

(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2005-516907

(P2005-516907A)

(43) 公表日 平成17年6月9日(2005.6.9)

(51) Int.Cl. ⁷	F I	テーマコード (参考)
A 6 1 K 45/00	A 6 1 K 45/00	4 C O 8 4
A 6 1 K 39/395	A 6 1 K 39/395	D 4 C O 8 5
A 6 1 P 1/04	A 6 1 K 39/395	N 4 H O 4 5
A 6 1 P 7/00	A 6 1 P 1/04	
A 6 1 P 17/00	A 6 1 P 7/00	
審査請求 未請求 予備審査請求 有 (全 60 頁) 最終頁に続く		

(21) 出願番号	特願2003-547457 (P2003-547457)	(71) 出願人	399044160
(86) (22) 出願日	平成14年11月27日 (2002.11.27)		イノジェネティックス・ナムローゼ・フェンノートシャップ
(85) 翻訳文提出日	平成16年7月1日 (2004.7.1)		I N N O G E N E T I C S N. V.
(86) 国際出願番号	PCT/EP2002/013358		ベルギー、ペー 9 0 5 2 ヘント、テヒノ
(87) 国際公開番号	W02003/046008		ロギーパルク 6 番
(87) 国際公開日	平成15年6月5日 (2003.6.5)	(74) 代理人	100081422
(31) 優先権主張番号	01870266.2		弁理士 田中 光雄
(32) 優先日	平成13年11月30日 (2001.11.30)	(74) 代理人	100106518
(33) 優先権主張国	欧州特許庁 (EP)		弁理士 松谷 道子
(31) 優先権主張番号	60/341,499	(74) 代理人	100116311
(32) 優先日	平成13年12月17日 (2001.12.17)		弁理士 元山 忠行
(33) 優先権主張国	米国 (US)	(74) 代理人	100122301
(31) 優先権主張番号	02447043.7		弁理士 富田 憲史
(32) 優先日	平成14年3月25日 (2002.3.25)		
(33) 優先権主張国	欧州特許庁 (EP)		
最終頁に続く			

(54) 【発明の名称】 霊長類 I F N - γ ガンマ結合分子の使用

(57) 【要約】

本発明は、霊長類における I F N - γ に結合し、これを中和させる分子の治療用途に関する。より詳細には、本発明は、I F N - γ が病原である疾患を予防または治療するための抗霊長類 I F N - γ 抗体の使用に関する。さらに、本発明は、I F N - γ によって引き起こされる病的反応を予防または治療するための抗霊長類 I F N - γ 抗体 D 9 D 1 0 を含む医薬組成物に関する。

【特許請求の範囲】

【請求項 1】

霊長類における I F N - γ によって引き起こされる病的反応を予防または治療するための医薬組成物を製造するための抗霊長類 I F N - γ 分子の使用。

【請求項 2】

霊長類における敗血症または敗血性ショックを予防または治療するための医薬組成物を製造するための抗霊長類 I F N - γ 分子の使用。

【請求項 3】

前記分子が、抗霊長類 I F N - γ 抗体またはそのフラグメントである、請求項 1 または 2 に記載の使用。

10

【請求項 4】

前記抗体が、抗ヒト I F N - γ 抗体 D 9 D 1 0 またはそのフラグメントである、請求項 3 に記載の使用。

【請求項 5】

医薬的に有効な量の抗霊長類 I F N - γ 分子を投与することを特徴とする、霊長類における I F N - γ によって引き起こされる病的反応を予防または治療するための方法。

【請求項 6】

医薬的に有効な量の抗霊長類 I F N - γ 分子を投与することを特徴とする、霊長類における敗血症または敗血性ショックを予防または治療するための方法。

【請求項 7】

20

前記分子が、抗霊長類 I F N - γ 抗体またはそのフラグメントである、請求項 5 または 6 に記載の方法。

【請求項 8】

前記抗体が、抗ヒト I F N - γ 抗体 D 9 D 1 0 またはそのフラグメントである、請求項 7 に記載の方法。

【請求項 9】

霊長類における I F N - γ によって引き起こされる病的反応の予防または治療における有効な量の抗霊長類 I F N - γ 分子を含む医薬組成物。

【請求項 10】

前記分子が、抗霊長類 I F N - γ 抗体またはそのフラグメントである、請求項 9 に記載の医薬組成物。

30

【請求項 11】

前記抗体が、抗ヒト I F N - γ 抗体 D 9 D 1 0 またはそのフラグメントである、請求項 10 に記載の医薬組成物。

【発明の詳細な説明】

【発明の詳細な説明】

【0001】

(発明の分野)

本発明は、霊長類における I F N - γ に結合し、これを中和させる分子の治療用途に関する。より詳細には、本発明は、I F N - γ が病原である疾患を予防または治療するための抗霊長類 I F N - γ 抗体の使用に関する。さらに本発明は、I F N - γ によって引き起こされる病的反応を予防または治療するための抗霊長類 I F N - γ 抗体 D 9 D 1 0 を含む医薬組成物に関する。

40

【0002】

(背景技術)

インターフェロン - ガンマ (I F N - γ) は、免疫調節タンパク質のインターフェロンファミリーのメンバーであり、活性化 T ヘルパー 1 型細胞 (T h 1 細胞) および天然キラー細胞 (N K 細胞) によって産生される。その強力な抗ウイルス活性は別として、I F N - γ は種々の免疫機能 (検討ために、Billiau (B i l l i a u) 、 1 9 9 6 年を参照) および炎症反応に関与することが知られている。実際に、I F N - γ は、マクロファージ

50

および他の細胞型による組織適合複合体 (MHC) クラス II 分子の発現の主要な誘導物質 (シュタインマン (Steinman) ら、1980 年) であり、腫瘍壊死因子 - アルファ (TNF α)、インターロイキン - 1 (IL - 1)、および一酸化窒素 (NO) など炎症仲介物質の酸性を刺激する (ロルスバッハ (Lorsbach) ら、1993 年)。この点については、IFN - γ は、種々の病原菌に対するマクロファージ仲介性防御において重要であることが示されている。さらに、IFN - γ は、細胞内接着分子 - 1 (ICAM - 1、ダスチン (Dustin) ら、1988 年) など接着分子の発現、および専門の (professional) 抗原提示細胞上の B7 分子など重要な共刺激シグナル (フリードマン (Freedman) ら、1991 年) の強力な誘導物質であることも示されている。さらに、IFN - γ は、マクロファージの抗腫瘍化を誘導し (ペース (Pace) ら、1983 年)、Ig イソタイプスイッチングを誘発する (スナッパー (Snapper) とパウル (Paul)、1987 年)。IFN - γ の抗ウイルス、抗腫瘍、炎症および免疫調節活性は、多くの臨床状態において明らかに有利な効果を有する。しかし、IFN - γ 活性が有害な効果を有する多くの臨床状態がある。これらに含まれるのは、癌悪液質 (デンツ (Denz) ら、1993 年、イワガキ (Iwagaki) ら、1995 年)、乾癬や水泡症などの皮膚疾患 (ファン デン オールド (Van den Oord) ら、1995 年)、同種移植の拒絶反応 (ランドルフォ (Landolfo) ら、1985 年、ゴルジンスキー (Gorczynski)、1995 年)、潰瘍性大腸炎やクローン病などの慢性炎症 (アシュケナジ (Ashkenazi) とワード (Ward) に対する特許文献 1)、多発性硬化症 (MS) などの自己免疫疾患 (パニッチ (Panitch) ら、1986 年)、実験的狼瘡 (オズメン (Ozmen) ら、1995 年)、関節炎 (ヤコブ (Jacob) ら、1989 年、ボイシール (Boissier) ら、1995 年)、自己免疫脳脊髄炎 (ワイスマン (Weisman) ら、1996 年)、および敗血性ショック (ドヘルティ (Doherty) ら、1992 年) である。

【0003】

敗血性ショックは、重篤な細菌感染の結果であり、対症療法の改善にもかかわらず重病の入院患者の中で一般的かつますます重要な死因であることに変わりはない (ボーン (Bone) ら、1992 年)。複数の事情が、この増大傾向の根底にあり、例えば、臓器移植患者のための免疫療法の使用増大、およびそうでなければ癌、広範囲に及ぶ外傷、やけど等の原因で死ぬことになる患者の生存を可能にする大規模かつ複雑な手術の使用増大である。敗血性ショックは、グラム陽性感染と関係しているとみられるものの、グラム陰性敗血症のより一般的な病原、および内毒素 (= リポ多糖または LPS)、グラム陰性および一部のグラム陽性細菌の外膜の成分の毒性上の役割に注意が集中した。LPS の効果の多くは、TNF α (トレシー (Tracey)、1991 年)、IL - 1 (ワカバヤシ (Wakabayashi) ら、1991 年)、および IFN - γ (ブックリン (Bucklin) ら、1994 年) などのサイトカインの放出により仲介される。敗血性ショックの仲介物質としてのこれらサイトカインの役割を裏づける証拠の多くは、個別のサイトカインの遮断を含み、そうでなければ内毒素またはグラム陰性細菌の致死量からの実験動物の保護がもたらされる致死性試験に由来する。敗血性ショックにおける最初の事象の 1 つは、細菌超抗原が結合している抗原提示細胞による T 細胞の活性化である (ミエトケ (Mietheke) ら、1993 年)。CD28 の共刺激が不可欠である (サハ (Saha) ら、1996 年) 活性化と同時に、これらの T 細胞は、増殖し、IL - 2、TNF α 、および IFN - γ など前炎症性サイトカインを急激に増産し、臨床症候に帰結する。また、LPS は、活性化単球上に $\alpha 1 / \beta 1$ インテグリン (VLA - 1) の発現を誘発し、これらの単球は次いで内皮基底膜への接着能の増大を示す。同様の効果は、IFN - γ との単球のインキュベーションによって誘発されうる (ルビオ (Rubio) ら、1995 年)。VLA - 1 は、敗血症中にさらなる単球活性化および単球由来前炎症性サイトカイン産生の増強作用にも寄与しうる (ルビオ (Rubio) ら、1995 年)。感染に対する炎症性宿主反応は、凝血促進宿主反応と密接に関係している (エスモン (Esmon) ら、1991 年)。TNF α 、IL - 1 β 、および IL - 6 を含む炎症性サイトカインは、

凝固の活性化および線溶障害の能力があるが、凝血促進トロンピンは複数の炎症経路を刺激する能力がある（エスモン（E s m o n）ら、1991年、ストウトハルド（S t o u t h a r d）ら、1996年、コンクリング（C o n k l i n g）ら、1988年、ベビラクア（B e v i l a c q u a）ら、1986年）。その最終結果は、広範性の血管内損傷、多臓器不全、および死亡である。

【0004】

きわめて有望な結果が、実験動物モデルにおける抗体中和TNF α で得られたが、抗-TNF α 抗体による臨床試験では、敗血性ショック患者の死亡率のわずかな低下しか示されないか、または低下はまったく示されなかった（ホエリー（W h e r r y）ら、1993年、ラインハルト（R e i n h a r t）ら、1996年）。TNF受容体の細胞外部分およびIgG1のFc部分を含む融合タンパク質も死亡率に影響を及ぼすことはなかった（フィシャー（F i s h e r）ら、1996年）。

10

【0005】

ペントキシフィリン（P T X）は、メチルキサンチン誘導体であり、敗血性ショックの結果に対するその効果について試験されている。PTXは、少なくともTNF α 、IL-1、およびIFN- γ の血清濃度を低下させることが知られている（ビーンベヌ（B i e n v e n u）ら、1995年、ゼニ（Z e n i）ら、1996年）。初期データは、PTXが敗血症患者の臨床状態の改善をもたらすことを示している（マンディ（M a n d i）ら、1995年）。

【0006】

文献では、敗血性ショックにおけるTNF α およびIL-1の重要性が相当に力説されているが、IFN- γ の役割に関する一部の試験では、このサイトカインが、敗血症および敗血性ショックの臨床特徴をもたらす一連の事象における重要な位置を占めることが示されている。IFN- γ を中和し、またはIFN- γ -受容体を遮断するいずれかの抗体は、致死性に対して保護している（ブックリン（B u c k l i n）ら、1994年、ドヘルティ（D o h e r t y）ら、1992年）。IFN- γ とTNF α との間の相乗作用効果も、マウスモデルを用いて示されている（ドヘルティ（D o h e r t y）ら、1992年、オズメン（O z m e n）ら、1994年）。それ自体、致死性ではないが、IFN- γ は全身性シュワルツマン反応におけるTNF誘発致死性の発現に重要であることが示されている（オズメン（O z m e n）ら、1994年）。

20

30

【0007】

IFN- γ へのマクロファージ細胞株のインビトロ曝露の後、適切な活性化によりIL-1の産生増大およびより持続的な産生、およびTNF α の産生増大が生じる。細胞毒性アッセイでは、IFN- γ は、TNF α およびIL-1など疾患促進効果を発揮することが認められている他のサイトカインと相乗作用し、IFN- γ がインビトロでTNF α の多くの受容体の増大をひき起こすことを示している（ビリアウ（B i l l i a u）とバンデケルクホフ（V a n d e k e r c k h o v e）、1991年）。IFN- γ のインビボ中和は、内毒素によって誘発されるショックに対する実験動物の抵抗をもたらす。抗IFN- γ mAbの中和処置は、1回100%致死量の内毒素が投与されたマウスにおける死亡を完全に防いだ（ヘレマンス（H e r e m a n s）ら、1990年）。

40

【0008】

総合すれば、IFN- γ -活性が有害な効果を有する多くの臨床状態があることは十分に確証されている。したがって、IFN- γ -活性を中和するいくつかの可能性がある療法が提案されている。最近の提案の中では、以下の使用が挙げられる。

- 抗IFN- γ 抗体（マウスにおける実験（オズメン（O z m e n）ら、1995年）、ブックリン（B u c k l i n）らによるインビトロ実験、1994年）、

- 組換え抗IFN- γ Fvフラグメントは、インビトロでHuIFN- γ の抗ウイルス活性に対する阻害効果を有することを示した（ビリアウ（B i l l i a u）とフロイエン（F r o y e n）の欧州特許第0528469号明細書、フロイエン（F r o y e n）ら、1993年）。

50

- マウスモデルでの I B D の治療における二重特異性分子 (アシュケナジ (A s h k e n a z i) とワード (W a r d) の国際公開第 9 4 / 1 4 6 6 7 号パンフレット)。

- ペントキシフィリンなどの薬物 (ビーンベヌ (B i e n v e n u) ら、1 9 9 5 年)

。 - インビトロでその受容体への I F N - γ の結合を阻害する合成ポリペプチド (ゼーリヒ (S e e l i g) の国際公開第 9 4 / 1 2 5 3 1 号パンフレット)。

- エプスタイン - バーウイルス由来タンパク質 (ムーア (M o o r e) とカステレイン (K a s t e l e i n) の米国特許第 5 , 6 2 7 , 1 5 5 号明細書)。

- 可溶性 I F N - γ 受容体 (フウントウラキン (F o u n t o u l a k i s) らの欧州特許第 0 3 9 3 5 0 2 号明細書におけるインビトロ実験、およびノビック (N o v i k) とルビンシュタイン (R u b i n s t e i n) の米国特許第 5 , 5 7 8 , 7 0 7 号明細書)。

- インビトロで I F N - γ へ結合するオリゴヌクレオチド (コッポラ (C o p p o l a) らの国際公開第 9 5 / 0 0 5 2 9 号パンフレット)。

【00009】

いくつかの試験では、マウスモデルにおける特定疾患の治療におけるモノクローナル抗体の使用が報告されている。例えば、ビリアウ (B i l l i a u) ら、1 9 8 7 年は、モノクローナル抗マウス I F N - γ 抗体による治療が、全身性シュワルツマン反応に対してマウスを保護することを見出した。別の試験では、ビリアウ (B i l l i a u) らは、マウス I F N - γ に対するモノクローナル A b による治療が、マウスにおける致死性内毒素ショックを予防することを示した (ビリアウ (B i l l i a u) の国際公開番号 8 8 / 0 7 8 6 9 号パンフレット)。また、レドモンド (R e d m o n d) らは、モノクローナル抗マウス I F N - γ 抗体による治療が、マウスにおける L P S 致死性に対して保護し、抗 I F N - γ が急性敗血性反応の調節における重要な役割を有すること示すことを明らかにした (レドモンド (R e d m o n d) ら、1 9 9 1 年)。内毒素ショックに関する別の試験では、ポリクローナル抗マウス I F N - γ 抗体を用いてマウス内毒素ショックモデルによる抗 I F N - γ 中和能が明らかにされた (スタッフォード (S t a f f o r d) らの国際公開第 0 1 / 3 0 3 0 0 号パンフレット)。

【0010】

しかし、かつ I F N - γ - 活性を中和するいくつかの可能性のある療法が提案されているという事実にもかかわらず、I F N - γ によって仲介される病的状態、より特異的な敗血症、または敗血性ショックの予防または治療のための霊長類、より詳細にはヒトにおける抗霊長類 I F N - γ 分子または抗体の特定使用に関する従来技術は存在しない。齧歯動物におけるインビトロおよびインビボ試験は、霊長類およびより詳細にはヒトにおけるインビボ前臨床試験の結果と十分に相関することはない。インビボ臨床データを欠く医薬療法は、以下の理由で予測不可能である。すなわち、(1) タンパク質は、効果を発する前に、すなわちタンパク質分解劣化、免疫不活性化、またはタンパク質の本質的に短い半減期により不活性化されうる、(2) タンパク質は、標的部分に達しえない、すなわち、タンパク質は粘膜を横断することができず、またはタンパク質は、タンパク質が効果を有さない体液、細胞、および組織によって吸収されうる、および (3) 既知または未知の他の機能的特性、すなわち、かかる治療の使用を禁止する有害な副作用が、タンパク質をインビボ治療用途に不適切にしうる。

【0011】

また、齧歯動物モデルなど一部の動物モデルにおいて有効であることが証明されている医薬療法は、霊長類およびより詳細にはヒトなど異なる種における結果について、以下の理由で予測不可能である。すなわち、

(1) 齧歯動物など一部の種において活性であることが試験されたタンパク質は、霊長類など別の種に存在する標的と交差反応しえない (および逆の場合も同じ)。

(2) 齧歯動物など一部の種に適用可能な疾患誘導のプロトコルは、霊長類およびより詳細にはヒトなど他の種に必ずしも移転可能ではない。

【 0 0 1 2 】

I F N - γ によって引き起こされる病的反応、より詳細には、霊長類およびより詳細にはヒトにおける敗血症または敗血性ショックの予防または治療における抗霊長類 I F N - γ 分子または抗体の有効性を明らかに示す文献は見られない。

【 0 0 1 3 】

さらに、従来技術から、望ましくない免疫反応などの問題は、I F N - γ の活性を潜在的に中和しうるモノクローナル抗体の有効な治療的用法を妨げることが明らかである。大部分の利用可能なモノクローナル抗体は齧歯動物が起源であるため、それらは当然、霊長類において抗原性であり、M A b が霊長類に投与された場合には、望ましくない免疫反応になりうる。したがって、ヒトにおける治療薬としての齧歯動物の M A b の使用は、ヒト対象が M a b に対する免疫反応を増加し、それを完全に除去し、または少なくともその有効性を減少させるという事実によって本質的に制限されている。実際に、齧歯動物起源の M A b は、免疫反応がすぐに発現し、M A b を無効にし、望ましくない反応を起こすため、1 つを超えるまたは数種類の治療用に患者において使用されえない。明らかに、望ましくない免疫反応を減少させ、または根絶し、かかる抗体の使用範囲を拡大することがきわめて望ましいであろう。提案された解決法は、F (a b) ' 2、F (a b)、および s c F v 誘導体の使用、または親抗体のヒト化変形の使用を含む。

【 0 0 1 4 】

霊長類 I F N - γ に対する抗体が当業界で周知ではあるが、本発明ではかかる抗体の特定の使用が意図されている。疾患の治療における抗マウス I F N - γ 抗体の使用はマウスモデルで報告されているが、I F N - γ によって引き起こされる病的反応、およびより詳細には敗血症または敗血性ショックの予防または治療における抗霊長類 I F N - γ 分子または抗体、およびより詳細には D 9 D 1 0 の効果は、霊長類モデルにおいて明らかにされず、報告もされなかった。

【 0 0 1 5 】

本発明から、上述された問題が克服されており、かつわれわれは現在、一般にヒトに適用可能であることが認められるモデル霊長類系において I F N - γ によって引き起こされる病的反応を有効に予防または治療する方法を見出したことが明らかである。

【 0 0 1 6 】

(発明の目的)

本発明は、抗霊長類 I F N - γ 分子を用いることによって霊長類における I F N - γ によって引き起こされる病的反応を予防または治療することを目的としている。さらに、本発明は、抗霊長類 I F N - γ 抗体またはそのフラグメントを用いることによって霊長類における I F N - γ によって引き起こされる病的反応を予防または治療することも目的としている。本発明は、抗霊長類 I F N - γ 分子を用いることによって霊長類における敗血症または敗血性ショックを予防または治療することも目的としている。本発明はさらに、抗霊長類 I F N - γ 抗体またはそのフラグメントを用いることによって霊長類における敗血症または敗血性ショックを予防または治療することを目的としている。さらに、本発明は、モノクローナル抗霊長類 I F N - γ 抗体またはヒト化抗霊長類 I F N - γ 抗体、またはそのフラグメントを用いることによって霊長類における I F N - γ によって引き起こされる病的反応を予防または治療することを目的としている。より詳細には、本発明は、モノクローナル抗霊長類 I F N - γ 抗体またはヒト化抗霊長類 I F N - γ 抗体、またはそのフラグメントを用いることによって霊長類における敗血症または敗血性ショックを予防または治療することを目的としている。本発明はさらに、霊長類における I F N - γ によって引き起こされる病的反応の予防または治療のための、抗ヒト I F N - γ 抗体 D 9 D 1 0 またはそのフラグメントの使用を目的としている。本発明は、霊長類における敗血症または敗血性ショックの予防または治療のための、抗ヒト I F N - γ 抗体 D 9 D 1 0 またはそのフラグメントの使用を目的としている。さらに、さらに、本発明は、霊長類における I F N - γ によって引き起こされる病的反応の予防または治療のための、ヒト化抗ヒト I F N - γ 抗体 D 9 D 1 0 またはそのフラグメントの使用を目的としている。より詳細には、本

発明は、霊長類における敗血症または敗血性ショックの予防または治療のための、ヒト化抗ヒトIFN- γ 抗体D9D10またはそのフラグメントの使用を目的としている。別の実施形態において、本発明は、霊長類におけるIFN- γ によって引き起こされる病的反応の予防または治療のための抗霊長類IFN- γ 抗体、またはそのフラグメントの使用を目的としているが、前記抗体は、IFN- γ 上での結合のための抗体D9D10と免疫学的に競合するその能力によって特徴づけられる。別の実施形態では、本発明は、霊長類における敗血症または敗血性ショックの予防または治療のための抗霊長類IFN- γ 抗体、またはそのフラグメントの使用を目的としているが、前記抗体は、IFN- γ 上での結合のための抗体D9D10と免疫学的に競合するその能力によって特徴づけられる。

【0017】

本発明の別の目的は、霊長類におけるIFN- γ によって引き起こされる病的反応を予防または治療するための医薬組成物の調製用の抗霊長類IFN- γ 分子の使用である。本発明の別の目的は、霊長類におけるIFN- γ によって引き起こされる病的反応を予防または治療するための医薬組成物の調製用の抗IFN- γ 抗体またはそのフラグメントの使用である。より詳細には、本発明は、霊長類における敗血症または敗血性ショックを予防または治療するための医薬組成物の調製用の抗霊長類IFN- γ 分子の使用を目的としている。さらに、本発明は、霊長類における敗血症または敗血性ショックを予防または治療するための医薬組成物の調製用の抗霊長類IFN- γ 抗体またはそのフラグメントの使用を目的としている。本発明は、霊長類におけるIFN- γ によって引き起こされる病的反応を予防または治療するための医薬組成物の調製用の、モノクローナル抗霊長類IFN- γ 抗体またはヒト化抗霊長類IFN- γ 抗体またはそのフラグメントの使用を目的としている。より詳細には、本発明は、霊長類における敗血症または敗血性ショックを予防または治療するための医薬組成物の調製用の、モノクローナル抗霊長類IFN- γ 抗体またはヒト化抗霊長類IFN- γ 抗体、またはそのフラグメントの使用を目的としている。本発明はさらに、霊長類におけるIFN- γ によって引き起こされる病的反応を予防または治療するための医薬組成物の調製用の抗ヒトIFN- γ 抗体D9D10またはそのフラグメントの使用を目的としている。より詳細には、本発明は、霊長類における敗血症または敗血性ショックを予防または治療するための医薬組成物の調製用の抗ヒトIFN- γ 抗体D9D10またはそのフラグメントの使用を目的としている。本発明はさらに、霊長類におけるIFN- γ によって引き起こされる病的反応を予防または治療するための医薬組成物の調製用のヒト化抗ヒトIFN- γ 抗体D9D10またはそのフラグメントの使用を目的としている。本発明は、霊長類におけるIFN- γ によって引き起こされる病的反応の予防または治療のための医薬組成物の調製用の抗霊長類IFN- γ 抗体、またはそのフラグメントの使用を目的としているが、前記抗体は、IFN- γ 上での結合のための抗体D9D10と免疫学的に競合するその能力によって特徴づけられる。本発明はさらに、霊長類における敗血症または敗血性ショックの予防または治療のための医薬組成物の調製用の抗霊長類IFN- γ 抗体、またはそのフラグメントの使用を目的としているが、前記抗体は、IFN- γ 上での結合のための抗体D9D10と免疫学的に競合するその能力によって特徴づけられる。

【0018】

本発明の別の目的は、抗霊長類IFN- γ 分子を投与することを特徴とする、霊長類におけるIFN- γ によって引き起こされる病的反応を予防または治療するための方法を提供することである。本発明の別の目的は、抗霊長類IFN- γ 抗体またはそのフラグメントを投与することを特徴とし、前記抗体がモノクローナル抗霊長類IFN- γ 抗体またはヒト化抗霊長類IFN- γ 抗体であってよい、霊長類におけるIFN- γ によって引き起こされる病的反応を予防または治療するための方法を提供することである。さらに、本発明は、抗霊長類IFN- γ 分子を投与することを特徴とする、霊長類における敗血症または敗血性ショックを予防または治療するための方法を提供することを目的としている。よ

10

20

30

40

50

り詳細には、本発明は、抗霊長類 I F N - γ 抗体またはそのフラグメントを投与することを特徴とし、前記抗体がモノクローナル抗霊長類 I F N - γ 抗体またはヒト化抗霊長類 I F N - γ 抗体であってよい、霊長類における敗血症または敗血性ショックの予防または治療のための方法を提供することを目的としている。本発明はさらに、抗ヒト I F N - γ 抗体 D 9 D 1 0 またはそのフラグメントを投与することを特徴とする、霊長類における I F N - γ によって引き起こされる病的反応の予防または治療のための方法を提供することを目的としている。本発明の別の目的は、抗ヒト I F N - γ 抗体 D 9 D 1 0 またはそのフラグメントを投与することを特徴とする、霊長類における敗血症または敗血性ショックの予防または治療のための方法を提供することである。より詳細には、本発明は、ヒト化抗ヒト I F N - γ 抗体 D 9 D 1 0 またはそのフラグメントを投与することを特徴とする、霊長類における I F N - γ によって引き起こされる病的反応の予防または治療のための方法を提供することを目的としている。別の実施形態では、本発明は、ヒト化抗ヒト I F N - γ 抗体 D 9 D 1 0 またはそのフラグメントを投与することを特徴とする、霊長類における敗血症または敗血性ショックの予防または治療のための方法を提供することを目的としている。本発明はさらに、抗霊長類 I F N - γ 抗体、またはそのフラグメントを投与することを特徴とする、霊長類における I F N - γ によって引き起こされる病的反応の予防または治療のための方法を提供することを目的としているが、前記抗体は、I F N - γ 上での結合のための抗体 D 9 D 1 0 と免疫学的に競合するその能力によって特徴づけられる。本発明はさらに、抗霊長類 I F N - γ 抗体またはそのフラグメントを投与することを特徴とする、霊長類における敗血症または敗血性ショックの予防または治療のための方法を提供することを目的としているが、前記抗体は、I F N - γ 上での結合のための抗体 D 9 D 1 0 と免疫学的に競合するその能力によって特徴づけられる。

10

20

30

40

50

【0019】

本発明はさらに、霊長類における I F N - γ によって引き起こされる病的反応の予防または治療における有効な量の抗霊長類 I F N - γ 分子を含む医薬組成物を提供することを目的としている。本発明は、霊長類における I F N - γ によって引き起こされる病的反応の予防または治療における有効な量の抗霊長類 I F N - γ 抗体またはそのフラグメントを含み、前記抗体がモノクローナル抗霊長類 I F N - γ 抗体またはヒト化抗霊長類 I F N - γ 抗体であってよい、医薬組成物を提供することを目的としている。本発明はさらに、敗血症または敗血性ショックの予防または治療における有効な量の抗霊長類 I F N - γ 分子を含む医薬組成物を提供することを目的としている。本発明はさらに、霊長類における敗血症または敗血性ショックの予防または治療における有効な量の抗霊長類 I F N - γ 抗体またはそのフラグメントを含み、前記抗体がモノクローナル抗霊長類 I F N - γ 抗体またはヒト化抗霊長類 I F N - γ 抗体であってよい、医薬組成物を提供することを目的としている。本発明は、霊長類における I F N - γ によって引き起こされる病的反応の予防または治療における有効な量の抗ヒト I F N - γ 抗体 D 9 D 1 0 またはそのフラグメントを含む医薬組成物を提供することを目的としている。より詳細には、本発明は、霊長類における敗血症または敗血性ショックの予防または治療における有効な量の抗ヒト I F N - γ 抗体 D 9 D 1 0 またはそのフラグメントを含む医薬組成物を提供することを目的としている。本発明の別の目的は、霊長類における I F N - γ によって引き起こされる病的反応の予防または治療における有効な量のヒト化抗ヒト I F N - γ 抗体 D 9 D 1 0 またはそのフラグメントを含む医薬組成物を提供することである。本発明の別の目的は、霊長類における敗血症または敗血性ショックの予防または治療における有効な量のヒト化抗ヒト I F N - γ 抗体 D 9 D 1 0 またはそのフラグメントを含む医薬組成物を提供することである。より詳細には、本発明はさらに、霊長類における I F N - γ によって引き起こされる病的反応の予防または治療における有効な量の抗霊長類 I F N - γ 抗体またはそのフラグメントを含み、前記抗体が、I F N - γ 上での結合のための抗体 D 9 D 1 0 と免疫学的に競合するその能力によって特徴づけられる、医薬組成物を提供することを目的としている。本発明は、霊長類における敗血症または敗血性ショックの予防または治療における有効な量の抗霊長類 I F N - γ 抗体またはそのフラグメントを含み、前記抗体が、I F N - γ 上で

の結合のための抗体 D 9 D 1 0 と免疫学的に競合するその能力によって特徴づけられる、医薬組成物を提供することをも目的としている。

【 0 0 2 0 】

本発明はさらに、I F N - γ と相互作用し、これを中和する抗体の少なくとも 1 つの免疫原ポリペプチドおよび少なくとも 1 つの結合ドメインを含む融合タンパク質を提供することを目的としている。より詳細には、本発明はさらに、I F N - γ と相互作用し、これを中和する抗体 D 9 D 1 0 の少なくとも 1 つの免疫原ポリペプチドおよび少なくとも 1 つの結合ドメインを含む融合タンパク質を提供することを目的としている。本発明はさらに、

抗霊長類 I F N - γ 分子、より詳細には抗霊長類 I F N - γ 抗体またはそのフラグメントと組合わせた免疫原ポリペプチドを投与する工程、または

I F N - γ と相互作用し、これを中和する抗体の少なくとも 1 つの免疫原ポリペプチドおよび少なくとも 1 つの結合ドメインを含む融合タンパク質を投与する工程を含む、免疫原ポリペプチドに対する免疫反応を予防するための方法を提供することを目的としている。

【 0 0 2 1 】

本発明の別の目的は、免疫原ポリペプチドに対する免疫反応を予防するための融合タンパク質の使用である。さらに、本発明は、免疫原ポリペプチドに対する免疫反応を予防するための医薬組成物の製造のための融合タンパク質の使用を目的としている。本発明はさらに、免疫原ポリペプチドに対する免疫反応を予防するための抗霊長類 I F N - γ 分子の使用を目的としている。本発明はさらに、免疫原ポリペプチドに対する免疫反応を予防するための抗霊長類 I F N - γ 抗体またはそのフラグメントであって、前記抗体がモノクローナル抗体またはヒト抗体であってよい、その使用を目的としている。本発明はさらに、免疫原ポリペプチドに対する免疫反応を予防するための医薬組成物の製造のための抗霊長類 I F N - γ 抗体またはそのフラグメントであって、前記抗体がモノクローナル抗体またはヒト抗体であってよい、その使用を目的としている。より詳細には、本発明は、免疫原ポリペプチドに対する免疫反応を予防するための抗ヒト I F N - γ 抗体 D 9 D 1 0 またはそのフラグメントの使用を目的としている。詳細には、本発明は、免疫原ポリペプチドに対する免疫反応を予防するためのヒト化抗ヒト I F N - γ 抗体 D 9 D 1 0 またはそのフラグメントの使用を目的としている。さらに、本発明は、免疫原ポリペプチドに対する免疫反応を予防するための医薬組成物の製造のための抗ヒト I F N - γ 抗体 D 9 D 1 0 またはそのフラグメントの使用を目的としている。より詳細には、本発明は、免疫原ポリペプチドに対する免疫反応を予防するための医薬組成物の製造のためのヒト化抗ヒト I F N - γ 抗体 D 9 D 1 0 またはそのフラグメントの使用を目的としている。

【 0 0 2 2 】

本発明の別の目的は、免疫原ポリペプチドに対する免疫反応の予防における有効な量の融合タンパク質を含む医薬組成物を提供することである。本発明は、免疫原ポリペプチドに対する免疫反応の予防における有効な量の抗霊長類 I F N - γ 分子を含む医薬組成物を提供することをも目的としている。さらに、本発明は、免疫原ポリペプチドに対する免疫反応の予防における有効な量の抗霊長類 I F N - γ 分子を含む医薬組成物であって、前記抗体がモノクローナル抗体またはヒト化抗体であってよい、医薬組成物を提供することを目的としている。本発明は、免疫原ポリペプチドに対する免疫反応の予防における有効な量の抗ヒト I F N - γ 抗体 D 9 D 1 0 を含む医薬組成物を提供することをも目的としている。より詳細には、本発明は、免疫原ポリペプチドに対する免疫反応の予防における有効な量のヒト化抗ヒト I F N - γ 抗体 D 9 D 1 0 を含む医薬組成物を提供することをも目的としている。

【 0 0 2 3 】

本発明のすべての目的は、発明の実施形態によって合致されていると考えられる。

10

20

30

40

50

【 0 0 2 4 】

(発明の詳細な説明)

別途規定されていない限り、本明細書中で用いられるすべての技術用語および学術用語は、本発明が属する当業界における通常の技術を有する者によって一般的に理解されるものと同じ意味を有する。本明細書中に記載されたものと同様または同等の方法および材料は、本発明の実施または試験において使用されうるが、好ましい方法および材料をこれから述べる。下記のすべての刊行物は、参考によって本明細書で援用される。特記されていない限り、本明細書中で使用される技法は、当業者には公知の標準の方法である。材料、方法、および実施例は、例示的であり、限定的ではない。

【 0 0 2 5 】

好ましい実施形態によれば、本発明は、霊長類における I F N - γ によって引き起こされる病的反応を予防または治療するための抗霊長類 I F N - γ 分子の使用に関する。別の好ましい実施形態によれば、本発明は、霊長類における I F N - γ によって引き起こされる病的反応を予防または治療するための抗霊長類 I F N - γ 抗体またはそのフラグメントの使用に関する。より詳細には、本発明は、霊長類における I F N - γ によって引き起こされる病的反応を予防または治療するための医薬組成物の製造のための抗霊長類 I F N - γ 分子の使用に関する。本発明は、霊長類における I F N - γ によって引き起こされる病的反応を予防または治療するための医薬組成物の製造のための抗霊長類 I F N - γ 抗体またはそのフラグメントの使用にも関する。別の実施形態によれば、本発明は、霊長類における I F N - γ によって引き起こされる病的反応を予防または治療するためのヒト化抗霊長類 I F N - γ 抗体またはそのフラグメントの使用に関する。より詳細には、本発明は、霊長類における I F N - γ によって引き起こされる病的反応を予防または治療するための医薬組成物の製造のためのヒト化抗霊長類 I F N - γ 抗体またはそのフラグメントの使用に関する。

【 0 0 2 6 】

本明細書中で用いられる「分子」なる用語は、I F N - γ 、および（可溶性）I F N - γ 受容体に特異的に結合する抗体またはそのフラグメント、二重特性抗体、三重特異性抗体、四価抗抗体、ペプチド、低分子量非ペプチド分子（「小分子」とも呼ばれる）を包含するが、これらに限定されない。

【 0 0 2 7 】

本明細書中で用いられる「抗体」なる用語は、モノクローナル抗体、ポリクローナル抗体、ファージライブラリ由来の抗体、ヒト化抗体、合成抗体、キメラ抗体、抗体フラグメント、一本鎖 F v、またはその構築物を指す。「モノクローナル抗体」なる用語は、同質抗体集団を有する抗体組成物に関する。この用語は、それが作成されている方法によって限定されることは意図されていない。モノクローナル抗体は通常、それが免疫反応する特定のポリペプチドに対する単一の結合親和性を示す。好ましくは、使用されるモノクローナル抗体はさらに、特定のポリペプチドと免疫反応することで特徴づけられる。I F N - γ 抗原のエピトープに対するモノクローナル抗体は、培養中の連続細胞株によって抗体の産生を提供する技法を用いることによって調製されうる。これらには、コーラー（K o h l e r）とミルシュタイン（M i l s t e i n）（コーラーとミルシュタイン、1975年）によって最初に報告されたハイブリドーマ法が含まれるが、これに限定されない。モノクローナル抗体は、当業者によって十分に理解される技法を用いる種々の方法で製造されうる。これらの技法の詳細は、抗体：実験マニュアル、ハルロー（H a r l o w）ら、コールド・スプリング・ハーバー・パブリケーションズ（C o l d S p r i n g H a r b o r P u b l i c a t i o n s）、p. 726（1988年）に記載されており、またはキャンベル（C a m p b e l l）A. M.（「生化学および分子生物学におけるモノクローナル抗体技術」、エルセビル・サイエンス・パブリッシャーズ（E l s e v i e r S c i e n c e P u b l i s h e r s）、オランダ、アムステルダム（A m s t e r d a m, T h e N e t h e r l a n d s）（1984年））、またはセントグロス（S t . G r o t h）ら（J. I m m u n o l . M e t h o s、35：p. 1 ~ 21（1

10

20

30

40

50

980年)) によって記載されている。ヒトを含む任意の哺乳動物種のモノクローナル抗体を本発明において用いることができる。したがって、本実施形態による抗体は、ヒトモノクローナル抗体でありうる。かかるヒトモノクローナル抗体は、例えば、酵母人工染色体(YAC)法(メンデツ(Mendez)ら、1997年)によって統合される生殖細胞系列におけるヒト免疫グロブリン(Ig)遺伝子座の大部分を含有する免疫化形質転換動物由来のハイブリドーマの産生によって調製されうる。Fab、F(ab)²、およびscFv(「一本鎖可変フラグメント」)などこれらモノクローナル抗体由来のフラグメントも、それらが最初の結合特性を保持しているとの条件で、本発明の一部を形成する。

【0028】

本明細書中で用いられる「ヒト化抗体」なる用語は、免疫グロブリンまたは人工的に作出された抗体構築物のフレームワーク領域の少なくとも一部が、ヒト免疫グロブリン配列由来であることを意味する。抗体または抗体構築物をヒト化する方法を、例えば、ログスカ(Roguska)ら(1994年)によって記載された可変ドメイン再表面化またはハーレ(Hurle)とグロス(Gross)(1994年)によって検討されたCDR移植または再建(reshaping)によって使用されうることが明らかである。

【0029】

本明細書中で用いられる「キメラ抗体」なる用語は、ヒト化されうる、またはされえない1つの種の変換ドメイン(マウス、ラット、ヤギ、ヒツジ、ラマ、またはラクダの変換ドメインなど)、および別の種の不変ドメイン(ヒト以外の霊長類またはヒト不変ドメイン)を含む人工的に作出された抗体構築物を指す(検討のためには、ハーレ(Hurle)とグロス(Gross)(1994年)を参照)。キメラ抗体または抗体構築物を作成する当業界で周知の方法が使用されうることが明らかである。

【0030】

本明細書中で用いられる「一本鎖Fv」なる用語は、scFvとも呼ばれ、結合抗体の結合ドメイン(重鎖と軽鎖の両方)を分離し、結合機能の保存を可能にする結合部分を提供することによって調製される人工的に作出される抗体を指す。これにより、実質的に、抗原を結合するために必要な可変ドメインの部分のみを有する完全に短縮された抗体が形成される。一本鎖抗体の測定および構成は、ランドナー(Landner)らに対する米国特許第4,946,778号に記載されている。

【0031】

組換え抗体の作成、設計、および発現に関する追加の情報は、メイフォース(Mayforth)、抗体の設計(Designing Antibodies)、アカデミックプレス(Academic Press)、サンディエゴ(San Diego)(1993年)において見出すことができる。

【0032】

本明細書中で用いられる単複の「フラグメント」なる用語は、親抗体の抗原結合機能および特異性を保持するF(ab)、F(ab)²、Fv、scFv、および他のフラグメントを指す。前記フラグメントを製造するための方法は当業者には公知であり、例えば、抗体エンジニアリング(Antibody Engineering)、オックスフォード大学プレス(Oxford University Press)、オックスフォード(Oxford)(1995年)(1996年)、および分子生物学における方法(Methods in Molecular Biology)、ヒューマンプレス(Human Press)、ニュージャージー州(New Jersey)(1995年)において見出すことができる。また、任意の抗体またはフラグメントの構築物も本発明の対象である。本明細書中で用いられる「構築物」なる用語は、抗霊長類IFN-γ抗体由来である、二重特異性抗体、三重特異性抗体、四価抗体、五重特異性または六重特異性抗体等を指す。

【0033】

本明細書中で用いられる「二重特異性抗体」なる用語は、2つの非共有結合scFvを

10

20

30

40

50

指し、これは次いで、ホリガー (Holliger) ら (1993 年) によって詳細に記載され、ポルヤック (Poljak) (1994 年) によって検討されているように、いわゆる二重特異性抗体を形成する。例えば、ホリガーら (1993 年)、ポルヤック (1994 年)、およびチュウ (Zhu) ら (1996 年) によって記載されたような二重特異性抗体を生成する方法を使用されることが明らかである。

【0034】

本明細書中で用いられる「三重特異性抗体」なる用語は、コルト (Kortt) ら (1997 年) およびイリアデス (Iliades) ら (1997 年) によって記載された、3つの scFv を含む、したがって、3つの可変ドメインを含む三価構築物を指す。三重特異性抗体を生成する方法は、コルト (Kortt) ら (1997 年) によって記載され

10

【0035】

上述された scFv、キメラ抗体、二重特異性抗体、および三重特異性抗体は、同じ抗体 (例えば、D9D10) の可変ドメインを含むことに限定されず、IFN- γ の生物活性を有効に中和する他の抗 IFN- γ 抗体の可変ドメインも含みうることも明らかである。さらに、上記の二重特異性抗体は、異なる特異性の2つの scFv をも含みうる。例えば、後者の二重特異性抗体は、一方では IFN- γ を同時に中和し、他方では、TNF- α 、IL-1、IL-2、B7.1 または CD80、B7.2 または CD86、IL-12、IL-4、IL-10、CD40、CD40L、IL-6、補体因子、凝固因子、線溶因子、腫瘍増殖因子-ベータ (TGF- β)、トランスフェリン受容体、インスリン受

20

【0036】

「霊長類インターフェロンガンマ」、「霊長類 IFN- γ 」、「インターフェロンガンマ」、および「IFN- γ 」なる表現は、同じ意味で用いられ、天然起源由来の、インビトロで合成製造された、または組換え DNA 技術の方法を含む遺伝子操作によって得られた霊長類 IFN- γ を含む霊長類ポリペプチド分子のファミリーを指す。アミノ酸配列の変形は、少なくとも約 65% の配列相同性、より好ましくは少なくとも約 75% の配列相同性、さらにより好ましくは少なくとも約 85% の配列相同性、最も好ましくは少なくとも約 90% に配列相同性を任意のドメインと、かつ好ましくは、天然の霊長類 IFN- γ アミノ酸配列の受容体結合ドメイン (類) と共有することが好ましい。定義は、天然の霊長類 IFN- γ およびそのアミノ酸配列変形のさまざまにグリコシル化され、かつ非グリコシル化される形態を特異的にカバーする。

30

【0037】

本明細書中で用いられる単複の「霊長類」なる用語は、同じ意味で用いられ、ヒトのほか、チンパジー、ゴリア、オランウータン、およびテナガザルを含むがこれらに限定されないヒト霊長類、ヒヒ、マーモセットサル、アカゲザル、カニクイザルなど限定されないヒト以外の霊長類を含むが、これらに限定されない。

【0038】

本明細書中で用いられる「抗霊長類 IFN- γ 分子」、「抗霊長類 IFN- γ 抗体」、「抗ヒト IFN- γ 抗体」、または「IFN- γ に結合し、これを中和する抗体」はそれぞれ、IFN- γ の特定のエピトープを認識し、これに結合し、IFN- γ の生物活性の中和もしくは減少または抑制をもたらす分子または抗体を指す。本明細書中で用いられる「エピトープ」なる用語は、抗体が結合する抗原の一部を指し、抗原決定因子とも呼ばれる。「IFN- γ の生物活性」なる用語は、抗ウイルス活性 (ビルリアウ (Billiau)、1996 年)、マクロファージおよび他の細胞型による MHC-クラス-II 分子の発現誘導 (シュタインマン (Steinman) ら、1980 年)、TNF α 、IL-1、および NO など炎症仲介物質の産生刺激 (ロースバッハ (Lorsbach) ら、1993 年)、ICAM-1 など接着分子 (ダスチン (Dustin) ら、1988 年)、および専門抗原提示細胞 (フリードマン (Freedman) ら、1991 年) 上の B7 分

40

50

子など重要な共刺激シグナルの発現誘導、マクロファージの抗腫瘍化誘導（ペース（Pace）ら、1983年）、Ig イソタイプスイッチングを誘導（スナッパー（Snapper）とパウル（Paul）、1987年）、IFN- γ が病原である場合の疾患中の病的および／または臨床的活性（ビリアウ（Billiau）、1996年）、またはIFN- γ の他の周知の生物活性に関する。上記のIFN- γ に結合し、これを中和する抗体は、IFN- γ の少なくとも1つの生物活性を中和するが、必ずしもすべての生物活性を中和しないことは明らかである。

【0039】

IFN- γ の生物活性に対する抗IFN- γ 分子または抗体の効果を評価する試験の例は、「MHC II 誘導の阻害」および／または「抗ウイルス活性の阻害」であるが、これらに限定されない。最初に言及された試験では、霊長類角化細胞上のMHCクラスII発現誘導に対するIFN- γ の効果が検査される。このために、霊長類角化細胞は、24時間と48時間、2つの濃度の霊長類IFN- γ （100U/mlと200U/ml）で培養される。培養後、細胞は収集され、活性化角化細胞上のMHCクラスII抗原の発現が、PE標識抗MHC-クラスII mAbによる細胞の染色（4 下に30分）後のFACSスキャンによって測定される。また、霊長類角化細胞上のIFN- γ 誘導MHC-クラスII発現に対する抗IFN- γ 分子の効果が検査される。この実験では、一次角化細胞が48時間、異なる濃度（2～、0.5～、0.12～、0.03～）の抗IFN- γ 分子または抗体の存在または非存在下に霊長類IFN- γ （100U/ml）で培養される。IFN- γ は、角化細胞に添加する前に37 下に1時間、抗IFN- γ 分子または抗体でブレインキュベートされる。培養後、細胞は収集され、これら活性化角化細胞上のMHC-クラスIIの発現が測定される。このために、角化細胞はPE標識抗MHC-クラスII mAb（ベクトンディッキンソン（Becton Dickinson））でインキュベートし（4 で30分）、PBSで2回洗浄し、固定される。MHC-クラスII発現はさらにFACSスキャンで分析される。抗IFN- γ 分子または抗体の中和活性を評価するために同様の実験を行うことができる。ここに記載された試験との類似で、霊長類B細胞上のMC-クラスII発現の誘導に対する霊長類IFN- γ の効果を検査することができる。

【0040】

IFN- γ の抗ウイルス活性の中和が測定される第2の試験のために、試料（抗IFN- γ 分子または抗体）の系列希釈物がマイクロタイタープレートにおいて調製される。各ウェルには、A549細胞で試験される、5抗ウイルス保護単位/mlの最終濃度でIFN- γ が添加される。混合物は37 で4時間インキュベートされ、25000のA549細胞がウェルに添加される。CO₂ インキュベータにおける37 で、24のインキュベーション後、 8×10^5 PFU EMCウイルス/mlを25 μ l、少なくとも24時間、培養に添加される。ウイルス感染対照培養が100%の細胞破壊に達するとすぐに、生存細胞を定量化するためにクリスタルバイオレット染色が行われる。抗IFN- γ 分子または抗体の中和能は、5U/ml IFN- γ の抗ウイルス活性の95%を中和するのに必要とされる分子または抗体の濃度によって規定される。次いで、抗IFN- γ 分子または抗体の中和能が測定される。

【0041】

本明細書中で用いられる「予防（prevention）」または「治療」なる用語は、（i）当該疾患の予防（prophylaxis）、または（ii）当該症状または疾患の軽減または除去（治療（therapy））、または（iii）ヒトを含む哺乳動物が、直接的または間接的に、哺乳動物の状態を改善する目的で医療援助の対象となる、任意の過程、行為、適用、療法などのいずれかを指す。

【0042】

別の実施形態によれば、本発明は、霊長類におけるIFN- γ によって引き起こされる病的反応を予防または治療するためのモノクローナル抗霊長類IFN- γ 抗体またはそのフラグメントの使用に関する。より詳細には、本発明は、霊長類におけるIFN- γ によ

って引き起こされる病的反応を予防または治療するための医薬組成物の製造のためのモノクローナル抗霊長類 I F N - γ 抗体またはそのフラグメントの使用に関する。

【 0 0 4 3 】

好ましい実施形態によれば、抗体は、受入番号 D S M A C C 2 5 2 1 によって、D S M Z - ドイツ・ザンムルング・フォン・ミクロオルガニズメン・ウント・ツェルクルトゥーレン・ゲーエムベーハー (D S M Z - D e u t s c h e S a m m l u n g v o n M i k r o o r g a n i s m e n u n d Z e l l k u l t u r e n G m b H) で 2 0 0 1 年 8 月 2 8 日に寄託されたハイブリドーマによって製造されたモノクローナル抗体 D 9 D 1 0 H 3 G 5 である。前記モノクローナル抗体 D 9 D 1 0 H 3 G 5 はさらに、明細書および請求の範囲の全体を通じて D 9 D 1 0 と短縮される。したがって、より詳細には、本発明は、霊長類における I F N - γ によって引き起こされる病的反応を予防または治療するための抗ヒト I F N - γ 抗体 D 9 D 1 0 またはそのフラグメントの使用に関する。さらに、本発明は、霊長類における I F N - γ によって引き起こされる病的反応を予防または治療するための医薬組成物の製造のための抗ヒト I F N - γ 抗体 D 9 D 1 0 またはそのフラグメントの使用に関する。

10

【 0 0 4 4 】

別の実施形態によれば、本発明は、霊長類における I F N - γ によって引き起こされる病的反応を予防または治療するためのヒト化抗ヒト I F N - γ 抗体 D 9 D 1 0 またはそのフラグメントの使用に関する。より詳細には、本発明は、霊長類における I F N - γ によって引き起こされる病的反応を予防または治療するための医薬組成物の製造のためのヒト化抗ヒト I F N - γ 抗体 D 9 D 1 0 またはそのフラグメントの使用に関する。

20

【 0 0 4 5 】

抗体 D 9 D 1 0 と同じエピトープを認識する異なって製造された抗体、および I F N - γ 上での結合のために抗体 D 9 D 1 0 と免疫競合する抗体も本発明の一部である。したがって、別の実施形態によれば、本発明は、霊長類における I F N - γ によって引き起こされる病的反応の予防または治療のための抗霊長類 I F N - γ 抗体、またはそのフラグメントの使用に関するが、前記抗体は、I F N - γ 上での結合のための抗体 D 9 D 1 0 と免疫学的に競合するその能力によって特徴づけられる。より詳細には、本発明は、霊長類における I F N - γ によって引き起こされる敗血症または敗血性ショックの予防または治療のための抗霊長類 I F N - γ 抗体、またはそのフラグメントの使用に関するが、前記抗体は、I F N - γ 上での結合のための抗体 D 9 D 1 0 と免疫学的に競合するその能力によって特徴づけられる。本明細書中で用いられる「同等の方法で結合する」または「免疫競合する」なる用語は、これらの抗体が、同じまたは重複するエピトープに対してモノクローナル抗体 D 9 D 1 0 と同じ親和性または比較的高い親和性で I F N - γ に結合することを意味し、かつこれらの抗体が、モノクローナル抗体 D 9 D 1 0 と同等の方法で I F N - γ の生物活性を中和、減少または阻害することを意味する。

30

【 0 0 4 6 】

競合的阻害、例えば固相 E L I S A によって抗体特異性および親和性を測定するための好ましい方法は、ハルロー (H o r l o w) ら (1 9 8 8 年)、コリガン (C o l l i g a n) ら (1 9 9 2 年、1 9 9 3 年)、アズベル (A u s u b e l) ら (1 9 8 7 年、1 9 9 2 年、1 9 9 3 年)、およびムラー (M u l l e r) R . (1 9 9 3 年) において見出すことができる。

40

【 0 0 4 7 】

本明細書中で用いられる「I F N - γ によって引き起こされる病的反応」なる用語は、敗血症、敗血性ショック、悪液質、炎症疾患、多発硬化症やクローン病などの免疫疾患、水泡性、炎症性、および腫瘍性皮膚病などの皮膚疾患、関節リウマチおよび S L E に限定されない自己免疫疾患からなる群から選択されるが、これらに限定されない疾患を指す。水泡性、炎症性、および腫瘍性皮膚病は、その間に I F N - γ が病的役割を果たしうる皮膚疾患の異種群である。水泡症は、後天性表皮水泡症、水疱性類天疱瘡、ジューリング疱瘡状皮膚炎、線形 I g A 病、妊娠製疱疹、瘢痕性類天疱瘡、水泡性全身性エリテマトーデ

50

ス、接合部型表皮水疱症、表皮水疱症 (epidermolysis bullosa dystrophicans)、晩発性皮膚ポルフィリン症、およびライエル症候群を包含する。また、重症型多形滲出性紅斑、IgG 仲介性表皮下水疱症、水泡性扁平苔癬、および腫瘍随伴性水疱症も水疱症の中に分類されうる。炎症性および腫瘍性皮膚病は、乾癬、疣贅症、好酸球性膿疱性毛嚢炎、皮膚T細胞リンパ腫、顔面肉芽腫、スウィート症候群、アトピー性湿疹、毛包性ムチン沈着症、および扁平苔癬を包含する。

【0048】

好ましい実施形態では、本発明は、霊長類における敗血症または敗血性ショックを予防または治療するための抗霊長類 IFN- γ 分子の使用に関する。さらに、本発明は、霊長類における敗血症または敗血性ショックを予防または治療するための医薬組成物の製造のための抗霊長類 IFN- γ 分子の使用に関する。より好ましい実施形態では、本発明は、霊長類における敗血症または敗血性ショックを予防または治療するための抗霊長類 IFN- γ 抗体またはそのフラグメントの使用に関する。さらに、本発明は、霊長類における敗血症または敗血性ショックを予防または治療するための医薬組成物の製造のための抗霊長類 IFN- γ 抗体またはそのフラグメントの使用に関する。より詳細には、本発明は、霊長類における敗血症または敗血性ショックを予防または治療するためのモノクローナル抗霊長類 IFN- γ 抗体またはそのフラグメントの使用に関する。本発明は、霊長類における敗血症または敗血性ショックを予防または治療するための医薬組成物の製造のためのモノクローナル抗霊長類 IFN- γ 抗体またはそのフラグメントの使用にも関する。さらに、本発明は、霊長類における敗血症または敗血性ショックを予防または治療するためのヒト化抗霊長類 IFN- γ 抗体またはそのフラグメントの使用に関する。本発明は、霊長類における敗血症または敗血性ショックを予防または治療するための医薬組成物の製造のためのヒト化抗霊長類 IFN- γ 抗体またはそのフラグメントの使用にも関する。より具体的な実施形態によれば、本発明は、霊長類における敗血症または敗血性ショックを予防または治療するための抗ヒト IFN- γ 抗体 D9D10 またはそのフラグメントの使用に関する。また、本発明は、霊長類における敗血症または敗血性ショックを予防または治療するための医薬組成物の製造のための抗ヒト IFN- γ 抗体 D9D10 またはそのフラグメントの使用にも関する。さらに、本発明は、霊長類における敗血症または敗血性ショックを予防または治療するためのヒト化抗ヒト IFN- γ 抗体 D9D10 またはそのフラグメントの使用に関する。本発明は、霊長類における敗血症または敗血性ショックを予防または治療するための医薬組成物の製造のためのヒト化抗ヒト IFN- γ 抗体 D9D10 またはそのフラグメントの使用にも関する。別の実施形態によれば、本発明は、霊長類における敗血症または敗血性ショックを予防または治療するための抗霊長類 IFN- γ 抗体またはそのフラグメントの使用に関するが、前記抗体は、IFN- γ 上での結合のための抗体 D9D10 と免疫学的に競合するその能力によって特徴づけられる。また、本発明は、霊長類における敗血症または敗血性ショックを予防または治療するための医薬組成物を製造するための抗霊長類 IFN- γ 抗体またはそのフラグメントの使用に関するが、前記抗体は、IFN- γ 上での結合のための抗体 D9D10 と免疫学的に競合するその能力によって特徴づけられる。本明細書中で用いられる「敗血症」または「敗血性ショック」なる用語は、菌血症、敗血症、重篤な敗血症、敗血症誘発性高血圧、敗血性ショック、多臓器不全症候群、全身炎症性反応症候群などを指す。しかし、標準の定義は存在せず、感染に対する全身炎症反応の定義に対する概念的および実地的な枠組みを提供したコンセンサス会議 (consensus conference) からの勧告も敗血症と呼ばれる。この会議は、感染、肺炎、外傷、やけど等を含む多種多様の損傷後に生じる広範囲の炎症を記述する「全身炎症反応症候群 (SIRS)」なる新しい用語を提案した。「敗血症」または「敗血性ショック」の定義のほか、これらおよび他の用語で理解されるものについての記述は、集中治療医学 (Intensive Care Medicine) (マットット (Matotto) とスプルング (Sprung)、2001年) およびクリティカル・ケア・クリニックス (Critical Care Clinics (バルク (Balk)、2000年) において見出すことができる。

【 0 0 4 9 】

別の実施形態では、本発明は、医薬的に有効な量の抗霊長類 I F N - γ 分子を投与することを特徴とする、霊長類における I F N - γ によって引き起こされる病的反応を予防または治療するための方法に関する。別の実施形態では、本発明は、医薬的に有効な量の抗霊長類 I F N - γ 抗体またはそのフラグメントを投与することを特徴とする、霊長類における I F N - γ によって引き起こされる病的反応を予防または治療するための方法に関する。別の実施形態では、本発明は、医薬的に有効な量のモノクローナル抗霊長類 I F N - γ 抗体またはそのフラグメントを投与することを特徴とする、霊長類における I F N - γ によって引き起こされる病的反応を予防または治療するための方法に関する。本発明は、医薬的に有効な量のヒト化抗霊長類 I F N - γ 抗体またはそのフラグメントを投与することを特徴とする、霊長類における I F N - γ によって引き起こされる病的反応を予防または治療するための方法に関する。さらに、本発明は、医薬的に有効な量の抗ヒト I F N - γ 抗体 D 9 D 1 0 またはそのフラグメントを投与することを特徴とする、霊長類における I F N - γ によって引き起こされる病的反応を予防または治療するための方法に関する。別の実施形態では、本発明は、医薬的に有効な量のヒト化抗ヒト I F N - γ 抗体 D 9 D 1 0 またはそのフラグメントを投与することを特徴とする、霊長類における I F N - γ によって引き起こされる病的反応を予防または治療するための方法に関する。さらに、本発明は、医薬的に有効な量の抗霊長類 I F N - γ 抗体またはそのフラグメントを投与することを特徴とし、前記抗体が I F N - γ 上での結合のための抗体 D 9 D 1 0 と免疫学的に競合するその能力によって特徴づけられる、霊長類における I F N - γ によって引き起こされる病的反応を予防または治療するための方法に関する。

【 0 0 5 0 】

さらなる実施形態では、本発明は、医薬的に有効な量の抗霊長類 I F N - γ 分子を投与することを特徴とする、霊長類における敗血症または敗血性ショックを予防または治療するための方法に関する。さらに、本発明は、医薬的に有効な量の抗霊長類 I F N - γ 抗体またはそのフラグメントを投与することを特徴とする、霊長類における敗血症または敗血性ショックを予防または治療するための方法に関する。別の実施形態では、本発明は、医薬的に有効な量のモノクローナル抗霊長類 I F N - γ 抗体またはそのフラグメントを投与することを特徴とする、霊長類における敗血症または敗血性ショックを予防または治療するための方法に関する。別の実施形態では、本発明は、医薬的に有効な量のヒト化抗霊長類 I F N - γ 抗体またはそのフラグメントを投与することを特徴とする、霊長類における敗血症または敗血性ショックを予防または治療するための方法に関する。別の実施形態では、本発明は、医薬的に有効な量のヒト化抗ヒト I F N - γ 抗体 D 9 D 1 0 またはそのフラグメントを投与することを特徴とする、霊長類における敗血症または敗血性ショックを予防または治療するための方法に関する。さらに、本発明は、医薬的に有効な量の抗霊長類 I F N - γ 抗体またはそのフラグメントを投与する工程を特徴とし、前記抗体が I F N - γ 上での結合のための抗体 D 9 D 1 0 と免疫学的に競合するその能力によって特徴づけられる、霊長類における敗血症または敗血性ショックを予防または治療するための方法に関する。

【 0 0 5 1 】

投与経路

本発明の分子、抗体、またはその組成物は、医学的に許容される任意の方法で投与される。また、分子、抗体、またはその組成物は、別の個別の物質、分子、抗体、または組成物と同時に、または連続的に、いずれの時点においても一緒に投与される。特定の環境によって、局所または全身投与が望ましい場合がある。好ましくは、抗体は、静脈内、動脈内、皮下、筋内、眼窩内、心室内、腹腔内、被膜下、頭蓋内、脊髄内、直腸、または鼻内注射、注入、または吸入などによるなどの非経口的経路によって投与される。あるいは、分子、抗体、またはその組成物は、経口、腸内、または局所投与に適切でありうる。製

剤を調製する業界の熟練者は、選択された分子、抗体、または組成物の特定の特徴、治療すべき疾患状態、疾患の病期、および他の関連環境によって投与の適切な形態および様式を容易に選択することができる。

【0052】

投与量および投与回数

特定のケースによれば、「医薬的に有効な量」または「有効な量」は、所望の効果をもたらすのに十分である量である。これは、限定されることなく、死亡率、罹病率など当業者に周知のいくつかの評価項目を用いてモニタリングすることができる。特定のケースによれば、医薬的に有効な量の分子、抗体、またはそのフラグメントは、治療を必要とするレシピエントを治療し、疾患または損傷およびその合併症を予防し、または少なくとも部分的に抑制するのに十分な量として決定されるべきである。「レシピエント」なる用語は、生きた生物、例えば、霊長類、より詳細にはヒトを含むことが意図されている。かかる使用に有効な量は、疾患の重篤度、およびレシピエントの健康の一般状態に依存する。このように、投与される分子、抗体、組成物、または薬剤の投与量は、レシピエントの年齢、体重、身長、性別、一般的病状、既往歴、他の医薬品との併用療法等によって変動する。投与は1回量として、または一定期間後1回または複数回の反復量として投与されうる。注射による投与の場合、投与は連続的注射、もしくは1回または複数回のボラスによってなされうる。好ましい投与経路は非経口的である。非経口投与では、本発明の組成物は、溶液、懸濁液、リボソーム懸濁液など油性または水性乳濁液の形など、含まれていてもよい医薬的に許容可能な賦形剤と共同して、単位用量の注射剤形で調製される。通常、非経口的投与のために、抽出物は脂質、例えば、トリグリセリド、またはリン脂質懸濁液として調製され、抽出成分は懸濁液の液相中に溶解されている。かかる賦形剤は、本質的に非毒性または非治療的である。かかる賦形剤の例は、生理食塩水、リンガー溶液、デキストロース溶液、およびハックス溶液である。不揮発性油およびオレイン酸エチルなどの非水性賦形剤も使用されうる。好ましい賦形剤は生理食塩水中の5%デキストロースである。賦形剤は、緩衝剤および保存剤を含む、等浸透圧および化学的安定性を増強する物質など少量の添加剤を含有しうる。かかる組成物中に存在する抗体の量は、適切な用量が得られるようにする。用量レベルは、疾患の状態、レシピエントの年齢等によって適切に増加または減少されうる。溶液または懸濁液は、以下のアジュバント、すなわち、注射用の水、生理食塩水、不揮発性油、ポリエチレングリコール、グリセリン、プロピレングリコール、または他の合成溶媒などの滅菌希釈剤、ベンジルアルコールまたはメチルパラベンなどの抗菌剤、アスコルビン酸または亜硫酸水素ナトリウムなどの抗酸化剤、エチレンジアミンテトラ酢酸などのキレート化剤、酢酸塩、クエン酸塩、またはリン酸塩などの緩衝剤、および塩化ナトリウムまたはデキストロースなどの浸透圧の調節用薬剤の1つ以上を含みうる。

【0053】

本発明はさらに、IFN- γ によって引き起こされる病的反応の予防または治療における有効な量の抗霊長類IFN- γ 分子を含む医薬組成物に関する。より詳細には、本発明は、敗血症または敗血性ショックの予防または治療における有効な量の抗霊長類IFN- γ 分子を含む医薬組成物に関する。本発明はさらに、IFN- γ によって引き起こされる病的反応の予防または治療における有効な量の抗霊長類IFN- γ 抗体またはそのフラグメントを含む医薬組成物に関する。別の実施形態では、本発明は、敗血症または敗血性ショックの予防または治療における有効な量の抗霊長類IFN- γ 抗体またはそのフラグメントを含む医薬組成物に関する。別の実施形態では、本発明は、IFN- γ によって引き起こされる病的反応の予防または治療における有効な量のモノクローナル抗霊長類IFN- γ 抗体またはそのフラグメントを含む医薬組成物に関する。より詳細には、敗血症または敗血性ショックの予防または治療における有効な量のモノクローナル抗霊長類IFN- γ 抗体またはそのフラグメントを含む医薬組成物に関する。別の実施形態では、本発明は、IFN- γ によって引き起こされる病的反応の予防または治療における有効な量のヒト化抗霊長類IFN- γ 抗体またはそのフラグメントを含む医薬組成物に関する。より詳細

には、敗血症または敗血性ショックの予防または治療における有効な量のヒト化抗霊長類 I F N - γ 抗体またはそのフラグメントを含む医薬組成物に関する。別の実施形態では、本発明は、I F N - γ によって引き起こされる病的反応の予防または治療における有効な量の抗ヒト I F N - γ 抗体 D 9 D 1 0 またはそのフラグメントを含む医薬組成物に関する。より詳細には、本発明は、敗血症または敗血性ショックの予防または治療における有効な量の抗ヒト I F N - γ 抗体 D 9 D 1 0 またはそのフラグメントを含む医薬組成物に関する。本発明はさらに、I F N - γ によって引き起こされる病的反応の予防または治療における有効な量のヒト化抗ヒト I F N - γ 抗体 D 9 D 1 0 またはそのフラグメントを含む医薬組成物に関する。より詳細には、本発明は、敗血症または敗血性ショックの予防または治療における有効な量のヒト化抗ヒト I F N - γ 抗体 D 9 D 1 0 またはそのフラグメントを含む医薬組成物に関する。別の実施形態では、本発明は、I F N - γ によって引き起こされる病的反応の予防または治療における有効な量の抗霊長類 I F N - γ 抗体またはそのフラグメントを含む医薬組成物に関するが、前記抗体は、I F N - γ 上での結合のための抗体 D 9 D 1 0 と免疫学的に競合するその能力によって特徴づけられる。本発明はさらに、敗血症または敗血性ショックの予防または治療における有効な量の抗霊長類 I F N - γ 抗体またはそのフラグメントを含む医薬組成物に関するが、前記抗体は、I F N - γ 上での結合のための抗体 D 9 D 1 0 と免疫学的に競合するその能力によって特徴づけられる。

10

【 0 0 5 4 】

本明細書中で用いられる「医薬組成物」または「組成物」なる用語は、医薬的に許容可能な担体または賦形剤の存在下に、I F N - γ に特異的に結合し、これを中和する分子、抗体、またはそのフラグメントを含む組成物を指す。より好ましくは、前記組成物は、抗体 D 9 D 1 0 を含む。さらに、前記組成物は、他の薬剤または他の抗体、抗体誘導体または構築物を含んでもよい。かかる他の薬剤または他の抗体、抗体誘導体または構築物の例は、敗血症または敗血性ショックに関しては、脂質 A 拮抗薬（例えば、E 5 5 6 4）、内毒素拮抗薬（例えば、E 5 5 3 1）、ヒト組織因子経路阻害剤（例えば、T F P I、チファコゲン（T i f a c o g e n））、抗トロンピン I I I（例えば、キベルニン（K y b e r n i n）P）、ノラチオル（N o r a t h i o l）一酸化窒素遮断薬（例えば、N O X - 1 0 0）、血小板活性因子アセチルヒドロラーゼ（例えば、パファーゼ（P a f a s e））、内毒素中和剤（例えば、P M X 6 2 2）、抗腫瘍壊死因子 F（a b）' 2 m A b（例えば、セガード（S e g a r d）、分泌ホスホリパーゼ a 2 阻害剤、活性化タンパク質 C（例えば、ザイグリス（X i g r i s）、L Y 2 0 3 6 3 8）、t - P A、u - P A、P A I - 1 阻害剤、T N F - チップペプチド（ルーカス（L u c a s）らに対する国際公開第 0 0 / 0 9 1 4 9 号パンフレットにおいて規定）、生理食塩水などの等張性晶質溶液、ドーパミン、アドレナリン、および抗生物質、悪質液に関しては、抗 - T N F - α 抗体、多発性硬化症に関しては、A C T H およびコルチコステロイド剤、インターフェロンベータ - 1 b（例えば、ベタセロン（B e t a s e r o n））、インターフェロンベータ - 1 a（例えば、アボネックス（A v o n e x））、アザチオプリン、メトトレキサート、シクロホスファミド、シクロスポリン A、およびクラドリピン（例えば、2 - C d A）などの免疫抑制剤、コポリマー 1（ミエリン塩基性タンパク質に一般的な 4 つのアミノ酸で構成）、ミエリン抗原、ロキニメックス（r o q u i n i m e x）A、m A b C A M P A T H - 1 H、およびカリウムチャンネル遮断剤、クローン病に関しては、スルファサラジン、コルチコステロイド剤、6 メルカプトプリン / アザチオプリン、およびシクロスポリン A、乾癬に関しては、シクロスポリン A、メトトレキサート、カルシポトリエン（例えば、ドボネックス（D o v o n e x））、ジドブジン（例えば、レトロビル（R e t r o v i r））、ラニチジン（例えば、ザンタック（Z a n t a c）およびシメチジン（例えば、タガメット（T a g a m e t））などのヒスタミン 2 受容体拮抗薬、プロピルチオウラシル、アシトレチン（例えば、ソリアタン（S o r i a t a n e））、フマル酸、ビタミン D 誘導体、タザロテン（例えば、タゾラック（T a z o r a c））、I L - 2 融合毒素、タクロリムス（例えば、プログラフ（P r o g r a f））、C T L A 4 I g

20

30

40

50

、抗CD4 mAb、およびT-細胞受容体ペプチドワクチンであるが、これらに限定されない。明細書に記載されたIFN- γ 結合分子、抗体、または組成物の任意の可能な混合部が上記の医薬組成物の一部でありうることも明らかである。前記医薬組成物の割合および性質は、選択された化合物の溶解度および化学特性、選択された投与経路、および標準の薬務によって測定される。

【0055】

したがって、抗霊長類IFN- γ 分子、抗体、またはそのフラグメント、およびより好ましくはD9D10またはそのフラグメントを、当業者の知識の範囲内で適切な投与方法によって明細書に記載された適切な組成物の形で投与されうる。

【0056】

本明細書中で用いられる「医薬的に許容可能な担体または賦形剤」なる用語は、それによって担体と賦形剤なる用語は同じ意味で用いられるが、それとともに治療的分子または抗体が投与される希釈剤、補助剤、または賦形剤（ビヒクル）を指す。これには任意の、およびすべての溶剤、分散媒体、水溶液、被覆剤、抗菌剤および抗真菌剤、等張性および吸収遅延剤などが含まれる。医薬活性物質用のかかる媒体および薬剤の使用は、当業界で周知である。従来の媒体または薬剤が活性成分と相性が悪い場合を除き、医薬組成物におけるその使用が考えられている。補助的活性成分も本発明の組成物に組込むことができる。その投与がレシピエントによって耐えられうる場合は、組成物は「医薬的に許容可能」であると言われる。

【0057】

別の実施形態によれば、本発明は、霊長類におけるIFN- γ によって引き起こされる病的反応の予防または治療における有効な量の抗霊長類IFN- γ 分子を含む医薬組成物の使用に関する。より詳細には、本発明は、霊長類における敗血症または敗血性ショックの予防または治療における有効な量の抗霊長類IFN- γ 分子を含む医薬組成物の使用にも関する。別の実施形態によれば、本発明は、霊長類におけるIFN- γ によって引き起こされる病的反応の予防または治療における有効な量の抗霊長類IFN- γ 抗体またはそのフラグメントを含む医薬組成物の使用に関する。本発明は、霊長類における敗血症または敗血性ショックの予防または治療における有効な量の抗霊長類IFN- γ 抗体またはそのフラグメントを含む医薬組成物の使用にも関する。より詳細には、本発明は、霊長類におけるIFN- γ によって引き起こされる病的反応の予防または治療における有効な量のモノクローナル抗霊長類IFN- γ 抗体またはそのフラグメントを含む医薬組成物の使用に関する。さらに、本発明は、霊長類における敗血症または敗血性ショックの予防または治療における有効な量のモノクローナル抗霊長類IFN- γ 抗体またはそのフラグメントを含む医薬組成物の使用にも関する。さらに、本発明は、霊長類におけるIFN- γ によって引き起こされる病的反応の予防または治療における有効な量のヒト化抗霊長類IFN- γ 抗体またはそのフラグメントを含む医薬組成物の使用に関する。より詳細には、本発明は、霊長類における敗血症または敗血性ショックの予防または治療における有効な量のヒト化抗霊長類IFN- γ 抗体またはそのフラグメントを含む医薬組成物の使用にも関する。本発明はさらに、霊長類におけるIFN- γ によって引き起こされる病的反応の予防または治療における有効な量の抗ヒトIFN- γ 抗体D9D10またはそのフラグメントを含む医薬組成物の使用に関する。本発明は、霊長類における敗血症または敗血性ショックの予防または治療における有効な量の抗ヒトIFN- γ 抗体D9D10またはそのフラグメントを含む医薬組成物の使用にも関する。より詳細には、本発明は、霊長類におけるIFN- γ によって引き起こされる病的反応の予防または治療における有効な量のヒト化抗ヒトIFN- γ 抗体D9D10またはそのフラグメントを含む医薬組成物の使用に関する。より詳細には、本発明は、霊長類におけるIFN- γ によって引き起こされる病的反応の予防または治療における有効な量の抗霊長類IFN- γ 抗体またはそのフラグメントを含む医薬組成物の使用に関するが、前記抗体は、IFN

10

20

30

40

50

- γ 上での結合のための抗体 D 9 D 1 0 と免疫学的に競合するその能力によって特徴づけられる。本発明は、霊長類における敗血症または敗血性ショックの予防または治療における有効な量の抗霊長類 I F N - γ 抗体またはそのフラグメントを含む医薬組成物の使用にも関するが、前記抗体は、I F N - γ 上での結合のための抗体 D 9 D 1 0 と免疫学的に競合するその能力によって特徴づけられる。

【 0 0 5 8 】

モノクローナル抗体は治療用途において一部の不利点を有する文献における報告に反して、本発明は、I F N - γ 仲介病変、特に敗血症または敗血性ショックの予防または治療における使用に、抗霊長類 I F N - γ 抗体、およびより詳細にはモノクローナル抗体 D 9 D 1 0 の予想外の適用性を示した。また、われわれは、本発明の抗体またはそれとの組成物に対する免疫反応が生じないという予想外の所見を示すことができた。

10

【 0 0 5 9 】

したがって、本発明は、免疫原ポリペプチドに対する免疫反応を予防するための抗霊長類 I F N - γ 分子の使用にも関する。さらに、本発明は、免疫原ポリペプチドに対する免疫反応を予防するための医薬組成物の製造のための抗霊長類 I F N - γ 分子の使用にも関する。さらに、本発明は、免疫原ポリペプチドに対する免疫反応を予防するための抗霊長類 I F N - γ 抗体またはそのフラグメントであって、前記抗体がモノクローナル抗体またはヒト化抗体であってよい、その使用にも関する。さらに、本発明は、免疫原ポリペプチドに対する免疫反応を予防するための医薬組成物の製造のための抗霊長類 I F N - γ 抗体またはそのフラグメントであって、前記抗体がモノクローナル抗体またはヒト化抗体であってよい、その使用にも関する。より好ましくは、本発明は、免疫原ポリペプチドに対する免疫反応を予防するための抗ヒト I F N - γ 抗体 D 9 D 1 0 またはそのフラグメントの使用に関する。さらに、本発明は、免疫原ポリペプチドに対する免疫反応を予防するための医薬組成物の製造のための抗ヒト I F N - γ 抗体 D 9 D 1 0 またはそのフラグメントの使用に関する。本発明はさらに、免疫原ポリペプチドに対する免疫反応を予防するためのヒト化抗ヒト I F N - γ 抗体 D 9 D 1 0 またはそのフラグメントの使用に関する。本発明はさらに、免疫原ポリペプチドに対する免疫反応を予防するための医薬組成物の製造のための抗霊長類 I F N - γ 抗体またはそのフラグメントの使用に関する。前記抗体は、I F N - γ 上での結合のための抗体 D 9 D 1 0 と免疫学的に競合するその能力によって特徴づけられる。

20

30

【 0 0 6 0 】

組成物、ポリペプチド、またはワクチンに対する「免疫反応」は、当該組成物またはワクチンに対する抗体仲介性および/または細胞免疫反応の宿主における発現である。通常、かかる反応は、当該組成物またはワクチンに含まれる抗原に特異的に向けられた抗体、B細胞、ヘルパーT細胞、サブレッサT細胞、および/または細胞毒性T細胞を産生する対象から成る。

【 0 0 6 1 】

「予防する」または「阻害する」によって、細胞性（例えば、白血球補充）または液性に関係なく、免疫原タンパク質またはポリペプチドに対する先天性または後天性免疫反応の直接または間接、部分的または完全な阻害が意味される。しかし、かかる阻害は、望ましくは、宿主が本発明に従って免疫原ポリペプチドおよび免疫原ポリペプチドに対する免疫反応を阻害する手段と接触している場合は、宿主の長期の免疫を危うくしてはならない。

40

【 0 0 6 2 】

「免疫原タンパク質」または「免疫原ポリペプチド」または「免疫原アミノ酸配列」は、それぞれ、それが投与される対象における免疫反応を発現させるタンパク質、ポリペプチド、またはアミノ酸配列である。

【 0 0 6 3 】

「ポリペプチド」なる用語は、その最も広い意味、すなわち、ペプチド結合によって結合されたアミノ酸（ジペプチド以上の）のポリマーの意味で用いられる。したがって、「

50

ポリペプチド」なる用語は、タンパク質、オリゴペプチド、タンパク質フラグメント、類似体、突然変異タンパク質、融合タンパク質などを含む。

【0064】

さらに、本発明は、免疫原ポリペプチドに対する免疫反応の予防における有効な量の抗霊長類 I F N - γ 分子を含む医薬組成物に関する。さらに、本発明は、免疫原ポリペプチドに対する免疫反応の予防における有効な量の抗霊長類 I F N - γ 抗体またはそのフラグメントを含む医薬組成物であって、前記抗体がモノクローナルまたはヒト化抗体であってよい医薬組成物に関する。より好ましくは、本発明は、免疫原ポリペプチドに対する免疫反応の予防における有効な量の抗ヒト I F N - γ 抗体 D 9 D 1 0 またはそのフラグメントを含む医薬組成物に関する。本発明は、免疫原ポリペプチドに対する免疫反応の予防における有効な量のヒト化抗ヒト I F N - γ 抗体 D 9 D 1 0 またはそのフラグメントを含む医薬組成物にも関する。また、本発明は、免疫原ポリペプチドに対する免疫反応の予防における有効な量の抗霊長類 I F N - γ 抗体またはそのフラグメントを含む医薬組成物に関し、前記抗体は、I F N - γ 上での結合のための抗体 D 9 D 1 0 と免疫学的に競合するその能力によって特徴づけられる。

10

【0065】

本明細書中で用いられる「有効な量」は、当業者に周知のいくつかの評価項目を用いてモニタリングしうる所望の効果をもたらすのに十分である量である。特定のケースによれば、医薬的に有効な量は、免疫反応を予防および/または減少させるのに十分な量として決定されるべきである。

20

【0066】

本明細書中で用いられる「医薬組成物」または「組成物」なる用語は、I F N - γ に特異的に結合し、これを中和する分子、抗体、またはそのフラグメントを含む組成物を指す。

【0067】

別の実施形態によれば、本発明は、I F N - γ と相互作用し、これを中和する少なくとも1つの免疫原ポリペプチドおよび少なくとも1つの分子を含む融合タンパク質に関する。より好ましくは、本発明は、I F N - γ と相互作用し、これを中和する少なくとも1つの免疫原ポリペプチドおよび少なくとも1つの抗体の結合ドメインを含む融合タンパク質に関する。

30

【0068】

本明細書中で用いられる「結合ドメイン」なる用語は、抗原と相互作用する抗体の可変ドメインを指す。より詳細には、本発明は、少なくとも1つの免疫原ポリペプチドおよび少なくとも1つの抗体 D 9 D 1 0 の結合ドメインを含み、前記抗体がヒト化抗体 D 9 D 1 0 であってよい融合タンパク質に関する。

【0069】

「融合タンパク質」なる用語は、当業界における通常の意味に従って用いられ、異なる起源由来である2つ以上の領域から成る単一タンパク質を指す。融合タンパク質の例は、少なくとも1つの結合ドメインが結合 I F N - γ である1本鎖抗体、二重特異性抗体、または三重特異性抗体であるが、これらに限定されない。前記融合タンパク質の別の例は、I F N - γ に結合し、例えば、サイトカイン、成長因子などであるが、これらに限定されないタンパク質でありうる少なくとも1つの免疫原ポリペプチドに共有結合する、抗体、またはそのフラグメントでありうる。また、融合タンパク質は、それらのそれぞれ核酸コード配列のフレーム内融合によっていっしょに融合されている2つのタンパク質でありうる。当該タンパク質をコード化するDNAは、融合パートナータンパク質に対するフレーム内融合であり、その結果としての融合は発現される。好ましい実施形態では、融合タンパク質は、従来の組換えDNA法によって、すなわち、キメラ免疫複合体をコード化する核酸構築物を形成することによって産生される組換え融合タンパク質である。組換え抗体サイトカイン融合タンパク質の構成は、従来技術において記載されている。例えば、ジリス (G i l l i s) ら (1 9 9 2 年)、ジリス (G i l l i e s) ら (1 9 9 8 年)、お

40

50

よびジリス (Gillies) S. に対する米国特許第 5,650,150 号を参照。融合遺伝子は、融合遺伝子が発現する適切なレシピエント細胞へのトランスフェクションのための発現ベクターに集められ、挿入される。

【0070】

本発明は、免疫原ポリペプチドに対する免疫反応の予防における有効な量の融合タンパク質を含む医薬組成物であって、前記融合タンパク質が、IFN- γ と相互作用し、これを中和する抗体の少なくとも1つのタンパク質および少なくとも1つの結合ドメインを含む医薬組成物にも関する。さらに、本発明は、免疫原ポリペプチドに対する免疫反応を予防するための医薬組成物を製造するための、IFN- γ と相互作用し、これを中和する少なくとも1つの免疫原タンパク質および少なくとも1つの結合ドメインを含む融合タンパク質の使用に関する。

10

【0071】

本発明はさらに、

抗霊長類 IFN- γ 分子であって、該分子が抗霊長類 IFN- γ 抗体またはそのフラグメントであってよい分子と組合わせて免疫原ポリペプチドを投与する工程、または、

IFN- γ と相互作用し、これを中和する抗体の少なくとも1つの免疫原ポリペプチドおよび少なくとも1つの結合ドメインを含む融合タンパク質を投与する工程、を含む免疫原ポリペプチドに対する免疫反応を予防するための方法に関する。

【0072】

1つ以上の抗霊長類 IFN- γ 分子または抗体の活性量を単独、または免疫反応に影響を及ぼす他の免疫調節または治療薬などと同時に用いることができる。

20

【0073】

本明細書中で用いられる「と組合わせて」は、抗霊長類 IFN- γ 分子または抗体、またはそのフラグメントが、1つ以上の免疫原ポリペプチド、その誘導体および/または抗体またはそのフラグメントおよび/または1つ以上の成分および/または1つ以上の治療薬および/または1つ以上の化学療法薬と同時に、または連続的に投与され、かつ/または放射線療法もしくは手術または抗 IFN- γ 抗体またはフラグメントの投与が、非-IFN- γ 治療に先行し、またはその後に行われることが意味される。成分の例は、サイトカイン、サイトカイン受容体、抗体等であるが、これらに限定されない。

【0074】

「連続的」療法が行われている場合、抗霊長類 IFN- γ 分子または抗体投与と非-IFN- γ 治療との間の時間差は、数分、数時間、数日、数週でありうる。本発明の方法は、予防的に、および治療的に有用でありうる。

30

【0075】

本明細書および請求の範囲の全体を通じて、文脈が別に要求しない限り、「含む (comprise)」なる語、および「含む (comprises)」および「含む (comprising)」などの変形は、述べられた各整数または各工程の述べられた整数もしくは工程または群の包含を意味し、各整数または各工程の他の整数もしくは工程または群の排除を意味しないと理解される。

【0076】

特に有利な実施形態が記載された以下の実施例を参考にしてこれから本発明を説明する。しかし、これらの実施形態は例示的であり、決して本発明を限定することは考えられていない。

40

【実施例】

【0077】

実施例 1

グラム陰性敗血症の致死下アカゲザルモデルにおけるインターフェロン-ガンマの抗体仲介性中和の有利な効果

本試験の目的は、微生物の大腸菌を使用する致死下のグラム陰性誘発アカゲザル敗血症モデルにおける同時治療として投与される、D9D10と呼ばれる抗ヒト IFN- γ 特異

50

的 m A b の有効性を測定することである。

【 0 0 7 8 】

敗血症を誘発するために使用される最も一般的な霊長類モデルは、生きた細菌の i . v . (静脈内) 投与である (ヒンシャー (H i n s h a w) ら、1 9 9 3 年、ヒンシャーら、1 9 9 2 年) 。接種材料のサイズによって、それぞれ致死下の致死反応が誘発されうる。i . v . モデルは十分に特徴づけられ、敗血症の病原への多くの洞察を提供している (テイラー (T a y l o r) ら、1 9 9 0 年) 。

【 0 0 7 9 】

この試験のために、われわれは、アカゲザルモデルにおける致死下の敗血性ショックを確立した。試験には、それぞれ 3 匹と 2 匹の動物を含む実験群と対照群が含まれた。この試験に用いられたモデルでは、敗血性ショックは鎮静化サルにおける生きた細菌の注入によって誘発された。治療群動物に対しては、試験物質 D 9 D 1 0 の静脈内ボラス注射を行い、一方の対照群動物には等張性生理食塩水を与えた。

【 0 0 8 0 】

試験系の特性：試験は、B P R C における繁殖コロニーから購入されたアカゲザル (M a c c a c a m u l a t t a) で行われた。これらのサルのうち試験前にマウスタンパク質に曝露されていたサルはいなかった。実験前に、サルの健康状態を獣医スタッフによって身体的に評価された。すなわち、全動物は良好な健康状態にあり、病原性の外部および内部寄生虫のほか、通常の細菌感染、すなわち、ペスト菌、偽結核エルジニア菌、腸炎エルシニア、病原性のカンピロバクター種、赤痢菌、サルモネラ、エロモナスハイドロフィラの感染が認められないことが宣言された。動物の識別番号、性別、生年月日、および処置が、表 1 に示されている。

【 0 0 8 1 】

【表 1】

動物識別	性別	生年月日	処置
I053	メス	1994年7月9日	大腸菌 (1×10 ⁹ CFU/kg) +抗生物質
I040	メス	1993年5月22日	大腸菌 (3×10 ⁹ CFU/kg) +抗生物質
V8V	メス	1994年1月1日	大腸菌 (3×10 ⁹ CFU/kg) +抗生物質
RI007	メス	1996年5月10日	大腸菌 (3×10 ⁹ CFU/kg) +D9D10+抗生物質
RI008	メス	1996年6月15日	大腸菌 (3×10 ⁹ CFU/kg) +D9D10+抗生物質
RI063	メス	1994年8月20日	大腸菌 (3×10 ⁹ CFU/kg) +D9D10+抗生物質

【 0 0 8 2 】

試験物質の特性：試験物質は、D 9 D 1 0 と称される、マウス抗ヒト I F N - γ 特異的モノクローナル抗体であり、明細は以下の通りであった。

- 【 0 0 8 3 】

【 0 0 8 4 】

10

【 0 0 8 6 】

20

【 0 0 8 8 】

30

【 0 0 9 0 】

40

50

【0092】

C F U 濃度および内毒素レベルを測定するために、E D T A 血液サンプルを 0 日（大腸菌注入の直前および直後、およびその後 6 時間の間に 2 時間間隔）、1、3、5、および 7 日目に大腿静脈から採集した。

【0093】

試料採取直後、0.1 ml のサンプルをこれらのチューブから C F U 濃度測定のために採取し、その後、E D T A チューブを 600 G で 10 分間遠心分離した。血漿サンプルを採集し、内毒素レベルの測定のためにスポンサーに送り出すまで - 80 °C に冷凍保存した。

【0094】

動物の循環中のサイトカインタンパク質（T N F - α および I L - 6）の量を、E L I S A（T N F - α および I L - 6 サイトカイン E L I S A キット、U - サイトック（C y T e c）、オランダ、ユトレヒト（U t r e c h t , T h e N e t h e r l a n d s））によって測定した。血清サンプルを、0 日（大腸菌注入の直前および直後、およびその後 6 時間の間に 2 時間間隔）、1、3、5、および 7 日目に得た。

10

【0095】

細菌株：大腸菌株は、A T C C（大腸菌（E - c o l i）、086a、K61 血清型、A T C C 33985）から購入した。対照実験では、この菌株はヒトおよびアカゲザル血清における抗菌因子に対して同等に感受性があることを示した。

【0096】

実験前に、新鮮培養を用意した。大腸菌株を 1 日培養し、収穫し、完全に洗浄し、遊離内毒素を除去した。動物への注入前に、細菌の数および生存を評価し、大腸菌ストックの系列希釈物を B H I 寒天上にプレーティングし、一夜、37 °C で培養した。各プレート上のコロニーを計算し、1 ml 当りのコロニー形成単位の数进行計算した。実験日の体重測定値を用いて大腸菌の用量を計算し、大腸菌ストックを注入に必要な濃度（注入の総投与量約 10 ml / kg）で等張性生理食塩水（N . P . B . I .、エマーコンパスキューム（E m m e r C o m p a s c u m）、オランダ（T h e N e t h e r l a n d s））中に懸濁した。大腸菌懸濁液を注入まで凍結保存した。

20

【0097】

病理学：試験の終了点を 7 日に設定した。検死のために、サルをケタミンで深く鎮静化させ、ユーセサテ（E u t h e s a t e）（ナトリウム - ペンタバルビタール、ユーセサテ、アパルモ（A p h a r u m o）、オランダ、ドウイベン（D u i v e n , T h e N e t h e r l a n d s））の注入によって安楽死させた。全動物の検死を自然死または屠殺直後に行った。剖検では腹腔および胸腔を開放し、内臓をインサイチュー検査した。

30

【0098】

細菌数の計算を（可能ならば）以下の臓器で行った。

- 腎臓
- 肝臓
- 肺
- リンパ節
- 肉眼的病変

40

【0099】

全臓器の組織を、検死の継続期間である、動物を屠殺した後 1 時間以内にホルムアルデヒドの中性リン酸緩衝 4 % 水溶液中に保存した。リンパ器官を切除し、胸郭開放直後に凍結保存した。全組織を組織学検査のために処理し、信頼できる病理学専門医が検査した。

【0100】

結果：対照群のサル（I - 040 および V8V）に対し、用量 3×10^9 C F U / kg の大腸菌を $\pm$ 2 時間にわたり投与し、直後にバイトリルを注入した。V8V のサルについてのみ、細菌注入前 1 時間の平衡期間の心拍数レコーダーを包含した。

50

【0101】

明白な臨床的結果は、肺水腫、心拍数の増大（図1および図2）、および血圧の低下（図6および図7）である。最も顕著な血液学的／血清化学的結果は、白血球減少後、大腸菌注入前に測定された値を超えるレベルへの逆戻り、および臓器損傷のいくつかのマーカー（クレアチニン、LDH、CPK、ASAT／ALAT）の増大である。分析された臓器における病理形態学的所見は、多臓器損傷を示す。大腸菌注入と関係した明らかな免疫学的特徴は、サイトカイン、特にIL-6およびTNF- α の高レベルの誘導である。

【0102】

3匹のサル（RI-007、RI-008、およびRI-063）についてD9D10処置の効果を試験した。3匹のD9D10処置サルに対し、抗体D9D10を大腸菌注入開始後30分に1回ボラス注射で与えたことを除き、I040およびV8Vと基本的に同じ処置を与えた。推測的状态は、臨床的基準に基づき救出注射が与えられうるということであった。これは2匹の動物（I008およびI063）において必要と思われた。

【0103】

結果は、1mg/kgのD9D10の1回量による処置が、アカゲザルRI007における細菌注入によって誘導される臨床的ショック症状に対して完全に保護したことを示した（図3および図8）。2匹のサル（RI008およびRI063）については、臨床的基準に基づき、10mg/kgの救出用量が必要と思われた（図4、5、9、および10）。抗体処置の有利な効果は、D9D10処置サルにおいて、抗IFN- γ 抗体のボラス注射の3.5時間後、顕著に（I040およびV8Vの2～10分の1未満）減少したTNF- α レベルが認められたが（図11）、IL-6レベルはほとんど減少しなかった（図12）ことによって反映された。これは、IFN- γ がTNF- α を誘導し、これが次いでショック誘導におけるエフェクター分子となることによって説明される。また、臓器損傷の血清マーカーの顕著な変化が、これらのサルについては認められず、または少ない。

【0104】

血液からの生きた細菌の回収および測定された内毒素レベルの結果は、D9D10処置サルにおける菌血症が、2つの対照サルと同等であることを示す（図13、14）。細菌に対する抗体処置サル（RI-007、RI-008、RI-063）の初期反応は、IL-6（すべての時点）およびTNF- α （2時間の時点）の同様の血清レベルが測定されたため（図11および12）、2つの対照サル（I-050およびV8V）と同等と思われた。また、内毒素に基づく敗血性ショックではなく菌血症による白血球減少も、抗体処置動物において普通に生じる。

【0105】

示された結果に基づき、D9D10によるIFN- γ の中和は、生きた大腸菌の注入に伴う敗血性ショックにおける介入の有効な様式であるという結論を出すことができる。組織学的所見（詳細な動物ファイルを参照）の全体的な結論は、抗生物質＋抗体の組合せにより抗生物質単独よりも感染関連臓器変化に対するきわめて良好な保護が得られるということである。これは特に、間質性肺炎について言えるが、他の臓器変化についても言える。

【0106】

詳細な動物ファイル

1. 結果対照サル1：I-040

このサルには $\pm$ 2時間にわたり用量 3×10^9 CFU/kgの大腸菌が投与され、その直後にバイトリルが注入された。

臨床的症状：われわれは、心拍数の顕著な増大を確認したが（図1）、これは観察期間の終了時点できわめて変動性となった。われわれは、血圧の顕著な低下を確認した（図6）。

サイトカイン：細菌の注入は、きわめての高いレベルのIL-6およびTNF- α を誘導することがわかった（図11および12）。

10

20

30

40

50

血液学および血清化学：われわれは、実質的な白血球の減少を確認し、これは数日後（最初の測定5日）にのみ回復していた。血清乳酸濃度は、短期間中にわずかに減少しただけであった。種々のパラメータ、すなわちクレアチニン（一時的）、A S A T / A L A T、L D Hの血清レベルは通常の最大値を越えて上昇した。C P Kは明らかに上昇している。したがって、これらの高い値は、多臓器損傷を示し、これは病理学専門医の報告によって裏づけられる結論である。

【0107】

1. 組織学所見

肺：間質円形細胞～混合炎症性細胞浸潤（間質性肺炎）。少数の間質内および気管支周囲炎症性細胞浸潤、多発リンパ球性およびリンパ形質細胞濾胞性凝集、局所充血

10

心臓：反応性炎症性細胞浸潤を有する筋線維の多発性部分変性、およびリンパ球の局所血管凝集

脾臓：線維症の傾向を有する間質性線維芽細胞の数の増加、小数のリンパ球、および時おり間質に検出可能な好中球、

十二指腸：粘膜のリンパ形質細胞浸潤（加えて若干の単一好中球）。

食道：固有粘膜のリンパ形質細胞～混合炎症性細胞浸潤、管腔表面上の異なる形態（円形～細長い）表在細菌コロニー

気管：リンパ球の局所濾胞性凝集とともに固有粘膜のリンパ形質細胞から混合炎症性細胞浸潤

腋窩リンパ節：リンパ球および形質細胞による洞の濃縮

20

副腎（左）：皮質を浸潤する若干の単一好中球およびリンパ球

子宮内膜：少数のリンパ球、子宮の管腔に上皮下の好中球の局所的強化

脾臓：充血

腎臓：リンパ形質細胞～混合間質性炎症性細胞浸潤、糸球体炎の多発性徴候（メサンギウムの炎症性細胞浸潤を有する）、t u b u l u s l u m i n aにおいて検出可能な好酸球物質（ネフローゼの徴候）

肝臓：洞におけるリンパ球、形質細胞、および一部の好中球の広範性の存在

膀胱：固有粘膜において分散した少数のリンパ球

鼠径部リンパ節：検出可能な血管内の好中球の数の増加

頸部からの褐色脂肪組織：若干の単一リンパ球性間質性浸潤

30

【0108】

2. 結果対照サル2：V8V

サルI040の結果は、サルV8Vにおいて再現された。しかし、ここでは細菌の注入前1時間の平衡期間の心拍数レコーダを包含した。細菌は2時間にわたって注入し、その後1時間にわたってバイトリルを注入した。

臨床的症候：確認されるように、サルの心拍数（図2）は、細菌の注入に対して強く反応し、きわめて不規則であった。しかし、趨勢線は、I040と同様の曲線を示した。血圧の低下も同様であった（図7）。

サイトカイン：このサルの血清にはI-040と同様に高いレベルのI L - 6およびT N F - αが確認された（図11および12）。

40

血液学および血清化学：白血球数の減少およびその後の逆戻りが、このサルではI-040におけるよりもはるかに顕著であった。サルは鎮静から回復することはなく、最終的に、大腸菌の注入後12時間、午後9時に昏睡状態で屠殺された。種々のパラメータ、すなわちカリウム、クレアチニン、A S A Tの血清レベルは通常の最大値を越えて上昇した（ただし、A L A Tは上昇せず、C P Kは明らかに上昇している。したがって、これらの高い値は、多臓器損傷を示し、これは病理学専門医の報告によって裏づけられる結論である。

【0109】

組織学的所見

肺：局所充血、肺泡出血および肺泡水腫、混合炎症性細胞による間質の局所濃縮、リン

50

パ形質細胞～混合気管支周囲炎症性細胞浸潤、黒の色素が存在

腎臓：糸球体のメサングウムにおける混合炎症性細胞浸潤、局所メサングウム水腫、ボウマン（Bowman）腔における多発性のタンパク質を豊富に含む体液、尿細管上皮細胞の局所壊死

副腎（左）：局所出血、好中球を有する皮質の部分的に顕著なび慢性浸潤

肝臓：肝臓に一部分における肝実質細胞の微細～顕著な空胞化、洞様毛細血管の多発性の顕著な数、肝実質細胞の若干の単一細胞の変性、肝実質細胞における局所の金色色素の蓄積

心筋層：筋線維のヒアリン変性の局所的徴候

顎下腺：局所的間質性リンパ球浸潤

10

食道：固有粘膜における混合炎症性細胞浸潤、皮膚粘膜の管腔表面上の若干の細菌コロニー

脾臓：充血、小胞活性化

膵臓：線維芽細胞の間質性の数の局所的増加

腸管：リンパ球、およびリンパ球ノ形質細胞のほか、きわめて少ない単一好中球を有する粘膜の浸潤

気管：部分的充血、好中球の顕著な浸潤を有する上皮の部分的損失

胃：び慢性表在出血、粘膜の局所的混合炎症細胞浸潤

卵管：少数の粘膜のリンパ球および好中球浸潤

腸間膜リンパ節：小胞のわずかな活性化

20

副腎（右）：好中球を有する部分的に顕著なび慢性浸潤

卵巢：多発性の顕著な出血

子宮：腺の拡大、急性管腔充血および管腔出血、子宮内膜のリンパ球浸潤

鼠径部リンパ節：小胞活性化のわずかな徴候

【0110】

3．結果D9D10処置サル1：RI007

臨床的症状：このサルは、D9D10処置にきわめて十分に反応した。心拍数は顕著に安定したままであり、血圧の劇的な変化は確認されなかった。

サイトカイン：TNF- α レベルは、抗IFN- γ 抗体のボーラス注入の3．5時間後に（対照サルI-040およびV8Vと比べ）顕著に減少した（図11）。IL-6レベルはほとんど減少しなかった（図12）。 30

血液学および血清化学：白血球数の減少および逆戻りが生じたが、乳酸レベルは比較的安定したままであった。臓器不全を示す血清化学の顕著な変化は確認されなかった。網状赤血球濃度の増加が5日の時点で確認されたが、これは低いヘマクリットを補償する可能性がある。

【0111】

組織学的所見

心臓：反応性の炎症性細胞浸潤を有する筋線維の多発性部分的変性

副腎（左）：骨髓における顕著なリンパ球浸潤、皮質における少しの単一好中球浸潤

脾臓：充血、小胞活性化

40

膵臓：局所好中球～混合炎症性細胞浸潤

腸管（結腸）：粘膜におけるリンパ形質細胞～混合炎症性細胞浸潤。！！注：（鞭毛）に付着した一部の寄生構造物

食道：皮膚固有粘膜における少しの混合炎症性細胞浸潤

肝臓：洞様毛細血管のリンパ球増多症、または混合炎症細胞存在を有する多発性限局性区域

腸間膜リンパ節：二次性小胞の存在

腎臓：多発性間質性リンパ球細胞浸潤、ヒアリン化による多発性メサングウム変性およびメサングウムにおける炎症性細胞の存在

肺：間細胞浸潤、気管支周囲のリンパ小節、黒色色素の分布、混合気管支周囲炎症性細胞 50

胞浸潤、局在性無気肺、局所的拡張不全

副腎（右）：髓質および皮質性のリンパ球性および好中性ノリンパ球性炎症細胞浸潤

鼠径部リンパ節：二次性小胞の存在

脳：皮質の限局性区域の多発性出血

【0112】

4. 結果D9D10処置サル2：RI008

臨床的症状：このサルは、最初の用量のD9D10に対して最適下に反応した、肺水腫の症候が確認された。したがって、観察期間の終了時に、D9D10の「救出注射」を投与した。臨床的基準は肺疾患、呼吸困難および痙攣であった。このサルは麻酔から完全に回復し、問題なしであるように思われた。心拍数（図4）および血圧（図9）の記録により、危機は抗生物質注射後に生じたことが確認される。しかし、特に、救出注射後に、このサルの健康状態はきわめてよかった。

サイトカイン：サルRI-077において確認されたように、TNF- α レベルは、抗IFN- γ 抗体のボーラス注射の3.5時間後に（対照サルI-040およびV8Vと比べ）顕著に減少したが、IL-6レベルはほとんど減少しなかった（図12）。

血液学および血清化学：このサルについても、白血球の減少および逆戻りが確認されたが、また処置関連の乳酸の変化については確認されなかった。ASATおよびALATの血清レベルは、24時間の時点でのみ通常範囲外に上昇した。網状赤血球濃度の増加が日中確認されたが、これは低いヘマクリットを補償する可能性がある。

【0113】

組織学的所見

肝臓：少数の門脈周囲のリンパ球。好中球の局所的な小凝集

胆のう：時おり小胞状に配置された少数の粘膜リンパ球。粘膜において検出可能な単一の形質細胞および好中球はきわめてすくない。

リンパ節：二次性小胞（活性化の徴候）、わずかに水腫性洞。

胃：局所的リンパ小節の配置を有する粘膜におけるリンパ形質細胞浸潤

腸管：胃と同じであり、加えて粘膜に検出可能な好中球はきわめて少ない

肺：炭肺、局所的な一部の好中球浸潤が気管支周囲に存在

脾臓：充血、二次性小胞

膵臓：輸出管の粘膜におけるわずかなリンパ形質細胞浸潤

子宮ノ卵管：子宮内膜ノ粘膜に分散された若干の単一リンパ球

気管：多発性のより好中球性の特徴を有する粘膜ノ粘膜下組織におけるわずかな混合細胞浸潤

腎臓：少量の間質性リンパ球浸潤

腎盂：少量の上皮下リンパ球浸潤

【0114】

5. 結果D9D10処置サル3：I063

臨床的症状：このサルについても抗体処置に対する最適下の反応が確認された。大腸菌の注入の終了にかけて、痙攣が確認されたが、肺水腫は認められなかった。したがって、救出注射をバイトリルの注入直前に投与した。臨床的基準は、確認された痙攣と顕著に加速した心拍数（図5）であった。その他の臨床的問題は確認されず、サルは麻酔から十分に回復した。心拍数（図5）データにより、敗血性ショックが発症したことが確認される。血圧は安定したままであった（図10）。

サイトカイン：TNF- α およびIL-6レベルは、抗IFN- γ 抗体のボーラス注射の3.5時間後に（対照サルI-040およびV8Vと比べ）顕著に減少した（図11および12）。

血液学および血液生化学：このサルについても、白血球の減少および逆戻りが確認されたが、また処置関連の乳酸の変化については確認されなかった。臓器不全を示す唯一上昇した血清マーカーは、クレアチニンであった。その上昇は4~24時間で一時的であった。網状赤血球濃度の増加が日中確認されたが、これは低いヘマクリットを補償する可能性

10

20

30

40

50

がある。

【0115】

組織学的所見

肺：中等度の充血、炭肺、多発性細気管支周囲リンパ小節の存在

肝臓：多発性円形細胞浸潤が検出可能であり、ある場所では炎症性細胞の肉芽種性様外観。

腸管：時おり一部の好中球といっしょに粘膜の中等度のリンパ形質細胞浸潤

腎臓：乏局所的に検出可能な間質性リンパ球浸潤

心筋層：筋線維の局所的に検出可能な部分的壊死を有する乏局所的リンパ球～リンパ形質細胞浸潤

気管：きわめて少数のリンパ球および局所混合炎症性上皮細胞

脾臓：充血、二次性小胞として現れるリンパ小節は少ない

病理学専門医からの注意：動物 R i 0 0 7 における組織病理学的所見は、注意して判定されるべきであるが、それは、実際に健康な動物には存在しえない鞭毛が腸管に確認されたためである。おそらく、この動物は免疫力が低下しており、このため、R i 0 6 3 では検出可能ではなく、また R i 0 0 8 では検出可能でない肺の変性が生じたのである。

【0116】

実施例 2

グラム陰性およびグラム陽性種に対する致死ヒヒザルにおけるインターフェロン - ガンマに抗体仲介性中和の有利な効果

次の実験では、われわれは、菌血性ショックに対するヒヒザルモデルにおける D 9 D 1 0 の有効性を判定している。この致死モデルでは、グラム陰性（大腸菌）菌またはグラム陽性（黄色ブドウ球菌）菌のいずれかによって、菌血性ショックが誘導される。

【0117】

本試験の主要評価項目は、菌血性ショックに対するこの致死ヒヒザルにおける動物の生存に対する D 9 D 1 0 の効果を確認することである。

【0118】

副次的評価項目は、ヒヒの血液動態反応、および臓器損傷 / 不全の予防に対する D 9 D 1 0 の効果を検討することである。これは臓器の組織病理学および臨床化学 / 血液学によって測定される。

【0119】

実施例 3

D 9 D 1 0 免疫化に対するアカゲザルの R A M A 反応は認められない

グラム陰性致死下種モデルとの関連で、マウス抗ヒト I F N - γ D 9 D 1 0 の注射は、アカゲザル抗マウス抗体（R A M A）反応を誘導することはない。

【0120】

アカゲザル抗 D 9 D 1 0 抗体反応は、実施例 1 の D 9 D 1 0 処置動物で測定された。異なる時点（観察期間中、2 日、5 日、および 7 日目）で採取した血清サンプルの系列希釈物を D 9 D 1 0 被覆プレートへの結合について E L I S A で試験した。アカゲザル抗 D 9 D 1 0 抗体の検出は、A P - 標識ウサギ抗サル I g G で行った。これらの動物の血清には R A M A 反応は検出されなかった。

【0121】

実施例 4

D 9 D 1 0 免疫化に対するマーモセットの M A M A 反応は認められない

マーモセットサルにおけるマウス抗ヒト I F N - γ m A b の注射は、マーモセット抗マウス抗体（M A M A）反応を誘導することはない。

【0122】

目的は、マーモセットサルにおけるマウス抗ヒト I F N - γ m A b D 9 D 1 0 の投与後の M A M A 反応を判定することであった。D 9 D 1 0 m A b は、1 m g / k g の濃度で動物（n = 2）に静脈内注射した。D 9 D 1 0 の注射後 1 5 日目に採取した血清サン

10

20

30

40

50

ブルのMAMA反応レベルを測定した。血清サンプルの系列希釈物をD9D10被覆プレートへの結合についてELISAで試験した。マーマセット抗D9D10抗体の検出は、AP-標識ウサギ抗サルIgGで行った。これらの動物の血清にはMAMA反応は検出不可能であった。

【0123】

実施例5

重篤な敗血症/敗血性ショックに対する疾患モデルにおける抗IFN- γ の有効性。

本試験の目的は、毒性の大腸菌株を使用する致死下グラム陰性誘導アカゲザル敗血症モデルにおいて同時処置として投与された中和抗IFN- γ モノクローナル抗体の有効性を判定することである。

10

【0124】

われわれは、異なる投与方式を使用し、かつ血清サンプルのより広範な分析が含まれている実施例1に記載された試験のための広範な実験を行った。本試験により、結果としてもたらされる多臓器病変が最小限であり、かつ一部の敗血症関連生理学的パラメータに対する最大の影響を有する最適化された投与方式の確認が可能となる。

【0125】

結果

試験の概要

全動物を一夜絶食させた。実験当日の朝、動物をケタミン(テシンク(Tesink)、オランダ(The Netherlands))で鎮静化させ、手術室に輸送した。動物の側面を温度調節加熱パッド上に配置し、体温を支持した。Vet-OX4700を用いて直腸温度をモニタリングした。

20

動物に対し経口挿管し、自発呼吸させた。大腸菌の注入時および大腸菌のチャレンジ後6時間の観察期間中、O₂/N₂0/イソフラン吸入麻酔を用いて動物の麻酔を維持した。大腿静脈または橈側皮静脈にカニューレを挿入し、等張性生理食塩水を注入し、生きた大腸菌、および抗生物質を投与するために用いた。不感液体損失を2.5%グルコース(フレセニウス(Fresenius)、エスヘルトゲンボッシュ('s-Hertogenbosch)、オランダ(The Netherlands))を含有する等張性生理食塩水を3.3ml/kg/時の速度で注入することによって補償した。

【0126】

ディナマップ(Dinamap)バイタルサインモニター、1846SX型(クリチコン・インコープ(Critikon Incorp.))、米国、フロリダ州、タンパ(Tampa, FL, USA))を用いて5分間隔で血圧および心拍数を測定した。呼吸数および体温を15分毎に測定した。

30

【0127】

血液学、臨床化学、CFU、および内毒素/サイトカインレベルのための血液サンプルを異なる規定時点で採集した。

【0128】

全3匹のサルは、2時間の大腸菌の注入を受けた。大腸菌の注入開始後、t=30分の時点で、動物に対し、2mg/kg(動物1匹)または5mg/kg(動物2匹)のボーラス用量のマウスD9D10を静脈内投与した。2時間の大腸菌の注入完了直後、60分間、バイトリル(5mg/kg)を静脈内投与した。

40

【0129】

体重測定を試験前、0日目、血液サンプル採集のために動物を麻酔した1、3、5および7日目に行った。

【0130】

EDTA血漿サンプルおよびクエン酸血漿サンプルを、内毒素、マウスD9D10、RAMAレベル、およびPAI、t-PA、D-ダイマーレベルのそれぞれの測定値が送り出されるまで-80で保存した。

【0131】

50

血漿サンプル中のTNF- α 、IFN- γ 、IL-1 β 、IL-4、IL-6およびPAI-1、t-PAおよびD-ダイマーレベルのサイトカインレベルをELISAによって測定した。内毒素含量は、キネティックLALアッセイ(K-QCL試験、バイオウィッタカー(BioWhittaker))を用いて測定された。マウスD9D10レベルおよびRAMAレベルは、D9D10特異的ELISAを用いて測定された。

【0132】

試験の終了は、7日目に設定された。検死のために、サルをケタミンで深く鎮静化させ、ナトリウム-ペンタバルビタール、(ユーセサート(Euthesate)、アパルモ(Apharumo)、オランダ、ドゥイベン(Duiven, The Netherlands))の注入によって安楽死させた。全動物の検死を行い、内臓をインサイチュー

10

【0133】

全臓器の組織を、検死の継続期間である、動物を屠殺した後1時間以内にホルムアルデヒドの中性リン酸緩衝4%水溶液中に保存した。リンパ器官を切除し、胸郭開放直後に凍結保存した。全組織を組織学検査のために処理した。

【0134】

観察、分析、および測定

血液からの生きた大腸菌の回収は、これらのサルにおける菌血症が、同じ用量(3×10^9 CFU/kg)で同じ大腸菌株が用いられたことにもかかわらず、以前の試験(実施例1)よりも2~10倍高かったことを示す。

20

【0135】

しかし、D9D10の2mg/kgの1回量による処置は、大腸菌の注入によって誘導される臨床的ショック症状に対してアカゲザルを保護した。また、D9D10の5mg/kgによる処置は、2匹のアカゲザルにおいても保護的であることが示された。実験中に外面的な臨床的徴候が検出されなかったため、全3匹のサルには救出注射は必要であるとみなされなかった。

【0136】

血小板の増加は、感染および(全身性)炎症と関係がある。むしろ意外にも、全3匹の動物は、5日と7日での増加を示した。試験期間の終了時には、網状赤血球(赤血球生成活性を示す)および白血球の数も増加した。

30

【0137】

対照処置動物で確認された(実施例1を参照)臓器損傷に対する血清マーカーの顕著な変化は、依然として本試験のD9D10処置サルに存在している。しかし、組織学的所見の全体的な結論は、大腸菌の制御された静脈内適用に関して、顕著な化膿性の炎症病変は3匹の処置動物の組織には見出せない - すなわち、顕著な好中球 - 顆粒球浸潤または微小膿瘍は見出せない - が、敗血症に関連した炎症性変化は存在するということである。

【0138】

形態的特徴に基づき、動物に投与される抗体用量によれば、2mg/kgを受ける動物と5mg/kgを受ける動物とに間には明らかな違いを確認することができない。

【0139】

サイトカインの特徴は、TNF- α 、IL-6、IL-1の誘導を示した。これらのデータは、敗血症を示す。

40

【0140】

結論

得られる結果に基づき、2~5mg/kgマウスD9D10を用いたIFN- γ の中和は、グラム陰性敗血症および敗血性ショックの致死下霊長類動物モデルにおける介入の有効な様式であると結論づけることができる。

【0141】

実施例6

グラム陰性菌血性ショックの霊長類モデル(カニクイザル)におけるヒト化抗IFN- γ

50

m A b の有効性の治療的前臨床評価

本試験の目的は、臨床症候学の成果に対するグラム陰性菌血性ショックの致死性モデルにおける I F N - γ を中和することによって敗血症の治療の有効性を評価することである。

【 0 1 4 2 】

I F N - γ の阻害はすでに、病原への動物の曝露中、および臨床的反応の開始前に投与されると、サルにおける致死下グラム陰性誘発敗血症モデルの同時治療（抗生物質との併用）として有用であることが示されている（実施例 1 および 5 ）。

【 0 1 4 3 】

本試験は、臨床的に重要な投与スキーム、すなわち、臨床症候学の成果に対して投与されると、これがこの形態の菌血性ショックにおいて有効であるかどうかを問題にしている。 10

【 0 1 4 4 】

試験の主要評価項目は、菌血性ショックのモデルにおける動物の生存に対する試験品目（ヒト化抗 I F N - γ m A b ）の効果を確認することである。生存率は、14 日間の観察期間の終了時に対照群と試験群との間で比較される。

【 0 1 4 5 】

副次的評価項目は、サルの血液動態反応、および臓器損傷および／または不全の予防に対する試験品目の効果を検討することである。腎機能は、尿量およびクレアチニークリアランス測定値によって評価される。血液学的障害は、総および分画白血球数および血小板数、血液凝固の異常、凝固因子、および血液フィブリノーゲンおよびフィブリノーゲン分解産物濃度によって測定される。 20

【 0 1 4 6 】

他の臓器損傷は、組織病理学および臨床化学／血液学によって評価される。

【 0 1 4 7 】

致死性敗血症を有するカニクイザルの治療的処置

有効性試験を開始する前に、モデルを確立する。このために、敗血症を4匹のサル（1群）において誘導し、実験条件および細菌用量をチェックし、規定する。したがって、これらの条件は、対照群および処置群（2と3）において使用される。

【 0 1 4 8 】

【表 2】

群	動物の数	刺激品目 (cpu/kg)	試験品目 用量レベル (10mg/kg/日)
1	オスまたはメス4匹	1～5 × 10 ¹⁰	—
2	オスまたはメス5匹	1群で決定	—
3	オスまたはメス5匹	1群で決定	+

【 0 1 4 9 】

刺激品目は、細菌（大腸菌）の培養物である。細菌懸濁液は、大腸菌の所定濃度に従い、賦形剤の必要な容量での各投与前に新鮮培養物から調製される。細菌コロニー数の計算は、手順がさらに24時間の培養を必要とするため、各実験後に行われる。刺激品目は、1時間の血液動態安定ベースライン期間後に投与される。

【 0 1 5 0 】

30

40

50

試験品目と対照品目（PBS）は、最初の急速輸液が必要である場合に同時に投与される。これは、敗血症誘発血液動態障害が明らかである場合である（臨床モニタリングを参照）。投与は、1 mL / kg の容量で、30 秒間にわたる緩徐なボラス注射とする。各動物に投与される剤形の量は、試験当日の体重に従い調整される。この剤形は、1 日目に 1 回投与される。

【0151】

動物は、同性のペアによって使用される。各実験で、1 匹の動物に試験品目が投与され、他の 1 匹の動物が対照品目が投与される。投与およびフォローアップは、ブラインド方法で行われる。

【0152】

臨床モニタリング

敗血症誘導血液動態障害は、フォローアップ中の以下の評価項目のうち 2 つに合致することによって明らかにされる。

- ・ ベースラインと比べ 30 % 超の平均血圧の低下、
- ・ ベースラインと比べ 30 % 超の心拍数の上昇、
- ・ 1 mL / kg / 時未満の尿流量。

【0153】

各時点で、血液動態障害が確認され、動物は 10 mL / kg の生理食塩水の注射を受ける。また、サンプリングされた各血液量は、3 倍の生理食塩水の量で置き換えられる。

【0154】

初めて障害が確認されると、それも試験品目または対照品目の投与の合図である。動物は、細菌投与後 60 ~ 90 分以内の蘇生というこれら基準に合致する。

【0155】

動脈圧（収縮、拡張、および平均）、心拍数、直腸温度、および呼吸数は、刺激品目注射の少なくとも 1 時間前から 12 時間後まで、15 分毎に評価される。尿量は同じ期間中 30 分毎に定量化される。

【0156】

体重および体温は、試験前、敗血症の誘導日、試験終了まで週 2 回、記録される。

【0157】

採血

いくつかの指定時点で、血液サンプルが採取され、以下の血液レベルをモニタリングする。

- 抗 IFN - γ mAB
- サイトカイン（例えば、TNF - α 、IL - 6、IL - 1 β 、IFN - γ ）
- 補体因子（例えば、C5a、C3a、C5、C3）
- 凝固パラメータ（例えば、D - ダイマー、PAI - 1、t - PA）
- 血液生化学（例えば、クレアチニン、尿、アラニンアミノ - トランスフェラーゼ、CRP）
- 血液学（白血球数、赤血球、平均赤血球容積）

【0158】

サイトカイン、補体因子、凝固パラメータは、市販の ELISA を用いて測定される。血液生化学および血液学は、臨床の現場で公知であり、かつ当業者に利用可能な方法によって測定される。

【0159】

病理学

過剰な不快基準に合致し、または 14 日目の動物は安楽死される。完全な顕微鏡による検死が全試験動物について行われる。これには外部表面、全開口部、頭蓋腔、脳および脊髄の外部表面、その関連臓器および組織とともに胸腔、腹腔、および骨盤腔、およびその関連臓器および組織とともに頸部が含まれる。

【0160】

10

20

30

40

50

顕微鏡検査は、全動物について、組織手順表に記載された全組織で行われる。

【0161】

【表3】

臓器	臓器重量	組織の保存	顕微鏡検査
肉眼的病変		X	X
腎臓	X	X	X
肝臓	X	X	X
肺と気管支		X	X
リンパ節（下顎および腸間膜）			X
脾臓	X	X	X

10

【0162】

実施例7

敗血症特異的サイトカイン、凝固、および補体反応のインビトロ試験のための、敗血症、重篤な敗血症、または敗血性ショックなど敗血症状態を有する患者の血液サンプルの採集

本試験の目的は、血流中に放出される敗血症誘導成分、特にIFN-γの評価のために敗血症患者から血液サンプルを得ることである。

【0163】

20

敗血症は感染に対する全身性炎症である。敗血症およびその続発症は、内因性仲介物質によって仲介される感染に対する全身反応が、初期発作から離れた臓器における全身性炎症反応をもたらし、最終的に臓器内機能不全および/または障害をもたらす同じ疾患の進行性病期を示す。生存を改善する新しい努力により、臨床試験の登録基準を規定するために用いられる特定の診断基準の不確実性が強調された。血流中で測定される一部の指標は、敗血症の診断のために評価されている。全身炎症反応の重要かつ一定の要素は、血清中で急速に増大するサイトカインおよび急性期タンパク質の誘導および放出である。現行の努力は、敗血症の発症時に存在するサイトカインのバランスについて、このバランスが時間とともにどのように変化するか、また敗血症の発症または転帰のいずれかをより正確に予測するためにこれがどのように使用されうるか規定することに向けられるべきである。

30

【0164】

本試験では、サンプルは主に、敗血症患者におけるIFN-γおよび他のサイトカイン（例えば、TNF-α、IL1、IL6、およびIL8）の経時的な血清レベルを測定（例えばELISAによって）するために用いられる。さらに、循環におけるネオプテリン（Neopterin）などのIFN-γ、および単球上のHLA-DR発現（クアンチブライトテクノロジー（Quantibrite Technology）、ベクトンディッキンソン（Becton Dickinson）、ベルギー（Belgium））によって誘導されるマーカーが測定される。また、各サンプルでは、補体活性の産物、例えば、C1inh、C1q、C3、C3a、C4、C4a、C5、およびC5aも測定される。補体活性は、走化性、凝集、脱顆粒、および酸素ラジカル産生など好中球反応を促進する。

40

【0165】

対象およびサンプルの選択基準

患者は、24時間以内に、集中治療医学（Intensive Care Medicine）（マットット（Matott）とスプルング（Sprung）、2001年）およびクリティカル・ケア・クリニック（Critical Care Clinics）（バルク（Balk）、2000年）において規定された敗血症、重篤な敗血症、または敗血性ショックの基準に合致する場合には、適格である。この試験プロトコルにおける対照母集団は存在しない。

50

【0166】

患者は、年齢が18歳以下である場合、過去4週間の間に別の臨床試験に参加した場合、免疫抑制治療を受けている場合、クレアチニンレベルが 2 mg/dL を超え、かつ/または透析を必要する場合、または翌24時間を生存しないことが予想される場合には除外される。

【0167】

血液サンプル(EDTAチューブ、SSTチューブ、およびリチウムヘパリンサンプル)は定期的に、すなわち、試験算入後0、2、8、12、24、48、72、96、120、および144時間に採集される。サンプルは、 -70°C で保存され、またはその後の分析まで凍結される。

10

【0168】

結果

1.68歳の男性患者が緊急入院し、発熱(39.8° に上昇)、震せん、頻脈、および高血圧が認められた。頻脈および高血圧のため、患者は集中治療室に移された。尿感染が検出され、 μL 当たり7200の細菌を含む尿沈渣が認められた。尿路敗血症の診断がなされ、グラジジム(セフトジジム)およびアムキン(アミカシン)により抗生物質療法が直ちに開始された。血液分析は、炎症パラメータのわずかなかく乱を示し($\text{CRP } 2.2\text{ mg/dL}$ 、 $\text{WBC } 2360/\mu\text{L}$)、血液培養は、エンテロバクター・アエロゲネスによる感染を示した。

【0169】

翌朝、患者は依然として振戦および頻呼吸(>24 呼吸/分)を経験しており、血液分析は、 WBC 数($12470/\mu\text{L}$)および CRP 値(13 mg/dL)の上昇を示した。頻呼吸を伴う白血球増加症(SIRS)および膀胱の細菌感染は、尿路敗血症の明確な指標である。この診断の後、上述した採集プロトコルに従って最初の血液サンプルが採取された。血漿サンプルは、各採集後直ちに4の遠心分離によって調製し、分析まで -70°C で保存された。血清は、室温で、30~60分間の凝固後に血液サンプルの遠心分離によって調製され、サンプルは分析まで -70°C で保存された。

20

【0170】

IL-6およびIFN- γ 分析はそれぞれ、バイオソース(Biosource)IL-6EASIA(バイオソース ヨーロッパ(Biosource Europe)S.A.、ベルギー(Belgium))およびバイオトラック(BioTrak)アッセイ(高感度ELISA(0.1 pg/mL))、アマースハム バイオサイエンス(Amersham Biosciences)、英国(UK)を用いて行われた。結果は、図15に示されている。グラフは、IL-6のきわめて高い放出、および敗血症発作時のIFN- γ の高い血清濃度を示す。

30

【0171】

2.44歳の男性患者が集中治療室に運ばれ、交通事故後の下肢への外傷性損傷が認められた。3日後、外傷は依然として広範囲に滲出していた。ジナセフ(セフロキシム)による治療が開始された。数日後、患者は、疼痛の悪化、足の腫脹、および発熱を経験した。外傷の外観はきわめて変色しており、血のにじんだ排出物および悪臭が認められた。クレアチニンキナーゼ(CK)の血液レベルはきわめて急速に上昇した。 5529 U/L の最大CK濃度が測定された(正常上限値の200倍を超える)。血液分析はさらに、炎症パラメータ($\text{CRP } 25.6\text{ mg/dL}$ 、 $\text{WBC } 17140/\mu\text{L}$)の上昇を示したが、血液培養は陰性であった。ジナセフをオーグメンチン(アモキシシリン)およびシプロキシム(シプロフロキサシン)に切り替えた。患者の体温は再び上昇し(38.2°C)、これにより、白血球増加症とともに、敗血症の診断(明らかなまたは疑わしい感染を伴うSIRS)が明らかにされた。採集プロトコルに従って血液サンプルが採取された。血漿サンプルは、各採集後直ちに4の遠心分離によって調製し、分析まで -70°C で保存された。血清は、室温で、30~60分間の凝固後に血液サンプルの遠心分離によって調製され、サンプルは分析まで -70°C で保存された。第2の採血前に、左下肢の切断が行

40

50

われた。

【0172】

IL-6およびIFN- γ 分析はそれぞれ、バイオソース(BioSource)IL-6EASIA(バイオソース ヨーロッパ(BioSource Europe)S.A.、ベルギー(Belgium))およびバイオトラック(BioTrak)アッセイ(高感度ELISA(0.1 pg/ml)、アマースハム バイオサイエンス(Amersham Biosciences)、英国(United Kingdom))を用いて行われた。結果は、図16に示されている。グラフは、IL-6のきわめて高い放出、および敗血症発作時のIFN- γ の中等度の血清濃度を示す。下肢切断直後、IL-6およびIFN- γ 濃度は、WBC数およびCRP濃度とともに、急速に低下した。1日後、IFN- γ 濃度は再び上昇し、切断後2日に最大濃度(9.3 pg/ml)に達した。同時に、WBC数も再度上昇し、緑色連鎖球菌およびコアグラエゼ陰性ブドウ球菌が排泄の微生物学的培養に見出された。

10

【0173】

実施例8

敗血症状態(敗血症/重篤な敗血症/敗血性ショック)を有する患者における中和IFN- γ の有効性および安全性を評価する臨床試験:プロスペクティブ、無作為化、二重盲検、プラセボ対照、他施設臨床試験

18歳以上の男女の敗血症患者100人以上が試験に含まれた。

【0174】

患者は、静脈内投与(0.1~10 mg/kg)でのヒト化抗IFN- γ Ab(試験品目)またはプラセボのいずれかの1回量または複数回量を受けるように無作為に割り当てられた。試験品目は、敗血症患者に与えられる標準の医療に加えて投与される。試験品目の投与の直前および投与後の異なる時点で血液サンプルを得た。患者は試験品目の投与後28日間、またはそれ以前に死亡する場合は死亡まで、フォローアップされる。

20

【0175】

試験の主な目的は、バイタルサイン、検査データ、心臓モニター、パルスオキシメトリー、導尿カテーテル挿入、動脈および中心静脈カテーテル挿入、および疾患採点システム(例えば、APACHE II、SAPS II、MODS)の重篤度など標準の救命医療モニタリングを用いて敗血症患者における中和IFN- γ の有効性を評価することである。前向きに規定された主要評価項目は、試験薬投与開始後28日に評価された、任意の原因による死亡である。

30

【0176】

副次的目的は、敗血症患者における試験品目対プラセボの安全性を評価することである。患者は、有害な事象(例えば、臓器不全)、バイタルサインの変化、および以下の検査変数についてモニタリングされる。

- ・血液学(例えば、赤血球、ヘモグロビン、ヘマトクリット、白血球、血小板)、
- ・生化学(例えば、イオン、グルコース、総ビリルビン、尿素、クレアチニン、アルブミン、血漿乳酸、総タンパク、トリグリセリド、酵素、炎症マーカー(例えば、C-反応性タンパク質))、
- ・血液ガス-動脈(pH、 pO_2 、 pCO_2 、 O_2 飽和、重炭酸塩、塩基過剰)、
- ・尿検査(例えば、イオン、代謝物質(例えば、クレアチニン、尿素)、細胞(赤血球、白血球、扁平上皮細胞、移行上皮細胞、腫瘍性細胞)、混入物質(孢子、花粉、細菌異常増殖、糞便寄生虫、線維、でんぷん粒)、鑄造物、水晶、感染物質(カンジダ菌、細菌、真菌、ミクロフィラリア、尿路寄生体)、
- ・血液および他の体液の微生物学的培養。

40

【0177】

検査変数はすべて以下のルーチンの検査実務に従って分析される。

敗血症特異的マーカー:例えば、サイトカイン(例えば、IL-6、TNF α 、IFN- γ)、および補体因子(例えば、C3a、C4a)は、市販のELISAによって測定さ

50

れる。白血球膜マーカ（例えば、HLA-DR）は、FACSによって測定される。血液凝固マーカー（例えば、プロトロンビン時間、フィブリノーゲンが部分トロンボプラスチン時間、D-ダイマー、組織プラスミノゲン活性化因子、プラスミノゲン活性化因子抑制剤-1）は、ルーチンの検査実務に従って測定される。

【0178】

文献

アズベル (Ausubel) ら、(1987年)(1992年)(1993年)、分子生物学における最新のプロトコル (Current Protocols in Molecular Biology)、ウィリー インターサイエンス (Wiley Interscience)、ニューヨーク。

10

バルク (Balk) R. A.、(2000年)、重篤な敗血および敗血性ショック、Critical Care Clinics、16(2): pp. 179~192。

ベビラクア (Bevilacqua) M. P.、ポバー (Pober) J. S.、マジュ (Majeau) G. R.、ファイヤーズ (Fiers) W.、コトラン (Cotran) R. S.、ギブロン (Gimbrone) M. A. Jr.、(1986年)、組換え腫瘍壊死は培養ヒト血管内皮における凝血促進活性を誘導する (Recombinant tumor necrosis induces procoagulant activity in cultured human vascular endothelium): 特徴づけおよびIL-1の作用との比較 (characterisation and comparison with the actions of IL-1)、Proc Natl Acad Sci USA、(12)、pp. 4533-4537。

20

ビーンベヌ (Bienvenu) J.、ドシュ (Doché) C.、グトウスキー (Gutowski) M. C.、レノブル (Lenoble) M.、レパーペ (Lepape) A.、およびJ. P. ペドリックス (Perdrix)、(1995年)、TH1/TH2 均衡に關与する炎症促進サイトカインの産生はペントキシフィリンによって調節される (Production of proinflammatory cytokines involved in the TH1/TH2 balance is modulated by pentoxifylline)、J. Cardiovasc. Pharmacol.、(25)、pp. S80-S84。

30

ビリアウ (Billiau) A.、ヘレマンス (Heremans) H.、バンデケルヒコフ (Vandekerckhove) F.、およびC. ディレン (Dillen)、(1987年)、抗インターフェロン- γ 抗体は全身シュワルツマン反応に対してマウスを保護する (Anti-interferon- γ antibody protects mice against the generalized Shwartzman reaction)、Eur. J. Immunol.、(17)、pp. 1851-1854。

40

ビリアウ (Billiau) A.、バンデケルヒコフ (Vandekerckhove) F.、(1991年)、敗血症および敗血性ショックの病原におけるサイトカインおよび他の炎症仲介物質とのそれらの相互作用 (Cytokines and their interactions with other inflammatory mediators in the pathogenesis of sepsis and septic shock)、Eur J Clin Invest 21、(6)、pp. 559-73。

50

ビリアウ (Billiau) A.、(1996年)、インターフェロン - γ : 生物学および病原における役割 (Interferon - γ : biology and role in pathogenesis)、Advances in Immunology、(62)、pp. 61 - 130。

ボイシール (Boissier) M - C、チオッチア (Chiocchia) G.、ベシス (Bessis) N.、ハジュナル (Hajnal) J.、ガロット (Garotta) G.、ニコレッティ (Nicoletti) F.、および C. フォルニール (Fournier)、(1995年)、マウスコラーゲン誘導関節炎におけるインターフェロン - γ の二相性効果 (Biphasic effect of interferon - γ in murine collagen-induced arthritis)、Eur. J. Immunol.、(25)、pp. 1184 - 1190。 10

ボーン (Bone) R. C.、(1992年)、SIRS (全身炎症反応症候群) の疫学および自然歴に関して (Toward an epidemiology and natural history of SIRS (systemic inflammatory response syndrome))、JAMA、(101)、pp. 1481 - 1483。

ボレベック (Borrebaeck)、C. A. K.、(1992年)、抗体エンジニアリング (Antibody Engineering)、第2版、オックスフォード大学プレス (Oxford University Press)、オックスフォード。 20

ブックリン (Bucklin) S. E.、ラッセル (Russell) S. W.、および D. C. モリソン (Morrison)、(1994年)、LPS 致死性の病原における IFN - γ の関与 (Participation of IFN - γ in the pathogenesis of LPS lethality) Bacterial Endotoxins: Basis Science to Anti-Sepsis Strategies、pp. 399 - 406、ワイリー - リス (Wiley - Liss)。 30

キャンベル (Campbell) A. M.、(1984年)、生物化学および分子生物学におけるモノクローナル抗体技法 (Monoclonal Antibody Technology Techniques in Biochemistry and Molecular Biology)、エルセビル サイエンス パブリッシャーズ (Elsevier Science Publishers)、オランダ、アムステルダム。

コリガン (Colligan) J. E.、クルイスピーク (Kruisbeek) A. M.、D. H. マルグリース (Margulies) D. H.、(1992年) (1993年)、免疫学における最新のプロトコル (Current Protocols in Immunology)、グリーン パブリッシング アソシエーション アンド ワイリー インターサイエンス (Green Publishing Association and Wiley Interscience)、ニューヨーク。 40

コンクリング (Conkling) P. R.、グリーンベルグ (Greenberg) C. S.、およびワインベルグ (Weinberg) J. B.、(1988年)、腫瘍壊死因子はヒト白血病細胞株 U937 および末梢血単球における組織因子様活性を誘導する (Tumor necrosis factor induces tissue factor-like activity in human leukemia cel 50

l line U937 and peripheral blood monocytes)、Blood、(72)、pp.128-133。

ドセントグロス(de St. Groth)F.、およびD.シャイデガー(Scheidegger)、(1980年)、モノクローナル抗体の産生：方法と戦略(Production of monoclonal antibodies: strategy and tactics)、J. Immunol. Methods、(35)、pp.1-21。

デンツ(Denz)H.、オルト(Orth)B.、ワイス(Weiss)G.、ヘルマン(Herrmann)R.、フーバー(Huber)P.、ワクター(Wachter)H.、およびD.フックス(Fuchs)、(1993年)、血液腫瘍患者における体重減少は免疫系刺激と関係がある(Weight loss in patients with hematological neoplasias is associated with immune system stimulation)、Clin. Investig.、(71)、pp.37-41。 10

ドヘルティ(Doherty)G.M.、ランゲ(Lange)J.R.、ラングシュタイン(Langstein)H.N.、アレクサンダー(Alexander)H.R.、ブレッシュ(Buresh)C.M.、およびJ.A.ノルトン(Norton)、(1992年)、内毒素および腫瘍壊死因子- α の仲介物質としてのIFN γ の証拠(Evidence for IFN γ as a mediator of the lethality of endotoxin and tumor necrosis factor- α)、J. Immunol.、(149)、pp.1666-1670。 20

ダスチン(Dustin)M.L.、シンガー(Singer)K.H.、タック(Tuck)D.T.、およびT.A.スプリング(Springer)、(1988年)、Tリンパ芽球の表皮性角化細胞への接着はインターフェロン- γ によって調節され、細胞内接着分子1(ICAM-1)によって仲介される(Adhesion of T lymphoblasts to epidermal keratinocytes is regulated by interferon- γ and is mediated by intercellular adhesion molecule 1 (ICAM-1))、J. Exp. Med.、(167)、pp.1323-1340。 30

エスモン(Esmon)C.T.、タイラー(Taylor)F.B. Jr.、スノー(Snow)T.R.、(1991年)、炎症と凝固：プロテインCによって仲介される一般経路を通じて潜在的に調節される結合過程(Inflammation and coagulation: linked processes potentially regulated through a common pathway mediated by protein C)、Thromb. Haemost.、(66)、pp.160-165。 40

フィシャー(Fisher)C.J. Jr.、アゴスティ(Agosti)J.M.、オパル(Opal)S.M.、ローリー(Lowry)S.F.、バルク(Balk)R.A.、サドフ(Sadoff)J.C.、アブラハム(Abraham)E.、シェイン(Schein)R.M.、およびE.ベンヤミン(Benjamin)、(1996年)、腫瘍壊死因子受容体による敗血性ショックの治療：Fc融合タンパク質(Treatment of septic shock with the tumor necr 50

osis factor receptor:Fc fusion protein)、可溶性TNF受容体敗血症研究グループ(The Soluble TNF Receptor Sepsis Study Group)、N. Engl. J. Med.、(334)、pp. 1697 - 1702。

フリードマン(Freedman) A. S.、フリードマン(Freeman) G. J.、リンハルト(Rhynhart) K.、およびL. M. ナドラー(Nadler)、(1991年)、インターフェロン-ガンマ刺激単球でのB7/BB-1の選択誘導:CD28経路によるT細胞活性の増幅に対する潜在的メカニズム(Selective induction of B7/BB-1 on interferon-gamma stimulated monocytes: a potential mechanism for amplification of T cell activation through the CD28 pathway)、Cell. Immunol.、(137)、pp. 429 - 437。

10

フロイエン(Froyen) G.、ロンセ(Ronsse) I.、およびA. ビリアウ(Billiau)、(1993年)、ヒトインターフェロン-γの生物活性を中和する一本鎖抗体フラグメント(SCFV)の細菌発現(Bacterial expression of a single-chain antibody fragment(SCFV) that neutralizes the biological activity of human interferon-γ.)、Mol. Immunol.、(30)、pp. 805 - 812。

20

ジリス(Gillies) S D、レイリー(Reilly) E B、ロ(Lo) K M、ライスフェルド(Reisfeld) R A、(1992年)、抗体ターゲティングされたインターロイキン2は自家腫瘍細胞のT細胞殺傷を刺激する(Antibody-targeted interleukin 2 stimulates T-cell killing of autologous tumor cells)、Proc Natl Acad Sci USA.、15、89(4)、pp. 1428 - 32。

30

ジリス(Gillies) S D、ラン(Lan) Y、ウェソロウスキー(Wesolowski) J S、キアン(Qian) X、ライスフェルト(Reisfeld) R A、ホルデン(Holden) S、スーパー(Super) M、ロ(Lo) K M、(1998年)、抗体IL-12融合タンパク質は前立腺および結腸癌転移のSCIDマウスも出るにおいて有効である(Antibody-IL-12 fusion proteins are effective in SCID mouse models of prostate and colon carcinoma metastases)、J Immunol.、160(12)、pp. 6195 - 203。

ゴルジンスキー(Gorczyński)、R. M、(1995年)、インビボのIFN-ガンマおよびIL-10合成の調節、および連続的抗原曝露は、マウス皮膚同種移植に対する耐性と関係がある(Regulation of IFN-gamma and IL-10 synthesis in vivo, as well as continuous antigen exposure, is associated with tolerance to murine skin allografts)、Cell. Immunol.、(160)、pp. 224 - 231。

40

ハルロー(Harlow) E.、デービッド(David) L. ら、(1988年)、抗体:実験マニュアル(Antibodies: A Laboratory Manual)、コールドスプリングハーバーパブリッシャーズ(Cold Spring

50

Harbor Publications)。

ヘレマン (Heremans) H.、ヴァン (Van) D. J.、ディレン (Dillen) C.、ジクマンス (Dijkmans) R.、およびピリアウ (Billiau) A.、(1990年)、インターフェロンガンマ、マウスにおける致死性リポ多糖誘導シュワルツマン様ショック反応の仲介物質 (Interferon gamma, a mediator of lethal lipopolysaccharide-induced Schwartzman-like shock reactions in mice)、J. Exp. Med. (171)、pp. 1853 - 1869。

10

ヒンシャー (Hinshaw) L B、ブラケット (Brackett) D J、アルチャー (Archer) L T、ベラー (Beller) B K、ウィルソン (Wilson) M F、(1983年)、致死性大腸菌注入中のヒヒにおける「ハイパーダイナミック状態」の検出 (Detection of the "hyperdynamic state" of sepsis in the baboon during lethal E. Coli infusion)、J Trauma、(23)、pp. 361 - 365。

ヒンシャー (Hinshaw) L B、エメルソン (Emerson) T E Jr、タイラー (Taylor) F B Jrら、(1992年)、霊長類における致死性黄色ブドウ球菌誘導ショック：抗-TNF抗体による予防 (Lethal Staphylococcus aureus-induced shock in primates: prevention of death with anti-TNF antibody)、J Trauma、(33)、pp. 568 - 573。

20

ホリガー (Holliger) P.、T. プロスペロ (Prospero)、および G. ウィンター (Winter)、(1993年)、糖尿病：小さな二価および二重特異性抗体フラグメント (Diabodies: small bivalent and bispecific antibody fragments)、Proc. Natl. Acad. Sci. USA、90(14)、p. 6444。

30

ハーレ (Hurlle) M. R.、および M. グロス (Gross)、(1994年)、抗体ヒト化のためのタンパク質エンジニアリング法 (Protein engineering techniques for antibody humanization)、Curr. Opin. Biotech.、(5)、pp. 428 - 433。

イリアダス (Iliades) P.、コルト (Kortt) A. A.、および P. ハドソン (Hudson)、(1997)、三重特異性抗体：リンカーなしの一本鎖 Fv フラグメントは三価三量体を形成する (Triabodies: single chain Fv fragments without linker form trivalent trimers)、FEBS Letters、(409)、pp. 437 - 441。

40

イワガキ (Iwagaki) H.、ヒズタ (Hizuta) A.、タナカ (Tanaka) N.、および K. オリタ (Orita)、(1995年)、感染および癌悪液質の評価の補助としての血漿ネオプテリン/C-反応性タンパク質比 (Plasma neopterin/C-reactive protein ratio as an adjunct to the assessment of infection and cancer cachexia)、Immunol. Investig.、(24)、pp. 479 - 487。

50

ヤコブ (Jacob) C . O . 、ホロシッツ (Holoshitz) J . 、ヴァン デルマイデ (Van Der Meide) P . 、ストローバー (Strober) S . 、および H . O . マックデビット (McDevitt) 、 (1989 年) 、アジュバント関節炎における IFN - γ の異種効果 (Heterogeneous effects of IFN - γ in adjuvant arthritis .) J . Immunol . 、 (142) 、 pp . 1500 - 1505 .

ケーラー (Koehler) G . 、および C . ミルシュタイン (Milstein) 、 (1975 年) 、所定の特異性の融合細胞分泌抗体の連続培養 (Continuous cultures of fused cells secreting antibody of predefined specificity) 、 Nature 、 (256) 、 p . 495 . 10

コルト (Kortt) A . 、ラー (Lah) M . 、オディ (Oddie) G . 、グルエン (Gruen) C . 、ブルンス (Burns) J . 、パース (Pearce) L . 、アトウェル (Atwell) J . 、マッコイ (McCoy) A . 、ハウレット (Howlett) G . 、メツガー (Metzger) D . 、ウェブスター (Webster) R . 、および P . ハドソン (Hudson) 、 (1970 年) 、5 - および 10 残基リンカーを含有する抗ニューラミダーゼ抗体 NC10 を含有する一本鎖 Fv フラグメントは二量体および 0 残基リンカーで三量体を形成する (Single-chain Fv fragments of anti-neuramidase antibody NC10 containing five- and ten-residue linkers form dimers and with zero-residue linker a trimer) 、 Prot . Eng . 、 (10) 、 p . 423 . 20

クオク (Kwok A . Y . C . 、ズー (Zu) X . 、ヤング (Yang) C . 、アルファ (Alfa) M . J . 、および F . T . ジェイ (Jay) 、 (1993 年) 、ヒトインターフェロン - γ はその抗ウイルス機能と関係のある 3 つのドメインを有する : ヒトインターフェロン - γ の中和エピトープタイピングスキーム (Human interferon - γ has three domains associated with its antiviral function : a neutralizing epitope typing scheme for human interferon - γ) 、 Immunology 、 (78) 、 p . 131 - 137 . 30

ランドルフォ (Landolfo) S . 、コファノ (Cofano) F . 、ジオバレリ (Giovarelli) M . 、プラット (Pratt) M . 、カバロ (Cavallo) G . 、および G . フオルニ (Forni) 、 (1985 年) 、インターフェロン - γ の阻害は、インビトロおよびインビボでの T リンパ球による同種移植活性を阻害する (Inhibition of interferon - gamma may suppress allograft reactivity by T lymphocytes in vitro and in vivo) 、 Science 、 (229) 、 pp . 176 - 179 . 40

ロースバッハ (Lorschbach) R . B . 、マルフィー (Murphy) W . J . 、ローエンシュタイン (Lowenstein) C . J . 、シナイダー (Snyder) S . H . 、および S . W . ラッセル (Russell) 、 (1993 年) 、腫瘍細胞殺傷のために活性化されたマウスマクロファージにおける一酸化窒素合成の発現 (Expression of the nitric oxide synthase gene in mouse macrophages activated for tumor cell killing) 、 J . Biol . Chem . 、 (268) 、 pp . 1908 - 50

1913。

マンディ (Mandi) Y.、ファークス (Farkas) G.、オクソフスキー (Ocsosvsky) I.、および Z. ナギー (Nagy)、(1995 年)、ペントキシフィリンによる腫瘍壊死因子産生および ICAM-1 発現の阻害：敗血症症候群における有利な効果 (Inhibition of tumor necrosis factor production and ICAM-1 expression by pentoxifylline : beneficial effects in sepsis syndrome)、Res. Exp. Med. (Berl)、(1995)、pp. 297 - 307。

10

マットット (Matott) I. とスプリング (Sprung) C. L.、(2001 年)、敗血症の定義 (Definition of sepsis)、Intensive Care Med、(27)、pp. S3 - S9。

メイフォース (Mayforth)、(1993 年)、抗体のデザイン (Designing antibodies)、アカデミック プレス (Academic Press)、サンディエゴ。

マックカルフェルティ (McCarthy) J.、フーゲンブーム (Hoogenboom) H. R.、およびチスウェル (Chiswell) D. J.、(1996 年)、抗体エンジニアリング：実際的アプローチ (Antibody Engineering : A practical approach)、オックスフォード大学プレス (Oxford University Press)、オックスフォード。

20

メンデツ (Mendez)、M. J.、L. L. グリーン (Green)、J. R. F. コルバレン (Corvalan)、X - C. ジア (Jia)、C. E. メイナルド - クリエ (Maynard - Currie)、X - D. ヤング (Yang)、M. L. ガロ (Gallo)、D. M. ルイ (Louie)、D. V. リー (Lee)、K. L. エリックソン (Erickson)、J. ルナ (Luna)、C. M. N. ロイ (Roy)、H. アブデラヒム (Abderrahim)、F. キルシュ (Kirschenbaum)、M. ノグチ (Noguchi)、D. H. スミス (Smith)、A. フクシマ (Fukushima)、J. F. ハレス (Hales)、M. H. ファイナー (Finer)、C. G. デービス (Davis)、K. M. ゼボ (Zsebo)、および A. ヤコボビッツ (Jakobovits)、(1997 年)、メガベースヒト免疫グロブリン部位の機能的移植片はマウスにおけるヒト抗体反応を再現する (Functional transplant of megabase human immunoglobulin loci recapitulates human antibody response in mice)、Nature genetics、(15)、p. 146。

30

40

ミートケ (Miethke) T.、ドゥシェク (Duschek) K.、ワール (Wahl) C.、ヘーグ (Heeg) K.、および H. ワグナー (Wagner)、(1993 年)、毒性ショック症候群の病原：超抗原 TSST-1 によって引き起こされる T 細胞仲介致死性ショック (Pathogenesis of the toxic shock syndrome : T cell mediated lethal shock caused by the superantigen TSST-1)、Eur. J. Immunol.、(23)、pp. 1494 - 1500。

ムラー (Muller) R.、(1983 年)、競合的ラジオイムノアッセイによる抗ヘプタン抗体の親和性および特異性の測定 (Determination of affinity

50

inity and specificity of anti-hapten antibodies by competitive radioimmunoassay) Methods Enzymol., (92), pp. 589 - 601.

オズメン (Ozmen) L., ペリシン (Pericin) M., ハキミ (Hakimi) J., チゾニッテ (Chizzonite) R. A., ワイソカ (Wysocka) M., トリンチエリ (Trinchieri) G., ゲートリー (Gately) M., および G. ガロッタ (Garotta), (1994年), インターロイキン12、インターフェロン γ 、および腫瘍壊死因子 α は全身性シュワルツマン反応の重要なサイトカインである (Interleukin 12, Interferon γ , and Tumor Necrosis Factor α Are the Key Cytokines of the Generalized Schwartzman Reaction), J. Exp. Med., (180), pp. 907 - 915. 10

オズメン (Ozmen) L., およびロマン (Roman) D., フォントウラスキス (Fountoulakis) M., シュミット (Schmid) G., レイフェル (Ryffel) B., および G. ガロッタ (Garotta), (1995年), 全身性紅斑性狼瘡の実験的療法: マウス可溶性インターフェロン- γ 受容体によるNZB/Wマウスの治療は糸球体腎炎の発症を抑制する (Experimental therapy of systemic lupus erythematosus: the treatment of NZB/W mice with mouse soluble interferon- γ receptor inhibits the onset of glomerulonephritis), Eur. J. Immunol., (25), pp. 6 - 12. 20

ペース (Pace) J. L., ラッセル (Russell) S. W., トレス (Torres) B. A., ジョンソン (Johnson) H. M., および P. W. グレイ (Gray), (1983年), 組換えマウス γ インターフェロンは腫瘍細胞殺傷のためのマクロファージ活性化におけるプライミングステップを誘導する (Recombinant mouse γ interferon induces the priming step in macrophage activation for tumor cell killing), J. Immunol., (130), PP. 2011 - 2013. 30

パニッチ (Panitch) H. S., ハーレイ (Halley) A. S., ヒルシュ (Hirsch) R. L., および K. P. ジョンソン (Johnson), (1986年), 多発性硬化症におけるインターフェロンガンマの臨床試験: 臨床的結果 (A trial of interferon gamma in multiple sclerosis: clinical results), Neurology, (36 (補遺1)), p. 285. 40

ボルヤック (Poljak) R. J., (1994年), 二重特性抗体の産生と構造 (Production and structure of diabodies), Structure, (2), pp. 1121 - 1123.

レドモンド (Redmond) HP, チャビン (Chavin) KD, ブロムベルグ (Bromberg) JS, ダリー (Daly) JM, (1991年), マクロファージ活性化サイトカインの阻害は急性敗血症反応において有利である (Inhibition of macrophage-activating cytokines is beneficial in the acute septic response), A 50

nn Surg、214(4)、pp.502-508。

ラインハルト (Reinhart) K.、ヴィーガンド・リオンネルト (Wiegand-Löhner) C.、グリミングー (Grimminger) F.、カール (Kaul) M.、ウィチントン (Withington) S.、トリーチャー (Treacher) D.、エックアルト (Eckart) J.、ウィラッツ (Willatts) S.、ボウツァ (Bouza) C.、クラウシュ (Krausch) D.、シュトケンフーバー (Stockenhuber) F.、アイゼルシュタイン (Eiselstein) J.、ダウム (Daum) L.、および J. ケムペニ (Kempeni)、(1996年)、敗血症および敗血性ショック患者におけるモノクローナル抗腫瘍壊死因子抗体フラグメント、MAK 195 Fの安全性および有効性の評価：他施設、無作為化、プラセボ-対照、用量変動試験 (Assessment of the safety and efficacy of the monoclonal anti-tumor necrosis factor antibody-fragment, MAK 195 F, in patients with sepsis and septic shock: a multicenter, randomized, placebo-controlled, dose-ranging study)、Crit. Care Med.、(24)、pp.733-742。 10

ログスカ (Roguska) M. A.、ペデルセン (Pedersen) J. T.、ケディー (Keddy) C. A.、ヘンリー (Henry) A. H.、サール (Searle) S. J.、ランベルト (Lambert) J. M.、ゴールドマッハー (Goldmacher) V. S.、ブレットラー (Blaettler) W. A.、リース (Rees) A. R.、および B. C. ギールド (Guild)、(1994年)、可変ドメイン再表面化によるマウスモノクローナル抗体のヒト化 (Humanization of murine monoclonal antibodies through variable domain resurfacing)、Proc. Natl. Acad. Sci. USA、(91)、pp.969-973。 20

ルビオ (Rubio) M. A.、ソチロス (Sotillos) M.、ヨヒムス (Jochims) G.、アルバレッツ (Alvarez) V.、および A. L. コルビ (Corbi)、(1995年)、単球活性化：リポ多糖およびインターフェロン- γ による $\alpha 1/\beta 1$ (VLA-1)の急速な誘導 (Monocyte activation: rapid induction of $\alpha 1/\beta 1$ (VLA-1) integrin expression by lipopolysaccharide and interferon- γ)、Eur. J. Immunol.、(25)、pp.2701-2705。 30

サハ (Saha) B.、ハーラン (Harlan) D. M.、リー (Lee) K. P.、ジュン (June) C. H.、および R. アベ (Abe)、(1996年)、CD28遺伝子のターゲティングされた破壊によって致死性毒性ショックに対する保護 (Protection Against Lethal Toxic Shock by Targeted Disruption of the CD28 Gene)、The Journal of Experimental Medicine、(183)、pp.2675-2680。 40

スナッパー (Snapper) C. M.、および W. E. パウル (Paul)、(1987年)、インターフェロン- γ およびB細胞刺激因子-1は相互的にIgイソタイプ産生を調節する (Interferon- γ and B cell stimulatory factor-1 reciprocally regulate Ig iso 50

type production)、Science、(236)、pp.944-947。

シュタインマン(Steinman)R.M.、ノグイエラ(Noguiera)N.、ウィトナー(Witmer)M.D.、タイディングス(Tydings)J.G.、およびI.S.メルマン(Mellman)、(1980年)、リンホカインは培養マウス腹膜マクロファージ上のIa抗原の発現および合成を増強する(Lymphokine enhances the expression and synthesis of Ia antigens on cultural mouse peritoneal macrophages)、J.exp.Med.、(152)、pp.1248-1261。 10

ストウトハルド(Stouthard)J.M.、レビ(Levi)M.、ハック(Hack)C.E.ら、(1996年)、インターロイキン-6はヒトにおける凝固を刺激するが、線維素溶解は刺激しない(Interleukin-6 stimulates coagulation, not fibrinolysis in humans)、Thromb Haemost.、(76)、pp.738-742。

スドヒル(Sudhir)P.、(1995年)、抗体エンジニアリングプロトコル(Antibody Engineering Protocols)、分子生物学における方法(Methods in Molecular Biology)、第51巻、ヒューマン プレス(Humana Press)、ニュージャージー。 20

タイラー(Taylor)FB Jr、エスモン(Esmon)CT、ヒンシャー(Hinshaw)LB、(1990年)、大腸菌敗血症のヒヒモデルにおける病期メカニズムおよび介入試験の要約(Summary of staging mechanism and intervention studies in the baboon model of E. coli sepsis)、J Trauma、(30)、pp.S197-S203。 30

トレイシー(Tracey)K.J.、(1991年)、敗血性ショック症候群の生物学における腫瘍壊死因子(カケクチン)(Tumor necrosis factor (cachectin) in the biology of septic shock syndrome)、Circ. Shock (35)、pp.123-128。

ファン デン オールド(Van den Oord)J.J.、ドレイ(De Ley)M.、およびC.ドウォルフ・ペータース(De Wolf-Peeters)、(1995年)、正常および乾癬皮膚におけるインターフェロン-ガンマ受容体の分布(Distribution of interferon-gamma receptors in normal and psoriatic skin)、Path. Res. Pract.、(191)530-534。 40

ワイスマン(Waisman)A.、P.J.ルイツ(Ruiz)、D.L. ヒルシュベルグ(Hirschberg)、A. ゲルマン(Gelman)、J.R. オクセンベルグ(Oksenberg)、S. ブロッケ(Brocke)、F. モル(Mor)、I. R. コーエン(Cohen)およびL. シュタインマン(Steinman)、(1996年)、T細胞受容体の可変部位遺伝子をコード化するDNAによる発病抑制ワクチン接種は自己免疫脳脊髄炎を予防し、Th2免疫を活性化する(Suppressive vaccination with DNA encoding a var 50

iable region gene of the T-cell receptor prevents autoimmune encephalomyelitis and activates Th2 immunity)、Nature Medicine、(2)、pp. 899 - 905。

ワカバヤシ(Wakabayashi)G.、ゲルファンド(Gelfand)J. A.、ブルケ(Burke)J. F.、トンプソン(Thompson)R. C.、およびC. A. ディナレロ(Dinarelllo)、(1991年)、インターロイキン-1の特異的受容体拮抗薬は、致死性菌血症中の大腸菌誘導敗血性ショックを予防する(A specific receptor antagonist for interleukin-1 prevents Escherichia coli-induced septic shock during lethal bacteremia)、Nature、(330)、pp. 662 - 664。 10

ホエリー(Wherry)J.、ウェンゼル(Wenzel)R.、ウンデリック(Underlik)R.ら、(1993年)、ヒト腫瘍壊死因子(TNF α MA b)に対するモノクローナル抗体：敗血症症候群患者における多施設有効性および安定性試験(Monoclonal antibody to human tumor necrosis factor (TNF α MA b): Multicenter efficacy and safety study in patients with sepsis syndrome)、第33回抗菌薬および化学療法に関する学術会議(ニューオリンズ)で発表、要旨696。 20

ゼニ(Zeni)F.、ペイン(Pain)P.、ビンジミアン(Vindimian)M.、ゲイ(Gay)J. P.、ゲリー(Gery)P.、ベルトラント(Bertrand)M.、ページ(Page)Y.、フェルメッシュ(Vermesch)R.、およびJ. C. ベルトラント(Bertrand)、(1996年)、敗血性ショック患者における循環サイトカイン濃度および血液動態に対するペントキシフェリンの効果：二重盲検、無作為化、プラセボ-対照試験の結果(Effects of pentoxifylline on circulating cytokine concentrations and hemodynamics in patients with septic shock: results from a double-blind, randomized, placebo-controlled study)、Crit. Care Med.、(24)、pp. 207 - 214。 30

チュー(Zhu)Z.、ザプタ(Zapata)G.、シャラバイ(Shalaby)R.、スネデコル(Snedecor)B.、チェン(Chen)H.、およびP. カーター(Carter)、(1996年)、(大腸菌からのヒト化二重特性抗体diabodyの高レベルの分泌(High level secretion of a humanized bispecific diabody from Escherichia coli)、Biotechnology、14)、pp. 192 - 196。 40

【図面の簡単な説明】

【0179】

【図1】図1は心拍数 - 対照動物I - 040を示す。

【図2】図2は心拍数 - 対照動物V8Vを示す。

【図3】図3は心拍数 - D9D10処置動物RI - 007を示す。

【図4】図4は心拍数 - D9D10処置動物RI - 008を示す。

【図5】図5は心拍数 - D9D10処置動物RI - 063を示す。

【図6】図6は血圧 - 対照動物I - 040を示す。

【図7】図7は血圧 - 対照動物V8Vを示す。

【図 8】図 8 は血圧 - D 9 D 1 0 処置動物 R I - 0 0 7 を示す。

【図 9】図 9 は血圧ま - D 9 D 1 0 処置動物 R I - 0 0 8 を示す。

【図 1 0】図 1 0 は血圧 - D 9 D 1 0 処置動物 R I - 0 6 3 を示す。

【図 1 1】図 1 1 は対照動物 (I - 0 4 0 および V 8 V) の血清および D 9 D 1 0 処置動物 (I - 0 0 7、I - 0 0 8、および R I - 0 6 3) の血清の T N F - α レベルを示す。

【図 1 2】図 1 2 は対照動物 (I - 0 4 0 および V 8 V) の血清および D 9 D 1 0 処置動物 (I - 0 0 7、I - 0 0 8、および R I - 0 6 3) の血清の I L - 6 レベルを示す。

【図 1 3】図 1 3 は対照動物 (I - 0 4 0 および V 8 V) の血液のコロニー形成単位

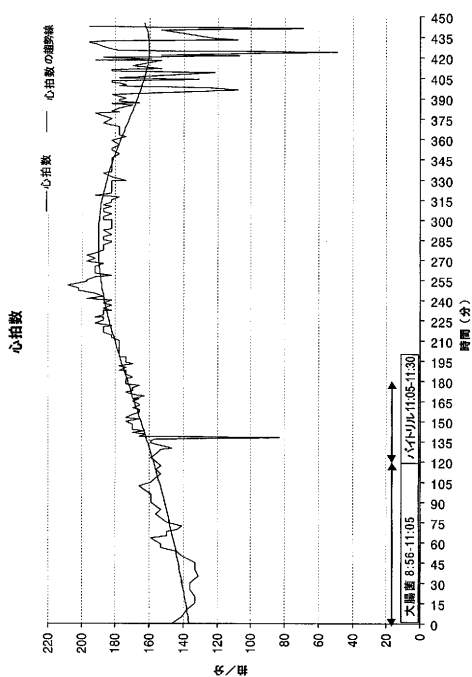
【図 1 4】図 1 4 は D 9 D 1 0 処置動物 (I - 0 0 7、I - 0 0 8、および R I - 0 6 3) の血液のコロニー形成単位を示す。

【図 1 5】図 1 5 は敗血症患者の I L - 6 および I F N - γ 血清濃度を示す。

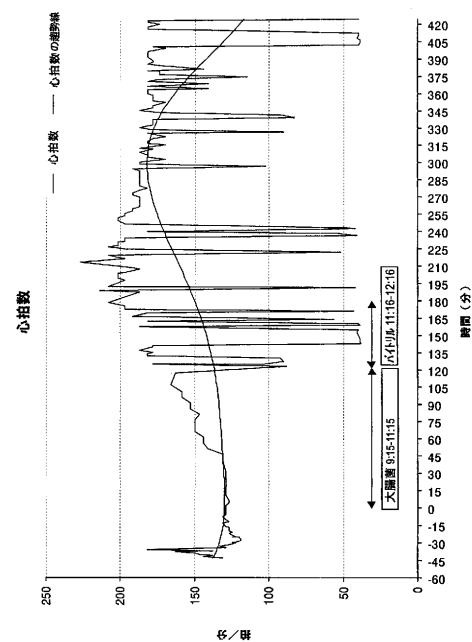
【図 1 6】図 1 6 は敗血症患者の I L - 6 および I F N - γ 血清濃度を示す。

10

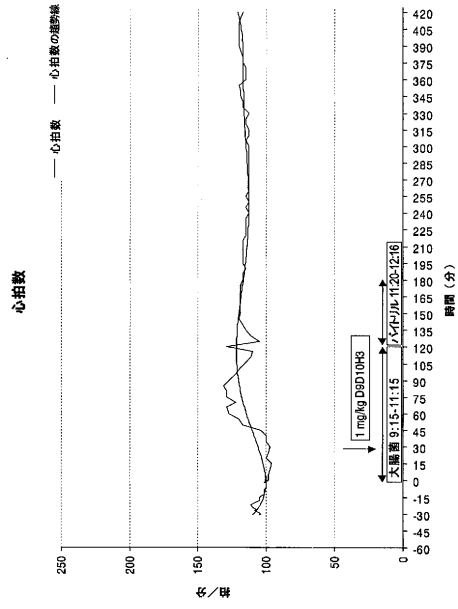
【図 1】



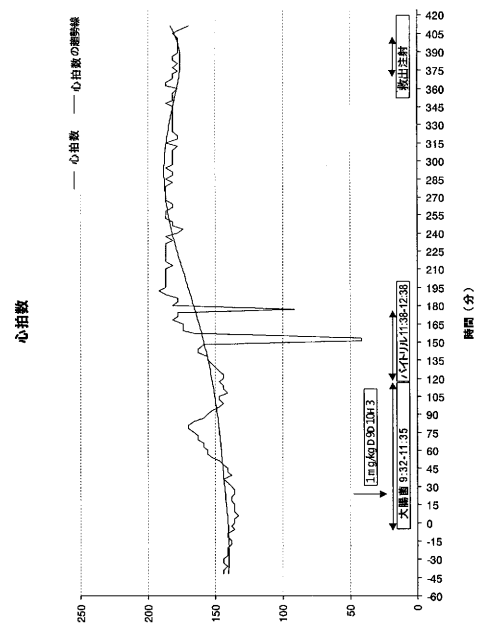
【図 2】



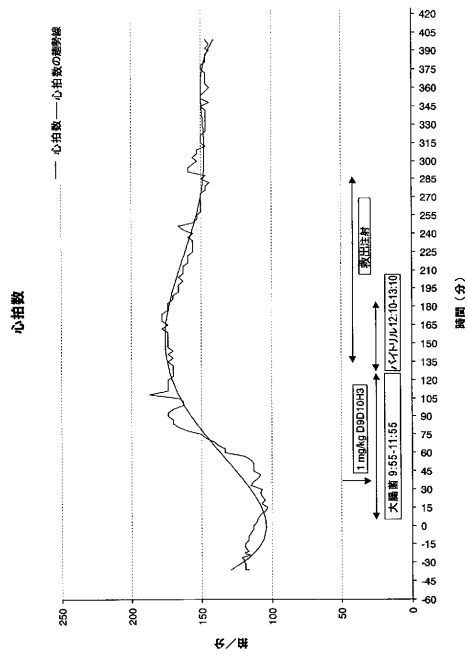
【図 3】



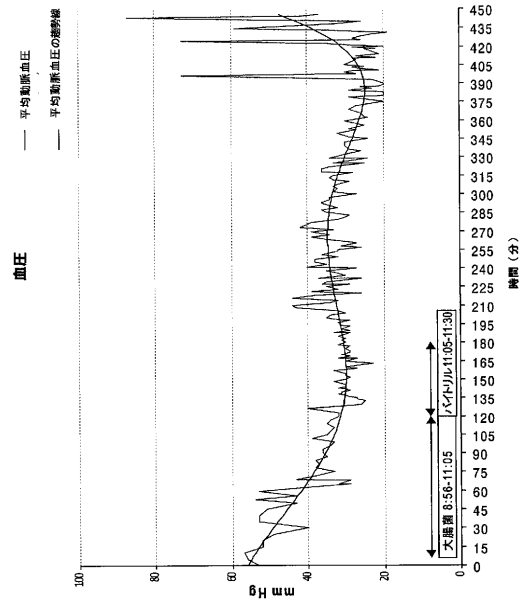
【図 4】



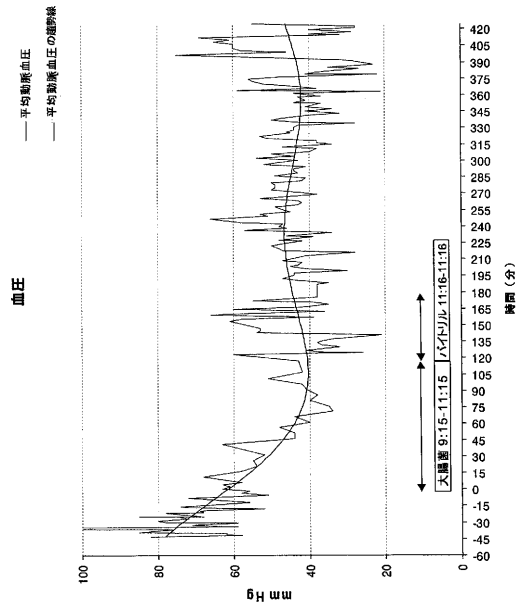
【図 5】



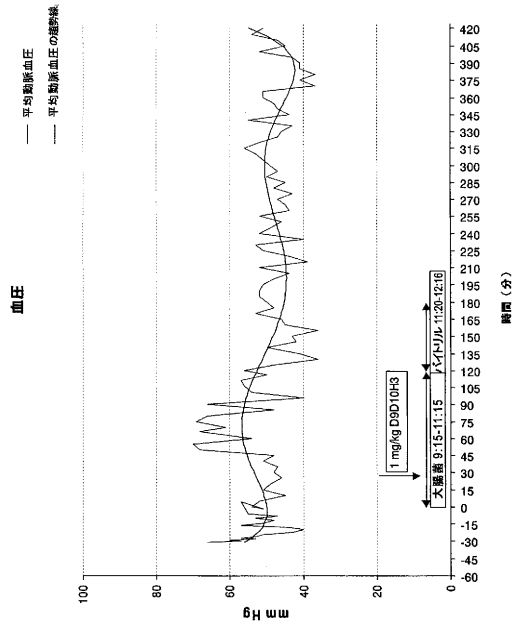
【図 6】



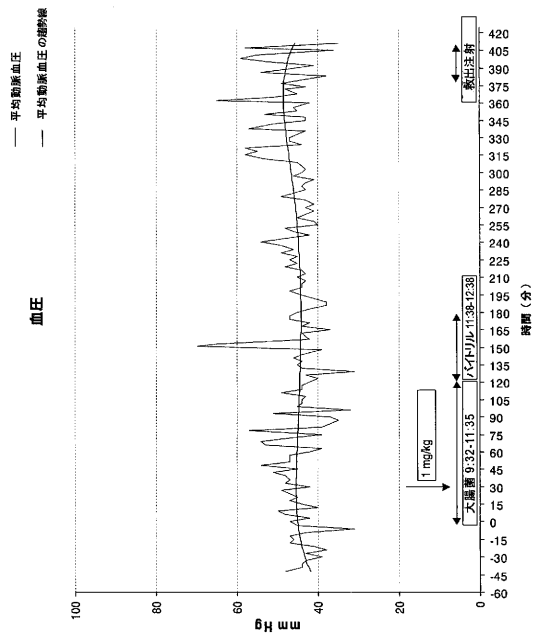
【 図 7 】



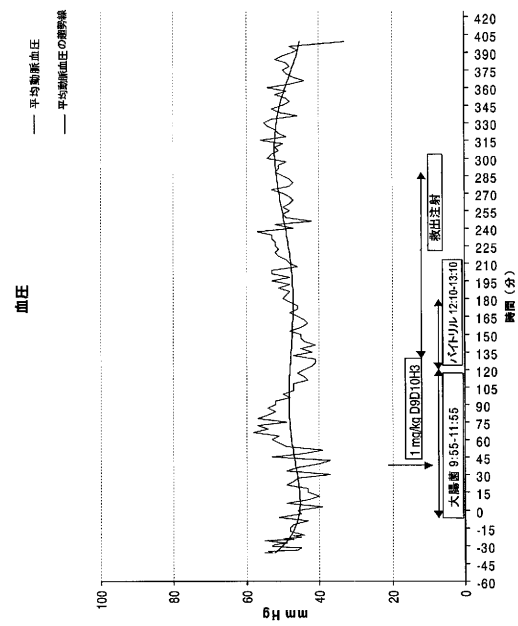
【 図 8 】



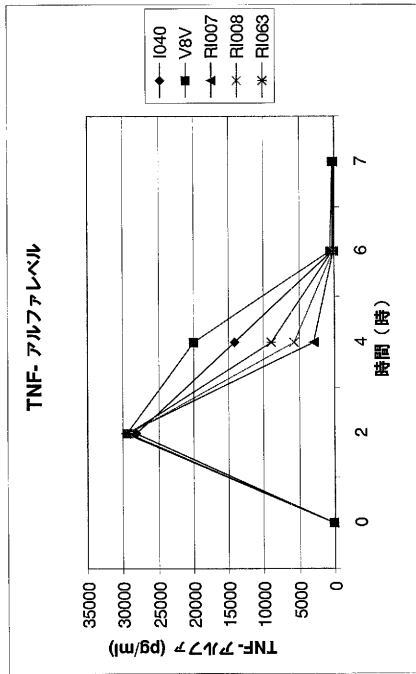
【 図 9 】



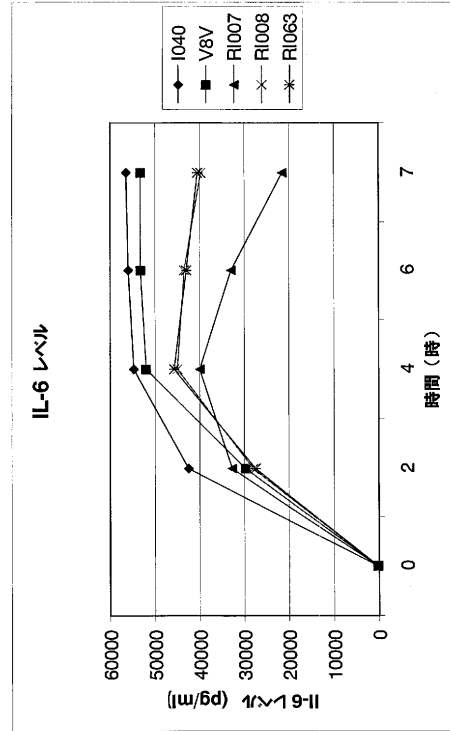
【 図 10 】



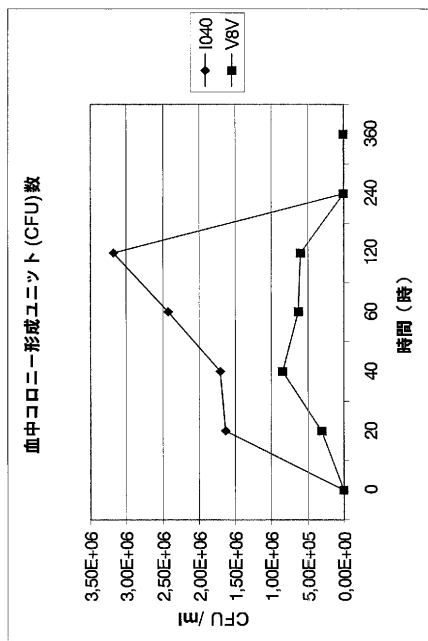
【図 1 1】



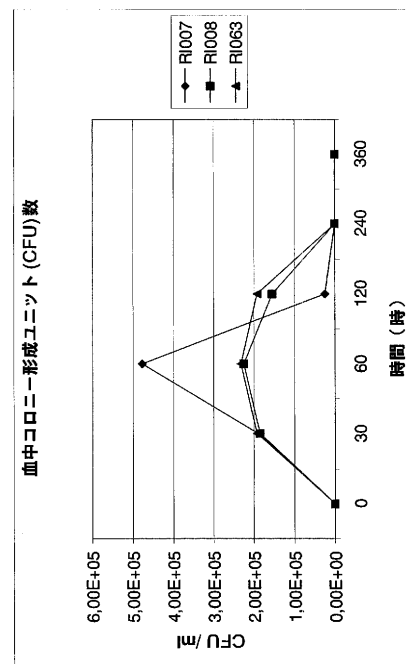
【図 1 2】



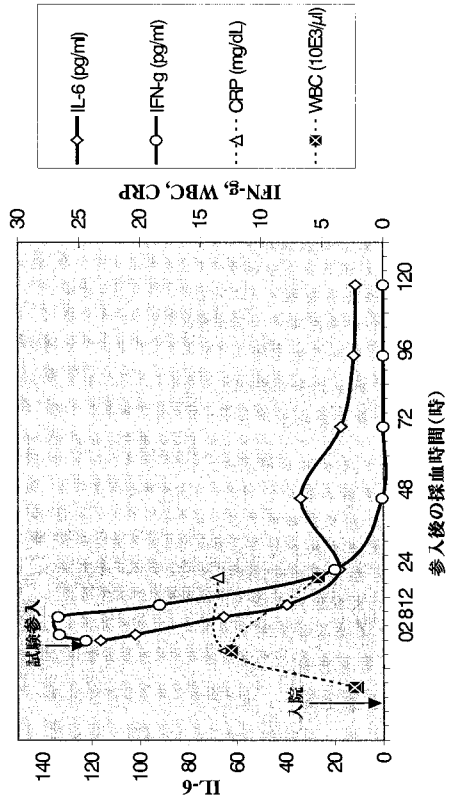
【図 1 3】



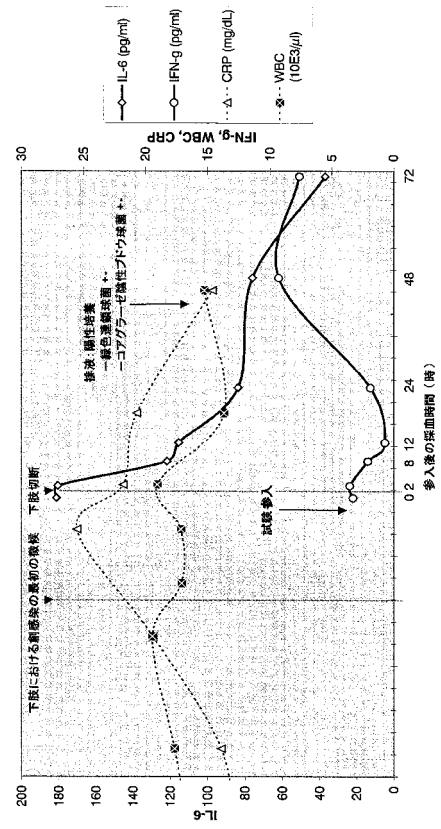
【図 1 4】



【図 15】



【図 16】



【国際調査報告】

5/6

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

(PCT Article 18 and Rules 43 and 44)

REC'D 01 APR 2003

WIPO PCT

Applicant's or agent's file reference 128 PCT	FOR FURTHER ACTION see Notification of Transmittal of International Search Report (Form PCT/ISA/220) as well as, where applicable, item 5 below.	
International application No. PCT/EP 02/13358	International filing date (day/month/year) 27/11/2002	(Earliest) Priority Date (day/month/year) 30/11/2001
Applicant INNOGENETICS N.V.		

This International Search Report has been prepared by this International Searching Authority and is transmitted to the applicant according to Article 18. A copy is being transmitted to the International Bureau.

This International Search Report consists of a total of 6 sheets.

☒ It is also accompanied by a copy of each prior art document cited in this report.

1. Basis of the report

- a. With regard to the **language**, the international search was carried out on the basis of the international application in the language in which it was filed, unless otherwise indicated under this item.

☐ the international search was carried out on the basis of a translation of the international application furnished to this Authority (Rule 23.1(b)).

- b. With regard to any **nucleotide and/or amino acid sequence** disclosed in the international application, the international search was carried out on the basis of the sequence listing:

☐ contained in the international application in written form.

☐ filed together with the international application in computer readable form.

☐ furnished subsequently to this Authority in written form.

☐ furnished subsequently to this Authority in computer readable form.

☐ the statement that the subsequently furnished written sequence listing does not go beyond the disclosure in the international application as filed has been furnished.

☐ the statement that the information recorded in computer readable form is identical to the written sequence listing has been furnished.

2. ☒ **Certain claims were found unsearchable** (See Box I).

3. ☐ **Unity of invention is lacking** (see Box II).

4. With regard to the **title**,

☐ the text is approved as submitted by the applicant.

☒ the text has been established by this Authority to read as follows:

THERAPEUTIC USE OF ANTIBODIES AND FRAGMENTS THEREOF BINDING PRIMATE IFN-GAMMA

5. With regard to the **abstract**,

☒ the text is approved as submitted by the applicant.

☐ the text has been established, according to Rule 38.2(b), by this Authority as it appears in Box III. The applicant may, within one month from the date of mailing of this international search report, submit comments to this Authority.

6. The figure of the **drawings** to be published with the abstract is Figure No.

☐ as suggested by the applicant.

☐ because the applicant failed to suggest a figure.

☐ because this figure better characterizes the invention.

☒ None of the figures.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International Application No.

PCT/EP 02/13358

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

IPC 7 C07K16/24 A61K39/395 A61P31/00 A61P37/00

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

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, MEDLINE

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category *	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	WO 99 09055 A (INNOGENETICS NV ;SABLON ERWIN (BE); BUYSE MARIE ANGE (BE)) 25 February 1999 (1999-02-25) page 8 -page 9 page 2, line 23 - line 31 figures 30-33 page 73 -page 75 claims 1-20 --- -/--	1-10

☒ 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

S document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search

27 March 2003

Date of mailing of the international search report

02/04/2003

Name and mailing address of the ISA

 European Patent Office, P.B. 5618 Patentlaan 2
 NL - 2280 HV Rijswijk
 Tel. (+31-70) 340-2040, Tx. 31 651 epo nl,
 Fax: (+31-70) 340-3016

Authorized officer

Lechner, O

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International Application No.
PCT/EP 02/13358

C.(Continuation) DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category *	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	FROYEN G ET AL: "Potential therapeutic use of antibodies directed towards HuIFN-gamma" BIOTHERAPY, KLUWER ACADEMIC PUBLISHERS, DORDRECHT, NL, vol. 10, 1997, pages 49-57, XP002067597 ISSN: 0921-299X page 49 page 50, left-hand column page 52, left-hand column, last paragraph -page 53, right-hand column, paragraph 1 page 54, right-hand column, paragraph 3 -----	1-10

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.
PCT/EP 02/13358**Box I Observations where certain claims were found unsearchable (Continuation of item 1 of first sheet)**

This International Search Report has not been established in respect of certain claims under Article 17(2)(a) for the following reasons:

1. ☒ Claims Nos.:
because they relate to subject matter not required to be searched by this Authority, namely:

Although claims 5-8 are directed to a method of treatment of the human/animal body, the search has been carried out and based on the alleged effects of the compound/composition.
2. ☒ Claims Nos.: 1-11 (only partially)
because they relate to parts of the International Application that do not comply with the prescribed requirements to such an extent that no meaningful International Search can be carried out, specifically:
see FURTHER INFORMATION sheet PCT/ISA/210
3. ☐ Claims Nos.:
because they are dependent claims and are not drafted in accordance with the second and third sentences of Rule 6.4(a).

Box II Observations where unity of invention is lacking (Continuation of item 2 of first sheet)

This International Searching Authority found multiple inventions in this international application, as follows:

1. ☐ As all required additional search fees were timely paid by the applicant, this International Search Report covers all searchable claims.
2. ☐ As all searchable claims could be searched without effort justifying an additional fee, this Authority did not invite payment of any additional fee.
3. ☐ As only some of the required additional search fees were timely paid by the applicant, this International Search Report covers only those claims for which fees were paid, specifically claims Nos.:
4. ☐ No required additional search fees were timely paid by the applicant. Consequently, this International Search Report is restricted to the invention first mentioned in the claims; it is covered by claims Nos.:

Remark on Protest

- ☐ The additional search fees were accompanied by the applicant's protest.
- ☐ No protest accompanied the payment of additional search fees.

International Application No. PCT/EP 02 13358

FURTHER INFORMATION CONTINUED FROM PCT/ISA/ 210

Continuation of Box I.2

Claims Nos.: 1-11 (only partially)

Present claims 1, 2, 5, 6, 9 relate to the use of an extremely large number of possible compounds, i.e. anti-IFN gamma molecules. Support within the meaning of Article 6, PCT and/or disclosure within the meaning of Article 5, PCT is to be found, however, for only a very small proportion of molecules claimed, i.e. antibodies and fragments, diabodies, triabodies scFV's, chimeric antibodies thereof that interact with and neutralize IFN gamma. In the present case, the claims so lack support, and the application so lacks disclosure, that a meaningful search over the whole of the claimed scope is impossible. Consequently, the search has been carried out for those parts of the claims which appear to be supported and disclosed, namely those parts relating to antibodies and fragments, diabodies, triabodies, scFV's, chimeric antibodies thereof that interact with and neutralize IFN gamma.

Additionally, claims 1, 3-5, and 7-11 relate to to an extremely large number of possible diseases or applications. A lack of clarity (and conciseness) within the meaning of Article 6, PCT arises to such an extent as to render a meaningful search of the claims impossible. Consequently, the search has been carried out for those parts of the application which do appear to be clear (and concise), namely the pathological conditions listed on page 20, line 16-22 of the description and in claim 2.

The applicant's attention is drawn to the fact that claims, or parts of claims, relating to inventions in respect of which no international search report has been established need not be the subject of an international preliminary examination (Rule 66.1(e) PCT). The applicant is advised that the EPO policy when acting as an International Preliminary Examining Authority is normally not to carry out a preliminary examination on matter which has not been searched. This is the case irrespective of whether or not the claims are amended following receipt of the search report or during any Chapter II procedure.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

International application No

PCT/EP 02/13358

Patent document cited in search report		Publication date	Patent family member(s)	Publication date
WO 9909055	A	25-02-1999	AU 9262598 A	08-03-1999
			WO 9909055 A2	25-02-1999
			EP 1015480 A2	05-07-2000
			US 6350860 B1	26-02-2002

フロントページの続き

(51)Int.Cl. ⁷	F I	テーマコード(参考)
A 6 1 P 17/06	A 6 1 P 17/00	
A 6 1 P 25/00	A 6 1 P 17/06	
A 6 1 P 29/00	A 6 1 P 25/00	
A 6 1 P 31/04	A 6 1 P 29/00	
A 6 1 P 37/02	A 6 1 P 29/00	1 0 1
A 6 1 P 37/06	A 6 1 P 31/04	
// C 0 7 K 16/24	A 6 1 P 37/02	
	A 6 1 P 37/06	
	C 0 7 K 16/24	

(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,IE,IT,LU,MC,NL,PT,SE,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,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,N O,NZ,OM,PH,PL,PT,RO,RU,SC,SD,SE,SG,SI,SK,SL,TJ,TM,TN,TR,TT,TZ,UA,UG,US,UZ,VC,VN,YU,ZA,ZM,ZW

(74)代理人 100127638

弁理士 志賀 美苗

(72)発明者 カトリーン・ローレ

ベルギー、ベー - 9 0 0 0ヘント、リーフェカーイ 1 2 番

(72)発明者 マリー - アンジュ・ピュイス

ベルギー、ベー - 9 8 2 0メレルベケ、エー・ロンセストラート 2 3 番

Fターム(参考) 4C084 AA17 NA14 ZA02 ZA68 ZA89 ZA96 ZB02 ZB05 ZB11 ZB15

ZB35 ZC54

4C085 AA13 AA14 BB11 CC21 DD62 DD63 EE01

4H045 AA11 AA30 DA18 DA75 EA20