドを含む第一及び第二のサンプルを候補薬剤又は対照薬剤と接触させ、候補薬剤と対照薬剤の相互作用の差を比較することで、候補薬剤がポリペプチドと相互に作用し得るかどうかを判定する。ポリペプチドは、たとえば、ポリペプチドを、それを特異的に認識し結合する固定化された抗体に接触させ、又は精製されたポリペプチド調製物を、タンパク質に結合するように設計された表面に接触させることによって、まず固定化することが好ましい。ポリペプチドは、部分的若しくは完全に精製されていてもよい(たとえば、部分的若しくは完全に他のポリペプチドを含まない)、又は細胞可溶化液の一部でもよい。さらに、ポリペプチドは、CSF-1若しくはCSF-1Rポリペプチド又はその生物活性部分と、グルタチオン-S-トランスフェラーゼやIgG1のFc領域などのドメインとを含む融合タンパク質でもよい。或いは、当業者によく知られている技術(たとえば、ピ

30

オチニル化キット、Pierce Chemicals、米国イリノイ州ロックフォード)を使用して、ポリペプチドをピオチニル化することもできる。候補薬剤がポリペプチドと相互に作用し得るかどうかは、当業者に知られている方法、たとえば、ELISA、BIAcore(商標)、フローサイトメトリー、又はfluorescent microvolume assay technology(FMAT)によって判定することができる。細胞アッセイを使用する別の例では、CSF-1又はCSF-1Rを発現させる細胞集団を候補薬剤と接触させ、候補薬剤がポリペプチドと相互に作用し得るかどうかを決定する。候補薬剤がCSF-1又はCSF-1Rと相互に作用する能力は、基準範囲又は対照と比較することが好ましい。細胞は、たとえば、真核生物由来のもの(たとえば、酵母細胞や哺乳動物細胞)でよく、CSF-1若しくはCSF-1Rポリペプチドを内

40

発的に発現させるものでも、又はそうしたポリペプチドを発現させるように遺伝子操作したものでもよい。ある例では、ポリペプチドと候補薬剤の相互作用の検出を可能にするために、CSF-1若しくはCSF-1Rポリペプチド又は候補薬剤を、たとえば、放射性標識(³²P、³⁵S、¹²⁵Iなど)や蛍光標識(フルオレッセインイソチオシアネート、ローダミン、フィコエリトリン、フィコシアニン、アロフィコシアニン、o-フタルアルデヒド、フルオレサミンなど)で標識する。ELISA、フローサイトメトリー、及びFMATなどの代替法を使用してもよい。

【0041】

CSF-1活性を阻害する薬剤は、任意の適切な方法、たとえば、
(i) 候補薬剤存在下でのCSF-1の活性を、候補薬剤なし、又は対照薬剤存在下での

50

前記ポリペプチドの活性と比較し、

(i i) その候補薬剤が C S F - 1 の活性を阻害するかどうかを判定する方法によって同定することができる。

【 0 0 4 2 】

このようなアッセイは、臨床モニタリング又は薬物開発で候補薬剤のスクリーニングに使用することができる。

【 0 0 4 3 】

上述のように、適切な場合（たとえば、抗体）では薬物を予めスクリーニングして、C S F - 1 又は C S F - 1 R と相互に作用する薬剤を同定した後、C S F - 1 活性を阻害する能力があるために結合する薬剤をスクリーニングする。

【 0 0 4 4 】

一例では、細胞アッセイ系を使用して C S F - 1 活性を阻害し得る薬剤を同定する。詳細な一例では、C S F - 1 活性の阻害剤の同定に使用するアッセイは、M e t c a l f、1970年、J . C e l l . P h y s i o l . 76 ~ 89 ページの標準の i n v i t r o コロニー刺激アッセイであり、このアッセイで、C S F - 1 は、マクロファージコロニーの形成を刺激し得る。潜在的な阻害剤を分析物に加え、³ Hチミジン取込みやホルマザン色素変換などの任意の適切な方法によって、マクロファージの増殖を測定する。したがって、阻害は、対照と比べた増殖の低下として測定される。

【 0 0 4 5 】

別の例では、C S F - 1 の阻害剤、たとえば、アンチセンス阻害剤は、C S F - 1 又は C S F - 1 R ポリペプチドの発現を下向き調節することができる。このような阻害剤は、当業界で知られているどんな方法でも同定することができる。一例では、そのような阻害剤を細胞アッセイ系で同定する。したがって、C S F - 1 又は C S F - 1 R のポリペプチド又は核酸を発現させる細胞の集団を候補薬物と接触させ、候補薬剤が C S F - 1 又は C S F - 1 R のポリペプチド又は核酸の発現を変更し得るかどうか、基準範囲又は対照と比較することで判定する。一例では、C S F - 1 又は C S F - 1 R ポリペプチドを発現させる細胞集団を候補薬剤又は対照薬剤と接触させ、C S F - 1 又は C S F - 1 R のポリペプチド又は核酸の発現レベルの、処置細胞集団と対照細胞集団との差を比較することで、候補薬物が C S F - 1 又は C S F - 1 R のポリペプチド又は核酸の発現を変更し得るかどうかを判定する。所望であれば、複数（たとえば、ライブラリー）の候補薬物のスクリーニングにこのアッセイを使用してもよい。細胞は、たとえば、真核生物由来のもの（たとえば、酵母細胞や哺乳動物細胞）でよく、C S F - 1 若しくは C S F - 1 R ポリペプチドを内発的に発現させるものでも、又は C S F - 1 若しくは C S F - 1 R ポリペプチドを発現させるように遺伝子操作したものでもよい。候補薬剤が前記ポリペプチド又は核酸の発現を変更し得るかどうかは、当業者に知られている方法、たとえば、限定するものではないが、フローサイトメトリー、放射標識、シンチレーションアッセイ、免疫沈降、ウエスタンブロット分析、ノーザンブロット分析、又は R T - P C R によって判定することができる。

【 0 0 4 6 】

C S F - 1 の活性を阻害する薬剤を同定し、又はさらに試験すると、たとえば、1 種又は複数の動物モデルでの治療有効量を決定することができる。適切な動物の例には、その限りでないが、マウス、ラット、ウサギ、サル、モルモット、イヌ、及びネコが含まれる。使用する動物は、I B D のモデルであることが好ましい。

【 0 0 4 7 】

薬剤が C S F - 1 又は C S F - 1 R の発現を阻害する一例では、第一群及び第二群の動物に候補薬剤又は対照薬剤を投与し、第一群と第二群の動物の発現レベルの差を比較することで、候補薬剤が C S F - 1 又は C S F - 1 R のポリペプチド又は核酸の発現を阻害し得るかどうかを判定する。所望される場合では、第一群及び第二群の動物における C S F - 1 又は C S F - 1 R のポリペプチド又は核酸の発現レベルを、対照群の哺乳動物における C S F - 1 又は C S F - 1 R ポリペプチド又は核酸のレベルと比較することができる。

候補薬剤又は対照薬剤は、当業界で知られている手段によって（たとえば、経口的に、直腸に、又は腹腔内や静脈内など、非経口的に）投与することができる。ポリペプチド又は核酸の発現の変化は、上で概略を述べた方法によって評価することができる。

【0048】

別の例では、CSF-1活性の阻害は、疾患症状の寛解若しくは改善、又は疾患の発症の遅延若しくは進行の遅さ、たとえば、限定するものではないが、体重減少又は下痢の軽減をモニターして判定することができる。IBDに精通した医師に知られている技術を使用して、候補薬剤が疾患に随伴する1種又は複数の症状を変化させたかどうかを判定することができる。

【0049】

いくつかの異なるIBDモデルが当業界で知られている。これらには、DSSによって誘発したマウス又はラットの大腸炎、TNBSによって誘発したマウス又はラットの大腸炎、CD45RBhi細胞をSCID若しくはRAG1-/-マウス、IL-10-/-マウス、IL2-/-マウス、HLA-B27トランスジェニックラット中に移したものの、インドメタシンによって誘発したラット及びワタボウシタマリンの腸炎が含まれる（Elsonら、Gastroenterology、1995年、第109巻、1344～1367ページ；Mizoguchiら、Inflammatory Bowel Disease、2003年、第9巻（4）、246～259ページを参照のこと）。一般に、これら種々のモデルは、体重減少や、出血を伴う又は伴わない下痢などの大腸炎の徴候を示す傾向がある。その腸は、通常、炎症性の浸潤を示し、その程度及び正確な疾患部位はモデル間で様々となる。したがって、治療中に測定の対象となる症状はモデル間で様々となるが、通常、体重減少又は下痢の存在の測定が含まれ、炎症性浸潤巣の縮小や陰窩損傷の軽減など、組織学的な改善を探すことが含まれる場合もある。

【0050】

本明細書で論じているように、CSF-1活性の阻害剤は、IBDの治療及び/又は予防で使用するすることができる。そのような使用では、薬剤は、一般に薬剤組成物の形で投与する。

【0051】

CSF-1活性の阻害剤と、薬剤として許容される希釈剤、賦形剤、及び/若しくは担体とを含む薬剤組成物も提供する。

【0052】

用語「治療」は、治療的又は予防的な療法を含む。本明細書で、特定の阻害剤又は阻害剤の組合せを使用して疾患又は状態を治療又は予防する方法に言及するとき、その言及は、IBDを治療及び/又は予防するための医薬を製造するためのその阻害剤又は阻害剤の組合せの使用を含むものと理解される。

【0053】

組成物は、通常、普通は薬剤として許容される担体を含む無菌の薬剤組成物の一部として供給される。この組成物は、（患者にそれを投与する所望の方法に応じて）適切などんな形態にしてもよい。

【0054】

本発明で使用する阻害剤は、対象に経口投与又は直腸内投与することが好ましいが、経皮、皮下、鼻腔内、静脈内、筋肉内などの他の様々な経路で投与してもよい。投与にも最も適する経路は、所与のどんなケースでも、その特定の阻害剤、対象、疾患の性質及び重症度、対象の体調に応じて決まる。

【0055】

本発明で使用する阻害剤は、たとえば他の抗IBD治療薬又は抗癌治療薬でよい、治療活性のある1種又は複数の他の化合物と組み合わせて、たとえば、同時に、逐次、又は別々に投与することができる。

【0056】

薬剤組成物は、1回分毎に所定の量の本発明の活性薬剤を含有する単位用量形態にして

10

20

30

40

50

好都合に提供することができる。そのような単位は、たとえば、限定するものではないが、治療する状態、投与経路、対象の年齢、体重、及び状態に応じて、 $750\text{ mg/kg} \sim 0.1\text{ mg/kg}$ を含有してよい。

【0057】

本発明で使用する薬剤として許容される担体は、たとえば投与経路に応じて、広範な種類の形を取り得る。

【0058】

経口投与用の組成物は、液体でも固体でもよい。経口液体製剤は、たとえば、水性又は油性の懸濁液、溶液、乳濁液、シロップ、又はエリキシルの形でよく、或いは水又は他の適切な媒体で使用前に再形成するための乾燥製品として提供してもよい。経口液体製剤は、当業界で知られているような懸濁化剤を含んでいて差し支えない。

10

【0059】

粉末、カプセル剤、錠剤などの経口固体製剤の場合では、デンプン、糖類、微結晶性セルロースなどの担体、造粒剤、滑沢剤、結合剤、崩壊剤などを含めることができる。投与しやすいので、錠剤及びカプセル剤が最も有利な経口単位剤形となっており、この場合では、一般に固体の薬剤用担体が使用される。上述の一般的な剤形に加えて、本発明の活性薬剤は、制御放出手段及び/又は送達装置によって投与してもよい。錠剤及びカプセル剤は、結合剤、たとえばシロップ、アカシア、ゼラチン、ソルビトール、トラガカント、ポリビニルピロリドン；充填剤、たとえばラクトース、糖、トウモロコシデンプン、リン酸カルシウム、ソルビトール、グリシン；打錠滑沢剤、たとえばステアリン酸マグネシウム、タルク、ポリエチレングリコール、シリカ；崩壊剤、たとえばジャガイモデンプン；又はラウリル硫酸ナトリウムなどの許容される湿潤剤など、従来の担体又は賦形剤を含んで差し支えない。錠剤は、通常の製薬業務でよく知られている方法に従って、標準の水性又は非水性の技術によってコーティングすることができる。

20

【0060】

経口投与に適する本発明の薬剤組成物は、粉末又は顆粒としての所定の量の活性薬剤をそれぞれが含むカプセル剤、カシェ剤、錠剤などの分離した単位として、或いは水性液体、非水性液体の溶液若しくは懸濁液、水中油エマルジョン、又は油中水液体エマルジョンとして提供することができる。このような組成物は、薬剤学のどんな方法によって調製してもよいが、すべての方法が、活性薬剤と、1種又は複数の必要な原材料となる担体とを混ぜ合わせるステップを含む。一般に、組成物は、活性薬剤と、液体担体若しくは粉碎した固体担体又はその両方とを均質かつ完全に混和し、次いで、必要ならば製品を所望の体裁に成形することによって調製する。たとえば、任意選択で1種又は複数の副材料と共に圧縮又は成形して、錠剤を調製することができる。

30

【0061】

非経口投与に適する薬剤組成物は、ヒドロキシプロピルセルロースなどの界面活性剤を適切に混ぜた水中に本発明の活性薬剤を含む溶液又は懸濁液として調製することができる。グリセロール、液体ポリエチレングリコール、及びこれらの油中混合物中の分散液を調製することもできる。通常の貯蔵及び使用条件では、これらの製剤は、微生物の増殖を防ぐために保存剤を含有している。

40

【0062】

注射用途に適する薬剤形態としては、抗酸化剤、緩衝剤、静菌剤、及び組成物を目的のレシipientの血液と等張性にする溶質を含有する場合がある水性又は非水性の無菌注射溶液、並びに懸濁化剤及び増粘剤を含む場合がある水性及び非水性の無菌懸濁液が挙げられる。無菌の粉末、顆粒、及び錠剤から、即席注射溶液、分散液、及び懸濁液を調製することもできる。

【0063】

薬剤組成物は、当業界で知られている医用装置を用いて投与することができる。たとえば、好ましい実施形態では、本発明の薬剤組成物は、米国特許第5,399,163号、同第5,383,851号、同第5,312,335号、同第5,064,413号、同

50

第4,941,880号、同第4,790,824号、又は同第4,596,556号で開示されている装置など、無針皮下注入装置で投与することができる。本発明で有用な周知の植込錠及びモジュールの例としては、制御された速度で薬物を計量供給する植込可能な微量注入ポンプを開示している米国特許第4,487,603号、皮膚を通して医薬を投与する治療用装置を開示している米国特許第4,486,194号、薬物を正確な注入速度で送達する薬物注入ポンプを開示している米国特許第4,447,233号、継続的な薬物送達のための植込可能な流量可変注入装置を開示している米国特許第4,447,224号、多重チャンバー区画を備える浸透性薬物送達系を開示している米国特許第4,439,196号、及び浸透性薬物送達系を開示している米国特許第4,475,196号が挙げられる。他のこのような植込錠、送達系、及びモジュールが数多く等業者に知られている。

10

【0064】

局所投与に適合させた薬剤組成物は、軟膏、クリーム、懸濁液、ローション、粉末、溶液、ペースト、ゲル、含浸させた包帯剤、スプレー、エアロゾル若しくはオイル、経皮デバイス、粉剤などとして製剤することができる。活性薬物を含有するこれらの組成物は、従来の方法によって調製することができる。すなわち、組成物は、保存剤、薬物の浸透を助ける溶媒、クリーム若しくは軟膏中の皮膚軟化薬、及びローション用のエタノール若しくはオレイルアルコールなど、適合性のある従来の担体及び添加剤も含んで差し支えない。このような担体は、組成物の約1%～約98%を占めていてよい。より一般には、担体は組成物の約80%までとなる。単なる実例として、クリーム又は軟膏は、約5～10重量%の化合物を含有する十分な量の親水性材料と水とを、所望の軟度を有するクリーム又は軟膏を製するのに十分な量で混合して調製される。

20

【0065】

経皮送達に適合させた薬剤組成物は、長期間レシピエントの表皮とじかに接触したままになる分離したパッチとして提供することもできる。たとえば、パッチからイオン導入法によって活性薬剤を送達することができる。

【0066】

外部組織、たとえば口や皮膚への適用については、組成物を局所用軟膏又はクリームとして塗布することが好ましい。軟膏に製剤するとき、活性薬剤をパラフィン系又は水と混和性の軟膏基剤と共に用いることができる。或いは、活性薬剤を水中油クリーム基剤又は油中水基剤と共にクリームに製剤することもできる。

30

【0067】

口内への局所投与に適合させた薬剤組成物には、トローチ剤、香錠、及び洗口剤が含まれる。

【0068】

眼への局所投与に適合させた薬剤組成物には、活性薬剤が適切な担体、特に水性溶媒に溶解又は懸濁させてある点眼剤が含まれる。上述のような軟膏又はクリームも含まれる。

【0069】

担体が固体である、直腸投与に適する薬剤組成物は、単位用量坐剤として提供することが最も好ましい。適切な担体には、カカオ脂若しくは他のグリセリド、又は当業界で一般に使用されている材料が含まれ、坐剤は、軟化又は融解させた担体と合わせたものを混合した後、冷やし、型にとって作ると好都合である。組成物は、浣腸として投与してもよい。

40

【0070】

C S F - 1 活性阻害剤の投与すべき投与量は、その特定の阻害剤、I B D のタイプ、対象、疾患の性質及び重症度、対象の体調、及び選択した投与経路に応じて様々となり、適正な投与量は、当業者によって容易に決定できる。ヒト及び動物におけるI B D の治療及び/又は予防では、抗体を含む薬剤組成物は、注射や、抗体を主体とした臨床製品などの臨床製品の業界で知られている他の投与経路など、適切な任意の投与経路を使用して、治療又は予防に有効な投与量（たとえば、I B D の抑制及び/又はI B D 症状の軽減をもた

50

らす投与量)で患者(たとえば、ヒト対象)に投与することができる。

【0071】

組成物は、投与の方法に応じて、本発明の阻害剤を0.1重量%~、好ましくは10重量%~60重量%、又はそれ以上含有していても差し支えない。

【0072】

当業者ならば、本発明の阻害剤の個々の投与の最適な量及び間隔が、治療する状態の性質及び程度、投与形態、投与経路、投与部位、治療を受ける特定の対象の年齢及び状態によって決められること、並びに使用すべき適正な投与量を最終的に決定するのは医師であることを承知されよう。その投与を、適切である限り何回も繰り返してよい。副作用が現れたなら、通常の臨床の慣行に従って投与の量及び/又は頻度を変更又は減らすことができる。

10

【0073】

阻害剤を核酸とする別の例では、阻害剤は、遺伝子療法によって投与することができる(たとえば、Hoshida, T.ら、2002年、Pancreas、第25巻:111~121ページ; Ikuno, Y.、2002年、Invest. Ophthalmol. Vis. Sci. 2002年、第43巻:2406~2411ページ; Bollard, C.、2002年、Blood第99巻:3179~3187ページ; Lee E.、2001年、Mol. Med. 第7巻:773~782ページを参照のこと)。遺伝子療法とは、発現され、又は発現し得る核酸を対象に投与することを指す。一例では、その核酸は、CSF-1若しくはCSF-1Rの核酸又はその部分である。当業界で利用可能な遺伝子療法のいずれかの方法を本発明に従って使用することができる。

20

【0074】

治療用核酸の患者への送達は、直接的なin vivo遺伝子療法(すなわち、患者を、核酸又は核酸を含むベクターに直接に曝す)にしても、又は間接的なex vivo遺伝子療法(すなわち、まずin vitroで細胞を核酸で形質転換し、次いで患者に移植する)にしてもよい。

【0075】

たとえば、in vivo遺伝子療法では、CSF-1又はCSF-1R核酸を含む発現ベクターは、それが細胞内に行くような方法で、すなわち、たとえば米国特許第4,980,286号、又はRobbinsら、1998年、Pharmacol. Ther. 第80巻:35~47ページに記載されているような、欠陥若しくは弱力化レトロウイルスベクター又は他のウイルスベクターを使用する感染によって投与することができる。

30

【0076】

当業界で知られている様々なレトロウイルスベクターは、Millerら(1993年、Meth. Enzymol. 第217巻:581~599ページ)に記載している、ウイルスゲノムの梱包及びその後の宿主細胞DNAへの組み込みに必要のないレトロウイルス配列を欠失させる改変を行ったものなどである。分裂中でない細胞に感染することができるので有利なアデノウイルスベクターを使用してもよく、そうした能力の高いアデノウイルスベクターは、Kochanek(1999年、Human Gene Therapy、第10巻:2451~2459ページ)に記載されている。使用することのできるキメラウイルスベクターは、Reynoldsら(1999年、Molecular Medicine Today、第1巻:25~31ページ)に記載されているものである。ハイブリッドベクターを使用してもよく、このベクターは、Jacobyら(1997年、Gene Therapy、第4巻:1282~1283ページ)に記載されている。

40

【0077】

裸DNAの直接の注射、微粒子衝撃法(たとえば、Gene Gun(登録商標)、BioListic、Dupont)、又は脂質のコーティングを遺伝子治療で使用することもできる。細胞表面受容体/形質移入化合物、又はリポソーム、微粒子、若しくはマイクロカプセルへのカプセル化、又は核に侵入することがわかっているペプチドに結合させ

50

た核酸の投与、又はレセプターを媒介とするエンドサイトーシスを受けやすくしたリガンドに結合させての投与（Wu & Wu、1987年、J. Biol. Chem.、第262巻：4429～4432ページを参照のこと）を使用すると、問題の受容体を特異的に発現させる細胞型を標的化することができる。

【0078】

ex vivo 遺伝子療法では、組織培養を使用して、in vitro で遺伝子を細胞に形質移入し、皮下注射、皮膚移植片への細胞の適用、造血幹細胞や前駆細胞などの組織換え血液細胞の静脈内注射といった様々な方法によって患者にその細胞を送達する。

【0079】

CSF-1又はCSF-1Rの核酸を遺伝子療法の目的で導入することのできる細胞には、たとえば、上皮細胞、内皮細胞、ケラチノサイト、線維芽細胞、筋細胞、肝細胞、及び血液細胞が含まれる。使用できる血液細胞には、たとえば、Tリンパ球、Bリンパ球、単球、マクロファージ、好中球、好酸球、巨核球、顆粒球、造血細胞、又は前駆細胞などが含まれる。

【0080】

一態様では、本発明の薬剤組成物は、適切な宿主中でCSF1又はCSF-1Rのポリペプチド又はそのキメラタンパク質を発現させる発現ベクターの一部である、CSF-1又はCSF-1Rの核酸を含む。特に、その核酸は、ポリペプチドコード領域に操作可能に連結された、誘導性又は構成性（かつ任意選択で組織特異性）のプロモーターを有する。

【0081】

ここで本発明を以下の実施例に即して説明するが、実施例は例示的なものにすぎず、いかようにも本発明の範囲を限定するものと解釈すべきでない。

【実施例】

【0082】

（実施例1）

抗CSF1抗体の単離

ウサギをマウスCSF-1で免疫感作し、ストレプトアビジンを介してネズミCSF-1でコートしたビオチン標識ヒツジ赤血球細胞を用いる溶血ブランクアッセイを使用して、15種の抗体遺伝子を、Babcockら、1996年、Proc. Natl. Acad. Sci.、第93巻、7843～7848ページ及びWO92/02551に記載の方法を使用して単離した。抗体遺伝子をCHO細胞中に発現させ、M-NFS-60細胞増殖アッセイ（Metcalfe、J. Cell. Physiol.（1970年）76～89ページ）で、ネズミCSF-1を中和し得るかどうか、組換え抗体のスクリーニングを行った。M-NFS-60は、CSF-1に応じて増殖するマウスマクロファージ細胞系である。One antibody which neutralised CSF-1の活性を中和する1種の抗体、すなわちmCSFI033を選択し、抗体mCSF1033由来のウサギ可変領域とマウス定常領域を使用して、キメラIgG（Ab33）を製した。ヨードアセトアミド（Pierce）を使用して、ウサギ可変領域中の遊離システイン残基をアルキル化した。次いで、LBDマウスモデルでこのキメラ抗体を使用して、in vivo 試験を行った。

【0083】

（実施例2）

DSSによって誘発した急性大腸炎に対する抗CSF-1抗体の効果

使用したデキストラン硫酸ナトリウム（DSS）モデルは、本質的にCooperら、1993年、Laboratory Investigation、第69巻、238～249ページに記載のとおりとした。10匹からなる2グループの雄性Balb/cマウスを秤量し、10mg/kgのAb33（実施例1参照）又は対照抗体101.4（マウス抗ヒトTNF抗体）を皮下注射した。次いで、最初の抗体注射から24時間後に、通常の飲み水を、1%のDSSの入った水道水と交換した。その後、週に1回同じ濃度で抗

10

20

30

40

50

体注射を施した。10匹からなる第三のグループの雄性B a l b / cマウスには処置を施さず、通常の飲み水を与え続けた。

【0084】

動物は、毎日秤量し、疾患の徴候（軟便、出血）を書き留めた。消費された1% D S S又は水の量も重量で測定した。実験の終わりに、結腸を取り出し、長さを測定した。

【0085】

遠位末端から1cmの切片を回収し、100U/mlのコラゲナーゼで消化して、組織から粘膜固有層白血球を放出させた後、FACS分析によって好中球及びT細胞の浸潤を評価した。好中球は、CD45及び高レベルのGR1を発現させる細胞とし、T細胞は、CD45及びCD3を発現させる細胞とし、これらの細胞は、抗CD45チトクローム及び抗GR1フィコエリトリン抗体、又は抗CD45チトクローム及び抗CD3FITC抗体でそれぞれ染色して同定した。

10

【0086】

次の2cm切片を組織学分析用に回収し、パラフィンに埋め込んだ。免疫組織化学分析用に、埋め込んだパラフィンサンプルから4µmの切片を切り取り、Superfrost Plus Goldスライドに乗せ、Histoclearでワックスを除去し、改めて水和させた。免疫組織化学手順（ストレプトアビジン・ビオチン・西洋ワサビペルオキシダーゼ法）の前に、0.01mol/Lのクエン酸緩衝液pH6（DakoCytomation）を用いる、熱を媒介とする抗原修復を99℃で25分間適用した。0.6% vol/volの無水メタノール中過酸化水素中で30分間インキュベートして、内発的なペルオキシダーゼ活性をブロックした。内発的なアビジン結合活性を残らずブロックするために、切片をAvidin Dブロック液で15分間処理し、緩衝液で簡単にすすぎ、次いでビオチンブロック液（Vector Laboratories）と共に15分間インキュベートした。次のステップのビオチン標識ロバ試薬によるIgG Fc相互作用によって引き起こされるバックグラウンドシグナルを減らすために、組織切片を、20%のTBS中正常ロバ血清（Jackson ImmunoResearch Laboratories, Inc.）によって室温で20分間かけてブロックした。一次抗体は、0.05Mのトリス緩衝生理食塩水pH7.6（TBS）で800倍に希釈したポリクローナルヤギ抗マウスCD3（Autogen Bioclear）とした。切片を室温で60分間インキュベートした。その後、スライドを、TBSで500倍に希釈したビオチン標識ロバ抗ヤギ抗体（Jackson ImmunoResearch Laboratories, Inc.）と共に室温で30分間インキュベートした。続いてスライドをストレプトアビジン・ビオチン・西洋ワサビペルオキシダーゼ複合体（DakoCytomation）と共に室温で30分間インキュベートした。四塩酸3,3'-ジアミノベンジジンで反応を展開させた。ステップの間に、スライドをTBS中で2回5分間かけてすすいだ。すべての切片を20秒間かけてヘマトキシリンで軽く対比染色し、脱水し、固定した。対照スライドは、一次抗体の代わりにTBSと共にインキュベートした。CD3の値を、1名の盲検化された観察者が接眼レンズの計数線によって測定し、結腸粘膜固有層に沿った区域から評価した。選択した各区域内のCD3陽性細胞数を400倍の倍率で計数した（10/動物）。400倍の格子区域は、0.059mm²の組織に相当する。F4/80陽性染色細胞を分析する免疫組織化学法はCD3分析と同じ手段で実施したが、この場合では、次のステップのビオチン標識ウサギ試薬によるIgG Fc相互作用によって引き起こされるバックグラウンドシグナルを減らすため、組織切片を、20%のTBS中正常ウサギ血清（DakoCytomation）によって室温で20分間かけてブロックした。一次抗体は、0.05Mのトリス緩衝生理食塩水pH7.6（TBS）で100倍に希釈したモノクローナルラット抗マウスF4/80（Serotec）とした。切片を室温で60分間インキュベートした。その後、スライドを、TBSで200倍に希釈したビオチン標識ウサギ抗ラット抗体（DakoCytomation）と共に室温で30分間インキュベートした。この方法は、CD3陽性細胞分析と同じとした。

20

30

40

50

【 0 0 8 7 】

図 1 は、Bonferroni の事後テストを用いる ANOVA による統計学的分析に従い、抗 CSF - 1 処置マウスと正常な対照マウスとに有意差はなかったことを示すものであり、抗 CSF - 1 抗体が、DSS によって誘発した大腸炎で通常起こる体重減少を防いだことを示唆している（対照抗体 101 . 4 を参照のこと）。図 2 は、抗 CSF - 1 が結腸の長さについても有意差をもたらしたことを示している。結腸の長さは、DSS によって誘発した大腸炎のマウスで有意に短縮されており、これは、結腸の炎症の程度を反映していると思われる。結腸長さが負の対照抗体 101 . 4 で処置した動物よりも有意に長かった、抗 CSF - 1 抗体で処置したマウスでは結腸の短縮からの防護が認められた。図 3 a 及び 3 b は、抗 CSF - 1 抗体が、結腸疾患重傷度スコア（下痢及び直腸の出血などの疾患徴候）及び全体としての臨床疾患スコア（結腸疾患と体重減少の組合せ）も下げたことを示している。結腸組織の FACS 分析については図 4 a 及び 4 b に示す。結腸に浸潤している好中球（GR1 + CD45 + 細胞）及び T 細胞（CD3 + CD45 + 細胞）の数は、DSS によって誘発した大腸炎に罹患し、負の 101 . 4 対照抗体で処置したマウスで有意に増加したことがわかったが、抗 CSF - 1 で処置したマウスの好中球又は T 細胞数は、正常な対照マウスと比べて有意に増加していなかった。図 5 に示すように、免疫組織化学によって、抗 CSF - 1 抗体が DSS 結腸炎の結腸粘膜固有層に浸潤する CD3 + T 細胞数の増加を妨げ得るかどうかを確認した。

10

【 0 0 8 8 】

図 6 は、101 . 4 対照抗体で処置した DSS 結腸炎マウスと比べて F4 / 80 陽性染色細胞が有意に減少したことから示されるように、抗 CSF - 1 抗体が、結腸粘膜固有層へのマクロファージの浸潤も抑制したことを示している。

20

【 図面の簡単な説明 】

【 0 0 8 9 】

【図 1】飲み水に DSS（1%）を加えた後、抗 CSF - 1 抗体がマウスの体重に及ぼした影響を示すグラフである。Bonferroni の事後テストを用いる ANOVA による統計学的分析： - * * $P < 0.01$ 、* * * $P < 0.001$ 対照抗体（101 . 4）対正常動物。# $P < 0.05$ 、# # $P < 0.01$ 、# # # $P < 0.001$ 101 . 4 対抗 CSF - 1。

【図 2】飲み水に 8 日間 DSS（1%）を加えた後、抗 CSF - 1 抗体がマウスの結腸長さに及ぼした影響を示すグラフである。Bonferroni の事後テストを用いる ANOVA による統計学的分析。

30

【図 3 a】飲み水に DSS（1%）を加えた後、抗 CSF - 1 抗体がマウスの結腸疾患重傷度スコアに及ぼした影響を示すグラフである。疾患スコア：1 = 軟らかい糞 / 下痢；2 = 腸 / 糞中の血液の徴候；4 = 肛門からのおびただしい出血。Mann Whitney による分析で * * $P < 0.01$ 。

【図 3 b】飲み水に DSS（1%）を加えた後、抗 CSF - 1 抗体がマウスの結腸疾患重傷度スコアに及ぼした影響を示すグラフである。疾患を腸疾患スコア + 体重減少スコアとして得点付けした：腸疾患スコア：1 = 軟らかい糞 / 下痢；2 = 腸 / 糞中の血液の徴候；4 = 肛門からのおびただしい出血。体重減少スコア：1 = 5 ~ 10%、2 = 10 ~ 15%、4 = 15 ~ 25% の体重減少。Mann Whitney による分析で * * $P < 0.01$ 、* * * $P < 0.001$ 。

40

【図 4 a】DSS（1%）後 8 日目のマウス結腸由来の粘膜固有層集団中の GR1 高 + CD45 + 細胞 / mm に対する抗 CSF - 1 の影響。Bonferroni の事後テストを用いる ANOVA による統計学的分析。

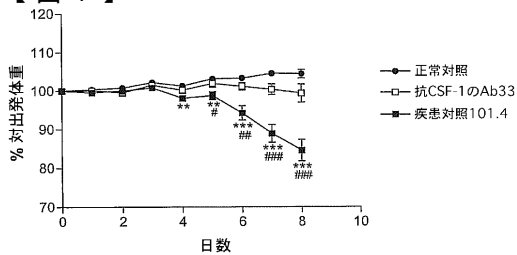
【図 4 b】DSS（1%）後 8 日目のマウス結腸由来の粘膜固有層集団中の CD3 + CD45 + 細胞 / mm に対する抗 CSF - 1 の影響。Bonferroni の事後テストを用いる ANOVA による統計学的分析。

【図 5】DSS（1%）後 8 日目のマウス結腸由来の CD3 + 細胞数に対する抗 CSF - 1 の影響。Bonferroni の事後テストを用いる ANOVA による統計学的分析。

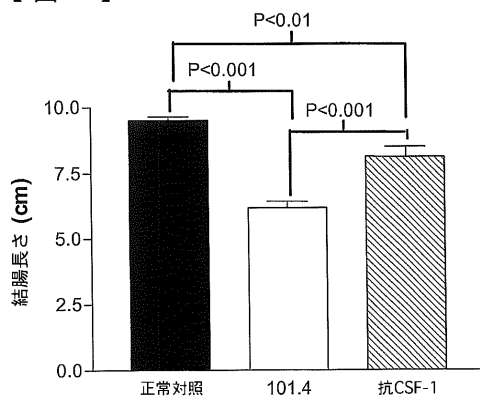
50

【図6】DSS(1%)後8日目のマウス結腸由来のF4/80+細胞数に対する抗CSF-1の影響。Bonferroniの事後テストを用いるANOVAによる統計学的分析。

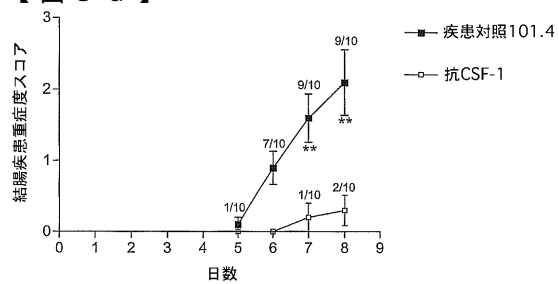
【図1】



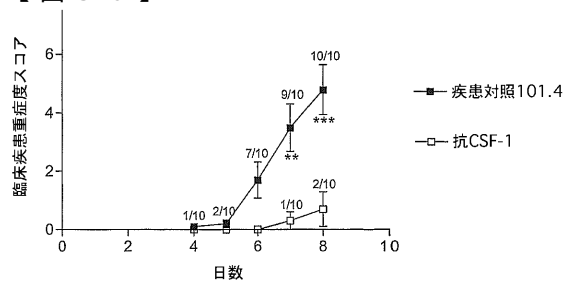
【図2】



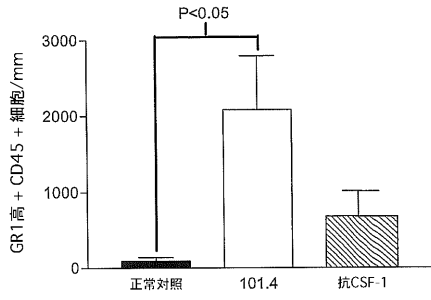
【図3a】



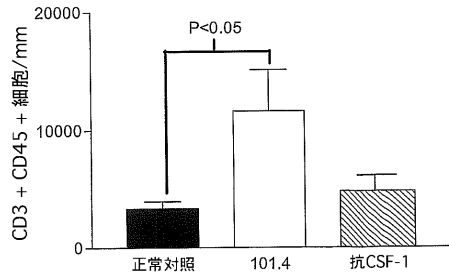
【図3b】



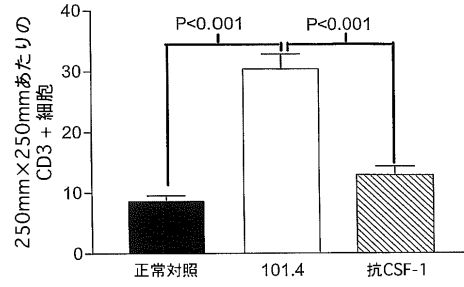
【図 4 a】



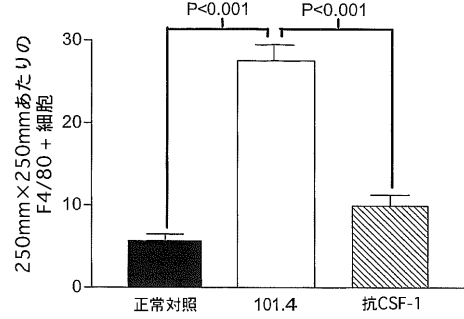
【図 4 b】



【図 5】



【図 6】



【 国際調査報告 】

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International Application No.

PCT/GB2004/004652

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

IPC 7 A61K31/00 A61K39/395 A61P29/00

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

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

IPC 7 A61K A61P

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

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practical, search terms used)

EPO-Internal, WPI Data, PAJ, BIOSIS, EMBASE, CHEM ABS Data

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category *	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	WO 03/020698 A (PROCHON BIOTECH LTD; EREN, DORON; ZALIANI, ANDREA; PE'ER, DAVID; BOGIN) 13 March 2003 (2003-03-13) page 30, line 23 page 29, lines 8-17	1-25
X	WO 02/087496 A (CEDARS-SINAI MEDICAL CENTER) 7 November 2002 (2002-11-07) claims 1-3	1-25
X	WO 99/43839 A (THE TRUSTEES OF THE UNIVERSITY OF PENNSYLVANIA; WEINER, DAVID, B; KIM,) 2 September 1999 (1999-09-02) page 23, line 11; claim 38	1-25

-/-

☒ Further documents are listed in the continuation of box C.☒ Patent family members are listed in annex.

* Special categories of cited documents:

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

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

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

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

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

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

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

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

"G" document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search

8 August 2005

Date of mailing of the international search report

19/08/2005

Name and mailing address of the ISA

European Patent Office, P.B. 5818 Patentlaan 2
NL - 2260 HV Rijswijk
Tel. (+31-70) 340-2040, Tx. 31 851 epo nl,
Fax: (+31-70) 340-3016

Authorized officer

Blott, C

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International Application No.

PCT/GB2004/004652

C.(Continuation) DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category *	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	MAROTTA F ET AL: "Disrupted mucosal barrier in quiescent ulcerative colitis: Effect of metronidazole and of a symbiotic preparation in a pilot cross-over study" CHINESE JOURNAL OF DIGESTIVE DISEASES 2003 AUSTRALIA, vol. 4, no. 4, 2003, pages 180-185, XP009051465 ISSN: 1443-9611 abstract	1-25
X	US 5 932 595 A (BENDER ET AL) 3 August 1999 (1999-08-03) column 35, lines 7-25	1-25
X	WO 00/67777 A (BIOFAN PTY LTD; HARRIS, GEORGE) 16 November 2000 (2000-11-16) page 32, line 25; claims 1-4; example 3 page 10, lines 15,16 page 10, line 23	1-25
E	WO 2005/012226 A (MEDIQUEST THERAPEUTICS, INC; BURNS, MARK, R; MCVEAN, MARALEE; KENNEDY,) 10 February 2005 (2005-02-10) paragraph '0017!; claim 17	1-25
E	WO 2005/010009 A (ABBOTT LABORATORIES; BETSCHMANN, PATRICK; BURCHAT, ANDREW, F; CALDERWO) 3 February 2005 (2005-02-03) claims 24-27	1-25
E	WO 2005/030124 A (WARNER-LAMBERT COMPANY LLC; ABGENIX, INC; BEDIAN, VAHE; DEVALARAJA, MA) 7 April 2005 (2005-04-07) claims 1,23	1-25
A	WO 01/30381 A (HOFBAUER, REINHOLD; AHARINEJAD, SEYEDHOSSEIN) 3 May 2001 (2001-05-03) the whole document	1-25
A	KLEBL F H ET AL: "Expression of macrophage-colony stimulating factor in normal and inflammatory bowel disease intestine" JOURNAL OF PATHOLOGY 2001 UNITED KINGDOM, vol. 195, no. 5, 2001, pages 609-615, XP002339478 ISSN: 0022-3417 the whole document	1-25
-/-		

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International Application No
PCT/GB2004/004652

C.(Continuation) DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category *	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	MAKIYAMA K ET AL: "Serum concentration of macrophage colony stimulating factor (M-CSF) in patients with inflammatory bowel disease" GASTROENTEROLOGIA JAPONICA 1993 JAPAN, vol. 28, no. 5, 1993, page 740, XP009051960 ISSN: 0435-1339 abstract -----	1-25

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

International Application No

PCT/GB2004/004652

Patent document cited in search report		Publication date	Patent family member(s)	Publication date
WO 03020698	A	13-03-2003	WO 03020698 A2	13-03-2003
WO 02087496	A	07-11-2002	US 2002176847 A1	28-11-2002
			EP 1401375 A2	31-03-2004
			WO 02087496 A2	07-11-2002
WO 9943839	A	02-09-1999	AU 759603 B2	17-04-2003
			AU 3313099 A	15-09-1999
			BR 9908267 A	24-10-2000
			CA 2322160 A1	02-09-1999
			CN 1291235 A	11-04-2001
			EP 1078093 A1	28-02-2001
			JP 2002504380 T	12-02-2002
			MX PA00008352 A	17-10-2002
			WO 9943839 A1	02-09-1999
US 5932595	A	03-08-1999	AT 225343 T	15-10-2002
			AU 700725 B2	14-01-1999
			AU 7548296 A	31-07-1997
			BR 9606134 A	03-11-1998
			CA 2193178 A1	21-06-1997
			CN 1160045 A ,C	24-09-1997
			CY 2414 A	12-11-2004
			CZ 9603740 A3	14-01-1998
			DE 69624081 D1	07-11-2002
			DE 69624081 T2	12-06-2003
			DK 780386 T3	03-02-2003
			EP 0780386 A1	25-06-1997
			ES 2183905 T3	01-04-2003
			HK 1012343 A1	08-08-2003
			HR 960612 A1	28-02-1998
			HU 9603494 A2	30-11-1998
			IL 119843 A	14-08-2002
			JP 2921673 B2	19-07-1999
			JP 9249638 A	22-09-1997
			KR 240536 B1	02-03-2000
			MA 24038 A1	01-07-1997
			NO 965413 A	23-06-1997
			NZ 299941 A	27-05-1998
			PL 317604 A1	23-06-1997
			PT 780386 T	28-02-2003
			RU 2175316 C2	27-10-2001
			SG 76490 A1	21-11-2000
			TR 970547 A2	21-07-1997
			TW 580491 B	21-03-2004
			ZA 9610604 A	20-06-1997
WO 0067777	A	16-11-2000	WO 0067777 A1	16-11-2000
			AU 4385200 A	21-11-2000
WO 2005012226	A	10-02-2005	US 2004235960 A1	25-11-2004
			WO 2005012226 A1	10-02-2005
WO 2005010009	A	03-02-2005	US 2005020619 A1	27-01-2005
			US 2005026944 A1	03-02-2005
			WO 2005010009 A1	03-02-2005
WO 2005030124	A	07-04-2005	GB 2405873 A	16-03-2005

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

International Application No

PCT/GB2004/004652

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member(s)	Publication date
WO 2005030124 A		NL 1027009 A1	14-03-2005
		US 2005059113 A1	17-03-2005
		WO 2005030124 A2	07-04-2005
WO 0130381 A	03-05-2001	WO 0130381 A2	03-05-2001
		AT 240744 T	15-06-2003
		AU 1114501 A	08-05-2001
		CA 2388298 A1	03-05-2001
		DE 50002293 D1	26-06-2003
		DK 1223980 T3	15-09-2003
		EP 1223980 A2	24-07-2002
		ES 2197885 T3	16-01-2004
		JP 2003525870 T	02-09-2003
		PT 1223980 T	31-10-2003

フロントページの続き

(51)Int.Cl.		F I		テーマコード(参考)
A 6 1 P 43/00 (2006.01)		A 6 1 P 1/04		
		A 6 1 P 43/00	1 1 1	
		A 6 1 P 43/00	1 2 1	

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

(72)発明者 ローソン、アラステア、デーヴィッド、グリフィスス
イギリス国、パークシャー、スラウ、バス ロード 208、 ユセベ セルテック

(72)発明者 ボーン、ティモシー
イギリス国、パークシャー、スラウ、バス ロード 208、 ユセベ セルテック

Fターム(参考) 4C084 AA13 AA17 AA20 NA14 ZA681 ZC021 ZC511 ZC751

4C085 AA13 AA14 AA15 AA16 BB11 CC21 EE01

4C086 AA01 AA02 EA16 MA01 MA04 NA14 ZA68 ZC02 ZC51 ZC75