

(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2006-525223

(P2006-525223A)

(43) 公表日 平成18年11月9日(2006.11.9)

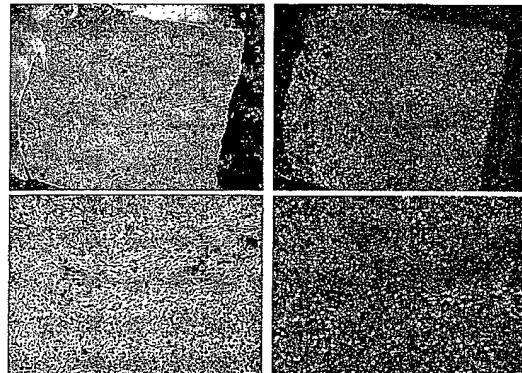
(51) Int.C1.	F 1	テーマコード (参考)
A61K 38/00 (2006.01)	A 61 K 37/02	4 C 08 4
A61P 37/08 (2006.01)	A 61 P 37/08	4 H 04 5
A61P 11/06 (2006.01)	A 61 P 11/06	
A61P 11/02 (2006.01)	A 61 P 11/02	
A61P 17/00 (2006.01)	A 61 P 17/00	
	審査請求 未請求 予備審査請求 有 (全 20 頁) 最終頁に続く	
(21) 出願番号	特願2004-542219 (P2004-542219)	(71) 出願人 596113096
(86) (22) 出願日	平成15年10月13日 (2003.10.13)	ノボ・ノルディスク・エー／エス
(85) 翻訳文提出日	平成17年6月6日 (2005.6.6)	デンマーク国, バッグスヴァエルト ディ
(86) 國際出願番号	PCT/DK2003/000691	ーケー 2880, ノボ アレー
(87) 國際公開番号	W02004/032953	(74) 代理人 100109726
(87) 國際公開日	平成16年4月22日 (2004.4.22)	弁理士 園田 吉隆
(31) 優先権主張番号	PA200201546	(74) 代理人 100101199
(32) 優先日	平成14年10月11日 (2002.10.11)	弁理士 小林 義教
(33) 優先権主張国	デンマーク (DK)	(72) 発明者 レマー, ヨハン
(31) 優先権主張番号	PA200201587	デンマーク国 ディーケー 2100 コ
(32) 優先日	平成14年10月16日 (2002.10.16)	ペンハーゲン エー, カール ヨハンス
(33) 優先権主張国	デンマーク (DK)	ガーデ 11, 1. ティーヴィー
(31) 優先権主張番号	60/419, 225	
(32) 優先日	平成14年10月17日 (2002.10.17)	
(33) 優先権主張国	米国 (US)	

最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 IL21 の使用によるアレルギー症状の治療

(57) 【要約】

本発明は、好酸球が保護的応答に関与する疾病又は症状、例えばアレルギー反応、アレルギー疾患、アレルギー症状及び寄生虫病の管理、治療及び予防のための IL-21 の投与に関する。



【特許請求の範囲】**【請求項 1】**

治療を必要とする患者における保護的応答に好酸球が関与する疾病又は症状の治療のための医薬の製造における I L - 2 1 の使用。

【請求項 2】

治療を必要とする患者におけるアレルギー症状の治療のための医薬の製造における I L - 2 1 の使用。

【請求項 3】

アレルギー症状が喘息、アレルギー性鼻炎又はアレルギー性皮膚疾患である、請求項 1 及び請求項 2 に記載の使用。

【請求項 4】

治療を必要とする患者における寄生虫病の治療のための医薬の製造における I L - 2 1 の使用。

【請求項 5】

寄生虫病が寄生虫様感染である、請求項 4 に記載の使用。

【請求項 6】

治療を必要とする患者における保護的応答に好酸球が関与する疾病又は症状の治療のための医薬の製造における、配列番号 2 のポリペプチド又は配列番号 2 の残基 3 0 から 1 6 2 に対して少なくとも 7 0 % の配列同一性を有する I L - 2 1 ポリペプチドの使用。

【請求項 7】

治療を必要とする患者におけるアレルギー症状の治療のための医薬の製造における、配列番号 2 のポリペプチド又は配列番号 2 の残基 3 0 から 1 6 2 に対して少なくとも 7 0 % の配列同一性を有する I L - 2 1 ポリペプチドの使用。

【請求項 8】

アレルギー症状が喘息、アレルギー性鼻炎又はアレルギー性皮膚疾患である、請求項 7 に記載の使用。

【請求項 9】

治療を必要とする患者における寄生虫病の治療のための医薬の製造における、配列番号 2 のポリペプチド又は配列番号 2 の残基 3 0 から 1 6 2 に対して少なくとも 7 0 % の配列同一性を有する I L - 2 1 ポリペプチドの使用。

【請求項 10】

寄生虫病が寄生虫様感染である、請求項 9 に記載の使用。

【請求項 11】

I L - 2 1 ポリペプチドが配列番号 2 のポリペプチド又は配列番号 2 の残基 3 0 から 1 6 2 に対して少なくとも 8 0 % の配列同一性を有する、請求項 6 ないし 1 0 の何れか 1 項に記載の使用。

【請求項 12】

I L - 2 1 ポリペプチドが配列番号 2 のポリペプチド又は配列番号 2 の残基 3 0 から 1 6 2 に対して少なくとも 9 0 % の配列同一性を有する、請求項 1 1 に記載の使用。

【請求項 13】

I L - 2 1 ポリペプチドが配列番号 2 のポリペプチド又は配列番号 2 の残基 3 0 から 1 6 2 に対して少なくとも 9 5 % の配列同一性を有する、請求項 1 2 に記載の使用。

【発明の詳細な説明】**【発明の開示】****【0 0 0 1】****(発明の分野)**

本発明は I L - 2 1 の投与によるアレルギー反応、アレルギー疾患及びアレルギー症状の管理、治療及び予防に関する。更に、本発明は寄生虫病に感染した患者に I L - 2 1 を投与することによる寄生虫病の治療に関する。

【0 0 0 2】

10

20

30

40

50

(発明の背景)

Zalph11とも呼ばれるIL-21は、抗CD3、ホルボールエステル及びロノマイシンでの刺激後に活性化されたCD4+Tリンパ球によって產生されることが示されたサイトカインである (Parrish-Novak等, *Nature* 408, 57-63 (2000))。

【0003】

好酸球が喘息及びその他のアレルギー疾患の発生において重要な役割を果たしていることが多くの研究によって示された (Foster等, *TRENDS in Molecular Medicine* 8, 162-167 (2002)で概説されている)。好酸球はIL-5及びエオタキシンに反応して骨髄中の幹細胞から產生され (「好酸球形成(eosinopoiesis)」)、好酸球は血液を経由して肺に移動し、そこで活性化される。このように活性化された好酸球は炎症誘発性分子及び顆粒状タンパク質を放出し、これが肺組織を損傷し、気道過敏症を誘導する。肺のいわゆるTヘルパー2 (「TH2」) リンパ球は「TH2サイトカイン」 (すなわち、IL-4、IL-5、IL-9、IL-10及びIL-13) を放出して殆どの細胞性反応を調整するものと広く認められている。この見解によれば、好酸球と好塩基球はエフェクター細胞としてだけ作用する (Willis-Karp等 *Annu. Rev. Immunol.* 17, 255 (1999)で概説されている)。驚いたことに、IL-21がヒト好酸性顆粒球 (以下、「好酸球」) によって產生され、貯蔵され、放出されることを我々は発見した。IL-21はT及びBリンパ球の増殖の同時刺激性サイトカインとして作用することが示された (上掲のParrish-Novak等)。よって、好酸球は、呼吸器上皮を損傷するその主要なエフェクター細胞としての役割に加えて、IL-21の放出による他の保護効果 (この時点まで未認識) をまた担っている。好酸球から放出されたIL-21 (以下、「好酸性IL-21」) が次には直接的に又は他のサイトカインと協働してアレルギー反応に関与する細胞の分化と活性化を防止し、それによって比較的軽いアレルギー反応に寄与する。この見解によれば、好酸球はアレルギー反応において二重の役割を担っている可能性がある。一方では、好酸球からの放出顆粒状タンパク質が組織を損傷する可能性があるが、他方では好酸性IL-21の放出が他の細胞に対する作用を介してアレルギー反応を低減させうる。喘息はここ二十年の間に有病率、罹患率、死亡率が増加しており、喘息及び他のアレルギー疾患の治療の改善に対して強い要望がある。

【0004】

喘息における好酸球の中心的役割の上の簡単な記述はアレルギー反応全般にも当てはまると考えられる。本発明の範囲を限定することを何ら意図するものではないが、アレルギー症状又は疾患を列挙すると、喘息、過敏症、薬物反応、食物アレルギー、昆虫毒アレルギー、アレルギー性鼻炎、じんま疹、湿疹、アトピー性皮膚炎、アレルギー性接触アレルギー、アレルギー性結膜炎である。このようなアレルギー反応、アレルギー疾患又はアレルギー症状を、IL-21の投与によって管理し、治療し又は予防することができる。

【0005】

好酸球は、限定するものではないが寄生虫感染を含む寄生虫病と闘うのに更に重要である。

本発明は、IL-21の投与によりアレルギー疾患又は症状を治療し、予防し、及び/又は管理するための方法に関する。

【0006】

(発明の概要)

好酸球がIL-21を合成、貯蔵及び/又は分泌することが見出された。好酸球はアレルギー反応、疾患及び症状に対する保護的応答に関与している可能性がある。本発明は、IL-21の投与によってアレルギー反応、症状及び疾患を管理、治療及び予防することに関する。

【0007】

(定義)

「ポリペプチド」はペプチド結合により結合したアミノ酸残基のポリマーであり、天然に又は合成によって產生されうる。約10未満のアミノ酸残基のポリペプチドは一般に「

10

20

30

40

50

ペプチド」と呼ばれる。

「タンパク質」は一又は複数のポリペプチド鎖を含む巨大分子であり、天然に又は合成によって產生されうる。タンパク質はまた糖(炭水化物)基又は他の非ペプチド性置換基のような非ペプチド性成分を含みうる。糖及び他の非ペプチド性置換基は、そこでタンパク質が產生される細胞によってタンパク質に付加され得、細胞の型によって変わる。糖及び他の非ペプチド性置換基は、また、細胞をベースとしたタンパク質の生成後に合成的に付加してもよい。タンパク質はここではそのアミノ酸骨格構造によって定義される；糖基又は他の非ペプチド性置換基のような置換基は一般には特定されないが、それでも存在している場合がある。

【0008】

この出願にその全体が出典明示により取り込まれる国際公開番号 WO 00 / 53761 号で 2000 年 9 月 14 日に公開された国際特許出願番号 PCT / US 06067 は、その全体をこの出願に出典明示により取り込むと共に、この出願に配列番号 2 として示す IL - 21 (「サイトカイン z alpha 11 リガンド」として) を配列番号 2 として、更にはそれとそれに対する抗体と配列番号 1 とする IL - 21 をコードするポリヌクレオチド配列を產生する方法を開示している。本発明はまたここで使用される場合は配列番号 2 のポリペプチドと配列同一性を持つポリペプチド、又は少なくとも 70%、少なくとも 80%、少なくとも 90%、少なくとも 95%、又は 95% よりの高い配列同一性のそのオルソログを意味するものと解されなければならない IL - 21 ポリペプチドの使用をも対象とする。本発明はまた配列番号 2 のアミノ酸残基 1 から 162、残基 30 から 162、又は残基 33 から 162 の配列と少なくとも 70%、少なくとも 80%、少なくとも 90%、少なくとも 95%、又は 95% より高い配列同一性を有するアミノ酸配列を含むポリペプチドの使用を含む。同一性パーセントを決定する方法は以下に記載する。本発明の IL - 21 ポリペプチドは、IL - 21 を、アレルギー反応、アレルギー疾患及びアレルギー症状を治療するのに有用にする IL - 21 の生物学的活性の全て又は一部を保持している。ポリペプチドのあるものは、IL - 21 の生物学的活性よりも高い生物学的活性を有している場合もある。

【0009】

「好酸性細胞」、「好酸性顆粒球」又は「好酸球」は赤色染色好酸球顆粒(例えばライト又はヘマトキシリン及びエオシン染色)を含む白血球と定義される。好酸球は正常な生理反応と疾病過程の双方に関与している。この定義に限定されるものではないが、定義には、(i) 骨髄中の好酸球、(ii) 末梢血を循環する好酸球、(iii) アレルギー反応(限定されるものではないが、喘息、過敏症、薬物反応、食物アレルギー、昆虫毒アレルギー、アレルギー性鼻炎、じんま疹、湿疹、アトピー性皮膚炎、アレルギー性接触アレルギー、アレルギー性結膜炎)に関与する好酸球、(iv) 悪性疾患(非限定的な例としてホジキンリンパ腫、菌状息肉腫、慢性骨髄性白血病及び肺、胃、脾臓、卵巣又は子宮の癌)に関与する好酸球、(v) 自己免疫反応に関与する好酸球、(vi) 膜原血管病(非限定的な例として関節リウマチ及び動脈周囲炎)に関与する好酸球、(vii) 寄生虫感染に関与する好酸球、及び/又は(viii) 医原病に関与する好酸球である。また含まれるものは、レフラー症候群、好酸球増加・筋痛症候群及び特発性好酸球増加症候群における好酸球である。

【0010】

ここで使用される「好酸性 IL - 21」は、好酸性顆粒球によって產生され、貯蔵され、及び/又は分泌される IL - 21 を意味するものととられなければならない。

ここで使用される「治療」及び「治療する」という用語は、疾病又は疾患のような症状と闘う目的での患者の管理及び世話を意味する。この用語は、症状の予防、疾病、疾患又は症状の進行の遅延化、症候及び合併症の軽減又は緩和、及び/又は疾病、疾患又は症状の治癒又は除去など、患者が罹っている所定の症状に対しての治療の全種類を含むことを意図している。治療される患者は好ましくは哺乳動物、特にヒトである。

【0011】

10

20

30

40

50

(発明の説明)

好酸球がIL-21を合成し、貯蔵し、及び/又は分泌することが見出された。好酸球はアレルギー反応、疾患及び症状に対する保護的応答に関与している可能性がある。

一実施態様では、本発明は、治療を必要とする患者へのIL-21の投与により、限定するものではないがアレルギー反応又は症状を含む、好酸球が保護的応答に関与する疾病又は症状を治療することに関する。

一実施態様では、本発明は治療を必要とする患者へのIL-21の投与により、アレルギー反応、症状及び疾患を治療することに関する。

【0012】

一実施態様では、本発明は、配列番号2のポリペプチド又はそのオルソログに対して少なくとも70%、少なくとも80%、少なくとも90%、少なくとも95%、又は95%より高い配列同一性を有するIL-21ポリペプチドの投与により、限定するものではないがアレルギー反応又は症状を含む、好酸球が保護的応答に関与する疾病又は症状を治療することに関する。本発明はまた配列番号2のアミノ酸残基1から162、残基30から162、又は残基33から162に対して少なくとも70%、少なくとも80%、少なくとも90%、少なくとも95%、又は95%より高い配列同一性を有するアミノ酸配列を含むポリペプチドの使用も含む。同一性パーセントを決定する方法は以下に記載する。配列番号2のポリペプチド又はそのオルソログに対して上記のように配列同一性を有する本発明のポリペプチドは、IL-21を、アレルギー反応、アレルギー疾患及びアレルギー症状を治療するのに有用にするIL-21の生物学的活性の全て又は一部を保持している。

【0013】

一実施態様では、本発明は、配列番号2のポリペプチド又はそのオルソログに対して少なくとも70%、少なくとも80%、少なくとも90%、少なくとも95%、又は95%より高い配列同一性を有するIL-21ポリペプチドの投与により、アレルギー反応、症状及び疾患を治療することに関する。本発明はまた配列番号2のアミノ酸残基1から162、残基30から162、又は残基33から162に対して少なくとも70%、少なくとも80%、少なくとも90%、少なくとも95%、又は95%より高い配列同一性を有するアミノ酸配列を含むポリペプチドの使用も含む。同一性パーセントを決定する方法は以下に記載する。配列番号2のポリペプチド又はそのオルソログに対して上記のように配列同一性を有する本発明のポリペプチドは、IL-21を、アレルギー反応、アレルギー疾患及びアレルギー症状を治療するのに有用にするIL-21の生物学的活性の全て又は一部を保持している。

【0014】

一実施態様では、本発明は、上述のIL-21ポリペプチドではないがIL-21の生物学的活性を有する化合物であるIL-21模倣剤の投与により、限定するものではないがアレルギー反応又は症状を含む、好酸球が関与する疾病又は症状を治療することに関する。IL-21模倣剤はポリペプチド又はオリゴペプチドのようなペプチドであっても、あるいはより小さい有機分子のような非タンパク質であってもよい。

一実施態様では、本発明は、上述のIL-21ポリペプチドではないがIL-21の生物学的活性を有する化合物であるIL-21模倣剤の投与により、限定するものではないがアレルギー反応又は症状を含む、好酸球が保護的応答に関与する疾病又は症状を治療することに関する。IL-21模倣剤はポリペプチド又はオリゴペプチドのようなペプチドであっても、あるいはより小さい有機分子のような非タンパク質であってもよい。

【0015】

一実施態様では、本発明は、配列番号2のポリペプチド又はそのオルソログに対して少なくとも70%、少なくとも80%、少なくとも90%、少なくとも95%、又は95%より高い配列同一性を有するIL-21ポリペプチド又はIL-21をコードするポリヌクレオチドの投与により、限定するものではないがアレルギー反応又は症状を含む、好酸球が保護的応答に関与する疾病又は症状を治療することに関する。更なる実施態様では、

10

20

30

40

50

本発明は配列番号2のアミノ酸残基1から162、残基30から162、又は残基33から162に対して少なくとも70%、少なくとも80%、少なくとも90%、少なくとも95%、又は95%より高い配列同一性を有するアミノ酸配列を含むポリペプチドをコードするポリヌクレオチドの投与によりアレルギー反応、症状及び疾患を管理し、治療し、予防することに関する。このようなポリヌクレオチドの例は、配列番号2に示す配列を持つポリペプチドをコードする配列番号1として示す。

【0016】

一実施態様では、本発明は、配列番号2のポリペプチド又はそのオルソログに対して少なくとも70%、少なくとも80%、少なくとも90%、少なくとも95%、又は95%より高い配列同一性を有するIL-21ポリペプチド又はIL-21をコードするポリヌクレオチドの投与により、アレルギー反応、症状及び疾患を治療することに関する。更なる実施態様では、本発明は配列番号2のアミノ酸残基1から162、残基30から162、又は残基33から162に対して少なくとも70%、少なくとも80%、少なくとも90%、少なくとも95%、又は95%より高い配列同一性を有するアミノ酸配列を含むポリペプチドをコードするポリヌクレオチドの投与によりアレルギー反応、症状及び疾患を管理し、治療し、予防することに関する。

【0017】

二つのアミノ酸配列間の配列同一性パーセントは、タンパク質とDNAの双方のアラインメントに対して有用であるニードルマン-ヴァンシュアラインメントによって決定される。タンパク質のアラインメントに対しては、デフォルトスコアマトリックスはBLOSUM50であり、最初の残基に対するギャップペナルティは-12である一方、更なる残基に対するギャップペナルティは-2である。アラインメントはFASTAパッケージ・バージョンv20u6からのアラインソフト(W.R. Pearson及びD.J. Lipman (1988), "Improved Tools for Biological Sequence Analysis", PNAS 85:2444-2448;及びW.R. Pearson (1990) "Rapid and Sensitive Sequence Comparison with FASTP and FASTA", Methods in Enzymology, 183:63-98)で行うことができる。

【0018】

本発明に係る喘息又は他のアレルギー症状を治療するために使用されるIL-21又は他のIL-21ポリペプチドは、単独で、又は非限定的な例としてのみ与えられる²-アゴニスト、クロモリン、ロイコトリエンレセプターアンタゴニスト、コルチコステロイドサイトカイン、サイトカインアンタゴニスト、インターロイキン及びインターロイキンアンタゴニストのような他の証明されている治療薬と組み合わせて投与することができる。

【0019】

(医薬組成物)

本発明に係る喘息又は他のアレルギー症状を治療するために使用されるIL-21又は他のIL-21ポリペプチドは、単独で、又は薬学的に許容可能な担体又は賦形剤と組み合わせて、単回投与又は多回投与で投与することができる。本発明に係る喘息又は他のアレルギー症状を治療するために使用されるIL-21又は他のIL-21ポリペプチドを含有する医薬組成物は、Remington: The Science and Practice of Pharmacy, 19版, Genaro編, Mack Publishing Co., Easton, PA, 1995に開示されるような従来の技術に従つて、薬学的に許容可能な担体又は希釈剤、並びに任意の他の既知のアジュバント及び賦形剤と共に処方することができる。組成物は一般的な形態、例えばカプセル、錠剤、エアロゾル、溶液又は懸濁液とできる。

【0020】

医薬組成物は、経口経路、直腸経路、鼻腔経路、肺経路、局所経路(頬及び舌下を含む)、経皮経路、大槽内経路、腹腔内経路、腔経路、及び非経口経路(皮下、筋肉内、クモ膜下腔内、静脈内、及び皮内を含む)のような任意の適切な経路によって投与するために特に処方することができる。好ましい経路は、治療される患者の一般症状及び年齢、治療すべき症状の性質、及び選択される活性成分に依存することが理解されるであろう。投与

10

20

30

40

50

経路は、作用の適切な又は所望の部位に活性化合物を効率的に輸送する任意の経路とできる。

【0021】

経口投与のための医薬組成物には、硬又は軟カプセル剤、錠剤、トローチ、糖衣錠、丸剤、ロゼンジ、粉剤、及び顆粒剤のような固形投薬形態が含まれる。適切な場合には、それらは腸溶性コーティングのようなコーティングを施して調製することができ、あるいは、当該分野で周知の方法に従って、持続性放出又は持効性放出のような、活性成分の制御された放出を与えるように製剤することができる。

経口投与のための液体投薬形態には、液剤、エマルション、水性又は油性懸濁剤、シロップ、及びエリキシルが含まれる。

非経口的投与のための医薬組成物には、滅菌された水性及び非水性の注射用液剤、分散剤、懸濁剤又はエマルション、並びに使用前に滅菌された注射用溶液又は分散液中で再構成される滅菌粉剤が含まれる。注射用デポー製剤もまた本発明の範囲内にあるものと考えられる。

【0022】

他の適切な投与形態には、座剤、スプレー、軟膏剤、クリーム、ゲル、吸入剤、皮膚パッチ、インプラント等が含まれる。

典型的な経口投与量は、約0.001～約100mg/kg体重/日の範囲、例えば約0.01～約50mg/kg体重/日、例えば約0.05～約10mg/kg体重/日を、一又は複数回、例えば1～3回の投薬で投与する。正確な投与量は、投与の頻度及び様様、性別、年齢、治療される患者の体重及び一般症状、治療すべき症状の性質及び重篤度、及び治療すべき任意の併発疾患、及び当業者に明らかな他の因子に依存する。

製剤は、当業者に公知の方法によって、単位投与量形態で簡便に提供される。一日に一又は複数回、例えば一日に1～3回の経口投与のための典型的な単位投与量形態は、0.05～約1000mg、例えば約0.1～約500mg、例えば約0.5mg～約200mgを含みうる。

静脈内、クモ膜下腔内、筋肉内及び同様の投与等の非経口的経路については、投与量は、典型的には経口投与に用いられる投与量の約半分のオーダーである。

【0023】

本発明に係る喘息又は他のアレルギー症状を治療するために使用される非タンパク質IL-21模倣剤は、一般には、遊離の物質又はその薬学的に許容可能な塩として利用される。その例は、遊離塩基の有用性を有する化合物の酸付加塩及び遊離酸の有用性を有する化合物の塩基付加塩である。「薬学的に許容可能な塩」という用語は、遊離塩基を適切な有機又は無機酸と反応させるか、又は酸を適切な有機又は無機塩基と反応させることによって一般に調製される化合物の非毒性塩を意味する。そのような化合物が遊離塩基を含むとき、そのような塩は、化合物の溶液又は懸濁液を化学的当量の薬学的に許容可能な酸で処理することにより、常套的な形で調製される。そのような化合物が遊離酸を含むとき、そのような塩は、化合物の溶液又は懸濁液を化学的当量の薬学的に許容可能な塩基で処理することにより、常套的な形で調製される。ヒドロキシ基を有する化合物の生理学的に許容可能な塩には、ナトリウム又はアンモニウムイオンのような適切なカチオンと組合わされて前記化合物のアニオンが含まれる。薬学的に許容可能ではない他の塩も本発明の化合物の調製に有用である場合があり、これらは本発明の更なる態様を形成する。

IL-21ポリペプチドの塩は、タンパク質が固形又は結晶形態である場合に特に関連する。

【0024】

非経口的投与については、IL-21ポリペプチド又はIL-21模倣剤の、滅菌水溶液中、水性プロピレングリコール中、又はゴマ油もしくはピーナッツ油中の溶液を使用することができる。このような水溶液は、必要に応じて適切に緩衝化されるべきで、希釈液は最初に十分な生理食塩水又はグルコースを用いて等張にすべきである。水溶液は、静脈内、筋肉内、皮下、及び腹腔内投与に特に適している。使用される無菌の水性媒質は、全

て、当業者に公知の標準的技術によって容易に入手可能である。

【0025】

適切な薬学的担体には、不活性な固体希釈剤又はフィラー、滅菌水溶液及び種々の有機溶媒が含まれる。固体担体の例は、乳糖、石膏、スクロース、シクロデキストリン、タルク、ゼラチン、寒天、ペクチン、アカシア、ステアリン酸マグネシウム、ステアリン酸、及びセルロースの低級アルキルエーテルである。液体担体の例は、シリップ、ピーナッツ油、オリブ油、リン脂質、脂肪酸、脂肪酸アミン、ポリオキシエチレン及び水である。同様に、担体又は希釈剤は、モノステアリン酸グリセリル又はジステアリン酸グリセリルのような当該分野において公知の任意の持続性放出物質を、単独で又はワックスと混合して含んでいてもよい。本発明に係る喘息又は他のアレルギー症状を治療するために使用されるIL-21ポリペプチド又はIL-21模倣剤と薬学的に許容可能な担体を混合することによって形成された医薬組成物は、ついで、開示された投与経路に適した様々な投与形態で即座に投与される。製剤は、調剤技術分野において公知の方法により、単位投与量形態で簡便に提供することができる。

【0026】

経鼻投与のためには、調合物は、エアロゾル適用のために、液体担体、特に水性担体にIL-21ポリペプチド又はIL-21模倣剤を溶解又は懸濁させて含めることができる。担体は添加剤、例えば可溶化剤、例えばプロピレングリコール、界面活性剤、吸収促進剤、例えばレシチン(ホスファチジルコリン)又はシクロデキストリン、又はパラベンのような保存料を含んでもよい。

本発明に係る喘息又は他のアレルギー症状を治療するために使用されるIL-21ポリペプチド又はIL-21模倣剤の経口投与に適した製剤は、カプセル剤又は錠剤のような、それぞれが予め定められた量の活性成分を含み、また適切な賦形剤を含みうる別々の単位として提供されてもよい。更に、経口的に利用できる製剤は、粉剤又は顆粒剤、水性もしくは非水性の液体中の溶液剤もしくは懸濁剤、又は水中油もしくは油中水の液体エマルジョンの形態であってもよい。

【0027】

経口用途を意図した組成物は任意の公知の方法によって調製することができ、かかる組成物は、薬学的に風味があり口当たりがよい調製物を提供するために甘味剤、香料添加剤、着色剤、及び保存料からなる群から選択される一又は複数の薬剤を含みうる。錠剤は、錠剤の製造に適した非毒性の薬学的に許容可能な賦形剤と混合して活性成分を含みうる。これらの賦形剤は例えば不活性な希釈剤、例えば炭酸カルシウム、炭酸ナトリウム、乳糖、リン酸カルシウム又はリン酸ナトリウム；増粒及び崩壊剤、例えばコーンスターク又はアルギン酸；結合剤、例えばデンプン、ゼラチン又はアカシア；及び潤滑剤、例えばステアリン酸マグネシウム、ステアリン酸又はタルクでありうる。錠剤はコーティングしなくてもよいし、あるいは胃腸管での崩壊と吸収を遅延させ、それによって長期間にわたる持続性作用をもたらすために既知の方法によってコーティングしてもよい。例えば、モノステアリン酸グリセリル又はジステアリン酸グリセリルのような時間遅延物質を用いることができる。それらはまた出典明示によりここに取り込まれる米国特許番号第4356108号；4166452号；及び4265874号に記載された技術によってコーティングして、徐放用の浸透圧性治療錠剤を形成してもよい。

【0028】

経口用途のための製剤は、活性成分が不活性な固体希釈剤、例えば炭酸カルシウム、リン酸カルシウム又はカオリンと混合される硬ゼラチンカプセルとして、あるいは活性成分が水又は油媒質、例えばピーナッツ油、流動パラフィン又はオリブ油と混合される軟ゼラチンカプセルとしてもまた提供されうる。

水性懸濁液は水性懸濁液の製造に適した賦形剤と混合されてIL-21ポリペプチド又はIL-21模倣剤を含みうる。そのような賦形剤は懸濁剤、例えばカルボキシメチルセルロースナトリウム、メチルセルロース、ヒドロキシプロピルメチルセルロース、アルギン酸ナトリウム、ポリビニルピロリドン、トラガカントガム及びアカシアガムである；分

10

20

20

30

40

50

散又は湿潤剤は天然に生じるホスファチド、例えばレシチン、又は脂肪酸とのアルキレンオキシドの縮合生成物、例えばポリオキシエチレンステアレート、又は長鎖脂肪族アルコールとのエチレンオキシドの縮合生成物、例えばヘプタデカエチレンオキシセタノール、又は脂肪酸とヘキシトールから誘導された部分エステルとのエチレンオキシドの縮合生成物、例えばポリオキシエチレンソルビトールモノオレアート、又は脂肪酸とヘキシトール無水物から誘導された部分エステルとのエチレンオキシドの縮合生成物、例えばポリエチレンソルビタンモノオレアートとできる。水性懸濁液はまた一又は複数の着色剤、一又は複数の香料添加剤、及び一又は複数の甘味剤、例えばスクロース又はサッカリンを含みうる。

【0029】

10

油性懸濁液は、植物油、例えばラッカセイ油、オリブ油、ゴマ油又はヤシ油中に、又は鉛油、例えば流動パラフィン中に活性成分を懸濁させることによって製剤化することができる。油性懸濁液は増粘剤、例えばミツロウ、固体パラフィン又はセチルアルコールを含みうる。上述したもののような甘味剤及び香料添加剤を、口当たりがよい経口調製物を提供するために添加してもよい。これらの組成物はアスコルビン酸のような抗酸化剤を添加することによって保存できる。

水の添加によって水性懸濁液を調製するのに適した分散性粉末及び顆粒は、分散又は湿潤剤、懸濁剤及び一又は複数の保存料と混合して活性化合物を提供する。好適な分散又は湿潤剤及び懸濁剤は既に上述したものによって例示される。更なる賦形剤、例えば甘味剤、香料添加剤、及び着色剤が存在していてもよい。

【0030】

20

本発明に係る喘息又は他のアレルギー症状を治療するために使用されるIL-21ポリペプチド又はIL-21模倣剤の医薬組成物はまた水中油エマルションの形態であってもよい。油相は植物油、例えばオリブ油、ラッカセイ油、又は鉛油、例えば流動パラフィン、又はその混合物としうる。好適な乳化剤は天然に生じるガム、例えばアカシアガム又はトラガカントガム、天然に生じるホスファチド、例えば大豆、レシチン、及び脂肪酸とヘキシトール無水物から誘導されたエステル又は部分エステル、例えばソルビタンモノオレアート、及び上記部分エステルのエチレンオキシドとの縮合生成物、例えばポリオキシエチレンソルビタンモノオレアートでありうる。エマルションはまた甘味剤及び香料添加剤を含みうる。

30

【0031】

30

シロップ及びエリキシル剤は甘味剤、例えばグリセロール、プロピレングリコール、ソルビトール又はスクロースを用いて製剤化することができる。そのような製剤はまた粘滑剤、保存料及び香味添加剤及び着色剤を含みうる。医薬組成物は滅菌された注射用水性又は油性懸濁液の形態とできる。この懸濁液は上述した好適な分散又は湿潤剤及び懸濁剤を使用して公知の方法によって製剤化することができる。滅菌された注射用調製物は非毒性の非経口的に許容可能な希釈剤又は溶媒中の滅菌された注射用溶液又は懸濁液、例えば1,3-ブタンジオールの溶液でありうる。用いることができる許容可能なビヒクル及び溶媒は水、リンガー液、及び等張塩化ナトリウム液である。また、滅菌された固定油が溶媒又は懸濁媒質として簡便に用いられる。この目的に対して、合成モノ又はジグリセリドを使用する任意のブランドの固定油を用いることができる。また、オレイン酸のような脂肪酸が注射物質の調製に使用される。

40

【0032】

組成物はまた本発明の化合物の直腸投与のための坐薬の形態であってもよい。これらの組成物は、常温で固体であるが直腸温度で液体であり、よって直腸で溶けて薬剤を放出する適切な刺激性のない賦形剤と薬剤を混合することによって調製することができる。このような物質には例えばカカオ脂及びポリエチレングリコールが含まれる。

局所使用のために、本発明の化合物を含むクリーム、軟膏、ゼリー、懸濁液等々が考えられる。この用途のために、局所用途には洗口剤及びうがい薬が含まれる。

本発明に係る喘息又は他のアレルギー症状を治療するために使用されるIL-21ポリ

50

ペプチド又はIL-21模倣剤はまたリポソーム送達系、例えば単層小ベジクル、単層大ベジクル、多層ベジクルの形態で投与することができる。リポソームは様々なリン脂質、例えばコレステロール、ステアリルアミン、又はホスファチジルコリンから形成することができる。

【0033】

また、本発明に係る喘息又は他のアレルギー症状を治療するために使用されるIL-21ポリペプチド又はIL-21模倣剤のあるものは水又は一般的な有機溶媒と溶媒和物を形成しうる。そのような溶媒和物もまた本発明の範囲内に包含される。

経口投与のために固体担体が使用される場合、調製物は、錠剤化されてもよいし、粉末もしくはペレットの形態で硬ゼラチンカプセル中に配されてもよいし、あるいはトローチもしくはロゼンジの形態とすることもできる。固体担体の量は広く変化するであろうが、通常は約25mg～約1gであろう。液体担体が使用される場合、調製物は、シロップ、エマルション、軟ゼラチンカプセル、又は水性もしくは非水性の液体懸濁剤もしくは溶液剤のような無菌の注射用液体の形態でありうる。

【0034】

本発明に係る喘息又は他のアレルギー症状を治療するために使用されるIL-21ポリペプチド又はIL-21模倣剤は、その治療を必要とする哺乳動物、特にヒトに投与することができる。そのような哺乳動物には動物もまた含まれ、家畜類、例えば家庭のペット、及び非家畜類、例えば野生生物の双方が含まれる。

本発明に係る化合物を含む医薬組成物は、一日当たり又は一週間当たり一又は複数回投与することができ、簡便には食事時に投与することができる。そのような医薬組成物の有効量とは臨床的に有意な効果をもたらす量である。そのような量は、治療される特定の症状、患者の年齢、体重及び一般健康状態、及び当業者には明らかな他の因子に部分的に依存する。

【実施例】

【0035】

(ホジキンリンパ腫におけるIL-21及びIL-21R mRNAの発現)

組織マイクロアレイスライド(DAKO腫瘍マルチスライド、DAKOカタログ番号T1064)のインサイツハイブリダイゼーション分析は、IL-21及びIL-21R mRNAがホジキンリンパ腫検体において発現されることを明らかにしている。異なった患者から取り出したホジキン病の幾つかの検体にシグナルが見られる。マルチスライドに提示されている全ての他のタイプの癌(およそ20の異なったタイプ)はIL-21及びIL-21R mRNAの発現を示していない。

【0036】

プローブ調製、ハイブリダイゼーション条件及びストリンジェントな洗浄：

プローブ調製：

次のcDNA断片を含むプラスミドからインビトロ転写によって產生したプローブでインサイツハイブリダイゼーションを実施する：公開された配列と比較して単一のミスマッチを含む塩基対344から塩基対833を含むヒトIL-21のPCR断片(ACC番号：AF254069(表A参照))を転写ベクターpCRBlunt II(インビトロジエン)中にクローニングした。

ハイブリダイゼーション：

S-35標識プローブの特異的活性は(10×SALT S、脱イオン化Formamide、50%デキストラン硫酸、t-RNA(10mg/ml)、1.0M DTTからなる)最終ハイブリダイゼーション混合物中80000cpm/mlであった。切片を47で一晩ハイブリダイズした。

【0037】

ストリンジェントな洗浄：

切片を50%ホルムアミド、1×SALT S(300mMのNaCl、10mMのトリス(pH6.8)、10mMのNaPO₄、5mMのEDTA、0.02%のフィコール

10

20

30

40

50

400、0.02%のポリビニルピロリドン、及び0.02%のBSA)及び10mMのジチオスレイトール(dithiothreitol)中にて57で1時間、62で1時間、洗浄した。0.5MのNaCl、10mMのトリス-C1(pH7.2)、1mMのEDTA中の37、30分のRNase A処理(20μg/mlのRNase A)後、0.1×SSC中、室温で30分、切片を洗浄した。切片をオートラジオグラフィー-エマルション中に浸漬し、21日の間、曝した。

【0038】

結果：

好酸球浸潤を伴うホジキンリンパ腫の組織形態計測的に定まったサブグループに属する検体において、好酸性顆粒球に優勢にIL-21mRNAが発現している(図1A)。インサイツハイブリダイゼーションの後、切片をヘマトキシリン及びエオシン(H&E)で対比染色し、これにより、IL-21mRNA陽性細胞を好酸球として形態学的に同定することが可能である(図1Bの矢印)。リンパ球優勢検体中、リード・シュテルンベルグ細胞を囲むリンパ球の小クラスターにIL-21mRNAの発現が見出される(図2)。

IL-21mRNAは組織病理学の好酸性及びリンパ性タイプの双方においてリンパ球に散在して発現している(図3)。

【0039】

結論：

好酸球中のIL-21の発現は、上記好酸性IL-21が保護的役割を果たしていることを示していると思われる。この見解によれば、ある種の疾患又は疾病又は症状における体液及び/又は組織中の好酸球の数の増加又は好酸性浸潤は、上記好酸球がIL-21の放出によって保護的役割を果たし、ついでアレルギー反応又はアレルギー疾患を減じうることを示している。従って、限定するものではないがアレルギー疾患を含む、好酸球が保護的役割に関与している疾患は、IL-21ポリペプチド又はIL-21模倣剤の投与によって治療することができる。

IL-21及びIL-21レセプターはホジキンリンパ腫の病態生理学において役割を担っていると思われ、従ってIL-21シグナル伝達はホジキン病における薬理学的介入の標的となりうる。

特に、悪性のリード・シュテルンベルグ細胞の直ぐ周りのリンパ球におけるIL-21の明確な発現は、リード・シュテルンベルグ細胞とその周りのリンパ球の間のクロストークにIL-21mRNAの発現が関与しており、リード・シュテルンベルグ細胞によってIL-21の発現が誘導さえされることを示している。

【0040】

好酸球様細胞株HL-60中のIL-21及びIL-21Rの発現を証明する方法：HL-60細胞を酪酸の存在下で培養して好酸球様表現型を誘導し、続いて非限定的な例はGM-CSF、エオタキシン、IL-4、IL-5及びIFN-であるサイトカイン又は成長因子と共に培養し、1-72時間の培養後に収集し、RT-PCRによってIL-21及びIL-21R mRNAの発現について、ELISAによってIL-21タンパク質の発現について、フローサイトメトリーによってIL-21及びIL-21Rタンパク質の発現について分析する。

好酸球中のIL-21及びIL-21Rの発現を証明する方法：好酸球をヒト血液から単離し、Woerly等、J.Leukoc.Biol. 72:769-779, 2002; Schmid-Grendelmeier等、J Immunol 169:1021-1027, 2002に記載され、非限定的な例はGM-CSF、エオタキシン、IL-4、IL-5及びIFN-であるサイトカイン又は成長因子と共に培養し、1-72時間の培養後に収集し、RT-PCRによってIL-21及びIL-21R mRNAの発現について、ELISAによってIL-21タンパク質の発現について、フローサイトメトリーによってIL-21及びIL-21Rタンパク質の発現について分析する。

【0041】

アレルギー疾患の患者からの好酸球中のIL-21及びIL-21Rの異常発現を証明する方法：好酸球をアレルギー疾患の患者及び健康なドナーの血液から単離し、RT-

10

20

30

40

50

P C R、E L I S A又はフローサイトメトリーによってIL-21及びIL-21Rの発現について直接エキソビオで分析し、あるいは上述のようなIL-21及びIL-21Rの発現の分析前に成長因子又はサイトカインで刺激する。

アレルギー疾患の患者からの好酸球中でのIL-21及びIL-21Rの異常発現を証明する方法：アレルギー疾患の患者及び関連した抗原で誘発した健康なドナーのバイオプシーを切片化し、IL-21及びIL-21Rの発現のために免疫組織化学によって、好酸球マーカーとして例えばEG-2のような細胞型を定めるための関連マーカーと共に染色する。

【0042】

IL-21の欠如が喘息のマウスモデルにおいて疾病の重症度を増大させることを証明する方法：IL-21欠損及び野生型マウスを卵白アルブミンで免疫化し、続いて卵白アルブミンの鼻腔内注入によって誘発し、気道応答性、気管支肺胞洗浄液の細胞性組成物、及びサイトカイン、ケモカイン及びIgEレベルを、Hogan等、J Immunol 171:2644-2651 (2003)又はMedoff等、J Immunol 168:5278-5286, 2002又はDenzler等、J Immunol 165:5509-5517 (2000)又はIshimitsu等、J Immunol 166:1991-2001 (2001)に記載されたようにして測定する。IL-21欠損マウスにおける疾病の重症度の増大は、IL-21が喘息の治療に有用であることを示している。

IL-21の中和が喘息のマウスモデルにおいて疾病の重症度を増大させることを証明する方法：マウスを卵白アルブミンで免疫化し、続いて卵白アルブミンの鼻腔内注入によって誘発する。卵白アルブミンでの誘発の前、後、又は誘発と共に、マウスを中和IL-21抗体で処理する。気道応答性、気管支肺胞洗浄液の細胞性組成物、及びサイトカイン、ケモカイン及びIgEレベルを、Hogan等、J Immunol 171:2644-2651 (2003)又はMedoff等、J Immunol 168:5278-5286, 2002又はDenzler等、J Immunol 165:5509-5517 (2000)又はIshimitsu等、J Immunol 166:1991-2001 (2001)に記載されたようにして測定する。中和IL-21抗体で処置したマウスにおける疾病の重症度の増大は、IL-21が喘息の治療に有用であることを示している。

【0043】

IL-21処置が喘息のマウスモデルにおいて疾病の重症度を減少させることを証明する方法：マウスを卵白アルブミンで免疫化し、続いて卵白アルブミンの鼻腔内注入によって誘発する。卵白アルブミンでの誘発の前、後、又は誘発と共に、マウスをIL-21タンパク質、IL-21をコードするプラスミド又はバッファー又はコントロールプラスミドで処理する。気道応答性、気管支肺胞洗浄液の細胞性組成物、及びサイトカイン、ケモカイン及びIgEレベルを、Hogan等、J Immunol 171:2644-2651 (2003)又はMedoff等、J Immunol 168:5278-5286, 2002又はDenzler等、J Immunol 165:5509-5517 (2000)又はIshimitsu等、J Immunol 166:1991-2001 (2001)に記載されたようにして測定する。

IL-21の欠如が寄生虫様感染の疾病重症度を増大させることを証明する方法：IL-21欠損及び野生型マウスを死んだ（凍結）ミクロフィラリアで免疫化し、続いて生きているミクロフィラリアを静脈内注射し、アレルギー応答を上述したもの及びHall等、Infect. Immun. 66:4425-4430 (1998)に記載のようにして測定する。

【0044】

IL-21が寄生虫様感染の治療に使用できることを証明する方法：マウスを死んだ（凍結）ミクロフィラリアで免疫化し、続いて生きているミクロフィラリアを静脈内注射する。生きているミクロフィラリアの注射の前、後、又は注射と共に、マウスをIL-21タンパク質、IL-21をコードするプラスミド又はバッファー又はコントロールプラスミドで処理する。アレルギー応答を上述したもの及び上述のHall等に記載のようにして測定する。

【0045】

表A

ヒトIL-21cDNA断片の作成：

インターロイキン21(IL-21)タンパク質受託番号Q9HBE4。

10

20

30

40

50

インターロイキン 21 (IL-21) 原受託番号 A F 2 5 4 0 6 9。

プローブ配列 4 8 9 b p :

```
ATGAGATCCAGTCCTGGCAACATGGAGAGGATTGTCATCTGCTGATGGTCATCTCTGGGGACACTGGTCCACAAATC
AAGCTCCCAAGGTCAAGATGCCACATGATTAGAATCGTCAACTTATAGATATTGTTGATCAGCTGAAAATTATGTGA
ATGACTTGGTCCCTGAATTCTACCAAGCTCCAGAAGATGTAGAGACAAACTGTGAGTGGTCAGCTTTCTGTTTCAG
AAGGCCCAACTAAAGTCAGCAAATACAGGAAACAATGAAAGGATAATCAATGTATCAATTAAAAGCTGAAGAGGAAACC
ACCTTCCACAAATGCAGGGAGAAGACAGAAACACAGACTAACATGCCCTCATGTGATTCTATGAGAAAAACACGGAAAGTGAA
AAGAATTCTAGAAAGATTCAAATCACTTCTCCAAAAGATGATTCATCAGCATCTGTCCTCTAGAACACACGGAAAGTGAA
GATTCCCTGA
```

10

```
emb1|af254069|af254069 Homo sapiens interleukin 21 (IL-21) mRNA,
complete cds.
Length = 642
```

Score = 961 bits (485), Expect = 0.0

Identities = 488/489 (99%)

Strand = Plus / Plus

```
Query: 1 atgagatccagtcctggcaacatggagaggattgtcatctgtctgatggtcatcttcttg 60
|||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||
```

20

```
  Sbjct: 47 atgagatccagtcctggcaacatggagaggattgtcatctgtctgatggtcatcttcttg 106
```

```
Query: 61 gggacactggccacaaatcaagctcccaaggtcaagatgcacatgatggatgcgt 120
|||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||
```

```
  Sbjct: 107 gggacactggccacaaatcaagctcccaaggtcaagatgcacatgatggatgcgt 166
```

```
Query: 121 caacttatagatattgtgatcagctgaaaaattatgtgaatgacttggccctgaattt 180
|||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||
```

```
  Sbjct: 167 caacttatagatattgtgatcagctgaaaaattatgtgaatgacttggccctgaattt 226
```

30

```
Query: 181 ctaccagctccagaagatgttagagacaaactgtgagtggtcagctttctgtttcag 240
|| |||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||
```

```
  Sbjct: 227 ctgccagctccagaagatgttagagacaaactgtgagtggtcagctttctgtttcag 286
```

```
Query: 241 aaggcccaactaaagtcaagcaatacaggaaacaatgaaaggataatcaatgtatcaatt 300
|||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||
```

```
  Sbjct: 287 aaggcccaactaaagtcaagcaatacaggaaacaatgaaaggataatcaatgtatcaatt 346
```

```
Query: 301 aaaaagctgaagagggaaaccacccatccacaaatgcagggagaagacagaacacagacta 360
|||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||
```

```
  Sbjct: 347 aaaaagctgaagagggaaaccacccatccacaaatgcagggagaagacagaacacagacta 406
```

40

```
Query: 361 acatgcccttcatgtgattcttatgagaaaaaccacccaaagaattcctagaaagattc 420
|||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||
```

```
  Sbjct: 407 acatgcccttcatgtgattcttatgagaaaaaccacccaaagaattcctagaaagattc 466
```

```
Query: 421 aaatcacttctccaaaagatgattcatcagcatctgtcctctagaacacacggaaagtcaa 480
|||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||||
```

```
  Sbjct: 467 aaatcacttctccaaaagatgattcatcagcatctgtcctctagaacacacggaaagtcaa 526
```

50

Query: 481 gattcctga 489

|||||||

Subjct: 527 gattcctga 535

【0046】

表 B

残基 1 ~ 29 を含むシグナルペプチドを含む配列番号 2 としても示されたヒト IL - 21
アミノ酸配列タンパク質受託番号 Q9HBE4 :

1...MRSSPGNMERIVICLVMIFLGTLVHKSSSQGQDRHMRQLIDIVDQLK...50

51...NYVNDLVPEFLPAPEDVETNCEWSAFSCFQKAQLKSANTGNNERIINVSI...100

101.KKLKRKPPSTNAGRRQKHRLTCPSCDSYEKKPPKEFLERFKSLLQKMIHQ...150

151 HLSSRTHGSEDS

10

20

30

【図面の簡単な説明】

【0047】

【図 1 A】好酸球浸潤型ホジキンリンパ腫検体における IL - 21 mRNA の発現を示す
インサイツハイブリダイゼーション。同じ領域の画像が左パネルに明視野として、右パネル
に暗視野として示されている。IL - 21 mRNA に対するシグナルが暗視野画像で囲む明るい点として見られる。

【図 1 B】好酸球浸潤型ホジキンリンパ腫検体における IL - 21 mRNA の発現を示す
インサイツハイブリダイゼーション。上の高い倍率の画像では、IL - 21 mRNA に対する
シグナルが好酸球にわたって暗い銀色の粒子として見える（矢印）。

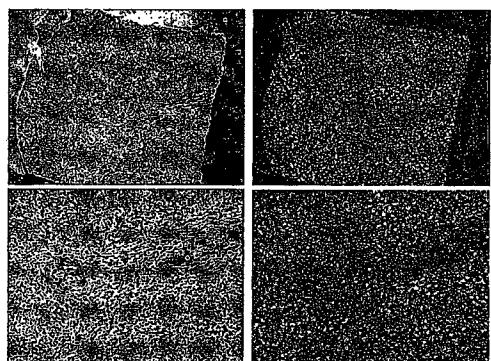
【図 2】リンパ球優勢型ホジキンリンパ腫検体における IL - 21 mRNA の発現を示す
インサイツハイブリダイゼーション。同じ領域の画像が左パネルに明視野として、右パネル
に暗視野として示されている。IL - 21 mRNA に対するシグナルが暗視野画像でリード・
シュテルンベルグ細胞（矢印）を囲む明るい点としてリンパ球にわたって見られる
。

【図 3】好酸球浸潤型（上方パネル）又はリンパ球優勢型（下方パネル）のホジキンリン
パ腫検体における IL - 21 レセプター mRNA の弱い発現を示すインサイツハイブリ
ダイゼーション。同じ領域の画像が左パネルに明視野として、右パネルに暗視野として示
されている。IL - 21 R mRNA に対する弱いシグナルが暗視野画像での明るい点として
組織の全体にわたって散在して見られる。

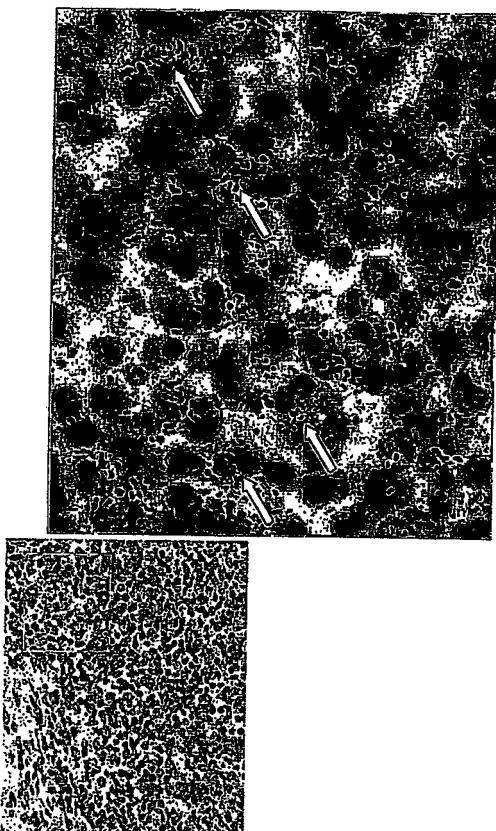
【図 4】配列番号 1 : IL - 21 をコードする DNA 配列。

【図 5】配列番号 2 : IL - 21 のアミノ酸配列。

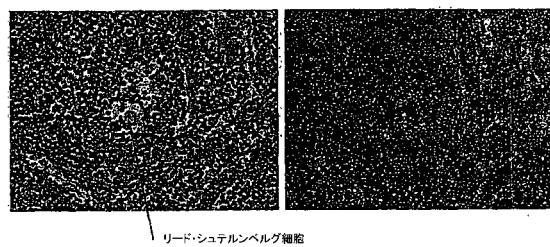
【図1A】



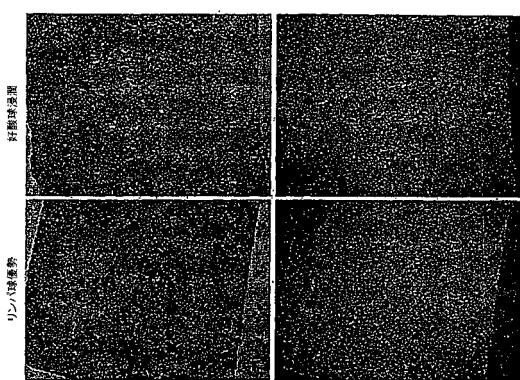
【図1B】



【図2】



【図3】



【図4】

配列番号1:配列番号2のポリペプチドをコードするDNA

```

atgagatcca gtcctggcaa catggagagg attgtcatct gtctgtatggt catcttcgg 60
ggacactgtt ccacaaatca agctccaaag gtcaagatcg ccacatgatt agaatggtgc 120
aacttataga tattgttgtt cagctgaaaa attatgtgaa tgacttggtc cctgaatttc 180
tgccagctcc agaagatgtt gagacaaact gtgatgtggtc agcttttcc tggtttcaga 240
aggcccaact aaagttagca aatacaggaa acaatgaaag gataatcaat gtatcaatta 300
aaaagctgaa gggaaacca cttccacaa atgcaggagg aagacagaaaa cacagactaa 360
catgcccttc atgtgattct tatgagaaaa aaccacccaa agaattctca gaaagatca 420
aatcacttctt ccaaaaatgtt attcatcagc atctgtcctc tagaacacac ggaagtgtaa 480
attccctga

```

【図5】

配列番号2

Met Arg Ser Ser Pro Gly Asn Met Glu Arg Ile Val Ile Cys Leu Met
 1 5 10 15

Val Ile Phe Leu Gly Thr Leu Val His Lys Ser Ser Ser Gln Gly Gln
 20 25 30

Asp Arg His Met Ile Arg Met Arg Gln Leu Ile Asp Ile Val Asp Gln
 35 40 45

Leu Lys Asn Tyr Val Asn Asp Leu Val Pro Glu Phe Leu Pro Ala Pro
 50 55 60

Glu Asp Val Glu Thr Asn Cys Glu Trp Ser Ala Phe Ser Cys Phe Gln
 65 70 75 80

Lys Ala Gln Leu Lys Ser Ala Asn Thr Gly Asn Asn Glu Arg Ile Ile
 85 90 95

Asn Val Ser Ile Lys Lys Leu Lys Arg Lys Pro Pro Ser Thr Asn Ala
 100 105 110

Gly Arg Arg Gln Lys His Arg Leu Thr Cys Pro Ser Cys Asp Ser Tyr
 115 120 125

Glu Lys Lys Pro Pro Lys Glu Phe Leu Glu Arg Phe Lys Ser Leu Leu
 130 135 140

Gln Lys Met Ile His Gln His Leu Ser Ser Arg Thr His Gly Ser Glu
 145 150 155 160

Asp Ser

【国際調査報告】

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International Application No
PCT/JP 03/00691

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER
IPC 7 A61K38/20 A61P37/00 A61P33/00

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 C07K 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)
--

BIOSIS, EPO-Internal, WPI Data, PAJ, MEDLINE, 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	<p>SUTO AKIRA ET AL: "Interleukin 21 prevents antigen-induced IgE production by inhibiting germ line Cepsilon transcription of IL-4-stimulated B cells." BLOOD, [Online] vol. 100, no. 13, 1 August 2002 (2002-08-01), pages 4565-4573, XP002270578 ISSN: 0006-4971 Retrieved from the Internet: <URL: http://www.bloodjournal.org/cgi/content/full/100/13/4565> [retrieved on 2004-02-19]</p> <p>Last paragraph in the discussion "it is suggested that IL-21 itself or the mimic of IL-21 signaling may be useful for the treatment of allergic diseases</p>	1-3, 6-8, 11-13
A	<p>---</p> <p>-/-</p>	4, 5, 9, 10

<input checked="" type="checkbox"/> Further documents are listed in the continuation of box C.
--

<input checked="" type="checkbox"/> Patent family members are listed in annex.
--

" Special categories of cited documents :

"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance
 "E" earlier document but published on or after the international filing date
 "L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)
 "O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means
 "P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed

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

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

Date of the actual completion of the international search	Date of mailing of the international search report
17 February 2004	- 3. 03. 2004
Name and mailing address of the ISA European Patent Office, P.B. 5018 Patentlaan 2 NL - 2280 HV Rijswijk Tel. (+31-70) 340-2040, Tx. 31 651 epo nl, Fax: (+31-70) 340-3016	Authorized officer MICHAEL OWALD / ELY

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International Application No
PCT/I 13/00691

C.(Continuation) DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category *	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	WO 00 53761 A (ZYMOGENETICS INC) 14 September 2000 (2000-09-14) claim 30	1,4-6, 9-13
A	---	2,3,7-9
P,X	WO 03 028630 A (DONALDSON DEBRA D ;LOWE LESLIE D (US); WITEK JOANN S (US); WYETH) 10 April 2003 (2003-04-10) the whole document	1-13
E	WO 03 087320 A (MOLL THOMAS ;STROM TERRY B (US); ZHENG XIN XIAO (US); BETH ISRAEL) 23 October 2003 (2003-10-23) the whole document	1,6, 11-13
X	WO 99 61617 A (HUMAN GENOME SCIENCES INC ;EBNER REINHARD (US); RUBEN STEVEN M (US) 2 December 1999 (1999-12-02) page 76, lines 15-34 (allergic and autoimmune diseases) and page 76 lines 15-24 (parasitic agent)	1-13
A	WO 02 10393 A (LUDWIG INST CANCER RES) 7 February 2002 (2002-02-07) the whole document	1-13

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

International Application No

PCT/JP 03/00691

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member(s)		Publication date
WO 0053761	A 14-09-2000	AU 3731200 A		28-09-2000
		BR 0008772 A		07-05-2002
		CA 2366921 A1		14-09-2000
		CN 1378595 T		06-11-2002
		CZ 20013184 A3		17-04-2002
		EP 1165791 A2		02-01-2002
		HU 0200418 A2		29-05-2002
		JP 2002537839 A		12-11-2002
		NO 20014364 A		09-11-2001
		PL 351160 A1		24-03-2003
		WO 0053761 A2		14-09-2000
		US 2003073651 A1		17-04-2003
		US 2003125524 A1		03-07-2003
		US 6307024 B1		23-10-2001
		US 2002128446 A1		12-09-2002
WO 03028630	A 10-04-2003	US 2003049798 A1		13-03-2003
		WO 03028630 A2		10-04-2003
		US 2003108549 A1		12-06-2003
		US 2004016010 A1		22-01-2004
WO 03087320	A 23-10-2003	WO 03087320 A2		23-10-2003
WO 9961617	A 02-12-1999	AU 4208799 A		13-12-1999
		CA 2329274 A1		02-12-1999
		EP 1082433 A1		14-03-2001
		JP 2002516103 T		04-06-2002
		US 6075319 A		13-06-2000
		WO 9961617 A1		02-12-1999
		US 2003092133 A1		15-05-2003
		US 2003003545 A1		02-01-2003
		US 2003186387 A1		02-10-2003
		US 2001023070 A1		20-09-2001
WO 0210393	A 07-02-2002	AU 7303301 A		13-02-2002
		CA 2416820 A1		07-02-2002
		CN 1443241 T		17-09-2003
		EP 1305419 A2		02-05-2003
		WO 0210393 A2		07-02-2002
		US 2003012788 A1		16-01-2003

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 33/00 (2006.01)	A 6 1 P 33/00	
A 6 1 K 48/00 (2006.01)	A 6 1 K 48/00	
C 0 7 K 14/54 (2006.01)	C 0 7 K 14/54	

(81)指定国 AP(GH,GM,KE,LS,MW,MZ,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,IT,LU,MC,NL,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,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,M N,MW,MX,MZ,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 メラー, ニールス, ペーター, フンダール
デンマーク国 ディーケー-2100 コペンハーゲン エー, ミドテルモレン 4, 3.

(72)発明者 スカク, クレステン
デンマーク国 ディーケー-2860 セボーグ, エングクローゲン 22
Fターム(参考) 4C084 AA02 BA01 BA08 BA22 DA12 NA14 ZA342 ZA372 ZA592 ZA892
ZB132
4H045 AA30 BA10 CA40 DA02 EA22 EA29 FA72 FA74