(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2021-506778
(P2021-506778A)
(43)公表日　令和3年2月22日(2021.2.22)

(51)Int.Cl.		F I			テーマコード（参考）
A61K 39/395	(2006.01)	A61K	39/395	N	4C037
C07K 16/28	(2006.01)	C07K	16/28		4C056
C07K 16/46	(2006.01)	C07K	16/46		4C063
A61P 21/00	(2006.01)	A61K	39/395	D	4C072
A61P 37/02	(2006.01)	A61P	21/00		4C084

審査請求 未請求　予備審査請求 未請求　（全 57 頁）　最終頁に続く

(21)出願番号　特願2020-531978 (P2020-531978)
(86)(22)出願日　平成30年12月14日 (2018.12.14)
(85)翻訳文提出日　令和2年8月6日 (2020.8.6)
(86)国際出願番号　PCT/EP2018/085016
(87)国際公開番号　WO2019/115791
(87)国際公開日　令和1年6月20日 (2019.6.20)
(31)優先権主張番号　17306783.6
(32)優先日　平成29年12月15日 (2017.12.15)
(33)優先権主張国・地域又は機関
欧州特許庁 (EP)

(71)出願人　514203362
インセルム（インスティチュート　ナショナル　デ　ラ　サンテ　エ　デ　ラ　リシェルシェ　メディカル）
フランス国，エフ－７５６５４　パリ　セデックス　１３，１０１　ル　デ　トルビアック
(71)出願人　516200884
センター　ホスピタリア　ユニバーシタイア　デ　ナント
フランス国，エフ－４４０９３　ナント　セデックス　１，５　アレイ　ドゥ　イル　グロリエット

最終頁に続く

(54)【発明の名称】抗ＣＤ４５ＲＣ抗体を用いる単一遺伝子疾患の処置

(57)【要約】
本発明は、免疫機能に関連していないがその欠損が炎症および／もしくは免疫反応に関連している遺伝子（たとえばデュシェンヌ型筋ジストロフィー（ＤＭＤ）、嚢胞性線維症、ライソゾーム病、およびα１－アンチトリプシン欠損症で欠損している遺伝子）により引き起こされるか、または、免疫系に関与しておりその欠損が炎症および／もしくは自己免疫反応をもたらす遺伝子（たとえばＴ細胞の原発性免疫不全、たとえばＩＰＥＸ（ＩＰＥＸ症候群）、ＡＰＥＣＥＤ（自己免疫性多腺性内分泌不全症・カンジダ症・外胚葉ジストロフィー）、Ｂ細胞の原発性免疫不全、Ｍｕｃｋｌｅ－Ｗｅｌｌｓ症候群、混合型自己炎症性および自己免疫性症候群、ＮＬＲＰ１２関連の遺伝性周期性発熱症候群、および腫瘍壊死因子受容体１関連周期性症候群で欠損している遺伝子）により引き起こされる単一遺伝子疾患の処置に使用するための抗ＣＤ４５ＲＣ抗体に関する。
【選択図】図６

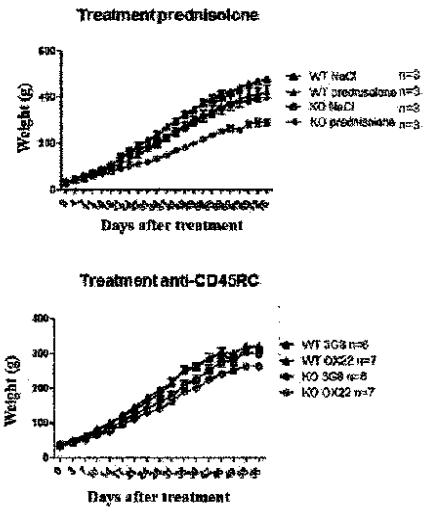


FIG. 6

【特許請求の範囲】
【請求項１】
免疫機能に関連していないがその欠損が炎症および／もしくは免疫反応に関連している遺伝子により引き起こされ、デュシェンヌ型筋ジストロフィー（ＤＭＤ）、嚢胞性線維症、ライソゾーム病、およびα１－アンチトリプシン欠損症から選択される単一遺伝子疾患、ならびに／または、
免疫系に関与しておりその欠損が炎症および／もしくは自己免疫反応をもたらす遺伝子により引き起こされ、ＩＰＥＸ症候群（ＩＰＥＸ）、ＡＰＥＣＥＤ（自己免疫性多腺性内分泌不全症・カンジダ症・外胚葉ジストロフィー）、Ｂ細胞の原発性免疫不全、Ｍｕｃｋｌｅ－Ｗｅｌｌｓ症候群、混合型自己炎症性および自己免疫性症候群、ＮＬＲＰ１２関連の遺伝性周期性発熱症候群、および腫瘍壊死因子受容体１関連周期性症候群から選択される単一遺伝子疾患
を含む群から選択される単一遺伝子疾患の予防および／または処置における使用のための、抗ＣＤ４５ＲＣ抗体。
【請求項２】
モノクローナル抗体である、請求項１に記載の使用のための抗ＣＤ４５ＲＣ抗体。
【請求項３】
抗ヒトＣＤ４５ＲＣモノクローナル抗体である、請求項１または２に記載の使用のための抗ＣＤ４５ＲＣ抗体。
【請求項４】
キメラ抗体、二重特異性抗体、ヒト化抗体、または完全にヒトの抗体である、請求項１～３のいずれか１項に記載の使用のための抗ＣＤ４５ＲＣ抗体。
【請求項５】
単一遺伝子疾患の予防および／または処置が、前記単一遺伝子疾患に関連する症状または兆候、好ましくは自己免疫および／または炎症の症状または兆候の低減、軽減、緩和、および／または阻害を含む、請求項１～４のいずれか１項に記載の使用のための抗ＣＤ４５ＲＣ抗体。
【請求項６】
前記抗ＣＤ４５ＲＣ抗体が、Ｔ　ＣＤ４５ＲＣ^{high}細胞を枯渇させる、請求項１～５のいずれか１項に記載の使用のための抗ＣＤ４５ＲＣ抗体。
【請求項７】
前記抗ＣＤ４５ＲＣ抗体が、ＣＤＲ４５ＲＣに対する第１の抗原結合部位と、直接的な結合、抗体依存性細胞傷害（ＡＤＣＣ）、補体依存性細胞傷害（ＣＤＣ）、および／または抗体依存性貪食作用を介してＴ　ＣＤ４５ＲＣ^{high}細胞の枯渇を媒介できるエフェクター細胞に対する少なくとも１つの第２の抗原結合部位と、を含む多重特異性抗体である、請求項１～６のいずれか１項に記載の使用のための抗ＣＤ４５ＲＣ抗体。
【請求項８】
細胞傷害性部分にコンジュゲートされている、請求項１～７のいずれか１項に記載の使用のための抗ＣＤ４５ＲＣ抗体。
【請求項９】
前記抗ＣＤ４５ＲＣ抗体と、薬学的に許容される担体または賦形剤またはビヒクルと、を含む医薬組成物の形態の、請求項１～８のいずれか１項に記載の使用のための抗ＣＤ４５ＲＣ抗体。
【請求項１０】
前記抗ＣＤ４５ＲＣ抗体が、免疫抑制薬および／または抗炎症薬と併用して投与される、請求項１～９のいずれか１項に記載の使用のための抗ＣＤ４５ＲＣ抗体。
【請求項１１】
前記抗ＣＤ４５ＲＣ抗体が、遺伝子療法または細胞療法と併用して投与される、請求項１～１０のいずれか１項に記載の使用のための抗ＣＤ４５ＲＣ抗体。
【請求項１２】

前記遺伝子療法または細胞療法が、前記抗ＣＤ４５ＲＣ抗体の投与の前または後、優先的には前記抗ＣＤ４５ＲＣ抗体の投与の前に、行われる、請求項１１に記載の使用のための抗ＣＤ４５ＲＣ抗体。

【請求項１３】

前記単一遺伝子疾患が、ＤＭＤ、嚢胞性線維症、リソソーム蓄積症、およびα１－アンチトリプシン欠損症から選択され、好ましくは前記単一遺伝子疾患がＤＭＤである、請求項１～１２のいずれか１項に記載の使用のための抗ＣＤ４５ＲＣ抗体。

【請求項１４】

前記単一遺伝子疾患が、ＩＰＥＸ、ＡＰＥＣＥＤ、Ｂ細胞の原発性免疫不全、Ｍｕｃｋｌｅ－Ｗｅｌｌｓ症候群、混合型自己炎症性および自己免疫性症候群、ＮＬＲＰ１２関連の遺伝性周期性発熱症候群、ならびに腫瘍壊死因子受容体１関連周期性症候群から選択され、好ましくは前記単一遺伝子疾患がＡＰＥＣＥＤである、請求項１～１２のいずれか１項に記載の使用のための抗ＣＤ４５ＲＣ抗体。

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【０００１】

本発明は、デュシェンヌ型筋ジストロフィー（ＤＭＤ）またはＡＰＥＣＥＤ（自己免疫性多腺性内分泌不全症・カンジダ症・外胚葉ジストロフィー）、および関連する症状などの単一遺伝子疾患を予防および／または処置するための抗ＣＤ４５ＲＣ抗体の使用に関する。

【背景技術】

【０００２】

単一遺伝子疾患は、１つの遺伝子の欠損により引き起こされる。４０００超のヒトの疾患が、１つの特定の遺伝子に関連するこれら欠損によって引き起こされている。現在までに、ほとんどの処置の選択肢は、この障害の症状の、患者のクオリティオブライフを改善するための処置を中心に展開している。この種類の疾患の長期間持続できる処置として、遺伝子療法、すなわち、健常な遺伝子が患者の体内に導入される処置の形態に期待が集まっている。しかしながら、この障害に冒されている適切な細胞へ遺伝子を送達するための技術の開発において、深刻な障害に直面している。

【０００３】

単一遺伝子疾患の中の一部は、免疫系に関連しており、その欠損が炎症および／または自己免疫反応をもたらす遺伝子に関連している。このような疾患の例として、ＡＰＥＣＥＤ（自己免疫性多腺性内分泌不全症・カンジダ症・外胚葉ジストロフィー）がある。他の単一遺伝子疾患は、免疫機能に関連していないがその欠損が炎症および／または免疫反応に関連している遺伝子に関連している。このような疾患の例として、デュシェンヌ型筋ジストロフィー（ＤＭＤ）がある。

【０００４】

ＤＭＤは、タンパク質ジストロフィンをコードするＤＭＤ遺伝子の変異が、全ての随意筋に影響を与え、後期では心筋および呼吸筋に影響を与える重篤なＸ連鎖性筋ジストロフィーをもたらす、単一遺伝子疾患である。

【０００５】

免疫応答は、ＤＭＤ患者およびヒト患者と同じジストロフィン変異を有するｍｄｘマウスの両方において、疾患の病態生理に関与している（レビューでは、Ｒｏｓｅｎｂｅｒｇ ｅｔ ａｌ．，２０１５．Ｓｃｉ Ｔｒａｎｓｌ Ｍｅｄ．７（２９９）：２９９ｒｖ４を参照されたい）。標準的なＤＭＤ患者の管理は、プレドニゾロンなどのコルチコイドを使用する。ｍｄｘマウスでは、制御性Ｔ細胞（Ｔ$_{reg}$）を増幅させるため、静脈内イムノグロブリン、トラニラスト、ヘムオキシゲナーゼ－１誘導因子、ＩＬ－１受容体アンタゴニスト、およびＩＬ－２などの、エフェクター免疫応答または炎症を減少させる処置も使用されている（Ｒｏｓｅｎｂｅｒｇ ｅｔ ａｌ．，２０１５．Ｓｃｉ Ｔｒａｎｓｌ Ｍｅｄ．７（２９９）：２９９ｒｖ４；Ｖｉｌｌａｌｔａ ｅｔ ａ

ｌ．，２０１４．Ｓｃｉ Ｔｒａｎｓｌ Ｍｅｄ．６（２５８）：２５８ｒａ１４２）。

【０００６】

しかしながら、近年見込みのある新規の処置が存在するにも関わらず、ＤＭＤ患者の平均余命は、著しく低いままである。よって、ＤＭＤおよび関連する疾患で免疫応答を低減または阻害できる処置が、依然として必要とされている。

【０００７】

自己免疫疾患は、免疫系の機能不全をもたらし、重篤な身体障害性、さらには致死性の結果の原因である、自己免疫寛容の崩壊により引き起こされる。寛容に関与する免疫機構の多くの知識により、自己免疫疾患の理解および処置の両方を改善するための重大な課題が示されている。

【０００８】

この平衡において鍵となるプレイヤーは、ＡＩＲＥという、胸腺髄質上皮細胞（ｍＴＥＣ）における組織特異的自己抗原（ＴＲＡ）の発現および自己反応性Ｔ細胞の欠失を可能にする転写調節因子である。

【０００９】

ＡＰＥＣＥＤ（自己免疫性多腺性内分泌不全症・カンジダ症・外胚葉ジストロフィー）は、多腺性自己免疫症候群Ｉ型（ＡＰＳ１）としても知られている、ＡＩＲＥ遺伝子の変異により引き起こされる、希少な常染色体劣性の多臓器自己免疫疾患である。

【００１０】

ヒトにおいて、この遺伝子は、遺伝子座２１ｑ２２．３に位置しており、１００超の変異が、１～９：１０００００００の有症率でＡＰＥＣＥＤをもたらすことが記載されている（Ｏｒｐｈａｎｅｔ，ｈｔｔｐ：／／ｗｗｗ．ｏｒｐｈａ．ｎｅｔ）。この有症率は、たとえばフィンランド人、ノルウェー人、サルディーニャ人、およびイラン系ユダヤ人といった特定の集団で増加している。例として、サルディーニャ人において、ＡＰＥＣＥＤ患者のうち９０％に、Ｒ１３９Ｘ変異の過剰発現（ｏｖｅｒｒｅｐｒｅｓｅｎｔａｔｉｏｎ）が存在している。

【００１１】

ＡＰＥＣＥＤの臨床表現型は、通常、主な３つの症状：副甲状腺機能低下症、副腎不全（アジソン病）、および慢性皮膚粘膜カンジダ症（ＣＭＣ）のうちの２つの存在により定義される。またこの疾患は、複数の自己免疫および外胚葉性の特性に関連しており、例として、１型糖尿病、エナメル質形成不全、白斑、早期卵巣機能不全、角膜炎、悪性貧血、脱毛症、外分泌膵炎（ｅｘｏｃｒｉｎｅ ｐａｎｃｒｅａｔｉｔｉｓ）、間質性肺疾患、腎炎、および他の障害がある。

【発明の概要】

【００１２】

本明細書において、本発明者らは、抗ＣＤ４５ＲＣ抗体でのＤｍｄ^{ｍｄｘ}ラットの処置を用いることにより、特異的に、ＣＤ４５ＲＣを発現する細胞（本明細書中ＣＤ４５ＲＣ$^{+}$細胞と称される）、特に、高いレベルのＣＤ４５ＲＣを発現する細胞（本明細書では、ＣＤ４５ＲＣ^{ｈｉｇｈ}細胞またはＣＤ４５ＲＣ＋^{ｈｉｇｈ}細胞と称される）で作用することによってＤＭＤを処置できることを証明した。

【００１３】

さらに本発明者らは、抗ＣＤ４５ＲＣモノクローナル抗体をＡｉｒｅ$^{－／－}$（ＫＯ）ラットに投与することが、ＣＤ４５ＲＣ^{ｈｉｇｈ} Ｔリンパ球の強力な枯渇をもたらし、ＡＰＥＣＥＤに特徴的な症状を阻害することを示した。

【００１４】

本発明は、

免疫機能に関連していないがその欠損が炎症および／もしくは免疫反応に関連している遺伝子により引き起こされ、デュシェンヌ型筋ジストロフィー（ＤＭＤ）、嚢胞性線維症、ライソゾーム病、およびα１－アンチトリプシン欠損症から選択される単一遺伝子疾患

、ならびに／または、
免疫系に関与しておりその欠損が炎症および／もしくは自己免疫反応をもたらす遺伝子により引き起こされ、ＩＰＥＸ症候群（多腺性内分泌不全症、腸疾患を伴う免疫調節異常（Ｘ連鎖性）症候群：ＩＰＥＸ）、ＡＰＥＣＥＤ（自己免疫性多腺性内分泌不全症・カンジダ症・外胚葉ジストロフィー）、Ｂ細胞の原発性免疫不全、Ｍｕｃｋｌｅ－Ｗｅｌｌｓ症候群、混合型自己炎症性および自己免疫性症候群、ＮＬＲＰ１２関連の遺伝性周期性発熱症候群、および腫瘍壊死因子受容体１関連周期性症候群から選択される単一遺伝子疾患を含む群から選択される単一遺伝子疾患の予防および／または処置に使用するための、抗ＣＤ４５ＲＣ抗体に関する。

【００１５】
一部の実施形態では、抗ＣＤ４５ＲＣ抗体は、モノクローナル抗体である。

【００１６】
一部の実施形態では、抗ＣＤ４５ＲＣ抗体は、抗ヒトＣＤ４５ＲＣモノクローナル抗体である。

【００１７】
一部の実施形態では、抗ＣＤ４５ＲＣ抗体は、キメラ抗体、二重特異性抗体、ヒト化抗体、または完全にヒトの抗体である。

【００１８】
一部の実施形態では、単一遺伝子疾患の予防および／または処置は、単一遺伝子疾患に関連する症状または兆候、好ましくは自己免疫および／または炎症の症状または兆候の低減、軽減、緩和、および／または阻害を含む。

【００１９】
一部の実施形態では、抗ＣＤ４５ＲＣ抗体は、Ｔ　ＣＤ４５ＲＣｈｉｇｈ細胞を枯渇させる。

【００２０】
一部の実施形態では、抗ＣＤ４５ＲＣ抗体は、ＣＤＲ４５ＲＣに対する第１の抗原結合部位と、直接的な結合、抗体依存性細胞傷害（ＡＤＣＣ）、補体依存性細胞傷害（ＣＤＣ）、および／または抗体依存性貪食作用を介してＴ　ＣＤ４５ＲＣｈｉｇｈ細胞の枯渇を媒介できるエフェクター細胞に対する少なくとも１つの第２の抗原結合部位とを含む多重特異性抗体である。

【００２１】
一部の実施形態では、抗ＣＤ４５ＲＣ抗体は、細胞傷害性部分にコンジュゲートされる。

【００２２】
一部の実施形態では、抗ＣＤ４５ＲＣ抗体は、上記抗ＣＤ４５ＲＣ抗体と、薬学的に許容される担体または賦形剤またはビヒクルとを含む医薬組成物の形態にある。

【００２３】
一部の実施形態では、抗ＣＤ４５ＲＣ抗体は、免疫抑制薬および／または抗炎症薬と併用して投与される。

【００２４】
一部の実施形態では、抗ＣＤ４５ＲＣ抗体は、遺伝子療法または細胞療法と併用して投与される。

【００２５】
一部の実施形態では、上記遺伝子療法または細胞療法は、抗ＣＤ４５ＲＣ抗体の投与の前または後、優先的には抗ＣＤ４５ＲＣ抗体の投与の前に投与される。

【００２６】
一部の実施形態では、上記単一遺伝子疾患は、ＤＭＤ、嚢胞性線維症、リソソーム蓄積症、およびα１－アンチトリプシン欠損症から選択され、好ましくは、上記単一遺伝子疾患は、ＤＭＤである。

【００２７】

一部の実施形態では、上記単一遺伝子疾患は、ＩＰＥＸ、ＡＰＥＣＥＤ、Ｂ細胞の原発性免疫不全、Ｍｕｃｋｌｅ－Ｗｅｌｌｓ症候群、混合型自己炎症性および自己免疫性症候群、ＮＬＲＰ１２関連の遺伝性周期性発熱症候群、および腫瘍壊死因子受容体１関連周期性症候群から選択され、好ましくは、上記単一遺伝子疾患は、ＡＰＥＣＥＤである。

【発明を実施するための形態】

【００２８】

定義

「抗体」または「イムノグロブリン」

本明細書中使用される場合、用語「抗体」および「イムノグロブリン」は、何らかの関連する特定の免疫反応性を有するかどうかにかかわらず、２つの重鎖および軽鎖の組み合わせを有するタンパク質を表す。「抗体」は、目的の抗原（たとえば配列番号１）に特異的な有意な既知の免疫反応活性を有する上記の構築物を表す。用語「抗ＣＤ４５ＲＣ抗体」は、本明細書において、ヒトのＣＤ４５ＲＣタンパク質に対して免疫特異性を呈する抗体を表すように使用される。本明細書中他で説明されるように、ＣＤ４５ＲＣに対する「特異性」は、ＣＤ４５ＲＣのホモログ種との交差反応を排除するものではない。

【００２９】

また用語「抗体」および「イムノグロブリン」は、本明細書中使用される場合、抗体結合フラグメントをも含むように意図されている。

【００３０】

また、用語「抗体」および「イムノグロブリン」は、本明細書中使用される場合に、既知の方法を使用して修飾された抗体または抗体結合フラグメントを包有することが予測されるであろう。たとえば、ｉｎ ｖｉｖｏでのクリアランスを遅くするため、およびより望ましい薬物動態プロファイルを得るために、抗体またはその結合フラグメントは、ポリエチレングリコール（ＰＥＧ）で修飾され得る。ＰＥＧを抗体またはその結合フラグメントに結合および部位特異的にコンジュゲートするための方法は、たとえばＬｅｏｎｇ ｅｔ ａｌ．，２００１．Ｃｙｔｏｋｉｎｅ．１６（３）：１０６－１９；Ｄｅｌｇａｄｏ ｅｔ ａｌ．，１９９６．Ｂｒ Ｊ Ｃａｎｃｅｒ．７３（２）：１７５－８２に記載されている。

【００３１】

抗体およびイムノグロブリンは、その間に鎖間共有結合を伴うかまたは伴わずに、軽鎖および重鎖を含む。脊椎動物系における基本的なイムノグロブリンの構造は、比較的良好に理解されている。総称「イムノグロブリン」は、生化学的に区別できる、５つの明確に異なるクラスの抗体を含む。以下の論述は、全般的に、ＩｇＧクラスのイムノグロブリン分子を対象としているが、５つ全てのクラスの抗体が、本発明の範囲内にある。ＩｇＧに関しては、イムノグロブリンは、分子量約２３ｋＤａの２つの同一の軽鎖ポリペプチドと、分子量約５３～７０ｋＤａの２つの同一の重鎖ポリペプチドとを含む。この４つの鎖は、「Ｙ」の構造でジスルフィド結合により結合しており、ここで軽鎖は、「Ｙ」の口から開始し可変領域にわたり続くように重鎖を囲んでいる。抗体の軽鎖は、カッパ（κ）またはラムダ（λ）に分類される。各重鎖のクラスは、κまたはλの軽鎖のいずれかと結合し得る。全般に、軽鎖および重鎖は互いに共有結合し、２つの重鎖の「尾」領域は、共有ジスルフィド結合、またはイムノグロブリンがハイブリドーマ、Ｂ細胞、もしくは遺伝子操作された宿主細胞により産生される場合は非共有結合により、互いに結合する。重鎖では、アミノ酸配列は、Ｙの構造のまた状の末端にあるＮ末端から、各鎖の底部にあるＣ末端へと続いている。当業者は、重鎖が、その中にいくつかの下位クラス（例えばγ１～γ４）を伴うガンマ（γ）、ミュー（μ）、アルファ（α）、デルタ（δ）、またはイプシロン（ε）と分類されることを理解している。これは、抗体の「クラス」を、それぞれＩｇＧ、ＩｇＭ、ＩｇＡ、ＩｇＤ、またはＩｇＥと決定するこの鎖の性質である。イムノグロブリンの下位クラスまたは「アイソタイプ」（たとえばＩｇＧ１、ＩｇＧ２、ＩｇＧ３、ＩｇＧ４、ＩｇＡ１など）は、十分性質決定されており、機能的な特性を提供することが知られている。これらクラスおよびアイソタイプのそれぞれの修飾されたバージョンは、

当業者によって、本開示の観点から容易に識別することができ、よってこれらは本発明の範囲内にある。上述のように、抗体の可変領域は、抗体を、抗原上のエピトープに選択的に認識および特異的に結合させる。すなわち、抗体の軽鎖可変ドメイン（V_Lドメイン）および重鎖可変ドメイン（V_Hドメイン）は、３次元の抗原結合部位を画定する可変領域を形成するために組み合わさる。この四次の抗体構造は、「Ｙ」の各アームの末端に抗原結合部位の提示を形成する。より具体的には、抗原結合部位は、V_H鎖およびV_L鎖のそれぞれにある３つの相補性決定領域（ＣＤＲ）により定義される。

【００３２】

「抗体結合フラグメント」

用語「抗体結合フラグメント」は、本明細書中使用される場合、抗体全体よりも少ないアミノ酸残基を含む、抗体の一部または領域を表す。「結合フラグメント」は、抗原（たとえば配列番号１）に結合し、かつ／または、抗原結合に関して派生元である抗体全体に匹敵する。抗体結合フラグメントは、限定するものではないが、数例ではあるが、一本鎖抗体、二量体の一本鎖抗体、シングルドメイン抗体、Ｆｖ、Ｆａｂ、Ｆａｂ’、Ｆａｂ’－ＳＨ、Ｆ（ａｂ）’２、Ｆｄ、脱フコシル化抗体、二重特異性抗体、ジアボディ、トリアボディ、およびテトラボディを包有する。

【００３３】

「一本鎖抗体」は、限定するものではないが、（１）一本鎖Ｆｖ分子（ｓｃＦｖ）；（２）１つの軽鎖可変ドメインのみを含む一本鎖のタンパク質、または関連する重鎖部分を伴うことなく軽鎖可変ドメインの３つのＣＤＲを含むそのフラグメント；および（３）１つのみの重鎖可変領域のみを含む一本鎖のタンパク質、または関連する軽鎖部分を伴うことなく重鎖可変領域の３つのＣＤＲを含むそのフラグメントを含む、連続するアミノ酸残基である１つの中断されていない配列を含むかまたはからなる一次構造を有するタンパク質である、いずれかの抗体またはそのフラグメントを表す。

【００３４】

「ｓＦｖ」または「ｓｃＦｖ」とも略される「一本鎖Ｆｖ」は、一本鎖のアミノ酸に結合したV_H抗体ドメインおよびV_L抗体ドメインを含む抗体フラグメントを表す。好ましくは、ｓｃＦｖアミノ酸配列はさらに、ｓｃＦｖが抗原結合にとって望ましい構造を形成することを可能にする、V_HドメインとV_Lドメインとの間にあるペプチドリンカーを含む（Ｐｌｕｃｋｔｈｕｎ，１９９４．Ａｎｔｉｂｏｄｉｅｓ ｆｒｏｍ Ｅｓｃｈｅｒｉｃｈｉａ ｃｏｌｉ．Ｉｎ Ｒｏｓｅｎｂｅｒｇ ＆ Ｍｏｏｒｅ（Ｅｄｓ．），Ｔｈｅ ｐｈａｒｍａｃｏｌｏｇｙ ｏｆ ｍｏｎｏｃｌｏｎａｌ ａｎｔｉｂｏｄｉｅｓ．Ｈａｎｄｂｏｏｋ ｏｆ Ｅｘｐｅｒｉｍｅｎｔａｌ Ｐｈａｒｍａｃｏｌｏｇｙ，１１３：２６９－３１５．Ｓｐｒｉｎｇｅｒ：Ｂｅｒｌｉｎ，Ｈｅｉｄｅｌｂｅｒｇ）。

【００３５】

「Ｆｖ」は、完全な抗原認識および結合部位を含む最小限の抗体フラグメントを表す。このフラグメントは、タイトな非共有結合での１つのＨＣＶＲおよび１つのＬＣＶＲの二量体からなる。これら２つのドメインのフォールディングから、抗原結合に寄与し、抗体への抗原結合の特異性を提供する６つの超可変ループ（重鎖および軽鎖からそれぞれ３つのループ）がもたらされる。しかしながら、さらに単一の可変ドメイン（または抗原に特異的な３つのＣＤＲのみを含むＦｖのうちの半分）は、結合部位全体よりも低い親和性ではあるが、抗原を認識および結合する特性を有する。

【００３６】

「ジアボディ」は、鎖内ではなく鎖間での可変ドメインの対形成が達成されるようにＨＣＶＲとＬＣＶＲとの間に短いリンカー（約５～１０残基）を有し、二価のフラグメント、すなわち２つの抗原結合部位を有するフラグメントをもたらす、ｓｃＦｖフラグメントを構築することにより調製される小分子の抗体フラグメントを表す。二重特異的なジアボディは、２つの抗体のＨＣＶＲおよびＬＣＶＲが、異なるポリペプチド鎖に存在する２つのクロスオーバーｓｃＦｖフラグメントのヘテロダイマーである。ジアボディは、欧州特

許第０４０４０９７号、国際特許公開公報第１９９３０１１１６１号、およびＨｏｌｌｉｇｅｒ　ｅｔ　ａｌ．，　１９９３．　Ｐｒｏｃ　Ｎａｔｌ　Ａｃａｄ　Ｓｃｉ　ＵＳＡ．　９０（１４）：６４４４－８により完全に記載されている。

【００３７】

抗体結合フラグメントは、標準的な方法を使用して得ることができる。たとえば、ＦａｂまたはＦ（ａｂ’）２フラグメントは、従来の技術により、単離されている抗体のプロテアーゼ消化により産生され得る。

【００３８】

「抗体依存性細胞傷害」または「ＡＤＣＣ」

本明細書中使用される場合、用語「抗体依存性細胞傷害」または「ＡＤＣＣ」は、特定の細胞傷害性細胞（たとえばＮＫ細胞、好中球、単球、およびマクロファージ）に存在するＦｃ受容体（ＦｃＲ）に結合した分泌される抗体が、これら細胞傷害性のエフェクター細胞を、抗原を有する標的細胞に特異的に結合させ、その後標的細胞を殺滅させることを可能にする、細胞傷害性の形態を表す。目的の分子のＡＤＣＣ活性を評価するために、ｉｎ　ｖｉｔｒｏでのＡＤＣＣアッセイ、たとえば米国特許第５，５００，３６２号または同第５，８２１，３３７号に記載されるアッセイなどが行われ得る。

【００３９】

「抗体依存性貪食作用」または「オプソニン化」

本明細書中使用される場合、用語「抗体依存性貪食作用」または「オプソニン化」は、ＦｃγＲを発現する非特異的な細胞傷害性細胞が、標的細胞に結合した抗体を認識し、その後標的細胞の貪食作用をもたらす、細胞により行われる反応を表す。

【００４０】

「ＣＤ４５」

本明細書中使用される場合、用語「ＣＤ４５」（ＣＤ４５ＲまたはＰＴＰＲＣとしても知られている）は、異なるアイソフォームで存在する膜貫通糖タンパク質を表す。これらのＣＤ４５の明確に異なるアイソフォームは、ＣＤ４５細胞外領域のＡ、Ｂ、およびＣの決定因子をそれぞれコードする３つの可変エクソン（エクソン４、５、および６）の選択的スプライシングから生じる細胞外ドメイン構造において、異なっている。ＣＤ４５の様々なアイソフォームは異なる細胞外ドメインを有しているが、同一の、膜の近位にある細胞外配列、および膜貫通ドメインに、約３００残基であるタンデム相同性の著しく保存されている２つのホスファターゼドメインを含む大きな細胞質尾部セグメント（ｃｙｔｏｐｌａｓｍｉｃ　ｔａｉｌ　ｓｅｇｍｅｎｔ）を有する。ＣＤ４５およびそのアイソフォームは、Ｔリンパ球およびＢリンパ球の上にあるＬＰＡＰ（ｌｙｍｐｈｏｃｙｔｅ　ｐｈｏｓｐｈａｔａｓｅ－ａｓｓｏｃｉａｔｅｄ　ｐｈｏｓｐｈｏｐｒｏｔｅｉｎ）と非共有結合する。ＣＤ４５は、ＣＤ１、ＣＤ２、ＣＤ３、およびＣＤ４を含むいくつかの他の細胞表面抗原に結合することが報告されている。ＣＤ４５は、リンパ球活性化のシグナリングに関与している。

【００４１】

「ＣＤ４５ＲＣ」

本明細書中使用される場合、用語「ＣＤ４５ＲＣ」は、当業者によく知られている２００～２２０ｋＤａの一本鎖のＩ型膜糖タンパク質を表す。ＣＤ４５ＲＣは、Ｃ決定因子をコードするエクソン６を含むが、それぞれＡおよびＢの決定因子をコードするエクソン４および５を欠いている（よって、専門用語ＣＤ４５ＲＣ、すなわちＣ決定因子に限定されたＣＤ４５）、ＣＤ４５の選択的スプライシングアイソフォームである。ＣＤ４５ＲＣアイソフォームは、Ｂ細胞、およびＣＤ８$^{+}$Ｔ細胞およびＣＤ４$^{+}$Ｔ細胞のサブセットで発現するが、ＣＤ８$^{+}$またはＣＤ４$^{+}$のＴｒｅｇ、ＣＤ１４$^{+}$単球、またはＰＭＮでは発現しない（Ｐｉｃａｒｄａ　ｅｔ　ａｌ．，　２０１７．　ＪＣＩ　Ｉｎｓｉｇｈｔ．　２（３）：ｅ９００８８）。いくつかのモノクローナル抗体が、異なるアイソフォーム全てに共通するＣＤ４５の一部にあるエピトープを認識できる（これらは、抗ＣＤ４５抗体と称される）が、他のモノクローナル抗体は、それらが認識する決定因子（Ａ、Ｂ、または

Ｃ）に応じて、所定のアイソフォームに限定される特異性を有する。

【００４２】

「ＣＤ４５ＲＣ$^{+}$細胞抗原」または「ＣＤ４５ＲＣ$^{+}$細胞表面マーカー」

本明細書中使用される場合、用語「ＣＤ４５ＲＣ$^{+}$細胞抗原」または「ＣＤ４５ＲＣ$^{+}$細胞表面マーカー」は、ＣＤ４５ＲＣ$^{+}$細胞に結合する抗ＣＤ４５ＲＣ作用物質（抗体またはアプタマーなど）で標的とされ得るＣＤ４５ＲＣ$^{+}$細胞（Ｔ細胞、Ｂ細胞、およびナチュラルキラー（ＮＫ）細胞を含む）の表面に発現または提示する、配列番号１の配列の抗原（またはエピトープ）を表す。例示的なＣＤ４５ＲＣ$^{+}$Ｔ細胞表面マーカーとして、限定するものではないが、前述のＣＤ４５ＲＣまたは上記Ｔ細胞の集団を特徴づける他の抗原が挙げられる。特定の目的のＣＤ４５ＲＣ$^{+}$Ｔ細胞表面マーカーは、他の哺乳類の非ＣＤ４５ＲＣ$^{+}$Ｔ細胞と比較して優先的にＣＤ４５ＲＣ$^{+}$Ｔ細胞で発現する。

【００４３】

よって、当業者は、上述のＣＤ４５ＲＣ細胞表面マーカーを対象とする抗体を増加させた後に、ＣＤ４５ＲＣ$^{+}$細胞で作用し、抗体依存性細胞傷害（ＡＤＣＣ）、補体依存性細胞傷害（ＣＤＣ）、または抗体の直接的な結合の後のＣＤ４５ＲＣ$^{low/-}$細胞死ではなくＣＤ４５ＲＣ^{high}細胞死の誘導（例えばアポトーシスによる）を介してＣＤ４５ＲＣ^{high}細胞を枯渇させるために使用できる抗体を容易に選択することができる（Ｐｉｃａｒｄａ ｅｔ ａｌ．，２０１７．ＪＣＩ Ｉｎｓｉｇｈｔ．２（３）：ｅ９００８８）。

【００４４】

「ＣＤＲ」または「相補性決定領域」

本明細書中使用される場合、用語「ＣＤＲ」または「相補性決定領域」は、重鎖ポリペプチドおよび軽鎖ポリペプチドの可変領域内で見出される非連続的な抗原結合部位を意味する。ＣＤＲは、Ｋａｂａｔ ｅｔ ａｌ．，１９９１．Ｓｅｑｕｅｎｃｅｓ ｏｆ ｐｒｏｔｅｉｎｓ ｏｆ ｉｍｍｕｎｏｌｏｇｉｃａｌ ｉｎｔｅｒｅｓｔ（５th ｅｄ．）．Ｂｅｔｈｅｓｄａ，ＭＤ：Ｕ．Ｓ．Ｄｅｐ．ｏｆ Ｈｅａｌｔｈ ａｎｄ Ｈｕｍａｎ Ｓｅｒｖｉｃｅｓ；およびＣｈｏｔｈｉａ ａｎｄ Ｌｅｓｋ，１９８７．Ｊ Ｍｏｌ Ｂｉｏｌ．１９６（４）：９０１－１７から推論されるように、表１の原則によって同定された。

【表１】

	重鎖可変領域(HCVR または V_H)		
	V_H-CDR1	**V_H-CDR2**	**V_H-CDR3**
開始	Chothia/AbM の定義では、およそ残基２６位（常に Cys 以降は４残基） Kabat の定義は、５残基遅く開始する。	Kabat/AbM の定義では、V_H-CDR1 の末端以降は常に１５残基	V_H-CDR2 の末端以降は常に３３残基 Cys 以降は常に２残基
以前の残基	Chothia/AbM の定義では、常に Cys-Xaa-Xaa-Xaa（Xaa は任意のアミノ酸である）	通常、Leu-Glu-Trp-Ile-Gly、しかしながら、多くのバリエーションが存在	常に Cys-Xaa-Xaa（Xaa は任意のアミノ酸である） 通常、Cys-Ala-Arg
以後の残基	常に Trp 通常、Trp-Val ではあるが、Trp-Ile または Trp-Ala もあり得る。	Lys/Arg-Leu/Ile/Val/Phe/Thr/Ala-Thr/Ser/Ile/Ala	常に Trp-Gly-Xaa-Gly（Xaa は任意のアミノ酸である）
長さ	AbM の定義では１０～１２残基 Chothia の定義は、最後の４残基を除外する。 Kabat の定義では５～７残基	Kabat の定義では１６～１９残基 AbM の定義は、７残基早く終了する。	３～２５残基

	軽鎖可変領域 (LCVR または V_L)		
	V_L-CDR1	V_L-CDR2	V_L-CDR3
開始	およそ、約残基２４位	V_L-CDR1 の末端以降は常に１６残基	V_L-CDR2 の末端以降は常に３３残基 (CDR-L2 の末端に欠失を有する新規の (PDB ID: 7FAB)を除く*)
以前の残基	常に Cys	一般的に Ile-Tyr ではあるが、Val-Tyr、Ile-Lys または Ile-Phe もあり得る。	常に Cys
以後の残基	常に Trp 通常、Trp-Tyr-Gln ではあるが、Trp-Leu-Gln、Trp-Phe-Gln または Trp-Tyr-Leu もあり得る。		常に Phe-Gly-Xaa-Gly (Xaa は任意のアミノ酸である)
長さ	１０～１７残基	常に７残基(この領域に欠失を有する新規の (PDB ID: 7FAB) を除く*)	７～１１残基

* Saul & Poljak, 1992. Proteins. 14(3):363-71

表１

【００４５】

「キメラ抗体」

「キメラ」抗体は、所定の種とは異種である種の抗体の軽鎖および重鎖の定常領域と結合された当該所定の種の抗体に由来する天然の可変領域（軽鎖および重鎖）を含む抗体を意味する。好適には、本発明に係るモノクローナル抗体がキメラモノクローナル抗体である場合、この定常領域は、ヒトの定常領域を含む。非ヒト抗体から出発する場合、キメラ抗体は、当業者によく知られている遺伝子組み換え技術を使用して調製され得る。たとえば、キメラ抗体は、重鎖および軽鎖に関して、プロモーターおよび非ヒト抗体の可変領域をコードする配列、ならびにヒト抗体の定常領域をコードする配列を含む組み換えＤＮＡをクローニングすることにより産生され得る。キメラ抗体を調製するための方法に関しては、たとえば、Ｖｅｒｈｏｅｙｎ ｅｔ ａｌ．（１９８８． Ｓｃｉｅｎｃｅ． ２３９（４８４７）：１５３４－６）が参照され得る。

【００４６】

「補体依存性細胞傷害」または「ＣＤＣ」

用語「補体依存性細胞傷害」または「ＣＤＣ」は、補体の存在下での標的細胞の溶解を表す。古典的な補体経路の活性化は、同種抗原に結合している抗体への補体系の第１の成分の結合により開始される。補体の活性化を評価するために、ＣＤＣアッセイ、たとえばＧａｚｚａｎｏ－Ｓａｎｔｏｒｏ ｅｔ ａｌ．， １９９７． Ｊ Ｉｍｍｕｎｏｌ Ｍｅｔｈｏｄｓ． ２０２（２）：１６３－７１に記載されるアッセイなどが行われ得る。

【００４７】

「欠損した遺伝子」

本明細書中使用される場合、用語「欠損した遺伝子」は、変異しているか、存在しないか、または非機能的である遺伝子に関する。結果として、上記欠損した遺伝子がコードす

るタンパク質は、失われているか、または少なく有効ではない量で存在しているか、または変異した不活性な形態下にある。

【００４８】

「エピトープ」

本明細書中使用される場合、用語「エピトープ」は、抗体またはその結合フラグメントが結合するタンパク質に位置するアミノ酸の特定の配列を表す。多くの場合、エピトープは、アミノ酸または糖の側鎖などの分子の化学的に活性の表面の基からなり、特有の３次元の構造上の特徴および特有の電荷の特徴を有する。エピトープは、直鎖状（もしくは連続的）かまたは立体構造的であり得、すなわち、必ずしも連続的ではない場合がある抗原の様々な領域にある２つ以上のアミノ酸の配列を含み得る。

【００４９】

「結晶可能フラグメント領域」または「Ｆｃ」

本明細書中使用される場合、用語「結晶可能フラグメント領域」または「Ｆｃ」または「Ｆｃ領域」は、第１の定常領域のイムノグロブリンドメインを除く、抗体の定常領域を含むポリペプチドを包有する。よってＦｃは、ＩｇＡ、ＩｇＤ、およびＩｇＧの最後の２つの定常領域のイムノグロブリンドメイン、ならびに、ＩｇＥおよびＩｇＭの最後の３つの定常領域のイムノグロブリンドメイン、ならびにこれらドメインに対しＮ末端側の可動性のヒンジを表す。

【００５０】

ＩｇＡおよびＩｇＭでは、Ｆｃは、Ｊ鎖を含み得る。ＩｇＧでは、Ｆｃは、イムノグロブリンドメインのＣγ２およびＣγ３、ならびにＣγ１およびＣγ２の間のヒンジを含む。

【００５１】

Ｆｃ領域の境界は変動し得るが、ヒトのＩｇＧ重鎖のＦｃ領域は、通常、そのカルボキシル末端に残基Ｃ２２６またはＰ２３０を含むように定義されている（この番号付けは、Ｋａｂａｔ ｅｔ ａｌ．，１９９１（Ｓｅｑｕｅｎｃｅｓ ｏｆ ｐｒｏｔｅｉｎｓ ｏｆ ｉｍｍｕｎｏｌｏｇｉｃａｌ ｉｎｔｅｒｅｓｔ（５^{ｔｈ} ｅｄ．）．Ｂｅｔｈｅｓｄａ，ＭＤ：Ｕ．Ｓ．Ｄｅｐ．ｏｆ Ｈｅａｌｔｈ ａｎｄ Ｈｕｍａｎ Ｓｅｒｖｉｃｅｓ）に記載されるＥＵインデックスによるものである）。Ｋａｂａｔに記載されるこのＥＵインデックスは、Ｋａｂａｔ ｅｔ ａｌ．，１９９１（上記）に記載されるように、ヒトのＩｇＧ１ＥＵ抗体の残基の番号付けを表す。Ｆｃは、単離におけるこの領域、または抗体、抗体フラグメント、もしくはＦｃ融合タンパク質の観点でのこの領域を表し得る。

【００５２】

Ｆｃフラグメントは、天然では、ドメイン$Ｃ_{Ｈ}１$を除く重鎖の定常領域、すなわち下位の境界領域ならびに定常ドメイン$Ｃ_{Ｈ}２$および$Ｃ_{Ｈ}３$または$Ｃ_{Ｈ}２$～$Ｃ_{Ｈ}４$（アイソタイプに応じて変化）からなる。

【００５３】

本発明の意味では、抗体のＦｃフラグメントは、天然であってもよく、または様々な方法で修飾されていてもよい（ただしこれはＦｃＲ受容体（ＩｇＧではＦｃγＲ受容体）に結合するための機能的なドメイン、好ましくは受容体ＦｃＲｎに結合するための機能的なドメインを含む）。この修飾は、Ｆｃフラグメントの特定の部分の欠失を含み得る（ただしこれは、ＦｃＲ受容体（ＩｇＧではＦｃγＲ受容体）に結合するための機能的なドメイン、好ましくは受容体ＦｃＲｎに結合するための機能的なドメインを含む）。また、抗体または抗体のＦｃフラグメントの修飾は、抗体の生物学的な特性に影響を与えることができる様々なアミノ酸の置換を含んでもよく、ただしこれは、ＦｃＲ受容体に結合するための機能的なドメイン、好ましくは受容体ＦｃＲｎに結合するための機能的なドメインを含む。

【００５４】

特に、抗体がＩｇＧである場合、これは、国際特許公開公報第２０００４２０７２号

、同第２００４０２９２０７号、同第２００４０６３３５１号、または同第２００４０７４４５５号に記載されるように、受容体ＦｃγＲＩＩＩ（ＣＤ１６）への結合性を高めるように意図されている変異を含み得る。受容体ＦｃＲｎへの結合性、よって抗体のｉｎｖｉｖｏでの半減期を高めることを可能にする変異もまた、たとえば国際特許公開公報第２０００００４２０７２号、同第２００２０６０９１９号、同第２０１００４５１９３号、または同第２０１０１０６１８０号に記載されるように、存在し得る。たとえば国際特許公開公報第１９９９０５１６４２号または同第２００４０７４４５５号に記載されるような、他の変異、たとえば補体のタンパク質に対する結合性、よって補体依存性細胞傷害（ＣＤＣ）応答を低減または増大させることを可能にする変異が、存在してもよくまたは存在していなくてもよい。

【００５５】

「フレームワーク領域」または「ＦＲ」

本明細書中使用される場合、用語「フレームワーク領域」または「ＦＲ」は、可変領域の一部ではあるが、ＣＤＲの一部ではない（たとえばＫａｂａｔ／ＣｈｏｔｈｉａのＣＤＲの定義を使用）アミノ酸残基を含む。よって、可変領域のフレームワークは、約１００～１２０アミノ酸長であるが、ＣＤＲ以外のアミノ酸のみを含む。

【００５６】

Ｋａｂａｔ／ＣｈｏｔｈｉａにＨＣＶＲの具体的な例およびＣＤＲでは、

ＦＲ１は、Ｃｈｏｔｈｉａ／ＡｂＭの定義によるアミノ酸１～２５、またはＫａｂａｔの定義による５残基以降を包有する可変領域のドメインに対応し得る；

ＦＲ２は、アミノ酸３６～４９を包有する可変領域のドメインに対応し得る；

ＦＲ３は、アミノ酸６７～９８を包有する可変領域のドメインに対応し得る；

ＦＲ４は、可変領域のアミノ酸１０４～１１０から末端までの可変領域のドメインに対応し得る。

【００５７】

軽鎖のフレームワーク領域もまた、ＬＣＶＲの各ＣＤＲにより分けられる。天然に存在する抗体では、各単量体の抗体に存在する６つのＣＤＲは、抗体が水性環境において３次元の構造を形成する際に抗原結合部位を形成するように特に配置されている、短い非連続的なアミノ酸配列である。残りの重鎖および軽鎖の可変ドメインは、アミノ酸配列において少ない分子間のばらつきを示し、フレームワーク領域と称される。このフレームワーク領域は、主にβ－シートの構造を取り、ＣＤＲは、接続するループを形成し、場合によってはβシート構造の一部を形成する。よって、これらフレームワーク領域は、鎖間の非共有結合性の相互作用により６つのＣＤＲを正確な配向で配置することを提供するスキャフォールドを形成するように作用する。配置されたＣＤＲにより形成された抗原結合部位は、免疫反応性抗原上のエピトープに相補的な表面を画定する。この相補的な表面は、免疫反応性抗原エピトープに対する抗体の非共有結合を促進する。ＣＤＲの配置は、当業者によって容易に同定することができる。

【００５８】

「重鎖領域」

本明細書中使用される場合、用語「重鎖領域」は、イムノグロブリン重鎖の定常ドメイン由来のアミノ酸配列を含む。重鎖領域を含むタンパク質は、C_H1ドメイン、ヒンジ（たとえば上部、中央、および／または下部のヒンジ領域）ドメイン、C_H2ドメイン、C_H3ドメイン、またはそれらのバリアントもしくはフラグメントのうちの少なくとも１つを含む。一実施形態では、本発明に係る抗体またはその結合フラグメントは、イムノグロブリン重鎖のＦｃ領域（たとえばヒンジ部分、C_H2ドメイン、およびC_H3ドメイン）を含み得る。別の実施形態では、本発明に係る抗体またはその結合フラグメントは、定常ドメインのうち少なくとも１つの領域（たとえばC_H2ドメインの全てまたは一部）を欠いている。特定の実施形態では、少なくとも１つ、好ましくは全ての定常ドメインは、ヒトのイムノグロブリン重鎖に由来している。たとえば、１つの好ましい実施形態では、重

鎖領域は、完全にヒトのヒンジドメインを含む。他の好ましい実施形態では、重鎖領域は、完全にヒトのＦｃ領域（たとえばヒトのイムノグロブリン由来のヒンジ、C_H2、およびC_H3のドメイン配列）を含む。特定の実施形態では、重鎖領域の構成要素の定常ドメインは、異なるイムノグロブリン分子由来である。たとえば、タンパク質の重鎖領域は、ＩｇＧ１分子由来のC_H2ドメインおよびＩｇＧ３分子またはＩｇＧ４分子由来のヒンジ領域を含み得る。他の実施形態では、定常ドメインは、異なるイムノグロブリン分子の領域を含むキメラドメインである。たとえば、ヒンジは、ＩｇＧ１分子由来の第１の領域と、ＩｇＧ３分子またはＩｇＧ４分子由来の第２の領域とを含み得る。上述のように、重鎖領域の定常ドメインは、これらが天然に存在する（野生型の）イムノグロブリン分子とアミノ酸配列において変動するように修飾され得ることは、この分野の当業者に理解されている。すなわち、本発明に係る抗体またはその結合フラグメントは、重鎖定常ドメイン（C_H1、ヒンジ、C_H2、もしくはC_H3）、および／または軽鎖定常ドメイン（C_L）のうちの１つ以上に対する変更または修飾を含み得る。例示的な修飾として、１つ以上のドメインの１つ以上のアミノ酸の付加、欠失、または置換が挙げられる。

【００５９】

「ヒンジ領域」

本明細書中使用される場合、用語「ヒンジ領域」は、C_H1ドメインとC_H2ドメインとを結合する重鎖分子の領域を含む。このヒンジ領域は、約２５の残基を含み、可動性であり、よって、２つのＮ末端の抗原結合領域を独立して移動させる。ヒンジ領域は、３つの明確に異なるドメイン：上部、中央、および下部のヒンジドメインに細分することができる（Ｒｏｕｘ ｅｔ ａｌ．，１９９８．Ｊ Ｉｍｍｕｎｏｌ．１６１（８）：４０８３－９０）。

【００６０】

「ヒト化抗体またはその結合フラグメント」

「ヒト化抗体またはその結合フラグメント」は、本明細書中使用される場合、非ヒトのイムノグロブリン由来の最小限の配列を含むキメラ抗体またはその結合フラグメントを表す。これは、ヒトの細胞によって作られるものとより密接に類似する抗体に変えられている可変領域および定常領域を有する非ヒト細胞によって作られる抗体、たとえば非ヒトの抗体のアミノ酸配列をヒトの生殖系列のイムノグロブリン配列で見出されるアミノ酸が組み込まれるように変化させることによって作られる、抗体を含む。本発明に係るヒト化抗体またはその結合フラグメントは、たとえばＣＤＲにおいて、ヒトの生殖系列のイムノグロブリン配列によりコードされないアミノ酸残基（たとえばｉｎ ｖｉｔｒｏでのランダムもしくは部位特異的な変異誘発またはｉｎ ｖｉｖｏでの体細胞変異により導入される変異）を含み得る。また用語「ヒト化抗体またはその結合フラグメント」は、マウスなどの別の種の哺乳類の生殖系列由来のＣＤＲ配列が、ヒトのフレームワーク配列に移植されている抗体およびその結合フラグメントを含む。言い換えると、用語「ヒト化抗体またはその結合フラグメント」は、レシピエントのヒトの抗体のＣＤＲが、ドナーの非ヒトの抗体、たとえばマウスの抗体由来のＣＤＲにより置き換えられている抗体またはその結合フラグメントを表す。またヒト化抗体またはその結合フラグメントは、フレームワーク配列にドナー起源の残基を含み得る。また、ヒト化抗体またはその結合フラグメントは、ヒトのイムノグロブリンの定常領域の少なくとも一部を含み得る。ヒト化抗体およびその結合フラグメントはまた、レシピエント抗体でも組み込まれるＣＤＲもしくはＦＲの配列でも見出されない残基をも含み得る。ヒト化は、当該分野で知られている方法を使用して行われ得る（たとえば、抗体を「超ヒト化（ｓｕｐｅｒｈｕｍａｎｉｚｉｎｇ）」する技術（たとえばＴａｎ ｅｔ ａｌ．，２００２．Ｊ Ｉｍｍｕｎｏｌ．１６９（２）：１１１９－２５）および「再表面処理（ｒｅｓｕｒｆａｃｉｎｇ）」する技術（たとえばＳｔａｅｌｅｎｓ ｅｔ ａｌ．，２００６．Ｍｏｌ Ｉｍｍｕｎｏｌ．４３（８）：１２４３－５７；Ｒｏｇｕｓｋａ ｅｔ ａｌ．，１９９４．Ｐｒｏｃ Ｎａｔｌ Ａｃａｄ Ｓｃｉ ＵＳＡ．９１（３）：９６９－７３）などの技術を含む、Ｊｏｎｅｓ ｅｔ ａｌ．，１９８６．Ｎａｔｕｒｅ．３２１（６０６９）：５２２

－５；Ｒｉｅｃｈｍａｎｎ ｅｔ ａｌ．，１９８８．Ｎａｔｕｒｅ．３３２（６１６２）：３２３－７；Ｖｅｒｈｏｅｙｅｎ ｅｔ ａｌ．，１９８８．Ｓｃｉｅｎｃｅ．２３９（４８４７）：１５３４－６；Ｐｒｅｓｔａ，１９９２．Ｃｕｒｒ Ｏｐｉｎ Ｂｉｏｔｅｃｈｎｏｌ．３（４）：３９４－８；米国特許第４，８１６，５６７号）。

【００６１】

本発明に係る抗体またはその結合フラグメントをヒト化するための方法は、当該分野でよく知られており、以下の実施例のセクションで詳述されている。ヒト化抗体またはその結合フラグメントの作製に使用するためのヒトの軽鎖および重鎖の可変ドメインの選択は、抗原性を低減するために非常に重要である。いわゆる「ベストフィット」法により、本発明に係る抗体またはその結合フラグメントの可変ドメインの配列は、既知のヒトの可変ドメイン配列の全ライブラリーに対してスクリーニングされる。次に、マウスの配列に最も近いヒトの配列が、ヒト化抗体用のヒトのフレームワーク（ＦＲ）として認容される（Ｓｉｍｓ ｅｔ ａｌ．，１９９３．Ｊ Ｉｍｍｕｎｏｌ．１５１（４）：２２９６－３０８；Ｃｈｏｔｈｉａ ＆ Ｌｅｓｋ，１９８７．Ｊ Ｍｏｌ Ｂｉｏｌ．１９６（４）：９０１－１７）。

【００６２】

本発明に係る抗体またはその結合フラグメントをヒト化するための別の方法は、軽鎖または重鎖の特定の下位グループである全てのヒト抗体のコンセンサス配列由来の特定のＦＲを使用する。同じフレームワークが、いくつかの異なるヒト化抗体で使用され得る（Ｃａｒｔｅｒ ｅｔ ａｌ．，１９９２．Ｐｒｏｃ Ｎａｔｌ Ａｃａｄ Ｓｃｉ ＵＳＡ．８９（１０）：４２８５－９；Ｐｒｅｓｔａ ｅｔ ａｌ．，１９９３．Ｊ Ｉｍｍｕｎｏｌ．１５１（５）：２６２３－３２）。さらに、抗体が、ｈＣＤ４５ＲＣに対する高い親和性の保持および他の好ましい生物学的な性質を伴いヒト化されることが重要である。この目的を達成するために、好ましい方法によって、ヒト化抗体およびその結合フラグメントは、親の配列およびヒト化された配列の３次元モデルを使用して親の配列および様々な概念上のヒト化産物の解析のプロセスにより、調製される。３次元のイムノグロブリンモデルは市販されており、当業者によく知られている。選択された候補のイムノグロブリン配列の可能性のある３次元構造を図示および表示するコンピュータプログラムが利用可能である。これら表示の調査は、候補のイムノグロブリン配列の機能における残基の可能性のある役割の解析、すなわち、そのエピトープに結合する候補のイムノグロブリンの特性に影響を与える残基の解析を可能にする。この方法で、ＣＤＲ残基を、コンセンサスであり重要な配列から選択および組み合わせることにより、ｈＣＤ４５ＲＣに対する親和性の増大などの望ましい抗体の特徴を得ることができる。一般的に、ＣＤＲ残基は、抗原結合に影響を与えることに直接および最も実質的に関与している。

【００６３】

本発明に係る抗体またはその結合フラグメントをヒト化するための別の方法は、免疫化のためヒトの免疫系の一部を担持するトランスジェニック動物またはトランスクロモソミックス動物を使用することである。宿主として、これら動物のイムノグロブリン遺伝子は、機能的なヒトのイムノグロブリン遺伝子と置き換えられている。よって、これら動物により産生される抗体またはこれら動物のＢ細胞から作製されたハイブリドーマにおける抗体は、すでにヒト化されている。このようなトランスジェニック動物またはトランスクロモソミックス動物の例として、限定するものではないが、以下が挙げられる：

ＸｅｎｏＭｏｕｓｅ（Ａｂｇｅｎｉｘ，Ｆｒｅｍｏｎｔ，ＣＡ）（米国特許第５，９３９，５９８号、同第６，０７５，１８１号、同第６，１１４，５９８号、同第６，１５０，５８４号、および同第６，１６２，９６３号に記載）；

ＨｕＭＡｂ Ｍｏｕｓｅ（登録商標）（Ｍｅｄａｒｅｘ，Ｉｎｃ．）（Ｌｏｎｂｅｒｇ ｅｔ ａｌ．，１９９４．Ｎａｔｕｒｅ．３６８（６４７４）：８５６－８５９；Ｌｏｎｂｅｒｇ ＆ Ｈｕｓｚａｒ，１９９５．Ｉｎｔ Ｒｅｖ Ｉｍｍｕｎｏｌ．１３（１）：６５－９３；Ｈａｒｄｉｎｇ ＆ Ｌｏｎｂｅｒｇ，１９９５

. Ann N Y Acad Sci. 764：536－46；Taylor et al., 1992. Nucleic Acids Res. 20（23）：6287－95；Chen et al., 1993. Int Immunol. 5（6）：647－56；Tuaillon et al., 1993. Proc Natl Acad Sci USA. 90（8）：3720－4；Choi et al., 1993. Nat Genet. 4（2）：117－23；Chen et al., 1993. EMBO J. 12（3）：821－30；Tuaillon et al., 1994. J Immunol. 152（6）：2912－20；Taylor et al., 1994. Int Immunol. 6（4）：579－91；Fishwild et al., 1996. Nat Biotechnol. 14（7）：845－51に記載）；

KM Mouse（登録商標）（国際特許公開公報第２００２０４３４７８号に記載）；

TCマウス（Tomizuka et al., 2000. Proc Natl Acad Sci USA. 97（2）：722－7に記載）；および

OmniRat（商標）（OMT, Inc.）（国際特許公開公報第２００８１５１０８１号；Geurts et al., 2009. Science. 325（5939）：433；Menoret et al., 2010. Eur J Immunol. 40（10）：2932－41；Osborn et al., 2013. J Immunol. 190（4）：1481－90に記載）。

【００６４】

ヒト化抗体およびその結合フラグメントはまた、免疫化のため、ヒトの抗体のレパートリーを発現するように操作されている他のトランスジェニック動物を使用すること（Jakobovitz et al., 1993. Nature. 362（6417）：255－8）によるか、またはファージディスプレイ法を使用する抗体のレパートリーの選択によるものなどの様々な他の技術により、産生され得る。このような技術は当業者に知られており、本出願で開示されるモノクローナル抗体またはその結合フラグメントから出発して実施され得る。

【００６５】

一部の実施形態では、ＨＣＶＲおよびＬＣＶＲ（またはそれらのＣＤＲ）を含む本発明に係る抗体またはその結合フラグメントは、完全にまたは実質的にヒトであるアミノ酸配列の、第１の定常ドメイン（C_H1および／またはC_L）を含み得る。

【００６６】

一部の実施形態では、特に本発明に係る抗体またはその結合フラグメントが、ヒトの治療で使用を意図している場合、通常、定常領域全体またはその少なくとも一部は、完全にまたは実質的にヒトのアミノ酸配列を有する。よって、C_H1ドメイン、ヒンジ領域、C_H2ドメイン、C_H3ドメイン、およびC_Lドメイン（および存在する場合はC_H4ドメイン）の１つ以上またはいずれかの組み合わせは、そのアミノ酸配列に関して、完全にまたは実質的にヒトであり得る。好適には、C_H1ドメイン、ヒンジ領域、C_H2ドメイン、C_H3ドメイン、およびC_Lドメイン（および存在する場合はC_H4ドメイン）は、全て、完全にまたは実質的にヒトのアミノ酸配列を有し得る。

【００６７】

ヒト化抗体またはキメラ抗体またはそれらの結合フラグメントの定常領域の文脈における用語「実質的にヒト」は、ヒトの定常領域と少なくとも７０％、好ましくは少なくとも７５％、８０％、８５％、９０％、９５％、９６％、９７％、９８％、９９％、またはそれ以上のアミノ酸配列同一性を表す。

【００６８】

この文脈での用語「ヒトのアミノ酸配列」は、生殖系列の再配置されている遺伝子および体細胞で変異した遺伝子を含むヒトのイムノグロブリン遺伝子によりコードされるアミノ酸配列を表す。本発明はまた、「完全にヒトのヒンジ領域」の存在が明らかに必要とさ

れる実施形態を除き、ヒトの配列に関して１つ以上のアミノ酸の付加、欠失、または置換によって変更されている「ヒト」の配列の定常ドメインを含むタンパク質をも企図している。

【００６９】

本発明に係る抗体またはその結合フラグメントにおける「完全にヒトのヒンジ領域」の存在は、免疫原性を最小限にし、かつ、抗体の安定性を最適化するために好適であり得る。１つ以上のアミノ酸の置換、挿入、または欠失が、重鎖および／または軽鎖の定常領域の中、特にＦｃ領域の中でなされ得ることが企図されている。アミノ酸の置換は、異なる天然に存在するアミノ酸または非天然もしくは修飾されたアミノ酸で置換されたアミノ酸の置き換えをもたらし得る。また、たとえばグリコシル化パターンの変化（たとえばＮまたはＯが結合したグリコシル化部位の付加または欠失による）などの他の構造的な修飾も許容される。抗体またはその結合フラグメントの意図される使用に応じて、本発明に係る抗体またはその結合フラグメントを、そのＦｃ受容体に対する結合特性に関して、たとえばエフェクター機能を調節するために、修飾することが望ましいとされ得る。たとえば、システイン残基をＦｃ領域に導入することにより、この領域に鎖間ジスルフィド結合の形成が可能となり得る。このように作製されるホモ二量体の抗体は、エフェクター機能を改善している可能性がある（Ｃａｒｏｎ ｅｔ ａｌ．，１９９２．Ｊ Ｅｘｐ Ｍｅｄ．１７６（４）：１１９１－５；Ｓｈｏｐｅｓ，１９９２．Ｊ Ｉｍｍｕｎｏｌ．１４８（９）：２９１８－２２）。

【００７０】

「超可変ループ」

用語「超可変ループ」は、厳密には相補性決定領域（ＣＤＲ）と同義ではなく、これは超可変ループ（ＨＶ）が構造に基づき定義され、ＣＤＲが配列の多様性に基づき定義されるためであり（Ｋａｂａｔ ｅｔ ａｌ．，１９９１．Ｓｅｑｕｅｎｃｅｓ ｏｆ ｐｒｏｔｅｉｎｓ ｏｆ ｉｍｍｕｎｏｌｏｇｉｃａｌ ｉｎｔｅｒｅｓｔ（５^{ｔｈ} ｅｄ．）．Ｂｅｔｈｅｓｄａ，ＭＤ：Ｕ．Ｓ．Ｄｅｐ．ｏｆ Ｈｅａｌｔｈ ａｎｄ Ｈｕｍａｎ Ｓｅｒｖｉｃｅｓ）、ＨＶおよびＣＤＲの限定は、一部の$Ｖ_{Ｈ}$ドメインおよび$Ｖ_{Ｌ}$ドメインで異なる場合があるためである。$Ｖ_{Ｌ}$ドメインおよび$Ｖ_{Ｈ}$ドメインのＣＤＲは、通常、本明細書中上記ですでに説明されているように、Ｋａｂａｔ／Ｃｈｏｔｈｉａの定義により定義され得る。

【００７１】

「同一性」または「同一な」

本明細書中使用される場合、用語「同一性」または「同一な」は、２つ以上のアミノ酸の配列間または２つ以上の核酸配列の配列間の関係に使用される場合、２つ以上のアミノ酸残基の鎖間または核酸残基の鎖間の一致数により決定される、アミノ酸配列間または核酸配列間の配列の関連性の度合いを表す。「同一性」は、特定の数学モデルまたはコンピュータプログラム（すなわち「アルゴリズム」）により提示されるギャップアライメント（存在する場合）を有する２つ以上の配列のうちの小さな方に合わせた配列間の同一である一致のパーセントを測定する。

【００７２】

関連するアミノ酸配列または核酸配列の同一性は、既知の方法により容易に計算され得る。このような方法として、限定するものではないが、Ｌｅｓｋ Ａ．Ｍ．（１９８８）．Ｃｏｍｐｕｔａｔｉｏｎａｌ ｍｏｌｅｃｕｌａｒ ｂｉｏｌｏｇｙ：Ｓｏｕｒｃｅｓ ａｎｄ ｍｅｔｈｏｄｓ ｆｏｒ ｓｅｑｕｅｎｃｅ ａｎａｌｙｓｉｓ．Ｎｅｗ Ｙｏｒｋ，ＮＹ：Ｏｘｆｏｒｄ Ｕｎｉｖｅｒｓｉｔｙ Ｐｒｅｓｓ；Ｓｍｉｔｈ Ｄ．Ｗ．（１９９３）．Ｂｉｏｃｏｍｐｕｔｉｎｇ：Ｉｎｆｏｒｍａｔｉｃｓ ａｎｄ ｇｅｎｏｍｅ ｐｒｏｊｅｃｔｓ．Ｓａｎ Ｄｉｅｇｏ，ＣＡ：Ａｃａｄｅｍｉｃ Ｐｒｅｓｓ；Ｇｒｉｆｆｉｎ Ａ．Ｍ．＆ Ｇｒｉｆｆｉｎ Ｈ．Ｇ．（１９９４）．Ｃｏｍｐｕｔｅｒ ａｎａｌｙｓｉｓ ｏｆ ｓｅｑｕｅｎｃｅ ｄａｔａ，Ｐａｒｔ １．Ｔｏｔｏｗａ，ＮＪ：Ｈｕｍａｎａ Ｐｒ

ess; von Heijne G. (1987). Sequence analysis in molecular biology: treasure trove or trivial pursuit. San Diego, CA: Academic press; Gribskov M. R. & Devereux J. (1991). Sequence analysis primer. New York, NY: Stockton Press; Carillo et al., 1988. SIAM J Appl Math. 48(5):1073−82に記載されるものが挙げられる。

【0073】

同一性を決定するための好ましい方法は、試験される配列間に最大の一致を提供するように設計される。同一性を決定する方法は、公開されているコンピュータプログラムで記載されている。2つの配列間の同一性を決定するための好ましいコンピュータプログラムの方法として、GAP(Genetics Computer Group, University of Wisconsin, Madison, WI; Devereux et al., 1984. Nucleic Acids Res. 12(1 Pt 1):387−95)、BLASTP、BLASTN、およびFASTA(Altschul et al., 1990. J Mol Biol. 215(3):403−10)を含む、GCGプログラムパッケージが挙げられる。BLASTXプログラムは、アメリカ国立生物工学情報センター(NCBI)および他のソース(BLAST Manual, Altschul et al. NCB/NLM/NIH Bethesda, Md. 20894)から公的に入手可能である。よく知られているSmith Watermanアルゴリズムもまた同一性を決定するために使用され得る。

【0074】

「免疫寛容」

用語「免疫寛容」は、本明細書中使用される場合、他の物質または組織に対する免疫応答を保存しつつ、免疫応答を誘発する特性を有する特定の物質または組織に対する免疫系の無応答性の状態に関する。

【0075】

「免疫応答」

用語「免疫応答」は、本明細書中使用される場合、T細胞および/またはB細胞が媒介する免疫応答を含む。例示的な免疫応答として、限定するものではないが、T細胞の応答(たとえばサイトカイン産生および細胞傷害活性)が挙げられるが、同様に、T細胞の活性化(たとえばマクロファージ)により間接的に達成される免疫応答も含む。免疫応答に関与する免疫細胞として、リンパ球(たとえば$CD4^+$、$CD8^+$、T_h1、およびT_h2細胞を含む、B細胞およびT細胞)、抗原提示細胞(たとえば樹状細胞などのプロフェッショナル抗原提示細胞)、ナチュラルキラー細胞、骨髄系細胞(マクロファージ、好酸球、マスト細胞、好塩基球、および顆粒球など)が挙げられる。

【0076】

「免疫特異的」、「～に特異的」、または「特異的に結合する」

本明細書中使用される場合、抗原(たとえば配列番号1)と検出可能なレベル、好ましくは約10^6M^{-1}以上、好ましくは約10^7M^{-1}、10^8M^{-1}、$5\times10^8M^{-1}$、10^9M^{-1}、$5\times10^9M^{-1}$、またはそれ以上の値以上の親和性定数(K_A)で反応する場合、抗体またはその結合フラグメントは、上記抗原に「免疫特異的」であるか、「特異的」であるか、または「特異的に結合する」と言われる。

【0077】

同種抗原に対する抗体またはその結合フラグメントの親和性はまた、一般に、平衡解離定数(K_D)としても表される。抗原(たとえば配列番号1)と検出可能なレベル、好ましくは$10^{-6}M$以下、好ましくは$10^{-7}M$、$5\times10^{-8}M$、$10^{-8}M$、$5\times10^{-9}M$、$10^{-9}M$、またはそれより低い値以下のK_Dで反応する場合、抗体またはその結合フラグメントは、上記抗原に「免疫特異的」であるか、「特異的」であるか、または

「特異的に結合する」と言われる。
【００７８】
抗体またはその結合フラグメントの親和性は、従来技術、たとえばＳｃａｔｃｈａｒｄ，１９４９．Ａｎｎ ＮＹ Ａｃａｄ Ｓｃｉ．５１：６６０－６７２により記載される技術を使用して容易に決定され得る。抗体またはその結合フラグメントの抗原、細胞、または組織に対する結合特性は、全般的に、たとえばＥＬＩＳＡ、免疫蛍光ベースのアッセイ、たとえば免疫組織化学法（ＩＨＣ）および／もしくは蛍光活性化セルソーティング（ＦＡＣＳ）を含む免疫検出方法を使用するか、または表面プラズモン共鳴（ＳＰＲ、たとえばＢＩＡｃｏｒｅ（登録商標）を使用）により、決定および評価され得る。
【００７９】
「モノクローナル抗体」
本明細書中使用される場合、用語「モノクローナル抗体」は、実質的に同種の抗体の集団から得られる抗体、すなわち、最小量で存在し得る天然に存在する可能性のある変異を除き同一である集団で構成される個別の抗体を表す。たとえば、個別の抗体は、翻訳後修飾に関して、特にそのグリコシル化構造または等電点に関して変動し得るが、そのすべては、同じ重鎖および軽鎖の配列によりコードされており、よって、翻訳後修飾の前には、同じタンパク質配列を有し得る。とはいえ、翻訳後修飾（たとえば重鎖のＣ末端のリジンの切断、アスパラギン残基の脱アミド、および／またはアスパラギン酸残基の異性化）に関連するタンパク質配列の特定の差異は、モノクローナル抗体組成物に存在する個別の抗体間に存在し得る。
【００８０】
モノクローナル抗体は、著しく特異的であり、単一の抗原部位を対象とする。さらに、異なる決定因子（エピトープ）を対象とする異なる抗体を含むポリクローナル抗体調製物とは対照的に、各モノクローナル抗体は、抗原上の単一の決定因子を対象とする。その特異性に加え、モノクローナル抗体は、他の抗体が混入せずに合成され得る点で好適である。修飾語「モノクローナル」は、何らかの特定の方法による抗体の生成を必要とすると解釈するべきではない。たとえば、本発明に係るモノクローナル抗体またはその結合フラグメントは、Ｋｏｈｌｅｒ ｅｔ ａｌ．，１９７５．Ｎａｔｕｒｅ．２５６（５５１７）：４９５－７により最初に記載されたハイブリドーマの方法により調製されてもよく、または細菌、真核の動物細胞または植物細胞における組み換えＤＮＡ方法を使用して作製されてもよい（米国特許第４，８１６，５６７号）。また「モノクローナル抗体」は、たとえばＣｌａｃｋｓｏｎ ｅｔ ａｌ．，１９９１．Ｎａｔｕｒｅ．３５２（６３３６）：６２４－８およびＭａｒｋｓ ｅｔ ａｌ．，１９９１．Ｊ Ｍｏｌ Ｂｉｏｌ．２２２（３）：５８１－９７に記載の技術を使用して、ファージ抗体ライブラリーから単離され得る。
【００８１】
「単一遺伝子疾患」
用語「単一遺伝子疾患」は、「単一遺伝子障害」とも呼ばれており、単一の遺伝子の修飾が、対象の障害、疾患、または病態に関連する遺伝子障害を表す。比較的希ではあるが、世界中で何百万人もの人々が単一遺伝子疾患に冒されている。現在、科学者らは、１０，０００超のヒトの疾患が、単一遺伝子性であることが知られていると推定している。純粋な遺伝子疾患は、ヒトのＤＮＡにおける単一の遺伝子の単一のエラーにより引き起こされる。疾患の性質は、修飾された遺伝子により行われる機能に応じて変化する。単一遺伝子性疾患または単一遺伝子疾患（single-gene or monogenic diseases）は、変異した遺伝子自体および１つまたは２つのアレルでのその発生に応じて、６つのカテゴリー：常染色体優性、常染色体劣性、Ｘ連鎖性優性、Ｘ連鎖性劣性、Ｙ連鎖性、およびミトコンドリア性（ｍｉｔｏｃｈｏｎｄｒｉａｌ）に分類され得る。
【００８２】
単一遺伝子疾患の一部の例として、限定するものではないが、１１－ヒドロキシラーゼ欠損症；１７，２０－デスモラーゼ欠損症；１７－ヒドロキシラーゼ欠損症；３－ヒドロ

キシイソ酪酸性尿症；３－ヒドロキシステロイドデヒドロゲナーゼ欠損症；４６，ＸＹ性器発育不全；ＡＡＡ症候群；ＡＢＣＡ３欠損症；ＡＢＣＣ８－関連高インスリン症；無セルロプラスミン血症；軟骨無発生症２型；先端ｐｅｅｌｉｎｇ　ｓｋｉｎ症候群；腸性肢端皮膚炎；副腎皮質微小結節型過形成；副腎白質ジストロフィー；副腎脊髄ニューロパチー；エカルディ・グティエール症候群；Ａｌａｇｉｌｌｅ病；Ａｌｐｅｒｓ症候群；α－マンノース症；Ａｌｓｔｒｏｍ症候群；アルツハイマー病；遺伝性エナメル質形成不全症；アーミッシュ型小頭症；筋萎縮性側索硬化症；ＡＤ（ａｎａｕｘｅｔｉｃ　ｄｙｓｐｌａｓｉａ）；アンドロゲン不応症（ａｎｄｒｏｇｅｎ　ｉｎｓｅｎｔｉｖｉｔｙ　ｓｙｎｄｒｏｍｅ）；アントレー・ビクスラー症候群；ＡＰＥＣＥＤ；アペール症候群；涙腺および唾液腺の形成不全（ａｐｌａｓｉａ　ｏｆ　ｌａｃｒｉｍａｌ　ａｎｄ　ｓａｌｉｖａｒｙ　ｇｌａｎｄｓ）；アルギニン血症；不整脈源性右室異形成（ＡＲＶＤ２）；Ａｒｔｓ症候群；アリールスルファターゼ欠失型異染性白質ジストロフィー；毛細血管拡張性運動失調症；自己免疫性リンパ増殖症候群；多腺性自己免疫症候群１型；常染色体優性無汗性外胚葉形成異常症；常染色体優性多発性嚢胞腎疾患；常染色体劣性小耳症；常染色体劣性腎性糖尿；常染色体性内臓逆位；バルデ・ビードル症候群；バーター症候群；基底細胞母斑症候群；バッテン病；良性再発性肝内胆汁うっ滞；βマンノース症；ベスレムミオパチー；ブラックファン・ダイアモンド貧血；瞼裂狭小；バイラー病；Ｃ症候群；ＣＡＤＡＳＩＬ症候群；カルバミルリン酸合成酵素欠損症；心臓・顔・皮膚症候群；Ｃａｒｎｅｙ　ｔｒｉａｄ；カルニチンパルミトイルトランスフェラーゼ欠損症；軟骨毛髪低形成症；ｃｂｌＣ型の複合型メチルマロン酸尿症；ＣＤ１８欠損症；ＣＤ３Ｚ－関連原発性Ｔ－細胞免疫不全；ＣＤ４０Ｌ欠損症；ＣＤＡＧＳ症候群；ＣＤＧ１ａ；ＣＤＧ１ｂ；ＣＤＧ１ｍ；ＣＤＧ２ｃ；ＣＥＤＮＩＫ症候群；中心コア疾患；中心核ミオパチー；脳毛細血管奇形；脳・眼・顔・骨格症候群４型；脳・眼・顔（ｇａｃｉｏ）・骨格症候群；脳腱黄色腫症；ＣＨＡＲＧＥ連合；ケルビズム；ＣＨＩＬＤ症候群；慢性肉芽腫症；慢性再発性多発性骨髄炎；シトリン欠損症；古典的ヘモクロマトーシス；ＣＮＰＰＢ症候群；コバラミンＣ疾患；コケイン症候群；コエンザイムＱ１０欠損症；コフィン・ローリー症候群；コーエン症候群；凝固第Ｖ因子複合欠乏症；分類不能型免疫不全症；完全型アンドロゲン不応症；錐体杆体ジストロフィー；コンフォメーション病；先天性胆汁酸合成異常症１型；先天性胆汁酸合成異常症２型；先天性赤血球生成性ポルフィリン症；先天性全身性骨硬化症；コルネリア・デ・ランゲ症候群；Ｃｏｕｓｉｎ症候群；カウデン病；ＣＯＸ欠損症；クリグラー・ナジャー病；Ｃｒｉｇｌｅｒ－Ｎａｊｊａｒ症候群１型；Ｃｒｉｓｐｏｎｉ症候群；クラリーノ症候群；Ｃｕｒｔｈ－Ｍａｃｋｌｉｎ型ヤマアラシ状魚鱗癬；皮膚弛緩症；シスチン症；ｄ－２－ヒドロキシグルタル酸尿症；ＤＤＰ症候群；デジェリン・ソッタス病；デニス・ドラッシュ症候群；デスミン心筋症；デスミンミオパチー；ＤＧＵＯＫ－関連ミトコンドリアＤＮＡ欠乏；グルタミン酸塩代謝の障害；遠位型脊髄性筋萎縮症５型；ＤＮＡ修復疾患；優性視神経萎縮症；Ｄｏｙｎｅ蜂巣状網膜ジストロフィー（ＤＨＲＤ：Ｄｏｙｎｅ　ｈｏｎｅｙｃｏｍｂ　ｒｅｔｉｎａｌ　ｄｙｓｔｒｏｐｈｙ）；デュシェンヌ型筋ジストロフィー；先天性角化異常症；エーラース・ダンロス症候群４型；エーラース・ダンロス症候群；Ｅｌｅｊａｌｄｅ疾患；Ｅｌｌｉｓ－ｖａｎ　Ｃｒｅｖｅｌｄ疾患；エメリー・ドレイフス型筋ジストロフィー；脳筋症性ｍｔＤＮＡ枯渇症候群；酵素性疾患；ＥＰＣＡＭ－関連の先天性タフティング腸症（ｔｕｆｔｉｎｇ　ｅｎｔｅｒｏｐａｔｈｙ）；幽門閉鎖を伴う表皮水疱症；運動誘発性低血糖；顔面肩甲上腕型筋ジストロフィー；Ｆａｉｓａｌａｂａｄ組織球増殖症；家族性非定型ミコバクテリア症；家族性毛細血管奇形－動静脈；家族性食道アカラシア；家族性グロムス静脈奇形；家族性血球貪食性リンパ組織球症；家族性地中海熱；家族性巨大腎杯症；家族性神経鞘腫症；家族性二分脊椎症；家族性無脾症（ｓｐｌｅｎｉｃ　ａｓｐｌｅｎｉａ）／脾臓形成不全；家族性血栓性血小板減少性紫斑病；ファンコニ疾患；Ｆｅｉｎｇｏｌｄ症候群；ＦＥＮＩＢ；進行性骨化性線維異形成症；ＦＫＴＮ；Ｆｒａｎｃｏｉｓ－Ｎｅｅｔｅｎｓ斑状角膜ジストロフィー（ｆｌｅｃｋ　ｃｏｒｎｅａｌ　ｄｙｓｔｒｏｐｈｙ）；Ｆｒａｓｉｅｒ症候群；フリートライヒ運動失調症；ＦＴＤＰ－１７；フコシドーシス；Ｇ６ＰＤ欠損症；ガラ

クトシアリドーシス；ギャロウェイ症候群；Ｇａｒｄｎｅｒ症候群；ゴーシェ病；ギッテルマン症候群；ＧＬＵＴ－１欠損症；糖原病１ｂ型；糖原病２型；糖原病３型；糖原病４型；糖原病９ａ型；糖原病；ＧＭ１－ガングリオシドーシス；Ｇｒｅｅｎｂｅｒｇ症候群；グレイグ尖頭多合指症候群；遺伝性毛髪疾患（ｈａｉｒ　ｇｅｎｅｔｉｃ　ｄｉｓｅａｓｅｓ）；ＨＡＮＡＣ症候群；道化師型先天魚鱗癬；ＨＤＲ症候群；ヘモクロマトーシス３型；ヘモクロマトーシス４型；血友病Ａ；遺伝性血管浮腫３型；遺伝性血管浮腫；遺伝性出血性毛細血管拡張症；遺伝性低フィブリノーゲン血症；遺伝性骨内血管奇形；遺伝性平滑筋腫症および腎細胞癌；遺伝性神経痛性筋萎縮症；遺伝性感覚性・自律神経性ニューロパチー型；Ｈｅｒｍａｎｓｋｙ－Ｐｕｄｌａｋ疾患；ＨＨＨ症候群；ＨＨＴ２；発汗性外胚葉形成異常症１型；発汗性外胚葉形成異常症；ＨＮＦ４Ａ－関連の高インスリン症；ＨＮＰＣＣ；ヒトの小頭症を伴う免疫不全；ハンチントン病；高ＩｇＤ症候群；高インスリン症－高アンモニア血症症候群；網膜色素上皮の肥大；軟骨低発生症（ｈｙｐｏｃｈｏｎｄｒｏｇｅｎｅｓｉｓ：ＨＣＧ）；低汗性外胚葉形成異常症；ＩＣＦ症候群；特発性先天性偽性腸閉塞；高ＩｇＭ１型を伴う免疫不全；高ＩｇＭ３型を伴う免疫不全；高ＩｇＭ４型を伴う免疫不全；高ＩｇＭ５型を伴う免疫不全；甲状腺ホルモン生合成の先天的なエラー；乳児性腹部ミオパチー；乳児性Ｘ連鎖性脊髄性筋萎縮症；妊娠者の肝内胆汁うっ滞；ＩＰＥＸ症候群；ＩＲＡＫ４欠損症；孤立性先天性無脾症；Ｊｅｕｎｅ症候群；Ｊｏｈａｎｓｏｎ－Ｂｌｉｚｚａｒｄ症候群；Ｊｏｕｂｅｒｔ症候群；ＪＰ－ＨＨＴ症候群；若年性ヘモクロマトーシス；若年性ヒアリン線維腫症；若年性ネフロン癆；歌舞伎顔貌症候群（Ｋａｂｕｋｉ　ｍａｓｋ　ｓｙｎｄｒｏｍｅ）；カルマン症候群；カルタゲナー症候群；ＫＣＮＪ１１関連の高インスリン症；カーンズ・セイヤー症候群；Ｋｏｓｔｍａｎｎ病；Ｋｏｚｌｏｗｓｋｉ型の脊椎骨幹端異形成；Ｋｒａｂｂｅ疾患；ＬＡＤＤ症候群；後期乳児発症性神経セロイドリポフスチン症；ＬＣＫ欠損症；ＬＤＨＣＰ症候群；Ｌｅｇｉｕｓ症候群；リー症候群；致死性先天性拘縮症候群２；致死性先天性拘縮症候群；致死性拘縮症候群３型；致死性新生児ＣＰＴ欠損症２型；致死性骨硬化性骨異形成；ＬＩＧ４症候群；滑脳症１型；滑脳症３型；ロイス・ディーツ症候群；低リン脂質関連の胆石症；リジン尿性タンパク質不耐症；マフッチ症候群；マジード症候群；マンノース結合タンパク質欠損症；マルファン疾患；マーシャル症候群；ＭＡＳＡ症候群；ＭＣＡＤ欠損症；マキューン・オルブライト症候群；ＭＣＫＤ２；Ｍｅｃｋｅｌ症候群；Ｍｅｅｓｍａｎｎ角膜変性症；巨大膀胱短小結腸腸管蠕動不全症；巨赤芽球性貧血１型；ＭＥＨＭＯ；ＭＥＬＡＳ；メルニック・ニードルズ症候群；ＭＥＮ２；メンケス病；異染性白質ジストロフィー；メチルマロン酸尿症；メチルマロン酸尿症（ｍｅｔｈｙｌｖａｌｏｎｉｃ　ａｃｉｄｕｒｉａ）；小瞳孔症－先天性ネフローゼ症候群；微絨毛萎縮症（ｍｉｃｒｏｖｉｌｌｏｕｓ　ａｔｒｏｐｈｙ）；ミトコンドリア神経性胃腸管系脳筋症；連珠毛；モノソミーＸ；モザイクトリソミー９症候群；モワット・ウィルソン症候群；ムコリピドーシス２型；ムコリピドーシスＭａ型；ムコリピドーシスＩＶ型；ムコ多糖症；ムコ多糖症３Ａ型；ムコ多糖症３Ｃ型；ムコ多糖症４Ｂ型；マルチミニコア疾患；多発性アシル－ＣｏＡ脱水素欠損症；多発性皮膚性および粘膜性の静脈奇形；多発性内分泌腫瘍症１型；マルチプルスルファターゼ欠損症；ＮＡＩＣ；爪膝蓋骨症候群；ネマリンミオパチー；新生児真性糖尿病；新生児界面活性物質欠乏症；ネフロン癆（ｎｅｐｈｒｏｎｏｐｈｔｉｓｉｓ）；Ｎｅｔｈｅｒｔｏｎ疾患；神経線維腫症（ｎｅｕｒｏｆｉｂｒｏｍａｔｏｓｅｓ）；神経線維腫症１型；ニーマン・ピック病Ａ型；ニーマン・ピック病Ｂ型；ニーマン・ピック病Ｃ型；ＮＫＸ２Ｅ；ヌーナン症候群；ＮＡＩＣ（Ｎｏｒｔｈ　Ａｍｅｒｉｃａｎ　Ｉｎｄｉａｎ　ｃｈｉｌｄｈｏｏｄ　ｃｉｒｒｈｏｓｉｓ）；ＮＲＯＢ１複製－関連のＤＳＤ；遺伝性眼疾患；眼耳症候群（ｏｃｕｌｏ－ａｕｒｉｃｕｌａｒ　ｓｙｎｄｒｏｍｅ）；ＯＬＥＤＡＩＤ；寡巨大糸球体症；乏巨ネフロン性腎形成不全；Ｏｌｌｉｅｒ病；Ｏｐｉｔｚ－Ｋａｖｅｇｇｉａ症候群；口顔指症候群１型；口顔指症候群２型；パジェット骨病；耳・口蓋・指症候群２型；ＯＸＰＨＯＳ病；掌蹠角化症；汎小葉性腎芽腫症；パークスウェーバー症候群；パーキンソン病；２１ｑ２２．２－ｑ２２．３の部分欠失；Ｐｅａｒｓｏｎ症候群；ペリツェウス・メルツバッハ病；ペンドレッド症候群；カントレル五徴症；ペルオ

キシソームアシルＣｏＡオキシダーゼ欠損症；ポイツ・ジェガース（Ｐｅｕｔｚ－Ｊｅｇｈｅｒｓ）症候群；ファイファー症候群；ピアソン症候群；色素性結節状副腎皮質病変；ピペコリン酸血症；ピット－ホプキンス症候群；プラズマローゲン欠損症；胸膜肺芽腫および嚢胞状腎腫；ＰＬＯ（ｐｏｌｙｃｙｓｔｉｃ ｌｉｐｏｍｅｍｂｒａｎｏｕｓ ｏｓｔｅｏｄｙｓｐｌａｓｉａ）；ポルフィリン症；早期卵巣機能不全；原発性肢端紅痛症；原発性ヘモクロマトーシス（ｈｅｍｏｃｈｒｏｍａｔｏｓｅｓ）；原発性高シュウ酸尿症；進行性家族性肝内胆汁うっ滞；プロピオン酸血症；ピルビン酸デカルボキシラーゼ欠損症；ＲＡＰＡＤＩＬＩＮＯ症候群；腎シスチン症；ラブドイド腫瘍素因症候群；Ｒｉｅｇｅｒ症候群；環状染色体（ｒｉｎｇ ｃｈｒｏｍｏｓｏｍｅ）４；Ｒｏｂｅｒｔｓ症候群；Ｒｏｂｉｎｏｗ－Ｓｏｒａｕｆ症候群；Ｒｏｔｈｍｕｎｄ－Ｔｈｏｍｓｏｎ症候群；ＳＣＩＤ；Ｓａｅｔｈｒｅ－Ｃｈｏｔｚｅｎ症候群；サンドホフ病；ＳＣ ｐｈｏｃｏｍｅｌｉａ症候群；ＳＣＡＳ；Ｓｃｈｉｎｚｅｌアザラシ状奇形症候群；短肋骨多指症候群１型；短肋骨多指症候群４型；短肋骨多指症候群２型；短肋骨多指症候群３型；Ｓｈｗａｃｈｍａｎ病；Ｓｈｗａｃｈｍａｎ－Ｄｉａｍｏｎｄ病；鎌状赤血球症；シルバー・ラッセル症候群；シンプソン・ゴラビ・ベーメル症候群；スミス・レムリ・オピッツ症候群；ＳＰＧ７－関連の遺伝性痙性対麻痺；球状赤血球症；長骨欠損症を伴う裂手裂足症（ｓｐｌｉｔ－ｈａｎｄ／ｆｏｏｔ ｍａｌｆｏｒｍａｔｉｏｎ ｗｉｔｈ ｌｏｎｇ ｂｏｎｅ ｄｅｆｉｃｉｅｎｃｉｅｓ）；脊椎肋骨異形成症（ｓｐｏｎｄｙｌｏｃｏｓｔａｌ ｄｙｓｏｓｔｏｓｉｓ）；封入体を伴う孤発性腹部ミオパチー；蓄積疾患；ＳＴＲＡ６関連症候群；テイ＝サックス病；致死性骨異形成症；甲状腺代謝疾患；トゥレット症候群；トランスサイレチン関連のアミロイドーシス；トリソミー１３；トリソミー２２；トリソミー２ｐ症候群；結節性硬化症；タフティング腸症（ｔｕｆｔｉｎｇ ｅｎｔｅｒｏｐａｔｈｙ）；尿素回路疾患；Ｖａｎ Ｄｅｎ Ｅｎｄｅ－Ｇｕｐｔａ症候群；Ｖａｎ ｄｅｒ Ｗｏｕｄｅ症候群；多彩異数性モザイク症候群；ＶＬＣＡＤ欠損症；フォンヒッペル・リンドウ病；ワールデンブルグ症候群；ＷＡＧＲ症候群；Ｗａｌｋｅｒ－Ｗａｒｂｕｒｇ症候群；ウェルナー症候群；ウィルソン病；Ｗｏｌｃｏｔｔ－Ｒａｌｌｉｓｏｎ症候群；Ｗｏｌｆｒａｍ症候群；Ｘ連鎖性無ガンマグロブリン血症；Ｘ連鎖性慢性特発性偽性腸閉塞；舌小帯短縮症を伴うＸ連鎖性口蓋裂；Ｘ連鎖性優性点状軟骨異形成症；Ｘ連鎖性外胚葉異形成症；Ｘ連鎖性Ｅｍｅｒｙ－Ｄｒｅｉｆｕｓｓ筋ジストロフィー；Ｘ連鎖性滑脳症；Ｘ連鎖性リンパ増殖性疾患；Ｘ連鎖性内臓逆位；キサンチン尿症１型；キサンチン尿症２型；色素性乾皮症；ＸＰＶ；ならびにＺｅｌｌｗｅｇｅｒ病が挙げられる。

【００８３】

「対象」

本明細書中使用される場合、用語「対象」は、哺乳類、好ましくはヒトを表す。一実施形態では、対象は、「患者」、すなわち、医療の受診を待機しているか、または医療を受診しているか、または過去／現在／将来に医療の対象であった／である／となりえるか、または疾患の発達に関してモニタリングされている温血動物、より好ましくはヒトであり得る。ここで用語「哺乳類」は、ヒト、飼育動物および家畜、ならびに、動物園用動物、スポーツ用動物、またはペットの動物、たとえばイヌ、ネコ、ウシ、ウマ、ヒツジ、ブタ、ヤギ、ウサギなどを含むいずれかの哺乳類を表す。好ましくは、哺乳類は、霊長類、より好ましくはヒトである。

【００８４】

「治療上有効量」

本明細書中使用される場合、「治療上有効量」との表現は、対象に有意に負のまたは有害な副作用をもたらすことなく、（１）単一遺伝子疾患の発症の遅延もしくは予防；（２）単一遺伝子疾患の１つ以上の症状の進行、増悪、もしくは悪化の遅延もしくは停止；（３）単一遺伝子疾患の症状の寛解をもたらすこと、（４）単一遺伝子疾患の重症度もしくは発症率の低減；または（５）単一遺伝子疾患の治癒を目的とする作用物質（たとえば抗ＣＤ４５ＲＣ抗体）のレベル、量、または濃度を意味する。治療上有効量は、防止的また

は予防的作用のため、単一遺伝子疾患の発症より前に投与され得る。あるいはまたはさらに、治療上有効量は、治療作用のため、単一遺伝子疾患の開始より後に投与され得る。

【００８５】

「～を処置すること（ｔｒｅａｔｉｎｇ）」または「処置（ｔｒｅａｔｍｅｎｔ）」または「軽減」

本明細書中使用される場合、用語「～を処置すること（ｔｒｅａｔｉｎｇ）」または「処置（ｔｒｅａｔｍｅｎｔ）」または「軽減」は、治療的手段および防止的（または予防的）手段（この目的は、標的の病態または障害を遅らせる（または弱める）ことである）の両方を表す。処置の必要のあるものは、すでに単一遺伝子疾患を有するものおよび単一遺伝子疾患を罹患しやすいものを含む。作用物質（たとえば抗ＣＤ４５ＲＣ抗体）の治療上有効量を投与した後に、対象が、以下：ＣＤ４５ＲＣ$^{+}$細胞数の減少；ＣＤ４５ＲＣ$^{+}$である細胞の総数のパーセントの減少；単一遺伝子疾患に関連する症状のうちの１つ以上のある程度までの緩和（たとえば低減、軽減、緩和、もしくは阻害）；罹患率および死亡率の低下；ならびに／またはクオリティオブライフの問題の改善のうちの１つ以上の観察可能および／または測定可能な減少または不存在を示す場合、対象での標的の単一遺伝子疾患の「処置」が成功している。単一遺伝子疾患における処置の成功および改善を評価するための上記パラメータは、医師によく知られている規定の手法により容易に測定可能である。

【００８６】

「可変領域」または「可変ドメイン」

本明細書中使用される場合、用語「可変」は、可変ドメインV_HおよびV_Lの特定の領域が、抗体間で、配列において著しく異なり、各特定の抗体のその標的抗原に対する結合および特異性に使用されるという事実を表す。しかしながら、可変性は、抗体の可変ドメイン全体に一様に分布しているわけではない。これは、抗原結合部位の一部を形成する、V_LドメインおよびV_Hドメインのそれぞれにおける「超可変ループ」と呼ばれる３つのセグメントに集中している。

【００８７】

Ｖλ軽鎖ドメインの第１、第２、および第３の超可変ループは、本明細書において、Ｌ１（λ）、Ｌ２（λ）、およびＬ３（λ）と呼ばれ、V_Lドメインにおける残基２４～３３（Ｌ１（λ）、９、１０、または１１のアミノ酸残基からなる）、４９～５３（Ｌ２（λ）、３残基からなる）、および９０～９６（Ｌ３（λ）、６残基からなる）を含むと定義され得る（Ｍｏｒｅａ　ｅｔ　ａｌ．，　２０００．　Ｍｅｔｈｏｄｓ．　２０（３）：２６７－７９）。

【００８８】

Ｖκ軽鎖ドメインの第１、第２、および第３の超可変ループは、本明細書において、Ｌ１（κ）、Ｌ２（κ）、およびＬ３（κ）と呼ばれ、V_Lドメインにおける残基２５～３３（Ｌ１（κ）、６、７、８、１１、１２、または１３の残基からなる）、４９～５３（Ｌ２（κ）、３つの残基からなる）、および９０～９７（Ｌ３（κ）、６つの残基からなる）を含むと定義され得る（Ｍｏｒｅａ　ｅｔ　ａｌ．，　２０００．　Ｍｅｔｈｏｄｓ．　２０（３）：２６７－７９）。

【００８９】

V_Hドメインの第１、第２、および第３の超可変ループは、本明細書において、Ｈ１、Ｈ２およびＨ３と呼ばれており、V_Hドメインにおける残基２５～３３（Ｈ１、７、８、または９つの残基からなる）、５２～５６（Ｈ２、３または４つの残基からなる）、および９１～１０５（Ｈ３、著しく多様な長さ）を含むと定義され得る（Ｍｏｒｅａ　ｅｔ　ａｌ．，　２０００．　Ｍｅｔｈｏｄｓ．　２０（３）：２６７－７９）。

【００９０】

他の記載がない限り、用語Ｌ１、Ｌ２、およびＬ３は、それぞれ、V_Lドメインの第１、第２、および第３の超可変ループを表し、ＶκおよびＶλのアイソタイプから得られる超可変ループを包有する。用語Ｈ１、Ｈ２、およびＨ３は、それぞれ、V_Hドメインの第

１、第２、および第３の超可変ループを表し、ガンマ（γ）、ミュー（μ）、アルファ（α）、デルタ（δ）、またはイプシロン（ε）を含む、既知の重鎖のアイソタイプのいずれかから得られる超可変ループを包有する。超可変ループＬ１、Ｌ２、Ｌ３、Ｈ１、Ｈ２、およびＨ３は、それぞれ、本明細書中上記で定義された「相補性決定領域」または「ＣＤＲ」の一部を含み得る。

【００９１】

詳細な説明

本発明は、単一遺伝子疾患の予防および／または処置に使用するための、抗ＣＤ４５ＲＣ抗体またはその結合フラグメントに関する。

【００９２】

一実施形態では、本発明に係る使用のための抗ＣＤ４５ＲＣ抗体またはその結合フラグメントは、単離されている。用語「単離されている」は、抗体またはその結合フラグメントに関して本明細書で使用される場合、上記抗体またはその結合フラグメントが、異なる抗原特異性を有する他の抗体または結合フラグメントを実質的に含まないことを意味する（たとえばＣＤ４５ＲＣに特異的に結合する単離されている抗体は、ＣＤ４５ＲＣ以外の抗原に特異的に結合する抗体を実質的に含まない）。しかしながら、１つの種由来のＣＤ４５ＲＣに特異的に結合する単離されている抗体は、他の種由来のＣＤ４５ＲＣなどの他の抗原との交差反応性を有し得る。さらに、単離されている抗体は、他の細胞物質および／または化学物質、特に、限定するものではないが、酵素、ホルモン、および他のタンパク質性または非タンパク質性の成分を含む、抗体の診断または治療での使用を妨げる物質を実質的に含まなくてもよい。

【００９３】

一実施形態では、本発明に係る使用のための抗ＣＤ４５ＲＣ抗体またはその結合フラグメントは、精製されている。一実施形態では、本発明に係る使用のための抗ＣＤ４５ＲＣ抗体またはその結合フラグメントは、

（１）ローリー法により決定されるように、８０重量％超、８５重量％超、９０重量％超、９１重量％超、９２重量％超、９３重量％超、９４重量％超、９５重量％超、またはそれ以上の抗体またはその結合フラグメント、最も好ましくは９６重量％超、９７重量％超、９８重量％超、または９９重量％超の抗体またはその結合フラグメントまで；

（２）スピニングカップシーケネーター（ｓｐｉｎｎｉｎｇ　ｃｕｐ　ｓｅｑｕｅｎａｔｏｒ）の使用により少なくとも１５残基のＮ末端もしくは内部のアミノ酸配列を得るために十分な度合いまで；または

（３）還元条件または非還元条件下でのＳＤＳ－ＰＡＧＥおよびクーマシーブルーまたは好ましくは銀染色を使用することにより示される均一性まで、

精製される。

【００９４】

一実施形態では、本発明に係る使用のための抗ＣＤ４５ＲＣ抗体またはその結合フラグメントは、ＣＤ４５ＲＣに結合する。一実施形態では、本発明に係る使用のための抗体またはその結合フラグメントは、ヒトのＣＤ４５ＲＣ（ｈＣＤ４５ＲＣ）に結合する。

【００９５】

一実施形態では、本発明に係る使用のための抗ＣＤ４５ＲＣ抗体またはその結合フラグメントは、ｈＣＤ４５ＲＣのエクソン６によりコードされているＣ決定因子に結合する。一実施形態では、本発明に係る使用のための抗ＣＤ４５ＲＣ抗体またはその結合フラグメントは、ｈＣＤ４５ＲＣのエクソン６によりコードされているＣ決定因子上の少なくとも１つのエピトープに結合する。

【００９６】

一実施形態では、ｈＣＤ４５ＲＣのエクソン６によりコードされているＣ決定因子上のアミノ酸配列は、配列番号１を含むかまたはからなる。一実施形態では、ｈＣＤ４５ＲＣのＣ決定因子をコードするエクソン６の核酸配列は、配列番号２を含むかまたはからなる。

配列番号１
ＤＶＰＧＥＲＳＴＡＳＴＦＰＴＤＰＶＳＰＬＴＴＴＬＳＬＡＨＨＳＳＡＡＬＰＡＲＴＳＮＴＴＩＴＡＮＴＳ
配列番号２
ＧＡＴＧＴＣＣＣＡＧＧＡＧＡＧＡＧＧＡＧＴＡＣＡＧＣＣＡＧＣＡＣＣＴＴＴＣＣＴＡＣＡＧＡＣＣＣＡＧＴＴＴＣＣＣＣＡＴＴＧＡＣＡＡＣＣＡＣＣＣＴＣＡＧＣＣＴＴＧＣＡＣＡＣＣＡＣＡＧＣＴＣＴＧＣＴＧＣＣＴＴＡＣＣＴＧＣＡＣＧＣＡＣＣＴＣＣＡＡＣＡＣＣＡＣＣＡＴＣＡＣＡＧＣＧＡＡＣＡＣＣＴＣＡ

【００９７】
一実施形態では、本発明に係る使用のための抗ＣＤ４５ＲＣ抗体またはその結合フラグメントは、配列番号１またはそのフラグメントを含むかまたはからなる少なくとも１つのエピトープに結合する。

【００９８】
一実施形態では、本発明に係る使用のための抗ＣＤ４５ＲＣ抗体またはその結合フラグメントは、配列番号１またはそのフラグメントと、少なくとも約７０％、好ましくは少なくとも７５％、８０％、８５％、９０％、９１％、９２％、９３％、９４％、９５％、９６％、９７％、９８％、９９％、またはそれ以上の同一性を共有する配列を含むかまたはからなる少なくとも１つのエピトープに結合する。

【００９９】
一実施形態では、本発明に係る使用のための抗ＣＤ４５ＲＣ抗体またはその結合フラグメントは、配列番号２またはそのフラグメントを含むかまたはからなる核酸配列によりコードされる少なくとも１つのエピトープに結合する。

【０１００】
一実施形態では、本発明に係る使用のための抗ＣＤ４５ＲＣ抗体またはその結合フラグメントは、配列番号２またはそのフラグメントと、少なくとも約７０％、好ましくは少なくとも７５％、８０％、８５％、９０％、９１％、９２％、９３％、９４％、９５％、９６％、９７％、９８％、９９％、またはそれ以上の同一性を共有する配列を含むかまたはからなる核酸配列によりコードされる少なくとも１つのエピトープに結合する。

【０１０１】
一実施形態では、本発明に係る使用のための抗ＣＤ４５ＲＣ抗体またはその結合フラグメントは、配列番号１もしくはそのフラグメントのうち少なくとも１、２、３、４、５、６、７、８、９、１０、１１、１２、１３、１４、１５、１６、１７、１８、１９、２０、２１、２２、２３、２４、２５、２６、２７、２８、２９、３０、３１、３２、３３、３４、３５、３６、３７、３８、３９、４０、４１、４２、４３、４４、４５、４６、もしくは４７のアミノ酸を含むかもしくはからなる少なくとも１つのエピトープ；または配列番号１もしくはそのフラグメントと、少なくとも約７０％、好ましくは少なくとも７５％、８０％、８５％、９０％、９１％、９２％、９３％、９４％、９５％、９６％、９７％、９８％、９９％、もしくはそれ以上の同一性を共有する配列を含むかもしくはからなる少なくとも１つのエピトープに結合する。

【０１０２】
一実施形態では、本発明に係る使用のための抗ＣＤ４５ＲＣ抗体またはその結合フラグメントは、配列番号１もしくはそのフラグメントのうち少なくとも１、２、３、４、５、６、７、８、９、１０、１１、１２、１３、１４、１５、１６、１７、１８、１９、２０、２１、２２、２３、２４、２５、２６、２７、２８、２９、３０、３１、３２、３３、３４、３５、３６、３７、３８、３９、４０、４１、４２、４３、４４、４５、４６、もしくは４７の連続したアミノ酸を含むかもしくはからなる少なくとも１つのエピトープ；または配列番号１もしくはそのフラグメントと、少なくとも約７０％、好ましくは少なくとも７５％、８０％、８５％、９０％、９１％、９２％、９３％、９４％、９５％、９６％、９７％、９８％、９９％、またはそれ以上の同一性を共有する配列を含むかもしくはからなる少なくとも１つのエピトープに結合する。

【０１０３】
一実施形態では、配列番号１を含むかまたはからなる少なくとも１つのエピトープのフラグメントは、１、２、３、４、５、６、７、８、９、１０、１１、１２、１３、１４、１５、１６、１７、１８、１９、２０、２１、２２、２３、２４、２５、２６、２７、２８、２９、３０、３１、３２、３３、３４、３５、３６、３７、３８、３９、４０、４１、４２、４３、４４、４５、４６、または４７のアミノ酸残基を含むかまたはからなる。
【０１０４】
一実施形態では、配列番号１を含むかまたはからなる少なくとも１つのエピトープのフラグメントは、配列番号１を含むかまたはからなる配列の、１０、２０、３０、４０、５０、６０、７０、８０、９０、１００、１１０、１２０、１３０、１４０、１５０、１６０、１７０、１８０、１９０、２００、２１０、２２０、２３０、２４０、２５０、２６０、２７０、２８０、２９０、３００、３１０、３２０、３３０、３４０、３５０、３６０、３７０、３８０、３９０、４００、４１０、４２０、４３０、４４０、４５０、４６０、４７０、４８０、４９０、５００、５１０、５２０、５３０、５４０、５５０、５６０、５７０、５８０、５９０、６００、６１０、６２０、６３０、６４０、６５０、６６０、６７０、６８０、６９０、７００、７１０、７２０、７３、７４０、７５０、７６０、７７０、７８０、７９０、８００、８１０、８２０、８３０、８４０、８５０、８６０、８７０、８８０、８９０、９００、９１０、９２０、９３０、９４０、９５０、９６０、９７０、９８０、９９０、１０００、１０１０、１０２０、１０３０、１０４０、１０５０、１０６０、１０７０、１０８０、１０９０、１１００、またはそれ以上の連続したアミノ酸残基にわたる、１、２、３、４、５、６、７、８、９、１０、１１、１２、１３、１４、１５、１６、１７、１８、１９、２０、２１、２２、２３、２４、２５、２６、２７、２８、２９、３０、３１、３２、３３、３４、３５、３６、３７、３８、３９、４０、４１、４２、４３、４４、４５、４６、または４７のアミノ酸残基を含むかまたはからなる。
【０１０５】
一実施形態では、配列番号１を含む配列は、ＵｎｉＰｒｏｔ　Ａｃｃｅｓｓｉｏｎ　Ｐ０８５７５－３（ｖｅｒｓｉｏｎ　３，　ｍｏｄｉｆｉｅｄ　Ｍａｒｃｈ　２８，　２０１８－Ｃｈｅｃｋｓｕｍ：６Ｅ９４２Ｅ２ＢＦ６Ｂ１７ＡＣ５）に対応する配列番号３、または配列番号３と少なくとも約７０％、好ましくは少なくとも７５％、８０％、８５％、９０％、９１％、９２％、９３％、９４％、９５％、９６％、９７％、９８％、９９％、もしくはそれ以上の同一性を共有する配列である。
配列番号３
ＭＴＭＹＬＷＬＫＬＬＡＦＧＦＡＦＬＤＴＥＶＦＶＴＧＱＳＰＴＰＳＰＴＧＬＴＴＡＫＭＰＳＶＰＬＳＳＤＰＬＰＴＨＴＴＡＦＳＰＡＳＴＦＥＲＥＮＤＦＳＥＴＴＴＳＬＳＰＤＮＴＳＴＱＶＳＰＤＳＬＤＮＡＳＡＦＮＴＴＧＶＳＳＶＱＴＰＨＬＰＴＨＡＤＳＱＴＰＳＡＧＴＤＴＱＴＦＳＧＳＡＡＮＡＫＬＮＰＴＰＧＳＮＡＩＳＤＶＰＧＥＲＳＴＡＳＴＦＰＴＤＰＶＳＰＬＴＴＴＬＳＬＡＨＨＳＳＡＡＬＰＡＲＴＳＮＴＴＩＴＡＮＴＳＤＡＹＬＮＡＳＥＴＴＴＬＳＰＳＧＳＡＶＩＳＴＴＴＩＡＴＴＰＳＫＰＴＣＤＥＫＹＡＮＩＴＶＤＹＬＹＮＫＥＴＫＬＦＴＡＫＬＮＶＮＥＮＶＥＣＧＮＮＴＣＴＮＮＥＶＨＮＬＴＥＣＫＮＡＳＶＳＩＳＨＮＳＣＴＡＰＤＫＴＬＩＬＤＶＰＰＧＶＥＫＦＱＬＨＤＣＴＱＶＥＫＡＤＴＴＩＣＬＫＷＫＮＩＥＴＦＴＣＤＴＱＮＩＴＹＲＦＱＣＧＮＭＩＦＤＮＫＥＩＫＬＥＮＬＥＰＥＨＥＹＫＣＤＳＥＩＬＹＮＮＨＫＦＴＮＡＳＫＩＩＫＴＤＦＧＳＰＧＥＰＱＩＩＦＣＲＳＥＡＡＨＱＧＶＩＴＷＮＰＰＱＲＳＦＨＮＦＴＬＣＹＩＫＥＴＥＫＤＣＬＮＬＤＫＮＬＩＫＹＤＬＱＮＬＫＰＹＴＫＹＶＬＳＬＨＡＹＩＩＡＫＶＱＲＮＧＳＡＡＭＣＨＦＴＴＫＳＡＰＰＳＱＶＷＮＭＴＶＳＭＴＳＤＮＳＭＨＶＫＣＲＰＰＲＤＲＮＧＰＨＥＲＹＨＬＥＶＥＡＧＮＴＬＶＲＮＥＳＨＫＮＣＤＦＲＶＫＤＬＱＹＳＴＤＹＴＦＫＡＹＦＨＮＧＤＹＰＧＥＰＦＩＬＨＨＳＴＳＹＮＳＫＡＬＩＡＦＬＡＦＬＩＩＶＴＳＩＡＬＬＶＶＬＹＫＩＹＤＬＨＫＫＲＳＣＮＬＤＥＱＱＥＬＶＥＲＤＤＥＫＱＬＭＮＶＥＰＩＨＡＤＩＬＬＥＴＹＫＲＫＩＡＤＥＧＲＬＦＬＡＥＦＱＳＩＰＲＶＦＳＫＦＰＩＫＥＡＲＫＰＦＮＱＮ

KNRYVDILPYDYNRVELSEINGDAGSNYINASYIDGFKEP
RKYIAAQGPRDETVDDFWRMIWEQKATVIVMVTRCEEGNR
NKCAEYWPSMEEGTRAFGDVVVKINQHKRCPDYIIQKLNI
VNKKEKATGREVTHIQFTSWPDHGVPEDPHLLLKLRRRVN
AFSNFFSGPIVVHCSAGVGRTGTYIGIDAMLEGLEAENKV
DVYGYVVKLRRQRCLMVQVEAQYILIHQALVEYNQFGETE
VNLSELHPYLHNMKKRDPPSEPSPLEAEFQRLPSYRSWRT
QHIGNQEENKSKNRNSNVIPYDYNRVPLKHELEMSKESEH
DSDESSDDDSDSEEPSKYINASFIMSYWKPEVMIAAQGPL
KETIGDFWQMIFQRKVKVIVMLTELKHGDQEICAQYWGEG 10
KQTYGDIEVDLKDTDKSSTYTLRVFELRHSKRKDSRTVYQ
YQYTNWSVEQLPAEPKELISMIQVVKQKLPQKNSSEGNKH
HKSTPLLIHCRDGSQQTGIFCALLNLLESAETEEVVDIFQ
VVKALRKARPGMVSTFEQYQFLYDVIASTYPAQNGQVKKN
NHQEDKIEFDNEVDKVKQDANCVNPLGAPEKLPEAKEQAE
GSEPTSGTEGPEHSVNGPASPALNQGS
【０１０６】
一実施形態では、少なくとも１つのエピトープは、立体構造的なエピトープである。別の実施形態では、少なくとも１つのエピトープは、連続的なエピトープ（ｓｅｑｕｅｎｔｉａｌ　ｅｐｉｔｏｐｅ）である。 20
【０１０７】
一実施形態では、本発明に係る使用のための抗ＣＤ４５ＲＣ抗体またはその結合フラグメントは、約５×１０$^{-7}$Ｍ以下、好ましくは約２．５×１０$^{-7}$Ｍ以下、約１×１０$^{-7}$Ｍ以下、約７．５×１０$^{-8}$Ｍ以下、約５×１０$^{-8}$Ｍ以下、約１×１０$^{-8}$Ｍ以下の平衡解離定数（K_d）でｈＣＤ４５ＲＣに結合する。
【０１０８】
一実施形態では、本発明に係る使用のための抗ＣＤ４５ＲＣ抗体またはその結合フラグメントは、約１×１０^{4}Ｍ$^{-1}$秒$^{-1}$以上、より好ましくは約５×１０^{4}Ｍ$^{-1}$秒$^{-1}$以上、約１×１０^{5}Ｍ$^{-1}$秒$^{-1}$以上、約２．５×１０^{5}Ｍ$^{-1}$秒$^{-1}$以上、約５×１０^{5}Ｍ$^{-1}$秒$^{-1}$以上の結合速度（K_{on}）でｈＣＤ４５ＲＣに結合する。 30
【０１０９】
一実施形態では、本発明に係る使用のための抗ＣＤ４５ＲＣ抗体またはその結合フラグメントは、約５×１０$^{-2}$秒$^{-1}$以下、好ましくは約４×１０$^{-2}$秒$^{-1}$以下、約３×１０$^{-2}$秒$^{-1}$以下、約２×１０$^{-2}$秒$^{-1}$以下、約１．５×１０$^{-2}$秒$^{-1}$以下の解離速度（K_{off}）でｈＣＤ４５ＲＣに結合する。
【０１１０】
一実施形態では、本発明に係る使用のための抗ＣＤ４５ＲＣ抗体またはその結合フラグメントは、
約５×１０$^{-7}$Ｍ以下、好ましくは約２．５×１０$^{-7}$Ｍ以下、約１×１０$^{-7}$Ｍ以下、約７．５×１０$^{-8}$Ｍ以下、約５×１０$^{-8}$Ｍ以下、約１×１０$^{-8}$Ｍ以下の平衡解離定数（K_d）； 40
約１×１０^{4}Ｍ$^{-1}$秒$^{-1}$以上、好ましくは約５×１０^{4}Ｍ$^{-1}$秒$^{-1}$以上、約１×１０^{5}Ｍ$^{-1}$秒$^{-1}$以上、約２．５×１０^{5}Ｍ$^{-1}$秒$^{-1}$以上、約５×１０^{5}Ｍ$^{-1}$秒$^{-1}$以上の結合速度（K_{on}）；および
約５×１０$^{-2}$秒$^{-1}$以下、好ましくは約４×１０$^{-2}$秒$^{-1}$以下、約３×１０$^{-2}$秒$^{-1}$以下、約２×１０$^{-2}$秒$^{-1}$以下、約１．５×１０$^{-2}$秒$^{-1}$以下の解離速度（K_{off}）
のうちの少なくとも１つ、好ましくは少なくとも２つ、より好ましくは３つを伴い、ｈＣＤ４５ＲＣに結合する。
【０１１１】 50

抗体またはその結合フラグメントのそのリガンドに対する親和性を決定する（たとえばK_d、k_{off}、およびk_{on}を決定することを含む）ための方法は、当該分野でよく知られており、限定するものではないが、表面プラズモン共鳴（ＳＰＲ）、蛍光活性化セルソーティング（ＦＡＣＳ）、酵素結合免疫吸着測定法（ＥＬＩＳＡ）、ＡｌｐｈａＬＩＳＡ、およびＫｉｎＥｘＡを含む。

【０１１２】

好ましい方法は、ＢＩＡｃｏｒｅ（登録商標）であり、これは、抗体またはその結合フラグメントの親和性を決定するために固定化したＣＤ４５ＲＣを使用するＳＰＲに依存している。この方法を実施する方法は、実施例のセクションでさらに例示されている。

【０１１３】

一実施形態では、本発明に係る使用のための抗体またはその結合フラグメントは、ポリクローナル抗体またはその結合フラグメントである。

【０１１４】

好ましい実施形態では、本発明に係る使用のための抗体またはその結合フラグメントは、モノクローナル抗体またはその結合フラグメントである。

【０１１５】

ＣＤ４５ＲＣを対象とする抗体は、適切な抗原またはエピトープ（配列番号１のペプチドなど）を、たとえば特に、ラット、ブタ、ウシ、ウマ、ウサギ、ヤギ、ヒツジ、ラクダ科（ラクダ、ヒトコブラクダ、ラマ）、およびマウスから選択される宿主動物に投与することによる既知の方法によって得ることができる。当該分野で知られている様々なアジュバントが、抗体産生を高めるために使用され得る。産生および単離に関する技術として、限定するものではないが、ハイブリドーマ技術、ヒトＢ細胞ハイブリドーマ技術、およびＥＢＶ－ハイブリドーマ技術が挙げられる。あるいは、一本鎖抗体の生成に関して記載されている技術（たとえば米国特許第４，９４６，７７８号に開示）は、ＣＤ４５ＲＣに対する一本鎖抗体を生成することに適切であり得る。

【０１１６】

一実施形態では、本発明に係る使用のための抗体は、キメラ抗体または二重特異性抗体またはヒト化抗体または完全にヒトの抗体、または抗体フラグメントもしくはそれらの誘導体である。実際にこれは、投与される抗体に対する患者の免疫反応を回避する可能性を提供する。

【０１１７】

抗体の「誘導体」は、担体のペプチドと元の抗体の少なくとも１つのＣＤＲとから形成され、ＣＤ４５ＲＣ、特に配列番号１などの抗原を特異的に認識する特性を保存している、結合タンパク質を意味する。

【０１１８】

可変ドメインは、抗原の認識に関与しており、定常ドメインは、抗体の生物学的な性質、薬物動態学的な性質、およびエフェクターの性質に関与している。配列が抗体ごとに著しく異なる可変ドメインとは異なり、定常ドメインは、任意選択で少数の体細胞変異を伴うが、種およびアイソタイプに特有である、抗体間で非常に類似するアミノ酸配列を特徴とする。

【０１１９】

一実施形態では、本発明に係る使用のための抗体は、ＣＤＲ４５ＲＣに対する第１の抗原結合部位と、直接的な結合、抗体依存性細胞傷害（ＡＤＣＣ）、補体依存性細胞傷害（ＣＤＣ）、および／または抗体依存性貪食作用を介してＴ　ＣＤ４５ＲＣ^{high}細胞の枯渇を媒介できるエフェクター細胞に対する少なくとも１つの第２の抗原結合部位とを含む多重特異性抗体である。

【０１２０】

上記実施形態では、第２の抗原結合部位は、たとえばヒトのエフェクター細胞上の抗原を結合することなどにより、殺滅機構を動員するために使用される。一部の実施形態では、エフェクター細胞は、ナチュラルキラー細胞などのＡＤＣＣを誘導することができる。

たとえば、ＦｃＲを発現する単球、マクロファージは、特定の標的細胞の殺滅および免疫系の他の成分に対する抗原の提示に関与している。一部の実施形態では、エフェクター細胞は、標的の抗原または標的の細胞を貪食し得る。エフェクター細胞上での特定のＦｃＲの発現は、サイトカインなどの体液性因子により調節され得る。エフェクター細胞は、標的抗原を貪食し得、または標的の細胞を貪食もしくは溶解し得る。適切な細胞傷害性作用物質および第２の治療用作用物質は、以下に例示されており、毒素（たとえば放射標識されたペプチド）、化学療法剤、およびプロドラッグを含む。一部の実施形態では、第２の結合部位は、上記に定義されるＦｃ受容体に結合する。一部の実施形態では、第２の結合部位は、ＮＫ細胞の表面分子に結合し、これにより上記細胞は活性化され得る。一部の実施形態では、第２の結合部位は、ＮＫｐ４６に結合する。

【０１２１】

本発明の多重特異性抗体分子の例示的な形式として、限定するものではないが、

（ｉ）１つがＩＬＣの特異的な表面分子に対する特異性を有し、もう一方が第２の抗原に対する特異性を有する、化学的なヘテロ結合により架橋している２つの抗体；

（ｉｉ）２つの異なる抗原結合領域を含む単一の抗体；

（ｉｉｉ）２つの異なる抗原結合領域、たとえば外部のペプチドリンカーによりタンデムに結合した２つのｓｃＦｖを含む一本鎖抗体；

（ｉｖ）各軽鎖および重鎖が短いペプチド結合を介してタンデムに２つの可変ドメインを含む、デュアル可変ドメイン抗体（ＤＶＤ－Ｉｇ）；

（ｖ）化学的に結合した二重特異性（Ｆａｂ’）２フラグメント；

（ｖｉ）標的抗原のそれぞれに対する２つの結合部位を有する四価の二重特異性抗体をもたらす二本鎖のジアボディの融合物である、Ｔａｎｄａｂ；

（ｖｉｉ）多価分子をもたらす、ジアボディとｓｃＦｖの組み合わせである、フレキシボディ（ｆｌｅｘｉｂｏｄｙ）；

（ｖｉｉｉ）Ｆａｂに適用される際に、異なるＦａｂフラグメントに結合した２つの同一のＦａｂフラグメントからなる３価の二重特異性結合タンパク質をもたらし得る、プロテインキナーゼＡの「二量体化およびドッキングドメイン（ｄｉｍｅｒｉｚａｔｉｏｎ ａｎｄ ｄｏｃｋｉｎｇ ｄｏｍａｉｎ）」に基づく、いわゆる「ドックアンドロック（ｄｏｃｋ ａｎｄ ｌｏｃｋ）」分子；

（ｉｘ）たとえばヒトのＦａｂアームの両末端に融合した２つのｓｃＦｖを含む、いわゆるスコーピオン分子（Ｓｃｏｒｐｉｏｎ ｍｏｌｅｃｕｌｅ）；ならびに

（ｘ）ジアボディ

が挙げられる。

【０１２２】

二重特異性抗体の別の例示的な形式は、ヘテロ二量体化をもたらす相補的なC_H3ドメインを有するＩｇＧ様分子である。このような分子は、既知の技術、たとえばＴｒｉｏｍａｂ／Ｑｕａｄｒｏｍａ（Ｔｒｉｏｎ Ｐｈａｒｍａ／Ｆｒｅｓｅｎｉｕｓ Ｂｉｏｔｅｃｈ）、Ｋｎｏｂ－ｉｎｔｏ－Ｈｏｌｅ（Ｇｅｎｅｎｔｅｃｈ）、ＣｒｏｓｓＭＡｂ（Ｒｏｃｈｅ）および静電マッチ（ｅｌｅｃｔｒｏｓｔａｔｉｃａｌｌｙ－ｍａｔｃｈｅｄ）（Ａｍｇｅｎ）、ＬＵＺ－Ｙ（Ｇｅｎｅｎｔｅｃｈ）、Ｓｔｒａｎｄ Ｅｘｃｈａｎｇｅ Ｅｎｇｉｎｅｅｒｅｄ Ｄｏｍａｉｎ ｂｏｄｙ（ＳＥＥＤｂｏｄｙ）（ＥＭＤ Ｓｅｒｏｎｏ）、Ｂｉｃｌｏｎｉｃ（Ｍｅｒｕｓ）、ならびにＤｕｏＢｏｄｙ（Ｇｅｎｍａｂ Ａ／Ｓ）の技術として知られている技術を使用して、調製され得る。

【０１２３】

一部の実施形態では、二重特異性抗体は、通常ＤｕｏＢｏｄｙ（登録商標）技術を使用し、制御されたＦａｂアームの交換を介して得られるかまたは入手可能である。制御されたＦａｂアームの交換により二重特異性抗体を生成するためのｉｎ ｖｉｔｒｏでの方法は、国際特許公開公報第２００８１１９３５３号および同第２０１１１３１７４６号（両方ともＧｅｎｍａｂ Ａ／Ｓによる）に記載されている。

【０１２４】

国際特許公開公報第２００８１１９３５３号に記載される１つの例示的な方法において、二重特異性抗体は、両方が還元条件下でのインキュベーション後にＩｇＧ４様のC_H3領域を含む２つの単一特異的な抗体間の「Ｆａｂアーム」または「半分子（ｈａｌｆ－ｍｏｌｅｃｕｌｅ）」の交換（重鎖および結合した軽鎖のスワッピング）により形成される。結果得られる生成物は、異なる配列を有し得る２つのＦａｂアームを有する二重特異性抗体である。

【０１２５】

国際特許公開公報第２０１１１３１７４６号に記載される別の例示的な方法では、二重特異性抗体は、以下のステップを含む方法により調製される（ここで第１および第２の抗体のうち少なくとも１つは、本発明のヒトのモノクローナル抗体である）：

ａ）Ｆｃ領域が第１のC_H3領域を含む、イムノグロブリンのＦｃ領域を含む第１の抗体を準備するステップ；

ｂ）Ｆｃ領域が第２のC_H3領域を含む、イムノグロブリンのＦｃ領域を含む第２の抗体を準備するステップ；

（上記第１および第２のC_H3領域の配列は、異なっており、よって第１のC_H3領域と第２のC_H3領域との間のヘテロ二量体の相互作用は、第１のC_H3領域と第２のC_H3領域との間のホモ二量体の各相互作用よりも強い）

ｃ）還元条件下で上記第２の抗体と共に上記第１の抗体をインキュベートするステップ；および

ｄ）上記二重特異性抗体を得るステップであって、第１の抗体が、本発明のヒトモノクローナル抗体であり、第２の抗体が、異なる結合特異性を有し、または逆も同様である、ステップ。

【０１２６】

還元条件は、たとえば２－メルカプトエチルアミン、ジチオスレイトール、およびトリス（２－カルボキシエチル）ホスフィンから選択される還元剤を添加することにより提供され得る。ステップｄ）はさらに、この条件を、たとえば脱塩により還元剤を除去することにより、非還元性となるかまたは還元性を少なくするように回復させることを含み得る。好ましくは第１および第２のC_H3領域の配列は異なっており、ほんの数個の著しく保存されている非対称的な変異を含み、これにより、上記第１のC_H3領域と第２のC_H3領域との間のヘテロ二量体の相互作用は、第１のC_H3領域と第２のC_H3領域との間のそれぞれのホモ二量体の相互作用よりも強い。これら相互作用およびこれらがどの程度達成され得るかに関しては、全体が参照により本明細書に組み込まれている国際特許公開公報第２０１１１３１７４６号に詳述されている。

【０１２７】

以下は、このような非対称的な変異の組み合わせの例示的な実施形態である（ここで、任意選択で、１つまたは両方のＦｃ領域はＩｇＧ１のアイソタイプである）。一部の実施形態では、第１のＦｃ領域は、３６６、３６８、３７０、３９９、４０５、４０７、および４０９からなる群から選択される位置でのアミノ酸の置換を有し、第２のＦｃ領域は、３６６、３６８、３７０、３９９、４０５、４０７、および４０９からなる群から選択される位置でアミノ酸の置換を有し、第１および第２のＦｃ領域は、同じ位置で置換されていない。一部の実施形態では、第１のＦｃ領域は、４０５位でアミノ酸の置換を有し、第２のＦｃ領域は、３６６、３６８、３７０、３９９、４０７、および４０９からなる群から選択される位置、任意選択で４０９位にてアミノ酸の置換を有する。一部の実施形態では、第１のＦｃ領域は、４０９位でアミノ酸の置換を有し、第２のＦｃ領域は、３６６、３６８、３７０、３９９、４０５、および４０７からなる群から選択される位置、任意選択で４０５位または３６８位にてアミノ酸の置換を有する。一部の実施形態では、第１のＦｃ領域および第２のＦｃ領域の両方が、ＩｇＧ１のアイソタイプであり、ここで第１のＦｃ領域は、４０５位にＬｅｕを有し、第２のＦｃ領域は、４０９位にＡｒｇを有する。Ｋａｂａｔの番号付けにより示されるこれら点変異は、たとえば国際特許公開公報第２０１６０９１８９１号などのいくつかの特許出願に開示されているため、当業者によく知ら

れている。
【０１２８】
抗体は、定常領域の性質に応じていくつかのアイソタイプであり得：定常領域γ、α、μ、ε、およびδは、それぞれ、ＩｇＧ、ＩｇＡ、ＩｇＭ、ＩｇＥ、およびＩｇＤのイムノグロブリンに対応している。
【０１２９】
一実施形態では、本発明に係る使用のためのモノクローナル抗体は、ＩｇＧである。特に、ＩｇＧのアイソタイプは、最も多くの数の個体（ヒト）にＡＤＣＣおよび／またはＣＤＣの活性をもたらす特性を示している。γ定常領域は、いくつかのサブタイプ：γ１、γ２、γ３（これら３種類の定常領域はヒトの補体結合する特異性を有する）、およびγ４を有し、それにより、下位のアイソタイプのＩｇＧ１、ＩｇＧ２、ＩｇＧ３、およびＩｇＧ４をもたらす。一実施形態では、本発明に係るモノクローナル抗体は、アイソタイプＩｇＧ１またはＩｇＧ３、好ましくはＩｇＧ１のモノクローナル抗体である。モノクローナル抗体は、当業者によく知られている技術により、細胞のクローン、非ヒトのトランスジェニック動物、またはトランスジェニック植物によって、生成され得る。
【０１３０】
別の実施形態では、本発明に係る使用のためのモノクローナル抗体は、Ｆｃフラグメントを含まない。特に、Ｆｃフラグメントを欠いているかまたはこれを枯渇させた抗体は、ＡＤＣＣまたはＣＤＣの活性をもたらさない。このような抗体は、その使用がＡＤＣＣおよび／またはＣＤＣに依存的ではない場合に特に適している。
【０１３１】
抗ＣＤ４５ＲＣ抗体の適切な例は、その全体の内容が参照により本明細書に具体的に組み込まれている国際特許公開公報第２０１６０１６４４２号に記載されている。
【０１３２】
ＣＤ４５ＲＣを対象とするモノクローナル抗体の他の適切な例は、当業者によく知られており、市販の抗体を含む。このような抗体の例として、限定するものではないが、マウスモノクローナル抗体ＯＸ－２２（抗ラットＣＤ４５ＲＣ）、ＯＸ－３２（抗ラットＣＤ４５ＲＣ）、３Ｈ１４３７（抗マウス／ラット／ヒトＣＤ４５ＲＣ）、ＭＴ２（抗ヒトＣＤ４５ＲＣ）、およびＲＰ１／１２（抗ヒトＣＤ４５ＲＣ）またはそれらの誘導体、およびラットのモノクローナル抗体ＤＮＬ　１．９（抗マウスＣＤ４５ＲＣ）、およびＣ４５５．１Ｆ（抗マウスＣＤ４５ＲＣ）が挙げられる。このようなモノクローナル抗体は、当業者によく知られており、いくつかの企業により商品化されている（Ｓｐｉｃｋｅｔｔ　ｅｔ　ａｌ．，　１９８３．　Ｊ　Ｅｘｐ　Ｍｅｄ．　１５８（３）：７９５－８１０）。
【０１３３】
特定の実施形態では、本発明に係る使用のための抗ＣＤＲ４５ＲＣ抗体は、モノクローナル抗体ＯＸ－２２、ＯＸ－３２、３Ｈ１４３７、ＭＴ２、ＲＰ１／１２、ＤＮＬ　１．９、Ｃ４５５．１Ｆ、またはそれらの誘導体である。このようなモノクローナル抗体は、当業者によく知られており、いくつかの企業により商品化されている。
【０１３４】
モノクローナル抗体に関連する「その誘導体」との表現は、ＣＤ４５ＲＣ、好ましくはヒトのＣＤ４５ＲＣに特異的に結合し、上記モノクローナル抗体の６つのＣＤＲを含む、抗ＣＤ４５ＲＣ抗体を表す。一実施形態では、「その誘導体」は、上記モノクローナル抗体のＶＬ鎖およびＶＨ鎖を含む抗体である。別の実施形態では、「その誘導体」は、上記モノクローナル抗体の可変ドメインを含む、キメラ抗体またはヒト化抗体である。
【０１３５】
一実施形態では、本発明に係る抗体は、抗体依存性細胞傷害（ＡＤＣＣ）、補体依存性細胞傷害（ＣＤＣ）、および／または抗体依存性貪食作用を高めるように修飾され得る。このような修飾は、当該分野でよく知られている。
【０１３６】

たとえば、低いフコース含有量を含む抗体は、ＦｃγＲＩＩＩ受容体を介してＡＤＣＣ応答を高めることが知られている（国際特許出願公開公報第２０１４１４０３２２号）。よって、本発明に係る抗体は、低いフコース含有量を含み得る。

【０１３７】

用語「フコース含有量」は、本明細書中使用される場合、各抗体の各重鎖のＦｃフラグメントのＮ２９７残基に結合したＮ－グリカンの中のフコシル化形態のパーセンテージを表す。

【０１３８】

用語「低いフコース含有量」は、本明細書中使用される場合、６５％以下のフコース含有量を表す。好適には、フコース含有量は、６５％以下、好ましくは６０％、５５％、もしくは５０％以下、またはさらには４５％、４０％、３５％、３０％、２５％、もしくは２０％以下である。しかしながら、フコース含有量が０である必要はなく、これは、たとえば５％、３５　１０％、１５％、または２０％以上であり得る。

【０１３９】

一実施形態では、本発明に係る抗体はさらに、異なる種類のグリコシル化（オリゴマンノース型または二分岐複合型のＮ－グリカン、ここで二分岐複合型のＮ－グリカンの場合では、Ｎ－アセチルグルコサミン（ＧｌｃＮＡｃ）残基またはガラクトース残基を二分する様々な性質を有する）を含み得、ただし、これらは低含有量のフコースを有する（国際特許公開公報第２００７０４８０７７号）。たとえば、わずかにフコシル化されたＮ－グリカンを有する抗体は、欧州特許公開公報第１１７６１９５号または国際特許公開公報第２００１０７７１８１号もしくは同第２０１２０４１７６８号に記載されるように入手され得る。

【０１４０】

オリゴマンノース型のＮ－グリカンは、二分岐複合型のＮ－グリカンと比較してｉｎｖｉｖｏにおいて短い半減期を有する。結果として、好適には、本発明に係る抗体は、上記に定義されるように、ＦｃフラグメントのＮ－グリコシル化部位に、低いフコース含有量で、二分岐複合型のグリカン構造を有する。

【０１４１】

一部の実施形態では、本発明に係る抗体は、治療的な部分、すなわち薬物にコンジュゲートされる。一実施形態では、治療的な部分は、細胞毒、化学療法剤、サイトカイン、免疫抑制剤、免疫刺激因子、溶解性ペプチド、および放射性同位体から選択される。このようなコンジュゲートは、本明細書中、「抗体薬物コンジュゲート」または「ＡＤＣ」と呼ばれる。

【０１４２】

一部の実施形態では、本発明の抗体は、細胞傷害性部分にコンジュゲートされる。一実施形態では、細胞傷害性部分は、タキソール；サイトカラシンＢ；グラミシジンＤ；臭化エチジウム；エメチン；マイトマイシン；エトポシド；テノポシド（ｔｅｎｏｐｏｓｉｄｅ）；ビンクリスチン；ビンブラスチン；コルヒチン；ドキソルビシン；ダウノルビシン；ジヒドロキシアントラシンジオン（ｄｉｈｙｄｒｏｘｙａｎｔｈｒａｃｉｎ　ｄｉｏｎｅ）；チューブリン阻害剤（たとえば、マイタンシンまたはその類縁体もしくは誘導体など）；有糸分裂阻害剤（たとえば、モノメチルオーリスタチンＥまたはＦまたはそれらの類縁体もしくは誘導体など）；ドラスタチンまたはその類縁体；イリノテカンまたはその類縁体；ミトキサントロン；ミスラマイシン；アクチノマイシンＤ；１－デヒドロテストステロン（ｄｅｈｙｄｒｏｔｅｓｔｏｓｔｅｒｏｎｅ）；グルココルチコイド；プロカイン；テトラカイン；リドカイン；プロプラノロール；ピューロマイシン；カリケアマイシンまたはその類縁体もしくは誘導体；代謝拮抗薬（たとえば、メトトレキサート、メルカプトプリン、６－チオグアニン、シタラビン、フルダラビン、５－フルオロウラシル、デカルバジン、ヒドロキシウレア、アスパラギナーゼ、ゲムシタビン、またはクラドリビンなど）；アルキル化剤（たとえば、メクロレタミン、チオエパ（ｔｈｉｏｅｐａ）、クロラムブシル、メルファラン、カルムスチン、ロムスチン、シクロホスファミド、ブスルフ

ァン、ジブロモマンニトール、ストレプトゾトシン、ダカルバジン、プロカルバジン、またはマイトマイシンＣなど）；白金誘導体（たとえば、シスプラチンまたはカルボプラチンなど）；デュオカルマイシンＡ、デュオカルマイシンＳＡ、ラシェルマイシン（ｒａｃｈｅｌｍｙｃｉｎ）、またはそれらの類縁体もしくは誘導体；抗生物質（たとえば、ダクチノマイシン、ブレオマイシン、ダウノルビシン、ドキソルビシン、イダルビシン、ミスラマイシン、マイトマイシン、ミトキサントロン、プリカマイシン、またはアントラマイシンなど）；ピロロ［２，１－ｃ］［１，４］－ベンゾジアゼピン；ジフテリア毒素および関連する分子（たとえば、ジフテリアＡ鎖およびその活性フラグメント、およびハイブリッド分子、リシンＡまたは脱グリコシル化リシンＡ鎖毒素などのリシン毒素、コレラ毒素、志賀様毒素、たとえばＳＬＴ Ｉ、ＳＬＴ ＩＩ、ＳＬＴ ＩＩＶ、ＬＴ毒素、Ｃ３毒素、志賀毒素、百日咳毒素、破傷風毒素、ダイズＢｏｗｍａｎ－Ｂｉｒｋプロテアーゼ阻害剤、シュードモナス外毒素、アロリン（ａｌｏｒｉｎ）、サポリン、モデシン（ｍｏｄｅｃｃｉｎ）、ゼラニン（ｇｅｌａｎｉｎ）、アブリンＡ鎖、モデシン（ｍｏｄｅｃｃｉｎ）Ａ鎖、アルファサルシン（ａｌｐｈａｓａｒｃｉｎ）、Ａｌｅｕｒｉｔｅｓ ｆｏｒｄｉｉのタンパク質、ダイアンシン（ｄｉａｎｔｈｉｎ）タンパク質、ヨウシュヤマゴボウ（Ｐｈｙｔｏｌａｃｃａ ａｍｅｒｉｃａｎａ）のタンパク質、たとえばＰＡＰＩ、ＰＡＰＩＩ、およびＰＡＰ－Ｓ、ニガウリ（ｍｏｍｏｒｄｉｃａ ｃｈａｒａｎｔｉａ）阻害剤、クルシン（ｃｕｒｃｉｎ）、クロチン、サボンソウ（ｓａｐａｏｎａｒｉａ ｏｆｆｉｃｉｎａｌｉｓ）阻害剤、ゲロニン、マイトゲリン（ｍｉｔｏｇｅｌｌｉｎ）、レストリクトシン（ｒｅｓｔｒｉｃｔｏｃｉｎ）、フェノマイシン（ｐｈｅｎｏｍｙｃｉｎ）、およびエノマイシン（ｅｎｏｍｙｃｉｎ）の毒素）；リボヌクレアーゼ；ＤＮａｓｅ Ｉ；ブドウ球菌のエンテロトキシンＡ；ヤマゴボウ抗ウイルスタンパク質；ジフテリン（ｄｉｐｈｔｈｅｒｉｎ）毒素；ならびにシュードモナス属内毒素から選択される。

【０１４３】

一部の実施形態では、本発明に係る抗体は、オーリスタチン（auristatin）またはそのペプチド類縁体、誘導体、もしくはプロドラッグにコンジュゲートされる。オーリスタチンは、微小管の動態、ＧＴＰの加水分解、ならびに核および細胞の分裂に干渉することが示されており（Ｗｏｙｋｅ ｅｔ ａｌ．，２００１．Ａｎｔｉｍｉｃｒｏｂ Ａｇｅｎｔｓ Ｃｈｅｍｏｔｈｅｒ．４６（１２）：３８０２－８）、抗癌活性（米国特許第５，６６３，１４９号）および抗真菌活性（Ｐｅｔｔｉｔ ｅｔ ａｌ．，１９９８．Ａｎｔｉｍｉｃｒｏｂ Ａｇｅｎｔｓ Ｃｈｅｍｏｔｈｅｒ．４２（１１）：２９６１－５）を有する。たとえば、オーリスタチンＥは、パラ－アセチル安息香酸またはベンゾイル吉草酸とそれぞれ反応して、ＡＥＢおよびＡＥＶＢを生成し得る。他の典型的なオーリスタチン誘導体として、ＡＦＰ、ＭＭＡＦ（モノメチルオーリスタチンＦ）、およびＭＭＡＥ（モノメチルオーリスタチンＥ）が挙げられる。適切なオーリスタチンおよびオーリスタチンの類縁体、誘導体、およびプロドラッグ、ならびにオーリスタチンの抗体へのコンジュゲートに適切なリンカーは、たとえば米国特許第５，６３５，４８３号、同第５，７８０，５８８号、および同第６，２１４，３４５号、ならびに国際特許公開公報第２００２０８８１７２号、同第２００４０１０９５７号、同第２００５０８１７１１号、同第２００５０８４３９０号、同第２００６１３２６７０号、同第２００３０２６５７７号、同第２００７００８６０号、同第２００７０１１９６８号、および同第２００５０８２０２３号に記載されている。

【０１４４】

一部の実施形態では、本発明に係る抗体は、ピロロ［２，１－ｃ］［１，４］－ベンゾジアゼピン（ＰＤＢ）、またはその類縁体、誘導体、もしくはプロドラッグにコンジュゲートされる。適切なＰＤＢおよびＰＤＢ誘導体および関連する技術は、当該分野で記載されている。

【０１４５】

一部の実施形態では、本発明に係る抗体は、アントラサイクリン、マイタンシン、カリケアマイシン、デュオカルマイシン、ラシェルマイシン（ｒａｃｈｅｌｍｙｃｉｎ）（Ｃ

Ｃ－１０６５）、ドラスタチン１０、ドラスタチン１５、イリノテカン、モノメチルオーリスタチンＥ、モノメチルオーリスタチンＦ、ＰＤＢ、またはそれらの類縁体、誘導体、もしくはプロドラッグから選択される細胞傷害性部分にコンジュゲートされる。

【０１４６】

一部の実施形態では、本発明に係る抗体は、アントラサイクリン、またはその類縁体、誘導体、もしくはプロドラッグにコンジュゲートされる。

【０１４７】

一部の実施形態では、本発明に係る抗体は、マイタンシン、またはその類縁体、誘導体、もしくはプロドラッグにコンジュゲートされる。

【０１４８】

一部の実施形態では、本発明に係る抗体は、カリケアマイシン、またはその類縁体、誘導体、もしくはプロドラッグにコンジュゲートされる。

【０１４９】

一部の実施形態では、本発明に係る抗体は、デュオカルマイシン、またはその類縁体、誘導体、もしくはプロドラッグにコンジュゲートされる。

【０１５０】

一部の実施形態では、本発明に係る抗体は、ラシェルマイシン（ｒａｃｈｅｌｍｙｃｉｎ）（ＣＣ－１０６５）、またはその類縁体、誘導体、もしくはプロドラッグにコンジュゲートされる。

【０１５１】

一部の実施形態では、本発明に係る抗体は、ドラスタチン、またはその類縁体、誘導体、もしくはプロドラッグにコンジュゲートされている。

【０１５２】

一部の実施形態では、本発明に係る抗体は、モノメチルオーリスタチンＥ、またはその類縁体、誘導体、もしくはプロドラッグにコンジュゲートされる。

【０１５３】

一部の実施形態では、本発明に係る抗体は、モノメチルオーリスタチンＦ、またはその類縁体、誘導体、もしくはプロドラッグにコンジュゲートされる。

【０１５４】

一部の実施形態では、本発明に係る抗体は、イリノテカン、またはその類縁体、誘導体、もしくはプロドラッグにコンジュゲートされる。

【０１５５】

分子を抗体にコンジュゲートするための技術は、当該分野でよく知られている（たとえば、Ａｒｎｏｎ，１９８５．Ｉｎ Ｒｅｉｓｆｅｌｄ & Ｓｅｌｌ，Ｍｏｎｏｃｌｏｎａｌ ａｎｔｉｂｏｄｉｅｓ ａｎｄ ｃａｎｃｅｒ ｔｈｅｒａｐｙ（Ｖｏｌ．２７，ＵＣＬＡ ｓｙｍｐｏｓｉａ ｏｎ ｍｏｌｅｃｕｌａｒ ａｎｄ ｃｅｌｌｕｌａｒ ｂｉｏｌｏｇｙ，ｐｐ．２４３－２５６）．Ｎｅｗ Ｙｏｒｋ，ＮＹ：Ａｌａｎ Ｒ．Ｌｉｓｓ；および国際特許公開公報第１９８９０１２６２４号を参照）。通常、核酸分子は、Ｎ－ヒドロキシスクシンイミドエステルまたはマレイミドの官能性を介して、それぞれ、抗体上のリジンまたはシステインに共有結合する。操作されたシステインを使用するコンジュゲーションまたは非天然のアミノ酸の組み込みの方法は、コンジュゲートの均質性を改善することが報告されている。Ｊｕｎｕｔｕｌａら（２００８．Ｊ Ｉｍｍｕｎｏｌ Ｍｅｔｈｏｄｓ．３３２（１－２）：４１－５２）は、従来のコンジュゲーション方法と比較して改善された治療指数を呈すると主張されている「ＴＨＩＯＭＡＢ」（ＴＤＣ）と呼ばれるシステインベースの部位特異的なコンジュゲーションを開発した。抗体に組み込まれている非天然のアミノ酸に対するコンジュゲーションもまた、ＡＤＣで調査されているが；しかしながらこの手法の普遍的な原理は未だ解明されていない。特に、当業者は、アシルドナーグルタミン含有タグ（たとえばＧｉｎ含有ペプチドタグまたはＱタグ）またはポリペプチドの操作（たとえばポリペプチド上のアミノ酸の欠失、挿入、置換、もしくは変異を介する）により反応性とされる内在性のグルタ

ミンで操作されたＦｃ含有ポリペプチドをも予想し得る。次に、トランスグルタミナーゼはアミンドナー作用物質（たとえば反応性アミンを含むかまたはこれと結合した小分子）と共有結合的に架橋することにより、アミンドナー作用物質が、アシルドナーグルタミン含有タグまたは入手可能／曝露した／反応性の内在性グルタミンを介してＦｃ含有ポリペプチドと部位特異的にコンジュゲートされている、操作されたＦｃ含有ポリペプチドコンジュゲートの安定した同種の集団を形成し得る（例えば、国際特許公開公報第２０１２０５９８８２号を参照されたい）。

【０１５６】

一実施形態では、本発明に係る使用のための抗ＣＤ４５ＲＣ抗体は、単一遺伝子疾患を予防および／または処置するために使用される。

【０１５７】

一部の実施形態では、本発明に係る使用のための抗ＣＤ４５ＲＣ抗体は、免疫機能に関連していないがその欠損が炎症および／または免疫反応に関連している遺伝子が関与する単一遺伝子疾患を予防および／または処置するために使用される。

【０１５８】

このような、免疫機能に関連していないがその欠損が炎症および／または免疫反応に関連している遺伝子が関与する単一遺伝子疾患の例として、限定するものではないが、デュシェンヌ型筋ジストロフィー（ＤＭＤ）、嚢胞性線維症、リソソーム蓄積症、およびα１－アンチトリプシン欠損症が挙げられる。

【０１５９】

一実施形態では、免疫機能に関連していないがその欠損が炎症および／または免疫反応に関連している遺伝子が関与する単一遺伝子疾患は、ＤＭＤである。

【０１６０】

一部の実施形態では、本発明に係る使用のための抗ＣＤ４５ＲＣ抗体は、免疫系に関与しておりその欠損が炎症および／もしくは自己免疫反応をもたらす遺伝子が関与する単一遺伝子疾患を予防および／または処置するために使用される。

【０１６１】

このような、免疫系に関与しておりその欠損が炎症および／もしくは自己免疫反応をもたらす遺伝子が関与する単一遺伝子疾患の例として、限定するものではないが、Ｔ細胞の原発性免疫不全（たとえば、ＩＰＥＸ症候群［ＩＰＥＸ］、および自己免疫性多腺性内分泌不全症・カンジダ症・外胚葉ジストロフィー［ＡＰＥＣＥＤ］など）、Ｂ細胞の原発性免疫不全、Ｍｕｃｋｌｅ－Ｗｅｌｌｓ症候群、混合型自己炎症性および自己免疫性症候群、ＮＬＲＰ１２関連の遺伝性周期性発熱症候群、および腫瘍壊死因子受容体１関連周期性症候群が挙げられる。

【０１６２】

一実施形態では、免疫系に関与しておりその欠損が炎症および／もしくは自己免疫反応をもたらす遺伝子が関与する単一遺伝子疾患は、ＡＰＥＣＥＤである。

【０１６３】

一実施形態では、本発明に係る使用のための抗ＣＤ４５ＲＣ抗体は、

免疫機能に関連していないがその欠損が炎症および／または免疫反応に関連している遺伝子、たとえば以下の疾患：デュシェンヌ型筋ジストロフィー（ＤＭＤ）、嚢胞性線維症、ライソゾーム病、およびα１－アンチトリプシン欠損症で欠損している遺伝子など；ならびに／または

免疫系に関与しておりその欠損が炎症および／もしくは自己免疫反応をもたらす遺伝子、たとえば、以下の疾患：Ｔ細胞の原発性免疫不全（たとえば、ＩＰＥＸ症候群［ＩＰＥＸ］および自己免疫性多腺性内分泌不全症・カンジダ症・外胚葉ジストロフィー［ＡＰＥＣＥＤ］など）、Ｂ細胞の原発性免疫不全、Ｍｕｃｋｌｅ－Ｗｅｌｌｓ症候群、混合型自己炎症性および自己免疫性症候群、ＮＬＲＰ１２関連の遺伝性周期性発熱症候群、および腫瘍壊死因子受容体１関連周期性症候群で欠損している遺伝子など

に関与する疾患から選択される単一遺伝子疾患を予防および／または処置するために使用

される。
【０１６４】
一実施形態では、本発明に係る使用のための抗ＣＤ４５ＲＣ抗体は、ＤＭＤおよび／またはＡＰＥＣＥＤを予防および／または処置するために使用される。
【０１６５】
さらなる実施形態では、本発明に係る使用のための抗ＣＤ４５ＲＣ抗体は、単一遺伝子疾患に関連する症状および／または兆候を低減、軽減、減少、または阻害するために使用される。
【０１６６】
自己免疫応答および／または炎症が関与する単一遺伝子疾患に関連する症状および兆候として、限定するものではないが、体重減少、脱力、疲労、微熱、筋肉、関節の疼痛、下痢、糖尿病、ホルモン変化、脱毛症、皮膚色素脱失、およびリンパ球浸潤物を伴う異なる組織の組織構造の悪化が挙げられる。
【０１６７】
特に、単一遺伝子性の症状は、限定するものではないが、ＣＤ４５ＲＣ$^{+}$細胞（特にＴ　ＣＤ４５ＲＣ$^{+}$細胞）の頻度の増加、ＣＤ４５ＲＣ$^{-}$細胞（特に、Ｔ、Ｂ、およびＮＫのＣＤ４５ＲＣ$^{-}$細胞）の頻度の減少、Ｔ　ＣＤ４$^{+}$およびＣＤ８$^{+}$のエフェクターの頻度の増加、ならびにＦｏｘＰ３$^{+}$　Ｔ$_{ｒｅｇ}$の減少を含む、いくつかの分子の調節不全に関連することが示されている。
【０１６８】
一部の実施形態では、本発明に係る使用のための抗体は、対象に免疫寛容を誘導する。一部の実施形態では、本発明に係る使用のための抗体は、対象に免疫寛容を誘導する。
【０１６９】
一部の実施形態では、本発明に係る使用のための抗体は、高いまたは中間のレベルでＣＤ４５ＲＣを発現するＴ細胞の枯渇を媒介する。
【０１７０】
ＣＤ４５ＲＣの発現の相対的なレベルは、限定するものではないが、細胞蛍光測定を含む当業者に知られている技術を使用して測定され得る。図９に示されるように、３種類の細胞：ＣＤ４５ＲＣ発現において高いレベルを提示する細胞（ＣＤ４５ＲＣ^{ｈｉｇｈ}）、中間のレベルを提示する細胞（ＣＤ４５ＲＣ^{ｉｎｔ}）、および負のレベルを提示する細胞（ＣＤ４５ＲＣ^{ｎｅｇ}）が区別され得る。本明細書中使用される場合、「ＣＤ４５ＲＣ$^{+}$」と示された細胞は、ＣＤ４５ＲＣ^{ｈｉｇｈ}細胞およびＣＤ４５ＲＣ^{ｉｎｔ}細胞を含む。
【０１７１】
一実施形態では、本発明に係る使用のための抗ＣＤ４５ＲＣ抗体は、Ｔ　ＣＤ４５ＲＣ^{ｈｉｇｈ}細胞を枯渇させる抗ＣＤ４５ＲＣ抗体である。Ｔ　ＣＤ４５ＲＣ^{ｈｉｇｈ}細胞は、上記に定義されるように、著しい量でＣＤ４５ＲＣマーカーを発現する（ＣＤ４５ＲＣ$^{+}$）Ｔリンパ球である。上記Ｔ　ＣＤ４５ＲＣ$^{+ｈｉｇｈ}$細胞を枯渇させる抗体は、他の種類のＣＤ４５ＲＣ$^{+}$細胞、たとえばＮＫまたはＢのＣＤ４５ＲＣ$^{+}$細胞を枯渇させることが可能であり得ることを理解されたい。
【０１７２】
本明細書中使用される場合、用語「枯渇させる（ｄｅｐｌｅｔｅ）」または「枯渇（ｄｅｐｌｅｔｉｎｇ）」は、ＣＤ４５ＲＣを発現する細胞に関しては、対象における細胞の数の測定可能な減少を表す。この減少は、少なくとも約１０％、たとえば少なくとも約２０％、３０％、４０％、５０％、６０％、７０％、８０％、９０％、９５％、９６％、９７％、９８％、９９％、またはそれ以上であり得る。一部の実施形態では、この用語は、対象またはサンプルにおけるＣＤ４５ＲＣ$^{+}$細胞数の、検出可能な限界を下回る量までの減少を表す。本発明では、本発明に係る使用のための抗ＣＤ４５ＲＣ抗体は、ＣＤ４５ＲＣを強力に発現するエフェクター細胞、特に、ＣＤ４５ＲＣ^{ｈｉｇｈ}　Ｔ$_{ｅｆｆ}$と称される細胞の枯渇を特異的に媒介する。
【０１７３】

特に、上記本発明に係る使用のための抗ＣＤ４５ＲＣ抗体は、ｈＣＤ４５ＲＣに結合し、アポトーシス誘導シグナルを伝達し、および／または抗体依存性細胞傷害（ＡＤＣＣ）、補体依存性細胞傷害（ＣＤＣ）、および／または抗体依存性貪食作用を活性化させることにより、ＣＤ４５ＲＣ^{ｈｉｇｈ}Ｔ細胞を枯渇させる。

【０１７４】

一部の実施形態では、本発明に係る使用のための抗ＣＤ４５ＲＣ抗体は、抗体依存性細胞傷害（ＡＤＣＣ）を媒介する。

【０１７５】

一部の実施形態では、本発明に係る使用のための抗ＣＤ４５ＲＣ抗体は、補体依存性細胞傷害（ＣＤＣ）を媒介する。

【０１７６】

一部の実施形態では、本発明に係る使用のための抗ＣＤ４５ＲＣ抗体は、抗体依存性貪食作用を媒介する。

【０１７７】

特定の実施形態では、本発明に係る単離されている抗体またはその結合フラグメントは、細胞傷害性作用物質または増殖阻害剤にコンジュゲートされ得る。

【０１７８】

一部の実施形態では、本発明に係る使用のための抗体は、対象の制御性Ｔ細胞を増殖（ｅｘｐａｎｄ）および／または増強することができる。

【０１７９】

本明細書中使用される場合、用語「増殖する（ｅｘｐａｎｄ）」は、所定の細胞（たとえば$Ｔ_{ｒｅｇ}$などの免疫細胞）の集団を変換および／または増殖させるプロセスを表す。本明細書中使用される場合、用語「増強する（ｐｏｔｅｎｔｉａｔｅ）」は、所定の細胞集団の機能を増大（たとえば$Ｔ_{ｒｅｇ}$細胞の抑制能を増大）させるプロセスを表す。

【０１８０】

「制御性Ｔ細胞」または「$Ｔ_{ｒｅｇ}$」は、異常であるかまたは過度の免疫応答を抑制し、免疫寛容にある役割を果たすＴ細胞である。$Ｔ_{ｒｅｇ}$は、通常、「フォークヘッドボックスＰ３（Ｆｏｘｐ３$^{+}$）制御性Ｔ細胞」および／または「ＣＤ４５ＲＣ$^{ｌｏｗ／－}$細胞」である。本明細書中使用される場合、用語「フォークヘッドボックスＰ３（Ｆｏｘｐ３$^{+}$）制御性Ｔ細胞」および「ＣＤ４５ＲＣ$^{ｌｏｗ／－}$細胞」は、特徴的なマーカーが転写因子Ｆｏｘｐ３である、ヒトおよびげっ歯類において０．１～１０％のＣＤ４$^{+}$およびＣＤ８$^{+}$のＴ細胞を表す。

【０１８１】

一部の実施形態では、本発明に係る使用のための抗体は、Ｆｏｘｐ３$^{+}$および／または$ＣＤ４５ＲＣ^{ｌｏｗ}Ｔ_{ｒｅｇ}$を増殖および／または増強することができる。

【０１８２】

一実施形態では、本発明に係る使用のための抗ＣＤ４５ＲＣ抗体は、上記抗ＣＤ４５ＲＣ抗体と、薬学的に許容される担体または賦形剤またはビヒクルとを含む医薬組成物の形態で投与される。

【０１８３】

用語「薬学的に」または「薬学的に許容される」は、哺乳類、特にヒトに適宜投与される際に有害な反応、アレルギー反応、または他の望ましくない反応をもたらさない分子の実体および組成物を表す。薬学的に許容される担体または賦形剤またはビヒクルは、非毒性であり、固体、半固体、または液体である、いずれかの種類の充填剤、希釈剤、カプセル化の材料、または製剤化の助剤を表す。医薬組成物の形態、投与経路、用量およびレジメンは、当然、処置される病態、疾病の重症度、患者の年齢、体重、および性別などに応じて変化する。本発明の医薬組成物は、局所投与、経口投与、非経口投与、鼻腔内投与、静脈内投与、筋肉内投与、皮下投与などのために製剤化され得る。

【０１８４】

一実施形態では、医薬組成物は、ＯＸ－２２、ＯＸ－３２、３Ｈ１４３７、ＭＴ２、Ｒ

Ｐ１／１２、ＤＮＬ　１．９、Ｃ４５５．１Ｆ、およびそれらの誘導体を含むかまたはからなる群から選択される抗ＣＤ４５ＲＣモノクローナル抗体と；薬学的に許容される担体または賦形剤またはビヒクルとを含む。

【０１８５】

よって、本発明の抗体は、治療上組成物を形成するために、薬学的に許容される賦形剤、担体、またはビヒクル、および任意選択で生分解性ポリマーなどの徐放マトリックスと組み合わせられ得る。

【０１８６】

好ましくは、医薬組成物は、注射することができる製剤にとって薬学的に許容されるビヒクルを含む。これらは特に、等張性、無菌性の生理食塩水溶液（リン酸一ナトリウムまたはリン酸二ナトリウム、塩化ナトリウム、塩化カリウム、塩化カルシウム、または塩化マグネシウムなど、もしくはこのような塩の混合物）、または、場合に応じて滅菌水または生理食塩水を添加した後に、注射可能な液剤の構成を可能にする乾燥した、特には凍結乾燥した組成物であり得る。投与に使用される用量は、様々なパラメータの関数として、特には使用される投与形式、相対的な病態、またはあるいは所望の処置期間の関数として、適合され得る。医薬組成物を調製するために、抗体の有効量は、薬学的に許容される担体または水性媒体に溶解または分散され得る。注射可能な使用に適切な薬学的な形態として、無菌性の水溶液または分散物；ゴマ油、ピーナッツ油、または水性のプロピレングリコールを含む製剤；および無菌性の注射可能な液剤もしくは分散剤の即時調製のための無菌性散剤が挙げられる。全ての場合において、この形態は無菌性でなければならず、容易に注射針を通過する度合いまで流動的でなければならない。これは、製造および保存の条件下で安定していなければならず、細菌および真菌などの微生物の混入作用に対処するように保存されなければならない。

【０１８７】

一実施形態では、本発明に係る使用のための抗ＣＤ４５ＲＣ抗体は、対象に投与するために製剤化される。

【０１８８】

一実施形態では、本発明に係る使用のための抗ＣＤ４５ＲＣ抗体は、全身にまたは局所的に投与される。

【０１８９】

一実施形態では、本発明に係る使用のための抗ＣＤ４５ＲＣ抗体は、注射、経口投与、局所投与、経鼻投与、バッカル投与、直腸投与、膣投与、気管内投与、内視鏡検査、経粘膜投与、または経皮投与により投与される。

【０１９０】

一実施形態では、本発明に係る使用のための抗ＣＤ４５ＲＣ抗体は、注射、好ましくは全身注射される。

【０１９１】

注射に適した製剤の例として、限定するものではないが、液剤、たとえば無菌性の水系の液剤、ゲル、分散剤、エマルジョン、懸濁剤、使用前に液体を添加することにより液剤または懸濁剤を調製するための使用に適した固体の形態、たとえば散剤、リポソーム形態などが挙げられる。

【０１９２】

全身注射の例として、限定するものではないが、静脈内（ｉｖ）、皮下、筋肉内（ｉｍ）、皮内（ｉｄ）、腹腔内（ｉｐ）の注射および灌流が挙げられる。

【０１９３】

一実施形態では、注射される場合、本発明に係る使用のための抗ＣＤ４５ＲＣ抗体は、無菌性である。無菌性組成物を得るための方法として、限定するものではないが、ＧＭＰ合成（ＧＭＰは、「Ｇｏｏｄ　ｍａｎｕｆａｃｔｕｒｉｎｇ　ｐｒａｃｔｉｃｅ」を意味する）が挙げられる。

【０１９４】

組成物の無菌性の注射可能な形態は、水性または油性の懸濁剤であり得る。これら懸濁剤は、適切な分散化剤または湿潤剤および懸濁化剤を使用する当該分野で知られている技術により、製剤化され得る。無菌性の注射可能な調製剤はまた、非毒性の非経口的に許容される希釈剤または溶媒における無菌性の注射可能な液剤または懸濁剤であり得る。特に、使用され得る許容されるビヒクルおよび溶媒として、水、リンゲル溶液、および等張性塩化ナトリウム溶液がある。さらに、無菌性の固定油が、従来より、溶媒または懸濁化媒体として使用されている。この目的のため、合成のモノグリセリドまたはジグリセリドを含む任意のブランドの固定油が使用され得る。脂肪酸、たとえばオレイン酸およびそのグリセリド誘導体は、天然の薬学的に許容される油、たとえばオリーブ油、またはヒマシ油、特にそれらのポリオキシエチル化バージョンである場合、注射可能な物質の調製に有用である。これら油の液剤または懸濁剤はまた、長鎖アルコールの希釈剤または分散剤、たとえばカルボキシメチルセルロース、またはエマルジョンおよび懸濁剤を含む薬学的に許容される剤形の製剤化に一般に使用される同様の分散化剤をも含み得る。他の一般に使用される界面活性剤、たとえばＴｗｅｅｎｓ、Ｓｐａｎｓ、および薬学的に許容される固体、液体、または他の剤形の製造に一般に使用される他の乳化剤またはバイオアベイラビリティ促進剤もまた、製剤の目的のために使用され得る。

【０１９５】

他の適切な投与経路もまた本発明で企図されており、投与形式は、正当な医療の判断の範囲内で担当医により最終的に決定されることが理解されるであろう。注射（ｉｖ、ｉｐ、ｉｍなど）による投与とは別に、吸入投与（Ｒｅｓｐａｕｄ ｅｔ ａｌ．，２０１４．ＭＡｂｓ．６（５）：１３４７－５５；Ｇｕｉｌｌｅｍｉｎａｕｌｔ ｅｔ ａｌ．，２０１４．Ｊ Ｃｏｎｔｒｏｌ Ｒｅｌｅａｓｅ．１９６：３４４－５４；Ｒｅｓｐａｕｄ ｅｔ ａｌ．，２０１５．Ｅｘｐｅｒｔ Ｏｐｉｎ Ｄｒｕｇ Ｄｅｌｉｖ．１２（６）：１０２７－３９）または皮下投与（Ｊａｃｋｉｓｃｈ ｅｔ ａｌ．，２０１４．Ｇｅｂｕｒｔｓｈｉｌｆｅ Ｆｒａｕｅｎｈｅｉｌｋｄ．７４（４）：３４３－３４９；Ｓｏｌａｌ－Ｃｅｌｉｇｎｙ，２０１５．Ｅｘｐｅｒｔ Ｒｅｖ Ｈｅｍａｔｏｌ．８（２）：１４７－５３）などの他の経路も利用可能である。

【０１９６】

一実施形態では、本発明に係る使用のための抗ＣＤ４５ＲＣ抗体は、治療上有効量で、それを必要とする対象へ投与される。

【０１９７】

しかしながら、本発明に係る使用のための抗ＣＤ４５ＲＣ抗体の一日の総用量は、正当な医療の判断の範囲内で担当医により決定されることが理解されるであろう。いずれかの特定の患者に特有の治療上有効な用量は、処置される疾患および疾患の重症度；使用される抗ＣＤ４５ＲＣ抗体の活性；対象の年齢、体重、全般的な健康状態、性別、および食事；使用される特定の抗ＣＤ４５ＲＣ抗体の投与時間、投与経路、および排泄速度；処置期間；使用される特定の抗ＣＤ４５ＲＣ抗体と併用してまたは同時に使用される薬物；ならびに医療の分野でよく知られている同様の要因を含む様々な要因に応じて変化する。たとえば、化合物の投与を、望ましい治療効果を達成するために必要とされる用量よりも低いレベルで開始し、この用量を、所望の効果が達成するまで徐々に増大させることは、十分に当業者の範囲内にある。各処置で必要とされる総用量は、複数回投与または単回投与により投与され得る。しかしながら、抗体の一日用量は、１日あたり、成年あたり０．０１～１，０００ｍｇの幅広い範囲にわたり変動し得る。好ましくは、本組成物は、処置される対象への症候による用量の調節のため、０．０１、０．０５、０．１、０．５、１．０、２．５、５．０、１０．０、１５．０、２５．０、５０．０、１００、２５０、および５００ｍｇの有効成分を含む。医薬は、通常、約０．０１ｍｇ～約５００ｍｇの有効成分、好ましくは１ｍｇ～約１００ｍｇの有効成分を含む。薬物の治療上有効量は、通常、１日あたり０．０００２ｍｇ／ｋｇ～約２０ｍｇ／ｋｇ体重、特に約０．００１ｍｇ／ｋｇ～１０ｍｇ／ｋｇ体重の用量レベルで供給される。

【０１９８】
一実施形態では、本発明に係る使用のための抗ＣＤ４５ＲＣ抗体の治療上有効量は、約０．１ｍｇ／ｋｇ～約５ｍｇ／ｋｇ、約０．２ｍｇ／ｋｇ～約４ｍｇ／ｋｇ、約０．３ｍｇ／ｋｇ～約３ｍｇ／ｋｇ、約０．４ｍｇ／ｋｇ～約２．５ｍｇ／ｋｇ、約０．５ｍｇ／ｋｇ～約２ｍｇ／ｋｇの範囲にある。
【０１９９】
一実施形態では、本発明に係る使用のための抗ＣＤ４５ＲＣ抗体の治療上有効量は、約１０μｇ／ｋｇ～約４００μｇ／ｋｇ、約２０μｇ／ｋｇ～約３００μｇ／ｋｇ、約３０μｇ／ｋｇ～約２５０μｇ／ｋｇ、約３５μｇ／ｋｇ～約２００μｇ／ｋｇ、約４０μｇ／ｋｇ～約１６０μｇ／ｋｇの範囲にある。
【０２００】
一実施形態では、本発明に係る使用のための抗ＣＤ４５ＲＣ抗体の治療上有効量は、１日に１回、１日に２回、１日に３回、またはそれ以上投与される。
【０２０１】
一実施形態では、本発明に係る使用のための抗ＣＤ４５ＲＣ抗体の治療上有効量は、毎日、２日ごと、３日ごと、４日ごと、５日ごと、６日ごとに投与される。
【０２０２】
一実施形態では、本発明に係る使用のための抗ＣＤ４５ＲＣ抗体の治療上有効量は、一週間ごと、２週間ごと、３週間ごとに投与される。
【０２０３】
一実施形態では、本発明に係る使用のための抗ＣＤ４５ＲＣ抗体の治療上有効量は、１カ月ごと、２カ月ごと、３カ月ごと、４カ月ごと、５カ月ごと、６カ月ごとに投与される。
【０２０４】
好ましい実施形態では、本発明に係る使用のための抗ＣＤ４５ＲＣ抗体の治療上有効量は、１２時間ごと、２４時間ごと、３６時間ごと、４８時間ごと、６０時間ごと、７２時間ごと、８４時間ごと、９６時間ごとに投与される。
【０２０５】
好ましい実施形態では、本発明に係る使用のための抗ＣＤ４５ＲＣ抗体の治療上有効量は、６０時間ごとに投与される。好ましい実施形態では、本発明に係る使用のための抗ＣＤ４５ＲＣ抗体の治療上有効量は、８４時間ごとに投与される。
【０２０６】
一実施形態では、本発明に係る使用のための抗ＣＤ４５ＲＣ抗体は、急性投与のためのものである。一実施形態では、本発明に係る使用のための抗ＣＤ４５ＲＣ抗体は、慢性投与のためのものである。
【０２０７】
一実施形態では、本発明に係る使用のための抗ＣＤ４５ＲＣ抗体の治療上有効量は、約５日間、７日間、１０日間、１４日間、２１日間、２８日間、１カ月間、２カ月間、３カ月間、６カ月間、１年間、またはそれ以上の間、投与される。
【０２０８】
一実施形態では、本発明に係る使用のための抗ＣＤ４５ＲＣ抗体の治療上有効量は、約１週間～約８週間、約２週間～約７週間、約２週間～約６週間、約２週間～約５週間の範囲の期間の間、投与される。
【０２０９】
好ましい実施形態では、本発明に係る使用のための抗ＣＤ４５ＲＣ抗体の治療上有効量は、約１０日～約４０日間、約１５日～約３５日間、約２０～約３０日間の範囲の期間の間、投与される。
【０２１０】
一実施形態では、本発明に係る使用のための抗ＣＤ４５ＲＣ抗体は、単独で投与される。

【０２１１】
別の実施形態では、本発明に係る使用のための抗ＣＤ４５ＲＣ抗体は、少なくとも１つの治療薬と組み合わせて、たとえば治療薬の前、治療薬と同時、または治療薬の後に、投与される。
【０２１２】
一部の実施形態では、この治療薬は、免疫抑制薬および／または抗炎症薬であり得る。用語「免疫抑制薬および／または抗炎症薬」は、対象の免疫応答の強度を抑制、低減、減少、または緩和させる薬物のクラスに関連する。このような薬物は、免疫系に関与している遺伝子または免疫機能に関連していないがその欠損が炎症および／もしくは免疫反応に関連している遺伝子に関連する単一遺伝子疾患の処置に特に適している。よって、本発明に係る抗ＣＤ４５ＲＣ抗体に加えての本発明に係る免疫抑制薬の使用は、単一遺伝子疾患を罹患している対象の免疫応答の影響の低減を支援する。
【０２１３】
免疫抑制薬の適切な例として、限定するものではないが、ｍＴＯＲ阻害剤、たとえばシロリムス、エベロリムス、リダフォロリムス、テムシロリムス、ウミロリムス（ｕｍｉｒｏｌｉｍｕｓ）およびゾタロリムス（ｚｏｔａｒｏｌｉｍｕｓ）；ＩＬ－１受容体アンタゴニスト、たとえばアナキンラなど；代謝拮抗薬、たとえば、アザチオプリン、レフルノミド、メトトレキサート、ミコフェノール酸、およびテリフルノミドなど；ＩＭｉＤ、たとえばアプレミラスト、レナリドミド、ポマリドミド、およびサリドマイドなど；および抗体、たとえばエクリズマブ、アダリムマブ、アフェリモマブ、セルトリズマブペゴル、ゴリムマブ、インフリキシマブ、ネレリモマブ（ｎｅｒｅｌｉｍｏｍａｂ）、メポリズマブ、オマリズマブ（ｏｍａｌｉｚｕｍａｂ）、ファラリモマブ（ｆａｒａｌｉｍｏｍａｂ）、エルシリモマブ（ｅｌｓｉｌｉｍｏｍａｂ）、レブリキズマブ（ｌｅｂｒｉｋｉｚｕｍａｂ）、ウステキヌマブ、セクキヌマブ、ムロモナブ－ＣＤ３、オテリキシズマブ（ｏｔｅｌｉｘｉｚｕｍａｂ）、テプリズマブ（ｔｅｐｌｉｚｕｍａｂ）、ビジリズマブ（ｖｉｓｉｌｉｚｕｍａｂ）、クレノリキシマブ（ｃｌｅｎｏｌｉｘｉｍａｂ）、ケリキシマブ（ｋｅｌｉｘｉｍａｂ）、ザノリムマブ（ｚａｎｏｌｉｍｕｍａｂ）、エファリズマブ（ｅｆａｌｉｚｕｍａｂ）、エルリズマブ（ｅｒｌｉｚｕｍａｂ）、オビヌツズマブ（ｏｂｉｎｕｔｕｚｕｍａｂ）、リツキシマブ、オクレリズマブ、パスコリズマブ（ｐａｓｃｏｌｉｚｕｍａｂ）、ゴミリキシマブ（ｇｏｍｉｌｉｘｉｍａｂ）、ルミリキシマブ（ｌｕｍｉｌｉｘｉｍａｂ）、テネリキシマブ（ｔｅｎｅｌｉｘｉｍａｂ）、トラリズマブ（ｔｏｒａｌｉｚｕｍａｂ）、アセリズマブ（ａｓｅｌｉｚｕｍａｂ）、ガリキシマブ（ｇａｌｉｘｉｍａｂ）、ガビリモマブ（ｇａｖｉｌｉｍｏｍａｂ）、ルプリズマブ（ｒｕｐｌｉｚｕｍａｂ）、ベリムマブ（ｂｅｌｉｍｕｍａｂ）、ブリシビモド（ｂｌｉｓｉｂｉｍｏｄ）、イピリムマブ（ｉｐｉｌｉｍｕｍａｂ）、トレメリムマブ（ｔｒｅｍｅｌｉｍｕｍａｂ）、ベルチリムマブ（ｂｅｒｔｉｌｉｍｕｍａｂ）、レルデリムマブ（ｌｅｒｄｅｌｉｍｕｍａｂ）、メテリムマブ（ｍｅｔｅｌｉｍｕｍａｂ）、ナタリズマブ、トシリズマブ、オデュリモマブ（ｏｄｕｌｉｍｏｍａｂ）、バシリキシマブ、ダクリズマブ（ｄａｃｌｉｚｕｍａｂ）、イノリモマブ（ｉｎｏｌｉｍｏｍａｂ）、ズリモマブアリタオクス（ｚｏｌｉｍｏｍａｂ　ａｒｉｔｏｘ）、アトロリムマブ（ａｔｏｒｏｌｉｍｕｍａｂ）、セデリズマブ（ｃｅｄｅｌｉｚｕｍａｂ）、フォントリズマブ（ｆｏｎｔｏｌｉｚｕｍａｂ）、マスリモマブ（ｍａｓｌｉｍｏｍａｂ）、モロリムマブ（ｍｏｒｏｌｉｍｕｍａｂ）、ペクセリズマブ（ｐｅｘｅｌｉｚｕｍａｂ）、レスリズマブ（ｒｅｓｌｉｚｕｍａｂ）、レベリズマブ（ｒｏｖｅｌｉｚｕｍａｂ）、シプリズマブ（ｓｉｐｌｉｚｕｍａｂ）、タリズマブ（ｔａｌｉｚｕｍａｂ）、テリモマブアリトクス（ｔｅｌｉｍｏｍａｂ　ａｒｉｔｏｘ）、バパリキシマブ（ｖａｐａｌｉｘｉｍａｂ）、ベパリモマブ（ｖｅｐａｌｉｍｏｍａｂ）、アバタセプト（ａｂａｔａｃｅｐｔ）、ベラタセプト（ｂｅｌａｔａｃｅｐｔ）、エタネルセプト（ｅｔａｎｅｒｃｅｐｔ）、ペグスネルセプト、アフリベルセプト、アレファセプト、およびリロナセプトなどが挙げられる。
【０２１４】

抗炎症薬の適切な例として、限定するものではないが、コルチコイド（デキサメタゾン、ベタメタゾン、ベタメタゾン－１７－吉草酸塩、トリアムシノロン、トリアムシノロンアセトニド、フルオシノロンアセトニド、フルオシノニド、コルチゾン、ヒドロコルチゾン、プレドニゾン、メチルプレドニゾロン、デソニド、ブデソニド、およびデフラザコートから選択されるグルココルチコイドなど）が挙げられる。

【０２１５】

好ましくは、免疫抑制薬および／または抗炎症薬は、プレドニゾロンまたはデフラザコートである。

【０２１６】

よって、本発明は、上記に定義される抗ＣＤ４５ＲＣ抗体と、免疫抑制薬および／または抗炎症薬と、薬学的に許容される担体または賦形剤またはビヒクルとを含む医薬組成物を包有する。一部の実施形態では、医薬組成物は、上記に定義される抗ＣＤ４５ＲＣ抗体と、プレドニゾロンまたはデフラザコートと、薬学的に許容される担体または賦形剤またはビヒクルとを含む。

【０２１７】

別の実施形態では、本発明に係る使用のための抗ＣＤ４５ＲＣ抗体は、遺伝子療法または細胞療法と併用して投与される。好適には、上記遺伝子療法または細胞療法は、上記抗ＣＤ４５ＲＣ抗体の使用の前または後、優先的には上記抗ＣＤ４５ＲＣ抗体の使用の前に、使用される。

【０２１８】

よって、本発明は、上記に定義される抗ＣＤ４５ＲＣ抗体と、少なくとも１つのミニジストロフィン遺伝子を含むアデノ関連ウイルスまたはレンチウイルスと、薬学的に許容される担体または賦形剤またはビヒクルとを含む医薬組成物を包有する。一部の実施形態では、医薬組成物は、同時の使用、別々の使用、または連続的な使用のために組み合わせられる調製物である。用語「ミニジストロフィン遺伝子」は、本明細書では、６～８ｋｂの合成ミニジストロフィン遺伝子、たとえばＯｄｏｍ ｅｔ ａｌ．（２０１１．Ｍｏｌ Ｔｈｅｒ．１９（１）：３６－４５）、Ｃｌｅｍｅｎｓ ｅｔ ａｌ．（１９９５．Ｈｕｍ Ｇｅｎｅ Ｔｈｅｒ．６（１１）：１４７７－８５）、Ｈａｒｐｅｒ ｅｔ ａｌ．（２００２．Ｎａｔ Ｍｅｄ．８（３）：２５３－６１）およびＬａｉ ｅｔ ａｌ．（２００９．Ｊ Ｃｌｉｎ Ｉｎｖｅｓｔ．１１９（３）：６２４－３５）に記載されるミニジストロフィン遺伝子を表す。

【０２１９】

別の実施形態では、本発明に係る使用のための抗ＣＤ４５ＲＣ抗体は、免疫抑制薬および／または抗炎症薬ならびに遺伝子療法または細胞療法の両方と併用して投与される。

【０２２０】

よって、本発明は、上記に定義される抗ＣＤ４５ＲＣ抗体と、免疫抑制薬および／または抗炎症薬と、少なくとも１つのミニジストロフィン遺伝子を含むアデノ関連ウイルスまたはレンチウイルスと、薬学的に許容される担体または賦形剤またはビヒクルとを含む医薬組成物を包有する。一部の実施形態では、医薬組成物は、同時の使用、別々の使用、または連続的な使用のために組み合わせられる調製物である。

【図面の簡単な説明】

【０２２１】

【図１Ａ】図１は、Ｄｍｄ^{ｍｄｘ}ラットの筋肉および脾臓における白血球の数を示すグラフのセットである。後肢の骨格筋および脾臓は、指定の年齢の時点で、同腹仔の野生型（ＷＴ）またはＤｍｄ^{ｍｄｘ}（ＫＯ）のラットから回収した。筋肉および脾臓をコラゲナーゼで消化し、単核細胞を、密度勾配を使用して単離した。（Ａ）バイアビリティ色素（ｖｉａｂｉｌｉｔｙ ｄｙｅ）およびｐａｎ抗白血球ＣＤ４５モノクローナル抗体（ＯＸ１）で染色した８週齢の動物由来の単核細胞の筋肉（左のパネル）および脾臓（右のパネル）の代表的なドットプロット解析。（Ｂ）異なる時点での筋肉組織のグラムまたは総脾臓によるＣＤ４５$^{+}$細胞の数。ＷＴ、ｎ＝それぞれ２、４、８、１２、および１６週で４、

５、７、７、９。ＫＯ、ｎ＝それぞれ２、４、８、１２、および１６週で３、６、１０、１１、１６。＊ｐ＜０．０５、＊＊＊ｐ＜０．００１、＊＊＊＊ｐ＜０．０００１。
【図１Ｂ】同上。
【図２】図２は、同腹仔のＷＴおよびＤｍｄ^{mdx}のラットの筋肉および脾臓におけるＴＣＲ$^{+}$細胞の数を示す２つのグラフのセットである。後肢（左のパネル）および脾臓（右のパネル）由来のＰＢＭＣは、図１の説明に記載されるように得た。ＴＣＲ$^{+}$細胞の数は、抗ＴＣＲａｂモノクローナル抗体（クローンＲ７／３）でＰＢＭＣを染色し、生存可能なＣＤ４５Ｒ$^{+}$細胞の中のＴＣＲ$^{+}$細胞の数を計算することにより、決定した。＊ｐ＜０．０５、＊＊ｐ＜０．０１。
【図３－１】図３は、抗ＣＤ４５ＲＣモノクローナル抗体を使用した処置の後のＴ　ＣＤ８$^{+}$ＣＤ４５ＲＣ^{high}およびＣＤ４５ＲＣ$^{int/neg}$細胞の数を示す４つのグラフのセットである。マウスの抗ラットＣＤ４５ＲＣモノクローナル抗体の腹腔内注射を、２週齢から最大１２週齢まで受けた対照の同腹仔の野生型（ＷＴ）またはＤｍｄ^{mdx}（ＫＯ）のラットを屠殺した。筋肉および脾臓の単核細胞を単離し、高いレベルでＣＤ４５ＲＣを発現するか（ＣＤ４５ＲＣ^{high}）または中間／負のレベルＣＤ４５ＲＣを発現する（ＣＤ４５ＲＣ$^{int/neg}$）ＴＣＲ$^{+}$ＣＤ８$^{+}$細胞の存在について解析した。各ポイントは、単一の動物を表す。＊ｐ＜０．０５、＊＊＊ｐ＜０．００１。
【図３－２】同上。
【図４】図４は、抗ＣＤ４５ＲＣモノクローナル抗体での処置の後のＤｍｄ^{mdx}ラットにおける筋肉の強度を示すグラフである。野生型（ＷＴ）またはＤｍｄ^{mdx}（ＫＯ）のラットは、筋肉の強度が握力試験（ｇｒｉｐ　ｔｅｓｔ）を使用して解析される際に、２週齢から最大１２週齢まで、マウス抗ラットＣＤ４５ＲＣまたはプレドニゾロンの腹腔内注射を受けた。各ポイントは、単一の動物を表す。＊ｐ＜０．０５。
【図５】図５は、プレドニゾロンを使用した処置の後のＴのＣＤ８＋ＣＤ４５ＲＣ^{high}細胞およびＣＤ４５ＲＣ$^{int/neg}$細胞の数を示す４つのグラフのセットである。対照の同腹仔の野生型（ＷＴ）またはＤｍｄ^{mdx}（ＫＯ）のラットに、２週齢から１２週齢までプレドニゾロンの腹腔内注射を行った際に、屠殺した。筋肉および脾臓の単核細胞を単離し、高いレベルでＣＤ４５ＲＣを発現するか（ＣＤ４５ＲＣ^{high}）または中間／負のレベルでＣＤ４５ＲＣを発現する（ＣＤ４５ＲＣ$^{int/neg}$）ＴＣＲ$^{+}$ＣＤ８$^{+}$細胞の存在について解析した。各ポイントは、単一の動物を表す。＊ｐ＜０．０５。
【図６】図６は、プレドニゾロンまたは抗ＣＤ４５ＲＣモノクローナル抗体を使用した処置の間の野生型またはＤｍｄ^{mdx}のラットの体重を示す２つのグラフのセットである。対照の同腹仔の野生型（ＷＴ）またはＤｍｄ^{mdx}（ＫＯ）のラットは、２週齢から１２週齢までに、プレドニゾロンまたは抗ＣＤ４５ＲＣモノクローナル抗体（ＯＸ２２）の腹腔内注射を受けており、体重は、所定の時点で記録された。
【図７Ａ－Ｂ】図７は、抗ＣＤ４５ＲＣ　ｍＡｂで処置したＡｉｒｅ$^{-/-}$ラットにおける疾患の自己免疫の兆候の低減を示す写真およびグラフのセットである。Ａｉｒｅ$^{-/-}$ラットに、２週齢から最大２０週齢までに、マウス抗ラットＣＤ４５ＲＣ　ＭＡｂ（クローンＯＸ２２、１週間あたり２回、１．５ｍｇ／ｋｇ）の腹腔内注射を行った際に、これを屠殺した。（Ａ）アイソタイプ対照（上部右）または抗ＣＤ４５ＲＣ　ｍＡｂ（下部右）で処置した２０週齢のＡｉｒｅ$^{-/-}$ラットの視覚的態様を示す写真。（Ｂ）抗ＣＤ４５ＲＣ　ｍＡｂまたはアイソタイプ対照で処置したＡｉｒｅ$^{-/-}$ラット由来の胸腺の大きさを示す写真。（Ｃ）抗ＣＤ４５ＲＣ　ｍＡｂまたはアイソタイプ対照で処置したＡｉｒｅ$^{-/-}$の同腹仔のＳＰＤラットの体重を、出生から２０週間の間毎週測定した。結果は、生後２週目から開始して最初の体重の％として示されている（平均値３１．３ｇ）±ＳＥＭ（ｎ＝３）。
【図７Ｃ】同上。
【図８－１】図８は、抗ＣＤ４５ＲＣ　ｍＡｂの投与の後の脾臓および腸間膜リンパ節（ＭＬＮ）におけるＣＤ４５ＲＣ^{high}Ｔ細胞の効率的な枯渇を示すグラフのセットである。バイアビリティ色素およびｐａｎ抗白血球ＣＤ４５　ＭＡｂ（ＯＸ１）、ＣＤ３、Ｔ

ＣＲ、ＣＤ４、およびＣＤ４５ＲＣ　ＭＡｂで染色した、２週目から抗ＣＤ４５ＲＣもしくはアイソタイプ対照のＭａｂで処置したＡｉｒｅ－／－動物、または未処置のＷＴ動物の２０週齢でのＭＬＮおよび脾臓由来の単核細胞（ＣＤ４＋およびＣＤ８＋Ｔ細胞）の代表的なドットプロット解析。

【図８－２】同上。

【図８－３】同上。

【図９】図９は、抗ＣＤ４５ＲＣ　Ｍａｂ　ＯＸ２２で標識したラットのＣＤ８＋Ｔ細胞における異なるレベルのＣＤ４５ＲＣ発現（ＣＤ４５ＲＣ^{high}、ＣＤ４５ＲＣ^{int}およびＣＤ４５ＲＣ^{neg}）によるＣＤ８＋細胞の３つの集団を定義するグラフである。

【図１０】図１０は、Ａｉｒｅ－欠損ラットにおける血清自己抗体での抗ＣＤ４５ＲＣＭＡｂ処置の効果を示す２つのＳＤＳ－ＰＡＧＥゲルのセットである。Ａｉｒｅ－欠損ラットは、（Ａ）アイソタイプの対照のＭＡｂまたは（Ｂ）抗ＣＤ４５ＲＣ　ＭＡｂ（ＯＸ２２）を用いて、２～２０週齢まで、１週間あたり２回、１．５ｍｇ／ｋｇで処置した。銀染色。βアクチンを対照として使用した。

【図１１】図１１は、ヘマトキシリン（ｈｅｍａｔｏｘｉｌｉｎ）－エオシン－サフラン（ｓａｆｒａｎ）で染色した組織の切片（胸腺、膵臓、皮膚、腎臓）の８つの写真のセットであり、アイソタイプの抗体（左の写真）または抗ＣＤ４５ＲＣ抗体（右の写真）で処置したラットにおける組織構造およびリンパ球の浸潤を示している。白色の矢印は、抗ＣＤ４５ＲＣまたはアイソタイプで処置したレシピエントの間で異なる各臓器の主な領域を表す。

【実施例】

【０２２２】

実施例１～４に関する材料および方法

筋肉および脾臓の単一細胞懸濁物の調製

ＷＴまたはＤｍｄ^{dx}のラット由来の両後肢の筋肉を切除し、重量測定した。筋肉をすりつぶし、ＦＣＳ（２％）、１ｍＭのＥＤＴＡの存在下で、コラゲナーゼＤを有するｇｅｎｔｌｅ　ＭＡＣＳ　Ｃチューブに載置した。ｇｅｎｔｌｅ　ＭＡＣＳ粉砕装置（ｄｉｓｓｏｃｉａｔｏｒ）を２回それぞれ３０分間稼働し、各稼働の間に新規のコラゲナーゼを添加した。細胞を、３０ｍＬのＰＢＳ　ＦＣＳ（２％）、１ｍＭのＥＤＴＡに懸濁し、次に１５ｍＬのＨｙｓｔｏｐａｑｕｅに適用し、１０００ｇにて３０分間連続で遠心分離した。単核細胞をＨｙｓｔｏｐａｑｕｅおよびＰＢＳの界面から回収し、洗浄し、ＰＢＳ　ＦＣＳ（２％）、１ｍＭのＥＤＴＡに懸濁した。

【０２２３】

脾臓を回収し、ＰＢＳで灌流し、コラゲナーゼＤにより３７℃で１５分間消化させた。細胞を、ＰＢＳ　ＦＣＳ（２％）、１ｍＭのＥＤＴＡに懸濁し、単核細胞を上述のように回収した。

【０２２４】

フローサイトメトリー解析

単核細胞を、以下の抗原：ＣＤ４５（クローンＯＸ－１）、Ｔ－細胞受容体（ＴＣＲ；クローンＲ７／３）、ＣＤ４５ＲＣ（クローンＯＸ２２）、ＣＤ８（クローンＯＸ８）、およびＣＤ４（Ｗ３／２５）に対する抗体、ならびにバイアビリティ色素ｅＦｌｕｏｒ５０６またはｅＦｌｕｏｒ４５０（全てｅＢｉｏｓｃｉｅｎｃｅｓ製）を用いて染色した。解析は、ＦＡＣＳｕｉｔｅソフトウェアバージョン１．０．６を有するＢＤ　ＦＡＣＳＶｅｒｓｅで行った。取得後の解析は、ＦｌｏｗＪｏソフトウェアを用いて行った。

【０２２５】

抗ＣＤ４５ＲＣまたはプレドニゾロンでの処置

マウス抗ラットＣＤ４５ＲＣモノクローナル抗体（クローンＯＸ２２、２ｍｇ／ｋｇ、３．５日ごと）の腹腔内注射を、２週齢から最大１２週齢まで、野生型（ＷＴ）またはＤｍｄ^{dx}（ＫＯ）のラットに行った。

【０２２６】

プレドニゾロンを、２週齢から最大１２週齢まで、腹腔内注射（０．５ｍｇ／ｋｇ、１週間のうち５日間）により投与した。

【０２２７】

１２週齢で、処置したラットを、握力試験を使用して筋肉の強度に関して解析した。

【０２２８】

握力試験

ラットを、前肢で格子の上に載置させ、ラットが格子を握らなくなるまでゆっくりと後ろに引いた。力変換器に取り付けられた握力測定器（Ｂｉｏ－ＧＴ３、ＢＩＯＳＥＢ、Ｆｒａｎｃｅ）により、もたらされる力のピークを測定した。

【０２２９】

実施例１

Ｄｍｄ^{ｍｄｘ}ラットにおける白血球およびＴ細胞の総計の解析

Ｄｍｄ^{ｍｄｘ}ラットの筋肉および脾臓における白血球をフローサイトメトリーにより解析した（図１）。

【０２３０】

同腹仔のＷＴおよびＤｍｄ^{ｍｄｘ}のラットの筋肉における総白血球は、２週齢では同等であったが、４週齢では同等ではなくなり、Ｄｍｄ^{ｍｄｘ}ラットは、８週齢まで維持された顕著な増加を示した後、１２週目および１４週目に、同腹仔のＷＴラットの値よりは依然として有意に高いが、減少した。

【０２３１】

脾臓の白血球数は、解析したすべての時点で、ＷＴラットとＤｍｄ^{ｍｄｘ}ラットとの間で同等であった。

【０２３２】

同腹仔のＷＴラットおよびＤｍｄ^{ｍｄｘ}ラットにおける筋肉および脾臓におけるＴＣＲ$^{+}$細胞数の解析は、Ｄｍｄ^{ｍｄｘ}ラットの筋肉において、８週目および１６週目での増加傾向を伴い、４週齢および１２週齢の有意な増加を示した（図２）。

【０２３３】

脾臓におけるＴＣＲ$^{+}$細胞の数は、いずれの時点でもＷＴラットおよびＤｍｄ^{ｍｄｘ}ラットの間に差異を示さなかった。

【０２３４】

実施例２

抗ＣＤ４５ＲＣモノクローナル抗体での処置はＣＤ４５ＲＣ^{ｈｉｇｈ}Ｔ細胞を枯渇させる。

２週齢からマウス抗ラットＣＤ４５ＲＣモノクローナル抗体を投与することは、Ｄｍｄ^{ｍｄｘ}ラットの筋肉ならびに同腹仔のＷＴラットおよびＤｍｄ^{ｍｄｘ}ラットの脾臓において、１２週齢で解析されたＴ　ＣＤ８$^{+}$ＣＤ４５ＲＣ^{ｈｉｇｈ}細胞の部分的な枯渇をもたらした（図３）。

【０２３５】

全てのＣＤ８$^{+}$およびＣＤ４$^{+}$Ｔ$_{ｒｅｇ}$を含むＴ　ＣＤ８$^{+}$またはＣＤ４$^{+}$のＣＤ４５ＲＣ$^{ｉｎｔ／ｎｅｇ}$は、ＷＴラットでもＤｍｄ^{ｍｄｘ}ラットでも、脾臓または筋肉において修飾されていなかった（図３）。

【０２３６】

他の全ての主要な白血球集団（マクロファージ、Ｂ細胞、およびＮＫ細胞）は、変化していなかった（データ不図示）。

【０２３７】

実施例３

抗ＣＤ４５ＲＣモノクローナル抗体での処置は、Ｄｍｄ^{ｍｄｘ}ラットにおける筋肉の強度を改善する。

筋肉の機能が抗ＣＤ４５ＲＣモノクローナル抗体での処置により改善されたかどうかを試験するために、筋肉の強度を、２週齢での処置の開始の後、１２週齢のＷＴラットおよ

びＤｍｄ^{mdx}ラットの前肢の握力試験により解析した。

【０２３８】

前肢の握力の強度の有意な減少は、全身の筋肉の性能の全身的な変化を表した。Ｌａｒｃｈｅｒら（２０１４．　ＰＬｏＳ　Ｏｎｅ．　９（１０）：ｅ１１０３７１）により以前に記載されるように、同腹仔のＷＴと比較して３０％弱い力が、Ｄｍｄ^{mdx}ラットにより発揮された。

【０２３９】

抗ＣＤ４５ＲＣモノクローナル抗体の投与の後、Ｄｍｄ^{mdx}ラットｖｓ未処置のＤｍｄ^{mdx}ラットにおける筋肉の強度は、有意に増加し、同腹仔のＷＴ対照とは区別できなかった（図４）。

【０２４０】

実施例４

プレドニゾロンでの処置は、骨格筋の強度を改善した。

コルチコイドは、ＤＭＤ患者の標準的な処置である（Ａｌｍａｎ，　２００５．　Ｊ　Ｐｅｄｉａｔｒ　Ｏｒｔｈｏｐ．　２５（４）：５５４－６）ため、プレドニゾロンの作用を、Ｄｍｄ^{mdx}ラットの筋肉の強度において解析した。

【０２４１】

２週齢からプレドニゾロンを用いたＤｍｄ^{mdx}ラットの処置は、１２週にて、ＷＴまたは抗ＣＤ４５ＲＣで処置したラットの強度と同一のレベルまで、筋肉の強度を増大させた（図４）。

【０２４２】

興味深いことに、プレドニゾロンで処置したラットはまた、Ｄｍｄ^{mdx}ラットの筋肉および脾臓ならびにＷＴラットの脾臓において、ＣＤ８$^{+}$ＣＤ４５ＲＣ^{high}細胞の特異的な減少を示したが、ＣＤ８$^{+}$ＣＤ４５ＲＣ$^{int/neg}$細胞は維持されていた（図５）。

【０２４３】

同様に、ＣＤ４$^{+}$ＣＤ４５ＲＣ^{high}細胞は、Ｄｍｄ^{mdx}ラットの筋肉および脾臓ならびにＷＴラットの脾臓において数学的に減少したが、ＣＤ８$^{+}$ＣＤ４５ＲＣ$^{int/neg}$細胞は維持されていた（データ不図示）。

【０２４４】

プレドニゾロンで処置したＤｍｄ^{mdx}ラットは、動物の成長に重篤な低減を示し、対して抗ＣＤ４５ＲＣモノクローナル抗体で処置したラットは低減を示さなかった（図６）。

【０２４５】

実施例５

ＡＰＥＣＥＤ疾患の処置

材料および方法

細胞の単離

脾臓およびリンパ節を、コラゲナーゼＤにより、３７℃で３０分間消化させた。この反応を、０．０１ｍＭのＥＤＴＡを添加することにより停止した。

【０２４６】

また血液および骨髄由来の細胞を単離し、赤血球細胞を、溶解溶液（８，２９ｇのNH_4Cl、１ｇの$KHCO_3$、３７，２ｍｇのＥＤＴＡ　ｑｓｐ　１Ｌの脱イオン水（ｐＨ７．２～７．４））を使用して溶解した。

【０２４７】

抗体およびフローサイトメトリー

細胞の表現型を、ＴＣＲαβ（Ｒ７３）、ＣＤ２５（Ｏｘ３９）、ＣＤ４（Ｏｘ３５）、およびＣＤ４５（Ｏｘ１）に対するＢＤ　ｐｈａｒｍｉｇｅｎ製のモノクローナル抗体を使用して解析した。

【０２４８】

本発明者らのラボで生成されたＣＤ４５ＲＣ（Ｏｘ２２）およびＣＤ８（Ｏｘ８）に対するＡｂを使用した。

【０２４９】

抗体は、細胞を染色するために使用し、蛍光は、ＦＡＣＳＣａｎｔｏ ＩＩフローサイトメーター（ＢＤ Ｂｉｏｓｃｉｅｎｃｅ）で測定し、ＦｌｏｗＪｏソフトウェアは、データを解析するために使用した。最初に細胞を、それらの形態に関してゲーティングし、次に死細胞を、固定可能なバイアビリティ色素ｅｆｌｕｏｒ ５０６（Ｅｂｉｏｓｃｉｅｎｃｅ）で染色することにより除外した。

【０２５０】

抗ＣＤ４５ＲＣまたはアイソタイプ対照での処置

２週齢～最大２０週齢まで、Ａｉｒｅ$^{-/-}$（ＫＯ）ラットに、マウス抗ラットＣＤ４５ＲＣモノクローナル抗体（クローンＯＸ２２、１．５ｍｇ／ｋｇ、３．５日ごと）の腹腔内注射を行った際に、この動物を屠殺した。同様に、アイソタイプ対照を投与した。処置の開始から屠殺する日まで、週に２回ラットの体重を計測した。２０週齢時に、処置したラットを屠殺し、解析した。

【０２５１】

自己抗体の検出

２０週齢で、抗ＣＤ４５ＲＣで処置するかまたはアイソタイプ対照で処置したＡｉｒｅ－欠損ラット由来の血清を、Ｉｌ２ｒｇ－欠損ラット（Ｉｌ２ｒｇ：インターロイキン２受容体サブユニットγ）由来であり、よって内在性のイムノグロブリンを含まない異なる臓器（脾臓、結腸、腎臓、眼、肺、精巣、腸間膜リンパ節（ＭＬＮ）、および回腸）由来のライセートがあらかじめ電気泳動された膜と共にインキュベートした。ラットの自己抗体の結合を、抗ラットイムノグロブリン抗体を使用するかまたはペルオキシダーゼに結合した抗βアクチン抗体を用いて、明らかにした。

【０２５２】

組織化学

抗ＣＤ４５ＲＣで処置するかまたはアイソタイプ対照で処置したＡｉｒｅ－欠損ラット由来の臓器を、２０週齢で回収した。組織の切片（胸腺、膵臓、皮膚、腎臓）を調製し、ヘマトキシリン（ｈｅｍａｔｏｘｉｌｉｎ）－エオシン－サフラン（ｓａｆｒａｎ）で染色した。

【０２５３】

結果

本発明者らは、１００％のＡｉｒｅ－欠損ラットが、アイソタイプ対照で処置した動物において脱毛症および皮膚色素脱失を自然発症したことを観察した（図７Ａ、上部右）。これは、重篤な自己免疫疾患と相関しており、ＡＰＥＣＥＤ患者で通常見出される臨床症状である兆候である。

【０２５４】

対照的に、抗ＣＤ４５ＲＣ ｍＡｂで処置したＡｉｒｅ－欠損ラットは、脱毛症および皮膚色素脱失を発症せず（図７Ａ、右下）、大きな胸腺の大きさ（図７Ｂ）および正常な体重（図７Ｃ）を有しており、これは、正常な成長、保存された胸腺構造を表し、つまるところ自己免疫疾患の減少を表した。

【０２５５】

２週齢からのマウス抗ラットＣＤ４５ＲＣモノクローナル抗体の投与は、アイソタイプＡｉｒｅ－／－ラットにおいて、対照で処置したラットおよび未処置のＷＴラットと比較して、脾臓およびリンパ節の両方でのＴのＣＤ８$^{+}$およびＣＤ４$^{+}$ＣＤ４５ＲＣ^{high}細胞の強力な枯渇をもたらした（図８）。

【０２５６】

他の主要な白血球集団（マクロファージ、Ｂ細胞、およびＮＫ細胞）の数は、変化しなかった（データ不図示）。

【０２５７】

また、組織抗原を対象とする自己抗体の解析を、組織のホモジネートおよび血清のウェスタンブロットにより評価した。

【０２５８】

抗ラットＣＤ４５ＲＣモノクローナル抗体での処置の非存在下では、自己抗体の存在を表す、多くのバンドが異なる臓器で検出された（図１０Ａ）。

【０２５９】

対照的に、抗ラットＣＤ４５ＲＣモノクローナル抗体での処置は、バンドの数を減少させ、よって自己抗体の数を減少させた（図１０Ｂ）。

【０２６０】

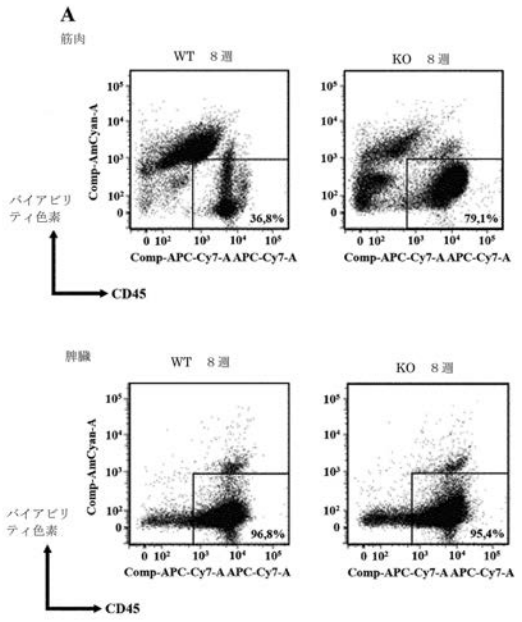
処置の２０週目では、処置の非存在下では、組織構造が破壊され、リンパ球の浸潤が多くの臓器で存在していたが、抗ラットＣＤ４５ＲＣモノクローナル抗体での処置は、組織の完全性を回復させ、リンパ球の浸潤を低減した（図１１）。

【０２６１】

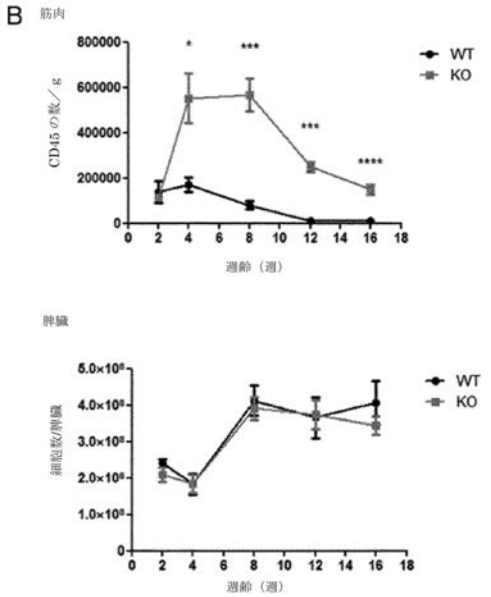
結論

まとめると、本明細書中上記の実施例１～５に提示したデータは、抗ＣＤ４５ＲＣ抗体の使用を介して、特定の単一遺伝子疾患に通常関連する炎症および自己免疫反応を抑制しないまでも低減させる明らかな例証を提供する。Ｔ応答の増大だけでなく、自己抗体の産生を介したＢ細胞が介在する応答が増大する最終的な結果を伴うＴ$_{eff}$およびＴ$_{reg}$の間の不均衡は、嚢胞性線維症、ライソゾーム病、α１－アンチトリプシン欠損症、ＩＰＥＸ、Ｂ細胞の原発性免疫不全、Ｍｕｃｋｌｅ－Ｗｅｌｌｓ症候群、混合型自己炎症性および自己免疫性症候群、ＮＬＲＰ１２関連の遺伝性周期性発熱症候群、および腫瘍壊死因子受容体１関連周期性症候群などの他の単一遺伝子疾患に関与している。

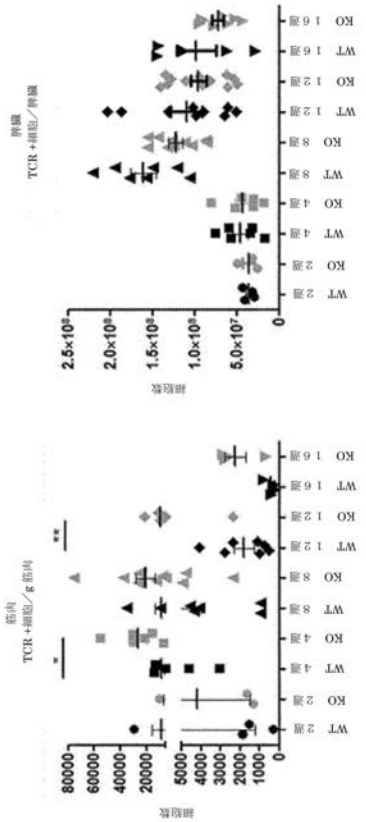
【図１Ａ】



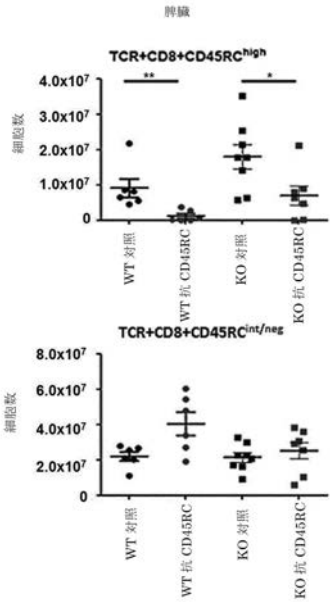
【図１Ｂ】



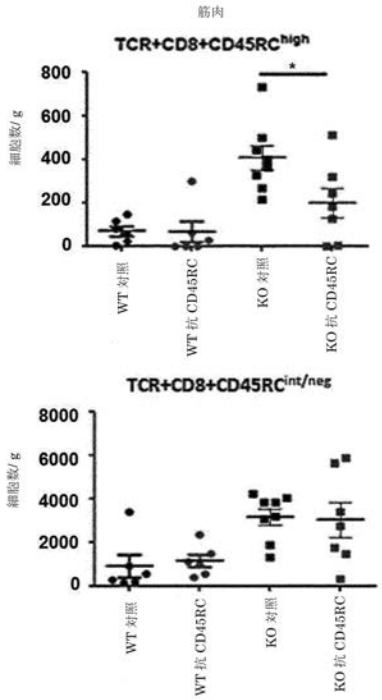
【図２】


脾臓
TCR+細胞／脾臓
細胞数
筋肉
TCR+細胞／g筋肉
細胞数
WT 2週
KO 2週
WT 4週
KO 4週
WT 8週
KO 8週
WT 12週
KO 12週
WT 16週
KO 16週

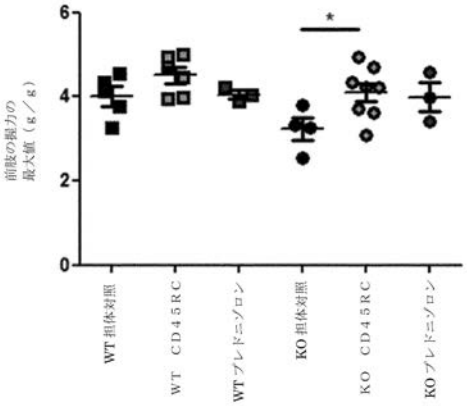
【図３－１】


脾臓
TCR+CD8+CD45RC^high
細胞数
TCR+CD8+CD45RC^int/neg
細胞数
WT 対照
WT 抗 CD45RC
KO 対照
KO 抗 CD45RC

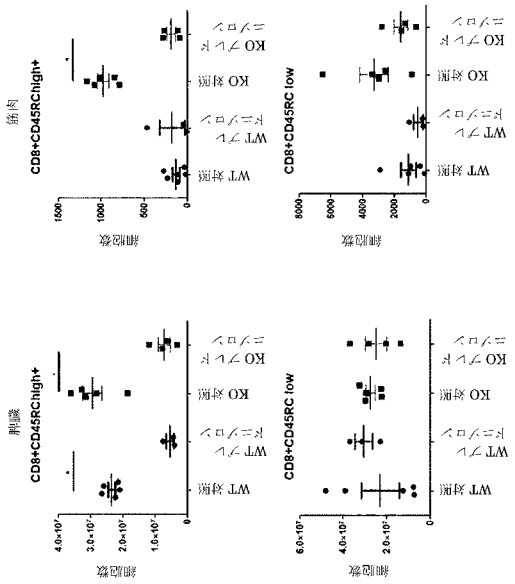
【図３－２】


筋肉
TCR+CD8+CD45RC^high
細胞数/ g
TCR+CD8+CD45RC^int/neg
細胞数/ g
WT 対照
WT 抗 CD45RC
KO 対照
KO 抗 CD45RC

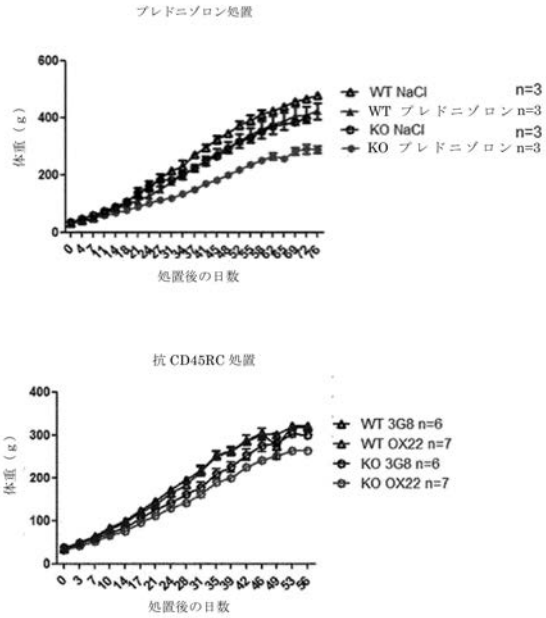
【図４】


前腹の握力の
最大値（g／g）
WT 担体対照
WT CD45RC
WT プレドニゾロン
KO 担体対照
KO CD45RC
KO プレドニゾロン

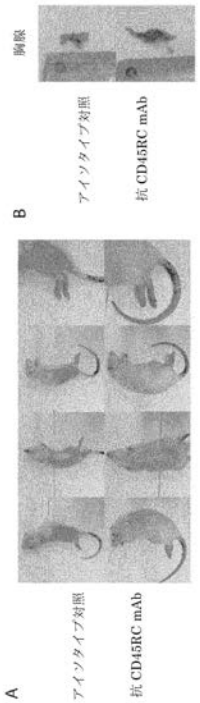
【図５】



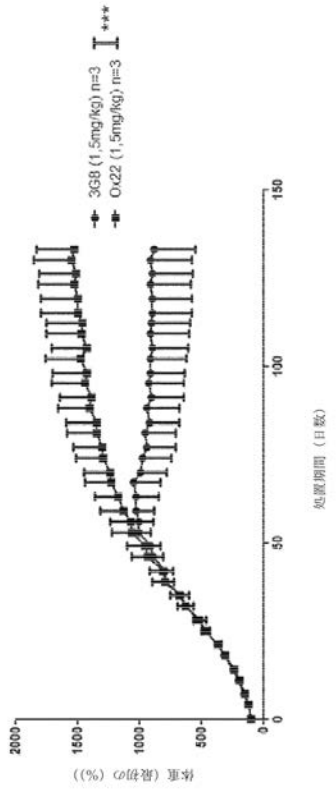
【図６】



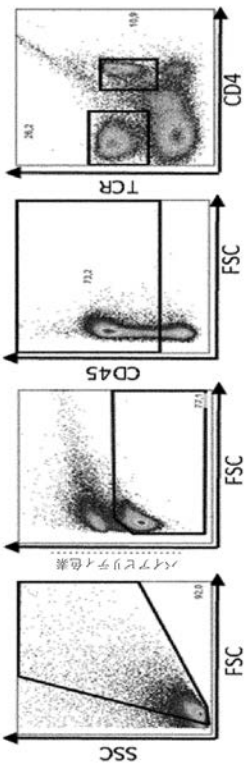
【図７Ａ－Ｂ】



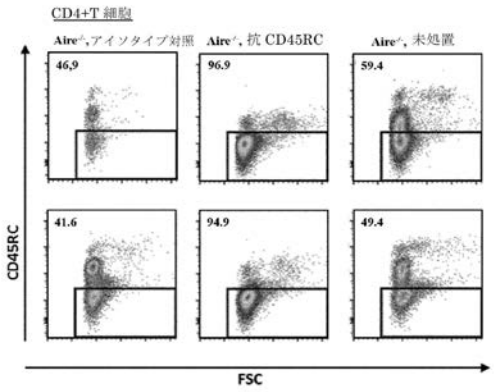
【図７Ｃ】



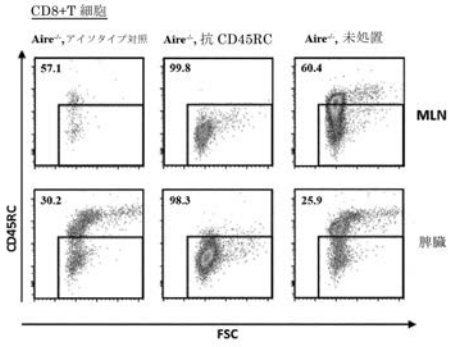
【図８－１】



【図８－２】



【図８－３】



【図９】

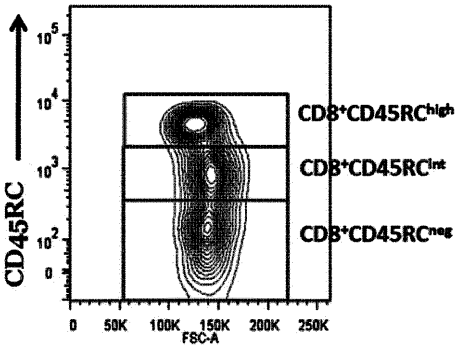
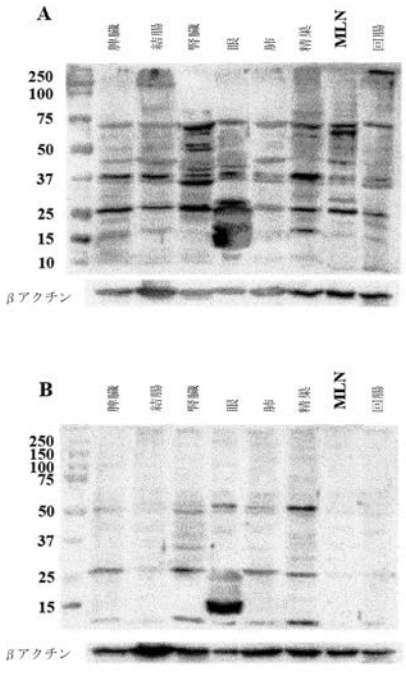
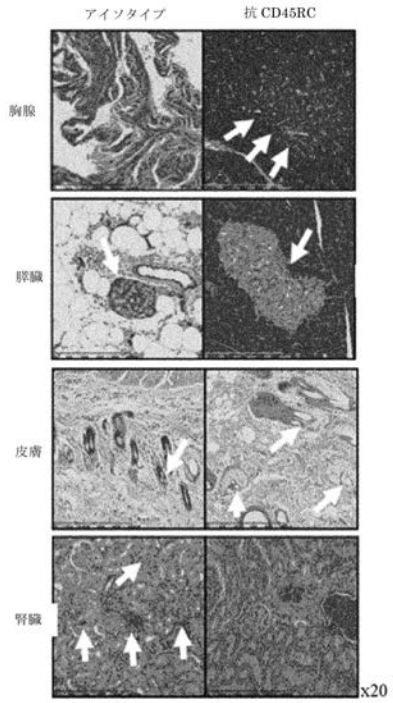


FIG. 9

【図１０】



【図１１】



【手続補正書】
【提出日】令和2年10月19日(2020.10.19)
【手続補正１】
【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】
2021506778000001.app

【国際調査報告】

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No
PCT/EP2018/085016

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER
INV. A61K39/395 C07K16/28 A61P21/00 A61P37/00
ADD.

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)
C07K A61K A61P

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)
EPO-Internal, BIOSIS, Sequence Search, EMBASE

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	GUIRAUD SIMON ET AL: "Pharmacological advances for treatment in Duchenne muscular dystrophy", CURRENT OPINION IN PHARMACOLOGY, ELSEVIER SCIENCE PUBLISHERS, NL, vol. 34, 6 May 2017 (2017-05-06), pages 36-48, XP085290995, ISSN: 1471-4892, DOI: 10.1016/J.COPH.2017.04.002 table 2 ----- -/--	1-14

[X] Further documents are listed in the continuation of Box C. [X] 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	Date of mailing of the international search report
22 February 2019	07/03/2019

Name and mailing address of the ISA/	Authorized officer
European Patent Office, P.B. 5818 Patentlaan 2 NL - 2280 HV Rijswijk Tel. (+31-70) 340-2040, Fax: (+31-70) 340-3016	Fleitmann, J

1

Form PCT/ISA/210 (second sheet) (April 2005)

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No
PCT/EP2018/085016

C(Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	Ruojie He ET AL: "Immune-mediated Mechanisms and Immunotherapy of Duchenne Muscular Dystrophy", Journal of Musculoskeletal Disorders and Treatment, 1 March 2016 (2016-03-01), pages 1-6, XP055451162, DOI: 10.23937/2572-3243.1510007 Retrieved from the Internet: URL:https://clinmedjournals.org/articles/jmdt/journal-of-musculoskeletal-disorders-and-treatment-jmdt-2-007.pdf page 2, left-hand column, paragraph 2 -----	1-5
X	US 2017/226209 A1 (GUILLONNEAU CAROLE [FR] ET AL) 10 August 2017 (2017-08-10) claims 9-11 -----	1-14
A	DONGSHENG DUAN: "Dystrophin Gene Replacement and Gene Repair Therapy for Duchenne Muscular Dystrophy in 2016: An Interview", HUMAN GENE THERAPY CLINICAL DEVELOPMENT, vol. 27, no. 1, 1 March 2016 (2016-03-01), pages 9-18, XP055451786, ISSN: 2324-8637, DOI: 10.1089/humc.2016.001 abstract -----	1-14

1

Form PCT/ISA/210 (continuation of second sheet) (April 2005)

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

International application No
PCT/EP2018/085016

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member(s)	Publication date
US 2017226209 A1	10-08-2017	EP 3174902 A1	07-06-2017
		JP 2017527541 A	21-09-2017
		US 2017226209 A1	10-08-2017
		WO 2016016442 A1	04-02-2016

Form PCT/ISA/210 (patent family annex) (April 2005)

フロントページの続き

(51)Int.Cl.		FI			テーマコード（参考）
Ａ６１Ｐ 29/00	***(2006.01)***	Ａ６１Ｐ	37/02		４Ｃ０８５
Ａ６１Ｐ 43/00	***(2006.01)***	Ａ６１Ｐ	29/00		４Ｃ０８６
Ａ６１Ｋ 48/00	***(2006.01)***	Ａ６１Ｐ	43/00	１０７	４Ｃ０９１
Ａ６１Ｋ 31/436	***(2006.01)***	Ａ６１Ｐ	43/00	１１１	４Ｃ２０４
Ａ６１Ｋ 31/52	***(2006.01)***	Ａ６１Ｋ	48/00		４Ｈ０４５
Ａ６１Ｋ 31/42	***(2006.01)***	Ａ６１Ｐ	43/00	１２１	
Ａ６１Ｋ 31/519	***(2006.01)***	Ａ６１Ｋ	31/436		
Ａ６１Ｋ 31/365	***(2006.01)***	Ａ６１Ｋ	31/52		
Ａ６１Ｋ 31/454	***(2006.01)***	Ａ６１Ｋ	31/42		
Ａ６１Ｋ 31/4035	***(2006.01)***	Ａ６１Ｋ	31/519		
Ａ６１Ｋ 31/573	***(2006.01)***	Ａ６１Ｋ	31/365		
Ｃ０７Ｄ 498/18	*(2006.01)*	Ａ６１Ｋ	31/454		
Ｃ０７Ｄ 473/38	*(2006.01)*	Ａ６１Ｋ	31/4035		
Ｃ０７Ｄ 261/18	*(2006.01)*	Ａ６１Ｋ	31/573		
Ｃ０７Ｄ 475/08	*(2006.01)*	Ｃ０７Ｄ	498/18		
Ｃ０７Ｄ 307/88	*(2006.01)*	Ｃ０７Ｄ	473/38		
Ｃ０７Ｄ 401/04	*(2006.01)*	Ｃ０７Ｄ	261/18		
Ｃ０７Ｄ 209/48	*(2006.01)*	Ｃ０７Ｄ	475/08		
Ｃ０７Ｊ 5/00	*(2006.01)*	Ｃ０７Ｄ	307/88		
		Ｃ０７Ｄ	401/04		
		Ｃ０７Ｄ	209/48		
		Ｃ０７Ｊ	5/00		

(81)指定国・地域　AP(BW,GH,GM,KE,LR,LS,MW,MZ,NA,RW,SD,SL,ST,SZ,TZ,UG,ZM,ZW),EA(AM,AZ,BY,KG,KZ,RU,TJ,TM),EP(AL,AT,BE,BG,CH,CY,CZ,DE,DK,EE,ES,FI,FR,GB,GR,HR,HU,IE,IS,IT,LT,LU,LV,MC,MK,MT,NL,NO,PL,PT,RO,RS,SE,SI,SK,SM,TR),OA(BF,BJ,CF,CG,CI,CM,GA,GN,GQ,GW,KM,ML,MR,NE,SN,TD,TG),AE,AG,AL,AM,AO,AT,AU,AZ,BA,BB,BG,BH,BN,BR,BW,BY,BZ,CA,CH,CL,CN,CO,CR,CU,CZ,DE,DJ,DK,DM,DO,DZ,EC,EE,EG,ES,FI,GB,GD,GE,GH,GM,GT,HN,HR,HU,ID,IL,IN,IR,IS,JO,JP,KE,KG,KH,KN,KP,KR,KW,KZ,LA,LC,LK,LR,LS,LU,LY,MA,MD,ME,MG,MK,MN,MW,MX,MY,MZ,NA,NG,NI,NO,NZ,OM,PA,PE,PG,PH,PL,PT,QA,RO,RS,RU,RW,SA,SC,SD,SE,SG,SK,SL,SM,ST,SV,SY,TH,TJ,TM,TN,TR,TT

(71)出願人　519134337
ユニバーシテ　デ　ナンテス
フランス国，４４０００　ナンテス，１　クアイ　デ　トゥアヴィレ
(74)代理人　100114775
弁理士　高岡　亮一
(74)代理人　100121511
弁理士　小田　直
(74)代理人　100202751
弁理士　岩堀　明代
(74)代理人　100208580
弁理士　三好　玲奈
(74)代理人　100191086
弁理士　高橋　香元
(72)発明者　ギロノー，キャロル
フランス国，４４１１８　ラ　シュヴロリエール，２２　ル　デュ　マレ
(72)発明者　アネゴン，イグナシオ

フランス国，４４０００　ナント，２エー　ル　デュ　メイン

Ｆターム(参考) 4C037 RA01
4C056 AA01 AB01 AC01 AD01 AE03 FA03 FB18 FC01
4C063 AA01 BB02 CC11 DD07 EE01
4C072 AA03 BB03 CC01 CC12 DD07 EE09 FF15 GG07 HH01 UU01
4C084 AA13 MA02 NA05 NA14 ZA94 ZB07 ZB11 ZB22 ZC41 ZC75
4C085 AA13 AA14 EE01 EE03
4C086 AA01 AA02 BA17 BC11 BC22 BC67 CB07 CB09 CB22 DA10
GA07 GA12 MA02 MA04 MA07 NA05 ZA94 ZB07 ZB11 ZB22
ZC41 ZC75
4C091 AA01 BB03 BB05 CC01 DD01 EE07 FF01 GG01 HH03 JJ03
KK12 LL01 MM03 NN04 PA03 PA05 PA09 PB02 QQ01
4C204 BB01 CB04 DB30 EB03 FB15 GB32
4H045 AA11 AA30 BA10 BA50 BA72 CA40 DA50 DA75 DA76 EA20
FA10 FA71 FA74