

【公報種別】特許法第 17 条の 2 の規定による補正の掲載

【部門区分】第 3 部門第 2 区分

【発行日】平成20年11月6日 (2008.11.6)

【公表番号】特表2004-525076(P2004-525076A)

【公表日】平成16年8月19日 (2004.8.19)

【年通号数】公開・登録公報2004-032

【出願番号】特願2002-527247(P2002-527247)

【国際特許分類】

A 6 1 K 45/00 (2006.01)

A 6 1 K 31/436 (2006.01)

A 6 1 K 39/395 (2006.01)

A 6 1 P 1/00 (2006.01)

A 6 1 P 3/10 (2006.01)

A 6 1 P 5/14 (2006.01)

A 6 1 P 17/00 (2006.01)

A 6 1 P 17/06 (2006.01)

A 6 1 P 19/02 (2006.01)

A 6 1 P 19/04 (2006.01)

A 6 1 P 19/08 (2006.01)

A 6 1 P 21/00 (2006.01)

A 6 1 P 21/04 (2006.01)

A 6 1 P 25/00 (2006.01)

A 6 1 P 29/00 (2006.01)

A 6 1 P 31/18 (2006.01)

A 6 1 P 35/00 (2006.01)

A 6 1 P 37/02 (2006.01)

A 6 1 P 37/06 (2006.01)

A 6 1 P 43/00 (2006.01)

C 1 2 Q 1/02 (2006.01)

C 1 2 N 5/06 (2006.01)

A 6 1 K 38/00 (2006.01)

C 1 2 N 15/09 (2006.01)

【 F I 】

A 6 1 K 45/00 Z N A

A 6 1 K 31/436

A 6 1 K 39/395 G

A 6 1 K 39/395 U

A 6 1 K 39/395 Y

A 6 1 P 1/00

A 6 1 P 3/10

A 6 1 P 5/14

A 6 1 P 17/00

A 6 1 P 17/06

A 6 1 P 19/02

A 6 1 P 19/04

A 6 1 P 19/08

A 6 1 P 21/00

A 6 1 P 21/04

A 6 1 P 25/00

A 6 1 P	29/00	1 0 1
A 6 1 P	31/18	
A 6 1 P	35/00	
A 6 1 P	37/02	
A 6 1 P	37/06	
A 6 1 P	43/00	1 0 5
A 6 1 P	43/00	1 1 1
C 1 2 Q	1/02	
C 1 2 N	5/00	E
A 6 1 K	37/02	
C 1 2 N	15/00	A

【手続補正書】

【提出日】平成20年9月16日(2008.9.16)

【手続補正 1】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】特許請求の範囲

【補正方法】変更

【補正の内容】

【特許請求の範囲】

【請求項 1】 インターロイキン - 1 5 受容体 (I L - 1 5 R) を標的とする第 1 の薬剤と、インターロイキン - 2 受容体 (I L - 2 R) を標的とする第 2 の薬剤とを含む治療組成物。

【請求項 2】 前記第 1 の薬剤が、I L - 1 5 R のサブユニットに結合する実質的に純粋な変異 I L - 1 5 ポリペプチドからなる請求項 1 に記載の治療組成物。

【請求項 3】 前記サブユニットが I L - 1 5 R サブユニットである請求項 2 に記載の治療組成物。

【請求項 4】 前記変異 I L - 1 5 ポリペプチドが、配列番号 4 の 1 5 6 位に変異を有する請求項 3 に記載の治療組成物。

【請求項 5】 前記変異 I L - 1 5 ポリペプチドがさらに、配列番号 4 の 1 4 9 位に変異を有する請求項 4 に記載の治療組成物。

【請求項 6】 配列番号 4 の 1 5 6 位の前記変異が、グルタミンをアスパラギン酸に代える置換である請求項 4 に記載の治療組成物。

【請求項 7】 配列番号 4 の 1 4 9 位の前記変異が、グルタミンをアスパラギン酸に代える置換である請求項 5 に記載の治療組成物。

【請求項 8】 前記変異 I L - 1 5 ポリペプチドが、配列番号 4 の 1 4 9 位および 1 5 6 位にグルタミンをアスパラギン酸に代える置換を有する請求項 5 に記載の治療組成物。

【請求項 9】 前記第 1 の薬剤がさらに、I L - 1 5 R を有する細胞の除去をもたらす部分からなる請求項 2 に記載の治療組成物。

【請求項 10】 I L - 1 5 R を有する細胞を溶解する前記部分が、I g G 分子の F c 領域である請求項 9 に記載の治療組成物。

【請求項 11】 前記第 1 の薬剤が、実質的に純粋な抗 I L - 1 5 R 抗体からなる請求項 1 に記載の治療組成物。

【請求項 12】 前記第 2 の薬剤が、I L - 2 または I L - 2 R に特異的に結合する抗体からなる請求項 1 に記載の治療組成物。

【請求項 13】 I L - 1 5 に対する受容体を発現する細胞を除去する方法であって、I L - 1 5 R を標的とする第 1 の薬剤と、I L - 2 R を標的とする第 2 の薬剤とを含む治療組成物に、該細胞を曝露する工程からなる方法。

【請求項 14】 前記細胞が、免疫系の細胞である請求項 1 3 に記載の方法。

【請求項 15】 前記細胞が、悪性細胞である請求項 13 に記載の細胞。

【請求項 16】 患者が請求項 1 に記載の治療組成物で治療可能な疾患または状態を有すると診断する方法であって、該患者から得た生体試料が IL - 15 および抗原性タグからなるポリペプチドによって結合している細胞を含有しているかどうかを判定する工程からなり、該結合の発生が、該細胞がインビボで IL - 15 R を標的とする薬剤によって結合可能であり、それによりインビボで野生型 IL - 15 に応答して増殖を阻害可能であることを示唆している方法。

【請求項 17】 それぞれが T 細胞死を促進する 2 種以上の薬剤を含む、医薬として許容される組成物。

【請求項 18】 T 細胞増殖を阻害する薬剤をさらに含む、請求項 17 に記載の薬剤組成物。

【請求項 19】 細胞溶解性 IL - 2 / Fc 分子、IL - 15 受容体に拮抗する変異 IL - 15 分子、およびラパマイシンからなる請求項 17 に記載の薬剤組成物。

【請求項 20】 T 細胞死を促進する少なくとも 1 種の薬剤と、T 細胞増殖を阻害する少なくとも 1 種の薬剤とを含む、医薬として許容される組成物。

【請求項 21】 前記 T 細胞死が、AICD (活性化誘導細胞死)、受動的細胞死、ADCC (抗体依存性細胞媒介細胞障害)、または CDC (補体依存性細胞障害) である請求項 32 に記載の薬剤組成物。

【手続補正 2】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】0022

【補正方法】変更

【補正の内容】

【0022】

野生型 IL - 15 に類似の親和性で IL - 15 受容体複合体に結合するが、完全にはシグナル伝達を活性化しない変異 IL - 15 ポリペプチドがすでに産生されている。この変異ポリペプチドは、野生型 IL - 15 ポリペプチドと有効に競合し、IL - 15 シグナル伝達に応答して通常起こる 1 つまたは複数の事象、たとえば細胞増殖などを阻害し得る。本明細書では、「野生型 IL - 15 ポリペプチド」は、天然 IL - 15 (たとえば、図 2 に示す野生型 IL - 15 ポリペプチド) と同一のポリペプチドである。対照的に、「変異 IL - 15 ポリペプチド」は、野生型 IL - 15 と比較して少なくとも 1 つの変異を有し、野生型 IL - 15 によって通常促進される少なくとも 1 つのインビボまたはインビトロの活性を阻害するポリペプチドである。

【手続補正 3】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】0024

【補正方法】変更

【補正の内容】

【0024】

本発明の変異 IL - 15 ポリペプチドは、少なくとも 65 %、好ましくは少なくとも 80 %、より好ましくは少なくとも 90 %、もっとも好ましくは少なくとも 95 % (たとえば、96 %、97 %、98 %、または 99 %)、野生型 IL - 15 と同一であり得る。変異は、アミノ酸残基の数または含量の変化からなる。たとえば、変異 IL - 15 は、野生型 IL - 15 より多いかまたは少ない数のアミノ酸残基を有することが可能である。あるいは、または上記に加えて、この変異ポリペプチドは、野生型 IL - 15 に存在する 1 つまたは複数のアミノ酸残基の置換を含み得る。変異 IL - 15 ポリペプチドは、単一アミノ酸残基の付加、欠失、または置換のぶんだけ、たとえば 156 位の残基の付加、欠失、または置換のぶんだけ、野生型 IL - 15 と異なり得る。同様に、変異ポリペプチドは、2 つのアミノ酸残基、たとえば 156 位および 149 位の残基の付加、欠失、または置換のぶんだけ、野生型と異なり得る。たとえば、変異 IL - 15 ポリペプチドは、156 位

および 149 位の残基でグルタミンの代わりにアスパラギン酸を置換するぶんだけ（図 1 に示したとおり）、野生型 IL-15 と異なり得る。標的化剤として有用な変異ポリペプチドは、野生型 IL-15 と同様に、IL-15 R の成分を認識し、結合する。1 実施形態において、IL-15 の変異は、IL-2 R （IL-2 受容体サブユニット）に結合すると考えられているサイトカインのカルボキシ末端ドメインである。別法として、または上記に加えて、変異 IL-15 ポリペプチドは、IL-2 R （IL-2 受容体サブユニット）結合ドメイン内に 1 つまたは複数の変異を含み得る。

【手続補正 4】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】0083

【補正方法】変更

【補正の内容】

【0083】

プラスミド FLAG-HMK-IL-15 を構築するために、成熟 IL-15 タンパク質をコードする 322 bp cDNA フラグメントを、合成オリゴヌクレオチド [センス 5' - GGAATTCA AACTGGGTGAATGTAATA - 3' (配列番号 5、EcoRI 部位 (下線) + 塩基 145 ~ 162)、アンチセンス 5' - CGGGATCCTC AAGAAAGTGTGTGATGAA - 3' (配列番号 6、BamHI 部位 (下線) + 塩基 472 ~ 489)] を用いる PCR によって増幅した。テンプレート DNA は、PHA 活性化ヒト PBMC から得た。この PCR 産物を精製し、EcoRI および BamHI で消化し、(ブラナーら (Blananar et al.), Science 256、1014 ページ、1992 年、ルクレールら (LeClair et al.), Proc. Natl. Acad. Sci. USA 89、8145 ページ、1992 年) に記載のとおり、EcoRI-BamHI で消化した pAR(DRI) 59/60 プラスミドに入れてクローニングした。pAR(DRI) 59/60 プラスミドのバックボーンは、FLAG および HMK 認識ペプチド配列をコードする配列をインフレームに含有する (ブラナーら (Blananar et al.), Science 256、1014 ページ、1992 年、ルクレールら (LeClair et al.), Proc. Natl. Acad. Sci. USA 89、8145 ページ、1992 年)。

【手続補正 5】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】0092

【補正方法】変更

【補正の内容】

【0092】

IL-15 R を標的とする変異 IL-15 ポリペプチド

変異 IL-15 の遺伝子構築物

2 重変異 (Q149D、Q156D) を有するヒト IL-15 タンパク質を、IL-2 R サブユニットに対する結合に重要な推定部位を標的とするように設計した。149 位および 156 位の極性であるが電荷は持たないグルタミン残基を、PCR 補助変異誘発を利用して、アスパラギン酸の産生残基に変異させた。IL-15 の 2 重変異体をコードする cDNA を、合成センス・オリゴヌクレオチド [5' - GGAATTCA AACTGGGTGAATGTAATA - 3' (配列番号 5)、EcoRI 部位 (下線のヘキサマー) + 塩基 145 ~ 162]、および合成アンチセンスオリゴヌクレオチド [5' - CGGGATCCTC AAGAAAGTGTGTGATGAACATGTCGACCAAT - ATGTACAAAACCTGTC CAAAAAAT - 3' (配列番号 7)、BamHI 部位 (下線ヘキサマー) + 塩基 472 ~ 489、変異塩基は一重下線で示す] を用いる PCR によって増幅した。テンプレートは、ヒト FLAG-HMK-IL-15 をコードする cDNA を含むプラスミドであった。記載のとおり、増幅したフラグメントを EcoRI/BamHI で消化し、EcoRI/BamRI で消化した pAR(DRI) 59/60 プラスミドにク

ローニングした（ルクレールら（LeClair et al.）、Proc. Natl. Acad. Sci. USA 89、8145ページ、1989年）。156位残基における変異の存在はSal Iを用いた消化によって確認され、この変異は新たなSal I制限部位を導入する。さらに、変異を標準的な技術に従って、DNAシーケンシングによって実証した。FLAG-HMK-IL-15野生型タンパク質に関して上述したとおり、FLAG-HMK-IL-15（Q149D、Q156D）2重変異タンパク質を産生し、精製して、シーケンシングによって確認した。

【手続補正6】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】図1

【補正方法】変更

【補正の内容】

【図1】

変異IL-15核酸配列（配列番号1）と、予想されるアミノ酸配列（配列番号2）とを表示する図である。149位でグルタミンをコードする野生型コドンCAG、および156位でグルタミンをコードする野生型コドンCAAが、いずれもアスパラギン酸をコードするGACに変更されている（これらの位置（149および156）はそれぞれ、48個のアミノ酸シグナル配列を欠損する成熟IL-15ポリペプチドの101位および108位に相当する。

【手続補正7】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】図2

【補正方法】変更

【補正の内容】

【図2】

野生型IL-15核酸配列（配列番号3）と、予想されるアミノ酸配列（配列番号4）とを表示する図である。