

(19) 世界知的所有権機関
国際事務局



(43) 国際公開日
2005年6月16日 (16.06.2005)

PCT

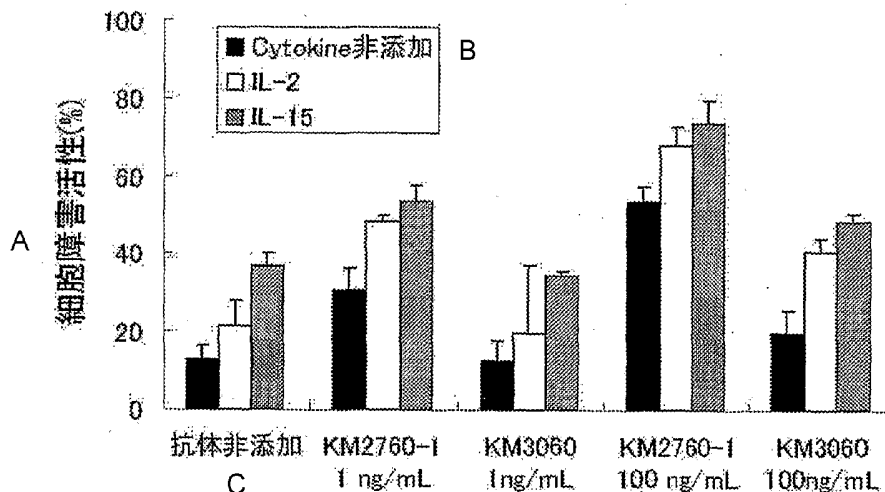
(10) 国際公開番号
WO 2005/053742 A1

- (51) 国際特許分類: A61K 39/395, 45/00, 38/00, 38/19, 38/20, 38/21, A61P 43/00, 35/00
- (21) 国際出願番号: PCT/JP2004/018441
- (22) 国際出願日: 2004年12月3日 (03.12.2004)
- (25) 国際出願の言語: 日本語
- (26) 国際公開の言語: 日本語
- (30) 優先権データ: 特願2003-406589 2003年12月4日 (04.12.2003) JP
- (71) 出願人 (米国を除く全ての指定国について): 協和醗酵工業株式会社 (KYOWA HAKKO KOGYO CO., LTD.) [JP/JP]; 〒1008185 東京都千代田区大手町一丁目6番1号 Tokyo (JP).
- (72) 発明者; および
- (75) 発明者/出願人 (米国についてのみ): 設楽 研也 (SHI-TARA, Kenya). 丹羽 倫平 (NIWA, Rinpei).
- (81) 指定国 (表示のない限り、全ての種類の国内保護が可能): AE, AG, AL, AM, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BR, BW, BY, BZ, CA, CH, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE, KG, KP, KR, KZ, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LV, MA, MD, MG, MK, MN, MW, MX, MZ, NA, NI, NO, NZ, OM, PG, PH, PL, PT, RO, RU, SC, SD, SE, SG, SK, SL, SY, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, YU, ZA, ZM, ZW.
- (84) 指定国 (表示のない限り、全ての種類の広域保護が可能): ARIPO (BW, GH, GM, KE, LS, MW, MZ, NA, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), ユーラシア (AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), ヨーロッパ (AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HU, IE, IS, IT, LT, LU, MC, NL, PL, PT, RO, SE, SI, SK, TR), OAPI (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG).

[続葉有]

(54) Title: MEDICINE CONTAINING ANTIBODY COMPOSITION

(54) 発明の名称: 抗体組成物を含有する医薬



A CYTOKINE ACTIVITY (%)
 B NO Cytokine ADDED
 C NO ANTIBODY ADDED

(57) Abstract: It is intended to provide a medicine which comprises a combination of an antibody composition, wherein the content of sugar chains having no fucose bonded to the N-acetylglucosamine at the sugar chain reducing end amounts to 50% or more in the total N-glycoside bond complex sugar chains bonded to the Fc domain in the antibody composition, with at least one drug.

[続葉有]



WO 2005/053742 A1



添付公開書類:

— 国際調査報告書

2文字コード及び他の略語については、定期発行される各PCTガゼットの巻頭に掲載されている「コードと略語のガイダンスノート」を参照。

(57) 要約: 本発明は抗体組成物中に含まれるFc領域に結合する全N-グリコシド結合複合型糖鎖のうち、糖鎖還元末端のN-アセチルグルコサミンにフコースが結合していない糖鎖の割合が50%以上である抗体組成物と、少なくとも1種類の薬剤とを組み合わせる医薬を提供する。

明細書

抗体組成物を含有する医薬

技術分野

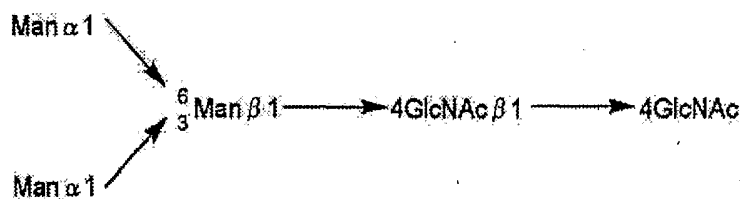
本発明は抗体組成物に含まれるFc領域に結合する全N-グリコシド結合複合型糖鎖のうち、糖鎖還元末端のN-アセチルグルコサミンにフコースが結合していない糖鎖の割合が50%以上である抗体組成物と、少なくとも1種類の薬剤とを組み合わせてなる医薬に関する。

背景技術

抗体依存性細胞障害活性（以下、ADCC活性と略記する）は、NK細胞、単球・マクロファージ、顆粒球など、エフェクター細胞と呼ばれる細胞集団に発現するFc γ 受容体に、抗体のFc領域が結合することにより起こる。NK細胞は細胞上のFc γ 受容体の一種Fc γ RIIIaを介して強いADCC活性を誘導する。Fc γ RIIIa遺伝子は158番目のアミノ酸に機能的な遺伝子多型が存在し、158番目のアミノ酸がValine（以下Valと称する）のFc γ RIIIaはPhenylalanine（以下Pheと称する）のFc γ RIIIaよりも強いADCC活性を誘導する〔ジャーナル・オブ・クリニカル・インベスティゲーション(J. Clin. Invest.), 100, 1059-1070 (1997)〕。近年Val/Valの遺伝子型を有する患者において、その他の遺伝子型の患者よりもRituxanの臨床効果が有意に高いことが示されており〔ブラッド(blood), 99, 754-758 (2002)、アースライティス・アンド・リュウマチズム(Arthritis Reum.), 48, 455-459 (2003)〕、ヒトIgG1サブクラスの抗体医薬の臨床効果にADCC活性が重要な役割を果たすことが示唆されている。

抗体などの糖タンパク質の糖鎖は、タンパク質部分との結合様式により、アスパラギンと結合する糖鎖（N-グリコシド結合糖鎖）とセリン、スレオニンなどと結合する糖鎖（O-グリコシル結合糖鎖）の2種類に大別される。N-グリコシド結合糖鎖は、以下の構造式（I）に示す基本となる共通のコア構造を有する〔生物化学実験法23-糖蛋白質糖鎖研究法（学会出版センター）高橋禮子編（1989年）〕。

（化1）



上記構造式（I）において、GlcNAcはN-アセチルグルコサミン、Manはマンノースを示す。またアスパラギンと結合する糖鎖の末端を還元末端、反対側を非還元末端という。

抗体分子は重鎖と軽鎖が2分子ずつ会合した4量体として構成される。IgG1型ヒト抗体は、重鎖のFc領域中に存在するN末端から297番目のアスパラギンに上記のコア構造を有する糖鎖が結合している。このコア構造にさらに非還元末端側にN-アセチルグルコサミン、ガラクトース、シアル酸、還元末端のN-アセチルグルコサミンの6位にフコースがそれぞれ付加する可能性があるが、通常これらの成分は均一ではなく、抗体を生産する細胞によって変化する〔トレンドズ・イン・バイオテクノロジー (Trends Biotechnol.), 15, 26-32 (1997)〕。ヒトIgG1

の ADCC 活性は、この糖鎖中のガラクトース [ヒューマン・アンティボディズ・アンド・ハイブリドーマズ (Hum Antibodies Hybridomas), 5, 143-151 (1994)、ヒューマン・アンティボディズ・アンド・ハイブリドーマズ (Hum Antibodies Hybridomas), 6, 82-88 (1995)]、N-アセチルグルコサミン [ネイチャー・バイオテクノロジー (Nat. Biotechnol.), 17, 176-180, (1999)、バイオテクノロジー・アンド・バイオエンジニアリング (Biotechnol. Bioeng.), 74, 288-294, (2001)]、フコース [ジャーナル・オブ・バイオリジカル・ケミストリー (J. Biol. Chem.), 277, 26733-26740 (2002)、ジャーナル・オブ・バイオリジカル・ケミストリー (J. Biol. Chem.), 278, 3466-3473 (2003)] の含有量に影響を受けることが報告されている。中でも最も影響が大きいのはフコースであり、還元末端の N-アセチルグルコサミンの 6 位にフコースが付加した糖鎖の割合が少ないヒト IgG1 型の抗体は ADCC 活性を顕著に増強する [ジャーナル・オブ・バイオリジカル・ケミストリー (J. Biol. Chem.), 277, 26733-26740 (2002)、ジャーナル・オブ・バイオリジカル・ケミストリー (J. Biol. Chem.), 278, 3466-3473 (2003)]。しかしこれらの報告はいずれも抗体単独での ADCC 活性であり、他の薬剤によってフコースの量が少ないヒト IgG1 型の抗体の ADCC 活性がさらに増強するかどうかは知られていない。

一方 ADCC 活性はエフェクター細胞を刺激するサイトカインによって上昇することが知られている。例えばインターロイキン (以下 IL) -2 [キャンサー・イムノロジー・イムノセラピー (Cancer Immunol. Immunother.), 46, 213 (1998)、キャンサー・イムノロジー・イムノセラピー (Cancer Immunol. Immunother.), 51, 171 (2002)、ブラッド (Blood), 93, 3922 (1999)、ジャパニーズ・ジャーナル・オブ・キャンサー・リサーチ (Jpn. J. Cancer Res.), 87, 497 (1996)]、IL-12 [ブラッド (Blood), 93, 3922 (1999)、ジャパニーズ・ジャーナル・オブ・キャンサー・リサーチ (Jpn. J. Cancer Res.), 87, 497 (1996)]、IL-15 [ブラッド (Blood), 93, 3922 (1999)、ジャーナル・オブ・エクスペリメンタル・メディシン (J. Exp. Med), 180, 1395 (1994)]、インターフェロン (以下 IFN) - α [キャンサー・イムノロジー・イムノセラピー (Cancer Immunol. Immunother.), 46, 213 (1998)、キャンサー・イムノロジー・イムノセラピー (Cancer Immunol. Immunother.), 51, 171 (2002)]、IFN- γ [キャンサー・イムノロジー・イムノセラピー (Cancer Immunol. Immunother.), 46, 213 (1998)、キャンサー・イムノロジー・イムノセラピー (Cancer Immunol. Immunother.), 51, 171 (2002)、ジャパニーズ・ジャーナル・オブ・キャンサー・リサーチ (Jpn. J. Cancer Res.), 87, 497 (1996)]、マクロファージコロニー刺激因子 (以下 M-CSF) [キャンサー・イムノロジー・イムノセラピー (Cancer Immunol. Immunother.), 46, 213 (1998)、ブラッド (Blood), 93, 3922 (1999)、ジャパニーズ・ジャーナル・オブ・キャンサー・リサーチ (Jpn. J. Cancer Res.), 87, 497 (1996)、ジャパニーズ・ジャーナル・オブ・キャンサー・リサーチ (Jpn. J. Cancer Res.), 81, 79 (1990)] 等、様々なサイトカインをエフェクター細胞に *in vitro* で加えて刺激することにより、ADCC 活性を上昇させることが知られている。

化学療法剤のような低分子の薬剤が *in vitro* の ADCC 活性を増強することは知られていないが、化学療法と抗体との併用により優れた治療効果が得られることが知られている。抗 HER2/neu ヒト化抗体 rhuMAb HER2 (Herceptin、Roche 社) は taxane 系抗癌剤との併用療法により乳癌に対して顕著な効果を示すことが知られている [Clinical Therapeutics, 21, 309 (1999)]。また、抗 CD20 ヒト型キメラ抗体 IDEC-C2B8 (Rituxan、IDEC 社) は多剤療法との併用療法によ

り B 細胞リンパ腫に対して顕著な効果を示すことが知られている [J. Clin. Oncol., 17, 268 (1999)]。

発明の開示

本発明の目的は、高い治療効果を有する抗体組成物と少なくとも 1 種類の薬剤とを用いる医薬を提供することにある。

本発明は、以下の (1) ~ (14) に関する。

(1) 抗体組成物中に含まれる Fc 領域に結合する全 N-グリコシド結合複合型糖鎖のうち、糖鎖還元末端の N-アセチルグルコサミンにフコースが結合していない糖鎖の割合が 50% 以上である抗体組成物と、少なくとも 1 種類の薬剤とを組み合わせる医薬。

(2) 抗体組成物中に含まれる Fc 領域に結合する全 N-グリコシド結合複合型糖鎖のうち、糖鎖還元末端の N-アセチルグルコサミンにフコースが結合していない糖鎖の割合が 50% 以上である抗体組成物と、少なくとも 1 種類の薬剤とを併用して投与するための医薬。

(3) 抗体組成物中に含まれる Fc 領域に結合する全 N-グリコシド結合複合型糖鎖のうち、糖鎖還元末端の N-アセチルグルコサミンにフコースが結合していない糖鎖の割合が 50% 以上である抗体組成物と、少なくとも 1 種類の薬剤とを同時に又は逐次的に投与するための医薬。

(4) 抗体組成物中に含まれる Fc 領域に結合する全 N-グリコシド結合複合型糖鎖のうち、糖鎖還元末端の N-アセチルグルコサミンにフコースが結合していない糖鎖の割合が 50% 以上である抗体組成物を単独で投与した場合よりも、高い治療効果を示すことを特徴とする、上記 (1) ~ (3) のいずれか 1 項に記載の医薬。

(5) 高い治療効果を示すことが、高い抗体依存性細胞障害活性を示すことである、上記 (4) 記載の医薬。

(6) 抗体組成物が、N-グリコシド結合複合型糖鎖還元末端の N-アセチルグルコサミンの 6 位とフコースの 1 位が α 結合した糖鎖構造を認識するレクチンに耐性を有する細胞から生産される抗体組成物である上記 (1) ~ (5) のいずれか 1 項に記載の医薬。

(7) 抗体組成物が、抗体組成物中に含まれる Fc 領域に結合する全 N-グリコシド結合複合型糖鎖のうち、糖鎖還元末端の N-アセチルグルコサミンにフコースが結合していない糖鎖である抗体組成物である、上記 (1) ~ (6) のいずれか 1 項に記載の医薬。

(8) フコースが結合していない糖鎖が、該フコースの 1 位が N-グリコシド結合複合型糖鎖還元末端の N-アセチルグルコサミンの 6 位に α 結合していない糖鎖である、上記 (1) ~ (7) のいずれか 1 項に記載の医薬。

(9) 抗体組成物が、N-グリコシド結合複合型糖鎖還元末端の N-アセチルグルコサミンの 6 位にフコースの 1 位が α 結合する糖鎖修飾に関与する酵素のゲノム遺伝子がノックアウトされた細胞から生産された抗体組成物である、上記 (7) または (8) 記載の医薬。

(10) N-グリコシド結合複合型糖鎖還元末端の N-アセチルグルコサミンの 6 位にフコースの 1 位が α 結合する糖鎖修飾に関与する酵素が、 α 1,6-フコシルトランスフェラーゼである上記 (9) 記載の医薬。

(11) 薬剤が、蛋白質、低分子の薬剤および生物学的応答調節剤からなる群から選ばれる物質である上記 (1) ~ (10) のいずれか 1 項に記載の医薬。

(12) 蛋白質が、サイトカインまたは抗体である、上記(11)記載の医薬。

(13) サイトカインが、IFN- γ 、IL-2 および IL-15 から選ばれるサイトカインである上記(12)に記載の医薬。

(14) 医薬が、腫瘍を伴う疾患に対する治療薬である、上記(1)～(13)のいずれか1項に記載の医薬。

本発明の医薬の形態としては、抗体組成物中に含まれるFc領域に結合する全N-グリコシド結合複合型糖鎖のうち、糖鎖還元末端のN-アセチルグルコサミンにフコースが結合していない糖鎖の割合が50%以上である抗体組成物と、少なくとも1種類の薬剤とを組み合わせる医薬、抗体組成物中に含まれるFc領域に結合する全N-グリコシド結合複合型糖鎖のうち、糖鎖還元末端のN-アセチルグルコサミンにフコースが結合していない糖鎖の割合が50%以上である抗体組成物と、少なくとも1種類の薬剤とを併用して投与するための医薬、抗体組成物中に含まれるFc領域に結合する全N-グリコシド結合複合型糖鎖のうち、糖鎖還元末端のN-アセチルグルコサミンにフコースが結合していない糖鎖の割合が50%以上である抗体組成物と、少なくとも1種類の薬剤とを同時に又は逐次的に投与するための医薬があげられる。

ここで、組み合わせる医薬とは、抗体組成物中に含まれるFc領域に結合する全N-グリコシド結合複合型糖鎖のうち、糖鎖還元末端のN-アセチルグルコサミンにフコースが結合していない糖鎖の割合が50%以上である抗体組成物と、少なくとも1種類の薬剤とを別々に調製し、これらの薬剤を組み合わせる同時にまたは逐次的に投与する医薬であってもよい、それぞれの薬剤成分を混合させた合剤であってもよい。それぞれの薬剤成分を混合させた合剤には、抗体組成物中に含まれるFc領域に結合する全N-グリコシド結合複合型糖鎖のうち、糖鎖還元末端のN-アセチルグルコサミンにフコースが結合していない糖鎖の割合が50%以上である抗体組成物に少なくとも1種類の薬剤を結合させた融合抗体なども包含する。

本発明において、抗体組成物中に含まれるFc領域に結合する全N-グリコシド結合複合型糖鎖のうち、糖鎖還元末端のN-アセチルグルコサミンにフコースが結合していない糖鎖の割合とは、該組成物中に含まれるFc領域に結合する全てのN-グリコシド結合複合型糖鎖の合計数に対して、糖鎖還元末端のN-アセチルグルコサミンにフコースが結合していない糖鎖の数が占める割合をいう。糖鎖の割合は、糖鎖還元末端のN-アセチルグルコサミンの6位にフコースの1位が α 結合していない糖鎖の割合が好ましい。

本発明において、N-グリコシド結合複合型糖鎖還元末端のN-アセチルグルコサミンにフコースが結合していない糖鎖とは、該フコースが、N-グリコシド結合複合型糖鎖還元末端のN-アセチルグルコサミンに α 結合していない糖鎖をいい、具体的には、該フコースの1位がN-グリコシド結合複合型糖鎖のN-アセチルグルコサミンの6位に α 結合していない糖鎖があげられる。

本発明における抗体組成物としては、N-グリコシド結合複合型糖鎖をFc領域に有する抗体分子を含有してなる組成物であればいかなるものも包含される。

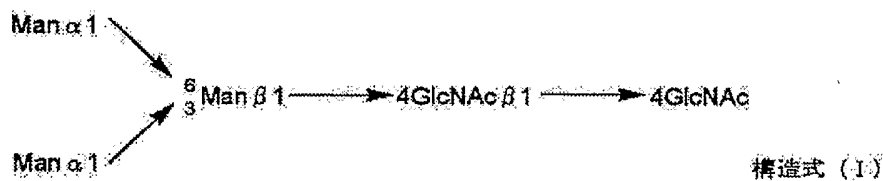
抗体分子とは、重鎖および軽鎖（以下、それぞれH鎖およびL鎖と表記する）の2種類のポリペプチド鎖がそれぞれ2分子ずつ会合した4量体である。H鎖のN末端側の約4分の1とL鎖のN末端側の約2分の1（それぞれ100余アミノ酸）はV領域と呼ばれ、多様性に富み、抗原との結合に直接関与する。V領域以外の部分の大半はC領域と呼ばれる。抗体分子はC領域

の相同性により IgG、IgM、IgA、IgD、IgE の各クラスに分類される。

また IgG クラスは C 領域の相同性により、さらに IgG1～IgG4 のサブクラスに分類される。

H 鎖は N 末端側より VH、CH1、CH2、CH3 の 4 つのイムノグロブリンドメインに分かれ、CH1 と CH2 の間にはヒンジ領域と呼ばれる可動性の高いペプチド領域があり、CH1 と CH2 とが区切られる。ヒンジ領域以降の CH2 と CH3 からなる構造単位は Fc 領域と呼ばれ、N-グリコシド結合型糖鎖が結合している。また、この領域は、Fc レセプター、補体などが結合する領域である（免疫学イラストレイテッド原書第 5 版、2000 年 2 月 10 日発行、南江堂版、抗体工学入門、1994 年 1 月 25 日初版、地人書館）。

抗体などの糖蛋白質の糖鎖は、蛋白質部分との結合様式により、アスパラギンと結合する糖鎖（N-グリコシド結合糖鎖）とセリン、スレオニンなどと結合する糖鎖（O-グリコシル結合糖鎖）の 2 種類に大別される。N-グリコシド結合糖鎖は、以下の構造式（I）に示す基本となる共通のコア構造を有する〔生物化学実験法 23—糖蛋白質糖鎖研究法（学会出版センター）高橋禮子編（1989 年）〕。



上記構造式（I）において、アスパラギンと結合する糖鎖の末端を還元末端、反対側を非還元末端という。

N-グリコシド結合糖鎖としては、上記構造式（I）のコア構造を有するものであればいかなるものでもよいが、コア構造の非還元末端にマンノースのみが結合するハイマンノース型、コア構造の非還元末端側にガラクトース-N-アセチルグルコサミン（以下、Gal-GlcNAc と表記する）の枝を並行して 1 ないしは複数本有し、更に Gal-GlcNAc の非還元末端側にシアル酸、バイセクティングの N-アセチルグルコサミンなどの構造を有するコンプレックス型（複合型）、コア構造の非還元末端側にハイマンノース型とコンプレックス型の両方の枝を持つハイブリッド型などがあげられる。

抗体分子の Fc 領域には、N-グリコシド結合糖鎖が 1 カ所ずつ結合する領域を有しているので、抗体 1 分子あたり 2 本の糖鎖が結合している。抗体分子に結合する N-グリコシド結合糖鎖としては、前記構造式（I）で示されるコア構造を含むいかなる糖鎖も包含されるので、抗体に結合する 2 本の N-グリコシド結合糖鎖には多数の糖鎖の組み合わせが存在することになる。

したがって、本発明における抗体組成物は、本発明の効果が得られる範囲であれば、単一の糖鎖構造を有する抗体分子から構成されていてもよいし、複数の異なる糖鎖構造を有する抗体分子から構成されていてもよい。

抗体分子としては、抗体の Fc 領域を含む分子であればいかなる分子も包含される。具体的には、抗体、抗体の断片、Fc 領域を含む融合蛋白質などがあげられる。

抗体としては、動物に抗原を免疫し、免疫動物の脾臓細胞より作製したハイブリドーマ細胞

が分泌する抗体、遺伝子組換え技術により作製された抗体、すなわち、抗体遺伝子を挿入した抗体発現ベクターを、宿主細胞へ導入することにより取得された抗体などがあげられる。具体的には、ハイブリドーマが生産する抗体、ヒト化抗体、ヒト抗体などをあげることができる。

ハイブリドーマは、ヒト以外の哺乳動物に抗原を免疫して取得されたB細胞と、マウス、ラット等に由来するミエローマ細胞とを細胞融合させて得られる、所望の抗原特異性を有したモノクローナル抗体を生産する細胞をいう。

ヒト化抗体としては、ヒト型キメラ抗体、ヒト型 CDR 移植抗体などがあげられる。

ヒト型キメラ抗体は、ヒト以外の動物の抗体 H 鎖 V 領域（以下、HV または VH とも称す）および抗体 L 鎖 V 領域（以下、LV または VL とも称す）とヒト抗体の H 鎖 C 領域（以下、CH とも称す）およびヒト抗体の L 鎖 C 領域（以下、CL とも称す）とからなる抗体をいう。ヒト以外の動物としては、マウス、ラット、ハムスター、ラビット等、ハイブリドーマを作製することが可能であれば、いかなるものも用いることができる。

ヒト型キメラ抗体は、モノクローナル抗体を生産するハイブリドーマより、VH および VL をコードする cDNA を取得し、ヒト抗体 CH およびヒト抗体 CL をコードする遺伝子を有する宿主細胞用発現ベクターにそれぞれ挿入してヒト型キメラ抗体発現ベクターを構築し、宿主細胞へ導入することにより発現させ、製造することができる。

ヒト型キメラ抗体の CH としては、ヒトイムノグロブリン（以下、hIg と表記する）に属すればいかなるものでもよいが、hIgG クラスのものが好適であり、更に hIgG クラスに属する hIgG1、hIgG2、hIgG3、hIgG4 といったサブクラスのいずれも用いることができる。また、ヒト型キメラ抗体の CL としては、hIg に属すればいかなるものでもよく、 κ クラスあるいは λ クラスのものを用いることができる。

ヒト型 CDR 移植抗体は、ヒト以外の動物の抗体の VH および VL の CDR のアミノ酸配列をヒト抗体の VH および VL の適切な位置に移植した抗体をいう。

ヒト型 CDR 移植抗体は、ヒト以外の動物の抗体の VH および VL の CDR 配列を任意のヒト抗体の VH および VL の CDR 配列に移植した V 領域をコードする cDNA を構築し、ヒト抗体の CH およびヒト抗体の CL をコードする遺伝子を有する宿主細胞用発現ベクターにそれぞれ挿入してヒト型 CDR 移植抗体発現ベクターを構築し、該発現ベクターを宿主細胞へ導入することによりヒト型 CDR 移植抗体を発現させ、製造することができる。

ヒト型 CDR 移植抗体の CH としては、hIg に属すればいかなるものでもよいが、hIgG クラスのものが好適であり、更に hIgG クラスに属する hIgG1、hIgG2、hIgG3、hIgG4 といったサブクラスのいずれも用いることができる。また、ヒト型 CDR 移植抗体の CL としては、hIg に属すればいかなるものでもよく、 κ クラスあるいは λ クラスのものを用いることができる。

ヒト抗体は、元来、ヒト体内に天然に存在する抗体をいうが、最近の遺伝子工学的、細胞工学的、発生工学的な技術の進歩により作製されたヒト抗体ファージライブラリーならびにヒト抗体トランスジェニック非ヒト動物あるいはヒト抗体トランスジェニック植物から得られる抗体等も含まれる。

ヒト体内に存在する抗体は、例えば、ヒト末梢血リンパ球を単離し、EB ウイルス等を感染させ不活化、クローニングすることにより、該抗体を生産するリンパ球を培養でき、培養物中より該抗体を精製することができる。

ヒト抗体ファージライブラリーは、ヒト B 細胞から調製した抗体遺伝子をファージ遺伝子に挿入することにより Fab、一本鎖抗体等の抗体断片をファージ表面に発現させたライブラリーである。該ライブラリーより、抗原を固定化した基質に対する結合活性を指標として所望の抗原結合活性を有する抗体断片を発現しているファージを回収することができる。該抗体断片は、更に遺伝子工学的手法により、2本の完全な H 鎖および 2本の完全な L 鎖からなるヒト抗体分子へも変換することができる。

ヒト抗体トランスジェニック非ヒト動物は、ヒト抗体遺伝子が細胞内に組込まれた動物をいう。具体的には、マウス胚性幹細胞へヒト抗体遺伝子を導入し、該胚性幹細胞を他のマウスの初期胚へ移植後、発生させることによりヒト抗体トランスジェニック非ヒト動物を作製することができる。また、動物の受精卵にヒト抗体遺伝子を導入し、該受精卵を発生させることにヒト抗体トランスジェニック非ヒト動物を作製することもできる。ヒト抗体トランスジェニック非ヒト動物からのヒト抗体の作製方法は、通常のヒト以外の哺乳動物で行われているハイブリドーマ作製方法によりヒト抗体ハイブリドーマを得、培養することで培養物中にヒト抗体を蓄積させることができる。

トランスジェニック非ヒト動物としては、ウシ、ヒツジ、ヤギ、ブタ、ウマ、マウス、ラット、ニワトリ、サルまたはウサギ等があげられる。

抗体の断片は、上記抗体の少なくとも Fc 領域の一部を含んだ断片をいう。Fc 領域とは、抗体の H 鎖の C 末端側の領域、CH2 領域および CH3 領域をいう。少なくとも Fc 領域の一部とは、好ましくは CH2 領域を含む断片、より好ましくは CH2 領域内に存在する 1 番目のアスパラギン酸を含む領域をいう。IgG クラスの Fc 領域は、カバット (Kabat) らの EU Index [シーケンシズ・オブ・プロテインズ・オブ・イムノロジカル・インタレスト (Sequences of Proteins of Immunological Interest), 5th Ed. Public Health Service, National Institutes of Health, Bethesda, MD. (1991)] のナンバリングで 226 番目の Cys から C 末端、あるいは 230 番目の Pro から C 末端までをいう。抗体の断片としては、H 鎖の単量体、H 鎖の 2 量体などがあげられる。本発明における Fc 領域としては、天然型およびその変異型を包含する。

Fc 領域の一部を有する融合蛋白質とは、抗体の Fc 領域の一部を含んだ抗体あるいは抗体の断片と、酵素、サイトカインなどの蛋白質とを融合させた物質 (以下、Fc 融合蛋白質と称す) をいう。

本発明の抗体組成物中に含まれる Fc 領域に結合する全 N-グリコシド結合複合型糖鎖のうち、糖鎖還元末端の N-アセチルグルコサミンにフコースが結合していない糖鎖の割合が 50%以上、好ましくは 60%以上、より好ましくは 70%以上、さらに好ましくは 80%以上、特に好ましくは 90%以上であり、抗体組成物中に含まれる Fc 領域に結合する全ての N-グリコシド結合複合型糖鎖が、糖鎖還元末端の N-アセチルグルコサミンにフコースが結合していない糖鎖であることが最も好ましい。

以上のように抗体組成物中に含まれる Fc 領域に結合する全 N-グリコシド結合複合型糖鎖のうち、糖鎖還元末端の N-アセチルグルコサミンにフコースが結合していない糖鎖の割合が高ければ高いほど、抗体組成物は、高い抗体依存性細胞障害活性を有する。

N-グリコシド結合複合型糖鎖を Fc 領域に有する抗体分子からなる組成物中に含まれる、糖鎖還元末端の N-アセチルグルコサミンにフコースが結合していない糖鎖の割合は、抗体分子から

ヒドラジン分解や酵素消化などの公知の方法[生物化学実験法 23—糖タンパク質糖鎖研究法 (学会出版センター) 高橋禮子編 (1989)]を用い、糖鎖を遊離させ、遊離させた糖鎖を蛍光標識又は同位元素標識し、標識した糖鎖をクロマトグラフィー法にて分離することによって決定することができる。また、遊離させた糖鎖を HPAED-PAD 法[ジャーナル・オブ・リキッド・クロマトグラフィー (J. Liq. Chromatogr.), 6, 1577 (1983)]によって分析することによっても決定することができる。

本発明において、高い治療効果としては、例えば細胞障害活性が高いこと等があげられる。

抗体組成物の有する細胞障害活性としては抗体依存性細胞障害活性(以下、ADCC と略記する)、補体依存性細胞障害活性(モノクローナル・アンティボディズ)、抗原に結合することによる抗原発現細胞の増殖抑制活性などがあげられる。増殖抑制活性には標的細胞のアポトーシス誘導や分化誘導を促進するものも包含される [キャンサー・リサーチ (Cancer Research) 60, 7170 (2000)、ネイチャー・メディスン (Nature Medicine) 1, 644 (1995)、セル・グロース・ディファレンシエーション (Cell Growth Differ.) 3, 401 (1992)]。

ADCC 活性とは、生体内で、腫瘍細胞等の細胞表面抗原などに結合した抗体が、抗体 Fc 領域とエフェクター細胞表面上に存在する Fc 受容体との結合を介してエフェクター細胞を活性化し、腫瘍細胞等を障害する活性をいう [モノクローナル・アンティボディズ: プリンシプルズ・アンド・アプリケーションズ (Monoclonal Antibodies: Principles and Applications), Wiley-Liss, Inc., Chapter 2.1 (1995)]。エフェクター細胞としては、ナチュラルキラー細胞、マクロファージ、単球、樹状細胞、顆粒球等の免疫細胞があげられる。また Fc 受容体は Fc α 受容体 I、Fc ϵ 受容体 I、Fc ϵ 受容体 II、Fc γ 受容体 I、Fc γ 受容体 IIa、Fc γ 受容体 IIb、Fc γ 受容体 IIc、Fc γ 受容体 IIIa、Fc γ 受容体 IIIb、Fc 受容体 n 等のタイプに分かれる。この内 Fc γ 受容体 IIIa は主にナチュラルキラー細胞上に発現し、ADCC 活性に重要な Fc 受容体の一つである [モノクローナル・アンティボディズ: プリンシプルズ・アンド・プラクティス (Monoclonal Antibodies: principles and practice), Third Edition, Acad. Press, 1996 (以下、モノクローナル・アンティボディズと略す)]。

したがって、本発明において、抗体分子の Fc 領域に結合する全 N-グリコシド結合複合型糖鎖のうち、糖鎖還元末端の N-アセチルグルコサミンにフコースが結合していない糖鎖の割合が 50%以上である抗体組成物を単独で投与した場合よりも、高い治療効果を示すとは、抗体分子の Fc 領域に結合する全 N-グリコシド結合複合型糖鎖のうち、糖鎖還元末端の N-アセチルグルコサミンにフコースが結合していない糖鎖の割合が 50%以上である抗体組成物と少なくとも 1 種類以上の薬剤とを組み合わせることにより、該抗体組成物単独で投与した場合に発揮される治療効果よりも高い治療効果を発揮する医薬をいう。

また、本発明の医薬は、抗体分子の Fc 領域に結合する全 N-グリコシド結合複合型糖鎖のうち、糖鎖還元末端の N-アセチルグルコサミンにフコースが結合していない糖鎖の割合が 50%未満である抗体組成物と少なくとも 1 種類の薬剤とを組み合わせる医薬よりも、高い治療効果を示す。

本発明の医薬は、薬剤を単独で使用する場合よりも少ない薬剤の量にすることができ、薬剤を単独で高用量を患者に投与した場合に懸念された副作用を低減させることができる。

N-グリコシド結合複合型糖鎖還元末端の N-アセチルグルコサミンの 6 位とフコースの 1

位が α 結合した糖鎖構造を認識するレクチンに耐性を有する細胞（以下、 α 1,6-フコース/レクチン耐性細胞と称す）としては、酵母、動物細胞、昆虫細胞、植物細胞など抗体組成物を製造することができる細胞であって、N-グリコシド結合複合型糖鎖還元末端のN-アセチルグルコサミンの6位とフコースの1位が α 結合した糖鎖構造を認識するレクチン耐性を有する細胞であればいかなる細胞でもよい。

具体的には、N-グリコシド結合複合型糖鎖還元末端のN-アセチルグルコサミンの6位とフコースの1位が α 結合した糖鎖構造を認識するレクチンに耐性を有する、ハイブリドーマ細胞、ヒト抗体およびヒト化抗体を製造するための宿主細胞、ヒト抗体を生産するためのトランスジェニック非ヒト動物を製造するための胚性幹細胞および受精卵細胞、ヒト抗体を生産するためのトランスジェニック植物を製造するための植物カルス細胞、ミエローマ細胞、トランスジェニック非ヒト動物由来の細胞などがあげられる。ミエローマ細胞はハイブリドーマ細胞を製造する際に融合細胞として用いることができる。また、トランスジェニック非ヒト動物に抗原を免疫し、該動物の脾臓細胞を取り出し、ハイブリドーマ細胞を製造するために用いることができる。

レクチンに耐性を有する細胞とは、培養培地にレクチンを有効濃度与えて細胞培養を行ったときにも、生育が阻害されない細胞をいう。

本発明において、生育が阻害されないレクチン有効濃度は、細胞株に応じて適宜定めればよいが、通常 $10\mu\text{g/ml}$ ~ 10.0mg/ml 、好ましくは 0.5 ~ 2.0mg/ml である。親株細胞に変異を導入した場合のレクチンの有効濃度とは、該親株細胞が正常に生育できない濃度以上であり、好ましくは親株細胞が正常に生育できない濃度と同濃度、より好ましくは2~5倍、さらに好ましくは10倍、最も好ましくは20倍以上の濃度をいう。

親株細胞とは、何らかの処理を施す前の細胞、すなわち本発明で用いる α 1,6-フコース/レクチン耐性細胞を選択する工程を行う前の細胞、上述した酵素活性を低下または欠失するために遺伝子工学的な処理を行う前の細胞をいう。

親株細胞としては、特に限定はないが、種々の細胞株の親株細胞の具体例として、以下に示す細胞があげられる。

NS0細胞の親株細胞としては、バイオ/テクノロジー (BIO/TECHNOLOGY), 10, 169 (1992)、バイオテクノロジー・バイオエンジニアリング (Biotechnol. Bioeng.), 73, 261, (2001) 等の文献に記載されている NS0細胞があげられる。また、理化学研究所細胞開発銀行に登録されている NS0細胞株 (RCB0213)、あるいはこれら株を生育可能な培地に馴化させた亜株などもあげられる。

SP2/0-Ag14細胞の親株細胞としては、ジャーナル・オブ・イムノロジー (J. Immunol.), 126, 317 (1981)、ネイチャー (Nature), 276, 269 (1978)、ヒューマン・アンチボディーズ・アンド・ハイブリドーマズ (Human Antibodies and Hybridomas), 3, 129 (1992) 等の文献に記載されている SP2/0-Ag14細胞があげられる。また、ATCCに登録されている SP2/0-Ag14細胞 (ATCC CRL-1581) あるいはこれら株を生育可能な培地に馴化させた亜株 (ATCC CRL-1581.1) などもあげられる。

チャイニーズハムスター卵巣組織由来 CHO細胞の親株細胞としては、Journal of Experimental Medicine, 108, 945 (1958)、Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 60, 1275 (1968)、

Genetics, 55, 513 (1968)、Chromosoma, 41, 129 (1973)、Methods in Cell Science, 18, 115 (1996)、Radiation Research, 148, 260 (1997)、Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 77, 4216 (1980)、Proc. Natl. Acad. Sci. 60, 1275 (1968)、Cell, 6, 121 (1975)、Molecular Cell Genetics, Appendix I, II (p883-900)等の文献に記載されている CHO 細胞などがあげられる。また、ATCC に登録されている CHO-K1 株 (ATCC CCL-61)、DUXB11 株 (ATCC CRL-9096)、Pro-5 株 (ATCC CRL-1781) や、市販の CHO-S 株 (Lifetechnologies 社 Cat#11619)、あるいはこれら株を生育可能な培地に馴化させた亜株などもあげられる。

ラットミエローマ細胞株 YB2/3HL.P2.G11.16Ag.20 細胞の親株細胞としては、Y3/Ag1.2.3 細胞 (ATCC CRL-1631) から樹立された株化細胞が包含される。その具体的な例としては、J. Cell. Biol., 93, 576 (1982)、Methods Enzymol., 73B, 1 (1981) 等の文献に記載されている YB2/3HL.P2.G11.16Ag.20 細胞があげられる。また、ATCC に登録されている YB2/3HL.P2.G11.16Ag.20 細胞 (ATCC CRL-1662) あるいはこれら株を生育可能な培地に馴化させた亜株などもあげられる。

N-グリコシド結合複合型糖鎖還元末端の N-アセチルグルコサミンの 6 位とフコースの 1 位が α 結合した糖鎖構造を認識するレクチンとしては、該糖鎖構造を認識できるレクチンであれば、いずれのレクチンも包含される。その具体的な例としては、レンズマメレクチン LCA (Lens Culinaris 由来の Lentil Agglutinin)、エンドウマメレクチン PSA (Pisum sativum 由来の Pea Lectin)、ソラマメレクチン VFA (Vicia faba 由来の Agglutinin)、ヒイロチャワンタケレクチン AAL (Aleuria aurantia 由来の Lectin) などがあげられる。

本発明において、 α 1,6-フコース/レクチン耐性細胞としては、一定の有効濃度のレクチン存在下で生育が阻害されない細胞であれば、いずれでもよいが、例えば、以下にあげる少なくとも 1 つの蛋白質の活性が親株細胞よりも低下または欠失した細胞などがあげられる。

(a) 細胞内糖ヌクレオチド GDP-フコースの合成に関与する酵素蛋白質 (以下、「GDP-フコース合成酵素」と表記する) ;

(b) N-グリコシド結合複合型糖鎖還元末端の N-アセチルグルコサミンの 6 位にフコースの 1 位が α 結合する糖鎖修飾に関与する酵素蛋白質 (以下、「 α 1,6-フコース修飾酵素」と表記する) ;

(c) 細胞内糖ヌクレオチド GDP-フコースのゴルジ体への輸送に関与する蛋白質 (以下、「GDP-フコース輸送蛋白質」と表記する)。

GDP-フコース合成酵素としては、細胞内で糖鎖へのフコースの供給源である糖ヌクレオチド GDP-フコースの合成に関与する酵素であればいかなる酵素も包含し、細胞内糖ヌクレオチド GDP-フコースの合成に影響を与える酵素などがあげられる。

細胞内の糖ヌクレオチド GDP-フコースは、de novo の合成経路あるいは Salvage 合成経路により供給されている。したがって、これら合成経路に関与する酵素はすべて GDP-フコース合成酵素に包含される。

de novo の合成経路に関与する GDP-フコース合成酵素としては、GDP-mannose 4-dehydratase (GDP-マンノース 4-デヒドラターゼ ; 以下、GMD と表記する)、GDP-keto-6-deoxymannose 3,5-epimerase, 4-reductase (GDP-ケト-デオキシマンノース 3,5-エピメラーゼ, 4-リダクターゼ ; 以下、Fx と表記する) などがあげられる。

Salvage 合成経路に関与する GDP-フコース合成酵素としては、GDP-beta-L-fucose pyrophosphorylase (GDP-ベータ-L-フコース-ピロホスホリラーゼ;以下、GFPP と表記する)、Fucokinase (フコキナーゼ) などがあげられる。GMD としては、配列番号 1、2 または 3 で表されるアミノ酸配列を有する GMD があげられる。

細胞内糖ヌクレオチド GDP-フコースの合成に影響を与える酵素としては、上述の細胞内の糖ヌクレオチド GDP-フコースの合成経路に関与する酵素の活性に影響を与えたり、該酵素の基質となる物質の構造に影響を与える酵素も包含される。

α 1,6-フコース修飾酵素としては、N-グリコシド結合複合型糖鎖還元末端の N-アセチルグルコサミンの 6 位とフコースの 1 位が α 結合する反応に関与する酵素であればいかなる酵素も包含される。N-グリコシド結合複合型糖鎖還元末端の N-アセチルグルコサミンの 6 位とフコースの 1 位が α 結合する反応に関与する酵素としては、N-グリコシド結合複合型糖鎖還元末端の N-アセチルグルコサミンの 6 位とフコースの 1 位が α 結合する反応に影響を与える酵素であればいかなる酵素も包含される。具体的には、 α 1,6-フコシルトランスフェラーゼや α -L-フコシダーゼなどがあげられる。 α 1,6-フコシルトランスフェラーゼとしては、配列番号 4 または 5 で表されるアミノ酸配列を有する α 1,6-フコシルトランスフェラーゼがあげられる。

また、N-グリコシド結合複合型糖鎖還元末端の N-アセチルグルコサミンの 6 位とフコースの 1 位が α 結合する反応に影響を与える酵素としては、上述の N-グリコシド結合複合型糖鎖還元末端の N-アセチルグルコサミンの 6 位にフコースの 1 位が α 結合する反応に関与する酵素の活性に影響を与えたり、該酵素の基質となる物質の構造に影響を与える酵素も包含される。

GDP-フコース輸送蛋白質としては、細胞内糖ヌクレオチド GDP-フコースのゴルジ体への輸送に関与する蛋白質であればいかなる蛋白質も包含され、具体的には、GDP-フコーストランスポーターなどがあげられる。

また、細胞内糖ヌクレオチド GDP-フコースをゴルジ体内へ輸送する反応に影響を与える蛋白質も GDP-フコース輸送蛋白質に包含され、具体的には上述の細胞内糖ヌクレオチド GDP-フコースのゴルジ体への輸送に関与する蛋白質の活性に影響を与えたり、発現に影響を与える蛋白質などがあげられる。

本発明の製造方法に用いられる細胞を取得する方法としては、 α 1,6-フコース/レクチン耐性細胞を選択することができる手法であればいかなる手法でも用いることができる。具体的には、上述した蛋白質の活性を低下または欠失させる手法などがあげられる。上述の蛋白質の活性を低下または欠失させる手法としては、

- (a) 蛋白質の遺伝子を標的した遺伝子破壊の手法；
- (b) 蛋白質の遺伝子のドミナントネガティブ体を導入する手法；
- (c) 蛋白質についての突然変異を導入する手法；
- (d) 蛋白質の遺伝子の転写または翻訳を抑制する手法；

などがあげられる (W002/31140、W003/085107、W003/085118)。

本発明において、N-グリコシド結合複合型糖鎖還元末端の N-アセチルグルコサミンの 6 位にフコースの 1 位が α 結合する糖鎖修飾に関与する酵素のゲノム遺伝子がノックアウトされた細胞としては、N-グリコシド結合複合型糖鎖還元末端の N-アセチルグルコサミンの 6 位にフコースの 1 位が α 結合する糖鎖修飾に関与する酵素のゲノム遺伝子の発現または機能を完全に抑制

された細胞などがあげられる。したがって、本発明において、ゲノム遺伝子がノックアウトされた細胞としては、以下に述べる手法を用いて、N-グリコシド結合複合型糖鎖還元末端のN-アセチルグルコサミンの6位にフコースの1位が α 結合する糖鎖修飾に関与する酵素のゲノム遺伝子をノックアウトした細胞があげられる。

ゲノム遺伝子がノックアウトされた細胞の具体的な例としては、標的となる遺伝子のすべてまたは一部がゲノムから削除された細胞があげられる。このような細胞を取得する方法としては、目的とするゲノムの改変を行うことができれば、いずれの手法でも用いることができるが、遺伝子工学的な手法が望ましい。その具体的な手法としては、上述した酵素の活性を低下または欠失させる手法があげられる。

また、上述した、N-グリコシド結合糖鎖還元末端のN-アセチルグルコサミンの6位とフコースの1位が α 結合した糖鎖構造を認識するレクチンに耐性な細胞株を選択する方法を用いることにより、N-グリコシド結合複合型糖鎖還元末端のN-アセチルグルコサミンの6位にフコースの1位が α 結合する糖鎖修飾に関与する酵素のゲノム遺伝子がノックアウトされた細胞を選択することができる。

本発明における抗体組成物としては、疾患に関連する細胞に発現する抗原、もしくは疾患に関連する細胞の増殖や転移など、病態形成に関わる抗原などに対する抗体組成物などがあげられる。具体的にはGD2、GD3、GM2、HER2、CD20、CD22、CD25、CD33、CD52、MAGE、HM1.24、CCケモカイン受容体4 (CCR4)、副甲状腺ホルモン関連蛋白 (PTHrP)、塩基性線維芽細胞増殖因子、線維芽細胞増殖因子8、塩基性線維芽細胞増殖因子受容体、線維芽細胞増殖因子8受容体、上皮細胞成長因子受容体 (EGFR)、上皮性細胞接着分子 (EpCam)、インスリン様増殖因子、インスリン様増殖因子受容体、PMSA、血管内皮細胞増殖因子、血管内皮細胞増殖因子受容体、呼吸器合胞体ウイルス (RSV)、IL-5受容体 α 鎖などに対する抗体組成物があげられる。

上記の抗体組成物の具体例としては、抗GD2抗体[アンチ・キャンサー・リサーチ (Anticancer Res.) , 13, 331 (1993)]、抗GD3抗体 [キャンサー・イムノロジー・イムノセラピー (Cancer Immunol. Immunother.) , 36, 260 (1993)、W001/23432、US6437098]、抗GM2抗体 [キャンサー・リサーチ (Cancer Res.) , 54, 1511 (1994)、US6423511]、抗HER2抗体 [プロシーディングス・オブ・ザ・ナショナル・アカデミー・オブ・サイエンス (Proc. Natl. Acad. Sci. USA) , 89, 4285 (1992)]、抗CD20抗体 [ブラッド (Blood) , 83, 435 (1994)、W003/55993]、抗CD22抗体 [セミナーズ・イン・オンコロジー (Semmin. Oncol.) , 30, 253 (2003)]、抗CD25抗体 [ヒューマン・アンティボディズ (Human Antibodies) , 10, 127-142 (2001)]、抗CD33抗体 [ジャーナル・オブ・クリニカル・オンコロジー (J. Clin. Oncol.) , 19, 3244 (2001)]、抗CD52抗体 [プロシーディングス・オブ・ザ・ナショナル・アカデミー・オブ・サイエンス (Proc. Natl. Acad. Sci. USA) , 89, 4285 (1992)]、抗MAGE抗体 [ブリティッシュ・ジャーナル・オブ・キャンサー (British J. Cancer) , 83, 493 (2000)]、抗HM1.24抗体 [モレキュラー・イムノロジー (Molecular Immunol.) , 36, 387 (1999)]、抗CCR4抗体 [W001/64754、W003/18635、W000/42074、W099/15666、US6245332]、抗副甲状腺ホルモン関連蛋白 (PTHrP) 抗体 [キャンサー (Cancer) , 88, 2909 (2000)]、抗線維芽細胞増殖因子8抗体 [プロシーディングス・オブ・ザ・ナショナル・アカデミー・オブ・サイエンス (Proc. Natl. Acad. Sci. USA) , 86, 9911 (1989)、W003/002608]、抗線維芽細胞増殖因子8受容体抗体 [ジャーナル・オブ・バイオロジ

カル・ケミストリー (J. Biol. Chem.) , 265, 16455 (1990)]、抗上皮細胞成長因子受容体抗体 [キャンサー・リサーチ (Cancer Res.) , 59, 1236 (1999)]、抗上皮性細胞接着分子抗体 [プロシーディングス・オブ・ザ・ナショナル・アカデミー・オブ・サイエンス (Proc. Natl. Acad. Sci. USA), 76, 1438 (1979)]、抗インスリン様増殖因子抗体 [ジャーナル・オブ・ニューロサイエンス・リサーチ (J. Neurosci. Res.) , 40, 647 (1995)、W003/93317]、抗インスリン様増殖因子受容体抗体 [ジャーナル・オブ・ニューロサイエンス・リサーチ (J. Neurosci. Res.) , 40, 647 (1995)]、抗 PMSA 抗体 [ジャーナル・オブ・ウロロジー (J. Urology), 160, 2396 (1998)]、抗血管内皮細胞増殖因子抗体 [キャンサー・リサーチ (Cancer Res.) , 57, 4593 (1997)]、抗血管内皮細胞増殖因子受容体抗体 [オンコジーン (Oncogene) , 19, 2138 (2000)]、抗 RSV 抗体 [アンティバイラル・リサーチ (Antiviral Res.) , 47, 57-77 (2000)]、抗 IL-5 受容体 α 鎖抗体 (US6018032, US6538111) などがあげられる。具体的な抗体名としては、ハーセプチン (Herceptin)、リツキサン (Rituxan)、キャンパス (Campath)、アバスタチン (Avastin)、ベクサー (Bexxar)、リンフォサイド (LymphoCide)、マイロターグ (Mylotarg)、パノレックス (Panorex)、ゼバリン (Zevalin) [ネイチャー・レビューズ・キャンサー (Nat. Rev. Cancer), 1, 118 (2001)]、ゼナパックス (Zenapax)、シムレクト (Simulect)、レミケード (Remicade)、シナジス (Synagis)、レオプロ (ReoPro) [ヒューマン・アンティボディズ (Human Antibodies) , 10, 127-142 (2001)]、エンブレル (Enbrel) [エキスパート・オピニオン・オン・ファーマコセラピー (Expert Opinion on Pharmacotherapy) , 2, 1137-1148 (2001)]、ゾレア (Zolair) [レスピラトリー・メディシン (Respiratory Medicine) , 97, 123-129 (2003)]などがあげられる。

本発明において、ADCC 活性は、 ^{51}Cr 遊離法、lactate dehydrogenase (LDH) 遊離法、フローサイトメトリー等による *in vitro* の測定系、あるいは動物モデルを用いた *in vivo* の評価系等で測定することができる。

本発明において、抗体組成物中に含まれる Fc 領域に結合する全 N-グリコシド結合複合型糖鎖のうち、糖鎖還元末端の N-アセチルグルコサミンにフコースが結合していない糖鎖の割合が 50%以上である抗体組成物とともに用いられる薬剤としては、サイトカイン、抗体などの蛋白質、低分子の薬剤、生物学的応答調節物質 (以下 BRM と称する) などがあげられる。

サイトカインとしては、インターロイキン (IL) 類、コロニー刺激因子 (CSF) 類、インターフェロン (IFN) 類、腫瘍壊死因子 (TNF) 類、ケモカイン類、あるいはこれらの組み合わせがあげられる。具体的には、IFN- α 、IFN- β 、IFN- γ 、TNF- α 、TNF- β 、IL-1 α 、IL-1 β 、IL-2、IL-3、IL-4、IL-6、IL-7、IL-9、IL-12、IL-15、IL-17、IL-18、IL-21、fractalkine、GM-CSF、G-CSF、M-CSF、SCF、あるいはこれらの組み合わせがあげられる。好ましくは IL-2、IL-15、IFN- α 、IFN- γ があげられる。

低分子の薬剤としては、アミフォスチン (エチオール) [amifostine (ethyol)]、シスプラチン (cisplatin)、ダカルバジン (DTIC) [dacarbazine (DTIC)]、ダクチノマイシン (dactinomycin)、メクロレタミン (ナイトロジェンマスタード) [mechlorethamine (nitrogen mustard)]、ストレプトゾシン (streptozocin)、シクロフォスファミド (cyclophosphamide)、カルムスチン (BCNU) [carmustine (BCNU)]、ロムスチン (CCNU) [lomustine (CCNU)]、ドキシソルビシン (アドリアマイシン) [doxorubicin (adriamycin)]、ドキシソルビシンリポ (ドキシル) [doxorubicin lipo (doxil)]、ゲムシタピン (ゲムザール) [gemcitabine (gemzar)]、

ダウノルビシン (daunorubicin)、ダウノルビシンリポ (ダウノゾーム) [daunorubicin lipo (daunoxome)]、プロカルバジン (procarbazine)、マイトマイシン (mitomycin)、シタラビン (cytarabine)、エトポシド (etoposide)、メトトレキセート (methotrexate)、5-フルオロウラシル (5-fluorouracil)、ビンブラスタチン (vinblastine)、ビンクリスチン (vincristine)、ブレオマイシン (bleomycin)、パクリタキセル (タキソール) [paclitaxel (taxol)]、ドセタキセル (タキソテア) [docetaxel (taxotere)]、アルデスロイキン (aldesleukin)、アスパラギナーゼ (asparaginase)、ブスルファン (busulfan)、カルボプラチン (carboplatin)、クラドリビン (cladribine)、カンプトテシン (camptothecin)、CPT-11、10-ヒドロキシ-7-エチル-カンプトテシン (SN38) [10-hydroxy-7-ethyl-camptothecin (SN38)]、フロクスウリジン (floxuridine)、フルダラビン (fludarabine)、ヒドロキシウレア (hydroxyurea)、イホスファミド (ifosfamide)、イダルビシン (idarubicin)、メスナ (mesna)、イリノテカン (irinotecan)、ミトキサントロン (mitoxantrone)、トポテカン (topotecan)、ロイプロリド (leuprolide)、メゲストロール (megestrol)、メルファラン (melpharan)、メルカプトプリン (mercaptopurine)、プリカマイシン (plicamycin)、ミトタン (mitotane)、ペガスパラガーゼ (pegaspargase)、ペントスタチン (pentostatin)、ピポブロマン (pipobroman)、ストレプトゾシン (streptozocin)、タモキシフェン (tamoxifen)、テニポシド (teniposide)、テストラクトン (testolactone)、チオグアニン (thioguanine)、チオテパ (thiotepa)、ウラシルマスタード (uracil mustard)、ビノレルビン (vinorelbine)、クロラムブシル (chlorambucil)、プレドニゾロン (prednisolone)、ビンデシン (vindesine)、ニムスチン (nimstine)、セムスチン (semustin)、カペシタビン (capecitabine)、トムデックス (tomudex)、アザシチジン (azacytidine)、UFT、オキサロプラチン (oxaloplatin)、ゲフィチニブ (イレッサ) [gefitinib (Iressa)]、イマチニブ (STI571) [imatinib (STI571)]、アムサクリン (amsacrine)、オールートランスレチノイン酸 (all-trans retinoic acid)、サリドマイド (thalidomide)、ベキサロテン (ターグレチン) [bexarotene (targretin)]、デキサメタゾン (dexamethasone)、アナストロゾール (アリミデックス) [anastrozole (Alimidex)]、ロイプリン (leuplin) あるいはこれらの組み合わせがあげられる。好ましくは、ビンクリスチン、シクロフォスファミド、エトポシド、メトトレキセートあるいはこれらの組み合わせがあげられる。

抗体としては、上述した抗体があげられる。

本発明における BRM としては、BCG、嫌気性コリネバクテリア、ムラミルジペプチド、トレハロースジミコール酸等の細菌製剤、ピラン共重合体、MVE、ポリ I:C、ピリミジン、チモシン、チムリン、チモポエシン、ピシバニール、フコイダン、クレスチン等があげられる。

本発明の医薬の効果は、例えば *in vitro* の細胞障害活性測定系によって調べることができる。*in vitro* の細胞障害活性測定系の例としては、ADCC 活性の測定系があげられる。ADCC 活性は、抗体の存在下で、抗原を発現する標的細胞と、ヒトあるいはその他の動物より採取した末梢血単核球、単球、マクロファージ、顆粒球等のエフェクター細胞を接触させ、障害された標的細胞の度合いを検出し、これを定量することにより測定することができる。障害された標的細胞の度合いは、⁵¹Cr 遊離法、標的細胞の酵素活性を検出する方法、フローサイトメーターによる検出法などによって検出することができる。ADCC 活性測定系における本発明の免疫担当細胞を

活性化させる物質または抗腫瘍活性を有する物質の効果は、ADCC 活性測定系中にこれらの物質を添加するか、あるいは標的細胞、またはエフェクター細胞、またはその両者にあらかじめこれらの物質を一定期間曝露して ADCC 活性に与える影響を観察することにより、測定することができる。

また本発明の医薬の効果は、動物モデルを用いた in vivo 抗腫瘍活性を測定することによっても調べることができる。

動物モデルとしては、ヌードマウス等の免疫不全マウスにヒト癌組織由来の培養細胞株を移植した異種移植モデル、培養マウス癌細胞株を正常な免疫系を有する野生型マウスへ移植した同系移植モデルなどがあげられる。

異種移植モデルはヌードマウス等の免疫不全マウスの皮下、皮内、腹腔内、静脈内等様々な部位にヒト癌細胞株を移植することにより作製することができる。

上記動物モデルを用いて抗体の単独投与、免疫担当細胞を活性化させる物質または抗腫瘍活性を有する物質の単独投与の効果と、本発明の医薬の効果とを比較することにより、本発明の医薬の抗腫瘍効果を評価することができる。

本発明の医薬は、単独で投与することも可能ではあるが、通常は薬理学的に許容される一つあるいはそれ以上の担体と一緒に混合し、製剤学の技術分野においてよく知られる任意の方法により製造した医薬製剤として提供するのが望ましい。

投与経路は、治療に際して最も効果的なものを使用するのが望ましく、経口投与、または口腔内、気道内、直腸内、皮下、筋肉内および静脈内等の非経口投与をあげることができ、蛋白質製剤の場合、望ましくは静脈内投与をあげることができる。

投与形態としては、噴霧剤、カプセル剤、錠剤、顆粒剤、シロップ剤、乳剤、座剤、注射剤、軟膏、テープ剤等があげられる。

経口投与に適切な製剤としては、乳剤、シロップ剤、カプセル剤、錠剤、散剤、顆粒剤等があげられる。

乳剤およびシロップ剤のような液体調製物は、水、ショ糖、ソルビトール、果糖等の糖類、ポリエチレングリコール、プロピレングリコール等のグリコール類、ごま油、オリーブ油、大豆油等の油類、p-ヒドロキシ安息香酸エステル類等の防腐剤、ストロベリーフレーバー、ペパーミント等のフレーバー類等を添加剤として用いて製造できる。

カプセル剤、錠剤、散剤、顆粒剤等は、乳糖、ブドウ糖、ショ糖、マンニトール等の賦形剤、デンプン、アルギン酸ナトリウム等の崩壊剤、ステアリン酸マグネシウム、タルク等の滑沢剤、ポリビニルアルコール、ヒドロキシプロピルセルロース、ゼラチン等の結合剤、脂肪酸エステル等の界面活性剤、グリセリン等の可塑剤等を添加剤として用いて製造できる。

非経口投与に適切な製剤としては、注射剤、座剤、噴霧剤等があげられる。

注射剤は、塩溶液、ブドウ糖溶液、あるいは両者の混合物からなる担体等を用いて調製される。

座剤はカカオ脂、水素化脂肪またはカルボン酸等の担体を用いて調製される。

また、噴霧剤は該医薬そのもの、ないしは受容者の口腔および気道粘膜を刺激せず、かつ該医薬を微細な粒子として分散させ吸収を容易にさせる担体等を用いて調製される。

担体として具体的には乳糖、グリセリン等が例示される。該医薬および用いる担体の性質に

より、エアロゾル、ドライパウダー等の製剤が可能である。また、これらの非経口剤においても経口剤で添加剤として例示した成分を添加することもできる。

投与量または投与回数は、目的とする治療効果、投与方法、治療期間、年齢、体重等により異なるが、通常成人1回当たり抗体量として0.1~20mg/kgである。抗体と併用する薬剤は、単独で臨床に用いられる場合の投与量と同用量またはそれより少ない用量である。

図面の簡単な説明

第1図は、KM2760-1とKM3060のADCC活性に対する各種サイトカインの増強効果を示す。縦軸は細胞障害活性(%)を表す。■はサイトカイン非添加、□はIL-2添加、斜線はIL-15添加時の細胞障害活性をそれぞれ表す。

第2図は、KM3065とRituxanのADCC活性に対する各種サイトカインの増強効果を示す。縦軸は細胞障害活性(%)を表す。図において■はサイトカイン非添加、□はIL-2添加、斜線はIL-15添加時の細胞障害活性をそれぞれ表す。

第3図は、KM3065とRituxanのADCC活性に対する各種サイトカインの増強効果を示す。縦軸は細胞障害活性(%)を表す。図において■はサイトカイン非添加、□はIFN- α 添加、斜線はIFN- γ 添加時の細胞障害活性をそれぞれ表す。

以下、本発明を詳細に説明する。本願は、2003年12月4日に出願された日本国特許出願2003-406589号の優先権を主張するものであり、当該特許出願の明細書及び/または図面に記載される内容を包含する。

発明を実施するための最良の形態

実施例1 *in vitro*細胞障害活性における抗CCR4抗体とサイトカインの併用効果

*in vitro*細胞障害活性における抗CCR4ヒト型キメラ抗体KM2760-1およびKM3060(W002/31140)とサイトカインの併用効果を以下の方法により測定した。

KM2760-1はラットミエローマ細胞株YB2/0細胞に抗CCR4キメラ抗体発現株を導入して得られた細胞株KM2760-1#58-35-16より生産された抗CCR4キメラ抗体である。KM2760-1#58-35-16株はレクチン耐性能を有し、KM2760-1の全糖鎖中のフコースが結合しない糖鎖含量は87%である。一方KM3060はCHO/DG44細胞株に抗CCR4キメラ抗体発現株を導入して得られた細胞株5-03より生産された抗CCR4キメラ抗体である。KM3060はレクチン耐性能を有さず、KM3060の全糖鎖中のフコースが結合しない糖鎖含量は8%である。KM2760-1とKM3060は同じアミノ酸配列を有し、抗原結合活性も同等である。

(a) エフェクター細胞溶液の調製

健常人静脈血50mLを採取し、ヘパリンナトリウム(清水製薬社製)0.5mLを加え穏やかに混ぜた。これをMONO-POLY分離溶液(大日本製薬株式会社製)を用いて使用説明書に従い、遠心分離(400g、20分間)して単核球層を分離した。RPMI1640-FCS(5)培地で3回遠心分離して洗浄後、同培地を用いて 3×10^6 細胞/mLの濃度で再懸濁し、エフェクター細胞溶液とした。

(b) エフェクター細胞のサイトカインによる刺激

上記(a)で得られたエフェクター細胞溶液を50 μ Lずつ、96穴U底プレート(Falcon社製)に分注した。さらにRPMI1640-FCS(5)で希釈した以下の溶液を50 μ Lずつ添加し、5%CO₂インキュベーター内にて3日間静置した。

- (1) RPMI1640-FCS(5)のみ (サイトカイン非添加コントロール)
- (2) IL-2 (ペプロテック社製) 2ng/mL
- (3) IL-15 (ペプロテック社製) 2ng/mL

(c) 標的細胞溶液の調製

G418 (ナカライテスク社製) を 0.5mg/mL で含む RPMI1640-FCS(10) 培地(FCS を 10%含む RPMI1640 培地(GIBCO BRL 社製))で培養した CCR4/EL4 細胞 (CCR4 遺伝子を導入したマウス胸腺腫細胞、W001/64754) を遠心分離操作及び懸濁により RPMI1640-FCS(5)培地 (FCS を 5%含む RPMI1640 培地(GIBCO BRL 社製)) で洗浄した後、RPMI1640-FCS(5) 培地によって、 2×10^5 細胞/mL に調製し、標的細胞溶液とした。

(d) 細胞障害活性の測定

(b)で調製した 96 ウェルU字底プレートの各ウェルに (c) で調製した標的細胞溶液の $50 \mu\text{L}$ (1×10^4 細胞/ウェル) を分注した。このときエフェクター細胞と標的細胞の比は 15:1 となる。更に、KM2760-1、あるいは KM3060 を各最終濃度 1 ng/mL あるいは 100ng/mL となるように加えて全量を $200 \mu\text{L}$ とし、 37°C で 4 時間反応させた。反応後、プレートを遠心分離し、上清中の乳酸デヒドロゲナーゼ(LDH)活性を、CytoTox96 Non-Radioactive Cytotoxicity Assay (Promega 社製) を用いて、添付の説明書にしたがって吸光度データを取得することで測定した。標的細胞自然遊離の吸光度データは、エフェクター細胞溶液、抗体溶液の代わりに培地のみを用いて、また、エフェクター細胞自然遊離の吸光度データは、標的細胞溶液、抗体溶液の代わりに培地のみを用いて、上記と同様の操作を行うことで取得した。標的細胞全遊離の吸光度データは、抗体溶液、エフェクター細胞溶液の代わりに培地を用い、反応終了 45 分前に $15 \mu\text{L}$ の 9% Triton X-100 溶液を添加し、上記と同様の操作を行い、上清の LDH 活性を測定することにより求めた。ADCC 活性は次式により求めた。

(数 1)

細胞障害活性(%) = $\left[(\text{検体の吸光度}) - (\text{エフェクター細胞自然遊離の吸光度}) - (\text{標的細胞自然遊離の吸光度}) \right] / \left[(\text{標的細胞全遊離の吸光度}) - (\text{標的細胞自然遊離の吸光度}) \right] \times 100$

第 1 図に結果を図示した。サイトカイン非添加時の KM2760-1 の ADCC 活性は KM3060 の ADCC 活性よりも高いが、サイトカインの添加によりさらに増強された。この結果は、抗体組成物中に含まれる Fc 領域に結合する全 N-グリコシド結合複合型糖鎖のうち、糖鎖還元末端の N-アセチルグルコサミンにフコースが結合していない糖鎖の割合が 50%以上である抗体組成物の高い ADCC 活性は、サイトカインによってさらに上昇することを示す。

実施例 2 *in vitro* 細胞障害活性における抗 CD20 抗体とサイトカインの併用効果

in vitro 細胞障害活性における抗 CD20 ヒト型キメラ抗体 KM3065 (W003/55993) および市販の抗 CD20 ヒト型キメラ抗体 Rituxan (Genentech 社製) とサイトカインの併用効果を実施例 1 に記載の方法により測定した。

サイトカインは IL-2、IL-15 (いずれも Peprtech 社製、終濃度 1ng/mL)、IFN- α (Peprtech 社製、終濃度 100ng/mL)、IFN- γ (R&D Systems 社製、終濃度 100ng/mL) を用いた。KM3065 はラットミエローマ細胞株 YB2/0 細胞に抗 CD20 キメラ抗体発現株を導入して得られた細胞株 KM3065 より生産された抗 CD20 キメラ抗体である。KM3065 株はレクチン耐性能を有し、KM3065

の全糖鎖中のフコースが結合しない糖鎖含量は96%である。一方 Rituxan の全糖鎖中のフコースが結合しない糖鎖含量は6%である。KM3065 と Rituxan は同じアミノ酸配列を有し、抗原結合活性も同等である。

第2図および第3図に結果を図示した。サイトカイン非添加時の KM3065 の ADCC 活性は Rituxan の ADCC 活性よりも高いが、サイトカインの添加によりさらに増強された。この結果は、抗体組成物中に含まれる Fc 領域に結合する全N-グリコシド結合複合型糖鎖のうち、糖鎖還元末端のN-アセチルグルコサミンにフコースが結合していない糖鎖の割合が50%以上である抗体組成物の高い ADCC 活性は、サイトカインによってさらに上昇することを示す。

産業上の利用可能性

抗体組成物中に含まれる Fc 領域に結合する全N-グリコシド結合複合型糖鎖のうち、糖鎖還元末端のN-アセチルグルコサミンにフコースが結合していない糖鎖の割合が50%以上である抗体組成物と少なくとも1種類の薬剤とを用いる医薬は、高い治療効果を有することが期待される。

請求の範囲

1. 抗体組成物に含まれるFc領域に結合する全N-グリコシド結合複合型糖鎖のうち、糖鎖還元末端のN-アセチルグルコサミンにフコースが結合していない糖鎖の割合が50%以上である抗体組成物と、少なくとも1種類の薬剤とを組み合わせるための医薬。

2. 抗体組成物に含まれるFc領域に結合する全N-グリコシド結合複合型糖鎖のうち、糖鎖還元末端のN-アセチルグルコサミンにフコースが結合していない糖鎖の割合が50%以上である抗体組成物と、少なくとも1種類の薬剤とを併用して投与するための医薬。

3. 抗体組成物に含まれるFc領域に結合する全N-グリコシド結合複合型糖鎖のうち、糖鎖還元末端のN-アセチルグルコサミンにフコースが結合していない糖鎖の割合が50%以上である抗体組成物と、少なくとも1種類の薬剤とを同時に又は逐次的に投与するための医薬。

4. 抗体組成物に含まれるFc領域に結合する全N-グリコシド結合複合型糖鎖のうち、糖鎖還元末端のN-アセチルグルコサミンにフコースが結合していない糖鎖の割合が50%以上である抗体組成物を単独で投与した場合よりも、高い治療効果を示すことを特徴とする、請求項1～3のいずれか1項に記載の医薬。

5. 高い治療効果を示すことが、高い抗体依存性細胞障害活性を示すことである、請求項4記載の医薬。

6. 抗体組成物が、N-グリコシド結合複合型糖鎖還元末端のN-アセチルグルコサミンの6位とフコースの1位が α 結合した糖鎖構造を認識するレクチンに耐性を有する細胞から生産される抗体組成物である請求項1～5のいずれか1項に記載の医薬。

7. 抗体組成物が、抗体組成物に含まれるFc領域に結合する全N-グリコシド結合複合型糖鎖のうち、糖鎖還元末端のN-アセチルグルコサミンにフコースが結合していない糖鎖である抗体組成物である、請求項1～6のいずれか1項に記載の医薬。

8. フコースが結合していない糖鎖が、該フコースの1位がN-グリコシド結合複合型糖鎖還元末端のN-アセチルグルコサミンの6位に α 結合していない糖鎖である、請求項1～7のいずれか1項に記載の医薬。

9. 抗体組成物が、N-グリコシド結合複合型糖鎖還元末端のN-アセチルグルコサミンの6位にフコースの1位が α 結合する糖鎖修飾に関与する酵素のゲノム遺伝子がノックアウトされた細胞から生産された抗体組成物である、請求項7または8記載の医薬。

10. N-グリコシド結合複合型糖鎖還元末端のN-アセチルグルコサミンの6位にフコースの1位が α 結合する糖鎖修飾に関与する酵素が、 α 1,6-フコシルトランスフェラーゼである請求項9記載の医薬。

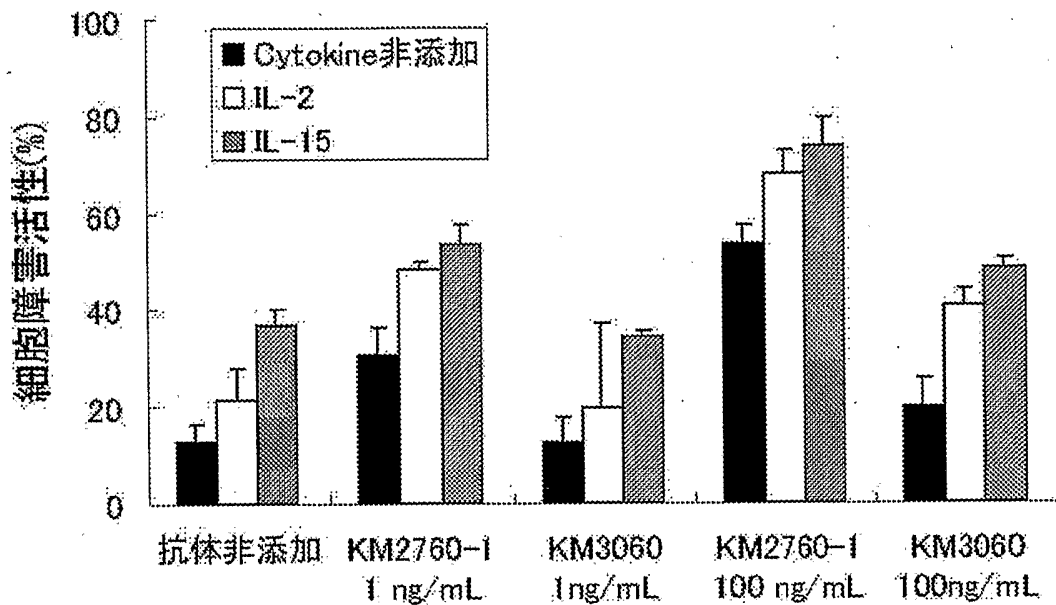
11. 薬剤が、蛋白質、低分子の薬剤および生物学的応答調節剤からなる群から選ばれる物質である請求項1～10のいずれか1項に記載の医薬。

12. 蛋白質が、サイトカインまたは抗体である、請求項11記載の医薬。

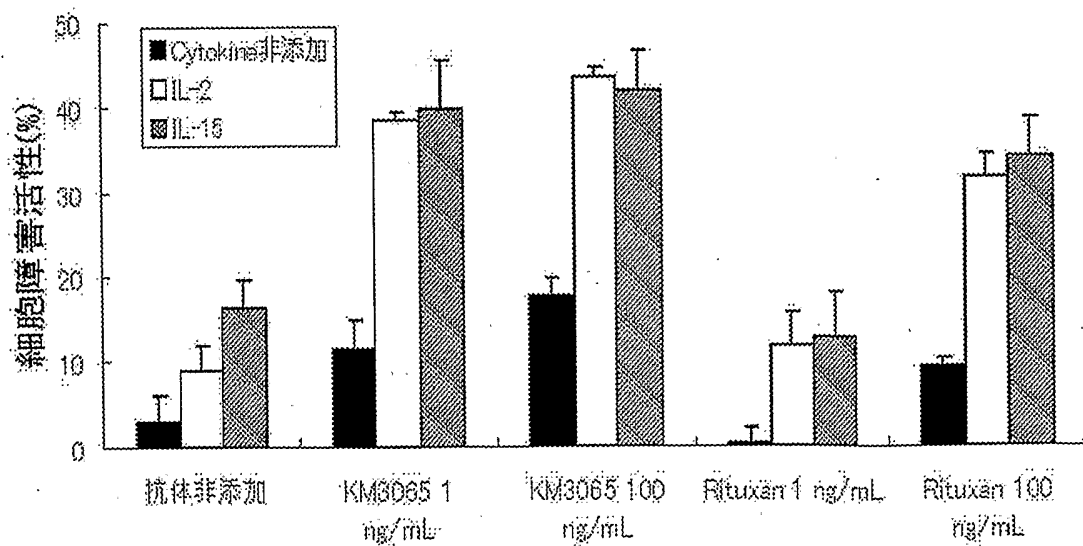
13. サイトカインが、IFN- γ 、IL-2およびIL-15から選ばれるサイトカインである請求項12に記載の医薬。

14. 医薬が、腫瘍を伴う疾患に対する治療薬である、請求項1～13のいずれか1項に記載の医薬。

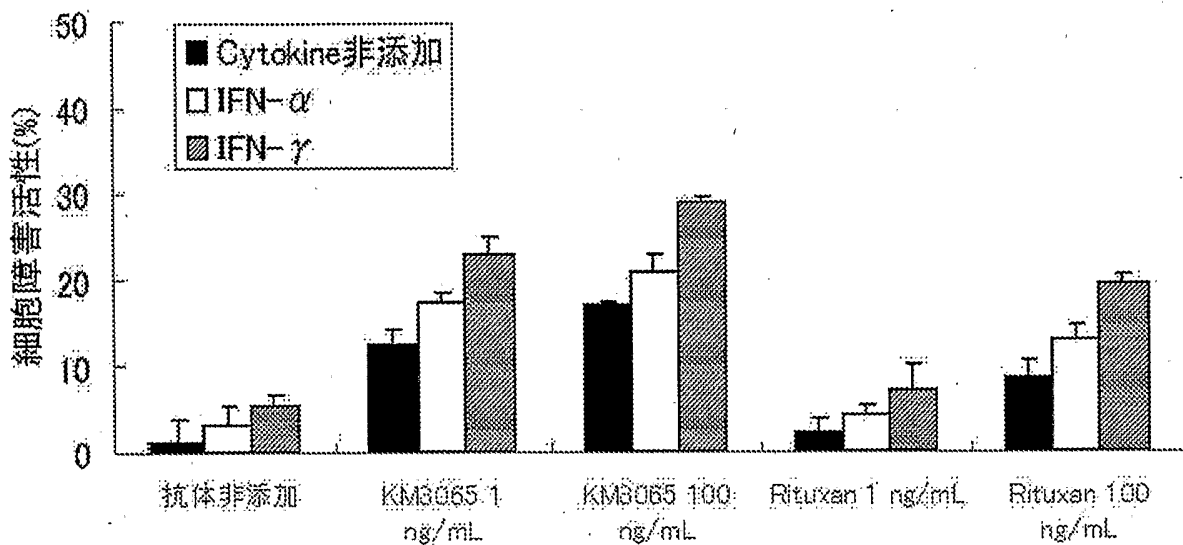
第 1 図



第 2 図



第 3 図



Ile Ala Thr Gly Glu Val His Ser Val Arg Glu Phe Val Glu Lys Ser
 275 280 285

Phe Met His Ile Gly Lys Thr Ile Val Trp Glu Gly Lys Asn Glu Asn
 290 295 300

Glu Val Gly Arg Cys Lys Glu Thr Gly Lys Ile His Val Thr Val Asp
 305 310 315 320

Leu Lys Tyr Tyr Arg Pro Thr Glu Val Asp Phe Leu Gln Gly Asp Cys
 325 330 335

Ser Lys Ala Gln Gln Lys Leu Asn Trp Lys Pro Arg Val Ala Phe Asp
 340 345 350

Glu Leu Val Arg Glu Met Val Gln Ala Asp Val Glu Leu Met Arg Thr
 355 360 365

Asn Pro Asn Ala
 370

<210> 2

<211> 372

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 2

Met Ala His Ala Pro Ala Arg Cys Pro Ser Ala-Arg Gly Ser Gly Asp
 1 5 10 15

Gly Glu Met Gly Lys Pro Arg Asn Val Ala Leu Ile Thr Gly Ile Thr
 20 25 30

Gly Gln Asp Gly Ser Tyr Leu Ala Glu Phe Leu Leu Glu Lys Gly Tyr

Phe Arg Glu Ala Tyr Asn Leu Phe Ala Val Asn Gly Ile Leu Phe Asn
 195 200 205

His Glu Ser Pro Arg Arg Gly Ala Asn Phe Val Thr Arg Lys Ile Ser
 210 215 220

Arg Ser Val Ala Lys Ile Tyr Leu Gly Gln Leu Glu Cys Phe Ser Leu
 225 230 235 240

Gly Asn Leu Asp Ala Lys Arg Asp Trp Gly His Ala Lys Asp Tyr Val
 245 250 255

Glu Ala Met Trp Leu Met Leu Gln Asn Asp Glu Pro Glu Asp Phe Val
 260 265 270

Ile Ala Thr Gly Glu Val His Ser Val Arg Glu Phe Val Glu Lys Ser
 275 280 285

Phe Met His Ile Gly Lys Thr Ile Val Trp Glu Gly Lys Asn Glu Asn
 290 295 300

Glu Val Gly Arg Cys Lys Glu Thr Gly Lys Val His Val Thr Val Asp
 305 310 315 320

Leu Lys Tyr Tyr Arg Pro Thr Glu Val Asp Phe Leu Gln Gly Asp Cys
 325 330 335

Ser Lys Ala Gln Gln Lys Leu Asn Trp Lys Pro Arg Val Ala Phe Asp
 340 345 350

Glu Leu Val Arg Glu Met Val Gln Ala Asp Val Glu Leu Met Arg Thr
 355 360 365

Asn Pro Asn Ala
 370

<210> 4

<211> 575

<212> PRT

<213> *Cricetulus griseus*

<400> 4

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

Ala Trp Gly Thr Leu Leu Phe Tyr Ile Gly Gly His Leu Val Arg Asp
 20 25 30

Asn Asp His Pro Asp His Ser Ser Arg Glu Leu Ser Lys Ile Leu Ala
 35 40 45

Lys Leu Glu Arg Leu Lys Gln Gln Asn Glu Asp Leu Arg Arg Met Ala
 50 55 60

Glu Ser Leu Arg Ile Pro Glu Gly Pro Ile Asp Gln Gly Thr Ala Thr
 65 70 75 80

Gly Arg Val Arg Val Leu Glu Glu Gln Leu Val Lys Ala Lys Glu Gln
 85 90 95

Ile Glu Asn Tyr Lys Lys Gln Ala Arg Asn Asp Leu Gly Lys Asp His
 100 105 110

Glu Ile Leu Arg Arg Arg Ile Glu Asn Gly Ala Lys Glu Leu Trp Phe

115

120

125

Phe Leu Gln Ser Glu Leu Lys Lys Leu Lys Lys Leu Glu Gly Asn Glu

130

135

140

Leu Gln Arg His Ala Asp Glu Ile Leu Leu Asp Leu Gly His His Glu

145

150

155

160

Arg Ser Ile Met Thr Asp Leu Tyr Tyr Leu Ser Gln Thr Asp Gly Ala

165

170

175

Gly Glu Trp Arg Glu Lys Glu Ala Lys Asp Leu Thr Glu Leu Val Gln

180

185

190

Arg Arg Ile Thr Tyr Leu Gln Asn Pro Lys Asp Cys Ser Lys Ala Arg

195

200

205

Lys Leu Val Cys Asn Ile Asn Lys Gly Cys Gly Tyr Gly Cys Gln Leu

210

215

220

His His Val Val Tyr Cys Phe Met Ile Ala Tyr Gly Thr Gln Arg Thr

225

230

235

240

Leu Ile Leu Glu Ser Gln Asn Trp Arg Tyr Ala Thr Gly Gly Trp Glu

245

250

255

Thr Val Phe Arg Pro Val Ser Glu Thr Cys Thr Asp Arg Ser Gly Leu

260 265 270

Ser Thr Gly His Trp Ser Gly Glu Val Lys Asp Lys Asn Val Gln Val

275 280 285

Val Glu Leu Pro Ile Val Asp Ser Leu His Pro Arg Pro Pro Tyr Leu

290 295 300

Pro Leu Ala Val Pro Glu Asp Leu Ala Asp Arg Leu Leu Arg Val His

305 310 315 320

Gly Asp Pro Ala Val Trp Trp Val Ser Gln Phe Val Lys Tyr Leu Ile

325 330 335

Arg Pro Gln Pro Trp Leu Glu Arg Glu Ile Glu Glu Thr Thr Lys Lys

340 345 350

Leu Gly Phe Lys His Pro Val Ile Gly Val His Val Arg Arg Thr Asp

355 360 365

Lys Val Gly Thr Glu Ala Ala Phe His Pro Ile Glu Glu Tyr Met Val

370 375 380

His Val Glu Glu His Phe Gln Leu Leu Glu Arg Arg Met Lys Val Asp

385 390 395 400

Lys Lys Arg Val Tyr Leu Ala Thr Asp Asp Pro Ser Leu Leu Lys Glu

405

410

415

Ala Lys Thr Lys Tyr Ser Asn Tyr Glu Phe Ile Ser Asp Asn Ser Ile

420

425

430

Ser Trp Ser Ala Gly Leu His Asn Arg Tyr Thr Glu Asn Ser Leu Arg

435

440

445

Gly Val Ile Leu Asp Ile His Phe Leu Ser Gln Ala Asp Phe Leu Val

450

455

460

Cys Thr Phe Ser Ser Gln Val Cys Arg Val Ala Tyr Glu Ile Met Gln

465

470

475

480

Thr Leu His Pro Asp Ala Ser Ala Asn Phe His Ser Leu Asp Asp Ile

485

490

495

Tyr Tyr Phe Gly Gly Gln Asn Ala His Asn Gln Ile Ala Val Tyr Pro

500

505

510

His Gln Pro Arg Thr Lys Glu Glu Ile Pro Met Glu Pro Gly Asp Ile

515

520

525

Ile Gly Val Ala Gly Asn His Trp Asn Gly Tyr Ser Lys Gly Val Asn

530

535

540

Arg Lys Leu Gly Lys Thr Gly Leu Tyr Pro Ser Tyr Lys Val Arg Glu
 545 550 555 560

Lys Ile Glu Thr Val Lys Tyr Pro Thr Tyr Pro Glu Ala Glu Lys
 565 570 575

<210> 5

<211> 575

<212> PRT

<213> Mus musculus

<400> 5

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

Ala Trp Gly Thr Leu Leu Phe Tyr Ile Gly Gly His Leu Val Arg Asp
 20 25 30

Asn Asp His Pro Asp His Ser Ser Arg Glu Leu Ser Lys Ile Leu Ala
 35 40 45

Lys Leu Glu Arg Leu Lys Gln Gln Asn Glu Asp Leu Arg Arg Met Ala
 50 55 60

Glu Ser Leu Arg Ile Pro Glu Gly Pro Ile Asp Gln Gly Thr Ala Thr

210 215 220
His His Val Val Tyr Cys Phe Met Ile Ala Tyr Gly Thr Gln Arg Thr
225 230 235 240
Leu Ile Leu Glu Ser Gln Asn Trp Arg Tyr Ala Thr Gly Gly Trp Glu
245 250 255
Thr Val Phe Arg Pro Val Ser Glu Thr Cys Thr Asp Arg Ser Gly Leu
260 265 270
Ser Thr Gly His Trp Ser Gly Glu Val Asn Asp Lys Asn Ile Gln Val
275 280 285
Val Glu Leu Pro Ile Val Asp Ser Leu His Pro Arg Pro Pro Tyr Leu
290 295 300
Pro Leu Ala Val Pro Glu Asp Leu Ala Asp Arg Leu Leu Arg Val His
305 310 315 320
Gly Asp Pro Ala Val Trp Trp Val Ser Gln Phe Val Lys Tyr Leu Ile
325 330 335
Arg Pro Gln Pro Trp Leu Glu Lys Glu Ile Glu Glu Ala Thr Lys Lys
340 345 350
Leu Gly Phe Lys His Pro Val Ile Gly Val His Val Arg Arg Thr Asp

355 360 365
Lys Val Gly Thr Glu Ala Ala Phe His Pro Ile Glu Glu Tyr Met Val
370 375 380
His Val Glu Glu His Phe Gln Leu Leu Ala Arg Arg Met Gln Val Asp
385 390 395 400
Lys Lys Arg Val Tyr Leu Ala Thr Asp Asp Pro Thr Leu Leu Lys Glu
405 410 415
Ala Lys Thr Lys Tyr Ser Asn Tyr Glu Phe Ile Ser Asp Asn Ser Ile
420 425 430
Ser Trp Ser Ala Gly Leu His Asn Arg Tyr Thr Glu Asn Ser Leu Arg
435 440 445
Gly Val Ile Leu Asp Ile His Phe Leu Ser Gln Ala Asp Phe Leu Val
450 455 460
Cys Thr Phe Ser Ser Gln Val Cys Arg Val Ala Tyr Glu Ile Met Gln
465 470 475 480
Thr Leu His Pro Asp Ala Ser Ala Asn Phe His Ser Leu Asp Asp Ile
485 490 495
Tyr Tyr Phe Gly Gly Gln Asn Ala His Asn Gln Ile Ala Val Tyr Pro

500 505 510
His Lys Pro Arg Thr Glu Glu Glu Ile Pro Met Glu Pro Gly Asp Ile
515 520 525
Ile Gly Val Ala Gly Asn His Trp Asp Gly Tyr Ser Lys Gly Ile Asn
530 535 540
Arg Lys Leu Gly Lys Thr Gly Leu Tyr Pro Ser Tyr Lys Val Arg Glu
545 550 555 560
Lys Ile Glu Thr Val Lys Tyr Pro Thr Tyr Pro Glu Ala Glu Lys
565 570 575

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP2004/018441

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

Int.Cl⁷ A61K39/395, 45/00, 38/00, 38/19, 38/20, 38/21, A61P43/00,
35/00

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

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

Int.Cl⁷ A61K39/00-39/395, 45/00-45/08, 38/00-38/42, A61P1/00-43/00

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

Jitsuyo Shinan Koho	1922-1996	Jitsuyo Shinan Toroku Koho	1996-2005
Kokai Jitsuyo Shinan Koho	1971-2005	Toroku Jitsuyo Shinan Koho	1994-2005

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)

MEDLINE (STN), EMBASE (STN), BIOSIS (STN), BIOTECHABS (STN), CAPLUS (STN),
WPI (DIALOG)

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X Y	WO 02/078739 A1 (Kyowa Hakko Kogyo Co., Ltd.), 10 October, 2002 (10.10.02), Claims; examples; page 14, line 14 to page 15, the last line; page 24, the last line to page 25, line 5 & EP 1384487 A1 & AU 2002244946 A1	1-8, 11-14 9, 10
X Y	WO 03/085107 A1 (Kyowa Hakko Kogyo Co., Ltd.), 16 October, 2003 (16.10.03), Claims; examples; page 17, lines 14 to 18; page 64, lines 14 to 25 & AU 2003236022 A1 & US 2004/0110704 A1	1-12, 14 13

 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 but published on or after the international filing date

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

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

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

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

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

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

"&" document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search

14 January, 2005 (14.01.05)

Date of mailing of the international search report

01 February, 2005 (01.02.05)

Name and mailing address of the ISA/
Japanese Patent Office

Authorized officer

Facsimile No.

Telephone No.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP2004/018441

C (Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X Y	WO 02/31140 A1 (Kyowa Hakko Kogyo Co., Ltd.), 18 April, 2002 (18.04.02), Claims; examples; page 73, line 13 to the last line & AU 200194198 A & EP 1331266 A1 & US 2003/0115614 A1 & BR 200114475 A & KR 2003081312 A & MX 2003002974 A1	1-12,14 13
X Y	WO 03/035835 A2 (GENENTECH INC.), 01 May, 2003 (01.05.03), Claims; examples; page 89, line 1 to page 91, the last line & US 2003/0157108 A & EP 1443961 A2 & AU 2002337935 A1 & KR 2004066105 A	1-5,11,14 6-10,12,13
X Y	WO 03/055993 A1 (Kyowa Hakko Kogyo Co., Ltd.), 10 July, 2003 (10.07.03), Claims; examples; page 64, line 20 to the last line & AU 2002360029 A1 & US 2004/0093621 A1 & EP 1469065 A1 & KR 2004071254 A	1-12,14 13
X Y	WO 03/085102 A1 (Kyowa Hakko Kogyo Co., Ltd.), 16 October, 2003 (16.10.03), Claims; examples; page 68, lines 10 to 21 & AU 2003236020 A1 & US 2004/0110282 A1	1-5,11,14 6-10,12,13
X Y	WO 03/085118 A1 (Kyowa Hakko Kogyo Co., Ltd.), 16 October, 2003 (16.10.03), Claims; examples; page 74, lines 4 to 15 & AU 2003236015 A1 & US 2004/0132140 A1	1-12,14 13
X Y	WO 03/085119 A1 (Kyowa Hakko Kogyo Co., Ltd.), 16 October, 2003 (16.10.03), Claims; examples; page 80, lines 9 to 20 & AU 2003236018 A1	1-5,11,12,14 6-10,13
A	SHIELDS, R.L. et al., Lack of Fucose on Human IgG1 N-Linked Oligosaccharide Improves Binding to Human FcRIII and Antibody-dependent Cellular Toxicity.J.Biol.Chem., 2002, 277(30), pages 26733-26740	1-14
A	SHINKAWA T. et al., The Absence of Fucose but Not the Presence of Galactose or Bisecting N-Acetylglucosamine of Human IgG1 Complex-type Oligosaccharides Shows the Critical Role of Enhancing Antibody- dependent Cellular Cytotoxicity.J.Biol.Chem., 2003, 278(5), pages 3466-3473	1-14
A	Nobuo HANAI, "Kotai no Kaihen to Transgenic Mouse", Biotherapy, 2003, 17(5), pages 415 to 421	1-14

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP2004/018441

C (Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	WO 00/61739 A1 (Kyowa Hakko Kogyo Co., Ltd.), 19 October, 2000 (19.10.00), & AU 200036728 A & EP 1176195 A1	1-14
A	WO 01/64754 A1 (Kyowa Hakko Kogyo Co., Ltd.), 07 September, 2001 (07.09.01), & AU 200136073 A & US 2002/0098527 A1 & EP 1270595 A1 & KR 2002089377 A & CN 1407993 A	1-14
A	WO 01/23573 A1 (Kyowa Hakko Kogyo Co., Ltd.), 05 April, 2001 (05.04.01), & AU 200074490 A	1-14
A	DICKMAN, S. Antibodies Stage a Comeback In Cancer Treatment. Science, 1998, 280, pages 1196 to 1197	1-14
A	OZAKI S. et al., Humanized Anti-HM1.24 Antibody Mediates Myeloma Cell Cytotoxicity That Is Enhanced by Cytokine Stimulation of Effector Cells. Blood, 1999, 93(11), pages 3922 to 3930	1-14
A	CARSON, W.E. et al., Interleukin(IL) 15 Is a Novel Cytokine That Activates Human Killer Cells via Components of the IL-2 Receptor.J. Exp.Med., 1994, 180, pages 1395 to 1403	1-14

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP2004/018441

Claims 1 to 14

The inventions according to these claims relate to a medicine comprising an antibody composition and at least one drug as the active ingredients.

Concerning the antibody, however, it is restricted merely by the presence or absence of fucose bonded to N-glycoside bond complex sugar chains in the Fc domain and no statement is made on an antigen recognized by the antibody. Although many types of antibodies are involved therein from the viewpoint of specific structures, only two antibodies are exclusively presented in EXAMPLES in the description and no specification is made on antigens or the like.

Concerning the drug, it is restricted to cytokines or the like in claims 12 and 13. However, no specific restriction is made any more. Although many types of drugs are involved therein from the viewpoint of specific structures, the effects of cytokines are exclusively confirmed in EXAMPLES in the description and no specification is made on antigens or the like.

Based on the description in these claims, therefore, the contents of the inventions according to these claims are still unclear. Moreover, the inventions are not described in a manner sufficiently clear and complete for the inventions to be carried out by a person skilled in the art. Therefore, it cannot be considered that the inventions according to claims 1 to 14 are sufficiently supported by the description (PCT Articles 5 and 6).

Such being the case, the statements in the description and claims of the present application do not comply with the prescribed requirements. Thus, it should be noted that, in the international search, prior art was examined only within a reasonable scope depending on the statement in the description.

<p>A. 発明の属する分野の分類 (国際特許分類 (IPC)) Int. Cl⁷ A61K39/395, 45/00, 38/00, 38/19, 38/20, 38/21, A61P43/00, 35/00</p>															
<p>B. 調査を行った分野 調査を行った最小限資料 (国際特許分類 (IPC)) Int. Cl⁷ A61K39/00-39/395, 45/00-45/08, 38/00-38/42, A61P1/00-43/00</p>															
<p>最小限資料以外の資料で調査を行った分野に含まれるもの 日本国実用新案公報 1922-1996年 日本国公開実用新案公報 1971-2005年 日本国実用新案登録公報 1996-2005年 日本国登録実用新案公報 1994-2005年</p>															
<p>国際調査で使用了電子データベース (データベースの名称、調査に使用した用語) MEDLINE (STN), EMBASE (STN), BIOSIS (STN), BIOTECHABS (STN), CAPLUS (STN), WPI (DIALOG)</p>															
<p>C. 関連すると認められる文献</p> <table border="1"> <thead> <tr> <th>引用文献の カテゴリー*</th> <th>引用文献名 及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示</th> <th>関連する 請求の範囲の番号</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>X</td> <td rowspan="2">WO 02/078739 A1 (協和醗酵工業株式会社) 2002. 10. 10, 請求の範囲, 実施例, 第14頁14行-第15頁最下行, 第24頁最下行-第25頁5行, & EP 1384487 A1 & AU 2002244946 A1</td> <td>1-8, 11-14</td> </tr> <tr> <td>Y</td> <td>9, 10</td> </tr> <tr> <td>X</td> <td rowspan="2">WO 03/085107 A1 (協和醗酵工業株式会社) 2003. 10. 16, 請求の範囲, 実施例, 第17頁14行-18行, 第64頁14行-25行, & AU 2003236022 A1 & US 2004/0110704 A1</td> <td>1-12, 14</td> </tr> <tr> <td>Y</td> <td>13</td> </tr> </tbody> </table>			引用文献の カテゴリー*	引用文献名 及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示	関連する 請求の範囲の番号	X	WO 02/078739 A1 (協和醗酵工業株式会社) 2002. 10. 10, 請求の範囲, 実施例, 第14頁14行-第15頁最下行, 第24頁最下行-第25頁5行, & EP 1384487 A1 & AU 2002244946 A1	1-8, 11-14	Y	9, 10	X	WO 03/085107 A1 (協和醗酵工業株式会社) 2003. 10. 16, 請求の範囲, 実施例, 第17頁14行-18行, 第64頁14行-25行, & AU 2003236022 A1 & US 2004/0110704 A1	1-12, 14	Y	13
引用文献の カテゴリー*	引用文献名 及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示	関連する 請求の範囲の番号													
X	WO 02/078739 A1 (協和醗酵工業株式会社) 2002. 10. 10, 請求の範囲, 実施例, 第14頁14行-第15頁最下行, 第24頁最下行-第25頁5行, & EP 1384487 A1 & AU 2002244946 A1	1-8, 11-14													
Y		9, 10													
X	WO 03/085107 A1 (協和醗酵工業株式会社) 2003. 10. 16, 請求の範囲, 実施例, 第17頁14行-18行, 第64頁14行-25行, & AU 2003236022 A1 & US 2004/0110704 A1	1-12, 14													
Y		13													
<p><input checked="" type="checkbox"/> C欄の続きにも文献が列挙されている。 <input type="checkbox"/> パテントファミリーに関する別紙を参照。</p>															
<p>* 引用文献のカテゴリー 「A」 特に関連のある文献ではなく、一般的技術水準を示すもの 「E」 国際出願日前の出願または特許であるが、国際出願日以後に公表されたもの 「L」 優先権主張に疑義を提起する文献又は他の文献の発行日若しくは他の特別な理由を確立するために引用する文献 (理由を付す) 「O」 口頭による開示、使用、展示等に言及する文献 「P」 国際出願日前で、かつ優先権の主張の基礎となる出願日の後に公表された文献 「T」 国際出願日又は優先日後に公表された文献であって出願と矛盾するものではなく、発明の原理又は理論の理解のために引用するもの 「X」 特に関連のある文献であって、当該文献のみで発明の新規性又は進歩性がないと考えられるもの 「Y」 特に関連のある文献であって、当該文献と他の1以上の文献との、当業者にとって自明である組合せによって進歩性がないと考えられるもの 「&」 同一パテントファミリー文献</p>															
<p>国際調査を完了した日 14. 01. 2005</p>	<p>国際調査報告の発送日 01. 2. 2005</p>														
<p>国際調査機関の名称及びあて先 日本国特許庁 (ISA/J P) 郵便番号100-8915 東京都千代田区霞が関三丁目4番3号</p>	<p>特許庁審査官 (権限のある職員) 荒木 英則</p>	<table border="1"> <tr> <td>4C</td> <td>9736</td> </tr> </table> <p>電話番号 03-3581-1101 内線 3450</p>	4C	9736											
4C	9736														

C (続き) . 関連すると認められる文献		
引用文献の カテゴリー*	引用文献名 及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示	関連する 請求の範囲の番号
X	WO 02/31140 A1(協和醗酵工業株式会社) 2002.04.18, 請求の範囲, 実施例, 第73頁13行-最下行, & AU 200194198 A & EP 1331266 A1	1-12, 14
Y	& US 2003/0115614 A1 & BR 200114475 A & KR 2003081312 A & MX 2003002974 A1	13
X	WO 03/035835 A2(GENENTECH INC.) 2003.05.01, 請求の範囲, 実施例, 第89頁1行-第91頁最下行, & US 2003/0157108 A1	1-5, 11, 14
Y	& EP 1443961 A2 & AU 2002337935 A1 & KR 2004066105 A	6-10, 12, 13
X	WO 03/055993 A1(協和醗酵工業株式会社) 2003.07.10, 請求の範囲, 実施例, 第64頁20行-最下行, & AU 2002360029 A1	1-12, 14
Y	& US 2004/0093621 A1 & EP 1469065 A1 & KR 2004071254 A	13
X	WO 03/085102 A1(協和醗酵工業株式会社) 2003.10.16, 請求の範囲, 実施例, 第68頁10行-21行,	1-5, 11, 14
Y	& AU 2003236020 A1 & US 2004/0110282 A1	6-10, 12, 13
X	WO 03/085118 A1(協和醗酵工業株式会社) 2003.10.16, 請求の範囲, 実施例, 第74頁4行-15行,	1-12, 14
Y	& AU 2003236015 A1 & US 2004/0132140 A1	13
X	WO 03/085119 A1(協和醗酵工業株式会社) 2003.10.16, 請求の範囲, 実施例, 第80頁9行-20行, & AU 2003236018 A1	1-5, 11, 12, 14
Y		6-10, 13
A	SHIELDS, R.L., <i>et al.</i> , Lack of Fucose on Human IgG1 N-Linked Oligosaccharide Improves Binding to Human FcRIII and Antiody -dependent Cellular Toxicity. J. Biol. Chem., 2002, 277(30), pp.26733-26740	1-14
A	SHINKAWA, T., <i>et al.</i> , The Absence of Fucose but Not the Presence of Galactose or Bisecting N-Acetylglucosamine of Human IgG1 Complex-type Oligosaccharides Shows the Critical Role of Enhancing Antibody-dependent Cellular Cytotoxicity. J. Biol. Chem., 2003, 278(5), pp.3466-3473	1-14
A	花井 陳雄, 抗体の改変とトランスジェニックマウス, Biotherapy, 2003, 17(5), pp.415-421	1-14
A	WO 00/61739 A1(協和醗酵工業株式会社) 2000.10.19, & AU 200036728 A & EP 1176195 A1	1-14
A	WO 01/64754 A1(協和醗酵工業株式会社) 2001.09.07, & AU 200136073 A & US 2002/0098527 A1 & EP 1270595 A1 & KR 2002089377 A & CN 1407993 A	1-14

C (続き) . 関連すると認められる文献		
引用文献の カテゴリー*	引用文献名 及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示	関連する 請求の範囲の番号
A	WO 01/23573 A1(協和醗酵工業株式会社) 2001.04.05, & AU 200074490 A	1-14
A	DICKMAN, S., Antibodies Stage a Comeback In Cancer Treatment. Science, 1998, 280, pp.1196-1197	1-14
A	OZAKI, S., <i>et al.</i> , Humanized Anti-HM1.24 Antibody Mediates Myeloma Cell Cytotoxicity That Is Enhanced by Cytokine Stimulation of Effector Cells. Blood, 1999, 93(11), pp.3922-3930	1-14
A	CARSON, W.E., <i>et al.</i> , Interleukin(IL) 15 Is a Novel Cytokine That Activates Human Killer Cells via Components of the IL-2 Receptor. J. Exp. Med., 1994, 180, pp.1395-1403	1-14

請求の範囲1-14について

これらの請求の範囲に係る発明は、抗体組成物と少なくとも1種類の薬剤を有効成分とする医薬に関するものである。

しかしながら、抗体に関しては、Fc領域中のN-グリコシド結合複合型糖鎖に結合するフコースの有無について限定されるのみで、当該抗体が認識する抗原については何ら記載されておらず、具体的構造として著しく多くの種類の抗体がこれに包含されうるものとなるにも関わらず、明細書をみても実施例として2つの抗体が示されるのみで抗原を特定するなどされているわけではない。

また、薬剤に関しても、請求の範囲12及び13でサイトカインなどに限定するよう記載されているものの、それ以外では特に限定されておらず、具体的構造として著しく多くの種類の薬剤がこれに包含されうるにも関わらず、明細書をみても実施例としてサイトカインについてその作用が確認されるのみで、抗原を特定するなどされているわけではない。

してみれば、これらの請求の範囲の記載によっては、これらの請求の範囲に係る発明の内容が不明確であり、かつ、明細書の記載について当業者が当該発明を実施することができる程度に明確かつ十分に記載されておらず、請求の範囲1-14に係る発明が明細書により十分な裏付けがなされたものともいえない。(PCT5条及び6条)

そして本願は上のように明細書及び請求の範囲の記載が所定の要件を満足しないものであるため、国際調査に際しては、明細書の記載から見て合理的な範囲のみを先行技術調査の対象としている点に留意されたい。