(19)日本国特許庁(JP)　(12)公開特許公報(A)　(11)特許出願公開番号
特開2015-166366
(P2015-166366A)
(43)公開日　平成27年9月24日(2015.9.24)

(51)Int.Cl.		F I			テーマコード（参考）
C07K 16/24	(2006.01)	C07K	16/24	ZNA	4B024
C12N 15/09	(2006.01)	C12N	15/00	A	4B065
C12N 1/15	(2006.01)	C12N	1/15		4C085
C12N 1/19	(2006.01)	C12N	1/19		4H045
C12N 5/10	(2006.01)	C12N	5/00	101	

審査請求 有　請求項の数 1　OL　外国語出願　（全 72 頁）　最終頁に続く

(21)出願番号　特願2015-94577 (P2015-94577)
(22)出願日　平成27年5月7日 (2015.5.7)
(62)分割の表示　特願2011-514702 (P2011-514702)の分割
原出願日　平成21年6月10日 (2009.6.10)
(31)優先権主張番号　12/480,991
(32)優先日　平成21年6月9日 (2009.6.9)
(33)優先権主張国　米国 (US)
(31)優先権主張番号　61/073,430
(32)優先日　平成20年6月18日 (2008.6.18)
(33)優先権主張国　米国 (US)

(71)出願人　510149389
ブリストル－マイヤーズ・スクイブ・カンパニー
アメリカ合衆国ニュージャージー州０８５４０．プリンストン．ルート２０６・アンド・プロヴィンスラインロード
(71)出願人　593141953
ファイザー・インク
アメリカ合衆国１００１７ニューヨーク州ニューヨーク市イースト・フォーティーセカンド・ストリート２３５
(74)代理人　100127926
弁理士　結田　純次
(74)代理人　100140132
弁理士　竹林　則幸

最終頁に続く

(54)【発明の名称】ＩＬ－６に対する抗体及びそれらの使用

(57)【要約】　（修正有）
【課題】ヒトＩＬ－６に結合する抗体及びその抗原結合部分の提供。又この抗体及び抗原結合部分をコードする核酸、抗体及び抗原結合部分の作製方法。抗体又は抗原結合部分を含む組成物、並びに組成物の使用。
【解決手段】特定のアミノ酸配列で示されるＣＤＲ１、ＣＤＲ２、ＣＤＲ３領域を含む重鎖可変ドメインを含みヒトＩＬ－６に特異的に結合するヒトモノクローナル抗体及び抗原結合部分。
【選択図】なし

【特許請求の範囲】
【請求項１】
ａ）　配列番号５で示されるＶ$_H$ＣＤＲ１、配列番号６で示されるＶ$_H$ＣＤＲ２、及び配列番号７で示されるＶ$_H$ＣＤＲ３；
ｂ）　配列番号３５で示されるＶ$_H$ＣＤＲ１、配列番号６で示されるＶ$_H$ＣＤＲ２、及び配列番号７で示されるＶ$_H$ＣＤＲ３；
ｃ）　配列番号５で示されるＶ$_H$ＣＤＲ１、配列番号６で示されるＶ$_H$ＣＤＲ２、及び配列番号４１で示されるＶ$_H$ＣＤＲ３；
ｄ）　配列番号５で示されるＶ$_H$ＣＤＲ１、配列番号６で示されるＶ$_H$ＣＤＲ２、及び配列番号４４で示されるＶ$_H$ＣＤＲ３；並びに
ｅ）　配列番号５で示されるＶ$_H$ＣＤＲ１、配列番号６で示されるＶ$_H$ＣＤＲ２、及び配列番号４５で示されるＶ$_H$ＣＤＲ３；
からなる群より選択されるＣＤＲ１、ＣＤＲ２、及びＣＤＲ３領域を含む重鎖可変（Ｖ$_H$）ドメインアミノ酸配列を含み；
ヒトＩＬ－６に特異的に結合する、
単離されたヒトモノクローナル抗体又はその抗原結合部分。
【請求項２】
配列番号１６で示されるＶ$_L$ＣＤＲ１、配列番号１７で示されるＶ$_L$ＣＤＲ２、及び配列番号１８で示されるＶ$_L$ＣＤＲ３を含む軽鎖可変（Ｖ$_L$）ドメインアミノ酸配列をさらに含む、請求項１に記載の単離されたヒト抗体又は抗原結合部分。
【請求項３】
配列番号１６で示されるＶ$_L$ＣＤＲ１、配列番号１７で示されるＶ$_L$ＣＤＲ２、及び配列番号１８で示されるＶ$_L$ＣＤＲ３を含む軽鎖可変（Ｖ$_L$）ドメインアミノ酸配列を含み；
ヒトＩＬ－６に特異的に結合する、
単離されたヒト抗体又はその抗原結合部分。
【請求項４】
配列番号５で示されるＶ$_H$ＣＤＲ１、配列番号６で示されるＶ$_H$ＣＤＲ２、配列番号７で示されるＶ$_H$ＣＤＲ３、配列番号１６で示されるＶ$_L$ＣＤＲ１、配列番号１７で示されるＶ$_L$ＣＤＲ２、及び配列番号１８で示されるＶ$_L$ＣＤＲ３を含む、請求項２に記載の単離された抗体又はその抗原結合部分。
【請求項５】
配列番号４、配列番号２９、配列番号３４、配列番号３７及び配列番号４０からなる群より選択されるか、又は配列番号４、配列番号２９、配列番号３４、配列番号３７及び配列番号４０のいずれか１つと少なくとも１つの保存的アミノ酸置換を有することが異なるか、又は配列番号４、配列番号２９、配列番号３４、配列番号３７及び配列番号４０のいずれか１つと、配列番号４６と比較して生殖系列アミノ酸置換を少なくとも１つ有することが異なる、重鎖可変（Ｖ$_H$）ドメインアミノ酸配列を含み；
ヒトＩＬ－６に特異的に結合する、
単離されたヒトモノクローナル抗体又はその抗原結合部分。
【請求項６】
Ｖ$_H$ドメインが、配列番号４、配列番号２９、配列番号３４、配列番号３７及び配列番号４０のいずれか１つと、アミノ酸配列において少なくとも９０％同一である、請求項５に記載の抗体又はその抗原結合部分。
【請求項７】
配列番号１５からなる群より選択されるか、又は保存的アミノ酸置換を有することが配列番号１５と異なるか、又は配列番号４７と比較して生殖系列アミノ酸置換を有することが配列番号１５と異なる、軽鎖可変（Ｖ$_L$）ドメインアミノ酸配列を含み；
ヒトＩＬ－６に対して特異的に結合する、
単離されたヒトモノクローナル抗体又はその抗原結合部分。
【請求項８】

配列番号１５と、アミノ酸配列において少なくとも９０％同一であるV_Lドメインを含む、請求項７に記載の抗体又はその抗原結合部分。

【請求項９】

配列番号１５からなる群より選択されるか、又は保存的アミノ酸置換を有することが配列番号１５と異なるか、又は配列番号４７からなる群より選択されるそれらのそれぞれの生殖系列配列と比較して生殖系列アミノ酸置換を有することが配列番号１５と異なる、軽鎖可変（V_L）ドメインアミノ酸配列をさらに含む、請求項５に記載の単離されたヒトモノクローナル抗体又はその抗原結合部分。

【請求項１０】

抗体９Ｃ８、９Ｃ８　Ｎ６８Ｔ　Ｔ８３Ｓ、９Ｃ８　Ｅ３１Ｇ　Ｎ６８Ｔ　Ｔ８３Ｓ、９Ｃ８　Ｉ２４Ｖ　Ｎ６８Ｔ　Ｔ８３Ｓ、及び２２Ｂ５のV_L及びV_Hドメインと、それぞれアミノ酸配列において少なくとも９０％同一なV_L及びV_Hドメインを含み；

ヒトＩＬ－６に特異的に結合する、

単離されたヒトモノクローナル抗体又はその抗原結合部分。

【請求項１１】

ａ）　モノクローナル抗体９Ｃ８　ＩｇＧ１、９Ｃ８　ＩｇＧ２、９Ｃ８　Ｎ６８Ｔ　Ｔ８３Ｓ　ＩｇＧ１、９Ｃ８　Ｎ６８Ｔ　Ｔ８３Ｓ　ＩｇＧ２、９Ｃ８　Ｅ３１Ｇ　Ｎ６８Ｔ　Ｔ８３Ｓ　ＩｇＧ１、９Ｃ８　Ｅ３１Ｇ　Ｎ６８Ｔ　Ｔ８３Ｓ　ＩｇＧ２、９Ｃ８　Ｉ２４Ｖ　Ｎ６８Ｔ　Ｔ８３Ｓ　ＩｇＧ１、９Ｃ８　Ｉ２４Ｖ　Ｎ６８Ｔ　Ｔ８３Ｓ　ＩｇＧ２及び２２Ｂ５　ＩｇＧ１からなる群より選択される抗体の重鎖から独立して選択される、少なくとも１つの重鎖ＣＤＲ１、ＣＤＲ２及び／若しくはＣＤＲ３；又は

ｂ）　モノクローナル抗体９Ｃ８　ＩｇＧ１、９Ｃ８　ＩｇＧ２、９Ｃ８　Ｎ６８Ｔ　Ｔ８３Ｓ　ＩｇＧ１、９Ｃ８　Ｎ６８Ｔ　Ｔ８３Ｓ　ＩｇＧ２、９Ｃ８　Ｅ３１Ｇ　Ｎ６８Ｔ　Ｔ８３Ｓ　ＩｇＧ１、９Ｃ８　Ｅ３１Ｇ　Ｎ６８Ｔ　Ｔ８３Ｓ　ＩｇＧ２、９Ｃ８　Ｉ２４Ｖ　Ｎ６８Ｔ　Ｔ８３Ｓ　ＩｇＧ１、９Ｃ８　Ｉ２４Ｖ　Ｎ６８Ｔ　Ｔ８３Ｓ　ＩｇＧ２及び２２Ｂ５　ＩｇＧ１からなる群より選択される抗体の軽鎖から独立して選択される、少なくとも１つの軽鎖ＣＤＲ１、ＣＤＲ２及び／若しくはＣＤＲ３；又は

ｃ）　モノクローナル抗体９Ｃ８　ＩｇＧ１、９Ｃ８　ＩｇＧ２、９Ｃ８　Ｎ６８Ｔ　Ｔ８３Ｓ　ＩｇＧ１、９Ｃ８　Ｎ６８Ｔ　Ｔ８３Ｓ　ＩｇＧ２、９Ｃ８　Ｅ３１Ｇ　Ｎ６８Ｔ　Ｔ８３Ｓ　ＩｇＧ１、９Ｃ８　Ｅ３１Ｇ　Ｎ６８Ｔ　Ｔ８３Ｓ　ＩｇＧ２、９Ｃ８　Ｉ２４Ｖ　Ｎ６８Ｔ　Ｔ８３Ｓ　ＩｇＧ１、９Ｃ８　Ｉ２４Ｖ　Ｎ６８Ｔ　Ｔ８３Ｓ　ＩｇＧ２及び２２Ｂ５　ＩｇＧ１からなる群より選択される抗体の重鎖から独立して選択される少なくとも重鎖ＣＤＲ１、ＣＤＲ２及び／若しくはＣＤＲ３、並びにモノクローナル抗体９Ｃ８　ＩｇＧ１、９Ｃ８　ＩｇＧ２、９Ｃ８　Ｎ６８Ｔ　Ｔ８３Ｓ　ＩｇＧ１、９Ｃ８　Ｎ６８Ｔ　Ｔ８３Ｓ　ＩｇＧ２、９Ｃ８　Ｅ３１Ｇ　Ｎ６８Ｔ　Ｔ８３Ｓ　ＩｇＧ１、９Ｃ８　Ｅ３１Ｇ　Ｎ６８Ｔ　Ｔ８３Ｓ　ＩｇＧ２、９Ｃ８　Ｉ２４Ｖ　Ｎ６８Ｔ　Ｔ８３Ｓ　ＩｇＧ１、９Ｃ８　Ｉ２４Ｖ　Ｎ６８Ｔ　Ｔ８３Ｓ　ＩｇＧ２及び２２Ｂ５　ＩｇＧ１からなる群より選択される抗体の軽鎖から独立して選択される少なくとも１つの軽鎖ＣＤＲ１、ＣＤＲ２及び／若しくはＣＤＲ３を含み；

ヒトＩＬ－６に特異的に結合する、

単離されたヒトモノクローナル抗体又はその抗原結合部分。

【請求項１２】

配列番号３、配列番号２４、配列番号２８、及び配列番号３２からなる群より選択されるか、又は配列番号３、配列番号２４、配列番号２８、及び配列番号３２のいずれか１つと保存的アミノ酸置換を有することが異なるか、又は配列番号３、配列番号２４、配列番号２８、及び配列番号３２と、配列番号４６からなる群より選択されるそれらのそれぞれの生殖系列配列と比較して生殖系列アミノ酸置換を有することが異なる、アミノ酸配列を有する重鎖を含み；

ヒトＩＬ－６に特異的に結合する、

単離されたヒトモノクローナル抗体又はその抗原結合部分。

【請求項１３】
配列番号１４、配列番号２６及び配列番号４３からなる群より選択されるか、又は配列番号１４、配列番号２６及び配列番号４３のいずれか１つと保存的アミノ酸置換を有することが異なるか、又は配列番号１４、配列番号２６及び配列番号４３と、配列番号４７からなる群より選択される対応する生殖系列配列と比較して生殖系列アミノ酸置換を有することが異なる、アミノ酸配列を有する軽鎖を含み；
ヒトＩＬ－６に特異的に結合する、
単離されたヒトモノクローナル抗体又はその抗原結合部分。
【請求項１４】
ａ） 配列番号３のアミノ酸配列を有する重鎖及び配列番号１４のアミノ酸配列を有する軽鎖；
ｂ） 配列番号２４のアミノ酸配列を有する重鎖及び配列番号２６のアミノ酸配列を有する軽鎖；
ｃ） 配列番号２８のアミノ酸配列を有する重鎖及び配列番号２６のアミノ酸配列を有する軽鎖；並びに
ｄ） 配列番号３１のアミノ酸配列を有する重鎖及び配列番号１４のアミノ酸配列を有する軽鎖、
からなる群より選択される重鎖及び軽鎖を含む、単離されたヒトモノクローナル抗体又はその抗原結合部分。
【請求項１５】
重鎖アミノ酸配列が配列番号２８であり、そして軽鎖アミノ酸配列が配列番号２６である、請求項１４に記載の単離されたヒトモノクローナル抗体又はその抗原結合部分。
【請求項１６】
９Ｃ８、９Ｃ８ Ｎ６８Ｔ Ｔ８３Ｓ、９Ｃ８ Ｅ３１Ｇ Ｎ６８Ｔ Ｔ８３Ｓ、９Ｃ８ Ｉ２４Ｖ Ｎ６８Ｔ Ｔ８３Ｓ、及び２２Ｂ５からなる群より選択される抗体の、１つ若しくはそれ以上のV_H ＦＲ１、ＦＲ２、ＦＲ３若しくはＦＲ４及び／又はV_L ＦＲ１、ＦＲ２、ＦＲ３若しくはＦＲ４アミノ酸配列をさらに含む、請求項１、２、３、４、及び１１のいずれか１項に記載の単離されたモノクローナル抗体又はその抗原結合部分。
【請求項１７】
請求項１～１６のいずれか１項に記載の抗体又は抗原結合部分、及び薬学的に許容しうる担体を含む、医薬組成物。
【請求項１８】
請求項１～１６のいずれか１項に記載の抗体若しくは抗原結合部分、又は該抗体若しくは該抗原結合部分の重鎖若しくは軽鎖を産生する、単離された細胞株。
【請求項１９】
請求項１～１６のいずれか１項に記載の抗体をコードするヌクレオチド配列を含む、単離された核酸分子。
【請求項２０】
請求項１９に記載の核酸分子を含み、該核酸分子に作動可能に連結された発現制御配列を場合により含む、ベクター。
【請求項２１】
請求項２０に記載のベクター又は請求項１９に記載の核酸分子を含む、宿主細胞。
【請求項２２】
必要とする対象においてＩＬ－６仲介障害の症状を処置、予防又は軽減するための方法であって、該対象に請求項１～１６のいずれか１項に記載の抗体若しくは抗原結合部分、又は請求項１７に記載の医薬組成物を投与することを含む、上記方法。
【請求項２３】
対象が、炎症性疾患、アレルギー性疾患、自己免疫障害、移植片拒絶障害、アテローム性動脈硬化症、骨粗しょう症、神経障害性疼痛、２型糖尿病、慢性閉塞性肺疾患、多発性硬化症、敗血症、がん、及び線維症状態からなる群より選択される１つ又はそれ以上の状

態又は疾患を罹患している、請求項２２に記載の方法。
【請求項２４】
炎症性疾患が、関節リウマチ、若年性突発性関節炎、変形性関節症、全身性エリテマトーデス、強直性脊椎炎、乾癬、キャッスルマン病、クローン病、及び成人発症スチル病からなる群より選択される、請求項２３に記載の方法。
【請求項２５】
線維症状態が、肝線維症、腎線維症、及び肺線維症からなる群より選択される、請求項２３に記載の方法。
【請求項２６】
がんが、多発性骨髄腫、腎細胞がん、及びキャッスルマン病からなる群より選択される、請求項２３に記載の方法。
【発明の詳細な説明】
【技術分野】
【０００１】
関連特許及び特許出願に対する相互参照
本願は、米国仮出願第６１／０７３４３０号（２００８年６月１８日出願）の利益を主張する；これは参照によりその全体が本明細書に加入される。
【０００２】
共同研究契約
本明細書の開示及び特許請求の範囲は、特許請求された発明がなされた日付又はそれ以前に効力を有するＰｆｉｚｅｒ　Ｉｎｃ．とＭｅｄａｒｅｘ，Ｉｎｃとの間の共同研究合意の範囲内で行われた活動の成果としてなされたものである。
【０００３】
背景
本発明は、ヒトＩＬ－６に結合する抗体及びその抗原結合部分に関する。本発明はまた、このような抗体及びその抗原結合部分をコードする核酸；このような抗体及びその抗原結合部分を作製する方法；このような抗体又はその抗原結合部分を含む組成物；並びにこのような抗体又はその抗原結合部分の使用に関する。
【背景技術】
【０００４】
インターロイキン－６（ＩＬ－６）（インターフェロンＢ２（ＩＦＮＢ２）としても知られる）は、ｇｐ１３０リガンドのファミリーに属する多面性サイトカインであり、そしてＴリンパ球、線維芽細胞及び単球を含む多くの細胞型により産生される。ＩＬ－６は、低レベルで構成的に産生され、感染の刺激又は炎症性サイトカインにより容易に誘導される。ＩＬ－６は特異的受容体ＩＬ－６Ｒ（ｇｐ８０）に結合し、これは細胞に結合したｇｐ１３０又は可溶性ｇｐ１３０とヘテロ二量体化して機能的受容体複合体を形成する。その受容体へのＩＬ－６の結合は、ＪＡＫ－ＳＴＡＴ３経路及びｒａｓ媒介ＭＡＰキナーゼシグナル伝達の活性化を含む細胞事象を開始する。ＩＬ－６は、Ｂ細胞及び単球の増殖及び分化、Ｔ細胞活性化、造血発生、破骨細胞活性化、ケラチノサイト増殖、神経成長、肝細胞活性化及び肝細胞からの急性期タンパク質誘導のようなたくさんの様々な効果を惹起し得る。
【０００５】
ＩＬ－６は、全身性エリトマトーデス、多発性骨髄腫及びリンパ球増殖性障害において実証されるようなＢ細胞異常において重要な役割を果たす。同様に、ＩＬ－６はまた、関節リウマチ及び変形性関節症のような自己免疫疾患及び炎症性疾患の病理発生に関与する。近年、間接的な証拠により、ＩＬ－６と慢性閉塞性肺疾患と２型糖尿病におけるインスリン抵抗性との間の関係が示唆された。ＩＬ－６は、免疫系において炎症促進性及び抗炎症性の両方の作用を有しており、このサイトカインが、疾患に対する生理的応答の調節において中心的な役割を果たしているという可能性を示す。従って、ＩＬ－６を標的とすることは、種々の疾患領域において治療的利益をもたらす可能性があり得る。

【発明の概要】
【発明が解決しようとする課題】
【０００６】
ＩＬ－６の産生の増加が：アルツハイマー病、自己免疫疾患、例えば関節リウマチ、炎症、心筋梗塞、パジェット病、骨粗しょう症、肝線維症、固形腫瘍（腎細胞がん）、前立腺がん及び膀胱がん、神経系のがん、Ｂ細胞悪性疾患（例えば、キャッスルマン（Ｃａｓｔｅｌｅｍａｎ's）病、特定のリンパ腫、慢性リンパ性白血病、及び多発性骨髄腫）を含む多数の疾患において観察されている。研究により、ＩＬ－６がこれらの疾患の多く、特にがん及び関節リウマチの病理発生と関連していることが示されており、従ってＩＬ－６を遮断することは、臨床上の利益になるはずである。
【課題を解決するための手段】
【０００７】
要旨
ＩＬ－６に特異的に結合し、そしてＩＬ－６受容体アンタゴニストとして作用し得る単離された抗体又はその抗原結合部分、その抗体又は部分を含む組成物が提供される。
【０００８】
（ｉ）抗ＩＬ－６抗体の重鎖及び／若しくは軽鎖、それらの可変ドメイン若しくはその抗原結合部分、又はそれらをコードする核酸分子；並びに（ｉｉ）薬学的に許容しうる担体を含む組成物が提供される。本組成物は、治療剤又は診断剤のような別の成分をさらに含み得る。
【０００９】
診断方法及び治療方法もまた提供される。同様に、抗ＩＬ－６抗体及びその抗原結合部分が、炎症性及び非炎症性疾患を処置するための医薬の製造のために提供される。
【００１０】
本核酸分子を含むベクター及び宿主細胞、さらにはこれら核酸分子によりコードされるポリペプチドを組み換え産生する方法も提供される。
【図面の簡単な説明】
【００１１】
【図１ａ】それぞれの抗ＩＬ－６抗体９Ｃ８、９Ｃ８　Ｎ６８Ｔ　Ｔ８３Ｓ及び２２Ｂ５の重鎖及び軽鎖可変領域と比較した、重鎖及び軽鎖可変領域の生殖系列アミノ酸配列のアラインメントを示す（９Ｃ８、９Ｃ８　Ｎ６８Ｔ　Ｔ８３Ｓ、及び２２Ｂ５抗体についてはミスマッチのみを示す）。ＣＤＲに下線を付し、そしてミスマッチしたギャップはポンド記号（＃）で示される。
【図１ｂ】それぞれの抗ＩＬ－６抗体９Ｃ８、９Ｃ８　Ｎ６８Ｔ　Ｔ８３Ｓ及び２２Ｂ５の重鎖及び軽鎖可変領域と比較した、重鎖及び軽鎖可変領域の生殖系列アミノ酸配列のアラインメントを示す（９Ｃ８、９Ｃ８　Ｎ６８Ｔ　Ｔ８３Ｓ、及び２２Ｂ５抗体についてはミスマッチのみを示す）。ＣＤＲに下線を付し、そしてミスマッチしたギャップはポンド記号（＃）で示される。
【図１ｃ】それぞれの抗ＩＬ－６抗体９Ｃ８、９Ｃ８　Ｎ６８Ｔ　Ｔ８３Ｓ及び２２Ｂ５の重鎖及び軽鎖可変領域と比較した、重鎖及び軽鎖可変領域の生殖系列アミノ酸配列のアラインメントを示す（９Ｃ８、９Ｃ８　Ｎ６８Ｔ　Ｔ８３Ｓ、及び２２Ｂ５抗体についてはミスマッチのみを示す）。ＣＤＲに下線を付し、そしてミスマッチしたギャップはポンド記号（＃）で示される。
【図１ｄ】それぞれの抗ＩＬ－６抗体９Ｃ８、９Ｃ８　Ｎ６８Ｔ　Ｔ８３Ｓ及び２２Ｂ５の重鎖及び軽鎖可変領域と比較した、重鎖及び軽鎖可変領域の生殖系列アミノ酸配列のアラインメントを示す（９Ｃ８、９Ｃ８　Ｎ６８Ｔ　Ｔ８３Ｓ、及び２２Ｂ５抗体についてはミスマッチのみを示す）。ＣＤＲに下線を付し、そしてミスマッチしたギャップはポンド記号（＃）で示される。
【図１ｅ】それぞれの抗ＩＬ－６抗体９Ｃ８、９Ｃ８　Ｎ６８Ｔ　Ｔ８３Ｓ及び２２Ｂ５の重鎖及び軽鎖可変領域と比較した、重鎖及び軽鎖可変領域の生殖系列アミノ酸配列のア

ラインメントを示す（９Ｃ８、９Ｃ８　Ｎ６８Ｔ　Ｔ８３Ｓ、及び２２Ｂ５抗体についてはミスマッチのみを示す）。ＣＤＲに下線を付し、そしてミスマッチしたギャップはポンド記号（＃）で示される。

【図１ｆ】それぞれの抗ＩＬ－６抗体９Ｃ８、９Ｃ８　Ｎ６８Ｔ　Ｔ８３Ｓ及び２２Ｂ５の重鎖及び軽鎖可変領域と比較した、重鎖及び軽鎖可変領域の生殖系列アミノ酸配列のアラインメントを示す（９Ｃ８、９Ｃ８　Ｎ６８Ｔ　Ｔ８３Ｓ、及び２２Ｂ５抗体についてはミスマッチのみを示す）。ＣＤＲに下線を付し、そしてミスマッチしたギャップはポンド記号（＃）で示される。

【図２】電気化学発光免疫アッセイにより決定された、ビヒクル及び９Ｃ８　Ｎ６８Ｔ　Ｔ８３Ｓ　ＩｇＧ$_2$抗体についての総血清Ｃ反応性タンパク質（ＣＲＰ）を示す。各点は、ビヒクル又は抗ＩＬ－６抗体９Ｃ８　Ｎ６８Ｔ　Ｔ８３Ｓ　ＩｇＧ$_2$を０．５ｍｇ／ｋｇ及び５．０ｍｇ／ｋｇで投与された３匹のカニクイザルからの血清ＣＲＰの平均値（±ＳＥ）を表す。血清ＣＲＰを、Ｍｅｓｏ　Ｓｃａｌｅ　Ｄｉｓｃｏｖｅｒｙ（ＭＳＤ）により測定した。ＬＰＳを０時の時点で投与した。

【発明を実施するための形態】

【００１２】

詳細な説明

定義及び一般的な技術

用語「抗体」は免疫グロブリンと同義であり、そして当該分野で一般的に知られているように理解されるべきである。特に、用語抗体は、抗体を製造するいずれかの特定の方法に限定されない。例えば、用語抗体には、とりわけ、組み換え抗体、モノクローナル抗体及びポリクローナル抗体が含まれる。

【００１３】

基本的な抗体構造単位は四量体である。各々の四量体は、ポリペプチド鎖の２つの同一な対で構成され、各々の対は１つの「軽」（約２５ｋＤａ）鎖及び１つの「重」（約５０～７０ｋＤａ）鎖を有する。各鎖のアミノ末端部分は、主に抗原認識に関与する約１００～１２０又はそれ以上のアミノ酸の可変領域を含む。各鎖のカルボキシ末端部分は、主にエフェクター機能に関与する定常領域を規定する。ヒト軽鎖は、カッパ軽鎖及びラムダ軽鎖として分類される。重鎖は、ミュー、デルタ、ガンマ、アルファ又はエプシロンとして分類され、それぞれ抗体のアイソタイプをＩｇＭ、ＩｇＤ、ＩｇＧ、ＩｇＡ、及びＩｇＥと定義する。軽鎖及び重鎖内で、可変領域及び定常領域は、約１２又はそれ以上のアミノ酸の「Ｊ」領域により結合され、重鎖はまた約３又はそれ以上のアミノ酸の「Ｄ」領域も含む。

【００１４】

各重鎖／軽鎖対（V_H及びV_L）の可変領域は、それぞれ抗原結合部位を形成する。従ってインタクトなＩｇＧ抗体は、例えば２つの結合部位を有する。二機能性又は二重特異性抗体を除いて、２つの結合部位は同じである。

【００１５】

重鎖及び軽鎖の可変領域は、３つの超可変領域により結合された比較的保存されたフレームワーク領域（ＦＲ）（相補性決定領域又はＣＤＲとも呼ばれる）という同じ全体構造を示す。用語「可変」は、可変ドメインの特定の部分が、抗体間で配列において広く異なるということを指し、そしてその特定の抗原に関する各々特定の抗体の結合及び特異性において使用される。しかし可変性は、抗体の可変ドメイン全体を通して均一に分布していないが、より高度に保存されたＦＲにより隔てられるＣＤＲにおいて集中している。各対の２つの鎖からのＣＤＲをＦＲにより整列させて、特異的エピトープへの結合を可能にする。Ｎ末端からＣ末端へ、両方の軽鎖及び重鎖は、ドメインＦＲ１、ＣＤＲ１、ＦＲ２、ＣＤＲ２、ＦＲ３、ＣＤＲ３及びＦＲ４を含む。各ドメインへのアミノ酸の帰属は、Ｋａｂａｔ　Ｓｅｑｕｅｎｃｅｓ　ｏｆ　Ｐｒｏｔｅｉｎｓ　ｏｆ　Ｉｍｍｕｎｏｌｏｇｉｃａｌ　Ｉｎｔｅｒｅｓｔ（Ｎａｔｉｏｎａｌ　Ｉｎｓｔｉｔｕｔｅｓ　ｏｆ　Ｈｅａｌｔｈ，　Ｂｅｔｈｅｓｄａ，　Ｍｄ．（１９８７及び１９９１））、又はＣｈｏｔｈｉａ

＆Ｌｅｓｋ Ｊ．Ｍｏｌ．Ｂｉｏｌ．１９６：９０１－９１７（１９８７）；Ｃｈｏｔｈｉａ ｅｔ ａｌ．Ｎａｔｕｒｅ ３４２：８７８－８８３（１９８９）（これらの開示は参照により本明細書に加入される）の定義に従う。

【００１６】

本明細書で使用される、番号により言及される抗体は、同じ番号のハイブリドーマから得られるモノクローナル抗体と同じものである。例えば、抗ＩＬ－６モノクローナル抗体９Ｃ８は、ハイブリドーマ９Ｃ８から得られる抗体と同じもの、又はそのサブクローンである。

【００１７】

用語「類似体」又は「ポリペプチド類似体」は、いくつかの参照アミノ酸配列に対して実質的な同一性を有するセグメントを含み、参照アミノ酸配列と実質的に同じ機能又は活性を有するポリペプチドを意味する。典型的には、ポリペプチド類似体は、参照配列に対する１つ又はそれ以上の保存的アミノ酸置換（又は挿入若しくは欠失）を含む。類似体は、少なくとも２０又は２５アミノ酸長であり得、又は少なくとも５０、６０、７０、８０、９０、１００、１５０若しくは２００アミノ酸長もしくはそれ以上であり得、そしてしばしば全長ポリペプチドと同じ程度の長さであり得る。いくつかの実施態様は、参照アミノ酸配列からの１、２、３、４、５、６、７、８、９、１０、１１、１２、１３、１４、１５、１６又は１７の置換を有するポリペプチド類似体を含む。ある場合には、参照アミノ酸配列は生殖系列配列である。抗体又は免疫グロブリン分子の類似体は、当業者により容易に製造され得る。

【００１８】

本明細書において考察されるように、ＩＬ－６抗体又はその抗原結合部分に対するアミノ酸置換は、典型的には：（１）タンパク質分解に対する感受性を低減するか、（２）酸化に対する感受性を低減するか、（３）タンパク質複合体を形成するための結合親和性を変更するか、（４）グリコシル化のための部位を欠失若しくは作製するか、又は（４）このような類似体の物理化学的若しくは機能的特性を付与するか若しくは改変するが、以前としてＩＬ－６に対する特異的結合を維持するものである。

【００１９】

類似体は、通常存在するペプチド配列に対する種々の置換を含み得る。例えば、 単一又は複数のアミノ酸置換、好ましくは保存的アミノ酸置換は、通常存在する配列においてなされ得る。保存的アミノ酸置換は、典型的には親配列の構造的特徴を実質的に変えない。

【００２０】

抗体の用語「抗原結合部分」は、抗原（例えばＩＬ－６）に対して特異的に結合する能力を保持する抗体のフラグメントを指す。抗体の抗原結合機能は、全長抗体のフラグメントにより行われ得ることが示されている。抗体の用語「抗原結合部分」内に包含される結合フラグメントの例としては：（ｉ）V_L、V_H、C_L及びC_H1ドメインからなる一価フラグメントである、Ｆａｂフラグメント；（ｉｉ）ヒンジ領域においてジスルフィド架橋により連結された２つのＦａｂフラグメントを含む二価フラグメントである、Ｆ（ａｂ'）$_2$フラグメント；（ｉｉｉ）V_H及びC_H1ドメインからなるＦｄフラグメント；（ｉｖ）抗体のシングルアームのV_L及びV_HドメインからなるＦｖフラグメント；（ｖ）ドメイン抗体（ｄＡｂ）（Ｗａｒｄ ｅｔ ａｌ．、（１９８９）Ｎａｔｕｒｅ ３４１：５４４－５４６）（これはV_Hドメインからなる）；並びに（ｖｉ）単離された相補性決定領域（ＣＤＲ）が挙げられる。さらに、Ｆｖフラグメントの２つのドメイン（V_L及びV_H）は別々の遺伝子によりコードされるが、これらは、組み換え方法を使用して、それらをV_L及びV_H領域が対になって一価分子（単鎖Ｆｖ（ｓｃＦｖ）として知られる）を形成した単一のタンパク質鎖のようにすることができる合成リンカーにより結合することができる。このような単鎖抗体はまた、抗体の用語「抗原結合部分」内に包含されることを意図される。単鎖抗体の他の形態、例えば二特異性抗体（diabodies）もまた包含される。二特異性抗体は、V_H及びV_Lドメインが単一のポリペプチド鎖上に発現された二価の二重特異性

の抗体であるが、同じ鎖上の２つのドメイン間の対合を可能にするには短すぎるリンカーを使用して、それによりドメインが別の鎖の相補的ドメインと対合するようにさせて、２つの抗原結合部位を作っている。さらに、抗体由来の１つ又はそれ以上のＣＤＲを、より大きなポリペプチド鎖に組み込んでもよく、これは別のものに共有結合又は非共有結合で連結され得る。１つ又はそれ以上の結合部位を有する実施態様において、結合部位は互いに同一でも、異なっていてもよい。

【００２１】

なおさらに、抗体又はその抗原結合部分は、抗体又は抗体部分と１つ又はそれ以上の他のタンパク質又はペプチドとの共有結合又は非共有結合での会合により形成された、より大きな免疫粘着（ｉｍｍｕｎｏａｄｈｅｓｉｏｎ）分子の一部であり得る。このような免疫粘着分子の例としては、四量体ｓｃＦｖ分子を作るためのストレプトアビジンコア領域の使用、並びに二価のビオチン化されたｓｃＦｖ分子を作るためのシステイン残基、マーカーペプチド及びＣ末端ポリヒスチジンタグの使用が挙げられる。他の例としては、目的の抗原（例えばＩＬ－６）に特異的に結合するイムノアドヘシンにするために共有結合又は非共有結合のいずれかで抗体由来の１つ又はそれ以上のＣＤＲを分子に組み込む場合が挙げられる。このような実施態様において、ＣＤＲは、より大きなポリペプチド鎖の一部として組み込まれても、別のポリペプチド鎖に共有結合で連結されても、非共有結合で組み込まれてもよい。抗体部分（例えばＦａｂフラグメント及びＦ（ａｂ'）$_2$フラグメント）は、任意の適切な技術、例えばそれぞれ抗体全体のパパイン又はペプシン消化を使用して製造することができる。さらに、抗体、抗体部分及び免疫粘着分子は、種々の組み換えＤＮＡ技術を使用して得ることができる。

【００２２】

用語「キメラ抗体」は、２つ又はそれ以上の異なる抗体由来の領域を含む抗体（異なる種由来の抗体を含む）を意味する。例えば、キメラ抗体のＣＤＲの１つ又はそれ以上はヒトＩＬ－６抗体由来であり得る。一例では、ヒト抗体由来のＣＤＲを非ヒト（例えばマウス又はラット）抗体のＣＤＲと組み合わせることができる。別の例では、ＣＤＲの全てがヒトＩＬ－６抗体由来であり得る。別の例では、１より多くのヒトＩＬ－６抗体由来のＣＤＲをキメラ抗体において組み合わせることができる。例えば、キメラ抗体は、第一のヒトＩＬ－６抗体の軽鎖由来のＣＤＲ１、第二のヒトＩＬ－６抗体の軽鎖由来のＣＤＲ２、及び第三のヒトＩＬ－６抗体の軽鎖由来のＣＤＲ３を含み得、かつ重鎖由来のＣＤＲは１つ又はそれ以上の他のＩＬ－６抗体由来であり得る。さらに、フレームワーク領域は、ＣＤＲの１つ若しくはそれ以上が取られたＩＬ－６抗体の１つに由来しても、又は１つ若しくはそれ以上の異なるヒト抗体由来でもよい。さらに、用語「キメラ抗体」は、組み合わせがヒト及び非ヒト抗体を含む場合の上述の組み合わせのいずれかを含むことを意図される。

【００２３】

用語「競合する」は、第一の抗体、又はその抗原結合部分が、第二の抗体、又はその抗原結合部分と結合に関して競合することを意味し、ここで第一の抗体のその同族エピトープとの結合は、第二の抗体が存在しない場合の第一の抗体の結合と比較して、第二の抗体の存在下で検出可能に減少する。あるいは、第二の抗体のそのエピトープに対する結合もまた第一の抗体の存在下で検出可能に減少する場合もあり得るが、必ずしもそうなるわけではない。すなわち、第一の抗体は、第二の抗体が第一の抗体のそのそれぞれのエピトープに対する結合を阻害することなく、第二の抗体のそのエピトープへの結合を阻害し得る。しかし、各抗体が他の抗体のその同族エピトープ又はリガンドとの結合を検出可能に阻害する場合、同じ程度、より高い程度、又はより低い程度までのいずれであっても、それらの抗体はそれらそれぞれのエピトープの結合に関して互いに「交差競合する（ｃｒｏｓｓ－ｃｏｍｐｅｔｅ）」と言われる。このような競合又は交差競合が起こる機構（例えば、立体障害、コンホメーション変化、又は共通のエピトープ若しくはその部分への結合）に関わらず、当業者は、本明細書において提供される教示に基づいて、このような競合及び／又は交差競合する抗体が本明細書に開示される方法に有用であり得るということを理

解するだろう。

【００２４】

用語「保存的アミノ酸置換」は、アミノ酸残基が、類似した化学的特性（例えば電荷又は疎水性）を有する側鎖Ｒ基を有する別のアミノ酸残基により置換されることを意味する。一般的に、保存的アミノ酸置換は、タンパク質の機能的特性を実質的に変化させない。２つ又はそれ以上のアミノ酸配列が保存的置換により異なる場合、その置換の保存的性質に関して補正するために配列同一性パーセントを上方に調整し得る。この調整を行うための手段は当業者に周知である。類似した化学的特性を有する側鎖を有するアミノ酸のグループの例としては、１）脂肪族側鎖：グリシン、アラニン、バリン、ロイシン、及びイソロイシン；２）脂肪族－ヒドロキシル側鎖：セリン及びスレオニン；３）アミド含有側鎖：アスパラギン及びグルタミン；４）芳香族側鎖：フェニルアラニン、チロシン、及びトリプトファン；５）塩基性側鎖：リジン、アルギニン、及びヒスチジン；６）酸性側鎖：アスパラギン酸及びグルタミン酸；並びに７）硫黄含有側鎖：システイン及びメチオニンが挙げられる。保存的アミノ酸置換グループは、例えば、バリン－ロイシン－イソロイシン、フェニルアラニン－チロシン、リジン－アルギニン、アラニン－バリン、グルタメート－アスパルテート、及びアスパラギン－グルタミンであり得る。

【００２５】

また、保存的置き換え（ｒｅｐｌａｃｅｍｅｎｔ）は、Ｇｏｎｎｅｔ　ｅｔ　ａｌ．、Ｓｃｉｅｎｃｅ　２５６：１４４３－４５（１９９２）（参照により本明細書に加入される）に開示されるＰＡＭ２５０対数尤度マトリックスにおいて正の値を有するいずれかの変化である。「中程度に保存的な」置き換えは、ＰＡＭ２５０対数尤度マトリックスにおいて負ではない値を有するいずれかの変化である。

【００２６】

「接触させること」は、抗体又はその抗原結合部分と標的ＩＬ－６又はそのエピトープとを、その抗体がＩＬ－６の生物学的活性に影響を与えることができるようなやり方で一緒にすることを指す。このような「接触（させること）」は、インビトロで例えば試験管、ペトリ皿などにおいて達成することができる。試験管中で、接触は抗体又はその抗原結合部分及びＩＬ－６又はそのエピトープのみを含んでいても、細胞全体を含んでいてもよい。細胞はまた、細胞培養皿中で維持されるか又は増殖していてもよく、抗体又はその抗原結合部分とその環境において接触され得る。この状況において、特定の抗体又はその抗原結合部分がＩＬ－６関連障害に影響を及ぼす能力、すなわち抗体のIC_{50}は、インビボでより複雑な生存生物と共に抗体を使用する前に決定することができる。生物の外側にある細胞については、ＩＬ－６を抗体又はその抗原結合部分と接触させるための多様な方法が存在し、そして当業者に周知である。

【００２７】

用語「ＥＬＩＳＡ」は酵素結合免疫吸着検定法を指す。この種のアッセイは当業者に周知である。

【００２８】

用語「エピトープ」は、免疫グロブリン若しくはＴ細胞受容体に特異的に結合することができるか又は分子と別の方法で相互作用することができるいずれかのタンパク質決定基を含む。エピトープの決定基は、一般的には分子の化学的に活性な表面のグループ（ｇｒｏｕｐｉｎｇ）、例えばアミノ酸又は炭水化物又は糖鎖からなり、そして一般的には特異的な３次元構造特徴、さらには特異的な電荷特徴を有する。エピトープは「直線状」でも「立体構造的（ｃｏｎｆｏｒｍａｔｉｏｎａｌ）」でもよい。直線状エピトープにおいて、タンパク質と相互作用する分子（例えば抗体）との間の相互作用点は全て、タンパク質の一次アミノ酸配列に沿って直線的に存在する。立体構造的エピトープにおいて、相互作用点は、タンパク質上で互いに離れているアミノ酸残基にわたって存在する。抗原上の所望のエピトープが決定されれば、そのエピトープに対する抗体を作製することができる。これを達成するためのアプローチは、交差競合研究を行って、互いに競合的に結合する抗体、すなわち抗原に対する結合について競合する抗体を見つけ出すことである。それらの

交差競合に基づいて抗体を「ビニング（ｂｉｎｎｉｎｇ）」するための高生産性の方法は、国際特許公開第ＷＯ０３／４８７３１号に記載される。

【００２９】

本明細書で使用される用語「発現制御配列」は、それらが結合されているコード配列の発現及びプロセシングを達成するために必要なポリヌクレオチド配列を意味する。発現制御配列には、適切な転写開始配列、終止配列、プロモーター配列及びエンハンサー配列；有効なＲＮＡプロセシングシグナル、例えばスプライシングシグナル及びポリアデニル化シグナル；細胞質ｍＲＮＡを安定化する配列；翻訳効率を増強する配列（すなわち、コザックコンセンサス配列）；タンパク質安定性を増強する配列；並びに所望の場合、タンパク質分泌を増強する配列が含まれる。このような制御配列の性質は、宿主生物によって異なり；原核生物では、このような制御配列は一般的に、プロモーター、リボソーム結合部位、及び転写終止配列を含み；真核生物では一般的に、このような制御配列はプロモーター及び転写終止配列を含む。用語「制御配列」は、少なくとも、その存在が発現及びプロセシングに必須である全ての成分を含むことを意図され、そしてまた、その存在が有利であるさらなる成分、例えばリーダー配列及び融合パートナー配列も含み得る。

【００３０】

用語「生殖系列」は、親から子孫へ生殖細胞を介して送られるような、抗体遺伝子及び遺伝子セグメントのヌクレオチド配列を指す。この生殖系列配列は、組み換え及びＢ細胞成熟の過程の間に超変異事象により変更されている成熟Ｂ細胞における抗体をコードするヌクレオチド配列とは区別される。

【００３１】

用語「ヒト抗体」は、可変ドメイン配列及び定常ドメイン配列がヒト配列である抗体を意味する。この用語は、例えば可能な免疫原性を減少させるか、親和性を増加させるか、望ましくない折り畳みを引き起こすシステイン残基を除くなどのために変更されているものを含む、ヒト遺伝子から誘導された配列を有する抗体を包含する。この用語はまた、非ヒト細胞において組み換えにより産生された（ヒト細胞に典型的でないグリコシル化を付与し得る）ような抗体も包含する。これらの抗体は、種々の方法で製造され得る。

【００３２】

用語「ヒト化抗体」は、非ヒト種の抗体配列に特徴的なアミノ酸残基がヒト抗体の対応する位置において見られる残基と置き換えられている、非ヒト起源の抗体を指す。「ヒト化」プロセスは、得られた抗体のヒトにおける免疫原性を減少させることができる。非ヒト起源の抗体は、当該分野で周知のいずれかの適切な技術を使用してヒト化することができる。目的の抗体は、ＣＨ１、ＣＨ２、ＣＨ３、ヒンジドメイン、及び／又はフレームワークドメインを対応するヒト配列で置換するように、組み換えＤＮＡ技術により操作され得る。用語「ヒト化抗体」はさらに、キメラヒト抗体及びＣＤＲグラフト抗体をその意味の範囲内に含む。キメラヒト抗体は、非ヒト種の抗体のV_H及びV_L、並びにヒト抗体のC_H及びC_Lドメインを含む。ＣＤＲ移植（ｔｒａｎｓｐｌａｎｔｅｄ）抗体は、ヒト抗体のV_H及びV_LのＣＤＲを、それぞれヒト以外の動物の抗体のV_H及びV_LのＣＤＲと置き換えることにより生じる。

【００３３】

本明細書で使用される用語「単離されたポリヌクレオチド」は、ゲノム、ｃＤＮＡ、若しくは合成起源又はそれらの組み合わせのポリヌクレオチドであって、その起源に基づいて、「単離されたポリヌクレオチド」は、（１）そのポリヌクレオチドとともに「単離されたポリヌクレオチド」が天然で発見されたポリヌクレオチドの全て又は一部を伴わず、（２）天然では連結されていないポリヌクレオチドに作動可能に連結されており、又は（３）より大きな配列の一部として天然に存在していない、ポリヌクレオチドを意味する。

【００３４】

用語「単離されたタンパク質」、「単離されたポリペプチド」又は「単離された抗体」は、その起源又は誘導源に基づいて：（１）その自然の状態で付随している天然結合（ｎａｔｕｒａｌｌｙ　ａｓｓｏｃｉａｔｅｄ）成分を伴っておらず；（２）同じ種由来の他

のタンパク質を含まず；（３）異なる種由来の細胞により発現され；又は（４）天然に存在していない、タンパク質、ポリペプチド又は抗体である。従って、例えば化学的に合成されたかそれが天然で由来する細胞とは異なる細胞系で合成されたポリペプチドは、その天然結合成分から「単離されている」だろう。タンパク質はまた、いずれかの適切なタンパク質精製技術を使用して、単離により天然結合成分を含まないようにされ得る。

【００３５】

単離された抗体の例には、ＩＬ－６を使用してアフィニティ精製されたＩＬ－６抗体、及びインビトロで細胞株により合成されたＩＬ－６抗体が含まれる。

【００３６】

用語「K_D」は、特定の抗体－抗原相互作用の結合親和性平衡定数を指す。抗体は、K_Dが≦１ｍＭ、好ましくは≦１００ｎＭ、そして最も好ましくは≦１０ｎＭである場合に、抗原に特異的に結合すると言われる。K_D結合親和性定数は、例えば実施例７において考察されるようなＢＩＡＣＯＲＥ™システムを使用して、表面プラズモン共鳴により測定することができる。

【００３７】

用語「k_{off}」は、特定の抗体－抗原相互作用の解離速度定数を指す。k_{off}解離速度定数は、例えば実施例７において考察されるようなＢＩＡＣＯＲＥ™システムを使用して、表面プラズモン共鳴により測定することができる。

【００３８】

本明細書で使用される用語「天然に存在するヌクレオチド」は、デオキシリボヌクレオチド及びリボヌクレオチドを含む。本明細書で使用される用語「修飾されたヌクレオチド」は、例えば、修飾又は置換された糖基を有するヌクレオチドを含む。用語「オリゴヌクレオチド連結」は、本明細書において、例えばホスホロチオエート、ホスホロジチオエート、ホスホロセレノエート、ホスホリオジセレノエート、ホスホロアニロチオエート（ｐｈｏｓｐｈｏｒｏａｎｉｌｏｔｈｉｏａｔｅ）、ホスホラニラデート（ｐｈｏｓｈｏｒａｎｉｌａｄａｔｅ）、ホスホロアミデートのようなオリゴヌクレオチド連結を含む。オリゴヌクレオチドは、必要ならば検出用の標識を含み得る。

【００３９】

「作動可能に連結された」配列は、目的の遺伝子と隣接している発現制御配列、及び目的の遺伝子を制御するためにトランス（ｔｒａｎｓ）で又はある距離を隔てて作用する発現制御配列を含む。

【００４０】

核酸配列の文脈における用語「配列同一性パーセント」は、最大の一致（ｃｏｒｒｅｓｐｏｎｄｅｎｃｅ）について整列させた場合に同じになる２つの配列中の残基を意味する。配列同一性比較の長さは、少なくとも約９個より多いヌクレオチド、通常は少なくとも約１８ヌクレオチド、より通常では少なくとも約２４個のヌクレオチド、典型的には少なくとも約２８個のヌクレオチド、より典型的には少なくとも約３２個のヌクレオチド、そして少なくとも約３６、４８又はそれ以上のヌクレオチドであり得る。ヌクレオチド配列同一性を測定するために使用することができる、当該分野で公知の多数の異なるアルゴリズムがある。例えば、ポリヌクレオチド配列は、ＦＡＳＴＡ、Ｇａｐ又はＢｅｓｔｆｉｔ（これらはＷｉｓｃｏｎｓｉｎ Ｐａｃｋａｇｅ Ｖｅｒｓｉｏｎ １０．０、Ｇｅｎｅｔｉｃｓ Ｃｏｍｐｕｔｅｒ Ｇｒｏｕｐ（ＧＣＧ）、Ｍａｄｉｓｏｎ、Ｗｉｓｃｏｎｓｉｎにおけるプログラムである）を使用して比較することができる。例えば、プログラムＦＡＳＴＡ２及びＦＡＳＴＡ３を含むＦＡＳＴＡは、問い合わせ配列と検索配列との間の最高のオーバーラップの領域の整列及び配列同一性パーセントを提供する（Ｐｅａｒｓｏｎ、Ｍｅｔｈｏｄｓ Ｅｎｚｙｍｏｌ．１８３：６３－９８（１９９０）；Ｐｅａｒｓｏｎ、Ｍｅｔｈｏｄｓ Ｍｏｌ．Ｂｉｏｌ．１３２：１８５－２１９（２０００）；Ｐｅａｒｓｏｎ、Ｍｅｔｈｏｄｓ Ｅｎｚｙｍｏｌ．２６６：２２７－２５８（１９９６）；Ｐｅａｒｓｏｎ、Ｊ．Ｍｏｌ．Ｂｉｏｌ．２７６：７１－８４（１９９８）；本明細書に参照により加入される）。特定のプログラム又はアルゴリズムについてのデフォルトパラメ

ータが典型的には使用される。例えば、核酸配列間の配列同一性パーセントは、そのデフォルトパラメータ（ワードサイズ６、及びスコア行列についてはＮＯＰＡＭ ｆａｃｔｏｒ）を用いてＦＡＳＴＡを使用して、又はＧＣＧバージョン６．１（参照により本明細書に加入される）において提供されるようなそのデフォルトパラメータを用いてＧａｐを使用して決定することができる。

【００４１】

ヌクレオチド配列への言及は、そうではないと記載されていなければ、その補体を包含する。従って、特定の配列を有する核酸への言及は、その相補配列を有するその相補鎖を包含すると理解されるべきである。

【００４２】

アミノ酸配列の文脈における用語「配列同一性パーセント」は、最大の一致について整列させた場合に同じになる２つの配列中の残基を意味する。配列同一性比較の長さは、少なくとも約５個より多いアミノ酸、通常は少なくとも約２０個のアミノ酸、より通常では少なくとも約３０個のアミノ酸、典型的には少なくとも約５０個のアミノ酸、より典型的には少なくとも約１００個のアミノ酸、そしてさらにより典型的には約１５０、２００又はそれ以上のアミノ酸であり得る。アミノ酸配列同一性を測定するために使用することができる、当該分野で公知の多数の異なるアルゴリズムがある。例えば、アミノ酸配列は、ＦＡＳＴＡ、Ｇａｐ又はＢｅｓｔｆｉｔ（これらは、Ｗｉｓｃｏｎｓｉｎ Ｐａｃｋａｇｅ Ｖｅｒｓｉｏｎ １０．０、Ｇｅｎｅｔｉｃｓ Ｃｏｍｐｕｔｅｒ Ｇｒｏｕｐ（ＧＣＧ）、Ｍａｄｉｓｏｎ、Ｗｉｓｃｏｎｓｉｎにおけるプログラムである）を使用して比較することができる。

【００４３】

ポリペプチドについての配列同一性は、典型的には配列解析ソフトウエアを使用して測定される。タンパク質解析ソフトウエアは、種々の置換、欠失及び他の改変（保存的アミノ酸置換を含む）に割り当てられる類似性の指標を使用して配列を適合させる。例えば、ＧＣＧは、「Ｇａｐ」及び「Ｂｅｓｔｆｉｔ」のようなプログラムを含み、これらはプログラムにより特定されるデフォルトパラメータを用いて、密接に関連するポリペプチド、例えば異なる生物種由来の相同なポリペプチド間で、又は野生型タンパク質とその類似体との間で、配列相同性又は配列同一性を決定するために使用することができる。例えば、ＧＣＧ Ｖｅｒｓｉｏｎ ６．１（Ｕｎｉｖｅｒｓｉｔｙ ｏｆ Ｗｉｓｃｏｎｓｉｎ、ＷＩ）を参照のこと。ポリペプチド配列はまた、デフォルトパラメータ又は推奨パラメータを使用するＦＡＳＴＡを使用して比較することができる（ＧＣＧ Ｖｅｒｓｉｏｎ ６．１を参照のこと）。ＦＡＳＴＡ（例えば、ＦＡＳＴＡ２及びＦＡＳＴＡ３）は、問い合わせ配列と検索配列との間の最高オーバーラップの領域のアラインメント及び配列同一性パーセントを提供する（Ｐｅａｒｓｏｎ、Ｍｅｔｈｏｄｓ Ｅｎｚｙｍｏｌ．１８３：６３－９８（１９９０）；Ｐｅａｒｓｏｎ、Ｍｅｔｈｏｄｓ Ｍｏｌ．Ｂｉｏｌ．１３２：１８５－２１９（２０００））。異なる生物由来の多数の配列を含むデータベースに対して配列を比較する場合の別のアルゴリズムは、コンピュータプログラムＢＬＡＳＴ、特にｂｌａｓｔｐ又はｔｂｌａｓｔｎであり、これらのプログラムとともに供給されるデフォルトパラメータを使用する。例えば、Ａｌｔｓｃｈｕｌ ｅｔ ａｌ．、Ｊ．Ｍｏｌ．Ｂｉｏｌ．２１５：４０３－４１０（１９９０）；Ａｌｔｓｃｈｕｌ ｅｔ ａｌ．、Ｎｕｃｌｅｉｃ Ａｃｉｄｓ Ｒｅｓ．２５：３３８９－４０２（１９９７）を参照のこと。

【００４４】

本明細書で使用される用語「組み換え宿主細胞」（又は簡単に「宿主細胞」）は、組み換え発現ベクターが導入されている細胞を意味する。当然のことながら、「組み換え宿主細胞」及び「宿主細胞」は特定の対象細胞だけでなく、このような細胞の子孫も意味する。変異又は環境の影響のいずれかに起因して、後の世代で特定の改変が起こり得るので、上記の子孫は実際には親細胞と同一ではないかもしれないが、それでもなお、本明細書で使用される用語「宿主細胞」の範囲内に含まれる。

【００４５】

タンパク質又はポリペプチドは、サンプルの少なくとも約６０～７５％がポリペプチドの単一の種を示す場合には「実質的に純粋」であるか、「実質的に均一」であるか又は「実質的に精製されている」。ポリペプチド又はタンパク質は単量体でも多量体でもよい。実質的に純粋なポリペプチド又はタンパク質は、典型的にはタンパク質サンプルの約５０％、６０％、７０％、８０％又は９０％ｗ／ｗ、より通常には約９５％を構成し得、そして好ましくは９９％より高い純度であり得る。タンパク質の純度又は均一性は、任意の適切な手段、例えばタンパク質サンプルのポリアクリルアミドゲル電気泳動とその後に染料を用いてゲルを染色して単一のポリペプチドバンドを可視化することにより示され得る。当業者が理解するように、より高い分解能（ｒｅｓｏｌｕｔｉｏｎ）が、ＨＰＬＣ又は他の精製手段を使用してもたらされ得る。

【００４６】

核酸又はそのフラグメントに言及する場合の用語「実質的な類似性」又は「実質的な配列類似性」は、適切なヌクレオチド挿入又は欠失を伴って別の核酸（又はその相補鎖）と最適に整列される場合に、上で考察されたようないずれかの周知の配列同一性アルゴリズム（例えばＦＡＳＴＡ、ＢＬＡＳＴ又はＧａｐ）により測定した場合、ヌクレオチド塩基の少なくとも約８５％、少なくとも約９０％、及び少なくとも約９５％、９６％、９７％、９８％又は９９％においてヌクレオチド配列同一性が存在することを意味する。

【００４７】

ポリペプチドに適用される場合、用語「実質的な同一性」又は「実質的な類似性」は、２つのアミノ酸配列が、例えばプログラムとともに供給されるようなデフォルトギャップ重みを使用してプログラムＧＡＰ又はＢＥＳＴＦＩＴにより最適に整列された場合に、少なくとも７０％、７５％又は８０％の配列同一性、好ましくは少なくとも９０％又は９５％の配列同一性、そしてより好ましくは少なくとも９７％、９８％又は９９％の配列同一性を共有することを意味する。特定の実施態様において、同一でない残基位置は、保存的アミノ酸置換により異なる。

【００４８】

用語「表面プラズモン共鳴」は、例えばＢＩＡＣＯＲＥ^{TM}システム（Ｐｈａｒｍａｃｉａ Ｂｉｏｓｅｎｓｏｒ ＡＢ、Ｕｐｐｓａｌａ、Ｓｗｅｄｅｎ ａｎｄ Ｐｉｓｃａｔａｗａｙ、Ｎ．Ｊ．）を使用して、バイオセンサーマトリクス内のタンパク質濃度の変化を検出することにより、生体分子特異的な相互作用の実時間分析を可能にする光学現象を指す。さらなる説明については、Ｊｏｎｓｓｏｎ Ｕ．ｅｔ ａｌ．、Ａｎｎ．Ｂｉｏｌ．Ｃｌｉｎ．５１：１９－２６（１９９３）；Ｊｏｎｓｓｏｎ Ｕ．ｅｔ ａｌ．、Ｂｉｏｔｅｃｈｎｉｑｕｅｓ １１：６２０－６２７（１９９１）；Ｊｏｎｓｓｏｎ Ｂ．ｅｔ ａｌ．、Ｊ．Ｍｏｌ．Ｒｅｃｏｇｎｉｔ．８：１２５－１３１（１９９５）；及びＪｏｈｎｓｓｏｎ Ｂ．ｅｔ ａｌ．、Ａｎａｌ．Ｂｉｏｃｈｅｍ．１９８：２６８－２７７（１９９１）を参照のこと。

【００４９】

「治療有効量」は、処置される障害の１つ又はそれ以上の症状をある程度軽減するであろう、投与される治療剤の量を指す。関節リウマチの処置に関して、治療有効量は、以下の効果の少なくとも１つを有する量を指す：関節の構造的損傷を低減する；関節領域における体液の蓄積を防止する（すなわち、ある程度遅くする、好ましくは停止する）；及び関節リウマチに関連する１つ又はそれ以上の症状をある程度軽減する（又は好ましくは、排除する）。

【００５０】

「処置する」、「処置すること」及び「処置」は、生物学的な障害及び／又はその付随する症状を緩和するか又は抑止する方法を指す。

【００５１】

特定の遺伝子に関する用語「利用する」は、抗体における特定の領域のアミノ酸配列が、最終的にはＢ細胞成熟の間にその遺伝子から誘導されたことを意味する。例えば、句「ヒトV_H－３ファミリー遺伝子を利用する重鎖可変領域アミノ酸配列」は、抗体のV_H領域

がＢ細胞成熟の間に遺伝子セグメントのＶＨ－３ファミリーから誘導された状況を指す。ヒトＢ細胞において、それを用いて抗体が生成される、３０を超える異なる機能的重鎖可変遺伝子が存在する。従って、特定の重鎖可変遺伝子の使用は、抗原に対する結合と機能的活性とを組み合わせた特性に関して、抗体－抗原相互作用の結合モチーフの指標である。理解されるように、遺伝子利用分析では、抗体構造の限られた概観しか示されない。ヒトＢ細胞は、Ｖ－Ｄ－Ｊ重鎖又はＶ－Ｊカッパ軽鎖転写物を確率論的（ｓｔｏｃａｓｔｉｃａｌｌｙ）に生成するので、多数の二次的なプロセス（限定することなく、体細胞超変異、付加、及びＣＤＲ３伸長が含まれる）が存在する。例えばＭｅｎｄｅｚ ｅｔ ａｌ．Ｎａｔｕｒｅ Ｇｅｎｅｔｉｃｓ １５：１４６－１５６（１９９７）を参照のこと。

【００５２】

本明細書で使用される用語「ベクター」は、それが連結されている別の核酸を輸送することができる核酸分子を意味する。ある場合には、ベクターはプラスミド、すなわちさらなるＤＮＡセグメントがライゲーションされ得るＤＮＡの環状二本鎖断片である。例えば、ベクターはウイルスベクターであり、ここでさらなるＤＮＡセグメントはウイルスゲノムにライゲーションされていてもよい。別の場合には、ベクターは、それらが導入された宿主細胞中で自律増殖することができる（例えば、細胞起源の複製を有する細菌ベクター及びエピソーム哺乳動物ベクター）。別の例では、ベクター（例えば、非エピソーム哺乳動物ベクター）は、宿主細胞への導入の際に宿主細胞のゲノムに組み込まれ得、そしてそれにより宿主ゲノムとともに複製される。さらに、特定のベクターは、それらが作動可能に連結されている遺伝子の発現を導くことができる。このようなベクターを本明細書では「組み換え発現ベクター」（又は簡単に「発現ベクター」）と呼ぶ。

【００５３】

用語「標識」又は「標識された」は、抗体における別の分子の組み込みを指す。例えば、標識は、検出可能なマーカー、例えば、放射標識されたアミノ酸の組み込み、又は印のついた（ｍａｒｋｅｄ）アビジン（例えば、光学的方法又は比色分析法により検出することができる蛍光マーカー又は酵素活性を含むストレプトアビジン）により検出することができるビオチン化部分のポリペプチドへの結合である。別の実施態様において、標識又はマーカーは治療的であり得る（例えば薬物接合体又は毒素）。ポリペプチド及び糖タンパク質を標識する種々の方法は当該分野で公知であり、これらが使用され得る。ポリペプチドのための標識の例としては、限定されないが以下が挙げられる：放射性同位体又は放射性核種（例えば、^{3}Ｈ、^{14}Ｃ、^{15}Ｎ、^{35}Ｓ、^{90}Ｙ、^{99}Ｔｃ、^{111}Ｉｎ、^{125}Ｉ、^{131}Ｉ）、蛍光標識（例えば、ＦＩＴＣ、ローダミン、ランタニド蛍光体）、酵素標識（例えば、西洋ワサビペルオキシダーゼ、β－ガラクトシダーゼ、ルシフェラーゼ、アルカリホスファターゼ）、化学発光マーカー、ビオチニル基、二次レポーターにより認識される所定のポリペプチドエピトープ（例えば、ロイシンジッパー対配列、二次抗体に対する結合部位、金属結合ドメイン、エピトープタグ）、磁気物質、例えばガドリニウムキレート、毒素、例えば百日咳毒素、タキソール、サイトカラシンＢ、グラミシジンＤ、臭化エチジウム、エメチン、マイトマイシン、エトポシド、テノポシド（ｔｅｎｏｐｏｓｉｄｅ）、ビンクリスチン、ビンブラスチン、コルヒチン、ドキソルビシン、ダウノルビシン、ジヒドロキシアントラシンジオン、ミトキサントロン、ミトラマイシン、アクチノマイシンＤ、１－デヒドロテストステロン、グルココルチコイド、プロカイン、テトラカイン、リドカイン、プロプラノロール、及びピューロマイシン並びにそれらの類似体又は同族体。ある場合には、標識は、起こり得る立体障害を低減するために種々の長さのスペーサーアームに結合される。

【００５４】

治療的使用方法

それを必要とする患者にＩＬ－６抗体を投与することによりＩＬ－６活性を阻害するための方法も提供される。本明細書に記載される抗体又はその抗原結合部分はいずれも治療に使用され得る。好ましい実施態様において、ＩＬ－６抗体はヒト抗体、キメラ抗体又はヒト化抗体である。別の好ましい実施態様において、ＩＬ－６はヒトであり、そして患者

はヒト患者である。あるいは、患者は、ＩＬ－６抗体が交差反応するＩＬ－６を発現する哺乳動物であり得る。抗体は、ＩＬ－６を発現させる目的で、又はヒト疾患の動物モデルとしての非ヒト哺乳動物に投与され得る。このような動物モデルは、抗体の治療有効性を実証するために使用され得る。

【００５５】

ＩＬ－６抗体又はその抗体部分は、異常に高いレベルのＩＬ－６を発現する患者に投与され得る。本抗体は一回で投与されても、複数回で投与されてもよい。本抗体は、毎日３回から、６ヶ月又はそれ以上毎に１回投与されてもよい。投与は、１日に３回、１日に２回、１日に１回、２日毎に１回、３日毎に１回、週に１回、２週毎に１回、１ヶ月に１回、２ヶ月に１回、３ヶ月に１回、及び６ヶ月に１回のようなスケジュールであり得る。本抗体はまた、ミニポンプにより連続的に投与されてもよい。本抗体は、粘膜、頬腔、鼻腔内、吸引、静脈内、皮下、筋内、非経口、又は腫瘍内の経路を経て投与され得る。本抗体は、１回、少なくとも２回、又は少なくとも状態が処置、緩和若しくは治癒されるまでの期間の間投与され得る。本抗体は、一般的には状態が存在する限り投与される。本抗体は、一般的に、本明細書に記載されるような医薬組成物の一部として投与される。抗体の投薬量は、一般的には０．１～１００ｍｇ／ｋｇ、０．５～５０ｍｇ／ｋｇ、１～２０ｍｇ／ｋｇ、及び１～１０ｍｇ／ｋｇの範囲である。本抗体の血清濃度は、いずれかの適切な方法により測定され得る。

【００５６】

哺乳動物（ヒトを含む）における異常な細胞浸潤を処置するための方法も提供され、この方法は、本明細書に記載されるように、異常細胞浸潤の処置において有効である、治療有効量のＩＬ－６抗体又はその抗原結合部分を哺乳動物に投与することを含む。

【００５７】

ＩＬ－６抗体又はその抗原結合部分は、関節リウマチを処置するために使用され得る。これらはまた、ＩＬ－６が関与する他の疾患を処置するために使用され得る。ＩＬ－６抗体又はその抗原結合部分を使用して処置され得る他の疾患の例としては、変形性関節症、特に変形性関節症に関連する疼痛、キャッスルマン病、若年性突発性関節炎、成人発症スチル病、骨粗しょう症、敗血症、多発性骨髄腫、腎細胞がん、及びクローン病が挙げられる。

【００５８】

本抗体又はその抗原結合部分で処置され得る疾患のいくつかは以下で考察される。

【００５９】

関節リウマチ（ＲＡ）は、炎症関節を生じ、これは最終的には膨潤し、有痛性になり、そして関節の軟骨、骨、及び靭帯の分解が起こる、慢性の自己免疫炎症性疾患と考えられる。ＲＡの結果は、関節の変形、不安定性、及び硬直、並びに関節内の瘢痕である。関節は大きく変動する速度で悪化する。遺伝的素因を含む多くの因子が疾患のパターンに影響を及ぼし得る。関節リウマチを有する人々は、疾患の無い長期の寛解とともに時折突然の再発がある穏やかな経過をたどるか、又はゆっくりでも急速でも徐々に進行する疾患を有し得る。関節リウマチは、多くの関節が同時に炎症を起こして突然開始し得る。より頻繁には、わずかに開始して徐々に異なる関節に影響を及ぼす。通常、炎症は対称的であり、身体の両側の関節を患う。典型的には、指、つま先、手、足、手首、肘、及び足首の小さな関節が最初に炎症を起こし、続いて膝及び臀部が炎症を起こす。

【００６０】

関節リウマチ痛は、典型的には体性の侵害受容性関節痛である。膨潤した手首は神経をはさんで手根管症候群に起因するしびれ又は刺痛を生じ得る。嚢胞が罹患した膝の後方で発生し得、破裂して下腿に疼痛及び膨潤を引き起こし得る。

【００６１】

変形性関節症は、関節軟骨の損失及び骨の肥大化を特徴とする。変形性関節症の発症は、通常緩やかであり、疼痛は一般的な初期症状である。変形性関節症が進行するにつれて、関節の動きが減少し、そして圧痛及びきしむ感覚（ｇｒａｔｉｎｇ　ｓｅｎｓａｔｉｏ

ｎｓ）が生じ得る。変形性関節症は、一般的には手、足、脊椎、及び大きな重量がかかる関節、例えば臀部及び膝を冒す。変形性関節症の診断は、典型的には症状又はＸ線に基づき、関節腔の狭小化、肋軟骨下骨（ｓｕｂｃｈｏｎｄｒａｌ　ｂｏｎｅ）の増加した密度、関節周辺における骨棘の形成、及び肋軟骨下髄（ｓｕｂｃｈｏｎｄｒａｌ　ｍａｒｒｏｗ）における偽嚢胞の形成が示され得る。変形性関節症によく似た症状を呈し得る他の状態を除くために血液検査を行う。さらに、変形性関節症の診断において、関節穿刺を行うことができ、これにより滅菌針を使用して滑液を取り出す。滑液分析は、通風、感染、及び関節炎の他の原因を除く際に有用である。変形性関節症は、変形性関節疾患（ｄｅｇｅｎｅｒａｔｉｖｅ　ｊｏｉｎｔ　ｄｉｓｅａｓｅ）、変形性関節炎（ｄｅｇｅｎｅｒａｔｉｖｅ　ａｒｔｈｒｉｔｉｓ）、又は変形性関節症（ｏｓｔｅｏａｒｔｈｒｉｔｉｓ）としても知られる。

【００６２】

ライター症候群（反応性関節炎）は、関節及び関節における腱付着の炎症であり、しばしば目の結膜及び粘膜（例えば口及び泌尿生殖器管の粘膜）の炎症、並びに特徴的な発疹を伴う。ライター症候群は、腸又は生殖管から発生した感染に対する反応のように見えるので反応性関節炎とも呼ばれる。この症候群は、２０～４０歳の男性において最もよく起こる。ライター病の２つの形態がある：一方は性感染症（例えばクラミジア感染症）とともに発生し、そして他方は通常腸の感染（例えば細菌性赤痢又はサルモネラ症）の後に起こる。（これらの感染を有する大部分の人々はライター症候群を発症しない）。これらの感染症に曝された後にライター症候群を発症した人々は、強直性脊椎炎を有する人々で見られる同じ遺伝子に部分的に関連して、この種の反応に対する遺伝的素因を有すると思われる。

【００６３】

感染性関節炎は、滑膜又は関節周囲の組織の細菌、真菌又はウイルス感染に起因する関節における炎症である。感染性関節炎についての危険因子には、高齢（すなわち６０歳より上）；アルコール依存；貧血；関節穿刺又は手術；慢性の医学的疾患（例えば肺又は肝臓の疾患）；糖尿病；血友病；ＨＩＶを含む免疫不全；副腎皮質ステロイドを含む免疫抑制療法；ＩＶ薬物使用；悪性腫瘍；補綴関節インプラント；腎不全；関節リウマチ；鎌状赤血球疾患；皮膚感染症；及び全身性エリトマトーデスが含まれる。関節リウマチ患者は、細菌性関節炎に対して特に増加した危険性を有する。関節感染症は、関節痛及び膨潤の突然の発生（例えば数時間から数日以内）を伴う急性、又はより穏やかな症状の潜行性の発生を伴う慢性であり得る。急性細菌性関節炎は、一般的には中程度から重症な関節痛、温感、圧痛及び制限された運動を伴う。慢性細菌性関節炎は、一般的には緩やかな膨潤、穏やかな温感、最小限の関節領域の発赤又は発赤なし、及び穏やかであり得るうずく痛みを伴う。

【００６４】

乾癬性関節炎は、乾癬患者の少数において発生し、そしていくらかの後天性免疫不全症候群（ＡＩＤＳ）患者において増加している、関節を冒す炎症性関節炎である。乾癬性関節炎は、穏やかであり得るか、又は関節リウマチにおいて観察される関節変化に似た重篤な関節変形を生じ得る。乾癬性関節炎に冒され得る関節には、指及びつま先の遠位指節間（ＤＩＰ）関節が含まれ、そして一般的には仙腸骨及び脊椎のような大小の関節を非対称に含む。皮膚又は爪の乾癬は、関節の関与に前後し得る。乾癬性関節炎の時間経過は、皮膚の増悪及び寛解と同時に起こるか起こらないかもしれない、関節炎の増悪及び寛解により特徴づけられ、慢性関節炎の進行が起こり得る。診断には、乾癬の診断、乾癬の家族歴、ＤＩＰ関節の関与を示すＸ線所見、非対称な大きい関節の関与、関節リウマチを除外するためのリウマチ因子に関する陰性の血液検査、及び一部の患者では、特に脊椎が含まれる場合のＨＬＡ－Ｂ２７抗原の存在が含まれる。

【００６５】

多発性関節炎は、５つ又はそれ以上の関節に関わるあらゆる型の関節炎である。２つ、３つ又は４つの関節の関節炎は、少関節炎又は少数関節炎（ｐａｕｃｉａｒｔｈｒｉｔｉ

ｓ）と呼ばれる。多発性関節炎は、自己免疫障害、例えば関節リウマチ、乾癬性関節炎、又はエリトマトーデスにより最も頻繁に引き起こされるが、感染によっても引き起こされ得る。多発性関節炎は、どの年齢でも経験され得、そして性別特異的ではない。

【００６６】

若年性関節炎は、１６歳より前に始まる関節炎である。いくつかの異なる型の若年性関節炎がある。最も一般的な型は若年性関節リウマチ（ＪＲＡ）であり、若年性突発性関節炎としても知られる。ＪＲＡには、全身型ＪＲＡ、小関節ＪＲＡ（５つより少ない関節に関わる）、及び多関節型ＪＲＡ（５つ又はそれ以上の関節に影響を及ぼす）が含まれる。ＪＲＡの診断は、症状の検討、Ｘ線撮影及び血液検査を行うことを含む。医師がＪＲＡを診断するために使用し得る特定の試験には、全血球計算、感染に関する血液培養、骨髄検査、赤血球沈降速度の試験、リウマチ因子抗体測定、抗核抗体測定及び骨スキャンが含まれる。

【００６７】

若年性関節リウマチは、関節リウマチに類似した関節の持続的又は再発性の炎症であるが、１６歳より前に始まり、そして関節又は結合組織の炎症を特徴とする。いくつかの型の若年性関節リウマチがあり、これらは疾患の最初の数ヶ月の間に発生する症状及びいくつの関節が冒されているかによって決定される。これらの型には、少関節型若年性関節リウマチ、多発性関節炎、及び全身性疾患（スチル病）が含まれる。少関節型若年性関節リウマチでは４つ又はそれより少ない関節（通常は下肢の関節）が冒される。多発性関節炎では５つ又はそれ以上（２０～４０ほどになる場合もある）の関節が冒される。全身性疾患（スチル病）では、任意の数の関節が関与し得る。

【００６８】

若年性反応性関節炎は、反応性関節炎に類似した関節の持続的又は再発性の炎症であるが、１６歳より前に始まる。

【００６９】

若年性乾癬性関節炎は、１６歳より前の年齢の患者において始まる乾癬性関節炎であり、慢性関節炎及び乾癬；又は慢性関節炎及び以下の少なくとも２つ：指炎、爪の異常（例えば、くぼみ又は爪甲離床症）、及び少なくとも一人のごく近い親戚における乾癬の家族歴の存在により特徴付けるられる。乾癬性関節炎を有する成人におけるように、関節炎は皮膚状態に先行し得る。若年性乾癬性関節炎の発生において圧倒的に多いパターンは、しばしば指炎を伴う、小関節及び大関節の非対称小関節炎である。

【００７０】

一局面において、ＩＬ－６仲介障害は、線維症により特徴づけられる。本明細書で使用される用語「線維症」は、組織損傷に応じた線維性物質（例えば細胞外マトリックス）の過剰な沈着及び代謝により特徴づけられる病的状態である。多くの場合、線維症は、線維芽細胞又は星細胞の活性化及び増殖並びにコラーゲン蓄積をもたらす慢性又は過剰な組織傷害に起因して不首尾になってしまった（ｇｏｎｅ　ａｗｒｙ）正常な修復プロセス（すなわち創傷治癒）を示す。線維症状態には、血管性疾患、例えば心疾患、脳疾患、及び末梢血管疾患、さらには主要な組織及び器官系、例えば眼、皮膚、腎臓、肺、腸及び肝臓に関連する線維増殖性疾患が含まれる（Ｗｙｎｎ、Ｎａｔｕｒｅ　Ｒｅｖｉｅｗｓ　４：５８３－５９４（２００４）；Ｂａｔａｌｌｅｒ、Ｒ　ａｎｄ　Ｂｒｅｎｎｅｒ、Ｄ．、Ｊ．Ｃｌｉｎ．Ｉｎｖｅｓｔ．１１５：２０９－２１８（２００５））。他の原因は、化学療法薬、放射線誘導線維症、並びに外傷及び火傷である。線維症状態は広い病態群の範囲にわたるが、これらの状態の大部分については、線維性組織蓄積をもたらす一般的な機構は多くの共通の要素を有すると考えられる。しばしば状態は、炎症性細胞の流入に応じて開始され、そしてその後の浸潤細胞（例えば、マクロファージ、Ｔ細胞）と組織内の常在細胞（例えば、星細胞、筋線維芽細胞、クッパー細胞）との間のサイトカインシグナル伝達経路により持続される。さらに、周皮細胞は、強皮症の発症に関与する鍵となる線維形成性細胞型であり、そしてＰＤＧＦ受容体チロシンキナーゼ阻害剤（ＲＴＫＩ）は、この進行性の疾患を有する患者において周皮細胞の増殖を遅らせて皮膚病変を抑制することが

示されている。腎臓において、白血球浸潤は、慢性腎疾患における尿細管間質性炎症及び線維症の媒介において主要な役割を果たす。

【００７１】

本明細書で使用される用語「線維症」はまた、「線維芽細胞蓄積及びコラーゲン沈着」の同意語として使用される。線維芽細胞は結合組織の細胞であり、身体全体にわたって結合組織において分散している。線維芽細胞は、Ｉ型及び／又はＩＩＩ型コラーゲンを含有する軟質細胞外マトリックスを分泌する。組織への損傷に応じて、近くの線維芽細胞又は星細胞が創傷に移動し、増殖し、そして大量のコラーゲン性細胞外マトリックスを産生する。コラーゲンは、細胞外マトリックス並びに結合組織、軟骨及び骨の主要な成分である、グリシン及びプロリンが豊富な線維性タンパク質である。コラーゲン分子は、α鎖と呼ばれる三本鎖らせん構造であり、これはロープ状のらせんで互いに巻き付いている。コラーゲンは、いくつかの形態又は型で存在し；これらのうち、最も代表的なＩ型は、皮膚、腱及び骨において見られる；そしてＩＩＩ型は、皮膚、血管、及び内臓において見られる。典型的な線維症状態としては、限定されないが、

（Ｉ）線維症に関連する肺疾患、例えば、突発性肺線維症、放射線誘導線維症、慢性閉塞性肺疾患（ＣＯＰＤ）、強皮症、ブレオマイシン誘導肺線維症、慢性ぜん息、珪肺症、アスベスト誘導肺線維症、急性肺損傷及び急性呼吸促迫症（細菌性肺炎誘導、外傷誘導、ウイルス性肺炎誘導、人工呼吸器誘導、肺外敗血症誘導、及び吸引誘導を含む）；

（ＩＩ）損傷／線維症に関連する慢性ネフロパシー（腎線維症）、例えば、狼瘡、糖尿病、強皮症、糸球体腎炎、巣状分節状糸球体硬化症、ＩｇＡネフロパシー、高血圧、同種移植、狼瘡、及びアルポート；

（ＩＩＩ）腸線維症、例えば、強皮症、及び放射線誘導腸線維症；

（ＩＶ）肝線維症、例えば、肝硬変、アルコール誘導肝線維症、非アルコール性脂肪性肝炎（ＮＡＳＨ）、胆管損傷、原発性胆汁性肝硬変、感染又はウイルス誘導肝線維症（例えば慢性ＨＣＶ感染）、及び自己免疫性肝炎；

（Ｖ）頭部及び頸部の線維症、例えば放射線誘導；

（ＶＩ）角膜瘢痕、例えば、ＬＡＳＩＸ™、角膜移植、及び線維柱帯切除術；

（ＶＩＩ）肥厚性瘢痕及びケロイド、例えば、火傷誘導及び手術；及び他の線維性疾患、例えば、サルコイドーシス、強皮症、脊髄損傷／線維症、骨髄線維症（ｍｙｅｌｏｆｉｂｒｏｓｉｓ）、血管再狭窄、アテローム性動脈硬化症、ウェグナー肉芽腫症、混合性結合組織疾患、及びペイロニー病、

が挙げられる。

【００７２】

用語「線維筋痛症」は、線維筋痛症候群としても知られる。米国リウマチ学会（Ａｍｅｒｉｃａｎ Ｃｏｌｌｅｇｅ ｏｆ Ｒｈｅｕｍａｔｏｌｏｇｙ）（ＡＣＲ）の線維筋痛症に関する１９９０の分類基準は、３ヶ月より長い慢性の広範囲の疼痛の病歴、及び身体検査の際の１８の圧痛点からの１１（又はそれ以上）での疼痛の存在［ここで圧痛点は、腰の上下両方及び身体の両側に存在する］を含む（例えば、Ｗｏｌｆｅ ｅｔ ａｌ．、Ａｒｔｈｒｉｔｉｓ Ｒｈｅｕｍ．、１９９０；３３：１６０－１７２を参照のこと）。線維筋痛患者は、一般的には異痛症（正常の無痛刺激に応じた疼痛）及び痛覚過敏（有痛刺激に対する増加した感受性）の両方の形態で疼痛知覚異常を示す。ヒト患者における線維筋痛症の影響は、ＡＣＲの基準、線維筋痛症指標質問票（Ｆｉｂｒｏｍｙａｌｇｉａ Ｉｎｄｅｘ Ｑｕｅｓｔｉｏｎｎａｉｒｅ）（ＦＩＱ）の合計スコア、疼痛重症度（例えば、ＶＡＳ又はリカート疼痛尺度）及び支障（ｉｎｔｅｒｆｅｒｅｎｃｅ）の指標、圧痛点の数、又は疼痛閾値評価を使用して評価し得る。

【００７３】

慢性の広範囲にわたる疼痛は線維筋痛症の特徴の症状であるが、患者は、典型的には以下の１つ又はそれ以上を含む他の症状も示す：疲労、睡眠障害、片頭痛又は緊張型頭痛、過敏性腸症候群、尿意頻数の変化、朝のこわばり、しびれ及び刺痛、月経困難、化学物質頻回暴露感度、集中力の欠如、並びに皮膚の小血管に影響を及ぼす循環問題（レイノー現

象）。慢性疼痛を引き起こす多くの状態と同様に、線維筋痛症患者は、線維筋痛症誘導不安、抑うつ又はその両方も経験し得る。一部の線維筋痛症患者は、寒くて湿気のある気候を精神的ストレスと感じ、過度の努力、及び他の因子は彼らの症状を悪化させる。

【００７４】

線維筋痛症に関連する疼痛は、線維筋痛症候群に関連するあらゆる疼痛を指し、線維筋痛症の特徴である慢性の広範囲にわたる疼痛及び線維筋痛症の他の症状に関連する疼痛を含む。

【００７５】

強直性脊椎炎は、脊椎及び仙腸関節の関節炎を引き起こすリウマチ性疾患である。一生の間に発生する背部痛の間欠性エピソードから、脊椎、末梢の関節及び他の体器官を襲う重篤な慢性疾患まで様々である。典型的には、最初の症状は腰及び臀部における頻繁な疼痛及びこわばりであり、これらは数週間又は数ヶ月の間で徐々に起こる。疼痛は、通常は局在的でなく鈍く拡散している。強直性脊椎炎は、典型的に、ｘ線を含む徹底的な身体検査、個々の病歴、及び強直性脊椎炎の家族歴、さらにはＨＬＡ－Ｂ２７についての試験を含む血液の研究（ｂｌｏｏｄ　ｗｏｒｋ）を用いて診断される。

【００７６】

乾癬は、全ての年齢の人々が悩まされ得る慢性の炎症性皮膚障害である。臨床的には、乾癬は、ひじ、膝、頭皮、腰仙領域、殿裂、又は陰茎亀頭に最も頻繁に影響を及ぼす。乾癬に冒された皮膚は、典型的には　特徴として銀白色のゆるく接着した板状鱗屑により覆われた境界の明瞭な桃色から鮭肉色の斑から構成される１つ又はそれ以上の乾性病変を含む。乾癬患者の約３０％において、例えば、爪甲点状凹窩又は爪甲離床症により爪も冒される。乾癬の全ての形態が考慮され、環状乾癬（ｐｓｏｒｉａｓｉｓ　ａｎｎｕｌａｒｉｓ）及び輪状乾癬（ｐｓｏｒｉａｓｉｓ　ａｎｎｕｌａｔａ）（連圏状乾癬（ｐｓｏｒｉａｓｉｓ　ｃｉｒｃｉｎａｔａ）としても知られる）；関節症性乾癬；広汎性乾癬（ｐｓｏｒｉａｓｉｓ　ｄｉｆｆｕｓａ）又はびまん性乾癬（ｐｓｏｒｉａｓｉｓ　ｄｉｆｆｕｓｅｄ）；剥奪性乾癬；間擦疹型乾癬；地図状乾癬；花環状乾癬；硬貨状乾癬；手掌型乾癬；点状乾癬；並びにツァンブッシュ汎発性膿疱性乾癬又は簡単に膿疱性乾癬として知られる稀な異型が含まれる。形態学的には、乾癬の確立された病変は、表皮肥厚及び錯角化（ｐａｒａｋｅｒａｔｏｔｉｃ）鱗屑のようなよく知られた組織学的特徴を有する。病理学的には、乾癬は、Ｔ細胞媒介自己免疫障害であると現在では考えられている。乾癬の発症は、通常は緩やかであり、そして典型的な時間経過は、慢性の寛解及び再発、そして時折、急性の増悪により特徴づけられる。乾癬の診断は、患者の臨床徴候及び症状並びに乾癬の家族歴を評価することによりなされる。患者の皮膚病変を視覚的に検査することのみで乾癬を診断することはまれにしか困難ではなく、通常はこれが完全な診断に必要とされる全てのことである。しかしながら時折、乾癬の兆候を探すために皮膚生検を組織分析にかける。

【００７７】

全身性エリトマトーデス（「ＳＬＥ」）（播種状エリテマトーデスとも呼ばれる）は、原因不明の慢性炎症性結合組織障害であり、関節、腎臓、表在性漿液（ｓｅｒｏｕｓ　ｓｕｒｆａｃｅｓ）、及び血管壁に関わり得、そして大部分は若い女性において発生するが小児においても発生する。ＳＬＥの症例の９０％は女性において発生する。ＳＬＥは、急性感染症によく似て（ｓｉｍｕｌａｔｉｎｇ）発熱を伴って急激に始まり得るか、又は発熱及び倦怠感のエピソードを伴って数ヶ月又は数年をかけて潜行性に発症し得る。血管性頭痛、てんかん、又は精神障害は初期の所見である。いずれかの器官系に属すると言える症状が現れるかもしれない。間欠性関節痛から急性多発性関節炎にまで及ぶ関節の症状は、患者の約９０％で発生し、そして他の徴候が現れるまで何年もかかり得る。長期間の疾患においては、著しい二次的な関節変形を伴う中手指節関節における関節包の挿入性侵食（ｃａｐｓｕｌａｒ　ｉｎｓｅｒｔｉｏｎａｌ　ｅｒｏｓｉｏｎｓ）が、明白な辺縁部侵食のｘ線による証拠がなくても発生し得る（ジャクー関節炎）。しかし、大部分のループス多発性関節炎は非破壊的かつ非変形性である。

【００７８】
全身性エリトマトーデスは、５歳より下では稀であり、ＳＬＥを有する小児の大部分はこの疾患を青年期の間に発症する。若年性ＳＬＥの徴候及び症状は、成人におけるものと類似している。しかし、小児は、円板状から全身性疾患への移行が特に高レベルである。
【００７９】
痛風（痛風性関節炎としても知られる）は、過剰な尿酸の体内での蓄積（これは関節に沈着する結晶を形成し、炎症を引き起こす）に起因する末梢関節の再発する急性又は慢性の関節炎である。急性の痛風発作の間、関節（頻繁には足の親指の関節）において膨潤、炎症及び激しい痛みが存在する。発作の数年後には慢性痛風になり得、関節を恒久的に損傷して変消させ、そして腎臓の細胞を破壊する。大部分の症例は男性で発生し、最初の発作はまれに３０歳より前に起こる。
【００８０】
未分化脊椎関節症（ＵＳｐＡ）は、強直性脊椎炎又は関連疾患の確定診断に関する基準に合わない人物における脊椎炎の症状及び徴候を記載するために使用される用語である。多数の十分に確立された症候群が脊椎関節症系統群に含まれ、これには強直性脊椎炎、乾癬性関節炎、炎症性腸疾患の関節炎、ライター症候群、慢性反応性関節炎及び腱付着部炎関連若年性関節炎が含まれる。時間が経つと、ＵＳｐＡを有する人々の一部は、強直性脊椎炎のような脊椎炎の十分に定義された形態を発症する。
【００８１】
若年発症脊椎関節炎（ＪＳｐＡ）（若年性脊椎関節症としても知られる）は、小児期リウマチ性疾患の一群に関する医学用語であり、これは１６歳より前に関節炎を引き起こし、成人期にまで及び得る。若年性脊椎関節症には、未分化脊椎関節症、若年性強直性脊椎炎、若年性乾癬性関節炎、炎症性腸疾患に関連する関節炎（腸病原性関節炎）、反応性関節炎、（ライター症候群は、反応性関節炎の１つの型である）、及びＳＥＡ症候群（血清陰性、腱付着部症、関節症）が含まれる。ＪＳｐＡは典型的には、身体の下部、例えば、骨盤、臀部、膝及び足首における関節において疼痛及び炎症を引き起こす。脊椎、眼、皮膚及び腸のような身体の他の領域もまた冒され得る。疲労及び嗜眠もまた起こり得る。
【００８２】
クローン病は、最も一般的には遠位回腸及び直腸に影響を及ぼす非特異性の慢性経壁炎症性疾患であるが、胃腸管のいずれの部分でも発生し得る。腹痛を伴う慢性の下痢、発熱、食欲不振、体重減少、及び右下腹部腫瘤又は膨満は、クローン病の最も一般的な症状である。まれな症状としては、食欲不足、発熱、寝汗、直腸痛、及び直腸出血が挙げられる。クローン病は、結腸、直腸、及び小腸を冒し得、まれな例では、胃、口腔、及び食道も冒し得る。クローン病病態の最も一般的なパターンは、（１）右下腹部痛及び圧痛を特徴とする炎症；（２）腸狭窄により引き起こされ、そして激しい仙痛、腹部膨張、便秘、及び嘔吐をもたらす、再発性の部分的閉塞；（３）栄養失調及び慢性衰弱を生じる炎症及び閉塞を伴う、汎発性空回腸炎；並びに（４）腹フィステル及び腹部膿瘍（通常は遅い発症であり、しばしば発熱、有痛性の腹部腫瘤、及び全身的な消耗を引き起こす）である。クローン病は、上記の炎症性又は閉塞性の症状を有する患者において、及び顕著な胃腸管の症状はないが肛門周囲のフィステル若しくは膿瘍又はその他の点では未解明の関節炎、結節性紅斑、発熱、貧血、若しくは（小児における）発育阻止を有する患者において、疑われるべきである。検査所見は非特異的であり、そして貧血、白血球増多、低アルブミン血症、及び上昇したＥＳＲ、Ｃ反応性タンパク質又はオロソムコイドに反映される増加したレベルの急性相反応物質を含み得る。上昇したアルカリホスファターゼ及びγ－グルタミルトランスペプチダーゼを伴う結腸疾患は、しばしば原発性硬化性胆管炎を反映する。診断は通常ｘ線により行われる。
【００８３】
進行した症例では、ストリングサインが、顕著な回腸狭窄及び腸ループの分離を伴って見られ得る。初期の症例では、ｘ線診断は困難なときもあるが、注腸二重造影法（ａｉｒ ｄｏｕｂｌｅ－ｃｏｎｔｒａｓｔ ｂａｒｉｕｍ ｅｎｅｍａ）及び高位浣腸法により

表面のアフタ性及び線状潰瘍が示され得る。結腸内視鏡検査及び生検は結腸クローン病の診断を裏付けるのに役立ち得、そして回腸末端の直接的な可視化及び生検を可能にする。上部消化管内視鏡検査は、上部消化管の症状を有するクローン病患者における胃十二指腸の関与を同定し得る。

【００８４】

潰瘍性大腸炎は、大腸粘膜で生じる慢性、炎症性、かつ潰瘍性の疾患であり、最も頻繁には血性下痢により特徴づけられる。血性下痢のさまざまな強度及び持続期間が無症状期間の間に分散し、これらは潰瘍性大腸炎の最も一般的な症状である。通常、発病は潜行性で始まり、便意切迫、中程度の下腹部痛、及び便中の血液及び粘液の増加を伴う。しかし、発病は、突然の激しい下痢、高熱、腹膜炎の徴候、及び深刻な毒血症を伴って、急性及び劇症性になり得る。一部の症例は、実証された感染症（例えば、アメーバ症、細菌性赤痢）の後に発症する。潰瘍が直腸Ｓ状結腸に限定される場合、便は正常であるか又は固く乾燥し得るが、赤血球及び白血球が含有された粘液の直腸での分泌は便通を伴うか便通の間に起こる。全身性症状は、穏やかであるか又は無い。潰瘍が近位に及ぶ場合、便はよりゆるくなり、そして患者は１日あたり＞１０回の便通を有し得、しばしば夜間に休み無く深刻な腹痛を伴って直腸しぶりに苦しむ。便が水っぽくなることもあり、粘液を含んでしばしばほとんど全部が血液及び膿からなることもある。倦怠感、発熱、貧血、食欲不振、体重減少、白血球増多、及び低アルブミン血症が、多数の活動性潰瘍性大腸炎に伴って存在し得る。患者の病歴及び便検査により、潰瘍性大腸炎の推定診断が可能となり、これは常に、疾患活動性の直接的で即座の指示をもたらすＳ状結腸鏡検査により確認されるべきである。初期の症例において、粘膜は細かい顆粒状で脆弱であり、正常な血管パターンの損失を伴い、そしてしばしば散在した出血領域を伴う；最小限の外傷（脆弱性）が多数のピンポイントの点（ｐｉｎｐｏｉｎｔ　ｓｐｏｔｓ）で出血を引き起こす。程なく粘膜は崩壊して多くの小さな血液及び膿が滲出した潰瘍が点在した赤い海綿状の表面になる。粘膜が徐々に巻き込まれていくにつれて、炎症及び出血は腸の筋肉にまで及ぶ。大量の化膿性滲出物を伴う大きな粘膜潰瘍が重症疾患を特徴づける。比較的正常であるか又は肥厚な炎症性粘膜の島（偽ポリープ）が潰瘍の粘膜の領域上に突出する。生検は非特異的であり得、そして時折、急性感染性（自己限定性）大腸炎を除くことができない；しかし、慢性を示唆する特徴（例えば、歪んだ腺窩（ｃｒｙｐｔ）構造、腺窩萎縮、慢性炎症性浸潤）は、潰瘍性大腸炎の診断を指示する。無症状期間の間でさえ、Ｓ状結腸鏡での状況はほとんど正常でなく；ある程度の脆弱性又は粒状性がほとんど常に存続している。正常な血管パターンの損失があり、そして生検は慢性炎症の証拠を示す。単純腹部ｘ線は、膨起形成の損失、粘膜浮腫、及び患部腸において形成された便がないことを示すことにより、大腸炎の重症度及び近位への広がりを判定するために役立つことがある。しかし、疾患経過の後期では、結腸全体が関与の程度を決定するために評価されるべきである。完全な結腸鏡検査は、最も感度がよく広く使用される方法であるが、バリウム注腸により情報を得ることができる。生検を伴う結腸鏡検査は、狭窄の性質を評価するために必須である。生検は、炎症が高度に限局性である場合又は肉芽腫が見られる場合に潰瘍性大腸炎とクローン病を区別するために役立ち得る。

【００８５】

過敏性腸症候群（ＩＢＳ）は、胃腸管全体に関与する運動障害であり、変動する程度の腹痛、便秘及び／又は下痢、並びに腹部膨満を含む、再発性の上部及び下部胃腸管系症状を引き起こす。過敏性腸症候群（ＩＢＳ）の原因は未知である。解剖学的な原因を発見することはできない。情動的な要因、食事制限、薬物又はホルモンは増大した胃腸運動を誘発又は増悪し得る。ＩＢＳの特徴は、排便により軽減される疼痛、腸習慣の交互パターン、腹部膨張、便中の粘液、及び排便後の不完全な排出という感覚である。一般的に、疼痛の特徴及び位置、誘発因子、及び排便パターンは各患者について異なる。ＩＢＳ患者はまた、腸外症状（例えば、線維筋痛症、頭痛、性交疼痛、顎関節症候群）も有し得る。ＩＢＳの２つの主要な臨床型が記載されている。便秘が優勢なＩＢＳでは便秘がよく見られるが、腸習慣は変動する。大部分の患者は、より正常な便頻度と交互の周期的な便秘を伴い

、結腸の少なくとも１つの領域に疼痛を有する。便はしばしば透明又は白色の粘液を含む。疼痛は仙痛か、発作的に起こるか、又は連続的な鈍い痛みのいずれかであり；腸運動により軽減され得る。一般的に食事が症状を誘発する。腹部膨満、鼓腸、吐き気、消化不良、及び胸やけも起こり得る。下痢が優勢なＩＢＳは、立ち上がってすぐに、又は食事の間若しくは直後に起こる急激な下痢により特徴づけられる。夜間の下痢は稀である。疼痛、腹部膨満、及び直腸切迫（ｒｅｃｔａｌ　ｕｒｇｅｎｃｙ）が一般的であり、失禁も起こり得る。ＩＢＳの診断は、特徴的な腸パターン、疼痛の時間及び特徴、並びに身体検査及び慣用の診断テストにより他の疾病過程を排除することに基づく。この症候群には容易に同定可能な構造的又は生化学的な異常がないために、医学界は、ＩＢＳの診断に役立てるためにローマ基準として知られる合意定義及び基準を開発した。ローマ基準によれば、ＩＢＳは、（１）欠失（ｄｅｆｅｃｔｉｏｎ）により軽減され、かつ／又は（２）変化した便頻度、変化した便形成、変化した便通過（ｐａｓｓａｇｅ）、粘液の通過、及び腹部膨満又は腹部膨張感、のうち２つ又はそれ以上に加えて便の頻度及び稠度の変化を伴う、腹部痛又は不快感により示される。腹部の触診により、触知できる圧痛のあるＳ状結腸とともに、特に左下腹部における時折の圧痛が明らかになり得る。慣用の指による直腸診は、全ての患者において行われるべきであり、婦人科内診は女性に対して行われるべきである。

【００８６】

過敏性腸疾患（ＩＢＤ）（炎症性腸疾患としても知られる）は、胃腸管中の様々な部位での慢性炎症により特徴づけられる。ＩＢＤは、２つの公知の臨床サブタイプ、クローン病（ＣＤ）及び潰瘍性大腸炎（ＵＣ）を含む。疾患パターンにおける特定の差異は、クローン病と潰瘍性大腸炎との区別を正当化する。

【００８７】

ＩＢＤ及びＩＢＳに関連する疼痛は、慢性又は急性の疼痛のいずれかとして示され得る。例えば、ＩＢＳの特徴は、排便（ｄｅｆｉｃａｔｉｏｎ）により軽減される急性疼痛であり、一方、慢性の腹痛はクローン病に典型的である。ＩＢＤ及びＩＢＳに関連する疼痛は腸外又は内臓外（ｅｘｔｒａｖｉｓｃｅｒａｌ）で発生し得るが、一般的にはこれらの病気は内臓痛を生じる。内臓痛は、腹腔の臓器を含む内臓に関連する疼痛である。これらの臓器には、生殖器官、脾臓、腸、結腸、直腸及び消化系の他の臓器が含まれる。内臓痛は、５つの重要な臨床上の特徴を有する：（１）全ての内臓から誘発されるわけではない（肝臓、腎臓、大部分の充実臓器、及び肺実質のような臓器は疼痛に対して感受性ではない）；（２）常に内臓損傷に関連付けられるわけではない；（３）拡散しており十分に局在化されていない；（４）他の位置に投射される；並びに（５）運動反射及び自律神経反射、例えば吐き気、嘔吐、及び腎仙痛において発生する腰の筋張力を伴う。

【００８８】

疼痛は、外部環境からの傷害の可能性のある刺激による危険を警告するために設計されている重要な生理的防御機構である。このシステムは、特定の一連の一次感覚ニューロンを通して作動し、そして末梢伝達機構を介して侵害刺激により活性化される（総説については、例えばＭｉｌｌａｎ、１９９９、Ｐｒｏｇ．Ｎｅｕｒｏｂｉｏｌ．、５７、１－１６４を参照のこと）。これらの感覚線維は侵害受容器として知られ、特徴的には遅い伝導速度を有する小さい直径の軸索である。侵害受容器は、侵害性刺激の強度、持続期間、及び性質、そしてそれらの組織分布的に構築された脊髄への突起により、刺激の位置をコード化する。侵害受容器は、侵害受容性神経線維上に見られ、これには２つの主要な型、Ａ－デルタ線維（有髄）及びＣ線維（無髄）がある。侵害受容器の入力により生成された活動は、後角における複雑な処置の後に、直接的か又は脳幹リレー核を介して基底腹側視床に、次いで皮質に移動され、ここで疼痛の感覚が生成される。

【００８９】

疼痛は、一般的には急性又は慢性に分類され得る。急性疼痛は突然始まり、そして長続きしない（通常は１２週又はそれ以下）。これは通常、特定の損傷のような特定の原因に関連し、しばしば激しく重症である。これは、手術、歯科医の作業、挫傷又は捻挫に起因

する特定の損傷後に発生し得る型の疼痛である。急性疼痛は、一般的には持続する心理的応答を生じない。対照的に、慢性疼痛は長期の疼痛であり、典型的には３ヶ月より長く持続し、深刻な心理的及び感情的な問題をもたらす。慢性疼痛のよくある例は、神経障害性疼痛（例えば、有痛性糖尿病性ニューロパチー、ヘルペス後神経痛）、手根管症候群、背部痛、頭痛、がん性疼痛、関節炎痛及び慢性手術後痛である。

【００９０】

疾患又は外傷により実質的な損傷が身体組織に生じる場合、侵害受容器活性化の特徴は変更され、そして末梢において、損傷周囲で局所的に、かつ侵害受容器が終結する場所を中心に感作が存在する。これらの影響は増加した疼痛の感覚をもたらす。急性疼痛において、これらの機構は、修復プロセスが起こることをよりよく可能にし得る保護的挙動を促進する際に有用であり得る。通常は、損傷が治癒されれば感受性が正常に戻るだろうと期待される。しかし、多くの慢性疼痛状態において、過感受性は治癒プロセスよりはるかに長く続き、しばしば神経系損傷に起因する。この損傷はしばしば、適応不全及び異常な活動を伴う感覚神経線維の異常性をもたらす（Ｗｏｏｌｆ　＆　Ｓａｌｔｅｒ、２０００、Ｓｃｉｅｎｃｅ、２８８、１７６５－１７６８）。

【００９１】

臨床上、疼痛は、患者の症状の中でも不快感及び異常な感受性が特色になっている場合に存在する。患者は全く不均一である傾向があり、そして様々な疼痛症状を示し得る。このような症状としては：１）鈍痛、灼熱痛、又は刺痛であり得る突発性の疼痛；２）侵害刺激に対する過剰な疼痛応答（痛覚過敏）；及び３）通常は無害な刺激により生じる疼痛（異痛症－Ｍｅｙｅｒ　ｅｔ　ａｌ．、１９９４、Ｔｅｘｔｂｏｏｋ　ｏｆ　Ｐａｉｎ、１３－４４）が挙げられる。様々な形態の急性及び慢性疼痛に罹患している患者は類似した症状を有し得るが、根底にある機構は異なるかもしれず、従って異なる処置戦略が必要であり得る。従って疼痛はまた、異なる病態生理にしたがって多数の異なるサブタイプに分けることができ、これには侵害受容性疼痛、炎症性疼痛及び神経障害性疼痛が含まれる。

【００９２】

侵害受容性疼痛は、組織損傷により、又は損傷を引き起こす可能性のある強い刺激により誘導される。疼痛求心性神経は、損傷部位における侵害受容器による刺激の伝達により活性化されて、それらの末端のレベルで脊髄においてニューロンを活性化する。次いでこれが脊髄路を上がって脳までリレーされて、ここで疼痛が知覚される（Ｍｅｙｅｒ　ｅｔ　ａｌ．、１９９４、Ｔｅｘｔｂｏｏｋ　ｏｆ　Ｐａｉｎ、１３－４４）。侵害受容器の活性化は、２つの型の求心性神経線維を活性化する。有髄Ａ－デルタ線維は急速に伝達し、そして鋭い刺痛感覚の原因であり、一方、無髄Ｃ線維はより遅い速度で伝達し、そして鈍痛又はうずく痛みを伝達する。中程度から重症の急性侵害受容性疼痛は、中枢神経系外傷、挫傷／捻挫、火傷、心筋梗塞及び急性膵炎に由来する疼痛、術後痛（あらゆる型の外科手技の後の疼痛）、外傷後痛、腎仙痛、がん性痛及び背部痛の際立った特徴である。がん性痛は、腫瘍関連疼痛（例えば骨痛、頭痛、顔面痛又は内臓痛）のような慢性疼痛又はがん治療に関連する疼痛（例えば化学療法後症候群、慢性術後痛症候群又は放射線照射後症候群）であり得る。がん性痛はまた、化学療法、免疫療法、ホルモン療法又は放射線療法に反応して発生し得る。背部痛は、脱出又は断裂した椎間板（ｉｎｔｒａｖｅｒｔｅｂｒａｌ　ｄｉｓｃｓ）又は腰部（ｌｕｍｂｅｒ）椎間関節、仙腸関節、傍脊柱筋群若しくは後縦靭帯の異常に起因する。背部痛は自然に消失し得るが、一部の患者において、１２週を超えて持続する場合は、特に消耗性であり得る慢性状態となる。

【００９３】

神経障害性疼痛は、一次病巣又は神経系における機能不全により開始されるか又は引き起こされる疼痛として現在は定義されている。神経損傷は、外傷及び疾患により引き起こされ得、従って用語「神経障害性疼痛」は、多様な病因を有する多くの傷害を含む。これらとしては、限定されないが、末梢性ニューロパチー、糖尿病性ニューロパチー、ヘルペス後神経痛、三叉神経痛、背部痛、がん性ニューロパチー、ＨＩＶニューロパチー、幻肢

痛、手根管症候群、中枢性卒中後痛、並びに慢性アルコール症、甲状腺機能低下症、尿毒症、多発性硬化症、脊髄損傷、パーキンソン病、てんかん及びビタミン欠乏症に関連する疼痛が挙げられる。神経障害性疼痛は保護的役割を有さない病理である。これはしばしば、元の原因が消失した十分後に存在し、一般的には何年も持続して、患者のクオリティ・オブ・ライフを著しく低下させる（Ｗｏｏｌｆ ａｎｄ Ｍａｎｎｉｏｎ、１９９９、Ｌａｎｃｅｔ、３５３、１９５９－１９６４）。神経障害性疼痛の症状は、しばしば同じ疾患を有する患者の間でも不均一であるため処置が困難である（Ｗｏｏｌｆ ＆ Ｄｅｃｏｓｔｅｒｄ、１９９９、Ｐａｉｎ Ｓｕｐｐ．、６、Ｓ１４１－Ｓ１４７；Ｗｏｏｌｆ ａｎｄ Ｍａｎｎｉｏｎ、１９９９、Ｌａｎｃｅｔ、３５３、１９５９－１９６４）。これらには、自発痛（持続し得る）、並びに発作性又は異常な誘発された疼痛、例えば痛覚過敏（侵害刺激に対する増加した感受性）及び異痛症（通常は無害な刺激に対する感受性）が含まれる。

【００９４】

炎症過程は、膨潤及び疼痛を生じる組織損傷又は異物の存在に反応して活性化される複雑な一連の生化学的及び細胞の事象である（Ｌｅｖｉｎｅ ａｎｄ Ｔａｉｗｏ、１９９４、Ｔｅｘｔｂｏｏｋ ｏｆ Ｐａｉｎ、４５－５６）。関節炎痛は、最も一般的な炎症性疼痛である。リウマチ性疾患は、先進国において最も普通に見られる慢性炎症性状態の１つであり、そして関節リウマチは身体障害の最大原因である。関節リウマチの正確な病因は未知であるが、現在の仮説は、遺伝的及び微生物学的な因子の両方が重要であり得ると示唆する（Ｇｒｅｎｎａｎ ＆ Ｊａｙｓｏｎ、１９９４、Ｔｅｘｔｂｏｏｋ ｏｆ Ｐａｉｎ、３９７－４０７）。ほとんど１６００万人の米国人が症候性変形性関節症（ＯＡ）又は変性関節疾患を有すると見積もられており、これらの人々の大部分が６０歳を超えており、これはこの年齢の人口が増加するにつれて４０００万人まで増加すると予測され、非常に重大な公衆衛生の問題となっている（Ｈｏｕｇｅ＆Ｍｅｒｓｆｅｌｄｅｒ、２００２、Ａｎｎ Ｐｈａｒｍａｃｏｔｈｅｒ．、３６、６７９－６８６；ＭｃＣａｒｔｈｙ ｅｔ ａｌ．、１９９４、Ｔｅｘｔｂｏｏｋ ｏｆ Ｐａｉｎ、３８７－３９５）。大部分の変形性関節症患者は、付随する疼痛のために治療を求める。関節炎は、心理社会的及び身体的な機能に対して重大な影響を有し、そして後の人生における身体障害の主要原因であることが知られている。強直性脊椎炎もまたリウマチ性疾患であり、これは脊椎及び仙腸関節の関節炎を引き起こす。これは一生を通じて発生する背部痛の間欠性エピソードから脊椎、末梢関節及び他の身体器官を襲う重篤な慢性疾患にまで様々である。

【００９５】

炎症性疼痛の別の型は、炎症性腸疾患（ＩＢＤ）に関連する疼痛を含む内臓痛である。内臓痛は、腹腔の臓器を含む内臓に関連する疼痛である。これらの臓器には、生殖器、脾臓及び消化系の一部が含まれる。内臓に関連する疼痛は、消化系内臓痛及び非消化系内臓痛に分けることができる。疼痛を引き起こす一般的に見られる胃腸（ＧＩ）障害には、機能性腸障害（ＦＢＤ）及び炎症性腸疾患（ＩＢＤ）が含まれる。これらのＧＩ障害には、現在は控えめにしか制御されていない広い範囲の疾患状態が含まれ、これらとしては、ＦＢＤについて、胃食道逆流、消化不良、過敏性腸症候群（ＩＢＳ）及び機能性腹痛症候群（ＦＡＰＳ）、並びにＩＢＤについて、クローン病、回腸炎及び潰瘍性大腸炎が挙げられ、これらは全て恒常的に内臓痛を生じる。内臓痛の他の型には、月経困難症、膀胱炎及び膵炎に関連する疼痛並びに骨盤痛が含まれる。

【００９６】

いくつかの型の疼痛は複数の病因を有し、従って１つより多くの領域に分類され得るということに留意すべきであり、例えば背部痛及びがん性痛は、侵害受容性及び神経障害性の両方の要素を有する。

【００９７】

他の型の疼痛としては：

・筋痛、線維筋痛症、脊椎炎、血清陰性（非リウマチ性）関節症、非関節性リウマチ、ジストロフィン異常症、グリコーゲン分解、多発性筋炎及び化膿性筋炎を含む、筋骨格障

害に起因する疼痛；
・狭心症、心筋梗塞、僧帽弁狭窄、心膜炎、レイノー現象、浮腫性硬化症（ｓｃｌｅｒｅｄｏｍａ）及び骨格筋虚血により引き起こされる疼痛を含む、心臓及び血管の疼痛；
・頭部疼痛、例えば片頭痛（前兆がある片頭痛及び前兆のない片頭痛）、群発性頭痛、緊張型頭痛混合頭痛及び血管障害に関連する頭痛；並びに
・歯痛、耳痛、口腔灼熱症候群及び側頭下顎筋筋膜痛を含む口腔顔面痛、
が挙げられる。

【００９８】

ＩＬ－６抗体又はその抗原結合部分は、１つ又はそれ以上の他の治療剤と組み合わせて使用することができる。例えば、抗体又はその抗原結合部分は、ＣＯＸ－２阻害剤（例えばセレコキシブ）とともに、関節リウマチ、変形性関節症及び疼痛のような疾患の処置のために使用することができる。ＩＬ－６抗体又はその抗原結合部分及び他の治療剤は、同じ投薬形態で、又は異なる投薬形態で患者に投与することができる。さらに、これらは同時に、又は異なる時点で投与することができる。以下は、抗ＩＬ－６抗体又はその抗原結合部分と組み合わせて使用することができる治療剤のいくつかの例である。

【００９９】

関節リウマチ

ＩＬ－６抗体及びその抗原結合部分はまた、併用療法（ｃｏ－ｔｈｅｒａｐｉｅｓ）においても使用され得る。適切な抗炎症併用療法化合物としては：

シクロスポリン、ゾレドロン酸、エファリズマブ、アレファセプト、エトドラク、ロルノキシカム、ＯＭ－８９、バルデコキシブ、トシリズマブ、アバタセプト、メロキシカム、エタネルセプト、ナムブメトン（ｎａｍｂｕｍｅｔｏｎｅ）、リメキソロン、１５３Ｓｍ－ＥＤＴＭＰ、プロソルバ（ｐｒｏｓｏｒｂａ）、サリチル酸イミダゾール、オプレルベキン、ヒアルロン酸（ｈｙｌａｕｒｏｎｉｃ　ａｃｉｄ）、ナプロキセン、ピロキシカム、ジアセレイン、ルメリコキシブ（ｌｕｍｅｒｉｃｏｘｉｂ）、タクロリムス、アセクロフェナク、アクタリット、テノキシカム、ロシグリタゾン、デフラザコート、アダリムマブ、レフルノミド、リセドロン酸ナトリウム、ミソプロストール及びジクロフェナク、ＳＫ－１３０６Ｘ、インフリキシマブ、アナキンラ、セレコキシブ、ジクロフェナク、エトリコキシブ及びフェルビナク、リューマコン（ｒｅｕｍａｃｏｎ）、ゴリムマブ、デノスマブ、オファツムマブ、１０ｒＴ１抗体、ペルビプロフェン、リコフェロン、テムシロリムス、エクリズマブ、イグラチモド、並びにプレドニゾンが挙げられる。他の適切な抗炎症薬としては、ＣＰ－４８１７１５、ＡＢＮ－９１２、ＭＬＮ－３８９７、ＨｕＭａｘ－ＩＬ－１５、ＲＡ－１、パクリタキセル、Ｏｒｇ－３７６６３、Ｏｒｇ　３９１４１、ＡＥＤ－９０５６、ＡＭＧ－１０８、フォントリズマブ（ｆｏｎｔｏｌｉｚｕｍａｂ）、ペグスネルセプト（ｐｅｇｓｕｎｅｒｃｅｐｔ）、プラルナカサン、アピリモド（ａｐｉｌｉｍｏｄ）、ＧＷ－２７４１５０、ＡＴ－００１、６８１３２３（ＧＳＫ）　Ｋ－８３２、Ｒ－１５０３、オクレリズマブ、ＤＥ－０９６、Ｃｐｎ１０、ＴＨＣ＋ＣＢＤ（ＧＷ　Ｐｈａｒｍａ）、８５６５５３（ＧＳＫ）、ＲｅＮ－１８６９、免疫グロブリン、ｍｍ－０９３、アメルバント（ａｍｅｌｕｂａｎｔ）、ＳＣＩＯ－４６９、ＡＢＴ－８７４、ＬｅｎｋｏＶＡＸ、ＬＹ－２１２７３９９、ＴＲＵ－０１５、ＫＣ－７０６、アモキサピネト（ａｍｏｘａｐｉｎｅｔ）及びジピリダモール、ＴＡＫ－７１５、ＰＧ　７６０５６４、ＶＸ－７０２、プレドニゾロン及びジピリダモール、ＰＭＸ－５３、ベリムマブ、プリナベレル（ｐｒｉｎａｂｅｒｅｌ）、ＣＦ－１０１、ｔｇＡＡＶ－ＴＮＦＲ：Ｆｃ、Ｒ－７８８、プレドニゾロン及びＳＳＲＩ、ＣＰ－６９０５５０並びにＰＭＩ－００１が挙げられる。

【０１００】

変形性関節症

ＩＬ－６抗体及びその抗原結合部分はさらに、変形性関節症の１つ又はそれ以上の徴候を処置するために有用な１つ又はそれ以上の薬剤とともに、変形性関節症の処置のために同時投与（ｃｏ－ａｄｍｉｎｉｓｔｅｒｅｄ）され得る。抗ＩＬ－６抗体又はその抗原結

合部分と組み合わせて使用するための、変形性関節症の１つ又はそれ以上の徴候を処置するために有用な薬剤の例としては、マトリックスメタロプロテイナーゼ（ＭＭＰ）阻害剤、アグリカナーゼ阻害剤、誘導型一酸化窒素（ｉＮＯＳ）阻害剤、インスリン様成長因子（ＩＧＦ）発現又は活性の阻害剤、線維芽細胞増殖因子（ＦＧＦ）発現又は活性の阻害剤、ＣＤ４４発現又は活性の阻害剤、インターロイキン（ＩＬ）発現又は活性の阻害剤、腫瘍壊死因子アルファ（ＴＮＦ－アルファ）発現又は活性の阻害剤、腫瘍壊死因子誘導タンパク質６（ＴＳＧ－６）発現又は活性の阻害剤、ビクニン発現又は活性の阻害剤、ベーターセクレターゼ（ＢＡＣＥ）の阻害剤、ＰＡＣＥ－４の阻害剤、核内受容体ｒｅｖ－ＥｒｂＡアルファ（ＮＲ１Ｄ１）発現又は活性の阻害剤、内皮分化スフィンゴ脂質Ｇタンパク質共役受容体１（ＥＤＧ－１）発現又は活性の阻害剤、プロテイナーゼ活性化受容体（ＰＡＲ）発現又は活性の阻害剤、軟骨由来レチノイン酸感受性タンパク質（ＣＤ－ＲＡＰ）発現又は活性の阻害剤、プロテインキナーゼＣゼータ（ＰＫＣｚ）の阻害剤、レジスチン発現又は活性の阻害剤、ディスインテグリン及びメタロプロテイナーゼ８（ＡＤＡＭ８）の阻害剤、補体成分１ｓ小成分（Ｃ１ｓ）発現又は活性の阻害剤、ホルミルペプチド受容体様１（ＦＰＲＬ１）発現又は活性の阻害剤が挙げられる。

【０１０１】

ＩＬ－６抗体及びその抗原結合部分と組み合わせて有用な薬剤のさらなる例としては、ＭＭＰ－２、－３、－９、又は－１３の阻害剤；アグリカナーゼ－１又は－２の阻害剤；ＩＧＦ－１又は－２の発現又は活性の阻害剤；ＦＧＦ－２、－１８、又は－９の発現又は活性の阻害剤；及びＩＬ－１、－４又は－６の発現又は活性の阻害剤が挙げられる。

【０１０２】

ＩＬ－６抗体及びその抗原結合部分と組み合わせて有用な薬剤のさらなる例としては、ＩＧＦ－１又は－２抗体；ＦＧＦ受容体－２又は－３アンタゴニスト、ＣＤ４４抗体、ＩＬ－１、－４又は－６抗体、ＴＮＦ－アルファ抗体；ＴＳＧ－６抗体；ビクニン抗体；ＮＲ１Ｄ１アンタゴニスト；ＥＤＧ－１アンタゴニスト；ＰＡＲアンタゴニスト、ＣＤ－ＲＡＰ抗体、レジスチン抗体、Ｃ１ｓ抗体、及びＦＰＲＬ１抗体が挙げられる。

【０１０３】

疼痛

ＩＬ－６抗体又はその抗原結合部分は、疼痛の処置のための１つ又はそれ以上のさらなる薬理活性化合物と組み合わせて投与することができる。これら化合物は、単一の投薬形態で同時に投与してもよいし、又は同じでも異なっていてもよい投薬形態で別々に投与されてもよい。あるいは、これら化合物は順次投与することができる。薬理活性化合物の薬学的に許容しうる塩もまた、組み合わせで使用され得る。

【０１０４】

ＩＬ－６抗体又はその抗原結合部分とともに投与することができる化合物の例としては：

シクロオキシゲナーゼ－２（ＣＯＸ－２）選択的阻害剤、例えばセレコキシブ、ロフェコキシブ、パレコキシブ、バルデコキシブ、デラコキシブ（ｄｅｒａｃｏｘｉｂ）、エトリコキシブ、及びルミラコキシブ；オピオイド鎮痛薬、例えばモルヒネ、ヒドロモルホン、オキシモルホン、フェンタニル、コデイン、ジヒドロコデイン、オキシコドン、ヒドロコドン、ブプレノルフィン、トラマドール、及びナルブフィン；非ステロイド性抗炎症薬（ＮＳＡＩＤ）、例えばアスピリン、ジクロフェナク、ジフルニサル、イブプロフェン、フェノプロフェン、ナプロキセン、ネパフェナク、及びアセトアミノフェン；ホスホジエステラーゼＶ阻害剤（ＰＤＥＶ）、例えばシルデナフィル；アルファ－２－デルタリガンド、例えばガバペンチン及びプレガバリン；並びに局所麻酔薬、例えばベンゾカイン、リドカイン、ロピバカイン、メントール、カンファー及びサリチル酸メチル、

が挙げられる。

【０１０５】

ＩＬ－６抗体及びその抗原結合部分と組み合わせて使用され得る他の型の化合物及び化合物のクラスの例としては以下が挙げられる：

バルビツレート鎮静薬；ベンゾジアゼピン類；鎮静作用を有するヒスタミンH_1アンタゴニスト；鎮静薬；骨格筋弛緩薬；Ｎ－メチル－Ｄ－アスパラギン酸（ＮＭＤＡ）受容体アンタゴニスト；アルファ－アドレナリン作用薬；三環系抗うつ薬；抗痙攣薬、例えばカルバマゼピン；タキキニン（ＮＫ）アンタゴニスト、特にＮＫ－３、ＮＫ－２又はＮＫ－１アンタゴニスト；ムスカリンアンタゴニスト；神経遮断薬；バニロイド受容体アゴニスト又はアンタゴニスト；ベーター－アドレナリン作用薬；副腎皮質ステロイド；セロトニン（５－ＨＴ）受容体アゴニスト又はアンタゴニスト、例えば５－$HT_{1B/1D}$、５－HT_{2A}、及び５－HT_3受容体アンタゴニスト；コリン作用性（ニコチン性）鎮痛薬；カンナビノイド；代謝型グルタミン酸サブタイプ１受容体（ｍＧｌｕＲ１）アンタゴニスト；セロトニン再取り込み阻害剤、例えばセルトラリン；ノルアドレナリン（ノルエピネフリン）再取り込み阻害剤、例えばレボキセチン、特に（Ｓ，Ｓ）－レボキセチン；二重セロトニン－ノルアドレナリン再取り込み阻害剤、例えばデュロキセチン；誘導型一酸化窒素合成酵素（ｉＮＯＳ）阻害剤、例えば、Ｓ－［２－［（１－イミノエチル）アミノ］エチル］－Ｌ－ホモシステイン、Ｓ－［２－［（１－イミノエチル）－アミノ］エチル］－４，４－ジオキソ－Ｌ－システイン、Ｓ－［２－［（１－イミノエチル）アミノ］エチル］－２－メチル－Ｌ－システイン、（２Ｓ，５Ｚ）－２－アミノ－２－メチル－７－［（１－イミノエチル）アミノ］－５－ヘプテイン酸、２－［［（１Ｒ，３Ｓ）－３－アミノ－４－ヒドロキシ－１－（５－チアゾリル）－ブチル］チオ］－５－クロロ－３－ピリジンカルボニトリル；２－［［（１Ｒ，３Ｓ）－３－アミノ－４－ヒドロキシ－１－（５－チアゾリル）ブチル］チオ］－４－クロロベンゾニトリル、（２Ｓ，４Ｒ）－２－アミノ－４－［［２－クロロ－５－（トリフルオロメチル）フェニル］チオ］－５－チアゾールブタノール、２－［［（１Ｒ，３Ｓ）－３－アミノ－４－ヒドロキシ－１－（５－チアゾリル）ブチル］チオ］－６－（トリフルオロメチル）－３ピリジンカルボニトリル、２－［［（１Ｒ，３Ｓ）－３－アミノ－４－ヒドロキシ－１－（５－チアゾリル）ブチル］チオ］－５－クロロベンゾニトリル、Ｎ－［４－［２－（３－クロロベンジルアミノ）エチル］フェニル］チオフェン－２－カルボキサミジン、及びグアニジノエチルジスルフィド；アセチルコリンエステラーゼ阻害剤；プロスタグランジンE_2サブタイプ４（ＥＰ４）アンタゴニスト、例えばＮ－［（｛２－［４－（２－エチル－４，６－ジメチル－１Ｈ－イミダゾ［４，５－ｃ］ピリジン－１－イル）フェニル］エチル｝アミノ）－カルボニル］－４－メチルベンゼンスルホンアミド又は４－［（１Ｓ）－１－（｛［５－クロロ－２－（３－フルオロフェノキシ）ピリジン－３－イル］カルボニル｝アミノ）エチル］安息香酸；ロイコトリエンＢ４アンタゴニスト、例えば１－（３－ビフェニル－４－イルメチル－４－ヒドロキシ－クロマン－７－イル）－シクロペンタンカルボン酸；５－リポキシゲナーゼ阻害剤；並びにナトリウムチャネル遮断薬。

【０１０６】

線維筋痛症候群

製品：鎮痛薬、例えばアセトアミノフェン、ナプロキセンナトリウム、イブプロフェン、トラマドール、トラゾドン；シクロベンザプリン；アスピリン、セレコキシブ、バルデコキシブ、インドメタシン、及び他のＮＳＡＩＤ；抗うつ薬、例えば三環系抗うつ薬及び選択的セロトニン再取り込み阻害剤、例えばアミトリプチリン、イミプラミン、ノルトリプチリン、ドキセピン、フルオキセチン、セルトラリン、及びパロキセチンのような抗うつ薬；筋弛緩薬、例えばシクロベンザプリン；睡眠補助剤（ｓｌｅｅｐｉｎｇ　ａｉｄｓ）、例えばゾルピデム。

【０１０７】

クラス：ノルエピネフリン－セロトニン再取り込み阻害剤（ＮＳＲＩ及びＳＮＲＩ）；ノルエピネフリン再取り込み阻害剤（ＮＲＩ）；選択的セロトニン再取り込み阻害剤（ＳＳＲＩ）；三環系抗うつ薬；選択的シクロオキシゲナーゼ－２（ＣＯＸ－２）阻害剤；非ステロイド性抗炎症薬（ＮＳＡＩＤ）；鎮痛薬。

【０１０８】

強直性脊椎炎

製品：鎮痛薬、例えばアセトアミノフェン、ナプロキセンナトリウム、イブプロフェン、トラマドール、アスピリン、セレコキシブ、バルデコキシブ、インドメタシン、及び他のＮＳＡＩＤ；疾患修飾抗リウマチ薬（ＤＭＡＲＤ）、例えばスルファサラジン又はメトトレキサート；副腎皮質ステロイド；並びに腫瘍壊死因子（ＴＮＦ）遮断薬、例えばエタネルセプト及びインフリキシマブ。

【０１０９】

クラス：鎮痛薬；ＮＳＡＩＤ；ＣＯＸ－２阻害剤；ＤＭＡＲＤ；副腎皮質ステロイド；ＴＮＦ遮断薬。

【０１１０】

乾癬

製品：ソラレン長波長紫外線（ソラレンＵＶＡ又はＰＵＶＡ）療法、狭帯域中波長紫外線（ＵＶＢ）療法、及び組み合わせ光（ｃｏｍｂｉｎａｔｉｏｎ　ｌｉｇｈｔ）療法を含む光線療法；外用副腎皮質ステロイド；ビタミンＤ類似体、例えばカルシポトリエン；アントラリン；外用レチノイド（すなわち、ビタミンＡ誘導体）、例えばアシトレチン及びタザロテン；プロピオン酸クロベタゾール；メトトレキサート；アザチオプリン；シクロスポリン；ヒドロキシ尿素；並びに免疫調節薬、例えばアレファセプト、エファリズマブ、及びエタネルセプト。

【０１１１】

クラス：光線療法；副腎皮質ステロイド；ビタミンＤ類似体；ビタミンＡ誘導体。

【０１１２】

痛風

製品：ＮＳＡＩＤ、例えばアセトアミノフェン、ナプロキセンナトリウム、イブプロフェン、トラマドール、アスピリン、セレコキシブ、バルデコキシブ、及びインドメタシン；並びに副腎皮質ステロイド、例えばプレドニゾン。

【０１１３】

クラス：鎮痛薬；ＮＳＡＩＤ；ＣＯＸ－２阻害剤；及び副腎皮質ステロイド。

【０１１４】

クローン病

製品：鎮痛薬、例えばアセトアミノフェン、ナプロキセンナトリウム、イブプロフェン、トラマドール、アスピリン、セレコキシブ、バルデコキシブ、インドメタシン、及び他のＮＳＡＩＤ；抗炎症薬；スルファサラジン、メサラミン、バルサラジド、及びオルサラジン；並びに副腎皮質ステロイド、例えばプレドニゾン及びブデソニド；免疫抑制薬、例えばアザチオプリン、メルカプトプリン、ＴＮＦ遮断薬、例えばインフリキシマブ及びアダリムマブ、メトトレキサート、及びシクロスポリン；抗生物質、例えばメトロニダゾール及びシプロフロキサシン；止瀉薬、例えばロペラミド；並びに緩下薬。

【０１１５】

クラス：鎮痛薬；ＮＳＡＩＤ；ＣＯＸ－２阻害剤；抗炎症薬；ＴＮＦ遮断薬；抗生物質；止瀉薬；及び緩下薬。

【０１１６】

潰瘍性大腸炎

クラス：鎮痛薬、例えばアセトアミノフェン、ナプロキセンナトリウム、イブプロフェン、トラマドール、アスピリン、セレコキシブ、バルデコキシブ、インドメタシン、及び他のＮＳＡＩＤ；抗炎症薬；スルファサラジン、メサラミン、バルサラジド、及びオルサラジン；副腎皮質ステロイド；免疫抑制薬、例えばアザチオプリン、メルカプトプリン、ＴＮＦ遮断薬、例えばインフリキシマブ及びアダリムマブ、メトトレキサート、並びにシクロスポリン；止瀉薬、例えばロペラミド；並びに緩下薬。

【０１１７】

クラス：ＮＳＡＩＤ；ＣＯＸ－２阻害剤；抗炎症薬；ＴＮＦ遮断薬；副腎皮質ステロイド；免疫抑制剤；ヤヌスキナーゼ－３（Ｊａｋ－３）阻害剤；ＴＮＦ遮断薬；止瀉薬；及び緩下薬。

【０１１８】
過敏性腸症候群
製品：止瀉薬、例えばロペラミド；緩下薬；抗コリン薬；抗うつ薬、例えば三環系抗うつ薬及び選択的セロトニン再取り込み阻害剤、例えばアミトリプチリン、イミプラミン、ノルトリプチリン、ドキセピン、フルオキセチン、セルトラリン、及びパロキセチンのような抗うつ薬；アロセトロン；並びにテガセロッド。
【０１１９】
クラス：止瀉薬；緩下薬；抗コリン薬；ノルエピネフリン－セロトニン再取り込み阻害剤（ＮＳＲＩ及びＳＮＲＩ）；ノルエピネフリン再取り込み阻害剤（ＮＲＩ）；選択的セロトニン再取り込み阻害剤（ＳＳＲＩ）；三環系抗うつ薬。
【０１２０】
医薬組成物及び投与
ヒトを含む哺乳動物における異常な細胞浸潤の処置のための医薬組成物も提供され、この医薬組成物は、本明細書に記載されるような、異常な細胞浸潤の処置において有効である量のＩＬ－６抗体又はその抗原結合部分、及び薬学的に許容しうる担体を含む。本組成物は、種々の炎症性疾患及び自己免疫疾患（例えば関節リウマチ、アテローム性動脈硬化症、肉芽腫性疾患、多発性硬化症、ぜん息及びがん）のうち１つ又はそれ以上を有する患者に対して治療的利益をもたらす。
【０１２１】
ＩＬ－６抗体及びその抗原結合部分は、対象（subject）への投与に適した医薬組成物中に組み込まれ得る。典型的には、本医薬組成物は、ＩＬ－６抗体又はその抗原結合部分、及び薬学的に許容しうる担体を含む。本明細書で使用される、「薬学的に許容しうる担体」は、生理学的に適合性である、ありとあらゆる溶媒、分散媒体、コーティング、抗菌剤及び抗真菌剤、等張剤及び吸収遅延剤などを意味する。薬学的に許容しうる担体のいくつかの例は、水、生理食塩水、リン酸緩衝化生理食塩水、デキストロース、グリセロール、エタノールなど、さらにはこれらの組み合わせである。多くの場合、等張剤、例えば、糖類、多価アルコール、例えばマンニトール、ソルビトール、又は塩化ナトリウムを組成物中に含むことが好ましい。薬学的に許容しうる物質のさらなる例は、湿潤剤又は少量の補助物質、例えば湿潤剤又は乳化剤、保存料又は緩衝剤であり、これらは抗体の保存寿命又は有効性を増大する。
【０１２２】
本発明の組成物は、種々の形態、例えば、液剤（例えば、注射用液剤及び注入用液剤）、分散剤又は懸濁剤、錠剤、丸剤、散剤、リポソーム及び坐剤のような、液状、半固形及び固形の投薬形態であり得る。形態は、意図される投与様式及び治療用途による。典型的な組成物は、注射用液剤又は注入用液剤の形態、例えばヒトの受動免疫のために使用されるものに類似した組成物である。ある場合には、投与様式は非経口的（例えば、静脈内、皮下、腹腔内、筋内）である。別の場合には、本抗体は、静脈内注入又は注射により投与される。別の場合には、本抗体は、筋内又は皮下注射により投与される。注射用製剤は、添加された保存料を含むか又は含まない、例えばアンプル又は複数回用量容器での単位投薬形態で提供され得る。本組成物は、油性又は水性のビヒクル中の懸濁剤、液剤又は乳剤のような形態をとり得、そして懸濁化剤、安定化剤及び／又は分散剤のような製剤化剤（ｆｏｒｍｕｌａｔｏｒｙ　ａｇｅｎｔｓ）を含み得る。あるいは、活性成分は、適切なビヒクル（例えば滅菌パイロジェンフリー水）を用いた使用前の構成用の散剤形態であり得る。滅菌注射用液剤は、必要量のＩＬ－６抗体を、適切な溶媒中に、必要な場合は上で列挙した成分の１つ又はそれらの組み合わせとともに加え、続いて滅菌ろ過することにより製造され得る。ある場合には、本抗体は、約５．０～約６．５の範囲のｐＨを有し、そして抗体約１ｍｇ／ｍｌ～約２００ｍｇ／ｍｌ、ヒスチジン緩衝液約１ミリモル濃度～約１００ミリモル濃度、ポリソルベート８０又はポリソルベート２０約０．０１ｍｇ／ｍｌ～約１０ｍｇ／ｍｌ、トレハロース又はスクロースより選択されるがこれらに限定されない非還元糖約１００ミリモル濃度～約４００ミリモル濃度、ＥＤＴＡ二ナトリウム二水和物

約０．０１ミリモル濃度～約１．０ミリモル濃度を含み、そして場合によりキレート剤に加えて薬学的に許容しうる抗酸化剤を含む、滅菌液剤として製剤で投与される。適切な抗酸化剤としては、限定されないが、メチオニン、チオ硫酸ナトリウム、カタラーゼ、及び白金が挙げられる。例えば、本組成物は、１ｍＭ～約１００ｍＭ範囲の濃度、そして特に約２７ｍＭの濃度でメチオニンを含有し得る。いくつかの場合には、製剤は、２０ｍＭクエン酸ナトリウム、ｐＨ５．５、１４０ｍＭ　ＮａＣｌ、及び０．２ｍｇ／ｍｌポリソルベート８０の緩衝液中に５ｍｇ／ｍｌの抗体を含む。軽減しようとする状態の型及び重症度によって投薬量値は変動し得ることに留意すべきである。滅菌注射用液剤の製造のための滅菌散剤の場合、適切な製造方法は、真空乾燥及び凍結乾燥して活性成分と、前もって滅菌ろ過したその溶液からの任意のさらなる望ましい成分との粉末を得ることを含む。溶液の適切な流動性は、例えばレシチンのようなコーティングを使用することにより、分散の場合に必要な粒径を維持すること、及び界面活性剤を使用することにより、維持することができる。注射用組成物の長期にわたる吸収は、組成物中に吸収を遅延させる薬剤、例えば一ステアリン酸塩及びゼラチンを含めることにより起こり得る。

【０１２３】

ＩＬ－６抗体又はその抗原結合部分は、種々の方法により投与することができるが、多くの治療用途については、投与経路／様式は、皮下、筋内、又は静脈内注入であり得る。当業者に理解されるように、投与の経路及び／又は様式は、所望の結果に依存して変わる。

【０１２４】

特定の場合において、本ＩＬ－６抗体組成物は、インプラント、経皮パッチ及びマイクロカプセル送達系を含む制御放出製剤のような、急速な放出に対して抗体を保護する担体を用いて製造され得る。エチレン酢酸ビニル、ポリ酸無水物、ポリグリコール酸、コラーゲン、ポリオルトエステル、及びポリ乳酸のような、生分解性で生体適合性のポリマーを使用することができる。このような製剤を製造するための多くの方法が使用され得る。例えば、Ｓｕｓｔａｉｎｅｄ　ａｎｄ　Ｃｏｎｔｒｏｌｌｅｄ　Ｒｅｌｅａｓｅ　Ｄｒｕｇ　Ｄｅｌｉｖｅｒｙ　Ｓｙｓｔｅｍｓ、Ｊ．Ｒ．Ｒｏｂｉｎｓｏｎ、ｅｄ．、Ｍａｒｃｅｌ　Ｄｅｋｋｅｒ、Ｉｎｃ．、Ｎｅｗ　Ｙｏｒｋ、１９７８（これは参照により本明細書に加入される）を参照のこと。

【０１２５】

さらなる活性化合物もまた、組成物に組み込まれ得る。いくつかの場合、阻害性ＩＬ－６抗体は、１つ又はそれ以上のさらなる治療剤と同時処方（ｃｏ－ｆｏｒｍｕｌａｔｅｄ）及び／又は同時投与（ｃｏ－ａｄｍｉｎｉｓｔｅｒｅｄ）される。これらの薬剤としては、限定されないが、他の標的に結合する抗体、抗腫瘍剤、抗血管形成剤、シグナル伝達阻害剤、抗増殖剤、化学療法剤、又はＩＬ－６を阻害するペプチド類似体が挙げられる。このような組み合わせ治療は、より低い投薬量の阻害性ＩＬ－６抗体を必要とし得、同時投与される薬剤も同様であり、従って種々の単剤療法に関連して起こり得る毒性又は合併症を回避し得る。

【０１２６】

本組成物は、「治療有効量」又は「予防有効量」の抗体又は抗原結合部分を含み得る。「治療有効量」は、所望の治療結果を達成するために必要な投薬量及び期間で有効な量を指す。抗体又は抗原結合部分の治療有効量は、個体の疾患状態、年齢、性別、及び体重、並びに抗体又は抗体部分がその個体において所望の応答を惹起する能力のような因子によって変動し得る。治療有効量はまた、抗体又は抗原結合部分のあらゆる毒性又は有害な影響より治療上の有益な効果が上回る量である。「予防有効量」は、所望の予防的結果を達成するために必要な投薬量及び期間で有効な量を指す。典型的には、予防的用量は、疾患の前に又は初期段階で対象において使用されるので、予防有効量は治療有効量より少なくなり得る。

【０１２７】

投薬レジメンは、最適な所望の応答（例えば治療応答又は予防応答）をもたらすように

調整され得る。例えば、単回のボーラスを投与してもよいし、いくつかの分割された用量を時間をかけて投与してもよいし、治療状況の要件により示されるように用量を比例的に減少若しくは増加させてもよい。非経口組成物を、投与の容易さ及び投薬の均一性のために投薬単位形態で製剤化することは特に有利である。本明細書で使用される投薬単位形態は、処置しようとする哺乳動物対象に対する単一の投薬に適した物理的に別個の単位を指し；各単位は、必要な製薬担体と共に、所望の治療効果をもたらすように計算された所定量のＩＬ－６抗体又はその抗原結合部分を含有する。

【０１２８】

ＩＬ－６抗体又は抗体部分の治療又は予防的に有効な量の典型的な非限定的な範囲は、０．０２５～５０ｍｇ／ｋｇ、０．１～５０ｍｇ／ｋｇ、０．１～２５、０．１～１０又は０．１～３ｍｇ／ｋｇである。ある場合には、本ＩＬ－６抗体又はその抗体部分は、約５．０～約６．５の範囲のｐＨを有し、抗体約１ｍｇ／ｍｌ～約２００ｍｇ／ｍｌ、ヒスチジン緩衝液約１ミリモル濃度～約１００ミリモル濃度、ポリソルベート８０約０．０１ｍｇ／ｍｌ～約１０ｍｇ／ｍｌ、トレハロース約１００ミリモル濃度～約４００ミリモル濃度、及びＥＤＴＡ二ナトリウム二水和物約０．０１ミリモル濃度～約１．０ミリモル濃度を含む滅菌水性液剤としての製剤で投与される。さらに当然のことながら、どの特定の対象に対しても、特定の投薬レジメンは、個々の必要性、及び組成物を投与するか投与を監督している人物の専門的判断にしたがって時間とともに調整されるべきであり、そして本明細書で示される投薬量範囲は、代表例のみであり、特許請求された組成物の範囲も実施も制限することを意図されない。

【０１２９】

本明細書に提供される別の局面は、ＩＬ－６抗体若しくは抗原結合部分又は上記抗体若しくは抗原結合部分を含む組成物を含むキットである。キットは、抗体又は組成物に加えて、診断剤又は治療剤を含み得る。キットはまた、診断方法又は治療方法における使用についての指示書を含み得る。ある場合には、本キットは、抗体又はそれを含む組成物、及び本明細書に記載される方法において使用され得る診断剤を含む。別の場合には、本キットは、抗体又はそれを含む組成物、及び本明細書に記載される方法において使用され得る１つ又はそれ以上の治療剤を含む。

【０１３０】

診断用使用方法

本明細書に提供される別の局面は診断方法である。抗ＩＬ－６抗体又はその抗原結合部分は、インビトロマテャアインビボで生物学的サンプル中のＩＬ－６を検出するために使用され得る。一局面は、それを必要としている対象において、ＩＬ－６を発現している細胞の存在又は位置を診断するための方法を提供し、この方法は、抗体を対象に注射する工程、抗体が結合している場所を特定することにより対象におけるＩＬ－６の発現を決定する工程、対象における発現を正常な参照対象若しくは標準と比較する工程、及び細胞の存在又は位置を診断する工程を含む。抗ＩＬ－６抗体はまた、炎症及び／又は免疫細胞（例えば単球及びＴ細胞）の組織への浸潤についてのマーカーとして使用され得る。

【０１３１】

抗ＩＬ－６抗体は、あらゆる適切なイムノアッセイ（限定することなく、ＥＬＩＳＡ、ＲＩＡ、フローサイトメトリー、組織免疫組織化学的検査、ウェスタンブロット又は免疫沈降法を含む）において使用され得る。抗ＩＬ－６抗体又はその抗原結合部分は、ヒト由来のＩＬ－６を検出するために使用され得る。別の場合において、抗ＩＬ－６抗体は、カニクイザル、アカゲザル及びげっ歯目（例えばマウス及びラット）由来のＩＬ－６を検出するために使用され得る。

【０１３２】

生物学的サンプル中のＩＬ－６を検出するための方法は、一般的に、生物学的サンプルを抗ＩＬ－６抗体又はその抗原結合部分と接触させること、及び結合した抗体を検出することを含む。ある場合には、抗ＩＬ－６抗体又はその抗原結合部分は、検出可能な標識を用いて直接的に標識される。別の場合には、抗ＩＬ－６抗体（第一の抗体）は標識されて

おらず、そして第二の抗体、又は抗ＩＬ－６抗体に結合し得る他の分子は標識される。第一の抗体の特定の種及びクラスに特異的に結合することができる第二の（ｓｅｃｏｎｄ）抗体が選択される。例えば、抗ＩＬ－６抗体がヒトＩｇＧである場合、二次（ｓｅｃｏｎｄａｒｙ）抗体は抗ヒトＩｇＧであり得る。抗体に結合することができる他の分子としては、限定することなく、プロテインＡ及びプロテインＧが挙げられ、これらは両方とも、例えばＰｉｅｒｃｅ　Ｃｈｅｍｉｃａｌ　Ｃｏから市販されている。

【０１３３】

本抗体又は二次抗体に適した標識は、本明細書に開示され、種々の酵素、補欠分子族、蛍光性物質、発光物質及び放射性物質が含まれる。適切な酵素の例としては、西洋ワサビペルオキシダーゼ、アルカリホスファターゼ、β－ガラクトシダーゼ、又はアセチルコリンエステラーゼが挙げられ；適切な補欠分子族複合体の例としては、ストレプトアビジン／ビオチン及びアビジン／ビオチンが挙げられ；適切な蛍光性物質の例としては、ウンベリフェロン、フルオレセイン、フルオレセインイソチオシアネート、ローダミン、ジクロロトリアジニルアミンフルオレセイン、ダンシルクロリド又はフィコエリトリンが挙げられ；発光物質の例としては、ルミノールが挙げられ；そして適切な放射性物質の例としては、^{125}Ｉ、^{131}Ｉ、^{35}Ｓ又は^{3}Ｈが挙げられる。

【０１３４】

ＩＬ－６はまた、検出可能な物質で標識されたＩＬ－６標準及び未標識の抗ＩＬ－６抗体を利用する競合イムノアッセイにより生物学的サンプルにおいてアッセイされ得る。このアッセイにおいて、生物学的サンプル、標識されたＩＬ－６標準及び抗ＩＬ－６抗体を混合して、未標識抗体に結合した標識ＩＬ－６標準の量を決定する。生物学的サンプル中のＩＬ－６の量は、抗ＩＬ－６抗体に結合された標識されたＩＬ－６標準の量に対して反比例する。

【０１３５】

このようなイムノアッセイを多数の目的のために使用することができる。例えば、抗ＩＬ－６抗体又はその抗原結合部分は、培養した細胞中のＩＬ－６を検出するために使用され得る。ある場合には、抗ＩＬ－６抗体又はその抗原結合部分は、種々の化合物で処理された細胞の表面上のＩＬ－６の量を決定するために使用される。この方法は、ＩＬ－６タンパク質レベルを調節する化合物を同定するために使用され得る。この方法によれば、細胞の１つのサンプルを、試験化合物で一定期間処理し、この間別のサンプルは未処理のままにしておく。総ＩＬ－６発現を測定しようとする場合、細胞を溶解し、そして総ＩＬ－６発現を、いずれかの適切なイムノアッセイを使用して測定する。処理された細胞における総ＩＬ－６発現を未処理の細胞における総ＩＬ－６発現と比較して、試験化合物の効果を決定する。

【０１３６】

総ＩＬ－６発現を測定するためのイムノアッセイとしてはフローサイトメトリー及び免疫組織化学的検査が挙げられる。細胞表面ＩＬ－６発現を測定しようとする場合、細胞は溶解せず、そしてＩＬ－６の細胞表面レベルは上記のイムノアッセイのうち１つを使用して測定される。ＩＬ－６の細胞表面レベルを決定するための好ましいイムノアッセイは、細胞表面タンパク質を検出可能な標識（例えばビオチン又は^{125}Ｉ）で標識する工程、ＩＬ－６を抗ＩＬ－６抗体を用いて免疫沈降させる工程、そしてその後、標識されたＩＬ－６を検出する工程を含む。

【０１３７】

ＩＬ－６の局在化、例えば細胞表面レベルを決定するための別のイムノアッセイは、免疫組織化学的検査を使用することによる。ＩＬ－６の細胞表面レベルを検出するためのイムノアッセイは、適切なフルオロフォア（例えばフルオレセイン又はフィコエリトリン）で標識された抗ＩＬ－６抗体を結合させること、及びフローサイトメトリーを使用して一次抗体を検出することを含む。別の例では、抗ＩＬ－６抗体は未標識であり、そして第二の抗体、又は抗ＩＬ－６抗体に結合することができる他の分子が標識される。ＥＬＩＳＡ、ＲＩＡ、フローサイトメトリー、ウェスタンブロット、免疫組織化学的検査、膜内在性

タンパク質の細胞表面標識、及び免疫沈降のような方法は当該分野で周知である。例えば、Ｈａｒｌｏｗ及びＬａｎｅを参照のこと。さらに、イムノアッセイは、ＩＬ－６の活性化又は阻害剤のいずれかのための多数の化合物を試験するために、ハイスループットスクリーニング用にスケールアップすることができる。

【０１３８】

抗ＩＬ－６抗体又はその抗原結合部分はまた、組織又は組織由来の細胞におけるＩＬ－６のレベルを決定するために使用することができる。いくつかの例では、組織は患部組織又は組織生検である。組織又は生検は、例えば、総ＩＬ－６発現、ＩＬ－６の細胞表面レベル又はＩＬ－６の局在化を、上で考察した方法により決定するために、イムノアッセイで使用することができる。このような方法は、組織が高レベルのＩＬ－６を発現するか否か（これはその組織が抗ＩＬ－６抗体を用いた処置の標的であることの指標であり得る）を決定するために使用することができる。

【０１３９】

ＩＬ－６抗体及びその抗原結合部分（ｐｏｒｔｉｏｓ）はまた、ＩＬ－６を発現する組織及び器官を同定するためにインビボで使用することができる。いくつかの場合、抗ＩＬ－６抗体は、ＩＬ－６を発現している細胞を同定するために使用される。ヒト抗ＩＬ－６抗体は、非ヒト起源の抗体又はヒト化抗体若しくはキメラ抗体とは違って、投与の際に抗体に対する実質的な免疫応答を惹起することなくインビボで安全に使用され得る。

【０１４０】

本方法は、検出可能に標識された抗ＩＬ－６抗体又はそれらを含む組成物を、このような診断試験を必要とする患者に投与する工程、及び患者を画像分析にかけてＩＬ－６を発現している組織の位置を決定する工程を含む。画像化分析は、医学医術分野において周知であり、これらとしては、限定することなく、ｘ線解析、磁気共鳴画像法（ＭＲＩ）又はコンピュータ断層撮影法（ＣＴ）が挙げられる。インビボ画像化に適したいずれかの薬剤、例えばｘ線解析に使用され得る造影剤（例えばバリウム）、又はＭＲＩ若しくはＣＴに使用され得る磁気造影剤（例えばガドリニウムキレート）で抗体を標識することができる。他の標識化剤としては、限定することなく、放射性同位体、例えば^{99}Ｔｃが挙げられる。別の場合には、抗ＩＬ－６抗体は未標識であり、そして検出可能でありかつ抗ＩＬ－６抗体に結合することができる第二の抗体又は他の分子を投与することにより画像化される。一例では、対象の組織がＩＬ－６を発現するか否かを決定するために生検を患者から得る。

【０１４１】

検出可能に標識された抗ＩＬ－６は、フルオロフォアを含み得る。特定の場合には、フルオロフォアは、近赤外蛍光色素、ジニトロフェニル、フルオレセイン及びその誘導体、ローダミン、ローダミンの誘導体、フィコエリトリン、フィコシアニン、アロフィコシアニン、ｏ－フタルアルデヒド及びフルオレサミン、テキサスレッド、ローダミングリーン、オレゴングリーン、カスケードブルー、フィコエリトリン、ＣＹ３、ＣＹ５、ＣＹ２、ＣＹ７、クマリン、ｉｎｆｒａｒｅｄ　４０、ＭＲ　２００、ＩＲＤ　４０、Ａｌｅｘａ　Ｆｌｕｏｒ、カスケードブルー、テトラメチルローダミン、パシフィックブルー、ＳＹＢＲ、及びＢＯＤＩＰＹからなる群より選択される。別の例では、フルオロフォアは、以下の化合物（それらの最大蛍光波長は括弧内にｎｍで示す）のうち１つを含む、Ｃｙ２．ＴＭ．（５０６）、ＧＦＰ（Ｒｅｄ　Ｓｈｉｆｔｅｄ）（５０７）、ＹＯ－ＰＲＯ（登録商標）－１（５０９）、ＹＯＹＯ（登録商標）－１（５０９）、Ｃａｌｃｅｉｎ（５１７）、ＦＩＴＣ（５１８）、ＦｌｕｏｒＸ（登録商標）（５１９）、Ａｌｅｘａ（登録商標）（５２０）、ローダミン１１０（５２０）、５－ＦＡＭ（５２２）、Ｏｒｅｇｏｎ　Ｇｒｅｅｎ（登録商標）５００（５２２）、Ｏｒｅｇｏｎ　Ｇｒｅｅｎ（登録商標）　４８８（５２４）、ＲｉｂｏＧｒｅｅｎ（登録商標）（５２５）、Ｒｈｏｄａｍｉｎｅ　Ｇｒｅｅｎ（登録商標）（５２７）、ローダミン１２３（５２９）、Ｍａｇｎｅｓｉｕｍ　Ｇｒｅｅｎ（登録商標）（５３１）、Ｃａｌｃｉｕｍ　Ｇｒｅｅｎ（登録商標）（５３３）、ＴＯ－ＰＲＯ（登録商標）－１（５３３）、ＴＯＴＯ（登録商標）－１（５３３）、Ｊ

ＯＥ（５４８）、ＢＯＤＩＰＹ（登録商標）５３０／５５０（５５０）、Ｄｉｌ（５６５）、ＢＯＤＩＰＹ（登録商標）（５６８）、ＢＯＤＩＰＹ（登録商標）　５５８／５６８（５６８）、ＢＯＤＩＰＹ（登録商標）　５６４／５７０（５７０）、Ｃｙ３（登録商標）（５７０）、Ａｌｅｘａ（登録商標）　５４６（５７０）、ＴＲＩＴＣ（５７２）、Ｍａｇｎｅｓｉｕｍ　Ｏｒａｎｇｅ（登録商標）（５７５）、フィコエリトリンＲ＆Ｂ（５７５）、ローダミンファロイジン（５７５）、Ｃａｌｃｉｕｍ　Ｏｒａｎｇｅ（登録商標）（５７６）、ピロニンＹ（５８０）、ローダミンＢ（５８０）、ＴＡＭＲＡ（５８２）、Ｒｈｏｄａｍｉｎｅ　Ｒｅｄ（登録商標）（５９０）、Ｃｙ３．５（登録商標）（５９６）、ＲＯＸ（６０８）、Ｃａｌｃｉｕｍ　Ｃｒｉｍｓｏｎ．ＴＭ．（６１５）、Ａｌｅｘａ（登録商標）　５９４（６１５）、Ｔｅｘａｓ　Ｒｅｄ．ＲＴＭ．（６１５）、ナイルレッド（６２８）、ＹＯ－ＰＲＯ（登録商標）－３（６３１）、ＹＯＹＯ（登録商標）－３（６３１）、Ｒ－フィコシアニン（６４２）、Ｃ－フィコシアニン（６４８）、ＴＯ－ＰＲＯ（登録商標）－３（６６０）、ＴＯＴＯ（登録商標）－３（６６０）、ＤｉＤ　ＤｉｌＣ（５）（６６５）、Ｃｙ５．ＴＭ．（６７０）、チアジカルボシアニン（６７１）及びＣｙ５．５（６９４）。

【０１４２】

なおさらなる例では、抗ＩＬ－６抗体はまた、細胞（例えば、リンパ球又は単球）でのＩＬ－６の表面細胞発現の減少を測定するために使用され得る。

【０１４３】

ヒト抗ＩＬ－６抗体又はその抗原結合部分は、非ヒト又は非ヒト由来のモノクローナル抗体（Ｍａｂｓ）に固有の免疫原性応答及びアレルギー性応答を最小化し、従って投与される抗体又はその抗原結合部分の有効性及び安全性を増加させる。

【０１４４】

別の局面は、ヒト生殖系列配列により部分的にコードされるヒト抗ＩＬ－６抗体を提供する。V_H、V_K、Ｖλ遺伝子は、配列相同性に基づいてファミリーに分類される。２つのV_H、V_K、又はＶλ遺伝子は、それらが８０％より多い位置において同じヌクレオチド配列を共有する場合に同じファミリーに属する。抗ＩＬ－６抗体は、ヒトカッパ軽鎖（V_K）若しくはヒトラムダ軽鎖（Ｖλ）又はそれらから誘導されるアミノ酸配列を含み得る。ラムダ軽鎖を含むいくつかの場合には、軽鎖可変ドメイン（V_L）は、ヒトＶλ１、Ｖλ２、Ｖλ３、Ｖλ４、Ｖλ５、Ｖλ６、Ｖλ７、Ｖλ８、Ｖλ９、又はＶλ１０ファミリー遺伝子により一部コードされる（Ｗｉｌｌｉａｍｓ　Ｓ．Ｃ．ｅｔ　ａｌ．Ｊ．Ｍｏｌ．Ｂｉｏ．２６４：２２０－２３２、１９９６）。カッパ軽鎖を含むいくつかの場合には、軽鎖可変ドメイン（V_L）は、ヒトV_KＩ、V_KＩＩ、V_KＩＩＩ、V_KＩＶ、V_KＶ、又はV_KＶＩファミリー遺伝子により（Ｃｏｘ　Ｊ．Ｐ．Ｌ．、ｅｔ　ａｌ、Ｅｕｒ．Ｊ．Ｉｍｍｕｎｏｌ　２４：８２７－８３６、１９９４）、好ましくはV_KＩ、V_KＩＩ、V_KＩＩ、又はV_KＩＶファミリー遺伝子、そして好ましくはV_KＩ又はV_KＶＩファミリー遺伝子により一部コードされる。いくつかの場合には、軽鎖生殖系列配列は、Ａ１、Ａ１０、Ａ１１、Ａ１４、Ａ１７、Ａ１８、Ａ１９、Ａ２、Ａ２０、Ａ２３、Ａ２６、Ａ２７、Ａ３、Ａ３０、Ａ５、Ａ７、Ｂ２、Ｂ３、Ｌ１、Ｌ１０、Ｌ１１、Ｌ１２、Ｌ１４、Ｌ１５、Ｌ１６、Ｌ１８、Ｌ１９、Ｌ２、Ｌ２０、Ｌ２２、Ｌ２３、Ｌ２４、Ｌ２５、Ｌ４／１８ａ、Ｌ５、Ｌ６、Ｌ８、Ｌ９、Ｏ１、Ｏ１１、Ｏ１２、Ｏ１４、Ｏ１８、Ｏ２、Ｏ４、及びＯ８を含むがこれらに限定されないヒトＶＫ配列より選択される。特定の場合には、この軽鎖ヒト生殖系列フレームワークは、Ｖ１－１１、Ｖ１－１３、Ｖ１－１６、Ｖ１－１７、Ｖ１－１８、Ｖ１－１９、Ｖ１－２、Ｖ１－２０、Ｖ１－２２、Ｖ１－３、Ｖ１－４、Ｖ１－５、Ｖ１－７、Ｖ１－９、Ｖ２－１、Ｖ２－１１、Ｖ２－１３、Ｖ２－１４、Ｖ２－１５、Ｖ２－１７、Ｖ２－１９、Ｖ２－６、Ｖ２－７、Ｖ２－８、Ｖ３－２、Ｖ３－３、Ｖ３－４、Ｖ４－１、Ｖ４－２、Ｖ４－３、Ｖ４－４、Ｖ４－６、Ｖ５－１、Ｖ５－２、Ｖ５－４、及びＶ５－６より選択される。抗ＩＬ－６抗体は、ヒトV_H１、V_H２、V_H３、V_H４、V_H５、V_H６又はV_H７ファミリー遺伝子によりコードされる重鎖可変ドメイン（V_H）を含み得る。特定の例において、この重鎖ヒト生殖系列フレームワーク

は、ＶＨ１－１８、ＶＨ１－２、ＶＨ１－２４、ＶＨ１－３、ＶＨ１－４５、ＶＨ１－４６、ＶＨ１－５８、ＶＨ１－６９、ＶＨ１－８、ＶＨ２－２６、ＶＨ２－５、ＶＨ２－７０、ＶＨ３－１１、ＶＨ３－１３、ＶＨ３－１５、ＶＨ３－１６、ＶＨ３－２０、ＶＨ３－２１、ＶＨ３－２３、ＶＨ３－３０、ＶＨ３－３３、ＶＨ３－３５、ＶＨ３－３８、ＶＨ３－４３、ＶＨ３－４８、ＶＨ３－４９、ＶＨ３－５３、ＶＨ３－６４、ＶＨ３－６６、ＶＨ３－７、ＶＨ３－７２、ＶＨ３－７３、ＶＨ３－７４、ＶＨ３－９、ＶＨ４－２８、ＶＨ４－３１、ＶＨ４－３４、ＶＨ４－３９、ＶＨ４－４、ＶＨ４－５９、ＶＨ４－６１、ＶＨ５－５１、ＶＨ６－１、及びＶＨ７－８１より選択される。特定の場合において、軽鎖可変領域及び／又は重鎖可変領域は、フレームワーク領域又はフレームワーク領域の少なくとも一部を含む（例えば、ＦＲ２及びＦＲ３のような２つ又は３つの小領域を含む）。特定の場合には、少なくともＦＲＬ１、ＦＲＬ２、ＦＲＬ３、又はＦＲＬ４は完全にヒトである。他の例では、少なくともＦＲＨ１、ＦＲＨ２、ＦＲＨ３、又はＦＲＨ４は完全にヒトである。いくつかの場合、少なくともＦＲＬ１、ＦＲＬ２、ＦＲＬ３、又はＦＲＬ４は生殖系列配列（例えば、ヒト生殖系列）であるか、又は特定のフレームワークについてのヒトコンセンサス配列（本明細書に記載される公知のヒトＩｇ配列の供給源において容易に入手可能）を含む。他の例において、少なくともＦＲＨ１、ＦＲＨ２、ＦＲＨ３、又はＦＲＨ４は、生殖系列配列（例えば、ヒト生殖系列）であるか、又は特定のフレームワークについてのヒトコンセンサス配列を含む。

【０１４５】

ＩＬ－６抗体のV_Lは、ヒト遺伝子の生殖系列アミノ酸配列と比較して１つ又はそれ以上のアミノ酸置換を含み得る。いくつかの場合において、ＩＬ－６抗体のV_Lは、生殖系列アミノ酸配列と比較して１、２、３、４、５、６、７、８、９、又は１０のアミノ酸置換を含む。一例において、生殖系列からのそのような置換の１つ又はそれ以上は軽鎖のＣＤＲ領域にある。一例において、生殖系列に対するアミノ酸置換は、抗体９Ｃ８　ＩｇＧ１、９Ｃ８　ＩｇＧ２、９Ｃ８　Ｎ６８Ｔ　Ｔ８３Ｓ　ＩｇＧ１、９Ｃ８　Ｎ６８Ｔ　Ｔ８３Ｓ　ＩｇＧ２、９Ｃ８　Ｅ３１Ｇ　Ｎ６８Ｔ　Ｔ８３Ｓ　ＩｇＧ１、９Ｃ８　Ｅ３１Ｇ　Ｎ６８Ｔ　Ｔ８３Ｓ　ＩｇＧ２、９Ｃ８　Ｉ２４Ｖ　Ｎ６８Ｔ　Ｔ８３Ｓ　ＩｇＧ１、９Ｃ８　Ｉ２４Ｖ　Ｎ６８Ｔ　Ｔ８３Ｓ　ＩｇＧ２及び２２Ｂ５　ＩｇＧ１のV_Lのいずれか１つ又はそれ以上における生殖系列に対する置換と同じ位置の１つ又はそれ以上にある。例えば、ＩＬ－６抗体のV_Lは、抗体９Ｃ８　ＩｇＧ１のV_Lにおいて見出される生殖系列に対する１つ又はそれ以上のアミノ酸置換を含み得る。いくつかの場合において、アミノ酸変化は、同じ位置の１つ又はそれ以上におけるものであるが、参照抗体における置換と異なる置換を含む。

【０１４６】

いくつかの場合、生殖系列に対するアミノ酸変化は、抗体９Ｃ８　ＩｇＧ１、９Ｃ８　ＩｇＧ２、９Ｃ８　Ｎ６８Ｔ　Ｔ８３Ｓ　ＩｇＧ１、９Ｃ８　Ｎ６８Ｔ　Ｔ８３Ｓ　ＩｇＧ２、９Ｃ８　Ｅ３１Ｇ　Ｎ６８Ｔ　Ｔ８３Ｓ　ＩｇＧ１、９Ｃ８　Ｅ３１Ｇ　Ｎ６８Ｔ　Ｔ８３Ｓ　ＩｇＧ２、９Ｃ８　Ｉ２４Ｖ　Ｎ６８Ｔ　Ｔ８３Ｓ　ＩｇＧ１、９Ｃ８　Ｉ２４Ｖ　Ｎ６８Ｔ　Ｔ８３Ｓ　ＩｇＧ２及び２２Ｂ５　ＩｇＧ１のV_Lのいずれかにおける位置と同じ位置の１つ又はそれ以上において存在するが、これらの変化は参照抗体におけるアミノ酸に対する上記位置での保存的アミノ酸置換を表し得る。例えば、これらの抗体の１つにおける特定の位置が生殖系列と比較して変化しており、かつグルタミン酸である場合、その位置においてアスパラギン酸を置換し得る。同様に、生殖系列に対するアミノ酸置換がセリンである場合、その位置においてセリンをスレオニンで保存的置換し得る。

【０１４７】

いくつかの場合において、ヒト抗ＩＬ－６抗体の軽鎖は、抗体９Ｃ８　ＩｇＧ１、９Ｃ８　ＩｇＧ２、９Ｃ８　Ｎ６８Ｔ　Ｔ８３Ｓ　ＩｇＧ１、９Ｃ８　Ｎ６８Ｔ　Ｔ８３Ｓ　ＩｇＧ２、９Ｃ８　Ｅ３１Ｇ　Ｎ６８Ｔ　Ｔ８３Ｓ　ＩｇＧ１、９Ｃ８　Ｅ３１Ｇ　Ｎ６８Ｔ　Ｔ８３Ｓ　ＩｇＧ２、９Ｃ８　Ｉ２４Ｖ　Ｎ６８Ｔ　Ｔ８３Ｓ　ＩｇＧ１、９Ｃ８

Ｉ２４Ｖ　Ｎ６８Ｔ　Ｔ８３Ｓ　ＩｇＧ２及び２２Ｂ５　ＩｇＧ１のV_Lアミノ酸配列、又は１、２、３、４、５、６、７、８、９、又は１０個までの保存的アミノ酸置換及び／若しくは合計で３個までの非保存的アミノ酸置換を有するアミノ酸配列を含む。いくつかの場合において、軽鎖は、前述の抗体のいずれか１つのＣＤＲ１の先頭からＣＤＲ３の末端までのアミノ酸配列を含む。

【０１４８】

いくつかの場合において、軽鎖は、抗体９Ｃ８　ＩｇＧ１、９Ｃ８　ＩｇＧ２、９Ｃ８　Ｎ６８Ｔ　Ｔ８３Ｓ　ＩｇＧ１、９Ｃ８　Ｎ６８Ｔ　Ｔ８３Ｓ　ＩｇＧ２、９Ｃ８　Ｅ３１Ｇ　Ｎ６８Ｔ　Ｔ８３Ｓ　ＩｇＧ１、９Ｃ８　Ｅ３１Ｇ　Ｎ６８Ｔ　Ｔ８３Ｓ　ＩｇＧ２、９Ｃ８　Ｉ２４Ｖ　Ｎ６８Ｔ　Ｔ８３Ｓ　ＩｇＧ１、９Ｃ８　Ｉ２４Ｖ　Ｎ６８Ｔ　Ｔ８３Ｓ　ＩｇＧ２及び２２Ｂ５　ＩｇＧ１の軽鎖のそれぞれ軽鎖ＣＤＲ１、ＣＤＲ２及びＣＤＲ３、又は各々４未満若しくは３未満の保存的アミノ酸置換及び／若しくは合計で３つ若しくはそれ以下の非保存的アミノ酸置換を有するＣＤＲ領域より独立して選択される、ＣＤＲ１、ＣＤＲ２及びＣＤＲ３領域を含み得る。いくつかの場合において、抗ＩＬ－６抗体の軽鎖は、軽鎖ＣＤＲ１、ＣＤＲ２、及びＣＤＲ３を含み、これらはそれぞれ独立して、モノクローナル抗体９Ｃ８　ＩｇＧ１、９Ｃ８　ＩｇＧ２、９Ｃ８　Ｎ６８Ｔ　Ｔ８３Ｓ　ＩｇＧ１、９Ｃ８　Ｎ６８Ｔ　Ｔ８３Ｓ　ＩｇＧ２、９Ｃ８　Ｅ３１Ｇ　Ｎ６８Ｔ　Ｔ８３Ｓ　ＩｇＧ１、９Ｃ８　Ｅ３１Ｇ　Ｎ６８Ｔ　Ｔ８３Ｓ　ＩｇＧ２、９Ｃ８　Ｉ２４Ｖ　Ｎ６８Ｔ　Ｔ８３Ｓ　ＩｇＧ１、９Ｃ８　Ｉ２４Ｖ　Ｎ６８Ｔ　Ｔ８３Ｓ　ＩｇＧ２及び２２Ｂ５　ＩｇＧ１の軽鎖ＣＤＲ１、ＣＤＲ２及びＣＤＲ３領域より選択される。特定の場合には、抗ＩＬ－６抗体の軽鎖は、９Ｃ８　ＩｇＧ１、９Ｃ８　ＩｇＧ２、９Ｃ８　Ｎ６８Ｔ　Ｔ８３Ｓ　ＩｇＧ１、９Ｃ８　Ｎ６８Ｔ　Ｔ８３Ｓ　ＩｇＧ２、９Ｃ８　Ｅ３１Ｇ　Ｎ６８Ｔ　Ｔ８３Ｓ　ＩｇＧ１、９Ｃ８　Ｅ３１Ｇ　Ｎ６８Ｔ　Ｔ８３Ｓ　ＩｇＧ２、９Ｃ８　Ｉ２４Ｖ　Ｎ６８Ｔ　Ｔ８３Ｓ　ＩｇＧ１、９Ｃ８　Ｉ２４Ｖ　Ｎ６８Ｔ　Ｔ８３Ｓ　ＩｇＧ２及び２２Ｂ５　ＩｇＧ１より選択される抗体のV_L領域のアミノ酸配列を含む抗体の軽鎖ＣＤＲ１、ＣＤＲ２及びＣＤＲ３領域、又は４未満若しくは３未満の保存的置換及び／若しくは合計３つ若しくはそれ以下の非保存的アミノ酸置換をそれぞれ有するＣＤＲ領域を含む。

【０１４９】

いくつかの場合において、可変ドメイン（V_H）は、少なくとも部分的にヒト遺伝子によりコードされる。いくつかの場合において、ＩＬ－６抗体のV_H配列は、生殖系列アミノ酸配列と比較して１つ又はそれ以上のアミノ酸置換、欠失又は挿入（付加）を含む。いくつかの場合において、重鎖の可変ドメインは、生殖系列アミノ酸配列からの１、２、３、４、５、６、７、８、９、１０、１１、１２、１３、１４、１５、１６、又は１７個の変異を含む。いくつかの場合において、変異は、生殖系列アミノ酸配列と比較した非保存的置換、欠失又は挿入である。いくつかの例において、変異は重鎖のＣＤＲ領域におけるものである。いくつかの例において、アミノ酸変化は、抗体９Ｃ８　ＩｇＧ１、９Ｃ８　ＩｇＧ２、９Ｃ８　Ｎ６８Ｔ　Ｔ８３Ｓ　ＩｇＧ１、９Ｃ８　Ｎ６８Ｔ　Ｔ８３Ｓ　ＩｇＧ２、９Ｃ８　Ｅ３１Ｇ　Ｎ６８Ｔ　Ｔ８３Ｓ　ＩｇＧ１、９Ｃ８　Ｅ３１Ｇ　Ｎ６８Ｔ　Ｔ８３Ｓ　ＩｇＧ２、９Ｃ８　Ｉ２４Ｖ　Ｎ６８Ｔ　Ｔ８３Ｓ　ＩｇＧ１、９Ｃ８　Ｉ２４Ｖ　Ｎ６８Ｔ　Ｔ８３Ｓ　ＩｇＧ２及び２２Ｂ５　ＩｇＧ１のV_Hのいずれか１つ又はそれ以上における生殖系列からの変異と同じ位置の１つ又はそれ以上においてなされる。他の例において、アミノ酸変化は、同じ位置の１つ又はそれ以上におけるものであるが、参照抗体におけるものと異なる変異を含む。

【０１５０】

いくつかの場合において、重鎖は、抗体９Ｃ８　ＩｇＧ１、９Ｃ８　ＩｇＧ２、９Ｃ８　Ｎ６８Ｔ　Ｔ８３Ｓ　ＩｇＧ１、９Ｃ８　Ｎ６８Ｔ　Ｔ８３Ｓ　ＩｇＧ２、９Ｃ８　Ｅ３１Ｇ　Ｎ６８Ｔ　Ｔ８３Ｓ　ＩｇＧ１、９Ｃ８　Ｅ３１Ｇ　Ｎ６８Ｔ　Ｔ８３Ｓ　ＩｇＧ２、９Ｃ８　Ｉ２４Ｖ　Ｎ６８Ｔ　Ｔ８３Ｓ　ＩｇＧ１、９Ｃ８　Ｉ２４Ｖ　Ｎ６８Ｔ　Ｔ８３Ｓ　ＩｇＧ２及び２２Ｂ５　ＩｇＧ１のV_Hアミノ酸配列を含み、このV_Hアミノ

酸配列は、１、２、３、４、６、８、若しくは１０個までの保存的アミノ酸置換及び／又は合計３個までの非保存的アミノ酸置換を有する。いくつかの例において、重鎖は、前述の抗体のいずれか１つのＣＤＲ１の先頭からＣＤＲ３の末端までのアミノ酸配列を含む。

【０１５１】

いくつかの場合において、重鎖は、抗体９Ｃ８　ＩｇＧ１、９Ｃ８　ＩｇＧ２、９Ｃ８　Ｎ６８Ｔ　Ｔ８３Ｓ　ＩｇＧ１、９Ｃ８　Ｎ６８Ｔ　Ｔ８３Ｓ　ＩｇＧ２、９Ｃ８　Ｅ３１Ｇ　Ｎ６８Ｔ　Ｔ８３Ｓ　ＩｇＧ１、９Ｃ８　Ｅ３１Ｇ　Ｎ６８Ｔ　Ｔ８３Ｓ　ＩｇＧ２、９Ｃ８　Ｉ２４Ｖ　Ｎ６８Ｔ　Ｔ８３Ｓ　ＩｇＧ１、９Ｃ８　Ｉ２４Ｖ　Ｎ６８Ｔ　Ｔ８３Ｓ　ＩｇＧ２及び２２Ｂ５　ＩｇＧ１の重鎖ＣＤＲ１、ＣＤＲ２及びＣＤＲ３領域、又はそれぞれ８未満、６未満、４未満、若しくは３未満の保存的アミノ酸置換及び／若しくは合計３個若しくはそれ以下の非保存的アミノ酸置換を有するＣＤＲ領域を含む。

【０１５２】

いくつかの場合において、重鎖ＣＤＲ領域は、抗体９Ｃ８　ＩｇＧ１、９Ｃ８　ＩｇＧ２、９Ｃ８　Ｎ６８Ｔ　Ｔ８３Ｓ　ＩｇＧ１、９Ｃ８　Ｎ６８Ｔ　Ｔ８３Ｓ　ＩｇＧ２、９Ｃ８　Ｅ３１Ｇ　Ｎ６８Ｔ　Ｔ８３Ｓ　ＩｇＧ１、９Ｃ８　Ｅ３１Ｇ　Ｎ６８Ｔ　Ｔ８３Ｓ　ＩｇＧ２、９Ｃ８　Ｉ２４Ｖ　Ｎ６８Ｔ　Ｔ８３Ｓ　ＩｇＧ１、９Ｃ８　Ｉ２４Ｖ　Ｎ６８Ｔ　Ｔ８３Ｓ　ＩｇＧ２及び２２Ｂ５　ＩｇＧ１のＣＤＲ領域より独立して選択される。他の場合において、重鎖は、９Ｃ８　ＩｇＧ１、９Ｃ８　ＩｇＧ２、９Ｃ８　Ｎ６８Ｔ　Ｔ８３Ｓ　ＩｇＧ１、９Ｃ８　Ｎ６８Ｔ　Ｔ８３Ｓ　ＩｇＧ２、９Ｃ８　Ｅ３１Ｇ　Ｎ６８Ｔ　Ｔ８３Ｓ　ＩｇＧ１、９Ｃ８　Ｅ３１Ｇ　Ｎ６８Ｔ　Ｔ８３Ｓ　ＩｇＧ２、９Ｃ８　Ｉ２４Ｖ　Ｎ６８Ｔ　Ｔ８３Ｓ　ＩｇＧ１、９Ｃ８　Ｉ２４Ｖ　Ｎ６８Ｔ　Ｔ８３Ｓ　ＩｇＧ２　及び２２Ｂ５　ＩｇＧ１より選択される２つ又はそれ以上のV_H領域より独立して選択されるＣＤＲ領域を含む。

【０１５３】

他の場合において、抗体は、軽鎖及び重鎖を含む。さらなる例において、軽鎖ＣＤＲ及び重鎖ＣＤＲは同じ抗体由来である。

【０１５４】

作製され得るアミノ酸置換の１つの型は、抗体中の１つ又はそれ以上のシステイン（化学的に反応性であり得る）を、別の残基、例えば限定することなく、アラニン又はセリンに変えることである。一例において、非標準（ｎｏｎ－ｃａｎｏｎｉｃａｌ）システインの置換が存在する。置換は、抗体の可変ドメインのＣＤＲ若しくはフレームワーク領域、又は定常ドメインにおいて作製され得る。いくつかの場合において、システインは標準（ｃａｎｏｎｉｃａｌ）のものである。

【０１５５】

作製され得る別の型のアミノ酸置換は、抗体におけるいずれかのタンパク質分解の可能性がある部位を変えることである。このような部位は、抗体の可変ドメインのＣＤＲ若しくはフレームワーク領域又は定常ドメインに存在し得る。システイン残基の置換及びタンパク質分解性部位の除去は、抗体産物における異質性の危険性を減少させ得、従ってその均一性を増加させる。別の型のアミノ酸置換は、アミド分解の可能性のある部位を形成するアスパラギン－グリシン対を、これら残基の一方又は両方を変更することにより除去することである。

【０１５６】

特定の場合には、ＩＬ－６抗体の重鎖及び軽鎖は場合によりシグナル配列を含み得る。

【０１５７】

いくつかの場合において、抗体は、モノクローナル抗体９Ｃ８　ＩｇＧ１、９Ｃ８　ＩｇＧ２、９Ｃ８　Ｎ６８Ｔ　Ｔ８３Ｓ　ＩｇＧ１、９Ｃ８　Ｎ６８Ｔ　Ｔ８３Ｓ　ＩｇＧ２、９Ｃ８　Ｅ３１Ｇ　Ｎ６８Ｔ　Ｔ８３Ｓ　ＩｇＧ１、９Ｃ８　Ｅ３１Ｇ　Ｎ６８Ｔ　Ｔ８３Ｓ　ＩｇＧ２、９Ｃ８　Ｉ２４Ｖ　Ｎ６８Ｔ　Ｔ８３Ｓ　ＩｇＧ１、９Ｃ８　Ｉ２４Ｖ　Ｎ６８Ｔ　Ｔ８３Ｓ　ＩｇＧ２及び２２Ｂ５　ＩｇＧ１の重鎖変異体及び軽鎖変異体を含む。実施例３においてより詳細に考察されるように、多数の重鎖及び軽鎖変異体の

変異は、生殖系列ＣＤＲ領域におけるものと適合するようにされる。生殖系列バージョンに至るように変異された特定のアミノ酸は、生殖系列の配列を非生殖系列抗体に対して比較することにより当業者に明らかである。例えば、１つのアミノ酸置換が抗体９Ｃ８の重鎖中に提供され、ここで残基２４におけるイソロイシンがバリンに変更されており、そしてこれは９Ｃ８　Ｉ２４Ｖと呼ばれる。二番目の典型的なアミノ酸置換は抗体９Ｃ８の軽鎖におけるものであり、残基９２においてリジンをアスパラギンで置換し、これは９Ｃ８　Ｋ９２Ｎと呼ばれる。

【０１５８】

当然のことながら、遺伝子利用分析は、抗体構造の限られた概要しか示さない。ヒトＢ細胞は確率論的に（ｓｔｏｃａｓｔｉｃａｌｌｙ）Ｖ－Ｄ－Ｊ　重鎖又はＶ－Ｊカッパ軽鎖転写物を生成するので、限定することなく、体細胞突然変異、付加、及びＣＤＲ３伸長を含む、多数の二次的なプロセスが発生する。従って、抗体構造をさらに調べるために、抗体の推定アミノ酸配列をクローンから得られたｃＤＮＡから生成した。さらに、Ｎ末端アミノ酸配列は、タンパク質配列解析により得られた。

【０１５９】

抗ＩＬ－６抗体のクラス及びサブクラス

ＩＬ－６抗体のクラス（例えば、ＩｇＧ、ＩｇＭ、ＩｇＥ、ＩｇＡ、又はＩｇＤ）及びサブクラス（例えばＩｇＧ１、ＩｇＧ２、ＩｇＧ３、又はＩｇＧ４）は、あらゆる適切な方法により決定され得る。一般に、抗体のクラス及びサブクラスは、特定のクラス及びサブクラスの抗体に対して特異的な抗体を使用して決定され得る。このような抗体は市販されている。クラス及びサブクラスは、ＥＬＩＳＡ、又はウェスタンブロット法に加えて他の技術によっても決定することができる。

【０１６０】

あるいは、クラス及びサブクラスは、抗体の重鎖及び／又は軽鎖の定常ドメインの全て又は一部を配列解析すること、それらのアミノ酸配列を種々のクラス及びサブクラスの免疫グロブリンの公知のアミノ酸配列と比較すること、並びに抗体のクラス及びサブクラスを決定することにより決定され得る。ＩＬ－６抗体は、ＩｇＧ、ＩｇＭ、ＩｇＥ、ＩｇＡ、又はＩｇＤ分子であり得る。例えば、ＩＬ－６抗体は、ＩｇＧ１、ＩｇＧ２、ＩｇＧ３、又はＩｇＧ４サブクラスであるＩｇＧであり得る。一例では、ＩＬ－６抗体はＩｇＧ２サブクラスである。別の例では、ＩＬ－６抗体はＩｇＧ１サブクラスである。

【０１６１】

一局面において、ＩＬ－６抗体のクラス又はサブクラスを別のクラス又はサブクラスに転換するための方法が提供される。いくつかの場合において、C_L又はC_Hをコードする配列を含まない、V_L又はV_Hをコードする核酸分子を、任意の適切な方法を使用して単離する。次いでこの核酸分子を、所望の免疫グロブリンクラス又はサブクラス由来のC_L又はC_Hをコードする核酸配列に作動可能に連結する。これは、上記のように、C_L又はC_H鎖を含むベクター又は核酸分子を使用して達成することができる。例えば、元々ＩｇＭであったＩＬ－６抗体を、ＩｇＧにクラススイッチさせることができる。さらに、クラススイッチを使用して、１つのＩｇＧサブクラスを別のサブクラスに転換し得る（例えばＩｇＧ１からＩｇＧ２）。所望のアイソタイプを含む抗体を製造するための別の方法は、ＩＬ－６抗体の重鎖をコードする核酸及びＩＬ－６抗体の軽鎖をコードする核酸を単離する工程、V_H領域をコードする配列を単離する工程、V_H配列を所望のアイソタイプの重鎖定常ドメインをコードする配列に連結する工程、軽鎖遺伝子及び重鎖構築物を細胞において発現させる工程、並びに所望のアイソタイプを有するＩＬ－６抗体を採取する工程を含む。

【０１６２】

ＩＬ－６に対するｌＬ－６抗体の結合親和性

ＩＬ－６に対する抗ＩＬ－６抗体の結合親和性及び解離速度を、任意の適切な方法により決定することができる。結合親和性は、ＥＬＩＳＡ、ＲＩＡ、フローサイトメトリー、及び表面プラズモン共鳴（例えばＢＩＡＣＯＲＥ™）により測定することができる。解離速度は、表面プラズモン共鳴により測定することができる。任意の適切な方法を使用する

ことにより、抗体が抗ＩＬ－６抗体と実質的に同じK_Dを有するか否かを決定することができる。実施例７は、抗ＩＬ－６モノクローナル抗体の親和性定数を決定するための方法を例示する。

【０１６３】

抗ＩＬ－６抗体により認識されるＩＬ－６エピトープの同定

任意の適切な方法を使用することにより、ＩＬ－６抗体との結合について抗体が同じエピトープに結合するか又は交差競合するか否かを決定することができる。一例において、飽和条件下でＩＬ－６抗体をＩＬ－６に結合させて、次いで試験抗体がＩＬ－６に結合する能力を測定する。試験抗体がＩＬ－６抗体と同時にＩＬ－６に結合することができる場合、その試験抗体はＩＬ－６抗体と異なるエピトープに結合する。しかし、試験抗体が同時にＩＬ－６に結合できない場合、その試験抗体は同じエピトープ、重複エピトープ、又はヒトＩＬ－６抗体が結合したエピトープに極めて近接したエピトープに結合する。この実験は、ＥＬＩＳＡ、ＲＩＡ、ＢＩＡＣＯＲＥ™、又はフローサイトメトリー（ＦＡＣＳ）を使用して行うことができる。

【０１６４】

ＩＬ－６抗体が別のＩＬ－６抗体と交差競合するか否かを試験するために、２つの方向で本明細書に記載される、すなわち、参照抗体が試験抗体を遮断するか否か及びその逆を決定する競合方法を使用し得る。一例において、実験はＥＬＩＳＡを使用して行われる。

【０１６５】

抗体を製造する方法

ＩＬ－６抗体又はその抗原結合部分は、従来のモノクローナル抗体方法論、例えばＫｏｈｌｅｒ ａｎｄ Ｍｉｌｓｔｅｉｎ（１９７５）Ｎａｔｕｒｅ ２５６：４９５の標準的な体細胞ハイブリダイゼーション技術を含む種々の技術により製造することができる。Ｂリンパ球のウイルス形質転換又はがん化のような、モノクローナル抗体を製造するための他の技術も使用され得る。

【０１６６】

ハイブリドーマを製造するための典型的な動物系はマウス系である。融合のために免疫された脾細胞の免疫プロトコル及び単離技術は、当該分野で公知である。融合パートナー（例えば、マウス骨髄腫細胞）及び融合手順も公知である。

【０１６７】

キメラ抗体又はヒト化抗体は、上記のように製造されたマウスモノクローナル抗体の配列に基づいて製造され得る。重鎖及び軽鎖免疫グロブリンをコードするＤＮＡは、目的のマウスハイブリドーマから得ることができ、そして標準的な分子生物学的技術を使用して非マウス（例えばヒト）免疫グロブリン配列を含むように操作し得る。例えば、キメラ抗体を作製するために、マウス可変領域を、当該分野で公知の方法（例えば、Ｃａｂｉｌｌｙらに対する米国特許第４，８１６，５６７号を参照のこと）を使用してヒト定常領域に連結することができる。ヒト化抗体を作製するために、マウスＣＤＲ領域を、当該分野で公知の方法（例えば、米国特許第５，２２５，５３９号、及び米国特許第５，５３０，１０１号；同第５，５８５，０８９号；同第５，６９３，７６２号；及び同第６，１８０，３７０号を参照のこと）を使用してヒトフレームワークに挿入することができる。

【０１６８】

ある場合には、抗ＩＬ－６抗体はヒトモノクローナル抗体である。ＩＬ－６に対して特異的なヒトモノクローナル抗体は、マウス系よりはむしろヒト免疫系の部分を有するトランスジェニック又は導入染色体（ｔｒａｎｓｃｈｒｏｍｏｓｏｍｉｃ）マウスを使用し得て生成し得る。これらのトランスジェニックマウス及び導入染色体マウスには、それぞれＨｕＭＡｂ Ｍｏｕｓｅ（登録商標）及びＫＭ Ｍｏｕｓｅ（登録商標）と本明細書中で呼ばれ、本明細書で集合的に「ヒトＩｇマウス」と呼ばれるマウスが含まれる。

【０１６９】

ＨｕＭＡｂ Ｍｏｕｓｅ（登録商標）（Ｍｅｄａｒｅｘ（登録商標）、Ｉｎｃ．）は、再配列されていないヒト重鎖（μ及びγ）及びκ軽鎖免疫グロブリン配列をコードするヒ

ト免疫グロブリン遺伝子ミニ遺伝子座（ｍｉｎｉｌｏｃｉ）を、内在性μ及びκ鎖遺伝子座を不活化する標的化された変異とともに含む（例えば、Ｌｏｎｂｅｒｇ、ｅｔ ａｌ．（１９９４） Ｎａｔｕｒｅ ３６８（６４７４）：８５６－８５９を参照のこと）。従って、マウスは、マウスＩｇＭ又はκの減少した発現を示し、そして免疫に反応して、導入されたヒト重鎖及び軽鎖導入遺伝子はクラススイッチ及び体細胞変異を受けて高親和性のヒトＩｇＧκモノクローナルを生じる（Ｌｏｎｂｅｒｇ、Ｎ．ｅｔ ａｌ．（１９９４）；Ｌｏｎｂｅｒｇ、Ｎ．（１９９４） Ｈａｎｄｂｏｏｋ ｏｆ Ｅｘｐｅｒｉｍｅｎｔａｌ Ｐｈａｒｍａｃｏｌｏｇｙ １１３：４９－１０１における総説；Ｌｏｎｂｅｒｇ、Ｎ．ａｎｄ Ｈｕｓｚａｒ、Ｄ．（１９９５） Ｉｎｔｅｒｎ．Ｒｅｖ．Ｉｍｍｕｎｏｌ．１３：６５－９３、及びＨａｒｄｉｎｇ、Ｆ．ａｎｄ Ｌｏｎｂｅｒｇ、Ｎ．（１９９５） Ａｎｎ．Ｎ．Ｙ．Ａｃａｄ．Ｓｃｉ．７６４：５３６－５４６）。ＨｕＭＡｂ Ｍｏｕｓｅ（登録商標）の製造及び使用、並びにこのマウスにより行われるゲノム改変は、Ｔａｙｌｏｒ、Ｌ．ｅｔ ａｌ．（１９９２） Ｎｕｃｌｅｉｃ Ａｃｉｄｓ Ｒｅｓｅａｒｃｈ ２０：６２８７－６２９５；Ｃｈｅｎ、Ｊ．ｅｔ ａｌ．（１９９３）Ｉｎｔｅｒｎａｔｉｏｎａｌ Ｉｍｍｕｎｏｌｏｇｙ ５：６４７－６５６；Ｔｕａｉｌｌｏｎ ｅｔ ａｌ．（１９９３） Ｐｒｏｃ．Ｎａｔｌ．Ａｃａｄ．Ｓｃｉ．ＵＳＡ ９０：３７２０－３７２４；Ｃｈｏｉ ｅｔ ａｌ．（１９９３）Ｎａｔｕｒｅ Ｇｅｎｅｔｉｃｓ ４：１１７－１２３；Ｃｈｅｎ、Ｊ．ｅｔ ａｌ．（１９９３）ＥＭＢＯ Ｊ．１２：８２１－８３０；Ｔｕａｉｌｌｏｎ ｅｔ ａｌ．（１９９４） Ｊ．Ｉｍｍｕｎｏｌ．１５２：２９１２－２９２０；Ｔａｙｌｏｒ、Ｌ．ｅｔ ａｌ．（１９９４） Ｉｎｔｅｒｎａｔｉｏｎａｌ Ｉｍｍｕｎｏｌｏｇｙ ６：５７９－５９１；及びＦｉｓｈｗｉｌｄ、Ｄ．ｅｔ ａｌ．（１９９６）Ｎａｔｕｒｅ Ｂｉｏｔｅｃｈｎｏｌｏｇｙ １４：８４５－８５１、（これら全ての内容は、それら全体が参照により具体的に本明細書に加入される）においてさらに記載される。さらに、米国特許第５，５４５，８０６号；同第５，５６９，８２５号；同第５，６２５，１２６号；同第５，６３３，４２５号；同第５，７８９，６５０号；同第５，８７７，３９７号；同第５，６６１，０１６号；同第５，８１４，３１８号；同第５，８７４，２９９号；及び同第５，７７０，４２９号；米国特許第５，５４５，８０７号；ＰＣＴ公開第ＷＯ９２／０３９１８号、同第ＷＯ９３／１２２２７号、同第ＷＯ９４／２５５８５号、同第ＷＯ９７／１３８５２号、同第ＷＯ９８／２４８８４号、及び同第ＷＯ９９／４５９６２号；並びにＰＣＴ公開第ＷＯ０１／１４４２４号を参照のこと。

【０１７０】

別の局面において、ヒト抗ＩＬ－６抗体は、導入遺伝子及び導入染色体上にヒト免疫グロブリン配列を有するマウス、例えば、ヒト重鎖導入遺伝子及びヒト軽鎖導入染色体を有するマウスを使用して産生され得る。このようなマウスは、本明細書で「ＫＭ ｍｉｃｅ™」と呼ばれ、ＰＣＴ公開第ＷＯ０２／４３４７８において詳細に記載される。

【０１７１】

なおさらに、ヒト免疫グロブリン遺伝子を発現する代替のトランスジェニック動物系は、当該分野で入手可能であり、そしてＩＬ－６抗体を産生させるために使用することができる。例えば、Ｘｅｎｏｍｏｕｓｅ™（Ａｂｇｅｎｉｘ、Ｉｎｃ．）と呼ばれる代替のトランスジェニック系を使用することができ；このようなマウスは、例えば米国特許第５，９３９，５９８号；同第６，０７５，１８１号；同第６，１１４，５９８号；同第６，１５０，５８４号；及び同第６，１６２，９６３号に記載される。

【０１７２】

さらに、ヒト免疫グロブリン遺伝子を発現する代替の導入染色体動物系は当該分野で入手可能であり、そしてＩＬ－６抗体を産生させるために使用することができる。例えば、ヒト重鎖導入染色体及びヒト軽鎖導入染色体の両方を有するマウス（「ＴＣ ｍｉｃｅ」と呼ばれる）を使用することができ；このようなマウスは、Ｔｏｍｉｚｕｋａ ｅｔ ａｌ．（２０００） Ｐｒｏｃ．Ｎａｔｌ．Ａｃａｄ．Ｓｃｉ．ＵＳＡ９７：７２２－７２７に記載される。さらに、ヒト重鎖及び軽鎖導入染色体を有する雌ウシが当該分野で記載

されており（Ｋｕｒｏｉｗａ ｅｔ ａｌ．（２００２）Ｎａｔｕｒｅ Ｂｉｏｔｅｃｈｎｏｌｏｇｙ ２０：８８９－８９４）、ＩＬ－６抗体を産生させるために使用することができる。

【０１７３】

ヒトモノクローナル抗体はまた、ヒト抗体反応が免疫の際に生じ得るようにヒト免疫細胞が再構成されているＳＣＩＤマウスを使用して製造することもできる。このようなマウスは、例えば米国特許第５，４７６，９９６号；及び同第５，６９８，７６７号に記載される。

【０１７４】

ヒトＩｇマウスの免疫

抗体及び抗体産生細胞株の製造

ＩＬ－６抗原を用いた動物の免疫後に、抗体及び／又は抗体産生細胞を、その動物から得ることができる。いくつかの場合において、ＩＬ－６抗体を含有する血清を、動物を採血又は屠殺することにより動物から得る。この血清を、動物から得たままで使用し得、免疫グロブリンフラクションは血清から得られ得るか、又はＩＬ－６抗体を血清から精製し得る。

【０１７５】

いくつかの場合において、抗体を産生する不死化細胞株を、免疫した動物から単離した細胞から製造する。免疫後に動物を屠殺し、そしてリンパ節及び／又は脾臓Ｂ細胞を当該分野で公知のいずれかの手段により不死化する。細胞を不死化する方法には、限定されないが、がん遺伝子を用いてそれらをトランスフェクトすること、腫瘍ウイルスにそれらを感染させること及び不死化細胞を選択する条件下でそれらを培養すること、それらを発がん性又は突然変異性化合物に晒すこと、それらを不死化細胞（例えば骨髄腫細胞）と融合すること、並びにがん抑制遺伝子を不活化することが含まれる。骨髄腫細胞との融合を使用する場合、骨髄腫細胞は好ましくは免疫グロブリンポリペプチドを分泌しない（非分泌性細胞株）。不死化細胞を、ＩＬ－６、その一部、又はＩＬ－６を発現する細胞を使用してスクリーニングする。いくつかの場合において、最初のスクリーニングは、酵素結合イムノアッセイ（ＥＬＩＳＡ）又はラジオイムノアッセイを使用して行われる。ＥＬＩＳＡスクリーニングの例は、ＰＣＴ公開第ＷＯ００／３７５０４（本明細書に参照により加入される）に示される。

【０１７６】

ＩＬ－６抗体産生細胞、例えばハイブリドーマは、選択され、クローニングされ、そして強い増殖、高い抗体産生及び所望の抗体特徴を含む所望の特徴についてさらにスクリーニングされる。ハイブリドーマは、インビボで同系の動物において、免疫系を欠損した動物（例えばヌードマウス）において、又はインビトロで細胞培養において増殖させることができる。ハイブリドーマを選択、クローニング及び増殖させる方法は当業者に周知である。

【０１７７】

一例において、免疫された動物は、ヒト免疫グロブリン遺伝子を発現する非ヒト動物であり、そして脾臓Ｂ細胞は、非ヒト動物と同じ種由来の骨髄腫細胞株に融合される。１つのこのような免疫された動物はＫｉｒｉｎ ＴＣ Ｍｏｕｓｅ™マウスであり、そして骨髄腫細胞株は非分泌性マウス骨髄腫である。さらなる例において、骨髄腫細胞株はＳｐ２／０－Ａｇ１４（アメリカン・タイプ・カルチャー・コレクション（Ａｍｅｒｉｃａｎ Ｔｙｐｅ Ｃｕｌｔｕｒｅ Ｃｏｌｌｅｃｔｉｏｎ）（ＡＴＣＣ） ＣＲＬ－１５８１）である。

【０１７８】

ＩＬ－６に特異的なヒトモノクローナル抗体又はその抗原結合部分を産生する細胞株を製造するための方法もまた提供され、この方法は：（ａ）本明細書に記載される非ヒトトランスジェニック動物をＩＬ－６、ＩＬ－６の一部又はＩｌ－６を発現する細胞若しくは組織を用いて免疫すること；（ｂ）トランスジェニック動物にＩＬ－６に対する免疫応答

を開始させること；（ｃ）抗体産生細胞をトランスジェニック動物から単離すること；（ｄ）抗体産生細胞を不死化すること；（ｅ）不死化された抗体産生細胞の個々のモノクローナル集団を作製すること；及び（ｆ）ＩＬ－６に特異的な抗体を同定するために、不死化された抗体を産生する細胞をスクリーニングすることを含む。

【０１７９】

別の局面において、ヒトＩＬ－６抗体を産生するハイブリドーマが提供される。ハイブリドーマにより産生されたヒトＩＬ－６抗体は、ＩＬ－６のアンタゴニストであり得る。ハイブリドーマは、非ヒト、非マウス種、例えばラット、ヒツジ、ブタ、ヤギ、ウシ又はウマにおいて産生され得る。

【０１８０】

ある場合には、抗体産生細胞を単離し、そして宿主細胞（例えば骨髄腫細胞）において発現させる。なお別の例において、トランスジェニック動物はＩＬ－６を用いて免疫され、初代細胞（例えば脾臓又は末梢血細胞）を免疫されたトランスジェニック動物から単離し、そして所望の抗原に対して特異的な抗体を産生する個々の細胞を同定する。各個々の細胞からのポリアデニル化ｍＲＮＡを単離し、そして逆転写ポリメラーゼ連鎖反応（ＲＴ－ＰＣＲ）を、可変領域配列とアニーリングするセンスプライマー、例えば、ヒト重鎖及び軽鎖可変領域遺伝子のＦＲ１領域の大部分又は全てを認識する縮重プライマー及び定常領域配列又は連結領域配列とアニーリングするアンチセンスプライマーを使用して行われる。次いで重鎖及び軽鎖可変ドメインのｃＤＮＡをクローニングし、そして任意の適切な宿主細胞、例えば骨髄腫細胞において、それぞれの免疫グロブリン定常領域（例えば重鎖及びκ又はλ定常ドメイン）を有するキメラ抗体として発現される。Ｂａｂｃｏｏｋ、Ｊ．Ｓ．ｅｔ　ａｌ．（１９９６）Ｐｒｏｃ．Ｎａｔｌ．Ａｃａｄ．Ｓｃｉ．ＵＳＡ　９３：７８４３－４８（参照により本明細書に加入される）を参照のこと。次いでＩＬ－６抗体は同定及び単離され得る。

【０１８１】

抗体の組み換え製造方法

ＩＬ－６抗体又はその抗原結合部分は、宿主細胞における免疫グロブリン軽鎖及び重鎖遺伝子の組み換え発現により製造することができる。例えば、抗体を組み換えにより発現させるために、抗体の免疫グロブリン軽鎖及び重鎖をコードするＤＮＡフラグメントを有する１つ又はそれ以上の組み換え発現ベクターを用いて、宿主細胞をトランスフェクトして、その結果軽鎖及び重鎖が宿主細胞において発現され、そして好ましくは宿主細胞が培養される培地中に分泌されてその培地から抗体から回収することができる。Ｓａｍｂｒｏｏｋ、Ｆｒｉｔｓｃｈ　ａｎｄ　Ｍａｎｉａｔｉｓ（ｅｄｓ）、Ｍｏｌｅｃｕｌａｒ　Ｃｌｏｎｉｎｇ；Ａ　Ｌａｂｏｒａｔｏｒｙ　Ｍａｎｕａｌ、Ｓｅｃｏｎｄ　Ｅｄｉｔｉｏｎ、Ｃｏｌｄ　Ｓｐｒｉｎｇ　Ｈａｒｂｏｒ、Ｎ．Ｙ．、（１９８９）、Ａｕｓｕｂｅｌ、Ｆ．Ｍ．ｅｔ　ａｌ．（編）　Ｃｕｒｒｅｎｔ　Ｐｒｏｔｏｃｏｌｓ　ｉｎ　Ｍｏｌｅｃｕｌａｒ　Ｂｉｏｌｏｇｙ、Ｇｒｅｅｎｅ　Ｐｕｂｌｉｓｈｉｎｇ　Ａｓｓｏｃｉａｔｅｓ、（１９８９）及び米国特許第４，８１６，３９７号（これらの開示は本明細書中に参照により加入される）に記載されるもののような、種々の組み換えＤＮＡ方法論が、抗体重鎖及び軽鎖遺伝子を得るため、これらの遺伝子を組み換え発現ベクターに組み込むため、及びベクターを宿主細胞にベクターを導入するために使用される。

【０１８２】

変異及び改変

ＩＬ－６抗体を発現させるために、V_H及びV_L領域をコードするＤＮＡフラグメントを、本明細書において考察される方法のいずれかを使用して最初に得ることができる。種々の変異、欠失、及び／又は付加もまた種々の適切な方法を使用してＤＮＡ配列に導入することができる。例えば、変異誘発は、標準的な方法、例えばＰＣＲ媒介（ｍｅｄｉａｔｅｄ）変異誘発（ここでは変異したヌクレオチドを、ＰＣＲ産物が所望の変異又は部位特異的変異誘発を含むようにＰＣＲプライマーに組み込む）を使用して行われ得る。例えば、作製され得る置換の１つの型は、抗体中の１つ又はそれ以上のシステイン（化学的に反応

性であり得る）を別の残基（例えば限定することなるアラニン又はセリン）に変更することである。例えば、非標準又は標準システインの置換が存在し得る。置換は、抗体の可変ドメインのＣＤＲ若しくはフレームワーク領域又は定常ドメインにおいて作製され得る。抗体はまた、重鎖及び／又は軽鎖の可変ドメインにおいて、例えば抗体の結合特性を変更するように変異し得る。例えば、変異はＩＬ－６に対する抗体のK_Dを増加若しくは減少させるため、k_{off}を増加若しくは減少させるため、又は抗体の結合特異性を変更するために、ＣＤＲ領域の１つ又はそれ以上において作製され得る。部位特異的変異誘発における技術には、例えばＳａｍｂｒｏｏｋら及びＡｕｓｕｂｅｌらが含まれる（これらは参照により本明細書に加入される）。

【０１８３】

変異はまた、ＩＬ－６抗体の半減期を増加させるためにフレームワーク領域又は定常ドメインにおいて作製され得る。例えば、ＰＣＴ公開第ＷＯ００／０９５６０号（本明細書に参照により加入される）を参照のこと。フレームワーク領域又は定常ドメインにおける変異ははまた、抗体の免疫原性を変更するため、別の分子への共有結合若しくは非共有結合のための部位を生じるため、又は補体結合、ＦｃＲ結合及び抗体依存性細胞媒介細胞傷害性（ＡＤＣＣ）のような特性を変更するために作製され得る。単一の抗体は、可変ドメインのＣＤＲ若しくはフレームワーク領域又は定常ドメインのいずれか１つ又はそれ以上において変異を有し得る。

【０１８４】

「生殖系列化（ｇｅｒｍｌｉｎｉｎｇ）」として知られるプロセスにおいて、V_H及びV_L配列における特定のアミノ酸は、生殖系列V_H及びV_L配列において自然に見られるアミノ酸と適合するように変異し得る。特に、V_H及びV_L配列におけるフレームワーク領域のアミノ酸配列は、抗体が投与される場合の免疫原性の危険性を減少するために生殖系列配列に適合するように変異し得る。ヒトV_H及びV_L遺伝子についての生殖系列ＤＮＡ配列は当該分野で公知である（例えば、「Ｖｂａｓｅ」ヒト生殖系列配列データベースを参照のこと；Ｋａｂａｔ、Ｅ．Ａ．、ｅｔ　ａｌ．（１９９１）Ｓｅｑｕｅｎｃｅｓ　ｏｆ　Ｐｒｏｔｅｉｎｓ　ｏｆ　Ｉｍｍｕｎｏｌｏｇｉｃａｌ　Ｉｎｔｅｒｅｓｔ、Ｆｉｆｔｈ　Ｅｄｉｔｉｏｎ、Ｕ．Ｓ．Ｄｅｐａｒｔｍｅｎｔ　ｏｆ　Ｈｅａｌｔｈ　ａｎｄ　Ｈｕｍａｎ　Ｓｅｒｖｉｃｅｓ、ＮＩＨ　Ｐｕｂｌｉｃａｔｉｏｎ　Ｎｏ．９１－３２４２；Ｔｏｍｌｉｎｓｏｎ　ｅｔ　ａｌ．（１９９２）　Ｊ．Ｍｏｌ．Ｂｉｏｌ．２２７：７７６－７９８；及びＣｏｘ　ｅｔ　ａｌ．Ｅｕｒ．Ｊ．Ｉｍｍｕｎｏｌ．２４：８２７－８３６（１９９４）も参照のこと、これらの各々の内容は参照により本明細書に加入される）。

【０１８５】

作製され得る別の型のアミノ酸置換は、抗体中のタンパク質分解の可能性のある部位を除去することである。このような部位は、抗体の可変ドメインのＣＤＲ若しくはフレームワーク領域又は定常ドメインに存在し得る。システイン残基の置換及びタンパク質分解性部位の除去は、抗体産物における不均一性の危険性を減少させ得、従ってその均一性を増加させ得る。別の型のアミノ酸置換は、脱アミドの可能性がある部位を形成するアスパラギン－グリシン対を、これら残基の一方又は両方を変更することにより除去することである。別の例では、ＩＬ－６　抗体の重鎖のＣ末端リジンを切断し得る。様々な例において、ＩＬ－６抗体の重鎖及び軽鎖は、場合によりシグナル配列を含み得る。いくつかの場合において、抗ＩＬ－６抗体の重鎖のＣ末端リジンはタンパク質分解により切断され得る。

【０１８６】

V_H及びV_LセグメントをコードするＤＮＡフラグメンが得られれば、これらのＤＮＡフラグメントを、標準的な組み換えＤＮＡ技術により、例えば可変領域遺伝子を全長抗体鎖遺伝子、Ｆａｂフラグメント遺伝子、又はｓｃＦｖ遺伝子に変換するように、さらに操作し得る。これらの操作において、V_L又はV_HをコードするＤＮＡフラグメントを、別のタンパク質をコードする別のＤＮＡフラグメント（例えば抗体定常領域又は可動性リンカー）に作動可能に連結される。この文脈において使用される用語「作動可能に連結される（

ｏｐｅｒａｔｉｖｅｌｙ　ｌｉｎｋｅｄ）」は、２つのＤＮＡフラグメントによりコードされるアミノ酸配列がインフレームのままであるようにその２つのＤＮＡフラグメントが結合されることを意味するよう意図される。

【０１８７】

V_HをコードするＤＮＡを重鎖定常領域（ＣＨ１、ＣＨ２及びＣＨ３）をコードする別のＤＮＡ分子に作動可能に連結することにより、V_H領域をコードする単離されたＤＮＡを全長重鎖遺伝子に変換することができる。ヒト重鎖定常領域遺伝子の配列は当該分野で公知であり（例えば、Ｋａｂａｔ、Ｅ．Ａ．、ｅｔ　ａｌ．（１９９１）Ｓｅｑｕｅｎｃｅｓ　ｏｆ　Ｐｒｏｔｅｉｎｓ　ｏｆ　Ｉｍｍｕｎｏｌｏｇｉｃａｌ　Ｉｎｔｅｒｅｓｔ、Ｆｉｆｔｈ　Ｅｄｉｔｉｏｎ、Ｕ．Ｓ．Ｄｅｐａｒｔｍｅｎｔ　ｏｆ　Ｈｅａｌｔｈ　ａｎｄ　Ｈｕｍａｎ　Ｓｅｒｖｉｃｅｓ、ＮＩＨ　Ｐｕｂｌｉｃａｔｉｏｎ　Ｎｏ．９１－３２４２を参照のこと）、そしてこれらの領域を含むＤＮＡフラグメントは、標準的なＰＣＲ増幅により得ることができる。重鎖定常領域は、ＩｇＧ１、ＩｇＧ２、ＩｇＧ３、ＩｇＧ４、ＩｇＡ、ＩｇＥ、ＩｇＭ又はＩｇＤ定常領域であり得るが、最も好ましくはＩｇＧ１又はＩｇＧ２定常領域である。ＩｇＧ１定常領域配列は、異なる個体間で存在することが知られている種々の対立遺伝子又はアロタイプ、例えばＧｍ（１）、Ｇｍ（２）、Ｇｍ（３）、及びＧｍ（１７）のいずれかであり得る。これらのアロタイプは、ＩｇＧ１定常領域において天然に存在するアミノ酸置換を表す。Ｆａｂフラグメント重鎖遺伝子については、V_HをコードするＤＮＡは、重鎖ＣＨ１定常領域のみをコードする別のＤＮＡ分子に作動可能に連結され得る。ＣＨ１重鎖定常領域は、重鎖遺伝子のいずれかから誘導され得る。

【０１８８】

V_LをコードするＤＮＡを軽鎖定常領域C_Lをコードする別のＤＮＡ分子に作動可能に連結することにより、V_L領域をコードする単離されたＤＮＡを、（Ｆａｂ軽鎖遺伝子に加えて）全長軽鎖遺伝子に変換することができる。ヒト軽鎖定常領域遺伝子の配列は当該分野で公知であり（例えば、Ｋａｂａｔ、Ｅ．Ａ．、ｅｔ　ａｌ．（１９９１）Ｓｅｑｕｅｎｃｅｓ　ｏｆ　Ｐｒｏｔｅｉｎｓ　ｏｆ　Ｉｍｍｕｎｏｌｏｇｉｃａｌ　Ｉｎｔｅｒｅｓｔ、Ｆｉｆｔｈ　Ｅｄｉｔｉｏｎ、Ｕ．Ｓ．Ｄｅｐａｒｔｍｅｎｔ　ｏｆ　Ｈｅａｌｔｈ　ａｎｄ　Ｈｕｍａｎ　Ｓｅｒｖｉｃｅｓ、ＮＩＨ　Ｐｕｂｌｉｃａｔｉｏｎ　Ｎｏ．９１－３２４２を参照のこと）、そしてこれらの領域を含むＤＮＡフラグメントは、標準的ＰＣＲ増幅により得ることができる。軽鎖定常領域は、カッパ又はラムダ定常領域であり得る。カッパ定常領域は、異なる個体間で存在することが知られている種々の対立遺伝子、例えばＩｎｖ（１）、Ｉｎｖ（２）、及びＩｎｖ（３）のいずれかであり得る。ラムダ定常領域は、３つのラムダ遺伝子のうちいずれかから誘導され得る。

【０１８９】

ｓｃＦｖ遺伝子を作製するために、V_H及びV_L配列が連続した一本鎖のタンパク質として発現され得、V_L及びV_H領域は可動性リンカーにより結合されるように、可動性リンカーをコードする、例えばアミノ酸配列（Gly_4－Ｓｅｒ）$_3$をコードする別のフラグメントに、V_HをコードするＤＮＡフラグメント及びV_LをコードするＤＮＡフラグメントを作動可能に連結する（例えば、Ｂｉｒｄ　ｅｔ　ａｌ．Ｓｃｉｅｎｃｅ　２４２：４２３－４２６（１９８８）；Ｈｕｓｔｏｎ　ｅｔ　ａｌ．Ｐｒｏｃ．Ｎａｔｌ．Ａｃａｄ．Ｓｃｉ．ＵＳＡ　８５：５８７９－５８８３（１９８８）；ＭｃＣａｆｆｅｒｔｙ　ｅｔ　ａｌ．、Ｎａｔｕｒｅ　３４８：５５２－５５４（１９９０）を参照のこと）。一本鎖抗体は、単一のV_H及びV_Lが使用される場合にのみ一価であり、２つのV_H及びV_Lが使用される場合は二価であり、２つより多いV_H及びV_Lが使用される場合は多価であり得る。ＩＬ－６及び別の分子に特異的に結合する二重特異性又は多価の抗体が生成され得る。

【０１９０】

別の場合には、別のポリペプチドに連結されたＩＬ－６抗体の全て又は一部を含む融合抗体が作製され得る。別の場合には、ＩＬ－６抗体の可変ドメインのみがポリペプチドに連結される。別の場合には、ＩＬ－６抗体のV_Hドメインは第一のポリペプチドに連結さ

れ、一方でＩＬ－６抗体のV_Lドメインは、V_H及びV_Lドメインが互いに相互作用して抗原結合部位を形成し得るような形式で第一のポリペプチドに結合している第二のポリペプチドに連結される。別の場合には、V_Hドメインは、V_Hドメイン及びV_Lドメインが互いに相互作用し得るようにリンカーによりV_Lドメインと隔てられている。次いで、V_H－リンカー－V_L抗体は目的のポリペプチドに連結される。さらに、２つ（又はそれ以上）の一本鎖抗体が互いに連結されている融合抗体を作製することができる。これは、単一のポリペプチド鎖に二価若しくは多価抗体を作製したい場合、又は二重特異性抗体を作製したい場合に有用である。

【０１９１】

他の場合において、他の改変された抗体は、ＩＬ－６抗体をコードする核酸分子を使用して製造され得る。例えば、「カッパボディ（Ｋａｐｐａ　ｂｏｄｉｅｓ）」（Ｉｌｌ　ｅｔ　ａｌ．、Ｐｒｏｔｅｉｎ　Ｅｎｇ．１０：９４９－５７（１９９７））、「ミニ抗体（Ｍｉｎｉｂｏｄｉｅｓ）」（Ｍａｒｔｉｎ　ｅｔ　ａｌ．、ＥＭＢＯ　Ｊ．１３：５３０３－９（１９９４））、「二特異性抗体（Ｄｉａｂｏｄｉｅｓ）」（Ｈｏｌｌｉｇｅｒ　ｅｔ　ａｌ．、Ｐｒｏｃ．Ｎａｔｌ．Ａｃａｄ．Ｓｃｉ．ＵＳＡ　９０：６４４４－６４４８（１９９３））、又は「ジャヌシン」（Ｔｒａｕｎｅｃｋｅｒ　ｅｔ　ａｌ．、ＥＭＢＯ　Ｊ．１０：３６５５－３６５９（１９９１）及びＴｒａｕｎｅｃｋｅｒ　ｅｔ　ａｌ．、Ｉｎｔ．Ｊ．Ｃａｎｃｅｒ（Ｓｕｐｐｌ．）７：５１－５２（１９９２））は、本明細書に考察される技術に従う適切な分子生物学技術を使用して製造され得る。

【０１９２】

二重特異性抗体又は抗原結合フラグメントは、ハイブリドーマの融合又はＦａｂ’フラグメントの連結を含む種々の方法により製造することができる。例えば、Ｓｏｎｇｓｉｖｉｌａｉ　＆　Ｌａｃｈｍａｎｎ、Ｃｌｉｎ．Ｅｘｐ．Ｉｍｍｕｎｏｌ．７９：３１５－３２１（１９９０）、Ｋｏｓｔｅｌｎｙ　ｅｔ　ａｌ．、Ｊ．Ｉｍｍｕｎｏｌ．１４８：１５４７－１５５３（１９９２）を参照のこと。さらに、二重特異性抗体は、「二特異性抗体（ｄｉａｂｏｄｉｅｓ）」又は「ジャヌシン」として形成され得る。いくつかの場合において、二重特異性抗体は、ＩＬ－６の２つの異なるエピトープに結合する。いくつかの場合において、本明細書に記載される改変された抗体は、ヒトＩＬ－６抗体由来の可変ドメイン又はＣＤＲ領域の１つ又はそれ以上を使用して製造される。

【０１９３】

ベクター及び宿主細胞

ＩＬ－６抗体及びその抗原結合部分を発現させるために、本明細書に記載されるようにして得られた、部分的又は全長の軽鎖及び重鎖をコードするＤＮＡを、遺伝子が転写及び翻訳制御配列に作動可能に連結されるように発現ベクターに挿入する。この文脈において、用語「作動可能に連結される」は、ベクター内の転写及び翻訳制御配列がその抗体遺伝子の転写及び翻訳を調節するというそれらの意図された機能を果たすように、抗体遺伝子がベクターに結合されることを意味するように意図される。発現ベクター及び発現制御配列は、使用される発現宿主細胞と適合性であるように選択される。発現ベクターとしては、例えば、プラスミド、レトロウイルス、アデノウイルス、アデノ随伴ウイルス（ＡＡＶ）、植物ウイルス、例えばカリフラワーモザイクウイルス、タバコモザイクウイルス、コスミド、ＹＡＣ、及びＥＢＶ誘導エピソームが挙げられる。抗体遺伝子は、ベクター内の転写及び翻訳制御配列がその抗体遺伝子の転写及び翻訳を調節するというそれらの意図された機能を果たすように、ベクターに結合される。発現ベクター及び発現制御配列は、使用される発現宿主細胞と適合性であるように選択される。抗体軽鎖遺伝子及び抗体重鎖遺伝子を別々のベクターに挿入してもよく、又は両方の遺伝子を同じ発現ベクターに挿入する。抗体遺伝子は、種々の方法（例えば、抗体遺伝子フラグメント上の相補性制限部位とベクターとのライゲーション、又は制限部位が存在しない場合には平滑末端ライゲーション）により発現ベクターに挿入される。

【０１９４】

好都合なベクターは、上記のように、いずれれのV_H又はV_L配列も容易に挿入及び発現

され得るように操作された適切な制限部位とともに、機能的に完全なヒトC_H又はC_L免疫グロブリン配列をコードするものである。このようなベクターにおいて、スプライシングは通常、挿入されたＪ領域におけるスプライスドナー部位とヒトＣドメインの前のスプライスアクセプター部位との間、そしてまたヒトC_Hエキソン内に存在するスプライス領域においても起こる。ポリアデニル化及び転写終結は、コード領域の下流の天然の染色体部位で起こる。組み換え発現ベクターはまた、宿主細胞からの抗体鎖の分泌を容易にするシグナルペプチドをコードし得る。抗体鎖遺伝子は、シグナルペプチドが免疫グロブリン鎖のアミノ末端にインフレームで連結されるようにベクターにクローニングされ得る。シグナルペプチドは、免疫グロブリンシグナルペプチド又は異種シグナルペプチド（すなわち、非免疫グロブリンタンパク質由来のシグナルペプチド）であり得る。

【０１９５】

抗体鎖遺伝子に加えて、組み換え発現ベクターは、宿主細胞における抗体鎖遺伝子の発現を制御する調節配列を有する。調節配列の選択を含む発現ベクターの設計は、形質転換しようとする宿主細胞の選択、所望されるタンパク質の発現レベルのような因子に依存し得る。哺乳動物宿主細胞発現のための調節配列には、哺乳動物細胞における高レベルのタンパク質発現を導くウイルス性エレメント、例えばレトロウイルスＬＴＲ、サイトメガロウイルス（ＣＭＶ）（例えばＣＭＶプロモーター／エンハンサー）、シミアンウイルス４０（ＳＶ４０）（例えばＳＶ４０　プロモーター／エンハンサー）、アデノウイルス、（例えば、アデノウイルス主後期プロモーター（ＡｄＭＬＰ））、ポリオーマから誘導されるプロモーター及び／又はエンハンサー並びに強力哺乳動物プロモーター、例えば天然免疫グロブリン及びアクチンプロモーターが含まれる。ウイルス性調節エレメントのさらなる説明及びその配列については、例えば、米国特許第５，１６８，０６２号、米国特許第４，５１０，２４５号及び米国特許第４，９６８，６１５号（参照により本明細書に加入される）を参照のこと。植物の軽質転換に加えてプロモーター及びベクターの記載を含む、植物において抗体を発現させる方法は当該分野で公知である。例えば、米国特許第６，５１７，５２９号（参照により本明細書に加入される）を参照のこと。

【０１９６】

抗体鎖遺伝子及び調節配列に加えて、組み換え発現ベクターは、宿主細胞におけるベクターの複製を調節する配列（例えば複製起点）及び選択可能マーカー遺伝子のようなさらなる配列を有し得る。選択可能マーカー遺伝子は、ベクターが導入された宿主細胞の選択を容易にする（例えば、米国特許第４，３９９，２１６号、同第４，６３４，６６５号及び同第５，１７９，０１７号（本明細書に参照により加入される）を参照のこと）。例えば、典型的には、選択可能なマーカー遺伝子は、ベクターが導入された宿主細胞に、Ｇ４１８、ハイグロマイシン又はメトトレキサートのような薬物に対する耐性を付与する。選択可能なマーカー遺伝子としては、ジヒドロ葉酸還元酵素（ＤＨＦＲ）遺伝子（ｄｈｆｒ－宿主細胞におけるメトトレキサート選択／増幅での使用のため）、ネオマイシンホスホトランスフェラーゼ遺伝子（Ｇ４１８選択のため）、及びグルタメート合成酵素遺伝子が挙げられる。

【０１９７】

ＩＬ－６抗体をコードする核酸分子及びこれらの核酸分子を含むベクターは、適切な哺乳動物、植物、細菌又は酵母の宿主細胞のトランスフェクションに使用され得る。形質転換は、宿主細胞にポリヌクレオチドを導入するためのいずれかの適切な方法であり得る。異種ポリヌクレオチドを哺乳動物細胞に導入するための方法としては、デキストラン媒介トランスフェクション、カルシウムリン酸カルシウム沈殿、ポリブレン媒介トランスフェクション、プロトプラスト融合、エレクトロポレーション、ポリヌクレオチドのリポソーム中カプセル封入、及び核へのＤＮＡの直接微量注入が挙げられる。さらに、核酸分子は、ウイルスベクターにより哺乳動物細胞に導入され得る。細胞を形質転換する方法は当該分野で周知である。例えば、米国特許第４，３９９，２１６号、同第４，９１２，０４０号、同第４，７４０，４６１号、及び同第４，９５９，４５５号（参照により本明細書に加入される）を参照のこと。植物細胞を形質転換する方法は、当該分野で周知であり、こ

れらとしては、例えば、アグロバクテリウム媒介形質転換、遺伝子銃形質転換、直接注入、エレクトロポレーション及びウイルス形質転換が挙げられる。細菌及び酵母細胞を形質転換する方法も当該分野で周知である。

【０１９８】

発現のための宿主として利用可能な哺乳動物細胞株は当該分野で周知であり、アメリカン・タイプ・カルチャー・コレクション（Ａｍｅｒｉｃａｎ　Ｔｙｐｅ　Ｃｕｌｔｕｒｅ　Ｃｏｌｌｅｃｔｉｏｎ）（ＡＴＣＣ）から入手可能な多くの不死化細胞株が含まれる。これらとしては、例えば、チャイニーズハムスター卵巣（ＣＨＯ）細胞、ＮＳＯ細胞、ＳＰ２細胞、ＨＥＫ－２９３Ｔ細胞、ＮＩＨ－３Ｔ３細胞、ＨｅＬａ細胞、ベビーハムスター腎臓（ＢＨＫ）細胞、アフリカミドリザル腎臓細胞（ＣＯＳ）、ヒト肝細胞がん細胞（例えば、Ｈｅｐ　Ｇ２）、Ａ５４９細胞、及び多数の他の細胞株が挙げられる。特に好ましい細胞株は、どの細胞株が高発現レベルを有するかによって選択される。使用され得る他の細胞株は、昆虫細胞株、例えばＳｆ９又はＳｆ２１細胞である。抗体遺伝子をコードする組み換え発現ベクターが哺乳動物宿主細胞に導入される場合、宿主細胞における抗体の発現、又はより好ましくは宿主細胞が増殖する培地中への抗体の分泌を可能にするために十分な期間の間、宿主細胞を培養することにより抗体が産生される。種々のタンパク質精製方法を使用して、抗体を培地から回収することができる。細菌宿主細胞としては、Ｅ．ｃｏｌｉ及びストレプトマイセス（Ｓｔｒｅｐｔｏｍｙｃｅｓ）種が挙げられる。酵母宿主細胞としては、分裂酵母（Ｓｃｈｉｚｏｓａｃｃｈａｒｏｍｙｃｅｓ　ｐｏｍｂｅ）、出芽酵母（Ｓａｃｃｈａｒｏｍｙｃｅｓ　ｃｅｒｅｖｉｓｉａｅ）及びピキアパストリス（Ｐｉｃｈｉａ　ｐａｓｔｏｒｉｓ）が挙げられる。

【０１９９】

さらに、産生細胞株からの抗体の発現は、あらゆる適切な技術を使用して増強され得る。例えば、グルタミン合成酵素（ＧＳ系）及びＤＨＦＲ遺伝子発現系は、特定の状況下で発現を増強するための一般的なアプローチである。高発現細胞クローンは、従来の技術、例えば限定希釈クローニング及びマイクロドロップ（Ｍｉｃｒｏｄｒｏｐ）技術を使用して同定することができる。ＧＳ系は、欧州特許第０　２１６　８４６号、同第０　２５６　０５５号、同第０　３２３　９９７号及び同第０　３３８　８４１号において考察されている。

【０２００】

異なる細胞株により又はトランスジェニック動物において発現された抗体は、互いに異なるグリコシル化を有する可能性がある。しかし、本明細書において提供される核酸分子によりコードされるか、本明細書において提供されるアミノ酸配列を含む全ての抗体は、抗体のグリコシル化に関わらず、本開示の一部である。

【０２０１】

ファージディスプレイライブラリ

ＩＬ－６抗体又はその抗原結合部分を製造する方法も提供され、この方法は、ヒト抗体のライブラリーをファージにおいて合成する工程、このライブラリーをＩＬ－６又はその部分を用いてスクリーニングする工程、ＩＬ－６に結合するファージを単離する工程、及びファージから抗体を得る工程を含む。例として、ファージディスプレイ技術において使用するための抗体のライブラリーを製造するための１つの方法は、ヒト免疫グロブリン遺伝子座を含む非ヒト動物をＩＬ－６又はその抗原性部分を用いて免疫して免疫応答を生じさせて、抗体産生細胞を免疫された動物から抽出する工程；抗体の重鎖及び軽鎖をコードするＲＮＡを抽出した細胞から単離し、ＲＮＡを逆転写してｃＤＮＡを産生し、プライマーを使用してｃＤＮＡを増幅し、そしてｃＤＮＡを、抗体がファージで発現されるようにファージディスプレイベクターに挿入する工程を含む。組み換えＩＬ－６抗体は、このやり方で得られ得る。

【０２０２】

組み換えＩＬ－６ヒト抗体は、組み換えコンビナトリアル抗体ライブラリーをスクリーニングすることにより単離され得る。好ましくは、ライブラリーはＢ細胞から単離された

ｍＲＮＡから製造されたヒトV_L及びV_H ｃＤＮＡを使用して生成された、ｓｃＦｖファージディスプレイライブラリーである。このようなライブラリーを製造及びスクリーニングする方法は当該分野で公知である。ファージディスプレイライブラリーを生成するためのキットは市販されている（例えば、Ｐｈａｒｍａｃｉａ組み換えファージ抗体システム、カタログ番号２７－９４００－０１；及びＳｔｒａｔａｇｅｎｅ ＳｕｒｆＺＡＰ™ファージディスプレイキット、カタログ番号２４０６１２）。抗体ディスプレイライブラリーの生成及びスクリーニングにおいて使用され得る他の方法及び試薬もある（例えば、米国特許第５，２２３，４０９号；ＰＣＴ公開第ＷＯ９２／１８６１９号、同第ＷＯ９１／１７２７１号、同第ＷＯ９２／２０７９１号、同第ＷＯ９２／１５６７９号、同第ＷＯ９３／０１２８８号、同第ＷＯ９２／０１０４７号、同第ＷＯ９２／０９６９０号；Ｆｕｃｈｓ ｅｔ ａｌ.、Ｂｉｏ／Ｔｅｃｈｎｏｌｏｇｙ ９：１３７０－１３７２（１９９１）；Ｈａｙ ｅｔ ａｌ.、Ｈｕｍ. Ａｎｔｉｂｏｄ. Ｈｙｂｒｉｄｏｍａｓ ３：８１－８５（１９９２）；Ｈｕｓｅ ｅｔ ａｌ.、Ｓｃｉｅｎｃｅ ２４６：１２７５－１２８１（１９８９）；ＭｃＣａｆｆｅｒｔｙ ｅｔ ａｌ.、Ｎａｔｕｒｅ ３４８：５５２－５５４（１９９０）；Ｇｒｉｆｆｉｔｈｓ ｅｔ ａｌ.、ＥＭＢＯ Ｊ. １２：７２５－７３４（１９９３）；Ｈａｗｋｉｎｓ ｅｔ ａｌ.、Ｊ. Ｍｏｌ. Ｂｉｏｌ. ２２６：８８９－８９６（１９９２）；Ｃｌａｃｋｓｏｎ ｅｔ ａｌ.、Ｎａｔｕｒｅ ３５２：６２４－６２８（１９９１）；Ｇｒａｍ ｅｔ ａｌ.、Ｐｒｏｃ. Ｎａｔｌ. Ａｃａｄ. Ｓｃｉ. ＵＳＡ ８９：３５７６－３５８０（１９９２）；Ｇａｒｒａｄ ｅｔ ａｌ.、Ｂｉｏ／Ｔｅｃｈｎｏｌｏｇｙ ９：１３７３－１３７７（１９９１）；Ｈｏｏｇｅｎｂｏｏｍ ｅｔ ａｌ.、Ｎｕｃ. Ａｃｉｄ Ｒｅｓ. １９：４１３３－４１３７（１９９１）；及びＢａｒｂａｓ ｅｔ ａｌ.、Ｐｒｏｃ. Ｎａｔｌ. Ａｃａｄ. Ｓｃｉ. ＵＳＡ ８８：７９７８－７９８２（１９９１）（参照により全て本明細書に加入される）を参照のこと）。

【０２０３】

所望の特徴を有するヒトＩＬ－６抗体を単離及び製造するために、ＰＣＴ公開第ＷＯ９３／０６２１３号（参照により本明細書に加入される）に記載されるエピトープインプリンティング方法を使用して、ヒトＩＬ－６抗体を最初に使用してＩＬ－６に対する類似した結合活性を有するヒト重鎖及び軽鎖配列を選択する。この方法において使用される抗体ライブラリーは、好ましくはＰＣＴ公開第ＷＯ９２／０１０４７、ＭｃＣａｆｆｅｒｔｙ ｅｔ ａｌ.、Ｎａｔｕｒｅ ３４８：５５２－５５４（１９９０）；及びＧｒｉｆｆｉｔｈｓ ｅｔ ａｌ.、ＥＭＢＯ Ｊ. １２：７２５－７３４（１９９３）（参照により全て本明細書に加入される）に記載されるように製造及びスクリーニングされたｓｃＦｖライブラリーである。

【０２０４】

最初のヒトV_L及びV_Hドメインが選択されれば、「混合及び適合（ｍｉｘ ａｎｄ ｍａｔｃｈ）」実験を行い、ここでは最初に選択されたV_L及びV_Hセグメントの異なる対をＩＬ－６結合についてスクリーニングして好ましいV_L／V_H対の組み合わせを選択する。さらに、抗体の質をさらに改善するために、好ましいV_L／V_H対のV_L及びV_Hセグメントを、好ましくはV_H及び／又はV_LのＣＤＲ３領域内で、自然な免疫応答の間の抗体の親和性成熟に関与するインビボでの体細胞変異プロセスに類似したプロセスで無作為に変異させ得る。このインビトロ親和性成熟は、V_H及びV_Lドメインを、それぞれV_HＣＤＲ３又はV_LＣＤＲ３に対して相補的なＰＣＲプライマーを増幅することにより達成され得、これらのプライマーは、結果として生じるＰＣＲ産物が、無作為な変異がV_H及び／又はV_LのＣＤＲ３領域に導入されているV_H及びV_Lセグメントをコードするように、特定の位置において４つのヌクレオチド塩基の無作為混合物で「スパイクされている（ｓｐｉｋｅｄ）」。これらの無作為変異V_H及びV_LセグメントをＩＬ－６に対する結合について再スクリーニングしてもよい。

【０２０５】

組み換え免疫グロブリンディスプレイライブラリーからのＩＬ－６抗体のスクリーニン

グ及び単離後に、選択された抗体をコードする核酸をディスプレイパッケージから（例えばファージゲノムから）回収して、標準的なＤＮＡ技術により他の発現ベクターにサブクローニングし得る。所望の場合、本明細書に記載されるような他の抗体形態を作製するために、核酸をさらに操作することができる。コンビナトリアルライブラリーのスクリーニングにより単離された組み換えヒト抗体を発現させるために、抗体をコードするＤＮＡを組み換え発現ベクター中にクローニングし、そして上記のように哺乳動物宿主細胞に導入する。

【０２０６】

脱免疫化（Ｄｅｉｍｍｕｎｉｚｅｄ）抗体

別の局面において、ＩＬ－６抗体又はその抗原結合部分は、ＰＣＴ公開第ＷＯ９８／５２９７６号及び同第ＷＯ００／３４３１７号（参照により本明細書に加入される）に記載される技術を使用して、それらの免疫原性を減少させるために脱免疫化され得る。

【０２０７】

誘導体化及び標識された抗体

ＩＬ－６　抗体又は抗原結合部分は、誘導体化されるか又は別の分子（例えば別のペプチド又はタンパク質）に連結され得る。一般に、抗体又はその抗原結合部分は、Ｌ－６結合が誘導体化又は標識により不利な影響を受けないように誘導体化される。従って、抗体及び抗原結合部分は、本明細書に記載されるヒトＩＬ－６抗体のインタクトな形態及び改変された形態の両方を含むことを意図される。例えば、抗体又は抗原結合部分は、１つ又はそれ以上の他の分子実体（例えば、別の抗体（例えば、二重特異性抗体又は二特異性抗体（ｄｉａｂｏｄｙ））、検出剤、標識、細胞傷害性剤、医薬品、及び／又は抗体若しくは抗原結合部分と別の分子（例えばストレプトアビジンコア領域又はポリヒスチジンタグ）との結合を媒介し得るタンパク質若しくはペプチド）に対して、（化学的カップリング、遺伝子融合、非共有結合性結合又はその他の方法により）機能的に連結され得る。

【０２０８】

誘導体化された抗体の１つの型は、（同じ型の又は、例えば二重特異性抗体を作製するために異なる型の）２つ又はそれ以上の抗体を架橋することにより製造される。適切な架橋剤には、適切なスペーサーにより隔てられた２つの明確に区別される反応性基を有するヘテロ二官能性（ｈｅｔｅｒｏｂｉｆｕｎｃｔｉｏｎａｌ）のもの（例えば、ｍ－マレイミドベンゾイル－Ｎ－ヒドロキシコハク酸イミドエステル）、又はホモ二官能性（ｈｏｍｏｂｉｆｕｎｃｔｉｏｎａｌ）のもの（例えば、スベリン酸ジスクシンイミジル）が含まれる。このようなリンカーは、Ｐｉｅｒｃｅ　Ｃｈｅｍｉｃａｌ　Ｃｏｍｐａｎｙ、Ｒｏｃｋｆｏｒｄ、ＩＬから入手可能である。

【０２０９】

別の型の誘導体化された抗体は、標識された抗体である。それを用いて抗体又は抗原結合部分を誘導体化し得る有用な検出剤としては、例えば、フルオレセイン、フルオレセインイソチオシアネート、ローダミン、５－ジメチルアミン－１－ナフタレン－スルホニルクロリド、フィコエリトリン、ランタニド蛍光物質を含む蛍光性化合物が挙げられる。抗体はまた、検出に有用な酵素（例えば、西洋ワサビペルオキシダーゼ、β－ガラクトシダーゼ、ルシフェラーゼ、アルカリホスファターゼ、又はグルコースオキシダーゼ）を用いて標識され得る。検出可能な酵素で抗体を標識する場合、これは、酵素が使用して識別され得る反応生成物を生じるさらなる試薬を加えることにより検出される。例えば、西洋ワサビペルオキシダーゼ剤が存在する場合、過酸化水素及びジアミノベンジジンの添加は着色した反応生成物を生じ、これは検出可能である。抗体はまたビオチンで標識することもでき、そしてアビジン又はストレプトアビジン結合の間接的な測定により検出され得る。抗体はまた二次レポーター（例えば、ロイシンジッパー対配列、二次抗体の結合部位、金属結合ドメイン、エピトープタグ）により認識される所定のポリペプチドエピトープで標識され得る。いくつかの場合において、標識は起こり得る立体障害を低減するために種々の長さのスペーサーアームにより結合される。ＩＬ－６抗体はまた、ポリエチレングリコール（ＰＥＧ）、メチル若しくはエチル基、又は炭水化物基のような化学基で誘導体化さ

れ得る。これらの基は、抗体の生物学的特徴を改善するため、例えば血清半減期を増加させるために有用である。

【０２１０】

本明細書に示される具体的な実施例は、本開示の特定の局面を説明することを意図されており、特許請求の範囲を限定することは意図されていない。

【０２１１】

実施例１

抗ＩＬ－６抗体を産生するハイブリドーマの作製

本開示に従う典型的な抗体を以下のように調製し、選択し、そしてアッセイした：

マウス系統

ヒトＩＬ－６に対する完全ヒトモノクローナル抗体を、ヒトＩｇトランスジェニックマウス系統ＨＣｏ７及びＨＣｏ１２、さらにはヒト導入染色体／トランスジェニック系統、ＫＭ（Ｍｅｄａｒｅｘ、Ｉｎｃ．）を使用して調製した。これらの系統は全て、ヒトから単離された抗体と区別できない完全ヒト抗体を発現する。

３つの系統全てにおいて、内因性マウスカッパ軽鎖遺伝子及び内因性マウス重鎖遺伝子の両方を、Ｃｈｅｎ ｅｔ ａｌ．（１９９３） ＥＭＢＯ Ｊ．１２：８１１－８２０及びＰＣＴ公開第ＷＯ０１／０９１８７号の実施例１にそれぞれ記載されるようにホモ接合的に破壊した。さらに、３つ全てが、Ｆｉｓｈｗｉｌｄ ｅｔ ａｌ．（１９９６） Ｎａｔｕｒｅ Ｂｉｏｔｅｃｈｎｏｌｏｇｙ １４：８４５－８５１に記載されるように、ヒトカッパ軽鎖導入遺伝子、ＫＣｏ５を保有する。対照的に、これら３つの系統はそれらのヒト重鎖遺伝子に関しては異なっている。ＨＣｏ７系統は、米国特許第５，５４５，８０６号、同第５，６２５，８２５号、及び同第５，５４５，８０７号に記載されるようなＨＣｏ７ヒト重鎖導入遺伝子を保有し；ＨＣｏ１２系統は、ＰＣＴ公開第ＷＯ０１／０９１８７号の実施例２に記載されるようなＨＣｏ１２ヒト重鎖導入遺伝子を保有し；そしてＫＭ系統は、Ｉｓｈｉｄａ ｅｔ ａｌ．、（２００２）、Ｃｌｏｎｉｎｇ ａｎｄ Ｓｔｅｍ Ｃｅｌｌｓ、４：９１－１０２に記載されるようなヒトミニ染色体を保有する。

【０２１２】

ＩＬ－６抗原を用いた免疫、及び抗ＩＬ－６モノクローナル抗体を産生するＨｕＭａｂマウスの選択

ＨｕＭａｂマウスについての一般的な免疫スキームは、Ｌｏｎｂｅｒｇ ｅｔ ａｌ（１９９４） Ｎａｔｕｒｅ ３６８（６４７４）：８５６－８５９；Ｆｉｓｈｗｉｌｄ ｅｔ ａｌ．（１９９６） Ｎａｔｕｒｅ Ｂｉｏｔｅｃｈｎｏｌｏｇｙ １４：８４５－８５１及びＰＣＴ公開第ＷＯ９８／２４８８４号に記載されている。本ケースでは、ＨＣｏ７、ＨＣｏ１２及びＫＭ系統の合計で８１のＨｕＭａｂマウスを、Ｒｉｂｉアジュバント中の精製したヒトＩＬ－６ ５～２５μｇを用いて６～１６週齢で開始して免疫した。ヒトＩＬ－６を、ヒト骨髄由来間質細胞、ＨＳ－５（ＡＴＣＣ ＣＲＬ－１１８８２、Ｒｏｅｃｋｌｅｉｎ Ｂ．Ａ．＆ Ｔｏｒｏｋ－Ｓｔｏｒｂ Ｂ．、Ｂｌｏｏｄ ８５：９９７－１００５、１９９５）（これは内因的にＩＬ－６を培地中に分泌する）から精製した。ヒトＩＬ－６を、ＩＬ－６を発現しているＨＳ－５培地から単離し、これを限外ろ過により濃縮し、続いてＱセファロースアニオン交換クロマトグラフィー工程及びマウス抗ｈＩＬ－６ＭＡｂ（Ｒ＆Ｄ Ｓｙｓｔｅｍｓ、Ｃａｔａｌｏｇ ｎｕｍｂｅｒ ＭＡＢ２０６１、ｃｌｏｎｅ １９３６）を使用するアフィニティクロマトグラフィー工程を行った。精製されたヒトＩＬ－６は、ＳＤＳ－ＰＡＧＥにより約９０％の純度を有していた。主要なバンドをＳＤＳ－ＰＡＧＥゲルから切り取り、トリプシンで消化し、そして抽出ゲル精製トリプシンペプチドを、ＭＡＬＤＩ／ＭＳにより４７００ ＴＯＦ／ＴＯＦ Ｐｒｏｔｅｏｍｉｃｓ Ａｎａｌｙｚｅｒで分析し、そしてヒトＩＬ－６であることを確認した。代りに、商業供給元からの組み換えヒトＩＬ－６（例えば、Ｒｅｃｏｍｂｉｎａｎｔ Ｈｕｍａｎ ＩＬ－６、カタログ番号２０６－ＩＬ－６／ＣＦ．Ｒ＆Ｄ Ｓｙｓｔｅｍ Ｉｎｃ．６１４ Ｍｃｋｉｎｌｅｙ Ｐｌａｃｅ ＮＥ、Ｍｉｎｎｅａｐｏｌｉｓ、

ＭＮ　５５４１３）を使用することができる。投与は、腹腔内、皮下又は足蹠への注射により３～１４日間隔で、合計８回までの免疫であった。免疫応答を、以下に記載するように、ＥＬＩＳＡスクリーニングを介してモニターした。

【０２１３】

抗ＩＬ－６抗体を産生するＨｕＭａｂマウスの選択

上述のトランスジェニックマウスから血液を後眼窩からの出血を介して得て、精製ヒトＩＬ－６組み換えタンパク質に対する特異的な結合についてＥＬＩＳＡによりＦｉｓｈｗｉｌｄ　ｅｔ　ａｌ．（１９９６）、Ｎａｔｕｒｅ　Ｂｉｏｔｅｃｈｎｏｌｏｇｙ　１４：８４５－８５により記載されるように分析した。

手短に言うと、マイクロタイタープレートを、ＰＢＳ中に１μｇ／ｍｌを含有する精製組み換えＩＬ－６溶液を５０μｌ／ウェル使用してコーティングして、終夜４℃でインキュベートした。次いでウェルを、ＰＢＳ／Ｔｗｅｅｎ（０．０５％）中５％ニワトリ血清２００μｌ／ウェルを使用してブロックした。ＩＬ－６免疫マウスからの血漿の希釈を各ウェルに加え、そして１時間周囲温度でインキュベートした。プレートをＰＢＳ／Ｔｗｅｅｎで洗浄し、次いで西洋ワサビペルオキシダーゼ（ＨＲＰ）と結合したヤギ－抗ヒトＩｇＧ　Ｆｃポリクローナル抗体とともに１時間室温でインキュベートした。洗浄した後、プレートをＡＢＴＳ基質（Ｍｏｓｓ　Ｉｎｃ、製品番号：ＡＢＴＳ－１０００ｍｇ／ｍｌ）で発色させ、分光光度計でＯＤ　４１５－４９５にて分析した。抗ＩＬ－６抗体の最も高い力価を発現したマウス（合計２２匹の動物）を融合に使用した。

【０２１４】

ＩＬ－６に対するヒトモノクローナル抗体を産生するハイブリドーマの作製：

上で選択されたマウスを、３日目及びその後犠牲にする２日前に再びＩＬ－６を用いて静脈内で追加免疫し、そして脾臓及び／又はリンパ節を取り出した。合計で１７の融合を行った。

免疫されたＨｕＭａｂマウス又はＫＭマウスから単離したマウス脾細胞及び／又はリンパ節リンパ球を、ＳＰ２／０非分泌マウス骨髄腫細胞（ＡＴＣＣ、ＣＲＬ－１５８１、ＡＴＣＣ　Ａｍｅｒｉｃａｎ　Ｔｙｐｅ　Ｃｕｌｔｕｒｅ　Ｃｏｌｌｅｃｔｉｏｎ、１０８０　Ｕｎｉｖｅｒｓｉｔｙ　Ｂｏｕｌｅｖａｒｄ、Ｍａｎａｓｓａｓ、ＶＡ　２０１１０－２２０９　ＵＳＡ）に、標準的な又は製造業者が推奨するプロトコルに従って電気融合（Ｅ－ｆｕｓｉｏｎ、Ｃｙｔｏ　Ｐｕｌｓｅ™ ｔｅｃｈｎｏｌｏｇｙ、Ｃｙｔｏ　Ｐｕｌｓｅ™ Ｓｃｉｅｎｃｅｓ、Ｉｎｃ．、Ｇｌｅｎ　Ｂｕｒｎｉｅ、ＭＤ）を使用して融合させた。

手短に言うと、免疫したマウスからの脾細胞及び／又はリンパ節リンパ球の単一細胞懸濁液を調製し、次いで等しい数のＳｐ２／０非分泌マウス骨髄腫細胞と混合し；次いでＥ－融合を行った。

【０２１５】

次いで細胞を2×10^4細胞／ウェルで平底マイクロタイタープレートにおいてプレーティングし、そして１０～１４日間、１０％ウシ胎仔血清、１０％　Ｐ３８８Ｄ１（ＡＴＣＣ、ＣＲＬ－ＴＩＢ－６３）馴化培地、ＤＭＥＭ（Ｍｅｄｉａｔｅｃｈ、Ｈｅｒｎｄｏｎ、ＶＡ、Ｃａｔ．Ｎｏ．ＣＲＬ　１００１３、高グルコース、Ｌ－グルタミン及びピルビン酸ナトリウム含有）中３～５％（ＩＧＥＮ）、５ｍＭ　ＨＥＰＥＳ、０．０５５ｍＭ　２－メルカプトエタノール、５０ｍｇ／ｍｌ　ゲンタマイシン及び１ｘＨＡＴ（Ｓｉｇｍａ、カタログ番号ＣＲＬ　－Ｐ－７１８５）を含有する選択培地中でインキュベートした。

【０２１６】

１～２週後、細胞を、ＨＡＴをＨＴで置き換えた培地で培養した。細胞プレーティングの約１０～１４日後に、個々のウェルからの上清を、ヒトガンマ、カッパ抗体の存在についてスクリーニングした。次いでヒトガンマ、カッパについてポジティブと採点された上清を、ＥＬＩＳＡ（上述のプロトコルを使用する）によりヒト抗ＩＬ－６モノクローナルＩｇＧ抗体についてスクリーニングした。抗体を分泌するハイブリドーマを２４ウェルプ

レートに移し、再びスクリーニングし、ヒト抗ＩＬ－６　ＩｇＧモノクローナル抗体についてポジティブと確認された場合は、限界希釈により少なくとも２回サブクローニングした。次いで安定なサブクローンをインビトロで培養して少量の抗体を組織培養基でさらなる特徴づけのために作製した。

【０２１７】

実施例２

ＩＬ－６抗体の配列決定

全長抗ＩＬ－６抗体をクローニングし、そして配列をハイブリドーマから以下のように確認した：ポリA^+ｍＲＮＡを、ＲＮｅａｓｙ　Ｍｉｎｉ　Ｋｉｔ（Ｑｉａｇｅｎ）を使用して単離し、そしてｃＤＮＡをＡｄｖａｎｔａｇｅ　ＲＴ－ｆｏｒ－ＰＣＲキット（ＢＤ　Ｂｉｏｓｃｉｅｎｃｅｓ）でオリゴｄＴプライミングを用いてｍＲＮＡから合成した。クローン９Ｃ８についてオリゴ（ｄＴ）プライミングしたｃＤＮＡを、それぞれ表１に掲載した縮重プライマーを使用して増幅した。

【０２１８】

【表１】

表１：９Ｃ８についての縮重プライマー（５’から３’へ）

VH4_5UTR_F	CTTTCTGAGASTCMTGGAKCTCMTG 配列番号 49
G_3UTR_R	TACGTGCCAAGCATCCTCGC 配列番号 50
VK1a_5UTR_F	GSARTCAGWCYCWVYCAGGACACAGC 配列番号 51
K_3UTR_F	AGGCTGGAACTGAGGAGCAGGTG 配列番号 52

【０２１９】

高フィデリティーポリメラーゼ（Ｈｉｇｈ　Ｆｉｄｅｌｉｔｙ　Ｐｏｌｙｍｅｒａｓｅ）（Ｒｏｃｈｅ）及びＰＴＣ－２００　ＤＮＡ　Ｅｎｇｉｎｅ（ＭＪ　Ｒｅｓｅａｒｃｈ）を使用して、以下のようなサイクルを用いて増幅を達成した：２’@９５℃；２５ｘ（２０’’@９５℃、３０’’@５２℃、２’@７２℃）；１０’@７２℃。ＰＣＲアンプリコンをｐＣＲ２．１　ＴＯＰＯにクローニングし、そしてＴＯＰ１０ケミカルコンピテントセル（Ｉｎｖｉｔｒｏｇｅｎ）に標準的プロトコルを使用して形質転換した。クローンの配列をＧｒｉｌｌｓ　１６th　ＢＤＴｖ３．１／ｄＧＴＰ　ｃｈｅｍｉｓｔｒｙ（Ａｐｐｌｉｅｄ　Ｂｉｏｓｙｓｔｅｍｓ　Ｉｎｃ）及び３７３０ｘｌ　ＤＮＡ分析器（Ａｐｐｌｉｅｄ　Ｂｉｏｓｙｓｔｅｍｓ　Ｉｎｃ）を使用して確認した。全ての配列を「ＶＢＡＳＥ配列ディレクトリ」（Ｔｏｍｌｉｎｓｏｎ、ｅｔ　ａｌ、Ｊ．Ｍｏｌ．Ｂｉｏｌ．、２２７、７７６－７９８　（１９９２）；　Ｈｕｍ．Ｍｏｌ．Ｇｅｎｅｔ．、３、８５３－８６０（１９９４）；ＥＭＢＯ　Ｊ．、１４、４６２８－４６３８（１９９５）に対するアラインメントにより分析した。典型的な抗ＩＬ－６抗体の生殖系列遺伝子セグメントの使用を表２に掲載する。

【０２２０】

【表２】

表２：

クローン	重鎖			軽鎖		サブタイプ
	VH	D	JH	VK	JK	
9C8	4-34	-	3b	L15	JK1	IgG1
22B5	4-34	-	3b	L15	JK1	IgG1

【０２２１】

【化１】

ハイブリドーマ９Ｃ８由来の抗ＩＬ－６抗体全長配列
ハイブリドーマ細胞からの９Ｃ８重鎖のＤＮＡ配列（可変ドメインは大文字）

CAGGTGCAGCTACAGCAGTGGGGCGCAGGACTGTTGAAGCCTTCGGAGACCCTGTCCCTCACCTGCGCTATC
TATGGTGGGTCCTTCAGGGAGTACTACTGGAGCTGGATCCGCCAGCCCCCAGGGAAGGGGCTGGAGTGGATT
GGGGAAATCTTTCATAGTGGAAGCACCAACTACAACCCGTCCCTCAAGAGTCGAGTCAACATATCAGTAGAC
ACGTCCAAGAACCAGTTCTCCCTGAAGCTGACCTCTGTGACCGCCGCGGACACGGCTGTGTATTACTGTGCG
AGAGAGGAATTAGATGATTTTGATATCTGGGGCCAAGGGACAATGGTCACCGTCTCTTCAgcctccaccaag
ggcccatcggtcttcccctggcaccctcctccaagagcacctctgggggcacagcggccctgggctgcctg
gtcaaggactacttccccgaaccggtgacggtgtcgtggaactcaggcgccctgaccagcggcgtgcacacc
ttcccggctgtcctacagtcctcaggactctactccctcagcagcgtggtgaccgtgccctccagcagcttg
ggcacccagacctacatctgcaacgtgaatcacaagcccagcaacaccaaggtggacaagagagttgagccc
aaatcttgtgacaaaactcacacatgcccaccgtgcccagcacctgaactcctgggggggaccgtcagtcttc
ctcttccccccaaaacccaaggacaccctcatgatctcccggaccccctgaggtcacatgcgtggtggtggac
gtgagccacgaagaccctgaggtcaagttcaactggtacgtggacggcgtggaggtgcataatgccaagaca
aagccgcgggaggagcagtacaacagcacgtaccgtgtggtcagcgtcctcaccgtcctgcaccaggactgg
ctgaatggcaaggagtacaagtgcaaggtctccaacaaagccctcccagcccccatcgagaaaaccatctcc
aaagccaaagggcagccccgagaaccacaggtgtacaccctgcccccatcccgggatgagctgaccaagaac
caggtcagcctgacctgcctggtcaaaggcttctatcccagcgacatcgccgtggagtgggagagcaatggg
cagccggagaacaactacaagaccacgcctcccgtgctggactccgacggctccttcttcctctacagcaag
ctcaccgtggacaagagcaggtggcagcaggggaacgtcttctcatgctccgtgatgcatgaggctctgcac
aaccactacacgcagaagagcctctccctgtctccgggtaaa　配列番号１

ハイブリドーマ細胞からの９Ｃ８重鎖の（翻訳により）誘導されたタンパク質配列（可変ドメインは大文字）

QVQLQQWGAGLLKPSETLSLTCAIYGGSFREYYWSWIRQPPGKGLEWIGEIFHSGSTNYNPSLKSRVNISVD
TSKNQFSLKLTSVTAADTAVYYCAREELDDFDIWGQGTMVTVSSastkgpsvfplapsskstsggtaalgcl
vkdyfpepvtvswnsgaltsgvhtfpavlqssglyslssvvtvpssslgtqtyicnvnhkpsntkvdkrvep
kscdkthtcppcpapellggpsvflfppkpkdtlmisrtpevtcvvvdvshedpevkfnwyvdgvevhnakt
kpreeqynstyrvvsvltvlhqdwlngkeykckvsnkalpapiektiskakgqprepqvytlppsrdeltkn
qvsltclvkgfypsdiavewesngqpennykttppvldsdgsfflyskltvdksrwqqgnvfscsvmhealh
nhytqkslslspgk　配列番号３

【０２２２】

【化２】

ハイブリドーマ細胞からの９Ｃ８軽鎖のＤＮＡ配列（可変ドメインは大文字）
GACATCCAGATGACCCAGTCTCCATCCTCACTGTCTGCATCTGTAGGAGACAGAGTCACCATCACTTGTCGG
GCGAGTCAGGGTATTAGCAGCTGGTTAGCCTGGTATCAGCAGAAACCAGAGAAAGCCCCTAAGTCCCTGATC
TATGCTGCATCCAGTTTGCAAAGTGGGGTCCCATCAAGGTTCAGCGGCAGTGGATCTGGGACAGATTTCACT
CTCACCATCAGTAGCCTGCAGCCTGAAGATTTTGCAACTTATTACTGCCAACAGTATAAAAGTTACCCTCGG
ACGTTCGGCCAAGGGACCAAGGTGGAAATCAAAcgaactgtggctgcaccatctgtcttcatcttcccgcca
tctgatgagcagttgaaatctggaactgcctctgttgtgtgcctgctgaataacttctatcccagagaggcc
aaagtacagtggaaggtggataacgccctccaatcgggtaactcccaggagagtgtcacagagcaggacagc
aaggacagcacctacagcctcagcagcaccctgacgctgagcaaagcagactacgagaaacacaaagtctac
gcctgcgaagtcacccatcagggcctgagctcgcccgtcacaaagagcttcaacaggggagagtgt 配列
番号 12

ハイブリドーマ細胞からの９Ｃ８軽鎖の（翻訳により）誘導されたタンパク質
配列（可変ドメインは大文字）
DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQGISSWLAWYQQKPEKAPKSLIYAASSLQSGVPSRFSGSGSGTDFT
LTISSLQPEDFATYYCQQYKSYPRTFGQGTKVEIKrtvaapsvfifppsdeqlksgtasvvcllnnfyprea
kvqwkvdnalqsgnsqesvteqdskdstyslsstltlskadyekhkvyacevthqglsspvtksfnrgec
配列番号 14

【０２２３】
抗ＩＬ－６抗体可変ドメインを、以下のように発現ベクターにクローニングした：
可変ドメインを、表３に掲載したプライマーを使用してｐＣＲ２．１クローンｃＤＮＡから増幅した。増幅は、Ｐｆｘ　Ｐｌａｔｉｎｕｍポリメラーゼ（Ｉｎｖｉｔｒｏｇｅｎ）及びＰＴＣ－２００　ＤＮＡ　Ｅｎｇｉｎｅ（ＭＪ　Ｒｅｓｅａｒｃｈ）を使用して、以下のサイクルを用いて達成した：２’@９４℃；２０ｘ（３０’’@９４℃、４５’’@５５℃、１’@６８℃）；５’@６８℃。次いで可変ドメインを、適切なアイソタイプの定常ドメインを含む発現ベクターにクローニングした。これらのクローンの配列を、Ｇｒｉｌｌｓ　１６th　ＢＤＴｖ３．１／ｄＧＴＰ　ｃｈｅｍｉｓｔｒｙ（Ａｐｐｌｉｅｄ　Ｂｉｏｓｙｓｔｅｍｓ　Ｉｎｃ）及び３７３０ｘｌ　ＤＮＡ分析器（Ａｐｐｌｉｅｄ　Ｂｉｏｓｙｓｔｅｍｓ　Ｉｎｃ）を使用して確認した。
【０２２４】
【表３】

表３：９Ｃ８についての可変ドメインプライマー（５’から３’へ）

H4_34	ttacagtGCGCGCACTCCCAGGTGCAGCTACAGCAGTGG 配列番号 53
K_012	ttacagtGTGCACTCCGACATCCAGATGACCCAGTCTCC 配列番号 54
G1/2_ch1(ApaI)_R	GAAGACCGATGGGCCCTTGG 配列番号 55
JK1_R	tatattccttaattaagttattctactcacGTTTGATTTCCACCTTGGTCC 配列番号 56

【０２２５】

【化３】

組み換え抗ＩＬ－６抗体９Ｃ８の全長配列

組み換え９Ｃ８　ＩｇＧ２重鎖のＤＮＡ配列（可変ドメインは大文字）

CAGGTGCAGCTACAGCAGTGGGGCGCAGGACTGTTGAAGCCTTCGGAGACCCTGTCCCTCACCTGCGCTATC
TATGGTGGGTCCTTCAGGGAGTACTACTGGAGCTGGATCCGCCAGCCCCCAGGGAAGGGGCTGGAGTGGATT
GGGGAAATCTTTCATAGTGGAAGCACCAACTACAACCCGTCCCTCAAGAGTCGAGTCAACATATCAGTAGAC
ACGTCCAAGAACCAGTTCTCCCTGAAGCTGACCTCTGTGACCGCCGCGGACACGGCTGTGTATTACTGTGCG
AGAGAGGAATTAGATGATTTTGATATCTGGGGCCAAGGGACAATGGTCACCGTCTCTTCAgcctccaccaag
ggcccatcggtcttcccctggcgccctgctccaggagcacctccgagagcacagcggccctgggctgcctg
gtcaaggactacttccccgaaccggtgacggtgtcgtggaactcaggcgctctgaccagcggcgtgcacacc
ttcccggctgtcctacagtcctcaggactctactccctcagcagcgtagtgaccgtgccctccagcaacttc
ggcacccagacctacacctgcaacgtagatcacaagcccagcaacaccaaggtggacaagacagttgagcgc
aaatgttgtgtcgagtgcccaccgtgcccagcaccacctgtggcaggaccgtcagtcttcctcttcccccca
aaacccaaggacaccctcatgatctcccggaccccctgaggtcacgtgcgtggtggtggacgtgagccacgaa
gaccccgaggtccagttcaactggtacgtggacggcgtggaggtgcataatgccaagacaaagccacgggag
gagcagttcaacagcacgttccgtgtggtcagcgtcctcaccgtcgtgcaccaggactggctgaacggcaag
gagtacaagtgcaaggtctccaacaaaggcctcccagcccccatcgagaaaaccatctccaaaaccaaaggg
cagccccgagaaccacaggtgtacaccctgcccccatcccgggaggagatgaccaagaaccaggtcagcctg
acctgcctggtcaaaggcttctaccccagcgacatcgccgtggagtgggagagcaatgggcagccggagaac
aactacaagaccacacctcccatgctggactccgacggctccttcttcctctacagcaagctcaccgtggac
aagagcaggtggcagcaggggaacgtcttctcatgctccgtgatgcatgaggctctgcacaaccactacaca
cagaagagcctctccctgtctccgggtaaa 配列番号 23

組み換え９Ｃ８　ＩｇＧ２重鎖の（翻訳により）誘導されたタンパク質配列
（可変ドメインは大文字）

QVQLQQWGAGLLKPSETLSLTCAIYGGSFREYYWSWIRQPPGKGLEWIGEIFHSGSTNYNPSLKSRVNISVD
TSKNQFSLKLTSVTAADTAVYYCAREELDDFDIWGQGTMVTVSSastkgpsvfplapcsrstsestaalgcl
vkdyfpepvtvswnsgaltsgvhtfpavlqssglyslssvvtvpssnfgtqtytcnvdhkpsntkvdktver
kccvecppcpappvagpsvflfppkpkdtlmisrtpevtcvvvdvshedpevqfnwyvdgvevhnaktkpre
eqfnstfrvvsvltvvhqdwlngkeykckvsnkglpapiektisktkgqprepqvytlppsreemtknqvsl
tclvkgfypsdiavewesngqpennykttppmldsdgsfflyskltvdksrwqqgnvfscsvmhealhnhyt
qkslslspgk 配列番号 24

【０２２６】

【化４】

組み換え９Ｃ８カッパ軽鎖のＤＮＡ配列（可変ドメインは大文字)

GACATCCAGATGACCCAGTCTCCATCCTCACTGTCTGCATCTGTAGGAGACAGAGTCACCATCACTTGTCGG
GCGAGTCAGGGTATTAGCAGCTGGTTAGCCTGGTATCAGCAGAAACCAGAGAAAGCCCCTAAGTCCCTGATC
TATGCTGCATCCAGTTTGCAAAGTGGGGTCCCATCAAGGTTCAGCGGCAGTGGATCTGGGACAGATTTCACT
CTCACCATCAGTAGCCTGCAGCCTGAAGATTTTGCAACTTATTACTGCCAACAGTATAAAAGTTACCCTCGG
ACGTTCGGCCAAGGGACCAAGGTGGAAATCAAAcgaactgtggctgcaccatctgtcttcatcttcccgcca
tctgatgagcagttgaaatctggaactgcctctgttgtgtgcctgctgaataacttctatcccagagaggcc
aaagtacagtggaaggtggataacgccctccaatcgggtaactcccaggagagtgtcacagagcaggacagc
aaggacagcacctacagcctcagcagcaccctgacgctgagcaaagcagactacgagaaacacaaagtctac
gcctgcgaagtcacccatcagggcctgagctcgcccgtcacaaagagcttcaacaggggagagtgt 配列番
号 25

組み換え９Ｃ８カッパ軽鎖の（翻訳により）誘導されたタンパク質配列（可変
ドメインは大文字)

DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQGISSWLAWYQQKPEKAPKSLIYAASSLQSGVPSRFSGSGSGTDFT
LTISSLQPEDFATYYCQQYKSYPRTFGQGTKVEIKrtvaapsvfifppsdeqlksgtasvvcllnnfyprea
kvqwkvdnalqsgnsqesvteqdskdstyslsstltlskadyekhkvyacevthqglsspvtksfnrgec 配
列番号 26

【０２２７】

実施例３

抗ＩＬ－６抗体の突然変異誘発：

重鎖可変ドメインにおける抗ＩＬ－６抗体９Ｃ８のアミノ酸置換変異体を、ＩｇＧ１又はＩｇＧ２の両方の形式において単独又は組み合わせのいずれかで、位置２４（Ｉ２４Ｖ）、３０（Ｒ３０Ｓ）、３１（Ｅ３１Ｇ）、５２（Ｆ５２Ｎ）、６８（Ｎ６８Ｔ）、８３（Ｔ８３Ｓ）で作製した。軽鎖可変ドメインにおける抗ＩＬ－６抗体９Ｃ８のアミノ酸置換変異体を、ＩｇＧ１又はＩｇＧ２形式として両方９２（Ｋ９２Ｎ）で作製した。重鎖可変ドメイン及び軽鎖可変ドメイン変異体の両方を有する抗体を作製した。種々の変異の組み合わせのいくつかを表６ａ及び６ｂに示す。クローン９Ｃ８のV_H（Ｉ２４Ｖ）、V_H（Ｅ３１Ｇ）、V_H（Ｎ６８Ｔ）、及びV_H（Ｔ８３Ｓ）領域における突然変異誘発を、表４（センス鎖が示される；標的の残基は太字で示す）に掲載したプライマー及びＱｕｉｃｋＣｈａｎｇｅキット（Ｓｔｒａｔａｇｅｎｅ）を用いて製造業者の使用説明書に従って行った。突然変異した変異体の配列を確認し、そして標準的な手順で発現ベクターにクローニングした。

【０２２８】

【表４】

表４：９Ｃ８についての変異原性プライマー（５’から３’へ）

9C8_H_I24V	CCTCACCTGCGCTGTCTATGGTGGGTCC 配列番号 57
9C8_H_E31G	GGGTCCTTCAGGGGGTACTACTGGAGCTG 配列番号 58
9C8_H_N68T	CCTCAAGAGTCGAGTCACCATATCAGTAGACACG 配列番号 59
9C8_H_T83S	CTCCCTGAAGCTGAGCTCTGTGACCGCC 配列番号 60

【０２２９】

【化５】

組み換え９Ｃ８　ＩｇＧ２重鎖（Ｎ６８Ｔ、Ｔ８３Ｓ）重鎖のＤＮＡ配列

CAGGTGCAGCTACAGCAGTGGGGCGCAGGACTGTTGAAGCCTTCGGAGACCCTGTCCCTCACCTGCGCTATC
TATGGTGGGTCCTTCAGGGAGTACTACTGGAGCTGGATCCGCCAGCCCCCAGGGAAGGGGCTGGAGTGGATT
GGGGAAATCTTTCATAGTGGAAGCACCAACTACAACCCGTCCCTCAAGAGTCGAGTCACCATATCAGTAGAC
ACGTCCAAGAACCAGTTCTCCCTGAAGCTGAGCTCTGTGACCGCCGCGGACACGGCTGTGTATTACTGTGCG
AGAGAGGAATTAGATGATTTTGATATCTGGGGCCAAGGGACAATGGTCACCGTCTCCTCAgcctccaccaag
ggcccatcggtcttcccctggcgccctgctccaggagcacctccgagagcacagcggccctgggctgcctg
gtcaaggactacttccccgaaccggtgacggtgtcgtggaactcaggcgctctgaccagcggcgtgcacacc
ttcccggctgtcctacagtcctcaggactctactccctcagcagcgtagtgaccgtgccctccagcaacttc
ggcacccagacctacacctgcaacgtagatcacaagcccagcaacaccaaggtggacaagacagttgagcgc
aaatgttgtgtcgagtgcccaccgtgcccagcaccacctgtggcaggaccgtcagtcttcctcttcccccca
aaacccaaggacaccctcatgatctcccggacccctgaggtcacgtgcgtggtggtggacgtgagccacgaa
gaccccgaggtccagttcaactggtacgtggacggcgtggaggtgcataatgccaagacaaagccacgggag
gagcagttcaacagcacgttccgtgtggtcagcgtcctcaccgtcgtgcaccaggactggctgaacggcaag
gagtacaagtgcaaggtctccaacaaaggcctcccagcccccatcgagaaaaccatctccaaaaccaaaggg
cagccccgagaaccacaggtgtacaccctgcccccatcccgggaggagatgaccaagaaccaggtcagcctg
acctgcctggtcaaaggcttctaccccagcgacatcgccgtggagtgggagagcaatgggcagccggagaac
aactacaagaccacacctcccatgctggactccgacggctccttcttcctctacagcaagctcaccgtggac
aagagcaggtggcagcaggggaacgtcttctcatgctccgtgatgcatgaggctctgcacaaccactacacg
cagaagagcctctccctgtctccgggtaaa 配列番号 27

組み換え９Ｃ８　ＩｇＧ２重鎖（Ｎ６８Ｔ、Ｔ８３Ｓ）重鎖の（翻訳により）誘導されたタンパク質配列

QVQLQQWGAGLLKPSETLSLTCAIYGGSFREYYWSWIRQPPGKGLEWIGEIFHSGSTNYNPSLKSRVTISVD
TSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYCAREELDDFDIWGQGTMVTVSSastkgpsvfplapcsrstsestaalgcl
vkdyfpepvtvswnsgaltsgvhtfpavlqssglyslssvvtvpssnfgtqtytcnvdhkpsntkvdktver
kccvecppcpappvagpsvflfppkpkdtlmisrtpevtcvvvdvshedpevqfnwyvdgvevhnaktkpre
eqfnstfrvvsvltvvhqdwlngkeykckvsnkglpapiektisktkgqprepqvytlppsreemtknqvsl
tclvkgfypsdiavewesngqpennykttppmldsdgsfflyskltvdksrwqqgnvfscsvmhealhnhyt
qkslslspgk 配列番号 28

【０２３０】

【化６】

組み換え９Ｃ８　ＩｇＧ１重鎖（Ｎ６８Ｔ、Ｔ８３Ｓ）重鎖のＤＮＡ配列

CAGGTGCAGCTACAGCAGTGGGGCGCAGGACTGTTGAAGCCTTCGGAGACCCTGTCCCTCACCTGCGCTATC
TATGGTGGGTCCTTCAGGGAGTACTACTGGAGCTGGATCCGCCAGCCCCCAGGGAAGGGGCTGGAGTGGATT
GGGGAAATCTTTCATAGTGGAAGCACCAACTACAACCCGTCCCTCAAGAGTCGAGTCACCATATCAGTAGAC
ACGTCCAAGAACCAGTTCTCCCTGAAGCTGAGCTCTGTGACCGCCGCGGACACGGCTGTGTATTACTGTGCG
AGAGAGGAATTAGATGATTTTGATATCTGGGGCCAAGGGACAATGGTCACCGTCTCCTCAgcctccaccaag
ggcccatcggtcttcccctggcaccctcctccaagagcacctctgggggcacagcggccctgggctgcctg
gtcaaggactacttccccgaaccggtgacggtgtcgtggaactcaggcgccctgaccagcggcgtgcacacc
ttcccggctgtcctacagtcctcaggactctactccctcagcagcgtagtgaccgtgccctccagcagcttg
ggcacccagacctacatctgcaacgtgaatcacaagcccagcaacaccaaggtggacaagaaagttgagccc
aaatcttgtgacaaaactcacacatgcccaccgtgcccagcacctgaactcctgggggggaccgtcagtcttc
ctcttccccccaaaacccaaggacaccctcatgatctcccggaccccctgaggtcacatgcgtggtggtggac
gtgagccacgaagaccctgaggtcaagttcaactggtacgtggacggcgtggaggtgcataatgccaagaca
aagccgcgggaggagcagtacaacagcacgtaccgtgtggtcagcgtcctcaccgtcctgcaccaggactgg
ctgaatggcaaggagtacaagtgcaaggtctccaacaaagccctcccagcccccatcgagaaaaccatctcc
aaagccaaagggcagccccgagaaccacaggtgtacaccctgcccccatcccgggaggagatgaccaagaac
caggtcagcctgacctgcctggtcaaaggcttctatcccagcgacatcgccgtggagtgggagagcaatggg
cagccggagaacaactacaagaccacgcctcccgtgctggactccgacggctccttcttcctctatagcaag
ctcaccgtggacaagagcaggtggcagcaggggaacgtcttctcatgctccgtgatgcatgaggctctgcac
aaccactacacgcagaagagcctctccctgtctccgggtaaa 配列番号 31

組み換え９Ｃ８　ＩｇＧ１重鎖（Ｎ６８Ｔ、Ｔ８３Ｓ）重鎖のタンパク質配列

QVQLQQWGAGLLKPSETLSLTCAIYGGSFREYYWSWIRQPPGKGLEWIGEIFHSGSTNYNPSLKSRVTISVD
TSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYCAREELDDFDIWGQGTMVTVSSastkgpsvfplapsskstsggtaalgcl
vkdyfpepvtvswnsgaltsgvhtfpavlqssglyslssvvtvpssslgtqtyicnvnhkpsntkvdkkvep
kscdkthtcppcpapellggpsvflfppkpkdtlmisrtpevtcvvvdvshedpevkfnwyvdgvevhnakt
kpreeqynstyrvvsvltvlhqdwlngkeykckvsnkalpapiektiskakgqprepqvytlppsreemtkn
qvsltclvkgfypsdiavewesngqpennykttppvldsdgsfflyskltvdksrwqqgnvfscsvmhealh
nhytqkslslspgk 配列番号 32

【０２３１】

【化７】

組み換え９Ｃ８（Ｅ３１Ｇ、Ｎ６８Ｔ、Ｔ８３Ｓ）重鎖の可変ドメインＤＮＡ配列

CAGGTGCAGCTACAGCAGTGGGGCGCAGGACTGTTGAAGCCTTCGGAGACCCTGTCCCTCACCTGCGCTATC
TATGGTGGGTCCTTCAGGGGGTACTACTGGAGCTGGATCCGCCAGCCCCCAGGGAAGGGGCTGGAGTGGATT
GGGGAAATCTTTCATAGTGGAAGCACCAACTACAACCCGTCCCTCAAGAGTCGAGTCACCATATCAGTAGAC
ACGTCCAAGAACCAGTTCTCCCTGAAGCTGAGCTCTGTGACCGCCGCGGACACGGCTGTGTATTACTGTGCG
AGAGAGGAATTAGATGATTTTGATATCTGGGGCCAAGGGACAATGGTCACCGTCTCCTCA 配列番号 33

組み換え９Ｃ８（Ｅ３１Ｇ、Ｎ６８Ｔ、Ｔ８３Ｓ）重鎖の可変ドメイン翻訳タンパク質配列

QVQLQQWGAGLLKPSETLSLTCAIYGGSFRGYYWSWIRQPPGKGLEWIGEIFHSGSTNYNPSLKSRVTISVD
TSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYCAREELDDFDIWGQGTMVTVSS 配列番号 34

組み換え９Ｃ８（Ｉ２４Ｖ、Ｎ６８Ｔ、Ｔ８３Ｓ）重鎖の可変ドメインＤＮＡ配列

CAGGTGCAGCTACAGCAGTGGGGCGCAGGACTGTTGAAGCCTTCGGAGACCCTGTCCCTCACCTGCGCTGTC
TATGGTGGGTCCTTCAGGGAGTACTACTGGAGCTGGATCCGCCAGCCCCCAGGGAAGGGGCTGGAGTGGATT
GGGGAAATCTTTCATAGTGGAAGCACCAACTACAACCCGTCCCTCAAGAGTCGAGTCACCATATCAGTAGAC
ACGTCCAAGAACCAGTTCTCCCTGAAGCTGAGCTCTGTGACCGCCGCGGACACGGCTGTGTATTACTGTGCG
AGAGAGGAATTAGATGATTTTGATATCTGGGGCCAAGGGACAATGGTCACCGTCTCCTCA 配列番号 36

組み換え９Ｃ８（Ｉ２４Ｖ、Ｎ６８Ｔ、Ｔ８３Ｓ）重鎖の可変ドメイン翻訳タンパク質配列

QVQLQQWGAGLLKPSETLSLTCAVYGGSFREYYWSWIRQPPGKGLEWIGEIFHSGSTNYNPSLKSRVTISVD
TSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYCAREELDDFDIWGQGTMVTVSS 配列番号 37

【０２３２】

ＣＭＶプロモーター含有発現ベクターを、納入業者のプロトコルに従って２９３　Ｆｒｅｅｓｔｙｌｅ（Ｉｎｖｉｔｒｏｇｅｎ）細胞にトランスフェクトした。これらの細胞からの上清を遠心分離により集めて、標準的なプロテインＡアフィニティクロマトグラフィーにより精製して組み換え免疫グロブリンを単離した。次いで、これらのタンパク質をＳＤＳ－ＰＡＧＥ、光散乱、及び分光光度法で特徴づけした。

【０２３３】

表５に示される抗ＩＬ－６抗体の重鎖及び軽鎖を、ブダペスト条約に従う条項に基づいてアメリカン・タイプ・カルチャー・コレクション（Ａｍｅｒｉｃａｎ　Ｔｙｐｅ　Ｃｕｌｔｕｒｅ　Ｃｏｌｌｅｃｔｉｏｎ）（ＡＴＣＣ）、１０８０１　Ｕｎｉｖｅｒｓｉｔｙ　Ｂｌｖｄ．、Ｍａｎａｓｓａｓ、ＶＡ　２０１１０－２２０９に寄託した。重鎖及び軽鎖は以下の受託番号が割り当てられている：

【０２３４】

【表５】

表５

抗体	クローン名称	ATCC名称	特許受託番号	寄託の日付
9C8 重鎖 IgG1	E. coli；pCR2.1 TOPO 9C8H(WT)	UC25510	PTA－8013	2006年11月21日
9C8 軽鎖 IgG1	E. coli；pCR2.1 TOPO 9C8L(WT)	UC25511	PTA－8014	2006年11月21日
9C8 N68T、T83S IgG2 重鎖	E. coli；pCR2.1 TOPO 9C8H(NT)hG2	UC25512	PTA－8015	2006年11月21日
9C8 N68T、T83S IgG2 軽鎖	E. coli；pCR2.1 TOPO 9C8L(wt)hk	UC25513	PTA－8016	2006年11月21日
9C8 E31G、N68T、T83S 可変領域	E. coli；pCR2.1 TOPO 9C8H(ENT)	UC25514	PTA－8017	2006年11月21日
9C8 I24V、N68T、T83S 可変領域	E. coli；pCR2.1 TOPO 9C8H(INT)	UC25515	PTA－8018	2006年11月21日
9C8 N68T、T83S IgG1 重鎖	E. coli；pCR2.1 TOPO 9C8H(NT)hG1	UC25526	PTA－8019	2006年11月21日

【０２３５】

実施例４

ＴＦ－１増殖

アメリカン・タイプ・カルチャー・コレクション（ＡＴＣＣ）（Ｍａｎａｓｓａｓ、Ｖａ．）からヒト細胞、ＴＦ－１細胞を入手し、そして１０％　熱不活化ウシ胎仔血清（ＦＢＳ）（Ｉｎｖｉｔｒｏｇｅｎ、Ｃａｒｌｓｂａｄ、Ｃａ．）を含有するＲＰＭＩ－１６４０培地中で２ｎｇ／ｍｌ組み換えヒトＧＭ－ＣＳＦと共に維持した。ＴＦ－１細胞を翌日の使用のために１～２ｘ１０^{5}に分けた。プレーティングの前に、細胞を３回ＲＰＭＩ－１６４０で洗浄し、計数し、そして体積をアッセイ培地で調整して２ｘ１０^{5}細胞／ｍｌとした。各ウェルに、洗浄した細胞５０μｌを加え、そして終夜３７℃にて５％CO_2でインキュベートした。全ての条件を９６ウェル組織培養処理プレート（Ｃｏｒｎｉｎｇ、Ｃｏｒｎｉｎｇ、ＮＹ）において三連（ｔｒｉｐｌｉｃａｔｅ）で行った。各ウェルに、体積２５μｌの２５ｎｇ／ｍｌ又は２．５ｎｇ／ｍｌのいずれかのＩＬ－６及びリン酸ナトリウム緩衝液（１０ｍＭリン酸ナトリウム及び１５０ｍＭ塩化ナトリウム、ｐＨ７．４）中体積２５μｌで種々の濃度での試験抗体又はコントロール抗体を最終体積１００μｌにして加えた。抗体を単独で、及びヒトＩＬ－６とともに試験した。プレートを４８時間（ｈｒｓ）３７℃にて５％CO_2でインキュベートした。４８時間後、１０μｌ／ウェルの０．５μＣｉ^{3}Ｈ－チミジン（Ａｍｅｒｓｈａｍ　Ｂｉｏｓｃｉｅｎｃｅｓ、Ｐｉｓｃａｔａｗａｙ、Ｎ．Ｊ．）を加え、そして細胞に3時間パルス標識した。組み込まれたチミジンの量を検出するために、細胞を予め湿らせたユニフィルターＧＦ／Ｃフィルタープレート（Ｐａｃｋａｒｄ、Ｍｅｒｉｄｅｎ、Ｃｔ．）上に採取し１０回水で洗浄した。これらのプレートを終夜乾燥するにまかせた。底のシールをフィルタープレートに取り付けた。次に、１ウェルあたり４５μｌ　Ｍｉｃｒｏｓｃｉｎｔ　２０（Ｐａｃｋａｒｄ、Ｍｅｒｉｄｅｎ、Ｃｔ．）を加えた。上部のシールを取り付けた後、プレートをＴｒｉｌｕｘ　ｍｉｃｒｏｂｅｔａカウンター（Ｗａｌｌａｃ、Ｎｏｒｔｏｎ、Ｏｈ．）により計

数し、データをＣＰＭ（１分あたりのカウント）として報告した。表６ａ及び表６ｂは、９Ｃ８抗体及びアミノ酸置換を有する種々の抗体のＴＦ－１増殖アッセイにおけるＩＣ５０を示す。表６ａ及び表６ｂにおいて示される結果は２つの別々の時に行われたアッセイからのものである。

【０２３６】

【表６】

表６ａ

Hc	Lc	平均 IC50 (μg/ml)	倍差
9C8	9C8	0.0022	1.0
9C8 I24V	9C8	0.0071	3.3
9C8 R30S	9C8	0.0260	12.1
9C8 N68T	9C8	0.0028	1.3
9C8 T83S	9C8	0.0026	1.2
9C8 I24V, N68T, T83S	9C8	0.0145	6.7
9C8 I24V, R30S, N68T, T83S	9C8	0.2040	94.9
9C8 E31G	9C8	0.0051	2.4
9C8 F52N	9C8	1.3850	644.2
9C8	9C8 K92N	0.0120	5.6

表６ｂ

Hc	Lc	平均 IC50 (μg/ml)	倍差
9C8	9C8	0.0031	1.4
9C8 N68T, T83S	9C8	0.0030	1.4
9C8 E31G, N68T, T83S	9C8	0.0083	3.9
9C8 I24V, E31G, N68T, T83S	9C8	0.0528	24.5
9C8 N68T, T83S	9C8 9C8 K92N	0.0186	8.6
9C8 E31G, N68T T83S	9C8 K92N	0.1015	47.2
9C8 I24V, E31G N68T, T83S	9C8 K92N	0.9670	449.9

Hc ＝ 重鎖, Lc ＝ 軽鎖

【０２３７】

実施例５

ＬＰＳ－サル研究からのＣ－反応性タンパク質

この研究のインビボの部分は、Ｃｈａｒｌｅｓ Ｒｉｖｅｒ Ｌａｂｏｒａｔｏｒｉｅｓ Ｐｒｅｃｌｉｎｉｃａｌ Ｓｅｒｖｉｃｅｓにより彼らのＷｏｒｃｅｓｔｅｒ、ＭＡの試験施設にて行われた。手短に言うと、この研究は、１５頭の雄性カニクイザル（５つの群；３頭のサル／群）で構成された。日１に群１の動物にビヒクルを与え；群２及び３の動物に抗体９Ｃ８ Ｎ６８Ｔ Ｔ８３Ｓ IgG_1をそれぞれ０．５及び５ｍｇ／ｋｇの用量で投与し；そして群４及び５に９Ｃ８ Ｎ６８Ｔ Ｔ８３Ｓ IgG_2をそれぞれ０．５及び５ｍｇ／ｋｇの用量で投与した。全ての処置は、静脈内ボーラス注射により各１ｍＬ／ｋｇの用量体積で行われた。処置の約２時間後、全ての動物を、１０μｇ／ｋｇ細菌リポ多糖（ＬＰＳ）、体積１ｍＬ／ｋｇでゆっくりとした静脈内ボーラス注射によりチャレンジした。日１にベースライン（処置の前）；処置直後；処置の２時間後（ＬＰＳ投与の直前）；並びにＬＰＳチャレンジの３０分後及び１、２、３、４、６、８、及び２２時間後に、末梢血管から採血した。血液サンプルは日３、４、５、６及び７にも採取した。全血サンプルを処理して血清とし、そして血清サンプルを凍結保存した。Ｃ反応性タ

ンパク質（ＣＲＰ）を、Ｍｅｓｏ　Ｓｃａｌｅ　Ｄｉｓｃｏｖｅｒｙ（ＭＳＤ（登録商標））、Ｇａｉｔｈｅｒｓｂｕｒｇ、ＭＤからのヒト血管損傷パネルＩＩ　Ｍｕｌｔｉ－Ｓｐｏｔ（登録商標）アッセイキットを使用して測定した。アッセイは、ＭＳＤから公開されているキット使用説明書に概説されているように行った。図２は、９Ｃ８　Ｎ６８Ｔ　Ｔ８３Ｓ　ＩｇＧ$_2$抗体についての総血清ＣＲＰを示す。

【０２３８】

実施例６

フローサイトメトリーによるｐＳＴＡＴ３アッセイ

インビトロアッセイを、組み換えヒトＩＬ－６（ｒｈＩＬ－６）で刺激したヒト全血及びヒト末梢血単核細胞（ＰＢＭＣ）で行って、抗ＩＬ－６抗体の存在下のリン酸化ＳＴＡＴ３（ｐＳＴＡＴ３）レベルを測定した。

【０２３９】

全血アッセイ

採取したばかりのヘパリン化ヒト全血を、抗ＩＬ－６抗体又はビヒクルコントロール（１５ｍＬポリプロピレンチューブ中最終体積３００μＬ）とともに１５分間３７℃でインキュベートした。サンプルを組み換えヒト（ｒｈ）ＩＬ－６で最終濃度２５ｎｇ／ｍＬについて刺激し、そして１０分間３７℃でインキュベートした。次いで赤血球（ＲＢＣ）をＲＢＣ溶解緩衝液（Ｓｉｇｍａ）４ｍＬで溶解し、そしてサンプルを穏やかに１０分間３７℃で混合した。サンプルを４００×ｇで５分間回転して細胞をペレットにした。上清を除去した。洗浄緩衝液（ＰＢＳ中の４％ＢＳＡ、Ｇｉｂｃｏ）２ミリリットルを各チューブに加え、次いでサンプルを４００×ｇで５分間回転させて細胞をペレットにした。上清を除去し、そして細胞ペレットを予熱した（３７℃）透過処理（ｐｅｒｍｅａｂｉｌｉｚａｔｉｏｎ）緩衝液（ＰＢＳ中２％ホルムアルデヒド、Ｐｏｌｙｓｃｉｅｎｃｅｓ、Ｉｎｃ．）２００μＬに再懸濁して３７℃で１０分間インキュベートした。氷冷ＭｅＯＨ３ミリリットルを各サンプルに加えて細胞を固定した。サンプルを混合して氷上に少なくとも３０分間置いた。サンプルを回転させて（４００×ｇ、５分間）、上清を除去した。ペレットを洗浄緩衝液で１回洗浄した。次いで細胞ペレットを、洗浄緩衝液で希釈した（最終体積１００μＬ）Ａｌｅｘａ　Ｆｌｕｏｒ　４８８（ＢＤ　Ｐｈａｒｍｉｎｇｅｎ）に結合した抗リン酸化ＳＴＡＴ３（Ｙ７０５）抗体で染色した。サンプルを氷上で３０分間インキュベートし、次いで２回洗浄緩衝液で洗浄した。最終細胞ペレットを４００μＬ　ＩＦ緩衝液（ハンクス平衡塩類溶液、２％ウシ胎児血清、１０ｍＭ　Ｈｅｐｅｓ、０．２％アジ化ナトリウム、Ｇｉｂｃｏ）に再懸濁した。ＣｅｌｌＱｕｅｓｔソフトウエア（ＢＤ　Ｂｉｏｓｃｉｅｎｃｅｓ）を使用するＦＡＣＳＣａｌｉｂｕｒ機器を使用して、データを収集及び解析した。表７は、ヒト全血で測定して、抗ＩＬ－６抗体の存在下でのｐＳＴＡＴ３レベルを示す。

【０２４０】

【表７】

表７

抗 IL-6 抗体	IL-6 濃度 ng/ml	WB IC50 μg/ml	アッセイ番号
9C8	25	0.487	1
	25	0.432	2
	25	0.482	3
I24V, N68T, T83S	25	0.420	1
	25	0.527	2
	25	0.749	3
E31G, N68T, T83S	25	0.626	1
	25	0.714	2
	25	0.968	3
I24V, E31G, N68T, T83S	25	0.364	1
	25	0.603	2
	25	0.821	3

【０２４１】

ＰＢＭＣアッセイ

末梢血単核細胞（ＰＢＭＣ）を、採取したばかりのヘパリン化ヒト全血から、Ａｃｃｕｓｐｉｎ　Ｓｙｓｔｅｍ－Ｈｉｓｔｏｐａｑｕｅ　１０７７カラムを使用して製造業者のプロトコル（Ｓｉｇｍａ－Ａｌｄｒｉｃｈ　Ａ７０５４）にしたがって単離し、そして（マクロファージＳＦＭ培地、Ｇｉｂｃｏ中０．１％ペニシリン　ストレプトマイシン）に入れた。約２×１０^{6}のＰＢＭＣを抗ＩＬ－６抗体又はビヒクルコントロール（最終体積３００μＬ）と１５分間３７℃でインキュベートした。ＰＢＭＣをｒｈＩＬ－６で最終濃度２５ｎｇ／ｍＬで刺激し、そして１０分間３７℃でインキュベートした。サンプルを４００×ｇで５分間回転させて細胞をペレットにした。上清を除去した。洗浄緩衝液（ＰＢＳ中４％　ＢＳＡ）２ｍＬを各サンプルに加えた。サンプルを４００×ｇで５分間回転させて細胞をペレットにした。上清を除去し、そして細胞ペレットを、予熱した（３７℃）透過処理緩衝液（ＰＢＳ中２％ホルムアルデヒド、Ｐｏｌｙｓｃｉｅｎｃｅｓ、Ｉｎｃ．）２００ｕＬに再懸濁させて３７℃で１０分間インキュベートした。氷冷ＭｅＯＨ３ミリリットルを各サンプルに加えて細胞を固定した。サンプルを混合して氷上に少なくとも３０分間維持した。サンプルを４００ｘｇで５分間回転させて上清を除去した。細胞ペレットを洗浄緩衝液で１回洗浄し、次いで全血アッセイにおいて記載したように染色して分析した。表８は、ヒト末梢血単核細胞において測定して、抗ＩＬ－６抗体の存在下におけるｐＳＴＡＴ３レベルを示す。

【０２４２】

【表８】

表８

抗 IL-6 抗体	IL-6 濃度 ng/ml	PBMC IC50 μg/ml
9C8	25	0.210
R&D MAB2061	25	0.580

【０２４３】

実施例７

結合親和性

ＢＩＡｃｏｒｅチップの準備

抗ＩＬ－６抗体　９Ｃ８　Ｎ６８Ｔ　Ｔ８３Ｓ　ＩｇＧ２を、Ｌｏｅｆａｓ及びＪｏｈｎｓｓｏｎ（Ｊ．Ｃｈｅｍ．Ｓｏｃ．Ｃｈｅｍ．Ｃｏｍｍｕｎ．（１９９０）；２１：ｐｐ１５２６－１５２８）により記載しているように、チップのデキストランマトリックスに結合したカルボキシメチルセルロース（ＣＭ）へのアミンカップリングによりＢＩＡｃｏｒｅ　ＣＭ５チップ（ＧＥ　Ｂｉｏｓｃｉｅｎｃｅｓ－以前はＢＩＡｃｏｒｅ　Ｉｎｃ、Ｐｉｓｃａｔａｗａｙ、ＮＪ）上に固定化した。このチップをカップリングの前に１Ｍ　ＮａＣｌ及び５０ｍＭ　ＮａＯＨで前処理した。アミンカップリングを、ＥＤＣ（１－エチル－３－（３－ジメチルアミノプロピル）カルボジイミド）とＮＨＳ（Ｎ－ヒドロキシコハク酸イミド）とを混合し、そしてチップを通過させてＣＭ基を活性化することにより達成した。１０ｍＭ酢酸緩衝液ｐＨ５中のリガンドを、チップ表面を通過させて、活性化したＣＭ基に共有結合させた。チップ表面上の残った活性ＣＭ基を、チップに１ＭエタノールアミンｐＨ８．５を通過させることによりクエンチした。ＥＤＣ、ＮＨＳ、及びエタノールアミンをＧＥ　Ｂｉｏｓｃｉｅｎｃｅｓから得られるＡｍｉｎｅ　Ｃｏｕｐｌｉｎｇキットの一部として入手した。カップリングを、ＢｉａＣｏｎｔｒｏｌソフトウエアＶ３．２に同梱されている自動化表面準備ウィザード（Ｓｕｒｆａｃｅ　Ｐｒｅｐａｒａｔｉｏｎ　Ｗｉｚａｒｄ）を使用して行った。

【０２４４】

結合親和性の決定

全てのＳＰＲ測定は、ＢＩＡｃｏｒｅ　３０００装置（ＧＥ　Ｂｉｏｓｃｉｅｎｃｅｓ、Ｐｉｓｃａｔａｗａｙ、ＮＪ）で行った。ＢＩＡｃｏｒｅソフトウエア－ＢＩＡｃｏｒｅ　３０００制御ソフトウェアＶ３．２を、ＢＩＡｃｏｒｅ　３０００装置の操作及び制御に使用した。ＢｉａＥｖａｌｕａｔｉｏｎソフトウェアＶ４．１を、ＢＩＡｃｏｒｅ　３０００装置からのＳＰＲデータの解析に使用し、そしてデータをＧｒａｐｈ　Ｐａｄ　Ｐｒｉｓｍソフトウェアバージョン５を使用してプロットした。モノクローナル抗体（ｍＡｂ）に対するＩＬ－６の結合親和性を、ＨＢＳ－ＥＰ緩衝液（１０ｍＭ　ＨＥＰＥＳ、１５０ｍＭ　ＮａＣｌ、３．４ｍＭ　ＥＤＴＡ、０．００５％　Ｐ２０）中２５℃で測定した。親和性研究のための流量は、物質輸送の作用（ｍａｓｓ　ｔｒａｎｓｐｏｒｔ　ｅｆｆｅｃｔｓ）を最小にするために４０ｕＬ／分であった（Ｍｙｓｚｋａ、Ｄ．Ｇ．、ｅｔ　ａｌ．、Ｂｉｏｐｈｙｓｉｃａｌ　ｃｈｅｍｉｓｔｒｙ．６４、１２７－１３７、１９９７）。ヒトＩｇＧκをチップの参照チャネルの構築のためのリガンドとして使用した。固定化されたリガンド（９Ｃ８　Ｎ６８Ｔ　Ｔ８３Ｓ　ＩｇＧ$_2$）に対する被検体（ｒｈＩＬ－６；Ｒ＆Ｄ　Ｓｙｓｔｅｍｓ、Ｍｉｎｎｅａｐｏｌｉｓ、ＭＮ、２０６－ＩＬ）結合を、二連（ｄｕｐｌｉｃａｔｅ）で測定し、そしてＩＬ－６の濃度範囲は０～２５ｎＭであった。ＩＬ－６についての注入時間は６分であり、解離時間は２５分であった。表面を１０ｍＭグリシンｐＨ１．７、３０秒間、流量３０ｕＬ／分によりサイクルの間に再生させた。再生条件は、再生研究（データは示されていない）後に最適であることが確立されている。データを、１：１ラングミュアモデル（Ｋａｒｌｓｏｎ　Ｒ＆Ｆａｅｌｔ　Ａ．、Ｊ．Ｉｍｍｕｎｏｌ．Ｍｅｔｈｏｄｓ．２００：ｐｐ１２１－１３３、１９９７）を使用するＢｉａＥｖａｌｕａｔｉｏｎソフトウェアＶ４．１に両方とも含まれている、反応速度論ウィザード（Ｋｉｎｅｔｉｃｓ　Ｗｉｚａｒｄ）及び手動フィッティングプログラムを使用することにより解析した。抗ＩＬ－６抗体９Ｃ８　Ｎ６８Ｔ　Ｔ８３Ｓ　ＩｇＧ$_2$は、k_a＝９．９５Ｅ＋０５（Ｍｓ）$^{-1}$、k_d＝１．３４Ｅ－０４ｓ$^{-1}$、及びK_D＝１．３５Ｅ－１０Ｍ又は１３５ｐＭを有することが示された。

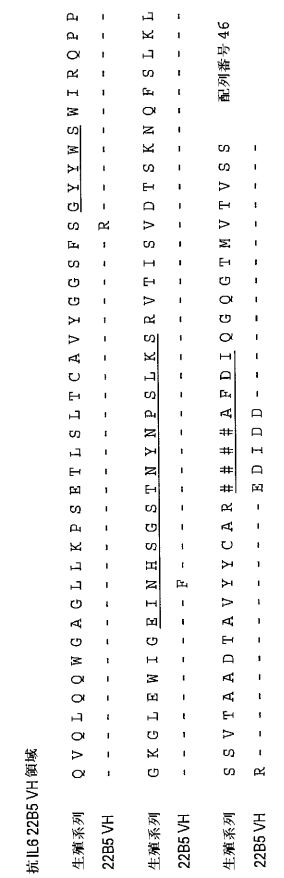
【０２４５】

配列表の要旨（配列は、核酸について「ｎ．ａ．」と示されるものを除いてアミノ酸配列である）

【表９】

配列番号	配列		配列番号	配列
1	重鎖 9C8 IgG1 n.a.		23	重鎖 9C8 IgG2 n.a.
2	VH 9C8 n.a.		24	重鎖 9C8 IgG2
3	重鎖 9C8 IgG1		25	軽鎖 9C8 IgG2 n.a.
4	VH 9C8		26	軽鎖 9C8 IgG2
5	VH CDR1 9C8		27	重鎖 9C8 N68T T83S IgG2 n.a.
6	VH CDR2 9C8		28	重鎖 9C8 N68T T83S IgG2
7	VH CDR3 9C8		29	VH 9C8 N68T T83S
8	VH FR1 9C8		30	VH FR3 9C8 N68T T83S
9	VH FR2 9C8		31	重鎖 9C8 N68T T83S IgG1 n.a.
10	VH FR3 9C8		32	重鎖 9C8 N68T T83S IgG1
11	VH FR4 9C8		33	VH 9C8 E31G N68T T83S n.a.
12	軽鎖 9C8 IgG1 n.a.		34	VH 9C8 E31G N68T T83S
13	VL 9C8 n.a.		35	VH CDR1 9C8 E31G N68T T83S
14	軽鎖 9C8 IgG1		36	VH 9C8 I24V N68T T83S n.a.
15	VL 9C8		37	VH 9C8 I24V N68T T83S
16	VL CDR1 9C8		38	VH FR1 9C8 I24V N68T T83S
17	VL CDR2 9C8		39	VH 22B5 n.a.
18	VL CDR3 9C8		40	VH 22B5
19	VL FR1 9C8		41	VH CDR3 22B5
20	VL FR2 9C8		42	VL 22B5 n.a.
21	VL FR3 9C8		43	VL 22B5
22	VL FR4 9C8		44	コンセンサス 1 CDR3
			45	コンセンサス 2 CDR3

【図１ａ】


抗 IL-6 9C8 VH
生殖系列 Q V Q L Q Q W G A G L L K P S E T L S L T C A V Y G G S F S G Y Y W S W I R Q P P
9C8 - - -

【図１ｅ】

抗 IL-6 9C8 N68T, T83S V_H

生殖系列　Q V Q L Q Q W G A G L L K P S E T L S L T C A V Y G G S F S G Y Y W S W I R Q P

9C8N68TT83S - - -

【配列表】
2015166366000001.app
【手続補正書】
【提出日】平成27年5月29日(2015.5.29)
【手続補正１】
【補正対象書類名】特許請求の範囲
【補正対象項目名】全文
【補正方法】変更
【補正の内容】
【特許請求の範囲】
【請求項１】
ａ）　配列番号５で示されるV_HＣＤＲ１、配列番号６で示されるV_HＣＤＲ２、及び配列番号７で示されるV_HＣＤＲ３；
ｂ）　配列番号３５で示されるV_HＣＤＲ１、配列番号６で示されるV_HＣＤＲ２、及び配列番号７で示されるV_HＣＤＲ３；
ｃ）　配列番号５で示されるV_HＣＤＲ１、配列番号６で示されるV_HＣＤＲ２、及び配列番号４１で示されるV_HＣＤＲ３；
ｄ）　配列番号５で示されるV_HＣＤＲ１、配列番号６で示されるV_HＣＤＲ２、及び配列番号４４で示されるV_HＣＤＲ３；並びに
ｅ）　配列番号５で示されるV_HＣＤＲ１、配列番号６で示されるV_HＣＤＲ２、及び配列番号４５で示されるV_HＣＤＲ３；
からなる群より選択されるＣＤＲ１、ＣＤＲ２、及びＣＤＲ３領域を含む重鎖可変（V_H）ドメインアミノ酸配列を含み；
ヒトＩＬ－６に特異的に結合する、
単離されたヒトモノクローナル抗体又はその抗原結合部分。

フロントページの続き

(51)Int.Cl.			FI			テーマコード（参考）
C12N	*1/21*	*(2006.01)*	C12N	1/21		
A61K	*39/395*	*(2006.01)*	A61K	39/395	N	
A61P	*1/04*	*(2006.01)*	A61P	1/04		
A61P	*1/16*	*(2006.01)*	A61P	1/16		
A61P	*3/10*	*(2006.01)*	A61P	3/10		
A61P	*9/10*	*(2006.01)*	A61P	9/10	１０１	
A61P	*11/00*	*(2006.01)*	A61P	11/00		
A61P	*13/12*	*(2006.01)*	A61P	13/12		
A61P	*17/06*	*(2006.01)*	A61P	17/06		
A61P	*19/02*	*(2006.01)*	A61P	19/02		
A61P	*19/10*	*(2006.01)*	A61P	19/10		
A61P	*25/00*	*(2006.01)*	A61P	25/00		
A61P	*25/04*	*(2006.01)*	A61P	25/04		
A61P	*29/00*	*(2006.01)*	A61P	29/00		
A61P	*31/04*	*(2006.01)*	A61P	29/00	１０１	
A61P	*35/00*	*(2006.01)*	A61P	31/04		
A61P	*37/02*	*(2006.01)*	A61P	35/00		
A61P	*37/06*	*(2006.01)*	A61P	37/02		
A61P	*37/08*	*(2006.01)*	A61P	37/06		
			A61P	37/08		

(72)発明者　アルビンド・ラジュパル
アメリカ合衆国カリフォルニア州９４１２７．サンフランシスコ．フェルスターストリート５１９
(72)発明者　マダブ・デヴァーラジャ
アメリカ合衆国メリーランド州２０８７８．ゲイサーズバーグ．サドルビュープレイス１１４３６
(72)発明者　クリストファー・トイ
アメリカ合衆国カリフォルニア州９５０３５．ミルピタス．コットンウッドドライヴ５２１
(72)発明者　ラン・ヤン
アメリカ合衆国カリフォルニア州９５０３５．ミルピタス．コットンウッドドライヴ５２１
(72)発明者　ハイチュン・フアーン
アメリカ合衆国カリフォルニア州９５０３５．ミルピタス．コットンウッドドライヴ５２１
(72)発明者　ジュン・ゼット・チャン
アメリカ合衆国カリフォルニア州９５０３５．ミルピタス．コットンウッドライヴ５２１
(72)発明者　ペーター・ブラームス
アメリカ合衆国カリフォルニア州９５０３５．ミルピタス．コットンウッドドライヴ５２１
(72)発明者　ブリジット・デヴォークス
アメリカ合衆国カリフォルニア州９５０３５．ミルピタス．コットンウッドドライヴ５２１
(72)発明者　デイヴィッド・ビー・パスモア
アメリカ合衆国カリフォルニア州９５０３５．ミルピタス．コットンウッドライヴ５２１

Ｆターム(参考)　4B024 AA01 CA04 CA20 EA04 GA11
4B065 AA93X AB01 BA01 CA25 CA44
4C085 AA14 BB17 CC02 CC23 DD63 EE01 GG02 GG03 GG04 GG06
4H045 AA11 AA30 BA10 BA13 BA15 BA16 BA17 BA18 DA02 DA76
EA20

【外国語明細書】
2015166366000001.pdf