

(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.C1.<sup>7</sup>

**C12N 15/09**  
**A61K 39/395**  
**A61P 1/04**  
**A61P 1/12**  
**A61P 1/16**

F 1

C 12 N 15/00  
A 61 K 39/395  
A 61 K 39/395  
A 61 P 1/04  
A 61 P 1/12

A  
N  
ZNAD

審査請求 未請求 予備審査請求 有 (全 51 頁) 最終頁に続く

テーマコード (参考)

4 B 02 4  
4 B 06 3  
4 C 08 5

(21) 出願番号 特願2003-576000 (P2003-576000)  
(86) (22) 出願日 平成15年3月13日 (2003.3.13)  
(85) 翻訳文提出日 平成16年9月3日 (2004.9.3)  
(86) 國際出願番号 PCT/US2003/007647  
(87) 國際公開番号 WO2003/077947  
(87) 國際公開日 平成15年9月25日 (2003.9.25)  
(31) 優先権主張番号 60/364,513  
(32) 優先日 平成14年3月15日 (2002.3.15)  
(33) 優先権主張国 米国(US)

(71) 出願人 596129215  
シェーリング コーポレイション  
S chering Corporatio  
n  
アメリカ合衆国 ニュージャージー 07  
033-0530, ケニルワース, ギャロ  
ッピング ヒル ロード 2000  
(74) 代理人 100078282  
弁理士 山本 秀策  
(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 ' )<sub>2</sub> 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】

(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が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； $F(ab)$ フラグメント； $F(ab')$ <sub>2</sub> 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、CD200Ra（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。

#### 【0011】

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、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CD200Ra（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、CD200Ra（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

#### 【0012】

##### （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

#### 【0013】

##### （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] / [mgタンパク質] または [免疫学的活性] / [mgタンパク質] など）を意味し得る。

#### 【0014】

「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つて示され得る。30

#### 【0015】

「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40

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產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Dooley（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（Satohish,ら。（2001）J.Immunol.166:1763~1770））。コンセンサスITAM配列は、YXXXL/I<sub>6-8</sub>YXXXL/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ー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ー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、单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

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こ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「スプライスバリエント」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かるか、または癌状態を減少させようとはかる病理学的状態)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、インビオで(例えば、ヒトからの動物からも取り出されることはなく)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、例えば組織学的な方法によって試験され得る。「サンプル」とはまた、例えば、流体サンプ

10

20

30

40

50

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产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】

##### (I I . 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、パンヌス形成、および関節強直症を含む（LuroossおよびWillians（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）と共に多くの特徴を含む（GriffithsおよびRemmers（前出））。30

#### 【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關する（Cohen（2000）Intensive Care Med. 26（補遺）1：S51～56；Freiseら（2001）J. Invest. Surg. 14：195～212）。

#### 【0032】

10

20

30

40

50

肥満細胞およびA P C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、西洋諸国の人団の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；Granstein（1996）J. Clin. Invest. 98: 1695~1696；Christophers（2001）Clin. Exper. 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. Exper. Dermatol. 26: 333~337；Mrowietzら（2001）Exper. Dermatol. 10: 238~245；Ackermannら（1999）Br. J. Dermatol. 140: 624~633）。

## 【0033】

喘息は、肥満細胞、A P C、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. Exper. 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（Rifford-VasquezおよびSpina（2002）Pharmacol. Therapeutics 94: 185~211）。喘息は、免疫事象（Ig E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；Barneés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（Raithelら（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；Jezioraskaら（2001）J. Pathol. 194: 484~492）。Ig E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. Exper. 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. Exper. Allergy, 27（補）50

遺) 1 : 64 ~ 70; Hiromuraら(1998) Am. J. Kidney Dis. 32: 593 ~ 599。肥満細胞はまた、心血管疾患に関わっている(Haraら(2002) J. Exp. Med. 195: 375 ~ 381)。

### 【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(Santiago-Schwarzら(2001) J. Immunol. 167: 1758 ~ 1768; LambrechtおよびHammad(2003) Curr. Opin. Pulm. Med. 9: 34 ~ 41; Eigenmann(2002) Pediatr. Allergy Immunol. 13: 162 ~ 167; Curryら(2003) Arch. Pathol. Lab. Med. 127: 178 ~ 186; Supajaturaら(2002) J. Clin. Invest. 109: 1351 ~ 1359; Kogaら(2002) Dermatol. 204: 100 ~ 103)。

### 【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、Marshallら(2003) Curr. Pharm. Dis. 9: 11 ~ 24; MalaviyaおよびGeorges(2002) Clin. Rev. Allergy Immunol. 22: 189 ~ 204; MekoriおよびMetcalfe(2000) Immunol. Rev. 173: 131 ~ 140; Galiliら(1999) Curr. Opinion Immunol. 11: 53 ~ 59; MilesおよびMamluk(1992) J. Allergy Clin. Immunol. 89: 638 ~ 639; SacksおよびSher(2002) Nature Immunol. 3: 1041 ~ 1047; Eigenmann(2002) Pediatr. Allergy Immunol. 13: 162 ~ 171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、Reay(2001) Expert Opin. Ther. Targets 5: 491 ~ 506; Heckel-smillerら(2002) Eur. J. Immunol. 32: 3235 ~ 3245; Stiftら(2003) Int. J. Oncol. 22: 651 ~ 656; VermorkenおよびVan Tendeloo(2003) Expert Rev. Anticancer Ther. 3: 1 ~ 3を参照のこと。

### 【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。インビオ研究から、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、そして細胞性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(LanierおよびBakker(2000) Immunol. Today 21: 611 ~ 614)。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、Dap1.2との対合パートナーでもある。

### 【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、

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、单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）。グリコシリ化は、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（Jefferris（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）。

#### 【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）BiоДirectory, Piscataway, NJ, 384~391頁）。

#### 【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（MacVector 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。

#### 【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

D 2 0 0 、およびラット C D 2 0 0 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 (Bacala (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) (Bacala (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 (Bacala (1997) *J. Biol. Chem.* 272: 10678~10684)。

10

20

30

40

#### 【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エ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 (Vaughnら (1996) *Nature Biotechnol.* 14: 309~314; Barbash (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; Barbash (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)。

50

#### 【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.* 272:

50

2 : 2 7 6 2 3 ; Morrison ( 1 9 8 5 ) S c i e n c e 2 2 9 : 1 2 0 2 ; Traunecker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 号を参考のこと。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、Malecki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 ; Conrath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 ; Desmyter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 ; HudsonおよびKortt ( 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 号を参考のこと。

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、ハイブリドーマを產生するために骨髄腫細胞株と融合され得る ( Meynardら ( 1 9 9 7 ) I m m u n i t y 7 : 2 8 3 ~ 2 9 0 ; Wrightら ( 2 0 0 0 ) I m m u n i t y 1 3 : 2 3 3 ~ 2 4 2 ; Prestonら ( 前出 ) ; Kaithamana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、van Oosterhoutら ( 2 0 0 1 ) I n t . J . P h a r m 2 2 1 : 1 7 5 ~ 1 8 6 ; MarshおよびKlinman ( 1 9 9 0 ) 1 4 4 : 1 0 4 6 ~ 1 0 5 1 ; Kreitman ( 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 ; Dinnendorfら ( 2 0 0 1 ) J . I m m u n o t h e r . 2 4 : 5 1 1 ~ 5 1 6 ; Wahlら ( 2 0 0 1 ) I n t . J . C a n c e r 9 3 : 5 4 0 ~ 6 0 0 ; Garber ( 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 ; Evertsら ( 2 0 0 2 ) J . I m m u n o l . 1 6 8 : 8 8 3 ~ 8 8 9 ; Chenら ( 2 0 0 1 ) I n t . J . C a n c e r 9 4 : 8 5 0 ~ 8 5 8 ; Shaikh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 ; Park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 ; Solorzano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 ; Rosenberg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 ; Bendeleら ( 2 0 0 0 ) A r t h r i t i s R heum . 4 3 : 2 6 4 8 ~ 2 6 5 9 ; TrakasおよびTzartos ( 2 0 0 1 ) J . N e u r o c h e m . 1 2 0 : 4 2 ~ 4 9 ; Chapman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 ; Gaidamakova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 ; Coiffier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 を参考のこと。

20

## 【 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 ( 例えは、金コロイド ) に結合している抗体を含む ( Le Doussalら ( 1 9 9 1 ) J . I m m u n o l . 1 4 6 : 1 6 9 ~ 1 7 5 ; Gibelliniら ( 1 9 9 8 ) J . I m m u n o l . 1 6 0 : 3 8 9 1 ~ 3 8 9 8 ; HsingおよびBishop ( 1 9 9 9 ) J . I m m u n o l . 1 6 2 : 2 8 0 4 ~ 2 8 1 1 ; Evertsら ( 2 0 0 2 ) J . I m m u n o l . 1 6 8 : 8 8 3 ~ 8 8 9 ) 。

30

## 【 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 ( 例えは、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 RIIIB、LAIR、FDFO3、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)(Cantonিら(1999)Eur. J. Immunol. 29:3148~3159)が挙げられる。

## 【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 RIIIC、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、Azzoniら(1998)J. Immunol. 161:3493~3500; Kitay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; Propstら(2000)J. Immunol. 165:2214~2221が挙げられる。

## 【0054】

本発明は、例えば、リンパ系細胞、骨髓性細胞、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、あるいはエキソビオ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、腫瘍壞死因子、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; VandenebeeleおよびWu(1999)Immunol. Cell Biol. 77:411~419; Santiago-Schwarz(

10

20

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: 2219~226)。

### 【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、CD200、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; Aviss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。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6,09650

, 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; Langler(1981)J.Biomed.Mater.Res. 15:167~277; Langner(1982)Chem.Tech. 12:98~105; Epsteinら(1985)Proc.Natl.Acad.Sci.U.S.A. 82:3688~3692; Hwangら(1980)Proc.Natl.Acad.Sci.U.S.A. 77:4030~4034; 米国特許第6,350466号および同第6,316,024号を参考のこと。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に要求に応じて、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、調薬され、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0.1μg/kg~10mg/kg、通常は、0.1μg/kg/日~1.0mg/kg/日であり、好ましくは、0.1μg/kg/日~0.1mg/kg/日であり、より好ましくは、0.1μg/kg/日~0.01mg/kg/日であり、そして最も好ましくは、0.1μg/kg/日か、またはそれ以下の範囲である。所望の投薬量は、抗体の単回のボーラス投与、複数のボーラス投与、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 (azothioprine)、メルカプトプリン、およびメ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、メトレキサート、シス-プラチン (cis-platin)、ドキソルビシン (米国特許第6,066,668号 (Hauheerらに発行)) が挙げられる。

### 【0065】

#### (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、CD200R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6,306,608号; 同第6,150,122号; 同第6,083,760号; および同第5,863,739号に記載される。

10

### 【0066】

#### (XI. 利用法)

本発明は、CD200R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APC、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、CD200R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、CD200Ra (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APC、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、CD200Rb (配列番号4、6、10または12))のアンタゴニストもまた、肥満細胞、樹状細胞のようなAPC、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。CD200RaのアンタゴニストまたはCD200Rb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APC、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

### 【0067】

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 (2001) J. Am. Med. Assoc. 286: 3005-3006; ならびにMarshallおよびBienenstock (1994) Curr. Op. Immunol. 6: 853-859; LuskinおよびLuskin (1996) Am. J. Ther. 3: 515-520を、参照のこと。

30

### 【0068】

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、MicancおよびMetcalfe (1990) J. Allergy Clin. Immunol. 86: 677-683; Maloneら (1987) Arthritis Rheum. 30: 130-137; Malfaitら (1999) J. Immunol. 163: 6278-6280; AckermannおよびHarvima (1998) Arch. Dermatol. Res. 290: 353-359; Ackermannら (1999) Brit. J. Dermatol. 140: 624-633; Askenaseら (1983) J. Immunol. 131: 2687-2694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 (1995) Am. J. Ther. 2: 787-792; Jeziorowskaら (2001) J. Pathol. 194: 484-492; Su

40

50

l i 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 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 )。

## 【 0 0 6 9 】

本発明はまた、脱髓または神経変性 ( 例えは、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 ( Purc 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 ; 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 ; Purc 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 )。

## 【 0 0 7 0 】

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 o 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  
t a t i o n 7 1 : 1 7 4 - 1 7 4 7 ; O ' K e e 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 )。

## 【 0 0 7 1 】

本発明のさらに別の局面は、心血管疾患 ( 例えは、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 ( 例えは、配列番号 2 ) の活性を調節する方法を提供する。免疫細胞 ( 例えは、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。例えは、 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。

## 【 0 0 7 2 】

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、外来的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。

## 【 0 0 7 3 】

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; Ben Ezra(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)、およびバイオインフォマティクス(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产生、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、Coligans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、およびリボ多糖類(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、LuroossおよびWilliams(2001) Immunology 103: 407-416; GriffithsおよびRemmers(2001) Immunol. Rev. 184: 172-183; Beurller(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)(TimeLogic 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。骨髄を、2~3匹のマウスの大脛骨から採取し、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

10

20

30

40

50

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。

#### 【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。

#### 【0084】

10

20

【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 骨髓由来の マクロファージ	ND	ND	(+++)	(+++)	(-)	(++)
LPS+IFNg+ IL-10で24時間 活性化された 骨髓由来 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	(+++)	(+++)	(-)	(+++)

【0085】

【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 関節リューマチ	(+++)	ND	ND	ND	ND	ND
皮膚	(-)	(-)	(++)	(+)	(+)	(+)
脊髄 C57BL/6 INF $\alpha$ ノックアウト、 未処理	ND	ND	(+,-)	(+,-)	(-)	(-)
脊髄 C57BL/6 INF $\alpha$ ノックアウト EAE モデル	ND	ND	(+)	(+)	(-)	(++)
脾臓	ND	ND	(++)	(+)	(++)	(+)

10

20

30

## (IV. CD200RとDap12の結合)

CD200レセプターのDap12との結合を確認するため、CD200レセプターを、以前に以下のFLAGタグ化分子(Dap12、Dap10、FcR、またはCD3-)の1つでトランスフェクトしたBaF細胞株に、レトロウイルスベクターにより導入した。FLAGタグ化分子は、適切な対応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CD200Rc(配列番号10)またはマウスCD200Rd(配列番号12)をこれらのトランスフェクト体の中に導入した場合、FLAGタグ化Dap12のみがレスキューされ、CD200レセプターがDap12と特異的に対になることを示した。

## 【0086】

## (V. CD200Rのアゴニスト抗体)

エピトープタグ化CD200R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CD200R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。CD200Ra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、Dap12と対になるCD200レセプター(すなわち、活性化CD200R)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。

## 【0087】

エピトープタグ化CD200Raを、正常肥満細胞内に安定的に導入した。エピトープ

40

50

タグをさらに含む C D 2 0 0 R a (配列番号 6) を、 C D 2 0 0 I g 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、 I g E 抗体で F c R I 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、 C D 2 0 0 R a および F c R I を、二次抗体によって共連結させた。これらの結果は、 C D 2 0 0 R a が肥満細胞において F c R I 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。

#### 【 0 0 8 8 】

関連の研究において、マウス C D 2 0 0 R a (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、 C D 2 0 0 R a が阻害性レセプターであることを、再び示した。

10

#### 【 0 0 8 9 】

ヒト C D 2 0 0 R a 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 h u C D 2 0 0 R a 抗体 (すなわち、 D X 1 3 6 ( r I g G 2 a ) および D X 1 3 9 ( r I g M ) ) を、ヒト C D 2 0 0 R a 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 C D 2 0 0 R a のアゴニストであることを見出した。アゴニスト活性を、 I C 5 0 で表した。

#### 【 0 0 9 0 】

F c 領域に融合する 2 つの C D 2 0 0 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 ( h u C D 2 0 0 - I g ; m u C D 2 0 0 - I g ) について試験した。これらの融合タンパク質は、変異 ( F c の定常領域内の D 2 6 5 A を使用し、 h u C D 2 0 0 - I g および m u C D 2 0 0 - I g の両方を作製する) を含み、 F c レセプター ( F c R ) および補体に対する結合を防いだ ( I d u s o g i e ら ( 2 0 0 0 ) J . I mmuno l . 1 6 4 : 4 1 7 8 - 4 1 8 4 ) 。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

#### 【 0 0 9 1 】

血液細胞の F A C S 分析は、 C D 2 0 0 R 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 ( L i u ら ( 1 9 9 8 ) C ancer R es . 5 8 : 4 0 5 5 - 4 0 6 0 ; L ee ら ( 2 0 0 0 ) J . P harmacol . E xp . T herapeutics 2 9 2 : 1 0 4 8 - 1 0 5 2 ) (表 2)。N D は、未測定を意味する。免疫組織化学 ( I H C ) 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化した固定化、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 m A b の能力を言及する。

30

#### 【 0 0 9 2 】

【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 <sup>+</sup> インターナリ ゼーション
DX136	ラット IgG2a	有	1.0 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 <sub>S</sub>	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 <sup>+</sup> 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 C D 2 0 0 R a 分子を発現するマウス肥満細胞を、2.5 μg / ml のモノクローナル抗体で刺激し、マウス C D 2 0 0 R d の D a p 1 2 連結活性化レセプターを誘発して、その後に - 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 C D 2 0 0 R a 抗体または C D 2 0 0 - I g 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 C D 2 0 0 R a 抗体または C D 2 0 0 - I g 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 μg / ml 、0.01 μg / ml 、0.03 μg / ml 、0.1 μg / ml 、0.3 μg / ml 、1 50

.0 μg / ml、3.0 μg / ml、および9.0 μg / mlの濃度の抗体またはCD200-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CD200RaのそれをおよびCD200-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、異なる効率(ICI50(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(TNP-キーホールリンペットヘモシアニン; KIH)を有するIgE抗TNPで刺激し、続けて、放出された-ヘキソサミニダーゼ(脱顆粒; Ab<sub>s405-650</sub>)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TNP)を、示した濃度で使用した。DX109モノクローナル抗CD200R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IgG1mAbを、一定濃度(13nM)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ソサ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CD200R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】

##### (V) 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CD200R抗体(CD200Ra(配列番号2)に結合する)の添加、およびヤギ抗マウスF(ab')<sub>2</sub>(抗IgE抗体(IgEレセプターに結合している)と抗CD200R抗体(CD200R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Yssels培地中で4~6週間培養し、ヒト肥満細胞を產生した。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10<sup>6</sup>細胞/ウェルでプレートした。次いで、阻害抗体(抗CD200Ra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、20ng/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、405~570nm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、Ab<sub>s405-570</sub>=0.44-0.51となった。抗CD200Ra抗体とのインキュベー

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(0~1000ng/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(Abs<sub>405-570</sub>=0.05)は、約1000ng/ml抗CD200Ra抗体で生じた)。中間レベルの抗CD200Ra抗体(200ng/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IgG)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、Abs<sub>405-570</sub>=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(0~1000ng/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(Abs<sub>405-570</sub>=0.08)は、約40ng/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8ng/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、0ng/mlまたは50ng/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Abs<sub>405-570</sub>=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(50ng/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%(Abs<sub>405-570</sub>=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(Abs<sub>405-570</sub>=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分子の競争性(aggression)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(PCPA)を、使用した。5匹の30g CD1マウスの群のマウスそれぞれに、100μgのDX109(ラット抗mucCD200Ra mAb)を静脈注射した。5匹の30g CD1マウスの第2群のマウスそれぞれに、100μg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、20μl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40ng、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。100μgのコントロールIgG1 mAbを受けたマウスにおいて、PCPA反応が進行し、5匹のマウス全てに青色斑が現れ、40n

10

20

30

40

50

g の IgE を注射した部位に最大の斑が、 10 ng の IgE を注射した部位に最小の斑が現れた。 DX109 抗 CD200Ra mAb を受けたマウスにおいて、注射されたどの濃度の IgE 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、 DX109 mAb は、インビオ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 】

( VIII . 抗 CD200Ra 抗体を用いたコラーゲン誘導性関節炎 ( CIA ) の処置 )

マウスにおいて CIA を誘導し、その後に抗 CD200Ra 抗体 ( DX109 mAb ) またはコントロール IgG 抗体で処置した。雌性の B10RIII マウス ( 8 ~ 10 適齢 ) を、フロイント完全アジュvant ( CFA ) において、ウシ I 型コラーゲンで処置した ( Jirholts ( 1998 ) Eur. J. Immunol. 28 : 3321 - 3328 ) 。 0 日目に、マウスを、 CFA 中のウシ 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。 DX109 抗体およびコントロール IgG の用量は、 7 日目および 14 日目に腹腔内に 1 mg 、 21 日目および 28 日目に皮下に 1 mg 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 DX109 を与え、一方、コントロールマウスにはコントロール IgG を与えた。

#### 【 0102 】

CIA 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。 DX109 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、 DX109 処置はより低いスコアおよび CIA からの開放を生じる。

#### 【 0103 】

CIA を、臨床スコア平均 ( MCS ) ( Hoe 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 MCS = 0 ; t = 20 ~ 21 日で MCS = 1 ; t = 22 ~ 31 日で MCS = 約 - 2 ; この後、 MCS = 約 - 4 . 5 まで漸進的に増加し、 MCS = 約 - 4 . 5 は 31 ~ 44 日目で生じる。 DX109 処置群は、以下を示した : 14 ~ 24 日目で MCS = 0 ; 25 ~ 26 日目で MCS = 0 . 2 ; 27 ~ 34 日目で MCS = 0 . 5 ; 35 ~ 42 日目で MCS = 0 . 2 ; 43 ~ 44 日目で MCS = 0 . 5 。再び、この結果は、 DX109 処置がより低いスコアおよび CIA からの開放を生じることを、実証する。

#### 【 0104 】

( IX . LPS 誘導性内毒血症に対する抗 CD200R 抗体の効果 )

LPS 処置によりマウスにおいて内毒血症を誘導し、その後、抗 CD200R 抗体 ( DX109 ) 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。 LPS 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、 C57BL / 6 系統であった。マウスに、 0 . 5 mg の抗体を ( 腹腔内で ) 、 2 回の時点で ( すなわち、 LPS より 1 時間前および LPS と同時に ) 与えた。抗 CD200R 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 CD200R 抗体が、マウスを LPS 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 CD200Ra の分布 )

CD200Ra は、ラット抗 CD200Ra によって緑色に可視化し、そして Alexa Fluor ( 登録商標 ) - 488 ( Molecular Probes , Eugene , OR ) 含有のヤギ抗ラットでタグ化した。肥満細胞を、マウス抗 CD117 ( 肥満細胞のマーカー ) で赤色に可視化し、そして Alexa Fluor ( 登録商標 ) - 594 ( Molecular Probes , Eugene , OR ) 含有ヤギ抗マウスでタグ化

10

20

30

40

50

した。抗 C D 1 1 7 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 C D 2 0 0 R a 保有細胞の約 1 / 3 が肥満細胞であることを示した。

#### 【 0 1 0 6 】

正常ヒト皮膚もまた、マクロファージ上での C D 2 0 0 R a ( 配列番号 2 ) の局在化について試験した。 C D 2 0 0 R a を、緑色にタグ化された抗 C D 2 0 0 R a 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 C D 1 1 b 抗体によって位置決定した。抗体単独または両方一緒に抗体いずれかでの染色は、マクロファージの大半が C D 2 0 0 R a を発現することを実証した。

#### 【 0 1 0 7 】

正常ヒト皮膚および乾癬皮膚を、抗 C D 2 0 0 R a ( D X 1 3 6 ) でプローブし、西洋ワサビペルオキシダーゼ ( H R P ) 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、 C D 2 0 0 R a<sup>+</sup> 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）。

#### 【 0 1 0 8 】

##### ( 配列識別子 )

配列番号 1 は、ヒト C D 2 0 0 R a 核酸である。

配列番号 2 は、ヒト C D 2 0 0 R a ポリペプチドである。

配列番号 3 は、ヒト C D 2 0 0 R b 核酸である。

配列番号 4 は、ヒト C D 2 0 0 R b ポリペプチドである。

配列番号 5 は、マウス C D 2 0 0 R a 核酸である。

配列番号 6 は、マウス C D 2 0 0 R a ポリペプチドである。

配列番号 7 は、マウス C D 2 0 0 R b 核酸である。

配列番号 8 は、マウス C D 2 0 0 R b ポリペプチドである。

配列番号 9 は、マウス C D 2 0 0 R c 核酸である。

配列番号 1 0 は、マウス C D 2 0 0 R c ポリペプチドである。

配列番号 1 1 は、マウス C D 2 0 0 R d 核酸である。

配列番号 1 2 は、マウス C D 2 0 0 R d ポリペプチドである。

配列番号 1 3 は、ラット C D 2 0 0 R 核酸である。

配列番号 1 4 は、ラット C D 2 0 0 R ポリペプチドである。

#### 【 0 1 0 9 】

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。

#### 【 0 1 1 0 】

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 】

#### 【 0 1 1 1 】

【 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 10  
<210> 1  
<211> 2255  
<212> DNA  
<213> Homo sapiens  
<400> 1  
cagagaaaag cttctgttcg tccaagttac taaccaggct aaaccacata gacgtgaagg 60  
aaggggctag aaggaaggga gtgcggact gttgtatgggg taagaggatc ctgtactgag 120  
aagttgacca gagagggctt caccatgcgc acagttccctt ctgtaccagt gtggaggaaa 180  
agtactgagt gaagggcaga aaaagagaaa acagaaatgc tctgcccttg gagaactgct 240  
aaccttagggc tactgttgc tttgactatc ttcttagtgg ccgaagcgga ggggtctgct 300  
caaccaaaca actcatataat gctgcaaact agcaaggaga atcatgcttt agttcaagc 360  
agtttatgtt tggatgaaaa acagattaca cagaactact cgaaagtact cgccagaagtt 420  
aacacttcat ggcctgtaaa gatggctaca aatgctgtgc tttgttgccc tcctatcgca 480  
ttaagaaaatt tgatcataat aacatggaa ataattctga gaggccagcc ttcttgccaca 540  
aaaggctaca gaaaaagaaac aatgagacc aaggaaacca actgtactga tgagagaata 600  
acctgggtct ccagacctga tcagaattcg gaccttcaga ttcgtccagt gccatcact 660  
catgacgggt attacagatg cataatggta acacctgatg ggaatttcca tctgtggat 720  
cacctccaag ttttagttac acctgaagtg accctgttc aaaacaggaa tagaactgca 780 30  
gtatgcaagg cagttgcagg gaagccagct gcgcagatct cctggatccc agagggcgat 840  
tgtgccacta agcaagaata ctggagcaat ggcacagtga ctgttaagag tacatgccac 900  
tgggagggtcc acaatgtgtc taccgtgacc tgccacgtct cccatttgac tggcaacaag 960  
agtctgtaca tagagctact tcctgttcca ggtgcacaaa aatcagcaaa attatataatt 1020  
ccatatataca tccttactat tattatgg accatgtgg gattcatttg gttgttggaaa 1080  
gtcaatggct gcagaaaata taaatgtaat aaaacagaat ctactccagt tttgtggagg 1140  
gatgaaatgc agccctatgc cagctacaca gagaagaaca atccctctcta tgatactaca 1200  
40

aacaaggta	aggcatctca	ggcattacaa	agtgaagtgt	acacagacct	ccatacttta	1260
taagttgtg	gactctagta	ccaagaaaca	acaacaaacg	agatacatta	taattactgt	1320
ctgattttct	tacagttcta	aatgaagac	ttatattgaa	attaggtttt	ccaaggttct	1380
tagaagacat	ttaatggat	tctcattcat	acccttgat	aattgaaatt	tttgattctt	1440
agctgctacc	agctagttct	ctgaagaact	gatgttatta	caaagaaaat	acatgccat	1500
gaccaaataat	tcaaattgtg	caggacagta	aataatgaaa	accaaatttc	ctcaagaaaat	1560
aactgaagaa	ggagcaagtg	tgaacagttt	cttgtgtatc	cttcagaat	attttaatgt	1620
acatatgaca	tgtgtatatg	cctatggat	atgtgtcaat	ttatgtgtcc	ccttacatat	1680
acatgcacat	atctttgtca	aggcaccagt	gggaacaata	cactgcatta	ctgttctata	1740
catatgaaaa	cctaataata	taagtcttag	agatcatttt	atatcatgac	aagtagagct	1800
acctcattct	tttaatggt	tatataaaat	tccattgtat	agttatatac	ttatitaatt	1860
aaaaacaacc	ctaatgatgg	atatttagat	tcttttaagt	tttggttatt	tcttttaagt	1920
tttgggggtg	gtataaacaa	taccacatag	aatgtttctt	gtgcataatat	ctctttgttt	1980
tttagtatat	ctgtaggata	actttcttga	gtggaaattgt	caggtcaaag	ggtttggca	2040
ttttactatt	gatataatat	ttaatggt	tcaaataatat	atgtcaaatt	ccctccaaca	2100
ttgtttaat	gtgcctttcc	ctaaatttct	attttaataa	ctgtactatt	cctgcttcta	2160
cagttgccac	tttctctttt	taatcaacca	gattaaatat	gatgtgagat	tataataaga	2220
attatactat	ttaataaaaa	tggatttata	ttttt			2255

<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			

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 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 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 taacatttc	60
cagcctgtac tcatggatat aaatgtgtg ctttgtgcc ctcttattgc attaagaaat	120
ttgatcataa taacatggga aataatcctg agaggccagc ctccctgcac aaaaggctac	180
aagaaagaaa caaatgagac caagggaaacc aactgtactg ttgagagaat aacctgggtc	240
tctagacctg atcagaattc ggaccttcag attcgtccgg tggacaccac tcatgacggg	300
tattacagag gcatagtggt aacacctgat gggaaatttcc atcgtggata tcacctccaa	360
gtgttagtta cacccgaagt gacccatattt caaaggcagga atataactgc agtatgcaag	420
gcagttacag ggaaggccagc tgcccagatc tcctggatcc cagaggatc tattcttgcc	480
actaagcaag aataactgggg caatggcaca gtgacgggta agagtagatg cccctggag	540
ggccacaagt ctactgtgac ctgcctatgtc tcccatttga ctggcaacaa gagtctgtcc	600
gtaaagttga attcaggctt cagaacctca ggatctccag cgttgcctt actgatcatt	660
ctttatgtga aactctctt ttttgtggtc attctgtca ccacaggatt tgttttcttc	720
cagaggataa atcatgtcag aaaagtttt taaaagaagaa ggaagggtct tcttttgctt	780
ctccctcccttgc tctctggact gcaacattgg tgagatgagt gatggtccag cagtgaactt	840
ggccatgga tcatgttaag gatagaagcc actcagtagg atagaagaaa agaaagatgg	900
aagaaggatc ctgggcttga tgaccatgaa gtttccctat aaaccctcaa ccacctattc	960
attgacttct tttgtgttag agtgaataaa attttgttca tgccagtggtt	1010

<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

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 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

10

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 Gin 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

20

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

30

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

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

<400>	5					
aaaaccgaaa	tgttttgctt	ttggagaact	tctgccctag	cagtgcctt	aatatgggg	60
gtctttgtgg	ctgggtcaag	ttgtactgat	aagaatcaa	caacacagaa	caacagttca	120
tctcctctga	cacaagtcaa	cactacagt	tctgtacaga	tagtacaaa	ggctctgctc	180
tgctgctttt	ctattccact	gacaaaagca	gtattaatca	catggataat	aaagctcaga	240
ggcctgccc	cctgcacaat	agcatacaa	gtagatcaa	agaccaatga	aaccagctgc	300
ttggcagga	acatcacctg	ggcctccaca	cctgaccaca	gtcctgaact	tcagatcagt	360
gcagtgaccc	tccagcatga	ggggacttac	acatgtgaga	cagtaacacc	tgaaggaa	420
tttggaaaaa	actatgacct	ccaagtgc	gtgccccctg	aagtaaccta	ctttccagag	480
aaaaacagat	ctgcagtctg	tgaggcaatg	gcaggcaagc	ctgctgcaca	gatctcttgg	540
tctccagatg	gggactgtgt	cactacagt	gaatcacaca	gcaatggcac	tgtgactgtc	600
aggagcacat	gccactggga	gcagaacaat	gtgtctgatg	tgtcctgcat	tgtctctcat	660
ttgactggta	accatctct	ctccatagaa	ctgagtagag	gtggtaacca	atcattacga	720
ccatatattc	catacatcat	accatcaatt	atcatttga	tcatcatagg	atgcatttgt	780
cttttggaaaa	tcagtggctt	cagaaaatgc	aaattgccaa	aattagaagc	tacttcagct	840
attgaggagg	atgaaatgca	gccttatgct	agctatacag	agaagagcaa	tccactctat	900
gatactgtga	ctaagggtgga	ggcatttcca	gtatcacaag	gcgaagtcaa	tggcacagac	960
tgccttactt	tgtcgccat	tggaatctag	aaccaagaaa	aaagaagtca	agagacatca	1020
taattactgc	tttgctttct	ttaaaattcg	acaatggaag	gactacttgg	aaattagtc	1080
ttccaaagct	attaaaaagc	acaaatgttc	taatgaaatt	gcatttaat	tctatcattg	1140
gaagtttgg	atctctgctg	ctacctgtta	attttagaa	gaactgattt	aattattaca	1200
aagaaagcac	atggttatgg	tgaaatatca	agttgtgcaa	taaagtatga	tgaaaactga	1260
gtttcctcaa	gaaataactg	caggaggaac	aatcatca	aaagaatttc	atgtgagttc	1320
ttacaaaaaaa	atccatgt	atcatgact	atggtatgt	tgtccaatta	catgtttatt	1380
tacaaatgt	tatatatgca	cacatttgct	tttcaggaca	tctcctgt	aaaaacacac	1440
tggagtttg	gatttataaa	agcttataaa	gtgagcattt	gagatattt	tatatcagca	1500
taagtaaatc	tacctcattc	tttttaatgg	ctacatagaa	ttctcctgt	tgattacatt	1560
gtaatttaat	taatcatgge	ccttggattt	tgtgttggt	gtggattaa	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

10

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

20

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

30

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

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 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

20

325

&lt;210&gt; 7

&lt;211&gt; 1386

&lt;212&gt; DNA

&lt;213&gt; Mus musculus

&lt;400&gt; 7

agaggccagc cttcctgcat aatggcctac aaagttagaaa caaaggagac caatgaaacc 60

tgcttggca ggaacatcac ctggcctcc acacctgacc acattcctga ctttcagatc 120

agtgcgttgg ccctccagca tgagggaaat tacttatgtg agataacaac acctgtgggg 180

aatttccata aagtctatga cctccaagtg ctggtgcccc ctgaagtaac ctactttctc 240

30

ggggaaaata gaactgcagt ttgtgaggca atggcaggca agcctgctgc acagatctct 300

tggactccag atggggactg tgtcaactaag agtgagtcac acagcaatgg cactgtgact 360

gtcaggagca cttgccactg ggaggcagaac aatgtgtctg ctgtgtcctg cattgtctct 420

cattcgactg gtaatcagtc tctgtccata gaactgagta gaggtaccac cagcaccacc 480

cttcccttgc tgaccattct ctacgtgaaa atggtcctt tggggattat tcttcttaaa 540

gtgggatttg ctttcttcca gaagagaaat gttaccagaa catgaatatac cagatttctg 600

gaagctcatt agtctgatga cacataccag aaaacagcat ttgtaatcaa ctttctcatt 660

40

ggaatccagc ttacccgtcc ctgctgtctt catgtttgtt agacactcac ctccaaattc 720

ttaactgaga agggctcctg tctaaaggaa atatgggac aaattgtgga gcataagacca 780  
 aaagaaaaggc catccagaga ctgc(ccc)acc taaggaccca tcccataatac agacaccaaa 840  
 cccagacact actgaagatg ctgcgaagcg tttgctgaca ggagcctgtt atagctgtct 900  
 cctgagaggc tcagccagag cctgacaaat acataggtag atgcttgacg ccaacaactg 960  
 gactgagcaa aaaatctcca ttggaggagt tagagaaagg actgaagagg gtgaaagggt 1020  
 ttgcageccc ataggaagaa caacaataatc aaccaaccag atctcccaga gctcccagg 1080  
 actaaattac caaccaaagg ctacacatgg aaggacctat ggctccagct gcttgttag 1140  
 cagtggatgg ctttgtgg catcagtgg aaggaaaacc cttggtccag taaaggcttg 1200  
 attccctagt gtaagagaat gccagggcag tgacgtggg gtgagtaggt aggaagcatc 1260  
 ctcatagatg caggagaaag gagaatggaa gagggtattc tggagggaa actggaaaag 1320  
 gagacaacat ttgaaatgta aatacataaa atatccaata aaaaatgtac agttgccagt 1380  
 catgtg 1386

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

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 acgatttgtc cttaacctga ctccactcca gatgcatact ttggggagga	60
	cctctggcttt gatgttactc atcttcataca ctattttgtt gcctgagtc a agttgttcag	120
	tgaaaggacg ggaggagatc ccaccggatg attcatttcc tttttcagat gataatatct	180
	tccctgatgg agtgggcgtc accatggaga ttgagattat cactccatgt tctgtacaga	240
	taggtatcaa ggctcagctt ttctgtcatc ctatgtccatc aaaagaagca acacttagaa	300
	tatggaaat aactcccaga gactggcattt cctgcagact accctacaga gcagagttgc	360
	agcagatcag taaaaaaaaatc tgtactgaga gaggaaccac tagggccct gcacatcacc	420
	agagttctga ctttccccatc aaatcaatgg ccctcaagca tgatggccat tactcatgtc	480
	ggatagaaac aacagatggg attttccaag agagacatag catccaatgt ccagggaaa	540
	atagaactgt agtttgtag gcaattgcaa gcaaggctgc tatgcagatc ttgtggactc	600
	cagatgagga ctgtgtcaact aagagtaaat cacacaatga caccatgatt gtcaggagca	660
	agtgccacag ggagaaaaac aatggccaca gtgtgttctg ctttatctcc catttactg	720
	ataactggat tctctccatg gaacagaatc gaggtacaac cagcatcctg cttcccttgc	780
	tgagcattct ctatgtaaaa ctggctgtaa ctgttctcat cgtaggattt gctttttcc	840
	agaagagaaa ttatccaga gtgccagaag gctcctgagg agagtggctt gtggtaaga	900
	ttagatttac caccatctga aagacatctt gtctaccgcg cagcgtgctg agattccgag	960

10

20

30

40

aagcagccac agaacctact aggaagacaa atctgatgtg gttgtcaatc ctttcaatgg 1020  
 acctgagtagc ttctataaac ccgagtgagg ttgtgctgga cccaggagcc aggctaggc 1080  
 atatatgtt attttgctg caagacctca tggttatct acaaattccta aattcttca 1140  
 ctcccagtt taaaacttt ggcccaagca ttttatccac agcataacac ctttaagaa 1200  
 actctccac ggaaactgct ggttccatgg aatggaaaat tgcaacatgg tttacaagac 1260  
 agtgcaaacc aagcagcatt ccaagatatg agcttcagaa agttacagga actgtcttgg 1320  
 gacgagaaag aaggattaaa tagttccag tc 1354

10

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

&lt;400&gt; 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	
atgcatgctc tggggaggat tccgactttg actttgctga tcttcataa tattttgtg	60
tctgggtcaa gttgtactga tgagaatcaa acaatacaga atgacagttc atcttctctg	120
acacaagtta acactacaat gtctgtacag atggataaaa aggctctgt ctgctgctt	180
tctagtccac tgataaatgc agtattaatc acatggataa taaaacacag acacctgcct	240
tcctgcacaa tagcatacaa cctagataaa aagaccaatg aaaccagctg ctgggcagg	300
aacatcacct gggcctccac acctgaccac agtcctgaac ttcatgtacg tgcagtggcc	360
ctccagcatg aggggactta cacatgtgag atagtaaacac ctgaaggaa ttttagaaaa	420
gtctatgacc tccaagtgt ggtccccct gaggtaacct actttccagg gaaaaacaga	480
actgcagtct gtgaggcaat ggcaggcaag cctgctgcac agatctcttg gactccagat	540
ggggactgtg tcactaagag tgagtacac agcaatggca ctgtgactgt caggagcacg	600
tgccactggg agcagaacaa tgtgtctgtt gtgtcctgct tagtctctca ttgcactgg	660

40

aatcagtctc tgtccataga actgagtcaa ggtacaatga ccacccccc ttccttgctg 720  
 accattctct atgtgaaaat ggccctttt gtttgcattttc 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 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 tcct<sup>t</sup>,tcat ggtcacgct gctccctac ctgtgaagaq aaagagcacc 60  
 gagtgagccg ctgaaaacca gaaaaccgaa atgctctgct tttggagaac ttctcacgta 120  
 gcagactct ttagtctgggg ggtcttcgcg gctgagtcaa gttgtcctga taagaatcaa 180  
 acaatgcaga acaattcatc aactatgaca gaagttaca cttacagtgtt tgtacagatg 240  
 ggtaaaaagg ctctgctctg ctgccttctt atttcactga caaaaagtaat attaataaca 300  
 tggacaataa ccctcagagg acaggcttcc tgcataatat cctacaaaagc agacacaagg 360  
 gagaccatg aaagcaactg ctccggacaga agcatcacct gggcctccac acctgacctc 420  
 gctcctgacc ttcaagatcg tgcagttggcc ctccagcatg aagggcgtta ctcatgttat 480  
 atagcagtac ctgacggaa tttccaaaac atctatgacc tccaaagtgtt ggtccccct 540  
 gaagtaaccc actttccagg ggaaaataga actgcagttt gtgaggcgat tgcaggcaaa 600  
 cctgctgcgc agatctcttgc gacgccagat ggggattgtg tcgctaagaa tgaatcacac 660  
 agcaatggca ccgtgactgt ccggaggcaca tgccactggg agcagagccca cgtgtctgtc 720  
 gtgttctgtg ttgtctctca cttgacaact ggtaaccagt ctctgtctat agaactgggt 780  
 agaggggggtg accaattatt aggatcatac attcaataca tcatcccattc tattattatt 840  
 ttgatcatca taggatgcat ttgtcttttg aaaatcagtg gctgcagaaa atgtaaattg 900  
 ccaaaatcgg gagctactcc agatattgag gaggatgaaa tgcagccgta tgctagctac 960  
 acagagaaga gcaatccact ctatgatact gtgaccacga cggaggcaca cccagegtca 1020  
 40

20

30

caaggcaaag tcaatggcac agactgtctt actttgtcag ccatgggaat ctagaaccaa 1080  
 gggaaaagaag tcaagagaca tcataattac tgctttctt tctttaaact tctccaatgg 1140  
 agggaaatta gctcttctga agttcttaga aagcacaaat gttctaattgg atttgccctt 1200  
 aagttcttct atcattggaa gtttggaaatc tttgctgta cctgttaatt ctaggaagaa 1260  
 ctgatttaat tattacaaag aaagcacatt gttatggtaa aatatcaaatttgtcaatac 1320  
 aatgtgaaa actgagtttc ctcaagaaat aactgcagaa ggaacaatca ttactaaagc 1380  
 atttcatgtg agttcttcca aaaaagaaaa tccctgtgtatc acacatctg attatcaaga 1440  
 tgtgtgectt tatatgtttg tttacaaatg tgtatatacg cacacatctg attatcaaga 1500  
 catctctgtc aaaaactcac tggcggttcca gatttatgaa agctaataaa gtgagtattt 1560  
 gagatgtttt tatatctgtatc tttttatgg ctacataaaaa 1620  
 ttcatggtcc ttggatgggc atttagactt tgtgttgtat gtggattaa atgataccat 1680  
 gtggaatgtt tcttgggttgc aatctccgca ttatgttgcgtt gcacctgtgtatc 1740  
 gtgagtgtaa tggccctgtc agttggaaatg cgctttatg atcaatagat tagtcaaaact 1800  
 gtgtcagttt acatttttcc taattgtgtt taatgtgact tccatccat tcttattttt 1860  
 atgtttttaa tatcttcaact ttcacccccc atactttcca tctttatc accagttggg 1920  
 tgatgtgtct taagggttgcg atattaactt tattatggaa tggaaactggaa ttcatatctt 1980  
 tgggtttcat gtccacaaaaa gagatagaaa gcattttgtaa agacagtattt ttcaactcct 2040  
 tgtattacta caaaaatgtt gacatctgtat gcacaacagt tttatggatg ttatgtattt 2100  
 tgtgtttta acattctatt ctgtatgtact tataagagag caactgtctt tgaactatata 2160  
 atgttaggtgg gagaacttgg agtactttat gtgctaatag gatggtaatgg ggtatgtata 2220  
 actttccctt ccagttttt ggagggaaat attaggaata catgtattgtatc taatttttag 2280  
 catatatttt ttaattgtta aaaataaaacc tggccctttt atatcaggaa agatattaaa 2340  
 aatggattta ttcatctc 2358

10

20

30

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

&lt;400&gt; 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 Asp Gln Leu Leu Gly Ser Tyr  
 225 230 235 240

Ile Gln Tyr Ile Ile Pro Ser Ile Ile Leu 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

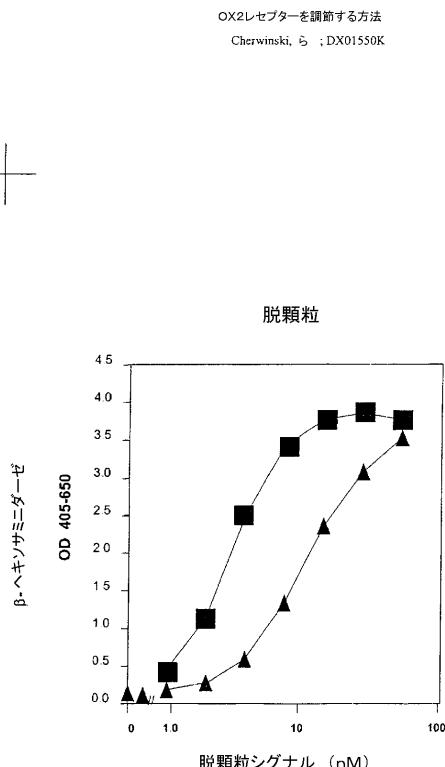
Ser Tyr Thr Glu Lys Ser Asn Pro Leu Tyr Asp Thr Val Thr Thr Thr  
290 295 300

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

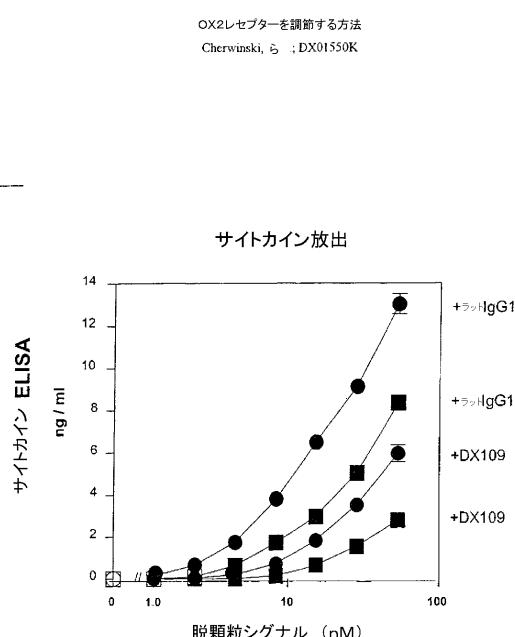
Thr Leu Ser Ala Met Gly Ile  
325

10

【図1】



【図2】



【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

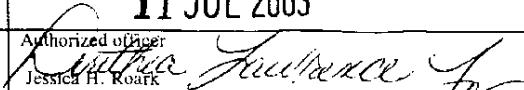
【補正方法】追加

【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									
<b>A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER</b> 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>B. FIELDS SEARCHED</b> 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											
<b>C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT</b> <table border="1" style="width: 100%; border-collapse: collapse;"> <thead> <tr> <th style="text-align: left;">Category *</th> <th style="text-align: left;">Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages</th> <th style="text-align: left;">Relevant to claim No.</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>Y</td> <td>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.</td> <td>1-16</td> </tr> <tr> <td>Y</td> <td>WO 00/70045 A1 (BARCLAY et al.) 23 November 2000 (23.11.2000), see entire document, particularly with respect to OX2RH1.2 and OX2RH1.</td> <td>1-16</td> </tr> </tbody> </table>			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
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									
<input type="checkbox"/> Further documents are listed in the continuation of Box C. <input type="checkbox"/>		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											
Date of the actual completion of the international search 28 May 2003 (28.05.2003)	Date of mailing of the international search report <b>11 JUL 2003</b>										
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										

Form PCT/ISA/210 (second sheet) (July 1998)

**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. <sup>7</sup>	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 29/00 101	
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 43/00 105	
	A 6 1 P 43/00 107	
	A 6 1 P 43/00 111	
	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 95006 , ポールダー クリーク , クーガー ロック  
ロード 17100

(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 94303 , パロ アルト , ウォールナット ドライブ  
1511

(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 94301 , パロ アルト , ノース カリフォルニア ア  
ベニュー 365

(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 94062 , レッドウッド シティー , ハイランド アベ  
ニュー 3624

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