

(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2006-528627**(P2006-528627A)**

(43) 公表日 平成18年12月21日(2006. 12. 21)

(51) Int. Cl.	F I	テーマコード (参考)
A 6 1 K 35/12 (2006. 01)	A 6 1 K 35/12	4 C O 8 5
A 6 1 K 39/395 (2006. 01)	A 6 1 K 39/395 D	4 C O 8 7
A 6 1 P 43/00 (2006. 01)	A 6 1 P 43/00 1 2 1	
A 6 1 P 35/00 (2006. 01)	A 6 1 K 39/395 N	
A 6 1 P 31/00 (2006. 01)	A 6 1 P 35/00	
審査請求 未請求 予備審査請求 未請求 (全 25 頁) 最終頁に続く		

(21) 出願番号	特願2006-520939 (P2006-520939)	(71) 出願人	506027099
(86) (22) 出願日	平成16年7月23日 (2004. 7. 23)		ユニヴェルシタ・デッリ・ストゥーディ・
(85) 翻訳文提出日	平成18年3月24日 (2006. 3. 24)		ディ・ペルージャ
(86) 国際出願番号	PCT/IB2004/002637		UNIVERSITA DEGLI ST
(87) 国際公開番号	W02005/009466		UDI DI PERUGIA
(87) 国際公開日	平成17年2月3日 (2005. 2. 3)		イタリア、イー・O 6 1 0 0ペルージャ、ピ
(31) 優先権主張番号	60/489, 509		アツァ・ユニヴェルシタ・エンネ1番
(32) 優先日	平成15年7月24日 (2003. 7. 24)	(74) 代理人	100081422
(33) 優先権主張国	米国 (US)		弁理士 田中 光雄
		(74) 代理人	100116311
			弁理士 元山 忠行
		(74) 代理人	100122301
			弁理士 富田 憲史
最終頁に続く			

(54) 【発明の名称】 アロ反応性ナチュラルキラー細胞を使用する治療用抗体の有効性を増加するための方法および組成物

(57) 【要約】

本発明は、一般に、治療用抗体の有効性を増加するための方法および組成物に関する。それらの有効性は、A D C C 機構の増加によって増強される。より詳細には、本発明は、ヒト対象において治療用抗体による処置の有効性を増強するための、アロ反応性ナチュラルキラー細胞との組み合わせにおける治療用抗体の使用に関する。

【特許請求の範囲】**【請求項 1】**

処置を要するヒト対象における疾患の処置の方法であって、

- a) 前記対象にアロ反応性ナチュラルキラー細胞を投与すること；次いで
 - b) 前記対象に C D 1 6 により結合され得る治療用抗体を投与すること、
- を含んでなる、方法。

【請求項 2】

前記治療用抗体がヒトまたは非ヒト霊長類 I g G 1 もしくは I g G 3 F c 部分を有する、請求項 1 に記載の方法。

【請求項 3】

前記治療用抗体がモノクローナル抗体またはそのフラグメントである、請求項 2 に記載の方法。

【請求項 4】

前記治療用抗体がキメラ、ヒト化、もしくはヒト抗体またはそのフラグメントである、請求項 2 または 3 に記載の方法。

【請求項 5】

前記治療用抗体がリツキシマブである、請求項 4 に記載の方法。

【請求項 6】

前記アロ反応性ナチュラルキラー細胞がアロ反応性ドナー対レシピエントナチュラルキラー細胞の少なくとも 5 % を含んでなる、請求項 1 ~ 5 のいずれか 1 項に記載の方法。

【請求項 7】

前記アロ反応性ナチュラルキラー細胞がアロ反応性ドナー対レシピエントナチュラルキラー細胞の少なくとも 3 0 % を含んでなる、請求項 6 に記載の方法。

【請求項 8】

前記アロ反応性ナチュラルキラー細胞がアロ反応性ドナー対レシピエントナチュラルキラー細胞の少なくとも 5 0 % を含んでなる、請求項 7 に記載の方法。

【請求項 9】

前記アロ反応性ナチュラルキラー細胞がアロ反応性ドナー対レシピエントナチュラルキラー細胞の少なくとも 9 0 % を含んでなる、請求項 8 に記載の方法。

【請求項 1 0】

前記治療用抗体および前記アロ反応性ナチュラルキラー細胞が前記対象に同時に投与される、請求項 1 ~ 9 のいずれか 1 項に記載の方法。

【請求項 1 1】

前記治療用抗体が前記アロ反応性ナチュラルキラー細胞の前に前記対象に投与される、請求項 1 ~ 9 のいずれか 1 項に記載の方法。

【請求項 1 2】

前記疾患が癌、感染性または免疫疾患である、請求項 1 に記載の方法。

【請求項 1 3】

C D 1 6 によって結合され得る治療用抗体、およびアロ反応性ナチュラルキラー細胞を含んでなる医薬組成物。

【請求項 1 4】

前記治療用抗体がヒトまたは非ヒト霊長類 I g G 1 もしくは I g G 3 F c 部分を有する、請求項 1 3 に記載の組成物。

【請求項 1 5】

前記治療抗体がモノクローナル抗体またはそのフラグメントである、請求項 1 4 に記載の組成物。

【請求項 1 6】

前記治療用抗体がヒト、ヒト化、もしくはキメラ抗体またはそのフラグメントである、請求項 1 4 または 1 5 に記載の組成物。

【請求項 1 7】

10

20

30

40

50

前記治療用抗体がリツキシマブである、請求項 16 に記載の組成物。

【請求項 18】

前記アロ反応性ナチュラルキラー細胞がアロ反応性ドナー対レシピエントナチュラルキラー細胞の少なくとも 5 % を含んでなる、請求項 13 ~ 17 のいずれか 1 項に記載の組成物。

【請求項 19】

前記活性アロ反応性ナチュラルキラー細胞がアロ反応性ドナー対レシピエントナチュラルキラー細胞の少なくとも 30 % を含んでなる、請求項 18 に記載の組成物。

【請求項 20】

前記活性アロ反応性ナチュラルキラー細胞がアロ反応性ドナー対レシピエントナチュラルキラー細胞の少なくとも 50 % を含んでなる、請求項 19 に記載の組成物。 10

【請求項 21】

前記活性アロ反応性ナチュラルキラー細胞がアロ反応性ドナー対レシピエントナチュラルキラー細胞の少なくとも 90 % を含んでなる、請求項 20 に記載の組成物。

【請求項 22】

治療用抗体処置を受ける対象の A D C C を増加させる方法であって、前記抗体が C D 16 によって結合され得るものであり、前記治療用抗体の投与の前、同時または後に、A D C C を増加するのに十分な量のアロ反応性ナチュラルキラー細胞を前記対象を投与することを含んでなる、方法。

【請求項 23】

対象における治療用抗体処置の有効性を増加する方法であって、前記抗体が C D 16 に結合することが可能なものであり、前記治療用抗体の投与の前、同時または後に、前記治療用抗体の有効性を増加するのに十分な量のアロ反応性ナチュラルキラー細胞を前記対象に投与することを含んでなる、方法。 20

【請求項 24】

前記治療用抗体がヒトまたは非ヒト霊長類 I g G 1 もしくは I g G 3 F c 部分を有する、請求項 22 または 23 に記載の方法。

【請求項 25】

前記治療抗体がモノクローナル抗体またはそのフラグメントである、請求項 24 に記載の方法。 30

【請求項 26】

前記治療用抗体がヒト、ヒト化、もしくはキメラ抗体またはそのフラグメントである、請求項 24 または 25 に記載の方法。

【請求項 27】

前記治療用抗体がリツキシマブである、請求項 26 に記載の方法。

【請求項 28】

前記アロ反応性ナチュラルキラー細胞がアロ反応性ドナー対レシピエントナチュラルキラー細胞の少なくとも 5 % を含んでなる、請求項 22 ~ 27 のいずれか 1 項に記載の方法。

【請求項 29】

前記アロ反応性ナチュラルキラー細胞がアロ反応性ドナー対レシピエントナチュラルキラー細胞の少なくとも 30 % を含んでなる、請求項 28 に記載の方法。 40

【請求項 30】

前記アロ反応性ナチュラルキラー細胞がアロ反応性ドナー対レシピエントナチュラルキラー細胞の少なくとも 50 % を含んでなる、請求項 29 に記載の方法。

【請求項 31】

前記アロ反応性ナチュラルキラー細胞がアロ反応性ドナー対レシピエントナチュラルキラー細胞の少なくとも 90 % を含んでなる、請求項 30 に記載の方法。

【請求項 32】

前記治療用抗体および前記アロ反応性ナチュラルキラー細胞が前記対象に同時に投与さ 50

れる、請求項 22 ~ 31 のいずれか 1 項に記載の方法。

【請求項 33】

前記治療用抗体が前記アロ反応性ナチュラルキラー細胞の前に前記対象に投与される、請求項 22 ~ 31 のいずれか 1 項に記載の方法。

【発明の詳細な説明】

【発明の詳細な説明】

【0001】

発明の分野

本発明は、一般に、治療用抗体の有効性を増加するための方法および組成物に関する。10
より詳細には、本発明は、ヒト対象において、特に、ADCC 機構の増加を介して、処置の有効性を増強するために、アロ反応性ナチュラルキラー細胞との組み合わせにおける治療用抗体の使用に関する。

【0002】

発明の背景

ヒトにおける多様な治療戦略が治療用抗体の使用に基づいている。このことは、例えば、標的細胞、特に、ウイルス感染細胞などの疾患細胞、腫瘍細胞または他の病原性細胞を枯渇するために開発された治療用抗体の使用を含む。そのような抗体は、典型的に、ヒト IgG1 または IgG3 Fc 部分を典型的に伴う IgG 種のモノクローナル抗体である。これらの抗体は、生来のまたは組換え抗体、ヒト化マウス抗体（即ち、多様な20種、典型的に、ヒトまたは非ヒト霊長類起源の Fc 部分、およびマウス起源の可変領域または相補性決定領域（CDR）由来の機能的ドメインを含んでなる）であり得る。あるいは、モノクローナル抗体は、ヒト Ig 遺伝子座トランスジェニックマウスにおける免疫化を介する完全なヒト起源であるか、またはヒト細胞から誘導される cDNA ライブラリーを介して得ることができる。そのような治療用抗体の特定の例は、CD20 特異性を付与するマウス可変ドメインに連結されるヒト1および定常領域（従って、ヒト IgG1 Fc 部分を伴う）で作製されるキメラ抗 CD20 モノクローナル抗体であるリツキシマブ（Mab ther a（登録商標）、Rit ux an（登録商標））である。過去数年間で、リツキシマブは、Bリンパ球増殖性悪性疾患、特に、非ホジキンリンパ腫（NHL）に対する治療戦略を相当に改変している。ヒト化 IgG1 抗体の他の例として、B30細胞性悪性腫瘍の処置に使用されるアレムツズマブ（Campath-1H（登録商標））、または乳癌の処置に使用されるトラスツズマブ（Herceptin（登録商標））が挙げられる。開発中にある治療用抗体のさらなる例については当該分野において開示されている。

【0003】

治療用抗体の作用機序についてはなお議論の段階にある。抗体の注入により、抗体によって特異的に認識される抗原を有する細胞の枯渇がもたらされる。この枯渇は、少なくとも3つの機序：抗体仲介性細胞性細胞障害（ADCC）、補体依存性溶解、および抗体によって標的化される抗原を介して与えられるシグナルによる腫瘍増殖の直接的抗腫瘍阻害を介して仲介され得る。40

【0004】

これらの抗体はヒトへの治療に対する新規の有効なアプローチを提示する一方、特に、腫瘍の処置では、それらは、常に強力な効力を示すわけではない。例えば、リツキシマブは、単独または化学療法との併用で、低～中および高度 NHL の両方の処置において効果的であることが示されたが、低度 NHL を伴う 30% ~ 50% の患者では、リツキシマブに対する臨床応答が認められない。リンパ腫細胞上における CD20 発現のレベル、処置時における高腫瘍負荷量の存在または低血清リツキシマブ濃度は、いくつかの患者においてリツキシマブの効力を欠くことを説明することが示唆されている。それにもかかわらず、処置の実際の原因は概して不明のままである。従って、当該分野において治療用抗体の有効性を増加する必要性がある。50

【 0 0 0 5 】

発明の概要

本発明は、治療用抗体の効力を増強するための新規のアプローチを開示する。これらのアプローチは、治療用抗体が注入される場合のインピボでのADCC機構の増加に基づく。好ましくは、ADCC機構の増加が、アロ反応性ナチュラルキラー（NK）細胞の投与によって達成される。

【 0 0 0 6 】

より具体的には、本発明は、アロ反応性ヒトNK細胞が治療用抗体またはそのフラグメントと共に対象に同時投与される対象の処置の方法を開示する。ヒト対象において本発明者らが実証するように、アロ反応性NK細胞自家移植NK細胞と比較して、かなり強力なADCC活性を示す。アロ反応性とは、NK細胞が宿主のHLAと適合するKIR阻害型受容体を示さないことを意味する。本発明者らは、治療用抗体の有効性が、選択されたアロ反応性NKの同時注入によって顕著に増強され得ることをここに実証する。

10

【 0 0 0 7 】

本発明は、治療用抗体またはそのフラグメントおよびアロ反応性ヒトナチュラルキラー細胞を含んでなる医薬組成物に関する。本発明はまた、治療用抗体またはそのフラグメントおよびアロ反応性ヒトナチュラルキラー細胞を含んでなるキットに関する。

【 0 0 0 8 】

本発明は、治療用抗体による処置の有効性を増加するか、または治療用抗体またはそのフラグメントによる処置を受ける対象においてADCCを増加するためのアロ反応性NK細胞の使用に関する。

20

【 0 0 0 9 】

本発明はまた、疾患を処置するための薬物の調製のためのアロ反応性ナチュラルキラー細胞および治療用抗体またはそのフラグメントの使用に関する。より詳細には、疾患の処置には、標的化された細胞、好ましくは、ウイルス感染細胞などの疾患細胞、腫瘍細胞または同種免疫担当細胞を含む他の病原性細胞の枯渇が必要である。好ましくは、疾患は、癌、感染性または免疫疾患である。より好ましくは、疾患は、癌、自己免疫疾患、炎症性疾患、ウイルス性疾患よりなる群から選択される。疾患はまた、移植片拒絶、より詳細には、同種移植片拒絶、および移植片対宿主病（GVHD）に関する。

【 0 0 1 0 】

本発明はまた、治療用抗体、例えば、CD16によって結合される抗体の用量を減少するための方法に関する。例えば、治療用抗体およびアロ反応性ナチュラルキラー細胞の同時投与は、より低用量の治療用抗体を使用することを可能にする。治療用抗体は、これに関して、化合物の非存在下で推奨される用量より20%、30%、40%、50%、60%、70%、80%、90%、もしくはそれより低い用量で使用する事ができる。

30

【 0 0 1 1 】

さらに、本発明は、治療用抗体、例えば、CD16により結合される抗体の治療上有効な減少された用量を決定するための方法を提供し、該方法は、i) 第1の濃度の治療用抗体を、標的細胞およびNK細胞と共に、アロ反応性ナチュラルキラー細胞の非存在下で同時インキュベートすること；ii) 第2のより低い濃度の治療用抗体を、標的細胞、NK細胞と共に、かつアロ反応性ナチュラルキラー細胞の存在下で同時インキュベートすること；iii) 工程ii)において観察される標的細胞の枯渇が工程i)において観察される枯渇と同程度に大きいかどうかを決定することを含んでなる。工程ii)が工程i)と同様に有効であることが観察される場合、所定の患者における使用、例えば、患者の特定の要件に依存して、標的細胞の枯渇、低減された用量の治療用抗体、または低減された用量のアロ反応性ナチュラルキラー細胞を最大化するのに適切である異なる条件を同定するために、アロ反応性ナチュラルキラー細胞および治療用抗体の相対濃度を変動し、枯渇を観察することができる。

40

【 0 0 1 2 】

特定の態様では、本発明は、処置を要する対象の処置の方法に関し、以下を含んでなる

50

:

- a) 前記対象にアロ反応性ナチュラルキラー細胞を投与すること；および
- b) 前記対象に治療用抗体を投与すること。

【0013】

前記治療用抗体は、免疫複合体を形成することが可能である。好ましくは、前記治療用抗体は、NK細胞上のCD16受容体により、好ましくは、そのFc領域を介して結合され得る。好適な実施態様では、治療用抗体は、ヒトまたは非ヒト霊長類IgG1もしくはIgG3Fc部分を有する。好ましくは、治療用抗体は、モノクローナル抗体またはフラグメントあるいはその誘導体、より好ましくは、ヒト化、ヒトもしくはキメラ抗体である。特定の実施態様では、治療用抗体はリツキシマブである。前記フラグメントまたはその誘導体は、好ましくは、Fabフラグメント、Fab'2フラグメント、CDRおよびScFvから選択される。

10

【0014】

発明の詳細な説明

本発明は、治療用抗体の有効性を増加するための手段を提供する。本発明は、所定の表現型または特性を有するアロ反応性NK細胞の使用により、治療用抗体の有効性を有意に増加することができることをより具体的に開示する。実際、本発明者らは、治療用抗体の有効性が、アロ反応性ナチュラルキラー細胞の同時注入によって顕著に増強され得ることを実証する。

【0015】

20

従って、本発明は、処置を要する対象の疾患の処置の方法に関し、以下を含んでなる：

- a) 前記対象にアロ反応性ナチュラルキラー細胞を投与すること；および
- b) 前記対象に治療用抗体を投与すること。

【0016】

前記治療用抗体は、CD16によって、好ましくは、そのFc領域を介して、結合され得る。場合により、方法は、同種移植片を前記対象に移植するさらなる工程を含んでなる。好ましくは、前記同種移植は造血細胞移植である。場合により、前記造血細胞移植は骨髓移植である。

【0017】

より詳細には、疾患の処置には、標的化された細胞、好ましくは、ウイルス感染細胞などの疾患細胞、腫瘍細胞または同種免疫担当細胞を含む他の病原性細胞の枯渇が必要である。好ましくは、疾患は、癌、感染性または免疫疾患である。より好ましくは、疾患は、癌、自己免疫疾患、炎症性疾患、ウイルス性疾患よりなる群から選択される。疾患はまた、移植片拒絶、より詳細には、同種移植片拒絶、および移植片対宿主病(GVHD)に関する。

30

【0018】

前記疾患は、造血細胞の新生物増殖を含む。場合により、前記疾患は、リンパ芽球性白血病、急性または慢性骨髓性白血病、ホジキンリンパ腫、非ホジキンリンパ腫、骨髓異形成症候群、多発性骨髓腫、および慢性リンパ性白血病よりなる群から選択される。前記疾患はまた、ENT癌、大腸癌、乳癌、上皮癌を含む。前記疾患はCMV感染、およびB型肝炎を含む。前記疾患は、クローン病、慢性関節リウマチ、喘息、乾癬、多発性硬化症、または糖尿病を含む。

40

【0019】

好ましくは、前記治療用抗体は、ヒトまたは非ヒト霊長類IgG1もしくはIgG3Fc部分、特に、モノクローナル抗体またはそのフラグメント、さらに好ましくは、ヒト、ヒト化もしくはキメラ抗体またはそれらのフラグメント、例えば、リツキシマブを有する。

【0020】

アロ反応性ナチュラルキラー細胞は、治療用抗体の投与の前、同時、または後に対象に投与され得ることが意図される。好ましくは、治療用抗体は、ナチュラルキラー細胞の投

50

与の5日間内、より好ましくは2日間内に投与される。好ましくは、治療用抗体は、アロ反応性ナチュラルキラー細胞の前または同時に投与される。

【0021】

好ましくは、前記アロ反応性ナチュラルキラー細胞は、そのNK細胞内容物のうち、少なくとも5%、好ましくは、少なくとも20または30%、より好ましくは、少なくとも40または50%、なおより好ましくは、少なくとも60、70または90%のレシピエント細胞に対するアロ反応性NK細胞を含んでなる。場合により、本質的にすべてのNK細胞が、レシピエント細胞に対してアロ反応性である。

【0022】

好ましくは、前記対象は、アロ反応性ナチュラルキラー細胞の投与の前に骨髄減少レジメンまたは免疫抑制処置、場合により、骨髄切除レジメン下で処置される。 10

【0023】

さらなる態様では、本発明は、治療用抗体処置を受容する対象のADCCを増加する方法に関し、前記方法は、前記治療用抗体の投与の前、同時または後に、ADCCを増加するのに十分な量のアロ反応性ナチュラルキラー細胞を前記対象に投与することを含んでなる。前記治療用抗体は、NK細胞に上のCD16によって、好ましくは、そのFc領域を介して、結合され得る。好ましくは、前記治療用抗体は、ヒトまたは非ヒト霊長類IgG1もしくはIgG3 Fc部分、特に、モノクローナル抗体またはそのフラグメント、さらに好ましくは、キメラ、ヒトもしくはヒト化抗体またはそれらのフラグメント、例えば、リツキシマブを有する。 20

【0024】

さらなる態様では、本発明は、治療用抗体の有効性を増加する方法に関し、前記方法は、前記治療用抗体の投与の前、同時または後に、前記治療用抗体の有効性を増加するのに十分な量のアロ反応性ナチュラルキラー細胞を前記対象に投与することを含んでなる。前記治療用抗体は、CD16によって、好ましくは、そのFc領域を介して、結合され得る。好ましくは、前記治療用抗体は、ヒトまたは非ヒト霊長類IgG1もしくはIgG3 Fc部分、特に、モノクローナル抗体またはそのフラグメント、さらに好ましくは、ヒト、ヒト化もしくはキメラ抗体またはそれらのフラグメント、例えば、リツキシマブを有する。

【0025】

本発明は、血液障害を有する対象を処置する方法であって、前記障害を処置するように、同種移植片を前記対象に移植することを含んでなる上記方法に関し、前記対象に有効量のアロ反応性ドナー対レシピエントナチュラルキラー細胞および治療用抗体を投与することを含んでなることを改良点とする。 30

【0026】

本発明は、対象に有効量の活性アロ反応性ドナー対レシピエントヒトナチュラルキラー細胞および治療用抗体を投与することを含んでなる、対象における腫瘍再発を回避する方法であって、同種移植片を対象に移植することとの組み合わせで腫瘍再発に対し有効である、上記方法を意図している。

【0027】

本発明に関して、対象または患者は、任意の哺乳動物対象または患者、より好ましくは、ヒト対象または患者を含む。 40

【0028】

治療用抗体

本発明に関して、用語「治療用抗体または抗体」は、より具体的に、患者において標的細胞を枯渇するために機能する任意の抗体を示す。そのような標的細胞の具体的例として、腫瘍細胞、ウイルス感染細胞、同種細胞、アレルギーに関与する病理学的免疫担当細胞（例えば、Bリンパ球、Tリンパ球、抗原提示細胞など）、自己免疫疾患、同種反応など、または健常な細胞（例えば、抗血管新生治療ストラテジーにおける内皮細胞）が挙げられる。本発明に関する最も好適な標的細胞は腫瘍細胞およびウイルス感染細胞である。治 50

療用抗体は、例えば、細胞障害効果または細胞溶解を、特に、抗体依存性細胞仲介細胞障害性 (ADCC) によって仲介することができる。ADCCは、機能がIgG感作抗原をFcRを有する細胞障害性細胞に連結すること、および細胞活性化機構を誘発することであるIgG (FcR) のFc部分の白血球受容体を必要とする。この作用機序についてはヒトにおいてインビボでは立証されていない一方、それは、そのような標的細胞を枯渇する治療用抗体の効力を説明し得る。従って、治療用抗体は、免疫複合体を形成することが可能である。例えば、免疫複合体は、治療用抗体によって被覆された腫瘍標的であり得る。より詳細には、抗体は、CD16によって、好ましくは、そのFc領域を介して、結合され得る。治療用抗体は、ポリクローナルであってもよく、または好ましくは、モノクローナルである。それらは、ハイブリドーマまたは所望される可変および定常ドメインを発現するように操作された組換え細胞によって産生され得る。抗体は、一本鎖抗体であってもまたは抗原特異性およびヒンジ下流領域またはその変異体を保持する他の抗体の誘導体であってもよい。これらは、多機能抗体、組換え抗体、ヒト化抗体、フラグメントまたはそれらの変異体であってもよい。前記フラグメントまたはその誘導体は、好ましくは、Fabフラグメント、Fab'2フラグメント、CDRおよびScFvから選択される。治療用抗体は、表面抗原、例えば、膜抗原に特異的である。最も好適な治療用抗体は、CD20、CD52、ErbB2 (またはHER2/Neu)、CD33、CD22、CD25、MUC-1、CEA、KDR、V3などのような腫瘍抗原 (例えば、腫瘍細胞により特異的に発現される分子)、特に、リンパ腫抗原 (例えば、CD20) に特異的である。治療用抗体は、好ましくは、ヒトまたは非ヒト霊長類IgG1もしくはIgG3 Fc部分、より好ましくはヒトIgG1を有する。

【0029】

1つの実施態様では、抗体は、ADCC中の抗体とNK細胞との相互作用を増強するこれらのFc部分における改変を含む。そのような改変された治療用抗体 (「変更された抗体」) は、一般に、好ましくは、1つもしくはそれ以上FcRに対する抗体の結合親和性を改変するFc領域における改変を含んでなる。1つもしくはそれ以上のFcRへの改変された結合で抗体を改変するための方法は当該分野において公知であり、例えば、PCT公報国際公開第2004/016750号 (国際出願第PCT/US2003/025399号) パンフレット、国際公開第99/158572号パンフレット、国際公開第99/151642号パンフレット、国際公開第98/123289号パンフレット、国際公開第89/107142号パンフレット、国際公開第88/107089号パンフレット、および米国特許第5,843,597号明細書および同第5,642,821号明細書 (そのそれぞれは、それらの全体が本明細書において参考として援用される) を参照のこと。

【0030】

慢性関節リウマチを処置するために使用されるD2E7 (ケンブリッジ・アンチボディ・テクノロジー・グループ, plc (Cambridge Antibody Technology Group, plc) (Cambridge、英国) / BASF (Ludwigshafen、独国)) のような本明細書において同定された治療用抗体、またはインフリキシマブ (セントコル, Inc. (Centocor, Inc.))、Malvern, ペンシルベニア州; クローン病および慢性関節リウマチを処置するために使用される)、または国際特許出願第PCT/US2003/025399号パンフレット (その全体が参考として本明細書において援用される) において開示される抗体は、上記および下記において同定される出願にの教示内容の通りに改変することができ、そのような抗体が典型的に使用される疾患の処置のために使用することができる。いくつかの実施態様では、本発明は、FcR、例えば、FcRIIIを活性化するための変更された親和性 (高いまたは低い親和性のいずれか) を有する変更された抗体を提供する。ある好適な実施態様では、FcRに対しより高い親和性を有する変更された抗体が提供される。好ましくは、そのような改変はまた、変更されたFc仲介エフェクター機能を有する。

【0031】

10

20

30

40

50

Fc 仲介エフェクター機能に影響を及ぼす改変は、当該分野において周知である（例えば、米国特許第 6,194,351 号明細書（その全体が本明細書において参考として援用される）を参照のこと）。改変することができるアミノ酸として、プロリン 329、プロリン 331、およびリジン 322 が挙げられるが、これらに限定されない。プロリン 329 および / または 331、およびリジン 322 は、アラニンで置換されるのが好ましいが、任意の他のアミノ酸での置換も考えられる。国際公開第 00/142072 号パンフレットおよび米国特許第 6,194,551 号明細書（それらの全体が参考として本明細書に援用される）を参照のこと。

【0032】

従って、Fc 領域の改変は、抗体 Fc 領域に見出されるアミノ酸に対する 1 つもしくはそれ以上の変更を含んでなり得る。そのような変更は、変更された抗体仲介エフェクター機能、他の Fc 受容体（例えば、Fc 活性化受容体）への変更された結合、変更された ADCC 活性、変更された Clq 結合活性、変更された補体依存性細胞障害活性、またはそれらの任意の組み合わせを伴う抗体を生じ得る。

【0033】

1 つの実施態様では、抗体は、FCGR3A（CD16 と呼ばれる、FCGR3、免疫グロブリン G Fc 受容体 III；IGFR3、IgG の Fc フラグメントに対する受容体、低親和性 IIIa、；例えば、OMIM146740 を参照のこと）、FCGR2A（CD32 と呼ばれる、CDw32、IgG の Fc フラグメントに対する受容体、低親和性 IIIa、FCG2、免疫グロブリン G Fc 受容体 II；例えば、OMIM146790 を参照のこと）；FCGR2B（CD32 と呼ばれる、IgG の Fc フラグメントに対する受容体、低親和性 IIb；FCGR2B、FC - - RIIB；例えば、OMIM604590 を参照のこと）、FCG1RA（CD64 と呼ばれる；IgG の Fc フラグメントに対する受容体、高親和性 Ia；IGFR1；例えば、OMIM146760 を参照のこと）；IgG の FCGR1 フラグメント、高親和性 Ic、免疫グロブリン G Fc 受容体 IC、IGFRC；例えば、OMIM601503 を参照のこと）；または FCGR1B（CD64 と呼ばれる、IgG の Fc フラグメントに対する受容体、高親和性 Ib；免疫グロブリン G Fc 受容体 IB、；IGFRB；例えば、OMIM601502 を参照のこと）のような Fc 受容体によって、特異的に認識される。

【0034】

本発明の治療用抗体の典型的な例として、リツキシマブ、アレムツズマブおよびトラスツズマブがある。そのような抗体は、ヒト対象での使用について認可されている臨床プロトコルに従って、使用してもよい。治療用抗体のさらなる具体的な例として、例えば、エブラツズマブ、バシリキシマブ、ダクリズマブ、セツキシマブ、ラベツズマブ、セビルマブ、ツブリマブ、パリビズマブ、インフリキシマブ、オマリズマブ、エファリズマブ、ナタリズマブ、クレノリキシマブなどが挙げられる。他の例として、抗フェリチン抗体（米国特許出願公開第 2002/0106324 号明細書）、抗 p140 および抗 sc5 抗体（国際公開第 02/50122 号パンフレット）が挙げられ、抗 KIR（NK 細胞キラー阻害型受容体）抗体（KIR 受容体については、キャリントン（Carrington）およびノルマン（Norman）、（The KIR Gene Cluster、2003 年 5 月 3 日：<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books> において利用可能）、（その開示内容は本明細書において参考として援用される）に記載されている。他の例は以下の表に列挙しており、そのいずれも（およびその他も）本発明の方法において使用することができる。以下の表または本明細書の他の箇所において記載されているか否かにかかわらず、好ましくは、ADCC によって、標的細胞を枯渇することができるあらゆる抗体は、本発明の方法から利益を享受することができ、以下の表は、本明細書において列挙された抗体または列挙された抗体の標的もしくは適応症について、そのすべてを網羅しているわけではないことが理解されよう。

【0035】

10

20

30

40

【表 1】

Ab 特異性	DCI	商品名	典型的な適応症
抗CD20	リツキシマブ	MabThera [®] , Rituxan [®]	NHL B
抗CD20		Zevalin	NHL
抗CD20		Bexocar	NHL
抗CD52	アレムツズマブ	CAMPATH-1H [®]	CLL、同種移植片
抗CD33		SMART-M195	AML
抗CD33		Zamyli [™]	急性骨髄性白血病
抗HLA-DR抗原		SMART-ID10	NHL
抗HLA-DR		Remitogen [™]	NHL B
抗CD22	エブラツズマブ	LymphoCide [™]	NHL B
抗HER2		MDX-210	前立腺 および他の癌
抗erbB2 (HER-2/neu)	トラスツズマブ	Herceptin [®] ,	転移性乳癌
抗CA125		OvaRex	卵巣癌
抗MUC1		TriAb	転移性乳癌
抗MUC1		BravaRex	転移性 癌
抗PEM抗原		Theragyn, Therex	卵巣癌、乳癌
抗CD44	ビバツズマブ		頭頸部癌
抗gp72	MAb、イデオタイプ 105AD7		大腸癌
抗EpCAM	抗EpCAM; MT201	IS-IL2	癌
抗VEGF	MAb-VEGF		転移性 NSCLC、大腸癌
抗CD18	AMD Fab		加齢黄斑変性
抗CD18	抗CD18		心筋梗塞
抗VEGF 受容体	IMC-1c1 I		大腸癌
抗nuC242	nuC242-DMI		大腸、胃、および膵臓癌
抗EGFR	MAb425		癌
抗EGFR	ABX-EGF		癌
抗EGFR (HER-1, erbB1)	セツキシマブ		ENTおよび大腸癌
抗MUC-1		Therex [®]	乳および上皮癌
抗CEA		CEAVac	大腸癌
抗CEA	ラベツズマブ	CEA-Cide [™]	固形腫瘍
抗αVβ3		Vitaxin	平滑筋肉腫、大腸および 他の癌 (抗血管新生)
抗KDR (VEGFR2)			癌 (抗血管新生)
抗VRS融合タンパク質	バリビズマブ	Synagis [®]	ウイルス性疾患
同上		Numax [™]	同上
CMV	セビルマブ	Protopir	CMV感染
HBs	ツビルマブ	Ostavir [™]	B型肝炎
抗CD25	バシリキシマブ	Simulect [®]	予防/処置、同種移植片拒絶反応
抗CD25	ダクリズマブ	Zénapax [®]	予防/処置、同種移植片拒絶反応

10

20

30

【表 2】

抗TNF- α	インフリキシマブ	Remicade™	クローン病、慢性関節リウマチ
抗CD80	IDEC-114		乾癬
抗IgE		E-26	アレルギー性喘息および鼻炎
抗IgE	オマリズマブ	Xolair™	喘息
抗IgE	Rhu-mAb E25		アレルギー／喘息
抗インテグリン α L (CD11a, LFA-1)	エファリズマブ	Xanelim™	乾癬
抗 β 2 インテグリン	LDP-01		脳卒中、同種移植片拒絶反応
抗インテグリン α L (CD11a, LFA-1)	抗CD11a		乾癬
抗CD4	ケリキシマブ シプリズマブ MEDI-507		GVHD、乾癬
抗CD4	OKT4A		同種移植片拒絶反応
抗CD3	OKT3		同種移植片拒絶反応
抗CD3	SMART-aCD3		自己免疫疾患、同種移植片拒絶反応、 乾癬
抗CD64			貧血
抗CD147			GvHD
抗インテグリン α 4 (α 4 β 1- α 4 β 7)	ナタリズマブ	Antegren®	多発性硬化症、クローン
抗インテグリン β 7			クローン、潰瘍性大腸炎
α 4 β 7	LDP-02		潰瘍性大腸炎
抗HLA-DR10 β		Oncolym	NHL
抗CD3		Nuvion	T細胞性悪性腫瘍
抗GD2 ガングリオシド		Trigem	転移性悪性黒色種および小細胞肺癌
抗SK-1 抗原			大腸および膵臓癌腫
抗CD4*	クレリキシマブ		
抗IL-8	ABX-IL8		乾癬
抗VLA-4		Antegren	MS
抗CD40L		Antova	SLE、同種移植片拒絶反応
抗CD40L	IDEC-131		MS, SLE
抗E-セレクトリン	CDP850		乾癬
抗CD11/CD18	Hu23F2G		MS、脳卒中
抗ICAM-3	ICM3		乾癬
抗CBL	ABX-CBL		GVHD
抗CD147			
抗CD23	IDEC-152		喘息、アレルギー
抗CD25		Simulect	同種移植片拒絶反応
抗T1-ACY	ACY-110		乳癌
抗TTS	TTS-CD2		膵臓、腎臓癌
抗TAG72	AR54		乳、卵巣、肺癌
抗CA19.9	GivaRex		大腸、膵臓、胃
抗PSA	ProstaRex		前立腺癌
抗HMFG1	R1550		乳、胃癌
	ベムツモマブ	Theragyn	胃、卵巣癌
抗hCG	CTP-16, CTP-21		多発性癌

10

20

30

40

【表 3】

抗コラーゲン1-V型	HU177; HU1V26; XL313		多発性癌
抗CD46		Crucell/J&J	多発性癌
抗17A-1	エドレコロマブ	Panorex	大腸癌
抗HM1.24	AHM		多発性骨髄腫
抗CD38	抗CD38		多発性骨髄腫
抗IL15受容体	HuMax リンパ腫		リンパ腫
抗IL6	B-E8		リンパ腫
抗TRAIL-R1	TRM-1		多発性癌
抗VEGF2			多発性癌
抗BlyS	Lymphostat		多発性癌
抗SCLC, CEAおよびDTPA	Pentacea		肺癌
抗CD52	CAMPATH		白血病、リンパ腫
抗ルイスY抗原	IGN311		上皮癌
抗VE カドヘリン	E4G10		多発性癌
抗CD56	BB10901, huN901DC1		大腸、肺癌
抗メルタンシン(mertansine)/ ムシン(mucine)	カンツズマブ		大腸、肺、膵臓癌
抗AFP	AFP-cide		肝臓癌
抗CSAp	Mu-9		大腸癌
抗CD30	MDX-060		黒色腫、ホジキン病
抗PSMA	MDX-070		前立腺癌
抗CD15	MDX-11		白血病
抗TAG72	MDX-020		大腸癌
抗CD19,CD3 二重特異性	MT103		リンパ腫
抗メソテリン抗原	SS1-PE38		脳および卵巣癌、中皮腫
抗DNAおよびヒストン	Cotara		大腸、膵臓、肉腫、脳および他の癌
抗a5B1 インテグリン	抗a5 B1		多発性癌
抗p97	SGN17/19		黒色腫
抗CD5	Genimune		白血病、リンパ腫

10

20

【0038】

30

アロ反応性ナチュラルキラー細胞

本明細書において使用する「ドナー」は、ナチュラルキラー細胞が本来取り出される天然の供給源である対象を意味する。また、本明細書において使用する「レシピエント」は、ナチュラルキラー細胞が導入される対象である。

【0039】

主要組織適合性(histocompatibility)複合体抗原(ヒト白血球抗原、HLAとも呼ばれる)は、これらの細胞に独特な抗原同一性を付与する細胞の表面上において発現されるタンパク質分子である。MHC/HLA抗原は、免疫エフェクター細胞と同じ造血再構成幹細胞の供給源(「自己」)から誘導されるか、または造血再構成細胞とは別の供給源(「非自己」)から誘導される所定の免疫エフェクター細胞(T細胞およびナチュラルキラー(NK)細胞)によって認識される標的分子である。

40

【0040】

ナチュラルキラー(NK)細胞は、従来にない免疫に関与するリンパ球のサブ集団である。NK細胞は、血液サンプル、血球分離、収集など、当業界で公知の様々な技術によって得ることができる。NK細胞は、主要組織適合性複合体(MHC)クラスI特異的阻害型受容体によって負に調節される(ケレ(Kaerre)ら、1986年;エーレン(Oehlen)ら、1989;その開示内容は、本明細書において参考として援用される)。ヒトでは、キラーIg様受容体(KIR)と呼ばれる受容体がHLAクラスI対立遺伝子のグループを認識する。KIRおよび他のクラスI阻害型受容体(モレッタ(Moretta)ら、1997年;パリアンテ(Valiante)ら、1997年a;ラニーア

50

(Lanier)、1998年；その開示内容は、本明細書において参考として援用される)は、NK細胞によって同時発現され得るが、いかなる所定の個体のNKレパートリーにおいても、単一のKIRを発現する細胞が存在し、特異的クラスI対立遺伝子グループのみによって、阻止される。不一致型同種細胞上においてKIRリガンドの発現が欠けているため、従って、NK細胞アロ反応性が誘発され得る(シッコネ(Cicccone)ら、1992年a、1992年b；コロンナ(Colonna)ら、1993年a、1993年b；ベロネ(Bellone)ら、1993年；バリアンテ(Valiante)ら、1997年b；その開示内容は、本明細書において参考として援用される)。造血細胞移植中、レシピエントのクラスI対立遺伝子がすべてのドナーのNK細胞を阻止するわけではない場合、ドナーのアロ反応性NKクローンを作製することができる(ルゲリ(Ruggieri)ら、1999年；その開示内容は、本明細書において参考として援用される)。

10

20

30

40

50

【0041】

NK細胞の特徴および生物学的特性として、CD16、CD56、および/またはCD57を含む表面抗原の発現、ならびに細胞表面上において発現される / または / TCR複合体の不在；特定の細胞溶解性酵素の活性化により、「自己の」MHC/HLA抗原を発現することができない細胞に結合し、死滅させる能力；NKR-リガンドを発現する腫瘍細胞を提供する腫瘍細胞を死滅させる能力；免疫応答を刺激または阻害するサイトカインと呼ばれるタンパク質分子を放出する能力；ならびに複数回の細胞分裂を経て、親細胞と類似の生物学的特性を伴う娘細胞を産生する能力が挙げられる。単球の特性として、細菌および「非自己」細胞を飲み込む能力(食作用)；T細胞およびNK細胞を刺激するサイトカインの合成；炎症を引き起こす分子の放出；ならびにT細胞に対する抗原の提示が挙げられる。「活性」NK細胞は、十分な生物学的に活性なNK細胞、より好ましくは、標的細胞を溶解する能力を有するNK細胞を意図する。より詳細には、「活性」NK細胞は、エクスビボ培養物または拡張されたNK細胞集団、より詳細には、インターロイキン、より好ましくは、IL-2などのサイトカインの存在下でインビトロまたはエクスビボで処置もしくは培養されたNK細胞集団を指す。例えば、「活性」NK細胞は、NKR-リガンドを発現し、「自己の」MHC/HLA抗原(KIR不適合細胞)を発現することができない細胞を死滅させることが可能である。

【0042】

ナチュラルキラー(NK)細胞溶解の阻害は、主要組織適合性複合体(MHC)クラスI分子またはHLAの多形性決定基に結合する特異的受容体を介してシグナル伝達される。いくつかの受容体は、キラー細胞阻害型受容体(KIR)として公知のIg様分子のファミリーである。

【0043】

本明細書において使用するアロ反応性NK細胞は、レシピエント(ドナー対レシピエント方向でKIR不適合性)のMHC/HLA抗原に結合可能なKIR(キラー細胞阻害型受容体)を発現しないNK細胞を指す。より詳細には、前記アロ反応性NK細胞は、宿主におけるHLA-A、HLA-BまたはHLA-C抗原、好ましくは、HLA-BまたはHLA-C抗原のうちの1つに結合することができない。2つのIgドメイン(KIR2DL)を伴うKIRがHLA-Cアロタイプ：KIR2DL2(以前はp58.1と命名された)を同定するか、または緊密に関連する遺伝子産物KIR2DL3がグループ1のHLA-Cアロタイプ(Cw1、3、7、および8)と共有するエピトープを認識する一方、KIR2DL1(p58.2)は対抗グループ2のHLA-Cアロタイプ(Cw2、4、5、および6)と共有するエピトープを認識する。3つのIgドメインを伴う1つのKIR、KIR3DL1(p70)は、HLA-Bw4対立遺伝子と共有するエピトープを認識する。最終的に、3つのIgドメインを伴う分子のホモダイマーKIR3DL2(p140)は、HLA-A3および-A11を認識する。

【0044】

最も興味深いKIRはHLA-Cアロタイプを同定する。実際、ただ2つのKIR、即

ち、K I R 2 D L 2 または K I R 2 D L 3、および K I R 2 D L 1 は、ほとんどの H L A - C アロタイプ、それぞれグループ 1 H L A - C アロタイプおよびグループ 2 H L A - C アロタイプを含むのに十分である。

【 0 0 4 5 】

K I R 遺伝子は、それぞれが個々の N K 細胞のいくつかによって発現され、個体間でかなりのばらつきが認められる。発達中に、各 N K 細胞前駆体は、該前駆体が発現する K I R 遺伝子を実質的に選択し、H L A クラス I 分子の異なる組み合わせが自己の H L A クラス I に対する受容体を発現する N K 細胞を選択すると考えられている。結果として、任意の所定の個体由来の N K 細胞は、それらの K I R リガンドを欠く他者由来の細胞に対してアロ反応性であり、対照的に、同じまたはさらなる K I R リガンドを有する別の個体由来の細胞に耐性がある。

10

【 0 0 4 6 】

従って、アロ反応性 N K 細胞は、ドナー、より詳細には、3つの主要な H L A、好ましくは、H L A - C および H L A - B のそれらのうちの少なくとも1つの抗原に対して、レシピエントと不一致であることについて選択されるアロ反応性ドナーから誘導される。例えば、レシピエントがグループ 1 H L A - C アロタイプを提示する場合、ドナーはグループ 2 H L A - C アロタイプを有する。逆に、グループ 2 H L A - C アロタイプを有するレシピエントに対しては、ドナーは、グループ 1 H L A - C アロタイプを提示するように選択される。さらなる例では、グループ B w 4 H L A - B アロタイプを有するレシピエントに対して、ドナーは、グループ B w 4 H L A - B アロタイプを提示しないように選択される。逆に、グループ B w 4 H L A - B アロタイプを有さないレシピエントに対して、ドナーは、グループ B w 4 H L A - B アロタイプを提示するように選択される。

20

【 0 0 4 7 】

特に、ドナー - レシピエントのハプロタイプ不一致対もまた、(この例におけるように) K I R リガンドの不一致である場合、100%の試験したドナーがそれらのレパートリーにおいて(少なくともいくつかの)アロ反応性 N K 細胞を有した。従って、アロ反応性ドナー由来の N K 細胞の集団では、5 ~ 50%の N K 細胞がアロ反応性である。

【 0 0 4 8 】

アロ反応性 N K 細胞は、当業者に公知の異なる技術によって、ドナーから調製される。より詳細には、これらの細胞は、末梢血単核細胞を使用する異なる単離および富化方法(リンホブレップ(lymphoprep)、白血球分離採取法など)によって、入手することができる。これらの細胞は、Percoll密度勾配(ティモネン(Timonen))から、1982年;その開示内容は、本明細書において参考として援用される)、ネガティブ枯渇方法(ザーリング(Zarling))から、1981年;その開示内容は、本明細書において参考として援用される)またはFACS分別方法(ラニーア(Lanier))から、1983年;その開示内容は、本明細書において参考として援用される)によって、調製することができる。これらの細胞は、アビジン - ビオチン系を使用するカラム免疫吸着(ハンドグレティング(Handgretinger))から、1994年;その開示内容は、本明細書において参考として援用される)または抗体でグラフト化したマイクロビーズを使用する免疫選択(ガイセルハート(Geiselhart))から、1996 - 97年;その開示内容は、本明細書において参考として援用される)によって、単離することができる。また、場合によりプラスチック粘着方法と組み合わせられたこれらの異なる技術の組み合わせを使用することも可能である。例えば、アロ反応性 N K 細胞は、ドナーから T 細胞を枯渇させた血中単核細胞を提供し、前記細胞をフィットヘムアグルチニン(PHA)で活性化し、前記細胞をインターロイキン(IL) - 2 および照射されたフィーダー細胞と共に培養することによって、調製することができる。場合により、N K 細胞の細胞の集団を、レシピエント細胞に対するアロ反応性について試験することができる。場合により、前記 N K 細胞をクローニングすることができ、各クローンは、レシピエント細胞に対するアロ反応性について試験される。場合により、アロ反応性を提示する N K 細胞クロー

30

40

50

ンがプールされる。アロ反応性は、レシピエント P H A リンパ芽球、またはエプスタイン・パール (E p s t e i n - B a r r) ウイルス形質転換 B リンパ芽球様細胞系統に対する標準的な 5 1 C r 放出細胞障害性によって試験される。

【 0 0 4 9 】

従って、本発明に従うアロ反応性 N K 細胞は： a) アロ反応性ドナー由来の N K 細胞を提供すること； b) 前記 N K 細胞を I L - 2 で活性化すること； c) 工程 b) から得られる活性 N K 細胞を回収すること、を含んでなる方法によって、調製することができる。場合により、前記方法は、レシピエント細胞に対して工程 c) から回収される N K 細胞のアロ反応性を試験するさらなる工程を含んでなる。あるいは、本発明に従うアロ反応性 N K 細胞は： a) アロ反応性ドナー由来の N K 細胞を提供すること； b) 前記 N K 細胞を単離またはクローニングすること； c) 前記 N K 細胞を I L - 2 で活性化すること； d) レシピエント細胞に対して工程 c) から回収される N K 細胞のアロ反応性を試験すること；および場合により、 e) アロ反応性 N K 細胞をプールすることを含んでなる方法によって、調製することができる。N K 細胞は、インビボまたはインビトロでさらに拡張させることができる。

10

【 0 0 5 0 】

第 1 の実施態様では、前記アロ反応性 N K 細胞は、本質的に、アロ反応性 N K 細胞のみを含有する。代替的实施態様では、前記アロ反応性 N K 細胞は、アロ反応性ドナーから調製される N K 細胞の集団を指す。この場合、前記集団は、アロ反応性および非アロ反応性 N K 細胞の両方を含んでなる。好ましくは、この N K 細胞集団は、少なくとも 5 % のアロ反応性 N K 細胞、より好ましくは、少なくとも 2 0 % のアロ反応性 N K 細胞、なおより好ましくは、少なくとも 3 0 % のアロ反応性 N K 細胞を含んでなる。

20

【 0 0 5 1 】

組成物および投与

本発明は、アロ反応性ドナー対レシピエントナチュラルキラー細胞および治療用抗体を含んでなる組成物、治療用抗体の有効性を増加するため、治療用抗体で処置される対象の A D C C を増加するため、または疾患、より詳細には標的化された細胞、好ましくは、ウイルス感染細胞などの疾患細胞、腫瘍細胞または同種免疫担当細胞を含む他の病原性細胞の枯渇を必要とする疾患を有する対象を処置するための前記組成物の使用に関する。好ましくは、疾患は、癌、自己免疫疾患、炎症性疾患、ウイルス性疾患よりなる群から選択される。疾患はまた、移植片拒絶、より詳細には、同種移植片拒絶、および移植片対宿主病 (G V H D) に関する。

30

【 0 0 5 2 】

前記治療用抗体は、C D 1 6 によって、好ましくは、その F c 領域を介して、結合され得る。好ましくは、前記治療用抗体は、ヒトまたは非ヒト霊長類 I g G 1 もしくは I g G 3 F c 部分、特に、モノクローナル抗体またはそのフラグメント、さらに好ましくは、ヒト、ヒト化もしくはキメラ抗体またはそれらのフラグメント、例えば、リツキシマブを有する。

【 0 0 5 3 】

好ましくは、前記組成物は、非アロ反応性ナチュラルキラー細胞内容物について、アロ反応性ナチュラルキラー細胞において富化される。前記組成物は、その N K 細胞内容物のうち、少なくとも 5 %、好ましくは、少なくとも 2 0 または 3 0 %、より好ましくは、少なくとも 4 0 または 5 0 %、なおより好ましくは、少なくとも 6 0、7 0 または 9 0 % のアロ反応性 N K 細胞を含んでなる。場合により、前記組成物に含まれる本質的にすべての N K 細胞が、レシピエント細胞に対してアロ反応性である。

40

【 0 0 5 4 】

本発明の組成物は、場合により、安定化剤、保存剤などで補充された任意の薬学的に許容可能なキャリアまたは賦形剤、典型的に、緩衝液、等張液、水性懸濁液を含んでなり得る。典型的な処方、食塩水溶液、および場合により、高分子量タンパク質 (例えば、ヒト血清アルブミン) のような保護または安定化分子を含む。

50

【0055】

本発明の方法および組成物に従えば、活性アロ反応性NK細胞および治療用抗体が有効量で投与される。

【0056】

レシピエントに投与されるアロ反応性NK細胞の有効量は、約 $0.05 \times 10^6 \sim 100 \times 10^6$ 個の細胞/レシピエントの体重のkgの間であり得る。純粋なアロ反応性NK細胞のサブ範囲もまた、例えば、約 $0.05 \times 10^6 \sim 5 \times 10^6$ 個の細胞/レシピエントの体重のkg、約 $5 \times 10^6 \sim 10 \times 10^6$ 個の細胞/レシピエントの体重のkg、約 $10 \times 10^6 \sim 50 \times 10^6$ 個の細胞/レシピエントの体重のkg、約 $50 \times 10^6 \sim 100 \times 10^6$ 個の細胞/レシピエントの体重のkgで提供される。好ましくは、レシピエントに投与されるアロ反応性NK細胞の量は、 $5 \times 10^6 \sim 15 \times 10^6$ 個の細胞/レシピエントの体重のkgの間に含まれる。

【0057】

レシピエントに投与される治療用抗体の有効量は、好ましくは、約 $0.1 \text{ mg/kg} \sim 50 \text{ mg/kg}$ の間であり得る。しかし、抗体の有効量は、抗体の形態（Ig全体、またはフラグメント）、mAbの親和性および各特定の抗体について決定しなければならない薬物動態パラメータに依存する。

【0058】

本発明の重要な実施態様では、本発明のアロ反応性NK細胞の使用により、減少した用量の治療用抗体で治療効力を達成させることを可能にすることができる。治療用抗体の使用（例えば、用量、投与レジメン）は、副作用、例えば、リツキシマブの場合、発熱、頭痛、息苦しさ、血圧降下などによって制限され得る。従って、多くの患者では、治療用抗体の標準的用量が本明細書に記載のアロ反応性NK細胞との併用で投与され（即ち、他の任意の化合物の非存在下で推奨される用量）、それによって、より高い治療効力を必要とする患者、他の患者、例えば、重度の副作用の影響を受けた患者では、標準的用量の効能が増強される一方、本発明の化合物の投与では、減少した用量の治療用抗体で治療効力を達成させることが可能であり、それによって、副作用が回避される。実際には、熟練した医療従事者であれば、所定の患者のための治療用抗体およびアロ反応性NK細胞の理想的用量および投与レジメン、例えば、特定の要件および患者の全体的条件の観点から最も適切である治療ストラテジーを決定することが可能である。治療用抗体およびアロ反応性NK細胞の両方のための適切な用量の決定において指導するための多数の参考文献、例えば、レミントン（Remington）：The Science and Practice of Pharmacy、ゲンナロ（Gennaro）（2003年）、ISBN：0781750253；グッドマン（Goodman）およびギルマンス（Gilman）The Pharmacological Basis of Therapeutics、ハードマン（Hardman）、リンバード（Limbird）およびギルマン（Gilman）（2001年）、ISBN：0071354697；ロウリンズE.A.（Rawlins E.A.）編、「Bentley's Textbook of Pharmaceutics」、ロンドン（London）：バリエレ、チンダル・アンド・コックス（Bailliere, Tindall and Cox）、（1977年）などが利用可能である。

【0059】

1つの実施態様では、医療従事者は、アロ反応性NK細胞の投与との併用で与えられる治療用抗体の量を用量または投与回数のいずれかについて緩徐に低減し、治療用抗体の効力をモニターし；例えば、NK細胞活性をモニターし；患者における標的細胞の存在をモニターし、多様な臨床適応症をモニターし、あるいは他の任意の手段によるか、ならびにモニタリングの結果を考慮して、治療用抗体および/もしくはアロ反応性NK細胞の相対濃度または投与様式を調整して、治療効力および副作用の制限を最大限にすることができる。

【0060】

本発明に従う組成物は、典型的に、静脈内、腹腔内、動脈内、筋肉内または経皮的経路によって、対象に直接注入することができる。いくらかのモノクローナル抗体は、Rituxan（リツキシマブ）またはXolair（オマリズマブ）、ならびに類似の投与レジメン（即ち、処方および/または用量および/または投与プロトコル）が本発明の組成物と共に使用され得るような臨床的状况において有効であることが示されている。

【0061】

さらに、本発明の組成物は、他の有効な薬剤または化学療法もしくは他の免疫療法のような治療プログラムをさらに含んでなり得るかあるいはそれらとの組み合わせで、同時または連続のいずれかで、使用し得る。

【0062】

有利なことに、本発明の方法は、有効量の分子、好ましくは、NK細胞活性を刺激することが可能なサイトカインの1回もしくは数回の注入をさらに含んでなる。この分子は、阻害型受容体を阻止するかまたはNK細胞の活性化受容体を刺激する化合物との組み合わせで使用することができ、従って、ADCCおよび治療用抗体の効力のより顕著な増大が生じる。前記分子またはサイトカインは、例えば、NK細胞増殖、NK細胞サイトカイン産生、細胞内遊離カルシウムレベル、もしくはリダイレクト死滅アッセイ（redirected killing assay）における標的細胞を溶解するNK細胞の能力を増加することができる。従って、本発明はまた、処置を要する対象の疾患の処置の方法であって：a）前記対象に、化合物、好ましくは、阻害型受容体を阻止するかもしくはNK細胞の活性化受容体を刺激する抗体またはそのフラグメントを投与すること；b）前記対象に治療用抗体を投与すること；および（c）前記対象にNK細胞活性を刺激することが可能なサイトカインを投与することを含んでなる上記方法を提供する。そのようなサイトカインの例は、IL2（リサーチ・ダイアグノスティクス（Research Diagnostics）、ニュージャージー州、RDI-202）、IL12（リサーチ・ダイアグノスティクス（Research Diagnostics）、ニュージャージー州、DI-212）、IL15（リサーチ・ダイアグノスティクス（Research Diagnostics）、ニュージャージー州、RDI-215）、IL21（アサノ（Asano）ら、FEBS Lett. 2002年；528：70-6）などのインターロイキンまたはそれらの組み合わせを含む。

【0063】

サイトカインは、任意の適切な投与レジメンに従って投与することができ、阻害型受容体を阻止するかまたはNK細胞の活性化受容体を刺激する化合物の投与の前、同時および/または後、ならびに治療用抗体の投与の前、同時および/または後に投与してもよい。典型的な例では、サイトカインは、5～10日間の期間で連日投与され、サイトカインは、最初に、阻害型受容体を阻止するかもしくはNK細胞の活性化受容体を刺激する化合物の最初の注入と同じ日に注入される。前記方法は、好ましくは、皮下経路によるサイトカインの1回もしくは2回の注入/日を含んでなる。

【0064】

サイトカインの用量は、処置しようとする患者の状態に依存して選択される。好適な実施例では、相対的に低い用量のサイトカインを使用することができる。例えば、サイトカイン含有医薬組成物が連日皮下注入で 사용되는場合、aの有効量は、典型的に100万単位/平方メートル/日未満サイトカインである。好適な実施例では、IL-2は、5～10日間、100万単位/m²未満の連日用量で、皮下に注入される。サイトカインの使用に関するさらなる詳細については、国際特許公開第PCT/EP/0314716号パンフレットおよび米国特許出願第60/435,344号明細書、表題「Pharmaceutical compositions having an effect on the proliferation of NK cells and a method using the same」（その開示内容は本明細書において参考として援用される）に記載されている。

【0065】

本発明に従えば、宿主患者は、同種移植片の移植前に条件付けられる。条件付けは、致死未満、致死あるいは致死過剰 (supra lethal) 条件下で、例えば、全身照射 (TBI) ならびに / または骨髄減少もしくは骨髄切除および免疫抑制剤による処置によって、行うことができる。標準的なプロトコルに従えば、致死照射線量は 7 ~ 9.5 Gy TBI の範囲内であり、致死未満線量は 3 ~ 7 Gy TBI の範囲内であり、致死過剰線量は 9.5 ~ 16 Gy TBI の範囲内である。

【0066】

プレドニゾン、メチルプレドニゾン、アザチオプリン、シクロホスファミド、シクロスポリン、T細胞に対するモノクローナル抗体、例えば、OKT3、およびヒトリンパ球 (抗リンパ球グロブリン - - ALS) もしくは胸腺細胞 (抗胸腺細胞グロブリン - - ATG) に対する抗血清のような拒絶反応を制御するために移植において使用される免疫抑制剤、またはそのような薬剤の組み合わせを、本発明に従って使用することができる。本発明に従って使用することができる骨髄切除剤の例には、ブスルファン、ジメチルミレラン (dimethyl myleran) およびチオテパがある。

【0067】

実施例

ヒトNKクローンの調製。ネガティブ抗CD3イムノ - 磁気選択 (ミロテニー (Miltenyi)) によりT細胞を枯渇した血中単核細胞を、限界希釈条件下でプレート化し、フィトヘムアグルチニン (PHA) (バイオクロムKG (Biochrom KG)、ベルリン、独国) で活性化し、インターロイキン (IL) - 2 (カイロンB.V. (Chiron B.V.))、アムステルダム、蘭国) および照射されたフィーダー細胞と共にインキュベートする。クローニング効率は、すべてのドナーにおいて等価であり、10個のプレート化したNK細胞において5個中1個 ~ 10個中1個の間の範囲である。クローニングしたNK細胞を、10:1のエフェクター: 標的比での既知のHLAタイプのエプスタイン・バー (Epstein-Barr) ウイルス形質転換Bリンパ芽球様細胞系に対する標準的な⁵¹Cr遊離細胞障害性によって、アロ反応性についてスクリーニングする。= 30%溶解を示すクローニングをアロ反応性と評価した。原則として、クローンは、< 5%または> 40%溶解のいずれかを示す。

【0068】

細胞障害性実験

NKクローンの細胞障害活性を、標準的な4時間⁵¹Cr放出アッセイによって評価し、ここで、エフェクターNK細胞を、NK細胞溶解に対する感受性について既知のCw3またはCw4陽性EBV細胞系統 (CD20陽性) に対して試験した。すべての標的を、マイクロ滴定プレートのウェルあたり5000個の細胞で使用し、標的比に対するエフェクター (NK細胞クローン) を図1に示す。特定の実験では、治療用キメラ抗CD20リツキシマブ (Rituxan、アイデック (Idex)) を、5 μg/mlで、エフェクター標的混合物に添加する。

【0069】

この実験は、アロ反応性NK細胞のみが細胞を溶解する能力を提示することを示した。非アロ反応性NKと共に使用した場合、抗体単独では、細胞溶解に対する効果を有さなかった。細胞とアロ反応性NK細胞および抗体の両方とのインキュベーションは、溶解の速度を約3倍増加し、次いで、アロ反応性NK細胞の細胞障害性を増加する。

【0070】

ヒトEBV系統移植マウスの調製

3.5 Gy照射NOD - SCIDマウス (チャールズ・リバー・イタリア (Charles River Italia)、Calco、イタリア) に、 2×10^7 ヒトEBV系統細胞を与えた。これらのマウスは、2週間以内に死亡し、EBV系統細胞による広範な骨髄および脾臓浸潤を示した。

【0071】

アロ反応性NK細胞 + ADC Cによるマウスの救出

10

20

30

40

50

6時間の輸注のEBV系統マウスに、多様なE:TでEBV系統に対してアロ反応性であるヒトNK細胞（または対照非アロ反応性細胞）を、ヒトでのKg用量あたり同量で、臨床的に利用可能なヒト化抗CD20抗体を伴うもしくは伴わずに、与える。アロ反応性NK細胞単独は、それらを1:25のE:T比で使用する場合、100%のマウスを救出するが、1:100のような低い比では、救出しない。本発明者らは、1:100比のアロ反応性NK細胞と、抗CD20抗体とを組み合わせる場合、本発明者らは、アロ反応性NK細胞の治療可能性の4倍の増加を観察する（1:100比のアロ反応性NK細胞を受容した100%のマウスが生存した）。（図2）

【0072】

参考文献

- ベローネG (Bellone G)、バリアンテNM (Valiante NM)、ヴィアレO (Viale O)、シッコネE (Ciccone E)、モレッタL (Moretta L)、トリンヒエリG (Trinchieri G) (1993年)「Regulation of hematopoiesis in vitro by alloreactive natural killer cell clones」: J Exp Med 177:1117-25
- シッコネE (Ciccone E)、ペンデD (Pende D)、ヴィアレO (Viale O)、ディ・ドナトC (Di Donato C)、トリポディG (Tripodi G)、オレンゴAM (Orengo AM)、ガルディオラJ (Guardiola J)、モレッタA (Moretta A)、モレッタL (Moretta L) (1992年a)「Evidence of a natural killer (NK) cell repertoire for (allo) antigen recognition: definition of five distinct NK-determined allospecificities in humans」: J Exp Med 175:709-18
- シッコネE (Ciccone E)、ペンデD (Pende D)、ヴィアレO (Viale O)、タンA (Than A)、ディ・ドナトC (Di Donato C)、オレンゴAM (Orengo AM)、バイアソニR (Biassoni R)、ヴェルディアニS (Verdiani S)、アモロソA (Amoroso A)、モレッタA (Moretta A)ら、(1992年b)「Involvement of HLA class I alleles in natural killer (NK) cell-specific functions: expression of HLA-Cw3 confers selective protection from lysis by alloreactive NK clones displaying a defined specificity (specificity 2)」J Exp Med 176:963-71
- コロナM (Colonna M)、ブルックスEG (Brooks EG)、ファルコM (Falco M)、フェラーラGB (Ferrara GB)、ストロミンガーJL (Strominger JL) (1993年a)「Generation of allospecific natural killer cells by stimulation across a polymorphism of HLA-C」Science 260:1121-4
- コロナM (Colonna M)、ボルセリノG (Borsellino G)、ファルコM (Falco M)、フェラーラGB (Ferrara GB)、ストロミンガーJL (Strominger JL) (1993b)「HLA-C is the inhibitory ligand that determines dominant resistance to lysis by NK1- and NK2-specific natural killer cells」Proc Natl Acad Sci USA 90:12000-4
- ガイセルハートA (Geiselhart A)、ノイS (Neu S)、ブクホルツF

10

20

30

40

50

- (Buchholz F)、ラングP (Lang P)、ナイサンマーD (Niethammer D)、ハンドグレティンガーR (Handgretinger R) (1996-97) 「Positive selection of CD56+ lymphocytes by magnetic cell sorting」Nat Immunol 15:227-33
- ハンドグレティンガーR (Handgretinger R)、ウェルテB (Welte B)、ドファーR (Dopfer R)、ナイサンマーD (Niethammer D) (1994年) 「Rapid method for purification of CD56+ natural killer cells with preferential enrichment of the CD56bright+ subset」J Clin Lab Anal 8:443-6 10
- カリK (Karre K)、リュンゲルンHG (Ljunggren HG)、ピオンテックG (Piontek G)、キーススリングR (KieSSLing R)、(1986年) 「Selective rejection of H-2-deficient lymphoma variants suggests alternative immune defence strategy」Nature 319:675-8
- カリK (Karre K) (2002) 「Immunology. A perfect mismatch」Science 295:2029-31
- ラニーアLL (Lanier LL)、レAM (Le AM)、フィリップスJH (Phillips JH)、ワーナーNL (Warner NL)、バブコックGF (Babcock GF) (1983年) 「Subpopulations of human natural killer cells defined by expression of the Leu-7 (HNK-1) and Leu-11 (NK-15) antigens」J Immunol 131:1789-96 20
- ラニーアLL (Lanier LL) (1998年) 「NK cell receptors」Annu Rev Immunol 16:359-93
- モレッタA (Moretta A)、モレッタL (Moretta L) (1997年) 「HLA class I specific inhibitory receptors」Curr Opin Immunol 9:694-701 30
- オーレンC (Ohlen C)、クリングG (Kling G)、ホグランドP (Hoglund P)、ハンソンM (Hansson M)、スキャンゴスG (Scangos G)、ビーベリッヒC (Bieberich C)、ジェイG (Jay G)、カリK (Karre K) (1989年) 「Prevention of allogeneic bone marrow graft rejection by H-2 transgene in donor mice」Science 246:666-8
- レイベッチJH (Ravetch JV) およびボランS (Bolland S) (2001年) 「IgG Fc receptors」Annu Rev Immunol 19:275-290
- ルゲリL (Ruggeri L)、カパンニM (Capanni M)、カスッチM (Casucci M)、ボルピI (Volpi I)、トスティA (Tosti A)、ペルチオK (Perruccio K)、アーバニE (Urbani E)、ネグリンRS (Negrin RS)、マーテリMF (Martelli MF)、ヴィーラーディA (Velardi A) (1999年) 「Role of natural killer cell alloreactivity in HLA-mismatched hematopoietic stem cell transplantation」Blood 94:333-9 40
- ルゲリL (Ruggeri L)、カパンニM (Capanni M)、アーバニE (Urbani E)、ペルチオK (Perruccio K)、シュロムチックWD (Shlomchik W.D)、トスティA (Tosti A)、ボサティS 50

(Posati S.)、ロイゲイアD (Rogaia D.)、フラソーニF (Frassoni F.)、アバーサF (Aversa F.)ら、(2002年)「Effectiveness of donor natural killer cell alloreactivity in mismatched hematopoietic transplants」Science 295、2097 - 2100

ティモネンT (Timonen T)、レイノルズCW (Reynolds CW)、オルタルドJR (Ortaldo JR)、ハーバーマンRB (Herberman RB)、(1982年)「Isolation of human and rat natural killer cells」J. Immunol. Methods 51、269 - 77

10

バリアンテNM (Valiante NM)、リーネルトK (Lienert K)、シリングHG (Shilling HG)、スミッツBJ (Smits BJ)、パーハムP (Parham P) (1997年a)「Killer cell receptor: keeping pace with MHC class I evolution」Immunol Rev 155:155 - 64

バリアンテNM (Valiante NM)、パーハムP (Parham P) (1997年b)「Natural killer cells, HLA class I molecules, and marrow transplantation」Biol Blood Marrow Transplant 3:229 - 35

ザーリングJM (Zarling JM)、クラウズKA (Clouse KA)、ビディソンWE (Biddison WE)、クンPC (Kung PC)、(1988年1)「Phenotypes of human natural killer cell populations detected with monoclonal antibodies」J. Immunol. 127、2575 - 80

20

【図面の簡単な説明】

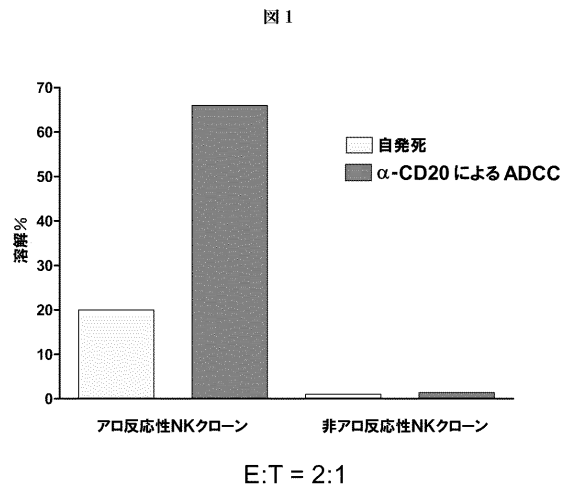
【0073】

【図1】EBV形質転換B細胞に対するアロ反応性または非アロ反応性ヒトNK細胞によるADCC。ADCCはアロ反応性NK細胞に関してさらに強力である。

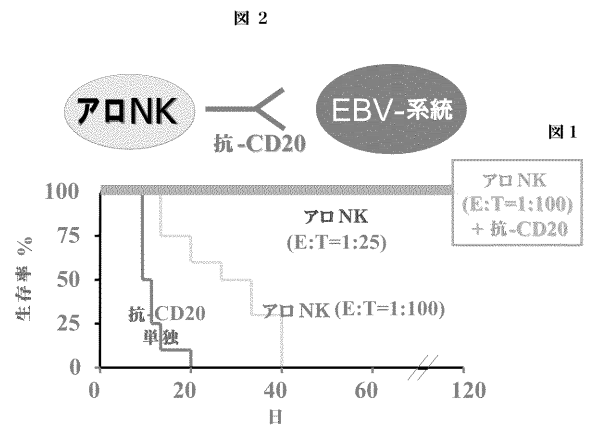
【図2】アロ反応性NK細胞およびRituxanによるEBVリンパ増殖性疾患からのNOD-SCIDマウスの救出。Rituxan単独ではNOD-SCIDにおいて効果を有さない。アロ反応性NKは、1個のNK細胞対25個のEBV標的細胞の割合を使用する場合、EBV形質転換癌細胞系統によって誘発される白血病からNOD-SCIDを救出する。1個のNK対100個のEBV標的の割合を使用する場合、マウスは救出されない。Rituxanと組み合わせる場合、エフェクターの后者の割合は、マウスを救出するのに十分である。

30

【 図 1 】



【 図 2 】



【 国際調査報告 】

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International Application No
PCT/IB2004/002637

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER
IPC 7 A61K39/395

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)

IPC 7 A61K

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 practical, search terms used)

EPO-Internal, WPI Data, PAJ, BIOSIS

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category *	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	DA COSTA L ET AL: "Immune recruitment by bispecific antibodies for the treatment of Hodgkin disease" CANCER CHEMOTHERAPY AND PHARMACOLOGY, SPRINGER VERLAG, BERLIN, DE, vol. 46, no. SUPPL, 2000, pages S33-S36, XP002955294 ISSN: 0344-5704 the whole document ----- -/--	1-33

☒ Further documents are listed in the continuation of box C.

☐ Patent family members are listed in 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 document 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.

8 document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search

16 November 2004

Date of mailing of the international search report

29/11/2004

Name and mailing address of the ISA

European Patent Office, P.B. 5818 Patentlaan 2
NL - 2280 HV Rijswijk
Tel. (+31-70) 340-2040, Tx. 31 651 epo nl,
Fax: (+31-70) 340-3016

Authorized officer

Kaas, V

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International Application No
PCT/IB2004/002637

C.(Continuation) DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category *	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	<p>ARNDT M ET AL: "A bispecific diabody that mediates natural killer cell cytotoxicity against xenotransplanted human Hodgkin's tumors" BLOOD, W.B.SAUNDERS COMPAGNY, ORLANDO, FL, US, vol. 94, no. 8, 15 October 1999 (1999-10-15), pages 2562-2568, XP002153101 ISSN: 0006-4971 the whole document</p>	1-33
X	<p>KIPRIVANOV S ET AL: "NOVEL RECOMBINANT BISPECIFIC MOLECULES FOR IMMUNOTHERAPY OF BLOOD MALIGNANCIES" INTERNATIONAL JOURNAL OF MOLECULAR MEDICINE, SPANDIDOS, ATHENS, GR, vol. 8, no. SUPPL 1, 2001, page S24, XP008013589 ISSN: 1107-3756 the whole document</p>	1-33
X	<p>SILLA L M R ET AL: "POTENTIATION OF LYSIS OF LEUKAEMIA CELLS BY A BISPECIFIC ANTIBODY TO CD33 AND CD16 (FCGAMMARIII) EXPRESSED BY HUMAN NATURAL KILLER (NK) CELLS" BRITISH JOURNAL OF HAEMATOLOGY, OXFORD, GB, vol. 89, 1995, pages 712-718, XP002048530 ISSN: 0007-1048 page 715, right-hand column, paragraph 1 page 716, last paragraph - page 717, paragraph 1</p>	1-33
X	<p>KANEKO T ET AL: "A BISPECIFIC ANTIBODY ENHANCES CYTOKINE-INDUCED KILLER-MEDIATED CYTOLYSIS OF AUTOLOGOUS ACUTE MYELOID LEUKEMIA CELLS" BLOOD, W.B. SAUNDERS, PHILADELPHIA, VA, US, vol. 81, no. 5, 1 March 1993 (1993-03-01), pages 1333-1341, XP002048526 ISSN: 0006-4971 abstract; figure 4</p>	1-33
A	<p>KUDO T ET AL: "SPECIFIC TARGETING IMMUNOTHERAPY OF CANCER WITH BISPECIFIC ANTIBODIES" TOHOKU JOURNAL OF EXPERIMENTAL MEDICINE, TOHOKU UNIVERSITY MEDICAL PRESS, SENDAI, JP, vol. 188, 1999, pages 275-288, XP002932520 ISSN: 0040-8727 the whole document</p>	1-33

フロントページの続き

(51) Int.Cl.

F I

テーマコード (参考)

A 6 1 P 37/04 (2006.01)

A 6 1 P 31/00

A 6 1 P 37/04

(81) 指定国 AP(BW, GH, GM, KE, LS, MW, MZ, NA, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), EA(AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), EP(AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HU, IE, IT, LU, MC, NL, PL, PT, RO, SE, SI, SK, TR), OA(BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG), AE, AG, AL, AM, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BR, BW, BY, BZ, CA, CH, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE, KG, KP, KR, KZ, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LV, MA, MD, MG, MK, MN, MW, MX, MZ, NA, NI, NO, NZ, OM, PG, PH, PL, PT, RO, RU, SC, SD, SE, SG, SK, SL, SY, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, YU, ZA, ZM, ZW

(72) 発明者 アンドレア・ヴェラルディ

イタリア、イ - 0 6 1 5 4 ペルージャ、ヴィーア・ピエーヴェ・ディ・カンボ 7 3 番

F ターム(参考) 4C085 AA13 AA14 AA16 AA33 BB36 BB42 CC23 DD62

4C087 AA01 AA02 BB63 BB64 NA05 ZB09 ZB26 ZB32 ZC75