

(19) 日本国特許庁(JP)

(12) 公表特許公報(A)

(11) 特許出願公表番号

特表2005-529587**(P2005-529587A)**

(43) 公表日 平成17年10月6日(2005.10.6)

(51) Int.Cl. ⁷	F I	テーマコード (参考)
C 1 2 N 15/09	C 1 2 N 15/00	4 B O 2 4
A 6 1 K 39/395	A 6 1 K 39/395	4 B O 6 3
A 6 1 P 1/04	A 6 1 K 39/395 Z N A D	4 C O 8 5
A 6 1 P 1/12	A 6 1 P 1/04	
A 6 1 P 1/16	A 6 1 P 1/12	
審査請求 未請求 予備審査請求 有 (全 51 頁) 最終頁に続く		

(21) 出願番号	特願2003-576000 (P2003-576000)	(71) 出願人	596129215
(86) (22) 出願日	平成15年3月13日 (2003.3.13)		シェーリング コーポレイション
(85) 翻訳文提出日	平成16年9月3日 (2004.9.3)		Schering Corporation
(86) 国際出願番号	PCT/US2003/007647		アメリカ合衆国 ニュージャージー 07
(87) 国際公開番号	W02003/077947		033-0530, ケニルワース, ギャロ
(87) 国際公開日	平成15年9月25日 (2003.9.25)		ッピング ヒル ロード 2000
(31) 優先権主張番号	60/364, 513	(74) 代理人	100078282
(32) 優先日	平成14年3月15日 (2002.3.15)		弁理士 山本 秀策
(33) 優先権主張国	米国 (US)	(74) 代理人	100062409
			弁理士 安村 高明
		(74) 代理人	100113413
			弁理士 森下 夏樹

最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 CD200レセプターを調節する方法

(57) 【要約】

本発明は、細胞に対して阻害シグナルを中継するレセプターの1つであるCD200のアゴニストおよびアンタゴニストと、免疫細胞とを接触させることにより、細胞の活性を調節する方法が提供する。さらに、例えば、慢性関節リウマチ、内毒血症、乾癬、アレルギーまたは感染または癌状態である免疫状態あるいは炎症状態に苦しむ被験体を、CD200のアゴニストおよびアンタゴニストで処置し、そしてこれらの免疫疾患を診断する方法もまた提供する。

【特許請求の範囲】

【請求項 1】

細胞の活性を調節する方法であって、該細胞と、C D 2 0 0 R a (配列番号 2 もしくは配列番号 6) またはその抗原性フラグメントに特異的に結合する抗体の抗原結合部位に由来する結合組成物とを接触させる工程を包含する、方法。

【請求項 2】

請求項 1 に記載の方法であって、前記細胞が肥満細胞である、方法。

【請求項 3】

請求項 1 に記載の方法であって、前記調節が、

a) 細胞活性を阻害するか；または

b) 細胞活性を刺激する、

方法。

【請求項 4】

請求項 1 に記載の方法であって、前記調節が細胞活性を阻害し、そして前記結合組成物が、C D 2 0 0 R a (配列番号 2 もしくは配列番号 6) のアゴニストを含む、方法。

【請求項 5】

請求項 1 に記載の方法であって、前記調節が、細胞活性を増加させ、そして前記結合組成物が、C D 2 0 0 R a (配列番号 2 もしくは配列番号 6) のアンタゴニストを含む、方法。

【請求項 6】

請求項 1 に記載の方法であって、前記結合組成物が、

a) ヒト化抗体；

b) モノクローナル抗体；

c) ポリクローナル抗体；

d) F a b フラグメント；

e) F (a b ')₂ フラグメント；

f) 抗体のペプチド模倣体；または

g) 検出可能な標識

を含む、方法。

【請求項 7】

請求項 1 に記載の方法であって、前記細胞と、C D 2 0 0 R a (配列番号 2 もしくは配列番号 6) またはその抗原性フラグメントの発現を増強する因子とを接触させる工程をさらに包含する、方法。

【請求項 8】

免疫状態に苦しむ被験体を処置する方法であって、請求項 1 に記載の結合組成物で処置するか、または請求項 1 に記載の結合組成物を投与する工程を包含する、方法。

【請求項 9】

請求項 8 に記載の方法であって、前記結合組成物が、C D 2 0 0 R a (配列番号 2 もしくは配列番号 6) のアゴニストまたはアンタゴニストを含む、方法。

【請求項 10】

請求項 8 に記載の方法であって、前記免疫状態が、

a) 炎症性状態；または

b) 自己免疫性状態

である、方法。

【請求項 11】

請求項 8 に記載の方法であって、前記免疫状態が、

a) 慢性関節リウマチ；

b) 内毒血症；

c) 乾癬；または

d) アレルギー

10

20

30

40

50

である、方法。

【請求項 1 2】

請求項 8 に記載の方法であって、前記免疫状態が、

a) 感染；または

b) 癌状態

である、方法。

【請求項 1 3】

請求項 8 に記載の方法であって、前記結合組成物が、C D 2 0 0 R a (配列番号 2 もしくは配列番号 6) またはその抗原性フラグメントの発現を特異的に増強する因子とともに投与される、方法。

10

【請求項 1 4】

免疫障害を診断する方法であって、サンプルと、請求項 1 に記載の結合組成物を接触させる工程、および細胞活性の前記調節を測定する工程を包含する、方法。

【請求項 1 5】

請求項 1 4 に記載の方法であって、前記調節が、

a) 阻害；または

b) 活性化

である、方法。

【請求項 1 6】

請求項 1 4 に記載の方法であって、ここで、前記接触工程がインビトロで行われる、方法

20

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0 0 0 1】

(発明の分野)

本発明は、哺乳動物の生理学(免疫系の機能を含む)を調節するための方法および組成物に関連する。特に、本発明は、肥満細胞の代謝および活性を調節するための方法を提供する。診断用途および治療用途が、開示される。

【背景技術】

【0 0 0 2】

30

(発明の背景)

骨髄細胞、脾臓細胞、および造血細胞(リンパ球および骨髄系統細胞が挙げられるが、これらに限定されない)から構成される免疫系は、細菌、ウイルス、および外来の多細胞生物ならびに癌細胞に対する防御を担う。免疫系の不適切な調節は、多数の障害または病理学的状態(例えば、慢性的な炎症、自己免疫疾患および自己免疫障害ならびに外来性の粒子または外来性の組織に対する所望されないアレルギー反応)を生じ得る。

【0 0 0 3】

肥満細胞、骨髄系統免疫細胞は、炎症を生じる種々のサイトカインおよび酵素を分泌する。これらの物質のいくつかは顆粒状の分泌性小胞中で生じる場合、分泌プロセスは、時には脱顆粒と呼ばれる。肥満細胞による急速な脱顆粒が、喘息、アナフィラキシー、および他のアレルギー応答の病理に寄与する一方で、肥満細胞によるゆっくりとした脱顆粒は、関節炎および他の型の慢性炎症に寄与する。肥満細胞による炎症性サイトカインおよび酵素の放出は、組織損傷、肥満細胞のさらなる誘引を引き起こし得、そしてさらなる組織損傷を引き起こし得る。

40

【0 0 0 4】

免疫系細胞は、レセプターとして作用し得る多くの型の膜結合型タンパク質を保有する。これらのレセプターに対するリガンドは、低分子、タンパク質(例えば、サイトカインまたはケモカイン)または別の細胞上に存在する膜結合型タンパク質であり得る。細胞または組織の活性における変化は、その生理学的リガンド、生理学的リガンドのアナログ、抗体、同様のレセプターを互いに架橋する因子、および非同一レセプターを互いに架橋す

50

る因子による、レセプターの占有から生じ得る。

【0005】

肥満細胞は、細胞に対して阻害シグナルを中継する多数のレセプターを含む。これらとしては、CD200レセプターa（別名CD200Ra；OX2Ra）および種々のIg-ITIMを保有レセプター（例えば、低親和性IgGレセプターであるFcRIIB）、膜貫通型糖タンパク質レセプターであるgp49B1、シグナル調節タンパク質（SIRP）、肥満細胞機能関連Ag、ならびに血小板内皮細胞接着分子-1（PECAM-1）（CD31）（Wongら．（2002）J．Immunol．168：6455～6462）が挙げられる。

【0006】

CD200（別名OX2）は、リンパ球、ニューロン細胞、内皮細胞、樹状細胞、およびB細胞上に存在する、幅広く分布する膜結合型タンパク質である（Wrightら．（2000）Immunity 13，233～242；Wrightら．（2001）Immunology 102：173～179；Hoekら．（2000）Science 290：1768～1771；Barclayら（2001）Immunol．102：173～179；McCaughanら（1987）Immunogenetics 25：329～335）。CD200（CD200Rのリガンド）は、CD200Rに結合し得、このCD200Rは、別の細胞上で発現される。ヒトにおいて、CD200Rの2つのサブタイプが同定されている（hCD200Ra（配列番号2）およびhCD200Rb（配列番号4））。CD200Rのマウスのホモログは、4つのレセプターサブタイプ（CD200Ra（配列番号6）、CD200Rb（配列番号8）、CD200Rc（配列番号10）、およびCD200Rd（配列番号12））からなる。CD200Raは、例えば、ラットのマクロファージ、樹状細胞、および小神経膠細胞上に存在する（Wrightら．（2000）（前出）；Prestonら．（1997）Eur．J．Immunol．27：1911～1918）。

【0007】

種々の免疫細胞について膜結合タンパク質を含むいくつかの調節経路が同定されている。しかし、肥満細胞調節を担う分子は、十分には理解されていない。本発明は、肥満細胞レセプター分子（例えば、CD200R）を標的化することによる肥満細胞疾患の診断および処置の方法を提供することにより、この必要性を満たす。

【発明の開示】

【発明が解決しようとする課題】

【0008】

種々の免疫細胞について膜結合型タンパク質を含むいくつかの調節経路が、同定されている。しかし、肥満細胞調節を担う分子は、十分に理解されていない。本発明は、肥満細胞レセプター分子（例えば、CD200R）を標的にすることによる肥満細胞障害の診断および処置の方法を提供することによって、この必要性を満たす。

【課題を解決するための手段】

【0009】

（発明の要旨）

本発明は、阻害レセプター（例えば、CD200Ra）への抗体の結合が細胞を不活化するという発見に一部基づく。

【0010】

本発明は、細胞活性を調節する方法を提供し、この方法は、その細胞と、CD200Ra（配列番号2または6）またはその抗原性フラグメントに特異的に結合する抗体の抗原結合部位に由来する結合組成物とを接触させる工程を包含する、する。この細胞が肥満細胞である、上記の方法もまた提供され、この調節が細胞活性を阻害するか、または細胞活性を刺激するか；この調節が細胞活性を阻害し、そしてこの結合組成物がCD200Ra（配列番号2または6）のアゴニストを含むか；あるいは、この調節が細胞活性を増大させ、そしてこの結合組成物がCD200Ra（配列番号2または6）のアンタゴニストを

10

20

30

40

50

含む。別の実施形態において、本発明は、この結合組成物が、ヒト化抗体；モノクローナル抗体；ポリクローナル抗体；F a bフラグメント；F (a b ')₂フラグメント；抗体のペプチド模倣体；または検出可能な標識を含む上記の方法もまた、提供する。本発明のさらに別の局面は、上記細胞と、C D 2 0 0 R a (配列番号 2 または 6) の発現を特に増大させる因子とを接触させる工程をさらに包含する、上記の方法である。

【 0 0 1 1 】

免疫状態に苦しむ被験体を処置する方法もまた提供され、この方法は、C D 2 0 0 R a (配列番号 2 または 6) またはその抗原性フラグメントに特異的に結合する抗体の抗原結合部位に由来する結合組成物で処置するか、またはこの結合組成物を投与する工程を包含する。上記結合組成物がC D 2 0 0 R a (配列番号 2 または 6) のアゴニストまたはアンタゴニストを含み、この免疫状態が炎症状態または自己免疫状態である上記の方法もまた、提供される。この免疫状態が、慢性関節リウマチであるか；内毒血症であるか；乾癬であるか；またはアレルギーである上記の方法、あるいはこの免疫状態が、感染または癌状態である上記の方法もまた、企図される。この結合組成物が、C D 2 0 0 R a (配列番号 2 または 6) またはその抗原性フラグメントの発現を特異的に増強する因子とともに投与される上記の方法が、さらに企図される。

10

【 0 0 1 2 】

(詳細な説明)

本明細書中 (添付される特許請求の範囲を含む) で使用される場合、「 a 」 「 a n 」 および 「 t h e 」 のような単数形の語句は、その文脈が、明らかに他の意味を示さない限り、対応する複数の言及を含む。

20

【 0 0 1 3 】

(I . 定義)

分子の「活性」は、その分子のリガンドまたはレセプターへの結合、触媒活性、遺伝子発現を刺激する能力、抗原活性、他の分子の活性調節などを記載し得るか、またはこれらを指し得る。分子の「活性」とはまた、細胞間相互作用 (例えば、接着) の調節または維持における活性、あるいは細胞構造 (細胞膜または細胞骨格) の維持における活性を指し得る。「活性」はまた、比活性 (例えば、[触媒活性] / [m g タンパク質] または [免疫学的活性] / [m g タンパク質] など) を意味し得る。

【 0 0 1 4 】

「アミノ酸」とは、天然に存在するアミノ酸および合成アミノ酸、ならびに天然に存在するアミノ酸と同様の様式で機能するアミノ酸アナログおよびアミノ酸模倣体をいう。天然に存在するアミノ酸は、遺伝情報によってコードされるアミノ酸 (セレノメチオニンを含む) およびポリペプチドへの組み込み後に改変されるアミノ酸 (例えば、ヒドロキシプロリン、O - ホスホセリン、O - ホスホチロシン、 - カルボキシグルタメート、およびシステイン) である。アミノ酸アナログとは、天然に存在するアミノ酸と同じ基本化学構造 (すなわち、水素に結合している - 炭素、カルボキシル基、アミノ基、および R 基) を有する化合物 (例えば、ホモセリン、ノルロイシン、メチオニンスルホキシド、メチオニンメチルスルホニウム) をいう。このようなアナログは、改変された R 基 (例えば、ノルロイシン) または改変されたペプチド骨格を有するが、天然に存在するアミノ酸と同じ基本化学構造を保持する。アミノ酸模倣体とは、アミノ酸の一般化学構造とは異なる構造を有するが、天然に存在するアミノ酸と同様の様式で機能する、化学化合物をいう。アミノ酸は、本明細書中で、一般的に公知である三文字記号または一文字記号のいずれかによって示され得る。

30

40

【 0 0 1 5 】

「結合組成物」は、例えば、抗体、ポリクローナル抗体、モノクローナル抗体、操作された抗体、組換え抗体、ヒト化抗体、抗体に由来する結合フラグメント、抗体のペプチド模倣体、二機能性の試薬または多機能性の試薬を包含する。この結合組成物は、例えば、リンカー、オリゴ糖、または標識をさらに含み得る。「抗体に由来する」とは、例えば、フラグメントまたは複合体 (例えば、抗体の抗原結合部位) を産生するために抗体を処理

50

するかまたは操作すること、あるいは抗体の所定の特徴（例えば、抗原結合部位）を模倣する分子または複合体を産生するために遺伝子操作を使用することをいう。

【0016】

「二重特異性抗体」とは、一般的に共有結合性の複合体をいうが、2つの異なる抗体由来の結合フラグメントの安定な非共有結合性の複合体、2つの異なる抗体由来のヒト化結合フラグメント、または2つの異なる抗体由来の結合フラグメントのペプチド模倣体を称し得る。それぞれの結合フラグメントは、異なる標的またはエピトープ（例えば、阻害レセプターおよび活性化レセプターのような異なるレセプター）を認識する。二重特異性の抗体は、一般的に、2つの異なる抗原への特異的な結合を示す。

【0017】

「保存的に改変された改変体」は、アミノ酸配列およびヌクレオチド配列の両方に適用される。特定の核酸配列に関して、保存的に改変された改変体とは、同一のアミノ酸配列または本質的に同一なアミノ酸配列をコードする核酸をいう。保存的な置換の例は、以下の群の1つにおけるアミノ酸を、同じ群の別のアミノ酸と交換することである（Leeらに発行された米国特許第5,767,063号；KyteおよびDoolittle（1982）J. Mol. Biol. 157:105~132）。

疎水性：ノルロイシン、Ile、Val、Leu、Phe、Cys、Met；

中性親水性：Cys、Ser、Thr；

酸性：Asp、Glu；

塩基性：Asn、Gln、His、Lys、Arg；

鎖の方向に影響を及ぼす残基：Gly、Pro；

芳香族：Trp、Tyr、Phe；および

低分子アミノ酸：Gly、Ala、Ser。

【0018】

CD200またはCD200R（配列番号2、4、6、8、10、12）と実質的に同じアミノ酸配列を有するが、機能面に実質的に影響しないアミノ酸置換、アミノ酸短縮、またはアミノ酸欠失を保有するポリペプチド分子に関する方法は、企図される発明の定義の範囲内である。1つ以上のペプチド結合切断を含む改変体は、娘ポリペプチドが、互いに結合したままである場合は、企図される発明の定義の範囲内である。

【0019】

「ITIM」および「ITAM」は、それぞれいくつかの阻害レセプターおよび活性化レセプター上に見出される2つのモチーフである。このITIMモチーフは、細胞質ドメインにおけるコンセンサス配列I/V/LxYxxL/Vによって定義され、ここで、（Y）はリン酸化され得、ITIMモチーフを有するポリペプチドが、種々の酵素を補充する能力を生じ得る（ここで、これらの酵素は、細胞への阻害シグナルの中継を助ける（Sathishら、（2001）J. Immunol. 166:1763~1770））。コンセンサスITAM配列は、YxxL/Ix₆₋₈YxxL/Iであり、ここで、（Y）は、リン酸化され得、活性化レセプターまたはアクセサリタンパク質のシグナル特性における変化を生じ得る。このITAMモチーフは、活性化レセプター自体または活性化レセプターに結合するアクセサリタンパク質において生じ得、従って、活性化レセプターに対して活性特性を付与する。

【0020】

「一機能性試薬」とは、例えば、抗体、抗体の結合部位に由来する結合組成物、抗体模倣体、可溶レセプター、それらの操作された誘導体、組換え誘導体、または化学的に改変された誘導体（これらは、単一の型の標的に特異的に結合する）をいう。例えば、一機能性試薬は、CD200レセプターに対する1つ以上の機能性結合部位を含み得る。「一機能性試薬」はまた、ポリペプチド、抗体、または他の試薬（例えば、CD200レセプターなどに対する1つ以上の機能性結合部位およびFcレセプターに対する1つ以上の非機能性結合部位を含む）をいう。例えば、一機能性試薬は、CD200レセプターおよび操作されたFcフラグメント（故に、このFcフラグメントは、Fcレセプターに特異的に

10

20

30

40

50

結合しない)に対する抗体結合部位を含み得る。

【0021】

「二機能性試薬」は、例えば、抗体、抗体の結合部位に由来する結合組成物、抗体模倣体、可溶レセプター、それらの操作された誘導体、組換え誘導体、または化学的に改変された誘導体（これらは、2つの異なる標的（例えば、阻害性CD200レセプターおよび活性化レセプター）に特異的に結合する）をいう。一般的に、二機能性試薬は、例えば、2つの異なる抗体、2つの異なる可溶レセプター、または抗体および可溶レセプターからの結合部位を含む。

【0022】

「核酸」とは、デオキシリボヌクレオチドまたはリボヌクレオチド、および一本鎖形態または二本鎖形態のいずれかであるそれらのポリマーをいう。用語「核酸」は、遺伝子、cDNA、mRNA、オリゴヌクレオチド、およびポリヌクレオチドと交換可能に使用され得る。特定の核酸配列はまた、「対立遺伝子改変体」および「スプライスバリエーション」を暗に含む。

【0023】

結合組成物の「特異的結合」は、この結合組成物は、別の抗原に対して通常約2倍より大きい結合定数、代表的には、別の抗原に対してよりも約4倍大きい結合定数、より代表的には、別の抗原に対してよりも少なくとも約10倍大きい結合定数、頻繁には、別の抗原に対してよりも少なくとも約40倍大きい結合定数、および最も頻繁には、別の抗原に対してよりも少なくとも約100倍大きい結合定数で、特定の抗原（例えば、CD200Ra（配列番号2））に結合することを意味する。

【0024】

「リガンド」とは、レセプターのアゴニストまたはアンタゴニストとして作用する低分子、ペプチド、ポリペプチド、および膜関連分子または膜結合分子ならびに上記の膜関連分子または膜結合分子の可溶型をいう。このリガンドが、第1の細胞上で膜結合性である場合、そのレセプターは、通常第2の細胞上で生じる。第2の細胞は、第1の細胞と同じ特性または異なった特性を有し得る。リガンドまたはレセプターは、全体として細胞内に存在し得、すなわち、これらは、細胞質ゾル、核、またはいくつかの他の細胞内区画中に存在し得る。このリガンドまたはレセプターは、例えば、細胞内区画から原形質膜の外面にその位置を変化し得る。リガンドおよびレセプターの複合体は、「リガンドレセプター複合体」と称される。リガンドおよびレセプターが、シグナル経路に関与する場合、リガンドはシグナル経路の上流位置で生じ、そしてレセプターはシグナル経路の下流位置で生じる。

【0025】

「ヒト化抗体」は、非ヒト起源（例えば、げっ歯類）の抗原結合領域およびヒト起源の免疫グロブリンの少なくとも一部分（例えば、ヒトフレームワーク領域、ヒト定常領域、またはそれらの部分）を含む抗体を意味する。例えば、米国特許番号6,352,832号を参照のこと。

【0026】

「免疫状態」は、例えば、病理学的炎症、炎症性障害、炎症性疾患または障害、あるいは自己免疫障害または自己免疫疾患を意味する。「免疫状態」とはまた、感染または癌状態（例えば、免疫系が感染を減少させようとはするか、または癌状態を減少させようとはする病理学的状態）をいう。「癌状態」としては、例えば、癌、癌細胞、腫瘍、血管新生、および異形成症のような前癌状態が挙げられる。

【0027】

「サンプル」とは、ヒト、動物由来のサンプルをいうか、または例えば細胞、組織、器官、流体、ガス、エアロゾル、スラリー、コロイド、または凝固物質のような研究サンプルをいう。「サンプル」は、インビボで（例えば、ヒトからの動物からも取り出されることがなく）試験され得るか、またはインビトロで試験され得る。サンプルは、処理後に、例えば組織学的方法によって試験され得る。「サンプル」とはまた、例えば、流体サン

ルまたは組織サンプルを含む細胞、あるいは流体サンプルまたは組織サンプルから分離された細胞をいう。「サンプル」とはまた、ヒトまたは動物から新鮮な状態で得られる細胞、組織、器官、または流体をいうか、あるいは、処理されたかまたは保存された細胞、組織、器官、または流体をいう。

【0028】

治療因子の「治療上有効な量」は、意味のある患者の利益を示すために（すなわち、処置される状態の症状を軽減させるかまたは寛解するために）十分である、薬学的処方物のそれぞれの活性成分の量として定義される。この薬学的処方物が診断因子を含む場合、「治療上有効な量」は、シグナル、画像、または他の診断パラメーターを産生するために十分な量として定義される。薬学的処方物の有効量は、個体の感受性の程度、個体の年齢、性別、および体重、ならびに個体の特有の応答のような因子にしたがって変動する。例えば、米国特許第5,888,530号を参照のこと。

10

【0029】

（II．概要）

本発明は、免疫状態（炎症性の状態および自己免疫障害）の処置および診断のための方法を提供し、この方法は、CD200Rを有する細胞（例えば、肥満細胞、抗原提示細胞（APC）、樹状細胞、好中球、T細胞、単球、およびマクロファージ）を含む。樹状細胞は、プロフェショナルAPCである。これらの状態としては、例えば、慢性関節リウマチ、気管支機能亢進、喘息、アレルギー状態、乾癬、炎症性腸疾患、多発性硬化症、および病理学的先天性応答（例えば、内毒血症、敗血症、および敗血症性ショック）が挙げられる。本発明は、例えば、CD200RaまたはCD200Rbのアゴニストまたはアンタゴニストを使用するCD200Rの調節方法を企図する。

20

【0030】

本発明は、例えば、肥満細胞依存性の病理学的状態の処置において肥満細胞を阻害するために、CD200Raに対する結合組成物を使用することを企図する。肥満細胞は、慢性関節リウマチ（RA）の惹起および拡大に関係付けられる（Leeら（2002）Science 297:1689~1692; Vastag（2002）J. Am. Med. Assoc. 288:1457~1458; WoolleyおよびTetlow（2000）Arthritis Res 2:65~74; Olssonら（2001）Ann. Rheum. Dis. 60:187~193）。コラーゲン誘導性関節炎（CIA）は、RAについての実験動物モデルである。RAおよびCIAは、例えば、フィブリン沈着、滑膜細胞の肥厚、軟骨膜骨形成、単核浸潤、パンプス形成、および関節強直症を含む（LurosおよびWilliams（2001）Immunology 103:407~416）。T細胞およびB細胞のような免疫細胞は関節に浸潤し、そして病理（例えば、炎症、浮腫、または骨および軟骨の破壊）を誘導する。RAは、部分的には、自己免疫障害であり、ここで、自己免疫は、種々のタンパク質（軟骨構造のタンパク質を含む）に対して起こる（GriffithsおよびRemmers（2001）Immunol. Revs. 184:172~183）。CIAは、いくつかのヒト自己免疫疾患（例えば、RA、糖尿病、多発性硬化症、および自己免疫性甲状腺炎）と共通する多くの特徴を含む（GriffithsおよびRemmers（前出））。

30

40

【0031】

肥満細胞はまた、内毒血症に寄与し、この内毒血症は、マウスへのLPSの投与および関連条件によって誘導され得る（Tuncelら（2000）Peptides 21:81~89; Muchamuelら（1997）J. Immunol. 158:2898~2903; Howardら（1993）J. Exp. Med. 177:1205~1208）。内毒血症は、敗血症、敗血症性ショック、グラム陰性細菌および他の細菌による感染、ならびに先天性免疫における有害反応と相関する（Cohen（2000）Intensive Care Med. 26（補遺）1:S51~56; Freiseら（2001）J. Invest. Surg. 14:195~212）。

【0032】

50

肥満細胞およびAPCは、皮膚障害（例えば、乾癬およびアトピー性皮膚炎）の病理に関係付けられている。乾癬は、西洋諸国の人口の4%より多くにおいて起こる。いくつかの場合において生命を脅かし得る乾癬は、頻繁な再発によって特徴付けられる。乾癬はまた、乾癬性関節炎として公知の関節炎の形態と関連付けられている（AckermannおよびHarvima（1998）Arch. Dermatol. Res. 290:353~359；Yamamotoら（2000）J. Dermatol. Sci. 24:171~176；Ackermannら（1999）Br. J. Dermatol. 140:624~633；Schopf（2002）Curr. Opin. Invest. Drugs 3:720~724；Gransstein（1996）J. Clin. Invest. 98:1695~1696；Christophers（2001）Clin. Exp. Dermatol. 26:314~320；GreavesおよびWeinstein（1995）New Engl. J. Med. 332:581~588；RobertおよびKupper（1999）New Engl. J. Med. 341:1817~1828；FearonおよびVeale（2001）Clin. Exp. Dermatol. 26:333~337；Mrowietzら（2001）Exp. Dermatol. 10:238~245；Ackermannら（1999）Br. J. Dermatol. 140:624~633）。

【0033】

喘息は、肥満細胞、APC、および他の免疫細胞に関する別の障害である（Black（2002）New Engl. J. Med. 346:1742~1743；Brightlingら（2002）New Engl. J. Med. 346:1699~1705；Carrollら（2002）Eur. Respir. J. 19:1~7；XiangおよびNilsson（2000）Clin. Exp. Allergy 30:1379~1386；WoodruffおよびFahy（2001）J. Am. Med. Assoc. 286:395~398）。喘息は、気管支機能亢進によって特徴付けられる慢性障害であり、これは、肺炎症性障害（喘息、慢性閉塞性肺疾患（別名COPD；慢性閉塞性肺障害）、慢性気管支炎、好酸球増加性気管支炎、気管支炎、およびウイルス性気管支炎を含む）の症状である（Riffo-VasquezおよびSpina（2002）Pharmacol. Therapeutics 94:185~211）。喘息は、免疫事象（IgEの放出を含む）のカスケードの結果である（例えば、Marone（1998）Immunol. Today 19:5~9；BarnesおよびLemanske（2001）New Engl. J. Med. 344:350~362を参照のこと）。

【0034】

肥満細胞は、炎症性腸疾患（例えば、クローン病および大腸炎）の病理に寄与する（Raitheila（2001）Scand. J. Gastroenterol. 36:174~179；Nishidaら（2002）Hepatogastroenterol. 49:678~682；Gelbmannら（1999）Gut 45:210~217；Nolteら（1990）Gut 31:791~794；Jeziorskaら（2001）J. Pathol. 194:484~492）。IgEは、肥満細胞を活性化、気道の狭窄および好酸球による気道への損傷を生じる。

【0035】

肥満細胞はまた、神経系の炎症状態（例えば、多発性硬化症）の病理に寄与する（Robbie-Ryanら（2003）J. Immunol. 170:1630~1634；DinesおよびPowell（1997）J. Neuropathol. Exp. Neurol. 56:627~640）。これらの細胞はまた、例えば、肝臓、腎臓、および肺の同種移植拒絶、ならびに移植片対宿主病（GVHD）、ならびに糸球体腎炎においても役割を果たす（O'Keefeら（2002）Liver Transpl. 8:50~57；Lajoieら（1996）Mod. Pathol. 9:1118~1125；Yousem（1997）Hum. Pathol. 28:179~182；Levi-SchafferおよびWeg（1997）Clin. Exp. Allergy, 27（補

遺) 1: 64 ~ 70; H i r o m u r a ら (1 9 9 8) A m . J . K i d n e y D i s . 3 2 : 5 9 3 ~ 5 9 9) 。肥満細胞はまた、心血管疾患に関わっている (H a r a ら (2 0 0 2) J . E x p . M e d . 1 9 5 : 3 7 5 ~ 3 8 1) 。

【0036】

肥満細胞に加えて、APCはまた、慢性関節リウマチ、アレルギー、喘息、内毒血症、敗血症性ショック、および皮膚状態(例えば、乾癬)のような障害の機構に関わる (S a n t i a g o - S c h w a r z ら (2 0 0 1) J . I m m u n o l . 1 6 7 : 1 7 5 8 ~ 1 7 6 8 ; L a m b r e c h t および H a m m a d (2 0 0 3) C u r r . O p i n . P u l m . M e d . 9 : 3 4 ~ 4 1 ; E i g e n m a n n (2 0 0 2) P e d i a t r . A l l e r g y I m m u n o l . 1 3 : 1 6 2 ~ 1 6 7 ; C u r r y ら (2 0 0 3) A r c h . P a t h o l . L a b . M e d . 1 2 7 : 1 7 8 ~ 1 8 6 ; S u p a j a t u r a ら (2 0 0 2) J . C l i n . I n v e s t . 1 0 9 : 1 3 5 1 ~ 1 3 5 9 ; K o g a ら (2 0 0 2) D e r m a t o l . 2 0 4 : 1 0 0 ~ 1 0 3) 。

10

【0037】

本発明はまた、感染または増殖性状態(例えば、癌および腫瘍)の処置の際に、例えば、CD200RaのアンタゴニストまたはCD200Rbのアゴニストを使用してCD200Rを調節する方法を企図する。肥満細胞、APC、および他の免疫系の細胞は、感染(例えば、細菌感染、ウイルス感染、および原生動物感染)を防止するかまたはこれと闘う際に役割を果たす。例えば、M a r s h a l l ら (2 0 0 3) C u r r . P h a r m . D i s . 9 : 1 1 ~ 2 4 ; M a l a v i y a および G e o r g e s (2 0 0 2) C l i n . R e v . A l l e r g y I m m u n o l . 2 2 : 1 8 9 ~ 2 0 4 ; M e k o r i および M e t c a l f e (2 0 0 0) I m m u n o l . R e v . 1 7 3 : 1 3 1 ~ 1 4 0 ; G a l l i ら (1 9 9 9) C u r r . O p i n i o n I m m u n o l . 1 1 : 5 3 ~ 5 9 ; M i l e s および M a m l o k (1 9 9 2) J . A l l e r g y C l i n . I m m u n o l . 8 9 : 6 3 8 ~ 6 3 9 ; S a c k s および S h e r (2 0 0 2) N a t u r e I m m u n o l . 3 : 1 0 4 1 ~ 1 0 4 7 ; E i g e n m a n n (2 0 0 2) P e d i a t r . A l l e r g y I m m u n o l . 1 3 : 1 6 2 ~ 1 7 1 を参照のこと。肥満細胞、APC、または免疫系の他の細胞はまた、増殖性状態(例えば、癌および腫瘍)の防止またはこれとの闘いに関与することが見出されている。例えば、R e a y (2 0 0 1) E x p e r t O p i n . T h e r . T a r g e t s 5 : 4 9 1 ~ 5 0 6 ; H e c k e l s m i l l e r ら (2 0 0 2) E u r . J . I m m u n o l . 3 2 : 3 2 3 5 ~ 3 2 4 5 ; S t i f t ら (2 0 0 3) I n t . J . O n c o l . 2 2 : 6 5 1 ~ 6 5 6 ; V e r m o r k e n および V a n T e n d e l o o (2 0 0 3) E x p e r t R e v . A n t i c a n c e r T h e r . 3 : 1 ~ 3 を参照のこと。

20

30

【0038】

(III. CD200レセプター)

マウスCD200Ra(別名muCD200Ra;配列番号6)は、比較的長い細胞質テールを有する。インビボ研究から、muCD200Raは、阻害レセプターであると考えられているが、これは、古典的なITIM配列を欠く。muCD200Rb(配列番号8)、muCD200Rc(配列番号10)およびmuCD200Rd(配列番号12)は、短い細胞質テールを有し、その膜貫通領域において荷電したアミノ酸を有し、そして細胞活性化アダプター分子(Dap1.2)と対合することが示されている(L a n i e r および B a k k e r (2 0 0 0) I m m u n o l . T o d a y 2 1 : 6 1 1 ~ 6 1 4) 。ヒトCD200Raは、マウスCD200Raと相同である。ヒトCD200Rb(配列番号4)は、muCD200Rb/dと最も相同性であり、そしてまた、Dap12との対合パートナーでもある。

40

【0039】

(IV. ポリペプチドの精製および改変)

企図された方法において使用するためのポリペプチド(例えば、抗原、抗体、および抗体フラグメント)は、当該分野において確立された方法によって精製され得る。精製は、

50

細胞または組織のホモジナイゼーション、免疫沈降、およびクロマトグラフィーを含み得る。精製または貯蔵の間の安定性は、例えば、抗プロテアーゼ因子、抗酸化剤、イオン性界面活性剤および非イオン性界面活性剤、ならびにグリセロールまたはジメチルスルホキシドのような溶媒によって高められ得る。

【0040】

タンパク質およびペプチドに対する改変としては、エピトープタグ、蛍光基または放射性基、単糖類またはオリゴ多糖類、サルフェート基またはホスフェート基、C末端アミド、アセチル化N基およびエステル化N基、アシル化（例えば、脂肪酸）、内切断したペプチド結合、および脱アミド化の産物が挙げられる（Johnsonら（1989）*J. Biol. Chem.* 264:14262~14271; Youngら（2001）*J. Biol. Chem.* 276:37161~37165）。グリコシル化は、使用される組換え宿主生物の性質または生理学的状態に依存する（Jefferys（2001）*BioPharm.* 14:19~27; Mimuraら（2001）*J. Biol. Chem.* 276:45539~45547; Axford（1999）*Biochim. Biophys. Acta.* 1:219~229; Malhotraら（1995）*Nature Medicine* 1:237~243）。

10

【0041】

ポリペプチドの誘導体もまた、融合タンパク質パートナーによる改変を含む（Ausubelら（2001）*Current Protocols in Molecular Biology*, 第3巻, John Wiley and Sons, Inc., NY, NY, 16.0.5~16.22.17頁; Sigma-Aldrich, Co（2001）*Products for Life Science Research*, St. Louis, MO; 45~89頁; Amersham Pharmacia Biotech（2001）*BioDirectory*, Piscataway, NJ, 384~391頁）。

20

【0042】

（V. 結合組成物）

抗体は、ヒト供給源または非ヒト供給源に由来し得る。インタクトなタンパク質、変性したタンパク質、またはそのタンパク質のペプチドフラグメントは、免疫のために使用され得る（HarlowおよびLane（前出）, 139~243頁）。抗原性が高まった領域は、ペプチドフラグメント免疫のために使用され得る。ヒトCD200Ra（配列番号2）は、例えば、配列番号2のアミノ酸43~47、62~66、109~114、165~174、187~199、210~214、239~244、260~267、および293~300（Vector NTI（登録商標）Suite, Informax, Inc., Bethesda, MD）における、抗原性が高まった領域を有する。ヒトCD200Rb（配列番号4）は、配列番号4のアミノ酸55~75で著しく抗原性である。マウスCD200Ra（配列番号6）は、配列番号6のアミノ酸25~40およびアミノ酸85~95で、抗原性が高まった領域を有する。マウスCD200Rb（配列番号8）は、配列番号8のアミノ酸10~22、85~90、および105~120で、抗原性が高まった領域を有する。マウスCD200Rc（配列番号10）は、配列番号10のアミノ酸20~40、115~130、および190~220で、抗原性が高まった領域を有する。マウスCD200Rdは、配列番号12のアミノ酸20~50、90~120、155~175、および180~200で、抗原性が高まった領域を有する（Mac Vector 6.5（登録商標）, Accelrys, San Diego, CA）。抗原性フラグメントおよび抗原性領域のこの列挙によって、抗体を惹起するために使用され得るかまたは抗体によって結合され得るポリペプチドの領域を限定することは、意図されない。

30

40

【0043】

CD200の細胞外ドメイン、またはその抗原性フラグメントを含む結合組成物が、例えば、一機能性因子または二機能性因子の状態で企図される。ヒトCD200、マウスC

50

D200、およびラットCD200の細胞外ドメインが記載される(Chenら(1997) *Biochim. Biophys. Acta.* 1362: 6~10)。

【0044】

マウス供給源または他の非ヒト供給源に由来する抗体は、免疫応答を引き起こし得るか、エフェクター機能の弱い補充を提供し得るか、または血流からの急速なクリアランスを示し得る(Baccaら(1997) *J. Biol. Chem.* 272: 10678~10684)。これらの理由のために、ヒト化によって治療抗体を調製することが所望され得る。ヒト化抗体は、ヒト抗体フレームワーク上に移植されている、親マウス抗体の6個の相補性決定領域(CDR)由来のアミノ酸配列を含む。ヒト化抗体における非ヒト配列の含有量は、好ましくは低い(すなわち、約5%である)(Baccaら(1997) *J. Biol. Chem.* 272: 10678~10684)。最適な結合を達成するために、ヒト化抗体は、特定のフレームワークアミノ酸(通常CDRの立体配座の支持に関与する)を、親のマウス抗体において見出される対応するアミノ酸に戻す変化による微調整を必要とし得る。一般的に親のフレームワークアミノ酸に戻されるフレームワークアミノ酸は、CDRループの立体配座の支持に関与するフレームワークアミノ酸である(Chothiaら(1989) *Nature* 342: 877~883; FooteおよびWinter(1992) *J. Mol. Biol.* 224: 487~499)。抗原結合に最もしばしば影響するフレームワーク残基は比較的小さく、そして11残基程度に小さくてもよい(Baccaら(1997) *J. Biol. Chem.* 272: 10678~10684)。

10

20

【0045】

ヒト化抗体としては、定常領域の全ての型を有する抗体(IgM、IgG、IgD、IgA、およびIgEを含む)、および任意のアイソタイプ(IgG1、IgG2、IgG3およびIgG4を含む)が挙げられる。ヒト化抗体が細胞傷害活性を示すことが所望される場合、この定常ドメインは、通常、補体結合性の定常ドメインであり、そしてそのクラスは、代表的にはIgG1である。このような細胞傷害活性が所望されない場合、この定常ドメインは、IgG2クラスであり得る。ヒト化抗体は、1つより多くのクラスまたはアイソタイプからの配列を含み得る(Vasquezに発行された米国特許第6,329,511号)。

【0046】

ヒト化に代わるものは、ファージ上で示されるヒト抗体ライブラリーまたはトランスジェニックマウスにおけるヒト抗体ライブラリーを使用することである(Vaughanら(1996) *Nature Biotechnol.* 14: 309~314; Barbas(1995) *Nature Medicine* 1: 837~839; Mendezら(1997) *Nature Genetics* 15: 146~156; HoogenboomおよびChames(2000) *Immunol. Today* 21: 371~377; Barbasら(2001) *Phage Display: A Laboratory Manual*, Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, New York; Kayら(1996) *Phage Display of Peptides and Proteins: A Laboratory Manual*, Academic Press, San Diego, CA; de Bruinら(1999) *Nature Biotechnol.* 17: 397~399)。

30

40

【0047】

二機能性抗体が提供される。例えば、Mackら(1995) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 92: 7021~7025; Carter(2001) *J. Immunol. Methods* 248: 7~15; Volkelら(2001) *Protein Engineering* 14: 815~823; Segalら(2001) *J. Immunol. Methods* 248: 1~6; Brennanら(1985) *Science* 229: 81; Rasoら(1997) *J. Biol. Chem.* 27

50

2 : 2 7 6 2 3 ; M o r r i s o n (1 9 8 5) S c i e n c e 2 2 9 : 1 2 0 2 ; T r a u n e c k e r ら (1 9 9 1) E M B O J . 1 0 : 3 6 5 5 ; ならびに米国特許第 5 , 9 3 2 , 4 4 8 号、同第 5 , 5 3 2 , 2 1 0 号および同第 6 , 1 2 9 , 9 1 4 号を参照のこと。一本鎖抗体および二重特異性抗体 (d i a b o d y) が記載される。例えば、M a l e c k i ら (2 0 0 2) P r o c . N a t l . A c a d . S c i . U S A 9 9 : 2 1 3 ~ 2 1 8 ; C o n r a t h ら (2 0 0 1) J . B i o l . C h e m . 2 7 6 : 7 3 4 6 ~ 7 3 5 0 ; D e s m y t e r ら (2 0 0 1) J . B i o l . C h e m . 2 7 6 : 2 6 2 8 5 ~ 2 6 2 9 0 ; H u d s o n および K o r t t (1 9 9 9) J . I m m u n o l . M e t h o d s 2 3 1 : 1 7 7 ~ 1 8 9 ; および米国特許第 4 , 9 4 6 , 7 7 8 号を参照のこと。

10

【 0 0 4 8 】

抗原の精製は、抗体の生成のために必ずしも必要ではない。動物は、目的の抗原を有する細胞で免疫され得る。次いで、脾細胞が、この免疫された動物から単離され得、そしてこの脾細胞は、ハイブリドーマを産生するために骨髓腫細胞株と融合され得る (M e y a a r d ら (1 9 9 7) I m m u n i t y 7 : 2 8 3 ~ 2 9 0 ; W r i g h t ら (2 0 0 0) I m m u n i t y 1 3 : 2 3 3 ~ 2 4 2 ; P r e s t o n ら (前出) ; K a i t h a m a n a ら (1 9 9 9) J . I m m u n o l . 1 6 3 : 5 1 5 7 ~ 5 1 6 4) 。

【 0 0 4 9 】

治療抗体は、例えば、薬物低分子、酵素、リポソーム、ポリエチレングリコール (P F G)、または融合タンパク質抗体と結合体化され得る。例えば、v a n O o s t e r h o u t ら (2 0 0 1) I n t . J . P h a r m 2 2 1 : 1 7 5 ~ 1 8 6 ; M a r s h および K l i n m a n (1 9 9 0) 1 4 4 : 1 0 4 6 ~ 1 0 5 1 ; K r e i t m a n (2 0 0 1) C u r r . P h a r m . B i o t e c h n o l 2 : 3 1 3 ~ 3 2 5 ; D i n n d o r f ら (2 0 0 1) J . I m m u n o t h e r . 2 4 : 5 1 1 ~ 5 1 6 ; W a h l ら (2 0 0 1) I n t . J . C a n c e r 9 3 : 5 4 0 ~ 6 0 0 ; G a r b e r (2 0 0 0) J . N a t . C a n c e r I n s t i t . 9 2 : 1 4 6 2 ~ 1 4 6 4 ; E v e r t s ら (2 0 0 2) J . I m m u n o l . 1 6 8 : 8 8 3 ~ 8 8 9 ; C h e n ら (2 0 0 1) I n t . J . C a n c e r 9 4 : 8 5 0 ~ 8 5 8 ; S h a i k ら (2 0 0 1) J . C o n t r o l . R e l e a s e 7 6 : 2 8 5 ~ 2 9 5 ; P a r k ら (2 0 0 1) J . C o n t r o l . R e l e a s e 7 4 : 9 5 ~ 1 1 3 ; S o l o r z a n o ら (1 9 9 8) J . A p p l . P h y s i o l . 8 4 : 1 1 1 9 ~ 1 1 3 0 ; R o s e n b e r g ら (2 0 0 1) J . A p p l . P h y s i o l . 9 1 : 2 2 1 3 ~ 2 2 2 3 ; B e n d e l e ら (2 0 0 0) A r t h r i t i s R h e u m . 4 3 : 2 6 4 8 ~ 2 6 5 9 ; T r a k a s および T z a r t o s (2 0 0 1) J . N e u r o c h e m . 1 2 0 : 4 2 ~ 4 9 ; C h a p m a n ら (1 9 9 9) N a t u r e B i o t e c h n o l . 1 7 : 7 8 0 ~ 7 8 3 ; G a i d a m a k o v a ら (2 0 0 1) J . C o n t r o l . R e l e a s e 7 4 : 3 4 1 ~ 3 4 7 ; C o i f f i e r ら (2 0 0 2) N e w E n g l . J . M e d . 3 4 6 : 2 3 5 ~ 2 4 2 を参照のこと。

20

30

【 0 0 5 0 】

抗体は、診断目的またはキット化の目的のために有用であり、そして、例えば、色素に結合している抗体、放射性同位元素に結合している抗体、酵素に結合している抗体、または金属 (例えば、金コロイド) に結合している抗体を含む (L e D o u s s a l ら (1 9 9 1) J . I m m u n o l . 1 4 6 : 1 6 9 ~ 1 7 5 ; G i b e l l i n i ら (1 9 9 8) J . I m m u n o l . 1 6 0 : 3 8 9 1 ~ 3 8 9 8 ; H s i n g および B i s h o p (1 9 9 9) J . I m m u n o l . 1 6 2 : 2 8 0 4 ~ 2 8 1 1 ; E v e r t s ら (2 0 0 2) J . I m m u n o l . 1 6 8 : 8 8 3 ~ 8 8 9) 。

40

【 0 0 5 1 】

(V I . 阻害レセプターおよび活性化レセプター)

本発明は、細胞活性を調節するために、2つの異なるレセプター (例えば、阻害レセプターおよび活性化レセプター) を架橋結合する方法を提供する。

50

【0052】

阻害レセプターの例としては、例えば、Fc RII B、LAIR、FDF03、KIR、gp49B、ILT25、PIR-B、Ly49、CTLA-4、CD200Ra (配列番号2)、CD94/NKG2A、NKG2B-E、PECAM-1、CD5、CD22、CD72、PIR1、SIRP、HM18、LRC、ILT、KIR、LIR、MIR、およびMAFAが挙げられる。例えば、Long (1999) Ann. Rev. Immunol. 17: 875~904; Lanier (1997) Immunity 6: 371~378; Sinclair (1999) Scan. J. Immunol. 50: 10~13; Panら (1999) Immunity 11: 495~506を参照のこと。阻害レセプターとしてはまた、DNA X表面タンパク質-1 (別名DSP-1) (Cantonira (1999) Eur. J. Immunol. 29: 3148~3159) が挙げられる。 10

【0053】

活性化レセプターとしては、例えば、CD3、CD2、CD10、CD161、Dap12、KAR、KARAP、Fc RI、Fc RII、Fc RIIA、Fc RIIC、Fc RIII/CD16、Trem-1、Trem-2、CD28、p44、p46、B細胞レセプター、LMP2A、STAM、STAM-2、GPVI、およびCD40が挙げられる。例えば、Azzonira (1998) J. Immunol. 161: 3493~3500; Kitaら (1999) J. Immunol. 162: 6901~6911; Merchantら (2000) J. Virol. 74: 9115~9124; Pandeyら (2000) J. Biol. Chem. 275: 38633~38639; Zhengら (2001) J. Biol. Chem. 276: 12999~13006; Probstら (2000) J. Immunol. 165: 2214~2221が挙げられる。 20

【0054】

本発明は、例えば、リンパ系細胞、骨髄性細胞、および内皮細胞を阻害するための方法を提供する。細胞阻害は、例えば、細胞、組織、器官、細胞外流体、動物、ヒト被験体、あるいはエキソビボの細胞または組織を、一機能性試薬、二機能性試薬または多機能性試薬あるいは結合組成物で処置することによって達成される。

【0055】

例えば、細胞表面上のレセプターの発現を調節する因子が、所望される。例えば、van de Winkelら (1991) J. Leukocyte Biol. 49: 511~524; van de Winkelら (1993) Immunol. Today 14: 215~221; Heijnenら (1997) Intern. Rev. Immunol. 16: 29~55; FridmanおよびSautes (1996) Cell-Mediated Effects of Immunoglobulins, Chapman and Hall, New York, NY, 39~40頁を参照のこと。本発明は、CD200Raに特異的な結合組成物とCD200Ra (例えば、肥満細胞、APC、好中球、T細胞、B細胞、好塩基球、好酸球、または上皮細胞と関連する) の相互作用の効率を増大させるために、因子を使用して阻害レセプター (例えば、CD200Ra (配列番号2) の発現を増加させる工程を包含する。因子を使用して活性化レセプター (例えば、CD200Rb (配列番号4)) の発現を増加させることもまた、企図される。この因子は、例えば、インターフェロンまたはIL-10のようなサイトカイン、成長因子、二機能性の試薬、酵素、あるいはアデノシンのような低分子を含み得る。この因子は、例えば、肥満細胞、樹状細胞、または他のAPC、あるいは好中球の成熟を促す因子 (例えば、幹細胞因子、顆粒球マクロファージコロニー刺激因子、腫瘍壊死因子、またはIL-6) を含み得る (Hjertsonら (1999) Brit. J. Haematol. 104: 516~522; AustenおよびBoyce (2001) Leuk. Res. 25: 511~518; VandenabeeleおよびWu (1999) Immunol. Cell Biol. 77: 411~419; Santiago-Schwarz (30 40 50

1999) J. Leuk. Biol. 66: 209 ~ 216; Liuら (2001) Nat. Immunol. 2: 585 ~ 589; Kondoら (2003) Ann. Rev. Immunol.; Dumortierら (2003) Blood 101: 2219 ~ 2226)。

【0056】

(VII. スクリーニング)

動物、細胞、または試薬 (例えば、ビーズまたはウェル) を含むアッセイが、CD20、CD200R、およびCD200とCD200Rとの間の相互作用を調節する因子をスクリーニングするために企図される。例えば、Steinitz (2000) Analyt. Biochem. 232 ~ 238; Gastら (1999) Analyt. Biochem. 276: 227 ~ 241; Kaiserら (2000) Analyt. Biochem. 282: 173 ~ 185; ならびに米国特許第6, 176, 962号および同第6, 517, 234号を参照のこと。

10

【0057】

細胞または動物は、スクリーニングの際のその使用を容易にするために、例えば、CD200Rを発現するように操作され得る。発現は、例えば、ハイブリダイゼーションをベースにした技術 (Ausubelら (2001) Curr. Protocols Mol. Biol., 第4巻, John Wiley and Sons, New York, NY, 25.0.1 ~ 25B.2.20頁; Ausubelら (2001) Curr. Protocols Mol. Biol., 第3巻, John Wiley and Sons, New York, NY, 14.0.1 ~ 14.14.8頁; Liuら (2002) Analyt. Biochem. 300: 40 ~ 45; Huangら (2000) Cancer Res. 60: 6868 ~ 6874; Wittwerら (1997) Biotechniques 22: 130 ~ 138; Schmittgenら (2000) Analyt. Biochem. 285: 194 ~ 204; Heidら (1996) Genome Res. 6: 989 ~ 994) によって測定され得る。ポリペプチドは、例えば、抗体ベースの技術によって検出され得る。例えば、HarlowおよびLane (前出)、553 ~ 612頁; Simsら (2000) Analyt. Biochem. 281: 230 ~ 232を参照のこと。

20

【0058】

(VIII. 治療組成物)

例えば、結合組成物、結合化合物、または抗体の処方物は、例えば、所望の純度を有する抗体を、凍結乾燥した固形形態または水性溶液形態の最適な生理学的に受容可能なキャリア、賦形剤、または安定化剤と混合することによって調製される。例えば、Hardmanら (2001) Goodman and Gilman's the Pharmacological Basis of Therapeutics, McGraw-Hill, New York, NY; およびGennaro (2000) Remington: The Science and Practice of Pharmacy, Lippincott, Williams, and Wilkins, New York, NY; Avisら (編) (1993) Pharmaceutical Dosage Forms: Parenteral Medications, Marcel Dekker, NY; Liebermanら (編) (1990) Pharmaceutical Dosage Forms: Tablets, Marcel Dekker, NY; およびLiebermanら (編) (1990) Pharmaceutical Dosage Forms: Disperse Systems, Dekker, NYを参照のこと。本発明の治療剤および薬剤は、例えば、抗炎症性剤、化学的治療剤または化学的予防剤と合わせられ得るか、またはこれらとともに使用され得る。

30

40

【0059】

受容可能なキャリア、賦形剤、緩衝剤、安定化剤、および界面活性剤が、記載される。例えば、米国特許第6, 342, 220号; 同第5, 440, 021号; 同第6, 096

50

, 728号およびWeinerおよびKotkoskie(2000)Excipient Toxicity and Safety、Marcel Dekker、Inc.、New York、NYを参照のこと。

【0060】

治療抗体組成物は、一般的に、無菌のアクセスポート(access port)を有する容器(例えば、皮下注射針による貫通が可能なストッパーを有する静脈の溶液バックまたはバイアル)中に配置される。抗体投与の経路は、例えば、静脈経路、腹腔内経路、脳内経路、筋内経路、眼内経路、動脈内経路、脳脊髄内経路、病変内経路、または肺経路による注射または注入であるか、あるいは叙放系による。叙放系が記載される。例えば、Sidmanら(1983)Biopolymers、22:547~556; Langerら(1981)J. Biomed. Mater. Res. 15:167~277; Langer(1982)Chem. Tech. 12:98~105; Epsteinら(1985)Proc. Natl. Acad. Sci. USA 82:3688~3692; Hwangら(1980)Proc. Natl. Acad. Sci. USA 77:4030~4034; 米国特許第6,350,466号および同第6,316,024号を参照のこと。

10

【0061】

治療的に使用されるべき抗体の「有効量」は、例えば、治療対象、投与経路、使用される抗体の型、および患者の状態に依存する。従って、最適な治療効果を得るための要求に応じて、療法士が投与量を滴定し、そして投与経路を改変することが必要である。代表的には、臨床家は、所望の効果を達成する投与量に到達するまで、抗体を投与する。この治療の進行は、従来のアッセイによって容易にモニターされる。

20

【0062】

例えば、炎症性障害または増殖性障害の処置または予防において、企図される方法によって、結合組成物は、処方され、調製され、そして良好な医事と一致する様式で投与される。この状況において考慮すべき因子としては、処置されるべき特定の障害、処置されるべき特定の哺乳類、個々の患者の臨床状態、障害の原因、抗体の送達部位、抗体の特定の型、投与方法、投与計画、および実務家に公知である他の因子が挙げられる。投与されるべき抗体の「治療上有効な量」は、このような考慮によって支配され、そして増殖性の障害を予防するか、寛解させるか、または処置するために必要な最小量である。このような量は、好ましくは、宿主に対して毒性である量より低い。

30

【0063】

一般的な提案として、非経口投与される抗体の初期の薬学的に有効な量は、1日あたり患者の体重量の約0.1 $\mu\text{g}/\text{kg}$ ~ 10 mg/kg 、通常は、0.1 $\mu\text{g}/\text{kg}/\text{日}$ ~ 1.0 $\text{mg}/\text{kg}/\text{日}$ であり、好ましくは、0.1 $\mu\text{g}/\text{kg}/\text{日}$ ~ 0.1 $\text{mg}/\text{kg}/\text{日}$ であり、より好ましくは、0.1 $\mu\text{g}/\text{kg}/\text{日}$ ~ 0.01 $\text{mg}/\text{kg}/\text{日}$ であり、そして最も好ましくは、0.1 $\mu\text{g}/\text{kg}/\text{日}$ か、またはそれ以下の範囲である。所望の投薬量は、抗体の単回のボラス投与、複数のボラス投与、または連続注入投与によって送達され得、実務家が達成を望む薬物動態学のパターンに依存する。しかし、上述されるように、これらの示唆される抗体量は、かなりの量の決定権に供される。適切な投薬量および計画を選択する際の重要な因子は、得られる結果である。

40

【0064】

(IX. 二次治療)

本発明は、CD200Rのアゴニストまたはアンタゴニストの、第二の因子(例えば、抗炎症剤、免疫抑制剤、または抗新生物剤)との併用の使用を企図する。抗炎症剤としては、例えば、ステロイドおよび非ステロイド性抗炎症剤(米国特許第6,294,170号(Booneらに発行); 米国特許第6,096,728号(Collinsらに発行); Hardmanら(2001)Goodman and Gilman's the Pharmacological Basis of Therapeutics、McGraw-Hill、New York、NY)が挙げられる。免疫抑制剤としては、

50

例えば、アゾチオプリン (az o t h i o p r i n e)、メルカプトプリン、およびメトトレキサートが挙げられる。抗新生物剤としては、例えば、5 - フルオロウラシル、メトトレキサート、シス - プラチン (c i s - p l a t i n)、ドキソルビシン (米国特許第 6 , 0 6 6 , 6 6 8 号 (H a u h e e r らに発行)) が挙げられる。

【 0 0 6 5 】

(X . キット)

企図される方法は、キットにおける使用について、(すなわち、スクリーニング目的または診断のために) 適応される。このキットは、C D 2 0 0 R に対する結合組成物の検出または定量における (例えば、薬学的組成物または生物学的サンプルにおける) 使用について、適応され得る。企図されるキットは、例えば、被験体または患者由来の肥満細胞に対する使用について、適用される。代表的には、このキットは、区画、因子、または使用もしくは廃棄の説明書、あるいはこれらの任意の組み合わせを有する。結合アッセイに適応したキットは、例えば、米国特許第 6 , 3 0 6 , 6 0 8 号 ; 同第 6 , 1 5 0 , 1 2 2 号 ; 同第 6 , 0 8 3 , 7 6 0 号 ; および同第 5 , 8 6 3 , 7 3 9 号に記載される。

10

【 0 0 6 6 】

(X I . 利用法)

本発明は、C D 2 0 0 R に特異的な結合組成物を使用して、免疫系の細胞 (例えば、肥満細胞、樹状細胞のような A P C、T 細胞、好中球、単球、またはマクロファージ) の不都合な機能に関連する障害を調節するための方法を、企図する。この結合組成物は、C D 2 0 0 R のアゴニストまたはアンタゴニストを含み得る。阻害レセプター (例えば、C D 2 0 0 R a (配列番号 2 または 6)) のアゴニストは、肥満細胞、樹状細胞のような A P C、T 細胞、好中球、単球、またはマクロファージの活性の阻害において有用である。活性化レセプター (例えば、C D 2 0 0 R b (配列番号 4、6、1 0 または 1 2)) のアンタゴニストもまた、肥満細胞、樹状細胞のような A P C、T 細胞、好中球、単球、またはマクロファージの活性の阻害において有用である。C D 2 0 0 R a のアンタゴニストまたは C D 2 0 0 R b のアゴニストは、感染および増殖の状態の処置のために、例えば、肥満細胞、樹状細胞のような A P C、T 細胞、好中球、単球、またはマクロファージを刺激するために有用である。

20

【 0 0 6 7 】

本発明の方法は、種々の免疫障害 (例えば、気道過敏性、アレルギー性鼻炎、喘息、気道炎、およびアナフィラキシー) を処置または診断するための、例えば、ペプチド、低分子、抗体、および抗体の抗原結合部位に由来する結合組成物の使用を企図する。例えば、Woodruff および Fahy (既出) ; Plaut (2 0 0 1) J . A m . M e d . A s s o c . 2 8 6 : 3 0 0 5 - 3 0 0 6 ; ならびに Marshall および Bienestock (1 9 9 4) C u r r . O p . I m m u n o l . 6 : 8 5 3 - 8 5 9 ; Luskkin および Luskkin (1 9 9 6) A m . J . T h e r . 3 : 5 1 5 - 5 2 0 を、参照のこと。

30

【 0 0 6 8 】

本発明の方法はまた、関節リウマチおよび皮膚障害 (乾癬およびアトピー性皮膚炎を含む) を処置または診断するために使用され得る。例えば、Miccan および Metcalfe (1 9 9 0) J . A l l e r g y C l i n . I m m u n o l . 8 6 : 6 7 7 - 6 8 3 ; Malone ら (1 9 8 7) A r t h r i t i s R h e u m . 3 0 : 1 3 0 - 1 3 7 ; Malfait ら (1 9 9 9) J . I m m u n o l . 1 6 3 : 6 2 7 8 - 6 2 8 0 ; Ackermann および Harvima (1 9 9 8) A r c h . D e r m a t o l . R e s . 2 9 0 : 3 5 3 - 3 5 9 ; Ackermann ら (1 9 9 9) B r i t . J . D e r m a t o l . 1 4 0 : 6 2 4 - 6 3 3 ; Askenase ら (1 9 8 3) J . I m m u n o l . 1 3 1 : 2 6 8 7 - 2 6 9 4 を、参照のこと。本方法はまた、消化管の炎症性疾患 (例えば、クローン病、潰瘍性大腸炎、過敏性大腸症候群) の処置または診断も企図する。例えば、Malaviya ら (1 9 9 5) A m . J . T h e r . 2 : 7 8 7 - 7 9 2 ; Jeziorska ら (2 0 0 1) J . P a t h o l . 1 9 4 : 4 8 4 - 4 9 2 ; S u

40

50

l l i v a n ら (2 0 0 0) N e u r o g a s t r o e n t e r o l . M o t i l i t y
1 2 : 4 4 9 ; N o l t e ら (1 9 9 0) G u t 3 1 : 7 9 1 - 7 9 4 ; R a i t h
e l ら (2 0 0 1) S c a n d . J . G a s t r o e n t e r o l . 3 6 : 1 7 4 - 1 7
9 を、参照のこと。本方法はまた、慢性的肝臓疾患および鬱血性心不全の処置における使
用も企図する (O ' K e e f f e ら (2 0 0 2) L i v e r T r a n s p l . 8 : 5 0 -
5 7 ; H a r a ら (2 0 0 2) J . E x p . M e d . 1 9 5 : 3 7 5 - 3 8 1) 。

【0069】

本発明はまた、脱髄または神経変性 (例えば、多発性硬化症、ギラン・バレー症候群、
アルツハイマー病、パーキンソン病、および癲癇) の処置または診断の方法も包含する (
P u r c e l l および A t t e r w i l l (1 9 9 5) N e u r o c h e m . R e s . 2 1 0 : 5 2 1 - 5 3 2 ; S e c o r ら (2 0 0 0) J . E x p . M e d . 1 9 1 : 8 1 3 -
8 2 2 ; D i n e s および P o w e l l (1 9 9 7) J . N e u r o p a t h o l . E x p . N e u r o l . 5 6 : 6 2 7 - 6 4 0 ; P u r c e l l および A t t e r w i l l (1 9 9 5) N e u r o c h e m . R e s . 2 0 : 5 2 1 - 5 3 2 ; D i e r s c h および
H i n r i c h s (1 9 8 9) J . I m m u n o l . 1 4 2 : 1 4 7 6 - 1 4 8 1) 。

【0070】

さらに、本発明は、ショーグレン症候群、移植拒絶および移植片拒絶、移植片対宿主病
(G V H D)、肥満細胞症を処置するかまたは診断する方法、ならびに血管新生を防ぐ方
法を、包含する (P e d e r s e n および N a u n t o f t e (2 0 0 1) E x p e r t
O p i n . P h a r m a c o t h e r . 2 : 1 4 1 5 - 1 4 3 6 ; K o n t t i n e n
ら (2 0 0 1) R h e u m a t o l . I n t . 1 9 : 1 4 1 - 1 4 7 ; M o u t s o p o
u l o u s a n d Y o u i n o u (1 9 9 1) C u r r . O p i n . R h e u m a t
o l . 3 : 8 1 5 - 8 2 2 , G o r c z y n s k i ら (2 0 0 0) C l i n . I m m u n
o l . 9 5 : 1 8 2 - 1 8 9 ; K o s k i n e n ら (2 0 0 0) T r a n s p l a n t
a t i o n 7 1 : 1 7 4 - 1 7 4 7 ; O ' K e e f f e ら (2 0 0 2) L i v e r T r
a n s p l . 8 : 5 0 - 5 7 ; L a j o i e ら (1 9 9 6) M o d . P a t h o l . 9 ;
1 1 1 8 - 1 1 2 5 ; P a r d o ら (2 0 0 0) V i r c h o w s A r c h . 4 3 7 :
1 6 7 - 1 7 2 ; Y o u s e m (1 9 9 7) H u m . P a t h o l . 2 8 : 1 7 9 - 1 8
2 ; ならびに L e v i - S c h a f f e r および W e j (1 9 9 7) C l i n . E x p .
A l l e r g y 2 7 (補遺) 1 : 6 4 - 7 0 ; T o m i t a ら (2 0 0 0) A n n . T
h o r a c . S u r g . 6 9 : 1 6 8 6 - 1 6 9 0 ; B r o c k o w および M e t c a l
f e (2 0 0 1) C u r r . O p i n . A l l e r g y C l i n . I m m u n o l . 1
: 4 4 9 - 4 5 4 ; H i r o m a t s u および T o d a (2 0 0 3) M i c r o s c . R
e s . T e c h . 6 0 : 6 4 - 6 9) 。

【0071】

本発明のさらに別の局面は、心血管疾患 (例えば、アテローム性動脈硬化) の処置また
は予防のために C D 2 0 0 R (例えば、配列番号 2) の活性を調節する方法を提供する。
免疫細胞 (例えば、肥満細胞、樹状細胞、好中球、単球、およびマクロファージ) は、ア
テローム性動脈硬化の病理学に寄与する。例えば、H u a n g ら (2 0 0 2) C a r d i
o v a s c . R e s 5 5 : 1 5 0 - 1 6 0 ; K e l l e y ら (2 0 0 0) M o l . M e
d . T o d a y 6 : 3 0 4 - 3 0 8 ; A i c h e r ら (2 0 0 3) C i r c u l a t i
o n 1 0 7 : 6 0 4 - 6 1 1 ; O z m e n ら (2 0 0 2) H i s t o l . H i s t o p
a t h o l 1 7 : 2 2 3 - 2 3 7 ; W a n d e r s ら (1 9 9 4) T r a n s p l . I
n t . 7 (補遺) 1 : S 3 7 1 - S 3 7 5 を、参照のこと。

【0072】

C D 2 0 0 R a (配列番号 2) のアンタゴニストまたは C D 2 0 0 R b (配列番号 4)
のアゴニストを提供し、細胞活性を刺激する (細菌感染、ウイルス感染、持続感染、外来
の多細胞生物による感染、癌の状態および腫瘍を攻撃し、そして創傷治癒を促進する) 方
法もまた、包含される。

【0073】

10

20

30

40

50

本発明の広範な範囲は、以下の実施例に関して最もよく理解される。これらの実施例は、本発明を特定の実施形態に限定することを意図しない。

【実施例】

【0074】

(I. 一般的方法)

動物およびヒトにおける、炎症状態の処置または診断のための方法が、記載される。例えば、Ackerman (1997) *Histological Diagnosis of Inflammatory Skin Disease*, 第2版、Lippincott, Williams, and Wilkins, New York, NY; Gallin, ら (1999) *Inflammation: Basic Principles and Clinical Correlates*, 第3版, Lippincott, Williams, and Wilkins, New York, NY; Geppetti および Holzer (1996) *Neurogenic Inflammation*, CRC Press, Boca Raton, FL; Nelson ら (2000) *Cytokines in Pulmonary Disease: Infection and Inflammation*, Marcel Dekker, Inc., New York, NY., ; O'Byrne (1990) *Asthma as an Inflammatory*; Parnham ら (1991) *Drugs in Inflammation (Agents and Actions (補遺) Vol. 32)* Springer Verlag, Inc., New York, NY; Benezra (1999) *Ocular Inflammation: Basic and Clinical Concepts*, Blackwell Science, Ltd., Oxford, UK を、参照のこと。

【0075】

分子生物学における標準的方法が、記載される (Maniatis ら (1982) *Molecular Cloning, A Laboratory Manual*, Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, NY; Sambrook および Russell (2001) *Molecular Cloning*, (第3版) Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, NY; Wu (1993) *Recombinant DNA*, Vol. 217, Academic Press, San Diego, CA)。標準的方法はまた、Ausbel ら (2001) *Current Protocols in Molecular Biology*, Vols. 1-4, John Wiley and Sons, Inc. New York, NY (細菌細胞におけるクローニングおよびDNA突然変異誘発 (Vol. 1)、哺乳動物細胞および酵母におけるクローニング (Vol. 2)、複合多糖およびタンパク質発現 (Vol. 3)、およびバイオフィーマティクス (Vol. 4) を記載する) でも記載される。

【0076】

タンパク質精製のための方法が記載され、これらとしては、免疫沈降法、クロマトグラフィー、電気泳動法、遠心分離法および結晶化が挙げられる (Coligan ら (2000) *Current Protocols in Protein Science*, Vol. 1, John Wiley and Sons, Inc., New York)。化学分析、化学修飾、転写後修飾、およびタンパク質の糖鎖形成は、記載される (Coligan ら (2000) *Current Protocols in Protein Science*, Vol. 2, John Wiley and Sons, Inc., New York)。ポリクローナル抗体およびモノクローナル抗体の産生、精製、および断片化が、記載される (Coligan ら (2001) *Current Protocols in Immunology*, Vol. 1, John Wiley and Sons, Inc., New York; Harlow および Lane (1999) *Usin*

g Antibodies, Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, NY; Harlowおよび Lane (既出))。

【0077】

リガンド/レセプター相互作用を特徴付けるための標準的技術が、利用され得る。例えば、Coliganら(2001) Current Protocols in Immunology, Vol. 4, John Wiley and Sons, Inc., New Yorkを、参照のこと。

【0078】

細胞および組織の培養における標準的技術が、記載される。例えば、Freshney (2000) Culture of Animal Cells: A Manual of Basic Technique, 第4版、Wiley-Liss, Hoboken, NJ; Masters (編)(2000) Animal Cell Culture: A Practical Approach, 第3版, Oxford Univ. Press, Oxford, UK; Doyleら(編)(1994) Cells and Tissue Culture: Laboratory Procedures, John Wiley and Sons, NY; Melamedら(1990) Flow Cytometry and Sorting, Wiley-Liss, Inc., New York, NY; Shapiro(1988) Practical Flow Cytometry, Liss, New York, NY; Robinsonら(1993) Handbook of Flow Cytometry Methods, Wiley-Liss, New York, NYを、参照のこと。

【0079】

関節炎、多発性硬化症、乾癬、およびリポ多糖類(LPS)誘導性炎症についての動物モデルが、利用可能である。例えば、LurosおよびWilliams(2001) Immunology 103:407-416; GriffithsおよびRemmers(2001) Immunol. Rev. 184:172-183; Beurler(2000) Curr. Opin. Immunol. 12:20-26; Campbellら(1998) J. Immunol. 161:3639-3644; Tompkinsら(2002) J. Immunol. 168:4173-4183; Hongら(1999) J. Immunol. 162:7480-7491を、参照のこと。

【0080】

例えば、抗原性フラグメント、シグナル配列およびリーダー配列、タンパク質の折り畳み、および機能的ドメインを決定するためのソフトウェアパッケージが、利用可能である。例えば、Vector NTI(登録商標) Suite (Informax, Inc., Bethesda, MD); GCG Wisconsin Package (Accelrys, Inc., San Diego, CA), および DeCypher(登録商標)(Time Logic Corp., Crystal Bay, Nevada); Menneら(2000) Bioinformatics 16:741-742を、参照のこと。また、公共の配列データベース(例えば、GeneBankなどから)も、使用した。

【0081】

(II. 肥満細胞の調製)

マウス肥満細胞培養物を、2~3週齢のC57BL/6マウスから樹立した。骨髓を、2~3匹のマウスの大腿骨から採取し、その後リン酸緩衝化食塩水(PBS)で3回洗浄した。細胞を、ピルビン酸ナトリウム、非必須アミノ酸、2-メルカプトエタノール、N-2-ヒドロキシエチルピペラジン-N'-2-エタンスルホン酸(HEPES)、グルタミン、10~15%ウシ胎児血清(Hyclone, Inc., Logan, UT)、100ng/mg rSCF、および100ng/mlのrIL-3で補充したDulbecco最小必須培地(MEM)15mlに再懸濁した。細胞を、T25フラスコ中にお

いて37℃でインキュベートした。非接着細胞を、1週間間隔で新鮮な培地でリフィードし、新しいフラスコに移した。2週間目に、培養培地に、5.0 ng/mlのIL-4で補充した。4週間目には、非接着細胞の大部分は、IgE FcRを発現する、代表的なマウス肥満細胞となることが予測される。4週間目から、細胞をrIL-3およびIL-4の補充のみで維持した。

【0082】

(III. CD200Rの分布)

RNA EASY (登録商標) RNA単離キット (Qiagen, Inc., Valencia, CA) を使用して、総RNAを、種々の細胞型および組織から単離した。RNAを、オリゴdTプライマーおよびMultiscribe (登録商標) 逆転写酵素 (Applied Biosystems, Inc., Foster City, CA) を用いて、逆転写した。cDNAを、CD200レセプターおよびユビキチンの発現について、Perkin Elmer ABI Prism 5700 (登録商標) 配列検出システム (Perkin Elmer, Inc., Wellesley, MA) を使用したTaqman (登録商標) PCRアッセイにより、分析した。標的遺伝子発現の定量を、ユビキチン発現に対応する値を基準化することにより、算出した。

10

【0083】

Taqman (登録商標) 分析の結果を、表1に示す。最高の発現を(+++)で表し、中程度の発現を(++)または(+)で表し、一方で、検出不可能な発現レベルとの境界線を(-)で表した。NDは、未測定を意味する。

20

【0084】

【表 1 - 1】

表 1

細胞または組織	ヒト CD200Ra (配列番号 1, 2)	ヒト CD200Rb (配列番号 3, 4)	マウス CD200Ra (配列番号 5, 6)	マウス CD200Rb (配列番号 7, 8)	マウス CD200Rc (配列番号 9, 10)	マウス CD200Rd (配列番号 11, 12)
肥満細胞	(++)	(+++)	(++)	(+++)	(+++)	(+++)
休止 骨髄由来の マクロファージ	ND	ND	(+++)	(+++)	(-)	(++)
LPS+IFNg+ IL-10で24時間 活性化された 骨髄由来 マクロファージ	ND	ND	(++)	(++)	(-)	(++)
脳 マクロファージ (小膠細胞)	ND	ND	(+)	(+)	(-)	(+)
活性化 小膠細胞	ND	ND	(+)	(++)	(-)	(++)
単球	(+)	(+,-)	ND	ND	ND	ND
樹状細胞	(+++)	(+++)	(+)	(++)	(+)	(+)
B 細胞	(+,-)	(+)	(+,-)	(+,-)	(-)	(+,-)
T 細胞 C57BL/6 TH1 活性化 プール	ND	ND	(+,-)	(+,-)	(-)	(-)
T 細胞 C57BL/6 TH2 活性化 プール	ND	ND	(++)	(++)	(+,-)	(+)
T 細胞 TH1 活性化プール	(-)	(-)	ND	ND	ND	ND
T 細胞 TH2 活性化プール	(+)	(-)	ND	ND	ND	ND
NK 細胞	(-)	(-)	ND	ND	ND	ND
内皮細胞	ND	ND	(-)	(+)	(-)	(-)
線維芽細胞	(-)	(+,-)	(-)	(-)	(-)	(-)
大動脈 アテローム性 動脈硬化症 モデル	ND	ND	(+++)	(+++)	(-)	(+++)

10

20

30

40

【 0 0 8 5 】

【表 1 - 2】

表 1(続き)

細胞または組織	ヒト CD200Ra (配列番号 1, 2)	ヒト CD200Rb (配列番号 3, 4)	マウス CD200Ra (配列番号 5, 6)	マウス CD200Rb (配列番号 7, 8)	マウス CD200Rc (配列番号 9, 10)	マウス CD200Rd (配列番号 11, 12)
結腸	(++)	(-)	(+)	(++)	(+,-)	(+)
肺	(++)	(++)	(+++)	(++)	(++)	(++)
肺 過敏性 間質性肺炎	(+++)	ND	ND	ND	ND	ND
線維芽細胞 過敏性 肺炎	(+++)	ND	ND	ND	ND	ND
好酸球性肉芽腫	(++)	ND	ND	ND	ND	ND
肺 特発性 肺線維症	(++)	ND	ND	ND	ND	ND
湿潤細胞 関節リウマチ	(+++)	ND	ND	ND	ND	ND
皮膚	(-)	(-)	(++)	(+)	(+)	(+)
脊髄 C57BL/6 INF α ノックアウト、 未処理	ND	ND	(+,-)	(+,-)	(-)	(-)
脊髄 C57BL/6 INF α ノックアウト EAE モデル	ND	ND	(+)	(+)	(-)	(++)
脾臓	ND	ND	(++)	(+)	(++)	(+)

(I V . C D 2 0 0 R と D a p 1 2 の 結 合)

C D 2 0 0 レセプターの D a p 1 2 との結合を確認するため、C D 2 0 0 レセプターを、以前に以下の F L A G タグ化分子 (D a p 1 2 、 D a p 1 0 、 F c R 、または C D 3 -) の 1 つでトランスフェクトした B a f 細胞株に、レトロウイルスベクターにより導入した。F L A G タグ化分子は、適切な対合パートナー分子と安定的に結合する場合、細胞表面上でのみ発現される。マウス C D 2 0 0 R c (配列番号 1 0) またはマウス C D 2 0 0 R d (配列番号 1 2) をこれらのトランスフェクト体の中に導入した場合、F L A G タグ化 D a p 1 2 のみがレスキューされ、C D 2 0 0 レセプターが D a p 1 2 と特異的に対になることを示した。

【 0 0 8 6 】

(V . C D 2 0 0 R の アゴニスト抗体)

エピトープタグ化 C D 2 0 0 R 分子を、正常マウス肥満細胞に、安定的に導入した。次いで、これらの C D 2 0 0 R を、種々のエピトープタグに特異的なモノクローナル抗体と直接に結合させた。その後、抗タグ抗体を交差結合させ、または交差結合させずに、肥満細胞の脱顆粒、サイトカイン分泌、および増殖を、モニターした。C D 2 0 0 R a の誘発は、休止肥満細胞に対して効力を有さないが、しかし、D a p 1 2 と対になる C D 2 0 0 レセプター (すなわち、活性化 C D 2 0 0 R) の誘発は、有意の、肥満細胞脱顆粒、サイトカイン分泌、および自己分泌依存性増殖を引き起こした。

【 0 0 8 7 】

エピトープタグ化 C D 2 0 0 R a を、正常肥満細胞内に安定的に導入した。エピトープ

タグをさらに含むCD200Ra(配列番号6)を、CD200 Ig融合タンパク質またはエピトープタグに対するモノクローナル抗体と結合させる一方で、IgE抗体でFcRIを活性化させた。次いで、肥満細胞を、脱顆粒、サイトカイン分泌、および増殖応答について、モニターした。幾つかの実験において、CD200RaおよびFcRIを、二次抗体によって共連結させた。これらの結果は、CD200Raが肥満細胞においてFcRI依存性応答を阻害し得る阻害性レセプターであることを、実証した。

【0088】

関連の研究において、マウスCD200Ra(配列番号6)に特異的なモノクローナル抗体を、抗タグ抗体の代わりに使用した。マウス肥満細胞を用いたこれらの研究における結果は、CD200Raが阻害性レセプターであることを、再び示した。

10

【0089】

ヒトCD200Raに特異的なモノクローナル抗体を、活性化肥満細胞を使用して、アゴニスト活性について試験した。抗huCD200Ra抗体(すなわち、DX136(rIgG2a)およびDX139(rIgM))を、ヒトCD200Raを発現するマウス肥満細胞を用いて脱顆粒および分泌における変化を評価することによって測定した際に、これらがCD200Raのアゴニストであることを見出した。アゴニスト活性を、IC50で表した。

【0090】

Fc領域に融合する2つのCD200細胞外ドメインを含む融合タンパク質をまた、アゴニスト活性(huCD200-Ig; muCD200-Ig)について試験した。これらの融合タンパク質は、変異(Fcの定常領域内のD265Aを使用し、huCD200-IgおよびmuCD200-Igの両方を作製する)を含み、Fcレセプター(FcRI)および補体に対する結合を防いだ(Idusogieら(2000)J. Immunol. 164: 4178-4184)。これらの融合タンパク質はまた、肥満細胞の脱顆粒およびサイトカイン分泌を阻害するシグナルも、送達した。

20

【0091】

血液細胞のFACS分析は、CD200Rを発現する白血球細胞の型を明らかにした(示した抗体により細胞をタグ化した)(表2)。レセプターの内在化を、共焦点顕微鏡により、測定した(Liuら(1998)Cancer Res. 58: 4055-4060; Leeら(2000)J. Pharmacol. Exp. Therapeutics 292: 1048-1052)(表2)。NDは、未測定を意味する。免疫組織化学(IHC)は、凍結アセトン固定化ヒト組織または凍結アセトン固定化マウス組織、あるいはホルマリン固定化、パラフィン包埋ヒト組織またはホルマリン固定化したパラフィン包埋マウス組織中の細胞を染色する、示したmAbの能力を言及する。

30

【0092】

【表 2】

表 2

ヒト CD200Ra (配列番号2) のアゴニスト						
名称	種 および アイソタイプ	アゴニスト 活性	生物検定 IC50	血液の FACS分析	IHC	レセプター インターナリ ゼーション
DX136	ラット IgG2a	有	10 nM	T細胞 + 単球 + 好中球 +++ 好塩基球 ++	有	無
DX138	ラット IgG2a	有	40 nM	T細胞 + 単球 + 好中球 +++ 好塩基球 ++	有	有
DX139	ラット IgM	強	0.01 nM	T細胞 + 好中球 +++ 好塩基球 +	有	無
DX142	ラット IgG1	有	0.5 nM	好中球 +	無	ND
DX147	ラット IgG1	有	0.2 nM	好中球 +	有	無
DX153	ラット IgG1	有	0.14 nM	T細胞 (+,-); 単球 (+); 好中球 (+++); 好塩基球 (+)		
huCD200-Ig	マウス IgG1	有	0.3 nM	ND	ND	ND
マウス CD200Ra (配列番号6) のアゴニスト						
名称	種 および アイソタイプ	アゴニスト 活性	生物検定 IC50	血液の FACS分析	IHC	レセプター インターナリ ゼーション
DX109	ラット IgG1	有	0.2 nM	T細胞 + 単球 ++ 好中球 +++	有	無
DX110	ラット IgG1	有、 DX109 より少ない	ND	ND	有	ND
muCD200-Ig	マウス IgG1	有	1.3 nM	ND	ND	ND

ヒト CD200Ra 分子を発現するマウス肥満細胞を、 $25 \mu\text{g}/\text{ml}$ のモノクローナル抗体で刺激し、マウス CD200Rd の Dap12 連結活性化レセプターを誘発して、その後に α -ヘキサミニダーゼの分泌を、1.0 時間にわたって測定した (表 2)。抗 CD200Ra 抗体または CD200-Ig 融合タンパク質のアゴニスト活性を、細胞インキュベーション混合物に抗 CD200Ra 抗体または CD200-Ig 融合タンパク質を加えて分泌阻害を決定することにより、評価した。インキュベーションを、 $0 \mu\text{g}/\text{ml}$ 、 $0.01 \mu\text{g}/\text{ml}$ 、 $0.03 \mu\text{g}/\text{ml}$ 、 $0.1 \mu\text{g}/\text{ml}$ 、 $0.3 \mu\text{g}/\text{ml}$ 、1

10

20

30

40

50

. 0 μ g / ml、3 . 0 μ g / ml、および9 . 0 μ g / mlの濃度の抗体またはCD 200 - Ig融合タンパク質の存在下で行った。コントロール細胞インキュベーションを、ラットアイソタイプコントロールmAb存在下で行った。

【0093】

これらの結果は、抗CD 200RaのそれぞれおよびCD 200 - Ig融合タンパク質での処理が、肥満細胞脱顆粒を阻害することを実証した。コントロールアイソタイプ抗体は、分泌に検出可能な影響を及ぼさなかった。しかし、試験化合物のそれぞれは、異なった効率（IC 50（表2）で決定される）で阻害した。より良いアゴニストの効果を有することに加え、抗体の効果はまた、Ig - 融合タンパク質の効果より、長く続いた。

【0094】

マウス肥満細胞を、抗原（TNF - キーホールリンペットヘモシアニン；KIH）を有するIgE抗TNFで刺激し、続けて、放出された - ヘキソサミニダーゼ（脱顆粒；Abs₄₀₅₋₆₅₀）およびサイトカイン（分泌）をアッセイした（図1～2）。脱顆粒シグナル（IgEおよびTNF）を、示した濃度で使用した。DX109モノクローナル抗CD 200R抗体（mAb）およびコントロールラットIgG1 mAbを、肥満細胞活性の阻害におけるこれらの効果について、試験した。DX109mAbまたはラットIgG1 mAbを、一定濃度（13 nM）で加えた。アッセイしたサイトカインは、IL - 13および腫瘍壊死因子（TNF）（図1～2）であった。ヘキソサミニダーゼ放出によって評価される脱顆粒を、調べた（図1）。コントロールラットIgG1を加えた場合、刺激物質濃度の増加に続けてヘキサソミニダーゼ放出が増加した（図1、黒四角、上側の曲線）が、一方、DX109mAbの添加を含むインキュベーションは、刺激物質の最高レベルにおける場合を除き、比較的低いレベルのヘキソサミニダーゼ放出を有した（図1、黒三角、下側の曲線）。刺激物質の増加は、IL - 13（図2、黒丸）およびTNF（図2、黒四角）の分泌の増加を生じ、ここで、両サイトカインの分泌は、DX109モノクローナル抗体によって阻害された。これらの結果は、抗CD 200R抗体が脱顆粒およびサイトカイン分泌に効果的であることを、実証する。

【0095】

（VI．阻害レセプターと活性化レセプターの架橋）

ヒト肥満細胞による脱顆粒および分泌を、抗IgEレセプター抗体（IgEレセプターに結合する）の添加、抗CD 200R抗体（CD 200Ra（配列番号2）に結合する）の添加、およびヤギ抗マウスF（ab'）₂（抗IgE抗体（IgEレセプターに結合している）と抗CD 200R抗体（CD 200Rに結合している）とに同時に結合する）を含むプロトコールによって測定した。コントロール実験は、本プロトコールの変更を含んだ。

【0096】

臍帯血細胞の全体を、幹細胞刺激因子（SCF）およびIL - 6を補充したYssel培地中で4～6週間培養し、ヒト肥満細胞を産生した。IL - 4およびIgEを、さらなる2週間にわたって、培養物に加えた。次いで、細胞を、96ウェル平底プレート内に10⁶細胞/ウェルでプレートした。次いで、阻害抗体（抗CD 200Ra抗体）またはコントロール抗体（マウスIg）を、加えた。20分のインキュベーション後、抗IgEレセプター抗体を、20 ng / mlの濃度まで加えた。さらなる20分のインキュベーション後、ウェルを洗浄し、架橋剤（cross linker）（ヤギ抗マウス抗体）を加えた。混合物を1時間インキュベートし、上清を除去し、脱顆粒アッセイ（トリプターゼ放出により評価する）のために使用した。トリプターゼアッセイを、基質N - ベンジル - DL - アルギニンp - ニトロアニリド塩酸塩（BAPNA）を用い、405～570 nmでの色測定によって、行った。

【0097】

脱顆粒（トリプターゼ放出）は、抗IgEレセプター抗体およびコントロール抗体（マウスIg）の添加で、最大である。最大トリプターゼ放出は、これらの条件下で、Abs₄₀₅₋₅₇₀ = 0 . 44 - 0 . 51となった。抗CD 200Ra抗体とのインキュベ

10

20

30

40

50

ションにおいて、抗CD200Ra抗体の滴定レベルを使用した（0～1000 ng/ml抗CD200Ra抗体）。異なったレベルの抗体を、別々のインキュベーション混合物中で使用した。増加するレベルの抗CD200Ra抗体は、トリプターゼ放出の進行性の阻害をもたらした（ここで、最大の阻害（ $Ab_{s405-570} = 0.05$ ）は、約1000 ng/ml抗CD200Ra抗体で生じた）。中間レベルの抗CD200Ra抗体（200 ng/ml）は、トリプターゼ放出を、最大トリプターゼ放出のレベルの約25%まで阻害した。これらの結果は、CD200RaのIgEレセプターとの架橋が、ヒト肥満細胞において、IgEレセプター依存性脱顆粒を妨げることを実証した。

【0098】

種々の阻害レセプター（CD200Ra（配列番号2）以外）の、FcRIとの架橋もまた、肥満細胞活性を阻害した。調べた阻害レセプターは、DSP-1およびLAIR-1であった。抗DSP-1抗体および抗LAIR-1抗体を、それぞれDSP-1またはLAIR-1のアゴニストとして使用した。脱顆粒（トリプターゼ放出）は、抗IgEレセプター抗体＋コントロール抗体（マウスIg）の添加で、最大であった。このような条件下の最大のトリプターゼ放出は、 $Ab_{s405-570} = 0.05$ となった。別々のインキュベーション混合物中の異なったレベルの抗DSP-1抗体に対し、抗DSP-1抗体の滴定レベル（0～1000 ng/ml抗DSP-1抗体）を使用した。増加するレベルの抗DSP-1抗体は、トリプターゼ放出の進行性の阻害をもたらした（ここで、最大の阻害（ $Ab_{s405-570} = 0.08$ ）は、約40 ng/ml抗DSP-1抗体およびより高い抗DSP-1抗体濃度において生じた）。中間濃度の抗DSP-1抗体（約8 ng/ml）は、最大トリプターゼ放出の25%を生じた。これらの結果は、DSP-1のIgEレセプターとの架橋が、IgEレセプター依存性脱顆粒を妨げることを実証した。

【0099】

阻害レセプターLAIR-1に関する研究において、抗LAIR-1抗体を、0 ng/mlまたは50 ng/mlで使用した。インキュベーションが、活性化抗体（抗IgEレセプター抗体）のみを含む場合、トリプターゼ放出は、約 $Ab_{s405-570} = 0.69$ （最大値と規定される）であった。インキュベーションが、活性化抗体（抗IgEレセプター）、抗LAIR-1抗体（50 ng/ml）、および架橋剤を含む場合、トリプターゼ放出は阻害され、そして阻害されたレベルのトリプターゼ放出は、最大値の約10%（ $Ab_{s405-570} = 0.07$ ）であった。活性化抗体を含まないコントロールインキュベーションは、非常に少ないトリプターゼ放出を生じた（ $Ab_{s405-570} = 0.06$ ）。これらの結果は、LAIR-1のIgEレセプターとの架橋が、IgEレセプター依存性脱顆粒を妨げることを実証した。

【0100】

（VII. インビボでの肥満細胞脱顆粒の防止）

CD200Ra分子の闘争性（agonism）が、インビボでもまた、肥満細胞の脱顆粒を妨げ得るか否かを決定するため、受動皮膚アナフィラキシー（PCA）を、使用した。5匹の30 g CDIマウスの群のマウスそれぞれに、100 μgのDX109（ラット抗muCD200Ra mAb）を静脈注射した。5匹の30 g CDIマウスの第2群のマウスそれぞれに、100 μgのラットIgG1コントロールmAbを静脈注射した。1時間後、10匹全てのマウスの背中を剃り、そしてマウスIgE抗DNP mAbを、20 μlの容量で、1匹のマウスにつき3箇所、1箇所につきIgEをそれぞれ10、20または40 ng、皮内（i.d.）注射した。24時間後、全てのマウスに抗原（DNP-HSA）混合物およびEvans' blue色素を、静脈内に与えた。注射した抗原が、皮膚肥満細胞に結合するIgEに結合して架橋する場合、脱顆粒が生じ、ヒスタミンのような媒介物の放出を導き、この媒介物が血管浮腫を引き起こし、血液から皮膚への青色色素の移動を可能にし、皮膚上に青色の斑が現れる。青色斑の大きさは、皮膚内のその部位に注射したIgEの量に比例する。100 μgのコントロールIgG1 mAbを受けたマウスにおいて、PCA反応が進行し、5匹のマウス全てに青色斑が現れ、40 n

g の I g E を注射した部位に最大の斑が、10 ng の I g E を注射した部位に最小の斑が現れた。D X 1 0 9 抗 C D 2 0 0 R a m A b を受けたマウスにおいて、注射されたどの濃度の I g E においても、青色斑は現れなかった。従って、インビトロ研究のように、D X 1 0 9 m A b は、インビボの皮膚肥満細胞に阻害性シグナルを送達し、脱顆粒を防止した。

【0101】

(V I I I . 抗 C D 2 0 0 R a 抗体を用いたコラーゲン誘導性関節炎 (C I A) の処置)

マウスにおいて C I A を誘導し、その後に抗 C D 2 0 0 R a 抗体 (D X 1 0 9 m A b) またはコントロール I g G 抗体で処置した。雌性の B 1 0 R I I I マウス (8 ~ 10 週齢) を、フロイント完全アジュバント (C F A) において、ウシ I I 型コラーゲンで処置した (J i r h o l t ら (1998) E u r . J . I m m u n o l . 28 : 3321 - 3328)。0 日目に、マウスを、C F A 中のウシ I I 型コラーゲンの 1 用量で処置した。7 日目に抗体投与を開始し、抗体を、1 週間間隔で投与した。D X 1 0 9 抗体およびコントロール I g G の用量は、7 日目および 14 日目に腹腔内に 1 m g、21 日目および 28 日目に皮下に 1 m g であった。疾患の等級付けを、14 日目に開始し、45 日目まで続けた。実験マウスに D X 1 0 9 を与え、一方、コントロールマウスにはコントロール I g G を与えた。

【0102】

C I A を、パーセント単位の累積性の発生率により、評点した。コントロール群は、以下を示した：t = 14 ~ 18 日から 0 % スコア；t = 19 ~ 20 日で 40 % スコア；t = 21 ~ 30 日で 60 % スコア；および t = 31 ~ 44 日で 80 % スコア。D X 1 0 9 処置群は、以下を示した：t = 14 ~ 24 日から 0 % スコアおよび t = 25 ~ 44 日で 20 % スコア。従って、D X 1 0 9 処置はより低いスコアおよび C I A からの開放を生じる。

【0103】

C I A を、臨床スコア平均 (M C S) (H o e k ら (既出)) によってもまた、評点した。コントロール群は、以下を示した：t = 14 ~ 19 日で M C S = 0；t = 20 ~ 21 日で M C S = 1；t = 22 ~ 31 日で M C S = 約 - 2；この後、M C S = 約 - 4.5 まで漸進的に増加し、M C S = 約 - 4.5 は 31 ~ 44 日目で生じる。D X 1 0 9 処置群は、以下を示した：14 ~ 24 日目で M C S = 0；25 ~ 26 日目で M C S = 0.2；27 ~ 34 日目で M C S = 0.5；35 ~ 42 日目で M C S = 0.2；43 ~ 44 日目で M C S = 0.5。再び、この結果は、D X 1 0 9 処置がより低いスコアおよび C I A からの開放を生じることを、実証する。

【0104】

(I X . L P S 誘導性内毒血症に対する抗 C D 2 0 0 R 抗体の効果)

L P S 処置によりマウスにおいて内毒血症を誘導し、その後、抗 C D 2 0 0 R 抗体 (D X 1 0 9) またはコントロール抗体での処置、および生存率の評価を、行った。L P S 用量を、毒性およびマウスの死を引き起こすために十分な毒性を提供するために、調節する一方で、抗体が生存を増加するのを妨げる飽和レベルを回避した。マウスは、C 5 7 B L / 6 系統であった。マウスに、0.5 m g の抗体を (腹腔内で)、2 回の時点で (すなわち、L P S より 1 時間前および L P S と同時に) 与えた。抗 C D 2 0 0 R 抗体処置マウスは、種々の時点で、コントロール群と比較してより高い生存率を示した。この結果は、抗 C D 2 0 0 R 抗体が、マウスを L P S 誘導性毒性から保護することを実証した。

【0105】

(X . ヒト皮膚における C D 2 0 0 R a の分布)

C D 2 0 0 R a は、ラット抗 C D 2 0 0 R a によって緑色に可視化し、そして A l e x a F l u o r (登録商標) - 488 (M o l e c u l a r P r o b e s , E u g e n e , O R) 含有のヤギ抗ラットでタグ化した。肥満細胞を、マウス抗 C D 117 (肥満細胞のマーカー) で赤色に可視化し、そして A l e x a F l u o r (登録商標) - 594 (M o l e c u l a r P r o b e s , E u g e n e , O R) 含有ヤギ抗マウスでタグ化

10

20

30

40

50

した。抗CD117での染色は、分散した一群の赤色の斑点の配列を明らかにした。両抗体での染色は、抗CD200Ra保有細胞の約1/3が肥満細胞であることを示した。

【0106】

正常ヒト皮膚もまた、マクロファージ上でのCD200Ra（配列番号2）の局在化について試験した。CD200Raを、緑色にタグ化された抗CD200Raによって染色することにより、位置決定した。マクロファージを、赤色にタグ化された抗CD11b抗体によって位置決定した。抗体単独または両方一緒の抗体いずれかでの染色は、マクロファージの大半がCD200Raを発現することを実証した。

【0107】

正常ヒト皮膚および乾癬皮膚を、抗CD200Ra（DX136）でプローブし、西洋ワサビペルオキシダーゼ（HRP）で染色し、そして可視光下で検査した。この結果は、乾癬の皮膚が、正常な皮膚と比較して、真皮および表皮の両方で豊富に染まることを示した。乾癬の皮膚は、CD200Ra⁺細胞の大型の塊を含んだ（これらの細胞はT細胞および骨髄性細胞からなるようであった）。

【0108】

（配列識別子）

配列番号1は、ヒトCD200Ra核酸である。

配列番号2は、ヒトCD200Raポリペプチドである。

配列番号3は、ヒトCD200Rb核酸である。

配列番号4は、ヒトCD200Rbポリペプチドである。

配列番号5は、マウスCD200Ra核酸である。

配列番号6は、マウスCD200Raポリペプチドである。

配列番号7は、マウスCD200Rb核酸である。

配列番号8は、マウスCD200Rbポリペプチドである。

配列番号9は、マウスCD200Rc核酸である。

配列番号10は、マウスCD200Rcポリペプチドである。

配列番号11は、マウスCD200Rd核酸である。

配列番号12は、マウスCD200Rdポリペプチドである。

配列番号13は、ラットCD200R核酸である。

配列番号14は、ラットCD200Rポリペプチドである。

【0109】

本明細書中の全ての引用は、各々個別の刊行物、特許出願または特許が、全ての図面を含めて具体的かつ個別に参考として援用されることを示されるのと同じ程度に、本明細書中で参考として援用される。

【0110】

当業者に明らかであるように、本発明の目的、精神および範囲を保護するために、特定の状況、物質、組成物、プロセス、工程に適合させるように、本発明の多くの改変および変更が、なされ得る。このような全ての改変は、本発明の精神および範囲から逸脱することなく、本明細書に添付の特許請求の範囲の範囲内にあることが、意図される。本明細書中に記載される特定の実施形態は、ほんの一例として提供されたに過ぎず、そして本発明は、添付の特許請求の範囲によって、これらの特許請求の範囲に与えられる権利と等価の全ての範囲と共に限定される；そして本発明は、本明細書中で例として示されている特定の実施形態に限定されるべきではない。

【図面の簡単な説明】

【0111】

【図1】図1は、 - ヘキソサミニダーゼの分泌対脱顆粒シグナルの濃度を示す。

【図2】図2は、サイトカイン放出対脱顆粒シグナルの濃度を示す。

【配列表】

SEQUENCE LISTING

<110> Schering Corporation

<120> Methods of modulating CD200 receptors

<130> DX01550K WI

<150> 60/364,513

<151> 2002-03-15

<160> 14

<170> PatentIn version 3.1

<210> 1

<211> 2255

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<400> 1

cagagaaaag cttctgttcg tccaagttac taaccaggct aaaccacata gacgtgaagg	60
aaggggctag aaggaagga gtgcccact gttgatggg taagaggatc ctgtactgag	120
aagttgacca gagagggtct caccatgcgc acagttcctt ctgtaccagt gtggaggaaa	180
agtactgagt gaagggcaga aaaagagaaa acagaaatgc tctgcccttg gagaactgct	240
aacctagggc tactgttgat ttgtactatc ttcttagtgg ccgaagcgga ggggtgctgt	300
caaccaaaca actcattaat gctgcaaaact agcaaggaga atcatgcttt agcttcaagc	360
agtttatgta tggatgaaaa acagattaca cagaactact cgaaagtact cgcagaagtt	420
aacacttcat ggcctgtaaa gatggctaca aatgctgtgc tttgttgccc tcctatcgca	480
ttaagaaatt tgatcataat aacatgggaa ataatcctga gaggccagcc ttctgcaca	540
aaagcctaca ggaaagaaac aaatgagacc aaggaaacca actgtactga tgagagaata	600
acctgggtct ccagacctga tcagaattcg gaccttcaga ttctgccagt ggccatcact	660
catgacgggt attacagatg cataatggta acacctgatg ggaatttcca tcgtggatat	720
cacctccaag tgtagttac acctgaagtg acctgtttc aaaacaggaa tagaactgca	780
gtatgcaagg cagttgcagg gaagccagct gcgcagatct cctggatccc agagggcgat	840
tgtgccacta agcaagaata ctggagcaat ggcacagtga ctgttaagag tacatgccac	900
tgggaggtcc acaatgtgtc taccgtgacc tgccacgtct cccatttgac tggcaacaag	960
agtctgtaca tagagctact tcctgttcca ggtgocaaaa aatcagcaaa attatatatt	1020
ccatatatca tccttactat tattattttg accatcgtgg gattcatttg gttgttgaaa	1080
gtcaatggct gcagaaaaata taaattgaat aaaacagaat ctactccagt tgttgaggag	1140
gatgaaatgc agccctatgc cagctacaca gagaagaaca atcctctcta tgatactaca	1200

10

20

30

40

aacaagggtga aggcattctca ggcattacaa agtgaagttg acacagacct ccatacttta 1260
taagttgttg gactctagta ccaagaaaca acaacaaacg agatacatta taattactgt 1320
ctgattttct tacagttcta gaatgaagac ttatatgaa attaggtttt ccaaggttct 1380
tagaagacat ttaaatggat tctcattcat acccttgtat aattggaatt ttgtattctt 1440
agctgctacc agctagttct ctgaagaact gatgttatta caaagaaaat acatgcccat 1500
gaccaaatat tcaaattgtg caggacagta aataatgaaa accaaatttc ctcaagaaat 1560
aactgaagaa ggagcaagtg tgaacagttt cttgtgtatc ctttcagaat attttaatgt 1620
acatatgaca tgtgtatatg cctatggat atgtgtcaat ttatgtgtcc ccttacatat 1680
acatgcacat atctttgtca aggcaccagt gggaacaata cactgcatta ctgttctata 1740
catatgaaaa cctaataata taagtcttag agatcatttt atatcatgac aagtagagct 1800
acctcattct ttttaatggg tatataaaat tccattgtat agttatatca ttatttaatt 1860
aaaaacaacc ctaatgatgg atatttagat tcttttaagt ttgtttatt tcttttaagt 1920
tttgtttgtg gtataaaca taccacatag aatgtttctt gtgcataat ctctttgttt 1980
ttgagtatat ctgtaggata actttcttga gtggaattgt caggtc aaag ggtttgtgca 2040
ttttactatt gatatatatg ttaattgtg tcaaatatat atgtcaaatt cctccaaca 2100
ttgtttaaat gtgcctttcc ctaaaattct attttaataa ctgtactatt cctgcttcta 2160
cagttgccac ttctctttt taatcaacca gattaaatat gatgtgagat tataataaga 2220
attatactat ttaataaaaa tggatttata ttttt 2255

10

20

<210> 2
<211> 348
<212> PRT
<213> Homo sapiens

<400> 2

Met Leu Cys Pro Trp Arg Thr Ala Asn Leu Gly Leu Leu Leu Ile Leu
1 5 10 15

30

Thr Ile Phe Leu Val Ala Glu Ala Glu Gly Ala Ala Gln Pro Asn Asn
20 25 30

Ser Leu Met Leu Gln Thr Ser Lys Glu Asn His Ala Leu Ala Ser Ser
35 40 45

Ser Leu Cys Met Asp Glu Lys Gln Ile Thr Gln Asn Tyr Ser Lys Val
50 55 60

Leu Ala Glu Val Asn Thr Ser Trp Pro Val Lys Met Ala Thr Asn Ala

40

65 70 75 80
 Val Leu Cys Cys Pro Pro Ile Ala Leu Arg Asn Leu Ile Ile Ile Thr
 85 90 95
 Trp Glu Ile Ile Leu Arg Gly Gln Pro Ser Cys Thr Lys Ala Tyr Arg
 100 105 110
 Lys Glu Thr Asn Glu Thr Lys Glu Thr Asn Cys Thr Asp Glu Arg Ile
 115 120 125
 Thr Trp Val Ser Arg Pro Asp Gln Asn Ser Asp Leu Gln Ile Arg Pro
 130 135 140
 Val Ala Ile Thr His Asp Gly Tyr Tyr Arg Cys Ile Met Val Thr Pro
 145 150 155 160
 Asp Gly Asn Phe His Arg Gly Tyr His Leu Gln Val Leu Val Thr Pro
 165 170 175
 Glu Val Thr Leu Phe Gln Asn Arg Asn Arg Thr Ala Val Cys Lys Ala
 180 185 190
 Val Ala Gly Lys Pro Ala Ala Gln Ile Ser Trp Ile Pro Glu Gly Asp
 195 200 205
 Cys Ala Thr Lys Gln Glu Tyr Trp Ser Asn Gly Thr Val Thr Val Lys
 210 215 220
 Ser Thr Cys His Trp Glu Val His Asn Val Ser Thr Val Thr Cys His
 225 230 235 240
 Val Ser His Leu Thr Gly Asn Lys Ser Leu Tyr Ile Glu Leu Leu Pro
 245 250 255
 Val Pro Gly Ala Lys Lys Ser Ala Lys Leu Tyr Ile Pro Tyr Ile Ile
 260 265 270
 Leu Thr Ile Ile Ile Leu Thr Ile Val Gly Phe Ile Trp Leu Leu Lys
 275 280 285
 Val Asn Gly Cys Arg Lys Tyr Lys Leu Asn Lys Thr Glu Ser Thr Pro
 290 295 300
 Val Val Glu Glu Asp Glu Met Gln Pro Tyr Ala Ser Tyr Thr Glu Lys
 305 310 315 320

10

20

30

40

Asn Asn Pro Leu Tyr Asp Thr Thr Asn Lys Val Lys Ala Ser Gln Ala
 325 330 335

Leu Gln Ser Glu Val Asp Thr Asp Leu His Thr Leu
 340 345

<210> 3
 <211> 1010
 <212> DNA
 <213> Homo sapiens

<400> 3 10
 atgggtggaa agcagatgac acagaactat tcaacaattt ttgcagaagg taacatttca 60
 cagcctgtac tgatggatat aaatgctgtg ctttgttgcc ctctatttgc attaagaaat 120
 ttgatcataa taacatggga aataatcttg agagccagc ctctctgcac aaaagcctac 180
 aagaaagaaa caaatgagac caaggaaacc aactgtactg ttgagagaat aacctgggtc 240
 totagacctg atcagaatgc ggaccttcag attcgtccgg tggacaccac tcatgacggg 300
 tattacagag gcatagtggg aacacctgat gggaatttcc atcgtggata tcacctcaa 360
 gtgttagtta caccgaagt gacccatattt caaagcagga atataactgc agtatgcaag 420
 gcagttacag ggaagccagc tgcccagatc tcttgatcc cagagggatc tattcttgcc 480
 actaagcaag aatactgggg caatggcaca gtgacgggta agagtacatg cccctgggag 540
 ggccacaagt ctactgtgac ctgccatgtc tccatttga ctggcaacaa gagtctgtcc 600
 gtaaagttga attcaggtct cagaacctca ggatctccag cgttgtcctt actgacatt 660
 ctttatgtga aactctctct ttttgtggtc attctgggtc ccacaggatt tgttttcttc 720
 cagaggataa atcatgtcag aaaagttctt taaagaagaa ggaaggggtct tcttttgctt 780
 ctctctcttg tctctggact gcaacattgg tgagatgagt gatgggccag cagtgaactt 840
 gggccatgga tgatgttaag gatagaagcc actcagtagg atagaagaaa agaaagatgg 900
 aagaaggatc ctgggcttga tgaccatgaa gtttcctat aaacctcaa ccacctattc 960
 attgacttct tttgtgttag agtgaataaa attttgttca tgccagtgtt 1010

10

20

30

<210> 4
 <211> 250
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

<400> 4

Met Gly Gly Lys Gln Met Thr Gln Asn Tyr Ser Thr Ile Phe Ala Glu
 1 5 10 15

40

Gly Asn Ile Ser Gln Pro Val Leu Met Asp Ile Asn Ala Val Leu Cys
 20 25 30
 Cys Pro Pro Ile Ala Leu Arg Asn Leu Ile Ile Ile Thr Trp Glu Ile
 35 40 45
 Ile Leu Arg Gly Gln Pro Ser Cys Thr Lys Ala Tyr Lys Lys Glu Thr
 50 55 60
 Asn Glu Thr Lys Glu Thr Asn Cys Thr Val Glu Arg Ile Thr Trp Val
 65 70 75 80
 Ser Arg Pro Asp Gln Asn Ser Asp Leu Gln Ile Arg Pro Val Asp Thr
 85 90 95
 Thr His Asp Gly Tyr Tyr Arg Gly Ile Val Val Thr Pro Asp Gly Asn
 100 105 110
 Phe His Arg Gly Tyr His Leu Gln Val Leu Val Thr Pro Glu Val Asn
 115 120 125
 Leu Phe Gln Ser Arg Asn Ile Thr Ala Val Cys Lys Ala Val Thr Gly
 130 135 140
 Lys Pro Ala Ala Gln Ile Ser Trp Ile Pro Glu Gly Ser Ile Leu Ala
 145 150 155 160
 Thr Lys Gln Glu Tyr Trp Gly Asn Gly Thr Val Thr Val Lys Ser Thr
 165 170 175
 Cys Pro Trp Glu Gly His Lys Ser Thr Val Thr Cys His Val Ser His
 180 185 190
 Leu Thr Gly Asn Lys Ser Leu Ser Val Lys Leu Asn Ser Gly Leu Arg
 195 200 205
 Thr Ser Gly Ser Pro Ala Leu Ser Leu Leu Ile Ile Leu Tyr Val Lys
 210 215 220
 Leu Ser Leu Phe Val Val Ile Leu Val Thr Thr Gly Phe Val Phe Phe
 225 230 235 240
 Gln Arg Ile Asn His Val Arg Lys Val Leu
 245 250

10

20

30

<210> 5
 <211> 1624
 <212> DNA
 <213> Mus musculus

<400> 5
 aaaaccgaaa tgttttgctt ttggagaact tctgccctag cagtgcctctt aatatggggg 60
 gtctttgtgg ctgggtcaag ttgtactgat aagaatcaaa caacacagaa caacagttca 120
 tctcctctga cacaagtga cactacagtg tctgtacaga taggtacaaa ggcctctgctc 180
 tgctgctttt ctattccact gacaaaagca gtattaatca catggataat aaagctcaga 240
 ggcttgccat cctgcacaat agcatacaaa gtagatacaa agaccaatga aaccagctgc 300
 ttgggcagga acatcacctg ggcctccaca cctgaccaca gtcctgaact tcagatcagt 360
 gcagtgaccc tccagcatga ggggacttac acatgtgaga cagtaacacc tgaagggaat 420
 ttgaaaaaaa actatgacct ccaagtgcgt gtgccccctg aagtaacctt ctttccagag 480
 aaaaacagat ctgcagctctg tgaggcaatg gcaggcaagc ctgctgcaca gatctcttgg 540
 tctccagatg gggactgtgt cactacgagt gaatcacaca gcaatggcac tgtgaactgtc 600
 aggagcacat gccactggga gcagaacaat gtgtctgatg tgcctgcctt tgtctctcat 660
 ttgactggta accaatctct ccccatagaa ctgagtagag gtggtaacca atcattacga 720
 ccatatattc catacatcat accatcaatt atcattttga tcatcatagg atgcatttgt 780
 cttttgaaaa tcagtggctt cagaaaatgc aaattgcaa aattagaagc tacttcagct 840
 attgaggagg atgaaatgca gccttatgct agctatacag agaagagcaa tccactctat 900
 gatactgtga ctaagggtga ggcatttcca gtatcacaa gccaagtcaa tggcacagac 960
 tgccttactt tgtcgcccat tggaatctag aaccaagaaa aaagaagtca agagacatca 1020
 taattactgc tttgctttct ttaaaattcg acaatggaag gactacttgg aaattagctc 1080
 ttccaaagct attaaaaagc acaaatgttc taatgaaatt gcattttaat tctatcattg 1140
 gaagtttgga atctctgctg ctacctgtta attttaggaa gaactgattt aattattaca 1200
 aagaaagcac atggttatgg tgaaatatca agttgtgcaa taaagtatga tgaaaactga 1260
 gtttctcaa gaaataactg caggagggaac aatcatcaat aaagaatttc atgtgagttc 1320
 ttacaaaaaa attcctatgt atacatgact atggtatgtg tgtccaatta catgtttatt 1380
 tacaaatgtg tatatatgca cacatttgct ttccaggaca tctccttgta aaaaacacac 1440
 tggagttttg gatttataaa agcttataaa gtgagcattg gagatatttt tatatcagca 1500
 taagtaaatc tacctcatte tttttaatgg ctacatagaa ttctcctgta tgattacatt 1560
 gtaatttaat taatcatggc ccttgattt tgtgttgtgt gtggtattaa acaaaaccat 1620
 gtag 1624

10

20

30

40

<210> 6
 <211> 326
 <212> PRT
 <213> Mus musculus

<400> 6

Met Phe Cys Phe Trp Arg Thr Ser Ala Leu Ala Val Leu Leu Ile Trp
 1 5 10 15

Gly Val Phe Val Ala Gly Ser Ser Cys Thr Asp Lys Asn Gln Thr Thr
 20 25 30

Gln Asn Asn Ser Ser Ser Pro Leu Thr Gln Val Asn Thr Thr Val Ser
 35 40 45

Val Gln Ile Gly Thr Lys Ala Leu Leu Cys Cys Phe Ser Ile Pro Leu
 50 55 60

Thr Lys Ala Val Leu Ile Thr Trp Ile Ile Lys Leu Arg Gly Leu Pro
 65 70 75 80

Ser Cys Thr Ile Ala Tyr Lys Val Asp Thr Lys Thr Asn Glu Thr Ser
 85 90 95

Cys Leu Gly Arg Asn Ile Thr Trp Ala Ser Thr Pro Asp His Ser Pro
 100 105 110

Glu Leu Gln Ile Ser Ala Val Thr Leu Gln His Glu Gly Thr Tyr Thr
 115 120 125

Cys Glu Thr Val Thr Pro Glu Gly Asn Phe Glu Lys Asn Tyr Asp Leu
 130 135 140

Gln Val Leu Val Pro Pro Glu Val Thr Tyr Phe Pro Glu Lys Asn Arg
 145 150 155 160

Ser Ala Val Cys Glu Ala Met Ala Gly Lys Pro Ala Ala Gln Ile Ser
 165 170 175

Trp Ser Pro Asp Gly Asp Cys Val Thr Thr Ser Glu Ser His Ser Asn
 180 185 190

Gly Thr Val Thr Val Arg Ser Thr Cys His Trp Glu Gln Asn Asn Val
 195 200 205

10

20

30

Ser Asp Val Ser Cys Ile Val Ser His Leu Thr Gly Asn Gln Ser Leu
210 215 220

Ser Ile Glu Leu Ser Arg Gly Gly Asn Gln Ser Leu Arg Pro Tyr Ile
225 230 235 240

Pro Tyr Ile Ile Pro Ser Ile Ile Ile Leu Ile Ile Ile Gly Cys Ile
245 250 255

Cys Leu Leu Lys Ile Ser Gly Phe Arg Lys Cys Lys Leu Pro Lys Leu
260 265 270

10

Glu Ala Thr Ser Ala Ile Glu Glu Asp Glu Met Gln Pro Tyr Ala Ser
275 280 285

Tyr Thr Glu Lys Ser Asn Pro Leu Tyr Asp Thr Val Thr Lys Val Glu
290 295 300

Ala Phe Pro Val Ser Gln Gly Glu Val Asn Gly Thr Asp Cys Leu Thr
305 310 315 320

Leu Ser Ala Ile Gly Phe
325

20

<210> 7
<211> 1386
<212> DNA
<213> Mus musculus

<400> 7
agagggccagc cttcctgcat aatggcctac aaagtagaaa caaaggagac caatgaaacc 60
tgcttgggca ggaacatcac ctgggcctcc acacctgacc acattcctga ccttcagatc 120
agtgcggtgg cctccagca tgaggggaat tacttatgtg agataacaac acctgaaggg 180
aatttcata aagtctatga cctccaagtg ctggtgcccc ctgaagtaac ctactttctc 240
ggggaaaata gaactgcagt ttgtgaggca atggcaggca agcctgctgc acagatctct 300
tggaactccag atggggactg tgtcactaag agtgagtcac acagcaatgg cactgtgact 360
gtcaggagca cttgccactg ggagcagaac aatgtgtctg ctgtgtcctg cattgtctct 420
cattcgactg gtaatcagtc tctgtccata gaactgagta gaggtaccac cagcaccacc 480
ccttcttgc tgaccattct ctacgtgaaa atggtccttt tggggattat tcttcttaaa 540
gtgggatttg ctttcttcca gaagagaaat gttaccagaa catgaatctc cagatttctg 600
gaagctcatt agtctgatga cacataccag aaaacagcat ttgtaatcaa ctttctcatt 660
ggaatccagc ttaccogtcc ctgctgtctt catgtttgtt agacactcac ctccaaattc 720

30

40

ttaactgaga agggctcctg totaaaggaa atatggggac aaattgtgga gcatagacca 780
 aaagaaaggc catccagaga ctgcccacc taaggacca tccatatac agacaccaa 840
 cccagacact actgaagatg ctgcgaagcg tttgctgaca ggagcctgtt atagctgtct 900
 cctgagaggc tcagccagag cctgacaaat acataggtag atgcttgag ccaacaactg 960
 gactgagcaa aaaatctcca ttggaggagt tagagaaagg actgaagagg gtgaaagggt 1020
 ttgcagcccc ataggaagaa caacaatata aaccaaccag atctcccaga gctcccagg 1080
 actaaattac caaccaaagg ctacacatgg aaggacctat ggctccagct gcttggttag 1140
 cagtggatgg ccttggtggg catcagtgga aggagaaacc cttggtccag taaaggcttg 1200
 attccctagt gtaagagaat gccagggcag tgacgtggga gtgagtaggt aggaagcatc 1260
 ctcatagatg cagggaagaa gagaatggaa gaggggtatc tggaggggaa actggaaaag 1320
 gagacaacat ttgaaatgta aatacataaa atatccaata aaaaatgtac agttgccagt 1380
 catgtg 1386

<210> 8
 <211> 194
 <212> PRT
 <213> Mus musculus

<400> 8

Arg Gly Gln Pro Ser Cys Ile Met Ala Tyr Lys Val Glu Thr Lys Glu
 1 5 10 15

Thr Asn Glu Thr Cys Leu Gly Arg Asn Ile Thr Trp Ala Ser Thr Pro
 20 25 30

Asp His Ile Pro Asp Leu Gln Ile Ser Ala Val Ala Leu Gln His Glu
 35 40 45

Gly Asn Tyr Leu Cys Glu Ile Thr Thr Pro Glu Gly Asn Phe His Lys
 50 55 60

Val Tyr Asp Leu Gln Val Leu Val Pro Pro Glu Val Thr Tyr Phe Leu
 65 70 75 80

Gly Glu Asn Arg Thr Ala Val Cys Glu Ala Met Ala Gly Lys Pro Ala
 85 90 95

Ala Gln Ile Ser Trp Thr Pro Asp Gly Asp Cys Val Thr Lys Ser Glu
 100 105 110

10

20

30

40

Ser His Ser Asn Gly Thr Val Thr Val Arg Ser Thr Cys His Trp Glu
 115 120 125

Gln Asn Asn Val Ser Ala Val Ser Cys Ile Val Ser His Ser Thr Gly
 130 135 140

Asn Gln Ser Leu Ser Ile Glu Leu Ser Arg Gly Thr Thr Ser Thr Thr
 145 150 155 160

Pro Ser Leu Leu Thr Ile Leu Tyr Val Lys Met Val Leu Leu Gly Ile
 165 170 175

Ile Leu Leu Lys Val Gly Phe Ala Phe Phe Gln Lys Arg Asn Val Thr
 180 185 190

Arg Thr

<210> 9
 <211> 1354
 <212> DNA
 <213> Mus musculus

<400> 9
 ggcacgagtt acgatttgtg cttaacctga ctccactcca gatgcatgct ttggggagga 60
 ctctggcttt gatgttactc atcttcatca ctatttttgt gcttgagtca agttgttcag 120
 tgaaaggacg ggaggagatc ccaccggatg attcatttcc tttttcagat gataatatct 180
 tccctgatgg agtgggcgtc accatggaga ttgagattat cactccagtg tctgtacaga 240
 taggtatcaa ggctcagctt ttctgtcacc ctagtccacc aaaagaagca acacttagaa 300
 tatgggaaat aactcccaga gactggcctt cctgcagact accctacaga gcagagtgc 360
 agcagatcag taaaaaaatc tgtactgaga gaggaaccac taggggtccct gcacatcacc 420
 agagtcttga ccttccacc ccaatcaatgg cctcaagca tgatgggcat tactcatgtc 480
 ggatagaaac aacagatggg attttccaag agagacatag catccaagtg ccaggggaaa 540
 atagaactgt agtttgtgag gcaattgcaa gcaagcctgc tatgcagatc ttgtggactc 600
 cagatgagga ctgtgtcact aagagtaaata cacacaatga caccatgatt gtcaggagca 660
 agtgccacag ggagaaaaac aatggccaca gtgtgttctg ctttatctcc catttgactg 720
 ataactggat tcttccacc gaacagaatc gaggtacaac cagcatcctg ccttccttgc 780
 tgagcattct ctatgtgaaa ctggctgtaa ctgttctcat cgtaggattt gcttttttcc 840
 agaagagaaa ttatttcaga gtgccagaag gctcctgagg agagtggctc gtgggttaaga 900
 tgagatttac caccatctga aagacatctt gtctaccgag cagcgtgctg agattccgag 960

10

20

30

40

aagcagccac agaacctact aggaagacaa atctgatgtg gttgtcaatc ctttcaatgg 1020
acctgagtagc ttctataaac ccgagtgagg ttgtgctgga cccaggagcc aggctaggtc 1080
atatatgttg atttttgctg caagacctca tggtttatct acaaataccta aattctttca 1140
cttccagttt taaaactttt ggcccaagca ttttatccac agcataaacac ctttaaagaa 1200
actctccac ggaactgct ggttccatgg aatggaaaat tgcaacatgg ttacaagac 1260
agtgcacaacc aagcagcatt ccaagatatg agcttcagaa agttacagga actgtcttgg 1320
gacgagaaag aaggattaaa tagttcccag tccc 1354

10

<210> 10
<211> 278
<212> PRT
<213> Mus musculus

<400> 10

Met His Ala Leu Gly Arg Thr Leu Ala Leu Met Leu Leu Ile Phe Ile
1 5 10 15

Thr Ile Leu Val Pro Glu Ser Ser Cys Ser Val Lys Gly Arg Glu Glu
20 25 30

20

Ile Pro Pro Asp Asp Ser Phe Pro Phe Ser Asp Asp Asn Ile Phe Pro
35 40 45

Asp Gly Val Gly Val Thr Met Glu Ile Glu Ile Ile Thr Pro Val Ser
50 55 60

Val Gln Ile Gly Ile Lys Ala Gln Leu Phe Cys His Pro Ser Pro Ser
65 70 75 80

Lys Glu Ala Thr Leu Arg Ile Trp Glu Ile Thr Pro Arg Asp Trp Pro
85 90 95

30

Ser Cys Arg Leu Pro Tyr Arg Ala Glu Leu Gln Gln Ile Ser Lys Lys
100 105 110

Ile Cys Thr Glu Arg Gly Thr Thr Arg Val Pro Ala His His Gln Ser
115 120 125

Ser Asp Leu Pro Ile Lys Ser Met Ala Leu Lys His Asp Gly His Tyr
130 135 140

Ser Cys Arg Ile Glu Thr Thr Asp Gly Ile Phe Gln Glu Arg His Ser
145 150 155 160

40

Ile Gln Val Pro Gly Glu Asn Arg Thr Val Val Cys Glu Ala Ile Ala
165 170 175

Ser Lys Pro Ala Met Gln Ile Leu Trp Thr Pro Asp Glu Asp Cys Val
180 185 190

Thr Lys Ser Lys Ser His Asn Asp Thr Met Ile Val Arg Ser Lys Cys
195 200 205

His Arg Glu Lys Asn Asn Gly His Ser Val Phe Cys Phe Ile Ser His
210 215 220

10

Leu Thr Asp Asn Trp Ile Leu Ser Met Glu Gln Asn Arg Gly Thr Thr
225 230 235 240

Ser Ile Leu Pro Ser Leu Leu Ser Ile Leu Tyr Val Lys Leu Ala Val
245 250 255

Thr Val Leu Ile Val Gly Phe Ala Phe Phe Gln Lys Arg Asn Tyr Phe
260 265 270

Arg Val Pro Glu Gly Ser
275

20

<210> 11
<211> 813
<212> DNA
<213> Mus musculus

<400> 11
atgcacgctc tggggaggat tccgactttg actttgctga tcttcatcaa tatttttgtg 60
tctgggtcaa gttgtactga tgagaatcaa acaatacaga atgacagtgc atcttctctg 120
acacaagtta acactacaat gtctgtacag atggataaaa aggcctctgct ctgctgcttt 180
tctagtccac tgataaatgc agtattaatc acatggataa taaaacacag acacctgcct 240
tcttgacaaa tagcatataa cctagataaa aagaccaatg aaaccagctg cttgggcagg 300
aacatcacct gggcctccac acctgaccac agtctgaac ttcagatcag tgcagtggcc 360
ctccagcatg aggggactta cacatgtgag atagtaaacac ctgaagggaa tttagaaaaa 420
gtctatgacc tccaagtgtt ggtgccccct gaggtaacct actttccagg gaaaaacaga 480
actgcagtct gtgaggcaat ggcaggcaag cctgctgcac agatctcttg gactccagat 540
ggggactgtg tcaactaagag tgagtcacac agcaatggca ctgtgactgt caggagcacg 600
tgccactggg agcagaacaa tgtgtctgtt gtgtcctgct tagtctctca ttgcactggt 660

30

40

aatcagtcctc tgtccataga actgagtcac ggtacaaatga ccaccccccg ttccttgctg 720
 accattctct atgtgaaaat ggcccttttg gtgattattc ttcttaacgt aggatttgct 780
 ttcttccaga agagaaattt tgccagaaca tga 813

<210> 12
 <211> 270
 <212> PRT
 <213> Mus musculus

<400> 12

Met His Ala Leu Gly Arg Ile Pro Thr Leu Thr Leu Leu Ile Phe Ile
 1 5 10 15

Asn Ile Phe Val Ser Gly Ser Ser Cys Thr Asp Glu Asn Gln Thr Ile
 20 25 30

Gln Asn Asp Ser Ser Ser Ser Leu Thr Gln Val Asn Thr Thr Met Ser
 35 40 45

Val Gln Met Asp Lys Lys Ala Leu Leu Cys Cys Phe Ser Ser Pro Leu
 50 55 60

Ile Asn Ala Val Leu Ile Thr Trp Ile Ile Lys His Arg His Leu Pro
 65 70 75 80

Ser Cys Thr Ile Ala Tyr Asn Leu Asp Lys Lys Thr Asn Glu Thr Ser
 85 90 95

Cys Leu Gly Arg Asn Ile Thr Trp Ala Ser Thr Pro Asp His Ser Pro
 100 105 110

Glu Leu Gln Ile Ser Ala Val Ala Leu Gln His Glu Gly Thr Tyr Thr
 115 120 125

Cys Glu Ile Val Thr Pro Glu Gly Asn Leu Glu Lys Val Tyr Asp Leu
 130 135 140

Gln Val Leu Val Pro Pro Glu Val Thr Tyr Phe Pro Gly Lys Asn Arg
 145 150 155 160

Thr Ala Val Cys Glu Ala Met Ala Gly Lys Pro Ala Ala Gln Ile Ser
 165 170 175

Trp Thr Pro Asp Gly Asp Cys Val Thr Lys Ser Glu Ser His Ser Asn
 180 185 190

10

20

30

40

Gly Thr Val Thr Val Arg Ser Thr Cys His Trp Glu Gln Asn Asn Val
 195 200 205

Ser Val Val Ser Cys Leu Val Ser His Ser Thr Gly Asn Gln Ser Leu
 210 215 220

Ser Ile Glu Leu Ser Gln Gly Thr Met Thr Thr Pro Arg Ser Leu Leu
 225 230 235 240

Thr Ile Leu Tyr Val Lys Met Ala Leu Leu Val Ile Ile Leu Leu Asn
 245 250 255

10

Val Gly Phe Ala Phe Phe Gln Lys Arg Asn Phe Ala Arg Thr
 260 265 270

<210> 13
 <211> 2358
 <212> DNA
 <213> Rattus sp.

<400> 13
 agcggaggga tecttctcat ggtaaccgct gctcccctac ctgtgaagag aaagagcacc 60
 gagtgaagccg ctgaaaacca gaaaaccgaa atgctctgct tttggagaac ttctcagta 120
 gcagtactct tgatctgggg ggtctctgct gctgagtcga gttgtctga taagaatcaa 180
 acaatgcaga acaattcatc aactatgaca gaagttaaca ctacagtgtt tgtacagatg 240
 ggtaaaaagg ctctgctctg ctgcccctct atttactga caaaagtaat attaataaca 300
 tggacaataa ccctcagagg acagccttcc tgcataatat cctacaaagc agacacaagg 360
 gagaccatg aaagcaactg ctgggacaga agcatcacct gggcctccac acctgacctc 420
 gctcctgacc ttcagatcag tgcagtggcc ctccagcatg aagggcgta ctcatgtgat 480
 atagcagtac ctgacgggaa tttccaaaac atctatgacc tccaagtgtt ggtgccccct 540
 gaagtaaccc actttccagg ggaaaataga actgcagttt gtgaggcgat tgcaggcaaa 600
 cctgctgctc agatctcttg gacgccagat ggggattgtg tcgctaagaa tgaatcacac 660
 agcaatggca ccgtgactgt ccggagcaca tgccactggg agcagagcca cgtgtctgtc 720
 gtgttctgtg ttgtctctca cttgacaact ggtaaccagt ctctgtctat agaactgggt 780
 agaggggggtg accaattatt aggatcatat attcaatata tcatcccatc tattattatt 840
 ttgatcatca taggatgcat ttgtcttttg aaaatcagtg gctgcagaaa atgtaaattg 900
 ccaaaatcgg gagctactcc agatattgag gaggatgaaa tgcagccgta tgctagctac 960
 acagagaaga gcaatccact ctatgatact gtgaccacga cggaggcaca cccagcgta 1020

20

30

40

caaggcaaag tcaatggcac agactgtctt actttgtcag ccatgggaat ctagaaccaa 1080
 ggaaaaagaag tcaagagaca tcataattac tgcttttctt tctttaaaact totccaatgg 1140
 agggaaatta gctcttctga agttcttaga aagcacaaat gttctaatagg atttgccctt 1200
 aagttcttct atcattggaa gtttggaaac tttgctgcta cctgttaatt ctaggaagaa 1260
 ctgatttaat tattacaaag aaagcacatt gttatggtaa aatatcaaat tgtgcaatac 1320
 aatgatgaaa actgagtttc ctcaagaaat aactgcagaa ggaacaatca ttactaaagc 1380
 atttcatgtg agttcttcca aaaaagaaaa tccctgtgta tacgacatga ttatggtag 1440
 tgtgtgcctt tatatgtttg ttacaaaatg tgtatatatg cacacatctg attatcaaga 1500
 catctctgtc aaaaactcac tggcggtcca gatttatgaa agctaataaa gtgagtattg 1560
 gagatgtttt tatatctgta tatgtaaaac tacctcattc tttttaatgg ctacataaaa 1620
 ttcatgggtc tiggatgggc atttagactt tgtgttgtat gtggtattaa atgataccat 1680
 gtggaatgtt tottgtggtg aatctccgca ttatttgagt gcacctgtga gataatttct 1740
 gtgagtgtaa tggctctgtc agttggaatg cgcttttatg atcaatagat tagtcaaact 1800
 gtgtcagttt acattttctc taattgtgtt taatgtgact tctccatat tcttattctt 1860
 atgtttttaa tatcttcaat ttcacctttt ataacttcca tctttaatta accagttggg 1920
 tgatgtgtct taaggtgtg atattaactt tattatttaa tggaaactgga ttcatatctt 1980
 tgggtttcat gtccacaaaa gagatagaaa gcatttgtaa agacagtatt ttcaactcct 2040
 tgtattacta caaaaatgtt gacatctgat gcacaacagt tttatggatg ttatgaattg 2100
 tgtgttttta acattctatt ctgatgtact tataagagag caactgtctt tgaactatat 2160
 atgtagggtg gagaacttgg agtactttat gtgctaatag gatggtaatg ggatgatata 2220
 acttttcctt ccagtttttt ggagggaaat attaggaata catgtattga taatttttag 2280
 catatatttt ttaattgtta aaaataaacc tgttcccttt atatcaggaa agatattaaa 2340
 aatggattta ttcactctc 2358

10

20

30

<210> 14
 <211> 327
 <212> PRT
 <213> Rattus sp.

<400> 14

Met Leu Cys Phe Trp Arg Thr Ser His Val Ala Val Leu Leu Ile Trp
 1 5 10 15

Gly Val Phe Ala Ala Glu Ser Ser Cys Pro Asp Lys Asn Gln Thr Met
 20 25 30

40

Gln Asn Asn Ser Ser Thr Met Thr Glu Val Asn Thr Thr Val Phe Val
35 40 45

Gln Met Gly Lys Lys Ala Leu Leu Cys Cys Pro Ser Ile Ser Leu Thr
50 55 60

Lys Val Ile Leu Ile Thr Trp Thr Ile Thr Leu Arg Gly Gln Pro Ser
65 70 75 80

Cys Ile Ile Ser Tyr Lys Ala Asp Thr Arg Glu Thr His Glu Ser Asn
85 90 95

10

Cys Ser Asp Arg Ser Ile Thr Trp Ala Ser Thr Pro Asp Leu Ala Pro
100 105 110

Asp Leu Gln Ile Ser Ala Val Ala Leu Gln His Glu Gly Arg Tyr Ser
115 120 125

Cys Asp Ile Ala Val Pro Asp Gly Asn Phe Gln Asn Ile Tyr Asp Leu
130 135 140

Gln Val Leu Val Pro Pro Glu Val Thr His Phe Pro Gly Glu Asn Arg
145 150 155 160

20

Thr Ala Val Cys Glu Ala Ile Ala Gly Lys Pro Ala Ala Gln Ile Ser
165 170 175

Trp Thr Pro Asp Gly Asp Cys Val Ala Lys Asn Glu Ser His Ser Asn
180 185 190

Gly Thr Val Thr Val Arg Ser Thr Cys His Trp Glu Gln Ser His Val
195 200 205

Ser Val Val Phe Cys Val Val Ser His Leu Thr Thr Gly Asn Gln Ser
210 215 220

30

Leu Ser Ile Glu Leu Gly Arg Gly Gly Asp Gln Leu Leu Gly Ser Tyr
225 230 235 240

Ile Gln Tyr Ile Ile Pro Ser Ile Ile Ile Leu Ile Ile Ile Gly Cys
245 250 255

Ile Cys Leu Leu Lys Ile Ser Gly Cys Arg Lys Cys Lys Leu Pro Lys
260 265 270

40

Ser Gly Ala Thr Pro Asp Ile Glu Glu Asp Glu Met Gln Pro Tyr Ala
 275 280 285

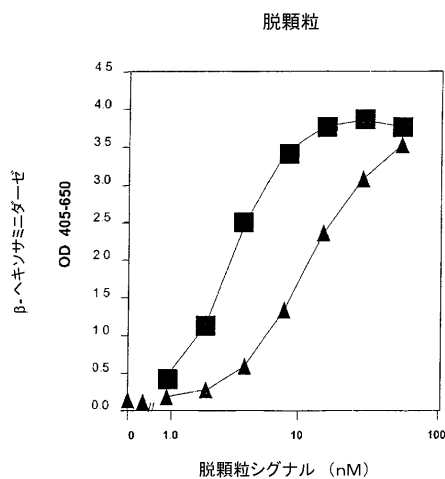
Ser Tyr Thr Glu Lys Ser Asn Pro Leu Tyr Asp Thr Val Thr Thr Thr
 290 295 300

Glu Ala His Pro Ala Ser Gln Gly Lys Val Asn Gly Thr Asp Cys Leu
 305 310 315 320

Thr Leu Ser Ala Met Gly Ile
 325

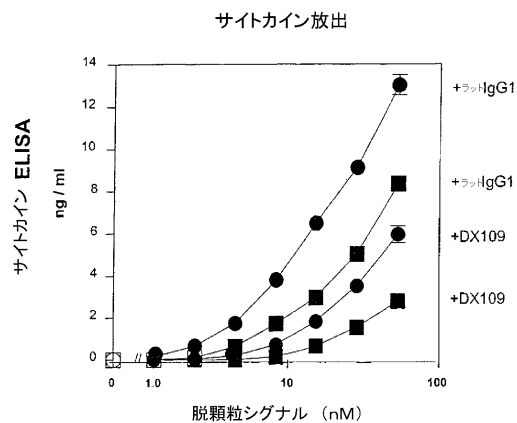
【図 1】

OX2レセプターを調節する方法
 Cherwinski, ら ; DX01550K



【図 2】

OX2レセプターを調節する方法
 Cherwinski, ら ; DX01550K



【手続補正書】

【提出日】平成17年6月30日(2005.6.30)

【手続補正2】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】配列表

【補正方法】追加

【補正の内容】

【配列表】

2005529587000001.app

【国際調査報告】

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/US03/07647

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

IPC(7) : A61K 39/395; C07K 16/28

US CL : 424/144.1; 530/388.22

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

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

U.S. : 424/144.1; 530/388.22

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

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)
Please See Continuation Sheet**C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT**

Category *	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
Y	GORCZYNSKI, R.M. Transplant tolerance modifying antibody to CD200 receptor, but not CD200, alters cytokine production profile from stimulated macrophages. Eur. J. Immunol. August 2001, Vol 31, pages 2331-2337, see entire document.	1-16
Y	WO 00/70045 A1 (BARCLAY et al.) 23 November 2000 (23.11.2000), see entire document, particularly with respect to OX2RH1.2 and OX2RH1.	1-16

☐ Further documents are listed in the continuation of Box C.☐ See patent family annex.

* Special categories of cited documents:

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

"E" earlier application or patent published on or after the international filing date

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

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

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

"I"

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

"X"

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

"Y"

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

"&"

document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search

28 May 2003 (28.05.2003)

Date of mailing of the international search report

11 JUL 2003

Name and mailing address of the ISA/US

Mail Stop PCT, Attn: ISA/US
Commissioner for Patents
P.O. Box 1450
Alexandria, Virginia 22313-1450

Facsimile No. (703)305-3230

Authorized officer

Jessica H. Roark

Telephone No. (703) 308-0196

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

PCT/US03/07647

Continuation of B. FIELDS SEARCHED Item 3:**WEST, MEDLINE, EMBASE, CAPLUS**

search terms: OX-2R, OX2R\$, OX?2R\$, CD200R, CD200R\$, inventor's names

フロントページの続き

(51)Int.Cl. ⁷	F I	テーマコード(参考)
A 6 1 P 9/00	A 6 1 P 1/16	
A 6 1 P 9/04	A 6 1 P 9/00	
A 6 1 P 9/10	A 6 1 P 9/04	
A 6 1 P 11/00	A 6 1 P 9/10	
A 6 1 P 11/02	A 6 1 P 11/00	
A 6 1 P 11/06	A 6 1 P 11/02	
A 6 1 P 17/00	A 6 1 P 11/06	
A 6 1 P 17/06	A 6 1 P 17/00	
A 6 1 P 19/02	A 6 1 P 17/06	
A 6 1 P 25/00	A 6 1 P 19/02	
A 6 1 P 25/08	A 6 1 P 25/00	
A 6 1 P 25/16	A 6 1 P 25/08	
A 6 1 P 25/28	A 6 1 P 25/16	
A 6 1 P 29/00	A 6 1 P 25/28	
A 6 1 P 31/00	A 6 1 P 29/00	
A 6 1 P 31/04	A 6 1 P 29/00	1 0 1
A 6 1 P 31/12	A 6 1 P 31/00	
A 6 1 P 35/00	A 6 1 P 31/04	
A 6 1 P 37/06	A 6 1 P 31/12	
A 6 1 P 37/08	A 6 1 P 35/00	
A 6 1 P 43/00	A 6 1 P 37/06	
C 1 2 Q 1/02	A 6 1 P 37/08	
C 1 2 Q 1/68	A 6 1 P 43/00	1 0 5
	A 6 1 P 43/00	1 0 7
	A 6 1 P 43/00	1 1 1
	C 1 2 Q 1/02	
	C 1 2 Q 1/68	A

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

(72)発明者 チェルウィンスキ, ホリー エム.

アメリカ合衆国 カリフォルニア 9 5 0 0 6, ボールダー クリーク, クーガー ロック
ロード 1 7 1 0 0

(72)発明者 フィリップス, ジョセフ エイチ.

アメリカ合衆国 カリフォルニア 9 4 3 0 3, パロ アルト, ウォールナット ドライブ
1 5 1 1

(72)発明者 セドグウィック, ジョナソン ディー.

アメリカ合衆国 カリフォルニア 9 4 3 0 1, パロ アルト, ノース カリフォルニア ア
ベニュー 3 6 5

(72)発明者 ビグラー, マイケル イー.

アメリカ合衆国 カリフォルニア 9 4 0 6 2, レッドウッド シティ, ハイランド アベ
ニュー 3 6 2 4

Fターム(参考) 4B024 AA01 AA11 AA12 AA13 BA44 BA63 CA04 DA02 EA04 GA11

4B063	QA01	QA19	QQ08	QQ43	QR08	QR42	QR56	QS25	QS34	QX02
4C085	AA13	AA14	AA19	BB11	BB41	BB43	CC22	CC23	GG01	GG02
	GG03	GG06	GG10							