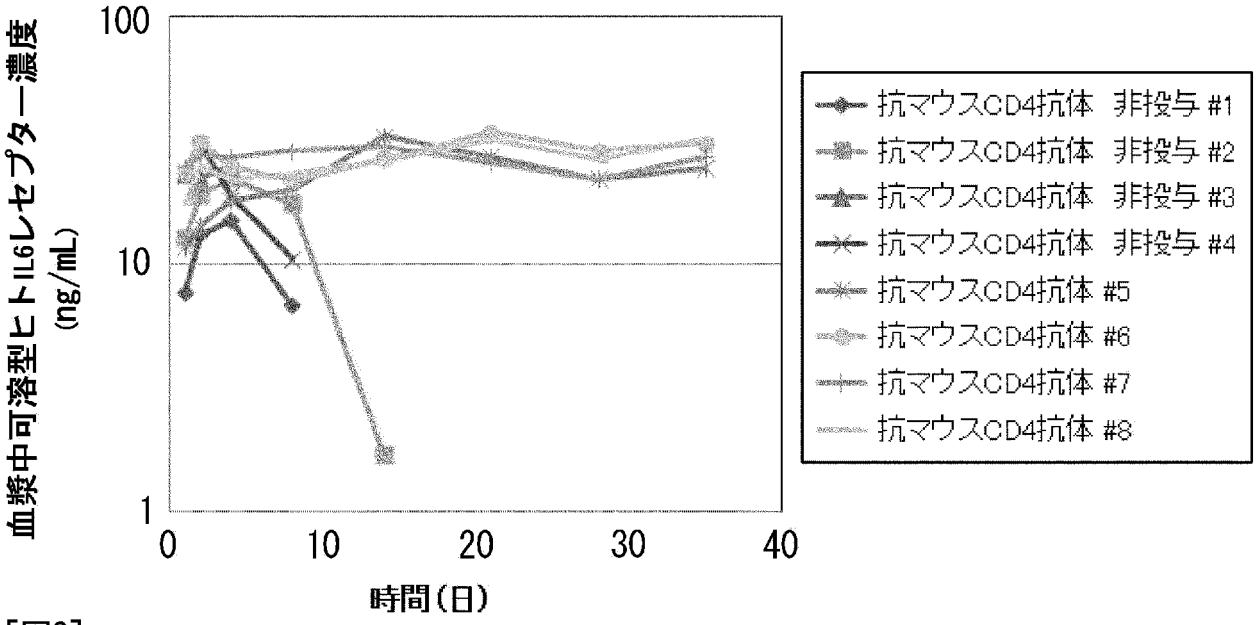
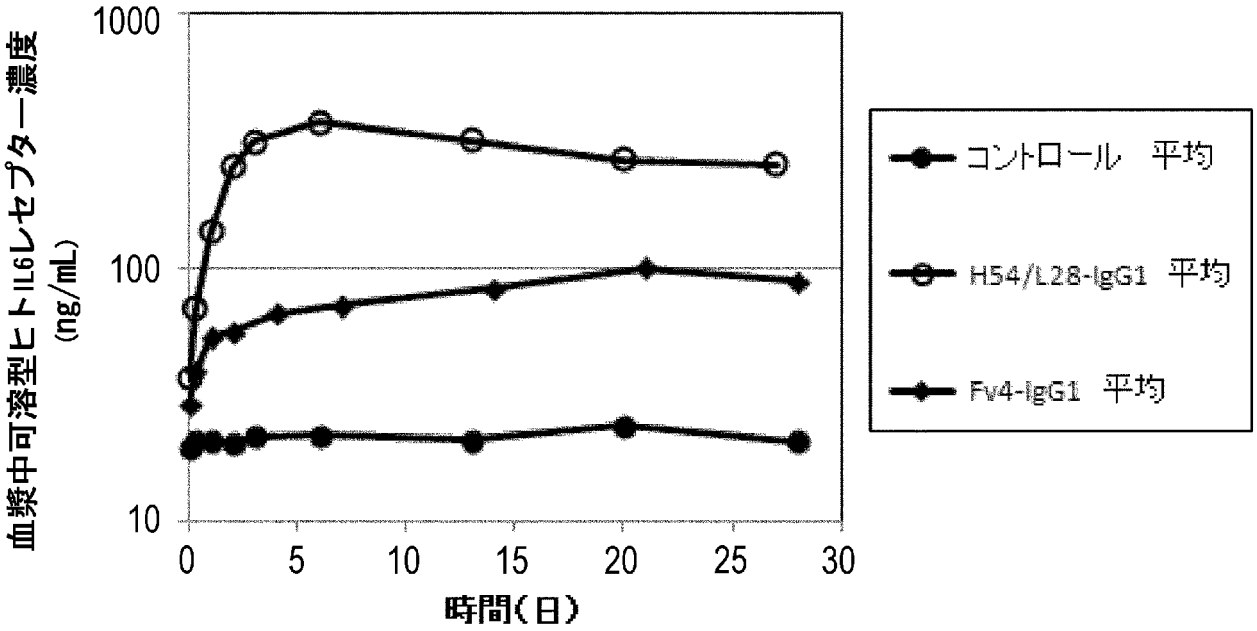
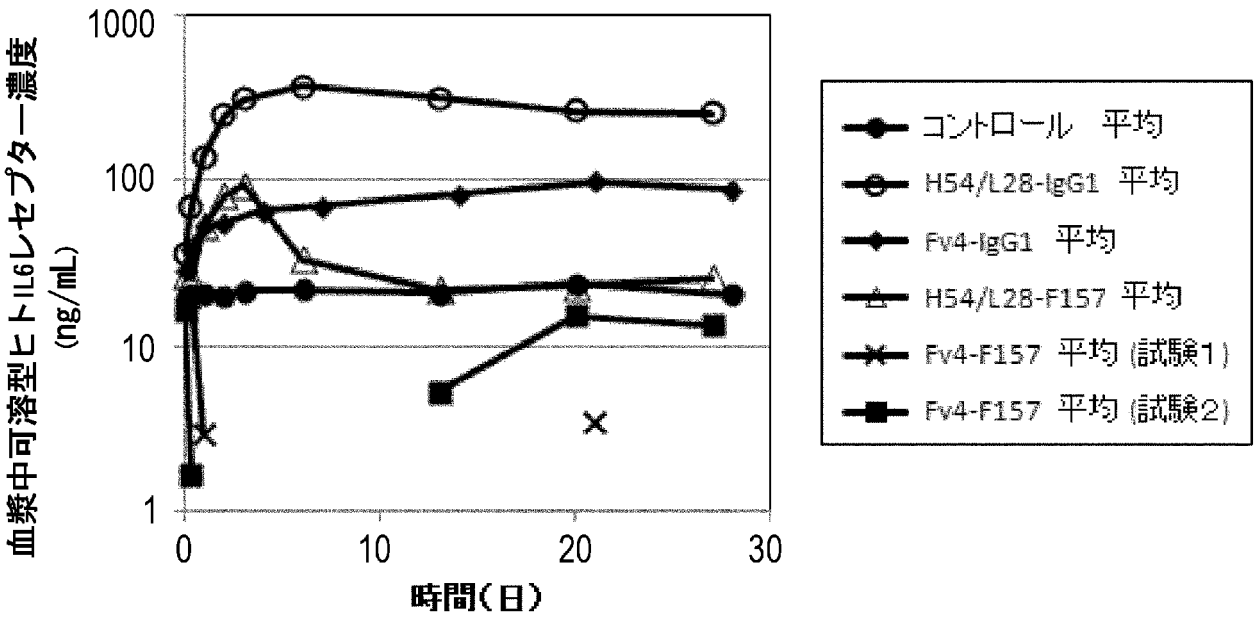
[図1]


血漿中可溶型ヒトIL6レセプター濃度 (ng/mL)
100
10
1
0
10
20
30
40
時間(日)
抗マウスCD4抗体 非投与 #1
抗マウスCD4抗体 非投与 #2
抗マウスCD4抗体 非投与 #3
抗マウスCD4抗体 非投与 #4
抗マウスCD4抗体 #5
抗マウスCD4抗体 #6
抗マウスCD4抗体 #7
抗マウスCD4抗体 #8

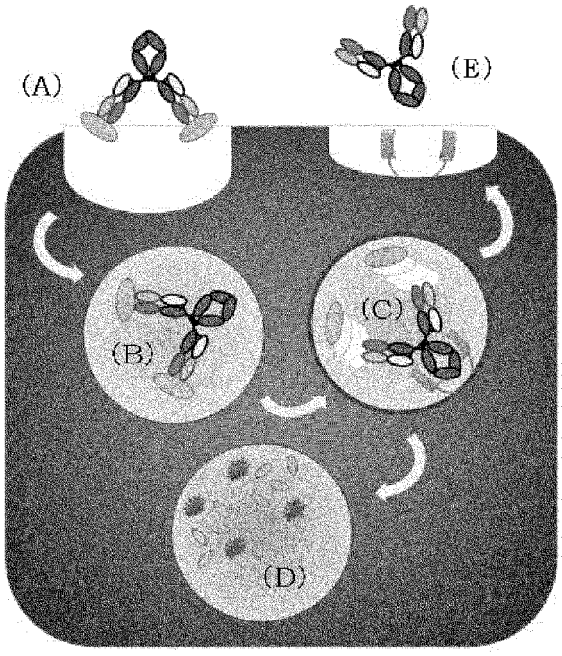
[図2]


血漿中可溶型ヒトIL6レセプター濃度 (ng/mL)
1000
100
10
0
5
10
15
20
25
30
時間(日)
コントロール 平均
H54/L28-IgG1 平均
Fv4-IgG1 平均

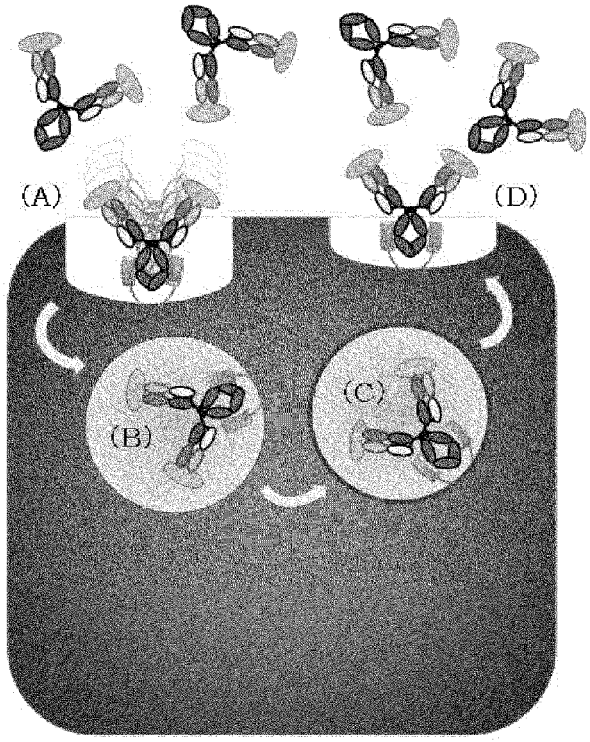
[図3]


血漿中可溶型ヒトIL6レセプター濃度 (ng/mL)
1000
100
10
1
0
10
20
30
時間(日)
コントロール 平均
H54/L28-IgG1 平均
Fv4-IgG1 平均
H54/L28-F157 平均
Fv4-F157 平均 (試験1)
Fv4-F157 平均 (試験2)

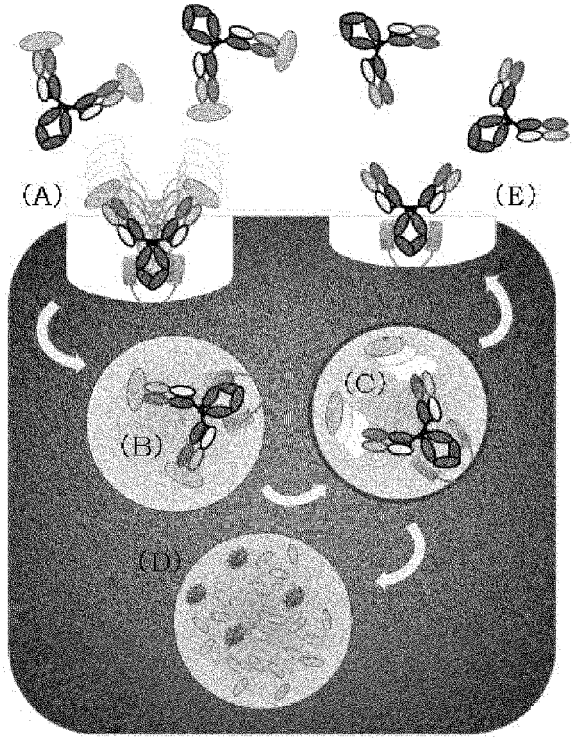
[図4]



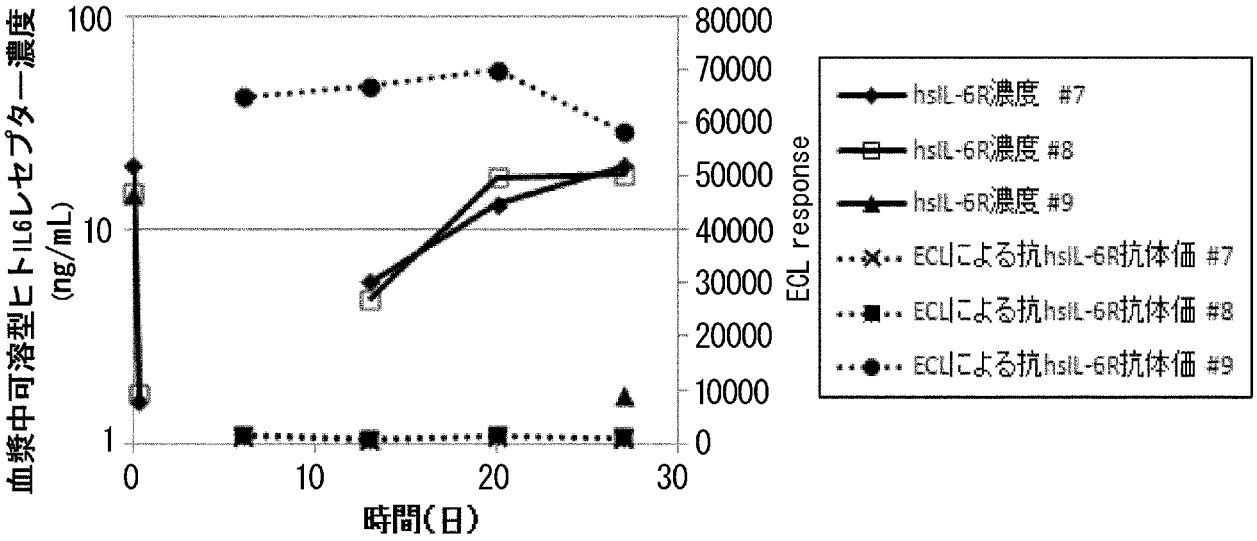
[図5]



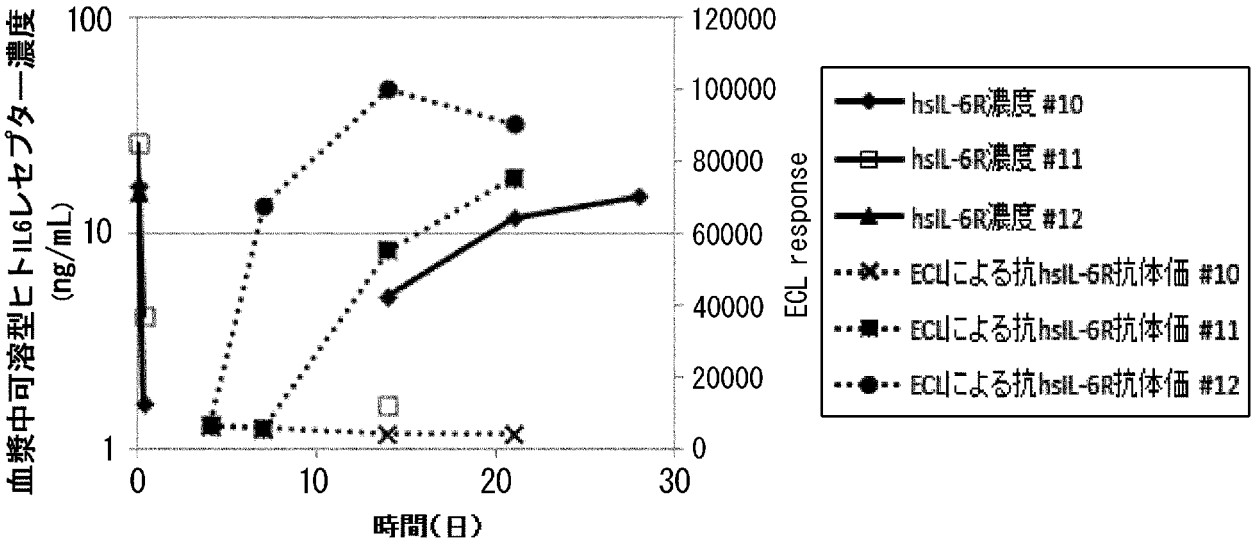
[図6]


(A)
(E)
(B)
(C)
(D)

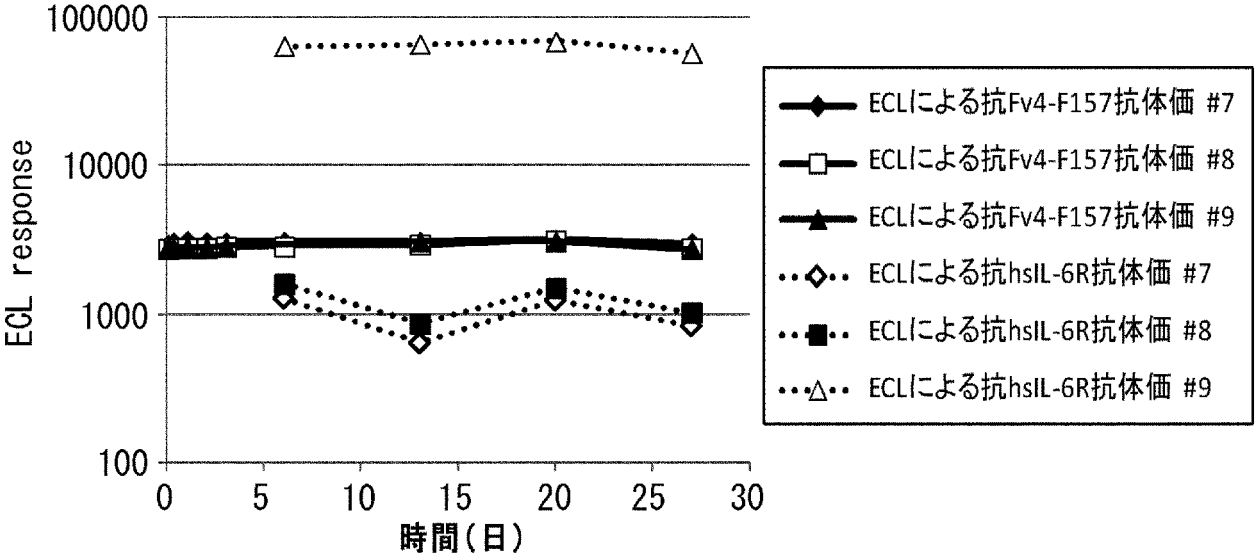
[図7]


血漿中可溶型ヒトIL6レセプター濃度 (ng/mL)
100
10
1
80000
70000
60000
50000
40000
30000
20000
10000
0
0
10
20
30
時間(日)
ECL response
hsIL-6R濃度 #7
hsIL-6R濃度 #8
hsIL-6R濃度 #9
ECLによる抗hsIL-6R抗体価 #7
ECLによる抗hsIL-6R抗体価 #8
ECLによる抗hsIL-6R抗体価 #9

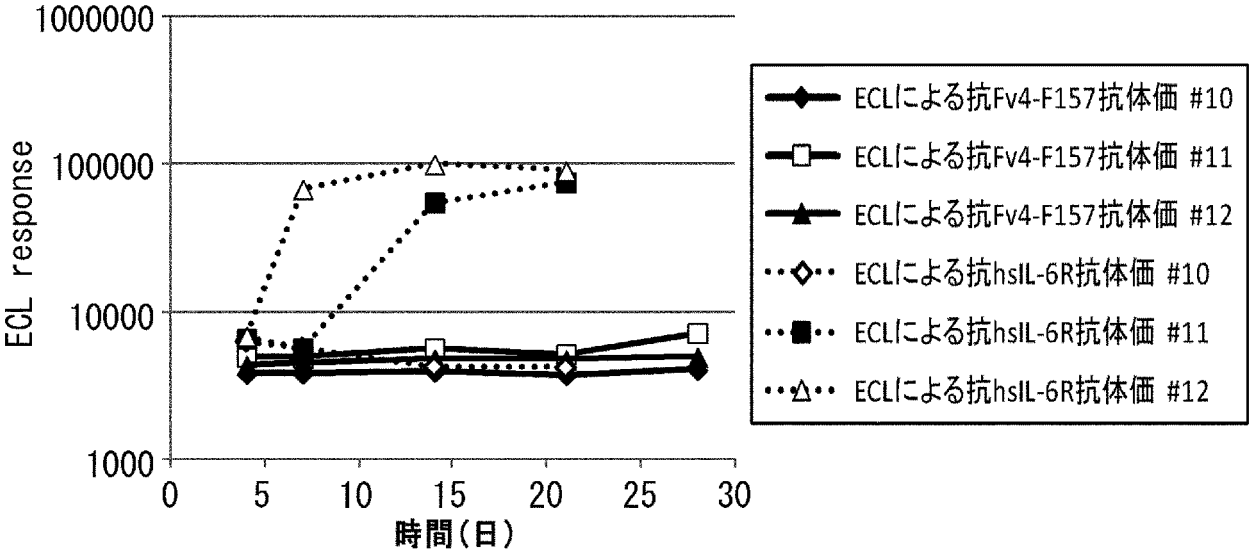
[図8]


血漿中可溶型ヒトIL6レセプター濃度 (ng/mL)
100
10
1
120000
100000
80000
60000
40000
20000
0
0
10
20
30
時間(日)
ECL response
hsIL-6R濃度 #10
hsIL-6R濃度 #11
hsIL-6R濃度 #12
ECLによる抗hsIL-6R抗体価 #10
ECLによる抗hsIL-6R抗体価 #11
ECLによる抗hsIL-6R抗体価 #12

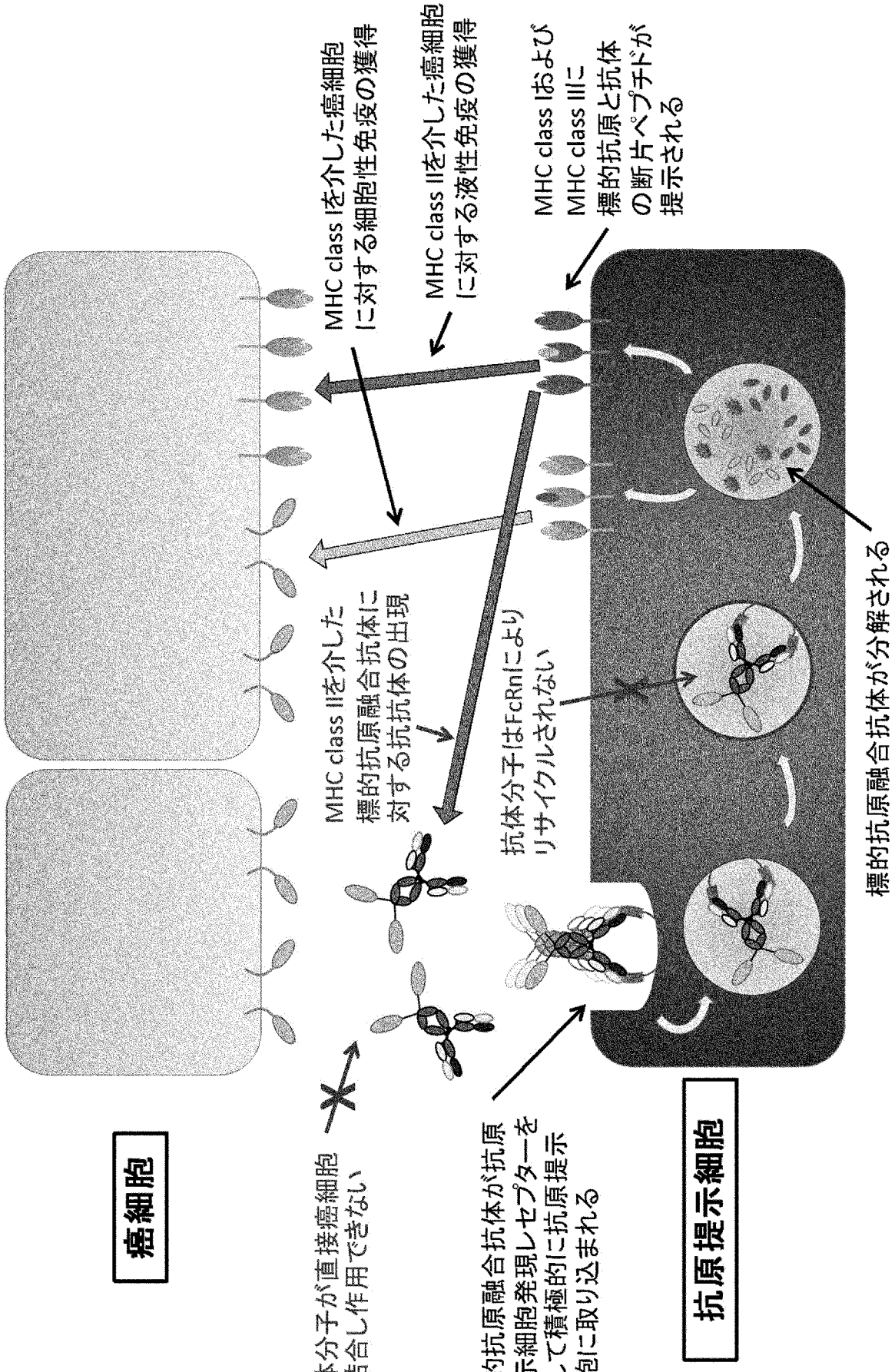
[図9]


100000
10000
1000
100
ECL response
0
5
10
15
20
25
30
時間(日)
ECLによる抗Fv4-F157抗体価 #7
ECLによる抗Fv4-F157抗体価 #8
ECLによる抗Fv4-F157抗体価 #9
ECLによる抗hsIL-6R抗体価 #7
ECLによる抗hsIL-6R抗体価 #8
ECLによる抗hsIL-6R抗体価 #9

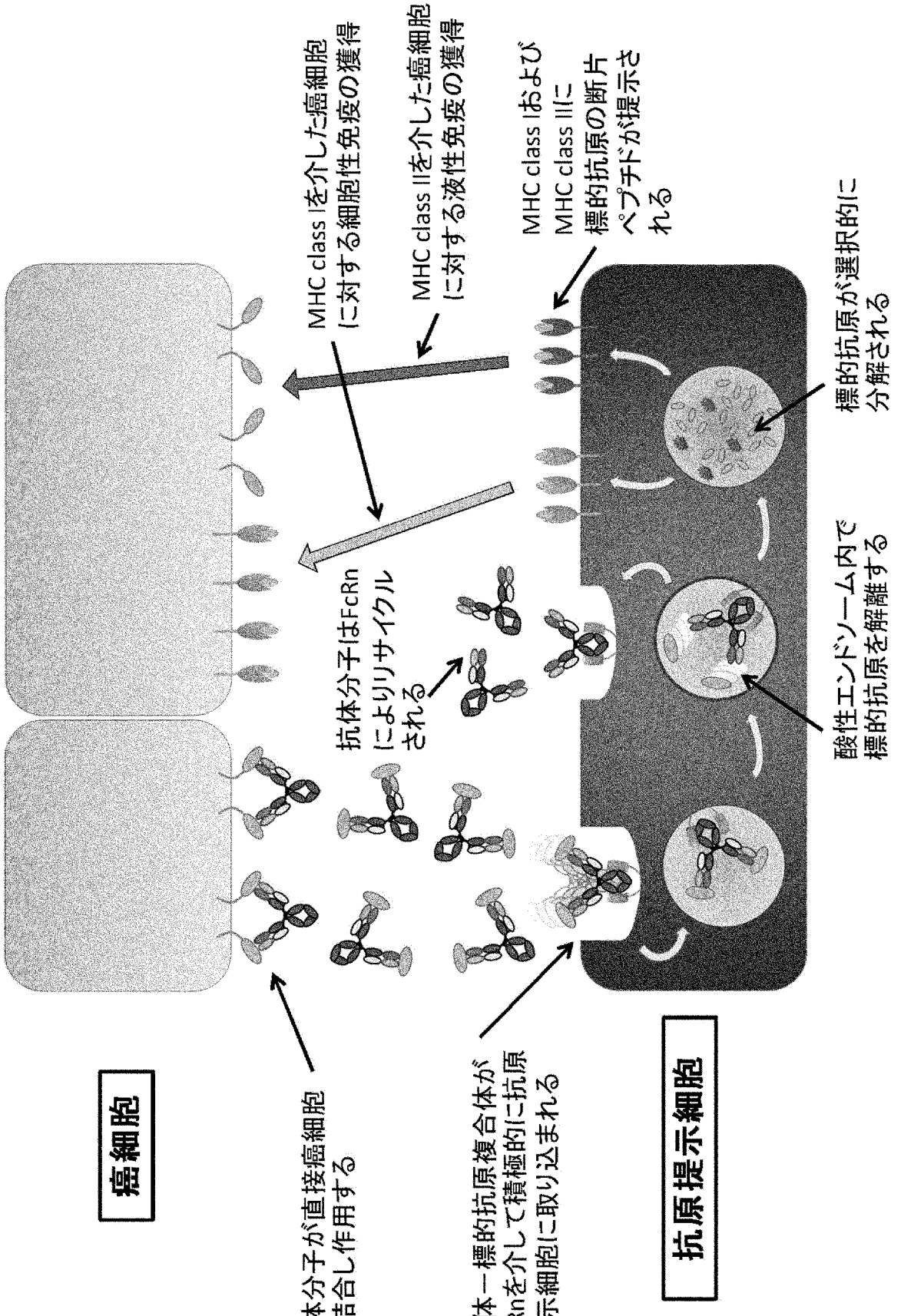
[図10]


1000000
100000
10000
1000
ECL response
0
5
10
15
20
25
30
時間(日)
ECLによる抗Fv4-F157抗体価 #10
ECLによる抗Fv4-F157抗体価 #11
ECLによる抗Fv4-F157抗体価 #12
ECLによる抗hsIL-6R抗体価 #10
ECLによる抗hsIL-6R抗体価 #11
ECLによる抗hsIL-6R抗体価 #12

[図11]


癌細胞
抗体分子が直接癌細胞に結合し作用できない
MHC class Iを介した癌細胞に対する細胞性免疫の獲得
MHC class IIを介した癌細胞に対する液性免疫の獲得
MHC class IおよびMHC class IIに標的抗原と抗体の断片ペプチドが提示される
MHC class IIを介した標的抗原融合抗体に対する抗抗体の出現
抗体分子はFcRnによりリサイクルされない
標的抗原融合抗体が抗原提示細胞発現レセプターを介して積極的に抗原提示細胞に取り込まれる
抗原提示細胞
標的抗原融合抗体が分解される

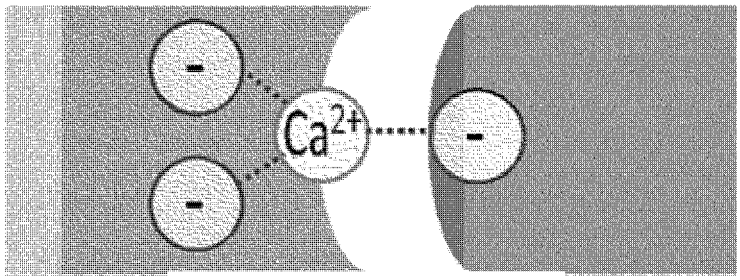
[図12]


癌細胞
抗体分子が直接癌細胞に結合し作用する
抗体－標的抗原複合体がFcRnを介して積極的に抗原提示細胞に取り込まれる
抗原提示細胞
抗体分子はFcRnによりリサイクルされる
MHC class Iを介した癌細胞に対する細胞性免疫の獲得
MHC class IIを介した癌細胞に対する液性免疫の獲得
MHC class IおよびMHC class IIに標的抗原の断片ペプチドが提示される
酸性エンドソーム内で標的抗原を解離する
標的抗原が選択的に分解される

[図13]

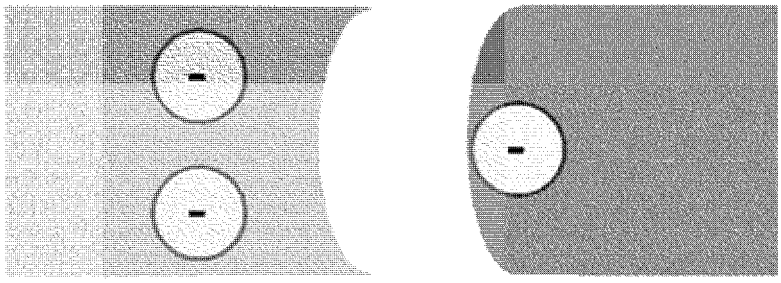
(i)

Ca^{2+}
2mM



相互作用

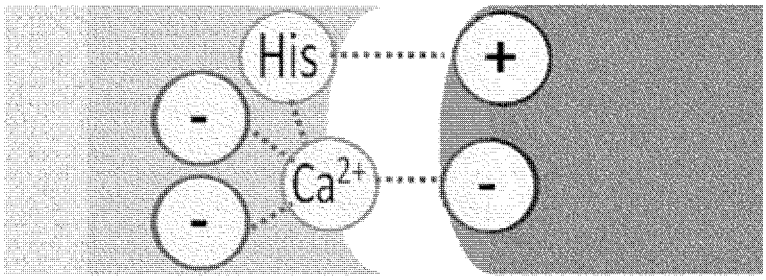
Ca^{2+}
3μM



反発

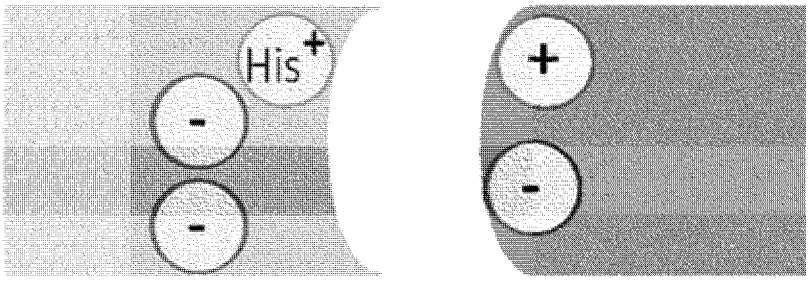
(ii)

pH7.4
Ca^{2+}
2mM



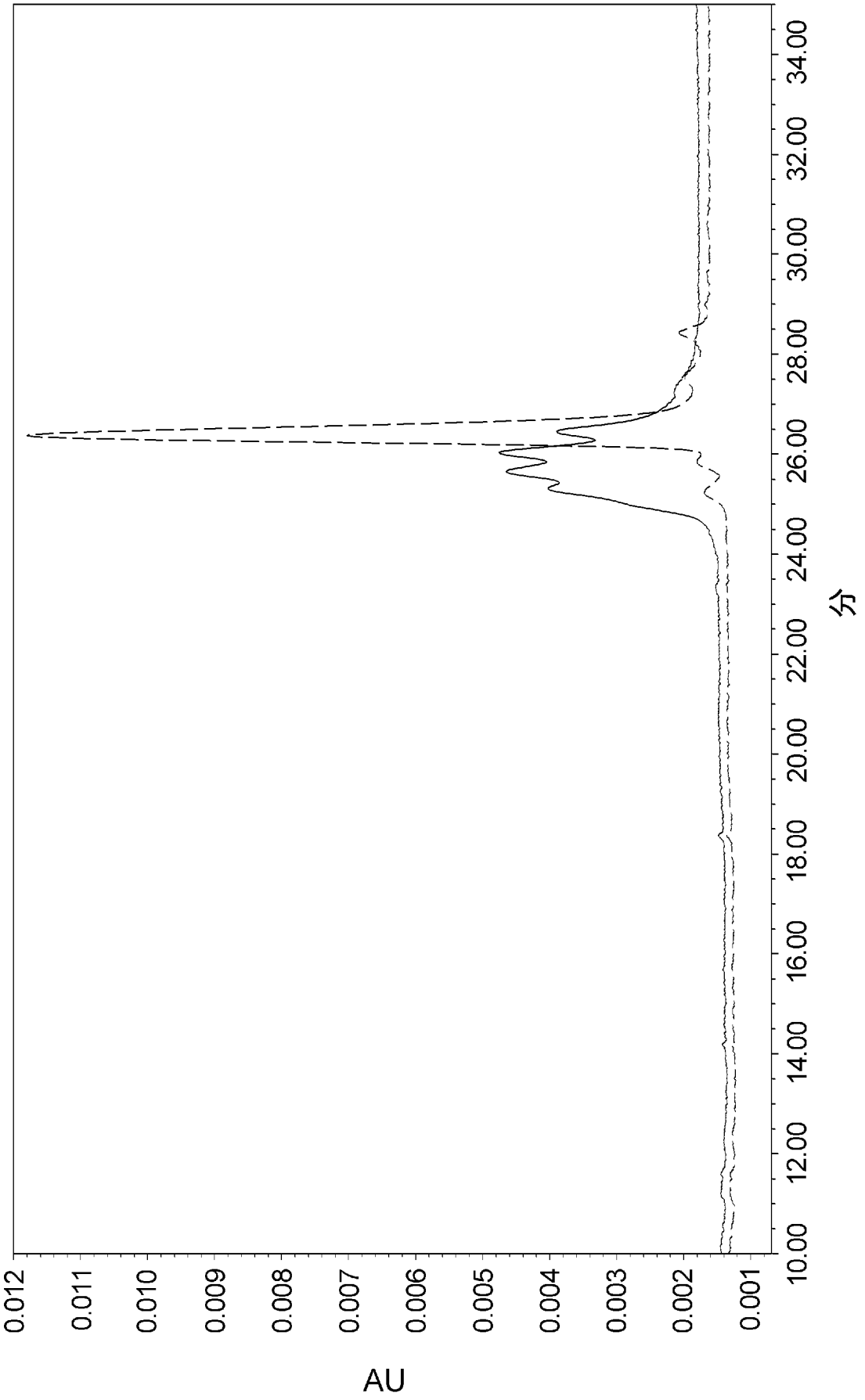
相互作用

pH6.0
Ca^{2+}
3μM

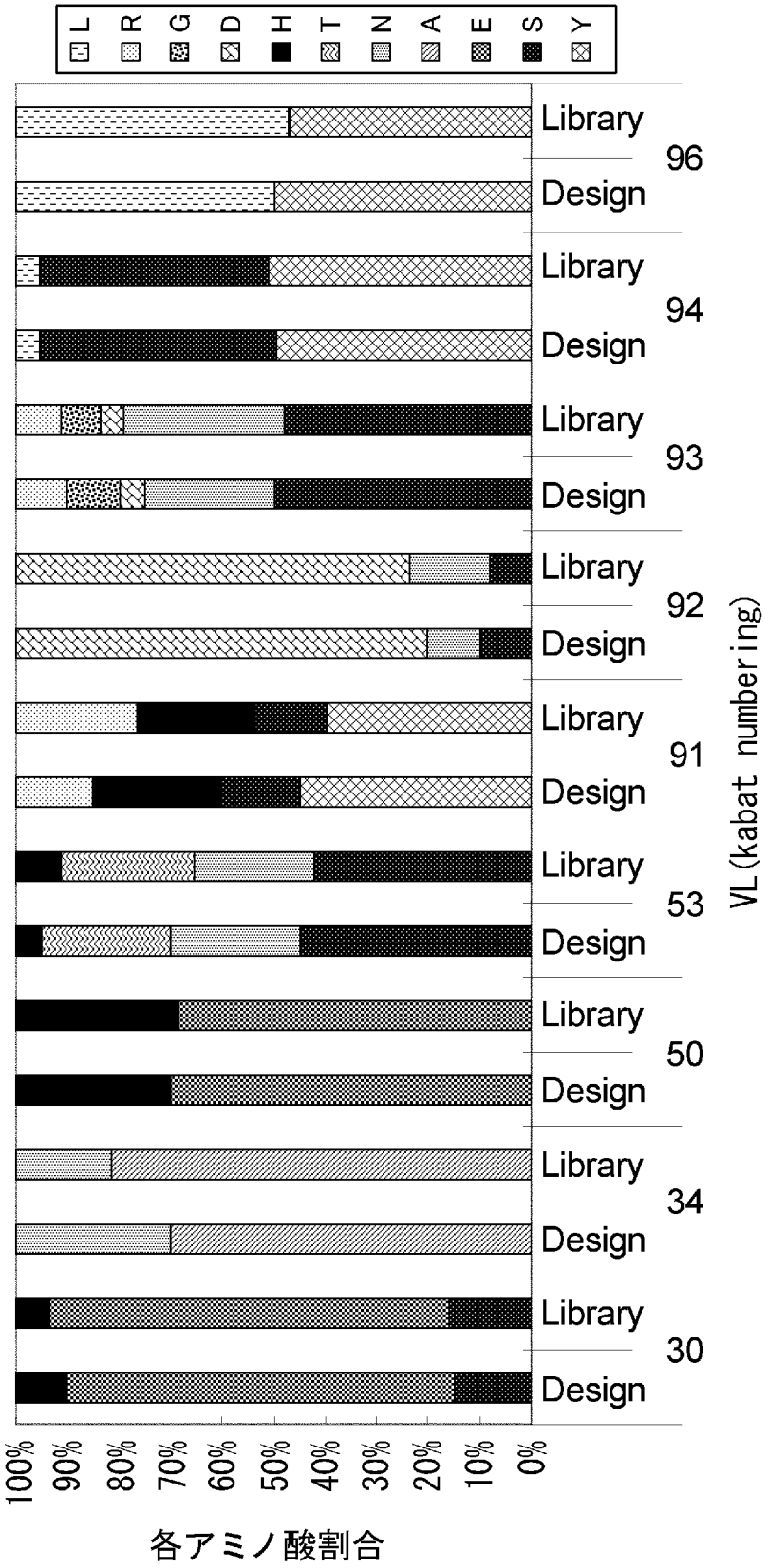


反発

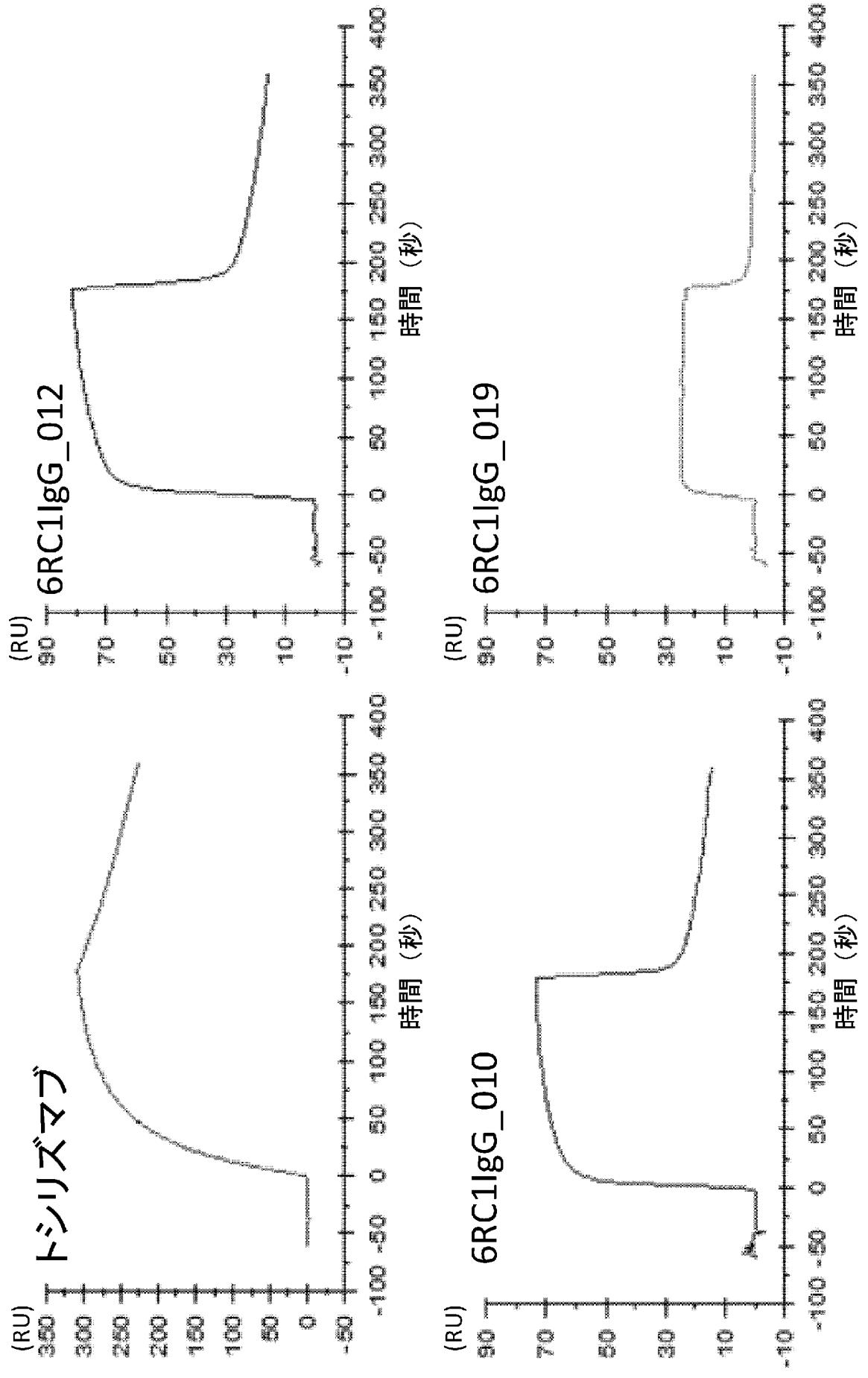
[図14]


0.012
0.011
0.010
0.009
0.008
0.007
0.006
0.005
0.004
0.003
0.002
0.001
AU
10.00
12.00
14.00
16.00
18.00
20.00
22.00
24.00
26.00
28.00
30.00
32.00
34.00
分

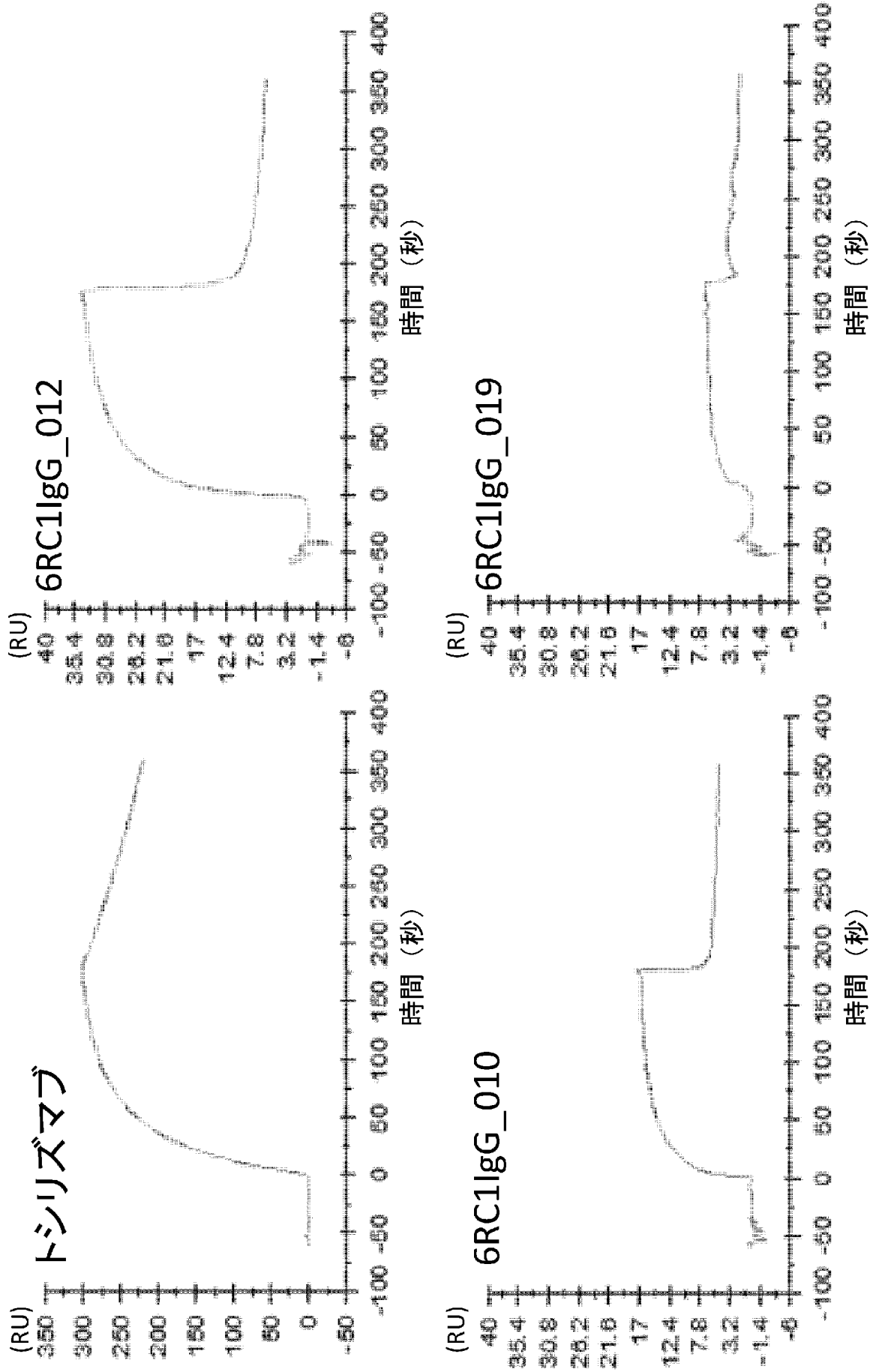
[図15]


L
R
G
D
H
T
N
A
E
S
Y
Library
Design
96
94
93
92
91
53
50
34
30
VL(kabat numbering)
100%
90%
80%
70%
60%
50%
40%
30%
20%
10%
0%
各アミノ酸割合

[図16]

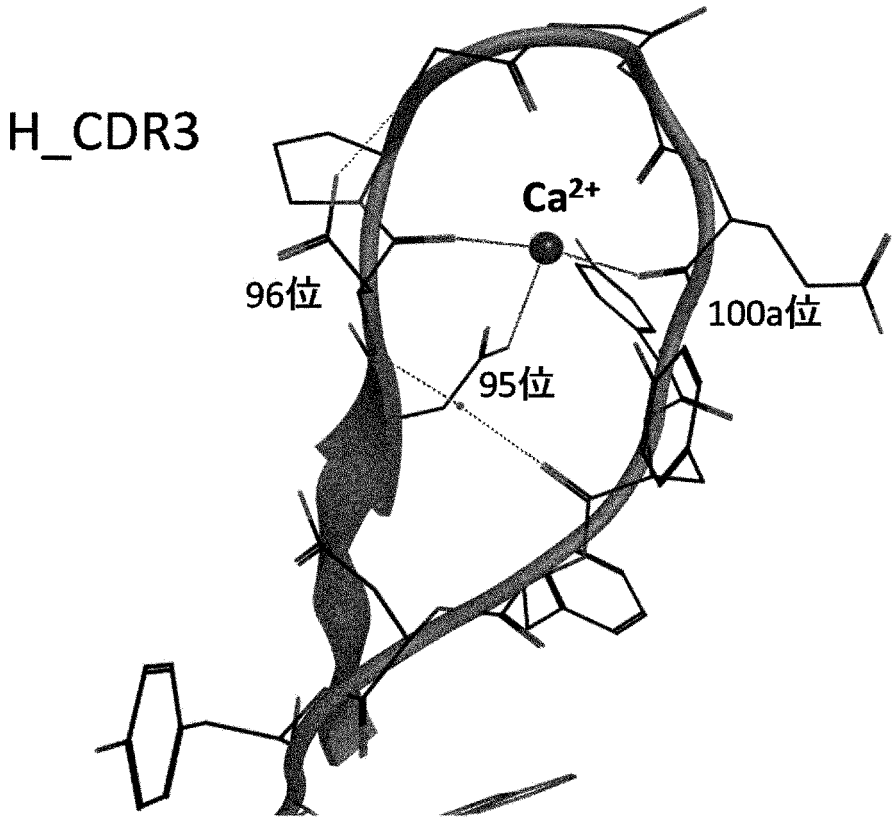


[図17]

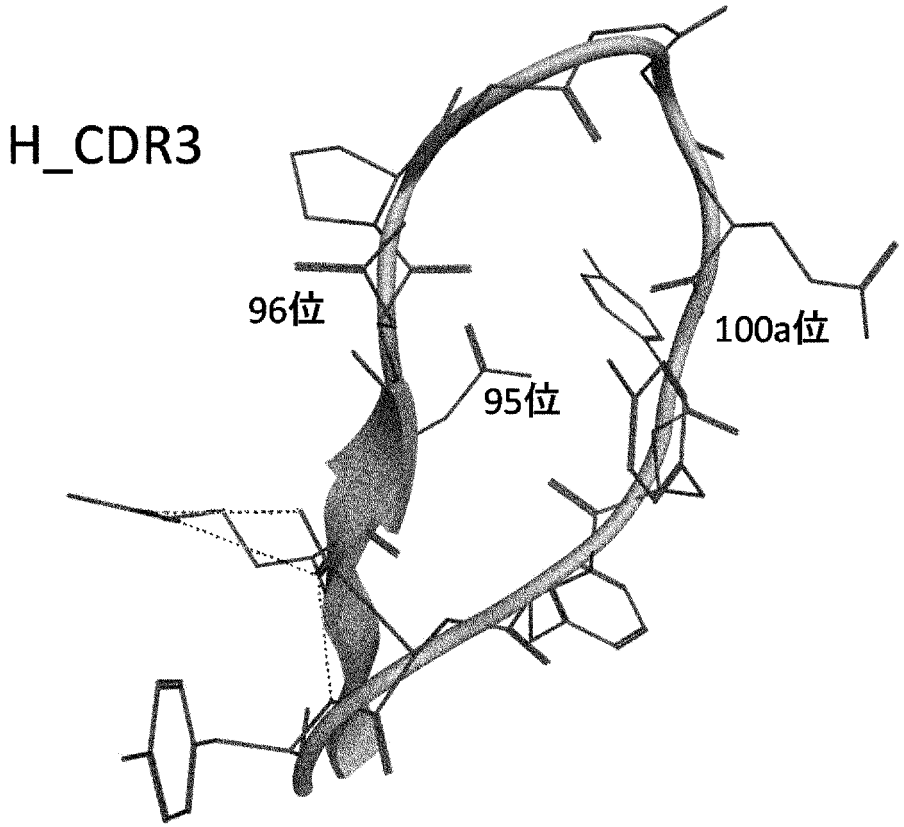


[図18]

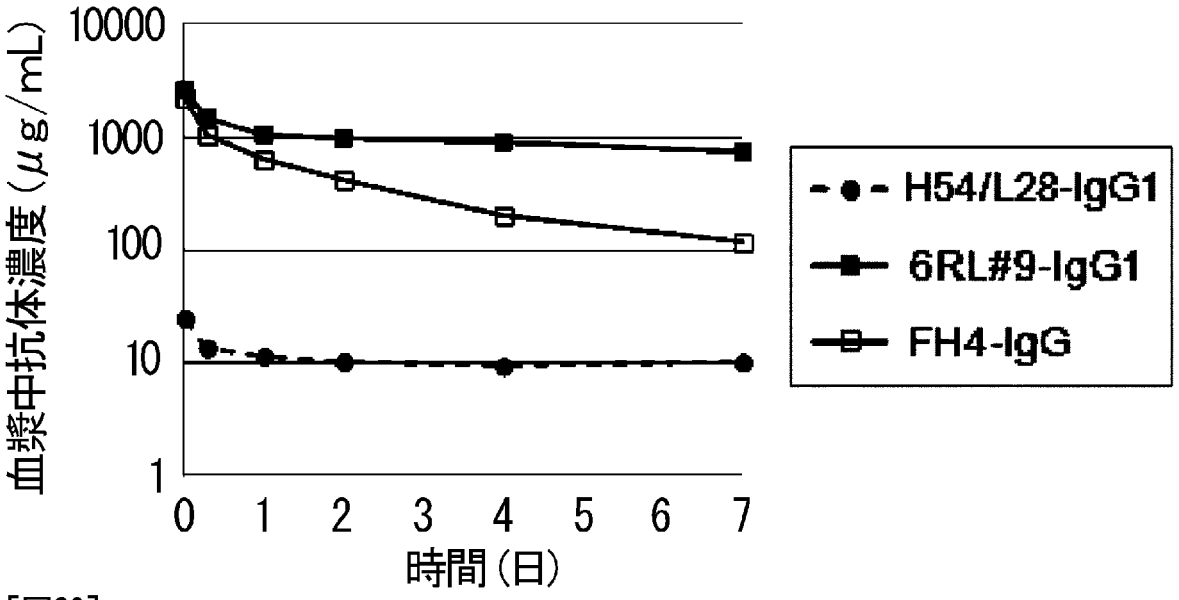
(i) カルシウムイオン存在下での結晶の構造



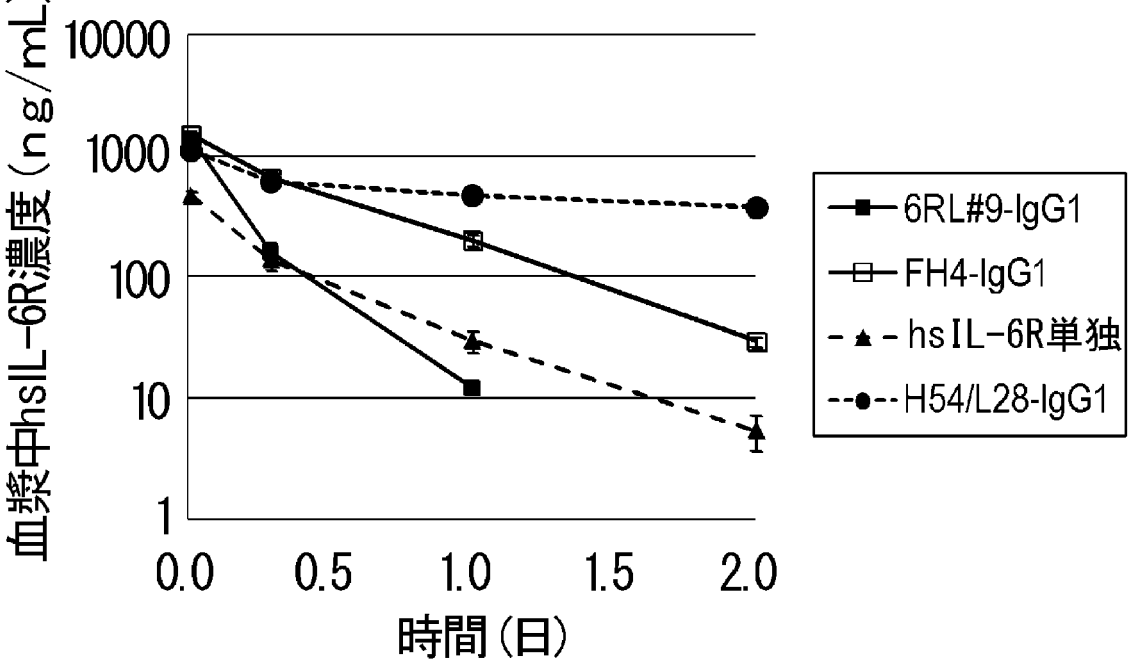
(ii) カルシウムイオン非存在下での結晶の構造



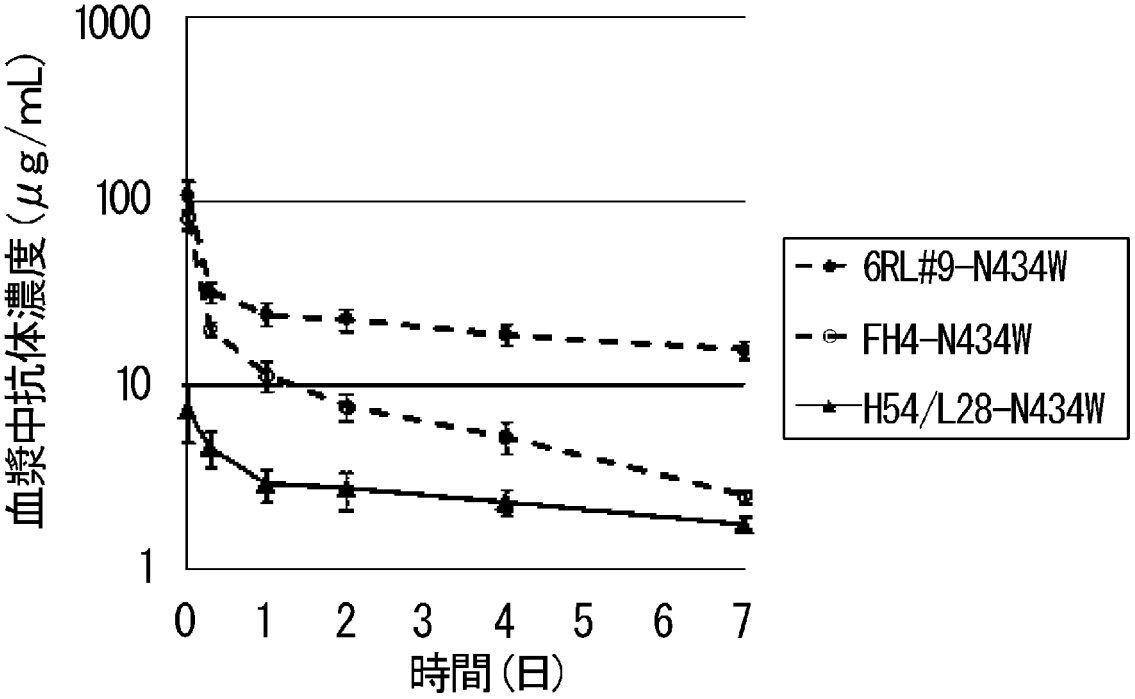
[図19]


血漿中抗体濃度（μg/mL）
10000
1000
100
10
1
0
1
2
3
4
5
6
7
時間（日）
H54/L28-IgG1
6RL#9-IgG1
FH4-IgG

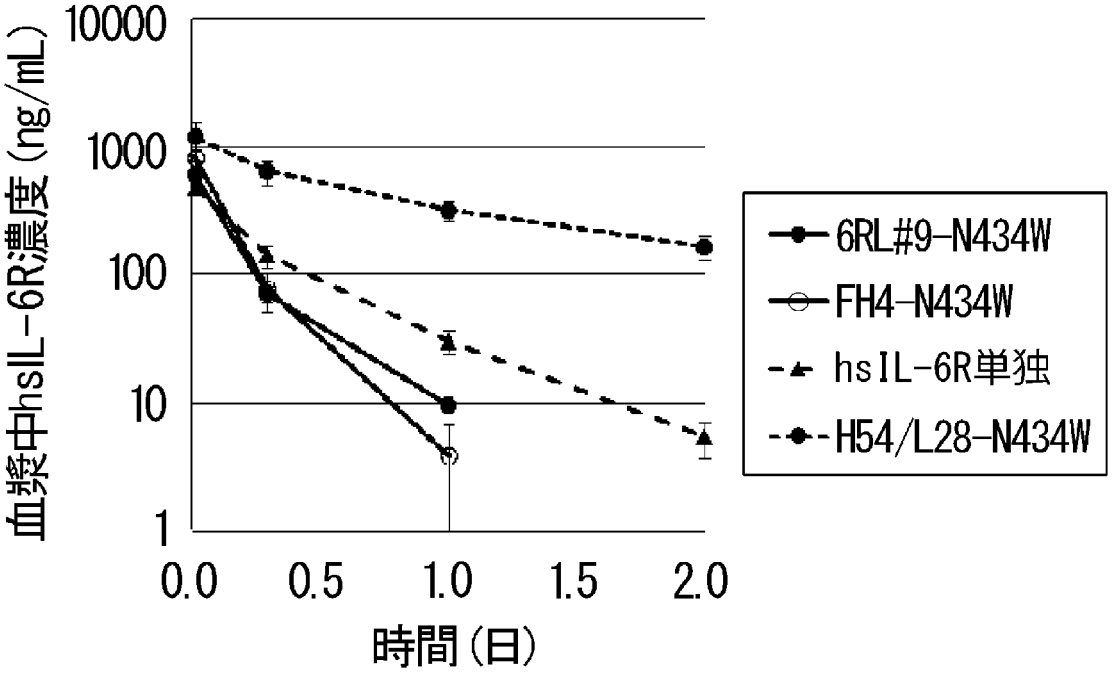
[図20]


血漿中hsIL-6R濃度（ng/mL）
10000
1000
100
10
1
0.0
0.5
1.0
1.5
2.0
時間（日）
6RL#9-IgG1
FH4-IgG1
hsIL-6R単独
H54/L28-IgG1

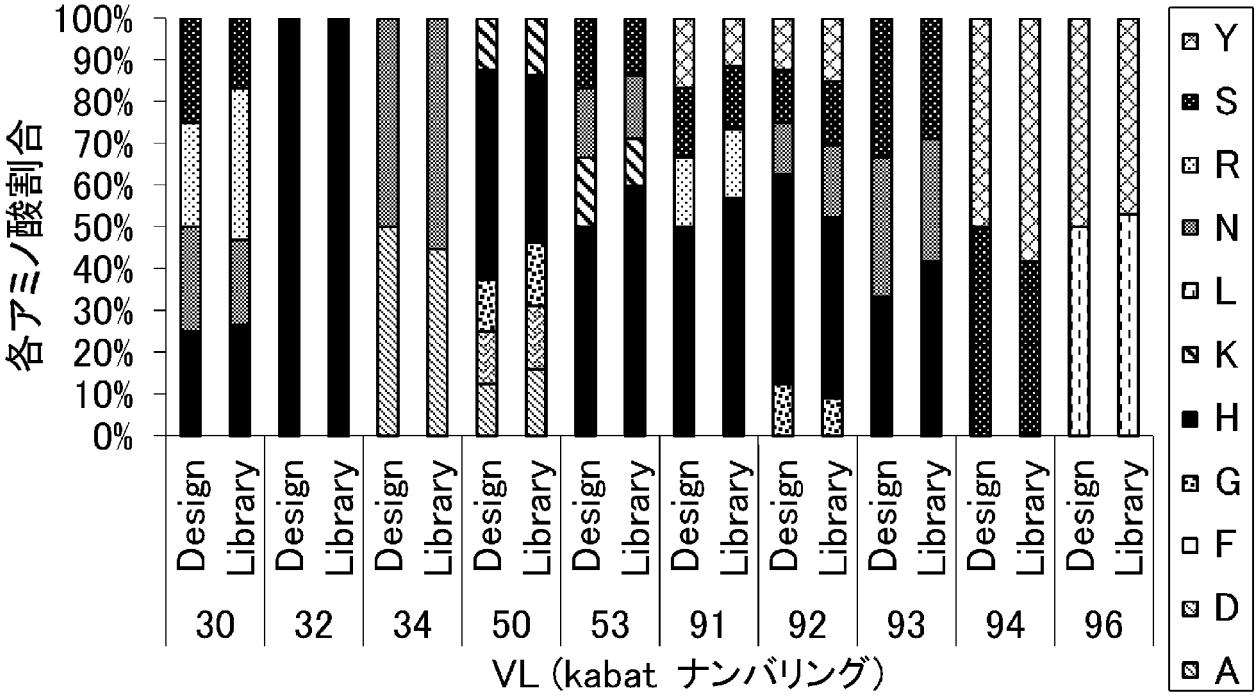
[図21]


1000
100
10
1
血漿中抗体濃度（μg/mL）
0
1
2
3
4
5
6
7
時間（日）
6RL#9-N434W
FH4-N434W
H54/L28-N434W

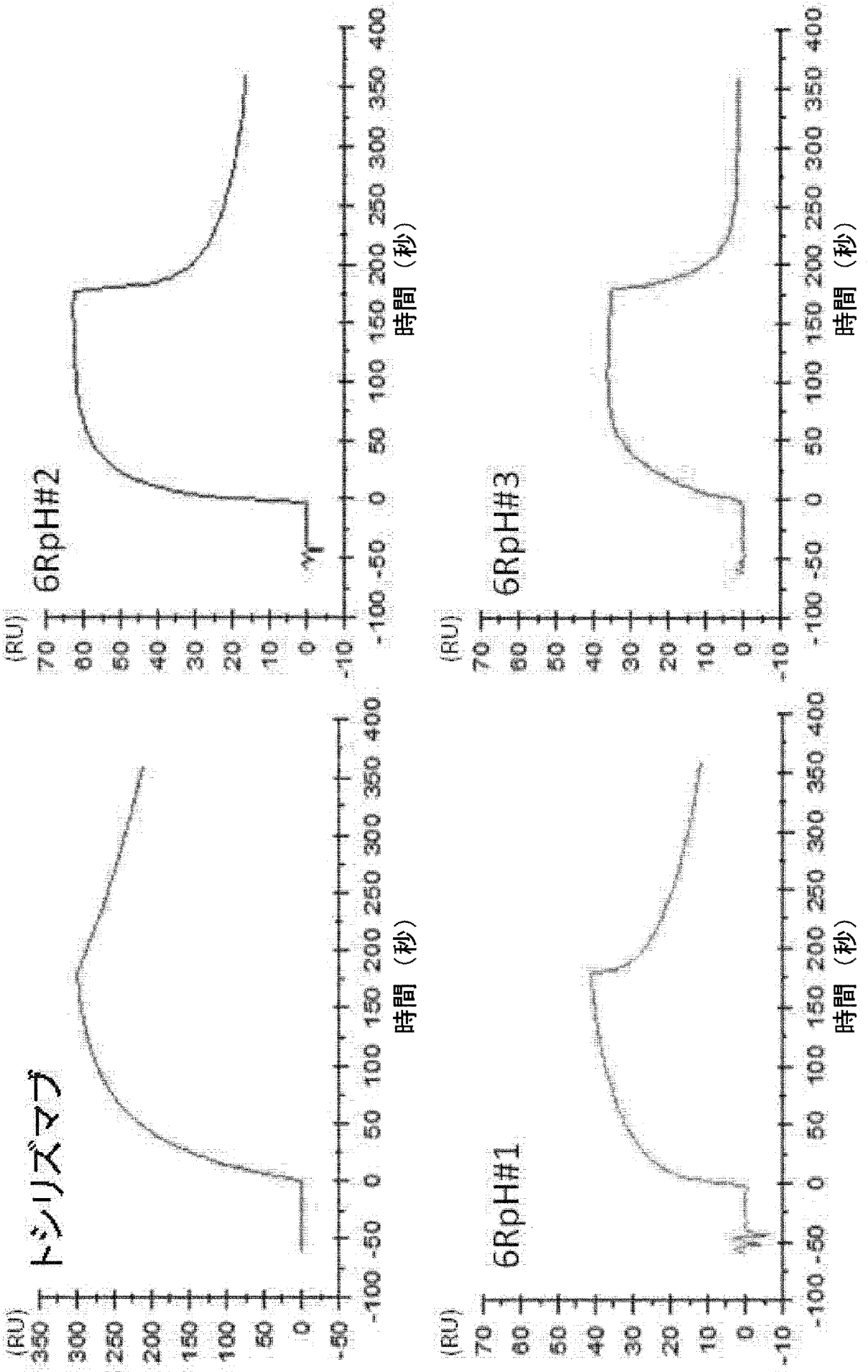
[図22]


10000
1000
100
10
1
血漿中hsIL-6R濃度（ng/mL）
0.0
0.5
1.0
1.5
2.0
時間（日）
6RL#9-N434W
FH4-N434W
hsIL-6R単独
H54/L28-N434W

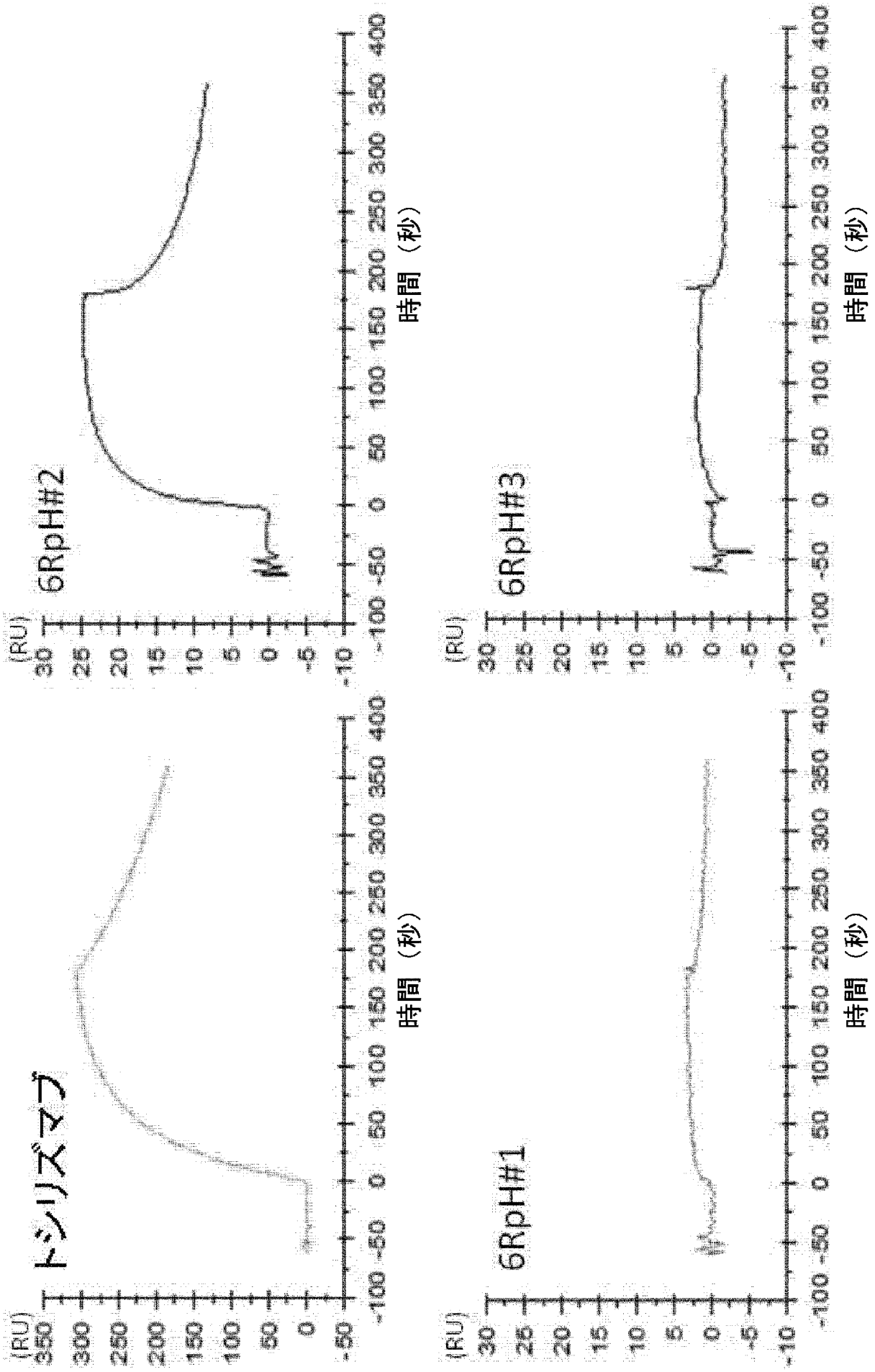
[図23]


各アミノ酸割合
100%
90%
80%
70%
60%
50%
40%
30%
20%
10%
0%
Design
Library
30
32
34
50
53
91
92
93
94
96
VL (kabat ナンバリング)
Y
S
R
N
L
K
H
G
F
D
A

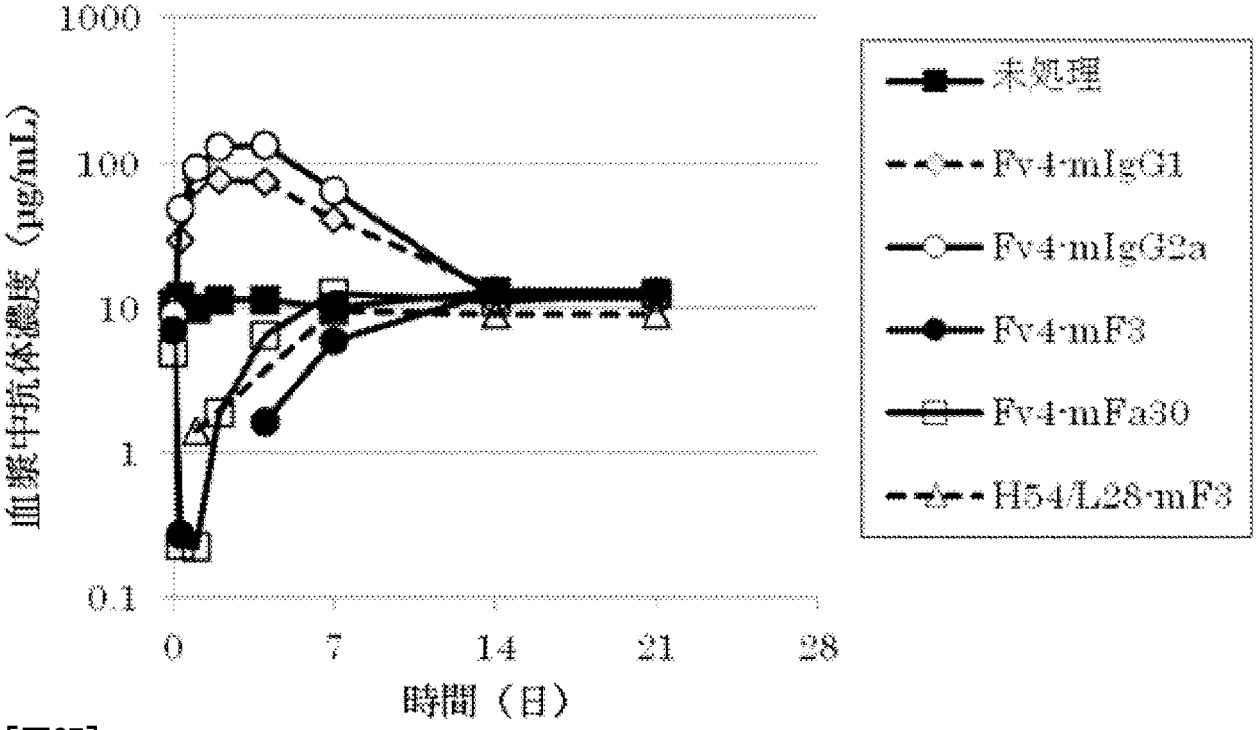
[図24]



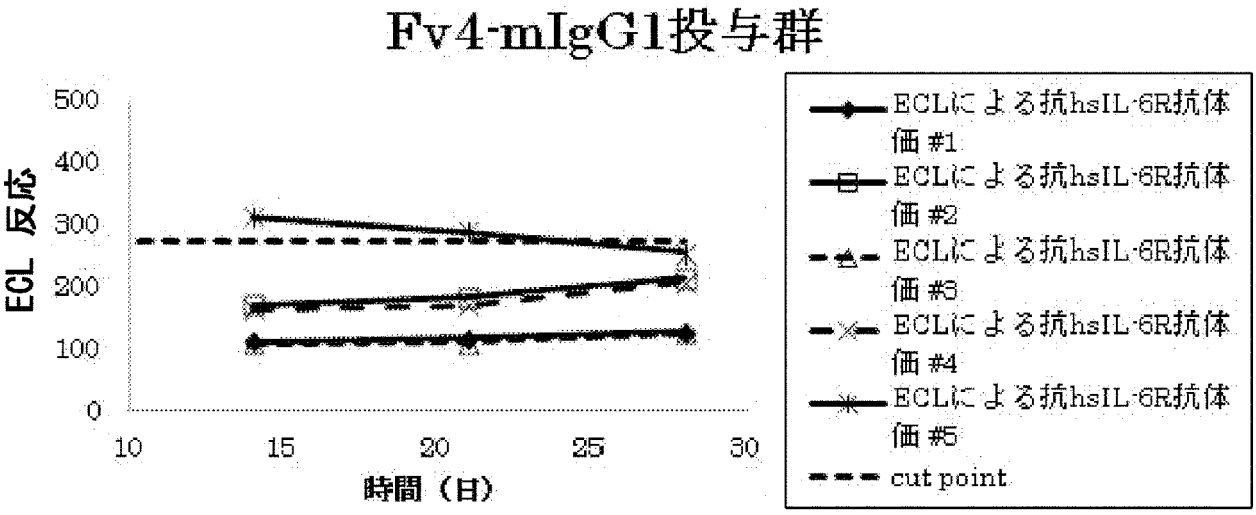
[図25]



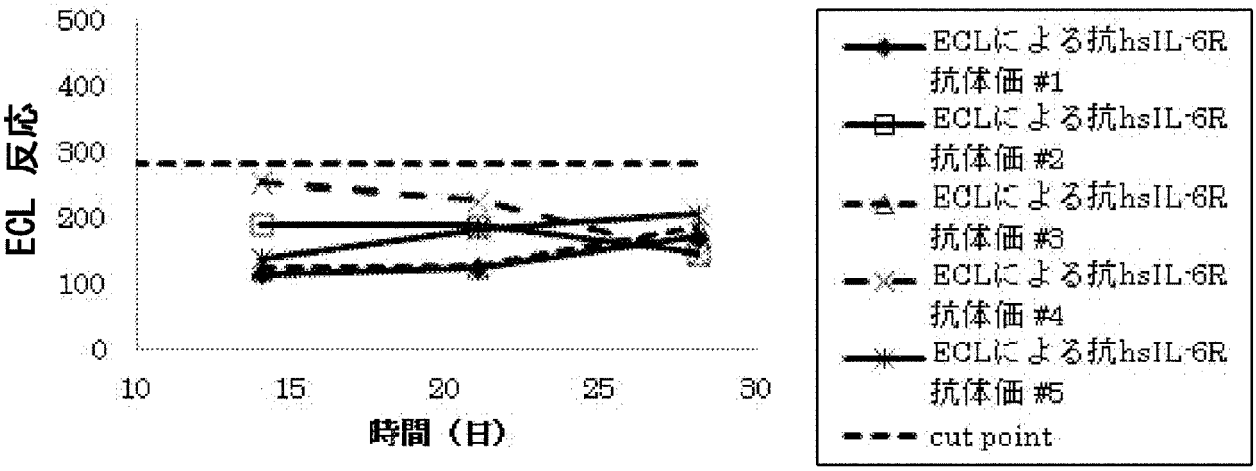
[図26]


1000
100
10
1
0.1
血漿中抗体濃度（μg/mL）
0
7
14
21
28
時間（日）
未処理
Fv4-mIgG1
Fv4-mIgG2a
Fv4-mF3
Fv4-mFa30
H54/L28-mF3

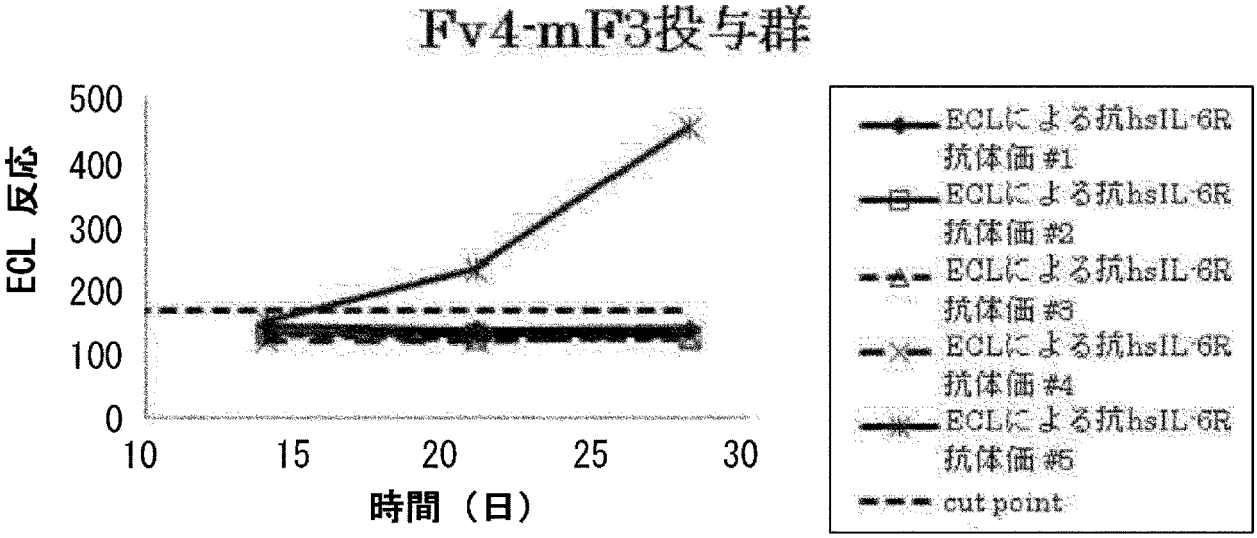
[図27]


Fv4-mIgG1投与群
500
400
300
200
100
0
ECL 反応
10
15
20
25
30
時間（日）
ECLによる抗hsIL-6R抗体価 #1
ECLによる抗hsIL-6R抗体価 #2
ECLによる抗hsIL-6R抗体価 #3
ECLによる抗hsIL-6R抗体価 #4
ECLによる抗hsIL-6R抗体価 #5
cut point

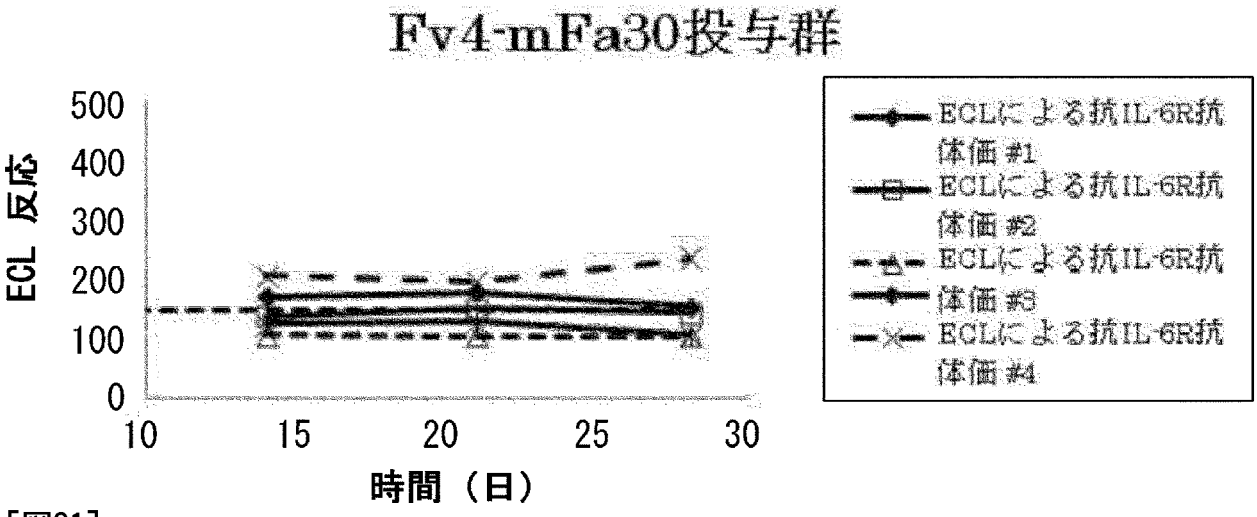
[図28]


Fv4-mIgG2a投与群
500
400
300
200
100
0
ECL 反応
10
15
20
25
30
時間（日）
ECLによる抗hsIL-6R抗体価 #1
ECLによる抗hsIL-6R抗体価 #2
ECLによる抗hsIL-6R抗体価 #3
ECLによる抗hsIL-6R抗体価 #4
ECLによる抗hsIL-6R抗体価 #5
cut point

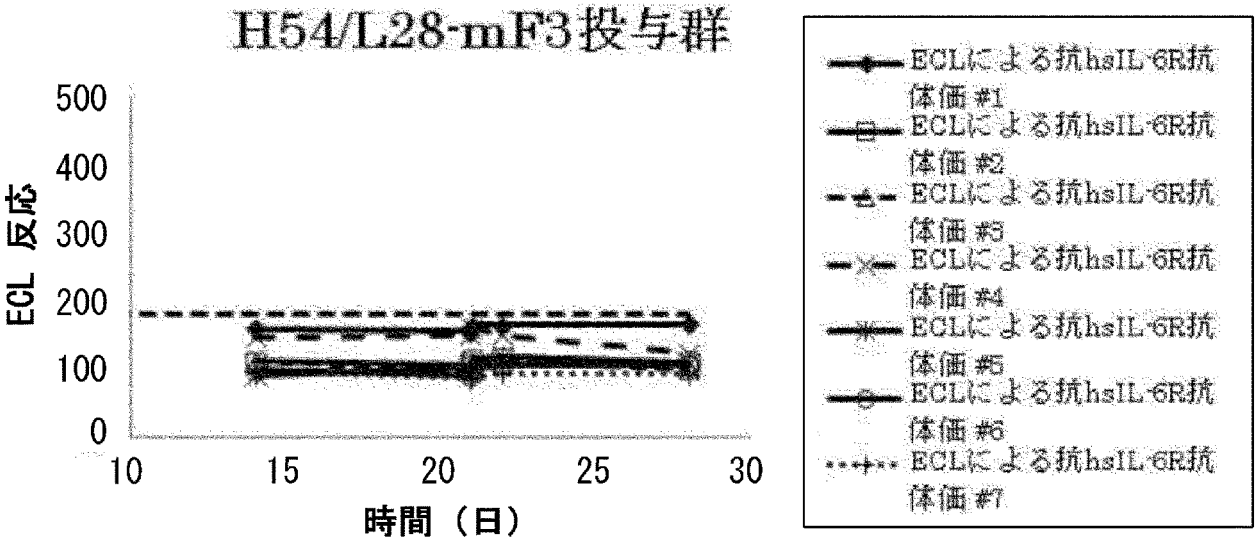
[図29]


Fv4-mF3投与群
ECL 反応
500
400
300
200
100
0
10
15
20
25
30
時間（日）
ECLによる抗hsIL-6R抗体価 #1
ECLによる抗hsIL-6R抗体価 #2
ECLによる抗hsIL-6R抗体価 #3
ECLによる抗hsIL-6R抗体価 #4
ECLによる抗hsIL-6R抗体価 #5
cut point

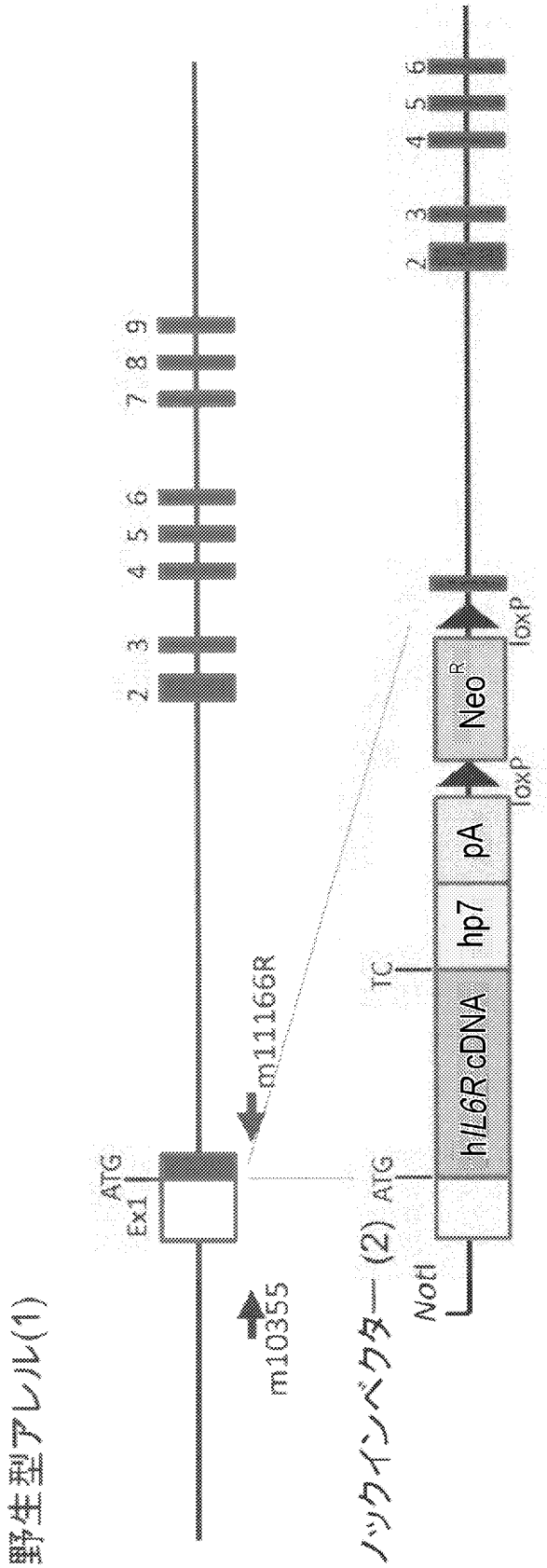
[図30]


Fv4-mFa30投与群
ECL 反応
500
400
300
200
100
0
10
15
20
25
30
時間（日）
ECLによる抗IL-6R抗体価 #1
ECLによる抗IL-6R抗体価 #2
ECLによる抗IL-6R抗体価 #3
ECLによる抗IL-6R抗体価 #4

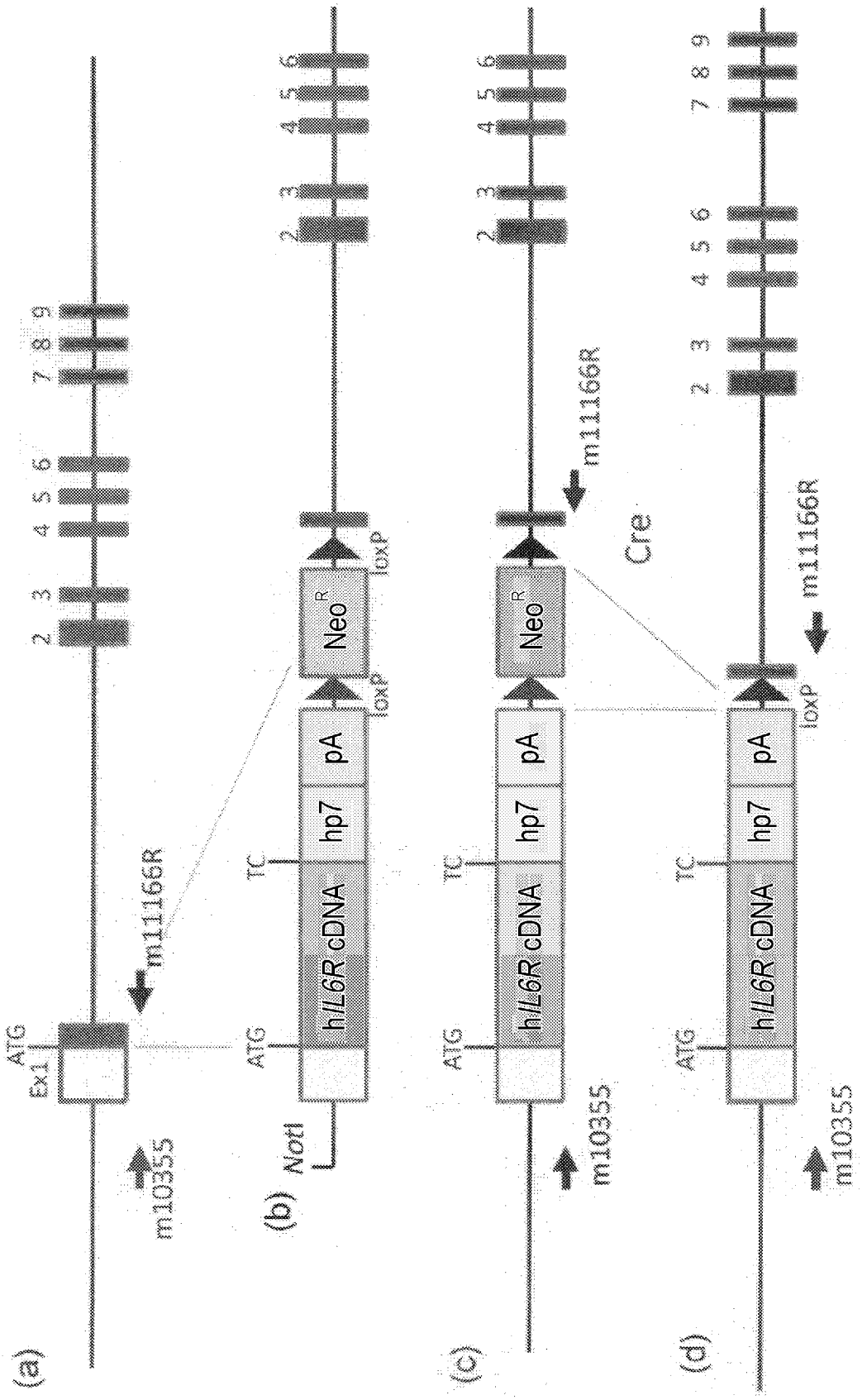
[図31]


H54/L28-mF3投与群
ECL 反応
500
400
300
200
100
0
10
15
20
25
30
時間（日）
ECLによる抗hsIL-6R抗体価 #1
ECLによる抗hsIL-6R抗体価 #2
ECLによる抗hsIL-6R抗体価 #3
ECLによる抗hsIL-6R抗体価 #4
ECLによる抗hsIL-6R抗体価 #5
ECLによる抗hsIL-6R抗体価 #6
ECLによる抗hsIL-6R抗体価 #7

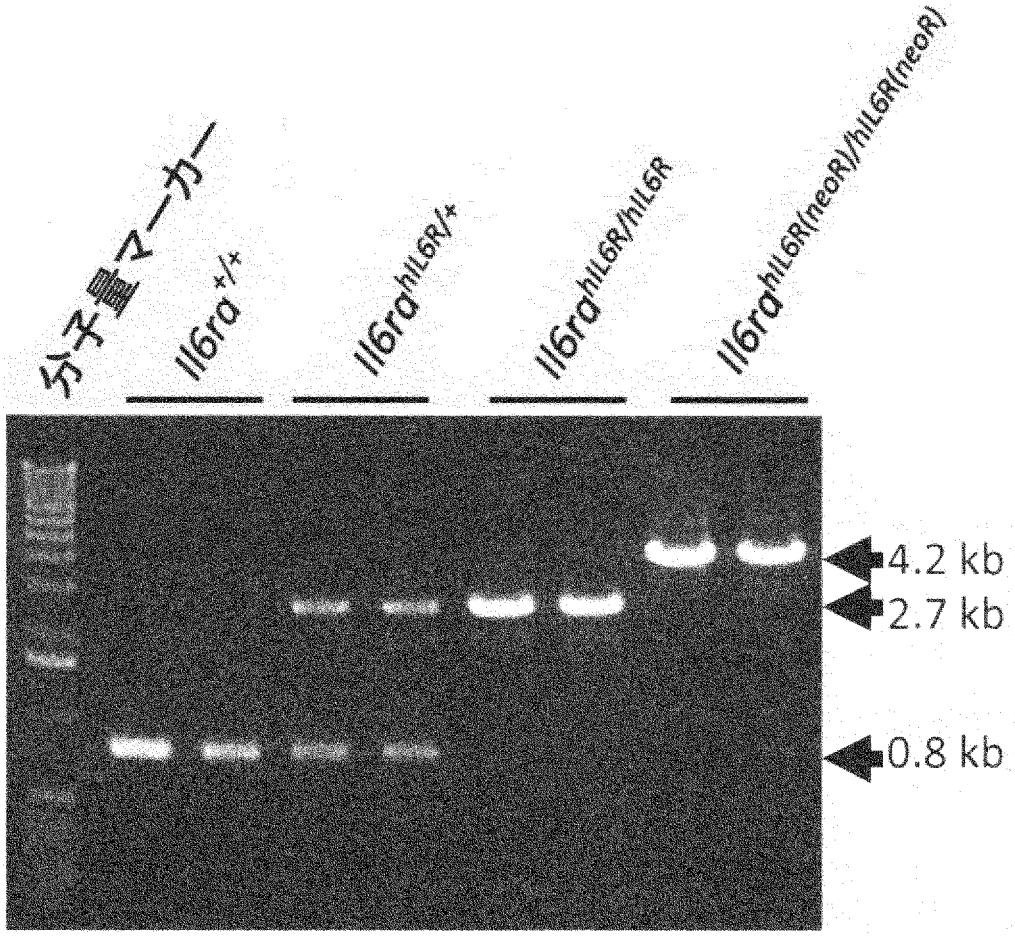
[図32A]


野生型アレル(1)
ATG
Ex1
m10355
m11166R
ノックインベクター(2)
ATG
NotI
TC
hIL6RcDNA
hp7
pA
loxP
Neo^R
loxP
2 3 4 5 6 7 8 9
2 3 4 5 6

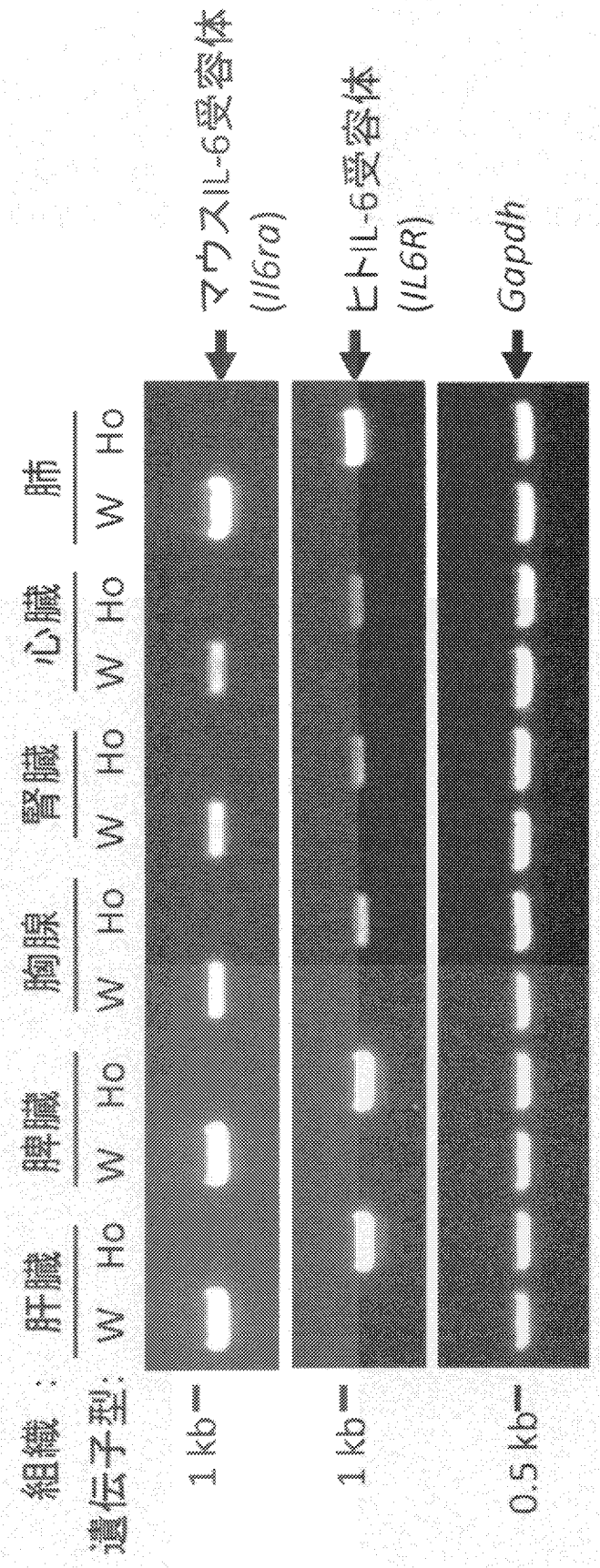
[図32B]


(a)
(b)
(c)
(d)
ATG
Ex1
m11166R
m10355
NotI
TC
hIL6R cDNA
hp7
pA
loxP
NeoR
Cre

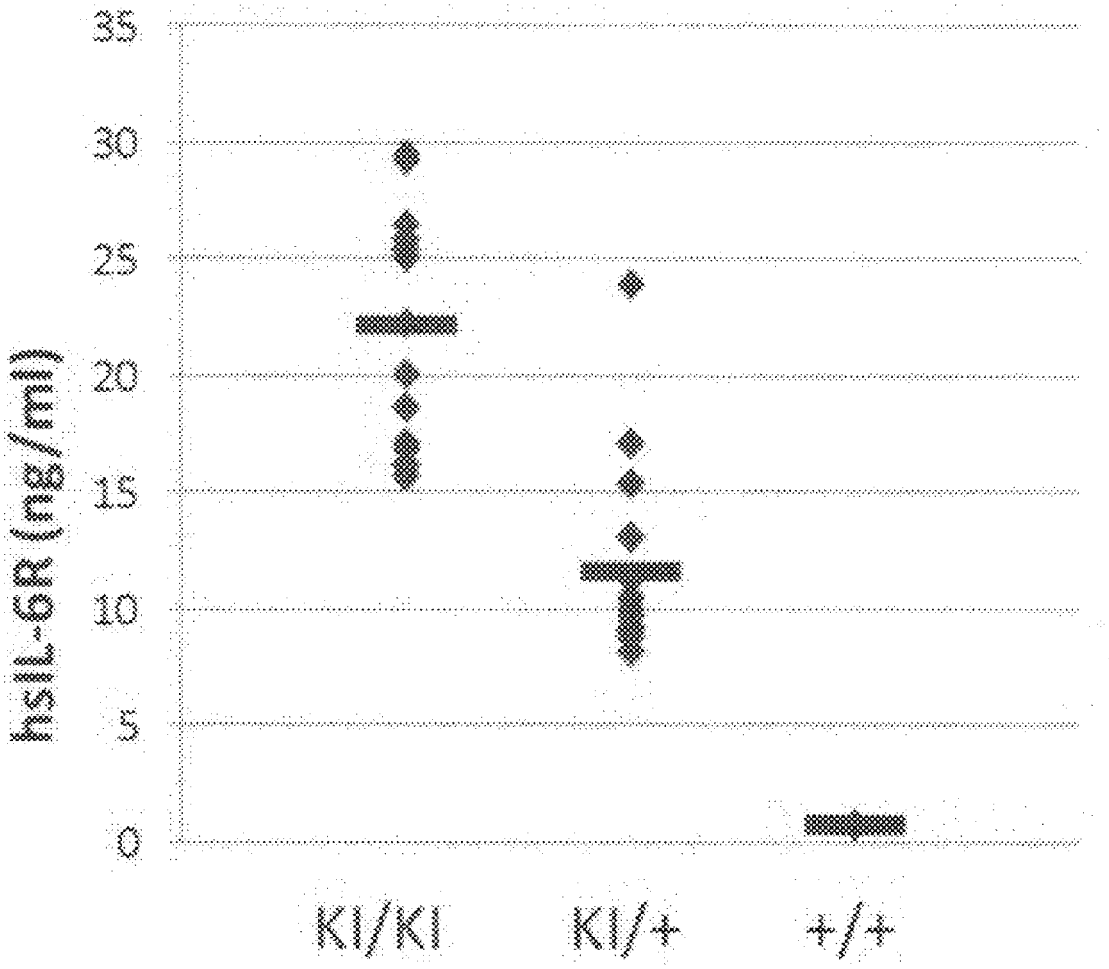
[図33]


分子量マーカー
Il6ra+/+
Il6rahIL6R/+
Il6rahIL6R/hIL6R
Il6rahIL6R(neoR)/hIL6R(neoR)
4.2 kb
2.7 kb
0.8 kb

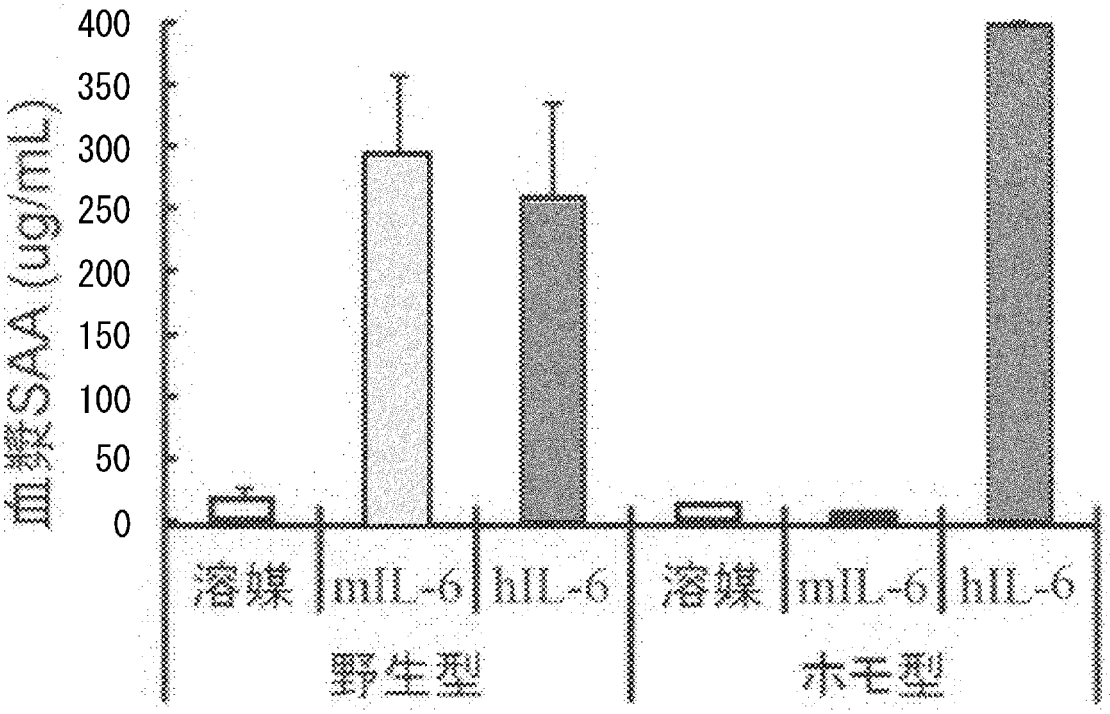
[図34]


マウスIL-6受容体
(Il6ra)
ヒトIL-6受容体
(IL6R)
Gapdh
組織：
肝臓
脾臓
胸腺
腎臓
心臓
肺
遺伝子型：
W
Ho
1 kb
1 kb
0.5 kb

[図35]


35
30
25
20
15
10
5
0
hsIL-6R (ng/ml)
KI/KI
KI/+
+/+

[図36]


400
350
300
250
200
150
100
50
0
血漿SAA (ug/mL)
溶媒
mIL-6
hIL-6
溶媒
mIL-6
hIL-6
野生型
ホモ型