

(19) 日本国特許庁(JP)

(12) 特 許 公 報(B2)

(11) 特許番号

特許第6431523号
(P6431523)

(45) 発行日 平成30年11月28日(2018.11.28)

(24) 登録日 平成30年11月9日(2018.11.9)

(51) Int.Cl.	F I	
A 6 1 K 39/395 (2006.01)	A 6 1 K 39/395	Z N A P
A 6 1 P 37/06 (2006.01)	A 6 1 P 37/06	
A 6 1 P 37/08 (2006.01)	A 6 1 P 37/08	
G O 1 N 33/53 (2006.01)	A 6 1 K 39/395	U
G O 1 N 33/577 (2006.01)	G O 1 N 33/53	K
請求項の数 17 (全 40 頁) 最終頁に続く		

(21) 出願番号 特願2016-503264 (P2016-503264)
 (86) (22) 出願日 平成26年7月30日(2014.7.30)
 (65) 公表番号 特表2016-534022 (P2016-534022A)
 (43) 公表日 平成28年11月4日(2016.11.4)
 (86) 国際出願番号 PCT/JP2014/070661
 (87) 国際公開番号 W02015/016386
 (87) 国際公開日 平成27年2月5日(2015.2.5)
 審査請求日 平成29年7月28日(2017.7.28)
 (31) 優先権主張番号 特願2013-158258 (P2013-158258)
 (32) 優先日 平成25年7月30日(2013.7.30)
 (33) 優先権主張国 日本国(JP)

微生物の受託番号 NPMD NITE BP-1211
 微生物の受託番号 NPMD NITE BP-1212
 微生物の受託番号 NPMD NITE BP-1213
 微生物の受託番号 NPMD NITE BP-1214

(73) 特許権者 507206192
 S B I バイオテック株式会社
 東京都港区六本木一丁目6番1号
 (74) 代理人 110000855
 特許業務法人浅村特許事務所
 (72) 発明者 山崎 智英
 東京都港区六本木1-6-1 S B I バイ
 オテック株式会社内
 (72) 発明者 遠藤 まゆき
 東京都港区六本木1-6-1 S B I バイ
 オテック株式会社内
 (72) 発明者 石田 晃司
 東京都港区六本木1-6-1 S B I バイ
 オテック株式会社内

最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 抗ホスホリパーゼD4抗体を含む医薬

(57) 【特許請求の範囲】

【請求項1】

ホスホリパーゼD4(PLD4)タンパク質に結合するモノクローナル抗体、又はその抗原結合領域を含む断片を活性成分として含む活性化B細胞に起因する病気症状を予防又は治療するための医薬組成物。

【請求項2】

前記モノクローナル抗体又はその抗原結合領域を含む断片が、
 (A) 重鎖の可変領域にCDR1として配列SYWMH(配列番号:2)、CDR2として配列DIYPGSDSTNYNEKFKS(配列番号:3)及びCDR3として配列GGWLDAMDY(配列番号:4)を有し、軽鎖の可変領域にCDR1として配列RASQDISNYLN(配列番号:5)、CDR2として配列YTSRLH(配列番号:6)及びCDR3として配列QQGNTLPW(配列番号:7)を有する；
 (B) 重鎖の可変領域にCDR1として配列TYWMH(配列番号:8)、CDR2として配列AIYPGNSETSYNQKFKG(配列番号:9)及びCDR3として配列GYSDFDY(配列番号:10)を有し、軽鎖の可変領域にCDR1として配列HASQGIRSNIG(配列番号:11)、CDR2として配列HGTNLED(配列番号:12)及びCDR3として配列VQYVQFP(配列番号:13)を有する；
 (C) 重鎖の可変領域にCDR1として配列DYNLH(配列番号:14)、CDR2として配列YIYPYNGNTGYNQKFKR(配列番号:15)及びCDR3として配列GGIYDDYDYAIDY(配列番号:16)を有し、軽鎖の可変領域にCDR1

として配列 R A S E N I Y S H I A (配列番号: 17)、C D R 2として配列 G A T N L A H (配列番号: 18)及びC D R 3として配列 Q H F W G T P (配列番号: 19)を有する;

(D)重鎖の可変領域にC D R 1として配列 S Y Y L Y (配列番号: 20)、C D R 2として配列 L I N P T N S D T I F N E K F K S (配列番号: 21)及びC D R 3として配列 E G G Y G Y G P F A Y (配列番号: 22)を有し、軽鎖の可変領域にC D R 1として配列 T S S Q T L V H S N G N T Y L H (配列番号: 23)、C D R 2として配列 K V S N R F S (配列番号: 24)及びC D R 3として配列 H S T H V P (配列番号: 25)を有する;

(E)重鎖の可変領域にC D R 1として配列 S Y G M S (配列番号: 26)、C D R 2として配列 T I S S G G S Y I Y P E S V K G (配列番号: 27)及びC D R 3として配列 L Y G G R R G Y G L D Y (配列番号: 28)を有し、軽鎖の可変領域にC D R 1として配列 R S S K S L L H S D G I T Y L Y (配列番号: 29)、C D R 2として配列 Q M S N L A S (配列番号: 30)及びC D R 3として配列 A Q N L E L (配列番号: 31)を有する;

(F)重鎖の可変領域にC D R 1として配列 S H Y Y W T (配列番号: 32)、C D R 2として配列 Y I S Y D G S N N Y N P S L K N (配列番号: 33)及びC D R 3として配列 E G P L Y Y G N P Y W Y F D V (配列番号: 34)を有し、軽鎖の可変領域にC D R 1として配列 R A S Q D I D N Y L N (配列番号: 35)、C D R 2として配列 Y T S R L H S (配列番号: 36)及びC D R 3として配列 Q Q F N T L P (配列番号: 37)を有する;

或いは

(G)重鎖の可変領域にC D R 1として配列 S H Y Y W S (配列番号: 38)、C D R 2として配列 Y I S Y D G S N N Y N P S L K N (配列番号: 39)及びC D R 3として配列 E G P L Y Y G N P Y W Y F D V (配列番号: 40)を有し、軽鎖の可変領域にC D R 1として配列 R A S Q D I D N Y L N (配列番号: 41)、C D R 2として配列 Y T S R L H S (配列番号: 42)及びC D R 3として配列 Q Q F N T L P (配列番号: 43)を有する;

請求項1に記載の医薬組成物。

【請求項3】

前記モノクローナル抗体又はその抗原結合領域を含む断片が、

(A)配列番号75に記載の配列の可変領域の配列を重鎖の可変領域として有し、配列番号95に記載の配列の可変領域の配列を軽鎖の可変領域として有する;

(B)配列番号77に記載の配列の可変領域の配列を重鎖の可変領域として有し、配列番号97に記載の配列の可変領域の配列を軽鎖の可変領域として有する;

(C)配列番号79に記載の配列の可変領域の配列を重鎖の可変領域として有し、配列番号99に記載の配列の可変領域の配列を軽鎖の可変領域として有する;

(D)配列番号81に記載の配列の可変領域の配列を重鎖の可変領域として有し、配列番号101に記載の配列の可変領域の配列を軽鎖の可変領域として有する;

(E)配列番号83に記載の配列の可変領域の配列を重鎖の可変領域として有し、配列番号103に記載の配列の可変領域の配列を軽鎖の可変領域として有する;

(F)配列番号85に記載の配列の可変領域の配列を重鎖の可変領域として有し、配列番号105に記載の配列の可変領域の配列を軽鎖の可変領域として有する;

(G)配列番号87に記載の配列の可変領域の配列を重鎖の可変領域として有し、配列番号107に記載の配列の可変領域の配列を軽鎖の可変領域として有する;

(H)配列番号89に記載の配列の可変領域の配列を重鎖の可変領域として有し、配列番号109に記載の配列の可変領域の配列を軽鎖の可変領域として有する;

(I)配列番号91に記載の配列の可変領域の配列を重鎖の可変領域として有し、配列番号111に記載の配列の可変領域の配列を軽鎖の可変領域として有する;

(J)配列番号93に記載の配列の可変領域の配列を重鎖の可変領域として有し、配列番

10

20

30

40

50

号 1 1 3 に記載の配列の可変領域の配列を軽鎖の可変領域として有する；
請求項 1 に記載の医薬組成物。

【請求項 4】

受託番号 N I T E B P - 1 2 1 1、N I T E B P - 1 2 1 2、N I T E B P - 1 2 1 3、N I T E B P - 1 2 1 4 とし て 寄 託 さ れ た ハ イ ブ リ ド マ m p 5 B 7、m p 7 B 4、m p 1 3 D 4 及 び m p 1 3 H 1 1 の い ず れ か が 産 生 す る モ ノ ク ロ ー ナ ル 抗 体、又 は その 抗 原 結 合 領 域 を 含 む 断 片 を 活 性 成 分 と し て 含 む、活 性 化 B 細 胞 に 起 因 す る 病 気 症 状 を 予 防 又 は 治 療 す る た め の 医 薬 組 成 物。

【請求項 5】

前記モノクローナル抗体、又はその抗原結合領域を含む断片がさらにキメラ化、ヒト化を受けている、モノクローナル抗体、又はその抗原結合領域を含む断片を含む、請求項 1 ~ 4 のいずれか一項に記載の医薬組成物。

10

【請求項 6】

前記モノクローナル抗体、又はその抗原結合領域を含む断片が、重鎖として配列番号 1 2 1 に記載の配列を有し、軽鎖として配列番号 1 2 3 に記載の配列を有する請求項 1 に記載の医薬組成物。

【請求項 7】

前記病気症状が自己免疫疾患である、請求項 1 ~ 6 のいずれか一項に記載の医薬組成物。

【請求項 8】

自己免疫疾患が、ギラン・バレー症候群、重症筋無力症、慢性胃炎（慢性萎縮性胃炎）、自己免疫性肝炎、原発性胆汁性肝硬変、原発性硬化性胆管炎、自己免疫性膵炎、大動脈炎症候群、グッドパスチャー症候群、急速進行性糸球体腎炎、巨赤芽球性貧血、自己免疫性溶血性貧血、自己免疫性好中球減少症、特発性血小板減少性紫斑病、バセドウ病、橋本病、原発性甲状腺機能低下症、特発性アジソン病、1型糖尿病、潰瘍性大腸炎、クローン病、セリアック病、関節リウマチ、全身性エリテマトーデス、抗リン脂質抗体症候群、多発性筋炎、強皮症、シェーグレン症候群、血管炎症候群、自己免疫性リンパ増殖症候群（ALPS）である、請求項 7 に記載の医薬組成物。

20

【請求項 9】

前記病気症状がアレルギー性疾患である、請求項 1 ~ 6 のいずれか一項に記載の医薬組成物。

30

【請求項 10】

アレルギー性疾患が、アトピー性皮膚炎、気管支喘息、花粉症、アレルギー性鼻炎、蕁麻疹、小児喘息、アレルギー性胃腸炎、接触性皮膚炎、血清病、血管性紫斑病である、請求項 9 に記載の医薬組成物。

【請求項 11】

ヒト P L D 4 の細胞外ドメインに結合するモノクローナル抗体、又はその抗原結合領域を含む断片を被検細胞と接触させ、該細胞に結合したモノクローナル抗体、又はその抗原結合領域を含む断片を検出する工程を含む、活性化 B 細胞のインビトロ検出方法。

【請求項 12】

ヒト P L D 4 の細胞外ドメインに結合するモノクローナル抗体、又はその抗原結合領域を含む断片を含む、活性化 B 細胞の検出用試薬。

40

【請求項 13】

活性化 B 細胞の検出用試薬製造における、ヒト P L D 4 の細胞外ドメインに結合する、モノクローナル抗体またはその抗原結合領域を含む抗体断片の使用。

【請求項 14】

次の成分のいずれかを活性化 B 細胞に接触させる工程を含む、活性化 B 細胞のインビトロ抑制方法：

（a）ヒト P L D 4 に結合し、活性化 B 細胞を抑制するモノクローナル抗体、又はその抗原結合領域を含む断片、

50

(b)(a)のモノクローナル抗体の相補性決定領域を移植したイムノグロブリン、又はその抗原結合領域を含む断片。

【請求項15】

活性化B細胞の活性が、抗体産生活性である請求項14に記載の方法。

【請求項16】

次の成分のいずれかを有効成分として含む、活性化B細胞の抑制剤：

(a)ヒトPLD4に結合し、活性化B細胞を抑制するモノクローナル抗体、又はその抗原結合領域を含む断片、

(b)(a)のモノクローナル抗体の相補性決定領域を移植したイムノグロブリン、又はその抗原結合領域を含む断片。

10

【請求項17】

活性化B細胞の活性が、抗体産生活性である請求項16に記載の活性化B細胞抑制剤。

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0001】

本発明は、ホスホリパーゼD4に結合する抗体の用途発明に関する。以下、「ホスホリパーゼD」をPLDと、また「ホスホリパーゼD4」等をPLD4等と略記することもある。

【背景技術】

【0002】

PLDはホスファチジルコリンを加水分解してホスファチジン酸とコリンを産生する反応を触媒し、様々な細胞内シグナル伝達を引き起こす酵素である。産生されたホスファチジン酸が脂質性のシグナル分子として機能するものと考えられている。

従来から知られている2種類の哺乳類PLDとしてPLD1とPLD2が知られており、そのN末端領域にはホスファチジルイノシチド結合性のPhoxホモロジードメイン(PXドメイン)及びプレクストリン(pleckstrin)ホモロジードメイン(PHドメイン)を含んでいる。両ドメインともPLDの膜局在化に関与している。

PLD1とPLD2はさらに、二つのHis-x-Lys-x-x-x-x-Asp配列(HKDモチーフ)を含んでいる。このHKDモチーフはPLD活性にとって必須のドメインである。

30

PLD1とPLD2により産生されたホスファチジン酸は、細胞骨格の再構成、エキソサイトーシス、食作用、癌化、細胞接着、走化性等に関与し、神経系や免疫系等を中心に作用していると考えられる。

【0003】

ヒトHu-K4とマウスSAM9は今では公式にPLD3と名づけられているが、PX及びPHドメインを欠き、2つのHKDモチーフを有しているにもかかわらずPLD活性を示さない。さらに3つのPLDファミリーメンバー、PLD4、PLD5及びPLD6があるが、これらの非古典的PLD類についてはほとんど分かっていない。

【0004】

マウス小脳発達における遺伝子発現パターンについて小脳発達トランスクリプトームデータベース(CDT-DB)をサーチした結果、発達時において制御された転写産物PLD4が同定された(非特許文献1参照)。PLD4の基本特性は報告されていない。糖付加のある、または糖付加がないPLD4が酵素活性を示すかどうかはまだわかっていない。

40

【0005】

PLD4は、配列番号：1に示す506アミノ酸配列であり、配列番号44に記載のcDNA塩基配列によってコードされている(非特許文献1及び2)。PLD4蛋白質はC末端領域に保存された2つのHKDモチーフ(His-x-Lys-x-x-x-x-Aspアミノ酸配列、xはその他のアミノ酸)で構成される2つの暫定的なPDE領域(ホスホジエステラーゼモチーフ)と、推定的なリン酸化部位(Thr 472)を有する。PLD4

50

蛋白質の構造はII型一回膜貫通蛋白質と予測される。また、N末端領域には古典的なPLDファミリーであるPLD1とPLD2が有するPX領域とPH領域を持っていない。

一方PLD4は2つのHKDモチーフを有していることからPLDファミリーに属するものではあるが、PXドメインやPHドメインを欠く代わりに推定上の膜貫通ドメイン(トランスメンブランドメイン)を有している(非特許文献3)。

【0006】

低レベルから中レベルではあるがPLD4 mRNAの発現は、生後1週間の、マウスの脳梁や小脳白質を含む白質領域周辺に優先的に局在化した細胞小集団に見出された。これらのPLD4 mRNA発現細胞は、Iba1陽性ミクログリアとして同定されている(非特許文献3)。しかし、マウス小脳のPLD4陽性細胞は、10日齢の個体では消散する。PLD4の発現は、出生後のマウス小脳発達時期の初期の間一時期に限定されていると考えられている。

10

生後1週間という時期は、マウスの脳梁や小脳白質ではミエリンの形成が活発化し始める時期であり、この時期に白質内に存在するアメボイド(活性化状態)ミクログリアにおいてPLD4が高発現することから、この時期の白質内におけるPLD4発現細胞がミエリンの形成に関与している可能性も考えられ、また特にPLD4が食胞に集積することも明らかとなっており、貪食に関与している可能性も示唆されている。活性化状態であるアメボイドミクログリアでは様々なサイトカインや成長因子が分泌されるとともに貪食作用が活発化している。発達期のマウス脳の白質では、余分なオリゴデンドロサイト(軸索に巻きついてミエリンを形成する中枢神経系グリア細胞)がアポトーシスを起こしていると考えられ、それらがアメボイドミクログリアで分解除去され、シグナル分子を分泌することにより白質内のミエリン形成環境を整えている可能性が考えられる。PLD4はミエリン形成を含むこれらの過程に関与していることが示唆されている。

20

【0007】

非神経組織においてもマウスPLD4 mRNA発現は広く見られるが、主として脾臓に分布している。強いPLD4タンパク質発現が脾赤色髄の境界域周辺に検出され、細胞内膜フラクションから回収された脾PLD4タンパク質は高度にN-グリコシル化されている。PLD4を異種細胞系で発現させたところ、小胞体とゴルジ体に局在化した。異種発現したPLD4はPLD酵素活性を示さなかった(非特許文献3)。

PLD4の時間的にも場所的にも制限されたその発現パターンから、生後初期の脳の発達時のミクログリアや脾臓境界領域細胞の間で共通する機能において役割を演じているであろうことが示唆されていた。

30

【0008】

一方、PLD4が静止期のpDC(形質細胞様樹状細胞:plasmacytoid Dendritic Cell)(resting pDC)において特異的に高発現していることを、本発明者らは見出した(特許文献1)。さらにPLD4特異的抗体を用いて、pDCの活性抑制に利用することができることも報告している。

【0009】

さらに、日本人を母集団とする場合、全身性硬化症(Systemic Sclerosis)の新規の感受性遺伝子の1つとしてPLD4が報告された(非特許文献4)。しかしながらヨーロッパにおける同様の解析の結果、PLD4との有意な相関関係は見つかっておらず、PLD4と全身性硬化症をはじめとする自己免疫疾患との関係を示す有力な結果は得られていない。

40

【0010】

免疫機構は大きく2つに分類される。病原体等の異物の発見と初期攻撃を行う「自然免疫(先天免疫)」及び異物由来の抗原ペプチド等の提示という情報交換を介した「獲得免疫」である。「自然免疫」には主に白血球(好中球)、マクロファージ、樹状細胞(DC)、NK(Natural Killer)細胞などが関与し、「獲得免疫」には、上記樹状細胞等から提示された抗原ペプチド等の情報の伝達を受けたT細胞やB細胞が関与し、抗原ペプチド情報の伝達を受け活性化したT細胞は細胞性免疫として直接的に、同じく

50

活性化したB細胞は抗体を産生する（液性免疫）ことにより間接的に、病原体に対する特異的認識と攻撃を可能にする。

【0011】

「自然免疫」において、病原体に普遍的に存在する病原体関連分子パターン（pathogen-associated molecular patterns: PAMPs）（LPS、CpG DNA、リポタンパク質、RNA等）を、Toll様受容体（TLR）を介して認識し、NF-κB経路で炎症性サイトカインの分泌を促し、あるいはIRF（Interferon regulatory factor）経路でインターフェロン（IFN）の分泌を促す。TLRは細胞内局在部位により、大きく2グループに分類され、細胞表面に発現するものと、エンドソームや小胞体（ER）に発現するものがある。pDCにおいてはエンドソームや小胞体に局在するTLR7及びTLR9を介して、IRF7を活性化し、IFN-γ産生を誘導する。これらのTLRが細胞表面ではなく、細胞内に発現している理由は、自己免疫疾患発症の危険性を低下させるためではないかと示唆されている。TLR7は1本鎖RNA、TLR9はDNAをそれぞれリガンドとして認識する。これらの核酸は外来の病原性微生物のみならず宿主も保持しているため、核酸を認識し、免疫細胞を活性化させる受容体は常に自己免疫疾患を誘導することが示唆されてきた。

10

【0012】

一方「獲得免疫」において重要な役割を示すB細胞（Bリンパ球）は表面にイムノグロブリンIg受容体を発現するリンパ球である。B細胞は骨髄において造血幹細胞から作られ、プレB細胞、未熟B細胞へと分化した後ナイーブB細胞（成熟した、未感作のB細胞）へと成熟する。ナイーブB細胞は上記T細胞を介した刺激だけでなく、直接的な抗原刺激により活性化し、さらに分化し増殖して抗体産生細胞となり、IgM、IgD、IgA、IgE、IgG（IgG1、IgG2、IgG2b、IgG3等のサブクラスを含む）などの抗体を産生し分泌する。B細胞には特定の外来抗原を認識するB細胞受容体（BCR）以外にも上記TLRが発現していることが知られている。たとえば以前より、B細胞の増殖・抗体産生を惹起すると知られていたLPSはTLR4のリガンドであり、上記TLR7やTLR9はB細胞にも発現していることが知られていた。かかるB細胞は、上記自己免疫疾患だけでなく、その抗体産生能から、その過剰反応により、アレルギー性疾患を誘導する可能性が示唆されてきた。

20

IgGまたはイムノグロブリンGは、4つのペプチド鎖 2つの相同な重鎖と2つの相同な軽鎖 からなる、抗体のアイソタイプである。IgGはB細胞から産生され、獲得免疫において重要な役割を果たしている。IgGを産生していないナイーブ（抗原刺激を受けていない）B細胞は、形質芽細胞に分化し、最終的に形質細胞に分化する。形質芽細胞と形質細胞は大量の抗体を産生することができる。通常、骨髄系樹状細胞（dendritic cells, DCs）はIL-12とIL-6及び/またはBAFF/APRILといった膜タンパク質による活性化により、B細胞の増殖と分化を惹き起こす（非特許文献5、6及び7）。さらに、形質細胞様樹状細胞（plasmacytoid DCs, pDCs）は、ナイーブB細胞の、成熟化及び抗体分泌形質芽細胞とIFN-γとIL-6を産生する形質細胞への分化を誘導する（非特許文献8）。IgGの可変領域は、ウイルス・細菌・菌類のような様々な病原体を捕え、そのような感染から個体を守る。

30

40

SLEは古典的な免疫介在性自己免疫疾患とされている。二重鎖DNA・リボ核酸タンパク質やヒストンなどの、核酸やそれに結合するタンパク質に対して自己抗体が産生されることにより、免疫複合体（Immune complexes, ICs）が血液中または組織内に形成される。そのようなICsは、腎炎・関節炎・皮膚の発疹・疾患特異的な病態・血管炎などの疾患特異的な病態を伴う炎症反応を惹き起こす。SLE患者の血液は、ナイーブB細胞の減少と、メモリーB細胞・形質芽細胞・形質細胞の増加に特徴づけられる（非特許文献9、10、11）。したがって、自己反応性抗体を分泌する形質芽細胞の操作を通じて、形質細胞への分化の抑制や抗体産生を抑制することは、自己免疫疾患の治療のための有望な戦略となるであろう。

PBMCには、ナイーブB細胞、メモリーB細胞や形質芽細胞などの様々なB細胞サブ

50

セットが存在する。P B M C中のほとんどのB細胞サブセットは、ナイーブB細胞である。ナイーブB細胞は、外来抗原にさらされていないB細胞である。メモリーB細胞は初感染で形成されたB細胞で、形質芽細胞へ分化することにより、素早い抗体媒介性免疫反応に重要である。形質芽細胞は、大量の抗体を分泌する細胞であり、C D 1 9陽性C D 2 7陽性I g D陰性C D 3 8陽性で特徴づけられる。

外来抗原にさらされることにより、ナイーブB細胞が活性化B細胞になる。活性化B細胞はさらに、メモリーB細胞及び/または同様に抗体を産生する形質芽細胞に分化する。この変化は「成熟」と呼ばれる。

B細胞の成熟は複数の段階を経て起きる。最初の抗原非依存的段階では、特有の抗原に結合できる成熟B細胞を誘導する。この成熟段階は生体の骨髄及び脾臓で起きる。抗原結合及び共刺激によるB細胞活性化に続いて、抗原依存的なB細胞成熟段階が起きる。これらの情報がメモリーB細胞または抗体を分泌する形質芽細胞どちらかへのB細胞成熟化を促す。このB細胞成熟化の抗体依存段階には、活性化B細胞の増殖、抗体の親和性成熟、そして、抗体のクラススイッチが起きる。

インビトロの実験条件ではp D CはI F N - とI L - 6の分泌を通して、活性化B細胞のイムノグロブリン分泌形質芽細胞への成熟化を誘導することが、報告されている。C p G 2 2 1 6はp D Cを活性化し、I F N 産生及びB細胞成熟化を開始するのを誘導する。p D CからのI F N - はI L - 6存在下で、活性化B細胞の形質芽細胞への成熟をさらに支えている。

【先行技術文献】

【特許文献】

【0013】

【特許文献1】P C T / J P 2 0 1 3 / 0 5 2 7 8 1

【非特許文献】

【0014】

【非特許文献1】T a o e t a l . , N a t . M e t h o d s 2 (8) , p p 5 9 1 - 5 9 8 (2 0 0 5)

【非特許文献2】C l a r k e t a l . , G e n o m e R e s . 1 3 (1 0) , p p 2 2 6 5 - 2 2 7 0 (2 0 0 3)

【非特許文献3】P l o s O N E www.plosone.org , N o v e m b e r 2 0 1 0 , V o l u m e 5 , I s s u e 1 1 , e 1 3 9 3 2

【非特許文献4】A R T H R I T I S & R H E U M A T I S M V o l . 6 5 , N o . 2 , F e b r u a r y 2 0 1 3 , p p 4 7 2 - 4 8 0

【非特許文献5】B a l a z s e t a l . , 2 0 0 2 , I m m u n i t y , 1 7 , 3 4 1 - 3 5 2

【非特許文献6】L i t i n s k i y e t a l . , 2 0 0 2 , N a t I m m u n o l , 3 , 8 2 2 - 8 2 9

【非特許文献7】M a c L e n n a n a n d V i n u e s a , 2 0 0 2 , I m m u n i t y , 1 7 , 2 3 5 - 2 3 8

【非特許文献8】J e g o e t a l , 2 0 0 3 , I m m u n i t y , 1 9 , 2 2 5 - 2 3 4

【非特許文献9】O d e n d a h l e t a l . , 2 0 0 0 , J I , 1 6 5 , 5 9 7 0 - 5 9 7 9

【非特許文献10】A r c e e t a l . , 2 0 0 1 , J I , 1 6 7 , 2 3 6 1 - 2 3 6 9

【非特許文献11】W e i e t a l . , 2 0 0 7 , J I , 1 7 8 , 6 6 2 4 - 6 6 3 3

【発明の概要】

【発明が解決しようとする課題】

【 0 0 1 5 】

本発明は、PLD4に結合する抗体を用いた活性化B細胞の調節、及びそれに起因する病気症状の改善を、解決しようとする課題とする。

【課題を解決するための手段】

【 0 0 1 6 】

本発明者らは、PLD4に関する研究を通じて、従来報告していた静止期のpDC細胞以外に、活性化したB細胞においてもPLD4の発現が誘導されていることを確認した。そこで本発明者は、抗PLD4抗体の活性化B細胞に対する影響を調べた。PLD4抗体の作製・精製方法は特許文献1の方法に準ずる。

【 0 0 1 7 】

すなわち本願発明は以下の抗PLD4抗体を用いた第二用途に関する。

(1) ホスホリパーゼD4 (PLD4) タンパク質に結合するモノクローナル抗体、又はその抗原結合領域を含む断片を活性成分として含む活性化B細胞を抑制する医薬組成物。

(2) 前記モノクローナル抗体、又はその抗原結合領域を含む断片が、重鎖の可変領域にCDR1として配列SYWMH (配列番号: 2)、CDR2として配列DIYPGSDSTNYNEKFKS (配列番号: 3) 及び配列CDR3としてGGWLDAMDY (配列番号: 4) を有する前記(1)に記載の医薬組成物。

(3) 前記モノクローナル抗体、又はその抗原結合領域を含む断片が、軽鎖の可変領域にCDR1として配列RASQDISNYLN (配列番号: 5)、CDR2として配列YTSRLHS (配列番号: 6) 及びCDR3として配列QQGNTLPW (配列番号: 7) を有する前記(1)に記載の医薬組成物。

(4) 前記モノクローナル抗体、又はその抗原結合領域を含む断片が、重鎖の可変領域にCDR1として配列SYWMH、CDR2として配列DIYPGSDSTNYNEKFKS及びCDR3として配列GGWLDAMDYを有し、軽鎖の可変領域にCDR1として配列RASQDISNYLN、CDR2として配列YTSRLH及びCDR3として配列QQGNTLPWを有する前記(1)に記載の医薬組成物。

(5) 前記モノクローナル抗体、又はその抗原結合領域を含む断片が、重鎖の可変領域にCDR1として配列TYWMH (配列番号: 8)、CDR2として配列AIYPGNSETSYNQKFKG (配列番号: 9) 及び配列CDR3としてGYSDFDY (配列番号: 10) を有する前記(1)に記載の医薬組成物。

(6) 前記モノクローナル抗体、又はその抗原結合領域を含む断片が、軽鎖の可変領域にCDR1として配列HASQGIRSNIG (配列番号: 11)、CDR2として配列HGTNLED (配列番号: 12) 及びCDR3として配列VQYVQFP (配列番号: 13) を有する前記(1)に記載の医薬組成物。

(7) 前記モノクローナル抗体、又はその抗原結合領域を含む断片が、重鎖の可変領域にCDR1として配列TYWMH、CDR2として配列AIYPGNSETSYNQKFKG及びCDR3として配列GYSDFDYを有し、軽鎖の可変領域にCDR1として配列HASQGIRSNIG、CDR2として配列HGTNLED及びCDR3として配列VQYVQFPを有する前記(1)に記載の医薬組成物。

(8) 前記モノクローナル抗体、又はその抗原結合領域を含む断片が、重鎖の可変領域にCDR1として配列DYNLH (配列番号: 14)、CDR2として配列YIYPYNGNTGYNQKFKR (配列番号: 15) 及び配列CDR3としてGGIYDDYDYDAIDY (配列番号: 16) を有する前記(1)に記載の医薬組成物。

(9) 前記モノクローナル抗体、又はその抗原結合領域を含む断片が、軽鎖の可変領域にCDR1として配列RASENIYSHIA (配列番号: 17)、CDR2として配列GATNLAH (配列番号: 18) 及びCDR3として配列QHFWGTP (配列番号: 19) を有する前記(1)に記載の医薬組成物。

(10) 前記モノクローナル抗体、又はその抗原結合領域を含む断片が、重鎖の可変領域にCDR1として配列DYNLH、CDR2として配列YIYPYNGNTGYNQKF

10

20

30

40

50

K R及びCDR3として配列GGIYDDYDYAIDYを有し、軽鎖の可変領域にCDR1として配列RASENIYSHIA、CDR2として配列GATNLAH及びCDR3として配列QHFWGTPを有する前記(1)に記載の医薬組成物。

(11)前記モノクローナル抗体、又はその抗原結合領域を含む断片が、重鎖の可変領域にCDR1として配列SYLY(配列番号:20)、CDR2として配列LINPTNSDTIFNEKFKS(配列番号:21)及び配列CDR3としてEGGYGYGPFAY(配列番号:22)を有する前記(1)に記載の医薬組成物。

(12)前記モノクローナル抗体、又はその抗原結合領域を含む断片が、軽鎖の可変領域にCDR1として配列TSSQTLVHSNGNTYLH(配列番号:23)、CDR2として配列KVS NRFS(配列番号:24)及びCDR3として配列HSTHVP(配列番号:25)を有する前記(1)に記載の医薬組成物。

10

(13)前記モノクローナル抗体、又はその抗原結合領域を含む断片が、重鎖の可変領域にCDR1として配列SYLY、CDR2として配列LINPTNSDTIFNEKFKS及びCDR3として配列EGGYGYGPFAYを有し、軽鎖の可変領域にCDR1として配列TSSQTLVHSNGNTYLH、CDR2として配列KVS NRFS及びCDR3として配列HSTHVPを有する前記(1)に記載の医薬組成物。

(14)前記モノクローナル抗体、又はその抗原結合領域を含む断片が、重鎖の可変領域にCDR1として配列SYGMS(配列番号:26)、CDR2として配列TIS SGG SYIYYPESVKG(配列番号:27)及び配列CDR3としてLYGGRRGYGLDY(配列番号:28)を有する前記(1)に記載の医薬組成物。

20

(15)前記モノクローナル抗体、又はその抗原結合領域を含む断片が、軽鎖の可変領域にCDR1として配列RSSKSL LHS DGITYLY(配列番号:29)、CDR2として配列QMSNLAS(配列番号:30)及びCDR3として配列AQNLEL(配列番号:31)を有する前記(1)に記載の医薬組成物。

(16)前記モノクローナル抗体、又はその抗原結合領域を含む断片が、重鎖の可変領域にCDR1として配列SYGMS、CDR2として配列TIS SGG SYIYYPESVKG及びCDR3として配列LYGGRRGYGLDYを有し、軽鎖の可変領域にCDR1として配列RSSKSL LHS DGITYLY、CDR2として配列QMSNLAS及びCDR3として配列AQNLELを有する前記(1)に記載の医薬組成物。

(17)前記モノクローナル抗体、又はその抗原結合領域を含む断片が、重鎖の可変領域にCDR1として配列SHYYWT(配列番号:32)、CDR2として配列YISYDGSNNYNPSLKN(配列番号:33)及び配列CDR3としてEGPLYYGPNPYWYFDV(配列番号:34)を有する前記(1)に記載の医薬組成物。

30

(18)前記モノクローナル抗体、又はその抗原結合領域を含む断片が、軽鎖の可変領域にCDR1として配列RASQDIDNYLN(配列番号:35)、CDR2として配列YTSRLHS(配列番号:36)及びCDR3として配列QQFNTP(配列番号:37)を有する前記(1)に記載の医薬組成物。

(19)前記モノクローナル抗体、又はその抗原結合領域を含む断片が、重鎖の可変領域にCDR1として配列SHYYWT、CDR2として配列YISYDGSNNYNPSLKN及びCDR3として配列EGPLYYGPNPYWYFDVを有し、軽鎖の可変領域にCDR1として配列RASQDIDNYLN、CDR2として配列YTSRLHS及びCDR3として配列QQFNTPを有する前記(1)に記載の医薬組成物。

40

(20)前記モノクローナル抗体、又はその抗原結合領域を含む断片が、重鎖の可変領域にCDR1として配列SHYYWS(配列番号:38)、CDR2として配列YISYDGSNNYNPSLKN(配列番号:39)及び配列CDR3としてEGPLYYGPNPYWYFDV(配列番号:40)を有する前記(1)に記載の医薬組成物。

(21)前記モノクローナル抗体、又はその抗原結合領域を含む断片が、軽鎖の可変領域にCDR1として配列RASQDIDNYLN(配列番号:41)、CDR2として配列YTSRLHS(配列番号:42)及びCDR3として配列QQFNTP(配列番号:43)を有する前記(1)に記載の医薬組成物。

50

(22) 前記モノクローナル抗体、又はその抗原結合領域を含む断片が、重鎖の可変領域にCDR1として配列SHYYWS、CDR2として配列YISYDGSNNYNPSLKN及びCDR3として配列EGPLYYGPNPYWYFDVを有し、軽鎖の可変領域にCDR1として配列RASQDIDNYLN、CDR2として配列YTSRLHS及びCDR3として配列QQFNTLPを有する前記(1)に記載の医薬組成物。

(23) 受託番号NITE BP-1211、NITE BP-1212、NITE BP-1213、NITE BP-1214として寄託されたハイブリドーマmp5B7、mp7B4、mp13D4及びmp13H11のいずれかが産生するモノクローナル抗体、又はその抗原結合領域を含む断片を活性成分として含む活性化B細胞を抑制するための医薬組成物。

10

【0018】

(24) さらに自己免疫疾患を予防又は治療するための、前記(1)~(23)のいずれか1つに記載の医薬組成物。

(25) さらにアレルギー性疾患を予防又は治療するための、前記(1)~(23)のいずれか1つに記載の医薬組成物。

【0019】

(26) PLD4の細胞外ドメインに結合するモノクローナル抗体、又はその抗原結合領域を含む断片を被検細胞と接触させ、該細胞に結合したモノクローナル抗体、又はその抗原結合領域を含む断片を検出する工程を含む、活性化B細胞の検出方法。

(27) PLD4の細胞外ドメインに結合するモノクローナル抗体、又はその抗原結合領域を含む断片を含む、活性化B細胞の検出用試薬。

20

(28) 次の成分のいずれかを活性化B細胞に接触させる工程を含む、活性化B細胞の抑制方法：

(a) PLD4に結合し、活性化B細胞を抑制するモノクローナル抗体、又はその抗原結合領域を含む断片、

(b) (a)のモノクローナル抗体の相補性決定領域を移植したイムノグロブリン、又はその抗原結合領域を含む断片。

(29) 次の成分のいずれかを生体に投与する工程を含む、生体中の活性化B細胞の抑制方法：

(a) PLD4に結合し、活性化B細胞の活性を抑制するモノクローナル抗体、又はその抗原結合領域を含む断片、

30

(b) (a)のモノクローナル抗体の相補性決定領域を移植したイムノグロブリン、又はその抗原結合領域を含む断片。

(30) 活性化B細胞の活性が、抗体産生活性である前記(28)又は前記(29)に記載の方法。

(31) 次の成分のいずれかを有効成分として含む、活性化B細胞の抑制剤：

(a) PLD4に結合し、活性化B細胞を抑制するモノクローナル抗体、又はその抗原結合領域を含む断片、

(b) (a)のモノクローナル抗体の相補性決定領域を移植したイムノグロブリン、又はその抗原結合領域を含む断片。

40

(32) 活性化B細胞の活性が、抗体産生活性である前記(31)に記載の活性化B細胞を抑制剤。

【0020】

「活性化B細胞」とはBCRやTLRを介した直接的な刺激だけでなく、T細胞を介した刺激によって、増殖・抗体産生分泌活性を有するB細胞も含んでもよい。

【0021】

「抗原結合領域を含む断片」とは、これに限定されないが、パパイン又はペプシンによる部分消化によって得られるFab, Fab', F(ab')₂断片等を含んでもよい。また、あるモノクローナル抗体のCDR(complementarily-determining region)を移植された可変領域を含むイムノグロブリンの断片も抗原結合領域を含む断片に含まれて

50

いてもよい。これらの抗体断片は、抗原との結合親和性を有する抗体分子として利用することは周知である。或いは、必要な抗原結合活性を維持している限り、遺伝子組み換えによって構築された抗体を用いることもできる。遺伝子組み換えによって構築された抗体とは、たとえばキメラ抗体、CDR移植抗体、シングルチェーンFv (scFv)、diabody (diabodies)、線状抗体、及び抗体断片より形成された多特異性抗体等を示すことができる。モノクローナル抗体、又はそれを産生する抗体産生細胞をもとに、これらの抗体を得る方法は公知である。

【0022】

「自己免疫疾患」とは自己の身体の組織を異物と誤解し、免疫機能の攻撃により、引き起こされる疾患である。これに限定されないが、臓器特異的自己免疫疾患としては、ギラン・バレー症候群、重症筋無力症、慢性胃炎（慢性萎縮性胃炎）、自己免疫性肝炎、原発性胆汁性肝硬変、原発性硬化性胆管炎、自己免疫性膵炎、大動脈炎症候群、グッドパスチャー症候群、急速進行性糸球体腎炎、巨赤芽球性貧血、自己免疫性溶血性貧血、自己免疫性好中球減少症、特発性血小板減少性紫斑病、バセドウ病、橋本病、原発性甲状腺機能低下症、特発性アジソン病、1型糖尿病、潰瘍性大腸炎、クローン病、セリアック病等が含まれ；全身性自己免疫疾患としては、関節リウマチ、全身性エリテマトーデス、抗リン脂質抗体症候群、多発性筋炎、強皮症、シェーグレン症候群、血管炎症候群、自己免疫性リンパ増殖症候群 (ALPS) 等が含まれる。

10

【0023】

「アレルギー性疾患」とは異物に対する異常な免疫反応により引き起こされる疾患である。これに限定されないが、アトピー性皮膚炎、気管支喘息、花粉症、アレルギー性鼻炎、蕁麻疹、小児喘息、アレルギー性胃腸炎、接触性皮膚炎、血清病、血管性紫斑病等が含まれる。

20

【発明の効果】

【0024】

本発明は、PLD4を特異的に認識する抗体及びその断片を用いた、活性化B細胞の抑制に起因する治療方法、及びその治療効果を有する薬剤を提供する。

【0025】

更に本発明は、活性化B細胞の抑制活性を利用すれば、自己免疫疾患あるいはアレルギー性疾患の患者においても、予防及び治療効果を期待することができる。

30

【図面の簡単な説明】

【0026】

【図1】ヒトB細胞 (CD19+) の抗PLD4抗体での染色を示すFACS解析図。TLR9リガンドのCpG2006を用いた活性化により、CD19陽性B細胞上にPLD4タンパク質が誘導された。TLR9リガンド (CpG2006) により、活性化したB細胞 (CD19+) におけるPLD4の誘導が検出できた。PLD4の検出にはモノクローナル抗体11G9.6及び5B7を用いた。ネガティブコントロールとしてマウスIgG2b, を用いた。

【図2】ヒトPBMCの抗PLD4抗体及び抗CD19抗体での染色を示すFACS解析図。TLR9リガンドによる刺激により、PLD4陽性細胞は活性化されたB細胞 (CD19+) において増えていた。TLR9リガンドにより活性化したB細胞 (CD19+) が有意に増加したことを抗PLD4抗体 (3B4) で検出できた。ネガティブコントロールとしてマウスIgG1, を用いた。

40

【図3】TLR9リガンドによる活性化のある又はない条件下における、ヒトPBMCの抗PLD4抗体及び抗CD19抗体での染色を示すFACS解析図。PLD4陽性でTLR9リガンド刺激を受けたB細胞 (CD19+) が有意に増加したことを、抗PLD4抗体 (5B7、13D4、13H11及び11G9.6) で検出できた。ネガティブコントロールとしてマウスIgG2b, を用いた。

【図4】各抗PLD4キメラ抗体で示された、ヒトPLD4陽性活性化B細胞の減少を示すFACS解析図。PBMCと抗PLD4キメラ抗体 (ch3B4、ch13D4、c

50

h 1 3 H 1 1、c h 5 B 7 及び c h 1 1 G 9 . 6) の共培養は、T L R 9 リガンド (C p G 2 0 0 6) の存在下で B 細胞の活性化を抑制したが、抗体を入れない場合 (N o A b) 及び非特異的な抗体を用いた場合 (C o n t r o l I g) は、C p G 2 0 0 6 の添加による B 細胞の活性化を抑制できなかった。

【図 5】図 4 の抑制効果を数値化した図。コントロール I g で処理した P L D 4 を発現する活性化 B 細胞群を 1 0 0 % とし、各抗 P L D 4 キメラ抗体処理した場合の P L D 4 を発現する活性化 B 細胞群の変化を示す。

【図 6】フローサイトメトリーの結果。P B M C は T L R 9 リガンドとリコンビナントヒト I L - 6 存在下で記載のキメラ P L D 4 抗体とともに培養された。コントロールの I g 処理と比較して、c h 3 B 4 ・ c h 5 B 7 ・ c h 1 3 D 4 ・ c h 1 3 H 1 1 または c h 1 1 G 9 . 6 による処理により、形質芽細胞集団 (C D 1 9 陽性 C D 2 7 陽性 I g D 陰性 C D 3 8 陽性) は減少した。

【図 7】図 6 の培養上清の ELISA 試験の結果。コントロールの I g 処理と比較して、c h 3 B 4 ・ c h 5 B 7 ・ c h 1 3 D 4 ・ c h 1 3 H 1 1 又は c h 1 1 G 9 . 6 による処理により、形質芽細胞からのヒトイムノグロブリン産生が減少した。

【発明を実施するための形態】

【 0 0 2 7 】

本発明者らは P L D 4 が、B 細胞の活性化に伴い、発現誘導されてくる分子であることを新たに見出した。

【 0 0 2 8 】

本発明者らは、以前、ヒト P L D 4 の発現、細胞内局在、構造、機能について報告した (特許文献 1) 。本発明においては更に、p D C だけでなく、活性化した B 細胞にも、P L D 4 が発現誘導されてくることがわかった。さらに、抗 P L D 4 抗体が活性化 B 細胞の抑制をすることを新たに見出した。かかる知見は、抗 P L D 4 抗体の、先に報告した p D C の活性抑制による自己免疫疾患への治療効果の可能性を強化するだけでなく、B 細胞に対する活性をも示唆している。

【 0 0 2 9 】

B 細胞の表面には、C D 1 9、C D 2 0、C D 2 2、B A F F - R 等のタンパクが発現している。C D 1 9 はプロ B 細胞から抗体産生形質細胞までを含む B 細胞の初期段階で発現し、成熟 B 細胞では活性化を制御する補助受容体として機能する。C D 2 0 はプレ B 細胞から活性化 B 細胞まで発現し、C D 2 2 は成熟 B 細胞において細胞表面に発現し、B A F F - R は B 細胞の広範な分化段階において発現がみられている。そのためこれらのタンパクを認識する抗体は活性化 B 細胞のみならず感作されていないナイーブ B 細胞をも抑制する懸念があるが、本発明の抗 P L D 4 抗体ではナイーブ B 細胞に影響を与えずに活性化 B 細胞を抑制するという特徴がある。

【 0 0 3 0 】

本発明で用いられる抗 P L D 4 抗体は以前報告したものと同一である (特許文献 1) 。簡略化して説明すると、P L D 4 の細胞外ドメイン (配列番号 1 に示したアミノ酸配列の 5 4 番目から 5 0 6 番目に相当するアミノ酸配列) を含むアミノ酸配列をコードするリコンビナント P L D 4 - I g 融合タンパク質を免疫原として、P L D 4 に対する抗体の取得を以下のように行った。

【 0 0 3 1 】

< 抗ヒト P L D 4 モノクローナル抗体の作製 >

1) 免疫

免疫原は、上記の組換え PLD4-Ig 融合蛋白質を用いた。BALB/c マウス 3 匹の背部皮下に、PLD4-Ig 融合蛋白質を投与した。アジュバントには、Freund's Adjuvant, Complete 及び Incomplete (SIGMA) を用い、初回は 200 µg/匹、2 回目以降 4 回目までは 50 µg/匹を投与した。

。

2) 抗血清力価の確認

3 回目及び、4 回目免疫後に採血し、抗血清の力価を ELISA で評価した。

10

20

30

40

50

96wellマイクロタイタープレートに、PLD4-Ig 融合蛋白質を固相化した。抗血清は1000倍から3倍ずつ段階希釈し、729000倍までの希釈系列を調製した。各サンプルは、抗原固相化プレートに50 μ Lずつ添加し、一次反応を行った。洗浄後、HRP標識抗マウスIgG(,)抗体で二次反応を行い、OPD(オルトフェニレンジアミン)で発色検出(490 nm)した。

3) 細胞融合

抗血清力価の上昇が認められたマウスから脾細胞を摘出した。摘出した脾細胞とマウスミエローマ細胞(P3U1)を、PEG法で融合させ、HAT培地により融合脾細胞の選択培養を行った。

【0032】

<CAL-1細胞を用いたハイブリドーマのFACSスクリーニング>

HAT選択培養により得られた融合脾細胞各クローンの産生抗体について、FACSで評価した。その結果、ハイブリドーマ培養上清の3B4, 5B7, 7B4, 8C11, 10C3, 11D10, 13D4, 13H11, 14C1, 11G9.6はヒトPLD4に良く反応した。

【0033】

上記ハイブリドーマから産生される各々のモノクローナル抗体の可変領域内のCDR領域(CDRs; CDR1, CDR2, CDR3)、FW領域(Frame work regions)と可変領域の配列をKabat numbering system(Kabat et al, 1991, Sequences of Proteins of Immunological Interest, National Institutes of Health Publication No. 91-3242, 5th ed., United States Department of Health and Human Services, Bethesda, MD)の解析方法に従って決定した。

【0034】

得られたマウス11G9.6抗体の重鎖可変領域の核酸配列は配列番号: 74、アミノ酸配列は配列番号: 75である。マウス11G9.6抗体の重鎖可変領域内のCDR1、CDR2、CDR3のアミノ酸配列はそれぞれ配列番号: 2、配列番号: 3、配列番号: 4である。

得られたマウス3B4抗体の重鎖可変領域の核酸配列は配列番号: 76、アミノ酸配列は配列番号: 77である。マウス3B4抗体の重鎖可変領域内のCDR1、CDR2、CDR3のアミノ酸配列はそれぞれ配列番号: 8、配列番号: 9、配列番号: 10である。

得られたマウス5B7抗体の重鎖可変領域の核酸配列は配列番号: 78、アミノ酸配列は配列番号: 79である。マウス5B7抗体の重鎖可変領域内のCDR1、CDR2、CDR3のアミノ酸配列はそれぞれ配列番号: 14、配列番号: 15、配列番号: 16である。

得られたマウス7B4抗体の重鎖可変領域の核酸配列は配列番号: 80、アミノ酸配列は配列番号: 81である。マウス7B4抗体の重鎖可変領域内のCDR1、CDR2、CDR3のアミノ酸配列はそれぞれ配列番号: 14、配列番号: 15、配列番号: 16である。7B4抗体は、5B7抗体と重鎖と軽鎖の可変領域CDR配列が同じである抗体である。

得られたマウス8C11抗体の重鎖可変領域の核酸配列は配列番号: 82、アミノ酸配列は配列番号: 83である。マウス8C11抗体の重鎖可変領域内のCDR1、CDR2、CDR3のアミノ酸配列はそれぞれ配列番号: 20、配列番号: 21、配列番号: 22である。

得られたマウス10C3抗体の重鎖可変領域の核酸配列は配列番号: 84、アミノ酸配列は配列番号: 85である。マウス10C3抗体の重鎖可変領域内のCDR1、CDR2、CDR3のアミノ酸配列はそれぞれ配列番号: 26、配列番号: 27、配列番号: 28である。

得られたマウス11D10抗体の重鎖可変領域の核酸配列は配列番号: 86、アミノ酸配列は配列番号: 87である。マウス11D10抗体の重鎖可変領域内のCDR1、CDR2、CDR3のアミノ酸配列はそれぞれ配列番号: 26、配列番号: 27、配列番号: 28である。11D10抗体は、10C3抗体と重鎖と軽鎖の可変領域CDR配列が同じ抗体である。ただし、重鎖のisotype(10C3はマウスIgG2aで、11D10はマウスIgG2bの定常領域)の違いがある。

得られたマウス13D4抗体の重鎖可変領域の核酸配列は配列番号: 88、アミノ酸配列は配列番号: 89である。マウス13D4抗体の重鎖可変領域内のCDR1、CDR2、CDR3のアミノ酸配列はそれぞれ配列番号: 32、配列番号: 33、配列番号: 34である。

得られたマウス13H11抗体の重鎖可変領域の核酸配列は配列番号: 90、アミノ酸配列は配列番号: 91である。マウス13H11抗体の重鎖可変領域内のCDR1、CDR2、CDR3のアミ

10

20

30

40

50

ノ酸配列はそれぞれ配列番号：38、配列番号：39、配列番号：40である。

得られたマウス14C1抗体の重鎖可変領域の核酸配列は配列番号：92、アミノ酸配列は配列番号：93である。マウス14C1抗体の重鎖可変領域内のCDR1、CDR2、CDR3のアミノ酸配列はそれぞれ配列番号：38、配列番号：39、配列番号：40である。14C1抗体は、13H11抗体と重鎖と軽鎖の可変領域CDR配列が同じ抗体である。ただし、重鎖のisotype(13H11はmouse IgG2bで、14C1はmouse IgG1のconstant region)の違いがある。

【0035】

マウス11G9.6抗体の軽鎖可変領域の核酸配列は配列番号：94、アミノ酸配列は配列番号：95である。マウス11G9.6抗体の軽鎖可変領域内のCDR1、CDR2、CDR3のアミノ酸配列はそれぞれ配列番号：5、配列番号：6、配列番号：7である。

10

マウス3B4抗体の軽鎖可変領域の核酸配列は配列番号：96、アミノ酸配列は配列番号：97である。マウス3B4抗体の軽鎖可変領域内のCDR1、CDR2、CDR3のアミノ酸配列はそれぞれ配列番号：11、配列番号：12、配列番号：13である。

マウス5B7抗体の軽鎖可変領域の核酸配列は配列番号：98、アミノ酸配列は配列番号：99である。マウス5B7抗体の軽鎖可変領域内のCDR1、CDR2、CDR3のアミノ酸配列はそれぞれ配列番号：17、配列番号：18、配列番号：19である。

マウス7B4抗体の軽鎖可変領域の核酸配列は配列番号：100、アミノ酸配列は配列番号：101である。マウス7B4抗体の軽鎖可変領域内のCDR1、CDR2、CDR3のアミノ酸配列はそれぞれ配列番号：17、配列番号：18、配列番号：19である。

マウス8C11抗体の軽鎖可変領域の核酸配列は配列番号：102、アミノ酸配列は配列番号：103である。マウス8C11抗体の軽鎖可変領域内のCDR1、CDR2、CDR3のアミノ酸配列はそれぞれ配列番号：23、配列番号：24、配列番号：25である。

20

マウス10C3抗体の軽鎖可変領域の核酸配列は配列番号：104、アミノ酸配列は配列番号：105である。マウス10C3抗体の軽鎖可変領域内のCDR1、CDR2、CDR3のアミノ酸配列はそれぞれ配列番号：29、配列番号：30、配列番号：31である。

マウス11D10抗体の軽鎖可変領域の核酸配列は配列番号：106、アミノ酸配列は配列番号：107である。マウス11D10抗体の軽鎖可変領域内のCDR1、CDR2、CDR3のアミノ酸配列はそれぞれ配列番号：29、配列番号：30、配列番号：31である。

マウス13D4抗体の軽鎖可変領域の核酸配列は配列番号：108、アミノ酸配列は配列番号：109である。マウス13D4抗体の軽鎖可変領域内のCDR1、CDR2、CDR3のアミノ酸配列はそれぞれ配列番号：35、配列番号：36、配列番号：37である。

30

マウス13H11抗体の軽鎖可変領域の核酸配列は配列番号：100、アミノ酸配列は配列番号：111である。マウス13H11抗体の軽鎖可変領域内のCDR1、CDR2、CDR3のアミノ酸配列はそれぞれ配列番号：41、配列番号：42、配列番号：43である。

マウス14C1抗体の軽鎖可変領域の核酸配列は配列番号：112、アミノ酸配列は配列番号：113である。マウス14C1抗体の軽鎖可変領域内のCDR1、CDR2、CDR3のアミノ酸配列はそれぞれ配列番号：41、配列番号：42、配列番号：43である。

【0036】

本発明におけるより好ましいモノクローナル抗体として、たとえば、

ハイブリドーマmp5B7、mp7B4、mp13D4、mp13H11
が産生するモノクローナル抗体を示すことができる。

40

ハイブリドーマmp5B7、mp7B4、mp13D4、mp13H11
は、2012年1月27日付けで

受託番号NITE BP-1211、NITE BP-1212、NITE BP-1213、NITE BP-1214

独立行政法人製品評価技術基盤機構内特許微生物寄託センターが受託した。以下に、寄託を特定する内容を記載する。

(1) 寄託機関の名称・あて名

名称：独立行政法人 製品評価技術基盤機構産業技術総合研究所 特許微生物寄託センタ

ー

50

あて名：日本国千葉県茨城県木更津市かずさ鎌足 2 - 5 - 8 (郵便番号 292 - 0818)

(2) 寄託日：2012年1月27日

(3) 受託番号 N I T E B P - 1 2 1 1 (ハイブリドーマmp 5 B 7)

N I T E B P - 1 2 1 2 (ハイブリドーマmp 7 B 4)

N I T E B P - 1 2 1 3 (ハイブリドーマmp 1 3 D 4)

N I T E B P - 1 2 1 4 (ハイブリドーマmp 1 3 H 1 1)

【0037】

特に、可変領域を構成する C D R の配列として、

重鎖 C D R 1 : DYNLH , C D R 2 : YIYPYNGNTGYNQKFKR , C D R 3 : GGIYDDYYDYAIDY ,

軽鎖 C D R 1 : RASENIYSHIA , C D R 2 : GATNLAH , C D R 3 : QHFWGTP ,

の組み合わせをもつ抗体、可変領域を構成する C D R の配列として、

重鎖 C D R 1 : SHYYWT , C D R 2 : YISYDGSNNYNPSLKN , C D R 3 : EGPLYYGPNPYWYFDV

,

軽鎖 C D R 1 : RASQDIDNYLN , C D R 2 : YTSRLHS , C D R 3 : QQFNTLP ,

の組み合わせをもつ抗体、可変領域を構成する C D R の配列として、

重鎖 C D R 1 : SHYYWS , C D R 2 : YISYDGSNNYNPSLKN , C D R 3 : EGPLYYGPNPYWYFDV

,

軽鎖 C D R 1 : RASQDIDNYLN , C D R 2 : YTSRLHS , C D R 3 : QQFNTLP ,

の組み合わせをもつ抗体はより好ましい抗体である。

【0038】

P L D 4 を認識するキメラ抗体、又はヒト化抗体は、それをコードするポリヌクレオチドを利用して遺伝子工学的に製造することができる。たとえば、特許文献 1 に記載されているように上記マウスモノクローナル抗体 (3 B 4 , 5 B 7 , 7 B 4 , 8 C 1 1 , 1 0 C 3 , 1 1 D 1 0 , 1 3 D 4 , 1 3 H 1 1 , 1 4 C 1 , 1 1 G 9 . 6 等) の各 C D R の領域を用いて、活性のある各キメラ抗体 (c h 3 B 4 A b , c h 5 B 7 A b , c h 7 B 4 A b , c h 8 C 1 1 A b , c h 1 0 C 3 A b , c h 1 1 D 1 0 A b , c h 1 3 D 4 A b , c h 1 3 H 1 1 A b , c h 1 4 C 1 A b , c h 1 1 G 9 . 6 A b 等) をそれぞれ作することは当業者には容易にできる。

【0039】

本発明者らは、P L D 4 に対するモノクローナル抗体が P L D 4 発現細胞に対する C D C (補体依存性細胞傷害 : Complement Dependent Cytotoxicity) 活性及び A D C C (抗体依存性細胞障害活性 : Antibody-dependent cellular cytotoxicity) 活性を有することを確認している。従って本発明に係る抗 P L D 4 モノクローナル抗体は P L D 4 発現細胞に対する細胞障害作用を有する。

【0040】

即ち本発明は、P L D 4 の細胞外ドメインに結合する抗体を有効成分として含有する、活性化 B 細胞抑制剤に関する。或いは本発明は、P L D 4 の細胞外ドメインに結合する抗体を投与する工程を含む、抗体産生抑制方法を提供する。更に本発明は、P L D 4 の細胞外ドメインに結合する抗体の、活性化 B 細胞を抑制するための医薬組成物の製造における使用に関する。

【0041】

本発明において、抗体は、必要に応じて修飾して使用することができる。本発明によれば、P L D 4 の細胞外ドメインを認識する抗体は、活性化 B 細胞を抑制する作用を有する。即ち、抗体そのものが活性化 B 細胞に対する細胞障害作用を有している可能性が考えられた。強いエフェクター作用を示す抗体のサブクラスは公知である。或いは、抗体を細胞障害物質 (cytotoxic agent) によって修飾することによって、活性化 B 細胞の抑制効果を更に増強することができる。細胞障害物質としては、以下のような物質を示すことができる。

トキシン類：緑膿菌毒素 (Pseudomonas Endotoxin; PE)、ジフテリアトキシン、リシン

10

20

30

40

50

放射性同位元素：Tc99m、Sr89、I131、Y90

抗癌剤：カリキアマイシン、マイトマイシン、パクリタキセル

蛋白質からなるトキシン類は、2官能性試薬によって抗体又はその断片などに結合することができる。或いは、抗体をコードする遺伝子にトキシン類をコードする遺伝子を接合し、両者の融合蛋白質を得ることもできる。放射性同位元素を抗体に結合する方法も公知である。たとえば、キレート剤を利用して、抗体を放射性同位元素で標識する方法が公知である。更に抗癌剤は、糖鎖又は2官能性試薬などの利用により、抗体に結合することができる。

【0042】

本発明においては、人為的に構造を改変された抗体を有効成分として利用することもできる。例えば、抗体の細胞障害作用や安定性を改善するための様々な修飾方法が公知である。具体的には、重鎖の糖鎖が改変されたイムノグロブリンが知られている(Shinkawa, T. et al. J. Biol. Chem.278:3466-3473. 2003.)。糖鎖の改変によって、イムノグロブリンのADCC(抗体依存性の細胞障害;Antibody Dependent Cell-mediated Cytotoxicity)活性が増強された。

10

【0043】

本発明においては、1種類又は複数種類のモノクローナル抗体を利用することができる。たとえば、PLD4の細胞外ドメインを認識する複数種のモノクローナル抗体を配合して、本発明に利用することができる。

【0044】

抗PLD4抗体が活性化B細胞の獲得免疫性抗体産生活性の抑制作用を有することは次のようにして確認することができる。B細胞はBCRリガンド又はTLRリガンド(好ましくはTLR4リガンド、TLR7リガンド又はTLR9リガンド)の刺激によって抗体を大量に産生する。B細胞に対する上記リガンド刺激の前、後、又はリガンド刺激と同時に抗PLD4抗体を与え、抗PLD4抗体を与えないB細胞を対照として、B細胞由来の獲得免疫性抗体の産生能を比較する。抗体産生能は、B細胞の培養上清中に含まれる分泌型イムノグロブリンを測定することによって評価することができる。比較の結果、抗PLD4抗体の添加によって、上清中のB細胞由来の獲得免疫性抗体の量が有意に低下すれば、試験された抗PLD4抗体は、B細胞の抗体産生能を抑制する作用を有することが確認できる。これら抗体の測定方法は公知である。B細胞は、生体における液性免疫(分泌型抗体)を産生する細胞である。従って、B細胞の抗体産生能の抑制によって、液性免疫を調節することができる。

20

【0045】

PLD4の細胞外ドメインを認識する抗体を、その抗体が由来する生物種とは異なる宿主に投与する場合には、当該宿主にとって異物と認識されにくい形に加工するのが望ましい。たとえば、次のような分子に加工することにより、イムノグロブリンを異物として認識されにくくすることができる。イムノグロブリン分子を以下のように加工する手法は公知である。

- ・定常領域を欠失した抗原結合領域を含む断片(Monoclonal Antibodies : Principles and Practice, third edition, Academic Press Limited. 1995; Antibody Engineering, A Practical Approach, IRL PRESS, 1996)

40

- ・モノクローナル抗体の抗原結合領域と宿主のイムノグロブリンの定常領域とで構成されるキメラ抗体(遺伝子発現実験マニュアル 講談社 1994年(石田 功、安東 民衛 編))

- ・宿主のイムノグロブリンにおける相補性決定領域(CDR)をモノクローナル抗体のCDRに置換したCDR置換抗体(遺伝子発現実験マニュアル 講談社 1994年(石田 功、安東 民衛 編))

【0046】

或いは、ファージディスプレイ法(McCafferty J. et al., Nature 348:552-554,1990; Kretzschmar T et.al., Curr Opin Biotechnol. 2002 Dec;13(6):598-602.)によって、ヒトのイムノグロブリン可変領域遺伝子を取得することもできる。ファージディスプレイ法

50

においては、ヒトイムノグロブリン可変領域をコードする遺伝子がファージ遺伝子に組み込まれる。多様なイムノグロブリン遺伝子をソースとして、ファージライブラリーを作成することもできる。ファージは自身を構成する蛋白質の融合蛋白質として、当該可変領域を発現する。ファージによって発現されたファージ表面の可変領域は、抗原との結合活性を維持している。従って、抗原又は抗原を発現した細胞などに結合するファージを選択することによって、ファージライブラリーから、目的とする結合活性を有する可変領域を発現したファージをスクリーニングすることができる。更に、こうして選択されたファージ粒子の中には、目的とする結合活性を有する可変領域をコードする遺伝子が保持されている。即ち、ファージディスプレイ法においては、可変領域の結合活性を指標として、目的とする結合活性を有する可変領域をコードしている遺伝子を取得することができる。

10

【0047】

本発明によるB細胞の活性抑制剤、又は抑制方法において、PLD4の細胞外ドメインを認識する抗体、又はその少なくとも抗原結合領域を含む抗体断片は、蛋白質として、或いはそれをコードするポリヌクレオチドとして、投与することができる。ポリヌクレオチドを投与するには、目的とする蛋白質を発現できるように、適当なプロモーターの制御下に目的とする蛋白質をコードするポリヌクレオチドを配置したベクターを利用するのが望ましい。ベクターには、エンハンサーやターミネーターを配置することもできる。イムノグロブリンを構成する重鎖と軽鎖の遺伝子を保持し、イムノグロブリン分子を発現することができるベクターが公知である。イムノグロブリンを発現することができるベクターは、細胞に導入することにより投与することができる。生体への投与にあたっては、生体への投与によって細胞に感染させることができるものはそのまま投与することができる。或いは、いったん生体から分離したリンパ球にベクターを導入して再び生体に戻すこともできる(ex vivo)。

20

【0048】

本発明に基づくB細胞の活性抑制剤、又は抑制方法において、生体に投与されるモノクローナル抗体の量は、イムノグロブリンとして体重1kgあたり、通常0.5mg~100mg、たとえば1mg~50mg、好ましくは2mg~10mgである。生体への抗体の投与間隔は、治療期間中の生体内におけるイムノグロブリンの有効濃度が維持できるように適宜調節することができる。具体的には、例えば、1~2週間間隔で投与することができる。投与経路は、任意である。当業者は、治療に際して効果的な投与経路を適宜選択することができる。具体的には、経口的に、又は非経口的な投与を示すことができる。たとえば、静脈内注射、筋肉内注射、腹腔内注射、又は皮下注射等により、全身又は局所に抗体を投与することができる。本発明における非経口投与に適当な製剤として、注射剤、座剤、噴霧剤などが挙げられる。また細胞に与える場合には、培養液中に通常1µg/mL、好ましくは10µg/mL以上、より好ましくは50µg/mL以上、更に好ましくは0.5mg/mL以上のイムノグロブリンを与える。

30

【0049】

本発明に基づくB細胞の活性抑制剤又は抑制方法において、モノクローナル抗体は、任意の方法により生体に投与することができる。通常モノクローナル抗体は、薬学的に許容される担体と配合される。モノクローナル抗体には、必要に応じて増粘剤、安定剤、防腐剤及び可溶化剤などの添加剤を配合することができる。このような担体又は添加剤としては、ラクトース、クエン酸、ステアリン酸、ステアリン酸マグネシウム、スクロース、デンプン、タルク、ゼラチン、寒天、植物油、エチレングリコールなどが挙げられる。「薬学的に許容される」という用語は、各国政府の監督当局により承認されているか、又は各国の薬局方若しくは一般的に認知されている薬局方に動物、哺乳動物、及び特にヒトへの使用に関して列記されていることを言う。本発明のB細胞の活性抑制剤は、1回又は複数回の用量の凍結乾燥粉末又は錠剤の形態で供給することもできる。凍結乾燥粉末又は錠剤には、更に、投与の前に該組成物を所望の濃度となるように溶解するための注射用の滅菌済みの水、生理的食塩水又は緩衝液を組み合わせることもできる。

40

【0050】

50

更に、イムノグロブリンを発現するベクターとして投与する場合には、重鎖と軽鎖を別のプラスミドとしてコトランスフェクトするとして、体重1kgあたり各プラスミドを0.1~10mg、例えば1~5mgを投与することができる。また *in vitro* において細胞に導入するためには、 $1 \sim 5 \mu\text{g} / 10^6 \text{ cell}$ のベクターが用いられる。以下、実施例に基づいて本発明を更に具体的に説明する。

【0051】

なお本明細書において引用されたすべての先行技術文献は、参照として本明細書に組み入れられる。

【0052】

以下実施例により本発明を更に詳細に説明するが、本発明はかかる実施例により何ら制限されるものではない。

【実施例】

【0053】

実施例 1

ヒトPBMC ($1 \times 10^7 \text{ cells/ml}$)をTLR9のリガンドであるCpG2006 (最終濃度 $1 \mu\text{M}$)で刺激し、24穴プレートでCO₂インキュベーター(37℃, 5% CO₂)で約20時間インキュベーションした。並行して、刺激を与えないヒトPBMC ($1 \times 10^7 \text{ cells/ml}$)もCO₂インキュベーター (37℃, 5% CO₂)で約20時間培養した。

ヒトPBMCをFACSバッファー(1% FBS/PBS)で5倍希釈したFcR Blocking Reagent (Miltenyi)で4℃に20分間処理した。洗浄後、1次抗体の5B7、11G9.6またはmouse IgG2b, (各 $10 \mu\text{g/ml}$)で4℃、15分間染色した。2次抗体以降の抗体は、FcR Blocking Reagentが25倍希釈になるよう加えたFACSバッファーで希釈した。2次抗体のPE標識-抗マウスIg(BD)を100倍希釈し、加えて混和した。あわせて、B細胞をFACS上で分画するためにAPC標識-抗ヒトCD19抗体(Biolegend)をFcR Blocking Reagentを含むFACSバッファーで30倍に希釈し、4℃、15分間染色した。FACS Calibur (BD)を使用してデータの取り込みを行った。X軸: FSCとY軸: SSCのドットプロット上で生細胞にゲートをかかけた。生細胞ゲート内の細胞数が100,000 countになるまでデータを取り込んだ。B細胞: 抗マーカー分子抗体陽性細胞をゲーティングした。ゲーティングした細胞をX軸: PLD4のヒストグラムで解析し、mouse IgG2b, での染色結果をオーバーレイした。その結果、抗PLD4抗体は刺激を入れていないB細胞にはほとんど結合しないが、TLR9リガンドによる刺激により選択的に結合した(図1)。このことはPLD4が活性化したB細胞上に発現することを示す。

【0054】

実施例 2

<各モノクローナル抗体によるB細胞への結合試験>

ヒトPBMCを最終濃度 $1 \mu\text{M}$ のCpG2006で約20時間刺激をした。細胞を回収し、FcR Blocking Reagentで4℃に20分間処理した。洗浄後、1次抗体の3B4、5B7、13D4、13H11、11G9.6、mouse IgG1, またはmouse IgG2b, を各 $10 \mu\text{g/ml}$ で4℃に15分間染色した。2次抗体にPE標識-抗マウスIgで4℃に15分間染色した。B細胞群のゲーティングのために、APC標識-抗ヒトCD19抗体を4℃に15分間で二重染色した。X軸: FSCとY軸: SSCのドットプロット上の生細胞群を抗PLD4抗体のCD19陽性細胞への結合により解析した(図2および図3)。その結果、試験したすべての抗PLD4モノクローナル抗体はTLR9刺激したB細胞に結合した。すなわち、すべての抗PLD4モノクローナル抗体で、活性化依存的にB細胞においてPLD4の発現誘導が起こっていることが確認された。

【0055】

実施例 3

< 抗 P L D 4 キメラ抗体の活性化 B 細胞に対する細胞障害活性 >

活性は TLR リガンド (1 μ M) による刺激で誘導された、 P L D 4 陽性活性化 B 細胞群の頻度を指標とした。ヒト P B M C を C p G 2 0 0 6 および各抗 P L D 4 キメラ抗体またはコントロール I g で約 1 6 時間培養した。培地は R P M I 1 6 4 0 (S I G M A) を使用した (1 0 % F B S (E q u i t e c h - b i o) 、 5 m l 2 0 0 m M L - G l u t a m i n e (G I B C O) 、 5 m l P e n - S t r e p (G I B C O) 、 5 m l S o d i u m P y r u v a t e (G I B C O) 、 0 . 5 m l 5 0 m M 2 - M E (S I G M A) を含む) 。細胞を回収し、 F c R B l o c k i n g R e a g e n t で 4 に 2 0 分間処理した。洗浄後、さらに、 1 次抗体の 5 B 7 または 1 3 D 4 で 3 B 4 、または mouse I g G 2 b , で 4 、 1 5 分間染色した (各 1 0 μ g / m l) 。 P B M C をキメラ 3 B 4 抗体 (c h 3 B 4) 、キメラ 3 D 4 抗体 (c h 3 D 4) 、またはキメラ 1 3 H 1 1 抗体 (c h 1 3 H 1 1) で処理したサンプルは 5 B 7 で染色し、キメラ 5 B 7 抗体 (c h 5 B 7) またはキメラ 1 1 G 9 . 6 抗体 (c h 1 1 G 9 . 6) で処理したサンプルは 1 3 D 4 で染色した。 A D C C 用に処理した抗 P L D 4 抗体クローンと染色に用いた抗 P L D 4 抗体クローンは互いに拮抗しないことを確認済みである。抗 P L D 4 抗体の結合は、 2 次抗体の P E 標識 - 抗マウス I g で 4 に 1 5 分間の処理により見出された。 B 細胞のゲーティングのために、 A P C 標識 - 抗ヒト C D 1 9 抗体で 4 、 1 5 分間で二重染色した (図 4) 。各抗 P L D 4 キメラ抗体で処理された P L D 4 陽性活性化 B 細胞集団をコントロール抗体処理した P L D 4 陽性活性化 B 細胞集団と比較した (図 5) 。その結果、すべての抗 P L D 4 キメラ抗体は、活性化した P L D 4 陽性 B 細胞をコントロール I g 処理よりも減少させた (コントロール I g で処理した場合を 1 0 0 % とした時、 c h 3 B 4 : 7 0 . 2 % 、 c h 1 3 D 4 : 5 6 . 0 % 、 c h 1 3 H 1 1 : 5 5 . 3 % 、 c h 5 B 7 : 2 5 . 8 % 、 c h 1 1 G 9 . 6 : 6 6 . 4 %) 。

【 0 0 5 6 】

実施例 4

< 活性化 B 細胞に対する、抗 P L D 4 キメラ抗体の抑制効果 >

抗ヒト P L D 4 抗体の B 細胞の活性化による B 細胞成熟化とイムノグロブリン産生に対する効果を測定するために、全血からのヒト P B M C を c h 3 B 4 ・ c h 5 B 7 ・ c h 1 3 D 4 ・ c h 1 3 H 1 1 ・ c h 1 1 G 9 . 6 またはコントロール I g で 2 4 時間処理した。そして、 B 細胞の活性化を誘導するために、 P B M C をさらに C p G 2 2 1 6 (1 μ M) とヒト I L - 6 存在下で培養し、その結果 B 細胞の成熟化が起きた。 7 日間の活性化 B 細胞の培養の結果、活性化 B 細胞の中の C D 1 9 陽性 C D 2 7 陽性 I g D 陰性 C D 3 8 陽性形質芽細胞を、 P E 標識 抗ヒト C D 1 9 抗体を用いたフローサイトメトリーで解析した。ヒト I g G 産生を測定するために、培養された活性化 B 細胞は、 P B S で二回洗った後、 5 0 n g / m l の P M A (ホルボールミリステートアセテート) で再度活性化された。二日後に、培養上清中のヒト I g G 産生は E L I S A で測定された。活性化 B 細胞中の形質芽細胞はコントロール I g 処理と比較して、 c h 3 B 4 ・ c h 5 B 7 ・ c h 1 3 D 4 ・ c h 1 3 H 1 1 又は c h 1 1 G 9 . 6 による処理で減少した (図 6) 。ヒト I g G 産生も、コントロール I g 処理と比較して、 c h 3 B 4 ・ c h 5 B 7 ・ c h 1 3 D 4 ・ c h 1 3 H 1 1 又は c h 1 1 G 9 . 6 による処理で減少した (図 7) 。これらの結果は、ヒト P L D 4 キメラ抗体の処理により、活性化された抗体分泌ヒト B 細胞が減少されたということを示していた。

【 産業上の利用可能性 】

【 0 0 5 7 】

上記実施例が示すように、抗 P L D 4 抗体は、活性化 B 細胞を認識及び抑制する。従って、免疫機能が関与する疾患 (自己免疫疾患及びアレルギー性疾患) の予防及び治療に有用である。

【 0 0 5 8 】

10

20

30

40

50

< 本発明に係る抗PLD4モノクローナル抗体の配列情報の説明 >

1. 抗PLD4マウス11G9.6抗体

得られた抗PLD4マウス11G9.6抗体の重鎖可変領域の核酸配列は配列番号：74、アミノ酸配列は配列番号：75である。マウス11G9.6抗体の重鎖可変領域内のCDR1、CDR2、CDR3のアミノ酸配列はそれぞれ配列番号：2、配列番号：3、配列番号：4である。

抗PLD4マウス11G9.6抗体の重鎖可変領域の核酸配列(504bp) [大文字：マウス 11G9.6VH 可変領域，小文字：マウス IgG2b 重鎖 定常領域](配列番号：74)

ATGAGATCACAGTTCTCTATACAGTTACTGAGCACACAGAACCTCACCTTGGGATGGAGCTGTATCATCCTCTTCTTGGT
AGCAACAGCTACAGGTGTCCACTCCCAGGTCCAAGTGCAGCAGCCTGGGGCTGAACTGGTGAAGCCTGGGACTTCAGTGA
AAATGTCCTGCAAGGCTTCTGGCTACACCTTACCAGCTACTGGATGCACTGGGTGAAGCAGAGGCCGGGACAAGGCCTT
GAGTGGATTGGAGATATTTATCCTGGTAGTGATAGTACTAACTACAATGAGAAGTTCAAGAGCAAGGCCACACTGACTGT
AGACACATCCTCCAGCACAGCCTACATGCAACTCAGCAGCCTGACATCTGAGGACTCTGCGGTCTATTACTGTGCAAGAG
GAGGGTGGTTGGATGCTATGGACTACTGGGGTCAAGGAACCTCAGTCACCGTCTCCTCAgccaaaacaacacccccatca
gtctatccactggcccctaagggc

10

マウス11G9.6抗体の重鎖可変領域のアミノ酸配列(168 a.a.) [大文字：マウス11G9.6VH 可変領域，小文字：マウス IgG2b 重鎖 定常領域]下線の配列はシグナル配列、二重下線はCDR 領域(CDR1, CDR2, CDR3)を示す(配列番号：75)。

MRSQFSIQLLSTQNLTLGWSCILFLVATATGVHSQVQLQQPGAELVKPGTSVKMSCK
ASGYTFTSYWMHWVKQRPGQGLEWIGDIYPGSDSTNYNEKFKSKATLTVDTSSSTA
YMQLSSLTSEDSAVYYCARGGWLDAMDYWGQGTSVTVSSSaktppsvyplapkg

20

11G9.6抗体の重鎖可変領域のCDR1

SYWMH (配列番号：2)

11G9.6抗体の重鎖可変領域のCDR2

DIYPGSDSTNYNEKFKS (配列番号：3)

11G9.6抗体の重鎖可変領域のCDR3

GGWLDAMDY (配列番号：4)

30

得られた抗PLD4マウス11G9.6抗体の軽鎖可変領域の核酸配列は配列番号：38、アミノ酸配列は配列番号：39である。マウス11G9.6抗体の軽鎖可変領域内のCDR1、CDR2、CDR3のアミノ酸配列はそれぞれ配列番号：40、配列番号：41、配列番号：42である。

抗PLD4マウス11G9.6抗体の軽鎖可変領域の核酸配列(421bp) [大文字：マウス 11G9.6VL 可変領域，小文字：マウス Ig 軽鎖 定常領域] (配列番号：94)

ATGATGTCCTCTGCTCAGTTCCTTGGTCTCCTGTTGCTCTGTTTTCAAGGTACCAGATGTGATATCCAGATGACACAGAC
TACATCCTCCCTGTCTGCCTCTCTGGGAGACAGAGTCACCATCAGTTGCAGGGCAAGTCAGGACATTAGCAATTTATTTAA
ACTGGTATCAGCAGAAACCAGATGGAAGTCTTAACTCCTGATCTACTACACATCAAGATTACACTCAGGAGTCCCATCA
AGGTTACAGTGGCAGTGGGTCTGGAACAGATTATTCTCTCACCATTAGCAACCTGGAGCAAGAAGATATTGCCACTTACTT
TTGCCAACAGGGTAATACGCTTCCGTGGACGTTCCGGTGGAGGCACCAAGCTGGAATCAAacgggctgatgctgcaccaa
ctgtatccatcaagggcgaat

40

マウス11G9.6抗体の軽鎖可変領域のアミノ酸配列(140 a.a.) [大文字：マウス 11G9.6VL 可変領域，小文字：マウス Ig 軽鎖 定常領域]下線の配列はシグナル配列、二重下線はCDR 領域(CDR1, CDR2, CDR3)を示す(配列番号：95)。

MMSSAQFLGLLLLCFQGTRCDIQMTQTSSLSASLGDRVTISCRASQDISNYLNWYQ
QKPDGTVKLLIYYTSRLHSGVPSRFSGSGSGTDYSLTISNLEQEDIATYFCQOGNTLP
WTFGGGTKLEIKradaaptvsikge

50

11G9.6抗体の軽鎖可変領域のCDR1
 RASQDISNYLN (配列番号：5)
 11G9.6抗体の軽鎖可変領域のCDR2
 YTSRLHS (配列番号：6)
 11G9.6抗体の軽鎖可変領域のCDR3
 QQGNTLPW (配列番号：7)

【0059】

2. 抗PLD4マウス3B4抗体

得られた抗PLD4マウス3B4抗体の重鎖可変領域の核酸配列は配列番号：76、アミノ酸配列は配列番号：77である。マウス3B4抗体の重鎖可変領域内のCDR1、CDR2、CDR3のアミノ酸配列はそれぞれ配列番号：8、配列番号：9、配列番号：10である。

10

抗PLD4マウス3B4抗体の重鎖可変領域の核酸配列(437bp) [大文字：マウス3B4VH 可変領域，小文字：マウス IgG1 重鎖定常領域]

ATGGAATGTAAGTGGATACTTCCTTTTATTCTGTGCGTAATTCAGGGGTCTCCTCAGAGGTTCCAGCTCCAGCAGTCTGG
 GACTGTGCTGTCAAGGCCTGGGGCTTCCGTGACGATGCTCCTGCAAGGCTTCTGGCGACAGCTTTACCACCTACTGGATGC
 ACTGGGTAAAACAGAGGCCTGGACAGGGTCTAGAATGGATTGGTGCTATCTATCCTGGAAATAGTGAACTAGCTACAAC
 CAGAAGTTCAAGGGCAAGGCCAACTGACTGCAGTCACATCCGCCAGCACTGCCTATATGGAGTTCACTAGCCTGACAAA
 TGAGGACTCTGCGGTCTATTACTGTACGGGGGGTTATTCGACTTTGACTACTGGGGCCAAGGCACCACTCTCACAGTCT
 CCTCAgcaaaaacgacacccccatctgtctatccact

マウス3B4抗体の重鎖可変領域のアミノ酸配列(145 a.a.) [大文字：マウス 3B4VH 可変領域，小文字：マウス IgG1 重鎖定常領域]下線の配列はシグナル配列、二重下線はCDR領域(CDR1，CDR2，CDR3)を示す。

20

MECNWILPFILSVISGVSSEVQLQSGTVLSRPGASVTMSCKASGDSFTTYWMHWVK
QRPQGGLEWIGAIYPGNSETSYNQKFKGKAKLTAVTSASTAYMEFTSLTNEDSAVYY
CTGGYSDFDYWGQGTTLTVSSSaktppsvyp

3B4抗体の重鎖可変領域のCDR1

TYWMH

30

3B4抗体の重鎖可変領域のCDR2

AIYPGNSETSYNQKFKG

3B4抗体の重鎖可変領域のCDR3

GYSDFDY

得られた抗PLD4マウス3B4抗体の軽鎖可変領域の核酸配列は配列番号：96、アミノ酸配列は配列番号：97である。マウス3B4抗体の軽鎖可変領域内のCDR1、CDR2、CDR3のアミノ酸配列はそれぞれ配列番号：11、配列番号：12、配列番号：13である。

抗PLD4マウス3B4抗体の軽鎖可変領域の核酸配列(459bp) [大文字：マウス3B4VL 可変領域，小文字：マウス Ig 軽鎖定常領域]

ATGATGGTCCTTGCTCAGTTTCTTGCACTTCTGTTGCTTTGGTTTCCAGGTGCAGGATGTGACATCCTGATGACCCAATC
 TCCATCCTCCATGTCTGTATCTCTGGGAGACACAGTCAGCATCACTTGCCATGCAAGTCAGGGCATTAGAAGTAATATAG
 GGTGGTTGCAGCAGAAACCAGGGAAATCATTTAAGGGCCTGATCTTTTCATGGAACCAACTTGAAGATGGAGTTCCATCA
 AGGTTCAAGTGGCAGAGGATCTGGAGCAGATTATTCTCTCACCATCAACAGCCTGGAATCTGAAGATTTTGCAGACTATTA
 CTGTGTACAGTATGTTTCAGTTTCTCCAACGTTTCGGCTCGGGACAAAGTTGAAATAAGAcgggctgatgctgcaccaa
 ctgtatccatcttcccaccatccagtgagcagttaacatctggagggtgcctcagtcgtg

40

マウス3B4抗体の軽鎖可変領域のアミノ酸配列(153 a.a.) [大文字：マウス 3B4VL 可変領域，小文字：マウス Ig 軽鎖定常領域]下線の配列はシグナル配列、二重下線はCDR領域(CDR1，CDR2，CDR3)を示す。

MMVLAQFLAFLLLWFPGAGCDILMTQSPSSMSVSLGDTVSITHASQGIRSNIGWLQ
QKPGKSKGLIFHGTNLEDGVPSRFSGRGSGADYSLTINSLESEDFADYYCVQYVQFP
 PTFGSGTKLEIRradaaptvsifppsseqltsggasvv

3B4抗体の軽鎖可変領域のCDR1

HASQGI RSNIG

3B4抗体の軽鎖可変領域のCDR2

HGTNLED

3B4抗体の軽鎖可変領域のCDR3

VQYVQFP

【 0 0 6 0 】

3. 抗PLD4マウス5B7抗体

得られた抗PLD4マウス5B7抗体の重鎖可変領域の核酸配列は配列番号：78、アミノ酸配列は配列番号：79である。マウス5B7抗体の重鎖可変領域内のCDR1、CDR2、CDR3のアミノ酸配列はそれぞれ配列番号：14、配列番号：15、配列番号：16である。

抗PLD4マウス5B7抗体の重鎖可変領域の核酸配列(475bp) [大文字：マウス5B7VH可変領域，小文字：マウスIgG2b重鎖定常領域]

ATGGGATGGAGCTGGATCTTTCTCTTCCTCCTGTCAGGAACTGCAGGCGTCCACTCTGAGGTCCAGCTTCAGCAGTCAGG
 ACCTGAACTGGTGAACCTGGGGCCTCAGTGAAGATATCCTGCAAGGCTTCTGGATACACATTCAGTACTACAACCTTGC
 ACTGGGTGAAGCAGAGCCATGAAAGAGCCTTGAGTGGATTGGATATATTTATCCTTACAATGGTAATACTGGCTACAAC
 CAGAAGTTCAAGAGGAAGGCCACATTGACTGTAGACAATTCCTCCGGCACAGTCTACATGGAGCTCCGCAGCCTGACATC
 TGAGGACTCTGCAGTCTATTACTGTGCAAGAGGAGGGATCTATGATGATTACTACGACTATGCTATCGACTATTGGGGTC
 AAGGAACCTCAGTCACCGTCTCCTCAGccaaaacaacacccccatcagtcctatccactggcccctaagggcgaa t

マウス5B7抗体の重鎖可変領域のアミノ酸配列(158 a.a.) [大文字：マウス 5B7VH 可変領域，小文字：マウス IgG2b 重鎖定常領域]下線の配列はシグナル配列、二重下線はCDR領域(CDR1，CDR2，CDR3)を示す。

MGWSWIFLFLLSGTAGVHSEVQLQQSGPELVKPGASVKISCKASGYTFTDYNLHWV
KQSHGKSLEWIGYIYPYNGNTGYNQKFKRKATLTVDNSSGTVYMELRSLTSEDSAV
YYCARGGIYDDYYDYAIDYWGQGTSVTVSSaktppsvyplapkge

5B7抗体の重鎖可変領域のCDR1

DYNLH

5B7抗体の重鎖可変領域のCDR2

YIYPYNGNTGYNQKFKR

5B7抗体の重鎖可変領域のCDR3

GGIYDDYYDYAIDY

得られた抗PLD4マウス5B7抗体の軽鎖可変領域の核酸配列は配列番号：98、アミノ酸配列は配列番号：99である。マウス5B7抗体の軽鎖可変領域内のCDR1、CDR2、CDR3のアミノ酸配列はそれぞれ配列番号：17、配列番号：18、配列番号：19である。

抗PLD4マウス5B7抗体の軽鎖可変領域の核酸配列(467 bp) [大文字：マウス5B7VL 可変領域，小文字：マウス Ig 軽鎖定常領域]

ATGAGTGTGCCCACTCAGGTCTGGGGTTGCTGCTGCTGTGGCTTACAGATGCCAGATGTGACATCCAGATGACTCAGTC
 TCCAGCCTCCCTATCTGTATCTGTGGGAGAACTGTCGCCATCACATGTCGAGCAAGTGAGAATATTTACAGTCAATAG
 CATGGTATCAGCAGAAAGAGGGAAAATCTCCTCAGCGCCTGGTCTATGGTGAACAACTTAGCACATGGTGTGCCATCA
 AGGTTCAAGTGGCAGTGGATCAGGCACACAGTATTCCTCAAGATCAACAGCCTTCAGTCTGAAGATTTGGGAGTTATTA
 CTGTCAACATTTTTGGGGTACTCCGTGGACGTTCCGGTGGAGGCACCAAGCTGGAATCAAacgggctgatgctgcaccaa

10

20

30

40

50

ctgtatccatcttcccaccatccagtgagcagttaacatctggagggtgcctcagtcggtgcttctt

マウス5B7抗体の軽鎖可変領域のアミノ酸配列(155 a.a.) [大文字: マウス 5B7VL 可変領域, 小文字: マウス Ig 軽鎖定常領域]下線の配列はシグナル配列、二重下線はCDR領域(CDR1, CDR2, CDR3)を示す。

MSVPTQVLGLLLLWLDARCDIQMTQSPASLSVSVGETVAITCRASENIYSHIAWYQ
QKEGKSPQRLVYGATNLAHGVPSPRFSGSGSGTQYSLKINSLQSEDFGSYYCQHFWGT
PWTFGGGTKLEIKradaaptvsifppsseqltsggasvvcf

10

5B7抗体の軽鎖可変領域のCDR1

RASENIYSHIA

5B7抗体の軽鎖可変領域のCDR2

GATNLAH

5B7抗体の軽鎖可変領域のCDR3

QHFWGTP

【 0 0 6 1 】

4. 抗PLD4マウス7B4抗体

得られた抗PLD4マウス7B4抗体の重鎖可変領域の核酸配列は配列番号: 80、アミノ酸配列は配列番号: 81である。マウス7B4抗体の重鎖可変領域内のCDR1、CDR2、CDR3のアミノ酸配列はそれぞれ配列番号: 14、配列番号: 15、配列番号: 16である。

20

抗PLD4マウス7B4抗体の重鎖可変領域の核酸配列(470bp) [大文字: マウス7B4VH可変領域, 小文字: マウスIgG2b重鎖定常領域]

ATGGGATGGAGCTGGATCTTTCTCTTCTCCTGTCAGGAACTGCAGGCGTCCACTCTGAGGTCCAGCTTCAGCAGTCAGG
ACCTGAACTGGTGAACCTGGGGCCTCAGTGAAGATATCCTGCAAGGCTTCTGGATACACATTCAGTACTACAACCTTGC
ACTGGGTGAAGCAGAGCCATGAAAGAGCCTTGAGTGGATTGGATATATTTATCCTTACAATGGTAATACTGGCTACAAC
CAGAAGTTCAGAGGAAGGCCACATTGACTGTAGACAATCCTCCGGCACAGTCTACATGGAGCTCCGCAGCCTGACATC
TGAGGACTCTGCAGTCTATTACTGTGCAAGAGGAGGGATCTATGATGATTACTACGACTATGCTATCGACTATTGGGGTC
AAGGAACCTCAGTCACCGTCTCCTCAgcaaaaacaacacccccatcagtcctatccactggcccctaaggg

マウス7B4抗体の重鎖可変領域のアミノ酸配列(156 a.a.) [大文字: マウス 7B4VH 可変領域, 小文字: マウス IgG2b 重鎖定常領域]下線の配列はシグナル配列、二重下線はCDR領域(CDR1, CDR2, CDR3)を示す。

30

MGWSWIFLFLLSGTAGVHSEVQLQQSGPELVKPGASVKISCKASGYTFTDYNLHWV
KQSHGKSLEWIGYIYPYNGNTGYNQKFKRKATLTVDNSSGTVYMELRSLTSEDSAV
YYCARGGIYDDYDYAIDYWGQGTSVTVSSaktppsvyplapk

7B4抗体の重鎖可変領域のCDR1

DYNLH

7B4抗体の重鎖可変領域のCDR2

YIYPYNGNTGYNQKFKR

7B4抗体の重鎖可変領域のCDR3

GGIYDDYDYAIDY

40

得られた抗PLD4マウス7B4抗体の軽鎖可変領域の核酸配列は配列番号: 100、アミノ酸配列は配列番号: 101である。マウス7B4抗体の軽鎖可変領域内のCDR1、CDR2、CDR3のアミノ酸配列はそれぞれ配列番号: 17、配列番号: 18、配列番号: 19である。

抗PLD4マウス7B4抗体の軽鎖可変領域の核酸配列(454 bp) [大文字: マウス7B4VL 可変領域, 小文字: マウス Ig 軽鎖定常領域]

ATGAGTGTGCCACTCAGGTCTGGGGTTGCTGCTGCTGGCTTACAGATGCCAGATGTGACATCCAGATGACTCAGTC

50

TCCAGCCTCCCTATCTGTATCTGTGGGAGAACTGTCGCCATCACATGTCGAGCAAGTGAGAATATTTACAGTCATATAG
 CATGGTATCAGCAGAAAGAGGGAAAATCTCCTCAGCGCCTGGTCTATGGTGCAACAACTTAGCACATGGTGTGCCATCA
 AGGTTCAAGTGGCAGTGGATCAGGCACACAGTATCCCTCAAGATCAACAGCCTTCAAGTCTGAAGATTTTGGGAGTTATTA
 CTGTCAACATTTTTGGGGTACTCCGTGGACGTTCCGTGGAGGCACCAAGCTGGAAATCAAACggggctgatgctgcaccaa
 ctgtatccatcttcccaccatccagtgagcagttaacatctggaggtgcctcag

マウス7B4抗体の軽鎖可変領域のアミノ酸配列(151 a.a.) [大文字: マウス 7B4VL 可変領域, 小文字: マウス Ig 軽鎖定常領域] 下線の配列はシグナル配列、二重下線はCDR領域(CDR1, CDR2, CDR3)を示す。

MSVPTQVLGLLLLWLTDARCDIQMTQSPASLSVSVGETVAITCRASENIYSHIAWYQ
QKEGKSPQRLVYGATNLAHGVPSRFSGSGSGTQYSLKINSLQSEDFGSYYCQHFWGT
PWTFGGGTKLEIKradaaptvsifppsseqtsggas

10

7B4抗体の軽鎖可変領域のCDR1

RASENIYSHIA

7B4抗体の軽鎖可変領域のCDR2

GATNLAH

7B4抗体の軽鎖可変領域のCDR3

QHFWGTP

20

【 0 0 6 2 】

5. 抗PLD4マウス8C11抗体

得られた抗PLD4マウス8C11抗体の重鎖可変領域の核酸配列は配列番号: 82、アミノ酸配列は配列番号: 83である。マウス8C11抗体の重鎖可変領域内のCDR1、CDR2、CDR3のアミノ酸配列はそれぞれ配列番号: 20、配列番号: 21、配列番号: 22である。

抗PLD4マウス8C11抗体の重鎖可変領域の核酸配列(462 bp) [大文字: マウス8C11VH 可変領域, 小文字: マウス IgG2b 重鎖定常領域]

ATGGGATGGAGCTATATCATCCTCTTTTTGGTAGCAACAGCAACAGGGGTCCACTCCCAGGTCCAAGTGCAGCAGTCGGG
 GGCTGAACTGGTGAAGCCTGGGGCTTCAGTGAAGTTGTCCTGCAAGGCTTCTGGCTACACCTTACCAGCTACTATTTGT
 ACTGGGTGAGGCAGAGGCCTGGACAAGGCCTTGAGTGGATTGGACTGATTAATCTACCAATAGTGATACTATCTTCAAT
 GAGAAGTTCAAGAGCAAGGCCACACTGACTGTAGACAAATCCTCCAGCACAGCATAACATGCAACTCAGCAGCCTGACATC
 TGAGGACTCTGCGGTCTATTACTGTACACGAGAGGGGGATATGGTTACGGCCGTTTGTCTACTGGGGCCAAGGGACTC
 TGGTCACTGTCTCTGCAgccccaaacaacacccccatcagtcctaccactggccccctaagggc

30

マウス8C11抗体の重鎖可変領域のアミノ酸配列(154 a.a.) [大文字: マウス 8C11VH 可変領域, 小文字: マウス IgG2b 重鎖定常領域] 下線の配列はシグナル配列、二重下線はCDR領域(CDR1, CDR2, CDR3)を示す。

MGWSYIILFLVATATGVHSQVQLQQSGAELVKPGASVKLSCKASGYTFTSYLYLWV
RQRPGQGLEWIGLINPTNSDTIFNEKFKSKATLTVDKSSSTAYMQLSSLTSEDSAVYY
CTREGGYGYGPFAYWGQTLVTVSAaktppsavyplapkg

40

8C11抗体の重鎖可変領域のCDR1

SYLY

8C11抗体の重鎖可変領域のCDR2

LINPTNSDTIFNEKFKS

8C11抗体の重鎖可変領域のCDR3

EGGYGYGPFAY

得られた抗PLD4マウス8C11抗体の軽鎖可変領域の核酸配列は配列番号: 102、アミノ酸配列は配列番号: 103である。マウス8C11抗体の軽鎖可変領域内のCDR1、CDR2、CDR3

50

のアミノ酸配列はそれぞれ配列番号：23、配列番号：24、配列番号：25である。

抗PLD4マウス8C11抗体の軽鎖可変領域の核酸配列(457 bp)[大文字：マウス8C11VL 可変領域，小文字：マウス Ig 軽鎖定常領域]

ATGAAGTTGCTGTTAGGCTGTTGGTGCTGATGTTCTGGATTCCCTGCTTCCAGCAGTGATGTTGTGATGACCCAACTCC
 ACTCTCCCTGCCTGTGAGTCTTGGAGATCAAGCCTCCATCTCTGCACATCTAGTCAGACCCTTGTACACAGTAATGGAA
 ACACCTATTTACATTGGTACCTGCAGAAGCCAGGCCAGTCTCCAAAGCTCCTGATCTACAAAGTTTCCAACCGATTTTCT
 GGGGTCCCAGACAGGTTCACTGGCAGTGGATCAGGGACAGATTTTCACTCAAGATCAGCAGAGTGAGGCTGAGGATCT
 GGGAGTTTATTTCTGCTCTCACAGTACACATGTTCCATTCACGTTCCGGCTCGGGGACAAAAGTTGAAATAAAAcgggctg
 atgctgcaccaactgtatccatcttcccaccatccagtgcagcttaacatctggag マウス8C11抗体の軽鎖
 可変領域のアミノ酸配列(152 a.a.) [大文字：マウス 8C11VL 可変領域，小文字：マウス
 Ig 軽鎖定常領域]下線の配列はシグナル配列、二重下線はCDR 領域(CDR1, CDR2, CDR
 3)を示す。

MKLPVRLLVLMFWIPASSSDVVMTQTPLSLPVSLGDQASISCTSSQTLVHSNGNTYLH
WYLQKPGQSPKLLIYKVSNRFSGVPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDLGVYFCSHST
HVPFTFGSGTKLEIKradaaptvsifppsseqltsg

8C11抗体の軽鎖可変領域のCDR1

TSSQTLVHSNGNTYLH

8C11抗体の軽鎖可変領域のCDR2

KVSNRFS

8C11抗体の軽鎖可変領域のCDR3

HSTHVP

【0063】

6. 抗PLD4マウス10C3抗体

得られた抗PLD4マウス10C3抗体の重鎖可変領域の核酸配列は配列番号：84、アミノ酸配列は配列番号：85である。マウス10C3抗体の重鎖可変領域内のCDR1、CDR2、CDR3のアミノ酸配列はそれぞれ配列番号：26、配列番号：27、配列番号：28である。

抗PLD4マウス10C3抗体の重鎖可変領域の核酸配列(450bp) [大文字：マウス10C3VH 可変領域，小文字：マウス IgG2a 重鎖定常領域]

ATGAACTTCGGGCTCAGCTTGATTTTCCCTTGCCCTCATTTTTAAAGGTGTCCAGTGTGAGGTGCAGCTGGTGGAGTCTGG
 GGGAGACTTAGTGAGGCCTGGAGGTCCTGAAACTCTCCTGTGCAGCCTCTGGATTCAGTTTCAGTAGCTATGGCATGT
 CTTGGTTTCGCCAGACTCCAGACAAGAGGCTGGAGTGGGTCGCAACCATTAGTAGTGGTGGTAGTTACATCTACTATCCA
 GAAAGTGTGAAGGGGCGATTACCATCTCCAGAGACAATGCCAGGAACATCCTGTACCTGCAAATGAGCAGTCTGAAGTC
 TGAGGACACAGCCATGTATTATTGTGAAGACTCTACGGTGGTAGGAGAGGCTATGGTTTGGACTACTGGGGTCAAGGAA
 CCTCAGTCACCGTCTCCTCAgccccaaacaacagccccatcggtctatcca

マウス10C3抗体の重鎖可変領域のアミノ酸配列(150 a.a.) [大文字：マウス 10C3VH 可変領域，小文字：マウス IgG2a 重鎖定常領域]下線の配列はシグナル配列、二重下線はCDR 領域(CDR1, CDR2, CDR3)を示す。

MNFGLSLIFLALILKGVQCEVQLVESGGDLVRPGGSLKLSCAASGFSFSSYGMSWFRQ
TPDKRLEWVATISSGGSYIYPESVKGRFTISRDNARNILYLQMSSLKSEDTAMYYCV
RLYGGRRGYGLDYWGQGTSVTVSSakttapsvyp

10C3抗体の重鎖可変領域のCDR1

SYGMS

10C3抗体の重鎖可変領域のCDR2

TISSGGSYIYPESVKG

10

20

30

40

50

10C3抗体の重鎖可変領域のCDR3

LYGRRGYGLDY

得られた抗PLD4マウス10C3抗体の軽鎖可変領域の核酸配列は配列番号：104、アミノ酸配列は配列番号：105である。マウス10C3抗体の軽鎖可変領域内のCDR1、CDR2、CDR3のアミノ酸配列はそれぞれ配列番号：29、配列番号：30、配列番号：31である。

抗PLD4マウス10C3抗体の軽鎖可変領域の核酸配列(423 bp)[大文字：マウス10C3VL 可変領域，小文字：マウス Ig 軽鎖定常領域]

ATGAGTTCTCTGCTCAGCTTCTGGGGCTGCTTGTGCTCTGGATCCCTGGATCCACTGCGGAAATTGTGATGACGCAGGC
TGCATTCTCCAATCCAGTCACTCTTGAACATCAGCTTCCATCTCCTGCAGGTCTAGTAAGAGTCTCCTACATAGTGATG
GCATCACTTATTTGTATTGGTATCTGCAGAAGCCAGGCCAGTCTCCTCAGCTCCTGATTTATCAGATGTCCAACCTTGCC
TCAGGAGTCCCAGACAGTTTCAGTAGCAGTGGTCCAGGAAGTATTTACACTGAGAATCAGCAGAGTGGAGGCTGAGGA
TGTGGGTGTTTATTACTGTGCTCAAAATCTAGAAGTTTACACGTTTCGGAGGGGGACCAAGCTGGAAATAAAcgggctg
atgctgcaccaactgtatccatc

10

マウス10C3抗体の軽鎖可変領域のアミノ酸配列(141 a.a.) [大文字：マウス 10C3VL 可変領域，小文字：マウス Ig 軽鎖定常領域]下線の配列はシグナル配列、二重下線はCDR領域(CDR1, CDR2, CDR3)を示す。

MRFSAQLLGLLVLWIPGSTAEIVMTQAAFSNPVTLGTSASISCRSSKSL LHSDGITYLY
WYLQKPGQSPQLLIYQMSNLASGVPDRFSSSSGSGTDFTLRISRVEAEDVGVVYYCAQN
LELYTFGGGTKLEIKradaaptvsi

20

10C3抗体の軽鎖可変領域のCDR1

RSSKSL LHSDGITYLY

10C3抗体の軽鎖可変領域のCDR2

QMSNLAS

10C3抗体の軽鎖可変領域のCDR3

AQNLEL

【0064】

7. 抗PLD4マウス11D10抗体

30

得られた抗PLD4マウス11D10抗体の重鎖可変領域の核酸配列は配列番号：86、アミノ酸配列は配列番号：87である。マウス11D10抗体の重鎖可変領域内のCDR1、CDR2、CDR3のアミノ酸配列はそれぞれ配列番号：26、配列番号：27、配列番号：28である。

抗PLD4マウス11D10抗体の重鎖可変領域の核酸配列(450bp) [大文字：マウス11D10VH 可変領域，小文字：マウス IgG2b 重鎖定常領域]

ATGAACCTCGGGCTCAGCTTGATTTTCCCTTGCCCTCATTTTAAAGGTGTCCAGTGTGAGGTGCAGCTGGTGGAGTCTGG
GGGAGACTTAGTGAGGCCTGGAGGGTCCCTGAAACTCTCCTGTGCAGCCTCTGGATTCAGTTTCAGTAGCTATGGCATGT
CTTGTTTCCGACACTCCAGACAAGAGGCTGGAGTGGTCCGCAACCATTAGTAGTGGTGGTAGTTACATCTACTATCCA
GAAAGTGTGAAGGGGCGATTACCATCTCCAGAGACAATGCCAGGAACATCCTGTACCTGCAAATGAGCAGTCTGAAGTC
TGAGGACACAGCCATGTATTATTGTGTAAGACTCTACGGTGGTAGGAGAGGCTATGGTTTGGACTACTGGGTCAAGGAA
CCTCAGTCACCGTCTCCTCAgcaaaaacaacacccccatcagtcctatcca

40

マウス11D10抗体の重鎖可変領域のアミノ酸配列(150 a.a.) [大文字：マウス 11D10VH 可変領域，小文字：マウス IgG2b 重鎖定常領域]下線の配列はシグナル配列、二重下線はCDR領域(CDR1, CDR2, CDR3)を示す。

MNFGLSLIFLALILKGVQCEVQLVESGGDLVRPGGSLKLSCAASGFSFSSYGM^{SWFRQ}
TPDKRLEWVATISSGGSYIYYPESVKGRFTISRDNARNILYLQMS^{SLKSEDT}AMYYCV
RLYGRRGYGLDYWGQGTSVTVSS aktppsvyp

50

11D10抗体の重鎖可変領域のCDR1
SYGMS
11D10抗体の重鎖可変領域のCDR2
TISSGGSYIYPESVKG
11D10抗体の重鎖可変領域のCDR3
LYGRRRGYGLDY

得られた抗PLD4マウス11D10抗体の軽鎖可変領域の核酸配列は配列番号：106、アミノ酸配列は配列番号：107である。マウス11D10抗体の軽鎖可変領域内のCDR1、CDR2、CDR3のアミノ酸配列はそれぞれ配列番号：29、配列番号：30、配列番号：31である。

10

抗PLD4マウス11D10抗体の軽鎖可変領域の核酸配列(423 bp) [大文字：マウス11D10VL 可変領域，小文字：マウス Ig 軽鎖定常領域]
ATGAGGTTCTCTGCTCAGCTTCTGGGGCTGCTTGTGCTCTGGATCCCTGGATCCACTGCGGAAATTGTGATGACGCAGGC
TGCATTCTCCAATCCAGTCACTCTTGAACATCAGCTTCCATCTCCTGCAGGTCTAGTAAGAGTCTCCTACATAGTGATG
GCATCACTTATTTGTATTGGTATCTGCAGAAGCCAGGCCAGTCTCCTCAGCTCCTGATTTATCAGATGTCCAACCTTGCC
TCAGGAGTCCCAGACAGTTTCACTAGCAGTGGGTCAGGAAGTATTTACACTGAGAATCAGCAGAGTGGAGGCTGAGGA
TGTGGGTGTTTATTACTGTGCTCAAAATCTAGAAGTTTACACGTTTCGGAGGGGGACCAAGCTGGAAATAAAAcgggctg
atgctgcaccaactgtatccatc

マウス11D10抗体の軽鎖可変領域のアミノ酸配列(141 a.a.) [大文字：マウス 11D10VL 可変領域，小文字：マウス Ig 軽鎖定常領域]下線の配列はシグナル配列、二重下線は CDR 領域(CDR1, CDR2, CDR3)を示す。

20

MRFSAQLLGLLVLPWPGSTAEIVMTQAAFSNPVTLGTSASISCRSSKSLHSDGITYLY
WYLQKPGQSPQLLIYQMSNLASGVPDRFSSSGSGTDFTLRISRVEAEDVGVYYCAQN
LELYTFGGGKLEIKradaaptvsi

11D10抗体の軽鎖可変領域のCDR1
RSSKSLHSDGITYLY
11D10抗体の軽鎖可変領域のCDR2
QMSNLAS
11D10抗体の軽鎖可変領域のCDR3
AQNLEL

30

【0065】

8. 抗PLD4マウス13D4抗体

得られた抗PLD4マウス13D4抗体の重鎖可変領域の核酸配列は配列番号：88、アミノ酸配列は配列番号：89である。マウス13D4抗体の重鎖可変領域内のCDR1、CDR2、CDR3のアミノ酸配列はそれぞれ配列番号：32、配列番号：33、配列番号：34である。

抗PLD4マウス13D4抗体の重鎖可変領域の核酸配列(472bp) [大文字：マウス13D4VH 可変領域，小文字：マウス IgG2b 重鎖定常領域]

40

ATGAAAGTGTGAGTCTGTTGTACCTGTTGACAGCCATTCCTGGTATCCTGTCTGATGTACAGCTTCAGGAGTCAGGACC
TGGCCTCGTGAAACCTTCTCAATCTCTGTCTCTCACCTGCTCTGTCACTGGCTACTCCATCACCAGTCATTACTGGA
CCTGGATCCGGCAGTTTCCAGGAAACAACTGGAATGGATGGGCTACATAAGCTACGACGGTAGCAATAACTACAACCCA
TCTCTCAAAAATCGAATCTCCATCACTCGTGACACATCTAAGAACCAGTTTTTCTGAAGTTGAATTCTGTGACTACTGA
GGACACAGCTACATATACTGTGCAAGAGAGGGCCCGCTCTACTATGGTAACCCCTACTGGTATTTTCGATGTCTGGGGCG
CAGGGACCACGGTCACCGTCTCCTCAgcaaaaacaacacccccatcagtcctatccactggcccctaagggcg

マウス13D4抗体の重鎖可変領域のアミノ酸配列(157 a.a.) [大文字：マウス 13D4VH 可変領域，小文字：マウス IgG2b 重鎖定常領域]下線の配列はシグナル配列、二重下線は CDR 領域(CDR1, CDR2, CDR3)を示す。

MKVLSLLYLLTAIPGILSDVQLQESGPLVKPSQSLSLTCSVTGYSITSHYYWTWIRQF
PGNKLEWMGYISYDGSNNYNPSLKNRISITRDTSKNQFFLKLNSVTTEDTATYNCAR
EGPLYYGNPYWFYFDVWGAGTTTVTVSSaktppsvyplapkg

13D4抗体の重鎖可変領域のCDR1

SHYYWT

13D4抗体の重鎖可変領域のCDR2

YISYDGSNNYNPSLKN

13D4抗体の重鎖可変領域のCDR3

EGPLYYGNPYWFYFDV

10

得られた抗PLD4マウス13D4抗体の軽鎖可変領域の核酸配列は配列番号：108、アミノ酸配列は配列番号：109である。マウス13D4抗体の軽鎖可変領域内のCDR1、CDR2、CDR3のアミノ酸配列はそれぞれ配列番号：35、配列番号：36、配列番号：37である。

抗PLD4マウス13D4抗体の軽鎖可変領域の核酸配列(404 bp) [大文字：マウス13D4VL 可変領域，小文字：マウス Ig 軽鎖定常領域]

ATGATGTCCTCTGCTCAGTTCCTTGGTCTCCTGTTGCTCTGTTTTCAAGGTACCAGATGTGATATCCAGATGACACAGAC
TACATCCTCCCTGTCTGCCTCTCTGGGGGACAGAGTCACCATCAGTTGCAGGGCAAGTCAGGACATTGACAATTATTTAA
ACTGGTATCAGCAGAAACCAGATGGAACCTGTTAACTCCTGATCTACTACACATCAAGATTACACTCAGGAGTCCCATCA
AGGTTTCAGTGGCAGTGGGTCTGGAACAGATTATTCTCTCACCATTAGCAACCTGGAGCAAGAAGATGTTGCCACTTACTT
TTGCCAGCAGTTTAATACGCTTCCTCGGACGTTCCGGTGGAGGCACCAAACCTGGAAATCAAacgggctgatgctgaccaa
ctgt

20

マウス13D4抗体の軽鎖可変領域のアミノ酸配列(134 a.a.) [大文字：マウス 13D4VL 可変領域，小文字：マウス Ig 軽鎖定常領域]下線の配列はシグナル配列、二重下線はCDR領域(CDR1, CDR2, CDR3)を示す。

MMSSAQFLGLLLLCFQGTRCDIQMTQTSSLSASLGDRVTISCRASQDIDNYLNWYQ
QKPDGTVKLLIYYTSRLHSGVPSRFSSGSGSGTDYSLTISNLEQEDVATYFCQQFNTLPR
TFGGGTKLEIKradaapt

30

13D4抗体の軽鎖可変領域のCDR1

RASQDIDNYLN

13D4抗体の軽鎖可変領域のCDR2

YTSRLHS

13D4抗体の軽鎖可変領域のCDR3

QQFNTLP

【0066】

9. 抗PLD4マウス13H11抗体

40

得られた抗PLD4マウス13H11抗体の重鎖可変領域の核酸配列は配列番号：90、アミノ酸配列は配列番号：91である。マウス13H11抗体の重鎖可変領域内のCDR1、CDR2、CDR3のアミノ酸配列はそれぞれ配列番号：38、配列番号：39、配列番号：40である。

抗PLD4マウス13H11抗体の重鎖可変領域の核酸配列(471bp) [大文字：マウス13H11VH 可変領域，小文字：マウス IgG2b 重鎖定常領域]

ATGAAAGTGTGAGTCTGTTGTACCTGTTGACAGCCATTCTGGTATCCTGTCTGATGTACAGCTTCAGGAGTCAGGACC
TGGCCTCGTGAAACCTTCTCAGTCTCTGTCTCTCACCTGCTCTGTCACTGGCTACTCCATCTCCAGTCATTACTGGA
GTTGGATCCGGCAGTTTTCCAGGAAACAGACTGGAATGGATGGGCTACATAAGCTACGACGGTAGCAATAACTACAACCCA
TCTCTCAAAAATCGAATCTCCATCACTCGTGACACATCTAAGAACCAGTTTTTCTGAAGTTGAATTCTGTGACTACTGA
GGACACAGCTACATATAACTGTGCAAGAGAGGGCCCGCTCTACTATGGTAACCCCTACTGGTATTTTCGATGTCTGGGGCG

50

CAGGGACCACGGTCACCGTCTCCTCAgcaaaaacaacacccccatcagtctatccactggcccctaagggc

マウス13H11抗体の重鎖可変領域のアミノ酸配列(157 a.a.) [大文字: マウス 13H11VH 可変領域, 小文字: マウス IgG2b 重鎖定常領域]下線の配列はシグナル配列、二重下線は CDR 領域(CDR1, CDR2, CDR3)を示す。

MKVLSLLYLLTAIPGILSDVQLQESGPGLVKPSQSLSLTCSVTGYSISSHYYWSWIRQF
PGNRLEWMGYISYDGSNNYNPSLKNRISITRDTSKNQFFLKLNSVTTEDTATYNCARE
GPLYYGNPYWFFDVWGAGTTVTVSSaktppsvyplapkg

10

13H11抗体の重鎖可変領域のCDR1

SHYYWS

13H11抗体の重鎖可変領域のCDR2

YISYDGSNNYNPSLKN

13H11抗体の重鎖可変領域のCDR3

EGPLYYGNPYWFFDV

得られた抗PLD4マウス13H11抗体の軽鎖可変領域の核酸配列は配列番号: 1 1 0、アミノ酸配列は配列番号: 1 1 1である。マウス13H11抗体の軽鎖可変領域内のCDR1、CDR2、CDR3のアミノ酸配列はそれぞれ配列番号: 4 1、配列番号: 4 2、配列番号: 4 3である。

20

抗PLD4マウス13H11抗体の軽鎖可変領域の核酸配列(414 bp) [大文字: マウス13H11VL 可変領域, 小文字: マウス Ig 軽鎖定常領域]

ATGATGTCCTCTGCTCAGTTCCTTGGTCTCCTGTTGCTCTGTTTTCAAGGTACCAGATGTGATATCCAGATGACACAGAC
TACATCCTCCCTGTCTGCCTCTCTGGGGGCGAGCGTCACCATCAGTTGCAGGGCAAGTCAGGACATTGACAATTATTTAA
ACTGGTATCAGCAAAAACCAGATGGAACCTGTTAACTCCTGATCTACTACACATCAAGATTACACTCAGGAGTCCCATCA
AGTTTCAGTGGCAGTGGGTCTGGAACAGATTATTCTCTCACCATTAGCAACCTGGAACAAGAAGATATTGCCACTTACTT
TTGCCAACAGTTTAATACGCTTCTCGGACGTTCCGTGGAGGCACCAAGCTGGAAATCAAACggggctgatgctgcaccaa
ctgtatccatcttc

マウス13H11抗体の軽鎖可変領域のアミノ酸配列(138 a.a.) [大文字: マウス 13H11VL 可変領域, 小文字: マウス Ig 軽鎖定常領域]下線の配列はシグナル配列、二重下線は CDR 領域(CDR1, CDR2, CDR3)を示す。

30

MMSSAQFLGLLLLLCFQGTRCDIQMTQTSSLSASLGGSVTISCRASQDIDNYLNWYQ
QKPDGTVKLLIYYTSRLHSGVPSRFSSGSGSGTDYSLTISNLEQEDIATYFCQQFNTLPR
TFGGGKLEIKradaaptvsif

13H11抗体の軽鎖可変領域のCDR1

RASQDIDNYLN

40

13H11抗体の軽鎖可変領域のCDR2

YTSRLHS

13H11抗体の軽鎖可変領域のCDR3

QQFNTLP

【 0 0 6 7 】

1 0 . 抗PLD4マウス14C1抗体

得られた抗PLD4マウス14C1抗体の重鎖可変領域の核酸配列は配列番号: 9 2、アミノ酸配列は配列番号: 9 3である。マウス14C1抗体の重鎖可変領域内のCDR1、CDR2、CDR3のアミノ酸配列はそれぞれ配列番号: 3 8、配列番号: 3 9、配列番号: 4 0である。

抗PLD4マウス14C1抗体の重鎖可変領域の核酸配列(470bp) [大文字: マウス14C1VH 可変

50

領域, 小文字: マウス IgG1 重鎖定常領域]

ATGAAAGTGTGAGTCTGTTGTACCTGTTGACAGCCATTCCTGGTATCCTGTCTGATGTACAGCTTCAGGAGTCAGGACC
TGGCCTCGTGAAACCTTCTCAGTCTCTGTCTCTCACCTGCTCTGTCACTGGCTACTCCATCTCCAGTCATTATTACTGGA
GTTGGATCCGGCAGTTTCCAGGAAACAGACTGGAATGGATGGGCTACATAAGCTACGACGGTAGCAATAACTACAACCCA
TCTCTCAAAAATCGAATCTCCATCACTCGTGACACATCTAAGAACCAGTTTTTCTGAAGTTGAATTCTGTGACTACTGA
GGACACAGCTACATATAACTGTGCAAGAGAGGGCCCGCTCTACTATGGTAACCCCTACTGGTATTTTCGATGTCTGGGGCG
CAGGGACCACGGTCACCGTCTCCTCAgcccacacacaccccccattctgtctatccactggcccctaaggg

マウス14C1抗体の重鎖可変領域のアミノ酸配列(156 a.a.) [大文字: マウス 14C1VH 可変領域, 小文字: マウス IgG1 重鎖定常領域]下線の配列はシグナル配列、二重下線はCDR領域(CDR1, CDR2, CDR3)を示す。

MKVLSLLYLLTAIPGILSDVQLQESGPGLVKPSQSLSLTCSVTGYSISSSHYYWSWIRQF
PGRNLEWMGYISYDGSNNYNPSLKNNRISITRDTSKNQFFLKLNSVTTEDTATYNCARE
GPLYYGNPYWFYFDVWGAGTTVTVSS akttppsvyplapk

10

14C1抗体の重鎖可変領域のCDR1
SHYYWS

14C1抗体の重鎖可変領域のCDR2
YISYDGSNNYNPSLKN

14C1抗体の重鎖可変領域のCDR3
EGPLYYG

20

得られた抗PLD4マウス14C1抗体の軽鎖可変領域の核酸配列は配列番号: 1 1 2、アミノ酸配列は配列番号: 1 1 3である。マウス14C1抗体の軽鎖可変領域内のCDR1、CDR2、CDR3のアミノ酸配列はそれぞれ配列番号: 4 1、配列番号: 4 2、配列番号: 4 3である。

抗PLD4マウス14C1抗体の軽鎖可変領域の核酸配列(465 bp) [大文字: マウス14C1VL 可変領域, 小文字: マウス Ig 軽鎖定常領域]

ATGATGTCCTCTGCTCAGTTTCCTGGTCTCCTGTTGCTCTGTTTTCAAGGTACCAGATGTGATATCCAGATGACACAGAC
TACATCCTCCCTGTCTGCCTCTCTGGGGGCGAGCGTCACCATCAGTTGCAGGGCAAGTCAGGACATTGACAATTATTTAA
ACTGGTATCAGCAAAAACCAGATGGAAGTAACTCCTGATCTACTACACATCAAGATTACACTCAGGAGTCCCATCA
AGGTTTCAAGTGGCAGTGGGTCTGGAACAGATTATTCTCTCACCATTAGCAACCTGGAACAAGAAGATATTGCCACTTACTT
TTGCCAACAGTTTAATACGCTTCTCGGACGTTTCGGTGGAGGCACCAAGCTGGAATCAAacgggctgatgctgcaccaa
ctgtatccatcttcccaccatccagtgagcagttaacatctggagggtgcctcagtcgtgtgcttc

30

マウス14C1抗体の軽鎖可変領域のアミノ酸配列(155 a.a.) [大文字: マウス 14C1VL 可変領域, 小文字: マウス Ig 軽鎖定常領域]下線の配列はシグナル配列、二重下線はCDR領域(CDR1, CDR2, CDR3)を示す。

MMSSAQFLGLLLLCFQGTRCDIQMTQTSSLSASLGGSVTISCRASQDIDNYLNWYQ
QKPDGTVKLLIYYTSRLHSGVPSRFSGSGSGTDYSLTISNLEQEDIATYFCQQFNTLPR
TFGGGTKLEIKradaaptvsifppsseqltsggasvvcf

40

14C1抗体の軽鎖可変領域のCDR1
RASQDIDNYLN

14C1抗体の軽鎖可変領域のCDR2
YTSRLHS

14C1抗体の軽鎖可変領域のCDR3
QQFNTLP

【 0 0 6 8 】

50

作製されたキメラ11G9.6抗体の重鎖、及び軽鎖の塩基配列とアミノ酸配列は、それぞれ次の配列番号の通りである。

重鎖	軽鎖
配列番号：120 (塩基配列)	配列番号：122 (塩基配列)
配列番号：121 (アミノ酸配列)	配列番号：123 (アミノ酸配列)

【0069】

11. 抗PLD4キメラ11G9.6抗体の重鎖の核酸配列 (1401 bp) [大文字: chimeric 11G9VH 可変領域, 小文字: ヒトIgG1 重鎖 定常領域] (配列番号: 120)

ATGAAAGTGTGAGTCTGTTGTACCTGTTGACAGCCATTCCTGGTATCCTGTCTcagGTCCAACGCAGCAGCCTGGGGC
TGAAGTGGTGAAGCCTGGGACTTCAGTGAAGATGTCCTGCAAGGCTTCTGGCTACACCTTACCAGCTACTGGATGCACT 10
GGGTGAAGCAGAGGCCGGGACAAGGCCTTGAGTGGATTGGAGATATTTATCCTGGTAGTGATAGTACTAATACTACAATGAG
AAGTTCAAGAGCAAGGCCACACTGACTGTAGACACATCCTCCAGCACAGCCTACATGCAACTCAGCAGCCTGACATCTGA
GGACTCTGCGGTCTATTACTGTGCAAGAGGAGGGTGGTGGATGCTATGGACTACTGGGGTCAAGGAACCTCAGTCAACCG
TCTCCTCAgctagcaccaggccatcgggtcttccccctggcaccctctccaagagaccctctgggggacagcggcc
ctgggctgcctggtaaggactacttccccgaaccggtgacggtgctgctggaactcaggcgcctgaccagcggcgtgca
caccttcccggctgtcctacagtcctcaggactctactcctcagcagcgtggtagccttgcctccagcagcttgggca
cccagacctacatctgcaacgtgaatcacaagcccagcaacaccaagggtggacaagaaagttagcccaaatctgtgac
aaaactcacacatgcccaccgtgcccagcaccctgaactcctggggggaccgtcagcttctcttcccccaaaacccaa
ggacaccctcatgatctcccggaccctgaggtcacatgctggggggagcgtgagccacgaagaccctgaggtaagct
tcaactggtagctggacggcgtggagggtgataatgccaagacaagccgagggaggagcagtaaacagcagctaccgt 20
gtggtagcgtctcaccgtctgaccaggactggctgaaaggcaaggagtaagtgcaaggtctccaacaagccct
cccagccccatcgagaaaacctctccaaagccaaagggcagccccgagaaccacaggtgtacacctgccccatccc
gggatgagctgaccaagaaccaggtcagcctgacctgctgggtcaaaggcttctatcccagcgcacatcgccgtggagtg
gagagcaatgggcagccggagaacaactacaagaccagcctcccgtgctggactccgacggctcttcttctctacag
caagctcaccgtggacaagagcaggtggcagcaggggaacgtcttctcatgctccgtgatgcatgaggctctgcacaacc
actacacgcagaagagcctctcccgtctccgggtaaatga

【0070】

12. 抗PLD4キメラ11G9.6抗体の重鎖のアミノ酸配列 (466 a.a.) [大文字: chimeric 11G9VH 可変領域, 小文字: ヒトIgG1 重鎖 定常領域] (配列番号: 121)

MKVLSELLYLLTAIPGILSQVLQPGAELVKPGTSVKMSCKASGYFTSYWMHWKQRPQGLEWIGDIYPGSDSTNYNE 30
KFKSKATLTVDTSSSTAYMQLSSLTSEDSAVYYCARGGWLDAMDYWGQTSVTVSSastkgpsvfplapssktsggtaa
lgclvkdyfpepvtvswngal tsgvhtfpav lqssglylssvvtvpssslgtqtyicnvnhkpsntkvdkkvepkscd
kthtppcpapel lggpsvflfppkpkdtlmisrtpetcvvvdvshedpevkfnwyvdgvevhnaktkpreeqynstyr
vsvlvtlhqdwlngkeykckvsnkalpapiektiskakgqprepqvytlppsrdel tknqvs l tclvkgyfypsdiavew
esngqpennyktppvl dsdgsfflyskltvdksrwqqgnvfscsvmhealhnhytqks lslspgk

【0071】

13. 抗PLD4キメラ11G9.6抗体の軽鎖の核酸配列 (705 bp) [大文字: chimeric 11G9VL 可変領域, 小文字: ヒトIg 軽鎖 定常領域] (配列番号: 122)

ATGATGTCCTCTGCTCAGTTCTTGGTCTCCTGTTGCTCTGTTTTCAAGGTACCAGATGTGATATCCAGATGACACAGAC
TACATCCTCCCTGTCTGCCTCTCTGGGAGACAGAGTACCATCAGTTGCAGGGCAAGTCAGGACATTAGCAATTATTTAA 40
ACTGGTATCAGCAGAAACCAGATGGAAGTGTAAACTCCTGATCTACTACACATCAAGATTACACTCAGGAGTCCCATCA
AGTTTCAAGTGGCAGTGGGTCTGGAACAGATTATTCTCTCACCATTAGCAACCTGGAGCAAGAAGATATTGCCACTTACTT
TTGCCAACAGGTAATACGTTCCGTGGACGTTCCGTGGAGGCACCAAGCTGGAATCAAACgaactgtggctgcaccat
ctgtcttcatcttcccgccatctgatgagcagttgaaacttggaaactgcctctgtgtgtgctgctgaataacttctat
cccagagaggccaaagtacagtggaagggtgataacgccc tcaatcgggtaactcccaggagagtgctcacagagcagga
cagcaaggacagcaccctacagcctcagcagcaccctgacgctgagcaaagcagactacgagaaacacaaagtctacgctt
gcaagtcacccatcaggccctgagctcgcccgtcacaagagcttcaacaggggagagtgctag

【0072】

14. 抗PLD4キメラ11G9.6抗体の軽鎖のアミノ酸配列 (234 a.a.) [大文字: chimeric 11G9VL 可変領域, 小文字: ヒトIg 軽鎖 定常領域] (配列番号: 123)

10
20
30
40
50

MMSSAQFLGLLLLCFQGTRCDIQMTQTTSSLSASLGDRVTISCRASQDISNYLNWYQQKPDGTVKLLIYYTSRLHSGVPS
 RFGSGSGTDYSLTISNLEQEDIATYFCQQGNTLPWTFGGGKLEIKRtvaapsvfifppsdeqlksgtasvvcIInnfy
 preakvqwkvdnalqsgnsqesvteqdkdstyslsstltskadyekkhvyacevthqglsspvtksfnrgec

【 0 0 7 3 】

< PLD4関連分子のcDNAとタンパク質配列 >

> ヒトPLD4 cDNA (1521 bp) (配列番号：44)

ATGCTGAAGCCTCTTTGGAAAGCAGCAGTGGCCCCACATGGCCATGCTCCATGCCGCCCGCCGCCCGTGGGACAGAGA
 GGCTGGCACGTTGCAGGTCCTGGGAGCGCTGGCTGTGCTGTGGCTGGGCTCCGTGGCTCTTATCTGCCTCCTGTGGCAAG
 TGCCCCGTCTCCACCTGGGGCCAGGTGCAGCCCAAGGACGTGCCAGGTCCTGGGAGCATGGCTCCAGCCCAGCTTGG
 GAGCCCCGGAAGCAGAGGCCAGGCAGCAGAGGGACTCCTGCCAGCTTGTCTTGTGGAAAGCATCCCCAGGACCTGCC
 ATCTGCAGCCGGCAGCCCCCTCTGCCAGCCTCTGGGCCAGGCTGGCTGCAGCTGCTGGACACTGCCAGGAGAGCGTCC
 ACGTGGCTTCATACTACTGGTCCCTCACAGGGCCTGACATCGGGGTCAACGACTCGTCTTCCCAGCTGGGAGAGGCTCTT
 CTGCAGAAGCTGCAGCAGCTGCTGGGCAGGAACATTTCCCTGGCTGTGGCCACCAGCAGCCCCGACACTGGCCAGGACATC
 CACCGACCTGCAGGTTCTGGCTGCCGAGGTGCCATGTACGACAGGTGCCATGGGGCGGCTCACCAGGGGTGTTTTGC
 ACTCCAAATTCTGGGTTGTGGATGGACGGCACATATACATGGGCAGTGCCAACATGGACTGGCGGTCTCTGACGCAGGTG
 AAGGAGCTTGGCGCTGTCATCTATAACTGCAGCCACCTGGCCCAAGACCTGGAGAAGACCTTCCAGACCTACTGGGTACT
 GGGGGTGCCCAAGGCTGTCTCCCCAAAACCTGGCCTCAGAACTTCTCATCTCACTTCAACCGTTTTCCAGCCCTCCAGG
 GCCTCTTTGATGGGGTGCCCACTGCCTACTTCTCAGCGTCGCCACCAGCACTCTGTCCCCAGGGCCGCACCCGGGAC
 CTGGAGGCGCTGCTGGCGGTGATGGGGAGCGCCAGGAGTTCATCTATGCCTCCGTGATGGAGTATTTCCCACCACGGG
 CTTACAGCCACCCCGAGGTAAGTGGCCGGTGTGGACAACGCGCTGCGGGCGGCAGCCTTCGGCAAGGGCGTGCGCGTGC
 GCCTGCTGGTGGCTGCGGACTCAACACGGACCCACCATGTTCCCTACCTGCGGTCCCTGCAGGCGCTCAGCAACCCC
 GCGGCCAACGTCTCTGTGGACGTGAAAGTCTTCATCGTCCGGTGGGGAACCATCCAACATCCATTACAGCAGGGTGAA
 CCACAGCAAGTTCATGGTCACGGAGAAGGCAGCCTACATAGGCACCTCCAAGTGGTCCGGAGGATTACTTACAGCAGCACGG
 CGGGGGTGGGCTTGGTGGTACCCAGAGCCCTGGCGCGCAGCCCGGGGGGCCACGGTGCAGGAGCAGCTGCGGCAGCTC
 TTTGAGCGGGACTGGAGTTCGCGCTACGCCGTGGCCTGGACGGACAGGCTCCGGGCCAGGACTGCGTTTTGGCAGGGCTG
 A

10

20

> ヒト PLD4 タンパク質 (506 アミノ酸) (配列番号：1)

MLKPLWKAAPVPTWPCSMPPRRPWDRAGTLQVLGALAVLWLGVALICLLWQVPRPPTWGQVQPKDVPRSWEHGSSPAW
 EPLEAEARQQRDSCQLVLVESIPQDLPSAAGSPSAQLGQAWLQLLDTAQESVHVASYWVSLTGPDIGVNDSSSQLGEAL
 LQKLQQLLGRNISLAVATSSPTLARTSTDLQVLAARGAHRVQVPMGRLTRVLHSKFVVDGRHIMYMSANMDWRSLTQV
 KELGAVIYNCSHLAQDLEKTFQTYWVLGVPKAVLPKTWPQNFSSHFNRFPFHGLFDGVPPTAYFSASPPALCPQGRTRD
 LEALLAVMGSAQEFIYASVMEYFPTTRFSSHPPRYWPVLDNALRAAAFVGKGVVRLLVGGLNDPTMFPYLRSLQALSNP
 AANVSDVKVFIVPVGNHNSIPFSRVNHSKFMVTEKAAYIGTSNWSEDFYSSTAGVGLVVTQSPGAQPAGATVQEQLRQL
 FERDWSSRYAVGLDQAPGQDCVWQG

30

> カニクイザル PLD4 cDNA (1521 bp) (配列番号：63)

ATGCTGAAGCCTCTTCGGAGAGCGCAGTGACCCCCATGTGGCCGTGCTCCATGCTGCCCGCCGCCTGTGGGACAGAGA
 GGCTGGCACGTTGCAGGTCCTGGGAGTGCTGGCTATGCTGTGGCTGGGCTCCATGGCTCTTACCTACCTCCTGTGGCAAG
 TGCGCCGTCTCCACCTGGGGCCAGGTGCAGCCCAAGGACGTGCCAGGTCCTGGGGCATGGTTCCAGCCCAGCTCTG
 GAGCCCCGGAAGCGGAGGTCAGGAAGCAGAGGGACTCCTGCCAGCTTGTCTTGTGGAAAGCATCCCCAGGACCTGCC
 ATTTGCAGCCGGCAGCCTCTCCGCCAGCCTCTGGGCCAGGCTGGCTGCAGCTGCTGGACACTGCCAGGAGAGCGTCC
 ACGTGGCTTCATACTACTGGTCCCTCACAGGGCCCGACATTTGGGGTCAACGACTCATCTTCCCAGCTGGGAGAGGCCCTT
 CTGCAGAAGCTGCAGCAGCTGCTGGGCAGGAACATTTCCCTGGCTGTGGCCACCAGCAGTCCAACACTGGCCAGGAAGTC
 CACCGACCTGCAGGTCCTGGCTGCCGAGGTGCCAGGTACGACGGGTGCCATGGGGCGGCTCACCAGGGGGCTTTTTGC
 ACTCCAAATTCTGGGTTGTGGATGGACgGCACATATACATGGGCAGTGCCcAACATGGACTGGCGGTCCCTGACGCAGGTG
 AAGGAGCTTGGCGCTGTCATCTATAACTGCAGCCACCTGGCCCAAGACCTGGAGAAGACCTTCCAGACCTACTGGGTGCT
 GGGGGTGCCCAAGGCTGTCTCCCCAAAACCTGGCCTCAGAACTTCTCATCTCACATCAACCGTTTTCCAGCCCTCCAGG
 GCCTCTTTGATGGGGTGCCCACTGCCTACTTCTCAGCATCGCCACCcGCACTCTGTCCCCAGGGCCGCACCCCTGAC
 CTGGAGGCGCTGTTGGCGGTGATGGGGAGCGCCAGGAGTTCATCTATGCCTCCGTGATGGAGTATTTCCCTACCACgCG
 CTTACAGCCACCCCGCAGGTAAGTGGCCGGTGTGGACAACGCGCTGCGGGCGGCAGCCTTCAGCAAGGGTGTGCGCGTGC
 GCCTGCTGGTGCAGCTGCGGACTCAACACGGACCCACCATGTTCCCTATCTGCGGTCCCTGCAGGCGCTCAGCAACCCC

40

50

CGGGCCAACGTCTCTGTGGACGTGAAAGTCTTCATCGTGCCGGTGGGGAATCATTCCAACATCCCGTTCAGCAGGGTGAA
 CCACAGCAAGTTCATGGTCACGGAGAAGGCAGCCTACATAGGCACCTCCAAGTGGTCGGAGGATTACTTCAGCAGCACGA
 CGGGGGTGGGCCTGGTGGTCACCCAGAGCCCCGGCGCGCAGCCCGGGGGCCACGGTACAGGAGCAGCTGCGGCAGCTC
 TTTGAGCGGGACTGGAGTTCGCGCTACGCCGTGCGCCTGGACGGACAGGCTCCGGGCCAGGACTGCGTTTGGCAGGGCTG
 A

> カニクイザル PLD4 タンパク質 (506 アミノ酸) (配列番号: 129)

MLKPLRRAAVTPMWPCSMPLRRLWDREAGTLQVLGVLAMLWLGSMALTYLLWQVRRPPTWGQVQPKDVPRSWGHSPPAL
 EPLEAEVRKQRDSCQLVLVESIPQDLPFAAGSLSAQPLGQAWLQLLDTAQESVHVASYWVSLTGPDI GVNDSSSQLGEAL
 LQKLQQLLGRNISLAVATSSPTLARKSTDLQVLAARGAQVRRVPMGRLTRGVLHSHKFWVVDGRHYMGSANMDWRSLTQV
 KELGAVIYNCSHLAQDLEKTFQTYWVLGVPKAVLPKTWPQNFSSHINRFQPFQGLFDGVPTTAYFSASPPALCPQGRTPD
 LEALLAVMGSAQEFIYASVMEYFPTTRFSSHPRRYWPVLDNALRAAAFSGKGVRRLLVSCGLNDPTMFPYLRSLQALSNP
 AANVSDVKVFI VPVGNHNSI PFSRVNHSHKFMVTEKAAYIGTSNWSEDFYSSTTGVLVVTQSPGAQPAGATVQEQLRQL
 FERDWSSRYAVGLDGPAGQDCVWQG

10

> アカゲザル PLD4 cDNA (1521 bp) (配列番号: 124)

ATGCTGAAGCCTCTTCGGAGAGCGGCAGTGACCCCATGTGGCCGTGCTCCATGCTGCCCCGCCCTGTGGGACAGAGA
 GGCTGGCACGTTGTCAGGTCCTGGGAGTGCTGGCTATGCTGTGGCTGGGCTCCATGGCTCTTACCTACCTCCTGTGGCAAG
 TGGCGTGTCTCCACCTGGGGCCAGGTGCAGCCAGGGACGTGCCAGGTCCTGGGGGCATGGTTCCAGCCTAGCTCTG
 GAGCCCCCTGGAAGCGGAGGTGAGGAAGCAGAGGGACTCCTGCCAGCTTGTCTTGTGGAAGCATCCCCAGGACCTGCC
 ATTTGCAGCCGGCAGCCTCTCCGCCAGCCTCTGGGCCAGGCTGGCTGCAGCTGCTGGACACTGCCAGGAGAGCGTCC
 ACGTGGCTTCATACTACTGGTCCCTCACAGGGCCGACATTGGGGTCAACGACTCATCTTCCAGCTGGGAGAGGGCCTT
 CTGCAGAAGCTGCAGCAGCTGCTGGGCAGGAACATTTCTTGGCTGTGGCCACCAGCAGTCCAACACTGGCCAGGAAGTC
 CACCGACCTGCAGGTCCTGGCTGCCCCAGGTGCCAGGTACGACGGGTGCCCATGGGGCGGCTCACCAGGGCGTTTTTGC
 ACTCCAAATTCTGGGTTGTGGATGGACGGCACATATACATGGGCAGTGCCAACATGGACTGGCGGTCCCTGACGCAGGTG
 AAGGAGCTTGGCGCTGTCTATAACTGCAGCCACTGGCCCAAGACCTGGAGAAGACCTTCCAGACCTACTGGGTGCT
 GGGGGTGCCAAGGCTGTCTCCCCAAAACCTGGCCTCAGAACTTCTCATCTCACATCAACCGTTTTCCAGCCCTTCCAGG
 GCCTCTTTGATGGGGTGCCCACTGCCTACTTCTCAGCATCGCCACCCGCACTGTCTCCAGGGCCGACCCCTGAC
 CTGGAGCGCTGTTGGCGGTGATGGGGAGCGCCAGGAGTTCATCTATGCCTCCGTGATGGAGTATTTCCCTACCACGCG
 CTTCAGCCACCCCGCAGGTAAGTGGCCGGTGTGGACAACGCGCTGCGGGCGGCAGCCTTCAGCAAGGGTGTGCGGTGC
 GCCTGCTGGTCAGCTGCGGACTCAACACGGACCCACCATGTTCCCTATCTGCGGTCCCTGCAGGCGCTCAGCAACCC
 GCGGCCAACGTCTCTGTGGACGTGAAAGTCTTCATCGTGCCGGTGGGGAATCATTCCAACATCCCGTTCAGCAGGGTGAA
 CCACAGCAAGTTCATGGTCACGGAGAAGGCAGCCTACATAGGCACCTCCAAGTGGTCGGAGGATTACTTCAGCAGCACGA
 CGGGGGTGGGCCTGGTGGTCACCCAGAGCCCCGGCGCGCAGCCCGGGGGCCACGGTACAGGAGCAGCTGCGGCAGCTC
 TTTGAGCGGGACTGGAGTTCGCGCTACGCCGTGCGCCTGGACGGACAGGCTCCGGGCCAGGACTGCGTTTGGCAGGGCTG
 A

20

30

> アカゲザル PLD4 タンパク質 (506 アミノ酸) (配列番号: 130)

MLKPLRRAAVTPMWPCSMPLRRLWDREAGTLQVLGVLAMLWLGSMALTYLLWQVRCPPPTWGQVQPRDVPRSWGHSLLAL
 EPLEAEVRKQRDSCQLVLVESIPQDLPFAAGSLSAQPLGQAWLQLLDTAQESVHVASYWVSLTGPDI GVNDSSSQLGEAL
 LQKLQQLLGRNISLAVATSSPTLARKSTDLQVLAARGAQVRRVPMGRLTRGVLHSHKFWVVDGRHYMGSANMDWRSLTQV
 KELGAVIYNCSHLAQDLEKTFQTYWVLGVPKAVLPKTWPQNFSSHINRFQPFQGLFDGVPTTAYFSASPPALCPQGRTPD
 LEALLAVMGSAQEFIYASVMEYFPTTRFSSHPRRYWPVLDNALRAAAFSGKGVRRLLVSCGLNDPTMFPYLRSLQALSNP
 AANVSDVKVFI VPVGNHNSI PFSRVNHSHKFMVTEKAAYIGTSNWSEDFYSSTTGVLVVTQSPGAQPAGATVQEQLRQL
 FERDWSSRYAVGLDGPAGQDCVWQG

40

> マウス PLD4 cDNA (1512 塩基対) (配列番号: 131)

ATGGACAAGAAGAAAGAGCACCCAGAGATGCGGATACCACTCCAGACAGCAGTGGAGGTCTCTGATTGGCCCTGCTCCAC
 ATCTCATGATCCACATAGCGGACTTGGCATGGTACTGGGGATGCTAGCTGTACTGGGACTCAGCTCTGTGACTCTCATCT

50

TGTTCCCTGTGGCAAGGGGCCACTTCTTTACCAGTCATCGGATGTTCCCTGAGGAAGTGCCCTCCTGGTCCTGGGAGACC
 CTGAAAGGAGACGCTGAGCAGCAGAATAACTCCTGTGAGCTCATCCTTGTGAAAGCATCCCCGAGGACTTGCCATTTGC
 AGCTGGCAGCCCCACTGCCAGCCCCCTGGCCCAGGCTTGGCTGCAGCTTCTTGACACTGCTCGGGAGAGCGTCCACATTG
 CCTCGTACTACTGGTCCCTCACTGGACTGGACATTGGAGTCAATGACTCGTCTTCTCGGCAGGGAGAGGCCCTTCTACAG
 AAGTTCCAACAGCTTCTTCTCAGGAACATCTCTGTGGTGGTGGCCACCCACAGCCCAACATTGGCCAAGACATCCACTGA
 CCTCCAGGTCTTGGCTGCCATGGTGCCAGATACGACAAGTGCCATGAAACAGCTTACTGGGGGTGTTCTACACTCCA
 AATTCTGGGTTGTGGATGGGCGACACGTCTACGTGGCAGCGCCAACATGGACTGGCGGTCCCTGACTCAGGTGAAGGAA
 CTTGGTGCAATCATCTACAAGTGCAGCAACCTGGCTCAAGACCTTGAGAAAACATTCCAGACCTACTGGGTGCTAGGGAC
 TCCCCAAGCTGTTCTCCCTAAAACCTGGCCTCGGAATTCTCATCCCACATCAACCGTTCCATCCCTTGGGGGTCCCT
 TTGATGGGGTCCACCACGGCCTATTTCTCGGCCTCCCTCCCTCCCTCTGCCCGCATGGCCGGACCCGGGATCTGGAC
 GCAGTGTGGGAGTGATGGAGGGTCTCGCCAGTTCATCTATGTCTCGGTGATGGAGTATTTCCCTACCACGCGTTCAC
 CCACCATGCCAGGTAAGTGGCCCGTGTGGACAATGCGCTACGGCAGCGGCCCTCAATAAGGGTGTGCATGTGCGCTTAC
 TGGTCAGCTGCTGGTTAACACAGACCCACCATGTTTCGCTTATCTGAGGTCCCTGCAGGCTTTTCAAGTAAACCCCTCGGT
 GGCATCTCAGTGGATGTGAAAGTCTTTCATCGTGCCTGTGGGAAATCATTCCAACATCCCGTTCAGCCGCGTGAACCCAG
 CAAGTTCATGGTCACAGACAAGACAGCCTATGTAGGCACCTCTAACTGGTCAGAAGACTACTTCAGCCACACCCGCTGGT
 TGGCCCTGATTGTGAGCCAGAAGACCCCCAGAGCCAGCCAGCGCAACCACCGTGCAGGAGCAGCTGAGGCAACTCTTT
 GAACGAGACTGGAGTTCCTACTATGCTATGGACCTAGACAGACAAGTCCCGAGCCAGGACTGTGTCTGGTAG

10

> マウス PLD4 タンパク質 (503 アミノ酸) (配列番号: 132)

MDKKKEHPMR | PLQTAVEVSDWPCSTSHDPSHGLGMVGLMLAVLGLSSVTL | LFLWQGATSFTSHRMFPEEVPSSWSWET
 LKGD AEQQNNSQQL | LVES | PEDLPFAAGSPTAQPLAQAWLQLLDTARESVH | ASYYWSLTGLD | GVNDSRRQGEALLQ
 KFQQLLRN | SVVVATHSPTLAKTSTDLQVLAHGAQ | RQVPMKQLTGGVLHSEKFWVVDGRHVYVGSANMDWRSLTQVKE
 LGA | IYNCSNLAQDLEKTFQTYWV | LGTPQAVLPKTPWRNFSSH | NRFHPLRGPFDGVPTTAYFSASPPSLCPHGRTRDL
 AVLGM EGARQF | YVSVMEYFPTTRFTHHARYWPVLDNALRAAALNKGVHVRLLVSCWFNTDPTMFAYLRSLQAFSNPSA
 G | SVDVKVF | VPVGNHNS | PFSRVNHSKFMVTDKTA YVGTSNWSEDFSHTAGVGL | VSQKTPRAQPGATTVQEQLRQLF
 ERDWSSHYAMD LDRQVPSQDCVW

20

> ヒト PLD3 cDNA 配列 (配列番号: 55)

ATGAAGCCTAAACTGATGTACCAGGAGCTGAAGGTGCCTGCAGAGGAGCCCGCCAATGAGCTGCCCATGAATGAGATTGA
 GCGTGGAAAGGCTGCGGAAAAGAAAGCCCGCTGGTCTGCTGGTCTCATTCTGGCGGTTGTGGGCTTCGGAGCCCTGA
 TGACTCAGCTGTTTCTATGGGAATACGGCGACTTGCATCTCTTTGGGCCAACCAGCGCCAGCCCCCTGCTATGACCCT
 TGCGAAGCAGTGTGGTGGAAAGCATTCTGAGGGCCTGGACTTCCCAATGCCTCCACGGGGAACCCCTCCACCAGCCA
 GGCCTGGCTGGGCTGCTCGCCGGTGCACAGCAGCCTGGACATCGCCTCCTTCTACTGGACCCTCACCAACAATGACA
 CCCACACGCAGGAGCCCTCTGCCAGCAGGGTGGAGGCTCCTCCGGCAGCTGCAGACCCTGGCACCAAGGGCGTGAAC
 GTCCGCATCGCTGTGAGCAAGCCAGCGGGCCAGCCACAGCGGACCTGCAGGCTCTGCTGCAGAGCGGTGCCAGGT
 CCGCATGGTGGACATGCAGAAGCTGACCCATGGCGTCTGCATACCAAGTTCTGGGTGGTGGACCAGACCCACTTCTACC
 TGGGCAGTGCCAACATGGACTGGCGTTCCTGACCCAGGTCAAGGAGCTGGGCGTGGTGCATGTACAAGTGCAGCTGCCTG
 GCTCGAGACCTGACCAAGATCTTTGAGGCCTACTGGTTCCTGGGCCAGGCAGGCTCCATCCCATCAACTTGCCCGG
 GTTCTATGACACCCGCTACAACCAAGAGACACCAATGGAGATCTGCCTCAATGGAACCCCTGCTCTGGCCTACCTGGCGA
 GTGCGCCCCACCCCTGTGTCCAAGTGGCCGCACTCCAGACCTGAAGGCTCTACTCAACGTGGTGGACAATGCCCGGAGT
 TTCATCTACGTCGCTGTGATGAAGTACCTGCCACTCTGGAGTTCTCCACCCTCACAGGTTCTGGCCTGCCATTGACGA
 TGGGCTGCGGCGGGCCACCTACGAGCGTGGCGTCAAGGTGGCCTGCTCATCAGCTGCTGGGACACTCGGAGCCATCCA
 TGCGGGCTTCTGCTCTCTGCTGCCCTGCGTGACAACCATACCCACTCTGACATCCAGGTGAAACTCTTTGTGGTC
 CCCGCGGATGAGGCCAGGCTCGAATCCCATATGCCCGTGTCAACCACAACAAGTACATGGTACTGAACGCGCCACCTA
 CATCGGAACCTCCAAGTGGTCTGGCAACTACTTACGGAGACGGCGGCACCTCGCTGCTGGTGGACGAGAATGGGAGGG
 GCGGCTGCGGAGCCAGCTGGAGGCCATTTCTGAGGGACTGGGACTCCCCTTACAGCCATGACCTTGACACCTCAGCT
 GACAGCGTGGGCAACGCCTGCCGCTGCTCTGA

30

40

> ヒト PLD3 タンパク質 (490 アミノ酸) (配列番号: 127)

MKP KLMYQELKVP AEELP MNE | EAWKAAEKARWVLLVL | LAVVGFALMTQLFLWEYGLHLFGPNQRPAPCYDP

50

CEAVLVES I PEGLD FPNASTGNPSTSQAWLGLLAGAHSSLD I ASFYWTLTNNDTHTQEPSAQGGEEVLRQLQTLAPKGVN
 VR I AVSKPSGPQPQADLQALLQSGAQVRMVD MQKLTHGVLHTKFWVVDQTHFYLG SANMDWRS LTQVKELGVVMYNC SCL
 ARDLTK I FEAYWFLGQAGSS I PSTWPRFYDTRYNQETPME I CLNGTPALAYLASAPPPLCPSGRTPDLKALLNVVDNARS
 F I YVAVMNYLPTLEF SHPHRFWPA I DDGLRRATYERGVKVRLL I SCWGHSEPSMRAFLLS LAALRDNH THSD I QVKLFVV
 PADEAQR I PYARVNH NKYMVTERATY I GTSNWSGNYFTETAGT SLLVTQNGRGGLRSQLEA I FLRDWDSPYSHDLDTSA
 DSVGNACRLL

> ヒト PLD5 cDNA (1338 塩基対) (配列番号: 56)

ATGGGAGAGGATGAGGATGACTCTCAGAAAAAATTGCCAAAATAAATGTGCAATTGCCCTGGTGGAAAATATTCCTGA
 AGGCCTTA ACTATT CAGAAAATGCACCATTTCACTTATCACTTTTTCCAAGGCTGGATGAATTTACTCAACATGGCCAAAA 10
 AGTCTGTTGACATAGTGTCTTCCCATTTGGGATCTCAACCACACTCATCCATCAGCATGTCAGGGTCAACGTCTTTTTGAA
 AAGTTGCTCCAGCTGACTTCGCAAAAATTGAAATCAAGCTAGTGAGTGATGTAACAGCTGATTCAAAGGTATTAGAAGC
 CTTGAAATTAAGGGAGCCGAGGTGACGTACATGAACATGACCGCTTACAACAAGGGCCGGCTGCAGTCCCTCTTCTGGA
 TCGTGGACAAAACAGCACGTGTATATCGGCAGTGCCGGTTTTGGACTGGCAATCCCTGGGACAGATGAAAGA ACTCGGTGTC
 ATCTTCTACA ACTGCAGCTGCCTGGTCTAGATTTACAAAGGATATTTGCTCTATATAGTTCATTA AAAATTCAAAAGCAG
 AGTGCCTCAAACCTGGTCCAAAAGACTCTATGGAGTCTATGACAATGAAAAGAAATGCAACTTCAGTTGAATGAAACCA
 AATCTCAAGCATTTGTATCGAATTCTCCAAA ACTCTTTT GCCCTAAAAACAGAAGTTTTGACATAGATGCCATCTACAGT
 GTGATAGATGATGCCAAGCAGTATGTGTACATCGCTGTCATGGACTACCTGCCTATCTCCAGCACAAGCACC AAAAGGAC
 T TACTGGCCAGACTTGGATGCAAAAATAAGAGAAGCATTAGTTTTACGAAGCGTTAGAGTTGACTCCTTTTAAAGCTTCT
 GGAAGGAAACTGATCCCCTTACGTTTAACTTTATTT CATCTCTTAAAGCGATTTGCACTGAAATAGCCA ACTGCAGTTTG 20
 AAAGTTAAATTTTTTGTCTGGAAAGAGAGAATGCTTGTGCTACAAAAGAACA AAAAGAAATCACACCTTTCTAGTTAAA
 TCGCAACAAGTACATGGTGACAGATGGAGCAGCTTATATTGAAATTTTTGATTGGGTAGGGAATGATTTCACTCAGAATG
 CTGGCACGGGCTTGTATCAACCAGGCAGATGTGAGGAACAACAGAAGCATCATTAAAGCAACTTAAAGATGTGTTTGAA
 AGGGACTGGTATTACCGTATGCCAAAACCTTACAGCCAACCAAACAGCCGA ACTGCTCAAGCCTGTTCAA ACTCAAACC
 CCTCTCCAACAAA ACTGCCACAGACGACACAGGCGGAAAGGATCCCCGGAACGTATGA

> ヒト PLD5 タンパク質 (445 アミノ酸) (配列番号: 128)

MGEDEDGLSEKNCQNKCR I ALVEN I PEGLN YSENA PFHLSL FQGMNLLNMAKKSVD I VSSHWDLNHTHPSACQGQRLFE
 KLLQLTSQNI E I KLVSDVTADSKVLEALKLKGAEVTYMNM TAYNKGR LQSSFW I VDKQH VY I GSAGLDWQSLGQMKELGV
 I FYNC SCLVLDLQR I FALYSSLKFKSRVPQTWSKRLYGVYDNEKKLQLQLNETKSQAFVSN SPKLFCKPKNRSFD I DA I YS 30
 V I DDAKQYVY I AVMDYLP I SSTSTKR TYWPD LAK I REALVLR SVRVRL LLSFWKETDPLTFNF I SSLKA I CTE I ANCSL
 KVKFFDLERENACATKEQKNHTFPRLNRNKYMVT DGAAY I GNFDWVGNDF TQNA GTGLV I NQADVRNRS I I KQLKDVFE
 RDWYSPYAKTLQPTKQPNCSSLFK LKPLSNKTATDDTGGK DPRNV

> ヒト PLD4-Ig 融合タンパク質 cDNA (2142 bp) (配列番号: 125)

ATGGAGTTTCAGACCCAGGTCTTTGTATTCTGTTGCTCTGGTTGTCTGGTGTGATGGAGat tacaaggatgacgacga
 taaaGGATCCcccagaggggcccacaatcaagccctgtcctccatgcaaatgcccagcacc taacctctgggtggaccat
 ccgtcttcatcttccctccaagatcaaggatgtactcatgatctccctgagccca tagtcacatgtgtggaggat
 gtgagcgaggatgaccagatgtccagatcagctggtttgtgaacaacgtggaagtacacacagctcagacacaaaccca
 tagagaggat tacaacagta ctctccgggtggtcagtgccctccccatccagcaccaggactggatgagtggaaggagt 40
 tcaaatgcaagg tcaacaacaagacctcccagcgccca t cgagagaacctctcaaaacccaaaggg t cagtaagagct
 ccacaggtat atgtcttgcc tccaccagaagaagagatgactaagaaacaggtcaccttgacctgcatggtcacagactt
 catgcc tgaagacat t tacgtggagtggaccaacaacgggaaaacagagctaaactacaagaacactgaaccagctctgg
 actctgatgg tcttacttcatgtacagcaagctgagagtggaaaagaagaactgggtggaaagaaatagctactcctgt
 t cag tgg tccacgagggtctgcacaa t caccacacgac taagagctctctcccgactccgggtaaaCGTCTCCACCTG
 GGGCCAGGTGCAGCCCAAGGACGTGCCAGGTCTGGGAGCATGGCTCCAGCCAGCTTGGGAGCCCCTGGAAGCAGAGG
 CCAGGCAGCAGAGGGACTCCTGCCAGCTTGTCTTGTGGAAAGCATCCCCAGGACCTGCCATCTGCAGCCGGCAGCCCC
 TCTGCCAGCTCTGGGCCAGGCTGGCTGCAGCTGCTGGACTGCCCAGGAGAGCGTCCACGTGGCTTCATACTACTG
 GTCCCTCACAGGGCTGACATCGGGGTCAACGACTCGTCTTCCAGCTGGGAGAGGCTCTTCTGCAGAAGCTGCAGCAGC
 TGCTGGGCAGGAACATTTCCCTGGCTGTGGCCACCAGCAGCCGACACTGGCCAGGACATCCACCGACCTGCAGTTCTG 50

GCTGCCCGAGGTGCCCATGTACGACAGGTGCCCATGGGGCGGCTCACCAGGGGTGTTTTGCACTCCAAATTCTGGGTTGT
 GGATGGACGGCACATATACATGGGCAGTGCCAACATGGACTGGCGGTCTCTGACGCAGGTGAAGGAGCTTGGCGCTGTCA
 TCTATAACTGCAGCCACCTGGCCCAAGACCTGGAGAAGACCTTCCAGACCTACTGGGTACTGGGGGTGCCAAGGCTGTC
 CTCCCCAAAACCTGGCCTCAGAATTCTCATCTCACTTCAACCGTTTTCCAGCCCTTCCACGGCCTCTTTGATGGGGTGCC
 CACCACTGCCTACTTCTCAGCGTCGCCACCAGCACTCTGTCCCGAGGGCCGACCCGGGACCTGGAGGCGCTGCTGGCGG
 TGATGGGGAGCGCCAGGAGTTCATCTATGCCTCCGTGATGGAGTATTTCCCCACCACGCGCTTTCAGCCACCCCGGAGG
 TACTGGCCGGTGTCTGGACAACGCGCTGCGGGCGGCGAGCCTTCGGCAAGGGCGTGCAGCGTGCAGCTGCTGGTGGCTGCGG
 ACTCAACACGGACCCACCATGTTCCCTACCTGCGGTCCCTGCAGGGCGCTCAGCAACCCCGCGGCAACGTCTCTGTGG
 ACGTGAAAGTCTTCATCGTGCCGGTGGGGAACCATCCAACATCCCATTCAGCAGGGTGAACCACAGCAAGTTCATGGTC
 ACGGAGAAGGCAGCCTACATAGGCACCTCCAACCTGGTCGGAGGATTACTTCAGCAGCACGGCGGGGGTGGGCTTGGTGGT
 CACCCAGAGCCCTGGCGCGCAGCCCGGGGGCCACGGTGCAGGAGCAGCTGCGGCAGCTCTTTGAGCGGGACTGGAGTT
 CGCGCTACGCCGTGCGCCTGGACGGACAGGCTCCGGGCCAGGACTGCGTTTTGGCAGGGCTGA

10

> ヒト PLD4-Ig 融合タンパク質(713 アミノ酸) (配列番号: 126)

MEFQTQVFVFLWLSGVDGDYKDDDDKGSPPGPTIKPCPPCKCPAPNLLGGPSVFI FPPKIKDVLMI SLSPIVTCVVVD
 VSEDDPDVQISWFVNVEVHTAQQTQTHREDYNSTLRVVSALPIQHQDWMMSGKEFKCKVNNKDLPAPIERTISKPKGSVRA
 PQVYVLPPEEEMTKKQVTLTCMVTDFMPEDIYVEWTNNGKTELNYKNTEPVLDSGSYFMYSKLRVEKKNWVERNSYSC
 SVVHEGLHNHHTTKFSRTPGKRPPTWGQVQPKDVPRSWEHGSSPAWEPLAEARQQRDSCQLVLESIPQDLPSAAGSP
 SAQPLGQAWLQLLDTAQESVHVASYWSLTGPDIGVNDSSSQLGEALLQKLQQLLGRNISLAVATSSPTLARTSTDLQVL
 AARGAHRVQVPMGRLTRGVLHSHKFWVDGRHIYMGSANMDWRSLTQVKELGAVIYNCSHLAQDLEKTFQTYWVLGVPKAV
 LPKTWPQNFSSHFNRFPFHGLFDGVPPTAYFASPPALCPQGRTRDLEALLAVMGSAQEFIYASVMEYFPTTRFSPHPR
 YWPVLDNALRAAAFQKGVRRVLLVGCGLNTDPTMFPYLRSLQALSNAANVSVDVKVFI VPGNHSNIPFSRVNHSKFMV
 TEKAAAYIGTSNWESEDFSSTAGVGLVVTQSPGAQPAGATVQEQLRQLFERDWSSRYAVGLDQGAPGQDCVWQG

20

【受託番号】

【0074】

N I T E B P - 1 2 1 1

N I T E B P - 1 2 1 2

N I T E B P - 1 2 1 3

N I T E B P - 1 2 1 4

【配列表フリーテキスト】

30

【0075】

配列番号45: フォワードプライマー

配列番号46: リバースプライマー

配列番号47: フォワードプライマー

配列番号48: リバースプライマー

配列番号49: フォワードプライマー

配列番号50: リバースプライマー

配列番号51: フォワードプライマー

配列番号52: リバースプライマー

配列番号53: フォワードプライマー

40

配列番号54: リバースプライマー

配列番号70: アンカープライマー

配列番号70: nはデオキシイノシンである

配列番号71: A U A P プライマー

配列番号72: プライマー

配列番号73: プライマー

配列番号114: プライマー

配列番号115: プライマー

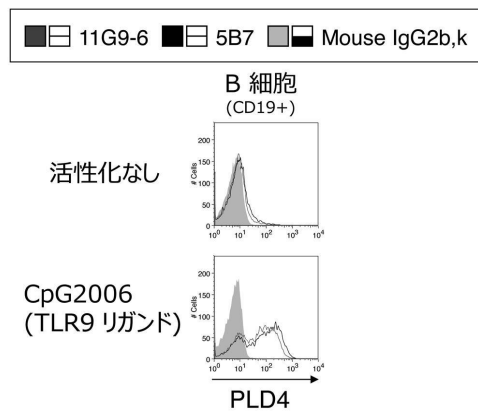
配列番号116: プライマー

配列番号117: プライマー

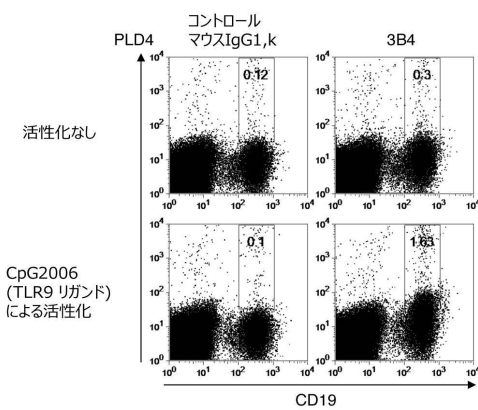
50

配列番号 118 : プライマー
配列番号 119 : プライマー

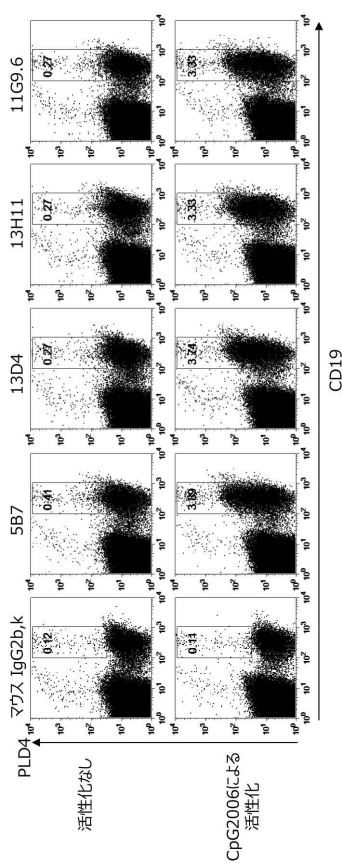
【 図 1 】



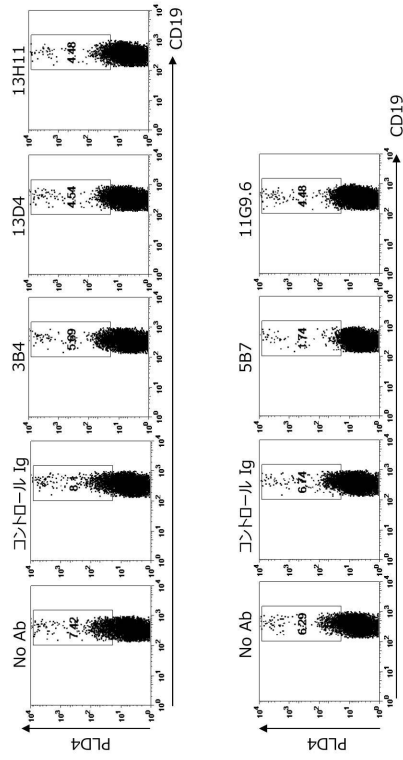
【 図 2 】



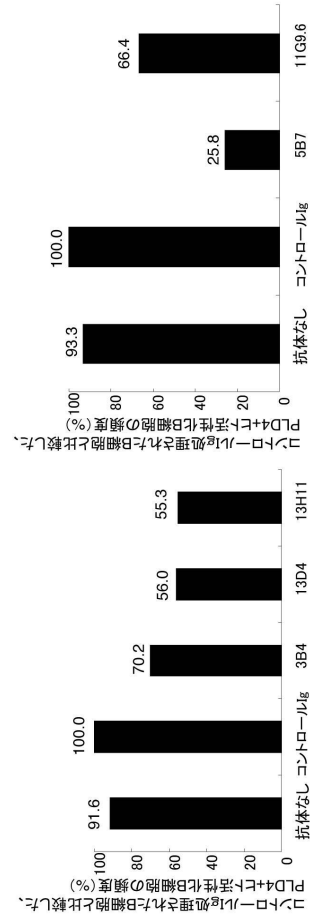
【 図 3 】



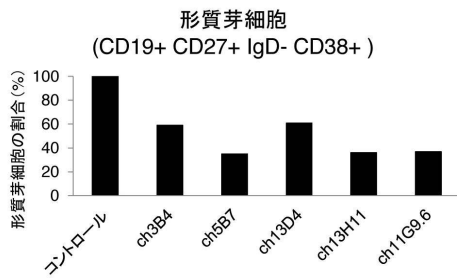
【 図 4 】



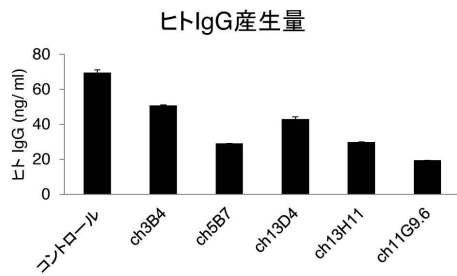
【 図 5 】



【 図 6 】



【 図 7 】



【配列表】

0006431523000001.app

フロントページの続き

(51) Int.Cl.			F I		
C 1 2 Q	1/04	(2006.01)	G 0 1 N	33/577	B
C 0 7 K	16/40	(2006.01)	C 1 2 Q	1/04	
C 1 2 N	15/06	(2006.01)	C 0 7 K	16/40	
C 1 2 N	15/13	(2006.01)	C 1 2 N	15/06	1 0 0
C 0 7 K	19/00	(2006.01)	C 1 2 N	15/13	
			C 0 7 K	19/00	

審査官 渡邊 潤也

- (56) 参考文献 国際公開第 2 0 1 3 / 1 1 5 4 1 0 (WO , A 2)
 PLoS ONE , 2 0 1 1 年 1 1 月 , 6(11) , e27544
 PLoS ONE , 2 0 1 0 年 1 1 月 , 5(11) , e13932
 Nature Genetics , 2 0 1 2 年 5 月 , 44(5) , p.511-516
 Arthritis & Rheumatism , 2 0 1 3 年 2 月 , 65(2) , p.472-480

(58) 調査した分野(Int.Cl. , DB名)

A 6 1 K 3 9 / 0 0

A 6 1 K 3 8 / 0 0

J S T P l u s / J M E D P l u s / J S T 7 5 8 0 (J D r e a m I I I)

C A p l u s / M E D L I N E / E M B A S E / B I O S I S (S T N)

专利名称(译)	含有抗磷脂酶D4抗体的药物		
公开(公告)号	JP6431523B2	公开(公告)日	2018-11-28
申请号	JP2016503264	申请日	2014-07-30
[标]申请(专利权)人(译)	SBI生物技术有限公司		
申请(专利权)人(译)	SBI生物科技有限公司		
当前申请(专利权)人(译)	SBI生物科技有限公司		
[标]发明人	山崎智英 遠藤まゆき 石田晃司		
发明人	山崎 智英 遠藤 まゆき 石田 晃司		
IPC分类号	A61K39/395 A61P37/06 A61P37/08 G01N33/53 G01N33/577 C12Q1/04 C07K16/40 C12N15/06 C12N15/13 C07K19/00		
CPC分类号	A61K2039/505 C07K16/40 C07K2317/24 C07K2317/73 C07K2317/76 A61K39/395 A61P37/00 G01N33/573 C07K2317/732 G01N2333/916		
FI分类号	A61K39/395.ZNA.P A61P37/06 A61P37/08 A61K39/395.U G01N33/53.K G01N33/577.B C12Q1/04 C07K16/40 C12N15/06.100 C12N15/13 C07K19/00		
优先权	2013158258 2013-07-30 JP		
其他公开文献	JP2016534022A5 JP2016534022A		
外部链接	Espacenet		

摘要(译)

要解决的问题：提供包含结合磷脂酶D4 (PLD4) 的抗体的药物，以及使用该药物检测和抑制活化的B细胞。此外，治疗由其活性抑制功能引起的自身免疫疾病和过敏性疾病。结合PLD4的细胞外结构域的单克隆抗体或包含其抗原结合区的片段用作药物。【选择图】无

(19) 日本国特許庁 (JP)	(12) 特許公報 (B2)	(11) 特許番号 特許第6431523号 (P6431523)
(45) 発行日 平成30年11月28日 (2018. 11. 28)	(24) 登録日 平成30年11月9日 (2018. 11. 9)	
(51) Int. Cl. F I A 6 1 K 3 9 / 3 9 5 (2 0 0 6 . 0 1) A 6 1 P 3 7 / 0 6 (2 0 0 6 . 0 1) A 6 1 P 3 7 / 0 8 (2 0 0 6 . 0 1) G O 1 N 3 3 / 5 3 (2 0 0 6 . 0 1) G O 1 N 3 3 / 5 7 7 (2 0 0 6 . 0 1)	A G 1 K 3 9 / 3 9 5 Z N A P A G 1 P 3 7 / 0 6 A G 1 P 3 7 / 0 8 A G 1 K 3 9 / 3 9 5 U G O 1 N 3 3 / 5 3 K G O 1 N 3 3 / 5 7 7 B	
(21) 出願番号 特願2016-503264 (P2016-503264)	(73) 特許権者 507206192 SBIバイオテック株式会社	
(86) (22) 出願日 平成26年7月30日 (2014. 7. 30)	東京都港区六本木一丁目G番1号	
(65) 公表番号 特表2016-534022 (P2016-534022A)	(74) 代理人 110000855 特許業務法人浅村特許事務所	
(43) 公表日 平成28年11月4日 (2016. 11. 4)	(72) 発明者 山崎 智英 東京都港区六本木1-6-1 SBIバイオテック株式会社内	
(86) 国際出願番号 PCT/JP2014/070661	(72) 発明者 遠藤 まゆき 東京都港区六本木1-6-1 SBIバイオテック株式会社内	
(87) 国際公開番号 W02015/016386	(72) 発明者 石田 晃司 東京都港区六本木1-6-1 SBIバイオテック株式会社内	
(87) 国際公開日 平成27年2月5日 (2015. 2. 5)		
審査請求日 平成29年7月28日 (2017. 7. 28)		
(31) 優先権主張番号 特願2013-158258 (P2013-158258)		
(32) 優先日 平成25年7月30日 (2013. 7. 30)		
(33) 優先権主張国 日本国 (JP)		
微生物の受託番号 NIMD NITE BP-1211		
微生物の受託番号 NIMD NITE BP-1212		
微生物の受託番号 NIMD NITE BP-1213		
微生物の受託番号 NIMD NITE BP-1214		
(54) 【発明の名称】 抗ホスホリパーゼD4抗体を含む医薬		

請求項の数 17 (全 40 頁) 最終頁に続く

最終頁に続く