

(19) 日本国特許庁(JP)

(12) 特 許 公 報(B2)

(11) 特許番号

特許第3703103号
(P3703103)

(45) 発行日 平成17年10月5日(2005.10.5)

(24) 登録日 平成17年7月29日(2005.7.29)

(51) Int. Cl.⁷

F I

A 6 1 K 38/00

A 6 1 K 37/02

A 6 1 P 31/10

A 6 1 P 31/10

A 6 1 P 33/00

A 6 1 P 33/00

請求項の数 8 (全 21 頁)

(21) 出願番号 特願平5-213859
 (22) 出願日 平成5年8月30日(1993.8.30)
 (65) 公開番号 特開平6-157335
 (43) 公開日 平成6年6月3日(1994.6.3)
 審査請求日 平成12年8月16日(2000.8.16)
 (31) 優先権主張番号 P4228941:6
 (32) 優先日 平成4年8月31日(1992.8.31)
 (33) 優先権主張国 ドイツ(DE)
 (31) 優先権主張番号 P4322330:3
 (32) 優先日 平成5年7月5日(1993.7.5)
 (33) 優先権主張国 ドイツ(DE)

(73) 特許権者 590000145
 ヘキスト・アクチェンゲゼルシャフト
 ドイツ連邦共和国、65926 フランク
 フルト・アム・マイン(番地なし)
 (74) 代理人 100091731
 弁理士 高木 千嘉
 (74) 代理人 100087930
 弁理士 佐藤 辰男
 (74) 代理人 100080355
 弁理士 西村 公佑
 (72) 発明者 カールハインツ・エンズレ
 ドイツ連邦共和国35041 マルブルクー
 ミヒエルバハ、ラーンブリク14

最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 IL-4 受容体を含有するアレルギー性、ウイルス性、寄生虫性および細菌性疾患ならびにかび
 感染症の治療、予防または診断剤

(57) 【特許請求の範囲】

【請求項 1】

IL-4 受容体(IL-4R)またはIL-4Rの細胞外領域を含有するTH2型T-ヘルパー細胞の産生増大を生じる囊尾虫(キスチケルクス)またはカンジダによる感染症の治療または予防剤。

【請求項 2】

カンジダがカンジダアルピカンスである請求項1記載の剤。

【請求項 3】

IL-4 受容体またはIL-4Rの細胞外領域が融合蛋白質の構成成分である請求項1記載の剤。

【請求項 4】

融合蛋白質がIL-4 受容体またはIL-4Rの細胞外領域および抗体のFc部分を含有する請求項3記載の剤。

【請求項 5】

IL-4RまたはIL-4Rの細胞外領域とγ-インターフェロンとを含有する配合製品からなる請求項1~4のいずれか1項に記載の剤。

【請求項 6】

IL-4RまたはIL-4Rの細胞外領域と可溶性のCD40表面分子とを含有する配合製品からなる請求項1~4のいずれか1項に記載の剤。

【請求項 7】

10

20

局所投与用である請求項 1 ~ 4 のいずれかに記載の剤。

【請求項 8】

皮内、皮下、経皮、経鼻または経肺投与用である請求項 7 記載の剤。

【発明の詳細な説明】

【0001】

多くのアレルギー性、ウイルス性、寄生虫性および細菌性疾患の治療および予防には重大な問題が残されている。本発明は、このような疾患の治療、予防および診断のための I L - 4 受容体またはその誘導体の使用に関する。

【0002】

ある種の寄生虫性、ウイルス性および細菌性疾患の経過において、リンパ球および単球細胞の亜集団に変化があることは知られている。これは例えば、いわゆる 2 型の T - ヘルパー細胞（以下、T H 2 細胞という）の増大と関連する。T 細胞は一般に、表面マーカーおよびそれらの機能に基づいて亜集団に分割することができる。すなわち、たとえば T - ヘルパーリンパ細胞は C D 4 表面分子をもち、それらが活性化されるとサイトカインが分泌される。

10

【0003】

健康なマウスまたは同種細胞で刺激されたマウスからのクローン化 T - ヘルパー細胞のサイトカインパターンの分析により、これらの細胞はインターロイキン - 2、インターロイキン - 4、 γ - インターフェロン、インターロイキン - 5、インターロイキン - 6、インターロイキン - 10 およびリンホトキシンを産生することが明らかにされた（いわゆる T H 0 型の T - ヘルパー細胞）。

20

【0004】

マウスを、たとえば細菌性抗原、ウシ流産菌（*Brucella abortus*）または結核菌（*Mycobacterium tuberculosis*）で刺激したのち、とくに T - ヘルパー細胞のクローニング後に見出されるクローンは、リンホトキシン、 γ - インターフェロンおよびインターロイキン - 2 を分泌するが、インターロイキン - 4、インターロイキン - 5、インターロイキン - 6 およびインターロイキン - 10 はほとんどまたは全く分泌されない（いわゆる T H 1 型の T - ヘルパー細胞）。

【0005】

たとえば、感受性マウスの、リーシュマニアメージャー（*Leishmania major*）のような寄生性病原体による感染後に、とくに T - ヘルパー細胞のクローニングに際して生じるクローンにおいては、インターロイキン - 4、インターロイキン - 5 およびインターロイキン - 10 の産生が増大するが、インターロイキン - 2 および γ - インターフェロンの産生は低下するか、検出不可能な量になる（T H 2 型の T - ヘルパー細胞）（Mosmannら、*Immunological Reviews*, 1991, No.123, 209 - 229 ; S. Romagnani, *Immunology Today*, 256-257, Vol, 12, No. 8, 1991）。

30

【0006】

この T H 2 リンパ球の存在の増加は既に、動物およびヒトの一部の感染性疾患で検出され（Else & Grecis, *Parasitology Today*, Vol. 7, No. 11, 1991, pp.313 - 316 ; *Parasitology Today*, Vol. 7, No. 10, 1991, p.261）、これは二次パラメーターにも反映している。すなわち、リーシュマニアメージャーに感染したマウスは一般に、 γ - インターフェロンの産生低下、血清 I g E の著しい上昇および好酸球増多症を示した。

40

【0007】

たとえば、癰腫癰、リーシュマニア症および住血吸虫症ならびに結核菌感染症の患者では、一般に、血清中の I g E 濃度が、正常対象の血清の場合に比べて、著しく高いことが見出されている。寄生虫感染症では、その疾患の経過中、好酸球増多症を認めることが多い。

【0008】

即時型の I g E 仲介アレルギー反応ならびにアトピー性皮膚炎および喘息も、この種類の調節障害によって特徴づけられる。たとえば、アトピー性皮膚炎患者の皮膚バイオプシー

50

から得られる抗原特異的 T - 細胞クローンはとくに T H 2 型である (Kapsenbergら、Immunology Today, Vol. 12, No.11, 1991, 392 - 395)。

【 0 0 0 9 】

今回、T H 2 型の T - ヘルパー細胞の産生増大によって特徴づけられる疾患は、I L - 4 R またはその誘導体を使って診断ならびに治療的および / または予防的処置が可能であることが見出された。

【 0 0 1 0 】

したがって、本発明は、T H 2 型 T - ヘルパー細胞の産生増大を生じる疾患の治療および / または予防のための医薬の製造またはその疾患の確認のための診断剤の製造のための I L - 4 受容体またはその誘導体の使用に関する。

10

【 0 0 1 1 】

I L - 4 R の「誘導体」とは、本発明の目的においては、I L - 4 R の機能的に均等な部分、突然変異体または変異体を意味し、とくに I L - 4 R の細胞外部分、またとくに、ヒト I L - 4 受容体の成熟蛋白質のアミノ酸 1 ~ 約 2 0 9 ならびにそのグリコシル化変異体である。また、本発明による受容体の使用に際しては、I L - 4 R またはその誘導体および他の蛋白質または蛋白質の部分を含む融合蛋白質、好ましくは抗体の F c 部分を含む融合蛋白質 (I L - 4 R / F c 融合蛋白質) の採用も可能である。さらに、I L - 4 R、その誘導体または融合蛋白質を、上記疾患の治療および / または予防処置用の配合製品中に、好ましくは γ - インターフェロンと配合して使用することもできる。

【 0 0 1 2 】

20

精製アレルゲンまたはその部分との配合による治療、特に、たとえばアレルギー性鼻炎患者の特異的免疫療法 (脱感作) における精製アレルゲンとの配合による脱感作も有利である。

【 0 0 1 3 】

γ - インターフェロン、および / または細胞表面分子 C D 4 0 とそのリガンドとの相互作用を遮断する物質、細胞表面分子 C D 4 0 リガンド、好ましくは C D 4 0 表面分子自体の可溶性変異体、たとえば以下に述べるような C D 4 0 / I g 融合蛋白質もしくはその誘導体との配合による治療も有利である。

【 0 0 1 4 】

C D 4 0 表面分子の可溶性変異体の「誘導体」とは、本発明の目的においては、細胞性 C D 4 0 の細胞表面分子 C D 4 0 リガンドとの相互作用を遮断する、それらの機能的に均等な部分または変異体を意味する。

30

【 0 0 1 5 】

疾患としては、アレルギーおよび感染症、とくにウイルス性、細菌性および寄生虫性感染症、ならびにかび感染症が包含される。とくにヒト免疫不全ウイルス (H I V)、マイコバクテリアとくに癩菌 (Mycobacterium leprae)、リステリア (listeria)、とくにリーシュマニア属 (Leishmania) およびプラスモジウム属 (Plasmodium) の原生動物 (protozoa)、とくに住血吸虫属 (Schistosoma)、寄生性鉤虫属 (Nippostrongylus)、ヘリグモソモイデス属 (Heligmosomoides) の蠕虫、鞭虫 (Trichurida)、旋毛虫 (Trichinella)、囊尾虫 (Taenia) (キスチケルクス、Cysticercus)、カンジダ (Candida)、ならびにアスペルギルス (Aspergillus) による感染症を挙げることができる。しかしながら、即時型のアレルギー反応、とくに I g E 仲介反応の診断、処置または予防的処置も可能である。これらには、とくにアトピー性皮膚炎および喘息が包含される。

40

【 0 0 1 6 】

投与形態は一般に、疾患によって異なる。すなわち、一部の疾患では、たとえば局所投与が有利である。有益な例としては、喘息に対しては吸入による投与、結膜炎に対しては点眼剤での投与、アトピー性皮膚炎には経皮または皮内投与がある。病原性 T H 2 細胞はとくに局所的に検出されるからである。

【 0 0 1 7 】

ヒト I L - 4 受容体は、合計 8 2 5 個のアミノ酸から構成されることが報告されている (

50

Idzerda, R. J. ら、1990, J. Exp. Med. 171, 861 - 873)。Idzerdaらによれば、25 N - 末端アミノ酸はシグナルペプチドとして機能し、成熟ヒトIL - 4受容体は800個のアミノ酸からなり、1) 細胞外ドメイン(207アミノ酸)、2) 膜通過領域(約24アミノ酸)、3) 細胞質内ドメイン(569アミノ酸)の3つのドメイン構造を有する。遺伝子工学によるIL - 4受容体の製造は、治療に必要な大量の物質の直接製造を可能にするので、殊に有利である。

【0018】

IL - 4Rは、たとえば、国際特許出願WO90/05183号に記載されているようにして製造できる。この方法によれば、cDNA遺伝子バンクをたとえばT細胞系T22から作成し、IL - 4R特異的DNAに対するプローブでスクリーニングした。プローブとして、WO90/05183号に記載されたマウス細胞系のハイブリッド減数cDNAを用いることが可能である。しかしながら、cDNAバンクのスクリーニングには、IL - 4R特異的ハイブリダイゼーションプローブ、たとえば約20ヌクレオチド長の1個または2個以上の、たとえば位置193 ~ 210のプローブも使用できる。陽性クローンを、たとえば配列決定により、IL - 4R特異的cDNAについて照合したのち、見出されたIL - 4R DNAを適当な発現ベクターたとえばpCAV/NOT(WO90/05183号)にクローン化し、適当な宿主細胞たとえばCOS - 7、BHK - 21またはCHO細胞中で完全にまたは部分的に発現させることができる。IL - 4受容体の細胞外領域をコードするcDNA部分のみが発現に使用される場合には、インターロイキン - 4受容体の細胞外領域は、一般に、トランスフェクトされた細胞により培養培地中に分泌される。この目的では、本技術分野の技術水準に相当する遺伝子工学方法により、受容体の細胞外領域のコード配列またはその所望の部分の後に停止コドンを導入するような方法でcDNAを変換し、こうして変換されたcDNAを適当な発現ベクター中にクローン化する(Maliszewskiら、1990, J. Immunol., 144, 3028 - 3033; Dowerら、1989, J. Immunol., 142, 4314)。多くの場合、たとえばマウスIL - 4受容体の場合は、単離されたcDNAは天然に生じる分泌型の受容体をコードする(Mosleyら、1989, Cell 59, 335)。これらのcDNAはついで、発現ベクターの製造に直接使用できる。分泌された蛋白質はたとえばリガンドアフィニティークロマトグラフィーまたは、特異的モノクローナル抗体(Maliszewskiら、1990, J. Immunol., 144, 3028 - 3033)を用いるイムノアフィニティークロマトグラフィーによって培養培地から精製できる。さらに欧州特許出願EP - A1 - 0 464 533号に記載のように遺伝子工学的手段により、IL - 4Rまたはその誘導体と、他の蛋白質たとえば免疫グロブリン部分たとえば抗体分子のFc部分との融合蛋白質(以下、IL - 4R/Fcという)を製造し、それを発現させることができる。このような融合蛋白質の利点は、半減期が延長され、プロテインA - セファロースアフィニティークロマトグラフィーによる濃縮および精製が単純化されることである。

【0019】

アフィニティークロマトグラフィーによる問題のない精製およびファーマコキネティックスの性質の改良可能性が、IL - 4受容体溶解型の免疫グロブリンとの融合蛋白質としての合成が特に有利であることを意味する。

【0020】

CD40はI型膜蛋白質であり、すなわち、(アミノ末端)細胞外領域、膜通過領域および(カルボキシ末端)細胞質内領域から構成される。CD40をコードするcDNAは、たとえば、ラージ細胞のcDNAバンクからパニング法を用いて(Stamenkovic, I. ら、1989, EMBO J., Vol. 8, pp. 1403 - 1410)単離できる。通常は膜に会合している蛋白質を溶解型として発現させるためには、熟練した研究者によく知られている様々なオプションがある。たとえば、突然変異原付与プライマーを用いるポリメラーゼ連鎖反応において、細胞外領域をコードするcDNA配列の末端に停止コドンを導入することが可能である。この方法によって変換させたcDNAは膜アンカーを欠くので、他の分泌蛋白質と同様に細胞によって分泌されるCD40蛋白質をコードすることになる(Fanslow, W. C. ら、1992, J. Immunol., pp. 655 - 660)。可溶性組換え免疫グロブリン融合蛋白質を使用

10

20

30

40

50

するのも有利である。その製造はたとえばEP - A - 0 464 533号に記載されている。とくに、C D 4 0 / I g 融合蛋白質はまた文献に開示されている (Fanslowら、1992, J. Immunol., Vol. 149, pp. 655 - 660およびNoelleら、1992, Proc. Natl. Acad. Sci. USA, Vol. 89, pp.6550-6554)。両報告とも、ヒト免疫グロブリンG 1分子のH鎖の蝶番部、C H 2およびC H 3ドメインに融合したC D 4 0の細胞外領域からなるC D 4 0 / I g 融合蛋白質を記載している。相当するDNA構築体の製造には、C D 4 0 c DNAに適当な制限切断部位を、突然変異原付与プライマーを使用するポリメラーゼ連鎖反応によって導入するか (Fanslowら、1992, J. Immunol., Vol. 149, pp. 655 - 660)、あるいはC D 4 0 c DNA中に天然に存在する制限切断部位を利用した (Noelleら、1992, Proc. Natl. Acad. Sci. USA, Vol. 89, pp. 6550 - 6554)。

10

【0021】

溶解型C D 4 0は、組換え蛋白質として既知の原核生物または真核生物系中で発現させることができるが、哺乳動物培養細胞中で発現させることが好ましく、培養液上清または細胞溶解物から慣用方法によって精製できる。可溶性C D 4 0分子の直接的な遺伝子療法への使用の可能性は別として、可溶性C D 4 0分子はさらに、膜会合C D 4 0およびC D 4 0リガンドの相互作用を遮断する、したがって、同様に治療的可能性を有する他の物質の確認にも使用できる。これはたとえば、可溶性C D 4 0分子が固相上に存在し可溶性C D 4 0リガンドの結合は適当な標識または抗体を用いて追跡する、細胞を含まない受容体結合アッセイ (EP - A - 0 488 170号) によって実施できる。この種のアッセイは、その自動化が可能であることから、C D 4 0 / C D 4 0リガンドとの相互作用についての大量の物質の検討方法 (受容体スクリーニング) を提供する。

20

【0022】

以下に詳述する実施例においては、Idzerdaら (1990, J. Exp. Med., 171, 861 - 873) およびMaliszewskiら (1990, J. Immunol., 144, 3028 - 3033)によって定義された細胞外領域および天然に生じる溶解型のヒトおよびマウスIL - 4受容体 (以下、それぞれh u I L - 4 Rおよびm u I L - 4 Rと称す) を、メトトレキセートおよびG 418 (EP - A 0330 977号) による二重選択後、それを安定に発現するB H K細胞によって可溶性蛋白質として培養培地中に分泌させて、イムノアフィニティークロマトグラフィーによって精製された。また、ヒトもしくはマウスIL - 4受容体の細胞外領域、およびヒトI g G 1またはマウスI g G 2 b分子の蝶番部、C H 2およびC H 3ドメイン (Zettlmeisslら、1990, D

30

【0023】

IL - 4 RおよびIL - 4 R / F cは、各場合とも同種のインターロイキン - 4のバイオアッセイにおける中和に等しく有効である (実施例1)。さらに、h u I L - 4 R / F cによるT H 2型のヒトT - 細胞クローンの阻害の検出はインビトロでも可能であった。これらのクローンによってインビトロで形成されたIL - 4はh u I L - 4 R / F cによって中和された。これは増殖の低下を生じた。T H 1型の対照クローンの成長はh u I L -

40

【0024】

さらに、h u I L - 4 R / F cは、IL - 4によって誘導される合成をインビトロで抑制することができて (実施例2)、また驚くべきことに、ヒト末梢血単核細胞によるI g Eの抗原特異的合成を抑制できる (実施例3) ことが見出された。驚くべきことに、たとえば、マウスリステリア症の動物モデル、嚢尾虫 (Cysticercus crassiceps) 感染症の動物モデル (マウス)、全身エリテマトーデスの動物モデル (M R L / 1マウス)、慢性移植片対宿主反応の動物モデル (マウス) およびアレルギー誘発喘息の動物モデル (マウス) におけるマウス可溶性インターロイキン - 4受容体に対する例証で明らかにできたように (実施例5)、感染症および免疫系の異常に対して治療または予防的效果を示す。

50

【 0 0 2 5 】

実施例 1

IL - 4 R および IL - 4 R / F c のヒトおよびマウス変異体の生物活性
生物活性はバイオアッセイで測定した。IL - 4 は、IL - 4 受容体に厳密に種特異的に結合する。この理由のため、マウス起源であり、マウス IL - 4 受容体が膜に会合している細胞系を使用した。この細胞系を、ヒトインターロイキン - 4 受容体の完全遺伝子でトランスフェクトした。マウスおよびヒト膜会合受容体はこの細胞系によって同時に機能的に発現され、細胞系の増殖はマウスおよびヒト両 IL - 4 に依存する (Mosleyら、Cell, Vol. 59, 335 - 348, 1989年10月20日)。

【 0 0 2 6 】

mu IL - 4 R および mu IL - 4 R / F c の検出にはマウス IL - 4 を使用した (表 1)。細胞系の増殖はマウス IL - 4 に依存する (表 1)。インターロイキン - 4 の常時使用および mu IL - 4 R または mu IL - 4 R / F c の同時添加により、インターロイキン - 4 の濃度依存性中和を生じた。細胞系が利用可能なインターロイキン - 4 が減少するので増殖は低下する。同じ F c 部分を有する対照蛋白質はこの効果を示さない。表 1 の濃度依存性阻害における mu IL - 4 R と mu IL - 4 R / F c の間の差は分子量の差によるものである。

【 0 0 2 7 】

表 2 は、ヒトインターロイキン - 4 の生物活性および、表 1 に相当する hu IL - 4 R および hu IL - 4 R / F c の特異的中和作用を示す。濃度依存性阻害における hu IL - 4 R と hu IL - 4 R / F c の間の差は分子量の差によるものである。

【 0 0 2 8 】

実施例 2

hu IL - 4 R / F c による IL - 4 R 誘発 I g E 合成の抑制

ヒト末梢血単核細胞を単離し、5 % F C S 含有 Iscove 培養培地中、24 ウエルプレートにおいて、培養ウエルあたり細胞数 1×10^6 細胞、培養容量 1 ml で、48 時間培養した。培地に、300 ng / ml のヒトインターロイキン - 4 を添加した。既に存在した膜結合 I g E がこの前刺激時に培養培地中に放出された。48 時間後、細胞を洗浄して放出された I g E を除去した。細胞をついで、5 % F C S 含有 Iscove 培養培地中、96 ウエル平底培養プレートにおいて、細胞濃度 1×10^5 細胞、培養容量 200 μ l で培養した。培地に、0 ng / ml、3 ng / ml および 30 ng / ml のインターロイキン - 4 を添加した。このバッチを、さらに添加物を加えないで、または各回 3 μ g / ml の hu IL - 4 R / F c もしくは hu CD 4 / F c を加えて実施した。hu CD 4 / F c は IL - 4 R / F c の F c 部分の対照として使用されたもので、EP - A2 - 0 325 262号の記載に従って調製された。hu CD 4 / F c と hu IL - 4 R / F c の F c 部分は同一である (I g G 1)。10 日の培養期間後に培養培地を分離し、ヒト I g E を E L I S A でアッセイした。表 3 はこの試験の結果を示す。IL - 4 誘導 I g E 合成は hu IL - 4 R / F c の添加によって特異的に抑制された。

【 0 0 2 9 】

実施例 3

ヒト末梢血単核細胞を単離した。96 - ウエル培養プレートにおいて、ウエルあたり 5000 個の細胞を、10 % F C S 含有 Iscove 培養培地 200 μ l 中で 14 日間培養した。培養開始時にはほかに何も添加しないか、または 100 S Q 単位 (製造業者による) の精製ダニ抗原 (Derm. Pt., 注文番号 Sq 503, Scherax, Hamburgより入手) 単独またはダニ抗原と 3 μ g / ml の hu IL - 4 R / F c を添加した。ダニ抗原と 3 μ g / ml の TW 1 の混合物は F c 対照として使用した。TW 1 は狂犬病抗原に対して特異性を有し、hu IL - 4 R / F c と同じアイソタイプをもつヒトモノクローナル抗体である。TW 1 は EP - 0 445 625 A1 の記載に従って製造された。ついで、上清を分離し、ヒト I g E を E L I S A でアッセイした。抗原誘導 I g E の産生は、hu IL - 4 R / F c により特異的に抑制されることが明らかにされた (表 4)。

10

20

30

40

50

【 0 0 3 0 】

実施例 4

TH2サブタイプT細胞クローンの抗原誘発増殖の阻害

T細胞クローンをアトピー性皮膚炎患者の皮膚から単離した。大部分のクローンはインビトロでの刺激後にTH2型のサイトカインを分泌し、小部分のクローンのみにTH1型が見出された。増殖アッセイは、 1×10^4 のクローン化T細胞およびステミュレーター細胞として 1×10^5 の放射線照射同種PBLを用い、4%ヒトAB血清含有Iscove培養培地中、96-ウエルマイクロタイタープレートにおいて実施した。培養は、 $0.5 \mu\text{Ci}$ / 培養ウエルの ^3H -チミジンの存在下 CO_2 を通じながら、インキュベーター中37で18時間実施した。18時間後に、チミジンの取り込みによって細胞の増殖を測定した。上清中のサイトカインの産生については、 1×10^6 / mlのクローン化T細胞を24-ウエル培養プレート中Iscove、10%FCSおよび $10 \mu\text{g} / \text{ml}$ のコンカナバリンAで刺激した。 CO_2 を通じながら、インキュベーター(37)中で24時間培養したのち、上清を分離した。培養上清について、ヒトインターロイキン-2およびヒトインターロイキン-4の含量をバイオアッセイで検定した。バイオアッセイは、その増殖がそれぞれヒトインターロイキン-2およびヒトインターロイキン-4に依存する細胞系に基づくものである(Mosleyら、Cell, Vol. 59, 335-348, 1989年10月20日)。一つのTH2クローンの上清中にはIL-2は検出できなかったが大量のIL-4が検出された。 $49 \text{ ng} / \text{ml}$ のIL-4に対して、 $3 \mu\text{g}$ のhuIL-4R/Fcを添加した場合には、わずかに $10 \text{ ng} / \text{ml}$ のIL-4しか検出できなかった。TH1クローンの上清は、比較的大量のIL-2を含んだが、IL-4はわずかであった。TH1クローンの上清中のインターロイキン-2の濃度は、培養時のhuIL-4R/Fcの添加では有意な影響を受けなかった。増殖実験から、 $3 \mu\text{g} / \text{ml}$ のhuIL-4R/Fcの添加により、TH2クローンの増殖は抑制されるがTH1クローンの増殖は抑制されないことを明らかにすることができた(表5)。さらに、ダニ特異的TH2クローンの抗原特異的増殖はhuIL-4R/Fcの添加により抑制されるが、TH1の場合は抑制されないことを示すことができた。さらに別の実験的アプローチで、TH2クローンと同じドナーからの自己Bリンパ球の混合物中においてダニ抗原によって誘導されたIgE合成はhuIL-4R/Fcの添加で抑制できることの例証が可能であった。

【 0 0 3 1 】

実施例 5

マウスの肺アレルギー化後のmuIL-4R処理による皮膚試験反応および他のパラメーターの阻害

PBS中オバルブミン溶液($500 \mu\text{g} / 7 \text{ ml}$)のエアゾルの吸入によって、Balb/cマウスをオバルブミンで感作した。操作はRenzら、1992, J. Allergy Clin. Immunol. 89: 112に記載されている。エアゾルは、超音波アトマイザー(PulmoSonic 25型, The De Vilbiss Co., Somerest, PA)中で製造した。

生成した粒子の90%以上はサイズ $1 \sim 5 \mu\text{m}$ であった。動物を、日1、7、14および21のそれぞれに20分間オバルブミン含有エアゾルに暴露した。このモデルにおける可溶性muIL-4Rの効果を調べるため、 $150 \mu\text{g}$ / 注射のmuIL-4R(i.p.)、PBSおよび11B11(マウスIL-4に対するラットモノクローナル抗体、Ohara, J. & W. E. Paul, 1985, Nature 315: 333)を、日-2、-1、1、2、7、8、14、15、21および22のそれぞれに投与した。

【 0 0 3 2 】

実験日23に、オバルブミン(OVA)による皮膚試験を各群について実施した。操作はSalogaら、1993, J. Clin. Invest., 91: 133-140に記載されている。

結果は表6にまとめる。陽性皮膚試験反応を呈する動物の数は83.3%から22.2%に明瞭に低下した。

【 0 0 3 3 】

OVA-特異的IgEおよびこれらの動物の単離気管の気管収縮に対するmuIL-4R

の効果を、同じ実験系で検討した。その検討方法は、Renz, H.ら、1992, J. Allergy Clin. Immunology, 89:112およびLarsenら、1992, J. Clin. Invest., 89:747に記載されている。実験は、本例において上述したのと同じオバルブミンおよびm u I L - 4 R投与計画ならびに同じ投与量で実施した。結果は表7にまとめる。気管収縮は、電場における刺激により生体外から実施した(ES50単位でのデータ)。I g E濃度は血清からE L I S Aで測定した(抗O V A高力価のマウス対照血清を基準とした比較単位でのデータ)。血清は実験日23に採取した。結果は、2.47から3.4 E S 5 0への気管機能の明らかな正常化、およびI g E力価の低下を示す。O V A - 特異的I g G 1を平行して測定したが同様に低下する(詳細は示していない)。同時にI g G 2 aの増加が観察される。

【0034】

オバルブミンによる肺感作後(投与計画、投与量および方法は同例に上述した通りである)の皮膚試験反応およびm u I L - 4 Rによる肺処置を、上述と同じ実験系で平行して試験した。この実験では、オバルブミン法と同様に、7 m lのP B S中、500 μ gのm u I L - 4 Rを、日-2、-1、1、2、7、8、14、15、21および22のそれぞれに、超音波アトマイザーでエアゾルに微粒子化した。動物は密閉容器中でエアゾルに20分間暴露した(噴霧1回あたり動物4匹)。超音波で微粒化してもm u I L - 4 R蛋白質の生物活性が保持されることは、予備試験で保証された。また、動物が総量500 μ gのm u I L - 4 Rの約0.5~5%を吸入することも確立された。皮膚試験は上述のように、実験日23に実施した。結果は表8に示す。局所投与による皮膚試験での効果は、動物あたりのm u I L - 4 R投与量は少量であるにもかかわらず(最終吸入量:m u I L - 4 R 125 μ g / 動物の0.5~5%)、腹腔内処置(150 μ g / 動物)の場合とほぼ同じであることが認められる。

【0035】

実施例 6

誘発慢性移植片対宿主病(cGvHD)に対するインターロイキン-4の効果

体重15~18 gの雌性B6D2F1ハイブリッド動物(親株C57B1/gおよびDBA/2)に、4週連続して、1回あたりDBA/2マウスからの脾臓細胞 1×10^8 個を4回静注し、cGvHDを誘発した。発症した蛋白尿をN-Combur試験(Boehringer Mannheim GmbH, Mannheim, Germany)でモニタリングした。各群10匹の動物を使用した。一群には日27、28、29、30および31のそれぞれに、2 mg / k gのマウスインターロイキン-4受容体(m u I L - 4 R / F c)を投与し、他の群は対照蛋白質としてのヒトインターロイキン-4受容体(h u I L - 4 R / F c)の同投与量および同投与計画で処置し、そして一対照群はP B Sで処置した。表9には、群内の動物の分数として生存動物を示し、表10は各群内動物の尿中平均蛋白レベルの変動を示す。生存数および蛋白尿の両方で、m u I L - 4 Rの有意な効果が認められる。別の実験を上述のcGvHDの誘発とともに実施した。群分けは同じにしたが、処置は糸球体腎炎の出現後、日63、64、65、66および67に、すなわち治療的に(これらの各実験日に2 mg / k gのh u I L - 4 R / F cまたはm u I L - 4 R / F cを静注)実施した。生存動物の分数および動物の尿中の蛋白レベルはそれぞれ表11および12に示す。同じcGvHDの誘導および同じ群分けでのさらに別の実験では、モノマーm u I L - 4 Rまたはモノマーh u I L - 4 Rを、実験日24に開始して3日毎に5回、各注射あたり2 mg / k gを静脈内投与した。この場合も本例の前の実験と同様に、m u I L - 4 R処置群で、cGvHDのパラメーターの有意な抑制および動物の生存率の増加が観察された。この実験では、実験時に動物から血液を採取した。これらの血清中のマウス免疫グロブリンE(I g E)はE L I S Aで測定した。このI g E濃度は疾患時に増加し、記載された実験の日59における測定後に再び低下する。m u I L - 4 R処置を行うと、この低下は早期に、日45における測定後に始まる。m u I L - 4 R処置群および対照群(P B S処置)から無作為に選んだ3匹の動物の平均I g E濃度の変化を表13に示す。

【0036】

実施例 7

ヒト全身エリテマトーデスに類似するMRL / 1マウスの自然発症自己免疫疾患の処置
約12週齢のMRL / Mp - Lpr - Lpr (MRL / 1)マウスに対して、各5連続日
に、緩衝液対照 (PBS)、マウスインターロイキン - 4 受容体 - Fc 融合蛋白質 (mu
IL - 4 R / Fc) または対照蛋白質としてのヒトインターロイキン - 4 受容体 - Fc 融
合蛋白質 (huIL - 4 R / Fc) を静脈内投与 (i.v.) した。動物を週25に屠殺した
。脾臓、リンパ節および血液を採取した。

脾臓およびリンパ節の重量を測定し、血液または血清からの各種パラメーターを測定した
。二重鎖DNA (dsDNA) に対する抗体ならびにリウマチ因子 (RF) を、Schorlem
merら (Int. J. Immunotherapy, 7: 169, 1991) の記載に従いELISAで測定した。生
存率の変化を表14に、また週25における他のパラメーターを表15に示す。この疾患
に対するmuIL - 4 R / Fcの明らかな効果が、生存動物数の変化および週25におけ
る他のパラメーターの両者から証明される。

【0037】

実施例 8

マウスにおける囊尾虫 (Cysticercus (Taenia) crassiceps) 感染症のマウスインターロ
イキン - 4 受容体による処置

この実験では、日0に、体重15 ~ 25 gのNMRIマウスに、各マウスあたり囊尾虫 (C
ysticercus (Taenia) crassiceps) MR - 1株のメタケストーデス5匹を1mlのPBS
に取って腹腔内注射で感染させた。各実験群あたり10匹の動物を使用した。一つの対
照群は感染させなかった (メタケストーデスを含まないPBSの注射)。一群は感染させた
が、処置を行わなかった。一群は感染させ、日 - 1、0、1、7、14、20、30、3
5、40、45、50、55および63のそれぞれに、100 μgのmuIL - 4 Rを腹
腔内注射で処置した。

他の群は感染させ、muIL - 4 R処置の場合と同様にして、対照蛋白質としてのhuIL
L - 4 Rで処置した。日76に、動物の体重を測定し、解剖した。腹腔内にメタケスト
ーデスが認められる動物を決定した。陽性動物については、各動物に見出されたメタケスト
ーデスの湿重量を測定した。マウスインターロイキン - 4 受容体による処置群では、メ
タケストーデスの総重量に明らかな低下が認められた (表16)。

【0038】

実施例 9

マウスカンジダアルビカンス感染に対するmuIL - 4 Rの効果

雌性ハイブリッドマウス (BALB / cCr × DBA / 2Cr) F1 (CD2F1) を病
原性の高いカンジダアルビカンスCA - 6株 (5×10^4 細胞、静脈内) で感染させた (試
験日0)。感染の24時間前に開始し、動物に、250 μlのPBS中100 μgのmu
IL - 4 Rを、日 - 1に1回、日0および1にそれぞれ2回、日2および3にそれぞれ1
回、腹腔内投与した。それに代えて対照動物には、同じ投与計画を用いて、精製マウス血
清アルブミン (MSA)、huIL - 4 RまたはPBSを投与した。マウス血清アルブミ
ン (16匹)、huIL - 4 R (16匹) およびPBS (24匹) 処置動物はすべて、進
行性のカンジダ感染症を発症し、平均生存時間は感染後14 ~ 17日であった。muIL
- 4 R処置動物 (24匹) の91.6%は生存した。これらの生存動物は、感染8週後に
、カンジダアルビカンス (10^6 細胞) で再感染させた。すべての動物がこの再感染後も
生存した。通常为非処置動物では、この感染は致死感染を招き、生存時間は感染後2 ~ 3
日である。

【0039】

【表1】

10

20

30

40

表1 マウスIL-4受容体の生物活性

マウスIL-4の標準プロット

<u>ng/ml</u>	<u>CPM</u>	<u>S. D.</u>
100	46609	7.4
20	47809	8.1
0.4	43550	11.1
0.8	25534	7.9
0.16	8456	13.7
0.032	1987	10.7
0.064	901	12.4

10

1 ng/mlマウスIL-4コンスタント

<u>μg/ml</u>	<u>MuIL-4R</u>		<u>MuIL-4R/Fc</u>		<u>F c 対照</u>	
	<u>CPM</u>	<u>S. D.</u>	<u>CPM</u>	<u>S. D.</u>	<u>CPM</u>	<u>S. D.</u>
10	635	7.7	3844	35.7	34696	15.1
1	1285	17.7	3482	11.6	38452	6.0
0.1	7417	10.9	14408	6.2	39532	8.9
0.01	27038	2.3	32310	14.9	35308	3.1
0.001	33187	7.7	34658	7.5	39290	5.4
0.0001	31881	4.5	36931	14.1	38388	4.1
0.00001	36059	5.2	36719	5.3	40911	6.4
0.0	34112	5.5	37417	4.1	37663	14.5

20

30

(標準偏差%)

【0040】

【表2】

40

表2 ヒトIL-4受容体の生物活性

ヒトIL-4の標準プロット

<u>ng/ml</u>	<u>CPM</u>	<u>S. D.</u>
100	134112	4.0
20	125877	3.0
4	127607	8.6
0.8	91743	4.7
0.16	45908	9.2
0.032	20898	3.9
0.064	12385	7.1

10

1 ng/mlヒトIL-4コンスタント

20

<u>μg/ml</u>	<u>HuIL-4R</u>		<u>HuIL-4R/Fc</u>		<u>Fc対照</u>	
	<u>CPM</u>	<u>S. D.</u>	<u>CPM</u>	<u>S. D.</u>	<u>CPM</u>	<u>S. D.</u>
10	2770	32.9	3860	11.5	98001	3.3
1	7421	11.6	11480	6.0	96002	1.9
0.1	26508	2.3	37794	2.3	100637	4.8
0.01	62536	5.3	75391	2.2	95146	0.8
0.001	77769	7.1	90660	9.3	96835	0.2
0.0001	85739	3.7	95597	10.6	81495	20.7
0.00001	90227	5.3	96132	6.2	94356	2.0
0.0	92748	6.5	95139	4.9	95203	6.5

30

(標準偏差%)

40

【 0 0 4 1 】

【 表 3 】

表3 ヒト I g E 合成の阻害

	<u>+ 3 μg/ml F c 対照</u>	<u>+ 3 μg/ml huIL-4R/Fc</u>
I L - 4 なし	<6.9	<6.9
+ 3 ng/ml huIL-4	14.17 (2)	<6.9
+ 30ng/ml huIL-4	20.14 (8)	<6.9

10

ヒト I g E データ : n g / m l

括弧内 : %標準偏差

【 0 0 4 2 】

【 表 4 】

表4 アレルゲン特異的 I g E 合成の阻害

培 地	100SQ U/ml	ダニアレルゲン	Derm. Pt.
対 照	受容体なし	3 μ g/ml huIL-4R/Fc	3 μ g/ml F c 対照
< 0.09	1.23 (4.1)	<0.09	1.17 (5.6)

20

ヒト I g E データ : n g / m l

括弧内 : %標準偏差

【 0 0 4 3 】

【 表 5 】

30

表5 アトピー性皮膚炎患者の皮膚からのダニ特異的T細胞クローン

	オートクライン I L - 2 (U/ml) (バイオアッセイ)	オートクライン I L - 4 (ng/ml) (バイオアッセイ)	オートクライン IL-4(ng/ml, 3μg/ ml, huIL-4R/Fc) (バイオアッセイ)	増 殖	
TH2 クローン1141					
10μg/ml ConA	< 2 5	4 9 (9)	< 1	阻 害	10
10μg/ml ConA +3μg/ml huIL-4R/Fc	< 2 5	1 0 (8)	< 1		
TH1 クローン1150					
10μg/ml ConA	9 7 (2)	1 8 (29)	8. 8 (11)	阻害せず	20
10μg/ml ConA +3μg/ml huIL-4R/Fc	8 8 (20)	1 0 (5)	6. 3 (14)		
(標準偏差%)					

【 0 0 4 4 】

【 表 6 】

表6 mu I L - 4 Rによる皮膚試験反応の阻害

感 作 (肺)	処 置 (i. p.)	オバルブミンに対する 陽 性 皮 膚 試 験	
P B S	—	0/9	0
O V A	—	10/12	83.3
O V A	mu I L - 4 R	2/9	22.2
O V A	抗 - I L - 4	5/8	62.5

【 0 0 4 5 】

【 表 7 】

表7 気管収縮後の抗原特異的IgEのmuIL-4Rによる阻害

感 作	O V A	O V A	P B S
処 置	—	muIL-4R (i. p.)	—
マウス数	28	12	36
抗-OVA IgE	2144	1126	<20
C V %	18.6	34.9	
E S 5 0	2.47	3.4	4.18
C V %	5.6	15.2	2.4

10

【 0 0 4 6 】

【表8】

表8 muIL-4Rの肺投与による肺感作動物および陽性皮膚試験
動物数の低下

20

感 作	O V A	O V A	P B S
処 置	—	muIL-4R (i. p.)	—
マウス数	28	8	36
抗-OVA IgE	2144	—	<20
C V %	18.6		
E S 5 0	2.47	3.14	4.18
C V %	5.6	24.8	2.4

30

【 0 0 4 7 】

【表9】

表9 誘発慢性移植片対宿主病(cGvHD)に対するインターロイキン
－4の効果

生 存 動 物 の 分 数				
cGvHD誘発後		IL-4R処置 (2mg/kg, 5×i. v., 日27～31)		
日 数	対照動物数	huIL-4R/Fc	muIL-4R/Fc	
70	10/10(100%)	10/10(100%)	10/10(100%)	10
73	10/10(100%)	9/10(90%)	10/10(100%)	
74	9/10(90%)	9/10(90%)	10/10(100%)	
76	9/10(90%)	7/10(70%)	10/10(100%)	
77	8/10(80%)	7/10(70%)	10/10(100%)	
79	7/10(70%)	7/10(70%)	10/10(100%)	20
81	7/10(70%)	6/10(60%)	10/10(100%)	
82	7/10(70%)	5/10(50%)	10/10(100%)	
84	6/10(60%)	5/10(50%)	9/10(90%)	
85	6/10(60%)	5/10(50%)	8/10(80%)	
86	4/10(40%)	5/10(50%)	8/10(80%)	30
87	3/10(30%)	3/10(30%)	8/10(80%)	
88	3/10(30%)	3/10(30%)	8/10(80%)	
89	3/10(30%)	2/10(20%)	8/10(80%)	
91	2/10(20%)	1/10(10%)	8/10(80%)	
92	0/10(0%)	0/10(0%)	7/10(70%)	40
94	—	—	7/10(70%)	
101	—	—	6/10(60%)	
110	—	—	6/10(60%)	

【 0 0 4 8 】

【 表 1 0 】

表10 誘発慢性移植片対宿主病 (cGvHD) に対するインター
ロイキン-4受容体の効果

糸球体腎炎動物の尿中蛋白質				
cGvHD誘発後		IL-4R処置 (2mg/kg, 5×i. v., 日27~31)		
日	数	対照動物	huIL-4R／Fc	muIL-4R／Fc
25		13±6	15±16	16±12
44		234±92	243±109	95±43
58		286±113	279±134	162±96
64		313±143	326±128	196±147
79		366±149	380±193	213±196
85		460±126	450±158	227±186
91		500±0	500±0	233±192
100		—	—	249±193
110		—	—	258±184

【 0 0 4 9 】

【 表 1 1 】

表11 誘発慢性移植片対宿主病 (cGvHD) に対するインターロイキン-4受容体の効果

生 存 動 物 の 分 数				
cGvHD誘発後 日 数	対 照 動 物 数	サイトカン受容体処置 (2mg/kg, 5×i. v., 日27～31)		
		huIL-4R/Fc	muIL-4R/Fc	
65	10/10(100%)	10/10(100%)	10/10(100%)	10
70	9/10(90%)	10/10(100%)	10/10(100%)	
71	8/10(80%)	9/10(90%)	10/10(100%)	
72	8/10(80%)	9/10(90%)	9/10(90%)	
73	7/10(70%)	9/10(90%)	9/10(90%)	
74	7/10(70%)	7/10(70%)	9/10(90%)	20
75	7/10(70%)	5/10(50%)	9/10(90%)	
76	7/10(70%)	5/10(50%)	9/10(90%)	
77	6/10(60%)	5/10(50%)	9/10(90%)	
78	5/10(50%)	3/10(30%)	9/10(90%)	
79	3/10(30%)	3/10(30%)	7/10(70%)	30
80	3/10(30%)	3/10(30%)	7/10(70%)	
81	3/10(30%)	3/10(30%)	7/10(70%)	
82	3/10(30%)	3/10(30%)	7/10(70%)	
83	3/10(30%)	2/10(20%)	7/10(70%)	
84	1/10(10%)	2/10(20%)	6/10(60%)	40
85	1/10(10%)	2/10(20%)	6/10(60%)	
86	0/10(0%)	2/10(20%)	6/10(60%)	
87	—	0/10(0%)	5/10(50%)	
88	—	—	5/10(50%)	
89	—	—	5/10(50%)	40
90	—	—	5/10(50%)	

【 0 0 5 0 】

【 表 1 2 】

表12 誘発慢性移植片対宿主病 (cGvHD) に対するインターロイキン-4受容体の効果

cGvHD誘発後 日 数	糸球体腎炎動物の尿中蛋白質		
	対 照 動 物	サイトカイン受容体処置 (2mg/kg, 5×i. v., 日63~67)	
		huIL-4R/Fc	muIL-4R/Fc
0	9±15	11±16	6±13
10	15±16	24±34	19±32
50	210±69	203±76	218±83
65	276±99	283±103	297±107
77	460±126	443±138	306±146
85	500±0	500±0	328±139
90	—	—	389±154

10

【 0 0 5 1 】

【 表 1 3 】

表13 誘発慢性移植片対宿主病 (cGvHD) に対するインターロイキン-4受容体の効果

血清採取日	免疫グロブリンEの測定	
	mu I L - 4 R	h u I L - 4 R
0	0.6 (30.7)	0.77(37.0)
24	601.1 (27.9)	776.7 (39.8)
38	891.2 (47.4)	1136.7 (38.9)
45	574 (43.2)	1176.3 (9.4)
52	302.56(33.0)	1188.9 (17.6)
59	243.4 (9.7)	466 (23.3)
80	187.7 (21.4)	241.9 (10.8)

30

IgE濃度のデータは血清中 $\mu\text{g}/\text{ml}$ である(3匹の動物の平均、括弧内は%標準偏差)

40

【 0 0 5 2 】

【 表 1 4 】

表14 ヒト全身エリテマトーデスに類似のMRL/1マウスにおける
自然発症自己免疫疾患の処置

動物の 週 齢	生 存 率 の 変 化				
	非処置対照 MRL/1マウス	緩衝液対照 MRL/1マウス	huIL-4R/Fc	muIL-4R/Fc	
15	10/10(100%)	10/10(100%)	11/11(100%)	11/11(100%)	10
16	10/10(100%)	10/10(100%)	11/11(100%)	11/11(100%)	
17	10/10(100%)	10/10(100%)	10/11(91%)	11/11(100%)	
18	9/10(90%)	10/10(100%)	10/11(91%)	11/11(100%)	
19	8/10(80%)	8/10(80%)	9/11(82%)	11/11(100%)	
20	7/10(70%)	8/10(80%)	8/11(73%)	11/11(100%)	20
21	6/10(60%)	7/10(70%)	8/11(73%)	10/11(91%)	
22	6/10(60%)	6/10(60%)	6/11(55%)	9/11(82%)	
23	5/10(50%)	5/10(50%)	6/11(55%)	8/11(73%)	
24	5/10(50%)	4/10(40%)	5/11(46%)	7/11(64%)	
25	4/10(40%)	4/10(40%)	4/11(36%)	7/11(64%)	

【 0 0 5 3 】

【 表 1 5 】

30

表15 ヒト全身エリテマトーデスに類似のMRL/1マウスにおける
自然発症自己免疫疾患の処置

動物の週齢	非処置対照 MRL/1マウス	緩衝液対照 MRL/1マウス	huIL-4R/Fc	muIL-4R/Fc	
生 存 率	40 (4/10)	40 (4/10)	36 (4/11)	64 (7/11)	
リンパ節重量(mg)	2758±1218	2819±953	2881±1028	1537±882	40
脾臓重量(mg)	646±215	686±224	659±191	332±153	
蛋白尿(mg/dl)	383±83	376±39	378±53	214±40	
白血球数($\times 10^3/\mu\text{l}$)	18.6±4.4	18.4±5.0	18.7±4.3	14.1±4.6	
IgM RF (逆力価)	338±83	311±58	309±66	225±62	
dsDNA抗体(逆力価)	1502±231	1589±334	1557±258	1205±262	

【 0 0 5 4 】

【 表 1 6 】

表16 マウスにおける囊尾虫 (*Cysticercus crassiceps*) 感染症
のマウスインターロイキン-4受容体による処置

処 置	体重 (g)	感 染 寄 生 虫		感 染 寄 生 虫
		(各動物当りの湿重量 g)		(各群当りの湿重量 g)
muIL-4R	35.7	ネガティブ	ネガティブ	13.7
		0.1	ネガティブ	
		6.0	7.5	
		ネガティブ	0.1	
		ネガティブ	ネガティブ	
huIL-4R	35.9	<0.1	ネガティブ	34.9
		<0.1	ネガティブ	
		8.4	6.3	
		8.2	5.7	
		1.3	5.0	
感染対照	35.8	1.0	5.8	31.6
		ネガティブ	3.7	
		2.7	2.1	
		7.2	6.2	
		1.0	1.9	
非感染対照	34.5	—	—	

10

20

フロントページの続き

- (72)発明者 ローラント・クルレ
ドイツ連邦共和国3 5 0 9 6 ニーダーヴァイマル・キーフエルンヴェーク 1 2
- (72)発明者 レアンダー・ラウファー
ドイツ連邦共和国3 5 0 7 5 グラーデンバハ・シユロスアレー 2 5
- (72)発明者 フリードリヒ・ローベルト・ザイラー
ドイツ連邦共和国3 5 0 4 1 マルブルク・オーベラーアイヒヴェーク 1 0

審査官 小堀 麻子

- (56)参考文献 特開平 0 2 - 2 1 5 3 8 5 (J P , A)
FANSLOW, W.C. et al , Soluble forms of CD40 inhibit biologic responses of human B cells
, Journal of immunology , 1 9 9 2 年 , Vol.149, No.2 , pp655-660
- (58)調査した分野(Int.Cl.⁷ , D B 名)
A61K 38/00-58
CA(STN)
REGISTRY(STN)
MEDLINE(STN)