

(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2007-513163

(P2007-513163A)

(43) 公表日 平成19年5月24日(2007.5.24)

(51) Int. Cl.	F I	テーマコード (参考)
A 6 1 K 45/00 (2006.01)	A 6 1 K 45/00	2 G 0 4 5
A 6 1 K 39/395 (2006.01)	A 6 1 K 39/395	D 4 C 0 8 4
A 6 1 K 38/00 (2006.01)	A 6 1 K 39/395	N 4 C 0 8 5
A 6 1 P 11/06 (2006.01)	A 6 1 K 37/02	
A 6 1 P 37/08 (2006.01)	A 6 1 P 11/06	

審査請求 未請求 予備審査請求 未請求 (全 42 頁) 最終頁に続く

(21) 出願番号	特願2006-542696 (P2006-542696)	(71) 出願人	596129215 シェーリング コーポレイション Schering Corporation
(86) (22) 出願日	平成16年12月1日 (2004.12.1)		
(85) 翻訳文提出日	平成18年5月30日 (2006.5.30)		
(86) 国際出願番号	PCT/US2004/040155		
(87) 国際公開番号	W02005/060998		
(87) 国際公開日	平成17年7月7日 (2005.7.7)		
(31) 優先権主張番号	60/526, 558	(74) 代理人	100107489 弁理士 大塩 竹志
(32) 優先日	平成15年12月3日 (2003.12.3)	(72) 発明者	グルーニッグ, ガブリエル アメリカ合衆国 ニューヨーク 1179 1, サイオセット, ザ ノール 15 2
(33) 優先権主張国	米国 (US)		

最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 サイトカイン活性を調節する方法；関連試薬

(57) 【要約】

例えば、気道および肺の炎症を処置する目的のために、サイトカイン活性を調節する方法が提供される。IL - 19もしくはIL - 24のアゴニストまたはアンタゴニストをスクリーニングする際に使用するための試薬もまた、提供される。本発明は、細胞の活性を調節する方法を提供し、上記方法は、上記細胞を、IL - 19（配列番号1または配列番号2）もしくはIL - 24（配列番号3または配列番号4）のアゴニストまたはアンタゴニストと接触させる工程を包含し；上記細胞は、気道反応性亢進または気道炎症を調節する。

【特許請求の範囲】

【請求項 1】

細胞の活性を調節する方法であって、該方法は、該細胞を、以下：

- a) IL - 19 (配列番号 1 または配列番号 2) ; もしくは
- b) IL - 24 (配列番号 3 または配列番号 4)

のアゴニストまたはアンタゴニストと接触させる工程を包含し、該細胞は、気道反応性亢進または気道炎症を調節する、方法。

【請求項 2】

前記細胞が、以下：

- a) 単球もしくはマクロファージ；
- b) T細胞もしくはB細胞；
- c) 樹状細胞；または
- d) 上皮細胞もしくは内皮細胞

である、請求項 1 に記載の方法。

【請求項 3】

前記マクロファージが、肺胞マクロファージである、請求項 2 に記載の方法。

【請求項 4】

前記アゴニストまたはアンタゴニストが、抗体の抗原結合部位に由来する結合組成物である、請求項 1 に記載の方法。

【請求項 5】

前記アゴニストまたはアンタゴニストが、以下：

- a) IL - 19 (配列番号 1 または配列番号 2) ;
- b) IL - 24 (配列番号 3 または配列番号 4) ;
- c) IL20R1 ;
- d) IL - 20R2 ; もしくは
- e) IL - 22R

のポリペプチドまたは核酸に特異的に結合する、請求項 1 に記載の方法。

【請求項 6】

前記アゴニストまたはアンタゴニストが、以下：

- a) ポリクローナル抗体；
- b) モノクローナル抗体；
- c) ヒト化抗体；
- d) Fab フラグメント、Fv フラグメント、もしくは F (a b ')₂ フラグメント；
- e) 抗体のペプチド模倣体；
- f) 核酸；または
- g) 検出可能な標識

を含む、請求項 5 に記載の方法。

【請求項 7】

気道反応性亢進障害または気道炎症障害を罹患している被験体を処置する方法であって、該方法は、有効量の以下：

- a) IL - 19 (配列番号 1 または配列番号 2) ; もしくは
- b) IL - 24 (配列番号 3 または配列番号 4)

のアゴニストまたはアンタゴニストを投与する工程を包含する、方法。

【請求項 8】

前記障害が、以下：

- a) 単球もしくはマクロファージ；
- b) T細胞もしくはB細胞；
- c) 樹状細胞；または
- d) 上皮細胞もしくは内皮細胞

によって仲介される、請求項 7 に記載方法。

10

20

30

40

50

【請求項 9】

前記マクロファージが、肺胞マクロファージである、請求項 8 に記載の方法。

【請求項 10】

前記障害が、以下：

- a) ぜん息；
- b) アレルギー性鼻炎；
- c) 気管支炎；
- d) 細気管支炎；または
- e) 慢性閉塞性肺障害 (COPD)

を含む、請求項 7 に記載の方法。

10

【請求項 11】

前記アンタゴニストが、気道反応性亢進を軽減または阻害する、請求項 7 に記載の方法。

【請求項 12】

前記アゴニストまたはアンタゴニストが、抗体の抗原結合部位に由来する結合組成物である、請求項 7 に記載の方法。

【請求項 13】

前記アゴニストまたはアンタゴニストが、以下：

- a) IL - 19 (配列番号 1 または配列番号 2)；
- b) IL - 24 (配列番号 3 または配列番号 4)；
- c) IL - 20R1；
- d) IL - 20R2；もしくは
- e) IL - 22R

20

を含むポリペプチドまたは核酸に特異的に結合する、請求項 7 に記載の方法。

【請求項 14】

前記アゴニストまたはアンタゴニストが、以下：

- a) ポリクローナル抗体；
- b) モノクローナル抗体；
- c) ヒト化抗体；
- d) Fab フラグメント、Fv フラグメント、もしくは F (ab')₂ フラグメント；
- e) 抗体のペプチド模倣体；
- f) 核酸；または
- g) 検出可能な標識

30

を含む、請求項 13 に記載の方法。

【請求項 15】

気道反応性亢進障害または気道炎症障害を診断する方法であって、該方法は、試験被験体由来のサンプルを、以下：

- a) IL - 19 (配列番号 1 または配列番号 2)；
- b) IL - 24 (配列番号 3 または配列番号 4)；
- c) IL - 20R1；
- d) IL - 20R2；もしくは
- e) IL - 22R

40

のポリペプチドまたは核酸に特異的に結合する結合組成物と接触させる工程を包含する、方法。

【請求項 16】

以下の工程：

- a) 前記結合組成物を、コントロール被験体に由来するサンプルまたはコントロールサンプルと接触させる工程；および
- b) 前記試験被験体で見出された結合を、該コントロール被験体またはコントロールサンプルで見出された結合と比較する工程

をさらに包含する、請求項 15 に記載の方法。

50

【請求項 17】

生理学的活性を調節する化合物をスクリーニングする方法であって、該方法は、以下：

- a) 候補化合物を I L - 19 ノックアウト (I L - 19 K O) マウスに接触させて、接触された I L - 19 K O マウスを提供し、そして該接触された I L - 19 K O マウスにおいて生理学的活性を決定する工程；
- b) 該候補化合物と接触していない I L - 19 K O マウスにおいて生理学的活性を決定する工程；および
- c) 該接触された I L - 19 K O マウスの生理学的活性と該接触されていない I L - 19 K O マウスの生理学的活性とを比較する工程

を包含する、方法。

10

【請求項 18】

前記生理学的活性が、以下：

- a) 免疫活性；
- b) 気道の炎症；
- c) 気道反応性亢進；または
- d) 増殖活性

を含む、請求項 17 に記載の方法。

【請求項 19】

生理学的活性を調節する化合物をスクリーニングする方法であって、該方法は、以下：

- a) 候補化合物を I L - 24 ノックアウト (I L - 24 K O) マウスに接触させて、接触された I L - 24 K O マウスを提供し、そして該接触された I L - 24 K O マウスにおいて生理学的活性を決定する工程；
- b) 該候補化合物と接触していない I L - 24 K O マウスにおいて生理学的活性を決定する工程；および
- c) 該接触された I L - 24 K O マウスの生理学的活性と該接触されていない I L - 24 K O マウスの生理学的活性とを比較する工程

を包含する、方法。

20

【請求項 20】

前記生理学的活性が、以下：

- a) 免疫活性；
- b) 気道の炎症；
- c) 気道反応性亢進；または
- d) 増殖活性

を含む、請求項 19 に記載の方法。

30

【請求項 21】

肥満もしくは糖尿病を処置または診断するための方法であって、該方法は、有効量の以下：

- a) I L - 19；もしくは
- b) I L - 24

のアゴニストまたはアンタゴニストを投与する工程を包含する、方法。

40

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0001】

(発明の分野)

本発明は、一般的に、哺乳動物のサイトカインの使用に関する。より具体的には、本発明は、気道反応性亢進におけるサイトカインの機能を開示する。

【背景技術】

【0002】

(発明の背景)

免疫系は、感染性因子（例えば、細菌、多細胞生物およびウイルス）および癌から個体

50

を防御するために機能する。この系は、1または数個の型のリンパ系細胞および骨髄性細胞（例えば、単球、マクロファージ、樹状細胞（DC）、好酸球、T細胞、B細胞、および好中球）を包含する。これらのリンパ系細胞および骨髄性細胞は、多くの場合、サイトカインとして公知のシグナル伝達タンパク質を産生する。免疫応答は、炎症（すなわち、身体の全身的か、または特に局所における免疫細胞の蓄積）を包含する。感染性因子または外来物質に応答して、免疫細胞は、サイトカインを分泌し、次いでサイトカインは、免疫細胞の増殖、発生、分化、または移動を調節する。サイトカインは、気道反応性亢進および肺泡マクロファージ（すなわち、肺泡マクロファージによる浸潤または肺泡マクロファージの活性化）に関連する多くの障害の病理学に関連している（例えば、非特許文献1；非特許文献2；非特許文献3；非特許文献4；非特許文献5；非特許文献6；非特許文献7；非特許文献8を参照のこと）。

10

【0003】

気道反応性亢進は、気道応答性亢進（hyperresponsiveness）としても公知であり、刺激に応答した不適切な気道の狭小化に関連する。気道反応性亢進は、気道の種々の障害（例えば、ぜん息、アレルギー性鼻炎、気管支炎、細気管支炎、およびおそらく慢性閉塞性肺障害（COPD））の特徴である。反応性亢進は、例えば、呼吸器感染、喫煙、および呼吸器アレルギーによって誘発され得る。ぜん息は、致死的であり得る慢性障害であって、合衆国の約7人に1人の子供を冒し、小児科救急の15%以上の原因である。この症状は、息切れおよび粘液の過分泌に関連する（例えば、非特許文献9；非特許文献10；非特許文献11；非特許文献12；非特許文献13；非特許文献14を参照のこと）。

20

【0004】

別の気道反応性亢進障害は、全ての慢性状態の最も一般的なもののうちの1つである、アレルギー性鼻炎（上部気道の炎症を含む）であり、合衆国において毎年約200万の出勤日を無駄にする原因となっている（例えば、非特許文献15；非特許文献16；非特許文献17；非特許文献18；非特許文献19；非特許文献20；非特許文献21；非特許文献22；非特許文献23を参照のこと）。

【0005】

気道反応性亢進は、気道におけるT細胞、好酸球、肥満細胞、好中球、および抗原提示細胞（APC）による浸潤によって特徴付けられる。肺のAPCとしては、DC、B細胞および肺泡マクロファージが挙げられ、これらの各々は、サイトカインを発現して気道反応性亢進の一因となり得る（例えば、非特許文献24；非特許文献25；非特許文献26；非特許文献27；非特許文献28；非特許文献29；非特許文献30；非特許文献31；非特許文献32を参照のこと）。気道のマクロファージ（肺泡マクロファージ、樹状細胞、ならびに胸膜マクロファージ、間質性マクロファージ、および脈管内マクロファージが挙げられる）は、T細胞との直接の相互作用によって、そして（例えば、病原体およびアレルギーに）応答して（そして、ぜん息およびアレルギーのような障害において）サイトカインを産生することによって、免疫応答を仲介する。肺泡マクロファージは、細菌、胞子、真菌（例えば、Pneumocystis carinii、Cryptococcus neoformans）、ウイルス（例えば、RSウイルス（RSV））、腫瘍、およびタバコの煙に対して、食作用性である。さらに、これらの免疫細胞は、サイトカインを分泌することによって後天性免疫応答を調節する（例えば、非特許文献33；非特許文献34；非特許文献35；非特許文献36；非特許文献37；非特許文献38；非特許文献39；非特許文献40；非特許文献41；非特許文献42；非特許文献43；非特許文献44；非特許文献45を参照のこと）。

30

40

【0006】

肺泡マクロファージはまた、マクロファージ、好中球、およびT細胞（例えば、CD8⁺T細胞）による細気管支の浸潤に関連する障害である、慢性閉塞性肺障害（COPD）の病理学にも関連している。COPDは、北アメリカにおいて4番目の主要な死亡原因であり、気道の平滑筋の肥厚と気道の炎症とによって特徴付けられる。この反応は、単球、

50

マクロファージ、CD4⁺T細胞、CD8⁺T細胞、および好中球の肺に対する浸潤に起因しているようである。肺マクロファージは、COPDにおいて上昇し、次いで、炎症を促進して免疫細胞の活性を増加させるサイトカインを発現する。COPDは、慢性気管支炎および気腫に関連する。気腫は、実質、末端細気管支の先端領域の永久的な破壊によって特徴付けられる。例えば、非特許文献46；非特許文献47；非特許文献48；非特許文献49；非特許文献50を参照のこと。

【非特許文献1】Abbasら(編)「Cellular and Molecular Immunology」, W. B. Saunders Co., Philadelphia, PA, 2000年

【非特許文献2】OppenheimおよびFeldmann(編)「Cytokine Reference, Academic Press」, San Diego, CA, 2001年 10

【非特許文献3】von AndrianおよびMackay「New Engl. J. Med.」2000年, 第343巻:p. 1020 - 1034

【非特許文献4】DavidsonおよびDiamond「New Engl. J. Med.」2001年, 第345巻:p. 340 - 350

【非特許文献5】Riffo-VasquezおよびSpina「Pharmacol. Therapeutics」2002年, 第94巻: pp. 185 - 121

【非特許文献6】Evansら「Int. Rev. Immunol.」2003年, 第22巻:p. 173 - 194 20

【非特許文献7】Lysaghtら「Curr. Opin. Investig. Drugs」2003年, 第4巻:p. 716 - 721

【非特許文献8】Engleman「Semin. Oncol.」2003年, 第30巻(3補遺8): p. 23 - 29

【非特許文献9】Crainら「Arch. Pediatr. Adolesc. Med.」1995年, 第149巻:p. 893 - 901

【非特許文献10】Grunigら「Science」1998年, 第282巻:p. 2261 - 2263

【非特許文献11】Crystalら(編)「The Lung」, 第1 - 2巻, 第2版, Lippincott-Raven, Philadelphia, PA, 1997年 30

【非特許文献12】Holgateら「Allergy」, 第2版, Mosby, New York, 2001年

【非特許文献13】Marone「Immunol. Today」1998年, 第19巻:p. 5 - 9

【非特許文献14】BarnesおよびLemanske「New Engl. J. Med.」2001年, 第344巻:p. 350 - 362

【非特許文献15】Marone「Immunol. Today」1998年, 第19巻:p. 5 - 9

【非特許文献16】Kumar「Pharmacol. Therapeutics」2001年, 第91巻:p. 93 - 104 40

【非特許文献17】Homer「New Engl. J. Med.」1997年, 第337巻: 1461 - 1463

【非特許文献18】Platts-MillsおよびCarter「New Engl. J. Med.」1997年, 第336巻:p. 1382 - 1384

【非特許文献19】James「Pediatrics」2003年, 第111巻:p. 1625 - 1630

【非特許文献20】Robinsonら「Pediatr. Pulmonol.」1996年, 第22巻:p. 248 - 254

【非特許文献21】Beckett「New Engl. J. Med.」2000年, 第342巻:p. 406 - 413 50

- 【非特許文献22】Sirouxら「Clin. Exp. Allergy」2003年，第33巻：p. 746 - 751
- 【非特許文献23】Kesslerら「Annals Allergy Asthma Immunol.」2001年，第87巻：p. 289 - 295
- 【非特許文献24】Lawrenceら「J. Pharm. Exp. Thera.」1998年，第284巻：p. 222 - 227
- 【非特許文献25】Alexisら「Am. J. Physiol. Lung Cell Mol. Physio.」2001年，第280巻：p. L369 - L375
- 【非特許文献26】Akabariら「Nature Medicine」2002年，第8巻：p. 1024 - 1032 10
- 【非特許文献27】MacLeanら「Am. J. Respir. Cell Mol. Biol.」1999年，第20巻：p. 379 - 387
- 【非特許文献28】Hamelmannら「Am. J. Respir. Cell Mol. Biol.」1999年，第21巻：p. 480 - 489
- 【非特許文献29】Gonzalesら「Annals Internal Medicine」2000年，第133巻：p. 981 - 991
- 【非特許文献30】Liら「Pulmonary Pharmacol. Therapeutics」2002年，第15巻：p. 409 - 416
- 【非特許文献31】Zimmermannら「J. Allergy Clin. Immunol.」2003年，第111巻：p. 227 - 242 20
- 【非特許文献32】Riffo-VasquezおよびSpina「Pharmacol. Therapeutics」2002年，第94巻：p. 185 - 211
- 【非特許文献33】McNamaraら「Brit. Med. Bull.」2002年，第61巻：p. 13 - 28
- 【非特許文献34】Openshaw「Respir. Res.」2002年，第3巻(補遺1) p. S15 - S20
- 【非特許文献35】GordonおよびRead「Brit. Medical Bulletin」2002年，第61巻：p. 45 - 61
- 【非特許文献36】Guidi-Rontani「Trends Microbiol.」2002年，第10巻：p. 405 - 409 30
- 【非特許文献37】Eifukuら「Jpn. J. Clin. Oncol.」2000年，第30巻：p. 295 - 300
- 【非特許文献38】Fathiら「Exp. Mol. Pathol.」2001年，第70巻：p. 77 - 82
- 【非特許文献39】Jeongら「Am. J. Resp. Crit. Care Med.」2000年，第162巻：p. 966 - 970
- 【非特許文献40】Yi「Crit. Rev. Clin. Lab Sci.」2002年，第39巻：p. 581 - 629
- 【非特許文献41】Friedmanら「Semis. Respir. Infect.」1998年，第13巻：p. 100 - 108 40
- 【非特許文献42】Brummer「Mycopathologia」1998年 - 1999年，第143巻：p. 121 - 125
- 【非特許文献43】Vassalloら「Sarcoidosis Vasc. Diffuse Lung Dis.」2000年，第17巻：p. 130 - 139
- 【非特許文献44】Bentenら「J. Medical Virology」2003年，第71巻：p. 290 - 297
- 【非特許文献45】Rigdenら「Immunology」2002年，第106巻：p. 537 - 548
- 【非特許文献46】Hautamakiら「Science」1997年，第277巻：p. 2002 - 2004 50

【非特許文献47】Barnes「Chest」2000年，第117巻：p.105-145

【非特許文献48】Barnes「Annu. Rev. Med.」2003年，第54巻：p.113-129

【非特許文献49】Jeffery「Thorax」1998年，第53巻：p.129-136

【非特許文献50】Barnes「New Engl. J. Med.」2000年，第343巻：p.269-280

【発明の開示】

【発明が解決しようとする課題】

10

【0007】

ぜん息およびCOPD、ならびに感染に対する肺胞マクロファージ仲介性防御および癌は、十分に理解されないままであり、新規の治療が必要とされる。本発明は、炎症、気道反応性亢進、およびマクロファージ活性に関連する2種のサイトカインを同定し、これらの呼吸器障害を処置および診断するための試薬ならびに方法を提供することによって、この必要性を満たす。

【課題を解決するための手段】

【0008】

(発明の要旨)

本発明は、部分的に、IL-19またはIL-24を欠損している動物が、気道反応性亢進の軽減を示すという発見に基づいている。

20

【0009】

本発明は、細胞の活性を調節する方法を提供し、上記方法は、上記細胞を、IL-19(配列番号1または配列番号2)もしくはIL-24(配列番号3または配列番号4)のアゴニストまたはアンタゴニストと接触させる工程を包含し；上記細胞は、気道反応性亢進または気道炎症を調節する。

【0010】

上記細胞が、単球もしくはマクロファージ、T細胞もしくはB細胞、樹状細胞、または上皮細胞もしくは内皮細胞である上記方法、上記マクロファージが、肺胞マクロファージである上記方法、上記アゴニストまたはアンタゴニストが、抗体の抗原結合部位に由来する結合組成物である上記方法、および上記アゴニストまたはアンタゴニストが、IL-19(配列番号1または配列番号2)；IL-24(配列番号3または配列番号4)；IL20R1；IL-20R2；もしくはIL-22Rのポリペプチドまたは核酸に特異的に結合する上記方法もまた、提供される。

30

【0011】

別の実施形態において、本発明は、上記アゴニストまたはアンタゴニストが、ポリクローナル抗体；モノクローナル抗体；ヒト化抗体；Fabフラグメント、Fvフラグメント、もしくはF(ab')₂フラグメント；抗体のペプチド模倣体；核酸；または検出可能な標識を含む、活性を調節する上記方法を提供する。

【0012】

別の局面において、本発明は、気道反応性亢進障害または気道炎症障害を罹患している被験体を処置する方法であって、有効量の、IL-19(配列番号1または配列番号2)もしくはIL-24(配列番号3または配列番号4)のアゴニストまたはアンタゴニストを投与する工程を包含する、方法；上記障害が、単球もしくはマクロファージ、T細胞もしくはB細胞、樹状細胞、または上皮細胞もしくは内皮細胞によって仲介される上記方法；および上記マクロファージが、肺胞マクロファージである上記方法；ならびに上記障害が、ぜん息、アレルギー性鼻炎、気管支炎；細気管支炎；または慢性閉塞性肺障害(COPD)を含む上記方法を提供する。

40

【0013】

本発明のさらに別の実施形態は、被験体を処置する上記方法であって、ここで上記アン

50

タゴニストは、気道反応性亢進を軽減または阻害し；上記アゴニストまたはアントゴニストは、抗体の抗原結合部位に由来する結合組成物であり；上記アゴニストまたはアンタゴニストは、IL-19（配列番号1または配列番号2）；IL-24（配列番号3または配列番号4）；IL-20R1；IL-20R2；もしくはIL-22Rを含むポリペプチドまたは核酸に特異的に結合する方法であるか、あるいは上記アゴニストまたはアンタゴニストが、ポリクローナル抗体；モノクローナル抗体；ヒト化抗体；Fabフラグメント、Fvフラグメント、もしくはF(ab')₂フラグメント；抗体のペプチド模倣体；核酸；または検出可能な標識を含む上記方法を提供する。

【0014】

本発明はまた、気道反応性亢進障害または気道炎症障害を診断する方法を提供し、上記方法は、試験被験体由来のサンプルを、IL-19（配列番号1または配列番号2）；IL-24（配列番号3または配列番号4）；IL-20R1；IL-20R2；もしくはIL-22Rのポリペプチドまたは核酸に特異的に結合する結合組成物と接触させる工程を包含する方法；ならびに上記結合組成物を、コントロール被験体に由来するサンプルまたはコントロールサンプルと接触させる工程；および上記試験被験体で見出された結合と、上記コントロール被験体またはコントロールサンプルで見出された結合とを比較する工程をさらに包含する方法を提供する。

10

【0015】

本発明の別の実施形態は、生理学的活性を調節する化合物をスクリーニングする方法であって、候補化合物をIL-19ノックアウト（IL-19KO）マウスに接触させて、接触されたIL-19KOMウスを提供し、上記接触されたIL-19KOMウスにおいて生理学的活性を決定する工程；上記候補化合物と接触していないIL-19KOMウスにおいて生理学的活性を決定する工程；および上記接触されたIL-19KOMウスの生理学的活性と上記接触されていないIL-19KOMウスの生理学的活性とを比較する工程を包含する、方法；ならびに上記生理学的活性が、免疫活性；気道の炎症；気道反応性亢進；または増殖活性を含む上記方法を提供する。

20

【0016】

本発明のさらに別の実施形態は、生理学的活性を調節する化合物をスクリーニングする方法を提供し、上記方法は、候補化合物をIL-24ノックアウト（IL-24KO）マウスに接触させて、接触されたIL-24KOMウスを提供し、上記接触されたIL-24KOMウスにおいて生理学的活性を決定する工程；上記候補化合物と接触していないIL-24KOMウスにおいて生理学的活性を決定する工程；および上記接触されたIL-24KOMウスの生理学的活性と上記接触されていないIL-24KOMウスの生理学的活性とを比較する工程を包含する、方法；ならびに上記生理学的活性が、免疫活性；気道の炎症；気道反応性亢進；または増殖活性を含む上記方法を提供する。

30

【0017】

本発明のさらなる局面は、肥満もしくは糖尿病を処置または診断するための方法であって、上記方法は、有効量の、IL-19；もしくはIL-24のアゴニストまたはアンタゴニストを投与する工程を包含する。

【発明を実施するための最良の形態】

40

【0018】

（好ましい実施形態の詳細な説明）

添付された特許請求の範囲を含む本明細書において使用される場合、「a」、「an」および「the」のような単語の単数形態は、状況が明らかにそうでないことを示さない限り、それらの対応する複数形の言及を包含する。

【0019】

本明細書において引用される全ての参考文献は、あたかも各個々の刊行物または特許出願が、具体的かつ独立して参考として援用されることが示されるのと同じ程度に、本明細書において参考として援用される。

【0020】

50

(I . 定義)

「活性化」、「刺激」および「処置」は、細胞またはレセプターに対して適用される場合、状況によって明らかにそうでないことが示されないか、または明示的にそうでないことが示されない限り、同じ意味を有し得る（例えば、リガンドを用いた細胞またはレセプターの活性化、刺激、または処置）。「リガンド」は、天然リガンドおよび合成リガンド（例えば、サイトカイン、サイトカインの改変体、アナログ、ムテイン、および抗体由来の結合組成物）を包含する。「リガンド」はまた、低分子（例えば、サイトカインのペプチド模倣体、および抗体のペプチド模倣体）も包含する。「活性化」は、内部機構および外部機構、または環境因子によって調節される場合の細胞の活性化について言及し得る。例えば、細胞、組織、器官、または生物の「応答」は、生化学的挙動または生理学的挙動（例えば、生物学的画分内の濃度、密度、接着、もしくは移動、遺伝子発現の速度、または分化の状態）の変化を包含する。この変化は、活性化、刺激、または処置、あるいは遺伝的プログラミングのような内部機構と関連する。

10

【 0 0 2 1 】

分子の「活性」は、リガンドもしくはレセプターに対する分子の結合、触媒活性；遺伝子発現もしくは細胞シグナル伝達、分化、または成熟を刺激する能力；抗原性活性、他の分子の活性の調節などを説明し得るか、あるいはこれらについて言及し得る。分子の「活性」はまた、細胞-細胞相互作用（例えば、接着）を調節もしくは維持する活性、または細胞の構造（例えば、細胞膜または細胞骨格）を維持する活性について言及し得る。「活性」はまた、比活性（例えば、[触媒活性] / [mgタンパク質]、または[免疫学的活性] / [mgタンパク質]、生物学的画分における濃度など）を意味し得る。「増殖活性」は、例えば、正常な細胞分裂、ならびに癌、腫瘍、形成異常、細胞形質転換、転移、および新脈管形成を促進する活性（すなわち、これらに必要とされるか、またはこれらに特異的に関連する活性）を包含する。

20

【 0 0 2 2 】

「投与」および「処置」は、ヒト被験体、研究被験体、獣医学的被験体、動物、または細胞の処置に適用される場合、薬学的薬剤、治療的薬剤、診断的薬剤もしくは薬学的組成物、治療的組成物、診断的組成物、またはプラシーボの、ヒト被験体、動物、または細胞への接触について言及する。細胞の処置は、試薬の細胞への接触、および試薬の流体への接触（ここで、上記流体は、細胞と接触している）を包含する。「投与」および「処置」はまた、上記薬剤または組成物が、エキソピボ処置の間もしくは後に、代謝、変更、分解、または除去される場合であっても、細胞、組織、または器官の、上記被験体または動物への接触が後に続くエキソピボ処置（例えば、細胞、組織、または器官へのエキソピボ処置）を包含する。

30

【 0 0 2 3 】

「候補化合物」は、例えば、その候補化合物が、治療剤もしくは診断剤の開発または同定に使用される、分子、分子の複合体、あるいは分子の混合物について言及する。候補化合物の試験またはスクリーニングは、上記化合物が治療薬または診断薬として有用であるか否かを決定するために使用される。「候補化合物」は、例えば、第2の治療剤もしくは診断剤、またはキャリア、希釈剤、安定剤、もしくは賦形剤と一緒に、ポリペプチド、抗体、天然生成物、合成化学物質、有機化合物、無機化合物、およびこれらの組み合わせを包含する。

40

【 0 0 2 4 】

「障害」は、病理学的状態、または病理学的状態に関連しているか、もしくは病理学的状態になりやすい状態について言及する。「感染性障害」は、例えば、微生物、細菌、寄生生物、ウイルスなどから生じる障害、および上記障害に対する不適切な免疫応答、効果のない免疫応答、または病理学的な免疫応答について言及する。「腫瘍形成障害」は、癌、形質転換された細胞、腫瘍、形成異常（*displasia*）、新脈管形成、転移など、および上記障害に対する不適切な免疫応答、効果のない免疫応答、または病理学的な免疫応答を包含する。

50

【0025】

「遺伝子」は、ポリペプチドおよび任意の調節配列（例えば、プロモーター、オペレーター、エンハンサー、ならびに転写開始シグナルおよび転写終止シグナル）のコード領域を包含する。上記コード領域は、1つの連続的なオープンリーディングフレーム（ORF）を含み得るか、または上記コード領域は、1を超えるORFを含み得る（すなわち、1以上のイントロンによって中断され得る）。

【0026】

「有効量」は、例えば、障害、状態、または病理学的状態の症状または徴候を改善するのに十分な、IL-19アゴニスト、IL-19アンタゴニスト、またはIL-19結合化合物もしくはIL-19結合組成物、あるいはIL-24アゴニスト、IL-24アンタゴニスト、またはIL-24結合化合物もしくはIL-24結合組成物の量を意味する。「有効量」はまた、障害、状態、または病理学的状態の症状または徴候を診断するのに十分な、IL-19アゴニスト、IL-19アンタゴニスト、またはIL-19結合化合物もしくはIL-19結合組成物、あるいはIL-24アゴニスト、IL-24アンタゴニスト、またはIL-24結合化合物もしくはIL-24結合組成物の量にも関する。

【0027】

「発現」は、特異的遺伝子によってコードされるmRNAまたはポリペプチドの測定について言及する。発現の単位は、例えば、細胞もしくは組織、または細胞抽出物もしくは組織抽出物におけるタンパク質1mgあたりの、mRNAの分子の数あるいはポリペプチドの数の測定であり得る。発現の単位は、相対的であり得、例えば、コントロール哺乳動物および実験哺乳動物からのシグナルの比較、またはmRNAまたはポリペプチドに非特異的である試薬に対する、mRNAまたはポリペプチドに特異的である試薬を用いたシグナルの比較である。

【0028】

「炎症障害」は、上記病理学が、全体的または部分的に、免疫系の細胞（例えば、T細胞、B細胞、単球もしくはマクロファージ、肺胞マクロファージ、樹状細胞、NK細胞、NK T細胞、好中球、好酸球、または肥満細胞）の数の増加および/または活性の増加から生じる、障害あるいは病理学的状態を意味する。

【0029】

「ノックアウト」（KO）は、遺伝子（例えば、IL-19またはIL-24）によってコードされるポリペプチドの少なくとも一部分の発現の、部分的な減少または完全な減少について言及し、上記遺伝子は、単一細胞、選択された細胞、または哺乳動物の全ての細胞に対して内因性である。KOはまた、生物学的機能は低下しているが、発現は必ずしも減少していない実施形態（例えば、挿入された不活性化ペプチド、オリゴペプチド、またはポリペプチドを含む発現IL-19ポリペプチドを含有するIL-19 KOポリペプチド）を包含する。コード配列または調節配列の破壊は、ノックアウト技術によって包含される。上記細胞または哺乳動物は、内因性遺伝子の一方の対立遺伝子が破壊されている「ヘテロ接合性ノックアウト」であり得る。あるいは、上記細胞または哺乳動物は、内因性遺伝子の両方の対立遺伝子が破壊されている「ホモ接合性ノックアウト」であり得る。「ホモ接合性ノックアウト」は、両方の対立遺伝子の破壊をそのゲノムにおける同一の技術または同一の結果に限定することは意図されない。本発明の範囲内には、一方もしくは両方のIL-19対立遺伝子および/または一方もしくは両方のIL-24対立遺伝子がノックアウトされている哺乳動物が含まれる。「トランスジェニック」は、遺伝子工学の技術によって作製され、安定して遺伝される遺伝的变化について言及する。トランスジェニックの方法、細胞、および動物は、ノックアウト技術の使用から生じる遺伝的变化を含む。

【0030】

「マーカー」は、細胞、組織、器官、動物の表現型（例えば、IL-19 KOマウスもしくはIL-24 KOマウス、またはヒト被験体の表現型）に関する。マーカーは、例えば、細胞の精製、定量、移動、活性化、成熟、または発生の間に細胞を検出するために使

10

20

30

40

50

用され、そしてインビトロ研究とインビボ研究との両方について使用され得る。活性化マーカーは、細胞の活性化に関連するマーカーである。

【0031】

「感受性」、例えば、リガンドに対するレセプターの感受性は、レセプターへのリガンドの結合が、上記レセプターまたは上記レセプターに特異的に関連した現象もしくは分子の検出可能な変化（例えば、上記レセプターに関連したタンパク質のコンホメーション変化、リン酸化、性質もしくは量）、あるいは上記レセプターによって仲介されるか、または上記レセプターに関連する遺伝的発現の変化を生じることを意味する。

【0032】

「可溶性レセプター」は、水溶性であり、そして例えば、細胞外流体、細胞内流体において生じるか、または膜に弱く結合されたレセプターについて言及する。可溶性レセプターは、水溶性となるように操作されているレセプターをさらに言及する。

【0033】

「結合の特異性」、「結合の選択性」などは、所定のリガンドと他のリガンドとの間または所定のレセプターと他のレセプターとの間を区別し得る、所定のリガンドと所定のレセプターとの間の結合相互作用について言及する。「特異的に」または「選択的に」結合するとは、リガンド/レセプター、抗体/抗原、または他の結合対について言及する場合、タンパク質および他の生物学的物質の不均一な集団においてタンパク質の存在の決定因となる結合反応を示す。従って、指定された条件下において、特定化されたリガンドは、特定のレセプターに結合し、かつサンプル中に存在するかなりの量の他のタンパク質には結合しない。抗体、または抗体の抗原結合部位に由来する結合組成物は、任意の他の抗原に対する親和性よりも、少なくとも2倍超、好ましくは少なくとも10倍超、より好ましくは少なくとも約20倍超、そして最も好ましくは少なくとも100倍超の親和性でその抗原に結合する。好ましい実施形態において、上記抗体は、約 10^9 リットル/molを超える親和性を有する。例えば、Munsonら(1980) *Analyt. Biochem.* 107: 220-239を参照のこと。

【0034】

(II. 概要)

IL-19およびIL-24 (mda-7としてもまた公知)は、サイトカインのIL-10ファミリーのメンバーであり、IL-10と21~22%のアミノ酸配列同一性を共有する。IL-10、IL-19、およびIL-24は、ヒト染色体1q32上に存在し、例えば、T細胞によって発現される。IL-24のげっ歯類オーソログスは、例えば、ラットのc49a (mob-5としてもまた公知)およびマウスのFISPが同定されており、これらのオーソログスは、ヒトIL-24と幾分異なって機能する。IL-19およびIL-24のレセプターもまた、同定されている。上記IL-19レセプターの複合体は、IL-20R1 (crf2-8としてもまた公知)およびIL-20R2 (DIRS1; crf2-11としてもまた公知)のヘテロダイマーである。IL-24は、2種の異なるレセプター複合体(すなわち、IL-22R1とIL-20R2とのヘテロダイマーおよびIL-20R1 (IL-20RAとしてもまた公知)とIL-20R2 (IL-20RBとしてもまた公知)とのヘテロダイマー)に結合する(例えば、Gallagherら, (2000) *Genes Immunity* 1: 442-450; Dumoutierら, (2001) *J. Immunol.* 167: 3545-3549; Fickenscherら, (2002) *Trends Immunol.* 23: 89-96; Parrish-Novakら, (2002) *J. Biol. Chem.* 277: 47517-47523; Wangら, (2002) *J. Biol. Chem.* 277: 7341-7347; 米国特許公開番号US2003/0078381を参照のこと)。

【0035】

多くの因子が、IL-19またはIL-24の発現を刺激し得、それらは次いで、アポトーシスまたは他のサイトカインの発現のような現象を誘発し得る。刺激因子としては、リポ多糖類(LPS)、IL-4、顆粒球単球コロニー刺激因子(GM-CSF)、およ

10

20

30

40

50

び植物性赤血球凝集素 (phytohemagglutinin) (PHA) が挙げられる。

【0036】

IL-19およびIL-24ならびに/またはそれらのレセプターの複合体は、多くの生理学的活性を用いて同定されている。IL-19レセプターの発現は、乾癬に関連している。IL-24は、新脈管形成、ならびに内皮細胞の分化および移動を阻害する。さらに、IL-24は、サイトカイン(例えば、インターロイキン-6(IL-6)および腫瘍壊死因子(TNF))の発現を誘発する。C49aは、IL-24のラットオーソログガスであり、細胞増殖の増加(例えば、創傷治癒およびras癌遺伝子形質転換)に関連する(例えば、Rameshら,(2003)Cancer Res.63:5105-5113;Sauaneら,(2003)Cytokine Growth Factor Revs.14:35-51;Parrish-Novakら(前出);Wolkら,(2002)J.Immunol.168:5397-5402;Liaoら,(2002)J.Immunol.169:4288-4297;Ghoreschiら,(2003)Nature Medicine 9:40-46;Caudellら,(2002)J.Immunol.168:6041-6046;Dumoutierら(前出);Sarkarら,(2002)Proc.Natl.Acad.Sci.USA 99:10054-10059;Jiangら,(1996)Proc.Natl.Acad.Sci.93:9160-9165;Changら,(2003)J.Biol.Chem.278:3308-3313;Fickenscherら,(2002)Trends Immunol.23:89-96;Gallagherら,(2000)Genes Immunol.1:442-450;Vandenbroeckら,(2002)J.Biol.Chem.277:25668-25676;Sauaneら,(2003)J.Cellular Physiol.196:334-345を参照のこと)。

10

20

【0037】

IL-19およびIL-24、ならびにそれらに対するアゴニストおよびアンタゴニストの生物学的効果は、細胞に関連する特定の表現型の「マーカー」を使用して決定され得る。CD11c⁺MHC low細胞は、気管支肺泡洗浄流体BAL中の細胞の分析によって決定された場合、野生型コントロールマウスと比較してIL-24 KOマウスにおいて増加することが見出された。CD11cは、免疫細胞の発生および細胞活性化のマーカーであり、 α -インテグリンタンパク質のCD-11ファミリーのメンバーである。CD11は、細胞の接着および移動(免疫細胞の上皮細胞を通過する気道腔への移動を含む)を仲介する。CD11は、例えば、DC、マクロファージ、T細胞、およびB細胞の活性化についてのマーカーである(例えば、Kadowakiら,(2001)J.Immunol.166:2291-2295;Kadowakiら,(2001)J.Exp.Med.194:863-869;Liu(2002)Human Immunology 63:1067-1071;Shelleyら,(2002)J.Immunol.168:3887-3893;KidneyおよびProud(2000)Am.J.Respir.Cell Mol.Biol.23:389-395;TaboradaおよびCasadevall(2002)Immunity 16:791-802を参照のこと)。

30

40

【0038】

MHCクラスII発現は、BAL中の細胞の測定で決定されたように、野生型コントロールマウスと比較してIL-24 KOマウスにおいて増加している。MHCクラスIIは、細胞の活性化または成熟(例えば、DC、単球、マクロファージ、B細胞、T細胞、および内細胞の活性化または成熟)についてのマーカーである。DCまたはB細胞のような抗原提示細胞(APC)が一旦MHCクラスIIを発現すると、そのAPCは、他の型の細胞(すなわち、T細胞)を活性化し得る。例えば、Waldburgerら,(2001)J.Exp.Med.194:393-406;Paiら,(2002)J.Imm

50

uno1.169:1326-1333; Villadangosら, (2001) *Immunity* 14:739-749; Xausら, (2000) *J. Immunol.* 165:6364-6371; Kwakら, (2000) *Nature Medicine* 6:1399-1402; Machら, (1996) *Annu. Rev. Immunol.* 14:301-331を参照のこと。

【0039】

B220を発現する樹状細胞の比率は、チャレンジされていない(noin-challenged)野生型コントロールマウスよりもチャレンジされていない(non-challenged)IL-19KOマウスにおいて、より高かった。B220は、例えば、DC上で見出されるタンパク質である。このタンパク質は、状況に依存して、多かれ少なかれDC活性に関連している。CD11c⁺B220⁺DCは、CD11c⁺B220⁻DCよりも多くの型のケモカインに引き付けられるが、しかし明らかに対照的に、CD11c⁺B220⁺DCは、CD11c⁺B220⁻DCよりもT細胞増殖を刺激する能力に劣る(Brawandら, (2002) *J. Immunol.* 169:6711-6719)。

【0040】

(III. 核酸、細胞、および器官の遺伝的変更)

核酸、細胞、および器官は、例えば、既存の核酸配列を変更もしくは欠失させることによってか、または新規の染色体配列もしくは染色体外の配列を導入することによって、遺伝的に改変され得る。遺伝的変更は、新規の遺伝子を導入すること、既存の遺伝子を変異もしくはノックアウトすること、および遺伝子の調節特性を変更することを包含する。これらの変更は、染色体エレメントまたは染色体外のエレメントの共有結合的改変、および非共有結合的改変を含む。

【0041】

サイトカインノックアウト(KO)構築物(例えば、IL-19KO構築物またはIL-24KO構築物)は、代表的に、ゲノムDNAまたはcDNAのサイトカインヌクレオチド配列の一部を単離し、そして上記サイトカイン配列にマーカー配列を挿入することによって調製される。上記サイトカインDNA分子は、上記KO構築物が胚性幹(ES)細胞のゲノムDNAに導入される場合、染色体DNAによる認識のために、十分な相補性配列が提供されるように十分長い(すなわち、相同的組換え)。

【0042】

KO構築物を調製する際に使用されるべき天然に存在するゲノムのサイトカインフラグメントまたはcDNA分子(すなわち、IL-19またはIL-24をコードしている)は、当該分野で周知の方法を使用して得られ得る。これらの方法は、例えば、特定のDNA配列のポリメラーゼ連鎖反応(PCR)増幅、またはサイトカイン遺伝子を含む細胞もしくは組織から調製されたゲノムライブラリーのスクリーニングであり、そのスクリーニングには、サイトカインゲノム遺伝子配列の少なくとも一部分を得るために、同じサイトカイン遺伝子または相同性の高いサイトカイン遺伝子の少なくとも一部分をコードするcDNAプローブを使用する。あるいは、cDNA配列がKO構築物において使用される場合、上記cDNAは、cDNAライブラリーをスクリーニングすることによって得られ得る。

【0043】

マーカー遺伝子挿入のための適切な位置は、全長の内因性サイトカイン遺伝子の転写もしくは翻訳を減少または妨げるように機能する位置、あるいは翻訳は可能であるが、そのサイトカインタンパク質が生物学的に不活性である位置である。この挿入手順は、サイトカイン遺伝子由来の配列の欠失を伴ってか、またはそれを伴わずに(すなわち、イントロンおよび/もしくはエキソンの欠失を伴ってか、または伴わずに)達成され得る。

【0044】

マーカー遺伝子は、通常、それ自身のプロモーターまたは別の強力なプロモーター(例えば、チミジンキナーゼ(TK)プロモーターまたはホスホグリセロールキナーゼ(PG

K)) に作動可能に連結される。上記マーカー遺伝子は、ノックアウトされる遺伝子のプロモーターを使用して転写され得る場合、それ自身のプロモーターに結合されることを必要としない。好ましいマーカー遺伝子は、ネオマイシン耐性遺伝子をコードする neo のような任意の抗生物質耐性遺伝子、または - ガラクトシダーゼをコードする - gal である。いくつかの場合において、上記サイトカイン核酸配列に関して逆配向またはアンチセンス配向に、マーカー配列を挿入することが好ましい。逆挿入は、マーカー遺伝子が特に強力なプロモーターに作動可能に連結している場合に好ましい。連結された DNA KO 構築物は、ES 細胞に直接的にトランスフェクトされ得るか、または連結された DNA KO 構築物は、挿入の前に増幅するために、まず適切なベクターに配置され得る。

【0045】

上記 IL - 19 - KO 構築物または IL - 24 KO 構築物は、代表的に ES にトランスフェクトされ、使用される ES 細胞株は、KO 構築物の生殖細胞系伝達 (transmission) を作製するために、発生する胚の生殖細胞株に組み込み、その一部になる能力について選択される。KO マウスを作製するための ES 細胞株としては、例えば、マウス細胞株 D3 および E14 (American Type Culture Collection, Rockville, MD, カタログ番号 CRL 1934 および CRL 1821) および RW4 (Genome Systems, Inc., St. Louis, MO, カタログ番号 ES VJ - 1182) が挙げられる。KO 構築物のトランスフェクションは、例えば、エレクトロポレーション、マイクロインジェクション、またはリン酸カルシウム処理によって達成され得る。

【0046】

上記 IL - 19 KO 構築物または IL - 24 KO 構築物に対して陽性である子孫は、代表的にヘテロ接合性であるが、いくつかのホモ接合性ノックアウトが存在してもよい。ホモ接合性ノックアウト哺乳動物が所望される場合、それらは、互いの生殖細胞系に上記ノックアウト構築物を保有していると考えられるヘテロ接合性子孫を交配することによって調製され得る。

【0047】

サイトカイン KO 構築物を作製するための分子生物学の方法が、記載される。例えば、Power (2003) J. Immunol. Methods 273 : 73 - 82 ; Sauer (1998) Methods 14 : 381 - 392 ; Copeland ら, (2001) Nature Revs. 2 : 769 - 779 ; Voorhoeve および Agami (2003) Trends Biotechnol. 21 : 2 - 4 ; Walker ら, (2001) Curr. Opinion Biotechnol. 12 : 626 - 631 ; Galli - Taliadoros ら, (1995) J. Immunol. Methods 181 : 1 - 15 ; Lovik (1997) Toxicology 119 : 65 - 76 ; Charreau ら, (1996) Transgenic Res. 5 : 223 - 234 ; te Riele ら, (2001) Methods Mol. Biol. 158 : 251 - 262 ; Osada および Maeda (1998) Methods Mol. Biol. 110 : 79 - 92 ; Ravirajan および Isenberg (2002) Lupus 11 : 843 - 849 ; van der Weyden ら, (2002) Physiol. Genomics 11 : 133 - 164 を参照のこと。

【0048】

幹細胞を使用してサイトカイン KO マウスを作製するための方法が、記載される。例えば、Dunstan らに対して発行された米国特許第 6,087,555 号 ; Potten (編) (1997) Stem Cells, Academic Press, San Diego, CA ; Sell (編) (2003) Stem Cells Handbook, Human Press, Totowa, NJ ; Marshak ら, (編) (2002) Stem Cell Biology, Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, NY ; Turksen (編) (2001) Embryonic Stem Cells ; Human

10

20

30

40

50

Press, Totowa, NJ; Durumら, (編) (1998) Cytokine Knockouts, Humana Press, Totowa, NJ; Jacob (編) (1994) Overexpression and Knockout of Cytokines in Transgenic Mice, Academic Press, San Diego, CA; TymmsおよびKola (編) (2001) Gene Knockout Protocols, Humana Press, Totowa, NJを参照のこと。

【0049】

IL-19 KOマウスによるIL-19の発現およびIL-24 KOマウスによるIL-24の発現は、代表的に、適切な野生型マウスに由来する発現の60%未満であり、より代表的には30%未満であり、一般的には15%未満であり、好ましくは5%以下であり、より好ましくは2%以下であり、そして最も好ましくは1%以下である。

10

【0050】

KOマウスの適切な野生型マウスとの比較において、KOマウスと野生型マウスとは、可能なかぎり近縁種であることが好ましい。例えば、上記野生型マウスは、KOマウスの調製の際の幹細胞の供給源として使用されたマウスと同じ系統のマウスであるべきである。

【0051】

本発明は、診断剤、医薬品、および治療剤をスクリーニングならびに試験するために、IL-19 KOマウスまたはIL-24 KOマウスを使用する方法を企図する。スクリーニングの目的で、どのアナログが投与されたIL-19もしくはIL-24と最も同様に機能するか、またはどのアナログが投与されたIL-19もしくはIL-24より優れているかを決定するために、IL-19 KO動物またはIL-24 KO動物は、種々のIL-19またはIL-24のアナログで処置され得る。スクリーニングアッセイの指標は、所定のレベル（例えば、野生型マウスまたは適切なコントロールマウスで見出されるレベル）に対するマクロファージ活性または濃度の変化、所定のレベルに対する樹状細胞活性または濃度の変化、所定のレベルに対する気道反応性亢進の増強であり得る。

20

【0052】

(IV. アゴニスト、アンタゴニスト、および結合組成物)

抗体、および抗体の抗原結合部位に由来する結合組成物が、提供される。これらとしては、ヒト化抗体、ヒト抗体、モノクローナル抗体またはポリクローナル抗体、結合フラグメント（例えば、Fabフラグメント、F(ab)₂フラグメント、およびFvフラグメント）、およびこれらの遺伝子操作されたバージョンが挙げられる。「由来する(derived)」は、抗体の化学的改変、抗体の組換え改変によって生じるもの、ならびに抗体を構造的に特徴付けた後の結合組成物のコンピューターモデリングによって生じるものを含む。上記抗体または結合組成物は、アゴニスト性であってもアンタゴニスト性であってもよい。リガンドおよびレセプター、二量体リガンドの両方のサブユニット、または二量体レセプターの両方のサブユニットに同時に結合する抗体が、企図される。IL-19、IL-24、抗IL-19抗体、および抗IL-24抗体の低分子のペプチド模倣体(mimetic)もまた、包含される。

30

40

【0053】

抗体は、通常、少なくとも約 10^{-3} M、より通常は少なくとも約 10^{-6} M、代表的には少なくとも約 10^{-7} M、より代表的には少なくとも約 10^{-8} M、好ましくは少なくとも約 10^{-9} M、そしてより好ましくは少なくとも約 10^{-10} M、そして最も好ましくは少なくとも約 10^{-11} Mの K_D で結合する（例えば、Prestara, (2001) Thromb. Haemost. 85: 379-389; Yangら, (2001) Crit. Rev. Oncol. Hematol. 38: 17-23; Carnahanら, (2003) Clin. Cancer Res. (補遺) 9: 3982s-3990sを参照のこと）。

【0054】

50

本発明は、IL-19のアゴニストおよびアントゴニストを提供する。これらは、例えば、IL-19のムテインおよび天然に存在する変異体、結合組成物（例えば、抗IL-19抗体）、IL-19レセプターポリペプチド可溶性バージョン、ならびにIL-19レセプターポリペプチドに対する結合組成物および抗体である。IL-24のアゴニストおよびアントゴニストもまた提供される。これらは、例えば、IL-24のムテインおよび天然に存在する変異体、結合組成物（例えば、抗IL-24抗体）、IL-24レセプターポリペプチド可溶性バージョン、ならびにIL-24レセプターポリペプチドに対する結合組成物および抗体である。

【0055】

ヒトIL-19（配列番号2）に対する抗体が調製され得る。ヒトIL-19において 10
 抗原性を増加させた領域は、KRAIQAKD（配列番号2のアミノ酸45-52）；TKNLLA（配列番号2の78-83）；KDHQ（配列番号2の91-94）；およびKTLR（配列番号2の116-119）を含む。hIL-19の変異体に対する抗体もまた企図される。例えば、Genbank登録番号NP_758846；NP_443104；およびAAH09681を参照のこと。

【0056】

ヒトIL-24（配列番号4）に対する抗体が調製され得る。ヒトIL-24において 20
 抗原性を増加させた領域は、AVKD（配列番号4のアミノ酸48-51）；SARLLQ（配列番号4の61-66）；LVHTLL（配列番号4の81-86）；LKTVFKNYHN（配列番号4の90-99）；DSAHR（配列番号4の137-142）
 ；およびRRAFKQLDVEAALTAL（配列番号4の147-163）を含む。hIL-24の変異体に対する抗体もまた、企図される。例えば、Genbank登録番号NP_715639およびNP_037503を参照のこと。

【0057】

IL-19レセプターポリペプチドおよびIL-24レセプターポリペプチドに対する抗体（すなわち、IL-20R1（crf2-8；zcytor7としてもまた公知）；IL-20R2（crf2-11；DIRS1としてもまた公知）；およびIL-22R）が、調製され得る。抗IL-22R抗体は、入手可能である（Dumoutierら、（2001）J. Immunol. 167：3545-3549）。ヒトIL-20RAの抗原性を増加させた領域は、GenBank登録番号NM_014432のアミノ酸7 30
 9-85；103-114；155-163；200-205；234-243；および278-287を含む。ヒトIL-20RBの抗原性を増加させた領域は、GenBank登録番号AAQ47003のアミノ酸49-51；77-81；111-116；127-130；147-152；および233-237を含む。抗原性は、Welling plot of Vector NTI（登録商標）Suite（Informax, Inc, Bethesda, MD）によって決定された。

【0058】

モノクローナル抗体、ポリクローナル抗体、およびヒト化抗体が、調製され得る。例えば、ShepherdおよびDean（編）（2000）Monoclonal Antibodies, Oxford Univ. Press, New York, NY；KontermannおよびDubel（編）（2001）Antibody Engineering, Springer-Verlag, New York；HarlowおよびLane（1988）Antibodies A Laboratory Manual, Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, NY, pp. 139-243；Carpenterら、（2000）J. Immunol. 165：6205-6213；Heら、（1998）J. Immunol. 160：1029-1035；Tangら、（1999）J. Biol. Chem. 274：27371-27378；Liら、（2002）Immunol. Revs. 190：53-68；Satoら、（1994）Mol. Immunol. 31：371-381；Moreaら、（2000）Methods 20：267- 50

279を参照のこと。

【0059】

ヒト化抗体は、親マウス抗体の6個の相補性決定領域(CDR)に由来するアミノ酸配列を含み、ヒト抗体フレームワークにグラフトされている。ヒト化に代わるものとしては、完全ヒト抗体、およびファージ上に示されたヒト抗体ライブラリーまたはトランスジェニックマウスに含まれるヒト抗体ライブラリーの使用が挙げられる。例えば、Vaughanら、(1996) Nat. Biotechnol. 14: 309 - 314; Barbasa (1995) Nature Med. 1: 837 - 839; de Haardら、(1999) J. Biol. Chem. 274: 18218 - 18230; McCaffertyら (1990) Nature 348: 552 - 554; Clacksonら (1991) Nature 352: 624 - 628; Marksら (1991) J. Mol. Biol. 222: 581 - 597; Mendezら、(1997) Nature Genet. 15: 146 - 156; HoogenboomおよびChames (2000) Immunol. Today 21: 371 - 377; Barbasaら、(2001) Phage Display: A Laboratory Manual, Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, New York; Kayら、(1996) Phage Display of Peptides and Proteins: A Laboratory Manual, Academic Press, San Diego, CA; de Bruinら、(1999) Nat. Biotechnol. 17: 397 - 399を参照のこと。

【0060】

ヒト化抗体、キメラ抗体、一本鎖抗体、単ドメイン抗体、二重特異性抗体、および抗体のペプチド模倣体が、記載される(例えば、MaynardおよびGeorgiou (2000) Annu. Rev. Biomed. Eng. 2: 339 - 376; Maleckiら、(2002) Proc. Natl. Acad. Sci. USA 99: 213 - 218; Conrathら、(2001) J. Biol. Chem. 276: 7346 - 7350; Desmyterら、(2001) J. Biol. Chem. 276: 26285 - 26290, Kostelneyら、(1992) New Engl. J. Med. 148: 1547 - 1553; Cassetら、(2002) Biochem. Biophys. Res. Commun. 307: 198 - 205; 米国特許第5,932,448号; 同第5,532,210号; 同第6,129,914号; 同第6,133,426号; 同第4,946,778号を参照のこと)。

【0061】

抗原の精製は、抗体の作製に必ずしも必要なわけではない。免疫化は、DNAベクター免疫化によって行われ得る。例えば、Wangら、(1997) Virology 228: 278 - 284を参照のこと。あるいは、動物は、目的の抗原を保有する細胞によって免疫化され得、続いてハイブリドーマ作製を行う。例えば、Meygaardら、(1997) Immunity 7: 283 - 290; Wrightら、(2000) Immunity 13: 233 - 242; Prestonら、(1997) Eur. J. Immunol. 27: 1911 - 1918; Kaithamanaら、(1999) New Engl. J. Med. 163: 5157 - 5164を参照のこと。

【0062】

抗体/抗原結合特性は、例えば、表面プラズモン共鳴または酵素結合イムノソルベントアッセイ(ELISA)によって測定され得る(Neriら、(1997) Nat. Biotechnol. 15: 1271 - 1275; Jonssonら、(1991) Biotechniques 11: 620 - 627; Hubble (1997) Immunol. Today 18: 305 - 306)。本発明の抗体は、抗体の標的抗原および関連する結合タンパク質を単離する際に親和性クロマトグラフィーのために使用され得る(Wilchekら、(1984) Meth. Enzymol. 104: 3 - 55)。

【0063】

IL-19レセプターポリペプチドまたはIL-24レセプターポリペプチドの細胞外ドメインを含む可溶性レセプターが、提供される。IL-20R1 (crf2-8としてもまた公知)、IL-20R2 (crf2-11としてもまた公知)、およびIL-22R (crf2-9; zcytor 11としてもまた公知)の細胞外ドメインが、開示される。例えば、Kotenko (2002) Cytokine Growth Factor Revs. 13:223-240; Kotenkoら, (2001) J. Immunol. 166:7096-7103; Dumoutierら, (2001) J. Immunol. 166:7090-7095を参照のこと。可溶性レセプターが調製され、標準的な方法に従って使用され得る。例えば、Jonesら, (2002) Biochim. Biophys. Acta 1592:251-263; Prudhommeら, (2001) Expert Opinion Biol. Ther. 1:359-373; Fernandez-Botran (1999) Crit. Rev. Clin. Lab Sci. 36:165-224を参照のこと。

【0064】

核酸結合化合物が、診断的使用またはキット使用のために提供される。これらは、例えば、PCRプライマー、ハイブリダイゼーションプライマー、および分子ビーコンとして使用するための、例えば、配列番号2または配列番号4をコードする核酸、またはそれらの抗原性フラグメントである。

【0065】

(IV. 治療用組成物、方法)

本発明は、例えば、炎症および自己免疫障害の処置に使用するためのIL-19、抗IL-19抗体、IL-24、ならびに抗IL-24抗体を提供する。これら治療的使用のための核酸もまた、提供される。これらの核酸は、例えば、配列番号2または配列番号4をコードする核酸、それらの抗原フラグメント、対応するアンチセンス核酸、およびそれらのハイブリダイゼーション生成物である。本発明はまた、RNA干渉のための組成物を提供する。例えば、ArenzおよびScheper (2003) Naturwissenschaften 90:345-359; SazaniおよびKole (2003) J. Clin. Invest. 112:481-486; Piroilloら, (2003) Pharmacol. Therapeutics 99:55-77; Wangら, (2003) Antisense Nucl. Acid Drug Devel. 13:169-189を参照のこと。

【0066】

IL-19のアゴニストもしくはアンタゴニスト、IL-24のアゴニストもしくはアンタゴニストを含有する薬学的組成物または滅菌組成物を調製するために、例えば、サイトカイン、サイトカインアナログもしくはムテイン、またはそれらに対する抗体が、好ましくは不活性な薬学的に受容可能なキャリアまたは賦形剤と混合される。例えば、Remington's Pharmaceutical Sciences and U.S. Pharmacopeia: National Formulary, Mack Publishing Company, Easton, PA (1984)を参照のこと。治療剤および診断剤の処方物は、例えば、凍結乾燥粉末、スラリー、水溶液または懸濁液の形態の生理学的に受容可能なキャリア、賦形剤、または安定剤と混合することによって、調製され得る。例えば、Hardmanら, (2001) Goodman and Gilman's The Pharmacological Basis of Therapeutics, McGraw-Hill, New York, NY; Gennaro (2000) Remington: The Science and Practice of Pharmacy, Lippincott, Williams, and Wilkins, New York, NY; Avisら (編) (1993) Pharmaceutical Dosage Forms: Parenteral Medications, Marcel Dekker, NY; Liebermanら (編) (1990) Ph

armaceutical Dosage Forms: Tablets, Marcel Dekker, NY; Liebermanら(編)(1990) Pharmaceutical Dosage Forms: Disperse Systems, Marcel Dekker, NY; WeinerおよびKotkoskie(2000) Excipient Toxicity and Safety, Marcel Dekker, Inc., New York, NYを参照のこと。

【0067】

治療薬に対する投与レジメンを選択することは、1または数個の因子(実体(entity)の血清または組織のターンオーバー速度、症状のレベル、実体の免疫原性、および生物学的マトリックス中の標的細胞の接近のしやすさが挙げられる)に依存する。好ましくは、投与レジメンは、受容可能なレベルの副作用と整合性をとって、患者に送達される治療薬の量を最大にする。したがって、送達される生物製剤の量は、部分的に、処置される状態の特定の実体および重症度に依存する。抗体、サイトカイン、および低分子の適切な用量を選択する際の指標が、利用可能である。例えば、Wawrzynczak(1996) Antibody Therapy, Bios Scientific Pub. Ltd, Oxfordshire, UK; Kresina(編)(1991) Monoclonal Antibodies, Cytokines and Arthritis, Marcel Dekker, New York, NY; Bach(編)(1993) Monoclonal Antibodies and Peptide Therapy in Autoimmune Diseases, Marcel Dekker, New York, NY; Baertら,(2003) New Engl. J. Med. 348:601-608; Milgromら,(1999) New Engl. J. Med. 341:1966-1973; Slamonら,(2001) New Engl. J. Med. 344:783-792; Beniaminowitzら,(2000) New Engl. J. Med. 342:613-619; Ghoshら,(2003) New Engl. J. Med. 348:24-32; Lipskyら,(2000) New Engl. J. Med. 343:1594-1602を参照のこと。

【0068】

抗体、抗体フラグメント、およびサイトカインは、例えば、1日、1週間もしくは1週間に1~7回の間隔での持続注入によってか、または投薬によって提供され得る。投薬は、静脈内、皮下、局所、経口、経鼻、経直腸、筋肉内、脳室内に、または吸入によって提供され得る。好ましい用量プロトコルは、重大な望まれない副作用を避ける最大用量または投薬頻度を含むものである。全体の週用量は、一般的に少なくとも0.05 μg/kg体重、より一般的には少なくとも0.2 μg/kg体重、最も一般的には少なくとも0.5 μg/kg体重、代表的には少なくとも1 μg/kg体重、より代表的には少なくとも10 μg/kg体重、最も代表的には少なくとも100 μg/kg体重、好ましくは少なくとも0.2 mg/kg体重、より好ましくは少なくとも1.0 mg/kg体重、最も好ましくは少なくとも2.0 mg/kg体重、最適には少なくとも10 mg/kg体重、より最適には少なくとも25 mg/kg体重、そして最も最適には少なくとも50 mg/kg体重である。例えば、Yangら,(2003) New Engl. J. Med. 349:427-434; Heroldら,(2002) New Engl. J. Med. 346:1692-1698; Liuら,(1999) J. Neurol. Neurosurg. Psych. 67:451-456; Portieljiら,(2000) Cancer Immunol. Immunother. 52:133-144を参照のこと。低分子治療薬(例えば、ペプチド模倣体、天然生成物、または有機化学物質)の所望の用量は、モル/kgベースで抗体またはポリペプチドについての用量とほぼ同じである。

【0069】

特定の患者に対する有効量は、処置される状態、患者の全体的な健康状態、投与の方法、経路および用量、ならびに副作用の重症度のような因子に依存して変化し得る。例えば、Maynardら(1996) A Handbook of SOPs for Go

od Clinical Practice, Interpharm Press, Boca Raton, FL; Dent (2001) Good Laboratory and Good Clinical Practice, Urch Publ., London, UKを参照のこと。

【0070】

代表的な獣医学的被験体、実験被験体、または研究被験体としては、サル、イヌ、ネコ、ラット、マウス、ウサギ、モルモット、ウマ、およびヒトが挙げられる。

【0071】

適切な用量の決定は、例えば、当該分野において処置に影響することが公知もしくはそれが疑われるか、または処置に影響することが予想されるパラメータあるいは因子を使用して、医師によってなされる。一般的に、上記用量は、最適用量よりもいくらか少ない量で開始され、その後、あらゆるネガティブな副作用に対して所望の効果または最適な効果が達成されるまで、少量ずつ増加される。重要な診断測定としては、例えば、炎症の症状または産生された炎症性サイトカインのレベルの測定が挙げられる。好ましくは、使用される生物製剤は、処置の標的にされる動物と同じ種に由来し、これによってその試薬の液性反応を最小にする。

【0072】

第2の治療因子（例えば、サイトカイン、ステロイド、化学療法剤、抗生物質、または放射線）の同時投与またはこれらでの処置のための方法は、当該分野で周知である。例えば、Hardmanら、(編)(2001) Goodman and Gilman's The Pharmacological Basis of Therapeutics, 第10版, McGraw-Hill, New York, NY; PooleおよびPeterson(編)(2001) Placemacotherapeutics for Advanced Practice: A Practical Approach, Lippincott, Williams & Wilkins, Phila., PA; ChabnerおよびLongo(編)(2001) Cancer Chemotherapy and Biotherapy, Lippincott, Williams & Wilkins, Phila., PAを参照のこと。治療薬の有効量は、代表的に少なくとも10%まで; 通常少なくとも20%まで; 好ましくは少なくとも約30%まで; より好ましくは少なくとも40%まで; そして最も好ましくは少なくとも50%まで症状を軽減する。

【0073】

(X. キットおよび診断試薬)

本発明は、例えば、ぜん息、気道反応性亢進、樹状細胞仲介性障害、およびマクロファージ仲介性障害を診断するために、診断キットにおいて、IL-19およびIL-24のポリペプチド、それらのフラグメント、IL-19およびIL-24の核酸、ならびにそれらのフラグメントを提供する。IL-19、IL-24を検出するための抗体または抗体フラグメント、ならびにそれらの代謝産物および分解生成物を含む結合化合物もまた、提供される。代表的には、上記キットは、IL-19またはIL-24のポリペプチド、あるいはそれらの抗原性フラグメント、それらに対する結合組成物、または核酸(例えば、核酸プローブ、プライマー、または分子ビーコン)のいずれかを含む画分を有する。例えば、Rajendranら、(2003) Nucleic Acids Res. 31: 5700-5713; Cockerill(2003) Arch. Pathol. Lab. Med. 127: 1112-1120; Zammattèら、(2002) Biotech. Anne. Rev. 8: 85-101; Klein(2002) Trends Mol. Med. 8: 257-260を参照のこと。

【0074】

診断の方法は、被験体(例えば、試験被験体)由来のサンプルを、IL-19(配列番号1または配列番号2); IL-24(配列番号3または配列番号4); IL-20R1; IL-20R2; またはIL-22Rのポリペプチドまたは核酸に特異的に結合する結

10

20

30

40

50

合組成物と接触させる工程を包含し得る。上記方法は、コントロール被験体、正常被験体、または試験被験体由来の正常組織もしくは正常流体に由来するサンプルを、上記結合組成物と接触させる工程をさらに包含し得る。さらに、上記方法は、試験被験体への組成物の特異的結合を、正常被験体、コントロール被験体、または上記試験被験体由来の正常組織または正常流体への組成物の特異的結合と比較する工程をさらに包含し得る。試験サンプルもしくは試験被験体の発現または活性は、コントロールサンプルもしくはコントロール被験体からの発現または活性と比較され得る。コントロールサンプルとしては、例えば、免疫障害に罹患している患者の冒されていない組織または非炎症組織のサンプルが挙げられ得る。コントロール被験体もしくはコントロールサンプルからの発現または活性は、例えば、統計学的に適切な群のコントロール被験体から得られた所定値として提供され得る。

10

【0075】

上記キットは、例えば、試薬および画分、使用のための試薬および説明書、または使用のための画分を含む試薬および説明書を備え得る。上記試薬は、IL-19もしくはIL-24のアゴニストまたはアンタゴニスト、それらの抗原性フラグメント、結合組成物、あるいはセンスおよび/またはアンチセンス配向の核酸を含み得る。例えば、生物学的サンプルまたは化学的ライブラリーから得られた試験化合物の結合を決定するためのキットは、コントロール化合物、標識化合物、および結合された標識化合物からの遊離した標識化合物を分離するための方法を備え得る。上記コントロール化合物は、配列番号2もしくは配列番号4のセグメント、または配列番号2もしくは配列番号4のセグメントをコードする配列番号1もしくは配列番号3の核酸を含み得る。このセグメントは、0個、1個、2個、またはそれ以上の抗原性フラグメントを含み得る。

20

【0076】

「標識されている」組成物は、分光学的方法、光化学的方法、生化学的方法、免疫化学的方法、同位体的方法、または化学的方法によって、直接的または間接的に検出可能である。例えば、有用な標識としては、 ^{32}P 、 ^{33}P 、 ^{35}S 、 ^{14}C 、 ^3H 、 ^{125}I 、安定な同位体、蛍光色素、高電子密度試薬、基質、エピトープタグ、または酵素（例えば、酵素結合免疫アッセイにおいて使用される）またはフルオレット (fluorette) が挙げられる (Rozinov および Nolan (1998) Chem. Biol. 5: 713-728)。

30

【0077】

診断アッセイは、生物学的マトリックス（例えば、生細胞、細胞抽出物、細胞溶解物、固定された細胞、細胞培養物、体液、または法医学的サンプル）を用いて使用され得る。診断またはキットの目的に有用な結合体抗体としては、色素、同位体、酵素、および金属に結合された抗体が挙げられる。例えば、Le Doussalら、(1991) New Engl. J. Med. 146: 169-175; Gibelliniら、(1998) J. Immunol. 160: 3891-3898; Hsing および Bishop (1999) New Engl. J. Med. 162: 2804-2811; Evert sら、(2002) New Engl. J. Med. 168: 883-889を参照のこと。ラジオイムノアッセイ (RIA)、ELISA、およびラボオンチップ (lab on a chip) (米国特許番号第6,176,962号および同第6,517,234号)のような種々のアッセイ形式が存在する。

40

【0078】

(XI. 使用)

本発明は、気道の免疫障害、気道反応性亢進、および肺線維症を含む多くの障害を処置および診断するための方法を提供する。肺実質、立方上皮、I型肺胞上皮、II型肺胞上皮、肺胞腔、または間隙を含む肺状態の処置および診断のための方法が、提供される。BAL、痰、および生検のサンプルに関連する処置および診断の方法もまた、提供される（例えば、Doerschuk (2000) Respir. Res. 1: 136-140; Cosioら、(1999) Am. J. Respir. Crit. Care Med. 1

50

60 : S 2 1 - S 2 5 ; C o s i o ら , (2 0 0 2) C h e s t 1 2 1 : 1 6 0 S - 1 6 5 S を参照のこと)。

【0079】

本発明は、単球もしくはマクロファージ、樹状細胞、好中球、好酸球、脂肪細胞、T細胞 (TH1型細胞およびTH2型細胞を含む)、B細胞、上皮細胞;または内皮細胞によって調節される障害を処置および診断するための方法を提供する。これらの障害としては、例えば、気道、実質、または肺胞の障害(ぜん息、気管支炎、細気管支炎、ぜん息発作重積状態、およびCOPDが挙げられる)が挙げられる。気道再構築を仲介する細胞(例えば、上皮細胞、平滑筋細胞、および他の間質細胞)を調節するための方法が、提供される(Kumar(2001)Pharmacol. Therapeutics 91:93-104)。線維症および肉芽腫の処置および/または診断の方法が、提供される。線維症および肉芽腫は、間質性肺障害(例えば、特発性肺線維症、好酸球性肉芽腫、および過敏性肺炎)の特徴である。これらの障害は、活性化肺胞上皮細胞、活性化マクロファージ、および/またはリンパ球に関連する(Kamp(2003)Chest 124:1187-1189; Patelら,(2001)J. Allergy Clin. Immunol. 108:661-670)。

10

【0080】

本発明によって処置および/または診断される障害は、気道の障害に限定されないが、例えば、炎症性腸障害(IBD)、慢性関節性リウマチまたは滑膜炎、乾癬、グラフトおよび移植片の拒絶反応、全身性エリテマトーデス(SLE)、中枢神経系の炎症(例えば、多発性硬化症)、敗血症、アテローム性動脈硬化症、真性糖尿病、ならびに病原体(例えば、細菌、寄生生物、およびウイルス)に対する先天免疫および後天免疫が挙げられる。

20

【0081】

単球またはマクロファージに依存する障害および状態を調節するためのIL-19もしくはIL-24のアゴニストまたはアンタゴニストが、提供される。例えば、Chedevigneら,(2000)Arch. Dis. Child. 82(補遺2)II6-9; Jeffery(1999)Clin. Exp. Allergy 29(補遺2):14-26; Essadkiら,(1998)Eur. Radiol. 8:1674-1676; Jeffery(2000)Chest 117(補遺1):251S-260S; Berrebiら,(2003)Gut 52:840-846; Hibiら,(2003)J. Gastroenterol. 38(補遺15):36-42; Watanabeら,(2003)Dig. Dis. 48:408-414; Shimizuら,(2002)Histochem. Cell Biol. 118:251-257; Zanderら,(1999)J. Heart Lung Transplant. 18:646-653; Slegersら,(2003)Curr. Eye Res. 26:73-79; Milneら,(1998)Transplantation 15:671-673; Steinbachら,(2000)Ann. Rheum. Dis. 59:283-288; Schwartz(2003)J. Cereb. Blood Flow Metab. 23:385-394; Underhill(2003)Eur. J. Immunol. 33:1767-1775; Openshaw(2002)Respir. Res. 3(補遺1):S15-S20; Qianら,(1999)Am. J. Pathol. 155:1293-1302; Brettschneiderら,(2002)J. Neuroimmunol. 133:193-197; Kleblら,(2001)J. Pathol. 195:609-619; Szekaneczら,(2001)Curr. Rheumatol. Rep. 3:53-63; Boehnckeら,(1995)Am. J. Dermatopathol. 17:139-144; Sicaら,(2002)Int. Immunopharmacol. 2:1045-1054を参照のこと。

30

40

【0082】

本発明は、抗体の抗原結合部位に由来する結合組成物を含むアゴニストまたはアンタゴ

50

ニストを提供する。ここで、上記アゴニストまたはアンタゴニストは、IL-19（配列番号2）；IL-24（配列番号4）；IL-20R1；IL-20R2；またはIL-22Rのポリペプチドに特異的に結合する。IL-19（配列番号1）；IL-24（配列番号3）；IL-20R1；IL-20R2；もしくはIL-22Rの核酸に特異的に結合する核酸を含むアゴニストまたはアンタゴニストもまた、提供される。

【0083】

IL-19は、脂肪組織の厚さを調節することが見出されている。すなわち、IL-19 KOマウスは、組織学的測定によって決定された場合、脂肪組織の厚さの増加を示す。サイトカインおよびサイトカイン様化合物（例えば、レプチンおよびレプチンレセプター）は、脂肪組織代謝、肥満、糖尿病、およびおそらく創傷治癒または皮膚修復の確立された調節因子である。脂肪組織の厚さおよび肥満は、組織学の方法および人体計測法によって評価され得る（例えば、VeniantおよびLeBel（2003）*Curr. Pharm. Des.* 9: 811-818；SandovalおよびDavis（2003）*J. Diabetes Complic.* 17: 108-113；Coppack（2001）*Proc. Nutr. Soc.* 60: 349-356；FantuzziおよびFaggioni（2000）*J. Leukocyte Biol.* 68: 437-446；Gorenら、（2003）*Diabetes* 52: 2821-2832；Piemontisら、（2003）*Diabetes Care* 26: 2883-2999；Taggartら、（1967）*Brit. J. Nutr.* 21: 439-451；LeeおよびNieman（1996）*Nutritional Assessment*, 第2版, Mosby Year Book, St. Louis, MO；Rolland-Cacherisら、（1997）*Am. J. Clin. Nutr.* 65: 1709-1713；Jenら、（1985）*Int. J. Obes.* 9: 213-224を参照のこと）。

【0084】

本発明の広範な範囲は、以下の実施例の参照によって最もよく理解されるが、以下の実施例が、本発明を特定の実施形態に限定することは意図されない。

【実施例】

【0085】

（I. 一般的方法）

標準的方法の一部が、以下において記載または参照される：例えば、Maniatisら、（1982）*Molecular Cloning, A Laboratory Manual*, Cold Spring Harbor Press, Cold Spring Harbor, NY；Sambrookら、（1989）*Molecular Cloning: A Laboratory Manual*,（第2版）, 第1-3巻, CSH Press, NY；Ausubelら、*Biology*, Greene Publishing Associates, Brooklyn, NY；またはAusubelら、（1987）*Current Protocols in Molecular Biology and supplements*, Greene/Wiley, New York。タンパク質精製のための方法としては、例えば、カラムクロマトグラフィー、電気泳動、遠心分離、免疫沈降、ならびにベクターおよび細胞によるクローニングおよび発現が挙げられる。例えば、Amersham Pharmacia Biotech（2003）*Catalogue*, Piscataway, NJ；Invitrogen（2003）*Catalogue*, Carlsbad, CA；Sigma-Aldrich（2003）*Catalogue*, St. Louis, MOを参照のこと。

【0086】

蛍光細胞分析分離（FACS）を含むフローサイトメトリーのための方法が、利用可能である。例えば、Owensら、（1994）*Flow Cytometry Principles for Clinical Laboratory Practice*, John Wiley and Sons, Hoboken, NJ；Givan（2001）*Flow Cytometry*, 第2版；Wiley-Liss, Hoboken, N

J ; Shapiro (2003) Practical Flow Cytometry, John Wiley and Sons, Hoboken, NJを参照のこと。ビーズまたはマイクロスフェア(例えば、Caltag(登録商標)計数ビーズ(Caltag Labs, Burlingame, CA)およびPerfectcount(登録商標)(Exalpha Biologicals, Watertown, MA))を使用した細胞計数が、達成され得る。核酸(核酸プライマーおよびプローブ、ポリペプチドが挙げられる)を改変するために適切な蛍光試薬、および例えば、診断試薬として使用するための抗体が、利用可能である(Molecular Probes(2003)カタログ, Molecular Probes, Inc., Eugene, OR; Sigma-Aldrich(2003)カタログ, St. Louis, MO)。

10

【0087】

免疫系の組織学の標準的な方法が、記載される。例えば、Muller-Harmelink(編)(1986)Human Thymus: Histopathology and Pathology, Springer Verlag, New York, NY; Hiattら,(2000)Color Atlas of Histology, Lippincott, Williams, and Wilkins, Phila, PA; Louisら,(2002)Basic Histology: Text and Atlas, McGraw-Hill, New York, NYを参照のこと。気管支肺胞洗浄および肺チャレンジ試験(例えば、Aspergillus、ヒスタミン、およびメタコリンが挙げられる)に関する方法が、利用可能である。マクロファージ、好中球、および好酸球は、Aspergillusに対する宿主防御に関与する。例えば、KurupおよびGrunig(2002)Mycopathologia 153:165-177; Schuhら,(2002)EMBO J. 16:1313-1315; Warkら,(2000)Eur. Respir. J. 16:1095-1101; Philippeら,(2003)Infect Immun. 71:3034-3042, Feller-KopmanおよびErnst(2003)Semin. Respir. Infect. 18:87-94; Marrら,(2002)Infect. Dis. Clin. North Am. 16:875-894; KurupおよびGrunig(2002)Mycopathologia 153:165-177; Joos(2003)Curr. Opin. Pharmacol. 3:233-238; Cockcroftら,(2001)Chest 120:1857-1860; BrusascoおよびCrimi(2001)Allergy 56:1114-1120; O'ByrneおよびInman(2000)J. Asthma 37:293-302; BuckinghamおよびHansell(2003)Eur. Radiol. 13:1786-17800; Kurupら(2002)Int. Arch. Allergy Immunol. 129:181-188; Wheatら,(2002)Semin. Respir. Infect. 17:158-181を参照のこと。

20

30

【0088】

動物モデル(例えば、ノックアウトマウス)を使用するための方法、ならびに診断剤、治療剤、および医薬品の試験、評価、およびスクリーニングするための細胞ベースのアッセイが、利用可能である。例えば、CarおよびEng(2001)Vet. Pathol. 38:20-30; Kenyonら,(2003)Toxicol. Appl. Pharmacol. 186:90-100; Deurlooら,(2001)Am. J. Respir. Cell Mol. Biol. 25:751-760; Zuberiら,(2000)J. Immunol. 164:2667-2673; Temelkovskiら,(1998)Thorax 53:849-856; Horrocksら,(2003)Curr. Opin. Drug Discov. Devel. 6:570-575; Johnstonら,(2002)Drug Discov. Today 7:353-363を参照のこと。

40

【0089】

50

例えば、抗原性フラグメント、シグナル配列およびリーダー配列、タンパク質の折り畳み、ならびに機能的ドメインを決定するためのソフトウェアパッケージが、利用可能である。例えば、Vector NTI (登録商標) Suite (Informax, Inc., Bethesda, MD); GC G ウィスコンシンパッケージ (Accelrys, Inc., San Diego, CA)、および DeCypher (登録商標) (Time Logic Corp., Crystal Bay, Nevada); Menner, (2000) Bioinformatics 16:741-742 を参照のこと。例えば、GenBank などの公的な配列データベースもまた使用した。

【0090】

(II. ノックアウトマウス)

Chensueh (2001) J. Exp. Med. 193:573-584 によって記載された一般的な方法を使用して、IL-19 ノックアウト (IL-19 KO) マウスを作製した。親マウス系統は、129 SvEv であった。端的に言えば、ネオマイシンカセットを IL-19 遺伝子のエキソンに挿入し、ネオマイシン遺伝子を有する遺伝子産物を生じた。マウス IL-19 に対する cDNA プロブを利用して、完全な IL-19 座を含む BAC クローンを同定した。エキソン 1~5 を含む 12 キロベース (kb) の EcoRI フラグメントをサブクローニングした。このプラスミドを利用して、1,752 塩基対 (bp) の BamHI フラグメント (5' 領域のホモロジー (homology)) および 4,044 bp の XmnI フラグメント (3' 領域のホモロジー) を含むターゲティングベクターを構築した。標的化した座は、IL-19 の反対方向の HSV TK プロモーターによって駆動されるフロックスされた (floxed) Neo カセットによって反復されたエキソン 3 およびエキソン 4 を有した。Neo 耐性 ES 細胞クローン由来のゲノム DNA を NcoI で消化し、プライマー 1: AAGTGATTTCTGTTTGCC T G (配列番号 5) およびプライマー 2: TGTCTGGTAAGATCCTATC (配列番号 6) を用いた 12 kb の EcoRI フラグメント上での PCR を使用して作製された、372 bp プロブとハイブリダイズすることによって、適切に標的化した座を同定した。Neo 耐性胚性幹 (ES) 細胞クローンに由来するゲノム DNA を EcoRI で消化し、プライマー番号 1: CACCATCAGCAGCTTG GTC (配列番号 7) およびプライマー番号 2: TAATCCTCATGCAGCTCTG (配列番号 8) を用いた 12 kb の EcoRI フラグメント上での PCR を使用して作製された、322 bp プロブとハイブリダイズすることによって、3' アームの組み込みを確認した。

【0091】

IL-19 標的化 ES 細胞クローンを作製した。記載されるように、ES 細胞を直鎖状のターゲティングベクターを用いてエレクトロポレーションした (Joyner (1993) Gene Targeting: A Practical Approach, IRL Press, Oxford, UK)。5' 外側プロブ (external probe) および 3' 外側プロブを用いたサザン分析によって、1367 個の G418 耐性クローンから 6 個を、相同的組換え体として検出した。ターゲティング構築物の単一コピーの置換を、neo プロブを使用したサザン分析によって確認した。

【0092】

キメラマウス、ヘテロ接合性マウスおよびホモ接合性マウスを作製した。2 個の標的化 ES クローンを 3.5 dpc の C57BL/6 (CRL) 胚盤胞に注入し、次いで妊娠期間の 2.5 dpc 日において、CD1 偽妊娠雌マウスに移した。キメラの雄子孫を、C57BL/6 (CRL) 雌と交配させ、子のアグーチコート色 (agouti coat color) によって生殖細胞系伝達を認識した。父親からの変異した対立遺伝子を遺伝したヘテロ接合性マウスを、PCR または DNA のサザン分析によって検出した。雑種のヘテロ接合体由来の子孫は、PCR または DNA のサザン分析によって遺伝子型を特定した。

【0093】

Lemckert (1997) Nucleic Acids Res. 25:917

10

20

30

40

50

- 918によって記載された一般的な方法を使用して、IL-24 KOマウスを調製した。親マウス系統は、C57BL/6であった。端的に言えば、ネオマイシンカセットをIL-24のエキソンに挿入し、次いで位置を変え(flipped out)、エキソンおよびネオマイシン遺伝子の欠失を生じた。IL-24 KOを調製する際に使用したCre-Lox方法に関するさらなる詳細が、記載される(Ruulsら, (2001) *Immunity* 15:533-543)。マウスIL-24に対するcDNAプローブを利用して、完全なIL-24座を含むBACクローンを同定した。12,763 bpのIL-24座のサブクローンを配列決定し、5つのIL-24エキソンを含むことを見出した。1.6 kbのStuIおよびHpaIフラグメント(5'領域のホモロジー)ならびに5.34 kbのXbaIおよびPacIフラグメント(3'領域のホモロジー)を含むターゲティングベクターを構築した。この標的化した座は、IL-24の反対方向のHSV TKプロモーターによって駆動されるフロックスされたNeoカセットによって反復されたエキソン1およびエキソン2を有する。Neo耐性ES細胞クローン由来のゲノムDNAをHindIIIで消化し、IL-24座のサブクローン由来の領域1220~1600 bpに由来するプローブとハイブリダイズすることによって、適切に標的化した座を同定した。Neo耐性ES細胞クローンに由来するゲノムDNAをHpaIで消化し、IL-24座のサブクローン由来の領域11050~11391 bpに由来するプローブとハイブリダイズすることによって、3'アームの組み込みを確認した。

10

【0094】

(III. 気管支肺胞洗浄流体(BAL)の細胞分析)

20

Aspergillus fumigatus (Asp; Asp処置; Aspチャレンジ)は、多くのぜん息の徴候および肺の他の免疫障害(例えば、気道反応性亢進、杯細胞過形成、粘液過剰産生、および好酸性気道炎症)の徴候を誘導する。*Aspergillus* 抗原またはリン酸緩衝生理食塩水(PBS)で、4日の間隔(t=1日、5日、9日、12日、および16日)でマウスを鼻腔内処置した(表1)。野生型マウス、IL-19 KOマウス、およびIL-24 KOマウス由来のBALにおいて、細胞を同定した。細胞計数の全ては、ビーズ1個あたりの細胞数を表す。BALサンプルを32,000個の蛍光ビーズと共に提供して、計数を容易にした(表1)。

【0095】

Asp処置は、BAL細胞の総数を調節し、この処置は、3種全ての遺伝子型のマウス(野生型マウス、IL-19 KOマウスおよびIL-24 KOマウス)において、BAL細胞を増加させた。表1に示すように、Asp処置を用いると、IL-19 KO BALおよびIL-24 KO BALにおける細胞の数は、野生型のBALよりもいくらか少なかった(表1)。Asp処置はまた、3種全ての遺伝子型のマウスにおいてCD11c⁺MHC low細胞を増加させ、Asp処置したIL-19 KOマウスのBALにおけるCD11c⁺MHC low細胞の数は、Asp処置された野生型のBALよりも少なかった(表1)。上記CD11c⁺MHC low細胞は、主にDC、単球、およびマクロファージであった。

30

【0096】

B細胞数およびMHCクラスIIのB細胞の発現の反応は、野生型マウスに対して、IL-19 KOおよびIL-24 KOで異なった。Asp処置を用いると、B細胞数は、野生型マウスにおけるB細胞計数に対して、IL-19 KOマウスで低く、IL-24 KOマウスで高かった(表1)。Asp処置を用いると、MHCクラスII発現は、IL-19 KO由来のB細胞で増加し、IL-24 KO由来のB細胞で減少した(表1)。

40

【0097】

マクロファージおよびDCの計数は、野生型マウスにおける計数に対して、IL-19 KOマウスで減少した(表1)。

【0098】

野生型マウスに関して、CD11cおよびMHCクラスIIを発現する細胞の割合について、2種の型の野生型マウスを試験した。これら2種の型は、雌129 SvEv(1

50

2週齢)マウスおよび雌C57BL/6(7週齢)マウスであった。上記の2種の型の野生型マウスの両方と比較した場合、IL-19KOマウスにおけるCD11c発現は減少した。

【0099】

【表1】

表1. BALにおいて同定された細胞 NDは、測定されなかったことを意味する

野生型 (PBS)	IL-19KO (PBS)	IL-24KO (PBS)	野生型 (Asp)	IL-19KO (Asp)	IL-24KO (Asp)
ゲート中の全細胞 (細胞/ビーズ)					
3.8	12.93	0.63	57.0	47.7	35.9
CD11c ⁺ MHC II ^{low} 細胞 (細胞/ビーズ)					
0.251	0.046	0.208	0.795	0.499	0.783
B細胞 (細胞/ビーズ)					
低い	低い	低い	0.42	0.169	1.33
B細胞上のMHCクラスIIの発現 (蛍光;野生型に対して)					
ND	ND	ND	161.9	204	120.4
マクロファージ (100%に対して)			マクロファージ (コントロールに対して)		
100%	33%	ND	コントロール	減少	ND
樹状細胞 (100%に対して)			樹状細胞 (コントロールに対して)		
100%	50%	ND	コントロール	減少	ND
B220を発現する樹状細胞の割合					
コントロール	増加	ND	ND	ND	ND

組織学的分析は、Asp処置したIL-19KOマウス肺が、2種のAsp処置した野生型との比較において、より炎症(特に、実質炎症)が少ないことを示した。Asp処置した野生型マウスとAsp処置したIL-19KOMausの両方が、杯細胞過形成を示した。IL-24KOMausは、野生型と比較した場合、より構造化された(structured)炎症を有した。すなわち、IL-24KOMausは、肺の中にリンパ小胞型の構造を有し、Asp処置したIL-24KOMausのBALにおいてB細胞が増加することを示すFACSデータと一致する知見であった。Asp処置した野生型およびAsp処置したIL-24KOの肺は、組織学的分析によると、同様の炎症と杯細胞過形成とを示した。組織学はまた、C57BL/6野生型マウスは、129SvEv野生型マウスよりもAspergillusに対していくらか感受性が低いことを示した。すなわち、この129SvEv野生型マウスは、Asp誘導の炎症の程度がより高いことを示した。

【0100】

皮膚における脂肪組織のアッセイによって決定された場合、上記IL-19KOMausは、脂肪組織の沈着物の増加を有することを見出した。

【0101】

(IV.チャレンジ後の気道反応性亢進)

気道反応性亢進を以下の後に測定した:PBSでのコントロール処置;Aspergillusのみでのチャレンジ;メタコリンのみでの処置;またはメタコリンおよびAspergillus両方での処置(表2)。ヒト患者および実験動物における気道反応性亢進を評価するために、メタコリンを使用する(Gronkera,(2002)Clin. Exp. All. 32:57-63;Obaseら,(2003)Allergy 58

10

20

30

40

50

: 213 - 220)。気道反応性亢進を、Penh方法によって試験した(例えば、Kenyonら, (2003) Toxicol. Applied Pharmacol. 191: 2 - 11; Hantosら, (2002) J. Appl. Physiol. 93: 1196 - 1197; Hamelmannら, (1997) Am. J. Respir. Critical Care Med. 156: 766 - 775を参照のこと)。

【0102】

上記チャレンジプロトコルは、4.17 mg/mlまたは10.0 mg/mlのメタコリン用量を包含した。この投薬プロトコルは、3サイクルから構成され、各サイクルは、3つの工程(すなわち、エアロゾル期(3.0分)、乾燥期(0.5分)、および記録期(5分))を包含する。3工程の各サイクルは、8.5分にわたった。3つの連続するサイクル(MCh1; MCh2; およびMCh3)において、同一量のメタコリンの3種の別個の用量を、各マウスに投与した。この試験を0 mg/ml、4.17 mg/mlまたは10 mg/mlのメタコリンで行い、次いで気道反応性亢進の評価をした。PBSとの反応性を、100%に設定した(表2)。Aspergillus処置プロトコルは、4日の間隔(すなわち、t = 1日、5日、9日、12日、および16日)における、鼻腔内Aspergillus fumigatus抗原を包含した。

10

【0103】

Asp処置したIL-19 KOマウスは、Asp処置した野生型マウスよりも低い反応性亢進を示した。同様に、Asp処置したKOマウスは、Asp処置した野生型マウスよりも低い反応性亢進を示した。

20

【0104】

IL-19 KOは、メタコリン単独およびAspergillusを加えたメタコリンに反応して反応性亢進の減少を示した(表2)。同様に、このIL-24 KOはまた、メタコリン単独およびAspergillusを加えたメタコリンに反応して反応性亢進を減少させた(表2)。メタコリン処置の後に300%以上の反応性亢進の値を有するマウスは、呼吸困難を示した。

【0105】

Aspergillusチャレンジを行わないと、気道反応性亢進は、野生型マウスおよびIL-24 KOマウスにおいて同じであるようであった。しかし、チャレンジを行うと、反応性亢進は、野生型マウスよりもIL-24 KOマウスにおいて低かった。気道反応性亢進におけるB細胞のT細胞相互作用に対する確立した役割に起因して、IL-24 KOマウスにおけるB細胞上のMHCクラスIIの発現の低下は、これらの動物での反応性亢進の低下を説明し得る(Waldburgerら, (2001) J. Exp. Med. 194: 393 - 406; Paiら, (2002) J. Immunol. 169: 1326 - 1333)。

30

【0106】

【表2】

表2 メタコリン処置後の気道反応性亢進

野生型 (PBS)	IL-19KO (PBS)	IL-24KO (PBS)	野生型 (Asp)	IL-19KO (Asp)	IL-24KO (Asp)
PBS (100%に設定した反応性亢進)					
100%	100%	100%	100%	100%	100%
メタコリン用量 (4.17 mg/ml)					
186.8%	146.5%	150.5%	450.6%	247.5%	205.0%
メタコリン用量 (10.0 mg/ml)					
309.0%	239.4%	158.4%	ND	312.2%	343.4%

40

(V. リンパ節における細胞の分析)

4日の間隔(すなわち、t = 1日、5日、9日、12日、および16日)において、マ

50

ウスを *Aspergillus fumigatus* 抗原で鼻腔内処置した。野生型マウス、IL-19KOマウス、IL-24KOマウス由来のリンパ節からの細胞を同定した。示したとおりに、マウスを *Aspergillus* (Asp) で処置した (表3)。リンパ節サンプルを64,000個のビーズと共に提供して、細胞計数を容易にした。リンパ節のB細胞数は、野生型に対してIL-24KOマウスで増加し (データは示さず)、そしてAsp処置した野生型に対してAsp処置したIL-24KOマウスで増加した (表3)。MHCクラスII発現を蛍光によって測定し、恣意的な単位の蛍光で開示する。この蛍光強度は、細胞によって発現される分子の数に比例する。

【0107】

【表3】

表3. マウスリンパ節において同定された細胞 NDは、測定されなかったことを意味する

野生型 (PBS)	IL-19KO (PBS)	IL-24KO (PBS)	野生型 (Asp)	IL-19KO (Asp)	IL-24KO (Asp)
B細胞 (100%に対して)			B細胞 (細胞/ビーズ)		
100%	ND	増加	8.75	6.24	32.99
MHCクラスIIのB細胞の発現 (蛍光)					
ND	ND	ND	161.93	204	120.48

表3に開示された変化に加えて、野生型マウスと比較した場合、IL-19KOマウスのリンパ節においてDCの数は減少する傾向が存在した。Asp処置した野生型マウスと比較した場合、Asp処置したIL-19KOマウスのリンパ節におけるDCの数もまた減少した。リンパ節のマクロファージはまた、Asp処置した野生型マウスと比較した場合、Asp処置したIL-19KOマウスにおいて減少した。

【0108】

(VI. IL-19、IL-24分布のPCR分析)

ヒトの細胞および組織ならびにマウスの細胞および組織において、IL-19およびIL-24の発現と分布とを、Taqman (登録商標)リアルタイムPCR (PE Applied Biosystems, Foster City, CA) によって決定した。この結果は、ユビキチン発現と相補的なものである (表4および表5)。ユビキチン発現を1(1.0)に設定する。特に、IL-19およびIL-24の発現は、単球/マクロファージもしくは樹状細胞の活性化、または肺に対する抗原チャレンジにตอบสนองして増加した (表4および表5)。

【0109】

10

20

30

【表 4】

表 4. ユビキチン (1.0) に対する、Taqman® 分析による IL-19 の発現

ヒト細胞	
単球、静止	0.0
単球、LPSで活性化	121
単球、抗CD-3、抗CD28で活性化	292
樹状細胞、静止	0.0
樹状細胞、CD40リガンドで活性化	24
マウス細胞	
TH2細胞、採取したばかり	0.0
TH2細胞、ホルボールエステル、イノマイシンで活性化	52
マクロファージ、静止	2
マクロファージ、LPSで活性化	323

10

【0110】

【表 5】

表 5. ユビキチン (1.0) に対する、Taqman® 分析による IL-24 の発現

マウスの細胞および組織	
BALB/c T 細胞 静止	0.0
BALB/c T 細胞 TH1 採取したばかり	54
BALB/c T 細胞 TH1 ホルボールエステル、イノマイシンで活性化	574
BALB/c T 細胞 TH2 採取したばかり	5754
BALB/c T 細胞 TH2 ホルボールエステル、イノマイシンで活性化	13655
内皮細胞 静止	0.0
内皮細胞 THF α で活性化	100
肺 未処置	3
肺 <i>Aspergillus</i> チャレンジ 鼻腔内	33
肺 <i>Nippostrongylus</i> 感染	10

20

30

(VII. IL-19 は脂肪組織の厚さを調節する)

IL-19 ノックアウトは、IL-19 KO マウスにおいて脂肪組織の厚さの増加を引き起こす。真皮と肉様層との間の脂肪組織の層の厚さは、組織学的方法によって決定された場合、2~3倍増加した。本発明は、IL-19 もしくは IL-24 のアゴニストまたはアンタゴニストによって、脂肪組織の厚さ、肥満症 (adiposity)、肥満 (obesity)、および糖尿病を調節する方法を提供する。本発明は、肥満、肥満症、もしくは糖尿病を処置するための IL-19 または IL-24 のアゴニスト (例えば、IL-19 ポリペプチドまたは IL-19 をコードする核酸) を提供する。肥満、肥満症、または糖尿病を診断するための方法もまた、提供される。

40

【0111】

本明細書中の全ての引用は、各個々の刊行物、特許出願、または特許が、あたかも具体的かつ個別に、全ての図面 (figure) および図面 (drawing) を含んで参考として援用されることが示されるのと同じ程度に、本明細書において参考として援用される。

50

【 0 1 1 2 】

本発明の多くの改変および変化物が、当業者には明らかなように、本発明の目的、趣旨および範囲を保存するために、特定の状況、材料、組成物、プロセス、処理工程に適合するようになされ得る。全てのこのような改変物は、本発明の趣旨および範囲から逸脱することなく、本明細書に添付される特許請求の範囲の範囲内であることが意図される。本明細書において記載される特定の実施形態は、実施例のみによって提供され、そして本発明は、権利を与えられるこのような特許請求の範囲と等価の全体の範囲に加えて、添付された特許請求の範囲の用語によって限定されるべきである。そして、本発明は、実施例によって本明細書中に提示されている特定の実施形態によって限定されるべきではない。

【 配列表 】

2007513163000001.xml

【 手続補正書 】

【 提出日 】平成18年9月29日(2006.9.29)

【 手続補正 1 】

【 補正対象書類名 】明細書

【 補正対象項目名 】配列表

【 補正方法 】追加

【 補正の内容 】

【 配列表 】

2007513163000001.app

【国際調査報告】

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International Application No.

PCT/US2004/040155

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER C07K14/715 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) C07K 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, EMBASE, Sequence Search		
C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	US 2002/072089 A1 (HOLTZMAN DOUGLAS A ET AL) 13 June 2002 (2002-06-13)	1,7,15, 21
Y	page 8, paragraph 77 - page 9; figure 1	2-6, 8-14,16
	page 50, paragraph 411	
X	WO 98/08870 A (HUMAN GENOME SCIENCES, INC; ROSEN, CRAIG, A; KENNY, JOSEPH, J)	1,7,15, 21
Y	5 March 1998 (1998-03-05)	2-6, 8-14,16
	page 36, line 19 - line 27	
X	WO 03/089569 A (ELI LILLY AND COMPANY; ROWLINSON, SCOTT, WILLIAM)	1,7,15, 21
Y	30 October 2003 (2003-10-30)	2-6, 8-14,16
	page 11, paragraph 4	
	----- -/-	
<input checked="" type="checkbox"/> Further documents are listed in the continuation of box C.		<input checked="" type="checkbox"/> 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		*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
E earlier document but published on or after the international filing date		*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
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)		*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.
O document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means		*Z* document member of the same patent family
P document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed		
Date of the actual completion of the international search	Date of mailing of the international search report	
5 January 2006	23. 01. 2006	
Name and mailing address of the ISA	Authorized officer	
European Patent Office, P.B. 5818 Patentlaan 2 NL - 2280 HV Rijswijk Tel. (+31-70) 340-2040, Tx. 31 651 epo nl, Fax: (+31-70) 340-3016	Gruber, A	

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International Application No

PCT/US2004/040155

C.(Continuation) DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category *	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	US 5 985 614 A (ROSEN ET AL) 16 November 1999 (1999-11-16) the whole document	21
P,X	EP 1 394 274 A (GENOX RESEARCH, INC) 3 March 2004 (2004-03-03) the whole document	1,7,15, 21
P,X	WO 2004/024894 A (CHI-MEI MEDICAL CENTER OF TAIWAN; CHANG, MING-SHI) 25 March 2004 (2004-03-25) the whole document	1,7,15, 21
X	WO 03/010290 A (LUDWIG INSTITUTE FOR CANCER RESEARCH; DUMOUTIER, LAURE; RENAULD, JEAN-) 6 February 2003 (2003-02-06) the whole document	1,2,4-8, 10-14
Y		3,9,15, 16,19,20
X	US 2003/096966 A1 (BAKER KEVIN P ET AL) 22 May 2003 (2003-05-22) page 11, paragraph 259; claim 23; figure 233 page 35, paragraph 408	17,18
X	US 2003/100713 A1 (BAKER KEVIN P ET AL) 29 May 2003 (2003-05-29) page 11, paragraph 259; claims 2,23; figure 233 page 36, paragraph 408 page 52, paragraph 596 page 53, paragraphs 605,611	17,18
A	LIAO YUAN-CHUN ET AL: "IL-19 induces production of IL-6 and TNF-alpha and results in cell apoptosis through TNF-alpha." JOURNAL OF IMMUNOLOGY (BALTIMORE, MD. : 1950) 15 OCT 2002, vol. 169, no. 8, 15 October 2002 (2002-10-15), pages 4288-4297, XP002361555 ISSN: 0022-1767 the whole document	17,18

-/--

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International Application No
PCT/US2004/040155

C.(Continuation) DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category *	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	<p>CONTI P ET AL: "IL-10 subfamily members: IL-19, IL-20, IL-22, IL-24 and IL-26." IMMUNOLOGY LETTERS. 8 SEP 2003, vol. 88, no. 3, 8 September 2003 (2003-09-08), pages 171-174, XP002361556 ISSN: 0165-2478 page 171, left-hand column, paragraph 1 page 171, right-hand column, paragraph 1 - page 172, left-hand column, paragraph 1</p>	17,18
A	<p>CHANG CHANGSOO ET AL: "Crystal structure of interleukin-19 defines a new subfamily of helical cytokines." THE JOURNAL OF BIOLOGICAL CHEMISTRY. 31 JAN 2003, vol. 278, no. 5, 31 January 2003 (2003-01-31), pages 3308-3313, XP002361557 ISSN: 0021-9258 page 3308, right-hand column, paragraph 2</p>	17,18
A	<p>YADAV DEEPAK ET AL: "Cytokines and autoimmunity: redundancy defines their complex nature." CURRENT OPINION IN IMMUNOLOGY. DEC 2003, vol. 15, no. 6, December 2003 (2003-12), pages 697-703, XP002361558 ISSN: 0952-7915 the whole document</p>	17,18
A	<p>US 2002/042366 A1 (THOMPSON PENNY ET AL) 11 April 2002 (2002-04-11) the whole document</p>	17,18
Y	<p>GARN H ET AL: "IL-24 is Expressed by Rat and Human Macrophages" IMMUNOBIOLOGY, FISCHER, STUTTGART, DE, vol. 205, no. 3, 2002, pages 321-334, XP004954276 ISSN: 0171-2985 page 324 - page 326</p>	3,9
Y	<p>RYFFEL B: "Cytokine knockout mice: possible application in toxicological research." TOXICOLOGY. 20 DEC 1995, vol. 105, no. 1, 20 December 1995 (1995-12-20), pages 69-80, XP002361559 ISSN: 0300-483X the whole document</p>	19,20

-/-

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

ational Application No
PCT/US2004/040155

C.(Continuation) DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category *	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	MAGNAN A ET AL: "Alveolar macrophage interleukin (IL)-10 and IL-12 production in atopic asthma." ALLERGY. NOV 1998, vol. 53, no. 11, November 1998 (1998-11), pages 1092-1095, XP002361560 ISSN: 0105-4538 the whole document	1-21
Y	WO 01/55170 A (VANDERBILT UNIVERSITY; LIANG, PENG) 2 August 2001 (2001-08-02) the whole document	15,16
A	WANG MAI ET AL: "Interleukin 24 (MDA-7/MOB-5) signals through two heterodimeric receptors, IL-22R1/IL-20R2 and IL-20R1/IL-20R2" JOURNAL OF BIOLOGICAL CHEMISTRY, AMERICAN SOCIETY OF BIOCHEMICAL BIOLOGISTS, BIRMINGHAM,, US, vol. 277, no. 9, 1 March 2002 (2002-03-01), pages 7341-7347, XP002298036 ISSN: 0021-9258 the whole document	1-21
A	RAMESH R ET AL: "Melanoma differentiation-associated gene 7/interleukin (IL)-24 is a novel ligand that regulates angiogenesis via the IL-22 receptor" CANCER RESEARCH, AMERICAN ASSOCIATION FOR CANCER RESEARCH, BALTIMORE, MD, US, vol. 63, no. 16, 15 August 2003 (2003-08-15), pages 5105-5113, XP002302973 ISSN: 0008-5472 the whole document	1-21
A	PARRISH-NOVAK J ET AL: "INTERLEUKINS 19, 20, AND 24 SIGNAL THROUGH TWO DISTINCT RECEPTOR COMPLEXES" JOURNAL OF BIOLOGICAL CHEMISTRY, THE AMERICAN SOCIETY OF BIOLOGICAL CHEMISTS, INC.,, US, vol. 277, no. 49, 6 December 2002 (2002-12-06), pages 47517-47523, XP008047447 ISSN: 0021-9258 the whole document	1-21

-/--

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

ational Application No
PCT/US2004/040155

C.(Continuation) DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category *	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	FICKENSCHER H ET AL: "The interleukin-10 family of cytokines" TRENDS IN IMMUNOLOGY, ELSEVIER, RAHWAY, NJ, US, vol. 23, no. 2, February 2002 (2002-02), pages 89-96, XP002346899 ISSN: 1471-4906 table 2	1-21
A	RICH B E ET AL: "CYTOKINES: IL-20 - A NEW EFFECTOR IN SKIN INFLAMMATION" CURRENT BIOLOGY, CURRENT SCIENCE,, GB, vol. 11, no. 13, 10 July 2001 (2001-07-10), pages R531-R534, XP001183885 ISSN: 0960-9822 the whole document	1-21
A	WOLK KERSTIN ET AL: "Cutting edge: immune cells as sources and targets of the IL-10 family members?" JOURNAL OF IMMUNOLOGY (BALTIMORE, MD. : 1950) 1 JUN 2002, vol. 168, no. 11, 1 June 2002 (2002-06-01), pages 5397-5402, XP002361561 ISSN: 0022-1767 the whole document	1-21

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.
PCT/US2004/040155**Box II Observations where certain claims were found unsearchable (Continuation of item 2 of first sheet)**

This International Search Report has not been established in respect of certain claims under Article 17(2)(a) for the following reasons:

1. Claims Nos.:
because they relate to subject matter not required to be searched by this Authority, namely:
Although claims 1-14,21 are directed to a method of treatment of the human/animal body or to a diagnostic method practised on the human/animal body, the search has been carried out and based on the alleged effects of the compound/composition.
2. Claims Nos.:
because they relate to parts of the International Application that do not comply with the prescribed requirements to such an extent that no meaningful International Search can be carried out, specifically:
3. Claims Nos.:
because they are dependent claims and are not drafted in accordance with the second and third sentences of Rule 6.4(a).

Box III Observations where unity of invention is lacking (Continuation of item 3 of first sheet)

This International Searching Authority found multiple inventions in this international application, as follows:

see additional sheet

1. As all required additional search fees were timely paid by the applicant, this International Search Report covers all searchable claims.
2. As all searchable claims could be searched without effort justifying an additional fee, this Authority did not invite payment of any additional fee.
3. As only some of the required additional search fees were timely paid by the applicant, this International Search Report covers only those claims for which fees were paid, specifically claims Nos.:
4. No required additional search fees were timely paid by the applicant. Consequently, this International Search Report is restricted to the invention first mentioned in the claims; it is covered by claims Nos.:

Remark on Protest

- The additional search fees were accompanied by the applicant's protest.
- No protest accompanied the payment of additional search fees.

International Application No. PCT/US2004 /040155

FURTHER INFORMATION CONTINUED FROM PCT/ISA/ 210

This International Searching Authority found multiple (groups of) inventions in this international application, as follows:

1. claims: 1-16,21 (all partially)

diagnosis or treatment based on IL-19

2. claims: 17,18 (all completely)

method of screening based on IL-19 knockout mouse

3. claims: 19,20 (all completely), 1-16,21 (all partially)

method of screening, diagnosis or treatment based on IL-24

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

International Application No

PCT/US2004/040155

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member(s)	Publication date
US 2002072089	A1	13-06-2002	NONE
WO 9808870	A	05-03-1998	AU 7155296 A 19-03-1998 CA 2264548 A1 05-03-1998 EP 0963377 A1 15-12-1999 JP 2001500369 T 16-01-2001
WO 03089569	A	30-10-2003	AU 2002367534 A1 03-11-2003 CA 2466229 A1 30-10-2003 EP 15111511 A2 09-03-2005 JP 2005519986 T 07-07-2005 MX PA04004266 A 08-07-2004
US 5985614	A	16-11-1999	US 2002032311 A1 14-03-2002
EP 1394274	A	03-03-2004	JP 2004121218 A 22-04-2004 US 2005208496 A1 22-09-2005
WO 2004024894	A	25-03-2004	AU 2003270742 A1 30-04-2004 US 2004076606 A1 22-04-2004
WO 03010290	A	06-02-2003	CA 2454802 A1 06-02-2003 EP 1527178 A2 04-05-2005 JP 2005508879 T 07-04-2005 US 2003023033 A1 30-01-2003
US 2003096966	A1	22-05-2003	US 2003120040 A1 26-06-2003 US 2003100712 A1 29-05-2003 US 2003120041 A1 26-06-2003 US 2003045687 A1 06-03-2003 US 2003073814 A1 17-04-2003 US 2003092887 A1 15-05-2003 US 2003100064 A1 29-05-2003 US 2003187202 A1 02-10-2003 US 2003187203 A1 02-10-2003 US 2003187204 A1 02-10-2003 US 2003187205 A1 02-10-2003 US 2003100714 A1 29-05-2003 US 2003096959 A1 22-05-2003 US 2003187207 A1 02-10-2003 US 2003100716 A1 29-05-2003 US 2003088065 A1 08-05-2003 US 2003100717 A1 29-05-2003 US 2003088066 A1 08-05-2003 US 2003100718 A1 29-05-2003 US 2003092888 A1 15-05-2003 US 2003100719 A1 29-05-2003 US 2003096960 A1 22-05-2003 US 2003105289 A1 05-06-2003 US 2003100721 A1 29-05-2003 US 2003096961 A1 22-05-2003 US 2003187208 A1 02-10-2003 US 2003100722 A1 29-05-2003 US 2003092889 A1 15-05-2003 US 2003088067 A1 08-05-2003 US 2003187209 A1 02-10-2003 US 2003088068 A1 08-05-2003 US 2003187210 A1 02-10-2003

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

International Application No

PCT/US2004/040155

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member(s)	Publication date
US 2003096966	A1	US 2003096962 A1	22-05-2003
		US 2003187211 A1	02-10-2003
		US 2003105290 A1	05-06-2003
		US 2003187213 A1	02-10-2003
		US 2003187216 A1	02-10-2003
		US 2003073816 A1	17-04-2003
		US 2003100724 A1	29-05-2003
		US 2003105291 A1	05-06-2003
		US 2003027988 A1	06-02-2003
		US 2003100727 A1	29-05-2003
		US 2003100728 A1	29-05-2003
		US 2003100729 A1	29-05-2003
		US 2004019183 A1	29-01-2004
		US 2003100730 A1	29-05-2003
		US 2003100731 A1	29-05-2003
		US 2003088070 A1	08-05-2003
		US 2003100732 A1	29-05-2003
US 2003100713	A1	US 2003187206 A1	02-10-2003
	29-05-2003	US 2003036635 A1	20-02-2003
US 2002042366	A1	US 2004005320 A1	08-01-2004
WO 0155170	A	AU 3119201 A	07-08-2001
	02-08-2001	EP 1254155 A1	06-11-2002

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 11/00 (2006.01)	A 6 1 P 37/08	
A 6 1 P 3/04 (2006.01)	A 6 1 P 11/00	
A 6 1 P 3/10 (2006.01)	A 6 1 P 3/04	
G 0 1 N 33/53 (2006.01)	A 6 1 P 3/10	
G 0 1 N 33/50 (2006.01)	G 0 1 N 33/53	D
G 0 1 N 33/15 (2006.01)	G 0 1 N 33/50	Z
	G 0 1 N 33/15	Z

(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, IS, IT, LT, 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 デ ワール メイレフィット, レネ

アメリカ合衆国 カリフォルニア 9 4 0 8 6 , サニーベール, ムエンダー アベニュー 8 9 1

Fターム(参考) 2G045 AA40 CB01 CB17 FA11 FB12 GC15

4C084 AA02 AA17 BA35 NA14 ZA591 ZA701 ZB131 ZC351

4C085 AA13 AA14 AA33 BB41 CC22 CC23

专利名称(译)	调节细胞因子活性的方法;相关试剂		
公开(公告)号	JP2007513163A	公开(公告)日	2007-05-24
申请号	JP2006542696	申请日	2004-12-01
[标]申请(专利权)人(译)	先灵公司 先灵葆雅有限公司		
申请(专利权)人(译)	先灵公司		
[标]发明人	グルーニッグガブリエル デワールメイレフィットレネ		
发明人	グルーニッグ, ガブリエル デワール メイレフィット, レネ		
IPC分类号	A61K45/00 A61K39/395 A61K38/00 A61P11/06 A61P37/08 A61P11/00 A61P3/04 A61P3/10 G01N33/53 G01N33/50 G01N33/15 C07K14/54 C07K14/715 C07K16/24		
CPC分类号	A61K38/00 A61P11/00 A61P11/06 C07K14/54 C07K16/244		
FI分类号	A61K45/00 A61K39/395.D A61K39/395.N A61K37/02 A61P11/06 A61P37/08 A61P11/00 A61P3/04 A61P3/10 G01N33/53.D G01N33/50.Z G01N33/15.Z		
F-TERM分类号	2G045/AA40 2G045/CB01 2G045/CB17 2G045/FA11 2G045/FB12 2G045/GC15 4C084/AA02 4C084/AA17 4C084/BA35 4C084/NA14 4C084/ZA591 4C084/ZA701 4C084/ZB131 4C084/ZC351 4C085/AA13 4C085/AA14 4C085/AA33 4C085/BB41 4C085/CC22 4C085/CC23		
优先权	60/526558 2003-12-03 US		
其他公开文献	JP2007513163A5		
外部链接	Espacenet		

摘要(译)

提供了调节细胞因子活性的方法，例如，以治疗气道和肺部炎症为目的。还提供了用于筛选IL-19或IL-24的激动剂或拮抗剂的试剂。

野生型 (PBS)	IL-19KO (PBS)	IL-24KO (PBS)	野生型 (Asp)	IL-19KO (Asp)	IL-24KO (Asp)
ゲート中の全細胞 (細胞/ビーズ)					
3.8	12.93	0.63	57.0	47.7	35.9
CD11c ⁺ MHC II ^{low} 細胞 (細胞/ビーズ)					
0.251	0.046	0.208	0.795	0.499	0.783
B 細胞 (細胞/ビーズ)					
低い	低い	低い	0.42	0.169	1.33
B細胞上のMHCクラスIIの発現 (蛍光:野生型に対して)					
ND	ND	ND	161.9	204	120.4
マクロファージ (100%に対して)			マクロファージ (コントロールに対して)		
100%	33%	ND	コントロール	減少	ND
樹状細胞 (100%に対して)			樹状細胞 (コントロールに対して)		
100%	50%	ND	コントロール	減少	ND
B220を発現する樹状細胞の割合					
コントロール	増加	ND	ND	ND	ND